

반응표면분석법을 이용한 통통마디 에탄올 추출조건의 최적화

박정욱 · 김해섭 · 박인배 · 신궁원 · 이영재[†] · 조영철
전라남도 해양바이오연구원

Optimization of Ethanol Extraction Conditions from Glasswort (*Salicornia herbacea*) Using Response Surface Methodology

Jeong-Wook Park, Hae-Seop Kim, In-Bae Park, Gung-Won Shin, Young-Jae Lee[†]
and Yeong-Cheol Jo

Jeollanam-do Marine Bio Research Institute, Sinan 535-802, Korea

Abstract

Response surface methodology (RSM) was used to monitor the characteristics of ethanol extracts from glasswort (*Salicornia herbacea*). A central composite design was used to investigate the effects of the independent variables of sample ratio, extraction temperature, and ethanol concentration on the dependent variables color, sugar, salinity, yield, electron donating ability, and total polyphenol content of extracts. The maximum °Brix (8.46) was obtained under specific extraction conditions, with a sample ratio of 7.04 g/100 mL, an extraction temperature of 89.01 °C, and an ethanol concentration of 34.29% v/v. At a sample ratio, extraction temperature, and ethanol concentration of 7.00 g/100 mL, 89.15 °C, and 34.14% v/v, respectively, the salinity was 7.35%. When the sample ratio, extraction temperature, and ethanol concentration were 5.56 g/100 mL, 68.61 °C, and 99.14% v/v, respectively, the maximum electron donating ability was 86.10%. A maximized total polyphenol content of 1,140.15 mg/100 g was found with the following conditions: sample ratio of 8.6 g/100 mL, extraction temperature of 64.19 °C, and ethanol concentration of 71.74% v/v. Overall, the optimal ranges of extraction conditions for effective components of glasswort were 3.38 - 5.33 g/100 mL sample ratio, 55.87 - 76.96 °C, and 25.00 - 67.31% v/v ethanol.

Key words : glasswort, *Salicornia herbacea*, response surface methodology, optimization

서 론

최근에는 육상 생물뿐만 아니라 해양 생물에서 유래한 소재에 대한 기대가 커져 활발한 연구가 진행되고 있는데 이는 해양생물이 육상생물과는 다른 특유의 대사과정과 독특한 환경으로 다양한 생리활성물질의 탐색과 미지의 천연물 개발에 대한 가능성과 기대가 매우 높고 평가되고 있다(1).

통통마디(*Salicornia herbacea*, glasswort)는 명아주과(Chenopodiaceae)에 속하는 일년생 초본으로 통통하고 마디마디가 튀어나온 풀이라 하여 '통통마디'라고 한다(2).

우리나라 남해안과 서해안 갯벌, 해변, 해안사구, 내륙의 염지, 간척지 바닷가의 염습지대 및 폐염전에서 서식하는 염생식물(halophyte) 통통마디는 염류 농도가 높은 곳에서 자라기 때문에 삼투압을 견디기 위해 식물체 내에 육상식물보다 다량의 염분을 저장 및 축적하고 있으며(3), 고농도의 염스트레스에 내성을 가지기 위해 betaine과 같은 양쪽성 물질(zwitterionic compound)을 함유하여 고 삼투압 환경에 적응하는 것으로 알려져 있다(4-6). 또한, 통통마디는 마그네슘, 칼슘, 철 그리고 칼륨 등의 미네랄과 식이섬유를 다량 함유하고 있을 뿐만 아니라 아미노산과 지방산이 풍부하여 숙변, 변비, 소화불량, 위장병, 간염 및 신장병의 치료제로 한방 및 민간에서 널리 사용하여 왔다(2,7).

통통마디에 관한 연구로는 채취 시기 및 부위별 이화학적 특성에 관한 연구(8,9), 빨간 함초의 지질 과산화 및 라디

[†]Corresponding author. E-mail : carriergas@jeonnam.go.kr,
Phone : 82-61-275-1021, Fax : 82-61-275-1026

칼 형성에 대한 항산화 활성(10), 생리활성기능 탐색 및 고콜레스테롤식이에서 항산화방어계에 미치는 영향(11,12), 항산화 작용(13-15), 항당뇨(16,17), 항고지혈증(17), 효소적 가수분해물의 혈당 강하 및 혈청 지질 개선에 관한 연구(18)와 분말의 혼합비율 최적화를 통한 식품개발(19), 발효액의 기능성 연구(20) 및 약리효과에 관한 연구(21)가 이루어졌고, 최근에는 함초 분획물의 암세포 성장억제 및 암 예방물질 탐색에 사용되는 quinone reductase 활성 유도 효과(22)에 대한 연구가 보고되었다.

이같이 통통마디에 대한 관심이 고조되어 다양한 생리적 효능이 밝혀지면서 분말이나 추출물 등의 단순 가공품뿐만 아니라 부가가치를 높이기 위해서는 다양한 생리적 효능의 유용성분 추출물을 이용한 가공식품의 개발이 요구되고 있다.

따라서 본 연구에서는 통통마디의 이용성 증진을 위한 소재화를 목적으로 유용성분에 관한 에탄올 최적 추출조건을 설정하고자 하였으며, 이를 위해서 용매에 대한 시료비, 추출온도, 에탄올 농도에 따른 통통마디의 추출특성을 반응표면분석법을 이용하여 특성을 예측함으로써 다양한 제품 개발을 위한 기초자료를 확립하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 통통마디는 2007년 7월 전남 영광군 염산면에서 채취하여 수도수로 껍질과 이물질 그리고 뿌리를 제거하고 증류수로 헹구어 진공동결건조기(FDU-2100, EYELA, Tokyo, Japan)를 이용하여 건조하였다. 진공동결건조한 통통마디는 0.5 mm 이하로 분쇄하여 0.2 mm PE film에 밀봉하여 -20℃로 냉동보관하면서 시료로 사용하였다.

일반성분 분석

시료의 일반성분 함량분석은 AOAC방법(23)에 따라 수분은 105℃ 상압가열건조법, 회분은 550℃ 직접회화법, 조단백질은 자동질소증류장치(KJELTEC 2200 SYSTEM, Foss, Sweden)를 이용한 Kjeldahl법, 조지방은 자동지방추출장치(SOXTEC AVANTI 2055 SYSTEM, Foss, Sweden)를 이용한 Soxhlet 추출법을 사용하였다. 탄수화물은 시료의 총 중량에서 수분, 단백질, 지방 그리고 회분 함량을 제외한 함량으로 표시하였다.

추출조건 설정을 위한 실험계획

추출조건에 따른 통통마디 에탄올 추출 특성과 추출조건의 최적화를 위해 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)(24)을 사용하였다. 추출조건에 대한 실험계획으로 독립변수는 용매에 대한 시료비(X_1), 추출온도

(X_2), 에탄올 농도(X_3)를 -2, -1, 0, 1, 2의 5단계로 부호화하여 중심합성계획(25)에 따라 Table 1과 같이 18개 실험구로 설정하였고, 반응표면분석을 위해 SAS(statistical analysis system)(26)를 사용하였다. 또한 추출공정에서 독립변수에 의해 영향을 받는 종속변수(Y_n)는 색도(Y_1 - Y_3), 당도(Y_4), 염도(Y_5), 수율(Y_6), 전자공여작용(Y_7), 총 폴리페놀 화합물 함량(Y_8)으로 하였으며, 이를 3회 반복 측정하여 그 평균값을 회귀분석에 사용하였다.

통통마디 추출물의 제조

진공동결건조하여 분말화한 통통마디를 Table 1에 의한 추출비율로 3시간 환류추출하고, 3,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 여과지(Whatman, No. 2)로 여과하고 용매를 제거하기 위해 감압 농축한 후 증류수로 100 mL로 정용하여 기능적 특성 분석용 추출물 시료로 사용하였다.

색도 측정

통통마디 추출물의 색도는 색차계(CM-3600D, Minolta Co., Japan)를 사용하여 명도(lightness, L), 적색도(redness, a), 황색도(yellowness, b)를 3회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다.

당도 측정

당도는 digital refractometer(GMK-701AC, G-WON Co., Korea)를 이용하여 측정하여 °Brix로 나타내었다.

염도 측정

염도는 digital salt meter(TS-391, AS-ONE Co., Japan)를 이용하여 측정하여 %로 나타내었다.

수율 측정

수율(yield)은 추출물을 회전 감압 증발기(N-1000, EYELA, Tokyo, Japan)로 감압 농축한 후 건조기를 이용하여 105℃ 상압가열건조법으로 함량이 될 때까지 건조한 후 추출물 조제에 사용한 원료 건물량에 대한 고품분 수율(%)로 나타내었다.

전자공여작용 측정

추출물의 전자공여작용(electron donating ability, EDA)은 Kang 등(27)의 방법을 변형하여 각각의 추출물에 대한 DPPH(1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)의 전자공여효과로 각 추출물에 의한 환원력을 측정하였다. 즉, 추출물 0.2 mL에 99.9% methanol로 용해한 1×10^{-4} M DPPH용액 3 mL를 가한 후 10초간 진탕한 다음 10분간 실온에 방치하여 반응시킨 후, 분광광도계(UV-1700, Shimadzu Co., Japan)를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여작용의 효과는 추출물의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)

로 표시하였다.

$$EDA(\%) = (1 - \frac{\text{추출물 첨가구의 흡광도}}{\text{추출물 무첨가구의 흡광도}}) \times 100$$

총 페놀성 화합물 함량 측정

각 추출물의 총 페놀성 화합물의 함량은 Folin-Denis의 방법(28)을 변형하여 실시하였다. 즉 시료 100 μL에 증류수 900 μL를 첨가하고 여기에 0.2 N Folin-Ciocalteu's phenol 시약 2 mL를 가하여 상온에서 3분간 방치시킨 다음 1% sodium carbonate 용액 1 mL를 가하여 혼합한 후 진탕하여 1시간 실온에서 방치하여 분광광도계를 사용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 tannic acid를 이용하여 시료와 동일하게 처리하고 표준곡선을 작성하여 함량을 계산하였다.

최적 추출조건의 예측

추출조건별 통통마디 추출물의 최적 추출조건 예측은 당도, 수율, 전자공여작용, 총 폴리페놀 화합물 함량에 대한 반응표면을 superimposing하였을 때 중복되는 부분의 범위에서 예측하였다. 또한 예측된 임의의 점을 설정하여 회귀식에 대입한 후 그 예측된 최적값에 대하여 검증하였다.

결과 및 고찰

일반성분

통통마디의 일반성분은 수분 4.8%, 조단백질 6.2%, 조지방 2.3%, 조회분 29.3%, 탄수화물 57.4%로 나타났다. 통통마디의 전형적인 특징으로 염분과 미네랄을 다량 함유하고 있어 조회분 함량이 높게 나타났으며, 탄수화물 함량도 높은 분포를 보였다. Han과 Kim(13)이 보고한 결과와는 약간의 차이를 보이거나 지역별, 채취시기에 따른 차이로 보인다.

색도에 대한 추출조건의 영향

중심합성계획에 의한 18개구간의 추출조건에 따라 추출 실험을 실시하여 얻어진 색도의 변화는 Table 1에 나타내었으며, 그 결과를 이용한 반응표면 회귀식은 Table 2에 나타내었다. 통통마디 추출물의 L값, a값 및 b값의 R²가 각각 0.8158, 0.9094 및 0.9416으로 L값은 5%, a값과 b값은 1% 이내의 수준에서 유의성이 인정되었으며, 예측된 정상점이 모두 안장점으로 나타나 능선분석을 실시한 결과는 Table 3에 나타내었다. L, a 및 b값의 최대값은 96.59, 26.72 및 88.26로 각각 나타났으며, 각각의 추출조건에 따른 색도에 대한 반응표면분석 결과 얻어진 반응표면은 Fig. 1~Fig. 3에 나타내었다. 색도의 변화에 대한 추출조건의 영향은 Table 4에서와 같이 L값과 a값은 에탄올 농도에 가장 큰

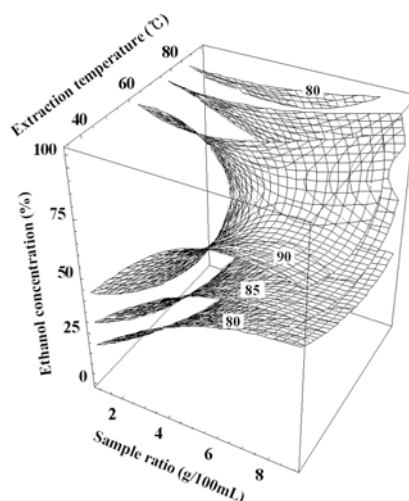


Fig. 1. Response surface plot for Hunter's L value in glasswort extract at constant values (L: 80, 85, 90) as a function of sample ratio, ethanol concentration and extraction temperature.

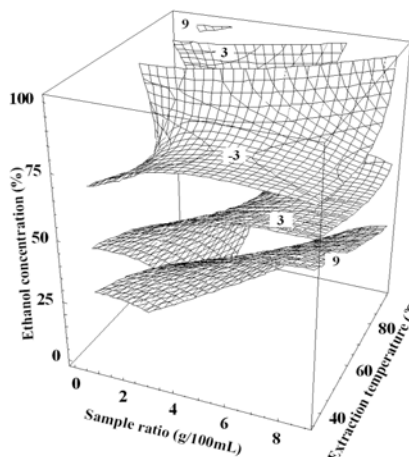


Fig. 2. Response surface plot for Hunter's a value in glasswort extract at constant values (a: -3, 3, 9) as a function of sample ratio, ethanol concentration and extraction temperature.

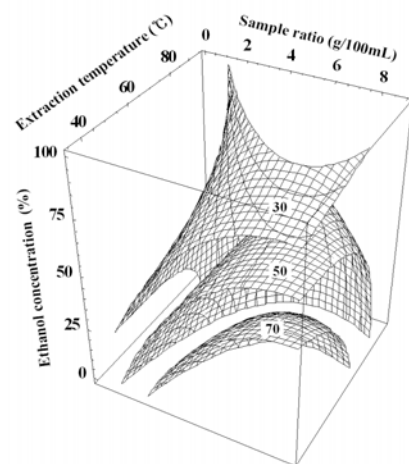


Fig. 3. Response surface plot for Hunter's b value in glasswort extract at constant values (b: 30, 50, 70) as a function of sample ratio, ethanol concentration and extraction temperature.

Table 1. The observed responses in the central composite design for response surface analysis

No ¹⁾	Sample ratio (g/100 mL)	Extraction temperature (°C)	Ethanol concentration (%)	Hunter's color value			Sugar (°Brix)	Salinity (%)	Yield (%)	EDA (%)	Total polyphenol content (mg/100 g)
				L	a	b					
1	3 (-1)	50 (-1)	25 (-1)	78.60	13.28	63.02	2.0	1.6	39.41	61.73	456.60
2	7 (1)	50 (-1)	25 (-1)	68.55	25.11	83.46	5.4	4.4	34.17	44.84	739.89
3	3 (-1)	80 (1)	25 (-1)	85.27	5.15	47.56	6.0	5.0	39.65	55.72	543.19
4	7 (1)	80 (1)	25 (-1)	77.82	11.21	63.01	6.2	5.2	31.49	46.34	886.46
5	3 (-1)	50 (-1)	75 (1)	95.73	-1.80	20.98	7.4	6.4	37.41	72.61	656.55
6	7 (1)	50 (-1)	75 (1)	94.57	-1.85	45.58	4.8	4.0	31.03	69.23	1081.88
7	3 (-1)	80 (1)	75 (1)	94.53	-3.43	35.06	4.0	3.2	36.81	71.67	652.69
8	7 (1)	80 (1)	75 (1)	93.36	-1.29	40.47	5.6	4.6	30.09	71.29	1085.21
9	1 (-2)	65 (0)	50 (0)	95.95	-2.12	20.19	2.6	2.0	43.36	69.04	283.40
10	9 (2)	65 (0)	50 (0)	84.18	4.22	56.68	8.2	7.0	29.54	56.47	1121.42
11	5 (0)	35 (-2)	50 (0)	83.57	7.03	54.44	7.0	6.0	36.31	51.22	836.20
12	5 (0)	95 (2)	50 (0)	81.80	5.00	50.41	7.2	6.2	29.93	61.54	770.70
13	5 (0)	65 (0)	0 (-2)	72.59	16.49	66.95	1.8	1.4	34.89	63.04	710.86
14	5 (0)	65 (0)	100 (2)	81.09	-1.75	36.90	4.2	3.4	11.40	80.68	701.88
15	5 (0)	65 (0)	50 (0)	87.69	2.64	54.40	6.6	5.2	37.96	58.72	949.56
16	5 (0)	65 (0)	50 (0)	87.61	3.27	53.73	6.4	5.2	36.57	57.22	901.63
17	5 (0)	65 (0)	50 (0)	87.82	3.53	54.78	6.4	5.0	36.26	57.97	897.04
18	5 (0)	65 (0)	50 (0)	87.68	3.00	55.42	6.2	5.0	35.65	58.35	889.45

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

영향을 받았으며, b값은 용매에 대한 시료비와 에탄올 농도의 영향이 큰 것으로 나타났으며 추출온도에 대한 영향은 다소 적은 것으로 나타났다.

당도에 대한 추출조건의 영향

통통마디 에탄올 추출물의 당도의 변화에 대한 추출조건의 영향에 대한 반응표면 회귀식은 Table 2에 나타내었으며

회귀식의 R²는 0.7866으로 유의수준 10%이내에서 인정되었다. 반응표면 회귀식에 의해 얻어진 반응표면은 Fig. 4에 나타내었다. 추출조건에 있어 용매에 대한 시료비 7.04 g/100 mL, 추출온도 89.01°C, 에탄올 농도 34.29%에서 8.46의 최대값을 나타내었으며(Table 3), 이러한 최대값을 나타내는 조건을 벗어날수록 당도는 감소하는 것으로 나타났다. 추출조건에 의한 당도는 에탄올 농도에 의해 크게 영향을 받고 있는 것으로 나타났다(Table 4).

Table 2. Polynomial equation calculated by RSM for ethanol extraction conditions of glasswort

Responses	Second order polynomial equations ¹⁾	R ²	Significance
Hunter's L value (Y ₁)	$Y_1=47.40509-5.724167X_1+0.950739X_2+0.835887X_3+0.176688X_1^2+0.010833X_1X_2-0.03795X_1X_3-0.005059X_2^2-0.006113X_2X_3-0.004159X_3^2$	0.8158	0.0333
Hunter's a value (Y ₂)	$Y_2=43.582433+5.0175X_1-0.861887X_2-0.691087X_3-0.105229X_1^2-0.014917X_1X_2-0.0395X_1X_3+0.003646X_2^2+0.006987X_2X_3+0.001855X_3^2$	0.9094	0.0026
Hunter's b value (Y ₃)	$Y_3=39.641579+21.624167X_1-0.099654X_2-1.236123X_3-1.000042X_1^2-0.10075X_1X_2-0.0147X_1X_3-0.002234X_2^2+0.01496X_2X_3-0.001004X_3^2$	0.9416	0.0005
Sugar (Y ₄)	$Y_4=-9.209861+1.410417X_1+0.023778X_2+0.374533X_3-0.0675X_1^2+0.004167X_1X_2-0.0115X_1X_3+0.000689X_2^2-0.002467X_2X_3-0.001392X_3^2$	0.7866	0.0546
Salinity (Y ₅)	$Y_5=-5.746806+0.9625X_1-0.039111X_2+0.322733X_3-0.04125X_1^2+0.005X_1X_2-0.01X_1X_3+0.001044X_2^2-0.002267X_2X_3-0.001104X_3^2$	0.7824	0.0582
Yield (Y ₆)	$Y_6=29.190137-1.1925X_1+0.384193X_2+0.345903X_3+0.034604X_1^2-0.013583X_1X_2+0.00075X_1X_3-0.003085X_2^2+0.0003X_2X_3-0.005101X_3^2$	0.8370	0.0219
Electron donating ability (Y ₇)	$Y_7=94.404546-10.217813X_1+0.025054X_2-0.67028X_3+0.283354X_1^2+0.043792X_1X_2+0.056275X_1X_3-0.002046X_2^2+0.001877X_2X_3+0.005455X_3^2$	0.9037	0.0033
Total polyphenol content (Y ₈)	$Y_8=-796.336648+183.976146X_1+18.903765X_2+12.562507X_3-13.231521X_1^2+0.279875X_1X_2+0.578225X_1X_3-0.12296X_2^2-0.077897X_2X_3-0.083098X_3^2$	0.9263	0.0012

¹⁾X₁: sample ratio (g/100 mL), X₂: extraction temperature (°C), X₃: ethanol concentration (%).

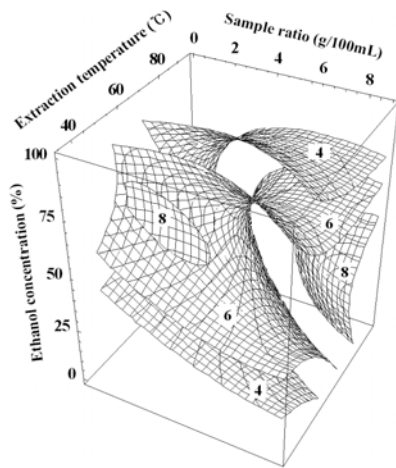


Fig. 4. Response surface plot for sugar in glasswort extract at constant values (sugar : 4, 6, 8 °Brix) as a function of sample ratio, ethanol concentration and extraction temperature.

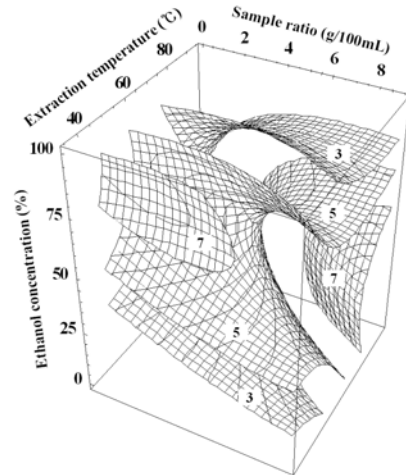


Fig. 5. Response surface plot for salinity in glasswort extract at constant values (salinity: 7, 5, 3%) as a function of sample ratio, ethanol concentration and extraction temperature.

염도에 대한 추출조건의 영향

통통마디는 염 축적형 식물로 토양의 무기이온을 삼투조절에 직접적으로 이용하며, 삼투조절 물질로 glycine betaine을 축적하는 특성을 갖는다는 보고(29)처럼 본 연구에서도 통통마디의 염 농도가 높은 것으로 나타났다. 각각의 추출물에 대한 염도는 Table 1에 나타내었으며, 반응표면은 Fig. 5에 나타내었고, 반응표면 회귀식은 Table 2와 같다. 염도에 대한 추출물의 회귀식은 R²는 0.7824이고, 10% 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점은 안장점으로 최대값은 7.35%였고, 이 때의 추출조건은 용매에 대한 시료비 7.00 g/100 mL, 추출온도 89.15°C, 에탄올 농도 34.14%였다. 추출조건에 따른 염도에 대한 추출특성은 당도와 비슷한 경향을 보였고, Table 4에서와 같이 에탄올 농도에 의한 영향이 큰 것으로 나타났으며, 염도의 최대값을 나타내는 추출조건을 벗어날수록 염도는 감소하는 것으로 나타났다.

수율에 대한 추출조건의 영향

각각의 추출조건에 따라 실험을 실시하여 얻어진 수율의 결과는 Table 1에 나타내었으며, 각각의 결과를 이용한 반응표면 회귀식은 Table 2에 나타내었다. 수율에 대한 회귀식은 R²는 0.8370이고 5%이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점은 안장점으로 능선분석을 실시하여 본 결과, 수율의 최대값은 45.43%이었고, 이 때의 추출조건은 용매에 대한 시료비 1.10 g/100 mL, 추출온도 63.67°C, 에탄올 농도 39.24%였다(Table 3). 각각의 추출조건에 따른 수율에 대한 반응표면분석 결과 얻어진 반응표면은 Fig. 6에 나타내었다. 수율에 대한 추출조건의 영향은 Table 4에서와 같이 에탄올 농도와 용매에 대한 시료비에 큰 영향을 받고 있었으며, 추출온도에 대한 영향은 다소 적은 것으로 나타났다. Park 등(30)과 Lim 등(31)이 보고한 산귀이나 양과 추출물의 가용성 고형분 함량이 에탄올 농도에 의해 영향을 많이 받고 있다는 보고와 유사한 경향을 나타내었다.

Table 3. Predicted levels of ethanol extraction conditions for the maximum responses of variables by the ridge analysis

Responses	Extraction condition			Maximum	Morphology
	X ₁ ¹⁾	X ₂ ²⁾	X ₃ ³⁾		
Hunter's L value	1.03	63.29	55.81	96.59	Saddle
Hunter's a value	6.25	50.87	8.74	26.72	Saddle
Hunter's b value	6.42	48.35	12.39	88.26	Saddle
Sugar (°Brix)	7.04	89.01	34.29	8.46	Saddle
Salinity (%)	7.00	89.15	34.14	7.35	Saddle
Yield (%)	1.10	63.67	39.24	45.43	Saddle
Electron donating ability (%)	5.56	68.61	99.14	86.10	Saddle
Total polyphenol content (mg/100 g)	8.60	64.19	71.74	1140.15	Maximum

¹⁾X₁: sample ratio (g/100 mL).
²⁾X₂: extraction temperature (°C).
³⁾X₃: ethanol concentration (%).

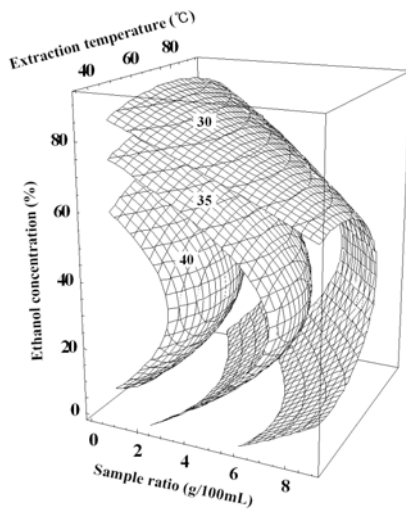


Fig. 6. Response surface plot for extraction yield in glasswort extract at constant values (yield: 40, 35, 30%) as a function of sample ratio, ethanol concentration and extraction temperature.

전자공여작용에 대한 추출조건의 영향

전자공여작용은 자유라디칼에 전자를 공여하는 식품 중의 지방질 산화를 억제하는 목적으로 사용되고, 인체 내에서는 자유라디칼에 의한 노화를 억제시키는 작용으로 이용되고 있다(32). 통통마디 추출조건에 따른 전자공여작용은 Table 1에 나타내었으며, 전자공여작용의 변화에 대한 반응표면은 Fig. 7에 나타내었다. 추출조건에 따른 반응표면 회귀식은 Table 2와 같으며, 회귀식의 R^2 는 0.9037로 1%이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 통통마디 추출물의 전자공여작용은 Table 3과 같이 용매에 대한 시료비 5.56 g/100 mL, 추출온도 68.61°C, 에탄올 농도 99.14%일 때 86.10%로 가장 높은 값을 나타내었다. 추출조건에 대한 영향은 에탄올 농도에 가장 크게 영향을 받고 있으며, 용매에 대한 시료비의 영향도 다소 나타났으나 추출온도의 영향

Table 4. Analysis of variables for regression model of physicochemical properties in extraction condition of glasswort

Extraction conditions	F-ratio		
	X_1	X_2	X_3
Hunter's L value	1.62	0.79	6.87**
Hunter's a value	2.37	2.69	16.87***
Hunter's b value	13.51***	3.37*	18.05***
Sugar (°Brix)	2.59	1.26	4.63**
Salinity (%)	2.42	1.53	4.20**
Yield (%)	2.90*	0.46	6.59**
Electron donating ability (%)	4.01**	0.56	14.90***
Total polyphenol content (mg/100 g)	22.50***	0.80	3.76*

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

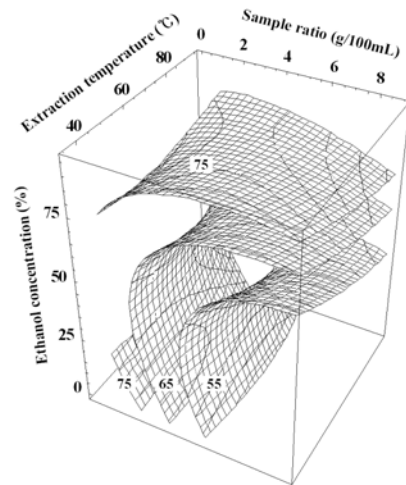


Fig. 7. Response surface plot for electron donating ability in glasswort extract at constant values (EDA: 65, 50, 35%) as a function of sample ratio, ethanol concentration and extraction temperature.

Table 5. Optimum extraction conditions for the maximum responses of sugar, salinity, yield, electron donating ability and total polyphenol content of glasswort by superimposing response surface

Extraction conditions	Range of predicted conditions
Sample ratio (g/100 mL)	3.38 ~ 5.33
Extraction temperature (°C)	55.87 ~ 76.96
Ethanol concentration (%)	25.00 ~ 67.31

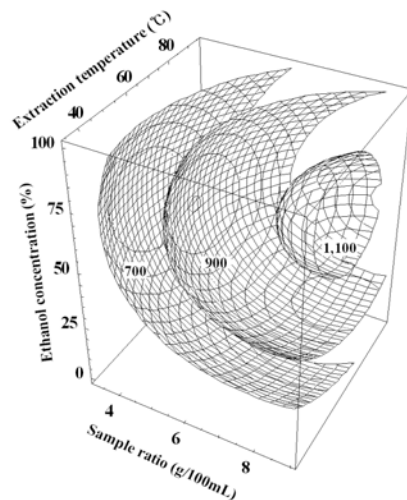


Fig. 8. Response surface plot for total polyphenol content in glasswort extract at constant values (total polyphenol content: 1100, 900, 700 mg/100g) as a function of sample ratio, ethanol concentration and extraction temperature.

은 적은 것으로 나타났다. Song 등(10)은 녹색 함초와 빨간 함초의 열수 추출물과 25% 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성을 비교한 결과 녹색 함초와 빨간 함초 모두 25%

에탄올 추출물이 열수 추출물보다 항산화활성이 더 높게 나타났으며 농도의존적인 증가경향을 나타났다고 보고한 것처럼 열수 추출물보다 에탄올 추출물이 항산화활성이 우수한 것으로 나타났다.

총 페놀성 화합물 함량에 대한 추출조건의 영향

페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사 산물의 하나로써 다양한 구조를 가지며 flavonoid, catechin, tannin류 등으로 크게 구분되며, 항당뇨 작용, 항산화 작용, 노화방지 작용, 고지혈증 억제 및 항종양 작용 등의 생리활성에 관한 연구가 보고되어 있다(33,34). 각각의 추출조건에 따른 페놀성 화합물의 함량은 Table 1에 나타내었다. 반응표면 회귀식은 Table 2와 같으며, 회귀식의 R^2 는 0.9263으로 1%이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었으며, 회귀식에 의한 반응표면은 Fig. 8에 나타내었다. 예측된 정상점은 최대점으로 이 때의 추출조건은 용매에 대한 시료비

Table 6. Predicted and observed values of the response variables at a given condition within the range of optimum extraction conditions

Response variables	Predicted value ¹⁾	Experimental value ²⁾
Sugar (°Brix)	6.36	6.50
Salinity (%)	5.08	5.10
Yield (%)	35.40	33.84
Electron donating ability (%)	61.24	63.23
Total polyphenol content (mg/100 g)	917.22	921.42

¹⁾Calculated using the predicted equations for response variables. Given optimal condition of independent variables : sample ratio 5 g/100 mL, extraction temperature 65°C, ethanol concentration 60%.

²⁾Mean values of triplicates determinations.

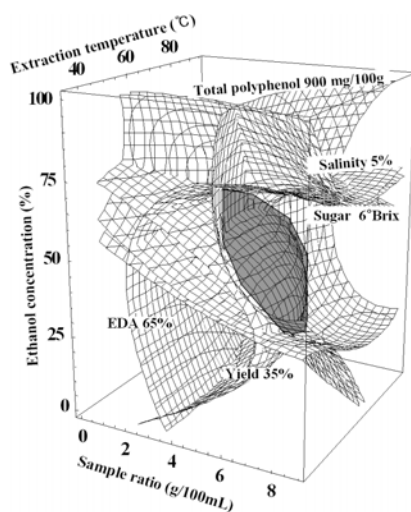


Fig. 9. Superimposed response surface plot for optimization of sugar (6 °Brix), salinity (5%), yield (35%), electron donating ability (65%) and total polyphenol content (900 mg/100g) of extract from glasswort.

8.60 g/100 mL, 추출온도 64.19°C, 에탄올 농도 71.74%로 1140.15 mg/100 g의 값을 나타내었다. 또한 추출조건에 대한 영향은 Table 4에서와 같이 용매에 대한 시료비에 많은 영향을 받고 있는 것으로 나타났으며, 에탄올 농도에 의해서도 영향을 받는 것으로 나타났으나 추출온도에 대해서는 미비한 것을 알 수 있었다.

최적 추출조건의 예측

통통마디의 에탄올 추출조건을 설정하기 위하여 조건별 추출물의 당도, 수율, 전자공여작용 및 총 페놀화합물 함량에 대한 반응표면을 superimposing하여 중복되는 부분으로 최적 추출조건 범위를 예측하였다. 그 결과 추출범위로서 Table 5에서와 같이 용매에 대한 시료비 3.38~5.33 g/100 mL, 추출온도 55.87~76.96°C, 에탄올 농도 25~67.31%로 나타났으며, Table 6에서와 같이 이 범위내의 임의의 조건 즉, 용매에 대한 시료비 5 g/100 mL, 추출온도 65°C, 에탄올 농도 60%에서 추출물의 당도 6.36 °Brix, 염도 5.08%, 수율 35.40%, 전자공여작용 61.24% 및 총 페놀성 화합물 917.22 mg/100 g으로 예측되었으며, 실제 실험을 통해 얻어진 값과 매우 유사한 값을 얻었다.

요 약

본 실험은 통통마디의 에탄올 추출조건에 따른 당도, 수율, 전자공여작용 및 총 페놀화합물 함량에 대해 반응표면 분석법을 이용하여 추출조건을 최적화하였다. 중심합성계획에 따라 용매에 대한 시료비(1~9 g/100 mL), 추출온도(35~95°C) 및 에탄올 농도(0~100%)를 달리하였을 때 반응표면 회귀식의 R^2 는 당도, 수율, 전자공여작용 및 총 페놀화합물 함량에서 각각 0.7866($p<0.1$), 0.8370($p<0.05$), 0.9037($p<0.01$) 및 0.9263($p<0.01$)로 나타났다. 추출조건별 당도, 수율, 전자공여작용 및 총 페놀화합물 함량에 대한 반응표면을 superimposing하여 얻은 최적 추출조건 범위는 용매에 대한 시료비 3.38~5.33 g/100 mL, 추출온도 55.87~76.96°C, 에탄올 농도 25~67.31%로 나타났다. 최적 추출조건 범위내의 임의의 조건인 용매에 대한 시료비 5 g/100 mL, 추출온도 65°C 및 에탄올 농도 60%를 회귀식에 대입하여 얻은 예측값은 당도 6.36 °Brix, 염도 5.08%, 수율 35.40%, 전자공여작용 61.24% 및 총 페놀성 화합물 917.22 mg/100 g으로 예측되었으며, 실제 실험을 통해 얻어진 값은 당도 6.50 °Brix, 염도 5.10%, 수율 33.84%, 전자공여작용 63.23% 및 총 페놀성 화합물 921.42 mg/100 g으로 매우 유사하게 나타났다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부 지방기술혁신 사업에 의한 연구비로 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Park, J.C. and Choi, J.W. (1996) Screening of marine natural products on inhibitory effect of the formation of lipid peroxidation. *Kor. J. Pharmacogn.*, 27, 117-122
- Jung, P.G. (1994) Vegetables of herb medicine. Hong Shin Co., Seoul, Korea, p.178
- Kim, C.S. and Song, T.G. (1993) Ecological studies on the halophyte communities at western and southern coasts in Korea. *Korean J. Ecol.*, 6, 167-176
- Park, S. (1995) Effects of glycine betaine and related osmolytes on growth of osmotically stressed *Yersinia enterocolitica*. *Agric. Chem. Biochem.*, 38, 218-223
- Graham, J. and Wilkinson, B. (1992) *Staphylococcus aureus* Osmoregulation: Roles for choline, glycine betaine, proline and taurine. *J. Bacteriol.*, 174, 2711-2716
- Lee, C.H., Kim, I.H., Kim, Y.E., Oh, S.W. and Lee, H.J. (2004) Determination of Betaine from *Salicornia herbacea* L. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 33, 1584-1587
- Lee, Y.S., Lee, H.S., Shin, K.H., Kim, B.K. and Lee, B.K. (2004) Constituents of the halophyte *Salicornia herbacea*. *Arch. Pharm. Res.*, 27, 1034-1036
- Cha, J.Y., Jeong, J.J., Kim, Y.T., Seo, W.S., Yang, H.J., Kim, J.S. and Lee, Y.S. (2006) Detection of chemical characteristics in hamcho (*Salicornia herbacea* L.) according to harvest periods. *J. Life Sci.*, 16, 683-690
- Shin, K.S., Boo, H.O., Jeon, M.W. and Ko, J.Y. (2002) Chemical components of native plant, *Salicornia herbacea* L. *Korean J. Plant Res.*, 15, 216-220
- Song, H.S., Kim, D.P., Jung, Y.H. and Lee, M.K. (2007) Antioxidant activities of red hamcho (*Salicornia herbacea* L.) against lipid peroxidation and the formation of radicals. *Korean J. Food Nutr.*, 20, 150-157
- Lee, J.T. and An, B.J. (2002) Detection of physical activity of *Salicornia herbacea*. *Korean J. Herbol.*, 17, 61-69
- Kim, K.R., Choi, J.H., Lee, S.K., Woo, N.H. and Choi, S.W. (2006) Effect of enzymatic hydrolysate of hamcho (*Salicornia herbacea*) on antioxidative defense system in rats fed high cholesterol diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 35, 1356-1362
- Han, S.K. and Kim, S.M. (2003) Antioxidative effect of *Salicornia herbacea* L. grown in closed sea beach. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 32, 207-210
- Kim, J.B., Choe, S.M., Choe, K.H., Lim, S.H. and Chai, S.J. (2007) Functional components of halophyte: antioxidant substances in *Salicornia herbacea* L. *J. Fish. Mar. Sci. Edu.*, 19, 197-205
- Jeon, S.M., Kim, S.I., Ahn, J.Y. and Park, S.M. (2007) Antioxidative properties of extract/fractions of *Suaeda asparagoides* and *Salicornia herbacea* extracts (I). *J. Soc. Cosmet. Scient. Korea*, 33, 145-152
- Bang, M.A., Kim, H.A. and Cho, Y.J. (2002) Hypoglycemic and antioxidant effect of dietary hamcho powder in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 31, 840-846
- Park, S.H., Ko, S.K., Choi, J.G. and Chung, S.H. (2006) *Salicornia herbacea* prevents high fat diet-induced hyperglycemia and hyperlipidemia in ICR mice. *Arch. Pharm. Res.*, 29, 256-264
- Kim, K.R., Choi, J.H., Woo, M.H., Kim, Y.H. and Choi, S.W. (2008) Effects of enzymatic hydrolysates from hamcho (*Salicornia herbacea* L.) on blood glucose and serum lipid composition in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 37, 170-176
- Jang, M.S. and Park, J.E. (2006) Optimization of ingredient mixing ratio for preparation of sulgidduk with saltwort (*Salicornia herbacea* L.). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 35, 641-648
- Song, T.C., Lee, C.H., Kim, Y.E., Kim, I.H., Han, D.S. and Yang, D.H. (2007) The functionality of the saltwort (*Salicornia herbacea* L.) extract fermented juice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 36, 395-399
- Jo, Y.C., Ahn, J.H., Chon, S.M., Lee, K.S., Bae, T.J. and Kang, D.S. (2002) Studies of pharmacological effects of glasswort (*Salicornia herbacea* L.). *Korean J. Med. Crop Sci.*, 10, 93-99
- Jung, B.M., Park, J.A. and Bae, S.J. (2008) Growth inhibitory and quinone reductase induction activities of *Salicornia herbacea* L. fractions on human cancer cell lines in vitro. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 37, 148-153
- A.O.A.C. (2000). Official Methods of Analysis. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C. U.S.A.
- Myers, R.H. (1971) Response surface methodology, Allyn and Bacon Inc., Boston, 127-139
- Lee, G.D., Lee, J.E. and Kwon, J.H. (2000) Application

- of response surface methodology in food industry. Food Sci. Ind., 33, 33-45
26. SAS Institute, Inc. (1990) SAS User's Guide. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, U.S.A.
27. Kang, Y.H., Park, Y.K. and Lee G.D. (1996) The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. Korean J. Food Sci. Technol., 28, 232-239
28. Folin, O. and Denis, W. (1912) On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. J. Biol. Chem., 12, 239-249
29. Choi, S.C., Bae, J.J. and Choo, Y.S. (2004) Inorganic and organic solute patten of costal plants, Korea. Korean J. Ecol., 25, 101-107
30. Park, N.Y., Lee, G.D., Jeong, Y.J. and Kwon, J.H. (1998) Optimization of extraction conditions for physicochemical properties of ethanol extracts from *Chrysanthemum boreale*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 27, 585-590
31. Lim, T.S., Do, J.R., Kwon, O.J. and Kim, H.K. (2007) Monitoring on extraction yields and functional properties of onion (*Allium cepa*) extracts by using response surface methodology. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 36, 105-110
32. Lee, K.D., Chang, H.K. and Kim, H.K. (1997) Antioxidative and nitrite scavenging activities of edible mushrooms. Korean J. Food Sci. Technol., 29, 432-436
33. Cha, J.Y. and Cho, Y.S. (1997) Effects of hesperidin, naringin and their aglycones on the *in vitro* assay phosphatidate phosphohydrolase, and on the proliferation in cultured human hepatocytes HepG2 cells. Agric. Chem. Biotechnol., 40, 577-582
34. Cha, J.Y. and Cho, Y.S. (1999) Effect of potato polyphenolics on lipid peroxidation in rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 28, 1131-1136

(접수 2009년 2월 5일, 채택 2009년 5월 22일)