

초임계 추출을 이용한 가시오가피로부터 Acanthoside-D의 분리

송명석, 이윤우*, 김재덕*, 노경호
 초정밀분리기술센터, 화학공학과, 인하대학교

Separation of Acanthoside-D from the *Acanthopanax Senticosus*
 with supercritical fluid extraction

Myong Seok Song, Yoon-Woo Lee*, Jae-Duck Kim*, Kyong Ho Row
 Center for Advanced Bioseparation Technology and Dept. of chemical Eng.,
 Inha University, 253 Yonghyun-Dong, Nam-Gu, Incheon 402-751, Korea
 *National Research Lab. for Supercritical Fluid, KIST, Seoul, Korea

서론

초임계 유체는 저 휘발성물질을 비교적 낮은 온도에서 용해하는 능력을 갖고 있지만 액체 용매보다 우수한 전달 물성을 갖고 있고, 용질을 함유하는 있는 물질 속으로 더 잘 스며들며, 추출물을 함유한 유체가 흐를 때에는 압력 강하가 작고, 임계온도가 낮은 기체를 용매로 사용하기 때문에 열에 불안정한 물질을 손상 없이 추출 할 수 있으며, 극성물질을 잘 용해하지 않아 선택성이 좋으며, 적절한 압력과 온도의 선택으로 추출단계와 분리단계를 최적화 할 수 있고, 첨가제를 사용하여 용해도와 선택도를 증가시킬 수 있다.[1] 초임계 유체로는 주로 초임계 이산화탄소를 사용한다. 초임계 이산화탄소는 용매로서 우수한 특성을 가지고 있을 뿐만 아니라 독성이 없고, 가격이 저렴하고 운전온도가 낮아 기존의 기술로 분리가 쉽지 않았던 이성질체, 열 변성 혼합물의 분리, 고분자 물질의 정제, 천연식물로부터 의약, 향료와 같은 유효성분의 분리 등 응용범위가 확대되고 있다.

최근 산업의 발달에 따른 대기 및 수질오염으로 인해 각종 난치성 질병들이 늘어나고 생활 수준의 향상과 기호의 다양화가 이루어짐으로써 건강에 대한 관심이 증대되고 있기 때문에 이러한 각종 불치병들을 치료하기 위한 연구가 광범위하게 진행되고 있다[1]. 오가피는 오가피나무과에 속하는 오가피나무 및 그 속 식물의 뿌리, 줄기 및 가지의 껍질을 말한다. 시베리아 인삼이라고 불리는 오가피 속 식물은 자양강장, 요통, 신경통, 중풍 등의 약효뿐만 아니라 신진대사 활성작용이 있다고 알려져 있다[2]. 가시오가피의 유효성분으로는 sesamin, savinin을 비롯하여 lignan 배당체인 Acanthoside-A, B, C, D와 Chiisanoside, polyacetylene, β -sitosterol, stigmasterol, canpesterol, 비타민, 미네랄 등이 풍부하여 좋은 약재로 주목받고 있다[3]. 가시오가피의 잎과 줄기에서 추출되는 배당체 중 Acanthoside-D는 T세포 증가 작용, 콜레스테롤 수치 저하, 전립선 활성화, 정력증대와 학습능력 향상, 간 기능 개선, 위궤양 억제 생체활력지수와 면역기능 증진, 백혈병억제 작용 및 항암 작용 등에 효능이 있다고 알려져 있다. 이러한 효능 때문에 식품, 의약품, 화장품의 첨가제로 사용하며, 건강식품, 과립차 및 음료로 이용되고 있고, 오가피의 성분 분석과 효능에 관한 연구는 계속 진행되고 있다[4]. 유효성분으로서 연구가 많이 되고 있는 Acanthoside-D의 구조식을 Figure 1에 나타내었다. Acanthoside-D의 화학적 구조식은 $\text{CH}_{34}\text{H}_{46}\text{O}_{18}$, M.P.은 242°C 이고, Eleutheroside-E 및 Acanthoside-D로 지칭되고 있다[3]. 오가피에 대한 연구는 특히 원산지인 국내에서 경희대학교 Yook등과 중앙대학교 Hahn등에 의해서 유효성분의 분석 및 효능에 대한 연구가 활발히 진행되면서 많은 관심을 모으고 있다[5].

본 연구에서는 항암제 등으로 그 효용가치가 뛰어나다고 밝혀진 가시오가피의 배당체인 Acanthoside-D를 기존에 사용하였던 용매추출이외에 초임계 이산화탄소를 이용하여 분리를 위한 최적 초임계 조건을 구하고자 한다.

실험

1. 시료 및 시약

우리나라에서 자생하는 오가피 속 식물 중 가시오가피(2001년 채취)를 한국가시오가피 재배협회에서 구입하였고, 이동상으로는 Duksan Co.의 메탄올, 아세트나이트릴과 2차 감압 펌프(Division of Millipore, Waters)와 필터(FH-0.5 μm)를 이용하여 감압 여과 한 후에 사용하였다.

2. 초임계 추출장치

시료추출을 위한 초임계 추출장치는 Figure 2에 나타내었고, 이는 한국과학기술연구원 에서 제작한 장치를 사용하였다. 시료의 초임계 추출장치는 이산화탄소, 추출기(50×500mm), 이산화탄소의 액화를 재 순환 냉각장치(RBC-11. Jeio tech.), 가압을 위한 액체펌프(Duty MASTER @AC Motor, Reliance Electric Co.), 가열을 위한 Jarket(No. D-64060, 대풍 Industry)를 사용하였고, 유압 조절밸브(10000psi, TESOM Co.)를 이용하여 이산화탄소의 유량을 조절한다. 유량측정은 가스유량계((주)대한가스기기)를 이용하여 시료를 추출하였다.

3. 분석장치

추출된 시료는 농축을 하기 위해서 회전식 증발기(LABO-THERM SW 200, Resona Technics Co.)를 사용하였고, 시료의 분석에 사용된 고성능 액체 크로마토그래피는 영린기 기의 M930 Solvent Delivery Pump, 486 검출기(M 7200 Absorbance Detector, 영린기기), Reodyne injection valve(20 μl sample loop)로 구성되어 있다. 데이터 저장 시스템(data acquisition system)은 Autochromin(ver. 1.42, 영린기기)을 PC에 설치하여 사용하였다.

본 실험에서 분석용 HPLC는 크기가 15 μm 인 Lichrospher 100RP-18 충전물(Merck Co.)을 컬럼(3.9×300 mm)에 충전하여 사용하였다.

4. 실험

가시오가피 줄기 분말 120 g를 취하여 추출기에 넣고, 액체펌프, 가열장치를 사용하여 가압·가열시킨 초임계 이산화탄소를 이용하여 시료의 초임계 추출물을 얻었다. 초임계 추출시간은 6 시간이었고, 사용된 이산화탄소의 유량은 1.2 m^3 이었다. 초임계 추출의 온도는 50 $^{\circ}\text{C}$ 이고, 압력은 200, 250, 300 bar조건으로 변화 시켰고, 첨가제로 물을 0, 0.5, 1.0, 1.5, 3 ml/g의 비율로 첨가하였다. 초임계 추출물을 에탄올 용액 100 ml에 녹인 후 여과하여 감압 농축시킨 후 취하여 다시 감압 농축 에탄올과 1:1의 비율로 혼합하여 0.2 μl 나 이론 필터(Altech Co.)를 이용하여 컬럼(3.9×300 mm)을 사용하여, 일정용매 조성법의 조성물/아세트나이트릴/메탄올 = 80/14/6 vol%, 유속 1 ml/min, 주입부피는 20 μl 이고, UV 검출기의 파장은 210 nm이며 실온에서 분석하였다[6].

결과 및 고찰

최근 청정용매로 각광받고 있는 초임계 유체추출을 이용하여 가시오가피로부터 Acanthoside-D를 추출하였다. 천연물에서의 추출에 적합한 초임계 이산화탄소는 대부분 비극성물질에 대해서 큰 용해력을 갖고 선택도가 좋지만, 극성물질을 추출하려면 조건이 까다로운 경우가 많다. 이런 경우에는 초임계 유체의 휘발도와 추출하려는 물질의 휘발도의 중간정도의 휘발도를 갖는 첨가제를 사용한다. 첨가제로는 보통 용매로 사용하는 물, 알코올, 헥산, 아세톤 등이 많이 사용된다[7]. 첨가제를 사용하면 용해도가 커지고 그 결과로 순수 초임계 유체만을 사용 할 때 보다 추출압력이 낮아지므로, 온도만 변화시켜서 추출물과 용매를 분리 할 수 있다. 건조한 상태의 가시오가피를 초임계 유체 이산화탄소

를 이용하여 추출하였다. 추출 수율은 Table 1에 나타내었다. Figure 3은 첨가제를 사용하지 않은 순수한 초임계 이산화탄소를 이용하여 추출한 시료를 일정용매조성으로 분석한 결과이다. Acanthoside-D의 머무름 시간은 13.82 분이었고, 피크 높이는 37.36 mV이었으며, 피크 면적은 175.314 mV·sec이었다. 농도는 163.3 ppm이었고, 이 때의 수율은 0.000184 %이었다.

초임계를 이용하여 가시오가피에서 Acanthoside-D의 추출하였을 때 압력이 증가함에 따라서 수율이 높았다. 본 연구에서는 50 °C, 300 bar 조건에서 초임계 이산화탄소로 추출하는 추출 조건을 제시하였다.

참고문헌

1. Lee, W. W., Development of supercritical fluid process(III), KIST (1997)
2. Korea Pharmacoeia. vol. 6, 1027 (1992)
3. Hahn, D. R., Kim, C. J., and Kim, J. H.,: *Yakhak Hoeji*, **29**(2), 357 (1985)
4. Lee, K. J., Kim, J. H., and Pow, K. H.,: *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **16**(1), 71 (2001)
5. Yook, C. S., Kim, I. H., Hahn, D. R., Nohara, T., Chang, S. Y.,: *Phytochemistry*, **49**(3), 839 (1998)
6. Lee, K. J., Kang, J. H., and Row, K. H.,: *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **16**(1),71 (2001)
7. Row, K. H. Principles and Applications of Liquid Chromatography, Inha Univ, 241 (1999)

Table 1. Yield of Acanthoside-D.

# of sample	Experimental conditions	yield (%)
1	50 °C, 200 bar	0.000100
2	50 °C, 250 bar	0.000127
3	50 °C, 300 bar	0.000184

* weight of *Acanthopanax senticosus* in the extractor : 120 g

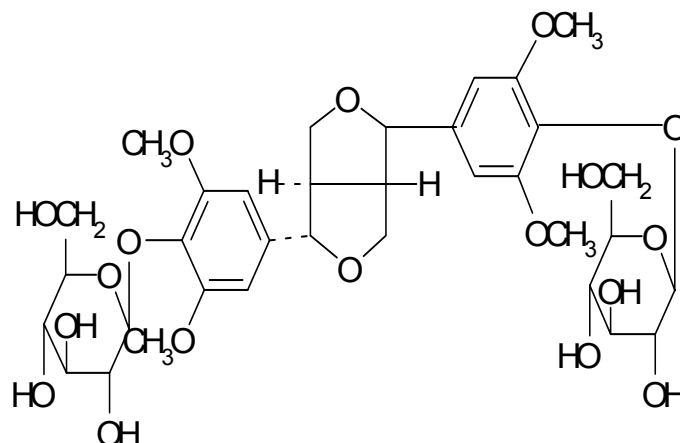


Figure 1. Chemical structures of Acanthoside-D

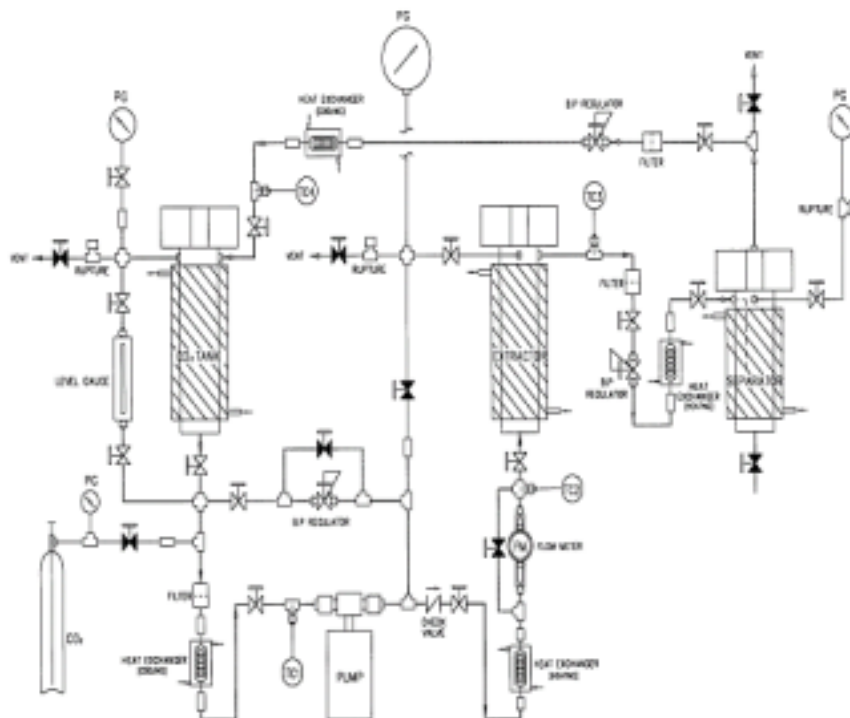


Figure 2. Schematic diagram of SFE system used in this study.

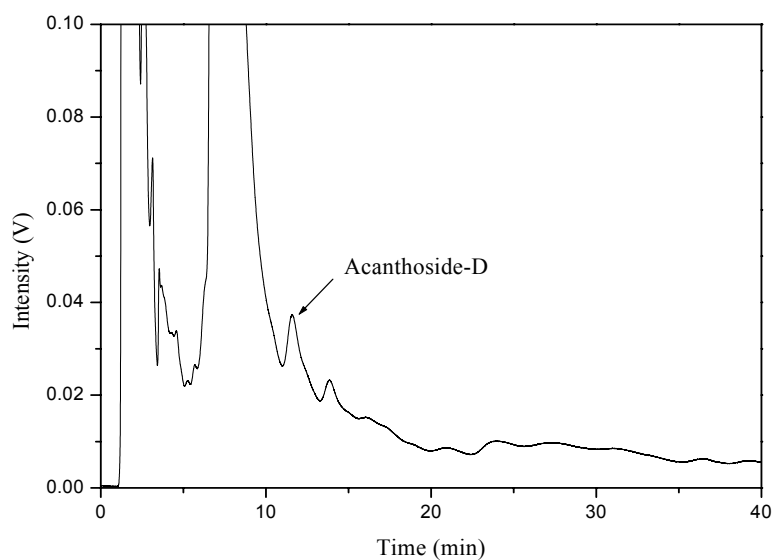


Figure 3. SFE with *Acanthopanax Senticosus* (50°C, 300bar, 20 μ l inj. vol., 1.0 ml/min flow rate, 8.2mg/ml, water/acetonitrile/methanol = 80/14/6 vol%)