

바이오매스로부터 파클리탁셀 회수를 위한 전통적 용매 추출, 마이크로웨이브를 이용한 추출, 초음파를 이용한 추출 방법 비교

김진현[†]

공주대학교 화학공학부
31080 충남 천안시 서북구 천안대로 1223-24
(2020년 1월 12일 접수, 2020년 1월 28일 수정본 접수, 2020년 2월 1일 채택)

Comparison of Conventional Solvent Extraction, Microwave-Assisted Extraction, and Ultrasound-Assisted Extraction Methods for Paclitaxel Recovery from Biomass

Jin-Hyun Kim[†]

Department of Chemical Engineering, Kongju National University, 1223-24, Cheonan-daero, Seobuk-gu, Cheonan-si, Chungcheongnam-do, 31080, Korea

(Received 12 January 2020; Received in revised form 28 January 2020; accepted 1 February 2020)

요 약

본 연구에서는 바이오매스로부터 파클리탁셀 회수를 위한 전통적 용매 추출(conventional solvent extraction, CSE), 마이크로웨이브를 이용한 추출(microwave-assisted extraction, MAE), 초음파를 이용한 추출(ultrasound-assisted extraction, UAE) 방법을 비교하였다. 추출 용매 종류(아세톤, 클로로포름, 에탄올, 메탄올, 메틸렌 클로라이드)에 따른 영향을 조사한 결과, 메탄올이 모든 추출 방법에서 가장 적합하였다. 메탄올을 이용한 MAE와 UAE의 경우, 단 1회의 추출로 대부분의 파클리탁셀 회수(>95%)가 가능하였다. 또한 MAE와 UAE의 경우 추출 온도(25-45 °C), 마이크로웨이브 파워(50-150 W), 초음파 파워(180-380 W)의 증가에 따라 파클리탁셀 회수율이 증가하였다. 또한 SEM 분석을 통해 바이오매스 표면을 조사한 결과, 표면 구조가 CSE의 경우에는 조금 주름진 형태를 보인 반면 MAE와 UAE의 경우에는 강한 충격으로 매우 거칠고 파괴된 형태를 보였다.

Abstract – In this study, conventional solvent extraction (CSE), microwave-assisted extraction (MAE), and ultrasound-assisted extraction (UAE) were compared for the recovery of paclitaxel from biomass. As a result of investigating the effect of the extraction solvent type (acetone, chloroform, ethanol, methanol, methylene chloride), methanol was the most suitable for all extraction methods. In the case of MAE and UAE using methanol, most of the paclitaxel (> 95%) was recovered by only one extraction. The recovery rate of paclitaxel increased with the increase of extraction temperature (25-45 °C), microwave power (50-150 W), and ultrasonic power (180-380 W) for MAE and UAE. In addition, SEM analysis showed that the biomass surface structure was slightly corrugated in CSE, while in the MAE and UAE, it was very rough and destroyed by strong impact.

Key words: Paclitaxel, Conventional Solvent extraction, Microwave-assisted extraction, Ultrasound-assisted extraction, Biomass

1. 서 론

파클리탁셀(Fig. 1)은 주목나무의 표피에서 발견된 디테르페노이드 계열의 항암물질로, 유사분열기 암세포의 분열을 억제함으로써 비교적 낮은 독성과 강력한 항암 활성을 가진다. 현재 난소암, 유방암, 카포시 종양, 비소세포성 폐암 등의 치료에 가장 많이 사용되

고 있는 항암제이다[1]. 또한 파클리탁셀의 적응증과 처방 방법의 확대에 향후 파클리탁셀 수요는 계속 늘어날 전망이다[2].

파클리탁셀의 주요 생산 방법에는 주목나무에서 직접 추출하는 방법, 주목 나무의 잎으로부터 전구체(바카틴 III, 10-디아세틸바카틴 III, 10-디아세틸파클리탁셀, 13-디하이드록시바카틴 III 등)를 얻어 결사술을 화학적으로 결합하는 반합성 방법, 주목나무에서 캘러스를 유도하고 생물반응기에서 식물세포를 배양하는 방법이 있다[3-5]. 추출법과 반합성법의 경우, 환경보호수인 주목나무에 심각한 자연훼손을 초래할 뿐만 아니라 주목나무로부터 직접 파클리탁셀을 회수하거나 전구체를 얻기 위한 분리 및 정제에도 많은 어려움이 있으며 비용이 많이 소요되어 대량 생산에 어려움이 있다. 반

[†]To whom correspondence should be addressed.
E-mail: jinhyun@kongju.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

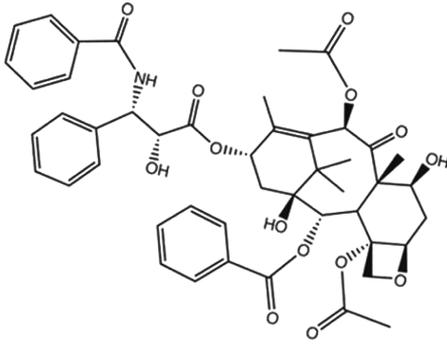


Fig. 1. The chemical structure of paclitaxel.

면 식물세포배양법은 기후, 환경 등의 외부 인자에 의한 영향을 받지 않고 생물반응기에서 안정적으로 생산이 가능하기 때문에 일정한 품질의 파클리탁셀을 안정적으로 대량 생산할 수 있다[6].

식물세포배양에 의하여 생산된 파클리탁셀은 대부분 바이오매스(식물세포)에 축적되어 있으며[7,8], 파클리탁셀 생산은 여러 단계의 추출 및 정제 공정으로 이루어져 있다[9-11]. 경제적인 관점에서 먼저 바이오매스 내에 축적되어 있는 파클리탁셀을 효율적으로 회수하는 것이 매우 중요하다[12]. 대표적 파클리탁셀 회수 방법으로는 전통적 용매 추출(conventional solvent extraction, CSE), 마이크로웨이브를 이용한 추출(microwave-assisted extraction, MAE), 초음파를 이용한 추출(ultrasound-assisted extraction, UAE)이 있다[13-15]. 특히 최근에 UAE, MAE와 같은 가속 기술(accelerated technique)이 식물 및 미생물 유래 생리활성물의 추출에 많은 관심을 얻고 있다[2,8,16]. UAE의 경우, 초음파가 용매를 통과함에 따라 초음파의 팽창 사이클은 공동(cavity)을 생성한다. 이러한 미세 기포는 팽창 주기 동안 성장하고 각 압축 주기 동안 수축한다[16]. 국소 압축에 의한 압력 및 온도의 증가는 기포의 붕괴로 이어지고, 결과적으로 물질 전달 증가 및 식물 세포벽의 파괴를 야기하여 목적 성분을 효과적으로 추출할 수 있다[17-20]. 대조적으로, MAE는 마이크로웨이브 필드에서 용매 분자 쌍극자의 회전으로 인해 시료 조직 내에서 빠른 가열 및 압력 축적을 촉진한다. 즉, 마이크로웨이브를 이용한 추출은 바이오매스 내의 목적 성분만을 선택적으로 가열하여 추출할 수 있는 공정이며 물질 내에 깊이 침투한 마이크로웨이브가 분자간의 결합 고리를 끊어 줌으로써 쉽게 추출이 가능하도록 도와준다[21]. 결과적으로, 바이오매스로부터 추출 용액으로 생물학적 유용 화합물의 이동이 가속화된다. 비록 *Taxus chinensis* 유래 파클리탁셀의 MAE 공정 최적화가 수행되어 CSE 방법에 비해 높은 효율성을 보였으나 CSE, MAE 및 UAE 방법의 상세한 비교는 추가적인 조사가 필요하다. 따라서 본 연구에서는 *Taxus chinensis* 유래 항암물질 파클리탁셀의 CSE, MAE, UAE에 적합한 조건(용매 유형, 추출 온도, 조업 시간, 마이크로웨이브 및 초음파 파워)을 결정하고자 하였다. 또한 최적의 조건에서 CSE, MAE, UAE 효율을 서로 비교하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2-1. 식물재료와 배양조건

본 실험에 사용된 식물세포배양액은 *Taxus chinensis*의 잎으로부터 얻은 세포주(Cell line)를 이용하여 배양하였다. *Taxus chinensis*

로부터 기원된 현탁액 세포는 24 °C 암 조건에서 150 rpm으로 교반하여 배양하였다. 현탁 세포는 수정된 Gamborg's B5 배지에서 배양하였다[22]. 세포 배양은 2주마다 새로운 배지로 같이주었으며 생산과 배양을 연장시키기 위해 7일과 21일 째 되는 날에 1~2%(w/v)의 말토스를 첨가해 주고 elicitor로서 배양 초기에 4 μM의 AgNO₃를 첨가해 주었다. 배양 후 배양액으로부터 데칸터(Westfalia, CA150 Clarifying Decanter)와 고속원심분리기(α-Laval, BTPX 205GD-35CDEFP)를 이용하여 식물세포(바이오매스)를 회수하였다[5].

2-2. 파클리탁셀 분석

파클리탁셀 함량 분석을 위해 HPLC 시스템(Shimadzu, Japan)과 Capcell Pak C18 (250×4.6 mm, Shiseido, Japan) 컬럼을 사용하였다. 이동상은 아세트니트릴-증류수 혼합액(35/65~65/35, v/v)이며, 유속은 1.0 mL/min이었다. 시료 주입량은 20 μL이며 UV (227 nm)에 의해 검출하였다[3]. HPLC 분석은 표준정량곡선을 이용하였으며 표준 시료는 Sigma-Aldrich 제품(순도: 95%)을 사용하였다.

2-3. 전통적 용매 추출(Conventional solvent extraction, CSE)

바이오매스/용매 비율은 1/1~1/6 (w/v) 범위에서 추출 효율에 거의 차이가 없으며 고온(>50 °C)에서 파클리탁셀의 분해 가능성이 알려져 있다[23]. 따라서 본 연구에서는 추출 온도가 추출 효율에 미치는 영향(추출 온도 변화에 따른 조업 시간 별 파클리탁셀 추출 수율)을 조사하기 위하여, 다섯 종류의 용매(아세톤, 클로로포름, 에탄올, 메탄올, 메틸렌 클로라이드)를 이용하여 바이오매스/용매 비율을 1/1 (w/v)로 고정시키고 추출 온도(25, 30, 35, 40, 45 °C)와 조업 시간(1, 2, 4, 6, 10 min)을 변화시키며 교반(~500 rpm) 하에서 추출을 수행하였다. 추출 온도는 항온조(PS-1000, EYELA, Japan)를 이용하여 조절하였으며, 추출 후 여과하여 추출액으로 회수된 파클리탁셀 농도는 HPLC 분석을 통해 측정하였다. 또한 파클리탁셀 수율은 다음과 같이 계산하였다. 바이오매스에 함유된 파클리탁셀 함량은 4회 메탄올 추출(>99% 회수)로 계산하였다[1,8].

$$\text{Yield (\%)} = \frac{\text{Quantity of paclitaxel in extract}}{\text{Quantity of paclitaxel in biomass}} \times 100 \quad (1)$$

2-4. 마이크로웨이브를 이용한 추출(Microwave-assisted extraction, MAE)

식물세포 배양액으로부터 회수한 바이오매스와 용매의 비율을 1:1 (w/v)로 하여 2,450 MHz Model 1501 (Korea Microwave Instrument Co., Korea) (50, 100, 150 W)를 이용하여 추출 온도(25, 30, 35, 40, 45 °C)와 조업 시간(1, 2, 4, 6 min), 마이크로웨이브 파워(50, 100, 150 W)를 변화시키며 교반(~500 rpm) 하에서 1회 추출을 수행하였다. 추출 후 여과지(150 mm, Whatman)로 감압 여과하여 파클리탁셀 추출 여액을 회수하고 농축기(CCA-1100, EYELA, Japan)를 이용하여 농축 후 완전 진공 건조(40 °C, overnight, 760 mmHg)하였다. 건조된 시료를 HPLC 분석을 통해 파클리탁셀 순도와 수율을 측정하였다.

2-5. 초음파를 이용한 추출(Ultrasound-assisted extraction, UAE)

식물세포배양액으로부터 회수한 바이오매스와 용매의 비율을 1:1 (w/v)로 하여 40 kHz ultrasound cleaner (UC-10, Jeiotech, Korea)

(80, 180, 250 W)를 이용하여 추출 온도(25, 30, 35, 40, 45 °C)와 조업 시간(1, 2, 4, 6, 10 min), 초음파 파워(180, 250, 380 W)를 변화시켜 교반(~500 rpm) 하에서 1회 추출하였다. 추출 후 여과지(150 mm, Whatman)로 감압 여과하여 파클리탁셀 추출 여액을 회수하고 농축기(CCA-1100, EYELA, Japan)를 이용하여 농축 후 완전 진공 건조(40 °C, overnight, 760 mmHg)하였다. 건조된 파클리탁셀을 HPLC 분석을 통해 파클리탁셀 순도와 수율을 측정하였다.

2-6. SEM (Scanning electron microscope) 분석

바이오매스 표면을 관찰하기 위하여 주사전자현미경(MIRA LMH; Tescan, Czech Republic)을 이용하였다. 분석량은 1 mg이며 가속 전압 10~15 kV에서 건조된 바이오매스의 형태를 조사하였다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 용매 종류의 영향

다양한 종류의 유기 용매(아세톤, 클로로포름, 에탄올, 메탄올, 메틸렌 클로라이드)를 이용하여 추출 방법에 따른 파클리탁셀 추출 효율을 조사하였다. 추출 방법에 따라 추출 수율이 평형에 도달하는 조건(온도, 시간, 파워 등)을 선정하여 1회 추출을 수행하였다. Table 1에서 보는 바와 같이 CSE (30 °C, 10 min)의 경우 파클리탁셀 수율은 메탄올 65%, 에탄올 15%, 아세톤 13%를 나타내었다. MAE (30 °C, 10 min, 50 W)의 경우 파클리탁셀 수율은 메탄올 98%, 에탄올 29%, 아세톤 28%를 나타내었다. UAE (30 °C, 10 min, 380 W)의 경우 파클리탁셀 수율은 메탄올 99%, 에탄올 31%, 아세톤 26%를 나타내었다. 반면 메틸렌 클로라이드와 클로로포름의 경우에는 모든 추출 방법에서 파클리탁셀은 거의 추출되지 않았다. 결과적으로 *Taxus chinensis* 유래 파클리탁셀 회수를 위하여, 모든 추출 방법에서 가장 높은 회수율을 보인 메탄올이 가장 적합함을 알 수 있었다. 특히 MAE와 UAE의 경우 1회 추출로 거의 대부분의 파클리탁셀 회수(>95%)가 가능하였다. 또한 메탄올 농도(85, 90, 95, 100%)에 따른 파클리탁셀 추출 효율을 비교하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 모든 메탄올 농도(85~100%)에서 MAE, UAE 방법이 CSE 방법보다 추출 효율이 높음을 알 수 있었다. 또한 추출 용매인 메탄올의 수분 함량에 따라서 파클리탁셀 수율 차이를 보였다. 즉, MAE, UAE에서는 90% 메탄올일 때 1회 추출만으로도 바이오매스에 존재하는 대부분의 파클리탁셀을 회수(>99%)할 수 있었다. 반면 CSE에서는 95% 이상의 메탄올 농도에서는 추출 효율(회수율)에 거의 영향이 없음을 알 수 있었으며 95% 메탄올을 이용한 1회 추출의 경우 54% 정도의 파클리탁셀을 회수할 수 있어 MAE, UAE 방법에 비해 추출 효율이 매우 떨어짐을 알 수 있었다. 결국

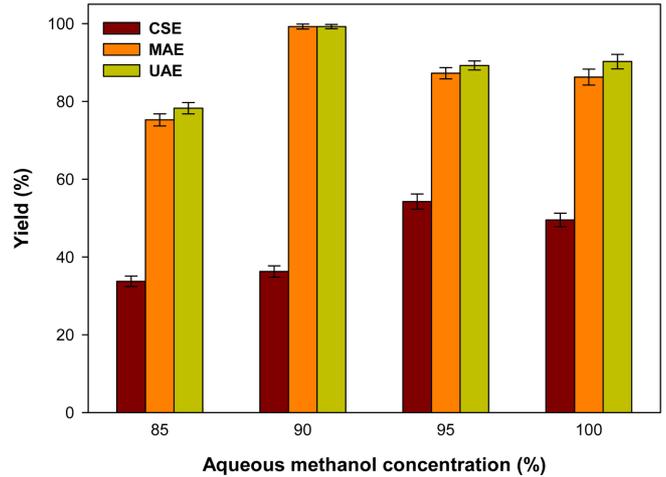


Fig. 2. Effect of aqueous methanol concentration on the yield of paclitaxel by CSE at 30 °C, 10 min, MAE at 30 °C, 10 min, 50 W, and UAE at 30 °C, 10 min, 380 W. The biomass/methanol ratio, stirring speed and extraction number were 1:1 (w/v), 500 rpm and 1, respectively.

메탄올에 소량의 물이 포함될 경우 추출 효율이 향상되었는데, 이러한 현상은 극성 용매인 물은 효율적으로 에너지를 흡수하고 가열시킬 뿐만 아니라 물에 의한 식물 재료의 팽윤(swelling)과 식물 매트릭스와 용매 사이의 접촉 표면적의 증가로 파클리탁셀의 추출 효율이 개선되는 것으로 판단된다[24].

3-2. 바이오매스 추출 방법 비교

CSE 방법의 경우, 추출 온도(25, 30, 35, 40, 45 °C)를 달리하여 1회 추출하였으며 조업 시간(1, 2, 4, 6, 10 min)에 따른 파클리탁셀 수율을 Fig. 3에 나타내었다. 모든 온도 범위에서 추출액으로 회수된 파클리탁셀 수율은 추출 초기(~1 min)에는 매우 빠르게 증가하였으며, 이후 완만하게 증가하다 조업 시간 10 min 경에 평형에 도달하였다. 이는 바이오매스와 메탄올의 상호작용이 매우 빠르고 강하기 때문으로 판단된다[25,26]. 이를 통해 바이오매스로부터 파클리탁셀 추출 과정은 추출 초기에 메탄올이 강한 구동력을 가지고 빠른 속도로 바이오매스를 씻어내 많은 양의 파클리탁셀이 추출액으로 회수(washing)된 후 바이오매스에 있는 파클리탁셀이 추출액으로 느린 속도로 외부 확산(slow diffusion)이 일어난 후 평형에 도달하는 단계로 진행됨을 알 수 있었다. 이러한 현상은 다른 고체-액체 추출 공정에서도 나타났다[27-29]. 또한 추출 온도(25~45 °C)가 증가할수록 파클리탁셀의 회수율(65~71%)은 증가하였다. 이는 온도에 따른 열역학적 효과로 확인할 수 있으며 추출 공정이 흡열반

Table 1. Effect of solvent type on the yield of paclitaxel by CSE (30 °C, 10 min), MAE (30 °C, 10 min, 50 W), and UAE (30 °C, 10 min, 380 W) at fixed biomass/solvent ratio (1:1, w/v), stirring speed (500 rpm), and extraction number (1)

Solvent types	Conventional solvent extraction (CAE)*	Microwave-assisted extraction (MAE)*	Ultrasound-assisted extraction (UAE)*
Acetone	13±2.0	28±2.0	26±2.2
Chloroform	N/D**	N/D**	N/D**
Ethanol	15±2.2	29±2.3	31±2.4
Methanol	65±2.0	98±2.0	99±1.0
Methylene chloride	N/D**	N/D**	N/D**

*Data are shown as yield (%)±SD.

**N/D: not detectable

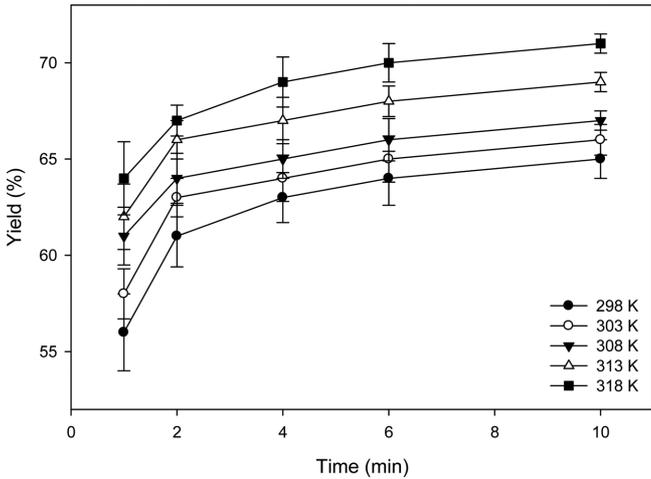


Fig. 3. Effect of extraction temperature on the yield of paclitaxel during the conventional solvent extraction from biomass. The biomass/methanol ratio and stirring speed were 1/1 (w/v) and 500 rpm, respectively.

응으로 진행됨을 알 수 있었다[23].

MAE 방법의 경우, 바이오매스에 메탄올을 첨가(바이오매스/메탄올 비=1/1, w/v)하여 추출 온도(25, 30, 35, 40, 45 °C), 마이크로웨이브 파워(50, 100, 150 W), 조업 시간(1, 2, 4, 6 min)을 달리하여 교반(~500 rpm) 하에 1회 추출을 수행하였다. Fig. 4(A)에서 보는 바와 같이 동일한 조업 시간에서 추출 온도가 증가할수록 파클

리탁셀 수율은 증가하는 경향을 보였다. 모든 추출 온도(25~45 °C)에서 조업 시간 6 min에 대부분의 파클리탁셀이 회수(>95%)되었다. 또한 Fig. 4(B)에서 보는 바와 같이 동일한 조업 시간에서 마이크로웨이브 파워(50, 100, 150 W)가 증가할수록 파클리탁셀 수율이 증가하는 경향을 보였다. 모든 마이크로웨이브 파워에서 조업 시간 6 min에 대부분의 파클리탁셀이 회수(>95%)되었다. 결과적으로 마이크로웨이브를 이용한 추출에서 1회 추출로 대부분의 파클리탁셀을 회수할 수 있었다. 추출 용매의 유전 특성은 마이크로웨이브의 가열 속도에 많은 영향을 미치는데, 이는 추출 효율과도 밀접한 연관이 있다[24]. 즉, 마이크로웨이브 복사(microwave radiation) 하에서 빠르게 가열되는 용매는 전형적으로 높은 유전 상수(dielectric constant), 유전 손실 인자(dielectric loss factor), 소산 인자(dissipation factor)를 갖는다[24]. 메탄올은 아세톤과 에탄올에 비해 높은 유전 상수(1.34-1.57배), 유전 손실 인자(1.82-3.43배), 소산 인자(1.15-2.55배)를 가진다[16,24]. 이는 메탄올의 경우 마이크로웨이브 에너지를 훨씬 더 많이 흡수할 수 있고 다른 용매보다 더 잘 열로 바꿀 수 있음을 의미한다. 따라서 메탄올에서 마이크로웨이브 가열 속도가 가장 높으며, 이로 인해 가장 높은 추출 효율을 얻을 수 있는 것으로 판단된다.

UAE 방법의 경우, 바이오매스/메탄올 비율(1:1, w/v)을 일정하게 하고 파클리탁셀 분해가 일어나지 않는 온도(25, 30, 35, 40, 45 °C)에서 초음파 파워(180, 250, 380 W)와 조업 시간(1, 2, 4, 6, 10 min)을 각각 변화시켜 교반(~500 rpm) 하에서 1회 추출을 수행하였다. Fig. 5에서 보는 바와 같이 추출 온도와 초음파 파워가 증가

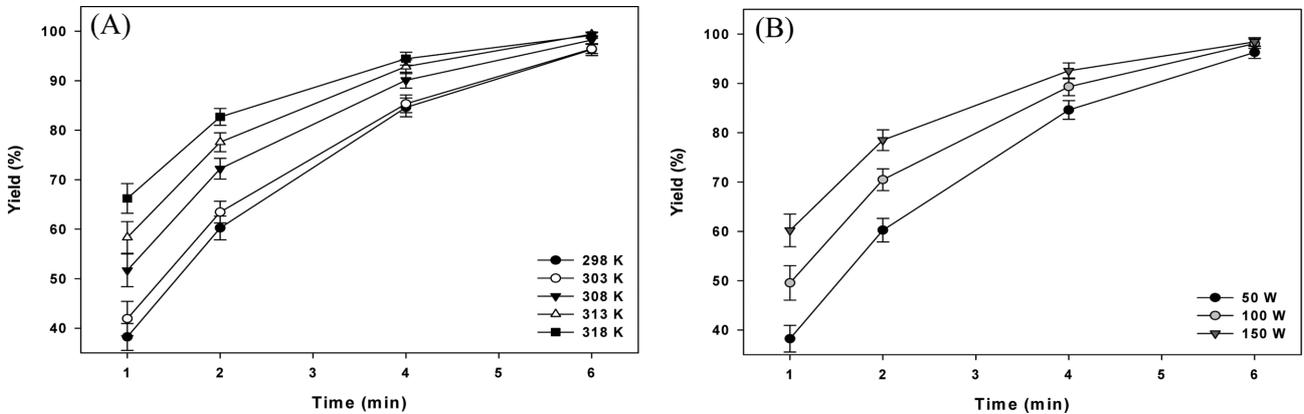


Fig. 4. Effect of extraction temperature at 50 W-microwave power (A) and microwave power at 298 K (B) on the yield of paclitaxel during the microwave-assisted extraction. The biomass/methanol ratio and stirring speed were 1:1 (w/v) and 500 rpm, respectively.

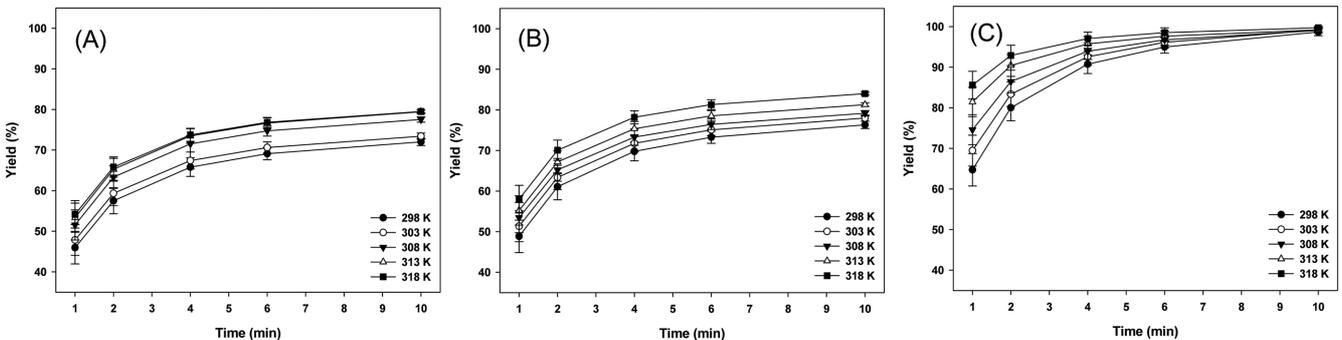


Fig. 5. Effect of extraction temperature on the yield of paclitaxel at different ultrasound powers during the ultrasound-assisted extraction. Ultrasound power 180 W (A); Ultrasound power 250 W (B); Ultrasound power 380 W (C). The biomass/methanol ratio, stirring speed were 1:1 (w/v) and 500 rpm, respectively.

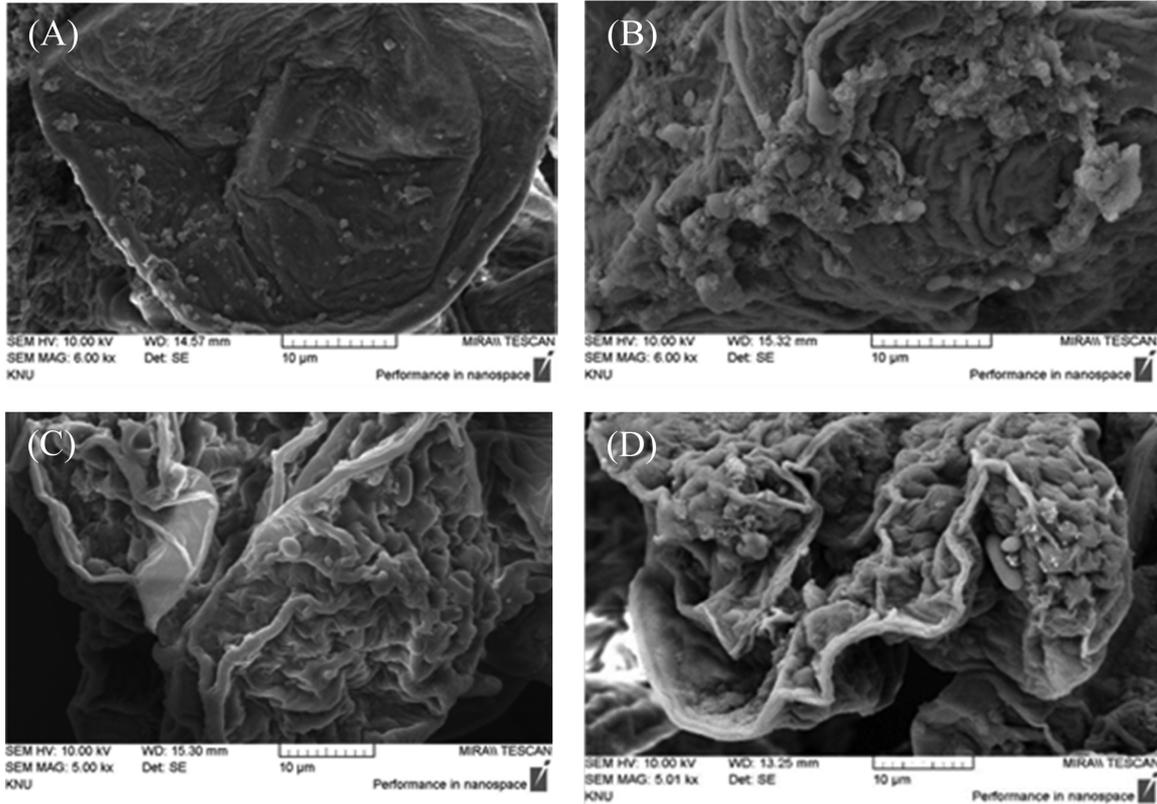


Fig. 6. SEM images of untreated (A); conventional solvent extraction-treated (B); microwave-assisted extraction (microwave power 50 W)-treated (C); and ultrasound-assisted extraction (ultrasound power 250 W)-treated (D) biomasses.

할수록 파클리탁셀 수율은 증가하는 경향을 보였으며, 초음파 파워 380 W에서 대부분의 파클리탁셀을 회수(~99%)할 수 있었다. 또한 조업 시간이 증가할수록 파클리탁셀 수율이 증가하여 조업 시간 10 min에 거의 평형에 도달하였다. 초음파 파워 380 W 이하 구간에서는 조업 시간 10 min에 최대 수율이 ~80% 정도이었지만 초음파 파워 380 W에서는 파클리탁셀의 최대 수율이 ~99%이었다. 이러한 결과는 초음파가 세포벽을 파쇄하여 세포 내 함유되어 있는 파클리탁셀의 효과적인 추출과 추출 온도와 초음파 파워가 증가함에 따라 추출액의 용해도 증가에 의한 효과적인 물질 전달 때문으로 판단된다[12,27,30]. 결과적으로 초음파를 이용한 추출에서 초음파 파워 380 W, 조업시간 10 min에서 단 1회 추출로 대부분의 파클리탁셀 수율(~99%)을 얻을 수 있었다. 초음파를 이용한 추출 과정은 바이오매스를 초기에 추출 용매에 의해 빠른 속도로 씻김(washing stage)이 일어나 많은 양의 파클리탁셀이 추출된 후 느린 속도로 외부 확산(diffusion stage)이 일어나 평형에 도달하는 두 단계로 진행됨을 알 수 있었다. 이러한 현상은 바이오매스로부터 폴리페놀 추출에서의 연구결과와 유사하였다[31].

주사전자현미경(SEM) 분석을 통하여 바이오매스의 표면 형태를 조사하였다. 추출 전 바이오매스의 경우(Fig. 6(A))에는 매끄럽고 깨끗한 표면을 보였으며, 전통적 용매 추출의 경우(Fig. 6(B))에는 좀 더 주름진 형태를 보였다. 반면 마이크로웨이브와 초음파를 이용한 추출의 경우(Fig. 6(C), Fig. 6(D)) 바이오매스 표면은 강한 충격으로 매우 거칠고 오그라든 형태(파쇄된 형태)를 보였다. 즉, 세포 내 포함되어 있는 파클리탁셀이 완전히 추출될 수 있도록 충분히 파쇄된 표면이 형성되고 결과적으로 추출 효율이 획기적으로 향

상되었다. 이러한 현상은 항암물질 호모하링토닌 회수를 위한 *Cephalotaxus koreana*의 마이크로웨이브를 이용한 추출의 경우와 생리활성물질 회수를 위한 *Achillea biebersteinii*의 초음파를 이용한 추출의 경우에서와 같이 바이오매스의 표면이 강한 마이크로웨이브와 초음파 충격으로 매우 거칠고 오그라든 형태를 보이는 연구결과와 유사하였다[32].

4. 결 론

본 연구에서는 *Taxus chinensis* 배양액으로부터 파클리탁셀을 회수하기 위하여 전통적 용매 추출(conventional solvent extraction, CSE), 마이크로웨이브를 이용한 추출(microwave-assisted extraction, MAE), 초음파를 이용한 추출(ultrasound-assisted extraction, UAE) 방법을 비교하였다. 여러 종류의 유기 용매(아세톤, 클로로포름, 에탄올, 메탄올, 메틸렌 클로라이드)를 이용하여 추출한 결과, 모든 추출 방법에서 가장 적은 양으로 가장 높은 회수율을 보인 메탄올이 가장 적합하였다. 메탄올을 이용한 CSE의 경우 1회의 추출(10 min)로 바이오매스로부터 65~71%의 파클리탁셀을 회수할 수 있는 반면 MAE와 UAE의 경우에는 각각 단 1회, 6 min과 10 min 추출로 대부분의 파클리탁셀 회수(>95%)가 가능하였다. 추출 온도(25~45 °C), 마이크로웨이브 파워(50~150 W), 초음파 파워(180~380 W)가 증가할수록 파클리탁셀 회수율이 증가하였다. 또한 메탄올의 농도에 따른 영향을 조사한 결과, 메탄올에 소량의 물이 포함되어 있을 경우(CSE: 5%, MAE/UAE: 10%) 추출 효율이 향상됨을 알 수 있었다. 추출 전후 바이오매스 표면을 SEM 분석한 결과, 추출 전에는 바이오매스

표면이 매우 매끄럽고 깨끗하였으며, CSE의 경우에는 조금 주름진 형태를 보였다. 반면 MAE와 UAE의 경우에는 바이오매스 표면은 강한 충격으로 매우 거칠고 오그라든 형태(파괴된 형태)를 보여 세포에 축적되어 있던 파클리탁셀이 충분히 추출될 수 있어 결과적으로 추출 효율이 획기적으로 향상되었다.

감 사

이 논문은 2018년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업의 결과물입니다(과제번호: 2018R1D1A3A03000683).

References

- Kim, J. H., "Paclitaxel: Recovery and Purification in Commercialization Step," *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **21**, 1-10(2006).
- Lee, S. H. and Kim, J. H., "Kinetic and Thermodynamic Characteristics of Microwave-assisted Extraction for the Recovery of Paclitaxel from *Taxus chinensis*," *Process Biochem.*, **76**, 187-193(2019).
- Kang, H. J. and Kim, J. H., "Adsorption Kinetics, Mechanism, Isotherm, and Thermodynamic Analysis of Paclitaxel from Extracts of *Taxus chinensis* Cell Cultures onto Sylopute," *Biotechnol. Bioproc. Eng.*, **24**, 513-521(2019).
- Pyo, S. H., Choi, H. J. and Han, B. H., "Large-scale Purification of 13-dehydroxybaccatin III and 10-deacetylpaclitaxel, Semi-synthetic Precursors of Paclitaxel from Cell Cultures of *Taxus Chinensis*," *J. Chromatogr.*, **1123**, 15-21(2006).
- Lee, C. G. and Kim, J. H., "A Kinetic and Thermodynamic Study of Fractional Precipitation of Paclitaxel from *Taxus chinensis*," *Process Biochem.*, **59**, 216-222(2017).
- Kim, Y. S. and Kim, J. H., "Isotherm, Kinetic and Thermodynamic Studies on the Adsorption of Paclitaxel Onto Sylopute," *J. Chem. Thermodyn.*, **130**, 104-113(2019).
- Kim, J. H., Lim, C. B., Kang, I. S., Hong, S. S. and Lee, H. S., "The Use of a Decanter for Harvesting Biomass from Plant Cell Cultures," *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **15**, 337-341(2000).
- Yoo, K. W. and Kim, J. H., "Kinetics and Mechanism of Ultrasound-assisted Extraction of Paclitaxel from *Taxus chinensis*," *Biotechnol. Bioproc. Eng.*, **23**, 532-540(2018).
- Kim, G. J. and Kim, J. H., "A Simultaneous Microwave-assisted Extraction and Adsorbent Treatment Process Under Acidic Conditions for Recovery and Separation of Paclitaxel from Plant Cell," *Korean J. Chem. Eng.*, **32**, 1023-1028(2015).
- Pyo, S. H., Song, B. K., Ju, C. H., Han, B. H. and Choi, H. J., "Effects of Adsorbent Treatment on the Purification of Paclitaxel from Cell Cultures of *Taxus chinensis* and Yew Tree," *Process Biochem.*, **40**, 1113-1117(2005).
- Kim, J. H., Kang, I. S., Choi, H. K., Hong, S. S. and Lee, H. S., "A Novel Prepurification for Paclitaxel from Plant Cell Cultures," *Process Biochem.*, **37**, 679-682(2002).
- Ha, G. S. and Kim, J. H., "Kinetic and Thermodynamic Characteristics of Ultrasound-assisted Extraction for Recovery of Paclitaxel from Biomass," *Process Biochem.*, **51**, 1664-1673(2016).
- Lee, J. H. and Kim, J. H., "Development and Optimization of a Novel Simultaneous Microwave-assisted Extraction and Adsorbent Treatment Process for Separation and Recovery of Paclitaxel From Plant Cell Cultures," *Sep. Purif. Technol.*, **80**, 240-245(2011).
- Hyun, J. E. and Kim, J. H., "Microwave-assisted Extraction of Paclitaxel from Plant Cell Cultures," *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **23**, 281-284(2008).
- Gao, M., Wang, H., Ma, M., Zhang, Y., Yin, X., Dahlgren, R. A., Du, D. and Wang, X., "Optimization of a Phase Separation Based Magnetic-stirring Salt-induced Liquid-liquid Microextraction Method for Determination of Fluoroquinolones in Food," *Food Chem.*, **175**, 181-188(2015).
- Ruen-ngam, D., Shotipruk, A. and Pavasant, P., "Comparison of Extraction Methods for Recovery of Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*," *Sep. Sci. Technol.*, **46**, 64-70(2011).
- Salarbasha, D., Fazly Bazzazb, B. S., Karimkhani, M. M., Sabeti Noghabi, Z., Khanzadeh, F. and Sahebkar, A., "Oil Stability Index and Biological Activities of *Achillea biebersteinii* and *Achillea wilhelmsii* Extracts as Influenced by Various Ultrasound Intensities," *Ind. Crop. Prod.*, **55**, 163-172(2014).
- Chunying, L., Zhicheng, L., Chunjian, Z., Lei, Y., Yujie, F., Kunming, S., Xin, H., Zhao, L. and Yuangang, Z., "Ionic-liquid-based ultrasound/microwave-assisted extraction of 2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one and 6-methoxy-benzoxazolin-2-one from maize (*Zea mays* L.) Seedlings," *J. Sep. Sci.*, **38**, 291-300(2015).
- Pongmalai, P., Devahastin, S., Chiewchan, N. and Soponronnarit, S., "Enhancement of Microwave-assisted Extraction of Bioactive Compounds from Cabbage Outer Leaves via the Application of Ultrasonic Pretreatment," *Sep. Purif. Technol.*, **144**, 37-45(2015).
- Soria, A. C. and Villamiel, M., "Effect of Ultrasound on the Technological Properties and Bioactivity of Food: a Review," *Trends Food Sci. Technol.*, **21**, 323-331(2010).
- Mandal, V., Mohan, Y. and Hemalatha, S., "Microwave Assisted Extraction-An Innovative and Promising Extraction Tool for Medicinal Research," *Phcog. Rev.*, **1**, 7-18(2007).
- Gamborg, O. L., Miller, R. A. and Ojima, K., "Nutrient Requirements of Suspension Cultures of Soybean Root Cells," *Exp. Cell Res.*, **50**, 151-158(1968).
- Kim, T. W. and Kim, J. H., "Kinetics and Thermodynamics of Paclitaxel Extraction from Plant Cell Culture," *Korean J. Chem. Eng.*, **33**, 3175-3183(2016).
- Lee, J. H. and Kim, J. H., "Effect of Water Content of Organic Solvent on Microwave-assisted Extraction Efficiency of Paclitaxel from Plant Cell Culture," *Korean J. Chem. Eng.*, **28**, 1561-1565(2011).
- Kim, J. H. and Hong, S. S., "Optimization of Extraction Process for Mass Production of Paclitaxel from Plant Cell Cultures," *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **15**, 346-351(2000).
- Pyo, S. H., Park, H. B., Song, B. K., Han, B. H. and Kim, J. H., "A Large-scale Purification of Paclitaxel from Cell Cultures of *Taxus chinensis*," *Process Biochem.*, **39**, 1985-1991(2004).
- Saxena, D. K., Sharma, S. K. and Sambi, S. S., "Kinetics and Thermodynamics of Gossypol Extraction from Defatted Cottonseed Meal by Ethanol," *Pol. J. Chem. Technol.*, **14**, 29-34(2012).
- Rakotondramasy-Rabesiaka, L., Havet, J. L., Porte, C. and Fauduet, H., "Solid-liquid Extraction Protopine from *Fumaria officinalis* L.-Analysis Determination, Kinetic Reaction and Model Building," *Sep. Purif. Technol.*, **54**, 253-261(2007).
- Ho, Y. S., Harouna-Oumarou, H. A., Fauduet, H. and Porte, C., "Kinetics and Model Building of Leaching of Water-soluble Com-

- pounds of Tilia Sapwood; *Sep. Purif. Technol.*, **45**, 169-173(2005).
30. Meziane, S. and Kadi, H., "Kinetics and Thermodynamics of Oil Extraction from Olive Cake;" *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **85**, 391-396 (2008).
31. d'Alessandro, L. G., Kriaa, K., Nikov, I. and Dimitrov, K., "Ultrasound Assisted Extraction of Polyphenols from Black Chokeberry;" *Sep. Purif. Technol.*, **93**, 42-47(2012).
32. Kim, W. K., Chae, H. J. and Kim, J. H., "Microwave-assisted Extraction of Homoharringtonine from *Cephalotaxus koreana*;" *Biotechnol. Bioproc. Eng.*, **15**, 481-487(2010).