

솔잎의 피노실빈 고함유 추출물 생산을 위한 초음파 추출 공정 개발

Development of Ultrasonication-assisted Extraction Process for Manufacturing Extracts with High Content of Pinosylvin from Pine Leaves

조용진 이상국 안용현 피재호
정회원
Y. J. Cho S. K. Lee Y. H. Ahn J. H. Pyee

ABSTRACT

Pinosylvin, a stilbenoid phytoalexin, is a health ingredient to be extracted from pine leaves. In this study, ultrasonication-assisted extraction process for manufacturing extracts with high content of pinosylvin from pine leaves was investigated. As process and system variables, ultrasonic power, sonication time and solvent ratio were selected. According to the experimental results, the effective yield of pinosylvin increased with the increase of ultrasonic power and sonication time and the decrease of solvent ratio. When the ultrasonic power of 2400 W/L was added to the solution of pulverized pine leaves of 8 g per 1 L of a solvent for 10 minutes, yield of extracts and purity, effective yield and concentration ratio of pinosylvin were 0.3166 g/g, 0.7247 mg/g, 0.2294 mg/g and 23.0, respectively.

Keywords : Ultrasonication, Extraction, Pinosylvin, Pine leaves.

1. 서 론

21세기 과학기술이 인간의 건강에 대해 가지는 관심은 어느 시대보다 고조되어 있다. 이로 말미암아 BT 분야는 미래 과학기술에서 핵심기술의 하나로 부상하였고, 특히 식물자원을 이용한 식품 및 의약품의 소재화 연구는 가장 중요한 요소기술로 인식되어 연구가 활발히 이루어지고 있다. 소재화 연구는 물질탐색을 위한 물질과학(materials science), 효능평가를 위한 의·약학(medicinal and pharmaceutical science), 효율성과 경제성을 고려한 공정공학(process engineering) 등의 다양한 학문 영역들의 협력에 의해 소기의 성과를 효과적으로 달성할 수

있다.

피토알렉신(phytoalexin)은 식물이 미생물과 접촉 하였을 때 식물에 의해서 합성, 축적되는 저분자의 항균성 화합물의 총칭이다. 피노실빈(pinosylvin: 3,5-dihydroxy-*trans*-stilbene)은 피토알렉신의 하나로서 소나무의 심재 및 솔잎에서 발견되는 물질이다 (Holmgren 등, 1999). 최근 스틸베노이드(stilbenoid) 계열의 물질이 가지는 약리 작용에 대한 관심이 부각되고 있으며, 특히 이 계열의 물질 중의 하나인 레스베라트롤(resveratrol)이 가지는 항산화, 항종양 등의 효과가 대한 보고가 1997년 1월 호의 Science 에 보고된 이후 더욱 많은 관심이 집중되고 있다 (민 등, 2003). 이러한 레스베라트롤을 얻을 수 있는

This study was supported by a research grant from Health Technology Planning & Evaluation Board, Korea. The authors are Yong-Jin Cho, Principal Researcher, Korea Food Research Institute, Korea, Sang-Kook Lee, Associate Professor, College of Pharmacy, Ewha Womans University, Korea, Yong-Hyun Ahn, Professor, Department of Chemistry, Dankook University, Korea, and Jae-Ho Pyee, Associate Professor, Department of Molecular Biology, Dankook University, Korea. The corresponding author is Yong-Jin Cho, Principal Researcher, Korea Food Research Institute, Songnam, Korea. E-mail: <yjcho@kfri.re.kr>.

생물자원으로서 포도가 있으며, 국내에서도 포도의 부위별로 이에 대한 함량 분석을 실시한 바 있다(조 등, 2003). 피노실빈은 스틸베노이드 계열의 물질로서 레스베라트롤과 유사한 화학적 구조를 가지고 있으며, 항산화, 항종양 등의 효능을 가지고 있는 것으로 보고되고 있다(Skinnider와 Stoessl, 1986). 이러한 생물활성을 갖는 피노실빈은 식품, 의약품, 화장품 등의 소재로 이용될 수 있다.

한편, 중국의 한방고서인 본초강목, 중약대사전에 의하면(김, 1997), 솔잎이 피를 맑게 하고, 혈행을 도우며, 염증, 부기 등을 치료하고, 풍을 제거하며, 진통, 진정의 효과와 감기 및 기관지 천식 예방 효과가 있으며, 류마티스성 관절염의 통증 제거에 효과가 있다고 전해지고 있다. 최근, 김 등(1998)과 김 등(1999)은 솔잎 추출물의 항산화성과 암세포 성장 억제효과를 검토한 적이 있다.

그러나, 지금까지의 피노실빈 또는 솔잎 추출물에 대한 연구사례를 종합해 보면, 피노실빈이 명기된 경우 원료에 대한 고려 없이 순수물질로서의 피노실빈이 가지는 생물활성효과를 탐색한 연구가 발견되고 있으며(Skinnider와 Stoessl, 1986), 한편으로는 단순히 솔잎 추출물을 제조한 후 그 추출물의 생물활성 효과를 검토한 연구가 소개되어 있다(김 등, 1998; 김 등, 1999). 후자의 경우에는 피노실빈에 의한 효과로 규정하기가 매우 어려운 형편이라 할 수 있다. 이러한 연구동향에서 알 수 있듯이 피노실빈에 대한 연구사례에서 생물자원을 고려하고 있는 경우는 거의 없는 실정이다.

결국, 유익한 생물활성물질이 생물산업적 소재로서 활용될 수 있도록 하기 위해서는 생물활성물질에 대한 탐색과 효능평가와는 별도로 제조공정에 대한 검토가 뒷받침되어야 한다. 그럼에도 불구하고, 아직 생물자원을 고려하여 피노실빈을 고함유한 추출물을 생산하고자 하는 공정에 대한 연구는 국내외적으로 찾아볼 수가 거의 없는 실정이다.

현재, 생물자원으로부터 유용한 소재를 생산하기 위해 적용할 수 있는 추출 및 분리 공정으로 여러 가지가 있다. 특히, 추출 공정은 화학적 방법(Cho와 Hwang, 2000), 물리적 방법(조 등, 1999), 효소적 방법(이 등, 1999a; 이 등 1999b; 최와 조, 2000) 등으로 구분할 수 있다. 이러한 여러 가지 방법 중에서 현재 보편적으로 사용되고 있는 추출 방법은 생산성 및 품질관리 측면에서 화학적 방법이라 할 수 있다.

그런데, 화학적 추출 방법은 대부분 유기용매를 이용하여 고온에서 장시간(일반적으로 수시간에서 수일이 소요됨) 추출하는 조건을 활용하고 있기 때문에 작업환경, 안전성, 시간 등의 측면에서 새로운

대체공정의 개발이 절실히 요구되고 있다. 피노실빈과 같은 계열의 레스베라트롤을 추출하고자 할 때 약간의 초음파를 가하게 되면 실온에서 수분간만 반응시키더라도 유기용매만을 이용하여 60℃에서 30분간 추출한 경우보다 추출효과가 우수한 결과를 얻은 바 있다(조 등, 2002).

따라서, 본 연구는 식품, 의약품, 화장품 등의 원료가 되는 생물소재를 생산하는 데 있어 솔잎을 자원으로 하여 피노실빈을 고함유하는 추출물을 생산하는 공정을 개발하기 위하여 수행되었다.

2. 재료 및 방법

가. 공시재료

강원도 원주시 소재의 산에서 채취한 솔잎을 단국대학교 식물분자생물학연구실에서 피노실빈 함량을 증폭하는 전처리를 하였으며, 이를 동결건조한 후, 충격식 분쇄기를 이용하여 분쇄하고, 입도를 ASAE Standard S319.2(ASAE, 1994)에 의해 분석하였다.

나. 추출 처리

예비실험에서 얻어진 결과를 토대로 피노실빈의 용해도를 고려하여 유기용매는 에탄올/물 8:2(부피/부피 비)로 하여 시료에 대한 용매비(solvent ratio or sample weight/solvent volume, Rs)를 8 g/L로 설계하였다. 설계된 용매를 이용하여 용액의 단위 부피당 초음파 출력(ultrasonic power per unit solution volume, Es)과 추출시간을 공정 및 시스템 변수로 하여 실온에서 추출실험을 실시하였다. 초음파 발생기는 47 kHz에서 작동하는 저출력용(Model Bransonic 5210, Branson Ultrasonics Corporation, Danbury, CT, USA)과 20 kHz에서 작동하는 고출력용(Model Ultrasonic Dismembrator 500, Pittsburg, PA, USA)을 사용하였다. 저출력용 초음파 발생기를 통해서 시료 용액에 14 W/L의 출력을 가하였으며, 고출력용 초음파 발생기를 사용하여 400, 1200, 2400, 4000 W/L의 출력을 가하였다. 한편, 시료에 대한 용매비의 효과를 분석하기 위하여 8, 40, 80 g/L의 3 수준에 대한 실험을 실시하였다.

다. 분리 처리

추출 처리 후, 추출물을 회수하기 위하여 공극의

크기가 8 μm 의 여과지에 의한 예비여과를 거쳐서 반응액을 10,000 g에서 3분 동안 원심분리하였다.

라. 수율 및 순도 분석

분리 과정을 거쳐서 불용성 물질을 제거하고 용해성 추출물을 40°C 이하에서 감압 증류한 후, 오븐에서 건조하여 건조물을 얻고, 이를 원료의 건물중량에 대비하여 수율을 산출하였다.

또한, 추출물에 함유되어 있는 피노실빈을 HPLC (high performance liquid chromatography) 법에 의해 정량하여 추출물의 순도를 분석하였다. HPLC 시스템(Agilent 1100 series)은 펌프, 인젝트, 감지기, 적분기(Chemstation software), 컬럼(Agilent Extent-C18: 4.6 mm \times 150 mm, 5 μm) 등으로 구성되었으며, 분리 과정을 거친 추출물 용액을 직접 HPLC에 주입하였다. Water/MeOH/Acetic acid를 이동상으로 하여 초기 60/35/5의 비율로 1 mL/min의 속도하에서 종료 5/90/5의 비율까지 25분 동안 작동시켰다. 이때 시료 주입량은 20 μL 이었으며, 307 nm에서 측정되었다. 한편, 표준물질은 단국대학교 식물분자생물학연구소에서 제공받았다. 각 실험값은 3반복 측정의 평균으로 표시하였다.

마. 용어의 정의

본 연구에서는 솔잎으로부터 피노실빈을 함유하는 추출물을 추출하였을 때, 추출 효과를 분석하기 위하여 관련 용어를 정의하였다.

- ① 추출물 수율(yield of extracts, Ye): 원료의 건물중량 대비 회수된 추출물의 건물중량의 비이며, 단위는 g-extracts/g-raw material이다.
- ② 피노실빈 순도(purity of pinosylvin, Pp): 회수된 추출물의 단위 건물중량당 피노실빈 함량의 비이며, 단위는 mg-pinosylvin/g-extracts이다.
- ③ 피노실빈 유효 수율(effective yield of pinosylvin, Yp): 원료의 건물 중량 대비 회수된 피노실빈의 건물중량의 비이며, (추출물 수율) \times (피노실빈 순도)로 구할 수 있고, 단위는 mg-pinosylvin/g-

raw material이다.

- ④ 피노실빈 농축비(concentration ratio of pinosylvin, Rc): 원료에서의 피노실빈 함량 대비 피노실빈 유효 수율의 비이며, 단위는 무차원이다.

3. 결과 및 고찰

가. 시료의 일반 사항

솔잎으로부터 피노실빈을 추출하기 위해 사용된 시료의 수분 함량, 입도 및 피노실빈 함량을 분석한 결과를 Table 1에 나타내었다. 시료의 수분 함량은 3.56(% wb), 평균입도는 0.373 mm이었다. 피노실빈 함량의 경우, 솔잎 원료의 건물중량에 대비하였을 때 10.0 ($\mu\text{g/g}$)로 나타났다.

나. 초음파 출력에 따른 피노실빈 추출 효과

Fig. 1은 단위 부피당 초음파 출력별 추출물의 수율을 나타낸 것이다. 여기서 추출물의 수율은 원료인 솔잎 분말의 건물중량 대비 회수된 추출물의 건물중량을 의미하며, 단위는 g-extracts/g-raw material로 표시하였다. 시료 용액에 가해진 단위 부피당 초음파 출력이 증가할수록 추출물의 수율도 증가하여 4000 W/L일 때 추출물의 수율은 0.2992 g/g로

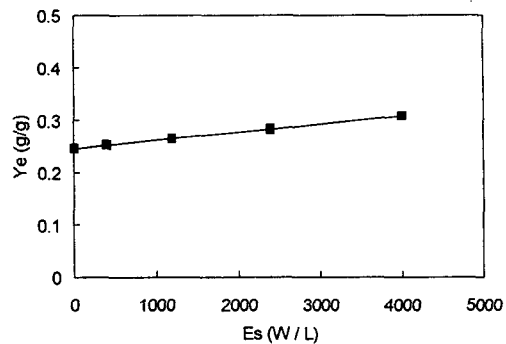


Fig. 1 Yield of extracts of pine leaves regarding ultrasonic power per unit solution volume.

Table 1 Moisture content, particle size and pinosylvin content of pulverized pine leaves

Moisture content (% wb)	Particle size		Pinosylvin content ($\mu\text{g/g}$ -dry material)
	Mean (mm)	Standard deviation	
3.56	0.373	0.220	10.0

나타나, 14 W/L일 때 0.2435 g/g보다 1.23배 높게 나타났다.

Fig. 2는 단위 부피당 초음파 출력별 피노실빈의 순도를 나타낸 것이다. 시료 용액에 가해진 단위 부피당 초음파 출력이 증가할수록 추출물에 함유된 피노실빈의 함량 즉, 피노실빈의 순도는 감소하는 것으로 나타났다. 단위 부피당 초음파 출력이

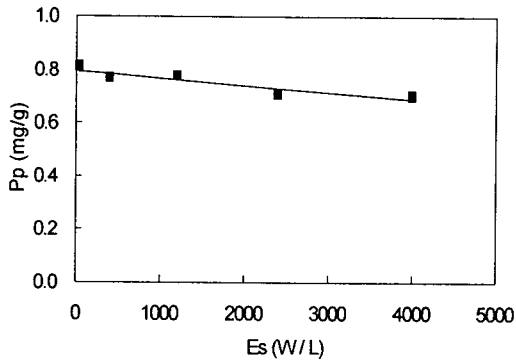


Fig. 2 Purity of pinosylvin regarding ultrasonic power per unit solution volume.

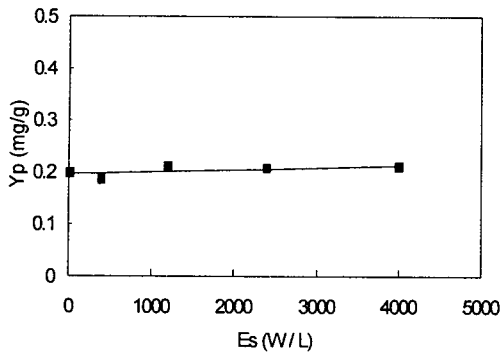


Fig. 3 Effective yield of pinosylvin regarding ultrasonic power per unit solution volume.

4000 W/L일 때 피노실빈의 순도는 0.7025 mg/g으로 나타났고, 14 W/L일 때 0.8128 mg/g로 나타나, 이 구간에서 순도는 86.4% 수준까지 감소하였다.

Fig. 3은 단위 부피당 초음파 출력별 피노실빈의 유효 수율을 나타낸 것이다. 이 지표는 원료인 술잎으로부터 얼마나 많은 피노실빈을 회수하였는지를 의미한다. 단위 부피당 초음파 출력이 증가할수록 피노실빈의 유효 수율은 증가하는 것으로 나타났다. 단위 부피당 초음파 출력이 14 W/L일 때 유효 수율은 0.1979 mg/g이었으며, 4000 W/L일 때 0.2102 mg/g이었다. 유효 수율의 증가폭은 비교적 작음을 알 수 있다. 이와 같이 단위 부피당 초음파 출력이 증가할수록 유효 수율이 증가하는 효과는 나타났으나 증가율이 작은 것은 피노실빈이 술잎에서 차지하는 함량이 매우 적은 미량 성분이기 때문으로 판단된다.

추출물 수율(Fig. 1), 피노실빈 순도(Fig. 2) 및 피노실빈 유효 수율(Fig. 3)을 종합적으로 고찰해 보면, 단위 부피당 초음파 출력이 증가할수록 추출물의 수율은 증가하지만 추출물의 피노실빈 순도는 감소하고, 수율과 순도를 모두 고려한 피노실빈의 유효 수율은 약간 증가한 것을 볼 때 단위 부피당 초음파 출력이 증가할수록 피노실빈의 추출 효과도 증가하지만 다른 물질의 추출 효과도 동반하여 상승한 것으로 판단된다. 이와 같은 현상을 볼 때, 피노실빈을 효과적으로 생산하기 위해서는 단위 부피당 초음파 출력을 높여서 피노실빈의 추출량을 증가시킨 후 후속 공정으로서 효과적인 정제 공정을 도입하는 것이 바람직함을 알 수 있다. 한편, 표 2는 단위 부피당 초음파 출력을 독립변수로 하여 추출물 수율, 피노실빈 순도, 피노실빈 유효 수율을 나타낼 수 있는 회귀분석 결과를 나타낸 것이다.

Table 3은 단위 부피당 초음파 출력별 피노실빈 농축비를 나타낸 것이다. 이 지표는 초기 원료의 단위 건물중량당 포함되어 있는 피노실 빈 함량이 추출 공정을 통해서 얼마나 많은 양의 피노실빈이

Table 2 Regression equations for yield of extracts, purity of pinosylvin and effective yield of pinosylvin regarding ultrasonic power per unit solution volume

Indicator in extraction	Regression equation	Coefficient of determination
Yield of extracts	$Y_e = 0.247 + 1.52 \times 10^{-5} E_s$	0.898*
Purity of pinosylvin	$P_p = 0.792 - 2.58 \times 10^{-5} E_s$	0.665*
Effective yield of pinosylvin	$Y_p = 0.196 + 4.24 \times 10^{-6} E_s$	0.485*

*: Significant at the 95% confidence level.

Table 3 Concentration ratio of pinosylvin regarding ultrasonic power per unit solution volume

Ultrasonic power per unit solution volume (W/L)	Concentration ratio of pinosylvin
14	19.8
400	18.7
1200	21.0
2400	20.7
4000	21.0

농축된 효과를 얻었는지를 나타내는 척도가 된다. Table 3에서 보는 바와 같이 피노실빈의 양은 초음파를 활용한 추출 공정을 통해서 19.8~21.0의 농축 효과를 얻은 것으로 나타났다.

다. 저출력 초음파의 처리시간별 피노실빈 추출 효과

Fig. 4는 14 W/L의 저출력 초음파를 가했을 때 추출시간에 따른 추출물의 수율을 나타낸 것이다. 시료 용액에 가해진 단위 부피당 초음파 출력이 증가할수록 추출물의 수율이 증가하는 것으로 나타났으나, 증가율이 완만하게 나타났다. 초음파를 10분 처리하였을 때 추출물의 수율은 0.2635 g/g로 나타나, 1분 처리하였을 때 0.2437 g/g보다 1.08배 높게 나타났다. 이러한 결과는 초음파 출력에 따른 피노실빈 추출 효과를 검토한 결과(Fig. 1)에서 고찰한 1.23배에 미치지 못하는 수준이다.

Fig. 5는 14 W/L의 저출력 초음파를 가했을 때 추출시간에 따른 피노실빈의 순도를 나타낸 것이다. 초음파 처리시간이 길어질수록 피노실빈의 순도는 감소하는 것으로 나타났다. 1분간 초음파를 처리하여 추출하였을 때 피노실빈의 순도는 0.7938 mg/g으로 나타났고, 10분간 처리하였을 때 0.7521 mg/g로 나타나, 이 구간에서 순도는 94.7% 수준까지 감소하였다. 이러한 감소 추세는 초음파 출력 변화에 따른 순도의 변화보다 덜 감소하는 것으로 나타났다. 즉, 추출물의 수율 증가가 미미한 것에 상응하는 것만큼 순도 감소가 낮게 나타났음을 알 수 있다.

Fig. 6은 14 W/L의 저출력 초음파를 가했을 때 추출시간에 따른 피노실빈의 유효 수율을 나타낸 것이다. 초음파 처리시간이 증가할수록 피노실빈의 유효 수율은 증가하는 것으로 나타났으며, 1분간 초음파를 처리하였을 때, 유효 수율은 0.1934 mg/g

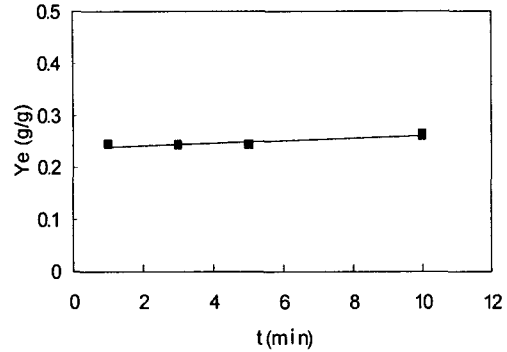


Fig. 4 Yield of extracts of pine leaves regarding sonication time at the ultrasonic power per unit solution volume of 14 W/L.

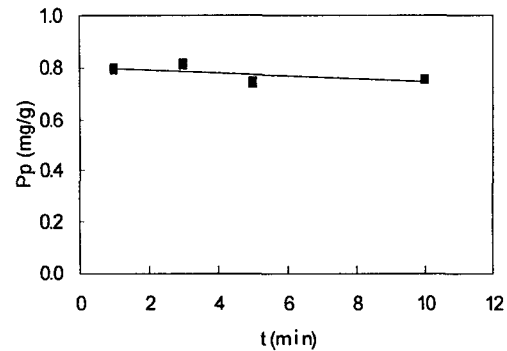


Fig. 5 Purity of pinosylvin regarding sonication time at the ultrasonic power per unit solution volume of 14 W/L.

이었으며, 10분간 처리하였을 때 0.1982 mg/g이었다. 이 구간에서 유효 수율의 증가폭은 1.02배에 불과한 것으로 나타났다.

Fig. 4, 5 및 6에서 추출물 수율, 피노실빈 순도 및 피노실빈 유효 수율을 종합적으로 고찰해 보면, 14 W/L의 초음파 에너지로 처리하였을 때, 추출물 수율의 증가, 추출물의 피노실빈 순도의 감소, 피노실빈의 유효 수율의 증가 등이 모두 완만한 변화폭을 보였다. 특히, 추출물 수율의 증가가 미약한 것은 초음파 출력이 낮은 수준에서는 피노실빈 이외의 물질에 대한 추출 효과가 약하게 작용했기 때문인 것으로 판단된다. 이와 같은 현상을 볼 때, 낮은 출력의 초음파를 처리하여 피노실빈을 추출하는 경우 초음파 처리시간이라는 공정변수의 효과가 미약

Table 4 Regression equations for yield of extracts, purity of pinosylvin and effective yield of pinosylvin regarding sonication time at the ultrasonic power of 14 W/L

Indicator in extraction	Regression equation	Coefficient of determination
Yield of extracts	$Y_e = 0.237 + 2.33 \times 10^{-3}t$	0.789*
Purity of pinosylvin	$P_p = 0.804 - 5.92 \times 10^{-3}t$	0.471*
Effective yield of pinosylvin	$Y_p = 0.191 + 3.07 \times 10^{-4}t$	0.020

*: Significant at the 95% confidence level.

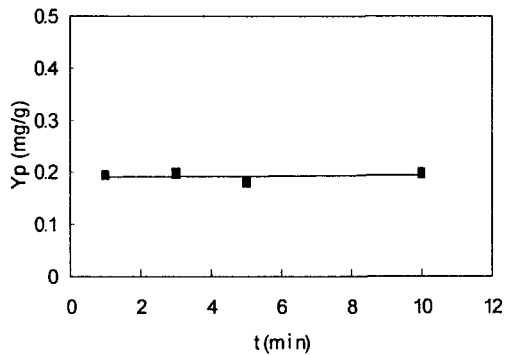


Fig. 6 Effective yield of pinosylvin regarding sonication time at the ultrasonic power per unit solution volume of 14 W/L.

Table 5 Concentration ratio of pinosylvin regarding sonication time at the ultrasonic power of 14 W/L

Sonication time (min)	Concentration ratio of pinosylvin
1	19.3
3	19.8
5	18.0
10	19.8

함을 알 수 있다. 한편, Table 4는 14 W/L의 저출력 초음파를 가했을 때 추출시간에 따른 추출물 수율, 피노실빈 순도 및 피노실빈 유효 수율의 경향을 회귀분석한 결과를 나타낸 것이다.

Table 5는 14 W/L의 저출력 초음파를 가했을 때 추출시간에 따른 피노실빈 농축비를 나타낸 것이다. 초음파 처리를 10분간 하였을 때 피노실빈의

양은 초기 함량에 비해 19.8의 농축 효과를 얻은 것으로 나타났다.

라. 고출력 초음파의 처리시간별 피노실빈 추출 효과

Fig. 7은 2400 W/L의 고출력 초음파를 가했을 때 추출시간에 따른 추출물의 수율을 나타낸 것이다. 시료 용액에 가해진 초음파 처리시간이 증가할수록 추출물의 수율이 증가하는 것으로 나타났으며, 초음파 처리시간이 10분일 때 추출물의 수율은 0.3166 g/g로 나타나, 1분일 때 0.2816 g/g보다 1.12배 높게 나타났다. 이러한 결과는 저출력 초음파 에너지를 가했을 때 나타난 추출 효과보다 높은 수준을 보이는 것이다. 또한, 동일한 초음파 처리시간에서 더 높은 수율을 보여, 1분간 초음파를 처리하였을 때 고출력 초음파 처리시의 수율 0.2816 g/g은 저출력 초음파 처리시의 0.2437 g/g보다 1.16배 높은 수준이며, 10분간의 고출력 초음파 처리시의 수

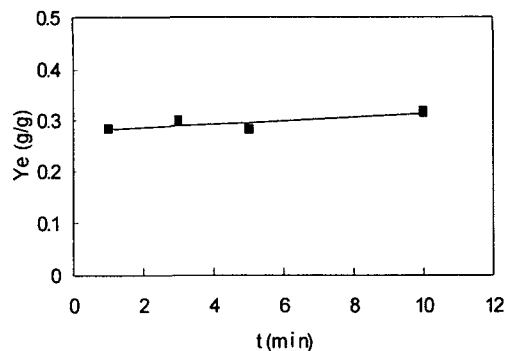


Fig. 7 Yield of extracts of pine leaves regarding sonication time at the ultrasonic power of 2400 W/L.

Table 6 Regression equations for yield of extracts, purity of pinosylvin and effective yield of pinosylvin regarding sonication time at the ultrasonic power of 2400 W/L

Indicator in extraction	Regression equation	Coefficient of determination
Yield of extracts	$Y_e = 0.278 + 3.46 \times 10^{-3}t$	0.629*
Purity of pinosylvin	$P_p = 0.749 + 3.75 \times 10^{-4}t$	0.001
Effective yield of pinosylvin	$Y_e = 0.208 + 2.60 \times 10^{-3}t$	0.576*

*: Significant at the 95% confidence level.

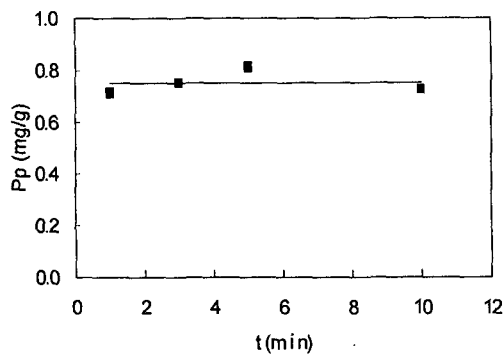


Fig. 8 Purity of pinosylvin regarding sonication time at the ultrasonic power of 2400 W/L.

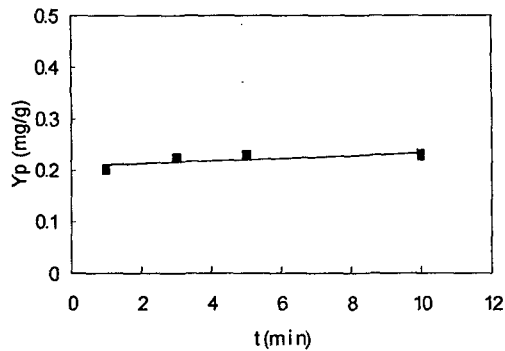


Fig. 9 Effective yield of pinosylvin regarding sonication time at the ultrasonic power of 2400 W/L.

을 0.3166 g/g은 저출력 초음파 처리시 0.2635 g/g보다 1.20배 높은 수준에 이르는 것이다.

Fig. 8은 2400 W/L의 고출력 초음파를 가했을 때 추출시간에 따른 피노실빈의 순도를 나타낸 것이다. 고출력 초음파를 처리하였을 때는 저출력 초음파를 처리한 경우에 비해 추출시간에 따른 피노

실빈 순도의 감소 경향이 뚜렷하게 나타나지 않았다. 1~10분간의 처리시간에서 피노실빈 순도는 0.7148~0.8148 mg/g로 나타났으며, 이러한 범위는 저출력 초음파를 처리하였을 때와 비슷한 수준이다. 즉, 고출력 초음파를 처리하였을 때 추출물 수율이 향상되는 것에 상응하여 순도의 저하가 두드러지게 나타나지 않음을 알 수 있다.

Fig. 9는 2400 W/L의 고출력 초음파를 가했을 때 추출시간에 따른 피노실빈의 유효 수율을 나타낸 것이다. 초음파 처리시간이 증가할수록 피노실빈의 유효 수율은 증가하는 것으로 나타났다. 초음파 처리시간이 1분일 때 유효 수율은 0.2013 mg/g이었으며, 10분일 때 0.2294 mg/g이었다. 이러한 유효 수율은 본 연구에서의 시간 구간에서 처리시간 증가에 따라 1.14배의 증가를 보이는 것이며, 동일한 초음파 처리시간 동안 저에너지 초음파를 처리한 경우보다 1.04~1.16배 높은 유효 수율을 얻는 것이다.

고출력 초음파를 처리하였을 때 처리시간에 따른 추출물 수율(Fig. 7), 피노실빈 순도(Fig. 8) 및 피노실빈 유효 수율(Fig. 9)을 종합적으로 고찰해 보면, 초음파 처리시간이 증가할수록 추출물의 수율은 증가하지만 추출물의 피노실빈 순도는 감소 추세를 보이지 않아, 결국 수율과 순도를 모두 고려한 피노실빈의 유효 수율은 상당한 증가를 보이는 것으로 볼 때 초음파 출력이 크고 처리시간이 길수록 피노실빈이 효과적으로 추출됨을 알 수 있다. 한편, Table 6은 2400 W/L의 고출력 초음파를 가했을 때 추출시간에 따른 추출물 수율, 피노실빈 순도 및 피노실빈 유효 수율의 경향에 대한 회귀분석 결과를 나타낸 것이다.

Table 7은 2400 W/L의 고출력 초음파를 가했을 때 추출시간에 따른 피노실빈 농축비를 나타낸 것이다. 피노실빈의 양은 초음파를 활용한 추출 공정을 통해서 20.1~23.0의 농축 효과를 얻은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 저에너지의 초음파를 처리하였을 때보다 1.04~1.16배 높은 수준이다.

Table 7 Concentration ratio of pinosylvin regarding sonication time at the ultrasonic power of 2400 W/L

Soniction time (min)	Concentration ratio of pinosylvin
1	20.1
3	22.3
5	22.9
10	23.0

마. 용매비에 따른 피노실빈 추출 효과

Fig. 10은 용매비별 추출물의 수율을 나타낸 것이다. 여러 가지 용매비에 따른 추출물 수율의 변화는 거의 없는 것으로 나타났다. 용매비 8~80의 범위에서 추출물의 수율은 0.2467~0.2478 g/g의 범위로 나타났다.

Fig. 11은 용매비별 피노실빈의 순도를 나타낸 것

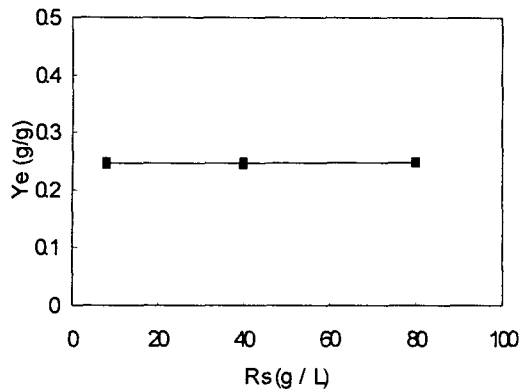


Fig. 10 Yield of extracts of pine leaves regarding solvent ratio.

Table 8 Regression equations for yield of extracts, purity of pinosylvin and effective yield of pinosylvin regarding solvent ratio

Indicator in extraction	Regression equation	Coefficient of determination
Yield of extracts	$Y_e = 0.246 + 1.44 \times 10^{-5} R_s$	0.734*
Purity of pinosylvin	$P_p = 0.677 - 3.44 \times 10^{-3} R_s$	0.999*
Effective yield of pinosylvin	$Y_p = 0.167 - 8.44 \times 10^{-4} R_s$	0.999*

*: Significant at the 95% confidence level.

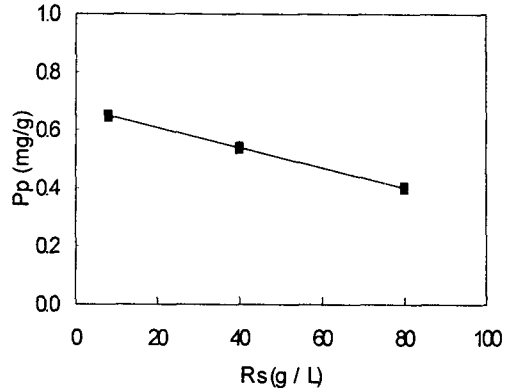


Fig. 11 Purity of pinosylvin regarding solvent ratio.

이다. 순도의 경우, 추출물 수율의 경향과는 달리 용매비가 증가할수록 피노실빈의 순도는 크게 감소하는 것으로 나타났다. 용매비가 80 g/L일 때 순도는 0.4022 mg/g로 나타나 용매비 8 g/L의 0.6501 mg/g에 비해 61.9%의 수준에 머무는 것으로 나타났다.

Fig. 12는 용매비별 피노실빈의 유효 수율을 나타낸 것이다. 유효 수율의 경우도 순도의 경우와 마찬가지로 용매비가 증가할수록 유효 수율은 감소하는 것으로 나타났다. 용매비가 80 g/L일 때 피노실빈의 유효 수율은 0.0997 mg/g이었으며, 8 g/L일 때 0.1604 mg/g로 나타나 62.2%에 불과한 것으로 나타났다.

Fig. 10, 11 및 12의 추출물 수율, 피노실빈 순도 및 피노실빈 유효 수율을 종합적으로 고찰해 보면, 용매비 즉, 용매의 단위 부피당 시료의 무게를 크게 하였을 때 수율의 증가는 얻기가 어려우며, 피노실빈의 순도 및 유효 수율은 감소하는 것으로 나타나 피노실빈을 효과적으로 추출하기 위해서는 충분한 양의 용매를 가해야 함을 알 수 있다. 한편,

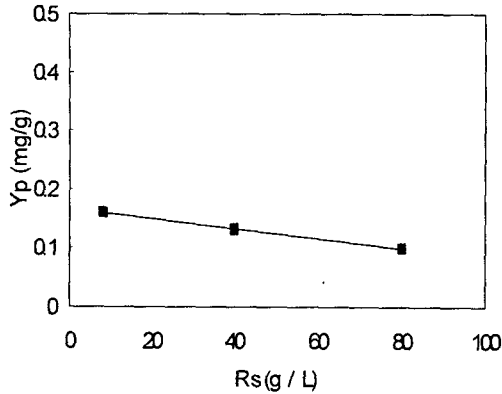


Fig. 12 Effective yield of pinosylvin regarding solvent ratio.

Table 8은 용매비별 추출물 수율, 피노실빈 순도 및 피노실빈 유효 수율의 경향을 회귀식으로 나타낸 것이다.

Table 9는 용매비별 피노실빈 농축비를 나타낸 것이다. 피노실빈의 양은 초음파를 활용한 추출 공정을 통해서 용매비별로 10.0~16.0의 농축 효과를 얻은 것으로 나타났다. 여기서 용매의 단위 부피당 시료의 양을 과다하게 첨가하게 되면 피노실빈의 농축 효과가 크게 저하되는 것을 알 수 있다.

Table 9 Concentration ratio of pinosylvin regarding solvent ratio

Solvent ratio (g/L)	Concentration ratio of pinosylvin
8	16.0
40	13.3
80	10.0

4. 결 론

피노실빈은 솔잎에 함유되어 있는 스티라베노이드 계열의 피토알렉신의 일종이다. 항산화, 항종양 등의 생물활성이 있는 것으로 알려진 피노실빈은 식품, 의약품, 화장품 등의 소재로 활용할 수 있는 물질이다. 본 연구에서는 솔잎으로부터 천연의 피노실빈을 얻기 위한 효과적인 추출 공정을 개발하고자 하였다. 알콜-물 혼합 용매를 이용하여 실온에서 짧은 시간 동안 효과적으로 피노실빈을 추출하기 위해 초음파 처리를 도입하여 여러 가지 공정

및 시스템 변수에 따른 추출 효과를 분석하였다. 실험결과를 분석한 바에 의하면, 피노실빈의 유효 수율을 극대화하는 추출 조건이 가장 바람직한 것으로 파악되었다. 즉, 초음파 출력이 높을수록, 초음파 처리시간이 길수록 피노실빈의 유효 수율은 증가하는 것으로 나타났다. 또한, 시료에 가하는 용매의 양이 많을수록 피노실빈의 유효 수율은 증가하는 것으로 나타났다. 용매에 대한 시료 양 8 g/L에 대해서 2400 W/L의 초음파 출력을 10 분간 처리하였을 때, 추출물 수율은 0.3166 g/g, 피노실빈 순도는 0.7247 mg/g, 피노실빈의 유효 수율은 0.2294 mg/g, 그리고 피노실빈 농축비는 23.0으로 나타났다. 한편, 이러한 조건에서는 피노실빈 이외의 물질도 추출되므로 생물소재의 용도에 따라 적절한 정제 공정을 이용하여 피노실빈의 순도를 관리할 수 있다.

참 고 문 헌

1. 김은정, 정성원, 최근표, 함승시, 강하영. 1998. 솔잎 추출물의 *in vitro*계 암세포 성장억제효과. 한국식품과학회지 30(1):213-217.
2. 김수민, 김은주, 조영석, 성삼경. 1999. 제조방법별 솔잎추출물의 항산화성 검토. 한국식품과학회지 31(2):527-534.
3. 김창민. 1997. 중약대사전. 도서출판 정담, 서울.
4. 민혜영, 박은정, 이상국, 조용진. 2003. 포도 추출물들의 프리 라디칼 소거 작용 및 마우스 대식세포주에서의 염증 발현 매개 인자들에 대한 생성 억제 효과. 한국식품과학회지 35(1):132-137.
5. 이승철, 육현균, 배성문, 황용일, 최정선, 조용진. 1999a. Exo-polygalacturonase를 이용한 사과박의 펙틴 추출. 한국식품과학회지 31(1):68-73.
6. 이승철, 육현균, 황용일, 최정선, 조용진. 1999b. *Bacillus subtilis* IFO 12113 유래 protopectinase를 이용한 사과박의 펙틴 추출. 한국농화학회지 42(1):1-5.
7. 조용진, 김종태, 김철진, 황재관. 1999. 사과박의 펙틴 추출을 위한 압출공정 모형화. 한국식품과학회지 31(4):1011-1016.
8. 조용진, 김철진, 김종태, 김성수, 전향숙, 김재은, 이상국, 허선경, 민혜영. 2002. 포도산업 고도화를 위한 포도 폐물계 추출물 생산 시스템 개발. 농림기술관리센터 연차보고서(미간행).
9. 조용진, 김재은, 전향숙, 김종태, 김성수, 김철진. 2003. 국내산 포도의 부위별 레스베라트롤

- 함량. 한국식품과학회지 35(2):306-308.
10. 최정선, 조용진. 2000. 추출방법에 따른 사과 펙틴의 특성 비교. 산업식품공학 4(2):70-75.
 11. ASAE. 1994. ASAE Standards, 41st ed. ASAE, USA
 12. Cho, Y. J. and J. K. Hwang. 2000. Modeling the yield and intrinsic viscosity of pectin in acidic solubilization of apple pomace. Journal of Food Engineering 44(2):85-89.
 13. Holmgren, A., B. Bergstrom, R. Gref. and A. Ericsson. 1999. Detection of pinosylvins in solid wood of Scots pine using Fourier transform Raman and infrared spectroscopy. J. of Wood Chemistry and Technology 19(1/2):139-150.
 14. Skinnider, L. and A. Stoessl. 1986. The effect of the phytoalexins, lubimin, (-)maackiain, pinosylvin, and the related compounds dehydroloroglossol and hordatine M on human lymphoblastoid cell lines. Experientia 42(5):568-570.