

초임계 이산화탄소를 이용한 감초 종의 glabridin 추출

¹조윤경 · ¹김현석 · ¹김주원 · ^{1,2}이상윤 · ²김우식 · ¹유종훈 · † ¹임교빈
¹수원대학교 화공생명공학과, ²연세대학교 화학공학과
(접수 : 2004. 11. 23., 게재승인 : 2004. 12. 20.)

Extraction of Glabridin from Licorice Using Supercritical Carbon Dioxide

Yun-Kyoung Cho¹, Hyun-Seok Kim¹, Ju-Won Kim¹, Sang-Yun Lee^{1,2}, Woo-Sik Kim²,
Jong-Hoon Ryu¹, and Gio-Bin Lim^{1†}

¹Department of Chemical and Biochemical Engineering, The University of Suwon, Hwasung, Kyunggi 445-743, Korea

²Department of Chemical Engineering, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

(Received : 2004. 11. 23., Accepted : 2004. 12. 20.)

The purpose of this study is to investigate the feasibility of a cosolvent-modified supercritical CO₂ (scCO₂) extraction technique for the production of licorice extracts with high levels of glabridin. The effects of various parameters such as the type and amount of modifiers, extraction temperature (40~80°C) and pressure (10~50.0 MPa) on the extraction efficiency were examined at a fixed flow rate of 1 mL/min. The organic solvent extraction with pure methanol was also conducted for a quantitative comparison with the scCO₂ extraction. The recovery of glabridin from licorice was found to be extremely small for pure scCO₂. However, the addition of modifiers such as ethanol and acetone to scCO₂ resulted in a significant improvement in the recovery of glabridin. The recovery of glabridin was observed to increase with pressure at a constant temperature. Furthermore, the purity of the glabridin obtained from the scCO₂ extraction was higher compared with the organic solvent extraction.

Key Words : Supercritical carbon dioxide, modifier, glabridin, licorice

서론

감초 (*Glycyrrhiza glabra*)는 콩과 (Leguminosae family) 감초속에 속하는 다년초로서, 일조량이 충분하고 강우량이 적은 건조 또는 반건조한 지역에서 많이 재배되고 있다. 일반적으로 감초 (licorice 또는 liquorice)는 *Glycyrrhiza* 종의 뿌리와 주근 (stolon) 부분을 의미하며, 수천년 전부터 재배되어 이용된 것으로 알려져 있다(1). 감초에는 주요 유효성분으로 단맛을 내는 glycyrrhizin, glycyrrhizin의 aglycone, glycyrrhetic acid 등이 존재할 뿐만 아니라 다양한 종류의 flavonoid가 포함되어 있다(2). 특히 flavonoid 중 가장 많은 양을 차지하는 glabridin(Fig. 1)은 체내에서 지질단백질 (low-density lipoprotein)의 산화 억제, 염증 억제, 노화 방지 등에 우수한 효능을 보일 뿐만

아니라, tyrosinase의 50% 억제 수준에서 하이드로퀴논의 약 16배 효능을 나타내어 피부 미백에도 탁월한 효과를 보여 기능성화장품의 중요한 원료로 이용되고 있다(3-5). 감초의 뿌리는 크게 cork layer, woody part, decayed part로 분류되며, glabridin의 경우 cork layer와 decayed part에 대부분이 존재하는 것으로 알려져 있다(6).

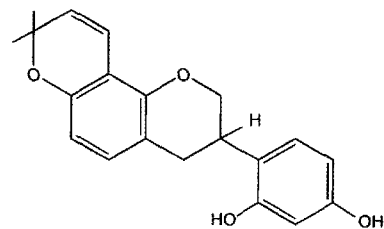


Figure 1. The chemical structure of glabridin.

† Corresponding Author : Department of Chemical and Biochemical Engineering, The University of Suwon, Hwasung, Kyunggi 445-743, Korea

Tel : +82-31-220-2243, Fax : +82-31-220-2528

E-mail : gblim@suwon.ac.kr

현재 식물 내 유효성분을 추출하기 위한 방법으로는 유기용매추출법이 가장 널리 사용되고 있으나, 이 방법의 경우 많은 과량의 에너지 소비, 다량의 폐유기용매 및 폐수의 배출로

인한 환경오염, 열민감성 성분의 효능 저하, 추출물 내 유기용매의 잔존 등 많은 문제점을 가지고 있다. 따라서 이와 같은 여러 문제점을 해결할 수 있는 지속가능한 환경친화적 추출기술로서 현재 선진국을 중심으로 초임계 유체 (supercritical fluid) 공정을 이용한 다양한 추출기술의 개발에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

초임계 유체란 어떤 물질의 임계점 (critical point) 이상의 온도와 압력 조건에서 존재하는 유체로서 액체와 기체의 중간 특성을 보이며, 추출공정에 매우 적합한 열역학적 특성 (높은 용해도, 선택도, 압축성, 감압에 따른 자발적 분리성)과 이동 특성 (낮은 표면장력과 점도, 높은 확산계수)을 갖고 있어서 추출대상 물질의 복잡한 구조 속으로 빠르게 침투하여 원하는 성분을 효율적으로 추출해 낼 수 있다. 특히 초임계 이산화탄소의 경우 비교적 낮은 임계압력 (73.8 bar)과 상온 근처의 임계온도 (31°C)를 지니고 있어 온화한 조건에서 추출을 수행할 수 있으며, 독성, 가연성, 추출대상물질과의 반응성 및 부식성이 없고, 고순도의 이산화탄소를 비교적 저렴한 가격으로 구할 수 있기 때문에 초임계 유체 공정에서 가장 주목받고 있다. 초임계 이산화탄소를 이용한 추출공정의 경우 커피의 카페인 제거 공정이 상업화 된 이후로 식품공업에서 유지의 정제 및 추출, 콜레스테롤, 천연색소, 향미성분 등의 지용성 성분의 추출 등에 널리 이용되고 있다(7).

최근 초임계 이산화탄소를 추출용매로 이용해 천연물로부터 생리활성 성분을 추출하려는 많은 연구가 수행되었으나, 높은 극성을 갖는 유효성분 추출의 경우 초임계 이산화탄소의 비극성에 기인한 낮은 용해도로 인해 이들 성분의 추출이 용이하지 않은 것으로 알려져 있다. 이와 같은 극성 유효성분에 대한 초임계 이산화탄소 추출공정의 비효율성을 극복하기 위한 방법으로 알코올류와 같은 극성 보조용매 (cosolvent 또는 modifier)를 초임계 이산화탄소에 첨가하여 이산화탄소의 극성과 용해성을 증대시킴으로써 추출효율을 향상시킬 수 있다는 연구결과가 보고 되었다(8-10). 따라서 본 연구에서는 극성 보조용매에 의해 변형된 초임계 이산화탄소를 이용하여 감초 내에 존재하는 주요 극성 유효성분인 glabridin을 추출하였으며, 추출온도, 압력, 보조용매의 종류 및 함량 등의 조작변수가 추출효율에 미치는 영향에 대해 조사하여 최적 추출공정조건 확립을 위한 기초연구를 수행하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

감초 (*Glycyrrhiza glabra*)는 우즈베키스탄산을 사용하였으며, 박편상의 감초는 150 mesh 이하의 크기로 분쇄하여 polypropylene 재질의 병에 넣어 4°C에서 보관하면서 필요 시 추출시료로 사용하였다. 99.995% 고순도 이산화탄소 ((주)동민특수가스, 경기도), 보조용매, 유기용매추출 및 HPLC 분석에 사용한 용매는 모두 HPLC급 (Fisher, USA)으로 구입하였다. 표준품 glabridin (97%)은 일본의 Waco사의 것을 구입하여 사용하였다.

유기용매 추출

초임계 유체 추출법과 비교하기 위해 예비실험으로 선

정된 추출조건하에서 유기용매추출을 수행하였다. 즉, 감초 시료와 30배의 추출용매를 혼합한 후 45°C에서 100 rpm의 속도로 교반하면서 2시간 동안 추출용매를 2번 교체하면서 추출하였다. 추출물은 3000 rpm에서 15분 동안 원심분리하고 상등액을 취해, 추출물 내의 glabridin 함량과 가용성 고형분의 함량을 측정하였다. Methanol, ethanol 및 acetone을 추출용매로 사용하였으며, 각 용매의 추출수율을 해당 용매를 보조용매로 사용한 초임계 유체 추출의 회수율 (percent recovery, wt%) 계산에 사용하였다.

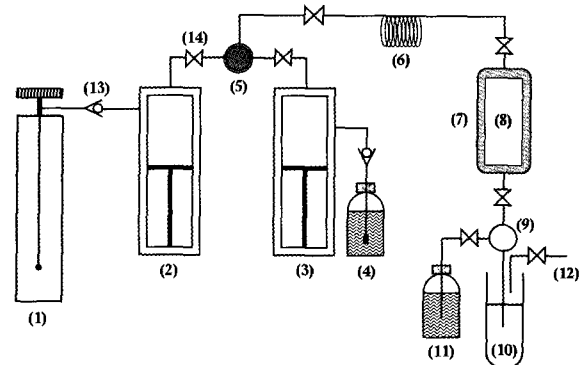


Figure 2. Schematic of the ISCO SFX 3560 supercritical CO₂ extractor used in this study: (1) CO₂ storage system with a dip tube, (2) syringe pump for CO₂, (3) syringe pump for modifier, (4) modifier storage flask, (5) mixing tee, (6) pre-heater, (7) high pressure chamber, (8) sample cartridge, (9) restrictor, (10) collection vial, (11) solvent storage flask, (12) vent, (13) check valve, (14) valve.

초임계 이산화탄소 추출

초임계 유체 추출은 초임계 유체 추출기 (SFX 3560, ISCO, Lincoln, USA)를 사용하여 추출온도, 추출압력, 극성 보조용매의 종류 및 첨가량이 감초 중의 glabridin의 초임계 추출에 미치는 영향을 보조용매와 초임계 이산화탄소를 1 mL/min의 유속으로 일정 시간 동안 흘려주면서 조사하였다. 초임계 유체 추출장치는 초임계 유체와 보조용매의 공급에 필요한 2대의 syringe pump (260D, 100DX, ISCO, USA), 두 펌프를 통제하는 controller와 유속 조절을 위한 restrictor, 고압 chamber 및 추출물의 수집부로 구성된 본체로 이루어져 있다(Fig. 2). 극성 유기용매에 의해 변형된 초임계 이산화탄소를 이용한 추출실험은 다음과 같은 방법으로 진행되었다. 일정량의 시료를 10 mL 용량의 cartridge에 넣고, 일정 추출온도로 유지되는 고압 chamber에 장착한다. 액체 이산화탄소와 보조용매는 각각의 syringe pump에서 가압된 후 mixing zone에서 혼합된다. 일정한 압력과 온도로 조절된 초임계 추출용매는 고압 chamber 내의 cartridge를 흐르면서 추출을 수행하고, 추출물을 포함하는 초임계 추출용매는 추출 후에 restrictor에서 대기압 상태로 배출된다. 추출물을 포함한 추출용매는 대기 중으로 방출되고 추출물은 수집 vial의 유기용매에 용해되어 포집된다. 포집된 추출액은 HPLC를 사용하여 분석하였으며 추출효율은 회수율로 나타내었다. 회수율은 유기용매추출법에 의한 추출수율에 대한 초임계 유체 추출법

에 의한 추출수율의 비로서 계산하였다.

가용성 고형분 (soluble solids)과 glabridin 순도 측정

추출물 내에 남아있는 추출용매를 감압증류기 (RE 111, BÜCHI, Switzerland)를 사용해 제거한 후 잔류물을 105℃에서 건조하여 가용성 고형분을 얻었다. 가용성 고형분의 농도 (mg/g, mg soluble solids/g licorice)는 감초 시료의 무게에 대한 가용성 고형분의 무게 비율로서 나타내었고, 추출물 내에 존재하는 glabridin의 순도 (% , w/w)는 가용성 고형분의 무게에 대한 glabridin의 무게 비율로 나타내었다.

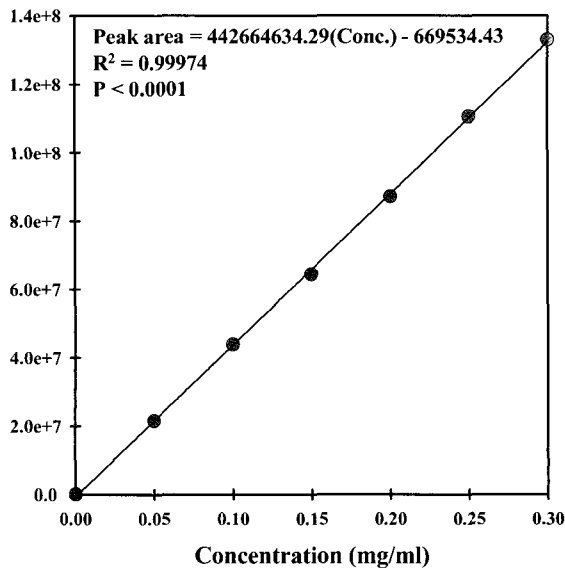


Figure 3. Standard curve of glabridin for HPLC analysis.

추출물 내 glabridin 분석

추출물 내에 존재하는 glabridin 함량의 경우 각 추출물에 대한 HPLC 분석결과와 Fig. 3에 나타난 표준품 glabridin에 대해 미리 작성된 표준곡선을 이용하여 계산하였다. 본 실험에서 사용된 HPLC (M616LC Sytem, Waters Co., USA)는 600 controller, 486 tunable absorbance detector (282 nm), 600 HPLC pump, TM 717 plus autosampler로 구성되어 있다. 칼럼은 CAPCell PAK C18 UG120 S-5 μm (4.6 mm × 250 mm, Shiseido, Japan)을 사용하였고, 이동상(2% aqueous acetic acid : acetonitrile = 50 : 50)은 1.8 mL/min의 유속으로 칼럼을 흐르게 하였으며, 분석시간은 25분이었다.

결과 및 고찰

유기용매 추출

가장 높은 수율의 glabridin을 얻을 수 있는 추출용매를 조사하기 위하여 methanol, ethanol 및 acetone을 추출용매로 사용하여 유기용매 추출을 수행하였다. Table 1에 나타난 바와 같이 methanol을 사용해 추출한 경우 0.197%로 가장 높은 수율을 얻을 수 있었으며, 이 값을 초임계 유체 추출의 회수율 계산의 기준치로 사용하였다. 추출물 내 가용성 고형분의 함

량은 용매의 극성이 커짐에 따라 증가하는 경향을 보였으며, 이와 같은 가용성 고형분 함량의 증가는 최종 추출물 내의 glabridin 순도를 저하시키는 원인이 된다. 따라서 초임계 이산화탄소 추출에 사용할 보조용매로는 methanol에 비해 독성이 작은 ethanol과 추출물 내 glabridin의 순도가 높은 acetone을 선정하였다.

Table 1. Effects of various extraction solvents on the extraction yield, concentration of soluble solids, and purity of glabridin in the liquid-solid extraction

| Extraction solvent | Extraction yield (wt%) | Concentration of soluble solids ¹⁾ (mg/g) | Purity ²⁾ (%) |
|--------------------|------------------------|--|--------------------------|
| Methanol | 0.197 | 272.92 | 0.723 |
| Ethanol | 0.182 | 94.28 | 1.933 |
| Acetone | 0.185 | 43.40 | 4.273 |

¹⁾ Concentration of soluble solid (mg/g) = mg soluble solid in extracts/g dried licorice.

²⁾ Purity (%) = (weight of glabridin / weight of soluble solid) × 100.

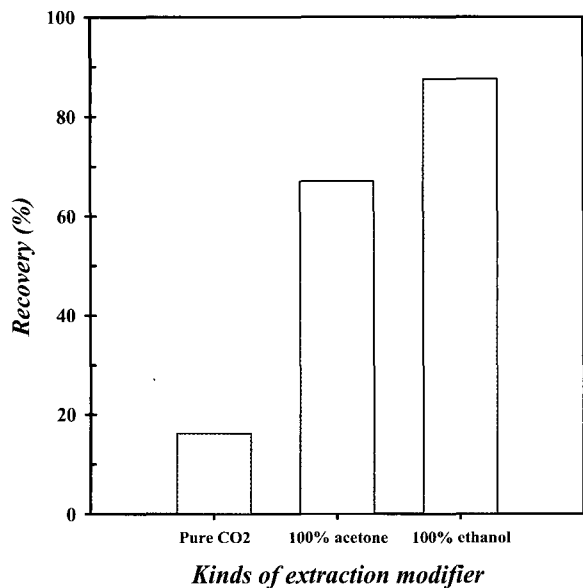


Figure 4. Effect of different modifiers on the extraction recovery of glabridin from licorice. Operating conditions were 30 MPa, 40℃, 1 mL/min, 10% (v/v) modifier, and 120-min dynamic extraction time.

보조용매의 영향

감초 내에 존재하는 glabridin을 추출하기 위하여 30 MPa의 압력과 40℃의 온도조건에서 보조용매가 첨가되지 않은 순수한 초임계 이산화탄소를 1 mL/min의 일정 유속으로 120분 동안 흘려주면서 추출을 수행한 경우 16.2%의 매우 낮은 회수율이 얻어졌는데, 이는 대부분의 극성 용질이 시료의 matrix에 강하게 결합되어 있기 때문인 것으로 생각된다.

순수한 초임계 이산화탄소 추출의 낮은 회수율을 향상시키기 위한 방법으로 초임계 이산화탄소에 극성 보조용매로 선정된 100% ethanol과 100% acetone을 각각 10% (v/v) 농도로 첨가하여 추출실험을 수행하였다. 보조용매에 의해 초임계 이산화탄소의 극성이 변형된 경우 Fig. 4에 나타난 것과 같이 최종 회수율이 각각 87.5%와 67%로 순수한 이산화탄소만

을 사용한 경우에 비해 약 4~5배 추출효율이 향상된 결과를 얻을 수 있었다. 이와 같은 회수율의 증가는 초임계 이산화탄소에 첨가된 보조용매로 인해 용질과 보조용매 간에 강한 이차 결합이 형성되어 초임계 유체의 극성 용질에 대한 용해성이 크게 증가하였기 때문인 것으로 생각된다.

추출온도의 영향

보조용매로 각각 100% ethanol과 100% acetone을 사용해

초임계 이산화탄소에 10% (v/v) 농도로 첨가하여 30 MPa의 압력과 1 mL/min의 일정 유속으로 120분 동안 40, 60 및 80°C의 온도에서 추출실험을 수행하였으며, 그 결과를 정리하여 Fig. 5와 6에 나타내었다. 보조 용매로 100% ethanol을 사용한 경우(Fig. 5) 추출온도가 80°C에서 40°C로 낮아짐에 따라 120분 추출후의 최종 회수율은 68.1%에서 87.5%로 증가하였으며, 추출시간도 단축됨을 알 수 있었다. 이와 같은 현상은 일반적으로 일정 압력 하에서 온도가 낮아질수록 초임

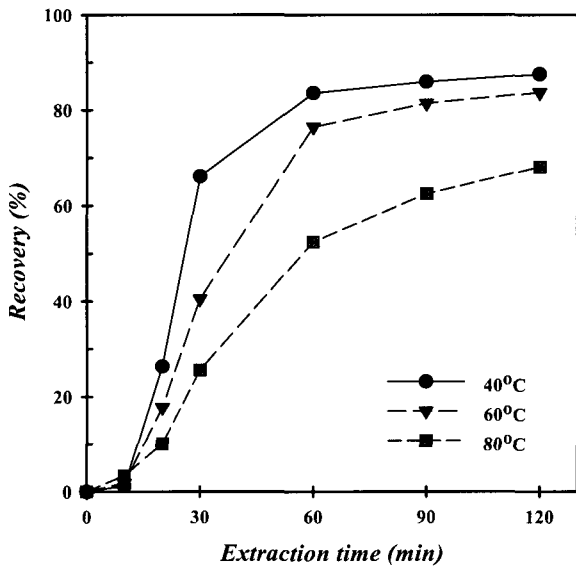


Figure 5. Changes in the recovery of glabridin with dynamic extraction time at different extraction temperatures (40, 60, and 80°C). Operating conditions were 30 MPa, 1 mL/min, and 10% (v/v) ethanol concentration.

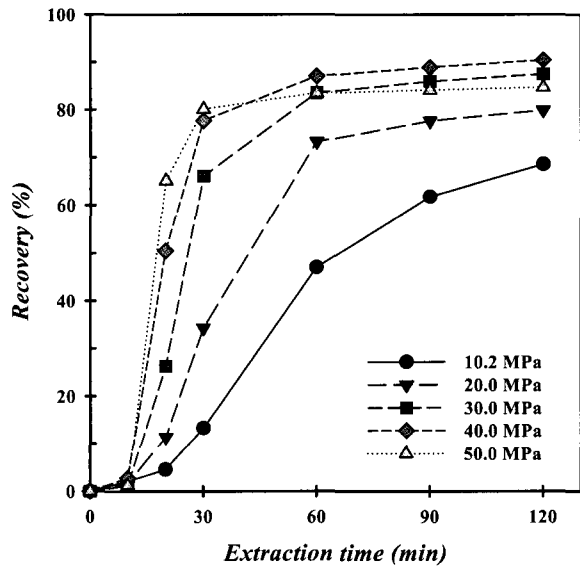


Figure 7. Changes in the recovery of glabridin with dynamic extraction time at different extraction pressures (10.2~50 MPa). Operating conditions were 40°C, 1 mL/min, 10% (v/v) ethanol, and 120-min dynamic extraction time.

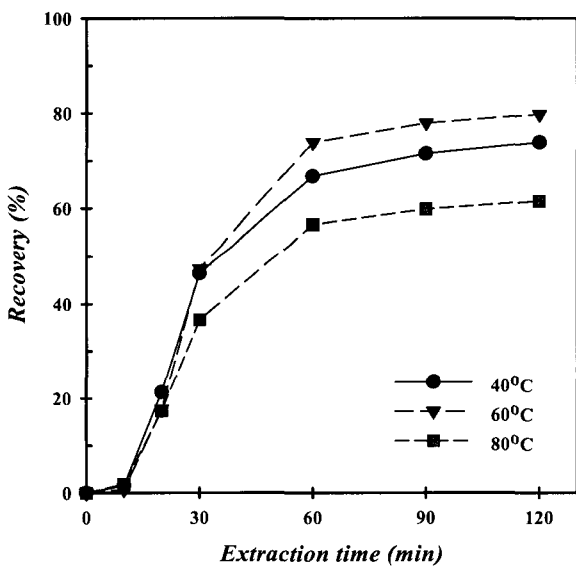


Figure 6. Changes in the recovery of glabridin with dynamic extraction time at different extraction temperatures (40, 60, and 80°C). Operating conditions were 30 MPa, 1 mL/min, and 10% (v/v) acetone concentration.

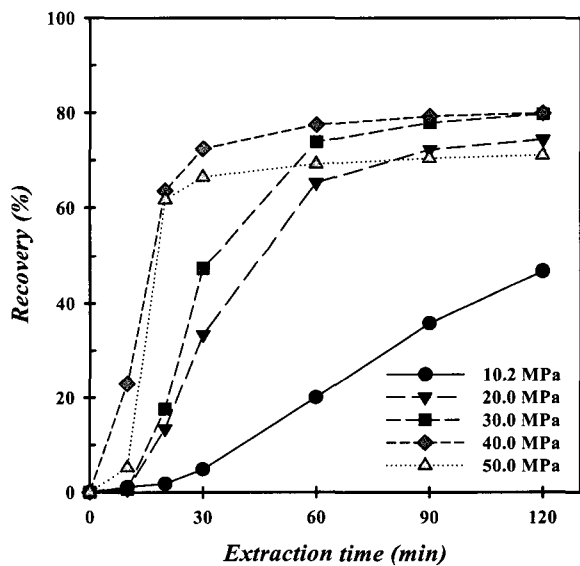


Figure 8. Changes in the recovery of glabridin with dynamic extraction time at different extraction pressures (10.2~50 MPa). Operating conditions were 60°C, 1 mL/min, 10% (v/v) acetone, and 120-min dynamic extraction time.

계 유체의 밀도가 증가하여 보조용매로 변형된 초임계 이산화탄소의 용해력이 커지기 때문이다(12). 반면에 100% acetone을 보조용매로 사용한 경우(Fig. 6)에는 ethanol의 경우와는 달리 추출온도가 높아짐에 따라 회수율이 증가하다가 추출온도 80℃에서는 다시 감소하는 경향이 관찰되었는데 이는 King 등(13)이 제시한 바와 같이 retrograde region의 존재 때문인 것으로 생각된다.

추출압력의 영향

추출압력이 추출효율에 미치는 영향을 조사하기 위하여 10.2~50 MPa의 압력 범위에서 앞에서와 동일한 추출조건으로 100% ethanol과 acetone을 사용하여 40℃와 60℃에서 각각 실험을 수행하였으며 그 결과를 Fig. 7과 8에 나타내었다. 100% ethanol과 acetone을 보조용매로 사용한 두 경우 모두 압력이 증가함에 따라 회수율이 향상되었으며, 40 MPa의 압력에서 각각 90.4%와 79.9%로 가장 높은 회수율을 나타내었고, 추출시간도 단축됨을 알 수 있었다. 그러나 50 MPa의 추출압력에서는 두 경우 모두에서 회수율이 감소하는 것으로 관찰되었는데, 이는 추출압력이 증가함에 따라 초임계 유체의 밀도가 높아져 용해력은 증가하지만 상대적으로 유체의 점도가 증가하게 되고 이로 인해 확산계수가 작아져서 초임계 유체의 matrix 내로의 투과효율이 낮아지기 때문인 것으로 판단된다(14).

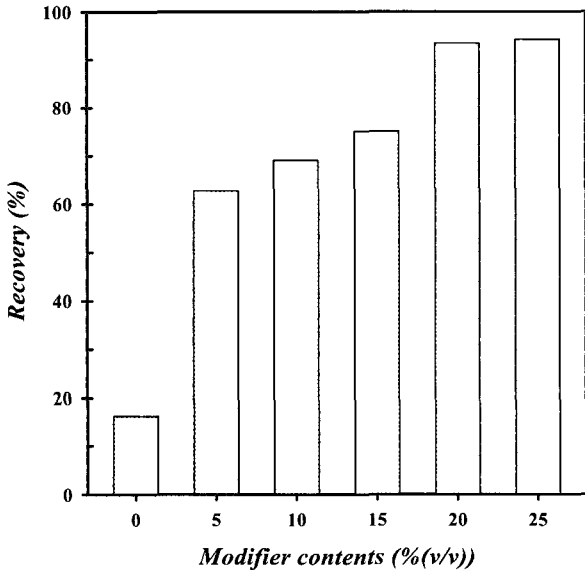


Figure 9. Effect of acetone concentration on the extraction of glabridin from licorice. Operating conditions were 30 MPa, 40℃, 1 mL/min, and 120-min dynamic extraction time.

보조용매 첨가량의 영향

초임계 이산화탄소에 첨가한 보조용매의 양이 추출효율에 미치는 영향을 고찰하기 위하여 acetone을 보조용매로 초임계 이산화탄소에 5~25% (v/v)의 농도로 첨가하여 추출실험을 수행하였으며 최종 회수율의 변화를 Fig. 9에 도시하였다. 극성 보조용매의 함량이 증가함에 따라 glabridin의 최종 회수율이 급격히 증가하였으며, 25%의 농도로 보조용매를 첨가한 경우 94.3%의 가장 높은 회수율을 얻을 수 있었다. 보조용매

를 20%와 25%의 농도로 첨가한 경우 최종 회수율 값은 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 25% 첨가하였을 때 20% 첨가한 경우에 비해 더 빠른 추출속도를 나타내어 추출시간 30분 이내에 최고 회수율에 도달할 수 있었다. 일정 비율 이상으로 보조용매를 첨가한 경우 추출 특성의 변화에 미치는 영향이 거의 없었으며, 오히려 과량의 유기용매 사용으로 인하여 여러 가지 문제가 나타날 수 있을 것으로 예상된다.

Table 2. Comparison of the cosolvent-modified supercritical CO₂ extraction with the conventional liquid-solid extraction

| Extraction method | Organic Solvent Extraction | | Supercritical Fluid Extraction | |
|-----------------------|----------------------------|---------|--|--|
| | Ethanol | Acetone | CO ₂ +Ethanol ¹⁾ | CO ₂ +Acetone ²⁾ |
| Yield (%) | 0.182 | 0.185 | 0.191 | 0.187 |
| Purity (wt%) | 1.933 | 4.273 | 5~7 | 9.72 |
| Extraction time (min) | 120 | 120 | 30 | 30 |

¹⁾ Operating conditions: 300 bar, 40℃, 1 mL/min, 25% (v/v) of ethanol.

²⁾ Operating conditions: 300 bar, 60℃, 1 mL/min, 25% (v/v) of acetone.

유기용매 추출과 초임계유체 추출의 비교

감초 내의 glabridin을 추출하기 위한 유기용매 추출법과 극성 유기용매로 변형된 초임계 이산화탄소 추출법의 실험 결과를 정리하여 Table 2에서 비교하였다. Table 2에 나타난 것과 같이 초임계 유체 추출의 경우 유기용매 추출과 비교해 더 높은 회수율과 순도를 얻을 수 있었다. 특히 초임계 유체 추출에서 ethanol을 보조용매로 사용한 경우 ethanol로 유기용매 추출을 한 경우에 비해 약 5% 정도 수율이 증가하였으며, acetone의 경우에는 두 방법 모두 비슷한 값을 나타내었다. 또한 초임계 유체 추출의 경우 유기용매추출과 비교해 2~3배 정도 glabridin의 순도가 증가하였으며, 추출 시간도 약 4배 정도 단축됨을 확인할 수 있었다.

요 약

초임계 이산화탄소를 이용해 감초 내의 glabridin을 추출하기 위하여 1 mL/min의 일정 유속으로 추출온도, 추출압력 및 보조용매의 종류와 첨가량이 추출효율에 미치는 영향을 조사하였다. 순수한 초임계 이산화탄소만을 이용하여 추출을 수행한 경우 16%의 매우 낮은 회수율이 얻어졌으나, 보조용매로 100% ethanol과 acetone을 10%의 농도로 첨가한 경우 4~5.5배 향상된 회수율을 얻을 수 있었다. 보조용매로 ethanol을 사용한 경우에는 추출온도가 감소할수록, 추출압력이 증가할수록 회수율이 증가하였고, acetone의 경우에는 추출압력이 증가함에 따라 회수율이 증가하였으나, 60℃의 추출온도에서 가장 높은 회수율을 얻을 수 있었다. 두 보조용매의 경우 모두 50 MPa의 추출압력 조건에서는 회수율이 떨어지는 경향을 나타내었다. 또한 acetone을 25%의 농도로 첨가한 경우 94.3%의 최고 회수율이 얻어졌으며, 30분 이내에 최고 회수율에 도달함을 확인하였다. 초임계 이산화탄소에 대한 보조용매로 ethanol과 acetone을 사용하여 최적의 glabridin 추출조건을 조사한 결과, ethanol은 30 MPa, 40℃, 25%의 보조용매 농도에서, acetone의 경우에는 30 MPa, 6

0°C, 25%의 농도조건에서 각각 96.5%와 94.3%의 최고 회수율을 얻을 수 있었으며, 유기용매 추출에 비해 2~3배 높은 glabridin 순도를 얻을 수 있었다.

감 사

본 연구는 과학기술부/한국과학재단 지정 수원대학교 환경청정기술연구센터의 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Fukai, T., K. Satoh, T. Nomura, and H. Sakagami (2003), Preliminary evaluation of antinephritis and radical scavenging activities of glabridin from *Glycyrrhiza glabra* *Fitoterapia*, **74**, 624-629.
2. Vaya, J., P. A. Belinky, and M. Aviram (1997), Antioxidant constituents from licorice roots: isolation, structure elucidation and antioxidative capacity toward LDL oxidation, *Free Radic. Biol. Med.* **23**, 302-313.
3. Belinky, P. A., M. Aviram, B. Fuhrman, M. Rosenblat, and J. Vaya (1998), The antioxidative effects of the isoflavan glabridin on endogenous constituents of LDL during its oxidation, *Atherosclerosis* **137**, 49-61.
4. Sato, J., K. Goto, F. Nanjo, S. Kawai, and K. Murata (2000), Antifungal activity of plant extracts against *Arthrrium sacchari* and *Chaetomium funicola*, *J. Biosci. Bioeng.* **90**, 442-446.
5. Yokota T., H. Nishio, Y. Kubota, and M. Mizoguchi (1998), The inhibitory effect of glabridin from licorice extracts on melanogenesis and inflammation, *Pig. Cell Res.* **11**, 355-361.
6. Hayashi, H., N. Hiraoka, Y. Ikeshiro, and H. Yamamoto (1996), Organ specific localization of flavonoids in *Glycyrrhiza glabra* L., *Plant Sci.* **116**, 233-238.
7. Palmer, M. V. and S. S. T. Ting (1995), Applications of supercritical fluid technology in food processing, *Food Chem.* **52**, 345-352.
8. Lang, Q. and C. M. Wai (2001), Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies - a practical review, *Talanta* **53**, 771-782.
9. Chiu, K.-L., Y.-C. Cheng, J.-H. Chen, C. J. Chang, and P.-W. Yang (2002), Supercritical fluids extraction of *Ginkgo* ginkgolides and flavonoids, *J. Supercrit. Fluids* **24**, 77-87.
10. Lin, M.-C., M.-J. Tsai, and K.-C. Wen (1999), Supercritical fluid extraction of flavonoids from *Scutellariae radix*, *J. Chromatogr. A* **830**, 387-395.
11. Rizvi, S. S. H (1994), *Supercritical Fluid Processing of Food and Biomaterials*, p. 82, Chapman and Hall, London.
12. Bowadt, S. and S. B. Hawthorne (1995), Supercritical fluid extraction in environmental analysis, *J. Chromatogr. A* **703**, 549-571.
13. King, J. W., A. Mohamed, S. L. Taylor, T. Megrahtu, and C. Paul (2001), Supercritical fluid extraction of *Vernonia galamensis* seeds, *Ind. Crops Prod.* **14**, 241-249.
14. G.-B. Lim (1989), The effects of the transition from subcritical to supercritical conditions on the mechanism for mass transfer in gas-solid systems, Ph. D. Dissertation, Department of Chemical Engineering, The University of Pittsburgh, Pittsburgh, USA.