

## (+)-Dihydromyricetin 분별침전에 미치는 제타전위의 영향

하건수 · 김진현<sup>†</sup>

공주대학교 화학공학부  
31080 충남 천안시 서북구 천안대로 1223-24  
(2015년 2월 2일 접수, 2015년 3월 18일 수정본 접수, 2015년 3월 27일 채택)

### Influence of Zeta Potential on Fractional Precipitation of (+)-Dihydromyricetin

Geon-Soo Ha and Jin-Hyun Kim<sup>†</sup>

Department of Chemical Engineering, Kongju National University, 1223-24 Cheonan-daero, Seobuk-gu, Cheonan 31080, Korea  
(Received 2 February 2015; Received in revised form 18 March 2015; accepted 27 March 2015)

#### 요 약

본 연구에서는 바이오매스 유래 생리활성물질인 (+)-dihydromyricetin을 정제하기 위한 분별침전공정에서 분별침전 용액의 제타전위가 분별침전 양상(순도, 수율, 침전물 형태와 크기)에 미치는 영향을 조사하였다. 제타전위 조절을 위한 실리카-알루미나의 첨가량(반응액 부피당 표면적) 100 mm<sup>-1</sup>에서 가장 높은 수율을 얻을 수 있었다. 실리카-알루미나의 제타전위가 양(+)의 값으로 증가할수록 (+)-dihydromyricetin 수율과 침전물의 크기는 증가하였다. 가장 큰 제타전위 값(+4.99 mV)을 가진 실리카를 이용한 분별침전의 경우에는 가장 작은 제타전위 값(-19.00 mV)을 가진 알루미나를 이용한 분별침전의 경우보다 2배 이상 높은 수율을 얻을 수 있었다. 또한 분별침전 과정에서 제타전위 절대값이 증가할수록 (+)-dihydromyricetin 수율과 침전물의 크기는 감소하여 제타전위 절대값에 반비례함을 알 수 있었다. 반면 표면적증가물질 실리카-알루미나의 제타전위 변화에도 (+)-dihydromyricetin 순도는 거의 변화가 없었다.

**Abstract** – This study evaluated the influence of the zeta potential of silica-alumina on the behavior in terms of purity, yield, and precipitate shape and size of fractional precipitation in the fractional precipitation process for the purification of (+)-dihydromyricetin. The optimal silica-alumina amount (surface area per working volume of reacting solution) for zeta potential control was 100 mm<sup>-1</sup>. As the zeta potential value of silica-alumina increased, (+)-dihydromyricetin yield and precipitate size were increased. The use of silica with the highest value of the zeta potential (+4.99 mV) as a zeta potential-controlling material increased the (+)-dihydromyricetin yield by 2-fold compared with that of the use of alumina with the lowest value of the zeta potential (-19.00 mV). In addition, the (+)-dihydromyricetin yield and precipitate size was inversely correlated with the absolute value of the zeta potential. On the other hand, the purity of (+)-dihydromyricetin had almost no effect on changes in the zeta potential of silica-alumina.

Key words: (+)-Dihydromyricetin, Purification, Fractional Precipitation, Silica-Alumina, Zeta Potential

#### 1. 서 론

식물(*Hovenia dulcis* 또는 *Ampelopsis grossedentata*) 유래 생리활성물질인 (+)-dihydromyricetin [(+)-ampelopsin]은 알코올 분해 및 간 질환 치료에 효능이 뛰어난 기능성 물질로 숙취해소 및 간 보호 관련 기능성 식품 및 의약품의 원료로 사용되는 물질이다[1-5]. Du 등[6]은 *Ampelopsis grossedentata* 유래 (+)-dihydromyricetin이 고혈압 억제에도 상당히 효과가 있음을 보고 하였으며 Yoshikawa 등[7]

은 에탄올에 의한 근육이완 억제 효과, 에탄올의 체내 대사촉진과 간 보호 효과, 항 알러지 효능 등이 있음을 보고하였다. 생리활성물질인 (+)-dihydromyricetin의 상업화(기능성 식품 또는 의약품)를 위해서는 유용 성분의 대량 분리 및 정제가 필수적이지만 이에 관한 연구는 아직까지 상당히 미흡한 실정이다. 특히 산업적 대량생산에 직접 활용될 수 있는 분리 및 정제 방법에 대한 연구는 전무한 실정이다. 다만 유기용매를 이용한 추출 및 크로마토그래피를 이용한 낮은 순도 (<10%)의 (+)-dihydromyricetin을 얻거나 테르페노이드, 지질, 염록소, 페놀 등이 포함되어 있는 조추출물(crude extract)을 얻는 것에 제한적으로 연구가 진행되었다[8,9]. 또한 고순도 정제를 위한 공정으로 고가의 크로마토그래피를 이용하고 있거나 전처리 없이 추출을 거친 조생성물(crude product)을 high performance liquid chromatography (HPLC)에 의해서 바로 최종 정제하여 경제적 측면에서 많은 문제가

<sup>†</sup>To whom correspondence should be addressed.

E-mail: jinhyun@kongju.ac.kr

‡이 논문은 공주대학교 박규영 교수님의 정년을 기념하여 투고되었습니다. 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.

있으며 또한 산업적 대량생산을 위한 scale-up에도 많은 어려움이 따른다[6]. 2008년 용해도 차이를 이용한 분별침전(fractional precipitation)에 의해 높은 순도(>83.2%)의 (+)-dihydromyricetin을 얻을 수 있는 간단하고 편리한 정제공정이 개발되었다. 그러나 분별침전에 많은 시간(~32 h)이 소요되어 대량생산 공정에 적용되는데 어려움이 있다[10,11]. 2014년에 개선된 분별침전이 보고되었는데[11], 이온교환수지(Amberlite 200, Amberlite IR 120Na)를 이용하여 반응액 부피당 표면적(surface area/working volume, S/V)을 증가시켜 분별침전 효율을 향상시킬 수 있는 방법을 개발하였다. 특히 표면적증가물질 Amberlite 200의 경우 상대적으로 짧은 침전시간(~16시간)에 높은 수율(>90%)로 (+)-dihydromyricetin을 얻을 수 있어 침전에 소요되는 시간을 단축시킬 수 있었다[11]. 하지만 산업적 대량생산을 위해 여전히 공정 효율 향상이 필요한 실정이다. 2012년과 2014년에는 식물세포 유래 항암물질 paclitaxel 정제를 위한 분별침전에서 침전물 크기와 분별침전 용액의 제타전위(zeta potential) 값과의 연관성을 보고하였다[12,13]. 하지만 식물유래 생리활성물질인 (+)-dihydromyricetin의 정제를 위한 분별침전 과정에서 분별침전 용액의 제타전위가 침전 효율에 미치는 영향에 대한 체계적 연구는 수행된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 (+)-dihydromyricetin 분별침전 용액의 제타전위 조절이 용이한 실리카-알루미나 혼합물을 제조하여 제타전위 변화에 따른 분별침전 양상(순도, 수율, (+)-dihydromyricetin 입자 형태 및 크기)에 미치는 영향을 조사하였다. 이러한 연구결과는 식물유래 (+)-dihydromyricetin의 상업적 대량 정제 공정에 효과적으로 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

## 2. 재료 및 방법

### 2-1. (+)-Dihydromyricetin 시료

본 연구에 사용된 (+)-dihydromyricetin은 Guilin Natural Ingredient, Inc. (Guilin, China)에서 구입한 조추출물(순도: 80.0%)를 사용하였다.

### 2-2. (+)-Dihydromyricetin 분석

(+)-Dihydromyricetin 분석을 위해 HPLC system (SCL-10 AVP, Shimadzu, Japan)과 Capell Pak C18 (250 × 4.6 mm, 5 μm, Shiseido, Japan) column을 사용하였다. 이동상은 distilled water와 acetonitrile 혼합용액(90/10~30/70, v/v, gradient mode)을 60분 동안 유속 1.0 ml/min으로 흘려주었다. 시료는 이동상인 distilled water와 acetonitrile 혼합용액(90/10, v/v)에 녹여 주입(주입량은 20 μl) 하였으며, 254 nm에서 UV에 의해 검출하였다. HPLC 분석은 표준 정량곡선을 이용하였으며, 표준시료는 Sigma-Aldrich 제품(순도: 98%)의 제품을 사용하였다[10].

### 2-3. 실리카-알루미나 혼합 흡착제 제조

분무열분해 공정에 의해 다공성 메조기공 실리카-알루미나를 제조하였다. 알루미늄 전구체로 aluminum nitrate (Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·9H<sub>2</sub>O,

Aldrich)를 사용하였고, 실리카 전구체로는 tetraethylorthosilicate (TEOS, Adrich)를 사용하였다. 기공형성을 위한 주형제로는 poly(ethylene glycol)-blockpoly(propylene glycol)-block-poly(ethylene glycol) (P123, Aldrich)를 사용하였다. 분무용액은 실리카 전구체를 녹인 용액에 알루미늄 전구체를 녹이고, P123을 첨가하여 제조하였다. 알루미늄 전구체와 실리카의 전체 농도는 0.2 M로 고정하였고, 알루미늄 기준 유기 템플릿 P123의 몰 비는 0.07로 고정시켜 주었다. 알루미늄과 실리카의 몰비는 0-1로 변화시켜 주었다. 제조한 분무용액은 초음파 액적 발생장치(aerosol generator, 진동자 6개, 1.7 MHz, 동립엔지니어링)를 이용하여 액적화를 한 다음 운반기체를 통하여 반응기 내로 이동시켰다. 운반기체로는 공기를 사용하였으며, 유량은 10 l/min으로 고정하였다. 건조부와 반응부의 반응기는 길이 1200 mm, 직경 55 mm인 석영관을 각각 사용하였다. 건조부를 두 구역으로 나누고 각각의 온도를 T<sub>1</sub>=300 °C, T<sub>2</sub>=350 °C, 반응부의 온도는 T<sub>3</sub>=600 °C로 고정시켰다. 최종 반응부를 통과한 입자들은 테플론 필터를 이용하여 포집하였다. 제조된 분말에 잔존하는 유기물들을 없애기 위해 전기로 내에서 소성시켜 제거하였다. 전기로의 온도는 550 °C(승온 속도: 1 °C/min) 공기분위기 하에서 4시간 동안 소성시켰다. 소성 후 얻은 분말의 질소 흡착/탈착 등온선은 200 °C에서 전처리 후 Micrometrics사의 ASAP 2000을 이용하여 -196 °C에서 측정하였다. 상대압력 0.06-0.3 범위에서 흡착 데이터와 Brunauer-Emmett-Teller(BET) 법을 이용하여 표면적을 계산하였다[15]. 기공부피는 상대압력 0.995에서 흡착 부피로부터 계산하였으며 기공크기는 17-3000 Å 범위에서 탈착 등온선으로부터 Barrett-Joyner-Halenda(BJH) 법을 이용하여 계산하였다. 제조된 실리카-알루미나 혼합물의 물성치는 Table 1에 나타내었다.

### 2-4. 분별침전(fractional precipitation)

(+)-Dihydromyricetin 시료(순도: 80.0%)를 먼저 아세톤에 녹이고 (0.1 g/ml), 아세톤 용액에 0.1 N NaOH로 pH를 9.0으로 조절된 증류수(아세톤 용액/증류수=1/5, v/v)를 교반(350 rpm) 하에 한 방울씩 떨어뜨려 용해도 차이를 이용하여 (+)-dihydromyricetin 침전을 유도하였다. 반응기 부피는 20 ml이며 반응액 부피는 6 ml이었다. 반응액 부피당 표면적(surface area/working volume: 50, 100, 250 mm<sup>-1</sup>, S/V)을 달리하여 실험을 수행하였다. S/V는 다음과 같이 계산하였다.

$$S/V(\text{mm}^{-1}) = [\text{실리카-알루미나 총 표면적} / \text{반응액 부피}] \quad (1)$$

S/V 증가 및 제타전위 조절을 위하여, Table 1에서 보는 바와 같이 다양한 종류의 실리카-알루미나 혼합물(Al, Al<sub>0.8</sub>Si<sub>0.2</sub>, Al<sub>0.5</sub>Si<sub>0.5</sub>, Al<sub>0.2</sub>Si<sub>0.8</sub>, Si)을 제조하여 분별침전에 이용하였다. 제조된 실리카-알루미나 혼합물을 각각 분별침전 용액에 첨가(S/V 값을 각각 50, 100, 250 mm<sup>-1</sup>로 조절)한 후 저온(4 °C)의 항온습습기(KCL-2000W, EYELA, Japan)에 침전시간(6, 12, 18 시간)을 달리하여 (+)-dihydromyricetin의 침전물을 얻었다. (+)-Dihydromyricetin의 분별침전 개략도를

Table 1. Physical properties of Al, Al<sub>0.8</sub>Si<sub>0.2</sub>, Al<sub>0.5</sub>Si<sub>0.5</sub>, Al<sub>0.2</sub>Si<sub>0.8</sub>, Si

Silica-alumina	Mole fraction Al / Si	Surface area (m <sup>2</sup> /g)	Pore volume (cm <sup>3</sup> /g)	Pore diameter (nm)
Al	1/0	194	0.62	11.7
Al <sub>0.8</sub> Si <sub>0.2</sub>	0.8/0.2	231	0.52	7.6
Al <sub>0.5</sub> Si <sub>0.5</sub>	0.5/0.5	281	0.45	5.4
Al <sub>0.2</sub> Si <sub>0.8</sub>	0.2/0.8	402	0.47	5.8
Si	0/1	366	0.96	7.3

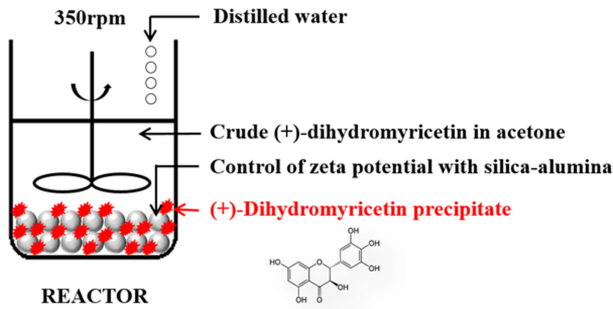


Fig. 1. Schematic diagram of zeta potential controlled fractional precipitation with silica-alumina for the purification of (+)-dihydromyricetin.

Fig. 1에 나타내었다. 분별침전 용액에서의 실리카-알루미나의 제타전위는 ELS-Z (Photal, Japan)를 이용하여 측정하였다. 분별침전 후 침전물을 여과지(150 mm, Whatman, Buckinghamshire, UK)로 여과하고 40 °C에서 24시간 동안 진공(635 mmHg) 건조하여 HPLC로 분석하였다. (+)-Dihydromyricetin 수율은 다음과 같이 정의하였다.

$$\text{수율(\%)} = \frac{\text{분별침전 전 시료에서 (+)-dihydromyricetin 양}}{\text{분별침전 후 시료에서 (+)-dihydromyricetin 양}} \times 100 \quad (2)$$

### 2-5. 침전물 형태 확인

분별침전공정에서 (+)-dihydromyricetin 침전물 형태 및 크기 측정을 위해 전자현미경(SV-35 Video Microscope system, Some Tech, Korea)을 사용하였다. 분별침전을 통해 얻은 (+)-dihydromyricetin 침전물을 고배율( $\times 100$ )에서 관찰하였다. 관찰된 (+)-dihydromyricetin 침전물은 IT-Plus system (Some Tech, Korea)에서 동화상으로 확인하였으며 이를 통해 (+)-dihydromyricetin 침전물의 형태와 크기를 확인하였다 [14].

## 3. 결과 및 고찰

### 3-1. 실리카-알루미나를 이용한 반응액 부피당 표면적 변화에 따른 영향

기존 문헌보고에 따르면 (+)-dihydromyricetin 분별침전을 위한 최적 조건으로 acetone/distilled water 비, 초기농도, 보관온도, pH는 각각 1/5(v/v), 0.1 g/ml, 4 °C, 9.0이었다[10]. 주어진 최적의 분별침전 조건 하에서 제타전위 조절용 실리카-알루미나(Al, Al<sub>0.8</sub>Si<sub>0.2</sub>, Al<sub>0.5</sub>Si<sub>0.5</sub>, Al<sub>0.2</sub>Si<sub>0.8</sub>, Si)를 이용하여 반응액 부피당 표면적(50, 100, 250 mm<sup>2</sup>)을 달리하여 분별침전을 수행하였다. 실리카-알루미나를 이용한 반응액 부피당 표면적(S/V) 변화에 따른 영향을 조사하기 위하여, 분별침전 24시간 이후에는 (+)-dihydromyricetin 순도와 수율의 변화가 거의 없음을 고려[11]하여 분별침전 12시간에서 실험을 수행하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 모든 실리카-알루미나 혼합비율에서 반응액 부피당 표면적(S/V) 100 mm<sup>2</sup>에서 가장 높은 수율(~50%)을 얻을 수 있었다. 반면 실리카-알루미나를 이용한 반응액 부피당 표면적에 관계없이 (+)-dihydromyricetin의 순도(>90%)는 모두 비슷한 경향을 보였다(date not shown). 따라서 분별침전을 위한 제타전위 조절용 실리카-알루미나의 최적 반응액 부피당 표면적은 100 mm<sup>2</sup>로 선정하였다.

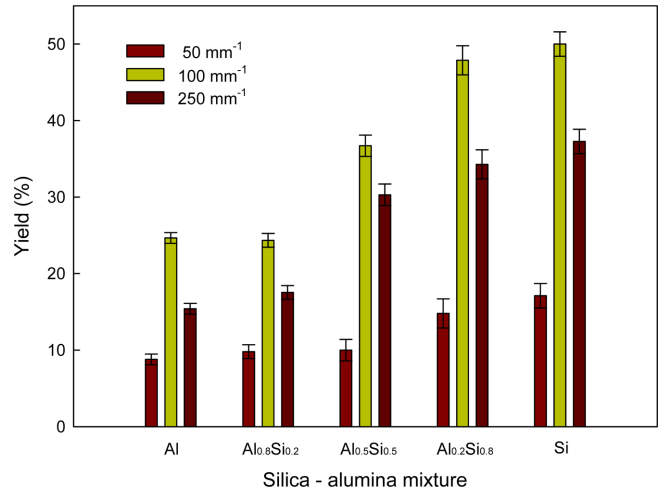


Fig. 2. Effect of silica-alumina used to control zeta potential on the yield of (+)-dihydromyricetin at a fixed acetone/distilled water ratio (1/5, v/v), precipitation temperature (4 °C), pH (9.0), precipitation time (12 hr), and initial concentration (0.1 g/ml) in fractional precipitation process.

### 3-2. 실리카-알루미나 혼합비율(제타전위) 변화에 따른 영향

분별침전 시 실리카-알루미나를 이용하여 반응액 부피당 표면적을 100 mm<sup>2</sup>로 고정하여 실리카-알루미나 혼합비율에 따른 제타전위 값을 조사하였다. 실리카-알루미나 혼합비율에 따라 분별침전 용액에서 제타전위 값은 각각 -19.0 mV(Al), -15.9 mV(Al<sub>0.8</sub>Si<sub>0.2</sub>), -6.04 mV(Al<sub>0.5</sub>Si<sub>0.5</sub>), -2.1 mV(Al<sub>0.2</sub>Si<sub>0.8</sub>), +4.99 mV(Si)를 나타내었다. 즉, 실리카 비율이 증가할수록 제타전위 값(+)이 증가하는 반면 알루미나 비율이 증가할수록 제타전위 값(-)이 감소하였다. 분별침전 시간(6, 12, 18시간)에서 제타전위 변화(실리카-알루미나 혼합비율 변화)에 따른 (+)-dihydromyricetin의 수율, 순도, 입자크기 및 형태를 Fig. 3에 나타내었다. 분별침전 용액의 제타전위가 양(+)의 값으로 증가할수록(실리카의 비율이 증가할수록) (+)-dihydromyricetin 수율(Fig. 3(a))은 증가하였다. 가장 큰 제타전위 값(+4.99 mV)을 가진 실리카를 이용한 분별침전의 경우에는 가장 작은 제타전위 값(-19.00 mV)을 가진 알루미나를 이용한 분별침전의 경우보다 2배 이상 높은 수율을 얻을 수 있었다. 이러한 현상은 분별침전 용액에서 실리카-알루미나와 (+)-dihydromyricetin 입자 간의 친화력(affinity) 차이로 인해 실리카-알루미나 표면에서의 (+)-dihydromyricetin 과포화도가 달라지기 때문으로 판단된다[13]. 또한 분별침전 과정에서 제타전위의 절대값이 증가할수록 (+)-dihydromyricetin 수율은 감소하여 제타전위 절대값에 반비례함을 알 수 있었다. 반면 실리카-알루미나의 제타전위 변화에도 (+)-dihydromyricetin 순도(>90%)는 거의 변화가 없었다(Fig. 3(b)).

분별침전 용액의 제타전위가 양(+)의 값으로 증가할수록(실리카의 비율이 증가할수록) 침전물의 크기(Fig. 3(c), Fig. 3(d))는 증가하였다. 모든 제타전위 구간에서 침전시간이 경과함에 따라 (+)-dihydromyricetin 침전물은 성장하였으며 침전물의 형태는 핵을 중심으로 가지가 성장하여 전체적으로 등근 형태를 띠었다. 침전물의 크기는 제타전위 값에 의존함을 알 수 있는데, 이러한 현상은 분별침전 용액에서 제타전위 절대값이 클수록 (+)-dihydromyricetin 입자 간의 뭉침 현상이 줄어들어 독립적으로 안정된 상태가 유지되어 더 효과적인 공간적 저해요소(steric barrier) 역할을 하기 때문으로 판단된다[12,16]. 또한 (+)-dihydromyricetin 수율과 마찬가지로, 분별침전 과정에서 제타전위

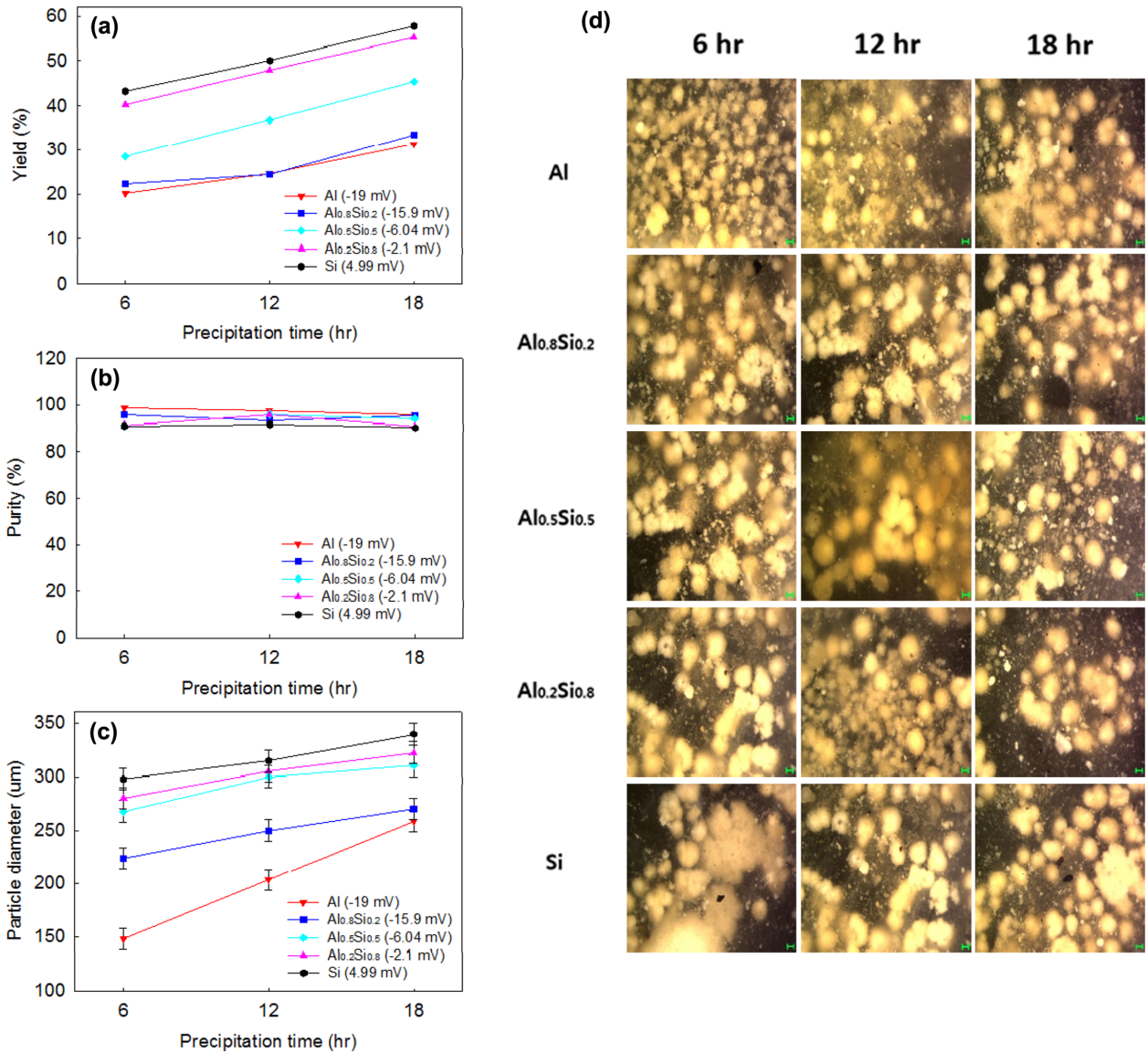


Fig. 3. Effect of zeta potential on yield (a), purity (b), particle diameter (c), and electron micrograph of the (+)-dihydromyricetin precipitation (d) during fractional precipitation (6, 12, 18 hr). Scale bar indicates 100 μm.

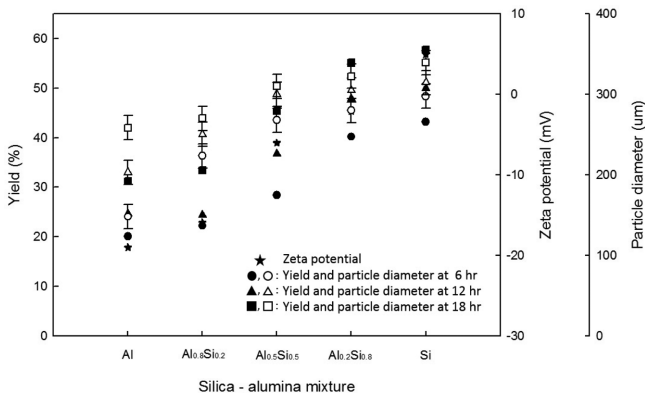


Fig. 4. The relationship between (+)-dihydromyricetin yield, particle size of paclitaxel precipitate, and zeta potential of reacting solution with silica-alumina mixture during fractional precipitation (6, 12, 18 hr). The acetone/distilled water ratio, precipitation temperature, pH, agitation speed, and initial concentration were 1/5 (v/v), 4 °C, 9.0, 350 rpm, and 0.1 g/ml in fractional precipitation process.

절대값이 증가할수록 침전물의 크기는 감소하여 제타전위 절대값에 반비례함을 알 수 있었다. 이상의 연구결과를 종합하여 실리카-알루미나 혼합비율에 따른 제타전위, 수율, 침전물 크기의 상관 관계를 Fig. 4에 나타내었다. 실리카-알루미나 혼합비율 조절로 분별침전 용액의 제타전위를 효과적으로 변화시킬 수 있었다. 즉, 실리카 비율이 증가할수록 제타전위 값(+)이 증가하였다. 또한 분별침전 과정에서 제타전위-침전물 크기-수율 간에 밀접한 연관성을 가짐을 알 수 있었다. 즉, 제타전위 값(+)이 증가할수록 (+)-dihydromyricetin 수율뿐만 아니라 침전물의 크기도 증가하여 결국 (+)-dihydromyricetin 수율은 침전물 크기에 비례하여 증가하였다. 이러한 연구결과는 (+)-dihydromyricetin의 산업적 대량생산 공정 개발에 유용하게 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

#### 4. 결 론

본 연구에서는 식물유래 생리활성물질인 (+)-dihydromyricetin을

정제하기 위한 분별침전 공정에서 분별침전 용액의 제타전위 변화가 분별침전 양상(순도, 수율, 침전물 크기)에 미치는 영향을 조사하였다. 제타전위 조절용 실리카-알루미나 혼합물의 반응액 부피당 표면적을 달리하여 실험한 결과 100 mm<sup>2</sup>일 때 가장 높은 수율을 얻을 수 있었다. 실리카-알루미나의 제타전위가 양(+)의 값으로 증가할수록(실리카의 비율이 증가할수록) (+)-dihydromyricetin 수율은 증가하였다. 가장 큰 제타전위 값(+4.99 mV)을 가진 실리카를 이용한 분별침전의 경우에는 가장 작은 제타전위 값(-19.00 mV)을 가진 알루미나를 이용한 분별침전의 경우보다 2배 이상 높은 수율을 얻을 수 있었다. 반면 실리카-알루미나의 제타전위 변화에도 (+)-dihydromyricetin 순도(>90%)는 거의 변화가 없었다. 또한 분별침전 용액의 제타전위가 양(+)의 값으로 증가할수록 침전물의 크기는 증가하였다. 이상의 결과로부터 제타전위 절대값이 작아질수록 (+)-dihydromyricetin 수율뿐만 아니라 침전물의 크기는 증가하여 제타전위 절대값에 반비례함을 알 수 있었다.

### References

1. An, S. W., Kim, Y. G., Kim, M. H., Lee, B. I., Lee, S. H., Kwon, H. I., Hwang, B. and Lee, H. Y., "Comparison of Hepatic Detoxification Activity and Reducing Serum Alcohol Concentration of *Hovenia dulcis* Thunb and *Alnus Japonica* Steud," *Korean J. Medicinal. Crop. Sci.*, **7**, 263-268(1999).
2. Hase, K. and Basnet, P., "Effect of *Hovenia dulcis* on Lipopolysaccharide-induced Liver Injury in Chronic Alcohol-fed Rats," *J. Trad. Med.*, **14**, 28-33(1997).
3. Lee, M. K., Kim, Y. G., An, S. W., Kim, M. H., Lee, J. H., Lee, H. Y., "Biological Activities of *Hovenia dulcis* Thunb," *Korean J. Medicinal. Crop. Sci.*, **7**, 185-192(1999).
4. Sakai, K., Yamane, T., Saitoh, Y., Ikawa, C., Nishihata, T., "Effect of Water Extracts of Crude Drugs in Decreasing Blood Alcohol Concentrations in Rats," *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 4597- 4604(1987).
5. Yoo, S. M., Mun, S. and Kim, J. H., "Recovery and Pre-purification of (+)-Dihydromyricetin from *Hovenia dulcis*," *Process Biochem.*, **41**, 567-570(2006).
6. Du, Q., Cai, W., Xia, M. and Ito, Y., "Purification of (+)-Dihy-

7. Yohsikawa, M., Murakami, T., Ueda, T., Yoshizumi, S., Ninomiya, K., Murakami, N., et al. "Bioactive Constituents of Chinese Natural Medicines. III. Absolute Stereostructures of New Dihydroflavonols, Hovenitins I, II, and III, Isolated from *Hovenia dulcis* Thunb. (Rhamnaceae): Inhibitory Effect on Alcohol-Induced Muscular Relaxation and Hepatoprotective Activity," *Yakugaku Zasshi.*, **117**, 108-118(1997).
8. Song, X. and Ren, Q., "Preparation and Application of Dihydromyricetin," CN. Patent No. 1,288,892(2001).
9. Zhang, Y., "Process for Preparing Dihydromyricetin from *Porcelain Ampelopsis*," CN. Patent No. 1,393,443(2003).
10. Lee, K. H. and Kim, J. H., "Development and Optimization of Fractional Precipitation for the Pre-purification of (+)-Dihydromyricetin," *Biotechnol. Bioproc. Eng.*, **13**, 274-278(2008).
11. Lim, M. K. and Kim, J. H., "Improvement of the Fractional Precipitation Process for the Purification of (+)-Dihydromyricetin," *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **42**, 25-31(2014).
12. Han, M. G. and Kim, J. H., "Evaluation of a High Surface Area Fractional Precipitation Process for the Purification of Paclitaxel from *Taxus chinensis*," *Biotechnol. Bioproc. Eng.*, **17**, 1018-1024(2012).
13. Ryu, H. K. and Kim, J. H., "Effect of Zeta Potential on Fractional Precipitation for the Purification of Paclitaxel from Plant Cell Cultures of *Taxus chinensis*," *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **42**, 114-120(2014).
14. Jeon, Y. L. and Kim, J. H., "Precipitation Characteristics of Paclitaxel in Solvent Systems with Different Ion Exchange Resins," *Korean J. Chem. Eng.*, **30**, 1954-1959(2013).
15. Gregg, S. J. and Sing, K. S. W., "Adsorption, Surface Area and Porosity," 2nd ed. Academic Press. New York., pp. 41-110(1982).
16. Cho, E. B., Cho, W. K., Cha, K. H. and Park, J. S., "Enhanced Dissolution of Megestrol Acetate Microcrystals Prepared by Antisolvent Precipitation Process Using Hydrophilic Additives," *Int J. Pharm.*, **396**, 91-98(2010).