

커피박으로부터 생리활성물질 생산 증대를 위한 열수추출 공정 개발

조재민 · 김승기 · 민보라 · 정현진 · 한여정 · 김진우[†]

선문대학교 식품과학과
31460 충청남도 아산시 탕정면 선문로221번길 70
(2016년 12월 30일 접수, 2017년 2월 20일 수정본 접수, 2017년 3월 3일 채택)

Optimization of Hot-water Extraction Conditions of Bioactive Compounds from Coffee Residue Extracts

JaeMin Jo, SeungKi Kim, Bora Min, HyunJin Jung, Yeojung Han and JinWoo Kim[†]

Department of Food Science, Sunmoon University, 70, Sunmoon-ro 221beon-gil, Tangjeong-myeon, Asan, Chungnam, 31460, Korea
(Received 30 December 2016; Received in revised form 20 February 2017; accepted 3 March 2017)

요 약

커피침출 공정의 부산물인 커피박을 이용한 고부가가치 식품 및 화장품 소재 생산을 위해 열수추출 공정의 폴리페놀 추출인자(용매, 온도, 시간, 농도) 최적화를 수행하였다. 실험에 적용된 모든 추출인자가 폴리페놀 생산에 유의한 효과가 있음을 확인할 수 있었고 NaOH 농도가 폴리페놀 생산에 미치는 효과가 가장 큰 것으로 평가되었다. 특히, 열수추출 보다는 산 또는 염기를 이용한 열수추출이 폴리페놀 추출 효과가 높았으며 NaOH 0.1 mol 첨가 시 증류수를 이용한 열수추출에 비해 1.5배 추출 효과가 증가하여 열수를 이용한 추출에 비해 염기-열수 추출이 보다 효과적임을 알 수 있었다. 폴리페놀 추출의 최적 조건인 100 °C, 2 mol NaOH와 30 min 추출 조건에서 36.5 mg GAE/g DM를 얻을 수 있었다. 이는 최적화 이전의 열수추출에서 얻은 12.5 mg GAE/g DM 대비 2.9배 증가된 결과로 커피박은 항산화 활성 등 기능성 강화 소재로 식품 및 화장품 산업에 활용이 가능할 것으로 판단된다.

Abstract – In this study, the optimization of extraction parameters (solvent, temperature, time, solvent concentration) for the maximization of polyphenol extraction was performed to produce value-added food and cosmetic additives using a byproduct of coffee extraction process (coffee residue). All of the extraction parameters evaluated in this experiment had significant effects on polyphenol extraction and the results showed the effect of NaOH concentration on the polyphenol production was most significant among tested parameters. Especially, hot water extraction using acid or base was effective rather than hot-water extraction and the addition of 0.1 mol of NaOH increased 1.5 times extraction concentration compared with hot-water extraction using distilled water. It was found that hot-water extraction with NaOH was more effective than hot-water extraction, and 36.5 mg GAE/g DM was obtained under optimum condition of 100 °C, 2 mol of NaOH and 30 min. This result was 2.9 times higher than that of 12.5 mg GAE/g DM obtained from the hot-water extraction before optimization. Thus, coffee residue could be used for food and cosmetic industry as a high-value additive such as antioxidant.

Key words: Coffee residue, Byproduct, Polyphenol, Extraction, Optimization

1. 서 론

커피는 전 세계적으로 740만 톤이 생산되어 가장 많이 소비되는 기호음료로 석유 다음으로 무역량이 많은 제품으로 경제적으로 매우 중요한 위치를 차지하고 있다[1]. 국내에서는 1970년대부터 대중화되기 시작하여 매년 평균 15% 이상 판매량 성장을 하였으며 지

난 5년간 커피 시장 성장률은 121%로 폭발적으로 증가하여 2010년 기준 2조 7천억 원의 시장을 형성하고 있다. 원료 기준으로 2010년 한해 동안 11.7만 톤의 커피 원두가 수입되고 있으며 매년 10% 이상의 수입 증가세를 보이고 있다[2]. 커피박은 폐원두라고 불리며 커피 열수침출 공정에서 생기는 추출 잔류물로, 커피 원두 1 kg의 열수침출 공정에서 약 0.91 kg이 생성되어 커피 추출 공정의 주요한 폐기물로 인식되고 있다[3]. 커피박의 생산을 줄이기 위해 열수침출 수율을 증가시키는 공정이 꾸준히 개발되어 커피박의 발생량이 점차 감소하는 추세에도 불구하고 현재 국내에서 10만 톤(14년)과 세계적으로 6백만 톤 가량의 커피박이 발생하고 있으나 처리 방안이

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: kimjw1028@sunmoon.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

미흡한 실정으로 커피박 재활용에 대한 필요성이 커지고 있다[4]. 커피박의 영양성분 분석에 따르면 커피박은 단백질 10%, 조섬유 23%, 조지방 6% 정도의 영양 성분을 가져 가축 사료 등으로 활용이 가능하나 쓴맛의 원인이 되는 tannin성분이 다량 함유되어 기호성이 떨어지고 소화가 어려운 리그노셀룰로오스 조직으로 구성되어 사료로 사용에 부적당하여 대부분 폐기되고 있는 실정이다[5,6].

식물에서 유래된 페놀 화합물 및 비타민 등의 천연 항산화제는 다수의 phenolic hydroxyl기를 가지고 있어 유리 라디칼과 결합하여 세포의 산화 손상에 대한 화학적 예방효과가 보고됨에 따라 많은 주목을 받고 있다[7]. 커피 추출 후, 부산물로 남은 커피박에 열수 침출 과정에서 추출되지 않고 잔류하는 카테킨과 안토시아닌과 같은 플라보노이드와 방향족 화합물인 polyphenol이 약 8% 정도 함유되어 항균과 항산화 활성이 있다고 알려져 천연 항산화제로서의 잠재적 가치가 높다고 판단된다[8]. 생산되는 커피박은 대부분 폐기되거나 일부 가축사료로 사용 되는 등 활용도가 낮은 부산물로 취급되고 있어 폐기물 감소를 위해 커피박으로부터 고부가가치 식품 첨가물인 폴리페놀 생산 증대를 위해 커피박 적합형 폴리페놀 추출 공정 개발이 필요하다.

본 연구에서는 커피박으로부터 항산화 물질인 폴리페놀의 생산을 최대화하는 조건을 확보하고 이를 원두커피의 폴리페놀 함량과 비교하여 커피박 추출물의 천연 항산화제로서의 활용 가능성을 평가하고자 하였다. 이를 위해 커피박을 이용한 폴리페놀 열수추출에 영향을 미치는 주요인자인 용매 종류, 용매 농도, 추출 온도와 추출 시간 최적화를 통해 보다 효과적인 열수추출 공정을 제안하여 커피박으로부터 천연 항산화제 생산의 가능성과 함께 식품 및 화장품 소재로서의 가치를 검토하였다.

2. 실험

2-1. 커피박

본 실험에 사용된 커피원두는 커피 프랜차이즈 매장에서 커피(하와이안 코나)를 추출하고 남은 잔여물을 수집하여 당일 60 °C 오븐에서 8시간 건조하여 잔류수분 제거 후 -18 °C 냉동고에 보관하여 사용하였다. 추출 용매로 사용한 유기 용매는 Sigma-Aldrich 사(Sigma, St. Louis, MO, USA)와 Samchun Pure Chemical 사(Seoul, Korea)의 순도 95% 이상 시약을 사용하였으며 분석에 사용된 시약은 Sigma-Aldrich사의 일급 이상 시약을 사용하였다.

2-2. 추출 조건

냉동보관된 커피박은 추출 실험에 앞서 60 °C 오븐에서 건조무게의 변화가 없을 때까지 건조하여 실험에 사용하였다. 폴리페놀의 용매추출을 위해 밀폐형 유리 튜브 시험관을 사용하여 건조 시료를 추출 고액비인 커피박 1 g과 용매 20 ml를 혼합하여 진탕배양기(KMC-1205SW1, Vision, Daejeon, Korea)와 고압멸균기(SJP-40, Sinjin, Incheon, Korea)에서 온도와 시간을 조절하여 추출을 진행하였다. 추출 후, 1 ml의 추출액을 마이크로 튜브에 옮겨 원심분리 후 상등액을 회수하여 필요에 따라 희석액을 만들어 폴리페놀 측정에 사용하였다.

2-3. 총 폴리페놀(total polyphenol compound) 함량 분석

총 폴리페놀 함량은 변형된 Folin-Ciocalteu's 방법을 이용하여

측정하였다[9]. 페놀 용액을 희석 추출물에 첨가하여 폴리페놀 화합물에 의해 청색으로 환원 발색하는 원리에 근거하여 흡광도 변화로 폴리페놀 농도를 측정하였다. 각 추출물을 1 mg/mL로 희석한 후, 이 시료액 0.25 mL에 증류수 0.75 mL를 첨가하고 Folin & Ciocalteu's 페놀용액 0.25 mL를 첨가하고 5분 후 NaCO₃ 용액 0.25 mL 첨가하여 실온에서 1시간 반응을 진행시킨 후 640 nm에서 분광광도계(UV-1650PC, Shimadzu, Kyoto, Japan)로 흡광도를 측정하였다. Gallic acid (Sigma, St. Louis, MO, USA)를 표준물질로 사용하였으며, 총 폴리페놀 함량은 흡광도와 gallic acid간의 표준곡선을 작성한 후 건조 시료 kg dry material (DM)당 g gallic acid equivalents (GAE)로 나타내었다.

2-4. 항산화력 측정

커피박의 항산화력 측정은 추출 시료의 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical 소거활성을 측정하는 Lee등의 방법을 변형하여 사용하였다[10]. 추출한 커피박 샘플 시료 25 µL에 0.1 mM DPPH 975 µL를 첨가하여 상온에서 10분간 발색시킨 후 UV 분광기(UV-1700, Shimadzu, Tokyo, Japan)를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도인 O.D. 0.65를 기준점(control ABS)으로 하여 아래에 나타난 식과 같이 free radical 소거활성을 백분율로 표현하였다.

$$\text{항산화력(\%)} = \{(\text{control ABS} - \text{Sample Abs}) / \text{control ABS}\} \times 100$$

2-5. 플라보노이드 함량 측정

플라보노이드 함량은 Mussatto 등의 방법을 변형하여 사용하였다[11,12]. 각 시료 0.1 mL에 5% sodium nitrite 0.15 mL를 가한 후 25 °C에서 6분간 방치한 다음 10% aluminum chloride 0.3 mL를 가하여 25 °C에서 5분간 방치하였다. 다음 1N NaOH 1 mL를 가하여 혼합 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였으며 퀘세틴(quercetin)을 25, 50, 100, 150, 200 µg/mL로 농도 별로 희석하여 검량선을 구하여 플라보노이드 함량을 산출하여 단위 건조 바이오매스 당 퀘세틴 동량으로 표현하였다(g quercetin/g DM).

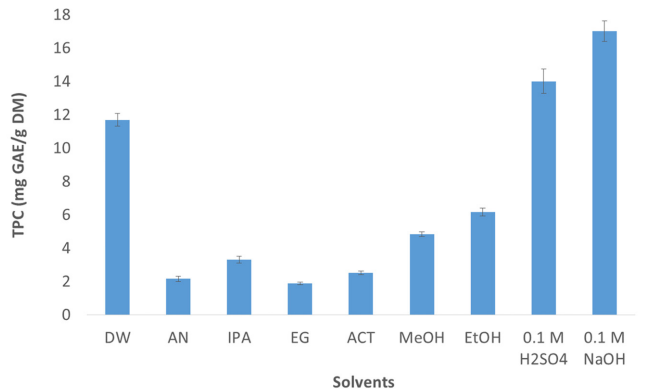
2-6. 통계처리

모든 실험은 3반복하여 평균값과 표준편차로 결과값을 나타내었으며, 결과의 통계처리는 Sigma-Stat 2.0 (Jandel Co., San Rafael, CA, USA)와 Design-expert 9.0 (Stat-Ease, Inc., Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 One-way analysis of variance (ANOVA)를 통하여 유의성을 검정하였다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 추출 용매

커피 원두를 에스프레소 기계로 추출하고 남은 커피박으로부터 폴리페놀 추출을 위한 최적의 용매를 선정하기 위해 물과 여러 유기용매를 사용하여 60 °C에서 30분 간 폴리페놀 추출 실험을 진행하였다. Fig. 1에 보는 바와 같이 커피박에 잔류 폴리페놀이 일정량 함유되어 있는 것을 알 수 있었으며 총 폴리페놀 추출에 있어 열수를 이용한 추출이 다른 유기용매에 비해 우수함을 확인할 수 있었다. 식품용 소재 추출에 가장 일반적으로 사용되는 에탄올에 비해서도



DW=distilled water; AN=Acetonitrile; IPA=Isopropyl alcohol; EG=Ethylene glycol; ACT=Acetone; MeOH=methanol; EtOH=ethanol.

Fig. 1. Effect of solvents on extraction of polyphenolic compounds from coffee residue (Extraction conditions: extraction temperature of 60 °C, extraction time of 30 min).

열수추출의 폴리페놀 추출능이 우수함을 확인할 수 있었으며 증류수를 이용한 열수추출과 염기와 산을 첨가한 열수추출을 비교하였을 때, 염기를 첨가한 열수추출이 보다 우수한 추출능을 보였다($p < 0.05$). 이는 안진 쑥으로부터 폴리페놀 열수추출에 있어 증류수가 에탄올 대비 추출능이 우수하다는 연구와 Blackwell 등이 수수로부터 폴리페놀 분리에 있어 유기용매인 아세톤보다 NaOH를 이용한 열수추출의 효과가 높다는 연구결과와 동일한 경향임을 알 수 있었다[13,14]. 이는 세포벽의 헤미셀룰로오스와 강한 결합을 가진 리그닌의 구성 성분인 폴리페놀이 염기 용액에 의해 세포 간 공극 확장과 함께 리그닌-헤미셀룰로오스 사이의 에스테르와 에테르 결합이 효과적으로 분해되어 폴리페놀 추출 효과가 높아졌다고 할 수 있다[15]. 식품용 첨가제 생산에 있어 사용이 허용된 용매가 물과 에탄올이며 염기 용액을 이용한 추출이 에탄올을 이용한 추출보다 효과적임을 알 수 있어 이후 실험에서 염기 용액을 이용한 열수추출을 적용하였다.

3-2. 염기 용매농도

식물체로부터 폴리페놀 추출 시, 물과 기타 유기용매에 의해 낮은 추출 효과를 보이는 폴리페놀을 난용성 폴리페놀(NEPP, non-extractable polyphenol)이라고 하며 이는 리그노셀룰로오스 복합체, 단백질과 에스테르 또는 에테르 결합으로 강하게 결합된 형태로 물과 유기용매에 의한 가수분해에 매우 안정적이다. 본 실험에 사용된 커피박의 경우 커피 추출을 위해 에스프레소 기계를 이용한 열수침출이 완료된 상태로 열수환경에서 추출되지 않고 잔류한 난용성 폴리페놀 함량이 높다고 예상되어 난용성 폴리페놀 추출에 효과가 있다고 알려진 염기 용액을 사용하여 추출을 진행하였다. 추출 효과를 최대화하기 위해 NaOH용액의 농도를 0~3 mol로 변화시켜 폴리페놀 추출능을 비교하였다(Fig. 2). 추출에 사용된 NaOH의 농도는 폴리페놀 추출에 유의한 영향($p < 0.05$)을 주었으며 NaOH 농도가 2 mol까지 증가함에 따라 폴리페놀 함량이 증가하는 경향을 보였으나 2 mol 이상의 농도에서는 폴리페놀 생산량에 유의한 영향이 없는 것으로 나타났다($p = 0.928$). 염기-열수추출의 경제성을 고려할 때, 추출농도 2 mol이 효과적인 조건으로 판단되며 동일 조건에서 증류수를 이용한 열수추출에 비해 폴리페놀 생산이 2.1배 높음을 확인할 수 있었다. 이는 기존 연구에서 보고된 블루베리로부터 폴리페놀 추출 시 NaOH 용액의 최적 농도가 2~3 mol이며 최적 농도 이상의 농도에서 폴리페

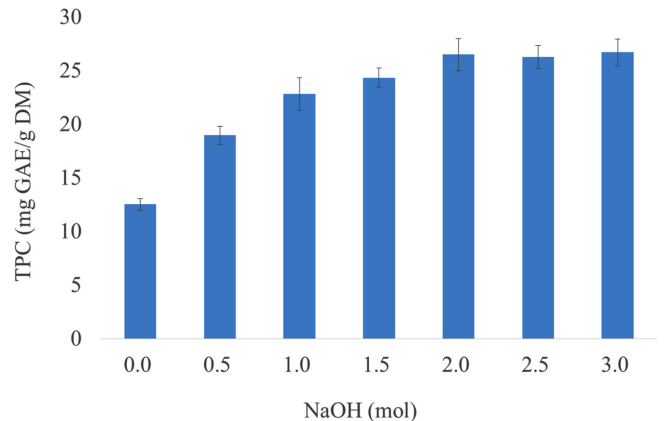


Fig. 2. Effect of concentration of NaOH on the extraction of polyphenolic compounds from coffee residue (Extraction conditions: extraction temperature of 60 °C, extraction time of 30 min).

놀 추출이 증가하지 않는다는 결과와 일치한다[16]. 이는 난용성 폴리페놀의 경우 비교적 높은 NaOH 농도인 2 mol 이상에서 에스테르와 에테르 결합을 효과적으로 파괴하기 때문이라고 설명할 수 있다.

3-3. 추출온도 영향 평가

염기-열수추출 온도가 커피박 폴리페놀 추출에 미치는 영향을 평가하기 위해 30~120 °C 조건에서 폴리페놀 농도를 비교하였다(Fig. 3). 추출 온도 변화는 폴리페놀 농도에 유의한 영향($p < 0.05$)을 주어 폴리페놀 생산에 온도가 미치는 영향이 큼을 알 수 있었다. 열수추출의 온도가 100°까지 증가함에 따라 폴리페놀 농도가 비례하여 증가하였으며 120 °C 열수추출에서 가장 높은 34.2 mg GAE/g DM 폴리페놀을 확인할 수 있었다. 고온인 100 °C와 120 °C 추출 조건에서 폴리페놀 농도는 각각 33.2와 34.2 mg GAE/g DM으로 두 온도 사이에서 폴리페놀 추출은 유의한 차이가 없음을 확인할 수 있어($p = 0.101$), 경제적인 추출 공정 설계를 고려하여 폴리페놀 추출의 최적 조건을 100 °C로 결정하였다. 염기-열수추출 공정에서 30 °C 대비 120 °C 추출에서 폴리페놀 농도가 1.4배 증가함을 확인할 수 있었다. 이는 기존 연구에서 보고된 광나무 열매로부터 폴리페놀 추출 시 추출 온도가 증가에 따라 폴리페놀 생산이 증가하며

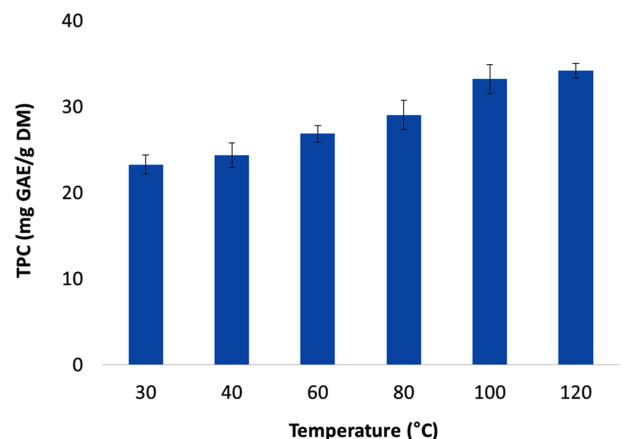


Fig. 3. Effect of temperature on the extraction of polyphenolic compounds from coffee residue (Extraction conditions: 2 mol of NaOH, extraction time of 30 min).

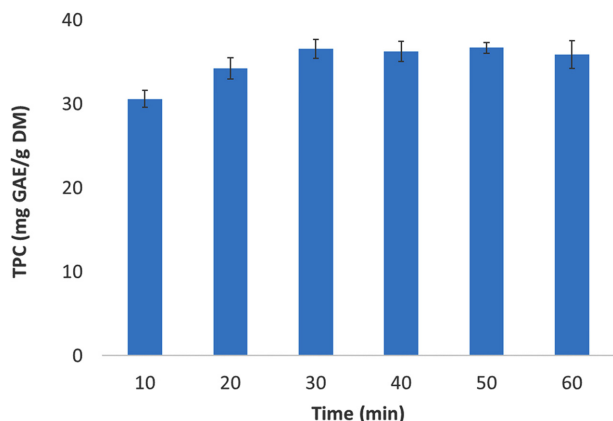


Fig. 4. Effect of time on the extraction of polyphenolic compounds from coffee residue (Extraction conditions: 2 mol of NaOH, 100 °C).

131 °C에서 최적 추출 조건이 형성된다는 결과와 비교하였을 때 비교적 낮은 온도에서 폴리페놀 추출이 이루어지는 것으로 열수에 의해 1차 폴리페놀 추출이 완료된 커피박은 리그닌 구조가 부분적으로 파괴가 되어 폴리페놀 추출이 비교적 낮은 온도에서 진행되며 폴리페놀 추출에 염기-열수추출이 효과적인 공정임을 알 수 있었다[17,18].

3-4. 추출시간 영향 평가

커피박으로부터 염기-열수추출을 이용하여 폴리페놀 추출 시, 추출 시간에 따른 폴리페놀 함량 비교를 위해 추출 시간을 달리하여 총 폴리페놀 추출 농도를 비교하였다(Fig. 4). 추출 시간 30분까지 추출 시간 증가에 따라 폴리페놀 함량이 증가하는 경향을 볼 수 있었으며 시간에 따른 폴리페놀의 변화가 유의한 것으로 판정되었다($p < 0.05$). 추출 시간 60분에 폴리페놀 농도는 38.0 mg GAE/g DM이었으나 30~60분 사이에서는 추출 시간이 폴리페놀 농도에 미치는 영향에 크지 않음이 확인되어($p = 0.164$) 경제성을 고려한 최적 추출 시간을 30분으로 결정하였다. 본 실험에서 100 °C에서 30분간 염기-열수추출을 통해 36.5 mg GAE/g DM의 폴리페놀을 효과적으로 추출할 수 있었고 이는 최적화 이전 열수추출 대비 2.9배 증가한 수치임을 확인할 수 있었다.

순차적 일변수 최적화를 통해 얻어진 최적 조건(2 mol NaOH, 100 °C, 30분)을 적용하여 커피 원두와 커피박의 폴리페놀 함량과 항산화능을 비교하였다. Table 1에서 보는 바와 같이 커피박을 염기-열수 추출하였을 경우 총 페놀의 함량이 36.5 mg GAE/g DM로 원두커피의 68.1 mg GAE/g DM에 비해 낮은 농도이지만 커피박에도 상당량의 폴리페놀이 존재함을 확인할 수 있었다. 플라보노이드 함량을 비교하였을 때 폴리페놀과 마찬가지로 원두커피에서 플라보노이드 함량이 높은 경향을 보였으며 커피박에도 2.22 mg

Table 1. Total polyphenolic compounds and radical scavenger effects of ground coffee and ground coffee residue (Extraction conditions: 2 mol NaOH, 100°C, 30 min)

	TPC (mg GAE/g DM)	Radical scavenger (%)	Flavonoid (mg QE/g DM)
Ground coffee	68.1	69.4	3.29
Ground coffee residue	36.5	42.6	2.22

quercetin/g DM의 플라보노이드가 존재함을 확인할 수 있어 커피박은 총 페놀과 플라보노이드 함량이 기존의 허브에 비해 높은 우수한 천연 항산화제임을 알 수 있었다. 유리라디칼 소거능 평가를 위해 DPPH 실험을 진행하였을 때, 커피박의 유리 라디칼 소거능은 42.6%로 활성 산소 등의 유리 라디칼을 소거하는 항산화 효과가 있음을 확인할 수 있어 인체 내에서 활성 라디칼에 의한 세포사멸 및 노화 진행을 억제할 수 있는 물질임을 확인할 수 있었다[19,20].

4. 결 론

커피전문점이나 식음료 회사에서 생산되는 대부분의 커피박은 방향제 또는 퇴비 등으로 매우 제한적으로 재활용되고 있는 실정이며 대부분 폐기물로 버려지고 있어 커피박 활용에 대한 필요성이 지속적으로 제기되고 있다. 본 연구의 목적은 커피 추출의 부산물인 커피박으로부터 식품 또는 화장품 소재로 사용이 가능한 항산화 물질을 생산하여 커피박의 고부가가치화를 위한 추출 공정 개발과 최적화 조건을 도출 함에 있다. 실험에 사용된 용매의 종류와 추출 조건이 폴리페놀 추출에 주요한 영향인자임을 확인할 수 있었으며 커피박의 염기-열수추출의 최적 조건인 NaOH 2.0 mol, 100 °C, 30분 적용 시 36.5 mg GAE/g DM의 폴리페놀을 추출할 수 있었다. 본 연구를 통해 커피 추출 부산물 활용을 위해 친환경적 추출 방법인 열수추출의 성능을 높이고 염기 첨가와 주요 추출 변수를 최적화하여 향후 커피박 재활용을 위한 공정 개발에 기초 자료를 제공하고자 한다. 커피박으로부터 폴리페놀 추출을 통해 커피박 추출물의 고부가가치 식품 및 화장품 소재로서 적용이 가능해 향후 폴리페놀의 추가적인 성분 분석, 분리 및 구조를 규명함으로써 고기능성 식품 및 화장품 소재로서의 가치를 높이는 연구가 추가로 필요하다고 사료된다.

감 사

본 논문은 교육부의 재원으로 지원을 받아 수행된 산학협력 선도대학(LINC) 육성사업의 연구개발비 지원에 의해 수행되었습니다.

Reference

- Yang, I., Lee, K. H. and Oh, S. C., "Manufacture and Performance Evaluation of Medium-density Fiberboard Made with Coffee Bean Residue-Wood Fiber," *J. Korean Wood Sci. & Tech.*, **41**, 293-301(2013).
- Go, Y. H., Kang, S. Y. and Jang, I. S., "Effects of Dietary Supplementation of Coffee Meal on Growth Performance, Blood Biochemical Profiles and Antioxidant Defense System in Broiler Chickens," *Korean J. Poult. Sci.*, **39**, 223-232(2012).
- Silva, M. A., Nebra, S. A., Machado, J. M. and Sanchez, C. G., "The Use of Biomass Residues in the Brazilian Soluble Coffee Industry," *Biomass Bioenerg.*, **14**, 457-467(1998).
- Park, N. Y., "Quality Characteristics and Antioxidant Activity of Sikhe prepared using Hot Water Extracts of Roasted Coffee Ground Residue," *Korean J. Food Sci. Technol.*, **46**, 470-476(2014).
- Wiseman, J., "A Note on the Nutritive Value of Dried Instant Coffee Residue for Broiler Chickens and Turkey Poults," *Anim. Feed Sci. Technol.*, **10**, 285-289(1984).

6. Ko, Y. H., Kang, S. Y. and Jang, I. S., "Effects of Dietary Supplementation of Coffee Meal on Growth Performance, Blood Biochemical Profiles and Antioxidant Defense System in Broiler Chickens," *Korean J. Poult. Sci.*, **39**, 223-232(2012).
7. Jun, S. M., Lee, J. Y., Kim, H. Y., Lee, Y. M., Jang, H. H., Hang, G. Y., Kim, H. L. and Park, D. S., "Antioxidant Activity of Extracts and Fractions from *Aster scaber*," *J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr.*, **41**, 1197-1204(2012).
8. Kim, H. I., Lee, J. Y., Bae, J. Y., Yang, S. i., Kim H. J., In, J. M. and Kim. D. C., "Total Phenolic Content and Free Radical Scavenging Activity of Roasted Ground Coffee Residue Extract," *Food-service Ind. J.*, **9**, 1-10(2013).
9. Slinkard. K. and Singleton, V. L., "Total Phenol Analyses: Automation and Comparison with Manual Methods," *Am. J. Enol. Viticult.*, **28**, 49-55(1977).
10. Lee, C. Y., Kim, K. M. and Son, H. S., "Optimal Extraction Conditions to Produce Rosemary Extracts with Higher Phenolic Content and Antioxidant Activity," *Korean J. Food Sci. Technol.*, **45**, 501-507(2013).
11. Mussatto, S. I., Ballesteros, L. F., Martins, S. and Teixeira, J. A., "Extraction of Antioxidant Phenolic Compounds from Spent Coffee Grounds," *Sep. Purif. Technol.*, **83**, 173-179(2011).
12. Shin, H., Jeong, H. G., Hwang, D. B. and Kim, D., "*Cudrania tricuspidata* Root Extract as Whitening and Antiwrinkle Cosmetic Agent," *Korean Chem. Eng. Res.*, **52**(6), 701-705(2014).
13. Blackwell, D. L., Herald, T. J., Bean, S. R. and Gadgil, P., "Alkaline Extraction of Phenolic Compounds from Intact Sorghum," *Int. J. Food Sci. Technol.*, **47**, 2671-2675(2012).
14. Seo, E. J., Hong, E. S., Choi, M. H., Kim, K. S. and Lee, S. J., "The Antioxidant and Skin Whitening Effect of *Artemisia iwayomogi* Extracts," *Korean J. Food Sci. Technol.*, **44**, 89-93(2012).
15. White, B. L., Howard, L. R. and Prior, R. L., "Release of Bound Procyanidins from Cranberry Pomace by Alkaline Hydrolysis," *J. Agric. Food Chem.*, **58**, 7572-7579(2010).
16. Cheng, A., Yan, H., Ha, C., Chen, X., Wang, W., Xie, C., Qu, J., Gong, Z. and Shi, X., "Acid and Alkaline Hydrolysis Extraction of Non-Extractable Polyphenols in Blueberries: Optimisation by Response Surface Methodology," *Czech J. Food Sci.*, **32**, 218-225(2014).
17. Cayetano, R. D., Kim, T. H. and Um, B. H., "Bioconversion Strategy in Conversion of Lignocellulosic Biomass upon Various Pretreatment Methods using Sulfuric Acid and Aqueous Ammonia," *Korean Chem. Eng. Res.*, **52**(1), 45-51(2014).
18. Yun, S. B., Lee, Y., Lee, N. K., Jeong, E. J. and Jeong, Y. S., "Optimization of Microwave Extraction Conditions for Antioxidant Phenolic Compounds from *Ligustrum lucidum* Aiton Using Response Surface Methodology," *J. Korean Soc. Food Sci. Nut.*, **43**, 570-576(2014).
19. Arranz, S., Saura-Calixto, F., Shaha, S. and Kroon, P. A., "High Contents of Nonextractable Polyphenols in Fruits Suggest that Polyphenol Contents of Plant Foods Have Been Underestimated," *J. Agric. Food Chem.*, **57**, 7298-7803(2009).
20. Choi, K. H., Lee, J. H., Jo, J. M., Shin, S. G. and Kim, J. W., "Optimization of Hot-water Extraction Conditions of Polyphenolic Compounds from Lipid Extracted Microalga," *Korean Chem. Eng. Res.*, **54**(3), 310-314(2016).