

## 반응표면분석법을 이용한 여정자의 페놀계 항산화 성분에 대한 마이크로웨이브 추출조건 최적화

윤새별<sup>1,3</sup> · 이유리<sup>1,2</sup> · 이남근<sup>1,2</sup> · 정은정<sup>1,2</sup> · 정용섭<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>전북대학교 바이오식품소재개발 및 산업화연구센터

<sup>2</sup>전북대학교 식품공학과

<sup>3</sup>(주)벤스랩

## Optimization of Microwave Extraction Conditions for Antioxidant Phenolic Compounds from *Ligustrum lucidum* Aiton Using Response Surface Methodology

Sat-Byul Yun<sup>1,3</sup>, Yuri Lee<sup>1,2</sup>, Nam Keun Lee<sup>1,2</sup>, Eung-Jeong Jeong<sup>1,2</sup>, and Yong-Seob Jeong<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Research Center for Industrial Development of Biofood Materials and

<sup>2</sup>Dept. of Food Science and Technology, Chonbuk National University, Jeonbuk 561-756, Korea

<sup>3</sup>Ben's Lab, Gyeonggi 445-702, Korea

**ABSTRACT** Response surface methodology (RSM) was applied to optimize the microwave-assisted extraction (MAE) conditions for electron-donating ability, total phenol content, and total flavonoid content of *Ligustrum lucidum* Aiton. *Ligustrum lucidum* Aiton from different regions was tested, and *Ligustrum lucidum* Aiton from Haenam was chosen due to its higher total phenolic content, total flavonoid content, DPPH radical scavenging activity and ABTS radical scavenging activity compared to the other samples. Central composite design was used to optimize extraction of *Ligustrum lucidum* Aiton from Haenam as well as determine the effects of extraction temperature ( $X_1$ ) and extraction time ( $X_2$ ) on dependent variables ( $Y_n$ ). Determination coefficients ( $R^2$ ) of the regression equations for dependent variables ranged from 0.8858 to 0.9517. The optimum points were 131.68°C for extraction temperature and 5.49 min for extraction time. Predicted values of the optimized conditions were acceptable when compared to experimental values.

**Key words:** *Ligustrum lucidum* Aiton, antioxidant activity, microwave extraction, response surface methodology

### 서 론

인체의 산화적 스트레스는 심혈관 질환, 신경퇴행성 질환, 암 발병 등의 위험성 증가에 관여한다는 사실이 밝혀진 이후 이를 예방하기 위한 하나의 중요한 연구 분야로써 많은 연구자들이 식이 항산화제(ascorbate, tocopherols, carotenoids, plant phenols)에 주목하고 있다(1). 이에 식물에 존재하는 페놀성 화합물들에 대한 많은 기능적인 면이 연구되어지고 있으며, 항산화, 항암, 항균, 항알레르기, 심장질환 및 당뇨병 예방 등에 효과가 있는 것으로 밝혀졌다(2).

여정자는 우리나라 제주도, 전남과 경남의 해안 및 섬지방, 일본과 대만 등지에서 분포하는 물푸레나무과 쥐똥나무속 식물에 속하는 상록활엽교목인 광나무(*Ligustrum japonicum*)의 익은 열매로 주요 성분으로는 mannitol, glucose, palmitic acid, stearic acid, oleic acid, linolenic acid 등과 파이토키미칼인 catechin, quercetin, acteoside, aucubin,

betulinic acid, oleanolic acid, ursolic acid가 있으며, 주요 기능으로는 대식세포의 TNF- $\alpha$ 의 분비 유도, 항산화 효과, 혈관이완 효과 및 골 형성 자극 효과가 있는 것으로 보고되었다(2-5).

여정자는 오래 전부터 주로 술을 담가 먹거나 가루 형태로 섭취되고 있으나 여러 생리활성이 밝혀지면서 기능성 식품 소재로써 관심을 받고 있으며, 이에 따라 여정자에 함유된 유용성분을 효과적이고 안전하게 추출할 수 있는 방법에 대한 확보가 요구되고 있다.

식품 또는 식물 원료로부터 유효 성분을 추출하는 방법에는 오래 전부터 일반적으로 사용되고 있는 압착법, 증류법 및 용매추출법 등의 전통적인 방법들이 있으며, 이와 같은 방법들은 추출효율과 추출시간 등 기술적 측면에서 개선의 필요성이 지적되고 있어 새로운 추출공정의 기술개발이 요구되고 있다(6,7). 최근 이러한 추출방법의 문제점을 보완하기 위하여 천연물로부터 생리활성물질을 신속하고도 효율적으로 추출할 수 있는 마이크로웨이브 추출공정 기술이 소개되어 일부 식품에 적용되고 있다(8-10).

따라서 본 연구는 여정자의 기능성분을 효과적으로 추출

Received 29 August 2013; Accepted 4 March 2014

\*Corresponding author.

E-mail: ysjjeong@jbnu.ac.kr, Phone: +82-63-270-2571

할 수 있는 공정을 개발하고자 마이크로웨이브를 이용하여 추출하였고, 추출물의 전자공여능, 총 페놀 함량 그리고 총 플라보노이드 함량에 대한 최적 추출조건을 예측하여 반응 표면분석에 의해 추출특성을 모니터링하고 추출조건을 최적화하였다.

### 재료 및 방법

#### 시료 및 추출

본 실험에 사용된 여정자는 국내산(해남산, 제주산)과 중국산을 황금발영농조합법인(Gimje, Korea)과 약재상에서 건조한 것을 구입하여 사용하였으며, 해남산 여정자(A), 제주산 여정자(B), 중국산 여정자(C)를 믹서로 세절하여 사용하였다. 마이크로웨이브 시료추출장치(Mars, CEM, Matthews, NC, USA)는 pre-heating 후 설정온도와 시간에서 추출이 진행된다. 추출용기에 분쇄한 시료 5 g과 D.W. 50 mL를 가하고 장치에 장착하여 100°C에서 5분간 추출한 후 여과한 다음 100 mL로 정용하고 1,000 ppm으로 희석하여 분석시료로 사용하였다.

#### 총 페놀 함량 측정

여정자 추출물의 총 페놀 함량 측정은 Folin-Denis법(10)으로 측정하였다. 즉 시료액 0.1 mL, 증류수 6 mL와 Folin-Denis 시약 0.5 mL를 혼합하고 실온에서 3분간 정치한 다음 포화 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 1.5 mL를 가하였다. 이어 실온에서 다시 1시간 방치시킨 후 분광광도계(UV 1601, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준용액으로는 tannic acid를 이용하였다.

#### 총 플라보노이드 함량 측정

여정자 추출물의 총 플라보노이드 함량 측정은 시료 0.5 mL에 90% ethanol 1.5 mL와 10% 질산알루미늄용액 0.1 mL, 1 M 초산칼륨용액 0.1 mL, 증류수 2.8 mL를 넣고 혼합하여 실온에서 40분간 정치 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준물질은 quercetin으로 하여 정량하였다(11).

#### DPPH 전자공여능 측정

전자공여능(electron donating abilities, EDA)은 Blois의 방법을 응용하여 측정하였다(12). 각 시료 용액 0.5 mL에 2×10<sup>-4</sup> M DPPH 2.0 mL를 첨가하여 실온에서 30분간 방치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{전자공여능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}}\right) \times 100$$

#### ABTS 라디칼 소거활성 측정

ABTS radical assay는 Arts 등의 방법(13)을 응용하여

측정하였다. 시료 30 μL에 ABTS radical 용액 3 mL를 첨가하여 734 nm(UV-1650PC, Shimadzu)에서 측정하였으며 대조구로는 BHT를 사용하였다. ABTS radical 용액은 7 mM ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) diammonium salt)에 2.45 mM potassium persulfate를 첨가하여 최종농도가 2.45 mM ABTS radical cation(ABTS<sup>+</sup>) 용액을 만들어 어두운 곳에서 12시간 이상 실온에서 보관하고 5 mM PBS(phosphate buffer saline, pH 7.4)를 이용하여 734 nm에서 흡광도가 0.70±0.02가 되도록 희석한 후 측정 시 사용하였다.

$$\text{Scavenging capacity (\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}}\right) \times 100$$

#### 추출조건 설정을 위한 실험계획

본 실험에서는 추출조건에 대하여 중심합성계획(central composite design)을 사용하여 실험 설계하였고, 추출조건의 최적화를 위하여 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)을 사용하였다(14-16). 즉 추출공정의 독립변수(X<sub>i</sub>)는 추출시간(X<sub>1</sub>)과 추출온도(X<sub>2</sub>)에 대한 온도(60, 80, 100, 120°C)와 시간(5, 10, 30, 60분)에 따른 예비실험을 통해 중심점을 설정하였으며, 이를 바탕으로 범위를 선정하여 5단계(-α, -1, 0, 1, α)로 부호화(α값 1.147)하였고 Table 1에 나타내었다(9). 또한 이들의 독립변수에 영향을 받는 종속변수(Y<sub>i</sub>)는 전자공여능(Y<sub>1</sub>), 총 페놀 함량(Y<sub>2</sub>), 총 플라보노이드 함량(Y<sub>3</sub>)으로 3회 반복으로 측정하여 그 평균값을 회귀분석에 사용하였으며, 회귀분석에 의한 모델식의 예측에는 Design Expert pro S/W ver. 7.0(Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, USA)을 사용하였고 ANOVA 분석을 통해 유의성을 검토하였다.

#### 최적 추출조건의 예측

추출조건별 여정자 추출물의 최적 추출조건 예측은 전자공여능, 총 페놀 함량과 총 플라보노이드 함량에 대한 반응표면을 overlay plotting 하였을 때 중복되는 부분의 범위에서 최적 추출조건 범위를 설정하였다. 또한 예측된 임의의 점을 설정하여 회귀식에 대입한 후 그 예측값에 대하여 설정하였다. 예측된 추출조건에서 실제 추출실험을 실시한 후 추출물의 특성을 측정하여 실제값과 예측값들을 비교하였다.

**Table 1.** Uncoded and coded independent variables used in RSM design of microwave-assisted extraction of *Ligustrum lucidum* Aiton

X <sub>i</sub>	Independent variable	Coded levels				
		-α	-1	0	1	α
X <sub>1</sub>	Extraction temperature (°C)	91.72	100	120	140	148.28
X <sub>2</sub>	Extraction time (min)	0.76	2	5	8	9.24

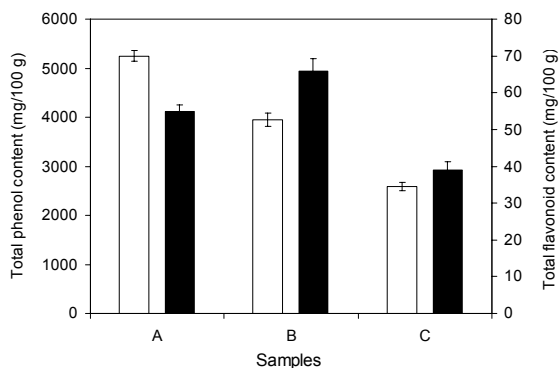
### 결과 및 고찰

#### 여정자 추출물들의 총 페놀과 총 플라보노이드 함량

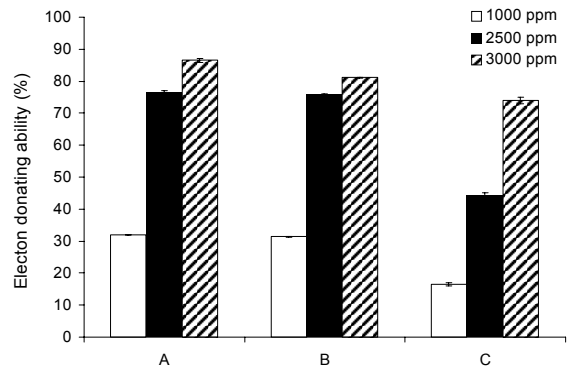
본 연구에서 사용된 여정자의 총 페놀 함량은 해남산 여정자가 5,248.87 mg/100 g(약 5.2%)으로 가장 높은 함량을 보였으며, 다음으로 제주산(3,949.06 mg/100 g, 약 3.9%)과 중국산(2,583.54 mg/100 g, 약 2.6%) 순으로 나타났다(Fig. 1). 여정자 열매나무인 광나무 잎의 총 페놀 함량과 비교해 볼 때, 열매인 여정자의 총 페놀 함량이 1.7~5.8배 정도 높게 함유되어 있음을 확인하였다(data not shown). Ku 등(17)의 연구에서 옥수수수염 18종에 대한 총 페놀 함량은 1,532~3,274 mg/100 g의 범위를 나타내었고, Heo 등(18)의 연구에서는 가시오가피의 잎, 뿌리, 줄기와 열매의 총 페놀 함량이 650~2,670 mg/100 g의 범위를 보였다. 또한 Yoon 등(19)의 연구에서 천년초 선인장의 총 페놀 함량은 열매가 3,140 mg/100 g, 줄기가 2,930 mg/100 g으로 보고되었는데 이들 연구에 사용되었던 소재들보다 광나무 열매인 여정자, 특히 해남산 여정자가 기능성 페놀류들을 풍부하게 함유하고 있었다. 여정자의 총 플라보노이드 함량에 있어서는 제주산이 65.89 mg/100 g으로 해남산(54.81 mg/100g)보다 높은 함량을 나타내었으며, 중국산(38.99 mg/100 g)보다는 약 1.6배 높았다(Fig. 1). 또한 총 페놀과 총 플라보노이드 함량 모두 국내산이 중국산보다 우수함을 확인하였다.

#### 여정자의 항산화 활성

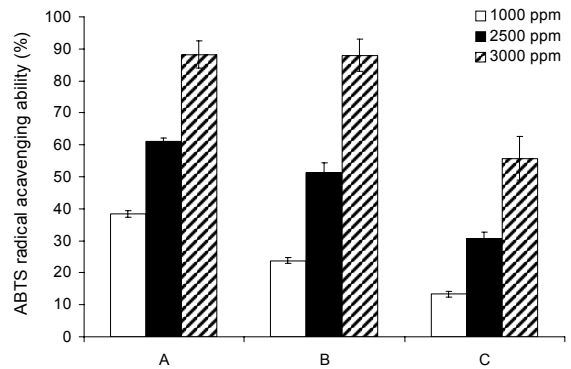
여정자의 추출물 농도를 달리하여 DPPH에 대한 전자공여능을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 여정자의 추출물 농도별 전자공여능은 해남산, 제주산, 중국산 순이었고, 5,000 ppm 농도에서 가장 좋은 효과를 보인 해남산 여정자의 전자공여능에 따른 항산화 활성은 90% 정도로 이것은 대표적인 항산화제인 ascorbic acid(96.16%)보다는 낮고 BHT(80.60%)보다는 높은 수준의 항산화 활성이 있음을 확인할 수 있



**Fig. 1.** Contents of total phenolic content and total flavonoid content in regional of *Ligustrum lucidum*. □: Total phenol content, ■: Total flavonoid content, A: *Ligustrum lucidum* from Haenam, B: *Ligustrum lucidum* from Jeju, C: *Ligustrum lucidum* from China.



**Fig. 2.** Electron donating ability by DPPH radical in regional of *Ligustrum lucidum*. A: *Ligustrum lucidum* from Haenam, B: *Ligustrum lucidum* from Jeju, C: *Ligustrum lucidum* from China.



**Fig. 3.** Scavenging ability by ABTS radical in regional of *Ligustrum lucidum*. A: *Ligustrum lucidum* from Haenam, B: *Ligustrum lucidum* from Jeju, C: *Ligustrum lucidum* from China.

었다(data not shown). 또한 2,500 ppm의 농도에서 식물성 천연색소 소재인 양파껍질, 오디, 레드비트, 자색감자, 황치자, 청치자 등과 전자공여능을 비교해 봤을 때, 각각의 전자공여능은 89.0, 84.6, 82.6, 75.7, 49.3, 15.3%로 해남산 여정자의 전자공여능이 자색감자, 황치자, 청치자보다는 높게 나타남을 알 수 있었다(20,21).

ABTS 라디칼 소거능을 측정된 결과(Fig. 3)에서는 모든 농도에서 항산화 활성 경향이 DPPH 전자공여능과 유사하였으나(해남산 여정자 > 제주산 여정자 > 중국산 여정자), 5,000 ppm의 농도에서 해남산 여정자와 제주산 여정자의 ABTS 라디칼 소거능이 각각 88.26%와 88.01%로 나타나 유의적 차이를 보이지는 않았다.

#### 전자공여능에 대한 여정자 추출조건의 영향

지역별 여정자 중에서 항산화 활성이 높은 해남산 여정자를 선정하고 중심합성계획에 의해 설정된 구간범위에서 추출하여 전자공여 작용을 측정된 결과는 Table 2에 나타내었으며, 반응표면분석 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 전자공여능에 대한 추출물의 회귀식의 R<sup>2</sup>값 0.9517로 1에 가까운 값을 나타내어 반응모형이 신뢰할 수 있음을 알 수 있었으며(Table 3), 전체 모델의 유의확률은 0.0026으로 0.01보다

**Table 2.** Experimental data on electron donating ability, total phenolic content, and total flavonoid content of extract by central composite design for response surface methodology

Exp. No. <sup>1)</sup>	Extraction condition		Electron donating ability (%)	Total phenolic content (mg/100 g)	Total flavonoid content (mg/100 g)
	Extraction temperature (°C)	Extraction time (min)			
1	91.72	5	28.96±0.19	5018.63±72.14	85.30±0.57
2	120	5	34.72±0.18	5859.89±92.10	104.16±0.17
3	100	8	29.16±0.15	5168.31±72.91	81.14±1.07
4	120	5	35.19±0.16	6096.01±74.90	98.58±0.63
5	140	2	33.76±0.13	5820.13±38.48	94.63±0.54
6	140	8	34.41±0.21	5838.66±80.07	99.00±0.78
7	120	0.76	33.47±0.15	5652.27±60.94	95.82±0.34
8	120	5	34.41±0.11	5918.01±47.16	101.02±1.99
9	148.28	5	34.20±0.18	5878.32±54.09	100.27±1.54
10	120	9.24	34.57±0.13	6031.45±74.91	92.11±0.45
11	100	2	30.28±0.19	5337.39±12.73	80.83±0.99

<sup>1)</sup>Experiments were performed in random order.

**Table 3.** Polynomial equations calculated by RSM program for extraction conditions of *Ligustrum lucidum* Aiton

Response	Second order polynomials <sup>1)</sup>	R <sup>2</sup>	Significance
Electron donating ability	$Y_{EDA} = 34.77 + 2.02X_1 + 0.14X_2 + 0.44X_1X_2 - 1.82X_1^2 - 0.60X_2^2$	0.9517	0.0026
Total phenolic content	$Y_{TP} = 5957.97 + 296.11X_1 + 48.21X_2 + 46.90X_1X_2 - 280.76X_1^2 - 84.07X_2^2$	0.9134	0.0109
Total flavonoid content	$Y_{TF} = 1.01 + 0.067X_1 - 0.002071X_2 + 0.010X_1X_2 - 0.055X_1^2 - 0.047X_2^2$	0.8859	0.0206

<sup>1)</sup>X<sub>1</sub>: extraction temperature (°C), X<sub>2</sub>: extraction time (min).

작으므로 통계적으로 매우 유의하다고 할 수 있다. 또한 모수추정에 의한 2차 회귀식은 Table 3과 같이 분석되었으며, 주어진 데이터에 대한 정확한 최적점을 찾기 위하여 모수추

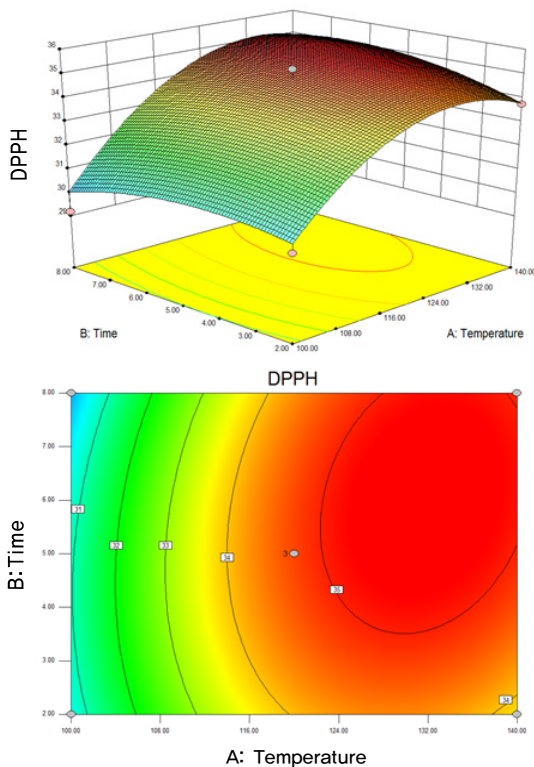
정에 의한 2차 회귀식을 바탕으로 능선분석을 하였다(Fig. 4). 추출온도는 131.68°C, 추출시간은 5.49분에서 가장 최대의 값을 갖는다는 것을 확인할 수 있었으며, 그때에 예측되는 전자공여능의 값은 35.38%이었다.

**총 페놀 함량에 대한 여정자 추출조건의 영향**

페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조를 가지며 flavonoid, catechin과 tannin류 등으로 크게 구분된다. 그리고 기능성으로 항당뇨 작용, 항산화 작용, 노화방지 작용, 고지혈증 억제와 항종양 작용 등의 생리활성에 관한 연구가 보고되어 있다(22,23). 각각의 추출조건에 따른 페놀성 화합물의 함량은 Table 2에 나타내었다. 반응표면 회귀식은 Table 3과 같으며, 회귀식의 R<sup>2</sup>은 0.9134로 1% 이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었으며, 회귀식에 의한 반응표면은 Fig. 5에 나타내었다. 예측된 정상점의 추출조건은 추출온도 130.14°C, 추출시간 6.59분이었다. 최적 추출조건에서의 총 페놀 함량은 6,050.49 mg/100 g의 값을 나타내었다.

**총 플라보노이드 함량에 대한 여정자 추출조건의 영향**

식용식물 자원에 함유되어 있는 플라보노이드는 항균활성, 항산화 효과, 항염증 작용, 콜레스테롤 저하 작용과 지방간 억제 작용 등이 보고되어 있다(24). 각각의 추출조건에 따른 여정자 추출물의 총 플라보노이드 성분 함량은 Table 2와 같으며, 총 플라보노이드 성분에 대한 반응표면 회귀분석을 실시하여 Table 3과 Fig. 6에 나타내었다. 회귀식의 R<sup>2</sup>은 0.8859이고 유의확률은 0.0206으로 상대적으로 낮은



**Fig. 4.** Response surface plot for electron donating ability in extraction condition of *Lgustrum lucidum* Aiton from Haenam.

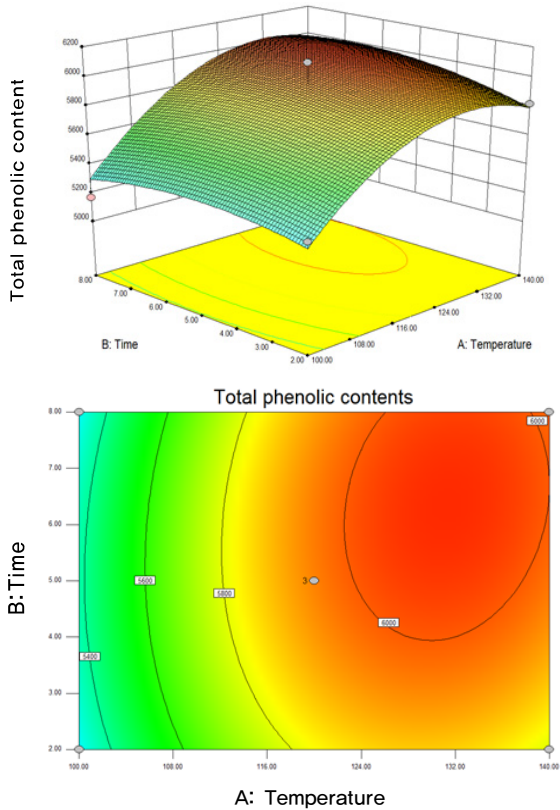


Fig. 5. Response surface plot for total phenolic content in extraction condition of *Ligustrum lucidum* Aiton from Haenam.

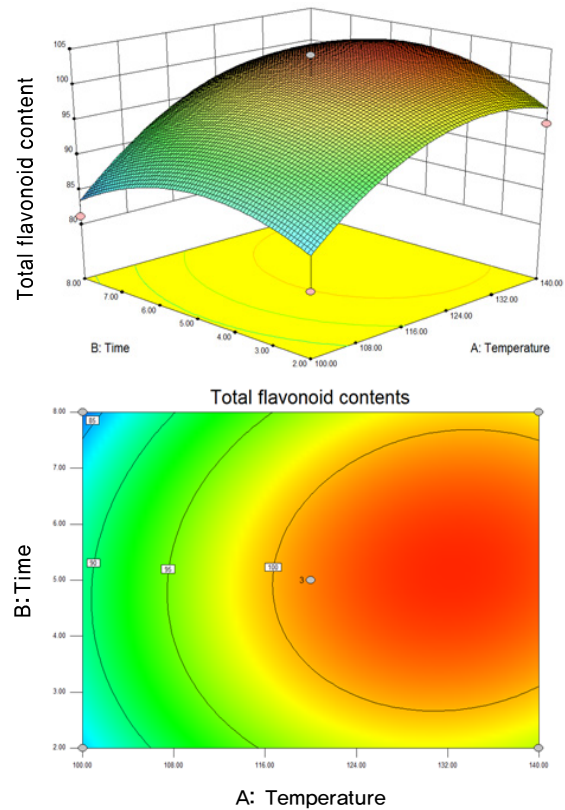


Fig. 6. Response surface plot for total flavonoid content in extraction condition of *Ligustrum lucidum* Aiton from Haenam.

Table 4. Predicted level of optimum conditions for experimental condition of extract of *Ligustrum lucidum* Aiton

Responses	X <sub>1</sub> <sup>1)</sup>	X <sub>2</sub> <sup>2)</sup>	Maximum	Morphology
Electron donating ability (%)	131.68	5.49	35.38	Maximum
Total phenolic content (mg/100 g)	130.14	6.59	6,050.49	Maximum
Total flavonoid content (mg/100 g)	131.18	5.21	103.34	Maximum

<sup>1)</sup>Extraction temperature (°C). <sup>2)</sup>Extraction time (min).

상관관계를 나타냈으며 예측 회귀식은 Table 3과 같다. 식에서 예측된 총 플라보노이드 정상점은 103.34 mg/100 g 이었으며, 이때 추출조건은 추출온도가 131.18°C, 추출시간이 5.21분이었다.

**마이크로웨이브 추출공정 최적화**

마이크로웨이브를 이용한 여정자의 추출조건을 최적화하기 위하여 추출 온도와 시간에 대한 종속변수인 전자공여능, 총 페놀 함량과 총 플라보노이드 함량에 대한 각각의 예측값은 Table 4에 나타난 것과 같다. 종속변수 모두를 만족시켜주는 추출조건 범위를 찾기 위해서 overlay plotting하여 그 결과를 Fig. 7에 나타내었다. 추출조건 범위와 모델식을 통해 예측된 여정자의 최적 추출조건은 온도 131.68°C, 시간 5.49분으로 추출조건을 설정하고 실제 추출실험을 하여 그 추출물의 기능적 특성을 측정된 결과, 실제값들은 예측된 값들과 유사한 수준으로 비교되었다(Table 5).

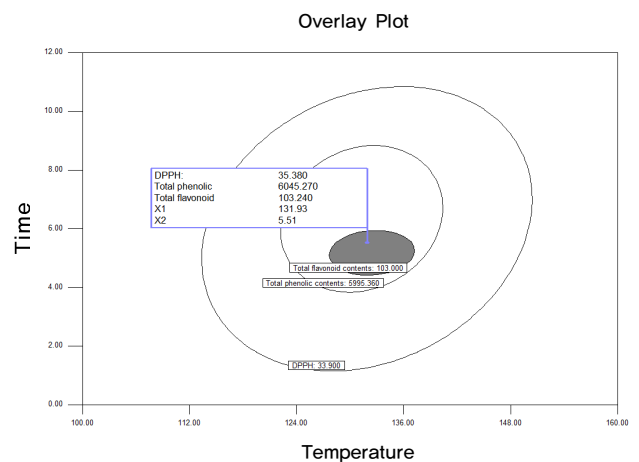


Fig. 7. Overlay plotting map of optimized conditions for DPPH, total phenolic content and total flavonoid content of *Ligustrum lucidum* Aiton from Haenam as functions of temperature and extraction time by microwave-assisted extraction.

**Table 5.** Predicted and experimental values of response variables for *Ligustrum lucidum* Aiton at a given condition within the range of optimum microwave-assisted extraction conditions

Response variables	Predicted values	Experimental values
Electron donating ability (%)	35.38	35.18
Total phenolic content (mg/100 g)	6,045.27	6,055.68
Total flavonoid content (mg/100 g)	103.24	103.72

**요 약**

본 연구에서는 지역별 여정자 추출물의 항산화 활성 및 총 페놀과 총 플라보노이드 함량을 비교분석한 결과 해남산이 제주산과 중국산보다 우수함을 확인할 수 있었다. 총 페놀과 총 플라보노이드 함량은 국내 해남산이 중국산에 비해 각각 2배와 1.6배의 높은 값을 보였고, 해남산 여정자 추출물의 항산화는 DPPH법과 ABTS법에서 중국산에 비해 약 2배 이상의 높은 활성을 나타내었다. 활성이 높은 해남산 여정자의 추출공정을 최적화하기 위해서 반응표면분석을 이용하여 여정자의 추출온도와 추출시간에 따른 전자공여능, 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량을 조사하였다. 중심합성계획에 따라 추출온도( $X_1$ ), 추출시간( $X_2$ )을 독립변수( $X_i$ )로 하고 추출물의 특성 즉, 전자공여능( $Y_1$ ), 총 페놀 함량( $Y_2$ ), 총 플라보노이드 함량( $Y_3$ )을 종속변수로 하여 추출 최적화를 수행하였다. 그 결과  $R^2$ 은 0.8859~0.9517로 10% 이내에서 유의성이 인정되었으며, 전체 모델의 유의 확률은 0.0026~0.0206으로 모두 통계적으로 유의한 값을 나타내었다. 이들 추출물의 특성을 모두 만족시키는 최적 추출조건은 추출온도 131.68°C, 추출시간 5.49분으로 나타났다. 예측된 최적 추출조건의 임의의 점에서 실험한 결과, 각 종속 변수들의 예측값이 전자공여능은 35.38%, 총 페놀 함량은 6,045.27 mg/100 g, 총 플라보노이드 함량은 103.24 mg/100 g이었고, 실제값은 전자공여능이 35.18%, 총 페놀 함량이 6,055.68 mg/100 g, 총 플라보노이드 함량이 103.72 mg/100 g으로 예측값과 실제값은 유사하게 나타났다. 따라서 마이크로웨이브 장치를 이용하여 여정자의 페놀계 화합물 추출조건을 최적화함으로써 단시간에 시료의 유용성분을 효과적으로 추출할 수 있었고, 여정자의 유용성분 열수추출 방법을 이용하여 다양한 식품소재로써 활용 가능성을 제시하게 되었다.

**감사의 글**

본 연구는 산업자원통상부의 기술료지원사업(과제번호: 10045726)에 의해서 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

**REFERENCES**

- Dimitrio B. 2006. Sources of naturalphenolic antioxidants. *Trends Food Sci Tech* 17: 505-512.
- Jo JO, Jung IC. 2006. Phenolic compounds of *Ligustrum japonicum* leaves. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 713-720.
- Han GS, Kim DS, Woo WH, Mun YJ. 2010. Inhibition effect of *Fructus Ligustri Lucidi* on tyrosinase and MITF expressions. *Korean J Oriental Physiology & Pathology* 24: 296-301.
- Kim YJ, Lee YR, Cheon JW, Lee HS. 2010. Anti-aging effect of *Ligustrum japonicum* extract in the human fibroblast cells. *J Soc Comet Scientists Korea* 36: 295-301.
- Ju HY, Chen SC, Wu KJ, Kuo HC, Hseu YC, Ching H, Wu CR. 2012. Antioxidant phenolic profile from ethyl acetate fraction of *Fructus Ligustri Lucidi* with protection against hydrogen peroxide-induced oxidative damage in SH-SY5Y cells. *Food Chem Toxicol* 50: 492-502.
- Pare JRJ, Sigouin M, Lapointe J. 1991. Microwave-assisted natural products extraction. *US Patent* 5,002,784.
- Pan X, Niu G, Liu H. 2003. Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves. *Chem Eng Process* 42: 129-133.
- Chen SS, Spiro M. 1994. Study of microwave extraction of essential oil constituents from plant materials. *J Microwave Power Electromagn Energy* 29: 231-241.
- Mattina MJI, Berger WAI, Denson CL. 1997. Microwave assisted extraction of taxanes from *Taxus* biomass. *J Agric Food Chem* 45: 4691-4696.
- Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagensts. *J Biol Chem* 12: 239-249.
- Kong S, Lee J. 2010. Antioxidants in milling fractions of black rice cultivars. *Food Chem* 120: 278-281.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1190-1200.
- Arts MJTJ, Haenen GRMM, Voss HP, Bast A. 2004. Antioxidant capacity of reaction products limits the applicability of the trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay. *Food Chem Toxicol* 42: 45-49.
- Gontard N, Guilbert S, Cuq JL. 1992. Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *J Food Sci* 57: 190-196.
- Cochran WG, Cox GM. 1957. *Experimental design*. 2nd ed. John Wiley & Sons Inc., New York, NY, USA. p 335-375.
- Box GEP, Hounter JS. 1957. Multifactor experimental design for exploring response surfaces. *Annal Math Stat* 28: 1195-1242.
- Ku KM, Kim SK, Kang YH. 2009. Antioxidant activity and functional components of corn silk (*Zea mays* L.). *Korean J Plant Res* 22: 323-329.
- Heo SJ, Ahn HY, Kang MJ, Lee JH, Cha JY, Cho YS. 2011. Antioxidative activity and chemical characteristics of leaves, roots, stems and fruits extracts from *Acanthopanax senticosus*. *J Life Sci* 21: 1052-1059.
- Yoon JA, Hahm SW, Park J, Son YS. 2009. Total polyphenol and flavonoid of fruit extract of *Opuntia humifusa* and its inhibitory effect on the growth of MCF-7 human breast cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1679-1684.
- Boo HO, Hwang SJ, Bae CS, Park SH, Song WS. 2011. Antioxidant activity according to each kind of natural plant pigments. *Korean J Plant Res* 24: 105-112.

21. Park GH, Lee JY, Kim DH, Cho YJ, An BJ. 2011. Anti-oxidant and antiinflammatory effects of *Rosa multiflora* root. *J Life Sci* 21: 1120-1126.
22. Cha JY, Cho YS. 1997. Effects of hesperidin, naringin and their aglycones on the *in vitro* assay phosphatidate phosphohydrolase, and on the proliferation in cultured human hepatocytes HepG2 cells. *Agric Chem Biotechnol* 40: 577-582.
23. Cha JY, Cho YS. 1999. Effect of potato polyphenolics on lipid peroxidation in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 1131-1136.
24. Cha JY, Cho YS, Kim I, Anno T, Rahman SM, Yanagita T. 2001. Effect of hesperetin, a citrus flavonoid, on the liver triacylglycerol content and phosphatidate phosphohydrolase activity in orotic acid-fed rats. *Plant Foods Human Nutr* 56: 349-358.