

반응표면분석법에 의한 무화과 열수 추출조건의 최적화

김정옥 · 권순태 · 이기동 · 홍주현 · 문두환¹ · 김태완² · 김대익[†]
대구바이오산업지원센터, ¹(주)피오코리아, ²안동대학교 식품생명공학과

Optimization of Extraction Condition on Fig (*Ficus carica* L.) by Response Surface Methodology

Jung-Ok Kim, Soon-Tae Kwon, Gee-Dong Lee, Joo-Heon Hong,
Doo-Hwan Moon¹, Tae-Wan Kim² and Dae-Ik Kim[†]

Daegu Bio Industry Center, Daegu 704-230, Korea

¹Piokorea Co., LTD., Daegu 711-855, Korea

²Department of Food Science & Biotechnology, Andong National University, Andong 760-749, Korea

Abstract

Response surface methodology (RSM) was applied for monitor the yields of desirable substances from fig (*Ficus carica* L.) under different extraction conditions. The maximum yield was 66.46% at 22.08 mL/g of solvent to sample ratio, 90.59 °C extraction temperature and 148.04 min extraction time. The maximum total phenolics was 121.31 µg/mL at 17.87 mL/g, 98.82 °C, and 130.80 min. The maximum electron donating ability was 54.09% at 121.31 µg/mL, 18.13 mL/g, and 98.81 °C. The maximum value of protease activity was 54.51 unit/min at 17.45 mL/g, 99.01 °C, and 131.43 min. In addition, the maximum value of reducing sugar content was 19.14 mg/mL in 22.66 mL/g, 86.30 °C, and 153.59 min. The optimum conditions estimated by RSM for maximal extraction of the effective components were 17~25 mL/g of solvent to sample ratio, 80~100 °C of extraction temperature, and 100~170 min of extraction time.

Key words : *Ficus carica* L., effective substances, extraction, optimization, RSM

서 론

무화과(*Ficus carica* L.)는 아열대성 반교목성 낙엽활엽수로 뽕나무과(Moraceae)에 속하는 식물로 세계적으로 600여종 이상의 품종이 분포하고, 오랜 역사상 인간이 가장 먼저 이용한 과일로 알려져 있다(1). 무화과의 원산지는 소아시아의 카리카(Carica)지방으로, 오늘날 세계적인 주요 산지는 미국과 지중해 부근으로 비교적 비가 많으며 배수가 잘 되는 지역에서 재배되고 있다(2). 우리나라에서는 1930년부터 전라남도 목포에서 처음 과수로서 재배되기 시작하여 주로 제주도 및 남부지방에서 재배되고 있으며, 주 생산 품종은 보통계 품종인 봉래시(Horaish)와 승정도후

인(Masui Dauphine)으로 가을에 수확되며 병충해가 적고 변식도 용이한 다수확성 과수이나, 수송력, 저장성이 거의 없기 때문에 수확 즉시 가공처리 하지 않으면 과실로서의 가치가 떨어져 증산이나 대량 생산 시 문제가 되고 있다(3).

무화과는 예로부터 약용으로 쓰이기도 했는데, 동양의학에서는 무화과를 소화불량, 식욕부진, 장염, 변비, 이질, 치질 등에 사용하였다. 우리나라의 동의보감과 민간요법에서는 설사, 각혈, 위통, 피부질환과 부인병, 빈혈 등에 좋은 것으로 알려져 있다(4). 무화과는 수분이 많고 유기산 함량이 적으며 단맛이 강하게 느껴지는 과일로, 단백질 분해 효소인 피신(ficin)이 다량 함유되어 있으며(5-7), 식이섬유, 무기질, 폴리페놀의 우수한 급원으로 특히 칼슘함량이 매우 높고, 지방과 콜레스테롤이 거의 함유되어 있지 않은 과실로서 다른 과일보다 섬유소의 함유량이 많아 혈중 콜레스테롤의 저하에 따른 심장질환 및 비만치료효과가 보고되

[†]Corresponding author. E-mail : crs3814@hanmail.net,
Phone : 82-53-602-1891, Fax : 82-53-602-1898

고 있다(8). 예로부터 서양에서는 건강식으로 소비되고 있으며, 특히 당분 함량이 높아 건과, 잼, 젤리, 술, 주스 등의 원료가 되기도 한다(9).

무화과를 가공식품에 이용한 연구로는 전분 종류를 달리 한 무화과편의 품질특성(8), 무화과를 이용한 속성발효 멸치액젓의 품질(10), 무화과를 이용한 식초제조에 관한 연구(11), 저당성 무화과 잼의 제조(12), 쇠고기 연화용 무화과 콘서브 개발 연구(13) 등이 보고되었다.

본 연구에서는 건무화과를 이용한 기능성 음료를 개발하기 위하여 건무화과 최적추출을 확립하고자 하였으며, 이를 위하여 건무화과의 유용성분 추출특성을 반응표면분석에 의해 모니터링하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 무화과는 건무화과(수분함량 $22.5 \pm 2.3\%$, 이란산, 동서유통)는 시중에서 건조된 상태로 판매되는 것을 2007년 2월에 구입하였으며, 건무화과는 분쇄기(HM-331, Hanil Electronic, Korea)로 분쇄한 후 추출을 위한 시료로 사용하였다.

추출

추출조건 설정을 위한 추출물의 추출방법은 시료 10 g을 취하여 각각 조건별로 가수한 다음, 환류냉각장치로 추출온도와 추출시간을 달리하면서 추출한 후 300 mL로 정용하여 여과지(Watman No.2)를 사용하여 감압 여과한 것을 추출물의 품질인자 측정에 사용하였으며, 각 조건별로 3회 반복 추출하였다.

추출조건 설정을 위한 실험계획

본 실험에서는 반응표면분석법(response surface methodology; RSM)(14)을 이용하여 최적 추출조건의 예측과 추출조건에 따른 추출물의 이화학적 특성을 모니터링하였다. 추출조건의 최적화를 위한 실험계획은 중심합성계획법에 의하여 설계하였고, 반응표면분석을 위해서는 SAS (statistical analysis system) program(15)을 사용하였다.

중심합성계획에 의한 독립변수(X_i)의 실험계획은 Table 1과 같이 추출공정에서 중요한 변수로 고려되는 인자, 즉 시료에 대한 용매비(X_1), 추출온도(X_2), 추출시간(X_3)을 -2, -1, 0, 1, 2의 5단계로 부호화하였다. 독립변수(X_i)는 중심합성계획에 따라 Table 1과 같이 16구간으로 설정하여 추출실험을 실시하였다. 또한 이들 요인변수에 의해 영향을 받는 종속변수(Y_n)는, 추출물의 품질인자로서 수율(Y_1), 총페놀성 화합물 함량(Y_2), 전자공여능(Y_3), 아질산염소거능(Y_4), 환원당 함량(Y_5), 갈색도(Y_6)로 하였으며, 이들은 3회 반복

측정하여 그 평균값을 회귀분석에 사용하였다. 변수들의 추출특성과 그에 상응하는 최적 추출조건은 Mathematica program(16)을 이용하여 4차원반응표면으로 나타내었다.

Table 1. Experimental data on yield in fig (*Ficus carica* L.) extract under different conditions based on central composite design for response surface analysis

Exp. No.1)	Independent variables			Yield (%)
	Solvent to sample ratio (mL/g)	Extraction temperature (°C)	Extraction time (min)	
1	20 (1)	90 (1)	150 (1)	64.21±0.71
2	20 (1)	90 (1)	90 (-1)	59.56±0.87
3	20 (1)	70 (-1)	150 (1)	57.27±0.29
4	20 (1)	70 (-1)	90 (-1)	48.66±0.08
5	10 (-1)	90 (1)	150 (1)	60.60±0.19
6	10 (-1)	90 (1)	90 (-1)	56.83±0.46
7	10 (-1)	70 (-1)	150 (1)	51.19±0.16
8	10 (-1)	70 (-1)	90 (-1)	46.22±0.33
9	15 (0)	80 (0)	120 (0)	58.47±0.35
10	15 (0)	80 (0)	120 (0)	62.47±0.59
11	5 (-2)	80 (0)	120 (0)	52.24±0.10
12	25 (2)	80 (0)	120 (0)	64.48±0.47
13	15 (0)	60 (-2)	120 (0)	51.56±0.36
14	15 (0)	100 (2)	120 (0)	62.44±0.10
15	15 (0)	80 (0)	180 (-2)	62.78±0.16
16	15 (0)	80 (0)	60 (2)	46.43±0.76

¹⁾The number of experimental conditions by central composite design.

수율측정

시료의 수율은 항량을 구한 수기에 추출액 10 mL을 취하여 105°C에서 증발 건조시킨 후 그 무게를 측정하여 추출액 조제에 사용된 원료 양의 백분율로 나타내었다.

총페놀성 화합물 함량 측정

총페놀성 화합물 함량은 Folin-Denis 법(17)에 의해 비색정량 하였다. 즉, 시료 1 mL에 Folin-reagent 1 mL를 가하여 3분간 정치한 후 10% Na_2CO_3 1 mL를 혼합하고 1시간 실온에서 방치하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 tannic acid 용액으로 작성하였다.

전자공여능 측정

추출물 및 용매 분획물의 전자공여능은 α, α' -diphenyl- β -pycrylhydrazyl (DPPH)을 사용한 방법으로 측정하였다(18). 즉, DPPH 시약 12 mg을 absolute ethanol 100 mL에 용해한 후 50% ethanol 용액을 첨가하여 DPPH 용액의 흡광도를 517 nm에서 약 1.0으로 조정된 후, 추출액 0.5 mL에

DPPH 용액 5 mL를 혼합하여 흡광도를 측정하고 아래와 같이 계산하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{\text{abs}}{\text{abc}}\right) \times 100$$

abc : Absorbance of DPPH solution without sample at 517 nm

abs : Absorbance of DPPH solution with sample at 517 nm

단백분해효소 활성 측정

Protease activity는 Casein-Folin법(19)으로 측정하였다. 즉, 기질로 0.6% hammarstein casein 용액 2.5 mL, 1/15 M sodium phosphate buffer 1 mL와 배양액 0.5 mL를 가하고 40°C에서 30분간 반응시킨 후 2.5 mL의 0.44 M trichloroacetic acid(TCA)를 가하여 반응을 정지시켰다. 이때, 대조구에 0.5 mL 배양액을 넣은 후 실온에서 10분간 방치 후 20분간 3000 rpm에서 원심분리하여 상등액 0.5 mL에 0.55 M Na₂CO₃ 용액 10 mL와 Folin 시약 1 mL를 같이 넣고 37°C에서 30분간 발색시킨 후 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소활성도(unit)는 1분 동안 hammarstein casein으로부터 1 µg의 tyrosine을 생성하는 효소의 양으로 하였다.

환원당 함량 측정

각 추출물 시료용액 1 mL을 test tube에 넣고 dinitrosalicylic acid (DNS) reagent 1 mL를 가하여 잘 섞은 후 끓는 물에서 15분 동안 중탕시켰다. 상온에서 충분히 식힌 후 증류수 3 mL를 넣은 후 발색된 정도를 546 nm에서 흡광도를 측정하고, glucose standard curve를 이용하여 환원당 함량(%)를 구하였다(20).

최적 추출조건의 예측 및 실증시험

최적 추출조건은 반응변수인 추출물의 특성 즉, 수율, 총페놀성 화합물 함량, 전자공여능 등의 반응표면을 superimposing했을 때 중복되는 부분의 범위로 예측하였다. 또한 예측된 범위에서 임의의 점을 설정하여 회귀식에 대입한 후 그 예측된 최적값들에 대하여 검증을 실시하였다(21).

결과 및 고찰

추출조건에 따른 추출물의 이화학적 특성

무화과를 이용한 기능성 음료를 개발하기 위하여 무화과 최적추출을 확립하고자 중심합성계획에 의한 16구간의 추출조건에 따라 추출시험을 실시하고, 이때 얻어진 각각의 추출물에 대하여 수율, 총페놀성 화합물 함량, 전자공여능, 단백질분해효소 활성 및 환원당 함량을 측정된 결과를 Table 1과 2에 나타내었다.

각각의 결과를 이용하여 최적 추출조건을 얻고자 반응표면 회귀분석을 실시하여 각 종속변수 즉, 수율, 총페놀성

화합물 함량, 전자공여능, 단백질분해효소 활성 및 환원당 함량에 대한 회귀식을 얻었다(Table 3). 또한 변수별 최적 추출조건과 품질특성 값을 예측하여 Table 4에 나타내었으며, 각각의 종속변수에 대한 추출조건의 영향을 Table 5에 나타내었다. 반응변수들의 4차원 반응표면은 Mathematica program으로 용매비, 추출온도 및 추출시간을 독립변수로 하여 Fig. 1 ~ 6에 나타내었다.

Table 2. Experimental data on total phenolics, electron donating ability, protease activity and reducing sugar content in fig (*Ficus carica* L.) extract under different conditions based on central composite design for response surface analysis

Exp. No.1)	Total phenolics (µg/mL)	Electron donating ability (%)	Protease activity (unit/min)	Reducing sugar content (mg/mL)
1	99.12±3.64	48.50±0.43	47.05±7.08	18.37±0.23
2	93.08±6.76	46.32±0.59	40.45±3.36	16.72±0.99
3	81.99±3.73	38.26±0.82	39.85±4.07	16.29±0.96
4	69.66±3.83	35.86±0.94	24.45±2.20	12.12±1.96
5	79.28±1.19	43.24±1.10	41.15±4.96	15.76±1.14
6	75.28±7.56	43.93±0.57	37.50±3.12	14.16±0.59
7	61.70±3.77	34.70±0.96	38.40±3.78	14.18±0.72
8	52.53±3.57	34.27±0.61	34.05±4.31	12.82±0.22
9	94.87±3.49	40.05±1.08	38.45±3.10	15.64±1.51
10	93.16±3.56	39.44±0.65	37.25±2.84	15.08±0.74
11	50.62±2.24	41.96±2.06	24.25±8.08	15.22±2.87
12	94.37±3.94	46.07±1.28	30.00±2.20	17.13±0.05
13	63.95±5.04	35.23±1.05	30.75±3.03	12.73±0.03
14	127.33±3.81	55.17±1.57	56.25±5.44	14.99±2.80
15	101.49±7.56	47.32±1.18	46.50±4.57	17.18±2.13
16	53.28±4.11	45.61±1.13	43.90±4.44	13.98±1.41

¹⁾The number of experimental conditions by central composite design.

수 율

무화과의 추출조건에 따른 수율을 측정된 결과는 Table 1과 같이 46.22~64.48%의 범위로 측정되었으며, 결과에 대한 반응표면 회귀식의 R²는 0.9093으로 유의성이 5%이내의 유의수준에서 인정되었다(Table 3). 예측된 정상점은 최대점으로 최대값은 시료에 대한 용매비 22.08 mL/g, 추출온도 90.59°C 및 추출시간 148.04 min에서 66.46%로 예측되었다(Table 4). 이것은 반응표면분석으로 예측된 값을 나타낸 것으로 수율(Fig. 1)은 시료에 대한 용매비, 추출온도, 추출시간이 증가할수록 높아지는 것으로 나타났으며, 추출온도 및 추출시간에 가장 큰 영향을 받고 있는 것으로 나타났다(Table 5). 이러한 결과는 무화과가 팽창되어 있는 상태에서 추출액의 활동성이 증가하기 때문에 추출온도가 높고 추출시간이 길어지면 고형분의 용해속도 및 용해력이 증가하여

Table 3. Polynomial equations calculated by RSM program for extraction conditions of fig (*Ficus carica* L.)

Responses	Second order polynomials	R2	Significance
Yield	$Y_Y = -95.539375 + 1.108750X_1 + 2.100375X_2 + 0.620458X_3 - 0.021100X_1^2 - 0.005450X_1X_2 - 0.008675X_2^2 + 0.003767X_1X_3 - 0.002150X_2X_3 - 0.001629X_3^2$	0.9093	0.0157
Total phenolics	$Y_{TP} = -202.746875 + 7.924000X_1 + 1.212500X_2 + 1.692250X_3 - 0.215200X_1^2 + 0.000550X_1X_2 + 0.004063X_2^2 + 0.004333X_1X_3 - 0.004775X_2X_3 - 0.004619X_3^2$	0.9010	0.0199
Electron donating ability	$Y_{EDA} = 126.035625 - 2.002250X_1 - 1.716375X_2 - 0.447708X_3 + 0.042700X_1^2 + 0.006250X_1X_2 + 0.013637X_2^2 + 0.004033X_1X_3 - 0.000558X_2X_3 + 0.001867X_3^2$	0.9165	0.0125
Protease activity	$Y_{PA} = 115.953125 - 1.430000X_1 - 1.920000X_2 - 0.275000X_3 - 0.107250X_1^2 + 0.042500X_1X_2 + 0.014125X_2^2 + 0.011667X_1X_3 - 0.003958X_2X_3 + 0.002042X_3^2$	0.9188	0.0115
Reducing sugar content	$Y_{RSC} = -12.376875 - 1.152500X_1 + 0.661250X_2 + 0.057208X_3 + 0.008150X_1^2 + 0.009400X_1X_2 - 0.003750X_2^2 + 0.002383X_1X_3 - 0.000950X_2X_3 + 0.000061111X_3^2$	0.9206	0.0108

¹⁾X₁: solvent to sample ratio (mL/g), X₂: extraction temperature (°C), X₃: extraction time (min).

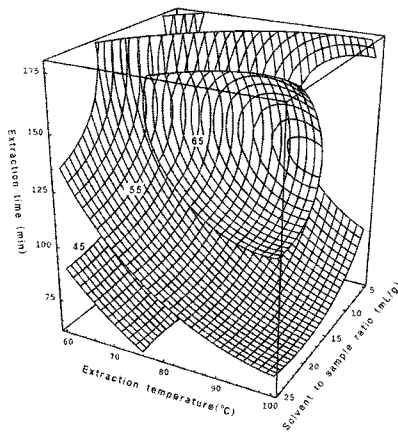


Fig. 1. Response surface for yield in fig (*Ficus carica* L.) extract at constant values (yield: 45-55-65%) as a function of solvent to sample ratio, extraction temperature and extraction time.

추출수율이 높아지는 것으로 사료된다. Kim 등(22)은 추출 조건에 따른 계피추출액의 유효성분 함량에 관한 연구에서 추출온도 및 추출시간이 증가할수록 수율이 증가한다고 하였으며, 본 실험의 결과와 유사하였다.

총페놀성 화합물 함량

중심합성계획에 의한 무화과 추출조건별 총페놀성 화합물 함량은 Table 2에서와 같이 50.62~101.49 µg/mL의 범위였으며, 결과에 대한 반응표면 회귀식의 R²는 0.9010으로 유의성이 5%이내의 유의수준에서 인정되었다(Table 3). 무화과 추출물의 총페놀성 화합물 함량의 예측된 정상점은 안장점으로 능선분석을 실시하여 본 결과, 최대값은 121.31 µg/mL로 예측되었으며, 이때의 추출조건은 시료에 대한 용매비 17.87 mL/g, 추출온도 98.82 °C 및 추출시간 130.80 min이었다(Table 4). 총페놀성 화합물 함량은 시료에 대한 용매비와 추출온도에 가장 큰 영향을 받고 있었으며(Table

5), 시료에 대한 용매비 및 추출온도가 높아질수록 증가하는 경향을 나타내었다(Fig. 2). Yoon 등(23)은 감국의 열수 추출조건 최적화 연구에서 감국의 총페놀성 화합물 함량은 같은 시료량에서 추출온도와 추출시간이 증가할수록 높은 값을 나타낸다고 보고하였다. 또한 Lee 등(24)은 손바닥 선인장 줄기의 추출조건 최적화에 대한 연구에서 손바닥 선인장 추출물의 총페놀성 화합물 함량은 추출온도와 추출시간이 증가할수록 높아지며, 시료에 대한 용매비에는 거의 영향을 받지 않는다고 하였는데, 본 실험의 결과와는 다소 상이하였다.

Table 4. Predicted levels of optimum conditions for the maximized and minimized responses of variables by the ridge analysis of their response surface

Responses	Extraction conditions ¹⁾				Morphology
	X ₁	X ₂	X ₃	Estimated responses	
Yield (%)	12.85	67.50	74.97	42.86 (min.)	Maximum
	22.08	90.59	148.04	66.46 (max.)	
Total phenolics (µg/mL)	7.20	71.91	91.41	39.16 (min.)	Saddle point
	17.87	98.82	130.80	121.31 (max.)	
Electron donating ability (%)	13.48	62.34	114.72	33.51 (min.)	Minimum
	18.13	98.81	127.95	54.09 (max.)	
Protease activity (unit/min)	23.24	70.38	102.12	21.58 (min.)	Saddle point
	17.45	99.01	131.43	54.51 (max.)	
Reducing sugar content (mg/mL)	16.34	62.67	91.15	11.15 (min.)	Saddle point
	22.66	86.30	153.59	19.14 (max.)	

¹⁾X₁: Solvent to sample ratio (mL/g), X₂: Solvent to sample ratio (mL/g), X₃: Extraction time (min).

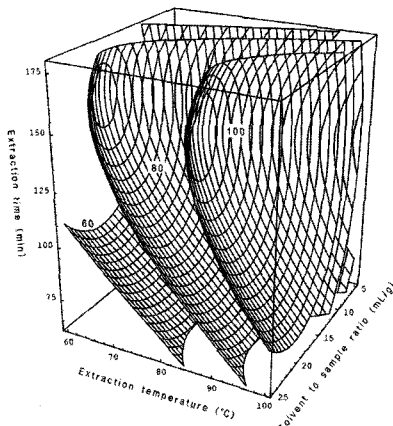


Fig. 2. Response surface for total phenolics in fig (*Ficus carica* L.) extract at constant values (total phenolics: 60-80-100 µg/mL) as a function of solvent to sample ratio, extraction temperature and extraction time.

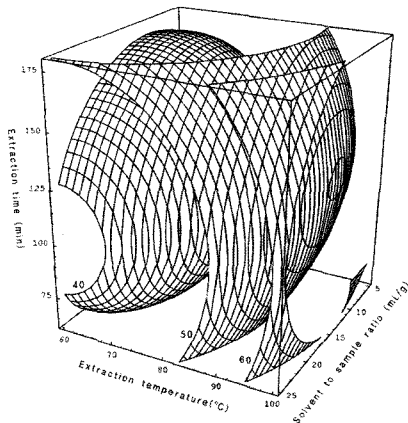


Fig. 3. Response surface for electron donating ability in fig (*Ficus carica* L.) extract at constant values (electron donating ability: 40-50-60%) as a function of solvent to sample ratio, extraction temperature and extraction time.

Table 5. Analysis of variables for regression model of physicochemical properties in extraction condition

Extraction conditions	F-Ratio		
	Solvent to sample ratio (mL/g)	Extraction temperature (°C)	Extraction time (min)
Yield	2.86	6.52**	6.23**
Total phenolics	4.66**	5.97**	2.90
Electron donating ability	1.72	14.53***	1.81
Protease activity	3.26*	8.52**	2.95
Reducing sugar content	4.14*	6.95**	6.54**

***Significant at 1% level, **Significant at 5% level, *Significant at 10% level.

전자공여능

각각의 추출조건에 따른 추출물의 전자공여능에 대한

회귀식의 R²는 0.9165로 유의성이 5%이내의 유의수준에서 인정되었다(Table 3). 전자공여능은 시료에 대한 용매비 18.13 mL/g, 추출온도 98.81°C 및 추출시간 127.95 min일때 최대값 54.09%를 나타내는 것으로 예측되었다(Table 4). 추출조건에 따른 전자공여능의 4차원 반응표면은 Fig. 3과 같이 추출온도가 높아질수록 증가하였으며, 이러한 결과는 총페놀성 함량과 유사한 경향이였다. Kang 등(25)은 전자공여능은 phenolic acid류 가운데 hydroxybenzoic acids 중에서는 gallic acid가 높게 나타났으며, flavonoids에서는 (+)-catechin이 전자공여능이 뛰어난 것으로 나타났다. 또한 tannic acid를 포함한 기타 페놀성 화합물에 있어서도 높은 전자공여능을 나타낸다고 하였다.

단백분해효소 활성

추출조건에 다른 무화과 추출물의 단백질분해효소의 활성을 측정된 결과는 Table 2와 같이 24.25~56.25 unit/min의 범위로 나타났으며, 결과에 대한 회귀식의 R²는 0.9188로 유의성이 5%이내의 유의수준에서 인정되었다(Table 3). 최대값은 54.51 unit/min으로 예측되었으며, 이때의 추출조건은 시료에 대한 용매비 17.45 mL/g, 추출온도 99.01°C 및 추출시간 131.43 min이었다(Table 4). 단백질분해효소의 활성은 추출온도에 가장 큰 영향을 받고 있었으며(Table 5), Fig. 4에서 보는 바와 같이 추출온도가 증가할수록 단백질분해효소의 활성이 증가하였다. 무화과는 단백질 분해효소인 ficin을 많이 함유하고 있어서 소화촉진 및 연육제 효과가 있는 것으로 알려져 왔으며 rennet 대용 및 연육제로 이용하기 위한 연구(26-28)가 많이 이루어져 왔다.

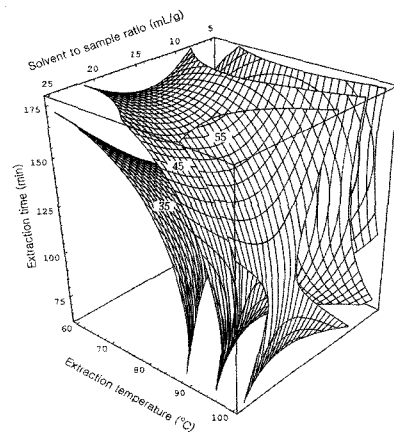


Fig. 4. Response surface for protease activity in fig (*Ficus carica* L.) extract at constant values (protease activity: 35-45-55 unit/min) as a function of solvent to sample ratio, extraction temperature and extraction time.

환원당 함량

무화과는 당질의 함량이 높은 것으로 알려져 있으며, 건과, 잼, 젤리, 술, 주스 등의 원료가 된다고 하였다(9). Kim

등(6)은 국내산 무화과의 화학적 성분에 관한 연구에서 무화과의 총당 함량은 품종에 따라 9.0~9.6%(건물량 기준 79.4~82.9%)로 매우 높게 나타났으며, 환원당 함량은 8.5~8.8%(건물량 기준 75.9~79.8%)의 매우 높은 함량을 가진다고 보고하였다.

추출조건에 따른 무화과의 환원당 함량에 대한 회귀식의 R²는 0.9206로 유의성이 5%이내의 유의수준에서 인정되었다(Table 3). 예측된 정상점은 안장점으로 능선분석을 실시하여 본 결과, 19.14 mg/mL로 예측되었으며, 이때의 추출조건은 시료에 대한 용매비 22.66 mL/g, 추출온도 86.30°C 및 추출시간 153.59 min이었다(Table 4). 환원당 함량은 추출온도와 추출시간에 가장 큰 영향을 받고 있는 것으로 나타났으며, 이는 수율과 유사한 경향이었다(Table 5).

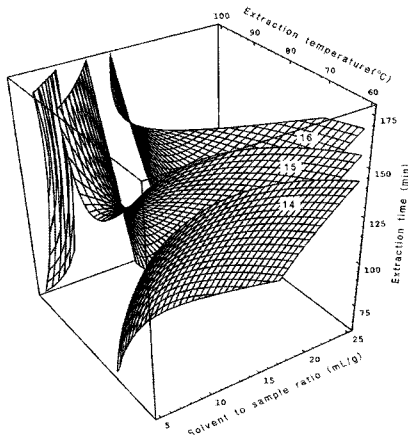


Fig. 5. Response surface for reducing sugar content in fig (*Ficus carica* L.) extract at constant values (reducing sugar content: 14-15-16 mg/mL) as a function of solvent to sample ratio, extraction temperature and extraction time.

Table 6. Predicted and experimental values of response variables for extraction condition of fig (*Ficus carica* L.) at a given condition¹⁾ within the range of optimum conditions

Physicochemical properties	Predicted values	Experimental values
Yield (%)	65.84	67.01
Total phenolics (µg/mL)	111.13	105.82
Electron donating ability (%)	59.10	68.91
Protease activity	48.83	45.07
Reducing sugar content (mg/mL)	18.17	20.26

¹⁾Given conditions: 20 mL/g in Solvent to sample ratio, 90°C in extraction temperature, and 150 min in extraction time.

최적 추출조건의 예측 및 실증시험

무화과 유용성분의 추출조건을 설정하기 위하여 추출조건별 추출물의 수율, 총페놀성 화합물 함량, 전자공여능, 단백분해효소 활성 및 환원당 함량에 대한 추출특성을 조사

하였다. 그 결과 수율, 총페놀성 화합물 함량 및 전자공여능의 반응표면을 superimposing하여 최적 추출조건의 범위를 예측하였다. 무화과는 Fig. 6의 dark zone과 같이 수율, 총페놀성 화합물 함량 및 전자공여능이 모두 만족하는 범위는 시료에 대한 용매비 17~25 mL/g, 추출온도 80~100°C 및 추출시간 100~170 min으로 나타났다. 따라서 이와같이 예측된 최적조건 범위내에서 임의의 조건 즉, 시료에 대한 용매비 20 mL/g, 추출온도 90°C, 추출시간 150 min을 대입하여 이화학적 특성을 예측해 보았다. 그 결과 수율 65.84%, 총페놀성 화합물 함량 111.13 µg/mL, 전자공여능 59.10%, 단백분해효소 활성 48.83 unit/min, 환원당함량 18.17 mg/mL로 예측되었다(Table 6). 무화과의 품질에 관련된 성분들의 예측치와 동일조건에서 실제 실험하여 얻은 실험치와의 추출효율을 확인하여 회귀식의 신뢰성을 검증하였다. 이때 임의의 추출조건은 시료에 대한 용매비 20 mL/g, 추출온도 90°C, 추출시간 150 min으로 하여 추출효율을 확인해 본 결과, Table 6과 같이 임의의 조건에서 실제 실험을 통하여 얻은 추출물의 품질특성 즉, 수율, 총페놀성 화합물 함량, 전자공여능, 단백분해효소 활성 및 환원당 함량은 반응표면분석법에 의해 예측된 값과 비교하여 유사한 경향으로 나타나 도출된 회귀식의 신뢰성을 검증할 수 있었다.

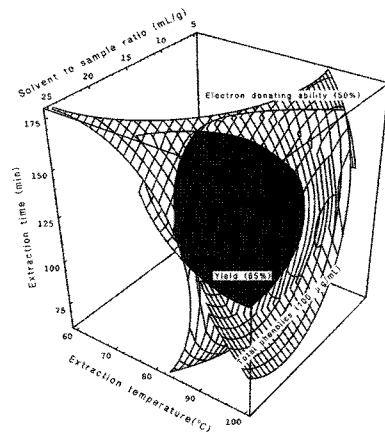


Fig. 6. Superimposed response surface for optimization of yield (65%), total phenolics (100 µg/mL) and electron donating ability (50%) of fig (*Ficus carica* L.) extract as a function of solvent to sample ratio, extraction temperature and extraction time.

요 약

무화과를 이용한 기능성 음료의 제조를 위하여 반응표면 분석법에 의하여 무화과의 추출조건에 따른 무화과 유용성분의 추출특성을 모니터링하였다. 수율의 최대값은 66.46%이었으며, 이때의 추출조건은 시료에 대한 용매비 22.08 mL/g, 추출온도 90.59°C 및 추출시간 148.04 min이었다. 총페놀성 화합물 함량은 시료에 대한 용매비 17.87

mL/g, 추출온도 98.82℃ 및 추출시간 130.80 min에서 최대값 121.31 µg/mL을 나타내었으며, 전자공여능은 시료에 대한 용매비 18.13 mL/g, 추출온도 98.81℃ 및 추출시간 127.95 min일때 최대값을 나타내었다. 무화과 추출물의 단백분해효소의 활성은 시료에 대한 용매비 17.45 mL/g, 추출온도 99.01℃ 및 추출시간 131.43 min일 때 최대값을 나타내었으며, 환원당 함량은 시료에 대한 용매비 22.66 mL/g, 추출온도 86.30℃ 및 추출시간 153.59 min에서 최대값이 19.14 mg/mL이었다. 무화과 유용성분의 추출을 극대화할 수 있는 최적 추출조건의 범위는 시료에 대한 용매비 17~25 mL/g, 추출온도 80~100℃ 및 추출시간 100~170 min으로 예측되었으며, 실제 실험을 통하여 그 신뢰성을 검증하였다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부의 지역산업공통기술개발사업(과제번호: 10027665)의 지원에 의한 연구결과와 일부로 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Williams, D.C., Sgarbieri, V.C. and Whitaker, J.R. (1968) Proteolytic activity in the genus *Ficus*. *Plant Physiol.*, 43, 1083-1088
- Vinson, J.A. (1999) The functional food properties of figs. *Cereal Food World*, 44, 82-87
- Kim, S.S., Lee, C.H., Oh, S.L. and Chung, D.H. (1992) Chemical components in the two cultivars of Korean figs(*Ficus carica* L.). *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, 35, 51-54
- Jeong, M.R., Kim, B.S. and Lee, Y.E. (2002) Physicochemical characteristics and antioxidative effects of Korean figs (*Ficus carica* L.). *J. East Asian Soc. Dietary Life*, 12, 566-573
- Kim, K.H. (1981) Chemical components of Korean figs and its storage stability. *Korean Food Sci. Technol.*, 13, 165-169
- Kim, S.S., Lee, C.H., Oh, S.L. and Chung, D.H. (1992) Chemical components in the two cultivars of Korean figs (*Ficus carica* L.). *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, 35, 51-54
- Kim, J.S. and Kim, J.P. (1987) Studies on the digestion of beef by ficin treatment. *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, 30, 210-218
- Kim, B.S., Jeong, M.R. and Lee, Y.E. (2003) Quality characteristics of *Muhwakwa-pyun* with various starches. *Korean J. Soc. Food Cookery Sci.*, 19, 783-793
- Kim, K.H. (1981) Chemical components of Korean figs and its storage stability. *Korean Food Sci. Technol.*, 13, 165-169
- Kang, S.G., Yoon, S.W., Kim, J.M., Kim, S.J. and Jung, S.T. (2001) Quality of accelerated salt-fermented anchovy sauce prepared with fig. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 30, 1142-1146
- Kim, D.H. (1999) Studies on the production of vinegar from fig. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 28, 53-60
- Hou, W.N. and Kim, M.H. (1998) Processing of low sugar jams from fig pulp treated with pectinesterase. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 30, 125-131
- Park, B.H. and Park, W.K. (1994) A study on the manufacturing of fig conserves for beef tenderizing. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 23, 1027-1031
- 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
- SAS Institute, Inc. (1990) SAS User's Guide. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA
- Martha, L.A. and James, P.B. (1992) The Mathematica handbook, Compatible with Mathematica, Version 2.0 Harcourt Brace, Massachusetts : An Imprint of a Division of Academic Press.
- Amerinem, M.A. and Ough, C.S. (1958) Method for analysis of Musts and Win. Wiley & Sons, New York, p.176-180
- Blois, M.S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200
- Yoo, C.K., Seo, W.S., Lee, C.S. and Kang, S.M. (1998) Purification and characterization of fibrinolytic enzyme excreted by *Bacillus subtilis* K-54 isolated from Chunggukjang. *Korean J. Appl. Microbial. Biotechnol.*, 26, 507-514
- The Korea Society of Food Science and Nutrition. (2000) Handbook of experiments in food science and nutrition. Hyoil Publishing Co., Seoul, Korea, p.151-152
- Lee, G.D. and Kwon, J.H. (1998) The use of response surface methodology to optimize the Maillard reaction to produce melanoidins with high antioxidative and antimutagenic activities. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 33, 375-383
- Kim, N.M., Ko, S.R., Choi, K.J. and Kim, W.J. (1993) Effect of some factors on extraction of effectual

- components in cinnamon extracts. J. Korean Agr. Chem. Soc., 36, 17-22
23. Yoon, O.H. and Cho, J.S. (2007) Optimization of extraction conditions for hot water extracts from *Chrysanthemum indicum* L. by response surface methodology. Korean J. Food Cookery Sci., 23, 1-8
24. Lee, G.D., Kim, J.O., Joo, G.J. and Kwon, J.H. (2005) Optimum Conditions for the Extraction of Effective Substances from the Stem of *Opuntia ficus-indica*. Food Sci. Biotechnol., 14, 190-195
25. 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
26. Englund, P.T., King, T.P., Graig, L.C. and Walti, A. (1968) Studies on ficin. 1. Its isolation and characterization. Biochem., 9, 163-175
27. Kim, J.P., Suh, J.S. and Kim, J.S. (1986) Isolation and purification of ficin from fig latex (in Korea). Korean J. Food Sci. Technol., 18, 270-277
28. Kang, C.K. and Rice, E.E. (1970) Degradation of various meat fractions by tenderizing enzymes. J. Food Sci., 35, 563-565

(접수 2007년 10월 29일, 채택 2008년 1월 11일)