

<http://dx.doi.org/10.17703/JCCT.2023.9.6.867>

JCCT 2023-11-104

고성능 액체크로마토그래피(HPLC)를 이용한 Cold Medicine 성분의 동시 분석

Simultaneous Analysis of Cold Medicine Component by High-Performance Liquid Chromatography(HPLC)

이원주*, 최승태**, 신근식**, 박진영**, 심재호***

Wonju Lee*, Seung-Tae Choi**, Keun-Sik Shin**, Jin-Young Park**, Jae-Ho Sim***

요약 본 연구는 감기약의 품질관리를 위한 기초자료로서, HPLC를 이용하여 감기약의 4가지 주요 성분인 아세트아미노펜(Acetaminophen), 카페인(Caffeine), 메틸 파라벤(Methyl paraben), 프로필 파라벤(Propyl paraben)을 동시 분석하였다. 시료는 4가지 성분을 전처리한 후, 액체크로마토그래피(HPLC)를 사용하여 정량분석 하였다. 감기약의 분석은 상업용 C18 칼럼과 이동상으로 아세토니트릴(Acetonitrile) 과 증류수(H₂O)을 사용하였으며, 아이소크라틱 기법(Isocratic Elution)을 사용하였다. 검출기는 PDA 및 UV detector를 사용하였으며, 유속은 1.0mL/min, 주입부피는 10 μ L, 칼럼온도의 온도는 35 $^{\circ}$ C, 파장은 270nm에서 수행하였다. 실험 결과 Resolution의 값이 각각 4.983, 1.596, 5.519, 1.678으로 Rs >1.5 이상으로 나타나 분리능이 우수하고 Symmetry factor 값은 1.056, 1.069, 1.032, 1.133으로 안정적인 대칭을 갖는 것을 알 수 있었다. 모든 표준성분의 검량선 값은 R² > 0.9995 ~ 0.9999로 나타나 우수한 직선성을 나타내었다. 또한 검출한계(Limit of detection) 와 정량한계(Limit of quantification)는 각각 0.0118 ~ 1.5973mg/mL 및 0.0353 ~ 4.7919 μ g/mL, 회수율은 79.6% ~ 120.5%로 안정적인 값을 얻었다. 본 연구 결과는 실험적으로 입증한 감기약 성분의 동시 분석법에 의한 품질평가가 효율적임을 보여주었다

주요어 : 아세트아미노펜, 카페인, 파라벤, 고성능액체크로마토그래피, 동시 분석

Abstract In this study, for the purpose of standardized quality control of a cold medicine, we simultaneous analyzed four main chemical components of a cold medicine: acetaminophen, caffeine, methyl paraben, and propyl paraben. The sample was subjected to quantitative analysis using high performance liquid chromatography (HPLC), after pretreatment of four components. The experiment was carried out by using Isocratic elution at wavelength of 270nm. Acetonitrile and water (H₂O) were used as a mobile phase at a flow rate of 1.0mL/min in a commercial C18 reversed-phase column. A volume of 10 μ L cold medicine were injected into the column with column oven temperature at 35 $^{\circ}$ C. As a result of the experiment, the values of Resolution were 4.983, 1.596, 5.519, and 1.678 respectively-well over Rs >1.5, which indicates that the separation of four components were efficient. In addition, value of symmetry factor of the components was 1.056, 1.069, 1.032, and 1.133 respectively, to show its symmetrical stability. The calibration curve of all four components exhibits good linearity with R² >0.9995 to 0.9999. Furthermore, the limit of detection(LOD) were between 0.0118 to 1.5973 mg/mL, while the limit of quantification (LOQ) were between 0.0353 to 4.7919 μ g/mL with the recovery rate of 79.6% ~ 120.5%. The results of this study showed an efficient quality evaluation of a simultaneous analysis method for cold medicine components.

Key words : Acetaminophen, Caffeine, Paraben, HPLC, Simultaneous Analysis

*준회원, 한라대학교 신소재화학공학과 학사과정 (제1저자)

**준회원, 한라대학교 신소재화학공학과 학사과정 (참여저자)

***정회원, 한라대학교 신소재화학공학과 교수 (교신저자)

접수일: 2023년 10월 6일, 수정완료일: 2023년 10월 22일

게재확정일: 2023년 11월 10일

Received: October 6, 2023 / Revised: October 22, 2023

Accepted: November 10, 2023

***Corresponding Author: jhsim@halla.ac.kr

Dept. of Advanced Materials and Chemical Engineering
Halla University, Korea

I. 서 론

우리나라는 4계절로 인하여 기온 변화가 심하고 이로 인해 감기 발생이 자주 일어난다. 감기는 초기에 약한 증상에서 시작하여 점차 진행되면서 보통 발열, 두통, 콧물, 기침, 가래 등 복합적인 증상이 나타나게 된다. 이때 감기약을 증상에 맞게 선택하여 복용함으로써 증상 완화 또는 치료하게 된다[1].

현재 감기 치료제는 많은 회사에서 다양한 성분을 함유한 제품을 생산하여 판매하고 있다. 또한, 이러한 제품을 생산하는 많은 제약회사가 대한약전 외 의약품의 기준 등 시험법을 참고하여 품질관리를 위한 성분 분석을 하고 있으며 주로 고속액체크로마토그래피(HPLC)가 이용되고 있다[2].

감기약은 해열, 진통, 항염, 항히스타민, 기관지 확장, 거담 및 진해 등의 효능을 나타내는 성분들이 사용된다. 특히 우리나라에서 판매되는 감기약은 주로 해열, 진통을 목적으로 하는 성분인 아세트아미노펜(Acetaminophen)을 많이 함유하고 있다[3].

하지만 아세트아미노펜은 의사의 처방전 없이 구매가 가능하다. 따라서, 극단적인 선택을 목적으로 과량 복용하는 경우가 증가하고 있다[4].

미국 독극물통제센터(American Association of Poison Control Centers)는 2011년 연보를 통해 성분이 밝혀진 약물중독 환자 123만여 명 중 30.8%가 아세트아미노펜을 포함한 진통제였으며, 1,158명의 사망 환자 중 복합성분과 단일 제제의 아세트아미노펜에 의한 경우가 11.2%라 보고하고 있다[5].

성인에게서 140 μ g/kg 이상의 아세트아미노펜을 복용한 경우는 간에서 대사물질인 N-acetyl-p-benzoquinone imine(NAPQI)에 의해 간 기능 부전이 발생할 수 있다[6].

또한, 감기약은 다양한 성분들이 종합된 약이다. 카페인(Caffeine)도 다양한 성분들 중 하나이며, 알레르기나 염증 발생 시 히스타민이 과도하게 분비되어 코막힘, 재채기 등의 증상이 나타나는데, 이를 억제하기 위해 항히스타민제를 사용하는데 카페인이 그 역할을 한다. 카페인은 냄새가 없는 침상의 결정으로 120~178 $^{\circ}$ C에서 승화되며, 세계적으로 연령에 상관없이 즐겨 마시는 커피, 홍차 등에 함유되어있는 성분이다[7].

카페인은 하루 0.1 ~ 0.2g 섭취 시 각성효과, 피로의

감소 등의 긍정적인 측면이 나타나지만, 1.0g 이상 섭취할 경우 불안, 불면, 감정의 변화, 위장 장애 등의 부정적인 측면이 초래될 수 있다[8].

감기약의 다양한 성분 중 하나인 파라벤류(Parabens)는 일반적으로 항균 및 미생물 성장 억제에 뛰어난 효과를 나타낸다. 또한, 파라벤은 물질 간 형성이 잘 되어 있고, 활동 스펙트럼이 넓어, 감기약에 보존료로 사용이 되고 있다. 이것은 불 활성적인 특징을 가지고, 경제적이며, pH와 관련하여 우수한 화학적 안정성을 갖고 있어 감기약 보존료로 사용한다[9].

파라벤은 p-하이드록시벤조산(p-hydroxybenzoic acid)의 알킬에스터를 통칭하며, 메틸파라벤(Methyl paraben), 에틸파라벤(Ethyl paraben), 프로필파라벤(Propyl paraben), 부틸파라벤(Buthyl paraben) 등을 포함하며 파라벤은 여러 생물학적 반응을 발생시킨다. 인체에 대해서는 물질안전보건자료(MSDS) H315, H317, H319, H335 등으로 분류되어 눈 손상을 일으키거나 접촉성피부염 또 알레르기를 일으킬 가능성도 있다. 또한, 파라벤은 비 호르몬계 장애 물질로 분류되어, 호르몬 활성이나 생식에 영향을 미칠 수 있다고 알려져 있다[10]. 파라벤류, 당알코올에 대한 동시 분석 방법은 보고 되었으나[11-12], 감기약의 오남용을 방지하기 위한 체계적인 감기약 구성성분의 동시 분석법의 필요성이 제기된다.

본 연구는 크로마토그래피 분석방법을 사용하여 감기약의 주요한 4가지 성분을 특정하여 동시 분석으로 평가함으로써 분리 분석 조건을 확립하였다.

II. 실 험

본 연구는 시판되고 있는 감기약의 주요 성분을 HPLC-PDA 시스템으로 분석하여, 각 시료 들의 파장과와 머무름시간(Retention time, RT)을 구하였다. 본 연구에 사용된 주요 성분은 Fig. 1에 나타내었다.

2.1 시약 및 재료

감기약의 주요 성분인 아세트아미노펜(Acetaminophen, AA), 카페인(Caffeine, CA) 메틸파라벤(Methyl paraben, MP), 프로필파라벤(Propyl paraben, PP)는 Sigma-Aldrich(USA) 사 제품을 사용하였다. 이 동상으로 사용된 아세토니트릴(Acetonitrile, ACN), 증

류수(H₂O), 메탄올(MeOH)은 Daejung(korea)사의 HPLC Grade 제품을 사용하였다. 감기약은 시판 중인 감기약 시럽(이하 감기약)을 구매하여 사용하였다.

2.2 HPLC 기기분석 조건

본 연구에 사용한 고성능액체크로마토그래피 HPLC는 LC-4000(JASCO, Japan)을 사용하였다. 컬럼은 Finepak SIL C18T-5(250mm × 4.6mm, 5 μ m, JASCO)를 사용하였으며, 컬럼 온도는 35°C, 유속은 1.0ml/min으로 유지하였으며, 주입량은 10 μ g으로 하였다.

이동상의 용매는 아세토니트릴과 증류수를 사용하였으며, 아이소크라틱 기법(Isocratic Elution)을 사용하였다. 모든 실험은 ACN:H₂O = 50:50(v/v)으로 하였다. 용액의 제조과정에서 0.45 μ m 멤브레인필터(25mm Nylon, FUTECS)를 사용하여 여과하였다. 검출기는 PDA Detector를 사용하여 각 성분의 최대 UV 흡수 파장을 측정하고, 동시 분석을 위하여 270nm에서 UV Detector를 사용하였다.

2.3 표준용액 조제

실험에 사용한 표준용액은 감기약과 같은 농도로 조제 하기 위해 정확하게 계량된 AA 375mg, CA 63mg, MP 40mg, PP 10mg에 증류수를 추가하여 전체를 50g으로 하여 표준용액으로 하였다.

조제 한 표준용액을 50배 희석하여 분석용 용액으로 사용하였다. 조제 과정은 Fig. 2에 나타내었다.

2.4 HPLC 분석을 위한 감기약 Sample

시판 중인 감기약 0.1g을 용량플라스크에 정밀하게 취하고, 증류수 49.9g을 추가하여 HPLC 분석용 감기약 Sample 용액으로 사용하였다.

2.5 유효성 확인(Validation)

동시 분석법을 위해 설정한 방법들에 대하여 유효성을 판단하기 위해 직선성, 정확성, 정밀성, 검출한계 및 정량한계를 산출하여 분석 방법을 검증하였다[13].

2.5.1 직선성 시료 조제

직선성 용액은 5가지 농도로 시료를 조제 하였다. 감기약 0.1g에 증류수를 추가해 전체 질량이 각각 50g, 25g, 16.6g, 12.5g, 10g이 되도록 조제 하였다. 이때의

직선성 시료 농도는 각각 15, 30, 45, 60, 75 μ g/ml이다.

2.5.2 정확성(회수율) 시료 조제

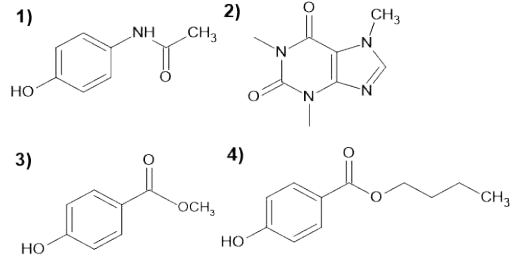


그림 1. 감기약 성분의 화학적 구조. 1) 아세트아미노펜 2) 카페인 3) 메틸파라벤 4) 프로필파라벤
 Figure 1. Chemical structure of the components in the cold medicine. 1) Acetaminophen 2) Caffeine 3) Methyl paraben 4) Propyl paraben

완제품 시험의 정확성 판단은 일반적으로 회수율을 주로 사용한다. 회수율은 3가지 농도에서 3회 반복 측정하였으며, 정확성의 범위는 직선성의 범위와 동일하게 하였다. 정확성 분석용 시료의 조제는 감기약 0.1g에 전체 질량이 각각 25g, 16.6g, 12.5g이 되도록 증류수를 추가하여 제조하였고, 농도는 각각 30, 45, 60 μ g/ml이다.

2.5.3 정밀성 시료 조제

분석법이 환경의 변화에 따른 결과의 변이 정도를 대표표준편차(RSD)를 통하여 정밀성을 판단하였고, RSD 값은 2% 이내가 적합하다. 시료의 조제는 상기 2.5.1항에서 조제 한 직선성 용액 중 중간 농도에 해당하는 시료를 100%로 기준으로 하여, 80%와 120%에 해

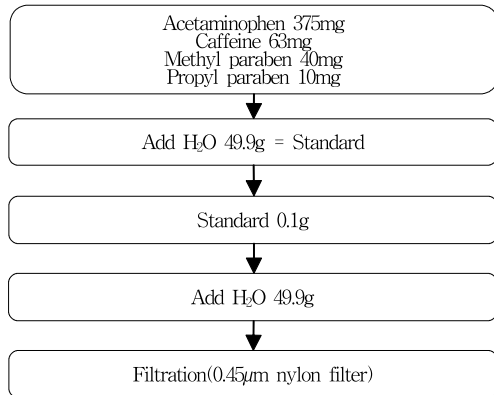


그림 2. 표준용액의 제조
 Figure 2. Schematic diagram of standard solution process.

당하는 농도의 용액을 조제 하여 정밀성 분석용 시료로 하였다. 정밀성 시료는 감기약 0.1g에 전체 질량이 2.05g, 16.6g, 12.5g이 되도록 증류수를 추가하여 조제 하였다.

2.5.4 검출한계, 정량한계 용액 조제

각 성분의 검출 및 정량이 가능한 최저농도를 확인 하기 위하여 검출한계(Limit of Defection, LOD)와 정량한계(Limit of Quantitation, LOQ)를 측정하였다. 시료의 조제는 30, 45, 60µg/ml의 농도에서 검량선을 작성 하고 각각 7회 반복하여 얻은 검량선으로부터 얻은 표준편차를 기울기로 나눈값에 3.3을 곱하여 계산하였다 (식 (1), (2)).

$$\text{검출한계 (LOD)} = 3.3 \times \frac{\text{표준편차}}{\text{기울기}} \quad (1)$$

$$\text{정량한계 (LOQ)} = 3 \times \text{LOD} \quad (2)$$

III. 결과 및 고찰

각 성분의 파장은 HPLC PDA 검출기를 사용하여 측정된 결과 각 성분의 최대 UV 흡수 파장은 아세트아미노펜(AA) 244.6nm, 카페인(CA) 271nm, MP 254.2nm, PP 258.8nm를 나타내었다. 이 결과로부터 각 성분 Peak의 Intensity의 편차를 줄이고 동시 분석을 위해서 파장을 270nm로 설정하였다(Fig. 3).

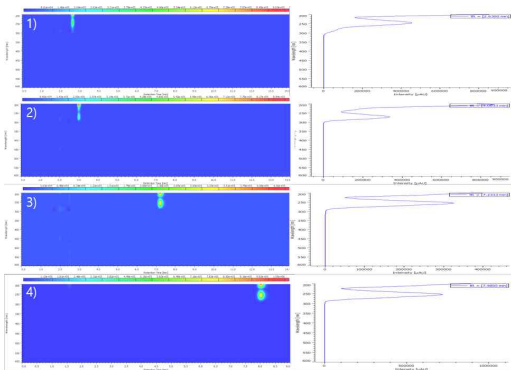


그림 3. 감기약 성분의 PDA 파장 측정 결과 1) 아세트아미노펜 2) 카페인 3) 메틸파라벤 4) 프로필파라벤
Figure 3. Wavelength measurement results of each cold medicine components by PDA. 1) Acetaminophen 2) Caffeine 3) Methyl paraben 4) Propyl paraben

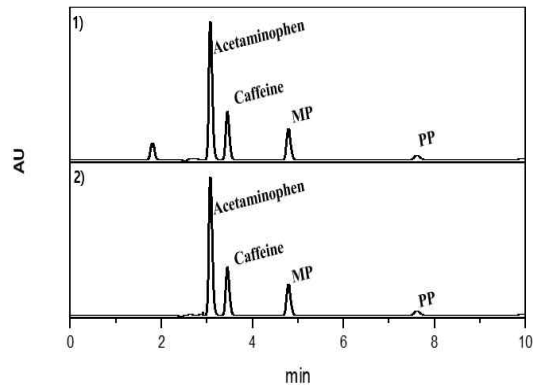


그림 4. 동시분석에 의한 크로마토그램 1) 시판 감기약 2) 제조한 표준용액
Figure 4. Chromatogram of Simultaneous analysis result. 1) Commercial Cold Medicine 2) Standard Solution.

3.1 정성분석

본 실험의 분석법을 통해 시판의 감기약은 동시 분석하고, 표준용액은 단일 분석하여 RT 값과 Peak 값을 구하여 비교하였으며, 감기약과 제조된 표준용액의 검출된 Peak로부터 동일함을 확인하였다.

각 성분을 단일 분석하여 나타난 Peak의 RT는 AA 2.9 min, CA 3.6 min, MP 4.8 min, PP 8 min, 으로 검출되어 시판품의 감기약과 동시 분석용으로 조제한 표준용액의 각 성분의 Peak는 동일한 시료임을 확인하였다. 실험 결과는 Fig. 4에 나타내었다.

또한, 분리능(Resolution, Rs)은 1.596 ~ 5.519로 Rs ≥ 1.5 이상으로 나타나 효율적으로 분리가 되었음을 판단할 수 있으며, 대칭성(Symmetry Factor)은 1.032 ~ 1.133으로 1에 근접하게 나타남을 확인하였으며, Peak의 대칭성이 유효한 것으로 판단할 수 있다. 실험 결과는 Table. 1에 나타내었다.

표 1. 정성분석 결과
Table 1. Result of Qualitative analysis

Component	RT(min)	Rs	Symmetry Factor
AA	2.9	4.983	1.056
CA	3.6	1.596	1.069
M P	4.8	5.519	1.032
P P	8.0	1.678	1.133

표 2. 4가지 성분에 대한 정밀성 결과 (반복성)
 Table. 2 The results of precision for 4 components (Repeatability)

Component	Theoretical content(%)	1st(%)	2nd(%)	3rd(%)	Average(%)	SD	RSD(%)	Acceptance Criteria
AA	80	79.6	79.8	79.4	79.6	5220.89	1.76	NLT 2.0%
	100	100.8	99.7	99.8	100.1	3371.27	0.78	
	120	119.8	120.1	120.2	120	5833.63	0.83	
CA	80	79.1	79.8	80.2	79.7	1360.67	1.17	NLT 2.0%
	100	99.8	100.2	100.1	100	569.97	0.34	
	120	120.1	120.4	119.6	120	1016.69	0.39	
MP	80	80.8	80.1	80.2	80.4	548.93	0.62	NLT 2.0%
	100	100.2	99.9	100.1	100.1	1064.28	0.80	
	120	120.7	119.8	120.1	120.2	493.08	0.23	
PP	80	80.1	79.9	80.1	80	92.25	0.51	NLT 2.0%
	100	100.1	100.2	99.7	100	80.89	0.29	
	120	121.0	120.1	120.5	120.5	157.55	0.36	

3.2 분석법 검증

분석 대상의 지표 물질이 농도에 대한 직선적인 특징을 나타냄을 확인하기 위해 직선성을 검토하였다. 직선성(Linearity)은 상기 2.5.1에서 제조한 감기약을 사용하여 5종류의 농도(15, 30, 45, 60, 75 μ g/ml)별로 3회 반복 측정하고 Peak의 면적비를 구하여 용액의 농도(x)와 Peak 면적비(y)에 대한 검량선(Calibration curve)을 구하고, 검량선으로부터 직선성의 상관계수(Correlation coefficient, R²)를 계산하여 확인한 결과 R² 값이 모두 0.999 이상으로 각 성분의 직선성이 유효함을 확인하였다(Fig. 5).

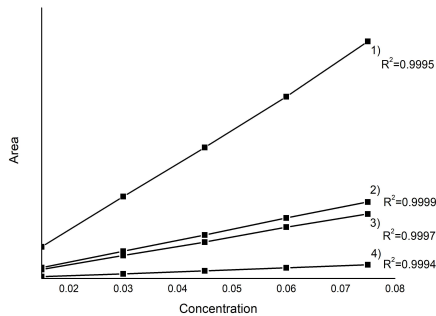


그림 5. 동시분석에 의한 직선성(R²) 1) 아세트아미노펜 2) 카페인 3) 메틸파라벤 4) 프로필파라벤
 Figure 5. Linearity of the simultaneous analysis 1) AA 2) CA 3) MP 4) PP

정확성(회수율)은 함량이 확인된 시료에 농도를 알고있는 지표성분을 혼합 후, 분석을 통해 추가 된 지표성분의 양을 확인하는 방법으로, 상기 2.5.2와 같이 제한 3가지 농도에서 3회 반복 측정하여 농도에 대한 회수 실험을 결과 평균 회수율(Recovery, %)은 AA, CA, MP, PP가 각각 79.6% ~ 120.5%의 높은 회수율을 나타내어 좋은 정확성을 확인하였다.

정밀성은 상기 2.5.3과 같이 제조한 3종류 각 농도(30, 45, 60 μ g/ml)에 대해 3회 반복 분석하여 각 농도의 함량에 대해 상대 표준편차(RSD)를 구한 결과 허용기준(RSD \leq 2.0)을 만족하였다. 실험 결과는 Table. 2에 나타내었다.

표 3. LOD, LOQ, 상관계수 결과
 Table 3. Result of LOD, LOQ, and R²

Component	Conc. (μ g/ml)	LOD (mg/ml)	LOQ (mg/ml)	R ²
AA	30	1.0911	3.7850	0.9995
	45	1.2616	4.2732	
	60	1.5973	4.7919	
CA	30	0.0425	0.1277	0.9999
	45	0.0801	0.2405	
	60	0.1226	0.3678	
MP	30	0.0319	0.0958	0.9997
	45	0.0502	0.1506	
	60	0.0716	0.2149	
PP	30	0.0118	0.0353	0.9994
	45	0.0121	0.0365	
	60	0.0158	0.0473	

검출한계(LOD)와 정량한계(LOQ)는 상기 2.5.2에서 조제한 용액으로 정량 분석하였다. LOD와 LOQ는 표준편차와 검량선의 기울기에 근거하여 계산하였으며, AA, CA, MP, PP의 검출한계(LOD)는 0.0118 ~ 1.5973mg/ml, 범위이며, 정량한계(LOQ)는 각각 0.0353 ~ 4.7919mg/ml를 나타내었다(Table 3). 위와 같은 결과는 유효성 가이드라인에서 제시하는 범위를 만족하며, 시판의 감기약 4종 성분을 동시 분석하여 정량할 수 있는 적합한 분석법이라 판단하였다.

IV. 결론

본 연구에서는 감기약의 4종 주요성분을 고성능액체 크로마토그래피(HPLC)에 의해 동시 분석을 하였다. 확립된 분석법의 검증으로 직선성, 정확성, 정밀성, 검출한계 및 정량한계를 측정하여 분석법에 대한 유효성을 검증하였다.

분석결과 0.999 이상의 우수한 직선성을 나타냈으며, 검출한계와 정량한계는 각각 0.0118 ~ 1.5973mg/mL 및 0.0353 ~ 4.7919 μ g/mL을 나타내었다. 3가지 농도에서의 회수율 실험 결과는 AA에서는 79.6% ~ 120.0%, CA에서는 79.7% ~ 120.0%, MP에서는 80.4% ~ 120.2%, PP에서는 80.0% ~ 120.5%의 양호한 회수율을 나타냈으며, 3회 반복하여 얻은 상대표준편차는 모든 성분이 2% 이내로 양호한 결과를 얻었다.

본 연구를 통하여 감기약의 4성분을 전처리 후 정확도 및 정밀성 실험을 통해 분석법의 유효성을 검증하여 신뢰할 수 있는 결과를 나타내었다. 실험적으로 입증된 감기약 4성분의 동시 분석법은 품질관리에 유효성 있는 효율적 시험방법으로 활용이 가능할 것으로 기대된다.

References

[1] Su-Min Yun, "Simultaneous determination of active ingredients in a cold multi-symptom by UPLC", Seoul National University of Science and Technology a master's thesis in Korea, 2013

[2] The Korea Pharmaceutical codex(3rd. edition), KFDA 2007-21, 2007. 5. 1 revision

[3] J. R. Mitchell, D. J. Jollow, W. Z. Potter, D. C Davis, J. R. Gillette and B. B. Brodie, "Acetaminophen-induced hepatic necrosis", J. of

Pharmacology and Experimental Therapeutics, Vol. 187(1), pp. 185-194, 1973

[4] WM Lee. "Acetaminophen and the U.S. Acute Liver Failure Study Group: lowering the risks of hepatic failure", Hepatology, Vol.40(1), pp. 6-9, 2004. DOI : <https://doi.org/10.1002/hep.20293>

[5] Bronstein AC, Spyker DA, Cantilena LR Jr, Rumack BH, Dart RC, "2011 Annual report of the American Association of Poison Control Centers' National Poison Data System (NPDS): 29th annual report". Clinical Toxicology, Vol.50(10), pp. 911-1164, 2012. DOI: 10.3109/15563650.2012.746424

[6] Mitchell JR, Jollow DJ, Potter WZ, Gillette JR, Brodie BB, "Acetaminophen-induced hepatic necrosis. IV. Protective role of glutathione", J. of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Vol. 187(1), pp. 211-217, 1973

[7] HY Kim, YJ Lee, KH Hong, CW Lee, KS Kim, SC Ha. "Development of analysis method of caffeine and content survey in commercial foods by HPLC", Korean J. of Food Sci. Tech., Vol.31(6), pp. 1471-1476, 1999

[8] Sang-Soon Yun, Hyun Kim, Su Jin Jang, Ho Soo Lim, Sheen Hee Kim, and Meehye Kim, "Simultaneous Determination of Caffeine, Theobromine and Theophylline in Tea Leaves by HPLC", Korean J. of Food Sci. Tech., Vol.47(5), pp. 556-560, 2015. DOI : <https://doi.org/10.9721/KJFST.2015.47.5.556>

[9] Na-Yiung Park, Eun-Hee Lee, Younglim Kho "Analysis Method of Parabens in Human Breast Milk by LC-MS/MS System", J. of the Korean Chemical Society, Vol.60(2), pp. 118-124, 2016. DOI : <http://dx.doi.org/10.5012/jkcs.2016.60.2.118>

[10] JH Lee et al., "Allelopathic Effect of Aqueous Extract of Ganghwa Mugwort (Artemisia spp.) Vegetables and HPLC Analysis of Allelochemicals," Korean Journal of Organic Agriculture, vol. 21(4), pp. 737 - 752, 2013. DOI : <https://doi.org/10.11625/KJOA.2013.21.4.737>

[11] Do-Yeon Lee, Min-Hee Kim, and Jang-Hyuk Ahn "Simultaneous determination of 9 preservatives in processed foods using high-performance liquid chromatography with photo diode array detector" Analytical science and technology, Vol. 33(6), pp. 233-239, 2020. DOI : <https://doi.org/10.5806/AST.2020.33.6.233>

[12] Ho-Soo Lim, Sung-Kwan Park In-shin Kwak, Hyung-il Kim, Jun-Hyun Sung, Jung-Yoon Choi, and So-Hee Kim, "Simultaneous Determination of Eight Sugar Alcohols in Foodstuffs by High

Performance Liquid Chromatography”, Journal of Food Hygiene and Safety, Vol. 26(1), pp. 16-24, 2011

[13]MFDS. Korean pharmaceutical method validation guideline. Ministry of Food and Drug Safety Chungcheong buk-do, 2015

※ 이 연구는 2023년도 한라대학교 교내연구
비 지원에 의하여 연구되었음