

반응표면분석에 의한 산수유 추출물의 추출조건 최적화

이혜진¹ · 도정룡¹ · 권중호² · 김현구^{1*}

¹한국식품연구원
²경북대학교 식품공학부

Optimization of *Corni fructus* Extracts by Response Surface Methodology

Hye-Jin Lee¹, Jeong-Ryong Do¹, Joong-Ho Kwon², and Hyun-Ku Kim^{1*}

¹Korea Food Research Institute, Gyeonggi 463-746, Korea

²Dept. of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu 720-701, Korea

Abstract

Response surface methodology was used to monitor the characteristics of *Corni fructus*. A maximum electron donating ability of 81.27% was obtained at 119.71 W of microwave power, 7.71% of ethanol concentration, and 4.21 min of extraction time. The maximum inhibitory effect on tyrosinase was 105.92% at 143.36 W of microwave power, 58.19% ethanol concentration, and 6.71 min of extraction time. The maximum superoxide dismutase like activity was 87.08% under the extraction conditions of 107.33 W of microwave power, 96.14% ethanol concentration, and 31.49 min of extraction time. The total polyphenol content showed a maximum of 475.86 mg% at 140.29 W of microwave power, 27.44% ethanol concentration, and 58.69 min of extraction time. Based on the superimposition of four-dimensional RSM data regarding the electron-donating ability, inhibitory effect on tyrosinase, superoxide dismutase like activity, and total polyphenol content, the optimum ranges of extraction conditions were found to be at 78~98 W of microwave power, 3~33% ethanol concentration, and 3.6~9 min of extraction time.

Key words: *Corni fructus*, response surface methodology, optimization, extraction conditions

서 론

현재 우리는 끊임없는 산업화를 통해 다양한 발전이 이루어졌다. 이에 따라 인간의 삶의 질이 향상되고 더불어 수명 또한 연장되었다. 그러나 현대사회에서의 각종 질병과 많은 성인병 등의 문제가 대두되고 있으며 이로 인해 사람들은 건강에 대한 관심이 높아졌다. 이에 따라 건강에 대한 다양한 연구가 진행되고 있으며, 각종 신약 개발 및 기능성 식품들이 개발되고 있다. 더불어 천연 재료에 대한 기능성의 관심이 고조되면서 천연 식품을 이용한 연구 및 가공, 천연 식품 개발도 이루어지고 있으나 아직까지 미비한 실정이다.

산수유(*Corni fructus*)는 층층나무과의 낙엽교목인 산수유나무의 열매로, 가을에 붉은색의 열매를 맺어 가을 산호라고도 불린다. 맛은 단맛과 함께 퉁고 강한 신맛이 나며, 따뜻한 성질을 지니고 있어 차와 술등의 재료로 이용되고 약용으로 쓰이기도 한다. 이러한 산수유는 예로부터 한방에서 당뇨증, 요통, 이명, 폐결핵 치료, 고혈압, 항암, 항균 및 신경쇠약 치료 등의 목적으로 사용되었으며(1), 이러한 효능은 동의보감, 향약집성방 등에도 기록되어 있는 약효가 뛰어난 천연물

이다. 예부터 효능이 입증된 산수유는 현재까지도 꾸준한 연구가 이루어지고 있다. 산수유 성분연구를 통해 loganin, iridoid 배당체, secoiridoid 배당체, triterpenoid류, gallic acid, malic acid, tartaric acid 등이 있음이 밝혀졌고, tellimagrandin 1, tellimagrandin 2, isoterchebin, 1,2,3-tri-O-galloyl-β-glucose, 1,2,6-tri-O-galloyl-β-D-glucose, 1,2,3,6-tetra-O-galloyl-β-D-glucose와 Cornusin D, E와 F, 1,7-di-O-galloyl-D-sedoheptulose와 같은 tannin류 등의 성분이 보고되었다(2). 그 외에 산수유의 영양성분(3), 항균, 항당뇨 및 항산화 작용(4-6), 항알레르기 효과(7) 등의 다양한 효과가 규명되었으며, 이와 더불어 산수유의 항산화활성을 바탕으로 한 약주개발(8) 연구가 보고되어진바 있다. 산수유의 다양한 생리적 효능이 입증되고 있으나 항산화 활성을 증진시키기 위한 유용성분 추출 조건의 확립이 필요한 실정이다. 이에 본 연구에서는 마이크로웨이브 에너지, 추출용매, 추출시간 등의 조건을 달리하여 활성을 측정하여 마이크로웨이브 추출공정의 최적 추출조건을 예측하고자 하였다.

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

재료 및 방법

재료

본 연구에서는 구례에서 채취 후 건조된 산수유를 구입하여 동결건조(No. MCFD 8508, Ilshin Lab Co. Ltd., Seoul, Korea)하였다. 동결건조된 시료는 분쇄기(Kaiser, KFN-400S, Kingston Electromotor Co., Ltd., Seoul, Korea)를 사용하여 분쇄한 후 0.2 mm PE film에 밀봉 포장 후 냉동보관하면서 실험에 이용하였다.

실험계획

본 실험에서는 추출조건에 대하여 중심합성계획(central composite design)(9)을 사용하여 실험 설계하였고, 추출조건의 최적화를 위하여 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)(10,11)을 사용하였다. 중심합성계획에서 독립(조건)변수로 마이크로웨이브 에너지(30~150 watt, X_1), 에탄올 농도(0~100%, X_2), 추출시간(1~9분, X_3)을 -2, -1, 0, 1, 2의 5단계로 부호화하여 중심합성계획에 따라 16구간으로 설정하여 추출하였다(Table 1). 또한 추출물의 품질 특성에 관련된 종속(반응)변수(Y_n)로서는 전자공여작용(Y_1), tyrosinase 저해효과(Y_2), SOD 유사활성(Y_3), 폴리페놀 함량(Y_4)으로 하였으며, 모든 실험은 3반복 측정하여 평균값을 회귀분석에 사용하였다. 회귀분석에 의한 최적조건의 예측은 statistical analysis system(SAS version 8.0, 2004, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) program을 이용하였다.

마이크로웨이브 추출

마이크로웨이브 추출은 마이크로웨이브 추출장치(MAP, Soxwave-100, Prolabo, Paris, France)를 사용하였다. 추출조건으로 각 시료의 건물 중량에 대한 추출용매의 비율을 50 mL/g의 부피(W/V)로 하였으며, 마이크로웨이브 에너지 용량, 추출용매 및 추출시간은 중심합성계획에 의해 따른 조건으로 추출하였다. 추출물은 whatman filter paper No. 2에 거르고 감압 농축 후 동일 용량으로 정용하여 실험에 사용하였다.

전자공여작용

추출물의 전자공여작용(electron donating ability, EDA)은 Blois(12)의 방법에 준하여 전자공여효과로 나타나는 각 추출물에 대한 환원력을 측정하였다. 즉, 추출물 0.2 mL에 4×10^{-4} M DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 0.8 mL와 99.9% 에탄올 2 mL를 가하여 총액의 부피가 3 mL가 되도록 하였다. 이 반응액을 약 10초간 혼합하고 실온에 10분간 방치한다. 반응액은 분광광도계(Spectramax M2, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 추출물의 첨가구와 첨가하지 않은 무첨가구의 흡광도를 통해 백분율로 나타내었다.

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

A: 추출물 첨가구의 흡광도

B: 추출물 무첨가구의 흡광도

Tyrosinase 활성 저해효과

Tyrosinase 활성 저해의 측정은 Wong 등(13)의 방법에 따라 측정하였으며, tyrosinase 조효소액은 mushroom tyrosinase를 50 mM sodium phosphate buffer(pH 7.0)에 용해하여 사용하였다. 효소활성의 측정은 추출물 0.1 mL, 10 mM catechol 용액 2.8 mL에 tyrosinase 조효소액 0.2 mL를 가하고, 대조구에는 tyrosinase 조효소액 대신 50 mM sodium phosphate buffer(pH 7.0)를 가한 후 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Hachioji, Japan)를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. Tyrosinase에 대한 효소활성 저해 효과는 단위시간당 변화된 초기 흡광도의 변화 값을 측정하여 다음 식과 같이 계산하였다.

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

A: 효소액 첨가구의 흡광도 변화값

B: 효소액 대신 buffer 첨가구의 흡광도 변화값

C: 추출물 대신 증류수 첨가구의 흡광도 변화값

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성

SOD 유사활성은 superoxide에 의해 산화되는 pyrogallol의 산화속도를 억제시키는 원리로 Marklund와 Marklund(14)의 방법에 준하여 실시하였다. 추출물 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 방치한 후 1 N HCl 0.2 mL로 반응을 정지시킨다. 이 반응액을 분광광도계 420 nm에서 흡광도를 측정하여 시료첨가 및 무첨가구 간의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

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

A: 추출물 첨가구의 흡광도

B: 추출물 무첨가구의 흡광도

단, A, B는 대조구의 흡광도를 제외한 수치임.

총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀의 함량(total polyphenol content)은 Folin-Denis(15) 방법에 의해 측정하였다. 시료 0.5 mL에 1 N Folin-Ciocalteu reagent 0.5 mL를 가하여 혼합, 3분간 정지 후 2% Na_2CO_3 용액을 10 mL를 첨가하였다. 이 혼합액을 1시간 동안 반응 후 분광광도계를 사용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하고, 표준물질 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 총 폴리페놀 함량(mg%)을 구하였다.

최적 추출조건의 예측

조건별 각 추출물의 최적 추출조건 예측은 전자공여작용, tyrosinase 저해효과, SOD 유사활성, 폴리페놀 함량에 대한

Table 1. Experimental data on electron donating ability, tyrosinase inhibition, SOD-like activity, polyphenol contents

Experiment Number ¹⁾	Microwave power (watt)	Ethanol concentration (%)	Time (min)	Electron donating ability (%)	Tyrosinase inhibition (%)	SOD-like activity (%)	Polyphenol contents (mg%)
1	60 (-1)	25 (-1)	3 (-1)	94.35	91.32	37.11	183.45
2	60 (-1)	25 (-1)	7 (1)	96.73	94.82	39.22	216.48
3	60 (-1)	75 (1)	3 (-1)	95.80	30.99	44.74	144.19
4	60 (-1)	75 (1)	7 (1)	98.25	44.44	46.23	167.57
5	120 (1)	25 (-1)	3 (-1)	85.46	85.98	40.46	209.19
6	120 (1)	25 (-1)	7 (1)	89.08	102.85	42.66	241.54
7	120 (1)	75 (1)	3 (-1)	91.16	64.05	41.30	145.00
8	120 (1)	75 (1)	7 (1)	92.04	89.38	48.78	180.62
9	90 (0)	50 (0)	5 (0)	96.82	91.17	37.67	198.86
10	90 (0)	50 (0)	5 (0)	97.12	91.99	44.53	198.83
11	30 (-2)	50 (0)	5 (0)	94.72	76.60	48.25	153.53
12	150 (2)	50 (0)	5 (0)	86.07	94.76	37.55	216.44
13	90 (0)	0 (-2)	5 (0)	84.85	88.30	53.74	174.97
14	90 (0)	100 (2)	5 (0)	83.02	51.61	48.22	88.26
15	90 (0)	50 (0)	1 (-2)	88.80	59.27	45.25	161.42
16	90 (0)	50 (0)	9 (2)	95.52	82.46	41.44	222.97

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

contour map superimposing 하였을 때 중복되는 부분의 범위에서 최적 추출조건 범위를 예측하였다.

결과 및 고찰

전자공여 작용에 대한 추출조건의 변화

중심합성계획에 의해 16구간의 추출조건을 설정하였고, 이에 따른 각 추출물의 전자공여작용 측정 결과(Y1)는 Table 1에 나타내었다. 이들 측정값의 4차원 반응표면분석 결과는 Fig. 1과 같다. 전자공여작용에 대한 반응표면 회귀식의 R² 값은 0.8937으로 p<0.05 수준에서 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점은 최대점으로, 산수유 추출조건이 마이크로웨이브

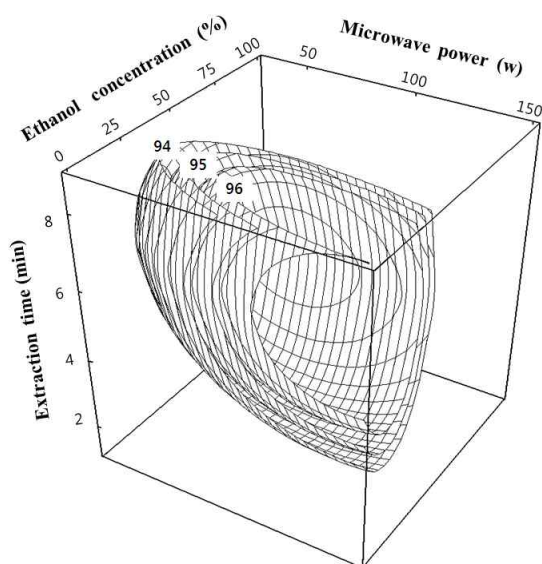


Fig. 1. Response surface for electron donating ability in pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) extract at constant values (electron donating ability: 94-95-96%) according to ethanol concentration, extraction time and microwave power.

이브 에너지 119.71 watt, 에탄올 농도 7.71%, 추출시간 4.21 분일 때 81.27%로 가장 높은 값으로 측정되었다(Table 3). Table 4에서 보는바와 같이 산수유의 전자공여능은 마이크로웨이브 에너지 영향을 가장 많이 받고, 추출용매에 의해서도 영향을 다소 받는 것으로 나타났다. 그러나 추출시간에 따른 영향은 미비한 것을 알 수 있었다. Lee 등(16)은 포도씨의 경우 전자공여능이 추출공정에서 에탄올 농도에 가장 큰 영향을 받는 것으로 보고되어, 이는 산수유와는 다소 상이한 결과를 나타냈다. 프로폴리스(17)의 경우 에탄올 농도가 높을수록, 추출시간이 짧을수록 전자공여능이 증가하는 경향을 보인다고 보고되었다. 한편 산수유의 경우 추출시간이 짧을수록 증가하여 같은 경향을 보이는 것으로 나타났으나 에탄올 농도에 따른 영향에서는 반대의 결과를 보였다. Park 등(18)의 통통마디 추출물은 에탄올 농도에 가장 크게 영향을 받았으며, 추출온도의 영향의 적은 것으로 보고한 것과는 반대로 산수유는 에탄올 농도보다 추출온도의 영향을 더 많이 받는 것으로 나타났다.

Tyrosinase 저해 효과에 대한 추출조건의 영향

Tyrosinase 저해효과에 대한 회귀식은 R²값이 0.9254로 1% 이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다(Table 2). 예측된 정상점은 4차원 반응표면 분석에 의하면 안장점으로 최대값이 105.92%로 나타났다. Fig. 2는 tyrosinase 저해효과에 대한 반응표면으로 마이크로웨이브 에너지와 에탄올 농도가 높을수록 저해능이 높은 것으로 분석되었으며, 이때 추출조건은 마이크로웨이브 에너지 143.36 watt, 에탄올 농도 58.19%, 추출시간 6.71분으로 Table 3과 같았다. Tyrosinase 저해효과의 경우 추출조건에서 마이크로웨이브 에너지에 대한 영향을 가장 크게 받는 것으로 나타났으나, 에탄올 농도와 추출시간에 대한 영향은 크게 받지 않는 것으로 나타났다(Table 4). 양과는 tyrosinase 저해효과가 에탄올 농도가 낮을수록, 마이크로웨이브 에너지가 높을수록 증가

Table 2. Polynomial equations calculated by RSM program for extraction conditions for *Corni fructus*

Response	Second order polynomial equations ¹⁾	R ²	Significance
Electron donating ability	$Y_{EDA} = 68.737187 + 0.191667X_1 + 0.48935X_2 + 4.113437X_3 - 0.001826X_1^2 + 0.000948X_1X_2 - 0.005214X_2^2 - 0.000687X_1X_3 - 0.006675X_2X_3 - 0.300625X_3^2$	0.8937	0.0242
Tyrosinase inhibition	$Y_{TI} = 98.835625 - 0.351833X_1 - 1.0435X_2 + 10.709063X_3 - 0.001639X_1^2 + 0.012552X_1X_2 - 0.00865X_2^2 + 0.052604X_1X_3 + 0.046025X_2X_3 - 1.419688X_3^2$	0.9254	0.0091
SOD-like activity	$Y_{SOD} = 60.13291 - 0.184499X_1 - 0.552622X_2 - 0.821175X_3 + 0.000849X_1^2 - 0.00128X_1X_2 + 0.006839X_2^2 + 0.012667X_1X_3 + 0.013978X_2X_3 - 0.019274X_3^2$	0.9552	0.0071
Polyphenol contents	$Y_{PC} = 57.470322 + 1.304332X_1 + 2.441031X_2 + 6.286854X_3 - 0.004X_1^2 - 0.006157X_1X_2 - 0.027915X_2^2 + 0.024083X_1X_3 - 0.016470X_2X_3 - 0.07225X_3^2$	0.9708	0.0025

¹⁾X₁: microwave power (watt). X₂: ethanol concentration (%). X₃: extraction time (min).

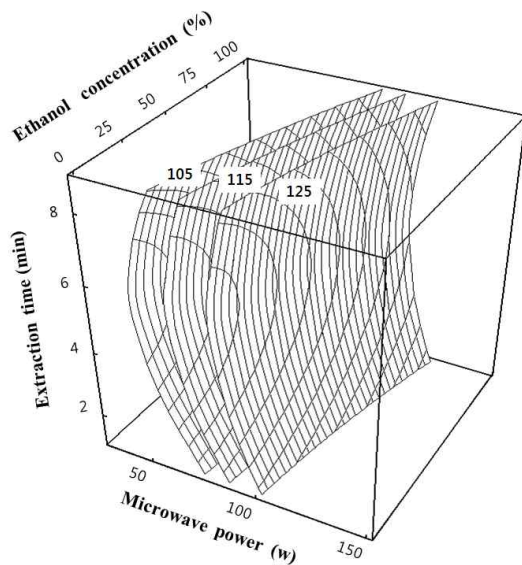


Fig. 2. Response surface for tyrosinase inhibition in pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) extract at constant values (tyrosinase inhibition: 105-115-125%) according to ethanol concentration, extraction time and microwave power.

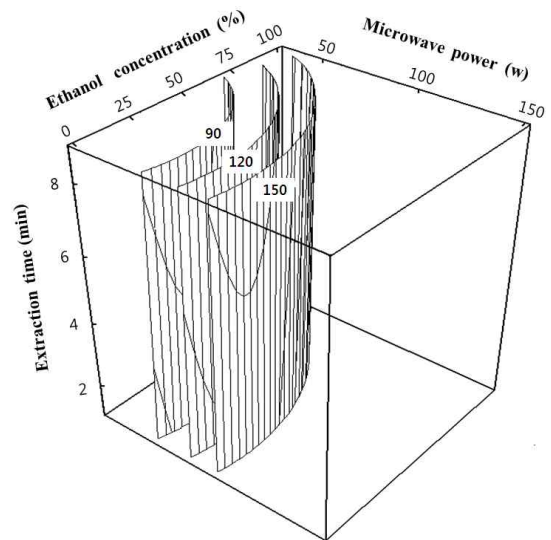


Fig. 3. Response surface for SOD-like activity in pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) extract at constant values (SOD-like activity: 90-120-150%) according to ethanol concentration, extraction time and microwave power.

하는 경향을 보인다는 보고(19)와는 다소 상이한 결과를 보였다. Kim 등(20)은 팽이버섯의 tyrosinase 저해작용이 에탄올보다 마이크로웨이브 에너지에 영향을 받아 본 연구결과와 비슷한 경향을 보였으나, 마이크로웨이브 에너지가 낮을수록 저해작용이 우수한 것으로 나타나 산수유와는 다른 특성을 보였다.

SOD 유사활성에 대한 추출조건의 영향

추출조건에 따른 산수유의 SOD 유사활성의 결과는 Table 1에 나타내었다. 반응표면 회귀식의 R²값이 0.9552의 값으로 1%내에서 유의성이 인정되었다(Table 2). Fig. 3은 산수유

의 SOD 유사활성에 대한 4차원 반응표면을 나타낸 것이다. 이때의 추출조건은 Table 3에서 보는 바와 같이 마이크로웨이브 에너지 107.33 watt, 에탄올 농도 96.14%, 추출시간 31.49분으로 예측된 정상점은 안장점으로 이때의 최대 활성이 87.08%의 값을 보였다. SOD 유사활성의 경우 마이크로웨이브 에너지의 영향을 가장 크게 받고 있었으며, 추출용매 및 추출시간의 영향은 크게 받지 않았다. Lee 등(21)은 홍삼 첨가 액상 청국장의 SOD 유사활성이 능선분석에 따라 최대값이 63.83%로, 마이크로웨이브 파워에 가장 큰 영향을 받는 것으로 나타났다. 이는 산수유의 활성보다 낮았으나 추출 조건에서 마이크로웨이브 에너지의 영향을 가장 크게 받는

Table 3. Predicted levels of extraction condition for the maximum responses of variables by the ridge analysis in *Corni fructus*

Response	X ₁ ¹⁾	X ₂ ²⁾	X ₃ ³⁾	Maximum	Morphology
Electron donating ability	119.71	7.71	4.21	81.27	maximum
Tyrosinase inhibition	143.36	58.19	6.71	105.92	saddle point
SOD-like activity	107.03	96.14	31.49	87.08	saddle point
Polyphenol contents	140.29	27.44	58.69	475.86	maximum

¹⁾X₁: microwave power (watt). ²⁾X₂: ethanol concentration (%). ³⁾X₃: extraction time (min).

Table 4. Regression analysis for regression model of physiochemical properties in extraction condition of *Corni fructus*

Extraction conditions	F-ratio			
	Electron donating ability	Tyrosinase inhibition	SOD-like activity	Polyphenol contents
Microwave power	8.27**	18.47**	32.34***	37.11***
Ethanol concentration	5.31*	3.06	2.93	17.80**
Extraction time	1.71	3.29	0.25	0.52

*Significant at 10% level, **significant at 5% level, ***significant at 1% level.

것과는 같은 결과를 보였다.

총 폴리페놀 함량에 대한 추출조건의 영향

추출조건에 따른 산수유 추출물의 총 폴리페놀 함량을 Table 1에 나타냈으며, 반응표면 회귀식은 Table 2와 같다. 총 폴리페놀 함량의 회귀식의 결정계수 R²값은 0.9708로, p<0.01 수준에서 유의성이 인정되었다. 이에 따라 4차원 반응표면이 Fig. 4와 같이 나타났다. Table 3에서와 같이 예측된 정상점은 최대점으로 마이크로웨이브 에너지 140.29 watt, 에탄올 농도 27.44%, 추출시간 58.69분의 추출조건에 따라 475.86 mg%의 값을 보였다. 산수유의 페놀함량의 경우 마이크로웨이브 에너지에 의해 많은 영향을 받았고, 에탄올 농도에 의해서도 영향을 받는 것으로 나타났다(Table 4). 노루궁뎅이버섯(22)은 에탄올 농도가 낮을수록 페놀성 화합물 함량이 높은 것으로 보고된바 있어 본 연구와 다소 비슷한 경향을 보였다. Koh 등(23)에 의하면 민들레 잎 열수 추출물의 경우 추출시간이 증가함에 따라 총 폴리페놀 함량이 다소 증가하는 것으로 보고되었다. 산수유 열수 추출물의 경우에는 페놀 함량이 추출시간에 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. Yoon과 Cho(24)는 감국의 열수 추출물의 경우 추출온도와 추출시간이 증가할수록 총 페놀성 화합물 함량이 높다는 보고와도 다소 상이한 결과를 보였다.

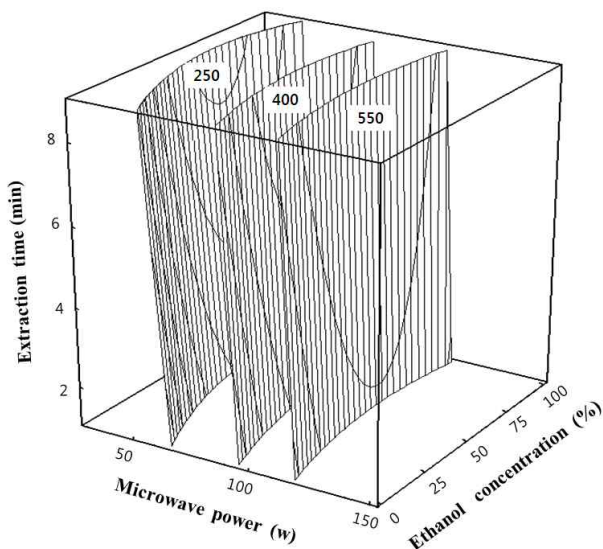


Fig. 4. Response surface for polyphenol contents in pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) extract at constant values (polyphenol content: 250-400-550%) according to ethanol concentration, extraction time and microwave power.

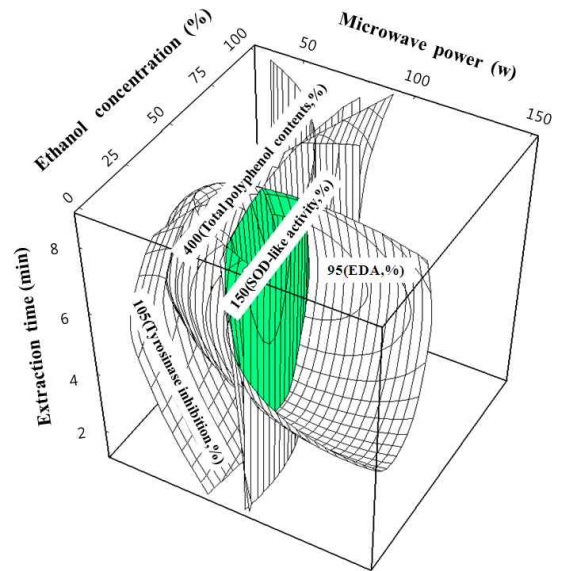


Fig. 5. Superimposed response surface for optimization of electron donating ability (95%), polyphenol content (400%), SOD-like activity (150%) and tyrosinase inhibition (105%) of extract from pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.).

Table 5. Optimum extraction condition for maximum responses of electron donating ability, tyrosinase inhibition, SOD-like activity and polyphenol content of *Corni fructus* by superimposing their contour maps

Extraction condition	Range of optimum condition
Microwave power (watt)	78~98
Ethanol concentration (%)	3~33
Extraction time (min)	3.6~9

최적 추출조건의 예측

산수유의 최적 추출조건을 설정하기 위해 전자공여작용, tyrosinase 저해효과, SOD 유사활성 및 총 폴리페놀 함량의 생리활성 측정 결과에 대한 4차원 반응표면을 superimposing 하여 중복되는 범위로 최적 추출조건 범위를 예측하였다 (Fig. 5). 그 결과, Table 5에서 보는바와 같이 마이크로웨이브 에너지 78~98 watt, 에탄올 농도 3~33%, 추출시간 3.6~9분에서 생리활성이 최적으로 추출되는 범위로 예측되었다.

요 약

산수유의 추출조건별 추출물의 최적 추출조건을 설정하기 위해 중심합성법에 따라 마이크로웨이브에너지(30, 60, 90, 120 및 150 watt), 에탄올 농도(0, 25, 50, 75 및 100%),

추출시간별(1, 3, 5, 7 및 9분)로 추출조건에 따라 생리활성을 측정하였다. 이때 반응표면의 회귀식 R^2 값이 전자공여작용, tyrosinase 저해효과, SOD 유사활성, 총 폴리페놀 함량에서 각각 0.8937, 0.9254, 0.9552와 0.9708로 분석되었다. 4차원 반응표면분석에 의해 superimposing 하여 최적 추출조건을 얻은 범위는 산수유의 경우 마이크로웨이브 에너지 78~98 watt, 에탄올 농도 3~33%, 추출시간 3.6~9분으로 예측되었다.

문 헌

- Seo KI, Lee SW, Yang KH. 1999. Antimicrobial and antioxidative activities of *Corni fructus* extracts. *Korean J Postharvest Sci Technol* 6: 99-103.
- Guilian T, Zang T, Yang F, Ito Y. 2000. Separation of gallic acid from *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc by high-speed countercurrent chromatography. *J Chromatogr A* 886: 309-312.
- Kim YD, Kim HK, Kim KJ. 2003. Analysis of nutritional components of *Cornus officinalis*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 785-789.
- Kim OK. 2005. Antidiabetic and antioxidative effects of *Corni fructus* in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Oil Chemists' Soc* 22: 157-167.
- Seo KI, Lee SW, Yang KH. 1999. Antimicrobial and antioxidative activities of *Corni fructus* extracts. *Kroean J Postharvest Sci Technol* 6: 99-103.
- Kim YD, Kim HK, Kim KJ. 2003. Antimicrobial activity of solvent fraction from *Cornus officinalis*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 829-832.
- Seo YB, Kil GJ, Lee YK, Lee YC. 2002. Study on the effects of *Corni fructus* about the anti-allergic action. *Kor J Herbology* 17: 1-12.
- Lee SJ, Kim EH, Lee HG. 2008. Development of rice wine using *Cornus officinalis* and *Scutellaria baicalensis*, respectively antioxidant activity tests. *Korean J Food Sci Technol* 40: 1-10.
- 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.
- Cochran WG, Cox GM. 1957. *Experimental Design*. 2nd ed. John Wiley & Sons Inc, New York, NY, USA. p 335-375.
- Box GEP, Hounter JS. 1957. Multifactor experimental design for exploring response surfaces. *Annal Math Stat* 28: 1195-1242.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1198-1200.
- Wong TC, Luh BS, Whitaker JR. 1971. Isolation and characterization of polyphenol oxidase of clingstone peach. *Plant Physiol* 48: 19-23.
- Marklund S, Marklund G. 1975. Involvement of superoxide amino radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 468-474.
- Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239-249.
- Lee EJ, Kim JS, Kwon JH. 2008. Optimization of microwave-assisted extraction conditions for total catechin and electron donating ability of grape seed extracts. *Korean J Food Preserv* 15: 840-846.
- Kim SH, Kim IH, Kang BH, Lee KH, Lee SH, Lee DS, Kim SM, Hur SS, Kwon TK, Lee JM. 2009. Optimization of ethanol extraction conditions from propolis (a bee product) using response surface methodology. *Korean J Food Preserv* 16: 908-914.
- Park JW, Kim HS, Park IB, Shin GW, Lee YJ, Jo YC. 2009. Optimization of ethanol extraction conditions from glasswort (*Salicornia herbacea*) using response surface methodology. *Korean J Food Preserv* 16: 376-384.
- Lim TS, Do JR, Kwon JH, Kim HK. 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.
- Kim HK, Kim MO, Choi MG, Kim KH. 2003. Optimization of microwave extraction conditions for *Flammulina velutipes* by response surface methodology. *Korean J Food Sci Technol* 35: 222-228.
- Lee BM, Do JR, Kim HK. 2007. Prediction of optimal microwave-assisted extraction conditions preserving valuable functional properties of fluid *Cheonggukjang* obtained from red ginseng. *Korean J Food Preserv* 14: 474-480.
- Choi MA, Park NY, Woo SM, Jeong YJ. 2003. Optimization of extraction conditions from *Hericium erinaceus* by response surface methodology. *Korean J Food Sci Technol* 35: 777-782.
- Koh YJ, Cha DS, Choi HD, Park YK, Choi IW. 2008. Hot water extraction optimization of dandelion leaves to increase antioxidant activity. *Korean J Food Sci Technol* 40: 283-289.
- Yoon OH, Cho JS. 2007. Optimization of extraction conditions for hot water extracts from *Chrysanthemum indicum* L. by response surface methodology. *Korean J Food Cookery Sci* 23: 1-8.

(2011년 11월 28일 접수; 2011년 12월 8일 채택)