반응표면분석법을 이용한 천마의 최적증자조건 설정

이진만 · 김인호[1] · 김성호*

경북과학대학 약용식품과/바이오건강산업연구소, [1]경북과학대학/생산공학연구소

(2003년 1월 21일 접수, 2003년 3월 4일 수리)

천마를 채취한 그대로 이용하는 데에는 생체보존에 따른 불편, 독성 그리고 자극성 등의 부작용으로 간단한 전처리 과정이 필요하다. 본 연구에서는 천마를 이용한 가공제품의 개발을 위한 전처리 과정 중 증자 조건별로 천마의 항산화적 특성을 반응 표면 분석법으로 모니터링하여 최적 증자 조건을 설정하였다. 총페놀성 화합물의 함량은 증자온도 94.43°C, 증자시간 42.38 min에서 최적이었고 전자 공여능은 증자온도 101.67°C, 증자시간 41.09 min에서 최적조건이었다. 항산화능 및 아질산염 소거능은 100°C, 40 min의 동일조건에서 최적으로 나타났다. 위 항산화적 특성의 증자조건을 종합하여 superimposed contour map으로 최적조건을 예측한 결과, 증자온도 96~107°C, 증자시간 28~46 min으로 나타났다. 예측된 임의의 증자조건 100°C, 40 min으로 실제 항산화 관련 값을 측정한 결과 예측값의 95.9%~115.6%으로 유효성이 높게 나타났다.

Key words: 천마, 증자조건, 항산화적 특성, 반응표면분석

서 론

천마(*Gastrodia elata* Blume)는 한국, 일본, 중국 등지에 자생하는 난초과(Orchidaceae)에 속하는 다년생 초본식물로 알려져 있다. 엽록소가 없어서 탄소동화 작용을 이용한 영양 물질의 광합성이 불가능하고, 뿌리가 없는 관계로 뽕나무 버섯(*Armillaria mellea*)과 편리공생을 하여 영양을 공급받아 생장한다.[1,2] 주로 한약재로서 이용되고 있는데 본초학 문헌에 나타나 있는 효능은 고혈압, 신경성 질환, 당뇨병 등[3]의 성인병 외에도 최근 새로운 약리 활성으로서 항혈전 작용,[4] 항산화작용,[5] γ-aminobutyric acid (GABA)성 신경전달 조절 작용[6]이 있음이 밝혀졌다. 이처럼 한방으로만 전래되던 천마의 효능이 점차 알려지면서 최근에는 여러 측면에서 생리화학적 연구가 활발히 추진되고 있다. 현재까지 분리된 천마의 성분은 대부분 페놀성 화합물로서 gastrodin을 비롯한 페놀성 배당체,[7] gastrodigenin 외 다수의 페놀성 화합물,[8,9] 그리고 유황 함유 페놀성 화합물[10] 등이 있으며, 비페놀성 화합물로는 circiumaldehyde[11] 등이 보고되는 등 천마의 약리적인 효능이 인정됨에 따라 가공식품으로의 개발 확대가 더욱 요구되고 있다.

한편 천마를 채취한 그대로 이용하는 데에는 생체보존에 따른 불편, 부패, 독성과 자극성 등의 부작용이 있어 간단한 가공처리를 필요로 한다. 지금까지 천마에 대한 국내 연구에서는 천마의 일반성분과 기능성 조사,[12] 건조방법에 따른 천마의 성분분석,[13] 천마의 여러 가지 효능에 대한 실험적 연구[14], 천마의 항혈소판 및 항혈전성에 대한 연구,[4] 천마의 extract가 관상순환기에 미치는 영향[15]에 대한 보고가 있다. 그 동안 천마는 식품원료로서 사용할 수 없는 규제에 묶여서 가공식품으로의 이용이 제한되어 왔으나 2000년 9월 1일부터 규제가 풀려서 식품원료로의 사용이 가능해짐에 따라 가공식품으로의 개발에 필요한 기초자료가 시급한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 수확된 천마의 이용과 가공에 앞서 전처리 중 증자조건에 따른 천마의 항산화적 특성을 모니터링하기 위하여 반응표면분석법으로 최적 증자조건을 설정하였다.

*연락저자
Phone: 82-54-972-9586, Fax: 82-54-979-9220
E-mail: shkim@kbcs.ac.kr

재료 및 방법

재료. 본 실험에 사용된 천마(*Gastrodia elata* Blume)는 경북 칠곡군 기산면 지역에서 재배된 것을 구입하여 탈피 후 5 mm로 세절하여 사용하였다.

무기성분 분석. 무기성분은 시료 1 g를 건식분해[16]한 다음 정량하여 0.45 μm membrane filter로 여과한 후 원자흡광광도계(AAnalyst 300 flame atomic absorption spectrometer, Perkin-Elmer Co. USA)로 분석하였다.

증자 방법. 생천마를 autoclave를 이용하여 증자 온도와 증자시간을 조절하면서 100 g씩 증자를 실시한 후, 50°C에서 12시간 동안 건조한 후 실험재료로 사용하였다.

실험계획. 증자조건의 최적화를 위한 실험계획은 중심합성계획법[17]에 의하여 설계하였고, 반응표면 회귀분석을 위하여 SAS (statistical analysis system) program[18]을 사용하였다. 중심합성계획에서 독립변수(Xn)는 증자온도(80~120°C, X_1) 및 증자시간(20~60 min, X_2)이며 실험계획은 −2, −1, 0, 1, 2 다섯 단계로 부호화하여 실험값을 Table 1에 나타내었다. 천마의 항산화적 특성에 관련된 종속변수(Yn)로는 총페놀성화합물 함량(Y_1), 전자공여능(Y_2), 항산화능 측정(Y_3) 및 아질산염소거능(Y_4)로 각각 나타내었다. 이때 두 가지의 증자조건에 따른 2차 회귀모형식은 식 (1)과 같다.

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_{12}X_1X_2 + b_{11}X_{12} + b_{22}X_{22} \quad (1)$$

Table 1. Level of steaming conditions

Steaming conditions	-2	-1	0	1	2
X_1 Steaming temp. (℃)	80	90	100	110	120
X_2 Steaming time (min)	20	30	40	50	60

여기서 Y는 증자한 천마의 항산화적 특성, X_1 및 X_2는 증자조건, b_0은 회귀계수이다.

추출. 추출은 각각의 조건으로 증자 · 건조하여 분쇄한 후 분말 시료 5 g에 증류수 100 m*l*를 가하여 실온에서 1 시간 진탕하여 추출하였다. 추출조작은 3회 반복하여 실시하고 추출액은 원심분리하여 상층액을 얻은 뒤 여과하였다. 여액을 감압농축시켜 100 m*l*로 하여 항산화적 특성 시험용액으로 하였다.

총 페놀성 화합물 함량 측정. 각 추출물의 총 페놀성 화합물 함량은 Folin-Denis법[19]에 따라 비색 정량하였다. 즉, 추출액을 100배 희석한 검액 5 m*l*를 넣어 진탕하고 1 시간 실온에서 방치하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 검액 대신 증류수를 넣어 동일하게 처리한다. 이때 표준물질로는 tannic acid를 5~50 μg/m*l*의 농도로 조제하여 검량곡선의 작성에 사용하였다.

전자공여능 측정. 시험용액의 전자공여능(electron donating ability, EDA) 시험은 α,α-diphenyl-β-picrylhydrzyl(DPPH)를 사용한 방법[20]으로 측정하였다. 즉, DPPH 시약 12 mg을 absolute ethanol 100 m*l*에 용해한 후 증류수 100 m*l*를 가하고 50% ethanol 용액을 blank로 하여 517 nm에서 DPPH용액의 흡광도를 약 1.0으로 조정한 후 이 용액 4 m*l*를 취하여 시료용액 1 m*l*와 혼합한 후 상온에서 10 분간 방치시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 표시하여 전자공여능으로 하였다.

$$\text{EDA}\ (\%) = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가시의 흡광도}}{\text{공시험의 흡광도}}\right) \times 100$$

항산화 지수의 측정. 각 증자물의 항산화지수는 rancitometer (Rancimat 679, Metrohm AG, Swiss)를 사용하여 측정하였으며,[21] AI (antioxidant index)로 항산화 지수를 비교하였다. 이때 측정조건은 온도 110℃, 공기공급량 20 *l*/hr, 유지(항산화제를 첨가하지 않은 대두유)사용량은 2.5 g로 측정하여 얻은 값을 표시하였다.

$$\text{AI} = \frac{\text{각 증자물을 첨가한 실험구의 유도기간}}{\text{무첨가구의 유도기간}}$$

아질산염 소거능 측정. 각 추출물의 아질산염 소거능 측정[22]은 1 mM $NaNO_2$ 용액 1 m*l*에 소정 농도의 시료를 첨가하고 여기에 0.1 N HCl (pH 1.2)과 0.2 M 구연산 완충액(pH 3.0, 4.2 및 6.0)을 사용하여 반응용액의 pH를 각각 1.0, 3.0, 4.2 및 6.0으로 조정하여 각 반응용액을 10 m*l*로 정용하였다. 각 반응용액은 37℃에서 1 시간 동안 반응시킨 후 1 m*l*를 취해 2% 초산 용액 5 m*l*를 첨가한 다음, Griess 시약(30% acetic acid로 각각 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1 : 1비로 혼합한 것, 사용직전 조제) 0.4 m*l*를 가하여 잘 혼합시켜 실온에서 15 분간 방치시킨 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 아래 식에 의하여 아질산염 소거율을 구하였다.

$$\text{N}(\%) = \left(1 - \frac{\text{A} - \text{B}}{\text{B}}\right) \times 100$$

N: 아질산염 소거율

A: 1 mM $NaNO_2$ 용액에 시료를 첨가하여 1시간 방치 후의 흡광도

B: $NaNO_2$ 용액의 흡광도

C: 시료자체의 흡광도

결과 및 고찰

무기성분. 천마에 함유된 무기질 함량은 Table 2와 같이 K이 828.74 mg%로 가장 높게 나타났고 다음은 Na, Ca, Mg의 순으로 높게 함유되어 있었다. 본 결과는 Lee 등[23]이 천마에서 K, Na, Ca, Mg 순으로 무기질이 높게 함유되어 있다고 한 결과와 Kim 등[15]이 K, Ca, Mg, Na 순으로 함량이 높았다는 보고와 일치하였다.

증자조건에 따른 항산화적 특성 모니터링. 중심합성계획법[17]에 의한 10구간의 증자조건에 따른 증자시험을 실시하고, 이때 얻어진 증자물에 대하여 총 페놀성 화합물 함량, 전자공여능, 항산화능 및 아질산염소거능은 Table 3에 나타내었다. 각각의 결과를 이용하여 반응표면 회귀분석을 실시하고 각 종속변수 즉, 총 페놀성 화합물 함량, 전자공여능, 항산화능 및 아질산염 소거능에 대한 회귀식을 얻었다. 또한 변수별 최적 증자조건과 항산화적 특성 값을 예측하여 Table 4 에 나타내었으며, 이들의 contour map 및 3차원 반응표면은 증자온도 및 증자시간을 독립변수로 하여 Fig. 1, 2, 3 및 4에 각각 나타내었다.

총 페놀성 화합물의 함량 변화. 각 조건의 증자물에서 총페놀성화합물의 함량(Y_1)은 Table 3과 같다. 그리고 최적 추출조건과 contour map 및 반응표면은 Fig. 1에 나타내었으며, 이들의 회귀식은 다음과 같다.

$$Y_{TP} = -484.047143 + 9.362429X_1 + 16.586571X_2 - 0.038932X_1X_2 - 0.047500X_1^2 - 0.142682X_2^2$$

증자조건별 총페놀성 화합물 함량에 대한 회귀식의 R^2는 0.8219로 유의성이 인정되지 않았다. 예측된 정상점은 최대점이고 최대값은 309.47 mg/m*l*로 예측되었고, 이때 증자조건은

Table 2. Mineral contents of *Gastrodia elata* Blume (mg%)

Ca	Fe	Na	K	Mg	Zn
44.69	1.72	63.56	828.74	25.34	0.69

Table 3. Experimental data on total phenol content, electron donating ability, antioxidant ability (AI) and nitrite-scavenging ability of *Gastrodia elata* Blume under different conditions based on central composite design for response surface analysis

Exp. No.	Steaming conditions		Total phenol content (mg/ml)	Electron donating ability (%)	Antioxidant ability (AI)	Nitrite-scavenging ability (%)
	Temperature (°C)	Time (min)				
1	110(1)	50(1)	272.20	51.19	1.15	15.86
2	110(1)	30(-1)	281.84	47.77	1.08	13.88
3	90(-1)	50(1)	310.40	38.72	1.06	15.88
4	90(-1)	30(-1)	301.04	41.25	1.17	15.01
5	100(0)	40(0)	306.56	51.63	1.25	21.81
6	100(0)	40(0)	306.56	51.63	1.25	21.81
7	120(2)	40(0)	296.36	33.68	1.01	13.88
8	80(-2)	40(0)	287.10	33.26	1.05	14.07
9	100(0)	60(2)	262.96	35.16	1.06	11.90
10	100(0)	20(-2)	237.50	29.67	1.03	11.05

Table 4. Predicted level of steaming conditions for the maximum responses of variables by the ridge analysis

Responses	R^2	Pro>F	X_1 [1)]	X_2 [2)]	Maximum	Morphology
Total phenol content (mg/ml)	0.8219	0.1149	94.43	42.38	309.47	Maximum
Electron donating ability (%)	0.8860	0.0505	101.67	41.09	53.25	Maximum
Antioxidant ability (AI)	0.9577	0.0075	100.00	40.00	1.23	Maximum
Nitrite-scavenging ability (%)	0.9085	0.0333	100.00	40.00	20.60	Maximum

*[1)]X_1: Steaming temperature (°C), [2)]X_2: Steaming time (min)

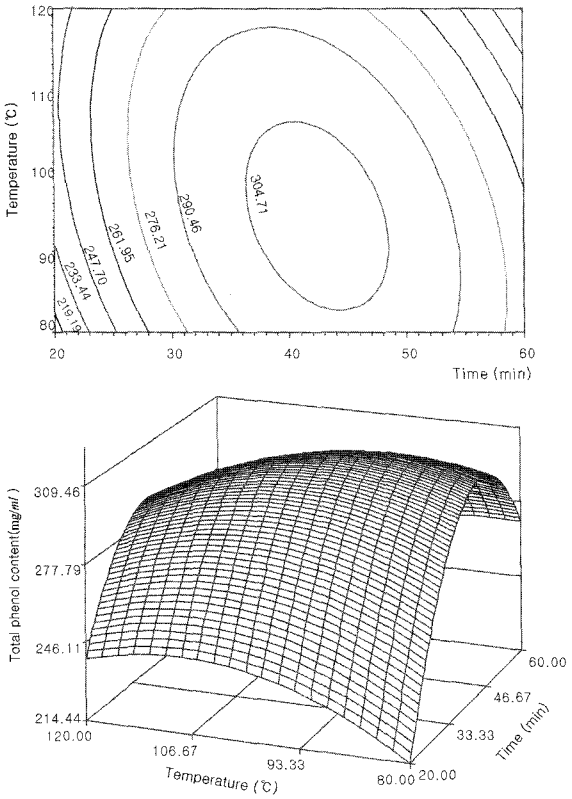

Fig. 1. Contour map (top) and response surface (bottom) of total phenol content in steaming conditions of *Gastrodia elata* Blume.

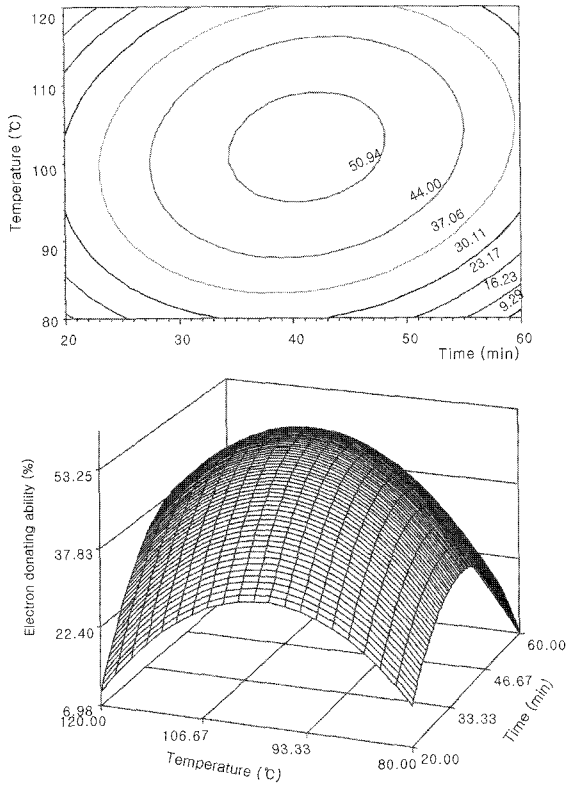

Fig. 2. Contour map (top) and response surface (bottom) of electron donating ability in steaming conditions of *Gastrodia elata* Blume.

증자온도 94.43°C 및 증자시간 42.38 min이었다(Table 4). 총 페놀성화합물 함량에 대한 추출조건은 주로 증자시간의 영향을 받았으며, 증자온도의 영향은 거의 없는 것으로 나타났다 (Table 5).

전자공여능의 변화. 증자조건별 증자물의 전자공여능(Y_2)는 Table 3과 같고, 그 결과의 반응표면 회귀식은 아래와 같다.

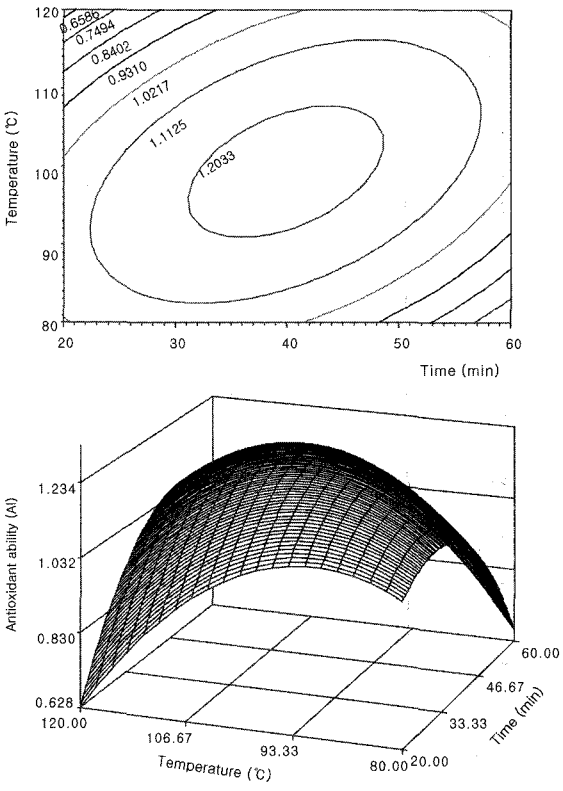

Fig. 3. Contour map (top) and response surface (bottom) of antioxidant ability (AI) in steaming conditions of *Gastrodia elata* Blume.

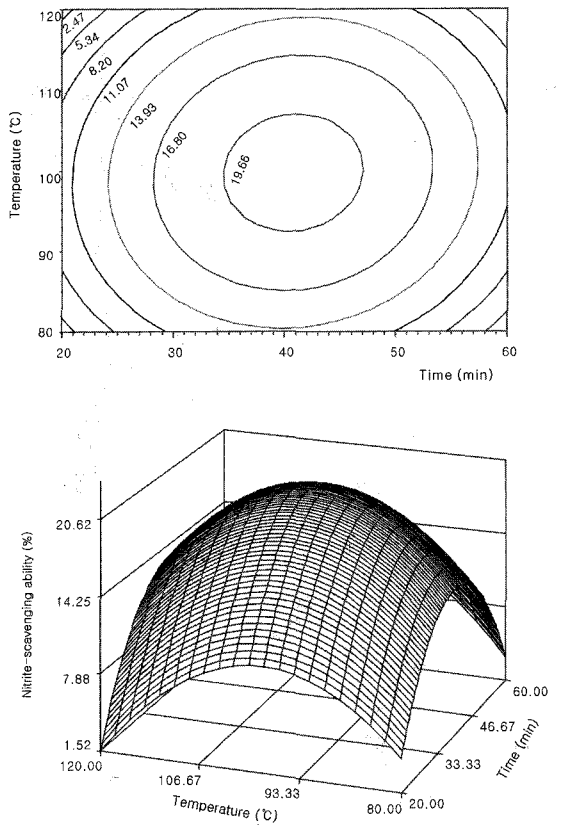

Fig. 4. Contour map (top) and response surface (bottom) of nitrite-scavenging ability in steaming conditions of *Gastrodia elata* Blume.

$$Y_{EDA} = -459.082738 + 8.999714X_1 + 2.594202X_2 - 0.047147X_1X_2 + 0.014875X_1^2 - 0.049785X_2^2$$

전자공여능에 대한 R^2는 0.8860으로 5% 이내의 유의성이 인정되었다. 증자 후 전자공여능의 변화는 증자시간 및 증자온도에 대해 5% 이내의 유의성이 인정되어 두가지 조건 모두에 영향을 받고 있는 것으로 나타났다. 전자공여능의 변화에 준하여 각각의 최적 조건을 구하고자 능선분석을 행하여 본 결과, Table 4와 같이 최대값은 53.25%이었고, 이때의 요인 변수들의 값은 증자온도 101.67℃, 증자시간 41.09 min이었다(Table 4). 이 결과는 더 높은 온도와 더 긴 시간에서는 상대적으로 전자공여능이 떨어지는 것으로 사료된다.

항산화지수의 변화. 증자조건에 따른 항산화지수(Y_3)는 Table 3에 나타내었고, 결과에 대한 반응표면 회귀식은 아래와 같다.

$$Y_{AA} = -2.988214 + 0.087226X_1 - 0.005476X_2 - 0.000529X_1X_2 + 0.000450X_1^2 - 0.000492X_2^2$$

각 실험구에서 얻어진 항산화지수에 대한 회귀식 R^2는 0.9577로 1%이내의 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점은 능선분석한 결과 최대값은 1.23 AI로 예측되었고, 이때 증자조건은 증자온도 100℃, 증자시간 40.00 min이었다(Table 4). 증자조건별 항산화지수는 전자공여능, 아질산염소거능과 유사한 경향을 나타냈다. 항산화지수에 대한 증자조건의 영향은 증자시간, 증자온도 두 조건 모두에 영향을 크게 받는 것으로 나타났다(Table 5).

아질산염소거능의 변화. 각 조건의 증자물에서 아질산염소거능(pH 1.2)(Y_4)은 Table 3과 같고, 반응표면에 대한 회귀식은 다음 식과 같다.

$$Y_{NSA} = -188.269524 + 3.492321X_1 + 1.706845X_2 - 0.018080X_1X_2 + 0.002775X_1^2 - 0.024330X_2^2$$

아질산염소거능에 대한 증자물의 회귀식은 R^2는 0.9058이고,

Table 5. Regression analysis for regression model of total phenol content, electron donating ability, antioxidant ability (AI) and nitrite-scavenging ability in steaming conditions of *Gastrodia elata* Blume

Steaming conditions	F-Ratio			
	Total phenol content (mg/ml)	Electron donating ability (%)	Antioxidant ability (AI)	Nitrite-scavenging ability (%)
Temperature (℃)	0.72	7.33**	24.74***	6.64**
Time (min)	5.67**	7.71**	21.66***	12.16**

*Significant at 10% level; **Significant at 5% level; ***Significant at 1% level

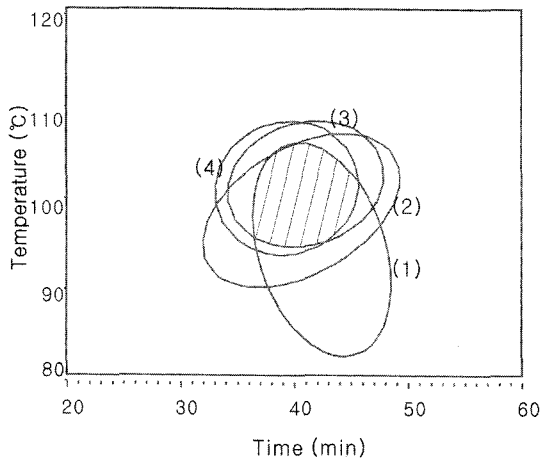

Fig. 5 Superimposed contour map for optimization of antioxidant properties in steaming of *Gastrodia elata* Blume. (1) Total phenol content (mg/ml) (3) Antioxidant ability (A.I.) (2) Electron donating ability (%) (4) Nirite-scavenging ability (%, pH 1.2)

Table 6. Optimum steaming condition for response variables yielding the optimum response by superimposing contour maps

Steaming conditions	Range of predicted conditions
Temperature (℃)	96~107
Time (min)	38~46

5%이내의 수준에서 유의성이 인정되었다.

최적 예측조건은 Table 4와 같으며, 이때 예측된 정상점은 최대점으로서, 그 최대값은 20.60%로 나타났으며, 이때 증자온도 100℃, 증자시간 40.00 min에서 가장 높은 효율을 나타내었다. 증자 후 아질산염소거능의 변화는 증자시간 및 증자온도에 대해 5% 이내의 유의성이 인정되어 두조건 모두에 영향을 받는 것으로 나타났다(Table 5).

최적 추출조건의 예측. 천마의 항산화적 특성의 최적 증자조건을 설정하기 위하여 각 조건별 증자물의 총 페놀성 화합물, 전자공여능, 항산화지수, 아질산염 소거능(pH 1.2)에 대한 contour maps를 superimposing하여 최적 범위를 예측하였다(Fig. 5). 총 페놀성 화합물, 전자공여능, 항산화지수, 아질산염 소거능이 일치하는 범위는 증자온도 96~107℃, 증자시간 38~46 min로 나타났다(Table 6). 따라서 이와 같은 예측 결과에 대한 모델식의 신뢰성을 확인하기 위하여 예측된 최적 조건 범위 내에서 임의의 조건 즉, 증자온도 100℃, 증자시간 40 min을 대입하여 항산화적 특성을 측정한 결과, Table 7과 같이 총 페놀성 화합물의 함량 326.62 mg/ml, 전자공여능 61.54%, 항산화지수 1.18 및 아질산염소거능 22.18%로 나타났으며, 이론치와 비교하였을 때 항산화지수는 다소 낮은 값을 나타내었으나, 총 페놀성 화합물 함량, 전자공여능 및 아질산염소거능은 이론치보다 높은 값을 나타내었다. 실측값은 예측값에 비하면 95.9~115.6%로 나타나 증자조건의 유효성이 인정되었다.

참고문헌

1. Lee, Y. M. (1990) In *Oriental Medicine Dictionary*, Sammundang, Seoul, p. 814.
2. Sin, K. G. (1980) In *Sinssi Herbology*, Sumunsa, Korea. pp. 288-290.
3. Kim, C. M., Sin, M. K., An, D. K. and Lee, K. S. (1997) In *Zoungyank Dictionary*, Jungdam, Seoul. Korea. pp. 4105-4110.
4. Paik, Y. S., Song, J. K., Yoon, C. H., Chung, K. S. and Yun-Choi, H. S. (1995) Anti-platelet and anti-thrombotic effects of *Gastrodia elata*. *Kor. J. Pharmacogn* **26**, 385-389.
5. Huh, K., Kim, J. S., Kwon, T. H., Kim, J. A., Yoag, C. S., Ha, J. H. and Lee, D. U. (1998) The mechanism of anticonvulsive effect of the rhizoma of *Gastrodia elata* in pentylenetetrazole treated rats. *J. Kor. Pharm. Sci.* **42**, 330-335.
6. Ha, J. H., Lee, D. U., Eah, K. Y., Ha, J. S., Kim, H. J., Yoag, C. S. and Huh, K. (1997) Modulation of ligand binding to the GABA-benzodiazepine receptor complex by *Gastrodia elata* Blume. *J. Appl. Pharmacol.* **5**, 325-330.
7. Lin, J. H., Liu, Y. C., Hau, J. P. and Wen, K. C. (1996) Parishins B and C from rhizomes of *Gastrodia elata*. *Phytochem.* **42**, 549-551.
8. Taguchi, H., Yosioka, I., Yamasaki, K. and Kim, I. L. (1996) Studies on the constituents of *Gastrodia elata* Blume. *Chem. Pharm. Bull.* **29**, 55-62.
9. Yun-Choi, H. S., Pyo, M. K. and Park, K. M. (1998) Isolation of 3-O-(4'-hydroxy-benzyl)-β-sitosterol and 4[4'(4'-hydroxybenzyloxy)benzyloxy] benzyl methyl ether from fresh tubers of *Gastrodia elata*. *Arch. Pharm. Res*, **21**, 357-360.
10. Yun-Choi, H. S. and Pyo, M. K. (1997) Isolation of 4,4'-dihydroxybenzyl sulfoxide from *Gastrodia elata*. *Arch. Pharm. Res.* **20**, 91-92.
11. Yun-Choi, H. S., Pyo, M. K. and Park, K. M. (1997) Circiumaldehyde from *Gastrodia elata*. *Nat. Prod. Sci.* **3**, 104-105.
12. Chung, H. S. and Ji, G. E. (1996) Composition and functionality of *Chonma*. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **28**, 53-57.
13. Shin, C. S., Park, C. K., Lee, J. W., Lee, J. G., Jang, C. K. and Kim, Y. K. (1999) Analysis of the components with freeze drying and steam drying of *Gastrodia elata* Blume. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 1058-1063.
14. Ku, B. H. (1991) Experimental studies on the pharmaceutical

Table 7. Experimental data on total phenol content, electron donating ability, antioxidant ability (AI) and nitrite-scavenging ability of *Gastrodia elata* Blume under optimal conditions

Responses	Calculated data (A)	Practical data (B) (optimal conditions)	B/A×100 (%)
Total phenol content (mg/ml)	309.47 (94.43℃, 42.38 min)	326.62 (100℃, 40.00 min)	105.5
Electron donating ability (%)	53.25 (101.67℃, 41.09 min)	61.54 (100℃, 40.00 min)	115.6
Antioxidant ability (AI)	1.23 (100.00℃, 40.00 min)	1.18 (100℃, 40.00 min)	95.9
Nitrite-scavenging ability (%)	20.60 (100.00℃, 40.00 min)	22.18 (100℃, 40.00 min)	107.7

effects of Gastrodiae elata, MS Thesis, Kyung Hee University, Seoul, Korea.
15. Kim, E. J., Ji, G. E. and Kang, Y. H. (1994) Effects of *Gastrodia Rhezoma* extracts on global coronary circulation in rats. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **26**, 213-220.
16. AOAC (1995) In *Official Methods of Analysis.* The Scientific Association Dedicated to Analytical Excellence, Washington D. C., USA. pp. 71-73.
17. Wanasundara, P. K. J. P. D. and Shahidi, F. (1996) Optimization of hexametaphosphate-assisted extraction of flaxseed proteins using response surface methodology. *J. Food Sci.* **6**, 604-607.
18. SAS institute, Inc. (1988) In *SAS/STAR User's Guide*, Version 6. Cary, NC, USA.
19. Amerine, M. A. and Ough C. S. (1980) Methods for analysis of musts and win. Wiley & Sons, New York, pp. 176-180.
20. Blios, M. S. (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature* **181**, 1199-1200.
21. Lubli, M. W. and Bruttel, P. A. (1986) Determination of the oxidative stability of fats and oils. *JAOCS.* **63**, 792.
22. Kato, H., Lee, I. E., Chnyen, N. V., Kim, S. B. and Hayase, F. (1987) Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric. Bull. Chem.* **51**, 1333.
23. Lee, B. Y., Choi, H. S. and Hwang, J. B. (2002) Analysis of food components of *Gastrodiae Rhizoma* and changes in several characteristics at the various drying conditions, *Kor. J. Food Sci. Technol.* **34**, 37-42.

Optimal Steaming Condition of *Gastrodia elata* Blume (Chunma) using Response Surface Methodology (RSM)

Jin-Man Lee, In-Ho Kim[1] and Seong-Ho Kim* (*Department of Herb & Food Science, Kyungbook College of Science/Production Engineering Institute, Chilgok 718-851, Korea,* [1]*Production Engineering Institute, Chilgok 718-851, Korea*)

Abstract: The *Chunma* requires a simple pre-treatment, due to the inconveniences of preservation, toxicities, and pungencies in intact state. Various steaming conditions were examined to establish the anti-oxidative characteristics of *Chunma* using the Response Surface Methodology (RSM). Total phenolics and electron-donating ability were optimal at 94.43 and 101.67°C for 42.38 and 41.09 min, respectively. Anti-oxidative (AI) and nitrite-scavenging ability were optimal at 100°C for 40 min. Optimal steaming conditions were determined as 96~107°C for 28~46 min, almost identical to the predicted conditions of 100°C, 40 min determined using the superimposed contour map. Anti-oxidative activities (AI) under the optimal conditions were 95.9%~115.6% of those determined under predicted conditions, an indication of the high reliability of the calculated values.

Key words: *Gastrodia elata* Blume (*Chunma*), steaming condition, anti-oxidative characteristics, response surface methodology (RSM)
*Corresponding author