

흑대추와 일반 건조대추의 추출 및 유산발효과정 중 특성 변화

어미선¹ · 김이슬¹ · 안승준¹ · 안준배² · 김광엽^{1*}

¹충북대학교 식품공학과

²서원대학교 외식산업학과

Comparison of Property Changes of Black Jujube and *Zizyphus jujube* Extracts during Lactic Acid Fermentation

Mi Sun Auh¹, Yi Seul Kim¹, Seung Joon Ahn¹, Jun Bae Ahn², and Kwang Yup Kim^{1*}

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

²Dept. of Food Service Industry, Seowon University, Chungbuk 361-742, Korea

Abstract

This study was carried out to investigate the characteristics of black jujube and *Zizyphus jujube* extracts during lactic acid fermentation. Both extracts were fermented using *Lactobacillus fermentum* YL-3. As a result, viable cell number rapidly increased until 24 hours, after which it gradually decreased. Before lactic acid fermentation, the IC₅₀ of black jujube, which was 0.014 mg/mL, was lower than that of *Zizyphus jujube*. Further, black jujube showed stronger antioxidant activity (374.21 mg AA eq/g) than *Zizyphus jujube*. Contents of total polyphenolics in both extracts were 15.46 mg/g and 13.61 mg/g, respectively, whereas contents of total flavonoids were 374.21 µg/g and 64.25 µg/g. After lactic acid fermentation, there was no significant increase in DPPH or ABTS free radical scavenging activity. Total polyphenolic content of *Zizyphus jujube* decreased to 12.39 mg/g upon fermentation, whereas flavonoid content significantly increased to 291.58 µg/g. Further, polyphenolic and flavonoid contents of black jujube increased from 15.46 mg/g to 17.46 mg/g and from 374.21 µg/g to 1,135.29 µg/g, respectively. These results demonstrate that 9-Times Steamed and Dried increased functional components. Especially, lactic acid fermented black jujube showed remarkably high antioxidant activity. These results confirm the potential use of lactic acid fermented black jujube as a valuable resource for the development of functional foods.

Key words: 9-times steamed and dried, jujube extracts, black jujube, lactic acid fermentation, antioxidant activity

서 론

구증구포(九蒸九泡)란 약재를 찜통이나 시루 속에 넣어 격수하고 가열함으로써 수열과 증기를 이용하여 약재를 증제하는 방법인 증제법을 9번 반복 시행하는 것으로 그 목적은 약성을 변화시켜 치료효과를 높이고 가공이나 절편, 저장 하기에 편리하도록 하는데 있다. 현재까지 구증구포를 통한 약효 증강에 대한 연구를 보면 생지황을 구증구포 하여 숙지황으로 제조 시 당이 증가되고 약성변형을 유도한 rat의 치료효능이 증수가 높아질수록 증가됨을 확인할 수 있었다. 그리고 인삼을 구증구포 한 흑삼의 ginsenoside의 함량은 감소되거나 ginsenoside-Rg3의 함량이 증가되며, 또한 streptozotocin-유도 당뇨병 모델 마우스의 혈당강하 효과도 유의성이 있음이 밝혀졌으며, 흑삼의 산성 다당체는 구증구포 처리 시 초기에는 증가하나 5차 이후에는 감소하고 폐쇄성 물질 중 maltol의 함량은 5, 7 및 9차가 진행될수록 소량 감소

되는 것을 알 수 있었다. 그리고 DPPH를 이용한 항산화능, 과산화 저해능 분석 결과, 7차 증포까지는 증가하나 9차에는 감소하는 것으로 보고되는 등 다양한 특성이 밝혀지고 있다. 구증구포를 이용하는 대표적인 약재들로 인삼, 숙지황, 하수오, 황정 등이 있는 반면 대추를 구증구포 한 보고는 없는 실정이다(1-4).

대추(*Zizyphus jujuba* Miller)는 갈매나무과(Rhamnaceae), *Zizyphus* 속 낙엽과수로 약 40여종의 품종과 400여종의 변종이 있는 것으로 알려져 있다. 대추는 옛날부터 자양강장, 이뇨제, 견이통 완화제, 만성기관지염, 거담제, 결핵, 위의 허한증을 치료하는 등의 한방약재로서 또는 과실의 한 종류로 널리 사용되어 왔으며, 최근 건강에 대한 관심이 높아짐에 따라 약용과 기능성식품 재료로서의 인기가 높아지고 있다. 또한 대추는 약용성분과 기능성 성분을 많이 함유하고 있음에도 불구하고 과용에 따른 부작용이 없는 식품재료로서 그 용도가 매우 넓어지고 있다(5-7). 대추의 성분으

*Corresponding author. E-mail: kimky@chungbuk.ac.kr
Phone: 82-43-261-2568, Fax: 82-43-271-4412

로는 당질과 ascorbic acid가 다량 함유되어 있고, 약용성분으로는 과일 중 sterols, alkaloids, saponins, vitamins, 유기산류, 아미노산류 등이 보고되었으며, 종자의 성분으로는 주로 oleic acid, linoleic acid의 불포화 지방산으로 이루어진 지방유와 saponin, ebelin lactone 등이, 잎의 성분으로는 flavonoids, alkaloids, vitamin C 및 rutin 등이 함유되어 있다고 보고되어 뇌출혈과 고혈압의 예방 등 순환기 계통의 건강 유지에 그 약리효과가 크게 기대된다. 대추는 수확기간이 약 10일 정도로 아주 짧고 수확 후 생대추 상태로의 저장성이 좋지 못하여 수확 후 바로 건조시킨 상태로 저장, 유통되고 있다(8-10). 이에 따라 대추를 활용한 여러 가지 가공식품이 다양하게 연구되고 있으며 한약재들과 혼합한 약술·발효액, 대추추출액 및 향을 가미한 음료 등이 개발되어지고 있다. 하지만 발효를 통한 음료의 개발은 미비한 실정이다.

유산균은 유산발효를 하여 식품의 부패를 방지하고, bacteriocin과 같은 항균물질을 분비하여 식중독균을 억제하며 사람의 장내 pH를 낮추어 장내 부패세균의 증식을 억제하는 등의 효과를 가지는 미생물로 알려져 있다. 특히, *Lactobacillus fermentum*은 혈당강하, 항산화, 과산화지질 생성 억제 및 콜레스테롤 저하 효능을 가지는 균주이다. 국내 건강한 산란계의 맹장으로부터 생균제로서의 기능을 할 수 있는 유산균으로서 선발된 *Lactobacillus fermentum* YL-3는 내산성, 내담즙성, 내열성, 병원성균 성장 억제 능력 등의 시험을 거쳐 선별된 가장 성상이 우수한 균주로 식품 내 풍미를 제공하고 장내 정상 세균총의 유지, 장내 이상발효의 개선과 부패세균에서 발생한 독성물질의 무독화, 면역기능 부활작용 및 항체 생성, 세균의 감염방지 등 생균제로서 효과적으로 작용할 것으로 기대되고 있는 유산균이다(11).

본 연구에서는 지역 특산물인 보은 대추를 이용하여 구증구포 과정을 통해 만들어진 흑대추를 활용하여 추출 및 유산발효를 진행하였다. 이러한 과정 중에 나타나는 약리활성성분의 변화를 일반 건조대추와 비교함으로써 흑대추에 대한 기초 자료를 확보하고 흑대추 추출물의 효능을 확인하여 기능성식품 소재로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

재료 및 사용균주

본 실험에 사용한 일반건조대추(*Zyziphus jujube*; 이하 건대추 및 *Z. jujube*)와 흑대추(black jujube; 이하 흑대추)는 영농조합법인 숙리마이오텍을 통해 구입하였고, 사용 균주는 충북대학교 식품공학과 식품미생물학 실험실에서 자체 보유하고 있는 *Lactobacillus fermentum* YL-3(이하 YL-3)이며, 사용배지는 MRS Broth(Difco, Detroit, MI, USA)를 사용하였다. 이들 균주는 50%의 glycerol이 함유된 배지에 접종하여 -85°C의 deep freezer(Ultra-low temperature freezer, MDF-192, Sanyo Electric Biomedical Co., Ltd.,

Osaka, Japan)에 보관하여 사용하였으며, 37°C에서 24시간 동안 3회 이상 계대 배양하여 활성화시킨 후 사용하였다.

대추의 일반성분 분석

대추의 일반성분 분석은 AOAC법(12)에 따라 측정하였다. 즉, 수분은 105°C 상압가열건조법, 조단백질은 Kjeldahl 질소정량법으로, 조지방은 Soxhlet법, 조회분은 550°C 직접회화법으로 분석하였다. 당은 TLC(thin layer chromatography)를 이용하여 정성분석 하였고, HPLC(high performance liquid chromatography)로 정량분석 하였다.

TLC(thin layer chromatography): Silica gel TLC plate(20×20 cm, Whatman K5F, 150Å, Whatman, Buckingham Hamshire, UK)에 standard(1%의 fructose, glucose, galactose, sucrose, maltose)와 sample을 1 µL씩 표시해둔 곳에 spotting하고 acetonitrile : water(85:15, v/v) 전개용매에서 전개시킨 다음 발색시약(0.5% α-naphthal, 5% H₂SO₄ in EtOH solution)을 이용해 발색하여 추출물 중의 당을 정성 분석하였다.

HPLC(high performance liquid chromatography):

본 실험에 적합한 sample을 얻기 위한 각 추출물의 전처리로 추출물 중 단백질을 변성시켜 침전시키기 위해 10분간 끓인 후 얼음으로 방냉, 13,000 rpm에서 10분간 원심분리를 하였으며 0.45 µm filter로 여과하였고, Sep-pak(Sep-Pak[®] Vac 3 cc C18 Cartridges, Waters, Dublin, Ireland)을 이용하여 추출물의 색소를 제거하였다. HPLC는 영린기기 Acme 9000 (Acme 9000 HPLC, Young Lin Instrument Co., Anyang, Korea)이며, 칼럼은 NH2P-50 4E(Asahipak NH2P-50 4E, 5 µm, 4.6×250 mm, Shodex, Tokyo, Japan)를 사용하였다. 검출기는 refractive index(RI, Acme 9000, Young Lin Instrument Co.), 이동상은 acetonitrile : water=73:27(v/v%), 유속은 1 mL/min를 사용하였으며 표준용액으로 검량곡선을 작성하여 추출물 중의 개별 당 함량을 정량하였다(13).

최적 추출조건 선정

유용성분이 최대 추출될 수 있는 조건을 선정하기 위해 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)을 이용하였다. 대추의 추출조건은 온도(30, 40, 50, 60, 70°C), 시간(6, 12, 18, 24, 30시간), 용매조성(50, 60, 70, 80, 90% (v/v) ethanol)을 변수로 중심합성계획법(central composite design, CCD)에 의하여 Table 1과 같이 16개 실험구간으로 설정하였고, 추출장치는 교반 추출기(Vision Scientific Co., Ltd., Seoul, Korea)를 사용하였다. 각 대추 10 g에 100 mL의 용매를 가하여 마쇄한 다음 200 rpm으로 3회 반복 교반 추출하였다. 추출물을 4°C에서 10분간 3,000 rpm으로 원심분리한 후 여과하여 얻은 추출액을 회전식진공농축기(CCA-1110, EYELA, Tokyo, Japan)로 농축한 후 감압건조(Townson Mercer Ltd., Manchester, UK)하여 용매를 완전히 제거하고 동결건조기(Modulyod-115, Thermo Electron Co.,

Table 1. The experimental design of the extraction conditions for *Zizyphus jujube* and black jujube by response surface methods

Exp No.	Independent variables		
	Temperature (°C)	Time (hr)	Ethanol conc. (%)
1	30 (-2)	18 (0)	70 (0)
2	40 (-1)	12 (-1)	60 (-1)
3	40 (-1)	12 (-1)	80 (+1)
4	40 (-1)	24 (+1)	60 (-1)
5	40 (-1)	24 (+1)	80 (+1)
6	50 (0)	6 (-2)	70 (0)
7	50 (0)	18 (0)	50 (-2)
8	50 (0)	18 (0)	70 (0)
9	50 (0)	18 (0)	70 (0)
10	50 (0)	18 (0)	90 (+2)
11	50 (0)	30 (+2)	70 (0)
12	60 (+1)	12 (-1)	60 (-1)
13	60 (+1)	12 (-1)	80 (+1)
14	60 (+1)	24 (+1)	60 (-1)
15	60 (+1)	24 (+1)	80 (+1)
16	70 (+2)	18 (0)	70 (0)

Waltham, MA, USA)로 동결건조 하여 추출 수율을 측정하였다. 수율 측정 후 증류수 100 mL로 정용하여 -20°C에서 냉동보관하면서 실험에 사용하였다(14). 모든 실험은 3회 반복 실험하였으며 Duncan's multiple range test를 이용하여 유의성을 검정하였다(p=0.05).

추출물 제조

추출 조건은 열수 추출물이 에탄올 추출물에 비해 당함량이 높아 유산균 생육증진에 더 효과적이고 페놀성 화합물의 함량이 더 많이 포함되어 더 높은 항산화활성을 나타낸다고 보고한 Jeong(15)의 방법을 변형하여 선정하였다. 씨를 제거한 건대추와 흑대추 20 g을 200 mL의 증류수를 가하여 마쇄한 다음 교반 추출기(VS-8480, Vision Scientific Co., Ltd.)로 25°C, 200 rpm에서 추출하였다. 추출액을 여과지(Whatman No.3, Whatman)를 이용하여 감압여과하고, 용매를 제거하기 위해 회전진공농축기(CCA-1110, EYELA)를 사용하였다. 제조된 추출물은 증류수로 100 mL 정용하였다.

대추추출물의 유산발효

유산발효를 위해 사용된 균주 YL-3를 MRS broth(Difco)에 접종하여 37°C incubator에서 24시간 동안 배양하였고, 이를 3회 계대배양 하는 중균 배양을 실시하였다. 중균 배양된 유산균을 660 nm에서 optical density 값이 0.3이 되도록 초기균수를 보정하였고, 대추추출물은 autoclave(121°C, 15분)로 멸균하였다. 건대추와 흑대추 추출물에 YL-3를 2% (v/v) 접종한 후, 37°C incubator에서 96시간 동안 배양하였다. 생균수는 표준한천배지배양법을 이용하여 각 시간대(0, 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96시간)별로 측정하였는데, 시료를 0.85% (w/v) NaCl 용액으로 10⁻⁵까지 십진 희석하여 MRS agar(Difco)에 100 µL씩 spreading한 후 37°C incubator에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 colony 수가 30~300인 plate

를 선택하여 colony 수를 측정하고 생균수(CFU/mL)를 산출하였다. 대추추출물의 유산 발효액의 pH는 pH meter(720p, Istek Inc., Seoul, Korea)를 이용하여 각 시간대(0, 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96시간)별로 실온에서 측정하였다.

유산 발효 전후의 건대추와 흑대추 추출물의 기능성 분석

총 폴리페놀 함량: 총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법(Hegerman 등(16))을 응용하여 측정하였다. 대추 추출물 100 µL에 2% Na₂CO₃ 용액 2 mL를 가한 후 3분간 방치한 다음 50% Folin-Ciocalteu reagent 100 µL를 가한 후 30분 반응시켜 반응액의 흡광도 값을 750 nm에서 측정하였다. 검량선 작성을 위해 대표적인 폴리페놀계 물질인 gallic acid(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하였으며, 시료 g당 gallic acid equivalent mg으로 환산하여 폴리페놀 함량을 표시하였다. 모든 실험은 3회 반복 실험하였으며, 발효 전후 폴리페놀 함량 차이 분석을 위해 SPSS 16.0 통계프로그램(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 t-test을 실시하여 유의성을 검정하였다(p=0.05).

총 플라보노이드 함량: 총 플라보노이드 함량은 Zishen 등(17)과 Dewanto 등(18)의 방법을 변형하여 측정하였다. 대추 추출물 250 µL에 증류수 1 mL와 5% NaNO₂ 75 µL를 가하여 5분 반응 후 10% AlCl₃ 6H₂O 150 µL를 가하여 6분간 방치한 다음 1 N NaOH 500 µL를 가해 11분 반응시킨 후 반응액의 흡광도 값을 510 nm에서 측정하였다. 표준물질로 (+)-catechin hydrate(Sigma Chemical Co.)를 사용하여 검량선을 작성하였으며, 시료 g당 catechin hydrate equivalent µg으로 환산하여 플라보노이드 함량을 표시하였다. 모든 실험은 3회 반복 실험하였으며, SPSS 16.0 통계프로그램(SPSS Inc.)을 이용하여 t-test를 실시하여 발효 전후 폴리페놀 함량 차이 분석에 대한 유의성을 검정하였다(p=0.05).

DPPH(α,α-diphenyl-β-picrylhydrazyl) free radical

소거활성: 시료 추출물의 수소전자공여능(electron donating activity, EDA)을 통한 항산화 활성 측정을 위해 Choi(19)의 방법을 변형하여 진행하였다. 에탄올에 용해한 2 × 10⁻⁴ M DPPH(0.2 mM DPPH)(Sigma Chemical Co.) 용액 0.8 mL에 대추 추출물 0.2 mL를 첨가하고 실온에서 30분간 반응시킨 후, 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 수소전자공여능은 각 실험을 3회 반복하여 평균을 낸 다음 대조구에 대한 흡광도의 감소 정도를 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$EDA (\%) = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가군의 흡광도}}{\text{시료 무 첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

또한, 추출물의 농도를 구배하여 흡광도를 측정 후 검량선을 작성하였다. 작성된 검량선을 이용하여 EDA(%)가 50%일 때의 시료 농도인 IC₅₀(inhibition concentration)을 산출하였고, 이를 3회 반복 실험하였으며 t-test를 이용하여 유의성을 검정하였다(p=0.05).

ABTS[2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] free radical 소거활성: 시료 추출물의

Table 2. Components of *Zizyphus jujube* and black jujube extracts (unit: %)

Sample	Water	Crude protein	Crude fat	Crude ash
<i>Z. jujube</i>	35.11±0.96*	6.50±0.35	0.70±0.07**	1.71±0.14*
Black jujube	40.18±2.97	6.63±1.16	1.13±0.09	2.14±0.18

All values are mean±SD (n=3). Significant difference between both extracts, respectively, with *p≤0.05 (Student's *t* test), **p≤0.01 (Student's *t* test), ***p≤0.001 (Student's *t* test).

ABTS free radical 소거능은 Re(20)의 방법을 변형하여 측정하였다. 2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS, Sigma Chemical Co.) 7.4 mM과 potassium persulphate 2.6 mM을 1:1로 혼합한 후 하루 동안 암소에서 방치하여 ABTS⁺를 형성시킨 후 이 용액을 735 nm에서 OD값이 1.4~1.5가 되도록 물 흡광계수($\epsilon = 3.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)를 이용하여 증류수로 희석하였다. 희석된 ABTS⁺ 용액 1 mL에 추출액 50 μL 를 가하여 60분 후에 흡광도 변화를 측정하였으며, 표준물질로서 L-ascorbic acid를 동량 첨가하였다. 총 항산화력은 아래의 식으로 계산하였으며, 3회 반복 실험하여 t-test로 유의성을 검정하였다(p=0.05)(20).

$$\text{AEAC (mg AA eq)} = \frac{\Delta A}{\Delta A_{aa}} \times C_{aa} \times V \times \frac{100}{W}$$

- ΔA : 추출물을 넣었을 때의 OD의 변화
- ΔA_{aa} : AA std. soln.이 추출물 대신 동량 들어갔을 때의 OD의 변화
- C_{aa} : AA std. soln.의 농도(mg/mL)
- V : 추출물의 정용부피(mL)
- W : Sample homogenate의 weight(g)

결과 및 고찰

대추의 일반성분 분석

AOAC법을 이용한 씨를 제거한 건대추와 흑대추의 일반 성분 함량을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 건대추의 수분은 35.11%였고, 흑대추는 40.18%의 함량을 나타냈다. 조단

백질 함량은 건대추와 흑대추가 각각 6.50%, 6.63%였고, 건대추의 조지방은 0.70%, 흑대추는 1.13%의 함량을 나타냈다. 또, 조회분 함량은 건대추와 흑대추 각각 1.71%, 2.14%였다. 분석결과, 조단백질 함량은 유의적인 차이가 없었으나, 수분과 조지방 함량, 조회분 함량은 흑대추가 건대추에 비해 더 높은 것을 확인하였다.

Sim(21)은 건대추의 일반성분 분석 결과 수분함량은 22.66%, 조단백질은 4.85%, 조지방은 0.25%, 조회분은 1.68%의 함량을 나타낸다고 보고하였고, 흑대추는 수분, 조단백질, 조지방, 조회분을 각각 10.36%, 5.11%, 0.24%, 1.72%를 함유하고 있다고 보고하였다. 이들의 결과에서 조단백질과 조회분 함량은 흑대추가 건대추보다 높았지만, 수분과 조지방은 건대추가 더 높은 함량을 보였고 이 결과는 조단백질을 제외한 일반성분 함량이 흑대추가 일반건조대추에 비해 더 높은 본 연구 결과와는 다소 차이가 있었다. 이러한 결과의 차이는 품종과 추출방법, 흑대추의 구증구포 조건에 따라 일반성분 함량이 달라질 수 있음을 나타내고 있다.

TLC를 이용한 대추 추출물의 당 분석을 위해 standard로 1%의 fructose, glucose, galactose, sucrose, maltose를 사용하였고, 0.3 g/mL인 건대추와 흑대추 추출물을 10배, 50배, 100배 희석하여 1 μL 씩 spotting한 결과, 두 추출물 모두 fructose, glucose, sucrose로 구성되어 있음을 알 수 있었다(Fig. 1).

TLC의 결과를 토대로 대추추출물의 주요 조성당인 fructose와 glucose, sucrose를 standard로 하여 검량선을 작성하였다(Fig. 2). 검량선을 이용하여 각 대추의 당 함량을 분석한 결과, 건대추의 fructose의 함량은 5.60 g/100 g, glucose는 6.30 g/100 g, sucrose는 9.04 g/100 g의 함량을 나타냈고, 흑대추의 fructose, glucose, sucrose 함량은 각각 9.76 g/100 g, 12.76 g/100 g, 2.95 g/100 g이었다(Table 3). 흑대추는 건대추에 비해 fructose와 glucose의 함량이 더 높았으나, sucrose는 건대추가 흑대추보다 유의적으로 더 높은 함량을 나타냈다.

Sim(21)은 대추의 주요 유리당은 fructose와 glucose이고, 건대추는 sucrose, fructose, glucose를 각각 2.69, 6.57, 5.34

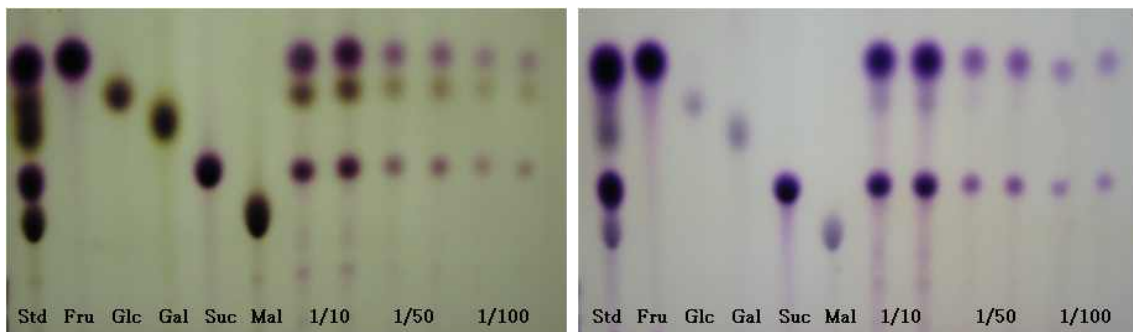


Fig. 1. TLC of sugars in *Zizyphus jujube* and black jujube extracts. Left: *Z. jujube*, Right: black jujube. Solvent: acetonitrile : water (85:15, v/v).

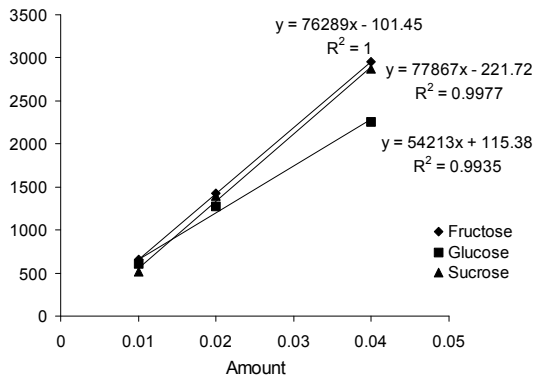


Fig. 2. Calibration curves for sugar standards.

Table 3. Contents of sugars in *Zizyphus jujube* and black jujube extracts (unit: g/100 g)

Type	Fructose	Glucose	Sucrose
<i>Z. jujube</i>	5.60 ± 5.21***	6.30 ± 9.43**	9.04 ± 2.89***
Black jujube	9.76 ± 4.25	12.76 ± 13.42	2.95 ± 2.64

All values are mean ± SD (n=3), *p ≤ 0.05, **p ≤ 0.01, ***p ≤ 0.001.

g/100 g 함유하고 있었고, 흑대추는 sucrose, maltose, lactose, fructose, glucose로 구성되어 있었으며 그 함량은 각각 0.10, 0.14, 0.10, 7.89, 5.62 g/100 g이었다고 보고하였다. 본 연구에서 건대추의 유리당 조성은 Sim(21)의 결과와 동일하였으나, 흑대추는 이당류인 maltose와 lactose의 조성에 차이가 있었고, 유리당의 함량도 다소 차이가 있었다. 흑대추의 이당류의 함량이 건대추에 비해 낮다는 결과는 본 연구 결과와 동일하였다. 이러한 결과는 흑대추 제조를 위한 구중구포 과정 중 sucrose 등과 같은 이당류의 분해에 의한 것으로 추측되며, 유리당의 조성과 함량은 대추의 품종 및 추출 조건에 따라 차이가 많을 수 있음을 나타내고 있다.

최적 추출 조건 선정

대추의 최적 추출조건 선정을 위해 추출온도(X1), 추출시간(X2), 에탄올 농도(X3)를 요인변수로 하여 16개의 실험 조건을 설정하고, 추출 수율(Y)을 종속변수로 하여 중심합성계획법을 실시하였다. 각 실험 조건에서 추출 수율을 측정 한 결과 건대추는 40°C에서 80%의 에탄올로 24시간 추출했을 때 59.72%로 가장 높은 수율을 나타냈고, 흑대추는 40°C, 12시간, 60%의 에탄올 추출조건에서 수율이 59.97%로 가장 높게 예측되었다(Table 4, Fig. 3). 추출 수율에 대한 통계분석 결과, 건대추와 흑대추 모두 각각 에탄올 농도에 p ≤ 0.05, p ≤ 0.01의 유의수준에서 영향을 받는 것으로 나타났고, 추출 온도와 시간에는 영향을 받지 않는 것을 확인하였다(Table 5). 각 추출 조건에 따른 추출 수율에 대한 회귀식은 Table 6에 나타냈으며, 건대추와 흑대추 모두 결정계수값 R²이 각각 0.3518, 0.3870으로 모델식이 적합하지 않았다. 이러한 결과는 추출 조건에 따라 수율의 차이가 크지 않고, 추출 용매의 에탄올 비율이 증가할수록 수율이 증가하다가 80% 이상이 되면 수율이 급격히 감소하는 것이 원인인 것으로 판단된

Table 4. Extraction yield of *Zizyphus jujube* and black jujube by central composite design

Exp No.	Yield(%)	
	<i>Z. jujube</i>	Black jujube
1	55.05 ± 3.24 ^{ab1)}	58.51 ± 3.34 ^a
2	51.32 ± 7.97 ^{bc}	59.97 ± 2.25 ^a
3	57.12 ± 0.53 ^{ab}	56.93 ± 0.87 ^a
4	54.34 ± 4.29 ^{ab}	58.87 ± 0.83 ^a
5	59.72 ± 0.80 ^a	59.83 ± 4.09 ^a
6	56.8 ± 0.73 ^{ab}	56.47 ± 3.35 ^a
7	54.2 ± 2.73 ^{ab}	57.07 ± 0.86 ^a
8	55.99 ± 2.85 ^{ab}	59.10 ± 4.01 ^a
9	55.11 ± 2.89 ^{ab}	58.20 ± 4.52 ^a
10	46.59 ± 0.67 ^c	46.09 ± 8.16 ^c
11	55.69 ± 2.70 ^{ab}	58.45 ± 2.57 ^a
12	56.34 ± 1.64 ^{ab}	57.66 ± 0.24 ^a
13	56.26 ± 1.93 ^{ab}	57.83 ± 0.53 ^a
14	57.78 ± 0.53 ^a	57.24 ± 1.03 ^a
15	54.30 ± 5.68 ^{ab}	47.79 ± 14.60 ^{bc}
16	57.38 ± 0.20 ^{ab}	54.93 ± 2.67 ^{ab}

All values are mean ± SD (n=3).

¹⁾Means with different letters in same column are significantly different from the others at p < 0.05.

Table 5. Analysis of regression models for variables in extraction condition

Independent variables	F-value	
	<i>Z. jujube</i>	Black jujube
Temperature (°C)	2.04	1.90
Time (hr)	0.46	0.81
Ethanol conc. (%)	3.60*	4.12**

All values are mean ± SD (n=3), *p ≤ 0.05, **p ≤ 0.01, ***p ≤ 0.001.

Table 6. Polynomial equation calculated by RSM for extraction of *Zizyphus jujube* and black jujube

Type	Second order polynomials ¹⁾	R ²
<i>Z. jujube</i>	Y = -1.843750X1X3 - 1.288333X3 ²	0.3518
Black jujube	Y = -2.083125X3 - 1.768333X3 ²	0.3870

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

다. 각각의 추출조건에 따른 결과를 바탕으로 추출변수가 추출물의 수율의 변화에 미치는 영향을 반응표면분석법으로 최적 추출조건을 분석한 결과 Table 7과 같이 나타났다.

Park 등(22)과 Lim 등(23)은 산국과 양파의 가용성 고형분 함량이 에탄올의 농도에 영향을 많이 받는다고 보고하였고, Park 등(24)의 연구에서도 에탄올 농도가 통통마디의 추출수율에 영향을 주는 것을 확인하였으며, 이것은 본 연구 결과와 동일하였다. 그러나 추출온도에 따라 가용성 고형분의 함량이 증가하고, 낮은 추출 온도에서는 추출시간이 증가할수록 가용성 고형분 함량이 증가한다는 Kang 등(25)과 Woo 등(26)의 결과와는 차이가 있었다. 통계처리 결과, 건대추는 46°C, 14시간, 에탄올농도 74% 조건에서, 흑대추는 52°C, 15시간, 에탄올농도 67%인 조건에서 최적 추출 수율이 나타나는 것으로 예측되었다. 본 연구를 통해 대추 추출

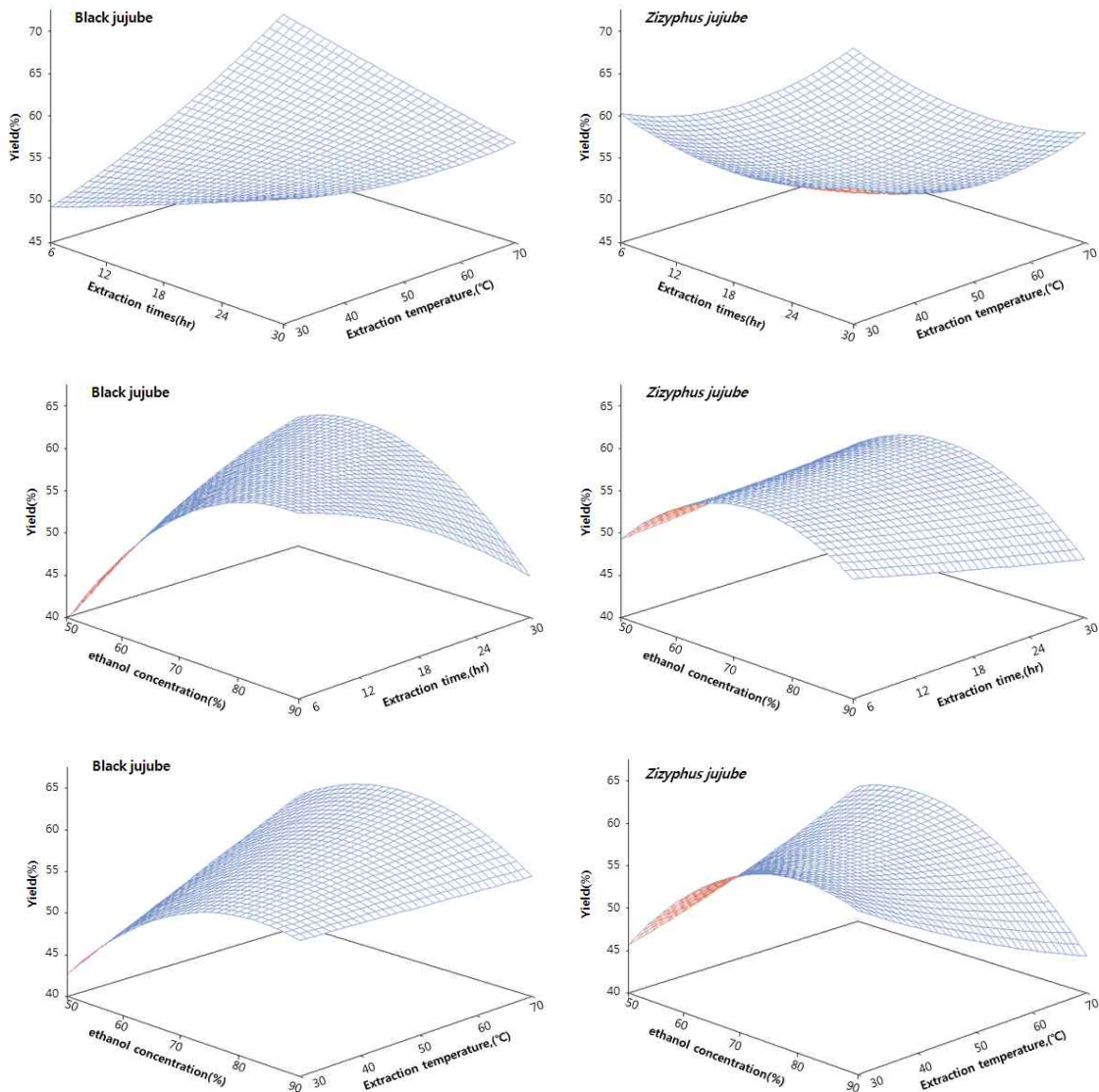


Fig. 3. Effect of extraction temperature, times, ethanol concentration on the yield of *Zizyphus jujube* and black jujube extracts.

물의 수율은 용매의 에탄올 비율에 영향을 많이 받는 것을 확인하였다.

대추추출물의 유산발효

반응 표면 분석법을 이용한 최적 추출 선정 결과, 선정된 16개의 조건에 따른 수율의 유의적인 차이가 없는 것과 높은 용매 비율 조건에서는 오히려 수율이 감소하는 등의 여러 가지 요인에 의해 결정계수 값이 결과의 유의성을 증명하지 못하였다. 따라서 Jeong(15)의 추출조건을 변형하여 건대추

와 흑대추 추출물을 제조하였다. 각 대추 추출물에 YL-3를 접종하여 37°C에서 96시간 배양하면서 유산균의 생균수와 pH를 측정된 결과, 두 추출물 모두 8시간 배양 후 초기 생균수 log 5.96 CFU/mL에서 log 6.71 CFU/mL(건대추)로, log 6.00 CFU/mL에서 log 6.47 CFU/mL(흑대추)로 증가하여 대수증식기가 시작되었다. 24시간 배양 후 두 추출물 모두 각각 log 8.69 CFU/mL, log 8.73 CFU/mL로 대수증식기가 종료되었으며(Table 8), 유산균의 생육곡선 패턴 변화 양상에는 큰 차이가 없었다(Fig. 4). 대추 추출물의 유산발효 과

Table 7. Predicted values of extraction conditions for the maximized responses of variables by the Ridge analysis

Responses	Independent variables ¹⁾			Estimated responses	Morphology
	X1	X2	X3		
Yield _Z (%)	45.53	13.55	73.66	56.38 (max.)	Saddle point
Yield _B (%)	51.85	15.49	67.41	59.53 (max.)	Saddle point

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

Table 8. The viable cell counts of lactic acid bacteria (YL-3) during fermentations

(unit: Log CFU/mL)

	0 hr	4 hr	8 hr	12 hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr
<i>Z. jujube</i>	5.96±0.04	5.91±0.09	6.71±0.14*	7.54±0.09*	8.69±0.04	8.66±0.07	8.38±0.44	7.23±0.16*
Black jujube	6.00±0.05	5.74±0.12	6.47±0.08	7.83±0.10	8.73±0.09	8.79±0.10	8.35±0.04	7.75±0.18

All values are mean±SD (n=3), *p≤0.05, **p≤0.01, ***p≤0.001.

Table 9. The pH changes during fermentations

	0 hr	4 hr	8 hr	12 hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr
<i>Z. jujube</i>	4.76±0***	4.78±0.01***	4.75±0.02***	4.52±0.04*	3.88±0***	3.69±0*	3.63±0	3.61±0.01
Black jujube	4.47±0	4.47±0	4.45±0.01	4.36±0.01	3.99±0.01	3.71±0.01	3.64±0.01	3.61±0

All values are mean±SD (n=3), *p≤0.05, **p≤0.01, ***p≤0.001.

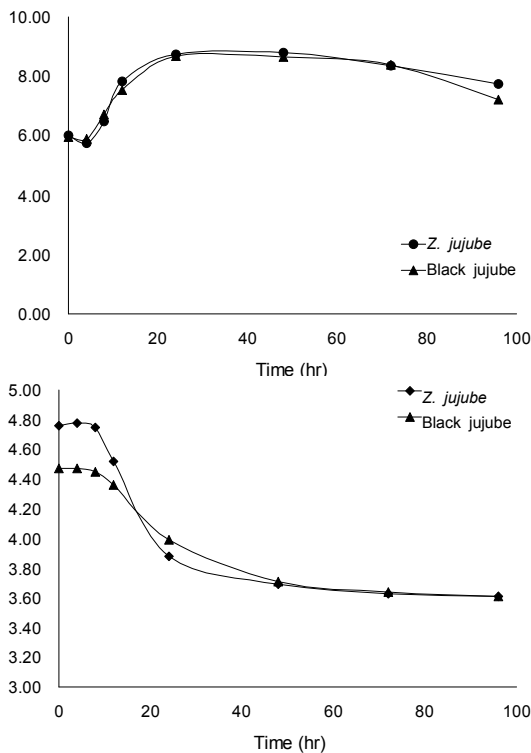


Fig. 4. The viable cell counts (YL-3) and pHs during fermentations.

정 중 pH의 변화는 Table 9에 나타내었다. 초기 pH는 건대추는 4.76, 흑대추는 4.47로 다소 차이가 있었으나, 두 추출물 모두 8시간 배양까지 pH가 일정하게 유지되었고, 12시간 후부터 급격히 감소하여 72시간 이후에는 거의 일정하게 유지되는 유사한 변화 패턴을 보였다(Fig. 4).

유산 발효 전후의 건대추와 흑대추 추출물의 기능성 분석 대추 추출물의 유산발효에 의한 기능성 성분의 변화를 분석하고자 발효 전후의 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 측정하였고, 폴리페놀의 함량은 gallic acid을 표준물질로 사용하였으며, 플라보노이드 함량은 (+)-catechin hydrate를 표준물질로 사용하여 검량선을 작성하였다. 폴리페놀 함량은 흑대추가 15.46 mg/g으로 건대추보다 높았고, 플라보노이드도 374.21 µg/g으로 유의적으로 더 높은 것을 확인하였다(Table 10).

Table 10. Concentration of total polyphenol and flavonoid compound in *Zizyphus jujube* and black jujube extracts

Sample	Total polyphenol compound (mg/g)	Total flavonoid compound (µg/g)
<i>Z. jujube</i>	13.61±0.1***	64.25±1.16***
Black jujube	15.46±0.33	374.21±2.16

All values are mean±SD (n=3), *p≤0.05, **p≤0.01, ***p≤0.001.

Sim(21)의 건대추와 흑대추의 70% 에탄올 추출물의 폴리페놀 함량 측정결과에서 건대추는 23.5 mg/g이고 흑대추는 30.3 mg/g으로 본 연구보다 더 높게 나타났으나, 이것은 사용 시료와 추출조건의 차이에 의한 것으로 판단되며, 흑대추가 건대추에 비해 더 높은 함량을 나타내는 결과는 본 연구와 동일하였다. 흑대추의 페놀성 물질 함량은 Bae와 Choe (27)의 연구에서 보고한 오메 추출물의 폴리페놀 함량 3.84 mg/g보다 높았고, 0.05 mg/g의 플라보노이드 함량보다는 낮았으나 차이가 크지 않았다.

건대추의 발효 후 폴리페놀 함량은 13.61 mg/g에서 12.39 mg/g으로 감소하였으나, 플라보노이드의 함량은 64.25 µg/g에서 291.58 µg/g으로 유의적인 증가를 나타냈다. 흑대추의 폴리페놀 함량은 15.46 mg/g에서 17.46 mg/g으로, 플라보노이드 함량은 374.21 µg/g에서 1,135.29 µg/g으로 발효 후에 두 성분 함량이 모두 증가하는 것을 확인하였다(Table 11). 이 결과를 통해 흑대추가 건대추에 비해 더 높은 항산화력을 가지고 있음을 확인하였고, 건대추를 발효한 결과 폴리페놀의 함량이 감소하였으나 플라보노이드의 함량은 증가하였다. 흑대추를 발효하였을 때 폴리페놀과 플라보노이드의 함량이 모두 유의적으로 증가한 것을 보아 발효를 통한

Table 11. The changes of total polyphenol and flavonoid contents after the fermentation of jujube extracts

Sample ¹⁾	Total polyphenol compound (mg/g)	Total flavonoid compound (µg/g)	
<i>Z. jujube</i>	Before ferm.	13.61±0.10***	64.25±1.16***
	After ferm.	12.39±0.12	291.58±14.04
Black jujube	Before ferm.	15.46±0.33*	374.21±2.16***
	After ferm.	17.46±0.95	1,135.29±26.16

All values are mean±SD (n=3), *p≤0.05, **p≤0.01, ***p≤0.001.

¹⁾Before ferm.: before fermentation, After ferm.: after fermentation.

Table 12. EDAs, IC₅₀ and AEAC for *Zizyphus jujube* and black jujube

Sample	Electron donating ability (%)		IC ₅₀ (mg/mL)	AEAC (mgAAeq/g)
	0.0025 mg/mL	0.001 mg/mL		
<i>Z. jujube</i>	31.1±0.19 ^{***}	13.78±0.23 ^{***}	30.87±0.06 ^{***}	0.55±0.004 ^{***}
Black jujube	74.72±1.39	40.37±5.12	14.69±0.12	1.06±0.02

All values are mean±SD (n=3), *p≤0.05, **p≤0.01, ***p≤0.001.

Table 13. The changes of EDAs, IC₅₀, AEAC contents after the fermentation of jujube extracts

Sample ¹⁾		Electron donating ability (%)		IC ₅₀ (mg/mL)	AEAC (mgAAeq/g)
		0.025 mg/mL	0.01 mg/mL		
<i>Z. jujube</i>	Before ferm.	31.10±0.19 ^{***}	13.78±0.23	30.87±0.06 ^{***}	0.55±0.004
	After ferm.	24.77±0.50	12.95±0.69	49.97±1.23	0.60±0.02
Black jujube	Before ferm.	74.72±1.39 ^{**}	40.37±1.52	14.69±0.12	1.06±0.02
	After ferm.	79.88±0.92	47.53±7.05	10.64±1.86	1.04±0.03

All values are mean±SD (n=3), *p≤0.05, **p≤0.01, ***p≤0.001.

¹⁾Before ferm.: before fermentation, After ferm.: after fermentation.

항산화력 증진효과의 가능성을 확인하였다. Mo 등(28)의 연구 결과에서도 함초를 발효시키는 과정 중에서 생리활성물질 일부가 전환되어 페놀성 물질의 함량이 증가한 것을 보고하였고, 따라서 발효를 통하여 항산화 물질의 증가 효과를 얻을 수 있을 것으로 판단된다.

대추 추출물의 radical 소거활성을 측정하기 위해 DPPH와 ABTS를 이용하였고, DPPH radical 소거법은 항산화 물질의 전자공여능으로 인해 방향족 화합물 및 방향족 아민류에 의해 환원되어 자색이 탈색에 의해 나타내는 정도를 지표로 하여 항산화능을 측정하는 방법이며(29), ABTS 라디칼 소거능은 라디칼을 생성하는 ABTS 존재 시 hydrogen peroxide와 metmyoglobin의 활성을 토대로 보다 빠른 항산화 반응을 일으켜 myoglobin radical을 감소시키는 기전을 이용하는 항산화능 측정법이다(30).

DPPH free radical 소거능을 측정하기 위해 대조구로 ascorbic acid를 사용하였고 EDA와 EDA가 50%일 때의 시료 농도(IC₅₀)를 측정 한 결과, 건대추의 EDA와 IC₅₀은 0.025 mg/mL 농도에서 31.10%, 30.87 mg/mL이고, 흑대추는 74.72%, 14.69 mg/mL로 흑대추가 DPPH free radical 소거능이 더 높은 것을 확인하였다(Table 12). 0.025 mg/mL 농도 추출물의 발효를 진행함에 따라 건대추의 EDA는 31.10%에서 24.77%로, IC₅₀ 30.87 mg/mL에서 49.97 mg/mL(IC₅₀)로 라디칼 소거능이 감소하였다. 흑대추의 EDA는 74.72%에서 79.88%로 증가하였으나, IC₅₀은 유의적인 변화가 없었고, 두 추출물 모두 발효에 따른 DPPH free 라디칼 소거능의 증가 효과는 없는 것으로 판단하였다.

Ascorbic acid를 표준물질로 사용하여 AEAC값을 측정 한 결과, 흑대추의 AEAC값이 1.06 mgAAeq/g으로 건대추에 비해 ABTS free 라디칼 소거능이 더 높았으나(Table 12), 두 추출물 모두 발효에 의한 ABTS free 라디칼 소거 효과의 유의적인 변화는 나타나지 않았다(Table 13). 발효에 의한 라디칼 소거능의 증진효과는 없었지만, 흑대추의 라디칼 소거능이 건대추보다 유의적으로 높다는 본 연구 결과를 통해

구중구포에 의한 항산화물질 증가 효과가 있음을 확인하였고, 따라서 대추를 비롯한 많은 천연식물의 구중구포에 관한 연구가 더 많이 필요할 것으로 생각된다.

요 약

본 연구에서는 포제법(炮製法) 중 가장 대표적인 구중구포(九蒸九炮)법을 응용하여 steam, 건조, 저온 숙성 과정을 통해 만들어진 흑대추를 활용하여 추출 및 발효과정 중에 일어나는 주요 특성 변화를 건대추와 비교·분석하였다. 대추의 구중구포 과정을 통해 만들어진 흑대추를 활용하여 추출 및 유산발효를 진행하고, 이러한 과정 중에 나타나는 약리활성 성분의 변화를 건대추와 비교함으로써 흑대추 추출물의 효능을 확인하여 기능성식품 소재로 활용하기 위한 기초자료를 확보하고자 하였다. AOAC법을 이용하여 일반성분을 분석한 결과, 조단백질의 함량에는 유의적인 차이가 없었으나, 수분과 조지방, 조회분의 함량은 흑대추가 건대추보다 더 높은 것을 확인하였다. TLC와 HPLC를 이용하여 당 분석을 하였고, 건대추와 흑대추 모두 fructose, glucose, sucrose로 구성되어 있었고, 각 함량은 건대추는 5.60, 6.30, 9.04 g/100 g이었고, 흑대추는 9.76, 12.76, 2.95 g/100 g으로 건대추는 sucrose의 함량이 fructose와 glucose에 비해 높은 반면, 흑대추는 상대적으로 더 낮은 sucrose 함량을 나타냈다. 이러한 결과는 흑대추 제조를 위한 구중구포 과정 중 sucrose의 분해에 의한 것으로 판단된다. 유용성분이 추출될 수 있는 최적조건을 선정하기 위해 16개의 조건에서 추출수율을 측정하여 반응표면분석법(RSM)으로 최적 조건을 선정하였다. 건대추와 흑대추의 추출수율에 대한 회귀식의 결정계수값 R²은 각각 0.3518, 0.3870으로 모델식이 적합하지 않았고, 이러한 결과는 추출조건에 따라 수율의 차이가 크지 않고, 추출 용매의 에탄올 비율이 증가할수록 수율이 증가하다가 80% 이상이 되면 수율이 급격히 감소하는 것이 원인인 것으로 판단된다. 따라서 Jeong 등(15)의 추출조건을

응용하여 건대추와 흑대추 추출물을 제조하였다. 추출물을 YL-3로 유산발효를 진행한 결과, 두 추출물 모두 배양 8시간 후부터 대수증식기가 시작되었고 24시간 배양 후 대수증식기가 종료되었다. 두 추출물의 초기 pH는 차이가 있었으나 8시간 배양까지 일정하게 유지되고 12시간 후부터 72시간까지 감소하는 유사한 변화 패턴을 보였고, 본 연구에서 사용한 건대추와 흑대추의 일반성분 함량 차이와 당당류 및 이당류 조성비의 차이가 유산균의 생육에 영향을 거의 미치지 않았음을 확인할 수 있었다. 대추 추출물의 유산발효에 의한 기능성 성분의 변화를 분석하고자 폴리페놀과 플라보노이드, free 라디칼 소거능을 측정하였다. 발효 전 건대추와 흑대추의 페놀성 물질의 함량을 분석한 결과 흑대추가 건대추에 비해 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 유의적으로 높았으며, 발효 후 건대추의 폴리페놀 함량은 감소하였지만 플라보노이드 함량은 높은 증가율을 보였고, 흑대추는 발효 후 두 물질 모두 증가하였다. 이 결과를 통해 발효에 의한 페놀성 물질의 증가 가능성을 확인하는 것과 동시에 항산화 활성 및 생리기능의 향상을 예측할 수 있었고, 발효가 폴리페놀이나 플라보노이드 이외에도 많은 유효성분의 함량에 영향을 줄 것으로 기대되며 이와 관련된 연구가 지속되어야 할 것으로 생각된다. DPPH에 의한 라디칼 소거능 측정 결과, 흑대추의 발효 전 전자공여능은 74.72%로 건대추보다 더 높았고, 발효에 의한 DPPH free 라디칼 소거능의 유의적인 증가 효과는 없었다. 흑대추의 AEAC값이 1.06 mgAAeq/g으로 건대추에 비해 ABTS free 라디칼 소거능이 더 높았으나, 두 추출물 모두 발효에 의한 ABTS free 라디칼 소거능의 증가 효과는 없었다. 본 연구를 통해 구증구포에 의한 유용성분의 증가효과를 확인하였고, 건대추에 비해 영양성분 및 기능성 물질의 함량이 높은 흑대추를 주원료로 하여 유산균 발효공정을 도입함으로써 기능성물질의 증가 효과를 얻고 다른 대추 가공품과 차별화를 두고 제품의 품질을 향상시킬 수 있을 것으로 생각되며, 흑대추를 이용한 기능성 발효식품 개발에 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2011년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

문 헌

1. Kwon SR, Kim HG, Ham IH, Lee JJ, Lee JH, Hong SP, Kim DH, Choi HY. 2007. Studies on the changes of oligosaccharide contents in Rehmanniae Radix Preparata according to various processing methods. *Kor J Herbol* 22: 261-270.
2. Ma JY, Ha CS, Sung HJ, Zee OP. 2000. Hemopoietic effects of Rhizoma Rehmanniae Preparata on cyclophosphamide-induced pernicious anemia in rats. *Kor J Pharmacogn* 31: 325-334.
3. Kim SN, Kang SJ. 2009. Effects of black ginseng (9 times-steaming ginseng) on hypoglycemic action and changes in the composition of ginsenosides on the steaming process. *Korean J Food Sci Technol* 41: 77-81.
4. Kim DW, Lee YJ, Min JW, Kim YJ, No YD, Yang DC. 2009. Conversion of acidic polysaccharide and phenolic compound of changed ginseng by 9 repetitive steaming and drying process, and its effects of antioxidation. *Korean J Oriental Physiol Pathol* 23: 121-126.
5. Yu MH, Im HG, Lee HJ, Ji YJ, Lee IS. 2006. Components and their antioxidative activities of methanol extracts from sarcocarp and seed of *Zizyphus jujuba* var. *inermis* Rehder. *Korean J Food Sci Technol* 38: 128-134.
6. Ann YG, Kim SK, Shin CS. 1997. Sugars in Korean jujube fruit and jujube fruit drink. *Korean J Food & Nutr* 10: 314-319.
7. Park BH, Chae KY, Hong JS. 2008. Physicochemical characteristics of jujube concentrates prepared by boiling. *J East Asian Soc Dietary Life* 18: 190-197.
8. Yook CS. 1972. Screening test on the components of the genus *Zizyphus* in Korea. *Korean J Pharmacog* 3: 27-29.
9. Lee SK. 1989. Studies on the constituents of the leaves of *Zizyphus jujuba* Mill. *PhD Dissertation*. Pusan National University, Pusan, Korea.
10. Park MK, Park JH, Shin YG, Cho KH, Han BH, Park MH. 1991. Analysis of alkaloids in the seeds *Zizyphus jujuba* by high performance liquid chromatography. *Arch Pharmacol Res* 14: 99-102.
11. Cho MK, Kim K, Kim CH, Lee TG, Kim KY. 2000. Isolation and characterization of *Lactobacillus fermentum* YL-3 as a poultry probiotic. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 28: 279-284.
12. AOAC. 1995. *Official methods of analysis*. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. p 32-1-13.
13. Kwon YJ, Jang GC, Rah HH, Kim YH, Rhee MS. 2005. The study of sugar analysis in licorice extract by HPLC. *J Korean Soc Tobacco Sci* 27: 114-119.
14. 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 Nutr* 38: 244-251.
15. Jeong HM, Kim YS, Ahn SJ, Auh MS, Ahn JB, Kim KY. 2011. Effects of *Zizyphus jujuba* var. *boeunensis* extracts on the growth of intestinal microflora and its antioxidant activities. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 500-508.
16. Hagerman A, Harvey-Mueller I, Makkar HPS. 2000. *Quantification of tannins in tree foliage a laboratory manual*. FAO/IAEA, Vienna, Austria.
17. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 64: 555-559.
18. Dewanto V, Wu X, Liu RH. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50: 4959-4964.
19. Choi SY, Cho HS, Sung NJ. 2006. The antioxidative and nitrite scavenging ability of solvent extracts from wild grape (*Vitis coignetia*) skin. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 961-966.
20. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237.
21. Sim DW. 2011. Studies on the process method and quality of black jujube. Daegu Haany University, Daegu, Korea.

22. 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.
23. 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.
24. Park JW, Kim HS, Park IB, Shin GW, Lee YJ, Jo YC. 2009. Optimization of ethanol extraction conditions from glasswort (*Salicornia herbacea*) using response surface methodology. *Korean J Food Preserv* 16: 376-384.
25. 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.
26. 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: 244-251.
27. Bae YK, Choe TB. 2011. Antioxidant and cell activity using extracts of *Mume fructus*. *Korean J Medicinal Crop Sci* 19: 388-394.
28. Mo JH, Kim KR. 2011. The proximate and antioxidative effect of dried and fermented *Salicornia herbacea*. *Korean J Soc Cosmetol* 7: 425-431.
29. Kwon GH, Choi DS, Wang MH. 2007. Biological activities of hot water extracts from *Euonymus alatus* leaf. *Korean J Food Sci Technol* 39: 569-574.
30. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237.

(2012년 6월 4일 접수; 2012년 9월 7일 채택)