

## 홍월적 양배추의 추출조건 최적화

김현구<sup>1\*</sup> · 도정룡<sup>1</sup> · 홍주현<sup>2</sup> · 이기동<sup>2</sup>

<sup>1</sup>한국식품연구원

<sup>2</sup>대구신기술사업단 전통생물소재산업화센터

## Optimization of Extraction Conditions for Cabbage

Hyun-Ku Kim<sup>1\*</sup>, Jeong-Ryong Do<sup>1</sup>, Joo-Heon Hong<sup>2</sup> and Gee-Dong Lee<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Korea Food Reseach Institute, Gyeonggi 463-746, Korea

<sup>2</sup>DG-Technology Agency, Traditional Bio-Materials Industry Center, Daegu 704-230, Korea

### Abstract

This study was conducted to monitor the extraction yields and functional properties from cabbage by a response surface methodology. The extract yield was maximized as 44.47% under the temperature of 79.86°C, ethanol concentration of 56.84% and solvent to sample ratio 25.58 mL/g. The maximum value of electron donating ability was 85.46% at 46.38°C, 57.06% of ethanol concentration and 27.71 mL/g of solvent to sample ratio. The maximum value of tyrosinase inhibitory effect was 69.37% at 37.5°C, 47.71% of ethanol concentration and 16.03 mL/g of solvent to sample ratio. The maximum value of SOD-like activity was 48.36% in 66.12°C, 70.35% of ethanol concentration and 29.13 mL/g of solvent to sample ratio. Estimated conditions for the maximized extraction including yield, electron donating ability and SOD-like activity were 20~30 mL/g in ratio of solvent to sample, 25~85% in ethanol concentration, and 40~90°C in extraction temperature.

**Key words:** cabbage, extraction condition, optimization, SOD-like activity

### 서 론

국민소득이 증가되고 식생활 양식이 변화하여 고혈압, 동맥경화증, 심장병 등의 성인병이 증가함에 따라 질환의 예방관리를 위한 기능성 식품의 중요성이 절실히 인식되고 있다. 특히 식물류 중에 들어있는 생리활성 성분에 대한 관심이 높아지면서 여러 가지 생리적 효능을 갖고 있는 인체에 대한 안전성과 약효가 입증된 천연물을 선호하는 경향이 높아지고 있다. 또한 현대인의 생활양식이 편익 위주로 변함에 따라 이러한 천연물의 유효성분을 신속하고 간편하게 이용할 수 있도록 천연물 중의 유용성 물질을 추출하여 첨가한 드링크류의 의약품이나 건강식품이 많이 개발되고 있다.

브로커리, 케일, 양배추 등과 같은 십자화과 채소는 영양적인 면에서 비타민과 미네랄 함량이 높고 특유의 향을 내는 황화합물인 isothiocyanates, nitriles, gortin 등을 함유하는 것으로 알려져 있다(1). 이들 화합물들은 생체에서 암을 예방하거나 돌연변이를 억제하는 작용이 있는 것으로 알려져 있으며, 십자화과 채소 추출물의 DNA의 산화적 손상 억제, microsome내 지질과산화에 대한 항산화력 등에 대해 보고되고 있다(1-4). 양배추(*Brassica oleraces* L.)는 원산지가

지중해 연안 일대와 아시아이며, 재배역사가 가장 오래된 작물중의 하나이다. 양배추의 영양성분으로는 필수아미노산인 라이신이, 지방질 성분으로 필수지방산인 리놀렌산이, 그리고 당질 중에는 포도당이 많이 함유되어 있다. 또한 비타민류 중 특히 녹색부분에는 비타민 C뿐 아니라 비타민 A 및 B군이 많이 함유되어 있다(5). 지금까지 알려진 양배추의 효능으로는 암 예방, 위궤양 예방 및 치유, 면역성 증진, 혈액정화, 노화방지와 항산화 효과, 기타 피부병 예방 등이 알려져 있다(4,6). 특히 양배추에는 위궤양에 효능을 나타내는 함황성분 S-methyl methionine이 함유되어 있으며, 이는 비타민 U로 알려져 있다. 양배추의 phytochemicals로는 hydroxycinnamate인 caffeic acid, chlorogenic acid, ferulic acid, p-coumaric acid 등이 항산화성을 가지는 것으로 보고되고 있다(7,8).

양배추는 가공과정을 거치고 나면 단백질, 당질, 비타민 등의 영양소 손실이 일어나고 냄새가 발생되므로 생체로 먹는 것이 효과적이지만, 대량으로 생산되는 양배추의 부가가치를 높이기 위해서는 유용성분 추출물을 이용한 가공제품의 개발이 요구되고 있다.

따라서 본 연구에서는 현재 시판되고 있는 양배추 품종

\*Corresponding author. E-mail: hyunku@kfri.re.kr  
Phone: 82-31-780-9134. Fax: 82-31-709-9876

중 홍월적(Ruby star)의 유용성분의 최적 추출조건을 설정하고자 하였으며, 이를 위해서 시료에 대한 용매비, 에탄올 농도, 추출온도에 따른 유용성분의 추출특성을 반응표면분석으로 모니터링하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용된 양배추(*Brassica oleracea* L.)는 2002년 10월에 수확된 홍월적 양배추(Ruby star)를 (주)농우 바이오에서 제공받아 실험에 사용하였다. 시료는 깨끗이 수세하여 0.5 cm의 크기로 세절한 후 45°C 온도에서 열풍 건조하였다. 건조된 시료는 분쇄기(Kaiser, KFN-400S, 킹스톤기전(주), 한국)를 사용하여 0.5 mm 이하의 크기로 분쇄한 후 0.2 mm PE film에 밀봉 포장하여 냉동고에 보관하면서 사용하였다.

### 추출조건 최적화를 위한 실험계획

본 실험에서는 추출조건에 따른 추출특성의 모니터링과 추출조건의 최적화를 위하여 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)(9)을 사용하였다. 추출조건에 대한 실험계획은 중심합성계획(central composite design)(10)을 사용하였으며, 반응표면분석을 위해 SAS(statistical analysis system)(11)를 사용하였다. 실험계획은 Table 1과 같이 추출공정에서 중요한 변수로 고려되는 인자 즉, 시료에 대한 용매비(10~30 mL/g,  $X_1$ ), 에탄올 농도(0~100%,  $X_2$ ), 추출온도(35~95°C,  $X_3$ )를 -2, -1, 0, 1, 2의 5단계로 부호화하여 중심합성계획에 따라 Table 2와 같이 16구간으로 설정하여 추출실험을 실시하였다. 또한 이들 요인변수에 의해 영향을 받는 종속변수( $Y_n$ ) 즉, 수율( $Y_1$ ), 전자공여작용( $Y_2$ ), tyrosinase 저해효과( $Y_3$ ), 아질산염 소거작용( $Y_4$ ), SOD 유사활성( $Y_5$ )으로 하였으며, 이들은 3회 반복 측정하여 그 평균값을 회귀분석에 사용하였다.

### 수율 측정

수율(yield)은 추출액을 회전 감압 증발기(Rotavapor R-123, Buchi, Switzerland)로 감압 농축한 후 건조오븐(Forced convection oven, Jeico Tech, Korea)을 이용하여 105°C 상압가열건조법(12)으로 향량이 될 때까지 건조한 후 추출액 조제에 사용한 원료 건물량에 대한 고흡분 수율(% , d.b.)로 나타내었다.

### 전자공여작용 측정

추출물의 전자공여작용(electron donating abilities, EDA)은 Kang 등(13)의 방법을 변형하여 각각의 추출물에 대한 DPPH( $\alpha, \alpha$ -diphenyl-picrylhydrazyl)의 전자공여효과로 각 시료의 환원력을 측정하였다.

즉, 추출물 1 mL에  $4 \times 10^{-4}$  M DPPH용액(99.9% ethyl alcohol에 용해) 1 mL을 가하여 총액의 부피가 2 mL가 되도록

Table 1. Level in extraction condition for cabbage based on central composite design

Extraction condition	Level				
	-2	-1	0	1	2
Ratio of solvent to sample content (mL/g)	10	15	20	25	30
Ethanol concentration (%)	0	25	50	75	100
Extraction temperature (°C)	35	50	65	80	95

Table 2. Central composite design for optimization of extraction condition for cabbage

Exp. No. <sup>1)</sup>	Ratio of solvent to sample content (mL)	Ethanol concentration (%)	Extraction temperature (°C)
1	15 (-1)	25 (-1)	50 (-1)
2	15 (-1)	25 (-1)	80 (1)
3	15 (-1)	75 (1)	50 (-1)
4	15 (-1)	75 (1)	80 (1)
5	25 (1)	25 (-1)	50 (-1)
6	25 (1)	25 (-1)	80 (1)
7	25 (1)	75 (1)	50 (-1)
8	25 (1)	75 (1)	80 (1)
9	20 (0)	50 (0)	65 (0)
10	20 (0)	50 (0)	65 (0)
11	10 (-2)	50 (0)	65 (0)
12	30 (2)	50 (0)	65 (0)
13	20 (0)	0 (-2)	65 (0)
14	20 (0)	100 (2)	65 (0)
15	20 (0)	50 (0)	35 (-2)
16	20 (0)	50 (0)	95 (2)

<sup>1)</sup>The number of experimental condition by central composite design.

록 하였다. 이 반응액을 약 10초간 혼합하고 실온에 30분 방치한 후 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여효과를 추출물의 첨가 전·후의 차이를 백분율로 나타내었다.

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

A: 추출물 첨가구의 흡광도

B: 추출물 무첨가구의 흡광도

### Tyrosinase 저해 효과

Tyrosinase 저해 효과 측정은 Wong 등(14)의 방법에 따라 측정하였으며 tyrosinase 조효소액은 mushroom tyrosinase(Sigma, T7755, 110 units/mL)를 50 mM sodium phosphate buffer(pH 7.0)에 용해하여 사용하였다. 효소활성의 측정은 10 mM catechol 용액 2.8 mL에 tyrosinase 조효소액 0.2 mL, 추출액 0.1 mL를 가하고 분광 광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 사용하여 420 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다. Tyrosinase에 대한 효소활성 저해 효과는 단위시간당 변화된 초기 흡광도의 변화값을 측정하여 다음의 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Tyrosinase inhibitory effect} (\%) = \left\{1 - \left(\frac{A-B}{C}\right)\right\} \times 100$$

- A: 효소액 첨가구의 흡광도 변화값
- B: 효소액 대신 buffer 첨가구의 흡광도 변화값
- C: 추출물 대신 증류수 첨가구의 흡광도 변화값

**아질산염 소거작용 측정**

아질산염 소거작용(nitrite-scavenging ability)는 Gray와 Dugan(15)의 방법으로 측정하였다. 즉, 1 mM 아질산나트륨 용액 1 mL에 각각의 추출물을 2 mL 가하고 여기에 0.1 N 염산(pH 1.2) 및 0.2 N 구연산 완충용액(pH 3.0, 4.2 및 pH 6.0)을 7 mL 가하여 반응용액의 pH를 각각 1.2, 3.0, 4.2 및 6.0으로 달리하여 반응용액의 부피를 10 mL로 하였다. 이를 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 다음 반응액을 1 mL씩 취하고 여기에 2% 초산 5 mL, Griess 시약(acetic acid에 1% sulfanylic acid와 1% naphthylamine을 1:1 비율로 혼합한 것으로 사용 직전에 제조) 0.4 mL를 가하여 잘 혼합시켜 15분간 실온에서 방치시킨 후 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염량을 구하였다. 그리고 대조구는 Griess 시약 대신 증류수 0.4 mL를 가하여 상기와 동일하게 행하였다. 아질산염 소거작용은 pH 1.2에서 추출액 첨가 전후의 아질산염 백분율(%)로 표기하였다.

$$\text{Nitrite-scavenging ability (\%)} = \left\{ 1 - \frac{(A-C)}{B} \right\} \times 100$$

- A: 1 mM NaNO<sub>2</sub> 용액에 시료를 첨가하여 1시간 반응시킨 후의 흡광도
- B: 1 mM NaNO<sub>2</sub> 용액에 시료대신 증류수를 첨가하여 1시간 반응시킨 후의 흡광도
- C: 시료 추출물 자체의 흡광도

**Superoxide dismutase(SOD) 유사활성**

SOD 유사활성의 측정은 Marklund와 Marklund의 방법

을 변형한 Kim 등(16)의 방법을 이용하여 실시하였다. 즉, 각 추출물을 감압 농축한 후 tris-HCl buffer(50 mM tris[hydroxymethyl]amino-methane+10 mM EDTA, pH 8.5)를 이용하여 pH 8.5로 조절된 시료액을 만들었다. 각 시료 0.2 mL에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer(50 mM tris[hydroxymethyl]amino-methane+10 mM EDTA) 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하고 25°C에서 10분간 방치 후 1 N HCl 1 mL로 반응을 정지시킨 후 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 이용하여 420 nm에서의 흡광도를 측정하여 시료 첨가 및 무첨가구간의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

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

- A: 추출물 첨가구의 흡광도
  - B: 추출물 무첨가구의 흡광도
- 단, A, B는 대조구의 흡광도를 제외한 수치임.

**최적 추출조건 예측**

조건별 추출물의 최적 추출조건 예측은 수율, 전자공여능, SOD 유사활성에 대한 반응표면을 superimposing하였을 때 중복되는 부분의 범위에서 예측하였다. 또한 예측된 범위에서 임의의 점을 설정하여 회귀식에 대입하여 최적값을 예측하였다.

**결과 및 고찰**

**수율의 변화**

중심합성계획에 의한 16구간의 추출조건에 따라 추출실험을 실시하여 얻어진 수율의 결과는 Table 3에 나타내었으며, 각각의 결과를 이용한 반응표면 회귀식은 Table 4에 나타내었다. 수율에 대한 회귀식의 R<sup>2</sup>는 0.8296이고 10% 이내

**Table 3. Experimental data on yield, electron donating ability, tyrosinase inhibition, nitrite-scavenging ability and superoxide dismutase (SOD)-like activity of cabbage by central composite design for response surface analysis (%)**

Exp. No. <sup>1)</sup>	Yield	Electron donating ability	Tyrosinase inhibition	Nitrite-scavenging ability			SOD-like activity
				pH 1.0	pH 3.0	pH 4.2	
1	31.750	78.602	64.603	95.655	75.223	38.809	0.000
2	32.250	81.197	66.751	99.717	68.307	30.025	34.394
3	35.750	85.577	62.039	94.854	81.628	33.870	38.018
4	38.625	84.415	60.062	96.589	80.010	35.484	35.993
5	35.125	82.103	67.587	99.000	89.350	36.504	0.000
6	38.500	81.395	71.500	99.245	73.311	35.211	28.328
7	42.625	84.741	49.087	95.324	83.531	12.427	39.417
8	43.500	82.840	53.050	97.769	81.107	30.732	39.329
9	39.250	81.390	62.568	95.956	81.850	49.678	28.501
10	39.375	81.814	62.528	96.015	81.628	49.587	31.892
11	30.250	81.706	60.114	95.683	78.334	47.430	25.854
12	43.625	83.682	61.391	99.187	82.360	48.160	47.737
13	30.875	73.587	53.122	99.580	71.542	48.064	0.000
14	28.125	78.389	39.576	95.991	66.001	11.721	27.845
15	36.500	82.808	71.112	99.222	81.985	23.731	0.000
16	40.250	80.092	56.190	99.991	74.803	32.755	36.742

<sup>1)</sup>The number of experimental condition by central composite design of Table 2.

Table 4. Polynomial equations calculated by RSM program for extraction conditions of cabbage

Responses	Second order polynomials <sup>1)</sup>	R <sup>2</sup>	Significance
Yield	$Y_Y = 1.802083 + 1.350521X_1 + 0.396146X_2 + 0.171354X_3 - 0.023750X_1^2 + 0.002125X_1X_2 - 0.003925X_2^2 + 0.001458X_1X_3 - 0.000041667X_2X_3 - 0.001042X_3^2$	0.8296	0.0827
Electron donating ability	$Y_{EDA} = 57.994569 + 0.372083X_1 + 0.513710X_2 + 0.211656X_3 + 0.010920X_1^2 - 0.006110X_1X_2 - 0.002246X_2^2 - 0.006737X_1X_3 - 0.001650X_2X_3 - 0.000169X_3^2$	0.8209	0.0936
Tyrosinase inhibition	$Y_{TI} = 48.166910 + 1.147379X_1 + 1.106954X_2 - 0.439060X_3 - 0.017955X_1^2 - 0.027697X_1X_2 - 0.006480X_2^2 + 0.012842X_1X_3 - 0.001358X_2X_3 + 0.001226X_3^2$	0.8300	0.0822
Nitrite-scavenging ability	pH 1.0 $Y_{pH1.0} = 108.707188 - 0.037921X_1 - 0.085436X_2 - 0.375579X_3 + 0.014495X_1^2 - 0.001223X_1X_2 + 0.000720X_2^2 - 0.005178X_1X_3 - 0.000042333X_2X_3 + 0.004023X_3^2$	0.8683	0.0427
	pH 3.0 $Y_{pH3.0} = 33.749396 + 2.816279X_1 + 0.454046X_2 + 0.326579X_3 - 0.013920X_1^2 - 0.016131X_1X_2 - 0.005187X_2^2 - 0.016548X_1X_3 + 0.006304X_2X_3 - 0.003717X_3^2$		
	pH 4.2 $Y_{pH4.2} = -15.092722 - 0.704092X_1 + 0.469402X_2 + 1.896914X_3 - 0.018375X_1^2 - 0.029076X_1X_2 - 0.007896X_2^2 + 0.040303X_1X_3 + 0.009999X_2X_3 - 0.023744X_3^2$		
SOD-like activity	$Y_{SOD} = -147.663215 - 2.201904X_1 + 2.204011X_2 + 3.485065X_3 + 0.065990X_1^2 + 0.010801X_1X_2 - 0.006510X_2^2 - 0.006882X_1X_3 - 0.021612X_2X_3 - 0.013139X_3^2$	0.9395	0.0050

<sup>1)</sup>X<sub>1</sub>: ratio of solvent to sample content (mL/g), X<sub>2</sub>: ethanol concentration (%), X<sub>3</sub>: extraction temperature (°C).

의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점에서 능선분석을 실시하여 본 결과, 수율의 최대값은 44.47%이었고, 이때의 요인변수들의 값은 시료에 대한 용매비 28.58 mL/g, 에탄올 농도 56.84% 및 추출온도 79.86°C이었다(Table 5). 각각의 추출조건에 따른 수율에 대한 반응표면 결과 얻어진 4차원 반응표면은 Fig. 1에 나타내었다. 즉 시료에 대한 용매비가 증가할수록 수율이 증가되는 것으로 나타났다. 수율에 대한 추출조건의 영향은 Table 6에서와 같이 에탄올 농도에 가장 큰 영향을 받는 것으로 나타났으며, 시료에 대한 용매비와 추출온도에 대한 영향은 다소 적은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 Park 등(17)의 산국 에탄올 추출물의 가용성 고형분 함량이 시료에 대한 용매비와 추출시간의 영향보다는 에탄올 농도에 의해 영향을 많이 받고 있다는 보고와 같은 경향을 나타내었다.

전자공여능의 변화

전자공여능이 있는 성분은 활성 라디칼에 전자를 공여하고 식품 중의 지방질 산화를 억제하는 목적으로 사용되며, 인체 내에서는 활성 라디칼에 의한 노화를 억제시키는 작용으로 이용되고 있다(13). 라디칼 소거작용은 인체의 질병과 노화를 방지하는데 대단히 중요한 역할을 한다. 따라서 전자공여능 측정은 DPPH 라디칼 소거법으로 측정하며, DPPH 법은 tocopherol, ascorbate, flavonoid 화합물, 방향족 아민류, Maillard형 갈변 생성물질, peptide 등의 항산화 활성을 나타내는 생리활성 물질에 의해 환원됨으로서 짙은 자색이 발색되는 정도에 따라 항산화 효과를 수소 공여능으로 측정하는 방법으로 알려져 있다(18). 양배추 추출조건에 따른 전자공여능은 Table 3에 나타내었으며, 전자공여능 변화에 대한 반응표면은 Fig. 2에 나타내었다. 추출조건에 있어 시료

Table 5. Predicted levels of extraction condition for the maximum responses of variables by the ridge analysis (%)

Responses	X <sub>1</sub> <sup>1)</sup>	X <sub>2</sub> <sup>2)</sup>	X <sub>3</sub> <sup>3)</sup>	Maximum	Morphology	
Yield	28.58	56.84	79.86	44.47	Maximum	
Electron donating ability	27.71	57.06	46.38	85.46	Saddle point	
Tyrosinase inhibition	16.03	47.71	37.50	69.37	Saddle point	
Nitrite-scavenging ability	pH 1.0	21.05	29.73	83.45	99.52	Minimum
	pH 3.0	26.97	35.40	45.34	90.80	Saddle point
	pH 4.2	28.40	23.58	68.67	50.38	Saddle point
SOD-like activity	29.13	70.35	66.12	48.36	Saddle point	

<sup>1)</sup>Ratio of solvent to sample content (mL/g).

<sup>2)</sup>Ethanol concentration (%).

<sup>3)</sup>Extraction temperature (°C).

에 대한 용매비, 에탄올 농도, 추출온도에 따른 전자공여능의 변화에 대한 반응표면 회귀식은 Table 4와 같으며, 전자공여능에 대한 회귀식의 R<sup>2</sup>는 0.8209로 10% 이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 양배추의 전자공여능은 Table 5와 같이 시료에 대한 용매비 27.71 mL/g, 에탄올 농도 57.06% 및 추출온도 46.38°C일 때 85.46%로 가장 높은 값을 나타내었으며, 이러한 최대값을 나타내는 조건을 벗어날수록 전자공여능은 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 2).

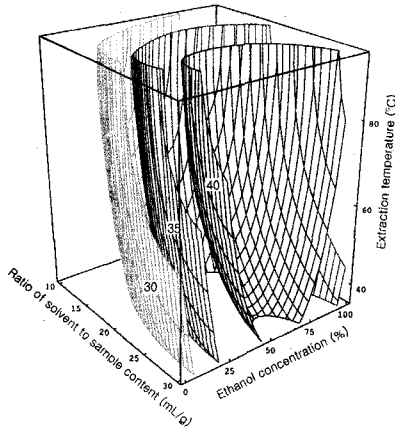


Fig. 1. Response surface for yield in cabbage extract at constant values (yield: 30–35–40%) as a function of ratio of solvent to sample content, ethanol concentration and extraction temperature.

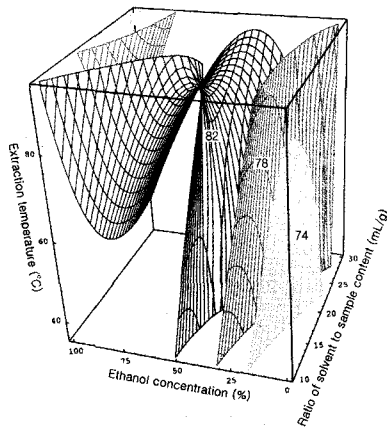


Fig. 2. Response surface for electron donating ability in cabbage extract at constant values (electron donating ability: 74–78–82%) as a function of ratio of solvent to sample content, ethanol concentration and extraction temperature.

양배추 추출물의 추출조건에 대한 영향은 수율과 마찬가지로 에탄올 농도에 크게 영향을 받고 있는 것으로 나타났다 (Table 6). 이러한 결과는 Yoon 등(19)의 복분자 추출조건에서 전자공여능이 에탄올 농도에 의해 크게 영향을 받고 있다는 보고와 같은 경향을 나타내었으나, 최대값을 나타내는 에탄올 농도가 30~40%로 양배추와는 다른 범위를 가지는 것으로 나타났다.

Tyrosinase 저해효과의 변화

각각의 추출조건에 따른 tyrosinase 저해효과는 Table 3에 나타내었다.

Tyrosinase(Dihydroxy-L-phenylalanine oxygen oxidoreductase, EC 1.14.18.1)는 식품의 가공이나 저장 중에 효소적 갈변화를 일으키는 것으로 알려져 있는데(20), 본 실험에 사용한 양배추 추출물은 tyrosinase 저해효과가 우수한 것으로 나타났다. 반응표면결과 얻어진 4차원 반응표면은 Fig. 3에 나타내었다. Tyrosinase 저해효과에 대한 회귀식의 R<sup>2</sup>는 0.83로 10% 이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점은 안장점으로 능선분석을 실시하여 본 결과 최대값은 69.37%로 나타났다. 이때의 추출조건은 Table 5에서와 같이 시료에 대한 용매비 16.03 mL/g, 에탄올 농도 47.71% 및 추출온도 37.5°C이었다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 tyrosinase 저해효과는 에탄올 농도가 낮을수록, 시료에 대한 용매비가 높을수록 증가하는 경향을 나타내었다. 또한

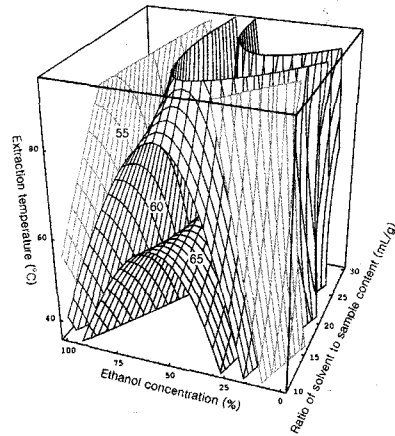


Fig. 3. Response surface for tyrosinase inhibition in cabbage extract at constant values (tyrosine inhibition: 55–60–65%) as a function of ratio of solvent to sample content, ethanol concentration and extraction temperature.

Table 6. Regression analysis for regression model of physicochemical properties in extraction condition of cabbage

Extract condition	Yield	Electron donating ability	Tyrosinase inhibition	F-ratio			
				Nitrite-scavenging ability			SOD-like activity
				pH 1.0	pH 3.0	pH 4.2	
Ratio of solvent to sample content	3.70*	0.63	0.95	2.55	1.50	0.82	1.07
Ethanol concentration	2.84	4.93**	5.88**	4.31*	3.61*	4.79**	13.17***
Extraction temperature	0.37	0.52	0.34	4.45*	2.53	2.67	11.07***

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

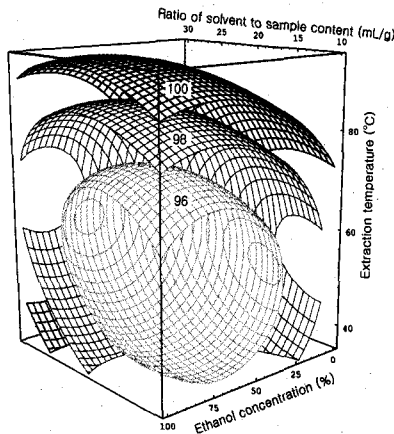


Fig. 4. Response surface for nitrite-scavenging ability (pH 1.0) in cabbage extract at constant values (nitrite-scavenging ability (pH 1.0): 96-98-100%) as a function of ratio of solvent to sample content, ethanol concentration and extraction temperature.

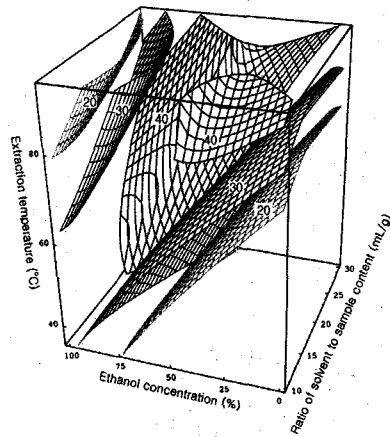


Fig. 7. Response surface for SOD-like activity in cabbage extract at constant values (SOD-like activity: 20-30-40%) as a function of ratio of solvent to sample content, ethanol concentration and extraction temperature.

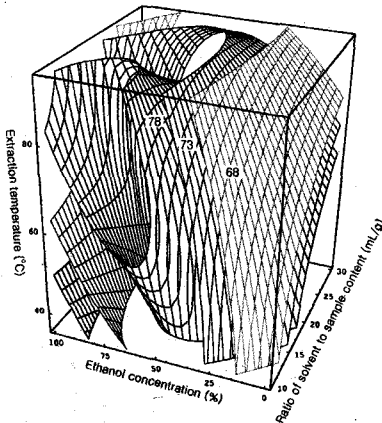


Fig. 5. Response surface for nitrite-scavenging ability (pH 3.0) in cabbage extract at constant values (nitrite-scavenging ability (pH 3.0): 68-73-78%) as a function of ratio of solvent to sample content, ethanol concentration and extraction temperature.

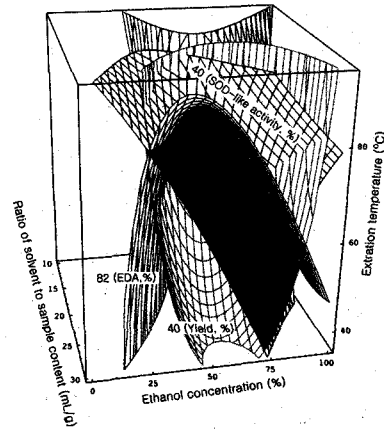


Fig. 8. Superimposed response surface for optimization of yield (40%), electron donating ability (82%) and SOD-like activity (40%) of extract from cabbage.

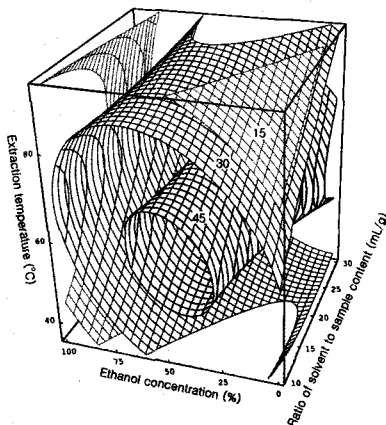


Fig. 6. Response surface for nitrite-scavenging ability (pH 4.2) in cabbage extract at constant values (nitrite-scavenging ability (pH 4.2): 15-30-45%) as a function of ratio of solvent to sample content, ethanol concentration and extraction temperature.

추출조건에 대한 영향은 Table 6에서와 같이 수율 및 전자공여능과 유사하게 에탄올 농도에 많은 영향을 받고 있는 것으로 나타났으며, 시료에 대한 용매비와 추출온도에 대해서는 적은 영향을 받음을 알 수 있었다.

아질산염 소거작용의 변화

아질산염은 니트로사민의 전구체인 nitrous anhydride ( $N_2O_3$ )와 같은 활성 니트로소화 물질을 생성하고, 이 nitrous anhydride가 2차 아민과 결합하여 발암물질인 N-nitrosamine을 생성하는 것으로 알려져 있다(21,22). Kang 등(23)은 방향족 화합물인 polyphenol 화합물이 아질산염을 효과적으로 분해하여 발암성 nitrosamine의 생성을 억제한다고 보고하였다. 이들은 니트로사민 생성의 기질인 아민과 경쟁적으로 작용하며, 생성억제 정도는 상호간의 농도 및 pH에 의해 영향을 받는다. 최근에는 니트로사민 생성억제 인자의 함량이 높은 천연추출물에서 아질산염 소거작용에 대한 연구가 이루어지고 있다.

추출조건에 따른 아질산염 소거작용은 Table 3에 나타내었다. pH가 낮을수록 아질산염 소거능이 증가하였으며, 시료에 대한 용매비와 추출온도의 영향은 뚜렷하게 나타나지 않았으나 에탄올 농도가 증가할수록 아질산염 소거작용은 낮아짐을 알 수 있었다. pH에 따른 아질산염 소거작용에 대한 추출물의 회귀식을 Table 4에 나타내었다. 아질산염 소거작용에 대한 회귀식의 R<sup>2</sup>는 pH 1.0, 3.0 및 4.2가 각각 0.8683, 0.8171 및 0.8208이고, 10% 이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. pH 조건에 따른 양배추의 아질산염 소거작용은 Table 5에 나타내었는데, 이때 예측된 정상점은 pH 1.0에서 최소점, pH 3.0에서 최대점 및 pH 4.2에서 안장점을 나타내었으며, 최대값은 각각 99.52%, 90.80% 및 50.38%로 예측되었다. 90% 이상의 높은 아질산염 소거작용을 나타내는 pH 1.0에서는 시료에 대한 용매비 21.05 mL/g, 에탄올 농도 29.73% 및 추출온도 83.45°C가 가장 높은 값을 나타내었으며, pH 3.0에서는 시료에 대한 용매비 26.97 mL/g, 에탄올 농도 35.40% 및 추출온도 45.34°C이었다. 또한 pH 4.2에서 최대값을 나타내는 조건은 시료에 대한 용매비 28.40 mL/g, 에탄올 농도 23.58% 및 추출온도 68.67°C로 나타났다. pH 1.0(Fig. 4)에서는 에탄올 농도가 높고, 추출온도가 높을수록 높은 아질산염 소거작용을 나타내었으며, pH 3.0(Fig. 5)에서는 시료에 대한 용매비가 낮고, 에탄올 농도가 높을수록 아질산염 소거능이 증가하였다. pH 4.2(Fig. 6)에서는 에탄올 농도가 60%이하, 추출온도 50~90°C에서 높은 아질산염 소거작용을 나타내었다. Kim 등(24)은 솔잎 및 녹차의 아질산염 소거능이 에탄올 추출물보다 열수추출물에서 전반적으로 높게 나타났다고 보고하여 양배추도 솔잎 및 녹차와 추출특성이 유사한 것으로 사료된다. Table 6에서 보는 바와 같이 아질산염 소거작용에 대한 추출조건의 영향은 pH 1.0에서는 시료에 대한 용매비의 영향이 가장 큰 것으로 나타났으며, pH 3.0과 4.2에서는 에탄올 농도가 가장 많은 영향을 끼침을 확인하였다.

Kim 등(25,26)은 채소 추출물과 해초추출물의 아질산염 분해능을 실험한 결과 전반적으로 분해능이 있는 것으로 나타났다. Noh 등(21)은 미나리과 산채 추출물의 아질산염 소거능이 pH가 낮을수록 높다고 보고하였고, Lee 등(27)은 차류, 약용식물류, 해조류, 채소류 및 과일류의 아질산염 분해작용이 pH 1.2에서 가장 크다고 보고한 바 있으며 그 외 많은 연구에서도 낮은 pH에서의 아질산염 소거능이 우수함을 알 수 있었다. 아질산염과 아민류가 반응하여 결합된 발암성 니트로사민은 강산성 조건 특히 인체나 동물 위내의 pH 조건에서 용이하게 생성되므로 양배추 추출물이 강산성 조건하에서 아질산염 분해능이 크다는 사실은 위내에서 니트로사민의 생성억제에 기여하리라 생각된다.

SOD 유사활성

SOD는 생체 내에서 O<sub>2</sub>(superoxide) 소거에 관여하는 효

소(28)로서 생성된 활성 산소는 생체 내에서 산화적 장애를 초래하게 되므로 이런 현상을 억제하기 위해 SOD 유사활성을 지닌 천연물 소재를 개발하는데 연구가 이루어지고 있다. 추출조건에 따른 SOD 유사활성은 Table 3에 나타내었다. 시료에 대한 용매비에 따른 영향은 미비하였으나, 에탄올 농도 및 추출온도가 증가함에 따라 SOD 유사활성도 증가하였다. SOD 유사활성에 대한 추출물 회귀식은 Table 4와 같다. SOD 유사활성에 대한 회귀식의 R<sup>2</sup>는 0.9395로 유의성이 1% 이내의 유의수준에서 인정되었다. 예측된 정상점은 안장점으로 나타나 능선분석을 실시해 본 결과 최대값은 48.36%로 나타났으며, 이때의 추출조건은 시료에 대한 용매비 29.13 mL/g, 에탄올 농도 70.35% 및 추출온도 66.12°C일 때로 나타났다(Table 5).

SOD 유사활성에 대한 반응표면은 Fig. 7과 같으며 에탄올 농도에 주로 영향을 받는 것으로 나타났다. 추출조건의 영향은 Table 6에서와 같이 에탄올 농도와 추출온도에 가장 큰 영향을 받고 있는 것으로 나타났으며, 시료에 대한 용매비에 의한 영향은 거의 없는 것으로 나타났다.

최적 추출조건의 예측

양배추(홍월적)의 추출조건을 설정하기 위하여 조건별 추출물의 수율, 전자공여능 및 SOD 유사활성에 대한 4차원 반응표면을 superimposing하여 중복되는 부분으로 최적 추출조건 범위를 예측하였다. 그 결과 Fig. 8에 나타난 바와 같이 dark zone으로 표현된 부분이 얻어졌고, 이 부분이 양배추의 추출물의 품질특성을 최대화할 수 있는 추출범위로서 Table 7에서와 같이 시료에 대한 용매비 20~30 mL/g,

Table 7. Optimum extraction condition for response variables yielding the optimum response by superimposing 4-dimensional response surfaces

Condition	Range of predicted condition
Ratio of solvent to sample content (mL/g)	20~30
Ethanol concentration (%)	25~85
Extraction temperature (°C)	40~90

Table 8. Predicted values of response variables at a given condition<sup>1)</sup> within the range of optimum extraction conditions (%)

Response variables	Predicted value
Yield	42.67
Electron donating ability	82.98
Tyrosinase inhibition	63.15
Nitrite-scavenging ability	pH 1.0 97.03 pH 3.0 82.78 pH 4.2 45.17
SOD-like ability	37.85

<sup>1)</sup> Calculated using the predicted equation for response variables. Given conditions of independent variables: 25 mL/g in ratio of solvent to sample content, 50% in ethanol concentration, 70°C in extraction temperature.

에탄올 농도 25~85%, 추출온도 40~90°C로 나타났으며, 이 범위내의 임의의 조건(시료에 대한 용매비 25 mL/g, 에탄올 농도 50% 및 추출온도 70°C)에서 추출물의 수율 42.67%, 전자공여능 82.98%, tyrosinase 저해효과 63.15%, 아질산염 소거능의 경우 97.03%(pH 1.0), 82.78%(pH 3.0), 45.17%(pH 4.2) 및 SOD 유사활성 37.85%로 예측되었다(Table 8).

## 요 약

양배추(홍월적) 추출물의 추출수율과 기능성을 최적화하고자 반응표면분석법을 이용하여 모니터링하였다. 추출조건에 따른 수율의 최대값은 44.47%로 시료에 대한 용매비 25.58 mL/g, 에탄올 농도 56.84% 및 추출온도 79.86°C였으며, 전자공여능의 최대값은 85.46%로 시료에 대한 용매비 27.71 mL/g, 에탄올 농도 57.06% 및 추출온도 46.38°C일 때였다. 또한 tyrosinase 저해효과는 시료에 대한 용매비 16.03 mL/g, 에탄올 농도 47.71% 및 추출온도 37.50°C일 때 최대값 69.37%를 나타내었다. 아질산염 소거능은 pH 1.0에서 가장 높은 값을 나타내었으며, 최대값은 99.52%이었으며, SOD 유사활성의 최대값은 48.36%로 이때의 추출조건은 시료에 대한 용매비 29.13 mL/g, 에탄올 농도 70.35% 및 추출온도 66.12°C였다. 조건별 추출물의 수율, 전자공여능, SOD 유사활성에 대한 4차원 반응표면을 superimposing하여 얻은 최적 추출조건 범위는 시료에 대한 용매비 20~30 mL/g, 에탄올 농도 25~85%, 추출온도 40~90°C로 나타났다.

## 문 헌

1. Stoewsand GS. 1995. Bioactive organosulfur phytochemicals in *Brassica oleracea* vegetables. a review. *Food Chem Toxic* 33: 537-543.
2. Lee SM, Rhee SH, Park KY. 1997. Antimutagenic effect of various Cruciferous vegetables in *Salonella* assaying system. *J Food Hyg Safety* 12: 321-327.
3. Sorensen M, Jensen BR, Poulson HE, Deng XS, Tysdstrup N, Dalhoff K, Loft S. 2001. Effects of a brussels sprouts extract on oxidative DNA damage and metabolising enzymes in rat liver. *Food Chem Toxic* 39: 533-540.
4. Zhu C, Poulson HE, Loft S. 2000. Inhibition of oxidative DNA damage in vitro by extracts brussels sprouts. *Free Rad Res* 33: 187-196.
5. Plumb GW, Chambers SJ, Lambert N, Wanigatunga S, Williamson G. 1997. Influence of fruit and vegetable extracts on lipid peroxidation in microsome containing specific cytochrome P450s. *Food Chem* 60: 161-164.
6. Thompson HC, Kelly WC. 1959. *Vegetables crops*. 5th ed. McGraw-hill book company, Inc., New York, USA. p 275-595.
7. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds: a review. *Trends Plant Sci* 2: 152-159.
8. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Review article. *Free Radical Biol Med* 20: 933-956.
9. Gontard N, Guilbert S, Cuq JL. 1992. Edible wheat gluten films: Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *J Food Sci* 57: 190-196.
10. Lee GD, Lee JE, Kwon JH. 2000. Application of response surface methodology in food industry. *Food Ind* 33: 33-45.
11. SAS Institute, Inc. 1990. *SAS User's Guide*. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA.
12. AOAC. 1990. *Official methods of analysis*. 15th ed. Association of official analytical chemists, Washington DC, USA. p 1010-1011.
13. Kang YH, Park YK, Lee GD. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J Food Sci Technol* 28: 232-239.
14. Wong TC, Luh BS, Whitaker JR. 1971. Isolation and characterization of polyphenoloxidase of clingstone peach. *Plant Physiol* 48: 19-23.
15. Gray JI, Dugan Jr LR. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food system. *J Food Sci* 40: 981-984.
16. Kim SM, Cho YS, Sung SK. 2001. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. *Korean J Food Sci Technol* 33: 626-632.
17. Park NY, Lee GD, Jeong YJ, Kwon JH. 1998. Optimization of extraction conditions for physicochemical properties of ethanol extracts from *Chrysanthemum boreale*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 585-590.
18. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1199-1204.
19. Yoon SR, Jeong YJ, Lee GD, Kwon JH. 2003. Changes in phenolic compounds properties of Rubi Fructus extract depending on extraction conditions. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 338-345.
20. Jung S, Lee N, Kim SJ, Han D. 1995. Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Korean J Food Sci Technol* 27: 891-896.
21. Noh KS, Yang MO, Cho EJ. 2002. Nitrite scavenging effect of *Umbelliferae*. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 18: 8-12.
22. Davies R, Massey RC, McWeeny DJ. 1980. The catalysis of the N-nitrosamine of secondary amines by nitrosophenols. *J Food Chem* 6: 115-122.
23. Kang YH, Park YK, Lee GD. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J Food Sci Technol* 28: 232-239.
24. Kim SM, Cho YS, Sung SK, Lee IG, Lee SH, Kim DG. 2002. Antioxidative and nitrite scavenging activity of pine needle and green tea extracts. *Korean J Food Sci Ani Resour* 22: 13-19.
25. Kim DS, Ahn BW, Yeum DM, Lee DH, Kim SB, Park YH. 1987. Degradation of carcinogenic nitrosamine formation factor by natural food components. 1. Nitrite scavenging effect of vegetable extracts. *Bull Korean Fish Soc* 20: 463-468.
26. Kim SB, Ahn BW, Yeum DM, Lee DH, Park YH, Kim DS. 1987. Degradation of carcinogenic nitrosamine formation factor by natural food components. 2. Nitrite scavenging effect of seaweed extracts. *Bull Korean Fish Soc* 20: 469-473.
27. Lee SJ, Chung MJ, Shin JH, Sung NJ. 2000. Effect of natural plant components on the nitrite-scavenging. *J Food Hyg Safety* 15: 88-94.
28. Kim SM, Kim EJ, Cho YS, Sung SK. 1999. Antioxidant of pine extracts according to preparation method. *Korean J Food Sci Technol* 31: 527-534.

(2005년 9월 30일 접수; 2005년 11월 25일 채택)