



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0122222
(43) 공개일자 2010년11월22일

(51) Int. Cl.

B01D 15/08 (2006.01) *A61K 36/48* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-0041156

(22) 출원일자 2009년05월12일

심사청구일자 2009년05월12일

(71) 출원인

인하대학교 산학협력단

인천 남구 용현동 253 인하대학교

(72) 발명자

노경호

서울특별시 강남구 대치동 500 개포2차 우성아파트 14동 201호

류준욱

인천광역시 남구 용현동 253 인하대학교 2남335

전명래

인천광역시 남구 용현동 253 인하대학교 2남335

(74) 대리인

장한특허법인

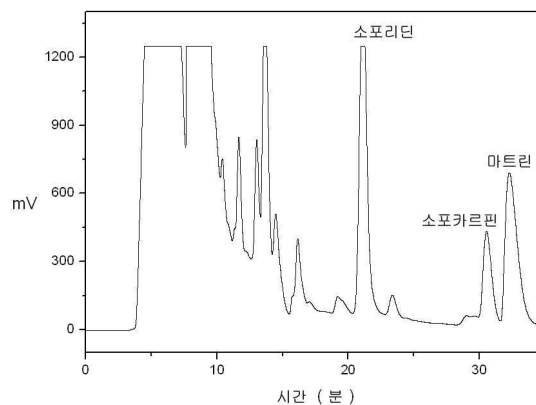
전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 액체-액체 추출 및 역상 고성능 액체크로마토그래피를 이용한 고삼의 유용성분들의 추출 및 동시 분리방법

(57) 요약

본 발명은 액체-액체 추출 및 RP-HPLC를 이용하여 화학적 구조가 유사하여 분리가 어려운 고삼의 유용성분들을 추출하고 동시에 분리하는 방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 (a) 고삼에 물을 가하여 침지함으로써 고삼의 유용성분인 마트린, 소포카르핀 및 소포리딘을 추출하는 단계 및 (b) 메탄올, 물 및 디에틸아민의 혼합물을 포함하는 이동상을 갖는 RP-HPLC를 이용하여 고삼으로부터 마트린, 소포카르핀 및 소포리딘을 분리하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다. 상기 방법에 의하면 종래의 방법보다 간단하고 편리하게 상기의 유용성분을 추출하고 동시에 분리할 수 있다.

대표도 - 도4



특허청구의 범위

청구항 1

(a) 고삼에 물을 가하여 침지함으로써 고삼의 유용성분인 마트린, 소포카르핀 및 소포리딘을 추출하는 단계; 및
(b) 메탄올, 물 및 디에틸아민의 혼합물을 포함하는 이동상을 갖는 RP-HPLC를 이용하여 고삼으로부터 마트린, 소포카르핀 및 소포리딘을 분리하는 단계;

를 포함하는 액체-액체 추출 및 RP-HPLC를 이용한 고삼의 유용성분들의 추출 및 동시 분리방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 이동상에 포함된 메탄올, 물 및 디에틸아민의 부피비는 45~55:45~55:0.07~0.1인 것을 특징으로 하는, 액체-액체 추출 및 RP-HPLC를 이용한 고삼의 유용성분들의 추출 및 동시 분리방법.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 RP-HPLC는 입자크기 5~12 μ m의 C₁₈ 컬럼을 사용하는 것을 특징으로 하는, 액체-액체 추출 및 RP-HPLC를 이용한 고삼의 유용성분들의 추출 및 동시 분리방법.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 액체-액체 추출 및 RP-HPLC를 이용하여 화학적 구조가 유사하여 분리가 어려운 고삼의 유용성분들을 추출하고 동시에 분리하는 방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 (a) 고삼에 물을 가하여 침지함으로써 고삼의 유용성분인 마트린, 소포카르핀 및 소포리딘을 추출하는 단계 및 (b) 메탄올, 물 및 디에틸아민의 혼합물을 포함하는 이동상을 갖는 RP-HPLC를 이용하여 고삼으로부터 마트린, 소포카르핀 및 소포리딘을 분리하는 단계를 포함하는, 액체-액체 추출 및 RP-HPLC를 이용한 고삼의 유용성분들의 추출 및 동시 분리방법에 관한 것이다.

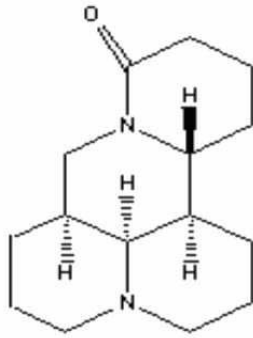
배경 기술

[0002] 고대부터 고삼은 많은 질병을 치료하기 위한 전통 중국 약초로서 사용되었다. 자연 의학 연구에 있어 최근에 고삼은 높은 약학적 활성으로 인하여 주목을 받고 있다. 고삼에 존재하는 알칼로이드는 마트린, 소포카르핀, 소포리딘 및 그 밖의 활성성분을 포함한다. 약학적 효과에 대한 연구결과 소포리딘은 항부정맥, 항종양, 면역력 강화, 면역 억제, 방부성 및 중추 신경계 자극 효과를 포함하는 넓은 범위의 약학적 효과를 나타내는 것으로 나타났다. 마트린 및 소포카르핀은 진정작용, 항종양, 해열작용, 심장강화 및 항헤파티티스 B 바이러스 활성작용을 나타내는 것으로 보고되고 있다.

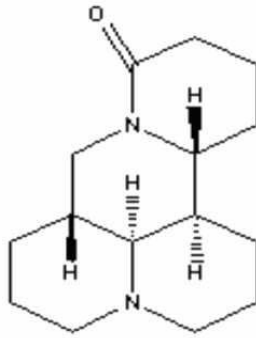
[0003] 고삼의 알칼로이드의 분리 및 정량화에 관한 연구는 꾸준히 계속되고 있는데, RP-HPLC, 고성능 모세관 전기이동, 가스크로마토그래피와 같은 몇 가지의 방법이 고삼 내의 알칼로이드의 분리 및 검출에 이용되고 있는 실정이다.

[0004] 이 중 RP-HPLC는 간편성 때문에 분리기술에 가장 널리 이용되는 기술로, 마트린 형태의 알칼로이드에 일반적으로 적용될 수 있고, 고성능 모세관 전기이동 기술은 목적 시료에 RP-HPLC법이 적당하지 않거나 효율적이지 않은 경우에 이용되는데, RP-HPLC법 또는 고성능 모세관 전기이동법에 있어서 시료의 준비는 가장 중요한 것으로서, 액체-액체 추출법, 고체상 추출 및 다른 방법들을 포함하는 추출 과정이 정확성, 정밀성 및 재생가능성의 필요에 따라 적절히 적용될 수 있다.

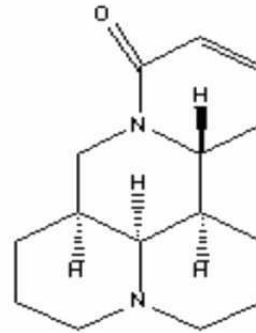
[0005] 이하의 그림 1에서 볼 수 있는 바와 같이, 이들 3가지 알칼로이드 성분들의 화학적 구조는 서로 유사하기 때문에 동시에 이들을 분리해내는 것은 상당히 어렵고,



마트린



소포리딘



소포카르핀

[0006]

[0007]

그림 1 마트린, 소포리딘 및 소포카르핀의 구조

[0008]

고삼으로부터 상기 3가지 성분들을 동시에 추출 및 분리할 것인지를 보여주는 연구는 거의 존재하지 않는다. 따라서 상기의 성분들을 동시에 추출 및 분리할 수 있는, 간단하고 효과적인 방법이 요구되고 있는 실정이다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0009]

본 발명은 전술한 바와 같은 종래 기술의 과제를 해결하기 위한 것으로서, (a) 고삼에 물을 가하여 침지함으로써 고삼의 유용성분인 마트린, 소포카르핀 및 소포리딘을 추출하는 단계 및 (b) 메탄올, 물 및 디에틸아민의 혼합물을 포함하는 이동상을 갖는 RP-HPLC를 이용하여 고삼으로부터 마트린, 소포카르핀 및 소포리딘을 분리하는 단계를 포함하는, 액체-액체 추출 및 RP-HPLC를 이용한 고삼의 유용성분들의 추출 및 동시 분리방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제 해결수단

[0010]

상기 본 발명의 과제를 이루기 위하여, 본 발명은 (a) 고삼에 물을 가하여 침지함으로써 고삼의 유용성분인 마트린, 소포카르핀 및 소포리딘을 추출하는 단계 및 (b) 메탄올, 물 및 디에틸아민의 혼합물을 포함하는 이동상을 갖는 RP-HPLC를 이용하여 고삼으로부터 마트린, 소포카르핀 및 소포리딘을 분리하는 단계를 포함하는, 액체-액체 추출 및 RP-HPLC를 이용한 고삼의 유용성분들의 추출 및 동시 분리방법을 제공한다.

[0011]

이 경우, 상기 이동상에 포함된 메탄올, 물 및 디에틸아민의 부피비는 45~55:45~55:0.07~0.1인 것을 특징으로 할 수 있다.

[0012]

또한, 상기 RP-HPLC는 입자크기 5~12 μ m의 C₁₈ 컬럼을 사용하는 것을 특징으로 할 수 있다.

효과

[0013]

본 발명에 의하면 고삼에 있는 대표적인 유용성분인 마트린, 소포카르핀 및 소포리딘을 동시에 추출 및 분리해 낼 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0014]

1. 추출

[0015]

추출용매의 결정

[0016]

표 1은 실온에서 서로 상이한 추출 용매에 의해 추출된 3개의 화합물의 양을 나타낸다. 소포리딘, 소포카르핀 및 마트린은 극성용매인 물로 추출했을 때 가장 많은 양이 얻어졌다. 따라서 물을 추출용매로 사용하였다.

표 1 추출용매에 따른 추출양

추출양($\mu\text{g/g}$)/ 용매	소포카르핀	마트린	소포리딘	합계
물	71.3	25	42.1	138.4
에탄올	68.9	71.9	20.2	161
메탄올	67.4	18.1	11.3	96.8
아세톤	*	*	*	*
클로로포름	*	*	*	*
n-헥산	*	*	*	*

추출방법의 결정

첫번째로, 침지법을 사용하였다. 침지 시간을 20분에서 48시간으로 증가시킬수록 추출된 고삼의 양도 늘어났으나, 48시간 이후에는 뚜렷한 증가를 나타내지 않았다(도 1). 따라서, 48시간을 최적의 침지시간으로 하였다.

두번째로, 초음파법에 의해 시료를 준비하였다. 도 2는 초음파시간이 추출양에 미치는 효과를 나타낸 것이다. 그러나 침지법과 비교하여 볼 때, 초음파법에 의했을 때 더 많은 에너지를 필요로 하였음에도 불구하고 추출된 양은 더 적었다. 따라서 초음파법은 추출방법으로 적절하지 않은 것으로 결정되었다.

추출온도가 소포카르핀, 소포리딘 및 마트린의 농도에 미치는 영향

도 3은 추출용매의 온도가 증가됨에 따라 추출된 소포카르핀, 소포리딘 및 마트린의 양이 증가된다는 사실을 보여준다. 그러나 용매의 온도가 93℃와 그 이상인 경우 추출된 양은 거의 비슷하였으므로, 추출에 가장 적절한 온도는 93℃로 하였다.

방법의 타당성 확인

방법의 특이성 및 선별성을 확실히 하기 위하여, 3개 화합물의 표준용액에 0.125, 0.0313, 0.025 및 0.005mg/ml의 농축액을 적용하였다. 각각의 농축액은 메탄올/물/디에틸아민(55/45/0.10, v/v)의 이동상을 갖는 통상의 컬럼 내에 3번씩 주입하였다. 피크에 표시된 영역 값은 분석된 농축액에 대응되는 플롯 및 최소자승법에 의한 눈금 곡선이었다. 각각의 알칼로이드의 눈금곡선은 선형회귀분석: $Y=aX+b$ 를 갖는 농축액에 대한 회귀피크영역을 나타낸다. 여기에서 Y는 알칼로이드의 피크 영역이고, X는 알칼로이드의 농도이고, a는 기울기, b는 회귀선의 절편이다. 3개의 화합물의 눈금곡선은 우수한 직선성($r^2>0.992$)을 나타내었고, 소포리딘, 소포카르핀 및 마트린의 회귀방정식은 각각 $Y=15866X+80.29$, $Y=8083X+61.04$, $Y=11403X+136.86$ (X는 5.0~1000.0mg/L)이었다.

표준 소포리딘(8.0, 80.0, 800.0mg/mL), 소포카르핀(3.0, 30.0, 300.0mg/mL) 및, 마트린(5.0, 50.0, 500mg/mL)의 농축액을 각각 3.0mL의 실제 시료에 첨가하여 6.0mL를 만들었다. 회복률(recovery rate)을 계산하기 위하여 측정된 농도를 이론적 농도와 비교하였다. 표 2는 매일 5시간씩 실행한 이전의 실험의 RSD, 표준용액의 검출한계 및 회복률을 나타낸다. 실제 시료분석에 대하여, 상기 언급된 값들은 훌륭한 정밀성 및 정확성을 나타내었다.

표 2 SMB에서 소포리딘, 소포카르핀 및 마트린의 회복률 (n=5)

화합물	RSD (%)		회복률			LOD ($\mu\text{g/mL}$)
	Intra-day	Inter-day	첨가된 양 ($\mu\text{g/mL}$)	평균 회복률 (%)	RSD (%)	
소포리딘	1.6	1.5	8.0	84.87	1.3	35
	1.7	1.9	80.0	86.02	1.6	
	1.2	1.1	800.0	85.25	1.9	

소포카르핀	1.6	1.8	3.0	86.93	1.8	20
	1.5	1.6	30.0	86.87	1.5	
	1.0	1.9	300.0	87.62	1.9	
마트린	1.1	1.0	5.0	75.86	1.9	32
	1.2	1.3	50.0	76.23	2.1	
	1.0	1.2	500.0	77.41	1.8	

2. 분리

시료의 준비

고삼은 Anguo, Hebei, China에서 2008년 8월경에 구입하였다. 마트린 및 소포리딘은 중국 약품생물제품검정소로부터 제공받았으며, 소포카르핀은 Chengdu Mansite Biological Technology Co. Ltd로부터 제공받았다. 메탄올, 아세토니트릴, n-프로판올, 디에틸아민은 한국의 덕산회사로부터 구입하였다.

RP-HPLC 분석

RP-HPLC 시스템은 M930 용매 전달 시스템 및 UV 검출기(M720)를 포함하며, Autochrowin 버전 1.42(영린기기, 한국)와 레오다인 주입기(20 μ l 시료 루프)로 데이터를 처리하였다.

C₁₈ 컬럼(250 $\times$ 4.6mm, 5 μ m)은 RS테크사(대전, 한국)의 것을 사용하였다. 증류수는 그 사용 전에 진공펌프(Division of Millipore, Waters, USA) 및 필터(HA-0.45, Division of Millipore, Waters, USA)로 여과시켰다. 모든 시료들은 RP-HPLC 시스템 내로 주입하기 전에 필터(MFS-25, 0.2 μ m TF, WHATMAN, USA)를 사용하여 여과시켰다. 유속은 0.6mL/min, UV파장은 220nm였다.

표준용액의 제조

메탄올 10mL에 각각의 약제 10mg을 용해시켜 표준용액을 제조하였다. 마트린, 소포리딘 및 소포카르핀의 표준물질은 각각 정확하게 무게를 측정하여 메탄올 용액에 첨가함으로써 각각 1.0mg/mL의 단일 용액을 제조하였다.

이동상의 선택

메탄올/물, 아세토니트릴/물, n-프로판올/물 및 메탄올/n-프로판올/물을 이동상으로 사용하였다. 상기 3종류의 화합물의 머무름 시간 및 용해도에 따라, 상기 이동상들 중 메탄올을 최적의 유기용액으로 선택하였다.

이 실험에서, 3종류의 화합물을 분리하기 위하여, 메탄올/물의 부피비를 다르게(10:90, 45:55, 70:30)하여 이동상으로 사용하여 실험을 수행하였다.

메탄올/물의 부피비가 10:90인 것을 이동상으로 한 경우, 상기 3종류의 화합물은 기준선 분리점에 도달하였으나, 마트린의 머무름 시간은 110분으로 너무 지체되어, 이러한 조건은 분리에 적절하지 않았다.

메탄올/물의 부피비가 70:30인 것을 이동상으로 한 경우, 상기 3종류의 화합물은 기준선 분리점에 도달하지 못하였고, 해상도는 0.5미만이어서, 분리에 적절하지 않았다.

따라서, 메탄올/물의 부피비가 45:55인 것을 이동상으로 사용하였다.

이동상 첨가제의 선택

소포카르핀, 소포리딘 및 마트린은 모두 알칼로이드로서 이들의 분리에 적절한 첨가제를 찾는 것은 매우 중요하다. 이 실험을 위하여 세 종류의 이동상 첨가제(TFA, 디에틸아민 및 트리에틸아민)를 선택하였다.

메탄올/물/TFA의 부피비가 45:55:0.1인 것을 이동상으로 한 경우, 피크 형태는 개선되었으나, 피크의 해상도는

약 0.7정도에 그쳐, 결국에는 기준선 분리점에 도달하지 못하였다. 그 이유는 이동상 내의 TFA가 비수성 결합 및 다양한 형태의 극성(polar) 잔여물과 상호 작용함으로써 피크 형태만 개선되고, 피크 너비는 감소하고 꼬리 끌기(tailing)의 문제점을 해소하지 못하였기 때문이다.

[0046] 디에틸아민 및 트리에틸아민은 분리과정에서 일반적으로 사용되는 첨가제이다. 트리에틸아민은 메탄올/물 용액에 낮은 용해도를 보이고, 220nm에서 UV를 흡수하여 사용하기에 적절하지 않았다.

[0047] 디에틸아민은 약한 알칼리성으로, 물에 용해되어도 지속적인 화학적 성질을 유지하였다. 따라서 디에틸아민은 알칼리성 물질의 분석시 첨가제로서 종종 사용된다.

[0048] 메탄올/물/디에틸아민의 부피비가 45:55:0.07인 경우, 3종류의 알칼로이드들이 기준선 분리점에 도달하였다. 이하의 표 3에서 나타낸, 3종류의 이동상의 머무름 인자(k) 및 해상도(R)를 비교하여, 메탄올/물/디에틸아민의 부피비가 45:55:0.07인 것을 최적의 이동상으로 선택하였다.

[0049] **표 3** 이동상 첨가제가 머무름 인자(k) 및 해상도(R)에 미치는 영향

	k	R
	메탄올/물 (45:55, v/v)	
마트린	12.25	-
소포리딘	12.25	0.2
소포카르핀	12.49	0
	메탄올/물/TFA (45:55:0.1, v/v/v)	
	k	R
마트린	7.12	-
소포리딘	12.25	2.1
소포카르핀	13.42	0.8
	메탄올/물/ 디에틸아민(45:55:0.07, v/v/v)	
	k	R
소포리딘	4.16	11.0
소포카르핀	6.44	9.41
마트린	7.17	1.15

[0051] **온도 차이에 따른 효과**

[0052] 컬럼의 온도는 20℃에서 50℃까지 올렸다. 이하의 표 4의 머무름 인자 및 해상도에 기초할 때, 실험에 가장 적절한 온도는 30℃였다.

[0053] **표 4** 상이한 온도에 의한 3종류의 알칼로이드의 k 및 R 값의 비교

T (℃)	k			R		
	k 소포리딘	k 소포카르핀	k 마트린	R _{옥시마트린, 소포리딘}	R _{소포리딘, 소포카르핀}	R _{소포카르핀, 마트린}
20	4.18	6.49	7.33	12.34	10.26	1.15
30	4.16	6.44	7.17	11.00	9.41	1.15
40	4.00	6.43	7.12	10.68	8.00	1.10
50	3.97	6.14	7.03	8.30	0.91	0.92

[0055] **방법의 타당성 확인**

[0056] 마트린, 소포리딘 및 소포카르핀의 혼합물 1.0mg/mL을 제조하고, 0.125, 0.0313, 0.025mg/mL의 농도로 희석하였다. 0.45 μm 마이크로 홀 필름으로 여과하고, 피크 영역을 계산하여, 직선 회귀분석: $Y=aX+b$ 으로 농도 대비 피크 영역을 환산함으로써 각각의 알칼로이드의 검량선을 작성하였다. 여기에서 Y는 알칼로이드의 피크 영역을, X는 알칼로이드의 농도를, a는 기울기를, b는 회귀선의 절편을 나타낸다. 그 결과는 이하의 표 5에 나타내었다.

[0057] **표 5** 마트린, 소포리딘 및 소포카르핀의 회귀 방정식 및 검출한계

시료	회귀방정식	직선범위 (mg/L)	r^2	검출한계(mg/L)
소포리딘	$Y=15866X+80.29$	5.0~1000.0	0.9955	1.0
소포카르핀	$Y=8083X+61.04$		0.9922	
마트린	$Y=11403X+136.86$		0.9926	

[0059] 마트린, 소포리딘 및 소포카르핀의 상대 표준 편차는 각각 0.3%, 0.8% 및 0.3%로 높은 정확도를 나타내었다.

[0060] 시료 및 컬럼준비

[0061] 추출실험을 위하여 고삼을 30℃에서 말려, 썬 다음, 분말상태로 만들었다. 소포리딘, 소포카르핀 및 마트린은 최종농도가 0.0625mg/mL가 되도록 메탄올에 녹였다. 고정상으로서 직경이 서로 상이한 C₁₈ 입자들을 사용하여 각각 상이한 RP-HPLC 컬럼을 만들었다. YMC 회사(교토, 일본)로부터 구입한 균일한 C₁₈ 입자들(각각 12 μ m, 40/63 μ m)은 메탄올에서 현탁되었고 헬륨으로 가스를 제거하여 주었다. 펌프를 사용하여 슬러리를 빈 RP-HPLC 컬럼(250mm×4.6mm) 내로 각각 주입하였다. 그런 다음, 포장된 컬럼을 고정 기준선이 관찰될 때까지 메탄올로 세척하였다. 모든 실험은 실온에서 행하였다.

[0062] 상이한 크기의 입자 컬럼 상에서의 예비 분리

[0063] 분석 컬럼에 대한 주입 용량의 효과를 결정하기 위하여 더 큰 용량의 주입용량을 사용하였다. 도 4에서 나타난 바와 같이 통상적인 컬럼(5 μ m, 250×4.6mm)에서, 소포리딘, 소포카르핀 및 마트린은 주입 용량이 350 μ l인 경우에 잘 분리되었다. 주입 용량을 400 μ l로 증가시킨 경우, 소포카르핀 및 마트린은 기준선에서 분간되지 않았다. 주입용량이 400 μ l로 증가된 경우 마트린은 깨끗하게 분리되지 않았다. 주입용량을 500 μ l로 증가시킨 경우, 소포리딘 및 소포카르핀에 대한 피크가 합쳐져서 높은 피크를 나타내었다. 따라서, 분석컬럼의 최대주입용량은 350 μ l인 것으로 결정되었다.

[0064] 도 5는 입자크기가 12 μ m일 때의 크로마토그램을 나타낸다. 주입용량이 200 μ l일 때의 결과와 비교하여 볼 때, 마트린은 예비컬럼 및 통상컬럼 양쪽 모두에서 잘 분리되었다. 그러나, 소포카르핀 및 마트린의 피크는 12 μ m 컬럼 내에서 서로 상충되어 겹쳐졌고, 다른 2가지 화합물은 가깝스로 분리되었다.

[0065] 입자크기가 증가함에 따라, 고체 패키지의 표면과 시료가 접촉하는 부분이 작아지고, 분산도는 커지며, 유로는 더 길어지므로 컬럼의 효율 및 해상도는 나빠졌다. 고삼의 소포카르핀 및 마트린은 예비컬럼에 의하여 정제되었고, 통상의 컬럼에 의하여 완전히 분리되었다(도 6). 결과로부터, 입자크기가 12 μ m인 경우 예비컬럼에 적절한 것으로 판단하였다.

[0066] 결과

[0067] 본 발명에 의하면 RP-HPLC에 의하여 화학적 구조가 서로 비슷한 고삼 내의 유용성분인 마트린, 소포카르핀 및 소포리딘을 동시에 분리해 낼 수 있음을 알 수 있었다. 본 발명에 의하면 유기 이동상의 형태, 비율 및 농도의 변화에 따라 상기 유용성분들을 성공적으로 동시에 분리해 낼 수 있었다. 본 발명은 5.0mg/L~1000mg/L의 범위에서 4종류의 알칼로이드의 표준 곡선이 양호한 선형 관계이고, 회수율은 94%~104%, 상대 표준 편차는 0.3%~0.8% 임을 보여주었다. 이는 간단하고 신속한 고삼의 회수비 및 추출비 계산방법이며, 또한 약제의 질을 조절하는 강력한 보장수단이 된다.

[0068] 또한, 액체-액체 추출법과 RP-HPLC 분리법을 함께 행함으로써, 고삼으로부터 마트린, 소포리딘 및 소포카르핀을 추출 및 동시 분리하였다. 추출 용매, 진행 시간을 달리함으로써 최적의 추출 조건을 찾았다. 고삼의 추출물은 분리되어 부피비가 55:45:0.10인 메탄올/물/디에틸아민을 이동상으로 하는 C₁₈ 컬럼을 사용하여 검출하였다. 상이한 패키징 크기를 갖는 상이한 컬럼이 추출물로부터 상기 3종류의 화합물을 분리하는데 사용되었고, 분리가 가

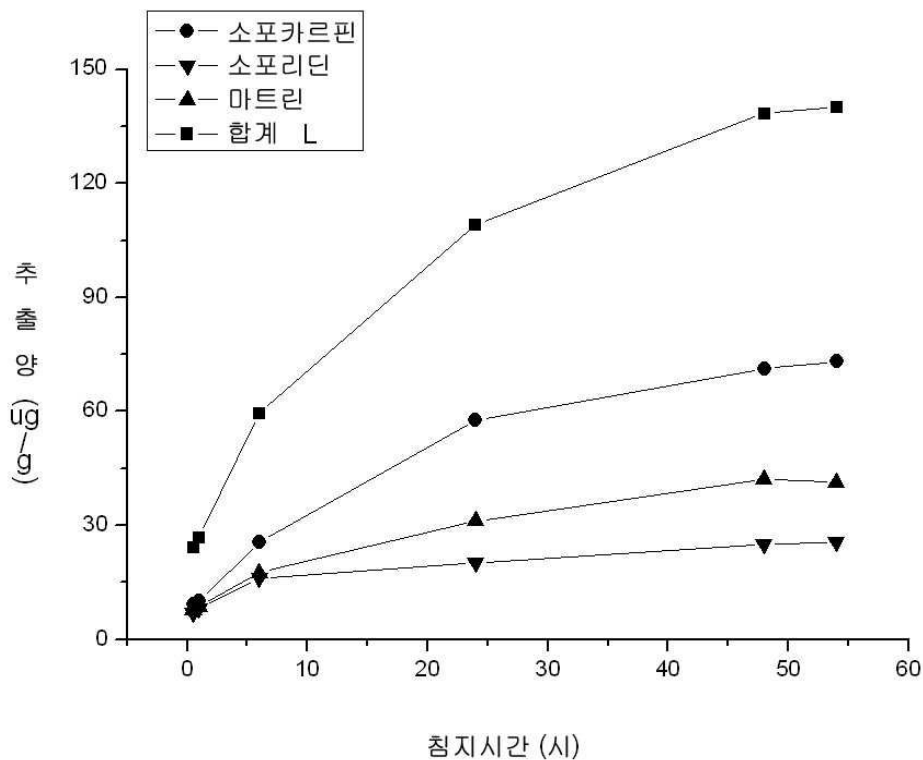
장 잘되는 컬럼은 12 μm 입자 크기를 갖는 것이었다. 얻어진 소포카르핀, 소포리딘 및 카트린의 양은 각각 0.081mg/g, 0.031mg/g 및 0.051mg/g이었고, 회수율은 85.38%, 87.14% 및 76.5%였다.

도면의 간단한 설명

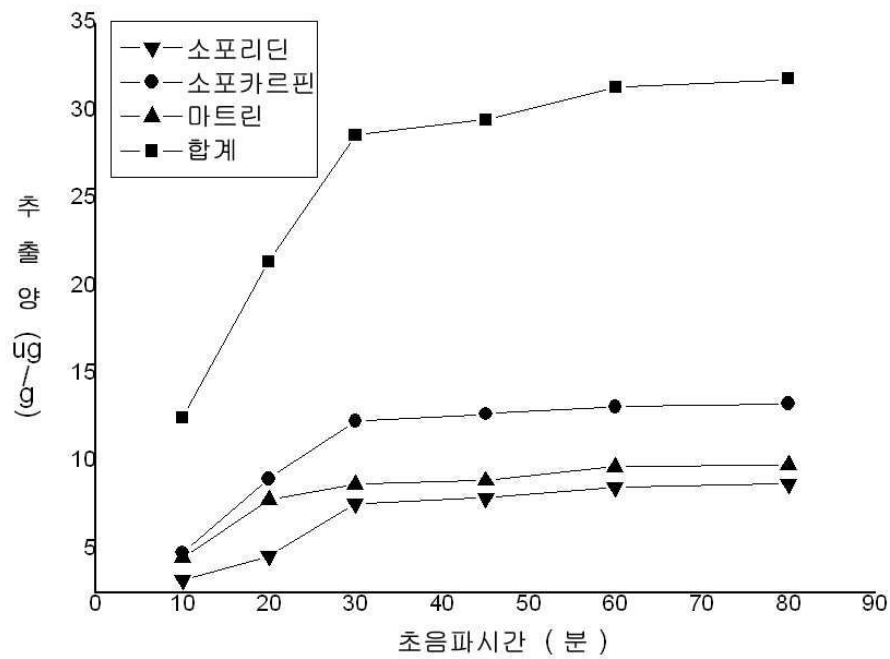
- [0069] 도 1은 침지시간이 추출양에 미치는 효과를 나타내는 그래프이다.
- [0070] 도 2는 초음파시간이 추출양에 미치는 효과를 나타내는 그래프이다.
- [0071] 도 3은 추출용매의 온도가 추출양에 미치는 효과를 나타내는 그래프이다.
- [0072] 도 4는 분할흐름분석기(SFA)에서의 추출물의 크로마토그램을 나타낸다(이동상:메탄올/물/디에틸아민(55/45/0.1, v/v), 컬럼: C_{18} (5 μm , 250 $\times$ 4.6mm), 유속: 0.6mL/min, UV: 220nm, 주입용량: 350 μl , 0.125mg/mL).
- [0073] 도 5는 주입용량이 다른 분할흐름분석기에서의 표준시료의 크로마토그램을 나타낸다(이동상:메탄올/물/디에틸아민(55/45/0.1, v/v), 컬럼: C_{18} (12 μm , 250 $\times$ 4.6mm), 유속: 0.6mL/min, UV: 220nm, 주입용량: 350 μl , 0.125mg/mL).
- [0074] 도 6은 마트린 및 소포카르핀을 함유하는 용매들의 크로마토그램을 나타낸다(이동상:메탄올/물/디에틸아민(55/45/0.1, v/v), 컬럼: C_{18} (5 μm , 250 $\times$ 4.6mm), 유속: 0.6mL/min, UV: 220nm, 주입용량: 200 μl , 0.125mg/mL).

도면

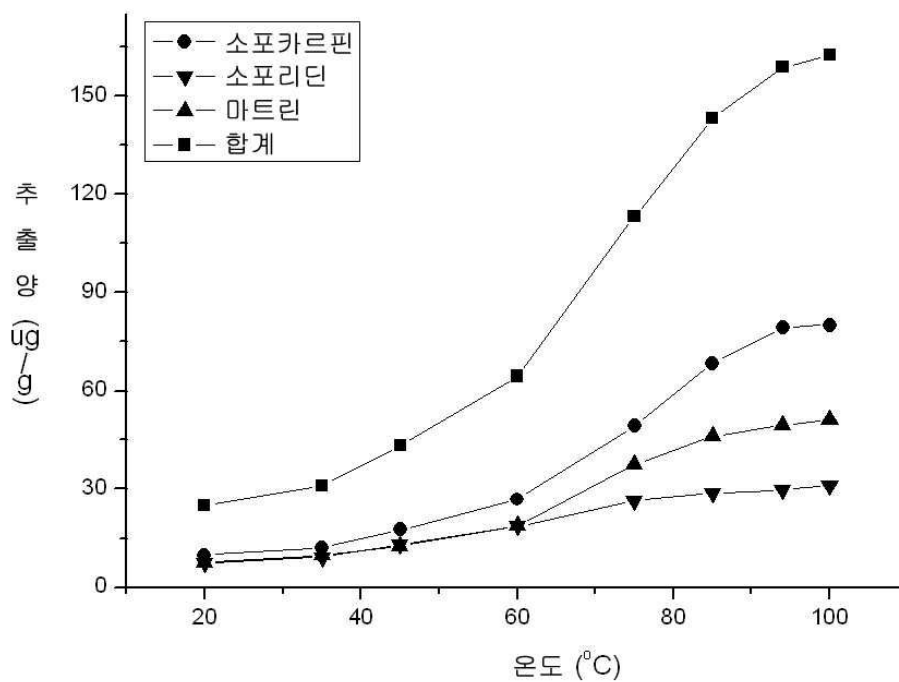
도면1



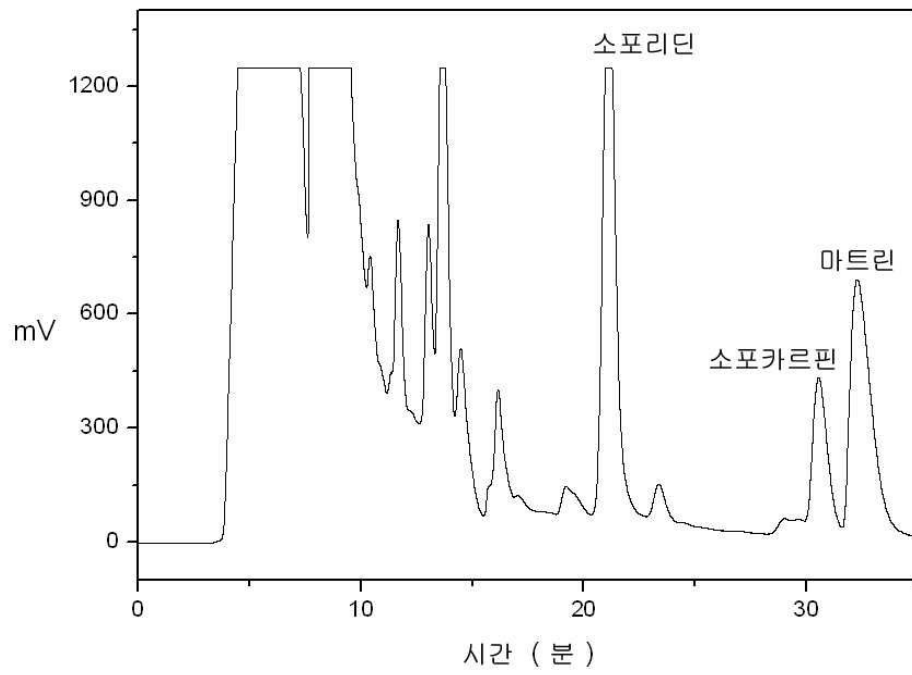
도면2



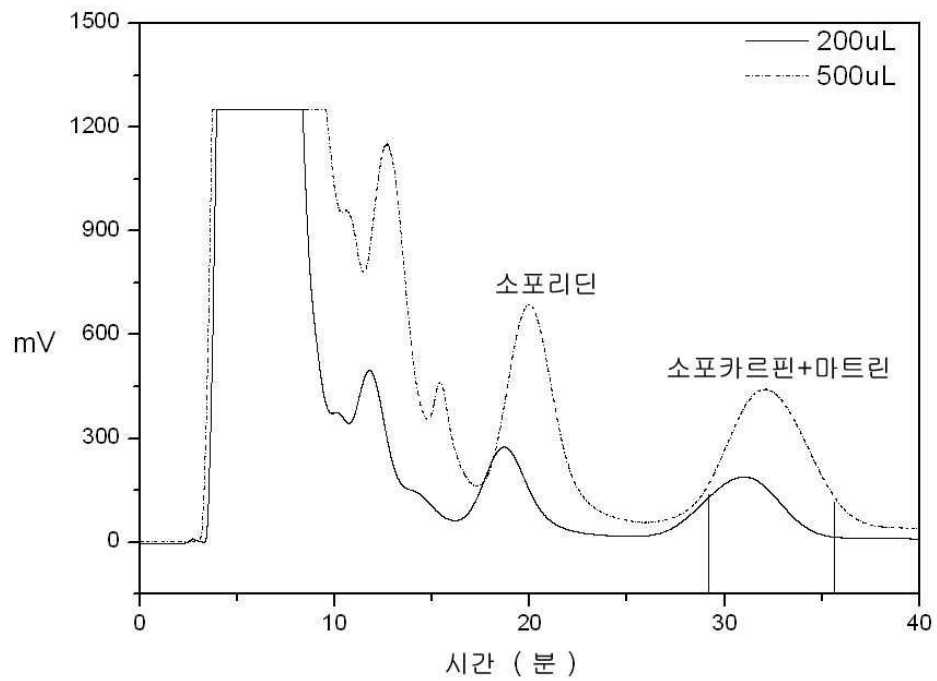
도면3



도면4



도면5



도면6

