

## 복분자 추출조건에 따른 페놀성 화합물의 특성변화

윤성란 · 정용진\* · 이기동\*\* · 권중호†

경북대학교 식품공학과

\*계명대학교 식품가공학과

\*\*경북과학대학 첨단발효식품과

## Changes in Phenolic Compounds Properties of Rubi Fructus Extract Depending on Extraction Conditions

Sung-Ran Yoon, Young-Jin Jeong\*, Gee-Dong Lee\*\* and Joong-Ho Kwon†

Dept. of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

\*Dept. of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

\*\*Dept. of Fermented Food, Kyongbuk College of Science, Chilkok 718-850, Korea

### Abstract

Response surface methodology was used for monitoring changes in phenolic compounds properties of Rubi Fructus extract depending on extraction conditions. The three independent variables (extraction conditions) were ratio of solvent to sample content (5, 10, 15 mL/g), ethanol concentration (20, 40, 60%) and extraction time (2, 4, 6 hr). It was anticipated that each of the five dependent Y variables (responses) would be affected by the three independent variables. The dependent responses were total yield, total phenolics content, electron donating ability, antioxidant ability and nitrite-scavenging ability (pH 1.2, 3.0, 4.2, 6.0). Total yield, total phenolics content, electron donating ability and antioxidant ability were affected by ratio of solvent to sample content. Nitrite-scavenging ability at pH 1.2 and pH 6.0 was affected by ethanol concentration, while it was affected by extraction time at pH 3.0 and pH 4.2. The optimum extraction conditions for total yield were 14.16 mL/g ratio of solvent to sample content, 39.08% ethanol concentration and 2.99 hr extraction time. The maximum total phenolics content of extracts were shown at 14.06 mL/g ratio of solvent to sample content, 35.51% ethanol concentration and 3.15 hr extraction time.

**Key words:** Rubi Fructus, phenolics, electron donating ability, antioxidant ability, nitrite-scavenging ability

### 서론

복분자(*Rubus coreanum* Miquel, Rubi Fructus)는 장미과에 속하는 낙엽관목(落葉灌木)이며, 과실을 따는 노력이 많이 드는 것 외에는 생산비가 매우 저렴하여 수박보다 월등히 수익성이 높아 농가소득에 지대한 공헌을 하는 작목이다(1). 복분자는 여름에 과실이 미숙할 때 채취하여 끓는물에 약간 익힌 다음 양건한 것을 말한다(2-4). 예로부터 한방에서 신장 기능, 불임증, 음위증, 유정몽설, 강장제, 혈액 등을 맑게 해주며 간을 보하고 눈을 맑게하는 효능이 있다고 알려져 있다(5). 성분으로는 coreanoside F<sub>1</sub>, suavissimoside, nigaichigoside F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> 등을 비롯한 triterpenosides 등이 있는 것으로 보고되고 있다(6,7). Lee와 Lee(8)는 복분자 줄기로부터 2종의 flavan-3-ol과 1종의 proanthocyanidin 및 1종의 ellagitannin을 분리하였고, Lee(9)는 잎에서 flavonoid로서 kaempferol, quercetin, quercetin 3-O-β-D-glucuronide의 sodium salt, quer-

etin 3-O-β-D-glucuronide의 sodium carboxylate 및 ellagitannin인 ellagic acid, sanguiin H-5 등을 분리하여 보고한 바 있다. Park 등(10)은 복분자 딸기의 덜익은 열매의 가수분해성 탄닌으로서 1종의 gallotannin과 3종의 ellagitannin을 분리하였으며, 이화학적 성상과 spectral data를 토대로 gallic acid, 2,3-(S)-HHDP-D-glucopyranose, sanguiin H-4 및 sanguiin H-6을 보고하였다. 복분자의 경우 효소적 지질과 산화에 대해서도 강한 억제활성을 나타내며, 그 성분으로는 gallic acid 등의 페놀화합물이 확인되었다(11,12).

페놀성 화합물은 식품계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 가지며, 이들은 phenolic hydroxy기를 가지고 있기 때문에 단백질 등의 거대분자들과 결합하는 성질을 가지며, 항산화 효과, 항균성, 아질산염 소거능 등의 생리활성 기능도 가진다(13).

그러나 복분자에 관한 연구로는 Lee와 Do(14)의 복분자 열매의 총페놀성 성분의 정량 및 항산화활성에 관한 연구와

†Corresponding author. E-mail: jhkwon@kyungpook.ac.kr  
Phone: 82-53-950-5775. Fax: 82-53-950-6772

이를 이용한 가공식품으로 주류(4) 및 복분자를 첨가한 멸치 발효 액화물 가공식품 개발(15) 등이 보고 되어 있다. 반면에 추출조건에 따른 추출물의 페놀성 화합물 함량 및 기능적 특성에 관한 연구는 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 생약재로 사용되고 있는 복분자를 식품가공소재로 활용하고자, 추출에 따른 총페놀성 화합물 함량의 변화와 기능적 특성을 모니터링 하고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 실험재료

본 실험에 사용된 복분자(복한산, *Rubus coreanum* Miquel, Rubi Fuctus)는 건조상태의 미숙과를 약재상에서 구입하여 사용하였다.

#### 추출조건 설정을 위한 실험계획

본 실험은 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)(16)을 이용하여 추출에 따른 추출특성을 모니터링 하였다. 추출조건설정을 위한 실험계획은 fractional factorial design(17,18)을 사용하였으며, 반응표면 회귀분석을 위해 SAS(statistical analysis system) program(19)을 사용하였다. 실험계획은 Table 1과 같이 추출공정에서 중요한 독립변수로 고려되는 인자 즉, 시료에 대한 용매비(5, 10, 15 mL/g), 에탄올 농도(20, 40, 60%) 및 추출시간(2, 4, 6 hr)을 -1, 0, 1의 3단계로 부호화하였다.

#### 가용성 고형분 함량 측정

각 조건에서 얻어진 추출물의 가용성 고형분 함량은 3회 반복 측정하여 시료에 대한 건물량(%)으로 나타내었다. 즉 시험용액 50 mL를 항량을 구한 수기에 취하여 105°C에서 증

발 건조시켜 그 무게를 측정하였으며, 추출액 조제에 사용된 원료량(건물량)에 대한 백분율로써 고형분 수율(%)을 구하였다.

#### 총페놀성 화합물 함량 측정

각 추출물의 총 페놀성 물질 함량은 Folin-Denis법(20)에 의해 비색정량하였다. 즉, 추출액을 100배 희석한 검액 5 mL에 Folin-Ciocalteu 시약 5 mL를 가하여 혼합하고 3분 후 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 5 mL를 넣어 진탕하고 1시간 실온에서 방치하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 검액 대신 증류수를 넣어 동일하게 처리하였다. 이때 표준물질로는 tannic acid를 5~50 µg/mL의 농도로 조제하여 검량곡선의 작성에 사용하였다.

#### 전자공여능 측정

시험용액의 전자공여능(electron donating ability, EDA) 시험은 α, α-diphenyl-β-picrylhydrazyl(DPPH)를 사용한 방법(21)으로 측정하였다. 즉, DPPH 시약 12 mg을 absolute ethanol 100 mL에 용해한 후 증류수 100 mL를 가하고 50% ethanol 용액을 blank로 하여 517 nm에서 DPPH용액의 흡광도를 약 1.0으로 조정한 후 이 용액 5 mL와 시료용액 0.5 mL를 가하여 혼합한 후 30초 후에 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 전자공여능은 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 표시하였다.

$$EDA(\%) = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{공시험의 흡광도}}\right) \times 100$$

#### 항산화능 측정

각 추출물의 항산화능은 Rancimat 679(Metrohm AG, CH-9100 Herisau, Swiss)를 사용하여 측정하였으며(22), AI(antioxidant index)로 항산화능을 비교하였다. 측정조건은 실험 온도 110°C, 공기공급량 20 L/hr, 유지사용량은 2.5 g으로 설정한 다음 3회 반복 측정하여 얻은 값의 평균치로 표시하였다.

$$AI = \frac{\text{각 추출물을 첨가한 실험구의 유도기간}}{\text{무첨가구의 유도기간}}$$

#### 아질산염 소거능 측정

추출물이 발암성 nitrosamine 생성의 전구물질인 아질산염을 소거하거나 또는 분해하는 작용을 알아보기 위하여 Do 등(23)의 방법으로 520 nm에서 비색정량하였다. 즉, 1 mM NaNO<sub>2</sub>용액 1 mL에 소정 농도의 시료를 첨가하고 여기에 0.1 N HCl(pH 1.2)과 0.2 M 구연산 완충액(pH 3.0, 4.2 및 6.0)을 사용하여, 반응 용액의 pH를 각각 1.2, 3.0, 4.2 및 6.0으로 조정하여 반응용액의 부피를 10 mL로 하였다. 이를 37°C에서 1시간 동안 반응시켜서 얻은 반응용액을 각각 1 mL씩 취하고 여기에 2% 초산 용액 5 mL를 첨가한 다음, Griess 시약(30% acetic acid로 각각 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1:1비로 혼합한 것, 사용직전 조제) 0.4 mL를

**Table 1. The fractional factorial design for optimization of extraction conditions for Rubi Fructus**

Experiment number <sup>1)</sup>	Ratio of solvent to sample content (mL/g)	Ethanol concentraion (%)	Extraction time (hr)
1	5(-1)	20(-1)	4( 0)
2	5(-1)	40( 0)	2(-1)
3	5(-1)	40( 0)	6( 1)
4	5(-1)	60( 1)	4( 0)
5	10( 0)	20(-1)	2(-1)
6	10( 0)	20(-1)	6( 1)
7	10( 0)	40( 0)	2(-1)
8	10( 0)	40( 0)	6( 1)
9	15( 1)	60( 1)	4( 0)
10	15( 1)	40( 0)	2(-1)
11	15( 1)	40( 0)	6( 1)
12	15( 1)	60( 1)	2(-1)
13	10( 0)	40( 0)	4( 0)
14	10( 0)	40( 0)	4( 0)
15	10( 0)	40( 0)	4( 0)

<sup>1)</sup>The number of experimental conditions by fractional factorial design.

가하여 잘 혼합시킨 다음 실온에서 15분간 방치시킨 후 분광광도계(Shimadzu UV-1601PC, Japan)를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하고 아래식에 의하여 아질산염 소거율을 구하였다.

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

N: 아질산염 소거율

A: 1 mM NaNO<sub>2</sub> 용액에 시료를 첨가하여 1시간 방치시킨 후의 흡광도

B: NaNO<sub>2</sub> 용액의 흡광도

C: 시료자체의 흡광도

### 결과 및 고찰

#### 가용성 고형분 함량 및 총페놀성 화합물 함량의 변화

Fractional factorial design에 의한 추출조건별 가용성 고형분 및 총페놀성 화합물 함량은 Table 2에 나타내었으며, 이에 대한 반응표면 회귀식은 Table 4에 나타내었다. 가용성 고형분 및 총페놀성 화합물 함량에 대한 회귀식의 R<sup>2</sup>는 각각 0.8742, 0.9270이고 유의수준 10%이내에서 유의성이 인정되었으며, 예측된 정상점은 최대점으로 나타났다. 예측된 최대점은 Table 5와 같이 가용성 고형분 함량의 최대 수율은 24.46 g/100 g로 예측되었으며, 이때의 추출 조건은 용매비 14.16 mL/g, 에탄올 농도 39.08% 및 추출시간 2.99 hr으로 나타났다. 총페놀성 화합물 함량의 최대값은 596.40 mg/100 mL로 예측되었고, 이때 추출조건은 용매비 14.06 mL/g, 에탄올 농

**Table 2. Experimental data on total yield, total phenolics content, electron donating ability and antioxidant ability of Rubi Fructus extract under different conditions based on the fractional factorial design for response surface analysis**

Exp. No. <sup>1)</sup>	Total yield (g/100 g)	Total phenolics content (mg/100 mL)	Electron donating ability (% 100 dilution)	Antioxidant ability (AI <sup>2)</sup> )
1	16.00	380.04	28.23	1.059
2	19.17	500.94	36.44	1.099
3	17.07	429.97	31.26	1.067
4	15.29	378.36	26.11	1.062
5	19.23	517.66	35.47	1.086
6	17.39	459.87	32.42	1.070
7	19.02	487.12	35.14	1.085
8	18.29	476.20	34.39	1.077
9	20.81	582.50	40.82	1.168
10	20.58	564.73	40.27	1.131
11	19.27	533.61	37.68	1.109
12	20.38	519.17	35.77	1.091
13	20.91	576.34	40.79	1.136
14	20.29	558.07	39.96	1.127
15	20.50	560.15	39.54	1.123

<sup>1)</sup>The number of experimental conditions by fractional factorial design.

<sup>2)</sup>AI: Antioxidant index.

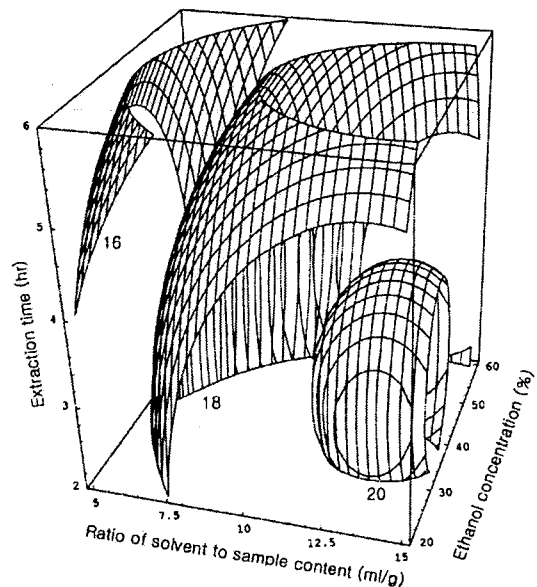
**Table 3. Experimental data on nitrite-scavenging ability (pH 1.2, 3.0, 4.2 and 6.0) of Rubi Fructus extract under different conditions based on the fractional factorial design for response surface analysis**

Exp. No. <sup>1)</sup>	Nitrite-scavenging ability (%)			
	pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0
1	96.53	86.36	30.69	20.85
2	95.56	88.27	35.54	17.88
3	94.07	78.21	27.87	14.90
4	94.37	67.11	23.84	8.88
5	94.44	61.11	14.48	14.98
6	94.44	87.88	31.03	17.92
7	89.44	71.81	28.11	7.57
8	93.66	58.39	15.30	47.24
9	95.14	89.90	34.83	18.24
10	92.59	67.04	16.72	5.96
11	96.30	87.15	32.75	13.91
12	92.25	71.81	23.13	2.63
13	96.30	87.71	34.15	11.92
14	94.07	87.71	32.75	12.25
15	94.07	87.15	33.80	9.60

<sup>1)</sup>The number of experimental conditions by fractional factorial design.

도 35.51% 및 추출시간 3.15 hr이었다.

각각의 추출 조건에 따른 가용성 고형분 함량 및 총 페놀성 화합물 함량에 대한 반응표면결과 얻어진 4차원 반응표면은 Fig. 1, 2에 나타내었다. 즉 시료에 대한 용매비가 증가할수록 가용성 고형분 함량 및 총페놀성 화합물 함량이 증가하는 것으로 나타났다. 또한 가용성 고형분 함량의 경우 에탄올 농도 30~40%에서 높게 나타났다. 총페놀성 화합물 함량의 경우 에탄올 농도가 낮은 곳에서 높은 값을 나타냈다. 전반적으로 가용성 고형분 함량 및 총페놀성 화합물 함량은 시료에



**Fig. 1. Response surface for total yield of ethanol extracts from Rubi Fructus at constant values (total yield (g/100 g): 16-18-20) as a function of ratio of solvent to sample content, ethanol concentration and extraction time for the effects of extraction conditions.**

**Table 4. Polynomial equations calculated by RSM program for extraction of Rubi Fructus**

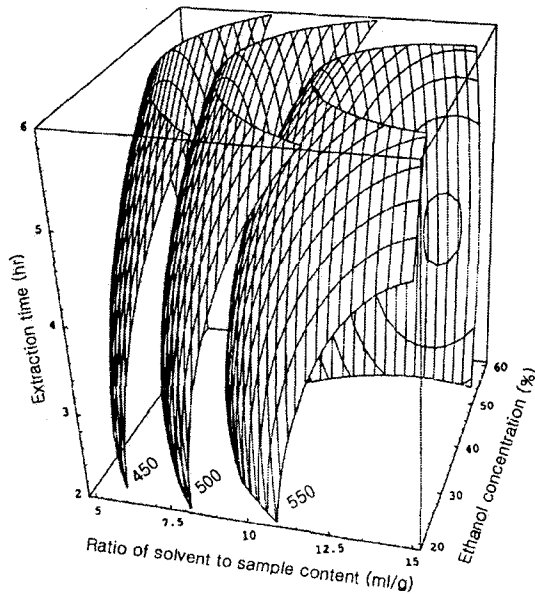
Responses	Polynomial equations <sup>1)</sup>	R <sup>2</sup>	Significance
Total yield (g/100 g)	$Y_1 = 8.826667 + 0.993417X_1 + 0.261104X_2 + 0.332917X_3 + 0.000700X_1X_2 + 0.019750X_1X_3 + 0.006937X_2X_3 - 0.038133X_1^2 - 0.003733X_2^2 - 0.147708X_3^2$	0.8742	0.0754
Total phenolics content (mg/100 mL)	$Y_2 = 50.718333 + 46.041833X_1 + 12.067958X_2 + 4.990833X_3 - 0.124125X_1X_2 + 0.996250X_1X_3 + 0.292937X_2X_3 - 1.554717X_1^2 - 0.152420X_2^2 - 4.668229X_3^2$	0.9270	0.0223
Electron donating ability (EDA%, 100 dilution)	$Y_3 = 4.626667 + 2.969167X_1 + 0.923354X_2 + 0.116042X_3 - 0.007325X_1X_2 + 0.064750X_1X_3 + 0.014375X_2X_3 - 0.106133X_1^2 - 0.011777X_2^2 - 0.257708X_3^2$	0.8951	0.0507
Antioxidant ability	$Y_4 = 0.830167 + 0.016967X_1 + 0.006942X_2 + 0.033292X_3 - 0.0002X_1X_2 + 0.000250X_1X_3 + 0.00005X_2X_3 - 0.000233X_1^2 - 0.000069583X_2^2 - 0.005333X_3^2$	0.8946	0.0512
Nitrite-scavenging ability (pH 1.2, %)	$Y_5 = 101.178333 - 1.110917X_1 + 0.032646X_2 - 0.191667X_3 - 0.001825X_1X_2 + 0.130000X_1X_3 + 0.026375X_2X_3 + 0.027883X_1^2 - 0.002345X_2^2 - 0.220104X_3^2$	0.8959	0.0598
Nitrite-scavenging ability (pH 3.0, %)	$Y_6 = 20.238333 - 3.890917X_1 + 2.524771X_2 + 20.320833X_3 + 0.002900X_1X_2 + 0.754250X_1X_3 - 0.251188X_2X_3 + 0.032833X_1^2 - 0.023873X_2^2 - 2.044167X_3^2$	0.9445	0.0117
Nitrite-scavenging ability (pH 4.2, %)	$Y_7 = -16.433333 - 2.366083X_1 + 1.869604X_2 + 13.410417X_3 - 0.012125X_1X_2 + 0.592500X_1X_3 - 0.183500X_2X_3 + 0.010917X_1^2 - 0.014293X_2^2 - 1.404896X_3^2$	0.8993	0.0463
Nitrite-scavenging ability (pH 6.0, %)	$Y_8 = 38.181667 - 2.324583X_1 - 0.128521X_2 - 2.624583X_3 - 0.009100X_1X_2 + 0.273250X_1X_3 - 0.020438X_2X_3 + 0.052567X_1^2 + 0.000198X_2^2 + 0.147917X_3^2$	0.9532	0.0078

<sup>1)</sup>X<sub>1</sub>: Ratio of solvent to sample content (mL/g), X<sub>2</sub>: Ethanol concentration (%), X<sub>3</sub>: Extraction time (hr).

**Table 5. Predicted levels of extraction conditions for the maximum responses of variables by the ridge analysis**

Responses	X <sub>1</sub> <sup>1)</sup>	X <sub>2</sub> <sup>2)</sup>	X <sub>3</sub> <sup>3)</sup>	Maximum	Morphology
Total yield (g/100 g)	14.16	39.08	2.99	24.46	Maximum
Total phenolics content (mg/100 mL)	14.06	35.51	3.15	596.40	Maximum
Electron donating ability (EDA%, 100 dilution)	13.62	36.77	2.96	42.00	Maximum
Antioxidant ability	14.65	33.12	3.76	1.155	Maximum
Nitrite-scavenging ability (pH 1.2, %)	5.40	33.15	3.62	96.30	Saddle point
Nitrite-scavenging ability (pH 3.0, %)	13.41	30.44	5.11	93.26	Saddle point
Nitrite-scavenging ability (pH 4.2, %)	13.35	30.48	5.14	36.42	Saddle point
Nitrite-scavenging ability (pH 6.0, %)	7.61	22.50	4.14	17.56	Saddle point

<sup>1)</sup>X<sub>1</sub>: Ratio of solvent to sample content (mL/g), <sup>2)</sup>X<sub>2</sub>: Ethanol concentration (%), <sup>3)</sup>X<sub>3</sub>: Extraction time (hr).



**Fig. 2. Response surface for total phenolics content of ethanol extracts from Rubi Fructus at constant values (total phenolics content (mg/100 mL): 450–500–550) as a function of ratio of solvent to sample content, ethanol concentration and extraction time for the effects of extraction conditions.**

대한 용매비 및 에탄올 농도에 영향을 많이 받는 것으로 나타났으며, 추출시간에 따른 영향은 다소 적은 것으로 나타났 (Table 6). 이는 생약재 중 인삼(22,24)이나 오미자(16)의 경우 에탄올 농도가 높아질수록 추출물의 가용성 고형분 수율이 낮아지는데, 반해 복분자는 이들과 다른 경향을 나타내었다. 그러나 결명자(25)와 당귀(26)의 경우 가용성 고형분 수율은 40~50% 에탄올 농도까지 높아짐에 따라 증가하였으나 그 이상의 에탄올 농도에서 감소하는 본 연구의 결과와 유사한 경향이였다.

**전자공여능 및 항산화능의 변화**

추출조건에 따른 전자공여능 및 항산화능은 Table 2에 나타내었다. 전자공여능 및 항산화능에 대한 추출물의 회귀식은 Table 4에 나타내었으며, R<sup>2</sup>는 0.8951, 0.8946이고 유의수준 10% 이내에서 유의성이 인정되었다. Table 5와 같이 전자공여능의 최적 예측조건은 용매비 13.62 mL/g, 에탄올 농도 36.77% 및 추출시간 2.96 hr으로 나타났으며, 최대값은 42% (100 dilution)로 예측되었다. 항산화능의 경우 예측된 정상점은 최대점이고, 최대값은 A.I 1.155로 예측되었고, 이때 추출조건은 시료에 대한 용매비 14.65 mL/g, 에탄올 농도 33.12%

**Table 6. Regression analysis for regression model of the total yield, total phenolics content, electron donating ability and antioxidant ability in the extracton condition**

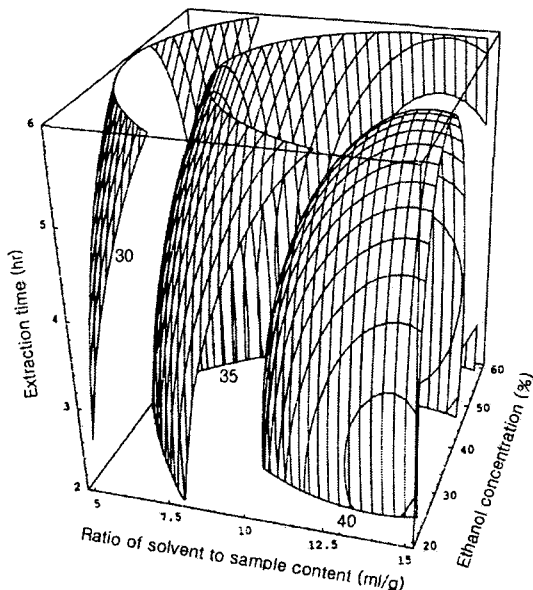
Extraction condition	F-Ratio			
	Total yield	Total phenolics content	Electron donating ability	Antioxidant ability
Ratio of solvent to sample content (mL/g)	5.828**	10.914**	6.637**	6.087**
Ethanol concentration (%)	1.899	4.420*	3.659*	4.175*
Extraction time (hr)	1.376	1.624	0.970	2.050

\*Significant at 10% level; \*\*significant at 5% level.

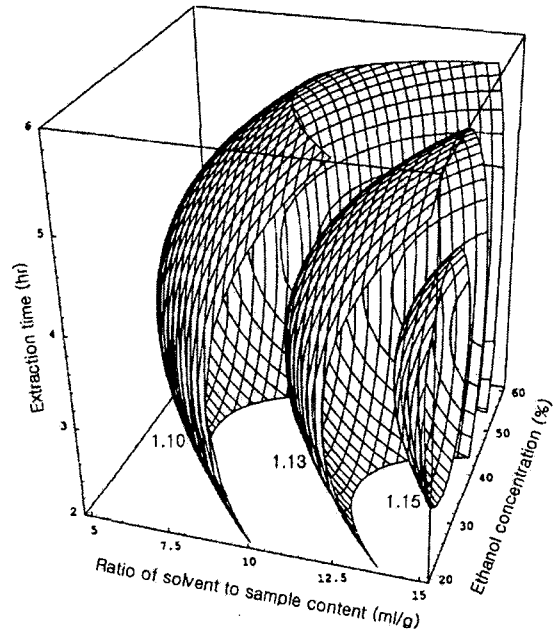
및 추출시간 3.76 hr이었다. 추출조건에 따른 전자공여능의 4차원 반응표면은 Fig. 3과 같이 추출특성이 가용성 고형분 함량 및 총 페놀성 화합물 함량과 유사한 경향으로 나타났다. Kang 등(27)의 보고에서 전자공여능은 phenolic acid류 가운데 hydroxybenzoic acids 중에서는 gallic acid가 높게 나타났으며, hydroxycinnamic acids 중 전자공여능의 크기는 hydrocaffeic acid가 높게 나타났으며, flavonoids에서는 (+)-catechin이 전자공여능이 뛰어난 것으로 나타났다. 또한 tannic acid를 포함한 기타 phenolic 화합물에 있어서도 높은 전자공여능을 나타낸다고 하였다. Chung(28)도 다류 에탄올 추출물의 항산화능은 전자공여능 뿐만 아니라 총 페놀성 물질 함량과도 밀접한 관계가 있다고 보고하였다. 항산화능에 대한 4차원 반응표면은 Fig. 4와 같이 나타났다. 즉 항산화능의 경우 시료에 대한 용매비가 증가할수록 증가하는 것으로 나타났으며, 에탄올 농도의 경우 30~40%일 때 높게 나타났다.

**아질산염 소거능의 변화**

추출조건에 따른 아질산염 소거능은 Table 3과 같이 pH에



**Fig. 3. Response surface for electron donating ability of ethanol extracts from Rubi Fructus at constant values (electron donating ability (EDA %), 100 dilution): 30-35-40) as a function of ratio of solvent to sample content, ethanol concentration and extraction time for the effects of extraction conditions.**



**Fig. 4. Response surface for antioxidant ability of ethanol extracts from Rubi Fructus at constant values (A.I.: 1.10-1.13-1.15) as a function of ratio of solvent to sample content, ethanol concentration and extraction time for the effects of extraction conditions.**

따라 다른 경향으로 나타났다. 즉, 산성영역(pH 1.2, 3.0)에서는 50% 이상의 아질산염 소거능을 나타내었으며, 중성영역(pH 4.2, pH 6.0)에서는 50% 이하의 아질산염 소거능을 나타내었다. 이는 환원성 물질을 아질산염과 산성조건하에서 반응시키면, 이때의 아질산염 소거속도는 환원성 물질에 의해서 0.5차로 비례하여 진행된다고 보고되어 있는데, 본 실험에 사용한 시료 추출물 중에 함유되어 있는 환원성 물질의 관여가 큰 것으로 사료된다(23).

추출조건에 따른 추출물의 아질산염 소거능에 대한 반응 표면분석 결과, 회귀식은 Table 4에 나타내었다. pH 1.2, 3.0, 4.2 및 6.0에 따른 아질산염 소거능에 대한 추출물의 회귀식의 R<sup>2</sup>는 각각 0.8959, 0.9445, 0.8993 및 0.9532이고 5~10% 수준에서 유의성이 인정되었다. Table 5는 최적 예측조건을 나타내었으며, 이때 예측된 정상점은 안장점(saddle point)으로 나타나 능선분석(ridge analysis)을 실시하였다. pH 1.2, 3.0, 4.2 및 6.0에 따른 아질산염 소거작용에 대한 추출물의 추출조건별 아질산염 소거능에 대한 최대값은 각각 96.30%,

93.26%, 36.42% 및 17.56%으로 나타났다. 이 때 90% 이상의 높은 아질산염 소거능을 나타내는 pH 1.2에서는 시료에 대한 용매비 5.40 mL/g, 에탄올 농도 33.15% 및 추출시간 3.62 hr이었으며, pH 3.0에서는 시료에 대한 용매비 13.41 mL/g, 에탄올 농도 30.44% 및 추출시간 5.11 hr이었다. 추출조건에 따른 아질산염 소거능에 대한 4차원 반응표면을 pH 1.2(Fig. 5)에서는 선택된 조건에서 90% 이상의 높은 소거능을 나타내었

으며, pH 3.0(Fig. 6) 및 4.2(Fig. 7)에서는 추출시간이 4~5 hr 일 때 최대로 나타났다. 또한 pH 6.0(Fig. 8)에서도 에탄올 농도가 감소할수록 현저하게 아질산염 소거능이 증가하였다.

Table 7에서 보는 바와 같이 아질산염 소거능에 대한 추출 조건에 따른 영향은 pH 1.2, 및 6.0에서는 에탄올 농도의 영향이 가장 크게 나타났으며, pH 3.0 및 4.2에서는 추출시간의 영향이 가장 크게 나타났다. Nitrosamine은 중성영역의 pH

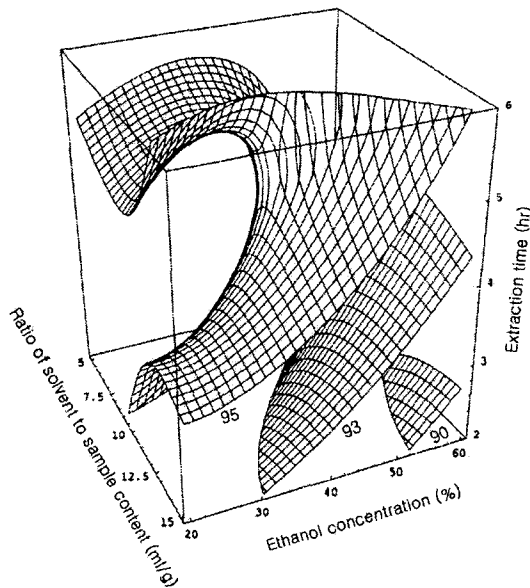


Fig. 5. Response surface for nitrite-scavenging ability (pH 1.2) of ethanol extracts from Rubi Fructus at constant values (nitrite-scavenging ability (%): 90-93-95) as a function of ratio of solvent to sample content, ethanol concentration and extraction time for the effects of extraction conditions.

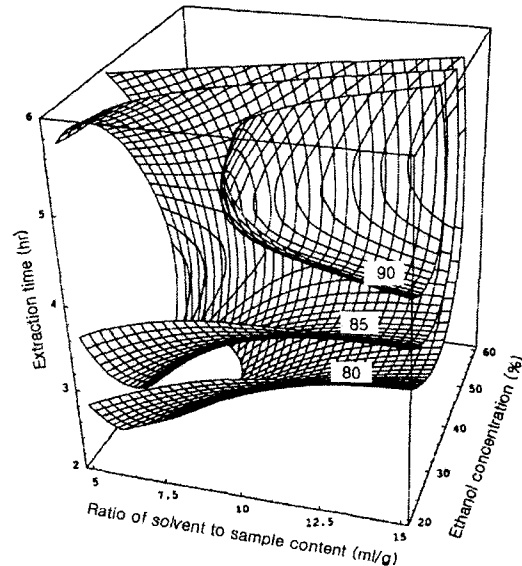


Fig. 7. Response surface for nitrite-scavenging ability (pH 4.2) of ethanol extracts from Rubi Fructus at constant values (nitrite-scavenging ability (%): 80-85-90) as a function of ratio of solvent to sample content, ethanol concentration and extraction time for the effects of extraction conditions.

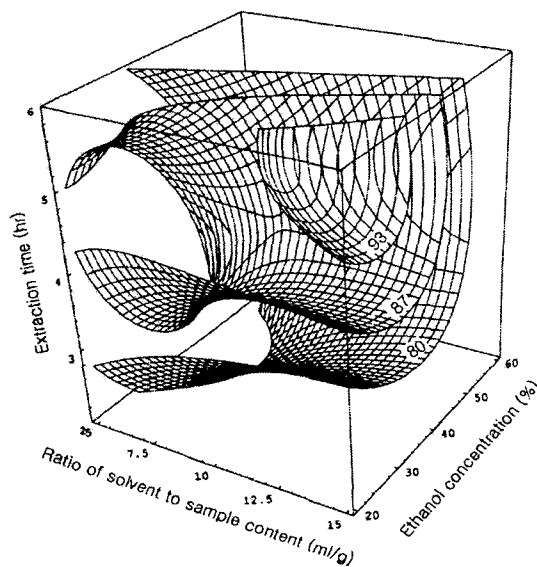


Fig. 6. Response surface for nitrite-scavenging ability (pH 3.0) of ethanol extracts from Rubi Fructus at constant values (nitrite-scavenging ability (%): 80-87-93) as a function of ratio of solvent to sample content, ethanol concentration and extraction time for the effects of extraction conditions.

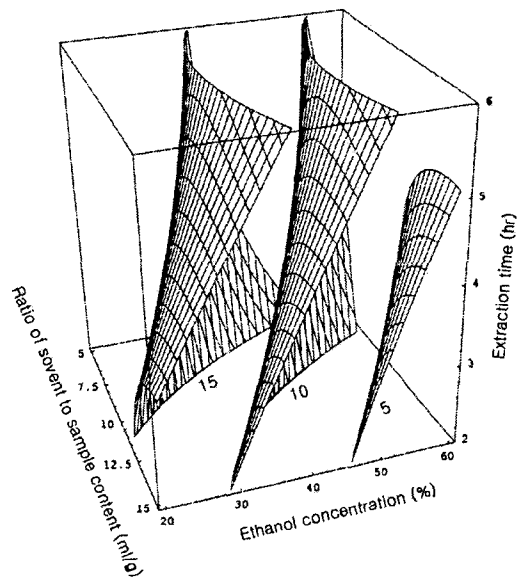


Fig. 8. Response surface for nitrite-scavenging ability (pH 6.0) of ethanol extracts from Rubi Fructus at constant values (nitrite-scavenging ability (%): 5-10-15) as a function of ratio of solvent to sample content, ethanol concentration and extraction time for the effects of extraction conditions.

**Table 7. Regression analysis for regression model of the nitrite-scavenging ability (pH 1.2, 3.0, 4.2 and 6.0) in the extraction condition**

Extraction condition	F-Ratio			
	Nitrite-scavenging ability			
	pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0
Ratio of solvent to sample content (mL/g)	2.826	2.987	2.664	6.795**
Ethanol concentration (%)	5.808**	4.582***	6.566**	18.344***
Extraction time (hr)	4.973*	12.166***	8.151**	2.821

\*Significant at 10% level; \*\*significant at 5% level; \*\*\*significant at 1% level.

보다 산성영역의 pH 특히, 위장내의 pH영역에서 그 생성이 촉진되는 것으로 알려져 있어(29), 복분자 추출물이 산성영역에서 nitrosamine의 직접적인 생성인자인 아질산염을 효과적으로 분해하는 것은 곧 nitrosamine의 생성억제에 크게 기여할 것으로 생각된다. Kang 등(27)은 방향족 화합물인 pol-phenol 화합물이 아질산염을 효과적으로 분해하여 발암성 nitrosamine의 생성을 억제한다고 보고하였다. Davies 등(30)은 페놀성 화합물은 amine류와 반응할 수 있는 nitrite를 nitric oxide로 변환시키며, 페놀성 화합물 또한 nitrosating agent에 의해 자신이 산화되어 quinone으로 되는 항산화제로 작용하므로 결과적으로 phenol 가운데 free hydroxy group의 수는 중요하게 되며, 이러한 phenol성 화합물의 촉매작용 기작은 C-nitrosate가 된 후 quinone monoxime tautomer로 되어 N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>와 반응하여 N-nitrosating agent를 생성한다고 보고하였다.

## 요 약

복분자 추출에 따른 페놀성화합물의 특성변화를 조사하기 위하여 반응표면분석법으로 시료에 대한 용매비(5, 10, 15 mL/g), 에탄올 농도(20, 40, 60%) 및 추출시간(2, 4, 6 hr)을 달리하여 가용성 고형분 함량, 총 페놀성 화합물 함량, 전자공여능, 항산화능 및 아질산염소거능의 변화를 모니터링 하였다. 가용성 고형분 함량, 총 페놀성 화합물 함량, 전자공여능 및 항산화능은 시료에 대한 용매비의 영향을 많이 받는 것으로 나타났다. 아질산염 소거능의 경우 pH 1.2 및 6.0에서는 에탄올 농도의 영향을 많이 받았으며, pH 3.0 및 4.2에서는 추출시간의 영향을 많이 받는 것으로 나타났다. 가용성 고형분 함량에 있어서 최적 추출조건은 시료에 대한 용매비 14.16 mL/g, 에탄올 농도 39.08% 및 추출시간 2.99 hr으로 나타났으며, 총페놀성 화합물 함량의 경우 시료에 대한 용매비 14.06 mL/g, 에탄올 농도 35.51% 및 추출시간 3.15 hr으로 나타났다.

## 문 헌

- Kim MJ, Lee U, Kim SH, Chung HG. 2002. Variation of leaf, fruiting and fruit characteristics in *Rubus coreanus* Miq.. *Korean J Breed* 34: 50-56.
- Kim TJ. 1997. *Korean resources plants*. Seoul University Republished, Seoul. p 282.
- Dan B, Andrew G. 1993. *Chinese herbal medicine*. Material media. Eastland Press, Washington. p 388.
- Hong JS, Kim JS, Kim IG, Kim MG, Yun S. 1995. Processing development of Bokbunja-wine. Annual Research Report of Ministry of Agricultural and Forestry, Report No. IA 1199512310103.
- Kim HC, Lee SI. 1991. Comparison of the pharmacological effects of kinds of *Rubi Fructus*. *J Herbology* 6: 3-12.
- Ohtani K, Miyajima C, Takhasi T, Kasai R, Tanaka O, Hahn DR, Naruhashi N. 1990. A dimeric triterpene glycoside from *Rubus coreanus*. *Phytochemistry* 29: 3275-3280.
- Lee YA, Kang SS. 1993. Triterpenoides from *Rubi Fructus* (*Bogbunja*). *Arch Pharm Res* 16: 109-113.
- Lee YA, Lee MW. 1995. Tannins from *Rubus coreanum*. *Kor J Pharmacogn* 6: 27-30.
- Lee MW. 1995. Phenolic compounds from the leaves of *Rubus coreanum*. *Yakhak Hoeji* 39: 200-204.
- Park KY, Lee SC, Ahn BT, Lee SH, Ro JS, Lee KS. 1993. Phenolic compounds from *Acalypha australis* L. *Kor J Pharmacogn* 24: 20-25.
- Pang KC, Kim MS, Lee MW. 1996. Hydrolyzable tannins from the fruits of *Rubus coreanum*. *Kor J Pharmacogn* 27: 366-370.
- Yoon I, Cho JY, Kuk JH, Wee JH, Jang MY, Ahn TH, Park KH. 2002. Identification and activity fo antioxidative compounds from *Rubus coreanum* fruit. *Korean J Food Sci Technol* 34: 898-904.
- Lee J, Lee SR. 1994. Some physiological activity of phenolic substances in plant foods. *Korean J Food Sci Technol* 26: 317-323.
- Lee JW, Do JH. 2000. Determination of total phenolic compounds from the fruit of *Rubus coreanum* and antioxidative activity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 943-947.
- Jeong YC, Kang IS, Chai MR. 1998. Development of aqueous anchovy food using fermentation. Annual Research Report of Ministry of Maritime Affairs & Fisheries, Report No. IB 1199812310002.
- 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.
- Kang KC, Park JH, Baek SB, Jhin HS, Rhee KS. 1992. Optimization of beverage preparation from *Schizandra chinensis* baillon by response surface methodology. *Korean J Food Sci Technol* 24: 74-81.
- Park NY, Lee GD, Jeong YJ, Kim HK, Kwon JH. 1998. Optimization for electron donating ability and organoleptic properties of ethanol extracts from *Chrysanthemum petals*. *Korean J Food Sci Technol* 30: 523-528.
- SAS. 1478. SAS/STAT. *User's Guide Version 6*. 4th ed. SAS institute Inc., Cary, NC. Vol 2, Ch 37, p 1457-1478.
- Amerine MA, Ough CS. 1980. *Methods for Analysis of Musts and Win*. Wiley & Sons, New York. p 176-180.
- Blios MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- Lim DK, Choi U, Shin DH. 1996. Antioxidative activity of

- ethanol extract from Korean medical plants. *Korean J Food Sci Technol* 28: 83-89.
23. Do JR, Kim SB, Park YH, Park YB, Kim DS. 1993. The nitrite-scavenging effects by the component of traditional tea materials. *Korean J Food Sci Technol* 25: 530-534.
  24. Woo IH, Yang CB, Sung HS. 1986. Effect of different extraction procedures on chemical composition of ginseng extract. *Korean J Ginseng Sci* 10: 36-44.
  25. Kim JM, Kim HT, Hwang SM. 1990. Instant tea preparation from *Cassia tora* seeds. *Korean J Food Sci Technol* 22: 241-247
  26. Lee SY, Shin SR, Kim KS, Kwon JH. 2000. Establishment of extraction conditions for effective components from *Angelica giga* Nakai using microwave-assisted process. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 442-447.
  27. Kang YH, Park YK, Lee GD. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J Food Sci Technol* 28: 232-239.
  28. Chung HJ. 1999. Antioxidative effect of ethanolic extracts of some tea materials on red pepper seed oil. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 1316-1320.
  29. Kim SB, Do JR, Lee YW, Gu YS, Kim CN, Park YH. 1990. Nitrite-scavenging effects of roasted-barley extract according to processing conditions. *Korean J Food Sci Technol* 22: 748-752
  30. Davies R, Massey RC, McWeeny DJ. 1980. The catalysis of the N-nitrosation of secondary amines by nitrosophenols. *J Food Chem* 6: 115-122.

(2003년 1월 15일 접수; 2003년 4월 3일 채택)