

잔류 용매 제거를 위한 (+)-dihydromyricetin의 에탄올 전처리 건조

이희건 · 김진현[†]

공주대학교 화학공학부, 미래지속가능기술연구소
31080 충남 천안시 서북구 천안대로 1223-24
(2021년 12월 2일 접수, 2021년 12월 29일 수정본 접수, 2022년 1월 4일 채택)

Ethanol-pretreated Drying of (+)-dihydromyricetin for Removal of Residual Solvents

Hee-Gun Lee and Jin-Hyun Kim[†]

Center for Future Sustainable Technology, Department of Chemical Engineering, Kongju National University, Cheonan, 31080, Korea
(Received 2 December 2021; Received in revised from 29 December 2021; Accepted 4 January 2022)

요 약

본 연구에서는 정제된(+)-dihydromyricetin로부터 잔류 용매를 효과적으로 제거할 수 있는 건조 방법을 개발하였다. 에탄올 전 처리를 통한 회전 증발(rotary evaporation)에 의해 잔류 아세톤 농도를 ICH 규정치(5,000 ppm) 이하로 효율적으로 제거하였다. 또한 잔류 에탄올 역시 물 첨가를 통한 회전 증발로 ICH 규정치(5,000 ppm)를 충족시켰으며 잔류 수분 함량은 4% 이내였다. 모든 건조 온도(35, 45, 55 °C)에서 잔류 용매는 건조 초기에 급격히 제거되었으며 건조 효율은 건조 온도가 높을수록 증가하였다. 건조 메커니즘 조사 결과, 에탄올 전 처리에 의한 잔류 용매 제거는 아세톤-에탄올 혼합물의 높은 증기압과 아세톤-에탄올 간의 수소 결합과 연관됨을 알 수 있었다.

Abstract – In this study, a drying method that can effectively remove residual solvent from (+)-dihydromyricetin was developed. Residual acetone concentration was efficiently removed below ICH-specified value (5,000 ppm) by simple rotary evaporation with ethanol pretreatment. In addition, the residual ethanol met the ICH-specified value (5,000 ppm) by simple rotary evaporation through the addition of water, and the residual moisture also met the specified value (<4%) for active pharmaceutical ingredients. At all the drying temperature (35, 45, and 55 °C), a large amount of the residual solvent was initially removed during the drying, and the drying efficiency increased when increasing the drying temperature. Removal of residual solvent by ethanol pretreatment was shown to be related to high vapor pressure of acetone-ethanol mixture and hydrogen bonding between acetone and ethanol.

Key words: (+)-Dihydromyricetin, Residual solvent, Removal, Pre-treatment with ethanol, Drying

1. 서 론

(+)-Dihydromyricetin [(+)-ampelopsin] (화학식: C₁₅H₁₂O₈, 분자량: 320.25) (Fig. 1)은 *Ampelopsis grossedentata*에서 유래된 항산화 활성(antioxidant activity)을 가진 대표적 생리활성물질이다[1]. *A. grossedentata*의 잎에 많이 함유되어 있는 주요 기능성 플라보노이드인 (+)-dihydromyricetin은 숙취 해소와 간 보호뿐만 아니라 염증, 지방간, 중앙, 당뇨병 및 고지혈증 치료에 효과가 뛰어난 기능성 물질로 식품 및 의약품의 원료로 널리 사용되는 물질이다[1-3]. 또한 Du 등[4]은 *A. grossedentata*에서 유래된 (+)-dihydromyricetin이

고혈압 억제에도 상당히 큰 효과를 가지고 있음을 보고 하였고, Yoshikawa 등[5]은 에탄올에 의한 근육이완 억제 효과, 에탄올의 체내 대사 촉진 효과 및 항 알러지 효능을 보고하기도 하였다.

식품 유래 생리활성물질인 (+)-dihydromyricetin을 기능성 식품이나 의약품 원료로 사용하기 위한 상업화 과정에서 유용 성분의 대량 분리/정제뿐만 아니라 잔류 용매 제거가 필수적이다. 2000년 초에 유기용매를 이용한 추출 및 크로마토그래피를 이용한 (+)-dihydromyricetin의 분리/정제에 대한 제한적 연구가 수행되었다[6,7]. 2008년에 용해도 차이를 이용한 분별침전으로 간단하고 효율적인 전처리 방법이 개발되었다[8]. 2014년에 반응액 부피 당 표면적을 증가시켜 침전 효율을 향상시킬 수 있는 개선된 방법을 개발하였다[9]. 2018년에 친수성 고분자 물질을 이용한 보다 더 개선된 분별침전 방법(입자크기 감소 효과)이 보고되었다[3]. 최근에는 분별침전 과정에 초음파를 도입함으로써 핵 생성 속도(nucleation rate)를 증가시켜 침전 효율(특히 침전 시간 단축)을 향상시키는 방법

[†]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.

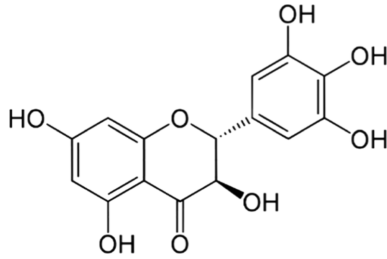


Fig. 1. The chemical structure of (+)-dihydromyricetin.

이 수행되었다[10]. 이와 같이 바이오매스 유래 (+)-dihydromyricetin의 효율적 대량생산에 적합한 분리/정제에 대한 연구는 비교적 체계적으로 수행되었으나 정제된 (+)-dihydromyricetin의 잔류 용매(residual solvents) 제거에 대한 연구는 전무한 실정이다.

원료의약품(active pharmaceutical ingredient, API)의 잔류 용매 농도는 International Conference of Harmonisation (ICH) Q3C guidance에 의해 엄격하게 규제되고 있다[11]. 용매의 독성 정도(Class 1>Class 2>Class 3)에 따라 그 용매의 허용 농도가 결정되는데, 반드시 허용치 이하로 제거되어야 한다. 이러한 규정치(ICH-specified value)를 충족하기 위하여 여러 건조 방법들이 도입되고 있는데, 일반적으로 잔류 용매 제거를 위해 회전 증발, 진공 건조, 마이크로웨이브 건조 등이 사용될 수 있다. 이들 건조 방법들은 건조 특성에 따라 조업 조건, 효율, 시간, 장치 비용, 설치 공간 등에서 차이를 보이는데, 일반적으로 회전 증발과 진공 건조는 상대적으로 조업이 간단하고 경제적인 건조 방법으로 널리 이용되고 있다. 또한 마이크로웨이브 건조는 빠르고 효과적인 열 분배를 제공하고 고품질의 제품을 얻는데 널리 이용될 수 있으나[12]. 추가 장치 및 에너지 비용이 발생하고 공정이 복잡할 수 있다.

최근에는 건조 효율 향상(건조 속도 증가)을 위한 알코올 전 처리(pretreatment) 방법이 제한적으로 보고되고 있다. 알코올 전 처리에 의한 건조로 원료의약품인 호모해링톤닌(homoharringtonine)과 파클리탁셀(paclitaxel)로부터 잔류 용매(메틸렌 클로라이드)의 효율적 제거 가능성을 보고하였다[13,14]. 또한 파클리탁셀로부터 또 다른 잔류 용매인 클로로폼과 톨루엔 제거와 반코마이신(vancomycin)의 잔류 아세톤 제거 가능성을 확인하였다[12,15,16]. 하지만 기존 연구들은 주로 알코올 전 처리-건조 공정 개발 및 공정 변수 최적화에 집중되었으며, 알코올 전 처리 건조의 메커니즘 규명 연구는 여전히 미흡한 실정이다. 더욱이 바이오매스 유래 (+)-dihydromyricetin로부터 잔류 용매 제거를 위한 알코올 전 처리-건조 방법 개발과 그 메커니즘 규명에 대한 연구는 전무한 실정이다. (+)-Dihydromyricetin의 정제를 위한 분별침전 과정에서 침전 용매로 아세톤이 사용되는데, 정제된 (+)-dihydromyricetin의 잔류 아세톤은 ICH Class 3로 분류되고, 허용 농도는 5,000 ppm으로 엄격하게 제한되고 있다[11,12]. 따라서 본 연구에서는 에탄올 전 처리에 의해 정제된 (+)-dihydromyricetin로부터 잔류 아세톤을 효과적으로 제거할 수 있는 건조 방법을 개발하고 건조 메커니즘을 조사하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2-1. (+)-Dihydromyricetin 시료

본 연구에서 (+)-dihydromyricetin의 분별침전에 사용된 시료(조

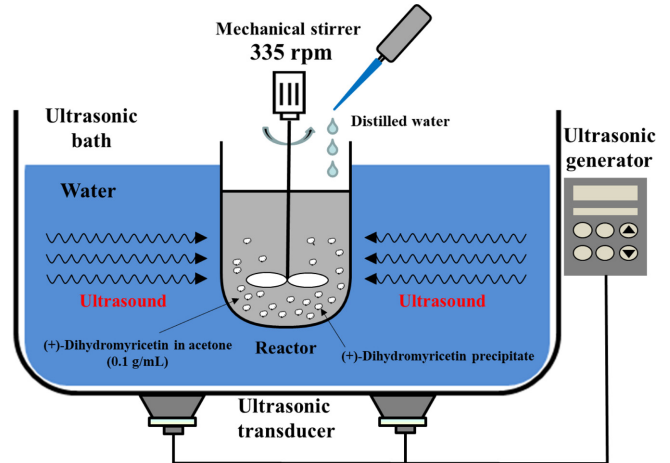


Fig. 2. A schematic diagram of ultrasonic-assisted fractional precipitation for sample (+)-dihydromyricetin preparation.

추출물, 순도: 54.84%)는 Guilin Natural Ingredient, Inc. (Guilin, China)로부터 구입하였다.

2-2. 분별 침전

초음파 분별침전 공정의 개략도를 Fig. 2에 나타내었다. (+)-Dihydromyricetin 시료(순도: 54.84%)를 아세톤에 녹인 후(0.1 g/mL) 증류수(증류수/아세톤 비=5/1, v/v)를 교반(335 rpm)하에 5초에 한 방울씩 떨어뜨려 용해도 차이를 이용하여 (+)-dihydromyricetin 침전을 유도하였다[3,9]. 반응기 부피는 20 mL이며 반응액 부피는 12 mL이었다. 초음파 분별침전은 침전 용액을 5 °C의 ultrasonic bath에서 초음파 파워 250 W에서 침전 시간 20 분 동안 수행하였다. 분별침전 온도, 초음파 세기, 침전 시간은 기존 연구의 최적 조건에서 선정하였다[3,8-10]. 침전 후 여과(150 mm, Whatman, Buckinghamshire, UK)를 통해 (+)-dihydromyricetin 침전물(순도>97%)을 얻었으며, 이를 잔류 용매 제거 실험에 이용하였다.

2-3. 건조 방법

본 연구에서는 분별침전으로부터 얻어진 (+)-dihydromyricetin의 잔류 용매를 제거하기 위하여 회전 증발, 진공 건조, 마이크로웨이브 건조를 수행하였다. 회전 증발: 시료(침전물: 0.1 g)를 회전 증발기(CCA-1100, EYELA, Japan)를 이용하여 45 °C, 감압 하에서 건조하였다. 진공 건조: 시료를 진공 건조기(UP-2000, EYELA, Japan)를 이용하여 40 °C, 감압 하에서 건조하였다. 마이크로웨이브 건조: 시료를 마이크로웨이브 장치(2450 MHz Model 1501, Korea Microwave Instrument Co, Korea)를 이용하여 마이크로웨이브 파워 300 W(55 °C)에서 수행하였다. 또한 에탄올 전 처리 효과를 조사하기 위하여, (+)-dihydromyricetin 시료(1 g)를 에탄올(첨가량: 5, 10, 20 mL)로 전 처리한 후 건조 온도(35, 45, 55 °C)를 달리하여 회전 증발로 건조하였다. 또한 잔류 에탄올 제거를 위하여 물을 추가적으로 첨가(5 mL)한 후 회전 증발을 통해 건조하였다. 건조된 시료의 잔류 용매 농도는 디메틸아세트아미드(dimethylacetamide)에 용해시킨 후 기체 크로마토그래피로 분석하였다. 더 나아가 건조 시 초음파 처리에 의해 잔류 아세톤-에탄올 간의 수소 결합이 잔류 용매 제거에 미치는 영향을 조사하기 위하여, 40 kHz ultrasonic bath

(JAC-4020, KODO, Korea) (초음파 파워: 540 W)에서 에탄올(5 mL)로 전 처리한 시료를 35 °C에서 회전 증발 하였다. 각 건조 실험은 세 번 수행되었다.

2-4. 잔류 용매 분석

잔류 아세톤과 에탄올의 함량은 HP-5 컬럼(25 m, 0.33 mm film, 0.20 mm ID)과 FID (flame ionization detector)가 장착된 기체 크로마토그래피(YL6500GC, Young-Rin, Korea)를 이용하여 분석하였다[12]. 컬럼의 분리 온도는 80~250 °C로 18 °C/min의 속도로 프로그래밍하여 사용하였다. 사용된 운반 가스는 헬륨이었고 유속은 0.7 mL/min이었다. 각 시료를 세 번 분석하였다. 아세톤과 에탄올의 검출 한계는 모두 0.5 ppm이었다.

2-5. 잔류 수분 분석

잔류 수분의 함량은 잔류 수분 함량을 측정하는데 주로 사용되는 Halogen Moisture Analyzer (HG-53; Mettler Toledo, OH, USA)를 이용하여 분석하였다. 분석에 사용된 시료의 양은 약 0.2 g이었으며, 분석 온도와 시간은 각각 90 °C, 100 분이었다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 에탄올 전 처리에 의한 잔류 아세톤 제거

분별 침전을 통해 얻은 (+)-dihydromyricetin의 잔류 아세톤의 제거 가능성을 조사하기 위하여, 먼저 시료를 건조 방법(회전 증발, 진공 건조, 마이크로웨이브 건조)을 달리하여 회전 증발: 45 °C, 진공 건조: 40 °C, 마이크로웨이브 건조: 300 W (55 °C)에서 14 시간 동안 건조하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 모든 건조 방법에서 잔류 아세톤 농도는 11,000-14,000 ppm 정도로 거의 변화가 없었다. 결과적으로 전통적 회전 증발, 진공 건조, 마이크로웨이브 건조 방법으로는 잔류 아세톤 농도에 대한 ICH 규정치(5,000 ppm)를 충족시키기 어려웠다. 따라서 에탄올 전 처리를 도입한 건조 방법으로 (+)-dihydromyricetin의 잔류 아세톤을 효과적으로 제거하고자 하였다.

먼저 에탄올 첨가량과 건조 온도에 따른 영향을 조사하기 위하여,

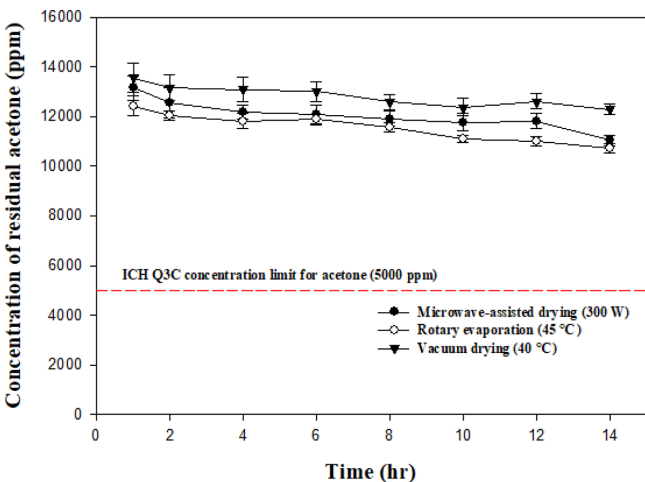


Fig. 3. Change of the concentration of residual acetone through drying time in rotary evaporation, vacuum drying, and microwave-assisted drying.

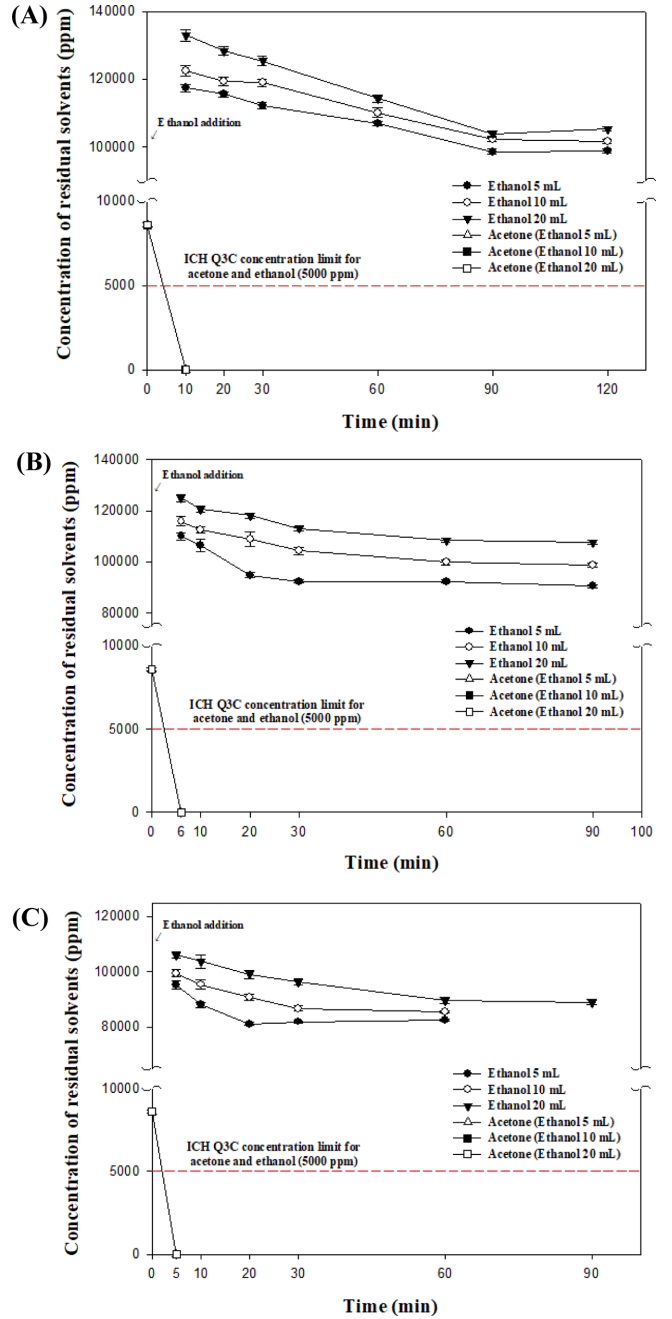


Fig. 4. Effect of ethanol amounts (5, 10, and 20 mL) on the removal of residual solvents in rotary evaporation with ethanol pre-treatment at different drying temperatures. (A): 35 °C, (B): 45 °C, (C): 55 °C. Ethanol was added at the beginning of drying.

정제된 (+)-dihydromyricetin 1 g 당 에탄올 첨가량(5, 10, 20 mL)을 달리하여 회전 증발을 이용하여 건조(온도: 35, 45, 55 °C)하였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 모든 조건에서 에탄올 전 처리 후 건조 5-10 분이면 잔류 아세톤의 농도가 급격히 감소하여 완전히 제거되었다. 반면 전 처리에 사용된 에탄올의 잔류 농도(80,000-133,000 ppm)는 높게 검출되어 모든 조건에서 ICH 규정치(5,000 ppm)를 충족시키지 못하였다. 에탄올 첨가량에 관계 없이 건조 온도 35 °C에서는 건조 10 분, 45 °C에서는 건조 6 분, 55 °C에서는 건조 5 분 경에 잔류 아세톤이 완전히 제거되었다. 건조 온도가 증가할수록

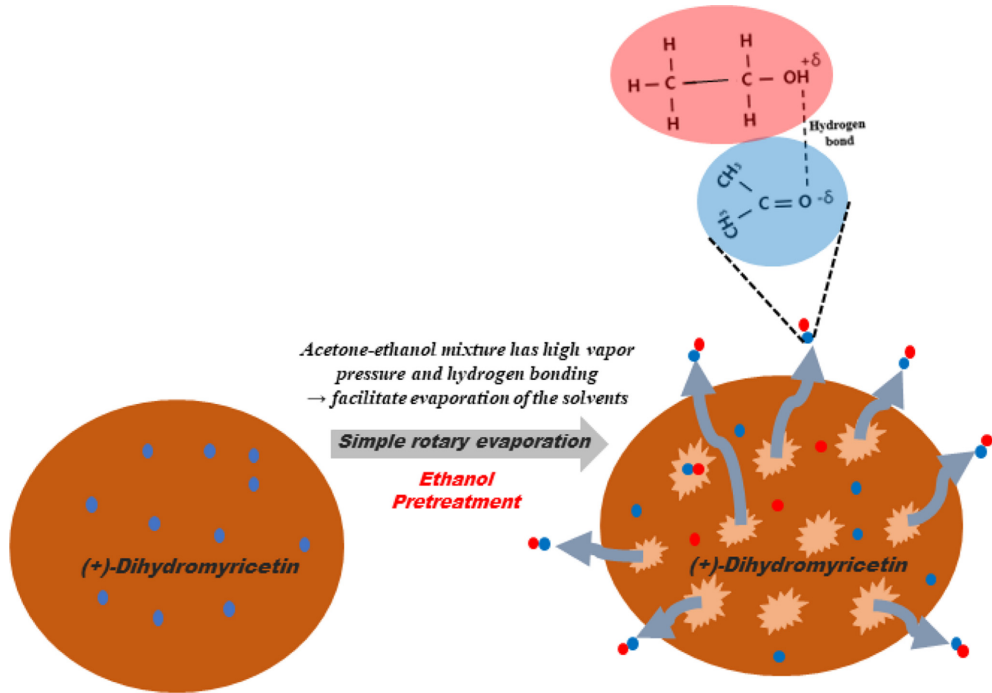


Fig. 5. A proposed mechanism for the removal of residual acetone from a sample pre-treated with ethanol. The acetone-ethanol mixture has a high vapor pressure and hydrogen bonding, which facilitates evaporation of the solvent.

잔류 아세톤 제거에 소요되는 시간은 단축됨을 알 수 있었다. 상대적으로 많은 에탄올 첨가량(20 mL)과 낮은 건조 온도(35 °C)에서 높은 잔류 에탄올 농도(133,000 ppm)를 보였다. 결과적으로 에탄올 전 처리에 의한 단순 회전 증발에 의해 잔류 아세톤의 농도를 ICH 규정치 이하로 충분히 제거 가능하였다. 이러한 결과는 알코올 전처리 건조에 의한 반코마이신의 잔류 아세톤 제거[12], 파클리탁셀의 잔류 메틸렌 클로라이드 제거[15], 파클리탁셀의 잔류 클로로포름과 톨루엔 제거[14,16], 호모해링토닌의 잔류 메틸렌 클로라이드 제거[13]에서와 유사하였다. 하지만 에탄올 전 처리에 의한 건조 후에 잔류 에탄올의 농도가 높게 나타나 ICH 규정치를 충족시킬 수 없었기 때문에 잔류 에탄올의 제거를 위한 추가 건조 방식이 필요하였다.

에탄올 전 처리-건조에 의한 잔류 용매 제거 메커니즘을 Fig. 5에 제안하였다. 에탄올 전 처리 시 아세톤-에탄올 혼합물은 높은 증기압(vapor pressure)을 가지게 되고, 또한 아세톤은 에탄올의 수산기(hydroxyl group)과 수소 결합 네트워크(hydrogen bond networks)를 형성하여 잔류 아세톤의 증발이 촉진된다[17-20]. 이를 확인하기 위해서, 수소 결합의 절단(breakage)에 많이 사용되고 있는 초음파(ultrasound)를 도입하였다[21,22]. 건조 시 초음파 처리에 의한 아세톤과 에탄올 사이의 수소결합 절단이 잔류 용매 제거에 미치는 영향을 조사하였다. Fig. 6에서 보는 바와 같이 35 °C에서 초음파 없이 건조할 경우 에탄올 전 처리 후 건조 10 분에 잔류 아세톤이 완전히 제거되었고, 잔류 에탄올 농도는 98,595 ppm이었다. 반면 건조 시 초음파가 도입된 경우에는 에탄올 전 처리 후 건조 20 분에 잔류 아세톤이 완전히 제거되었고, 잔류 에탄올 농도는 106,900 ppm이었다. 결과적으로 초음파 처리에 의해 아세톤-에탄올 사이의 수소결합을 절단할 경우 잔류 아세톤을 제거하는데 더 많은 시간(~20 분)이 소요되었고, 잔류 에탄올 농도도 상대적으로 높게 검출

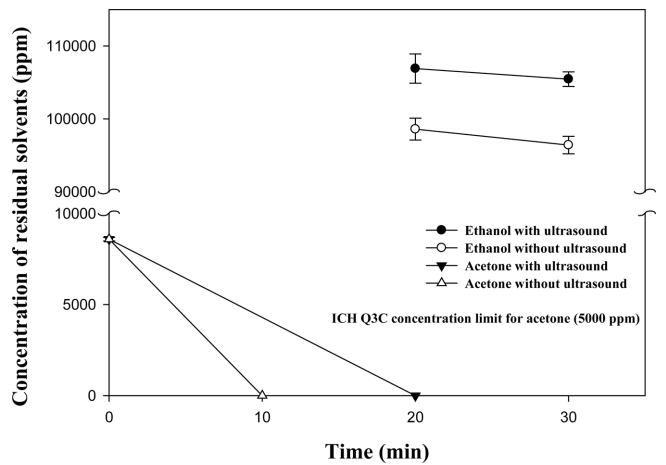


Fig. 6. Effect of ultrasound on the concentration of residual acetone and ethanol through drying time in rotary evaporated samples pre-treated with ethanol (5 mL) at 35 °C.

되었다. 즉, 초음파에 의한 수소 결합의 절단으로 잔류 아세톤과 잔류 에탄올의 증발이 상대적으로 제한됨을 알 수 있었다. 이러한 결과는 에탄올 전 처리 건조에 의한 반코마이신의 잔류 아세톤 제거[12], 메탄올 전 처리 건조에 의한 파클리탁셀의 잔류 클로로포름과 톨루엔 제거[15,16]에서와 유사하였다.

3-2. 잔류 에탄올 제거

(+)-Dihydromyricetin (1 g)을 에탄올(5 mL)로 전 처리한 후 회전 증발기를 이용하여 건조(온도: 35, 45, 55 °C)하고 각 건조 온도에서 잔류 에탄올 농도가 거의 평형에 도달하는 시점(35 °C: 90 분, 45 °C: 30 분, 55 °C: 20 분)에 물(5 mL)을 첨가한 후 회전 증발기를 이

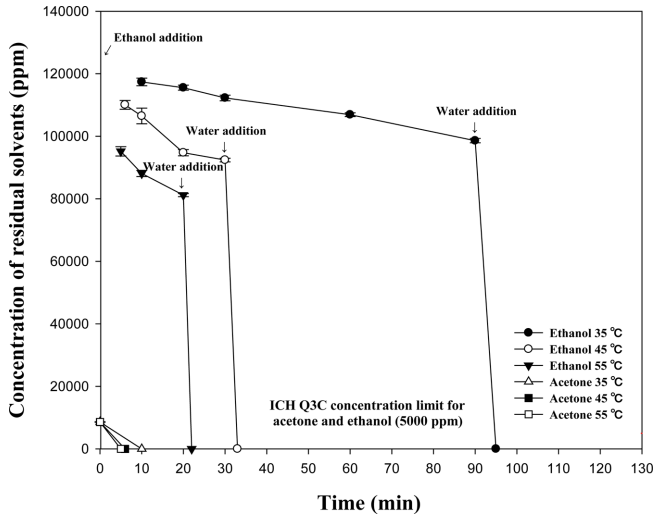


Fig. 7. Effect of water addition (5 mL) at equilibrium of residual ethanol concentration on the removal of residual ethanol in rotary evaporated sample pre-treated with ethanol at different temperatures (35, 45, and 55 °C). Ethanol was added at the beginning of drying.

용하여 추가 건조하였다. Fig. 7에서 보는 바와 같이 물 첨가 전에는 모든 건조 조건에서 높은 잔류 에탄올 농도(80,000-120,000 ppm)를 보였다. 반면 물 첨가 후에는 잔류 에탄올 농도가 급격히 감소하며 건조 2-5 분이면 잔류 에탄올이 완전히 제거되었다. 상대적으로 낮은 온도에서는 건조에 좀 더 많은 시간이 요구되었다. 결과적으로 에탄올 전 처리를 통한 회전 증발에서 잔류 아세톤을 완전히 제거할 수 있었으며 잔류 에탄올 농도가 거의 평형에 도달하는 시점에 물 첨가를 통해 잔류 에탄올 또한 완전히 제거할 수 있었다.

더 나아가 건조의 편리성을 위해 잔류 에탄올 농도가 거의 평형에 도달하는 시점이 아닌 잔류 에탄올 제거를 위한 추가 건조 초기에 물을 첨가하여 잔류 에탄올 제거 가능성을 확인하였다. (+)-Dihydromyricetin (1 g)을 에탄올(5 mL)로 전 처리하여 회전 증발기를 이용하여 건조(온도: 35, 45, 55 °C)한 후 잔류 에탄올 제거를

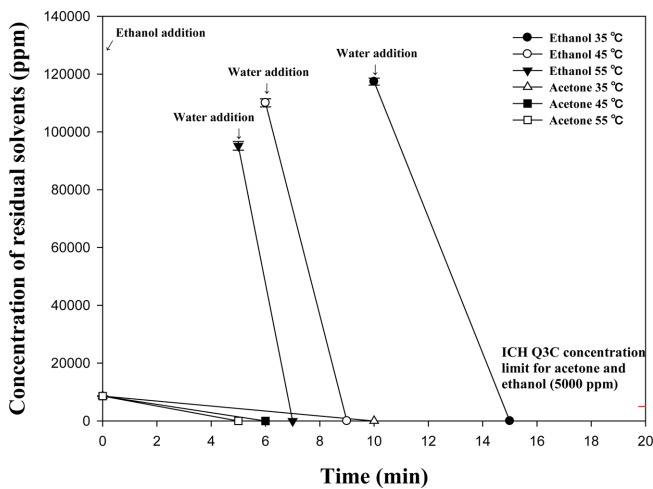


Fig. 8. Effect of water addition (5 mL) at the beginning of drying on the removal of residual ethanol in rotary evaporated sample pre-treated with ethanol at different temperatures (35, 45, and 55 °C). Ethanol was added at the beginning of drying.

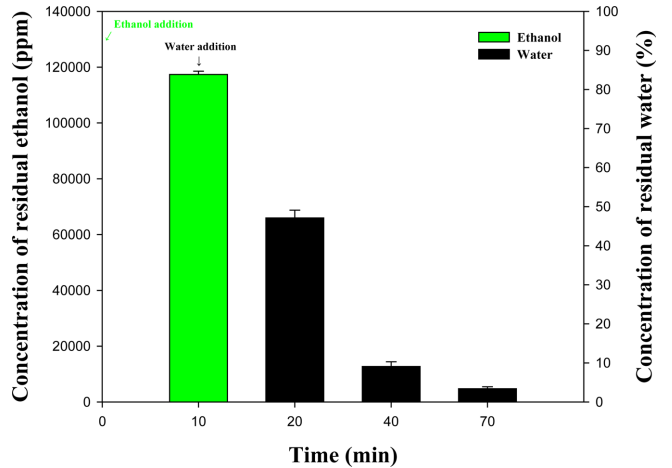


Fig. 9. Effect of evaporation time on the concentration of residual ethanol and water in rotary-evaporated sample pre-treated with ethanol and water at 35 °C. Ethanol was added at the beginning of drying.

위한 추가 건조 초기(35 °C: 10 분, 45 °C: 6 분, 55 °C: 5 분)에 물(5 mL)을 첨가한 후 건조하였다. Fig. 8에서 보는 바와 같이 모든 온도에서 물 첨가 후 건조 2-5 분이면 잔류 에탄올이 완전히 제거되었으며 낮은 건조 온도일수록 건조에 좀 더 많은 시간이 소요되었다. 결과적으로 에탄올 전 처리와 물 첨가 방법을 통한 회전 증발로 건조 7-15 분이면 잔류 아세톤과 에탄올 모두 완전히 제거 가능하여 ICH 규정치를 모두 충족하였다. 또한 Fig. 9에서 보는 바와 같이 35 °C, 추가 건조 초기(10 분)에 물 첨가 후 건조 1 시간이면 잔류 수분 함량은 3.4%이었으며 이는 원료의약품의 허용치(4% 이내)를 충족하였다 [14]. 이러한 결과는 첨가된 물이 잔류 에탄올과 수소 결합을 형성하여 물 첨가를 하지 않은 경우에 비해 잔류 에탄올을 효과적으로 제거할 수 있는 것으로 판단된다[14]. 결국 건조 과정에 에탄올과 물 첨가만으로 정제된 (+)-dihydromyricetin의 잔류 용매를 ICH 허용치 이하로, 물을 원료의약품 허용치 이하로 충분히 제거 가능하여 효율성 및 경제성 측면에서 매우 우수한 건조 방법으로 판단된다.

4. 결 론

본 연구에서는 분별침전으로 정제된 (+)-dihydromyricetin로부터 에탄올 전 처리를 통해 잔류 아세톤을 효과적으로 제거할 수 있는 건조 방법을 개발하였다. 또한 초음파 처리를 통해 건조 메커니즘을 규명하였다. 건조 온도(35, 45, 55 °C)와 시료 1 g 당 에탄올 첨가량(5, 10, 20 mL)을 변화시켜 회전 증발한 결과, 모든 온도 조건에서 에탄올 전 처리 후 건조 5-10 분이면 잔류 아세톤이 완전히 제거되었다. 잔류 에탄올은 추가 건조 초기(35 °C: 10 분, 45 °C: 6 분, 55 °C: 5 분)에 5 mL 물 첨가 후 건조 2-5 분이면 완전히 제거되었다. 결과적으로 에탄올 전 처리와 물 첨가를 통한 단순 회전 증발로 건조 7-15 분이면 잔류 아세톤과 에탄올 모두 완전히 제거할 수 있었으며 ICH 규정치(5,000 ppm)를 모두 충족하였다. 또한 건조 온도 35 °C, 추가 건조 초기(10 분)에 물 첨가 후 1 시간 건조를 통해 잔류 수분 함량은 원료의약품의 규격(4% 이내)를 충족시켰다. 초음파 처리에 의해 아세톤-에탄올 간의 수소 결합을 절단한 건조의 경우, 잔류 아세톤을 완전히 제거하는데 더 많은 시간이 소요되었고, 잔

류 에탄올 농도는 초음파 처리를 하지 않은 건조보다 더 높게 검출되었다. 이러한 결과로부터 에탄올 전 처리에 의한 아세트-에탄올 혼합물의 높은 증기압과 아세트-에탄올 간의 수소결합에 의해 잔류 용매가 효율적으로 제거됨을 알 수 있었다.

감 사

이 성과는 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(과제번호: NRF-2021R1A2C1003186).

References

- Li, F., Raza, A., Wang, Y.-W., Xu, X.-Q. and Chen, G.-H., "Optimization of Surfactant-mediated, Ultrasonic-assisted Extraction of Antioxidant Polyphenols from Rattan Tea (*Ampelopsis grossedentata*) Using Response Surface Methodology," *Phcog. Mag.*, **13**, 446-453(2017).
- Zheng, X. J., Xiao, H., Zeng, Z., Sun, Z. W., Lei, C., Dong, J. Z. and Wang, Y., "Composition and Serum Antioxidation of the Main Flavonoids from Fermented Vine Tea (*Ampelopsis grossedentata*)," *J. Funct. Foods*, **9**, 290-294(2014).
- Ji, S. B. and Kim, J. H., "Decreasing Particle Size of (+)-dihydromyricetin Using Hydrophilic Polymer in Fractional Precipitation," *Korean J. Chem. Eng. Res.*, **56**, 370-375(2018).
- Du, Q., Cai, W., Xia, M. and Ito, Y., "Purification of (+)-dihydromyricetin from Leaves Extract of *Ampelopsis grossedentata* Using High-speed Countercurrent Chromatograph with Scale-up Triple Columns," *J. Chromatogr. A*, **973**, 217-220(2002).
- Yohsikawa, M. and Murakami, T., "Four Methyl-migrated 16, 17-seco-dammarane Triterpene Glycosides from Chines Natural Medicine, *Hovenia Semen Seu Fructus*, the Seeds and Fruit of *Hovenia dulcis* Thunb," *Chem. Pharm. Bull.*, **44**, 1736-1743(1996).
- Song, X. and Ren, Q., "Preparation and Application of Dihydromyricetin," CN Patent No. 1,288,892 (2001).
- Zhang, Y., "Process for Preparing Dihydromyricetin from *Porcelain Ampelopsis*," CN Patent No. 1,393,443 (2003).
- Lee, K. H. and Kim, J. H., "Development and Optimization of Fractional Precipitation for the Pre-purification of (+)-dihydromyricetin," *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, **13**, 274-278(2008).
- Lim, M. K. and Kim, J. H., "Improvement of the Fractional Precipitation Process for the Purification of (+)-dihydromyricetin," *Korean J. Microbiol. Biotechnol.*, **42**, 25-31(2014).
- Oh, S. R. and Kim, J. H., "Ultrasound-based Fractional Precipitation for the Purification of (+)-dihydromyricetin," *Korean J. Chem. Eng.*, **38**, 480-484(2021).
- ICH guidance Q3C impurities: Residual solvents, Fed. Regist. **62**, 67377-67388(1997).
- Yoon, T. H. and Kim, J. H., "Development of Drying Process for Removal of Residual Solvent from Crystalline Vancomycin and Kinetic and Thermodynamic Analysis Thereof," *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, **25**, 777-786(2020).
- Lee, J. Y. and Kim, J. H., "Removal of Residual Methylene Chloride from Homoharringtonine by Pre-treatment with Ethanol," *Process Biochem.*, **48**, 1809-1813(2013).
- Lee, C. G. and Kim, J. H., "Improved Drying Method for Removal of Residual Solvents from Paclitaxel by Pre-treatment with Ethanol and Water," *Process Biochem.*, **50**, 1031-1036(2015).
- Kang, H. J. and Kim, J. H., "Removal of Residual Chloroform from Amorphous Paclitaxel Pretreated by Alcohol," *Korean J. Chem. Eng.*, **36**, 1965-1970(2019).
- Kang, H. J. and Kim, J. H., "Removal of Residual Toluene and Methyl Tertiary Butyl Ether from Amorphous Paclitaxel by Simple Rotary Evaporation with Alcohol Pretreatment," *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, **25**, 86-93(2020).
- Thiygarajan, R. and Palaniappan, L., "Effect of Toluene in the Dipolar Interaction of Some Aliphatic Alcohols," *Phys. Chem. Liq.*, **46**, 336-371(2008).
- Thanusha, T. K., "Study on Thermodynamic Properties of MTBE/Alcohol Binary Mixtures Using Nonlinear Models and Molecular Interaction Using Spectroscopic Approach," M.S. Thesis, University Malaysia Pahang, Gambang, Malaysia (2017).
- Zhu, Z., Wang, L., Ma, Y., Wang, W. and Wang, Y., "Separating an Azeotropic Mixture of Toluene and Ethanol via Heatintegration Pressure Swing Distillation," *Comput. Chem. Eng.*, **76**, 137-149 (2005).
- Abu Al-Rub, F. A., Abdel-Jabbar, N., Darwish, N. and Ghanem, H., "Vapor-liquid Equilibrium of MTBE-methanol, MTBE-methanol-calcium Chloride and MTBE-methanol-lithium Chloride Mixtures," *Chem. Eng. Technol.*, **25**, 729-733(2002).
- Ngoc, N. and Takaomi, K., "Ultrasound Stimulus Effect on Hydrogen Bonding in Networked Alumina and Polyacrylic Acid Slurry," *Ultrason. Sonochem.*, **17**, 186-192(2010).
- Venegas-Sanchez, J. A., Tagaya, M. and Kobayashi, T., "Ultrasound Stimulus Inducing Change in Hydrogen Bonded Cross-linking of Aqueous Polyvinyl Alcohols," *Ultrason. Sonochem.*, **21**, 295-309(2014).

Authors

Hee-Gun Lee: Student, Center for Future Sustainable Technology, Department of Chemical Engineering, Kongju National University, Cheonan 31080, Korea; lhg6429@naver.com

Jin-Hyun Kim: Professor, Center for Future Sustainable Technology, Department of Chemical Engineering, Kongju National University, Cheonan 31080, Korea; jinhyun@kongju.ac.kr