

## 마이크로웨이브 추출공정을 이용한 감과피 유래 $\beta$ -carotene 추출조건의 최적화

홍주현 · 신민규 · 최용희  
경북대학교 식품공학과

### Optimization for Extraction Condition of $\beta$ -carotene from Persimmon Peel by Microwave-Assisted Extraction

Joo-Heon Hong, Min-Kyu Shin and Yong-Hee Choi

Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University

#### Abstract

$\beta$ -carotene from persimmon peel was extracted with five organic solvents by microwave-assisted extraction. Among the solvents, acetone was the highest yielding solvent for  $\beta$ -carotene. Extraction trends depending on the process variables (microwave power, solvent ratio, extraction time to persimmon peel) were explained through response surface methodology which was made by central composite experimental design.  $\beta$ -carotene content was higher at the shorter extraction time (2-3 min) and at the higher microwave power, while solvent ratio had less effect than the others. The optimum condition of extraction process variables was predicted by microwave power (197 W) and extraction time (2.5 min) at fixed solvent ratio (1 : 23).

**Key words:** persimmon peel,  $\beta$ -carotene, microwave-assisted extraction, optimization

## 서 론

감(*Persimmon, Diospyros Kaki, L.*)과실은 아열대 및 온대지방의 과실로 한국과 일본, 중국이 주산지로서 지중해 지역의 나라에서도 유망한 작물로 각광 받고 있다. 감은 포도당, 과당 등의 당류와 비타민 A 및 C가 풍부한 알칼리성 식품이며, 설사와 피를 멈추게 하는 약리작용을 가지는 과실로 알려져 있다(Roh, 1999). 현재, 국내 감 생산량은 연간 약 239,000 M / T이며 그 생산량이 매년 증가하고 있는 추세이며, 건시를 비롯해 여러 가지 형태로 소비되고 있다. 특히, 껍질가공시 감과피가 많이 발생하는데 지용성 색소인 carotenoid가 다량 함유되어 있다(Kim, 1995). Carotenoid화합물 중에서 vitamin A

로서의 역가가 가장 높은  $\beta$ -carotene은 식품, 의약품 및 화장품등의 착색제 및 첨가제로서 오래 전부터 사용되고 있으며 현재는 강력한 항암 효과, 대사과정에서 retinol의 주 공급원으로 보고되어 건강식품으로서 그 중요성이 크게 인식되고 있다(Pierre, 1997; Hong, 1998).

그러나, 현재 산업적으로 이용되고 있는 대부분의  $\beta$ -carotene은 천연품과 화학 합성품으로 생산되고 있으며 천연품의 경우 소비자들의 선호도가 높지만 원재료비의 비중이 높아 경제성의 문제가 있다. 반면에 화학합성품의 경우에는 천연물보다는 경제적이지만 생물기능이나 화학구조가 천연물과 차이가 있고 유해가능성이 대두되고 있다(Nelis와 De Leenheer, 1991). 최근 인간의 건강에 대한 관심의 증대로 인하여 천연물에 대한 욕구가 증대하고 있기 때문에 천연산  $\beta$ -carotene을 얻을 수 있다면 시장에서 상품으로서의 가치가 매우 높을 것이다.

현재  $\beta$ -carotene추출에 이용되고 있는 방법은 용

Corresponding author: Yong-Hee Choi, Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University, 1370 Sankyudong, Pukgu, Taegu 702-701, Korea  
Phone: +82-53-950-5777, Fax: +82-53-950-6772  
E-mail: yhechoi@knu.ac.kr

매추출법의 전통적인 방법과 최근 실용화되고 있는 초임계유체추출법등이 많이 사용되고 있다. 용매추출법은 추출용매의 소요량이 많고 장시간의 추출을 필요로 하므로 비효율적이며, 초임계 유체 추출법은 추출속도가 빠르며 용매의 소비도 적지만 작동비용이 많이 드는 문제점을 가지고 있다(Kwon, 2000).

최근 이러한 추출방법의 문제점을 보완하기 위하여 마이크로웨이브를 이용한 추출공정이 개발되었다. 이 방법은 전자렌지 등에서와 같이 air stream 상의 에너지가 아니라 시료 혼합물 전체가 집중적으로 마이크로웨이브 에너지에 노출됨으로써 대상 물질의 목표성분이 국소적인 과열현상으로 용리된다(Pare et al., 1994). 또한 적은 용매, 적은 에너지를 사용하여 단시간에 목적성분을 추출할 수 있는 잇점을 지니고 있어 환경친화적 특징과 경제성을 지니고 있는 것으로 밝혀졌다(Kwon, 1998).

따라서 본 연구에서는 감과피에서 천연의 생리기능성 물질인  $\beta$ -carotene을 효율적으로 추출할 수 있는 공정을 개발하고자 microwave-assisted extraction 공정을 이용하여 추출조건 최적화에 대해 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용한 감 과피는 경상북도 상주 지방에서 꺾임을 만들기 위해 벗긴 것을 38°C 열풍건조기에서 48시간 건조된 감 껍질을 120 mesh의 입자 크기로 분쇄한 후 -20°C이하에 보관하면서 추출실험에 사용하였다.

### 추출용매에 따른 추출수율 및 용매선정

Microwave-assisted extraction은 2,450 MHz 주파수의 상압형 추출장치(Microdigest unit, Prolabo, France)를 사용하였다. 추출장치는 에너지(power, watt, W)와 time control이 가능하며 환류냉각관이 장착되어 있다. 감 과피에서 carotenoid색소를 추출하여  $\beta$ -carotene함량을 비교하기 위하여 5종류의 용매(acetone, ethanol, methanol, ethylacetate, hexane)를 이용하여 microwave power 150 watt, 추출시간 3 min, 추출용매비 1:20의 동일한 조건에서 추출을 한 후 시료무게에 대한  $\beta$ -carotene함량을 비교하였으며 이때 수율이 가장 높은 용매를 적정용매로 선정하였다.

### Carotenoid계 색소 추출

Curl(1960)의 방법을 응용하여 microwave추출장치로 추출된 상층부를 40°C 이하에서 evaporator로 농축후 ethyl ether와 포화 NaCl 용액(1 : 1, v/v)에 현탁시켜 진탕하고, 분리된 상층액에 10% KOH/ethanol 용액을 첨가하여 질소가스로 충전하고 24시간동안 방치한 다음, 분리된 상층액을 취하여 무수 황산나트륨으로 탈수한 후 회전증발농축기로 감압농축하여 질소가스로 건조하여 사용하였다.

### $\beta$ -carotene의 분석

시료의  $\beta$ -carotene 함량은 George (1993)의 방법에 따라 건조물에 0.01% BHT가 함유된 chloroform 1ml에 용해하여 HPLC법에 의하여 분석하였다. HPLC시스템은 Sykam510 model로 C18 column(waters, 4.6 mm×250 mm), UV-VIS detector로 구성되어 있다. 검출파장은 450 nm였으며 이동상은 methanol : chloroform (96 : 4)이며 유속은 1.0 ml/min이었다.

### $\beta$ -carotene 추출조건 최적화를 위한 실험계획

감과피로부터  $\beta$ -carotene추출의 최적조건을 얻고자 실험계획은 fractional factorial design을 사용하였으며, 반응표면분석을 위해서 SAS (statistical analysis system) program을 사용하였다(SAS Institute, 1991). 마이크로웨이브 추출공정은 microwave power, 추출시간, 용매의 종류등 여러 변수에 의해 추출효율이 좌우될 수 있다. 본 실험에서 추출조건은 microwave power ( $X_1$ ), 추출용매비( $X_2$ ), 추출시간( $X_3$ )이었으며, 이들 요인변수들은 -1, 0, +1의 3단계로 부호화 하였으며 Table1에 나타내었다. 또한 이들 요인변수에 의해 영향을 받는 종속변수( $Y_n$ )로는  $\beta$ -carotene 함량( $Y$ )으로 하였다.

Table 1. Levels of extraction conditions in experimental deign

$X_i$	Extraction conditions	Levels		
		-1	0	+1
$X_1$	Microwave powder(watt)	100	150	200
$X_2$	Solvent ratio	10	20	30
$X_3$	Extraction time(min)	1	3	5

## 결과 및 고찰

### 추출용매에 따른 $\beta$ -carotene 함량

Microwave 추출장치를 이용하여 추출용매에 따른  $\beta$ -carotene 함량을 측정된 결과를 Table 2에 나타내었다. Acetone, methanol과 hexane 등을 추출용매로 사용한 경우 각각 2,379  $\mu\text{g}/100\text{g}$ , methanol 1,512  $\mu\text{g}/100\text{g}$ , hexane 1,044  $\mu\text{g}/100\text{g}$ 으로 나타나 비극성도가 높은 hexane을 용매로 추출한 경우 보다는 극성 용매인 methanol을 사용한 경우가 그 함량이 높았으며, 양극성용매인 acetone으로 추출한 실험구가 가장 높게 나타났다. 이러한 결과는 각각의 추출용매의 확산기작의 차이로 인한 결과라고 생각되며,

Buffler 등(1995)에 의하면 헥산, 벤젠등 일부 유기 용매들은 물, 메탄올, 에탄올 등에 비해 유전상수가 낮고 전기적 성질을 갖지 않기 때문에 극초단파 에너지를 흡수하지 못하고 그냥 통과시킨다고 보고하고 있다. Gross (1987)의 보고에 의하면 식물체 중에 존재하는 총 carotenoid 함량은 생체 100 g중에 banana 0.8 mg, mandarin pulp 1.4 mg, apricots 3.5 mg, tomato 5.4 mg, red pepper 15 mg 그리고, persimmon peel 49 mg을 함유하고 있다고 하였다. 본 연구에서 사용한 감과피의 carotenoid 함량이 다른 식물 자원에 비해 비교적 높은 값을 나타내어  $\beta$ -carotene 추출의 새로운 소재로서 이용가능성이 기대된다.

**Table 2. Experimental data on  $\beta$ -carotene contents for each solvents from the peel of persimmon fruit by microwave-assisted extraction**

Each solvents	Extraction condition			$\beta$ -carotene contents ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )
	Microwave powder(watt)	Solvent ratio	Extraction time (min)	
Acetone	150	20	3	2,379
Ethanol	150	20	3	1,425
Methanol	150	20	3	1,512
Ethylacetate	150	20	3	1,938
Hexane	150	20	3	1,044

**Table 3. Experimental data on  $\beta$ -carotene contents from acetone extracts under different conditions based on central composite design for response surface analysis**

Treatment No.	Microwave Power (watt)	Solvent ratio	Extraction time (min)	$\beta$ -carotene contents ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )
1	200(1)	30(1)	3(0)	2,864
2	200(1)	10(-1)	3(0)	2,263
3	100(-1)	30(1)	3(0)	2,105
4	100(-1)	10(-1)	3(0)	1,793
5	200(1)	20(0)	5(1)	2,012
6	200(1)	20(0)	1(-1)	2,742
7	100(-1)	20(0)	5(1)	1,152
8	100(-1)	20(0)	1(-1)	1,588
9	150(0)	30(1)	5(1)	1,620
10	150(0)	30(1)	1(-1)	1,993
11	150(0)	10(-1)	5(1)	1,384
12	150(0)	10(-1)	1(-1)	1,848
13	150(0)	20(0)	3(0)	2,316
14	150(0)	20(0)	3(0)	2,403
15	150(0)	20(0)	3(0)	2,417

**Table 4. Taylor second equations calculated by RSM program in the peel of persimmon fruit**

Responses	Taylor second equations	R <sup>2</sup>	Significance
$\beta$ -Carotene contents	$Y = -186.247917 + 5.027750X_1 + 48.072083X_2 + 750.106250X_3$ $+ 0.007987X_{12} + 0.144450X_{1X2} - 1.424083X_{22} - 0.735X_{1X3}$ $+ 1.131250X_{2X3} - 131.283333X_{32}$	0.9597	0.0055

**$\beta$ -carotene 추출공정의 최적화**

추출용매로 선정된 acetone으로 Microwave추출장치를 이용하여  $\beta$ -carotene 추출공정의 최적화를 수행하기 위하여 Table 3의 결과를 이용하였다. Microwave power, 추출용매비, 추출시간을 각각 200 W, 1:30, 3 min에서의  $\beta$ -carotene 함량이 2,864  $\mu$ g/100 g으로 가장 높았으며 100 W, 1:20, 5 min에서는 1,152  $\mu$ g/100 g로 낮은 함량을 보여주어 Micro-wave power와 용매비가 증가될수록 추출시간이 짧을수록  $\beta$ -carotene 함량이 증가되었다.

최적의 공정조건을 얻기위하여 microwave power, 추출용매비, 추출시간을 변수로 하여 반응표면분석에서 얻은 2차 회귀계수 값은 Table 4에 나타내었다. 이때 R<sup>2</sup>값은 0.9597이었고, 유의성을 나타내는 significance는 0.0055로 1%이내의 유의수준을 나타내어 처리구에 대하여 높은 유의성이 인정되었다. 이들 회귀계수를 이용하여 각 반응변수의 예측과 반응표면을 형성할 수 있었다.

반응변수에 미치는 독립변수의 영향은 Table 5에 나타내었으며,  $\beta$ -carotene함량은 추출시간이 가장 중요한 요소로 작용함을 알 수 있었다. 추출시간과 microwave power 모두(P<0.01)에 유의성이 인정되었으나 용매비에 대해서는 유의성이 나타나지 않았다. 수립된 회귀식에 대하여 적합 결여 검정을 한 결과  $\beta$ -carotene 함량의 값은 0.0673으로 가정된 모형에 적합 됨을 알 수 있었다.

다중회귀분석 결과 일차항과 이차항은 모두 P<0.01에서 유의성이 인정되었으나 변수 상호간에는 유의성이 없는 것으로 나타났다. 그러나 이차회귀식에 의하여 형성된 반응표면의 결과 R<sup>2</sup>는 대체로 높은 편이었다. 이러한 결과에 의한 각 반응변수의 정상점과 정상점에서의 독립변수의 조건은 Table 6과 같았다.  $\beta$ -carotene 함량은 안장점을 나타내고 있어 최적점이라 할 수 없다. 따라서 능선분석에 의해 coded radius가 중심점인 0에서 1의 범위내에서  $\beta$ -carotene 함량이 최대가 되는 값의 예측치는 2,871.62이며 microwave power와 추출용매비, 추출시간은 각각 196.89 W, 1:22.83, 2.59 min으로 나타났다.

**Table 5. Analysis of variance showing significant effects of processing variables on  $\beta$ -carotene contents**

Process variables	DF	Sum of squares	
		$\beta$ -carotene contents	Pr>F
Microwave power (watt)	4	1358659	0.0076**
Solvent ratio	4	306969	0.1362
Extraction time (min)	4	1543617	0.0057**

\*\*Significant at 1 %

**Table 6. Predicted levels of process variables yielding optimum response of carotenoid contents**

Process variables	Level for optimum response Carotenoid contents
Microwave power (watt)	-7.37
Solvent ratio	-1.28
Extraction time (min)	0.25
Morphology predicted value at stationary point	S.P. <sup>a)</sup> 749.29

<sup>a)</sup>S.P.=Saddle Point

**Microwave추출조건에 따른  $\beta$ -carotene함량의 변화**

감과피의 생리기능성 물질인  $\beta$ -carotenoid함량은 품질 지표의 중요한 성분이다. 따라서 반응변수로  $\beta$ -carotene함량으로 하고 독립변수로 추출수율을 향상시킬 수 있는 조건인 microwave power, 추출용매비, 추출시간으로 하였을 때 그 변화정도를 Fig. 1, 2와 3에 나타내었다. 각각의 추출시간과 용매비에서 microwave power의 증가에 따른  $\beta$ -carotene함량의 변화는 microwave power가 증가할수록 높게 나타났다. 추출시간은 2-3분에서 최대였는데, 기존 용매추출 방법은 최소한 몇 시간이 소요되었지만, 마이크로웨이브 추출법은 1/50 이상의 추출시간 단축 가능성을 보여주었다. Microwave power와 용매비에서 추출시간의 증가에 따른  $\beta$ -carotene함량의 변화는 3분에서 최대값을 보였으며, 용매비 증가에 따른 결과는 1:20과 1:30에서 뚜렷한 차이가 발견

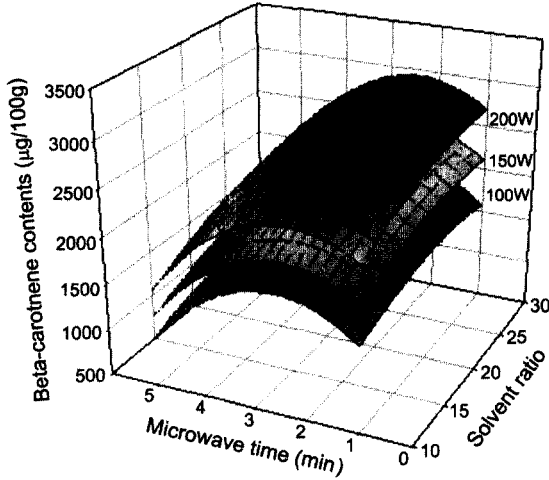


Fig. 1. Response surface plot for  $\beta$ -carotene contents as related to each extraction condition of solvent ratio and extraction time.

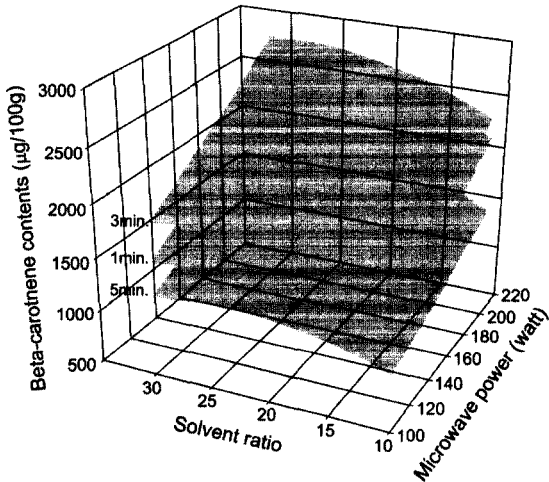


Fig. 2. Response surface plot for  $\beta$ -carotene contents as related to each extraction condition of microwave power and solvent ratio.

되지 않았는데, Lee 등(2000)의 극초단파를 이용한 건고추 올레오레진의 추출조건 설정에서 추출용매가 1:20이상에서는 올레오레진 함량의 증가가 나타나지 않았다는 결과와 유사한 패턴이었다. 실험에서 행한 반응변수들의 기울기 경향은 microwave power와 추출시간이 추출용매비보다 더 큰 영향을 주는 것을 알 수 있었다.

최적조건의 선정

세가지 실험변수 중 가장 영향이 적은 것으로 나

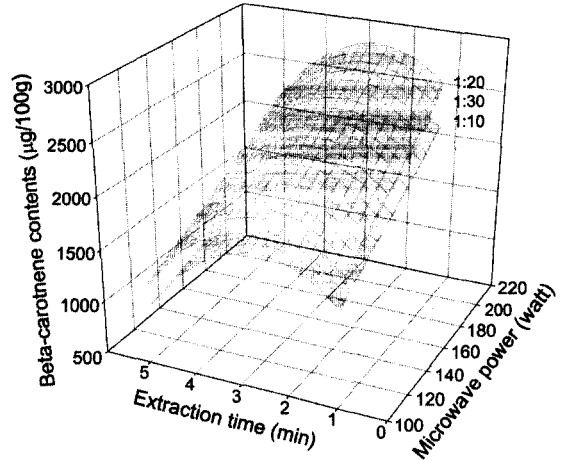


Fig. 3. Response surface plot for  $\beta$ -carotene contents as related to each extraction condition of microwave power and extraction time.

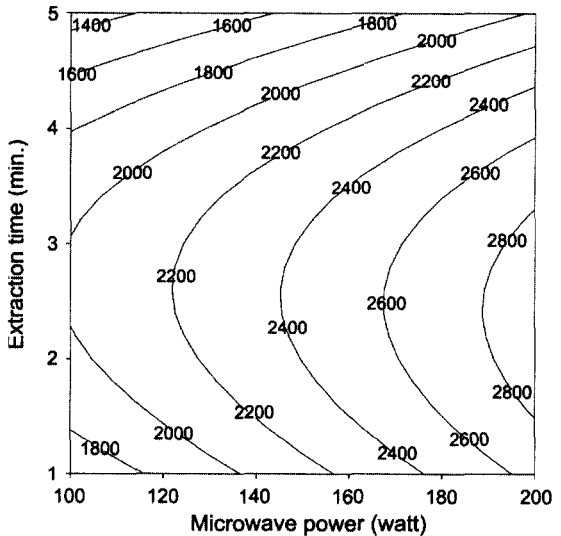


Fig. 4. Contour plot of response for  $\beta$ -carotene contents ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ ) under the constant solvent ratio (1:23).

타난(Table 5) 용매비를 중심으로 고정하고 추출 온도와 시간의 최적조건을 구하고자 하였다. 중심점에서의 용매비를 1:23로 정한 후 microwave power와 추출시간만을 변수로 하여 분석을 행한 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 추출시간은 2.5 min 부근에서 가장 높은 값을 보여주었고, microwave power가 증가할 수록  $\beta$ -carotene 함량이 높게 나타났다. 따라서  $\beta$ -carotene 색소의 추출최적조건은 microwave power (197 W), solvent ratio (1:23), extraction time (2.5 min)으로 결정하였다.

요 약

Microwave추출장치를 이용하여 감과피에서 최근 생리기능성물질로 부각되고 있는  $\beta$ -carotene을 추출하기 위하여 5가지 (acetone, ethanol, methanol, ethylacetate, hexane)의 유기용매로 추출수율을 비교하였으며, 이들 용매중 아세톤의 추출수율이 가장 높게 나타나 중심합성계획에 의한 반응표면분석법을 행하였다. 시료에 대한 microwave power ( $X_1$ ), 용매비( $X_2$ ), 추출시간( $X_3$ )을 요인변수로 하고  $\beta$ -carotene 함량( $Y$ )을 종속변수로 하여 추출을 실시하였다. 조건별 실험결과는 회귀분석을 행하여 3차원 반응표면으로 나타내었으며, 수립된 회귀식에 대하여 적합결여분석을 행한 결과 유의성이 없어 회귀식이 적절함을 알 수 있었으며 추출시간이 가장 큰 영향을 미치는 변수로 나타났다.  $\beta$ -carotene 함량은 추출시간이 증가함에 따라 증가하다가 3 min 이상에서는 감소함을 보였는데, 고온에 따른  $\beta$ -carotene의 산화가 촉진된 것으로 사료된다. 또한 microwave power가 증가함에 따라 그 함량이 높아졌으나 추출 용매비에 따른 영향은 미비하였다. 요인변수중  $\beta$ -carotene 함량에 가장 영향이 적은 용매비를 중심점의 조건으로 고정하고 microwave power와 추출시간만을 변수로 하였을 경우 추출최적조건은 microwave power와 추출시간을 각각 197 W, 2.5 min으로 결정하였다.

문 헌

노영균, 장성호, 박석희, 변효숙, 성진중. 1999. 뽕은감의 유통특성 분석. 농산물저장유통학회지 **6**(2): 184-187

김영배, 이종석, 임병선. 1995. 뽕은감 저장, 가공 이용 실태조사. 원예연구소. 감이용 확대방안 연구보고서: 15-31

홍상필, 김명희, 황재관. 1998. Carotenoids의 생리 기능 성과 생산기술. 한국식품영양과학회지 **27**(6): 1297-1306

권중호, 김경은, 이기동. 2000. 상업조건의 마이크로웨이브 추출공정에서 가용성 인삼성분의 추출조건 최적화. 한국식품과학회지. **32**(1): 117-124

권중호. 1998. 마이크로웨이브 공정을 이용한 식품 및 천연물 성분의 고속추출. 식품과학과산업 **31**(1): 43-55

이정은, 권중호, 김현구. 2000. 극초단파를 이용한 건고추 올레오레진의 추출조건 설정. 농산물저장유통학회지 **7**(3): 267-272

Buffler, C.R., and Stanford, M.A. 1995. Effects of dielectric and thermal properties on the microwave heating of foods. *Microwave World*. **16**: 5-11

Curl, A.L. 1960. The carotenoids of tangennes. *J. Agric Food Chem*. **5**: 605-610

George, A., Spanos, A.C. and Steven, J.S. 1993. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of  $\beta$ -carotene from sweet potatoes. *J. Food Sci*. **58**(4): 817-820

Gross, J. 1987. Pigments in Fruits. Academic Press Inc.(London) Ltd. 87-89

Nelis, H.J. and De Leenheer, A.P. 1991. Microbial sources of carotenoid pigments used in foods and feeds. *J. Appl. Bacteriol*. **70**: 181-185

Pare, J.R.J., Belanger, J.M.R. and Stafford, M.R. 1994. Microwave-assisted process: a new tool for the analytical laboratory. *Trends in Analytical Chemistry* **13**: 176-184

Pierre, A. 1997. Food carotenoids and cancer prevention: An overview of current research. *Trends in Food Sci. Tech*. **8**: 406-411

SAS Institute, 1991. SAS/STAT user's guide. SAS Institute, Cary, NC, U.S.A