

초임계 추출 공법을 이용해 회향, 유향 및 노간주나무로부터 분리한 정유 성분의 생리활성 비교

이현수* · 문형철* · 박진홍* · 김대호* · 유재은** · 박영식** · 류이하*** · 최근표* · 이현용*†

*강원대학교 바이오 산업공학부, ** (주) 오지텍, *** (주) 진로

Comparison of biological activities of essential oils from *Foeniculum vulgare* Mill, *Boswellia cartei* Birew and *Juniperus rigida* Sieb. by a supercritical fluid extraction system

Hyun Soo Lee*, Chul Hyung Mun*, Jin Hong Park*, Dae Ho Kim*, Jae Eun Yoo**
Young Sik Park**, Lee Ha Ryu***, Keun Pyo Choi* and Hyeon Yong Lee*†

*School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

**O. Z. Tech, Chunchon Bioventure Center., Chunchon 200-801, Korea

***JINRO Ltd., 1448-3, Seocho-dong, Seocho-ku, Seoul 137-866, Korea

ABSTRACT : Essential oils from Fennel fruit(*Foeniculum vulgare* Mill), *Olibanum resin*(*Boswellia cartei* Birew) and *Needl Juniperrus stem*(*Juniperus rigida* Sieb.) were extracted by a supercritical fluid extraction system(SFE) and biological activity of each essential oils were observed. SFE technique was applied for the isolation and purification of nonpolar biologically active essential oils from each samples. The quantitative analysis of essential oils was carried out by gas chromatography-mass spectrometer(GC/MS). About 60% of the growth of AGS and A549 cells were inhibited by adding 1.0g/l of the crude essential oils and below 40% was observed by the control. Cytotoxicity on human normal lung cell(HEL299) was scored as 15~18% for the crude essential oils and 12% for control, respectively. It meant that the essential oils were more effective than the control in anti-mutagenecity tested by CHO V79 cells. The effect of the essential oils on the growth of nerve cells, PC12 was observed as follows: The viable cell density was about two times higher than control.

Key words : *Foeniculum vulgare* Mill, *Boswellia cartei* Birew, *Juniperus rigida* Sieb., essential oil, supercritical fluid extraction system

서 언

전통적으로 여러 천연물이 향기성분을 이용한 다양한 질병치료와 향신료로 사용되어져 왔다. 회향은 민속주 제조에 있어 부재료로 사용되는 식물성 방향제로 사용되었으며, 유향은 침술을 이용한 시술시 향을 이용해 진

통효과를 일으켜 시술이 용이하게 하였다(Jo et al.,1999; Park et al., 1994). 반면 노간주나무의 경우에는 구체적 인 이용분야와 가치가 확인되어지고 있지 않고 있다. 이처럼 질병의 치료와 예방을 위해 천연물로부터 유용성 성분을 분리하기 위해 많은 연구방법이 제시되어져 왔다. 특정의 유효 성분을 분리하기 위해 일반적으로 높은 온도

† Corresponding author : 200-701, 강원도 춘천시 효자 2동 192-1, E-mail : hyeonl@cc.kangwon.ac.kr

Received 27 March 2003 / Accepted 5 June 2003

에서 추출용매를 이용한 추출법이 주류를 이루고 있다. 그러나 이는 높은 온도를 장시간 사용해야 함으로서 발생하는 유용성분의 변성 및 파괴 등이 야기됨으로 효과적인 추출법 이라고 할 수 없다. 또한 용매를 사용함에 있어서도 사용된 용매에 유용성분 일부가 잔존할 가능성이 남아 있다(McHugh & KruKonis., 1986; Choi et al., 1999; Choi et al; 1998).

위와 같은 단점을 보완한 초임계 유체에 의한 추출공정은 이를 대체할 신기술로 평가되고 있다. 이 방법은 특정 성분을 추출·분리하는 식품, 의약품 및 향료공업에 이용되었고, 석유공업에서 잔류유 추출, 토양과 수질에 존재하는 유해한 유기물의 제거 및 초임계 유체의 빠른 팽창으로 초미립자 생성에도 적용되고 있다. 이에 사용되는 유체는 다수가 있으나 현재 가장 많이 사용하는 것은 이산화탄소로서 불연성 및 무독성이며 임계온도가 상온에 가깝기 때문에 최근 대부분의 공정에서 사용하고 있다(Choi et al., 1998; Lucien & Foster., 2000). 기존의 향기 추출법인 SDE(simultaneous steam distillation & extraction) 방법은 특정 용매를 이용하여 장시간동안 추출한 후 농축하여 분리함으로써 초임계 추출시간인 3시간보다 오랜 시간이 걸린다는 단점이 있다(Yook et al., 1997).

이렇게 초임계 추출법의 개발로 인한 개선된 점은 임계온도가 100℃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 간단

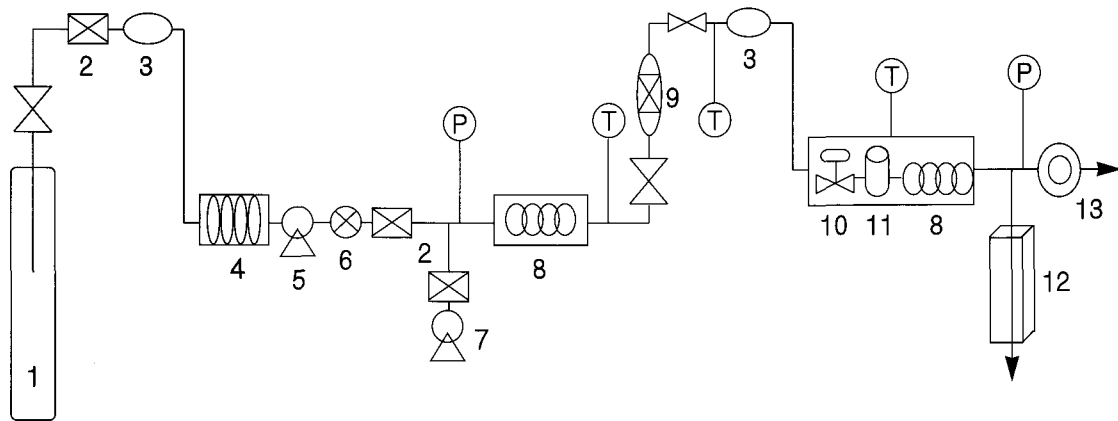
한 조작으로 가능하고 초임계 유체의 높은 선택도와 용해 효과를 화학제품의 원료 및 중간재 생산이나 잔류물에서의 고가성분 회수 등에 이용할 수 있으며, 분리공정의 전후 처리과정을 한 공정 안에서 수행 할 수 있어 장치비, 추출시간 그리고 에너지 사용량을 절감할 수 있어 높은 경제성을 가지는 장점을 가지는 유용한 추출법이다(McHugh & KruKonis., 1986).

이에 본 연구에서는 전통적으로 향기성분으로 사용된 회향, 유향 그리고 노간주에 대해 초임계 추출법을 통해 정유성분을 추출하여, 기존에 추출법을 통해 추출할 수 없는 특정의 정유성분을 추출하고, 이의 생체 조절 기능을 검증하기 위해 항암, 항 돌연변이, 신경세포 활성화에 대한 실험을 통해 효과를 검증함으로써 이들의 생체 조절자로서의 가능성을 부여하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료 및 초임계 추출조건

본 실험에 사용된 회향(*Foeniculum vulgare* Mill), 유향(*Boswellia carterii* Birew)은 열매부를 그리고 노간주나무(*Juniperus rigida* Sieb.)는 줄기부를 사용하였으며, 회향과 유향은 서울에 위치한 경동시장에서 국내산을 구입하였으며, 노간주나무는 임업연구원에서 기증 받아 사용하였다. 시료는 증류수로 세척한 후 음건한 다음, 세절기를 이용하여 가늘게 절단하였다. 그리고 초임계 추출장치의 vessel부로 시료를 넣기 위해 살균된 거즈를 이용하여 100g 씩 담아 누출이 없게 잘 밀봉한 다음 vessel부에



- | | | |
|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------|
| 1. CO ₂ cylinder | 2. Check valve | 3. Filter |
| 4. Cooling bath | 5. High pressure pump | 6. Safety valve |
| 7. Cosolvent pump | 8. Preheater | 9. Extractor |
| 10. Metering valve | 11. Back pressure regulator | 12. Separator |
| 13. Gas meter | P. Pressue gauge | T. Temperature indicator |

Fig. 1. Schematic diagram of supercritical fluid extraction(SFE) apparatus.

투입하였다. 추출조건으로 vessel부의 압력은 3000~3500psi이며 온도는 35~45℃로 유지하였다. 총 가압 시간은 시료 투여 후 3시간이었으며 가압 후 추출시 추출기의 온도는 60℃로 유지하였다.

2. 추출물의 성분 분석

추출물의 성분분석을 위해 GC/MS(8000 top series/Autospec M363 series)를 이용하였으며, 분석 조건은 Table 1과 같다.

Table 1. Operating condition of GC/MS for the identification of the essential oil compounds in *F. vulgare*, *B. cartei*, and *J. rigida*

Items	Conditions
Gas Chromatograph	8000 top series
Column	HP-5(25 m×0.32 mm×0.17 μm)
Injector temp.	250℃
Oven temp.	80℃-20℃/min-200℃(5min)-250(3min)
Column flow	0.5 ml/min, He
Injection volume	1.0 μl
Mass spectrometer	Autospec M363 series
Ion source	EI, 70eV
Scan range	35-500 m/z
Resolution	2,000

3. 암세포의 성장 저해 및 세포 독성 실험

SRB(sulforhodamine B) assay는 세포 단백질을 염색하여 세포의 증식이나 독성을 측정하는 방법으로 실험 대상 세포인 A549, AGS, HEL299(10% FBS, RPMI 1640 배지)의 세포 초기 접종농도를 4~5×10⁴ cell/ml으로 96 well plate의 각 well에 100μl씩 첨가하여 24시간 동안 배양(37℃, 5% CO₂)한 후, 각각의 시료를 최종농도 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 g/l 로 100μl씩 첨가하여 48시간 동안 배양하였다. 배양 후에 상등액을 제거하고 차가운 10%(w/v) TCA(trichloroacetic acid) 100μl를 가하여 4℃에서 1시간동안 방치한 후 증류수로 4~5회 세척하여 TCA를 제거하고 실온에서 plate를 건조한 뒤 각 well에 1%(v/v) acetic acid에 녹인 0.4%(w/v) SRB용액을 100μl씩 첨가하고 상온에서 30분 동안 염색시켰다. 결합되지 않은 SRB 염색액은 1% acetic acid로 4~5회 정도 세척, 건조시킨 후에 10 mM Tris buffer 100μl를 첨가하여 염색액을 녹여낸 후 540nm에서 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다(Rubinstein et al., 1990).

SRB assay를 이용하여 정상 세포에 대한 각 sample

농도에서 세포독성을 측정하고, 또한 각 암 세포주의 생육 억제 활성을 측정한 후 각 농도에서의 세포 독성에 대한 암세포 생육 억제 활성의 비로 selectivity를 계산한다.

$$\text{selectivity} = \frac{\text{암세포 생육 억제 활성}}{\text{정상 세포에 대한 세포 독성}}$$

4. 돌연변이 유발 억제 효과 실험

실험에 사용된 세포주는 Chinese hamster lung cell(CHO V79 strain)로 이 세포주는 Ford와 Yerganian에 의해 어린 hamster의 lung에서 분리되어진 21개의 염색체를 갖는 karyotype(chinese hamster, 2n=22)이다. 배양배지는 Minimum Essential Medium(MEM)배지에 적응시켜 10% fetal bovine serum, 0.25% trypsin, 37.5℃, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 실험에 사용하기 전에 6-TG resistant 세포를 선별하기 위해 액체질소에서 보관하던 세포를 37.5℃에서 녹인 다음 GHAT medium을 포함하는 신선한 배지에서 24시간동안 배양하여 자연복귀 된 세포를 제거한 다음 배양배지로 배양한다. 계대 배양시 세포는 자연복귀가 일어날 수 있으므로 10회 이상 계대배양을 행하지 않는다(Maria et al., 1995).

항 돌연변이원성을 측정하기 위하여 6TG-resistant cell을 5×10² cell/ml의 농도로 24 well plate에 접종하여 24시간 배양 후 배지를 교체하여 주고, 여러 시료와 대조구인 4NQO를 농도별로 투여한 다음 3시간 후 배지를 교체하여 주었다. 36시간 배양한 후 5 μg/ml의 6TG를 포함하는 배지로 교체하여 48시간 더 배양한 뒤 MTT 방법에 의하여 실험군의 항 돌연변이 원성을 측정하였다.

5. 신경세포의 생육촉진 활성 측정

각 시료의 신경분화 활성측정을 위해 pheochromocytoma (PC12) 신경세포주를 이용하였다. 10% FBS를 함유한 RPMI 1640의 기본배지에서 배양된 세포를 0.25% trypsin-EDTA로 배양 flask로부터 떼어낸 후 7.5×10² viable cells/well의 농도로 24 well plate에 900μl를 접종하였다. 접종 24시간 후에 각 시료를 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 g/l 의 농도로 100μl를 첨가하여 36.5℃, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다(Robert et al., 1988; Rukenstein & Green, 1983; Shinichiro et al., 1994).

1) 세포 생육활성측정

총 7일간의 배양기간동안 매일 생 세포수를 관찰하였으며, 이를 위해 trypan blue dye exclusion 방법으로 세포수를 관찰하였다. 세포의 생육활성은 세포들이 사멸기에 접어들어 시료투여 8일 후 측정된 세포 생존률을 기초로 하였다.

2) 신경돌기의 연장길이 및 신경돌기를 지나는 세포수의 측정

시료를 각 농도별로 100 μ l를 첨가하여 매일 현미경($\times 100$) 사진 촬영을 실시하였다. 이 현미경 사진을 이용하여 신경돌기의 길이를 측정하여 본래의 길이로 환산하여 신경돌기의 길이로 하였다. 각각의 사진에서 신경돌기의 길이가 가장 길게 연장된 세포를 기초로 하여 본 실험에 이용하였다. 신경돌기를 지나는 세포는 현미경상에서 측정하였다. 신경돌기가 세포동체와 같거나 보다 큰 세포를 신경돌기를 지나는 세포로 하였다. 본 실험에서는 100개 이상의 세포를 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 추출 수율

각 천연물의 초임계 추출법을 통한 정유성분의 추출수율을 Table 2에 나타내었다. 기존에 사용된 SDE (Simultaneous steam distillation & extraction)을 통해 추출한 정유성분의 수율도 첨가하여 비교한 결과(Kim et al., 2000), 기존 SDE방법에 비해 초임계 추출방법에 의한 정유 성분 추출시 회향의 경우 4.0%(v/w)로서 같은 SDE 추출법을 통해 분리된 2.4%(v/w)보다 초임계 추출법을 통한 분리방법이 더 높은 수율을 나타내었으며, 반면 노간주나무의 경우 SDE 추출법을 통한 수율이 각각 3.2%(v/w)로 초임계 정유 추출법의 2.4%(v/w)보다 높게 나타난 것을 확인하였는데, 이는 기존의 SDE 추출법의 경우 용매를 사용하여 증류하는 방식이기 때문에 시료에 사용된 용매에 용해되는 성분이 대량으로 존재할 경우, 용매를 사용하지 않는 초임계 추출법보다 높은 추출 수율을 얻을 수 있을 것이라 사료되며, 노간주나무의 경우는 목질부이며, 반면 유향이나 회향은 과실부이므로 추출용매가 사용된 SDE 추출법이 초임계 CO₂를 이용한 추출법보다 높은 수율을 얻을 수 있었으리라 사료된다.

Table 2. The extraction yield of three samples using SFE and SDE.

Samples	Yield(% , v/w)	
	SFE	SDE
<i>F. Vulgare</i>	4.0	2.4
<i>B. cartei</i>	3.5	3.1
<i>J. Rigida</i>	2.4	3.2

2. 정유성분의 성분분석

초임계 추출법을 통해 *F. vulgare* Mill, *B. cartei* Brieu

그리고 *J. rigida* Sieb.로부터 정유 성분의 성분분석을 Table 1과 같은 방법으로 수행하였으며 MS data에 대한 비교 및 분석 결과를 Table 3에 나타내었다. 분석 결과는 Table 3에서 나타난 것과 같이 회향은 octyl ester 과 scaleol을 포함한 총 10개의 성분이 확인되었으며 그리고 유향은 1-octanol 과 duvatriendiol을 포함한 총 7개의 성분이 확인되었다. 노간주나무는 cyclopentanol과 longipinene을 포함한 총 9개의 성분과 2개의 이성질체를 확인하였다. 성분분석 결과 회향과 유향의 성분 대부분이 중복되는 것을 확인하여 2회 반복 분석을 실시하였으나 같은 결과를 보여줌으로서 회향과 유향의 정유성분이 큰 차이가 없는 것을 확인하였다. 반면 노간주나무의 경우에는 이들 2가지의 정유추출물과 일치되는 성분이 거의 나타나지 않았다. 열매부인 회향과 유향과는 달리 노간주나무의 목질부를 이용한 정유성분의 추출 후 성분분석 결과 열매부와 목질부의 성분이 많은 차이를 나타냄으로 이후 다른 천연물에 대한 정유 분석시 부위별로 세심한 분석이 요구되어진다고 사료된다.

Table 3. Comparison of volatile constituents in *F. vulgare*, *B. cartei*, and *J. rigida*

Compounds	<i>F. vulgare</i>	<i>B. cartei</i>	<i>J. rigida</i>
n-Octyl acetate	+	+	-
2-Cyclohexen-1-ene	+	+	-
Isobonyl acetate	+	-	-
1-Octanol	+	+	-
Scaleol	+	-	-
1, 5, 9-Cyclotetradecatriene	+	+	+
Cyclohexene	+	+	+
Verticiol	+	+	-
trans Sabinene hydrate	+	-	-
Duvatriendiol	+	+	-
Torreyol	-	-	+
Naphthalene	-	-	+
Longipinene	-	-	+
1H-3a, 7-Methanoazulene	-	-	+
Cyclopentanol	-	-	+
Ferruginol	-	-	+
Norolean-12-ene	-	-	+

+, - means present and absent

3. 암세포의 성장 저해 및 세포 독성 결과

각 시료로부터 초임계 추출한 각각의 정유 성분을 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 g/l 의 농도로 투여하여 인간 정상 폐 세포주인 HEL299에 대한 세포 독성과 인간 폐암세포주

인 A549 그리고 인간 위암세포주인 AGS에 대한 생육 저해능을 알아보았다. Fig. 2는 각 정유성분들의 세포독성을 나타낸 그림으로 모든 시료가 농도 의존적인 세포독성을 보였으며 최고 농도인 1.0 g/l 에서 유향이 약 14%로 다른 시료에 비해 가장 낮은 세포독성을 보였다. Fig. 3은 폐암 세포에 대한 억제능과 선택적 사멸도(selectivity)를 나타낸 그림이다. 3가지 시료 모두 농도 의존적인 저해능을 보였으며, 저농도인 0.4, 0.6 g/l 의 농도에서는 유향이 60%내외로 비교적 높은 암세포 억제능을 보였지만 최대농도 1.0 g/l 에서는 회향이 약 70%로서 다른 시료에 비해 높은 억제능을 보여주었다. 선택적 사멸도는 3가지 시료 모두 4~6의 사멸도를 나타내었다. 이는 선택적 사멸도의 수치가 1.5 이상일 경우 암세포에 대한 선택성이 존재하여 생육을 억제한다고 볼 수 있다. 실험결과 3가지 시료 모두다 1.5 이상의 선택적 사멸도를 나타내 암세포에 대한 선택성이 있는 것으로 확인되었다. Fig. 4는 위암세포에 대한 억제능을 나타낸 그

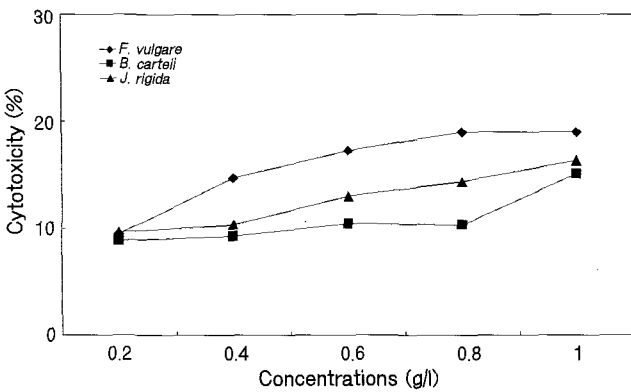


Fig. 2. Cytotoxicity of the essential oils on the growth of human normal lung cell line, HEL299.

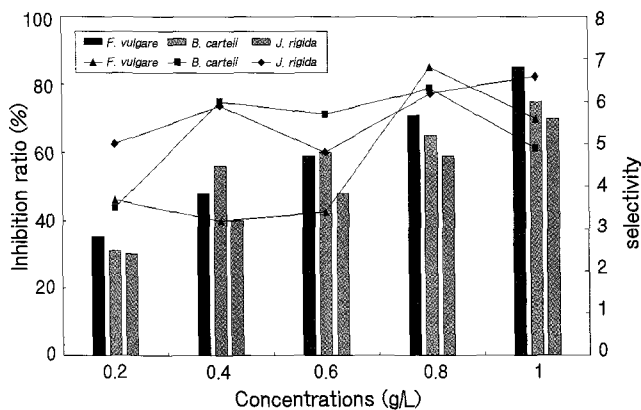


Fig. 3. Inhibition ratio of growth of human lung carcinoma, A549 (bar chart) and selectivity (line) in adding the samples.

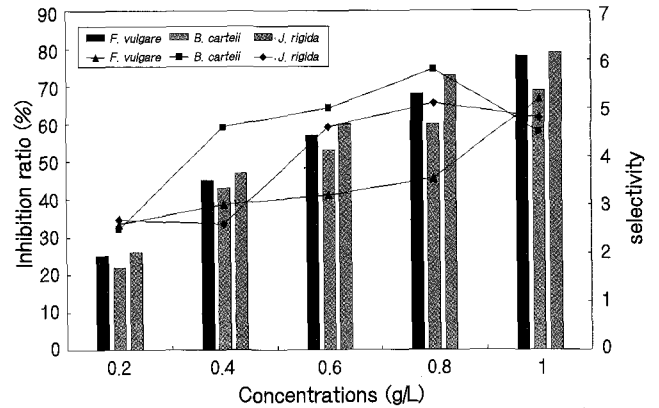


Fig. 4. Inhibition ratio of growth of human stomach adenocarcinoma, AGS (bar chart) and selectivity (line) in adding the samples.

림으로 모든 시료가 농도 의존적인 저해능을 보여주었다. 그 중 가장 높은 저해능을 보인 것은 회향으로 최대 농도인 1.0 g/l 에서 약 80%로서 다른 시료들에 비해 보다 높은 암세포 저해능을 보여주었다. 선택적 사멸도는 4~6으로 나타났다. 위 실험을 통해 각 정유성분의 암세포에 대해 높은 저해능을 확인할 수가 있었는데, 이는 시료인 정유성분 내에 존재하는 휘발성 알콜 계열의 성분들에 의한 암세포에 대해 특이적인 저해능을 보임으로서 이후 *in vivo* 실험을 통해 억제 기작을 규명할 수 있다면 이후 기능성 의약품으로서 잠재적 가능성을 제시할 수 있을 것이라 사료된다.

4. 돌연변이 유발 억제 효과 측정

CHO V-79 세포주에 대해 각 초임계 정유추출물과 4-NQO와 혼합 처리하여 돌연변이 유발능에 대한 억제율을 살펴본 결과를 Table 4에 나타내었다. 모든 시료에서 농도 의존적으로 억제율이 증가하는 것을 확인하였다. 가장 높은 억제율을 보인 것은 유향으로 최고 농도인 1.0 g/l 에서 억제율이 45.3%로 나타났다. 이는 김(Kim et al., 2000)의 연구에서 밝힌 고본의 정유추출물에 대한 돌연변이 억제효과에서 1.0 g/l 에서 36.8%를 보인 것에 비하면 수치상으로 높은 억제효과를 보여주었다. 유향 정유추출물이 정상 세포에 대한 변이를 억제시키며 암세포에 대해서 특이적인 강한 항암효과를 나타내는 것을 확인함으로써 유향 정유 성분 내에 MNNG와 균주의 DNA와 RNA와의 결합을 억제하는 물질을 많이 함유한다는 것을 확인하였다. 이후 현재 항암제의 문제점으로 지적되고 세포독성과 변이에 대한 문제를 해결할 수 있는 잠재적 해결책으로서 정유 성분의 가능성을 제시하는 것이라 사료된다.

Table 4. Anti-mutagenic effects on essential oils of supercritical fluid extraction from each samples by using CHO V79 cell line treated with 4-NQO.

Samples	Dose(g/L)				
	0.2	0.4	0.6	0.8	1
<i>F. vulgare</i>	7.5*	13.7	17.4	24.5	27.4
<i>B. cartei</i>	15	25.3	28.4	42.4	45.3
<i>J. rigida</i>	5.5	13.2	14.5	22.1	25.3

* (%)

5. 신경활성측정

각 천연물의 초임계 추출물에 대한 신경활성 결과를 Table 5에 나타내었다. 모든 시료에서 농도 의존적으로 생육도가 증가하는 것을 볼 수 있었다. 그 중 가장 높은 생육도를 보인 것은 회향의 초임계 추출물로서 9.6×10^3 cells/ml로 다른 시료들보다 높은 생육도를 보였다. 신경돌기 형성세포와 신경돌기연장에 대한 결과에서도 모든 시료가 농도 의존적으로 생육도가 증가했고, 그 중 가장 좋은 활성을 나타낸 것은 최고 농도(1.0 g/l)에서 회향으로 4.0×10^3 cells/ml로 나타났다. 또한 신경돌기 연장실험에서도 모든 시료에서 농도 의존적으로 신경돌기가 연

Table 5. Neuronal differentiation activities of PC12 nerve cells in adding the each samples.

	Concentrations (g/L)	Neuronal differentiation activities		
		Viable cell density ($\times 10^2$ cells/ml)	Neurite-bearing cell ($\times 10^2$ cells/ml)	The length of neurite (μ m)
<i>F. vulgare</i>	0.2	15	7	45
	0.4	35	15	120
	0.6	55	28	146.6
	0.8	75	35	188.9
	1.0	96	40	237.3
<i>B. cartei</i>	0.2	10	6	30
	0.8	25	13	65
	0.6	45	25	103.5
	0.8	65	33	144.3
	1.0	77	35	176.8
<i>J. rigida</i>	0.2	9	6	27
	0.4	29	12	60
	0.6	48	23	115
	0.8	69	27	130.7
	1.0	79	32	188.9

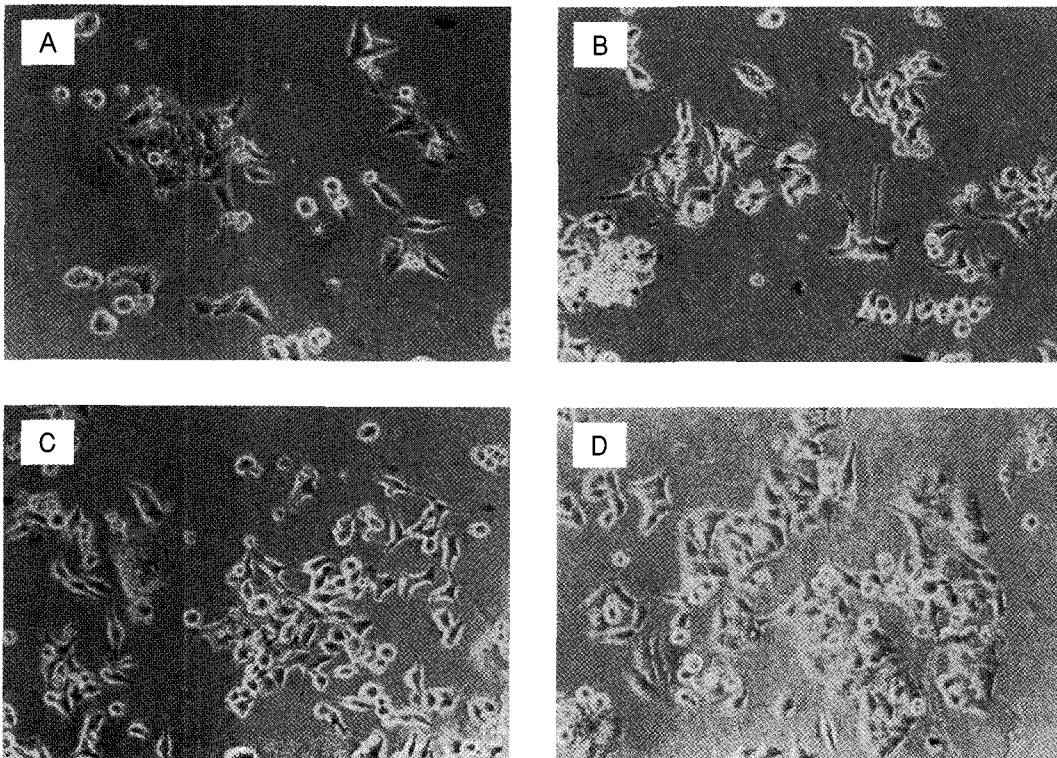


Fig. 5. The morphology of PC12 nerve cells neurite in no adding (A) or adding the essential oils from *F. vulgare* (B), *B. cartei* (C) and *J. rigida* (D) after 4th days cultivation.

장되었다. 가장 좋은 활성을 보인 것은 회향으로 237 μm 로 나타나 다른 시료들에 비해 신경돌기 연장능이 높게 나타났다. 이 사실로 기초하여 회향의 초임계 정유 추출물의 휘발성 알콜 계열에 성분들이 신경세포에 대해 강한 활성을 보인다는 것을 확인하였다. 이는 최근의 심각한 노인성 문제로 대두되고 있는 신경계 질병인 알츠하이머 병에 대한 새로운 치료제로서의 가능성을 제시하는 대목이어서 이에 대한 심층적인 연구가 수행되어야 한다고 생각된다.

사 사

본 연구는 농림부 농림 기술 개발사업(과제관리번호: 50102-3)의 지원에 의해 수행되었으므로 이에 심심한 사의를 표합니다.

적 요

전통적인 향기치료제로 쓰여온 회향, 유향 그리고 노간주를 사용하여 최근 신기술로 평가되고 있는 초임계 유체 추출법을 통해 생체 조절기능을 지닌 기능성 정유 성분을 추출하였다. 기존의 SDE 추출법과 비교하여 추출수율 측면에서 비교적 높은 결과를 얻어내어 정유 추출시 장치 SDE 추출법을 대체할 신기술로 평가되었다. 추출용매를 사용해야 하는 SDE 추출법과는 달리 무색, 무취인 CO_2 를 이용하여 정유 성분을 분리하는 초임계 추출법은 인체에 무해한 정유 성분을 얻을 수 있다는 것이 가장 큰 장점이라 사료되며, 분리된 정유 물질에 대해 성분 분석 결과 대부분이 휘발성 알코올 계열에 물질임을 확인할 수 있었다. 정유성분들에 대한 생리활성 실험결과 항암, 항 돌연변이 그리고 신경활성이 아주 높은 것으로 나타나 aroma-therapy로서의 가능성을 제시하였다고 사료된다. 나아가 이 정유성분에 대한 in vivo 실험을 통해 기초 의약품으로서 연구가 수행되어진다면 전통적인 치료제로서 사용된 천연물에 대한 현대적 가치부여가 가능하다고 생각된다.

LITERATURE CITED

- Jo JO, Kim SM and Kim KS. (1999) Analysis of Asarone, Coumarin and Thujone in Medicinal Plants Used in Brewing a Korean Traditional Folk Wine. *J. the Korean Agricultural Chemistry and Biotechnology* 42(3) : 210~217
- Park DS, Ahn BC and Ahn SJ. (1994) The analgesic effect of aqua - acupuncture with *Corydalis Tuber*, *Olibanum Mastix & Myrrha*" *K.A.M.S* 11(1) : 145~159
- McHugh MA and Krukonis VJ. (1986) "Supercritical Fluid Extraction, Principle and Practice", Butterworths, Stoneham, MA
- Choi YH, Kim J and Yoo KP. (1999) Selective extraction of ephedrine from *Ephedra sinica* using mixtures of CO_2 diethylamine, and methanol. *Chromatographia* 50 : 673~679.
- Choi YH, Kim J, Jeon SH, Yoo KP and Lee HK. (1998) Optimum SFE condition for lignans of *Schisandra chinensis* fruits. *Chromatographia* 48 : 695~699.
- Choi YH, Ryu JH, Yoo KP, Chang YS and Kim J. (1998) Supercritical carbon dioxide extraction of Podophyllotoxin from *Diosma pleinata* Roots. *Planta Med.* 64 : 482~483.
- Lucien FP and Foster NR. (2000) Solubilities of solid mixtures in supercritical carbon dioxide: A Review. *J. Supercritical Fluids* 17(2) : 111
- Yook CS, Kang CK, Inn MK, Kim KO and Kim CW. (1997) The essential oils of *Ligusticum tenuissimum* Roots. *Yakhak Hoeji* 41: 273~276.
- Rubinstein LV, Shoemaker RH and Boyd MR. (1990) Comparison of *in vitro* anticancer drug-screening data generated with a tetrazolium assay versus a protein assay against a diverse panel of human tumor cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.* 82: 1113~1118.
- Maria LC, Giuseppe P, Massimo P and Marco T. (1995) Studies on the insecticidal activities of some new N-benzol-N'-arylureas. *Pestic. Sci.* 45 : 227~236.
- Robert H, Macy M, Chen TR, McClintock P and Reid Y. (1988) "Cell line and hybridomas", American Type Culture Collection, Rockville, Maryland
- Rukenstein A and Green LA. (1983) The quantitative bioassay of nerve growth factor. use of frozen 'primed' PC12 pheochromocytoma cells. *Brain Research.* 263 : 177~180.
- Shinichiro T, Katsuhiko A, Mayumi Y and Yuzuru M. (1994) PS-990 a novel neurotrophic compound from *acremonium* sp. *J. Antibiot.* 47 : 1175~1181.
- Kim MH, Kim YG, Lee JH, Hong KP, Kong YJ and Lee HY. (2000) Screeing of biologically active essential oils from *Ligusticum tenuissimum*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 28(2) : 97-104.