

## 옥수수 대로부터 생리활성물질 생산 증대를 위한 마이크로파 추출 공정 최적화

민보라 · 한여정 · 이도경 · 조재민 · 정현진 · 김진우<sup>†</sup>

선문대학교 식품과학과  
31460 충남 아산시 탕정면 선문로 221번길 70  
(2017년 5월 24일 접수, 2017년 9월 19일 수정본 접수, 2017년 9월 22일 채택)

## Optimization of Microwave-assisted Extraction Conditions for Production of Bioactive Material from Corn Stover

Bora Min, Yeojung Han, Dokyeoung Lee, Hyunjin Jung, Jaemin Jo and Jin-Woo Kim<sup>†</sup>

Department of Food Science, Sunmoon University,  
70, Sunmoon-ro 221beon-gil, Tangjeong-myeon, Asan-si, Chungcheongnam-do, 31460, Korea  
(Received 24 May 2017; Received in revised form 19 September 2017; accepted 22 September 2017)

### 요 약

옥수수 대는 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스 이외에 높은 함량의 리그닌을 포함하고 있어 리그닌 분해를 통해 폴리페놀 생산이 가능하여 천연 항산화물 생산이 가능한 후보이다. 옥수수 대로부터 마이크로파 전처리를 이용해 폴리페놀과 플라보노이드 추출 증대를 위해 반응표면분석법(RSM)을 이용하여 공정조건을 최적화하였다. 폴리페놀과 플라보노이드의 함량은 마이크로파 출력과 추출 시간 증가에 따라 유의하게 증가하는 경향을 보였다( $p<0.05$ ). 조건 최적화에 있어 698.6 W, 240 sec, 0 mol 조건에서 최대 TPC 82.4 mg GAE/g DM과 플라보노이드 18.1 mg QE/g DM이 예측되었다. 기존 추출법인 속실텟과 마이크로파 추출을 비교하였을 때, 마이크로파 추출이 폴리페놀과 플라보노이드 생산에 있어 13.5와 8.0배가 각각 높고 짧은 추출 시간과 낮은 에너지 소비로 기존 추출 대비 효과적인 공정임을 확인하였다. 본 연구는 옥수수 대로부터 유용물질 생산 가능성과 마이크로파 추출법이 상업화 공정 적용이 가능한 효과적인 추출법임을 확인하고 옥수수 대를 이용한 폴리페놀과 플라보노이드 생산을 통해 바이오당 생산과 더불어 부산물 크레딧을 확보하여 바이오 에탄올 가격 경쟁력을 높일 수 있는 추출공정을 제안하였다는 데 의의가 있다고 하겠다.

**Abstract** – Corn stover is known as a good candidate for a functional food ingredient when the main lignocellulosic material, lignin, is used as bioactive materials as form of polyphenolic compounds. The purpose of this study was to determine the microwave extraction conditions under which total phenolic compounds (TPC) and flavonoid contents of corn stover were maximized. Microwave-assisted extracts using sulfuric acid ranging from 0 to 1.0 mol with extraction time between 40 and 240 sec were conducted by using response surface methodology (RSM). Microwave power showed significant effects ( $p<0.05$ ) and the concentrations of TPC and flavonoids increased with increased level of microwave power and extraction time. The optimum conditions for corn stover extraction were determined as 698.6 W, 240 sec, and 0 mol sulfuric acid, and the predicted value of TPC and flavonoid is 82.4 mg GAE/g DM and 18.1 mg/g DM, respectively. Microwave extraction was evaluated as an economic process with low energy consumption, short extraction and high extraction yield of bioactive including TPC and flavonoids compared to conventional extractions.

Key words: Corn stover, Polyphenols, Flavonoids, Extraction, Microwave, Antioxidant activity

### 1. 서 론

의학기술이 발전함에 따라 인간의 수명이 증가하면서 미용과 건강에 관한 관심이 늘어나며 건강증진과 노화 억제와 관련된 생리활

성물질에 관한 연구가 다양한 방면으로 진행되고 있다. 그 중에서도 생물체 내에서 생성되는 활성산소로 인해 발생하는 노화에 관한 관심이 높아지면서 활성산소 제거와 관련된 연구도 주목 받는 추세이다[1]. 활성산소는 강한 산화력으로 생체막의 불포화지방산을 산화해 세포막을 분해해 지질 과산화물의 축적과 조직의 과산화적 손상을 초래함으로써 세포 노화, 단백질 분해, 효소의 불활성화, 동맥경화, 당뇨병과 DNA 합성 억제 등 생체 내에서 심각한 생리적 장애를 유발한다고 알려져 있다[2,3]. 생물체 내에서는 catalase 등의 항산화 효소와 tocopherol 등과 같은 천연 항산화제가 존재하여 활

<sup>†</sup>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.

성산소로 인한 산화적 손상을 방지하고 있지만, 지속적인 스트레스와 불규칙한 생활 습관에서 야기되는 불균형한 영양섭취로 인하여 식품을 통해 항산화제 섭취가 어려운 현대인들에게 더욱 효과적인 식이성 항산화제의 개발이 필요한 시점이다.

항산화제는 *tert*-butylhydroxytoluene (BHT), *tert*-butylhydroxyanisole (BHA) 등과 같은 합성 항산화제와 토코페롤, 플라보노이드, 시사몰, 고시폴, 레시틴, 세팔린과 오리자놀 등과 같은 천연 항산화제로 나눌 수 있다. 합성 항산화제인 BHT와 BHA 등은 우수한 항산화 능력과 낮은 가격으로 널리 사용되고 있으나 과량 섭취 시 간 비대, 간장 중 microsomal enzyme 활성 증가, 체내 흡수물질의 독성화 혹은 암을 유발할 수 있는 것으로 알려져 있어 사용 규제를 받고 있다[4]. 천연물 유래 항산화 물질은 합성 항산화제보다 부작용이 적으나 항산화 능력이 낮고 경제성이 낮다는 단점이 있어 극히 일부의 천연 항산화제만이 상업적으로 사용되고 있다. 따라서 기존의 항산화제보다 안전하고 경제적이며 효능이 우수한 천연 항산화제에 대해 더욱 광범위한 검색과 연구가 필요한 상황이다[5-7].

일생 생활에서 섭취할 수 있는 천연 항산화제로는 케일, 알팔파, 스프라우트, 가지와 브로콜리 등의 항산화 효과를 가지고 있는 채소와 과일의 직접 섭취 또는 추출물 섭취를 통해 가능하다[8]. 하지만 ‘한국인의 채소·과일 섭취량과 파이토뉴트리언트의 섭취 실태 분석’에 따르면, 한국인 10명 중 9명은 채소와 과일 섭취가 부족한 것으로 나타났다. 또한, 우리나라 국민의 하루 평균 채소 과일 섭취량은 WHO의 권고량인 400 g보다 부족한 300 g에 불과해 식품섭취만이 아니라 추가적으로 섭취할 필요가 있다고 하겠다[9]. 따라서 음식으로 섭취하는 항산화제 이외에 기타의 천연물질로부터 항산화 효과를 부여할 수 있는 항산화제를 보다 경제적으로 생산할 필요가 있다. 옥수수는 전 세계적으로 폭넓게 재배되고 있는 작물 중의 하나로서 옥수수의 종자는 인류의 중요한 식량자원일 뿐만 아니라 가축 사료 및 다양한 공업원료로 활용되는 매우 중요한 식물 자원이라고 할 수 있다[10]. 또한, 최근에는 미국 등을 중심으로 바이오 에탄올의 주원료로서 그 가치 및 활용성이 더욱 증가하고 있는 작물로 알려져 있다[11]. 그로 인해 옥수수는 매년 많은 양이 재배되고 있지만, 옥수수 생산의 부산물인 옥수수 줄기, 옥수수 속대 등은 특별한 용도로 활용되지 못하고 동물의 사료 또는 퇴비 등의 용도로 활용되거나 폐기되는 등의 낮은 가치를 가지고 있다. 폐기되는 옥수수 대 자원을 사용하기 위한 연구가 진행되었지만, 국내에서는 바이오 에탄올 생산과 관련된 연구가 집중적으로 진행되는 것 외에는 고부가가치화를 위한 연구 진행은 미미한 상태이다[12,13]. 미국 USDA의 발표에 따르면 2017년도 세계 옥수수 생산량은 10.4억 톤으로 전망되고 있는데, 일반적으로 옥수수 알곡 생산량의 2~3배 가량인 20~30억 톤 가량의 옥수수 부산물이 생산되고 있다. 이러한 옥수수 부산물은 바이오 에탄올 생산을 위한 원료물질로 사용이 고려 중이나 전처리 및 효소 당화의 기술적 한계와 비용적 문제로 인해 옥수수 부산물로부터 폴리페놀과 같은 고부가가치 물질을 생산해 경제적 가치를 높이는 방법에 관한 연구가 필요하다[14]. 본 연구에서는 농부산물인 옥수수 대로부터 고부가가치 항산화 물질인 폴리페놀의 추출 수율을 높이기 위해 마이크로파를 이용한 추출법을 도입하고 폴리페놀과 플라보노이드 추출에 영향을 미치는 주요 인자인 마이크로파 출력, 추출 시간과 황산 용액 농도 최적화를 통해 더욱 효과적인 폴리페놀과 플라보노이드 추출 공정을 제안하고자 한다.

## 2. 실험

### 2-1. 실험재료 및 시약

본 연구에서 사용된 옥수수 대는 경기대학교 화학공학에서 제공받아 사용하였다. 옥수수 대를 가정용 분쇄기(SFM-050S, J-ONE Co., Korea)로 파쇄하여 분쇄 후 60 °C 드라이 오븐에서 2시간 건조한 뒤 50~100 mesh에서 분리된 입자크기만을 사용하였다. 총 폴리페놀(TPC)과 플라보노이드 분석에 사용한 Folin & Ciocalteu's phenol reagent, sodium carbonate, gallic acid와 potassium acetate, aluminum chloride hexahydrate, quercetin은 Sigma (St. Louis, MO, USA)사에서 구입하여 사용하였으며, Sulfuric acid는 각각 Daejung (98%, CAS No. 7664-93-9, Korea)사와 Samchun (95.0%, CAS No.: 7664-93-9, Korea)사에서 구입하여 사용하였다.

### 2-2. 추출방법

건조한 옥수수 대 분말은 실험 사용 전까지 실온에서 보관하였다. 용매 추출을 위하여 고압압력 용기인 pressure vessel (XF100, Anton Paar, Austria)을 사용하여 1:15의 고액비로 마이크로파 장치 Anton Paar microwave (Multiwave 3000, Anton Paar, Austria)에서 출력(power)과 시간을 조절하여 추출하였다. 마이크로파 추출은 안전장치가 부착된 80 ml 밀폐형 압력용기에서 수행하였으며 시료와 용매를 테프론 튜브에 투입하고 용기를 밀폐하여 가압상태에서 추출을 진행하였다. 추출에 사용한 출력의 범위는 198~702 W였으며, 39~241 sec의 시간 조건에서 추출하였다. 폴리페놀 추출을 위해 산용액으로 황산을 사용하였으며 실험에 사용된 산의 농도는 0~1.0 mol 이었다. 추출 후 추출액을 마이크로튜브에 옮겨 원심분리 후 상등액을 회수하여 TPC와 플라보노이드 분석에 사용하였다.

### 2-3. 총 폴리페놀 함량(TPC) 분석

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis 법을 변형하여 분석하였다[15]. Sodium molybdate와 sodium tungstate의 혼합용액인 Folin-Ciocalteu's 시약을 페놀성 화합물에 첨가하면 phosphotungstomolybdic acid complex를 생성하는데, 이 complex 물질이 알칼리 조건에서 다양한 페놀성 화합물에 의해 환원되어 청자색 환원물을 생성하는 원리에 근거한 흡광도 값의 변화로 폴리페놀의 함량을 측정하였다[16]. 추출물 0.14 ml에 Folin-Ciocalteu's 0.2 N 시약 0.7 ml를 첨가해 실온에서 6분간 반응시켰다. 이후 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 0.56 ml를 가해 상온에서 1시간 반응시켜 UV/VIS spectrophotometer (Optizen 2120UV, Mecasys Co., Korea)로 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 gallic acid를 표준물질로 하여 0~80 µg/ml의 농도 범위에서 작성한 표준 검량선을 이용하여 정량하였다.

### 2-4. 플라보노이드 함량 분석

총 플라보노이드 함량은 aluminium chloride colorimetric method를 일부 변형하여 적용하였다[17]. 플라보노이드에 알칼리를 반응시켜 흡광도 값의 변화로 플라보노이드 함량을 측정하였다[18]. 시료 0.5 ml에 1 M potassium acetate와 10% aluminum chloride 각 0.1 ml와 D.W. 2.8 ml, 96% 에탄올 1.5 ml를 첨가한 뒤 상온에서 30분간 정치 반응시킨 후 UV/VIS spectrophotometer (Optizen 2120UV, Mecasys Co., Korea)로 415 nm에서 흡광도를 측정하였

다. 총 플라보노이드 함량은 quercetin (QE)을 표준물질로 하여 12.5~100 µg/ml의 농도범위에서 작성한 표준 검량선을 이용하여 정량하였다.

## 2-5. 통계처리

마이크로파 추출 공정 최적화를 위해 Design Expert 8.0 (Stat-Ease Inc., USA)를 사용하여 통계학적 최적화를 수행하였다. 추출 조건에 따른 추출특성 예측과 추출조건의 최적화를 위해 반응표면 분석법(response surface methodology, RSM)을 사용하였고 추출조건에 대한 실험계획은 중심합성계획(central composite design, CCD)을 적용하였다[19]. 실험계획은 Table 1과 같이 추출 공정에서 주요변수로 알려진 마이크로파 출력(40~240 W,  $X_1$ ), 추출 시간(40~240 sec,  $X_2$ )과 황산 농도(0~1.0 mol,  $X_3$ )를 중심합성계획법에 따라 -1.68, -1.0, 0, 1.0, 1.68의 5단계로 부호화하여 17개 실험조건에서 추출을 진행하였다. 이들 독립변수에 의해 영향을 받는 종속변수(Y)를 TPC와 플라보노이드 함량으로 하여 회귀분석을 적용하였다. 반응표면분석은 독립변수  $X_i$ 와  $X_j$ 에 대한 종속변수 Y (TPC, 플라보노이드)는 다음과 같은 2차 회귀식으로 나타내었으며,  $\beta_0$ 는 상수이고  $\beta_i$ ,  $\beta_{ii}$ ,  $\beta_{ij}$ 는 회귀계수이다. Design Expert를 이용하여 각 측정군의 평균과 표준편차를 산출하여  $p < 0.05$  신뢰수준에서 유의성 검정과 함께 반응표면 그래프를 생성하였다.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k \beta_{ij} X_i X_j$$

## 3. 결과 및 고찰

### 3-1. 총폴리페놀과 플라보노이드 추출 경향성

중심합성계획에 따른 17개 추출 조건 별 옥수수 대의 TPC와 플라보노이드 함량을 측정했을 때 Table 2에 보는 바와 같이 TPC는 2.7~48.2 mg GAE/g DM와 플라보노이드는 0.25~10.0 mg/g DM 범위로 추출됨을 확인할 수 있었다. 실험조건 중, 마이크로파 추출 조건 600 W, 200 sec과 0.2 mol 황산처리 조건에서 TPC와 플라보노이드가 각각 최대값인 48.2 mg GAE/g DM과 10.0 mg/g이 생산되었다. TPC와 플라보노이드 함량과의 상관 관계를 확인하기 위해 각 17개 실험조건에서 생산된 TPC와 플라보노이드의 농도를 비교하였는데 TPC 증가에 따라 플라보노이드 생산이 동조하여 증가하는 경향성을 보였으며 상관계수 측정 시 0.924로 매우 강한 상관성을 보여 추출조건에 따라 TPC와 플라보노이드의 추출 특성이 매우 유사함을 확인할 수 있었다(Fig. 1). 추출조건에 따른 옥수수 대로부터 추출된 TPC와 플라보노이드에 대한 2차 회귀방정식을 얻었으며 회귀식은 5% ( $p < 0.05$ ) 유의수준에서 유의성이 확인되었다(Table 3). 2차 회귀함수의 각 1차 항의 계수를 비교하여 독립변수가 종속변수에 미치는 선형적 영향을 평가했을 때 TPC와 플라보노이드에 있어 마이크로파 출력과 추출 시간이 증가함에 따라 폴리페놀 함량이 증가하는 반면 황산 농도 증가에 따라 폴리페놀 추출이 감소하는 것으로 나타났다(Table 3). 분산분석을 통해 각 항의 유의성을 비교했을 때, 마이크로파 출력( $X_1$ )의 영향이 가장 큰 것으로 나타났고( $p < 0.01$ ) 추출 시간( $p < 0.05$ )이 다음 순서로 나타났으며 황산 농도는 TPC 추출에 미치는 영향이 유의하지 않은 것으로 나타

Table 1. Experimental design of microwave-assited extraction conditions for the production of TPC and flavonoids

Variables	Coded and actual level				
	-1.68	-1	0	+1	+1.68
$X_1$ Power (W)	198	300	450	600	702
$X_2$ Time (sec)	39	80	140	200	241
$X_3$ Sulfuric acid conc. (mol)	0	0.2	0.5	0.8	1.0

Table 2. Experimental data on total polyphenol and flavonoids content of corn stover by central composite design for response surface

Run No	$X_1$	$X_2$	$X_3$	TPC (mg GAE/g DM)	Flavonoid (mg/g DM)
1	300	80	0.2	3.218	3.218
2	600	80	0.2	8.298	3.377
3	300	200	0.2	8.802	2.743
4	600	200	0.2	48.21	10.02
5	300	80	0.8	2.843	0.245
6	600	80	0.8	7.135	0.383
7	300	200	0.8	6.721	0.387
8	600	200	0.8	9.371	1.712
9	198	140	0.5	4.356	0.340
10	702	140	0.5	31.411	7.445
11	450	39	0.5	2.714	0.269
12	450	241	0.5	7.820	0.494
13	450	140	0	5.015	1.871
14	450	140	1	7.936	0.356
15	450	140	0.5	5.454	0.296
16	450	140	0.5	3.528	0.292
17	450	140	0.5	3.632	0.312

$X_1$ =Temperature;  $X_2$ =Time;  $X_3$ =Sulfuric Acid Concentration

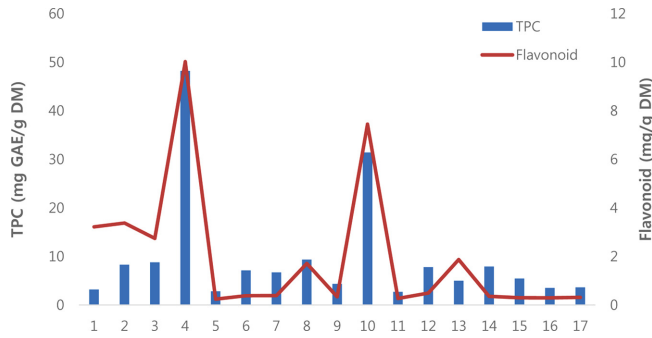


Fig. 1. Correlation between production of TPC and Flavonoids according to 17 different experimental conditions.

났다( $p>0.1$ ). 반면 플라보노이드 추출에 있어 마이크로파 출력( $p<0.01$ )과 황산 농도( $p<0.05$ )항이 유의한 독립변수로 판명되어 마이크로파 출력이 TPC와 플라보노이드 추출에 있어 공통의 유의한 변수임을 확인할 수 있었다(Table 4).

### 3-2. 추출변수 상호영향

옥수수 대를 이용한 마이크로파 추출 시 TPC와 플라보노이드 추출에 미치는 3개 독립변수의 영향을 평가하기 위해 마이크로파 출력( $X_1$ )과 추출 시간( $X_2$ )의 2개 변수의 범위를 변화시켜 표면반응 곡선으로 나타내었다(Fig. 2). 마이크로파 출력이 300 W 이하에서 황산 농도와 무관하게 TPC와 플라보노이드 농도가 매우 낮았으며 출력과 추출 시간이 증가함에 따라 TPC와 플라보노이드 농도가 급격하게 증가하는 경향을 보여 700 W와 240 sec 조건에서 TPC와 플라보노이드 최고농도 49.1 mg GAE/g DM과 6.08 mg QE/g DM을 각각 얻을 수 있었다. 이는 TPC와 플라보노이드 추출에 있어 마이크로파 출력이 약 300~400 W 이상에서 추출이 시작되며 추출 시간과 상승 효과를 가짐을 알 수 있다. 일반적으로 과채류의 열수 추출에서 온도 증가에 따라 폴리페놀 함량이 일정 수준까지 증가하나 이후에는 평형에 도달하거나 감소하는 경향이 보고되고 있다. 이는 특정 온도 이상에서 폴리페놀 과분해 속도가 생산 속도보다 상대적으로 빨라 폴리페놀 농도 감소가 발생한다는 연구 결과로 본 연구에서 700 W까지 폴리페놀의 급속한 감소가 없는 것과는 상이한 경향을 나타내었다[20-22]. 이는 마이크로파 추출이 기존 추출 방법과 달리 분자운동의 효과적 증가를 통해 용해도를 증가시키고 짧은 추출 시간으로 열분해가 최소화되어 출력과 추출 시간 증가에도 불구하고 생산물의 파괴가 최소화 돼 TPC와 플라보노이드 생산량이 계속적으로 증가했다 예상할 수 있다[23,24].

옥수수 대 마이크로파 추출에 있어 출력과 황산 농도가 TPC와 플라보노이드 생산에 미치는 상호영향을 반응표면 그래프를 이용하여 나타냈다. 출력에 따른 폴리페놀 추출은 황산 농도에 변화에 경향성이 없는 것으로 보이는데 마이크로파 출력이 낮을 경우 산농도의 증가에 따라 폴리페놀 농도가 증가하는 반면 마이크로파 출력이 높을 경우 TPC 농도는 황산 농도에 반비례하는 것을 알 수 있다

Table 4. Analysis of variance of the regression parameters of the predicted response surface quadratic models on total phenol

Model	ANOVA for response surface quadratic model		
	Sum of Squares	F value	P value
Model	1868.03	4.76	0.0204
$X_1$	687.95	14.01	0.0057
$X_2$	265.25	5.40	0.0486
$X_3$	104.31	2.12	0.1831
$X_1^2$	306.74	6.25	0.0370
$X_2^2$	11.82	0.24	0.6369
$X_1X_2$	133.59	2.72	0.1377
$X_1X_3$	176.26	3.59	0.0948
$X_2X_3$	193.91	3.95	0.0821

$X_1$ =Temperature;  $X_2$ =Time;  $X_3$ =Sulfuric Acid Concentration

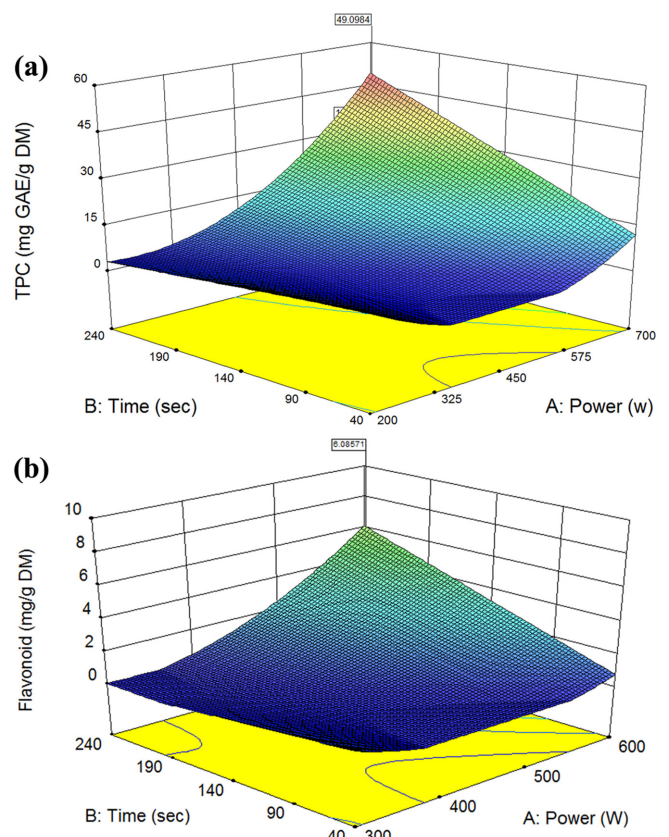


Fig. 2. (a) Response surface for the effects of microwave power and extraction time on TPC at fixed level of sulfuric acid concentration of 0.5 mol. (b) Response surface for the effects of microwave power and extraction time on Flavonoid at fixed level of sulfuric acid concentration of 0.5 mol.

(Fig. 3(a)). 이는 황산 농도와 마이크로파 출력이 높을 때, 용해도 증가 효과 대비 폴리페놀 분해 속도가 빨라 폴리페놀의 생산이 감소한다 설명할 수 있다. 앞선 실험에서 황산 농도 0.5 mol 조건에서 마이크로파 출력과 시간의 증가에 따른 폴리페놀의 과분해 효과가

Table 3. Polynomial equations generated by RSM for microwave assisted extraction conditions of corn stover

Response	Second order polynomials	R <sup>2</sup>	Significance
TPC (mg GAE/g DM)	$5.0+7.10X_1+4.41X_2-2.77X_3+4.09X_1X_2-4.69X_1X_3-4.96X_2X_3+4.99X_1^2+0.99X_3^2$	0.8262	0.0204
Flavonoids (mg/g DM)	$0.94+1.53X_1+0.59X_2-1.41X_3+1.04X_1X_2-0.75X_1X_3-0.59X_2X_3+1.31X_1^2+0.43X_3^2$	0.8377	0.0114

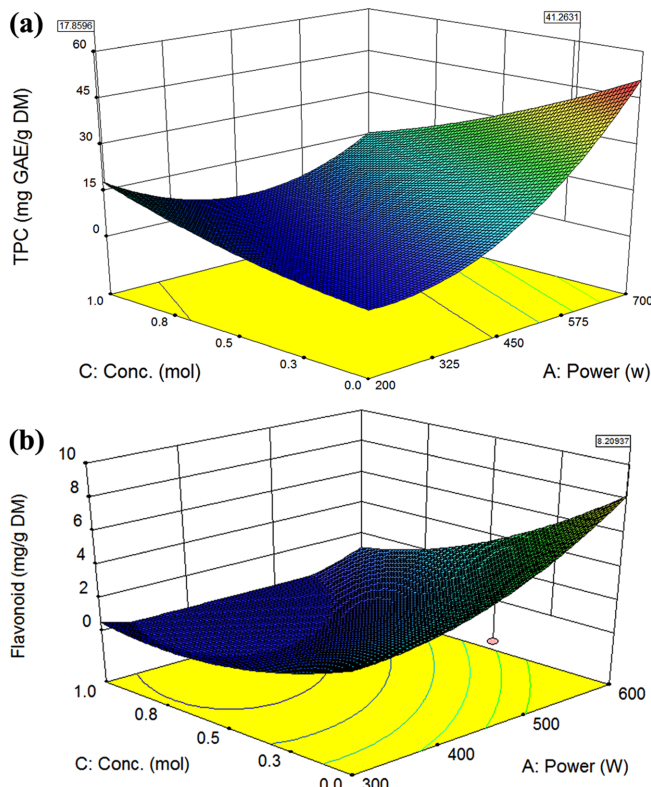


Fig. 3. (a) Response surface for the effects of microwave power and sulfuric acid concentration on TPC at fixed level of extraction time of 140 sec. (b) Response surface for the effects of microwave power and sulfuric acid concentration on flavonoid at fixed level of extraction time of 140 sec.

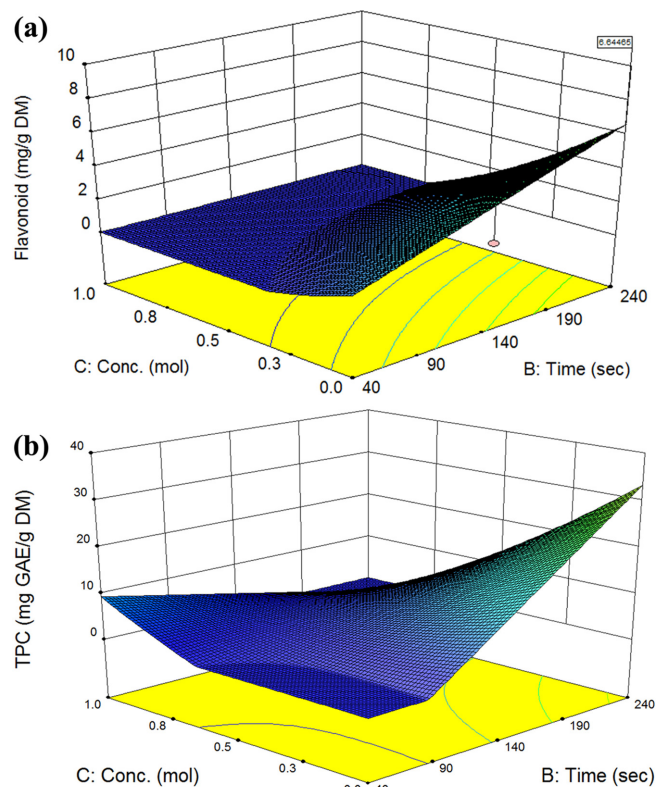


Fig. 4. (a) Response surface for the effects of extraction time and sulfuric acid concentration on TPC at fixed level of micropower of 450 w. (b) Response surface for the effects of extraction time and sulfuric acid concentration on flavonoids at fixed level of micropower of 450 w.

확인되지 않았으나 황산 농도가 높을 때 마이크로파 출력 증가에 따른 과분해가 발생함으로 황산 농도 최적화가 폴리페놀 생산 최대화를 위해 중요함을 알 수 있었다. 앞선 TPC 추출 경향과 다르게 플라보노이드 추출에 있어 모든 마이크로파 출력 범위에 있어 황산 농도는 플라보노이드 추출에 부정적임을 알 수 있었고 최대 마이크로파 출력 적용 시, 낮은 황산 농도에서 최대 플라보노이드 농도를 얻을 수 있었던 반면 황산 농도 증가에 따라 플라보노이드 농도가 급격히 감소함을 확인할 수 있었다.

옥수수 대로부터 TPC와 플라보노이드 추출에 있어 추출 시간과 황산 농도의 상호관계를 평가하고 시각화하기 위해 마이크로파 출력을 450 W로 고정하여 두 변수가 폴리페놀에 미치는 영향을 표면 반응 곡선으로 나타냈다. Fig. 4(a)에서 보는 바와 같이 황산 농도와 추출 시간의 수준이 낮거나 높을 때 폴리페놀 농도가 매우 낮거나 추출이 안 되는 것으로 나타났는데 이는 일정수준 이하의 추출 시간과 황산 농도에서 폴리페놀의 추출이 발생하지 않은 것으로 보이며 추출 시간과 황산 농도가 일정 수준보다 높을 경우 폴리페놀의 분해가 시작되어 TPC 농도가 급격히 감소하는 경향을 확인할 수 있었다(Fig. 4(a)). 플라보노이드의 경우 TPC보다 황산 농도에 대해 민감도가 매우 높은 경향을 보였으며 황산 농도가 0.6 mol 이상에는 플라보노이드 추출이 매우 낮은 것으로 확인되었다. 앞선 실험의 결과에 기반 할 때, 폴리페놀 과분해는 황산 농도가 낮을 때는 발생하지 않으나, 황산 농도가 높을 때 발생함을 확인할 수 있었다. 반면 플라보노이드 추출에 있어 낮은 황산 농도에서도 플라보노

드의 분해가 발생하는 것으로 확인되어 폴리페놀 대비 산에 의한 영향을 크게 받는다는 것을 재확인할 수 있었다(Fig. 4(b)). 위의 표면곡선 그래프에서 보는 바와 같이 TPC와 플라보노이드 추출에 있어 추출증대를 위해 출력증대가 필수적이거나 높은 황산 농도에서는 폴리페놀의 과분해가 발생함으로 3개 독립변수의 최적화를 통해 TPC와 플라보노이드 생산 최대화 조건 도출이 필요하다 하겠다.

### 3-3. 폴리페놀 최적 추출조건

TPC와 플라보노이드에 대한 회귀식을 도출하여 옥수수 대로부터 종속변수 최적추출 조건을 동시 만족하는 조건을 중첩(superimposing)하여 최적 추출조건을 예측하였다. 마이크로파 추출 조건 최적화를 위해 TPC와 플라보노이드 생산을 동시에 최대화하는 추출 조건 탐색을 진행하였을 때 Fig. 5에서 보는 바와 같이 82.4 mg GAE/g DM과 18.1 mg QE/g DM이 예측되었다. 위와 같은 최적조건을 확보할 수 있는 출력과 시간의 조합범위는 705.0 W와 233.1 sec에서 711.6 W와 227.7 sec에 위치하는 것으로 나타났다. 이는 기존의 약용식물인 오가자(23.7 mg GAE/g DM), 오디(21.3 mg GAE/g DM)와 복분자(26.78 mg GAE/g DM)의 에탄올 열수 추출에 대비 매우 높음을 확인할 수 있어 마이크로파를 이용한 추출 적용 시, 농부산물로 인식되는 옥수수 대가 기존의 약용작물 대비 유용물질 생산에 있어 매우 우수한 후보이며 마이크로파 추출이 매우 효과적인 추출법임을 알 수 있다[25]. 기존 속실파트 대비 마이크로파 추출 성능 비교와 예측 최대값의 정확도 확인을 위해 옥수수 대로부터 TPC와 플라보



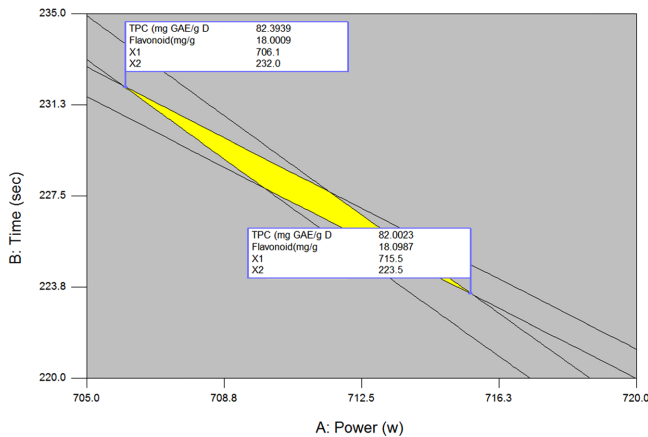


Fig. 5. Overlay plot showing optimal analytical design space along with levels of input variables and responses (TPC and flavonoids).

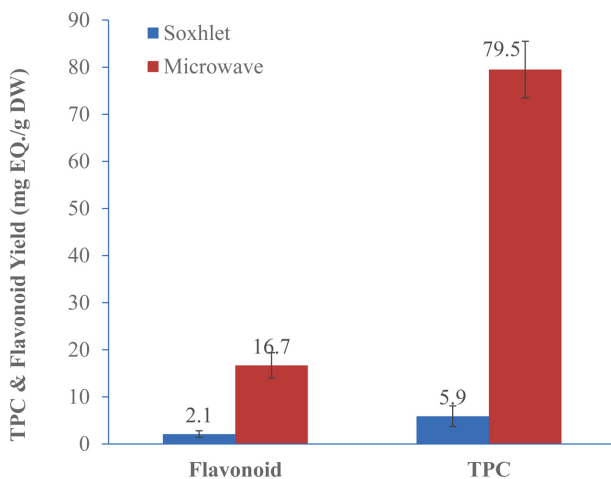


Fig. 6. Difference in production of TPC and flavonoids levels according to the extraction methods of Soxhlet and Microwave-assisted extraction (As a result of confirming the predicted value, it shows the mean value and standard deviation of the triple repeated experiments).

이드 추출 실험을 수행하였다. 속실텐 추출의 경우 70% 에탄올을 용매로 하여 8시간 추출을 진행하였을 때, TPC 5.86 mg GAE/g DM와 플라보노이드 2.12 mg QE/g DM을 각각 얻을 수 있었다. 예측 조건에서 결과값의 재확인 위해 최적 추출 조건인 698.6 W, 240 sec와 0 mol 황산에서 마이크로와 추출을 통해 TPC 79.52 mg GAE/g DM와 플라보노이드 16.68 mg QE/g DM의 실험값으로 얻어 예측치에 매우 근접함을 확인할 수 있었다. 마이크로와를 추출 적용 시, 기존의 속실텐 추출법 대비 TPC와 폴리페놀 수율이 각각 8배와 13배 가량 증가한 결과를 얻을 수 있었다(예측치와 실험치 재확인 실험, 기존 속실텐과 비교실험).

#### 4. 결 론

옥수수 대는 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스로 구성되어 전처리와 당화를 통한 바이오 당 생산과 발효를 이용한 바이오 연료 생산의 주요한 농부산물로 알려져 있다. 하지만 옥수수 대로부터 바이오 당 생산을 위한 전처리와 당화 공정은 에너지 소모가 많고 고가의

Table 5. Analysis of variance of the regression parameters of the predicted response surface quadratic models on flavonoids

Model	ANOVA for response surface quadratic model		
	Sum of Squares	F value	p value
Model	103.78	4.74	0.0207
$X_1$	31.82	11.62	0.0092
$X_2$	4.71	1.72	0.2263
$X_3$	27.13	9.90	0.0137
$X_1^2$	24.22	8.84	0.0178
$X_3^2$	2.26	0.82	0.3904
$X_1X_2$	8.62	3.15	0.1139
$X_1X_3$	4.46	1.63	0.2378
$X_2X_3$	2.76	1.01	0.3450

$X_1$ =Temperature;  $X_2$ =Time;  $X_3$ =Sulfuric Acid Concentration

효소를 필요로 하여 가격 경쟁력 확보에 어려움이 있어 바이오 에탄올 상업화 진입이 늦어지고 있는 실정이다. 옥수수 대는 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스 이외에 높은 함량의 리그닌을 포함하고 있어 리그닌 분해를 통해 폴리페놀 생산이 가능하여 천연 항산화 물질 생산이 가능한 후보이기도 하다. 현재까지 옥수수 대를 이용한 폴리페놀과 플라보노이드 추출 증대를 위한 마이크로와 이용에 관한 연구 사례가 보고 된 바 없어 옥수수 대 폴리페놀과 플라보노이드 생산을 통해 고부가가치 물질 생산으로 부산물 크레딧을 확보하여 바이오 에탄올 가격 경쟁력을 높일 수 있는 방안을 제안했다는 데 본 연구의 의의가 있다고 하겠다. 옥수수 대의 마이크로와를 이용한 폴리페놀과 플라보노이드 추출에 있어 기존의 약용식물로부터 유기용매를 이용한 속실텐 추출에 비해 추출 시간이 단축에도 불구하고 높은 수율 증대를 보였다. 본 실험을 통해 옥수수 대가 유용물질 생산에 활용이 가능하며 마이크로와 추출법이 추출 시간 단축과 함께 에너지 절감이 가능하여 상업화 공정 적용이 가능한 효과적인 추출방법임을 확인 할 수 있다. 향후, 고부가가치 유용물질 생산을 통한 부산물 크레딧이 바이오 에탄올 생산가 절감에 미치는 영향에 대해서는 경제성 분석 프로그램을 통한 보다 면밀한 비교가 필요하다고 하겠다.

#### References

1. Lee, S. O., Lee, H. J., Yu, M. H., Im, H. G. and Lee, I. S., "Total Polyphenol Contents and Antioxidant Activities of Methanol Extracts from Vegetables produced in Ullug Island," *Korean J. Food Sci. Technol.*, **37**(2), 233-240(2005).
2. Kim, Y. J., "Evaluation of Antioxidant Activity and Thermal Stability of Plant Polyphenols," *Biomater. Res.*, **13**, 30-36(2009).
3. Jeong, G. T., Lee, K. M. and Park, D. H., "Study of Antimicrobial and Antioxidant Activities of Rumex crispus Extract," *Korean Chem. Eng. Res.*, **44**(1), 81-86(2006).
4. Hong, J. H., Jeon, J. L., Lee, J. H. and Lee, I. S., "Antioxidative Properties of Artemisia princeps Pamp," *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **36**(6), 657-662(2007).
5. Cha, J. Y., Ahn, H. Y., Eom, K. E., Park, B. K., Jun, B. S. and Cho, Y. S., "Antioxidative Activity of Aralia elata Shoot and Leaf Extracts," *J. Life Sci.*, **19**(5), 652-658(2009).
6. Choi, J. I., Kim, Y. J., Kim, J. H., Song, B. S., Yoon, Y., Byun, M. W., Kwon, J. H., Chun, S. S. and Lee, J. W. "Antioxidant Activi-

- ties of the Extract Fractions from Suaeda japonica," *Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **38**(2), 131-135(2009).
7. Choi, K. H., Lee, J., Jo, J., Shin, S. and Kim, J. W., "Optimization of Hot-water Extraction Conditions of Polyphenolic Compounds from Lipid Extracted Microalgae," *Korean Chem. Eng. Res.*, **54**(3), 310-314(2016).
  8. Lee, Y. A., Kim, H. Y. and Cho, E. J., "Comparison of Methanol Extracts from Vegetables on Antioxidative Effect under In Vitro and Cell System," *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **34**(8), 1151-1156 (2005).
  9. Lee, J. and Shin, A., "Vegetable and Fruit Intake in one Person Household: The Korean National Health and Nutrition Examination Survey (2010~2012)," *J. Nutr. Health*, **48**(3), 269-276(2015).
  10. 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).
  11. Pappis, C. P. and Petrou, E. C., "Bioethanol Production from Cotton Stalks or Corn Stover? A Comparative Study of Their Sustainability Performance," *World Renewable Energy Congress 2011-Sweden 8-13 May 2011, Linköping, Sweden* (2011).
  12. Sung, Y. J., Kim, W. J., Kim D. S., Seo, Y. B. and Shin, S. J., "Evaluation of Morphological Properties and Papermaking Properties of Corn Biomass," *J. Korea TAPPI*, **42**(2), (2010).
  13. Song, W. Y., Shin, S. J. and Juhn, S., "Comparison of Characteristics of Cellulose Nanofibrils from Corn Stalk and Bamboo Fiber," *J. Korea TAPPI*, **49**(2), 76-83(2017).
  14. Na, C. K. and Song, M. K., "Characteristics of Acid-hydrolysis and Ethanol Fermentation of Laminaria japonica," *Korean Chem. Eng. Res.*, **50**(1), 141-148(2012).
  15. Folin, O. and Denis, W., "On Phosphotungstic-phosphomolybdic Compounds as Color Reagents," *J. Biol. Chem.*, **12**, 239-243(1912).
  16. Park, K. A., Choi, Y. M., Kang, S., Kim, M. R. and Hong, J., "Effects of Proteins on the Reactivity of Various Phenolic Compounds with the Folin-Ciocalteu Reagent," *Korean J. Food Sci. Technol.*, **47**(3), 299-305(2015).
  17. Bag, G. C., Devi, P. G. and Th. Bhaigayabati, "Assessment of Total Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Methanolic Rhizome Extract of Three Hedychium Species of Manipur Valley," *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, **30**(1), 154-159(2015).
  18. Shin, J. Y., Kim, H., Kim, D. G., Baek, G. H., Jeong, H. S. and Yu, K. W., "Pharmacological Activities of Coffee Roasted from Fermented Green Coffee Beans with Fungal Mycelia in Solid-state Culture," *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **42**(3), 487-496(2013).
  19. Lim, T. S., Kwon, O. J., Kwon, J. H. and Kim, H. K., "Monitoring of Extraction Yields and Functional Properties of Ginger (Zingiber officinale) Extracts Using Response Surface Methodology," *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **36**(3), 348-354(2007).
  20. Abad-Garcia, B., Berrueta, L. A., Lopez-Marquez, D. M., Crespo-Ferrer, I., Gallo, B. and Vicente, F., "Optimization and Validation of a Methodology Based on Solvent Extraction and Liquid Chromatography for the Simultaneous Determination of Several Polyphenolic Families in Fruit Juices," *J. Chromatogr.*, **1154**, 87-86(2007).
  21. Lee, E. J., Choi, S. W., Kim, H. K. and Kwon, J. H., "Characteristics of Microwave-assisted Extraction for Catechins from Grape Seed," *Korean J. Food Sci. Technol.*, **40**(5), 510-515(2008).
  22. Lee, S. B., Lee, G. D. and Kwon, J. H., "Optimization of Extraction Conditions for Soluble Ginseng Components Using Microwave Extraction System under Pressure," *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **28**(2), 409-419(1999).
  23. Kim, H. K., Do, J. R., Hong, J. H. and Lee, G. D., "Optimization for Function Properties of Cabbage Extracts," *Korean J. Food Preserv.*, **12**, 591-599(2005).
  24. Min, D. L., Lim, S., Ahn, J. B. and Choi, Y. J., "Optimization of Ethanol Extraction Conditions for Antioxidants from Zizyphus Jujuba Mill. Leaves Using Response Surface Methodology," *Korean J. Food Sci. Technol.*, **42**(6), 733-738(2010).
  25. Lee, J. H., Kim, Y., Lee, S. and Yoo, S. H., "Conditions for Obtaining Optimum Polyphenol Contents and Antioxidant Activities of Korean Berry and Green Tea Extracts," *Korean J. Food Sci. Technol.*, **46**(4), 410-417(2014).