

## 전자공여작용과 관능적 특성을 고려한 산국(山菊) 에탄올 추출물의 제조조건 최적화

박난영 · 이기동\* · 정용진\* · 김현구\*\* · 권중호

경북대학교 식품공학과, \*경북과학대학 전통발효식품과, \*\*한국식품개발연구원

### Optimization for Electron Donating Ability and Organoleptic Properties of Ethanol Extracts from *Chrysanthemum* Petals

Nan-Young Park, Gee-Dong Lee\*, Yong-Jin Jeong\*, Hyun-Ku Kim\*\* and Joong-Ho Kwon

Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University

\*Department of Traditional Fermented Food, Kyongbuk College of Science

\*\*Korea Food Research Institute

#### Abstract

Response surface methodology (RSM) was used to monitor extraction characteristics of electron donating ability and organoleptic properties for ethanol extracts from *Chrysanthemum* petals, thereby determining optimum extraction conditions. A central composite design was applied to investigate effects of solvent per sample ( $X_1$ ), ethanol concentration ( $X_2$ ) and extraction time ( $X_3$ ) at 60°C on dependent variables such as electron donating ability ( $Y_1$ ), organoleptic color ( $Y_2$ ) and organoleptic aroma ( $Y_3$ ) of the extracts. Second-order models were employed to generate 4-dimensional response surfaces for qualitative and quantitative aspects of ethanol extracts. Coefficients of determination ( $R_2$ ) of the models for dependent variables were ranged from 0.8180 to 0.9696. Optimum extraction conditions for each variable were 50 mL/g, 61% and 16 hrs in electron donating ability, 88 mL/g, 21% and 16 hrs in organoleptic color, 55 mL/g, 73% and 19 hrs in organoleptic aroma, respectively. The optimum condition ranges for maximized characteristics of ethanol extracts were 65~78 mL/g, 90~100% and 15~25 hrs. Predicted values at the optimum conditions were in good agreement with experimental values.

Key words: *Chrysanthemum* petals, ethanol extract, electron donating ability, optimization, RSM

#### 서 론

국화(菊花)는 중국이 원산지이며 우리나라에서는 중부 이남지역의 산간지에 널리 분포되어 있다. 산국(山菊)은 야생국으로서 꽃잎은 황색이고 6~10월에 걸쳐 개화하며 크기가 1.5 cm 내외인 꽃봉우리가 줄기의 끝부분에 밀집되어 있다<sup>(1,2)</sup>. 한방에서 산국의 효용에 대하여는 중추신경 진정작용, 혈압강화작용<sup>(3)</sup>, 결핵균 및 각종 바이러스에 대한 억제효과<sup>(4)</sup> 등 생약적인 측면에서 많은 연구가 수행되고 있다. 전통식품소재로 이용되어온 국화의 성분과 관련하여 남과 양<sup>(5)</sup>은 산국 추출물의 항균작용을 보고하였고, 남 등<sup>(6)</sup>은 산국의 항

암 활성성분에 대하여 보고한 바 있다. 또한 Uchio 등<sup>(7)</sup>은 국화 3종의 tetrapoloid로부터 essential oil 성분조성에 대하여 보고 하였다. 그리고 꽃잎을 식품으로 이용 하였던 화식(花食)문화<sup>(8,9)</sup>를 재조명하기 위한 노력으로 Kwon & Yoon<sup>(10)</sup>은 아카시아 꽃잎 단백질의 영양가 및 기능성에 관한 내용을 보고하면서 여러가지 꽃잎의 천연식품 소재화에 대한 가능성을 제시한 바도 있다.

따라서 본 연구에서는 전통식품소재로 이용되어온 국화의 식품학적 가치를 재조명하기 위한 노력으로 야생국인 산국을 이용한 전통주(傳統酒) 제조를 고려하여 국화 꽃잎으로부터 우수한 에탄올 추출물을 얻고자 반응표면분석에 의해 추출조건에 따른 에탄올 추출물의 전자공여작용과 관능적 특성을 모니터링하고 추출조건을 최적화하였다.

Corresponding author: Joong-Ho Kwon, Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Sankyuk-Dong, 1370, Taegu 702-701, Korea

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용된 국화시료는 야생국인 산국 (*Chrysanthemum boreale* M.)<sup>(11)</sup>으로써 경북 영천시 근교 야산에서 1996년 11월에 채취하였다. 채취시료는 통풍이 잘되는 그늘에서 약 2주일간 건조시킨 후 꽃잎 부분을 분리하여 -60°C 냉동고에 보관하면서 실험재료로 사용하였다. 본 시료의 일반성분은 수분 11.7%, 조단백질 6.1%, 조지방 2.7%, 조회분 3.7%, 조섬유 9.8%와 가용성 무질소물 66.0%로 나타났다.

### 실험계획

산국의 꽃잎으로부터 우수한 에탄올 추출물을 얻고자 추출조건에 대한 실험계획은 fractional factorial design<sup>(12)</sup>을 사용하였으며, 반응표면 회귀분석을 위해서 SAS (statistical analysis system) program<sup>(13)</sup>을 사용하였다. 에탄올 추출조건은 시료에 대한 용매비( $X_1$ ), 에탄올 농도( $X_2$ ), 추출시간( $X_3$ )이었으며, 이들 요인변수들은 -1, 0, 1의 3단계로 부호화하였고 추출조건은 Table 1에 나타내었다. 또 추출물의 품질특성에 관련된 반응변수( $Y_n$ )로는 전자공여작용( $Y_1$ ), 관능적 색상( $Y_2$ ), 관능적 향( $Y_3$ ) 등으로 하였다. 이 때 추출온도는 예비실험을 바탕으로 60°C로 고정하였고 추출물은 Whatman (No.1) 여과지로 여과한 다음 전체 양을 일정하게 맞추어 분석시료로 사용하였다.

### 전자공여 작용 측정

산국 에탄올 추출물의 전자공여작용은  $\alpha, \alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl(DPPH)을 이용한 방법<sup>(14)</sup>에 준하여 측정하였다. 즉, DPPH 16 mg을 100 mL 무수 에탄올에 용해한 후 증류수 100 mL를 가하고 여과(Whatman, No. 1)하였다. 여액 5 mL에 에탄올 추출액 1 mL를 가하여 1분간 혼합한 후 spectrophotometer (UV-160 PC Shimadzu)를 이용하여 528 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다.

### 관능검사

추출조건을 달리한 산국 꽃잎 에탄올 추출물의 색상 및 향에 대한 기호도를 평가하기 위하여 대학원생 중 본 시험에 흥미를 가진 30명의 검사요원들에게 시험의 목적과 평가방법을 주지시킨 뒤 육안적 방법과 sniffing법을 이용한 6점채점법<sup>(15)</sup>에 의하여 관능시험을 실시하였다. 이 때 시험시료는 알콜농도를 일정하게 하여 국화주(菊花酒)의 색상과 향에 대한 평가를

Table 1. Levels of extraction conditions in experimental design

Xi	Extraction conditions	Levels		
		-1	0	1
$X_1$	Solvent per sample (mL/g)	50	100	150
$X_2$	Ethanol concentration (%)	20	60	100
$X_3$	Extraction time (hr)	4	16	28

실시하고자 평점 6점; 가장 좋다(excellent), 5점; 대단히 좋다(very good), 4점; 약간 좋다(good), 3점; 보통이다(fair), 2점; 나쁘다(poor), 1점; 대단히 나쁘다(very poor)로 하여 각 시료에 대한 색상과 향에 대한 기호도를 평가하게 하였다.

## 결과 및 고찰

### 전자공여작용에 대한 추출조건의 영향

산국의 최적 에탄올 추출조건을 설정하고자 실험계획에 따라 추출실험을 실시하고 그 추출물에 대한 전자공여작용과 관능적 특성을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 이상의 결과를 이용하여 추출조건( $X_1$ ~ $X_3$ )과 추출물의 전자공여작용( $Y_1$ ), 관능적 색상과 향( $Y_2$ ,  $Y_3$ )에 대한 각각의 반응표면 회귀식은 Table 3과 같다. 이때 추출물의 전자공여작용에 대한  $R^2$ 는 0.9696으로 1% 이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 그리고 관능적 색상과 향에 대한  $R^2$ 는 각각 0.8180, 0.9291로써 관능적 향에 대해서만 5% 이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다.

실험조건에 따라 얻은 에탄올 추출물의 전자공여작용에 대한 반응표면은 Fig. 1에 나타내었다. 추출물의 전자공여작용은 추출시간의 영향은 크지 않았으나 시료에 대한 용매비가 감소하고 에탄올의 농도가 감소할수록 증가하는 경향으로 나타났다. 이러한 경향은 박 등<sup>(16)</sup>의 시료에 대한 용매비가 증가하고 에탄올 농도가 증가할수록 국화 꽃잎의 카로티노이드와 페놀성 화합물의 함량이 증가하였다는 보고와는 상반된 결과로서, 산국의 에탄올 추출물에서 전자공여작용은 카로티노이드와 페놀성 화합물을 제외한 다른 수용성 화합물에 의해 나타나는 것으로 여겨진다. 김 등<sup>(17)</sup>은 계피의 항산화 성분 추출시험에서 물과 70% 에탄올은 다 같이 높은 추출수율을 나타내었다고 보고하여 본 실험의 결과를 잘 뒷받침 해 주었다.

### 관능적 특성에 대한 추출조건의 영향

에탄올 추출물에 대한 관능검사 결과에서 관능적

**Table 2. Experimental data on electron donating ability and organoleptic properties for ethanol extracts of *Chrysanthemum boreale***

Exp No.	Extraction conditions			Electron donating ability <sup>1)</sup> (O.D.)	Soluble solid (%)	Organoleptic properties <sup>2)</sup>	
	Solvent per sample (mL/g)	Ethanol conc. (%)	Extraction time (hr)			Color	Aroma
1	50(-1)	20(-1)	16(0)	0.10	0.26	4.67	3.33
2	50(-1)	60(0)	4(-1)	0.09	0.26	3.33	2.67
3	50(-1)	60(0)	28(1)	0.08	0.31	2.67	4.00
4	50(-1)	100(1)	16(0)	0.14	0.22	2.67	4.33
5	100(0)	20(-1)	4(-1)	0.26	0.27	3.67	3.00
6	100(0)	20(-1)	28(1)	0.29	0.24	4.67	2.67
7	100(0)	100(1)	4(-1)	0.43	0.17	3.67	2.33
8	100(0)	100(1)	28(1)	0.41	0.21	4.00	3.00
9	150(1)	20(-1)	16(0)	0.15	0.30	3.67	3.33
10	150(1)	60(0)	4(-1)	0.46	0.27	3.00	3.00
11	150(1)	60(0)	28(1)	0.43	0.33	2.00	2.75
12	150(1)	100(1)	16(0)	0.62	0.25	4.33	2.33
13	100(0)	60(0)	16(0)	0.25	0.28	2.80	3.33
14	100(0)	60(0)	16(0)	0.24	0.28	3.03	3.00
15	100(0)	60(0)	16(0)	0.24	0.29	3.00	3.33

<sup>1)</sup>Electron donating ability to  $\alpha,\alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl (O.D. 528 nm).

<sup>2)</sup>Sensory score: 6 points scale.

**Table 3. Taylor second equations calculated by RSM program for *Chrysanthemum boreale***

Responses	Taylor second equations	R <sup>2</sup>	Significance
Electron donating ability (O.D.)	$Y_1=0.130162+0.002967X_1-0.005896X_2-0.010880X_3-0.000014667X_1^2+0.00005375X_1X_2+0.000028646X_2^2-0.000008333X_1X_3-0.000026042X_2X_3+0.000405X_3^2$	0.9696	0.0028
Sensory color	$Y_2=6.561100-0.004100X_1-0.114354X_2+0.034537X_3-0.000072167X_1^2+0.000333X_1X_2+0.000670X_2^2-0.000142X_1X_3-0.000349X_2X_3-0.000089699X_3^2$	0.8180	0.1630
Sensory aroma	$Y_3=1.760347-0.000367X_1+0.024792X_2+0.126597X_3+0.0000930X_1^2-0.000250X_1X_2-0.000076562X_2^2-0.000658X_1X_3+0.000521X_2X_3-0.002413X_3^2$	0.9291	0.0208

색상은 Fig. 2의 반응표면에서와 같이 안장점의 형태를 나타내었다. 관능적 색상은 추출시간과 시료에 대한 용매비의 영향은 크게 받지 않았으나 에탄올의 농도에 대한 영향은 아주 크게 나타났다. 또한 추출물의 색상에 대한 기호도는 에탄올 함량이 50~70% 범위에서 가장 나빴으며, 에탄올 농도가 50% 이하에서는 에탄올 농도가 낮고 시료에 대한 용매비가 낮을수록 색상에 대한 기호도가 증가하였고, 에탄올 농도가 70% 이상에서는 에탄올 농도가 높고 시료에 대한 용매비가 높을수록 색상에 대한 기호도가 증가하는 경향으로 나타났다.

에탄올 추출물의 관능적 향은 Fig. 3의 반응표면에서와 같이 안장점의 형태를 나타내었다. 관능적 향은 추출시간의 영향은 어느정도 받았으나 시료에 대한

용매비와 에탄올의 농도에 대한 영향은 아주 크게 나타났다. 산국 에탄올 추출물의 향은 야생국 특유의 향과 감미로움이 약하게 나타났다. 관능적 향에 대한 기호도는 시료에 대한 용매비가 낮은 조건에서 에탄올 함량이 높고 추출시간이 경과할수록 증가하였으며, 또한 에탄올 농도가 낮은 조건에서는 추출시간이 짧고 시료에 대한 용매비가 증가할수록 증가하였다. 그러나 국화 꽃잎의 페놀성 화합물이 가장 많이 추출되는 조건인 시료에 대한 용매비가 높고 에탄올 농도가 높은 조건<sup>(6)</sup>에서는 향에 대한 선호도가 크게 줄어드는 것으로 나타났다. 이상의 향에 대한 결과는 오미자<sup>(2)</sup>의 음료 제조를 위한 추출조건의 최적화 연구에서와 같이 용매에 대한 시료의 비가 높을수록 향에 대한 관능평점이 높았다는 보고와 유사한 것으로 나타났다.

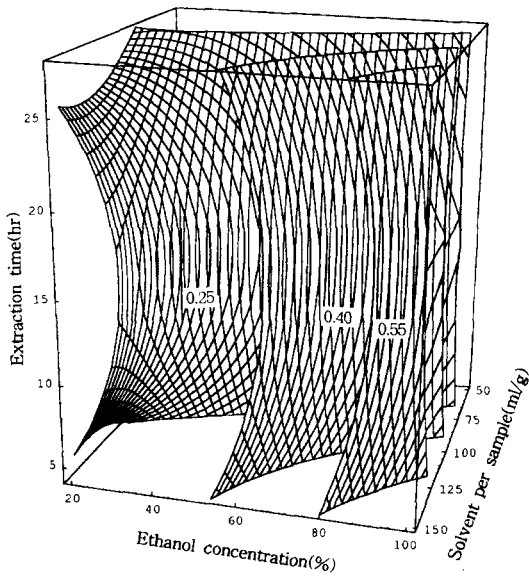


Fig. 1. Response surface for electron donating ability of ethanol extracts at constant values (OD in 528 nm: 0.25-0.40-0.55) as a function of solvent per sample, ethanol concentration and extraction time.

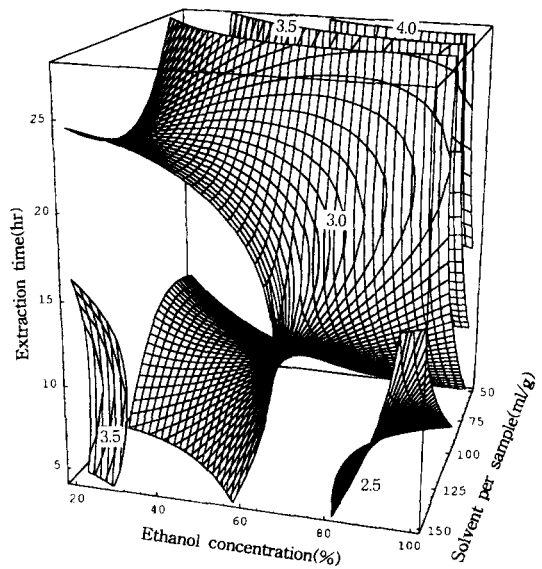


Fig. 3. Response surface for organoleptic property on aroma of ethanol extracts at constant values (sensory score: 2.5-3.0-3.5-4.0) as a function of solvent per sample, ethanol concentration and extraction time.

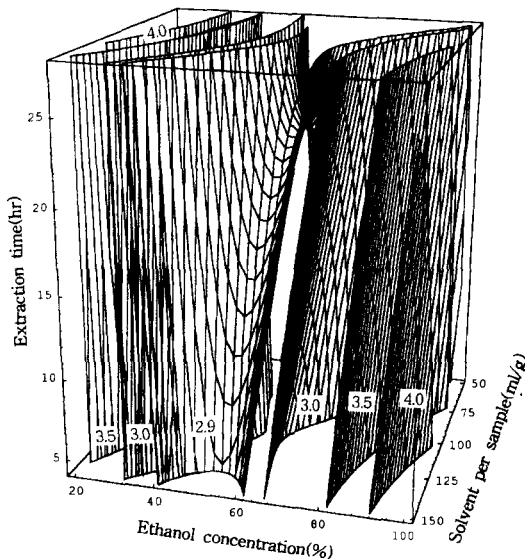


Fig. 2. Response surface for organoleptic property on color of ethanol extracts at constant values (sensory score: 2.9-3.0-3.5-4.0) as a function of solvent per sample, ethanol concentration and extraction time.

환원력 및 관능적 특성에 대한 최적 추출조건 예측

산국의 꽃잎에서 얻은 에탄올 추출물의 추출조건에 대한 회귀분석을 하여 본 결과 반응표면에서 모두 안장점을 나타내고 있었으므로, 능선분석을 하여 그 결

Table 4. Predicted levels for electron donating ability and organoleptic properties of ethanol extracts from *Chrysanthemum boreale* yielding optimum responses by analysis of ridge

Extraction conditions	Levels for optimum responses		
	Electron donating ability	Sensory score	
		color	aroma
Solvent per sample (mL/g)	50	88	55
Ethanol concentration (%)	61	21	73
Extraction time (hr)	16	16	19
Morphology <sup>1)</sup>	S.P	S.P	S.P
	(min)	(max)	(max)

<sup>1)</sup>Morphology (optimum values).

과를 Table 4에 나타내었다. 산국의 에탄올 추출물의 DPPH에 의한 전자공여 작용은 50 mL/g, 61%, 16 hr에서 가장 낮은 흡광도를 나타내어 가장 높은 전자공여작용을 보이는 것으로 나타났다. 이는 김<sup>(18)</sup> 등의 계피의 70% 에탄올 추출물이 가장 높은 항산화능을 나타내었다는 보고와 유사한 경향을 보여 주었다. 또한, 에탄올 추출물에 대한 가용성 고형분 함량은 용매비와 에탄올 농도에 거의 영향을 받지 않는 것으로 나타났다(Table 2). 관능적 기호도에서 추출물의 색상은 시료에 대한 용매비 88 mL/g, 에탄올 농도 21%, 추출시간 16 hr에서 가장 높았으며, 추출물의 향은 55 mL/g, 73% 및 19 hr에서 얻은 추출물에서 가장 높은 관능적

기호도를 나타내었다.

에탄올 추출조건의 최적화

산국의 에탄올 추출조건을 최적화할 목적으로 추출물의 전자공여작용과 관능적 특성을 모두 만족시켜 주는 최적 추출조건을 얻고자 각 반응표면을 superimposing하여 Fig. 4에 나타내었다. 이 반응표면으로부터 설정될 수 있는 최적조건 범위는 Fig. 4의 빗금친 짙은 부분으로써 Table 5에 조건을 나타내었다. 산국의 에탄올 추출 최적조건 범위는 시료에 대한 용매비 65~78 mL/g, 에탄올 농도 90~100%, 추출시간 15~25 hr으로 나타났다. 이상의 반응변수에 대한 최적조건의 예측모델식을 검증하기 위하여 최적조건 범위내의 임의

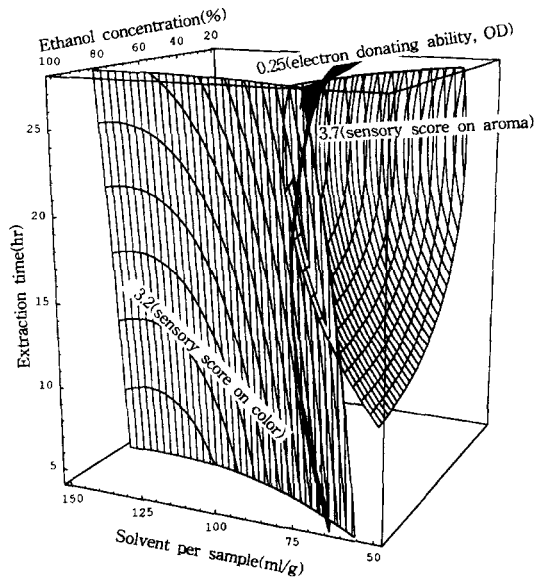


Fig. 4. Superimposed response surface for optimization of electron donating ability and organoleptic properties(color and aroma) of ethanol extracts as a function of solvent per sample, ethanol concentration and extraction time.

Table 5. The optimum range of ethanol-extraction conditions for response variables<sup>1)</sup> yielding optimum responses by superimposing of contour maps for petals of *Chrysanthemum boreale*

Extraction conditions	Solvent per sample (mL/g)	Ethanol concentration (%)	Extraction time (hr)
Optimum condition ranges	65~78	90~100	15~20
Optimum conditions	73	95	20

<sup>1)</sup>Electron donating ability, sensory color and sensory aroma.

Table 6. Predicted and experimental values of response variables for ethanol extracts from *Chrysanthemum boreale* at a given condition<sup>1)</sup> within the range of optimum-extraction conditions

Response variables	Predicted values	Experimental values
Electron donating ability (O.D.)	0.22	0.25
Sensory color (score) <sup>2)</sup>	3.15	2.99
Sensory aroma (score) <sup>2)</sup>	3.75	3.59

<sup>1)</sup>Given condition: 73 mL/g in solvent per sample, 95% in ethanol concentration and 20 hr in extraction time.

<sup>2)</sup>Sensory score: 6 points scale.

의 조건, 즉 시료에 대한 용매비 73 mL/g, 에탄올 농도 95%, 추출시간 20 hr으로 설정한 후 실제 추출을 실시하고 추출물의 전자공여작용 및 관능적 특성치를 조사하여 본 결과, 실제 값들은 예측된 값들과 유사한 수준으로 비교되었다(Table 6).

요 약

반응표면분석에 의하여 야생국인 산국 꽃잎의 추출 조건에 따른 추출물의 전자공여작용 및 관능적 특성을 모니터링하고 에탄올 추출조건을 최적화하였다. 중심합성 실험계획에서 시료에 대한 용매비(X<sub>1</sub>), 에탄올 농도(X<sub>2</sub>), 추출시간(X<sub>3</sub>)을 요인변수로 하고 추출물의 품질 즉, 전자공여작용(Y<sub>1</sub>), 관능적 색상(Y<sub>2</sub>) 및 관능적 향(Y<sub>3</sub>)을 각각 종속변수로하여 60°C에서 추출을 실시하였다. 조건별 실험 결과는 회귀분석하여 4차원 반응표면으로 나타내었다. 종속변수들에 대한 결정계수(R<sup>2</sup>)는 0.8180~0.9696 범위로 나타났다. 산국의 에탄올 추출물의 전자공여 작용은 50 mL/g, 61%, 16 hr에서, 관능적 색상은 88 mL/g, 21%, 16 hr에서 그리고 관능적 향은 55 mL/g, 73%, 19 hr의 조건에서 추출물의 특성이 가장 높은 값으로 예측되었다. 산국의 에탄올 추출물에서 전자공여작용과 관능적 품질을 고려한 최적 추출조건 범위는 시료에 대한 용매비 65~78 mL/g, 에탄올 농도 90~100%, 추출시간 15~25 hr으로 나타났다. 예측된 조건에서 얻어진 추출물의 예측값들은 실제 측정값과 유사한 것으로 확인되었다.

문 헌

1. 이창복 : 대한식물도감, 향문사, p.648 (1989)
2. Kim, J.W.: In a study of *Chrysanthemum sinense* Sabine (in Korean). *Korean J. Pharmacog.*, **9**(1), 52-53 (1978)
3. Choi, Y.J.: *Korean Popular Customs Plants*. Academic Press Int, Seoul, p.53 (1992)

4. Danbensky, R. and Andrew, G.: In Chinese herbal medicine, Eastland Press, Seattle, p.59 (1986)
5. Nam, S.H. and Yang, M.S.: antibacterial activities of extracts from *Chrysanthemum boreale* M. (in Korean). *J. Agric. Food Chem.*, **38**, 269-272 (1995)
6. Nam, S.H. and Yang, M.S.: Isolation of cytotoxic substances from *Chrysanthemum boreale* M. (in Korean). *J. Agric. Food Chem.*, **38**, 273-277 (1995)
7. Uchio, Y., Tomosue, K., Nakyyama, M., Yamamura, A. and Waki, T.: Constituents of the essential oils from three tetraploid species of *Chrysanthemum*. *Phytochemistry*, **20**, 2691-2693 (1981)
8. Konta, F.: Flower as food and flower-eating culture. *Nippon shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **38**, 874-877 (1991)
9. 현대한방 연구소 : 현대의 한방, 수예사, p.149 (1984)
10. Kwon, J.H. and Yoon, H.S.: Nutritive value and functional properties of protein concentrates fractionated from acacia flower (*Robinia psseudo-acacia*). *Foods Biotechnol.*, **1**, 50-53 (1992)
11. 육창수 : 원색한국약용식물도감, 아카데미서적, p.536 (1990)
12. Kang, K.C., Park, J.H., Baek, S.B., Jhin, H.S. and Rhee, K.S.: Optimization of beverage preparation from *Schizandra chinensis* bailon by response surface methodology (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **24**, 74-81 (1992)
13. SAS: SAS/STAT: User's Guide Version 6, 4th ed., Ch. 37. Vol. 2, p.1457. SAS Institute Inc., Cary, NC, U.S.A. (1995)
14. Blois, M.S.: Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **181**, 1199-1202 (1958)
15. 김광옥, 이영춘 : 식품의 관능검사. 학연사, p.241 (1989)
16. Park, N.Y., Lee, K.D., Jeong, Y.J. and Kwon, J.H.: Optimization of extraction conditions for physicochemical properties of ethanol extracts from chrysanthemum petals (in Korean). *Korean J. Food Sci & Nutri.*, in press (1998)
17. Kim, N.M., Sung, H.S. and Kim, W.J.: Effect of solvents and some extraction conditions on antioxidant activity in cinnamon extracts (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **25**(3), 204-209 (1993)
18. Kim, N.M., Yang, J.W. and Kim, W.J.: Effect of ethanol concentration on index components and physicochemical characteristics of cinnamon extracts (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **25**(3), 282-287 (1993)

---

(1998년 3월 13일 접수)