

아임계수 추출 기술을 이용한 당귀 추출물의 유효성분 및 산화방지 평가

고민정 · 이정현 · 남화현 · 정명수*
이화여자대학교 식품공학과

Antioxidant activities of phenolic compounds from *Angelica gigas* Nakai extract using subcritical water

Min-Jung Ko, Jeong-Hyun Lee, Hwa-Hyun Nam, and Myong-Soo Chung*
Department of Food Science and Engineering, Ewha Womans University

Abstract Subcritical water extraction can be used to selectively extraction compounds by varying the temperature-dependent dielectric constant of water. This study investigated subcritical water extraction of decursin and nodakenin yields from *Angelica gigas* Nakai (AN) quantitatively and qualitatively by HPLC, and HPLC-ESI/MS. Total phenolics, total flavonoid contents, and antioxidant activity were determined by DPPH and ABTS radical scavenging activity, including the effects of varying the extraction conditions of temperature (110-200°C) and time (1-20 min) under high pressure (10 MPa). By subcritical water extraction under operating conditions of 120-130°C, the maximum yields of decursin (6.64±0.42% in the dried material) and nodakenin (3.71±0.28% in the dried material) were obtained. From 190-200°C the maximum yields of total phenolics (75.97±1.64 mg gallic acid equivalent/g AN), flavonoids (8.56±1.10 mg quercetin equivalent/g AN), DPPH (63.07±1.71%), and ABTS (72.32±2.82%) were obtained.

Keywords: subcritical water extraction, *Angelica gigas* Nakai, decursin, nodakenin, antioxidant activity

서 론

우리나라 당귀는 참당귀 *Angelica gigas* Nakai로 규정하고 한 약재로써 뿌리를 말려서 사용한다. 혈액 순환을 촉진하고 진통효과가 있으며 성질이 따뜻하여 부인병에 효과가 있으며 장관운동을 원활하게 해주며 항염, 항균, 함압, 항산화 등의 효능이 있는 것으로 알려져 있다(1-3). 특히, 참당귀에는 유효성분으로써 쿠마린(coumarin) 유도체인 데쿠신(decursin), 데쿠시놀(decursinol), 노다케닌(nodakenin) 등이 주로 함유되어있다(4-6).

아임계수 추출(Subcritical Water Extraction, SWE) 기술은 추출 용매로써 오직 물만을 이용하여 추출을 하며, 물의 유전상수율이 온도와 압력에 따라 변화하는 성질을 이용하여 추출하는 방법이다. 물의 유전상수는 20°C에서 약 80.1이지만 온도가 증가함에 따라 감소하여 200°C에서는 34.5를 나타낸다(≈10 MPa). 이는 유기용매인 메탄올($\epsilon=33.6$), 에탄올($\epsilon=24.5$)의 상온에서의 유전상수를 값과 유사하다. 따라서 유기용매를 대체하여 비극성의 유효성분들을 추출할 수 있는 방법이다. 아임계수 추출기술은 비교적 높은 온도와 압력에서 추출을 하기 때문에 유효 성분이 열에 안정적인 것이 적합하며, 특히 플라보노이드와 같은 비극성의 항산화 물질을 추출하는데 우수한 방법으로 알려져 있다. 오직 물만을 추출용매로써 사용함으로 친환경적이고 값이 싸며, 고온·고

압에서 추출을 하기 때문에 30분 이내에 비교적 짧은 시간 안에 추출이 가능한 장점이 있다. 아임계수 추출 기술을 이용하여 양파껍질, 녹차 잎, 자몽 등에서 플라보노이드류를 추출하였을 경우 기존 전통적인 추출방법인 메탄올, 에탄올 등의 유기용매를 이용하여 2-3시간 추출하는 것보다 아임계수 추출 기술은 15분 이내의 짧은 시간 안에 추출을 하고, 추출률 함량도 높다는 결과를 나타낸 보고가 있다(7-10).

본 연구에서는 아임계수 추출 기술을 이용하여 참당귀로부터 주 유효성분인 데쿠신과 노다케닌을 추출하여 HPLC, HPLC/MS를 이용하여 정성 및 정량 분석하고 추출 조건 별 유효성분의 추출 경향을 확인하였다. 또한, 아임계수 추출의 온도 및 시간의 조건 별 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, DPPH, ABTS radical 소거 활성의 산화방지 효과를 비교 분석하였다.

재료 및 방법

실험 재료

실험에 사용한 재료는 국내산 참당귀(*Angelica gigas* Nakai, AN)로 말려진 뿌리 부분만을 사용하였다. 수분함량 5% 이하로 건조된 뿌리 부분을 고속믹서(Blender 7012S, Waring Co., Torrington, CT, USA)를 이용하여 잘게 분쇄하여 사용하였다.

아임계수 추출방법

아임계수 추출은 아임계수 추출장치(ASE 350, DIONEX Co., Sunnyvale, CA, USA)를 이용하였으며 추출장치의 모식도는 Ko 등(7-9)과 같다. 잘게 분쇄한 당귀 가루 1g을 건조(ASE Prep DE, DIONEX Co., Sunnyvale, CA, USA) 2g과 혼합하여 22 mL 크기의 추출셀(ASE Stainless Extraction Cell, DIONEX Co.)

*Corresponding author: Myong-Soo Chung, Dept. of Food Science and Engineering, Ewha Womans University, Seoul 03760, Korea
Tel: +82-2-3277-4508
Fax: +82-2-3277-4508
E-mail: mschung@ewha.ac.kr
Received July 8, 2016; revised September 2, 2016;
accepted September 2, 2016

안에 넣고 아임계수 추출장치에 장착하여 추출을 수행하였다. 추출온도는 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200°C, 추출시간은 1, 5, 10, 15분으로 수행하였다. 추출시간 동안 압력은 10 MPa로 유지된다. 추출이 끝나면 추출 셀 아래에 일회용 셀룰로스 거르개(cellulose filter, Whatman, Buckinghamshire, UK)를 통하여 추출물이 추출되어 건더기 없는 약 30 mL의 액상의 추출물이 추출된다. 추출된 당귀 아임계수 추출물은 동결건조기(FD 8508, ilShinBioBase Co., Ltd., Dongducheon, Korea)를 이용하여 24시간 동안 동결건조하고 냉장보관하며 분석하였다. 아임계수 추출방법과 비교를 위하여 전통적인 추출방법으로써 열수 추출을 수행하였으며 항온수조에서 100°C 240분 동안 추출을 하고 추출물을 24시간 동결건조하여 냉장보관하며 분석하였다.

총 페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량 분석 방법

당귀 추출물에 함유되어있는 총 페놀 함량 분석을 위한 방법은 폴린-시오칼토비색방법(Folin-Ciocalteu colorimetric method) Cicco 등(11)의 방법을 수정하여 사용하였다. 당귀 추출물의 동결건조물 10 mg에 메탄올(methanol) 10 mL을 첨가하여 2시간 초음파 분쇄 추출하여 시료로 사용하였다. 2% 탄산소듐(sodium carbonate) 시약 2 mL에 시료 0.1 mL을 혼합 한 후 3분 간 균질화하고 상온에서 30분 간 방치 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 갈산(gallic acid)를 표준품으로 농도에 따른 일차방정식에 대입하여($R^2=0.9950$) 계산하였다. 총 플라보노이드 함량은 Zhishen 등(12)의 방법을 수정하여 사용하였다. 당귀 추출물의 동결건조물 10 mg에 메탄올 4 mL을 첨가한 후 2시간 초음파 분쇄 추출하여 시료로 사용하였다. 시료 0.5 mL과 95% 에탄올(ethanol) 1.5 mL, 10% 염화알루미늄(aluminum chloride) 0.1 mL, 1 M 아세트산포타슘(potassium acetate) 0.1 mL, 증류수(distilled water) 2.8 mL을 혼합 한 후 상온에서 30분 간 방치 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 퀘르세틴(Quercetin)을 표준품으로 농도에 따른 일차방정식에 대입하여($R^2=0.9328$) 함유량을 산출하였다.

산화방지 효과 분석 방법

산화방지 효과 분석을 위한 방법은 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능과 ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) 라디칼 소거능의 방법을 이용하였다. DPPH 라디칼 소거능은 Blois (13)의 방법을 변형하여 적용하였으며, 당귀 추출물의 동결건조물 10 mg에 메탄올 10 mL을 첨가하여 2시간 초음파 분쇄 추출하여 시료로 사용하였다. 100 µM DPPH 시약 1 mL에 시료 0.2 mL을 혼합한 후 상온에서 15분 간 방치 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며 아래와 같은 방법으로 계산하여 백분율로 표시하였다.

DPPH 라디칼 소거능(%)

$$= (1 - \text{시료첨가구의 흡광도} / \text{비첨가구의 흡광도}) \times 100$$

ABTS 라디칼 소거능은 Amai 등(14), Re 등(15)의 방법을 변형하여 적용하였으며, 7.0 mM의 ABTS와 2.45 mM의 고황산 포타슘(potassium persulfate)를 1:0.5의 양으로 혼합하여 16시간 실온암실에 방치하고 무수 에탄올을 첨가하여 734 nm에서 시약 흡광도가 0.7 (± 0.02)이 되도록 희석한 후 사용하였다. 시약 900 µL와 시료 100 µL를 혼합하여 6분 간 실온에 방치 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였으며 아래와 같은 방법으로 계산하여 백분율로 표시하였다.

ABTS 라디칼 소거능(%)

$$= (1 - \text{시료첨가구의 흡광도} / \text{비첨가구의 흡광도}) \times 100$$

HPLC와 HPLC-ESI/MS 분석방법

당귀에 함유되어있는 데쿠신, 노다케닌을 정성 및 정량 분석하였으며 분석에는 HPLC를 이용하였다. 두 물질의 표준품은 $\geq 97\%$ 데쿠신(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), $\geq 99\%$ 노다케닌(Sigma-Aldrich)을 사용하였으며, 데쿠신 표준용액은 50 mL의 용량 플라스크에 10 mg의 표준품을 칭량한 후, 128배 희석 후 적정 농도로 희석하여 사용하고, 노다케닌 표준용액은 20 mL의 용량 플라스크에 10 mg의 표준품을 칭량한 후, 128배 희석 후 적정 농도로 희석하여 사용하였다. 희석한 각각의 표준액으로 검량선을 작성하여 농도를 분석하였다. 분석을 위하여 동결건조물 0.1 g을 정밀히 달아 메탄올 20 mL에 녹이고 2시간 동안 초음파 추출한 후, 0.45 µm 막거르개(membrane filter)로 여과하여 검액으로 사용하였다. 전처리 된 시료의 HPLC (HPLC 1260 series infinity, Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) 분석은 ZORBAX Eclipse XDB C18 5 µm, 4.6 mm×150 mm의 column (Agilent Co., Waldbronn, Germany)을 이용하였고 유속은 1.0 mL/min, 용매는 아세토나이트릴(acetonitrile) (solvent A), 증류수(solvent B)를 사용하였다. UV 검출기(detector, variable Wavelength Detector, Agilent Co., Waldbronn, Germany)를 이용하여 10 µL를 주입하여 330 nm에서 50분 간 분석하였다. HPLC-ES/MS (Agilent 6530 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS, Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) 분석은 ZORBAX Eclipse Plus C18 1.8 µm, 2.1 mm×5.0 mm의 column (Agilent Co., Waldbronn, Germany)을 이용하였고, Electrospray ionization-mass (ESI), Quadrupole time-of flight (Q-TOF) system으로 positive mode에서 분석하였다.

통계처리 및 결과분석 방법

모든 추출물의 유효성분의 함량 및 활성의 결과는 3회 반복 수행하여 평균±표준편차로 표시하였다. 상관관계 분석은 IBM SPSS statistics (Version 22.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 Pearson 상관계수 분석으로 $p < 0.01$ 유의수준에서 분석하였다. 분산분석은 IBM SPSS statistics (Version 22.0, SPSS Inc.)를 이용하여 던컨시험(Duncan test)로 $p < 0.05$ 의 유의수준에서 분석하였다.

결과 및 고찰

HPLC 및 HPLC-ESI/MS 분석 결과

당귀 아임계수 추출물에 함유되어있는 데쿠신과 nadakenin의 HPLC 크로마토그램은 Fig. 1에 나타내었다. 노다케닌은 4.008분에 데쿠신은 43.187분에 검출되었다. 각각의 크로마토그램의 면적에 다른 검량선은 노다케닌의 경우 $R^2=0.9779$, 데쿠신은 $R^2=0.9992$ 으로 높은 직선성을 나타내었다. 표준품의 검량선과 아임계수 추출물의 면적 비교로 정량 분석을 하였고 표준품의 Spiking 검사 및 HPLC-ESI/MS로 다시 한번 정성 분석으로 물질을 확인하였다. Fig. 2와 같이 HPLC-ESI/MS 분석결과, 당귀 아임계수 추출물에는 데쿠신과 노다케닌이 관찰되었다. 각각의 화학구조 및 분자량 관련 정보는 Table 1과 같으며, Fig. 2와 같이 positive ionization 조건에서 데쿠신($C_{19}H_{20}O_5$)은 $m/z=329.13$ [M+H]⁺, 679.24 [2M+Na]⁺을 나타내었고, 노다케닌($C_{20}H_{24}O_9$)은 $m/z=409.14$

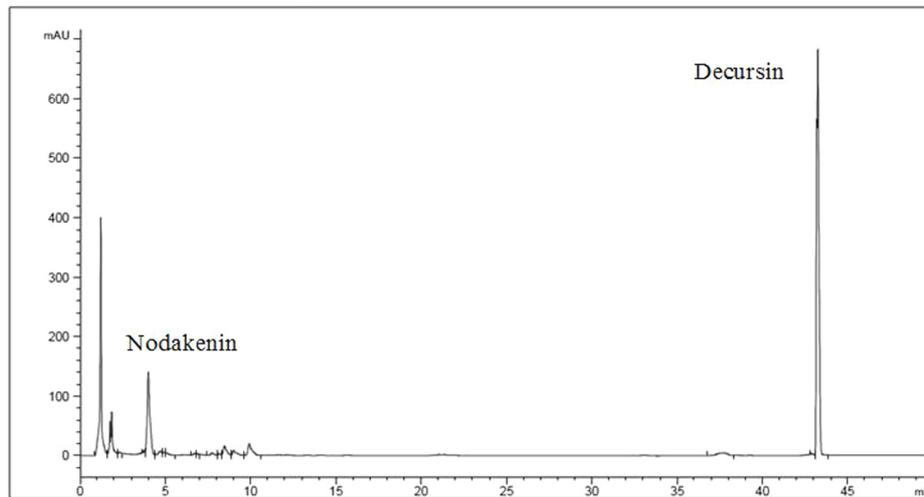


Fig. 1. HPLC chromatogram of nodakenin, and decursin from *Angelica gigas* Nakai extract.

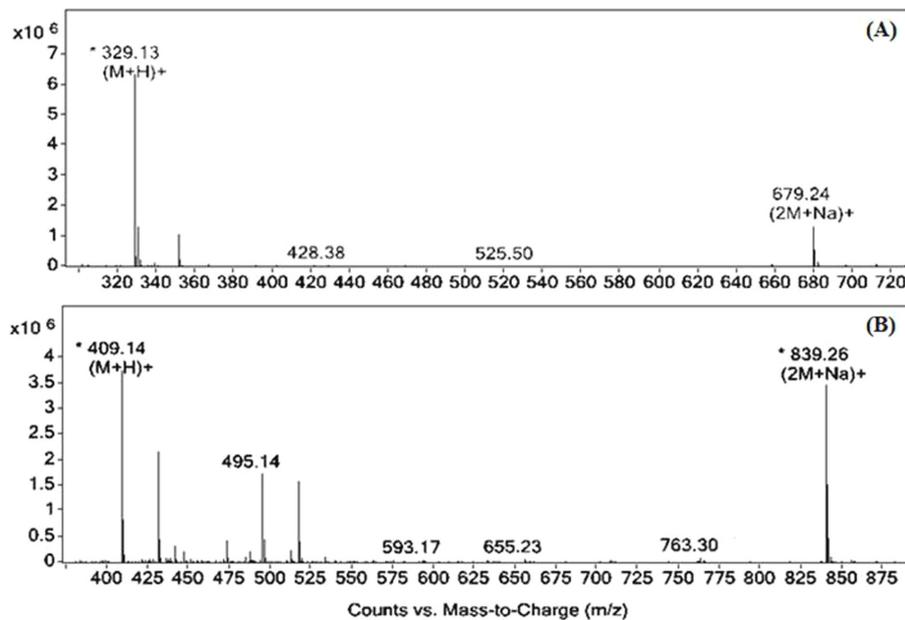
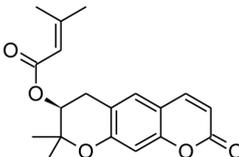
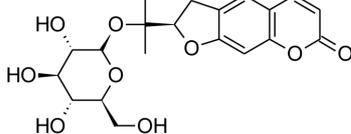


Fig. 2. HPLC-ESI/MS spectrum of decursin (A), and nodakenin (B).

Table 1. Characteristics of extract from *Angelica gigas* Nakai

Chemical structure	Chemical name	Molecular formula	Molecular weight (g/mol)	Exact mass (g/mol)
	Decursin	C ₁₉ H ₂₀ O ₅	328.36	328.13
	Nodakenin	C ₂₀ H ₂₄ O ₉	408.40	408.14

[M+H]⁺, 839.26 [2M+Na]⁺을 나타내어 정성분석으로써 유효성분을 확인하였다. 이는 Ahn 등(16)이 HPLC-ESI/MS를 이용하여 당

귀에 함유되어있는 coumarins 물질들을 분석한 결과와 유사한 m/z 값이다.

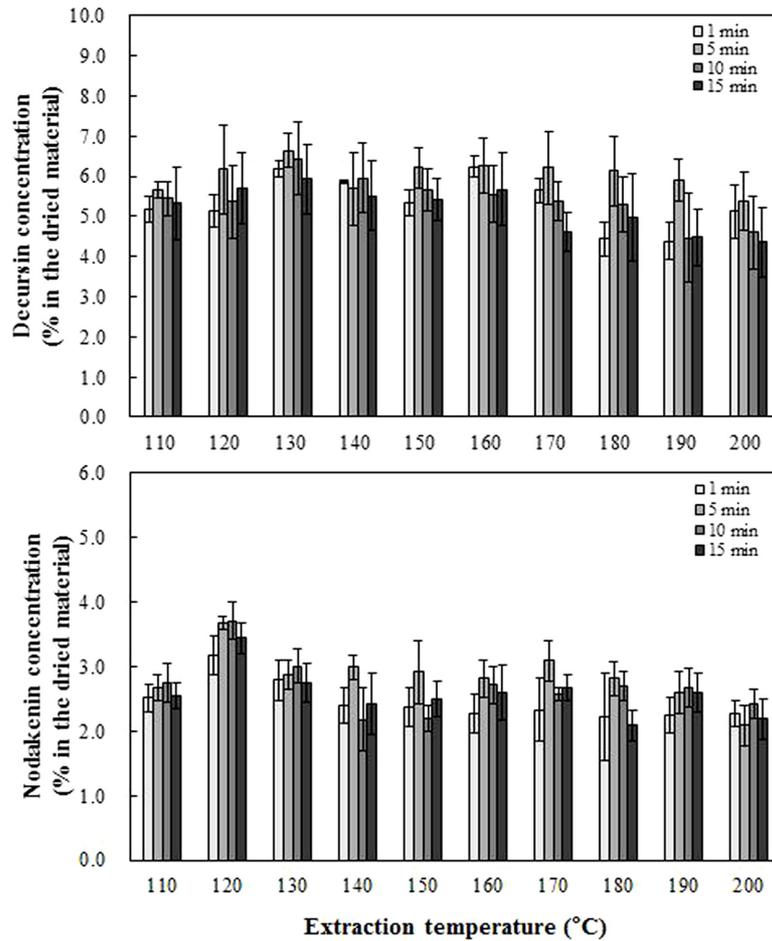


Fig. 3. Effect of extraction temperature and time on the SWE of decursin, and nodakenin. Experiments were conducted in triplicate. Data shown as the mean±standard deviations.

Decursin 및 nodakenin의 함량 변화

아임계수 추출을 이용한 당귀에서의 데쿠신과 노다케닌의 함량 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 아임계수 추출조건에서 온도가 증가할수록 데쿠신과 노다케닌의 함량이 증가하다가 감소하는 경향을 나타내었으며, 데쿠신은 130°C에서 6.64±0.42%, 노다케닌은 120°C에서 3.71±0.28%로 가장 높은 함량을 나타내었다. 150°C 이상의 비교적 높은 온도의 아임계수 추출조건에서 두 물질은 점점 파괴되는 경향을 나타낸 것을 확인할 수 있다. 추출 시간이 증가할수록 두 물질의 함량은 증가하다가 감소하는 경향을 나타내었으며 5분에서 가장 높은 함량을 나타내었다. 아임계수 추출 물과의 비교를 위한 기존의 전통 추출법인 열수 추출물은 데쿠신은 7.19±1.45%, 노다케닌은 5.71±0.78%를 나타내었으며 이는 아임계수 추출물과 비교하여 약간 높은 함량을 나타낸 결과이다. 그러나 열수 추출의 경우, 유효성분 추출을 위해 4시간 이상 추출을 하지만 아임계수 추출은 5-10분 이내에 짧은 시간 내에 추출할 수 있다는 큰 장점이 있다. Park 등(17)에 따르면 대한약전의 당귀의 규격으로 노다케닌과 총 데쿠신의 합계 함유량 6.0% 이상으로써의 결과와 비교할 때 당귀 아임계수 추출은 비교적 적합하다.

총 페놀 함량

당귀에 함유되어있는 총 페놀 함량은 Table 2와 같다. 아임계수 추출조건인 온도 및 시간이 증가할수록 페놀함량은 함께 증

가하는 경향을 나타내었다. 아임계수 추출 조건에서 가장 낮은 조건이었던 110°C, 5분의 4.89±2.70 mg GAE/g AN과 비교하여 가장 높은 추출온도인 200°C, 15분의 75.97±1.64 mg GAE/g AN에서의 함량의 차이는 약 15.54 배 이상으로 높은 함량의 차이를 보였다. 비교적 비극성의 페놀 물질들이 아임계수 추출의 높은 온도에서의 낮은 용매인 물의 유전상수에서 용해도가 증가하여 추출되는 경향을 나타낸 것으로 사료된다. 열수 추출의 경우 30.32±3.23 mg GAE/g AN을 나타내었으며 이는 아임계수 추출법 보다 낮은 추출률을 나타낸 결과이다. Li 등(18)의 약초에 함유되어 있는 페놀함량(phenolic contents)의 함량과 비교할 때 최적조건 아임계수 추출물의 페놀 함량이 매우 높음을 알 수 있다.

총 플라보노이드 함량

아임계수 추출 기술을 이용한 당귀 추출물의 총 플라보노이드 함량은 Table 2와 같다. 온도와 추출시간이 증가함에 따라 총 플라보노이드 함량은 증가하는 경향을 보였으며 190°C 15분에서 8.56±1.10 mg/QE/g AN으로 가장 높은 함량을 나타내었다. 200°C에서의 함량은 190°C와 비교할 때 시간이 증가할수록 오히려 약간 감소하였다. 당귀에 함유되어있는 플라보노이드류가 200°C 부근에서는 파괴가 시작되거나 변형된 것으로 생각된다. 열수 추출의 경우, 비색법으로써는 검출되지 않았다. 비교적 비극성의 플라보노이드가 열수 추출의 방법으로서는 장시간 하여도 적합하지 않은 것을 알 수 있는 결과이다. Do 등(19), Atmani 등(20),

Table 2. Effect of extraction temperature and time on the yield of total phenolics and total flavonoids in subcritical water from *Angelica gigas* Nakai (AN)

Extraction temperature (°C)	Extraction time (min)	Total phenolics content (mg GAE/g AN)	Total flavonoids content (mg QE/g AN)
110	5	4.89±2.70 ^a	0.59±0.27 ^a
	10	5.49±0.93 ^a	0.73±0.14 ^a
	15	19.31±1.01 ^b	2.29±0.30 ^{ab}
130	5	25.59±2.45 ^{bc}	2.82±0.28 ^{bc}
	10	27.65±2.63 ^{cd}	3.13±1.29 ^{bc}
	15	26.79±3.39 ^c	3.25±0.78 ^{bc}
150	5	25.31±0.28 ^{bc}	3.15±0.53 ^{bc}
	10	34.80±0.43 ^e	3.95±0.07 ^{bcd}
	15	35.88±3.13 ^e	3.79±0.37 ^{bcd}
170	5	27.60±4.68 ^{cd}	4.02±0.28 ^{bcd}
	10	34.14±3.16 ^{de}	4.62±0.72 ^{cd}
	15	45.57±3.68 ^{fg}	5.29±0.84 ^{de}
190	5	34.93±0.96 ^e	3.78±1.01 ^{bcd}
	10	38.85±2.94 ^{ef}	6.70±1.44 ^e
	15	51.61±3.59 ^g	8.56±1.10 ^f
200	5	39.98±3.11 ^{ef}	4.17±0.60 ^{bcd}
	10	52.12±3.54 ^g	5.20±0.98 ^{de}
	15	75.97±1.64 ^h	6.63±0.75 ^e

Total phenolics and flavonoid contents were expressed in gallic acid equivalent (mg GAE/g AN) and quercetin equivalent (mg QE/g AN), respectively. Data were subjected to Duncan's ANOVA test ($p < 0.05$).

Siddhuraju와 Becker(21)은 총 플라보노이드 추출과 측정에는 열수 추출 방법보다 메탄올, 에탄올과 같은 비극성의 용매가 더 적합하다고 보고하였다. 따라서 아임계수 추출법은 오직 물만을 이용하여 친환경적으로 메탄올, 에탄올과 같은 유기용매를 대체하여 플라보노이드를 추출할 수 있는 높은 잠재성이 있는 기술이다.

산화방지 효과

당귀 아임계수 추출물의 산화방지 효과는 DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능의 결과로써 비교하였다(Fig. 4). 아임계수 추출 조건은 추출 온도 110-200°C, 추출 시간 5-15분에서 평가하였으며 추출 온도와 시간이 증가할수록 결과 값이 증가하는 것을 확인하였다. DPPH 라디칼 소거능은 190°C 15분에서 63.08±1.71%, ABTS 라디칼 소거능은 200°C 15분에서 72.32±2.82%로 가장 높은 값을 나타내었다. 이는 열수 추출의 결과인 DPPH 라디칼 소거능의 55.67±1.22%와 ABTS 라디칼 소거능의 43.22±1.92%와 비교하여 높은 산화방지 효과를 나타낸 것으로써 아임계수 추출물의 항산화능의 우수성을 나타낸 결과이다.

Table 3. Spearman's-Rho coefficients for the correlation between antioxidant capacities measured by ABTS, DPPH and, total phenolics and flavonoids content on SWE from *Angelica gigas* Nakai (AN)

	Total phenolics	Total flavonoids	DPPH radical scavenging	ABTS radical scavenging
Total phenolic	1			
Total flavonoids	0.861**	1		
DPPH radical scavenging	0.838**	0.897**	1	
ABTS radical scavenging	0.893**	0.764**	0.880**	1

**Correlation is significant at $p < 0.01$

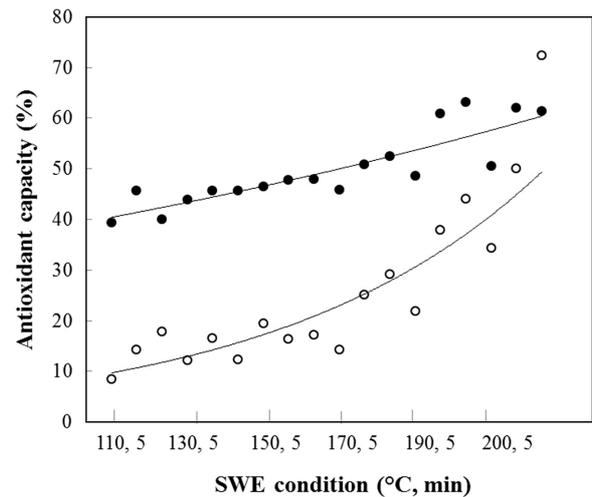


Fig. 4. Effect of antioxidant capacity on the increasing extraction temperature (110-200°C) and time (5-15 min) of SWE conditions of DPPH (●), and ABTS (○).

상관관계 분석

아임계수 추출물의 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, DPPH 라디칼 소거능, ABTS 라디칼 소거능 간의 상관관계를 SPSS Pearson 상관계수를 이용하여 $**p < 0.01$ 유의수준에서 분석하였다 (Table 3). 아임계수 추출 온도와 추출 시간이 증가할수록 총 페놀 함량과 총 플라보노이드 함량은 유사하게 증가하는 경향을 보였는데 상관계수도 $**0.861$ 로써 높은 상관관계가 존재함을 알 수 있었다. 항산화력도 DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능이 $**0.880$ 로 상관관계가 있었다. 항산화력을 측정하는 두 방법이 모두 형성된 자유라디칼(free radical)을 제거하는 유사한 작용메커니즘을 가지기 때문에 유사한 결과가 나타나고 높은 상관관계의 결과가 나타난 것으로 보인다.

요약

아임계수 추출 기술을 이용하여 참당귀로부터 테쿠신, 노다케닌을 추출하고 HPLC, HPLC-ESI/MS를 이용하여 추출조건에 따른 유효성분을 정성 및 정량적으로 비교 분석하였다. 추출결과, 테쿠신과 노다케닌의 추출함량은 아임계수 추출법과 비교하여 열수 추출 방법을 이용하는 것이 약간 많거나 유사하였지만, 추출 시간은 아임계수 추출법이 5-10분 이내로 매우 빠르게 추출할 수 있는 장점이 있다. 그리고 총 페놀함량, 총 플라보노이드 함량은 아임계수 추출법이 우수하게 많이 추출됨을 확인 할 수 있었고, DPPH, ABTS 라디칼 소거능을 이용한 산화방지 효과도 아임계수 추출법이 우수하였다. 특히, 아임계수 추출 조건인 추출 온도와 추출 시간이 증가할수록 총 페놀함량 및 총 플라보노이드 함

량, 그리고 산화방지 효과 또한 점차적으로 증가하는 경향을 나타내었고 높은 상관관계를 보였다. 이는 오직 물만을 사용하여 유효성분을 추출하는 친환경적이며 안전하고 독성이 없는 아임계수 추출의 잠재성과 우수성을 확인한 결과이며, 다양한 한약재 뿐만 아니라 다른 식품 추출 산업에 응용하여 사용될 수 있을 것이다.

감사의 글

이 논문은 2016년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(No. 2016R1D1A1B03930300). 또한 본 논문의 결과물은 농림축산식품부의 재원으로 농림수산식품기술기획평가원의 고부가가치식품기술개발사업의 지원을 받아 연구되었음(315063-3).

References

1. Kang SA, Han JA, Jang KH, Choue RW. DPPH radical scavenger activity and antioxidant effects of chan-dang-gui (*Angelica gigas*). J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 33: 1112-1118 (2004)
2. Um YR, Lee JH, Ma JY. Quantitative analysis of marker substances in solid fermented *Angelicae gigantis* radix by HPLC. Korean J. Oriental Med. 16: 173-178 (2010)
3. Park KW, Choi SR, Shon MY, Jeong IY, Kang KS, Lee ST, Shim KH, Seo KI. Cytotoxic effects of decursin from *Angelica gigas* Nakai in human cancer cells. J Korean Soc. Food Sci. Nutr. 36: 1385-1390 (2007)
4. Cha JY, Kim HW, Heo JS, Ahn HY, Eom KE, Heo SJ, Cho YS. Ingredients analysis and biological activity of fermented *Angelica gigas* Nakai by mold. J. Life Sci. 20: 1385-1393 (2010)
5. Heo JS, Cha JY, Kim HW, Ahn HY, Eom KE, Heo SJ, Cho YS. Bioactive materials and biological activity in the extracts of leaf, stem mixture and root from *Angelica gigas* Nakai. J. Life Sci. 20: 750-759 (2010)
6. Hwang JB, Yang MO. Comparison of chemical components of *Angelica gigas* Nakai and *Angelica acutiloba* Kitagawa. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 1113-1118 (1997)
7. Ko MJ, Cheigh CI, Cho SW, Chung MS. Subcritical water extraction of flavonol quercetin from onion skin. J. Food Eng. 102: 327-333 (2011)
8. Ko MJ, Cheigh CI, Chung MS. Relationship analysis between flavonoids structure and subcritical water extraction (SWE). Food Chem. 143: 147-155 (2014)
9. Ko MJ, Cheigh CI, Chung MS. Optimization of subcritical water extraction of flavanols from green tea leaves. J. Agr. Food Chem. 65: 6828-6833 (2014)
10. Ko MJ, Kwon HL, Chung MS. Optimum conditions for extracting flavanones from grapefruit peels and encapsulation of extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 46: 465-469 (2014)
11. Cicco N, Lanorte MT, Paraggio M, Viggiano M, Lattanzio V. A reproducible, rapid and inexpensive Folin-Ciocalteu micromethod in determining phenolics of plant methanol extracts. Microchem. J. 91: 107-110 (2009)
12. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem. 64: 555-559 (1999)
13. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 181: 1199-1200 (1958)
14. Arnao MB, Cano A, Acosta M. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. Food Chem. 73: 239-244 (2001)
15. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic. Biol. Med. 26: 1231-1237 (1999)
16. Ahn MJ, Lee MK, Kim YC, Sung SH. The simultaneous determination of coumarins in *Angelica gigas* root by high performance liquid chromatography-diode array detector coupled with electrospray ionization/mass spectrometry. J. Pharmaceut. Biomed. 46: 258-266 (2008)
17. Park JH, Jung JW, Kweon KT, Seo MJ, Seo EK, Park YK, Lee JH. Nodakenin and decursin contents of fermented *Angelicae gigantis* radix by 4 species strain. Korean J. Herbol. 25: 7-10 (2010)
18. Li HB, Wong CC, Cheong KW, Chen F. Antioxidant properties *in vitro* and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. LWT-Food Sci. Technol. 41: 385-390 (2008)
19. Do QD, Angkawijaya AE, Tran-Nguyen PL, Huynh LH, Soetaredjo FE, Ismadji S, Ju YH. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. J. Food Drug Anal. 22: 296-302 (2014)
20. Atmani D, Chaher N, Berboucha M, Ayouni K, Lounis H, Boudaoud H, Debbache N, Atmani D. Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. Food Chem. 112: 303-309 (2009)
21. Siddhuraju P, Becker K. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. J. Agr. Food Chem. 51: 2144-2155 (2003)