

## 양파껍질로부터 Flavonoid 물질의 추출조건 최적화

전선영 · 백정화 · 정은정 · 차용준<sup>†</sup>

창원대학교 식품영양학과

### Optimal Extraction Conditions of Flavonoids from Onion Peels via Response Surface Methodology

Seon-Young Jeon, Jeong-Hwa Baek, Eun-Jeong Jeong and Yong-Jun Cha<sup>†</sup>

Dept. of Food and Nutrition, Changwon National University, Gyeongnam 641-773, Korea

#### Abstract

The objective of this study was to set the optimal extraction condition of flavonoids from onion peels as a by-product generated from the onion industry without suitable processing. Four independent variables, affecting extraction conditions, which are solvent concentration ( $X_1$ ), extraction temperature ( $X_2$ ), pH of the solvent ( $X_3$ ), and solvent ratio to onion peel ( $X_4$ ) were optimized using response surface methodology (RSM). A model equation obtained from RSM is 0.772 of R-square and 0.278 of lack of fit ( $p>0.05$ ) for the optimal extraction conditions. From the ridge analysis, the conditions favoring the highest extraction were solvent concentration (v/v) of 70%, extraction temperature of 40°C, extraction solvent pH of 5.3, and a solvent ratio to onion peel ratio of 1:63 (w/v). The flavonoid content obtained under optimal conditions showed 302.63 mg/g, which is 1.12 times higher than the prediction value.

**Key words:** onion peel, total flavonoid, extraction condition, response surface methodology

#### 서 론

양파(*Allium cepa* L.)는 quercetin, quercitrin, rutin 등의 flavonoid 물질이 풍부한 대표적인 식품이다(1). Flavonoid는 과일, 야채, 견과류를 비롯한 식물의 줄기, 뿌리, 껍질에 분포하는 색소성분의 하나로서 diphenylpropane( $C_6-C_3-C_6$ )을 기본골격으로 한 phenolic 화합물의 총칭으로 다양한 생리학적 기능을 가지고 있다(2). 이러한 flavonoid는 유리상태로 존재하나 대개의 경우 당류와 결합한 배당체의 형태로 존재하고 있으며, 이 배당체를 형성하고 있는 당류는 산, 알칼리, 효소 등에 의해서 쉽게 가수분해되며, 배당체의 경우보다 유리 상태가 생리활성능력이 더 강한 것으로 알려져 있다(3,4).

양파에 주로 함유되어 있는 flavonoid로는 quercetin 4'-glucoside, quercetin 4',7'-diglycoside, quercetin 3,7'-diglycoside, quercetin 3,4'-diglycoside, quercetin aglycone, isorhamnetin monoglycoside, kaempferol monoglycoside가 있으며 약 80%가 quercetin diglycoside, monoglycoside, quercetin aglycone으로 존재한다. 양파의 가식부분에는 0.01%의 quercetin이 있으며 껍질겉으로 갈수록 함량이 높아져 양파 껍질 순무게의 6.5%에 달하는 quercetin이 있다(5,6). 또한

흰색보다는 색을 가진 마른 껍질이 특별히 flavonoid 함량이 높아 2.5~6.5%의 quercetin을 포함한다고 보고되고 있다(7). Bang과 Cho(8)는 양파껍질과 육질의 에탄올 추출구가 높은 항산화 활성을 가지며, 양파 에탄올 추출구가 혈장과의 총 지방, 중성지방, 총콜레스테롤의 농도 저하에 있어서 그 효과가 가장 높은 것으로 보고하였다(9). 또한 양파 메탄올 추출물에서는 유지에 대한 산화 안정성 시험 결과 항산화 효과가 뚜렷이 나타나 천연 항산화제로서의 이용 가능성이 매우 높다고 하였으며(10), 양파껍질 메탄올 추출물의 xanthine oxidase의 저해효과도 보고되고 있다(11).

양파는 대부분 조미료의 형태로만 소비되어지며, 국내 생산량 중 약 10% 정도가 가공품으로 이용되고 있다(12). 그러나 가공 형태 역시 단체급식의 위생화, 소비자의 신선식품 선호 등의 추세로 인해 대부분 껍질이나 뿌리를 절단한 간 양파와 같은 1차 가공형태로 유통되어지며 가공 후 발생하는 껍질과 뿌리는 부산물로서 사료로 이용하거나 일부는 폐기되고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 양파가공부산물인 양파껍질로부터 기능성식품 소재를 개발하고자 반응표면분석법을 이용해 유효성분인 flavonoid 물질의 최적 추출조건을 설정하고자 하였다.

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: yjcha@changwon.ac.kr  
Phone: 82-55-213-3513, Fax: 82-55-281-7480

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에서 사용된 양파가공부산물물은 2008년 하반기부터 2009년 상반기까지 경남 창녕군에 소재한 모곡농산과(주)뉴푸드에서 수거하였으며, 수거한 시료를 실험실로 운반하여 혼입된 이물질과 협잡물을 수작업으로 제거하고 양파껍질만을 선별하여 수세한 다음 채반에 넣어 자연 건조시킨 것을 실온에 한 달간 보관하면서 사용하였다. 추출용매는 95% 발효주정((주)우리주정, 부산, 한국)을 사용하였으며, 추출용매의 pH 조절은 식품첨가물인 citric acid(이화산업(주), 서울, 한국)로 하였다.

### 일반성분 및 무기질 분석

원료로 사용된 양파껍질의 일반성분은 AOAC(13)법에 따라 수분은 상압 가열건조법, 조회분은 직접 회분법, 조단백은 semi-micro Kjeldahl법 및 조지방은 Soxhlet 추출법으로 분석하였다.

무기질 분석은 식품공전(14)에 따라 Ca, Fe, K, P, Na 및 Mg 총 6종을 선정하여 습식분해법을 이용하여 시료를 전처리한 다음 ICP-AES(Inductively coupled plasma-atomic emission spectrometer, Varian Liberty RC, Warrington, Australia)로 분석하였다.

### 양파껍질로부터 flavonoid 물질의 추출

양파껍질로부터 flavonoid물질 추출조건의 최적화를 위하여 수세 후 건조한 양파껍질에 추출용매농도(% v/v), 추출온도(°C), 추출용매의 pH, 원료에 대한 추출용매비율(w/v)을 조정하였다. 추출시간은 예비실험을 통해 2시간으로, 항온수조를 사용하여 추출온도와 시간의 일정한 조건을 유지시켰으며 교반속도는 150 rpm으로 고정하여 추출하였다. 추출 후 여과지(Whatman No.2, Whatman Ltd., Maidstone, England)를 사용하여 양파껍질을 제거하였고, 여액을 회전식감압농축기(Eyela N-1000, Osaka, Japan)로 50°C에서 추출용매를 제거하여 최종 50 mL이 되도록 하여 total flavonoid 함량을 측정하였다.

### 반응표면분석법에 의한 최적 추출조건의 실험

양파껍질로부터의 flavonoid 물질을 추출하기 위하여 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)(15)을 사용하였다. 예비실험을 통하여 얻어진 결과로부터 추출용매의 농도(% v/v), 추출온도(°C), 추출용매의 pH, 원료에 대한 추출용매비율(w/v)을 독립변수로 하여 Table 1과 같이 code화(-1에서 +1)하여, 중심합성계획법에 따라 작성하

Table 1. Coded level of independent variables in experimental design

Independent variables	Code level		
	-1	0	1
Solvent concentration (% v/v)	50	60	70
Extraction temperature (°C)	30	40	50
pH of solvent extraction	4	5	6
Solvent ratio to onion peel (w/v)	1:45	1:60	1:75

였다(16). 즉, fractional 2<sup>4</sup> factorial design(16점), star point(8점) 및 central point(3점)로 총 27점의 실험구간을 설정하여 무작위로 수행하였으며 종속변수는 total flavonoid 함량(mg/g)으로 하였다. 모든 실험결과는 SAS (Statistical Analysis System) program(version 8.0, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)(17)을 이용하여 통계 분석하였으며 3차원 반응표면도를 SAS/GRAPH의 G3GRID와 G3D절차를 사용하여 zero lever에서 두 독립변수간의 상관성을 검토하였다.

### Total flavonoid 함량 분석

Total flavonoid의 분석은 건강기능식품공전(18)에 따라, 추출물에 90% ethanol을 가하여 용해한 뒤 원심분리 하여 상등액을 취하고, 잔류물은 80% ethanol로 3회 반복 추출한 후 전량 50 mL로 정용한 것을 시험용액으로 하였다. 시험용액 0.5 mL를 시험관에 취하고 ethanol 1.5 mL, 10% aluminum nitrate 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL, 증류수 2.8 mL를 가하여 실온에서 40분간 방치 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 total flavonoid 함량은 quercetin (Sigma Co., St. Louis, MO, USA)을 이용하여 작성한 표준검량선으로부터 함량을 구하였다.

## 결과 및 고찰

### 양파껍질의 일반성분 및 무기질 함량

양파가공부산물인 양파껍질의 일반성분을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 수분 4.68%, 회분 6.67%, 조단백질 및 조지방이 각각 5.03%, 0.71%이었다. Bang과 Cho(8)는 양파껍질의 50.4%가 당질(nonfibrous)을 함유하고 있고 지방 1.48%, 회분 4.99%이라고 하였다.

양파껍질의 무기질 함량을 분석한 결과(Table 3), Ca이 20.07 g/kg으로 가장 많은 함량을 차지하였고, 다음으로 K이 5.54 g/kg, Mg이 2.17 g/kg의 순으로 많았다. 그리고 Na은 1.65 g/kg, Fe은 1.03 g/kg, P은 0.18 g/kg이었다. 양파의 주요 무기성분은 K, Na, Ca 및 P로 보고한 Jeong 등(19)의 결과와 비교하여 볼 때, 양파는 지역이나 종에 따라 무기질

Table 2. Proximate composition of onion peel

	Moisture	Crude ash	Crude protein	Crude fat
Onion peel	4.68±0.04 <sup>1)</sup>	6.67±0.04	5.03±0.28	0.71±0.30

<sup>1)</sup>Mean values±SD (n=3).

(%, w/w)

Table 3. Mineral contents of onion peel

	Mineral					
	Ca	Fe	Mg	K	P	Na
Onion peel	20.07±2.78 <sup>1)</sup>	1.03±0.30	2.17±0.19	5.54±0.34	0.18±0.03	1.65±0.05

<sup>1)</sup>Mean values±SD (n=9).

의 조성에서 차이가 나며, 본 연구에서는 양파껍질만을 취하였으므로 그 함량에 다소 차이를 보인 것으로 사료된다.

반응표면분석법에 의한 양파껍질로부터 flavonoid 물질의 최적 추출조건

양파껍질로부터 최적 추출조건을 얻기 위해 Table 1 및 4에서 디자인한 중심합성계획법에 따라 얻어진 27개의 실험값을 통계 처리하여 total flavonoid 함량으로 그 결과 값을 나타내었다(Table 4). 전체적인 모형(total regression)이 유의성을 보였으며(p<0.05), 결정계수(R<sup>2</sup>)는 0.772, 적합결여 검증(lack of fit, p>0.05)에서는 0.278로 설계된 반응모형이 적합한 것으로 판단되었다(Table 5, 6). 그러나 반응모형 중에서 일차항(linear)만이 유의한 것(p<0.05)으로 나타나 회귀방정식에서 일차항을 제외하고는 불필요하다 할 수 있으

Table 4. Central composite design consisting of 27 experiments for the study of four experimental factors in coded units

Treatment No.	Independent variables <sup>1)</sup>				Dependent variables Total flavonoids (mg/g)
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	
1	-1	-1	-1	+1	210.38 <sup>2)</sup>
2	-1	-1	+1	-1	231.71
3	-1	+1	-1	-1	155.43
4	-1	+1	+1	+1	205.04
5	+1	-1	-1	-1	223.91
6	+1	-1	+1	+1	277.78
7	+1	+1	-1	+1	227.59
8	+1	+1	+1	-1	215.94
9	-1	-1	-1	-1	215.96
10	-1	-1	+1	+1	187.04
11	-1	+1	-1	+1	204.96
12	-1	+1	+1	-1	187.04
13	+1	-1	-1	+1	205.75
14	+1	-1	+1	-1	262.50
15	+1	+1	-1	-1	192.78
16	+1	+1	+1	+1	288.46
17	-1	0	0	0	207.41
18	+1	0	0	0	262.90
19	0	-1	0	0	197.83
20	0	+1	0	0	220.72
21	0	0	-1	0	153.19
22	0	0	+1	0	237.14
23	0	0	0	-1	219.77
24	0	0	0	+1	213.46
25	0	0	0	0	254.55
26	0	0	0	0	252.13
27	0	0	0	0	229.00

<sup>1)</sup>Abbreviation: X<sub>1</sub>=solvent concentration (% v/v), X<sub>2</sub>=extraction temperature (°C), X<sub>3</sub>=pH of solvent extraction, X<sub>4</sub>=solvent ratio to onion peel (w/v).

<sup>2)</sup>Mean value (n=3).

나 전체적인 모형에서 유의성을 보기 때문에 전체 반응모형 방정식을 작성하면 Table 6과 같다.

Total flavonoid 함량에 영향을 미치는 두 독립변수 상호 간의 상관관계를 알아보기 위해 나머지 다른 변수들을 zero level에 둔 상태로 두 변수 간의 3차원 반응표면도를 Fig.

Table 5. Model coefficients estimated by multiple linear regression for the optimal extraction of flavonoid from onion peel

Factor	Coefficients
Constant	225.897
Linear	
X <sub>1</sub>	19.707*
X <sub>2</sub>	-6.41
X <sub>3</sub>	16.701*
X <sub>4</sub>	6.528
Quadratic	
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	18.923
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	-7.207
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	-21.067
X <sub>4</sub> <sup>2</sup>	0.383
Cross product	
X <sub>2</sub> ×X <sub>1</sub>	3.096
X <sub>3</sub> ×X <sub>1</sub>	10.789
X <sub>3</sub> ×X <sub>2</sub>	0.663
X <sub>4</sub> ×X <sub>1</sub>	5.318
X <sub>4</sub> ×X <sub>2</sub>	14.379*
X <sub>4</sub> ×X <sub>3</sub>	0.163
Model	
Linear	0.005*
Quadratic	0.462
Crossproduct	0.176

\*p<0.05.

Abbreviation: X<sub>1</sub>=solvent concentration (% v/v), X<sub>2</sub>=extraction temperature (°C), X<sub>3</sub>=pH of solvent extraction, X<sub>4</sub>=solvent ratio to onion peel (w/v).

Table 6. Polynomial equation calculated by RSM program for the optimal extraction of flavonoid from onion peel

Second order polynomials	
$Y = 225.897 + 19.707X_1 - 6.471X_2 + 16.701X_3 + 6.528X_4 + 18.923X_1^2 - 7.207X_2^2 - 21.067X_3^2 + 0.383X_4^2 + 3.096X_2X_1 + 10.789X_3X_1 + 0.633X_3X_2 + 5.318X_4X_1 + 14.379X_4X_2 + 0.163X_4X_3$	
R <sup>2</sup>	0.772
Total regression (>F)	0.036*
Lack of fit	0.278
Canonical equation	
$\hat{y} = 223.684 + 20.249\omega_1^2 + 4.107\omega_2^2 - 11.536\omega_3^2 - 1.789\omega_4^2$	

\*p<0.05.

Abbreviation: Y=total flavonoid (mg/g, dry base), X<sub>1</sub>=solvent concentration (% v/v), X<sub>2</sub>=extraction temperature (°C), X<sub>3</sub>=pH of solvent extraction, X<sub>4</sub>=solvent ratio to onion peel (w/v).

1에 나타내었다. 추출용매의 농도가 64~70% 부근에서는 추출온도와 상관없이 total flavonoid 함량이 증가하였고 (Fig. 1(a)), 추출용매의 농도(%)와 추출용매의 pH와의 관계에서는 상관성을 보여 추출용매 65~70% 농도 구간에서 추출용매의 pH를 5.3~6.0으로 반응시켰을 때 total flavonoid 함량이 최대 260.78 mg/g를 나타내었다(Fig. 1(b)). 추출용매의 농도(%)와 원료에 대한 추출용매 비율(w/v)에 대한 상관관계에서는 추출용매의 농도가 50%에서 70%로 증가할수록 원료에 대한 추출용매 비율에 관계없이 total flavonoid 함량이 증가하였다(Fig. 1(c)). 추출온도(°C)와 추출용매의 pH에서는 추출온도가 50°C에서 30°C로 낮아질수록, 추출용매의 pH는 4에서 6으로 증가할수록 total flavonoid 함량이 증가하였고(Fig. 1(d)), 원료에 대한 추출용매 비율에서는 추출온도 30°C~36°C 사이와 추출용매 비율이 1:45~1:50 구간과 추출온도 35°C~45°C 구간과 추출용매 비율이 1:62~1:75에서 최대 total flavonoid 함량을 나타내었다(Fig. 1(e)). 추출용매의 pH와 원료에 대한 추출용매 비율과의 관계에서는 원료에 대한 추출용매 비율에 관계없이 pH가 증가할수록 함량이 증가하였다(Fig. 1(f)). 따라서 양과검질로부터 최대 total flavonoid 함량을 추출하기 위해서는 추출용매의 농도(%)와 pH에 대한 영향이 큰 것으로 나타났다. Lim 등(20)은 양과의 기능성분 추출을 위한 최적화 조건에서 추출용매의 농도에 영향을 받는다고 하였으며, 팽이버섯 및 소곡 추출물에서 추출용매의 농도가 높을수록 총 페놀성 화합물의 함량

이 증가한다고 보고하였다(21,22). 또한 건대추에서 플라보노이드 추출은 온도나 용매의 농도에 큰 영향을 받았다고 보고하여 본 연구와 유사한 경향을 보였다(23).

한편 위의 반응모형 방정식을 정준형식(canonical form)으로 변환시켰을 경우 Table 6과 같다. 정준형식을 통해 순수 이차항들의 계수는 해당요인 변수의 고유값이 되므로 정상점에 대해 반응표면이 어떠한 능선형태인지를 판별할 수 있으며, 가장 영향력이 큰 요인변수를 해석할 수 있게 된다(24). 본 실험에서는 고유 값(eigenvalues)들의 부호가 양수와 음수가 같이 존재하고 있어 정상점(stationary point)에서의 total flavonoid 함량은 223.68 mg/g로 정상점은 안장점(saddle point)을 나타내고 있었다. 따라서 위에서 얻어진 예상 total flavonoid 함량은 최고점이라 할 수 없으며, 최대의 total flavonoid 함량을 얻을 목적으로 능선분석(ridge analysis)을 수행하였다. 그 결과 본 실험에서 설정한 영역 내에서 추정되는 최대점은 반경 1.0에서 total flavonoid 함량이 269.31 mg/g로 예측되었으며, 예측되는 최대점의 조건으로 양과검질을 추출하여 실제 total flavonoid 함량을 측정하였다. 그 결과 total flavonoid 함량이 302.63 mg/g로 나타났으며 예측치보다 1.12배 높은 함량을 얻었다. 따라서 이 점을 반응표면분석에 의한 최대의 total flavonoid 함량을 나타내는 조건으로 설정하였으며, 이 최대점을 만족하는 각 변수의 조건은 추출용매의 농도 70%, 추출온도 40°C, 추출용매의 pH 5.3, 원료에 대한 추출용매의 비율은 1:63(w/v)이었다.

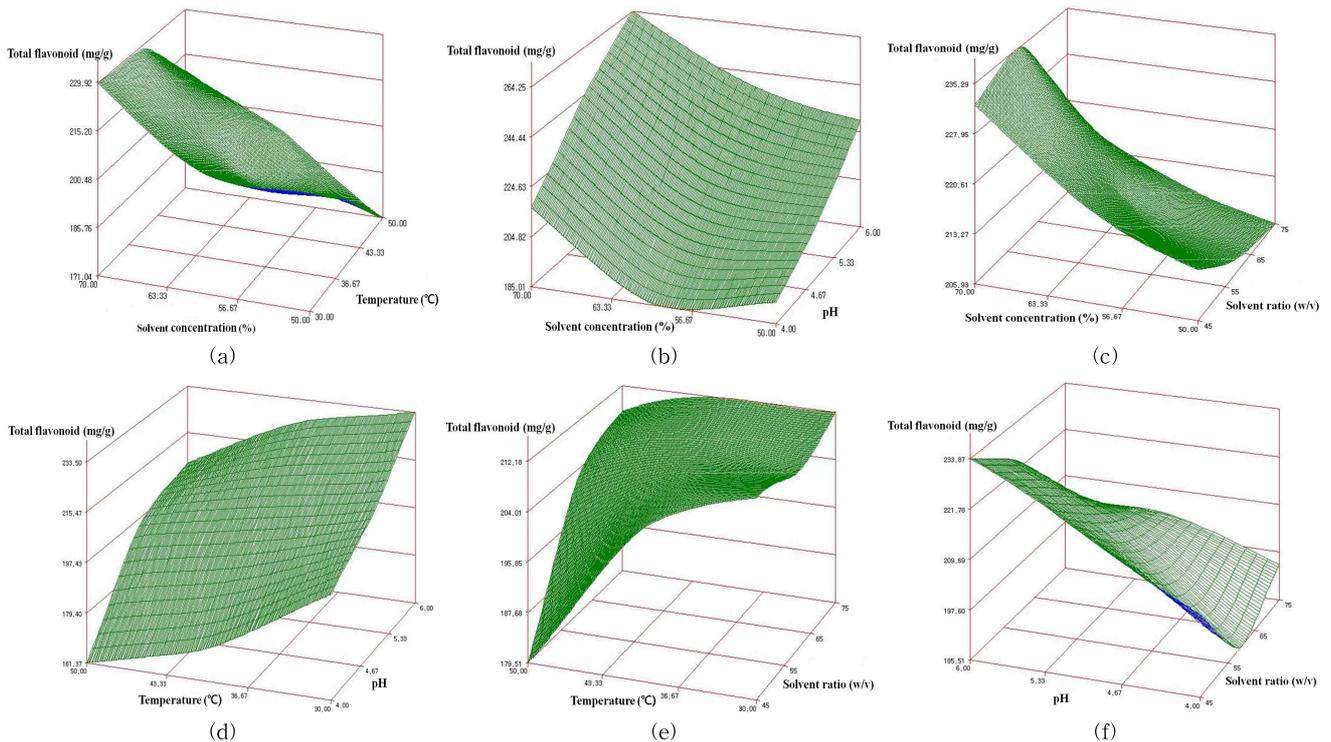


Fig. 1. Response surface plots for the effect of two independent variables on extraction of flavonoid from onion peel. (a) solvent concentration (%) and temperature (°C), (b) solvent concentration (%) and pH, (c) solvent concentration (%) and solvent ratio to onion peel (w/v).

본 논문에서의 양파껍질로부터 반응표면분석을 통한 최적 추출조건은 실험실 규모로 기능성 물질의 추출 측면에서 다소 결정계수( $R^2$ )가 낮은 경향을 보였으나 산업화를 위한 plant 단위로 제조 시에는 생산단위의 증가, 제조기기의 용량 및 조건, 추출용매의 비용 등 추출물에 대해 고려되어지는 특성에 따라 다소 변화되어질 수 있을 것으로 판단된다. 이에 가공부산물로 발생한 양파껍질로부터 위의 추출조건으로 추출물을 제조한다면 보다 높은 flavonoid 물질을 얻을 수 있을 것이라 사료된다.

## 요 약

본 연구에서는 양파가공부산물인 양파껍질로부터 반응표면분석법을 이용하여 유효성분인 flavonoid 물질의 최적 추출조건을 설정하고자 하였다. 양파껍질의 일반성분은 수분 4.68%, 회분 6.67%, 조단백질 및 조지방이 5.03%, 0.71%이었고, 무기질은 Ca이 20.07 g/kg으로 가장 많은 함량을 차지하였고 K이 5.54 g/kg, Mg 2.17 g/kg의 순으로 함량이 많았다. 중심합성계획법에 의한 flavonoid 물질의 최적 추출조건은 다중회귀분석 및 능선분석 결과, 결정계수는 0.772이었으며, 적합결여검증( $p>0.05$ )에서는 0.278, 전체적인 모형에서 유의성( $p<0.05$ )을 보여 반응모형이 적합한 것으로 판단되었다. 따라서 최대점을 만족하는 각 변수의 조건은 추출용매의 농도는 70%, 추출온도 40°C, 추출용매의 pH 5.3, 원료에 대한 추출용매의 비율은 1:63(w/v)이었다.

## 감사의 글

본 연구는 지식경제부 지원연구산업육성사업(2008-2010)인 창녕양파바이오특화사업단의 연구지원(B0010704)으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 문 헌

1. Augusti KT. 1996. Therapeutic values onions (*Allium cepa* L.) and garlic (*Allium sativum* L). *Indian J Exp Biol* 34: 634-640.
2. Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy C, Jimenez L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 79: 727-747.
3. Bilyk AD, Sapers GM. 1985. Distribution of quercetin and kaempferol in lettuce, kale, chive, garlic chive, leek, horseradish, red radish and red cabbage tissues. *J Agric Food Chem* 33: 226.
4. Kumamoto H, Matsubara Y, Iizuka Y, Okamoto K. 1985. Structure and hypotensive effect of flavonoid glycosides in Kinkan (*Fortunella japonica*) peelings. *Agric Biol Chem* 49: 2613-2618.
5. Leighton T, Ginther C, Fluss L, Harter WK, Cansado J, Nortario V. 1992. Molecular characterization of quercetin and quercetin glycosides in allium vegetables. In *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II*. ACS, Washington, DC, USA. p 220.
6. Hermann K. 1976. Flavonoids and flavones in food plants: a review. *J Food Tech* 11: 433-488.
7. Bilyk AD, Cooper PL, Sapers GM. 1984. Varietal differences in distribution of quercetin and kaempferol in onion (*Allium cepa* L.) tissue. *J Agric Food Chem* 32: 274-276.
8. Bang HA, Cho JS. 1998. Antioxidant effects on various solvent extracts from onion peel and onion flesh. *J Korean Diet Assoc* 4: 14-19.
9. Bravo L, Abia R, Eastwood MA, Saura-calixto F. 1994. Degradation of polyphenols (catechin and tannic acid) in the rat intestinal tract. Effect on colonic fermentation and fecal output. *Br J Nutr* 71: 933-946.
10. Kwak HJ, Kwon YJ, Jeong PH, Kwon JH, Kim HK. 2000. Physiological activity and antioxidative effect of methanol extract from onion (*Allium cepa* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 349-355.
11. Ra KS, Bae SH, Son HS, Chung SH, Suh HJ. 1998. Inhibition of xanthin oxidase by flavonols from onion skin. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 693-697.
12. Jang HS. 2009. Quality stability of concentrated onion extracts having biological activity during storage. *MS Thesis*. Changwon National University, Changwon, Korea. p 4.
13. AOAC. 1995. Official methods of analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. p 69-74.
14. KFDA. 2009. *Korea Food Code*. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea. p 676-683.
15. Gontard N, Guilbert S, Cuq JL. 1992. Edible wheat gluten film in influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *J Food Sci* 57: 190-196.
16. Lee GD, Lee JE, Kwon JH. 2000. Application of response surface methodology in food industry. *Food and Industry* 33: 33-45.
17. SAS Institute, Inc. 1990. *SAS User's Guide*. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA.
18. KFDA. 2008. *Health functional food code*. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea. Vol III, p 3.6.3-1.2.
19. Jeong CH, Kim JH, Shim KH. 2006. Chemical components of yellow and red onion. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 708-712.
20. Lim TS, Do JR, Kwon OJ, Kim HK. 2007. Monitoring on extraction yields and functional properties of onion (*Allium cepa*) extracts by using response surface methodology. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 105-110.
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. Woo KS, Lee SH, Noh JW, Hwang IG, Lee YR, Park HJ, Lee JS, Kang TS, Jeong HS. 2009. Optimization of extraction conditions for dried jujube by response surface methodology. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 224-251.
24. Seong NK. 1991. *SAT/STAT-Regression analysis*. 3rd ed. Free Academy, Seoul, Korea. p 214-215.