

반응표면분석에 의한 사과 pomace로부터의 폴리페놀 추출조건 최적화

김윤숙* · 김로사 · 문지혜 · 지중룡¹ · 최희돈 · 박용곤
한국식품연구원, ¹(주)백광 C&S

Optimization of Extraction Conditions of Polyphenolic Compounds from Apple Pomace by Response Surface Methodology

Yoon-Sook Kim*, Rosa Kim, Ji-Hye Moon, Joong-Ryong Ji¹, Hee-Don Choi, and Yong-Kon Park

Korea Food Research Institute

¹Paek Kwang C&S Co.

Abstract This study examined the optimization of alcohol extraction conditions for maximizing the total polyphenols derived from apple pomace, by response surface methodology (RSM). The effects of four independent variables, including X_1 (ratio of solvent to sample content), X_2 (dipping time), X_3 (extraction time), and X_4 (extraction temperature), were investigated at five levels using central composite design (CCD). Y_1 (yield) and Y_2 (total polyphenols) were chosen as dependent variables. The coefficients of determination, R^2 , were greater than 0.900 (0.9042 and 0.9555). The results showed that the model fit was very significant ($p < 0.001$). The optimum extraction conditions were as follows: 13.00 mL/g for the ratio of solvent to sample content, 89.02 min for dipping time, 180 min for extraction time, and 70°C for extraction temperature. At these conditions, the predicted total polyphenol content was 29.68 mg catechin equiv./g.

Key words: apple pomace, total polyphenols, response surface methodology

서 론

사과는 관능적 특성이 좋고 영양학적으로 당, 식이섬유, 칼륨 및 비타민과 폴리페놀 화합물 등이 풍부하여 과실로서 뿐만 아니라 주스, 잼 등 다양한 식품으로 이용되고 있다(1,2). 2006년을 기준으로 사과는 국내 전체 과실 재배면적 155,000 ha의 17%인 27,000 ha에서 재배되고 있으며, 대부분이 경북에서 생산된다(3). 사과가 수확기에 이르러 낙과 및 부분적 상해의 발생이 늘게 되면 이들은 맛이나 향 등의 내적 품질은 양호하나 외관적 상태가 불량하여 상품성이 떨어지게 되고 제값을 받을 수 없게 된다(4). 따라서 이를 이용한 가공의 필요성이 강조되고 있으며 국내산 과실로 제조되고 있는 대표적인 과실음료에는 사과주스가 있다. 사과주스의 가공과정 중에는 일차적으로 사과 pomace가 부산물로 생산되며 폴리페놀 화합물이 다량 함유되어 있다(5,6). 폴리페놀 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로써 다양한 구조와 분자량을 가지며 이들은 phenolic hydroxy기에 의해 단백질 등의 거대분자들과 결합하려는 성질이 있다(7,8). Hong과 Ahn(9)은 열처리된 총 폴리페놀의 함량에 대한 연구에서 폴리페놀이 항산화 효과와 노화억제 및 항암효과가 있다고 보고하였다. An 등(10)은 녹차 폴리페놀이 첨가된 화장품의 암세포 증식 억제능이 우수하다고 보고하였다. 이처럼 식품의 폴리페놀

화합물은 다양한 생리활성 기능을 지니고 있어 기능성 식품의 성분으로 많이 주목받고 있다(11). 이와 더불어 Lu와 Foo(12)는 사과 pomace의 주요 폴리페놀의 정량분석을 연구하였으며 Renard 등(13)은 사과의 성장 중에 페놀 화합물의 농도와 특성변화에 대해 보고하였다.

반응표면분석은 복수개의 독립변수들이 복합적인 작용을 하여 한 개나 여러 개의 종속변수들에 영향을 줄 때 그 작용의 관계를 통계적으로 분석하는 방법으로 최근에는 제품개발, 공정개발, 품질관리 등의 분야에서 널리 활용되고 있다(14,15). Kim 등(16)은 반응표면분석을 이용하여 용매비, 에탄올 농도, 추출온도에 따른 홍일적 양배추의 추출조건을 최적화를 연구하였고, Kim 등(17)은 시료에 대한 용매비, 추출온도와 추출시간에 따른 무화과의 추출조건 최적화를 보고하였다. 그러나 사과 pomace의 추출시 총 폴리페놀 함량을 최대화하는 조건을 확립하기 위한 연구는 미흡한 실정이다.

이에 따라 본 연구에서는 전처리한 사과 pomace의 알콜 추출시 시료에 대한 용매비, 침지시간, 추출시간, 추출온도에 따라 총 폴리페놀 함량을 최대화 할 수 있는 추출조건을 반응표면분석법을 이용해 최적화하여 기능성을 가진 소재 생산에 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 연구에서는 국내에서 2006년 10월부터 11월에 생산된 부사종의 사과 pomace를 대구 경북 능금조합에서 공급받아 시료로 사용하였으며, 구입한 시료는 실험에 사용할 때까지 2-5°C에서 보관하였다. 추출용매로 사용한 에탄올(순도 94.5%)은 Samchun

*Corresponding author: Yoon-Sook Kim, Korea Food Research Institute, Seongnam, Gyeonggi 463-746, Korea

Tel: 82-31-780-9281

Fax: 82-31-780-9281

E-mail: kimyus@kfri.re.kr

Received January 15, 2009; revised March 25, 2009;

accepted March 25, 2009

Table 1. Experimental range and values of the independent variables in the central composite design for optimization of extraction conditions

Independent variables	Symbol	Levels				
		-2	-1	0	1	2
Ratio of solvent to sample content (mL/g)	X ₁	2	6	10	14	18
Dipping time (min)	X ₂	20	40	60	80	100
Extraction time (min)	X ₃	60	90	120	150	180
Extraction temperature (°C)	X ₄	30	40	50	60	70

Pure Chemical Co.(Seoul, Korea)에서 구입하였으며 분석에 사용한 시약은 일급이상 시약을 사용하였다.

추출조건 최적화를 위한 실험계획

사과 pomace에 가수비율을 1:3으로 하여 50°C에서 1시간 온수 추출하여 착즙하였다. 이를 30초간 표백처리하고 60°C oven에서 열풍건조하여 분말화하였다. 이와 같이 전처리된 사과 pomace의 알콜 추출 시 최적 조건을 설정하기 위하여 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)을 적용하였다. 추출공정에서 중요한 변수로 고려되는 시료에 대한 용매비(X₁), 침지시간(X₂), 추출시간(X₃)과 추출온도(X₄)를 독립변수(independent variables)로 설정하였다. 이를 각각 5단계(-2, -1, 0, 1, 2)로 부호화하여 중심합성계획(central composite design, CCD)에 따라 실험을 진행하였다(Table 1). 그리고 이 독립변수에 영향을 받는 종속변수(dependent variables)는 수율(Y₁)과 총 폴리페놀 함량(Y₂)으로 정하였으며, 그 값은 Table 2에 나타내었다. 이 두 가지 종속변수를 만족시키는 최적조건을 찾기 위해서 Minitab statistical software(Version 13, Minitab Inc., State College, PA, USA)를 사용하였으며, 반응표면그래프는 Maple software(Maple 7, Waterloo Maple Inc., Waterloo, ON, Canada)를 사용하여 나타내었다.

수율 측정

수율(yield)은 추출액을 동결건조한 후, 추출액 조제에 사용한 원료 건물량에 대한 고형분의 수율(%)로 나타내었다.

총 polyphenol 함량 측정

총 polyphenol 함량은 Folin-Ciocalteu reagent법(18)을 이용하여 측정하였다. 희석한 각 추출물을 0.125 mL 취하고 여기에 0.5 mL 증류수를 넣은 후 0.125 mL의 Folin-Ciocalteu reagent를 가하여 6분간 반응시킨 후 1.25 mL의 7% sodium carbonate 용액을 첨가하였다. 이를 3 mL의 증류수를 가하여 희석한 후 90분간 발색시켜 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정치는 농도별 catechin을 이용한 standard curve와 비교하여 mg catechin equiv./g으로 표시하였다.

통계 분석

사과 pomace의 추출조건에 따른 추출물의 특성은 Minitab program을 사용하여 반응표면회귀분석으로 통계처리하였다. 이 때, 독립변수 X_i와 X_j에 대한 종속변수 Y(수율, 총 폴리페놀 함량)는 다음과 같은 2차 회귀식으로 나타내었으며, β₀는 상수이고, β_i, β_{ij}, β_j는 회귀계수이다.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^4 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^4 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=i+1}^4 \beta_{ij} X_i X_j$$

추출 조건의 최적화는 Minitab program을 이용하여 각각의 반응변수에 대한 목표값을 설정하여 그 범위를 만족시키면서 합성된 만족도(D)를 최대화하는 인자의 최적조합으로 결정하였다.

결과 및 고찰

수율의 변화

사과 pomace 알콜 추출 시 요인변수에 영향을 받는 종속변수인 수율(Y₁)의 값은 Table 2와 같이 나타났다. 이 결과를 t-statistic에 근거해 종속변수 Y₁(yield, %)의 일차항(X₁, X₂, X₃, X₄), 이차

Table 2. Central composite design and responses of dependent variables for optimization of extraction conditions considering 4 independent variables

Exp. no.	Coded levels of variable ¹⁾				Responses	
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	Y ₁	Y ₂
1	-1	-1	-1	-1	1.43	22.59
2	1	-1	-1	-1	2.24	22.37
3	-1	1	-1	-1	1.83	20.09
4	1	1	-1	-1	2.39	21.57
5	-1	-1	1	-1	1.73	23.08
6	1	-1	1	-1	2.14	23.96
7	-1	1	1	-1	1.66	22.27
8	1	1	1	-1	2.83	24.01
9	-1	-1	-1	1	3.07	20.23
10	1	-1	-1	1	4.26	20.87
11	-1	1	-1	1	3.00	20.93
12	1	1	-1	1	3.91	21.70
13	-1	-1	1	1	2.87	22.95
14	1	-1	1	1	4.27	22.45
15	-1	1	1	1	2.65	22.30
16	1	1	1	1	3.42	28.21
17	-2	0	0	0	0.56	15.30
18	2	0	0	0	3.07	19.58
19	0	-2	0	0	2.90	20.86
20	0	2	0	0	3.09	22.14
21	0	0	-2	0	2.92	22.66
22	0	0	2	0	3.11	24.36
23	0	0	0	-2	2.40	23.75
24	0	0	0	2	4.36	26.58
25	0	0	0	0	2.40	26.61
26	0	0	0	0	2.12	25.10
27	0	0	0	0	2.62	25.35

¹⁾X₁, ratio of solvent to sample content (mL/g); X₂, dipping time (min); X₃, extraction time (min); X₄, extraction temperature (°C); Y₁, yield (%); Y₂, total polyphenols (mg catechin equiv./g)

Table 3. Estimated coefficients of the fitted quadratic polynomial equation for different response based on t-statistic

	Y ₁		Y ₂	
	Coefficient	P-value	Coefficient	P-value
Intercept ¹⁾	2.3800	0.001	25.6867	0.001
X ₁	0.5100	0.001	0.8025	0.006
X ₂	0.0025	0.965	0.2142	0.387
X ₃	-0.0075	0.896	0.9283	0.002
X ₄	0.6300	0.001	0.2233	0.368
X ₁ X ₁	-0.1529	0.025	-1.9667	0.001
X ₂ X ₂	0.1421	0.035	-0.9517	0.003
X ₃ X ₃	0.1471	0.030	-0.4492	0.101
X ₄ X ₄	0.2383	0.002	-0.0354	0.891
X ₁ X ₂	-0.0250	0.724	0.5687	0.075
X ₁ X ₃	0.0175	0.804	0.3350	0.274
X ₁ X ₄	0.0825	0.255	0.1837	0.541
X ₂ X ₃	-0.0363	0.609	0.3825	0.215
X ₂ X ₄	-0.1663	0.033	0.6688	0.041
X ₃ X ₄	-0.0938	0.200	0.3425	0.264

¹⁾X₁, ratio of solvent to sample content (mL/g); X₂, dipping time (min); X₃, extraction time (min); X₄, extraction temperature (°C); Y₁, yield (%); Y₂, total polyphenols (mg catechin equiv./g)

항(X₁², X₂², X₃², X₄²), 상호항(X₁X₂, X₁X₃, X₁X₄, X₂X₃, X₂X₄, X₃X₄)의 계수와 유의성에 대해 Table 3과 같이 나타내었다. 일차항 중에서는 X₁, X₄항이 1% 이내에서 유의적인 영향을 미치는 것으로 나타났다. 또한 이차항은 모두 통계적으로 유의하였으나 ($p < 0.05$), 상호항에서는 X₂X₄항을 제외하고는 유의성을 보이지 않았다($p > 0.1$). 반응표면모델식(response surface model equation)의 R²는 0.9555로 반응모형이 적합한 것으로 나타났으며, 수율에 대한 유의성은 1% 이내에서 인정되었다(Table 4). 종속변수 Y₁(Yield, %)의 분산분석(ANOVA) 결과(Table 5), 일차항과 이차항은 p-value가 0.001로 매우 유의적인 수준을 보였으나 상호항은 통계적으로 유의하지 않았다($p > 0.05$).

사과 pomace의 알콜 추출 시 시료에 대한 용매비(X₁, mL/g), 침지시간(X₂, min), 추출시간(X₃, min)과 추출온도(X₄, °C)가 수율(Y₁)에 미치는 영향을 알아보기 위해 Maple software를 사용하여 그래프로 나타내었다(Fig. 1). 시료에 대한 용매비가 높아질수록 수율은 급격히 증가하는 경향을 나타내는데 이 때의 증가속도는 용매비가 높아질수록 점차 둔화되는 양상을 보였다. Kim 등(19)의 썬머퍼워 양매추 유용성분의 추출조건 최적화 연구에서 시료에 대한 용매비가 증가할수록 수율이 증가하였다는 보고와 유사한 경향을 나타내었다. 침지시간과 추출시간은 사과 pomace의 알콜 추출시 수율에 큰 영향을 주지 않았고, 추출온도가 높아질수록 수율이 급격히 증가하며 시료에 대한 용매비와 함께 수율에

Table 4. Response surface model for optimization of extraction conditions

Responses	Quadratic polynomial model	R ²	P-value
Y ₁	$Y_1 = 2.3800 + 0.5100X_1 + 0.0025X_2 - 0.0075X_3 + 0.6300X_4 - 0.1529X_1^2 + 0.1421X_2^2 + 0.1471X_3^2 + 0.2383X_4^2 - 0.0250X_1X_2 + 0.0175X_1X_3 + 0.0825X_1X_4 - 0.0363X_2X_3 - 0.1663X_2X_4 - 0.0938X_3X_4$	0.9555	0.001
Y ₂	$Y_2 = 25.6867 + 0.8025X_1 + 0.2142X_2 + 0.9283X_3 + 0.2233X_4 - 1.9667X_1^2 - 0.9517X_2^2 - 0.4492X_3^2 - 0.0354X_4^2 + 0.5687X_1X_2 + 0.3350X_1X_3 + 0.1837X_1X_4 + 0.3825X_2X_3 + 0.6688X_2X_4 + 0.3425X_3X_4$	0.9042	0.001

X₁, ratio of solvent to sample content (mL/g); X₂, dipping time (min); X₃, extraction time (min); X₄, extraction temperature (°C); Y₁, yield (%); Y₂, total polyphenols (mg catechin equiv./g)

Table 5. Analysis of variance (ANOVA) for response of dependent variables (Y₁ and Y₂)

Responses ¹⁾	Sources	DF	SS	MS	F-value	P-value
Y ₁	Model	14	19.653	1.404	18.40	0.001
	Linear	4	15.770	3.942	51.66	0.001
	Quadratic	4	3.156	0.789	10.34	0.001
	Cross-product	6	0.728	0.121	1.59	0.233
	Residual	12	0.916	0.076	-	-
	Lack of fit	10	0.790	0.079	1.26	0.522
	Pure error	2	0.126	0.063	-	-
Total	26	20.569	-	-	-	
Y ₂	Model	14	154.809	11.058	8.09	0.001
	Linear	4	38.437	9.609	7.03	0.004
	Quadratic	4	97.487	24.372	17.83	0.001
	Cross-product	6	18.885	3.148	2.30	0.103
	Residual	12	16.400	1.367	-	-
	Lack of fit	10	15.090	1.509	2.30	0.340
	Pure error	2	1.310	0.655	-	-
Total	26	171.210	-	-	-	

¹⁾Y₁, yield (%); Y₂, total polyphenols (mg catechin equiv./g)

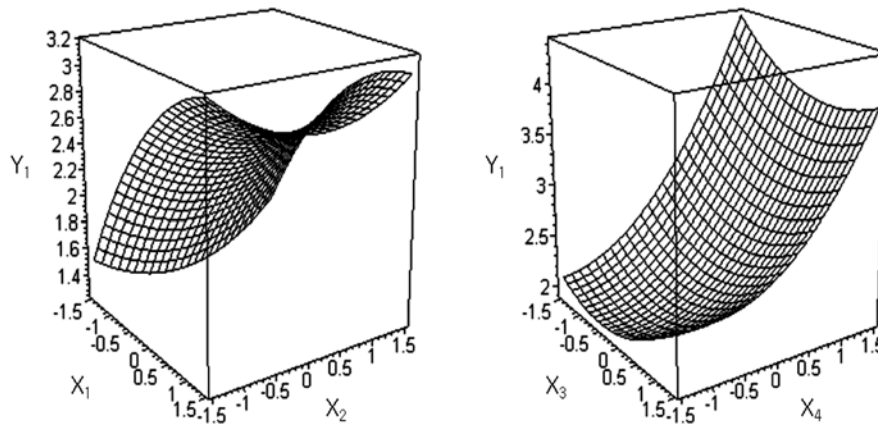


Fig. 1. Response surface plots for the effects of ratio of solvent to sample content, dipping time, extraction time and extraction temperature on yield of extracts. X_1 (ratio of solvent to sample content, mL/g), X_2 (dipping time, min), X_3 (extraction time, min), X_4 (extraction temperature, °C), Y_1 (yield, %)

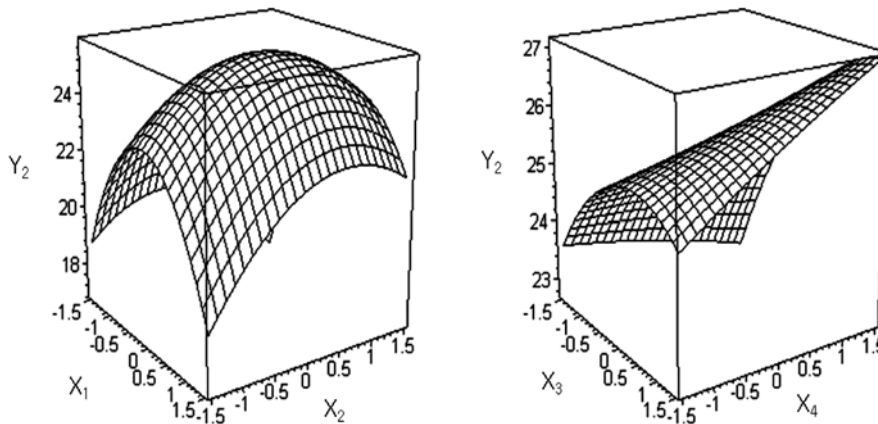


Fig. 2. Response surface plots for the effects of ratio of solvent to sample content, dipping time, extraction time and extraction temperature on total polyphenols of extracts. X_1 (ratio of solvent to sample content, mL/g), X_2 (dipping time, min), X_3 (extraction time, min), X_4 (extraction temperature, °C), Y_2 (total polyphenols, mg catechin equiv./g)

비교적 큰 영향을 미치는 요인으로 나타났다. 이는 Lee 등(15)의 대구부산물 열수추출조건의 최적화 연구에서 열수 추출에서 가수량이 증가할수록 수율이 증가하며 추출온도에도 영향을 받는다는 보고와 비슷하였다. 그러나 Kim 등(16)은 홍질적 양배추의 추출조건 최적화에 대한 보고에서 시료에 대한 용매비와 추출온도는 수율에 비교적 적은 영향을 미친다고 보고하여 본 실험의 결과와는 다소 다른 경향을 나타내었다.

총 폴리페놀 함량의 변화

중심합성계획에 의한 추출 실험에서 얻어진 각 추출물의 총 폴리페놀 함량은 사과 중의 대표적인 페놀성 물질인 catechin을 표준물질로 이용하여 검량곡선을 작성하여 정량하였고(11), 그 결과는 Table 2에 나타내었다. Table 3은 t-statistic에 근거해서 독립변수에 따른 종속변수의 각 항의 계수와 유의성을 나타낸 것으로, 일차항 중에서는 X_1 , X_3 항이 매우 유의적인 영향을 나타내었고 이차항은 X_1^2 과 X_2^2 에서만 통계적으로 유의하였다($p < 0.01$). 또한, 상호항에서는 X_2X_4 항을 제외하고는 유의성이 인정되지 않았다($p > 0.05$). 총 폴리페놀 함량에 대한 반응표면모델식의 R^2 는 0.9042로 반응모형이 적합하였으며, 통계적으로도 유의성이 1% 이내로 인정되었다(Table 4). 종속변수 Y_2 (total polyphenols, mg catechin equiv./g)의 분산분석(ANOVA) 결과(Table 5), 일차항과 이차

항은 매우 유의적인 수준을 보였으나($p < 0.01$), 상호항은 통계적으로 유의하지 않으며 독립변수 간의 상호작용은 거의 없는 것으로 사료된다($p > 0.1$).

사과 pomace의 용매추출 시 시료량에 대한 용매비, 침지시간, 추출시간 및 추출온도가 총 폴리페놀 함량(Y_2)에 미치는 영향에 대한 그래프는 Fig. 2에 나타내었다. 식물의 총 페놀성 화합물 함량은 물이나 단일용매보다 70% 에탄올로 추출 시 더 우수한 효율을 보이고(20,21), 본 연구의 예비실험에서도 총 폴리페놀의 함량에 대하여 70% 에탄올 용액이 추출효율이 가장 높은 것으로 나타났으므로 70% 에탄올을 추출용매로 사용하였다. 시료에 대한 용매비가 높아질수록 총 폴리페놀 함량은 증가하는 경향을 보이거나 용매비가 약 10 mL/g보다 더 높아지면 총 폴리페놀 함량이 다시 감소하는 경향을 나타내었다. 이와 같은 결과는 Choi 등(22)이 노루궁뎅이버섯 추출조건의 최적화에서 시료의 용매비가 높을수록 페놀성 성분의 함량이 증가한다는 보고와 Park 등(20)이 소국 에탄올 추출물의 추출조건 최적화 시 시료에 대한 용매비가 높을수록 페놀성 화합물의 추출율이 높게 나왔다는 보고와 유사하였으나 높은 용매비에서의 경향과는 차별되었다. 이는 시료에 대한 용매비가 높은 추출물을 농축하는 과정에서 폴리페놀 화합물의 손실이 크기 때문인 것으로 생각된다. 또한 추출 전 침지 시간이 길어질수록 총 폴리페놀 함량은 증가하였으며, 그 증가율

Table 6. Optimal conditions of extraction

Independent variables ¹⁾	Critical values	
	Coded	Uncoded
X ₁	0.6988	13.00
X ₂	1.4227	89.02
X ₃	2.0	180
X ₄	2.0	70

¹⁾X₁, ratio of solvent to sample content (mL/g); X₂, dipping time (min); X₃, extraction time (min); X₄, extraction temperature (°C)

Table 7. Predicted values of response variables

Response variables ¹⁾	Predicted values
Y ₁	3.76
Y ₂	29.68

¹⁾Y₁, yield (%); Y₂, total polyphenols (mg catechin equiv./g)

이 감소되는 지점이 나타났다. 추출시간은 추출 온도가 낮을 때에는 총 폴리페놀 함량에 큰 영향을 미치지 못했으나 추출온도가 높을 때에는 추출시간이 길어질수록 총 폴리페놀 함량이 급격히 증가하였다. 추출온도가 높아질수록 총 폴리페놀 함량이 증가하였으며 그 증가율은 추출시간에 비례하였다. 이는 Abad-Garcia 등(23)이 과일의 폴리페놀은 용매 추출 시 추출시간이 짧을 때에는 추출 온도에 큰 영향을 받지 않는다는 보고와 비슷한 경향이였다. 또한 Adil 등(24)은 사과와 복숭아 pomace의 폴리페놀 추출시 추출온도가 증가할수록 총 폴리페놀 함량이 증가하다가 50°C 이상에서는 총 폴리페놀 함량이 감소하는 결과를 보고하며 본 연구 결과와는 다소 다른 경향을 나타내었다. 총 폴리페놀 함량은 그래프의 곡선의 기울기가 비교적 완만하지 않은 것으로 보아 모든 독립변수에 큰 영향을 받는 것으로 생각된다.

최적 추출조건 예측

사과 pomace의 최적추출조건을 설정하기 위해 Minitab program을 사용하여 통계처리하였다(Table 6). 종속변수 Y₂(total polyphenols, mg catechin equiv./g)의 목적값을 최대로 설정하고 최적 조건을 산출한 결과, 사과 pomace 추출에 사용된 70% ethanol의 용매비(X₁)는 13.00 mL/g, 침지시간(X₂)은 89.02 min, 추출시간(X₃)은 180 min, 그리고 추출온도(X₄)는 70°C였다. 그 결과 예측된 총 폴리페놀 함량은 29.68 mg catechin equiv./g이며, 이 때의 만족도는 0.97이었다(Table 7).

요 약

사과 pomace의 알콜 추출 조건을 최적화하기 위하여 중심합성 계획법을 이용하여 용매비와 침지시간, 추출시간, 추출온도는 독립변수로 수율과 총 폴리페놀 함량은 종속변수로 설정하였다. 실험 결과 최적조건은 반응표면분석을 이용하여 모니터링하였다. 반응표면그래프 분석 결과 사과 pomace의 알콜 추출 시 수율은 침지시간과 추출시간에는 큰 영향을 받지 않았으며, 시료에 대한 용매비가 높을수록 또는 추출온도가 높아질수록 증가하였다. 총 폴리페놀 함량은 모든 독립변수에 영향을 받아 비례적으로 함께 증가하였으나 최고점을 보인 후 다시 감소되는 경향을 나타내었다. 총 폴리페놀 함량을 최대로 하는 최적 알콜 추출 조건은 사과 pomace에 용매비를 13.00 mL/g로 하고 89.02분 동안 침지시

킨 후 70°C에서 180분 추출하였을 때로서 그 때의 수율은 3.76%, 총 폴리페놀 함량은 29.68 mg catechin equiv./g으로 나타났다.

문 헌

1. Whang HJ. Changes of phenolic compounds in Korean apple (fuji) during maturation. Korean J. Food Nutr. 12: 364-369 (1999)
2. Yun HJ, Lim SY, Hur JM, Jeong JW, Yang SH, Kim DH. Changes of functional compounds in, and texture characteristics of, apples, during post-irradiation storage at different temperatures. Korean J. Food Preserv. 14: 239-246 (2007)
3. Agricultural & Forestry Statistical Yearbook, Ministry of Agriculture & Forestry, Seoul, Korea. pp. 116-117 (2006)
4. Kim SD, Jang KS, Kim MK. Fermentation of apple vinegar in the farmhouse. J. East Asian Soc. Diet. Life 4: 79-90 (1994)
5. Sudha ML, Baskaran V, Leelavathi K. Apple pomace as a source of dietary fiber and polyphenols and its effect on the rheological characteristics and cake making. Food Chem. 104: 686-692 (2007)
6. Sohn KS, Seog EJ, Lee JH. Quality characteristics of clarified apple juices produced by various methods. Korean J. Food Preserv. 13: 138-143 (2006)
7. Lu Y, Foo LY. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. Food Chem. 68: 81-85 (2000)
8. Cha JY, Kim HJ, Chung CH, Cho YS. Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of *Cudrania tricuspidata*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 28: 1310-1315 (1999)
9. Hong JJ, Ahn TH. Changes in total flavonoid and total polyphenol contents of leafy vegetables (spinach, chard and whorled mallow) by blanching time. Korean J. Food Cook. Sci. 21: 190-194 (2005)
10. An BJ, Park TS, Lee JY, Park GH, Hyun SJ, Lee JT, Cho YJ, Kim YS. Growth inhibitory effect of irradiated green tea polyphenol addition in cosmetic composition. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 50: 217-223 (2007)
11. Whang HJ, Han WS, Yoon KR. Quantitative analysis of total phenolic content in apple. Anal. Sci. Technol. 14: 377-383 (2001)
12. Lu Y, Foo LY. Identification and quantification of major polyphenols in apple pomace. Food Chem. 59: 187-194 (1997)
13. Renard CMGC, Dupont N, Guillermin P. Concentrations and characteristics of procyanidins and other phenolics in apples during fruit growth. Phytochemistry 68: 1128-1138 (2007)
14. Jang DH. Maple Use for RSM education. Korea Statistical Society, Seoul, Korea (2005)
15. Lee MS, Ryu GH. Optimization of hot water extraction conditions for cod byproduct by response surface methodology analysis. Food Eng. Prog. 10: 248-255 (2006)
16. Kim HK, Do JR, Hong JH, Lee GD. Optimization of extraction conditions for cabbage. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 34: 1625-1632 (2005)
17. Kim JO, Kwon ST, Lee GD, Hong JH, Moon DH, Kim TW, Kim DI. Optimization of extraction condition on fig (*Ficus carica* L.) by response surface methodology. Korean J. Food Preserv. 15: 66-73 (2008)
18. Singleton V, Rossi J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Viticult. 16: 144-158 (1965)
19. Kim HK, Do JR, Hong JH, Lee GD. Optimization for functional properties of cabbage extracts. Korean J. Food Preserv. 12: 591-599 (2005)
20. Park NY, Kwon JH, Kim HK. Optimization of extraction conditions for ethanol extracts from *chrysanthemum morifolium* by response surface methodology. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 1189-1196 (1998)
21. Kim NM, Sung HS, Kim WJ. Effect of solvents and some extraction conditions on antioxidant activity in cinnamon extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 25: 204-209 (1993)
22. Choi MA, Park NY, Woo SM, Jeong YJ. Optimization of extraction conditions from *Hericium erinaceus* by response surface methodology. Korean J. Food Sci. Technol. 35: 777-782 (2003)

23. Abad-Garcia B, Berrueta LA, Lopez-Marquez DM, Crespo-Ferrer I, Gallo B, 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: 87-96 (2007)
24. Adil IH, Cetin HI, Yener ME, Bayindirli A. Subcritical (carbon dioxide+ethanol) extraction of polyphenols from apple and peach pomaces, and determination of the antioxidant activities of the extracts. *J. Supercrit. Fluid.* 43: 55-63 (2007)