

## 액상청국장 추출물의 기능성에 대한 마이크로웨이브 최적 추출조건 예측

이보미 · 도정룡 · 김현구<sup>†</sup>

한국식품연구원

### Prediction of Optimal Microwave-Assisted Extraction Conditions for Functional Properties from Fluid *Cheonggukjang* Extracts

Bo-Mi Lee, Jeong-Ryong Do, and Hyun-Ku Kim<sup>†</sup>

Korea Food Research Institute, Songnam 463-746, Korea

#### Abstract

Response surface methodology (RSM) was employed to optimize extraction conditions in order to find the maximal functional properties of fluid *Cheonggukjang*. Based on central composite design, a study plan was established with variations of microwave power, ethanol concentration, and extraction time. Regression analysis was applied to obtain a mathematical model. The maximum inhibitory of tyrosinase activity was found as 26.75% at the conditions of 30.56 W microwave power, 2.40 g/mL of ratio of solvent to sample content and 10.00 min extraction time, respectively. The maximum superoxide dismutase (SOD)-like activity was 53.23% under the extraction conditions of 108.42 W, 4.38 g/mL and 7.84 min. Based on superimposition of three dimensional RSM with respect to extraction yield, inhibitory of tyrosinase activity and SOD-like activity obtained under the various extraction conditions, the optimum ranges of extraction conditions were found to be microwave power of 55~75 W, ratio of solvent to sample content of 2~5 g/mL and extraction time of 3.5~15 min, respectively.

**Key words:** functional properties, fluid *Cheonggukjang*, microwave-assisted extraction

#### 서 론

국민소득이 증가되고 식생활 양식이 변화하면서 고혈압, 동맥경화증, 심장병 등의 성인병 질환이 증가함에 따라, 이의 예방관리를 위한 건강기능식품의 중요성이 절실히 인식되고 있다. 특히 우리나라 전통식품 중에 들어있는 생리활성 성분들에 대한 관심이 높아지면서 이를 이용하여 좀 더 간편하게 섭취할 수 있는 식품 개발이 필요한 실정이다. 이러한 점에서 청국장은 최근 이에 포함된 생리활성물질이 각종 만성퇴행성질환에 효과가 있음이 과학적으로 밝혀짐에 따라, 기능성 건강식품으로서 개발하고자 하는 연구가 현재 활발히 진행되고 있다(1).

우리나라의 대표적인 자연식품인 청국장은 끈적한 점질 물이 생성되는 음식(2)으로 쌀을 주식으로 하여 단백질 섭취량이 비교적 적은 한국인에게는 예로부터 단백질과 지방의 중요한 공급원이 되어왔다(3). 콩이 발효되면서 청국장이 되면 각종 영양 성분의 흡수율이 증가되고 미생물과 효소, 생리활성 물질이 새롭게 만들어져 인체의 신진대사 기능을 극대화 시키는 역할을 하게 되는데 이는 청국장균의 정장효과, 섬유질의 변비예방효과, 발암물질과 콜레스테롤의 체외 배

출 효과, 점질물의 알콜 흡수에 의한 해장효과, 사포닌의 혈관강화, 혈액순환 촉진 및 젖산분해효과, 레시틴의 뇌 노화, 치매, 고혈압 및 동맥경화 예방 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있으며(4), 혈전용해(5), 골다공증 예방(6)에 있어서도 우수한 것으로 밝혀졌다.

현재까지 청국장은 주로 끓여서 섭취하였으나 이들을 타블렛 등 편의식품으로 가공한다면 보다 용이하게 섭취할 수 있으리라 생각한다. 또한 청국장은 물이나 알코올에 잘 용해되므로 가공식품으로 적용하기에 용이할 것으로 여겨진다. 한편, 청국장을 편의식품으로 가공함에 있어 우선적으로 고려해야 할 것은 추출방법이라 할 수 있으며 이때 효율적인 추출방법을 선택하는 것이 중요한 문제가 될 수 있다. 이미 오랫동안 환류냉각 추출(reflux extraction) 방법이 식물류를 비롯한 많은 식품의 추출방법으로 이용되어 왔으나 1회 추출하는데 2시간 이상의 긴 시간을 요하는 단점이 있다. 이에 비하면 마이크로웨이브 추출(microwave-assisted extraction) 방법은 적은 용매를 사용하여 단시간에 원하는 물질을 추출할 수 있는 장점이 알려져 있으며 환류냉각 추출 방법을 비롯한 Soxhlet 추출법 등 기존의 추출 방법보다 추출효율이 높은 것으로 보고되고 있다(7-9).

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

**Table 1. Levels in extraction conditions of fluid *Cheonggukjang* based on central composite design**

Extraction conditions	Level				
	-2	-1	0	1	2
Microwave power (watt)	30	60	90	120	150
Ratio of solvent to sample content (g/mL)	0.5	1.5	2.5	3.5	4.5
Extraction time (min)	1	5	9	13	17

따라서 본 연구에서는 마이크로웨이브 추출방법을 액상 청국장 기능성 성분 추출에 적용하여 마이크로웨이브 추출 조건을 설정하고자 하였다. 추출용매, 마이크로웨이브 에너지, 추출시간 등의 추출조건을 변화시켜가며 청국장 추출물의 생리활성을 측정하여 마이크로웨이브 추출공정의 최적 추출조건을 예측하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험 재료

청국장 시료는 청자콩을 삶은 후 액상 시료를 모아 발효시킨 액상 청국장으로, 경북 안동의 니겨바이오에서 제공한 것을 실험에 사용하였다. 먼저 각 청국장 시료의 생리활성 성분 검색을 위하여 액상 청국장은 동결 건조하여 이용하였다. 시료의 추출은 마이크로웨이브를 이용하여 1분에서 17분까지 4분 간격으로 추출하였고 추출액은 Whatman No. 2 여과지로 여과하였다. 추출액은 감압 하에서 증류수를 날려 보낸 후 증류수 25 mL에 정용하여 본 시료의 추출액으로 하였다.

### 추출조건 최적화를 위한 실험 계획

본 실험에서는 추출조건에 따른 추출특성의 모니터링과 추출조건 최적화를 위하여 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)(10)을 사용하였다. 추출조건에 대한 실험계획은 중심합성계획(central composite design)(11)을 사용하였으며, 반응표면분석을 위해 SAS(statistical analysis system)(12)을 사용하였다. 실험계획은 Table 1과 같이 추출공정에서 중요한 변수로 고려되는 인자 즉, 시료에 대한 용매 비율, 마이크로웨이브 파워, 추출 온도를 -2, -1, 0, 1, 2의 5단계로 부호화하여 중심합성계획에 따라 Table 2와 같이 16구간으로 설정하여 추출실험을 실시하였다. 또한 이들 요인변수에 의해 영향을 받는 종속변수( $Y_n$ ) 즉, 수율, 전자공여작용, 아질산염 저해효과, tyrosinase 저해효과, ACE 저해효과, SOD 유사활성으로 하였으며, 이들은 3회 반복 측정하여 그 평균값을 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

**Table 2. Central composite design for optimization of extraction conditions of fluid *Cheonggukjang***

Experiment number <sup>1)</sup>	Microwave power (W)	Ratio of solvent to sample content (g/mL)	Extraction time (m)
1	60 (-1)	1.5 (-1)	5 (-1)
2	60 (-1)	1.5 (-1)	13 (1)
3	60 (-1)	3.5 (1)	5 (-1)
4	60 (-1)	3.5 (1)	13 (1)
5	120 (1)	1.5 (-1)	5 (-1)
6	120 (1)	1.5 (-1)	13 (1)
7	120 (1)	3.5 (1)	5 (-1)
8	120 (1)	3.5 (1)	13 (1)
9	90 (0)	2.5 (0)	9 (0)
10	90 (0)	2.5 (0)	9 (0)
11	30 (-2)	2.5 (0)	9 (0)
12	150 (2)	2.5 (0)	9 (0)
13	90 (0)	0.5 (-2)	9 (0)
14	90 (0)	4.5 (2)	9 (0)
15	90 (0)	2.5 (0)	1 (-2)
16	90 (0)	2.5 (0)	17 (2)

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

105°C 상압가열건조법(13)을 적용하여 항량이 될 때까지 건조한 후 추출액 조제에 사용한 원료 건물량에 대한 고형분 수율(%)로 나타내었다.

### 전자공여작용의 측정

추출물의 전자공여작용(electron donating abilities, EDA)은 Kang 등의 방법(14)을 변형하여 각각의 청국장 추출물에 대한 DPPH( $\alpha, \alpha$ -diphenyl-picrylhydrazyl)의 전자공여효과로 각 시료의 환원력을 측정하였다. 즉, 추출물 0.2 mL에  $4 \times 10^{-4}$  M DPPH용액(99.9% EtOH에 용해) 0.8 mL을 가한 후, 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 6.5) 2 mL을 혼합하였다. 그리고 99% ethanol 2 mL을 가하여 총액의 부피가 5 mL가 되도록 하였다. 이 반응액을 약 10초간 혼합하고 실온에 30분 방치한 후 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여효과는 추출물의 첨가 전·후의 차이를 아래와 같이 백분율로 나타내었다.

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

A: 추출물 첨가구의 흡광도

B: 추출물 무첨가구의 흡광도

### 아질산염 소거작용의 측정

아질산염 소거효과(nitrite-scavenging effect)는 Gray 등의 방법(15)으로 측정하였다. 즉, 1 mM 아질산나트륨 용액 0.1 mL에 각각의 추출물을 0.2 mL을 가하고 여기에 0.1 N 염산(pH 1.2)을 0.7 mL 가하여 반응용액의 부피를 1 mL로 하였다. 이를 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 다음 여기에 2% 초산 5 mL, Griess 시약(acetic acid에 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1:1 비율로 혼합)을 사용 직전에

제조하여 0.4 mL를 가하고 잘 혼합시켜 15분간 실온에서 방치시킨 후 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염량을 구하였다. 그리고 대조구는 Griess 시약 대신 증류수 0.4 mL를 가하여 상기와 동일하게 행하였다. 아질산염 소거능은 추출액 첨가 전후의 아질산염 백분율(%)로 아래와 같이 표기하였다.

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

N: 아질산염 소거율

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

B: 1 mM NaNO<sub>2</sub> 용액에 시료 대신 증류수를 첨가하여 1시간 반응시킨 후의 흡광도

C: 시료 추출물 자체의 흡광도

**Tyrosinase 저해효과 측정**

Tyrosinase 저해 효과 측정은 Wong 등의 방법(16)에 따라 측정하였으며 tyrosinase 조효소액은 mushroom tyrosinase(Sigma, T3824, 110 units/mL)을 50 mM sodium phosphate buffer(pH 7.0)에 용해하여 사용하였다. 효소활성의 측정은 10 mM catechol 용액 2.8 mL에 tyrosinase 조효소액 0.2 mL, 추출액 0.1 mL를 가하고 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 사용하여 420 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다. Tyrosinase에 대한 효소활성 저해 효과는 단위시간당 변화된 초기 흡광도의 변화값을 측정하여 다음의 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Inhibitory effect}(\%) = \{1 - (A - B/C)\} \times 100$$

A: 효소액 첨가구의 흡광도 변화값

B: 효소액 대신 buffer 첨가구의 흡광도 변화값

C: 추출물 대신 증류수 첨가구의 흡광도 변화값

**Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정**

SOD 유사활성의 측정은 Marklund와 Marklund의 방법을 변형한 Kim 등의 방법(17)을 이용하여 실시하였다. 즉, 각 추출물을 감압 농축한 후 tris-HCl buffer(50 mM tris[hydroxymethyl]amino-methane+10 mM 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 방치한 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 아래와 같이 백분율로 나타내었다.

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

A: 추출물 첨가구의 흡광도

B: 추출물 무첨가구의 흡광도

단, A, B는 대조구의 흡광도를 제외한 수치임.

**최적 추출조건 예측**

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

**결과 및 고찰**

**액상청국장의 최적 추출조건 설정**

중심합성계획에 의한 16구간의 추출조건에 따라 추출실험을 실시하여 얻어진 결과(Table 3)를 이용하여 반응표면 회귀분석을 실시하고 각 반응변수에 대한 회귀식을 얻어 Table 4에 나타내었다. 또한 변수에 대한 추출조건의 영향과 최적 추출조건과 품질특성 값을 예측하여 Table 5에 나타내었으며, 이들의 4차원 반응표면은 시료에 대한 용매비와 마이크로웨이브 파워 및 추출시간을 독립변수로 하여 Fig. 1~5에 각각 나타내었다.

최적 추출조건은 반응변수인 추출물의 특성 즉, 수율, 전자공여능, 아질산염 소거능, tyrosinase 저해효과, SOD 유사활성의 4차원 반응표면을 superimposing하여 중복되는 부분의 범위로 예측하여 Fig. 6 및 Table 6에 나타내었다. 또한 예측된 범위에서 임의의 점을 설정한 후 회귀식에 대입하여 최적값 들을 예측한 결과를 Table 7에 나타내었다. Fig. 6의 겹쳐진 부분이 마이크로웨이브 55~75 W, 용매 대 시료 비율이 2~5 g/mL 그리고 추출시간 3.5~15분으로 나타났으며, 이와 같은 결과는 Lee 등(18)의 결과와 유사한 경향을 나타내었다.

**추출조건에 따른 각 특성 변화**

중심합성계획에 의한 추출조건별 결과는 Table 3에 나타내었으며, 결과에 대한 반응표면 회귀식은 Table 4에 나타내었다. 수율에 대한 회귀식의 R<sup>2</sup>는 0.9322이고 1% 이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점은 안장점으로 능선분석을 실시하여 본 결과, 수율의 최대값은 78.82% 이고, 이 때 요인변수들의 값은 시료에 대한 마이크로웨이브 파워 120.44 W, 용매비 1.58 g/mL 및 추출시간 14.83분이었다 (Table 5). 수율에 대한 반응표면은 Fig. 1과 같다. 수율에 대한 추출조건의 영향은 추출시간에 가장 큰 영향을 받고 있었으며, 시료에 대한 용매비와 추출파워에 대한 영향도 많이 받는 것으로 나타났다.

전자공여능에 대한 회귀식의 R<sup>2</sup>는 0.9496로 1% 이내에서 유의성이 인정되었으며, 예측된 정상점은 안장점으로 능선을 분석하여 본 결과, 최대 전자공여능은 96.67%로 예측되

**Table 3. Total yield, electron donating ability, nitrite scavenging ability, inhibitory effect of tyrosinase activity and SOD activity of fluid *Cheonggukjang* extracted by MAP under conditions based on central composite design for response surface analysis** (%)

Experiment number <sup>1)</sup>	Total yield	Electron donating ability	Nitrite scavenging ability	Inhibitory effect of tyrosinase activity	SOD activity
1	12.78±0.96	48.69±6.54	47.94±3.50	18.34±1.97	34.23±5.38
2	35.00±0.00	60.21±1.52	69.92±2.29	19.84±0.50	33.69±2.80
3	21.43±0.71	73.52±0.65	72.39±0.41	16.80±1.87	39.35±2.43
4	19.76±0.41	71.78±5.02	71.02±2.38	15.64±1.91	31.54±2.03
5	18.89±2.55	54.08±5.98	57.55±5.77	14.03±1.39	36.66±0.93
6	65.56±0.96	83.50±0.53	63.32±1.49	9.95±3.69	11.05±5.72
7	13.57±0.00	58.31±0.96	66.76±5.72	9.72±0.97	39.89±3.73
8	41.43±1.24	82.70±0.31	57.14±0.82	4.42±4.00	37.67±5.38
9	42.67±0.58	78.66±4.00	69.51±1.24	9.79±2.97	41.35±3.52
10	41.00±9.54	76.36±1.30	69.78±1.67	9.54±1.55	41.51±1.68
11	21.00±0.00	58.17±0.48	71.57±3.78	25.67±0.40	38.54±0.81
12	44.33±1.53	83.10±0.93	57.55±8.94	5.02±1.68	31.00±8.26
13	45.00±5.00	45.30±1.61	53.85±4328	11.83±2.07	39.89±1.24
14	27.96±0.64	82.00±3.73	66.62±2.57	8.21±2.15	52.83±0.93
15	12.67±0.58	46.30±2.26	65.80±6.99	3.55±2.79	42.05±1.68
16	60.67±1.53	84.24±0.91	53.64±4.37	4.64±1.12	14.29±1.14

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

**Table 4. Polynomial equations calculated by RSM program for extraction conditions of fluid *Cheonggukjang***

Response	Second order polynomial equations <sup>1)</sup>	R <sup>2</sup>	Significance
Yield	$Y_Y = -37.918828 + 0.392938X_1 + 22.893125X_2 + 2.713594X_3 - 0.002547X_1^2 - 0.095250X_1X_2 - 1.338750X_2^2 + 0.056229X_1X_3 - 1.334375X_2X_3 - 0.080703X_3^2$	0.9322	0.007
Electron donating ability	$Y_{EDA} = -34.286250 + 0.429094X_1 + 41.909687X_2 + 2.922812X_3 - 0.001910X_1^2 - 0.137375X_1X_2 - 3.465000X_2^2 + 0.045865X_1X_3 - 0.571562X_2X_3 - 0.191250X_3^2$	0.9496	0.0030
Nitrite-scavenging ability	$Y_{NO} = -37.234766 + 0.625354X_1 + 34.485625X_2 + 7.992969X_3 - 0.001413X_1^2 - 0.093833X_1X_2 - 2.352500X_2^2 - 0.025479X_1X_3 - 1.210625X_2X_3 - 0.155078X_3^2$	0.8617	0.0486
Tyrosinase inhibition	$Y_{TY} = 21.45046 - 0.303917X_1 + 0.758750X_2 + 2.673750X_3 + 0.001578X_1^2 - 0.017083X_1X_2 + 0.088750X_2^2 - 0.010125X_1X_3 - 0.121250X_2X_3 - 0.087031X_3^2$	0.8730	0.0389
SOD-like activity	$Y_{SOD} = 44.217500 + 0.176000X_1 - 17.107500X_2 + 2.863438X_3 - 0.001850X_1^2 + 0.112000X_1X_2 + 1.232500X_2^2 - 0.020292X_1X_3 + 0.503750X_2X_3 - 0.207188X_3^2$	0.8527	0.0572

<sup>1)</sup>X<sub>1</sub>: Microwave power (watt), X<sub>2</sub>: ratio of solvent to sample content (g/mL), X<sub>3</sub>: extraction time (min).

**Table 5. Predicted levels of extraction condition for the maximum responses of variables by the ridge analysis in fluid *Cheonggukjang*** (%)

Responses	X <sub>1</sub> <sup>1)</sup>	X <sub>2</sub> <sup>2)</sup>	X <sub>3</sub> <sup>3)</sup>	Maximum	Morphology
Yield	120.44	1.58	14.83	78.82	Saddle point
Electron donating ability	132.29	2.35	14.64	96.67	Saddle point
Nitrite-scavenging ability	54.23	3.99	6.60	77.36	Saddle point
Tyrosinase inhibition	30.56	2.40	10.00	26.75	Saddle point
SOD-like activity	108.42	4.38	7.84	53.23	Saddle point

<sup>1)</sup>Microwave power (watt). <sup>2)</sup>Ratio of solvent to sample content (g/mL). <sup>3)</sup>Extraction time (min).

었다. 이 예측값을 추출할 수 있는 조건은 시료에 대한 마이크로웨이브 파워 132.29 W, 용매비 2.35 g/mL 및 추출시간 14.64분으로 Table 5와 같이 나타났으며, 전자공여능에 대한 반응표면은 Fig. 2에 나타내었다. 전자공여능에 대한 추출조건에 대한 영향은 시료에 대한 용매비와 추출시간에 가장 크게 영향을 받고 있는 것으로 나타났다.

추출조건에 따른 아질산염 소거능은 pH 1.2에서 시행되었으며, 그 결과는 Table 3과 같이 나타내었다. 아질산염 소거능에 대한 추출물의 회귀식의 R<sup>2</sup>는 0.8617이고, 5% 이내

의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 이때 예측된 정상점은 농도를 분석하여 본 결과, 최대값이 77.36%로 예측되었다. 이 예측값을 추출할 수 있는 조건은 시료에 대한 마이크로웨이브 파워 54.23 W, 용매비 3.99 g/mL 및 추출시간 6.60분으로 Table 5와 같이 나타났으며, 아질산염 소거능에 대한 반응표면은 Fig. 3에 나타내었다. 아질산염 소거능에 대한 추출조건에 대한 영향은 시료에 대한 용매비율에 가장 크게 영향을 받고 있는 것으로 나타났다.

Tyrosinase 저해효과에 대한 회귀식의 R<sup>2</sup>는 0.8730로 5%

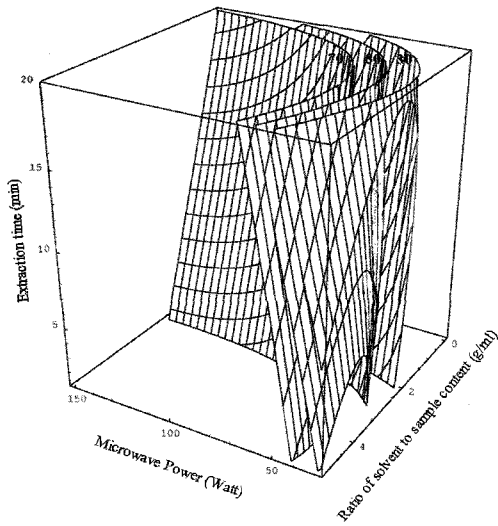


Fig. 1. Response surface for yield in fluid *Cheonggukjang* extract at constant values (yield: 30-50-70%) as a function of microwave power, ratio of solvent to sample content and extraction time.

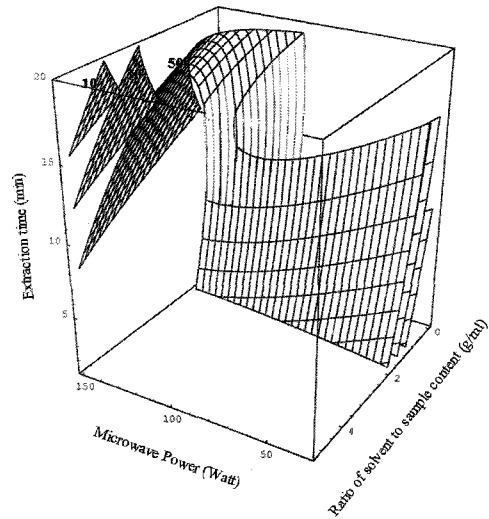


Fig. 3. Response surface for nitrite-scavenging ability (pH1.2) in fluid *Cheonggukjang* extract at constant values (NO: 10-30-50%) as a function of microwave power, ratio of solvent to sample content and extraction time.

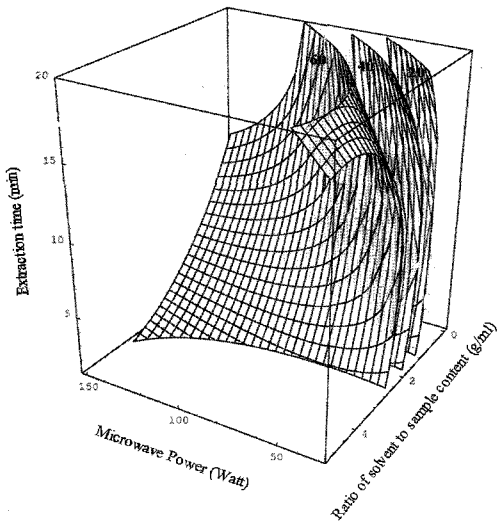


Fig. 2. Response surface for electron donating ability in fluid *Cheonggukjang* extract at constant values (EDA: 20-40-60%) as a function of microwave power, ratio of solvent to sample content and extraction time.

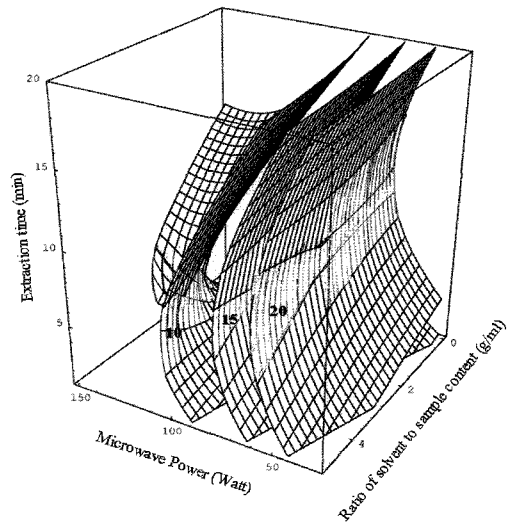


Fig. 4. Response surface for tyrosinase inhibition in fluid *Cheonggukjang* extract at constant values (TI: 10-15-20%) as a function of microwave power, ratio of solvent to sample content and extraction time.

이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점은 안장점으로 능선분석을 실시하여 본 결과 최대값은 26.75%로 나타났다. 이때의 추출조건은 Table 5에서와 같이 시료에 대한 마이크로웨이브 파워 30.56 W, 용매비 2.40 g/mL 및 추출시간 10.00분이었다. Tyrosinase 저해효과에 대한 반응표면은 Fig. 4에 나타내었다. 또한 추출조건에 대한 영향은 마이크로웨이브 파워에 가장 크게 영향을 받고 있으며 다른 두 조건에는 영향이 거의 없는 것으로 나타났다.

SOD 유사활성에 대한 추출물의 회귀식의  $R^2$ 는 0.8527으로 유의성이 10% 이내의 유의수준에서 인정되었다. 예측된 정상점은 안장점으로 나타나 능선분석을 실시한 결과 최대

값은 53.23%로 나타났으며, 이때의 추출조건은 시료에 대한 마이크로웨이브 파워 108.42 W, 용매비 4.38 g/mL 및 추출시간 7.84분일 때로 나타났다(Table 5). SOD 유사활성에 대한 반응표면은 Fig. 5에 나타내었다. 추출조건에 대한 영향은 SOD 유사활성은 추출시간에 가장 큰 영향을 받고 있는 것으로 나타났으며, 시료에 대한 용매비와 마이크로웨이브 파워에 대한 영향은 거의 없는 것으로 나타났다. 현재까지 Santos 등(19)은 전통 청국장의 발효과정 중 단백질 프로파일은 낫토의 것과는 매우 다른 양상을 나타낸다고 보고하였으며 Lee 등(20)은 청국장 분말제품의 기능성 성분에 대하여 보고하였다.

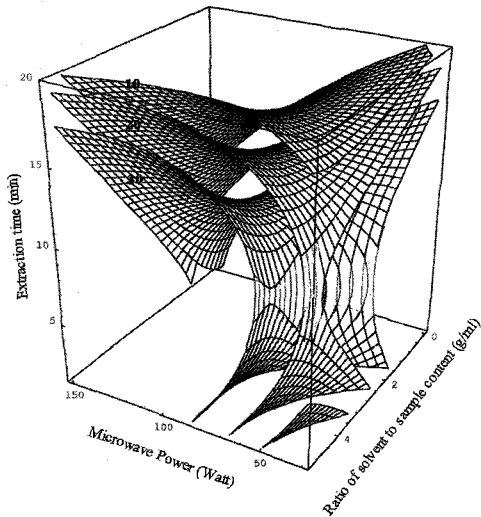


Fig. 5. Response surface for SOD-like activity in fluid *Cheonggukjang* extract at constant values (SOD: 10-20-30%) as a function of microwave power, ratio of solvent to sample content and extraction time.

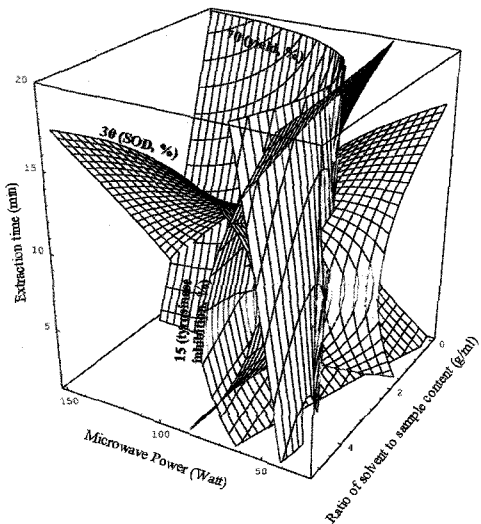


Fig. 6. Superimposed response surface for optimization of yield (70%), tyrosinase inhibition (15%) and SOD-like activity (30%) of extract from fluid *Cheonggukjang*.

최적 추출조건 설정

액상 청국장의 추출조건을 설정하기 위하여 조건별 추출물의 수율, 전자공여능, 아질산염 소거능, tyrosinase 저해작용, 그리고 SOD 유사활성에 대한 4차원 반응표면을 superimposing하여 최적 추출조건 범위를 예측하여 Fig. 6에 어두운 부분으로 나타내었다. 액상청국장의 경우 수율, tyrosinase 저해작용, SOD 유사활성이 일치하는 범위는 마이크로웨이브 파워 55~75 W, 시료에 대한 용매비 2~5 g/mL, 추출시간 3.5~15분이었다(Table 6).

따라서 이와 같은 예측결과에 의한 최적조건을 확인하기 위하여 예측된 최적조건 범위 내에서 임의의 조건을 대입하

Table 6. Optimum extraction conditions for response variables yielding the optimum response by superimposing of the 4-dimensional response surfaces

Conditions	Range of predicted conditions
	Fluid <i>Cheonggukjang</i>
Microwave power (watt)	55~75
Ratio of solvent to sample content (g/mL)	2~5
Extraction time (min)	3.5~15

Table 7. Comparison between predicted and observed values of response variable for water extracts from fluid *Cheonggukjang* at the given condition within the range of optimum condition (%)

Response variable	Fluid <i>Cheonggukjang</i> <sup>1)</sup>	
	Predicted values	Experimental values
Yield	24.99	19.76
Electron donating ability	75.42	71.78
Nitrite scavenging activity	70.12	71.02
Tyrosinase inhibitory effect	15.69	15.64
SOD activity	36.16	31.54

<sup>1)</sup>Given condition: 60 W, 3.5 g/mL in ratio of solvent to sample content, 13 min in extraction time.

여 이화학적 특성을 예측해본 결과 Table 7과 같이 예측되었다. 액상 청국장에 대한 임의의 조건으로 시료에 대한 파워 60 W, 용매비 3.5 g/mL, 추출시간 13분을 설정한 후 액상 청국장에 대한 각각의 회귀식에 대입하여 얻은 예측된 최적 값은 수율 24.99%, 전자공여능 75.42%, 아질산염 소거능 70.12%, tyrosinase 저해작용 15.69%, SOD 유사활성 36.16%로 나타났다.

요 약

액상청국장의 추출공정별 청국장 추출물의 특성 비교 및 청국장의 최적 추출조건을 설정하고자 하였다. 용매로 물을 사용하여 추출한 액상청국장을 각각 마이크로웨이브 파워 별(30, 60, 90, 120 및 150 W), 시간별(1, 5, 9, 13 및 17분)로 추출한 후 생리활성 실험을 수행하였을 때, 수율, 전자공여능, 아질산염 소거능, tyrosinase 저해작용, SOD 유사 활성 등의 생리활성 측정을 통해 추출 최적조건을 찾아내었다. 반응표면분석법을 이용하여 모니터링 한 결과, 액상청국장은 수율, tyrosinase 저해작용, SOD 유사활성이 일치하는 범위로 마이크로웨이브 파워 55~75 W, 시료에 대한 용매비 2~5 g/mL, 추출시간 3.5~15분으로 확인되었다. 예측결과에 의한 최적조건을 확인하기 위하여 예측된 최적조건 범위 내에서 임의의 조건을 대입하여 이화학적 특성을 예측해본 결과 액상 청국장에 대한 임의의 조건으로 시료에 대한 파워 60 W, 용매비 3.5 g/mL, 추출시간 13분을 설정한 후 액상 청국장에 대한 각각의 회귀식에 대입하여 얻은 예측된 최적 값은 수율 24.99%, 전자공여능 75.42%, 아질산염 소거능

70.12%, tyrosinase 저해작용 15.69%, SOD 유사활성 36.16%로 실험값과 예측값 간의 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

문헌

1. Kim DH, Lee GY, Kim NM, Lee JS. 2003. Physiological functionality of various extracts from danmemil and legumes. *Korean J Food Nutr* 16: 347-352.
2. Jung YK, Lee K, No HK, Kim SD. 2006. Effect of sea tangle on fermentation and quality characteristics of *Cheongbukjang*. *Korean J Food Preserv* 13: 95-101.
3. Hong SW, Kim JY, Lee BK, Chung KS. 2006. The bacterial biological response modifier enriched *Chungkookjang* fermentation. *Korean Food Sci Technol* 38: 548-553.
4. Shon MY, Kwon SH, Park SK, Park JR, Choi JS. 2001. Changes in chemical components of black bean *Chungkugjang* added with kiwi and radish during fermentation. *Korean J Postharvest Sci Technol* 8: 449-455.
5. Yoo CK, Seo WS, Lee CS, Kang SM. 1998. Purification and characterization of fibrinolytic enzyme excreted by *Bacillus subtilis* K-54 isolated from *Chunggukjang*. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 26: 507-514.
6. Hosoi T. 1996. Recent progress in treatment of osteoporosis. *Nippon Ronen Igakkai Zasshi* 33: 240-244.
7. Giese J. 1992. Advances in microwave food processing. *Food Technol* 46: 118-123.
8. Schiffmann RF. 1992. Microwave processing in the U.S. food industry. *Food Technol* 46: 50-56.
9. Pare JRJ, Belanger MR, Stafford SS. 1994. Microwave-assisted process (MAP<sup>TM</sup>): a new tool for the analytical laboratory. *Trends in Analytical Chemistry* 13: 176-184.
10. Contard 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.
11. Lee GD, Lee JE, Kwon JH. 2000. Application of response surface methodology in food industry. *Food Ind* 33: 33-45.
12. SAS Institute, Inc. 1990. *SAS User's Guide*. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA.
13. AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. 17th ed. Method 3.1.03. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA.
14. 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.
15. Gray JI, Dugan Jr LR. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food system. *J Food Sci* 40: 981-984.
16. Wong TC, Luh BS, Whitaker JR. 1971. Isolation and characterization of polyphenol oxidase of clingstone peach. *Plant Physiol* 48: 19-23.
17. Kim SM, Cho YS, Sung SK. 2001. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. *Korean J Food Sci Technol* 33: 626-623.
18. Lee BM, Do JR, Kim HK. 2007. Monitoring on functional properties of solid *Cheonggukjang* extracts by using response surface methodology. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1334-1340.
19. Santos I, Sohn IY, Choi HS, Park SM, Ryu SH, Kwon DY, Park CS, Kim JW, Kim JS, Lim JK. 2007. Changes of protein profiles in *Cheonggukjang* during the fermentation period. *Korean J Food Sci Technol* 39: 438-446.
20. Lee HJ, Cho SA, Shin JG, Kim JS, Jeong YJ, Moon KD, Kwon JH. 2007. Quality and functional components of commercial *Chungkukjang* powers. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 65-71.

(2007년 9월 14일 접수; 2007년 9월 28일 채택)