

## 반응표면분석법을 이용한 인진쑥 유효성분의 에탄올 추출조건 최적화

김 성 호

대구대학교 식품공학과

### Optimization of Ethanol Extraction Conditions for *Artemisia capillaris* Effective Components Using Response Surface Methodology

Seong-Ho Kim

Dept. of Food Science and Technology, Daegu University, Gyeongbuk 712-714, Korea

**ABSTRACT** This study was conducted to monitor the quality characteristics of *Artemisia capillaris* ethanolic extract by response surface methodology. The independent variables were extraction temperature ( $X_1$ ; 60, 70, 80, 90, and 100°C), extraction time ( $X_2$ ; 1, 2, 3, 4, and 5 hr), and ethanol concentration ( $X_3$ ; 0, 20, 40, 60, and 80%). Soluble solid content ( $Y_1$ ), chlorogenic acid content ( $Y_2$ ), and coumaric acid content ( $Y_3$ ), etc. were analyzed as the dependent variables. Estimated optimal conditions for soluble solids were an extraction temperature of 87.65°C, extraction time of 3.19 hr, and ethanol concentration of 42.40%. The optimal extraction conditions for chlorogenic acid were 84.30°C, 3.14 hr, and 47.85%, respectively. Further, those for coumaric acid were 83.45°C, 3.40 hr, and 45.39%, respectively. Extraction conditions for effective components of *Artemisia capillaris* were superimposed by response surface plots on optimization extraction condition of each dependent variable, including soluble solid, chlorogenic acid, and coumaric acid contents. As a result, superimposed extraction conditions were 80~90°C, 3~4 hr, and 40~50%, respectively. Under these conditions, soluble solid, chlorogenic acid, and coumaric acid contents were 1.09%, 25.66 mg%, and 20.25 mg%, respectively.

**Key words:** *Artemisia capillaris*, extraction condition, effective component, response surface methodology

## 서 론

국화과(Compositae) 쑥속(*Artemisia*)에 속하는 쑥은 식품, 의약품, 화장품 등의 제조 원료로 폭넓게 이용되고 있으며, 한국을 비롯하여 중국, 일본 등 아시아 및 유럽 등에 분포하고 번식력이 강한 다년생 초본으로 약 400여종의 국화과 식물 중 30여종이 우리나라에 생육하고 있다. 인진쑥(*Artemisia capillaris* Thunb.)은 일명 사철쑥, 더위지기, 비쑥이라고도 하며 생약명으로는 인진호, 인진, 추호라고도 불린다(1). 인진쑥의 성분은 생쑥에서 수분 81.4%, 단백질 5.2%, 지질 0.8%, 당질 4.05%, 섬유질 3.7%, 회분 2.7%와 정유성분 등이 포함된 것으로 알려져 있으며(2), 녹엽 내 필수 지방산을 많이 함유하여 영양학적으로 매우 우수하며 무기질 중 칼슘과 칼륨의 함량이 높아 알칼리성 식품으로 알려져 있고, 산채류 중에서 비타민 A와 C의 함량이 가장 높은 것으로 알려져 있다(3). 인진쑥은 잎과 줄기의 약효가 우수하여 우리나라에서는 예로부터 식용과 한방에서 널리 사용되고 있다. 특히 한방에서 인진쑥은 지혈, 해열, 소염, 진통, 이뇨, 혈압강하의 효능이 있고 변비, 소화불량, 천식, 부인

병, 신경통, 급·만성간염, 황달, 지방간 및 간 기능 개선의 목적으로 많이 이용되어 왔다(4-6).

인진쑥의 주요 약리성분 중 scoparone(6,7-dimethyl-esculetin)과 capillarisin은 담즙을 촉진시켜 간 기능 개선에 효과적으로 알려져 있으며, 그 함유율은 부위와 계절에 따라 다른 것으로 보고되어 있다(7-9). 인진쑥의 전초에는 정유를 약 0.27~0.5% 정도 함유하는데 그 성분은 cineole, *p*-cymene,  $\beta$ -myrcene, camphene, thujone, camphor, borneol, muurolene, longiverbenone, sesquiterpene, choline,  $\beta$ -pinene, capillin, capillone, capillene, capillararin 등이 있다(10). Coumarine계 화합물로는 esculetin-6-methylether, esculetin-7-methylether를, chromone류에 capillarisin, 4'-methylcapillarisin을, flavonoids로서는 cirsilinol, cirsimaritin 등이 있으며 지방산은 stearic acid, palmitic acid, oleic acid, linoleic acid, arachidic acid 및 montanic acid 등을 함유하고 있다. 또 chlorogenic acid, caffeic acid 등의 phenol성 화합물도 함유한다. 종자에는 scoparone 및 KCl을 함유하는 것으로 알려져 있다(11-15).

인진쑥에 대한 연구로는 항산화 작용, 간 보호 효과, 항염증 및 진통 효과, 항진균 활성, 담즙분비 효과, 당대사 개선 효과, 과산화지질에 대한 효과, 충치억제 효과, 항돌연변이

효과, 항암 효과, 혈압강화 작용, 당뇨병 및 고혈당증의 치료 등이 보고되어 있다(6,16,17). 주로 약용으로 많이 쓰이고 있는 인진쑥은 전국에 널리 분포되어 있고 쉽게 채취할 수 있기 때문에 인진쑥의 이용도를 넓히는 것은 자원 효율성을 높이는 좋은 방법이기도 하다. 따라서 본 연구에서는 건강기능식품 등의 원료로 활용 가능성을 높이기 위한 한 방안으로서 인진쑥의 유효성분을 효율적으로 추출하고자 반응표면 분석에 의해 에탄올을 최적 추출조건을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 연구의 실험 재료인 인진쑥(*Artemisia capillaris* Thunb.)은 경북 김천지방에서 2012년에 생산, 음건된 것을 대구약령시장에서 구입하여 분쇄(Cemotec 1090, Tecator, Höganäs, Sweden) 후 20 mesh 체를 통과시켜 실험에 사용하였다.

### 추출조건 설정을 위한 실험계획

본 실험에서는 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)(18)을 이용하여 최적 추출조건을 예측하고 추출조건에 따른 최적물의 유효성분 함량을 모니터링 하였다. 건조 인진쑥 5 g과 95% 에탄올 100 mL 추출용기에 넣고 각각의 추출조건에 따라 추출하였다. 추출조건의 최적화를 위한 실험계획은 중심합성계획법에 의하여 추출공정에 중요한 독립변수(Xi)로 고려되는 인자 즉, 추출온도(X<sub>1</sub>), 추출시간(X<sub>2</sub>) 및 에탄올 농도(X<sub>3</sub>)에 대한 실험범위를 설정하여 각각을 5단계로 부호화하였으며(Table 1), 중심합성계획에 따라 Table 2와 같이 16구로 설정하여 추출실험을 하였다. 또한 이들 독립변수에 영향을 받는 종속변수(Yn) 즉, 추출물의 품질인자로서는 가용성 고형분 함량(Y<sub>1</sub>), 총 페놀성 화합물 함량(Y<sub>2</sub>), chlorogenic acid(Y<sub>3</sub>), caffeic acid(Y<sub>4</sub>), coumaric acid(Y<sub>5</sub>) 및 vanillin(Y<sub>6</sub>) 등의 함량을 측정하여 그 값을 회귀분석에 사용하였다. 또한 에탄올 추출에 있어서 추출조건이 인진쑥 추출물의 유효성분의 추출특성에 미치는 영향을 예측된 모델식을 바탕으로 Mathematica program을 이용하여 4차원 반응표면분석으로 해석하였다(19).

### 가용성 고형분 함량 측정

각 추출조건별 추출액의 가용성 고형분 함량은 항량을 구한 수기에 시험용액 20 mL를 취하여 105°C에서 증발건고

**Table 1.** Experimental design of ethanol extraction conditions

Extraction condition <sup>1)</sup>	-2	-1	0	1	2
X <sub>1</sub> , Temperature (°C)	60	70	80	90	100
X <sub>2</sub> , Time (hr)	1	2	3	4	5
X <sub>3</sub> , Ethanol concentration (%)	0	20	40	60	80

**Table 2.** Central composite design for optimization extraction condition for *Artemisia capillaris*

Exp. No. <sup>1)</sup>	Extraction conditions		
	Temp. (°C)	Time (hr)	Ethanol concentration (%)
1	70	2	20
2	70	2	60
3	70	4	20
4	70	4	60
5	90	2	20
6	90	2	60
7	90	4	20
8	90	4	60
9	80	3	40
10	80	3	40
11	60	3	40
12	100	3	40
13	80	1	40
14	80	5	40
15	80	3	0
16	80	3	80

<sup>1)</sup>The number of experimental condition by central composite design.

시킨 후 그 무게를 측정하였으며, 추출액 조제에 사용된 건물 시료량에 대한 백분율로써 고형분 함량을 나타내었다(20).

### 총 페놀성 화합물 함량 측정

각 추출물의 총 페놀성 화합물 함량은 Folin-Denis법(21)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 동일하게 처리하였다. 이때 표준물질로는 tannic acid(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 5~50 µg/mL의 농도로 조제하여 검량곡선의 작성에 사용하였다.

### 페놀산 함량 분석

추출조건에 따른 각각의 추출물을 일부 취하여 membrane filter(Hydrophilic PTFE 0.45 µm, 25 mm, Advantec MFS Inc., Dublin, CA, USA)로 여과한 뒤 HPLC 시료로 사용하였다. Phenolic acid류는 chlorogenic acid, coumaric acid, caffeic acid 및 vanillin(Sigma-Aldrich Co.)의 표준물질을 95% 에탄올에 5~20 µg/mL의 농도로 용해시켜 HPLC(Waters Co., HPLC Alliance 2695 system, Milford, MA, USA)로 정량분석을 실시하였다. HPLC 분석조건으로 Waters사의 Symmetry<sup>®</sup> C<sub>18</sub>(4.6×150 mm, 5 µm) 칼럼을 사용하였다. 이동상은 2% acetic acid(A)와 methanol(B)을 이용하였으며, B 용매를 20%부터 60%까지 증가시켰다. 유속은 1 mL/min으로 조절하였고 injection volume은 20 µL 이었으며 UV detector(Waters Co., PDA 996) 파장은 254 nm로 분석하였다.

**Table 3.** Experimental data on soluble solid content, total phenolics content, and phenolic compound content of *Artemisia capillaris* extract under different ethanol extraction conditions based on central composite design by response surface analysis

Exp. No. <sup>1)</sup>	Soluble solid content (%)	Total phenolics content (mg%)	Chlorogenic acid content (mg%)	Caffeic acid content (mg%)	Coumaric acid content (mg%)	Vanillin content (mg%)
1	0.83	182.77	16.58	0.81	16.22	0.57
2	0.86	193.02	19.50	0.64	18.73	0.62
3	0.83	172.60	18.69	0.79	17.10	0.54
4	0.92	223.02	21.67	1.06	18.94	0.48
5	0.88	220.43	15.96	1.16	17.24	0.26
6	1.02	219.60	22.77	0.87	19.76	0.41
7	1.06	217.62	22.88	1.50	18.59	0.32
8	1.02	219.45	20.89	0.92	19.38	0.40
9	1.08	237.55	24.64	0.98	19.64	0.54
10	1.06	237.72	24.90	0.97	19.64	0.55
11	0.87	179.75	15.37	0.76	15.98	0.50
12	1.01	242.22	21.68	1.40	18.30	0.28
13	0.85	195.23	19.17	0.69	16.10	0.44
14	0.84	195.42	20.00	1.01	19.44	0.26
15	0.83	188.27	8.75	0.55	15.30	0.24
16	0.87	169.10	19.92	0.64	16.99	0.47

<sup>1)</sup>The number of experimental condition by central composite design.

## 결과 및 고찰

### 에탄올 추출조건에 따른 추출물의 이화학적 특성 모니터링

인진쑥으로부터 최적 추출조건을 설정하기 위해 추출에 영향을 미치는 추출온도, 추출시간 및 에탄올 농도에 대하여 중심합성계획에 따라 설계된 16구의 추출조건에서 얻어진 추출물의 가용성 고형분 함량, 총 페놀성 화합물, chlorogenic acid, caffeic acid, coumaric acid 및 vanillin의 측정 결과는 Table 3과 같다. 가용성 고형분 함량의 경우 0.83~1.08%, 총 페놀성 화합물 함량은 169.10~242.22 mg%, chlorogenic acid 함량은 8.75~24.90 mg%, caffeic acid 함량은 0.55~1.50 mg%, coumaric acid 함량은 15.30~19.76 mg%, vanillin 함량은 0.24~0.62 mg% 범위의 값을 나타내었다. 각각의 결과를 이용하여 반응표면 회귀분석을 실시하고 각 종속변수에 대한 회귀식을 얻었다. 또한 변수별 최적 추출조건과 품질특성 값을 예측하여 Table 4에 나타내었으며, 이들의 4차원 반응표면은 추출온도, 추출시간 및 에탄올 농도를 독립변수로 하여 Fig. 1~6에 나타내었다.

### 가용성 고형분 함량

인진쑥으로부터 최적 추출물을 얻기 위해 각각의 조건에

서 추출한 추출물의 가용성 고형분 함량은 Table 3과 같은 결과에 대한 반응표면 회귀식은 다음과 같다.

$$Y_{SSC} = -1.994375 + 0.053125X_1 + 0.261250X_2 + 0.01588X_3 - 0.000325X_1^2 + 0.001500X_1X_2 - 0.056250X_2^2 - 0.000012500X_1X_3 - 0.000750X_2X_3 - 0.000138X_3^2$$

추출물의 회귀식의 R<sup>2</sup>는 0.8762이고 5% 이내에서 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점은 최대점을 나타내었고, 가용성 고형분 함량은 추출온도 87.65°C, 추출시간 3.19시간 및 에탄올 농도 42.40%에서 1.09%의 최대값을 나타내었다 (Table 4). 추출조건별 가용성 고형분 함량 변화의 반응표면은 Fig. 1과 같이 추출온도 78~88°C, 추출시간 3~4시간 및 에탄올 농도 35~45%의 범위에서 가장 높은 값을 나타내는 것을 알 수 있으며, 가용성 고형분 함량에 대한 추출조건에 대한 영향은 Table 5와 같이 추출온도, 추출시간 및 에탄올 농도에 대해서 5% 이내의 유의성이 인정되어 세 가지 조건 모두에 영향을 크게 받고 있는 것으로 나타났다.

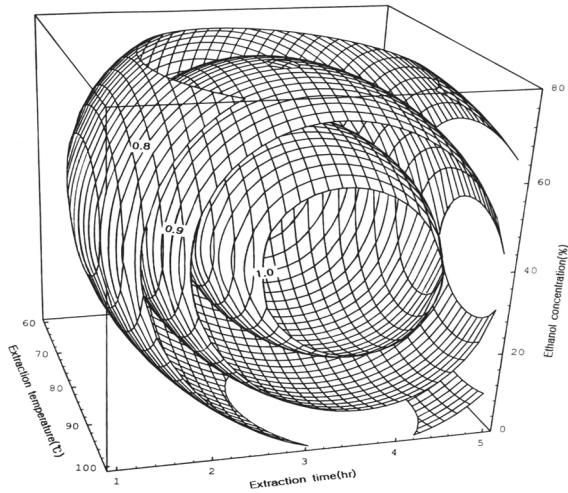
### 총 페놀성 화합물 함량

인진쑥의 페놀성 화합물의 물질은 chlorogenic acid, caffeic acid, phenol, scopoletin, scoparone, *p*-cresol,

**Table 4.** Predicted levels of ethanol extraction conditions of *Artemisia capillaris* extract for the maximum responses of variables by the ridge analysis

Responses	R <sup>2</sup>	Pro>F	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Maximum	Morphology
Soluble solid content	0.8762	0.0363	87.65	3.19	42.40	1.09	Maximum
Total phenolics content	0.9036	0.0185	93.42	2.78	33.34	246.88	Maximum
Chlorogenic acid content	0.8937	0.0241	84.30	3.14	47.85	25.66	Maximum
Caffeic acid content	0.8487	0.0612	98.51	3.30	26.16	1.54	Saddle point
Coumaric acid content	0.8866	0.0287	83.45	3.40	45.39	20.25	Maximum
Vanillin content	0.9019	0.0194	68.14	2.29	44.83	0.62	Maximum

X<sub>1</sub>, temperature (°C); X<sub>2</sub>, time (hr); X<sub>3</sub>, ethanol concentration (%).

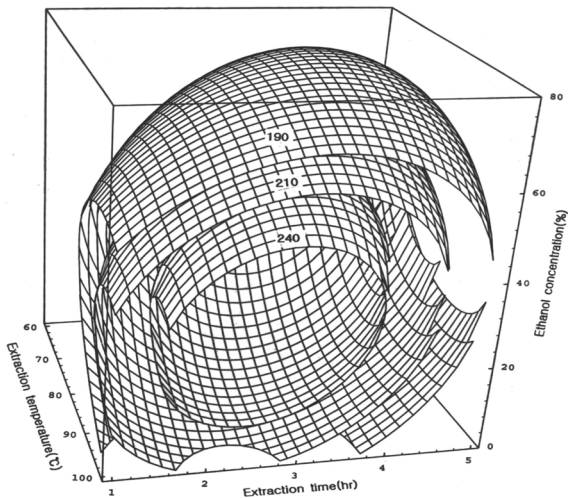


**Fig. 1.** Response surface for soluble solid content of *Artemisia capillaris* extract at constant values as a function of extraction temperature, extraction time, and ethanol concentration.

*o*-cresol, 4-ethyl phenol, capillarisin, eugenol 등이 있다(22). 각각의 추출물에 대한 총 페놀성 화합물 함량은 Table 3과 같으며 4차원 반응표면은 Fig. 2에 나타내었고, 회귀식은 아래와 같다.

$$Y_{TPC} = -619.762500 + 14.447813X_1 + 76.625625X_2 + 5.200844X_3 - 0.066625X_1^2 - 0.284875X_1X_2 - 10.577500X_2^2 - 0.037294X_1X_3 + 0.267688X_2X_3 - 0.036844X_3^2$$

인진쑥의 총 페놀성 화합물 함량에 대한 추출물의 회귀식의 R<sup>2</sup>는 0.9036이고 유의성은 5% 이내의 수준에서 인정되었다. 또한 추출온도, 시간 및 에탄올 농도의 추출조건에 따른 총 페놀성 화합물 함량의 반응표면분석에서 예측된 정상점이 최대점으로 최대값은 246.88 mg%이었고, 이때의 추



**Fig. 2.** Response surface for total phenolics content of *Artemisia capillaris* extract at constant values as a function of extraction temperature, extraction time, and ethanol concentration.

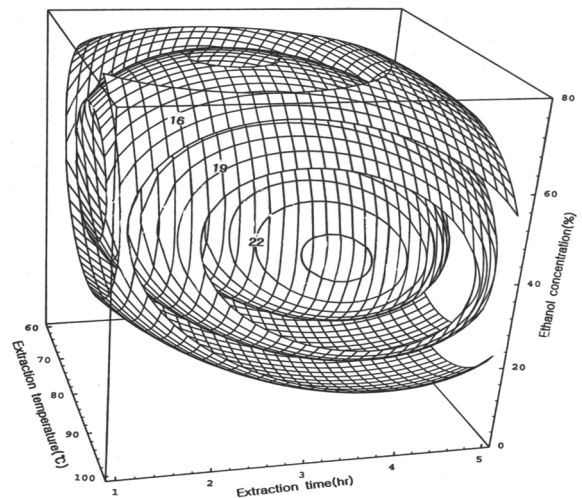
출조건은 추출온도 93.42°C, 추출시간 2.78시간 및 에탄올 농도 33.34%이었다(Table 4). 총 페놀성 화합물 함량의 추출특성에 따른 반응표면을 살펴볼 때 추출시간 2~3시간의 범위에서 추출온도가 높고 에탄올 농도가 낮을수록 함량이 증가하는 것으로 나타났다. 추출조건에 대한 영향은 Table 5에서와 같이 추출물의 총 페놀성 화합물 함량은 추출시간보다 추출온도 및 에탄올 농도에서 더 많은 영향을 받는 것으로 나타났다. Jung 등(23)은 인진쑥을 MeOH로 48시간 추출하였을 때 총 페놀 함량이 60.07±0.89 mg/g으로 보고하여 본 연구결과보다 함량이 높게 나타났다. 이는 시료, 추출용매, 시간 등의 변수의 차이로 사료된다.

**Chlorogenic acid 함량 변화**

중심합성계획에 의한 추출조건별 chlorogenic acid 함량은 Table 3과 같으며, 그 결과에 대한 반응표면 회귀식은 다음과 같다.

$$Y_{CGAC} = -23.380625 + 1.628125X_1 + 4.008750X_2 + 0.590000X_3 - 0.002700X_1^2 - 0.062500X_1X_2 - 0.810000X_2^2 - 0.0026100X_1X_3 + 0.380000X_2X_3 + 0.010350X_3^2$$

인진쑥 추출물의 chlorogenic acid 함량에 대한 회귀식의 R<sup>2</sup>는 0.8937이고 유의성은 5% 이내의 수준에서 유의성이 인정되었다. 추출물의 chlorogenic acid 함량에 대한 예측된 정상점은 최대점으로 추출온도 84.30°C, 추출시간 3.14시간 및 에탄올 농도 47.65%일 때 최대값은 25.66 mg%로 예측되었다(Table 4). Chlorogenic acid의 4차원 반응표면은 Fig. 3과 같이 추출온도가 높을수록 chlorogenic acid 함량이 증가하는 것으로 나타났으며, 특히 에탄올 농도가 40~50%의 범위에서 높은 값을 나타내는 것을 알 수 있었으며 Table 5에서도 알 수 있듯이 추출온도에도 영향을 받지



**Fig. 3.** Response surface for chlorogenic acid content of *Artemisia capillaris* extract at constant values as a function of extraction temperature, extraction time, and ethanol concentration.

만 특히 에탄올 농도에 영향을 많이 받는 것으로 나타났다. Oshino와 Murakami(24)는 chlorogenic acid가  $Fe^{2+}$  이온과 착화합물을 형성하여  $Fe^{2+}$ 에 의해 유도되는 free radical 생성을 억제함에 따라 chlorogenic acid는 항산화와 관계가 있다고 보고하였다.

### Caffeic acid 함량 변화

인진쑥의 각각의 조건에서 추출한 추출물의 caffeic acid 함량은 Table 3과 같다. 이러한 결과를 이용하여 추출조건에 따른 caffeic acid 함량에 대한 반응표면 회귀식은 아래와 같다.

$$Y_{CFAC} = -1.266250 - 0.002188X_1 + 0.249375X_2 + 0.062844X_3 + 0.000263X_1^2 - 0.000125X_1X_2 - 0.031250X_2^2 - 0.000606X_1X_3 + 0.000937X_2X_3 - 0.000238X_3^2$$

인진쑥 추출물의 caffeic acid 함량에 따른 추출물의 회귀식의  $R^2$ 는 0.8487이고 유의성은 10% 이내의 수준에서 인정되었다. 최적 예측조건은 Table 4와 같으며, 이때 예측된 정상점은 안장점으로 나타나 능선분석을 실시하였다. Caffeic acid 함량에 대한 추출물의 최대값은 1.54 mg%로 나타났으며, 이때 추출온도 98.51°C, 추출시간 3.30시간 및 에탄올 농도 26.16%에서 가장 높은 함량을 나타내었다. 추출물의 caffeic acid 함량 변화는 추출온도에 영향을 받는 것으로 나타났으나 추출시간과 에탄올 농도에는 크게 영향을 받지 않는 것으로 나타났다(Table 5). 또한 caffeic acid 함량에 대한 4차원 반응표면은 Fig. 4와 같이 추출온도가 높을수록 함량이 증가하는 것으로 나타났다. Phenolic compound는 최근 항산화와 항암작용으로 인해 주목받고 있는 성분으로 과일, 야채, 약용식물 등에 널리 분포하고 있다. 그중에서 caffeic acid는 항우울 또는 항불안, 항염증, 항바이러스에 대한 효능이 보고되었다(25).

### Coumaric acid 함량 변화

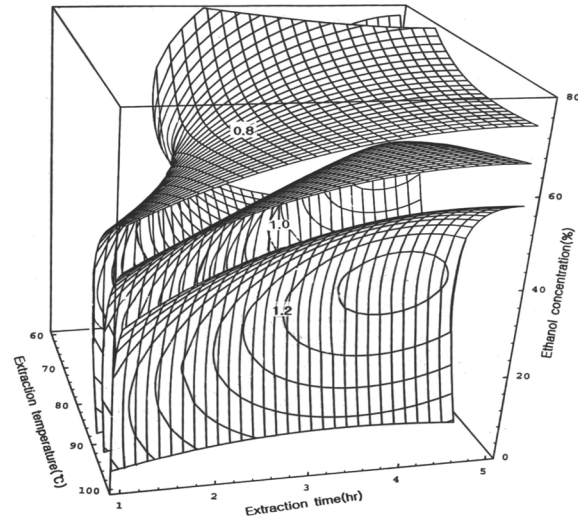
추출조건별 coumaric acid 함량의 변화는 Table 3에 나타내었으며, 결과에 대한 반응표면 회귀식은 아래와 같다.

$$Y_{CMAC} = -1.266250 - 0.002188X_1 + 0.249375X_2 +$$

**Table 5.** Regression analysis for regression model of variables in ethanol extraction condition

Extraction conditions	F-ratio		
	Temp. (°C)	Time (hr)	Ethanol concentration (%)
Soluble solid content	5.34**	5.03**	4.91**
Total phenolics content	8.10**	3.75*	7.45**
Chlorogenic acid content	3.53*	2.55	10.82***
Caffeic acid content	4.65**	1.37	2.68
Coumaric acid content	4.19*	3.41*	7.85**
Vanillin content	8.95**	4.10*	5.00**

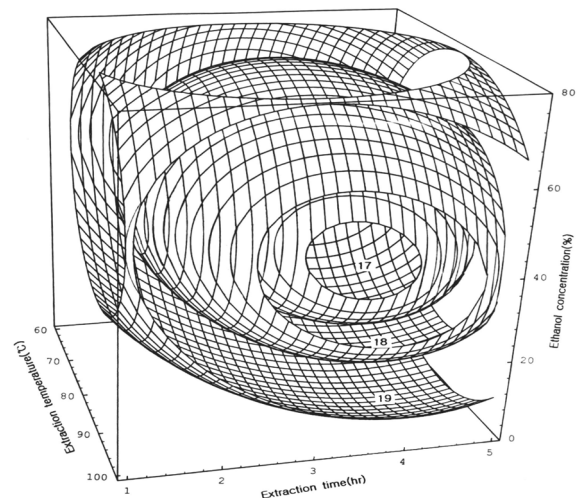
Significant at \*10% level, \*\*5% level, and \*\*\*1% level.



**Fig. 4.** Response surface for caffeic acid content of *Artemisia capillaris* extract at constant values as a function of extraction temperature, extraction time, and ethanol concentration.

$$0.062844X_3 + 0.000263X_1^2 - 0.000125X_1X_2 - 0.031250X_2^2 - 0.000606X_1X_3 + 0.000937X_2X_3 - 0.000238X_3^2$$

추출물의 coumaric acid의 함량에서는 회귀식의  $R^2$ 가 0.8866이고 5% 이내에서 유의성이 인정되었으며, 예측된 정상점은 최대점으로 추출온도 83.45°C, 추출시간 3.40시간 및 에탄올 농도 45.39%에서 최대값은 20.25 mg%로 예측되었다(Table 4). 추출물의 coumaric acid에 대한 4차원 반응표면은 Fig. 5와 같은 형태를 나타내었고 chlorogenic acid와 유사한 경향으로 나타났으며, 45~55%의 에탄올 농도 범위 내에서 추출온도가 높고 추출시간이 길어질수록 함량이 증가하는 것으로 나타났다. Coumaric acid 함량 변화



**Fig. 5.** Response surface for coumaric acid content of *Artemisia capillaris* extract at constant values as a function of extraction temperature, extraction time, and ethanol concentration.

에 대한 추출조건의 영향은 Table 5와 같이 세 독립변수 중 주어진 범위 내에서 에탄올 농도가 추출온도와 시간보다는 많은 영향을 받는 것으로 나타났다. Park과 Park(26)은 썩의 메탄올 추출물에서 분리한 *p*-coumaric acid는 *Bacillus subtilis*, *Salmonella* Typhimurium, *Pseudomonas aeruginosa* 및 *Staphylococcus aureus*의 증식을 억제하는 효과가 있다고 보고하였다.

**Vanillin(4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde) 함량 변화**

인진썩의 에탄올 추출 최적화를 위한 추출조건에 따른 vanillin 함량은 Table 3과 같으며, 추출조건에 있어서 세 가지 조건변수에 따른 vanillin 함량 변화의 반응표면 회귀식은 아래와 같고, 이를 회귀분석 하여 본 결과 회귀식의 R<sup>2</sup>는 0.9010으로 5% 이내의 수준에서 유의성이 인정되었다.

$$Y_{VC} = -0.903750 + 0.0398758X_1 + 0.087500X_2 + 0.00300X_3 - 0.000388X_1^2 + 0.002750X_1X_2 - 0.048750X_2^2 + 0.000150X_1X_3 - 0.01125X_2X_3 - 0.000119X_3^2$$

또한 추출온도, 시간 및 에탄올 농도의 추출조건에 따른 vanillin 함량의 반응표면분석(Fig. 6)에서 예측된 정상점이 최대점으로, 추출온도 68.14°C, 추출시간 2.29시간 및 에탄올 농도 44.83%의 조건에서 최대값은 0.62 mg%로 예측되었다(Table 4). Vanillin 함량의 추출특성에 따른 반응표면을 살펴볼 때 세 변수 중 추출온도에 영향을 가장 많이 받아 추출온도가 낮아질수록 함량이 증가하는 것으로 나타났다. 추출조건의 영향은 Table 5에서와 같이 주어진 범위에서 인진썩의 vanillin 함량에는 추출온도와 에탄올 농도가 크게 영향을 미친다고 볼 수 있다. Vanillin은 바닐라콩에 함유되어 있으며 generally regarded as safe(GRAS)로 분류되는 식품첨가물로 착향의 목적으로 식품가공에 많이 사용되고

있다(27). 한편 vanillin은 항산화 효과를 가지는 것으로 알려져 있다(28,29).

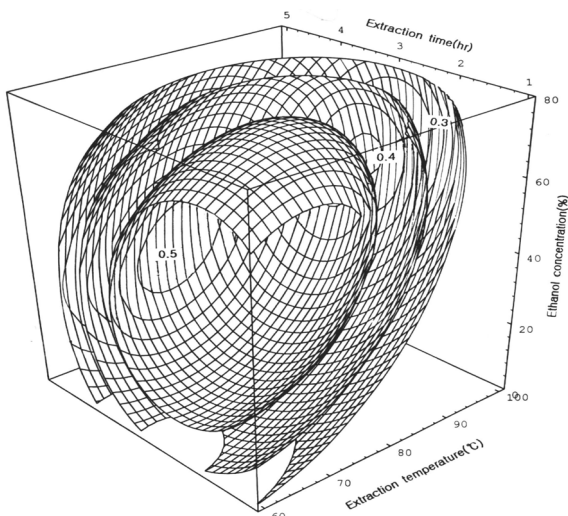
**최적 추출조건 예측**

인진썩 유효성분 함량에 대한 최적 추출조건을 설정하기 위하여 각 성분의 반응표면을 superimposing 하여 Fig. 7에 나타내었다. 각 항목의 최적 추출조건으로 도출되어진 최대 또는 최적값의 반응표면을 한 도면에 일치시킨 결과 가용성 고형분 함량, chlorogenic acid 및 coumaric acid 함량 등 3항목의 최대값의 반응표면의 그림이 완전 또는 부분적으로 적합 되었고 그 일치하는 부분을 각 독립변수의 범위를 읽어 최적 추출조건의 범위로 설정하였다. 이 반응 표면으로부터 설정될 수 있는 최적 조건 범위는 Fig. 7의 짙은 부분으로써 Table 6에 최적 조건을 나타내었다. 인진썩 최적 추출조건 범위는 추출온도 85~90°C, 추출시간 3~4시간 및 에탄올 농도 40~50%로 나타났다. 이로부터 최적점이라 예상되는 추출조건은 추출온도 85°C, 추출시간 3.5시간 및 에탄올 농도 45%를 최적 추출조건으로 예측하였다.

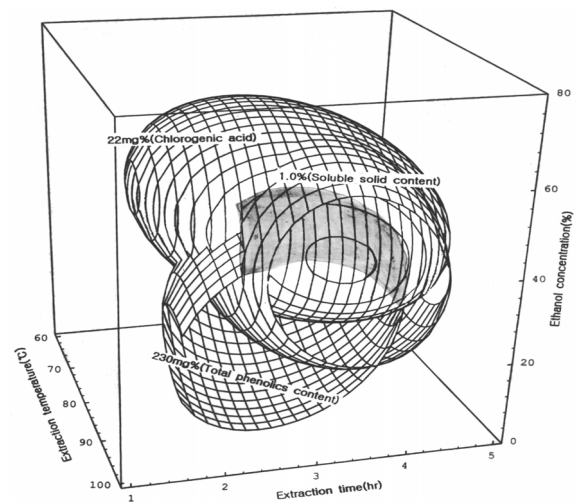
한편 본 연구의 인진썩 외에도 Hong(30)은 Acai 과실의 에탄올 최적 추출조건으로서 수율, 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량 등 6가지 항목으로 superimposing한 결

**Table 6.** The range of optimum extraction condition for maximum response variables by superimposing response surface of soluble solid, chlorogenic acid, coumaric acid content in the extract of *Artemisia capillaris*

Extraction conditions	Range of predicted condition (optimal value)
Temperature (°C)	85 ~ 90 (85)
Time (hr)	3 ~ 4 (3.5)
Ethanol concentration (%)	40 ~ 50 (45)



**Fig. 6.** Response surface for vanillin content of *Artemisia capillaris* extract at constant values as a function of extraction temperature, extraction time, and ethanol concentration.



**Fig. 7.** Superimposed response surface for optimization of soluble solid, total phenolics and chlorogenic acid content as a function of extraction temperature, time, and ethanol concentration of *Artemisia capillaris*.

과, 에탄올 농도 28~58%, 추출온도 60~68°C, 시료에 대한 용매비가 10~12 mL/g으로 나타났다고 보고하였다. Jeon 등(31)은 양과겉질의 flavonoid 물질의 에탄올 최적 추출조건으로 추출용매의 농도는 70%, 추출온도 40°C, 추출용매의 pH 5.3, 원료에 대한 추출용매의 비율은 1:63(w/v)이었다고 보고하였다. 또한 Park 등(32)은 메밀의 새싹 기능성분의 추출조건 최적화 연구에서 총 페놀 함량,  $\alpha$ -glucosidase 저해활성능 및 ACE 저해활성능에 대한 반응표면을 superimposing 하여 얻은 최적 추출조건 범위는 추출온도 0~70°C, 추출시간 2~8시간 및 에탄올 농도 30~80%로 보고하였다. 이들 보고는 본 연구와 원료 및 추출조건 및 종속변수 등이 달라 직접적인 비교하기는 어려웠다.

## 요 약

본 연구는 인진쑥의 광범위한 약리작용과 다양한 생리활성을 이용한 식품소재로서의 개발을 위하여 반응표면분석법에 의한 인진쑥 유효성분의 에탄올 추출특성을 모니터링 하여 최적의 추출조건을 예측하였다. 에탄올을 이용한 추출공정에서 중요변수로 추출온도( $X_1$ ; 60, 70, 80, 90 및 100°C), 추출시간( $X_2$ ; 1, 2, 3, 4 및 5 hr) 및 에탄올 농도( $X_3$ ; 0, 20, 40, 60 및 80%)를 각각 독립변수로 설정하였고 추출물의 품질특성 즉 가용성 고형분 함량( $Y_1$ ), chlorogenic acid ( $Y_2$ ) 및 coumaric acid( $Y_3$ ) 등을 종속변수로 하여 반응표면 회귀분석을 실시하였다. 고형분 함량에 대한 예측된 최적조건은 추출온도 87.65°C, 추출시간 3.19시간, 에탄올 농도 42.40%이었고 chlorogenic acid는 추출온도 84.30°C, 추출시간 3.14시간, 에탄올 농도 47.85%이었으며 coumaric acid는 추출온도 83.45°C, 추출시간 3.40시간 및 에탄올 농도 45.39%로 나타났다. 각 변수에 대한 회귀식을 도출하여 인진쑥 추출물의 각 유효성분들에 대한 최적 추출조건을 superimposing 한 결과, 추출온도 85~90°C, 추출시간 3~4시간 및 에탄올 농도 40~50%로 예측되었다. 이때 각 성분의 함량은 가용성 고형분 함량 1.09%, chlorogenic acid 25.66 mg%, coumaric acid 20.25 mg%이었다.

## 감사의 글

이 논문은 2011학년도 대구대학교 학술연구비(과제번호 20110660) 지원에 의한 논문임.

## REFERENCES

1. KIM TJ, Jang JS. 1996. Korean resources plants VI. Seoul National University Publishing Department Corp., Seoul, Korea. p 259.
2. Lee SG. 2005. The therapeutic effect of *Artemisia capillaris* extract on hepatic damage induced by carbon tetrachloride in rats. *J Vet Clin* 22: 206-213.
3. Kim H, Kim J, Lim M, Yeo S, Jang K, Oh T, Lee G. 2007. Antimicrobial effects of *Artemisia capillaris* extracts on the pathogenic bacteria in vitro. *J Vet Clin* 24: 130-136.
4. Kim JO, Kim YS, Lee JH, Kim MN, Rhee SH, Moon SH, Park KY. 1992. Antimutagenic effect of the major volatile compounds identified from mugwort (*Artemisia asiatica nakai*) leaves. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 308-313.
5. Ahn BM. 2000. What is In-Jin-Sook? *Artemisia capillaries*, *Artemisia iwayomogi*, and *Artemisia annua*. *Korean J Hepatol* 6: 548-551.
6. Lee GD, Kim JS, Bae JO, Yoon HS. 1991. Antioxidative effectiveness of water extract and ether extract in wormwood (*Artemisia montana* Pampan). *J Korean Soc Food Nutr* 21: 17-22.
7. Kim EJ, Lee CK, Choi JW. 1992. The effect of scoparone on the hepatic bromobenzene metabolizing enzyme system in rats. *Kor J Pharmacogn* 23: 81-88.
8. Kiso Y, Ogasawara S, Hirota K, Watanabe N, Oshima Y, Konno C, Hikino H. 1984. Antihepatotoxic principles of *Artemisia capillaris* buds 1. *Planta Med* 50: 81-85.
9. Komiya T, Naruse Y, Oshio H. 1976. Studies on "Inchinko": I. capillarisin, a new choleric substance (author's transl). *Yakugaku Zasshi* 96: 841-854.
10. Cho YH, Chiang MH. 2001. Essential oil composition and antibacterial activity of *Artemisia capillaries*, *Artemisia argyi*, and *Artemisia princeps*. *Kor J Intl Agri* 13: 313-320.
11. Waterfield CJ, Turton JA, Scales MD, Timbrell JA. 1993. Investigations into the effects of various hepatotoxic compounds on urinary and liver taurine levels in rats. *Arch Toxicol* 67: 244-254.
12. Block G, Langseth L. 1994. Antioxidant vitamins and disease prevention. *Food Technol* 48: 80-84.
13. Sheu SJ, Chieh CL, Weng WC. 2001. Capillary electrophoretic determination of the constituents of *Artemisia capillaris* Herba. *J Chromatography A* 911: 285-293.
14. Wu TS, Tsang ZJ, Wu PL, Liou MJ, Leu YL, Chan YY, Lin FW, Shi LS. 1998. Phenylalkynes from *Artemisia capillaris*. *Phytochemistry* 47: 1645-1648.
15. Wu TS, Tsang ZJ, Wu PL, Lin FW, Li CY, Teng CM, Lee KH. 2001. New constituents and antiplatelet aggregation and anti-HIV principles of *Artemisia capillaris*. *Bioorg Med Chem* 9: 77-83.
16. Kimura Y, Okuda H, Okuda T, Halano T, Agata I, Arichi S. 1985. Studies on the activities of tannins and related compounds from medicinal plants and drugs. VII. Effects of extracts of leaves of *Artemisia* species, and caffeic acid and chlorogenic acid on lipid metabolic injury in rats fed peroxidized oil. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 33: 2028-2034.
17. Lim SS, Lee JH. 1997. Effect of *Artemisia princeps* var *orientalis* and *Cirsium japonicum* var *ussuriense* on serum lipid of hyperlipidemic rat. *Korean J Nutr* 30: 12-18.
18. Wanasundara PKJPD, Shahidi F. 1996. Optimization of hexametaphosphate-assisted extraction of flaxseed proteins using response surface methodology. *J Food Sci* 6: 604-607.
19. Abell ML, Braselton JP. 1992. *The mathematica handbook: [compatible with mathematica version 2.0]*. Academic press Inc., Boston, MA, USA. p 15-511.
20. Kwon JH, Bélanger JM, Paré JR. 2003. Optimization of microwave-assisted extraction (MAP) for ginseng components by response surface methodology. *J Agric Food Soc* 89: 216-222.
21. Amerins MA, Ough CS. 1980. *Methods for analysis of musts and wine*. Wiley & Sons, New York, NY, USA. p 176-180.
22. Sheu SJ, Tan YW. 1999. Determination of phenolic com-

- pound in *Artemisia capillaris*. *J High Resolut Chromatogr* 22: 222-224.
23. Jung MJ, Yin Y, Heo SI, Wang MH. 2008. Antioxidant and anticancer activities of extract from *Artemisia capillaries*. *Kor J Pharmacogn* 39: 194-198.
  24. Yoshino M, Murakami K. 1998. Interaction of iron with polyphenolic compounds: application to antioxidant characterization. *Anal Biochem* 257: 40-44.
  25. Kim BY, Jeong JS, Kwon HJ, Lee JH, Hong SP. 2008. Determination of rosmarinic acid and caffeic acid from *Perilla frutescens* var. *japonica* and var. *acuta* by reversed phase HPLC. *Kor J Herbology* 23: 67-72.
  26. Park SK, Park JC. 1994. Antimicrobial activity of extracts and coumaric acid isolated from *Artemisia princeps* var. *orientalis*. *Korean J Biotechnol Bioeng* 9: 506-511.
  27. Rao SR, Ravishankar GA. 2000. Vanilla flavor: production by conventional and biotechnological routes. *J Sci Food Agric* 80: 289-304.
  28. Santosh Kumar S, Priyadarsini KI, Sainis KB. 2002. Free radical scavenging activity of vanillin and *o*-vanillin using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical. *Redox Rep* 7: 35-40.
  29. Burri J, Graf M, Lambelet P, Löliger J. 1989. Vanillin: more than a flavouring agent a potential antioxidant. *J Sci Food Agric* 48: 49-56.
  30. Hong JH. 2011. Optimization of extraction conditions for functional components from Acai (*Euterpe oleracea* Mart.) by response surface methodology. *J East Asian Soc Dietary Life* 21: 713-722.
  31. Jeon SY, Baek JH, Jeong EJ, Cha YJ. 2012. Optimal extraction conditions of flavonoids from onion peels via response surface methodology. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 695-699.
  32. Park KJ, Lim JH, Kim BK, Jeong JW, Kim JC, Lee MH, Cho YS, Jung HY. 2009. Optimization of extraction conditions to obtain functional components from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) sprouts, using response surface methodology. *Korean J Food Preserv* 16: 734-741.