

밀싹 추출물이 함유된 Cosmeceuticals의 제조: CCD-RSM을 이용한 유화안정성 최적화

장현식 · 마시상 · 이승범[†]

단국대학교 화학공학과
(2021년 4월 15일 접수, 2021년 5월 6일 수정, 2021년 5월 10일 채택)

Preparation of Cosmeceuticals Containing Wheat Sprout Extracts: Optimization of Emulsion Stability Using CCD-RSM

Hyun Sik Jang, Xixiang Ma and Seung Bum Lee[†]

Department of Chemical Engineering, Dankook University, Gyeonggi 16890, Korea
(Received April 15, 2021; Revised May 6, 2021; Accepted May 10, 2021)

초 록

본 연구에서는 밀배아유에 항산화 물질이 다량 함유되어있는 밀싹 추출물을 첨가한 후 O/W 유화액을 제조하는 최적화 공정을 설계하였다. 최적화 공정 설계는 반응표면분석법의 중심합성계획모형을 사용하였다. 기초실험을 통하여 유화제 첨가량, 유화시간, 밀싹 추출물의 첨가량을 독립변수로 설정하였다. 그리고 반응치는 평균입자크기, 점도, 유화안정도지수를 설정하여 유화액의 안정성을 평가하였다. 각 독립변수에 대해 최적화하여 P-value와 결정계수를 평가하여 실험 신뢰도를 확인하였다. 모든 독립변수를 만족하는 최적화 조건은 유화제 첨가량 = 7.7 wt.%, 유화시간 = 23.6 min, 밀싹 추출물의 첨가량 = 3.9 wt.%에서 평균입자크기 = 252.3 nm, 유화액의 점도 = 616.7 cP, ESI = 88.7%로 나타났다. 종합만족도가 0.9137으로 실험의 타당성을 뒷받침하였고, 실제실험을 진행하여 오차율이 0.5 %이하로 측정되었다. 따라서 중심합성계획모형을 통해 밀싹 추출물을 첨가하여 유화액을 제조하는 최적화 과정을 설계하였다.

Abstract

In this study, an optimization for the production of water emulsion was designed by adding an extract of wheat sprout, which is known to contain a large amount of antioxidants. The central composite design of reaction surface analysis method (CCD-RSM) was used for the optimization process. The amount of emulsifier, emulsification time, and added amount of wheat sprout extract were selected as independent variables based on our preliminary experiments. The mean droplet size (MDS), viscosity, and emulsion stability index (ESI) were set as the responses to evaluate the stability of the emulsion. For each independent variable, the P-value and coefficient of determination were evaluated to verify the reliability of the experiments. From the result of CCD-RSM, optimum conditions for the emulsification were determined as 23.6 min, 7.7 wt.%, and 3.9 wt.% for the emulsification time, amount of emulsifier, and amount of sprout, respectively. From the optimized condition obtained, MDS, viscosity, and ESI after 7 days from reaction were estimated as 252.3 nm, 616.7 cP, and 88.7%, respectively. The overall satisfaction was 0.9137, which supported the validity of the experiments, and the error rate was measured at 0.5% or less by advancing the experiments. Therefore, an optimized process for producing an emulsion by adding the malt extract was designed by the CCD-RSM.

Keywords: Wheat sprout, O/W emulsion, Emulsion stability, Antioxidants, CCD-RSM

1. 서 론

현대사회에서 사람들은 수면 부족, 과로, 잘못된 식습관, 자외선 등의 이유로 스트레스를 받고 있으며, 이러한 스트레스는 우리의 몸속

에 과도한 활성산소를 만들어낸다. 신체 내부에서 발생하는 활성산소는 불안정하고 활성이 크며 높은 에너지를 가지고 있어 생체 조직을 공격하여 노화를 일으키는 주범으로 알려져 있다[1,2]. 천연물 중 밀싹은 밀의 어린 싹을 말하며, 활성산소로부터 세포를 보호하는 항산화 물질이 풍부하여 각종 건강기능식품으로 잘 알려져 있다[3,4]. 본 연구에서는 밀배아유를 원료로 하는 유화액에 밀싹 추출물을 첨가하여 유화액 제조공정을 최적화하였다. 최적화 과정은 중심합성계획모형(central composite design model-response surface methodology, CCD-RSM)을 사용하였다. 반응표면분석법은 통계학을 응용한 실험계획법으로써 최

[†] Corresponding Author: Dankook University,
Department of Chemical Engineering, Gyeonggi 16890, Korea
Tel: +82-31-8005-3559 e-mail: leesb@dankook.ac.kr

소한의 실험으로 최적화 공정을 수행하는 방법이다[5-7].

$$z = c_0 + c_1y_1 + c_2y_2 + c_3y_3 + c_{11}y_1^2 + c_{22}y_2^2 + c_{33}y_3^2 + c_{12}y_1y_2 + c_{13}y_1y_3 + c_{23}y_2y_3 \quad (1)$$

여기서 z 는 반응치, c_{mn} 는 서로 다른 상수이며, y_1, y_2, y_3 은 독립변수이다. 위와 같이 CCD-RSM의 회귀방정식은 독립변수가 3개일 때, 2차방정식으로 정의된다. 1차 항의 상수 c_1, c_2, c_3 를 통해 어떤 반응치가 독립변수에 큰 영향을 미치는 주효과인지 판단하고, y_1y_2, y_1y_3, y_2y_3 와 같이 두 개의 독립변수의 조합의 상수 c_{12}, c_{13}, c_{23} 을 통해 교호효과도를 판단한다. 또한 분산분석(analysis of variance, ANOVA)으로부터 P-value, 결정계수(coefficient of determination, R^2) 등의 데이터를 이용하여 실험의 신뢰도를 평가하여 실험의 타당성을 증명한다. CCD-RSM은 가장 일반적으로 사용되는 반응표면분석 모델이며, 하나의 중앙점과 여러 개의 축점을 이용하여 최적화 조건을 찾아낸다. 중앙점은 실험의 신뢰도에 중요한 역할을 하고, 축점은 독립변수와 반응치의 관계를 알려준다[8,9]. 본 연구에서는 유효액의 안정성 평가를 위해 평균입자크기(mean droplet size, MDS), 점도, 유효안정도지수(emulsion stability index, ESI)를 반응치로 설정하였고, 유효제의 첨가량, 유효시간, 밀싹 추출물 첨가량을 독립변수로 설정하여 실험을 진행하였다. 또한 밀배유를 이용한 유효액과 밀싹 추출물을 첨가한 유효액의 항산화 능력을 검증하기 위해 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능을 측정하였다.

2. 실험방법

2.1. 유효액 제조 공정

밀배아유 대 초순수의 질량비는 2 : 8이고, 밀싹 추출물은 수상에, 유효제는 유상에 첨가하였으며, 총 질량은 200 g으로 고정하였다. 실험에 사용된 유효제는 sugar ester 계열인 S-370과 S-1670을 혼합하여 HLB 값을 8.5로 고정하여 사용하였다. 유효온도는 70 °C로 일정하게 유지하였으며, 유효속도는 high-speed emulsifier를 이용하여 6000 rpm으로 설정하였다. 유효과정 후 25 °C incubator에서 보관하여 7 day 동안 유효안정성을 평가하였다.

2.2. 유효안정성 평가

유효액의 안정성 평가를 위해 7 day 후 유효액의 평균입자크기(mean droplet size, MDS), 점도, 유효안정도지수(emulsion stability index, ESI)를 측정하였다. 유효액의 MDS는 25 °C에서 ZETA Sizer (Zen 3600, Malvern)을 사용하여 유효액의 동적 광산란(dynamic light scattering, DLS)분석을 수행하였다. 이때 다중산란효과(multiple scattering effect)를 피하기 위해 유효액을 200배 희석하고 측정하였으며, 평균값을 취하기 위해 실험을 3회 반복 측정하였다. 유효액의 점도는 25 °C에서 Brookfield 점도계(DV-II+ Pro, Brookfield Co.)를 사용하여 측정하였다. 유효액의 ESI는 creaming층 또는 침전층의 양을 계산하여 식 (2)를 이용하여 평가하였다.

$$ESI (\%) = 100\% \times \frac{H_E - (H_S + H_C)}{H_E} \quad (2)$$

여기서 H_E 는 전체 유효액의 높이이고, H_C 는 creaming 층의 높이이

며, H_S 는 침전층의 높이이다. ESI가 클수록 유효액은 더 큰 안정성을 갖는다[10].

2.3. DPPH 라디칼 소거능 평가

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 라디칼은 보라색의 안정된 자유 라디칼로 항산화 물질과 반응하면 색을 잃게 된다. 이러한 특성을 이용하여 항산화능을 측정하였다. DPPH를 에탄올에 용해시켜 0.1 mmol/L DPPH 용액을 제조한 후 유효액 2 mL를 시험관에 분취하고 DPPH 용액 2 mL를 첨가하여 30 min 동안 암실에서 방치한다. 자외선-가시광선 분광광도계(Optizen 2120 UV, MECASYS)를 사용하여 517 nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 항산화능을 분석하였다. 이때 시료를 첨가하지 않은 무첨가군과 비교하여 다음과 같이 DPPH 라디칼 소거능을 백분율로 나타내었다[11,12].

$$DPPH \text{ radical scavenging activity } (\%) = \left(\frac{Abs_{(control)} - Abs_{(sample)}}{Abs_{(control)}} \right) \times 100 \quad (3)$$

본 연구에서 사용된 반 억제 농도(inhibition concentration, IC_{50})는 DPPH 라디칼 소거능을 평가하는 데 사용된다. IC_{50} 값은 DPPH 용액의 농도를 50% 감소시키는 데 필요한 항산화제의 농도를 의미한다. IC_{50} 값이 작을수록 DPPH 라디칼 소거능이 강해지고 항산화능이 높아진다. 본 연구에서는 밀싹 추출물을 첨가하지 않은 밀배아유 유효액을 대조군으로 사용하여 비교 평가하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. CCD-RSM 회귀방정식 분석

기초실험을 통해 유효제 첨가량은 6~8 wt.%, 유효시간은 20~30 min, 밀싹 추출물의 첨가량은 3~4 wt.%로 독립변수의 범위를 설정하였다. 설정된 독립변수들을 CCD-RSM에 적용하여 반응치인 MDS, 점도, ESI를 입력하여 CCD-RSM 분석을 완성하여 최적화 과정을 수행하여 Table 1에 나타내었다. 이 결과를 바탕으로 각 독립변수에 따른 각 반응치를 2차 회귀방정식으로 표현하였으며, 분산분석으로 결정계수와 P-value를 통해 실험의 신뢰도를 분석하였다.

CCD-RSM을 이용하여 유효액의 MDS와 독립변수들의 관계를 나타내는 회귀방정식은 다음과 같다.

$$MDS = 3762 - 346y_1 - 66.7y_2 - 711y_3 + 28.54y_1^2 + 1.092y_2^2 + 66.8y_3^2 - 3.20y_1y_2 + 10.10y_2y_3 - 5.5y_1y_3 \quad (4)$$

여기서 y_1 은 유효제 첨가량, y_2 는 유효시간, y_3 은 밀싹 추출물의 첨가량이다. 회귀방정식의 일차항에서 y_3, y_1, y_2 순으로 상수의 크기가 크다. 따라서 밀싹 추출물의 변화량이 MDS에 미치는 영향이 가장 큰 일차원 변수이다. 이차항에서는 y_2y_3, y_1y_3, y_1y_2 순으로 크게 나타났다. 따라서 (유효시간 × 밀싹 추출물의 첨가량)이 유효액의 MDS를 결정하는 중요한 변수의 조합임을 알 수 있었다. 분산분석에서 일반적으로 P-value가 0.05보다 작은 경우, R^2 이 0.9보다 큰 경우 실험은 타당성을 얻는다. 이 모델의 P-value, R^2 는 각각 0001, 0.9032로 신뢰할 수 있는 모델임을 확인하였다. Figure 1(a)은 회귀방정식을 등고선도로 나타낸 그림이다. 유효제 첨가량, 유효시간, 밀싹 추출물의 첨가량이 증

Table 1. Response Surface Methodology of Four Variables and Corresponding Response Values

| | Experimental factors levels | | | Response values | | |
|----|-----------------------------|------------|----------------|-----------------|----------------|---------|
| | Emulsifier [wt.%] | Time [min] | Extract [wt.%] | MDS [nm] | Viscosity [cP] | ESI [%] |
| 1 | 7.0 | 16.6 | 3.5 | 364 | 480 | 78.9 |
| 2 | 8.7 | 25.0 | 3.5 | 317 | 538 | 82.7 |
| 3 | 8.0 | 20.0 | 3.0 | 343 | 524 | 82.3 |
| 4 | 7.0 | 25.0 | 3.5 | 274 | 583 | 87.2 |
| 5 | 7.0 | 33.4 | 3.5 | 343 | 500 | 80.6 |
| 6 | 8.0 | 20.0 | 4.0 | 236 | 644 | 89.4 |
| 7 | 6.0 | 20.0 | 4.0 | 345 | 512 | 80.4 |
| 8 | 7.0 | 25.0 | 4.3 | 309 | 542 | 83.9 |
| 9 | 8.0 | 30.0 | 4.0 | 292 | 563 | 85.2 |
| 10 | 7.0 | 25.0 | 3.5 | 274 | 596 | 87.4 |
| 11 | 7.0 | 25.0 | 2.7 | 338 | 513 | 81.2 |
| 12 | 8.0 | 30.0 | 3.0 | 271 | 573 | 87.0 |
| 13 | 5.3 | 25.0 | 3.5 | 397 | 424 | 76.3 |
| 14 | 7.0 | 25.0 | 3.5 | 277 | 603 | 86.2 |
| 15 | 7.0 | 25.0 | 3.5 | 272 | 591 | 87.3 |
| 16 | 7.0 | 25.0 | 3.5 | 268 | 590 | 87.1 |
| 17 | 6.0 | 20.0 | 3.0 | 414 | 443 | 75.6 |
| 18 | 6.0 | 30.0 | 4.0 | 438 | 435 | 75.1 |
| 19 | 7.0 | 25.0 | 3.5 | 284 | 588 | 87.5 |
| 20 | 6.0 | 30.0 | 3.0 | 433 | 425 | 73.1 |

가함에 따라 MDS는 감소하다가 최솟값을 지나서 증가한다. 등고선에 따른 색을 통해 밀착 추출물의 첨가량과 (유화시간 × 밀착 추출물의 첨가량)이 MDS에 큰 영향을 미치는 것을 확인할 수 있다.

실험의 타당성을 확인하기 위해 산점도를 이용하였다. 신뢰구간을 설정하고, 실험의 데이터를 점으로 표현하여 신뢰구간 내에 존재하면 설정한 신뢰도 이상이라고 판단할 수 있다. Figure 2(a)는 CCD-RSM을 통해 얻은 데이터를 이용한 실험의 산점도이다. 신뢰구간은 95%로 설정하였다. 왼쪽부터 오른쪽까지 순서대로 낮은 반응치, 중간 반응치, 높은 반응치를 나타낸다. 그래프의 점들은 실제 실험을 통해 얻은 데이터로 모든 점들이 선의 안쪽에 분포되어있어 CCD-RSM을 통한 실험의 타당성을 입증하였다.

식 (5)는 CCD-RSM을 이용하여 유화액의 점도와 독립변수들의 관계를 나타내는 회귀방정식이다.

$$V = -3597 + 470y_1 + 83.8y_2 + 730y_3 - 34.76y_1^2 - 1.263y_2^2 - 73.3y_3^2 + 1.58y_1y_2 - 9.45y_2y_3 + 7.7y_1y_3 \quad (5)$$

여기서 V는 유화액의 점도이고, y_1 은 유화제 첨가량, y_2 는 유화시간, y_3 은 밀착 추출물의 첨가량이다. 회귀방정식의 일차항에서 y_3 의 상수값이 가장 크고, 이차항에서는 y_2y_3 의 상수값이 가장 크게 나타났다. 따라서 유화액의 점도에 가장 큰 주효과는 밀착 추출물의 첨가량이고, 유화액의 점도에 가장 큰 교호효과는 (유화시간 × 밀착 추출물의 첨가량)임을 알 수 있었다. 또한 모델의 P-value, R^2 는 각각 0.0001, R^2 이 0.9140로 나타났다. Figure 1(b)를 보면 유화제 첨가량, 유화시간, 밀착 추출물의 첨가량이 증가함에 따라 유화액의 점도가 증가하다가 최댓

값을 지나 감소한다. 따라서 밀착 추출물의 첨가량과 (유화시간 × 밀착 추출물의 첨가량)이 유화액의 점도를 결정하는 중요한 독립변수이다. Figure 2(b)는 신뢰구간을 95%로 설정한 산점도 그림이다. 왼쪽 선은 낮은 반응치, 중간선은 중간 반응치, 오른쪽 선은 높은 반응치를 나타낸다. 그래프의 점들은 CCD-RSM을 적용한 실험을 통해 얻은 데이터로 그래프에서 신뢰구간에 모든 점이 존재한다. 따라서 CCD-RSM을 통한 유화액의 점도에 대한 실험의 신뢰도는 95% 이상이다.

다음의 회귀방정식은 유화액의 ESI와 독립변수들의 관계를 나타낸 식이다.

$$ESI = -225 + 35.1y_1 + 5.4y_2 + 60.1y_3 - 2.522y_1^2 - 0.0974y_2^2 - 5.78y_3^2 + 0.208y_1y_2 - 0.585y_2y_3 - 0.38y_1y_3 \quad (6)$$

여기서 y_1 은 유화제 첨가량, y_2 는 유화시간, y_3 은 밀착 추출물의 첨가량을 나타낸다. 회귀방정식을 통해 밀착 추출물의 첨가량이 유화액의 ESI를 결정하는 중요한 주효과이고, (유화시간 × 밀착 추출물의 첨가량)이 유화액의 ESI를 결정하는 중요한 교호효과임을 확인하였다. 이 모델의 P-value, R^2 는 각각 0.0001, R^2 이 0.9067이었다. Figure 2(c)는 실험에 대한 산점도 분석 결과 신뢰구간은 95%이고, 실험을 통해 얻은 점들이 신뢰구간 범위 안에 점들이 존재하였다.

3.2. 종합만족도 분석

본 연구에서는 유화액의 안정성 평가를 위해 유화액의 MDS, 점도 및 ESI를 반응치로 설정하였고, 유화제의 첨가량, 유화시간, 밀착 추출물 첨가량을 독립변수로 설정하여 실험을 진행하였으며, 최적화 종합

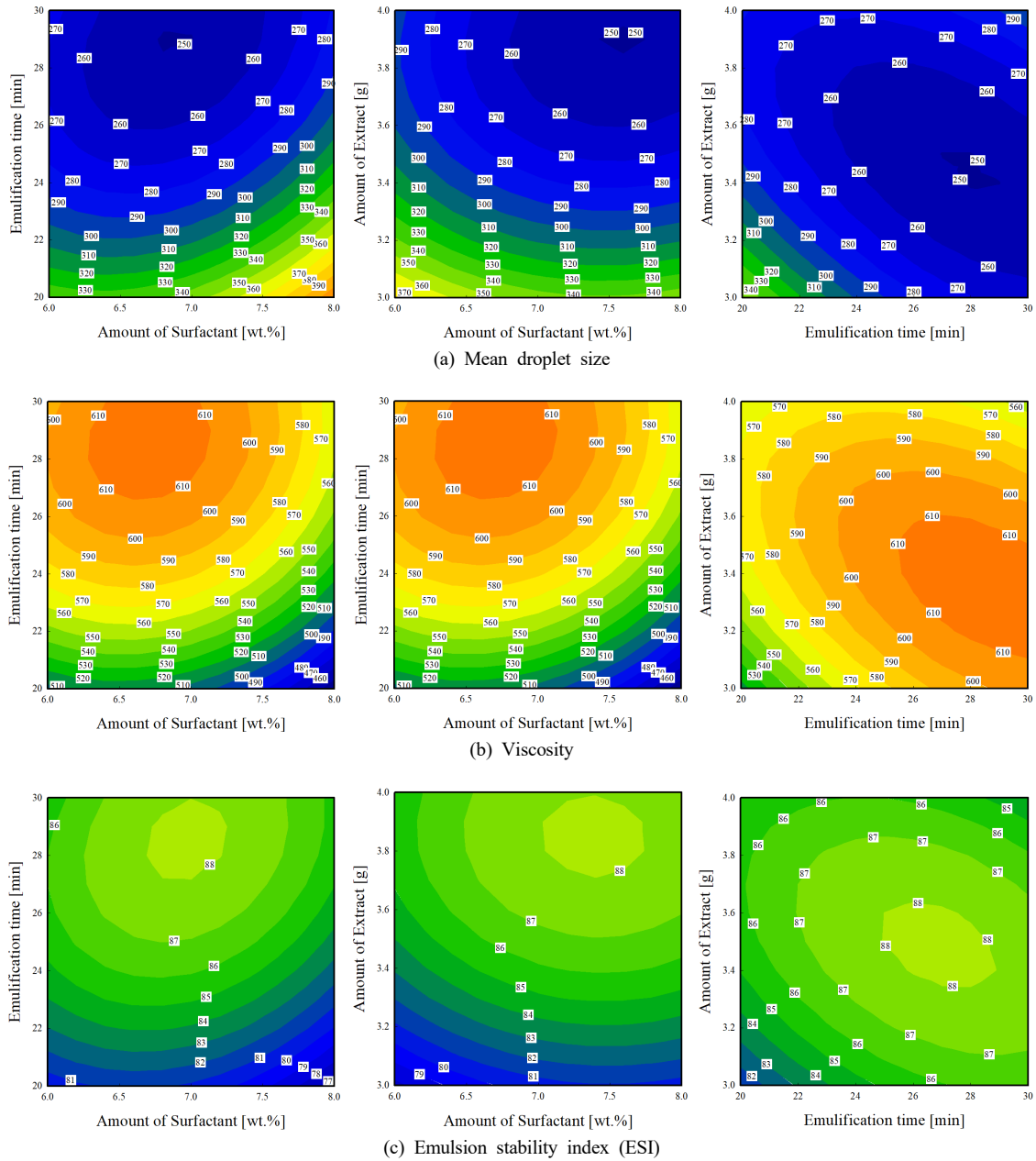


Figure 1. Contour graph of MDS, viscosity, and ESI according to various variables using CCD-RSM.

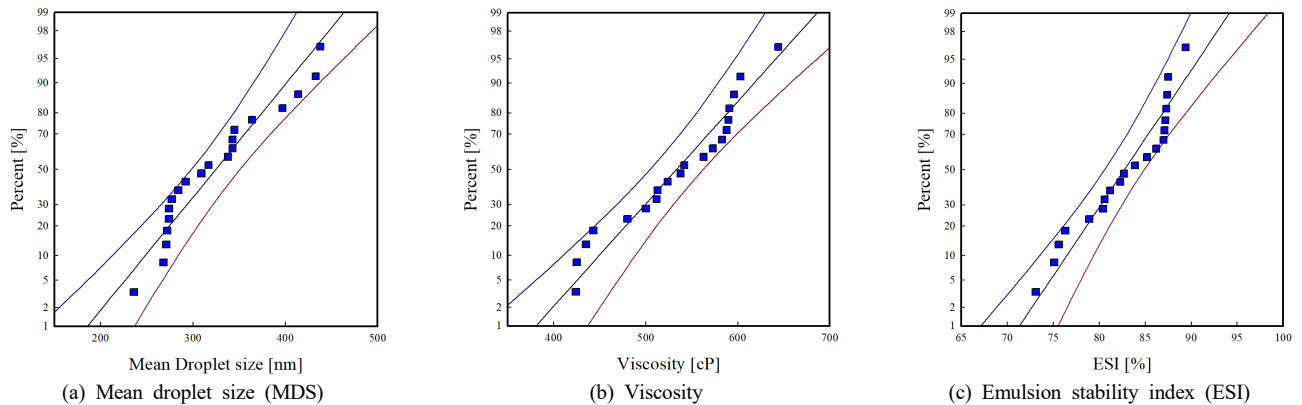


Figure 2. Scatter plot of MDS, viscosity, and ESI of wheat sprout extracts added O/W emulsion.

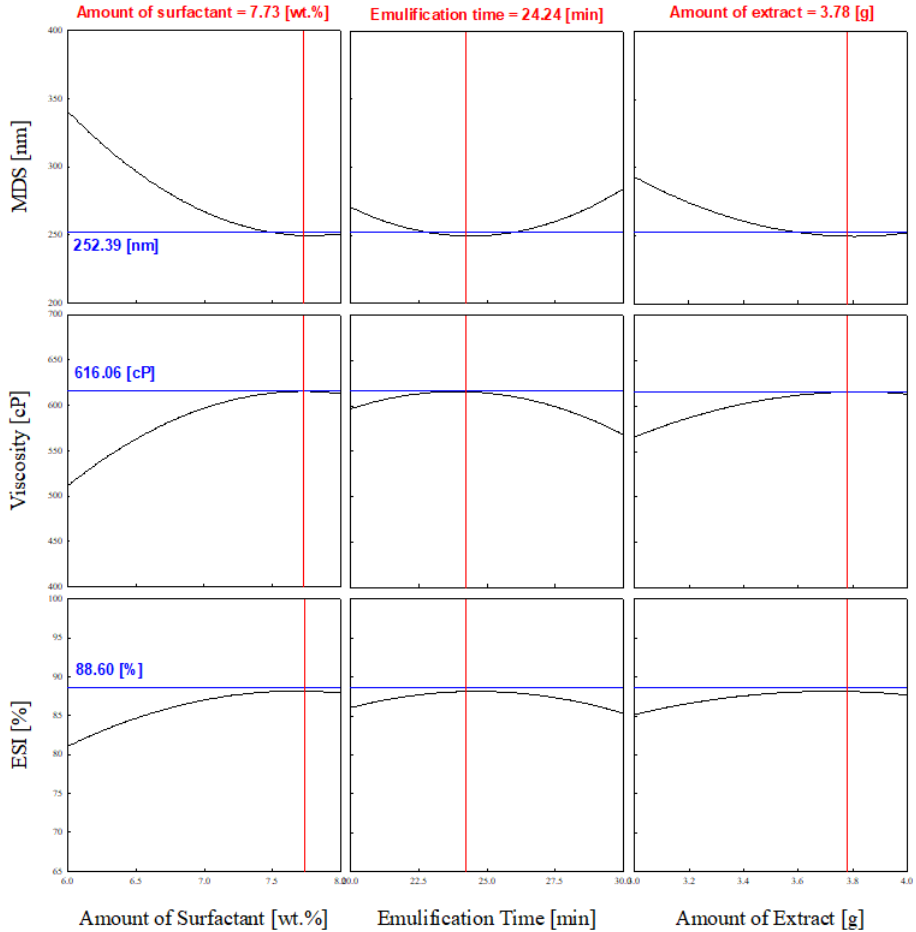


Figure 3. Optimization graph of response surface for MDS, viscosity and ESI.

만족도 그래프를 Figure 3에 나타내었다. 유화액의 안정도는 유화액은 MDS가 작을수록, 점도가 높을수록, ESI가 클수록 높게 나타났으며, 3가지 반응치를 동시에 만족하는 최적 유화조건은 유화제 첨가량 = 7.7 wt.%, 유화시간 = 23.6 min, 밀싹 추출물의 첨가량 = 3.9 wt.%로 나타났다. 이 조건에서 반응치인 MDS = 252.3 nm, 점도 = 616.7 cP, ESI = 88.7%로 계산되었다. 또한 본 연구에서의 CCD-RSM 분석의 종합 만족도는 0.9137로 상당히 높은 신뢰도를 나타내었다. CCD-RSM 분석을 통해 산출된 최적조건에서 실제 실험을 진행한 결과 3가지 반응치의 오차율이 0.5% 미만으로 측정되어 높은 유의수준을 만족하는 결과를 얻을 수 있었다.

3.3. 유화액의 항산화능 측정

밀싹 추출물을 함유한 유화액을 최적조건(유화제의 첨가량 = 7.7 wt.%, 유화시간 = 23.6 min, 밀싹 추출물의 첨가량 = 3.9 wt.%)으로 제조하여, 밀싹 추출물이 없는 유화액을 대조군으로 항산화능 실험을 수행하였다. 밀베아유 유화액 및 밀싹 추출물을 함유한 밀베아유 유화액은 DPPH 라디칼 소거능에 대한 표준 라인을 Figure 4에 도시하였다. 밀싹 추출물의 함량이 증가함에 따라 항산화능을 증가되었으며, 반 억제 농도(inhibition concentration, IC_{50}) 계산 결과 밀베아유 유화액($IC_{50} = 30.4$ mg/mL)와 밀싹 추출물을 함유하는 유화액($IC_{50} = 8.76$ mg/mL)으로 나타나 밀싹 추출물을 함유한 유화액의 DPPH 라디칼 소거능이 큰 것을 알 수 있었다.

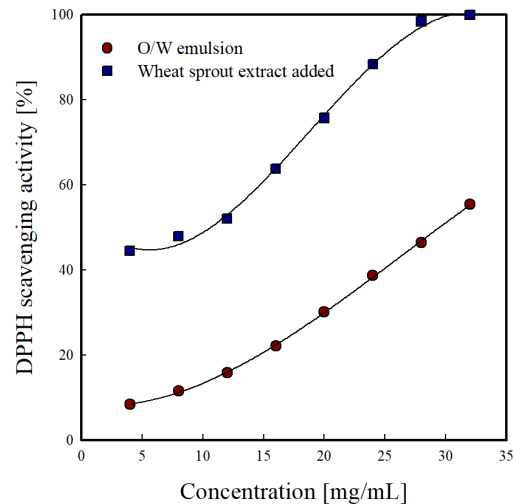


Figure 4. Comparison of DPPH radical scavenging capacity of O/W emulsions.

4. 결 론

본 연구에서는 CCD-RSM을 적용하여 밀싹 추출물을 첨가한 유화액 제조 공정의 최적화를 진행한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수

있었다. 기초실험을 통하여 CCD-RSM의 독립변수는 유화제 첨가량 (6~8 wt.%), 유화시간(20~30 min), 밀싹 추출물의 첨가량(3~4 g)으로 설정하였으며, 반응치는 유화액의 MDS, 점도, 그리고 ESI로 설정하여 유화액의 안정도를 평가하였다.

1. CCD-RSM 분석을 통해 각 반응치가 독립변수에 미치는 영향을 분석하였다. 독립변수에 가장 큰 주효과는 밀싹 추출물의 첨가량이고, 가장 큰 교호효과는 (유화시간 × 밀싹 추출물의 첨가량)이다. 모든 실험의 P-value가 0.05보다 작고, R^2 이 0.9보다 크며, 신뢰구간 95%인 산점도의 범위 안에 모든 실험데이터가 존재하여 실험의 타당성을 입증하였다.

2. 유화액의 MDS, 점도, ESI를 모두 만족하는 최적화 공정을 CCD-RSM을 이용하여 설계하여 유화제 첨가량 = 7.7 wt.%, 유화시간 = 23.6 min, 밀싹 추출물의 첨가량 = 3.9 wt.%의 조건을 도출하였다. 실험결과 유화액의 MDS = 252.3 nm, 점도 = 616.7 cP, ESI = 88.7%으로 평가되었다. 종합만족도가 0.9137으로 큰 신뢰도를 보였으며, 최적조건에서 실제실험을 진행한 결과 오차율은 0.5% 이하로 측정되어 CCD-RSM을 이용한 최적화 공정의 신뢰도를 확인하였다.

References

1. M.-Y. Lee, M.-S. Yoo, Y.-J. Whang, Y.-J. Jin, M.-H. Hong, and Y.-H. Pyo, Vitamin C, total polyphenol, flavonoid contents and antioxidant capacity of several fruit peels, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **44**(5), 540-544 (2012).
2. N. R. Im, H. S. Kim, J. H. Ha, G. Y. Noh, and S. N. Park, Antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of dicaffeoylquinic acid derivatives isolated from *Gnaphalium Affine* D. DON, *Appl. Chem. Eng.*, **26**(4), 470-476 (2015).
3. A. W. Ebert, C. H. Chang, M. R. Yan, and R. Y. Yang, Nutritional composition of mungbean and soybean sprouts compared to their adult growth stage, *Food Chem.*, **237**, 15-22 (2017).
4. S. B. Lee, X. Wang, and I. K. Hong, Ultrasound-assisted extraction of total flavonoids from wheat sprout: Optimization using central composite design method, *App. Chem. Eng.*, **29**(6), 663-669 (2018).
5. D. Bas and I. H. Boyacı, Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology, *J. Food Eng.*, **78**, 836-845 (2007).
6. S. B. Lee, C. Zuo, Y. Xu, and I. K. Hong, Emulsification of natural sunscreen with green tea extract: Optimization using CCD-RSM, *App. Chem. Eng.*, **31**(5), 532-538 (2020).
7. S. Yavari, A. Malakahmad, N. B. Sapari, and S. Yavari, Sorption properties optimization of agricultural wastes-derived biochars using response surface methodology, *Process Saf. Environ. Prot.*, **109**, 509-519 (2017).
8. I. H. Cho and K. D. Zoh, Photocatalytic degradation of azo dye (Reactive Red 120) in TiO₂/UV system: Optimization and modeling using a response surface methodology (RSM) based on the central composite design, *Dyes Pigment*, **75**, 533-543 (2007).
9. T. Belwal, P. Dhyani, I. D. Bhatt, R. S. Rawal, and V. Pande, Optimization extraction conditions for improving phenolic content and antioxidant activity in *Berberis asiatica* fruits using response surface methodology (RSM), *Food Chem.*, **207**, 115-124 (2016).
10. G. Lefebvre, J. Riou, G. Bastiat, E. Roger, K. Frombach, J.-C. Gimel, P. Saulnier, and B. Calvignac, Spontaneous nano-emulsification: Process optimization and modeling for the prediction of the nanoemulsion's size and polydispersity, *Int. J. Pharm.*, **534**(1-2), 220-228 (2017).
11. I. Hamlaoui, R. Bencheraiet, R. Bensegueni, and M. Bencharif, Experimental and theoretical study on DPPH radical scavenging mechanism of some chalcone quinoline derivatives, *J. Mol. Struct.*, **1156**, 385-389 (2018).
12. M. Zamani, A. M. Delfani, and M. Jabbari, Scavenging performance and antioxidant activity of γ -alumina nanoparticles towards DPPH free radical: Spectroscopic and DFT-D studies, *Spectrochim. Acta*, **201**, 288-299 (2018).

Authors

Hyun Sik Jang; M.Sc., Researcher, Department of Chemical Engineering, Dankook University, Gyeonggi 16890, Korea; hyunsick5879@naver.com

Xixiang Ma; M.Sc., Researcher, Department of Chemical Engineering, Dankook University, Gyeonggi 16890, Korea; 17862818320@163.com

Seung Bum Lee; Ph.D., Professor, Department of Chemical Engineering, Dankook University, Gyeonggi 16890, Korea; leesb@dankook.ac.kr