

반응표면분석에 의한 건대추의 추출조건 최적화

우관식² · 이상훈¹ · 노진우¹ · 황인국¹ · 이연리¹ · 박희정³ · 이준수¹ · 강태수⁴ · 정현상^{1†}

¹충북대학교 식품공학과, ²농촌진흥청 국립식량과학원

³농촌진흥청, ⁴충북도립대학 바이오식품생명과학과

Optimization of Extraction Conditions for Dried Jujube by Response Surface Methodology

Koan Sik Woo², Sang Hoon Lee¹, Jin Woo Noh¹, In Guk Hwang¹, Youn Ri Lee¹,
Hee-Jeong Park³, Junsoo Lee¹, Tae-Su Kang⁴, and Heon Sang Jeong^{1†}

¹Dept. of Food Science and Technology, Chungbuk National University, Chungbuk 361-763, Korea

²National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Gyeonggi 441-857, Korea

³Rural Development Administration, Gyeonggi 441-857, Korea

⁴Dept. of Biofood Science and Biotechnology, Chungbuk Provincial College, Chungbuk 373-807, Korea

Abstract

Extraction characteristics of dried jujube and functional properties of corresponding extract were monitored by response surface methodology. Maximum extraction yield of 53.69% was obtained at extraction temperature of 50.35°C, extraction time of 16.69 hr, and ethanol concentration of 72.88%. At extraction temperature, extraction time, and ethanol concentration of 45.80°C, 15.47 hr, and 73.12%, respectively, maximum cyclic adenosine monophosphate content was 8.20 mg/100 g. Maximum total polyphenol content was 18.85 mg/g at extraction temperature, extraction time, and ethanol concentration of 64.91°C, 20.84 hr, and 66.91%, respectively. Maximum total flavonoid content was 0.48 mg/g at extraction temperature, extraction time, and ethanol concentration of 57.36°C, 15.14 hr, and 71.08%, respectively. IC₅₀ value of electron donating ability showed maximum level of 32.34 mg/mL at extraction temperature of 48.46°C, extraction time of 19.25 hr, and ethanol concentration of 65.36%. Maximum ascorbic acid equivalent antioxidant capacity was 3.58 mg ascorbic acid equivalent per gram sample at extraction temperature, extraction time, and ethanol concentration of 56.09°C, 21.86 hr, and 65.36%, respectively.

Key words: jujube (*Zizyphus jujuba* forma *hoonensis* C.S. Yook), cyclic adenosine monophosphate, polyphenol, antioxidant, response surface methodology

서 론

대추는 갈매나무과(*Rhamnaceae*)에 속하는 *Zizyphus*속의 낙엽활엽교목으로 중국계 대추(*Z. jujuba* Miller)와 인도계 대추(*Z. mauritiana* Lam) 등 생태형이 전혀 다른 2종이 재배되고 있으며, 중국계 대추는 우리나라를 비롯한 아시아 지역과 소련남부, 독일 등 유럽지역 및 캘리포니아를 중심으로 한 미국대륙의 서남부 지역에서 재배되고 있다(1,2). 우리나라에는 1속 3종류로 재래종인 뽕대추(*Z. jujuba* Miller), 대추(*Z. jujuba* var. *intermis* Rehder), 보은대추(*Z. jujuba* forma *hoonensis* C.S. Yook) 등이 분포하고 있으며, 개량종인 무등, 금성, 월출 등은 극히 일부 지역에서 재배되고 있다(3).

대추는 옛부터 건강식품으로서 영양가가 풍부하며 한약에 감초와 함께 빠질 수 없는 과일이다. 대추의 주요성분으

로 당질과 ascorbic acid가 많으며, 약용성분으로는 각종 sterol, alkaloid, saponin, vitamin, 유기산류, 아미노산류 등이 밝혀졌고 그 효능은 완화제, 이노제, 강장제, 담즙증, 강정, 체력회복, 거담제, 항염증제 등의 약리효과가 있는 것으로 알려져 있다(4). 대추는 수확기간이 10일 정도로 짧기 때문에 이시기에 생과 형태로 일부 소비되지만 저장성이 좋지 못해 대부분 건과 형태로 유통 및 소비가 이루어지고 있는 실정이다(5).

대추의 지표성분으로 알려진 c-AMP(cyclic adenosine monophosphate, adenosine 3',5'-cyclic monophosphate)는 약리적 효과가 있다고 알려져 있으나 많은 채소류와 과일류 중에서 유일하게 대추에서만 활성을 보이고 있다(6). c-AMP는 다양한 hormone과 prostaglandin, 그리고 catecholamine 등의 분비에 관여하는 신호를 전달하는 세포내 2차

[†]Corresponding author. E-mail: hsjeong@chungbuk.ac.kr
Phone: 82-43-261-2570, Fax: 82-43-271-4412

전달물질로 특히 기관지천식과 allergy 반응에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(6,7). 또한 대추에 함유되어 있는 페놀성 화합물은 항산화활성(8), 항암작용(9)을 하는 것으로 알려져 있다. 페놀성 화합물은 식물이 광합성과정에서의 스트레스, 활성산소 감소, 크고 작은 상처와 초식동물로부터의 자신을 보호하는 과정에서 형성되는 대사산물이다(10). 일반적으로 하나 또는 둘이상의 수산기로 치환된 방향족환을 가지고 있는 식물성분으로 과일 및 야채류에 널리 분포하며 주로 glucose, rhamnose, galactose, arabinose의 당과 결합한 배당체의 형태로 존재하는 수용성 물질이다(11). 자연계에 존재하는 페놀성 물질의 구조는 7,000가지 이상이 확인되어 있으며 크게 phenolic acid, flavonoid, coumarin 그리고 tannin(hydrolyzable 및 condensed tannin)으로 분류되어지며(12) 그 중 대부분을 flavonoid가 차지한다. 이러한 페놀성 물질은 모두 방향족 화합물이며 UV영역에서 강한 흡수가 일어나고 알칼리 존재 시 흡수대가 장파장으로 이동하게 된다(13).

따라서 본 연구에서는 건대추를 식품용도 내지 식품 소재로 활용할 수 있는 기초 자료로 제공하고자 중심합성계획법으로 추출온도, 추출시간 및 추출용매의 농도를 변수로 여러 조건에서 추출한 추출물의 수율 및 이화학적 특성 분석을 통한 최적 추출조건을 반응표면분석을 통하여 확립하고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 일반성분 분석

본 실험에 사용된 대추는 2007년 10월에 생산된 건대추로 충북 보은의 농가에서 직접 구입하여 polyethylene 필름으로 밀봉하여 -20°C 냉동고에 저장하면서 실험에 사용하였다. 건대추의 수분함량은 105°C 상압가열건조법으로 측정하였으며, 조단백질 함량은 semi-micro Kjeldahl 방법, 조지방 함량은 Soxhlet 방법, 조회분 함량은 550°C 직접회화법, 식이섬유는 AOAC 방법으로 측정하였다.

추출조건 및 추출방법

건대추의 추출조건은 온도(30, 40, 50, 60 및 70°C), 시간(6, 12, 18, 24 및 30시간) 및 용매조성(50, 60, 70, 80) 및 90% (v/v) 에탄올을 변수로 중심합성계획법(central composite design; CCD)에 의하여 Table 1과 같이 16개 실험구간으로 설정하였다. 추출장치는 온도, 시간, 진탕속도를 조절할 수 있는 shaking incubator(Vision Scientific Co., Ltd., Buchon, Korea)를 사용하였다. 건대추 20 g에 100 mL의 용매를 가하여 마쇄한 다음 200 rpm으로 3회 반복 교반 추출하였다. 추출물을 4°C 에서 10분간 3,000 rpm으로 원심분리한 후 여과하여 얻은 추출액을 회전식진공농축기(Eyela N-1000, Tokyo, Japan)로 농축한 후 감압건조(Townson Mercer Ltd., Manchester, UK)하여 용매를 완전히 제거하고 동결건조기(Modylod-115, Thermo Electron Co., Waltham, MA, USA)로

동결건조 하여 추출수율을 측정하였다. 수율 측정 후 증류수 100 mL로 정용하여 이 액을 -20°C 에서 냉동보관하면서 실험에 사용하였다.

c-AMP 함량 측정

건대추 추출물의 c-AMP 함량은 Kwon과 Cho(14)의 방법을 변형하여 측정하였다. 추출물을 0.45 μm syringe filters (Millipore, Billerica, MA, USA)로 여과한 후 HPLC(Thermo Separation Products Inc., Sanjose, CA, USA)로 분석하였다. Column은 Hypersil GOLD column(4.6 \times 250 mm, Thermo Electron Co., Waltham, MA, USA)을 사용하였으며, 검출기는 UV(260 nm), 이동상은 0.05 M KH_2PO_4 : methanol(95:5, v/v)을 1.0 mL/min의 유속으로 흘려주었고 추출물 20 μL 주입하였다. 표준품으로 cyclic adenosine monophosphate (c-AMP; (-)adenosine-3',5'-cyclic monophosphate; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 사용하였고, 표준품의 회귀식은 $y=294.9x-244.63$ ($R^2=0.9960$)로 나타났다.

총 폴리페놀 함량 측정

처리조건별 건대추 추출액의 총 폴리페놀 함량은 Dewanto 등(15)의 방법에 따라 Folin-Ciocalteu phenol reagent가 추출물의 폴리페놀성 화합물에 의해 환원된 결과 몰리브덴 청색으로 발색하는 것을 원리로 분석하였다. 각 추출물 100 μL 에 2% Na_2CO_3 용액 2 mL를 가한 후 3분간 방치하여 50% Folin-Ciocalteu reagent(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 100 μL 를 가하였다. 30분 후, 반응액의 흡광도 값을 750 nm에서 측정하였고, 표준물질인 tannic acid(Sigma-Aldrich)를 사용하여 검량선을 작성하였고, 회귀식은 $y=2.2199x+0.0135$ ($R^2=0.9994$)로 나타났으며, 총 폴리페놀 함량은 시료 100 g 중의 mg tannic acid로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량 측정

각각의 조건에서 처리된 건대추 추출물의 총 플라보노이드 함량은 Dewanto 등(15)의 방법을 변형하여 측정하였다. 추출물 250 μL 에 증류수 1 mL와 5% NaNO_2 75 μL 를 가한 다음, 5분 후 10% $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 150 μL 를 가하여 6분 방치하고 1 N NaOH 500 μL 를 가하였다. 11분 후, 반응액의 흡광도 값을 510 nm에서 측정하였다. 표준물질인 (+)-catechin hydrate(Sigma-Aldrich)를 사용하여 검량선을 작성하였고, 회귀식은 $y=3.743x-0.0017$ ($R^2=0.9991$)로 나타났다.

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)에 의한 전자공여능

처리조건별 건대추 추출물의 항산화활성을 측정하기 위하여 전자공여능(electron donating ability, EDA)은 Choi 등(16)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 1×10^{-4} M DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Sigma-Aldrich) 용액(99.9% methanol에 용해) 0.8 mL에 시료 0.2 mL를 첨가한 후, 520 nm에서 정확히 60분 후에 흡광도 감소치를 측정하였다. 흡

Table 1. Extraction yields, cyclic adenosine monophosphate (c-AMP), polyphenol, flavonoid contents, IC₅₀ (sample concentration providing 50% inhibition) of electron donating ability (EDA), and ascorbic acid equivalent antioxidant capacity (AEAC) of dried jujube by central composite experimental design for response surface analysis

Exp. No ¹⁾	Independent variables			Response variables					
	Extraction temp. (°C)	Extraction time (hr)	Ethanol conc. (%)	Yield (%)	c-AMP (mg/100 g)	Polyphenol (mg/g)	Flavonoid (mg/g)	IC ₅₀ (mg/mL)	AEAC (mg AA eq/g)
1	30 (-2)	18 (0)	70 (0)	52.09±3.48 ^{2)bcd3)}	7.75±0.41 ^{bc}	15.49±1.14 ^{cd}	0.37±0.01 ^g	7.12±0.10 ^h	3.37±0.11 ^f
2	40 (-1)	12 (-1)	60 (-1)	44.28±2.20 ^e	7.90±0.54 ^{abc}	13.02±0.77 ^f	0.39±0.04 ^{fg}	7.18±0.45 ^{gh}	3.05±0.10 ^g
3	40 (-1)	12 (-1)	80 (+1)	56.72±4.27 ^{abc}	8.31±0.11 ^{ab}	16.17±1.37 ^{bc}	0.40±0.01 ^{efg}	9.02±0.22 ^e	4.10±0.23 ^b
4	40 (-1)	24 (+1)	60 (-1)	50.35±3.61 ^{cd}	7.66±0.52 ^{bc}	13.73±0.26 ^{ef}	0.42±0.02 ^{def}	5.03±0.12 ^k	3.52±0.14 ^{ef}
5	40 (-1)	24 (+1)	80 (+1)	58.87±2.97 ^a	8.58±0.23 ^a	14.32±0.49 ^{de}	0.31±0.01 ^h	11.55±0.64 ^c	3.09±0.13 ^g
6	50 (0)	6 (-2)	70 (0)	56.28±1.89 ^{abc}	8.35±0.57 ^{ab}	16.19±0.07 ^{bc}	0.31±0.02 ^h	12.10±0.75 ^b	3.10±0.10 ^g
7	50 (0)	18 (0)	50 (-2)	51.64±4.16 ^{bcd}	7.39±0.43 ^c	14.93±0.80 ^d	0.40±0.04 ^{efg}	7.01±0.07 ^{hi}	4.04±0.12 ^{bc}
8	50 (0)	18 (0)	70 (0)	53.50±2.43 ^{abc}	8.03±0.68 ^{abc}	16.27±0.77 ^{bc}	0.22±0.01 ⁱ	9.61±0.08 ^d	3.58±0.06 ^{ef}
9	50 (0)	18 (0)	70 (0)	52.47±3.59 ^{abcd}	7.96±0.32 ^{abc}	15.96±0.30 ^{bc}	0.22±0.08 ⁱ	9.54±0.10 ^d	3.56±0.06 ^{ef}
10	50 (0)	18 (0)	90 (+2)	46.32±2.61 ^{de}	7.72±0.35 ^{bc}	16.78±0.30 ^b	0.04±0.01 ^j	23.07±2.76 ^a	2.16±0.08 ^h
11	50 (0)	30 (+2)	70 (0)	53.05±1.91 ^{abc}	7.97±0.35 ^{abc}	14.80±0.24 ^{de}	0.46±0.01 ^d	6.53±0.19 ^j	4.20±0.20 ^b
12	60 (+1)	12 (-1)	60 (-1)	54.51±5.05 ^{abc}	8.58±0.30 ^a	17.95±0.16 ^a	0.51±0.03 ^c	7.75±0.02 ^{fg}	3.98±0.11 ^{bc}
13	60 (+1)	12 (-1)	80 (+1)	54.10±4.07 ^{abc}	7.88±0.35 ^{abc}	15.51±0.21 ^{cd}	0.44±0.05 ^{de}	9.35±1.05 ^d	3.65±0.07 ^{de}
14	60 (+1)	24 (+1)	60 (-1)	57.83±3.76 ^{ab}	8.13±0.38 ^{abc}	18.42±0.54 ^a	0.93±0.04 ^a	5.87±0.04 ^j	5.04±0.19 ^a
15	60 (+1)	24 (+1)	80 (+1)	58.26±2.53 ^{ab}	8.32±0.34 ^{ab}	18.03±0.31 ^a	0.55±0.02 ^b	7.85±0.09 ^{fg}	4.02±0.01 ^{bc}
16	70 (+2)	18 (0)	70 (0)	57.54±3.80 ^{ab}	7.63±0.17 ^{bc}	16.13±0.67 ^{bc}	0.56±0.03 ^b	7.99±0.14 ^f	3.85±0.03 ^{cd}

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

²⁾Results were expressed as the average of triplicate samples with mean±SD (n=3).

³⁾Any means in the same column followed by the same letter are not significantly (p<0.05) different by Duncan's multiple range test.

광도를 측정할 때 셀에 분주되는 각 시료에 의한 흡광도의 차이는 methanol만의 흡광도를 측정하여 보정해 주었고, 이때 전자공여능은 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

ABTS cation decolorization assay에 의한 총 항산화력

처리조건에 따른 건대추 추출물의 총 항산화력은 ABTS cation decolorization assay방법(16)에 의하여 측정하였다. ABTS(2,2'-azino-bis-3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid, Sigma-Aldrich) 7.4 mM과 potassium persulphate 2.6 mM을 하루 동안 암소에 방치하여 ABTS 양이온을 형성시킨 후 이용액을 735 nm에서 흡광도 값이 1.4~1.5가 되도록 흡광계수($\epsilon=3.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 이용하여 메탄올로 희석하였다. 희석된 ABTS용액 1 mL에 추출액 50 μL 를 가하여 흡광도의 변화를 정확히 60분 후에 측정하였으며, 표준물질로서 L-ascorbic acid(Sigma-Aldrich)를 동량 첨가하였고, 총 항산화력은 AEAC(L-ascorbic acid equivalent antioxidant capacity)로 표현하였다.

통계분석

모든 데이터는 3회 반복 측정하였으며, mean±SD로 표현하였다. 또한 각각의 추출조건에서 얻어진 결과에 대한 통계분석은 SAS version 9.1(statistical analysis system, SAS Institute, Cary, NC, USA)을 이용하여 추출변수가 추출물의 수율 및 성분의 변화에 미치는 영향을 반응표면 분석법(response surface methodology, RSM)으로 분석하였다.

결과 및 고찰

건대추의 일반성분 및 추출수율

본 실험에 사용된 건대추의 수분함량을 측정된 결과 33.69%로 나타났으며, 단백질은 1.45%, 지질은 0.68%, 회분은 1.44%, 식이섬유 함량은 1.14%로 나타났다. 건대추를 중 심합성계획법으로 실험구간을 16구간으로 추출조건을 선정하여 각각의 조건에서 추출하여 추출수율 결과를 반응표면 분석을 실시한 결과 Table 1 및 Fig. 1에서 보는 바와 같이 40°C에서 24시간, 80% 에탄올로 추출한 건대추 추출물이 58.87%로 가장 높게 나타났으며, 반면 40°C에서 12시간, 60% 에탄올로 추출한 건대추 추출물이 44.28%로 가장 낮은 추출수율을 보였다. 건대추 추출물에 대한 추출수율에 대한 통계분석 결과는 Table 2와 같이 추출온도에 대한 영향이 가장 큰 것으로 나타났고(F-value: 4.08, p<0.01), 그 다음으로 추출용매의 농도(F-value: 3.27, p<0.05)가 추출수율에 영향을 미치는 것으로 나타났으며, 추출시간은 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났고 결정계수값 R²는 0.3998로 모델식이 적합하지 않았다(Table 3). 이는 추출온도 및 추출시간이 증가함에 따라 초기에는 수율이 어느 정도 증가하지만, 일정 수준에 도달하게 되면 초기와 비슷하거나 오히려 감소하는 경향을 보이기 때문이라고 생각된다. 또한 추출용매의 조성이 높아짐에 따라 수율이 증가하였으나 80% 에탄올보다 높은 용매 조성으로 추출할 경우에는 수율이 감소하였다. 또한 추출조건이 변하여도 수율이 크게 증가하거나 감소하기보다는 유사한 값을 보인 것도 통계분석결과 모델식이 적

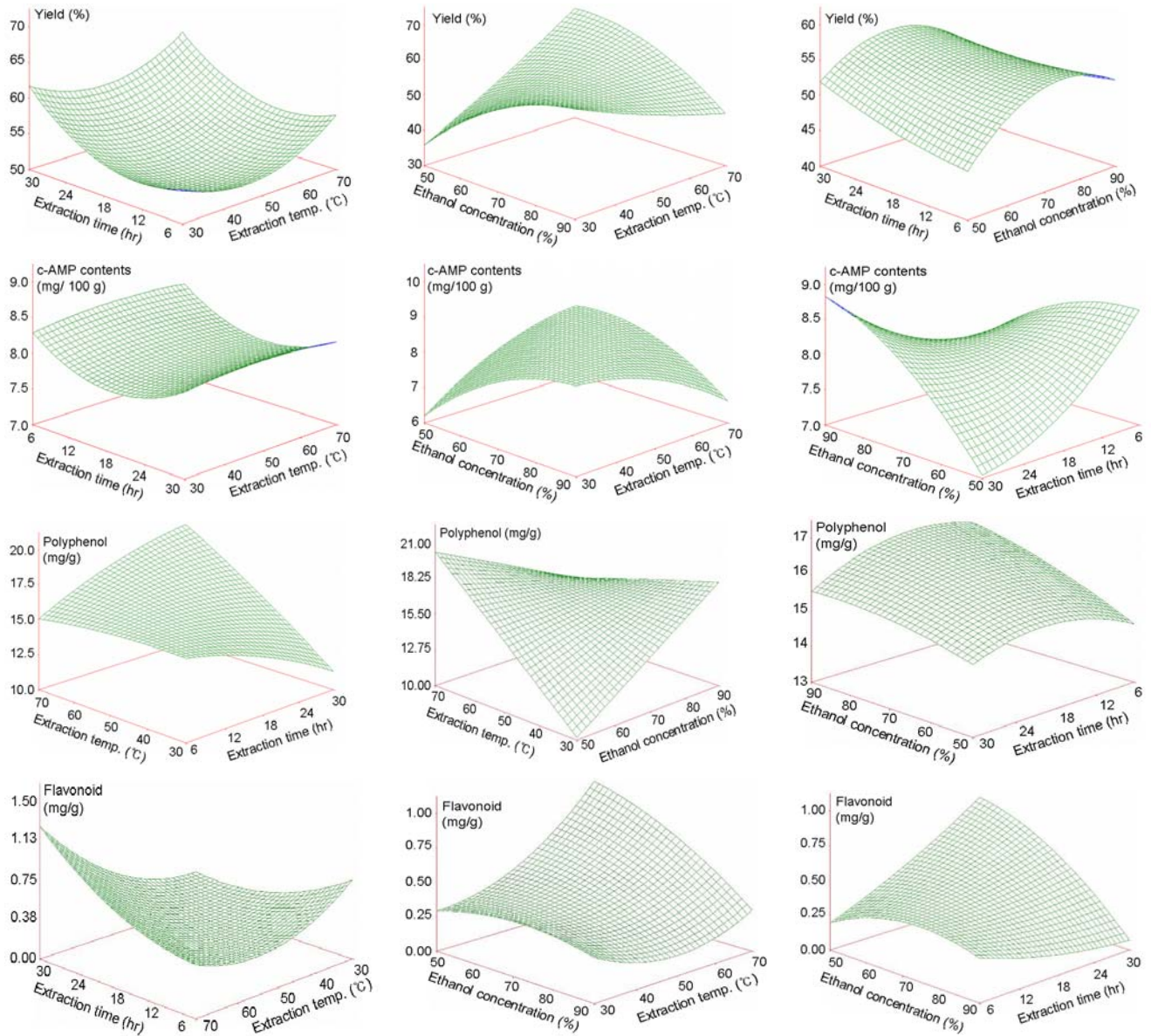


Fig. 1. Effect of extraction temperature, times and ethanol concentration on the yield, c-AMP, polyphenol, and flavonoid contents of extracts on dried jujube.

Table 2. Regression analysis for regression model of physiochemical properties in extraction condition of dried jujube

Response variables	F-value					
	Yield	c-AMP	Polyphenol	Flavonoid	IC ₅₀	AEAC
Extraction temperature	4.08**	2.19	35.28***	10.34***	1.40	11.46***
Extraction time	0.39	1.31	2.17*	6.49**	2.92*	10.02***
Ethanol concentration	3.27*	4.29***	7.05**	13.57***	26.51***	15.63***

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

합하지 못했던 원인이라 생각된다. 이는 추출온도에 따라 가용성 고형분의 함량이 증가하고, 낮은 추출온도에서는 추출시간이 증가할수록 가용성 고형분 함량이 증가한다는 Kang 등(17)의 보고와 유사하나, 동충하초 열수추출공정에서 추출온도에 영향을 받지 않는다는 Youn 등(18)의 결과와

는 상이하게 나타났다. Lim 등(19)은 마늘의 경우 에탄올 추출물의 가용성성분 함량은 microwave power 및 추출시간보다 에탄올의 농도가 큰 영향을 미치는 것으로 보고하였고 또한 Park 등(20)도 산국 에탄올 추출물의 가용성성분 함량은 에탄올의 농도가 큰 영향을 미치는 것으로 보고하였

Table 3. Polynomial equations calculated by response surface analysis program for extraction conditions of dried jujube

Response variables ¹⁾	Second order polynomials ²⁾	R ²
Extraction yield	$Y_{\text{yield}} = 33.08 - 2.58X_1 - 3.02X_1X_3$	0.3998
c-AMP	$Y_{\text{c-AMP}} = 815.54 - 23.05X_1X_3 + 17.57X_2X_3$	0.3688
Polyphenol	$Y_{\text{Polyphenol}} = 59.80 + 11.60X_1 + 2.75X_2 - 2.12X_1^2 - 5.06X_3^2$	0.8204
Flavonoid	$Y_{\text{Flavonoid}} = 14.20 + 5.17X_1 + 3.15X_2 - 4.31X_3 + 3.02X_1X_2 - 2.33X_1X_3 - 2.49X_2X_3 - 4.91X_3^2$	0.7438
IC ₅₀	$Y_{\text{EDA}} = 9.86 - 2.91X_2 + 9.05X_3 + 4.56X_3^2$	0.7844
AEAC	$Y_{\text{AEAC}} = 52.88 + 4.47X_1 + 1.44X_2 - 2.59X_1^2 + 2.94X_1X_2$	0.6787

¹⁾c-AMP: cyclic adenosine monophosphate, IC₅₀: sample concentration providing 50% inhibition of electron donating ability (EDA), AEAC: ascorbic acid equivalent antioxidant capacity.

²⁾X₁, extraction temperature (°C); X₂, extraction times (hr); X₃, ethanol concentration (%).

는데 본 연구에서는 낮은 온도에서는 에탄올의 농도가 증가할수록 수율이 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

c-AMP 함량

대추의 지표성분으로 알려진 c-AMP는 약리적 효과가 있다고 알려져 있으나 많은 채소류와 과일류 중에서 유일하게 대추에서만 활성을 보이고 있다(6). c-AMP는 다양한 hormone과 prostaglandin, 그리고 catecholamine 등의 분비에 관여하는 신호를 전달하는 세포내 2차 전달물질로 특히 기관지 천식과 allergy 반응에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(6,7). 추출조건별 건대추 추출물의 c-AMP 함량은 Table 1 및 Fig. 1과 같이 나타났다. 건대추 20 g에 80% 에탄올 100 mL을 가한 후 마쇄하여 40°C에서 24시간 교반 추출한 추출물에서 8.58 mg/100 g, 60% 에탄올, 12시간, 60°C에서 8.58 mg/100 g으로 가장 높은 c-AMP 함량을 보였으며, 50% 에탄올 100 mL을 가한 후 마쇄하여 50°C에서 18시간 교반 추출한 추출물에서는 7.39 mg/100 g으로 가장 낮은 함량을 보였다. 일반적으로 c-AMP 함량은 추출온도, 추출시간 및 에탄올의 농도가 증가할수록 증가하는 경향을 보였지만 큰 영향을 확인할 수 없었다(Fig. 1). 건대추 추출물에 대한 c-AMP 함량에 대한 통계분석 결과는 Table 2와 같이 추출온도와 시간에 대해서는 큰 영향을 받지 않는 것으로 나타났으며, 추출용매의 농도에 큰 영향을 받는 것으로 나타났고(F-value: 4.29, p<0.001) 결정계수값 R²는 0.4965로 모델식이 적합하지 않았다(Table 3). 이는 건대추의 c-AMP 함량은 추출온도, 추출시간, 에탄올의 농도에 크게 영향을 받지 않고 유사한 값을 보였기 때문이라고 생각된다.

총 폴리페놀 함량

추출조건별 건대추 추출물의 총 폴리페놀 함량은 Table 1 및 Fig. 1과 같이 나타났다. 건대추 20 g에 60% 에탄올 100 mL을 가한 후 마쇄하여 60°C에서 24시간 교반 추출한 추출물에서 18.42 mg/g으로 가장 높은 함량을 보였으며, 60% 에탄올 100 mL을 가한 후 마쇄하여 40°C에서 12시간 교반 추출한 추출물에서는 13.02 mg/g으로 가장 낮은 함량을 보였다. 건대추 추출물에 대한 폴리페놀 함량에 대한 통계분석 결과 Table 2와 같이 전체적으로 변수에 대해 유의적으로 영향을 받는 것으로 나타났으며, 추출온도(F-value:

35.28, p<0.001), 추출용매의 농도(F-value: 7.05, p<0.01), 추출시간(F-value: 2.17, p<0.05) 순으로 영향이 큰 것으로 나타났고 결정계수값 R²도 0.8204로 높은 값을 보여 모델식이 적합함을 알 수 있었다(Table 3). 소곡(21) 및 팽이버섯(22)의 에탄올 추출물에서 에탄올의 함량이 높을수록 총 페놀성 화합물의 함량이 증가하는 것으로 보고하였으며, 계피의 경우 70% 에탄올 추출물의 함량이 가장 높게 나타났다는 Kim 등(23)의 보고와 유사하지만, Choi 등(24)은 페놀성 화합물의 함량이 에탄올 농도가 낮을수록, 시료 용매비가 높을수록 그 함량이 증가하며, 에탄올의 농도보다는 시료 용매비에 더 큰 영향을 받는다고 보고하여 본 연구와는 상이한 경향을 나타내었다.

총 플라보노이드 함량

추출조건별 건대추 추출물의 총 플라보노이드 함량은 Table 1 및 Fig. 1과 같이 나타났다. 건대추 20 g에 60% 에탄올 100 mL을 가한 후 마쇄하여 60°C에서 24시간 교반 추출한 추출물에서 0.927 mg/g으로 가장 높은 함량을 보였으며, 90% 에탄올 100 mL을 가한 후 마쇄하여 50°C에서 18시간 교반 추출한 추출물에서는 0.036 mg/g으로 가장 낮은 함량을 보였다. 건대추 추출물에 대한 플라보노이드 함량에 대한 통계분석 결과는 Table 2와 같이 전체적으로 변수에 대해 유의적으로 영향을 받는 것으로 나타났으며, 추출용매의 농도(F-value: 13.57, p<0.001), 추출온도(F-value: 10.34, p<0.001), 추출시간(F-value: 6.49, p<0.01) 순으로 영향이 큰 것으로 나타났고 결정계수값 R²도 0.7438로 높은 값을 보여 모델식이 적합함을 알 수 있었다(Table 3). 건대추의 플라보노이드 추출은 추출시간보다는 추출온도나 추출용매의 농도에 큰 영향을 받았으며, 이는 물보다는 에탄올의 함량이 높을수록 플라보노이드의 함량이 증가한다는 Kim 등(23)의 보고와 유사한 경향을 나타내고 있다.

DPPH에 의한 전자공여능

천연물의 전자공여능은 활성 라디칼에 전자를 공여하고 식품 중의 지방질 산화를 억제하는 특성을 가지고 있으며, 인체 내에서는 활성 라디칼에 의한 노화를 억제시키는 역할을 하고 있으며, 라디칼 소거작용은 인체의 질병과 노화를 방지하는데 대단히 중요한 역할을 한다(25). 과채류에서

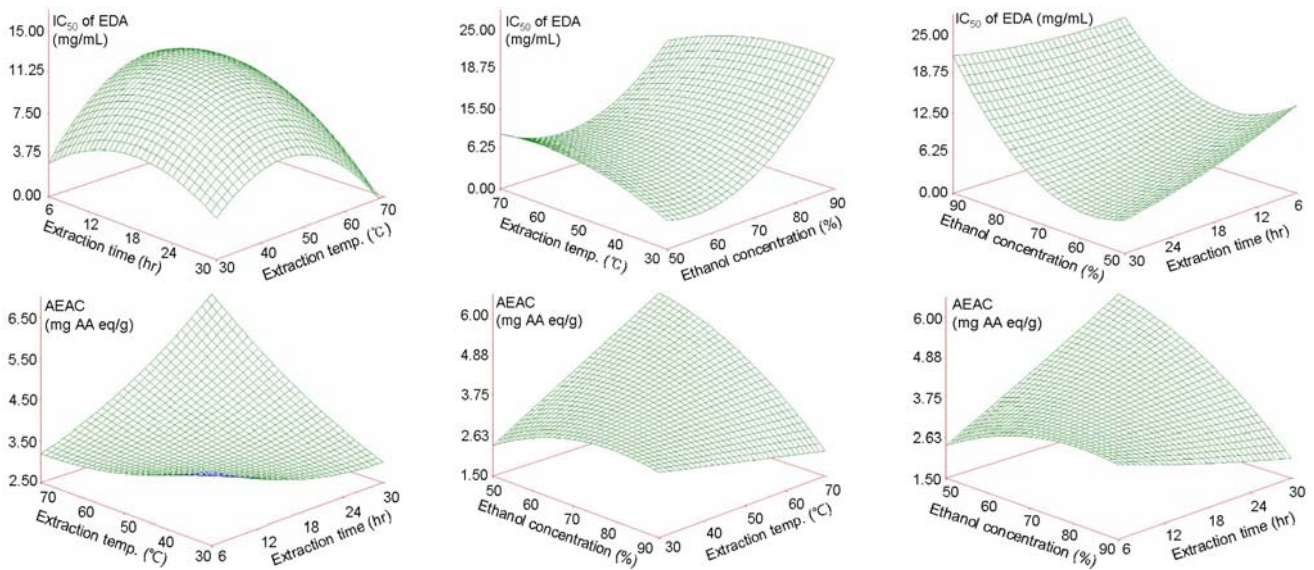


Fig. 2. Effect of extraction temperature, times and ethanol concentration on the IC_{50} of electron donating ability (EDA) by DPPH assay and ascorbic acid equivalent antioxidant capacity (AEAC) by ABTS cation decolorization assay of extracts on dried jujube.

DPPH 라디칼 소거활성과 phenolic 화합물의 농도는 큰 상관관계가 있는 것으로 보고하였다(26). 추출조건별 DPPH radical 소거활성(IC_{50})을 측정한 결과 Table 1 및 Fig. 2에서 보는 바와 같이 건대추 20 g에 60% 에탄올 100 mL을 가한 후 마쇄하여 40°C에서 24시간 교반 추출한 추출물에서 IC_{50} 값은 5.03 mg/mL로 가장 우수한 항산화활성을 보였으며, 90% 에탄올 100 mL을 가한 후 마쇄하여 50°C에서 18시간 교반 추출한 추출물에서는 23.07 mg/mL로 가장 낮은 항산화활성을 보였다. 건대추 추출물의 항산화활성에 대한 통계분석 결과 Table 2와 같이 추출온도에 대해서는 큰 영향을 받지 않는 것으로 나타났으며, 추출용매의 농도에 큰 영향을 받는 것으로 나타났고(F-value: 24.51, $p < 0.001$) 추출시간(F-value: 2.92, $p < 0.05$)에 대해서도 어느 정도의 영향을 받는 것으로 나타났으며, 결정계수값 R^2 는 0.7844로 높은 값을 보여 모델식이 적합함을 알 수 있었다(Table 3). 소국의 에탄올 추출물에서 에탄올의 함량이 높을수록 총 페놀성 화합물의 함량이 증가하며, 70% 에탄올 추출물의 그 함량이 가장 높게 나타났다는 Kim 등(23)의 보고와 유사하지만, Choi 등(24)은 페놀성 화합물의 함량이 에탄올 농도가 낮을수록, 시료 용매비가 높을수록 그 함량이 증가하며, 에탄올의 농도보다는 시료 용매비에 더 큰 영향을 받는다고 보고하여 본 연구와는 상이한 경향을 나타내었다.

ABTS cation decolorization assay에 의한 총 항산화력

산화는 살아있는 조직에서 에너지를 생산하기 위해 꼭 필요한 생물학적인 반응이나, 이 과정에서 발생한 자유라디칼은 세포를 손상시키고 이러한 반응이 연쇄반응을 일으켜 단백질, 조직화해, 유전적 손상, 질병 및 노화의 촉진 등에 관여하여 반응을 촉진시키는 것으로 알려져 있다(27). 각각의 추

출조건으로 추출한 건대추 추출물의 ABTS에 의한 총 항산화력을 측정한 결과는 Table 1 및 Fig. 2와 같이 나타났다. 건대추 20 g에 60% 에탄올 100 mL을 가한 후 마쇄하여 60°C에서 24시간 교반 추출한 추출물에서 5.04 mg AA eq/g로 가장 높은 활성을 나타냈으며, 90% 에탄올 100 mL을 가한 후 마쇄하여 50°C에서 18시간 교반 추출한 추출물에서는 2.16 mg AA eq/g로 가장 낮은 항산화활성을 보였다. 건대추 추출물의 항산화활성에 대한 통계분석 결과 Table 2와 같이 추출용매의 농도(F-value: 15.30, $p < 0.001$), 추출온도(F-value: 11.34, $p < 0.001$), 추출시간(F-value: 9.93, $p < 0.001$) 순으로 영향이 큰 것으로 나타났고 결정계수값 R^2 도 0.7438로 높은 값을 보여 모델식이 적합함을 알 수 있었다(Table 3). 이는 DPPH법에 의한 전자공여능과 유사한 이유에 의해 기인한 것으로 생각된다.

최적 추출조건 예측

각각의 추출조건에 따라 결과를 바탕으로 SAS program을 이용하여 추출변수가 추출물의 수율 및 성분의 변화에 미치는 영향을 반응표면분석법으로 최적 추출조건을 분석한 결과 Table 4와 같이 나타났다. 추출수율의 경우 추출온도 50.35°C, 추출시간 16.69시간, 에탄올 농도 72.88%에서 53.69%로 최적의 수치를 보이는 것으로 나타났으며, c-AMP 함량의 경우 45.80°C, 15.47시간, 73.12%에서 8.20 mg/100 g으로 최적 값을 나타내었다. 총 폴리페놀 함량은 64.91°C, 20.84시간, 66.91%에서 18.85 mg/g, 총 플라보노이드 함량은 57.36°C, 15.14시간, 71.08%에서 0.48 mg/g의 값을 보이는 것으로 나타났다. DPPH법에 의한 EDA의 IC_{50} 값은 52.25°C, 19.14시간, 79.81%에서 7.18 mg/mL를, ABTS법에 의한 AEAC는 56.09°C, 21.86시간, 65.36%에서 3.58 mg AA eq/g

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

Response variables	Independent variables ¹⁾			Maximum	Morphology
	X ₁	X ₂	X ₃		
Extraction yield (%)	50.35	16.69	72.88	53.69	Saddle point
c-AMP (mg/100 g)	45.80	15.47	73.12	8.20	Saddle point
Polyphenol (mg/g)	64.91	20.84	66.91	18.85	Saddle point
Flavonoid (mg/g)	57.36	15.14	71.08	0.48	Saddle point
IC ₅₀ (mg/mL)	52.25	19.14	79.81	7.18	Saddle point
AEAC (mg AA eq/g)	56.09	21.86	65.36	3.58	Saddle point

¹⁾X₁, extraction temperature (°C); X₂, extraction times (hr); X₃, ethanol concentration (%).

을 보이는 것으로 나타났다. 전체적으로 볼 때 건대추의 최적 추출조건은 추출온도 약 55°C, 추출시간 18시간, 에탄올 농도 70%의 조건으로 생각된다.

요 약

중심합성계획법으로 조건을 설정하여 건대추를 각각의 조건에서 추출하여 수율 및 이화학적 특성을 분석하여 반응 표면분석을 실시한 결과 추출수율에 대한 최적조건은 추출 온도 49°C, 추출시간 17시간 및 에탄올 농도 73%로 나타났다. 건대추 추출물의 지표성분인 c-AMP 함량은 50°C, 24시간, 80% 에탄올에서 8.92 mg/100 g으로 가장 높은 함량을 나타냈으며, 46°C, 15시간, 73% 에탄올에서 최적 추출조건을 가지는 것으로 나타났다. 건대추 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 추출하는 최적의 조건은 16개의 실험구간에서 60°C, 24시간, 60% 에탄올에서 각각 18.42 및 0.94 mg/g으로 나타났으며, 통계처리 결과 65°C, 21시간, 67% 에탄올에서 최적조건을 가지는 것으로 나타났다. 건대추 추출물의 항산화활성(IC₅₀)은 60°C, 12시간, 60% 에탄올에서 5.87 mg/mL로 가장 높은 활성을 보였다. 통계처리 결과 48°C, 16시간, 59% 에탄올에서 최적의 추출조건을 가지는 것으로 나타났으며, 총항산화력(AEAC)은 60°C, 24시간, 60% 에탄올에서 5.04 mg AA eq/g으로 가장 높은 활성을 보였고 통계처리 결과 48°C, 16시간, 71% 에탄올이 최적조건으로 나타났다. 전체적으로 볼 때 건대추의 최적 추출조건은 추출온도 약 55°C, 추출시간 약 18시간, 에탄올 농도 약 72%의 조건으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 지역특화기술혁신선도기업지원사업의 일환으로 진행된 연구의 일부로 연구비를 지원하여 주신 산업자원에 감사드립니다.

문 헌

1. Abbas MF, Al-Niami, Al-Ani RF. 1998. Some physiological characteristics of fruits of jujube different stage of matu-

- rity. *J Hort Sci* 63: 337-339.
2. Song J, Lee KS, Kang HA, Chang KS. 1998. Storage stability of fresh jujube fruits (*Zizyphus Jujuba* Miller). *J Korean Food Sci Technol* 30: 272-277.
3. Lee HB. 1987. Studies on the change of chemical components of dried jujube (*Zizyphus Jujuba* Miller) during storage. *PhD Dissertation*. Chungnam National University, Korea
4. Yook CS. 1972. Screening test on the components of the genus *Zizyphus* in Korea. *Korean J Pharmacog* 3: 27-29.
5. Lee DS, An DS. 1998. Effect of packaging conditions on keeping quality of fresh jujube. *J Korean Food Sci Technol* 30: 461-467.
6. Cyong JC, Hanabusa K. 1980. Cyclic adenosine monophosphate in fruits of *Zizyphus jujuba*. *Phytochem* 19: 2747-2748.
7. Cyong JC, Takahashi M. 1982. Identification of guanosine 3',5'-monophosphate in the fruit of *Zizyphus jujuba*. *Phytochem* 21: 1871-1874.
8. Na HS, Kim KS, Lee MY. 1996. Effect of jujube methanol extract on the hepatotoxicity in CCl₄-treated rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 839-845.
9. Rhee YK, Kim DH, Han MJ. 1998. Inhibitory effect of *Zizyphi fructus* on β -glucosidase and tryptophanase of human intestinal bacteria. *Korean J Food Sci Technol* 30: 199-205.
10. Yang CS, Landau JM, Hung MT, Newmak HI. 2001. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annu Rev Nutr* 21: 381-406.
11. Woo WS. 1984. *Study of natural compounds and chemistry*. Minum press, Seoul, Korea. p 45-47.
12. Lee JH, Lee SR. 1994. Analysis of phenolic substances content in Korean plant foods. *Korean J Food Sci Technol* 26: 310-316.
13. Woo WS. 2002. *Study of natural compounds and chemistry*. Seoul National University Press, Seoul, Korea. p 30-34.
14. Kwon SH, Cho KY. 1993. c-AMP content of *Zizyphus jujuba* fruits and its changes on the different drying method. *J Food Sci* 5: 15-20.
15. Dewanto V, Wu X, Liu RH. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50: 4959-4964.
16. Choi Y, Lee SM, Chun J, Lee HB, Lee J. 2006. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food Chem* 99: 381-387.
17. Kang KC, Park JH, Back SB, Jhin HS, Rhee KS. 1992. Optimization of beverage preparation from *Schizandra chinensis* Baillon by response surface methodology. *Korean J Food Sci Technol* 24: 74-81.
18. Youn KS, Jeong YJ, Lee GD, Shin SR, Ku JG. 2002. Optimization for hot water extraction process of *Cordyceps*

- militaris* using response surface methodology. *Korean J Food Preserv* 9: 184-188.
19. Lim TS, Do JR, Kwon JH, Kim HK. 2008. Extraction yields and functional properties of garlic extracts by response surface methodology. *Food Sci Biotechnol* 17: 379-383.
 20. Park NY, Lee GD, Jeong YJ, Kwon JH. 1998. Optimization of extraction conditions for physicochemical properties of ethanol extracts from *Chrysanthemum boreale*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 585-590.
 21. Park NY, Kwon JH, Kim HK. 1998. Optimization of extraction conditions for ethanol extracts from *Chrysanthemum morifolium* by response surface methodology. *Korean J Food Sci Technol* 30: 1189-1196.
 22. Kim HK, Kim MO, Choi MG, Kim KH. 2003. Optimization of microwave extraction conditions for *Flammulina velutipes* by response surface methodology. *Korean J Food Sci Technol* 35: 222-228.
 23. Kim NM, Yang JW, Kim WJ. 1993. Effect of ethanol concentration on index components and physicochemical characteristics of cinnamon extracts. *Korean J Food Sci Technol* 15: 282-287.
 24. Choi MA, Park NY, Woo SM, Jeong YJ. 2003. Optimization of extractions from *Hericium erinaceus* by response surface methodology. *Korean J Food Sci Technol* 35: 777-782.
 25. Kim SM, Cho YS, Sung SK. 2001. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. *Korean J Food Sci Technol* 33: 626-632.
 26. Choi I, Choi S, Nam B, Kim Y, Choi H. 2008. Contents of polyphenols and limonoids in citron (*Citrus junos* Sieb. ex Tanaka) seed extracts and their antioxidant properties. *Food Sci Biotechnol* 17: 373-378.
 27. Li JW, Ding SD, Ding XL. 2005. Comparison of antioxidant capacities of extracts from five cultivars of Chinese jujube. *Process Biochem* 40: 3607-3613.

(2008년 12월 8일 접수; 2009년 2월 5일 채택)