

## 쌈어파워 양배추 추출물의 기능적 특성 최적화

김현구<sup>†</sup> · 도정룡 · 홍주현<sup>1</sup> · 이기동<sup>1</sup>

한국식품연구원, <sup>1</sup>대구신기술사업단 전통생물소재 산업화센터

### Optimization for Functional Properties of Cabbage Extracts

Hyun-Ku Kim<sup>†</sup> · Jeong-Ryong Do · Joo-Heon Hong<sup>1</sup> and Gee-Dong Lee<sup>1</sup>

Korea Food Reseach Institute, Songnam 463-746, Korea

<sup>1</sup>DG-Traditional Bio-Materials Industry Center, Daegu 704-230, Korea

#### Abstract

This study was conducted to optimize the extraction conditions from cabbage by a response surface methodology. In extraction conditions based on the central composite design with variations, the ratio of solvent to sample (10~30 mL/g), ethanol concentration (0~100%) and extraction temperature (35~95°C) coefficients of determinations ( $R^2$ ) were 0.8162( $p<0.1$ ), 0.8173( $p<0.1$ ), 0.9374( $p<0.01$ ) and 0.9116( $p<0.05$ ) in extraction yield, electron donating ability, tyrosinase inhibition and SOD-like ability, respectively. Estimated extraction conditions for the maximizing yield, electron donating ability and SOD-like ability were 15~30 mL/g in ratio of solvent to sample, 40~80% ; ethanol concentration, and 50~90 °C ; extraction temperature. Predicted values at the optimum condition (25 mL/g solvent to sample, 50% ethanol concentration and 70 °C in extraction temperature) were in good agreement with observed values.

**Key words** : cabbage, extraction conditions, optimization, SOD

#### 서 론

최근 경제 성장에 따른 소득의 증가로 국민들의 식생활 패턴이 건강과 직결된 채식과 웰빙 식품을 선호하는 추세로 변화되고 있다. 특히 건강유지와 비만에 대한 경각심이 사회적 이슈로 떠오르면서 채소류에 관한 수요와 공급이 확산되고 있다. 브로콜리, 케일, 양배추 등과 같은 십자화과 채소는 영양적인 면에서 비타민과 미네랄 함량이 높고 특유의 향을 내는 황화합물들은 생체에서 암을 예방하거나 돌연변이를 억제하는 작용이 있는 것으로 알려져 있으며, 십자화과 채소 추출물이 DNA의 산화적 손상 억제, microsome내 지질과산화에 대한 항산화력 등에 대해 보고되고 있다(1). 십자화과 채소에 함유된 황화합물은 phase I 효소(cytochrome P-450) 및 phase II 효소(glutathione S-transferase) 들을 유도함으로써 항 발암작용을 나타낸다고 알려져 있다.

또한 isothiocyanates는 glucosinolates(thioglycoside, sinigrin)에 thioglycosidase(myrosinase)가 작용하여 생성되며, 생성 정도는 채소의 가공조건에 따라 달라진다(1-4).

양배추(*Brassica oleraces* L.)는 원산지가 지중해 연안 일대와 아시아이며, 재배역사가 가장 오래된 작물중의 하나이다. 양배추의 영양성분으로는 필수아미노산인 라이신이, 지방질 성분으로 필수지방산인 리놀렌산이, 그리고 당질 중에는 포도당이 많이 함유되어 있다. 또한 비타민류 중 특히 녹색부분에는 비타민 C뿐 아니라 비타민 A 및 B군이 많이 함유되어 있다(5). 지금까지 알려진 양배추의 효능으로는 암 예방, 위궤양 예방 및 치유, 면역성 증진, 혈액정화, 노화방지와 항산화 효과, 기타 피부병 예방 등이 알려져 있다(4,6). 특히 양배추에는 위궤양에 효능을 나타내는 황성분 S-methyl methionine이 함유되어 있으며, 이는 비타민 U로 알려져 있다. 양배추의 phytochemicals로는 hydroxycinnamate인 caffeic acid, chlorogenic acid, ferulic acid, p-coumaric acid 등이 항산화성을 가지는 것으로 보고되고 있다(7,8).

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail : hyunku@kfri.re.kr,  
Phone : 82-31-780-9134, Fax : 82-31-709-9876

양배추는 가공과정을 거치고 나면 단백질, 당질, 비타민 등의 영양소 손실이 일어나고 냄새가 발생되므로 생체로 먹는 것이 효과적이지만, 대량으로 생산되는 양배추의 부가가치를 높이기 위해서는 유용성분 추출물을 이용한 가공 제품의 개발이 요구되고 있다.

따라서 본 연구에서는 현재 시판되고 있는 양배추 품종 중 썸머파워의 유용성분에 관한 최적 추출조건을 설정하고자 하였으며, 이를 위해서 시료에 대한 용매비, 에탄올 농도, 추출온도에 따른 유용성분의 추출특성을 반응표면분석 하였다.

## 재료 및 방법

### 재 료

본 실험에 사용된 양배추(*Brassica oleracea* L.)는 2002년 10월에 수확된 썸머파워를 (주)농우 바이오에서 제공받아 실험에 사용하였다. 시료는 깨끗이 수세하여 0.5 cm의 크기로 세절한 후 45°C 온도에서 열풍 건조하였다. 건조된 시료는 분쇄기(Kaiser, KFN-400S, 킹스톤기전(주), 한국)를 사용하여 0.5 mm 이하의 크기로 분쇄한 후 0.2 mm PE film에 밀봉 포장하여 냉동고에 보관하면서 사용하였다.

### 추출조건 최적화를 위한 실험계획

본 실험에서는 추출조건에 따른 추출특성의 모니터링과 추출조건의 최적화를 위하여 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)(9)을 사용하였다. 추출조건에 대한 실험계획은 중심합성계획(central composite design)(10)을 사용하였으며, 반응표면분석을 위해 SAS(statistical analysis system)(11)을 사용하였다. 실험계획은 추출공정에서 중요한 변수로 고려되는 인자 즉, 시료에 대한 용매비(10~30 mL/g,  $X_1$ ), 에탄올 농도(0~100%,  $X_2$ ), 추출온도(35~95°C,  $X_3$ )를 -2, -1, 0, 1, 2의 5단계로 부호화하여 중심합성계획에 따라 Table 1과 같이 16구간으로 설정하였다. 또한 이들 요인변수에 의해 영향을 받는 종속변수( $Y_n$ ) 즉, 수율( $Y_1$ ), 전자공여능( $Y_2$ ), tyrosinase 저해효과( $Y_3$ ), 아질산염 소거능( $Y_4$ ), SOD 유사활성( $Y_5$ )으로 하였다. 각 시료를 30분간 추출하여 실험에 사용하고, 이를 3회 반복 측정하여 그 평균 값을 회귀분석에 사용하였다.

### 수율 측정

수율(yield)은 추출액을 회전 감압 증발기(Rotavapor R-123, Buchi, Swizerland)로 감압 농축한 후 건조오븐(Forced convection oven, Jeico Tech, Korea)을 이용하여 105°C

Table 1. Central composite design for optimization of extraction condition for cabbage

Exp. No. <sup>1)</sup>	Ratio of solvent to sample content (mL)	Ethanol concentration (%)	Extraction Temperature (°C)
1	15(-1)	25(-1)	50(-1)
2	15(-1)	25(-1)	80( 1)
3	15(-1)	75( 1)	50(-1)
4	15(-1)	75( 1)	80( 1)
5	25( 1)	25(-1)	50(-1)
6	25( 1)	25(-1)	80( 1)
7	25( 1)	75( 1)	50(-1)
8	25( 1)	75( 1)	80( 1)
9	20( 0)	50( 0)	65( 0)
10	20( 0)	50( 0)	65( 0)
11	10(-2)	50( 0)	65( 0)
12	30( 2)	50( 0)	65( 0)
13	20( 0)	0(-2)	65( 0)
14	20( 0)	100( 2)	65( 0)
15	20( 0)	50( 0)	35(-2)
16	20( 0)	50( 0)	95( 2)

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

상압가열건조법(12)으로 향량이 될 때까지 건조한 후 추출액 조제에 사용한 원료 건물량에 대한 고형분 수율(% db)로 나타내었다.

### 전자공여 및 tyrosinase 저해 작용

추출물의 전자공여작용(electron donating abilities, EDA)은 Kang 등의 방법(13)을 변형하여 각각의 추출물에 대한 DPPH( $\alpha, \alpha$ -diphenyl-picrylhydrazyl)의 전자공여효과로 각 시료의 환원력을 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 사용하여 525 nm에서 측정하였다.

Tyrosinase 저해효과 측정은 Wong 등의 방법(14)에 따라 측정하였으며 tyrosinase 조효소액은 mushroom tyrosinase (Sigma, T7755, 110units/mL)를 50 mM sodium phosphate buffer(pH 7.0)에 용해하여 사용하였다. 효소활성의 측정은 분광 광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 사용하여 420 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다.

### 아질산염 소거작용

아질산염 소거효과(nitrite-scavenging effect)는 Gray 등의 방법(15)으로 측정하였다. 즉, 1 mM 아질산나트륨 용액 1 mL에 각각의 추출물을 2 mL 가하고 여기에 0.1 N 염산(pH 1.2) 및 0.2 N 구연산 완충용액(pH 3.0, 4.2 및 pH 6.0)을 7 mL 가하여 반응용액의 pH를 각각 1.2, 3.0, 4.2 및 6.0으로 달리하여 반응용액의 부피를 10 mL로 한 다음 Griess 시약 0.4 mL를 가하여 잘 혼합시켜 15분간 실온에서 방치시킨 후 분광 광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염량을 구하였다.

**Superoxide dismutase(SOD) 유사활성**

SOD 유사활성의 측정은 Marklund와 Marklund의 방법을 변형한 Kim 등(16)의 방법을 이용하여 실시하였다. 즉, 각 추출물을 감압 농축한 후 tris-HCl buffer(50 mM tris[hydroxymethyl]amino-methane+10mM EDTA, pH 8.5)를 이용하여 pH 8.5로 조절된 시료액을 만들었다. 각 시료 0.2 mL에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer(50 mM tris[hydroxymethyl]amino-methane+10 mM EDTA) 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하고 25°C에서 10분간 방치 후 1 N HCl 1 mL로 반응을 정지시킨 후 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 이용하여 420 nm에서의 흡광도를 측정하여 시료 첨가 및 무 첨가구간의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

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

- A : 추출물 첨가구의 흡광도
  - B : 추출물 무첨가구의 흡광도
- 단, A, B는 대조구의 흡광도를 제외한 수치임.

**최적 추출조건 예측**

조건별 추출물의 최적 추출조건 예측은 수율, 전자공여 작용, SOD 유사활성에 대한 반응표면을 superimposing하였을 때 중복되는 부분의 범위에서 예측하였다. 또한 예측된 범위에서 임의의 점을 설정하여 회귀식에 대입하여 최적값을 예측하였다.

**결과 및 고찰**

**수율의 변화**

중심합성계획에 의한 16구간의 추출조건에 따라 추출실험을 실시하여 얻어진 수율의 결과는 Table 2에 나타내었으며, 각각의 결과를 이용한 반응표면 회귀식은 Table 3에 나타내었다. 수율에 대한 회귀식의 R<sup>2</sup>는 0.8162이고 10%이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점에서 능선분석을 실시하여 본 결과, 수율의 최대값은 36.9%이었고, 이때의 요인변수들의 값은 시료에 대한 용매비 20 mL/g, 에탄올 농도 50% 및 추출온도 65°C이었다(Table 4). 각각의 추출조건에 따른 수율에 대한 반응표면 결과 얻어진 4차원 반응표면은 Fig. 1에 나타내었다. 즉 시료에 대한 용매비가 증가할수록 수율이 증가되는 것으로 나타났다. 수율에 대한 추출조건의 영향은 Table 5에서와 같이 에탄올 농도에 가장 큰 영향을 받는 것으로 나타났으며, 시료에 대한 용매비와 추출온도에 대한 영향은 다소 적은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 Park 등(17)의 산국 에탄올 추출물의 가용성 고형분 함량이 시료에 대한 용매비와 추출시간의 영향보다는 에탄올 농도에 의해 영향을 많이 받고 있다는 보고와 같은 경향을 나타내었다.

**Table 2. Experimental data on yield, electron donating ability, tyrosinase inhibition, nitrite-scavenging ability and superoxide dismutase (SOD)-like activity of cabbage by central composite design for response surface analysis**

Exp. No. <sup>1)</sup>	Yield (%)	Electron donating ability (%)	Tyrosinase inhibition (%)	Nitrite-scavenging ability (%)			SOD-like activity (%)
				pH 1.0	pH 3.0	pH 4.2	
1	31.375	27.475	50.657	84.289	64.365	24.802	0.000
2	32.270	33.577	60.772	82.059	71.137	23.055	21.812
3	27.000	40.927	30.744	84.553	51.159	3.348	25.660
4	33.875	50.826	30.991	75.255	35.522	0.000	29.172
5	37.145	28.390	65.675	81.005	66.547	22.303	0.000
6	35.875	34.865	61.564	81.503	70.295	23.060	18.310
7	33.875	48.436	42.512	48.566	48.566	4.523	30.896
8	38.395	51.201	43.263	44.140	24.141	1.256	28.736
9	36.875	43.389	50.800	73.372	64.761	15.271	26.143
10	36.725	43.566	55.557	73.347	64.312	15.563	33.914
11	27.875	38.498	46.580	77.971	53.649	6.047	17.798
12	38.500	46.301	51.212	70.214	50.241	7.210	37.051
13	37.375	23.197	58.929	74.669	55.744	19.395	0.000
14	13.875	30.163	24.104	56.614	30.846	0.912	20.811
15	34.500	27.950	45.067	76.982	41.442	6.915	0.000
16	42.500	39.424	53.614	65.800	48.654	0.685	32.397

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

**Table 3. Polynomial equations calculated by RSM program for extraction conditions of cabbage**

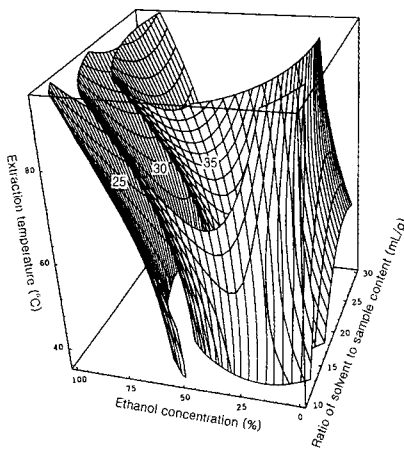
Response	Second order polynomials <sup>1)</sup>	R <sup>2</sup>	Significance
Yield	$Y_Y = 12.796076 + 2.350167X_1 + 0.025283X_2 - 0.178472X_3 - 0.035875X_1^2 + 0.002020X_1X_2 - 0.004470X_2^2 - 0.007533X_1X_3 + 0.003923X_2X_3 + 0.001889X_3^2$	0.8162	0.0998
Electron donating ability	$Y_{EDA} = -60.617292 + 1.200754X_1 + 0.758933X_2 + 1.838888X_3 - 0.010780X_1^2 + 0.005681X_1X_2 - 0.006719X_2^2 - 0.011268X_1X_3 + 0.000029000X_2X_3 - 0.010878X_3^2$	0.8173	0.0984
Tyrosinase inhibition	$Y_{TI} = -19.238757 + 3.401975X_1 + 0.008323X_2 + 1.195611X_3 - 0.042825X_1^2 + 0.008230X_1X_2 - 0.004665X_2^2 - 0.022870X_1X_3 - 0.001669X_2X_3 - 0.004264X_3^2$	0.9374	0.0056
Nitrite-scavenging ability	pH 1.0 $Y_{pH1.0} = 46.234299 + 0.965867X_1 + 1.552657X_2 + 0.073289X_3 + 0.007330X_1^2 - 0.063262X_1X_2 - 0.003087X_2^2 + 0.012667X_1X_3 - 0.003997X_2X_3 - 0.002187X_3^2$	0.8648	0.0457
	pH 3.0 $Y_{pH3.0} = -163.581368 + 6.838808X_1 + 1.845003X_2 + 3.988781X_3 - 0.125915X_1^2 - 0.015314X_1X_2 - 0.008497X_2^2 - 0.019687X_1X_3 - 0.016861X_2X_3 - 0.021654X_3^2$	0.8654	0.0452
	pH 4.2 $Y_{pH4.2} = -49.039403 + 2.925729X_1 - 0.067066X_2 + 1.493657X_3 - 0.087885X_1^2 + 0.002925X_1X_2 - 0.002105X_2^2 + 0.007642X_1X_3 - 0.001208X_2X_3 - 0.012908X_3^2$	0.8650	0.0539
SOD-like activity	$Y_{SOD} = -172.583417 + 2.117900X_1 + 1.748807X_2 + 3.392417X_3 - 0.026040X_1^2 + 0.008302X_1X_2 - 0.007849X_2^2 - 0.015290X_1X_3 - 0.012923X_2X_3 - 0.015367X_3^2$	0.9116	0.0146

<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 temperature(°C).

**Table 4. Predicted levels of extraction condition for the maximum responses of variables by the ridge analysis**

Responses	X1 <sup>1)</sup>	X2 <sup>2)</sup>	X3 <sup>3)</sup>	Maximum	Morphology	
Yield(%)	20.00	50.00	65.00	36.90	Saddle point	
Electron donating ability(%)	29.23	67.95	69.07	49.60	Maximum	
Tyrosinase inhibition(%)	19.10	8.28	81.31	63.55	Maximum	
Nitrite-scavenging ability(%)	pH 1.0	11.23	67.93	55.44	91.15	Saddle point
	pH 3.0	20.32	11.32	78.76	72.96	Maximum
	pH 4.2	19.54	0.09	63.85	26.85	Maximum
SOD-like activity(%)	29.03	71.39	65.85	35.78	Maximum	

<sup>1)</sup>Ratio of solvent to sample content (mL/g), <sup>2)</sup>Ethanol concentration (%), <sup>3)</sup>Extraction temperature (°C).



**Fig. 1. Response surface for yield in cabbage extract at constant values (yield : 25-30-35%) as a function of ratio of solvent to sample content, ethanol concentration and extraction temperature.**

**전자공여작용의 변화**

전자공여작용은 활성 라디칼에 전자를 공여하고 식품 중의 지방질 산화를 억제하는 목적으로 사용되며, 인체 내에서는 활성 라디칼에 의한 노화를 억제시키는 작용으로 이용되고 있다(13). 라디칼 소거작용은 인체의 질병과 노화를 방지하는데 대단히 중요한 역할을 한다. 따라서 전자공여작용 측정은 DPPH 라디칼 소거법으로 측정하며, DPPH 법은 tocopherol, ascorbate, flavonoid 화합물, 방향족 아민류, Maillard형 갈변 생성물질, peptide 등의 항산화 활성을 나타내는 생리활성 물질에 의해 환원됨으로서 짙은 자색이 발색되는 정도에 따라 항산화 효과를 수소공여능으로 측정하는 방법으로 알려져 있다(18).

Table 5. Regression analysis for regression model of physicochemical properties in extraction condition of cabbage

Extract condition	F-Ratio						
	Yield	Electron donating ability	Tyrosinase inhibition	Nitrite-scavenging ability			SOD-like activity
				pH 1.0	pH 3.0	pH 4.2	
Ratio of solvent to sample content	1.59	0.36	2.28	4.77**	0.84	0.68	0.82
Ethanol concentration	3.78*	4.76**	20.01***	6.70**	9.05**	7.61**	9.29***
Extraction temperature	0.86	1.69	0.88	0.58	2.70	1.41	7.16**

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

양배추 추출조건에 따른 전자공여작용은 Table 2에 나타내었으며, 전자공여작용의 변화에 대한 반응표면은 Fig. 2에 나타내었다. 추출조건에 있어 시료에 대한 용매비, 에탄올 농도, 추출온도에 따른 전자공여능의 변화에 대한 반응표면 회귀식은 Table 3과 같으며, 전자공여작용에 대한 회귀식의 R<sup>2</sup>는 0.8173로 10%이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 양배추의 전자공여작용은 Table 4와 같이 시료에 대한 용매비 29.23 mL/g, 에탄올 농도 67.95% 및 추출온도 69.07°C일 때 49.6%로 가장 높은 값을 나타내었으며, 이러한 최대값을 나타내는 조건을 벗어날수록 전자공여작용은 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 2). 양배추 추출물의 추출조건에 대한 영향은 수율과 마찬가지로 에탄올 농도에 크게 영향을 받고 있는 것으로 나타났(Table 5). 이러한 결과는 Yoon 등(19)의 복분자 추출조건에서 전자공여작용이 에탄올 농도에 의해 크게 영향을 받고 있다는 보고와 같은 경향을 나타내었으나, 최대값을 나타내는 에탄올 농도가 30~40%로 양배추와는 다른 범위를 가지는 것으로 나타났다.

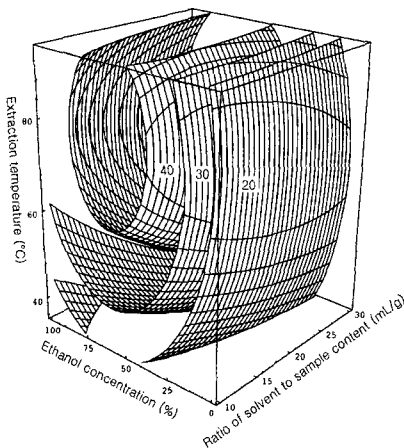


Fig. 2. Response surface for electron donating ability in cabbage extract at constant values (electron donating ability : 20-30-40%) as a function of ratio of solvent to sample content, ethanol concentration and extraction temperature.

Tyrosinase 저해효과의 변화

각각의 추출조건에 따른 tyrosinase 저해효과는 Table 2에 나타내었다. Tyrosinase(Dihydroxy-L- phenylalanine oxygen oxidoreductase, EC 1.14.18.1)는 식품의 가공이나 저장 중에 효소적 갈변화를 일으키는 것으로 알려져 있는데(20), 본 실험에 사용한 양배추 추출물은 tyrosinase 저해효과가 우수한 것으로 나타났다. 반응표면 분석결과 얻어진 4차원 반응표면은 Fig. 3에 나타내었다. Tyrosinase 저해효과에 대한 회귀식의 R<sup>2</sup>는 0.9374로 1%이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점은 최대점으로 능선분석을 실시하여 본 결과 63.55%로 나타났다. 이때의 추출조건은 Table 4에서와 같이 시료에 대한 용매비 19.10 mL/g, 에탄올 농도 8.28% 및 추출온도 81.31°C 이었다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 tyrosinase 저해효과는 에탄올 농도 40% 이하에서 증가하는 경향을 나타내었다. 또한 추출조건에 대한 영향은 Table 5에서와 같이 수율 및 전자공여작용과 유사하게 에탄올 농도에 많은 영향을 받고 있는 것으로 나타났으며, 시료에 대한 용매비와 추출온도에 대해서는 미비한 영향을 받을 수 있었다.

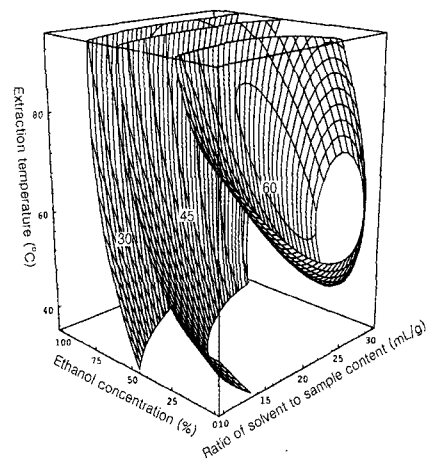


Fig. 3. Response surface for tyrosinase inhibition in cabbage extract at constant values (tyrosine inhibition : 30-45-60%) as a function of ratio of solvent to sample content, ethanol concentration and extraction temperature.

### 아질산염 소거능의 변화

아질산염은 니트로사민의 전구체인 nitrous anhydride ( $N_2O_3$ )와 같은 활성 니트로소화 물질을 생성하고, 이 nitrous anhydride가 2차 아민과 결합하여 발암물질인 N-nitrosamine을 생성하는 것으로 알려져 있다(21,22). Kang 등(23)은 방향족 화합물인 polyphenol 화합물이 아질산염을 효과적으로 분해하여 발암성 nitrosamine의 생성을 억제한다고 보고하였다. 이들은 니트로사민 생성의 기질인 아민과 경쟁적으로 작용하며, 생성억제 정도는 상호간의 농도 및 pH에 의해 영향을 받는다. 최근에는 니트로사민 생성억제 인자의 함량이 높은 천연추출물에서 아질산염 소거능에 대한 연구가 이루어지고 있다.

추출조건에 따른 아질산염 소거능은 Table 2에 나타내었다. pH가 낮을수록 아질산염 소거능이 증가하였으며, 시료에 대한 용매비와 추출온도의 영향은 뚜렷하게 나타나지 않았으나 에탄올 농도가 증가할수록 아질산염 소거능은 낮아짐을 알 수 있었다. pH에 따른 아질산염 소거능에 대한 추출물의 회귀식을 Table 3에 나타내었다. 아질산염 소거능에 대한 회귀식의  $R^2$ 는 pH 1.0, 3.0 및 4.2가 각각 0.8648, 0.8654 및 0.8650이었고, 유의성은 각각 5%, 5% 및 10%이내의 유의수준에서 인정되었다. pH 조건에 따른 양배추의 아질산염 소거능은 Table 4에 나타내었는데, 이때 예측된 정상점은 pH 1.0에서 안장점, pH 3.0 및 pH 4.2에서 최대점을 나타내었으며, 최대값은 각각 91.15%, 72.96% 및 26.85%로 예측되었다. 90%이상의 높은 아질산염 소거능을 나타내는 pH 1.0에서 시료에 대한 각각의 조건은 용매비 11.23 mL/g, 에탄올 농도 67.93% 및 추출온도 55.44°C가 가장 높은 값을 나타내었으며, pH 3.0에서는 시료에 대한 용매비 20.32 mL/g, 에탄올 농도 11.32% 및 추출온도 78.7°C이었다.

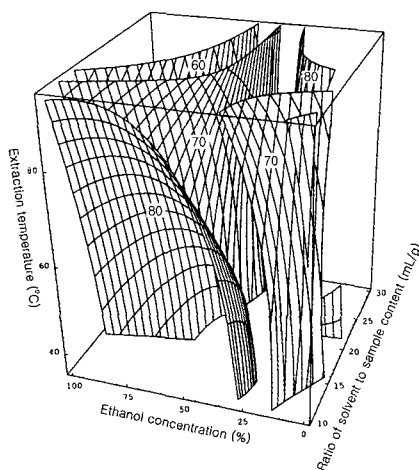


Fig. 4. Response surface for nitrite-scavenging ability (pH 1.0) in cabbage extract at constant values (nitrite-scavenging ability (pH 1.0) : 60-70-80%) as a function of ratio of solvent to sample content, ethanol concentration and extraction temperature.

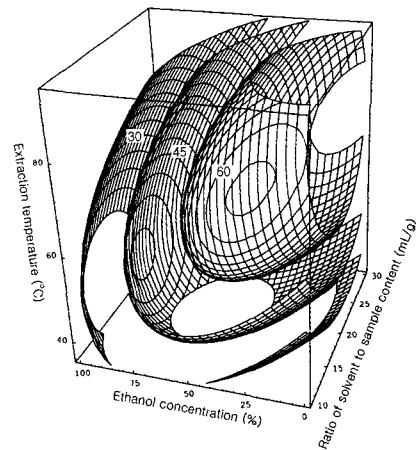


Fig. 5. Response surface for nitrite-scavenging ability (pH 3.0) in cabbage extract at constant values (nitrite-scavenging ability (pH 3.0) : 30-45-60%) as a function of ratio of solvent to sample content, ethanol concentration and extraction temperature.

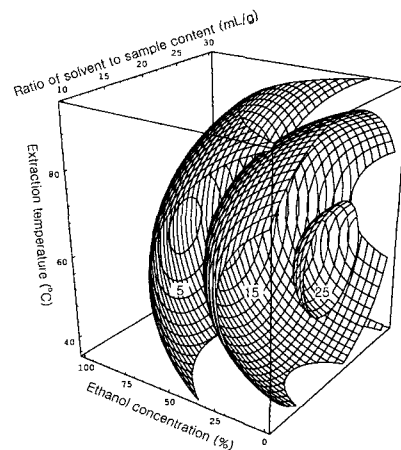


Fig. 6. Response surface for nitrite-scavenging ability (pH 4.2) in cabbage extract at constant values (nitrite-scavenging ability (pH 4.2) : 5-15-25%) as a function of ratio of solvent to sample content, ethanol concentration and extraction temperature.

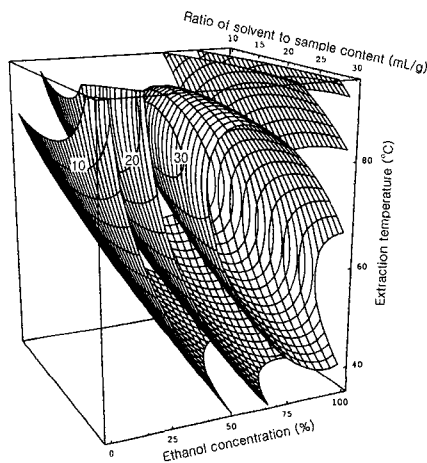
pH 1.0(Fig. 4)에서는 시료에 대한 용매비와 에탄올 농도에 영향을 받음을 알 수 있었고, pH 3.0(Fig. 5)에서는 시료에 대한 용매비 20 mL/g이상, 에탄올 농도 60%이하, 추출온도 50°C이상에서 높은 값을 가지는 것으로 나타났다. pH 4.2(Fig. 6)에서는 에탄올 농도가 20%이하, 시료에 대한 용매비 15~25 mL/g, 추출온도 50~70°C의 범위에서 높은 값을 가지는 것으로 나타났다. 김 등(24)은 솔잎 및 녹차의 아질산염 소거능이 에탄올 추출물보다 열수추출물에서 전반적으로 높게 나타났다고 보고하여 양배추도 솔잎 및 녹차와 추출특성이 유사한 것으로 사료된다. Table 5에서 보는 바와 같이 아질산염 소거능에 대한 추출조건에 대한 영향은 pH 1.0에서는 시료에 대한 용매비와 에탄올 농도에 가장 큰

**Table 6. Optimum extraction condition for response variables yielding the optimum response by superimposing of the 4-dimensional response surface**

Condition	Range of predicted condition
Ratio of solvent to sample content (mL/g)	15~30
Ethanol concentration (%)	40~80
Extraction temperature (°C)	50~90

영향을 받았으며, pH 3.0과 4.2에서는 에탄올 농도가 많은 영향을 끼치는 인자임을 확인하였다.

Kim 등(25,26)은 채소 추출물과 해초추출물의 아질산염 분해능을 실험한 결과 전반적으로 분해능이 있는 것으로 나타났고, pH가 낮을수록 분해능이 우수하다고 보고하였다. Noh 등(21)은 미나리과 산채 추출물의 아질산염 소거능이 pH가 낮을수록 높다고 보고하였고, Lee 등(27)은 차류, 약용 식물류, 해조류, 채소류 및 과일류의 아질산염 분해작용이 pH 1.2에서 가장 크다고 보고한 바 있으며 그 외 많은 연구에서도 낮은 pH에서의 아질산염 소거능이 우수함을 알 수 있었다. 아질산염과 아민류가 반응하여 결합된 발암성 니트로사민은 강산성 조건 특히 인체나 동물 위내의 pH 조건에서 용이하게 생성되므로 양배추 추출물이 강산성 조건하에서 아질산염 분해능이 크다는 사실은 위내에서 니트로사민의 생성억제에 기여하리라 생각된다.



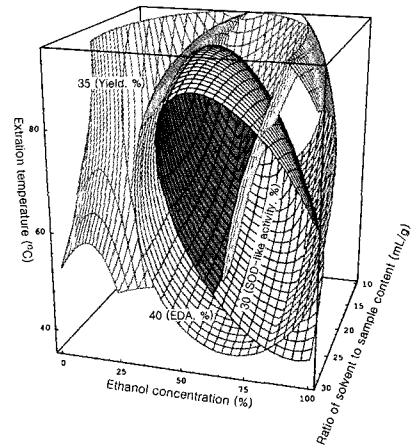
**Fig. 7. Response surface for SOD-like activity in cabbage extract at constant values (SOD-like activity : 10-20-30%) as a function of ratio of solvent to sample content, ethanol concentration and extraction temperature.**

**SOD 유사활성**

SOD는 생체 내에서 O<sub>2</sub>(superoxide) 소거에 관여하는 효소(28)로서 생성된 활성 산소는 생체 내에서 산화적 장애를 초래하게 되므로 이런 현상을 억제하기 위해 SOD 유사활

성을 지닌 천연물 소재를 개발하는데 연구가 이루어지고 있다. 추출조건에 따른 SOD 유사활성은 Table 2에 나타내었다. 시료에 대한 용매비에 따른 영향은 미비하였으나, 에탄올 농도 및 추출온도가 증가함에 따라 SOD 유사활성도 증가하였다. SOD 유사활성에 대한 추출물 회귀식은 Table 3과 같다. SOD 유사활성에 대한 회귀식의 R<sup>2</sup>는 0.9116로 5%이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점은 최대점이었으며 능선분석을 실시한 결과 최대값은 35.78%로 나타났고, 이때의 추출조건은 시료에 대한 용매비 29.03 mL/g, 에탄올 농도 71.39% 및 추출온도 65.85°C일 때로 나타났다(Table 4).

SOD 유사활성에 대한 반응표면은 Fig. 7과 같으며 에탄올 농도 40%이상, 추출온도 50~90°C에서 가장 높은 것으로 나타났다. 추출조건의 영향은 Table 5에서와 같이 에탄올 농도에 가장 큰 영향을 받음을 확인하였고 다음으로 추출온도에 의한 영향이 큰 것으로 나타났다. 하지만 설정된 범위 내에서 시료에 대한 용매비에 대한 영향은 거의 없는 것으로 나타났다.



**Fig. 8. Superimposed response surface for optimization of yield (35%), electron donating ability (40%) and SOD-like activity (30%) of extract from cabbage.**

**최적 추출조건의 예측**

썸머과워 양배추의 추출조건을 설정하기 위하여 조건별 추출물의 수율, 전자공여능 및 SOD 유사활성에 대한 4차원 반응표면을 superimposing하여 중복되는 부분으로 최적 추출조건 범위를 예측하였다. 그 결과 Fig. 8에 나타난 바와 같이 dark zone으로 표현된 부분이 얻어졌고, 이 부분이 양배추의 추출물의 품질특성을 최대화할 수 있는 추출범위로서 Table 6에서와 같이 시료에 대한 용매비 15~30 mL/g, 에탄올 농도 40~80%, 추출온도 50~90°C로 나타났으며, 이 범위내의 임의의 조건(시료에 대한 용매비 25 mL/g,

**Table 7. Predicted values of response variables at a given condition<sup>1)</sup> within the range of optimum extraction conditions**

Response variables	Predicted value
Yield (%)	37.51
Electron donating ability (%)	45.66
Tyrosinase inhibition (%)	53.59
pH 1.0	73.30
Nitrite-scavenging ability (%)	pH 3.0 65.06
	pH 4.2 16.41
SOD-like ability (%)	31.01

<sup>1)</sup>Calculated using the predicted equation for response variables. Given conditions of independent variables: 25 mL/g in ratio of solvent to sample content, 50% in ethanol concentration, 70°C in extraction temperature.

에탄올 농도 50% 및 추출온도 70°C)에서 추출물의 수율 37.51%, 전자공여능 45.66%, tyrosinase 저해효과 53.59%, 아질산염 소거능의 경우 73.30%(pH 1.0), 65.06%(pH 3.0), 16.41%(pH 4.2) 및 SOD 유사활성 31.01%로 예측되었다 (Table 7).

## 요 약

본 실험은 반응표면분석법을 이용하여 양배추(쌈머과 위)의 추출조건에 따른 이화학적 특성을 평가하였다. 중심합성계획법에 따라 시료에 대한 용매비(10~30 mL/g), 에탄올 농도(0~100%) 및 추출온도(35~95°C)를 달리하였을 때 회귀식의 R<sup>2</sup>는 추출수율, 전자공여작용, tyrosinase 저해효과 및 SOD유사활성에서 각각 0.8162(p<0.1), 0.8173(p<0.1), 0.9374(p<0.01)와 0.9116(p<0.05)로 분석되었다. 조건별 추출물의 수율, 전자공여능, SOD 유사활성에 대한 4차원 반응표면을 superimposing하여 얻은 최적 추출조건 범위는 시료에 대한 용매비 15~30 mL/g, 에탄올 농도 40~80%, 추출온도 50~90°C로 나타났다. 최적 추출조건 범위내의 임의의 조건인 시료에 대한 용매비 25 mL/g, 에탄올 농도 50% 및 추출온도 70°C를 각각의 회귀식에 대입하여 얻은 예측값은 추출물의 수율 37.51%, 전자공여능 45.66%, tyrosinase 저해효과 53.59%, 아질산염 소거능의 경우 73.30%(pH 1.0), 65.06%(pH 3.0), 16.41%(pH 4.2) 및 SOD 유사활성 31.01%로 나타났다.

## 참고문헌

1. Stoewsand, G.S. (1995) Bioactive organosulfur phytochemicals in *Brassica oleracea* vegetables. a review. *Food Chem. Toxic.*, 33, 537-543
2. Lee, S.M., Rhee, S.H. and Park, K.Y. (1997) Antimutagenic effect of various Cruciferous vegetables in *Salmonella* assaying system. *J. Food Hyg. Safety.*, 12, 321-327
3. Sorensen, M., Jensen, B.R., Poulson, H.E., Deng, X.S., Tysdrup, N., Dalhoff, K. and Loft, S. (2001) Effects of a brussels sprouts extract on oxidative DNA damage and metabolising enzymes in rat liver. *Food Chem. Toxic.*, 39, 533-540
4. Zhu, C., Poulson, H.E. and Loft, S. (2000) Inhibition of oxidative DNA damage in vitro by extracts brussels sprouts. *Free Rad. Res.*, 33, 187-196
5. Plumb, G.W., Chambers, S.J., Lambert, N., Wanigatunga, S. and Williamson, G. (1997) Influence of fruit and vegetable extracts on lipid peroxidation in microsome containing specific cytochrome P450s. *Food Chem.*, 60, 161-164
6. Thompson, H.C. and Kelly, W.C. (1959) *Vegetables crops*, fifth edition. Mcgraw-hill book company, INC. New York, USA, p.275-595
7. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G. (1997) Antioxidant properties of phenolic compounds. *Reviews. Trends in plant science*, 2, 152-159
8. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G. (1996) Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Review article. Free Radical Biology & Medicine*, 20, 933-956
9. Gontard, N., Guilbert, S. and Cuq, J.L. (1992) Edible wheat gluten films: Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *J. Food Sci.*, 57, 190-196
10. Lee, G.D., Lee, J.E. and Kwon J.H. (2000) Application of response surface methodology in food industry. *Food and Industry*, 33, 33-45
11. SAS Institute, Inc. SAS User's Guide. (1990) Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA
12. Official methods of analysis of the AOAC. (1990) Fifteenth edition. USA. 1010-1011
13. Kang, Y.H., Park, Y.K. and Lee G.D. (1996) The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 28, 232-239
14. Wong, T.C., Luh, B.S. and Whitaker J.R. (1971) Isolation and characterization of polyphenol oxidase of clingstone peach. *Plant Physiology*, 48, 19-23
15. Gray, J.I. and Dugan, L.R. (1975) Inhibition of N-nitrosamine formation in model food system. *J. Food Sci.*, 40, 981-984
16. Kim, S.M., Cho, Y.S. and Sung, S.K. (2001) The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 33, 626-632



17. Park, N.Y., Lee, G.D., Jeong, Y.J. and Kwon, J.H. (1998) Optimization of extraction conditions for physicochemical properties of ethanol extracts from *Chrysanthemum boreale*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 27, 585-590
18. Blois, M.S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature, 26, 1199-1204
19. Yoon, S.R., Jeong, Y.J., Lee, G.D. and Kwon, J.H. (2003) Changes in phenolic compounds properties of Rubi Fructus extract depending on extraction conditions. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 32, 338-345
20. Jung, S., Lee, N., Kim, S.J. and Han, D. (1995) Screening of tyrosinase inhibitor from plants. Korean J. Food Sci. Technol., 27, 891-896
21. Noh, K.S., Yang, M.O. and Cho, E.J. (2002) Nitrite scavenging effect of *Umbelliferaeaceae*. Korean J. Soc. Food Cookery Sci., 18, 8-12
22. Davies, R., Massey, R.C. and McWeeny, D.J. (1980) The catalysis of the N-nitrosamine of secondary amines by nitrosophenols. J. Food Chem., 6, 115-122
23. Kang, Y.H., Park, Y.K. and Lee, G.D. (1996) The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. Korean J. Food Sci. Technol., 28, 232-239
24. Kim, S.M., Cho, Y.S., Sung, S.K., Lee, I.G., Lee, S.H. and Kim, D.G. (2002) Antioxidative and nitrite scavenging activity of pine needle and green tea extracts. Korean J. Food Sci. Ani. Resour., 22, 13-19
25. Kim, D.S., Ahn, B.W., Yeum, D.M., Lee, D.H., Kim, S.B. and Park, Y.H. (1987) Degradation of carcinogenic nitrosamine formation factor by natural food components. 1. Nitrite scavenging effect of vegetable extracts. Bull. Korean Fish. Soc., 20, 463-468
26. Kim, S.B., Ahn, B.W., Yeum, D.M., Lee, D.H., Park, Y.H. and Kim, D.S. (1987) Degradation of carcinogenic nitrosamine formation factor by natural food components. 2. Nitrite scavenging effect of seaweed extracts. Bull. Korean Fish. Soc., 20, 469-473
27. Lee, S.J., Chung, M.J., Shin, J.H. and Sung, N.J. (2000) Effect of natural plant components on the nitrite-scavenging. J. Fd Hyg. Safety, 15, 88-94
28. Kim, S.M., Kim, E.J., Cho, Y.S. and Sung, S.K. (1999) Antioxidant of pine extracts according to preparation method. Korean J. Food Sci. Technol., 31, 527-534

---

(접수 2005년 9월 3일, 채택 2005년 11월 25일)