

Agaricus blazei 자실체로부터 초임계 유체를 이용한 생리활성물질 추출공정

†최 정 우 · 류 동 열 · 김 영 기 · 김 선 영 · 유 기 풍 · ¹홍 익 기
서강대학교 화학공학과, ¹강원대학교 환경생물공학부
(접수 : 2000. 7. 22., 게재승인 : 2000. 8. 17.)

Supercritical Fluid Extraction of Physiologically Active Materials from Agaricus blazei Fruiting Bodies

Jeong-Woo Choi†, Dong-Yeul Ryu, Young-Kee Kim, Sun-Young Kim, Ki-Pung Yoo, and Eok-Ki Hong¹

Department of Chemical Engineering, Sogang University, C.P.O. Box 1142, Seoul 100-611, Korea

¹Department of Environmental & Biological Engineering, Kangwon National University, Chuncheon,
Kangwondo 200-701, Korea

(Received : 2000. 7. 22., Accepted : 2000. 8. 17.)

The supercritical fluid extraction (SFE) technique was applied for the isolation and purification of nonpolar physiologically active materials from *Agaricus blazei* fruiting bodies. The qualitative analysis of extract was accomplished by gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS), and extract was determined as linoleic acid(cis-9, cis-12-octadecadienoic acid). In order to obtain the optimum operating conditions of supercritical fluid extraction process, the various temperatures and pressures were applied for process operation. From the comparison of extraction efficiencies, 50°C and 200 Kg/cm² were determined as optimum conditions.

Key Words : *Agaricus blazei*, supercritical fluid extraction, linoleic acid, nonpolar physiologically active materials

서 론

특정성분을 분리하기 위한 방법은 구성 성분의 휘발도 차이를 이용하는 증류와 특정용매에 대한 구성 성분의 용해도 차이를 이용하는 용매추출법 등이 가장 일반적으로 이용되고 있다. 하지만 천연물의 생리활성물질은 높은 끓는점을 가지며 이에 따라 증류공정의 적용시 유효성분의 분해, 변성 등의 문제가 발생하며, 용매추출법에서는 적절한 용매의 선택이 어렵고 분리 효율이 낮은 문제점을 가지고 있다. 따라서 최근에 임계점 이상의 온도와 압력에서의 유체상태, 즉 초임계 상태의 유체를 용매로 사용하여 생리활성물질을 선택적으로 분리하는 초임계 추출법이 의약분야에서 각광받고 있다.[1-3].

초임계 유체추출기술(supercritical fluid extraction technology)은 최근 20여년간 미국, 일본 및 독일 등 선진국 화학산업 분야에서 관심을 모으고 있는 신분리 기술이다. 초임계

상태란 유체의 고유 임계점 이상의 압력과 온도에서 기체상과 유사한 확산계수, 점도 등의 전달물성을 가지며 액체상과 비슷한 밀도를 가지도록 조절시켜 놓은 양면성 상태를 말한다. 유체가 초임계 상태에 있을 때, 다종의 혼합물에서 특정 성분에 대하여 선택적인 분리능력을 가지는 특이한 열역학적 거동들은 오랫동안 과학계의 관심을 끌여왔다. 하지만 초임계 현상의 이론적 규명이 이루어지지 못하여 최근까지 초임계 유체를 실제 혼합물의 분리에 적용한 연구는 극히 부진한 상태에 있었다. 그러나, 1980년대 접어들면서 기존 분리공정으로는 효과적인 분리나 정제가 어려운 물질에 대한 필요성의 증가로 인하여 다양한 혼합물을 분리, 정제하기 위한 초임계 추출원리를 이해하기 위하여 광범위한 기초 연구와 실제 분리 공정에 적용하기 위한 엔지니어링 데이터들이 보고되고 있으며[4-8] 초임계 유체 추출 공정의 산업화가 활발히 진행되고 있다.

초임계 유체에 의한 생리활성 물질의 분리는 임계온도가 100°C 이하로 낮은 기체를 이용함으로써 온도에 민감한 물질을 변성이나 분해 없이 분리할 수 있으며 인체에 무해한 이산화탄소와 같은 기체를 용매로 사용할 수 있어 식품이나 의약품 등 인체에 직접 적용되는 제품의 생산에 매우 유용하다. 또한, 용매의 회수가 비교적 간단한 조작으로 가능하고

†Corresponding Author : Department of Chemical Engineering,
Sogang University, C.P.O. Box 1142, Seoul 100-611, Korea
Tel. : 82-2-705-8480, Fax. : 82-2-711-0439
E-mail : jwchoi@ccs.sogang.ac.kr

초임계 유체의 높은 선택도와 용해 효과를 화학제품의 원료 및 중간재 생산이나 잔류물에서의 고가성분 회수 등에 이용할 수 있으며, 분리공정의 전후 처리과정을 한 공정 안에서 수행할 수 있어 장치비와 에너지사용량을 절감할 수 있어 높은 경제성을 가지는 등의 장점이 있어 여러 분야에 응용할 수 있다.

본 연구는 항암 성분을 다량 가지고 있는 것으로 알려져 있는 아가리쿠스 버섯에서 비극성의 천연 생리 활성 물질을 분리하는 것을 목적으로 하고 있다. 본 연구진은 아가리쿠스 버섯을 이용한 유기 용매 추출과[9] 마이크로웨이브를 이용한 추출을 통하여 생리 활성 물질을 분리하는 연구를 수행하였으나[10] 이상의 추출공정으로부터 얻어진 물질들은 극성을 가지는 생리활성물질인 β -glucan이었다. 따라서 본 연구에서는 다른 연구진에 의해 수행되지 않았던 아가리쿠스 버섯내의 비극성 생리 활성 물질을 분리하여 그 성분을 밝히고자 한다. 또한, 비극성 생리활성 물질의 분리 효율의 극대화를 위하여 초임계 공정의 온도와 압력을 변화시키며 정성, 정량분석을 수행하여 분리효율을 분석함으로써 초임계 유체 추출공정의 최적화를 시도하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

아가리쿠스 버섯 자실체는 강원대학교 환경 생물 공학부의 홍역기 교수팀으로부터 제공받아 사용하였으며, 자실체의 세척을 위해 메탄올 (95% 이상, 대정), 아세톤 (HPLC grade, Z. T. Baker, USA)을 이용하였고, 추출물의 용해를 위한 용매로는 에탄올 (95% 이상, 대정)을 사용하였다.

초임계 유체 추출공정의 운전조건

아가리쿠스 버섯 10 g을 1~3 cm정도로 분쇄한 후 불순물의 제거를 위하여 메탄올 또는 아세톤으로 세척하였다. 세척된 자실체를 vessel 속에 넣고 vessel 내의 온도를 40℃에서 60℃까지 10℃간격으로 조절하였다. 정해진 온도범위 내에서 압력을 변화시키며 추출되는 성분의 추출 효율을 비교하였다. 모든 실험에서 추출시간은 6시간으로 동일하게 유지하였다. 추출된 성분은 에탄올에 용해시켜 분석 전까지 냉장 보관하였다. Figure 1에 초임계 유체 추출공정의 구성을 개략적으로 도시하였다.

초임계 유체 추출법은 운전 조건인 온도와 압력의 변화에 의하여 추출되는 성분의 변화나 추출 효율의 변화가 일어나므로 추출 효율을 최대화할 수 있는 최적 운전 조건의 결정이 필요하다. 따라서, 초임계 유체 추출공정의 운전변수로 온도와 압력을 이용하여 최적 운전 조건을 결정하였으며, 이산화탄소의 초임계 온도가 31.1℃이므로 온도를 40℃, 50℃, 60℃에서 변화시키며 추출물질의 추출 효율을 비교하였다. 또한 이산화탄소의 초임계 압력은 73.8 Kg/cm²이므로 추출 압력을 150 Kg/cm², 200 Kg/cm², 250 Kg/cm²으로 변화시키며 생성된 추출물질의 추출 효율을 비교하였다.

추출물질의 성분 분석

추출물질은 기초과학연구원 연구소의 gas chromatography-mass

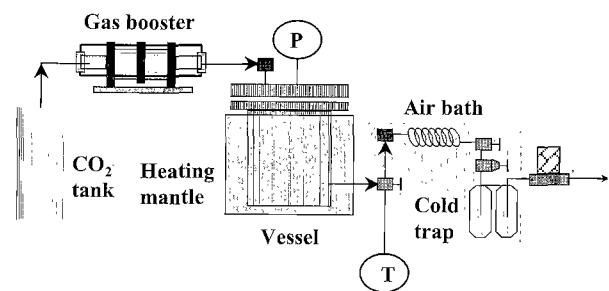


Figure 1. Experimental set-up for supercritical fluid extraction (unit: $\times 10^{-8}$ mole/10g).

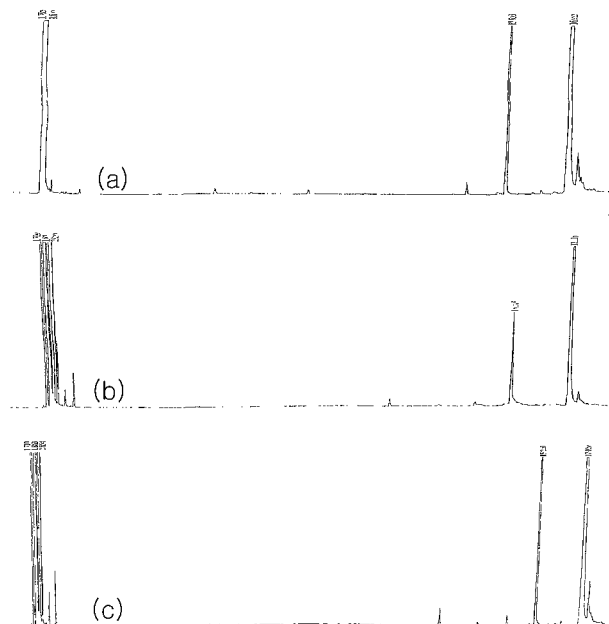


Figure 2. Analytical results of extracts at 50℃ using GC-MS at various pressures; (a) 150Kg/cm², (b) 200Kg/cm², (c) 250Kg/cm².

spectrometer (HP 6890 GC/HP 5973 MSD, Hewlett Packard, USA)를 이용하여 정성적으로 분석하였다. 분석결과 얻어진 추정 물질인 linoleic acid를 Sigma Chemical Co. (St. Louis, USA)에서 구입하여 표준검량곡선을 작성하여 추출물질의 정량적 분석을 하였으며 이를 통해 추출 효율을 분석하였다.

결과 및 고찰

초임계 유체 추출법을 이용한 비극성 생리활성물질 추출

이산화탄소의 초임계 영역은 온도 31.1℃와 압력 73.8 Kg/cm² 이상에서 형성되므로 40℃의 온도와 150 Kg/cm²의 압력에서 추출을 수행하여 추출된 물질을 GC-MS를 이용하여 정성분석을 수행하였다. Figure 2 (a)에 표시된 GC-MS 정성분석 결과로 추출물질은 linoleic acid(cis-9, cis-12-octadecadienoic acid)인 것으로 분석되었으며 불순물은 약 5%이내인 것으로 관찰되었다. 따라서 아가리쿠스 버섯 자실체는 기존의 극성 물질 추출방법을 통하여 극성 생리활성물질로 β -glucan을 가지고 있으며 초임계 추출을 통하여 비극성 생리활성물질로 linoleic acid를 포함하고 있음을 알 수 있었다.

Table 1. Extraction efficiencies of linoleic acid at the various temperatures and pressures.

Pressure(Kg/cm ²)	Temp.(°C)	40	50	60
	150		1.031	1.509
200		2.069	2.476	2.562
250		2.091	2.608	2.647

초임계 추출공정 운전변수의 최적화

초임계 추출공정을 이용한 아가리쿠스 버섯에서 비극성 생리활성물질인 linoleic acid의 최적 추출조건을 찾기 위하여 추출 온도와 압력을 각각 40°C, 50°C, 60°C와 150 Kg/cm², 200 Kg/cm², 250 Kg/cm²로 변화시켜가며 추출 효율을 비교 분석하였다. 운전조건에서 추출 효율의 비교는 GC-MS 분석 결과를 이용하였으며, Figure 2에 대표적인 예로 50°C에서의 추출물질의 분석결과를 도시하였다. Linoleic acid의 추출 효율은 일정한 양의 아가리쿠스 버섯자실체를 이용하였으므로 10 g의 자실체에서 추출된 linoleic acid의 몰수로 표시하였다. Table 1에 나타낸 바와 같이 각 운전조건에서의 추출 효율을 비교한 결과로부터 추출온도의 증가는 50°C까지는 급격한 효율 증가를 유도하지만 그 이상에서는 추출 효율의 증가 효과가 미약하며, 추출압력의 증가도 200 Kg/cm²까지는 급격한 추출 효율의 증가를 보이나 그 이상에서는 효율의 증가가 두드러지지 않으므로 최적 추출조건을 온도 50°C와 압력 200 Kg/cm²로 결정하였다. 이상으로부터 초임계유체 추출법을 이용한 비극성 생리활성물질(linoleic acid)의 최적 추출조건을 결정하였다.

요 약

생리활성물질의 함유량이 많은 아가리쿠스버섯으로부터 초임계 유체 추출 기술을 이용하여 비극성 생리활성물질인 linoleic acid를 분리, 정제하였다. Gas chromatography - mass spectrometer를 이용하여 추출된 물질의 정성분석을 수행하여 추출된 물질은 약리작용 효과를 가지는 linoleic acid (cis-9, cis-12-octadecadienoic acid)로 분석되었다. 초임계 추출법을

이용한 아가리쿠스 버섯으로부터의 생리활성물질 추출공정의 최적화를 위하여 다양한 온도와 압력하에서 실험을 수행하였으며 추출 효율을 비교한 결과 50°C, 200 Kg/cm²의 최적 운전조건을 결정하였다.

REFERENCES

- Choi, Y. H., J. Kim, and K. P. Yoo (1999), Selective Extraction of Ephedrine from *Ephedra sinica* using Mixtures of CO₂, Diethylamine, and Methanol, *Chromatographia*, **50**, 673-679.
- Choi, Y. H., J. Kim, S. H. Jeon, K. P. Yoo, and H. K. Lee (1998), Optimum SFE Condition for Lignans of *Schisandra chinensis* Fruits, *Chromatographia*, **48**, 695-699.
- Choi, Y. H., J. H. Ryu, K. P. Yoo, Y. S. Chang, and J. Kim (1998), Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Podophyllotoxin from *Dysosma pleinata* Roots, *Planta Medica*, **64**, 482-483.
- Johnston, K. (1984), Supercritical Fluids, In *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, Supplement. Vol., 3rd ed.*, p872, Kirk-Othmer, New York.
- Charpentier, B. A. (1988) Supercritical Fluid Extraction and Chromatography-Techniques and Applications, In *ACS. Symp. Ser.*, 366, Am. Chem. Soc., Washington, DC.
- McHugh, M. and V. Krukons (1986) Supercritical Fluid Extraction-Principles and Practice, Butterworths, London.
- McHugh, M. and V. J. Krukons (1989) Supercritical Fluids, In *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, Vol. 16*, John Wiley, New York.
- Brennecke, J. F. and C. A. Eckert (1989) Journal Review, Phase Equilibria for Supercritical Fluid Process Design, *AIChE. J.* **35**, 1409.
- Choi, J. W., D. Y. Ryu, Y. K. Kim, E. G. Hong, M. S. Kwun, and J. S. Han (2000), Extraction and Purification of Bioactive Materials from *Agaricus blazei* Fruiting Bodies, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **15**, 293-298.
- Choi, J. W., D. Y. Ryu, E. G. Hong, M. S. Kwun, J. S. Han, and W. H. Lee (2000), Microwave Assisted Extration of Physiologically Active Materials from *Agaricus blazei* Fruiting Bodies, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **15**, 307-312.