

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 특허공보(B1)

(51) Int. Cl. ⁶ C11C 1/08	(45) 공고일자 1997년02월21일	(11) 공고번호 특1997-0002037
(21) 출원번호 (22) 출원일자	특1994-0033544 1994년12월09일	(65) 공개번호 (43) 공개일자
		특1996-0022971 1996년07월18일
	(24) 등록일자 1997년02월21일	

(73) 특허권자	농촌진흥청 김광희 경기도 수원시 권선구 서둔동 250
(72) 발명자	이정일 서울특별시 영등포구 대림 1동 863-3 류수노 충청남도 연기군 조치원읍 죽림리 삼정하이츠 307호 허한순 경기도 수원시 팔달구 매탄 2동 810-1 현대아파트 104동 407호 정보영 경상남도 창원시 미수동 동신아파트 102동 805호
(74) 대리인	윤동열

심사관 : 박용순 (책자공보 제4829호)

(54) 들깨유로부터 알파-리놀렌산을 분리, 정제하는 방법

요약

내용없음.

대표도

도1

명세서

[발명의 명칭]

들깨유로부터 α -리놀렌산(ALA)을 분리, 정제하는 방법

[도면의 간단한 설명]

제1도는 들깨유 지방산 혼합물로부터 분리한 분획의 GLC 분석 결과이다(실시예 1).

제2도는 저온분별결정법에 따라 농축한 들깨유 지방산 혼합물로부터 분리한 분획의 GLC 분석 결과이다(실시예 2).

[발명의 상세한 설명]

본 발명은 들깨유로부터 α -리놀렌산을 고순도로 분리, 정제하는 방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는, 질산은(AgNO₃) 함침 실리카겔을 사용하고, 용리액으로서 아세톤-헥산 혼합 용매계를 사용한 순상분배 크로마토그래피를 이용함을 특징으로 하는 α -리놀렌산의 분리, 정제 방법에 관한 것이다.

α -리놀렌산(α -Linolenic acid; 18 : 3n-3, 이하 ALA라 한다)는 에이코사펜타엔산(eicosapentaenoic acid; 20 : 5n-3, EPA) 및 도코사헥사엔산(docosahexaenoic acid; 22 : 6n-3, DHA)과 같은 n-3계 불포화 지방산으로서, 다양한 생리활성작용이 인정되고 있는데, 예를 들면 항암작용, 혈전성질환의 억제작용, 혈압상승억제 작용, 항알레르기작용, 기억학습능력의 향상작용 등이 알려지고 있다.

ALA는 들깨유에 특히 다량 함유되어 있으며, 들깨유를 통상의 방법에 따라 가수분해함으로써 얻을 수 있다. 그러나, 이와 같은 가수분해법에 의해 얻어지는 ALA는 리놀산(Linoleic acid; 이하 18 : 2n-6라 한다)이나 올레인산(Oleic acid; 이하 18 : 1n-9이라 한다) 등의 탄소수 18개의 불포화 지방산과 함께 혼합물의 형태로 제공되어 왔다. 그러나, 통상적으로 특정성분의 생리기능실험에는 90% 이상의 고순도 제품이 필요하나, ALA의 경우 분리기술의 미흡등으로 국내에서는 아직 95% 이상의 고순도 제품의 생산이 실용화되어 있지 않다.

이에, 최근 일본유지주식회사(日本油脂株式会社)에서는 ALA의 정제방법으로서, ALA, 18 : 2n-6, 18 : 1n-9을 주성분으로 하는 지방산 혼합물로부터 옥타데실기 결합형 실리카겔이나 스티렌-디비닐벤젠(Styrene-divinylbenzene)계 공중합체를 담체로 하고, 용리액으로 N,N-디메틸포름아미드 수용액, 메탄올 수용액, 디메틸설폭시드(dimethyl sulfoxide)등을 사용한 역상분배 크로마토그래피법을 제시하고 있으며, 이 방법에 의하면 순도 90% 이상의 ALA를 얻을 수 있다(일본 공개특허 평 1-207257호). 그러나 국내에서는 들깨

유 지방산 혼합물로부터 고순도 ALA의 분리에 관한 어떠한 시도도 찾아 볼 수 없다.

이에, 본 발명자들은 들깨유 지방산 혼합물로부터 고순도의 ALA를 분리, 정제하기 위하여 예의 검토한 결과, 들깨유로부터 가수분해에 의해 분리된 ALA-함유 지방산 혼합물에 주성분으로 함유되어 있는 ALA, 18 : 2n-6 및 18 : 1n-9는 이중결합의 수에 있어서 차이가 나기 때문에, 이에 의한 극성의 차이를 이용하면 특성의 지방산을 고순도로 분리해 낼 수 있으리라는 생각에 착안하여 본 발명을 완성하게 되었다.

즉, 분배 크로마토그래피법을 이용한 분리법에서 질산은(AgNO₃) 함침 실리카겔을 담체로 하는 경우, 음이온(Ag⁺)이 지방산의 이중결합에 작용하여 가역적으로 극성복합체를 형성하게 되고, 용리액의 극성을 조절하여 연속적으로 적용함으로써 지방산의 극성의 차이를 이용하면 ALA를 고순도로 분리, 정제할 수 있음을 발견하고 본 발명을 완성하게 되었다.

따라서, 본 발명의 목적은 들깨유 지방산 혼합물로부터 ALA를 95% 이상의 고순도로 효율적으로 분리, 정제하는 방법을 제공하는데 있다.

즉, 본 발명은 질산은(AgNO₃) 함침 실리카겔을 담체로 하고, 아세톤-헥산 혼합 용매제를 용리액으로 한 순상 분배 크로마토그래피법을 이용함으로써 들깨유 지방산 혼합물로부터 ALA를 95% 이상의 고순도로 효율적으로 분리, 정제할 수 있음을 특징으로 한다.

이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

본 발명에 사용된 지방산 혼합물은 들깨유를 가수분해하여 얻은 것이거나, 이를 저온분별결정법으로 농축한 것이며, 이하 이를 총칭하여 들깨유 지방산 혼합물이라 한다. 들깨유를 가수분해하여 얻은 지방산 혼합물은 표 1에 나타낸 바와 같이, ALA이 63.1%, 18 : 1n-9가 14.1%, 18 : 2n-6가 14.0% 및 그외 주유지방산으로 16 : 0(팔미틴산), 18 : 0(스테아린산) 등이 9.0% 정도 함유된 것이다. 또, 상기한 지방산 혼합물을 저온 분별결정법으로 1차 농축하여 얻은 지방산 혼합물은 표 2에 나타낸 바와 같이 ALA가 약76% 함유되어 있다. 이와 같이 저온분별결정법에 이용하여 지방산 혼합물을 1차적으로 농축하여 적용하는 경우, ALA의 분리 효율을 더욱 높일 수 있다.

[표 1]

들깨유 지방산 혼합물의 조성

지 방 산	함 량(%)
16 : 0	6.22
18 : 0	1.68
18 : 1n-9	14.1
18 : 1n-7	0.90
18 : 2n-6	14.0
18 : 3n-3	63.1

[표 2]

저온분별결정법에 의한 농축한 들깨유 지방산 혼합물의 조성

지 방 산	함 량(%)
16 : 0	0.31
18 : 1n-9	6.73
18 : 1n-7	1.05
18 : 2n-6	16.1
18 : 3n-3	75.8

본 발명에 따른 크로마토그래피 분리법에서, 담체로는 질산은 함침 실리카겔을 사용한다. 질산은 함침 실리카겔은 70~230메쉬의 실리카겔 100g당 질산은(AgNO₃) 10g을 함침시킨 것이다.

다음으로 본 발명에 따른 분리법에 사용되는 용리액에 대해 설명하면, 본 발명에서 분리 대상이 되는 지방산들, ALA, 18 : 2n-6 및 18 : 1n-9는 모두 탄소수 18개의 불포화지방산이지만, 이중결합수가 다르기 때문에 극성이 18 : 1n-9 < 18 : 2n-6 < ALA(18 : 3n-3)의 순으로 다르다. 이들 지방산들은 담체인 질산은 함침 실리카겔에 은이온(Ag⁺)과의 극성복합체의 형태로 흡착된 상태로 존재하기 때문에, 용리액의 극성을 순차적으로 변화시킴으로써 극성 순으로 지방산을 유출시킬 수 있다. 이에 본 발명에서는 용리액으로 아세톤-헥산 혼합 용매계를 사용하며, 아세톤의 함량을 변화시켜 용리액의 극성을 조절하고 있다. 즉, 본 발명에서는 아세톤 : 헥산의 부피비가 2 : 98, 5 : 95, 7 : 93인 용리액을 순차적으로 주입하여, 극성이 작은 지방산, 즉 18 : 1n-9, 18 : 2n-6, ALA의 순으로 유출시킨다.

이때 지방산 혼합물의 주입량은 담체 100g당 2~3g이고, 용리액은 각각을 200ml씩 사용하며, 용리액의 유출속도는 1~2ml/min(10ml tube/7min)로 한다.

상기한 바와 같이, 본 발명에 의하면 동일한 탄소수를 갖는 지방산 혼합물로부터 극성의 차이를 이용함으

로써 ALA를 고순도로 분리할 수 있으며, 뿐만 아니라 사용한 용리액의 극성이 낮기 때문에 은이온(Ag^+)의 유출이 거의 없어 반영구적으로 사용할 수 있어 정제비용을 대폭 절감할 수 있는 효과도 부수적으로 얻을 수 있다.

이하, 실시예를 들어 본 발명의 분리방법을 구체적으로 설명한다.

[실시예 1]

먼저 본 발명의 분리법에 담체로 사용되는 질산은 함침 실리카겔을 준비하였다. 즉, 질산은($AgNO_3$) 10g을 에탄올 약 300ml에 용해시키고, 여기에 70~230메쉬의 실리카겔 100g을 분산시켜 10분간 혼합한 다음, 에탄올을 완전히 제거하고 120℃에서 2시간 활성화하여, 데시케이터에서 30분간 방냉한 후, 아세톤-헥산 혼합용매(2 : 98, v/v)에 분산시켜 유리컬럼(2.5cm, i.d.×30cm)에 충전하였다.

사용한 들깨유 지방산 혼합물은 표 1의 조성을 갖는 것이었다.

들깨유 지방산 혼합물 2.5g을 메틸에스테르 유도체로 하여 컬럼에 주입한 다음, 용리액으로 2%, 5%, 7% 아세톤-혼합용매(2 : 98, 5 : 95, 7 : 93, v/v) 각각 200ml를 1~2ml/min의 유출속도로 순차적으로 주입하여, 유출되어 나오는 분획을 분취기(Fraction Collector)로 10ml씩 분취하였다. 모은 분획을 1% NaCl 수용액과 증류수로 씻어 불순물을 제거하고 기체크로마토그래피(GLC)에 의해 ALA의 순도를 확인한 후, 고순도의 ALA분획분을 모아 일정량으로 정용한 다음, 다시 일정량을 취하고, 여기에 내부 표준품으로써 23 : 0 메틸에스테르를 넣어 GLC에 의해 분석함으로써 ALA의 순도 및 중량을 구하였다.

GLC의 분석 조건은 다음과 같다.

GLC; Shimadzu GC 14A

컬럼; Supelcowax-10이 용융된 실리카 wall coated open-tubular capillary 컬럼(0.50mm, i.d.×25m)

컬럼 온도; 180~220℃(1℃/min)

인젝터 온도; 250℃

검출기 온도; 250℃

Split ratio; 1 : 50

담체(기체); 헬륨(He)(1.0kg/cm²)

적분기(Integrator); Shimadzu CR-5

각 분획의 조성을 조사한 결과를 제1도에 나타내었으며, 각 분획에 함유된 지방산 중 ALA의 순도는 분획 B에서 79.4%, 분획 C에서 88.2%, 분획 D에서 99.6%, 분획 E에서 99.9%이었다. 또 분획으로부터의 ALA의 회수율은, ALA의 순도가 79.4% 이상인 경우 90.2%(분획 B+C+D+E), 88.2% 이상인 경우 52.8%(분획 C+D+E), 99.6% 이상인 경우 36.8%(분획 D+E), 99.9% 이상인 경우 16.4%(분획 E)이었다.

[실시예 2]

실시예 1에서 들깨유 지방산 혼합물을 저온분별 결정법으로 1차 농축하여 사용한 것을 제외하고는 동일한 방법으로 ALA의 분리를 실시하였다. 들깨유 지방산 혼합물을 약 7배량의 98%의 아세톤 수용액에 용해시켜서, -80℃에서 1시간 동결시킨 후 부흐너 깔때기로 여과하여 표 2에 나타난 조성을 갖는 1차 농축액을 얻었다. 이를 실시예에서와 동일한 방법으로 질산은 함침 실리카겔 칼럼 크로마토그래피를 이용하여 ALA를 분리하였다.

각 분획의 조성을 조사한 결과를 제2도에 나타내었으며, 각 분획에 함유된 지방산 중 ALA의 순도는 분획 B에서 85.5%, 분획 C에서 95.4%, 분획 D에서 99.9%이었다. 또 분획으로부터의 ALA의 회수율은, ALA의 순도가 85.5% 이상인 경우 90.0%(분획 B+C+D), 95.4% 이상인 경우 54.4%(분획 C+D), 99.9% 이상인 경우 31.5%(분획 E)이었다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

들깨유 지방산 혼합물로부터 α -리놀렌산을 분리, 정제함에 있어서, 질산은($AgNO_3$) 함침 실리카겔을 담체로 하고, 아세톤-헥산 혼합 용매계를 용리액으로 한 크로마토그래피법을 이용함을 특징으로 하는 고순도 α -리놀렌산의 분리, 정제 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 들깨유 지방산 혼합물은 들깨유를 가수분해하여 얻은 지방산 혼합물이거나 이를 저온 분별 결정법으로 농축한 것임을 특징으로 하는 고순도 α -리놀렌산의 분리, 정제 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 들깨유 지방산 혼합물은 담체 100g당 2~3g의 양으로 컬럼에 주입함을 특징으로 하는 고순도 α -리놀렌산의 분리, 정제 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 질산은 함침 실리카겔은 70~230메쉬의 실리카겔 100g당 질산은 10g을 함침시킨 것임을

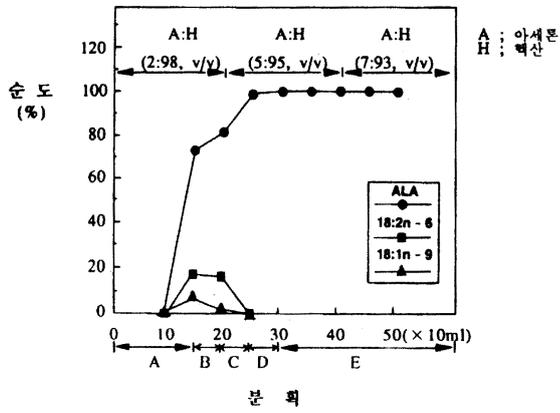
특징으로 하는 고순도 α -리놀렌산의 분리, 정제 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 용리액으로 아세톤 : 헥산의 부피비가 2 : 98, 5 : 95, 7 : 93인 아세톤-헥산 혼합 용매 계를 연속적으로 적용한 것임을 특징으로 하는 고순도 α -리놀렌산의 분리, 정제 방법.

도면

도면1



도면2

