pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 31, No. 4, pp. 278~285 (2016)
http://dx.doi.org/10.13103/JFHS.2016.31.4.278

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

반응표면분석을 이용한 녹차와 애엽 혼합물의 추출조건 최적화

김영현 · 김우식[1] · 김재민 · 최선일 · 정태동 · 이진하 · 김종대 · 임재각[2] · 이옥환*
강원대학교 식품생명공학과, [1](주)G1바이오, [2]한국산업기술대학교 생명과학공학과

Optimization of Extraction Conditions for Mixture of *Camellia sinensis* L. and *Artemisia argyi* by Response Surface Methodology

Young-Hyun Kim, Woo-Sik Kim[1], Jae-Min Kim, Sun-il Choi, Tae-Dong Jung, Jin-Ha Lee, Jong-Dai Kim, Jae Kag Lim[2], and Ok-Hwan Lee*
Department of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea
[1]G1-Bio Co. Ltd., Chuncheon 24461, Korea
[2]Department of Chemical Engineering and Biotechnology, Korea Polytechnic University, Gyeonggi 15073, Korea
(Received May 23, 2016/Revised June 6, 2016/Accepted June 17, 2016)

ABSTRACT - This study used response surface methodology (RSM) in an effort to optimize the ultrasound-assisted extraction condition of *Camellia sinensis* L. and *Artemisia argyi* mixture in order to increase extraction yield in the extract. The effects of three independent variables, X_1 (Mixture ratio, 60-80%), X_2 (Ratio of water to raw material, 20~100 mL/g), and X_3 (Extraction time, 25-145 min), were investigated at three levels using Box-Behnken design (BBD) to obtain the highest extraction efficiency. Y (Extraction yield) was chosen as dependent variable. Our result showed that the coefficient of determination (R^2) of the model was 0.9747, with significant at the level of $p < 0.002$. Furthermore, the predicted values of each variable were similar to the actual values. The optimum extraction conditions were as follows: mixture ratio of 85.86%, ratio of water to raw material of 92.73 mL/g, and extraction time of 56.52 min. At these conditions, predicted extraction yield was 30.03%. The analysis of variance (ANOVA) indicated a high goodness of model fit and the success of the RSM method for optimizing extraction conditions of *Camellia sinensis* L. and *Artemisia argyi* mixture.

Key words : Response surface methodology, Ultrasound-assisted extracted, Box-Behnken design, *Camellia sinensis* L., *Artemisia argyi*

국민소득이 증가와 더불어 식생활 양식의 변화로 성인에 이르기까지 비만의 유병률이 점점 높아지고 있으며, 이로 인해 대사 증후군의 발병 및 사망률이 증가하고 있다[1]. 이러한 비만은 유전적, 영양적, 환경적 및 사회적 요인 등 다양한 원인들이 관여하는 것으로 알려져 있으며, 비만의 최대문제는 비만에 의해 발생되는 합병증이다[2]. 통계청 추계에 따르면 대한민국은 고령화 속도의 증가로 인해 2020년에는 고령 인구 비율이 15.6%에 달하고 2030년에는 24.3% 이상으로 초고령사회로 진입할 것으로 예상되어지고 있으며, 이에 따라 건강관리 중요성과 만성질환의 예방관리를 위한 기능성식품의 중요성에 대한 인식이 더욱 더 증가될 것으로 보인다[3]. 기능성식품 소재의 선택은 안전성 문제로 식용근거가 있는 소재를 중심으로 인체에 대한 안전성과 생리적 효능을 갖고 있는 천연유래 소재를 선호하는 경향이 높아지고 있다[4,5]. 질병은 치료되어야 한다는 과거의 사고방식이 변하여 현대인들 사이에서는 치료보다 예방이 우선시 되고 있으며, 편의 위주로 생활양식이 변함에 따라 간편하게 이용할 수 있는 드링크류의 의약품이나 건강식품의 개발이 증가하고 있다. 특히 추출물의 같은 경우 특정 성분의 농축, 첨가 등이 용이하여 단일 소재보다는 여러 식물의 추출물을 혼합하여 기능성을 높이고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다[6].

차나무(*Camellia sinensis* L.)의 어린잎을 다린 녹차(green tea)는 epicatechin, epicatechin gallate, epigallocatechin-3-gallate (EGCG) 등의 폴리페놀류를 다량 함유하고 있다[7,8]. 녹차의 약리적 효과는 epicatechin 계열 성분들과 관련 있으며, 200-300 mg 녹차가 들어있는 차 한잔에는 50-80%

*Correspondence to: Ok-Hwan Lee, Department of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea
Tel: 82-33-250-6454, Fax: 82-33-259-5565
E-mail: loh99@kangwon.ac.kr

의 EGCG가 존재하는 것으로 보고되었다. EGCG는 항산화, 항암, 항노화, 항당뇨, 항비만 등의 다양한 생리활성을 가지고 있어 많은 연구가 이루어지고 있다[9-13]. 애엽은 국화과에 속하는 다년생 초목인 황해쑥(*Artemisia argyi Lev. et Vant.*), 쑥(*Artemisia princeps Pampanini*), 산쑥(*Artemisia montana Pampani*)의 어린 잎 및 줄기를 말하며, 예로부터 지혈, 진통, 염증, 폐경기 질환에 효능이 있어 널리 사용되어져 왔다[14]. 애엽의 주요 성분으로는 eupatilin과 jaceosidin이 있으며, 항암, 항당뇨, 항동맥경화 외에 NF-kB 신호전달과정을 억제시켜 항염증 효과를 가지는 것으로 보고되었다[15-21]. 이와 같이 녹차와 애엽은 약용식품 소재로 생리활성 효능이 탁월하여 다양한 제품들이 생산되고 있는 반면, 제조공정의 관한 연구는 아직 미흡한 실정이다. 제품을 개발함에 있어서 우수한 생리활성 소재를 탐색하는 것만큼, 소재의 특징을 고려하여 적은 비용으로 다량의 유효성분을 추출 할 수 있는 공정의 개선도 중요하다[22]. 추출방법에는 열수추출법[23], 에탄올과 같은 유기용매를 이용한 추출방법[24], 마이크로파 추출법[25], 초임계유체 추출법[26], 초음파추출법[27] 등이 있으며, 열수추출법과 같이 물 또는 다른 용매를 이용하여 식물로부터 생리활성 성분을 추출하는 것이 보편적이다. 이와 같은 방법은 긴 추출 시간이 요구되기 때문에 용매와 온도의 조건을 다르게 하여 추출시간을 단축시키거나 추출 효율을 높이기도 하지만 용매와 온도의 조건 만으로 얻을 수 있는 결과에는 한계가 있으며, 오히려 높은 온도는 폴리페놀류 등과 같은 유효성분을 파괴시켜 생리활성 및 수율을 감소시키기도 한다[28].

따라서 본 연구는 녹차, 애엽, 상엽, 의이인, 진피 중 실험을 통해 지방세포(3T3-L1)의 분화억제 효능이 확인된 (data not shown) 녹차와 애엽 혼합물의 최적 추출조건을 확인하기 위해 반응표면분석(response surface methodology; RSM)으로 모니터링 하였다.

Materials and Methods

실험재료

본 실험에 사용한 녹차(*Camellia sinensis* L.)와 애엽(*Artemisia argyi*)은 (주)지원바이오으로부터 제공 받았으며, 각 건조물을 분쇄하여 40 mesh 표준망에 통과시켜 실험에 사용하였다. 항산화활성 및 총 페놀 함량 분석에 사용한 시약들은 sodium carbonate (Tedia Co., Ltd., Fairfield, OH, USA), aluminum nitrate (Wako Ltd., Osaka, Japan), sodium hydroxide (Samchun pure chemical Co., Ltd., Gyeonggi, Korea)를 사용하였으며 Folin-Ciocalteu's reagent, gallic acid, rutin, potassium acetate, (+)-catechin, potassium persulfate, ferric chloride, acetic acid, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS), 2,4,6-Tripyridyl-s-triazine(TPTZ) 등은 Sigma (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

추출방법

녹차와 애엽 혼합물의 최적추출조건 설정을 위해 초음파 기기(Mujigae Co., Ltd., Seoul Korea)를 사용하여 지속적으로 초음파를 제공하였으며, 실험계획에 따라 녹차 및 애엽의 혼합비, 용매 용질의 비, 추출시간을 달리하여 증류수로 추출하였다. 추출한 추출물은 여과지(Whatman, No. 3, Maidstone, Kent, UK)를 사용하여 여과한 후에 회전식 진공 농축기(Tokyo Rikakikai Co., Ltd., Tokyo, Japan)와 동결건조기(Ilshinbiobase Co., Ltd., Gyeonggi, Korea)를 사용하여 농축 및 동결건조하여 추출수율(extraction yield, %)을 평가하였다.

추출조건의 예비설정

추출조건의 예비설정에 필요한 기초실험으로서 초음파 세기와 온도에 따른 영향을 확인하였으며, 추출조건 최적화 실험의 기본조건으로 활용하였다. 초음파 세기에 따른 결과는 녹차와 애엽의 비를 1:1, 용매 용질의 비를 25배로 하여 25°C에서 25분간 서로 다른 초음파 세기(0, 25, 50, 75, 100%)를 가하여 추출물의 항산화 활성을 평가함으로서 추출정도를 비교하였으며, 온도에 따른 영향을 확인하기 위해서 초음파를 처리하지 않고 각각 30, 50, 70°C에서 1시간동안 3분 단위로 추출한 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성을 지표로 결과를 비교하여 최적화 실험의 기본조건으로 활용하였다. 추출수율은 추출물을 동결건조한 후, 추출원료 건물량에 대한 고형분의 수율로 나타내었다.

총 페놀 함량 분석

총 페놀 함량은 Folin-Ciocalteau의 방법을 변형하여 Folin-Ciocalteu's phenol reagent가 각 시료의 페놀성 화합물에 의해 환원된 결과 몰리브덴 청색으로 발색하는 것을 원리로 분석하였다. 각 시료 1 mL에 2% sodium carbonate 용액 1 mL와 10% Folin-Ciocalteu's reagent 1 mL를 혼합하여 1시간 방치 후 microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)로 750 nm에서 흡광도를 측정하였으며, Gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로 부터 함량을 구하였다[29].

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼 소거 활성 측정

전자공여능은 항산화 측정에 가장 많이 쓰이는 방법 중에 하나이다. 이 실험에서 사용되는 DPPH는 항산화 활성을 측정하기 위한 기질로 사용되며, phenol, flavonoid와 같은 페놀성 물질에 대한 항산화작용의 지표로 알려져 있

다. DPPH법은 자유 라디칼(free radical)로 특유의 색을 나타나게 되나 전자나 수소원자에 의해 전자가 쌍이 되어 비라디칼이 되면 특유의 색이 사라지게 되는 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl의 화학적 성질을 이용한 방법으로 각 시료 0.2 mL에 ethanol을 사용하여 용해시킨 0.4 mM DPPH 용액 0.8 mL을 첨가하여 혼합한 뒤 10분 동안 반응시킨 후 microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다[30].

Ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) 측정

FRAP 방법은 Fe^{3+}가 환원되어 Fe^{2+}가 되어 TPTZ와 결합하여 blue 계열의 색을 나타내어 환원력을 흡광도 값으로 나타내는 방법이다. 300 mM sodium acetate buffer (pH 3.6), 10 mM TPTZ, 20 mM ferric chloride를 10:1:1로 혼합하여 혼합용액 1.5 mL, 시료 50 μL, 증류수 150 μL를 혼합하여 37°C에서 4분간 반응시킨 후 microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 사용하여 595 nm에서 흡광도를 측정하였다[31].

추출공정의 최적화를 위한 실험계획

녹차와 애엽 혼합물의 추출공정 최적화를 위해 Box-Behnken design (3 level 3 factor)을 이용하였으며[32], 추출공정에 영향을 주는 녹차 및 애엽의 혼합비(60-100%, X_1), 용매 용질의 비(20-100 mL/g, X_2), 추출시간(25-145 min, X_3)을 독립변수로 설정하여 축값을 포함한 3수준(−1, 0, 1)에서 실험을 설계 하였다(Table 1). 추출물의 결과는 추출수율을 종속변수로 하여 실험모델을 작성하고 모델식의 적합성을 평가하였다.

통계분석

모든 실험결과는 3회 이상 반복하여 실시하였으며 SAS 9.2를 이용하여 one-way ANOVA 분석을 수행하였고 평균값의 통계적 유의성은 $p < 0.05$ 수준에서 검정하였으며 실험 설계와 반응표면분석은 MiniTab (MiniTab 16, Minitab Inc., State college, PA, USA)을 사용하였다[33]. 반응표면분석은 독립변수 X_i와 X_j 에 대한 종속변수 Y(추출수율)는 다음과 같은 2차 회귀식으로 나타내었으며, β_0는 상수이고 β_i, β_{ii}, β_{ij}는 회귀계수이다.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i X_i + \sum_{i=1}^{k} \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^{k} \beta_{ij} X_i X_j$$

Table 1. Independent variables and their levels for Box-Behnken design

Independent variables	Symbol	Levels		
		−1	0	1
Mixture ratio (*Camellia sinensis* L. %)	X_1	60	80	100
Ratio of water to raw material (mL/g)	X_2	20	60	100
Extraction time (min)	X_3	25	85	145

Results and Discussion

추출조건에 따른 추출물의 품질특성

초음파 세기에 따른 변화를 확인하기 위하여 녹차와 애엽의 비, 용매 용질의 비, 온도 및 시간을 동일하게 한 조건에서 초음파 세기(0, 25, 50, 75, 100%)를 다르게 하여 추출한 결과, 총 페놀 함량과 DPPH 및 FRAP에서 보여주는 항산화 활성 모두 초음파 세기가 증가함에 따라 함께 증가하였으며, 초음파의 세기가 100%일 때 가장 높은 30.14 mg GAE/g의 총 페놀 함량과 DPPH와 FRAP에서 각각 64.31%, 1.28의 항산화 활성을 보여주었다(Fig. 1, Table 2). 초음파를 이용한 추출방법은 공동현상에 의해 식물의 단단한 세포벽을 쉽게 파괴 할 수 있어 생리활성 성분 추출에 용이하다. 초음파를 이용하여 먼나무를 추출한 Zhao

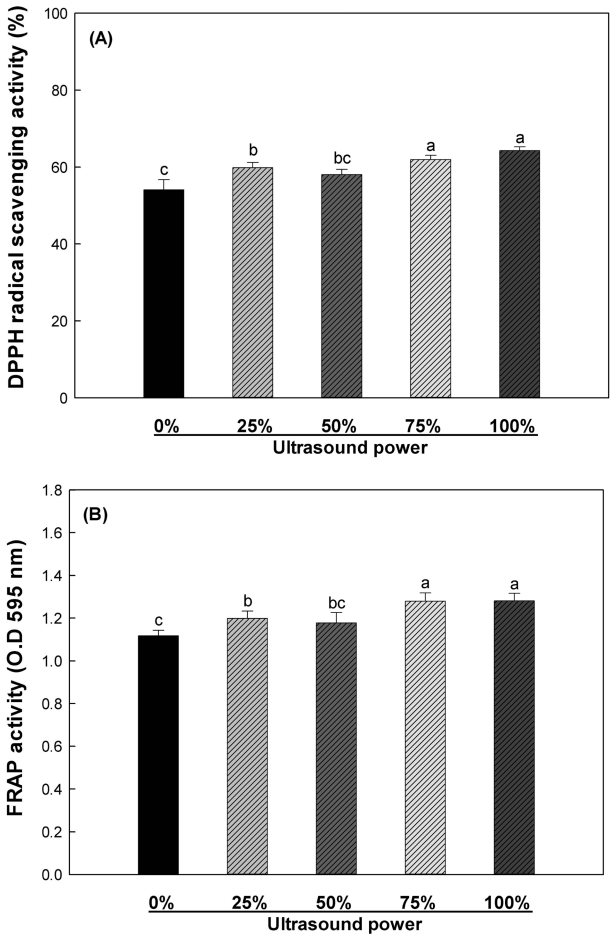

Fig. 1. Effect of different ultrasound power on antioxidant activity. (A) DPPH radical scavenging activity (B) FRAP activity.

Table 2. Total phenolic contents of *Camellia sinensis* L. and *Artemisia argyi* mixture extracts with different ultrasound power

Ultrasound power (%)	Total phenolic contents (mg GAE[1)]/g)
0	24.42 ± 0.22[e)]
25	26.15 ± 0.18[c)]
50	25.25 ± 0.18[d)]
75	28.19 ± 0.20[b)]
100	30.14 ± 0.13[a)]

[1)]GAE, gallic acid equivalen, Mean ± S.D in triplicate ($p < 0.05$)

등[34)]에 의하면 초음파를 적용 하였을 때 syringin의 함량이 9.20 mg/g으로 초음파를 적용하기 전 6.22 mg/g보다 syringin 함량이 증가하였으며, Tian 등[35)] 연구결과에서도 초음파 세기가 증가함에 따라 석류 씨로부터 추출되는 기름의 수율이 함께 증가하였다.

온도에 따른 영향을 확인하기 위해서 초음파를 처리하지 않고 각각 30, 50, 70°C에서 1시간동안 3분 단위로 추출한 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성을 평가하여 시간과 온도에 따른 추출물의 변화를 관찰하였다. 그 결과, 6분 이후부터는 동일시간 추출하였을 때 추출 온도가 높을수록 더 높은 항산화 활성을 나타내었으며, 추출 시간이 지나감에 따라 30°C 조건에서는 항산화 활성이 계속 증가하는 반면, 50°C와 70°C의 온도 조건에서는 50분 이후부터 큰 변화를 보이지 않았다(Fig. 2). Lee 등[36)]은 로즈마리의 최적 추출조건 확립을 위해 30~90°C를 7구간으로 나누어 각각의 온도조건에서 60분간 열수 추출하여 추출물

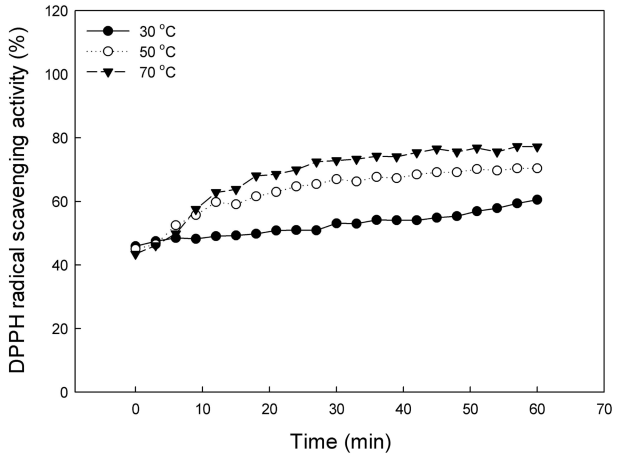

Fig. 2. Antioxidant activity of *Camellia sinensis L*. and *Artemisia argyi* mixture extracts with various times at different temperature.

의 항산화 활성을 평가한 결과, 온도가 증가함에 따라 항산화 활성과 총 폴리페놀 함량이 함께 증가하였으며, 연구결과를 근거하여 열수 추출의 최적 추출 조건을 90°C, 30분으로 결정하였다. 일반적으로 추출온도와 시간이 증가할수록 추출수율 또한 함께 증가하지만[37)], 반대로 적절하지 못한 추출온도는 수율의 감소뿐만 아니라 유효성분을 파괴시키기도 한다[38)].

항산화 활성이 증가하는 것은 항산화와 관련된 유효성분의 추출속도 변화를 관찰할 수 있는 간접적인 지표로서 위 실험결과를 통하여 녹차 및 애엽 혼합물을 추출하는데 있어 초음파와 추출온도 및 시간이 추출조건에 있어 중요한 요인으로 작용하는 것을 확인하였다.

Box-Behnken design을 이용한 실험설계

녹차와 애엽의 추출조건을 최적화하기 위해서 MiniTab (MiniTab 16, Minitab Inc., State college, PA, USA) 소프트웨어를 통해 반응표면분석법을 사용하였다. 추출조건에 대한 실험계획은 Box-Behnken design을 사용하였으며, Table 1과 같이 녹차 및 애엽의 혼합비(X_1), 용매 용질의 비(X_2), 추출시간(X_3)을 녹차 및 애엽 혼합 추출공정에서의 중요 변수로 선택하여 각 독립변수를 −1, 0, 1의 3수준으로 부호화 하고 15구간의 추출실험계획을 설정하여

Table 3. Box-Behnken design for independent variables and their extraction yield

Run	Coded variable levels			Extraction yield (%)	
	X_1	X_2	X_3	Actual values	Predicted values
1	1	−1	0	22.50	23.25
2	1	0	1	29.25	28.37
3	0	0	0	28.50	28.25
4	0	−1	−1	22.00	21.62
5	−1	1	0	28.75	28.00
6	0	1	−1	30.00	29.87
7	0	0	0	27.75	28.25
8	−1	0	−1	24.75	25.62
9	1	0	−1	28.50	28.12
10	0	0	0	28.50	28.25
11	−1	−1	0	19.25	18.75
12	−1	0	1	24.75	25.12
13	0	−1	1	22.00	22.12
14	1	1	0	28.75	29.25
15	0	1	1	28.75	29.12

Table 4. Response surface model for optimization of extraction conditions

Response	Quadratic polynomial model	R^2	p-value
Y	$Y = 28.2500 + 1.4375X_1 + 3.8125X_2 - 0.0625X_3 - 1.1563X_1^2 - 2.2813X_2^2 - 0.2813X_3^2 - 0.8125X_1X_2 + 0.1875X_1X_3 - 0.3125X_2X_3$	0.9747	0.002

X_1, Mixture ratio (*Camellia sinensis* L. %); X_2, Ratio of water to raw material (mL/g); X_3, Extraction time (min); Y, Extraction yield (%)

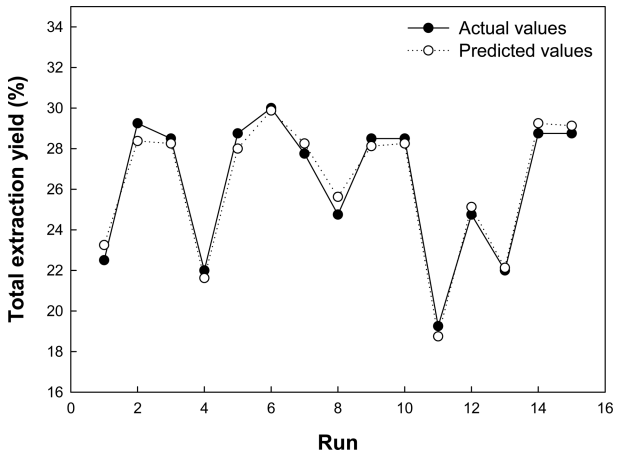

Fig. 3. Time series values of extraction yield.

실험계획을 설계하였다(Table 3). 추출수율의 결과는 Table 3과 같고 결과를 이용한 반응모델식은 Table 4에 나타내었다. 모델식은 Box-Behnken design 모델에 실험 데이터를 맞추어 얻은 것이며, 반응(추출수율)사이의 경험적 관계를 나타낸다. 다항식 모델의 일반적인 유효성 및 정확성을 암시하고 모델의 적합성을 나타내는 결정계수(R^2) 값은 0.9747이였으며, 1%이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 또한, 모델식에 각 실험조건을 대입하여 얻은 예상치(predicted value)는 Fig. 3와 같이 시계열도를 통하여 실제값(actual value)과 일치하는 것을 확인하였다.

모델의 적합성은 자료분석의 구성요소 중 필수적인 부분으로 Table 5와 같이 분산분석을 수행하여 반응모델의 적합성뿐만 아니라 각 항의 계수와 유의성에 대해 확인하였다(Table 5). 그 결과, 일차항과 이차항은 유의적인 수준($p < 0.05$)을 보여주었으나 상호항은 통계적으로 유의하지 않아 독립변수 간의 상호작용은 이루어 지지 않는 것으로 판단되었다($p > 0.1$). 일차항 중 X_1와 X_2의 p-value가 각각 0.007와 < 0.0001로 본 실험의 반응모델에서 큰 중요도를 갖고 있으며, 특히 X_2의 p-value는 0.0001보다 작은 값으로 F-value에 noise가 생길 확률이 1%도 되지 않는 높은 유의성을 보여주었다. 적합성 결여(lack of fit)는 반응모델에서 변수와 실험 요인의 함수 관계가 적절하게 설명되지 못하는 경우 p-value가 0.05보다 작은 값을 나타내며, 올바른 반응모델은 0.05보다 큰 값을 갖는다[39]. 본 실험을 통해 얻어진 반응모델은 0.133의 p-value를 나타내어 분산분석 절차에서 얻어진 모델이 적절하다는 것을 확인할 수 있었다(Table 5).

Table 5. Analysis of variance of the experimental results of Box-Behnken design

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Model	9	158.808	158.808	17.645	21.39	0.002
Linear	3	132.844	132.844	44.281	53.67	< 0.0001
Quadratic	3	22.793	22.793	7.598	9.21	0.018
Cross-product	3	3.172	3.172	1.057	1.28	0.376
X_1	1	16.531	16.531	16.531	20.04	0.007
X_2	1	116.281	116.281	116.281	140.95	< 0.0001
X_3	1	0.031	0.031	0.031	0.04	0.853
X_1^2	1	3.536	4.936	4.936	5.98	0.058
X_2^2	1	18.965	19.215	19.215	23.29	0.005
X_3^2	1	0.292	0.292	0.292	0.35	0.578
X_1X_2	1	2.641	2.641	2.641	3.20	0.134
X_1X_3	1	0.141	0.141	0.141	0.17	0.697
X_2X_3	1	0.391	0.391	0.391	0.47	0.522
Residual	5	4.125	4.125	0.825	-	-
Lack of fit	3	3.750	3.750	1.250	6.67	0.133
Pure error	2	0.375	0.375	0.187	-	-

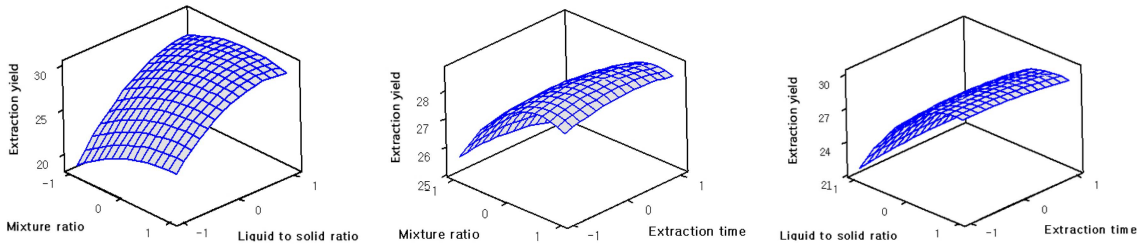

Fig. 4. Response surface for the effects of extraction conditions on extraction yield by ultrasound-assisted extraction.

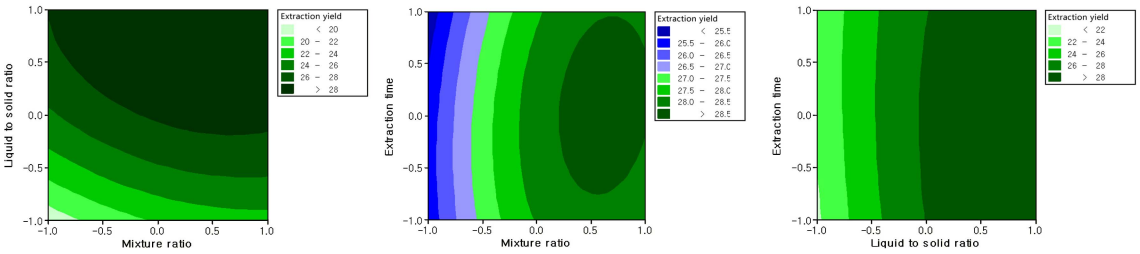

Fig. 5. Contour for the effects of extraction conditions on extraction yield by ultrasound-assisted extraction.

반응표면분석법을 이용한 녹차 및 애엽 혼합물의 최적추출조건

Box-Behnken design에 따른 15개 구간에서 녹차 및 애엽 혼합물의 추출수율을 측정한 결과는 19.25~30.00%의 범위로 측정되었으며, MiniTab 16 program을 이용하여 반응모델의 회귀방정식을 계산하였고 이 회귀방정식으로부터 각 변수의 최적화된 값을 얻었다. 최적화된 응답을 위해서 각각의 변수의 최적화된 값을 결정하고 변수들 간의 상호작용을 분석하여 3차원 반응표면과 2차원 등고선 그래프로 나타내었다(Figs. 4-5). 초음파를 적용한 녹차 및 애엽 혼합물 추출시 추출시간의 level을 0으로 고정하여 녹차와 애엽의 혼합비와 용매와 용질의 비에 따른 추출수율를 확인한 결과, 녹차의 함량과 추출용매의 양이 증가할수록 추출수율이 증가하는 것을 확인하였다. 반면, 녹차와 애엽의 혼합비 또는 용매와 용질의 비를 level 0으로 고정하고 추출시간에 따른 추출수율을 확인한 결과, 추출시간은 결과에 큰 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. Kim 등[40] 썸머파워 양배추 유용성분의 추출조건 최적화 연구에서 시료에 대한 용매비가 증가할수록 수율이 증가하였다는 보고와 유사한 경향을 나타내었다. Kim 등[30] 사과 pomace로부터 폴리페놀 추출조건 최적화 연구에서도 추출시간이 수율에 큰 영향을 주지 않는 것으로 보고되었다. 본 연구에서 MiniTab 16 program을 사용하여 산출된 녹차 및 애엽 혼합물의 최적 추출조건은 녹차와 애엽의 혼합비 85.86%, 용매와 용질의 비 92.73 mL/g, 추출시간 56.52분으로 확인되었으며, 추출수율의 최대값은 30.03%로 예측되었다.

국문요약

본 연구는 초음파 진동에 의해 발생하는 공동현상을 이용하여 다양한 유용성분과 생리활성을 가지고 있는 녹차와 애엽을 혼합하여 새로운 식품소재를 개발하기 위해서 반응표면분석법에 의한 추출특성을 모니터링 하여 최적 추출조건을 예측하였다. 초음파를 지속적으로 가하는 조건에서 Box-Behnken design에 의해 녹차와 애엽의 혼합비, 용매와 용질의 비, 추출시간을 독립변수로 하여 15구간의 추출조건을 설정하고 추출수율(Y)을 종속변수로 하여 모니터링 하였다. 반응표면분석결과 녹차 및 애엽 혼합 추출물은 녹차의 함량과 추출용매의 양이 증가 할수록 추출수율이 증가 하였으며, 추출시간은 결과에 큰 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. 추출수율을 최대로 얻을 수 있는 녹차 및 애엽 혼합물의 최적 추출조건은 녹차와 애엽의 혼합비 85.86%, 용매와 용질의 비 92.73 mL/g, 추출시간 56.52분으로 확인되었으며, 추출수율의 최대값은 30.03%로 예측되었다.

References

1. Ahn S.H., Son S.M., Kim H.K.: A study on the health and nutritional characteristics according to household income and obesity in Korean adults aged over 50-based on 2005 KNHANES. *Korean J. Community Nutr.*, **17**, 463-478 (2012).
2. Chua S., Leivel R.L.: Obesity genes: molecular and metabolic mechanisms. *Diabetes rev.*, **5**, 2-7 (1997).
3. Choi J.H.: The analysis of regional characteristics of the aging population in Korea. *Journal of the economic geographical society of korea*, **16**, 233-246 (2013).
4. Koh Y.J., Cha D.S., Choi H.D., Park Y.K., Choi I.W.: Hot water extraction optimization of dandelion leaves to increase antioxidant activity. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **40**, 283-289 (2008).
5. Lim T.S., Do J.R., Kwon O.J., Kim H.K.: Monitoring on extraction yields and functional properties of onion(*Allium cepa*) Extracts by using response surface methodology. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **36**, 105-110 (2007).
6. Park S.H., Hwang H.S., Han J.H.: Development of drink from composition with medicinal plants and evaluation of its physiological function. *Korean J. Nutr.*, **37**, 364-372 (2004).
7. Kim S.H., Lee M.H., Jeong Y.J.: Current trends and development substitute tea and plan in the korean green tea industry. *Food industry and nutrition*, **19**, 20-25 (2014).
8. Siddiqui I.A., Asim M., Hafeez B.B., Adhami V.M., Tarapore R.S., Mukhtar H.: Green tea polyphenol EGCG blunts androgen receptor function in prostate cancer. *FASEB. J.*, **25**, 1198-1207 (2011).
9. Coyle C.H., Philips B.J., Morrisroe S.N., Chancellor M.B., Yoshimura N.: Antioxidant effects of green tea and its polyphenols on bladder cells. *Life Sci.*, **83**, 12-18 (2008).
10. Higdon J.V., Frei B.: Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Crit. Rev.*

Food Sci. Nutr., **43**, 89-143 (2003).
11. Khan N., Afaq F., Saleem M., Ahmad N., Mukhtar H.: Targeting multiple signaling pathways by green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate. *Cancer Res.*, **66**, 2500-2505 (2006).
12. Shankar S., Ganapathy S., Hingorani S.R., Srivastava R.K.: EGCG inhibits growth invasion, angiogenesis and metastasis of pancreatic cancer. *Front Biosci.*, **13**, 440-452 (2008).
13. Zaveri N.T.: Green tea and its polyphenolic catechins: medical uses in cancer and noncancer applications. *Life Sci.*, **78**, 2073-2080 (2006).
14. Kim J.R., Jung J.Y., Ko K.S.: Study on the physiological activities of hot water extract of artemisia herb. *J. Kor. Soc. Beauty Cultural Arts*, **4**, 46-53 (2015).
15. Min S.W., Kim N.J., Baek N.I., Kim D.H.: Inhibitory effects of eupatilin and jaceosidin isolated from Artemisia princeps on carrageenan-induced inflammation in mice. *J. Ethnopharmacol*., **125**, 487-500 (2009).
16. Kim M.J., Han J.M., Jin Y.Y., Baek M.H., Chung H.G., Choi M.S., Lee K.T., Sok D.E., Jeong T.S.: In vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of jaceosidin from Artemisia princeps Pampanini cv. Sajabal. *Arch. Pharm. Res.*, **31**, 429-437 (2008).
17. Ryu J.H., Lee H.J., Jeong Y.S., Ryu S.Y., Han Y.N.: Yomogin, an inhibitor of nitric oxide production in LPS-activated macrophages. *Arch. Pharm. Res*., **21**, 481-484 (1998).
18. Kang Y.J., Jung U.J., Lee M.K., Kim H.J., Jeon S.M., Park Y.B., Chung H.G., Baek N.I., Lee K.T., Jeong T.S., Choi M.S.: Eupatilin, isolated from *Artemisia princeps* Pampanini, enhances hepatic glucose metabolism and pancreatic beta-cell function in type 2 diabetic mice. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **82**, 25-32 (2008).
19. Sarath V.J., So C.S., Won Y.D., Gollapudi S.: *Artemisia princeps* var orientalis induces apoptosis in human breast cancer MCF-7 cells. *Anticancer Res.*, **27**, 3891-3898 (2007).
20. Park E.Y., Lee K.W., Lee H.W., Cho Y.W., Baek N.I., Chung H.G., Jeong T.S., Choi M.S., Lee K.T.: The ethanol extract from *Artemisia princeps* Pampanini induces p53-mediated G1 phase arrest in A172 human neuroblastoma cells. *J. Med. Food*, **11**, 237-245 (2008).
21. Han J.M., Kim M.J., Baek S.H., An S., Jin Y.Y., Chung H.G., Baek N.I., Choi M.S., Lee K.T., Jeong T.S. Antiatherosclerotic effects of *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal in LDL receptor deficient mice. *J. Agric. Food Chem.*, **57**, 1267-1274 (2009).
22. Shin S.L., Lee C.H.: Antioxidant activities of ostrich fern by different extraction methods and solvents. *J. Life Sci*., **21**, 56-61 (2011).
23. Kim I.H., Kim S.H., Kwon J.H.: Optimizing the hot-water extraction conditions for *Acanthopanacis cortex* using response surface methodology. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **37**, 512-520 (2008).
24. Kim D.I., Hong J.H.: Optimization of ethanol extraction conditions for functional components from *Lespedeza cuneata* using response surface methodology. *Korean J. Food Cookery Sci.*, **28**, 275-283 (2012).
25. Park E.J., Ahn J.J., Kim J.S., Kwon J.H.: Antioxidant activities in freeze-dried and hot air-dried schizandra fruit(*Schizandra chinensis* Baillon) at different microwave-assisted extraction conditions. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **45**, 667-674 (2013).
26. Lee C.J., Kim M.S., Shen J.Y., Kim Y.D., Shin J.H.: The extraction condition of pungent compounds from *Zanthoxylum piperitum* DC pericarps by using supercritical fluid extraction. *Korean J. Med. Crop Sci.*, **11**, 19-23 (2003).
27. Ahmad-Qasem M.H., Cánovas J., Barrajón-Catalán E., Micol V., Cárcel J.A., García-Pérez J.V.: Kinetic and compositional study of phenolic extraction from olive leaves(var. Serrana) by using power ultrasound. *IFSET*, **17**, 120-129 (2013).
28. Adil I.H., Cetin H.I., Yener M.E., Bayındırlı A.: Subcritical (carbon dioxide+ ethanol) extraction of polyphenols from apple and peach pomaces, and determination of the antioxidant activities of the extracts. *J. Supercrit. Fluids*, **43**, 55-63 (2007).
29. Duval B., Shetty K.: The stimulation of phenolics and antioxidant activity in pea (*Pisum sativum*) elicited by genetically transformed anise root extract. *J. Food Biochem*., **25**, 361-377 (2001).
30. Kim J.H., Park J.H., Park S.D., Choi S.Y., Seong J.H., Moon K.D.: Preparation and antioxidant activity of health drink with extract powders from safflower(*Carthamus tinctorius* L.) seed. *Korean J. Food Sci. Technol*., **34**, 617-624 (2002).
31. Benzie I., Stranin J.: The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Anal. Biochem*., **239**, 70-76 (1996).
32. Kaiser S., Verza S.G., Moraes R.C., Pittol V., Peñaloza E.M.C., Pavei C., Ortega G.G.: Extraction optimization of polyphenols, oxindole alkaloids and quinovic acid glycosides from cat's claw bark by Box-Behnken design. *Ind. Crop Prod.*, **48**, 153-161 (2013).
33. Kim Y.S., Kim R., Moon J.H., Ji J.R., Choi H.D., Park Y.K.: Optimization of extraction condition of polyphenolic compounds from apple pomace by response surface methodology. *Korean J. Food Sci. Technol*., **41**, 245-250 (2009).
34. Zhao L.C., He Y., Deng X., Xia X.H., Liang J., Yang G.L., Li W., Wang H.: Ultrasound-assisted extraction of syringin from the bark of Ilex rotunda thumb using response surface methodology. *Int. J. Mol. Sci.*, **13**, 7607-7616 (2012).
35. Tian Y., Xu Z., Zheng B., Lo Y.M.: Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil. *Ultrasonics sonochemistry*, **20**, 202-208 (2013).
36. Lee C.Y., Kim K.M., Son H.S.: Optimal extraction conditions to produce rosemary extracts with higher phenolic content and antioxidant activity. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **45**, 501-507 (2013).
37. Kang J.R., Lee S.J., Kwon H.J., Kwon M.H., Sung N.J.: Establishment of extraction conditions for the optimization of the black garlic antioxidant activity using the response surface methodology. *Korean J. Food Preserv.*, **19**, 577-585 (2012).

38. Woo K.S., Jeong J.Y., Hwang I.G., Lee Y.J., Lee Y.R., Park H.J., Jeong H.S.: Antioxidant activity of ethanol extraction on citron seed by response surface methodology. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **38**, 384-390 (2009).
39. Park H.E., Row K.H.: Optimization of synthesis condition of monolithic sorbent using response surface methodology. *Appl. Chem. Eng.*, **24**, 299-304 (2013).
40. Kim H.K., Do J.R., Hong J.H., Lee G.D.: Optimization for functional properties of cabbage extracts. *Korean J. Food Preserv.*, **12**, 591-599 (2005).