

반응표면분석을 이용한 생청국장 추출물의 기능성에 대한 모니터링

이보미 · 도정룡 · 김현구[†]

한국식품연구원

Monitoring on Functional Properties of Solid *Cheonggukjang* Extracts by Using Response Surface Methodology

Bo-Mi Lee, Jeong-Ryong Do, and Hyun-Ku Kim[†]

Korea Food Research Institute, Songnam 463-746, Korea

Abstract

Extraction characteristics of solid *Cheonggukjang* and the functional properties of corresponding extracts were monitored by the response surface methodology (RSM). The maximum extraction yield of 12.08% was obtained under the specific extraction conditions, such as microwave power of 132.40 W, ratio of solvent to sample content of 7.57 g/mL and extraction time of 14.11 min. The maximum electron donating ability (EDA) was found as 33.53% at the conditions of 113.26 W microwave power, 16.39 g/mL of ratio of solvent to sample content and 12.67 min extraction time. The maximum superoxide dismutase (SOD)-like activity was 89.62% under the extraction conditions of 61.82 W, 17.06 g/mL and 9.03 min. Based on superimposition of three dimensional RSM with respect to extraction yield, electron donating ability and SOD-like activity obtained under the various extraction conditions, the optimum ranges of extraction conditions were found to be microwave power of 75~140 W, ratio of solvent to sample content of 3~12 g/mL and extraction time of 1~11 min, respectively.

Key words: monitoring, functional property, solid *Cheonggukjang*

서 론

최근 건강에 대한 관심이 높아지고 있는 가운데 각종 발효 식품과 농산물 등으로부터 성인병을 예방하거나 치료할 수 있는 생리 기능성 물질에 대한 탐색과 개발에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다(1).

우리나라의 대표적인 자연식품인 청국장은 대두를 이용한 전통 발효식품으로 볏짚 위에 찢 콩을 담아 40°C에서 2~3일간 발효 숙성시키면 고초균(*Bacillus subtilis*)이 생산하는 효소의 작용에 의하여 단백질과 당질이 분해되어 구수한 맛과 특유의 냄새를 내는 동시에 끈적한 점질물이 생성되는 음식(2)으로 쌀을 주식으로 하여 단백질 섭취량이 비교적 적은 한국인에게는 예로부터 단백질과 지방의 중요한 공급원이 되어왔다(3). 콩이 발효되면서 청국장이 되면 각종 영양 성분의 흡수율이 증가되고 미생물과 효소, 생리활성 물질이 새롭게 만들어져 인체의 신진대사 기능을 극대화 시키는 역할을 하게 되는데 이는 청국장균의 정장효과, 섬유질의 변비예방 효과, 발암물질과 콜레스테롤의 체외 배출 효과, 점질물의 알콜 흡수에 의한 해장효과, 고혈압 및 동맥경화 예방 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있으며(4), 혈전용해

(5), 골다공증 예방(6)에 있어서도 우수한 것으로 밝혀졌다. 이러한 많은 장점에도 불구하고 청국장 특유의 냄새로 인해 다른 장류 음식에 비해 소비층이 적고 연령층도 좁은 실정이다(7).

따라서 본 연구에서는 Soxhlet 추출법 등 기존의 추출 방법보다 추출효율이 높은 것으로 보고되고 있는 마이크로웨이브 추출(microwave-assisted extraction) 방법을(8,9) 이용하여 생청국장의 추출공정별 청국장 추출물의 특성 비교 및 청국장의 최적 추출 조건을 설정함과 동시에 추출물의 생리활성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 청국장 시료는 청자콩을 발효시킨 생청국장으로, 경북 안동의 니껴바이오에서 제공한 것을 실험에 사용하였다. 청국장 시료의 생리활성 성분 검색을 위하여 생청국장 시료는 blender로 갈아 사용하였다. 추출 용매로는 증류수를 사용하였다. 시료의 추출은 Fig. 1과 같은 방법으로 실시하였다.

[†]Corresponding author. E-mail: hyunku@kfri.re.kr
Phone: 82-31-780-9134, Fax: 82-31-709-9876

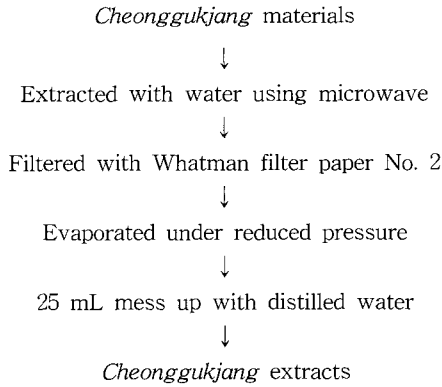


Fig. 1. Procedure for preparing *Cheonggukjang* extracts for measuring physiological activities.

추출조건 최적화를 위한 실험 계획

본 실험에서는 추출조건에 따른 추출특성의 모니터링과 추출조건의 최적화를 위하여 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)(10)을 사용하였다. 추출조건에 대한 실험계획은 중심합성계획(central composite design)(11)을 사용하였으며, 반응표면분석을 위해 SAS(statistical analysis system)(12)를 사용하였다. 실험계획은 Table 1과 같이 추출공정에서 중요한 변수로 고려되는 인자 즉, 시료에 대한 용매비, 마이크로웨이브 파워, 추출 온도를 -2, -1, 0, 1, 2의 5단계로 부호화하여 중심합성계획에 따라 Table 2와 같이 16구간으로 설정하여 추출실험을 실시하였다. 또한 이들 요인변수에 의해 영향을 받는 종속변수(Y_n) 즉, 수율, 전자공여작용, 아질산염 저해효과, tyrosinase 저해효과, ACE 저해효과, SOD 유사활성으로 하였으며, 이들은 3회 반복 측정하여 그 평균값을 회귀분석에 사용하였다.

수율 측정

수율(yield)은 추출액을 회전 감압 증발기(Rotavapor R-123, Buchi, Switzerland)로 감압 농축한 후 건조오븐(Forced convection oven, Jeico Tech, Korea)을 이용하여 105°C 상압가열건조법(13)을 적용하여 항량이 될 때까지 건조한 후 추출액 조제에 사용한 원료 건물량에 대한 고흡분 수율(%)로 나타내었다.

전자공여작용의 측정

추출물의 전자공여작용(electron donating abilities, EDA)은 Kang 등의 방법(14)을 변형하여 각각의 청국장 추출물에 대한 DPPH(α, α -diphenyl-picrylhydrazyl)의 전자공여효과로 각 시료의 환원력을 측정하였다. 즉, 추출물 0.2 mL에

Table 2. Central composite design for optimization of extraction conditions of solid *Cheonggukjang*

Experiment Number ¹⁾	Microwave power(W)	Ratio of solvent to sample content (g/mL)	Extraction time (m)
1	60 (-1)	6 (-1)	5 (-1)
2	60 (-1)	6 (-1)	13 (1)
3	60 (-1)	14 (1)	5 (-1)
4	60 (-1)	14 (1)	13 (1)
5	120 (1)	6 (-1)	5 (-1)
6	120 (1)	6 (-1)	13 (1)
7	120 (1)	14 (1)	5 (-1)
8	120 (1)	14 (1)	13 (1)
9	90 (0)	10 (0)	9 (0)
10	90 (0)	10 (0)	9 (0)
11	30 (-2)	10 (0)	9 (0)
12	150 (2)	10 (0)	9 (0)
13	90 (0)	2 (-2)	9 (0)
14	90 (0)	18 (2)	9 (0)
15	90 (0)	10 (0)	1 (-2)
16	90 (0)	10 (0)	17 (2)

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

4×10^{-4} M DPPH용액(99.9% EtOH에 용해) 0.8 mL을 가한 후, 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 6.5) 2 mL을 혼합하였다. 그리고 99% ethanol 2 mL을 가하여 총액의 부피가 5 mL가 되도록 하였다. 이 반응액을 약 10초간 혼합하고 실온에 30분 방치한 후 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여효과는 추출물의 첨가 전·후의 차이를 백분율로 나타내었다.

$$EDA(\%) = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: 추출물 첨가구의 흡광도

B: 추출물 무첨가구의 흡광도

아질산염 소거작용의 측정

아질산염 소거효과(nitrite-scavenging effect)는 Gray와 Dugan의 방법(15)으로 측정하였다. 즉, 1 mM 아질산나트륨 용액 0.1 mL에 각각의 추출물을 0.2 mL을 가하고 여기에 0.1 N 염산(pH 1.2)을 0.7 mL 가하여 반응용액의 부피를 1 mL로 하였다. 이를 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 다음 여기에 2% 초산 5 mL, Griess 시약(acetic acid에 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1:1 비율로 혼합한 것으로 사용 직전에 제조) 0.4 mL를 가하여 잘 혼합시켜 15분간 실온에서 방치시킨 후 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)

Table 1. Level in extraction conditions of solid *Cheonggukjang* based on central composite design

Extraction conditions	Level				
	-2	-1	0	1	2
Microwave power (watt)	30	60	90	120	150
Ratio of solvent to sample content (g/mL)	2	6	10	14	18
Extraction time (min)	1	5	9	13	17

를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염량을 구하였다. 그리고 대조구는 Griess 시약 대신 증류수 0.4 mL를 가하여 상기와 동일하게 행하였다. 아질산염 소거능은 추출액 첨가 전후의 아질산염 백분율(%)로 표기하였다.

$$N(\%) = \left(1 - \frac{A-C}{B}\right) \times 100$$

N: 아질산염 소거율

A: 1 mM NaNO₂ 용액에 시료를 첨가하여 1시간 반응시킨 후의 흡광도

B: 1 mM NaNO₂ 용액에 시료 대신 증류수를 첨가하여 1시간 반응시킨 후의 흡광도

C: 시료 추출물 자체의 흡광도

Tyrosinase 저해효과 측정

Tyrosinase 저해효과 측정은 Wong 등의 방법(16)에 따라 측정하였으며 tyrosinase 조효소액은 mushroom tyrosinase(Sigma, T3824, 110 units/mL)를 50 mM sodium phosphate buffer(pH 7.0)에 용해하여 사용하였다. 효소활성의 측정은 10 mM catechol 용액 2.8 mL에 tyrosinase 조효소액 0.2 mL, 추출액 0.1 mL를 가하고 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 사용하여 420 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다. Tyrosinase에 대한 효소활성 저해효과는 단위시간당 변화된 초기 흡광도의 변화값을 측정하여 다음의 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Inhibitory effect (\%)} = \{1 - (A - B/C)\} \times 100$$

A: 효소액 첨가구의 흡광도 변화값

B: 효소액 대신 buffer 첨가구의 흡광도 변화값

C: 추출물 대신 증류수 첨가구의 흡광도 변화값

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정

SOD 유사활성의 측정은 Marklund와 Marklund의 방법을 변형한 Kim 등의 방법(17)을 이용하여 실시하였다. 즉, 각 추출물을 감압 농축한 후 tris-HCl buffer(50 mM tris[hydroxymethyl]amino-methane + 10 mM EDTA, pH 8.5)를 이용하여 pH 8.5로 조절된 시료액을 만들었다. 각 시료 0.2 mL에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer(50 mM tris[hydroxymethyl]amino-methane + 10 mM EDTA) 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하고 25°C에서 10분간 방치한 후 1 N HCl 1 mL로 반응을 정지시킨 후 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 이용하여 420 nm에서의 흡광도를 측정하여 시료 첨가 및 무첨가구간의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

$$\text{SOD 유사활성 (\%)} = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: 추출물 첨가구의 흡광도

B: 추출물 무첨가구의 흡광도

단, A, B는 대조구의 흡광도를 제외한 수치임.

최적 추출조건 예측

조건별 추출물의 최적 추출조건 예측은 수율, 전자공여능, SOD 유사활성에 대한 반응표면을 superimposing 하였을 때 중복되는 부분의 범위에서 예측하였다. 또한 예측된 범위에서 임의의 점을 설정하여 회귀식에 대입하여 최적값을 예측하였다.

결과 및 고찰

생청국장의 최적 추출조건 설정

중심합성계획에 의한 16구간의 추출조건에 따라 추출실험을 실시하여 얻어진 결과(Table 3)를 이용하여 반응표면 회귀분석을 실시하고 각 반응변수에 대한 회귀식을 얻어 Table 4에 나타내었다. 또한 변수에 대한 추출조건의 영향과 최적 추출조건과 품질특성 값을 예측하여 Table 5에 나타내었으며, 이들의 4차원 반응표면을 시료에 대한 용매비와 마이크로웨이브 파워 및 추출시간을 독립변수로 하여 Fig. 2~6에 각각 나타내었다.

최적 추출조건은 반응변수인 추출물의 특성 즉, 수율, 전자공여능, 아질산염 소거능, tyrosinase 저해효과, SOD 유사활성의 4차원 반응표면을 superimposing하여 중복되는 부분의 범위로 예측하여 Fig. 7 및 Table 6에 나타내었다. 또한 예측된 범위에서 임의의 점을 설정한 후 회귀식에 대입하여 최적값들을 예측한 결과를 Table 7에 나타내었다.

추출조건에 따른 각 특성 변화

중심합성계획에 의한 추출조건별 결과는 Table 3에 나타내었으며, 결과에 대한 반응표면 회귀식은 Table 4에 나타내었다. 수율에 대한 회귀식의 R²는 0.8521이고 10% 이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점은 안장점으로 능선분석을 실시하여 본 결과, 수율의 최대값은 12.08%이고, 이 때 요인변수들의 값은 시료에 대한 마이크로웨이브 파워 132.40 W, 용매비 7.57 g/mL 및 추출시간 14.11 min이었다. 수율에 대한 반응표면은 Fig. 2에서와 같이 시료에 대한 용매비가 증가할수록 증가되는 경향을 나타내었다. 수율에 대한 추출조건의 영향은 추출시간에 가장 큰 영향을 받고 있었으며, 시료에 대한 용매비와 추출파위에 대한 영향은 적은 것으로 나타났다.

전자공여능에 대한 회귀식의 R²는 0.8512로 10% 이내에서 유의성이 인정되었으며, 예측된 정상점은 최소점으로, 최대 전자공여능은 33.53%로 예측되었다. 이 예측값을 추출할 수 있는 조건은 시료에 대한 마이크로웨이브 파워 113.26 W, 용매비 16.39 g/mL 및 추출시간 12.67 min로 Table 5와 같이 나타났으며, 전자공여능에 대한 반응표면은 Fig. 3에 나타내었다. 전자공여능에 대한 추출조건의 영향은 시료에 대한 용매비에 가장 크게 영향을 받고 있는 것으로 나타났다.

Table 3. Experimental data on total yield, electron donating ability, nitrite scavenging ability, inhibitory effect of tyrosinase activity and SOD activity of solid *Cheonggukjang* extracted by MAP under conditions based on central composite design for response surface analysis (%)

Experiment number ¹⁾	Total yield	Electron donating ability	Nitrite scavenging ability	Inhibitory effect of tyrosinase activity	SOD activity
1	3.89±0.48	3.96±1.67	16.96±8.45	9.14±1.05	38.54±4.27
2	7.64±0.24	5.61±3.90	7.28±8.16	8.37±0.54	0.00±5.66
3	5.00±0.18	7.80±0.38	25.62±0.29	13.31±1.17	54.45±2.47
4	7.92±0.10	10.20±8.90	11.81±5.54	14.01±0.66	47.44±4.92
5	6.81±0.24	8.85±1.78	36.74±7.28	10.73±0.53	31.81±0.47
6	11.39±0.24	8.08±1.38	36.54±6.48	7.25±1.35	0.00±39.16
7	7.98±0.27	8.15±5.29	21.50±6.12	12.71±2.24	15.09±6.32
8	10.18±0.18	25.80±8.46	0.00±6.67	7.81±2.68	0.00±42.35
9	9.42±0.14	9.28±2.33	12.84±0.87	12.59±2.01	56.74±12.01
10	9.83±0.14	9.20±7.19	12.36±1.32	12.16±1.49	56.68±7.85
11	7.00±0.25	5.61±3.81	34.68±1.46	8.99±4.63	43.94±1.68
12	11.17±0.72	20.87±8.04	33.10±2.07	7.85±1.05	0.00±10.57
13	8.75±1.25	11.89±2.96	7.07±4.37	6.00±7.15	33.42±2.60
14	9.44±0.84	30.89±0.63	5.63±2.70	20.18±4.92	90.05±21.88
15	6.08±0.14	8.45±6.56	26.10±6.00	6.29±2.96	38.27±3.27
16	10.75±0.43	18.55±4.76	16.21±5.30	7.79±3.14	0.00±20.94

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

Table 4. Polynomial equations calculated by RSM program for extraction conditions of solid *Cheonggukjang*

Response	Second order polynomial equations ¹⁾	R ²	Significance
Yield	$Y_V = -5.609531 + 0.083052X_1 + 0.568047X_2 + 0.936875X_3 - 0.000150X_1^2 - 0.001490X_1X_2 - 0.008281X_2^2 + 0.000115X_1X_3 - 0.025078X_2X_3 - 0.018906X_3^2$	0.8521	0.0578
Electron donating ability	$Y_{E\%DA} = 46.914063 - 0.297615X_1 - 4.958672X_2 - 3.255938X_3 + 0.001111X_1^2 + 0.008948X_1X_2 + 0.189844X_2^2 + 0.013365X_3 + 0.149766X_2X_3 + 0.066563X_3^2$	0.8512	0.0586
Nitrite-scavenging ability	$Y_{NO} = -5.186016 - 0.342115X_1 + 9.184141X_2 - 1.602344X_3 + 0.005914X_1^2 - 0.067677X_1X_2 - 0.097656X_2^2 + 0.001865X_1X_3 - 0.198672X_2X_3 + 0.133672X_3^2$	0.8857	0.02
Tyrosinase inhibition	$Y_{TY} = -19.838359 + 0.333448X_1 + 1.090703X_2 + 2.190469X_3 - 0.001099X_1^2 - 0.007573X_1X_2 + 0.011172X_2^2 - 0.008656X_1X_3 + 0.000391X_2X_3 - 0.083359X_3^2$	0.8702	0.04
SOD-like activity	$Y_{SOD} = -78.878047 + 2.205781X_1 + 5.041953X_2 + 4.284531X_3 - 0.009650X_1^2 - 0.083406X_1X_2 + 0.078516X_2^2 - 0.001406X_1X_3 + 0.376953X_2X_3 - 0.587109X_3^2$	0.8716	0.04

¹⁾X₁: microwave power (watt), X₂: ratio of solvent to sample content (g/mL), X₃: extraction time (min).

Table 5. Predicted levels of extraction condition for the maximum responses of variables by the ridge analysis in solid *Cheonggukjang* (%)

Responses	X ₁ ¹⁾	X ₂ ²⁾	X ₃ ³⁾	Maximum	Morphology
Yield	132.39	7.57	14.11	12.08	Saddle point
Electron donating ability	113.26	16.39	12.67	33.53	Minimum
Nitrite-scavenging ability	143.62	6.42	8.71	47.60	Saddle point
Tyrosinase inhibition	72.25	17.64	9.25	18.99	Saddle point
SOD-like activity	61.82	17.06	9.03	89.62	Saddle point

¹⁾Microwave power (watt). ²⁾Ratio of solvent to sample content (g/mL). ³⁾Extraction time (min).

추출조건에 따른 아질산염 소거능은 pH 1.2에서 시행되었으며, Table 3과 같이 나타내었다. 아질산염 소거능에 대한 추출물의 회귀식의 R²는 0.8857이고, 5% 이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 이때 예측된 정상점은 능선을 분석하여 본 결과, 최대값이 47.60%로 예측되었다. 이 예측값을 추출할 수 있는 조건은 시료에 대한 마이크로웨이브 파워 143.62 W, 용매비 6.42 g/mL 및 추출시간 8.71 min로 Table 5와 같이 나타났으며, 아질산염 소거능에 대한 반응표면은 Fig. 4에 나타내었다. 아질산염 소거능에 대한 추출조

건의 영향은 시료에 대한 용매비와 마이크로웨이브의 파워에 가장 크게 영향을 받고 있는 것으로 나타났다.

Tyrosinase 저해효과에 대한 회귀식의 R²는 0.8702로 5% 이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점은 안장점으로 능선분석을 실시하여 본 결과 최대값은 4.17%로 나타났다. 이때의 추출조건은 Table 5에서와 같이 시료에 대한 마이크로웨이브 파워 123.97 W, 용매비 8.46 g/mL 및 추출시간 15.41 min이었다. Tyrosinase 저해효과에 대한 반응표면은 Fig. 5에 나타내었다. 또한 추출조건에

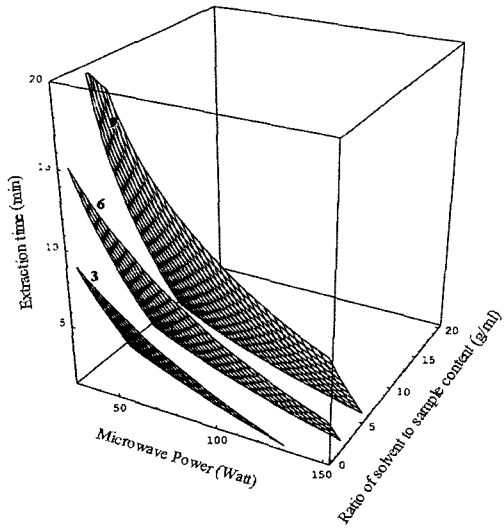


Fig. 2. Response surface for yield in solid *Cheonggukjang* extract at constant values (yield: 3–6–9%) as a function of microwave power, ratio of solvent to sample content and extraction time.

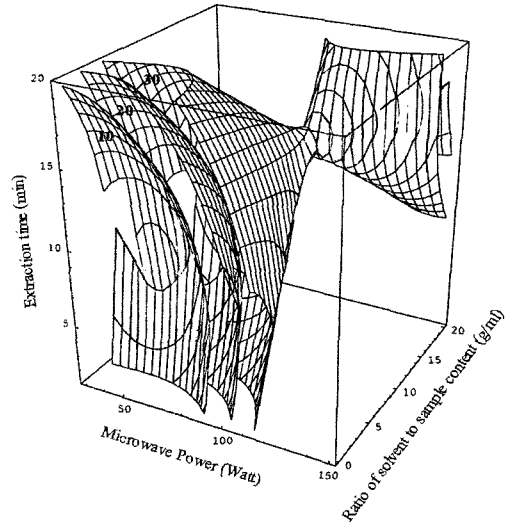


Fig. 4. Response surface for nitrite-scavenging ability (pH 1.2) in solid *Cheonggukjang* extract at constant values (NO: 10–20–30%) as a function of microwave power, ratio of solvent to sample content and extraction time.

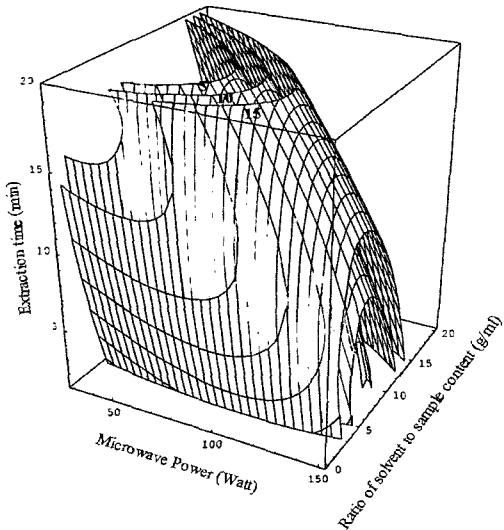


Fig. 3. Response surface for electron donating ability in solid *Cheonggukjang* extract at constant values (EDA: 5–10–15%) as a function of microwave power, ratio of solvent to sample content and extraction time.

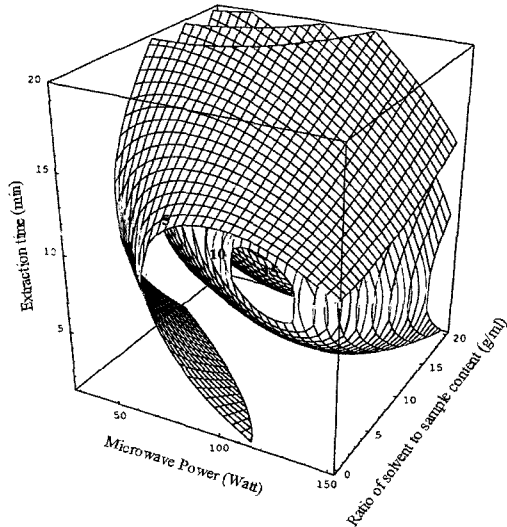


Fig. 5. Response surface for tyrosinase inhibition in solid *Cheonggukjang* extract at constant values (TI: 5–10–15%) as a function of microwave power, ratio of solvent to sample content and extraction time.

대한 영향은 시료에 대한 용매비에 가장 크게 영향을 받고 있는 것으로 나타났으며, 마이크로웨이브 파워와 추출시간에 대해서는 적은 영향을 받는 것으로 나타났다.

SOD 유사활성에 대한 추출물의 회귀식의 R^2 는 0.8716으로 유의성이 5% 이내의 유의수준에서 인정되었다. 예측된 정상점은 안장점으로 나타나 능선분석을 실시하였다. 그 결과 최대값은 89.62%로 나타났으며, 이때의 추출조건은 시료에 대한 마이크로웨이브 파워 61.82 W, 용매비 17.06 g/mL 및 추출시간 9.03 min일 때로 나타났다(Table 5). SOD 유사활성에 대한 반응표면은 Fig. 6에 나타내었다. 추출조건에

대한 영향은 SOD 유사활성은 마이크로웨이브 파워에 가장 큰 영향을 받고 있는 것으로 나타났으며, 시료에 대한 용매비와 추출시간에 대한 영향은 거의 없는 것으로 나타났다.

최적 추출조건 설정

생청국장의 추출조건을 설정하기 위하여 조건별 추출물의 수율, 전자공여능, 아질산염 소거능, tyrosinase 저해작용, 그리고 SOD 유사활성에 대한 4차원 반응표면을 superimposing하여 최적 추출조건 범위를 예측하여 Fig. 7에 어두운 부분으로 나타내었다. 생청국장의 경우 수율, 전자공여

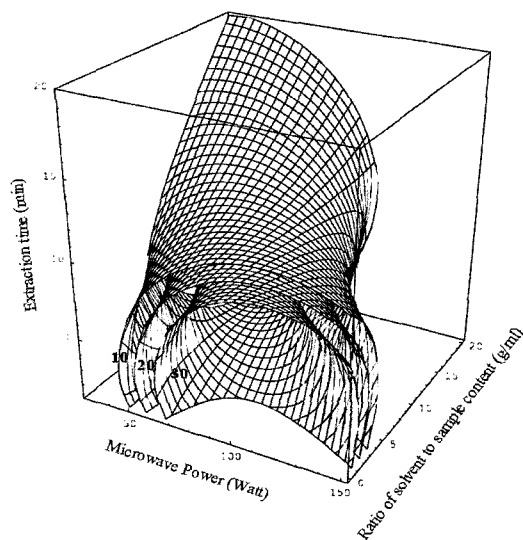


Fig. 6. Response surface for SOD-like activity in solid *Cheonggukjang* extract at constant values (SOD: 10-20-30%) as a function of microwave power, ratio of solvent to sample content and extraction time.

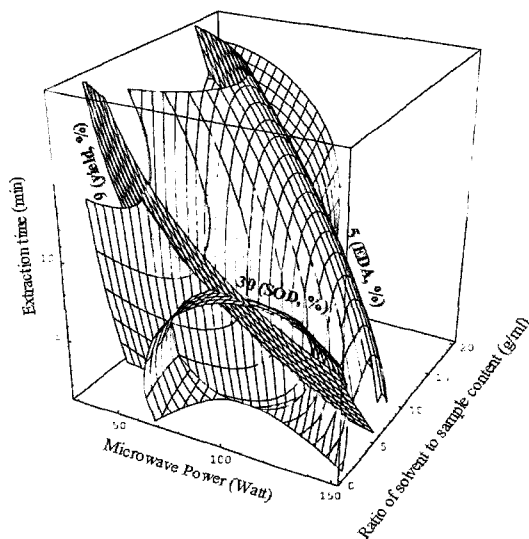


Fig. 7. Superimposed response surface for optimization of yield (9%), electron donating ability (5%) and SOD-like activity (30%) of extract from solid *Cheonggukjang*.

능, SOD 유사활성이 일치하는 범위는 마이크로웨이브 파워 75~140 W, 시료에 대한 용매비 0~11 g/mL, 추출시간 3~12 min로 나타났다(Table 6).

따라서 이와 같은 예측결과에 의한 최적조건을 확인하기 위하여 예측된 최적조건 범위 내에서 임의의 조건을 대입하여 이화학적 특성을 예측해본 결과 Table 7과 같이 예측되었다. 생청국장에 대한 임의의 조건으로 시료에 대한 파워 90 W, 용매비 10 g/mL, 추출시간 9분을 설정한 후 생청국장에 대한 각각의 회귀식에 대입하여 얻은 예측된 최적값은 수율 8.90%, 전자공여능 6.97%, 아질산염 소거능 13.13%, ty-

Table 6. Optimum extraction conditions for response variables yielding the optimum response by superimposing of the 4-dimensional response surfaces

Conditions	Range of predicted conditions
	Solid <i>Cheonggukjang</i>
Microwave power (watt)	75~140
Ratio of solvent to sample content (g/mL)	3~12
Extraction time (min)	1~11

Table 7. Comparing between predicted and observed values of response variable for water extracts from solid *Cheonggukjang* at the given condition within the range of optimum condition (%)

Response variable	Solid <i>Cheonggukjang</i>	
	Predicted values	Experimental values
Yield	8.90	9.42
Electron donating ability	6.97	9.28
Nitrite scavenging activity	13.13	12.84
Tyrosinase inhibitory effect	12.46	12.16
SOD activity	48.47	56.74

Solid *Cheonggukjang*: 90 W, 10 g/mL in ratio of solvent to sample content, 9 min in extraction time.

rosinase 저해작용 12.46%, SOD 유사활성 48.47%로 실제 실험값과 크게 차이나지 않았다.

요 약

생청국장의 추출공정별 청국장 추출물의 특성 비교 및 청국장의 최적 추출 조건을 설정하고자 하였다. 용매로 물을 사용하여 추출한 생청국장을 각각 마이크로웨이브 파워별 (30, 60, 90, 120 및 150 W), 시간별(1, 5, 9, 13 및 17분)로 추출한 후 생리활성 실험을 수행하였을 때, 수율, 전자공여능, 아질산염 소거능, tyrosinase 저해작용, SOD 유사활성 등의 생리활성 측정을 통해 추출 최적점을 찾아내었다. 반응표면분석법을 이용하여 모니터링한 결과, 최적의 조건은 수율, 전자공여능, SOD 유사활성이 일치하는 범위로서 마이크로웨이브 파워 75~140 W, 시료에 대한 용매비 0~11 g/mL, 추출시간 3~12 min으로 나타났다. 예측 결과에 의한 최적조건을 확인하기 위하여 예측된 최적조건 범위 내에서 임의의 조건을 대입하여 이화학적 특성을 예측해본 결과 생청국장에 대한 임의의 조건으로 시료에 대한 파워 90 W, 용매비 10 g/mL, 추출시간 9 min을 설정한 후 생청국장에 대한 각각의 회귀식에 대입하여 얻은 예측된 최적값은 수율 8.90%, 전자공여능 6.97%, 아질산염 소거능 13.13%, tyrosinase 저해작용 12.46%, SOD 유사활성 48.47%로 실험값과 예측값간의 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

문 헌

1. Kim DH, Lee GY, Kim NM, Lee JS. 2003. Physiological

- functionality of various extracts from *danmemil* and legumes. *Korean J Food Nutr* 16: 347-352.
2. Jung YK, Lee K, No HK, Kim SD. 2006. Effect of sea tangle on fermentation and quality characteristics of *Cheongbukjang*. *Korean J Food Preserv* 13: 95-101.
 3. Hong SW, Kim JY, Lee BK, Chung KS. 2006. The bacterial biological response modifier enriched *Chungkookjang* fermentation. *Korean Food Sci Technol* 38: 548-553.
 4. Shon MY, Kwon SH, Park SK, Park JR, Choi JS. 2001. Changes in chemical components of black bean *Chungkugjang* added with kiwi and radish during fermentation. *Korean J Postharvest Sci Technol* 8: 449-455.
 5. Yoo CK, Seo WS, Lee CS, Kang SM. 1998. Purification and characterization of fibrinolytic enzyme excreted by *Bacillus subtilis* K-54 isolated from *Chunggukjang*. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 26: 507-514.
 6. Hosoi T. 1996. Recent progress in treatment of osteoporosis. *Nippon Ronen Igakkai Zasshi* 33: 240-244.
 7. Ko HS, Cho DH, Hwang SY, Kim YM. 1999. The effect of quality improvement by *Chungkukjang's* processing methods. *Korean J Food Nutr* 12: 1-6.
 8. Giese J. 1992. Advances in microwave food processing. *Food Technol* 46: 118-123.
 9. Schiffmann RF. 1992. Microwave processing in the U.S. food industry. *Food Technol* 46: 50-56.
 10. Contard 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.
 11. Lee GD, Lee JE, Kwon JH. 2000. Application of response surface methodology in food industry. *Food Ind* 33: 33-45.
 12. SAS Institute, Inc. 1990. *SAS User's Guide*. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA.
 13. AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. 17th ed. Method 3.1.03. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA.
 14. Kang YH, Park YK, Lee GD. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J Food Sci Technol* 28: 232-239.
 15. Gray JI, Dugan Jr LR. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food system. *J Food Sci* 40: 981-984.
 16. Wong TC, Luh BS, Whitaker JR. 1971. Isolation and characterization of polyphenol oxidase of clingstone peach. *Plant Physiol* 48: 19-23.
 17. 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.

(2007년 8월 13일 접수; 2007년 9월 2일 채택)