

## 초임계유체 CO<sub>2</sub> 및 Co-solvent 첨가에 따른 금은화(*Lonicera flos*)의 Flavonoid류 추출특성

서상철 · 조성길 · 홍주헌 · 최용희\*  
경북대학교 식품공학과

### Extraction Characteristics of Flavonoids from *Lonicera flos* by Supercritical Fluid Carbon Dioxide (SF-CO<sub>2</sub>) with Co-solvent

Sang-Chul Suh, Sung-Gill Cho, Joo-Heon Hong and Yong-Hee Choi\*  
Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University

Effects of co-solvent polarity, citric acid, pressure, temperature, run time, and co-solvent ratio on extraction of major flavonoids from *Lonicera Flos* were investigated using supercritical fluid CO<sub>2</sub> (SF-CO<sub>2</sub>). HPLC analysis revealed addition of pure methanol resulted in low extraction yield of major flavonoids, luteolin (Lu), Quercetin (Qu), Apigenin (Ap). Under same condition, as co-solvent polarity increased, yields of major flavonoids increased gradually. At optimum co-solvent extraction condition of 60% aqueous methanol (10%, v/v), yields of Lu, Qu, and Ap were 42.09, 28.18, and 3.49 mg/100 g, respectively. Addition of citric acid to 60% aqueous methanol gave higher, with addition of 1% citric acid resulting in highest yields of 63.2 (Lu), 39.35 (Qu), and 5.79 (Ap) mg/100 g. Optimum extraction conditions of major flavonoids were 200 bar, 50°C, 60 min, and CO<sub>2</sub>-methanol-water (20:1.8:1.2).

**Key words:** *lonicera flos*, flavonoids, supercritical fluid extraction, co-solvent

### 서 론

인동과에 속하는 다년생 식물인 인동덩굴의 꽃, 잎, 줄기는 예로부터 한방에서 약용으로 이용 되어오고 있다. 금은화(*Lonicera Flos*)는 인동덩굴(*Lonicera japonica Thunb*)의 꽃을 말하며, 예로부터 민간에서는 항염증제 및 해독제로 사용되어왔다. 한방에서는 이뇨, 해독, 화농증 및 종양치료에 사용되어왔고, 청혈, 해독에 유효하다고 기록되어있다(1). 주성분으로는 luteolin, inositol, saponin, tannin과, ginnol, sterols 및 glycoside, chlorogenic acid, flavonoid 화합물 및 isochlorogenic acid가 보고되고 있다(2-4). 이 중 대표적 flavonoid류에는 flavone류인 luteolin, apigenin과 flavonol류인 quercetin, flavone이 2개 결합된 형태인 biflavonoid인 ochnaflavone과 luteolin-7-O-rhamnoglucoside 등이 보고된 바 있으며, 이에 관한 연구로 항 염증효과(4-7), 해독효과(8-10), 항암효과(11,12) 등이 보고되고 있다.

이산화탄소는 임계점(Tc=31°C, Pc=74 bar)이 낮아 온화한 조건에서 추출을 수행 할 수 있으며, 용매의 사용량이 적고, 비독성, 추출대상물질과의 반응성 및 부식성이 없어 친환경적이

기 때문에 가장 널리 이용되는 초임계유체이다(13,14). 이러한 초임계 이산화탄소는 커피의 카페인 제거 공정, 유지의 정제 및 추출, 콜레스테롤 제거, 천연색소 및 향미성분 추출, 맥주의 고미성분 제거공정 등 다양한 분야로 연구되고 있다(15).

초임계 이산화탄소에 의한 천연물로부터 생리활성성분의 추출은 많은 연구대상이 되고 있으나, 높은 극성을 가지는 생리활성성분들에 대해 초임계 이산화탄소만으로는 추출이 용이하지 않다. 이러한 원인은 보통 두 가지로 설명될 수 있는데, 첫째는 추출용매로 사용된 CO<sub>2</sub>의 높은 비극성 성질로 인하여 극성의 성질을 갖는 용질에 대한 용해력이 제한을 받기 때문이며, 둘째는 용질자체가 시료의 matrix에 강하게 결합되어있기 때문이다(16). 따라서 이와 같은 제한성을 극복하기 위해 alcohols와 같은 극성의 보조용매(co-solvent)를 첨가하여 이산화탄소의 극성과 용해성을 증대시킴으로써 추출효율을 증가시키기도 한다(17,18). 이러한 예로는 methanol을 co-solvent로 첨가하여 phenol 화합물추출(19), methanol과 물을 co-solvent로 이용하여 alkaloid류 추출(20), ethanol을 co-solvent로 하여 대두로부터 daidzein(21)과 녹차에서 카테킨화합물추출(22), ethyl acetate와 methanol을 이용하여 주목 잎에서 taxol과 baccatin추출(23) 등이 있다. 종래의 천연물로부터 flavonoid류를 추출하는 방법으로는 다량의 유기용매를 사용하여 장시간 환류 냉각하는 방식이 이용되어져 왔다. 그러나 근래 들어 유기용매추출법의 긴 추출시간으로 인한 경제성 및 안전성에 관한 관심증대로 인해 용매독성과 잔류성 문제가 대두됨에 따라 여러 가지 새로운 추출법으

\*Corresponding author: Yong-Hee Choi, Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Sankyuk-Dong, Taegu, 702-701, Korea  
Tel: 82-53-950-5777  
Fax: 82-53-950-6772  
E-mail: yhechoi@knu.ac.kr

로 대체되고 있으며 이러한 면에서 친환경적으로 알려져 있는 초임계유체추출공정은 종래의 추출법을 대체하는 우수한 추출 공정 중의 하나이다(24).

따라서 본 연구는 초임계유체인 CO<sub>2</sub>만으로는 추출에 한계가 있는 금은화의 주요 flavonoid인 luteolin, quercetin, apigenin을 추출하기 위하여 co-solvent의 성질을 변형시켜 첨가하였을 때 초임계상에서의 영향과 추출 조건에 따른 추출특성 및 flavonoid류의 수율증대에 영향을 미치는 다양한 인자를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

금은화(*Lonicera Flos*)는 강원도 인제군에서 생산된 건물을 구입하여 분쇄한 후 표준망체 No. 40(aperture 425 μm)을 통과한 분말시료를 상온에 보관하면서 추출용 시료로 사용하였다. 일반성분은 AOAC법(25)에 준하여 분석하였다.

### 초임계유체 추출장치

본 연구에 사용한 초임계유체 추출장치 모식도를 Fig. 1에 나타내었다. 즉, CO<sub>2</sub>를 가압하여 임계압력 이상으로 만들어주는 cooling head가 장착된 HPLC pump(PU-980, Jasco Co., Japan)와 co-solvent를 공급해주는 또 다른 HPLC pump(PU-980, Jasco Co., Japan), 추출 시료가 충전되고 배출부위에 미세공의 filter가 장착되는 extraction vessel, extraction vessel을 장착할 수 있는 동시에 일정조건의 온도를 유지할 수 있는 oven(CO-965 column oven, Jasco Co., Japen) 및 수집용기에 effluent가 용이하게 포집될 수 있도록 공정압력을 일정하게 유지시켜주는 전자식 back-pressure regulator로 구성되어있다.

### 초임계유체 추출공정

각 공정조건에 따른 초임계유체의 추출공정은 일정한 크기로 건조 분말화된 시료 3g과 vessel의 공간을 채워 줌으로써 추출 조건을 더욱 빠르게 이뤄지게 해주기 위해 glass bead(1:1)를 volume이 10 mL인 extraction vessel에 번갈아 충전하고 vessel을 driven oven에 장착한 후 온도와 압력이 추출조건에 이르면 vessel 속으로 초임계유체 CO<sub>2</sub>(SCF-CO<sub>2</sub>)와 co-solvent를 vessel에 연속적으로 통과시켜주면서 45분 동안 추출하였다. 이 때 CO<sub>2</sub> flow는 2 mL/min이었으며, co-solvent flow는 0.2 mL/min이었다.

### Co-solvent 조건 선정

**극성도 변화에 따른 영향:** 초임계유체 추출 시 가장 큰 영향을 미치리라 예상되는 인자인 co-solvent를 먼저 선정하기 위하여 Lin 등(26)의 보고를 참고하여 초임계 유체 추출압력 200 bar, 추출온도 50°C에서 순수 methanol과 80%, 70%, 60%(v/v)로 조절된 aqueous methanol을 CO<sub>2</sub> 대비 10%(0.2 mL/min)로 첨가한 다음 co-solvent의 극성도 변화에 따른 추출특성을 알아 보고 가장 우수한 조건을 선정하였다.

**Citric acid 첨가량에 따른 영향:** 일반적으로 flavonoid류는 산에서 안정하며, 알칼리에서 불안정하여 황색 화합물을 형성하게 된다. 따라서 flavonoids 분석 시 산 가수분해 과정을 통하여 그 함량을 높여주기도 한다. 이러한 원리를 이용하여 본 연구에서는 200 bar, 50°C의 추출조건에서 최적 극성도로 선정된 co-solvent에 citric acid 비율을 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0%(w/v)로 달리하여 첨가하였을 때의 추출특성을 알아보고 이 중 가장 우

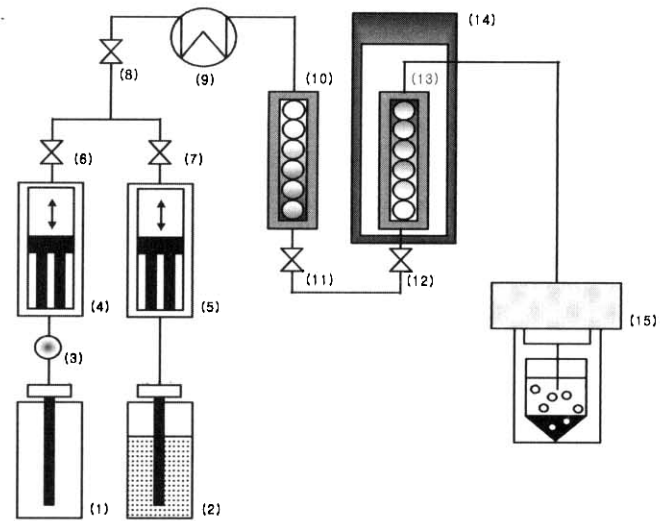


Fig. 1. Schematic flow diagram of supercritical fluid extraction (SFE) system.

(1): liquid carbon dioxide cylinder, (2): co-solvent, (3): cooling circulator, (4): CO<sub>2</sub> pump with cooling jacket (5): co-solvent pump, (6), (7), (8): needle valve, (9): pre-heating coil, (10): solvent mixer, (11), (12): stop valve, (13): extraction vessel, (14): air-driven oven, (15): back-pressure regulator.

수한 조건을 선정하였다.

### 초임계유체 추출 조건에 따른 특성

초임계 상태에서 co-solvent가 첨가될 때 공정변수에 따른 금은화 flavonoids의 추출특성을 고찰하고 최적 추출조건을 설정하고자 선정된 co-solvent를 CO<sub>2</sub> 대비 10%(0.2 mL/min)로 첨가하여 추출 압력을 100, 150, 200, 250 bar로, 온도를 40, 50, 60, 70°C로 달리하였을 때 추출특성을 고찰하고 가장 효율적인 압력 및 온도조건을 선정하였다. 또한, 최적 추출 압력 및 온도조건에서 추출 시간에 따른 추출특성을 알아보기 위하여 추출시간을 30, 45, 60, 120분으로 달리하여 추출하고 그 특성을 확인하였다. 주 용매에 대한 co-solvent의 첨가율이 미치는 영향을 알아보기 위하여 CO<sub>2</sub> 대비 co-solvent 첨가량을 10(0.2 mL/min), 15(0.3 mL/min), 20(0.4 mL/min), 25(0.5 mL/min), 30(0.6 mL/min)%로 달리하여 추출한 후 상호 비교하여 최적 첨가 비율을 선정하였다. 초임계유체 추출 시 추출물에 영향을 주는 인자에 대한 연구를 진행하기 위해 영향인자를 제외한 모든 조건은 Table 1과 같이 동일하게 고정하였다.

### 금은화의 주요 flavonoids(Luteolin, Quercetin, Apigenin) 분석

금은화 추출물에 함유된 flavonoid류는 filter paper(whatman No. 5A)로 1차 여과한 후, 잔사에 추출용매(60% methanol)를 가하여 3회 반복 여과하였다. 이 여액을 45°C 수욕상에서 감압 농축하여 건조시킨 후 10% methanol에 용해시킨 다음 n-hexane으로 지용성분을 분획하여 제거하고 ethyl acetate를 동량 가하여 3회 반복 추출하여 상층을 농축 건조하였다. 건조물을 HPLC용 methanol에 용해시켜 이 중 1 mL을 0.45 μm membrane filter (Minisart RC4, Srtorius AG Co., Germany)에 통과시킨 후 10 μL를 주입하여 분석하였다. 주요 flavonoid류의 HPLC 분석 조건은 Table 2와 같다. 표준품인 luteolin, quercetin, apigenin (Sigma-Aldrich Co., USA)은 각각 HPLC용 methanol에 용해시켜 농도별로 표준검량선을 작성한 후 정량 분석하였다.

**Table 1. Operation conditions of supercritical fluid extraction**

Specification	Conditions
CO <sub>2</sub> Flow	2.0 mL/min
Run Time	45 min
Back pressure regulator temperature	60°C
Extraction vessel volume	10 mL

**Table 2. HPLC conditions for assay major flavonoids from *Lonicera flos***

Specification	Operating condition
Instrument	HPLC; 600E Model. (Waters. Co. USA)
Column	Xtera™RP18 5 μm C <sub>18</sub> φ4.6×250 mm (Waters. Co. USA)
Detector	Diode array spectrophotometer (Waters. Co. USA)
Absorbance	UV <sub>254nm</sub>
Flow rate	0.8 mL/min
Mobile phase	Acetonitrile: 25 mM KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (40 : 60)
Injection volume	10 μL
Column Temperature	37°C

## 결과 및 고찰

### Co-solvents의 극성도에 따른 영향

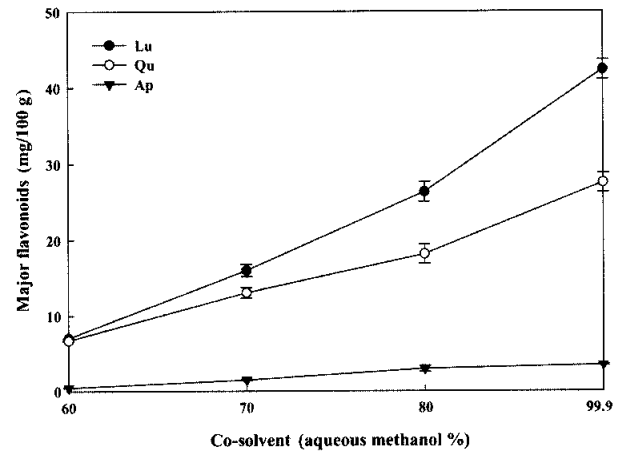
본 연구에 사용한 금은화의 일반성분 분석결과를 Table 3과 같으며 co-solvent의 극성도에 따른 주요 flavonoid류인 Lu(luteolin), Qu(quercetin), Ap(apigenin) 함량 변화는 Fig. 2와 같다. 순수 methanol을 첨가한 경우 Lu, Qu, Ap 함량은 각각 7.13, 6.71, 0.44 mg/100 g이었던 것에 비해 80, 70, 60% aqueous methanol을 첨가한 조건에서는 각각 Lu가 16.05, 26.31, 42.29 mg/100 g, Qu는 13.05, 18.14, 27.51 mg/100 g, Ap는 1.44, 2.93, 3.45 mg/100 g로 co-solvent의 극성도 증가에 비례하여 현저한 차이를 보이며 증가하는 경향을 나타내었다. 이와 같은 결과는 순수한 methanol을 사용하였을 때 보다 70% aqueous methanol을 첨가하였을 때 flavonoids의 수율이 2배 이상 증가하였다는 Lin (26)등의 결과와 유사하였으며, co-solvent에 물을 첨가하였을 경우 초임계유체의 극성도와 시료에 대한 용해도의 증가를 가져오게 되어 추출수율을 증가시킨 것(27)으로 사료된다. 위의 결과를 통해 초임계유체추출공정에서 목적성분의 특성상 co-solvent가 첨가될 때 초임계 상에서의 영향이 매우 크다는 것을 알 수 있었으며 가수 용을 높여 극성도가 증가 될수록 더욱 용이하게 flavonoids를 추출할 수 있다는 것을 보여준다. 따라서 추출 조건 중 수율이 가장 높은 60% aqueous methanol을 추출공정에 이용할 가장 적합한 co-solvent로 선정하였다.

### 산(citric acid) 첨가량에 따른 영향

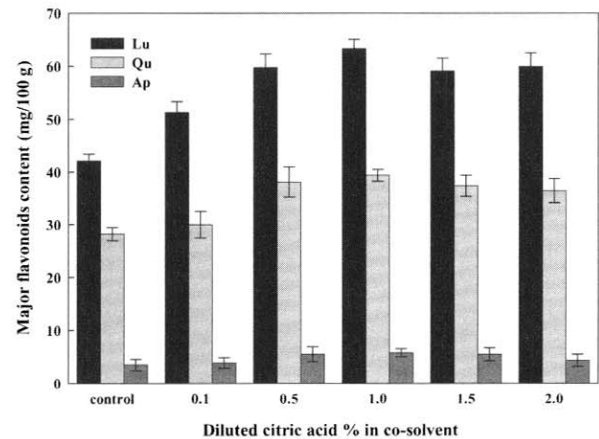
Co-solvent에 citric acid를 0.1, 0.5, 1, 1.5, 2%(w/v)씩 첨가하여 산 첨가에 따른 추출특성을 고찰하였으며 그 결과는 Fig. 3과 같다. 주요 flavonoids 분석결과 0.1%-1.0%까지는 citric acid의 첨가량이 증가할수록 수율이 증가하는 경향을 보이다가 1.5%의 농도 이상에서는 소폭 감소하는 경향을 보였다. 무 첨가구와 1% 첨가구의 추출수율을 비교하여 본 결과 무 첨가구에 비해 Lu가 14.64 mg/100 g, Qu가 10.17 mg/100 g, Ap가

**Table 3. Proximate composition of *Lonicera Flos* (Unit: %)**

Composition	Content	Composition	Content
Moisture	6.87%	Crude ash	6.46%
Crude protein	13.13%	Crude fiber	4.56%
Crude lipid	5.56%	N-free ext	62.96%

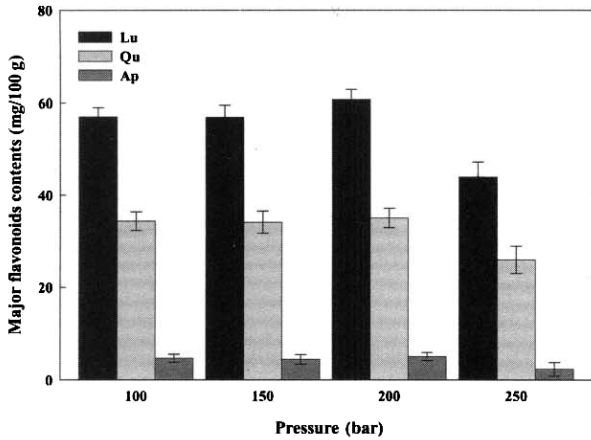
**Fig. 2. Adding concentration effect methanol as co-solvent for yield of major flavonoid from *Lonicera Flos* in SFE.**

Operating conditions were 200 bar of pressure, 50°C of temperature, 2 mL/min of flow rate, 10% of co-solvent content in CO<sub>2</sub>, and 45 min of operating time. Lu: luteolin, Qu: quercetin, Ap: apigenin. All values are Mean ± SD, n = 3.

**Fig. 3. Changes in flavonoids contents of *Lonicera Flos* at various concentrations of citric acid in co-solvent (60% aqueous methanol) for yield of major flavonoid.**

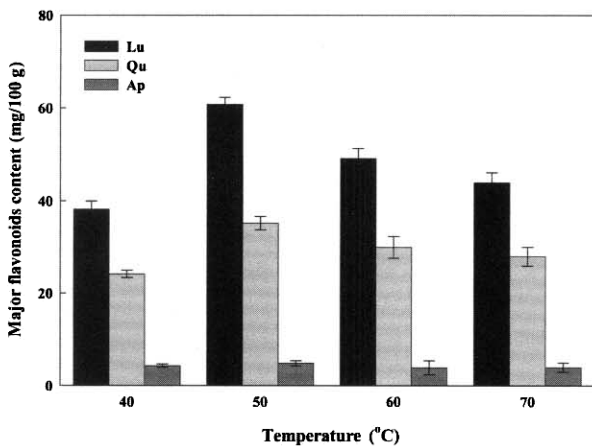
Operating conditions were 200 bar of pressure, 50°C of temperature, 2 mL/min of flow rate, 10% of co-solvent content in CO<sub>2</sub>, and 45 min of operating time. Lu: luteolin, Qu: quercetin, Ap: apigenin. All values are Mean ± SD, n = 3.

2.4 mg/100 g의 유의적인 증가율을 보였다. 또한 모든 처리구에서 무 첨가구에 비해 추출 수율이 향상되는 결과를 보였다. 일반적으로 pH가 낮을수록 안정하여 추출효율이 우수하다고 알려져 있지만(28), 추출 용매에 강산인 0.1% TFA(trifluoroacetic acid)를 첨가했음에도 불구하고 약산인 0.1% citric acid를 동물로 첨가한 경우보다 오히려 그 수율이 낮게 나타난 Yoo 등(29)의 결과와 유사하였다. 이와 같은 결과는 flavonoids의 추출에 특정 pH가 범위가 존재하기 때문이라 사료된다. 이러한 결과



**Fig. 4. Changes in flavonoids contents of *Lonicera Flos* at different extraction pressures in SFE.**

Operating conditions were 50°C for temperature, 2 mL/min of flow rate, 10% of co-solvent content in CO<sub>2</sub>, and 45 min of operating time. Lu: luteolin, Qu: quercetin, Ap: apigenin. All values are Mean ± SD, n = 3.



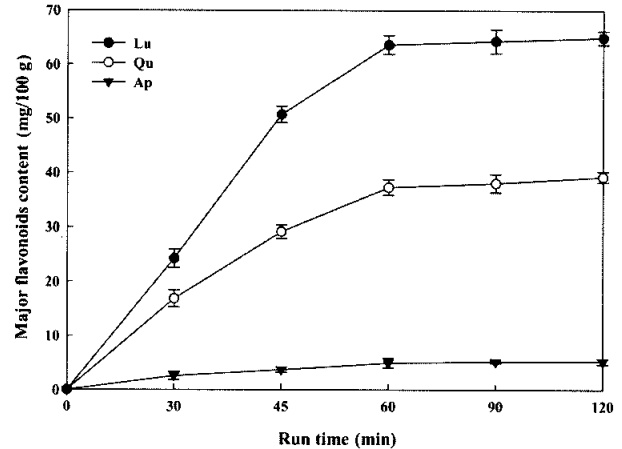
**Fig. 5. Changes in flavonoids contents of *Lonicera Flos* at different extraction temperatures in SFE.**

Operating conditions were 200 bar of pressure, 10% of co-solvent content in CO<sub>2</sub>, and 45 min of operating time. Lu; luteolin, Qu; quercetin, Ap; apigenin. All values are Mean ± SD, n = 3.

를 통해 주요 flavonoid 추출에 사용할 co-solvent 대비 최적 citric acid 첨가비율은 1%로 선정하였다.

**초임계유체 추출조건에 따른 특성**

**압력변화에 따른 추출 특성:** 초임계유체상에서 예비실험에서 선정된 1% citric acid가 첨가된 60% aqueous methanol이 co-solvent로 첨가될 때 초임계상에서 공정압력이 미치는 영향을 고찰하고 최적 공정압력조건을 찾아내기 위하여 추출 온도 및 시간을 각각 50°C, 45분으로 고정된 후 공정압력을 100, 150, 200, 250 bar로 변화시켜 실험하였으며 그 결과는 Fig. 4와 같이 나타내었다. 압력증가에 따른 추출물의 주요 flavonoid 함량 변화는 100과 150 bar에서는 유의적인 차이가 없었으며 200 bar의 조건에서 최대값을 보여 Lu, Qu, Ap값이 각각 60.73, 35.06, 5.0 mg/100 g로 가장 높게 나타났고 250 bar에서는 수율이 현저하게 떨어지는 경향을 보였다. 이는 압력증가와 추출수율의 관계가 비례한다는 Kim(30), Luque de Cadro(31)보고와는 다소



**Fig. 6. Changes in flavonoids contents of *Lonicera Flos* at different run times in SFE.**

Operating conditions were 200 bar of pressure, 50°C of temperature, 2 mL/min of flow rate, and 10% of co-solvent content in CO<sub>2</sub>. Lu: luteolin, Qu: quercetin, Ap: apigenin. All values are Mean ± SD, n = 3.

상이하였으나, 식물체에서 유용성분을 추출하는 데 있어서 그 최적 추출압력 범위가 존재한다고 보고한 Kim 등(32)의 연구 결과와 유사하였으며 이는 압력이 상승함에 따라 높은 비극성을 띤 초임계 이산화탄소의 용해도가 높아져 flavonoid류의 추출을 방해했기 때문이라 사료된다.

**온도변화에 따른 추출특성:** 추출온도에 따른 추출특성을 확인하기 위하여 선정된 co-solvent를 이용하여 추출 압력조건에서 가장 효율적이었던 200 bar에서 추출 시간을 45분으로 고정하고 추출 온도를 40, 50, 60, 70°C로 변화시키면서 추출하였으며 그 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 수율이 가장 높은 50°C의 경우 40°C 조건과 비교하여 Lu가 60.72 mg/100 g로 22.57 mg/100 g 증가하였으며, Qu는 35.16 mg/100 g로 11.01 mg/100 g 증가하였고, Ap는 4.81 mg/100 g로 0.54 mg/100 g가 증가된 결과를 보였다. 추출 온도에 따른 추출 특성은 온도가 40°C에서 50°C으로 증가함에 따라 수율이 유의적으로 증가하는 경향 보이다가 60°C 이상에서는 온도가 증가 할수록 감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 주목나무로부터 극성이 매우 높은 taxol추출 시 온도증가에 따라 적정 온도에서 최고 추출 수율을 보이다가 그 이상의 온도에서는 오히려 수율이 감소하였다는 Suh 등(33)의 보고와 유사하였으며 이는 목적성분 추출에 필요한 적정 온도범위가 존재하기 때문이라 사료된다.

**추출시간에 따른 추출특성:** 추출시간에 따른 추출특성을 고찰하기 위하여 예비실험에서 선정된 co-solvent를 첨가하여 최적 압력 및 온도조건인 200 bar, 50°C에서 추출시간을 30, 45, 60, 90, 120분으로 변화시켜 추출하였고 그 결과는 Fig. 6과 같다. 비교적 단시간 내인 30분과 60분을 비교하였을 때 Lu, Qu, Ap 함량이 30분이 24.22, 16.81, 2.58 mg/100 g이었으며 60분의 경우 Lu, Qu, Ap의 함량이 각각 38.53, 20.47, 2.69 mg/100 g이 더 증가된 결과를 보였으며 60분 이상에서는 거의 일정한 것으로 나타났다. 즉, 추출초반 30분까지는 완만하게 추출되어지다가 이를 기점으로 60분까지 급격한 증가량을 보여 추출 시간의 증가에 따라 flavonoid 함량이 비례적으로 증가하는 경향을 보이다가 추출시간 90분부터는 추출수율이 거의 일정한 값에 도달하는 현상(21)을 보였다.

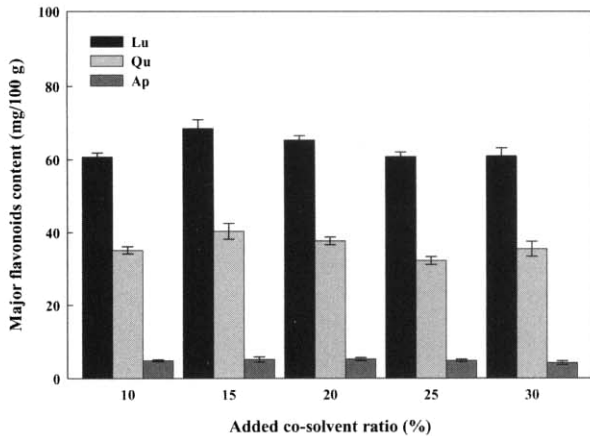


Fig. 7. Changes in flavonoids contents of *Lonicera Flos* at various co-solvent ratio in SFE.

Operating conditions were 200 bar of pressure, 50°C of temperature, and 2 mL/min of flow rate. Lu: luteolin, Qu: quercetin, Ap: apigenin. All values are Mean  $\pm$  SD, n = 3.

CO<sub>2</sub> 대비 보조용매 첨가량에 따른 추출특성: CO<sub>2</sub> 대비 co-solvent 첨가량에 따른 추출특성을 알아보기 위해 최적 추출조건으로 결정한 200 bar, 50°C, 45분에서 co-solvent 첨가비율을 10, 15, 20, 25, 30%로 증가시켜 추출 하였을 때 그 결과는 Fig. 7과 같다. 추출물의 flavonoid류 함량은 10% 첨가구와 비교할 때 15% 첨가구가 각각 Lu는 7.78 mg/100 g Qu는 5.21 mg/100 g, Ap는 0.33 mg/100 g 가량 더 증가된 결과를 보였다. 반면 25% 이상 첨가구의 경우 소폭 감소하는 결과를 가져왔는데, 이는 높아진 CO<sub>2</sub>의 극성화가 오히려 목적성분의 용해도에 부적합한 영향을 나타내었기 때문이라 판단된다(34).

## 요 약

순수 methanol을 co-solvent로 첨가하였을 때 소량의 수율을 얻을 수 있었던 반면 methanol에 물을 첨가하여 수용액을 조제한 후 각각 첨가하였을 때 co-solvent의 극성도 증가에 비례하여 수율이 현저하게 증가하였다. 60% methanol을 첨가하였을 때 수율이 가장 높았으며 순수 methanol 첨가구와 비교하여 luteolin이 5.9배, quercetin이 4.1배, apigenin이 7.8배 가량 증가하였다. Co-solvent에 citric acid를 농도별로 첨가한 결과 첨가량 1%까지는 추출수율이 농도 비례적으로 증가하는 경향을 나타내어 대조구에 비해 대략 luteolin이 14.64 mg/100 g, quercetin이 10.17 mg/100 g, apigenin이 2.4 mg/100 g의 유의적인 증가율을 보였으나 그 이상의 농도에서는 소량 감소하는 경향을 보였다. 한편 산을 첨가한 모든 조건에서 대조구보다 높은 수율을 얻을 수 있었다. 추출수율이 가장 우수하였던 citric acid가 1% 첨가된 60% aqueous methanol을 co-solvent로 초임계상태에 첨가하였을 때 공정압력이 100 bar에서 200 bar로 증가함에 따라 추출수율이 비례적으로 증가하였으나 250 bar 이상에서는 감소하는 경향을 나타내었다. 온도에 따라서는 40°C에서 50°C까지는 증가하는 경향을 보이다 이상의 온도에서는 오히려 감소하였다. 추출 시간의 증가와 더불어 추출 수율은 유의적으로 증가하다가 60분일 때 최대값을 보였으며 90분 이상의 추출시간에서는 추출수율이 거의 일정해졌다. CO<sub>2</sub> 대비 co-solvent를 15(0.3 mL/min)% 첨가하였을 때 최대 추출수율을 보였으며 25% 이상의 첨가구에서는 첨가량은 증가하였으나 수

율은 감소하는 경향을 보였다.

## 문 헌

1. Lee YS. The Korean herbal pharmacopoeia. Korea Food and Drug Administration. Seoul, Korea. p. 304 (2002)
2. Han DS, Beak KH, Kim YO, Choi, KE, Kwag JS, Beak SH. Development of anticancer agents from Korean medicinal plants. part 6. cytotoxic activity of the ethyl acetate soluble fraction of *Lonicera Flos* against human oral epitheloid carcinoma cells. Korean J. Pharmacogn. 29: 22-27 (1998)
3. Son KH, Park JO, Chung KC, Chang HW, Kim HP, Kim JS, and Kang SS. Flavonoids from aerial parts of *Lonicera Japonica*. Arch. Pharmacol. Res. 15: 365 (1992)
4. Lee SJ, Shin EJ, Son, KH, Chang HW, Kang SS, Kim HP. Anti-inflammatory. activity of the major constituents of *Lonicera japonica*. Arch. Pharm. Res. 18: 133-135 (1995)
5. Chung HW, Beak SH, Chung KW, Son KH, Kim HP, Kang SS. Inactivation of phospholipase A2 by naturally occurring biflavonoid, ochnaflavone. Biochem. Biophys. Res. Commun. 205: 843-849 (1994)
6. Moon TC, Park JO, Chung KW, Son KH, Kim HP, Kang SS, Chang HW. Anti-inflammatory activity of the flavonoid components of *Lonicera japonica*. Yakhak Hoeji 43: 117-123 (1999)
7. Han JT, Yoo SW, Kim JY, Kang JA, Beak OH, Lim OS, Kim JP, Kim DK, Beak YH, Lee YM. Anti-inflammatory effect of *Lonicera japonica* in proteinase-activated receptor 2-mediated paw edema. Clin. Chem. Acta. 330: 165-171 (2003)
8. Kim YO, Lee JS, Park KO, Han DS, Yoo IL, Kwak CS, Beak SH. Development of antitoxic agents from Korean medicinal plants. Korean J. Toxicol. 12: 41-46 (1996)
9. Choi BK. Scavenging effects of *Lonicera japonica* on Paraquat induced toxicity. Korean J. Environ. Toxicol. 15: 7-12 (2000)
10. Park SK, Choi BG, Lee EB. Effect of *Lonicera japonica* flower on CCl4-induced hepatotoxicity. J. Appl. Pharmacol. 10: 32-36 (2002)
11. Kim JW, Choi HK, Son YH, Lim JK, Lee HW, Nam KS. Chemopreventive potential of *Lonicera Flos* aqua-acupuncture solution. Korean J. Pharmacogn. 30: 261-268 (1999)
12. Jung DY, Lee HY, Ha HK, Jung DY, Kang SS, Kim JS. Induction of growth hormone release by the extracts of *Lonicera japonica* Thunb. Korean J. Pharmacogn. 34: 256-262 (2003)
13. Rizvi SSH, Benado AL, Zollweg JA, Daniels JA. Supercritical fluid extraction: fundamental principles and modeling methods. Food Technol. 40: 55-56 (1986)
14. Chester TL, Pinhston JD, Rynie DE. Supercritical fluid chromatography and extraction. Anal. Chem. 68: 478-514 (1996)
15. Palmer MV, Ting SST. Applications for supercritical fluid technology in food processing. Food Chem. 52: 345-352 (1995)
16. Rizivi SSH. Supercritical Fluid Processing of Food and Biomaterials. Trend Food Sci. Technol. 5: 406 (1994)
17. Lang Q, Qai CM. Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies-a practical review. Talanta. 53: 771-782 (2001)
18. William KM, Dulcie AM, Mark WR. Analytical supercritical fluid extraction of natural products. Phytochem. Anal. 7: 1-15 (1996)
19. Floch FL, Tena ML, Rios A, Valcarcel M. Supercritical fluid extraction of phenol compounds from olive leaves. Talanta. 46: 1123-1130 (1998)
20. Choi YH, Kim J, Kim YC, Yoo KP. Selectivity extraction of ephedrine from *Scutellariae Radix* using mixture of CO<sub>2</sub>, diethylamine and methanol. J. Chromatogr. A. 50: 187-193 (1999)
21. Boo SJ, Byun SY. Ethanol modified supercritical CO<sub>2</sub> extraction of daidzein from soybean. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 16: 95-98 (2001)
22. Ra YJ, Lee YW, Kim JD, Row KH. Supercritical fluid extraction of catechin compounds from green tea. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 16: 327-331 (2001)
23. Shin HW, Chun MK, Lee H. Extraction of taxol and baccatin III from needles of *Taxus Cuspidata* by using supercritical carbon

- dioxide with co-solvents. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 11: 100-106 (1996)
24. Stahl E, Quirin KW, Gerad D. Dens gases for Extraction and Refining. Springer-Verlag, New-York, USA. pp. 176-188 (1988)
25. AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA (1990)
26. Lin MC, Tsai MJ, Wen KC. Supercritical fluid extraction of flavonoids from Scutellariae Radix. J. Chromatogr. A. 830: 387-395(1999)
27. Taylor LT. Supercritical fluid extraction. John Wiley & Sons, Inc. New York, USA. pp. 8-17 (1996)
28. Jackman RL, Yada RY, Tung MA. Separation and chemical properties of antocyanins used for their qualitative and quantitative analysis. J. Food Biochem. 11: 279-308 (1987)
29. Yoo MA, Chung HK, Kang MH. Optimal extract methods of antioxidant compounds from coat of grape dreg. Korean J. Food Sci. Technol. 36: 134-140 (2004)
30. Kim JY, Yoo LP. Effects of basic modifiers on SFE efficiencies of ephedrine derivatives from plant matrix. Korean J. Chem. Eng. 17: 672-677 (2000)
31. Luque de Cadro MD, Tena MT. Strategies for supercritical fluid extraction of polar and ionic compounds. Trac-Trend Anal. Chem. 15: 32-37 (1996)
32. Kim HS, Kim BY, Lee SY, Kim WS, Lee EK, Ryu JH, Lim GB. Extraction of glycyrrhizic acid from licorice using supercritical carbon dioxide/aqueous ethanol. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 18: 347-351 (2003)
33. Suh JH, Cho BK, Byun SY, Kim KH. Studies on the supercritical fluid extraction of taxol from yew tree. Korean. J. Biotechnol. Bioeng. 11: 71-76 (1996)
34. Yoo BS, Lee HJ, Ko SR, Yang DC, Byun SY. Studies on the extraction of polyacethylene from korean ginseng using supercritical carbon dioxide. Korean. J. Biotechnol. Bioeng. 18: 347-351(2003)

---

(2004년 12월 9일 접수; 2005년 3월 15일 채택)