

## 추출조건에 따른 율나무 부위별 Phenolics 함량

박혜진<sup>1</sup> · 이상훈<sup>1</sup> · 장귀영<sup>1</sup> · Meishan Li<sup>1</sup> · 김민영<sup>1</sup> · 김성태<sup>1</sup> · 이지현<sup>1</sup> · 윤건목<sup>2</sup> · 이준수<sup>1</sup> · 정현상<sup>1</sup>

<sup>1</sup>충북대학교 식품생명공학과

<sup>2</sup>충북보건환경연구원

### Phenolic Contents of Different Parts of *Rhus verniciflua* Stokes according to Extraction Conditions

Hye Jin Park<sup>1</sup>, Sang Hoon Lee<sup>1</sup>, Gwi Yeong Jang<sup>1</sup>, Meishan Li<sup>1</sup>, Min Young Kim<sup>1</sup>, Sung Tae Kim<sup>1</sup>, Ji Hyun Lee<sup>1</sup>, Gun Mook Yoon<sup>2</sup>, Junsoo Lee<sup>1</sup>, and Heon Sang Jeong<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science and Biotechnology, Chungbuk National University

<sup>2</sup>Institute of Health & Environment Research

**ABSTRACT** This study investigated changes in phenolic contents of different parts of *Rhus verniciflua* Stokes (RV) according to extraction conditions. Bark and xylem parts of RV were extracted at 80, 100, 120, 140, and 160°C for 1, 3, and 5 h, respectively. Major phenolic compounds (gallic acid, protocatechuic acid, fustin, fisetin, sulfuretin, and butein) of RV were analyzed. The gallic acid, fisetin, sulfuretin, and butein contents significantly increased as extraction temperature increased. Protocatechuic acid and fustin contents increased as increasing extraction temperature to 120°C and decreased afterward. The gallic acid, protocatechuic acid, and butein contents of bark were higher than those of xylem extracts. The optimal extraction conditions of gallic acid, protocatechuic acid, fustin, fisetin, sulfuretin, and butein were 160°C/3 h (380.22 mg%), 120°C/1 h (9.25 mg%), 100°C/3 h (206.97 mg%), 140°C/5 h (93.84 mg%), 140°C/5 h (16.07 mg%) and 160°C/5 h (1.49 mg%), respectively. These results suggest that the optimum extraction temperature and time considering RV extraction yield and cost are 140°C and 3 h, respectively.

**Key words:** *Rhus verniciflua* Stokes, extraction, heat treatment, phenolic compounds

## 서 론

율나무(*Rhus verniciflua* Stokes)는 율나무과(Anacardiaceae)에 속하는 자용이성주의 낙엽 활엽소 교목이다. 율나무과는 전 세계에 분포하고 있으며, 5 아과에 77개의 속으로 나누어진다(1). 국내에 자생하고 있는 *Rhus*속 식물에는 율나무(*Rhus verniciflua* Stokes), 개율나무(*Rhus trichocarpa* Miq.), 검양율나무(*Rhus succedanea* L.), 산검양율나무(*Rhus sylvestris* Sieb. et Zucc.), 덩굴율나무(*Rhus ambigua* Lav.), 오배자나무(*Rhus chinensis* Mill. *Rhus javanica* L.) 등 6종이 있고(2), 우리나라에서는 최근 율나무가 고부가가치 산업으로 인식되면서 산업적으로 이용하려는 시도가 증가되고 있다. 특히 폴리페놀 및 플라보이드 등의 페놀화합물을 함유한 율나무 추출물은 항산화와 항염증 기능이 알려져 있으며(3,4), 간암, 림프종 그리고 유방암 등에 대한 항암 연구가 많이 이루어지고 있다(5,6).

식물 유래 페놀화합물은 단순한 phenol류, phenolic acid류, phenylpropanoid류 및 flavonoid류 등이 대부분으로 항균, 항알러지, 항산화, 항암, 충치예방, 심장질환 및 당뇨병 예방에 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(7). 페놀화합물들은 분자 내 phenolic hydroxyl기가 단백질과 같은 거대분자와의 결합하는 성질 등에 의해 다양한 생리기능을 가지는 것으로 알려져 있는데 현재까지 많은 연구자들이 천연소재로부터 항산화 물질을 추출하려는 연구가 다각도로 이루어지고 있다(8,9).

식품을 가공하기 위한 고온숙성 및 열처리 공정은 영양소 파괴 및 활성물질의 손실 등이 일어나지만 저장기간의 연장 과 품질 및 맛의 개선을 위하여 적용하고 있다. 열처리 동안 식물체 내의 이화학적 변화에 의하여 페놀성 화합물이 증가 된다는 연구 결과가 보고되었고(10,11), 식물의 종류에 따라 폴리페놀이 결합되어 있는 방식이 다르고 열처리 방법이 나 열처리 온도에 따라 생리활성 성분 및 효과가 달라지므로 효율적인 열처리 방법의 연구 및 검토가 필요하며(12), 율나무의 주요 페놀화합물로 알려진 gallic acid, protocatechuic acid, fisetin, fustin, butein 및 sulfuretin 등(3)의 부위별 함량과 열처리 온도와 시간에 따른 수율 변화 연구는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 다양한 생리활성 성분들을 함유하고 있으며, 그 효능 또한 다양하여 식품소재로서의 응용이 기대되는 옷나무를 식품 또는 식품소재로 활용할 수 있는 기초 자료로 제공하고자 추출 온도 및 시간에 따른 옷나무 추출물의 주요 페놀화합물 함량을 비교하여 효율적인 추출 조건을 제시하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 옷나무 및 추출물 제조

본 연구에 사용된 옷나무는 충북 옥천군에서 유통되는 우루시올이 제거된 옷나무 수피(bark)와 목질부(xylem)를 구입한 후 20 mesh로 분쇄하여 실험재료로 사용하였다. 추출 조건에 따른 시료의 페놀화합물 함량을 분석하기 위하여 옷나무의 부위별 시료를 중량 대비 20배의 증류수(w/v)를 첨가한 후 내열성 내부용기에 담아 준비하였다. 20 kg/cm<sup>2</sup> 이상의 압력에서도 견딜 수 있도록 고안·제작된 식품열처리 장치(Jisico, Seoul, Korea)에 시료가 담긴 내부용기를 넣고 물이 채워진 외부용기로부터 전달된 열에너지를 이용하여 80, 100, 120, 140 및 160°C에서 1, 3 및 5시간 동안 추출하였다. 대조구는 초음파 추출기(Ultrasonic bath, SD-350H, Seong Dong, Seoul, Korea)를 이용하여 25°C, 40 kHz, 872 W에서 1시간 추출하였으며, 추출액을 감압여과(Whatman No. 4, Maidstone, UK) 한 후 증류수로 정용하여 gallic acid, protocatechuic acid, fustin, fisetin, sulfuretin 및 butein 함량 분석 시료로 사용하였다.

### Gallic acid와 protocatechuic acid 함량 분석

추출조건에 따른 옷나무 부위별 추출물의 gallic acid와 protocatechuic acid 함량은 추출물 10 mL에 ethyl acetate를 첨가하여 혼합한 후 ethyl acetate 층을 분리 추출하였다. 이 과정을 2회 반복하여 ethyl acetate 층을 회수하고, 여기에 무수 황산나트륨을 넣은 여과지를 사용하여 탈수 여과 및 감압 농축하여 용매를 완전히 제거하였다. 건조물을 85% MeOH에 용해시킨 후 0.2 µm syringe filter(Millipore, Billerica, MA, USA)로 여과하여 이를 HPLC 분석시료로 사용하였다. 이때 칼럼은 ACQUITY UPLC® BEH C<sub>18</sub> column(2.1 mm×5 mm, 1.7 µm, Waters, Milford, MA,

USA)을 사용하였으며, 이동상은 acetonitrile : acetic acid : methanol : water=113:5:20:862(% , v/v/v/v)를 사용하였다. 검출기는 UV 260과 280 nm로 하고 유속은 0.3 mL/min, 시료 주입량은 3 µL로 분석하였다. 표준물질로 gallic acid와 protocatechuic acid를 Sigma사(St. Louis, MO, USA)로부터 구매한 후 검량선을 작성하여 함량을 분석하였다.

### Fustin, fisetin, sulfuretin 및 butein 함량 분석

옷나무 부위별 추출물의 fustin, fisetin, sulfuretin 및 butein 함량은 추출물을 0.2 µm syringe filter(Millipore)로 여과하여 분석시료로 사용하였다. 이때 칼럼은 ACQUITY UPLC® BEH C<sub>18</sub> column(Waters)을 사용하였으며, 이동상은 0.1% acetic acid가 포함된 water(A)와 methanol(B)을 초기 95:5(% , v/v)에서 0.8분에 80:20, 3.0분에 40:60, 4.0분에 20:80, 4.2분에 95:5, 5.0분에 95:5로 설정하였으며, 검출기는 UV 280과 360 nm로 하고 유속은 0.3 mL/min, 시료 주입량은 3 µL로 하여 분석하였다. 표준물질은 Sigma 사로부터 구매한 후 검량선을 작성하여 함량을 분석하였다.

### 통계처리

모든 실험의 각 항목은 3회 반복 실시하여 측정된 평균(mean)과 표준편차(SD)를 산출하고, 각 실험군 간 평균치의 통계적 유의성은 SPSS 통계프로그램(Statistical Package for the Social Science, Ver. 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여  $P < 0.05$  수준으로 Duncan's multiple range test로 검증하였다. 실험 결과에 대한 시료 처리 간의 차이 유무를 통계분석은 SAS(statistical analysis system) program을 활용해 one-way ANOVA(analysis of variance) 검증을 통하여 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### Gallic acid 함량 변화

추출조건에 따른 옷나무 부위별 추출물의 gallic acid 함량 변화는 Table 1과 같다. 추출 온도가 증가함에 따라 옷나무 추출물의 gallic acid 함량은 증가하는 경향을 보였다. 수피 추출물의 경우 1시간 동안 추출한 옷나무 추출물은 대

**Table 1.** Change in gallic acid contents of different parts of *Rhus verniciflua* extracted at various temperatures and times (unit: mg%)

Extraction parts	Extraction time (h)	Extraction temperature (°C)					
		25	80	100	120	140	160
Bark	1	175.84±21.63 <sup>cd</sup>	156.22±21.37 <sup>d</sup>	207.05±14.95 <sup>bc</sup>	229.86±9.15 <sup>ab</sup>	252.43±25.78 <sup>a</sup>	255.68±25.28 <sup>a</sup>
	3	132.24±7.87 <sup>c</sup>	169.22±3.48 <sup>d</sup>	190.26±25.27 <sup>d</sup>	284.86±18.91 <sup>c</sup>	318.51±17.80 <sup>b</sup>	380.22±11.28 <sup>a</sup>
	5	13.98±1.75 <sup>d</sup>	198.80±15.65 <sup>c</sup>	234.76±59.19 <sup>c</sup>	316.39±7.74 <sup>b</sup>	338.82±17.61 <sup>ab</sup>	385.33±7.77 <sup>a</sup>
Xylem	1	71.73±6.17 <sup>c</sup>	128.85±25.51 <sup>b</sup>	169.88±23.20 <sup>a</sup>	189.05±6.59 <sup>a</sup>	202.19±11.94 <sup>a</sup>	196.19±31.98 <sup>a</sup>
	3	116.13±11.08 <sup>f</sup>	153.63±11.84 <sup>e</sup>	183.45±10.28 <sup>d</sup>	217.96±11.47 <sup>c</sup>	265.42±15.92 <sup>b</sup>	312.51±10.10 <sup>a</sup>
	5	26.94±10.39 <sup>d</sup>	147.54±11.09 <sup>c</sup>	214.91±21.71 <sup>b</sup>	224.36±17.79 <sup>b</sup>	260.73±9.21 <sup>a</sup>	274.98±16.08 <sup>a</sup>

Values are mean±SD of 3 replicates.

Different letters (a-e) in the same row indicate a significant difference ( $P < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

**Table 2.** Analysis of variance for phenolic compounds of *Rhus verniciflua* stokes extract

Compounds	Factor	df	Bark extract		Xylem extract	
			Sum of square	F-value	Sum of square	F-value
Gallic acid	X <sub>1</sub>	4	164,869.92	80.31 <sup>***</sup>	7,7081.01	65.93 <sup>***</sup>
	X <sub>2</sub>	2	42,934.73	41.83 <sup>***</sup>	23,379.04	39.99 <sup>***</sup>
	X <sub>3</sub>	8	19,045.12	4.64 <sup>***</sup>	115,421.32	4.94 <sup>***</sup>
Protocatechuic acid	X <sub>1</sub>	4	241.20	227.27 <sup>***</sup>	30.80	114.84 <sup>***</sup>
	X <sub>2</sub>	2	47.45	89.43 <sup>***</sup>	3.28	24.50 <sup>***</sup>
	X <sub>3</sub>	8	17.36	8.18 <sup>***</sup>	10.45	19.49 <sup>***</sup>
Fustin	X <sub>1</sub>	4	16,827.75	1,206.50 <sup>***</sup>	90,984.17	597.80 <sup>***</sup>
	X <sub>2</sub>	2	185.84	26.65 <sup>***</sup>	4,154.75	54.60 <sup>***</sup>
	X <sub>3</sub>	8	356.54	12.78 <sup>***</sup>	12,290.93	40.38 <sup>***</sup>
Fisetin	X <sub>1</sub>	4	7,801.74	951.36 <sup>***</sup>	39,280.86	3,656.22 <sup>***</sup>
	X <sub>2</sub>	2	2,396.15	584.38 <sup>***</sup>	6,172.79	1,149.11 <sup>***</sup>
	X <sub>3</sub>	8	546.14	33.30 <sup>***</sup>	2,400.98	111.74 <sup>***</sup>
Sulfuretin	X <sub>1</sub>	4	149.03	1,132.98 <sup>***</sup>	1,035.78	1,973.44 <sup>***</sup>
	X <sub>2</sub>	2	52.19	793.65 <sup>***</sup>	50.06	190.77 <sup>***</sup>
	X <sub>3</sub>	8	5.48	20.85 <sup>***</sup>	12.57	11.98 <sup>***</sup>
Butein	X <sub>1</sub>	4	2.61	129.48 <sup>***</sup>	4.02	459.32 <sup>***</sup>
	X <sub>2</sub>	2	4.18	414.00 <sup>***</sup>	0.89	204.03 <sup>***</sup>
	X <sub>3</sub>	8	0.17	4.37	1.34	76.92 <sup>***</sup>

X<sub>1</sub>: extraction temperature (°C), X<sub>2</sub>: extraction time (h), X<sub>3</sub>: X<sub>1</sub>×X<sub>2</sub>, df: degree of freedom. \*\*\*P<0.001.

조구와 유의적인 차이를 보이지 않았으나 추출 온도 160°C에서 255.68 mg%의 가장 높은 함량을 나타내었다. 3시간 및 5시간 추출한 옷나무 추출물은 추출 온도가 증가함에 따라 gallic acid 함량이 유의적으로 증가하여 160°C에서 각각 380.22 및 385.33 mg%의 가장 높은 함량을 나타내었다. 목질부 추출물의 경우 1시간 동안 추출한 옷나무 추출물은 추출 온도가 증가할수록 증가하여 추출 온도 140°C에서 202.19 mg%의 함량을 나타내었다. 3시간 및 5시간 추출한 옷나무 추출물은 추출 온도가 증가함에 따라 gallic acid 함량이 유의적으로 증가하였으며 추출 온도 160°C에서 312.51 및 274.98 mg%로 높게 나타났다. Choi 등(13)의 연구에서 포도잎 열수 추출물의 gallic acid 함량을 추출 시간에 따라 분석한 결과 4, 5시간 열수 추출물에서 높은 함량을 보인 결과와 유사하였다. Gallic acid(3,4,5-trihydroxybenzoic acid, C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>)는 탄닌(tannin)의 주요 구성성분이며 항산화 작용을 가지고 있는 대표적인 물질로서 최근에는 발효차 중의 미량성분인 gallic acid 산화물 purpurogallin carboxylic acid가 항염증 효능이 있음이 보고되었다(14). 열처리에 따른 gallic acid 함량의 증가는 단백질과 결합된 고분자의 페놀성 화합물이 열처리에 의해 저분자의 페놀성 화합물로 전환되었거나(15,16), 고온에 의해 옷나무 조직의 결합형 페놀 성분들이 유리형으로 전환되어 용출이 용이해졌기 때문으로 판단된다. 추출 시간에 따른 수피 추출물의 gallic acid 함량은 대조구에서는 추출 시간 3시간에서 가장 높은 함량을 나타내었으나 5시간 동안 추출한 처리구에서는 감소하는 경향을 나타내었으며 추출 온도 80°C 이상의 처리구의 경우 처리 시간이 증가함에 따라 증가하는 경향을 나타내었다.

추출 온도와 시간이 옷나무 부위별 추출물의 gallic acid 함량에 미치는 영향을 분석한 결과 수피 추출물의 경우 온도(F값 80.31, P<0.001)가 가장 큰 영향을 미치는 것으로 나타났으며, 그 다음으로 시간(F값 41.83, P<0.001), 온도와 시간의 상호작용효과(F값 4.64, P<0.001)로 나타났다. 목질부 추출물의 경우에도 온도(F값 65.93, P<0.001)에 의한 영향이 가장 크게 나타났으며, 시간(F값 39.99, P<0.001) 및 온도와 시간의 상호작용효과(F값 4.94, P<0.001)는 적은 것으로 나타났다(Table 2). 이상의 결과로부터 gallic acid 추출을 위한 최적 추출조건은 160°C, 3시간으로 판단된다.

#### Protocatechuic acid 함량 변화

추출조건에 따른 옷나무 부위별 추출물의 protocatechuic acid 함량 변화는 Table 3과 같다. 수피 추출물의 경우 1시간 동안 추출한 옷나무 추출물은 추출 온도가 증가함에 따라 증가하여 추출 온도 120°C에서 9.25 mg%의 가장 높은 protocatechuic acid 함량을 나타내었으나 140°C 이상의 고온에서는 유의적으로 감소하였다. 3시간 및 5시간 추출한 옷나무 추출물은 추출 온도가 증가함에 따라 유의적으로 증가하여 추출 온도 120°C에서 각각 7.74 및 7.75 mg%의 가장 높은 함량을 나타내었으며 140°C 이상의 고온에서는 함량이 감소하여 160°C에서는 검출되지 않았다. 목질부 추출물의 경우 1시간 동안 추출한 옷나무 추출물은 추출 온도가 증가함에 따라 증가하여 추출 온도 120°C에서 3.15 mg%로 가장 높은 함량을 보였으나 140°C 이상의 고온에서는 감소하였다. 3시간 및 5시간 추출한 옷나무 추출물은 추출 온도가 증가함에 따라 증가하여 추출 온도 120°C에서

**Table 3.** Change in protocatechuic acid contents of different parts of *Rhus verniciflua* extracted at various temperatures and times (unit: mg%)

Extraction parts	Extraction time (h)	Extraction temperature (°C)					
		25	80	100	120	140	160
Bark	1	6.95±0.98 <sup>b</sup>	6.83±0.69 <sup>b</sup>	7.73±0.57 <sup>b</sup>	9.25±1.01 <sup>a</sup>	7.98±0.57 <sup>ab</sup>	4.71±0.32 <sup>c</sup>
	3	5.12±0.11 <sup>d</sup>	5.21±0.11 <sup>d</sup>	6.26±0.18 <sup>c</sup>	7.74±0.17 <sup>a</sup>	6.79±0.31 <sup>b</sup>	ND
	5	1.35±0.17 <sup>d</sup>	4.50±0.85 <sup>c</sup>	6.17±0.74 <sup>b</sup>	7.75±0.35 <sup>a</sup>	6.86±0.43 <sup>ab</sup>	ND
Xylem	1	1.36±0.29 <sup>c</sup>	2.51±0.26 <sup>b</sup>	2.85±0.26 <sup>ab</sup>	3.15±0.59 <sup>a</sup>	2.98±0.15 <sup>ab</sup>	2.45±0.17 <sup>b</sup>
	3	2.71±0.05 <sup>ab</sup>	2.58±0.18 <sup>b</sup>	2.95±0.25 <sup>ab</sup>	3.02±0.10 <sup>a</sup>	3.00±0.39 <sup>a</sup>	ND
	5	1.75±0.39 <sup>c</sup>	2.37±0.17 <sup>b</sup>	3.18±0.25 <sup>a</sup>	3.08±0.19 <sup>a</sup>	2.14±0.28 <sup>bc</sup>	ND

Values are mean±SD of 3 replicates. ND: not detected.

Different letters (a-d) in the same row indicate a significant difference ( $P<0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

각각 3.02 mg%와 3.08 mg%까지 증가하였지만 이후 감소하여 추출 온도 160°C의 처리구에서는 검출되지 않았다. 이상의 결과로부터 고온 추출 시 protocatechuic acid의 열분해 또는 불용화로 인하여 추출액 중으로의 이행이 감소되고(17), 추출 시간이 길어질수록 탄화 등 열에 의한 변성으로 감소된 것으로 판단된다(18). Protocatechuic acid(3,4-dihydroxybenzoic acid, C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>, PCA)는 식물에 널리 분포하는 페놀화합물의 한 종류로 항산화와 항염증 활성으로 인하여 많은 연구자들의 관심의 대상이었고, 식용으로 많이 섭취하는 열매에 풍부히 함유되어 있으며 가열처리 시 함량 증가가 보고되었다(19).

추출 온도와 시간이 옷나무 부위별 추출물의 protocatechuic acid 함량에 미치는 영향을 분석한 결과 수피 추출물의 경우 온도(F값 227.27,  $P<0.001$ )가 가장 큰 영향을 미치는 것으로 나타났으며, 시간(F값 89.43,  $P<0.001$ ), 온도와 시간의 상호작용효과(F값 8.18,  $P<0.001$ )는 작게 나타났다. 목질부 추출물의 경우에도 온도(F값 114.84,  $P<0.001$ )가 가장 큰 영향을 미치며, 시간(F값 24.50,  $P<0.001$ ), 온도와 시간의 상호작용효과(F값 19.49,  $P<0.001$ )는 작게 나타났다. 부위별 옷나무 추출물의 protocatechuic acid 함량은 온도가 가장 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다(Table 2). 이상의 결과로부터 protocatechuic acid 추출을 위한 최적 추출조건은 120°C, 1시간으로 판단된다.

### Fustin 함량 변화

추출조건에 따른 옷나무 부위별 추출물의 fustin 함량 변

화는 Table 4와 같다. 수피 추출물의 경우 추출 온도가 증가함에 따라 유의적으로 증가하여 추출 온도 100°C에서 각각 53.67, 54.03 및 53.20 mg%로 가장 높은 함량을 보였으나 120°C 이상에서 추출한 옷나무 추출물은 함량이 감소하여 추출 온도 160°C에서 8.27, 7.13 및 2.47 mg%로 가장 낮은 함량을 나타내었다. 목질부 추출물의 경우에도 추출 온도 100°C에서 각각 185.23, 206.97 및 205.27 mg%의 가장 높은 fustin 함량을 나타내었으며, 120°C 이상의 추출 온도에서는 감소하는 경향을 나타내었고 추출 온도 160°C의 처리구에서는 97.07, 85.63 및 35.90 mg%까지 감소하였다. 옥천산 옷나무껍질에 장수버섯균사체를 접종시켜 제조한 발효물의 fustin 함량(27.94 mg%)보다 높게 나타났고(20) 톱풀과 울릉미역취 어린잎을 고온에서 가압열처리 시 총 폴리페놀 함량이 감소한다는 Woo 등(21)의 보고와 유사한 결과이며, 이는 시료에 따른 페놀성 화합물의 종류 및 결합 정도의 차이 때문으로 판단된다. Fustin(3,3',4',7-tetrahydroxyflavanone, C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>)은 플라보노이드의 일종으로 urushiol이 제거된 옷나무 추출물의 주요 성분으로 항산화 활성을 가지고 있으며, 알츠하이머 질환 및 류마티스 관절염에 효과가 보고되었다(22,23).

추출 온도와 시간이 옷나무 부위별 추출물의 fustin 함량에 미치는 영향을 분석한 결과 수피 추출물의 경우 온도(F값 1,206.50,  $P<0.001$ )가 가장 큰 영향을 미치는 것으로 나타났으며, 시간(F값 26.65,  $P<0.001$ ), 온도와 시간의 상호작용효과(F값 12.78,  $P<0.001$ )는 미미한 것으로 나타났다. 목질부 추출물의 경우 온도(F값 597.80,  $P<0.001$ )가 가장 큰

**Table 4.** Change in fustin contents of different parts of *Rhus verniciflua* extracted at various temperatures and times (unit: mg%)

Extraction parts	Extraction time (h)	Extraction temperature (°C)					
		25	80	100	120	140	160
Bark	1	33.70±1.40 <sup>c</sup>	45.83±3.10 <sup>b</sup>	53.67±2.14 <sup>a</sup>	47.07±1.07 <sup>b</sup>	17.70±0.79 <sup>d</sup>	8.27±0.15 <sup>e</sup>
	3	22.40±1.31 <sup>d</sup>	47.00±1.77 <sup>b</sup>	54.03±3.39 <sup>a</sup>	40.07±2.12 <sup>c</sup>	15.67±0.42 <sup>e</sup>	7.13±0.87 <sup>f</sup>
	5	12.27±1.50 <sup>d</sup>	49.93±3.11 <sup>b</sup>	53.20±1.65 <sup>a</sup>	38.50±1.86 <sup>c</sup>	3.90±0.53 <sup>e</sup>	2.47±0.32 <sup>e</sup>
Xylem	1	99.70±3.80 <sup>e</sup>	143.60±7.37 <sup>c</sup>	185.23±0.60 <sup>a</sup>	154.87±3.27 <sup>b</sup>	134.17±5.53 <sup>d</sup>	97.07±3.71 <sup>e</sup>
	3	96.20±3.60 <sup>e</sup>	179.00±8.80 <sup>b</sup>	206.97±6.19 <sup>a</sup>	149.93±2.25 <sup>c</sup>	104.23±9.79 <sup>d</sup>	85.63±2.03 <sup>f</sup>
	5	97.60±4.25 <sup>d</sup>	165.47±14.30 <sup>b</sup>	205.27±2.78 <sup>a</sup>	147.23±3.79 <sup>c</sup>	65.00±3.55 <sup>e</sup>	35.90±1.04 <sup>f</sup>

Values are mean±SD of 3 replicates.

Different letters (a-f) in the same row indicate a significant difference ( $P<0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

**Table 5.** Change in fisetin contents of different parts of *Rhus verniciflua* extracted at various temperatures and times (unit: mg%)

Extraction parts	Extraction time (h)	Extraction temperature (°C)					
		25	80	100	120	140	160
Bark	1	1.14±0.10 <sup>f</sup>	4.23±0.43 <sup>e</sup>	8.24±0.50 <sup>d</sup>	18.88±0.81 <sup>c</sup>	33.08±1.92 <sup>a</sup>	23.35±1.03 <sup>b</sup>
	3	1.10±0.09 <sup>e</sup>	9.06±0.30 <sup>d</sup>	19.00±0.50 <sup>c</sup>	27.62±0.74 <sup>b</sup>	42.57±2.30 <sup>a</sup>	41.23±1.47 <sup>a</sup>
	5	1.00±0.06 <sup>f</sup>	10.06±0.30 <sup>e</sup>	20.92±0.51 <sup>d</sup>	44.50±1.08 <sup>c</sup>	53.44±2.68 <sup>a</sup>	47.84±2.81 <sup>b</sup>
Xylem	1	0.96±0.06 <sup>c</sup>	5.25±0.28 <sup>d</sup>	11.85±0.78 <sup>c</sup>	25.56±0.79 <sup>b</sup>	52.22±1.50 <sup>a</sup>	51.94±1.82 <sup>a</sup>
	3	1.10±0.12 <sup>f</sup>	10.44±0.20 <sup>e</sup>	23.38±0.58 <sup>d</sup>	41.31±0.95 <sup>c</sup>	86.60±2.61 <sup>b</sup>	96.24±2.62 <sup>a</sup>
	5	1.15±0.05 <sup>f</sup>	10.40±0.92 <sup>e</sup>	25.45±0.83 <sup>d</sup>	54.04±0.71 <sup>c</sup>	93.84±3.35 <sup>b</sup>	97.19±2.28 <sup>a</sup>

Values are mean±SD of 3 replicates.

Different letters (a-f) in the same row indicate a significant difference ( $P<0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

영향을 미치며, 시간(F값 54.60,  $P<0.001$ ), 온도와 시간의 상호작용효과(F값 40.38,  $P<0.001$ )는 작게 나타났다(Table 2). 이상의 결과로부터 fustin 추출을 위한 최적 추출조건은 100°C, 3시간으로 판단된다.

#### Fisetin 함량 변화

추출조건에 따른 옻나무 부위별 추출물의 fisetin 함량 변화는 Table 5와 같다. 수피 추출물의 경우 1시간 동안 추출한 옻나무 추출물은 추출 온도가 증가함에 따라 증가하여 추출 온도 140°C에서 33.08 mg%의 가장 높은 함량을 보였으나 추출 온도 160°C에서는 감소하였다. 3시간 및 5시간 추출한 옻나무 추출물 또한 추출 온도가 증가함에 따라 증가하여 추출 온도 140°C에서 각각 42.57 및 53.44 mg%의 가장 높은 함량을 보였고 추출 온도 160°C에서는 감소하였다. 목질부 추출물의 경우 1시간 동안 추출한 옻나무 추출물은 추출 온도가 증가함에 따라 유의적으로 증가하였고 추출 온도 140°C에서 52.22 mg%로 가장 높은 함량을 보였으며, 3시간 및 5시간 추출한 옻나무 추출물 역시 추출 온도가 증가함에 따라 유의적으로 증가하여 추출 온도 160°C에서 각각 96.24 및 97.19 mg%의 가장 높은 함량을 나타내었다. Fisetin(3,3',4',7-tetrahydroxyflavone, C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>)은 플라보노이드의 일종으로 urushiol이 제거된 옻나무 추출물의 주요 성분의 하나이다. Kim 등(24)은 DPPH 라디칼 소거활성과 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의해 유도된 산화적 스트레스 감소 활성 평가를 통하여 fisetin의 높은 항산화 활성을 검증하였으며, 따라서 옻나무의 fisetin은 항산화 활성에 기여할 수 있을 것이라 판단된다.

추출 온도와 시간이 옻나무 부위별 추출물의 fisetin 함량에 미치는 영향을 분석한 결과 수피 추출물의 경우 온도(F값 951.36,  $P<0.001$ )가 가장 큰 영향을 미치는 것으로 나타났으며, 시간(F값 584.38,  $P<0.001$ ), 온도와 시간의 상호작용효과(F값 33.30,  $P<0.001$ )는 작게 나타났다. 목질부 추출물의 경우에도 온도(F값 3,656.22,  $P<0.001$ )가 가장 큰 영향을 미치며, 시간(F값 1,149.11,  $P<0.001$ ), 온도와 시간의 상호작용효과(F값 111.74,  $P<0.001$ )는 작게 나타났다(Table 2). 이상의 결과로부터 fisetin 추출을 위한 최적 추출조건은 140°C, 5시간으로 판단된다.

#### Sulfuretin 함량 변화

추출조건에 따른 옻나무 부위별 추출물의 sulfuretin 함량 변화는 Table 6과 같다. 수피 추출물의 경우 1시간 동안 추출한 옻나무 추출물은 추출 온도가 높아짐에 따라 유의적으로 증가하여 추출 온도 160°C에서 5.78 mg%의 가장 높은 함량을 나타내었고, 3시간 및 5시간 동안 추출한 옻나무 추출물 또한 추출 온도가 증가함에 따라 함량이 증가하여 140°C에서 각각 6.63 및 8.79 mg%의 높은 함량이 측정되었으나 160°C에서 감소하는 경향을 나타내었다. 목질부 추출물의 경우 1시간 및 3시간 동안 추출한 옻나무 추출물은 추출 온도가 증가함에 따라 유의적으로 증가하여 추출 온도 160°C에서 각각 13.06 및 16.40 mg%의 가장 높은 함량을 나타내었으며, 5시간 추출한 옻나무 추출물은 추출 온도 140°C에서 16.07 mg%로 나타났다. 이는 가열 온도 및 시간이 증가할수록 결합성 페놀화합물을 유리형으로 전환시켜 용출을 용이하게 하거나 고분자 페놀화합물로부터 저분

**Table 6.** Change in sulfuretin contents of different parts of *Rhus verniciflua* extracted at various temperatures and times (unit: mg%)

Extraction parts	Extraction time (h)	Extraction temperature (°C)					
		25	80	100	120	140	160
Bark	1	0.57±0.02 <sup>f</sup>	1.44±0.17 <sup>c</sup>	2.86±0.03 <sup>d</sup>	4.65±0.18 <sup>c</sup>	5.45±0.23 <sup>b</sup>	5.78±0.09 <sup>a</sup>
	3	0.65±0.03 <sup>e</sup>	2.36±0.14 <sup>d</sup>	3.91±0.10 <sup>c</sup>	5.30±0.11 <sup>b</sup>	6.63±0.23 <sup>a</sup>	6.53±0.28 <sup>a</sup>
	5	0.52±0.05 <sup>f</sup>	2.64±0.05 <sup>e</sup>	5.99±0.12 <sup>d</sup>	7.29±0.25 <sup>c</sup>	8.79±0.14 <sup>a</sup>	8.46±0.31 <sup>b</sup>
Xylem	1	0.34±0.07 <sup>f</sup>	2.28±0.04 <sup>c</sup>	4.87±0.05 <sup>d</sup>	6.60±0.42 <sup>c</sup>	12.61±0.28 <sup>b</sup>	13.06±0.30 <sup>a</sup>
	3	0.67±0.01 <sup>e</sup>	3.23±0.20 <sup>d</sup>	6.17±0.12 <sup>c</sup>	7.78±0.23 <sup>b</sup>	15.97±0.65 <sup>a</sup>	16.40±0.26 <sup>a</sup>
	5	0.60±0.10 <sup>e</sup>	3.42±0.31 <sup>d</sup>	7.76±0.41 <sup>c</sup>	8.72±0.30 <sup>b</sup>	16.07±0.73 <sup>a</sup>	15.45±0.38 <sup>a</sup>

Values are mean±SD of 3 replicates.

Different letters (a-f) in the same row indicate a significant difference ( $P<0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

**Table 7.** Change in butein contents of different parts of *Rhus verniciflua* extracted at various temperatures and times (unit: mg%)

Extraction parts	Extraction time (h)	Extraction temperature (°C)					
		25	80	100	120	140	160
Bark	1	ND	0.12±0.01 <sup>d</sup>	0.15±0.02 <sup>c</sup>	0.57±0.01 <sup>b</sup>	0.58±0.04 <sup>a</sup>	0.62±0.02 <sup>a</sup>
	3	ND	0.65±0.01 <sup>e</sup>	0.74±0.04 <sup>d</sup>	1.05±0.11 <sup>c</sup>	1.12±0.08 <sup>b</sup>	1.25±0.14 <sup>a</sup>
	5	ND	0.63±0.02 <sup>d</sup>	1.03±0.09 <sup>c</sup>	1.15±0.14 <sup>b</sup>	1.29±0.07 <sup>a</sup>	1.49±0.02 <sup>a</sup>
Xylem	1	ND	0.15±0.01 <sup>d</sup>	0.22±0.01 <sup>c</sup>	0.27±0.03 <sup>b</sup>	0.35±0.04 <sup>a</sup>	0.35±0.00 <sup>a</sup>
	3	0.06±0.01 <sup>e</sup>	0.19±0.01 <sup>d</sup>	0.22±0.01 <sup>c</sup>	0.29±0.02 <sup>b</sup>	0.64±0.01 <sup>a</sup>	1.17±0.09 <sup>a</sup>
	5	ND	0.18±0.02 <sup>e</sup>	0.30±0.04 <sup>d</sup>	0.33±0.04 <sup>c</sup>	0.75±0.12 <sup>b</sup>	1.44±0.05 <sup>a</sup>

Values are mean±SD of 3 replicates. ND: not detected.

Different letters (a-e) in the same row indicate a significant difference ( $P<0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

자로 분해시켜 시료에서 추출되는 페놀성 화합물의 함량이 증가된 것으로 판단된다(16,21). Sulfuretin(3',4',6-trihydroxyaurone,  $C_{15}H_{10}O_5$ )은 플라보노이드의 일종이며 urushiol이 제거된 옷나무 추출물의 주요 성분의 하나로 돌연변이 유발(25)을 감소시키며 최근 연구에서는 항염 효과가 있다는 연구가 보고되었다(26).

추출 온도와 시간이 옷나무 부위별 추출물의 sulfuretin 함량에 미치는 영향을 분석한 결과 수피 추출물의 경우 온도(F값 1,132.98,  $P<0.001$ )가 가장 큰 영향을 미치는 것으로 나타났으며, 시간(F값 793.65,  $P<0.001$ ), 온도와 시간의 상호작용효과(F값 20.85,  $P<0.001$ )는 작게 나타났다. 목질부 추출물의 경우에도 온도(F값 1,973.44,  $P<0.001$ )가 가장 큰 영향을 미치며, 시간(F값 190.77,  $P<0.001$ ), 온도와 시간의 상호작용효과(F값 11.98,  $P<0.001$ )는 작게 나타났다(Table 2). 이상의 결과로부터 sulfuretin 추출을 위한 최적 추출조건은 140°C, 5시간으로 판단된다.

### Butein 함량 변화

추출조건에 따른 옷나무 부위별 추출물의 butein 함량 변화는 Table 7과 같다. 수피 추출물의 경우 1시간 동안 추출한 옷나무 추출물은 추출 온도가 증가함에 따라 유의적으로 증가하여 추출 온도 160°C에서 0.62 mg%의 함량을 나타내었으며 3시간 및 5시간 추출한 옷나무 추출물 또한 추출 온도에 따른 유의적인 함량 증가를 보여 각각 1.25 및 1.49 mg%로 나타났다. 목질부 추출물의 경우에도 1시간 동안 추출한 옷나무 추출물은 추출 온도가 증가함에 따라 유의적으로 증가하여 추출 온도 140°C 및 160°C의 처리구에서 0.35 mg%의 함량을 나타내었고 추출 시간 3시간 및 5시간 처리구에서는 160°C의 처리구에서 각각 1.17 및 1.44 mg%의 함량을 나타내었다. 본 연구에서 분석한 옷나무의 다른 주요 페놀화합물과는 달리 수피 추출물에서 보다 많은 butein 함량이 분석되었으며, 온도 의존적인 함량 증가는 Park 등(27)의 연구와 유사하였다. Butein(2',3,4,4'-tetrahydroxychalcone,  $C_{15}H_{12}O_5$ )은 플라보노이드의 일종으로 옷나무 추출물의 주요 성분의 하나이며, 항산화 효과가 보고되었다(3).

추출 온도와 시간이 옷나무 부위별 추출물의 butein 함량

에 미치는 영향을 분석한 결과 수피 추출물의 경우 온도(F값 129.48,  $P<0.001$ )가 가장 큰 영향을 미치는 것으로 나타났으며, 시간(F값 414.00,  $P<0.001$ )은 영향을 주지만 온도와 시간의 상호작용효과(F값 4.37,  $P<0.05$ )는 영향이 없으므로 나타났다. 목질부 추출물의 경우 온도(F값 459.32,  $P<0.001$ )가 가장 큰 영향을 미치며, 시간(F값 204.03,  $P<0.001$ ), 온도와 시간의 상호작용효과(F값 76.92,  $P<0.001$ )는 작게 나타났다(Table 2). 이상의 결과로부터 butein 추출을 위한 최적 추출조건은 160°C, 5시간으로 판단된다.

### 요 약

추출 온도와 시간에 따른 옷나무의 주요 페놀화합물의 함량을 부위별로 분석하고 이들의 효율적인 추출조건을 확립하였다. 옷나무 추출물의 gallic acid 함량은 추출 온도가 증가함에 따라 증가하여 수피의 160°C, 5시간 처리구에서 385.33 mg%로 가장 높았다. Protocatechuic acid 함량은 수피의 120°C, 1시간 처리구에서 9.25 mg%로 높았지만 그 이상의 온도에서는 크게 감소하였다. Fustin은 120°C 이상에서는 감소하였으며 목질의 100°C, 3시간 처리구에서 206.97 mg%로 가장 높았다. Fisetin은 추출 온도가 증가함에 따라 증가하여 목질부의 160°C, 5시간 처리구에서 가장 높았다. Sulfuretin은 fisetin과 유사한 경향을 나타내었으며, 목질부의 160°C, 3시간 처리구에서 16.40 mg%로 가장 높았다. Butein은 추출 온도 및 추출 시간이 증가함에 따라 증가하였으며, 목질부의 160°C, 5시간 처리구에서 1.49 mg%로 가장 높았다. 통계분석 결과 옷나무의 주요 페놀화합물 추출에 영향을 미치는 요인은 추출 온도가 가장 큰 것으로 나타났다. 유효성분, 추출 수율, 경제성 등을 감안할 때 옷나무 부위별 효율적인 추출조건은 추출 온도 140°C와 추출 시간 3시간이었다.

### REFERENCES

- Hong DH, Han SB, Lee CW, Park SH, Jeon YJ, Kim MJ, Kwak SS, Kim HM. 2000. Cytotoxicity of urushiol isolate from sap of Korean lacquer tree (*Rhus verniciflua* Stokes). *Arch Pharm Res* 22: 638-641.

2. Lee C. 2001. Studies on the correlation analysis to collection of *Rhus lacquer* by several factors of *Rhus verniciflua*. *MS Thesis*. Sangji University, Wonju, Korea.
3. Ahn EM, Park SJ, Choi WC, Choi SH, Baik NI. 2007. Antioxidant activity of isolated compounds from the heartwoods of *Rhus verniciflua*. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 50: 358-361.
4. Lee JD, Huh JE, Jeon GS, Yang HR, Woo HS, Choi DY, Park DS. 2009. Flavonol-rich RVHxR from *Rhus verniciflua* stokes and its major compound fisetin inhibits inflammation-related cytokines and angiogenic factor in rheumatoid arthritic fibroblast-like synovial cells and *in vivo* models. *Int Immunopharmacol* 9: 268-276.
5. Lee JC. 2004. Flavonoid fraction purified from *Rhus verniciflua* stokes actively inhibits cell growth via induction of apoptosis in mouse tumorigenic hepatocytes. *Nat Prod Sci* 10: 74-79.
6. Lee JC, Lee KY, Kim J, Na CS, Jung NC, Chung GH, Jang YS. 2004. Extract from *Rhus verniciflua* stokes is capable of inhibiting the growth of human lymphoma cells. *Food Chem Toxicol* 42: 1383-1388.
7. Azuma K, Nakayama M, Koshica M, Lppoushi K, Yamaguchi Y, Kohata L, Yamaguchi Y, Ito H, Higashio H. 1999. Phenolic antioxidants from the leaves of *Corchorus olitorius* L. *J Agric Food Chem* 47: 3963-3966.
8. Scalbert A, Johnson IT, Saltmarsh M. 2005. Polyphenols: antioxidants and beyond. *Am J Clin Nutr* 81: 215-217.
9. Sakihama Y, Cohen MF, Grace SC, Yamasaki H. 2002. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology* 177: 67-80.
10. Kim WY, Kim JM, Han SB, Lee SK, Kim ND, Park MK, Kim CK, Park JH. 2000. Steaming of ginseng at high temperature enhances biological activity. *J Nat Prod* 63: 1702-1704.
11. Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH. 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50: 3010-3014.
12. Kwak J, Oh SK, Kim DJ, Lee JH, Yoon MR, Kim HW, Lee JS. 2013. Effects of heat-treated brown rice on total phenolics and antioxidant activities. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 534-541.
13. Choi SK, Yu QM, Lim EJ, Seo JS. 2013. The effects of extraction conditions on the antioxidative effects of extracts from campbell early and muscat bailey a grapevine leaves. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 168-174.
14. Jhoo JW. 2008. Anti-inflammatory effects of purpurogallin carboxylic acid, an oxidation product of gallic acid in fermented tea. *Korean J Food Sci Technol* 40: 707-711.
15. Turkmen N, Sari F, Velioglu YS. 2005. The effects of cooking methods total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chem* 93: 713-718.
16. Hwang CR, Oh SH, Kim HY, Lee SH, Hwang IG, Shin YS, Lee JS, Jeong HS. 2011. Chemical composition and antioxidant activity of Deoduk (*Codonopsis lanceolata*) and Doragi (*Platycodon grandiflorum*) according to temperature. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 798-803.
17. Burdurlu HS, Karadeniz F. 2003. Effect of storage on non-enzymatic browning of apple juice concentrates. *Food Chem* 80: 91-97.
18. Murkovic M, Bornik MA. 2007. Formation of 5-hydroxymethyl-2-furfural (HMF) and 5-hydroxymethyl-2-furoic acid during roasting of coffee. *Mol Nutr Food Res* 51: 390-394.
19. Choi JS, Kim HY, Seo WT, Lee JH, Cho KM. 2012. Roasting enhances antioxidant effect of bitter melon (*Momordica charantia* L.) increasing in flavon-3-ol and phenolic acid contents. *Food Sci Biotechnol* 21: 19-26.
20. Choi HS, Yeo SH, Jeong ST, Choi JH, Park HS, Kim MK. 2012. Preparation and characterization of urushiol free fermented *Rhus verniciflua* stem bark (FRVSB) extracts. *Korean J Food Sci Technol* 44: 173-178.
21. Woo JH, Shin SL, Jeong HS, Lee CH. 2010. Influence of applied pressure and heat treatment on antioxidant activities of young leaves from *Achillea alpina* and *Solidago virgaurea* subsp. *gigantea*. *Korean J Plant Res* 23: 123-130.
22. Kim MY, Chung IM, Choi DC, Park HJ. 2009. Quantitative analysis of fustin and sulfuretin in the inner and outer heartwoods and stem bark of *Rhus verniciflua*. *Nat Prod Sci* 15: 208-212.
23. Park BC, Lee YS, Park HJ, Kwak MK, Yoo BK, Kim JY, Kim JA. 2007. Protective effects of fustin, a flavonoid from *Rhus verniciflua* Stokes, on 6-hydroxydopamine-induced neuronal cell death. *Exp Mol Med* 39: 316-326.
24. Kim ES, Jang HD, Kim GN. 2012. Anti-oxidative function of fisetin and its potential as an anti-oxidant nutri-cosmetics. *Kor J Aesthet Cosmetol* 10: 515-521.
25. Park KY, Jung GO, Lee KT, Choi J, Choi MY, Kim GT, Jung HJ, Park HJ. 2004. Antimutagenic activity of flavonoids from the heartwood of *Rhus verniciflua*. *J Ethnopharmacol* 90: 73-79.
26. Jung CH, Kim JH, Hong MH, Seog HM, Oh SH, Lee PJ, Kim GJ, Kim HM, Um JY, Ko SG. 2007. Phenolic-rich fraction from *Rhus verniciflua* Stokes (RVS) suppress inflammatory response via NF- $\kappa$ B and JNK pathway in lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 macrophages. *J Ethnopharm* 110: 490-497.
27. Park HJ, Yoon GM, Lee SH, Jang GY, Kim MY. 2013. Effects of extraction temperature and time on antioxidant activities of *Rhus verniciflua* extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 1776-1782.