

## 초임계 유체 CO<sub>2</sub>를 이용한 가시오가피로부터 falcarinol 추출조건의 최적화

김성주 · 장규섭\*  
충남대학교 식품공학과

### Optimization of the Falcarinol Extraction Conditions from *Acanthopanax senticosus* Using Supercritical Fluid Carbon Dioxide

Seong-Ju Kim and Kyu-Seob Chang

Department of Food Science and Technology, Chungnam National University

#### Abstract

*Acanthopanax senticosus* has been known for many years as a traditional herbal medicine, having some pharmacological effects in Korea, Russia and China. Falcarinol, synonymous with 'panaxynol', has been known as cytotoxic activity, antimutagenic properties and antitumor activity.

The objective of this study was to optimize the conditions of falcarinol extraction from *Acanthopanax senticosus* by supercritical fluid carbon dioxide. It was planned by central composite design and extracted using supercritical fluid carbon dioxide followed by this design. Quantification of falcarinol in crude samples were determined by gas chromatography. Response surface methodology were carried out to find effects of three independent variables such as temperature( $X_1$ ), time( $X_2$ ) and pressure( $X_3$ ) on the yield of falcarinol content. According to the analysis RSM, optimum extracting conditions of temperature, time and pressure were 48.821307°C, 108.820684 min and 29427 kPa, respectively. Statistically maximum yield of falcarinol was 265.8347 µg/g when the falcarinol was extracted from *Acanthopanax senticosus* at above conditions by supercritical fluid carbon dioxide. Regression equation model optimized by response surface analysis was as follows.  $Y_{\text{falcarinol}} = -694.5814 + 6.7142 X_1 + 8.1306 X_2 + 0.0241 X_3 - 0.0897 X_1^2 - 0.0086 X_2 X_1 - 0.0378 X_2^2 + 0.0001 X_3 X_1 + 0.000017 X_3 X_2 - 0.00000053 X_3^2$  where  $X_1$  is temperature,  $X_2$  is time, and  $X_3$  is pressure.

**Key words :** falcarinol, supercritical fluid extraction, condition, carbon dioxide, polyacetylene

#### 서 론

가시오가피(*Acanthopanax senticosus*)의 최근 면역 및 항암효과, 항 스트레스작용, 항 당뇨작용, 혈압강하 작용, 항 바이러스 작용 등의 생리활성이 알려지면서 많은 연구가 이루어지고 있으며, 이에 그 수요가 증대 되고 있다. 현재에는 과거 수입에만 의존하던 것이 재배기술의 발달로 국내에서도 가시오가피의 생산량이 증가하고 있는 추세이나(Moon Soo

Park *et al.*, 1995; Ho Ki Park *et al.*, 1997) 가시오가피의 성분에 대한 연구는 acanthoside류 chiisanoside 등의 열수 추출을 통한 극성물질의 추출에 의한 생리활성 연구에만 치중되고 있으며 이에 반해 비극성 물질의 추출방법 및 생리활성 성분에 관한 연구는 매우 부족한 실정 이어서 그 이용도 또한 저조하다(Park *et al.*, 1995; Park *et al.*, 1997) 이에 반해 가시오가피와 같은 두릅나무과(*Araliaceae*)의 식물인 인삼의 경우 인삼의 석유에테르 추출물 중 일부 분획이 항암작용이 있다고 발표된 이래 인삼의 비사포닌 비단백분획에 대한 약리효능 연구가 많이 진행되었으며 그 중 polyacetylene계 화합물이 세포독성, 암세포 증식 억제 효과등의 다양한 생리활성 효과가 밝혀져 천연물로부터 polyacetylene 추출을

Corresponding author: Kyu-Seob Chang, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University, 220 Gung-dong, Yuseong-Gu, Daejeon, 305-764, Korea.  
Phone: 042-821-6727, Fax: 042-822-2153  
E-mail: changks@cnu.ac.kr

위한 다양한 시도가 이루어지고 있다(Sohn, 1992).

Falcarinol(heptadeca-1,9-dien-4,6-diyne-3-ol)은 두릅나무(*Araliaceae*)과와 미나리과(*Umbelliferae*) 식물에서 발견되는 polyacetylene계 화합물이며, panaxynol, carotatoxin 등으로도 알려져 있다. 이러한 polyacetylene계 화합물은 현재 유기용매 추출에 의하여 Liquid Chromatography 방법을 사용하여 정제되고 있다. 이러한 polyacetylene 화합물은 열에 민감하고 주위 물질과의 부가적인 화학반응이 일어나 유기용매 추출 과정을 통하여 성분변화, 잔존 유기용매, 오랜 추출 시간 등의 문제점이 제시되는데, 이에 비해 초임계 유체 추출방법은 이러한 polyacetylene과 같은 천연 생리활성 물질의 추출에 있어 유리하다고 할 수 있다(Noh *et al.*, 1997). 따라서 본 연구는 초임계 유체를 이용하여 가시오가피로부터 기존에 보고 되지 않은 polyacetylene계 화합물의 추출조건의 최적화를 연구목적으로 한다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용한 건조된 가시오가피는 2004년 금산약재시장에서 자연건조 된 것을 구입하여 hammer mill을 이용하여 80 mesh의 체를 통과할 정도로 분쇄한 후 -4°C에서 보관하면서 공시재료로 사용하였다. 본 실험의 추출용매는 특급시약 또는 HPLC grade를 사용하였다. Falcarinol 표준품(순도=97%)은 KT&G 중앙연구소로부터 제공 받아 사용하였다.

### GC에 의한 falcarinol 정량성 검토

일반적으로 polyacetylene 화합물은 TMS 유도체화를 하여 분석하고 있으나 falcarinol같은 경우에는 낮은 농도 수준에서도 분석이 가능하므로(노길봉 등, 1989a; 노길봉 등, 1989b) 본 실험에서는 falcarinol을 TMS 유도체화 시키지 않고 정량성을 검토하였

다. Falcarinol 표준품을 8~60 ppm 농도 수준의 표준용액을 조제하여 이들을 GC로 분석한 후 area와 농도간의 정량성을 검토하였다. GC 분석 조건은 Table 1과 같다.

### 유기용매 의한 가시오가피의 부위별 추출

가시오가피의 줄기와 뿌리를 각각 10 g을 취하여 부위별 시료 10 g에 methanol 및 ethanol 100 mL를 가하여 6시간씩 2회 환류추출 하고 각 추출액을 감압 농축 한 후 증류수 25 mL과 Pet.ether-ether(4:1, v/v) 혼합용매 50 mL로 2회의 partitioning을 실시한 후 Pet.ether-ether 층만을 선택 추출하여 추출액을 100 mL로 정용하여 GC로 분석하였다(손현주 등, 1990). 상위 방법을 3회 실시하여 그 평균값을 falcarinol의 양으로 정량하였다.

### 초임계 유체에 의한 추출

실험에 사용할 초임계 유체 추출 장치의 모식도를 Fig. 1에 나타냈으며, 초임계 유체 추출장치는 추출조(HIP inc. Erie, P.A.), 가압펌프(Haskel co. Burbank, California), 압력조절기(HIP inc. Erie, P.A.), 압력측정기(MacDaniel controls co.), 고압용관 등으로 구성되어 있으며 수입하여 조립한 것을 사용하였다. 추출조(extractor)에 가시오가피를 부위별로 각각 10 g과 동일부피의 glass bead를 가하여 extractor에 채운 다음, 온도 조절기와 가압펌프에 의해 제어 되는 추출온도(오차±0.5°C)와 압력(오차±6.9 bar)을 설계한 실험조건 Table 2에 따라 조정하여 추출하였다. 보조용매는 5 mL/min이었고, 이산화탄소의 주입량은 10 mL/min으로 고정하여 실험하였다. 추출된 용액은 -20°C에서 보관하면서 분석하였다. 또한 유기용매 추출실험을 바탕으로 추출대상은 줄기 부분을 사용하였고, 보조용매는 Ethanol을 사용하였다. 추출물은 감압 농축 한 후 상위 방법의 분획과정을 통하여 100 mL 정용한 후 GC로 분석하였다.

### 반응표면 분석 및 실험설계

가시오가피 중 falcarinol의 최적 추출조건 및 최대 수율조건은 사용되는 용매인 초임계 이산화탄소의 밀도에 따라 달라진다. 또한 이산화탄소의 밀도는 추출 온도와 압력에 따라 달라지므로 추출변수인 온도와 압력에 대한 최적조건을 알아낼 수 있도록 몇 단계로 선정된 Factorial design에 의한 실험 설계법에 의해 실험을 진행하였다. 각 추출조건에

Table 1. GC condition for the analysis of falcarinol

	Description
Column	HP-1 fused silica capillary (0.25 µm×0.25 mm×30 m)
Temperature	200°C(3 min)-260°C, 4°C/min
Carrier gas	He 1.0 ml/min (Split ratio=25:1)
Detector	FID
Injection Vol.	5.0 µl
GC model	Hewlett-Packard 6950

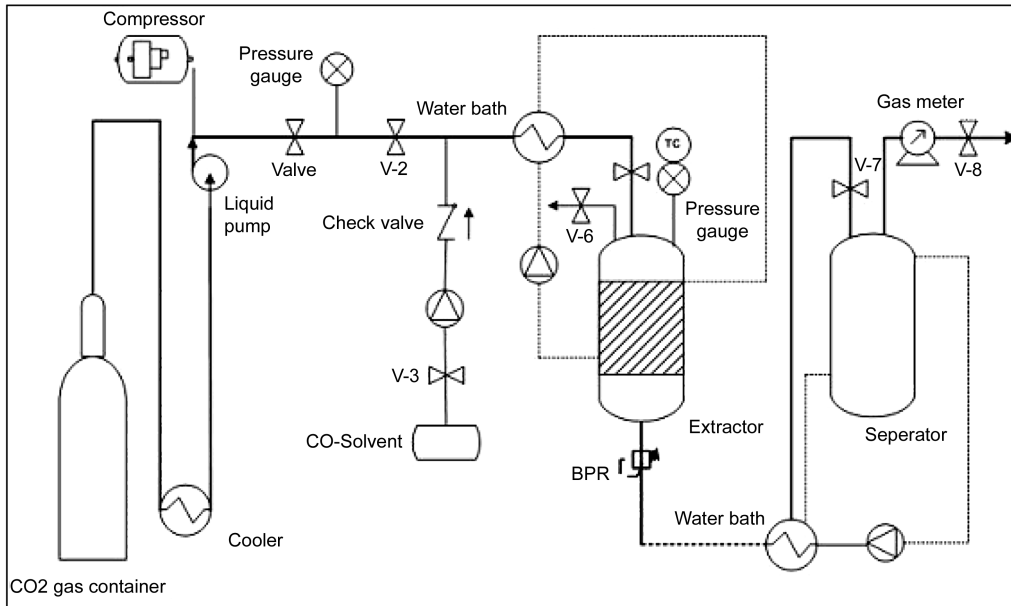


Fig. 1. Supercritical fluid extraction equipment.

서 얻어진 각 분획들을 GC(FID)로 정량분석하고 각 추출조건에서의 falcarinol의 수율을 조사하며 최적 추출 조건을 확립하였다.

초임계 유체 추출공정은 추출온도, 추출압력, 시간 등에 따라 추출효율이 좌우될 수 있으므로, 본 실험에서는 최근 제조공정이나 제품개발 등의 최적화 연구에 효과적으로 활용되고 있는 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)을 사용한다. 실험계획은 중심합성계획을 적용하며, 추출 영향 인자로 사료되는 추출시간, 추출압력, 추출온도를 주요 독립변수로 설정하여, Cochran과 Cox가 연구한 실험 설계법에 따라 조합하였다(Cochran과 Cox, 1957). 본 실험구는 총 16구이며, 독립변수인  $X_1$ (추출온도),  $X_2$ (추출시간),  $X_3$ (추출압력)가 종속변수인 Y(falcarinol의 함량)에 영향을 주는 요인으로 가정하여 실험 모델을 Table 2, Table 3와 같이 설정하였다. 실험을 통해 얻어진 값들은 Statistical Analysis System 소프트웨어(SAS Ver 6.1. Institute Inc., USA)를 이용하여 반응표면분석(RSM)을 실시하였다.

## 결과 및 고찰

### GC에 의한 falcarinol의 정량성

8~60 ppm 농도 수준의 falcarinol 표준용액을 조

제하여 이들을 GC로 분석한 후 area와 농도간의 정량성을 검토한 결과 Fig. 2에서 알 수 있듯이 이상의 농도범위에서 직선관계를 유지하였으며 R-square는 0.9995로서 높은 신뢰성을 보였다. 일반적으로 falcarinol(panaxynol)은 20 ppm 농도 수준 이하에서는 정량성을 나타내기 어려우나 유도체화 후에는 낮은 수준에서도 정량성을 나타내며 따라서 polyacetylene 물질의 정량에 있어서 유도체화가 바람직하다고 보고하고 있다(Noh와 Sohn, 1989b). 그러나 본 실험에서는 이러한 보고와 달리 유도체화를 시키지 않고도 20 ppm의 낮은 수준에서도 정량성을 나타내었다.

### 유기용매에 의한 추출수율 비교

유기용매 추출 시 methanol과 ethanol 사이의 추출용매에 따른 추출수율의 차이는 Fig. 3에서 보는 바와 같이 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 또한 줄기부분의 경우 falcarinol 함량은 약 369  $\mu\text{g/g}$ 으로 뿌리의 함량 약 55  $\mu\text{g/g}$  보다 약 4.5배 많았으며 기존의 홍삼에서 알려진 함량의 1/3정도의 수준 이었다(노길봉 등, 1989).

### 초임계 유체에 의한 추출수율 비교

예비 실험을 통하여 보조용매를 사용하는 것이 가시오가피로부터 falcarinol 추출에 있어 추출수율

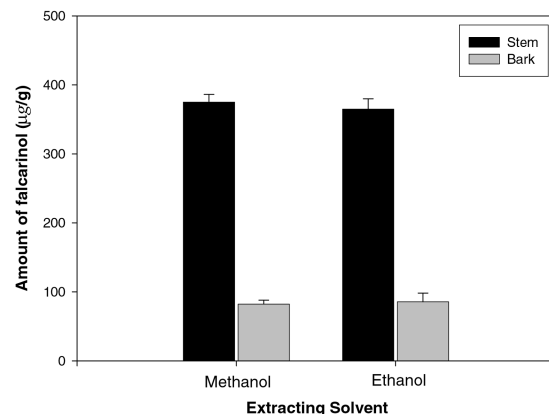
**Table 2.** Experiment combinations according to codes of experimental design at various extraction conditions of temperature, extraction time and pressure.

Treatment	T (°C)			Actual parameters		
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Temperature (°C)	Extraction Time (min)	Pressure (kPa)
1	-1	-1	-1	45	60	19894
2	-1	-1	1	45	60	29498
3	-1	1	-1	45	120	19894
4	-1	1	1	45	120	29498
5	1	-1	-1	65	60	19894
6	1	-1	1	65	60	29498
7	1	1	-1	65	120	19894
8	1	1	1	65	120	29498
9	0	0	0	55	90	24696
10	0	0	0	55	90	24696
11	-2	0	0	35	90	24696
12	2	0	0	75	90	24696
13	0	-2	0	55	30	24696
14	0	2	0	55	150	24696
15	0	0	-2	55	90	15092
16	0	0	2	55	90	34300

을 증가시킬 수 있는 것으로 판단되었고, 또한 polyacetylene 화합물은 구조 말단의 hydroxyl group에 의한 화학적 구조에 기인하여 외부에 노출된 상태에서는 매우 불안정한 것으로 알려져 있으므로 (Koh *et al.*, 1986) 초임계 유체 추출에 있어 포집효과를 상승시키고 식품으로서의 적용가치를 고려하여 seperator 충전용매와 보조용매로서 ethanol 사용하였으며, 초임계 16개의 조건에 의해 추출된 각 조건 별 추출량은 Table 3와 같다.

#### 최적 추출 조건 도출을 위한 반응표면 분석

반응변수를 추출온도와, 추출시간 및 추출압력으로 하고 반응변수를 falcarinol 함량으로 하여 SAS Ver 6.1 program을 이용하여 회귀분석을 실시하였고 3차원그래프와 contour map을 작성하였다. 분석 결과는 Fig. 3, 4, 5와 같은 결과를 보였다. Fig. 3는 추출시간(X<sub>2</sub>)과 추출압력(X<sub>3</sub>)에 대한 falcarinol 추출수율(Y)을 나타낸 것으로 90~120 min의 추출시간과 24696~34400 kPa의 추출압력에서 정상점을 보였고, Fig. 4는 추출온도(X<sub>1</sub>)와 추출압력(X<sub>3</sub>)에 falcarinol 추출수율(Y)을 나타낸 것으로 35~55°C의 추출온도(X<sub>1</sub>)와 24696~34300 kPa의 추출압력(X<sub>3</sub>)에서 정상점을 보였으며, Fig. 5는 추출온도(X<sub>1</sub>)와 추출시간(X<sub>2</sub>)에 따른 falcarinol 추출수율(Y)을 나타낸 것으로 45~55°C 추출온도(X<sub>1</sub>)와 100~120 min

**Fig. 2.** Falcarinol contents in *Acanthopanax senticosus* (Unit: µg/g dry wt.)

의 추출시간(X<sub>2</sub>)에서 정상점을 보였다. Fig. 3, 4, 5 모두 정상점이 contour map 속에 있음을 볼 수 있다. 회귀 분석결과는 임계점이 최대점이거나 최소점이 아니고 안장점일 경우에는 능선분석을 하여 최적점을 구하였다. 회귀분석 결과 total regress가 0.0434으로 설계된 모형반응이 자료에 적합하다고 말할 수 있으며, R-square(유의확률)은 0.8675으로 높은 유의 수준을 보였으므로 반응모형은 통계적으로 유의 하다고 할 수 있다. 회귀분석 결과 Falcarinol의 반응표면 회귀식은

Table 3. Analysis of extracted falcariinol at various extraction conditions analyzed by GC

Treatment	Variable			Measurement	
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Response Area	falcariinol content (μg/g)
1	-1	-1	-1	25.75122	120.7273
2	-1	-1	1	34.20557	163.2939
3	-1	1	-1	39.10109	187.9423
4	-1	1	1	57.51219	280.6401
5	1	-1	-1	19.49386	89.2221
6	1	-1	1	39.78671	191.3943
7	1	1	-1	42.54976	205.3061
8	1	1	1	38.53044	185.0692
9	0	0	0	51.32004	249.4633
10	0	0	0	50.93992	247.5495
11	-2	0	0	45.75928	221.4655
12	2	0	0	36.60752	175.3875
13	0	-2	0	2.542987	3.87653
14	0	2	0	40.06223	192.7816
15	0	0	-2	21.98951	101.7875
16	0	0	2	49.75137	241.5653

\*\*X<sub>1</sub>: extracted temperature X<sub>2</sub>: extracted time X<sub>3</sub>: extracted pressure

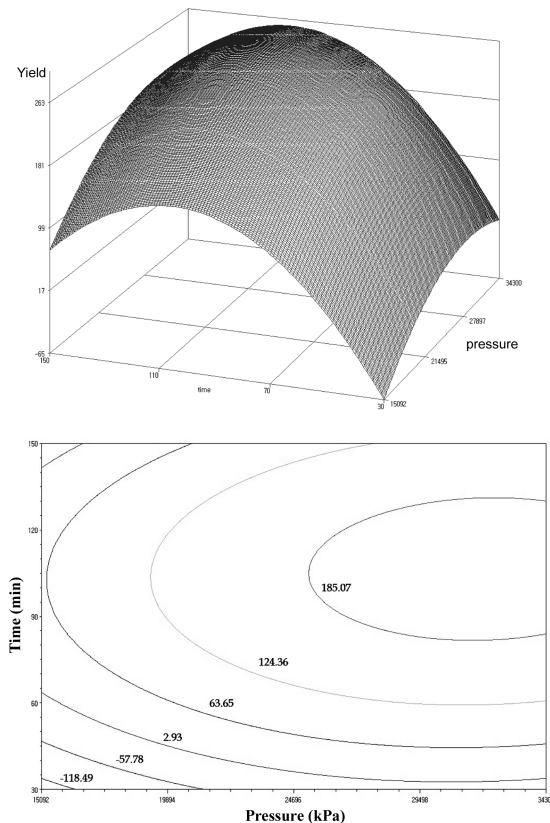


Fig. 3. Response surface contour and contour map of falcariinol content of *Acanthopanax senticosus* as a fraction of S.E.E. extraction at various extraction time and pressure.

$Y_{\text{falcariinol}} = -694.581351 + 6.714155X_1 + 8.130584X_2 + 0.024081X_3 - 0.089679X_1^2 - 0.008559X_2X_1 - 0.037769X_2^2 + 0.000101X_3X_1 + 0.000017243X_3X_2 - 0.000000525X_3^2$ 이며, 추출량의 최고점은 48.821307°C, 108.820684 min, 29427 kPa일 때 265.8347 μg/g 이었다. 이것은 유기용매(Ethanol)로 줄기를 추출 시 양의 72.86% 정도의 회수율을 보였으며 유기용매 추출보다는 낮은 추출율을 보였다. 이러한 추출율의 차이는 초임계 유체 추출에 사용된 CO<sub>2</sub>와 반극성의 성질의 falcariinol간의 극성 차이에서 기인한 것이라 추측되며 또한 추출 조건의 초임계 상태의 CO<sub>2</sub>유체는 유기용매보다 높은 확산속도와 침투력을 가지는데 이것이 다른 화학성분들과의 높은 반응성을 야기시켜 다른 화합물로 전환되었을 가능성도 높다고 사료된다(Rizvi, 1994).

## 요 약

가시오가피의 polyacetylene 성분인 falcariinol을 안정적으로 추출할 수 있는 초임계 유체를 이용하여 최적추출조건을 연구하였다. 유기용매와 부위별 추출 특이성을 살펴보기 위하여 methanol과 ethanol로 줄기와 뿌리 부분을 추출하여 정량한 결과 용매간의 추출율에 대한 뚜렷한 특이성은 없었으며 줄기 부분이 뿌리부분보다 약 4.5배 높았다. 초임계 유체

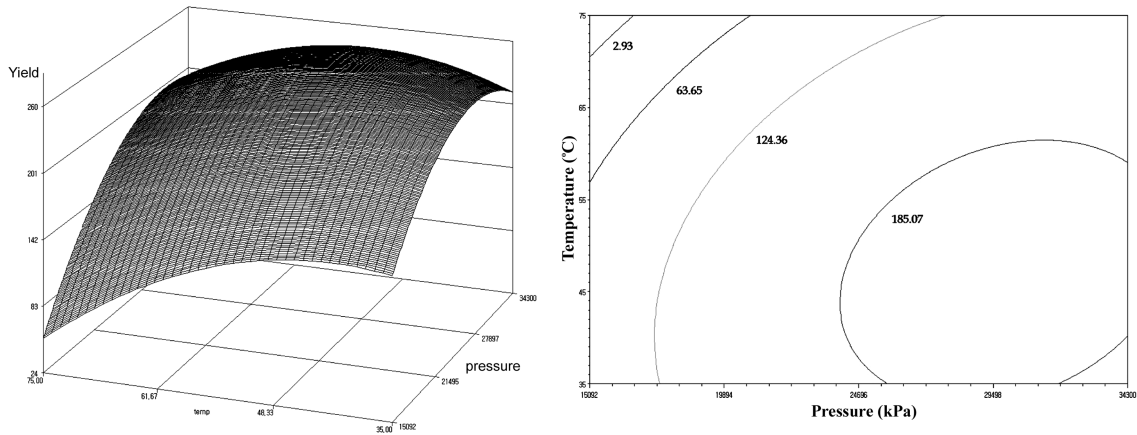


Fig. 4. Response surface contour and contour map of falcarinol content of *Acanthopanax senticosus* as a fraction of S.F.E. extraction at various extraction temperature and pressure.

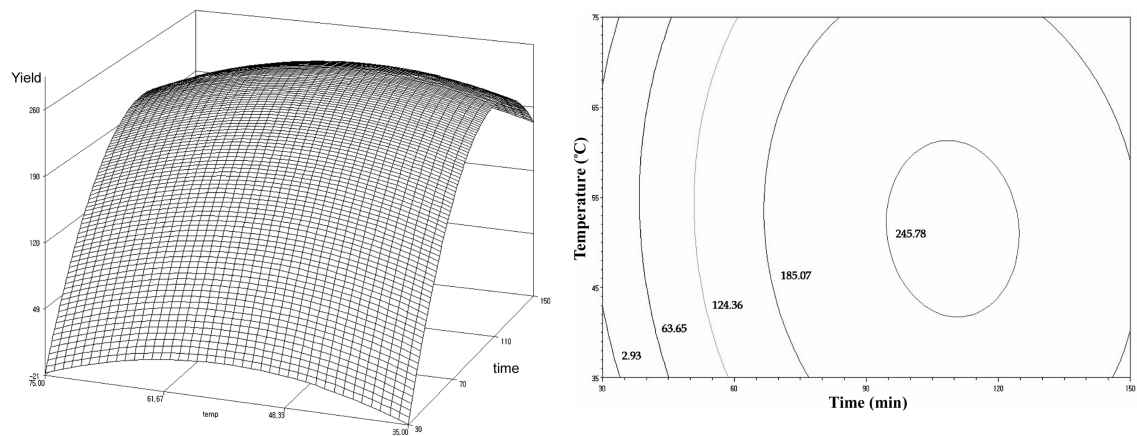


Fig. 5. Response surface contour and contour map of falcarinol content of *Acanthopanax senticosus* as a fraction of S.F.E. extraction at various extraction temperature and time.

추출에 앞서 보조용매는 식품으로서의 적용가치를 고려하여 ethanol로 하고 추출대상은 줄기부분으로 하여 중심합성계획법에 의하여 설계된 16개의 실험군에 따라 추출을 실시하였다. 추출된 추출물은 GC로 분석하여 독립변수를 X<sub>1</sub>(추출온도), X<sub>2</sub>(추출시간), X<sub>3</sub>(추출압력)와 종속변수를 Y(falcarinol의 함량)으로 하여 반응표면분석을 실시한 결과  $Y_{falcarinol} = 694.581351 + 6.714155X_1 + 8.130584X_2 + 0.024081X_3 - 0.089679X_1^2 - 0.008559X_2X_1 - 0.037769X_2^2 + 0.000101X_3X_1 + 0.000017243X_3X_2 - 0.000000525X_3^2$ 와 같은 회귀식을 도출하였으며 이때 추출량의 최고점은 48.821307°C, 108.820684 min, 29427 kPa일 때 265.8347 µg/g 이었다.

### 참고문헌

- S. S. H. Rizvi. 1994. Supercritical Fluid Processing of Food and Biomaterials. St.Edmundsbury Press. U.K.
- Sang Chul Shim and Hun Young Koh. 1983. Polyacetylene Compound from *Panax Ginseng C.A. Meyer*. Bulletin of Korean Chemical Society. **4**: 183-188
- Hyun Joo Sohn, Gi Chul Jang, Hyo Hwan Rah and Kyu Seung Lee. 1990. Occurrence of falcarinol (n-heptadeca-1,9-dien-4,6-dien-3-ol) in the *umbelliferous* plants. J. Korean Agric. Chem. Soc. **33**: 120-124
- Moon Soo Park, Young Jin Kim, Ho Ki Park, Young Sun Chang and Jung Ho Lee. 1995. Using Air Temperature and Sunshine Duration Data to Select Seed Production Site for *Eleutherococcus Senticosus Max*. Korean J. Crop Sci. **40**: 444-450

- Ho Ki Park, Moon Soo Park, Tae Soo Kim, Sun Kim, Kyeong Gu Choi and Ki Hun Park. 1997. Characteristics of Embryo Growth and Dehiscence during the After-ripening Period in *Eleutherococcus senticosus*. Korean J. Crop Sci. **42**: 673-677
- The European Agency for Evaluation of Medicinal Products. 1996. Human Medicines Evaluation Unit. Validation of Analytical Procedures. Methodology. 3AQB: 107-117
- Susanne L Hansen, Stig Purup and Lars P Christensen. 2003. Bioactivity of falcarinol and the influence of processing and storage on its content in carrots(*Daucus carota L*). Journal of the Science of Food and Agriculture **83**: 1010-1017
- Kil Bong Nho, Hyun Joo Sohn. 1989a. Comparative Studies on Methods of Extracting Polyacetylene Compounds from White Ginseng. Kor. J. Ginseng. Sci. **13**: 198-201 14.
- Kil Bong Nho, Hyun Joo Sohn. 1989b. Determination of the Concentration of Panaxynol, Panaxydol and Panaxytriol by Capillary - GC (FID). Kor. J. Ginseng. Sci. **13**: 183-188
- Hyun Joo Sohn. 1992. Safety and Antihepatotoxicity of Petroleum Ether Soluble Components from the Korean Ginseng Roots. PhD thesis. Chungnam National University.