

## 쇠비름의 유용성분 환류추출공정의 최적화

조인희<sup>2</sup> · 김태연<sup>1</sup> · 마지복<sup>1</sup> · 이진주<sup>1</sup> · 이효정<sup>1</sup> · 최용희<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>경북대학교 식품공학부 · <sup>2</sup>경북대학교 식품생물산업연구소

### Optimization of Solvent Extraction Process on the Functional Components from *Portulaca oleracea* Using a Response Surface Methodology

In-Hee Jo<sup>2</sup>, Tae-Yeon Kim<sup>1</sup>, Ji-Bock Ma<sup>1</sup>, Jin-Ju Lee<sup>1</sup>, Hyo-Jeong Lee<sup>1</sup>, and Yong-Hee Choi<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>School of Food Science & Biotechnology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

<sup>2</sup>Food & Bio-Industry Research Institute, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

#### Abstract

Various functional and useful components in *Portulaca oleracea* were extracted with ethanol and the optimum solvent conditions were set by monitoring of response surface methodology(RSM). A central composite design for optimization was applied to investigate the effects of the three independent variables of extraction temperature, ethanol concentration, and extraction time, on dependent variables including total phenolics, electron-donating ability, brown color and total flavonoids of *Portulaca oleracea*. The content of total phenol was essentially unaffected by extraction time or extraction temperature, but it was highly influenced by ethanol concentration. The maximum total phenol content was 31.70mg/mL obtained at 45.84% of ethanol concentration, 79.66°C, and after 2.67hr of extraction. Electron-donating ability (EDA) was affected by ethanol concentration and the maximum EDA was 74.67mg/mL at 52.95% ethanol concentration, 52.33°C and 4.84hr of extraction time. The browning color was rarely affected by extraction time but, it was highly influenced by ethanol concentration and extraction temperature. The maximum extent of browning color was obtained at 97.75% of ethanol concentration, 65.88°C and 2.93hr of extraction time. The content of total flavonoid was significantly influenced by extraction time, and the maximum total flavonoid level was 58.28mg/mL obtained at 96.62% ethanol concentration, 61.87°C after 3.70hr of extraction. As a result, The optimal conditions for effective extraction were predicted as follows, 70.3% of ethanol concentration, 62.1°C of extraction temperature and 3.3hr of extraction time.

**Key words** : *Portulaca oleracea*, Purslane, Response Surface Methodology, Optimization

## 서 론

쇠비름(Common purslane)은 쇠비름과(*Portulacaceae*)에 속하는 한해살이풀로써 길가나 밭에 15~30cm 정도 자란다(장예, 2009). 잎의 모양이 말의 이빨처럼 생겼다고 해서 마치채(馬齒菜)이라고 불리기도 하고 음양오행설에서 말하는 다섯 가지 기운을 모두 갖춘 식물이라 하여 오행채(五行采)라 불리기도 한다(박소해 등, 2011). 이 외에도 장명채, 돼지풀 등으로 알려져 있다. 어린잎은 여름, 가을에 채취하여 끓는 물에 데쳐 건조 후 섭취하는데 죽이나 나물, 양념으로 쓰기도 하고 전초는 약용으로 이용한다(한용봉, 2007).

성분으로는 가식부 100 g 중 단백질 2.9 g, 지질 0.4 g, 당질 7.4 g, 조섬유 2.5 g, Ca 126.0 mg, P 46.0 mg, Fe 5.4 mg, Vitamin A 4210 IU, Vitamin B1 0.08 mg, Vitamin B2 0.12 mg, Vitamin C 30 mg, 엽산 85.3  $\mu$ g, Vitamin E 0.44 mg가 함유되어 있으며 화학성분으로 L-noradrenaline, dopamine, dopa, 칼륨, organic acid, glutamic acid, aspartic acid, alanine, monoterpene 배당체인 portuloside A가 함유되어 있다(장뢰 등, 2009).

전체를 약용할 수 있는 쇠비름은 해열해독, 양혈지혈, 부기완화, 지사 등의 효능이 있으며 최근 균에 대한 항균 효과, 해독효과 등이 보고되었다(배기환, 2001). 또한 쇠비름이 이질간균, 티푸스균, 대장균, 포도상균 등에 대해 억제작용을 한다는 보고가 있다(Shin, 2006).

따라서 본 연구에서는 쇠비름의 유용성분의 최적추출조건을 설정함으로써 추출공정에 있어서 효율성을 높이고자 했으며, 이에 따른 시료에 대한 추출 시간, 추출 온도, 용매의 농도에 따른 유용성분을 반응표면 분석법으로 살펴보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1) 실험재료

본 실험에서 사용한 쇠비름은 경북 부계면 가호리에서 재배 후 열풍건조 시킨것을 2010년 5월에 구입하

였으며, 이 건조 쇠비름을 분쇄하여 분말화한 후 표준망체(40 mesh)를 통과한 분말을 냉동 보관하면서 실험에 사용하였다.

### 2) 환류 추출 공정 최적화를 위한 실험 계획

반응표면분석법(response surface methodology, RSM)을 통해 환류추출을 이용한 두릅의 최적 추출조건을 확립하였고, 예비실험의 결과를 중심으로 중심합성계획(central composite design)을 실시하였다. 추출공정의 독립변수( $X_n$ )는 에탄올 농도( $X_1$ )와 추출 온도( $X_2$ ), 추출 시간( $X_3$ )에 대한 실험 범위를 선정하여 5단계로 나누었으며 Table 1에 나타내었다. 총 페놀 함량, 전자공여능, 총 플라보노이드 함량, 갈색도 함량으로 3회 반복 측정하여 각각 회귀분석을 실시하였다. SAS (statistical analysis system, Version 9.1) program을 이용하여 회귀분석에 의한 최적조건을 예측하였으며 회귀분석 결과 임계점이 최대점 혹은 최소점이 아니고 안장점일 경우에는 능선분석을 통하여 최적점을 구하였다. 회귀식은 다음과 같다.

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{11}X_1^2 + b_{21}X_1X_2 + b_{22}X_2^2 + b_{23}X_2X_3 + b_{33}X_3^2$$

추출특성의 모니터링과 최적조건범위 예측은 각 변수의 contour map을 이용하여 분석하였다.

각 공정의 방법에 따른 용매 추출 시험은 Fig. 1에 나타낸 바와 같다.

### 3) Total phenol 측정

각 추출물의 총 페놀 함량 측정은 Folin-Denis법(Amerine and Ough, 1980)에 따라 비색정량 하였다. 일정비로 희석한 sample과 blank 100  $\mu$ L 각각에 Folin-Ciocalteu's reagent (Sigma-Aldrich Chemical Co., U.S.A) 50  $\mu$ L 와 2%  $Na_2CO_3$  300  $\mu$ L을 넣어 실온에서 15분간 방치한 후 1 mL의 증류수를 가하여 UV-visible spectrophotometer (TU-1800 Human Crop Co., Korea)를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 여기서 표준물질로 Gallic acid (Sigma-Aldrich Chemical Co. USA)를 농도별로 2000, 1500, 1000, 500

μL를 조제하여 standard curve를 작성한 후 정량분석 하였다.

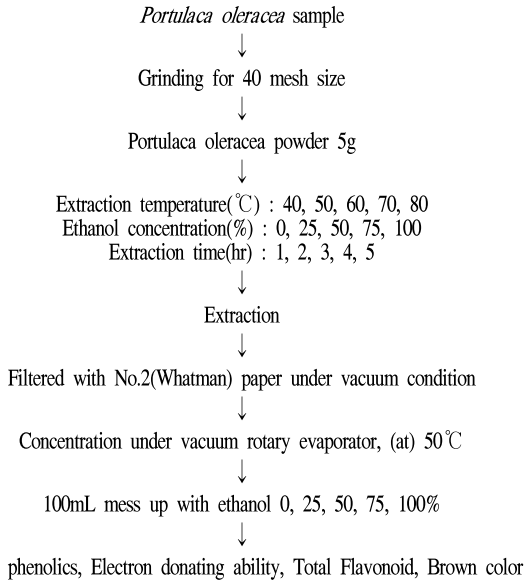


Fig. 1. Scheme for extraction process from *Portulaca oleracea*.

4) Total Flavonoid 측정

쇠비름에 있는 hesperdin과 같은 수용성 flavonol 배 당체는 flavonoid에 알칼리를 작용시키면 황색을 나타낸다. Total flavonoid 측정은 sample 70 μL에 50% EtOH 430 μL와 5% NaNO<sub>2</sub> 50 μL를 넣은후 실온에서 1시간 방치한 뒤 10% Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·9H<sub>2</sub>O 50 μL를 넣고 6분간 더 실온에 방치한 다음 1N NaOH 500 μL를 넣고 UV/Vis spectrophotometer 510 nm에서 흡광도를 측정하였다(Baker et al., 2009). 이때의 흡광도를 측정하여 표준곡선으로부터 시료 중의 총 flavonoid 함량을 산출하였다.

5) 전자공여능 측정 (Electron donating ability, EDA)

전자공여능이 있는 성분은 활성라디칼에 전자를 주고 식품 중의 지방질을 산화하기 위한 목적으로 사용되며 인체 내에서는 활성라디칼에 의하여 노화를 억제시키는 작용을 한다(Kang et al., 1996). 전자공여능(Electron donating ability, EDA)은 DPPH 용액을 이용한 DPPH 라디칼 소거법으로 측정 하였다. DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl)는 항산화능을

가진 물질의 전자공여능에 의해서 환원되는데, 환원되면서 탈색되는 정도에 따라 그 물질의 항산화능을 측정할 수 있다. 본 실험에서는 DPPH가루 12 mg을 EtOH absolute 100 mL에 넣고 2시간동안 magnetic bar로 용해시켜 DPPH용액을 만든다. 이때 용액은 520 nm의 흡광도에서 0.95~0.99가 되도록 조정해 주어야 한다. Sample과 Blank(본 실험에서는 Methanol용액을 이용하였다) 200 μL 각각에 DPPH용액 800 μL 씩 넣은 후 vortex 한 뒤에 30분 동안 암실에 보관해둔 후 UV/Vis spectrophotometer 520 nm에서 흡광도를 측정 하였다. 각각의 흡광도를 구하여 차이를 백분율(%)로 표시하면 전자공여능을 측정 할 수 있다(Cheng and Yu, 2006).이때 EDA구하는 식은 다음과 같다.

$$EDA(\%) = \left(1 - \frac{\text{sample 흡광도}}{\text{blank 흡광도}}\right) \times 100 (\%)$$

Table 1. Central composite design for optimization of ethanol extraction conditions using response surface methodology

Exp No.	Independent variables		
	Ethanol concentration(%)	Extraction temperature(°C)	Extraction time(hr)
1	25(-1)	50(-1)	2(-1)
2	25(-1)	50(-1)	4( 1)
3	25(-1)	70( 1)	2(-1)
4	25(-1)	70( 1)	4( 1)
5	75( 1)	50(-1)	2(-1)
6	75( 1)	50(-1)	4( 1)
7	75( 1)	70( 1)	2(-1)
8	75( 1)	70( 1)	4( 1)
9	50( 0)	60( 0)	3( 0)
10	50( 0)	60( 0)	3( 0)
11	0(-2)	60( 0)	3( 0)
12	100( 2)	60( 0)	3( 0)
13	50( 0)	40(-2)	3( 0)
14	50( 0)	80( 2)	3( 0)
15	50( 0)	60( 0)	1(-2)
16	50( 0)	60( 0)	5( 2)

6) 갈색도 측정

갈색도는 쇠비름의 갈색화 반응 생성물질의 농도를 나타낸다. Sample 100 μL에 증류수 900 μL를 넣은

후 420 nm에서 UV/Vis spectrophotometer로 측정하였다. 일부 갈색화 반응들은 항산화 효과를 나타낸다 (Choi et al., 2003).

결과 및 고찰

1) 추출조건이 total phenolics에 미치는 영향

쇠비름의 각 추출 조건에 따라 쇠비름 추출물의 총 페놀 함량 측정결과에 대한 회귀식의 R<sup>2</sup>값은 0.9436이며 Table 2에 나타내었다. 추출조건이 각각 다른 total phenolics의 변화는 Fig. 2(A)에 나타난 것과 같이 추출온도와 추출시간에 영향을 덜 받았고 에탄올 농도에는 영향을 받았다. 추출온도가 고정되었을 때 추출농도가 증가할수록 total phenolics 함량이 증가하는 경향을 보였으며 추출시간이 고정되었을 때 농도가 증가할수록 total phenolics 함량은 증가하다 감소하는 경향을 보였다. 반응표면 분석으로 예측된 정점은 최대점으로 Table 3에 나타난 바와 같이 에탄올 농도는 46.23%, 추출온도는 92.36℃, 추출시간은 2.49hr에서 최대값인 32.17 mg/mL가 나타났다.

으며 반응표면 분석의 결과에 의해 예측된 정상점은 Table 3에 나타난 바와 같이 안장점이고 에탄올 농도 96.62%, 추출온도 61.87℃, 추출시간 3.70hr에서 최대값이 58.28 mg/mL로 나타났다.

3) 추출조건이 전자공여능에 미치는 영향

각 추출조건에 따른 전자공여능은 에탄올 농도에 가장 영향을 많이 받았다. 추출온도가 고정되었을 때 에탄올 농도가 높아질수록 전자공여능도 증가하였으며 추출시간이 고정되었을 때는 에탄올 농도가 높아질수록 전자공여능은 증가하다가 감소하였다. 반응표면 분석 결과 예측된 정상점은 안장점으로 Table 3에 나타난 바와 같이 에탄올 농도 52.95%, 추출온도 52.33℃, 추출 시간 4.64hr에서 최대값 74.67%로 나타났다. 전자공여능은 에탄올 농도 50% 부근에서 추출시 가장 높게 나타났는데 이는 total phenolics 함량의 추출특성과 유사한 경향을 보였다. 이는 항산화 활성이 폴리 페놀함량과 관련이 있다는 것을 나타내고 있다. 전자공여능에 대한 회귀식은 Table 2에 나타냈으며, 이 회귀식의 R<sup>2</sup> 값은 0.8407로 나타났다.

Table 2. Polynomial equation calculated by RSM program for extraction of *Portulaca oleracea*

Responses	The second order polynomial <sup>1)</sup>	R <sup>2</sup>	significance
Total phenolics(Y <sub>1</sub> )	-9.704280+0.104402X <sub>1</sub> +0.571332X <sub>2</sub> +10.437500X <sub>3</sub> -0.003696X <sub>1</sub> <sup>2</sup> +0.001141X <sub>2</sub> X <sub>1</sub> -0.002792X <sub>2</sub> <sup>2</sup> +0.052880X <sub>3</sub> X <sub>1</sub> -0.043478X <sub>3</sub> X <sub>2</sub> -1.777174X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	0.9463	0.0036
Total flavonoid(Y <sub>2</sub> )	-32.511130-0.175571X <sub>1</sub> +1.407820X <sub>2</sub> +20.616438X <sub>3</sub> -0.000562X <sub>1</sub> <sup>2</sup> +0.001484X <sub>2</sub> X <sub>1</sub> -0.007905X <sub>2</sub> <sup>2</sup> +0.116895X <sub>3</sub> X <sub>1</sub> -0.138699X <sub>3</sub> X <sub>2</sub> -2.851027X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	0.9715	0.0006
Electron donating ability(Y <sub>3</sub> )	51.006635+0.142938X <sub>1</sub> +0.677083X <sub>2</sub> -0.359338X <sub>3</sub> -0.005110X <sub>1</sub> <sup>2</sup> +0.008691X <sub>2</sub> X <sub>1</sub> -0.011121X <sub>2</sub> <sup>2</sup> -0.010541X <sub>3</sub> X <sub>1</sub> -0.013071X <sub>3</sub> X <sub>2</sub> +0.388940X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	0.8407	0.0699
Brown color(Y <sub>4</sub> )	0.457333-0.005883X <sub>1</sub> -0.0061773X <sub>2</sub> -0.0496396X <sub>3</sub> +0.000066467X <sub>1</sub> <sup>2</sup> +0.000077500X <sub>2</sub> X <sub>1</sub> +0.00063750X <sub>2</sub> <sup>2</sup> +0.000051667X <sub>3</sub> X <sub>1</sub> -0.000095833X <sub>3</sub> X <sub>2</sub> +0.006083X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	0.9638	0.0012

<sup>1)</sup>X<sub>1</sub>: ethanol concentration(%) X<sub>2</sub>: extraction temperature(℃) X<sub>3</sub>: extraction time (hr)  
 Y=b<sub>0</sub>+b<sub>1</sub>X<sub>1</sub>+b<sub>2</sub>X<sub>2</sub>+b<sub>3</sub>X<sub>3</sub>+b<sub>11</sub>X<sub>1</sub><sup>2</sup>+b<sub>21</sub>X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>+b<sub>22</sub>X<sub>2</sub><sup>2</sup>+b<sub>23</sub>X<sub>3</sub>X<sub>2</sub>+b<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>2</sub>+b<sub>2</sub>X<sub>3</sub><sup>2</sup>

2) 추출조건이 total flavonoid에 미치는 영향

각 추출조건에 따른 총 플라보노이드 함량 변화에 대한 회귀식은 Table 2에 나타나 있으며, 회귀식의 R<sup>2</sup>값은 0.9715로 나타났다. 총 플라보노이드 함량은 Fig. 2에서 나타난 것과 같이 추출시간에 영향을 받았

4) 추출조건이 갈색도에 미치는 영향

쇠비름의 각 추출 조건에 따라 갈색도를 측정 한 결과에 대한 회귀식은 Table 2에 나타난 바와 같으며, R<sup>2</sup>값은 0.9638로 나타났다. 갈색도는 추출시간에는 거의 영향을 받지 않았고, 에탄올 농도와 추출온도에

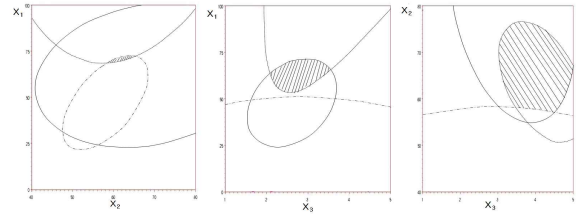
쇠비름의 유용성분 환류추출공정의 최적화

영향을 받았다. Table. 3에서는 반응표면 분석의 결과로 예측된 정상점이 최소값임을 알 수 있었으며 또한 Table 3에 나타난 바에 같이 에탄올 농도는 97.75%, 추출온도는 65.88℃, 추출시간은 2.93hr에서 최대값이 0.80 O.D.로 나타났다.

**Table 3. Predicted values of optimum condition for the maximized and minimized responses to variables by the ridge analysis by their response surface**

Responses	Extraction condition <sup>1)</sup>				Morphology
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Estimated Responses	
Total phenolics (mg/mL)	2.49	46.23	92.36	32.17	maximum
Total flavonoid (mg/mL)	3.70	96.62	61.87	58.28	saddle point
Electron donating ability(%)	4.64	52.95	52.33	74.67	saddle point
Brown color(O.D)	2.93	97.75	65.88	0.8	minimum

<sup>1)</sup>X<sub>1</sub> : ethanol concentration (%),  
X<sub>2</sub> : extraction temperature(°C),  
X<sub>3</sub> : extraction time (hr)

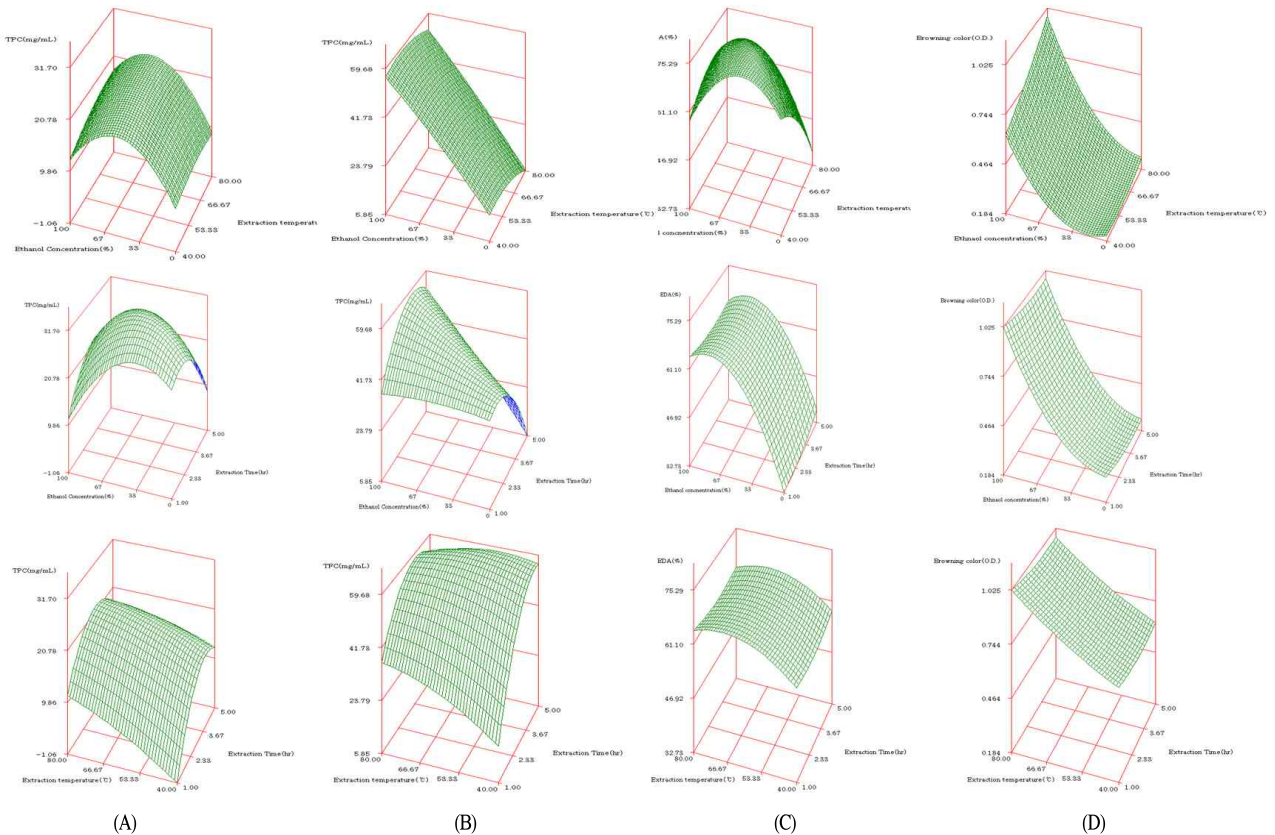


**Fig. 3. Contour maps for the effects of extraction conditions on *aralia elata* extraction. Total phenolics(A), Total flavonoid(B), Electron donating ability(C).**

**Table 4. Regression analysis for regression model of variables in Extraction condition**

Responses	F-Ratio		
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>
Total phenolics (mg/mL)	15.49	6.21**	9.02
Total flavonoid (mg/mL)	36.16	3.48*	16.56**
Electron donating ability(%)	5.02	2.40	0.15
Brown color(O.D)	34.74	4.55	0.34

\*\*P < 0.001    \*P < 0.05    P < 0.1



**Fig. 2. Contour maps for the effect of extraction conditions on Total phenolics(A), Total flavonoid(B), Electron donating ability(C), Brown color(D).**

**Table 5. The optimum condition of extraction conditions for response variables by superimposing of contour maps for *aralia elata***

	Leaching condition	Optimum range	Optimum condition
X <sub>1</sub>	Etanol concentration(%)	69.10-71.60	70.30
X <sub>2</sub>	Extraction temperature(°C)	58.50-65.60	62.10
X <sub>3</sub>	Extraction time(hr)	3.01-3.52	3.30

5) 최적 추출 조건 예측

추출 시간과 에탄올 농도, 추출 온도를 추출 조건으로 하여 이로부터 추출 조건 최적화를 위해 추출물의 특성인 total phenolics(Y<sub>1</sub>), total flavonoid(Y<sub>2</sub>), electron donating ability(Y<sub>3</sub>), brown color(Y<sub>4</sub>)의 contour map을 superimposing하여 Fig. 3에 나타낸 바와 같이 최적 추출조건 범위를 예측하였다. 추출공정의 최적 추출 조건은 Table 5에서와 같이 에탄올농도 70.3%, 추출온도 62.1°C, 추출시간 3.3hr로 예측되었다.

요 약

쇠비름내의 여러 가지 기능성 유용성분을 효율적으로 추출하기 위해서, 반응표면분석법(RSM)을 이용하여 유용 성분 용매 추출 조건을 최적화하였다. 쇠비름을 에탄올에 추출하여 반응표면 분석법으로 모니터링하여 최적 용매 조건을 설정하였다. 중심합성계획법에 따라 에탄올 농도 (X<sub>1</sub>), 추출 온도 (X<sub>2</sub>), 추출 시간 (X<sub>3</sub>)를 요인변수로 설정하고 총 페놀 함량(Y<sub>1</sub>), 총 플라보노이드 함량(Y<sub>2</sub>), 전자공여능(Y<sub>3</sub>), 갈색도(Y<sub>4</sub>)을 종속 변수로 하였다. 쇠비름의 추출 조건에 따라 총 페놀 함량 측정결과, 총 페놀함량은 추출온도와 추출시간에 영향을 덜 받았고 에탄올 농도에는 영향을 받았고, 에탄올 농도는 46.23%, 추출온도는 92.36°C, 추출시간은 2.49hr에서 최대값인 32.17 mg/mL로 나타났다. 각각의 추출조건에 따른 추출물들의 총 플라보노이드 함량 변화는 추출시간에 따라 영향을 받았으며, 에탄올 농도는 96.62%, 추출온도 61.87°C, 추출시간 3.70hr에서 최대값이 58.28 mg/mL로 나타났다.

쇠비름 추출물의 최적 추출조건을 contour map을 superimposing하여 예측한 결과, 최적 추출조건은 에탄올농도 70.3%, 추출온도 62.1°C,추출시간 3.3hr로 예측되었다. 각 추출조건에 따른 전자공여능(EDA)을 측정된 결과 에탄올 농도에 가장 영향을 많이 받았고, 에탄올 농도 52.95%, 추출온도 52.33°C, 추출시간 4.64hr에서 최대값 74.67 mg/mL로 나타났다. 각 추출 조건에 따라 갈색도(browning color)를 측정된 결과, 갈색도는 추출시간에는 거의 영향을 받지 않았고, 에탄올 농도와 추출온도에 영향을 받았다. 에탄올 농도 97.75%, 추출온도는 65.88°C, 추출시간은 2.93hr에서 최대값이 0.80 OD 로 나타났다.

참고문헌

1. 박소해, 김대광, 배지현. 2011. 쇠비름 추출물의 항산화 효과 및 Helicobacter pylori에 대한 항균 활성. 한국식품영양학회지 24(3) : 306-311
2. 배기환. 2001. 한국의 약용식물. 교학사. 서울. pp. 367
3. 장뢰, 이현진, 윤영민, 김수미, 김현숙, 리순화, 안성관. 2009. 쇠비름 추출물의 미백 및 항노화, 항염증 효과. 한국생물공학회. 24(4) : 397-402
4. 장예. 2009. 쇠비름 알콜 추출물이 세포에 미치는 영향. 건국대학교 석사학위논문
5. 한용봉. 2007. 한국야생 식용식물자원1(성분과 생리활성). 고려대학교 출판부. 서울. pp. 297
6. Amerine, M.A. and Ough, C.S. 1980. Methods for analysis of musts and win. Wiley & Sons, New York. pp. 176-180
7. Baker, MFA, Mohamed, M., Rahmat, M. and Fry, F. 2009. Phytochemicals and antioxidant activity of different parts of Bamhangan(Mangifera pajang) and tarap (Atrocatpus odoratissimus). Food chem. 113 : 479-483.
8. Cheng, M. and Yu, L. 2006. High-throughput relative DPPH radical scavenging capacity assay. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 54

: 7429-7436

9. Choi, M.A., Park, N.Y., Woo, S.M. and Jeong Y.J. 2003. Optimization of Extraction Conditions from *Herichium erinaceus* by Response Surface Methodology 35(5) : 777-782
10. Kang, Y.H., Park, Y.H. and Lee, G.D. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. Korean Journal of Food Science and Technology. 28(2) : 232-239
11. Shin, K.H. 2006. Effects of Araliaceae Water Extracts on Blood Glucose Level and Biochemical Parameters in Diabetic Rats. Nutrition Research and Practice. 39(8) : 721-727