

BBD-RSM을 이용한 민들레로부터 항산화성분의 추출공정 최적화

한경호* · 장현식 · 홍인권†

단국대학교 화학공학과, *단국대학교 전자전기공학부
(2019년 4월 29일 접수, 2019년 5월 4일 심사, 2019년 5월 23일 채택)

Optimization of Antioxidant Extraction from Dandelion (*Taraxacum officinale*) Leaves Using BBD-RSM

Kyongho Han*, Hyun Sik Jang, and In Kwon Hong†

Department of Chemical Engineering, Dankook University, Gyeonggi 16890, Korea
*School of Electronics and Electrical Engineering, Dankook University, Gyeonggi 16890, Korea
(Received April 29, 2019; Revised May 4, 2019; Accepted May 23, 2019)

초 록

본 연구에서는 전통적인 열수추출법과 초음파 추출법을 이용하여 민들레에서 항산화성분을 추출하였다. 추출 후 추출 수율과 항산화성분인 플라보노이드 함량을 최적화하기 위해 반응표면분석법 중 Box-Behnken 설계모형을 이용하여 추출하였다. 열수추출법의 경우 추출온도, 주정/초순수 부피비, 추출시간을 변수로 설정하였으며, 초음파 추출법의 경우 초음파 조사세기, 주정/초순수 부피비, 초음파 조사시간을 변수로 설정하였다. 열수추출법의 최적 추출조건은 추출 온도(45.76 °C), 주정/초순수 부피비(41.92 vol.%), 추출시간(1.75 h)이었다. 또한 초음파 추출법의 최적조건은 초음파 조사세기(512.63 W), 주정/초순수 부피비(56.97 vol.%), 추출시간(20.79 min)이었다. 이 조건에서 예상되는 반응치는 수율(22.09 wt.%), 플라보노이드 함량(28.98 mg QE/mL dw)으로 산출되었다. 또한 실제실험 결과 오차는 3% 이하로 나타나 최적화의 타당성을 입증하였다.

Abstract

In this study, an antioxidant was extracted from dandelion leaves using traditional hot water and ultrasonic extraction methods. In order to optimize the extraction yield and total flavonoid, an antioxidant, Box-Behnken design (BBD) model among response surface analysis methods was used. In the case of hot water extraction, the extraction temperature and time as well as the ratio of alcohol/ultrapure water were set as variables, and for the ultrasonic extraction, the ultrasonic survey century and irradiation time and the ratio of alcohol/ultrapure water were variables. Optimum extraction conditions in the hot water extraction method were the extraction temperature and time of 45.76 °C and 1.75 h and the ratio of alcohol/ultrapure water of 41.92 vol.%. While for the ultrasonic extraction method the survey century of 512.63 W, the ratio of alcohol/ultrapure water of 56.97 vol.% and the extraction time of 20.79 min were optimum conditions. Expected reaction yield and flavonoid content values under the optimized condition were calculated as 22.09 wt.% and 28.98 mg QE/mL dw, respectively. In addition, the error value of less than 3% was obtained validating our optimization process.

Keywords: Total flavonoids, Antioxidant, Dandelion leaves, Box-Behnken design model

1. 서 론

현대사회에서는 많은 사람들이 건강과 미용에 대한 관심이 점점 높아지고 있다. 특히, 노화를 방지시켜주는 항산화물질에 관심이 많다. 항산화물질은 인체의 호흡 또는 외부자극으로 과도하게 생성되는 활성산소로 인해 세포들이 산화되는 것을 방지하는 물질이다. 항산화물

질에는 카로티노이드류, 플라보노이드류, 이소플라본류, 비타민 등이 있다. 항산화물질은 일반적으로 식물에 많이 함유되어 있다. 그중 민들레(dandelion leaves)는 한국, 중국, 일본 등 아시아지역에서 흔하게 볼 수 있는 여러해살이풀이다. 민들레는 예로부터 간과 혈당조절을 돕는 약재로 사용되었고, 현대에 들어와서도 항산화물질이 많은 식물로 활발한 연구가 진행되고 있다. 민들레의 대표적인 효능은 해독, 면역력 증진, 성인병 예방 등이 있다[1-3].

반응표면분석법(response surface methodology, RSM)이란 실험계획법의 일종으로 최소한의 실험으로 최대의 정보를 어떻게 얻을 수 있을 것인가에 대한 계획방법이다. 이는 실험계획법에 따라 얻은 데이터를 적절한 모델함수에 적합화 시키는 수리 통계적 기술이다. 반응

† Corresponding Author: Dankook University,
Department of Chemical Engineering, Gyeonggi 16890, Korea
Tel: +82-31-8005-3544 e-mail: khong@dankook.ac.kr

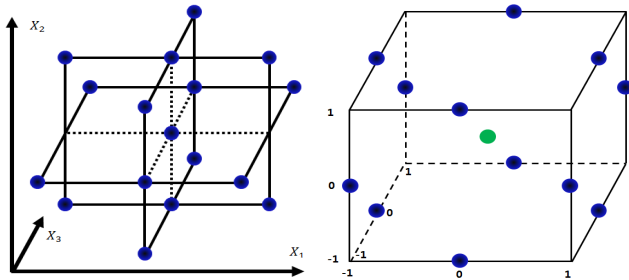


Figure 1. Box-Behnken design model of response surface methodology.

표면분석법은 서로 다른 독립변수인 계량인자(quantitative factor, X)들이 반응치(response, Y)에 영향을 주고 있을 때 계량인자의 변화가 이루는 반응표면에 대한 통계적인 분석을 통해 반응치를 예측한다. 반응표면분석법의 대표적인 모델로는 중심합성계획모델(central composite design model, CCD)과 Box-Behnken 설계모델(Box-Behnken design model, BBD) 등이 있다[4-8]. 이 중 Box-Behnken 설계모델은 3개 이상의 계량인자를 필요로 하며, 각 계량인자는 Figure 1에서와 같이 입방체의 정중앙과 모서리 중앙에 위치하여 계량인자가 반응치에 미치는 영향을 반응표면에 나타내고, 통계적인 분석을 통해 다음과 같이 반응치와 각 계량인자의 관계를 보여준다.

$$Y = C_0 + \sum_i C_i X_i + \sum_i C_{ii} X_i^2 + \sum_{i \neq j} C_{ij} X_i X_j \quad (1)$$

여기서 Y 는 반응치를 나타내고 X 는 서로 다른 계량인자이며, C 는 고유상수이다. 고유상수는 어느 계량인자의 주효과도와 교호효과가 큰지 판별하게 해준다. 위 식에서 일차항은 주효과도를 뜻하고, 서로 다른 계량인자로 이루어진 이차항은 교호효과도를 나타낸다. 위의 회귀방정식에서 하나의 계량인자 값을 고정하여 3차원 그래프를 도식화하면 나머지 두 계량인자의 경향성을 파악할 수 있고, 두 계량인자 값을 고정하면 2차원 그래프를 도식화하여 하나의 계량인자가 반응치에 미치는 영향을 볼 수 있다.

따라서 본 연구에서는 열수추출법과 초음파 추출법을 통해 민들레의 항산화성분의 함량을 알아보고 수율과 항산화성분인 플라보노이드 함량의 최대화를 목표로 하여 실험조건을 최적화를 진행하였다. 추출의 최적화는 반응표면분석법 중 Box-Behnken 설계모델을 사용하였다. 열수추출법의 경우 추출온도, 주정/초순수 부피비, 추출시간을 계량인자로 설정하였으며, 초음파 추출법의 경우 초음파 조사세기, 주정/초순수 부피비, 초음파 조사시간을 계량인자로 설정하였다.

2. 실험방법

2.1. 항산화성분의 추출공정

본 연구에서는 민들레로부터 항산화성분을 추출하기 위해 전통적인 열수추출법과 초음파 추출법을 이용하였다. 열수추출법은 용매와 용질을 혼합하여 용액을 만든 후, 직접 가열방식으로 가열, 교반하여 유효성분을 추출하는 방법이다. 또한 초음파 추출법은 용액에 초음파를 조사하여 가열 및 교반하는 방식으로 유효성분을 추출하는 방식으로 추출시간을 단축시킬 수 있다. 본 연구에서는 민들레에 포함되어 있는 항산화성분인 플라보노이드 성분을 추출하기 위해 주정과 초순수를 일정한 부피비로 혼합하여 용매로 사용하였다. 혼합용액 500 mL

를 기준으로 분쇄된 민들레 잎 5 g으로부터 항산화성분을 추출하였다. 추출된 유효성분의 수율은 냉동건조법(freeze drying method)을 이용하여 측정하였다. 민들레로부터 추출된 유효성분은 여과과정을 거친 후 진공증류를 통해 농축하여 -10 °C로 6 h 동안 1차 동결한다. 동결된 시료는 냉동건조장치(LP3, Jouan, France)에서 0.1 mbar, -40 °C의 조건으로 24 h 건조하여 질량을 측정 후 수율을 계산하였다.

2.2. 항산화성분 분석

본 연구에서는 항산화성분 분석을 위해 자외선 분광광도계를 사용하여 민들레 추출물에 포함되어있는 플라보노이드 함량(total flavonoids)을 측정하였다. 먼저 표준물질인 quercetin (Sigma-Aldrich, Q4951)을 이용하여 검정곡선을 작성하였다. 검정곡선은 415 nm의 자외선 파장에서 표준용액의 농도범위를 10~80 μ L/mL로 설정하여 작성되었다. 항산화성분인 플라보노이드 함량의 정량을 위해 냉동 건조한 시료용액 1 mL (1 mg/mL)에 10% aluminum nitrate 0.1 mL와 1 M potassium 0.1 mL를 혼합한 후 메탄올을 이용하여 총부피를 5 mL로 제조하였다. 제조된 시료는 암실에서 40 min 방치한 후 자외선 분광광도계를 이용하여 정량하였다. 측정된 흡광도는 검정곡선을 이용하여 quercetin equivalents (mg QE/mL dw)로 환산하였다[9,10].

3. 결과 및 고찰

3.1. 열수추출법의 최적화

열수추출법을 통해 민들레에 함유되어있는 항산화성분의 추출 최적화 조건을 찾기 위해 Box-Behnken 설계모델이 제시하는 15개의 조건에 대해서 실험을 진행하였다. 공정의 최적화를 위해 계량인자는 추출온도, 주정/초순수 부피비, 추출시간을 계량인자로 설정하였고, 반응치로는 추출수율과 플라보노이드 함량을 설정하였다. Box-Behnken 설계모델을 통해 각 반응치와 계량인자의 관계를 보여주는 식은 다음과 같다.

$$Y = -32.3 + 1.498X_1 + 0.463X_2 + 13.09X_3 - 0.01633X_1^2 - 0.00401X_2^2 - 4.283X_3^2 - 0.00275X_1X_2 - 0.039X_1X_3 - 0.005X_2X_3 \quad (2)$$

여기서 Y 는 수율이고, X_1 는 추출온도, X_2 는 주정/초순수 부피비, X_3 는 추출시간이다. 회귀방정식은 각 계량인자의 주효과도와 교호효과도를 나타내는 2차원의 식으로 표현된다. 그리고 Figure 2는 회귀방정식을 이용하여 3차원 그래프와 그것을 위에서 바라본 등고선도로 나타낸 것이다. 회귀방정식, 그래프, p-value와 f-value를 통해 각 계량인자의 주효과도를 알 수 있다. 회귀방정식에서 일차항 계수의 크기가 클수록 주효과도가 크다. 식 (2)에서 일차항은 추출온도(X_1), 주정/초순수 부피비(X_2), 추출시간(X_3)이고, 계수의 크기는 X_3 (13.09), X_1 (1.498), X_2 (0.463) 순으로 크게 나타났다. 이로부터 도식된 그래프의 기울기가 클수록 등고선이 조밀하게 생성되어 등고선이 조밀도를 이용하여 주효과도를 설명할 수 있다. 또한 반응표면분석 결과 추출시간의 p-value는 0.002이고, f-value 37.27이었으며, 주정/초순수 부피비와 추출온도는 비슷한 수준이다. p-value는 귀무가설이 맞다고 가정할 때 얻은 결과보다 극단적인 결과가 실제로 관측될 확률을 뜻하는 유의 확률이다. 일반적으로 p-value가 0.5보다 작으면 그 실험은 타당한 것으로 판단한다. f-value는 그 값이 클수록 중요한 계량인자임을 뜻한다. 따라서 p-value가 작을수록, f-value가 클수록 실험의 타당성을

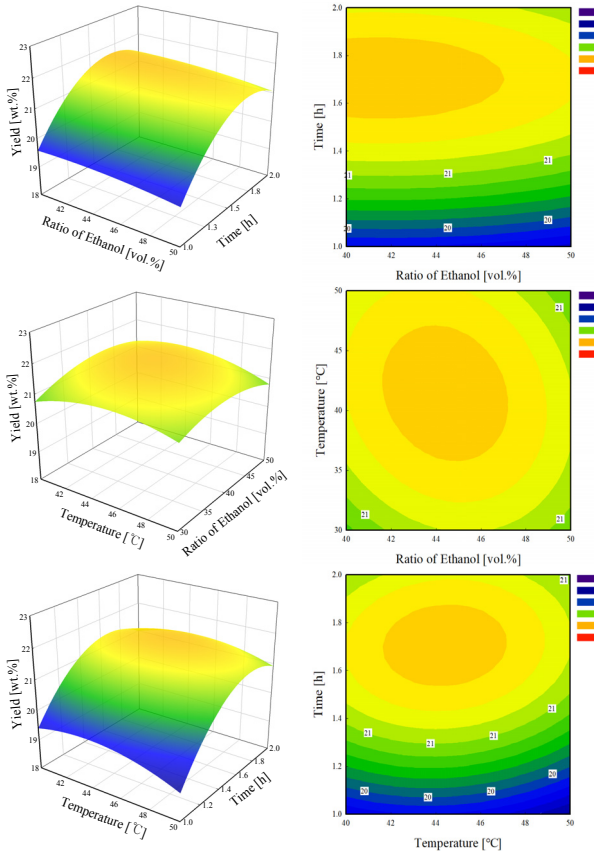


Figure 2. Response surface for yield of dandelion leaves as a function of time, ratio of ethanol and temperature.

대변한다[11-13]. 위의 결과들을 종합하여 주효과도는 추출시간, 추출 온도, 주정/초순수 부피비 순으로 큰 것을 알 수 있었다. 교호효과도는 회귀방정식에서 두 가지 계량인자가 곱해진 형태로 나타나며, 식 (2)에서 $X_1X_3(0.039)$, $X_2X_3(0.005)$, $X_1X_2(0.00275)$ 순으로 크게 나타나 (추출온도 × 추출시간), (주정/초순수 부피비 × 추출시간), (추출온도 × 주정/초순수 부피비) 순으로 교호효과가 큰 것을 알 수 있었다. 반응표면분석 결과 (추출온도 × 주정/초순수 부피비)의 p-value는 0.138로 가장 크고, f-value는 4.24로 가장 크다. 따라서 (추출온도 × 추출시간), (주정/초순수 부피비 × 추출시간), (추출온도 × 주정/초순수 부피비)의 순으로 교호효과도가 수율에 미치는 교호효과도가 크게 나타났다.

다음의 식 (3)은 계량인자들과 항산화성분인 플라보노이드 함량의 관계를 보여준다.

$$F = -77.8 + 2.81X_1 + 0.913X_2 + 26.7X_3 - 0.029X_1^2 - 0.00925X_2^2 - 6.9X_3^2 - 0.002X_1X_2 - 0.02X_1X_3 - 0.02X_2X_3 \quad (3)$$

여기서 F 는 플라보노이드 함량이고, X_1 은 추출온도, X_2 는 주정/초순수 부피비, X_3 는 추출시간이다. Figure 3은 회귀방정식을 이용하여 계량인자에 따른 플라보노이드 함량의 변화를 3차원 그래프와 그 등고선도로 나타낸 그림이다. 앞에서와 같은 방식으로 계량인자의 주효과도를 알 수 있다. 식 (3)에서 일차항의 계수는 $X_3(26.7)$, $X_1(2.81)$, $X_2(0.913)$ 순으로 그래프에서도 기울기가 가파르고 등고선이 조밀하게 나타났다. 또한 반응표면분석 결과 추출시간의 p-value는 0.004로 계량

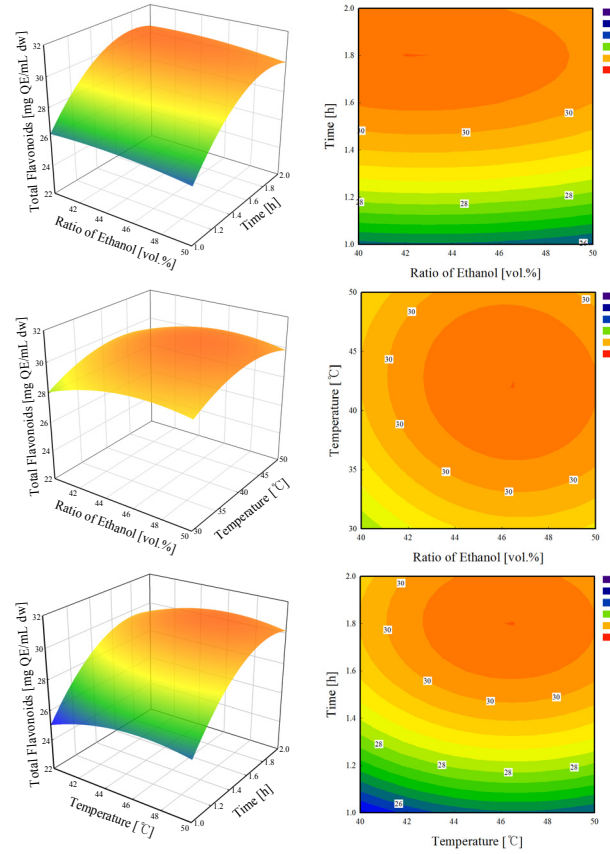


Figure 3. Response surface for total flavonoids of dandelion leaves as a function of time, ratio of ethanol and temperature.

인자 중에서 가장 작고, f-value는 26.05로 가장 크게 나타나 주효과도의 크기는 추출시간, 추출온도, 주정/초순수 부피비순으로 큰 것을 알 수 있었다. 계량인자의 조합으로 이루어진 교호효과도의 경우 회귀방정식의 $X_1X_3(0.02)$, $X_2X_3(0.02)$, $X_1X_2(0.002)$ 순으로 크게 나타났다. 또한 반응표면분석의 결과 (주정/초순수 부피비 × 추출온도)의 p-value는 0.03, f-value는 16.79로 가장 크다. 따라서 플라보노이드 함량에 큰 영향을 미치는 교호효과도는 (추출온도 × 추출시간)과 (주정/초순수 부피비 × 추출시간)이었다.

Figure 4는 반응치를 95% 신뢰구간과 실험값을 보여주는 확률도이다. 그래프의 점들이 실제실험의 반응치이고, 선분은 왼쪽부터 낮은 반응치, 중간 반응치, 높은 반응치를 나타낸다. 모든 점들이 선분들 안에 둘러싸여 있는 조밀한 형태를 보임으로 신뢰도는 95% 이상으로 상당히 높다는 것을 알 수 있었다.

Figure 5는 각 계량인자에 따른 각 반응치의 최적화 그래프와 두 개의 반응치를 모두 고려한 최적화 그래프이다. 모든 계량인자가 증가할수록 반응치는 증가하다 감소하는 경향을 볼 수 있다. 그래프의 기울기를 통해 각 반응치인 수율, 플라보노이드 함량에 미치는 영향은 추출시간, 주정/초순수 부피비, 추출온도 순으로 알 수 있었다. 그래프에서 빨간색 세로선은 최적화 설계가 이루어진 지점이다. 수율과 플라보노이드 함량 모두 만족시키는 계량인자의 조건은 추출온도 45.76 °C, 주정/초순수 부피비 41.92 vol.%, 추출시간 1.75 h에서 수율은 21.74 wt.%, 플라보노이드 함량은 30.67 mg QE/mL dw를 나타냈다. 반응표면분석법을 통한 최적조건에서 여러 번의 실험을 진행한 결과 오차범위는 3% 미만으로 나타났다. 따라서 반응표면분석법이 신뢰할

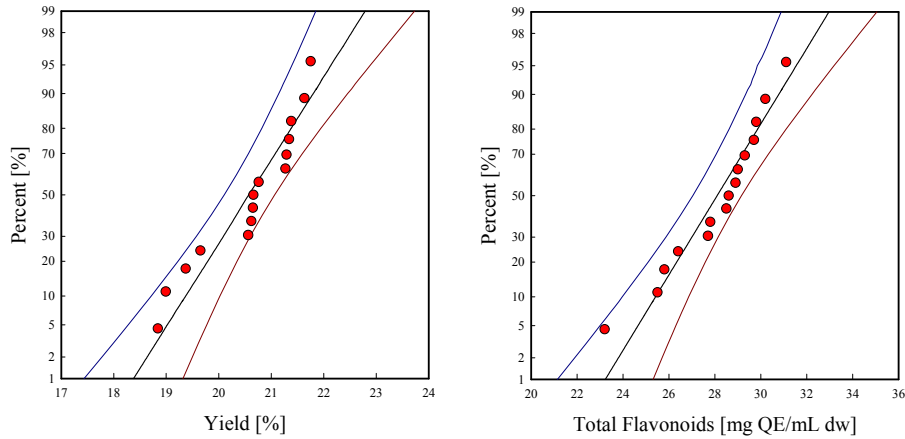


Figure 4. Perturbation plot for the effect of variables on yield and total flavonoids.

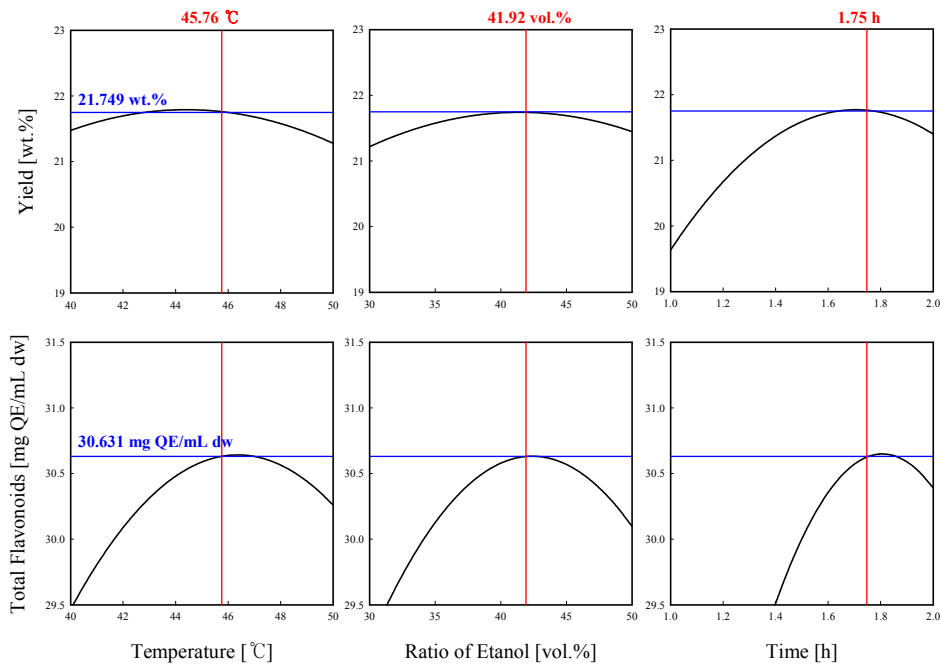


Figure 5. Optimization graph of response surface for yield and total flavonoids of the dandelion leaves.

수 있는 프로그램임을 확인하였다.

3.2. 초음파 추출법 최적화

초음파 추출법의 계량인자로는 초음파 조사세기, 주정/초순수 부피비, 초음파 조사시간으로 설정하였다. 이로부터 Box-Behnken 설계모델이 제시하는 15개의 조건에 대해서 실험을 진행하여 각 계량인자에 대한 수율의 2차 회귀방정식을 식 (4)에 나타내었다.

$$Y = -96.1 + 0.2446X_1 + 0.29X_2 + 4.6X_3 - 0.000248X_1^2 - 0.002756X_2^2 - 0.1444X_3^2 - 0.00038X_1X_2 - 0.00146X_1X_3 + 0.01073X_2X_3 \quad (4)$$

여기서 Y는 수율이고, X₁은 초음파 조사세기, X₂는 주정/초순수 부피비, X₃은 초음파 조사시간이다. 이로부터 계산된 각 계량인자에 대한 수율의 변화를 나타내는 3차원 그래프와 등고선도를 Figure 6에 나

타내었다. 주효과도를 나타내는 식 (4)에서 일차항의 계수는 X₃(4.6), X₂(0.29), X₁(0.2446) 순으로 크게 나타났으며, 그래프의 기울기와 등고선의 조밀도는 초음파 조사시간, 주정/초순수 부피비, 초음파 조사세기 순으로 크게 나타났다. 이때 초음파 조사시간의 p-value가 0.02, f-value가 6.27로 산출되었다. 따라서 초음파 추출법에서는 초음파 조사시간, 주정/초순수 부피비, 초음파 조사세기 순으로 주효과도가 큰 것을 알 수 있었다. 교호효과도를 나타내는 계량인자는 X₁X₂, X₁X₃, X₂X₃이며, X₂X₃(0.01073), X₁X₃(0.00146), X₁X₂(0.00038) 순으로 계수가 크게 나타나 (주정/초순수 부피비 × 초음파 조사시간), (초음파 조사세기 × 초음파 조사시간), (초음파 조사세기 × 주정/초순수 부피비) 순으로 교호효과가 큰 것을 알 수 있었다. 이때 (주정/초순수 부피비 × 초음파 조사시간)의 p-value가 0.059, f-value가 5.94로 산출되었다.

초음파 추출법의 플라보노이드 함량 최적화의 계량인자는 초음파 조사세기, 주정/초순수 부피비, 초음파 조사시간으로 설정하였다. 식 (5)

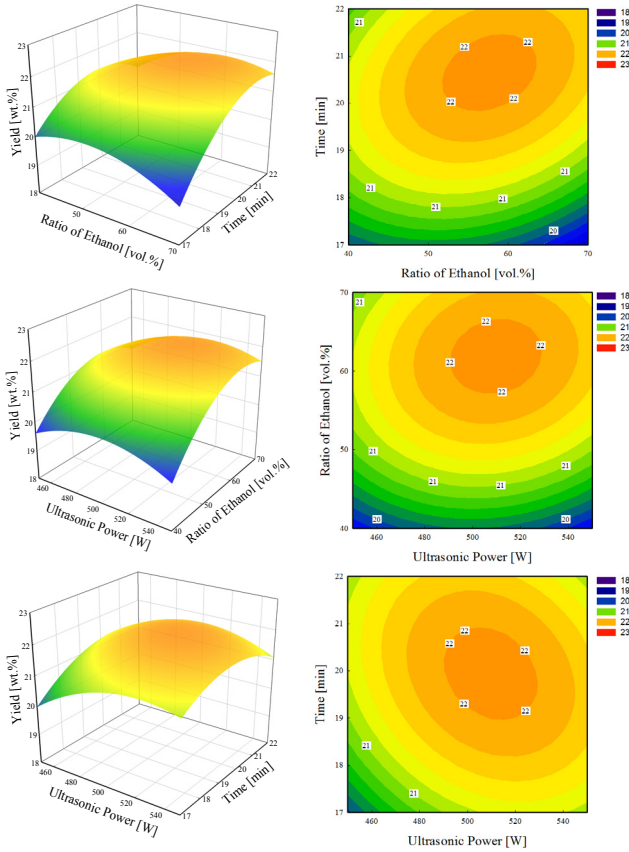


Figure 6. Response surface for yield of dandelion leaves as a function of time, ratio of ethanol and ultrasonic power in USE process.

는 항산화성분인 플라보노이드 함량과 각 계량인자의 관계를 나타낸 2차 회귀방정식이다.

$$F = -5.4 + 0.0291X_1 + 0.026X_2 + 2.47X_3 - 0.000116X_1^2 - 0.0021X_2^2 - 0.1068X_3^2 + 0.00029X_1X_2 + 0.00358X_1X_3 + 0.00293X_2X_3 \quad (5)$$

여기서 F 는 플라보노이드 함량이고, X_1 은 초음파 조사세기, X_2 는 주정/초순수 부피비, X_3 는 초음파 조사시간이다. Figure 7은 회귀방정식에서 하나의 계량인자를 고정시킴으로 플라보노이드 함량과 두 개의 계량인자의 관계를 보여준다. 일차항은 X_1 , X_2 , X_3 이고, 일차항의 계수의 크기는 $X_3(2.47)$, $X_1(0.0291)$, $X_2(0.026)$ 순으로 크다. 그리고 그래프의 기울기와 등고선의 조밀도는 초음파 조사시간, 초음파 조사세기, 주정/초순수 부피비 순으로 크다. 또한 p-value가 0.009, f-value가 17.37로 가장 큰 초음파 조사시간이 수율에 가장 중요한 주효과도이다. 따라서 초음파 추출법에서는 초음파 조사시간, 초음파 조사세기, 주정/초순수 부피비순으로 주효과도가 큰 것을 알 수 있었다. 식 (5)에서 교호효과도를 나타내는 $X_1X_2(0.00358)$, $X_2X_3(0.00293)$, $X_1X_2(0.00029)$ 순으로 크게 나타났으며, 그래프는 (초음파 조사세기 × 주정/초순수 부피비), (주정/초순수 부피비 × 초음파 조사시간), (초음파 조사세기 × 초음파 조사시간) 순으로 교호효과가 큰 것을 알 수 있었다. 이때 (초음파 조사세기 × 초음파 조사시간)의 p-value가 0.091, f-value가 4.37이었다.

Figure 8은 반응치를 95% 신뢰구간과 실험값을 보여주는 확률도이

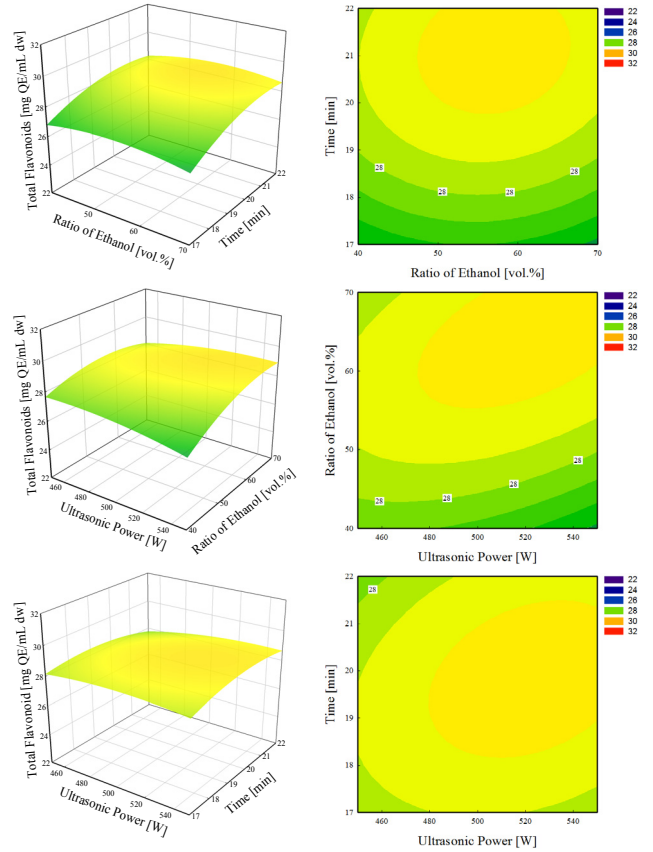


Figure 7. Response surface for total flavonoids of dandelion leaves as a function of time, ratio of ethanol and ultrasonic power in USE process.

다. 그래프의 점들이 실제실험의 반응치를 나타내며, 곡선은 신뢰구간을 나타낸다. 확률도의 왼쪽부터 낮은 반응치, 중간 반응치, 높은 반응치를 나타낸다. 모든 점들이 선분들 안에 둘러싸여 있는 조밀한 형태를 보이므로 신뢰도는 95% 이상으로 실험의 타당성을 보여준다.

Figure 9는 초음파 추출법을 통해 추출된 항산화성분의 수율 및 플라보노이드 함량의 최적화 그래프이다. 계량인자는 초음파 조사세기, 주정/초순수 부피비, 초음파 조사시간이다. 모든 계량인자가 증가할 때, 반응치는 증가하다가 감소한다. 그래프의 기울기를 보면 초음파 조사시간의 영향이 가장 크고, 초음파 조사세기와 주정/초순수 부피비의 영향은 비슷한 수준인 것을 알 수 있었다. 그래프에서 빨간색의 세로선이 추출의 최적의 조건을 나타내며, 파란색의 가로선이 최적조건일 때 최적화된 반응치를 뜻한다. 수율과 플라보노이드 함량의 최적화를 나타내는 계량인자는 초음파 조사세기 512.63 W, 주정/초순수 부피비 56.97 vol.%, 추출시간 20.79 min이다. 이때, 수율은 21.16 wt.%, 플라보노이드 함량은 28.96 mg QE/mL dw으로 나타났다. 반응표면분석법을 통한 최적화된 조건에서 여러 번의 실험을 진행한 결과 오차범위는 3% 미만으로 Box-Behnken 설계모델의 신뢰도가 상당히 높다는 것을 확인하였다.

4. 결 론

본 연구에서는 민들레에 함유되어있는 항산화성분의 추출을 위해 두 가지 추출방법(열수추출법, 초음파추출법)을 사용하였다. 그리고 추출의 최적화를 위해 반응표면법의 Box-Behnken 설계모델을 사용하였

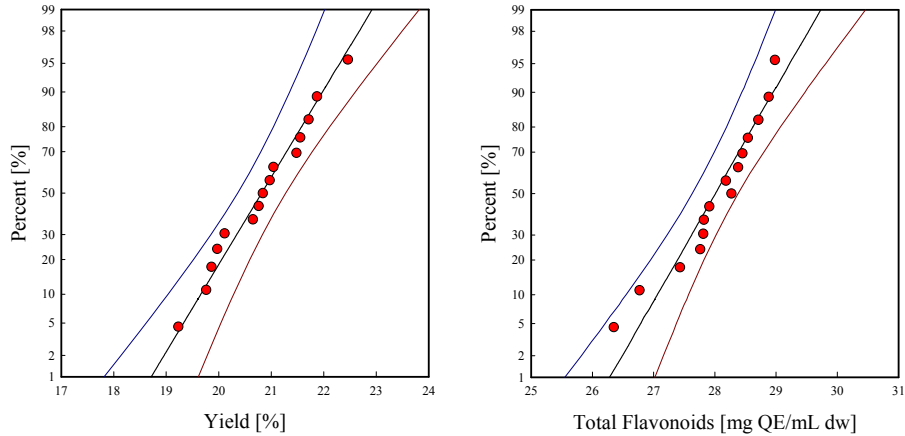


Figure 8. Perturbation plot for the effect of variables on yield and total flavonoids in USE process.

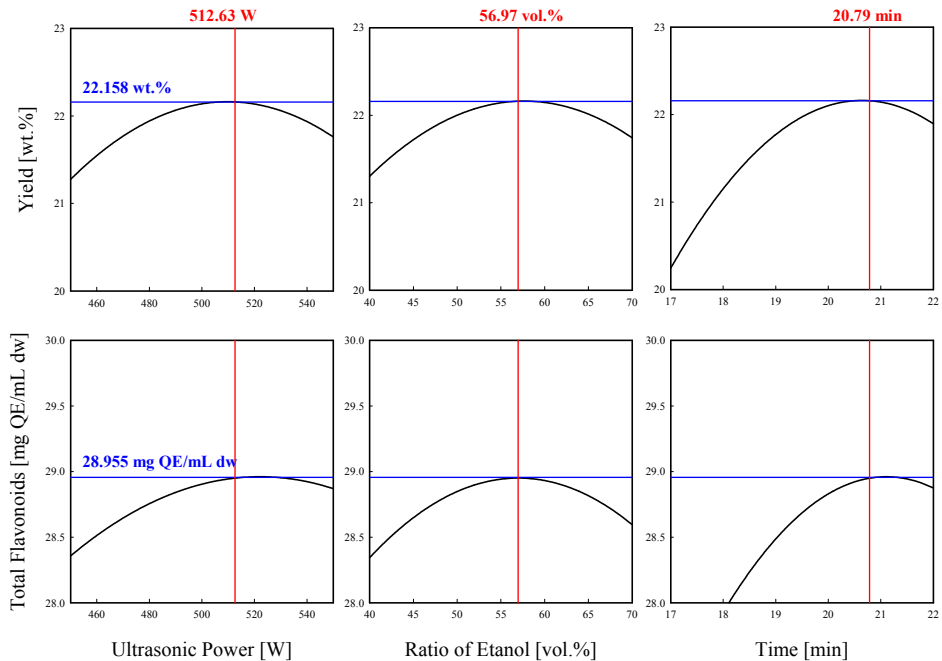


Figure 9. Optimization graph of response surface for yield and total flavonoids of the dandelion leaves in USE process.

다. 그리고 이를 분석하여 다음과 같은 결과를 얻어내었다.

1. 열수추출법을 통해 항산화성분을 추출하고 최적화한 결과 반응치인 수율, 플라보노이드 함량을 모두 만족하는 최적 추출조건은 추출온도(45.76 °C), 주정/초순수 부피비(41.92 vol.%), 추출시간(1.75 h)이다. 이 조건에서 예상되는 반응치는 수율(28.57 wt.%), 플라보노이드 함량(30.76 mg QE/mL dw)이다. 그리고 수율에 가장 큰 영향을 미치는 주효과도는 추출시간이었다. 그리고 (추출시간 × 추출온도)의 교호효과도가 가장 컸으며 플라보노이드 함량은 가장 큰 영향을 미치는 주효과도는 추출시간이고, 가장 중요한 교호효과는 (주정/초순수 부피비 × 추출온도)인 것을 확인하였다.

2. 초음파 추출법을 통해 항산화성분을 추출하고 최적화한 결과 반응치인 수율, 플라보노이드 함량을 모두 만족하는 최적 추출조건은 초음파 조사세기(512.63 W), 주정/초순수 부피비(56.97 vol.%), 초음파 조사시간(20.79 min)이다. 이 조건에서 예상되는 반응치는 수율(22.09 wt.%), 플라보노이드 함량(28.98 mg QE/mL dw)이다. 수율에 가장 큰

영향을 미치는 주효과도는 초음파 조사시간이었다. 그리고 (주정/초순수 부피비 × 초음파 조사시간)의 교호효과도가 가장 큰 것을 확인하였다. 플라보노이드 함량은 가장 큰 영향을 미치는 주효과도는 초음파 조사시간이고, 가장 중요한 교호효과는 (조사세기 × 초음파 조사시간)이었다.

3. 반응표면분석법이 제시하는 최적화 공정이 타당한지 실험을 진행하였다. 열수추출법의 경우 추출온도(45.76 °C), 주정/초순수 부피비(41.92 vol.%), 추출시간(1.75 h)에서 수율(28.24 wt.%), 플라보노이드 함량(30.80 mg QE/mL dw)으로 산출되었으며, 초음파 추출법의 경우 초음파 조사세기(512.63 W), 주정/초순수 부피비(56.97 vol.%), 초음파 조사시간(20.80 min)에서 수율(22.09 wt.%), 플라보노이드 함량(28.44 mg QE/mL dw)을 산출되었다. 실제실험 결과와의 오차는 3%이하로 반응표면분석법의 타당성을 확인하였다.

감 사

이 연구는 2017학년도 단국대학교 대학연구비 지원으로 연구되었음.

References

1. A. Sar and Z. Kececi, Phytochemical investigations on chemical constituents of *Taraxacum bessarabicum* (Hornem.) Hand.-Mazz. subsp. *bessarabicum* (Hornem.) Hand.-Mazz, *Iran. J. Pharm. Res.*, **36**, 400-405 (2019).
2. S. H. Lee and M. J. Kim, Antimicrobial effect of natural plant extracts against periodontopathic bacteria, *J. Korea Contents Assoc.*, **19**(1), 242-255 (2019).
3. M. S. Chang, M. J. Park, M. C. Jung, D. M. Kim, and G. H. Kim, Antioxidative and antibrowning effects of *Taraxacum platycarpum* and *Chrysanthemum indicum* extracts as natural antibrowning agents, *Korean J. Food Preserv.*, **8**(4), 584-589 (2011).
4. S. L. C. Ferreira, R. E. Bruns, H. S. Ferreira, G. D. Matos, J. M. David, G. C. Brandao, E. G. P. da Silva, L. A. Portugal, P. S. dos Reis, A. S. Souza, and W. N. L. dos Santos, Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods, *Anal. Chim. Acta*, **597**(2), 179-186 (2007).
5. K. Yetilmesoy, S. Demirel, and R. J. Vanderbei, Response surface modeling of Pb(II) removal from aqueous solution by *Pistacia vera* L.: Box-Behnken experimental design, *J. Hazard. Mater.*, **171**(1-3), 551-562 (2009).
6. J. Hao, X. Fang, Y. Zhou, J. Wang, F. Guo, F. Li, and X. Peng, Development and optimization of solid lipid nanoparticle formulation for ophthalmic delivery of chloramphenicol using a Box-Behnken design, *Int. J. Nanomed.*, **6**, 683-692 (2011).
7. A. A. Karnachi and M. A. Khan, Box-behnken design for the optimization of formulation variables of indomethacin coprecipitates with polymer mixtures, *Int. J. Pharm.*, **131**, 9-17 (1996).
8. M. Mourabet, A. E. Rhilassi, H. E. Boujaady, M. B. Ziatni, R. E. Hamri, and A. Taitai, Removal of fluoride from aqueous solution by adsorption on apatitic tricalcium phosphate using Box-Behnken design and desirability function, *Appl. Surf. Sci.*, **258**(10), 4402-4410 (2012).
9. K. Sharma, E. Y. Ko, A. D. Assefa, S. H. Nile, E. T. Lee, and S. W. Park, Temperature-dependent studies on the total phenolics, flavonoids, antioxidant activities, and sugar content in six onion varieties, *J. Food Drug Anal.*, **23**(2), 243-252 (2015).
10. Y. Lu and L. Y. Foo, Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols apple pomace, *Food Chem.*, **68**, 81-85 (2000).
11. J. N. Rouder, R. D. Morey, P. L. Speckman, and J. M. Provincea, Default Bayes factors for ANOVA designs, *J. Math. Psychol.*, **56**(5), 356-374 (2012).
12. H. Shang, H. Zhou, M. Duan, R. Li, H. Wu, and Y. Lou, Extraction condition optimization and effects of drying methods on physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides from comfrey (*Symphytum officinale* L.) root, *Int. J. Biol. Macromol.*, **112**, 889-899 (2018).
13. C. Sahoo and A. K. Gupta, Optimization of photocatalytic degradation of methyl blue using silver ion doped titanium dioxide by combination of experimental design and response surface approach, *J. Hazard. Mater.*, 215-216, 302-310 (2012).