

유도결합플라즈마 원자방출분광법을 이용한 모려 칼슘의 함량 및 용출 특성 분석

양동혁 · 이미영¹ ★

팜트리, ¹한국산업안전공단 산업안전보건연구원
(2010. 7. 6. 접수, 2010. 7. 29. 승인)

Determination of calcium content and dissolution characteristics of oyster shell by ICP-AES

Dong-Hyug Yang and Mi-Young Lee¹ ★

PharmTree, Seoul 130-650, Korea,

¹Korea Occupational Safety and Health Agency, Occupational Safety and Health Research Institute,
Incheon 403-711, Korea

(Received July 6, 2010; Accepted July 29, 2010)

요 약: 유도결합플라즈마 원자방출분광법 (ICP-AES)을 이용한 모려 (*Ostrea gigas*) 칼슘의 함량 및 용출 시험 방법을 개발하고 검증하였다. 개발된 분석방법을 사용하여 모려의 총 칼슘 함량을 측정하고, 탄산칼슘 다형 및 칼슘염 조성의 차이에 의해 발생할 수 있는 모려 칼슘의 용출 특성을 평가하였다. 모려 칼슘의 총 함량 범위는 31.8~39.9%이었고, 용출률 변화는 62.7~83.6%이었다 (n=15). ICP-AES 법을 이용한 칼슘 함량 측정을 통해 모려의 품질관리에 적용할 수 있음을 증명하였다.

Abstract: An ICP-AES method for determination of calcium content and dissolution characteristics of oyster shell (*Ostrea gigas*) has been developed and validated. Total calcium content in oyster shell was determined using ICP-AES. The dissolution characteristics, which would reflect the composition of CaCO₃ polymorphs and calcium salts in oyster shell, were also evaluated by dissolution test. The total calcium contents ranged from 31.8 to 39.9% and the dissolution ratios varied from 62.7 to 83.6% (n=15). The determination of calcium content and dissolution characteristics by ICP-AES would provide useful information for the quality control of oyster shell.

Key words: oyster shell, calcium, dissolution, polymorphism, ICP-AES

1. 서 론

모려는 굴 (*Ostrea gigas*)의 껍질로 탄산칼슘 (80~95%),

황산 칼슘, 인산 칼슘, 규산 칼슘, 및 미량의 단백질 등으로 구성되어 있다.¹ 한방에서는, 평간잠양(平肝潛陽), 연건산결(軟堅散結) 및 수렴고삼(收斂固澁)의 효

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)32-510-0825 Fax : +82-(0)32-518-0862

E-mail : cookmom@kosha.net

능을 가지고 있어 신경계에 작용하는 약물로 분류되며 칼슘이 주성분인 모려 가루는 불용성 칼슘보충제로 사용된다.^{2,3}

굴 껍질은 외투막에서 분비되는 탄산칼슘 결정체와 유기매질 물질을 주성분으로 이루어지며, 굴 껍질의 구조는 불균질한 여러 층, 즉 각피층, 각주층, 진주층으로 구분된다.⁴ 굴 껍질을 구성하는 화학 성분의 조성은 굴의 성장에 따라 변화하며 굴 껍질의 형태학적 변화는 탄산 칼슘 함량과 굴 껍질을 구성하는 matrix sheet의 조성의 변화를 반영할 수도 있다.⁵ 굴의 성장은 서식환경의 수온, 염분, 영양염, 먹이생물, 해수의 유동 등 물리화학적 요인의 복합적인 작용에 의해 영향을 받으며, 굴 껍질의 성장은 해수중의 칼슘이온을 이용한 biomineralization의 결과이므로 먹이의 양에 의한 영향을 보다 적게 받고 주로 수온에 의한 영향을 받아 수온이 하강하면 껍질의 성장이 느려진다.⁶

천연물인 모려는 종이 동일하더라도 산지, 기후, 생육(재배) 조건, 수확 시기, 가공법, 저장법 등에 따라 형태, 성분의 조성 및 양에 있어서 품질이 일정하지 않아 균질성 확보가 매우 어렵다. 그러나 천연물 의약품인 모려 역시 의약품 중 하나로 생체에 작용하여 그 효과를 발휘한다고 하는 점에서 품질의 균일성을 확보하는 것은 매우 중요하다. 또한 한약은 일반적으로 수치라고 하는 가공 공정을 거치므로 이 때 한약의 성분 조성과 함량이 달라지는 경우가 많아 수치의 표준화 등이 선행되어야 한다.⁷ 그러나, 대한약전 제 9 개정에 수재되어 있는 모려의 규격에는 아직 지표성분의 함량 규격이 설정되어 있지 않아 이러한 실정에서는 일정한 약효 또한 기대하기 어렵다.⁸ 이러한 문제점을 해결하기 위하여는 한약 자체에 함유된 유효성분 혹은 지표성분 함량의 균일화를 통하여 품질 표준화가 필요하다. 모려의 모든 함유 성분을 정량하는 것은 거의 불가능하고, 모려는 천연물이므로 함유성분 및 조성비는 매우 변동이 크다는 점을 고려하여, 모려를 대표하는 지표성분 또는 유효성분인 칼슘을 기초로 모려의 품질을 관리할 수 있을 것으로 예측하였다.

본 연구에서는 모려의 지표 성분인 칼슘 함량을 관리하고 체내 흡수에 관한 사항을 예측하는 용출시험에 적용 가능한 유도결합플라즈마 원자방출분광법을 개발하여 모려의 품질 관리에 적용하고자 하였다. 이를 위하여 모려를 직접 제조하여 모려 칼슘의 총 함량과 용출률을 측정하였다. 이와 동시에 대한약전의 한약(생약)규격집에 탄산칼슘이 지표성분으로 설정되어 있는 해표초(*Sepiae Os*)를 모려의 대조 생약으로

선택하여 모려의 함량 및 용출률 실험결과와 비교하였다.⁹

2. 실험

2.1. 시약, 재료 및 기기

원소 측정용 칼슘 표준용액(Ca 10.0 mg/L, Plasma CAL, Matrix 2% HNO₃), 질산(70% HNO₃), 염산(34% HCl), 및 과산화수소(30%)는 SCP Science사(캐나다)의 제품을 사용하였다. 탄산칼슘(CaCO₃, 10 µm, P/N 310034) 및 염화나트륨(USP grade, P/N S1679)은 Sigma사(미국)의 제품을 사용하였다.

총 칼슘 함량 측정용 시료의 산 분해에는 시계접시(Borosilicate, diameter 100 mm), 유리 비커(250 mL, Pyrex), 및 Corning사(미국) PC-620D 열판을 사용하였다. 칼슘 용출시험에는 Millipore사(미국)의 Omnipore PTFE 막 여과지(Hydrophilic PTFE, pore size 0.45 µm), 티엔씨일렉트로닉스(한국)의 삼각티백(Nylon, aperture 130 µm, length 6 mm), 그리고 Hanson Research사(미국)의 SR8-plus 용출시험기를 사용하였다. 칼슘 함량은 독일 Spectro사의 Genesis ICP-AES를 사용하여 측정하였다. 모든 유리 용기는 24 h 동안 20% (v/v) 질산 용액에 담근 후, 초순수로 6 회 세척한 다음 자연 건조하여 사용하였다.

2.2. 시료의 제조

서울시 가락시장에서 판매하는 굴과 갑오징어를 구입하여 모려와 해표초의 제조에 사용하였다. 굴 껍질에 붙어 있는 기생 생물을 칼과 솔을 이용하여 모두 제거하고 육안으로 보이는 모든 토사와 이물을 완전히 솔로 털어내면서 수돗물로 씻은 다음 햇볕에서 2 주일 동안 건조시켰다. 크기, 색깔 및 모양이 비슷한 것을 골라 굴 껍질을 15 종으로 분류하였다. 분류한 굴 껍질을 스테인레스 용기에 넣고 바삭바삭해질 때까지 가열한 후 실온에서 식혔다. 이것을 유발에 넣고 유봉으로 연마하여 모려 시료 15 개를 제조하였다. 갑오징어 10 마리에서 갑골을 수집하여 수돗물로 씻은 다음 햇볕에서 1 주일 동안 건조하였다. 갑골 10 개를 각각 분쇄하여 해표초 시료 10 개를 제조하였다. 분쇄한 모든 시료는 표준체 No. 50 (aperture 297 µm) 을 통과하고 No. 100 (aperture 149 µm) 위에 잔류한 분획을 수집하여 60 °C에서 24 h 동안 건조한 다음 실험하기 전까지 실리카겔과 함께 폴리에틸렌 용기에 넣고 실온에서 보관하였다.

2.3. 실험방법

2.3.1. 칼슘 함량 시험용 시료의 산분해

굴 껍질의 유기물 함량은 2% 이하이며, 건조한 굴 껍질의 총 무게의 0.5%는 수용성 단백질, 0.3%는 불용성 매질, 그리고 0.5%는 chitin으로 구성되어 있다.^{5,10} 따라서, 모려에 함유되어 있는 유기물을 완전하게 분해시키기 위해 질산-과산화수소 산분해법을 사용하였다. 시료 1.0 g을 정확하게 달아 250 mL 비커에 넣고 질산 5 mL를 첨가한 후 시계접시로 비커를 덮어 하룻밤 동안 방치하고 나서 질산 5 mL를 다시 첨가했다. 열판 위에 비커를 놓고 100 °C에서 약 1 h 동안 가열하고 10 분 동안 냉각시켰다. 여기에 과산화수소 5 mL를 천천히 첨가한 다음 부피가 약 1 mL가 될 때까지 열판 위에서 가열하였다. 실온에서 시료를 식힌 후 100 mL 용량 플라스크에 옮기고 0.1 M 염산으로 비커를 씻어 합치면서 표선을 맞추었다. 이 용액 400 µL를 취해 50 mL 용량플라스크에 넣고 0.1 M 염산으로 표선을 맞추어 희석한 다음 총 칼슘 함량을 측정하였다. 칼슘 함량을 알고 있는 공인된 모려 표준품이 없기 때문에 Sigma사의 탄산칼슘(칼슘 40.1%, complexometric)을 동시에 분석하여 정확도를 비교하였다.

2.3.2. 칼슘 용출시험

용출시험법의 일반적인 실험 절차는 대한약전 용출시험법에 따랐다.⁸ 모려가루 1.0 g을 정확하게 달아 삼각티백에 채워 USP 장치 1 회전검체통(aperture 381 µm)에 넣었다. 0.2 M 염화나트륨 250 mL와 0.2 M 염산 425 mL를 혼합한 다음 초순수를 넣어 표선을 1 L로 맞추어 조제한 대한약전 제 1액을 시험액(pH 1.2)으로 사용하였다. 용출시험 조건은 Table 1과 같으며, 용출 시험액은 시험 직전에 초음파로 1 h 동안 탈기 한 후 대한약전 용출시험법 제 1법 회전검체통법에 따라 시험을 실시하였다. 2 h이 경과한 후 용출기에서 회전검체통을 제거한 다음 시험액을 0.45 µm 여과지로 여과하였다. 여과액 200 µL를 취해 50 mL 용량플라스크에 넣고 0.1 M 염산으로 표선을 맞추는 다음, 용출된 칼슘 함량용 시료로 하였다. 또한 공

Table 1. Dissolution test under gastric conditions

Parameter	Dissolution test conditions
pH	1.2
Incubation temperature	37±0.5 °C
Spindle speed	50 rpm
Incubation time	2 h
Media volume	200 mL

Table 2. ICP-AES operating conditions

Analytic line wavelength	Ca 317.9332 nm
Monitor line wavelength	Ar 430.010 nm
Peristaltic pump rate	1.0 mL/min
Flush time	10 s
Replicates	3
Source equilibration time	15 s
Plasma view	Axial
Viewing height	15 mm
Coolant flow	12.00 L/min
Auxiliary flow	0.5 L/min
Nebulizer flow	0.8 L/min
RF power	1400 W
Ar optic flush	Normal
Peak algorithm	Peak area
Measurement time	24 s

인된 모려 표준품이 없기 때문에 탄산칼슘을 주성분으로 하는 유사생약 해표초에 대한 용출시험도 동시에 실시하여 모려의 용출률과 비교하였다.

2.3.3. ICP-AES 분석 및 검증

0.1 M 염산을 사용하여 칼슘 표준용액(Ca 10.0 mg/L)을 단계적으로 연속 희석하여 검량선용 표준용액 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 mg/L를 조제하였다. 공시료로 0.1 M 염산을 사용하여 0.1~10.0 mg/L 범위에서 검량선을 작성하였다. 시료 없이 동일한 조작으로 실험한 시료를 동시에 조제하여 품질관리 시료로 사용하였다. ICP-AES 분석 조건은 Table 2와 같다.

유럽약전 지침에 따라 아래와 같이 ICP-AES 분석 방법을 검증하였다.¹¹ 선택한 검증 인자는 농도 범위, 직선성, 선택성, 정밀성, 검출한계, 정량한계, 그리고 회수율이었다. 농도 범위와 직선성은 검량선의 상관계수를 통해 평가했다. 0.5 mg/L 표준용액을 6 회 반복 분석하여 얻은 상대표준편차 값으로 일내 정밀성을 구하고, 1.0 mg/L 표준용액을 3 일간 연속 반복 실험하여 계산한 상대표준편차 값으로 일간 정밀성을 얻었다. 검출한계 및 정량한계는 각각 신호 대 잡음 비 표준편차의 3 배 및 10 배로 계산했다. 정확성 평가를 위해 모려 및 해표초 시료에 칼슘 100 µg을 첨가하여 3 회 반복 측정하여 얻은 평균값으로 회수율(%)을 구하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. ICP-AES 분석 방법의 검증

공시료, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 및 10.0 mg/L의

표준용액을 사용하여 검량선을 3 회 작성한 결과, 상관계수는 최소 0.9994 이상으로 양호한 직선성을 나타내었다. 검출한계와 정량한계는 각각 0.03 mg/L, 0.1 mg/L였다. 0.5 mg/L 농도에서 일내 재현성은 1.76% (RSD)였고, 1.0 mg/L 농도에서 일간 반복성은 각각 0.77%, 0.57%, 0.48% (RSD)였다. 모려와 해표초에 첨가한 칼슘의 회수율(백분율) 평균값은 각각 96.2±1.4% 및 102.3±2.7%로, ICP-AES 분석법은 칼슘 정량에 적합했다.

3.2. 총 칼슘 함량

한약에서 유효성분이라 함은 내재된 약리작용에 의하여 그 의약품의 효능 효과를 직접 또는 간접적으로 발현한다고 기대되는 물질 또는 물질군으로서 주성분을 말하고, 지표성분이라 함은 화학적으로 규명된 성분 중에서 품질관리를 목적으로 설정한 성분을 말하므로 반드시 유효성분이 아니어도 무방하다. 모려를 칼슘 보충제로 사용할 때는 칼슘을 유효성분으로, 그리고 한방에서 사용할 때는 칼슘을 지표성분으로 볼 수 있을 것이다.

한편, 한약 및 한약제제에 있어서 지표성분 혹은 유효성분의 함량기준은 정량이 가능한 것에 대하여 설정하며, 함량기준 범위는 원칙적으로 근거자료에 따라 확립한다. 즉, 현재 식품의약품안전청은 대한약전 등의 의약품 공정서에 수재된 지표성분의 규격기준이 없을 경우에는 3로트 이상 제조한 시료에 대하여 1로트 당 3회 이상 시험하여 얻은 실측 시험자료를 근거자료로 사용하고, 지표성분의 함량 기준은 실측통계치(평균)의 90.0% 이상으로 설정하도록 의약품등의 품목허가 신고 심사 규정에 고시하고 있다.¹² 한약에 있어서 지표성분의 함량시험을 설정하면 규격기준의 적합 여부, 제품의 균질성 여부, 그리고 안정성 유지 여부의 판단 기준이 될 수 있으며 최종적으로는 유효성 및 안전성을 확보하는 기준이 될 수 있다.⁸

모려와 해표초에 함유되어 있는 칼슘 함량 분석 결과는 Table 3과 같이, 각각 31.8~39.9%(평균 36.4%), 32.1~32.7%(평균 32.4%)이었으며, 해표초의 칼슘 함량은

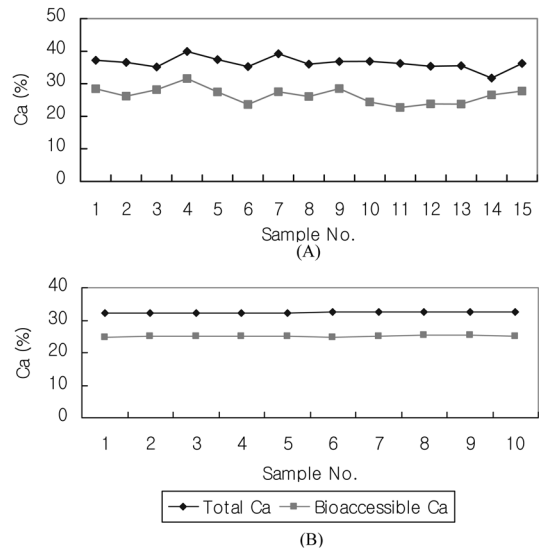


Fig. 1. Dissolution characteristics of oyster shell (A) and Sepiae Os (B).

대한약전의한약(생약)규격집의 규격(칼슘 32.0~34.0%)에 적합했다. 동시에 3회 분석한 Sigma사 탄산칼슘의 함량은 39.4±0.2%였다. Fig. 1에 나타난 대로 모려의 칼슘 함량은 해표초에 비해 시료간 차이가 약간 더 크지만 품질관리에 적용할 수 있는 함량 규격 설정이 가능하다고 판단되었다.

3.3. 칼슘 용출시험

단일 화학 물질이 여러 가지 결정형으로 존재하는 특성은 결정다형(polymorphism)으로 알려져 있다. 약학적 관점에서는 의약품의 결정 구조의 변화가 제품의 용출 특성에 영향을 미칠 뿐 아니라 치료 효과에도 중대한 변화를 미칠 수 있다. 동일한 화학물질인데도 여러 가지 다형에서는 일반적으로 생체 내에서 약물의 흡수 속도와 그 정도를 지배하는 용해도와 용출 특성 등의 여러 가지 물리적 성질이 달라진다. 따라서 제제학적 및 치료학적으로 볼 때 원료의약품 중에 함유된 결정다형의 종류에 따라 약물 작용의 차이를 일으킬 가능성이 있다.¹³ 용출은 약물의 흡수에 있어서 율속 단

Table 3. Dissolution of Ca in oyster shell and Sepiae Os

Animal medicines	Amount of Ca (w/w %)						Dissolution ratio (%) = Bioaccessible Ca/ Total Ca		
	Total Ca			Bioaccessible Ca			min	max	mean±SD
	min	max	mean±SD	min	max	mean±SD			
Oyster shell (n=15)	31.8	39.9	36.4±1.8	22.7	28.5	26.4±2.4	62.7	83.6	72.0±5.5
Sepiae Os (n=10)	32.1	32.7	32.4±0.3	24.7	25.4	25.1±0.2	76.0	78.4	77.7±0.7

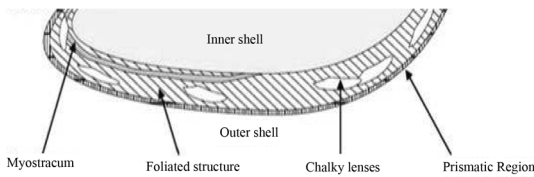


Fig. 2. Structure of oyster shell (modified from J. MacDonald et al.¹⁷).

계이고, 각각의 시료간에는 용출 속도와 용해도에 차이가 있으므로 생체이용률에도 차이가 발생할 수 있다.^{14,15}

굴 껍질은 Fig. 2와 같이 특징적인 4 종류의 구조로 구성되어 있다. 모래의 대부분을 구성하는 탄산칼슘은 주로 결정성 탄산칼슘인 calcite 층이며 일부 부위는 aragonite층으로 구성되어 있다.¹⁶ 즉, foliated structure (folia), chalky lenses (chalk), 및 prismatic region은 calcite 층, 그리고 myostracum 및 ligament는 aragonite층으로 이루어져 있다.¹⁷ 굴 껍질의 60~70%를 구성하는 folia (얇은 판 층)는 두께가 100 μm 이상이며 각 단일 층의 크기는 200~300 nm이다. 그리고 껍질의 folia를 구성하는 탄산 칼슘은 30~50 nm의 구형 입자이다.¹⁸ Calcite 보다 aragonite의 용해도가 더 크므로 결정형간의 흡수율이 다르고 그 결과 약리 활성의 정도도 달라질 가능성이 있다. 또한 모래 칼슘은 탄산염, 인산염, 황산염 등 여러 염 형태로 구성되어 있으므로 칼슘 염의 종류 및 조성에 따라 용해도가 다르므로 체내 흡수율도 달라진다.^{19,20}

칼슘의 1일 권장량은 600 mg이며, 칼슘은 주로 소장의 상부에서 흡수되고 소변과 대변으로 배설된다. 일반적으로 장의 산성 상태는 칼슘염의 용해도를 높이므로 칼슘염의 흡수를 유리하게 한다.³ 칼슘염은 Ca²⁺으로 이온화된 후 소장 점막에서 능동 수송과 수동 확산을 통해 흡수되며, 칼슘의 체내 흡수량은 섭취한 칼슘의 양 및 칼슘염의 용해도에 따라 결정되지만 칼슘이 체내에서 흡수되려면 반드시 이온화되어야 한다.²¹ 따라서, 칼슘염의 종류 및 위액 (산성조건)에서의 칼슘의 용해도에 따라 칼슘의 용출률 또는 생체흡수율이 주로 영향을 받는다고 예상할 수 있다. 또한, 모래에 함유되어 있는 공존 2가 무기이온에 따라 calcite와 aragonite의 용출에 대한 영향이 달라진다. 예를 들면 마그네슘 및 철 이온은 calcite의 용출에 영향을 주지 않지만 aragonite의 용출에 영향을 주지 않으며 구리와 아연 이온은 calcite에 더 강한 영향을 미친다.²²

Fig. 1 및 Table 3과 같이 칼슘 용출량 변동 폭은 모래(22.7~28.5%)가 해표초(24.7~25.4%) 보다 더 컸으

며, 칼슘 용출률 변화도 모래(62.7~83.6%)가 해표초(76.0~78.4%) 보다 더 심했다. 따라서 해표초의 경우 함량 시험만으로 충분한 품질관리가 가능하지만, 모래의 경우 함량 규격과 용출시험에 동시에 적용할 경우 더 효과적인 품질관리가 가능하다고 생각된다. 용출시험은 의약품의 품질 관리 분야에서 품목허가 당시 설정된 용출 허용기준 대로 적합하게 의약품이 제조되었는지 평가하고 모든 주요 제조 공정을 일정하게 관리하기 위해 사용한다.²³ 따라서, 제조 공정에서 발생하는 작은 이탈도 감지할 수 있는 분별력이 높은 시험 방법을 설정해야 하며, 본 연구에 개발한 용출 시험법은 모래의 용출 특성을 평가에 적합하다고 판단된다.

4. 결 론

본 연구에서는 직접 제조한 모래를 대상으로 개발한 ICP-AES법을 이용하여 모래의 총 칼슘 함량을 측정하고, 탄산칼슘 다형 및 칼슘염 조성의 차이에 의해 발생할 수 있는 모래 칼슘의 용출률을 계산하였다. 모래의 총 칼슘 함량 범위는 31.8~39.9%이었고, 용출률 변화는 62.7~83.6%이었다(n=15). 모래와 동일하게 주성분이 탄산칼슘이며 대한약전의한약(생약)규격집에 총 칼슘 함량 기준이 설정되어 있는 해표초의 칼슘 함량과 용출률을 분석한 결과, 해표초의 총 칼슘 함량과 용출률은 각각 32.1~32.7% 및 76.0~78.4%이었다.

한약의 품질관리는 수많은 기지 또는 미지의 화합물의 혼합체이며 이러한 다종의 성분에 의한 다양한 활성을 나타내므로 합성 의약품과는 달리 품질관리기준을 명확하게 정하기가 어려운 측면이 있다. 그러나, 한약 역시 의약품 중 하나로 생체에 작용하여 그 효과를 발휘한다고 하는 점에서 품질의 균일성을 확보하는 것은 매우 중요하다. 따라서 품질관리를 통해 함유 성분의 종류와 양이 가능한 한 일정하게 관리될 수 있도록 한약 자체에 함유된 유효성분 혹은 지표성분의 관리를 통해 일정한 유효성과 안전성을 보증할 수 있어야 한다. 모래를 품질 관리할 때 함량 및 용출 시험은 현재 필수적으로 실시해야 하는 시험항목은 아니지만, 모래의 지표성분으로 칼슘을 설정하여 모래의 규격 표준화 및 품질관리에 유용하게 활용할 수 있을 것으로 기대한다.

참고문헌

1. 생약학연구회, “현대생약학”, 10판, p. 190, 학창사,

- 서울, 2004.
2. 한방약리학교재편찬위원회, “한방약리학”, p. 46, 신일상사, 서울, 2005.
 3. 무기약품제조학분과회, “무기의약품화학”, 2판, p. 246-250, 동명사, 서울, 2007.
 4. 정의영, 김진희, 류동기, 박갑만, 박관하, 박성우, 소재귀, 신윤경, 이정식, 이정열, 이창훈, 최진우, 허영백, “연체동물 이매패류의 생리생태”, p. 23-25, 바이오사이언스, 서울, 2008.
 5. C. S. Choi and Y. W. Kim, *Biomaterials*, **21**(3), 213-222(2000).
 6. J. M. Lee, A. J. Park, S. M. Cho and K. D. Park, *Korean J. Malacol.*, **24**(2), 109-119(2008).
 7. 홍남두, 김남재, “한약의 품질관리”, p. 88-92, 신일상사, 서울, 2004.
 8. 식품의약품안전청 고시 제2007-89호, 대한약전 제 9 개정(2007.12.28.).
 9. 식품의약품안전청 고시 제2007-90호, 대한약전외한약(생약)규격집(2007.12.28.).
 10. S. W. Lee and C. S. Choi, *Micron*, **38**(1), 58-64(2007).
 11. European Pharmacopoeia Commission, European Pharmacopoeia 6.0 <2.2.57> Inductive Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry, 2008.
 12. 식품의약품안전청 고시 제2010-37호, 의약품등의 품목허가 신고 심사 규정(2010.5.31.).
 13. 이범진, 한건, “제형의 원리와 기술”, 2판, p. 130-138, 신일상사, 서울, 2005.
 14. Y. T. Sohn and H. K. Kim, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **28**(2), 81-85(1998).
 15. H. G. Brittain, “Polymorphism in pharmaceutical solids”, Informa healthcare, p. 321-325, New York, 2007.
 16. H. B. Stenzel, *Sci.*, **142**(3589), 232-233(1963).
 17. J. MacDonald, A. Freer and M. Cusack, *Cryst. Growth & Des.*, **10**(3), 1243-1246(2010).
 18. S. W. Lee, Y. M. Kim, R. H. Kim and C. S. Choi, *Micron*, **39**(4), 380-386(2008).
 19. A. Gutjahr, H. Dabringhaus and R. Lacmann, *J. Crystal growth*, **158**(3), 296-309(1996).
 20. J. K. Bass and G. M. Chan, *Nutrition*, **22**(10), 1057-1066(2006).
 21. L. Fishbein, *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **39**(2), 67-80(2004).
 22. A. Gutjahr, H. Dabringhaus and R. Lacmann, *J. Crystal growth*, **158**(3), 310-315(1996).
 23. S. Azarmi, W. Roa and R. Löbenberg, *Int. J. Pharm.*, **328**(1), 12-21(2007).