

천마 유효성분의 에탄올 추출조건 최적화

김성호 · 김인호¹ · 강복희¹ · 이상한² · 이진만[†]

경북과학대학 약용식품과, ¹경북과학대학 바이오건강산업연구소, ²경북대학교 식품공학과

Optimization of Ethanol Extraction Conditions for Effective Components from *Gastrodia elata* Blume

Seong-Ho Kim, In-Ho Kim¹, Bok-Hee Kang¹, Sang-Han Lee² and Jin-Man Lee[†]

¹Department of Herbs & Food Science, Kyungbook College of Science, Chilgok 718-851, Korea

¹Bio-Health Industrial Institute, Kyungbook College of Science, Chilgok 718-851, Korea

²Department of Food Science & Technology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Abstract

Gastrodia elata Blume (GEB) is a traditional herbal plant that has been used in Asian countries for centuries as an anticonvulsant, analgesic, and a sedative for treating general paralysis, epilepsy, vertigo, and tetanus. This study was designed to optimize conditions for ethanol extracts of GEB by analyzing and monitoring the extraction characteristics with response surface methodology. The extract was used for analysis of the effective components of GEB. The estimated optimal conditions were 63.62% in ethanol of 5.06 mL/g in solvent per sample, and 6.25 hr in extract time. The optimal extraction conditions for γ -aminobutyric acid, were 45.52%, 5.67 mL/g, and 6.04 hr, while those for ρ -hydroxybenzyl alcohol were 62.73%, 5.02 mL/g, and 5.95 hr. Regression equation was generated for each variables and then superimposed them, such as soluble solid, γ -aminobutyric acid and ρ -hydroxybenzyl alcohol content, thereby resulting in superimposed values of extraction conditions like 45~65%, 5~7 mL/g and 5~7 hr, respectively.

Key words : *Gastrodia elata* Blume, extraction condition, effective component, response surface methodology

서 론

천마(*Gastrodia elata* Blume)는 한국, 일본, 중국 등지에 자생하는 난초과(Oncidiaceae)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. 이처

럼 한방으로만 전래되던 천마의 효능이 점차 알려지면서 최근에는 여러 측면에서 생리화학적 연구가 활발히 추진되고 있다. 현재까지 분리된 천마의 성분은 대부분 폐놀성 화합물로서 gastrodin을 비롯한 폐놀성 배당체(7), gastrodigenin 외 다수의 폐놀성 화합물(8,9), 그리고 유황 함유 폐놀성 화합물(10) 등이 있으며, 비폐놀성 화합물로는 circuumaldehyde(11) 등이 보고되는 등 천마의 약리적인 효능이 인정됨에 따라 가공식품으로의 개발 확대가 더욱 요구되고 있다.

한편 천마를 채취한 그대로 이용하는 데에는 생체의 보존에 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

[†]Corresponding author. E-mail : jmlee@kbs.ac.kr,
Phone : 82-54-972-9543, Fax : 82-54-979-9220

대한 보고가 있다. 그 동안 천마는 식품원료로서 사용할 수 없는 규제에 둑여서 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 가공을 위해 천마로부터 유효성분을 효율적으로 추출하고자 반응표면 분석에 의해 각 성분의 추출특성을 모니터링하여 최적 추출조건을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 천마는 2005년 5월에 경북 칠곡군 일대에서 생산한 것을 사용하였다. 천마는 동결 보관하였으며, 실험 시에는 증자 후 건조시킨 다음 분쇄기로 분쇄한 후 시료로 사용하였다.

추출조건 설정을 위한 실험계획

본 실험에서는 에탄올 추출 특성의 모니터링과 추출조건의 최적화를 위하여 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)(16)을 사용하였고, 추출조건에 대한 실험계획은 중심합성계획을 실시하여 추출공정에 중요한 독립변수(X_1)로 고려되는 인자 즉, 에탄올 농도(X_1), 용매비(X_2) 및 추출시간(X_3)에 대한 실험범위를 설정하여 각각을 5단계 부호화하였으며(Table 1), 중심합성계획에 따라 Table 2와 같이 16구로 설정하여 추출실험을 하였다. 또한 이들 독립변수에 영향을 받는 종속변수(Y_n) 즉, 가용성 고형분 함량(Y_1), GABA 함량(Y_2), HBA 함량(Y_3) 및 HBAH 함량(Y_4)을 측정하여 그 값을 회귀분석에 사용하였다. 또한 에탄올 추출에 있어서 추출조건이 천마 추출물의 유효성분의 추출특성에 미치는 영향을 예측된 모델식을 바탕으로 Mathematica program(17)을 이용하여 4차원 반응표면분석으로 해석하였다.

Table 1. Experimental design for ethanol extraction conditions for *Gastrodia elata* Blume

Extraction condition	-2	-1	0	1	2
X_1 Ethanol concentration (%)	20	40	60	80	100
X_2 Solvent per sample (mL/g)	5	10	15	20	25
X_3 Time (hr)	2	4	6	8	10

추출물의 이화학적 특성 시험

가용성 고형분 함량 측정

각 조건별 추출액의 가용성 고형분 함량은 시험용액 20 mL를 항량을 구한 수기에 취하여 105°C에서 증발 건고시

친 후 그 무게를 측정하였으며, 추출액 조제에 사용된 건물 시료량에 대한 백분율로써 고형분 함량을 나타내었다(18).

Table 2. Central composite design for the optimization Extraction condition for *Gastrodia elata* Blume

Experiment number ^{b)}	Extraction condition		
	Ethanol concentration(%)	Solvent per sample (mL/g)	Time (hr)
1	40(-1)	10(-1)	4(-1)
2	40(-1)	10(-1)	8(1)
3	40(-1)	20(1)	4(-1)
4	40(-1)	20(1)	8(1)
5	80(1)	10(-1)	4(-1)
6	80(1)	10(-1)	8(1)
7	80(1)	20(1)	4(-1)
8	80(1)	20(1)	8(1)
9	60(0)	15(0)	6(0)
10	60(0)	15(0)	6(0)
11	20(-2)	15(0)	6(0)
12	100(2)	15(0)	6(0)
13	60(0)	5(-2)	6(0)
14	60(0)	25(2)	6(0)
15	60(0)	15(0)	2(-2)
16	60(0)	15(0)	10(2)

^{b)}The number of experimental condition by central composite design.

γ -aminobutyric acid(GABA) 정량

GABA의 분석은 각각의 조건에 의해 추출된 추출물을 0.45 μ m membrane filter로 여과한 후 아래의 Table 3의 조건에 따라 자동아미노산분석기를 사용하여 분석하였다(19). GABA의 동정은 표준품의 retention time과 비교하여 동정하였고, 함량은 표준품의 면적에 대비하여 계산하여 함량으로 나타내었다.

Table 3. Operation condition of amino acid analyzer for the analysis of GABA

Specification	Condition
Instrument	S 433 Amino acid analyzer(Syka Co., Germany)
Column	LCA K01/Li Cation separation column(4.6×150 mm)
Buffer	A : 0.12 N Lithium citrate buffer(pH 2.9) B : 0.30 N Lithium citrate buffer(pH 4.2) C : 1.40 N Lithium citrate buffer(pH 3.5)
Buffer flow	0.45 mL/min
Ninhydrin flow	0.25 mL/min
Inj. vol.	100 μ L

ρ -hydroxybenzyl alcohol(HBA)와 ρ -hydroxybenzylaldehyde(AHBA) 함량 측정

각 추출물의 HBA & HBAH 분석(20)은 추출물을 0.45 μm membrane filter로 여과한 후 HPLC를 사용하여 분석하였다(Table 4). Column은 Shim-pack ODS를 이용하였고, 용매는 물과 메탄올을 70 : 30으로 하여 사용하였다. 용매의 이동속도는 분당 0.8 mL씩 흘려주었으며, 검출은 270nm에서 실시하였다. HBA & HBAH의 동정은 표준품의 retention time과 비교하여 실시하였고, 함량은 자동분석기에 의해서 계산된 함량으로 나타내었다.

Table 4. Operation conditions of HPLC for analysis of ρ -hydroxybenzyl alcohol and ρ -hydroxybenzylaldehyde

Specification	Condition
Instrument	Shimadzu LC-10AT
Column	Shim-pack ODS (4.6 × 250mm, pore size : 5 μm , Shimadzu)
Solvent	Water : Methanol = 70 : 30 (v/v)
Flow rate	0.8 mL/min
Detector	UV 270 nm

최적 추출조건의 예측

회귀식에 대한 예측은 SAS(statistical analysis system) program(21)을 이용하여 최적 추출조건을 반응 변수인 추출물의 특성, 즉 주요 성분인 GABA(γ -aminobutyric acid), HBA(ρ -hydroxybenzyl alcohol) 및 HBAH(ρ -hydroxybenzylaldehyde) 함량 등의 contour map을 superimposing 했을 때 중복되는 부분의 범위를 예측하였다. 또한 예측된 범위에서 임의의 점을 설정하여 회귀식에 대입한 후 그 예측된 최적값 대하여 검증하였다.

결과 및 고찰

추출조건에 따른 추출물의 이화학적 특성 모니터링

추출에 영향을 미치는 에탄올 농도, 시료에 대한 용매비 및 추출시간에 대하여 중심합성계획에 따라 16구간을 설정하여 추출하였다. 이 때 얻어진 추출물에 대하여 가용성 고형분 함량, GABA, ρ -hydroxybenzyl alcohol 및 ρ -hydroxybenzylaldehyde의 측정 결과는 Table 7에 나타내었다. 각각의 결과를 이용하여 반응표면 회귀분석을 실시하고 각 종속(반응)변수 즉, 가용성 고형분 함량, GABA, ρ -hydroxybenzyl alcohol 및 ρ -hydroxybenzylaldehyde에 대한 회귀식을 얻었다. 또한 변수별 최적추출조건과 품질특성 값을 예측하여 Table 8에 나타내었으며, 이들의 4차원 반응 표면은 에탄올 농도, 시료에 대한 용매비 및 추출시간을 독립변수로 하여 Fig. 1~4에 나타내었다.

가용성 고형분 함량

추출조건별 가용성 고형분 함량은 Table 5에 나타내었고, 결과에 대한 반응표면 회귀식은 다음과 같다.

Table 5. Experimentation data on soluble solid, GABA, ρ -hydroxybenzyl alcohol and ρ -hydroxybenzylaldehyde content of *Gastrodia elata* Blume under different conditions based on central composite design by response surface analysis

Experiment No.	Soluble solid content(%)	GABA content (mg%)	ρ -hydroxybenzyl alcohol content(mg%)	ρ -hydroxybenzylaldehyde content(mg%)
1	1.98	0.482	101.81	0.747
2	1.92	0.497	97.68	0.750
3	1.30	0.277	63.71	0.478
4	1.28	0.279	56.79	0.519
5	2.33	0.388	109.68	0.807
6	2.43	0.328	111.44	0.959
7	1.57	0.255	75.79	0.614
8	1.45	0.220	71.61	0.601
9	2.57	0.365	91.75	0.802
10	2.59	0.345	92.59	0.808
11	1.17	0.363	72.01	0.470
12	0.85	0.059	80.86	0.597
13	2.98	0.530	138.06	1.395
14	1.49	0.260	57.74	0.429
15	2.17	0.324	76.88	0.442
16	2.10	0.319	60.42	0.614

$$Y_{SSC} = -2.387500 + 0.126563X_1 + 0.073000X_2 + 0.348750X_3 - 0.000981X_1^2 - 0.000525X_1X_2 - 0.003450X_2^2 + 0.000187X_1X_3 - 0.002250X_2X_3 - 0.027813X_3^2$$

추출물의 회귀식의 R^2 는 0.9247이고 1% 이내에서 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점은 최대점을 나타내었고, 가용성 고형분 함량은 에탄올 농도 63.62%, 시료에 대한 용매비 5.06 mL/g 및 추출시간 6.25 hr에서 2.90%의 최대값을 나타내었다(Table 6).

Table 6. Predicted levels of extraction conditions for the maximum responses of variables by the ridge analysis

Responses	R ²	Significance	X ₁ (%)	X ₂ (mL/g)	X ₃ (hr)	Max.	Morphology
Soluble solid content(%)	0.9247	0.0093	63.62	5.06	6.25	2.90	Maximum
GABA content (mg%)	0.9647	0.0011	45.52	5.67	6.04	0.593	Saddle point
HBA ¹⁾ content(mg%)	0.9860	<.0001	62.73	5.02	5.95	138.40	Saddle point
HBAH ²⁾ content(mg%)	0.9341	0.0064	64.03	5.12	6.46	1.29	Saddle point

¹⁾ ρ -hydroxybenzyl alcohol.

²⁾ ρ -hydroxybenzylaldehyde.

추출조건별 가용성 고형분 함량 변화의 반응표면은 Fig. 1과 같이 시료에 대한 용매비가 감소할수록 가용성 고형분 함량이 증가하는 것으로 나타났으며, 특히 에탄올 농도가 40~80%의 범위에서 높은 값을 나타내는 것을 알 수 있으며, Table 7에서도 알 수 있듯이 시료에 대한 용매비에도 영향을 받지만 특히 에탄올 농도에 영향을 많이 받는 것으로 나타났다.

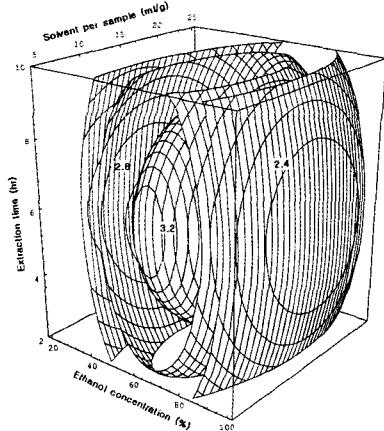


Fig. 1. Four-dimensional response surface for soluble solid content of *Gastrodia elata* Blume at constant values (2.4-2.8-3.2) as functions of ethanol concentration, solvent per sample and extraction time.

GABA 함량 변화

천마의 유용성분 중 GABA(γ -aminobutyric acid)는 글루탐산의 탈탄산화에 의해 생성되는 중요한 억제성 신경전달물질로서 흥분억제효과, 항경련작용, 정신집중력과 기억력강화, 혈압강화 등의 체내기능을 가진다.

자동아미노산분석기로 분석한 각각의 추출물의 GABA 함량은 Table 6에 나타내었으며, 4차원 반응표면은 Fig. 2에 나타내었고, 결과에 대한 회귀식은 다음과 같다.

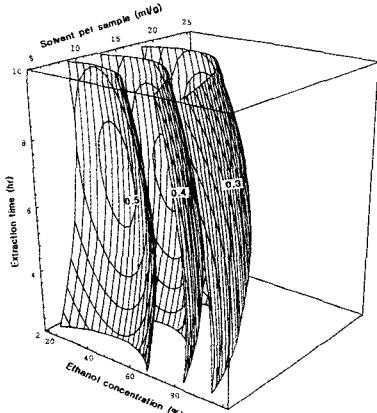


Fig. 2. Four-dimensional response surface for GABA content of *Gastrodia elata* Blume at constant values (0.3-0.4-0.5) as functions of ethanol concentration, solvent per sample and extraction time.

$$\begin{aligned} Y_{GABA} = & 0.512875 + 0.007225X_1 - 0.038750X_2 + 0.0482503 \\ & - 0.000095938X_1^2 + 0.000227X_1X_2 + 0.000305X_2^2 \\ & - 0.000350X_1X_3 + 0.000150X_2X_3 - 0.002688X_3^2 \end{aligned}$$

추출조건별 추출물의 GABA 함량에 대한 회귀식의 R^2 는 0.9647로 1% 이내의 유의성이 인정되었다. 추출조건에 따라 예측된 정상점은 안장점으로 나타내었고, 이때 최대값은 0.593 mg%로 예측되었고, 추출조건은 에탄올 농도 45.52%, 시료에 대한 용매비 5.67 mL/g 및 추출시간 6.04 hr이었다(Table 6).

추출물의 GABA 함량의 변화는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 에탄올 농도 및 시료에 대한 용매비가 감소할수록 GABA 함량이 증가하는 것으로 나타났으며, 특히 에탄올 농도 60% 이하의 범위에서 높은 값을 나타내는 것을 알 수 있었으며, Table 7에서도 알 수 있듯이 에탄올 농도와 시료에 대한 용매비가 큰 영향을 받고 있는 것으로 나타났으며, 추출시간에 대한 영향은 다소 낮은 것으로 나타났다.

Table 7. Regression analysis for regression model of variables in extraction condition

Extraction condition	F-Ratio		
	Ethanol concentration (%)	Solvent per sample (mL/g)	Extraction time (hr)
Soluble solid content (%)	9.05***	8.73**	0.74
GABA content (mg%)	18.29***	20.37***	0.83
HBA ¹⁾ content (mg%)	7.34**	84.87***	9.70***
HBAH ²⁾ content (mg%)	2.78	14.46***	2.47

*p<0.1, **p<0.05, ***p<0.01.

¹⁾p-hydroxybenzyl alcohol.

²⁾p-hydroxybenzaldehyde.

p-Hydroxybenzyl alcohol 함량 변화

중심합성계획에 의한 추출조건별 p-hydroxybenzyl alcohol 함량은 Table 5에 나타내었으며, 그 결과에 대한 반응표면 회귀식은 다음과 같다.

$$\begin{aligned} Y_{HBAC} = & 78.725625 + 1.126469X_1 - 5.376375X_2 + 16.209063X_3 \\ & - 0.009834X_1^2 + 0.006588X_1X_2 + 0.057300X_2^2 + \\ & 0.026969X_1X_3 - 0.109125X_2X_3 - 1.470000X_3^2 \end{aligned}$$

천마 추출물의 p-hydroxybenzyl alcohol 함량에 대한 회귀식의 R^2 는 0.9860이고 유의성은 1% 이내의 수준에서 유의성이 인정되었다. 추출물의 p-hydroxybenzyl alcohol 함량에 대해 예측된 정상점은 안장점으로 능선분석한 결과 최대값은 138.40 mg%로 예측되었다. 이 때의 추출조건은 에탄올을

농도 62.73%, 시료에 대한 용매비 5.02 mL/g 및 추출시간 5.95 hr이었다(Table 6). 천마 추출물의 *p*-hydroxybenzyl alcohol 함량에 대한 4차원 반응표면을 분석하여 본 결과 시료에 대한 용매비가 감소할수록 *p*-hydroxybenzyl alcohol 함량이 증가하는 경향을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 추출조건의 영향은 Table 7과 같이 추출물의 *p*-hydroxybenzyl alcohol 함량은 에탄올 농도 및 추출시간보다 시료에 대한 용매비에서 더 많은 영향을 받는 것으로 나타났다.

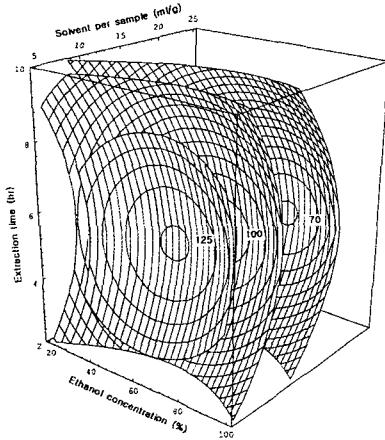


Fig. 3. Four-dimensional response surface for *p*-hydroxybenzyl alcohol content of *Gastrodia elata* Blume at constant values (70-100-125) as functions of ethanol concentration solvent per sample and extraction time.

p-Hydroxybenzylaldehyde 함량 변화

추출조건별 *p*-hydroxybenzylaldehyde 함량의 변화는 Table 5에 나타내었으며, 결과에 대한 반응표면 회귀식은 아래와 같다.

$$\begin{aligned} Y_{\text{HBAHC}} = & 0.034687 + 0.021853X_1 - 0.056037X_2 + 0.230219X_3 - \\ & 0.000170X_1^2 - 0.000063750X_1X_2 + 0.001070X_2^2 + \\ & 0.000297X_1X_3 - 0.001587X_2X_3 - 0.017313X_3^2 \end{aligned}$$

추출물의 *p*-hydroxybenzylaldehyde의 함량에서는 회귀식의 R^2 가 0.9341이고, 1% 이내에서 유의성이 인정되었으며, 예측된 정상점은 안장점(saddle point)으로 능선분석을 실시하여 본 결과 최대값은 1.29 mg%로 예측되었다. 또한 이 예측값을 추출할 수 있는 조건은 에탄올 농도 64.03%, 시료에 대한 용매비 5.12 mL/g 및 추출시간 6.46 hr으로 나타났다(Table 6).

p-hydroxybenzylaldehyde의 4차원 반응표면은 Fig. 4에 나타내었으며, 시료에 대한 용매비에 가장 큰 영향을 받는 것으로 나타났다. *p*-hydroxybenzylaldehyde의 추출조건에 대한 영향은 Table 7과 같이 시료에 대한 용매비에 영향을 받고 있었으며, 에탄올 농도와 추출시간에 대한 영향은 거

의 나타나지 않았다.

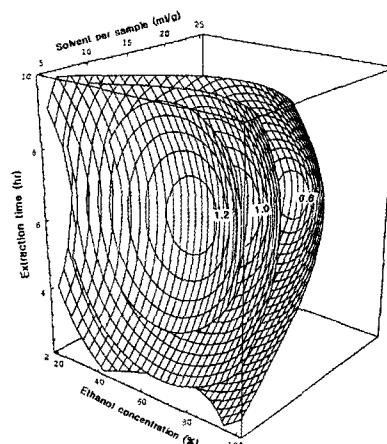


Fig. 4. Four-dimensional response surface for *p*-hydroxybenzylaldehyde content of *Gastrodia elata* Blume at constant values (0.8-1.0-1.2) as functions of ethanol concentration solvent per sample and extraction time.

최적 추출조건의 예측

천마의 최적추출조건을 설정하기 위하여 유효성분의 함량에 대한 최적 추출조건을 얻고자 각 반응표면을 superimposing하여 Fig. 5에 나타내었다. 이 반응표면으로부터 설정될 수 있는 최적조건 범위는 Fig. 5의 절은 부분으로써 Table 8에 최적조건을 나타내었다. 천마 추출최적조건 범위는 에탄올 농도 45~65%, 시료에 대한 용매비 5~7 mL/g 및 추출시간 5~7 hr으로 나타났다. 그리하여 이로부터 최적점이라고 예상되는 에탄올 농도 60%, 시료에 대한 용매비 6 mL/g, 추출시간 6 hr을 임의의 최적추출조건으로 예측하였다.

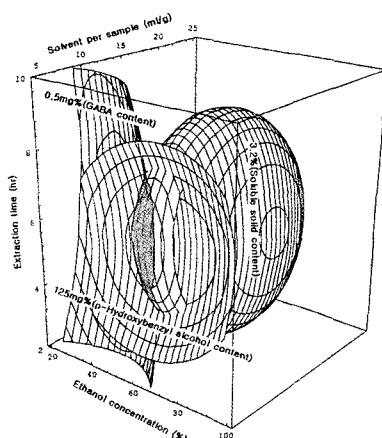


Fig. 5. Superimposed response surface for optimization of GABA, *p*-hydroxybenzyl alcohol and soluble solid content as function of extraction ethanol concentration, extraction time and solvent per sample of *Gastrodia elata* Blume.

Table 8. The range of optimum extraction condition for maximum response variables by superimposing response surface of soluble solid, GABA and β -hydroxybenzyl alcohol content in the extract of *Gastrodia elata* Blume

Extraction condition	Range of predicted condition (optimal point)
Ethanol concentration (%)	45 ~ 65 (60)
Solvent per sample (mL/g)	5 ~ 7 (6)
Time (hr)	5 ~ 7 (6)

요 약

본 연구는 천마의 광범위한 약리작용과 다양한 생리활성 물질을 이용한 새로운 식품소재로서의 개발을 위하여 반응 표면분석법에 의한 천마의 유효 성분의 에탄올 추출특성을 모니터링하여 최적의 추출조건을 예측하였다. 에탄올 추출 공정에서 주요변수로 에탄올농도(X_1 ; 20, 40, 60, 80 및 100%), 시료에 대한 용매비(X_2 ; 5, 10, 15, 20 및 25 g/mL) 및 추출시간(X_3 ; 2, 4, 6, 8 및 10 hr)을 각각 독립변수로 하여 중심합성계획에 의해 16구간의 추출조건을 설정하고 각 추출물의 유효성분을 분석하였다. 이 때, 추출물의 품질 특성 즉, GABA(Y_1), hydroxybenzyl alcohol(Y_2) 및 가용성 고형분 함량(Y_3) 등을 반응종속변수로 하여 반응표면 회귀분석을 실시하였다. 각 변수에 대한 회귀식을 도출하여 공정인자별 천마 추출물의 각 유효성분들에 대한 최적 추출조건을 superimposing한 결과, 에탄올농도 45~65%, 추출시간 5~7 hr 및 시료에 대한 용매비 5~7 g/mL로 각각 예측되었다. 이때 각 성분의 함량은 각각 GABA 0.593 mg%, hydroxybenzyl alcohol 138.40 mg% 및 가용성 고형분 2.90 %이었다.

감사의 글

본 연구는 2004-2005년 경상북도/안동시 바이오산업기술개발(산업화)과제의 연구지원으로 수행된 결과의 일부로 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 1. Lee, Y.M. (1990) In Oriental Medicine Dictionary, Sammundang, Seoul. p.814
- 2. Sin, K.G. (1980) In Sinssi Herbology, Sumunsa, Korea. p.288-290
- 3. Kim, C.M., Sin, M.K., An, D.K. and Lee, K.S. (1997) In Zoungyank Dictionary, Jungdam, Korea. p.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. of 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 effects of *Gastrodia elata*, M.S. thesis, KyungHee University, Seoul, Korea
- 15. Kim, E.J., Ji, G.E. and Kang, Y.H. (1994) Effects of *Gastrodia Rhexoma* extracts on global coronary circulation in rats. Kor. J. Food Sci. Technol., 26, 213-220
- 16. Wanansundara, P.K.J.P.D. and Shahidi, F. (1996) Optimization of hexametaphosphate-assisted extraction of flaxseed proteins using response surface methodology. Kor. J. Food Sci., 6, 604-607
- 17. Martha, L.A. and James, P.B. (1992) The mathematica

- handbook, compatible with mathematica version 2.0, An imprint of academic press, Inc. Harcourt Brace & Co., Massachusetts, p.15-511
18. Kwon, J.H., Belanger, J.M.F. and Pare, J.R.J. (2003) Optimization of microwave-assisted extract(MAP) for ginseng components by response surface methodology. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 1807-1810
19. Oh, S.L., Kim, S.S., Min, B.Y. and Chung, D.H. (1990) Composition of free sugars, free amino acids, non-volatile organic acids and tannins in the extracts of *L. chinensis*, *A. acutiloba* K., *S. chinensis* B. and *A. sessiliflorum* S. Korean J. Food Sci. Technol., 22, 76-81
20. Shaz, W.S. (1985) HPLC determination of *Gastrodia* and 4-hydroxybenzyl alcohol in *Gastrodia elata*. Yaown Fenxi Zashi, 5, 218-221
21. SAS institute, Inc. (1988) In SAS/STAR User's Guide, Version 6. Cary, NC, USA

(접수 2005년 11월 9일, 채택 2006년 5월 26일)