

반응표면분석법을 이용한 오가피의 열수 추출조건 최적화

김인호¹ · 김성호^{2*} · 권중호³

¹경북과학대학 식품공장

²경북과학대학 바이오식품과

³경북대학교 식품공학과

Optimizing the Hot-water Extraction Conditions for *Acanthopanax cortex* Using Response Surface Methodology

In Ho Kim¹, Seong Ho Kim^{2*}, and Joong Ho Kwon³

¹Kyungbook College of Science Food Factory, Gyeongbuk 718-851, Korea

²Dept. of Bio Food Science, Kyungbook College of Science, Gyeongbuk 718-851, Korea

³Dept. of Food Science and Technology Graduate School, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Abstract

In order to examine the effective components and antioxidative characteristics of *Acanthopanax cortex*, response surface methodology was used to optimize the hot water extraction process by analyzing and monitoring the extraction condition characteristics. The total extraction yield was optimized using the extraction temperature of 84.28°C, extraction time of 3.59 hr and 18.37 mL/g as the amount of solvent per sample. For the effective component of eleutheroside E, the optimal extraction temperature, time and amount of solvent per sample were 81.16°C, 3.56 hr, and 19.06 mL/g, respectively; also, for total phenolics, the optimal conditions were 88.45°C, 4.33 hr, and 21.12 mL/g, respectively. Regression equations were deduced for each variable and then eleutheroside E, chlorogenic acid, and antioxidative characteristics were superimposed with the optimal conditions to obtain values for each extraction process factor. The predicted results were 81~88°C, 3.5~4.3 hr, and 18~21 mL/g, respectively. The estimated values for the optimal extraction conditions of *Acanthopanax cortex*'s effective components and antioxidative characteristics were similar to the experimental results.

Key words: *Acanthopanax cortex*, antioxidative characteristics, eleutheroside E, extraction condition, response surface methodology

서 론

오가피(*Acanthopanax cortex*)는 두릅나무과(Araliaceae)에 속하는 오갈피나무(*Acanthopanax sessiliflorum* Seeman) 또는 기타 동속식물의 뿌리, 줄기 및 껍질로서 관상 또는 반관상 식물로 보통 길이 5~10 cm, 지름 5~8 mm, 두께 1 mm 정도이고, 바깥 면은 황갈색-어두운 회색으로 평탄하며 군데군데 가시가 있거나 그 자국이 있고, 비교적 어린 가지의 껍질에는 회백색의 반점이 있다(1,2). 분포지역은 동북아시아 지역인 러시아의 우수리 강 유역과 사할린, 중국의 흑룡강성 유역과 동북 산간지 및 일본 북해도에 분포되어 있고, 우리나라에서는 지리산, 설악산, 오대산, 덕유산, 대관령 부근의 고산지대와 백두 일원에 자생하는 세계적으로 희귀한 식물(3)로서 우리나라에서 자생하는 오갈피 속은 8속

14종 5변종이 있는 것으로 알려져 있다(4).

오가피는 동의보감, 한약집성방, 신농본초경, 본초강목 등의 고전에 따르면 발산, 구풍작용 등의 대사촉진제로 이용되어 왔고, 특히 자양, 강장, 강정, 음위, 진경, 근골동통, 산기복통, 요슬동통 등의 효능이 있어 주로 강장약으로 신경통, 중풍, 고혈압, 당뇨병, 류마티스성 관절염 치료 등의 효과가 알려져 있다. 오가피류에는 분포지역 및 식물 종에 따라 다소의 차이는 있지만, 대부분의 오갈피 속의 근피 및 수피에는 eleutheroside A~E, sesquiterpene, sterol, sesamin, savenin, chlorogenic acid 등이, 잎에는 myoinositol, antoside, quercetin-7-rhamnoside가, 열매에는 anthocyanin과 pectin 화합물이 함유되어 있다(5-10).

*Acanthopanax sessiliflorum*의 수피에서 분리한 ethoxy-hydroxybenzoic acid가 혈소판 응집억제 작용이 있다고 하

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

였으며, *Acanthopanax chiisanensis*의 잎에서 분리한 chii-sasnoside가 항 histamin 작용 및 항당뇨 작용, 해독 작용, 항지방간 작용에 효과가 있다고 보고되었다(11,12). 또한 섬 오가피에 대하여 Chung(13)은 섬오가피의 근피 및 수피로부터 분리한 eleutheroside B와 E는 항지방간 변성 효과가 높았으며, diterpene계의 isopimara-9(11), 15-diene-19-oic acid는 항염증 효과가 aspirin보다 4.5배 강하다고 보고하였다. 오가피에 관한 관련 연구로는 오가피로부터 acanthoside D의 분리 및 함량 분석(14), 유효성분들의 생리활성 연구(15), 오가피의 일반성분, 무기질, 아미노산, 유리당, 유기산 분석(16) 및 추출조건에 따른 오가피의 진액제조와 그 성분 조성(17) 등의 보고가 있다. 이와 같이 오가피는 다양한 약리 작용과 생리활성 성분을 지니고 있기 때문에 의학 및 약리 분야에서 많은 연구가 이루어졌으며, 최근에는 오가피를 이용한 건강음료와 오가피차 등 다양한 제품이 개발되고 있어 오가피의 소비가 증가하고 있다.

따라서 본 연구에서는 건강 및 기능 식품의 원료로 이용되고 있는 오가피로부터 유용성분을 효율적으로 추출하고자 반응표면분석에 의해 열수 추출특성을 모니터링하여 최적 추출조건을 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구의 실험 재료인 오가피(*Acanthopanax cortex*, 북한산)는 대구약령시장에서 구입하여 절단(1 cm×1 cm 내외) 후 시료로 사용하였다.

원료의 일반성분 및 무기성분 분석

오가피의 일반성분으로서 수분과 회분 함량은 AOAC(18)법에 준하여 105°C 상압건조법과 직접회화법을 각각 사용하여 측정하였다. 조단백질은 자동질소분해증류장치(Destilador Kjedadhl Automatico PN. 1430, J. P. Selecta. S. A. Co., Barcelona, Spain)에 의해, 조지방은 용매자동회수지방추출장치(Del-gras, J. P. Selecta. S. A. Co., Barcelona, Spain)를 사용하여 측정하였고, 무기성분은 시료를 건식 분해한 다음 일정량을 취하여 0.45 µm membrane filter로 여과한 후 원자흡광분광기(Analyst 100/300, Perkin-Elmer Co., Massachusetts, USA)를 이용하여 목적하는 무기성분의 분석조건에 따라 측정하였고 각 표준품의 검량선을 작성하고 시험용액의 함량을 계산하였다.

추출조건 최적화를 위한 실험계획

본 실험에서는 추출특성의 모니터링과 추출조건의 최적화를 위하여 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)(19)을 이용하였고, 추출조건에 대한 실험계획은 Table 1과 같이 중심합성계획(20)을 실시하여 추출공정에서 중요한 독립변수(X_i)로서 추출온도(X_1), 추출시간(X_2) 및 시료에

Table 1. Experimental design of hot-water extraction conditions for *Acanthopanax cortex*

Extraction conditions		-2	-1	0	1	2
X_1	Temperature (°C)	60	70	80	90	100
X_2	Time (hr)	1	2	3	4	5
X_3	Solvent per sample (mL/g)	5	10	15	20	25

대한 용매비(X_3)에 대한 실험범위를 설정하여 각각을 5단계로 부호화하였으며, 중심합성계획에 따라 16구로 설정하여 추출실험을 하였다. 또한 이들 독립변수에 영향을 받은 종속변수(Y_n)로는 총 추출수율(Y_1), eleutheroside E 함량(Y_2), chlorogenic acid 함량(Y_3), 총 페놀성 화합물 함량(Y_4), 전자공여능(Y_5), 항산화능(Y_6) 및 환원당 함량(Y_7) 등을 측정하여 그 값을 회귀분석에 사용하였다. 또한 열수추출에 있어서 추출조건이 오가피 추출물의 유효성분 및 항산화적 추출특성에 미치는 영향을 예측된 모델식을 바탕으로 Mathematica program(21)을 이용하여 반응표면분석으로 해석하였다.

총 추출수율 측정

각 조건별로 추출한 시료의 총 추출수율(22)은 오가피 추출물 20 mL를 항량을 구한 수기에 취하여 105°C에서 증발 건조시킨 후 그 무게를 측정하였으며, 추출물 조제에 사용된 원료량(건물량)에 대한 백분율로써 총 추출수율(%), total extraction yield)을 나타내었다.

유효성분 eleutherosides E 및 chlorogenic acid 함량 분석

오가피의 유효성분으로서 eleutheroside E 및 chlorogenic acid의 분석은 각각의 조건에 따라 추출된 추출물을 0.45 µm membrane filter로 여과한 후 아래의 Table 2의 조건에 따라 HPLC를 이용하여 분석하였다(23). Eleutheroside E(Phyto-Lab, Germany)와 chlorogenic acid(Sigma, USA)의 동정은 표준품의 retention time과 비교하여 동정하였고, 함량은 자동분석기에 의해서 계산하여 나타내었다.

총 페놀성 화합물 함량 측정

각 추출물의 총 페놀성 화합물 함량은 Folin-Denis법(24)에 따라 비색 정량하였다. 즉, 추출물을 20배 희석한 검액 5 mL를 넣어 진탕하고 1시간 실온에서 방치하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였고, 대조구는 검액 대신 증류수를 넣어

Table 2. Operating conditions of HPLC for the analysis of eleutheroside E and chlorogenic acid

Specification	Operating conditions
Instrument	Shimadzu LC-10AT
Column	Shim-pack ODS (4.6 mm×250 mm, 5 µm, Shimadzu Co.)
Column temp.	35°C
Mobile phase	Acetonitrile : 1% H ₃ PO ₄ = 15 : 85
Flow rate	0.6 mL/min
Detector	UV 220 nm

동일하게 처리하였다. 이때 표준물질로는 tannic acid를 5~50 µg/mL의 농도로 조제하여 검량곡선의 작성에 사용하였다.

전자공여능 측정

추출용액의 전자공여능(electron donating ability, EDA) 시험은 α,α-diphenyl-β-picrylhydrazyl(DPPH)를 사용한 방법으로 측정하였다(25). 즉, DPPH 시약 12 mg을 absolute ethanol 100 mL에 용해한 후 증류수 100 mL를 가하고 50% ethanol 용액을 blank로 하여 517 nm에서 DPPH용액의 흡광도를 약 1.0으로 조정하였다. 이 용액 4 mL를 취하여 10배 희석한 시료 용액 1 mL와 혼합한 후 상온에서 10분간 방치시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 표시하여 전자공여능으로 하였다.

$$\text{EDA}(\%) = \left(1 - \frac{\text{Absorbance of DPPH with sample at 517 nm}}{\text{Absorbance of DPPH without sample at 517 nm}} \right) \times 100$$

항산화능 측정

각 추출물의 항산화능은 rancimeter(Rancimat 679, Metrohm AG, Herisau, Switzerland)를 사용하여 측정(26)하였고, antioxidant index(AI)로 항산화능을 비교하였다. 이때 측정조건은 온도 110°C, 공기공급량 20 L/hr, 유지(항산화제를 첨가하지 않은 대두유) 사용량은 2.5 g로 측정하여 얻은 값을 표시하였다. 추출물을 첨가하지 않은 시료를 공시료로 하였다.

$$\text{AI} = \frac{\text{Induction time of sample added with extracts}}{\text{Induction time of blank}}$$

환원당 함량 측정

각 추출물의 환원당 함량은 dinitrosalicylic acid에 의한 비색법(27)으로 spectrophotometer(UV-1601PC, Shimadzu Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 검액 대신 증류수를 넣어 동일하게 처리하였고, 이때 표준물질로는 glucose를 100~500 µg/mL의 농도로 조제하여 검량곡선의 작성에 사용하였다.

최적추출조건의 예측 및 실증시험

회귀식에 의한 예측은 statistical analysis system(SAS) program(28)을 이용하여 최적추출조건을 반응 변수인 추출

물의 특성 즉, 총 추출수율, eleutheroside E 함량, chlorogenic acid 함량 및 항산화적 특성 등의 반응표면을 superimposing 했을 때 중복되는 부분의 범위로 예측하였다(29). 또한 예측된 범위에서 임의의 점을 설정하여 회귀식에 대입한 후 그 예측된 최적값과 실측값을 비교하여 검증하였다.

결과 및 고찰

시료의 일반성분 및 무기성분

오가피 시료의 일반성분 분석결과는 Table 3과 같이 수분 8.25±1.24%, 조단백질 3.11±0.68%, 조지방 4.98±0.51%, 회분 12.04±1.22% 및 탄수화물이 71.62±4.25%로 각각 나타났다. 오가피의 일반성분은 산지와 품종, 수확시기 및 부위별로 다소 차이가 있으나 Oh 등(30)의 보고에서는 수분 8.7%, 지방 4.1% 및 단백질 5.2%로 보고하여 본 연구 결과와 큰 차이가 없었으나, 회분 함량이 5.2%로 본 연구 결과가 약 2배 이상의 함량을 보였다. 무기질 함량은 K가 1317.7±31.6 mg%, Ca 790.5±17.2 mg%, Mg 172.5±9.9 mg%이었고, Na 114.7±8.5 mg%, Fe 8.9±0.8 mg%, Zn 3.6±0.5 mg%이었다. Jwa 등(16)은 섬오가피의 무기성분은 수확시기와 부위에 따라 다소 차이가 있다고 보고하였으며, 평균적으로 섬오가피의 무기성분은 칼륨이 835.9 mg%, 칼슘이 971.2 mg%, 마그네슘이 168.7 mg%이었고, 나트륨, 철, 아연, 구리가 각각 38.8, 18.6, 8.5, 3.0 mg%이었다고 보고하여, 본 연구에 사용된 오가피와는 무기질 함량 차이가 다소 있었다.

추출조건에 따른 추출물 특성의 모니터링

오가피로부터 최적추출조건을 설정하기 위해 추출온도, 추출시간 및 시료에 대한 용매비를 독립변수로 하여 중심합성계획에 의해 설계된 16구의 추출조건에서 얻어진 추출물의 총 추출수율, eleutheroside E 함량, chlorogenic acid 함량 및 항산화적 특성 등의 결과는 Table 4 및 5와 같다. 각각의 결과를 이용하여 반응표면회귀분석을 실시하고 각 종속변수 즉, 총 추출수율, 유효성분 함량, 총 페놀성 화합물 함량, 전자공여능, 항산화능 및 환원당 함량에 대한 회귀식을 얻었다. 또한 변수별 최적추출조건과 추출물의 특성 값을 예측하여 Table 6에 나타내었으며, 이들의 반응표면은 추출온도, 추출시간 및 시료에 대한 용매비를 독립변수로 하여 Fig. 1~7에 나타내었다.

Table 3. Mineral composition of *Acanthopanax cortex*

(unit: %)

Moisture	Crude protein	Crude fat	Ash	Carbohydrate	
8.25±1.24 ¹⁾	3.11±0.68	4.98±0.51	12.04±1.22	71.62±4.25	
(unit: mg%, dry basis)					
Ca	Fe	Na	K	Mg	Zn
790.5±17.2	8.9±0.8	114.7±8.5	1317.7±31.6	172.5±9.9	3.6±0.5

¹⁾Mean values of triplicates determinations. Means±SD.

Table 4. Total extraction yield, eleutheroside E and chlorogenic acid content of *Acanthopanax cortex* under different conditions based on central composite design by response surface analysis

Experiment No. ¹⁾	Extraction condition			Total extraction yield (%)	Eleutheroside E content (µg/mL)	Chlorogenic acid content (µg/mL)
	Temp. (°C)	Time (hr)	Folds (mL/g)			
1	90 (1)	4 (1)	20 (1)	63.0	32.8	19.1
2	90 (1)	4 (1)	10 (-1)	52.9	26.3	15.1
3	90 (1)	2 (-1)	20 (1)	58.5	30.0	20.1
4	90 (1)	2 (-1)	10 (-1)	52.3	26.6	13.5
5	70 (-1)	4 (1)	20 (1)	60.3	34.7	20.9
6	70 (-1)	4 (1)	10 (-1)	55.6	27.6	14.1
7	70 (-1)	2 (-1)	10 (-1)	52.4	28.9	14.5
8	70 (-1)	2 (-1)	10 (-1)	51.9	28.1	14.0
9	80 (0)	3 (0)	15 (0)	59.9	32.7	18.1
10	80 (0)	3 (0)	15 (0)	60.0	32.8	19.5
11	100 (2)	3 (0)	15 (0)	55.3	30.5	17.3
12	60 (-2)	3 (0)	15 (0)	52.6	27.7	13.7
13	80 (0)	5 (2)	15 (0)	55.5	28.3	17.1
14	80 (0)	1 (-2)	15 (0)	52.0	28.5	13.8
15	80 (0)	3 (0)	25 (2)	54.9	30.9	18.3
16	80 (0)	3 (0)	5 (-2)	34.1	17.3	7.2

¹⁾The number of experimental condition by central composite design.

Table 5. Total phenolics content, electron donating ability, antioxidant ability and reducing sugar content of *Acanthopanax cortex* under different conditions based on central composite design by response surface analysis

Experiment No. ¹⁾	Total phenolics content (mg%)	Electron donating ability (%)	Antioxidant ability	Reducing sugar content (mg%)
1	32.1	63.0	1.25	85.9
2	24.4	49.9	1.24	72.5
3	28.1	59.1	1.31	96.4
4	24.3	51.7	1.25	68.8
5	30.7	64.8	1.22	85.7
6	24.2	49.3	1.26	69.2
7	25.4	55.0	1.24	68.3
8	25.1	51.0	1.24	68.1
9	28.7	59.4	1.26	87.5
10	28.8	61.1	1.25	89.1
11	28.4	61.1	1.26	84.1
12	23.6	51.9	1.22	69.4
13	27.7	61.7	1.22	76.9
14	25.0	51.6	1.20	71.9
15	28.0	61.8	1.23	73.8
16	15.9	33.3	1.21	42.8

¹⁾The number of experimental condition by central composite design.

총 추출수율

중심합성계획에 의한 추출조건별 총 추출수율은 Table 4에서와 같이 나타내었고, 그 결과에 대한 반응표면 회귀식은 아래와 같다.

$$Y_{SS} = -70.932260 + 2.166021X_1 + 11.049696X_2 + 2.563397X_3 - 0.015025X_1^2 - 0.043465X_1X_2 - 1.548750X_2^2 + 0.028199X_1X_3 + 0.200987X_2X_3 - 0.154500X_3^2$$

Table 6에서와 같이 추출물에 대한 회귀식의 R²는 0.8955 이고, 5% 이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점은 최대점을 나타내었고, 총 추출수율은 추출온도 84.28°C, 추출시간 3.59 hr 및 시료에 대한 용매비 18.37 mL/g에서 63.31%의 최대값을 나타내었다. 각각의 추출조건에 따른 총 추출수율의 최적조건은 Fig. 1에서와 같이 추출온도 78~88°C, 추출시간 3~4 hr 및 시료에 대한 용매비 17~22 mL/g에서 가장 높았다. 이는 Jwa 등(17)이 보고한 탐라오가피의 추출수율은 에탄올보다는 물로 추출했을 경우가 수율이 높고, 추출수율이 높은 추출조건으로는 추출온도 80~90°C가 적당하였다는 보고와 유사하였다. 총 추출수

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

Responses	R ²	Pro>F	X ¹⁾ (°C)	X ²⁾ (hr)	X ³⁾ (mL/g)	Maximum	Morphology
Total extraction yield (%)	0.8955	0.0230	84.28	3.59	18.37	63.31	Maximum
Eleutherosid E content (µg/mL)	0.9062	0.0172	81.16	3.56	19.06	34.57	Maximum
Chlorogenic acid content (µg/mL)	0.9010	0.0199	84.29	3.55	19.87	20.91	Maximum
Total phenolics content (mg%)	0.9396	0.0050	88.45	4.33	21.12	33.33	Maximum
Electron donating ability (%)	0.9044	0.0181	85.90	4.43	21.33	69.41	Maximum
Antioxidant ability	0.7953	0.1295	95.99	2.38	20.15	1.31	Saddle point
Reducing sugar content (mg%)	0.9441	0.0040	89.57	2.80	18.48	94.11	Maximum

¹⁾Extraction temperature (°C). ²⁾Extraction time (hr). ³⁾Solvent per sample (mL/g).

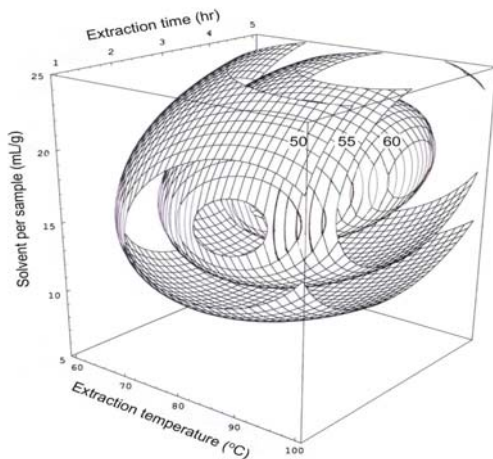


Fig. 1. Response surface for total extraction yield at constant values (total extraction yield: 50, 55, 60%) as a function of extraction temperature, time and solvent per sample of *Acanthopanax cortex*.

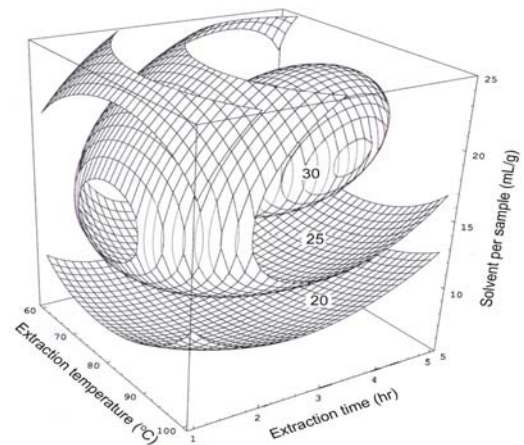


Fig. 2. Response surface for eleutheroside E contents at constant values (eleutheroside E: 20, 25, 30 $\mu\text{g/mL}$) as a function of extraction temperature, time and solvent per sample of *Acanthopanax cortex*.

Table 7. Regression analysis for regression model of the total extraction yield, eleutheroside E and chlorogenic acid content in extraction condition for *Acanthopanax cortex*

Extraction condition	F-Ratio		
	Total extraction yield	Eleutheroside E content	Chlorogenic acid content
Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	1.2	1.0	1.3
Time (hr)	1.5	2.1	1.4
Solvent per sample (mL/g)	11.6***	14.2***	11.8***

***Significant at 1% level.

율에 대한 추출조건의 영향은 Table 7의 반응표면에 나타난 바와 같이 주어진 범위의 용매비에 의해 추출물의 수율에 큰 영향을 받고 있는 것으로 나타났으며, 추출온도와 시간에 대한 영향은 다소 낮은 것으로 나타났다. 이는 주어진 범위 내에서 적정량의 열수가 시료에 작용되었을 때 시료 내 고형분이 충분히 추출될 수 있으리라 생각된다.

Eleutheroside E 함량

Eleutheroside E는 오가피의 수피와 근피에 주로 함유되어 있는 것으로 알려져 있는데 채취시기, 채취지역에 따라서 함량 차이가 있으며, 오가피 속의 종에 따라서도 함량 차이가 있는 것으로 알려졌다. Eleutheroside는 흥분완화, 스트레스 억제 및 면역활성에 매우 뛰어난 물질로 보고되어 있다(23).

각 조건의 추출물의 eleutheroside E 함량은 Table 4와 같으며, 이 결과를 이용하여 반응표면회귀분석을 실시하고, 각 요인 변수에 따른 반응변수 즉, eleutheroside E 함량에 대한 회귀식은 아래와 같이 구하였다.

$$Y_E = -42.081923 + 1.331917X_1 + 2.419103X_2 + 1.911487X_3 - 0.009125X_1^2 + 0.008551X_1X_2 - 1.092500X_2^2 + 0.006244X_1X_3 + 0.246436X_2X_3 - 0.086400X_3^2$$

추출조건별 추출물의 eleutheroside E 함량에 대한 회귀식의 R^2 는 0.9062로 5% 이내의 유의성이 인정되었다. 추출조건에 따라 예측된 정상점은 최대점을 나타내었고, 이때 최대값은 34.57 $\mu\text{g/mL}$ 로 예측되었으며, 추출조건은 추출온도 81.16 $^{\circ}\text{C}$, 추출시간 3.56 hr 및 시료에 대한 용매비 19.06 mL/g이었다(Table 6). Eleutheroside E의 반응표면(Fig. 2)은 추출조건 중 세 독립변수 중 용매비에 가장 큰 영향을 받는 것으로 나타났고 주어진 범위 내에서 시료에 대한 용매비가 높을수록 함량이 증가하는 것으로 나타났다(Table 7). 이는 고형분 함량과 마찬가지로 주어진 범위 내에서 적정량의 열수가 오가피 시료에 작용되었을 때 시료 내 eleutheroside E가 충분히 추출될 수 있으리라 생각된다.

Jwa 등(17)은 eleutheroside E는 열에 대하여 안정하며, 80 $^{\circ}\text{C}$ 에서 eleutheroside E 함량이 가장 높게 나타난다고 보고하여, 본 결과의 추출온도와 유사한 결과이었다.

Chlorogenic acid 함량

오가피로부터 최적 추출물을 얻기 위해 각각의 조건에서 추출한 추출물의 chlorogenic acid 함량은 Table 4와 같다. 추출조건과 추출물의 chlorogenic acid 함량에 대한 반응표면 회귀식은 아래와 같다.

$$Y_{CA} = -62.291154 + 1.357125X_1 + 6.368462X_2 + 1.511692X_3 - 0.008438X_1^2 - 0.023519X_1X_2 - 0.846250X_2^2 + 0.007346X_1X_3 + 0.079962X_2X_3 - 0.061100X_3^2$$

추출물의 chlorogenic acid에 대한 회귀식의 R^2 가 0.9010으로 5% 이내의 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점은 최대점으로 Table 6과 같이 최대값이 20.91 $\mu\text{g/mL}$ 이었고, 이때의 요인 변수들의 값은 추출온도 84.29 $^{\circ}\text{C}$, 추출시간 3.55 hr 및 시료에 대한 용매비 19.87 mL/g으로 나타났다. 추출물의 chlorogenic acid에 대한 반응표면은 Fig. 3과 같이 최대

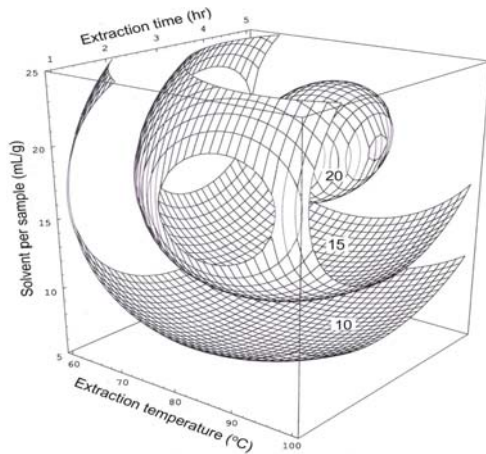


Fig. 3. Response surface for chlorogenic acid contents at constant values (chlorogenic acid: 10, 15, 20 µg/mL) as a function of extraction temperature, time and solvent per sample of *Acanthopanax cortex*.

점의 형태를 나타내었고 eleutheroside E와 유사한 경향으로 나타났으며, 시료에 대하여 주어진 범위 내에서 용매비가 높고, 추출시간이 길수록 함량이 증가하는 것으로 나타났다. Chlorogenic acid 함량 변화에 대한 추출조건의 영향은 Table 7과 같이 세 독립변수 중 주어진 범위 내에서 용매비에 영향을 가장 크게 받는 것으로 나타났다. 이 또한 주어진 범위 내에서 적정량의 열수가 오가피 시료에 작용되었을 때 시료 내 chlorogenic acid가 충분히 추출될 수 있으리라 생각된다.

Yoshino와 Murakami(31)는 chlorogenic acid가 Fe^{2+} 이온과 착화합물을 형성하여, Fe^{2+} 에 의해 유도되는 free radical 생성을 억제한다고 하였고 따라서 오가피 추출물의 chlorogenic acid는 항산화 효과와 관계가 있다고 보고하였다.

총 페놀성 화합물 함량

추출조건별 추출물의 총 페놀성 화합물 함량은 Table 5에 나타내었고, 이를 회귀분석하여 본 결과 회귀식의 R^2 는 0.9396으로 1% 이내의 수준에서 유의성이 인정되었고, 회귀식은 아래와 같다.

$$Y_{TPC} = -17.591202 + 0.909396X_1 - 0.802228X_2 + 0.487513X_3 - 0.006825X_1^2 + 0.011074X_1X_2 - 0.602500X_2^2 + 0.015006X_1X_3 + 0.289064X_2X_3 - 0.068050X_3^2$$

또한 온도, 시간, 시료에 대한 용매비의 추출조건에 따른 총 페놀성 화합물 함량의 반응표면분석(Fig. 4)에서 예측된 정상점이 최대점으로 총 페놀성 화합물의 최대값은 33.33 mg%이었고, 이때의 추출조건은 추출온도 88.45°C, 추출시간 4.33 hr 및 시료에 대한 용매비 21.12 mL/g이었다(Table 6). 총 페놀성 화합물의 추출특성에 따른 반응표면을 살펴볼 때 세 변수 중 시료에 대하여 주어진 범위 내에서 용매비가 높고 추출시간이 길수록 함량이 증가하는 것으로 나타났다

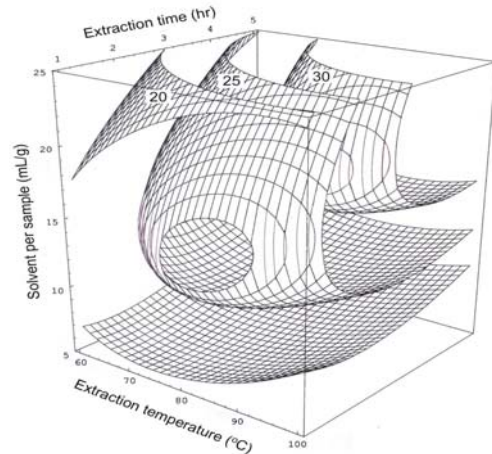


Fig. 4. Response surface for total phenolics contents at constant values (total phenolics: 20, 25, 30 mg%) as a function of extraction temperature, time and solvent per sample of *Acanthopanax cortex*.

Table 8. Regression analysis for regression model of the total phenolics content, electron donating ability, antioxidant ability and reducing sugar content in extraction condition for *Acanthopanax cortex*

Extraction condition	F-ratio			
	Total phenolics content	Electron donating ability	Antioxidant ability	Reducing sugar content
Temperature (°C)	2.2	0.5	3.0	3.2*
Time (hr)	3.2*	1.6	2.6	2.5
Solvent per sample (mL/g)	20.6***	12.8***	3.2*	21.2***

*Significant at 10% level; ***significant at 1% level.

(Fig. 4). 추출조건의 영향은 Table 8에서와 같이 주어진 범위 내에서 용매비의 영향이 가장 크며, 추출시간의 영향은 그 다음으로 영향을 받는 것으로 나타났다. 이는 주어진 범위내의 적정량의 열수로서 적정한 시간이 주어졌을 때 총 페놀성 화합물이 추출될 수 있으리라 생각된다. 그러나 설정된 범위 내에서 추출온도에 대한 영향은 나타나지 않았다.

전자공여능

DPPH는 free radical의 안정된 모델로서 반응 중 DPPH의 감소는 radical의 소거반응이 진행됨을 예측할 수 있어, radical에 의한 지질과산화의 초기반응의 억제 정도를 판단할 수 있다.

오가피의 각 추출물에 대한 전자공여능을 측정된 결과는 Table 5와 같다. 이 결과를 이용하여 추출조건과 전자공여능에 대한 반응표면 회귀식은 아래와 같다.

$$Y_{EDA} = -16.041058 + 1.320750X_1 - 2.405577X_2 + 1.744385X_3 - 0.009488X_1^2 + 0.006962X_1X_2 - 0.907500X_2^2 + 0.018142X_1X_3 + 0.584923X_2X_3 - 0.127250X_3^2$$

이때 추출물의 전자공여능에 대한 R^2 는 0.9044로 5% 이내의 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점은 최대점이고, 이

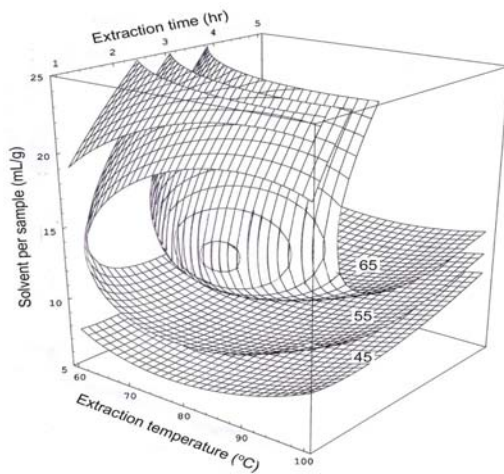


Fig. 5. Response surface for electron donating ability at constant values (electron donating ability: 45, 55, 65%) as a function of extraction temperature, time and solvent per sample of *Acanthopanax cortex*.

예측값을 추출할 수 있는 조건들은 추출온도 85.90°C, 추출시간 4.43 hr 및 시료에 대한 용매비 21.33 mL/g이었고, 이때의 최대값은 69.41%이었다(Table 6). 실험조건에 따라 얻은 추출물의 전자공여능에 대한 반응표면은 Fig. 5에 나타내었다. 추출물의 전자공여능은 온도, 시간, 시료에 대한 용매비 등 추출조건 모두에서 영향을 받는 것으로 나타났으며, 추출시간이 길수록 증가하는 경향을 나타냈다(Table 8). 전자공여능은 총 추출수율, eleutheroside E 함량 및 chlorogenic acid 함량의 반응표면과 유사하게 나타났으며, 주어진 범위 내에서 용매비의 영향이 가장 크게 나타났다. 이는 주어진 범위내의 적정량의 열수가 작용되었을 때 전자공여능에 영향을 미치는 물질이 추출될 수 있으리라 생각된다. 따라서 전자공여능이 총 추출수율, eleutheroside E 함량 및 chlorogenic acid 함량과 관련이 있는 것으로 판단된다.

항산화능

추출조건에 따른 항산화능은 Table 5에 나타내었고, 결과에 대한 반응표면 회귀식은 아래와 같다.

$$Y_{AI} = 0.882740 + 0.004896X_1 + 0.179696X_2 - 0.018103X_3 - 0.000037500X_1^2 - 0.001215X_1X_2 - 0.011250X_2^2 + 0.000399X_1X_3 - 0.001013X_2X_3 - 0.000350X_3^2$$

각 실험구에서 얻어진 항산화능에 대한 회귀식의 R^2 는 0.7953이었고, 유의성은 인정되지 않았다. Table 6과 같이 예측된 정상점은 안장점으로서 능선분석을 한 결과 최대값은 AI 1.31이었고, 이때 추출조건은 추출온도 95.99°C, 추출시간 2.38 hr 및 시료에 대한 용매비 20.15 mL/g이었다. 추출물의 항산화지수는 Fig. 6의 반응표면에서와 같이 안장점의 형태로 나타내었다. 항산화능은 온도, 시간, 시료에 대한 용매비의 추출조건 모두에서 영향을 받고 있는 것으로 나타났으며, 온도와 시료에 대하여 주어진 범위 내에서 용매비가

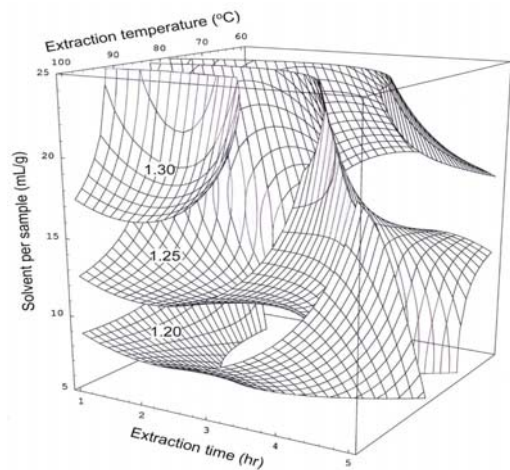


Fig. 6. Response surface for antioxidant ability at constant values (AI: 1.20, 1.25, 1.30) as a function of extraction temperature, time and solvent per sample of *Acanthopanax cortex*.

높고, 추출시간이 짧을수록 항산화능이 증가하는 것으로 나타났다(Table 8).

환원당 함량

각 조건의 추출물에서 환원당 함량은 Table 5와 같고, 반응표면에 대한 회귀식은 다음과 같다.

$$Y_{RS} = -230.693990 + 4.723938X_1 + 36.314471X_2 + 6.966769X_3 - 0.028850X_1^2 - 0.1700952X_1X_2 - 3.466250X_2^2 + 0.047985X_1X_3 - 0.080654X_2X_3 - 0.300100X_3^2$$

환원당 함량에 대한 회귀식의 R^2 는 0.9441이고, 1% 이내의 수준에서 유의성이 인정되었다. 최적예측조건은 Table 6과 같으며, 이때 예측된 정상점은 최대점으로서 그 최대값은 94.11 mg%로 나타났으며, 이때 추출온도 89.57°C, 추출시간 2.80 hr 및 시료에 대한 용매비 18.48 mL/g에서 가장 높은 효율을 나타내었다. 추출물의 환원당 함량에 대한 반응표면은 Fig. 7과 같이 최대점의 형태를 나타내었으며, 환원당 함량에 대한 추출조건의 영향은 Table 8에서와 같이 용매비의 영향이 가장 크게 나타났으며, 다음으로 추출온도의 영향을 받았으며 추출시간에 따른 영향은 가장 낮은 것으로 나타났다(Table 8). 이는 주어진 범위내의 적정량의 열수로서 적당한 온도가 작용되었을 때 오가피내 환원당이 충분히 추출될 수 있는 것으로 생각된다.

최적추출조건의 예측

오가피의 최적추출조건을 설정하기 위하여 eleutheroside E, chlorogenic acid 함량과 항산화적 특성을 모두 만족시켜 주는 최적추출조건을 얻고자 각 반응표면을 superimposing 하여 Fig. 8에 나타내었다. 각 항목의 최적추출조건으로 도출되어진 최대 또는 최적값의 반응표면을 한 도면에 일치시킨 결과, eleutheroside E, chlorogenic acid 및 total phenolic

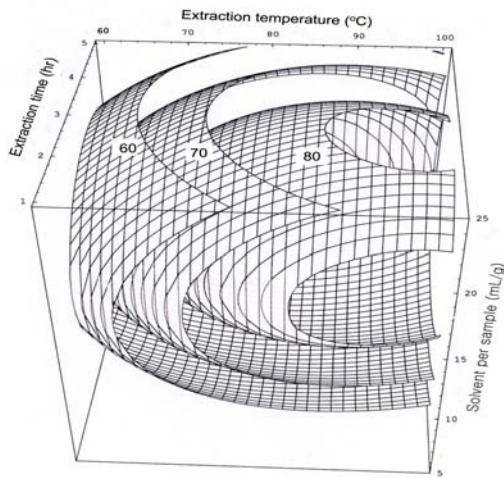


Fig. 7. Response surface for reducing sugar contents at constant values (reducing sugar: 60, 70, 80 mg%) as a function of extraction temperature, time and solvent per sample of *Acanthopanax cortex*.

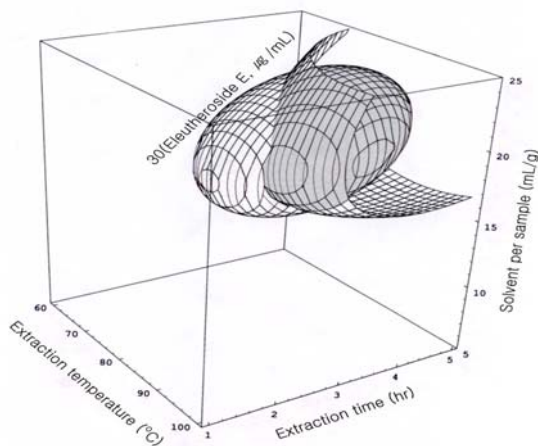


Fig. 8. Superimposed response surface for optimization of eleutheroside E, chlorogenic acid and total phenolics as a function of extraction temperature, time and solvent per sample of *Acanthopanax cortex*.

acid 함량 등 3항목의 최대값의 반응표면의 그림이 완전 또는 부분적으로 접합되어, 그 일치하는 부분을 각 독립변수의 범위를 읽어 최적추출조건의 범위를 설정하였다. 이 반응표면으로부터 설정될 수 있는 최적조건 범위는 Fig. 8의 질은

Table 9. The range of optimum extraction condition for maximum response variables by superimposing response surface of eleutheroside E, chlorogenic acid and total phenolics content in the extract of *Acanthopanax cortex*

Extraction condition	Range of predicted condition (optimal value)
Temperature (°C)	81~88 (85)
Time (hr)	3.5~4.3 (4.0)
Solvent per sample (mL/g)	18~21 (20)

부분으로써 Table 9에 최적조건을 나타내었다. 오가피 최적 추출조건 범위는 추출온도 81~88°C, 추출시간 3.5~4.3 hr 및 시료에 대한 용매비 18~21 mL/g으로 나타났다.

따라서 이와 같은 예측 결과에 대한 모델식의 신뢰성을 확인하기 위하여 예측된 최적조건 범위 내에서 임의의 조건 즉, 추출온도 85°C, 추출시간 4.0 hr 및 시료에 대한 용매비 20 mL/g을 대입하여 실제 추출을 실시하고, 추출물의 총 추출수율, eleutheroside E 함량, chlorogenic acid 함량 및 항산화적 특성을 측정된 결과 예측된 값들과 유사한 수준으로 비교되었다(Table 10).

요 약

오가피(*Acanthopanax cortex*)의 유효성분 및 항산화적 특성을 조사하기 위하여 반응표면분석법에 의하여 열수추출 특성을 모니터링 하여 최적추출조건을 설정하였다. 총 추출수율의 최적조건은 추출온도 84.28°C, 추출시간 3.59 hr 및 시료에 대한 용매비 18.37 mL/g이었고, 유효성분 eleutheroside E에 대한 최적조건은 81.16°C, 3.56 hr, 19.06 mL/g, 총 페놀성 화합물에 대한 최적조건은 88.45°C, 4.33 hr, 21.12 mL/g 등으로 각각 나타났다. 각 변수에 대한 회귀식을 도출하여 공정 인자별 오가피의 총 추출수율, 유효성분 eleutheroside E와 chlorogenic acid 함량 및 항산화적 특성에 대한 최적추출조건을 superimposing한 결과, 추출온도 81~88°C, 추출시간 3.5~4.3 hr 및 시료에 대한 용매비 18~21 mL/g의 범위로 각각 예측되었다. 오가피의 유효성분과 항산화적 특성에 대한 열수추출조건의 예측값은 실제값과 유사하였다.

Table 10. Comparison between predicted and observed values for various characteristics of extracts

Characteristics	Predicted value (A) ¹⁾	Observed value (B) ²⁾	B/A×100 (%)
Total extraction yield (%)	62.9	61.0±3.3	97.0
Eleutheroside E content (µg/mL)	36.4	35.7±1.1	98.2
Chlorogenic acid content (µg/mL)	20.9	19.8±2.1	94.5
Total phenolics content (mg%)	31.7	32.9±2.2	103.6
Electron donating ability (%)	66.0	69.4±3.8	105.2
Antioxidant ability	1.3	1.2±0.1	95.2
Reducing sugar content (mg%)	91.7	98.6±4.1	107.5

¹⁾Calculated using the predicted equations for response variables. Given optimal condition of independent variables: extraction temperature 85°C, extraction time 4.0 hr, solvent per sample 20 mL/g. ²⁾Mean values of triplicates determinations. Means±SD.

문헌

1. 한국약학대학협의회 약전분과회. 1999. 대한약전. 제 7개정. 문성사, 서울, 한국. p 1078.
2. 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순. 1998. 완역중약대사전. 정담, 서울, 한국. p 3907-3914.
3. Chung BS, Kim YH. 1986. Studies on the constituents of *Acanthopanax koreanum*. *Kor J Pharmacog* 17: 62-66.
4. Lee WT. 1979. *Eleutherococcus maxim*, *Araliaceae* and *Acanthopanax* sp. in Korea. *Kor J Pharmacog* 10: 103-107.
5. Sawada H, Miyakoshi M, Isoda S, Ida Y, Shoji J. 1993. Saponins from leaves of *Acanthopanax sieboldianus*. *Phytochemistry* 34: 1117-1121.
6. Zhao YQ, Yang SS, Liu JH, Zhao GR. 1993. Chemical constituents of *Acanthopanax senticosus* (Rupt. et Maxim.) Harms. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 18: 428-429.
7. Wang JZ, Tasumura H, Shimura K, Ito H. 1992. Antitumor activity of polysaccharide from a Chinese medicinal herb *Acanthopanax giraldii* Harms. *Cancer Lett* 65: 79-84.
8. Kohda H, Tanaka S, Yamaoka Y. 1990. Saponins from leaves of *Acanthopanax hypoleucos* Makino. *Chem Pharm Bull* 38: 3380-3383.
9. Nishib S, Kinoshita H, Takeda H, Okano G. 1990. Phenolic compounds from stem bark of *Acanthopanax senticosus* and their pharmacological effect in chronic swimming rats. *Chem Pharm Bull* 38: 1763-1765.
10. Wagner H, Heur YH, Obermeier A, Tittle G, Blatt S. 1982. Die DC- and HPLC-analyse der *Eleutherococcus droge*. *Planta Med* 44: 193-198.
11. Yun HS, Kim SO, Kim JH, Cho HI. 1983. Ethoxy-hydroxy-benzoic acid: A platelet antiaggregating substance from *Acanthopanax cortex*. *Kor J Pharmacog* 14: 175-177.
12. Bae EA, Yook CS, Oh OJ, Change SY, Nohara T, Kim DH. 2001. Metabolism of chiisanoside from *Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus* by human intestinal bacteria and its relation to some biological activities. *Biol Pharm Bull* 24: 582-585.
13. Chung BS. 1985. Study on biological activities of diterpene component isolated from *Acanthopanax koreanum*. Amore-pacific scholarship foundation series (5), Research papers, Namin, Seoul, Korea. p 519-523.
14. Hong SS, Hwang JS, Lee SI, Hwang BY, Ha KW, Ze KR, Seung RS, Ro JS, Lee KS. 2001. Isolation and quantitative analysis of acanthoside D from *Acanthopanax cortex*. *Kor J Pharmacogn* 32: 316-321.
15. Hirata F, Fujita K, Ishidura Y, Hosoda K, Ishikawa H. 1996. Hypocholesterolemic effect of sesame lignan in humans. *Atherosclerosis* 122: 135-136.
16. Jwa CS, Yang YT, Koh JS. 2000. Changes in free sugars, organic acids, free amino acids and minerals by harvest time and parts of *Acanthopanax koreanum*. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 43: 106-109.
17. Jwa CS, Yang YT, Koh JS. 2000. Preparation of extract from *Acanthopanax koreanum* by extraction conditions and its chemical compositions. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 44: 24-29.
18. AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. 16th ed. Association of official analytical chemists, Washington DC, USA. p 31.
19. Myers RH. 1971. *Response surface methodology*. Allyn and Bacon Inc, Boston, USA.
20. Wanasundara PKJPD, Shahidi F. 1996. Optimization of hexametaphosphate-assisted extraction of flaxseed proteins using response surface methodology. *J Food Sci* 61: 604-607.
21. Hartha LA, James PB. 1992. *The mathematica handbook*. Compatible with mathematica version 2.0. An imprint of academic press Inc, Harcourt brace & Co, Massachusetts, USA. p 15-511.
22. Kwon JH, Belanger JMF, Pare JRJ. 2003. Optimization of microwave-assisted extraction (MAP) for ginseng components by response surface methodology. *J Agric Food Chem* 51: 1807-1810.
23. Ahn JK, Lee WY, Oh SJ, Park YH. 2000. The contents of chlorogenic acid eleutheroside E in *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Mazim.) Harms. *J Korean For Soc* 89: 216-222.
24. Amerine MA, Ough CS. 1980. *Methods for analyses of musts and wine*. Wiley & Sons, New York, USA. p 176-180.
25. Blios MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
26. Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric Boil Chem* 51: 1333-1339.
27. Miller GL. 1959. Colorimetric method for determination of sugar and related substance. *Anal Chem* 28: 350-352.
28. SAS. 1988. *SAS/STAT User's guide*. Version 6. 4th ed. Cary, NC, USA.
29. Floros JD, Chinnan MS. 1987. Optimization of pimiento pepper lye-peeling process using response surface methodology. *Trans of ASAE* 30: 560-565.
30. Oh SY, Kim SS, Min BY, Chung DH. 1990. Composition of free sugars, free amino acid, non-volatile organic acids and tannins in the extracts of *L. chinensis* M., *A. acutiloba* K., *S. chinensis* B. and *A. sessiliflorum* S. *Korean J Food Sci Technol* 22: 76-81.
31. Yoshino M, Murakami K. 1998. Interaction of iron with polyphenolic compounds: Application to antioxidant characterization. *Anal Biochem* 257: 40-44.

(2008년 1월 28일 접수; 2008년 3월 25일 채택)