

새송이버섯 phytochemicals의 소재화 및 이를 이용한 기능성 식품의 개발

Development of Food Materials and Functional Foods
using the phytochemicals of *Pleurotus eryngii*

연 구 기 관
한 국 식 품 연 구 원

농 림 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “새송이버섯 phytochemicals의 소재화 및 이를 이용한 기능성 식품의 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2007년 5월 일

주관연구기관명: 한국식품연구원

총괄연구책임자: 책임연구원 김현구

책임연구원 홍석산

책임연구원 하태열

책임기술원 성기승

책임연구원 이용환

위탁연구원 오현인

위탁연구원 정현진

위탁연구기관명: 경북과학대학

위탁연구책임자: 교수 이명희

공동연구원 이기동

연구원 윤성란

연구원 조덕조

연구원 오세금

연구원 장영주

요 약 문

I. 제 목

새송이버섯 phytochemicals의 소재화 및 이를 이용한 기능성 식품의 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

국민소득이 증가되고 식생활 양식이 변화되면서 고혈압, 동맥경화증, 심장병 질환 등 성인병 질환이 증가하게 되었고 성인병 질환을 치료하기 위하여 질병 예방 차원에서 식생활의 조절과 예전부터 민간약으로나 한방에 이용되어 오던 식품의 이용과 그 식품의 특정한 생리적 기능에 대한 관심이 증가 되었다. 더불어 최근에는 천연물질의 특정한 생리 활성 물질을 이용하여 각종 체중조절용 저칼로리 식품, 특정 의료목적용 식품, 질병예방용 식품, 스포츠용 식품, 질병 회복용 식품, 암 예방 및 노화방지용 식품 등 질병의 예방과 치료하기 위한 목적으로 고안된 기능성 식품이 개발되고 있을 뿐 아니라 건강을 증진시키기 위한 목적으로 기능성 성분을 첨가한 다류나 음료 등의 기능성 식품을 선호하고 있는 실정이다. 따라서 토착 농산물 중 항산화력이 우수한 농산물을 선별하여 이를 이용한 건강식품의 개발은 시급한 과제라고 할 수 있다.

토착 농산물 중 새송이버섯은 급격한 생산량 증가로 인한 과잉 생산에 따른 수급 불균등이 발생할 가능성이 높아 재배농가에서는 재정적으로 커다란 어려움에 직면할 우려가 있다. 이를 극복하기 위해서 새송이버섯으로부터 생리 기능성을 탐색하고 생리활성 물질을 과학적으로 검증하여 건강식품으로서의 가치를 입증하여, 이를 토대로 다양한 가공식품을 개발함으로서 새송이버섯의 새로운 수요를 창출할 수 있을 것이다.

따라서 본 연구는 새송이버섯을 이용한 기능성 식품의 창출에 앞서 선행되어야 할 것으로 기능성 인자들과 소재들에 대한 탐색, 구조해석, 생리활성 기작의 규명에서부터 기능성 중간 소재화 및 제품화에 이르는 연구개발을 통한 생리활성 성분의 검색 및 유효성분 추출, 생리활성 추출물의 기능성 소재화 및 품질평가를 통하여 새송이버섯을 이용한 가공식품을 개발 하고자 하였다.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 새송이버섯의 생리활성 성분의 검색 및 추출 방법에 따른 유효성분 추출기술 개발

새송이버섯의 식품 소재화 및 고품질의 다양한 제품개발을 위해 생리활성 성분의 검색 및 유효성분의 추출방법을 개발하였다. 또한, 전처리 방법이나 추출조건에 따른 생리활성 성분을 비교분석하였다.

- 가. 생리활성 검정방법 검토
- 나. 새송이버섯의 전처리별 성분조사
- 다. 전처리별 생리활성의 변화 검토
- 라. 추출방법에 따른 새송이버섯의 유효성분 추출효과 분석 비교

2. 새송이버섯의 최적 추출조건 설정, 추출공정별 추출물의 특성 비교 및 *in vivo*에서 새송이버섯의 지질 감소효과

새송이버섯의 식품소재화 및 고품질의 다양한 제품 개발을 위해 추출 용매, 온도, 시간에 따른 특성을 비교하여 최적 추출조건을 설정하였다. 또한 새송이버섯에서 추출된 생리활성 물질이 *in vivo*에서 지질감소에 미치는 효능을 검증하였다.

- 가. 새송이버섯의 최적 추출조건 설정 시험
- 나. 새송이버섯의 추출공정 최적화 시험
- 다. 추출방법별 추출효율 및 생리활성 측정에 따른 추출효과 분석
- 라. 추출물의 이화학적 특성 및 활성 추출물의 제조
- 마. *in vivo*에서 새송이버섯의 지질 감소효과

3. 새송이버섯 추출물의 기능성 소재화 및 가공식품의 개발

새송이버섯의 기능성 소재화 및 고품질의 다양한 제품 개발을 위해 새송이버섯과 잘 어울

리는 소재를 선정하고 적절한 농도를 결정하여 음료를 개발하였다.

- 가. 생리활성 추출물의 기능성 소재화 시험
- 나. 생리활성 추출물의 시제품 제조 시험
- 다. 기능성소재 식품에의 응용 실증 시험

4. 새송이버섯 유용성분 추출 및 가공조건 최적화 모델링

- 가. 새송이버섯 유용성분의 추출특성 확인 및 효율 비교
- 나. 추출공정인자의 최적화 실험 계획
- 다. 유용성분의 추출특성 모니터링 및 최적 추출조건 예측
- 라. 추출물의 특성별 예측조건의 실증시험과 추출모델 개발
- 마. 새송이버섯 추출물을 이용한 가공조건의 최적화 실험
- 바. 기능성 가공식품의 제조조건 예측 모델링

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발 결과

가. 새송이버섯의 생리활성 성분 검색 및 유효성분 추출기술 개발

1) 새송이버섯을 갓과 대로 절단하여 열풍건조한 후 물, 50% 및 100% 에탄올을 추출용매로 하여 각각 건물 중량의 25 mL/g, 50 mL/g 및 100 mL/g의 조건에서 열수추출 하였다. 새송이버섯의 생리활성을 알아보고자 전자공여능(EDA), 총 폴리페놀 함량, SOD 유사활성, 아질산염 소거작용, Tyrosinase 저해활성 및 Angiotensin converting enzyme(ACE) 저해작용을 관찰하였다. 전자공여능에서 갓의 25 mL/g 열수 추출물이 85.26%, 대의 100 mL/g 50% 에탄올 추출물이 67.07%의 활성을 나타내었고, 총 폴리페놀 함량에서는 갓과 대가 100mL/g 열수 추출물에서 각각 218.72 mg%, 121.64 mg%의 높은 함량을 나타내었다. SOD 유사활성에서는 갓의 열수추출 조건일 때 50.79 ~ 53.74%의 활성을 보였으나 대의 모든 추출물들은 거의 활성이 나타나지 않았다. 아질산염 소거능도 pH 1.2일 때 갓과 대의 열수 추출물이 각각 94.10 ~ 94.69%, 67.49 ~ 83.65%로 높은 소거능을 나타내었다. Tyrosinase 저해활성의 경우 갓의 모든 추출조건에서 유사한 활성을 보였으나 대의 25 mL/g 열수 추출물의 경우 58.55%로 대조구인 0.1% L-ascorbic acid보다 25.64%나 높은 저해활성을 보였다. ACE 저해활성에서는 대부분의 생리활성이 열수 추출물일 때 높은 활성을 보인 것과는 대조적으로 갓과 대 모두 50 mL/g 50% 에탄올 추출물에서 각각 94.59% 및 66.59%의 높은 저해활성을 보였다.

2) 새송이버섯의 생시료를 이용하여 갓과 대로 나누어 사용하였다. 추출용매로 열수, 50% 에탄올 및 100% 에탄올을 사용하여 건물 중량의 50배에 해당되는 부피(w/v)일 때, 추출물들의 생리활성을 탐색하였다. 전자공여작용의 경우 갓의 50% 에탄올 추출물에서 88%의 높은 전자공여능을 나타내었으며, SOD 유사활성을 측정한 결과 갓의 열수 추출물이 62.57%로 다른 추출물에 비해 높은 활성을 보여주었다. Tyrosinase 저해활성의 경우 전자공여능 및 SOD 유사활성에서 대보다 갓의 활성이 높았던 것과는 반대로 대의 활성이 높았으며, 그 중 100% 에탄올 추출물에서 58.57%로 비교물질로 사용된 0.1% L-ascorbic acid 보다 31.29% 더 높은 활성을 가지는 것으로 조사되었다. Angiotensin converting enzyme 저해활성에서도 SOD 유사활성과 비슷하게 갓의 열수 추출물이 95.14%로 매우 높은 활성을 보였으며, 총 폴리페놀 함량의 경우 갓의 열수 및 50% 에탄올 추출물에서 각각 1427.25 mg%,

1426.82 mg%로 높은 함량을 나타내었다. 아질산염 소거작용을 측정한 결과 pH 1.2일 때 갓과 대의 소거능이 높게 나타났다.

나. 새송이버섯의 최적추출조건 설정, 추출공정별 추출물의 특성 비교 및 *in vivo*에서 새송이 버섯의 지질 감소효과

1) 마이크로웨이브 추출을 이용하여 새송이버섯의 추출수율, 전자공여작용, 총 폴리페놀 함량, 아질산염 소거작용의 효율적인 최적 추출조건을 설정하고자 하였다. 에너지 용량(60, 90, 120 W), 시료 대 용매 비(2, 5, 10 g/100 mL) 및 추출시간(1, 5, 10, 15 min)에 따라 물, 50% 에탄올, 99% 에탄올을 용매로 사용하여 추출하였다.

에너지 용량을 60 ~ 120 W로 증가시킴에 따라 각 추출물의 항산화성 성분들은 60 W에서 가장 높은 값을 보였고 90 W에서 평형에 이르러 변화하지 않았다. 시료 대 용매비를 1:50에서 1:10으로 감소시켜 보았을 때, 추출 수율을 제외한 각 추출물의 유용성분들은 1:10에서 가장 높았다. 추출시간의 영향에서 전자공여작용을 제외하고는 1분에서 가장 높은 값을 보였다. 5분 이상의 추출시간에서는 거의 영향을 받지 않았다. 전자공여작용은 추출시간이 증가함에 따라 높은 값을 보였다. 추출용매의 영향에서는 물 > 50% 에탄올 > 99% 에탄올 순서로 높은 값을 보였다.

2) 새송이버섯의 최대 기능성 성분을 추출하기 위한 최적의 조건을 찾기 위하여 반응표면 분석(response surface methodology, RSM)을 이용하였다. 추출조건에 대한 실험계획은 종심합성계획을 사용하였으며 SAS(statistical analysis program)를 사용하여 회귀분석에 사용하였다. 실험계획은 에너지 용량별(30 ~ 120W), 에탄올 농도별(0 ~ 99%), 추출시간별(1 ~ 9m)에 따라 -2, -1, 0, 1, 2의 5단계로 부호화하였다. 수율의 최대값은 47.86%이었고 이때의 요인변수들의 값은 시료에 대한 에너지 용량 122.7W, 에탄올 농도 42.14% 및 추출시간 8.3m 이었다. 전자공여능의 최대값은 80.47%로 나타났으며 이때의 추출조건은 에너지 용량 125.43W, 에탄올 농도 40.54% 및 추출시간 8.1m이었다. 총 폴리페놀 함량의 최대값은 93.32%로 예측되었다. 이 예측 값을 추출할 수 있는 조건은 시료에 대한 에너지 용량 144.19W, 에탄올 농도 49.52% 및 추출시간 6.7m으로 나타났다. 에너지 용량, 에탄올 농도, 시간이 각각 138.91W, 38.66% 및 2.8m일 때 33.44%의 아질산염이 최대값을 보였다. 4차원 반응 표면에 의해 일치하는 최적범위는 에너지 용량, 에탄올 농도, 추출시간이 각각 110 ~ 150W, 0 ~ 45%, 7 ~ 9m로 나타났다.

3) *in vivo*에서 새송이버섯의 지질 감소효과를 확인하기 위하여 대조군, 고지방 식이 대조

군, 2.5% 혼합식이 투여군, 5% 혼합식이 투여군으로 나누어 4주간 사육하였다. 희생 후 간, 신장, 비장을 적출하였고 혈액을 채취하여 혈장, 혈청으로 분리하여 각각 분석시료로 사용하였다. 새송이버섯을 급여한 실험동물의 체중, 식이효율은 대조군에 비하여 고지방식이와 2.5%, 5% 혼합 식이를 급여한 군에서 증가하는 경향을 보여주었다. 그러나 사료 섭취량과 각 장기 무게는 대조군과 실험군 간의 차이가 없었다. 혈청을 통하여 새송이버섯이 간 기능에 미치는 영향을 알아본 결과 SGOT, SGPT는 감소되어 새송이버섯을 투여함으로써 간 기능이 개선될 가능성을 보여 주었다. 콜레스테롤, 중성지방, 총 지질 등 혈청 지질 수준은 새송이버섯을 급여시킴으로서 감소하는 경향을 볼 수 있었지만 유의적인 수준은 아니었다. 간의 지질 함량은 새송이버섯 2.5%보다 5%에서 더 효과적으로 콜레스테롤과 중성지방이 감소되는 것을 볼 수 있었다. 간조직의 변화는 고 콜레스테롤을 급여하였을 때 간에 지방이 많이 축적되어 지방간이 심하게 진행된 것과 비교 할 때, 새송이버섯을 급여하였을 경우 크기가 작아지고 색이 붉은 색으로 회복되었으나 대조군의 간처럼 회복되지는 못하였다.

다. 새송이버섯 추출물의 기능성 소재화 및 가공식품의 개발

1) 새송이버섯 음료는 A, B, C, D, E type으로 제조하였고 각각의 타입에 해당하는 제조 배합비는 다음과 같다. A type의 새송이버섯 음료의 최종 배합비는 새송이 버섯 추출액 1.5%, 사과 농축액 0.6%, 구기자 추출액 0.2%, 두충 추출액 0.15%, 대추 추출액 0.6%, 설탕 6%, 물 90.95%로 제조하였다. B type의 새송이버섯 음료의 최종 배합비는 새송이버섯 추출액 1.5%, 숙지황 추출액 0.6%, 오미자 추출액 0.15%, 대추 추출액 0.15%, 설탕 6%, 물 91.60%로 제조하였다. C type의 새송이버섯 음료의 최종 배합비는 새송이버섯 추출액 1.5%, 건강 추출액 0.7%, 오미자 추출액 0.2%, 대추 추출액 0.6%, 설탕 6%, 물 91%로 제조되었다. D type의 새송이버섯 음료의 최종 배합비는 새송이버섯 추출액 1.5%, 천궁 추출액 0.7%, 갈근 추출액 0.6%, 오미자 추출액 0.6%, 설탕 6%, 물 90.60%로 제조하였다. E type의 새송이버섯 음료의 최종 배합비는 새송이버섯 추출액 1.5%, 백작약 추출액 0.7%, 오미자 추출액 0.4%, 감초 추출액 0.6%, 설탕 6%, 물 91%로 제조하였다.

새송이버섯 과립 차의 제조 비율은 새송이버섯 농축액 10%, 무수포도당 87%, 구기자 추출물 0.7%, 대추 추출물 0.3%, 인삼 추출물 0.4%, 구연산 1%, 비타민 C 0.6%를 첨가하여 제조하였다.

새송이버섯 타블렛은 새송이버섯 추출물 85%, 구연산 1%, 표고버섯 추출물 8%, 아스파탐 0.3%, 아비셀 4%, 스마그 1%, 옥타코사놀 0.7%를 첨가하여 만들었다.

라. 새송이버섯 유용성분 추출 및 가공조건 최적화 모델링

- 1) 볶음 처리한 새송이버섯의 환류추출조건에 따른 추출물의 생리 기능적 특성을 살펴보았다. 에탄올 농도에 따라서는 50% 에탄올 농도로 추출하였을 때 총 페놀성 화합물 함량 및 수소공여능이 높은 것으로 나타났으며, 75% 에탄올 농도로 추출 하였을 때 SOD 유사활성이 높은 것으로 나타났다. 아질산염 소거능의 경우에는 에탄올 농도가 낮을수록 높은 것으로 나타났다. 추출시간이 증가할수록 수소공여능은 감소하였으며, SOD 유사활성 및 아질산염 소거능은 증가하였다. 추출온도가 증가 할수록 수소공여능 및 SOD 유사활성은 감소하였으며, 아질산염 소거능은 큰 차이를 보이지 않았다. 또한 용매에 대한 시료량이 증가할수록 수소공여능, SOD 유사활성 및 아질산염 소거능이 감소하는 것으로 나타났다. 이상의 결과를 바탕으로 하여 볶음 처리한 새송이버섯의 환류 최적 추출조건을 설정하고자 에탄올 농도(0 ~ 100%), 추출시간(1 ~ 9 hr) 및 추출온도(35 ~ 95°C)에 따른 페놀성 화합물 함량 및 생리 기능적 특성에 관한 반응표면분석을 하였다. 그 결과 새송이버섯의 기능성을 다량 함유하는 최적 환류추출조건은 에탄올 농도 40%, 추출시간 7 hr 및 추출온도 85°C로 예측되었다.
- 2) 볶음 처리한 새송이버섯의 마이크로웨이브 추출조건, 즉 에탄올 농도, 추출시간 및 마이크로웨이브 power에 따른 품질특성을 살펴보았다. 총 페놀성 화합물 함량, 전자공여능 및 pH 1.2에서의 아질산염 소거능은 50% 에탄올로 추출한 경우 높게 나타났다. SOD 유사활성은 75% 에탄올 농도로 추출하였을 때 가장 높은 활성을 보였다. 가용성 고형분 및 총 페놀성 화합물 함량은 추출시간이 증가할수록 증가하다가 7분일 때 가장 높게 나타났으며, 전자공여능은 추출시간이 증가할수록 감소하였고, SOD 유사활성 및 아질산염 소거능의 경우 추출시간에 따른 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. 마이크로웨이브 power의 경우 100W로 추출하였을 때 가용성 고형분, 총 페놀성 화합물 함량 및 전자공여능 가장 높았다. 그러나 SOD 유사활성은 25W일 때 높은 활성을 나타내었다. 아질산염 소거능은 마이크로웨이브 power에 영향을 많이 받지 않는 것으로 나타났다. 이상의 결과를 바탕으로 새송이버섯의 마이크로웨이브 추출조건을 설정하고자 에탄올 농도 (0 ~ 100%), 추출시간 (1 ~ 9 min) 및 마이크로웨이브 power (25 ~ 125W)에 따른 페놀성 화합물 및 생리 기능적 특성에 관한 반응표면 분석을 하였다. 그 결과 볶음 새송이버섯의 마이크로웨이브 최적추출조건은 에탄올 농도 40%, 추출시간 6min, 마이크로웨이브 power 100W로 나타났다.
- 3) 추출물의 저장성 및 활용성을 고려하여 추출물을 농축하였다. 새송이버섯 추출물의 가공적성 평가를 위하여 최적 환류추출 농축액을 사용하여 음료 및 스프를 반응표면분석을 통하여 관능적 특성을 살펴보고 최적 배합조건을 설정하였다. 설정된 최적 배합조건을 마이크로웨이브 추출

농축액에 적용하여 그 관능평점을 검증한 후, 새송이버섯 음료 및 스프의 가공조건을 모델화 할 수 있었다.

따라서 본 연구를 통하여 새송이버섯의 유통성분이 함유된 환류 및 마이크로웨이브 추출 농축액을 활용하여 식품소재 및 가공기술 개발에 활용될 수 있으리라 사료된다.

2. 활용에 대한 건의

새송이버섯의 생리활성 성분의 검색 및 대량 추출 기술을 개발하였고, 시료 처리방법이나 추출방법에 따른 생리활성 성분을 비교 분석하였다. 새송이버섯의 생리활성 성분을 에너지 용량별, 에탄올 농도별, 추출 시간에 따라 비교하여 추출공정별 추출특성 및 최적 추출조건을 설정하였다. 또한, 새송이버섯의 다양한 제품 개발을 위해 새송이버섯과 어울리는 소재를 선정하고, 선정한 소재의 적절한 농도를 결정하여 다양한 종류의 음료를 개발함으로써 기능성 소재화 및 실용화 기술을 확립하였다.

따라서 새송이버섯 자원의 고도 활용에 필요한 첨단 추출기술이 종합적이고 체계적으로 확립하는 것과 유용 식품자원을 가공하는 식품산업체에 기술을 이전함과 동시에 본 연구의 기술적, 경제적 자료를 농민들이 쉽게 이용할 수 있도록 시스템을 마련해야한다. 또한 이 연구를 통해 새송이버섯 자원을 이용한 기능성 가공식품 연구결과를 즉시 산업화에 활용할 수 있는 구체적인 기술의 수출상품화 및 내수판매 증대를 통한 고소득 농업과 국민 건강증진에 기여하도록 할 것이다.

SUMMARY

I . Title

Development of food materials and functional foods using the phytochemicals of *Pleurotus eryngii*

II. Objectives and Importance of the Project

With economic growth, the accompanying changes of dietary life have resulted in an increase of adult diseases. Thus many people began to show interest in functional foods which can prevent these adult diseases. Among the functional foods, mushrooms contain many kinds of nutrients and functional ingredients regulating various physiological functions. Because of the functional compounds in mushrooms, they have recently been highlighted. The processing of edible *Pleurotus eryngii*, however, is considerably difficult since the vegetable generally contains a lot of water. Therefore, the consumption of *Pleurotus eryngii* is more efficient when it is developed as a convenience food. The objective of this study was to develop the food materials and functional foods using the phytochemicals of *Pleurotus eryngii*.

III. Results of the Project

Section 1. Development of Processed Foods and Food Materials from Pleurotus eryngii.

Physiological activities of pileus and stipe extracts from fresh and hot air *Pleurotus eryngii* were examined. The objective of this study was to characterize physiological activities such as electron donating ability(EDA), superoxide dismutase(SOD)-like activity, tyrosinase inhibitory effect, angiotensin converting enzyme(ACE) inhibitory activity, total polyphenol contents and nitrite scavenging ability in extracts extracted with water, 50% and 100% ethanol.

Firstly, the results about fresh *Pleurotus eryngii* were as follows. Volume of the solvent was 50 time of sample on a weight/volume basis. EDA was 88% in 50% ethanol extract(pileus). Regarding as SOD-like activity, the activity was 62.57% in water extract(pileus). Tyrosinase inhibitory effect of all sample was more than that of 0.1% L-ascorbic acid solution. ACE inhibitory activity of water extract of pileus was found to be the highest value of 95.14%. In addition, total polyphenol content was measured highly in water and 50% ethanol extracts of pileus. (1427.25 mg%, 1426.82 mg% respectively). Finally, nitrite scavenging ability of 50% ethanol extract of pileus at pH 1.2 showed approximately 95%.

Secondly, the results about hot air *Pleurotus eryngii* were as follows. Physiological activities of pileus extracts from hot-air dried *Pleurotus eryngii* were examined. Electron donating ability, nitrite scavenging ability, superoxide dismutase-like activity, total polyphenol content, tyrosinase inhibitory effect and angiotensin converting enzyme inhibitory activity were determined for pileus extracts of *Pleurotus eryngii* extracted with water, 50% and 100% ethanol. Electron donating ability was 85.26% in water extract (25 mL/g). In addition, nitrite scavenging abilities of all water extracts at pH 1.2 showed approximately 94%. Total polyphenol content was at the highest level in the water extract of 100 mL/g (218.72 mg%). Both superoxide dismutase-like activities and tyrosinase inhibitory effects of all samples were less than 0.1% or 1% L-ascorbic acids solution. Angiotensin converting enzyme inhibitory activity of 50% ethanol extract of 25 mL/g was found to be the highest value of 94.59%.

Section 2. Optimization Modelling of Extraction and Processing Conditions for Effective Components of Pleurotus eryngii

The first study was investigated to study the functional properties of roasted *Pleurotus eryngii* by reflux extraction conditions. Total phenolic compounds content and electron donating ability(EDA) were fairly high at 50% ethanol concentration. Superoxide dismutase(SOD)-like activity was the highest at 75% ethanol concentration. Nitrite scavenging ability(NSA) increased as ethanol concentration in extracting solvent decreased. EDA decreased and SOD-like activity and NSA rised as the extraction time increased. With the increase in extraction temperature, EDA and SOD-like activity went down. However, extraction temperature did not significantly affect the nitrite-scavenging ability. With the increase in ratio of sample content to solvent, EDA, SOD-like activity and nitrite scavenging ability decreased. The results would be useful for understanding the extraction condition of roasted *Pleurotus eryngii*. As a result achieved, the reflux extraction characteristics of phenolics compounds content and physiological activity from roasted *Pleurotus eryngii* were monitored under the independent variables of ethanol concentration (0 ~ 100%), extraction time (1 ~ 9 hr) and extraction temperature (35 ~ 95°C). The optimal extraction conditions of reflux for phenolic compounds content and functional properties were predicted as 40% of ethanol concentration at 85°C for 7 hr.

For the second study, we performed to investigate the changes in quality properties of extracts from roasted *Pleurotus eryngii* by microwave-assisted extraction (MAE). MAE was carried out under different conditions including ethanol concentration, extraction time and microwave power. Total phenolic compounds content, EDA and NSA at pH 1.2 were the highest at 50% ethanol concentration. SOD-like activity was the highest at 75% ethanol concentration. Soluble solid and total phenolic compounds content decreased as extending extraction time up to 7 min. EDA went down when an extraction time increased . SOD-like activity and NSA were not significantly different. The highest soluble solid content, total phenolic compounds content and EDA were obtained at 100 W extraction of microwave power. SOD-like activity was measured highly at 25 W. But microwave power did not significantly affect the nitrite-scavenging ability. As a result achieved, the MAE characteristics of phenolic compounds content and physiological actives from roasted *Pleurotus eryngii* were monitored under the independent variables of ethanol concentration (0 ~ 100%), extraction time (1 ~ 9 min) and

microwave power (25 ~ 125W). The optimal conditions of MAE for phenolic compounds content and functional properties were predicted as 40% of ethanol concentration, 100 W power and 6 min.

The extracts were concentrated considering storage and application. For evalution of processing properties of *Pleurotus eryngii*, the concentrate of the optimal reflux extraction was used for preparing beverage and soup. The beverage and soup with reflux extracts of *Pleurotus eryngii* were prepared with the optimized extracts by adding minor ingredients through sensory evaluations based on response surface methodology. The regression equation models of each dependant variables for roasted *Pleurotus eryngii* reflux extracts were successively applied to MAE for their processing of the above recipes, which were verified by obtaining the resonable sensory scores.

In the view of these finding, the optimal condition of reflux and MAE can be practically applied to develop the food materials and processing technology for *Pleurotus eryngii*.

CONTENTS

I. Outlines of the Project	37
1. Objectives of the Project	37
2. Necessities of the Project	37
3. Scopes of the Project	39
II. R&D Status in Domestic and Overseas	40
1. Status and Problems in Related Technology	40
2. Levels of the Results and Prospects	40
III. Contents of the Project and Results	41
<i>Section 1. Development of Processed Foods from <i>Pleurotus eryngii</i></i>	41
1. Introduction	41
2. Materials and methods	43
a. Materials	43
b. Experimental methods	44
1) Extraction techniques of functional active component from <i>Pleurotus eryngii</i>	44
a) Extraction yield	44
(1) Determination of yield	44
b) Determination of activities	44
(1) Electron donating abilities	44
(2) SOD-like activity	45
(3) Tyrosinase inhibitory effect	54
(4) Total polyphenol content	64
(5) ACE inhibitory effect	64
(6) Nitrite scavenging activity	74
(7) Data analysis	74

2) Characterization of extract, optimum extraction condition by extraction process and cholesterol lowering effect of <i>Pleurotus eryngii</i> in vivo	7·4
a) Characterization of extract, optimum extraction condition by extraction process	7·4
(1) MAE equipment and extraction condition	84
(2) Preliminary experiment of extraction condition	8·4
(3) Central composite design for optimization of extraction condition	8·4
(4) Prediction and substantiation of optimum extraction condition	8·4
(5) Determination of yield and activities	05
(6) Data analysis	5
b) Cholesterol lowering effect of <i>Pleurotus eryngii</i> in vivo	1·5
(1) Material and composition of experimental diets	1·5
(2) Feed the experimental rat and sampling	15
(3) Serum lipid analysis	5
(4) Lipid and cholesterol content in liver	15
(5) Liver biopsy	2
(6) Data analysis	2
3) Development of functional materials and processed foodstuffs	3·5
a) Properties of <i>Pleurotus eryngii</i> extract	35
(1) Color	3
(2) Turbidity	3
(3) Sugar content	3
(4) Free sugar content	3
b) Soluble solid contents according to change of added water amount	4·5
c) Development of drink using <i>Pleurotus eryngii</i>	45
d) Development of granulated tea using <i>Pleurotus eryngii</i>	45
e) Development of tablet using <i>Pleurotus eryngii</i>	45
3. Results and discussion	55
a. Extraction technique of functional active compound from <i>Pleurotus eryngii</i>	5
1) Functional activities according to extraction condition of <i>Pleurotus eryngii</i>	5·5
a) Electron donating abilities	5
b) SOD-like activity	5

c) Tyrosinase inhibitory effect	95
d) ACE inhibitory effect	6
e) Total polyphenol content	86
f) Nitrite scavenging activity	6
 2) Functional activities according to extraction condition of <i>Pleurotus eryngii</i>	6
a) Electron donating abilities	66
(1) Treatment of 25 mL/g extract	66
(2) Treatment of 50 mL/g extract	86
(3) Treatment of 100 mL/g extract	07
b) SOD-like activity	7
(1) Treatment of 25 mL/g extract	17
(2) Treatment of 50 mL/g extract	37
(3) Treatment of 100 mL/g extract	57
c) Tyrosinase inhibitory effect	77
(1) Treatment of 25 mL/g extract	77
(2) Treatment of 50 mL/g extract	97
(3) Treatment of 100 mL/g extract	08
d) ACE inhibitory effect	8
(1) Treatment of 25 mL/g extract	28
(2) Treatment of 50 mL/g extract	88
(3) Treatment of 100 mL/g extract	48
e) Total polyphenol content	58
(1) Treatment of 25 mL/g extract	58
(2) Treatment of 50 mL/g extract	68
(3) Treatment of 100 mL/g extract	78
f) Nitrite scavenging activity	8
 b. Characterization and optimum extraction condition of <i>Pleurotus eryngii</i> extract according to extraction process, and cholesterol lowering effect of <i>Pleurotus eryngii</i> <i>in vivo</i>	33
1) Optimum extraction condition of <i>Pleurotus eryngii</i>	39
a) Testing optimum extraction condition of <i>Pleurotus eryngii</i>	49

b) Optimal testing of extract condition of <i>Pleurotus eryngii</i>	❶
c) Demonstration of predictional condition	❷
2) comparison of properties according to extraction process of <i>Pleurotus eryngii</i>	701
a) Functional activities according to extraction process of 105 <i>Pleurotus eryngii</i> ..	701
(1) Extract efficiency by microwave power	❸
(2) Extract efficiency by extraction time	❹
(3) Extract efficiency by ethanol concentration	❻
b) Estimation of eliminated solvent from extract	❺
3) Cholesterol lowering effect of <i>Pleurotus eryngii</i> in vivo	51
a) Body weight gain and liver weight changes	❻
b) Level of lipid in serum	17
c) Content of lipid from liver	19
d) Changes of live structure	19
 c. Development of functional materials and processed foodstuffs from <i>Pleurotus eryngii</i>	121
1) Functional materials and development of processed foodstuffs from <i>Pleurotus eryngii</i>	121
a) Properties of <i>Pleurotus eryngii</i>	❻
(1) Color	121
(2) Turbidity	122
(3) Sugar content	124
(4) Free sugar content	125
b) Extraction condition according to varieties	❾
(1) Extraction condition of <i>Pleurotus eryngii</i>	125
(a) Yield and sugar content according to amount water	❾
2) Development of processed foodstuffs using <i>Pleurotus eryngii</i>	131
a) Development of drink using <i>Pleurotus eryngii</i> and additional materials	131
(1) Determination of optimum concentration on <i>Pleurotus eryngii</i>	131
(2) Choice of additional materials and determination of combination ratio	131
(a) Optimum concentration of apple concentration and gugija extract	131
1) mixture 1	131
2) mixture 2	132

3) mixture 3	134
4) mixture 4	135
(b) Optimum concentration of Sukgiwhang extract, omija extract and daechu extract	137
1) mixture 1	137
2) mixture 2	138
3) mixture 3	140
(c) Optimum concentration of gunkang extract, omija extract and daechu extract	241
1) mixture 1	142
2) mixture 2	143
3) mixture 3	144
(d) Optimum concentration of chungung extract, galgun extract and omija extract	641
1) mixture 1	146
2) mixture 2	147
3) mixture 3	148
(e) Optimum concentration of baekjakak extract, omija extract and gamcho extract	651
1) mixture 1	150
2) mixture 2	151
3) mixture 3	152
b) Development of grannulated tea using <i>Pleurotus eryngii</i>	4
(1) Extraction and concentration of grannulated tea	4
(2) Combination of additional materials	4
(3) Granulate tea and drying	5
(4) manufacturing process of Granulated tea	5
c) Development of tablet using <i>Pleurotus eryngii</i>	5
4. Conclusions	158

***Section 2. Optimization Modelling of Extraction and Processing Conditions for
Effective Components of *Pleurotus eryngii**** 161

1. Introduction	161
------------------------------	------------

2. Materials and methods	162
a. Experimental materials	12
b. Extraction method	12
1) Reflux extraction condition	8
2) Microwave-assisted extraction(MAE) condition	4
c. Physicochemical properties of extracts	51
1) Soluble solid content	5
2) Total phenolics compound content	6
3) Total protein content	6
d. Physiological properties of extracts	6
1) Electron donating ability(EDA)	16
2) Superoxide dismutase(SOD)-like activity	6
3) Tyrosinase inhibition ability	6
4) ACE inhibition activity	17
5) Nitrite scavenging activity(NSA)	18
e. Optimization of extraction condition	8
f. Manufacture of <i>Pleurotus eryngii</i> concentrate	8
g. Optimization of processing condition	8
1) Development of <i>Pleurotus eryngii</i> beverage and soup	9
2) Sensory evaluation	10
3) Optimal processing condition	10
h. Statistical analysis	10
3. Result and discussion	171
a. Comparison of quality properties in reflux extraction	171
1) Comparison of extraction efficiency by solvent	171
a) Change in soluble solid content	1
b) Change in total phenolics compound content	3
c) Electron donating ability(EDA)	15

d) Superoxide dismutase(SOD)-like activity	§
e) Total protein content	§
f) Nitrite scavenging activity(NSA)	¶
 2) Comparison of extraction efficiency by extraction time	81
a) Change in soluble solid content	§
b) Change in total phenolics compound content	¶
c) Electron donating ability(EDA)	¶
d) Superoxide dismutase(SOD)-like activity	§
e) Total protein content	§
f) Nitrite scavenging activity(NSA)	¶
 3) Comparison of extraction efficiency by extraction temperature	481
a) Change in soluble solid content	§
b) Change in total phenolics compound content	¶
c) Electron donating ability(EDA)	¶
d) Superoxide dismutase(SOD)-like activity	§
e) Total protein content	§
f) Nitrite scavenging activity(NSA)	¶
 4) Comparison of extraction efficiency by solvent ratio	61
a) Change in soluble solid content	§
b) Change in total phenolics compound content	¶
c) Electron donating ability(EDA)	¶
d) Superoxide dismutase(SOD)-like activity	§
e) Total protein content	¶
f) Nitrite scavenging activity(NSA)	¶
 5) Comparison of extraction efficiency by extraction step	61
a) Change in soluble solid content	§
b) Change in total phenolics compound content	¶
c) Electron donating ability(EDA)	¶
d) Superoxide dismutase(SOD)-like activity	§

e) Total protein content	20
f) Nitrite scavenging activity(NSA)	21
b. Establishment of central composite design for the optimization of reflux extraction	202
c. Monitoring of quality properties of reflux extracts by RSM	32
1) Change in physicochemical properties by reflux extraction condition	302
a) Change in soluble solid content	0
b) Change in total phenolics compound content	3
c) Change in total protein content	4
2) Change in physiological properties by reflux extraction condition	412
a) Change in EDA	211
b) Change in SOD-like activity	21
c) Change in tyrosinase inhibition ability	2
d) Change in ACE inhibition activity	22
e) Change in NSA	21
d. Comparison of quality properties in MAE	8
1) Comparison of extraction efficiency by solvent	32
a) Change in soluble solid content	8
b) Change in total phenolics compound content	3
c) Electron donating ability(EDA)	21
d) Superoxide dismutase(SOD)-like activity	2
e) Total protein content	3
f) Nitrite scavenging activity(NSA)	24
2) Comparison of extraction efficiency by extraction time	52
a) Change in soluble solid content	8
b) Change in total phenolics compound content	3
c) Electron donating ability(EDA)	27
d) Superoxide dismutase(SOD)-like activity	8
e) Total protein content	3
f) Nitrite scavenging activity(NSA)	20
3) Comparison of extraction efficiency by microwave power	142
a) Change in soluble solid content	2

b) Change in total phenolics compound content	2
c) Electron donating ability(EDA)	23
d) Superoxide dismutase(SOD)-like activity	4
e) Total protein content	5
f) Nitrite scavenging activity(NSA)	26
4) Comparison of extraction efficiency by solvent ratio	72
a) Change in soluble solid content	7
b) Change in total phenolics compound content	2
c) Electron donating ability(EDA)	20
d) Superoxide dismutase(SOD)-like activity	0
e) Total protein content	3
f) Nitrite scavenging activity(NSA)	22
5) Comparison of extraction efficiency by extraction step	32
a) Change in soluble solid content	3
b) Change in total phenolics compound content	2
c) Electron donating ability(EDA)	25
d) Superoxide dismutase(SOD)-like activity	8
e) Total protein content	3
f) Nitrite scavenging activity(NSA)	28
e. Establishment of central composite design for the optimization of MAE	92
f. Monitoring of quality properties of MAE extracts by RSM	0
1) Change in physicochemical properties by MAE condition	12
a) Change in soluble solid content	0
b) Change in total phenolics compound content	2
c) Change in total protein content	0
2) Change in physiological properties by MAE condition	22
a) Change in EDA	26
b) Change in SOD-like activity	29
c) Change in tyrosinase inhibition ability	0
d) Change in ACE inhibition activity	20
e) Change in NSA	279

g. Optimization of reflux extraction and MAE condition	8
1) Optimization of reflux extraction condition	8
2) Optimization of MAE condition	27
3) Prediction and verification of optimal extraction condition	82
4) Quantitative analysis of phenolic acid	8
h. Concentrates manufacture and comparison of quality properties	92
1) Concentrates manufacture of roasted <i>Pleurotus eryngii</i>	92
2) Comparison of quality between extracts and concentrates	92
a) Total phenolics compound content	9
b) Phenolic acid content	9
c) EDA	292
d) Tyrosinase inhibition ability	23
e) ACE inhibition activity	24
f) NSA	295
i. Evaluation of processing properties with <i>Pleurotus eryngii</i> concentrates	72
1) Development of <i>Pleurotus eryngii</i> beverage	7
a) Establishment of beverage preparing conditions	72
b) Change in sensory properties	9
(1) change in color	29
(2) change in flavor	29
(3) change in taste	29
(4) change in preference	9
c) Establishment of optimal beverage mix conditions	33
2) Development of <i>Pleurotus eryngii</i> soup	3
a) Establishment of soup preparing conditions	5
b) Change in sensory properties	6
(1) change in color	37
(2) change in flavor	37
(3) change in taste	38
(4) change in preference	8
c) Establishment of optimal soup mix conditions	33

j. Application of prediction model for processing condition	513
IV. Goal Accomplishment and Subsequent Contribution	318
V . Application Plan of the Results	320
VI. Overseas Information on Science and Technology during the Project	
Years	322
VII. References	323

목 차

제 1 장 연구개발 과제의 개요	37
제 1 절 연구 개발의 목적	37
제 2 절 연구 개발의 필요성	37
제 3 절 연구 개발의 범위	39
제 2 장 국내외 기술개발 현황	40
제 1 절 국내외 관련 기술의 현황과 문제점	40
제 2 절 앞으로의 전망	40
제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과	41
제 1 세부 새송이 버섯의 기능성 성분을 이용한 가공제품 다양화 기술 개발.....	41
제 1 절 서 론	41
제 2 절 재료 및 방법	43
1. 실험 재료	43
2. 실험 방법	44
가. 새송이버섯의 생리활성 성분의 검색 및 유효성분 대량 추출기술 개발	44
1) 추출효율	44
가) 추출효율(수율) 측정	44
2) 생리활성 측정에 따른 추출효과 분석	44
가) 전자공여작용의 측정	44
나) Superoxide dismutase(SOD) 유사활성	44
다) Tyrosinase 저해 효과 측정	45
라) 총 폴리페놀의 함량 측정	46
마) ACE inhibition effects	46
바) 아질산염 소거작용의 측정	47
사) 통계처리	47
나. 추출공정별 새송이버섯의 특성 및 최적 추출조건 설정 및 <i>in vivo</i> 에서 새송이버섯의 지질 감소 효과	47
1) 추출공정 별 새송이버섯의 특성 및 최적 추출 조건 설정	47

가) MAE장치 및 추출조건	48
나) 추출조건의 예비 설정	48
다) 추출조건 최적화를 위한 중심합성 실험계획	48
라) 최적 추출조건의 예측 및 실증시험	48
마) 수율 및 생리활성 성분 측정	50
바) 통계처리	50
2) <i>in vivo</i> 에서 새송이버섯의 지질 감소 효과	51
가) 실험재료 및 실험 식이의 조제	51
나) 실험동물의 사육 및 시료의 채취	51
다) 혈청 지질 분석	51
라) 간 조직 중의 지질 함량 및 콜레스테롤 측정	51
마) 간조직의 육안 검사	52
바) 통계처리	52
다. 생리활성 추출물의 기능성 소재화 및 가공식품 개발	53
1) 새송이버섯 추출물의 특성 조사	53
가) 색 도	53
나) 탁 도	53
다) 당 도	53
라) 유리당	53
2) 가수량별 당도 변화	54
3) 새송이버섯 음료의 개발	54
4) 새송이버섯 과립차의 개발	54
5) 새송이버섯 타블렛의 개발	54
 제 3 절 결과 및 고찰	55
1. 새송이버섯의 생리활성 성분의 검색 및 유효성분 대량 추출기술 개발	55
가. 새송이버섯의 생리활성 성분의 검색	55
1) Electron donating ability(EDA, %)	5
2) SOD(Superoxide dismutase)-like activity	75
3) Tyrosinase inhibitory effects(%)	95
4) Angiotensin I -converting enzyme inhibition activity	16
5) Total polyphenol contents	36
6) Nitrite scavenging ability	46

나. 새송이버섯의 전처리 및 추출방법에 따른 유효성분 대량 추출 기술 개발	66
1) Electron donating ability(EDA, %)	6
가) 25 mL/g 추출 처리구	6
나) 50 mL/g 추출 처리구	68
다) 100 mL/g 추출 처리구	70
2) SOD(Superoxide dismutase)-like activity	17
가) 25 mL/g 추출 처리구	71
나) 50 mL/g 추출 처리구	73
다) 100 mL/g 추출 처리구	75
3) Tyrosinase inhibitory effects(%)	77
가) 25 mL/g 추출 처리구	77
나) 50 mL/g 추출 처리구	79
다) 100 mL/g 추출 처리구	80
4) Angiotensin I -converting enzyme inhibition activity	28
가) 25 mL/g 추출 처리구	82
나) 50 mL/g 추출 처리구	83
다) 100 mL/g 추출 처리구	84
5) Total polyphenol contents	58
가) 25 mL/g 추출 처리구	85
나) 50 mL/g 추출 처리구	86
다) 100 mL/g 추출 처리구	87
6) Nitrite scavenging ability	88
2. 새송이버섯의 최적 추출조건 설정, 추출공정별 새송이버섯 추출물의 특성 비교 및 <i>in vivo</i> 에서 새송이버섯의 지질 감소효과	93
가. 새송이버섯의 최적 추출조건 설정	93
1) 새송이버섯의 최적 추출조건 설정 시험	94
2) 새송이버섯의 추출공정 최적화 시험	106
3) 예측 조건의 실증	106
나. 추출공정별(용매, 추출온도, 시간) 양배추 추출물의 특성 비교	107
1) 추출방법별 추출효율 및 생리활성 측정에 따른 추출효과 분석	107
가) 새송이버섯의 에너지 용량별 추출효율	107
나) 새송이버섯의 추출시간별 용량별 추출효율	109
다) 새송이버섯의 시료 대 용매비 별 추출효율	112

2) 새송이버섯 추출물의 용매제거 제품평가 시험	115
다. <i>in vivo</i> 에서 새송이버섯의 지질 감소 효과	115
1) 체중증가량 및 간 무게의 변화	115
2) 혈청의 지질 수준	117
3) 간의 지질 함량	119
4) 간조직의 변화	119
3. 추출물의 기능성 소재화 및 새송이버섯을 이용한 가공식품의 개발	121
가. 생리활성 추출물의 기능성 소재화 및 품질평가	121
1) 새송이버섯 추출물의 특성조사	121
가) 색 도	121
나) 탁 도	122
다) 당 도	124
라) 유리당	125
2) 새송이버섯의 추출조건 설정	126
가) 새송이버섯의 추출조건 설정	126
(1) 가수량별 당도변화 및 수율조사	126
나. 새송이버섯 가공식품의 개발	130
1) 새송이버섯 음료의 개발	130
가) 새송이버섯의 적정 음용농도 결정	130
나) 부재료 종류의 선정 및 배합비 결정	131
(1) 사과 농축액 및 구기자추출액의 적정 음용농도 결정	131
(가) 1차 배합	131
(나) 2차 배합	132
(다) 3차 배합	134
(라) 4차 배합	135
(2) 숙지황추출액, 오미자추출액 및 대추추출액의 적정 음용농도 결정	137
(가) 1차 배합	137
(나) 2차 배합	138
(다) 3차 배합	140
(3) 건강추출액, 오미자추출액 및 대추추출액의 적정 음용농도 결정	142
(가) 1차 배합	142
(나) 2차 배합	143
(다) 3차 배합	144

(4) 천궁추출액, 갈근추출액 및 오미자추출액의 적정 음용농도 결정	146
(가) 1차 배합	146
(나) 2차 배합	147
(다) 3차 배합	148
(5) 백작약추출액, 오미자추출액 및 감초추출액의 적정 음용농도 결정	150
(가) 1차 배합	150
(나) 2차 배합	151
(다) 3차 배합	152
2) 새송이버섯 과립차의 개발	154
가) 버섯의 추출 및 농도	154
나) 부형제의 배합	154
다) 과립화 및 건조	155
라) 과립차의 제조 공정	155
3) 새송이버섯 타블렛의 개발	157
 제 4 절 결 론	158
 위탁연구 과제 새송이 버섯 유용성분 추출 및 가공조건 최적화 모델링	161
 제 1 절 서 론	161
 제 2 절 재료 및 방법	162
1. 실험재료	162
2. 추출방법에 따른 추출특성	162
가. 환류 추출 조건	162
나. 마이크로웨이브 추출 조건	164
3. 추출 조건에 따른 추출물의 이화학적 특성	165
가. 가용성 고형분 함량	165
나. 총 페놀성 화합물 함량	166
다. 총 단백질 함량	166
4. 추출조건에 따른 추출물의 생리활성 특성	166

가. DPPH에 의한 수소공여능	166
나. Superoxide dismutase(SOD) 유사활성	16
다. Tyrosinase 저해활성	167
라. ACE 저해활성	167
마. 아질산염 소거능	168
5. 최적 추출조건 설정	168
6. 추출물의 농축액 제조	169
7. 새송이버섯 소재 가공조건 최적화	169
가. 새송이버섯 음료 및 스프 제조	169
나. 관능평가	170
다. 최적 가공조건 설정	170
8. 통계처리	170
제 3 절 결과 및 고찰	171
1. 환류추출에 따른 품질특성 비교	171
가. 용매에 따른 추출효율 비교	171
1) 가용성 고형분 함량 변화	171
2) 총 폐놀성 화합물 함량 변화	173
3) DPPH에 의한 수소공여능의 변화	174
4) SOD 유사활성 변화	175
5) 총 단백질 함량의 변화	176
6) 아질산염 소거능의 변화	177
나. 추출시간에 따른 추출효율 비교	178
1) 가용성 고형분 함량 변화	178
2) 총 폐놀성 화합물 함량 변화	179
3) DPPH에 의한 수소공여능의 변화	180
4) SOD 유사활성 변화	181
5) 총 단백질 함량의 변화	182
6) 아질산염 소거능의 변화	183
다. 추출온도에 따른 추출효율 비교	184

1) 가용성 고형분 함량 변화	184
2) 총 폐놀성 화합물 함량 변화	185
3) DPPH에 의한 수소공여능의 변화	186
4) SOD 유사활성 변화	187
5) 총 단백질 함량의 변화	188
6) 아질산염 소거능의 변화	189
 라. 용매비에 따른 추출효율 비교	190
1) 가용성 고형분 함량 변화	190
2) 총 폐놀성 화합물 함량 변화	190
3) DPPH에 의한 수소공여능의 변화	192
4) SOD 유사활성 변화	193
5) 총 단백질 함량의 변화	194
6) 아질산염 소거능의 변화	195
 마. 추출횟수에 따른 추출효율 비교	196
1) 가용성 고형분 함량 변화	196
2) 총 폐놀성 화합물 함량 변화	197
3) DPPH에 의한 수소공여능의 변화	198
4) SOD 유사활성 변화	199
5) 총 단백질 함량의 변화	200
6) 아질산염 소거능의 변화	201
 2. 환류추출시 새송이버섯의 추출조건 최적화를 위한 실험계획 설정	202
 3. 반응표면분석에 의한 새송이버섯 환류 추출 조건에 따른 품질특성 변화	203
 가. 환류 추출 조건에 따른 이화학적 특성 변화	203
1) 가용성 고형분 함량의 변화	203
2) 총 폐놀성 화합물 함량의 변화	203
3) 총 단백질 함량의 변화	204
 나. 환류 추출 조건에 따른 생리활성 변화	211
1) DPPH에 의한 수소공여능의 변화	211
2) SOD 유사활성의 변화	211
3) Tyrosinase 저해활성 변화	212
4) ACE 저해활성 변화	212

5) 아질산염 소거능의 변화	221
4. 마이크로웨이브 추출 조건에 따른 품질 특성 비교	228
가. 용매에 따른 추출효율 비교	228
1) 가용성 고형분 함량 변화	228
2) 총 폐놀성 화합물 함량 변화	230
3) DPPH에 의한 수소공여능의 변화	231
4) SOD 유사활성 변화	232
5) 총 단백질 함량의 변화	233
6) 아질산염 소거능의 변화	234
나. 추출시간에 따른 추출효율 비교	235
1) 가용성 고형분 함량 변화	235
2) 총 폐놀성 화합물 함량 변화	235
3) DPPH에 의한 수소공여능의 변화	237
4) SOD 유사활성 변화	238
5) 총 단백질 함량의 변화	239
6) 아질산염 소거능의 변화	240
다. Microwave power에 따른 추출효율 비교	241
1) 가용성 고형분 함량 변화	241
2) 총 폐놀성 화합물 함량 변화	242
3) DPPH에 의한 수소공여능의 변화	243
4) SOD 유사활성 변화	244
5) 총 단백질 함량의 변화	245
6) 아질산염 소거능의 변화	246
라. 용매비에 따른 추출효율 비교	247
1) 가용성 고형분 함량 변화	247
2) 총 폐놀성 화합물 함량 변화	248
3) DPPH에 의한 수소공여능의 변화	249
4) SOD 유사활성 변화	250
5) 총 단백질 함량의 변화	251
6) 아질산염 소거능의 변화	252
마. 추출횟수에 따른 추출효율 비교	253

1) 가용성 고형분 함량 변화	253
2) 총 폐놀성 화합물 함량 변화	254
3) DPPH에 의한 수소공여능의 변화	255
4) SOD 유사활성 변화	256
5) 총 단백질 함량의 변화	257
6) 아질산염 소거능의 변화	258
5. 마이크로웨이브 추출시 새송이버섯의 추출조건 최적화를 위한 실험계획 설정	259
6. 반응표면분석에 의한 새송이버섯 마이크로웨이브 추출 조건에 따른 품질특성 변화	261
가. 마이크로웨이브 추출조건에 따른 이화학적 특성 변화	261
1) 가용성 고형분 함량의 변화	261
2) 총 폐놀성 화합물 함량의 변화	261
3) 총 단백질 함량의 변화	261
나. 마이크로웨이브 추출조건에 따른 생리활성 변화	269
1) DPPH에 의한 수소공여능의 변화	269
2) SOD 유사활성의 변화	269
3) Tyrosinase 저해활성의 변화	269
4) ACE 저해활성의 변화	270
5) 아질산염 소거능의 변화	279
7. 환류 및 마이크로웨이브 추출조건의 최적화	286
가. 환류추출조건 최적화	286
나. 마이크로웨이브 추출조건 최적화	287
다. 최적화된 추출물의 예측 및 실증	288
라. 최적 추출조건에서의 폐놀산 조성	289
8. 새송이버섯 소재의 가공을 위한 농축액 제조 및 품질 비교	290
가. 새송이버섯 농축액 제조	290
나. 추출액 및 농축액 품질비교	290
1) 총 폐놀성 화합물 함량	290
2) 폐놀산 함량	291
3) 전자공여능	292
4) Tyrosinase 저해활성	292
5) ACE 저해능	294

6) 아질산염 소거능	295
9. 새송이버섯을 이용한 가공적성 평가	297
가. 새송이버섯 음료 제조	297
1) 새송이버섯 음료 제조조건 설정	297
2) 관능적 특성 변화	299
가) 관능적 색상의 변화	299
나) 관능적 향의 변화	299
다) 관능적 맛의 변화	299
라) 전반적인 기호도의 변화	299
3) 최적 배합조건 설정	305
나. 새송이버섯 스프 제조	306
1) 새송이버섯 스프 제조조건 설정	306
2) 관능적 특성 변화	307
가) 관능적 색상의 변화	307
나) 관능적 향의 변화	307
다) 관능적 맛의 변화	308
라) 전반적인 기호도의 변화	308
3) 최적 새송이버섯 스프 배합비	314
10. 가공조건 예측모델 적용	315
제 4 장 목표달성을 및 관련분야에의 기여도	318
제 5 장 연구개발 결과의 활용계획	320
제 6장 연구개발 과정에서 수집한 해외과학 기술정보	322
제 7 장 참고문헌	323

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구 개발의 목적

호흡작용을 통해 체내로 흡수된 산소의 대부분은 에너지 생성을 위해 음식을 산화시키는 데 관여한다. 그러나 흡수된 산소 중 2~3%가 유해(활성)산소로 변한다. 이렇게 형성된 유해산소는 일반적으로 인체에서 SOD(superoxide dismutase)같은 효소에 의해 제거되거나 조절되어 원래의 산소와 물로 되돌아가지만, 활성산소가 과잉 생산 되거나 면역력이 낮아져 유해산소의 처리능력이 떨어지면 여러 가지 문제를 발생시킨다. 즉, 과잉 생성된 유해산소가 정상적으로 통제가 되지 않으면 지질이나 단백질, 혁산, 효소, 유전자 등의 생체성분에 손상을 주어 당뇨병, 동맥경화, 노화나 암 등 모든 질병을 직·간접적으로 일으킨다. 이를 질병을 예방하기 위해서는 활성상태인 산소에 의해 일어나는 산화적 stress의 소거가 이루어져야 한다. 이와 같이 유해산소의 처리능력이 부족해지게 되면 비타민C, E 같은 항산화력이 강한 항산화물질이 다량 함유된 식품을 섭취하는 것이 중요하다. 그러므로 토착 농산물 중 항산화력이 우수한 농산물을 선발하여 이를 이용한 건강식품의 개발을 개발하는 것이 시급한 과제로 다가서고 있다.

토착 농산물 중 새송이버섯은 급격한 생산량 증가로 인한 과잉 생산에 따른 수급 불균등이 발생하여 재배농가에서는 재정적으로 커다란 어려움에 직면할 우려가 있다. 이를 극복하기 위해서는 새송이버섯 으로부터 생리 기능적 활성을 탐색하고 생리활성 물질을 과학적으로 검증하여 건강식품으로서의 가치를 입증하여, 이를 토대로 다양한 가공식품을 개발함으로서 새송이버섯의 새로운 수요를 창출하는 것이 절실히 요구되고 있다.

따라서 본 연구는 버섯류 중 새송이버섯을 이용한 기능성 식품의 창출에 앞서 선행되어야 할 것으로서 기능성 인자들과 소재들에 대한 탐색, 생리활성의 구명에서부터 기능성 종간 소재화 및 제품화에 이르는 연구개발등은 꼭 이루어져야 할 시급한 과제라고 생각한다.

제 2 절 연구 개발의 필요성

우리 신체는 활성산소를 소거하는 효소계를 가지고 있기 때문에 자기방어가 가능하다. 그러나 신체의 자기방어기전을 통하여 과잉 생성된 유해산소를 통제하지 못하면 유해산소는 지질이나 단백질, 혁산, 효소, 유전자 등 생체 성분에 손상을 주어 당뇨병, 동맥경화, 노화,

암 등 모든 질병을 칙·간접적으로 일으킨다. 따라서 신체의 자기방어기전인 효소계가 불충분할 경우 유해산소를 처리할 수 있도록 외부로부터 비타민 C, E 같은 항산화력이 강한 항산화물질을 식품으로 섭취하는 것이 필수적이라고 할 수 있다. 따라서 풍부한 토착 농산물 중 항산화력이 우수한 농산물을 선발하여 이를 이용한 건강식품을 개발하는 것은 시급한 과제이다. 이뿐만 아니라 국민소득이 증가되고 식생활양식이 변화하여 고혈압, 동맥경화증, 심장병 질환 등 성인병 질환이 증가하게 되었고 약물치료보다는 식생활의 조절에 의한 치료와 예방에 관심이 증대되면서 한방이나 민간약으로만 이용되어 오던 식품의 이용과 식품의 특정한 생리적 기능에 대한 관심이 고조되어 가고 있는 실정이다.

기술적 측면에서 볼 때 천연물질에서 유래되는 생리활성 물질을 기술적으로 이용하여 유아식, 체중조절용 저칼로리 식품, 특정 의료목적의 식사요법용 식품, 질병예방용 식품, 스포츠용 식품, 당뇨병 환자용 식품, 생체리듬 및 질병의 회복을 위한 식품, 암 예방 및 노화방지용 식품 등 다양한 목적으로 고안된 식품이 개발되고 있다. 소비자들이 식품이나 기능성 식품을 섭취함으로써 질병의 예방, 치료 및 건강의 유익을 위해 기능성 식품을 선호한다.

경제적인 측면에서 볼 때 국민소득 증가와 더불어 건강에 대한 관심이 고조되면서 무공해 자연식품에 대한 수요가 증가하는 방향으로 식패턴이 변화되고 있다. 한편, 건강에 대한 관심은 식패턴 뿐만 아니라 예방의학 및 질병 치료에도 영향을 주어 인체의 조절기능이 있는 기능성 식품에 대한 수요가 급격히 증가하고 있다. 따라서 식품산업에 있어 기능성 식품 분야가 차지하는 비중이 급신장하고 있는 추세이다. 식용자원에는 각종 기능성 성분이 함유되어 있을 것으로 판단되며 이는 기존의 일부 연구결과에서도 보고된바 있다. 그러나 현재 새송이버섯은 가공되지 않은 형태로 판매되고 있어 효율적 이용 차원에서 개선할 여지가 매우 크다. 즉, 산지에서 생산되는 원료농산물을 기존의 방법으로 유통, 판매시키는 데는 한계가 있기 때문에 농가의 소득증대 및 농산물의 활용측면을 고려할 때 새송이버섯의 고급화와 고차 가공식품화가 매우 긴요한 것으로 생각된다. 현재 건강관련 식품소재의 연간 수입액이 1600억원에 달하는 실정에서 농산 자원의 특성을 최대한 부각시킨 소재 및 식품이 개발된다면 원료의 효율적 이용과 경제성이 높아질 것으로 기대된다.

사회·문화적 측면에서는 1999년은 UN이 정한 세계 노인의 해로써 한국은 2001년 평균 수명이 73세를 돌파하고 65세 이상 노인이 전체 인구의 7.1%를 차지할 것으로 통계청은 추정하고 있어 본격적인 고령화 시대를 맞이해 노인 건강 대책이 요구되는 시점에 있다. 또한 식생활 패턴이 서구화되고 스트레스로 인한 성인병, 노인성 질환 등이 계속적으로 증가하는 추세에서 이러한 질환의 예방과 치료 차원에서 생리활성 물질을 다양 함유한 기능성 식품에 대한 관심과 수요의 잠재력이 매우 높다고 할 수 있다. 그러나 건강 지향적 기능성 식품의 수요증가에 따라 과학적 근거가 없이 건강보조 식품 및 특수영양 식품이 범람하고 있어 오히려 국민의 건강을 해칠 우려가 있으므로 정확한 생리활성을 기반으로 하는 기능성식품의

개발이 절실히 요구된다고 할 수 있다.

새송이버섯은 재배가 손쉽고 저장, 유통, 건조 등 방법이 특용작물에 비하여 전근대적인 편이다. 또한 장기간 복용하여도 안전하기 때문에 식품의 소재화가 가능한데도 불구하고 식품의 소재화 및 상품화 추진력이 상대적으로 미흡하다. 최근 소비자는 안전한 소재를 이용한 건강기능성 식품에 대한 관심이 고조되고 있는 실정이기 때문에 흔히 섭취해 오던 안전한 식품이나 한약재 등을 소재로 이용하는 연구들이 증가하고 있다. 따라서 건강기능성의 소재화에 우리 농산물을 이용한다면 우리 농산물의 부가가치를 높여 농민의 소득원을 증가 시킬 수 있을 것이다. 그러나 소재화로 이용하기 위해서는 우리농산물의 우수성에 대한 과학적 입증 및 소비 유도가 필요하다. 즉, 가격 경쟁력이 낮은 새송이버섯의 농산물을 가공원료로 사용하기 위해서는 부가가치가 높은 제품의 개발이 필수적이다. 따라서 새송이버섯의 산업적 응용을 위한 기술 개발은 식품산업의 고도화와 선진기술의 자립화 기반구축을 위해 절실히 요구된다.

제 3 절 연구 개발의 범위

새송이버섯의 노화억제 성분을 이용한 가공제품 다양화 기술 개발을 위해 새송이 버섯의 생리활성 성분 검색 및 유효성분 추출기술을 개발하고, 새송이버섯의 전처리 및 추출방법에 따른 유효성분 대량 추출기술을 개발하였다. 또한 추출공정(용매, 추출온도, 시간)별 양배추 추출물의 특성을 비교 검토하였으며, 새송이버섯의 최적 추출 조건을 설정하였다. 또한 추출한 새송이버섯의 생리 활성 성분이 *in vivo*에서 지질 감소효과를 확인하였다. 이를 바탕으로 한 생리활성 추출물의 기능성 소재화 및 품질평가를 바탕으로 새송이버섯을 이용한 음료, 과립차 그리고 타블렛 제품 등 가공식품을 개발하였다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내외 관련 기술의 현황과 문제점

농산물 중 특용작물과 같은 고가의 생약자원에 대한 연구실적은 많이 보고되어 왔으나 일상생활에서 손쉽게 접할 수 있는 새송이버섯에 대한 활용실적은 미미한 실정이다. 버섯류는 단순히 생체로서 유통되고 있어 생리활성에 관한 연구는 매우 낙후되어 있다. 한편, 중국과 일본 등지에서는 특용작물을 포함해 버섯류에 이르기까지 다양한 생리활성 성분에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히, 일본은 우리나라에서 생산되고 있는 농산 자원을 수집하여 그 가치에 관해서도 연구하는 수준에 와 있다. 일본은 특정보건용 식품이라는 건강식품 제도를 후생성에서 운영하고 있고 미국 국립 암 연구소 (National Cancer Institute)에서 생약재를 대상으로 암 예방 물질의 발굴을 위한 연구 과제를 5년간 수행하여 그 결과를 이용 제약회사에서 암 예방 건강식품을 생산 판매하고 있는 실정이다.

제 2 절 앞으로의 전망

일반 버섯류의 부가가치 제고와 생산비 절감 및 기능성 등 고품위 유지를 위해서는 생산지에서 수확된 각종 버섯을 소재로 다양한 제품으로 가공 처리하여 유통시킬 수 있는 복합 가공기술 및 공정 개발이 필요하다. 농산가공품의 다양화, 농산물의 고품질화 및 유통구조의 현대화를 목표로 가공소재의 다양화, 안정적 수급 및 원가절감을 위하여 이용도가 단순한 새송이버섯 등의 버섯을 발굴하여 생리적 기능성 및 식품소재로서의 유용성을 평가한 후 농산 식용자원의 품질개선, 고품위 유지 및 생산비 절감을 위해 전처리, 건조, 가공 및 유통 등의 기술을 종합적으로 재검토하여 개선하며, 가내수공업 수준에서 산업적인 수준으로 향상시킬 수 있는 기술을 체계적으로 개발할 것이다. 이와 같이 고품질의 버섯 생산으로 농산물의 부가가치를 높여, 농가의 안정적인 생산은 물론 건강보조식품 원료로의 사용에 따른 건강식품 원료의 수입대체 효과도 높아질 것으로 예측된다.

제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과

제 1 세부 새송이 버섯의 생리활성 성분의 검색 및 추출 방법에 따른 유효성분 추출 기술 개발

제 1 절 서 론

최근 식생활의 서구화로 인하여 여러 가지 성인병이 문제시 되고 있기 때문에 소비자들은 건강을 위한 저열량 식품이나 기능성 식품에 대한 관심이 증대되고 있다. 그래서 예전부터 식용했던 채소류, 약재 등 천연식품의 생리적인 효능이 알려지면서 이들을 이용하여 생체 내 면역반응이나 항암효능에 관한 연구가 국내외에서 활발하게 이루어지고 있다^(1~4). 버섯은 지방함량이 낮아 저칼로리 식품이면서 단백질, 비타민 및 각종 무기성분이 풍부하고 여러가지 효능성분을 가지고 있어 건강식품으로서 각광을 받고 있다⁽⁵⁾. 새송이버섯, 일명 큰 느타리버섯(*Pleurotus eryngii*(*De Candolle ex Fries) Quel*)은 분류학적으로 느타리버섯과 (*Pleurotaceae*), 느타리버섯속(*Pleurotus*)에 속하는 버섯으로서 버섯의 줄기가 일반 느타리에 비해 굵고 길며, 주로 아열대 지방의 대초원에서 발생하며 분포지역은 유럽남부, 중앙아시아, 아프리카북부, 러시아남부 등지에서 자생하는 버섯이다^(6,7). 특히 유럽에서는 대중적인 식용버섯으로 “Boletus of the steppes” 또는 “king oyster mushroom”이라고 불려지기도 한다⁽⁸⁾. 우리나라에서는 상품명으로 “새송이”라 불리며, 맛과 향이 좋아 소비가 늘어나고 있으며, 자실체의 균사조직이 치밀하고 육질감이 뛰어나고, 다른 버섯에 비해 수분함량이 낮아 수출 상품으로써 가치가 매우 높기 때문에 농가의 소득원으로 그 기대가 큰 버섯이다^(9,10). 일반적으로 큰 느타리를 비롯한 버섯 균주들은 식물체의 주성분인 cellulose와 lignin은 물론, starch와 같은 고분자 당류의 분해능이 매우 우수하며⁽¹¹⁾, 생체조절기능인 질병예방, 노화억제, 항암작용 등의 약리효과가 있는 것으로 알려져 있다⁽¹²⁾. 새송이버섯에 관한 연구로는 큰 느타리버섯의 균사배양 및 인공재배 등^(9,11,13)의 연구 및 저장중의 품질변화 등⁽¹⁰⁾의 연구와 조리전과 조리후의 영양학적 성분^(14,15), 자실체로부터 새로운 항균활성 펩타이드⁽¹⁶⁾, 당뇨취의 혈당 및 혈중콜레스테롤에 미치는 영향⁽¹⁷⁾, 대장암 세포 증식 및 세포사멸에 미치는 영향⁽¹⁸⁾, angiotensin converting enzyme 저해활성⁽¹¹⁾, 항산화활성 탐색 등⁽¹⁹⁾이 보고되었다. 새송이버섯을 이용한 가공품으로는 새송이버섯 분말을 첨가한 스폰지 케이크와 튀김어묵의 제조 특성 등이 있다^(20,21). 최근에는 새송이버섯이 저칼로리 식품이면서 단백질, 비타민 및 각종 무기성분이 풍부하게 함유된 건강식품이기 때문에 각광을 받고 있으며, 해마다 다이어트 식

품으로서의 그 소비가 증가함에 따라 재배면적 및 재배농가의 증가와 더불어 그 이용방법도 다양화 되고 있는 실정이다⁽²⁰⁾. 또한 새송이버섯이 가지고 있는 영양학적 성분과 유용성분을 추출하여 음료나 차의 형태로 가공하거나 건강식품으로 개발한다면 새송이버섯의 부가가치를 높일 수 있어 농가에 좋은 소득원이 될 것이라 예상된다. 특히 새송이버섯의 유용성분 중 항산화성 물질인 폴리페놀은 물이나 알코올에 잘 용해되어⁽²²⁾ 가공식품에 이용하기 용이 하며 기능성 식품으로의 제품화 가능성이 클 것으로 사료된다.

따라서 본 연구에서는 시판되고 있는 새송이버섯의 생리활성 성분 검색 및 유효성분 추출과 새송이버섯의 전처리 및 추출방법에 따른 유용성분 대량 추출을 통해 기능성 식품으로써의 적용을 위한 가능성을 시험해 보고, 이를 바탕으로 추출공정별 새송이 버섯 추출물의 특성 비교 및 새송이버섯의 최적 추출 조건을 설정함과 동시에 생리활성 추출물의 기능성 소재화 및 품질평가와 더불어 새송이버섯을 이용한 가공식품을 개발하고자 하였다.

제 2 절 재료 및 방법

1. 실험 재료

본 실험에 사용된 새송이버섯(*Pleurotus eryngii*)은 가락시장에서 구입하여 갓과 대를 절단한 후 실험에 사용하였고 건조시료와 생시료로 구분하여 실험하였다. 새송이버섯의 생리활성 성분 검색을 위해 각 시료는 깨끗이 수세하여 0.5 cm의 크기로 세절한 후 50°C 온도에서 열풍 건조하였다. 건조된 시료는 분쇄기(Kaiser, KFN-400S, Kingstone, Korea)를 사용하여 0.5 mm 이하의 크기로 분쇄한 후 0.2 mm PE film에 밀봉 포장하여 냉동고에 보관하면서 사용하였다. 추출 용매로는 water, 50% ethanol, 100% ethanol을 사용하였으며, 용매량은 건물 중량의 25배, 50배 및 100배의 부피(w/v)로 구분하였다. 시료의 추출은 Fig. 1과 같은 방법으로 실시하였다. 또한 생시료 새송이버섯의 전처리 및 추출방법에 따른 유효성분 대량 추출을 위해 새송이버섯을 깨끗이 수세한 후 0.5 cm의 크기로 절단한 뒤 0.2 mm PE film에 밀봉 포장하여 냉동고에 보관하면서 사용하였다. 추출 용매로는 water, 50% 및 100% ethanol을 사용하였으며, 용매량은 건물 중량의 50배에 해당하는 부피(w/v)를 사용하였고, 시료의 추출은 Fig. 2와 같은 방법으로 실시하였다.

pileus and stipe powder *Pleurotus eryngii* air-dried powder 10g

□□

Extracted with water, 50% and 100% ethanol

250 mL / 500 mL / 1000 mL at 50°C for 1 h (3 times repeat)

□□

Filtered with whatman filter paper No. 2

□□

Evaporated under reduced pressure

□□

100 mL mess up with distilled water

□□

pileus and stipe extracts of *Pleurotus eryngii*

Fig. 1. Procedure to prepare pileus and stipe extracts of air-dried *Pleurotus eryngii* for measuring physiological activities.

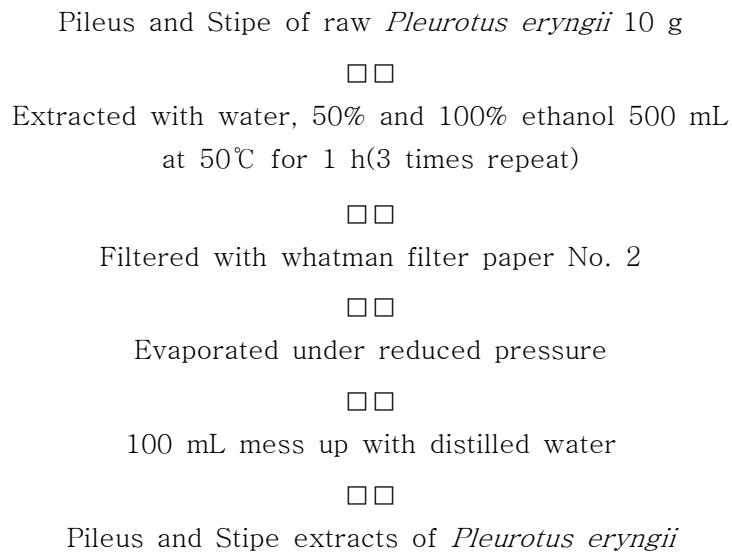


Fig. 2. Procedure to prepare pileus and stipe extracts of raw *Pleurotus eryngii* for measuring physiological activities.

2. 실험 방법

가. 새송이 버섯의 생리활성 성분의 검색 및 유효성분 대량 추출기술 개발

1) 추출 효율

가) 추출 효율의 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 상압가 열건조법⁽²³⁾을 적용하여 항량이 될 때까지 건조한 후 추출액 조제에 사용한 원료 건물량에 대한 고형분 수율(%, d.b.)로 나타내었다.

2) 생리활성 측정에 따른 추출효과 분석

가) 전자공여작용의 측정

추출물의 전자공여작용(electron donating abilities, EDA)은 강 등⁽²⁴⁾의 방법을 변형하여 각각의 추출물에 대한 DPPH(α,α -diphenyl-picrylhydrazyl)의 전자공여효과로 각 시료의 환원력을 측정하였다. 즉, 추출물 1 mL에 4×10^{-4} M DPPH용액(99.9% EtOH에 용해) 1 mL을

가하여 총액의 부피가 2 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.

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

A : 추출물 첨가구의 흡광도

B : 추출물 무첨가구의 흡광도

나) Superoxide dismutase(SOD) 유사활성

SOD 유사활성의 측정은 Marklund의 방법⁽²⁵⁾에 따라 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 방치 후 1 N HCl 1 mL로 반응을 정지 시킨 후 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 이용하여 420 nm에서의 흡광도를 측정하여 시료 첨가 및 무 첨가구간의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

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

A : 추출물 첨가구의 흡광도

B : 추출물 무첨가구의 흡광도

단, A, B는 대조구의 흡광도를 제외한 수치임.

다) Tyrosinase 저해 효과 측정

Tyrosinase 저해 효과 측정은 Wong 등⁽²⁶⁾의 방법에 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 분광 광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 사용하여 420 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다. tyrosinase에 대한 효소활성 저해 효과는 단위시간당 변화된 초기 흡광도의 변화 값을 측정하여 다음의 식에 의해 계

산하였다.

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

A : 효소액 첨가구의 흡광도 변화값

B : 효소액 대신 buffer 첨가구의 흡광도 변화값

C : 추출물 대신 증류수 첨가구의 흡광도 변화값

라) 총 폴리페놀의 함량 측정

총 폴리페놀의 함량(total polyphenol content)은 분석방법으로 널리 사용되고 있는 Folin-Denis방법⁽²⁷⁾으로 측정하였으며, 각각의 추출조건에 따라 제조된 추출물의 $\frac{1}{2}$ 희석액을 사용하였다. 즉, 희석액 5 mL에 Folin reagent 5 mL을 가하고 3분간 정치한 다음 5 mL의 10% Na₂CO₃용액을 가하였다. 이 혼합액을 1시간 동안 정치한 후 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 사용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하고 (+)catechin을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 총 폴리페놀 함량을 mg%로 구하였다.

마) ACE inhibition effects

새송이버섯 추출물의 ACE (angiotensin I - converting enzyme) 저해작용은 Crushman과 Ondetti의 방법⁽²⁸⁾을 변형하여 측정하였다. 즉, 반응구는 0.3 M NaCl을 함유하는 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 8.3)에 기질인 Hippuryl-L-histidyl-L-leucine(HHL, Sigma, H1635) 2.5 mM을 녹인 액 0.15 mL, ACE(Sigma, A6778, 0.2 unit/mL) 0.1 mL와 각 추출시료 용액 0.1 mL를 혼합하였으며, 대조구는 추출시료 대신 증류수 0.1 mL를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시키고, 1 N HCl 0.25 mL 첨가로 반응을 중지시킨 뒤 ethylacetate를 1.5 mL 첨가하였다. Ethylacetate 충으로부터 용매를 증류시킨 잔사에 1 mL의 증류수를 가하여 추출된 hippuric acid를 분광광도계를 사용하여 228 nm에서 흡광도를 측정한 후 다음 식에 따라 저해율을 구하였다.

$$ACE저해율(\%) = (1 - \frac{A}{B}) \times 100$$

A : 반응구의 hippuric acid 생성량

B : 대조구의 hippuric acid 생성량

바) 아질산염 소거작용의 측정

아질산염 소거효과(nitrite-scavenging effect)는 Gray 등⁽²⁹⁾의 방법으로 측정하였다. 즉, 1 mM 아질산나트륨 용액 1 mL에 각각의 추출물을 2 mL을 가하고 여기에 0.1 N 염산(pH 1.2) 및 0.2 N 구연산 완충용액(pH 3.0, 4.2 및 pH 6.0)을 7 mL 가하여 반응용액의 pH를 각각 1.2, 3.0, 4.2 및 6.0으로 달리하여 반응용액의 부피를 10 mL로 하였다. 이를 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 다음 반응액을 1 mL씩 취하고 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 분광 광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)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 첨가전후의 아질산염 백분율(%)로 표기하였다.

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

N : 아질산염 소거율

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

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

C : 시료 추출물 자체의 흡광도

사) 통계처리

통계처리는 SPSS 10.0 for windows program을 사용하여 각각의 시료에 대해 평균±표준편차로 나타내었으며, 각 군에 따른 유의차 검증은 분산분석(ANOVA, analysis of variance)과 Duncan의 다중 검증법 (DMRT, Duncan's multiple range test)⁽³⁰⁾으로 유의성을 검증하였다.

나. 추출공정별 새송이버섯의 특성, 최적 추출조건 설정과 동물 실험

1) 추출공정별 새송이버섯의 특성 및 최적 추출조건 설정

가) MAE 장치 및 추출조건

마이크로웨이브 추출은 450MHz의 주파수에 programmable power(max. 250watts), time control 등이 가능하고 환류 냉각관이 장치된 microwave(Soxwave, prolabo, USA)를 사용하였으며 에너지 용량(watts), 에탄올 농도(%) 및 추출시간(min)에 따른 추출을 실시하였다. 추출은 상압에서 실시하였으며 밀폐형 추출관을 사용하였다.

나) 추출조건의 예비 설정

추출조건의 예비설정에 필요한 기초실험으로서 시료에 대한 에너지 용량별, 에탄올 농도별, 추출시간별을 확인하여 추출조건 최적화 실험에서 기본조건으로 활용하였다.

다) 추출조건 최적화를 위한 중심합성 실험계획

추출공정별 새송이버섯 추출물 특성의 최적화를 위하여 예비실험조건을 바탕으로 반응표면분석법⁽³¹⁾을 실시하였다. 즉, 추출공정의 독립변수(X_i)인 시료에 대한 용매비(X_1), 에탄올 농도(X_2), 추출온도(X_3)에 대한 실험범위를 선정하여 시료별로 각각 5단계로 부호화(Table 1)하여 중심합성계획⁽³²⁾에 의해 16개 군의 추출조건을 각각 설계하였으며 Table 2는 새송이버섯 추출물의 특성 조건을 나타내었다.

각 조건에서 얻어진 추출물의 추출특성(종속변수, Y_n)을 3회 반복으로 측정하여 각각 회귀분석을 실시하였다. 여기서 세 개의 독립변수와 종속변수들에 대한 2차 회귀 모형식은 다음과 같다.

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2$$

이때 Y 는 종속(반응)변수, X_1 , X_2 , X_3 는 독립(요인)변수, b_0 는 절편, b_n 는 회귀계수이다. 회귀분석에 의한 최적조건의 예측은 SAS(statistical analysis system) program⁽³³⁾을 이용하였고, 회귀분석 결과 임계점이 최대점이거나 최소점이 아니고 안장점일 경우에는 능선분석을 하여 최적점을 구하였다. 추출특성의 모니터링과 최적조건 범위 예측은 각 종속변수의 contour map과 3차원 반응표면을 이용하여 분석하였다.

라) 최적 추출조건의 예측 및 실증시험

조건별 각 추출물의 최적 추출조건 예측은 추출특성에 대한 contour map superimposing 했을 때 중복되는 부분의 범위에서 최적 추출조건 범위를 설정하였다. 또한 예측된 범위에서 임의의 중심점을 최적조건으로 예측하고 각 회귀식에 대입하여 예측값의

신뢰도를 검증하기 위하여 실증실험을 실시하였다.

Table 1. Level in extraction conditions of *Pleurotus eryngii* based on central composite design

Extraction conditions	Level				
	-2	-1	0	1	2
Microwave power(watt)	30	60	90	120	150
Ethanol concentration(%)	0	25	50	75	100
Extraction time(min)	1	3	5	7	9

Table 2. Central composite design for optimization of extraction conditions of *Pleurotus eryngii*

Experiment Number ¹⁾	Microwave power(W)	Ethanol concentration(%)	Extraction Time(m)
1	60(-1)	25(-1)	3(-1)
2	60(-1)	25(-1)	7(1)
3	60(-1)	75(1)	3(-1)
4	60(-1)	75(1)	7(1)
5	120(1)	25(-1)	3(-1)
6	120(1)	25(-1)	7(1)
7	120(1)	75(1)	3(-1)
8	120(1)	75(1)	7(1)
9	90(0)	50(0)	5(0)
10	90(0)	50(0)	5(0)
11	30(-2)	50(0)	5(0)
12	150(2)	50(0)	5(0)
13	90(0)	0(-2)	5(0)
14	90(0)	100(2)	5(0)
15	90(0)	50(0)	1(-2)
16	90(0)	50(0)	9(2)

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

마) 수율 및 생리활성 성분 측정

새송이버섯의 추출방법에 따른 추출수율과 생리활성을 측정하고자 앞의 실험과 동일한 방법으로 측정하였다.

바) 통계처리

모든 실험은 Statistical Analysis System(SAS) program⁽³³⁾에 의해 ANOVA검정과 요인

분석을 이용하여 실험군의 평균값 간에 유의성을 검정하였다.

2) *in vivo*에서 새송이버섯의 지질 감소효과

가) 실험재료 및 실험식이의 조제

본 실험에 사용된 새송이버섯(*Pleurotus eryngii*)은 가락시장에서 구입한 후에 깨끗이 수세하여 0.5cm의 크기로 세절한 후 45°C 온도에서 열풍 건조하였다. 건조된 시료는 분쇄기 (Kaiser, KFN-400S, 킹스톤기전(주), 한국)를 사용하여 0.5 mm이하의 크기로 분쇄한 후 0.2 mm PE film에 밀봉 포장하여 냉동고에 보관하면서 사용하였다. 본 시료의 성분(수분함량 5.60%, 지방0.80%, 단백질 18.37%, 회분 5.05%, 식이섬유 29.14%)을 고려하여 고형사료를 조제하였다. 본 실험에 사용한 실험식이 조성은 Table 3과 같다. 혈청 분석은 녹십자 의료 재단에 의뢰하였다. 그리고 간의 지질 및 콜레스테롤 측정에 사용한 kit는 (주)신양화학으로부터 구입하여 사용하였으며 나머지 시약은 일급이상의 것을 사용하였다.

나) 실험동물의 사육 및 시료의 채취

실험동물은 4주령 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 오리엔탈(주)로부터 구입하여 사용하였으며, 1주일간 일반 고형사료로 적응시킨 후 체중에 따라 난괴법으로 정상대조군, high cholesterol 대조군, 2.5% 혼합식이 투여군, 5.0% 혼합식이 투여군의 총 4군으로 나누어 4주간 사육하였다. 실험동물은 stainless steel wire cage에 두 마리씩 분리하여 환경 조절된 사육실(온도 22±2°C, 상대습도 65±5%, 조명 06:00~18:00)에서 분리 사육 하였다. 체중과 사료섭취량은 매주 1회 측정하였으며 물과 실험 식이는 자유롭게 섭취하도록 하였다.

사육 4주후에 실험동물은 쳐치 전 12시간 동안 절식시킨 후 에테르 마취하에 개복한 후 복부대동맥으로부터 채혈하고 간, 신장, 비장을 적출하여 생리식염수로 세척, trimming하여 무게를 측정한 후 측정 시까지 -20°C에서 보관하였다. 채취한 혈액은 3000rpm에서 15분간 원심분리 후 혈장을 분리하여 분석시료로 사용하였다.

다) 혈청 지질 분석

혈장 중 SGOT, SGPT, cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride, total lipid 분석은 녹십자 의료재단에 의뢰하였다.

라) 간 조직 중의 지질 함량 및 콜레스테롤 측정

간 조직 중의 지질은 Folch법⁽³⁴⁾으로 추출한 후 분석 kit을 사용하여 콜레스테롤과 triglyceride의 함량을 측정하였다.

마) 간 조직 검사

4주간의 실험식이 기간이 끝난 뒤, 절식시켜 에테르로 마취하여 개복한 다음 간을 적출하였다. 적출한 간을 생리식염수로 세척하여 육안으로 간의 외형적 형태를 검사하였다.

바) 통계처리

실험결과는 SAS를 이용하여 실험군당 평균 ± 표준편차로 나타내었으며 각 군의 유의차 검정은 분산분석을 한 후 $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan의 다중비교법에 의해 검증하였다.

Table 3. Composition of experimental diets (unit : g/kg diet)

Component	NOR ¹⁾	H.C ²⁾	P 2.5%	P 5%
Corn starch	250.0	237.5	217.3	197.1
Sucrose	400.0	400.0	400.0	400.0
Casein	200.0	200.0	195.4	190.8
Corn oil	50.0	50.0	49.8	49.6
Tauro-Cholate	0.0	2.5	2.5	2.5
Cellulose	50.0	50.0	50.0	50.0
Mineral Mix ⁵⁾	35.0	35.0	35.0	35.0
Vitamin Mix ⁶⁾	10.0	10.0	10.0	10.0
Choline bitartrate	2.0	2.0	2.0	2.0
DL-methionine	3.0	3.0	3.0	3.0
Cholesterol	0.0	10.0	10.0	10.0
<i>Pleurotus eryngii</i>	0.0	0.0	25.0	50.0

¹⁾Normal ²⁾High cholesterol ³⁾2.5% *Pleurotus eryngii* ⁴⁾5.0% *Pleurotus eryngii*

⁵⁾AIN-76 mineral mixture, ⁶⁾AIN-76 vitamin mixture

다. 생리활성 추출물의 기능성 소재화 및 가공식품 개발

1) 새송이버섯 추출물의 특성 조사

가) 색 도

색도는 색차계(color difference meter, color quest II sphere system, U.S.A)를 이용하여 L(명도), a(적색도), b(황색도) 값을 측정하였다. 이때 표준 백색판의 L, a, b 값은 100.02, 0.00, 0.00이었다. 열수추출액, 50% EtOH, 75% EtOH 추출 시 추출완료 시점에서 색도를 측정하였다.

<참 고> Hunter L, a, b color scale

(흑색) 0 <----- L(명 도) -----> 100 (백색)

(녹색) -80 <----- a(적색도) -----> 100 (적색)

(청색) -70 <----- b(황색도) -----> 70 (황색)

나) 탁 도

탁도는 650 nm에서 투과도를 측정하여 종류수 100% 투과도를 기준으로 하여 비교치로 나타내었다. 열수 추출, 50% EtOH, 75% EtOH 추출 시 추출완료 시점에서 탁도를 측정하였다.

다) 당 도

각 추출물의 당도는 굴절당도계(Atago, hand refrectometer, Japan)를 사용하여 실온에서 측정하였다.

라) 유리당

새송이버섯 추출물의 유리당 분석은 용매조건에 따라 추출한 상징액을 5,000×g에서 10분간 원심 분리한 다음 membrane filter(pore size 0.2 μm)로 여과하고 이를 유리당 분석 시료로 사용하였다. 분석에 사용한 fructose, glucose, sucrose 및 manitol 등은 Sigma(USA)사에서 구입하였으며, HPLC 분석조건은 Table 4과 같다.

Table 4. Operating conditions of HPLC for free sugar analysis

Instrument	Jasco HPLC System(PU-980, Jasco, Japan)
Column	Carbohydrate(4.60 × 250 mm, Waters, U.S.A)
Column oven	40°C
Fluent	Acetonitrile : H ₂ O(75 : 25)
Flow rate	1.0 mL/min
Chart speed	2.0 mm/min
Detector	RI(RI-1530, Jasco, Japan)
Injection volume	10.0 μL

2) 가수량별 당도 변화

새송이버섯 갓과 대에 3배, 5배, 7배, 9배의 증류수를 넣은 후 환류냉각장치로 추출하면 서 끓기 시작했을 때부터 시간별로 추출되어 나오는 가용성 고형분 함량(당도, °Brix)을 측정하였다.

3) 새송이버섯 음료의 개발

본 실험에서는 새송이버섯의 추출액과 사과농축액 및 국내산 생약재가 적절히 배합된 혼합 음료를 제조하고자 하였다. 새송이버섯을 추출한 추출액과 생약재를 달리하여 제조하였다. 부재료로 사용된 생약재로는 구기자, 숙지황, 오미자, 대추, 천궁, 갈근, 건강, 백작약, 감초 등을 사용하였다. 이때 새송이버섯 추출액과 생약재 추출액을 농도별로 배합한 다음 구연산 및 비타민 C로 pH를 맞추어 관능검사를 실시하여 적정 음용 농도를 결정하였다.

4) 새송이버섯 과립차의 개발

새송이버섯 추출액을 진공농축기에서 60 Brix 까지 농축하여 시료로 사용하였으며, 부형제와 배합된 원료를 15~20 mesh 정도의 크기로 과립화시킨 후, 50~55°C에서 수분함량이 8% 내외가 되도록 건조시켜 과립차를 제조하였다.

5) 새송이버섯 타블렛 제품의 제조

본 실험에서는 새송이버섯 추출물을 동결건조 한 뒤, 다른 부형제와 적절히 혼합하여 새송이버섯 타블렛 제품을 개발하였다. 실험 방법은 새송이버섯 추출물을 동결건조 시킨 후, 미분쇄한 새송이버섯 분말을 준비하고, 여기에 부재료로 표고버섯, 구연산, 아스파탐, 아비

셀, 스마그, 옥타코사놀을 첨가하였다. 재료들이 잘 혼합되게 하기 위하여 건조된 새송이버섯분말을 먼저 분쇄기에서 잘 혼합한 후 다른 부형제들을 혼합하였으며, 혼합된 재료를 정제기에 통과시켜 새송이버섯 타블렛 제품을 얻었다.

제 3 절 결과 및 고찰

1. 새송이버섯의 생리활성 성분의 검색 및 유효성분 대량 추출기술 개발

가. 새송이버섯의 생리활성성분 검색

1) Electron donating ability(EDA, %)

산소가 에너지 획득반응의 말단에서 전자의 수여에 관여함으로써 산소는 1전자 환원된 superoxide를 생성하며 이렇게 생성된 superoxide는 계속 환원되어 H₂O를 생성한다. 이때 superoxide는 생체의 산화적 장애를 초래한다. 이러한 산화적 free radical을 소거·분해하는 항산화 물질의 검색 전단계로 전자공여 작용 조사가 요구된다. 전자공여능 측정은 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazl) 라디칼 소거법으로 측정하는데 DPPH는 분자 내 radical을 함유하여 다른 free radical들과 결합하여 안정한 complex를 만들고 있어 항산화 활성이 있는 물질과 만나면 라디칼이 소거되며 이때의 DPPH의 고유의 청남색이 엷어지는 특성이 있고 이 색차를 비색 정량하여 전자공여능력을 측정한다. 화학적으로 유도된 radical 이지만, lipoxygenase에 의한 지방 산화 반응계에서의 항산화 활성 측정과도 잘 부합한다.

Fig. 3과 4는 새송이버섯의 갓(pileus), 대(stipe) 등 각 추출용매에 따른 전자공여작용을 나타낸 것이다. 갓의 전자공여작용은 58 ~ 88% 내외의 활성을 나타내었는데, 특히 물과 100% EtOH 추출에서는 큰 차이를 보이지 않았으나, 50% EtOH 추출물에서는 88%로 높은 활성을 나타내었다. 대에 있어서도 갓 추출조건과 유사한 경향을 나타내었다. 물, 50% 및 100% EtOH 추출물에서 각각 21.42, 58.92, 44.0%의 활성을 나타내었고, 특히 50% EtOH 추출물에서 다른 추출물보다 높은 활성을 보였다. 그러나 갓에서와 같이 물과 100% EtOH 추출물에서 활성의 차이가 거의 없던 반면에 대의 경우 100% EtOH 추출물이 물 추출물보다 22.58% 높은 활성을 나타내었다. 새 송이버섯의 갓 추출물 중 가장 높은 활성을 나타낸 50% EtOH의 전자공여능력은 L-ascorbic acid의 공여능력에 비해 미흡하게 나타났으나, 어느 정도의 radical 포집능력을 보이고 있으므로 추출 시 시료양이나, 추출물의 농도를 좀 더 높여준다면 항산화 능력에 대한 이용가능성을 높일 수 있을 것으로 판단되었다. 항산화제의

일종으로 널리 사용되고 있는 L-ascorbic acid와 비교하기 위해 각각 0.1% 및 1%의 수준에서 전자공여능력을 측정한 결과, 각각 97.40% 및 97.46%로 높게 나타났다.

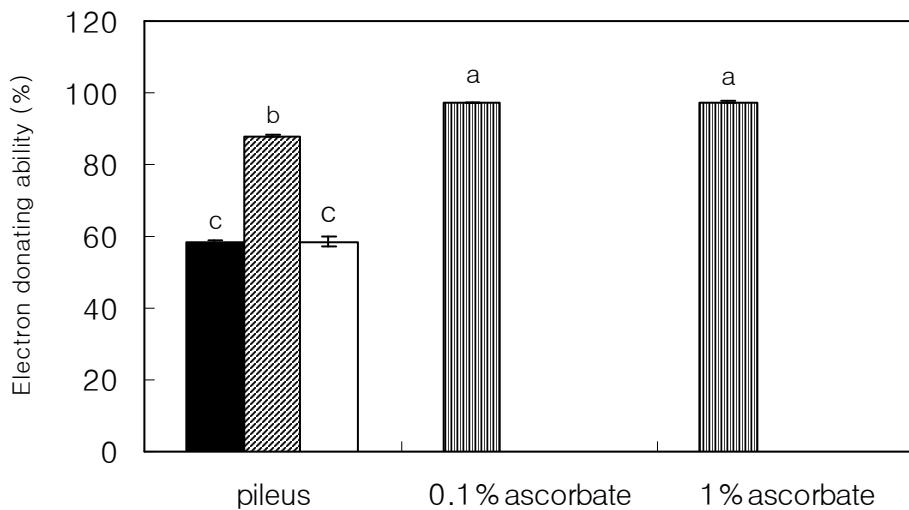


Fig. 3. Electron donating ability(EDA) of raw *Pleurotus eryngii* for pileus and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 50 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

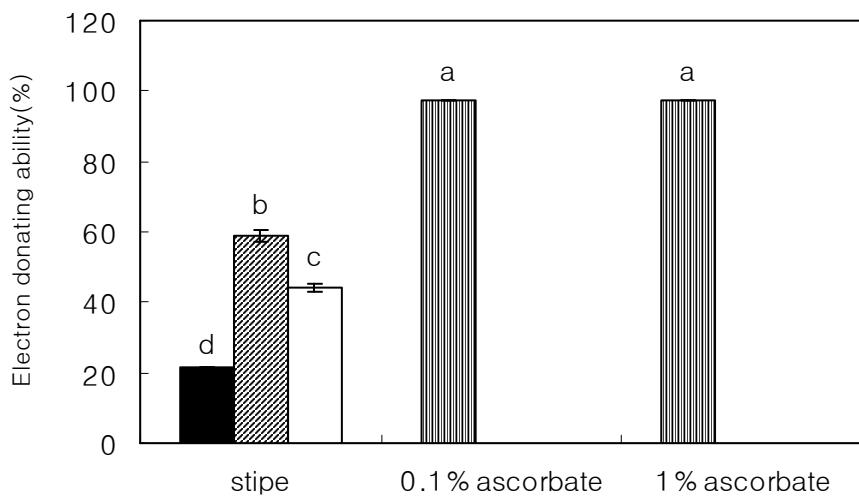


Fig. 4. Electron donating ability(EDA) of raw *Pleurotus eryngii* for stipe and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 50 mL of ethyl alcohol.) Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

즉, 전자공여작용이 높다는 의미는 인체 내에서 장애를 일으키는 활성산소를 소거·제거할 수 있는 기능이 높다는 뜻이다. 또한 전자공여능이 phenolic acids와 flavonoids 및 기타 phenol성 물질에 대한 항산화작용의 지표이며, 이러한 물질은 환원력이 큰 것일수록 전자공여능이 높다고 하였다. 따라서 새송이버섯 갓의 경우, 항산화효과를 나타내는 phenol성 물질이 대에 비해 많이 함유되어 있을 것으로 예상되며 이에 따라 전자공여능을 비롯한 여러 가지 항산화 활성이 높을 것으로 생각되었다.

2) Superoxide dismutase(SOD)-like activity(%)

Superoxide dismutase는 생체 내 superoxide radical(O_2^-)을 산소로 산화시켜 주는 천연 항산화제로서, 세포내 활성 산소를 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉매 하는 효소이다. SOD 유사활성 물질은 활성 산소의 시발물질로, superoxide anion의 저해물질로는 생체 내 SOD라는 효소가 있지만, 이의 일종으로 SOD와 작용기작은 다르지만 인체 내에서의 역할이 유사하여 통상적으로 SOD유사활성 물질이라 부른다. 일반적으로 과실, 채소류에는 비타민 C가 다른 식품소재에 비해 풍부하게 함유되어 있으며 비타민 C는 그 자체가 높은 SOD 유사활성을 나타내는 것으로 보고되고 있다.

추출용매 및 갓(pileus)과 대(stipe)에 따른 새 송이버섯의 SOD 유사활성을 Fig. 5와 6에 나타내었다. Fig. 5에서 보는 바와 같이, 갓의 경우 물, 50% 및 100% EtOH 추출물에서 각각 62.57, 33.35, 21.33%의 활성을 보였으며, 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었고, 이 중 물 추출물이 62.57%로 가장 높은 활성을 보여주었다. 이에 반해 대조구인 0.1% 및 1% L-ascorbic acid의 경우, 각각 79.93%, 99.07%로 매우 큰 활성이 나타나, 보고 된 바와 같이 그 자체가 높은 SOD 유사활성을 나타내었다.

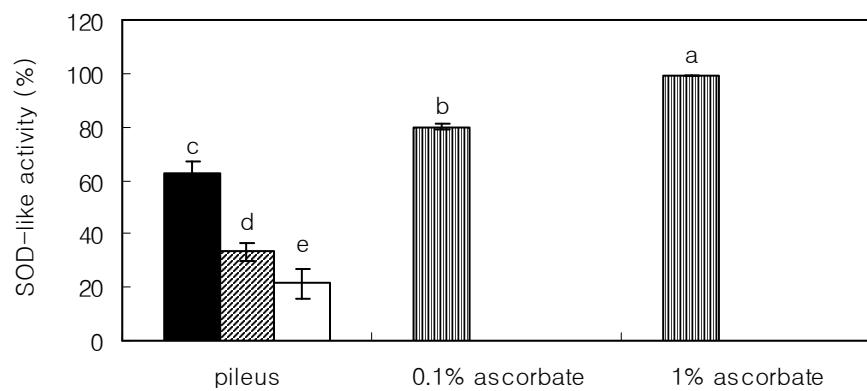


Fig. 5. Superoxide dismutase(SOD)-like activity of raw *Pleurotus eryngii* for pileus and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 50 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

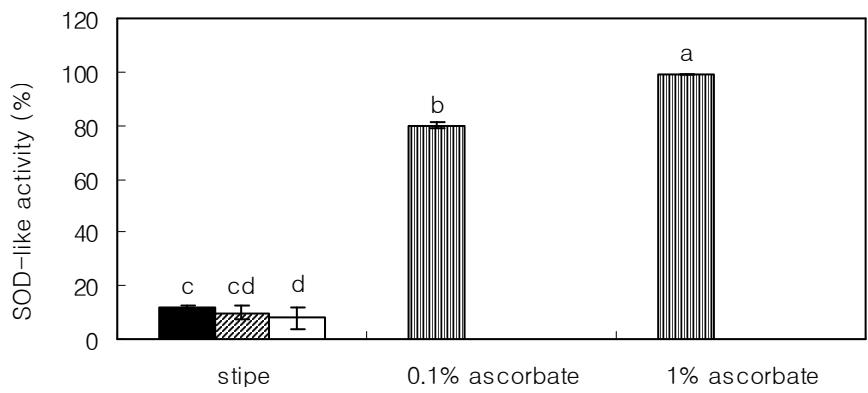


Fig. 6. Superoxide dismutase(SOD)-like activity of raw *Pleurotus eryngii* for stipe and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 50 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

대의 경우 갓 추출물보다 낮은 활성을 보였으나, 유의적으로 감소하는 동일한 경향을 나타내었다. 물 추출물에서는 12.0%, 50% EtOH 추출물에서는 9.81% 및 100% EtOH 추출물에서는 7.89%의 활성을 보였으며, 갓과 마찬가지로 물 추출물에서 가장 우수하게 나타났다.(Fig. 6). 본 실험에 사용된 새송이버섯의 갓과 대 추출물에서 EtOH 추출물보다 물로 추출할 때 SOD유사활성이 높게 나타나는 것으로 보아 항산화 물질이 물 추출 시 더 많이 추출되는 것으로 생각되었다.

이는 여러 가지 식물체를 대상으로 SOD유사활성을 측정한 Kim 등의 보고에서 EtOH 추출보다 열수추출물이 효과가 크다는 결과와 동일하게 나타났다. 따라서 pyrogallool의 자동산화를 저해하는데 관여하는 물질은 식물체에 따라 추출양상이나 항산화 활성이 다르며, 본 실험에 사용된 새송이버섯의 경우 SOD유사활성을 나타내는 물질이 물에 의해 추출되는 것으로 판단되었고, EDA와 마찬가지로 대보다는 갓에 더 높은 활성을 가지는 것으로 생각된다.

3) Tyrosinase inhibitory effect(%)

Tyrosinase(Dihydroxy-L-phenylalanine oxygen oxidoreductase, EC 1.14.18.1)는 넓은 범위의 phenol화합물을 기질로 이용하여 효소적 갈변화를 일으키는 효소로 페놀성 물질들이 가공이나 저장 중에 갈변화하는 원인이 된다. 이를 저해함으로써 식품의 색깔뿐만 아니라 향

미 및 영양가 등에 적·간접적으로 영향을 준다. Tyrosinase의 저해제로는 인체의 hyperpigmentation 치료에 이용되는 4-hydroxyanisole, hydroquinone, 4-hexyresorcinol tropolone, cinnamic acid, benzoic acid, kojic acid 등이 보고되고 있으나, 안전성, 경제성 등에 문제가 있다.

Fig. 7과 8은 새송이버섯의 갓(pileus) 및 대(stipe) 등 두 가지 종류의 물 추출물, EtOH 추출물로 tyrosinase의 catechol에 대한 산화 갈변화 억제 효과를 측정한 결과이다. 갓의 경우 물 추출물이 27.76%로 에탄올 추출물에 비해 tyrosinase에 대한 저해 작용이 낮게 나타났다. 50% 및 100% EtOH 추출물은 각각 36.34, 50.58%로 유의적으로 활성이 증가하는 경향을 보였고, 특히 갓의 경우 100% EtOH 추출물에서 50%이상의 높은 저해효과를 나타내었다.

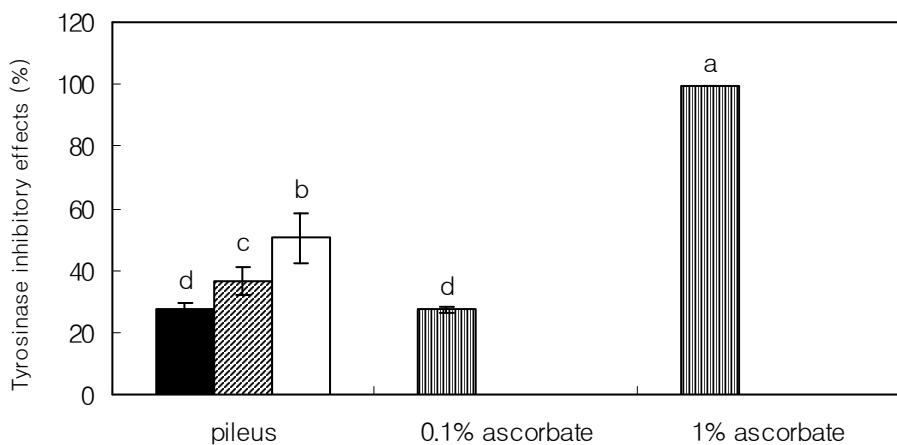


Fig. 7. Tyrosinase inhibition effect of raw *Pleurotus eryngii* for pileus and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 50 mL of ethyl alcohol.)
Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

대의 경우도 갓의 경우와 유사하게 유의적으로 EtOH 농도가 증가할수록 높은 활성을 나타내었는데, 물, 50% 및 100% EtOH 추출물에서 각각 46.89, 54.22, 58.57%로 갓의 경우보다 높은 저해활성을 보여주었다. 비교물질인 0.1% 및 1% L-ascorbic acid 용액은 각각 27.28, 99.71%의 저해 효과를 나타내었는데, 새 송이버섯의 갓과 대의 모든 추출물에서 0.1% L-ascorbic acid보다 우수하였고, 1% L-ascorbic acid의 저해 능력에는 비교적 낮은 수준의 저해 능력을 보였다.

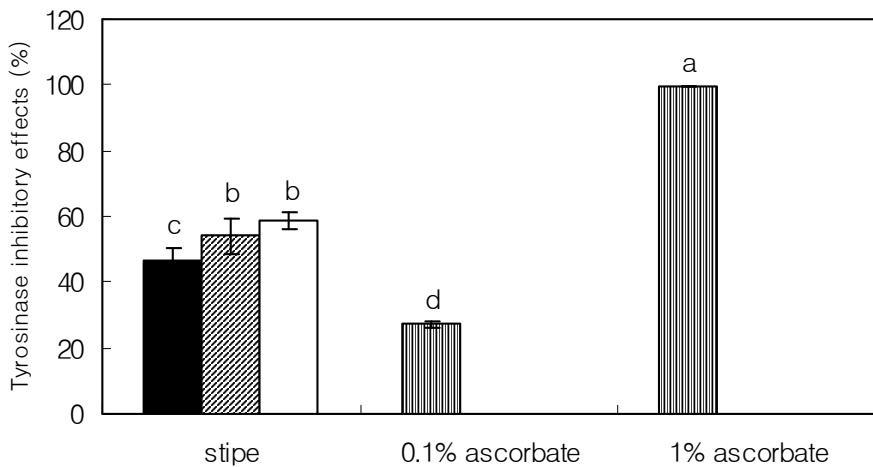


Fig. 8. Tyrosinase inhibition effect of raw *Pleurotus eryngii* for stipe and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 50 mL of ethyl alcohol.)
Values represent mean±S.D. of 3 replications.
P-values was determined by F-test.

그러나 앞서 실험한 EDA 및 SOD-like activity의 경우와는 다르게 새송이버섯의 갓에서 활성이 높은 반면, tyrosinase inhibitory effect에서는 대에서 높은 활성을 보인 것으로 보아, 이는 PPO 등에 의한 효소적 갈변화를 방지하는데 관여하는 phenol물질이 갓보다는 대에 많이 함유된 것으로 판단되었다.

4) Angiotensin converting enzyme inhibition(ACE) activity(%)

고혈압은 발생기작에서 renin-angiotensin system이 혈압 조절에 매우 중요한 역할을 한다. 특히 angiotensin converting enzyme(ACE)는 renin에 의하여 생성된 decapeptide인 angiotensin I로부터 C-말단의 dipeptide를 가수분해시킴으로서 강력한 혈관수축작용을 갖는 octapeptide인 angiotensin II를 합성하는 단계에 관여하는 효소이다. 생성된 angiotensin II는 강력한 혈관수축작용을 가지며, ACE는 또한 혈관이완작용을 가진 nonapeptide인 bradykinin을 불활성화시킴으로서 결과적으로 혈압을 상승시키는 작용을 가진다. Angiotensin II가 증가되면 catecholamine 값이 증가되고, 혈관이 수축되며 동시에 항 이뇨 호르몬인 aldosterone의 분비가 촉진되어 Na^+ 및 수분배설이 억제되어 순환혈액량이 증가되어 혈압상승을 일으킨다. ACE 작용억제는 혈관수축을 막고 체내 수분저류를 막아 혈압을 낮추는 효과를 나타낸다.

새송이버섯의 갓(pileus)과 대(stipe)에 대하여 추출용매에 따른 angiotensin I-converting

enzyme 저해작용을 측정한 결과는 Fig. 9와 같다. 갓과 대 모두 물 추출물의 활성이 각각 95.14, 51.67%로 EtOH 추출물보다 angiotensin 전환 효소에 대한 저해작용이 우수하였다. SOD-like activity와 유사하게 EtOH 농도가 증가할수록 유의적으로 저해작용이 감소하는 경향을 보였는데, 갓의 경우 물, 50% 및 100% EtOH 추출물의 값이 각각 95.14, 76.85, 72.24%로 나타났으며, 대의 경우 물, 50% 및 100% EtOH 추출물의 값이 각각 51.67, 51.07, 36.09%로 나타났다. 이는 angiotensin I-converting enzyme 저해작용에 관여하는 새송이버섯의 기능성 물질은 용매에 의해서라기보다 물에서 더 많이 추출되며, 대보다는 갓에서 활성성분이 더 높은 것으로 생각되었다. 현재까지 captopril, enalapril과 같은 화학합성 ACE 저해제가 널리 상용되고 있지만, 높은 역가에 비해 각종 부작용이 많아 안전성 측면에서 가치가 더 높은 천연물질에 대한 탐색과 개발에 대한 더 많은 연구가 필요하다. 일반적으로 콩 단백질 유래 peptide 물질이 혈압강하의 효과가 있는 것으로 많이 보고되고 있으며, 그밖에 flavonoid, 탄닌류, 해조류, 장류 등에서 그 효과를 시험한 바 있다. Zuhair 등은 본태성 고혈압 쥐(spontaneously hypertensive rat)에 호박씨 투여 시 혈압강하 효과를 보고한 바 있어, 새송이버섯의 ACE 저해제로써 그 가능성을 제시하였다.

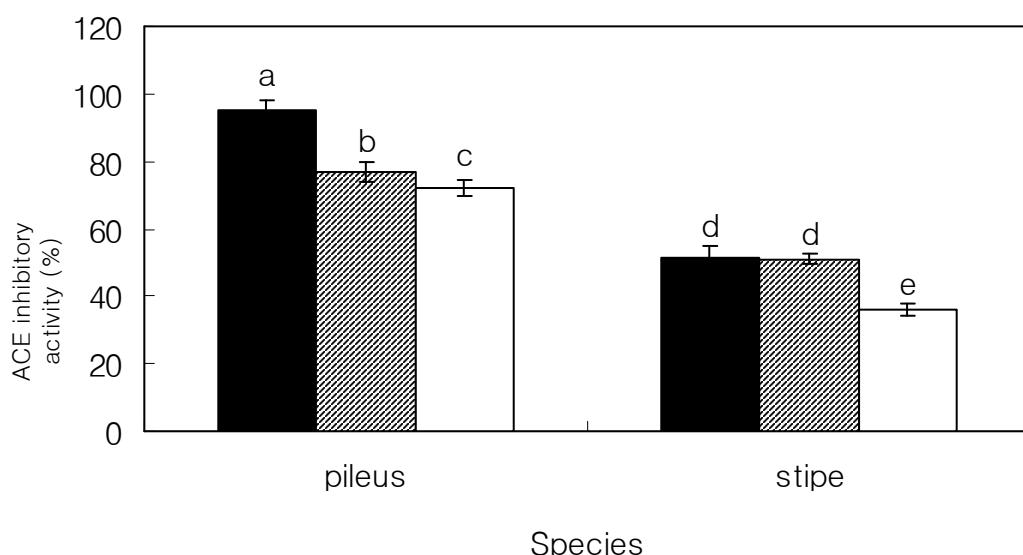


Fig. 9. Angiotensin converting enzyme(ACE) inhibition of raw *Pleurotus eryngii* for pileus, stipe and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 50 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

5) Total polyphenol contents(mg%)

Fig. 10은 새송이버섯의 갓(pileus)과 대(stipe)의 물 추출물 및 EtOH 추출물에 함유된 total polyphenol 함량을 catechin을 기준물질로 하여 측정한 결과이다. 갓의 EtOH 농도가 0, 50, 100% 일 때 추출된 polyphenol의 함량은 각각 1427.25, 1426.82, 1383.48 mg%로 측정되었으며, 대의 경우 각각 1326.30, 1351.13, 1322.50 mg%로 나타났다. 새송이버섯 갓의 경우 EtOH 농도가 증가할수록 유의적으로 감소하는 경향을 보인 반면, 대의 경우 50% EtOH 추출물에서 다른 추출물보다 상대적으로 높은 polyphenol 함량을 보였다.

Phenolic compound는 일반적으로 식물체에서 발견되는데, 이들은 항산화 활성을 포함한 다양한 생리적 효과를 가지는 것으로 보고되어 왔다. Phenolic 함량이 풍부한 과일, herb, 채소류, 곡류 등과 같은 식물체의 crude extract는 식품산업에서의 관심이 증대하고 있는데, 이들이 지질의 산화적 분해를 지연시켜 식품의 품질 및 영양가를 향상시키기 때문이다. 항산화성 물질의 근원은 채소, 과일, 잎, oilseed, 곡류, 나무껍질 및 뿌리, spice류, herb 등과 같은 식물의 여러 형태에서 찾을 수 있다. Phenolic acid, stilbenes, tannins, lignans, lignin 등과 같은 flavonoids와 식물유래 phenol들은 특히 잎과 꽃잎 조직, 줄기나 껍질과 같은 나무 부분에 일반적으로 존재한다. 이들은 식물체에서 성장발달과 해충과 상처에 대한 방어역할로 중요하며 flavonoids는 부분적으로 꽃, 열매와 잎에 색을 제공한다. Phenolic 성분들의 항산화적 활성은 주로 산화환원 특성에 의한 것으로 그 자체가 reducing agent, hydrogen donator, singlet oxygen quencher의 역할을 하며 금속이온에 대해 chelation potential을 가지고 있다고 알려져 왔다. Caffeic, chlorogenic, ferulic, sinapic, p-coumaric acid 등의 phenolic acid들은 p-hydroxybenzoic, vanillic and syringic acid 등과 같은 benzoic acid의 hydroxy 유도체보다도 항산화활성이 더 높은 것으로 나타나고 있다. 또한 α-tocopherol은 in vitro 상에서 chain-breaking antioxidants로 가장 우수한 활성을 보이며, carotenoids 역시 산화적 손상에 대한 보호역할을 가지고 있으며, singlet oxygen은 β-carotene에 의해 매우 강하게 억제되는 것으로 알려져 있다.

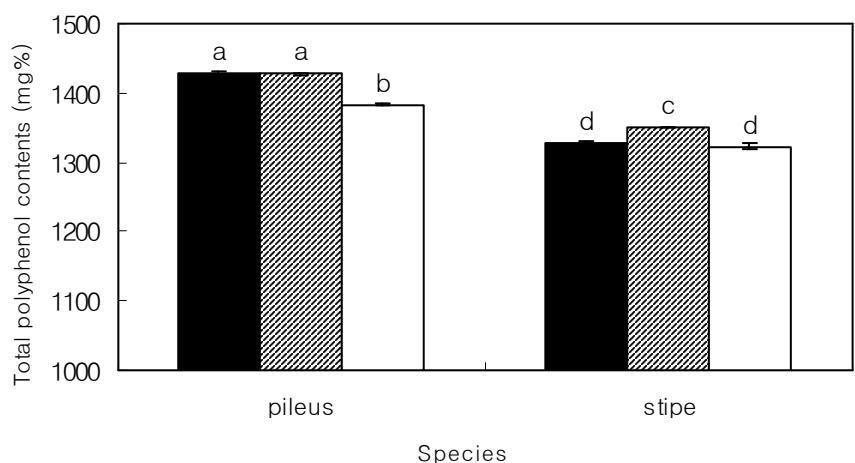


Fig. 10. Total polyphenol contents of raw *Pleurotus eryngii* for pileus, stipe and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 50 mL of ethyl alcohol.) Values represent mean±S.D. of 3 replications.
P-values was determined by F-test.

6) Nitrite scavenging ability(%)

발암에 관련된 물질로 알려진 nitrite는 독성을 가지고 있고, nitrate도 체내, 체외에서 효소작용에 의해 nitrite로 환원되기 때문에 일정농도 이상 섭취할 경우, 식품내의 amine류와 반응하여 발암물질인 nitrosamine을 생성하고, 또한 혈액 중의 hemoglobin이 산화되어 methemoglobin을 형성하여 methemoglobin증 등을 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있다. 따라서 이러한 아질산염을 소거·제거하여 그에 동반되는 질병을 억제할 수 있는 천연물 검색에 대한 연구가 필요하다. Ascorbate와 같은 환원물질이 아질산염과 반응하면 nitrosamine의 생성을 저해할 수 있으며, Gray등은 phenol성 화합물인 tannic acid 유도체를 식품 보준료 및 N-nitrosamine 형성 저해제로 사용하였다. 또한 야채류나 향신료 등의 추출물이 nitrite를 제거하여 그 위험성을 저하시킬 수 있는 능력이 있는 것으로 알려져 있다.

새송이버섯의 갓(pileus)과 대(stipe)의 추출물에 따른 아질산염 소거작용은 Table 5와 같다. 갓의 경우 아질산염 소거능력은 추출용매에 따른 차이를 볼 수 없었으나, 대의 경우 EtOH 농도가 증가할수록 아질산염 소거능력이 증가하는 경향을 나타내었고, pH의 증가에 따라 소거능력이 감소하여 pH에 대해 의존적임을 알 수 있었다. 다만, pH 4.2에서 갓과 대의 물 추출물은 EtOH 추출물에 비해 그 활성이 다소 높게 나타났다. 갓과 대의 아질산염

소거능은 갓 추출물이 대 추출물보다 조금 높은 편이었으며, 갓의 경우 pH 1.2 조건에서 50% EtOH 추출물이 95.12%로 다른 추출물보다 높은 소거능을 보였다. 그러나 비교물질로 사용된 0.1% 및 1% L-ascorbic acid 용액의 활성과는 다소 낮은 값을 보여주었다. 위장 내의 낮은 pH 조건에서 nitrosamine이 쉽게 형성되므로 낮은 pH에서 아질산염 소거작용이 큰 것은 nitrosamine 형성을 효과적으로 억제하는데 능력이 있음을 의미한다. 갓의 경우 모든 추출물의 pH 1.2에서 아질산염 소거 능력이 93% 이상으로 매우 높게 나타나 아질산염 소거 작용이 우수한 것으로 나타났으며, 대에 비해 polyphenol 함량이 매우 높게 측정되었으므로, 높은 함량의 polyphenol이 아질산염을 효과적으로 소거하는데 기여한 것으로 판단된다. 따라서, 갓과 대의 모든 추출물에서 pH 농도가 커질수록 아질산염 소거작용은 유의적으로 감소하는 값을 나타내었다.

Table 5. Nitrite scavenging ability of *Pleurotus eryngii* for extract condition¹⁾

Species	Et-OH conc.(%)	Nitrite scavenging ability (%)				unit : % (raw material)
		pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0	
Pileus	0	94.38±0.34 ^{b2)}	64.58±0.36 ^c	32.69±1.17 ^c	11.37±1.00 ^c	
	50	95.12±0.29 ^b	69.02±1.49 ^b	28.31±1.02 ^d	4.89±0.33 ^e	
	100	93.58±1.79 ^{bc}	61.09±1.24 ^d	26.27±0.89 ^{de}	7.44±1.38 ^d	
Stipe	0	83.72±0.95 ^d	61.09±0.71 ^d	27.18±0.84 ^{de}	10.16±0.93 ^c	
	50	84.46±2.13 ^d	64.60±0.98 ^c	25.90±0.61 ^e	10.78±2.50 ^c	
	100	92.69±0.08 ^c	63.71±1.18 ^c	19.93±1.29 ^f	1.44±0.74 ^f	
0.1% L-ascorbic acid		99.64±0.16 ^a	67.26±4.07 ^b	58.61±2.66 ^b	34.75±0.73 ^b	
1% L-ascorbic acid		99.93±0.07 ^a	99.56±0.25 ^a	97.05±2.15 ^a	96.11±1.30 ^a	

¹⁾Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 50 mL of ethyl alcohol.

²⁾Means are three replication.

각종 phenol성 화합물은 산성조건에서 N-nitromopholine을 형성, 즉 nitroso화 반응을 강력하게 억제하며, dihydrophenol류가 nitrous acid에 의해 quinone으로 산화되고 nitrous acid는 무해한 nitric oxide로 변화된다. 그러므로 이러한 phenol성 화합물은 amine류와 반응 할 수 있는 nitrite를 nitrite oxide로 변환시키며, phenol성 화합물 또한 nitrosating agent에 의해 자신이 산화되어 quinone으로 산화되는 항산화제로 작용하게 되므로 결과적으로 phenol 가운데 free hydroxy group의 수는 중요하게 되며, 이러한 phenol성 화합물의 촉매 작용 기작은 C-nitrosate 후, quinone monoxine tautomer로 되어 N₂O₃와 반응하여 N-nitrosating agent를 생성한다. Phenol성 물질 중 caffeic acid, ferulic acid, catechol등이 아질산과 반응하여 nitrosamine의 생성을 억제한다고 보고된 바 있다.

나. 새 송이버섯의 전처리 및 추출방법에 따른 유효성분 대량추출 기술 개발

1) Electron donating ability(EDA, %)

가) 25 mL/g 추출 처리구

전자공여능 측정은 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazl) 라디칼 소거법으로 측정하는데 DPPH는 분자 내 radical을 함유하여 다른 free radical들과 결합하여 안정한 complex를 만들고 있어 항산화 활성이 있는 물질과 만나면 라디칼이 소거되며 이때의 DPPH의 고유의 청남색이 잿어지는 특성이 있고 이 색차를 비색 정량하여 전자공여능력을 측정한다. 화학적으로 유도된 radical이지만, lipoxygenase에 의한 지방 산화 반응계에서의 항산화 활성 측정과도 잘 부합한다.

Fig. 11과 12는 새송이버섯의 갓(pileus)과 대(stipe)에 대하여 열풍건조 시료 g당 25 mL의 추출용매에 따른 전자공여작용을 나타낸 것이다. 갓의 전자공여작용은 에탄올 농도에 따라 85.26, 53.19, 12.72%로, 물 추출물에서의 활성이 가장 높게 나타났으며, EtOH 농도가 증가될수록 값은 유의적으로 감소하는 경향을 보였다. 그러나 대의 경우 갓과는 상이하게 물 추출물 보다 50% EtOH 추출물에서 63.48%로 높게 나타났으며, 갓 추출물처럼 용매에 따른 영향은 볼 수 없었다. 항산화제의 일종으로 널리 사용되고 있는 L-ascorbic acid를 0.1% 및 1%의 수준에서 전자공여능력을 측정한 결과, 각각 96.86, 96.94%로 매우 높게 나타났다. 갓과 대의 추출물에서 비교물질로 사용된 L-ascorbic acid 보다 낮은 활성을 보였으나, 갓의 물 추출물에서 0.1% L-ascorbic acid에 상당하는 활성을 보여 free radical에 대한 포집 능력이 우수한 것으로 판단되었다. 즉, 전자공여작용이 높다는 의미는 인체 내에서 장애를 일으키는 활성산소를 소거·제거할 수 있는 기능이 높다는 것을 의미한다. 또한 전자공여능은

phenolic acids와 flavonoids 및 기타 phenol성 물질들에 대한 항산화작용의 지표이며, 이러한 물질은 환원력이 큰 것일수록 전자공여능이 높다고 하였다.

따라서 새송이버섯의 경우, 대보다는 갓에서 항산화효과를 나타내는 phenol성 물질이 많이 함유되어 있을 것으로 예상되며, EtOH 추출물보다 물 추출물에서 전자공여능을 비롯한 여러 가지 항산화 활성이 높을 것으로 생각되었다. 산소가 에너지 획득반응의 말단에서 전자의 수여에 관여함으로써 산소는 1전자 환원된 superoxide를 생성하며 이렇게 생성된 superoxide는 계속 환원되어 H₂O를 생성한다. 이때 superoxide는 생체의 산화적 장애를 초래한다. 이러한 산화적 free radical을 소거·분해하는 항산화 물질의 검색 전단계로 전자공여 작용이 적용되고 있다.

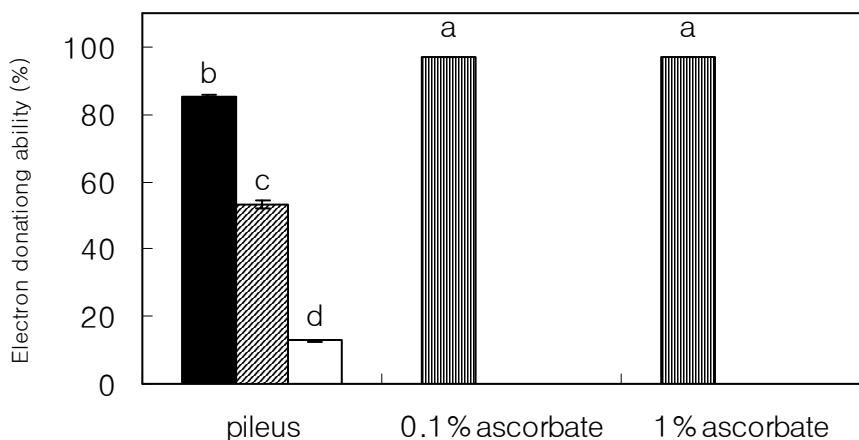


Fig. 11. Electron donating ability(EDA) of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for pileus and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 25 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

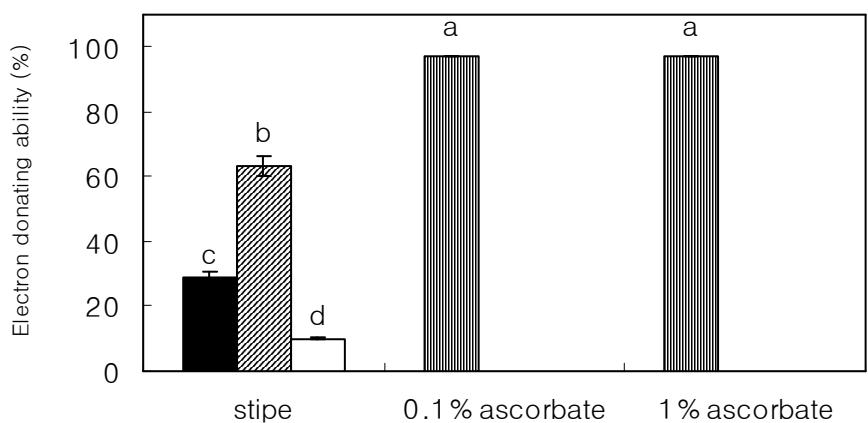


Fig. 12. Electron donating ability(EDA) of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for stipe and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 25 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

나) 50 mL/g 추출 처리구

Fig. 13과 14는 새 송이버섯의 갓(pileus)과 대(stipe)에 대하여 열풍건조 시료 g당 50mL의 추출용매에 따른 전자공여작용을 나타낸 것이다. 갓의 전자공여작용은 EtOH 농도에 따라 각각 77.54, 38.22, 15.74%로 나타났으며, 시료 대 용매비 25 mL 처리구와 동일하게 EtOH 농도에 따라 유의적으로 감소하는 경향을 보였으며, 각 추출물의 활성도 비슷한 값을 나타내었다. 특히 용매 비 25 mL 처리구에서 가장 높은 활성을 가진 물 추출물과 비교 시 50 mL 처리구의 물 추출물은 약 8% 정도 낮은 공여능력을 보였다. 대의 전자공여작용은 EtOH 농도에 따라 각각 33.42, 56.99, 10.88%로 25 mL 처리구에서 갓의 추출물처럼 유의적으로 값이 감소하지 않아 용매에 따른 영향은 볼 수 없었으나, 대의 추출물에서 나타난 활성과 큰 차이 없이 비슷한 값을 나타내었다. 50 mL 처리구 역시 25 mL 처리구에서처럼 갓의 활성이 더 높은 것으로 보아 항산화효과를 나타내는 phenol성 물질이 많이 함유되어 있을 것으로 예상된다.

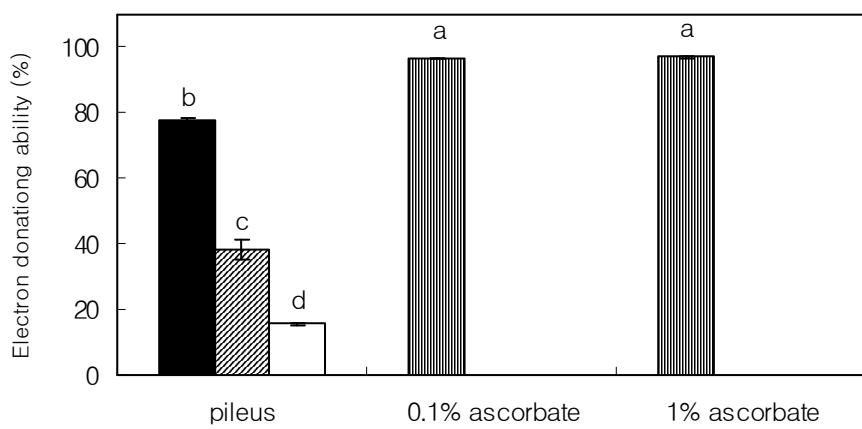


Fig. 13. Electron donating ability(EDA) of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for pileus and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 50 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

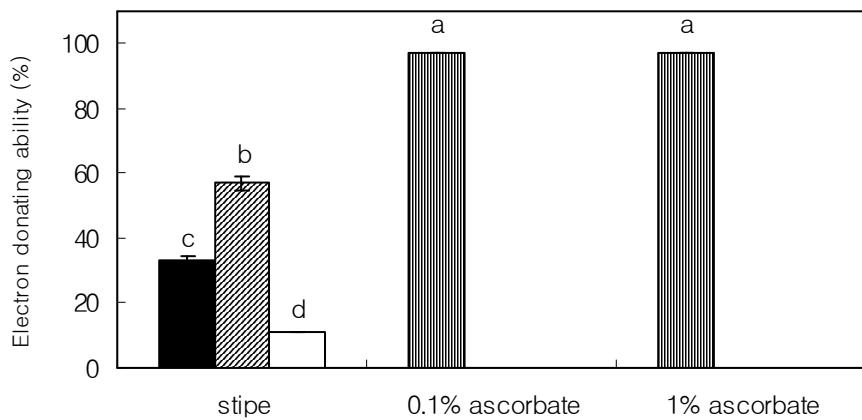


Fig. 14. Electron donating ability(EDA) of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for stipe and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 50 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

다) 100 mL/g 추출 처리구

Fig. 15와 16은 새송이버섯의 갓(pileus)과 대(stipe)에 대하여 열풍건조 시료 g당 100mL의 추출용매에 따른 전자공여작용을 나타낸 것이다. 갓의 전자공여작용은 EtOH 농도에 따라 각각 75.81, 68.71, 19.30%로 나타났으며, 시료 대 용매비 25 mL 및 50 mL 처리구와 동일하게 EtOH 농도에 따라 유의적으로 감소하는 경향을 보였으나, 물 추출물을 제외하곤 50%, 100% EtOH 추출물의 활성과 비교 시 각각 30.49, 3.56% 증가하였다. 대의 전자공여작용은 EtOH 농도에 따라 각각 45.25, 67.07, 12.06%로 25 mL 및 50 mL 처리구에서 갓의 추출물처럼 유의적으로 값이 감소하지 않아 용매에 따른 영향은 볼 수 없었으나, 모든 추출물의 활성이 높게 나타났다. 갓의 경우 25 mL, 50 mL 및 100 mL 추출구에서 가장 높은 활성을 보인 물 추출물의 경우 시료 대 용매비가 증가할수록 활성이 유의적으로 감소하는 것으로 나타났으나, 대의 경우 가장 높은 활성을 나타낸 50% EtOH 추출물의 경우 오히려 시료 대 용매비가 증가할수록 활성이 증가하는 경향을 보여주었다. 100 mL 처리구 역시 25 mL 및 50 mL 처리구에서 처럼 갓의 활성이 더 높은 것으로 보아 항산화효과를 나타내는 phenol성 물질이 많이 함유되어 있을 것으로 예상된다.

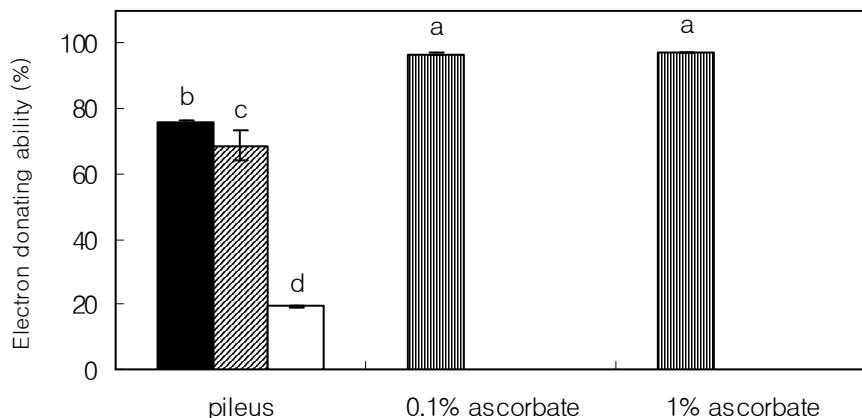


Fig. 15. Electron donating ability(EDA) of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for pileus and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 100 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

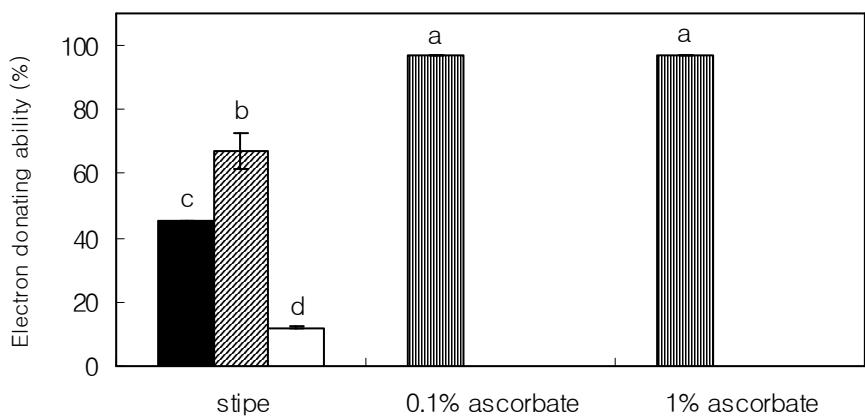


Fig. 16. Electron donating ability(EDA) of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for stipe and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 100 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

2) Superoxide dismutase(SOD)-like activity(%)

가) 25 mL/g 추출 처리구

superoxide anion의 저해물질로는 생체 내 SOD라는 효소가 있지만, 이의 일종으로 SOD와 작용기작은 다르지만 인체 내에서의 역할이 유사한 물질들을 통상적으로 SOD유사 활성 물질이라 부른다. 일반적으로 과실, 채소류에는 비타민 C가 다른 식품소재에 비해 풍부하게 함유되어 있으며 비타민 C는 그 자체가 높은 SOD 유사활성을 나타내는 것으로 보고되고 있다.

시료 g당 25mL의 용매로 추출했을 때 에탄올 농도 및 새송이버섯의 갓(pileus)과 대(stipe)에 따른 SOD 유사활성을 Fig. 17, 18에 나타내었다. Fig. 17에서 보는 바와 같이, 갓의 경우 물 추출물에서는 52.91%로 높은 활성을 보인 반면, 50% 및 100% EtOH 추출물에서는 각각 21.09, 26.25%의 활성을 보여주었다. 이에 반해 0.1% 및 1% L-ascorbic acid의 경우, 각각 93.70, 102.19%로 매우 큰 활성이 나타나, 보고 된 바와 같이 그 자체가 높은 SOD 유사활성을 나타내었다. 대의 경우 갓과는 달리 물 추출물과 50% EtOH 추출물에서는 활성이 거의 없었으며, 100% EtOH 추출물에서 12.53% 의 활성을 나타내었다(Fig. 8). 결과적으로 EDA에서와 유사하게 새송이버섯 갓의 물 추출물에서만 superoxide 유사활성에 대하여 superoxide의 반응성을 억제하고 superoxide로 인한 산화적 장해를 방해하여 노화억제

의 효과를 기대할 수 있을 것으로 생각되었다.

SOD 정제 시 열안정이 뛰어나고 SOD와 유사한 활성을 나타내는 물질을 함께 정제하여 이를 SOD와 결합된 phenol류 물질인 것으로 보고한 바 있다. SOD 유사활성 물질은 효소가 아니지만 SOD와 유사한 역할을 하는 저분자 물질로 주로 phytochemical에 속하며 superoxide의 반응성을 억제하여 superoxide로부터 생체를 보호한다. 따라서 SOD유사활성 물질의 섭취로 인해 인체 내의 superoxide를 제거함으로써 산화적 장애를 방어하고 노화억제의 효과를 기대할 수 있다.

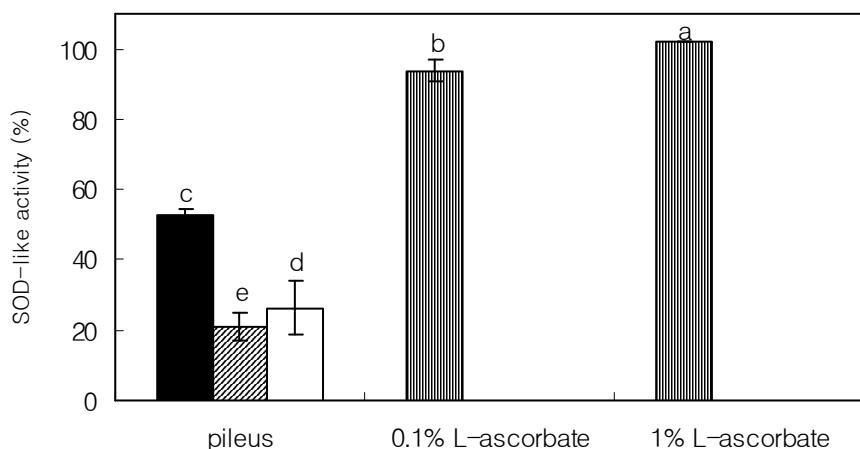


Fig. 17. Superoxide dismutase(SOD)-like activity of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for pileus and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 25 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

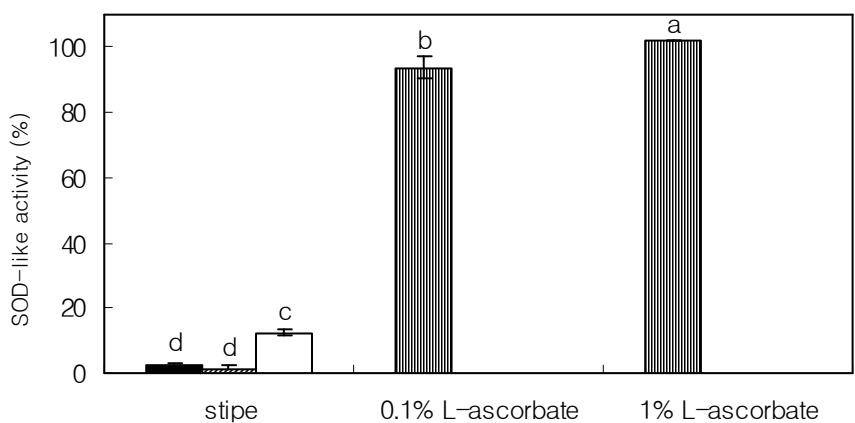


Fig. 18. Superoxide dismutase(SOD)-like activity of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for stipe and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 25 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

나) 50 mL/g 추출 처리구

시료 g당 50mL의 용매로 추출했을 때 에탄올 농도 및 새송이버섯의 갓(pileus)과 대(stipe)에 따른 SOD 유사활성을 Fig. 19, 20에 나타내었다. Fig. 19에서 보는 바와 같이, 갓의 경우 물 추출물에서 25 mL 처리구와 비슷하게 50.79%의 높은 활성을 보인반면, EtOH 50% 및 100% 추출물에서는 각각 18.06, 6.64%로 EtOH 농도에 따라 유의적으로 활성이 감소하는 것을 알 수 있었다. 대의 경우 물 추출물 및 50% EtOH 추출물에서 각각 5.54, 0.74%로 25 mL 추출구와 유사하게 미약한 활성을 보였으나, 100% EtOH 추출물에서는 25 mL EtOH 추출물보다 약 16% 정도 높은 활성을 나타내었다. (Fig. 20). 역시 비교물질로 사용된 0.1% L-ascorbic acid에 비해 낮은 활성을 나타내었으나, 25 mL 추출구와 마찬가지로 대보다는 갓의 물 추출물의 활성이 높음을 알 수 있었다.

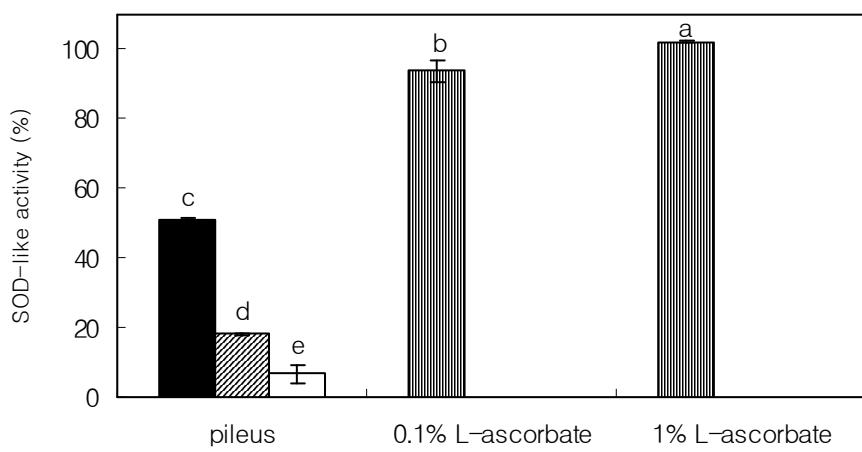


Fig. 19. Superoxide dismutase(SOD)-like activity of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for pileus and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 50 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

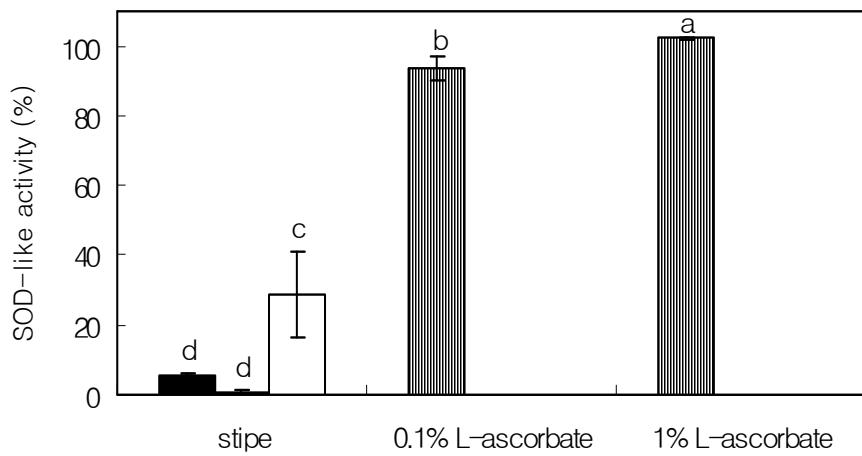


Fig. 20. Superoxide dismutase(SOD)-like activity of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for stipe and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 50 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

다) 100 mL/g 추출 처리구

시료 g당 100mL의 용매로 추출했을 때 에탄올 농도 및 새송이버섯의 갓(pileus)과 대(stipe)에 따른 SOD 유사활성을 Fig. 21, 22에 나타내었다. Fig. 21에서 보는 바와 같이, 갓의 경우 물 추출물과 50% EtOH 추출물에서 각각 25 mL 및 50 mL 처리구보다 높은 53.74, 34.99%의 활성을 보인반면, EtOH 100% 추출물에서는 18.05%로 낮은 활성을 보였으며, 50 mL 처리구와 유사하게 EtOH 농도에 따라 유의적으로 활성이 감소하는 것을 알 수 있었다. 갓의 경우도 대의 경우와 마찬가지로 물 추출물과 50% EtOH 추출물이 각각 9.76, 2.95%의 활성을 보여 25 mL 및 50 mL 처리구에 비해 비교적 높은 활성을 나타내었다. 역시 100% EtOH 추출물의 경우 갓에서와 같이 9.72%로 다른 처리구에 비해 낮은 활성을 보였다(Fig. 22).

본 실험에 사용된 송이버섯의 용매비 25 mL, 50 mL 및 100mL 처리구에서 갓의 물 추출물이 SOD 유사활성이 우수하게 나타났으며, EtOH 추출보다 물 추출 시 항산화 물질이 더 많이 추출되었으므로 superoxide anion에 대한 저해 가능성을 판단할 수 있었다. 이는 여러 가지 식물체를 대상으로 SOD유사활성을 측정한 보고에서 에탄올 추출보다 열수추출물이 효과가 크다는 결과와 유사하였으나, 전자공여작용에서와 마찬가지로 시료에 대한 용매비 역시 활성에 크게 영향을 미치지 못하였다. 따라서 pyrogallol의 산화를 저해하는데 관여하는 물질은 식물체에 따라 추출양상이나 항산화 활성이 다르며, 특정물질이 생체의 산화반응 또는 radical 반응 전반에 걸쳐 반응성을 억제하지는 못한다고 판단되므로 활성 산소의 종류나 radical source 및 반응기작에 따라 반응성을 억제할 수 있는 항산화 물질의 연구가 필요하다고 생각된다.

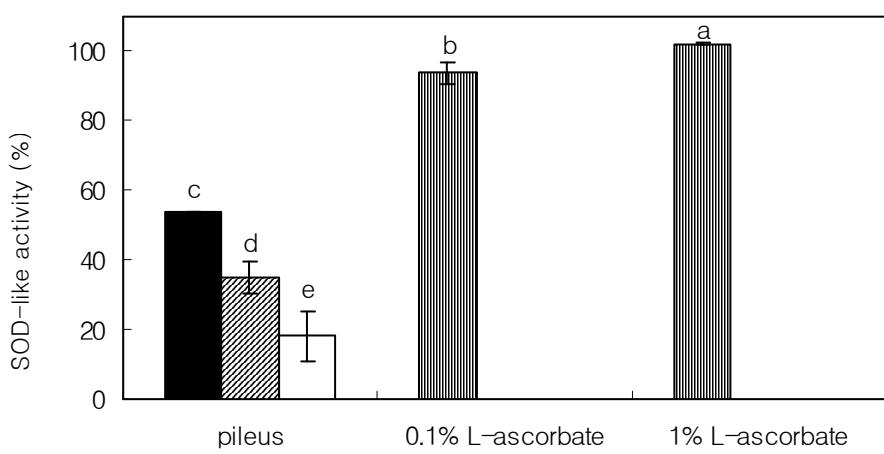


Fig. 21. Superoxide dismutase(SOD)-like activity of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for pileus and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 100 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

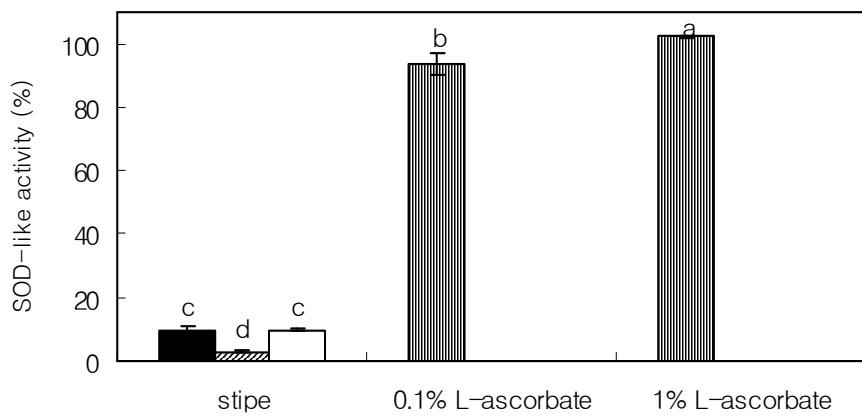


Fig. 22. Superoxide dismutase(SOD)-like activity of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for stipe and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 100 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

3) Tyrosinase inhibitory effect(%)

가) 25 mL/g 추출 처리구

Tyrosinase(Dihydroxy-L-phenylalanine oxygen oxidoreductase, EC 1.14.18.1)는 넓은 범위의 phenol화합물을 기질로 이용하여 효소적 갈변화를 일으키는 효소로 페놀성 물질들이 가공이나 저장 중에 갈변화하는 원인이 된다. 이를 저해함으로써 식품의 색깔뿐만 아니라 향미 및 영양가 등에 직·간접적으로 영향을 준다. Tyrosinase의 저해제로는 인체의 hyperpigmentation 치료에 이용되는 4-hydroxyanisole, hydroquinone, 4-hexyresorcinol tropolone, cinnamic acid, benzoic acid, kojic acid 등이 보고되고 있으나, 안전성, 경제성 등에 문제가 있다. 따라서 천연 식품소재에 함유된 항산화 활성 물질을 포함한 기능성 물질을 규명하려는 연구가 활발히 진행되고 있는데 특히 차 잎에서 추출된 페놀화합물 성분이 PPO(Polyphenol oxidase)효소활성을 저해하며 무화과의 향기성분 resorcinol은 tyrosinase의 저해제로 잘 알려져 있다.

Fig. 23과 24는 새송이버섯의 갓(pileus)과 대(stipe)를 물 추출물, 50% 및 100% EtOH 추출물로 처리하여 tyrosinase의 catechol에 대한 산화 갈변화 억제 효과를 측정한 결과이다. 시료 g당 25 mL의 용매로 추출했을 때 갓의 EtOH 농도에 따른 저해활성이 각각 27.92, 18.69, 16.02%로 유의적으로 감소하는 경향을 보여주었다. 대의 경우도 갓 추출물과 비슷하게 EtOH 농도에 따른 활성이 각각 58.56, 17.10, 12.14%로 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 앞서 실험한 EDA 및 SOD-like activity에서 대보다 갓의 활성이 높았던 반면, tyrosinase 저해활성에서는 오히려 대의 물 추출물이 갓의 물 추출물보다 30.64% 높은 활성을 나타내었고, 비교물질로 사용된 0.1% 및 1% L-ascorbic acid의 경우 각각 32.91, 99.76%의 활성을 보여 1% L-ascorbic acid의 활성에는 미치지 못하나 0.1% L-ascorbic acid 보다 약 26% 우수한 저해활성을 보여주었다.

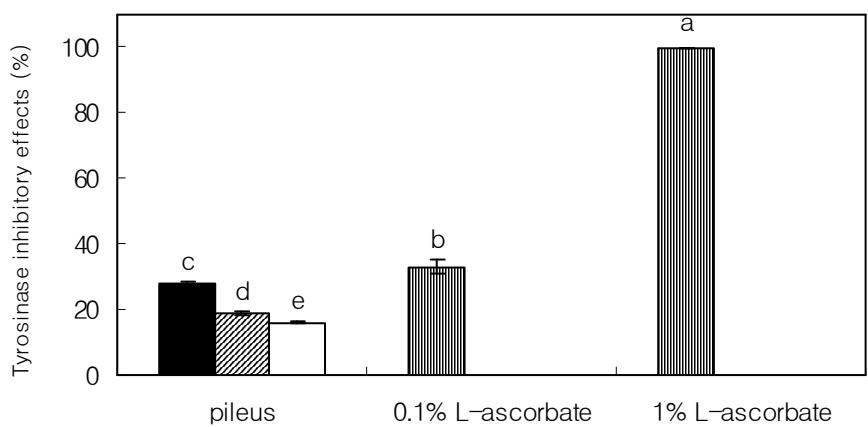


Fig. 23. Tyrosinase inhibitory effects of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for pileus and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 25 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

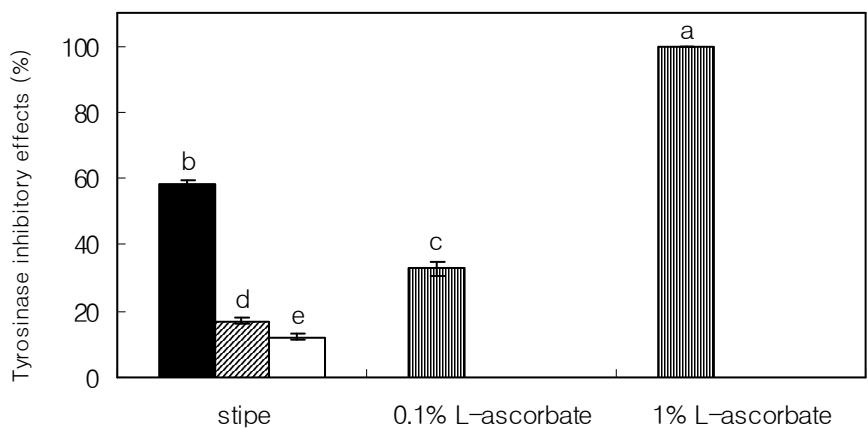


Fig. 24. Tyrosinase inhibitory effects of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for stipe and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 25 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

나) 50 mL/g 추출 처리구

Fig. 25와 26은 시료 g당 용매비 50mL로 추출한 새송이버섯의 갓(pileus)과 대(stipe)에 있어서 tyrosinase의 catechol에 대한 산화 갈변화 억제 효과를 측정한 결과이다. 갓의 EtOH 농도에 따른 저해활성을 살펴본 결과 각각 26.54, 17.33, 14.81%로 25 mL 처리구와 유사한 저해활성을 나타내었으며, 유의적으로 값이 감소하였다. 비교물질인 0.1% L-ascorbic acid와 물 추출물과도 큰 차이를 보이지 않았다. 대의 EtOH 농도에 따른 저해 활성을 측정한 결과 각각 44.50, 16.03, 12.87%의 값을 나타내 유의적으로 감소하는 경향을 보였다. 역시 25 mL 처리구와 비교 시 유의적으로 값이 감소하였으며, 저해활성도 큰 차이를 보이지 않았고 비교물질인 1% L-ascorbic acid와는 미치지 못하였으나 0.1% L-ascorbic acid보다 활성이 우수한 것으로 나타났다. 앞서 실험한 EDA 및 SOD-like activity와 달리 25 mL 처리구와 마찬가지로 갓보다 대의 물 추출물이 높은 값을 보여 유사한 추출특성을 보였다.

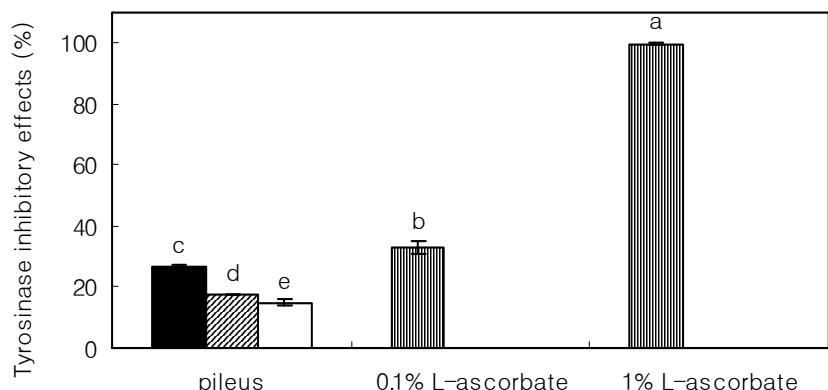


Fig. 25. Tyrosinase inhibitory effects of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for pileus and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 50 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

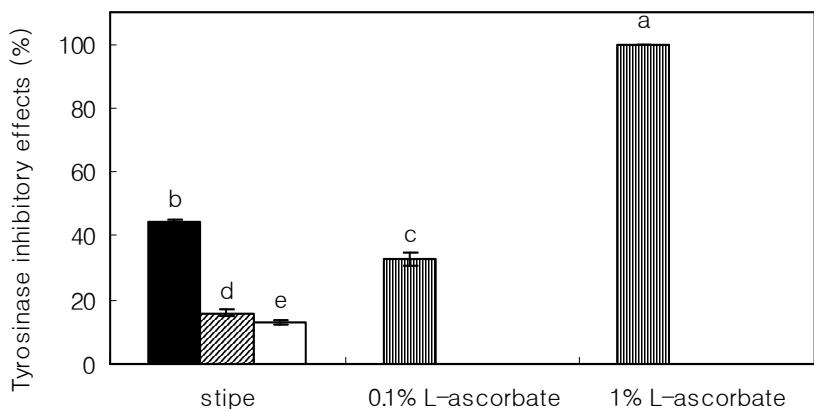


Fig. 26. Tyrosinase inhibitory effects of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for stipe and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 50 mL of ethyl alcohol.) Values represent mean±S.D. of 3 replications.
P-values was determined by F-test.

다) 100 mL/g 추출 처리구

Fig. 27, 28은 시료 g당 용매 비 100mL로 추출한 새송이버섯의 갓(pileus)과 대(stipe)를 tyrosinase의 catechol에 대한 산화 갈변화 억제 효과를 측정한 결과이다. 갓의 EtOH 농도에 따른 저해활성을 살펴본 결과 각각 27.46, 14.87, 17.20%로 25 mL 및 50 mL 처리구와는 다르게 유의적으로 저해활성이 감소하지 않았으며, 비교물질인 0.1% L-ascorbic acid와 물 추출물과도 큰 차이를 보이지 않았다. 대의 EtOH 농도에 따른 저해활성을 측정한 결과 각각 37.79, 17.79, 12.37%의 값을 나타내 25 mL 및 50 mL 처리구와 비슷하게 유의적으로 감소하는 경향을 보였으며, 비교물질인 1% L-ascorbic acid에는 미치지 못하였으나 0.1% L-ascorbic acid보다 활성이 우수한 것으로 나타났다. 100 mL 처리구에서도 앞서 실험한 EDA 및 SOD-like activity와 달리 25 mL 및 50 mL 처리구와 마찬가지로 갓보다 대의 물 추출물이 높은 값을 보여 유사한 추출특성을 보였다.

Tyrosinase의 저해제로는 인체의 hyperpigmentation 치료에 이용되는 4-hydroxyanisole, hydroquinone, 4-hexyresorcinol tropolone, cinnamic acid, benzoic acid, kojic acid 등이 보고되고 있으나, 안전성, 경제성 등에 문제가 있다.

따라서 천연 식품소재에 함유된 항산화 활성 물질을 포함한 기능성 물질을 규명하려는 연구가 활발히 진행되고 있는데 특히 차 잎에서 추출된 폐놀화합물 성분인 PPO(Polyphenol oxidase)효소활성을 저해하며 무화과의 향기성분 resorcinol은 tyrosinase의 저해제로 잘 알려져 있다.

이번 연구결과를 토대로 새송이버섯의 다각적인 연구와 추출특성을 탐색하여 새로운 천연 저해제 중 하나로 개발할 수 있도록 더 많은 연구가 이루어 져야 할 것이다.

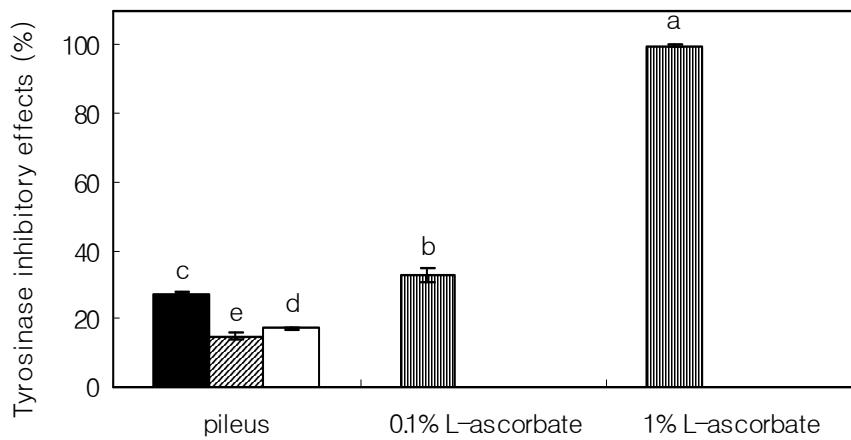


Fig. 27. Tyrosinase inhibitory effects of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for pileus and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 100 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

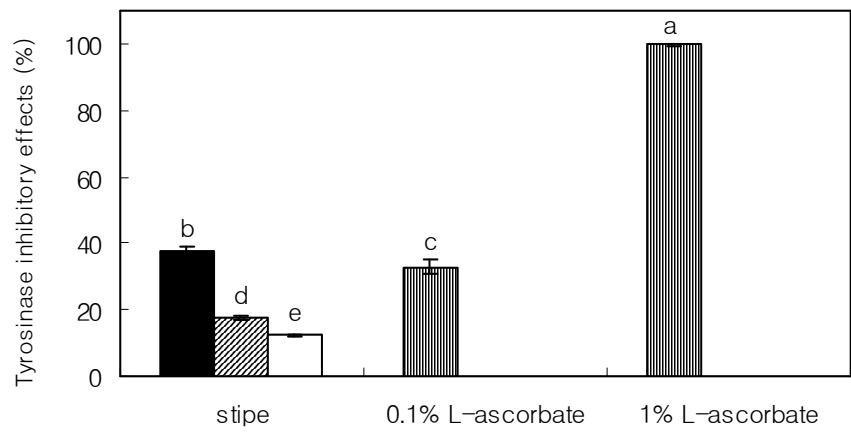


Fig. 28. Tyrosinase inhibitory effects of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for stipe and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 100 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

4) Angiotensin converting enzyme inhibition(ACE) activity(%)

가) 25 mL/g 추출 처리구

고혈압은 발생기작에서 renin-angiotensin system이 혈압 조절에 매우 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 특히 angiotensin converting enzyme(ACE)는 renin에 의하여 생성된 decapeptide인 angiotensin I 으로부터 C-말단의 dipeptide를 가수분해시킴으로서 강력한 혈관수축작용을 갖는 octapeptide인 angiotensin II를 합성하는 단계에 관여하는 효소이다. 생성된 angiotensin II는 강력한 혈관수축작용을 가지며, ACE는 또한 혈관이완작용을 가진 nonapeptide인 bradykinin을 불활성화시킴으로서 결과적으로 혈압을 상승시키는 작용을 가진다. Angiotensin II가 증가되면 catecholamine 값이 증가되고, 혈관이 수축되며 항 이뇨호르몬인 aldosterone의 분비가 촉진된다. 이에 따라 Na^+ 및 수분배설이 억제되어 순환혈액량이 증가되어 혈압상승을 일으킨다. 따라서 ACE 작용억제는 혈관수축을 막고 체내 수분저류를 막아 혈압을 낮추는 효과를 나타낸다.

새송이버섯의 갓(pileus)과 대(stipe)에 대하여 시료 g당 25mL의 추출용매에 따른 angiotensin I-converting enzyme 저해작용을 측정한 결과는 Fig. 29와 같다. 갓의 EtOH 농도별 저해활성은 각각 81.75, 80.99, 20.81%로 유의적으로 감소하는 값을 나타냈으며, 그 종물 추출물의 활성이 가장 우수한 것으로 나타났다. 대의 EtOH 농도별 저해활성은 각각 42.74, 35.67, 7.80%로 역시 갓과 동일하게 유의적으로 값이 감소하는 경향을 나타냈으나, 갓 추출물보다 낮은 활성을 보였다. 앞서 실험한 EDA, SOD-like activity 및 tyrosinase 저해활성과 유사한 갓의 물 추출물이 높은 저해활성을 보여주어 angiotensin I -converting enzyme 저해작용에 관여하는 새송이버섯의 기능성 물질은 고농도의 EtOH 농도에 의해서라기보다 물 추출물에서 더 많이 추출되는 것으로 생각된다.

현재까지 Captopril(2-D-mercaptopropanoyl-L-proline), Enalapril과 같은 화학합성 ACE 저해제가 널리 상용되고 있지만, 높은 역가에 비해 미각이상, 백혈구 감소 등 부작용이 많아 안전성 측면에서 가치가 더 높은 천연물질에 대한 탐색과 개발에 대한 더 많은 연구가 필요하다.

단백질 유래 peptide 물질은 혈압강하의 효과가 있는 것으로 많이 보고되고 있으며, 그 밖에 flavonoids, 탄닌류, 해조류, 장류 등에서 그 효과를 시험한 바 있다. Zuhair 등은 본태성 고혈압 쥐(spontaneously hypertensive rat)에 호박씨 투여 시 혈압강하 효과를 보고한 바 있다. Matsubara 등도 귤 과피에서 분리한 플라보노이드에 대하여 천연 ACE 저해제로서의 가능성을 제시하고 있는데 새송이버섯 역시 ACE 저해제로써의 연구가 더 많이 행해져야 하겠다.

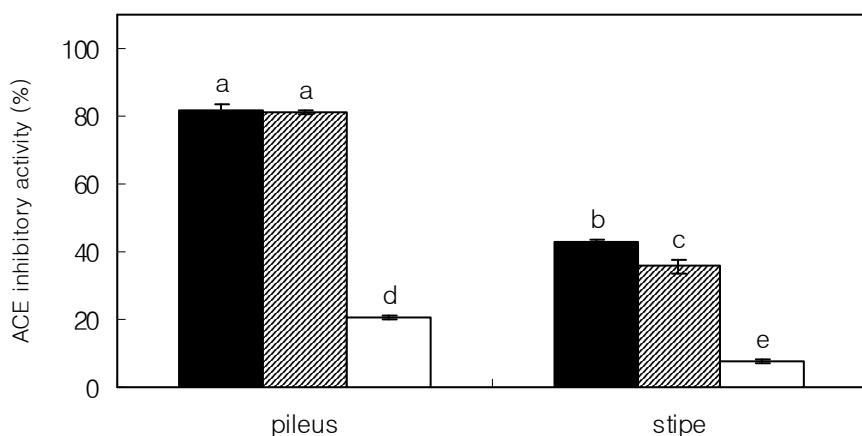


Fig. 29. Angiotensin converting enzyme(ACE) inhibition effects of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for pileus, stipe and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 25 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

나) 50 mL/g 추출 처리구

새송이버섯의 갓(pileus)과 대(stipe)에 대하여 시료 g당 50mL의 추출용매에 따른 angiotensin I-converting enzyme 저해작용을 측정한 결과는 Fig. 30과 같다. 갓의 EtOH 농도별 저해활성은 각각 70.44, 94.59, 24.92%로 25 mL 처리구에 비해 유의적인 감소는 나타나지 않았다. 25 mL 처리구와 비교 시 높은 활성을 보인 물 추출물보다 50% EtOH 추출물이 12.84% 더 높은 값을 가졌으며, 50 mL 처리구에서는 물 추출물보다 50% EtOH 추출물에서 기능성 물질이 더 많이 추출되는 것으로 생각된다. 앞서 실험한 EDA, SOD-like activity 및 tyrosinase의 활성보다 매우 우수한 저해활성을 가지는 것으로 생각된다. 대의 EtOH 농도별 저해활성은 각각 45.53, 66.59, 18.51%로 역시 25 mL 처리구와는 다르게 유의적으로 감소하지 않았다. 대 추출물도 갓 추출물처럼 50% EtOH 추출물에서 활성이 높게 나타났으며, 25 mL 처리구에서 높은 활성을 보인 물 추출물보다 50% EtOH 추출물이 약 31% 정도 높은 활성을 보여주었다.

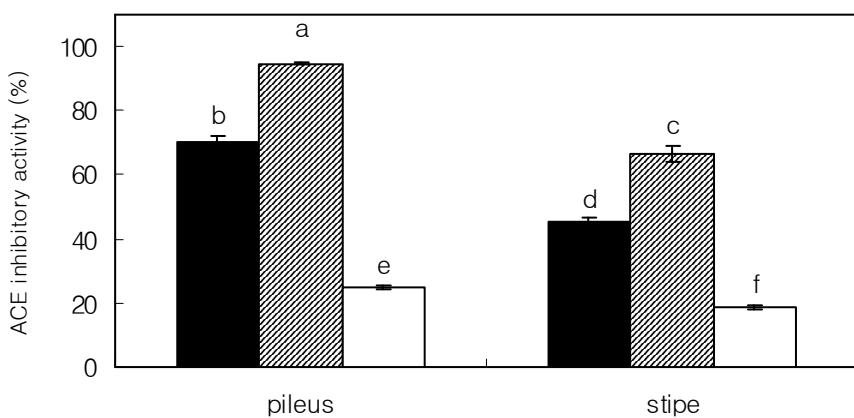


Fig. 30. Angiotensin converting enzyme(ACE) inhibition effects of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for pileus, stipe and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 50 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

다) 100 mL 추출 처리구

새송이버섯의 갓(pileus)과 대(stipe)에 대하여 시료 g당 100mL의 추출용매에 따른 angiotensin I-converting enzyme 저해작용을 측정한 결과는 Fig. 31과 같다. 갓의 EtOH 농도별 저해활성은 각각 86.92, 85.58, 21.92%로 25 mL 처리구와 유사하게 저해활성이 유의적으로 감소하였다. 대의 EtOH 농도별 저해활성은 각각 46.99, 63.75, 17.56%로 유의적인 감소는 나타나지 않았으나, 50 mL 처리구와 비슷한 값을 보였다.

천연 ACE 저해제로서는 1960년대 말 *Bothrops jararaca* 독사의 독에서 BPFs가 발견되었고 BPFs 중 nonapeptide인 SQ20881이 Engel 등에 의해서 우수한 ACE 저해제로 제시되었다. 식품관련 분야에서는 우유, 대두, 옥수수, 정어리, 참치 등의 단백질 가수 분해물, 돼지 혈장에서 분리된 peptide 등의 주로 C 말단에 proline을 가지는 peptide류, 감귤 및 과실류의 flavonoid 배당체류, 차성분의 카테킨류, tannin류 등이 있다. 이들 성분은 천연물이라는 측면에서 안전성이 높지만 ACE 저해에 대한 역가가 Captopril보다 최소한 20배 이상 낮아 우수한 ACE 저해능을 가지는 천연물질에 대한 탐색과 개발에 대한 연구가 필요하다.

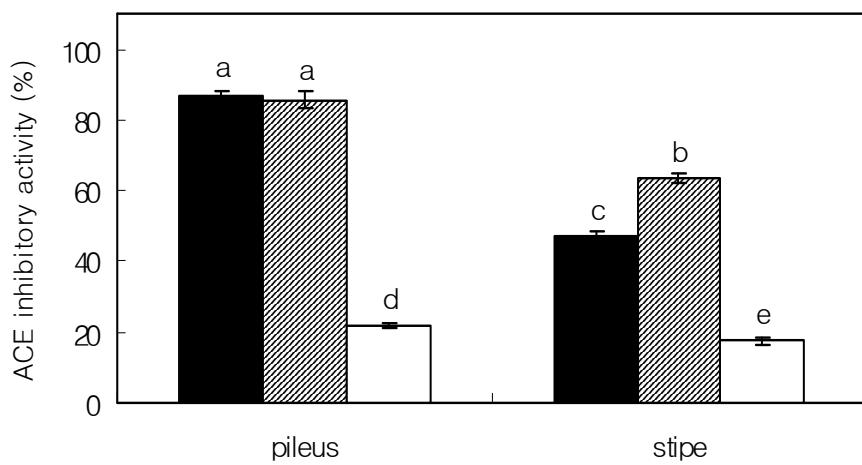


Fig. 31. Angiotensin converting enzyme(ACE) inhibition effects of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for pileus, stipe and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 100 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

5) Total polyphenol contents(mg%)

가) 25 mL 추출 처리구

새송이버섯의 갓(pileus)과 대(stipe)에 대하여 시료 g당 25 mL의 용매로 추출하였을 때 catechin을 기준물질로 하여 total polyphenol 함량을 fig. 32와 같이 나타내었다. 갓의 EtOH 농도가 0, 50, 100% 일 때 추출된 polyphenol 함량은 각각 188.24, 96.34, 16.48 mg%로 물 추출물의 polyphenol 함량이 가장 높게 측정되었으며, 유의적으로 감소하는 값을 나타내었다. 대의 EtOH 농도별 0, 50, 100% 일 때 추출된 polyphenol 함량은 각각 101.83, 42.0, 13.60 mg%로 갓 추출물과 유사하게 EtOH 농도가 증가될수록 함량은 유의적으로 감소하는 것으로 조사되었다. 갓과 대 모두 물 추출물이 EtOH 추출물보다 높은 polyphenol 함량을 보였으므로 물 추출물일 때 더 많이 추출되며, 대보다는 갓의 polyphenol 함량이 우수한 것으로 생각된다.

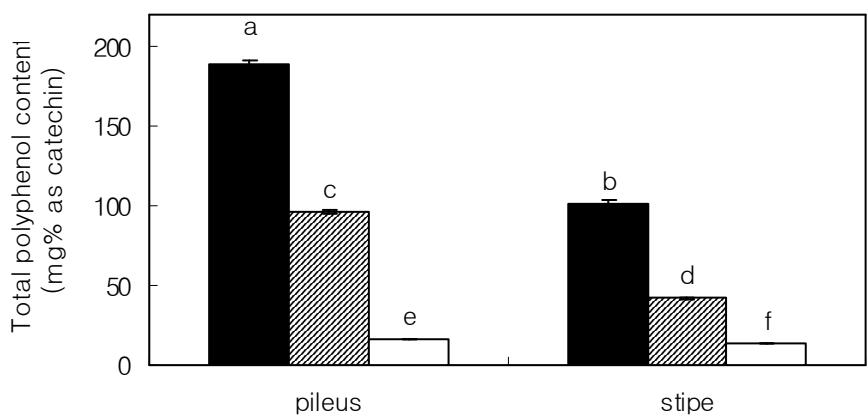


Fig. 32. Total polyphenol contents of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for pileus, stipe and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 25 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

나) 50 mL/g 추출 처리구

새송이버섯의 갓(pileus)과 대(stipe)에 대하여 시료 g당 50 mL의 용매로 추출하였을 때 catechin을 기준물질로 하여 total polyphenol 함량을 Fig. 33과 같이 나타내었다. 갓의 EtOH 농도가 0, 50, 100% 일 때 추출된 polyphenol 함량은 각각 199.52, 98.04, 19.37 mg%로 물 추출물의 polyphenol 함량이 가장 높게 측정되었으며, 유의적으로 감소하는 값을 나타내었다. 25 mL 처리구와 비교 시 높은 함량을 보인 물 추출물보다 50 mL 처리구에서 11.28 mg% 더 많은 함량을 나타내었으며, 모든 추출물이 25 mL 처리구보다 높은 함량을 보여 용매비가 증가될수록 polyphenol 함량이 더 많이 나오는 것으로 생각되었다. 대의 EtOH 농도별 0, 50, 100% 일 때 추출된 polyphenol 함량은 각각 111.27, 45.80, 13.75 mg%로 갓 추출물과 유사하게 EtOH 농도가 증가될수록 함량은 유의적으로 감소하는 것으로 조사되었으며, 25 mL 처리구와 비교 시 모든 추출물에서 polyphenol 함량이 더 많은 것으로 조사되었다. 갓과 대 모두 물 추출물이 EtOH 추출물보다 높은 polyphenol 함량을 보였으므로 물 추출물일 때 더 많이 추출되며, 대보다는 갓의 polyphenol 함량이 우수한 것으로 생각된다.

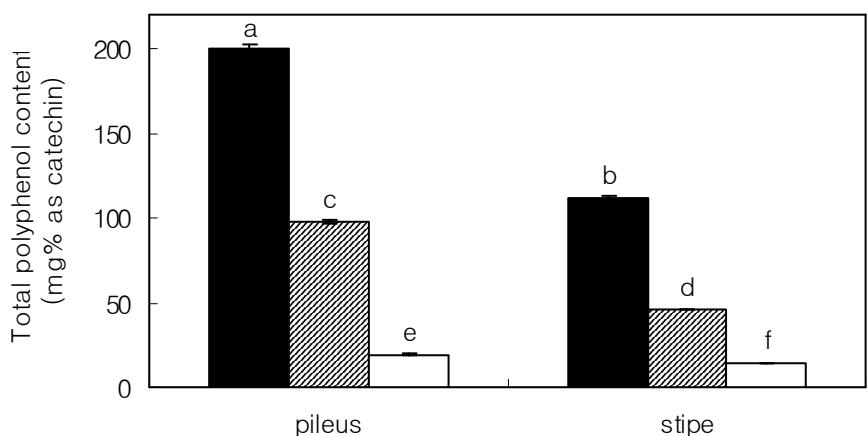


Fig. 33. Total polyphenol contents of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for pileus, stipe and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 50 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

다) 100 mL/g 추출 처리구

새송이버섯의 갓(pileus)과 대(stipe)에 대하여 시료 g당 100 mL의 용매로 추출하였을 때 catechin을 기준물질로 하여 total polyphenol 함량을 Fig. 34와 같이 나타내었다. 갓의 EtOH 농도가 0, 50, 100% 일 때 추출된 polyphenol 함량은 각각 218.72, 101.83, 23.25 mg%로 물 추출물의 polyphenol 함량이 가장 높게 측정되었으며, 유의적으로 감소하는 값을 나타내었다. 이는 25 mL 및 50 mL 처리구와 비교하였을 때 모든 추출물의 polyphenol 함량이 더 높았으며, 특히 가장 많은 함량을 보인 물 추출물의 경우 25 mL 및 50 mL 처리구보다 각각 30.48, 19.20 mg% 더 높은 함량을 보여주었다. 대의 EtOH 농도별 0, 50, 100% 일 때 추출된 polyphenol 함량은 각각 111.27, 45.80, 13.75 mg%로 갓 추출물과 유사하게 EtOH 농도가 증가될수록 함량은 유의적으로 감소하는 것으로 조사되었으며, 25 mL 및 50 mL 처리구와 비교 시 모든 추출물에서 polyphenol 함량이 더 많은 것으로 조사되었다. 갓과 대 모두 물 추출물이 EtOH 추출물보다 높은 polyphenol 함량을 보였으므로 물 추출물일 때 더 많이 추출되며, 대보다는 갓의 polyphenol 함량이 우수한 것으로 생각된다.

이는 복분자 딸기의 antocyanin 색소를 활성탄에 의해 제거한 것이 제거하지 않은 경우보다 SOD유사활성이 낮게 나온 것처럼 색소성분이 항산화성과 관련하여 여러 가지 기능적

역할을 하는 것으로 판단된다. 이에 뒷받침하여 품종별 고구마 에탄올 추출물의 항산화 정도를 비교하였을 때 유색 고구마인 자색 고구마와 황색고구마가 다른 품종에 비하여 항산화성이 높은 것으로 보고된바 있다. 따라서 새송이버섯 갓에서 생리적 기능이 우수한 결과로 볼 때 높은 함량의 polyphenol 물질 및 radical scavenger 역할을 하는 항산화제로서의 가능성을 판단할 수 있으므로 천연 식품소재에 함유된 항산화 활성물질을 포함한 기능성물질을 규명할 필요가 있을 것이다.

Phenolic compound는 일반적으로 식물체에서 발견되는데, 이들은 항산화 활성을 포함한 다양한 생리적 효과를 가지는 것으로 보고되어 왔다. Phenolic 함량이 풍부한 과일, herb, 채소류, 곡류 등과 같은 식물체의 추출물에 대해 식품산업에서의 관심이 증대하고 있는데, 지질의 산화적 분해를 자연시켜 식품의 품질 및 영양가를 향상시키기 때문이다. 항산화성 물질의 근원은 채소, 과일, 일, oilseed, 곡류, 나무껍질 및 뿌리, spice류, herb 등과 같은 식물의 여러 형태에서 찾을 수 있다. Phenolic acid, stilbenes, tannins, lignans, lignin 등과 같은 flavonoids와 식물유래 phenol들은 특히 일과 꽃잎 조직, 줄기나 껍질과 같은 나무 부분에 일반적으로 존재한다. 이들은 식물체에서 성장발달과 해충과 상처에 대한 방어 역할로 중요하며 flavonoids는 부분적으로 꽃, 열매와 일에 색을 제공한다. Phenolic 성분들의 항산화적 활성은 주로 산화환원 특성에 의한 것으로 그 자체가 reducing agent, hydrogen donator, singlet oxygen quencher의 역할을 하며 금속이온에 대해 chelation potential을 가지고 있다. Caffeic, chlorogenic, ferulic, sinapic, ρ -coumaric acid 등의 phenolic acid들은 ρ -hydroxybenzoic, vanillic and syringic acid 등과 같은 benzoic acid의 hydroxy 유도체보다도 항산화활성이 더 높은 것으로 알려져 있다. 또한 α -tocopherol은 in vitro 상에서 chain-breaking antioxidant로 가장 우수한 활성을 보이며, carotenoids 역시 산화적 손상에 대한 보호역할을 가지고 있으며, singlet oxygen은 β -carotene에 의해 매우 강하게 억제되는 것으로 알려져 있다.

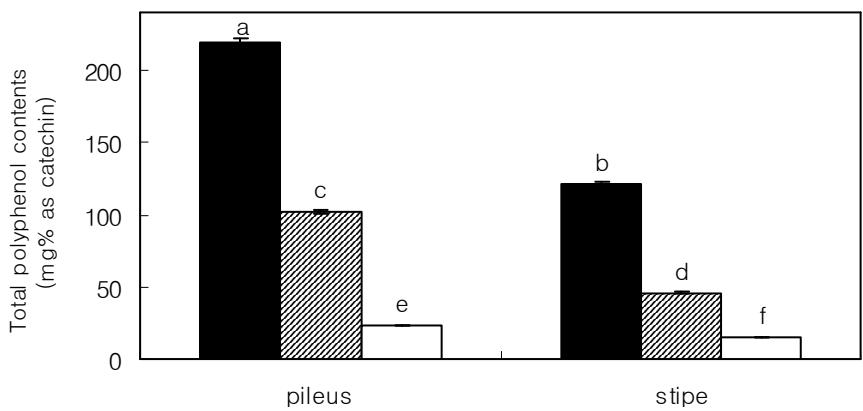


Fig. 34. Total polyphenol contents of hot-air dried *Pleurotus eryngii* for pileus, stipe and extraction solvents. (■ : water, ▨ : 50% EtOH, □ : 100% EtOH. Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 100 mL of ethyl alcohol.)

Values represent mean±S.D. of 3 replications.

P-values was determined by F-test.

6) Nitrite scavenging ability(%)

질산염은 식물체내, 소화관 및 식품의 저장 과정에서 질산 환원효소, 환원세균 등의 작용에 의해 아질산염으로 환원된다. 질산염을 많이 함유한 식품을 다량 섭취하게 되면, methemoglobin 등 중독 증상이 발생되고 아질산염과 제 2급 및 3급 아민과의 nitroso화 반응은 위장 내의 낮은 산성 조건에서 쉽게 일어나며 발암 물질인 nitrosamine을 생성할 수 있게 되므로 이러한 아질산염을 소거, 제거하여 그에 동반되는 질병을 억제할 수 있는 천연물에 대한 검색이 많이 이루어지고 있다.

시료 g당 용매 비를 25 mL, 50 mL 및 100 mL로 달리하였을 때 새송이버섯의 갓(pileus)과 대(stipe)에 대하여 추출물의 아질산염 소거작용을 Table 6, 7 및 8과 같이 나타내었다. 시료 g당 25 mL의 용매를 첨가하였을 때 Table 1에 나타난 바와 같이 갓과 대에서 아질산염 소거능력은 추출용매에 따라 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었으며, pH의 증가에 따라서도 그 값은 감소하여 pH에 대해 의존적임을 알 수 있었다. 다만, 갓의 50% EtOH 추출이 pH 4.2 이후로 증가하는 값을 나타내었다. pH 1.2에서 갓과 대의 물 추출물이 각각 94.33, 67.49%로 농도에 따른 EtOH 추출물보다 높은 소거능을 보였으며, 앞서 실험한 EDA, SOD-like activity, tyrosinase, ACE 및 total polyphenol 함량 등과 같이 갓의 물 추출물에서 높은 활성을 나타내었다. 특히 pH 1.2에서 비교물질로 사용된 0.1% 및 1% L-ascorbic acid의 활성이 각각 99.66, 99.98%로 갓의 물 추출물과 유사한 활성을 보여주었다. 이는 위

장 내의 낮은 pH 조건에서 nitrosamine이 쉽게 형성되므로 낮은 pH(pH 1.2)에서 아질산염 소거작용이 큰 것은 nitrosamine형성을 효과적으로 억제하는데 능력이 있음을 의미한다.

Table 2는 시료 g당 50 mL의 용매를 첨가하였을 때 갓과 대의 아질산염 소거능력을 나타낸 것으로 25 mL 처리구의 pH 1.2일 때와 유사한 소거능을 보였으며, 역시 EtOH 농도가 증가할수록 유의적으로 감소하는 값을 보여주었다. 가장 높은 값을 가진 것의 물 추출물이 pH 1.2일 때 94.69%로 나타나 비교물질로 사용된 0.1% 및 1% L-ascorbic acid와 유사한 소거능을 보여주었다. 다만 대의 물 추출물의 경우 유의적으로 감소하는 값을 보였으나, pH 6.0에서 오히려 pH 4.2보다 증가하는 값을 나타내었다.

Table 3은 시료 g당 100 mL의 용매를 첨가하였을 때 갓과 대의 아질산염 소거능력을 나타낸 것으로 25 mL 및 50 mL 처리구의 pH 1.2에서 유사한 소거능을 보여주었으며, EtOH 농도가 증가함에 따라 아질산염 소거능이 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 가장 높은 값을 나타낸 것의 물 추출물이 94.10%로 비교물질인 0.1% 및 1% L-ascorbic acid와 비교 시 유사한 활성을 보였다. 이는 야채류나 향신료 등의 추출물이 nitrite를 제거하여 그 위험성을 저하시킬 수 있는 능력이 있다는 보고와 일치하였다. 대의 경우 갓과 마찬가지로 pH 1.2일 때 물 추출물이 높은 소거능을 보였으나, 대와는 다르게 시료 g당 25 mL, 50 mL 및 100 mL의 용매비에서 각각 67.49, 72.49, 83.65%로 물 추출물(pH 1.2)일 때 값이 증가하는 경향을 나타내었다.

각종 phenol 성 화합물은 산성조건에서 N-nitromopholine 형성, 즉 nitroso화 반응을 강력하게 억제하며, dihydrophenol류가 nitrous acid에 의해 quinone으로 산화되고 nitrous acid는 무해한 nitric oxide로 변화된다. 따라서 이러한 phenol성 화합물은 amine류와 반응할 수 있는 nitrite를 nitrite oxide로 변환시키며, phenol성 화합물 또한 nitrosating agent에 의해 자신이 산화되어 quinone으로 산화되는 항산화제로 작용하게 되므로 결과적으로 phenol 가운데 free hydroxy group의 수는 중요하게 되며 이러한 phenol성 화합물의 촉매작용 기작은 C-nitrosate 후 quinone monoxine tautomer로 되어 N₂O₃와 반응하여 N-nitrosating agent를 생성한다. Phenol성 물질 중 caffeic acid, ferulic acid, catechol등이 아질산과 반응하여 nitrosamine의 생성을 억제한다고 보고된바 있다.

Table 6. Nitrite scavenging ability of hot-air dried *Pleurotus eryngii* powder for extract condition¹⁾

Species	Et-OH conc.(%)	Nitrite scavenging ability (%)				unit : % (dry base)
		pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0	
Pileus	0	94.33±0.1 ^{b2)}	50.39±1.8 ^{d)}	20.49±1.6 ^{d)}	5.97±1.9 ^{c)}	
	50	89.13±0.9 ^{c)}	63.47±1.5 ^{c)}	23.29±0.9 ^{c)}	6.41±1.8 ^{c)}	
	100	21.40±0.8 ^{g)}	3.01±2.7 ^{g)}	- ^{g)}	- ^{e)}	
Stipe	0	67.49±2.9 ^{d)}	34.91±0.8 ^{e)}	6.85±1.9 ^{e)}	3.09±0.5 ^{d)}	
	50	39.47±1.6 ^{e)}	21.06±1.4 ^{f)}	1.58±0.4 ^{f)}	- ^{e)}	
	100	32.55±0.7 ^{f)}	- ^{h)}	- ^{g)}	- ^{e)}	
0.1 % L-ascorbic acid		99.66±0.1 ^{a)}	92.51±0.4 ^{b)}	63.78±1.5 ^{b)}	84.40±0.7 ^{b)}	
1 % L-ascorbic acid		99.98±0.3 ^{a)}	100.04±0.0 ^{a)}	100.54±0.1 ^{a)}	101.03±0.1 ^{a)}	

¹⁾Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 25 mL of ethyl alcohol.

²⁾Means are three replication.

Table 7. Nitrite scavenging ability of hot-air dried *Pleurotus eryngii* powder for extract condition¹⁾

unit : % (dry base)

Species	Et-OH conc.(%)	Nitrite scavenging ability (%)			
		pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0
Pileus	0	94.69±0.3 ^{b2)}	65.41±0.9 ^{c)}	20.52±0.3 ^{c)}	4.27±0.9 ^{d)}
	50	87.45±1.4 ^{c)}	61.70±0.3 ^{d)}	11.14±0.3 ^{d)}	- ^{e)}
	100	28.49±0.3 ^{f)}	- ^{g)}	- ^{f)}	- ^{e)}
Stipe	0	72.49±0.4 ^{d)}	44.43±0.7 ^{e)}	11.45±0.4 ^{d)}	23.62±2.0 ^{c)}
	50	47.61±1.9 ^{e)}	26.87±0.6 ^{f)}	6.64±0.4 ^{e)}	- ^{e)}
	100	18.30±1.6 ^{g)}	- ^{g)}	- ^{f)}	- ^{e)}
0.1 % L-ascorbic acid		99.66±0.1 ^{a)}	92.51±0.4 ^{b)}	63.78±1.5 ^{b)}	84.40±0.7 ^{b)}
1 % L-ascorbic acid		99.98±0.3 ^{a)}	100.04±0.0 ^{a)}	100.54±0.1 ^{a)}	101.03±0.1 ^{a)}

¹⁾Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 50 mL of ethyl alcohol.

²⁾Means are three replication.

Table 8. Nitrite scavenging ability of hot-air dried *Pleurotus eryngii* powder for extract condition¹⁾

unit : % (dry base)

Species	Et-OH conc.(%)	Nitrite scavenging ability (%)			
		pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0
Pileus	0	94.10±0.4 ^{b2)}	73.09±2.4 ^{c)}	23.12±1.1 ^{c)}	5.33±1.2 ^{d)}
	50	89.36±0.3 ^{c)}	61.58±1.6 ^{d)}	21.62±0.7 ^{d)}	- ^{e)}
	100	35.75±1.7 ^{f)}	- ^{g)}	- ^{g)}	- ^{e)}
Stipe	0	83.65±0.5 ^{d)}	41.33±1.1 ^{e)}	12.71±0.8 ^{e)}	6.16±0.4 ^{c)}
	50	52.80±1.7 ^{e)}	25.34±0.7 ^{f)}	6.65±0.7 ^{f)}	- ^{e)}
	100	15.16±1.4 ^{g)}	- ^{g)}	- ^{g)}	- ^{e)}
0.1 % L-ascorbic acid		99.66±0.1 ^{a)}	92.51±0.4 ^{b)}	63.78±1.5 ^{b)}	84.40±0.7 ^{b)}
1 % L-ascorbic acid		99.98±0.3 ^{a)}	100.04±0.0 ^{a)}	100.54±0.1 ^{a)}	101.03±0.1 ^{a)}

¹⁾Extraction was performed for one hour at 50°C on mixture composed 1 g and 100 mL of ethyl alcohol.

²⁾Means are three replication.

2. 새송이버섯의 최적 추출조건 설정 및 추출공정별 새송이버섯 추출물의 특성 비교

가. 새송이버섯의 최적 추출조건 설정

본 실험에서는 반응표면 분석법(response surface methodology, RSM)을 이용하여 추출물의 이화학적 특성을 모니터링 하였다. 추출조건에 대한 실험계획은 중심합성계획을 사용하였으며, SAS(statistical analysis system) program을 사용하여 회귀분석에 사용하였다. 실험계획은 Table 1과 같이 시료(건조시료 2.5 g)에 대한 에너지 용량별(30, 60, 90, 120, 150watt), 에탄올 농도별(0, 25, 50, 75, 100%), 추출시간별(1, 3, 5, 7, 9min) -2, -1, 0, 1, 2의 5단계로 부호화 하였다. Table 1에 나타난 독립변수(X_i)는 중심합성계획에 따라 Table 2와 같이 16구간으로 설정하여 추출실험을 실시하였다. 또한 이들 독립변수에 영향을 받는 종속변수(Y_i)는 수율, 총 폴리페놀 함량, 전자공여능, tyrosinase 저해효과, 아질산염 소거능으로 하였으며, 각 조건별 3회 반복 측정하여 그 평균값을 회귀분석에 사용하였다. 중심합성

계획에 의한 16구간의 추출조건에 따라 추출실험을 실시하여 얻어진 결과는 Table 9에 나타내었다. 각각의 결과를 이용하여 반응표면 회귀분석을 실시하고 각 반응변수에 대한 회귀식을 얻어 Table 10에 나타내었다. 또한 변수에 대한 추출조건의 영향과 최적 추출조건과 품질 특성값을 예측하여 Table 11, 12에 나타내었으며, 이들의 4차원 반응표면은 시료에 대한 용매비와 에탄올 농도 및 추출시간을 독립변수로 하여 Fig. 35~39에 각각 나타내었다. 최적 추출조건은 반응변수인 추출물의 특성 즉, 수율, 총 폴리페놀 함량, 전자공여능, tyrosinase 저해효과, 아질산염 소거능의 4차원 반응표면을 superimposing하여 중복되는 부분의 범위로 예측하여 Fig. 40 및 Table 13에 나타내었다. 또한 예측된 범위에서 임의의 점을 설정한 후 회귀식에 대입하여 최적값들을 예측한 결과를 Table 14에 나타내었다.

1) 새송이버섯의 최적 추출조건 설정 시험

중심합성계획에 의한 추출조건별 결과는 Table 9에 나타내었으며, 결과에 대한 반응표면 회귀식은 Table 10에 나타내었다. 수율에 대한 회귀식의 R^2 은 0.9397이고 1% 이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점은 안장점으로 능선분석을 실시한 결과, 수율의 최대값은 47.86%이었고, 이때의 요인변수들의 값은 시료에 대한 에너지 용량 122.71W, 에탄올 농도 42.14% 및 추출시간 8.3m이었다.(Table 11). 수율에 대한 반응표면은 Fig. 35에서와 같이 에탄올 농도비가 낮아질수록 증가되는 경향을 나타내었다. 수율에 대한 추출조건의 영향은 Table 12에서와 같이 에탄올 농도에 가장 큰 영향을 받고 있었으며, 그 다음으로 추출시간이었다. 그러나 에너지 용량에 대해서는 영향을 적게 받는 것으로 나타났다.

총 폴리페놀 함량에 대한 회귀식의 R^2 는 0.8594로 10% 이내의 유의성이 인정되었으며, 예측된 정상점은 안장점으로 최대 폴리페놀함량은 93.32%로 예측되었다. 이 예측 값을 추출할 수 있는 조건은 시료에 대한 에너지 용량 144.19W, 에탄올 농도 49.52% 및 추출시간 6.7 m 으로 Table 11과 같이 나타났으며, 총 폴리페놀 함량에 대한 반응표면은 Fig. 36에 나타내었다. 총 폴리페놀 함량에 대한 추출조건의 영향은 Table 12에서와 같이 에너지 용량에 가장 크게 영향을 받고 있는 것으로 나타났으며 그 다음은 에탄올 농도에 영향을 받았다. 그러나 추출시간에는 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

전자공여능에 대한 회귀식의 R^2 은 0.8941로 5% 이내에서 유의성이 인정되었으며, 예측된 정상점은 안장점으로 나타났으며 능선분석을 실시한 결과 전자공여능의 최대값은 80.47%로 나타났으며, 이때의 추출조건은 에너지 용량 125.43 W, 에탄올 농도 40.54% 및 추출시간 8.1 m이었다.(Table 11). Fig. 37에서 보는 것과 같이 에너지용량이 증가할수록 전자공여능이 증가되었다. 전자공여능에 대한 추출조건의 영향은 Table 12에서 보는 것과 같이 에너지 용량에 가장 크게 영향을 받았고 에탄올 농도에는 적은 영향을 받았다. 그러나 추출시간에

는 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. Tyrosinase 저해효과에 대한 회귀식의 R^2 은 0.8709로 5% 이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점은 최소점으로 tyrosinase 저해효과는 38.36%로 예측되었다. 이 예측 값을 추출할 수 있는 조건은 시료에 대한 에너지 용량 119.91W, 에탄올 농도 13.81% 및 추출시간 6.9 m으로 Table 11와 같이 나타났으며, tyrosinase 저해효과에 대한 반응표면은 Fig. 38에 나타내었다. Table 12에서 보는 바와 같이 tyrosinase 저해효과는 추출시간에 가장 크게 영향을 받고 있는 것으로 나타났다. 그러나 에너지 용량과 에탄올 농도에 대해서는 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. pH 1.2에 따른 아질산염 소거능에 대한 추출물의 회귀식의 R^2 은 0.8663으로 유의성이 5% 이내의 유의수준에서 인정되었다. 예측된 정상점은 안장점으로 능선분석을 실시하여 본 결과 최대값은 33.44%로 나타났다. 이때의 추출조건은 Table 11에서와 같이 시료에 대한 에너지 용량 138.35W, 에탄올 농도 38.66% 및 추출시간 2.8m이었다. 아질산염 소거능에 대한 반응표면은 Fig. 39에 나타내었다. 에탄올 농도가 낮을수록 증가하는 경향을 나타내었다. 추출조건의 영향을 Table 12에서 보는 바와 같이 추출시간에 가장 큰 영향을 받았고 에너지 용량과 에탄올 농도에는 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

Table 9. Experimental data on yield, polyphenol, electron donating ability, tyrosinase inhibition, and nitrite-scavenging ability of *Pleurotus eryngii* by central composite design for response surface analysis.

No. ¹⁾	Yield (%)	Total polyphenol content (%)	Electron donating ability (%)	Tyrosinase inhibition (%)	Nitrite -scavenging ability (%) pH 1.2
1	40.13	27.00	60.44	26.66	62.69
2	37.07	26.36	55.14	28.92	56.90
3	31.07	20.97	50.93	27.70	65.27
4	33.20	19.86	43.01	27.48	57.07
5	39.07	26.84	52.24	32.57	53.04
6	41.33	37.82	70.60	32.38	70.07
7	30.53	19.61	55.95	30.58	55.61
8	37.33	24.59	70.12	28.61	64.50
9	34.93	23.11	57.88	30.24	58.89
10	34.93	23.71	57.37	30.93	59.03
11	36.93	24.76	80.23	29.37	60.59
12	42.53	33.02	85.03	31.20	61.32
13	40.62	40.59	63.66	28.68	58.68
14	15.33	15.89	30.40	26.23	40.58
15	39.73	24.01	52.02	31.68	59.08
16	45.87	33.55	67.75	31.30	72.61

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

Table 10. Polynomial equations calculated by RSM program for extraction conditions of *Pleurotus eryngii*.

Response	Second order polynomial equations ¹⁾	R ²	Significance
Yield	$Y_Y=69.897187-0.309833X_1-0.047150X_2-7.370312X_3+0.001333X_1^2+0.000065X_2X_1-0.00272X_2^2+0.020813X_3X_1+0.024325X_3X_2+0.491875X_3^2$	0.9397	0.005
Total polyphenol content	$Y_{TP}=58.003438-0.327417X_1-0.37435X_2-4.609062X_3+0.001522X_1^2-0.000155X_2X_1+0.001932X_2^2+0.022313X_3X_1+0.001325X_3X_2+0.335625X_3^2$	0.8594	0.0506
Electron donating ability	$Y_{EDA}=155.362813-1.832000X_1-0.07645X_2-7.552813X_3+0.006946X_1^2+0.004145X_2X_1-0.004238X_2^2+0.095312X_3X_1-0.017025X_3X_2+0.141250X_3^2$	0.8941	0.0239
Tyrosinase inhibitory effect	$Y_T=15.603437+0.138917X_1+0.2312X_2+0.726875X_3-0.000083333X_1^2-0.000893X_2X_1-0.001252X_2^2-0.00875X_3X_1-0.01065X_3X_2+0.056562X_3^2$	0.8709	0.0405
Nitrite scavenging activity	$Y_{NSA}=92.295-0.524333X_1+0.5002X_2-9.249062X_3+0.000971X_1^2-0.000958X_2X_1-0.003732X_2^2+0.083146X_3X_1-0.026375X_3X_2+0.430312X_3^2$	0.8663	0.0470

¹⁾X₁: Microwave power(watt), X₂: Ethanol concentration(%), X₃: Extraction Time(min)

Table 11. Predicted levels of extraction condition for the maximum responses of variables by the ridge analysis in *Pleurotus eryngii*.

Responses	X ₁ ¹⁾	X ₂ ²⁾	X ₃ ³⁾	Maximum	Morphology
Yield (%)	122.71	42.14	8.3	47.86	Saddle point
Total polyphenol content (%)	144.19	49.52	6.7	93.32	Saddle point
Electron donating ability (%)	125.43	40.54	8.1	80.47	Saddle point
Tyrosinase inhibition (%)	119.91	13.81	6.9	38.36	Minimum
Nitrite-scavenging ability (%) pH 1.2	138.35	38.66	2.8	33.44	Saddle point

¹⁾ Microwave power(watt)

²⁾ Ethanol concentration(%)

³⁾ Extraction Time(min)

Table 12. Regression analysis for regression model of physiochemical properties in extraction condition of mushroom (*Pleurotus eryngii*).

Extraction conditions	Yield	F-Ratio			
		Total polyphenol content	Electron donating ability	Tyrosinase inhibition	Nitrite-scavenging ability (pH 1.2)
Microwave power(watt)	1.91	4.67**	5.76**	3.01	1.51
Ethanol concentration (%)	14.55***	4.52*	3.34*	2.57	7.07**
Extraction Time(min)	3.84*	1.04	2.24	4.86**	1.61

* Significant at 10% level ; ** significant at 5% level ; *** significant at 1% level

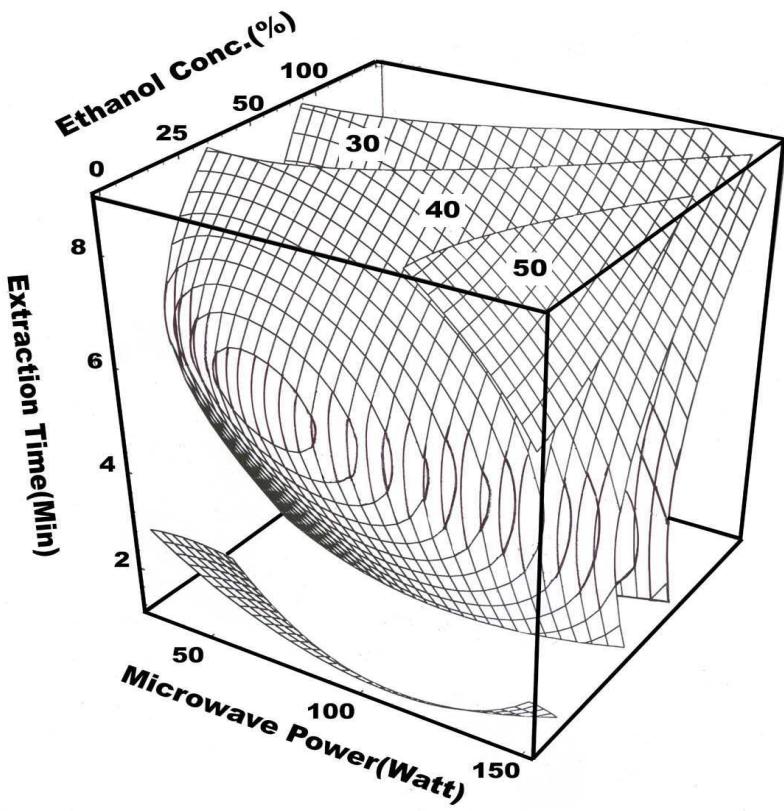


Fig. 35. Response surface for yield in mushroom(*Pleurotus eryngii*) extracts at constant values(yield: 30-40-50%) as a function of microwave power, ethanol concentration and extraction time.

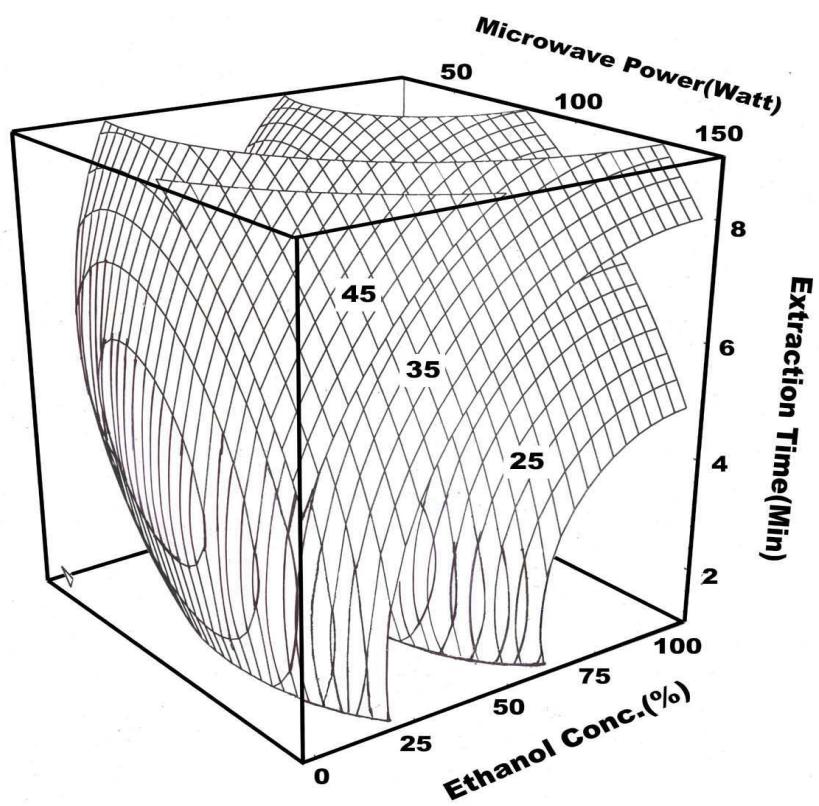


Fig. 36. Response surface for total polyphenol content in mushroom (*Pleurotus eryngii*) extracts at constant values (polyphenol content: 25–35–45%) as a function of microwave power, ethanol concentration and extraction time.

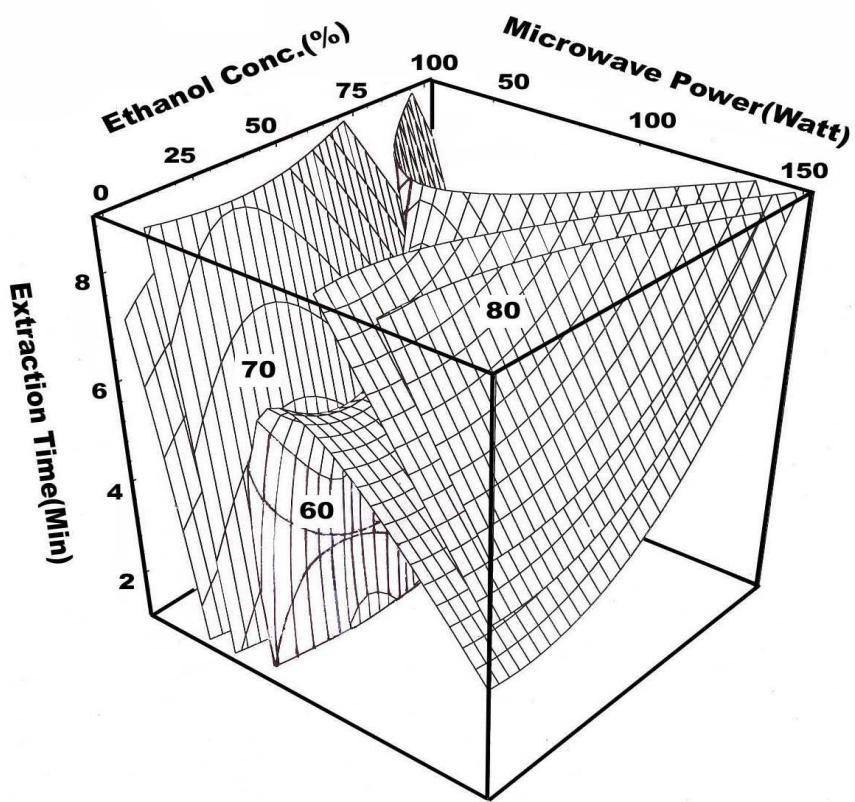


Fig. 37. Response surface for electron donating ability in mushroom (*Pleurotus eryngii*) extracts at constant values (electron donating ability: 60-70-80%) as a function of microwave power, ethanol concentration and extraction time.

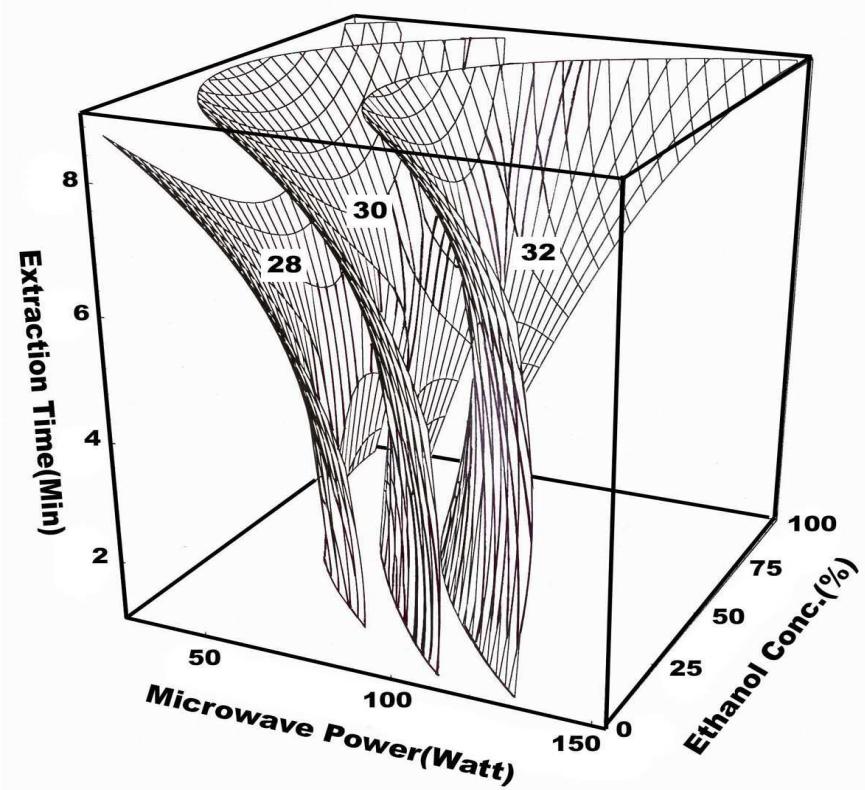


Fig. 38. Response surface for tyrosinase inhibition in mushroom (*Pleurotus eryngii*) extracts at constant values (tyrosinase inhibition: 28–30–32%) as a function of microwave power, ethanol concentration and extraction time.

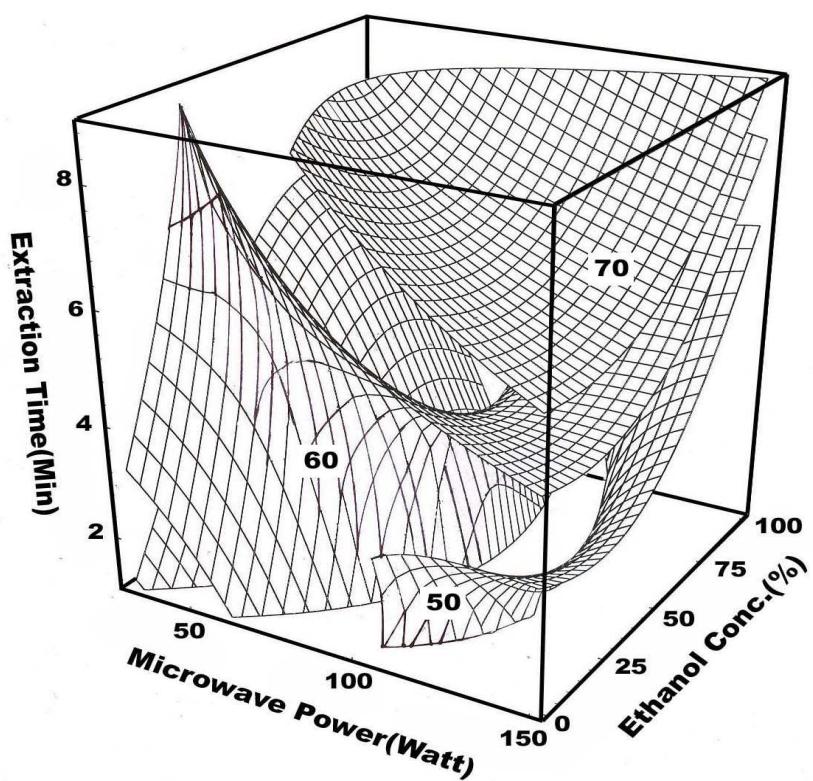


Fig. 39. Response surface for nitrite-scavenging ability(pH 1.2) in mushroom(*Pleurotus eryngii*) extracts at constant values(nitrite-scavenging ability, pH 1.2: 50-60-70%) as a function of microwave power, ethanol concentration and extraction time.

2) 새송이버섯의 추출공정 최적화 시험

새송이버섯에서 기능성분을 최대화하는 추출조건을 설정하기 위해 조건별 추출물의 수율, 전자공여능, 총 폴리페놀 함량, tyrosinase 저해효과, 아질산염 소거능에 대한 4차원 반응표면을 superimposing하여 최적 추출조건 범위를 예측하여 Fig. 40에 어두운 부분으로 나타내었다. 새송이버섯의 수율, 전자공여능, 총 폴리페놀 함량, tyrosinase 저해효과, 아질산염 소거능이 일치하는 범위는 시료 2.5g에 대한 에너지 용량 110~150w, 에탄올 농도 0~45% 및 추출시간 7~9min(Table 13)로 나타났으며, 최적 추출조건에 의한 반응변수의 4차원 반응표면을 superimposing하여 중복되는 부분을 예측한 결과는 Fig. 40과 같이 나타났다. 마찬가지로 이와 같은 예측결과에 의한 최적조건을 확인하기 위하여 예측된 최적조건 범위 내에서 임의의 조건을 Table 13과 같이 결정하였다.

Table 13. Optimum extraction condition for maximum responses of yield, electron donating ability(EDA), total polyphenol content, tyrosinase inhibitory effect, and nitrite-scavenging effect of *Pleurotus eryngii* by superimposing their contour maps

Extraction condition	Range of optimum condition	Optimum condition
Microwave power(w)	110 ~ 150	130
Ethanol concentration(%)	0 ~ 45	22.5
Extraction Time(min)	7 ~ 9	8

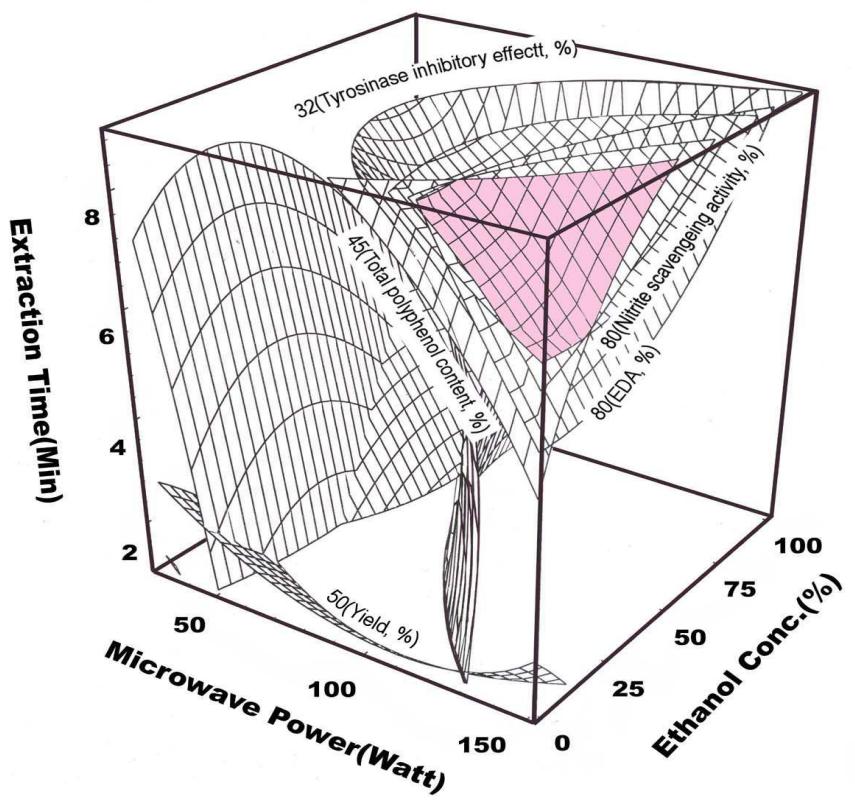


Fig. 40. Superimposed response surface for optimization of yield (50%), electron donating ability (80%), total polyphenol content(45%), tyrosinase inhibition(32%), and nitrite-scavenging ability(pH 1.2)(80%) of extract from *Pleurotus eryngii*.

3) 예측조건의 실증

각 성분들의 반응표면이 중복된 부분의 범위 가운데서 임의조건을 설정하여 각각 회귀식에 대입하여 예측값을 구하였다. 그리고 동일조건에서 실제로 실험하여 얻은 실험 치와 비교함으로써 회귀식의 신뢰성을 검증하였다. 이때 임의의 조건으로는 Table 13에 나타낸 것과 같이 에너지 용량 120W, 에탄올 농도 22.5 %, 추출시간 8분으로 설정하여 회귀식에 대입한 결과는 수율 46.53%, 전자공여능 79.92%, 폴리페놀 함량 39.03%, tyrosinase 저해작용 32.35%, pH 1.2에 있어서의 아질산염소거능 78.76%를 얻었다. 임의의 조건과 동일한 조건으로 실험하여 얻은 값은 수율 44.07%, 전자공여능 74.43%, 폴리페놀 함량 35.18%, tyrosinase 저해작용 36.26%, pH 1.2에 있어서의 아질산염소거능 73.18%의 값을 얻었다. (Table 14). 그래서 RSM 기법에 의해 예측된 값과 동일조건에서 실제 실험하여 얻은 실험치를 비교했을 때 예측 범위와 유사한 값을 가지거나 조금 높은 값 또는 낮은 값을 나타내어 도출된 회귀식의 신뢰성을 검증할 수 있었다.

Table 14. Comparing between predicted and observed values of response variable for ethanol extracts from *Pleurotus eryngii* at the given condition within the range of optimum condition

Response variable	Predicted values ^{a)}	Experimental values ^{b)}
Yield	46.53	44.07
Electron donating ability	79.92	74.43
Nitrite scavenging activity	78.76	73.18
Total polyphenol content	39.03	35.18
Tyrosinase inhibitory effect	32.35	36.26

^{a)} Calculated using the predicted equations for response variables. Given conditions of independent variables: Microwave power 120 watt, Ethanol concentration 22.5%, and Extraction time 8min.

^{b)} Mean values of triplicate determinations.

나. 추출공정별(용매, 추출온도, 시간) 새송이 버섯의 특성 비교

1) 추출방법별 추출효율 및 생리활성 측정에 따른 추출효과 분석

가) 새송이버섯의 에너지 용량별 추출효율

에너지 용량별로 새송이버섯을 추출하여 수율, 총 폴리페놀 함량, 전자공여능, tyrosinase 저해능을 검토하였다. (Table 15). 에너지 용량 증가에 따른 새송이버섯의 용매별 추출액에 대한 수율의 변화는 보이지 않았고 각 에너지용량에 상관없이 water로 추출하였을 때 동일하게 가장 높은 값을 보였다. 단 tyrosinase 저해능은 90W를 가하였을 때 99% EtOH에서 가장 높은 값을 보였다. 각 분석항목별로 살펴보면 다음과 같다. 수율은 에너지 용량에 상관없이 water로 추출했을 때 가장 높게 나타났다. 에너지 용량에 따른 수율을 살펴보면 에너지 용량이 증가할수록 뚜렷한 변화를 보이지 않았지만 60W와 120W에 비해서 90W에서 가장 낮은 값을 보였고 120W에서 가장 높은 값을 보였다. 용매별 추출물의 수율을 살펴보면 water, 50% EtOH, 99% EtOH 순서로 크게 나타났다. 총 폴리페놀 함량 또한 에너지 용량 증가에 따라 큰 변화를 보이지 않았다. 에너지 용량별로 살펴보면 water 추출물의 총 폴리페놀 함량은 60W, 90W, 120W에서 각각 43.26%, 34.59%, 37.76%를 보여 water추출물은 60W일 때 가장 높은 값을 보였다. 그러나 50% EtOH 추출물과 99% EtOH 추출물의 경우에는 90W추출일 때 가장 높은 값을 보였다. 용매별 추출물의 총 폴리페놀 함량은 water, 50% EtOH, 99% EtOH 순서를 보였다. 새송이버섯의 전자공여능은 수율과 반대 경향을 보여 90W에서 가장 높은 값을 나타내었고 120W에서 가장 낮은 값을 보였다. 즉, 각 water 추출물을 에너지 용량별로 살펴보면 60W, 90W, 120W에서 65.15%, 82.09%, 54.99%를 나타내어 90W에서 water로 추출했을 때 가장 높았다. 50% EtOH, 99% EtOH 추출물에서도 동일한 결과를 보였다. 용매별 추출물의 전자공여능 역시 총 폴리페놀 함량과 마찬가지로 water, 50% EtOH, 99% EtOH 순서를 나타났다. Tyrosinase 저해능은 에너지 용량을 증가시킴에 따라 water 추출물에서는 증가하는 경향을 보였다. 50% EtOH 추출물과 99% EtOH 추출물에서 살펴보면 tyrosinase저해능이 90W까지 증가하였다. 특히 90W일 때 tyrosinase 저해능이 가장 높은 값을 보였고 120W에서 다시 감소하였다. tyrosinase 저해율은 에너지용량에 의해서나, 용매별 추출물에 따라 큰 변화를 보이지 않았다. 그러나 90W사용한 99% EtOH추출물에서 현저한 값을 보였다. 새송이버섯 추출물의 아질산염 소거능은 Table 16에서 보는 바와 같이 pH에 따라 큰 차이를 보였지만 에너지 증가에 따른 차이는 거의 보이지 않았다. 또한 pH 3.0 이상에서는 pH조건에 따라 water 추출물과 50% EtOH 추출물간에는 큰 차이를 보이지 않았고 99% EtOH 추출물에서 아질산염 소거능은 값을 나타내지 않았다.

그러나 여전히 각 에너지 용량에서 water 추출물이 가장 높은 값을 보였고 그 중 60W를 사용한 water추출물에서 가장 높은 값을 보였다.

Table 15. Effect of microwave power in microwave-assisted extraction(MAE) on yield, total polyphenol content, electron donating ability(EDA), inhibitory effect of tyrosinase activity of *Pleurotus eryngii*
¹⁾

Power (W)	Solvent	Yield (%, d.b.)	Total polyphenol content(mg%)	EDA(%)	Inhibitory effect of tyrosinase activity(%)
60	Water	41.60	43.26	65.15	18.88
	50% EtOH	31.73	21.05	52.11	16.33
	99% EtOH	5.60	8.98	8.84	10.86
90	Water	34.67	34.59	82.09	26.21
	50% EtOH	27.07	24.03	56.22	18.18
	99% EtOH	9.20	10.86	10.90	52.82
120	Water	44.93	37.76	54.99	26.51
	50% EtOH	35.20	22.09	51.08	12.84
	99% EtOH	8.53	10.32	8.69	18.45

¹⁾MAE was performed for 5min on mixture composed of 2.5g and 50mL of solvent.

Table 16. Effect of microwave power in microwave-assisted extraction(MAE) on nitrite-savenging effect of *Pleurotus eryngii*¹⁾

Power (W)	Solvent	pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0
60	Water	73.80	39.69	7.80	2.30
	50% EtOH	54.32	34.97	7.63	0.17
	99% EtOH	15.23	-	-	-
90	Water	62.33	34.61	12.60	7.09
	50% EtOH	44.48	27.52	6.22	0.70
	99% EtOH	33.97	-	-	-
120	Water	62.40	33.58	9.15	5.07
	50% EtOH	52.42	42.38	4.10	0.54
	99% EtOH	34.40	-	-	-

¹⁾MAE was performed for 5min on mixture composed of 2.5g and 50mL of solvent.

나) 새송이버섯의 추출시간별 추출효율

새송이버섯의 추출시간(1 ~ 15분)에 따른 수율, EDA, 총 폴리페놀 함량, 전자공여능, tyrosinase 저해능은 Table 17에 나타내었다. 추출시간을 5분 간격으로 증가시키면서 새송이버섯의 용매별 추출액에 대한 수율을 측정한 결과 water로 1분 동안 추출한 경우가 가장 높았고 5분 이상 추출시간을 증가시켰을 경우 1분 동안 추출했을 때 보다 낮은 값을 보였지만 추출시간 증가에 따라 수율은 증가하였다. 시간별 추출에 상관없이 용매별 추출물만을 살펴보면 water 추출물이 다른 추출물에 비해서 높은 값을 보였다. 총 폴리페놀 함량은 추출시간이 증가함에 따라 전체적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 특히 수율에서와 마찬가지로 총 폴리페놀함량은 water로 추출했을 때 가장 높았다. 그러나 50% EtOH 추출물과 99% EtOH 추출물은 추출시간의 증가에 따라 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 새송이버섯의 전자공여능은 추출시간의 증가에 따라 증가하는 경향을 보였다. 특히 1 ~ 5분으로 증가시킴에 따라 급격하게 증가하였다. 그러나 5분 이상의 추출시간에서는 전자공여능은 완만한 증가를 보였다. 이런 경향은 water추출물, 50% 추출물, 99% 추출물 모두에서 나타났다. tyrosinase 저해능 또한 water추출물과 50% 추출물에서 전자공여능과 비슷하게 추출시간이

증가함에 따라 증가하는 경향을 보였다. 그러나 99% 추출물에서 5분 동안 추출했을 경우 tyrosinase 저해율이 현저하게 증가하였고 시간이 증가함에 따라 감소하는 경향을 보였다. pH에 따른 아질산염 소거능을 살펴본 결과는 Table 16에 나타내었다. pH1.0에서 추출시간을 증가시켰을 경우 water 추출물의 아질산염 소거능은 감소하였다. 특히 1분 동안 추출한 경우 아질산염 소거능이 가장 높았고 5분 ~ 15분 동안에는 완만한 감소를 보였다. 그러나 추출시간에 따른 이러한 증가 경향은 water 추출물에서 보였고 50% EtOH추출물과 99% EtOH추출물은 추출시간에 거의 영향을 받지 않았다. pH를 증가시킴에 따라서 아질산염 소거능은 큰 폭으로 감소하였다. 그리고 pH별로 추출시간을 증가시켰을 경우에는 pH 3.0과 pH 4.2에서 완만하게 감소하는 경향을 보였지만 pH 6.0에서는 차이를 보이지 않았다. 추출시간의 증가에 상관없이 용매별 추출물을 살펴보았을 경우 아질산염 소거능이 가장 높게 나타난 순서는 water 추출물, 50% 추출물, 99% 추출물이다. 그러나 pH3.0에서는 50% EtOH 추출하였을 때는 10분 동안 추출했을 때가 가장 높은 값을 보였다. 아질산염 소거능이 가장 높게 나타났던 조건은 pH 1.2에서 1분 동안 추출했을 때이며 water 추출물, 50% EtOH 추출물, 99% EtOH 추출물이 각각 87.89%, 52.86%, 5.90%이었다.

Table 17. Effect of extraction time in microwave-assisted extraction(MAE) on yield, total polyphenol content, electron donating ability(EDA), inhibitory effect of tyrosinase activity of *Pleurotus eryngii*
¹⁾

Time (min)	Solvent	Yield (%, d.b.)	Total polyphenol content(mg%)	EDA(%)	Inhibitory effect of tyrosinase activity(%)
1	Water	51.97	49.35	51.83	11.27
	50% EtOH	33.33	20.69	36.53	29.14
	99% EtOH	2.40	7.15	5.92	22.84
5	Water	34.67	34.59	82.09	26.21
	50% EtOH	27.07	24.03	56.22	18.18
	99% EtOH	9.20	10.86	10.90	52.82
10	Water	44.53	36.23	82.39	44.57
	50% EtOH	38.93	21.15	63.93	39.82
	99% EtOH	9.07	9.95	22.70	19.28
15	Water	46.40	35.21	83.05	47.39
	50% EtOH	37.73	21.40	62.56	44.19
	99% EtOH	10.80	10.63	28.05	16.83

¹⁾MAE was performed for 90W on mixture composed of 2.5g and 50mL of solvent.

Table 18. Effect of extraction time in microwave-assisted extraction(MAE) on nitrite-scavenging effect of *Pleurotus eryngii*¹⁾

Time (min)	Solvent	pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0
1	Water	87.89	46.05	18.54	6.24
	50% EtOH	52.86	30.98	16.94	4.95
	99% EtOH	5.90	-	-	-
5	Water	62.33	34.61	12.60	7.09
	50% EtOH	44.48	27.52	6.22	0.70
	99% EtOH	33.97	-	-	-
10	Water	62.31	34.24	14.63	5.79
	50% EtOH	64.17	38.98	11.05	0.41
	99% EtOH	-	-	-	-
15	Water	60.84	37.64	13.80	7.06
	50% EtOH	51.21	35.14	11.41	1.94
	99% EtOH	-	-	-	-

¹⁾MAE was performed for 90W on mixture composed of 2.5g and 50mL of solvent.

다) 새송이버섯의 시료 대 용매 비율 별 추출효율

새송이버섯의 시료 대 용매 비에 따른 수율, 총 폴리페놀 함량, 전자공여능, tyrosinase 저해능을 검토한 결과를 Table 19에 나타냈다. 시료 대 용매의 비율을 1: 10, 1: 20, 1: 50로 증가시키면서 사용하였다. 새송이버섯의 용매별 추출액에 대한 수율을 측정한 결과 1: 50의 비율에서 수율이 가장 높게 나타났다. 또한 이런 경향은 시료 대 용매 비에 상관없이 water, 50% EtOH, 99% EtOH 순서로 크게 나타났다.

시료 대 용매의 비를 감소시킴에 따라 총 폴리페놀 함량은 증가하는 경향을 나타냈다. 이러한 경향은 모든 용매별 추출액에서 동일하게 나타났다. 그리고 가장 높은 총 폴리페놀 함량을 갖는 조건은 시료 대 용매비가 1:10의 비율을 가지고 water로 추출한 경우였다.

전자공여능 또한 총 폴리페놀 함량과 동일한 결과를 보여주었다. 시료 대 용매비를 1: 50에서 1: 20으로 증가시켰을 때 전자공여능은 현저한 증가를 나타내었으며 1: 10 추출물에서 가장 높은 값을 나타내었다. 이러한 경향은 모든 추출물에서 동일한 결과를 보여주었다. 그러나 99% EtOH 추출물에서는 시료대 용매의 비율 1:50, 1:20, 1:10에서 각각 11.09%,

10.90%, 16.95%로 다른 추출물에서의 전자공여능(23.74~98.43%)보다 낮은 전자공여능을 보여주었으며 용매비율의 증가에 따른 영향을 크게 받지 않았다. tyrosinase 저해율 또한 시료 대 용매 비가 증가함에 따라서 완만한 증가를 보여주었다. 그러나 용매별 추출액을 비교하였을 때 다른 활성 실험과는 다르게 99% EtOH에서 가장 높은 값을 보였고 시료 대 용매의 비가 감소함에 따라서 증가하는 경향을 보였다. tyrosinase 저해율이 가장 높은 조건은 1:50의 비율에서 99% EtOH로 추출하였을 때였다. 새송이버섯의 시료 대 용매비에 따른 아질산염 소거능을 측정한 결과는 Table 20과 같다. 시료 대 용매비가 증가(감소)함에 따라 전체적으로 아질산 소거능은 뚜렷한 증가 경향을 보였다. 그러나 pH 6.0에서의 아질산염 소거능은 시료대 용매비에 대한 차이를 보이지 않았다. pH와 시료대 용매비의 조건에 상관없이 추출물에 따른 결과를 살펴보면 pH1.0의 조건의 water 추출물에서 1:50, 1:20, 1:10의 시료 대 용매에 따른 아질산염 소거능은 각각 43.63%, 62.33%, 76.53%였으며 50% EtOH 추출물에서는 19.515, 44.48%, 66.47%였으며 99% EtOH에서는 19.18%, 33.97%, 38.38%였다. 아질산 소거능의 최적조건은 pH 1.2일 때 시료 대 용매 비는 1:10으로 water로 추출하였을 때이다.

Table 19. Effect of sample to solvent ratio in microwave power in microwave-assisted extraction(MAE) on yield, total polyphenol content, electron donating ability(EDA), inhibitory effect of tyrosinase activity of *Pleurotus eryngii* ¹⁾

Ratio	Solvent	Yield (%, d.b.)	Total polyphenol content(mg%)	EDA(%)	Inhibitory effect of tyrosinase activity(%)
1:50	Water	51.33	22.17	38.56	18.91
	50% EtOH	26.43	11.24	23.74	16.55
	99% EtOH	13.73	8.43	11.09	59.28
1:20	Water	34.67	34.59	82.09	26.21
	50% EtOH	27.07	24.03	56.22	18.18
	99% EtOH	9.20	10.86	10.90	52.82
1:10	Water	25.73	52.04	98.43	28.42
	50% EtOH	26.67	31.41	90.86	23.48
	99% EtOH	4.00	10.89	16.95	49.78

¹⁾MAE was performed for 90W, 5min on mixture composed of sample (1, 2.5, 5g) and 50mL of solvent.

Table 20. Effect of sample to solvent ratio in microwave power in micro wave-assisted extraction(MAE) on nitrite-savenging effec of *Pleurotus eryngii*¹⁾

Ratio	Solvent	pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0
1:50	Water	43.63	17.06	5.39	5.46
	50% EtOH	19.51	12.68	1.84	4.52
	99% EtOH	19.18	-	-	-
1:20	Water	62.33	34.61	12.60	7.09
	50% EtOH	44.48	27.52	6.22	0.70
	99% EtOH	33.97	-	-	-
1:10	Water	76.53	41.47	14.96	5.46
	50% EtOH	66.47	35.64	9.20	0.58
	99% EtOH	38.38	-	-	-

¹⁾MAE was performed for 90W, 5min on mixture composed of sample (1, 2.5, 5g) and 50mL of solvent.

2) 새송이버섯 추출물의 용매제거 제품평가 시험

GC를 이용하여 메탄올 및 에탄올로 추출한 새송이버섯 추출물에 잔류되어 있는 용매를 정량 분석하여 Table 21에 나타내었다. 즉, 새송이버섯 추출물은 메탄올 및 에탄올이 검출되지 않았다. 이와 같이 새송이버섯 추출물에서 인체에 유해한 메탄올이 검출되지 않았으므로 실제 음료나 차류에 적용시킬 때 메탄올이나 에탄올을 사용하여도 상관없는 것으로 사료된다.

Table 21. Quantitive analysis of solvent in *Pleurotus eryngii*.

Sample \ Solvent	Methanol	Ethanol
<i>Pleurotus eryngii</i>	-	-

다. *in vivo*에서 새송이 의 지질 감소효과 확인

1) 체중증가량 및 간 무게의 변화

새송이버섯을 식이로 공급한 실험동물의 체중, 사료섭취량, 식이효율 및 장기무게는 Table 22과 23에 나타내었다. 체중증가량은 대조군과 모든 실험군이 정상군에 비해 증가하는 경향을 보여주었다. 새송이버섯을 급여한 실험 군들은 대조군보다 체중이 증가하는 경향이 있었는데, 특히 5% 새송이버섯을 급여한 실험 군에서 유의적으로 체중이 증가되는 것을 확인할 수 있었다. 식이효율 역시 정상 군 1.68과 비교하였을 때 대조군과 새송이버섯 군이 각각 1.71, 1.75, 1.85로 증가하는 경향을 보여주었지만 5% 새송이버섯 군에서만 유의적인 차이를 나타내었다.

Table 22. Body wight gain, food intake and food efficiency ratio of rats fed experimental diets for 4weeks.

	NOR	H.C	P 2.5%	P 5%
IBW(g)	180.8±7.91 ^{a6)}	179.0±7.34 ^a	175.4±3.8 ^a	173.3±8.98 ^a
FBW(g)	322.1±12.89 ^a	322.0±8.64 ^a	322.1±10.46 ^a	328.5±15.69 ^a
Weight gain(g/4w)	141.3±10.29 ^a	143.0±8.67 ^{ab}	146.7±12.59 ^{ab}	155.2±13.06 ^b
Total diet intake(g/4w)	209.5±17.72 ^a	217.5±8.71 ^a	212.8±14.03 ^a	256.0±24.52 ^b
FER ⁵⁾	1.68±0.12 ^a	1.71±0.10 ^{ab}	1.75±0.15 ^{ab}	1.85±0.16 ^b

¹⁾Normal ²⁾High cholesterol ³⁾2.5% *Pleurotus eryngii* ⁴⁾5.0% *Pleurotus eryngii*

⁵⁾FER : Feeding efficiency ratio

⁶⁾Values with different superscript within the same column are significantly different($p<0.05$)

장기무게 중에서 비장의 무게는 정상군과 대조군 및 새송이 실험군을 비교하였을 때 유의적인 차이가 없었다. 간의 경우에는 정상군이 11.22g인데 비하여 대조군은 17.33g으로 유의적으로 증가하였다. 이것은 고콜레스테롤 급여로 인하여 지방이 간에 축적되어 간의 중량이 증가한 것으로 생각된다. 그리고 고콜레스테롤로 유도한 후 새송이 버섯을 급여하였을 때 2.5%와 5% 실험군에서 각각 17.46g, 16.63g을 나타내어 2.5% 보다 5% 실험군에서 간의 중량을 감소시킨 것을 볼 수 있었다. 대조군에서 고 콜레스테롤에 의하여 형성된 지방간이 새송이버섯에 의해서 완화된 것으로 생각된다. 그러나 이 효과는 유의적인 차이는 없었다. 신장 역시 유의적인 차이는 없었지만 고 콜레스테롤을 급여한 대조군에서 증가한 경향을 볼 수 있었다. 신장 지방의 무게는 2.5% 새송이버섯을 급여한 실험군에서 유의적으로 감소하였다. 고환 지방의 무게는 유의적인 차이를 보이지는 않았지만 신장과 유사한 결과로 2.5% 새송이버섯을 급여한 실험군에서 고환의 지방 무게가 감소하는 경향을 보여주었다.

Table 23. Effect of *Pleurotus eryngii* on organ weight of experimental rats.

	NOR	H.C	P 2.5%	P 5%
Liver(g)	11.22±1.05 ^{a5)}	17.33±1.64 ^b	17.46±1.78 ^b	16.63±1.76 ^b
Spleen(g)	0.87±0.10 ^a	0.87±0.11 ^a	0.87±0.12 ^a	0.88±0.14 ^a
Kidney(g)	1.26±0.07 ^a	1.32±0.09 ^a	1.25±0.07 ^a	1.25±0.08 ^a
Kidney adipose tissue(g)	2.56±0.63 ^b	2.08±0.30 ^{ab}	1.94±0.45 ^a	2.29±0.50 ^{ab}
testicle adipose tissue(g)	1.62±0.29 ^a	1.42±0.23 ^a	1.40±0.17 ^a	1.54±0.23 ^a

¹⁾Normal ²⁾High cholesterol ³⁾2.5% *Pleurotus eryngii* ⁴⁾5.0% *Pleurotus eryngii*

⁵⁾Values with different superscript within the same column are significantly different($p<0.05$)

2) 혈청의 지질 수준

새송이버섯이 흰쥐의 간의 기능과 혈청 지질함량에 미치는 영향을 알아보기 위하여 혈청 중 Glutamic Oxaloacetic Transminase(GOT) 및 Glutamic Pyruvic Tansamiase(GPT) 활성도와 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, 중성지방, Total lipid치를 측정하였다(Fig. 40). SGPT의 활성은 정상군에 비하여 고 콜레스테롤을 급여한 대조군에서 유의적으로 증가하였고 새송이버섯을 급여한 실험군은 정상군보다 낮은 값을 보여주었다. 또한 대조군보다 유의적으로 감소한 것을 볼 수 있었다. 역시 SGPT와 동일한 경향을 보여주었지만 유의적인 차이는 보이지 않았다. 이러한 SGOT, SGPT의 감소 결과는 새송이버섯을 투여가 간 기능을 개선 시킬 수 있는 가능성을 가진다고 생각한다.

동일하게 콜레스테롤 역시 정상군보다 고 콜레스테롤을 급여한 대조군에서 유의적으로 높은 값을 보였다. 그리고 대조군보다 새송이를 급여한 실험군에서 콜레스테롤 수치가 낮아지는 경향을 보였다. 그러나 대조군과 실험군 간의 유의적인 차이는 없었다. 동맥경화를 개선시켜주는 요인으로 알려져 있는 HDL-콜레스테롤은 정상군보다 고 콜레스테롤에서 유의적으로 감소하였고 대조군보다 새송이버섯을 급여한 실험군에서 증가하는 경향을 보였지만 큰 차이는 없었다. HDL-콜레스테롤은 말초조직으로부터 과잉의 콜레스테롤을 간으로 이동시키고 동맥경화의 진행과정을 늦추는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 따라서 본 실험에서 새송이버섯을 투여한 실험군의 HDL-콜레스테롤이 증가했다는 결과로 새송이버섯이 항동맥경화의 효과에 대한 가능성을 가지고 있음을 알 수 있다. 중성지방은 고 콜레스테롤을

급여한 대조군에서 80.71mg/dl로 가장 높은 값을 보여주었고 새송이버섯을 급여한 실험군에서는 2.5%와 5%에서 각각 69.14mg/dl와 59.14mg/dl를 나타내어 새송이버섯의 양에 의존하여 유의적으로 감소되었다. 총 지질은 고 콜레스테롤을 급여한 대조군에서 가장 높은 값을 보였고 새송이버섯을 급여한 실험군에서 감소하는 경향을 보여주었지만 유의적인 차이는 없었다.

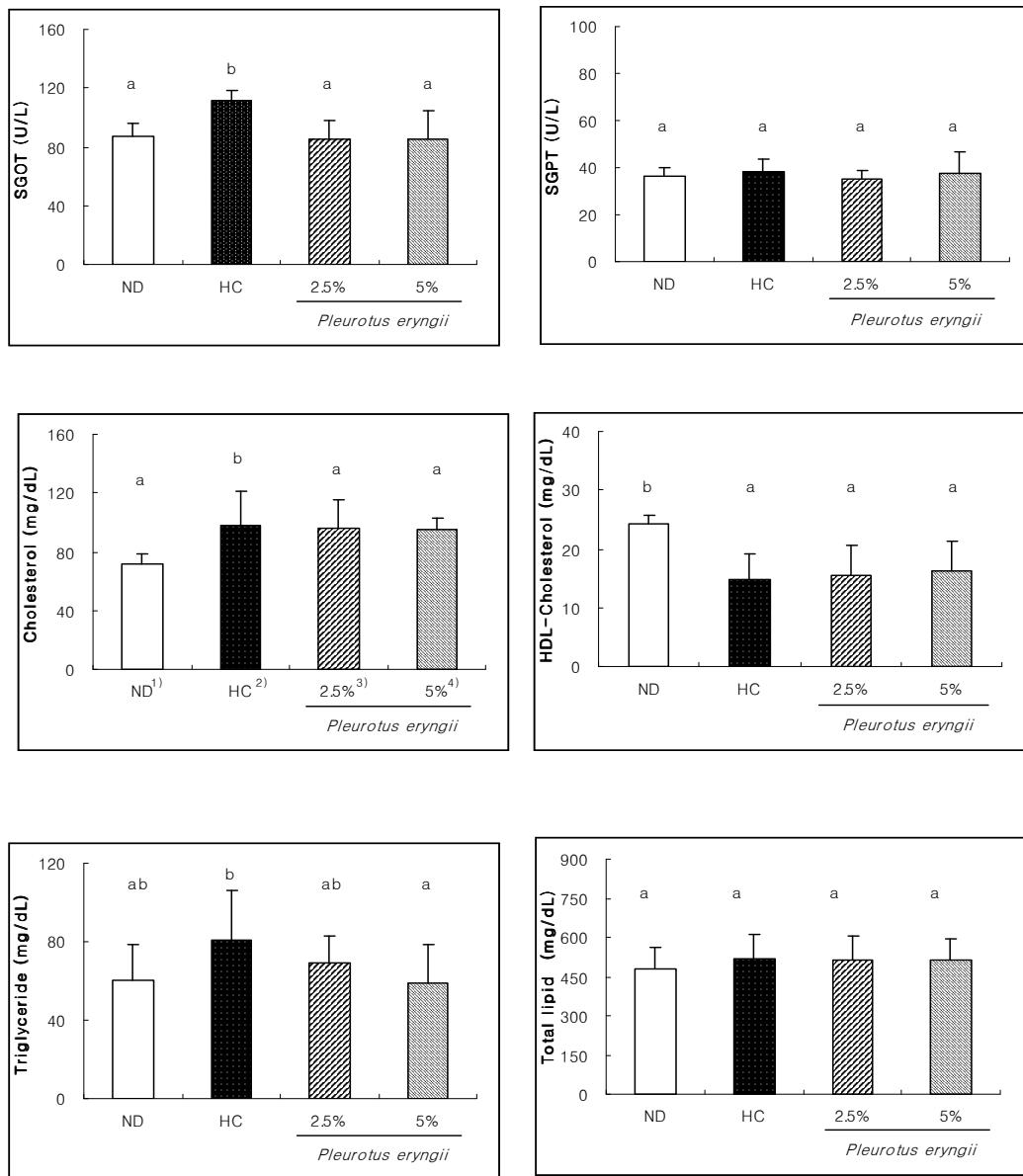


Fig. 40. The effect of *Pleurotus eryngii* on the concentrations of plasma sGOT, sGPT, total cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride, and total lipid in experimental rats.

¹⁾Normal ²⁾High cholesterol ³⁾2.5% *Pleurotus eryngii* ⁴⁾5.0% *Pleurotus eryngii*

⁵⁾Values with different superscript within the same column are significantly different($p<0.05$)

전반적으로 고 콜레스테롤을 급여하여 증가된 콜레스테롤, 중성지방, 총 지질, 간 기능 등 혈청 지질 수준은 새송이버섯을 급여시킴으로써 감소시키는 경향을 보여주었다. 그러나 정상군에 비해 약간 높은 값을 보였다. 이것은 새송이버섯의 급여시간을 늘린다면 더 뚜렷한 감소 효과를 확인할 수 있을 것으로 판단된다. 즉, 새송이버섯은 혈청과 간장의 지질 수준을 낮추고 간 기능을 정상화하는 가능성을 가지고 있음을 확인할 수 있었다.

3) 간의 지질함량

간장 중의 지질함량은 Table 24과 같다. 콜레스테롤 함량을 보면 정상군과 비교하여 고 콜레스테롤군에서 약 10배 정도 증가하였으며 새송이버섯을 공급한 실험군에서는 콜레스테롤함량이 유의적으로 감소한 것을 볼 수 있었다.

Table 24. The effect of *Pleurotus eryngii* on the concentrations of total cholesterol and triglyceride in liver of experimental rats.

	NOR	H.C	P 2.5%	P 5%
Cholesterol(mg/g liver)	3.07±0.60 ^a	33.27±5.09 ^d	21.04±3.80 ^c	16.48±5.43 ^b
Triglyceride(mg/g liver)	13.83±3.64 ^a	37.25±2.61 ^c	33.39±6.01 ^c	21.25±5.97 ^b

¹⁾Normal ²⁾High cholesterol ³⁾2.5% *Pleurotus eryngii* ⁴⁾5.0% *Pleurotus eryngii*

또한 새송이버섯 2.5%보다는 5%에서 더 효과적으로 감소한 것을 확인할 수 있었으나 이 수준은 정상군보다 높은 수치였다. 중성지방 함량 역시 콜레스테롤과 동일한 경향을 보여주었다. 즉, 정상군이 13.83이었으며 대조군은 37.25으로 대조군이 정상군보다 유의적으로 증가하였는데 2.5% 와 5% 실험군에서 각각 33.39, 21.25로 새송이버섯을 급여하였을 때 유의적으로 감소하였고 2.5% 새송이버섯군 보다 5% 새송이버섯군에서 더 큰 차이를 보였다.

4) 간조직의 변화

고 콜레스테롤 급여 후 새송이버섯을 급여시킨 다음 간의 변화를 관찰하기 위해 육안 검사를 실시하였고 그 결과는 Fig. 41.와 같다. 육안으로 관찰하였을 때 간의 외형은 정상군에

비하여 고 콜레스테롤을 급여한 대조군의 간은 지방이 많이 축적되어 지방산이 심하게 진행되어 있었다. 간은 비대해져 있었고 색깔도 하얗게 변해 있었다. 그러나 새송이를 급여한 쥐의 간은 지방간이 심한 대조군에 비해 크기가 작고 색 또한 정상군과 유사한 붉은색을 나타내었다. 특히 새송이버섯을 2.5% 투여하였을 때 보다 5%를 투여하였을 때 붉은 색을 띠는 것을 볼 수 있었다.

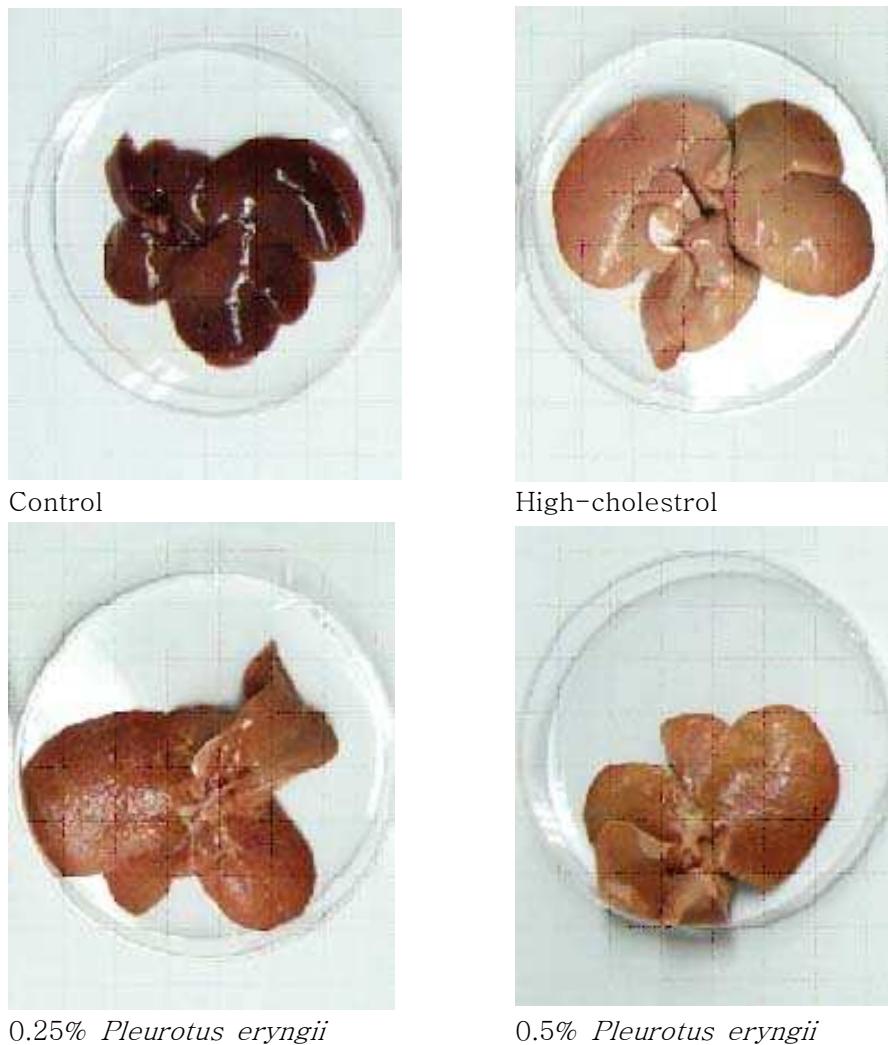


Fig 41. The livers' features of rats fed *Pleurotus eryngii*.

3. 추출물의 기능성 소재화 및 새송이버섯을 이용한 가공식품의 개발

가. 생리활성 추출물의 기능성 소재화 및 품질평가

1) 새송이버섯 추출물의 특성 조사

가) 색도

색도는 색차계(Color difference meter, Color Quest II Sphere System, U.S.A)를 이용하여 L(명도), a(적색도), b(황색도)값을 측정하였다. 이때 표준백색판의 L, a, b 값은 97.75, -0.49, +1.96이었다. 열수추출액, 50% EtOH, 75% EtOH 추출시 추출완료 시점에서 색도를 측정하였다.

<참고> Hunter L, a, b color scale

(흑색)	0		L(명도)		100	(백색)
(녹색)	-80		a(적색도)		100	(적색)
(청색)	-70		b(황색도)		70	(황색)

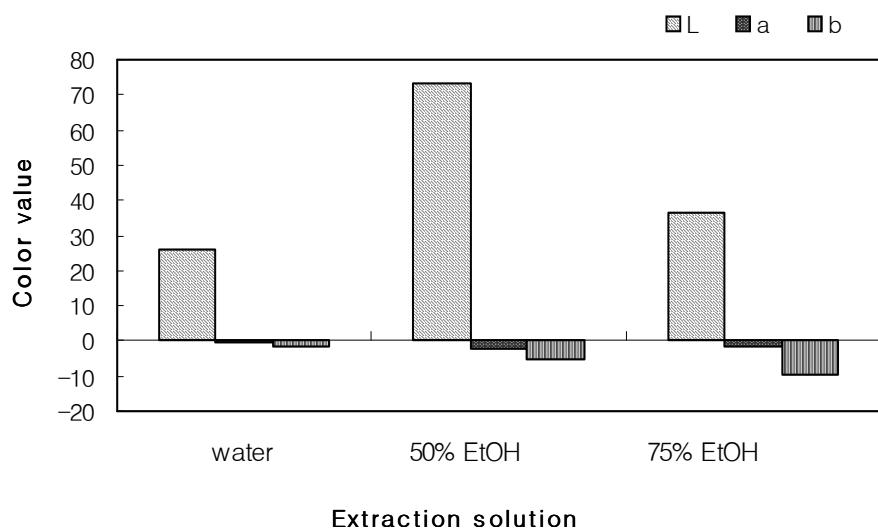


Fig 42 . Color value of pileus extracts for fresh *Pleurotus eryngii*.

Fig. 42는 새송이 버섯 대 추출물의 용매에 따른 색도 변화를 나타낸 것이다. L^* 은 65.95로 50% EtOH 추출물이 가장 높았고, 75% EtOH 추출물에서 26.18을 보였다. 그리고 water

추출물에서는 19.63의 값을 보였다. a값과 b값 또한 50% 에탄올추출물에서 각각 -1.89와 -7.56으로 가장 높은 값을 보였다. 그러나 water 추출물과 75% EtOH 추출물에서는 큰 차이를 보이지 않았다.

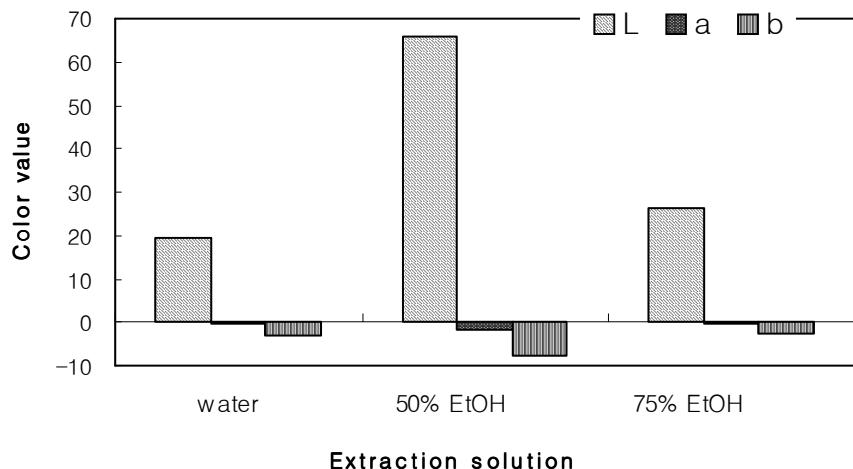


Fig 43. Color value of stipe extracts for fresh *Pleurotus eryngii*.

Fig. 43은 용매를 다르게 하여 새송이버섯 갓 추출물에 대한 색도 변화를 나타낸 것이다. L 값은 50% EtOH 추출물에서 73.54로 가장 높았고, 75% EtOH 추출물에서 36.65를 보였고, water 추출물에서는 25.91을 보였다. 갓 추출물의 a값은 50% 에탄올추출물, 75%EtOH 추출물, water 추출물에서 각각 -2.20, -1.33, -0.15로 나타났으며 이 경향은 갓 추출물과 동일하였다. 그러나 b값은 75%EtOH 추출물에서 -9.54로 가장 높은 값을 보여주었고 그다음은 50% 에탄올추출물에서 -5.18, water 추출물에서 -1.85의 값을 나타내었다. 명도가 가장 높은 것은 대와 갓 모두 50% 에탄올을 용매로 사용하였을 때이다. 그러나 음료에 적용하기에는 부적합한 것으로 판단되었다.

나) 탁도

탁도는 650nm에서 투과도를 측정하여 증류수를 100% 투과도를 기준으로 하여 비교 치로 나타내었다. 열수 추출, 50% EtOH, 75% EtOH 추출시 추출완료 시점에서 탁도를 측정하였다. 추출 용매에 따른 탁도 변화는 Fig. 44와 Fig. 45에서 나타낸 바와 같다.

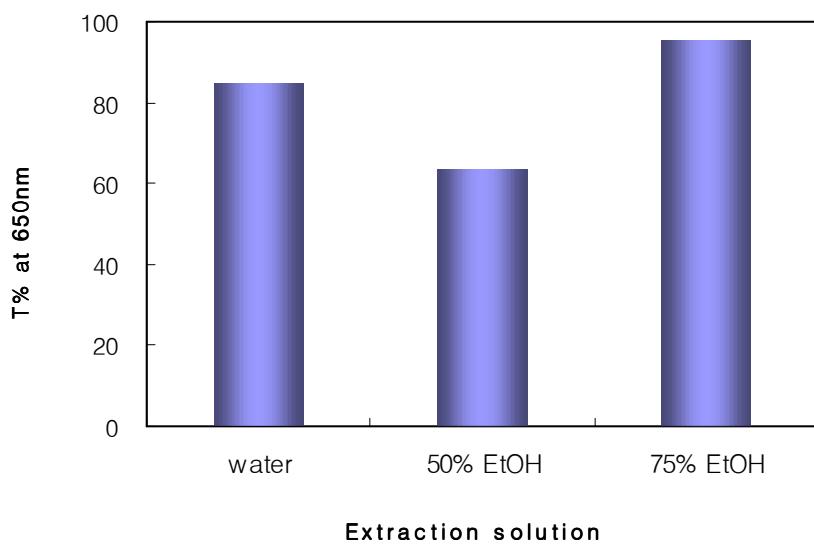


Fig. 44. Turbidity of fresh *Pleurotus eryngii* according to pileus extracts of solvents

용매에 따른 갓의 투과도를 살펴보았을 때, water 추출물에서 84.49%(T), 50% EtOH 추출물에서 63.53%(T), 75% EtOH추출물에서 95.68%(T)으로 나타났다. 탁도가 가장 높은 순서는 75% EtOH, 물, 50%EtOH을 용매로 사용하여 추출하였을 때이다. 이것은 용매 추출물에 따른 고형분 함량의 차이에 의한 것으로 판단된다.

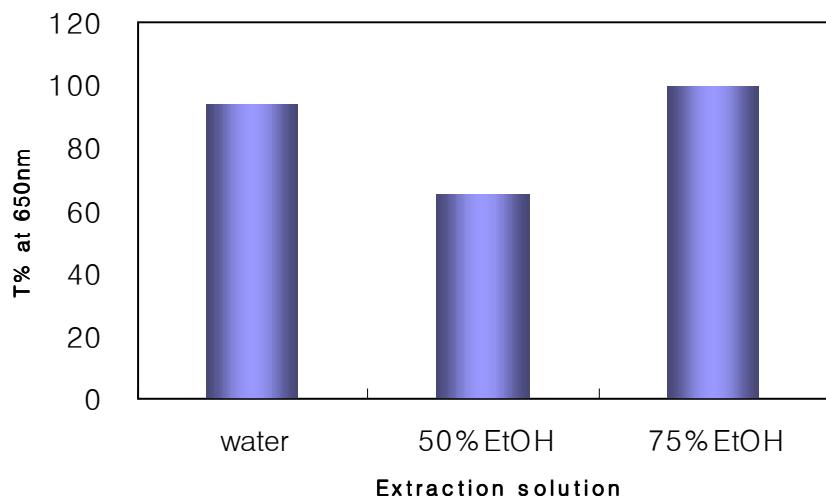


Fig.45. Turbidity of fresh *Pleurotus eryngii* according to stipe extracts of solvents.

용매에 따른 대의 투과도를 살펴보면, 75% EtOH 추출물의 투과도는 99.62%(T)로 가장 높았으며 water 추출물은 93.99%(T), 50% EtOH 추출물은 65.42%(T)의 순으로 나타났다. 그러나 water 추출물과 75%EtOH 추출물에서 보여준 투과도는 거의 유사한 값을 보여주었다.

다) 당도

각 추출물의 당도는 굴절당도계(Atago, hand refractometer, Japan)를 사용하여 실온에서 측정하였다.

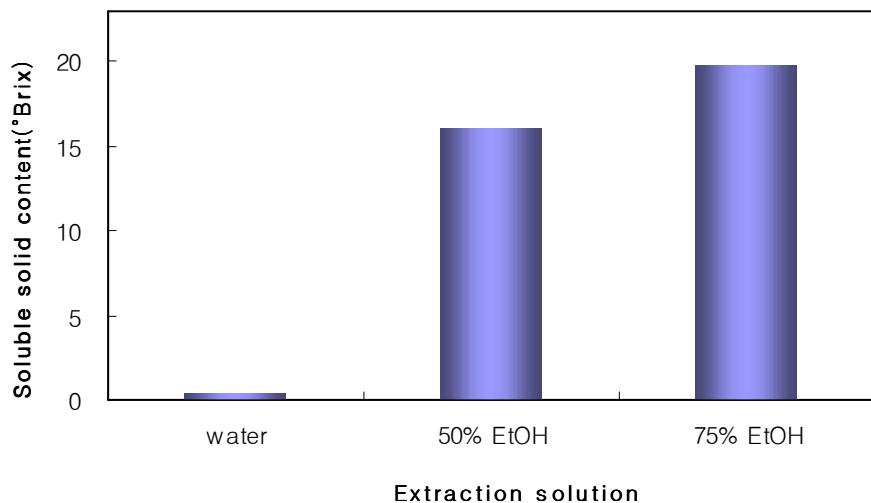


Fig. 46. Soluble solid contents of *Pleurotus eryngii* according to pileus extracts of solvents.

갓의 water 추출물의 경우 0.3 °Brix, 50% EtOH 추출물은 16.1 °Brix , 75% EtOH 추출물은 19.8 °Brix를 나타내었다(Fig. 46). water 추출물에 비해 ethanol 추출물의 가용성 고형분 함량이 높았으나 음료에 적용하기에는 부적합한 것으로 판단되었다. 따라서 음료에 적용하기에 적합한 가용성 고형분을 함유한 water 추출물이 유리할 것으로 판단되었다.

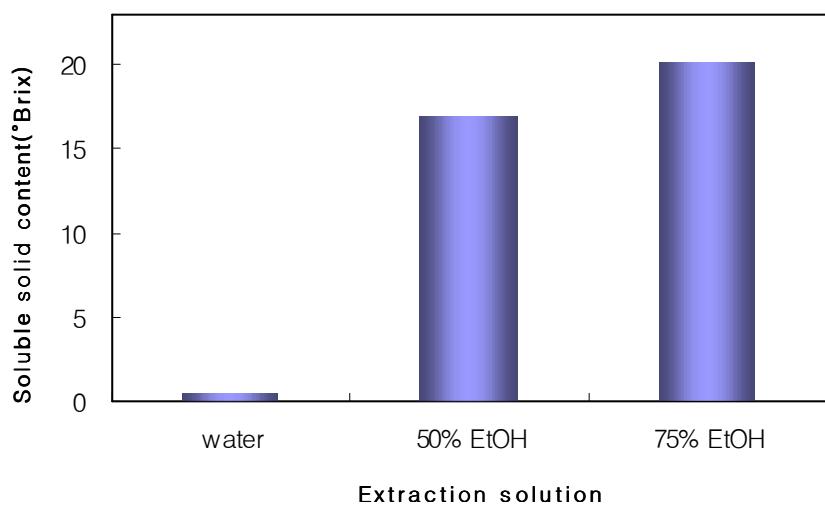


Fig. 47. Soluble solid contents of *Pleurotus eryngii* according to pileus stipe extracts of solvents.

대의 water 추출물의 경우 0.5 °Brix, 50% EtOH 추출물은 17 °Brix, 75% EtOH 추출물은 20.2 °Brix를 나타내었다(Fig. 47). 용매에 따른 대의 추출물의 당도 함량의 경향은 갓 추출물의 결과와 유사한 경향을 보여주었다. 갓과 대의 water 추출물이 EtOH 추출물보다 가용성분의 함량은 낮지만 음료로 사용하기에는 water 추출물이 더욱 유리할 것으로 판단되었다.

라) 유리당

새송이버섯을 갓과 대로 분리하여 각각 water 추출물과 50% EtOH 추출물 및 75% EtOH 추출물에 대한 유리당 조성을 분석하였다. 그 분석결과는 Table 25, 26과 같다. 새송이버섯 갓 추출물의 유리당 함량 분석 결과를 살펴보면 75% EtOH추출물이 극소량의 glucose를 함유하고 있다. 그 외 water 추출물, 50% EtOH 및 75% EtOH의 모든 추출물에서 fructose, glucose, sucrose, maltose를 함유하지 않았다. 새송이버섯 대 추출물의 유리당 함량 분석 결과는 갓 추출물의 분석결과와 마찬가지로 75% EtOH 추출물에서만 fructose를 소량 함유하고 있었다. 그 외 water 추출물, 50% EtOH 및 75% EtOH의 모든 추출물에는 fructose, Glucose, sucrose, maltose를 함유하지 않았다.

Table 25 . Free sugar contents of pileus extracts for fresh *Pleurotus eryngii* according to solvents.

	Fructose	Glucose	Sucrose	Maltose	Unit: %
Water ext.	-	-	-	-	
50% EtOH ext.	-	-	-	-	
75% EtOH ext.	-	0.06	-	-	

Table 26. Free sugar contents of strip extracts for fresh *Pleurotus eryngii* according to solvents.

	Fructose	Glucose	Sucrose	Maltose	Unit: %
Water ext.	-	-	-	-	
50% EtOH ext.	-	-	-	-	
75% EtOH ext.	0.36	-	-	-	

2) 새송이버섯의 추출조건 설정

가) 새송이버섯의 추출조건 설정

(1) 가수량별 당도 변화 및 수율조사

새송이버섯 갓에 3배, 5배, 7배, 9배의 중류수를 넣은 후 환류냉각장치로 추출하면서 끓기 시작했을 때부터 시간별로 추출되어 나오는 가용성 고형분 함량(당도, °Brix)을 측정한 결과는 다음 Fig. 48 과 같다.

시료 중량에 대한 가수량에 상관없이 15분 이후에 더 이상 가용성 고형분이 증가되지 않아 추출 평형에 도달하였다. 가수량을 3배로 한 경우에 가장 높은 °Brix를 보였다. 5분 후에 1.3°Brix의 값을, 10분 후에는 1.4°Brix의 값을, 15분 후에 1.5°Brix를 나타내었다. 그러나 20

분 후에는 평형에 도달하여 더 이상 가용성 고형분이 증가를 보이지 않았다. 가수량을 5배로 하였을 때는 5분후에 1°Brix를, 10분 후에 1.1°Brix를, 15분 후에 1.2°Brix를 나타내었다. 20분 후에는 3배 가수량과 같이 추출 평형에 도달하였다. 7배 가수량의 경우에는 5분, 10분, 15분에 각각 0.5°Brix, 0.6°Brix, 0.7°Brix를 보였고 20분 후에 추출평형에 도달하였으며 9배 가수량의 경우에는 5분, 10분, 15분에 각각 0.3°Brix, 0.4°Brix, 0.5°Brix를 보였고 20분 후에 추출평형에 도달하였다. 이처럼, 각 군은 20분후에 추출 평형에 도달하였고 이 때 각각의 가수량 별 추출수율을 구하였다. 가수량을 3배, 5배, 7배, 9배로 처리한 경우 각 추출 수율은 5.25%, 6.06%, 8.47%, 8.11%로 나타났다(Fig. 49). 수율은 7배 가수한 경우에 가장 우수하였다.

이상의 결과를 종합하였을 때 새송이버섯 갓의 추출은 7배, 9배로 가수한 경우에 좋았지만 가용성 고형분 함량이 낮은 편이었고 3배, 5배로 가수한 경우에는 수율은 낮았지만 가용성 고형분 함량은 높은 편이였다. 이것을 고려하여 가용성함량이 가장 높은 3배 가수와 비슷한 함량을 갖고 수율 면에서도 7배, 9배 가수한 경우와 비슷한 5배 가수한 경우가 가장 효율적인 추출방법인 것으로 판단되었다.

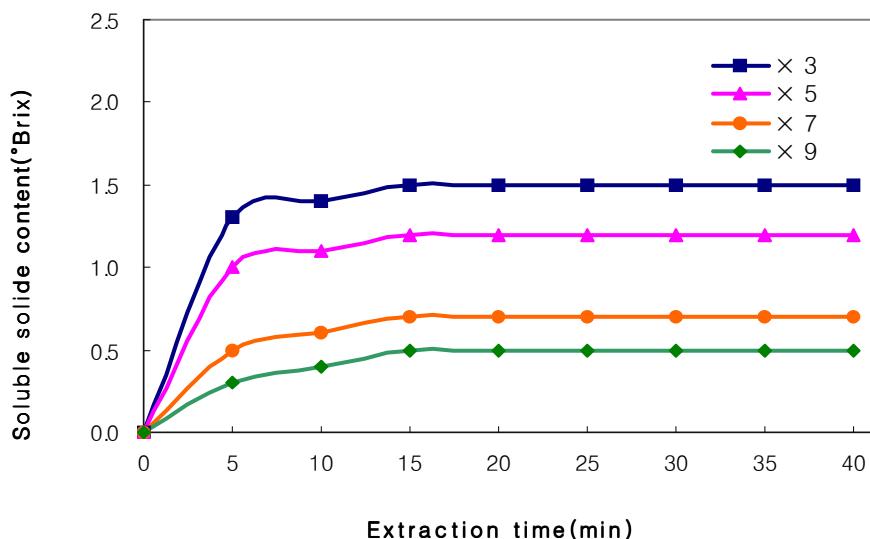


Fig. 48. Soluble solid contents of pileus of *Pleurotus eryngii* according to change of extraction time(\times folds; added water amount)

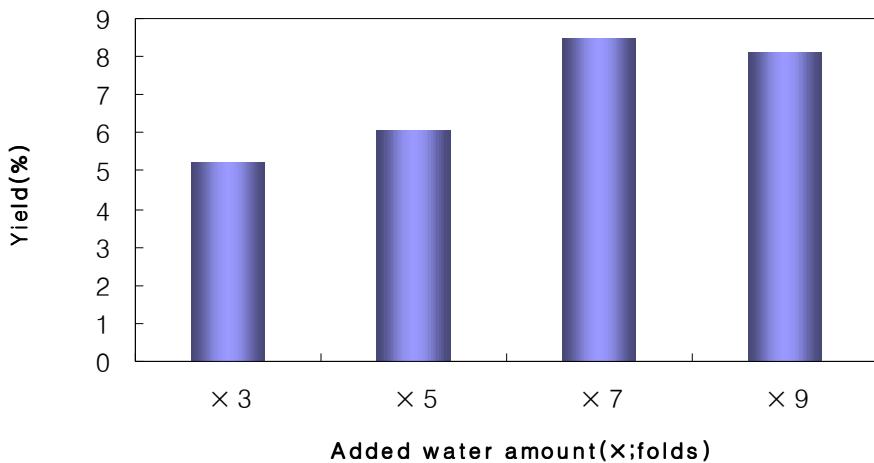


Fig. 49. Yeild of pileus of *Pleurotus eryngii* according to amount of the water added

새송이버섯 대에 3배, 5배, 7배, 9배의 증류수를 넣은 후 환류냉각장치로 추출하면서 끓기 시작했을 때부터 시간별로 추출되어 나오는 가용성 고형분 함량(당도, °Brix)을 측정한 결과는 다음 Fig. 50 과 같다.

시료 중량에 대한 3배 가수한 경우를 제외하고는 가수량에 상관없이 20분 후에 더 이상 가용성 고형분이 증가되지 않아 추출 평형에 도달하였다. 가수량을 3배로 한 경우에 가장 높은 °Brix를 보였다. 5분 후에 1.4°Brix의 값을, 10분 후에는 1.5°Brix의 값을, 15분 후에 1.5°Brix를 나타내었다. 그리고 20분 후에 1.7°Brix를 나타내었고 25분 이후에 평형에 도달하여 더 이상 가용성 고형분이 증가를 보이지 않았다. 가수량을 5배로 하였을 때는 5분후에 0.8 °Brix를, 10분 후에 0.9 °Brix를, 15분 후에 0.9 °Brix를 나타내었다. 그리고 20분 후에 1°Brix를 나타내었고 25분 후에 추출 평형에 도달하였다. 7배 가수량의 경우에는 5분, 10분, 15분, 20분에 각각 0.5°Brix, 0.6°Brix, 0.6°Brix, 0.7°Brix를 보였고 25분 후에 추출평형에 도달하였다. 마지막으로 9배 가수량의 경우에는 5분, 10분, 15분에 각각 0.4°Brix, 0.5°Brix, 0.5°Brix를 보였고 15분 후에 추출평형에 도달하였다. 이처럼, 9배가수한 군을 제외한 나머지 군은 20분후에 추출 평형에 도달하였다. 이 때 각각 가수량별 추출수율을 구하였다. 가수량을 3배, 5배, 7배, 9배로 처리한 경우 각 추출 수율은 6.59%, 7.33%, 7.64%, 7.73%로 나타났다(Fig. 51). 수율은 9배 가수한 경우에 가장 우수하였지만 5배, 7배 가수하였을 때의 수율과 거의 유사한 값을 보였다.

이상의 결과를 종합하였을 때 새송이버섯 것의 추출은 5배, 7배, 9배로 가수한 경우에 좋았지만 가용성 고형분 함량이 가장 높은 값을 보였던 3배 가수 보다 낮았다. 그러나 가용성 고형분 함량이 가장 높은 3배 가수한 경우는 수율이 가장 낮았다. 가용성 고형분 함량과 수

을 둘 다 고려하였을 때 7배 가수한 경우가 가장 효율적인 추출방법인 것으로 판단되었다.

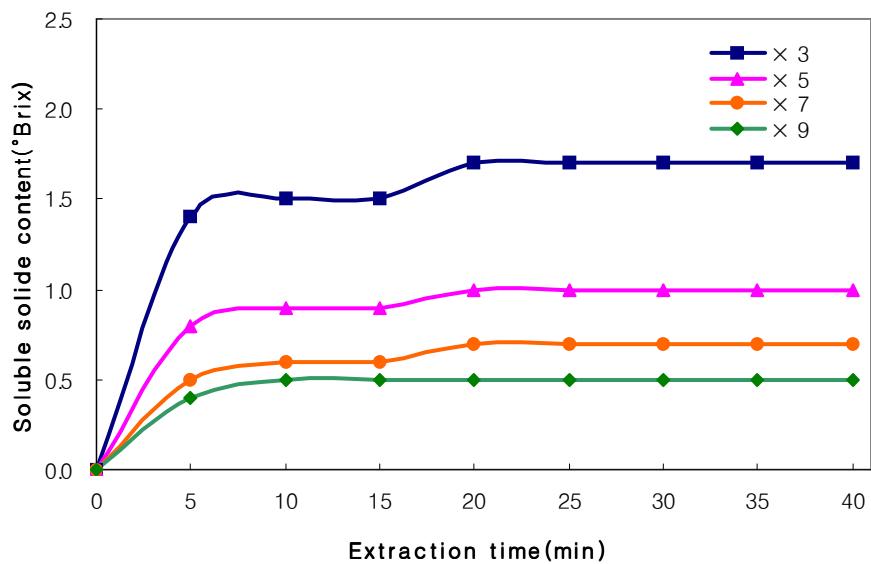


Fig. 50. Soluble solid contents of stipe of *Pleurotus eryngii* according to change of extraction time(\times folds; added water amount)

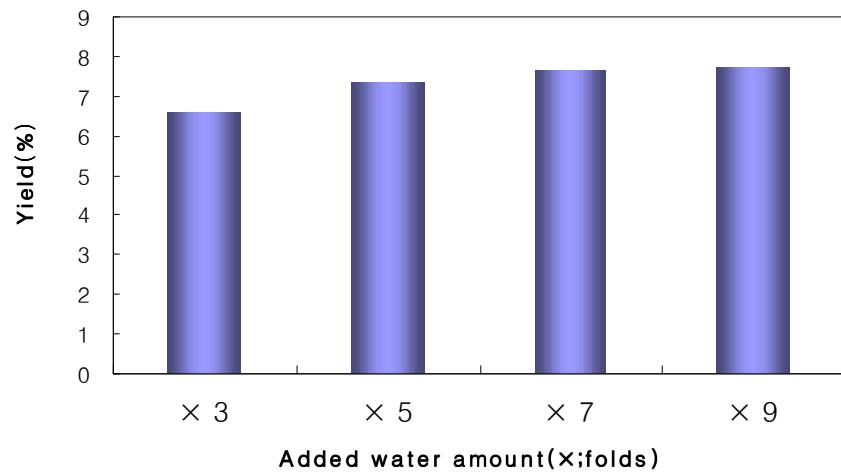


Fig. 51. Yeild of stipe of *Pleurotus eryngii* according to amount of water added

나. 새송이버섯 가공식품의 개발

1) 새송이버섯 음료의 개발

가) 새송이버섯의 적정 음용 농도 결정

새송이버섯은 버섯이 갖는 독특한 맛을 가지고 있기 때문에 음료 제조에 있어 거부감을 줄 수 있다. 그래서 주재료에 대한 거부감을 느끼지 않는 음용 농도를 찾기 위하여 추출 조건에 따라 새송이버섯 추출액을 1.0%, 1.5%, 2.0%, 2.5%의 비율로 배합하여 설탕과 과당 1:1 혼합물의 당 농도를 6%로 고정시키고, 구연산으로 pH를 3.7 ~ 3.8로 조절한 후 제시하여 관능평가를 실시하였다. 그 혼합비는 Table 27과 같다.

Table 27. Combination ratio for preparation of *Pleurotus eryngii* beverage

Unit : g(%)

Ingredient	Content of <i>Pleurotus eryngii</i> extract			
	1.0%	1.5%	2.0%	2.5%
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	21.28	31.91	42.55	53.19
Sugar ²⁾	6.00	6.00	6.00	6.00
Citric acid	0.10	0.15	0.25	0.35
Distilled water	72.72	92.09	51.45	40.81
Sum. ³⁾	100.00	100.00	100.00	100.00
pH	3.73	3.70	3.54	3.46

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext.: 4.7 brix

²⁾ Sucrose : High fructose(80° brix) = 1 : 1

³⁾ Sum of amount of all ingredients except citric acid

관능평가 결과 1.0% 농도에서는 느끼하고 텁텁한 새송이버섯의 독특한 맛에 의한 거부감은 없었으나 새송이버섯 음료로 활용하기에는 농도가 약간 낮은 것으로 판단되었다. 1.5% 농도에서는 느끼하고 텁텁한 버섯의 독특한 맛에 의한 거부감이 느껴지지 않았으며, 0.7%, 1.0% 농도의 경우 버섯의 독특한 맛이 다소 강하게 느껴져 음료용 농도로 부적당한 것으로

판단되었다. 따라서 버섯 특유의 느끼한 맛에 의한 거부감이 들지 않으면서도 다른 부재료들에 의해 새송이의 맛을 느낄 수 있는 농도를 선정하기 위한 새송이버섯 음료의 관능적 평가 결과 1.5%의 새송이버섯 추출물 함량이 가장 적합한 음용 농도로 결정되었다.

나) 부재료 종류의 선정 및 배합 비 결정

새송이버섯이 갖는 버섯의 고유한 맛에 대한 거부감을 줄이고, 더불어 맛을 개선하고 영양적, 약리적 효과의 증진을 위하여 과즙과 생약재가 적절히 배합된 음료를 개발하고자 하였다. 부재료로 사용된 과즙으로는 새송이버섯의 맛과 잘 어울리면서 과즙음료에 주로 많이 사용되고 있는 원료인 사과농축액을 사용하였고, 생약재로는 구기자추출액, 두충추출액, 대추추출액을 사용하였다.

(1) 사과농축액 및 구기자 추출액의 적정 음용농도 결정

(가) 1차 배합

사과 농축액은 새송이버섯 특유의 느끼한 맛에 대한 거부감을 줄이고 관능적으로 주재료의 맛을 잃지 않는 수준에서 사과농축액의 적정 음용 농도를 결정하였다. 사과 농축액은 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%의 농도로 첨가하였으며, 새송이버섯 추출액은 1.5%의 농도로 고정하였다. 사과 농축액의 적정 음용농도 결정을 위한 배합 비는 Table 28과 같다.

Table 28. Combination ratio for preparation of *Pleurotus eryngii* beverage with apple concentration.

Ingredinet	Content of Apple concentration				Unit : g(%)
	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%	
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	50.00	50.00	50.00	50.00	
Apple conc. ²⁾	0.29	0.59	0.88	1.18	
Sugar	6.00	6.00	6.00	6.00	
Citric acid	0.20	0.20	0.20	0.20	
Distilled water	43.71	43.41	43.12	42.82	
Sum.	100.00	100.00	100.00	100.00	
pH	3.39	3.38	3.37	3.37	

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 3.0 °brix

²⁾ Apple conc. : 68 °brix

부재료로 사용된 사과 농축액이 새송이버섯의 맛과 잘 어울리면서 새송이버섯의 느끼한 맛을 줄일 수 있는 적절한 농도를 찾기 위해 관능검사를 실시하였다. 관능검사 결과 0.2% 농도의 경우 사과 맛이 거의 느껴지지 않았고, 0.4% 농도의 경우 사과 맛이 약간 느껴지기는 하였으나 미비한 수준이어서 새송이 버섯의 느끼한 맛을 감소시키지 못하였다. 0.8% 농도의 경우 다소 사과맛이 매우 강하게 느껴져 새송이버섯 음료로 부적합한 것으로 판단되었다. 0.6% 농도에서는 버섯 특유의 느끼한 맛이 효과적으로 희석되어 거부감이 느껴지지 않고, 주재료인 새송이버섯과 잘 어울렸으므로 이를 적정 음용농도로 결정하였다.

(나) 2차 배합

새송이버섯 추출액은 1.5%로 결정을 하였고 버섯의 독특한 맛을 감소시키기 위해 사과 농축액을 0.6%으로 고정하였다. 사과 농축액과 함께 관능적으로 새송이버섯에 느끼한 맛을 감소시키고 또한 영양적, 약리적 효과증진을 위해 한약재로 가장 먼저 구기자 추출액의 적

정 농도를 결정하고자 하였다. 구기자 추출액은 맛과 향이 강하여 0.1%, 0.15%, 0.20%, 0.25%의 비율로 소량 첨가하였다. 배합 비는 Table 29와 같으며 이와 같은 배합비로 제조된 음료의 관능검사를 실시하였다.

관능검사 결과 0.10%, 0.15% 경우 구기자의 맛과 향이 약간 느껴졌지만 버섯의 느끼한 맛을 감소시키기에는 너무 낮은 수준이었다. 0.25%의 경우 향이 강하고 색도 진해져서 음료에 활용하기에는 부적절한 것으로 생각되었다. 0.20%의 경우 새송이버섯의 느끼한 맛을 완화시킬 뿐만 아니라 구기자의 특유한 향을 부여하여 음용 농도로 적당하다고 결정하였다. 또한 구기자 추출액은 새송이버섯 뿐만 아니라 사과 농축액과의 맛에서도 잘 어울려 적절한 부재료로 판단되었다.

Table 29. Combination ratio for preparation of *Pleurotus eryngii* beverage with Gugija ext.

Ingredient	Content of Gugija extract				Unit : g(%)
	0.10%	0.15%	0.20%	0.25%	
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	50.00	50.00	50.00	50.00	
Apple conc. ²⁾	0.88	0.88	0.88	0.88	
Gugija ext. ³⁾	3.85	5.77	7.69	9.62	
Sugar	6.00	6.00	6.00	6.00	
Citric acid	0.20	0.20	0.20	0.20	
Distilled water	39.27	37.35	35.43	33.50	
Sum.	100.00	100.00	100.00	100.00	
pH	3.45	3.47	3.46	3.49	

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 3.0 °brix

²⁾ Apple conc. : 68 °brix

³⁾ Gugija ext. : 2.6 °brix

(다) 3차 배합

새송이버섯 추출액은 1.5%로 결정을 하였고 버섯의 독특한 맛을 감소시키기 위해 사과 농축액을 0.6%로 고정하였다. 또한 영양적, 약리적 효과증진을 위해 한약재로 사용된 구기자 농축액의 적정 농도는 0.2%로 결정하였고 그 다음 다른 한약재로써 두충을 첨가하고자 결정하였다. 두충 농축액 역시 맛과 향이 강하여 0.1%, 0.15%, 0.20%, 0.25%의 비율로 소량 첨가하였다. 배합 비는 Table 30과 같으며 이와 같은 배합비로 제조된 음료를 관능검사에 사용하였다.

Table 30. Combination ratio for preparation of *Pleurotus eryngii* beverage with duchung ext.

Ingredient	Content of Duchung extract.				Unit : g(%)
	0.05%	0.10%	0.15%	0.20%	
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	50.00	50.00	50.00	50.00	
Apple conc. ²⁾	0.88	0.88	0.88	0.88	
Gugija ext. ³⁾	7.69	7.69	7.69	7.69	
Duchung ext. ⁴⁾	3.57	5.36	7.14	8.93	
Sugar	6.00	6.00	6.00	6.00	
Citric acid	0.20	0.20	0.20	0.20	
Vitamin C	0.20	0.20	0.20	0.20	
Distilled water	31.86	30.07	28.28	26.50	
Sum.	100.00	100.00	100.00	100.00	
pH	3.13	3.14	3.14	3.14	

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 3.0 °brix

²⁾ Apple conc. : 68 °brix

³⁾ Gugija ext. : 2.6 °brix

⁴⁾ Duchung ext. : 2.8 °brix

관능검사 결과 0.10%경우 두충추출액의 맛이 약간 느껴지긴 하였으나 버섯의 떫고 느끼한 맛을 감소시키기에는 미비한 수준이었으며, 0.20%, 0.25%의 경우 두충의 향과 맛이 강하여 버섯의 독특한 맛과 향을 느낄 수가 없었다. 0.20%의 경우 두충의 특유한 향을 부여함으로써 새송이버섯의 떫고 느끼한 맛을 완화시킬 뿐만 아니라 기존의 구기자 추출액과 사과농축액의 맛과 잘 어울려서 음용 농도로 적당하다고 결정하였다.

(라) 4차 배합

새송이버섯 추출액은 1.5%로 결정을 하였고 버섯의 독특한 떫고 느끼한 맛을 감소시키기 위해 사과 농축액을 0.6%로 고정하였다. 또한 영양적, 약리적 효과증진을 위해 첨가한 구기자 추출액은 0.2%로, 두충 추출액은 0.15%로 결정하였다. 새송이버섯의 고유한 텁텁하고 느끼한 맛은 제거되었지만 음용하기 위해 좋은 단맛을 첨가하기 위하여 대추 추출액을 선택하였다. 대추 추출액은 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%의 비율로 첨가하였다. 배합 비는 Table 31 과 같으며 이와 같은 배합비로 제조된 음료의 관능검사를 실시하였다.

관능검사 결과 0.1%경우 대추 추출액의 맛이 약간 느껴지긴 하였으나 좋은 단맛을 주기에는 약간 낮은 수준이었으며, 0.2%, 0.25%의 경우 대추 향과 맛이 강하여 버섯의 독특한 맛과 향을 완전히 제거하여 새송이버섯의 음료에 사용할 농도로 부적합하다고 판단되었다. 0.6%의 경우 대추의 특유한 좋은 단맛을 부여함으로써 새송이버섯의 텁텁하고 느끼한 맛을 완화시킬 뿐만 아니라 기존의 사과 농축액, 구기자 추출액, 두충 추출액의 전체 맛과 잘 어울려서 음용 농도로 적당하다고 결정하였다. 이와 같은 배합 비는 음료의 맛과 향에서 우수하였으므로 새송이버섯 음료의 최종 배합 비 A type으로 결정하였다. A type 새송이버섯 음료의 배합 비는 Table 32와 같다.

Table 31. Combination ratio for preparation of *Pleurotus eryngii* beverage with daechu ext.

Ingredient	Content of Daechu extract.				Unit : g(%)
	0.05%	0.10%	0.15%	0.20%	
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	50.00	50.00	50.00	50.00	
Apple conc. ²⁾	0.88	0.88	0.88	0.88	
Gugija ext. ³⁾	7.69	7.69	7.69	7.69	
Duchung ext. ⁴⁾	5.36	5.36	5.36	5.36	
Daechu ext. ⁵⁾	3.85	7.69	11.54	15.38	
Sugar	6.00	6.00	6.00	6.00	
Citric acid	0.20	0.20	0.20	0.20	
Vitamin C	0.20	0.20	0.20	0.20	
Distilled water	26.82	22.38	18.53	14.69	
Sum.	100.00	100.00	100.00	100.00	
pH	3.22	3.13	3.21	3.49	

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 3.0 °brix

²⁾ Apple conc. : 68 °brix

³⁾ Gugija ext. : 2.6 °brix

⁴⁾ Duchung ext. : 2.8 °brix

⁵⁾ Daechu ext. : 5.2 °brix

Table 32. Final combination ratio for *Pleurotus eryngii* beverage of type A

Ingredient	Content	Unit : (%)
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	50.00	
Apple conc. ²⁾	0.88	
Gugija ext. ³⁾	7.69	
Duchung ext. ⁴⁾	5.36	
Daechu ext. ⁵⁾	11.54	
Sucrose : High fructose (1 : 1)	6.00	
Citric acid	0.20	
Vitamin A	0.20	
Distilled water	18.53	
Sum ⁶⁾	100.00	

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 3.0 °brix

²⁾ Apple conc. : 68 °brix

³⁾ Gugija ext. : 2.6 °brix

⁴⁾ Duchung ext. : 2.8 °brix

⁵⁾ Daechu ext. : 5.2 °brix

⁶⁾ Sum of amount of all ingredients except citric acid.

(2) 숙지황 추출액, 오미자 추출액 및 대추 추출액의 적정 음용농도 결정
 새송이버섯의 텁텁하고 느끼한 맛을 감소시키기 위해 상큼한 신맛을 가진 오미자를 선택하였고 영양과 약리효과의 증진을 위해 숙지황과 대추 추출액을 선택하였다.

(가) 1차 배합

숙지황의 추출액은 새송이버섯 특유의 텁텁하고 느끼한 맛에 대한 거부감을 줄이고 관능적으로 주재료에 맛을 잃지 않는 수준에서 숙지황 추출액의 적정 음용 농도를 결정하였다. 숙지황 추출액은 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%의 농도 첨가하였으며, 새송이버섯 추출액은 1.5%의 농도로 고정하였다. 숙지황 추출액의 적정 음용농도 결정을 위한 배합 비는 Table

33와 같다.

숙지황의 부재료가 새송이버섯의 맛과 잘 어울리면서 새송이버섯의 느끼한 맛을 감소시켜 줄 수 있는 적절한 농도를 찾기 위하여 관능검사를 실시하였다. 관능검사 결과 0.2%, 0.4% 농도의 경우 숙지황 추출액의 맛이 약간 느껴지기는 하였으나 미비한 수준이어서 새송이버섯의 독특한 맛을 감소시키지 못하였다. 0.8% 농도의 경우 숙지황 추출액의 맛이 매우 강하게 느껴져 새송이버섯의 고유의 맛을 거의 나타내지 못했기 때문에 새송이버섯의 음료로 사용하기에 부적합한 농도로 판단되었다. 0.6% 농도에서는 버섯 특유의 느끼한 맛이 효과적으로 희석되어 거부감이 느껴지지 않았고, 주재료인 새송이버섯과 잘 어울렸으므로 이를 적정 음용농도로 결정하였다.

Table 33. Combination ratio for preparation of *Pleurotus eryngii* beverage with sukgiwhang extract.

Ingredient	Content of Sukgiwhang extract				Unit : g(%)
	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%	
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	50.00	50.00	50.00	50.00	
Sukgiwhang ext. ²⁾	5.00	10.00	15.00	20.00	
Sugar	6.00	6.00	6.00	6.00	
Citric acid	0.20	0.20	0.20	0.20	
Distilled water	39.00	34.00	29.00	24.00	
Sum.	100.00	100.00	100.00	100.00	
pH	3.37	3.25	3.26	3.28	

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 3.0 °brix

²⁾ Sukgiwhang ext.: 4.0 °brix

(나) 2차 배합

새송이버섯 추출물과 숙지황 추출액을 각각 1.5%, 0.6%로 고정하였다. 한약재로는 오미자 추출액을 첨가하였다. 오미자 추출액은 음료, 화채, 술 제조 시 자주 사용되는 약재로써 붉은 빛깔에 신맛, 단맛, 쓴맛, 짠맛, 매운맛을 가지고 있다. 그중에 신맛이 가장 강하다. 오

비자를 첨가하면 새송이버섯과 숙지황 추출액의 기준의 맛에 상큼한 신맛과 붉은 빛깔을 더하여 관능적으로 우수할 것으로 판단되었다. 오미자 추출액은 0.1%, 0.15%, 0.20%, 0.25%의 비율로 소량 첨가하였다. 배합 비는 Table 34와 같다.

Table 34. Combination ratio for preparation of *Pleurotus eryngii* beverage with omija ext.

Ingredient	Content of Omija extract				Unit : g(%)
	0.10%	0.15%	0.20%	0.25%	
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	50.00	50.00	50.00	50.00	
Sukgiwhang ext. ²⁾	15.00	15.00	15.00	15.00	
Omija ext. ³⁾	1.67	2.50	3.33	4.17	
Sugar	6.00	6.00	6.00	6.00	
Citric acid	0.20	0.20	0.20	0.20	
Distilled water	27.33	26.50	25.67	24.83	
Sum.	100.00	100.00	100.00	100.00	
pH	3.16	3.00	2.95	2.87	

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 3.0 °brix

²⁾ Sukgiwhang ext. : 4.0 °brix

³⁾ Omija ext. : 6.0 °brix

관능검사 결과 0.10%경우 오미자의 상큼한 신맛이 약간 느껴지긴 하였으나 버섯의 독특한 맛을 감소시키기에는 미비한 수준이었으며, 0.20%, 0.25%의 경우 신맛이 강하게 느껴져서 새송이버섯의 고유한 맛을 나타내지 못했다. 그래서 이 오미자 농도는 음료의 부재료로 활용하기에는 부적합한 것으로 판단되었다. 0.15%의 경우 새송이버섯의 떫고 느끼한 맛을 완화시킬 뿐만 아니라 오미자의 상큼한 맛이 전체의 맛과 적절하게 조화를 이루었다. 따라서 오미자 추출액 0.15%를 최적 음용농도로 결정하였다.

(다) 3차 배합

새송이버섯 추출물 1.5%로 고정한 후에 숙지황과 오미자의 부재료를 첨가하여 새송이버섯의 고유한 맛을 어느 정도 살리면서 텁텁하고 느끼한 맛에 대한 거부감을 제거하기 위한 범위에서 배합 비를 결정하였다. 그러나 새송이버섯 음료에 적절한 단맛을 부여하기 위해 대추 추출액을 첨가하였다. 대추는 특유의 향과 단맛을 제공하여 음료 제조 시 많이 이용되고 있어 부재료로 사용 시 관능적으로 우수할 것으로 판단되었다. 대추 추출액은 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%의 비율로 첨가하였다. 배합 비는 Table 35와 같으며 이와 같은 배합비로 제조된 음료를 관능검사에 사용하였다.

관능검사 결과 0.10%경우 대추 추출액의 맛이 약간 느껴지긴 하였으나 버섯의 뛰고 느끼한 맛을 감소시키기에는 미비한 수준이었으며, 0.20%, 0.25%의 경우 대추의 향과 맛이 너무 강하게 느껴져 버섯의 독특한 맛과 향이 거의 느낄 수가 없었다. 0.15%의 경우 대추의 향과 맛이 적절하게 부여되어 새송이버섯의 뛰고 느끼한 맛을 완화시킬 뿐만 아니라 기존의 숙지황 추출액의 맛 및 오미자 추출액의 맛과 잘 어울려서 음용하기 적당한 단맛을 부여하였다. 이와 같이 새송이버섯 추출물에 숙지황 추출액, 오미자 추출액과 대추 추출액을 적정하게 배합함으로써 음료의 맛과 향이 개선되었으므로 새송이버섯 음료의 최종 배합 비 B type으로 결정하였다. B type 팽이버섯 음료의 최종 배합 비는 Table 36과 같다.

Table 35. Combination ratio for preparation of *Pleurotus eryngii* beverage with Daechu ext.

Ingredient	Content of Daechu extract.				Unit : g(%)
	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%	
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	44.12	44.12	44.12	44.12	
Sukgiwhang ext. ²⁾	15.00	15.00	15.00	15.00	
Omija ext. ³⁾	2.50	2.50	2.50	2.50	
Daechu ext. ⁴⁾	3.85	7.69	11.54	15.38	
Sugar	6.00	6.00	6.00	6.00	
Citric acid	0.20	0.20	0.20	0.20	
Vitamin C	0.20	0.20	0.20	0.20	
Distilled water	28.53	24.69	20.84	17.00	
Sum.	100.00	100.00	100.00	100.00	
pH	3.04	3.04	3.00	3.01	

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 3.4 °brix

²⁾ Sukgiwhang ext. : 4.0 °brix

³⁾ Omija ext. : 6.0 °brix

⁴⁾ Daechu ext. : 5.2 °brix

Table 36. Final combination ratio for *Pleurotus eryngii* beverage of type B

Ingredient	Content	Unit : (%)
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	44.12	
Sukgiwhang ext. ²⁾	15.00	
Omija ext. ³⁾	2.50	
Daechu ext. ⁴⁾	11.54	
Sucrose : High fructose (1 : 1)	6.00	
Citric acid	0.20	
Vitamin A	0.20	
Distilled water	20.84	
Sum ⁵⁾	100.00	

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 3.4 °brix

²⁾ Sukgiwhang ext. : 4.0 °brix

³⁾ Omija ext. : 6.0 °brix

⁴⁾ Daechu ext. : 5.2 °brix

⁵⁾ Sum of amount of all ingredients except citric acid.

(3) 건강 추출물, 오미자 추출물 및 대추 추출액의 적정 음용농도 결정

(가) 1차 배합

새송이버섯 추출물을 1.5%의 농도로 고정한 후 건강 추출액의 적정 음용농도를 결정하기 위해 건강 추출액을 0.3%, 0.5%, 0.7%, 0.9%의 농도로 첨가하였다. 배합 비는 Table 37 과 같다.

Table 37. Combination ratio for preparation of *Pleurotus eryngii* beverage with Gunkang extract.

Ingredient	Content of Gunkang extract				Unit : g(%)
	0.3%	0.5%	0.7%	0.9%	
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	44.12	44.12	44.12	44.12	
Gunkang ext. ²⁾	7.50	12.50	17.50	22.50	
Sugar	6.00	6.00	6.00	6.00	
Citric acid	0.20	0.20	0.20	0.20	
Distilled water	42.38	37.38	32.38	27.38	
Sum.	100.00	100.00	100.00	100.00	
pH	3.76	3.64	3.79	3.69	

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 3.4 °brix

²⁾ Gunkang ext.: 4.0 °brix

부재료로 첨가하는 건강 추출물과 새송이버섯 추출물과의 어울림을 평가하고, 새송이버섯의 텁텁하고 느끼한 맛을 줄일 수 있는 건강 추출물의 적절한 농도를 찾기 위하여 관능검사를 실시하였다. 관능검사 결과 0.3%농도의 경우 건강의 맛이 거의 느껴지지 않았고, 0.5% 농도의 경우 건강의 맛이 약간 느껴지기는 하였으나 역시 미비한 수준이어서 새송이버섯의 느끼한 맛을 감소시키지 못하였다. 반면 0.7% 농도의 경우 건강의 맵고 톡 쏘는 특유의 맛과 향으로 인해 주재료인 새송이버섯 추출물이 맛과 향을 살리면서 버섯 특유의 느끼한 맛을 효과적으로 희석할 수 있는 농도인 것으로 판단되었다. 한편 0.9% 농도에서는 강하게 톡 쏘는 맛이 느껴져 새송이버섯 음료로서 부적합한 것으로 판단되었다. 따라서 건강 농축액을 0.7%의 농도로 희석하는 것이 가장 효과적인 것으로 판단하고 이를 적정 음용농도로 결정하였다.

(나) 2차 배합

새송이버섯 추출액을 1.5%로 고정하고 1차 부재료로서 건강 추출액의 적정농도를 0.7%로 결정한 다음 오미자 추출액을 첨가하여 2차 배합을 하였다. 오미자 추출액은 0.1%, 0.15%, 0.20%, 0.25%의 비율로 첨가하였다. 배합 비는 Table 38과 같으며 이러한 배합 비로

제조된 음료를 대상으로 관능검사를 실시하였다.

Table 38. Combination ratio for preparation of *Pleurotus eryngii* beverage with Omija ext.

Ingredient	Content of Omija extract				Unit : g(%)
	0.1%	0.15%	0.20%	0.25%	
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	44.12	44.12	44.12	44.12	
Gunkang ext. ²⁾	17.50	17.50	17.50	17.50	
Omija ext. ³⁾	1.67	2.50	3.33	4.17	
Sugar	6.00	6.00	6.00	6.00	
Citric acid	0.15	0.15	0.15	0.15	
Distilled water	30.71	29.88	29.05	28.21	
Sum	100.00	100.00	100.00	100.00	
pH	3.30	3.13	3.01	2.94	

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 3.4 °brix

²⁾ Gunkang ext.: 4.0 °brix

³⁾ Omija ext. : 6.0 °brix

관능검사 결과 0.10%, 0.15%의 경우 오미자 추출액의 맛이 약간 느껴지긴 하였으나 버섯의 느끼한 맛을 감소시키기에는 미비한 수준이었으며, 0.20% 농도 처리군의 경우 효과적으로 버섯 특유의 느끼한 향을 감소시킬 수 있는 농도인 것으로 판단되었다. 한편 0.25% 농도 처리군의 경우 그 맛이 너무 강하게 느껴져 주재료인 새송이버섯의 맛과 향이 거의 느껴지지 않아 음료농도로 부적합하다고 판단되었다.

(다) 3차 배합

새송이버섯 추출액, 갈근추출액과 오미자 추출액을 각각 1.5%, 0.7%, 0.2%로 고정한 다음 대추 추출액을 첨가하여 3차 배합을 하였다. 대추 추출액은 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%의

비율로 첨가하였다. 배합 비는 Table 39 와 같으며 이와 같은 배합비로 제조된 음료를 대상으로 관능검사를 실시하였다.

관능검사 결과 0.2%, 0.4%의 경우 대추 추출액의 단맛이 약간 느껴지긴 하였으나 전체적인 맛의 조화를 이루게 하거나 음용할 때 적절한 단맛을 내기에는 미비한 수준이었으며, 0.6% 농도 처리군의 경우 효과적으로 버섯 특유의 느끼한 향을 감소시킬 수 있는 농도인 것으로 판단되었다. 한편 0.8% 농도 처리군의 경우 그 맛이 너무 강하게 느껴져 주재료인 새송이버섯의 맛과 향이 거의 느껴지지 않았다.

새송이버섯의 부재료로서 건강 추출액 0.7%, 오미자 추출액 0.2%와 대추 추출액 0.6% 처리 배합비가 음료의 맛과 향에서 우수하였으므로 새송이버섯 음료의 최종 배합 비 C type으로 결정하였다. C type 새송이버섯 음료의 최종 배합 비는 Table 40과 같다.

Table 39. Combination ratio for preparation of *Pleurotus eryngii* beverage with Daechu extract.

Ingredient	Content of Daechu extract				Unit : g(%)
	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%	
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	44.12	44.12	44.12	44.12	
Gunkang ext. ²⁾	17.50	17.50	17.50	17.50	
Omija ext. ³⁾	3.33	3.33	3.33	3.33	
Daechu ext. ⁴⁾	3.85	7.69	11.54	15.38	
Sugar	6.00	6.00	6.00	6.00	
Citric acid	0.20	0.20	0.20	0.20	
Vitamin C	0.20	0.20	0.20	0.20	
Distilled water	25.20	21.30	17.51	13.67	
Sum	100.00	100.00	100.00	100.00	
pH	3.24	3.25	3.25	3.24	

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 3.4 °brix

²⁾ Gunkang ext.: 4.0 °brix

³⁾ Omija ext. : 6.0 °brix

⁴⁾ Daechu ext. : 5.2 °brix

Table 40. Final combination ratio for *Pleurotus eryngii* beverages of type C

Ingredient	Content	Unit : (%)
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	44.12	
Gunkang ext. ²⁾	17.50	
Omija ext. ³⁾	3.33	
Daechu ext. ⁴⁾	11.54	
Sucrose : High fructose (1 : 1)	6.00	
Citric acid	0.20	
Vitamin C	0.20	
Distilled water	17.51	
Sum ⁵⁾	100.00	

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 3.4 °brix

²⁾ Gunkang ext.: 4.0 °brix

³⁾ Omija ext. : 6.0 °brix

⁴⁾ Daechu ext. : 5.2 °brix

⁵⁾ Sum of amount of all ingredients except citric acid.

(4) 천궁 추출액, 갈근 추출액 및 오미자 추출액의 적정 음용농도 결정

(가) 1차 배합

새송이버섯 추출물은 1.5% 농도로 고정한 후 천궁 추출액을 0.3%, 0.5%, 0.7%, 0.9%의 비율로 첨가하였다. 천궁 추출액의 적정 음용농도 결정을 위한 배합 비는 Table 41 과 같다.

Table 41. Combination ratio for preparation of *Pleurotus eryngii* beverage with chungung extraction.

Ingredient	Content of Chungung extract				Unit : g(%)
	0.3%	0.5%	0.7%	0.9%	
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	35.71	35.71	35.71	35.71	
Chungung ext. ²⁾	6.67	11.11	15.56	20.00	
Sugar	6.00	6.00	6.00	6.00	
Citric acid	0.20	0.20	0.20	0.20	
Distilled water	51.62	47.18	42.73	38.29	
Sum	100.00	100.00	100.00	100.0	
pH	3.51	3.61	3.64	3.66	

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 4.2 °brix

²⁾ Chungung ext. : 4.5 °brix

부재료인 천궁 추출액이 새송이 추출물과 잘 어울리는지를 평가하고 새송이버섯의 텁텁하고 느끼한 맛을 줄여줄 수 있는 적절한 농도를 찾기 위하여 관능검사를 실시하였다. 관능검사 결과 0.3% 농도의 경우 새송이버섯의 느끼한 맛을 감소시키지는 못하였다. 0.5% 농도의 경우 천궁 추출물의 맛이 느껴지기는 하였으나 새송이버섯의 텁텁하고 느끼한 맛을 감소시키기에는 미약한 수준이었다. 0.9% 농도의 경우 그 맛과 향이 너무 강하여 새송이버섯 고유의 맛을 거의 나타내지 못했다. 그러나 0.7% 농도의 경우에는 새송이버섯의 독특한 맛과 향을 어느 정도 살리면서 천궁의 상큼한 맛이 적절히 부여되었다. 따라서 천궁 추출액의 최적 음용 농도는 0.7%로 결정하였다.

(나) 2차 배합

새송이버섯 농축액과 천궁 농축액을 각각 1.5%, 0.7%로 고정하고, 한약재로 갈근 농축액을 첨가하였다. 갈근 농축액은 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%의 농도 범위로 배합하여 관능검사를 실시하였다. 배합 비는 Table 42와 같다.

관능검사 결과 0.2%에서는 갈근의 맛이 거의 느껴지지 않았고, 0.4%의 경우 갈근의 맛이

느껴지기는 했지만 미비한 수준이어서 새송이버섯의 느끼한 맛을 감소시키지 못했다. 0.6% 농도의 경우 새송이버섯의 맛과 향을 어느 정도 느낄 수 있으면서 전체적인 맛과 잘 조화를 이루어 음료에 사용할 농도로 적당한 것으로 판단되었다. 한편, 0.8% 처리군의 경우 갈근의 맛이 너무 강하게 느껴지고 색도 진해져서 한약과 같았다. 그래서 새송이 음료로 사용하기에 부적절한 것으로 판단되었다. 따라서 갈근 농축액의 0.6%를 새송이버섯 음료의 적정 음용 농도로 결정하였다.

Table 42. Combination ratio for preparation of *Pleurotus eryngii* beverage with galgun ext.

Ingredient	Content of Galgun extract				Unit : g(%)
	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%	
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	35.71	35.71	35.71	35.71	
Chungung ext. ²⁾	15.56	15.56	15.56	15.56	
Galgun ext. ³⁾	3.64	7.27	10.91	14.55	
Sugar	6.00	6.00	6.00	6.00	
Citric acid	0.20	0.20	0.20	0.20	
Distilled water	48.90	47.55	46.50	44.85	
Sum	100.00	100.00	100.00	100.0	
pH	3.84	3.88	3.86	3.89	

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 4.2 °brix

²⁾ Chungung ext. : 4.5 °brix

³⁾ Galgun ext. : 5.5 °brix

(다) 3차 배합

새송이버섯에서 느껴지는 느끼한 맛에 대한 거부감을 감소면서 천궁 농축액 및 갈근 농축액과 함께 상큼한 신맛을 더하기 위하여 오미자 농축액을 첨가하였다. 오미자 농축액은 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%의 농도 범위로 배합하여 관능검사를 실시하였다. 배합 비는 Table 43과 같다.

Table 43. Combination ratio for preparation of *Pleurotus eryngii* beverage with omija extract.

Ingredient	Content of Omija extract				Unit : g(%)
	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%	
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	35.71	35.71	35.71	35.71	
Chungung ext. ²⁾	15.56	15.56	15.56	15.56	
Galgun ext. ³⁾	10.91	10.91	10.91	10.91	
Omija ext. ⁴⁾	3.33	6.67	10.00	13.33	
Sugar	6.00	6.00	6.00	6.00	
Citric acid	0.20	0.20	0.20	0.20	
Vitamin C	0.20	0.20	0.20	0.20	
Distilled water	28.49	25.15	21.82	18.49	
Sum	100.00	100.00	100.00	100.0	
pH	3.67	3.55	3.45	3.36	

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 4.2 °brix

²⁾ Chungung ext. : 4.5 °brix

³⁾ Galgun ext. : 5.5 °brix

⁴⁾ Omija ext. : 6.0 °brix

오미자 농축액 역시 0.2%농도의 경우 약간 단맛을 더하여 주기는 하였지만 농도가 너무 낮아서 새송이버섯의 느끼한 맛을 제거하기에는 미비한 수준이었다. 마찬가지로 0.4%농도의 경우는 느끼한 맛을 감소시키기 보다는 관능적으로 신맛이 너무 강하게 느껴졌다. 0.6%의 농도에서는 새콤달콤한 오미자의 맛이 갈근과 새송이버섯의 맛을 상쇄시켜서 전체적으로 부드러운 맛을 주었다. 0.8%농도의 경우는 오미자의 맛과 향이 너무 강하게 느껴져 주재료로서의 새송이버섯의 맛과 향이 거의 느껴지지 않았다. 따라서 0.6%를 오미자의 적정 음용 농도로 결정하였다.

이와 같이 천궁 농축액, 갈근 농축액 및 오미자 추출액의 적정 음용 농도에 따른 배합을 통해 음료의 맛과 향이 개선되었으므로 새송이버섯 음료의 최종 배합 비 D type으로 결정하였다. D type 새송이버섯 음료의 배합 비는 Table 44 와 같다.

Table 44. Final combination ratio for *Pleurotus eryngii* beverages of type D

Unit : (%)

Ingredient	Content
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	35.71
Chungung ext. ²⁾	15.56
Galgun ext. ³⁾	10.91
Omija ext. ⁴⁾	10.00
Sucrose : High fructose (1 : 1)	6.00
Citric acid	0.20
Vitamin C	0.20
Distilled water	21.82
Sum ⁵⁾	100.00

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 4.2 °brix

²⁾ Chungung ext. : 4.5 °brix

³⁾ Galgun ext. : 5.5 °brix

⁴⁾ Omija ext. : 6.0 °brix

⁵⁾ Sum of amount of all ingredients except citric acid.

(5) 백작약 추출액, 오미자 추출액 및 감초 추출액의 적정 음용농도 결정

(가) 1차 배합

새송이버섯 추출물은 1.5% 농도로 고정한 후 백작약 추출액을 0.3%, 0.5%, 0.7%, 0.9%의 비율로 첨가하였다. 천궁 추출액의 적정 음용농도 결정을 위한 배합 비는 Table 45와 같다.

Table 45. Combination ratio for preparation of *Pleurotus eryngii* beverage with Baekjakak extraction.

Ingredient	Content of Baekjakak extract				Unit : g(%)
	0.3%	0.5%	0.7%	0.9%	
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	25.00	25.00	25.00	25.00	
Baekjakak ext. ²⁾	5.00	8.33	11.67	15.00	
Sugar	6.00	6.00	6.00	6.00	
Citric acid	0.20	0.20	0.20	0.20	
Distilled water	64.00	60.67	57.33	54.00	
Sum	100.00	100.00	100.00	100.0	
pH	3.53	3.56	3.67	3.67	

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 6.0 °brix

²⁾ Baekjakak ext. : 6.0 °brix

부재료인 백작약 추출액이 새송이 추출물과 잘 어울리는지를 평가하고 새송이버섯의 텁텁하고 느끼한 맛을 줄여 줄 수 있는 백작약의 적절한 농도를 찾기 위하여 관능검사를 실시하였다. 관능검사 결과 0.3% 농도의 경우 새송이버섯의 느끼한 맛을 감소시키기에는 너무 낮은 수준이여서 시큼한 맛을 나타내었다. 농도를 높일수록 백작약의 향과 맛이 점점 강해졌다. 0.7% 농도의 경우 백작약 추출물의 맛과 향이 너무 강하여 새송이버섯의 고유한 맛을 거의 나타내지 못했고 0.9%농도의 경우는 상쾌한 신맛은 사라지고 오히려 쓴맛이 강하게 느껴졌다. 0.5%농도의 경우 새송이버섯의 독특한 맛과 향을 어느 정도 살리면서 백작약의 맛이 적절히 부여되었다. 따라서 백작약 추출액의 최적 음용 농도를 0.5%로 결정하였다.

(나) 2차 배합

새송이 버섯 추출액과 백작약 추출액을 각각 1.5%, 0.7%로 고정하고, 2차 배합으로 오미자 추출액을 첨가하였다. 오미자 추출액은 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%의 농도 범위로 배합한 후 관능검사를 실시하였다. 배합비는 Table 46과 같다.

Table 46. Combination ratio for preparation of *Pleurotus eryngii* beverage with omija ext.

Ingredient	Content of Omija extract				Unit : g(%)
	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%	
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	25.00	25.00	25.00	25.00	
Baekjakak ext. ²⁾	8.33	8.33	8.33	8.33	
Omija ext. ³⁾	3.33	6.67	10.00	13.33	
Sugar	6.00	6.00	6.00	6.00	
Citric acid	0.20	0.20	0.20	0.20	
Distilled water	57.34	54.00	50.67	47.34	
Sum	100.00	100.00	100.00	100.0	
pH	3.30	3.10	2.98	2.89	

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 6.0 °brix

²⁾ Baekjakak ext. : 6.0 °brix

³⁾ Omija ext. : 6.0 °brix

관능검사 결과 0.2%에서는 오미자의 맛과 향은 느껴지지만 너무 낮아서 오히려 약간의 쓴맛이 느껴졌다. 0.4%의 경우 오미자의 상큼한 신맛은 아주 미비한 수준으로 느껴졌고 동시에 쓴맛도 아주 약하게 느껴졌다. 한편, 0.8% 처리군의 경우 오미자의 신맛이 너무 강하게 느껴져 새송이버섯의 음료로 사용하기에 부적합하다고 판단되었다. 0.6% 농도의 경우 상큼한 신맛이 가미되어 새송이버섯의 맛과 향을 어느 정도 살리는 범위에서 전체적인 맛과 잘 조화를 이루었기 때문에 새송이버섯의 음료에 부재료로 사용하기에 적당한 농도로 판단되었다. 따라서 오미자 농축액의 0.6%를 새송이버섯 음료의 적정 음용 농도로 결정하였다.

(다) 3차 배합

새송이버섯에서 느껴지는 느끼한 맛에 대한 거부감을 감소시키기 위해 천궁 농축액 및 갈근 농축액과 함께 감초 추출액을 첨가하였다. 감초 추출액은 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%의 농도 범위로 배합하여 관능검사를 실시하였다. 배합 비는 Table 47과 같다.

감초 추출액의 첨가는 전체적인 맛에 크게 바꾸지는 않았지만 부드러움을 더하여 주었다. 0.2%농도의 경우 감초맛과 향이 거의 느껴지지 않았고 대체적으로 신맛이 느껴져 새송이버섯 음료의 부재료 농도로 부적합하다고 판단되었다. 0.6%과 0.8%농도의 경우에는 신맛은 감소되었지만 쓴맛이 강하게 느껴져 새송이버섯의 고유한 맛과 향을 거의 나타내지 못했다. 0.4%농도의 경우는 신맛과 쓴맛 뿐 아니라 새송이버섯의 느끼한 맛까지 상쇄시켜서 전체적으로 부드러운 맛을 주었다. 따라서 0.4%를 감초의 적정 음용 농도로 결정하였다.

이와 같이 백작약 추출액, 오미자 추출액 및 감초 추출액의 적정 음용 농도에 따른 배합을 통해 음료의 맛과 향이 개선되었으므로 새송이버섯 음료의 최종 배합 비 E type으로 결정하였다. E type 새송이버섯 음료의 배합 비는 Table 48와 같다.

Table 47. Combination ratio for preparation of *Pleurotus eryngii* beverage with Gamcho extract.

Ingredient	Content of Gamcho extract				Unit : g(%)
	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%	
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	25.00	25.00	25.00	25.00	
Baekjakak ext. ²⁾	8.33	8.33	8.33	8.33	
Omija ext. ³⁾	10.00	10.00	10.00	10.00	
Gamcho ext. ⁴⁾	3.08	6.15	9.23	12.31	
Sugar	6.00	6.00	6.00	6.00	
Citric acid	0.20	0.20	0.20	0.20	
Vitamin C	0.20	0.20	0.20	0.20	
Distilled water	47.59	44.52	41.44	38.36	
Sum	100.00	100.00	100.00	100.0	
pH	2.88	2.90	2.97	3.00	

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 6.0 °brix

²⁾ Baekjakak ext. : 6.0 °brix

³⁾ Omija ext. : 6.0 °brix

⁴⁾ Gamcho ext. : 6.5 °brix

Table 48. Final combination ratio for *Pleurotus eryngii* beverages of type E

Ingredient	Content	Unit : (%)
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	25.00	
Baekjakak ext. ²⁾	8.33	
Omija ext. ³⁾	10.00	
Gamcho ext. ⁴⁾	6.15	
Sucrose : High fructose (1 : 1)	6.00	
Citric acid	0.20	
Vitamin C	0.20	
Distilled water	44.52	
Sum ⁵⁾	100.00	

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 6.0 °brix

²⁾ Baekjakak ext. : 6.0 °brix

³⁾ Omija ext. : 6.0 °brix

⁴⁾ Gamcho ext. : 6.5 °brix

⁵⁾ Sum of amount of all ingredients except citric acid.

2) 새송이버섯 과립 차의 개발

가) 버섯의 추출 및 농도

선별, 세척하여 40mesh 크기로 세절한 생 버섯에 2배의 50% 에탄올을 가하여, 상온에서 1시간 동안 3회 반복 추출한다. 추출액은 환류 냉각장치가 부착된 감압농축기에서 60.0 Brix 까지 농축하여 시료로 사용하였다.

나) 부형제의 배합

60Brix로 농축된 각각의 버섯 농축액에 무수포도당을 잘 섞는다. 구연산, 비타민 C 및 기

타 부형제를 첨가하여 포도당과 잘 배합한다. 최종 배합 비는 Table 49와 같다.

Table 49. Combination ratio for *Pleurotus eryngii* granulated tea

Unit : (%)

Ingredient	Content
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	10.00
Dehydrate glucose	87.0
<i>Lycium chinense</i> ext.	0.70
Jujube ext.	0.30
Ginseng ext.	0.40
Citric acid	1.00
Vitamin C	0.60
Sum	100.00

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 6.0 °brix

다) 과립화 및 건조

부형제와 잘 배합된 원료를 15~20 mesh 정도의 크기로 과립화를 시킨 뒤, 50~55°C에서 수분함량이 8% 내외가 되도록 건조시킨다.

라) 과립 차의 제조 공정

최종적인 과립 차 제조 공정은 다음 Fig. 52 과 같다.

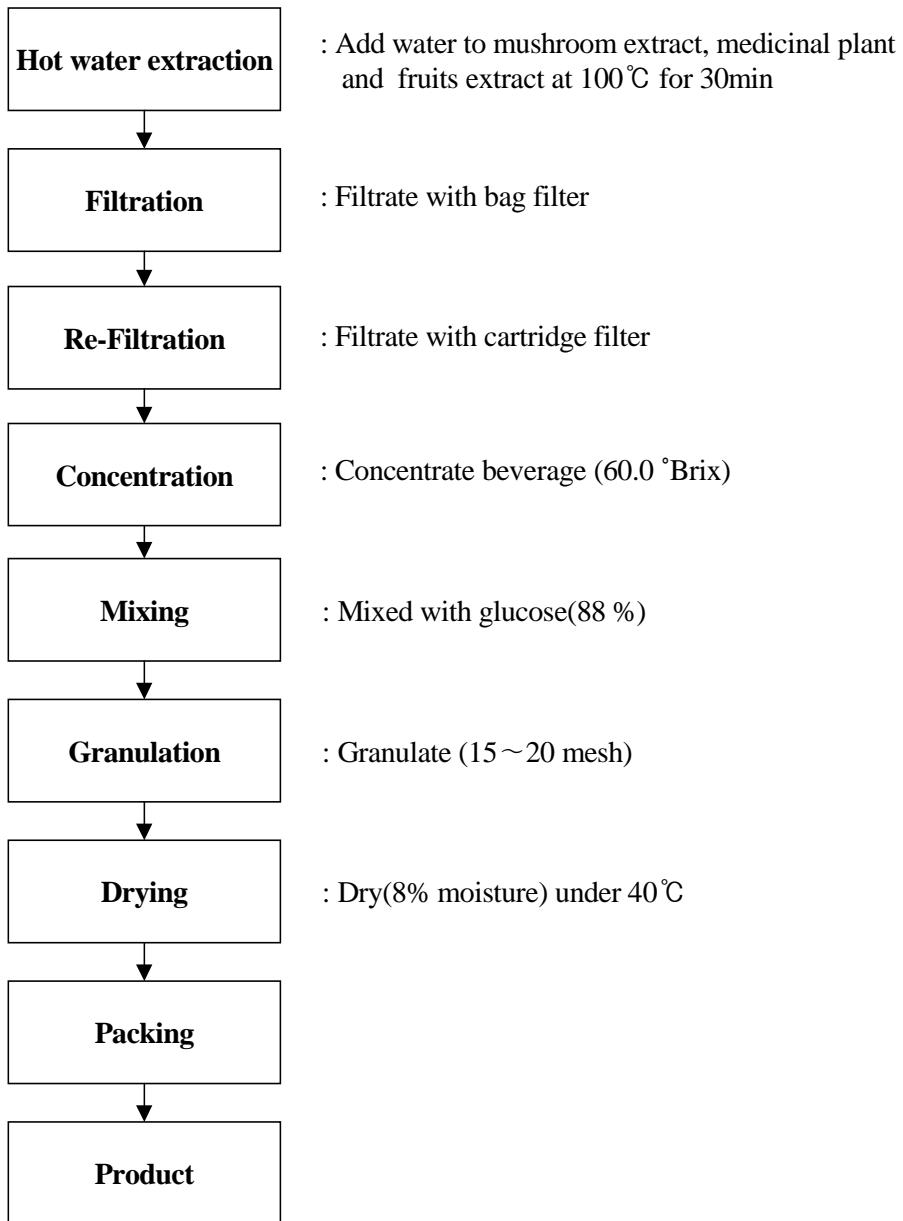


Fig. 52. Preparation process for granulated teas of *Phileus eryngii*

3) 새송이버섯 타블렛의 개발

새송이버섯 타블렛의 제조 배합비율은 Table 50와 같다. 새송이버섯 이외에 표고버섯 분말도 8% 정도 첨가하여 버섯의 맛을 더했으며 또한 옥타코사놀 0.7%를 첨가하여 기능성 타블렛으로서의 가치를 높였다. 위의 배합비로 얻어진 새송이버섯 타블렛 제품의 색은 새송이버섯의 색과 크게 다르지 않은 미색을 띠었고, 버섯 냄새 냄새가 많이 심하지 않은 편이라 거부감이 없었다. 뿐만 아니라 표면도 매끄럽고 단단해서 외관상 문제가 전혀 없었다. 또한 성형이 쉽게 이루어져 정제기에서 타블렛 제품이 빠져나올 때 무리가 없었으며 완성된 제품의 모양이 그대로 유지되었다.

Table 50. Combination ratio for *Pleurotus eryngii* tablet

Unit : (%)

Ingredient	Content
<i>Pleurotus eryngii</i> ext. ¹⁾	85.0
Citric acid	1.00
<i>Lentinus edodes</i> ext. ²⁾	8.0
Aspartame	0.30
Avicel	4.00
smag	1.00
Octacosanol	0.70
Sum	100.00

¹⁾ *Pleurotus eryngii* ext. : 6.0 °brix

²⁾ *Lentinus edodes* : 6.0 °brix

제 4 절 결 론

새송이버섯을 갓과 대로 절단하여 건조시료와 생시료로 준비하였고 추출용매로써 물, 50% 및 100% 에탄올을 사용하여 추출하였다. 새송이버섯의 생리활성을 알아보고자 각 추출물에서 전자공여능(EDA), 총 폴리페놀 함량, SOD 유사활성, 아질산염 소거작용, tyrosinase 저해활성 및 angiotensin converting enzyme(ACE) 저해작용을 관찰하였다. 먼저 건조시료에서 살펴본 생리활성은 다음과 같다. 전자공여능에서 갓의 25 mL/g 열수 추출물이 85.26%, 대의 100 mL/g 50% 에탄올 추출물이 67.07%의 활성을 나타내었고, 총 폴리페놀 함량에서는 갓과 대가 100 mL/g 열수 추출물에서 각각 218.72 mg%, 121.64 mg%의 높은 함량을 나타내었다. SOD 유사활성에서는 갓의 열수추출조건에서만 50.79 ~ 53.74%의 활성을 보였다. 아질산염 소거능도 pH 1.2일 때 갓과 대의 열수 추출물이 각각 94.10 ~ 94.69%, 67.49 ~ 83.65%로 높은 소거능을 나타내었다. Tyrosinase 저해활성의 경우 갓의 모든 추출조건에서 유사한 활성을 보였다. 대부분의 생리활성과 예외적으로 ACE 저해활성에서는 갓과 대 모두 50 mL/g 50% 에탄올 추출물에서 각각 94.59% 및 66.59%의 높은 저해활성을 보였다. ACE 저해활성을 제외하고는 대부분의 생리활성이 열수추출물에서 높게 나타났다.

그 다음에는 새송이버섯의 생 시료를 사용하여 생리활성을 살펴보았다. 전자공여작용의 경우 갓의 50% 에탄올 추출물에서 88%의 높은 전자공여능을 나타내었으며, SOD 유사활성을 측정한 결과 갓의 열수 추출물이 62.57%로 다른 추출물에 비해 높은 활성을 보여주었다. Tyrosinase 저해활성의 경우 대의 활성이 높았으며, 그중 100% 에탄올 추출물에서 58.57%로 비교물질로 사용된 0.1% L-ascorbic acid 보다 31.29% 더 높은 활성을 가지는 것으로 조사되었다. Angiotensin converting enzyme 저해활성에서도 갓의 열수 추출물이 95.14%로 매우 높은 활성을 보였으며, 총 폴리페놀 함량의 경우 갓의 열수 및 50% 에탄올 추출물에서 각각 1427.25 mg%, 1426.82 mg%로 높은 함량을 나타내었다. 아질산염 소거작용을 측정한 결과 pH 1.2일 때 갓과 대의 소거능이 높게 나타났다. 생시료에서도 전자공여작용과 tyrosinase를 제외하고는 열수추출물에서 높은 값을 보였다.

マイ크로웨이브 추출을 이용하여 새송이버섯의 추출수율, 전자공여작용, 총 폴리페놀 함량, 아질산염 소거작용의 효율적인 최적 추출조건을 설정하고자 하였다. 추출조건으로 에너지 용량(60, 90, 120 W), 시료 대 용매 비(2, 5, 10 g/100 mL) 및 추출시간(1, 5, 10, 15 min)을 설정하여 물, 50% 에탄올, 99% 에탄올을 용매로 사용하여 추출하였다. 에너지 용량을 60 ~ 120 W로 증가시킴에 따라 각 추출물의 항산화성 성분들은 60 W에서 가장 높은 값을 보였고 90 W에서 평형에 이르러 변화하지 않았다. 시료 대 용매 비를 1:50에서 1:10으로 감소시킴에 따라 추출 수율을 제외한 각 추출물의 유용성분들은 1:10에서 가장 높았다. 추출시간의

영향에서 전자공여작용을 제외하고는 1분에서 가장 높은 값을 보였다. 5분 이상의 추출시간에서는 거의 영향을 받지 않았다. 전자공여작용은 추출시간이 증가함에 따라 높은 값을 보였다. 추출용매의 영향에서는 물>50% 에탄올>99% 에탄올 순서로 높은 값을 보였다.

새송이버섯의 최적 추출조건을 설정하기 위하여 조건별 추출물의 수율, 전자공여능, SOD유사활성에 대한 4차원 반응 표면을 superimposing하여 예측한 결과를 살펴보면 에너지 용량, 에탄올 농도, 추출시간이 각각 110 ~ 150w, 0 ~ 45%, 7 ~ 9m으로 나타났다.

새송이버섯의 추출공정 최적화시험에서 새송이버섯에 대한 임의의 조건으로 에너지 용량 120W, 에탄올 농도 22.5 %, 추출시간 8분으로 설정하여 회귀식에 대입한 결과는 수율 46.53%, 전자공여능 79.92%, 폴리페놀 함량 39.03%, tyrosinase 저해작용 32.35%, pH 1.2에 있어서의 아질산염소거능 78.76%를 얻었다. 임의의 조건과 동일한 조건으로 실험하여 얻은 값은 수율 44.07%, 전자공여능 74.43%, 폴리페놀 함량 35.18%, tyrosinase 저해작용 36.26%, pH 1.2에 있어서의 아질산염소거능 73.18%의 값을 얻었다

*in vivo*에서 새송이버섯의 지질 감소효과를 확인하기 위하여 대조군, 고지방식이 대조군, 2.5% 혼합식이 투여군, 5% 혼합식이 투여군으로 나누어 4주간 사용하였다. 희생 후 간, 신장, 비장을 적출하였고 혈액을 채취하여 혈장으로 분리하여 각각 분석시료로 사용하였다. 새송이버섯을 급여한 실험동물의 체중, 식이효율은 대조군에 비하여 고지방식이와 2.5%, 5% 혼합 식이를 급여한 군에서 증가하는 경향을 보여주었는데 사료섭취량과 각 장기무게는 대조군과 실험군 간의 차이가 없었다. 새송이버섯이 간 기능에 미치는 영향은 혈청 SGOT, SGPT의 감소되어 새송이버섯을 급여하였을 때 간 기능이 개선될 가능성을 보였다. 콜레스테롤, 중성지방, 총 지질 등 혈청 지질 수준은 새송이버섯을 급여시킴으로서 감소하는 경향을 볼 수 있었지만 유의적인 수준은 아니었다. 간의 지질 함량은 새송이버섯 2.5%보다 5%에서 더 효과적으로 콜레스테롤과 중성지방이 감소되는 것을 볼 수 있었다. 간조직의 변화는 고 콜레스테롤을 급여하였을 때 간이 지방이 많이 축적되어 지방간이 심하게 진행되었지만 새송이버섯을 투여하였을 때 크기가 작아지고 색이 붉은 색으로 회복되었지만 대조군의 간처럼 회복되지는 못했다.

새송이버섯 음료는 A, B, C, D, E type으로 제조하였고 각각의 타입에 해당하는 A type의 새송이버섯 음료의 최종 배합비는 다음과 같다. 새송이버섯 추출액은 1.5%, 사과 농축액 0.6%, 구기자 추출액 0.2%, 두충 추출액 0.15%, 대추 추출액 0.6%, 설탕 6%, 물 90.95%로 제조하였다. B type의 새송이버섯 음료의 최종 배합 비는 새송이버섯 추출액 1.5%, 숙지황 추출액 0.6%, 오미자 추출액 0.15%, 대추 추출액 0.15%, 설탕 6%, 물 91.60%로 제조하였다. C type의 새송이버섯 음료의 최종 배합 비는 새송이버섯 추출액 1.5%, 건강 추출액 0.7%, 오미자 추출액 0.2%, 대추 추출액 0.6%, 설탕 6%, 물 91%로 제조되었다. D type의 새송이버섯 음료의 최종 배합 비는 새송이버섯 추출액 1.5%, 천궁 추출액 0.7%, 갈근 추출액

0.6%, 오미자 추출액 0.6%, 설탕 6%, 물 90.60%로 제조하였다. E type의 새송이버섯 음료의 최종 배합 비는 새송이버섯 추출액 1.5%, 백작약 추출액 0.7%, 오미자 추출액 0.4%, 감초 추출액 0.6%, 설탕 6%, 물 91%로 제조하였다.

새송이버섯 과립 차의 제조 비율은 새송이버섯 농축액 10%, 무수포도당 87%, 구기자 추출물 0.7%, 대추 추출물 0.3%, 인삼 추출물 0.4%, 구연산 1%, 비타민 C 0.6%를 첨가하여 제조하였다.

새송이버섯 타블렛은 새송이버섯 추출물 85%, 구연산 1%, 표고버섯 추출물 8%, 아스파탐 0.3%, 아비셀 4%, 스마그 1%, 옥타코사놀 0.7%를 첨가하여 만들었다.

제 1 절 서 론

버섯은 예로부터 불로장생의 식품으로 여겨 암 예방, 성인병 예방 등의 건강식품으로서의 효능면에서 뿐만 아니라, 그 맛과 향이 뛰어나다. 새송이버섯(*Pleurotus eryngii*)은 분류학적으로 느타리버섯과(Pleurotaceae), 느타리버섯속(*Pleurotus*)에 속하는 버섯으로서 썩은 나무의 그루터기나 줄기에 부착하여 자연 서식하는 대부분의 느타리버섯과 달리 아열대지방의 목초지 토양에서 단생 또는 다발을 이루면서 군생한다고 보고되어 있다. 새송이버섯은 육질이 치밀하고 맛이 좋고, 향과 품질이 우수하므로 소비가 늘어나고 있는 실정이다. 국내에서 생력기계화 재배형인 톱밥을 이용한 병 재배 버섯의 생산량이 매우 급증하였고, 생산량의 증가로 인해 과잉 생산에 따른 수급 불균등이 발생하여 재배농가에서는 재정적으로 커다란 어려움에 직면할 우려가 있다. 이를 극복하기 위해서는 새송이버섯으로부터 생리기능 활성을 탐색하고 다양한 가공식품을 개발함으로서 새송이버섯의 새로운 수요를 창출하는 것이 절실히 요구되고 있다.

새송이버섯은 생체조절기능으로 질병예방, 노화억제, 항암작용 등의 약리효과가 있는 것으로 알려져 있다. 새송이버섯과 관련한 연구로는 국외의 경우 큰 느타리와 관련된 연구로 오래전부터 다수의 연구가 보고되었고, 국내의 경우 김 등과 강 등에 의해 그 인공재배에 관한 연구결과가 보고되고 있으며, 홍 등에 의한 영양성분 분석관련 보고가 있다. 기능적 특성의 연구로는 당뇨 쥐의 혈당 및 혈중콜레스테롤에 미치는 영향, 대장암 세포 증식 및 세포 사멸에 미치는 영향, angiotensin converting enzyme 저해활성, 항산화 활성 탐색 등이 보고되고 있다. 또한 새송이버섯의 갓과 대의 추출물의 생리활성 효과에 관한 보고가 있다. 김의 보고에 의하면 새송이버섯의 항산화효과, 아질산염 소거능의 효과를 타내내는 물질을 폴리페놀계 화합물로 보고하였다.

버섯관련 가공품으로는 통조림, 건조품 등이 있으며 제품이 다양화 되어져 있지 않다. 새송이버섯 추출 농축물을 제조할 경우, 이를 이용한 음료, 액상 차, 다른 가공제품의 첨가제의 형태로 제품을 다양화 할 수 있으므로, 새송이버섯 추출물의 품질특성에 관한 연구가 필요하다.

오랫동안 환류냉각 추출(reflux extraction) 방법이 많은 식품의 추출방법으로 이용되어 왔으나 1회 추출하는데 2시간 이상의 긴 시간을 요하는 단점이 있다. 이에 비하여 마이크로웨이브 추출(microwave-assisted extraction) 방법은 적은 용매를 사용하여 단시간에 원하는 물질을 추출할 수 있는 장점이 알려져 있으며 환류 냉각 추출방법을 비롯한 Soxhlet 추출법 등 기존의 추출방법보다 추출효율이 높은 것으로 보고되고 있다. 버섯의 마이크로웨이브 추출과 관련된 연

구는 팽이버섯 및 만가닥 버섯 등의 기능적 특성에 관련한 보고가 있다.

식품의 원료는 가공방법에 따라 다양한 형태의 제품이 될 수 있는데, 그 중에서도 볶음처리 가공방법은 갈변반응의 촉진으로 제품의 색상과 향기성분이 생성되어 높은 기호성을 갖게 된다. 따라서 본 연구에서는 새송이버섯의 새로운 수요창출을 위한 가공제품을 개발하고자 새 송이버섯의 추출조건에 따른 새송이버섯의 유용성분인 폐놀성 화합물 함량의 변화 등의 품질특성 및 생리기능적 특성 변화를 살펴보고자 하였다. 또한 이를 바탕으로 최적 추출조건 예측모델을 설정하여 새 송이버섯 가공 소재화에 필요한 기술을 마련하고자 한다.

제 2 절 재료 및 방법

1. 실험재료

새송이버섯은 2004년도에 재배된 것으로 대구 팔달시장에서 구입하였다. 새송이버섯을 60°C에서 24hr 건조하였으며, 또한 건조한 후 볶음처리(150°C, 30분)하였다. 건조한 버섯과 건조 후 볶음 처리한 버섯을 분말화(20mesh)하여 시료로 사용하였다.

2. 추출방법에 따른 추출특성

새송이버섯의 생리활성 물질의 추출조건을 설정하기 위하여 현행 추출법으로 많이 사용하고 있는 환류추출과 시료를 신속하고 효율적으로 추출할 수 있는 이점을 지니고 있을 뿐만 아니라 추출 용매와 에너지를 절약할 수 있으며 수분을 함유한 모든 천연물 시료의 추출이 가능한 마이크로웨이브 추출법(microwave-assisted extraction, MAE)을 사용하여 각각의 생리활성을 측정하고자 하였다.

가. 환류 추출 조건

환류추출장치를 사용하여 에탄올 농도(0, 25, 50, 75, 100%), 추출시간(1, 3, 5, 7, 9 hr), 추출온도(40, 60, 80, 100°C), 용매 비((g/100ml) : 1, 3, 5, 7, 9) 및 추출횟수(1, 2, 3, 4, 5 회)에 따라 각각 추출하였다. 이러한 예비실험 결과를 바탕으로 하여 환류추출조건으로 용매에 대한 시료의 양 5g/100ml 및 추출횟수 1회로 고정하고 에탄올 농도, 추출시간 및 추출온도를 변수로 하여 중심합성실험계획으로 환류추출에 의한 새송이버섯의 유용성분 최적추출조건을 설정하였다(Table 1, 2).

Table 1. Experimental design of reflux extraction conditions for roasted *Pleurotus eryngii*

Extraction conditions		Level				
		-2	-1	0	1	2
X ₁	Ethanol concentration (%)	0	25	50	75	100
X ₂	Time (hr)	1	3	5	7	9
X ₃	Temperature (°C)	35	50	65	80	95

Table 2. Central composite design for the optimization of reflux extraction condition for roasted *Pleurotus eryngii*

Exp. No. ¹⁾	Extraction conditions		
	Ethanol concentration (%)	Extraction time (hr)	Temperature (°C)
1	25 (-1)	3 (-1)	50 (-1)
2	25 (-1)	3 (-1)	80 (1)
3	25 (-1)	7 (1)	50 (-1)
4	25 (-1)	7 (1)	80 (1)
5	75 (1)	3 (-1)	50 (-1)
6	75 (1)	3 (-1)	80 (1)
7	75 (1)	7 (1)	50 (-1)
8	75 (1)	7 (1)	80 (1)
9	50 (0)	5 (0)	65 (0)
10	50 (0)	5 (0)	65 (0)
11	0 (-2)	5 (0)	65 (0)
12	100 (2)	5 (0)	65 (0)
13	50 (0)	1 (-2)	65 (0)
14	50 (0)	9 (2)	65 (0)
15	50 (0)	5 (0)	35 (-2)
16	50 (0)	5 (0)	95 (2)

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

나. 마이크로웨이브 추출 조건

마이크로웨이브 추출은 마이크로웨이브 추출장치(MAP, Soxwave-100, Prolabo, France)를 사용하였으며, 에너지 용량(0, 25, 50, 75, 100, 125W), 추출시간(1, 3, 5, 7, 9min), 용매비 ((g/50ml) : 0.5, 1, 3, 5), 에탄올 농도(0, 25, 50, 75, 100%) 및 추출횟수(1, 2, 3, 4, 5회)에 따라 각각 추출하였다. 이러한 예비실험을 바탕으로 하여 마이크로웨이브 추출 시 유용성분의 추출조건 설정시 용매에 대한 시료의 양 1g/50ml, 추출횟수 1회로 고정하고 에탄올 농도, 추출시간 및 microwave power를 변수로 하여 Table 3, 4에서와 같이 중심합성실험계획으로 유용성분 추출에 대한 반응표면분석으로 최적 조건을 설정하고자 하였다.

Table 3. Experimental design of microwave-assisted extraction conditions for roasted *Pleurotus eryngii*

Extraction conditions	Level				
	-2	-1	0	1	2
X ₁ Ethanol concentration (%)	0	25	50	75	100
X ₂ Time (min)	1	3	5	7	9
X ₃ Microwave power (W)	25	50	75	100	125

Table 4. Central composite design for the optimization of microwave-assisted extraction condition for roasted *Pleurotus eryngii*

Exp. No. ¹⁾	Extraction conditions		
	Ethanol concentration (%)	Extraction time (min)	Microwave power (W)
1	25 (-1)	3 (-1)	50 (-1)
2	25 (-1)	3 (-1)	100 (1)
3	25 (-1)	7 (1)	50 (-1)
4	25 (-1)	7 (1)	100 (1)
5	75 (1)	3 (-1)	50 (-1)
6	75 (1)	3 (-1)	100 (1)
7	75 (1)	7 (1)	50 (-1)
8	75 (1)	7 (1)	100 (1)
9	50 (0)	5 (0)	75 (0)
10	50 (0)	5 (0)	75 (0)
11	0 (-2)	5 (0)	75 (0)
12	100 (2)	5 (0)	75 (0)
13	50 (0)	1 (-2)	75 (0)
14	50 (0)	9 (2)	75 (0)
15	50 (0)	5 (0)	25 (-2)
16	50 (0)	5 (0)	125 (2)

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

3. 추출 조건에 따른 추출물의 이화학적 특성

가. 가용성 고형분 함량

각 조건에서 얻어진 추출물의 가용성 고형분 함량은 3회 반복 측정하여 시료에 대한 건물량(%)으로 나타내었다. 즉 시험용액 20 ml를 항량을 구한 수기에 취하여 105°C에서 증발 건조시켜 그 무게를 측정하였으며, 추출액 조제에 사용된 원료량(건물량)에 대한 백분율로써

고형분 수율(%)을 구하였다.

나. 총 폐놀성 화합물 함량

각 추출물의 총 폐놀성 화합물 함량은 Folin-Denis법에 따라 비색 정량하였다. 즉, 추출액을 100배 희석한 검액 5 ml에 Folin-Ciocalteu 시약 5 ml를 가하여 혼합하고 3분 후 10% Na₂CO₃ 5 ml를 넣어 진탕하고 1시간 실온에서 방치하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 검액 대신 증류수를 넣어 동일하게 처리하였다. 이때 표준물질로는 tannic acid를 5 ~ 50 µg/ml의 농도로 조제하여 검량곡선의 작성에 사용하였다.

다. 총 단백질 함량

단백질정량에 비교적 넓게 적용되는 Lowry 법을 사용하였다. 즉 1.0 ml의 시료를 2N NaOH를 가하고 100°C에서 10분간 가열하여 가수분해 후 방냉하여 1.0 ml의 Lowry 시약을 가하고 혼합 후 10분간 방치시켰다. 그 후 0.1 ml의 Folin 시약을 가하고 혼합 후 30분간 방치 후 660nm에서 흡광도를 측정하였다.

4. 추출조건에 따른 추출물의 생리활성 특성

가. DPPH에 의한 수소공여능

시험용액의 수소공여능(electron donating ability, EDA) 시험은 α,α-diphenyl-β-picrylhydrazyl(DPPH)를 사용한 방법으로 측정하였다. 즉, DPPH 시약 12 mg을 absolute ethanol 100 ml에 용해한 후 증류수 100 ml를 가하고 50% ethanol 용액을 blank로 하여 517 nm에서 DPPH용액의 흡광도를 약 1.0으로 조정한 후 이 용액 5 ml를 취하여 시료용액 0.5 ml와 혼합한 후 30초 후에 517 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 표시하여 수소공여능으로 하였다.

$$EDA(\%) = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가시의 흡광도}}{\text{공시험의 흡광도}} \right) \times 100$$

나. Superoxide dismutase(SOD) 유사활성

SOD 유사활성은 xanthine-xanthine oxidase를 이용하는 방법 등 여러 가지가 있으나 감

도가 높아 단일 물질의 활성을 분석하기에는 적합하지만 식물체 추출물 같이 여러 가지 물질이 혼합되어 있으면 분석에 간섭이 많아 새로운 항산화 소재를 발굴하는 방법으로는 부적절하다. 그런데 pyrogallol은 물에 존재하는 슈퍼옥사이드 라디칼에 의해 자동산화가 일어나 갈색물질을 형성하는데 이를 분광광도계로 분석하고, 슈퍼옥사이드 포촉활성이 있는 물질이 존재시 이 pyrogallol의 산화속도가 낮아지는 원리를 이용하여 SOD 유사활성을 간접적으로 측정할 수 있다. 따라서 Marklund의 방법에 따라 각 추출액 시료(0.2mL)에 pH8.5로 보정한 Tris-HCL buffer(50mM tris[hydroxymethyl]amino-methane containing 10mM EDTA, 3mL)와 7.2mM pyrogallol(0.2mL)를 가하고 25°C에서 10분간 방치하였으며, 1N HCl(1mL)로 반응을 정지시킨 후 420nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 100-[$(\text{시료첨가구의 흡광도}/\text{무첨가구의 흡광도}) \times 100$]으로 나타내었다.

다. Tyrosinase 저해활성

Tyrosinase 저해활성 측정은 35°C 수조에서 온도를 미리 조정한 0.175M phosphate buffer(pH 6.8) 0.2mL, 5mM L-DOPA solution 0.2mL 및 추출시료 용액 0.5mL의 혼합액에 mushroom tyrosinase(110 units/mL) 0.1mL를 첨가하여 35°C에서 20분간 반응시킨 다음 475nm에서 흡광도를 측정한 값(S_{Abs})과 효소액 대신에 증류수 0.1mL를 첨가하여 흡광도를 측정한 값(B_{Abs}), 추출시료 용액 대신에 증류수 0.5mL를 첨가하여 흡광도를 측정한 값(C_{Abs})을 측정하여 다음의 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Inhibitory effect (\%)} = \left(1 - \frac{S_{\text{Abs}} - B_{\text{Abs}}}{C_{\text{Abs}}} \right) \times 100$$

라. ACE 저해활성

Angiotensin converting enzyme 저해효과 측정은 Cushman과 Ondetti의 방법을 변형하여 행하였다. 즉, 반응구는 0.3M NaCl을 함유하는 0.1M potassium phosphate buffer(pH 8.3)에 기질인 hippuryl-L-histidyl-L-leucine(HHL, Sigma, H1635) 2.5mM을 녹인 액 0.15mL, ACE(Sigma, A6778, 0.2 unit/mL) 0.1mL와 각 추출시료 용액 0.1mL를 혼합하였으며, 대조구는 추출시료 대신 증류수 0.1mL를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시키고, 1N HCl 0.25mL 첨가로 반응을 중지시킨 뒤 ethyl acetate를 1.5mL 첨가하였다. Ethyl acetate 층으로부터 용매를 증류시킨 잔사에 1mL의 증류수를 가하여 추출된 hippuric acid를 분광광도계를 사용하여 228nm에서 흡광도를 측정한 후 다음 식에 따라 저해율을 구하였다.

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

A : 반응구의 hippuric acid 생성량

B : 대조구의 hippuric acid 생성량

마. 아질산염 소거능

Kato 등의 방법으로 520 nm에서 비색 정량하였다. 즉, 1 mM NaNO₂용액 1 mL에 소정 농도의 시료를 첨가하고 여기에 0.1 N HCl(pH 1.2)과 0.2 M 구연산 완충액(pH 3.0, 4.2 및 6.0)을 사용하여 반응용액의 pH를 각각 1.2, 3.0, 4.2 및 6.0으로 조정하여 각 반응용액을 10 mL로 정용하였다. 각 반응용액은 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 1 mL를 취해 2% 초산 용액 5 mL를 첨가한 다음, Griess 시약(30% acetic acid로 각각 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1:1비로 혼합한 것, 사용직전 조제) 0.4 mL를 가하여 잘 혼합시켜 실온에서 15분간 방치시킨 후 분광광도계(Shimadzu UV-1601PC, Japan)를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 아래 식에 의하여 아질산염 소거율을 구하였다.

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

N : 아질산염 소거율

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

B : NaNO₂ 용액의 흡광도

C : 시료자체의 흡광도

5. 최적 추출조건 설정

새송이버섯 추출물의 추출조건 최적화를 위하여 시료 추출물의 품질인자로 선정된 총 추출수율 및 기능적 특성에 대한 4차원 반응표면을 superimposing하여 최적 추출조건 범위를 예측하였다. 그리고 예측된 범위에서 임의의 점을 선정하여 회귀식에 대입한 후 그 예측된 최적 값들과 선정된 동일조건에서 실제 추출실험을 실시하여 실험치를 비교하여 모델회귀식의 신뢰성을 검증하였다. 또한 생리활성성분인 phenolic acid 조성을 분석하였다.

Table 5. HPLC condition for phenolic acid in roasted *Pleurotus eryngii*

Components	Conditions
Instrument	Alliance HT Waters 2795 Separation Module(Waters Co.)
Column	XTerra Phenyl 5 μ m 3×250mm
Mobile phase	Acetonitrile : DW : Methanol gradient
Flow rate	0.4 mL/min
Detector	Waters 2487 Dual λ Absorbance Detector(PDA 2487, 300nm)

6. 추출물의 농축액 제조

새송이버섯 추출물을 가공제품에 적용하기 위하여 50배로 농축하여 가공제품에 활용하고자 하였다. 환류 및 마이크로웨이브 최적 추출조건으로 추출되어진 추출물을 50배로 농축하여 그 품질특성을 상호 비교하였다. 품질특성은 최적 추출조건 품질특성으로 분석한 항목과 동일하다.

7. 새송이버섯 소재 가공조건 최적화

새송이버섯을 이용하여 음료 및 스프를 제조하기 환류추출의 경우 상업적으로 많이 사용되는 것이나 마이크로웨이브추출공정의 경우 아직까지 상용화가 되어져 있지 않기 때문에 상품화하기에는 어려움이 있기 때문에 환류추출농축액으로 가공조건 최적화에 사용하여 최적 가공조건을 설정하고 설정된 가공조건에 마이크로웨이브 추출농축액을 사용하여 상호비교하고자 하였다.

가. 새송이버섯 음료 및 스프 제조

최적 환류추출조건으로 설정된 새송이버섯 농축액을 여러 부재료와 함께 예비 배합 비를 결정한 후 중심합성실험계획을 바탕으로 배합조건을 설계하고 반응표면 회귀분석을 실시하였다. 배합조건에 해당하는 독립변수(X_i)는 음료의 경우 감초농축액(0.01~0.09) 및 사과농축액(0.1~0.5)을 스프의 경우 새송이 분말가루(0~4) 및 농축액(0~0.8)으로 하여 각각 -2, -1, 0, 1, 2의 5단계로 부호화하였으며, 독립변수에 종속변수(Y_n)로는 색상(Y_1), 향(Y_2), 맛(Y_3) 및 전반적인 기호도(Y_4) 등으로 하였다.

나. 관능평가

각 조건별로 제조된 음료 및 스프에 대한 관능적 품질평가 방법은 본 실험에 흥미가 있고 차이식별능력이 있는 10명을 관능검사 요원으로 선정하여 이들에게 색, 향, 맛 및 전반적인 기호도에 대한 평가요령을 훈련시킨 뒤 9점 채점법(9점: 가장 좋다, 1점: 가장 싫다, 4점 : 가식 한계점)에 따라 관능평가를 실시하였다.

다. 최적 가공조건 설정

관능검사 결과 즉, 색상, 향, 맛 및 전반적인 기호도의 반응표면을 superimposing하여 음료 및 스프제조 조건을 최적화하였다. 최적화된 범위 중 임의의 조건으로 음료 및 스프를 제조하여 마이크로웨이브 추출 농축액을 사용한 가공제품과 환류추출 농축액의 가공제품과 상호 비교하였다.

8. 통계처리

실험결과는 3회 반복한 평균값을 적고, 통계처리는 SAS program을 사용하였으며, Duncan's multiple range test를 실시하여 시료 간 평균값의 유의차를 검정하였다.

제 3 절 결과 및 고찰

1. 환류추출에 따른 품질특성 비교

가. 용매에 따른 추출효율 비교

용매에 따른 추출특성을 알아보고자 새송이버섯 추출 시 에탄올 농도를 변화시켜 환류 추출함에 따른 가용성 고형분 함량, 총 폐놀성 화합물 함량 변화, 수소공여능의 변화, SOD 유사활성, 총 단백질 함량 및 아질산염 소거능의 변화를 살펴보았다.

1) 가용성 고형분 함량 변화

에탄올 농도의 변화에 따른 가용성 고형분 함량의 변화는 Fig. 1과 같다. 즉 건조된 새송이버섯 및 볶음 처리한 새송이버섯 추출물의 가용성 고형분 함량은 에탄올 농도가 증가할수록 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다. 또한 건조된 시료와 볶음 처리한 시료 중 건조한 시료가 볶음 처리한 시료보다 추출물의 가용성 고형분 함량이 더 높은 것으로 나타났다. 이는 볶음처리에 따른 고온의 열처리로 인해 일부 성분이 불용화 되어 가용성 고형분 함량이 낮게 나타났으리라 사료된다. 따라서 새송이버섯의 가용성 고형분 함량의 경우 물로 추출하는 것이 가장 높은 것으로 나타났다.

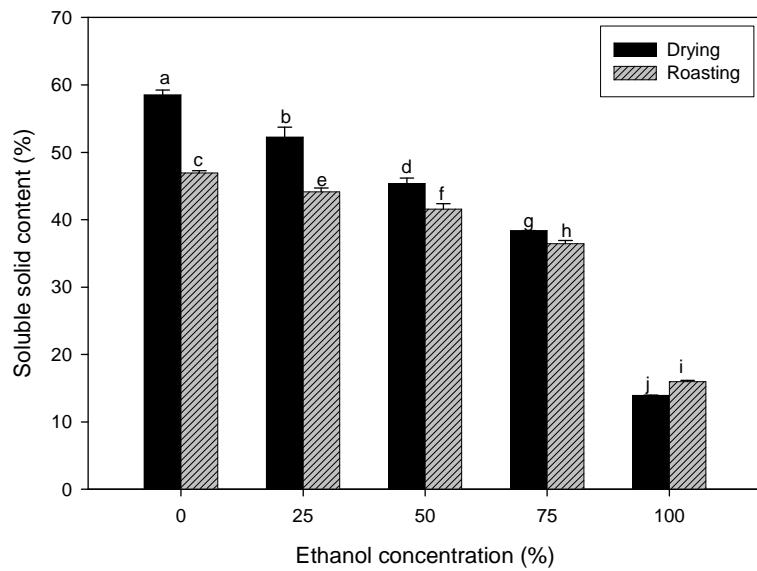


Fig. 1. Change in soluble solid content on ethanol concentration of extract of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

2) 총 페놀성 화합물 함량 변화

추출조건으로 에탄올 농도에 따른 추출물의 총 페놀성 화합물 함량의 변화를 살펴본 결과 Fig. 2와 같다. 즉 건조된 새송이버섯의 경우 에탄올 농도가 증가할수록 총 페놀성 화합물 함량이 감소하는 것으로 나타났으며, 에탄올만으로 추출한 것 보다는 물로 추출한 것이 총 페놀성 화합물 함량이 더 높았다. 볶음 처리된 새송이버섯은 50%의 에탄올 농도의 용매로 추출한 것이 가장 높은 총 페놀성 화합물 함량을 지니는 것으로 나타났다. 또한 건조만 한 새송이버섯 보다 볶음 처리를 하였을 때 총 페놀성 화합물 함량이 전반적으로 높은 경향을 보였다.

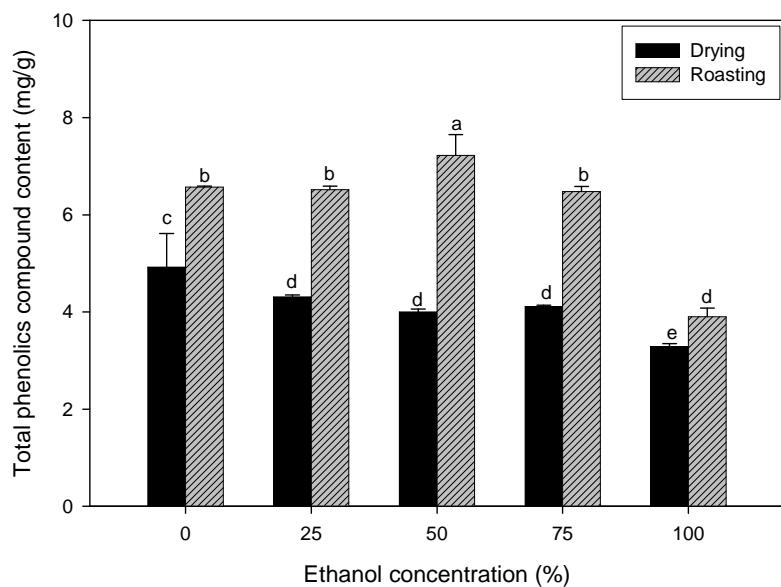


Fig. 2. Change in total phenolics compound content¹⁾²⁾ on ethanol concentration of extract of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

3) DPPH에 의한 수소공여능의 변화

추출조건으로 에탄올 농도에 따른 새송이버섯의 수소공여능의 변화를 살펴본 결과 Fig. 3과 같다. 즉 수소공여능의 경우 전반적으로 건조된 버섯 및 볶음 처리된 버섯 모두 50%의 에탄올로 추출할 경우 높은 활성을 지니는 것으로 나타났다. 또한 볶음 처리한 새송이버섯이 건조만 한 시료보다 높은 수소공여능을 지니는 것으로 나타났다. 수소공여능의 경우 에탄올 농도 및 시료전처리에 따라 유의적으로 차이가 있는 것으로 보인다.

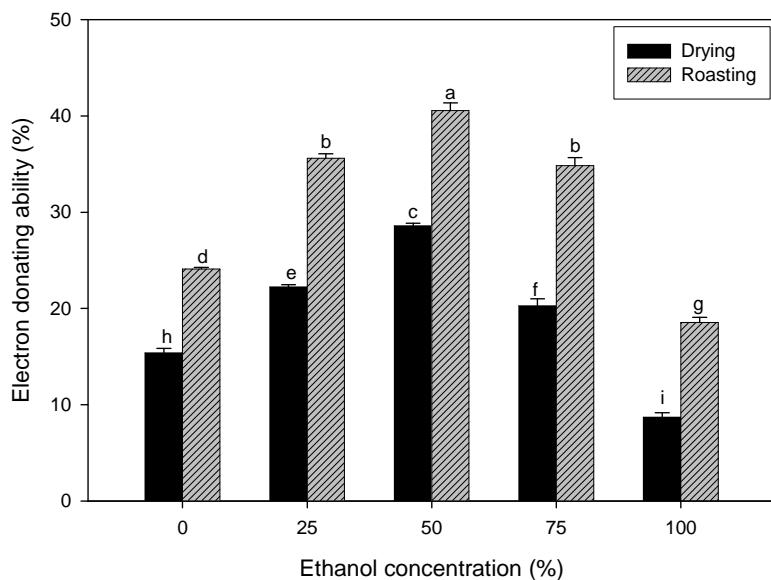


Fig. 3. Change in electron donating ability on ethanol concentration of extract of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

4) SOD 유사활성 변화

새송이버섯의 에탄올 농도에 따른 SOD 유사활성을 살펴본 결과 Fig. 4와 같다. 즉 건조된 새 송이버섯의 경우 증류수, 25% 에탄올에서 추출할 경우 가장 높은 SOD 유사활성을 나타내었으며, 그 이후에는 감소하는 것으로 나타났다. 볶음 처리된 새 송이버섯의 경우 에탄올 농도가 증가할수록 점점 증가하다가 75% 에탄올 농도에서 가장 높은 SOD 유사활성을 보였으며, 그 이후에는 감소하였다. 전반적으로 SOD 유사활성의 경우 건조된 새 송이버섯이 낮은 에탄올 농도에서 높은 활성을 지니는 것으로 나타났다.

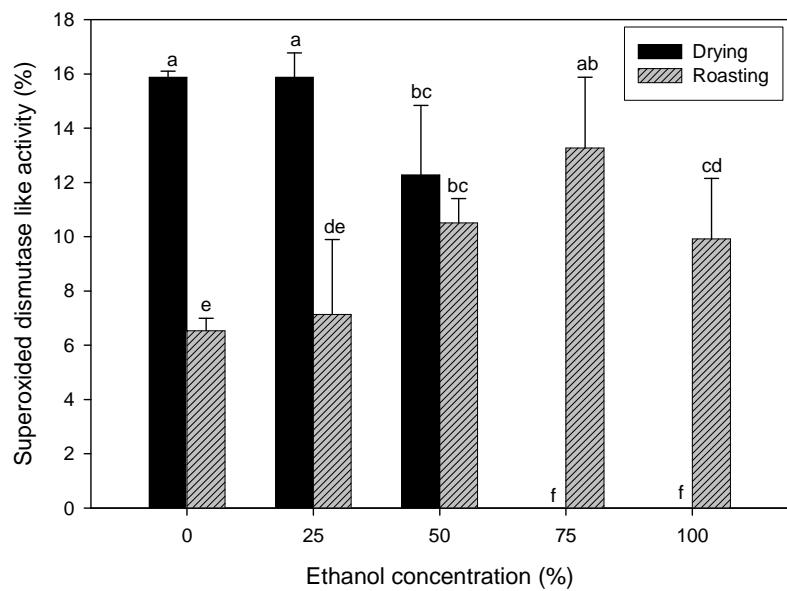


Fig. 4. Change in superoxide dismutase like activity on ethanol concentration of extract of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

5) 총 단백질 함량의 변화

새송이버섯의 추출조건으로 에탄올 농도에 따른 총 단백질 함량의 변화를 살펴본 결과 Fig. 5와 같다. 즉 건조된 새송이버섯 및 볶음 처리 된 새송이버섯의 경우 에탄올 농도가 증가할수록 유의적으로 감소하는 경향이 있었다.

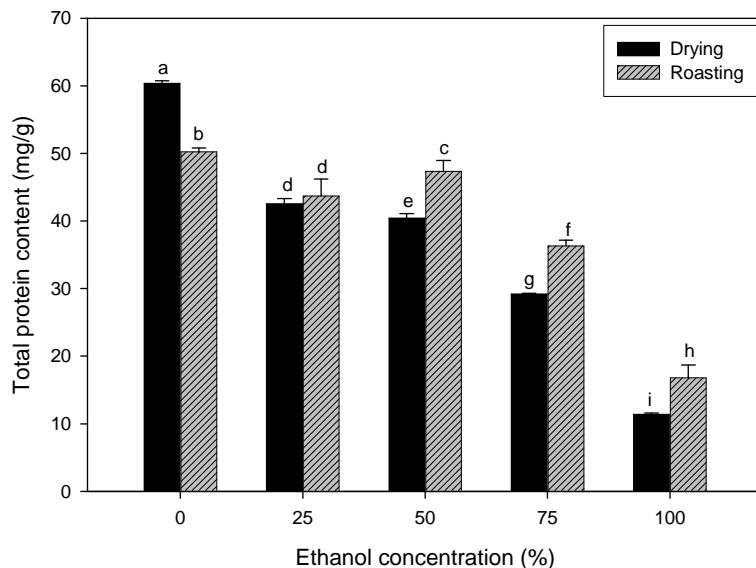


Fig. 5. Change in total protein content on ethanol concentration of extract of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

6) 아질산염 소거능의 변화

새송이버섯의 추출조건으로 에탄올 농도에 따른 아질산염 소거능의 변화를 pH1.2, 3.0, 4.2, 6.0에서 살펴본 결과 Table 6과 같다. 즉 건조된 새송이버섯의 경우 모든 pH에서 에탄올 농도가 증가할수록 유의적으로 감소하였으며, 또한 pH가 증가할수록 아질산염 소거능은 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다. 볶음 처리된 새송이버섯의 경우 에탄올농도가 증가 할수록 감소하는 경향이 있었으며, pH가 증가함에 따라 감소하는 것으로 나타났다. 볶음 처리된 새송이버섯의 경우 건조된 새송이버섯과 비교해 볼 때 pH 1.2 및 pH 3.0에서 건조처리된 것보다 볶음처리를 한 것이 더 높은 아질산염 소거능을 지니는 것으로 보여진다.

Table 6. Change in nitrite-scavenging activity on ethanol concentration of extract of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction

Pre-treated EtOH(%)	Nitrite-scavenging ability (%)				
	pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0	
Drying	0	26.24±2.21 ^d	20.97±1.40 ^d	10.22±2.07 ^c	11.34±2.46 ^a
	25	22.50±2.08 ^{de}	17.83±1.78 ^e	11.46±1.28 ^c	4.12±2.46 ^b
	50	20.94±0.26 ^e	14.97±0.26 ^f	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^c
	75	7.75±0.84 ^f	0.00±0.00 ^g	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^c
	100	6.10±1.72 ^f	0.00±0.00 ^g	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^c
Roasting	0	53.55±1.63 ^a	39.78±1.40 ^b	16.94±1.56 ^a	5.01±2.34 ^b
	25	51.39±1.20 ^a	42.64±2.93 ^a	14.33±1.98 ^b	0.00±0.00 ^c
	50	31.17±0.21 ^c	35.07±0.25 ^c	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^c
	75	38.37±4.93 ^b	0.00±0.00 ^g	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^c
	100	24.39±2.20 ^{de}	0.00±0.00 ^g	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^c

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

나. 추출시간에 따른 추출효율 비교

새송이버섯의 추출시간에 따른 추출효율의 비교는 추출온도 80°C에서 시료 : 증류수를 1:20으로 1회 추출하여 이화학적 특성을 조사하였다.

1) 가용성 고형분 함량 변화

추출시간에 따른 가용성 고형분 함량의 변화를 살펴본 결과 Fig. 6과 같다. 즉 건조된 새송이버섯의 경우 추출시간이 증가함에 따라 유의적으로 차이를 나타내지 않았으나, 추출시간을 3시간으로 하였을 때 가장 높은 가용성 고형분 함량을 나타내었다. 볶음 처리한 새송이버섯의 경우에도 추출시간에 따른 큰 차이를 보이지 않았다. 결과적으로 새송이버섯 환류 추출 시 추출시간에 따른 가용성 고형분 함량을 고려할 때 추출시간을 3시간으로 하는 것이 좋을 것으로 사료된다.

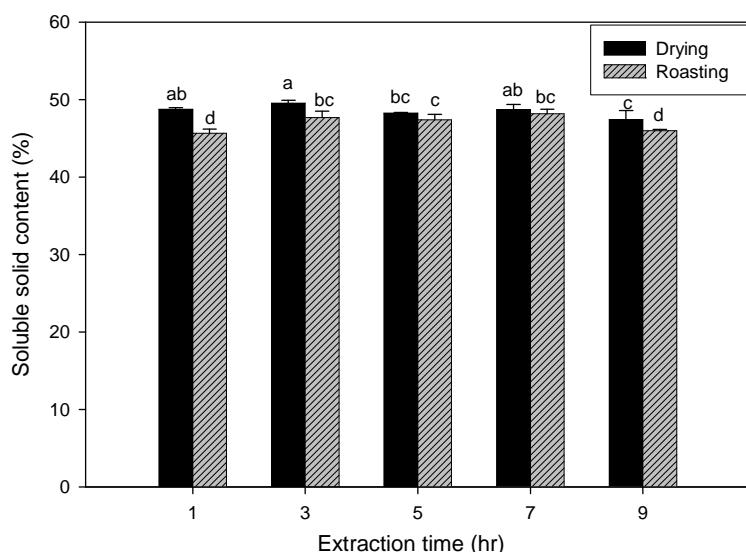


Fig. 6. Change in soluble solid content on extraction time of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

2) 총 페놀성 화합물 함량 변화

추출시간에 따른 총 페놀성 화합물 함량의 변화를 살펴본 결과 Fig. 7과 같다. 즉 건조된 새송이버섯 및 볶음 처리된 새송이버섯의 경우 추출시간에 따른 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 반면에 건조 및 볶음의 새송이버섯의 전처리에 있어서는 유의적으로 차이가 있었다. 즉 볶음 처리한 새송이버섯이 건조한 새송이버섯에 비해 훨씬 높게 총 페놀성 화합물이 추출되는 것으로 나타났다.

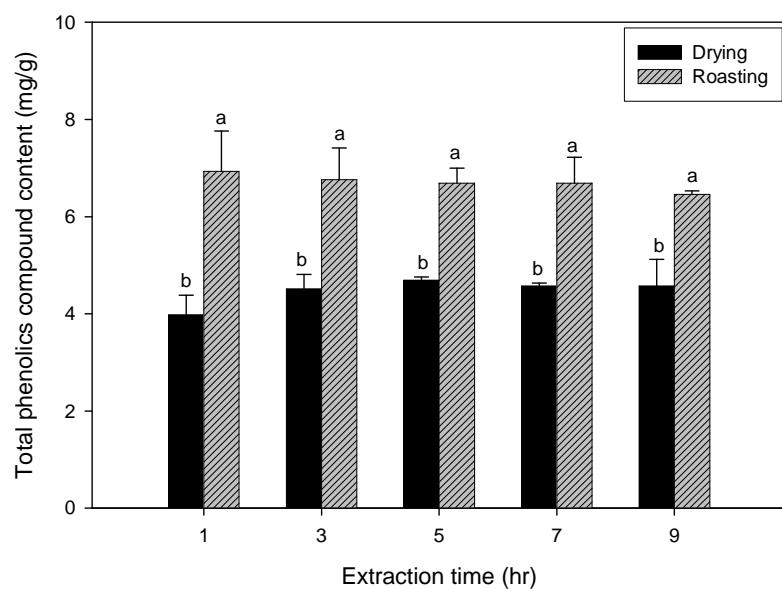


Fig. 7. Change in total phenolics compound content on extraction time of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

3) DPPH에 의한 수소공여능의 변화

추출시간에 따른 DPPH에 의한 수소공여능의 변화를 살펴본 결과 Fig 8과 같다. 건조된 새 송이버섯의 경우 추출시간 3, 5, 7시간으로 추출 하였을 때 높은 수소공여능으로 나타났으며, 볶음 처리된 새 송이버섯의 경우에는 추출시간이 증가함에 따라 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다. 즉 볶음 처리한 새 송이버섯의 경우 추출시간 1시간으로 추출 하였을 때 가장 높은 수소공여능을 지니는 것으로 나타났다. 또한 추출시간을 달리 하였을 때 전반적으로 볶음 처리한 새 송이버섯이 건조만 한 새송이버섯보다 수소공여능이 2배정도 높은 것으로 나타났다.

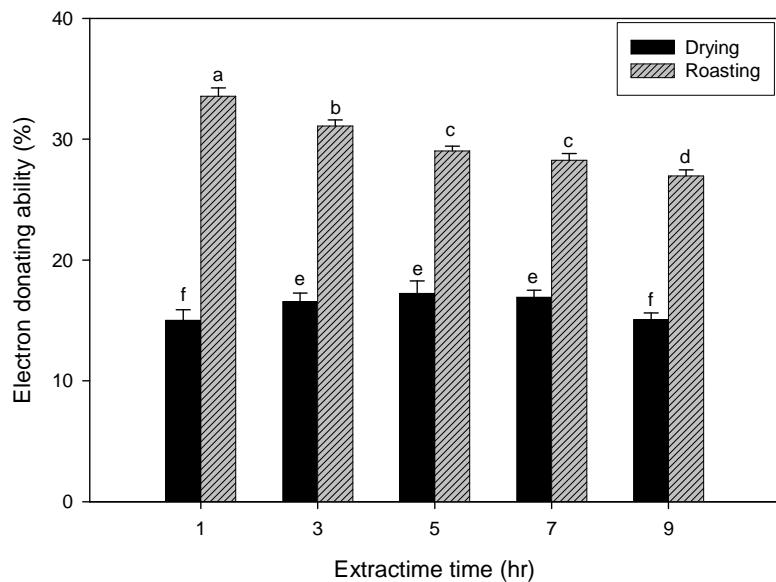


Fig. 8. Change in electron donating ability on extraction time of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

4) SOD 유사활성 변화

추출시간에 따른 SOD 유사활성의 변화를 살펴본 결과 Fig. 9와 같다. 건조된 새송이버섯의 경우 3시간이상 추출 하였을 때 높은 SOD 활성을 나타내었으며 추출시간에 따른 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다. 볶음 처리한 새송이버섯도 또한 3시간이상 추출 하였을 때 추출시간에 따른 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. SOD 유사활성은 Fig. 8에 나타난 DPPH에 의한 수소공여능의 변화와는 반대로 건조된 새송이버섯이 볶음 처리한 새송이버섯보다 추출시간의 변화에서 더 높은 것으로 조사되었다. 전반적으로 SOD 유사활성의 경우 추출시간을 3시간으로 하여 추출하는 것이 더 효율적이라고 사료된다.

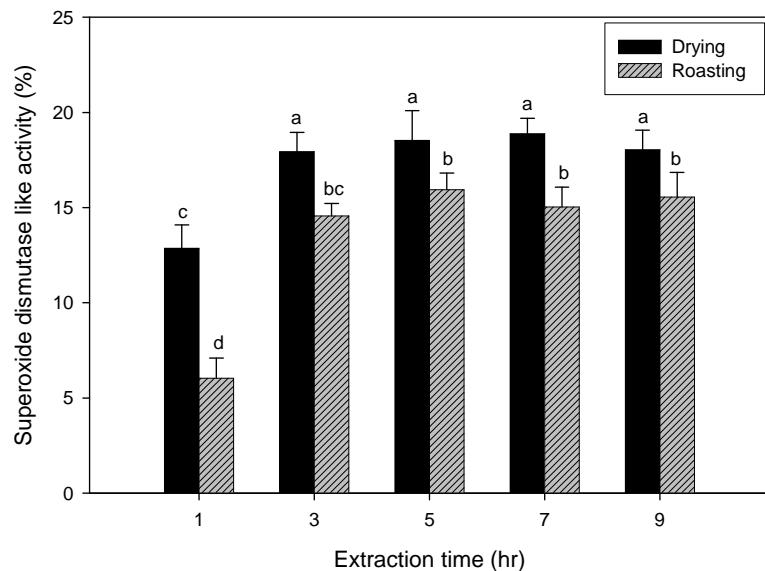


Fig. 9. Change in superoxide dismutase like activity on extraction time of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

5) 총 단백질 함량의 변화

추출시간에 따른 새송이버섯 추출물의 총 단백질 함량의 변화를 살펴본 결과 Fig. 10과 같다. 건조된 새송이버섯의 경우 추출시간 5시간 이후로 감소하였으며, 볶음 처리된 새송이버섯의 경우는 추출시간에 따른 통계적으로 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. 즉 볶음 처리한 새송이버섯의 총 단백질 함량은 추출시간에 영향을 거의 받지 않는 것으로 사료된다. 결과적으로 총 단백질 함량의 경우는 건조 및 볶음 처리된 새송이버섯을 3시간 정도 추출할 경우 총 단백질 함량이 높은 추출물을 얻을 수 있으리라 사료된다.

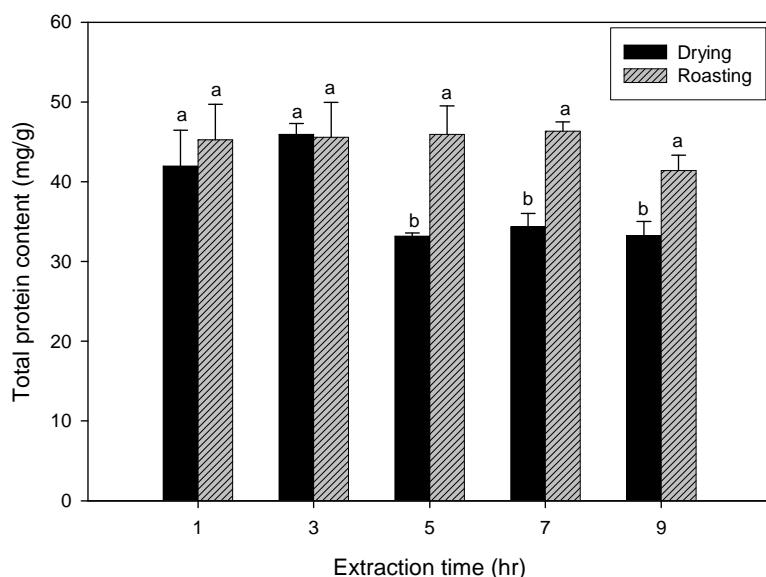


Fig. 10. Change in total protein content on extraction time of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

6) 아질산염 소거능의 변화

새송이버섯의 추출시간의 변화에 따른 아질산염 소거능의 변화를 살펴본 결과 Table 7과 같다. 건조된 새송이버섯의 아질산염 소거능은 추출시간이 증가할수록 증가하다가 7시간 이후로 감소하는 것으로 나타났으며, pH1.2 및 pH3.0에서 높은 아질산염 소거능을 보여주었다. 볶음 처리된 새송이버섯의 아질산염 소거능의 경우도 추출시간이 길어짐에 따라 증가하다가 7시간 이후로는 감소하였으며, pH 1.2 및 pH 3.0에서 높은 아질산염 소거능을 나타내었다. 또한 볶음 처리한 새송이버섯이 추출시간의 변화와 상관없이 pH 1.2 및 3.0에서 건조한 새송이버섯 보다 훨씬 높은 아질산염 소거능을 나타내었다.

Table 7. Change in nitrite-scavenging activity on extraction time of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction

Pre-treated	Time(hr)	Nitrite-scavenging activity (%)			
		pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0
Drying	1	18.20±1.93 ^h	32.00±1.69 ^d	11.48±0.48 ^c	6.59±1.22 ^a
	3	21.12±0.88 ^g	27.87±0.15 ^e	9.39±1.91 ^{cd}	4.22±2.44 ^{abc}
	5	24.19±0.92 ^f	25.81±0.92 ^f	8.86±1.27 ^d	1.70±2.31 ^c
	7	33.09±1.40 ^d	26.57±0.15 ^{ef}	9.70±1.29 ^{cd}	2.37±2.23 ^c
	9	27.02±1.42 ^e	26.14±0.46 ^f	4.29±1.56 ^e	1.85±1.67 ^c
Roasting	1	54.53±0.92 ^c	45.80±1.60 ^c	18.41±1.20 ^a	3.22±0.16 ^{bc}
	3	57.77±1.06 ^b	52.39±0.87 ^a	17.95±1.18 ^a	1.88±0.47 ^c
	5	55.26±0.74 ^c	49.71±1.24 ^b	16.06±1.25 ^{ab}	2.22±0.31 ^c
	7	61.89±0.64 ^a	49.46±0.15 ^b	17.80±1.84 ^a	5.32±0.80 ^{ab}
	9	56.15±1.25 ^{bc}	46.20±0.15 ^c	15.30±1.14 ^b	1.70±0.46 ^c

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

다. 추출온도에 따른 추출효율 비교

추출온도를 40, 60, 80, 100°C로 달리하여 추출시간 2시간, 시료 : 증류수 1:20으로 1회 추출하여 추출온도 변화에 따른 이화학적 특성을 조사하였다.

1) 가용성 고형분 함량 변화

새송이버섯의 추출온도의 변화에 따른 가용성 고형분 함량의 변화를 살펴본 결과 Fig. 11과 같다. 즉 건조 및 볶음 처리한 새송이버섯의 경우 추출온도에 따른 변화가 통계적으로 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다.

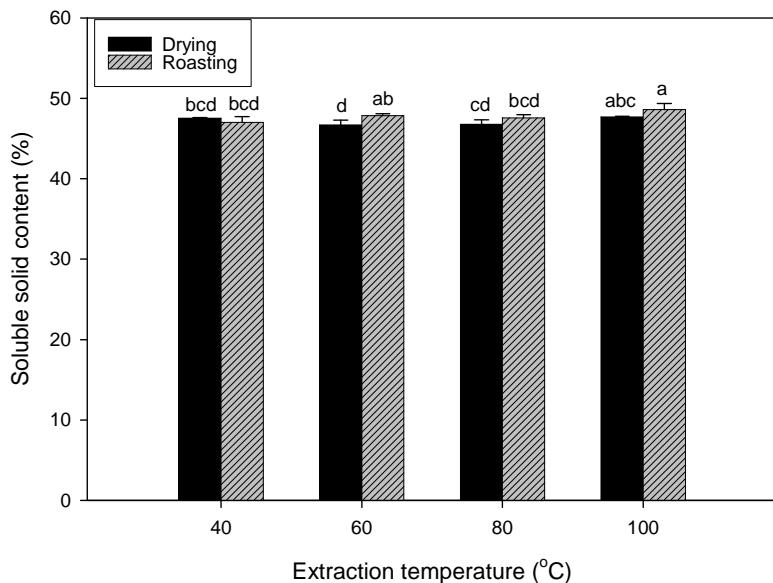


Fig. 11. Change in soluble solid content on extraction temperature of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

2) 총 페놀성 화합물 함량 변화

새송이버섯의 추출온도에 따른 총 페놀성 화합물 함량의 변화를 살펴본 결과 Fig. 12와 같다. 건조 및 볶음 처리에 따른 추출온도의 변화에 있어서 유의적으로 차이가 없었다. 그러나 추출온도에 상관없이 볶음 처리한 새송이버섯 추출물이 건조만 한 새송이버섯 추출물보다 총 페놀성 화합물 함량이 더 높게 나타났다.

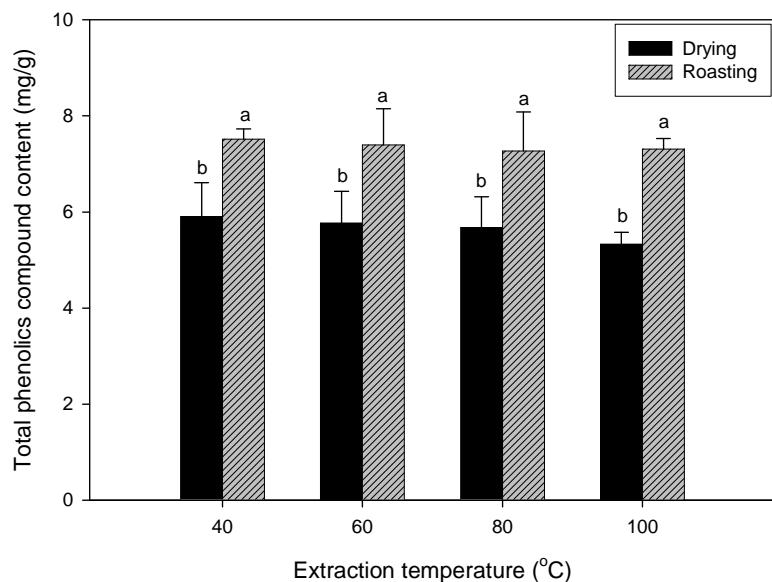


Fig. 12. Change in total phenolics compound content on extraction temperature of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

3) DPPH에 의한 수소공여능의 변화

새송이버섯의 추출온도의 변화에 따른 DPPH에 의한 수소공여능의 변화를 살펴본 결과 Fig. 13과 같다. 추출온도가 높아짐에 따라 건조된 새송이버섯의 추출물 및 볶음 처리된 새송이버섯의 추출물의 경우 유의적으로 감소하였다. 전반적으로 40°C에서 추출 하였을 때 건조 및 볶음 처리한 새송이버섯 추출물의 수소공여능이 높은 것으로 나타났다.

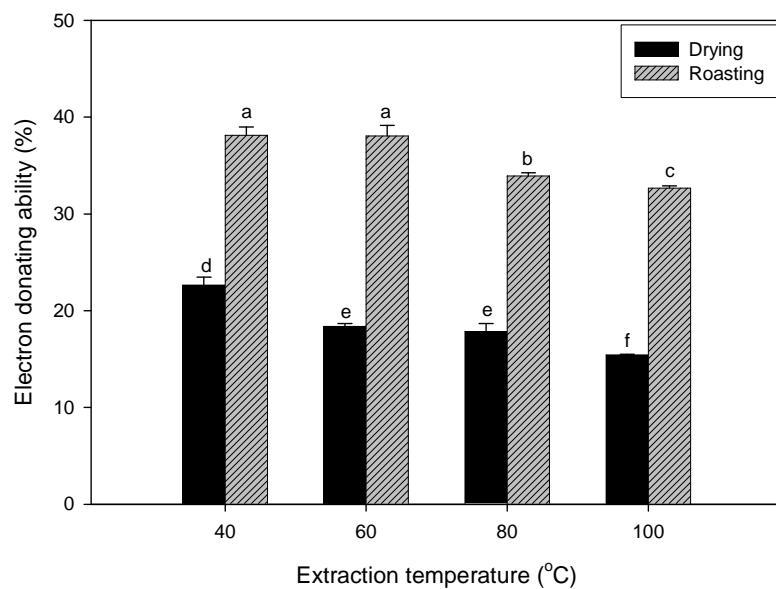


Fig. 13. Change in electron donating ability on extraction temperature of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

4) SOD 유사활성 변화

새송이버섯의 환류 추출 시 추출온도의 변화에 따른 SOD 유사활성의 변화를 살펴보았다.(Fig. 14). 건조 및 볶음 처리된 새 송이버섯 추출물은 추출 온도가 증가할수록 감소하였으나 유의적인 차이는 없었다. 전반적으로 40°C에서 추출하는 것이 SOD 유사활성이 높았는데, 이는 Fig. 13의 추출온도에 따른 수소공여능의 변화와 유사한 결과이다.

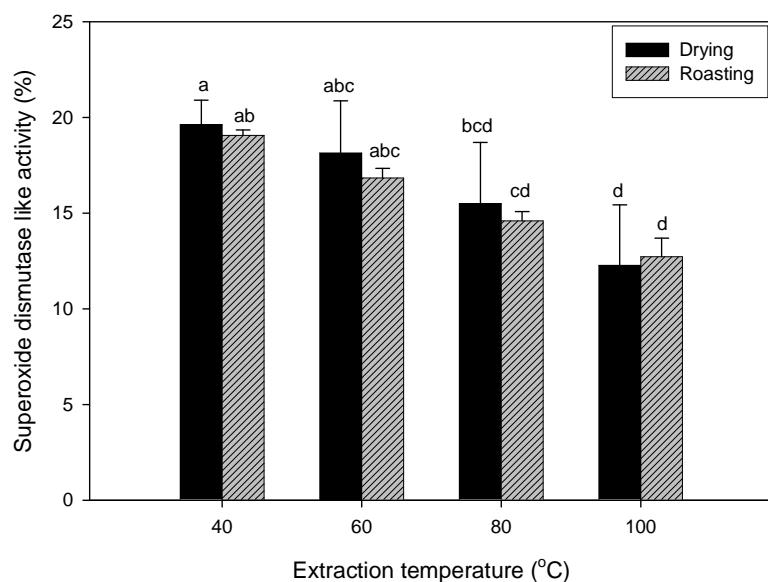


Fig. 14. Change in superoxide dismutase like activity on extraction temperature of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

5) 총 단백질 함량의 변화

새송이버섯의 환류추출 시 추출온도에 따른 총 단백질 함량의 변화를 살펴본 결과 Fig. 15와 같다. 건조 및 볶음 처리한 새송이버섯의 경우 추출온도가 증가할수록 증가하다가 60°C 이후로는 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다. 또한 건조만 된 새송이버섯 추출물보다는 볶음 처리한 새송이버섯의 추출물에서 총 단백질 함량이 다소 높았으며, 전반적으로 60°C에서 환류 추출할 때 그 함량이 높게 나타났다.

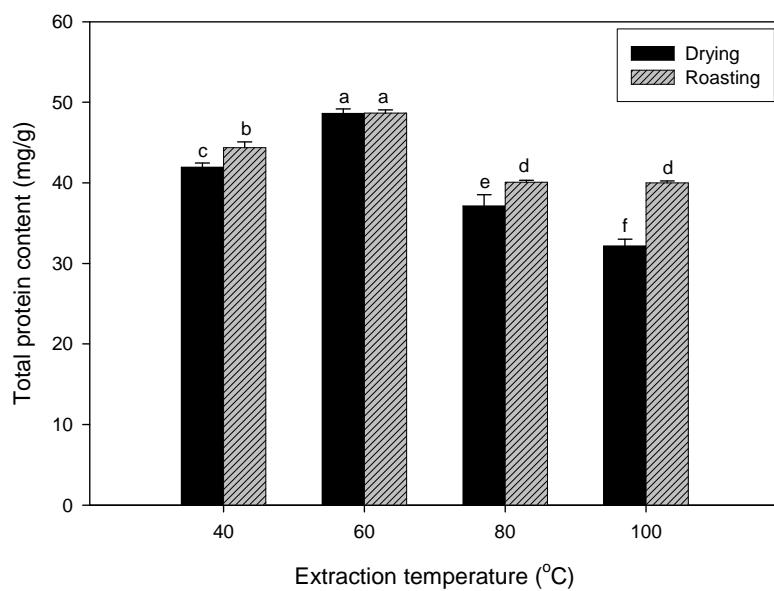


Fig. 15. Change in total protein content on extraction temperature of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

6) 아질산염 소거능의 변화

새송이버섯의 추출온도에 따른 아질산염 소거능의 변화를 살펴본 결과 Table 8과 같다. 건조된 새송이버섯의 추출물은 추출온도 100°C에서 가장 높은 아질산염 소거능을 보여주었으며 pH가 증가함에 따라 감소하는 것으로 나타났다. 볶음 처리한 새송이버섯의 추출물은 전반적으로 추출온도에 따른 큰 변화는 없었다. 추출온도에 상관없이 볶음 처리된 새송이버섯 추출물이 건조된 새송이버섯 추출물보다 pH 1.2, 3.0, 4.2에서 아질산염 소거능이 높았으며 전반적으로 아질산염 소거능의 경우는 추출온도에 큰 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

Table 8. Change in nitrite-scavenging activity on extraction temperature of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction

Pre-treated	Temp(°C)	nitrite-scavenging activity(%)			
		pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0
Drying	40	30.28±1.53 ^c	20.53±1.88 ^f	8.60±0.15 ^b	8.10±1.24 ^a
	60	30.36±2.76 ^c	22.95±1.32 ^e	3.82±2.10 ^c	5.62±0.33 ^b
	80	32.17±1.61 ^c	22.25±0.99 ^{ef}	4.14±0.75 ^c	5.25±1.00 ^b
Roasting	100	37.18±1.61 ^b	28.45±0.50 ^d	8.60±0.75 ^b	6.49±1.12 ^b
	40	62.96±0.87 ^a	47.78±0.62 ^a	15.07±2.22 ^a	3.04±0.93 ^c
	60	60.71±1.31 ^a	41.22±0.33 ^c	17.69±2.77 ^a	2.22±0.89 ^c
	80	62.96±0.79 ^a	47.23±0.59 ^a	14.79±2.65 ^a	1.56±0.67 ^c
	100	60.78±0.75 ^a	43.64±0.95 ^b	15.29±1.66 ^a	0.00±0.00 ^d

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

라. 용매비에 따른 추출효율 비교

추출온도에 따른 추출효율의 비교는 추출온도 80°C, 추출시간 2시간, 용매로 증류수를 사용하여 1, 3, 5, 7, 9g/100ml으로 1회 추출하여 이화학적 특성을 조사하였다.

1) 가용성 고형분 함량 변화

새송이버섯 환류 추출 시 용매에 대한 시료의 양을 달리하여 추출한 추출물의 가용성 고형분 함량의 변화는 Fig. 16과 같다. 건조된 새송이버섯의 경우 용매에 대한 시료의 양이 3g/100ml일 때 가용성 고형분 함량이 높게 나타났으며, 그 이후로는 유의적으로 감소하였다. 볶음 처리된 새송이버섯의 경우 용매에 대한 시료의 양이 증가할수록 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다. 특히 볶음 처리한 새송이버섯이 용매에 대한 시료의 양 1g/100ml일 때 가용성 고형분 함량이 가장 높게 나타났다.

2) 총 페놀성 화합물 함량 변화

새송이버섯의 용매에 대한 시료의 양에 따른 총 페놀성 화합물 함량의 변화를 살펴본 결과 Fig. 17과 같다. 용매 비에 따른 건조 및 볶음 처리한 새송이버섯 추출물은 용매에 대한 시료의 양이 증가함에 따라 감소하는 경향이 있었으나 유의적으로 차이를 보이지는 않았다. 또한 건조한 새송이버섯 보다는 볶음 처리한 새송이버섯으로 추출한 것이 용매 비에 상관없이 높은 것으로 나타났다.

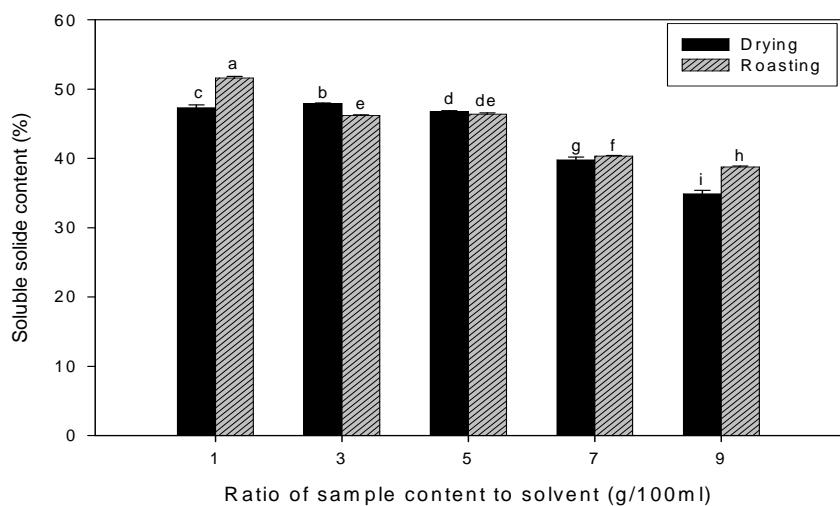


Fig. 16. Change in soluble solid content on ratio of sample content to solvent of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

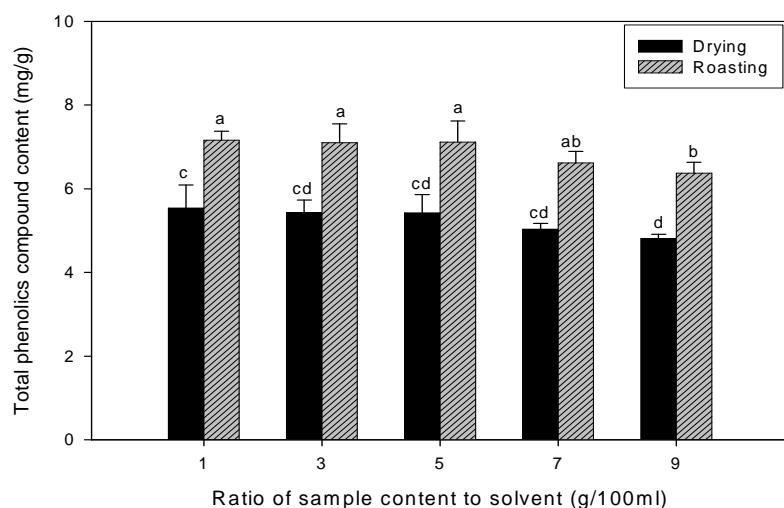


Fig. 17. Change in total phenolics compound content on ratio of sample content to solvent of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

3) DPPH에 의한 수소공여능의 변화

새송이버섯의 용매에 대한 시료량의 변화에 따른 DPPH에 의한 수소공여능의 변화를 살펴본 결과 Fig 18과 같다. 용매 비에 따라 추출한 건조 및 볶음 처리한 새송이버섯 추출물의 DPPH에 의한 수소공여능은 용매비가 증가할수록 유의적으로 감소하였다. 또한 건조만 한 새송이버섯 추출물이 볶음 처리한 새송이버섯 추출물보다 용매 비에 상관없이 낮은 수소공여능을 나타내었다. 전반적으로 용매에 대한 시료량 1g/100ml로 추출 하였을 때 그 수소공여능이 높게 나타났다.

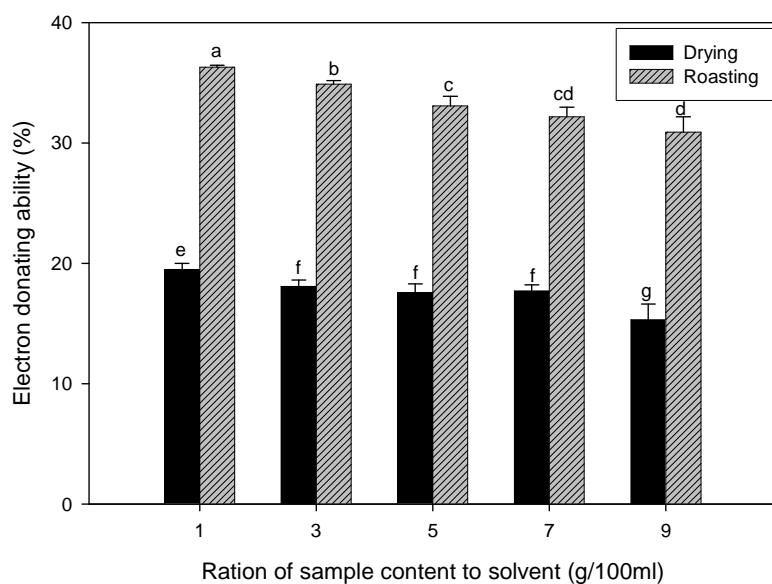


Fig. 18. Change in electron donating ability on ratio of sample content to solvent of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

4) SOD 유사활성 변화

용매비에 따른 새송이버섯 추출물의 SOD 유사활성을 살펴본 결과 Fig. 19와 같다. 용매에 대한 시료의 양이 증가함에 따라 건조 및 볶음 처리한 새송이버섯 추출물의 SOD 유사활성은 감소하는 것으로 나타났으나 유의적인 차이가 없는 것으로 보여진다. 전반적으로 용매에 대한 시료의 양이 1g/100ml일 때 가장 높은 SOD 유사활성을 나타냈다.

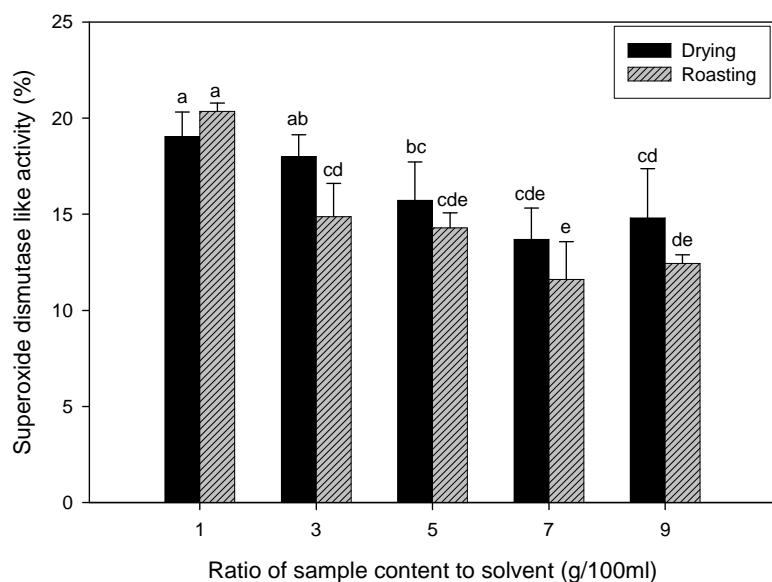


Fig. 19. Change in superoxide dismutase like activity on ratio of sample content to solvent of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

5) 총 단백질 함량의 변화

새송이버섯 추출 시 용매 비에 따른 추출물의 총 단백질 함량의 변화를 살펴본 결과 Fig. 20과 같다. 용매에 대한 시료의 양이 증가할수록 건조 및 볶음 처리한 새송이버섯 추출물에서 총 단백질의 함량이 유의적으로 감소하였다. 특히 용매에 대한 시료의 양이 1g/100ml 일 때 추출물의 총 단백질 함량이 다른 용매 비에 비해 높게 나타났다.

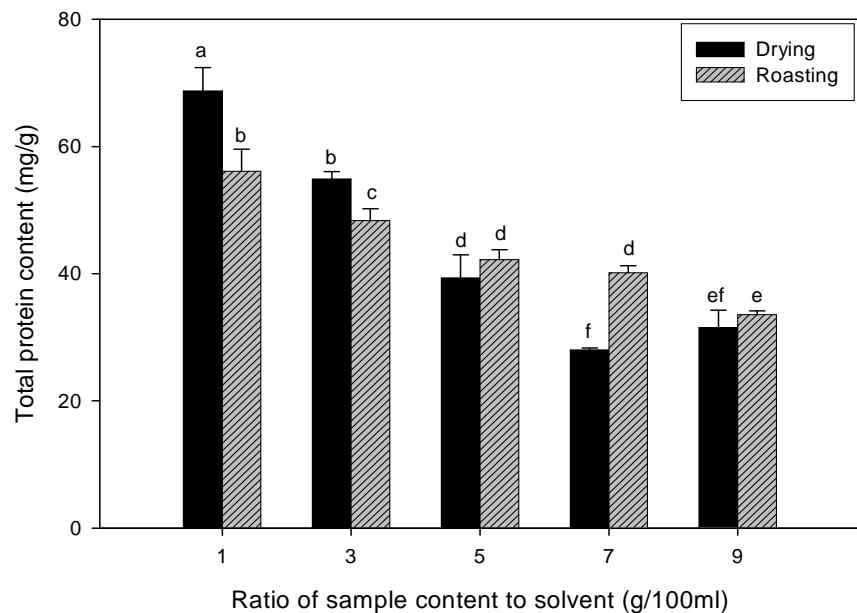


Fig. 20. Change in total protein content on ratio of sample content to solvent of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

6) 아질산염 소거능의 변화

새송이버섯의 용매에 대한 시료의 양 변화에 따른 아질산염 소거능을 pH에 따라 살펴본 결과 Table 9와 같다. 건조한 새송이버섯은 용매 비를 증가하면서 추출할수록 아질산염 소거능이 감소하였으며, pH가 증가할수록 용매 비에 상관없이 감소하는 것으로 나타났다. 볶음 처리한 새송이버섯 또한 용매 비를 증가하면서 추출할수록 아질산염 소거능이 감소하는 것으로 나타났으며, pH가 증가할수록 용매 비에 상관없이 감소하는 경향을 보였다. 그러나 앞서 설명한 추출조건 즉 에탄올 농도, 추출시간 및 추출온도의 경우 볶음 처리한 새송이버섯 추출물이 건조만한 새송이버섯 보다 훨씬 높았으나, 용매 비에 따라서는 큰 차이가 나지 않는 것으로 나타났다.

Table 9. Change in nitrite-scavenging activity on ratio of sample content to solvent of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction

Pre-treated	Ratio of sample content to solvent (g/100ml)	Nitrite-scavenging activity (%)			
		pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0
Drying	1	31.41±1.11 ^a	17.68±1.75 ^a	2.79±1.10 ^a	4.28±1.59 ^a
	3	12.17±1.45 ^d	7.99±0.80 ^c	0.89±0.95 ^{bc}	0.41±0.16 ^b
	5	7.72±1.11 ^e	5.42±2.51 ^{cde}	0.76±0.63 ^{bc}	0.34±0.16 ^b
	7	3.02±0.89 ^f	1.40±2.64 ^f	0.27±0.16 ^{bc}	0.13±0.32 ^b
	9	4.15±1.89 ^f	2.54±0.48 ^{ef}	0.35±1.26 ^{bc}	0.53±0.32 ^b
Roasting	1	24.88±0.63 ^b	17.63±1.97 ^a	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^b
	3	18.13±0.22 ^c	11.96±1.71 ^b	1.56±0.63 ^{ab}	0.00±0.00 ^b
	5	12.59±0.68 ^d	8.39±0.94 ^c	0.90±0.13 ^{bc}	0.00±0.00 ^b
	7	8.83±1.41 ^e	4.92±0.32 ^{de}	1.47±0.63 ^{abc}	0.00±0.00 ^b
	9	8.37±1.00 ^e	5.64±1.02 ^{cd}	1.56±0.95 ^{ab}	0.00±0.00 ^b

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

마. 추출횟수에 따른 추출효율 비교

추출횟수에 따른 추출효율의 비교는 추출온도 80°C, 추출시간 2시간, 용매로 증류수를 사용하여 시료: 용매 1:20의 비율로 추출하여 이화학적 특성을 조사하였다.

1) 가용성 고형분 함량 변화

추출조건으로 추출횟수를 달리할 경우 새송이버섯의 가용성 고형분 함량의 변화를 살펴본 결과 Fig. 21과 같다. 즉 건조된 새송이버섯 및 볶음 처리된 새송이버섯의 경우 1회 추출로 대부분의 가용성 고형분 함량이 추출되는 것으로 나타났다. 따라서 가용성 고형분 함량으로 보았을 때 1회 추출하는 것이 좋을 것으로 사료된다.

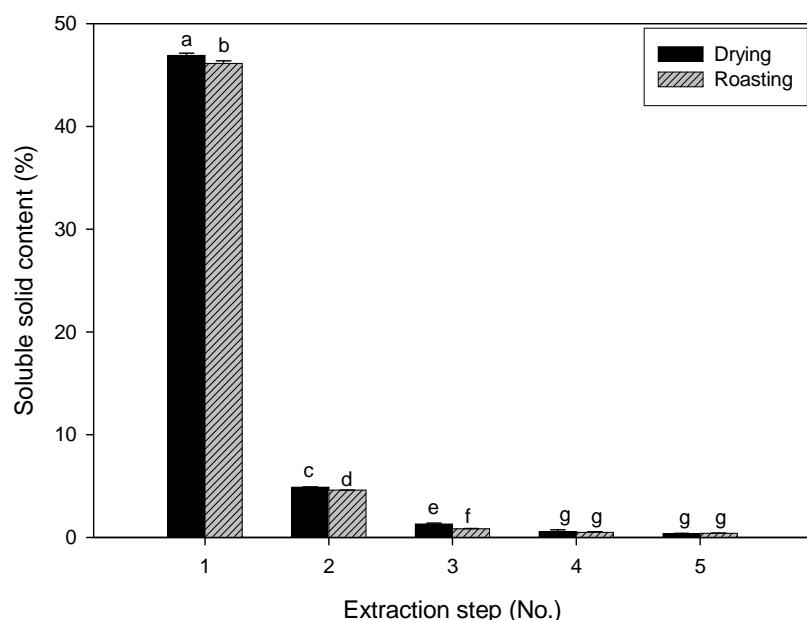


Fig. 21. Change in soluble solid content on extraction step of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

2) 총 페놀성 화합물 함량 변화

추출횟수에 따른 새송이버섯의 총 페놀성 화합물 함량의 변화는 Fig. 22와 같다. 시료 전 처리에 따른 새송이버섯 추출 시 추출횟수를 증가함에 따라 총 페놀성 화합물 함량은 감소하였으며 1회추출로 대부분의 총 페놀성 화합물은 추출되는 것으로 나타났다. 또한 1회 추출 시 볶음 처리한 새송이버섯이 건조만한 새송이버섯 추출물보다 총 페놀성 화합물 함량이 높게 측정되었다.

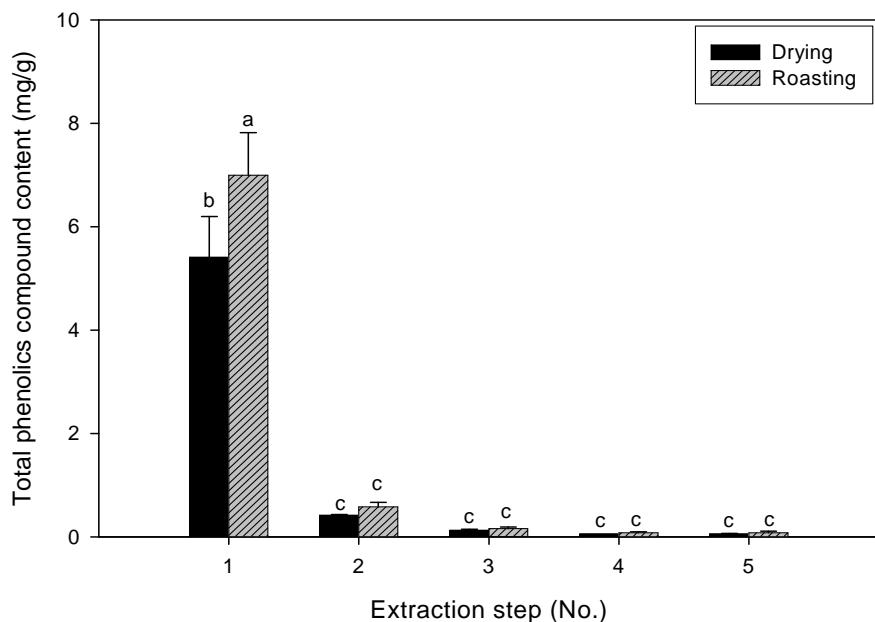


Fig. 22. Change in total phenolics compound content on extraction step of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

3) DPPH에 의한 수소공여능의 변화

추출횟수에 따른 DPPH에 의한 수소공여능의 변화를 살펴본 결과 Fig. 23과 같다. 즉 수소공여능은 추출횟수 1회 추출한 것이 높게 나타났으며, 그 이후로는 활성이 매우 낮은 것으로 나타났다. 또한 1회 추출 시 볶음 처리한 새송이버섯 추출물이 건조만 한 새송이버섯 추출물보다 훨씬 높은 것으로 나타났다. 따라서 수소공여능을 고려할 때는 1회만 추출하는 것이 에너지 효율 면에서도 좋을 것으로 추측된다.

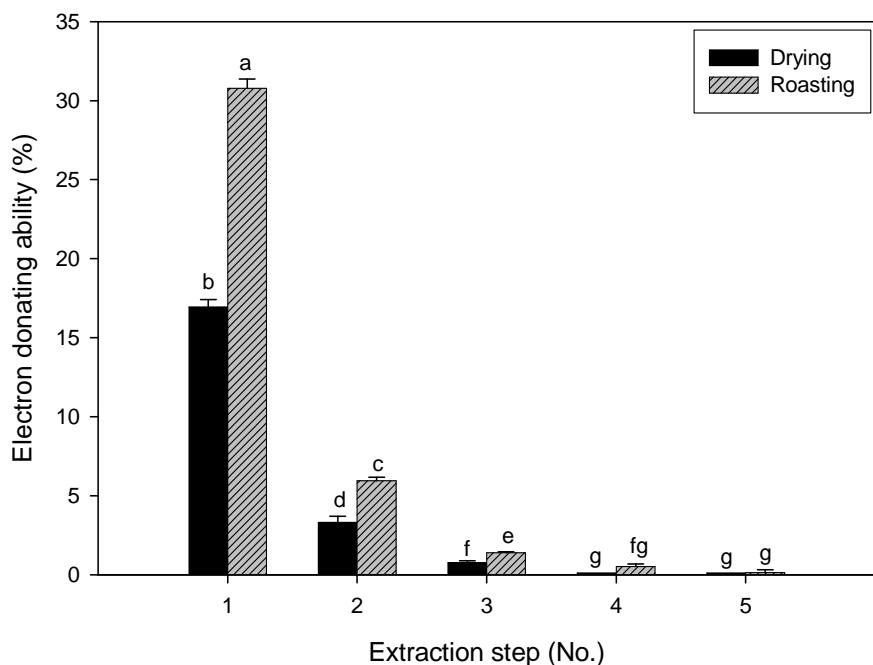


Fig. 23. Change in electron donating ability on extraction step of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

4) SOD 유사활성 변화

새송이버섯의 추출횟수에 따른 SOD 유사활성을 살펴본 결과 Fig. 24와 같다. 건조된 새송이버섯의 경우 2회까지는 SOD 유사활성이 있었으나 그 이후로는 나타나지 않았으며, 볶음 처리된 새송이버섯의 경우는 1회 추출 시 대부분 그 활성 물질이 추출되는 것으로 나타났다.

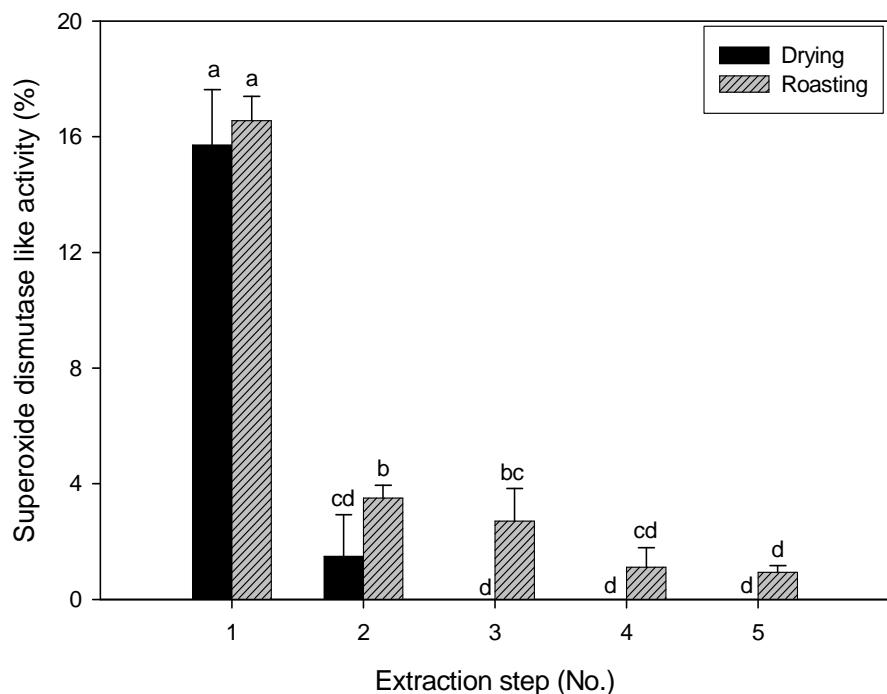


Fig. 24. Change in superoxide dismutase like activity on extraction step of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

5) 총 단백질 함량의 변화

새송이버섯의 환류추출 시 추출횟수에 따른 총 단백질 함량의 변화를 살펴본 결과 Fig. 25와 같다. 즉 앞서 추출조건의 경우와 같이 총 단백질 함량의 경우도 1회 추출에 의해 대부분 추출이 되는 것으로 나타났다. 또한 볶음 처리한 새송이버섯이 건조만한 새송이버섯 보다 총 단백질 함량이 더 많이 추출되었다.

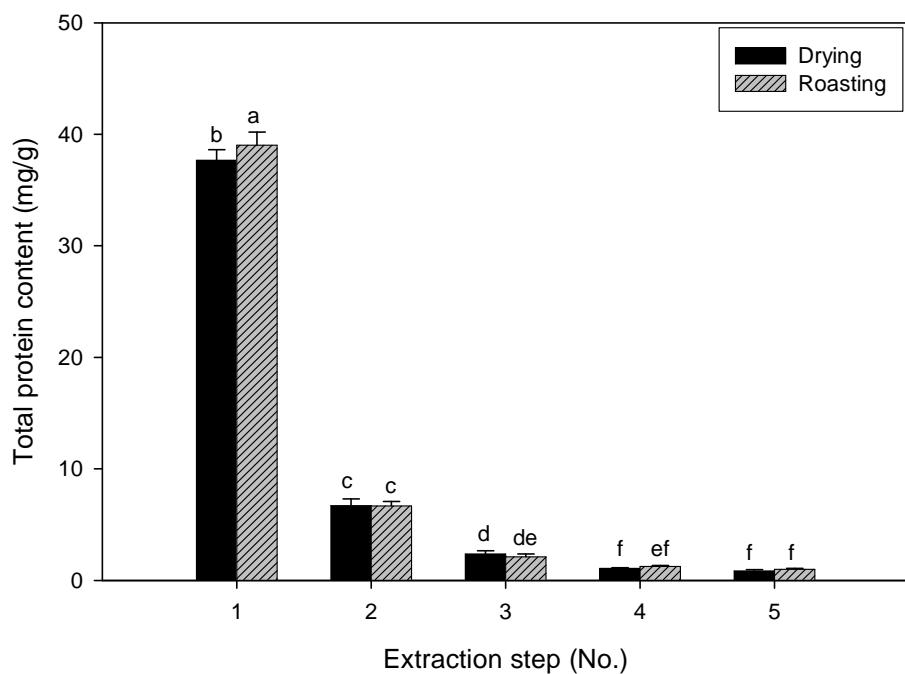


Fig. 25. Change in total protein content on extraction step of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

6) 아질산염 소거능의 변화

추출횟수에 따른 아질산염 소거능의 변화를 살펴본 결과 Table 10과 같다. 아질산염 소거능 역시 1회 추출에 의해 대부분이 추출되는 것으로 나타났으며, pH가 증가함에 따라서 감소하는 경향이 있었다. 또한 건조된 새송이버섯 추출물은 1회 추출 시 pH 1.2에서 33.41%였으나 볶음 처리한 새송이버섯 추출물은 1회 추출시 pH 1.2에서 60.69%로 거의 2배 정도 차이가 있었다. 그러나 2회 추출 시에는 각각 11.65%, 10.40%로 큰 차이를 보이지 않았다. 즉 볶음 처리한 새송이버섯의 경우 1회 추출로 거의 대부분의 아질산염 소거능의 활성을 지니는 성분이 추출되리라 사료된다.

Table 10. Change in nitrite-scavenging activity on extraction step of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in reflux extraction

Pre-treated	Extraction step (No.)	Nitrite-scavenging activity (%)			
		pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0
Drying	1	33.41±1.25 ^a	22.73±0.47 ^b	10.22±0.78 ^b	5.08±0.33 ^a
	2	11.65±1.22 ^c	6.76±0.16 ^c	3.19±0.78 ^d	1.31±0.00 ^{cd}
	3	2.88±2.25 ^e	2.37±1.22 ^c	2.56±3.34 ^f	0.65±0.00 ^d
	4	1.84±3.05 ^g	2.11±0.47 ^c	1.47±3.41 ^g	0.44±0.31 ^d
	5	0.66±1.60 ^g	0.00±0.31 ^c	0.00±1.09 ^g	0.00±0.00 ^d
Roasting	1	60.69±0.68 ^b	43.39±1.12 ^a	15.16±0.62 ^a	0.80±0.82 ^a
	2	10.40±0.31 ^d	6.43±0.31 ^c	4.18±0.62 ^c	0.00±0.00 ^b
	3	1.22±0.16 ^f	0.67±0.63 ^c	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^{bc}
	4	1.44±2.97 ^g	0.22±0.31 ^c	0.00±0.00 ^{fg}	0.00±0.00 ^{cd}
	5	0.00±1.25 ^g	0.67±1.97 ^c	0.00±0.00 ^g	0.00±0.00 ^d

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

2. 환류추출 시 새송이버섯의 추출조건 최적화를 위한 실험계획 설정

새송이버섯의 유용성분을 추출하여 다른 가공제품을 제조하고자 할 경우 추출조건을 설정하는 것이 필수요건이 된다. 앞서 실험한 새송이버섯의 유용성분 추출을 위하여 일반적으로 많이 사용되고 있는 환류추출조건의 최적화가 필요하리라 사료된다. 환류추출 시 새송이버섯의 경우 대부분의 추출조건에서 총 페놀성 화합물 함량, DPPH에 의한 수소공여능 및 아질산염 소거능에 있어서 볶음 처리한 새송이버섯에서 그 함량 및 활성이 높게 나왔다. 따라서 시료는 볶음처리(150°C , 30min)한 새송이버섯이 좋을 것으로 사료된다. 추출조건으로 용매의 농도를 달리하여 추출한 결과 용매에 따라 그 함량에 있어 큰 차이가 났으며, 추출시간에 따라서는 DPPH에 의한 수소공여능, SOD 유사활성 및 아질산염 소거능에 있어서 유의적인 차이가 있었다. 또한 추출온도에 따라서는 DPPH에 의한 수소공여능, SOD 유사활성, 총 단백질 함량에 있어 차이가 있는 것으로 나타났다. 용매비에 따라서는 대부분 용매에 대한 시료의 양을 1g/100ml로 추출하는 것이 분석항목에서 대부분 높았으나 효율 면에서는 5g/100ml가 좋을 것으로 예측되며, 추출횟수의 경우는 1회 추출하는 것이 비용 및 에너지 절약으로 좋을 것으로 사료된다. 따라서 환류추출조건으로 용매에 대한 시료의 양은 5g/100ml, 추출횟수는 1회로 고정하고 에탄올 농도, 추출시간 및 추출온도를 변수로 하여 중심합성실험계획으로 환류추출에 의한 새송이버섯의 유용성분 최적추출조건을 설정하고자 하였다.

3. 반응표면분석에 의한 새송이버섯 환류 추출 조건에 따른 품질특성 변화

가. 환류 추출 조건에 따른 이화학적 특성 변화

1) 가용성 고형분 함량의 변화

볶음 처리한 새송이버섯의 추출조건에 따른 가용성 고형분 함량의 변화는 Table 11과 같다. 즉 가용성 고형분 함량의 경우 20.84 ~ 47.17%로 나타났다. 가용성 고형분 함량에 대한 반응표면 회귀식은 Table 12와 같으며 R^2 0.8839, 5%이내의 범위에서 유의성이 인정되는 것으로 나타났다. 회귀식에 의한 최대값은 에탄올 농도 39.66%, 추출시간 6.90 hr, 추출온도 90.65°C에서 48.93%로 예측되었다.(Table 13). 추출조건에 따른 가용성 고형분 함량의 반응 표면은 Fig. 26과 같다. 즉 전반적으로 에탄올 농도에 영향을 많이 받는 것으로 나타났으며 (Table 14), 에탄올 농도 25~50%에서 높게나왔다.

2) 총 페놀성 화합물 함량의 변화

총 페놀성 화합물 함량의 경우 3.33 ~ 7.88mg/g으로 나타났으며, 에탄올 농도 100%, 추출 시간 5hr, 추출온도 65°C에서 가장 낮게 나타났으나 그 외의 조건에서는 큰 차이를 보이지 않았다. (Table 11). 에탄올 농도, 추출시간 및 추출온도에 따른 중심합성실험계획으로 추출한 각각의 조건에 대한 반응표면 분석결과 회귀식은 Table 12에서 본 바와 같이 총 페놀성 화합물 함량의 경우 R^2 은 0.8930, 5%이내의 범위에서 유의성이 인정되었다. 총 페놀성 화합물의 회귀식에 의한 예측된 최대값은 에탄올 농도 40.03%, 추출시간 6.47hr, 추출온도 92.26°C에서 8.03mg/g으로 예측되었다.(Table 13). 반응표면은 Fig. 27에서 보는 바와 같이 가용성고형분의 반응표면과 유사하였으며 에탄올 농도 25~50%에서 높은 함량으로 추출되는 것으로 나타났으며 전반적으로 에탄올 농도에 영향을 많이 받는 경향이 있었다. (Table 14).

3) 총 단백질 함량의 변화

새송이버섯을 추출조건 즉 에탄올 농도, 추출시간 및 추출온도에 따른 중심합성실험 계획에 따른 추출물의 총 단백질 함량의 변화를 살펴본 결과 Table 11과 같다. 즉 총 단백질 함량은 각각의 추출조건에 따라 $22.24 \sim 54.41\text{mg/g}$ 으로 나타났다. 반응표면 회귀식은 Table 12와 같으며 $R^2 = 0.8626$, 5%이내의 범위에서 유의성이 인정되었다. 회귀식에 의한 총 단백질 함량의 최대 추출조건을 예측한 결과, 에탄올 농도 39.69%, 추출시간 4.99hr, 추출온도 75.2 $^{\circ}\text{C}$ 에서 57.17mg/g 으로 예측되었다. (Table 13). 반응표면은 Fig. 28에서 보는 바와 같이 최대점의 형태를 나타내었다. 즉 전반적으로 에탄올 농도 40%추출시간 5hr, 추출온도는 높은 수록 높은 것으로 나타났다. 총 단백질 함량의 경우 전반적으로 에탄올 농도에 영향을 많이 받는 것으로 나타났다.(Table 14).

Table 11. Experimental data on soluble solid, total phenolics compounds and total protein content of reflux extraction condition for roasted *Pleurotus eryngii* under different conditions based on central composite design for response surface analysis

Exp. No ¹⁾ .	Extraction conditions			Physicochemical properties		
	EtOH conc. (%)	Time (hr)	Temp. (°C)	Soluble solid content (%)	Total phenolics compound content(mg/g)	Total protein content (mg/g)
1	25 (-1)	3 (-1)	50 (-1)	41.22	6.55	49.46
2	25 (-1)	3 (-1)	80 (1)	42.55	6.48	50.77
3	25 (-1)	7 (1)	50 (-1)	40.24	6.34	44.21
4	25 (-1)	7 (1)	80 (1)	44.92	7.22	52.33
5	75 (1)	3 (-1)	50 (-1)	40.07	6.77	44.09
6	75 (1)	3 (-1)	80 (1)	41.75	6.46	46.26
7	75 (1)	7 (1)	50 (-1)	38.24	6.65	46.73
8	75 (1)	7 (1)	80 (1)	41.48	6.51	46.59
9	50 (0)	5 (0)	65 (0)	43.27	7.10	53.93
10	50 (0)	5 (0)	65 (0)	43.01	7.01	54.41
11	0 (-2)	5 (0)	65 (0)	39.57	5.74	45.07
12	100 (2)	5 (0)	65 (0)	20.84	3.33	22.24
13	50 (0)	1 (-2)	65 (0)	44.56	7.15	43.72
14	50 (0)	9 (2)	65 (0)	44.35	6.93	43.55
15	50 (0)	5 (0)	35 (-2)	42.01	7.14	41.50
16	50 (0)	5 (0)	95 (2)	47.17	7.88	52.91

¹⁾ The number of experimental conditions by central composite design

Table 12. Polynomial equations calculated by RSM program on soluble solid, total phenolics compounds and total protein content of reflux extraction condition for roasted *Pleurotus eryngii*

Responses	Polynomial equations ¹⁾	R ²	Significance
Soluble solid content	$Y = 42.736736 + 0.472517X_1 - 1.750729X_2$ $- 0.205028X_3 - 0.005174X_1^2 - 0.008725X_1X_2$ $+ 0.082188X_2^2 - 0.000363X_1X_3$ $+ 0.020458X_2X_3 + 0.001611X_3^2$	0.8839	0.0306
Total phenolics compound content	$Y = 6.593993 + 0.123050X_1 - 0.218333X_2$ $- 0.060389X_3 - 0.001008X_1^2 - 0.001500X_1X_2$ $- 0.000937X_2^2 - 0.000420X_1X_3$ $+ 0.004667X_2X_3 + 0.000506X_3^2$	0.8930	0.0245
Total protein content	$Y = -13.592326 + 0.750783X_1 + 4.50000X_2$ $+ 1.178472X_3 - 0.008206X_1^2 + 0.016650X_1X_2$ $- 0.658438X_2^2 - 0.002467X_1X_3$ $+ 0.018750X_2X_3 - 0.007739X_3^2$	0.8626	0.0477

¹⁾ X₁ : Ethanol concentration (%), X₂ : Extraction time (hr) X₃ : Temperature (°C)

Table 13. Predicted level of optimum reflux extraction condition on soluble solid, total phenolics compounds and total protein content for roasted *Pleurotus eryngii* by the ridge analysis

Responses	Extraction conditions			Estimated responses	Morphology
	EtOH conc. (%)	Time (hr)	Temp. (°C)		
Soluble solid content (%)	99.80 39.66	5.24 6.90	63.03 90.65	24.83(Min) 48.93(Max)	Saddle point
Total phenolics compound content (mg/g)	99.87 40.03	5.19 6.47	66.68 92.26	3.93(Min) 8.03(Max)	
Total protein content (mg/g)	99.67 39.69	4.54 4.99	64.70 75.28	27.57(Min) 57.17(Max)	Maximum

Table 14. Analysis of variables for regression model of soluble solid, total phenolics compounds and total protein content in reflux extraction conditions of roasted *Pleurotus eryngii*

Extraction condition	F-Ratio		
	Physicochemical properties		
	Soluble solid content	Total phenolics compound content	Total protein content
EtOH conc. (%)	7.49**	7.79**	8.23**
Time (hr)	0.66	0.19	1.51
Temp.(°C)	0.85	0.74	1.67

*** Significant at 1% level, **Significant at 5% level, *Significant at 10% level

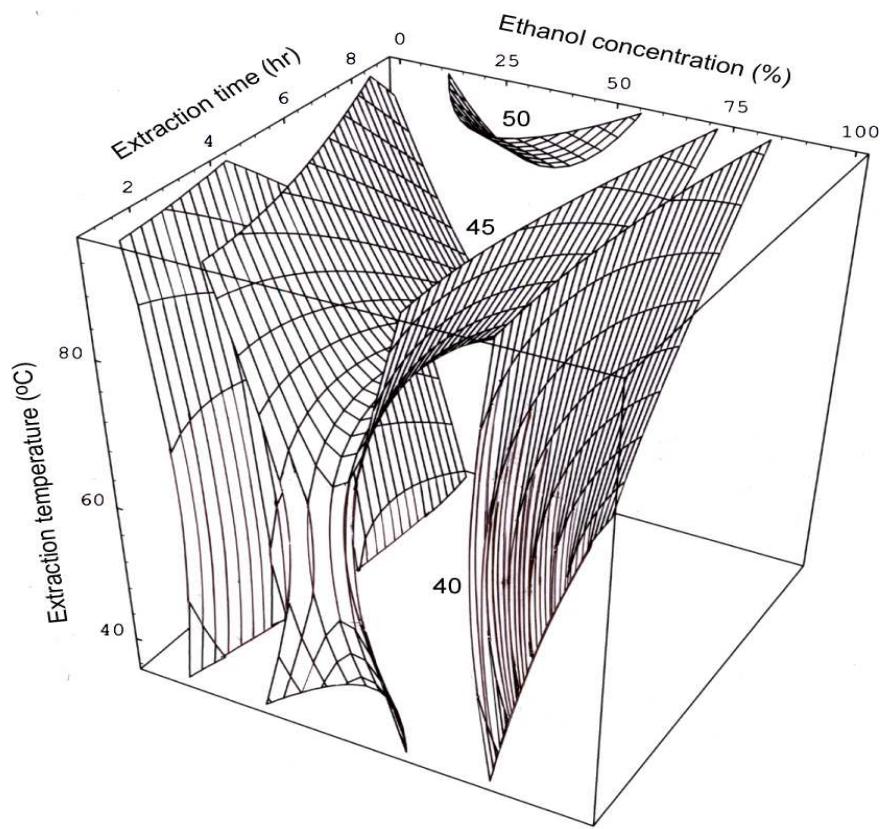


Fig. 26. Response surface for soluble solid content of roasted *Pleurotus eryngii* reflux extract at constant values (Soluble solid content % : 40-45-50) as a function of ethanol concentration, extraction time and temperature.

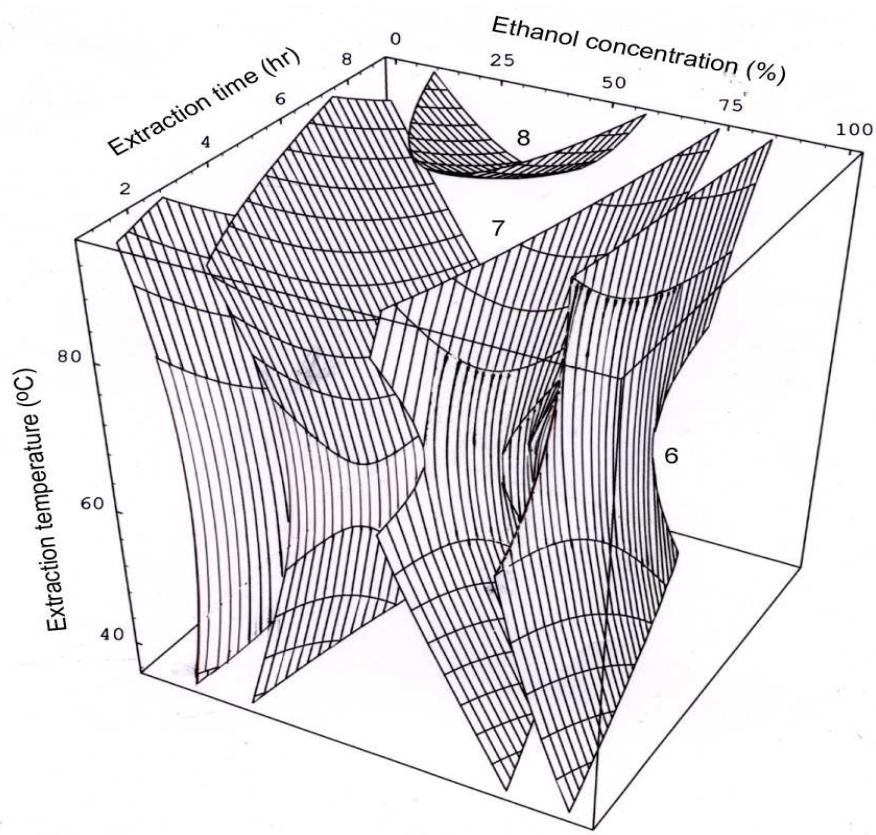


Fig. 27. Response surface for total phenolics compound content of roasted *Pleurotus eryngii* reflux extract at constant values (Total phenolics compound content(mg/g) : 6-7-8) as a function of ethanol concentration, extraction time and temperature.

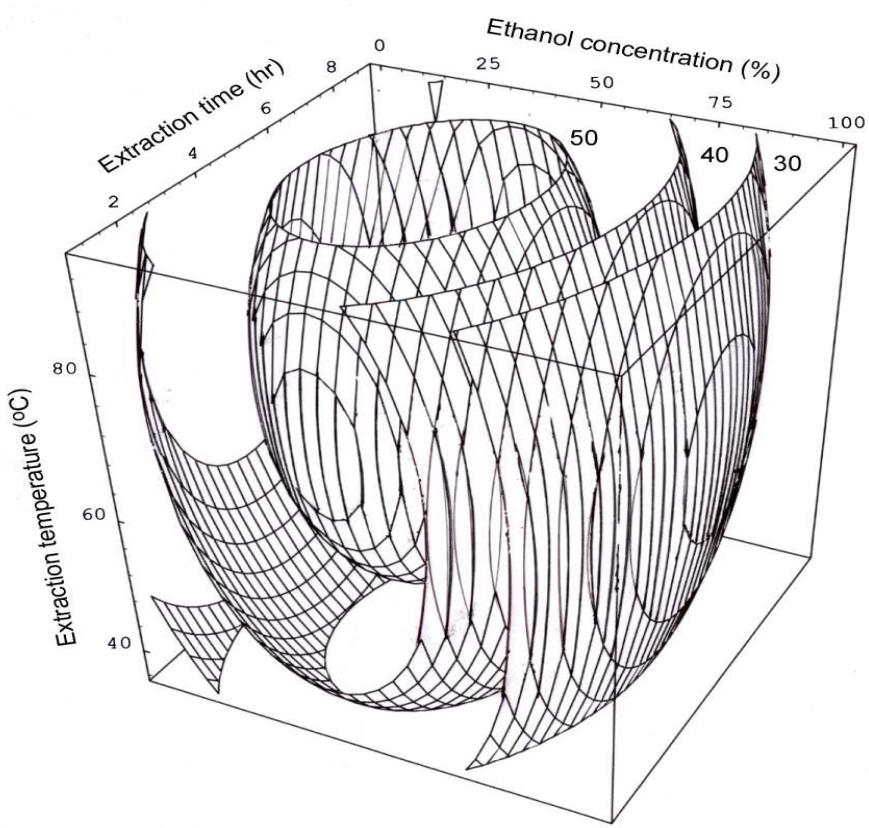


Fig. 28. Response surface for total protein content of roasted *Pleurotus eryngii* reflux extract at constant values (total protein content(mg/g) : 30-40-50) as a function of ethanol concentration, extraction time and temperature.

나. 환류 추출 조건에 따른 생리활성 변화

1) DPPH에 의한 수소공여능의 변화

새송이버섯의 추출조건에 따른 수소공여능의 변화를 살펴본 결과 Table 15와 같다. 즉 수소공여능은 추출조건에 따라 22.13 ~ 51.77%로 나타났다. 각각의 실험 치에 대해 반응표면 회귀분석을 한 결과 Table 16과 같이 나타났으며 즉, R^2 0.8786, 5%이내 범위에서 유의성이 인정되었다. 회귀식을 바탕으로 한 수소공여능의 최대값은 에탄올 농도 42.23%, 추출시간 4.65hr 및 추출온도 94.52°C에서 52.40%로 예측되었다.(Table 17). 반응표면은 Fig. 29에서 보는 바와 같이 에탄올 농도 25 ~ 50%, 추출온도 80°C 이상의 범위에서 높은 수소공여능을 지니는 것으로 분석되고, 추출시간에는 큰 영향을 받지 않는 것으로 나타났으며, 에탄올 농도에 영향을 많이 받는 것으로 나타났다.(Table 18). 이는 추출물의 가용성 고형분 함량 및 총 폐놀성 화합물 함량의 반응표면과 유사한 것으로 보인다.

2) SOD 유사활성의 변화

새송이버섯 추출물의 SOD 유사활성의 변화는 Table 15와 같다. 즉, 추출조건에 따라 3.66 ~ 30.78%로 활성의 차이가 있었다. 이러한 결과 치를 바탕으로 반응표면 회귀분석을 한 결과 Table 16과 같다. 회귀식의 R^2 은 0.8524로 나타났으며, 10%이내의 범위에서 유의성이 인정되었다. 회귀식을 바탕으로 한 SOD 유사활성의 최대값은 에탄올 농도 86.13%, 추출시간 4.22hr 및 추출온도 84.89°C에서 33.46%로 예측되었다.(Table 17). 반응표면은 Fig. 30에서 보듯이 전반적으로 에탄올 농도가 낮을수록 SOD 유사활성이 낮게 나타났다. 전체적으로 SOD 유사활성도 에탄올 농도에 영향을 많이 받는 것으로 나타났으며, 수소공여능과는 다소 다른 것으로 보인다. (Table 18).

3) Tyrosinase 저해활성 변화

추출조건에 따른 새송이버섯의 tyrosinase 저해활성의 경우 Table 15와 같이 추출조건에 따라 7.47 ~ 38.46%로 차이가 있었다. 이러한 결과 치를 바탕으로 반응표면 회귀분석을 한 결과 Table 16과 같으며, 그 회귀식의 R^2 은 0.9231, 1%이내의 범위에서 유의성이 인정되었다. 회귀식을 바탕으로 한 tyrosinase 저해활성의 최대값은 에탄올 농도 28.63%, 추출시간 8.24hr, 추출온도 77.06°C에서 52.18%인 것으로 예측되었다. (Table 17). Tyrosinase 저해활성의 반응표면은 Fig. 31에서 보듯이 에탄올 농도가 낮고, 추출시간과 온도가 높을수록 그 저해활성이 증가하는 것으로 나타났으며, 추출조건 중 에탄올 농도가 그 저해활성에 영향을 많이 미치는 것으로 나타났다.(Table 18).

4) ACE 저해활성 변화

추출조건에 따른 ACE 저해활성의 경우 Table 15에 나타나있듯이 추출조건에 따라 40.94 ~ 86.28%로 차이가 났다. 이러한 결과 치를 바탕으로 반응표면 회귀 분석한 결과 Table 16과 같으며, 그 회귀식의 R^2 은 0.8550으로 10%이내의 범위에서 유의성이 인정되었다. 회귀식을 바탕으로 한 ACE저해활성의 최대값은 에탄올농도 52.89%, 추출시간 8.79hr, 추출온도 74.39°C에서 84.55%인 것으로 예측되었다.(Table 17). ACE 저해활성의 반응표면은 Fig. 32에서 보듯이 추출시간이 길어 길수록 저해활성이 높은 것으로 나타났으며, 전반적으로 추출시간에 영향을 많이 받았다.(Table 18). ACE 저해활성의 경우 앞서 행한 생리활성과 다른 경향으로 나타났다.

Table 15. Experimental data on electron donating ability, superoxide dismutase like activity, tyrosinase inhibition ability, and inhibitory activity on angiotensin converting enzyme(ACE inhibition activity) of reflux extraction condition for roasted *Pleurotus eryngii* under different conditions based on central composite design for response surface analysis

Exp. No ¹⁾ .	Extraction conditions				Electron donating ability (%)	Superoxide dismutase like activity (%)	Tyrosinase inhibition ability (%)	ACE inhibition activity (%)
	EtOH conc. (%)	Time (hr)	Temp. (°C)					
1	25 (-1)	3 (-1)	50 (-1)		41.21	12.22	30.52	65.81
2	25 (-1)	3 (-1)	80 (1)		43.05	8.24	34.52	58.56
3	25 (-1)	7 (1)	50 (-1)		39.55	12.16	34.17	62.09
4	25 (-1)	7 (1)	80 (1)		46.68	13.27	50.10	70.42
5	75 (1)	3 (-1)	50 (-1)		40.35	20.00	33.92	52.63
6	75 (1)	3 (-1)	80 (1)		46.25	30.78	29.87	45.34
7	75 (1)	7 (1)	50 (-1)		39.81	11.37	27.28	57.23
8	75 (1)	7 (1)	80 (1)		39.27	28.76	26.39	69.24
9	50 (0)	5 (0)	65 (0)		46.65	10.07	30.90	61.77
10	50 (0)	5 (0)	65 (0)		46.03	9.41	30.90	62.09
11	0 (-2)	5 (0)	65 (0)		39.11	3.66	26.29	61.31
12	100 (2)	5 (0)	65 (0)		22.13	18.82	7.47	48.66
13	50 (0)	1 (-2)	65 (0)		47.57	18.43	38.46	55.99
14	50 (0)	9 (2)	65 (0)		46.47	10.00	41.33	86.28
15	50 (0)	5 (0)	35 (-2)		47.17	11.78	26.54	73.85
16	50 (0)	5 (0)	95 (2)		51.77	17.84	31.10	40.94

¹⁾ The number of experimental conditions by central composite design

Table 16. Polynomial equations calculated by RSM program on electron donating ability, superoxide dismutase like activity, tyrosinase inhibition ability, and ACE inhibition activity of reflux extraction condition for roasted *Pleurotus eryngii*

Responses	Polynomial equations ¹⁾	R ²	Significance
Electron donating ability	$Y = 33.805174 + 0.751050X_1 + 0.795104X_2 - 0.271611X_3 - 0.006488X_1^2 - 0.024225X_1X_2 + 0.042500X_2^2 - 0.001270X_1X_3 - 0.003958X_2X_3 + 0.003478X_3^2$	0.8786	0.0344
Superoxide dismutase like activity	$Y = 68.010104 - 0.348933X_1 - 4.717500X_2 - 1.337500X_3 + 0.000600X_1^2 - 0.039050X_1X_2 + 0.279687X_2^2 + 0.010347X_1X_3 + 0.048750X_2X_3 + 0.005633X_3^2$	0.8524	0.0575
Tyrosinase inhibition ability	$Y = 2.031111 + 1.269200X_1 - 5.944687X_2 + 0.415806X_3 - 0.005372X_1^2 - 0.073375X_1X_2 + 0.599062X_2^2 - 0.008290X_1X_3 + 0.062875X_2X_3 - 0.001656X_3^2$	0.9231	0.0099
ACE inhibition activity	$Y = 137.257396 - 0.199917X_1 - 14.806667X_2 - 1.021250X_3 - 0.002778X_1^2 + 0.050900X_1X_2 + 0.587812X_2^2 + 0.001213X_1X_3 + 0.145333X_2X_3 + 0.000517X_3^2$	0.8550	0.0549

¹⁾ X₁ : Ethanol concentration (%), X₂ : Extraction time (hr) X₃ : Temperature (°C)

Table 17. Predicted level of optimum reflux extraction condition on electron donating ability, superoxide dismutase like activity, tyrosinase inhibition ability, and ACE inhibition activity for roasted *Pleurotus eryngii* by the ridge analysis.

Responses	Extraction conditions			Estimated responses	Morphology
	EtOH conc. (%)	Time (hr)	Temp. (°C)		
Electron donating ability (%)	99.45	5.58	64.35	24.01(Min)	Saddle point
	42.23	4.65	94.52	52.40(Max)	
Superoxide dismutase like activity (%)	5.72	4.00	76.76	0.79(Min)	Saddle point
	86.13	4.22	84.89	33.46(Max)	
Tyrosinase inhibition ability (%)	98.17	5.71	70.99	8.19(Min)	Saddle point
	28.63	8.24	77.06	52.18(Max)	
ACE inhibition activity (%)	86.20	2.81	77.62	38.42(Min)	Saddle point
	52.89	8.79	74.39	84.55(Max)	

Table 18. Analysis of variables for regression model of electron donating ability, superoxide dismutase like activity, tyrosinase inhibition ability, and ACE inhibition activity in reflux extraction conditions of roasted *Pleurotus eryngii*

Extraction condition	F-Ratio			
	Electron donating ability	Superoxide dismutase like activity	Tyrosinase inhibition ability	ACE inhibition activity
EtOH conc. (%)	6.60**	6.50**	10.92***	1.98
Time (hr)	0.28	1.27	3.96*	5.71**
Temp. (°C)	0.80	3.21	2.36	1.62

*** Significant at 1% level, **Significant at 5% level, *Significant at 10% level

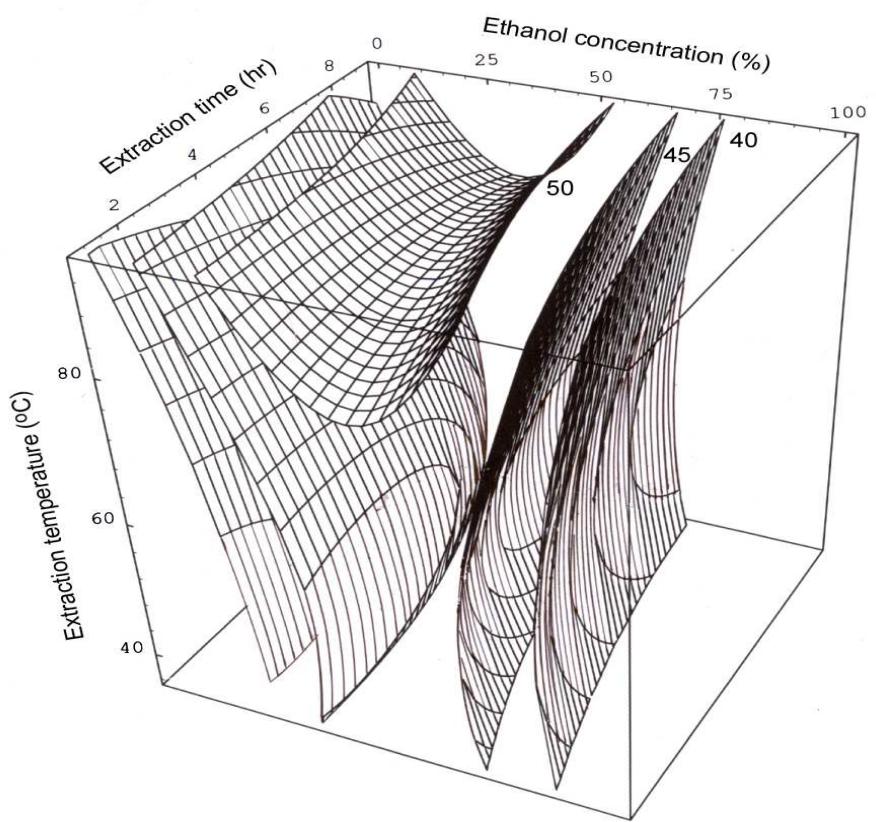


Fig. 29. Response surface for electron donating ability of roasted *Pleurotus eryngii* reflux extract at constant values (electron donating ability(%) : 40-45-50) as a function of ethanol concentration, extraction time and temperature.

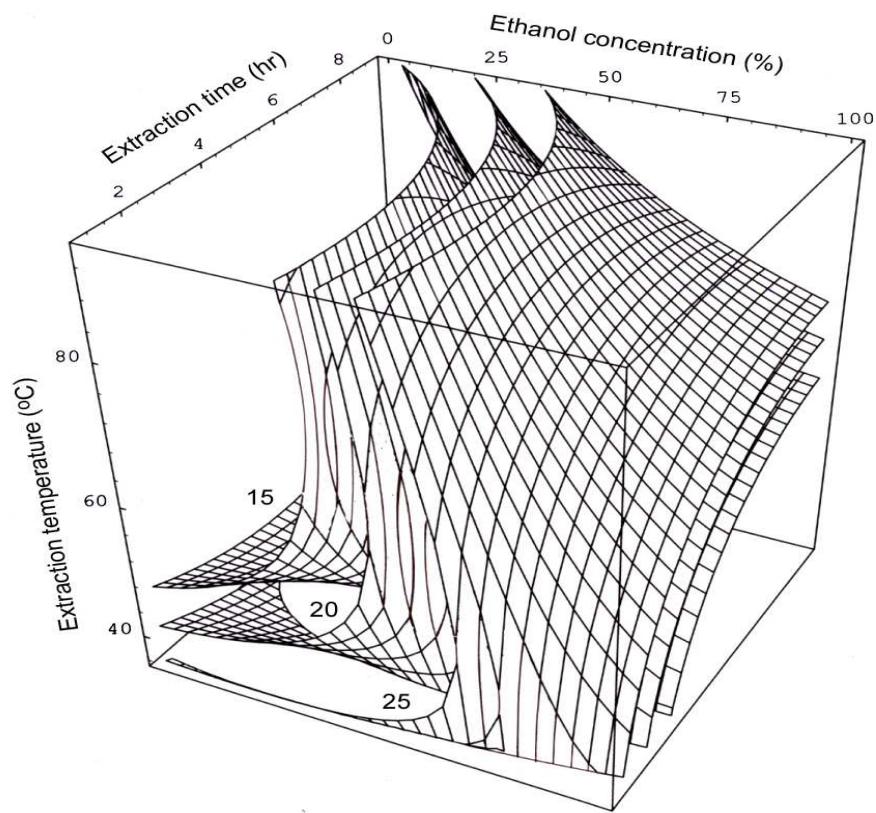


Fig. 30. Response surface for superoxide dimutase like ability of roasted *Pleurotus eryngii* reflux extract at constant values (superoxide dimutase like ability(%) : 15-20-25) as a function of ethanol concentration, extraction time and temperature.

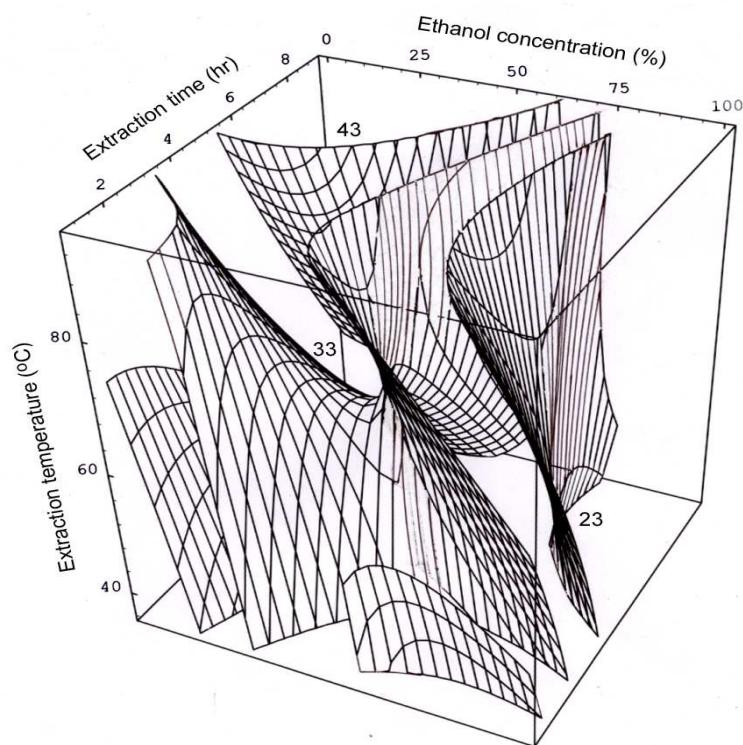


Fig. 31. Response surface for tyrosinase inhibition ability of roasted *Pleurotus eryngii* reflux extract at constant values (tyrosinase inhibition ability(%) : 23-33-43) as a function of ethanol concentration, extraction time and temperature.

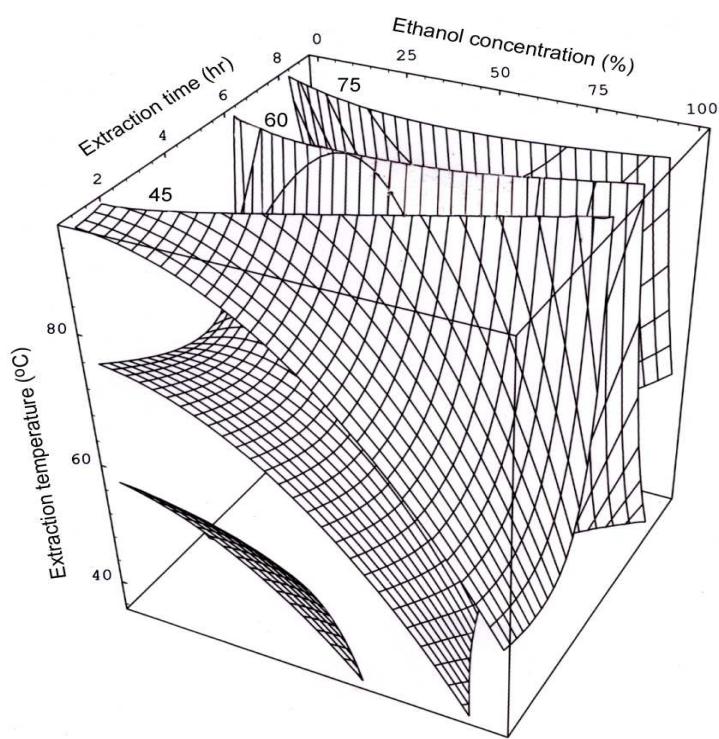


Fig. 32. Response surface for ACE inhibition ability of roasted *Pleurotus eryngii* reflux extract at constant values (ACE inhibition ability(%) : 45-60-75) as a function of ethanol concentration, extraction time and temperature.

5) 아질산염 소거능의 변화

추출조건에 따른 새송이버섯의 아질산염 소거능의 변화를 살펴본 결과 Table 19와 같다. 즉 아질산염 소거능의 경우 pH가 증가할수록 그 활성이 감소하는 것으로 알려져 있으며, 본 실험의 경우에서도 pH가 증가할수록 그 활성이 감소하였다. pH 1.2의 경우 52.33~97.01%, pH 3.0의 경우 23.78~76.81%, pH 4.2의 경우 3.38~27.29% 및 pH 6.0의 경우 0.0~7.84%로 나타났다. 아질산염 소거능의 반응표면분석 회귀식은 Table 20과 같다. pH 1.2, 3.0, 4.2 및 6.0에 따른 회귀식의 R^2 은 각각 0.8331, 0.9053, 0.9114 및 0.6790이었으며, pH 1.2의 경우는 10%이내의 범위에서, pH 3.0, 4.2의 경우는 5%이내의 범위에서 유의성이 인정되었고, pH 6.0에서는 10%이내의 범위에서 유의성이 인정되지 않았다. 이는 pH 6.0에서의 활성의 경우 너무나 미약하여 유의성이 인정되지 않는 것으로 보인다. 이러한 회귀식을 바탕으로 각각의 pH에 따른 아질산염 소거능의 최대값을 예측한 결과, pH 1.2에서는 에탄올 농도 39.55%, 추출시간 5.75hr 및 추출온도 93.79°C에서 98.21%로 나타났으며, pH 3.0에서는 에탄올 농도 24.47%, 추출시간 3.12hr 및 추출온도 86.07°C에서 93.62%로 예측되었다. (Table 21). pH 4.2에서는 에탄올 농도 26.79%, 추출시간 4.98hr 및 추출온도 91.57°C에서 32.22%로 예측되었으며, pH 6.0에서는 에탄올 농도 1.79%, 추출시간 3.94hr 및 추출온도 64.80°C에서 7.75%의 아질산염 소거능이 있는 것으로 예측되었다. (Table 21). 아질산염 소거능의 활성이 높은 pH 1.2 및 3.0의 반응표면을 살펴본 결과 Fig 33, 34와 같다. pH 1.2에서의 아질산염 소거능은 에탄올 농도 25~50%에서 높은 활성이 있는 것으로 나타났으며, 전반적으로 에탄올 농도에 영향을 많이 받는 것으로 나타났다. (Table 22). pH 3.0에서의 아질산염 소거능의 경우는 에탄올 농도가 감소할수록, 추출시간이 감소할수록, 추출온도가 높아질수록 그 활성이 증가하는 경향이 있었다. 전반적으로 pH 3.0에서도 에탄올 농도가 아질산염 소거능에 영향을 많이 미치는 것으로 보인다. (Table 22).

Table 19. Experimental data on nitrite-scavenging activity of reflux extraction condition for roasted *Pleurotus eryngii* under different conditions based on central composite design for response surface analysis

Exp. No ¹⁾ .	Extraction conditions			Ntrite-scavenging activity(%)			
	EtOH conc. (%)	Time (hr)	Temp. (°C)	pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0
1	25 (-1)	3 (-1)	50 (-1)	88.58	62.98	25.04	7.84
2	25 (-1)	3 (-1)	80 (1)	89.89	68.90	25.51	7.33
3	25 (-1)	7 (1)	50 (-1)	96.32	75.17	24.88	6.20
4	25 (-1)	7 (1)	80 (1)	97.01	76.81	27.29	5.59
5	75 (1)	3 (-1)	50 (-1)	85.67	46.18	10.28	0.00
6	75 (1)	3 (-1)	80 (1)	87.78	51.98	10.60	0.00
7	75 (1)	7 (1)	50 (-1)	83.30	47.98	10.60	0.00
8	75 (1)	7 (1)	80 (1)	89.27	46.57	8.24	0.00
9	50 (0)	5 (0)	65 (0)	91.42	61.93	19.58	0.00
10	50 (0)	5 (0)	65 (0)	91.19	60.36	20.09	0.00
11	0 (-2)	5 (0)	65 (0)	86.56	64.43	22.84	4.16
12	100 (2)	5 (0)	65 (0)	52.33	23.78	3.38	0.00
13	50 (0)	1 (-2)	65 (0)	93.72	64.43	21.35	0.71
14	50 (0)	9 (2)	65 (0)	82.80	61.93	19.07	1.49
15	50 (0)	5 (0)	35 (-2)	92.45	62.24	21.74	1.10
16	50 (0)	5 (0)	95 (2)	94.41	65.92	23.23	3.65

¹⁾ The number of experimental conditions by central composite design

Table 20. Polynomial equations calculated by RSM program on nitrite-scavenging activity from reflux extraction condition for roasted *Pleurotus eryngii*

Responses	Polynomial equations ¹⁾	R ²	Signifi-cance
pH 1.2	$Y = 87.074757 + 0.703817X_1 + 2.747500X_2$ $- 0.417444X_3 - 0.008744X_1^2 - 0.039350X_1X_2$ $- 0.190313X_2^2 + 0.002027X_1X_3$ $+ 0.013500X_2X_3 + 0.002361X_3^2$	0.8331	0.0785
pH 3.0	$Y = -9.683889 + 0.815533X_1 + 8.600313X_2$ $+ 1.198722X_3 - 0.006816X_1^2 + 0.015725X_1X_2$ $+ 0.127188X_2^2 - 0.011057X_1X_3$ $- 0.172875X_2X_3 + 0.003261X_3^2$	0.9053	0.0176
pH 4.2	$Y = 45.135174 + 0.166550X_1 + 0.267917X_2$ $- 0.844444X_3 - 0.002690X_1^2 - 0.009150X_1X_2$ $+ 0.023438X_2^2 - 0.001640X_1X_3$ $- 0.003083X_2X_3 + 0.007944X_3^2$	0.9114	0.0147
pH 6.0	$Y = 22.745556 - 0.237917X_1 - 1.139792X_2$ $- 0.343056X_3 + 0.000832X_1^2 + 0.008450X_1X_2$ $+ 0.068750X_2^2 + 0.000373X_1X_3$ $- 0.000417X_2X_3 + 0.002639X_3^2$	0.6790	0.3484

¹⁾ X₁ : Ethanol concentration (%), X₂ : Extraction time (hr) X₃ : Temperature (°C)

Table 21. Predicted level of optimum reflux extraction condition on nitrite-scavenging activity for roasted *Pleurotus eryngii* by the ridge analysis

Responses	Extraction conditions			Estimated responses	Morphology
	EtOH conc. (%)	Time (hr)	Temp. (°C)		
pH 1.2	99.08	5.69	62.56	58.75(Min)	Saddle point
	39.55	5.75	93.79	98.21(Max)	
pH 3.0	99.31	5.15	69.83	20.55(Min)	Saddle point
	24.47	30.12	86.07	93.62(Max)	
pH 4.2	94.82	5.32	64.65	1.71(Min)	Saddle point
	26.79	4.98	91.57	32.22(Max)	
pH 6.0	59.91	4.98	64.20	0.18(Min)	Minimum
	1.79	3.94	64.80	7.75(Max)	

Table 22. Analysis of variables for regression model of nitrite-scavenging activity in reflux extraction conditions of roasted *Pleurotus eryngii*

Extraction condition	F-Ratio			
	Nitrite-scavenging activity (%)			
	pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0
EtOH conc. (%)	6.01**	11.84***	12.29***	3.04
Time (hr)	0.26	0.97	0.06	0.10
Temp. (°C)	0.13	2.03	1.48	0.25

***Significant at 1% level, **Significant at 5% level, *Significant at 10% level

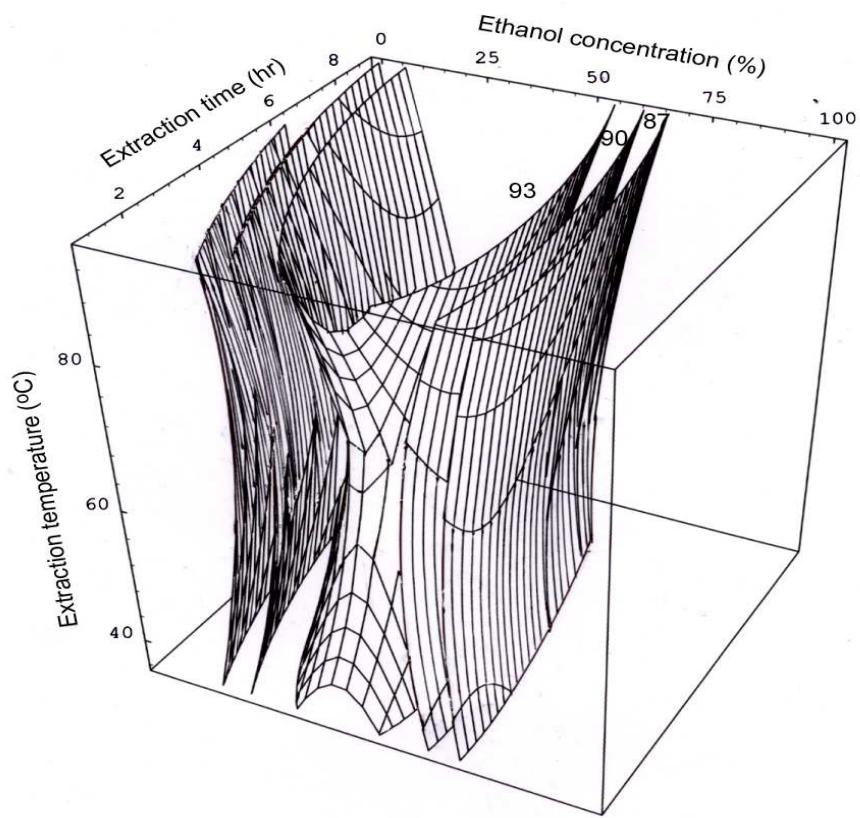


Fig. 33. Response surface for nitrite-scavenging activity(pH 1.2) of roasted *Pleurotus eryngii* reflux extract at constant values (nitrite-scavenging activity (%)) : 87-90-93) as a function of ethanol concentration, extraction time and temperature.

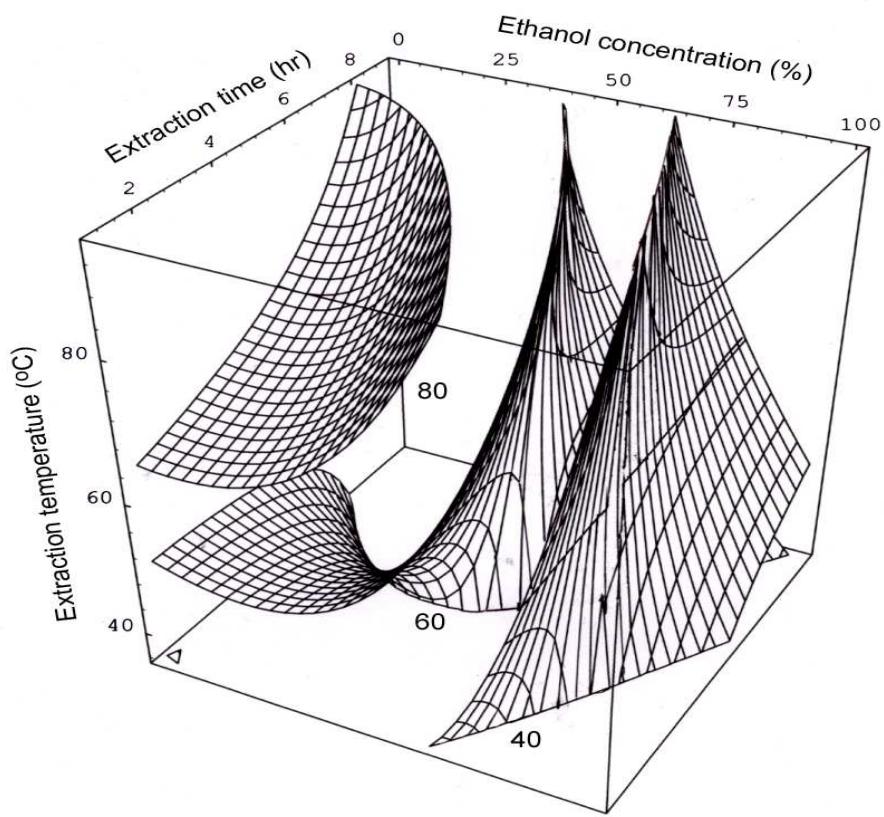


Fig. 34. Response surface for nitrite-scavenging activity(pH 3.0) of roasted *Pleurotus eryngii* reflux extract at constant values (nitrite-scavenging activity (%)) : 40-60-80) as a function of ethanol concentration, extraction time and temperature.

4. 마이크로웨이브 추출 조건에 따른 품질 특성 비교

환류추출(reflux extraction)방법은 산채를 비롯한 많은 식품의 추출방법으로 이용되어 왔으나 1회 추출하는데 2시간 이상의 긴 시간을 요하는 단점이 있다. 이에 비하여 마이크로웨이브 추출(microwave-assisted extraction)방법은 적은 용매를 사용하여 단시간에 원하는 물질을 추출할 수 있는 장점이 알려져 있으며 환류 냉각 추출방법을 비롯한 Soxhlet 추출법 등 기존의 추출법 보다 추출효율이 높은 것으로 보고되고 있다. 따라서 새송이버섯의 유용성분을 마이크로웨이브 추출법을 사용한 최적 추출조건을 설정하고자 에탄올 농도, 추출시간, microwave power, 용매비 및 횟수에 따른 추출물의 이화학적 특성을 살펴보았다.

가. 용매에 따른 추출효율 비교

용매에 따른 추출효율의 비교는 추출시간 5min, microwave power 75W에서 시료 : 50% 에탄올 1:20으로 1회 추출하여 이화학적 특성을 조사하였다.

1) 가용성 고형분 함량 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출 시 에탄올 농도에 따른 가용성 고형분 함량은 Fig. 35에서 보는 바와 같다. 건조된 새송이버섯은 에탄올 농도가 증가할수록 감소하는 것으로 나타났으며, 볶음 처리된 새송이버섯은 25%에탄올 농도에서 추출하였을 때 가용성 고형분 함량이 높게 나왔고, 그 이후에는 감소하였다. 특히 100% 에탄올 농도에서는 건조 및 볶음 처리한 새송이버섯 추출물의 가용성 고형분 함량이 다른 에탄올 농도보다 훨씬 낮은 것으로 나타났다.

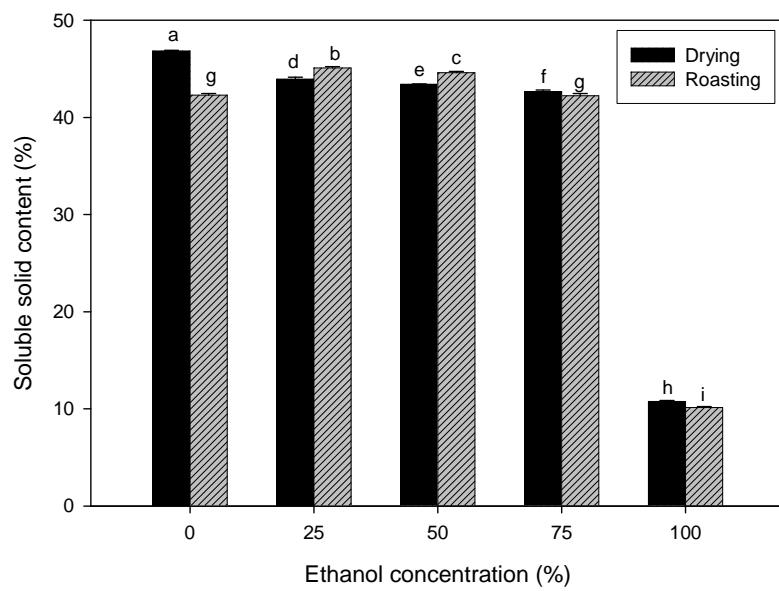


Fig. 35. Change in soluble solid content on ethanol concentration of extract of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

2) 총 페놀성 화합물 함량 변화

마이크로웨이브 추출 시 새송이버섯의 에탄올 농도에 따른 총 페놀성 화합물 함량의 변화는 Fig. 36과 같다. 건조된 새송이버섯은 75%에탄올 농도에서 추출 시 총 페놀성 화합물 함량이 많이 추출되는 것으로 나타났으며, 볶음 처리된 새송이버섯은 50%에탄올 농도에서 추출 시 총 페놀성 화합물이 많이 추출되는 것으로 나타났다. 또한 볶음 처리한 새송이버섯이 건조만 한 새송이버섯 보다 모든 에탄올 농도에서 훨씬 높게 추출되는 것으로 보인다.

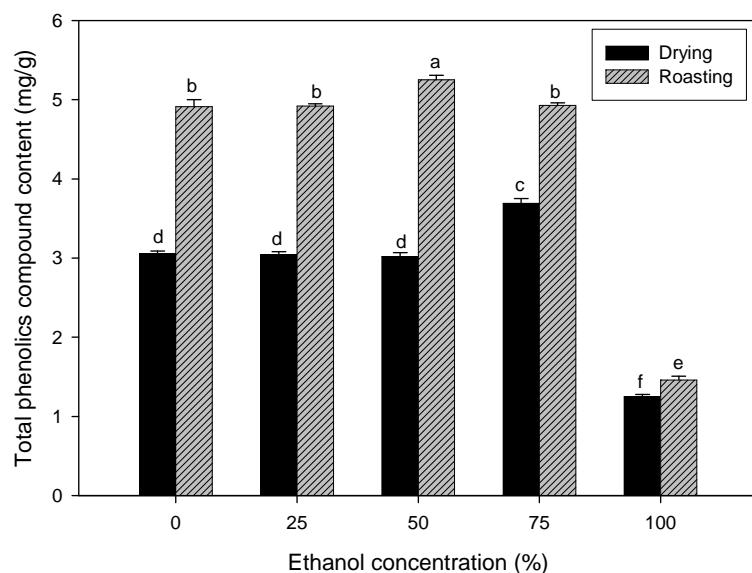


Fig. 36. Change in total phenolics compound content on ethanol concentration of extract of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

3) DPPH에 의한 수소공여능의 변화

마이크로웨이브 추출시 에탄올 농도 변화에 따른 DPPH에 의한 수소공여능의 변화는 Fig. 37과 같다. 건조 및 볶음 처리한 새송이버섯은 에탄올 농도가 증가할수록 증가하다가 50%에탄올 농도 추출 시 가장 활성이 높았고, 그 이후로는 감소하는 것으로 나타났다. 또한 볶음 처리한 새송이버섯으로 추출하는 것이 수소공여능이 더 높게 나왔다. 또한 에탄올 농도에 따라 수소공여능은 통계적으로 유의적인 차이가 있는 것으로 나타났다.

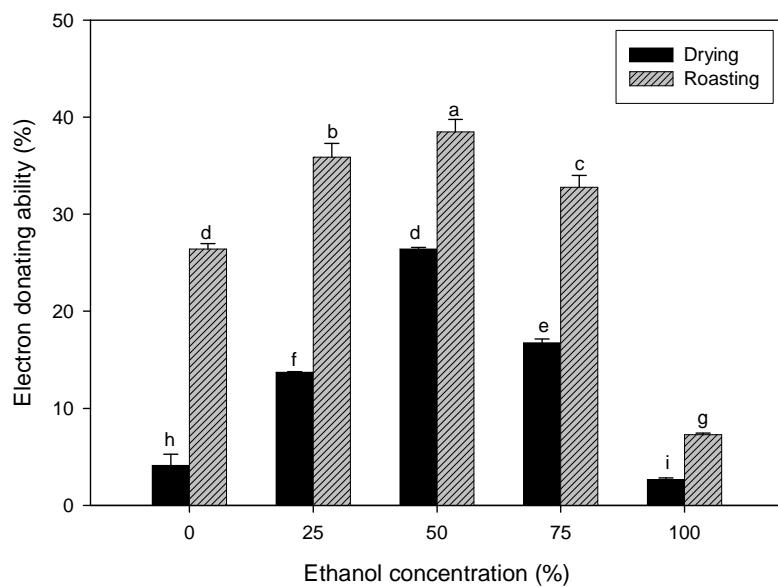


Fig. 37. Change in electron donating ability on ethanol concentration of extract of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

4) SOD 유사활성 변화

마이크로웨이브 추출시 에탄올 농도에 따른 SOD유사활성은 Fig. 38과 같다. 건조 및 볶음 처리된 새송이버섯의 에탄올 농도에 따른 추출물은 75% 에탄올 농도에서 추출한 것이 다른 농도에서 추출한 것보다 훨씬 높은 것으로 나타났다. 이는 마이크로웨이브 추출에 의해 SOD 유사활성을 나타내는 성분을 특이적으로 추출할 수 있는 조건이 될 것으로 사료된다.

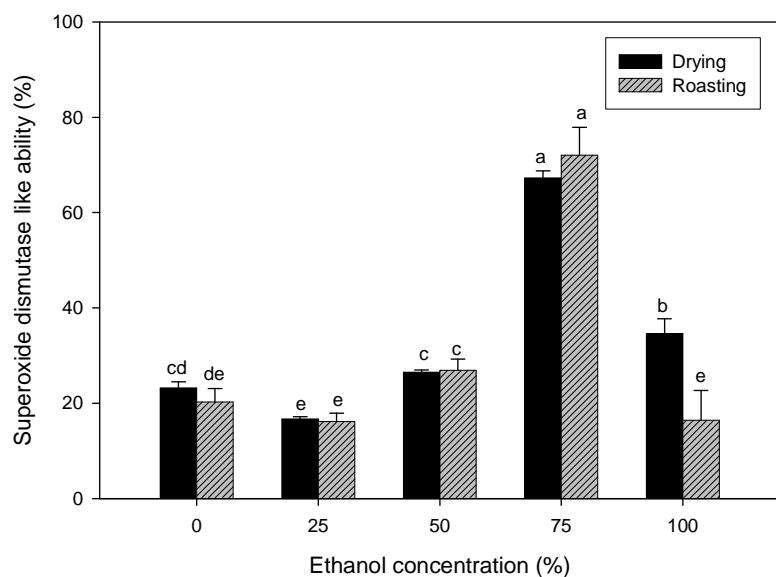


Fig. 38. Change in superoxide dismutase like activity on ethanol concentration of extract of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

5) 총 단백질 함량의 변화

マイクロウェイ브 추출 시 에탄올 농도에 따른 총 단백질 함량의 변화는 Fig. 39와 같다. 총 단백질 함량의 경우 건조 및 볶음 처리한 새송이버섯 추출물에서 에탄올 농도가 증가할수록 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다. 전반적으로 볶음 처리한 새 송이버섯이 건조만 한 새송이버섯 보다 약간 높게 추출되었다. 이 결과들을 놓고 볼 때, 총 단백질 함량은 에탄올 농도에 따라 달리 추출되는 것으로 보인다.

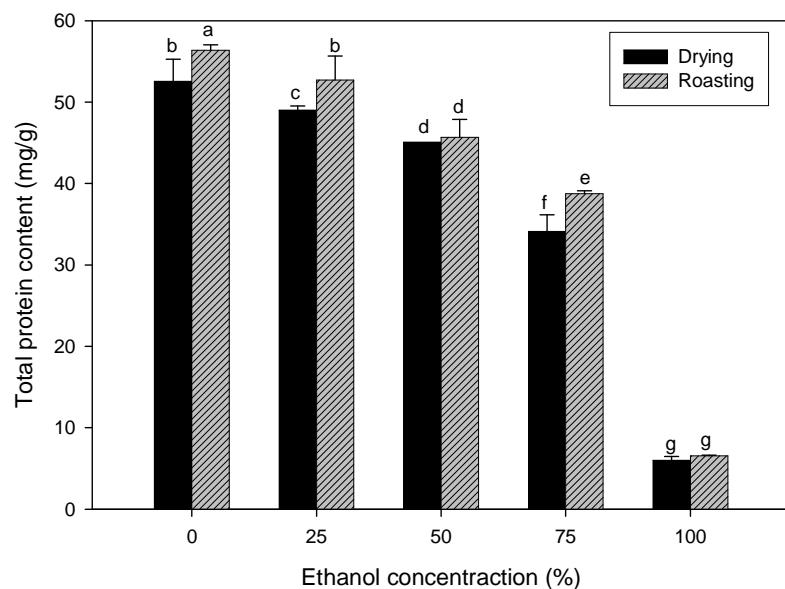


Fig. 39. Change in total protein content on ethanol concentration of extract of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

6) 아질산염 소거능의 변화

마이크로웨이브 추출 시 에탄올 농도에 따른 아질산염 소거능의 변화는 Table 23과 같다. 건조된 새송이버섯의 경우 마이크로웨이브 추출 시 에탄올 농도가 증가할수록 아질산염 소거능이 유의적으로 감소하는 것으로 나타났으며, pH가 증가할수록 감소하는 경향이 있었다. 반면에 볶음 처리한 새송이버섯의 경우 마이크로웨이브 추출 시 50% 에탄올 농도에서 아질산염 소거능이 가장 높게 나타났으며, pH가 증가할수록 감소하는 것으로 나타났다. 또한 볶음 처리한 새송이버섯이 건조만한 새송이버섯 보다 대략 2배정도의 높은 아질산염 소거능이 있는 것을 확인 할 수 있었다.

Table. 23. Change in nitrite-scavenging activity on ethanol concentration of extract of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction

		Ethanol				Nitrite-scavenging ability (%)				
		Pre-treated concentration(%)	pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0				
Drying	0	39.60±0.99 ^d	30.08±1.41 ^c	8.35±0.81 ^d	4.62±2.71 ^a					
	25	27.88±4.20 ^e	22.89±3.41 ^d	10.18±0.16 ^c	5.02±2.66 ^a					
	50	29.86±4.81 ^e	13.31±1.71 ^e	6.63±0.35 ^e	2.30±2.97 ^{ab}					
	75	7.69±2.88 ^f	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^g	0.00±0.00 ^b					
	100	0.00±0.00 ^g	0.00±0.00 ^f	3.45±0.54 ^f	0.00±0.00 ^b					
Roasting	0	53.47±0.99 ^c	35.23±1.24 ^b	14.30±0.49 ^b	1.82±0.64 ^{ab}					
	25	60.00±0.00 ^b	46.59±1.39 ^a	19.91±1.29 ^a	0.79±1.11 ^b					
	50	70.14±3.18 ^a	31.02±1.60 ^c	19.57±2.12 ^a	1.04±2.40 ^b					
	75	29.49±6.75 ^e	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^g	0.00±0.00 ^b					
	100	6.25±5.89 ^{fg}	0.00±0.00 ^f	2.94±0.90 ^f	0.00±0.00 ^b					

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

나. 추출시간에 따른 추출효율 비교

추출시간에 따른 추출효율의 비교는 microwave power 75W, 시료 : 50% 에탄올 1:20으로 1회 추출하여 이화학적 특성을 조사하였다.

1) 가용성 고형분 함량 변화

환류추출의 경우 유용성분을 추출하는데 2시간 이상이 걸리는 반면에 마이크로웨이브는 몇 분 이내에 유용 성분을 추출할 수 있다. 이에 마이크로웨이브를 이용한 새송이버섯 추출 시 추출시간에 따른 가용성 고형분 함량 변화를 살펴본 결과 Fig. 40과 같다. 즉 건조 및 볶음 처리한 새송이버섯의 추출시간에 따른 추출물의 가용성 고형분 함량은 통계적으로 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. 따라서 가용성 고형분 함량의 경우 추출시간에 영향을 받지 않는 것으로 사료된다.

2) 총 폐놀성 화합물 함량 변화

마이크로웨이브 추출시간에 따른 총 폐놀성 화합물 함량의 변화는 Fig. 41과 같다. 건조된 새송이버섯은 추출시간에 따른 유의적인 차이가 없었으며, 볶음 처리한 새송이버섯의 경우 추출시간이 증가할수록 증가하다가 7분 추출 하였을 때 가장 높게 나타났고 그 이후 감소하는 것으로 나타났다. 또한 볶음 처리한 새송이버섯이 건조만 한 새송이버섯보다 총 폐놀성 화합물이 추출시간에 상관없이 많이 추출되는 것으로 분석되었다.

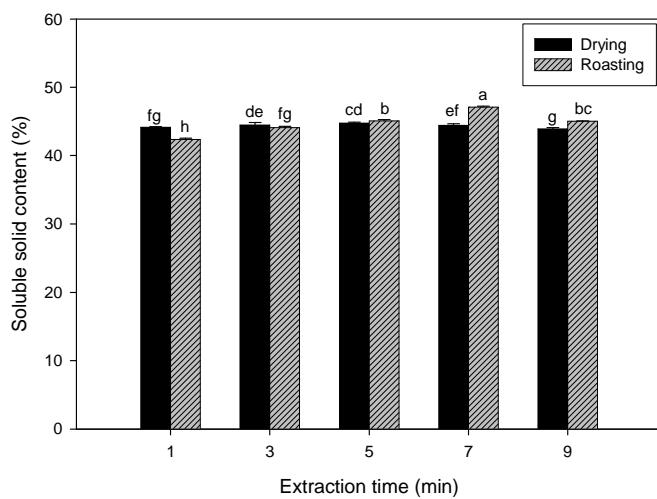


Fig. 40. Change in soluble solid content on extraction time of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

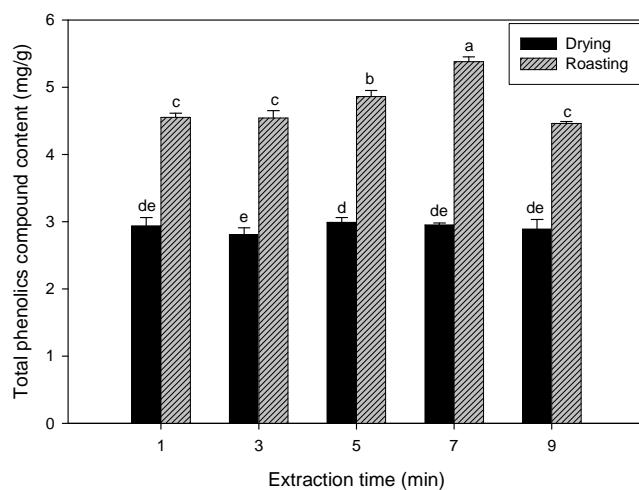


Fig. 41. Change in total phenolics compound content on extraction time of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

3) DPPH에 의한 수소공여능의 변화

마이크로웨이브 추출 시 추출시간에 따른 DPPH에 의한 수소공여능의 변화는 Fig. 42와 같다. 건조된 새송이버섯은 추출시간이 길어질수록 다소 증가하였으며 볶음 처리한 새송이버섯은 추출시간이 길어질수록 유의적으로 감소하였다. 즉 시료의 상태에 따라 추출시간에 따른 수소공여능의 변화가 차이가 있는 것으로 나타났다. 또한 볶음 처리한 새송이버섯의 수소공여능이 더 높은 것으로 나타났다.

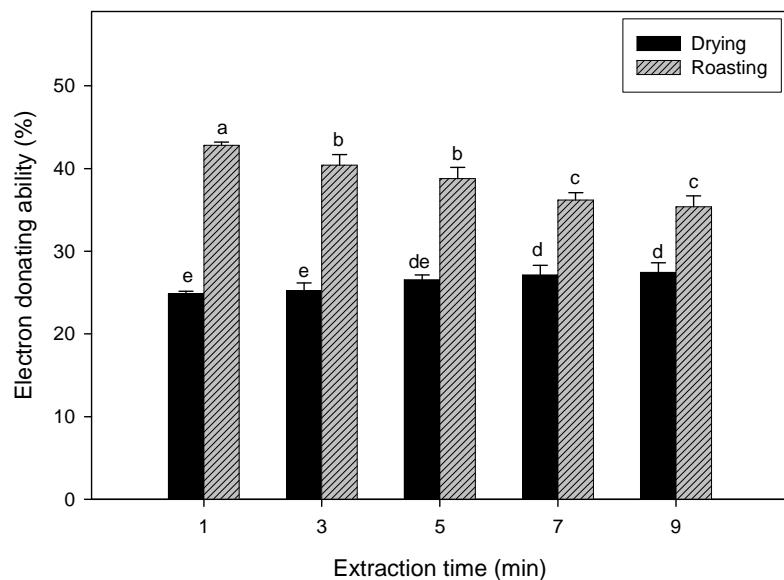


Fig. 42. Change in electron donating ability on extraction time of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

4) SOD 유사활성 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출 시 추출시간에 따른 SOD 유사활성을 측정한 결과 Fig. 43과 같다. 건조 및 볶음 처리된 새송이버섯의 마이크로웨이브 추출 시 추출시간 1분정도 추출 하였을 때 높은 SOD 유사활성을 보였으며, 그 이상의 추출 시 약간 감소하는 것으로 나타났으나 유의적인 차이는 없었다. 즉 SOD 유사활성은 추출시간의 영향이 다소 적은 것으로 사료된다.

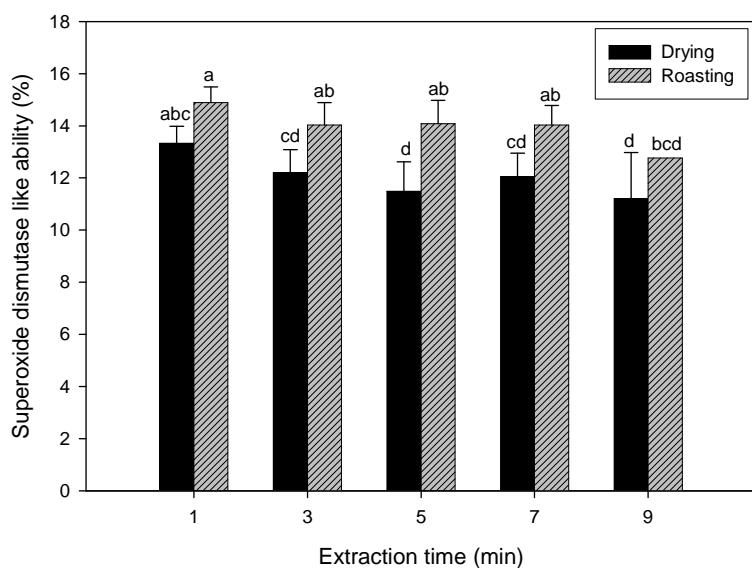


Fig. 43. Change in superoxide dismutase like activity on extraction time of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

5) 총 단백질 함량의 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출 시 추출시간에 따른 총 단백질 함량을 살펴본 결과 Fig. 44와 같다. 건조된 새송이버섯은 추출시간에 따른 총 단백질 함량의 변화가 없는 것으로 나타났으며, 이와 달리 볶음 처리된 새송이버섯은 추출시간이 길어짐에 따라 점점 증가하다가 7분 추출 시 총 단백질 함량이 가장 높게 추출되다가 그 이후 감소하였다. 즉 건조된 새송이버섯은 추출시간에 영향을 받지 않으나, 볶음 처리된 새송이버섯은 추출시간에 영향을 받는 것으로 나타났다.

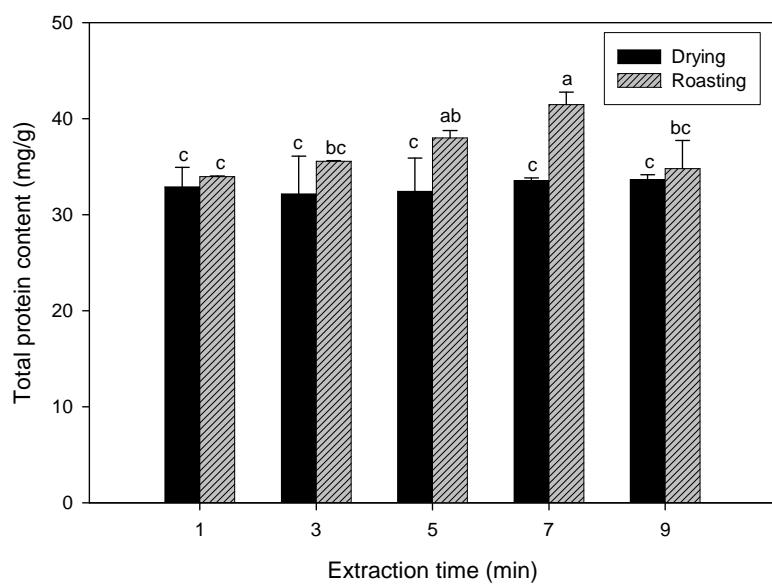


Fig. 44. Change in total protein content on extraction time of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

6) 아질산염 소거능의 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출 시 추출시간에 따른 아질산염 소거능의 변화는 Table 24와 같다. 아질산염 소거능은 pH에 영향을 많이 받는 것으로 나타났으며 pH가 증가할수록 아질산염 소거능은 감소하였다. pH 1.2에서 건조된 새송이버섯은 마이크로웨이브 추출시간이 증가함에 따라 감소하는 것으로 나타났으며, 볶음 처리된 새송이버섯은 추출시간 3분 이상으로 추출될 경우 추출시간에 관계없이 높은 아질산염 소거능을 지니는 것으로 나타났다. pH 3.0에서는 건조된 새송이버섯은 추출시간에 따른 큰 변화가 없었으며, 볶음 처리된 새송이버섯은 9분정도 추출 하였을 때 높은 아질산염 소거능을 지니는 것으로 보인다. pH 4.2에서는 건조된 새송이버섯은 추출시간이 증가할수록 다소 감소하는 것으로 나타났으며, 볶음처리된 새송이버섯은 3분 이상 추출하였을 때 높은 아질산염 소거능을 지니는 것으로 나타났다. pH 6.0에서는 건조 및 볶음 처리된 새송이버섯에서 아질산염 소거능의 활성이 거의 없었다. 또한 건조된 새송이버섯보다 볶음 처리된 새송이버섯이 아질산염 소거능이 더 높은 것으로 나타났다.

Table 24. Change in nitrite-scavenging activity on extraction time of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction

Pre-treated	Extraction Time (min)	Nitrite-scavenging activity (%)			
		pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0
Drying	1	32.69±0.30 ^c	18.95±0.37 ^c	2.79±2.11 ^c	0.00±0.00 ^a
	3	27.35±1.21 ^e	18.46±3.61 ^c	2.67±0.97 ^c	0.00±0.00 ^a
	5	29.77±0.89 ^d	18.88±1.62 ^c	2.45±0.40 ^c	0.00±0.00 ^a
	7	26.07±1.21 ^e	18.52±3.09 ^c	1.76±0.65 ^{cd}	0.00±0.00 ^a
	9	26.92±1.81 ^e	17.77±0.85 ^c	0.73±0.16 ^d	0.00±0.00 ^a
Roasting	1	60.83±1.62 ^b	36.94±1.58 ^b	7.73±0.32 ^b	0.00±0.00 ^a
	3	63.25±0.00 ^a	35.33±0.49 ^b	9.95±0.70 ^a	0.00±0.00 ^a
	5	64.34±1.51 ^a	36.19±0.81 ^b	10.02±1.21 ^a	0.00±0.00 ^a
	7	64.75±0.30 ^a	36.19±0.49 ^b	10.65±0.58 ^a	0.00±0.00 ^a
	9	64.67±0.99 ^a	40.79±1.83 ^a	11.40±0.46 ^a	0.00±0.00 ^a

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

다. Microwave power에 따른 추출효율 비교

Microwave power에 따른 추출효율의 비교는 추출시간 5min, 시료 : 50% 에탄올 1:20으로 1회 추출하여 이화학적 특성을 조사하였다.

1) 가용성 고형분 함량 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출 시 microwave power에 따른 가용성 고형분 함량의 변화를 살펴본 결과는 Fig. 45와 같다. 건조된 새송이버섯의 경우 microwave power 75W일 때 추출물의 가용성 고형분 함량이 높게 추출되었으며, 볶음 처리된 새송이버섯의 경우는 100W로 추출 시 추출물의 가용성 함량이 높게 추출되었다. 그러나 microwave power의 변화에 따른 추출물의 가용성 고형분 함량의 변화는 크지 않은 것으로 나타났다.

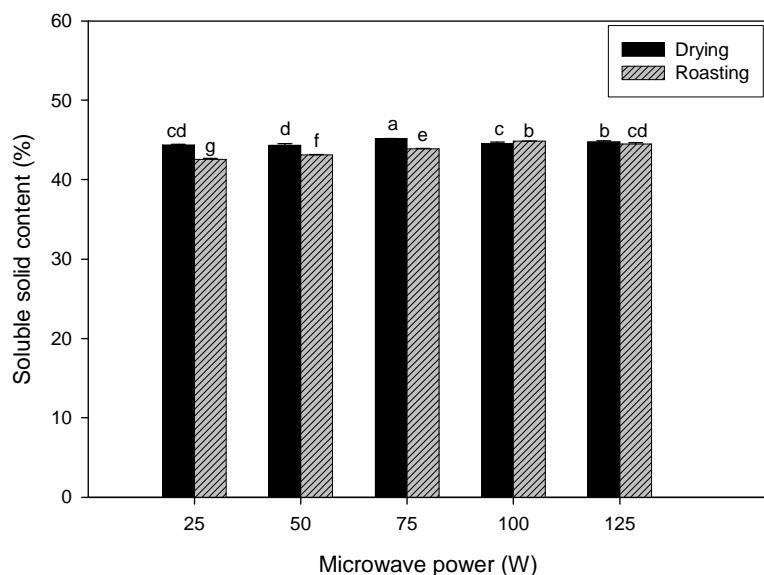


Fig. 45. Change in soluble solid content on microwave power of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

2) 총 페놀성 화합물 함량 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출시 microwave power에 따른 총 페놀성 화합물 함량의 변화는 Fig. 46과 같다. 건조된 새송이버섯은 microwave power 75W에서 총 페놀성 화합물 함량이 높게 추출되었으며, 볶음 처리된 새송이버섯은 microwave power 100W일때 가장 높은 총 페놀성 화합물 함량으로 추출되었다. 또한 볶음 처리된 새송이버섯이 건조된 새송이버섯 보다 높은 총 페놀성 화합물을 지니는 것으로 나타났다. 총 페놀성 화합물 함량으로 보았을 때 microwave power를 100W 정도로 추출하는 것이 적당하리라 사료된다.

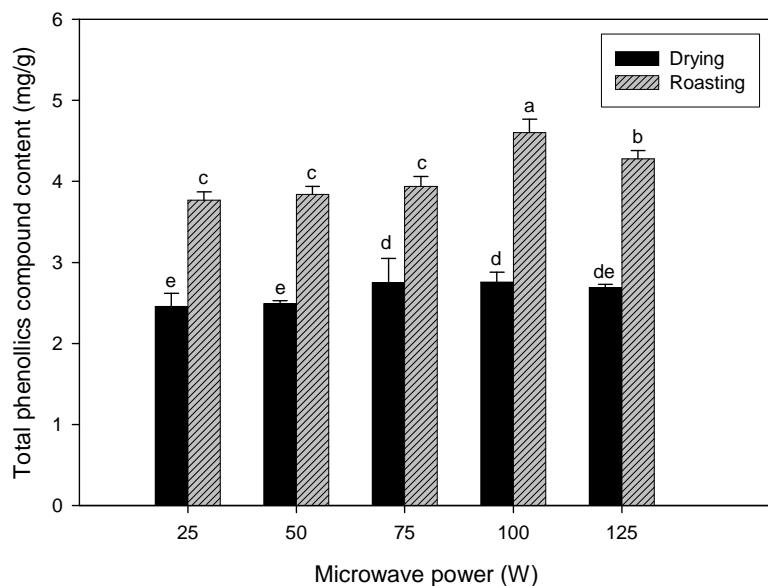


Fig. 46. Change in total phenolics compound content on microwave power of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

3) DPPH에 의한 수소공여능의 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출 시 microwave power에 따른 DPPH에 의한 수소공여능의 변화를 살펴본 결과는 Fig. 47과 같다. 건조된 새송이버섯은 microwave power의 변화에 따른 소수공여능의 차이가 없었으며, 볶음 처리된 새송이버섯은 microwave power 100W에서 가장 높은 수소공여능을 보여주었다. 또한 볶음 처리된 새송이버섯이 건조된 새송이버섯에 비해 대략 2배 정도 높은 수소공여능의 활성을 지니는 것으로 나타났다. 전반적으로 새송이버섯의 마이크로웨이브 추출 시 DPPH에 의한 수소공여능은 microwave power의 변화에 큰 영향을 받지 않는 것으로 보인다.

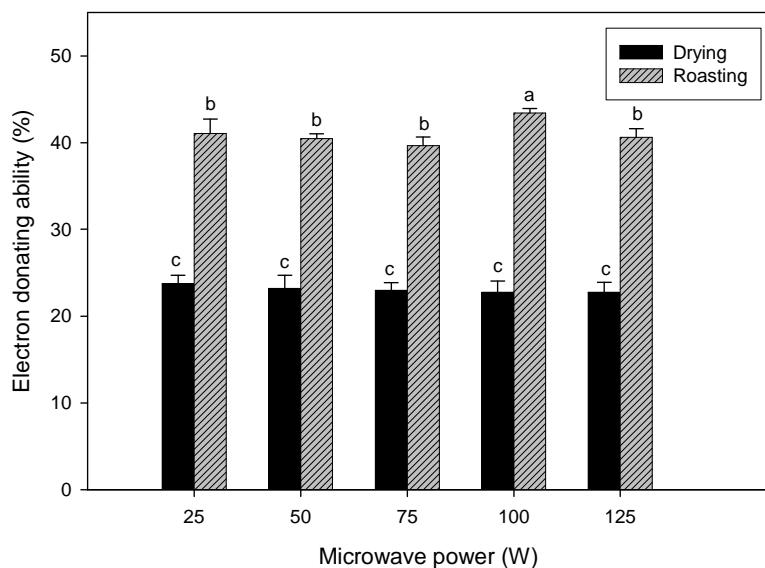


Fig. 47. Change in electron donating ability on microwave power of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

4) SOD 유사활성 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출시 microwave power의 변화에 따른 SOD 유사활성은 Fig. 48과 같다. 건조 및 볶음 처리된 새송이버섯은 25W추출하였을 때 가장 높은 SOD 유사활성을 나타내었으며 그 이상의 power에서는 큰 변화가 없었다. 또한 시료의 전처리 방법인 건조 및 볶음처리에 따른 SOD 유사활성의 차이는 없는 것으로 나타났다.

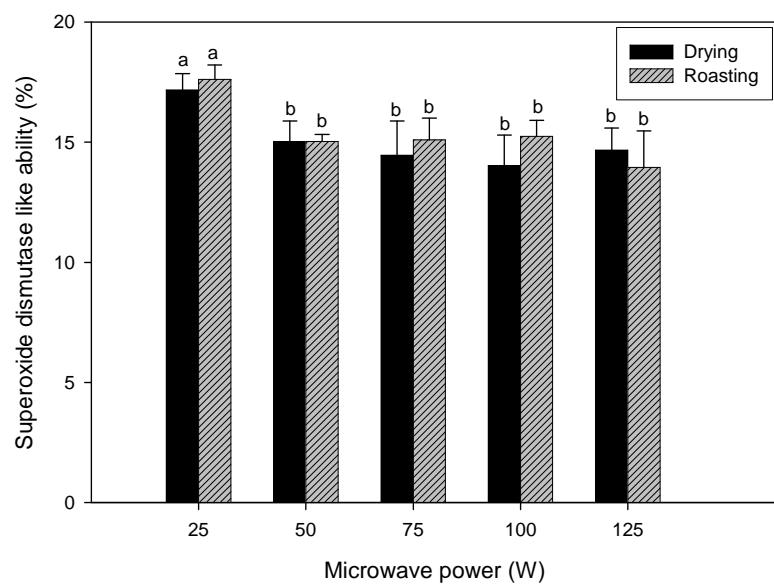


Fig. 48. Change in superoxide dismutase like activity on microwave power of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

5) 총 단백질 함량의 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 주출시 microwave power 변화에 따른 총 단백질 함량의 변화는 Fig. 49와 같다. 전반적으로 건조 및 볶음 처리된 새송이버섯의 microwave power 변화에 따른 총 단백질 함량은 큰 차이가 없었다.

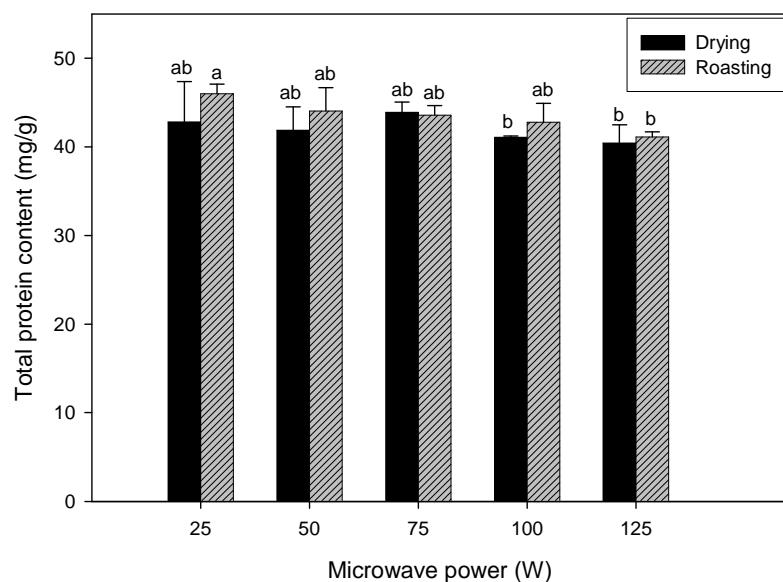


Fig. 49. Change in total protein content on microwave power of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

6) 아질산염 소거능의 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출 시 microwave power 변화에 따른 아질산염 소거능의 변화는 Table 25와 같다. 전반적으로 microwave power 변화에 따른 아질산염 소거능의 변화는 차이가 없었다. 볶음 처리된 새송이버섯이 건조만 한 새송이버섯 보다 약 2배정도 높은 아질산염 소거능이 있었으며, pH가 증가할수록 건조 및 볶음 처리한 새송이버섯의 경우 아질산염 소거능이 감소하였다.

Table. 25. Change in nitrite-scavenging activity on microwave power of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction

Pre-treated	Microwave power(W)	Nitrite-scavenging activity (%)			
		pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0
Drying	25	32.85±3.04 ^c	14.82±0.70 ^d	4.08±0.47 ^b	0.00±0.00 ^a
	50	33.30±0.39 ^c	20.13±2.51 ^b	3.57±0.59 ^b	0.00±0.00 ^a
	75	33.35±0.72 ^c	21.33±1.24 ^b	3.14±1.67 ^b	0.00±0.00 ^a
	100	30.99±4.06 ^c	21.72±0.70 ^b	3.25±0.50 ^b	0.00±0.00 ^a
	125	31.33±2.15 ^c	17.61±1.18 ^c	3.38±0.33 ^b	0.00±0.00 ^a
Roasting	25	61.87±0.48 ^b	40.10±1.16 ^a	15.87±0.67 ^a	0.00±0.00 ^a
	50	62.32±1.03 ^{ab}	40.59±0.00 ^a	14.98±1.17 ^a	0.00±0.00 ^a
	75	63.67±1.19 ^{ab}	39.11±0.70 ^a	14.88±0.72 ^a	0.00±0.00 ^a
	100	65.69±1.73 ^a	40.10±1.16 ^a	14.61±1.19 ^a	0.00±0.00 ^a
	125	64.12±2.06 ^{ab}	40.32±0.23 ^a	14.38±0.36 ^a	0.00±0.00 ^a

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.01$) by Duncan's multiple range test.

라. 용매 비에 따른 추출효율 비교

용매 비에 따른 추출효율비교는 추출시간 5min, 추출용매 50%에탄올, Microwave power 75W로 하여 0.5, 1, 3, 5 g/50ml으로 1회 추출하여 이화학적 특성을 조사하였다.

1) 가용성 고형분 함량 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출 시 용매 비에 따른 가용성 고형분 함량의 변화는 Fig. 50과 같다. 건조 및 볶음 처리한 새송이버섯은 용매에 대한 용질의 양이 증가할수록 추출물의 가용성 고형분 함량이 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다.

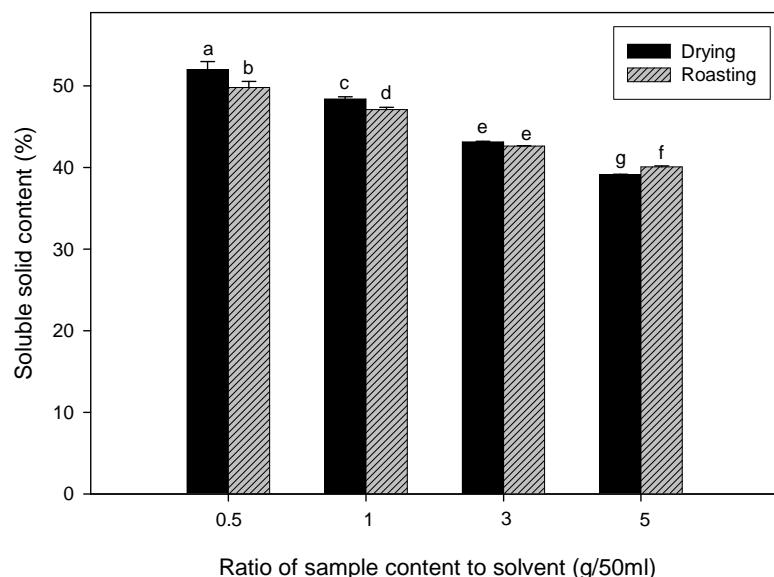


Fig. 50. Change in soluble solid content on ratio of sample content to solvent of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

2) 총 페놀성 화합물 함량 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출 시 용매 비의 변화에 따른 총 페놀성 화합물 함량의 변화는 Fig. 51과 같다. 건조된 새송이버섯은 용매에 대한 시료의 양을 0.5g/50ml로 추출 하였을 때 추출물의 총 페놀성 화합물 함량이 높게 나타났으나 그 이상으로 추출 하였을 때는 총 페놀성 화합물 함량의 변화가 거의 없는 것으로 나타났다. 볶음 처리된 새송이버섯은 0.5, 1, 3g/50ml로 추출 하였을 때 다소 높은 총 페놀성 화합물 함량을 지니는 것으로 나타났으나 그 이후로는 다소 감소하는 것으로 나타났다. 또한 볶음 처리한 새송이버섯이 건조만 한 새송이버섯보다 총 페놀성 화합물이 훨씬 높게 추출되었다.

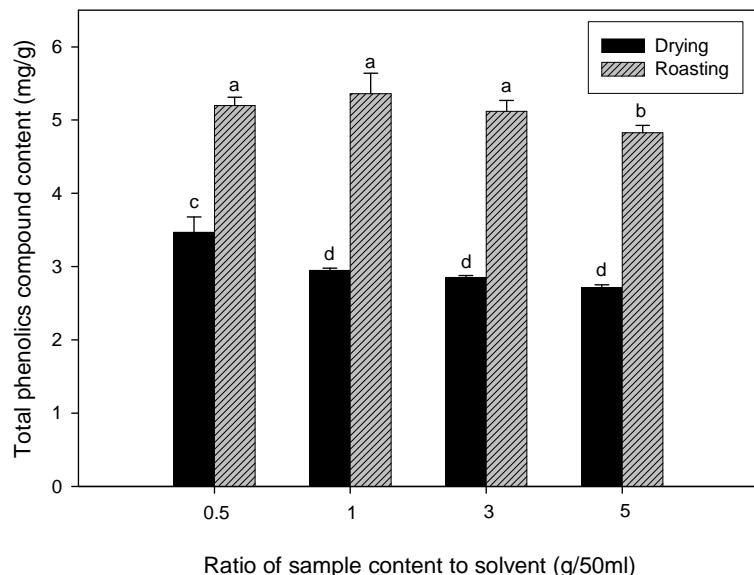


Fig. 51. Change in total phenolics compound content on ratio of sample content to solvent of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

3) DPPH에 의한 수소공여능의 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출 시 용매 비에 따른 DPPH에 의한 수소공여능의 변화를 Fig. 52와 같다. 건조된 새송이버섯은 용매에 대한 시료의 양이 증가할수록 추출물의 수소공여능이 증가하다가 1g/50ml일 때 높은 수소공여능을 나타냈으며 그 이후로는 유의적으로 감소하였다. 볶음 처리된 새송이버섯은 용매에 대한 시료의 양이 증가할수록 추출물의 수소공여능이 유의적으로 감소하였다.

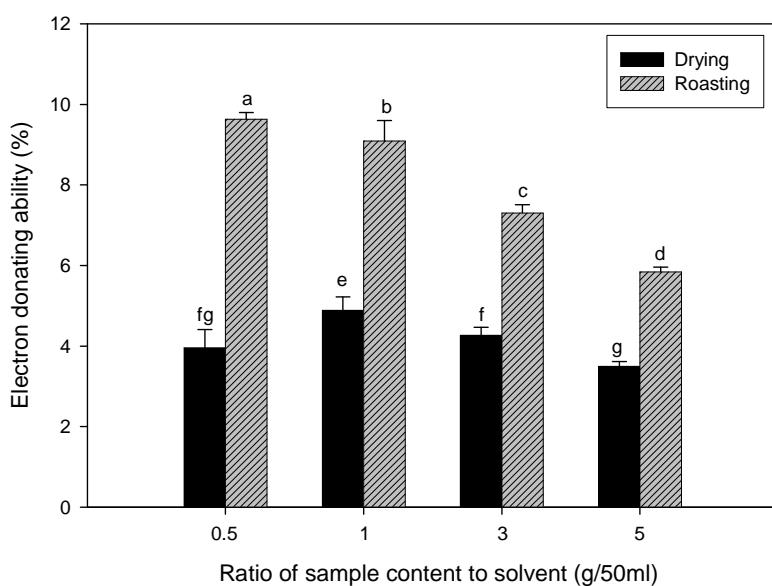


Fig. 52. Change in electron donating ability on ratio of sample content to solvent of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

4) SOD 유사활성 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출 시 용매 비에 따른 SOD 유사활성은 Fig. 53과 같다. 건조 및 볶음 처리된 새송이버섯은 용매에 대한 시료의 양이 증가할수록 증가하다가 용매에 대한 시료의 양 1g/50ml로 추출 하였을 때 추출물의 SOD 유사활성이 높다가 그 이후로는 감소하는 것으로 나타났다. 또한 용매에 대한 시료의 양 0.5, 1g/50ml로 추출할 경우 볶음 처리한 새송이버섯이 건조만한 새송이버섯 보다 높은 SOD 유사활성을 보였으나 그 이상의 양으로 추출하였을 때는 큰 차이가 없었다.

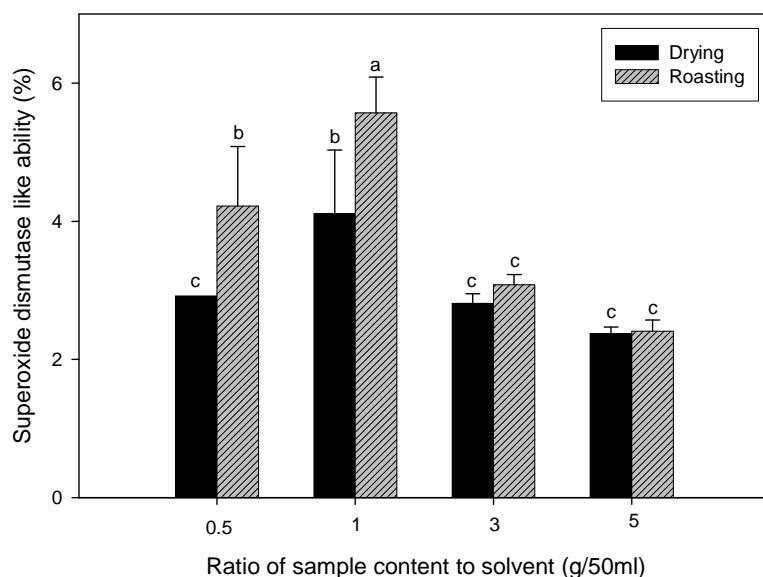


Fig. 53. Change in superoxide dismutase like activity on ratio of sample content to solvent of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

5) 총 단백질 량의 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출 시 용매 비에 따른 총 단백질 함량의 변화는 Fig. 54와 같다. 건조된 새송이버섯은 용매에 대한 시료의 양을 증가시켜 추출할 경우 총 단백질 함량이 유의적으로 감소하였으며, 볶음 처리된 새송이버섯은 용매에 대한 시료의 양을 증가시켜 추출할수록 총 단백질 함량이 증가하다가 1g/50ml일 때 높게 나타났고, 그 이후로는 크게 감소하였다.

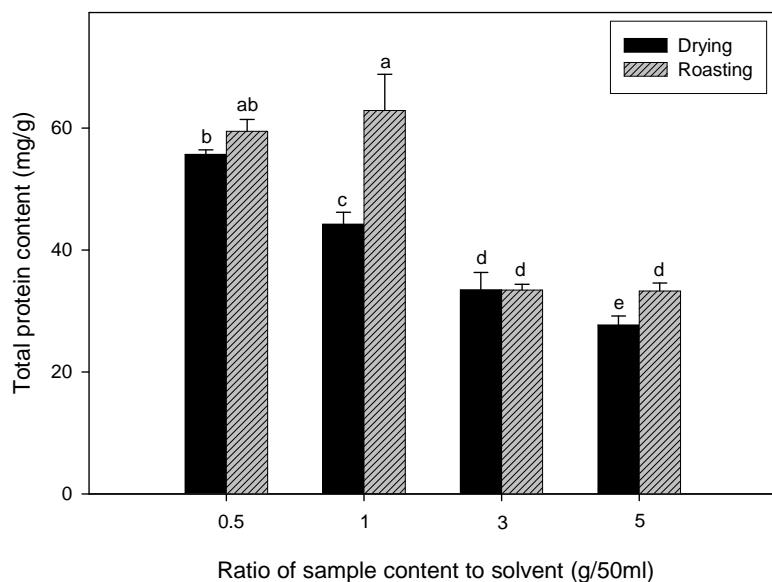


Fig. 54. Change in total protein content on ratio of sample content to solvent of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

6) 아질산염 소거능의 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출 시 용매 비에 따른 아질산염 소거능의 변화는 Table 26과 같다. 건조 및 볶음 처리한 새송이버섯의 마이크로웨이브 추출시 용매에 대한 시료의 양이 증가할수록 아질산염 소거능이 감소하는 것으로 나타났다. 또한 pH가 증가할수록 아질산염 소거능이 감소하였으며, pH 6.0에서는 아질산염 소거능이 없는 것으로 나타났다.

Table 26. Change in nitrite-scavenging activity on ratio of sample content to solvent of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction

Ratio of sample		Nitrite-scavenging activity (%)			
Pre-treated content to solvent (g/50ml)		pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0
Drying	0.5	20.61±0.29 ^b	7.59±2.93 ^a	9.24±1.71 ^a	6.01±2.10 ^a
	1	9.18±1.81 ^{cd}	0.00±0.00 ^c	4.37±0.38 ^c	0.00±0.00 ^b
	3	7.30±0.24 ^d	0.00±0.00 ^c	1.76±0.05 ^e	0.00±0.00 ^b
	5	4.01±0.15 ^e	0.65±0.17 ^c	0.04±0.04 ^f	0.00±0.00 ^b
Roasting	0.5	28.57±4.04 ^a	5.02±0.23 ^b	7.75±0.44 ^b	0.00±0.00 ^b
	1	20.20±0.87 ^b	6.09±0.76 ^{ab}	3.52±0.18 ^{cd}	0.00±0.00 ^b
	3	11.77±0.27 ^c	5.67±0.04 ^{ab}	2.58±0.14 ^{de}	0.00±0.00 ^b
	5	8.63±0.02 ^d	4.74±0.09 ^b	2.15±0.04 ^e	0.00±0.00 ^b

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

마. 추출횟수에 따른 추출효율 비교

추출횟수에 따른 추출효율의 비교는 추출시간 5min, 용매비 1: 20, microwave power 75W로 하여 1, 2, 3, 4, 5회 추출하여 이화학적 특성을 조사하였다.

1) 가용성 고형분 함량 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출 시 추출횟수에 따른 가용성 고형분 함량의 변화를 살펴본 결과는 Fig. 55와 같다. 건조 및 볶음 처리한 새송이버섯 추출 시 추출횟수가 증가할수록 추출물의 가용성 고형분 함량이 감소하였다. 1회 추출 시 볶음 처리한 새송이버섯의 가용성 고형분 함량이 더 많은 것으로 나타났으며 그 이상의 추출 시 시료간의 차이는 없었다. 또한 실험결과, 1회 추출 시 대부분의 가용성 고형분이 추출되는 것으로 보인다.

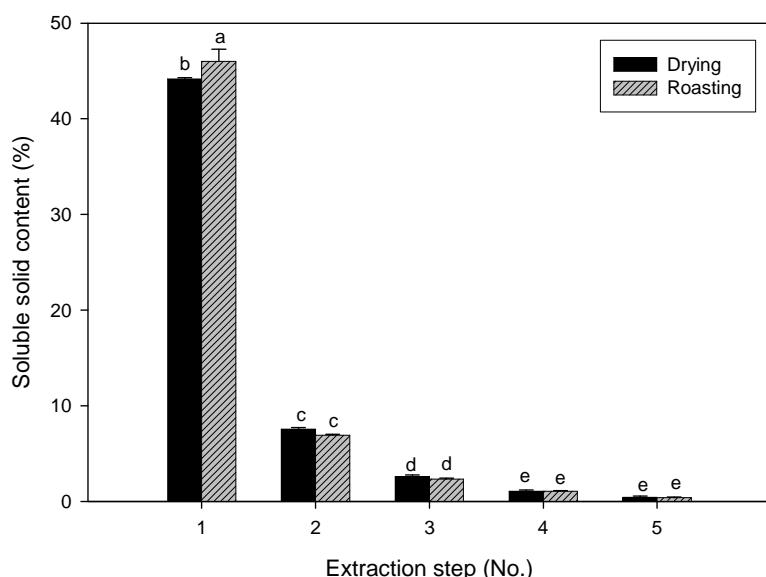


Fig. 55. Change in soluble solid content on extraction step of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

2) 총 페놀성 화합물 함량 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출 시 추출횟수에 따른 총 페놀성 화합물 함량은 Fig. 56과 같다. 건조 및 볶음 처리한 새송이버섯의 경우 추출횟수가 증가할수록 총 페놀성 화합물 함량이 감소하는 것으로 나타났으며, 전반적으로 1회 추출 시 대부분의 총 페놀성 화합물이 추출되었다.

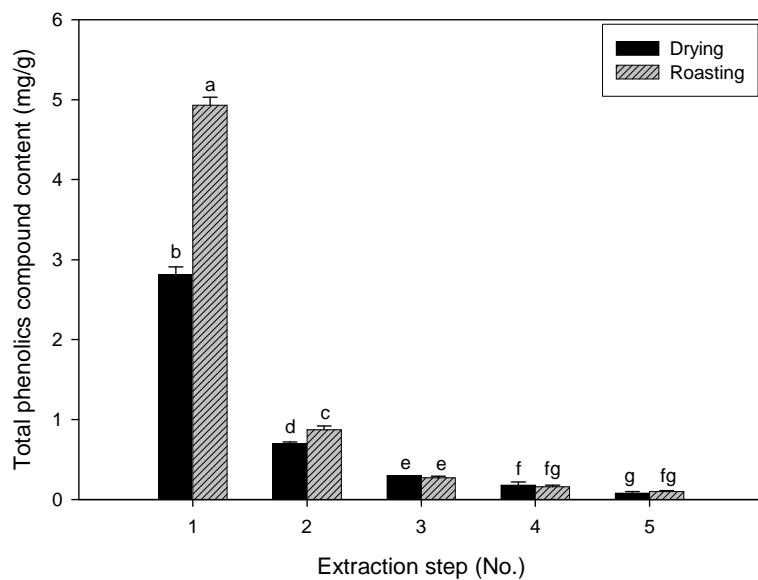


Fig. 56. Change in total phenolics compound content on extraction step of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

3) DPPH에 의한 수소공여능의 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출 시 추출횟수에 따른 DPPH에 의한 수소공여능의 변화는 Fig. 57과 같다. 건조된 새송이버섯의 경우 2회 이상 추출 시 수소공여능이 나타나지 않았으며, 볶음 처리된 새송이버섯은 3회 이상 추출 시 수소공여능이 없는 것으로 조사되었다.

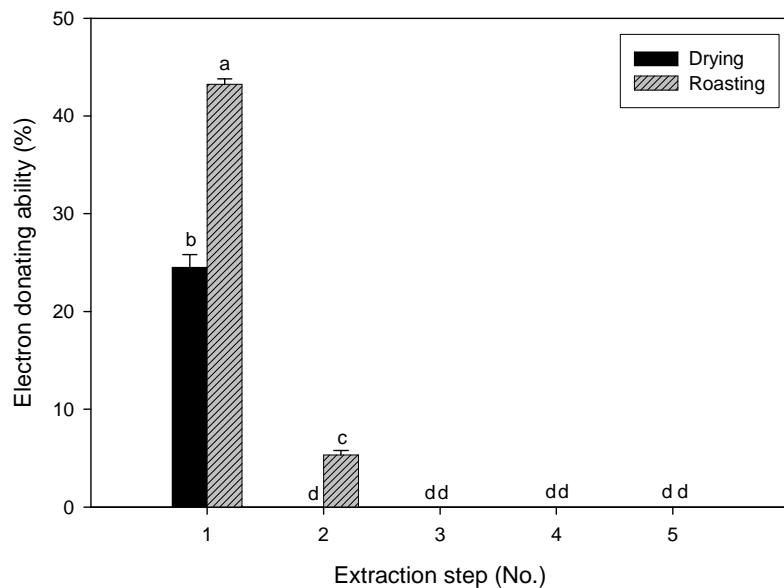


Fig. 57. Change in electron donating ability on extraction step of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

4) SOD 유사활성 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출 시 추출횟수에 따른 SOD 유사활성은 Fig. 58과 같다. 건조된 새송이버섯은 3회 이상 추출 시 SOD 유사활성이 나타나지 않았으며, 볶음 처리된 새송이버섯은 2회 이상 추출 시 SOD 유사활성이 나타나지 않았다. 이를 통해 볼 때, 전반적으로 1회의 추출로 SOD 유사활성을 나타내는 대부분의 성분이 추출되리라 사료된다.

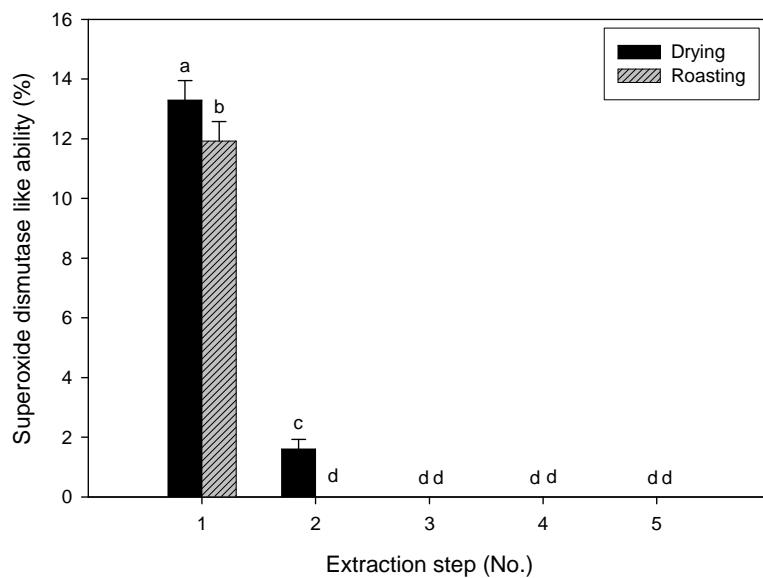


Fig. 58. Change in superoxide dismutase like activity on extraction step of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

5) 총 단백질 함량의 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출 시 추출횟수에 따른 총 단백질 함량의 변화는 Fig. 59와 같다. 건조 및 볶음 처리한 새송이버섯의 경우 추출횟수가 증가할수록 총 단백질 함량이 크게 감소하였으며, 전반적으로 1회 추출로 대부분의 단백질이 추출되는 것으로 나타났다.

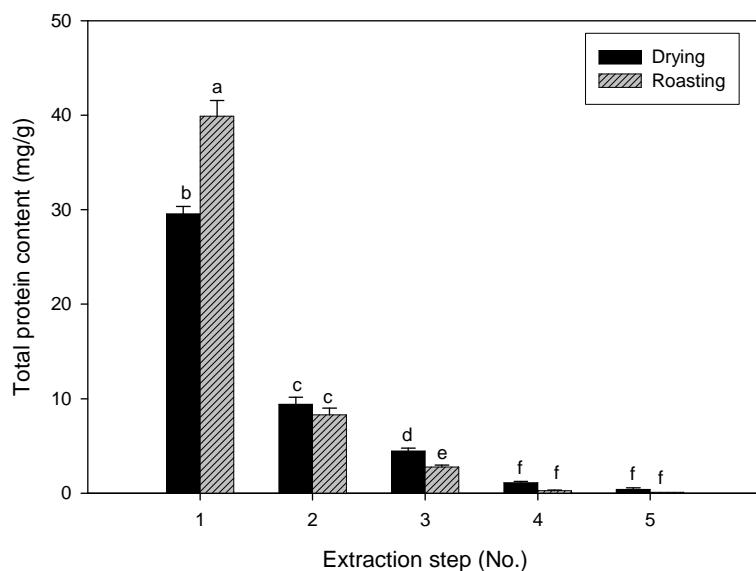


Fig. 59. Change in total protein content on extraction step of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction.

¹⁾ Values are the mean \pm S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

6) 아질산염 소거능의 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출 시 추출횟수에 따른 아질산염 소거능의 변화는 Table 27과 같다. 건조 및 볶음 처리한 새송이버섯의 추출횟수에 따른 아질산염 소거능은 추출횟수가 증가할수록 유의적으로 감소하였다. 특히 pH 4.2의 경우 2회 이상 추출 시 아질산염 소거능이 없었으며, pH 6.0에서는 1회 추출 시에도 아질산염 소거능이 없는 것으로 보인다. 전반적으로 1회 추출 시 대부분의 건조 및 볶음 처리한 새송이버섯 추출물의 아질산염 소거능이 높게 측정되는 경향이 있었다.

Table 27. Change in nitrite-scavenging activity on extraction step of dried and roasted *Pleurotus eryngii* in microwave-assisted extraction

Pre-treated	step (No.)	Extraction				Nitrite-scavenging activity (%)
		pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0	
Drying	1	29.64±0.78 ^b	15.17±0.68 ^b	3.97±0.15 ^b	0.00±0.00 ^a	
	2	11.81±0.00 ^d	7.25±0.64 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^a	
	3	2.58±1.07 ^f	3.39±0.76 ^d	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^a	
	4	1.82±0.27 ^{fg}	2.44±0.55 ^{de}	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^a	
	5	0.88±1.33 ^{gh}	1.01±0.00 ^f	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^a	
Roasting	1	63.57±1.78 ^a	27.10±0.91 ^a	11.42±0.18 ^a	0.00±0.00 ^a	
	2	15.45±0.44 ^c	15.86±1.44 ^b	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^a	
	3	5.21±0.27 ^e	7.21±0.18 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^a	
	4	0.00±0.00 ^h	3.64±0.89 ^d	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^a	
	5	0.00±0.00 ^h	1.72±0.32 ^{ef}	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^a	

¹⁾ Values are the mean±S.D. of 3 replicate assays.

²⁾ Mean values within row that followed by same letter are not significant different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

5. 마이크로웨이브 추출 시 새송이버섯의 추출조건 최적화를 위한 실험계획 설정

마이크로웨이브 처리의 특징은 기존의 가열방법에 비해 월등한 장점을 찾을 수 있다는 것이다. 우선 몇 가지를 살펴보면 처리속도, 소요 에너지량, 신속, 정확한 process control 등을 들 수 있다. 이 중 처리속도가 가장 대표적인 특징이라 할 수 있다. 특히 마이크로웨이브 에너지는 식품의 표면을 투과하여 식품 내부를 매우 신속하게 가열할 수 있으므로 식품의 맛, 냄새, 조직감, 영양가 등에 대하여 최소한의 영향을 미치게 된다. 이때 식품을 둘러싸고 있는 포장재나 기타 다른 부분들은 대부분 에너지를 흡수하지 않는다. 따라서 에너지의 절약과 국한된 일부분의 가열이 가능한 것이다. 현재 식품가공에 있어서 마이크로웨이브 에너지의 응용분야는 cooking, drying, tempering, baking, roasting, 살균 등이 알려져 있으며, 지금까지 마이크로파 에너지의 대표적인 산업적 이용의 예는 미생물의 관리를 위한 살균과 멸균 분야를 들 수 있다. 최근에는 마이크로웨이브 추출기술이 활발히 연구 개발되고 있다.

유용식물자원에 대한 효과적인 추출 방법의 필요성은 오래전부터 인식되어 왔다. 특히 식품산업에서의 추출방법이란 용도가 다양하고 저렴하며 공정이 복잡하지 않아 실패의 위험이 적고 작업자 및 소비자의 안전을 보장하고 환경공해를 배제할 수 있는 조건을 갖추어야 한다. 이러한 구비조건을 구비한 추출방법이 연구 개발되기까지 스팀증류법, 고온용매추출법 등의 전통적인 방법과 최근 실용화되고 있는 초임계유체추출법이 대표적인 추출기술로 이용되어 왔다. 그러나 전자들은 추출효율이 낮고 에너지 소비가 크고, 후자는 높은 운영 경비가 요구되는 등 나름대로의 단점을 지니고 있다. 따라서 이상의 문제점들을 보완하면서 추출효율, 경제성, 환경친화성 등의 구비조건을 갖춘 새로운 추출방법의 개발은 필요하다.

마이크로웨이브 추출방법은 기존의 마이크로웨이브 가열방식 즉, 전자레인지에서와 같이 air stream 상의 에너지가 적용되는 것이 아니라 시료 혼합물 전체가 집중적으로 마이크로웨이브 에너지에 노출됨으로서 일반 가열원리와는 달리 천연물내의 목적성분이 국소적인 과열 현상을 나타내게 되어 그 성분을 신속하게 용리시키는 기법이라 할 수 있다. 본 추출방법은 용매사용량, 추출시간 및 에너지 소요량 등의 측면에서 볼 때 환경 친화적 특징을 지니고 있으며, 적용 대상도 일반적으로 수분을 함유한 모든 천연물 시료는 추출 대상이 될 수 있다.

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출 시 에탄올 농도, 추출시간, microwave power, 용매에 대한 시료의 양 및 추출횟수에 따른 이화학적 특성을 살펴보았다. 그 결과 에탄올 농도에 따른 이화학적 특성의 변화가 많은 것으로 나타났다. 추출시간에 따라서는 건조한 새송이버섯은 전반적으로 이화학적 특성에 있어서 큰 차이가 없는 것으로 나타났으나 볶음 처리한 새송이버섯은 추출시간에 따라서 이화학적 특성에 차이가 있는 것으로 나타났다. Microwave power에 따라서는 이화학적 특성에 있어 큰 차이가 없었으나, 볶음 처리한 새송이버섯의 경

우 microwave power 100W일 때 가용성 고형분 함량, 총 폐놀성 화합물 함량 및 DPPH에 의한 수소공여능에 있어서 높게 나타났다. 용매 비에 따라서는 볶음 처리한 새송이버섯의 경우 용매에 대한 시료의 양 1g/50ml로 추출 하였을 때 총 폐놀성 화합물 함량, DPPH에 의한 수소공여능의 변화, SOD 유사활성 및 총 단백질의 함량에 있어서 차이가 있었다. 추출횟수의 경우는 전반적으로 1회 추출로 대부분의 성분이 추출되는 것을 알 수 있었다. 따라서 마이크로 웨이브 추출시 유용성분의 추출조건을 설정 할 때, 용매에 대한 시료의 양은 1g/50ml, 추출횟수는 1회로 고정하고 에탄올 농도(0 ~ 100%), 추출시간(1 ~ 9min) 및 microwave power(25 ~ 125W)를 변수로 하여 Table 13, 14에서와 같이 중심합성실험계획으로 유용성분 추출에 대한 반응표면분석으로 최적 조건을 설정하는 것이 필요하리라 사료되었다.

6. 반응표면분석에 의한 새송이버섯 마이크로웨이브 추출 조건에 따른 품질특성 변화

가. 마이크로웨이브 추출조건에 따른 이화학적 특성 변화

1) 가용성 고형분 함량의 변화

마이크로웨이브 추출조건에 따른 새송이버섯 추출물의 가용성 고형분 함량은 Table 28과 같다. 가용성 고형분 함량은 30.08 ~ 46.99%로 나타났으며, 에탄올 농도 100%, 추출시간 5min 및 마이크로웨이브 파워 75W일 때 낮은 가용성 함량을 나타내었으며 다른 구간에서는 큰 차이가 없었다. 이러한 결과를 바탕으로 회귀 분석한 결과 회귀식은 Table 29와 같으며, 회귀식의 R^2 은 0.9259로 나타났고, 1%이내의 범위에서 유의성이 인정되었다. 이러한 회귀식을 바탕으로 한 가용성 고형분 함량의 최대값은 에탄올 농도 36.78%, 추출시간 5.69min 및 마이크로웨이브 파워 77.46W일 때 47.75%로 예측되었다. (Table 30). 가용성 고형분 함량의 반응표면은 Fig. 20에서 보는 바와 같이 최대점을 갖는 형태의 반응표면으로 나타났다. 즉 에탄올 농도 25 ~ 50%일 때 최대를 갖는 반응표면의 형태로 나타났으며, 전반적으로 에탄올 농도에 영향을 많이 받는 것으로 나타났다. (Table 31).

2) 총 폐놀성 화합물 함량의 변화

총 폐놀성 화합물 함량에 대한 추출조건에 따른 새송이버섯의 특성을 살펴본 결과는 Table 28과 같다. 즉 총 폐놀성 화합물 함량은 4.62 ~ 7.32mg/g으로 전체적으로 낮은 함량으로 추출되는 것으로 나타났다. 이러한 결과 치를 토대로 회귀 분석한 결과 Table 29와 같은 회귀식을 얻을 수 있었으며, 회귀식의 R^2 은 0.8839이고 5%이내의 범위에서 유의성이 인정되었다. 또한 이러한 회귀식을 바탕으로 한 총 폐놀성 화합물 함량의 최대값은 에탄올 농도 32.15%, 추출시간 8.73min 및 마이크로웨이브 파워 76.60W로 가용성 고형분 함량과 유사한 조건에서 7.44mg/g으로 예측되었다. (Table 30). 총 폐놀성 화합물 함량에 대한 회귀식을 바탕으로 한 반응표면은 Fig. 61에서 보는 바와 같이 최대점을 지는 형태의 반응표면으로 나타났으며 에탄올 농도 50%의 범위에서 증가하는 형태의 반응표면으로 나타났다. 전반적으로 에탄올 농도에 영향을 많이 받는 것으로 나타났다. (Table 31).

3) 총 단백질 함량의 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출에 따른 총 단백질 함량의 변화를 살펴본 결과 Table

28과 같다. 즉 총 단백질 함량은 23.87 ~ 46.58mg/g으로 나타났으며, 이를 바탕으로 회귀분석을 실시하여 Table 29와 같은 회귀식을 얻었다. 회귀식의 R^2 은 0.9699, 1%이내의 범위에서 유의성이 인정되는 것으로 나타났다. 회귀식을 바탕으로 한 총 단백질 함량의 예측된 최대값은 에탄올 농도 28.37%, 추출시간 3.66min 및 마이크로웨이브 파워 96.80W에서 45.80mg/g으로 예측되었다. (Table 30). 총 단백질 함량에 대한 반응표면은 Fig 12에서 보는 바와 같이 최대점을 지는 형태의 반응표면으로 나타났으며, 에탄올 농도 0 ~ 25% 범위에서 최대점이 나타나는 형태의 반응표면으로 나타났다. 전반적으로 총 단백질 함량도 가용성 고형분 및 총 페놀성 화합물과 유사하게 에탄올 농도에 영향을 많이 받는 것으로 보인다. (Table 31)

Table 28. Experimental data on soluble solid, total phenolics compounds and total protein content of microwave-assisted extraction condition for roasted *Pleurotus eryngii* under different conditions based on central composite design for response surface analysis

Exp. No ¹⁾ .	Extraction conditions			Physicochemical properties		
	EtOH conc. (%)	Time (min)	Microwave power (W)	Soluble solid content (%)	Total phenolics compound content(mg/g)	Total protein content (mg/g)
1	25 (-1)	3 (-1)	50 (-1)	44.85	6.44	44.82
2	25 (-1)	3 (-1)	100 (1)	45.50	6.64	46.58
3	25 (-1)	7 (1)	50 (-1)	46.03	7.00	35.46
4	25 (-1)	7 (1)	100 (1)	45.43	7.05	40.44
5	75 (1)	3 (-1)	50 (-1)	40.91	6.85	31.29
6	75 (1)	3 (-1)	100 (1)	41.50	6.94	37.62
7	75 (1)	7 (1)	50 (-1)	42.78	6.11	31.04
8	75 (1)	7 (1)	100 (1)	42.54	6.14	38.60
9	50 (0)	5 (0)	75 (0)	46.45	7.23	42.87
10	50 (0)	5 (0)	75 (0)	46.67	6.89	42.09
11	0 (-2)	5 (0)	75 (0)	44.35	5.43	40.54
12	100 (2)	5 (0)	75 (0)	30.08	4.62	23.87
13	50 (0)	1 (-2)	75 (0)	42.49	6.29	36.18
14	50 (0)	9 (2)	75 (0)	46.99	7.32	34.70
15	50 (0)	5 (0)	25 (-2)	43.70	6.40	36.91
16	50 (0)	5 (0)	125 (2)	46.26	6.67	43.63

¹⁾ The number of experimental conditions by central composite design

Table 29. Polynomial equations calculated by RSM program on soluble solid, total phenolics compounds and total protein content of microwave-assisted extraction condition for roasted *Pleurotus eryngii*

Responses	Polynomial equations ¹⁾	R ²	Significance
Soluble solid content	$Y = 33.540000 + 0.240250X_1 + 1.678125X_2$ $+ 0.106600X_3 - 0.003738X_1^2 + 0.002000X_1X_2$ $- 0.113750X_2^2 + 0.000260X_1X_3$ $- 0.002700X_2X_3 - 0.000632X_3^2$	0.9259	0.0089
Total phenolics compound content	$Y = 1.662500 + 0.107950X_1 + 0.559063X_2$ $+ 0.037700X_3 - 0.000814X_1^2 - 0.006275X_1X_2$ $- 0.015938X_2^2 - 0.000026000X_1X_3$ $- 0.000525X_2X_3 - 0.000210X_3^2$	0.8839	0.0306
Total protein content	$Y = 40.370312 - 0.054350X_1 + 0.982813X_2$ $+ 0.090650X_3 - 0.004110X_1^2 + 0.040575X_1X_2$ $- 0.440000X_2^2 + 0.001430X_1X_3$ $+ 0.011125X_2X_3 - 0.000884X_3^2$	0.9699	0.0007

¹⁾ X₁ : Ethanol concentration (%), X₂ : Extraction time (min) X₃ : Microwave power (W)

Table 30. Predicted level of optimum microwave-assisted extraction condition on soluble solid, total phenolics compounds and total protein content for roasted *Pleurotus eryngii* by the ridge analysis

Responses	Extraction conditions			Estimated responses	Morphology
	EtOH conc. (%)	Time (min)	Microwave power(W)		
Soluble solid content (%)	99.62	4.57	71.96	31.96(Min)	Maximum
	36.76	6.69	77.46	47.75(Max)	
Total phenolic compound content (mg/g)	98.49	5.98	74.66	4.70(Min)	Maximum
	32.15	8.73	76.60	7.44(Max)	
Total protein content (mg/g)	86.54	3.94	62.38	22.86(Min)	Maximum
	28.37	3.66	96.80	45.80(Max)	

Table 31. Analysis of variables for regression model of soluble solid, total phenolics compounds and total protein content in microwave-assisted extraction conditions of roasted *Pleurotus eryngii*

Extraction condition	F-Ratio		
	Physicochemical properties		
	Soluble solid content	Total phenolics compound content	Total protein content
EtOH conc. (%)	16.15***	9.55***	36.95***
Time (min)	1.30	1.77	10.02***
Microwave power.(W)	0.34	0.59	8.26**

***Significant at 1% level, **Significant at 5% level, *Significant at 10% level

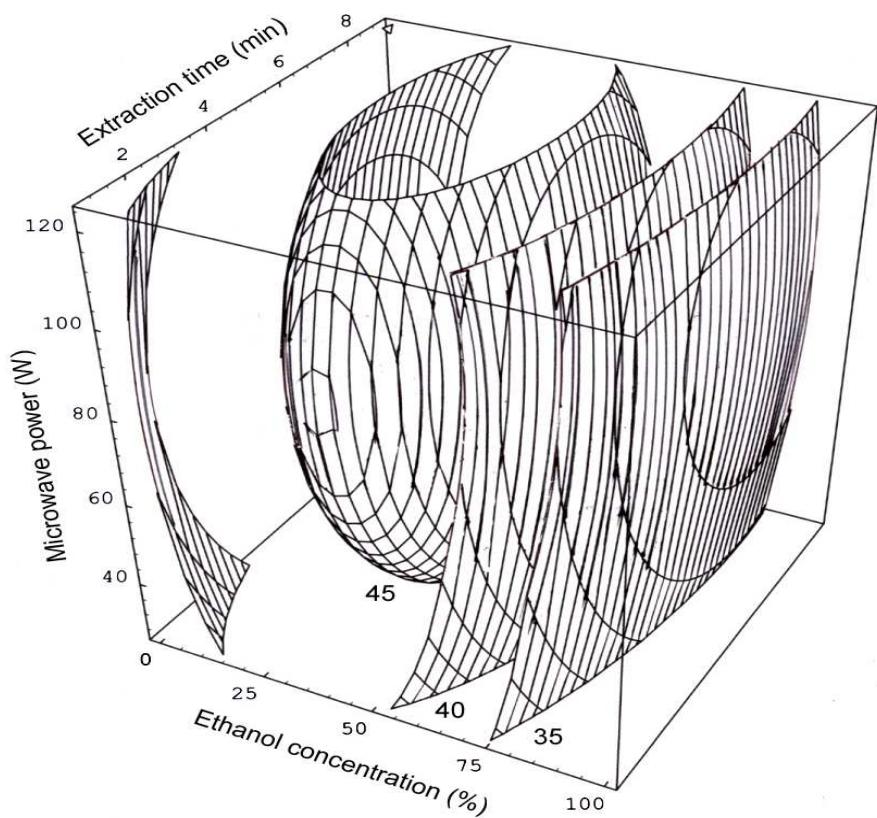


Fig. 60. Response surface for soluble solid content of roasted *Pleurotus eryngii* microwave extract at constant values (soluble solid content (%)) : 35-40-45) as a function of ethanol concentration, extraction time and microwave power.

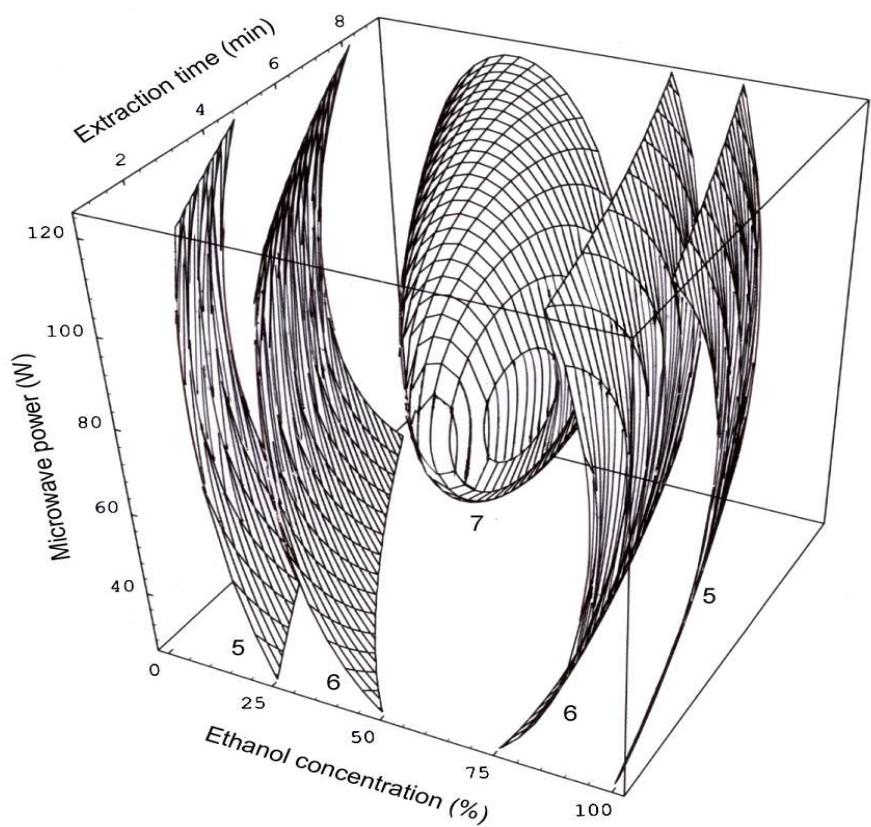


Fig. 61 Response surface for total phenolics compound content of roasted *Pleurotus eryngii* microwave extract at constant values (total phenolics compound content (mg/g) : 5-6-7) as a function of ethanol concentration, extraction time and microwave power.

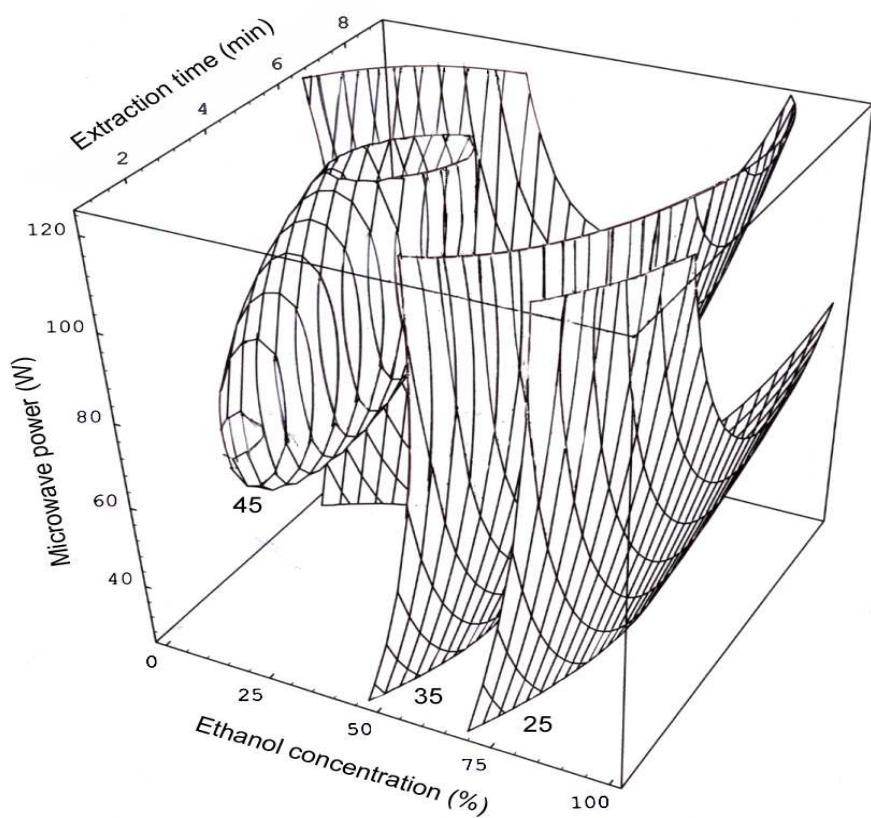


Fig. 62 Response surface for total protein content of roasted *Pleurotus eryngii* microwave extract at constant values (total protein content (mg/g) : 25-35-45) as a function of ethanol concentration, extraction time and microwave power.

나. 마이크로웨이브 추출조건에 따른 생리활성 변화

1) DPPH에 의한 수소공여능의 변화

마이크로웨이브 추출조건에 따른 새송이버섯 추출물의 수소공여능은 Table 32에서 보는 바와 같다. 즉 추출물의 수소공여능은 33.69 ~ 50.41% 범위였으며 이를 바탕으로 회귀분석을 한 회귀식은 Table 33과 같다. 이러한 수소공여능의 회귀식의 R^2 은 0.9562였고, 1%이내의 범위에서 유의성이 인정되었다. 회귀식을 바탕으로 한 수소공여능의 최대값은 에탄올 농도 42.00, 추출시간 5.43min 및 마이크로웨이브 파워 58.11W에서 52.27%로 예측되었다. (Table 34). 회귀식에 대한 반응표면은 Fig. 63과 같이 에탄올 농도 50% 범위 및 추출시간 6min 이상의 범위로 갈수록 증가하는 형태의 반응표면으로 나타났으며, 전반적으로 에탄올 농도에 영향을 많이 받는 것으로 보인다. (Table 35).

2) SOD 유사활성의 변화

마이크로웨이브 추출조건에 따른 새송이버섯의 SOD 유사활성의 변화를 살펴본 결과는 Table 32와 같다. SOD 유사활성은 4.63 ~ 30.59%로 각각의 추출조건에 따라 다른 활성을 지니는 것으로 나타났으며, 이를 바탕으로 회귀분석으로 회귀식을 구한 결과 Table 33과 같으며, 회귀식의 R^2 은 0.9849로 1%이내의 범위에서 유의성이 인정되었다. 마이크로웨이브 추출 조건에 따른 SOD유사활성은 에탄올 농도 82.86%, 추출시간 2.31min 및 마이크로웨이브 파워 58.08W일 때 34.52%로 회귀식으로 예측되었다. (Table 34). SOD 유사활성에 대한 반응 표면은 Fig. 64와 같이 에탄올 농도가 낮고 추출시간이 길거나 또는 에탄올 농도가 높고 추출시간이 짧을수록 추출물에 대한 활성이 증가하는 것으로 나타났다. 전반적으로 SOD유사 활성은 에탄올 농도와 추출시간에 영향을 많이 받는 것을 알 수 있다.(Table 35).

3) Tyrosinase 저해활성의 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출에 따른 tyrosinase 저해활성을 살펴본 결과 Table 32와 같다. 즉 tyrosinase 저해활성은 6.67 ~ 52.40%로 각각의 추출조건에 따라 차이가 있었으며, 이에 대한 회귀분석을 하여 회귀식을 구한 결과 Table 33에서 볼 수 있듯이 회귀식의 R^2 은 0.8577이었고, 10%이내의 범위에서 유의성이 인정되는 것으로 나타났다. 회귀식으로 tyrosinase 저해활성의 최대값을 예측한 결과 에탄올 농도 2.96%, 추출시간 4.38min 및 마이

크로웨이브 파워 90.10W일 때 47.81%로 예측되었다(Table 34). Tyrosinase 저해활성에 대한 반응표면은 Fig. 65와 같이 에탄올 농도가 감소할수록 tyrosinase 저해활성이 증가하는 형태의 반응표면을 보여주었다. 전반적으로 tyrosinase 저해활성은 에탄올 농도에 영향을 많이 받는 것을 알 수 있었다. (Table 35).

4) ACE 저해활성의 변화

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출에 따른 ACE 저해활성을 살펴본 결과는 Table 32과 같다. 즉 ACE 저해활성은 29.16 ~ 85.16%로 각각의 추출조건에 따라 차이가 있었으며 대체적으로 ACE 저해활성이 다소 높았다. 중심합성실험계획으로 마이크로웨이브 추출조건에 따른 ACE 저해활성에 대하여 회귀분석을 한 결과는 Table 33과 같으며, 회귀식의 R^2 은 0.9917로 1%이내의 범위에서 유의성이 인정되었다. 회귀식에 의한 ACE 저해활성의 최대값은 에탄올 농도 49.49%, 추출시간 1.24min 및 마이크로웨이브 파워 57.86W에서 89.69%로 예측되었다. (Table 34). ACE 저해활성의 반응표면은 Fig. 66과 같이 추출시간이 감소할수록 ACE 저해활성이 증가하는 형태의 반응표면으로 나타났으며, 전체적으로 추출시간에 영향을 많이 받는 것으로 보인다. (Table 35).

Table 32. Experimental data on electron donating ability, superoxide dismutase like activity, tyrosinase inhibition ability, and inhibitory activity on angiotensin converting enzyme(ACE inhibition activity) of microwave-assisted extraction condition for roasted *Pleurotus eryngii* under different conditions based on central composite design for response surface analysis

Exp. No ¹⁾ .	Extraction conditions			Electron donating ability (%)	Superoxide dismutase like activity (%)	Tyrosinase inhibition ability (%)	ACE inhibition activity (%)
	EtOH conc. (%)	Time (min)	Microwave power (W)				
1	25 (-1)	3 (-1)	50 (-1)	43.13	10.33	35.01	62.92
2	25 (-1)	3 (-1)	100 (1)	45.86	6.43	37.93	63.69
3	25 (-1)	7 (1)	50 (-1)	48.82	4.97	37.95	29.16
4	25 (-1)	7 (1)	100 (1)	49.30	8.29	38.67	56.36
5	75 (1)	3 (-1)	50 (-1)	46.15	30.59	25.20	63.27
6	75 (1)	3 (-1)	100 (1)	43.75	20.07	24.42	45.52
7	75 (1)	7 (1)	50 (-1)	48.34	8.49	34.85	25.83
8	75 (1)	7 (1)	100 (1)	42.65	8.12	25.94	35.66
9	50 (0)	5 (0)	75 (0)	48.45	9.29	34.93	43.52
10	50 (0)	5 (0)	75 (0)	50.41	9.86	34.70	42.02
11	0 (-2)	5 (0)	75 (0)	41.08	4.98	52.40	48.67
12	100 (2)	5 (0)	75 (0)	33.69	20.06	6.67	30.57
13	50 (0)	1 (-2)	75 (0)	49.33	19.71	30.10	85.16
14	50 (0)	9 (2)	75 (0)	49.96	4.63	33.45	46.01
15	50 (0)	5 (0)	25 (-2)	48.00	12.78	26.33	46.92
16	50 (0)	5 (0)	125 (2)	47.26	9.26	29.36	56.22

¹⁾ The number of experimental conditions by central composite design

Table 33. Polynomial equations calculated by RSM program on electron donating ability, superoxide dismutase like activity, tyrosinase inhibition ability, and ACE inhibition activity of microwave-assisted extraction condition for roasted *Pleurotus eryngii*

Responses	Polynomial equations ¹⁾	R ²	Significance
Electron donating ability	$Y = -16.989687 + 0.699300X_1 + 2.268125X_2 + 0.274350X_3 - 0.004818X_1^2 - 0.020100X_1X_2 + 0.013437X_2^2 - 0.002260X_1X_3 - 0.013850X_2X_3 - 0.000720X_3^2$	0.9562	0.0020
Superoxide dismutase like activity	$Y = 15.328125 + 0.587250X_1 - 3.175937X_2 - 0.247000X_3 + 0.001178X_1^2 - 0.076375X_1X_2 + 0.162187X_2^2 - 0.002062X_1X_3 + 0.043425X_2X_3 + 0.000578X_3^2$	0.9849	0.0001
Tyrosinase inhibition ability	$Y = 7.663437 - 0.00695X_1 + 3.585000X_2 + 0.683350X_3 - 0.002130X_1^2 + 0.018850X_1X_2 - 0.192813X_2^2 - 0.002676X_1X_3 - 0.025700X_2X_3 - 0.002806X_3^2$	0.8577	0.0523
ACE inhibition activity	$Y = 143.01000 + 0.551850X_1 - 29.162812X_2 - 0.747600X_3 - 0.001260X_1^2 - 0.013025X_1X_2 + 1.425937X_2^2 - 0.007378X_1X_3 + 0.137525X_2X_3 + 0.003520X_3^2$	0.9917	0.0001

¹⁾ X₁ : Ethanol concentration (%), X₂ : Extraction time (min) X₃ : Microwave power (W)

Table 34. Predicted level of optimum microwave-assisted extraction condition on electron donating ability, superoxide dismutase like activity, tyrosinase inhibition ability, and ACE inhibition activity for roasted *Pleurotus eryngii* by the ridge analysis

Responses	Extraction conditions			Estimated responses	Morphology
	EtOH conc. (%)	Time (min)	Microwave power (W)		
Electron donating ability (%)	98.00	5.43	87.93	33.73(Min)	Saddle point
	42.00	8.71	58.11	52.27(Max)	
Superoxide dismutase like activity (%)	61.67	8.67	58.93	1.99(Min)	Saddle point
	82.86	2.31	58.08	34.52(Max)	
Tyrosinase inhibition ability (%)	96.64	4.26	90.46	12.19(Min)	Saddle point
	2.96	4.38	90.10	47.81(Max)	
ACE inhibition activity (%)	97.14	6.27	79.98	24.36(Min)	Saddle point
	49.49	1.24	57.86	89.69(Max)	

Table 35. Analysis of variables for regression model of electron donating ability, superoxide dismutase like activity, tyrosinase inhibition ability, and ACE inhibition activity in microwave-assisted extraction conditions of roasted *Pleurotus eryngii*

Extraction condition	F-Ratio			
	Electron donating ability	Superoxide dismutase like activity	Tyrosinase inhibition ability	ACE inhibition activity
EtOH conc. (%)	23.84***	53.54***	8.52**	27.65***
Time (min)	2.45	56.71***	0.45	132.64***
Microwave power (W)	3.10	9.44***	0.64	36.11***

***Significant at 1% level, **Significant at 5% level, *Significant at 10% level

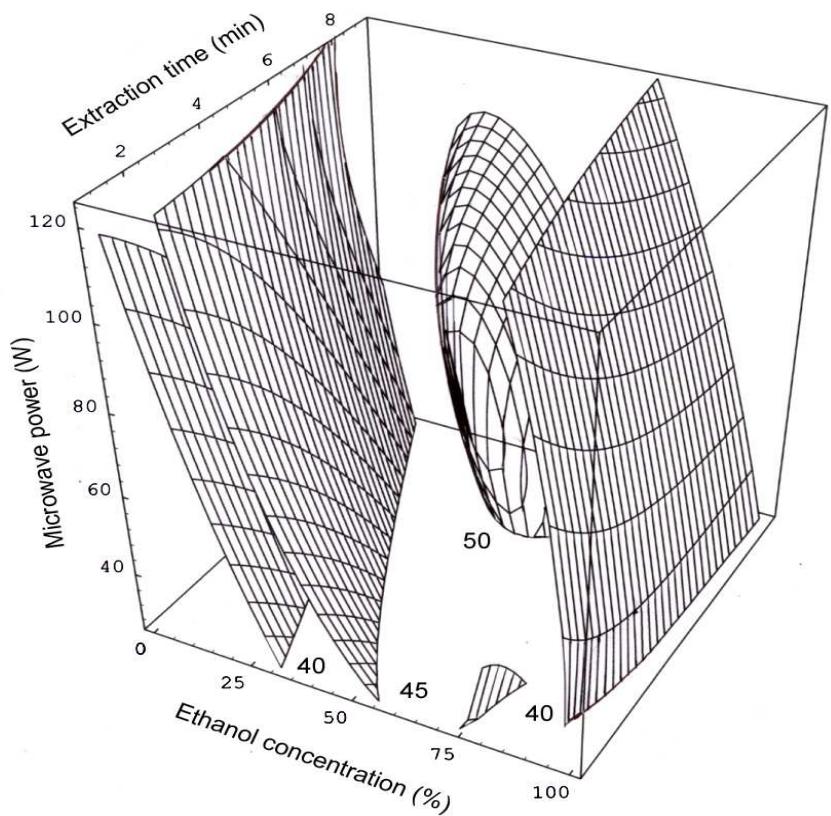


Fig. 63 Response surface for electron donating ability of roasted *Pleurotus eryngii* microwave extract at constant values (electron donating ability (%)) : 40-45-50) as a function of ethanol concentration, extraction time and microwave power.

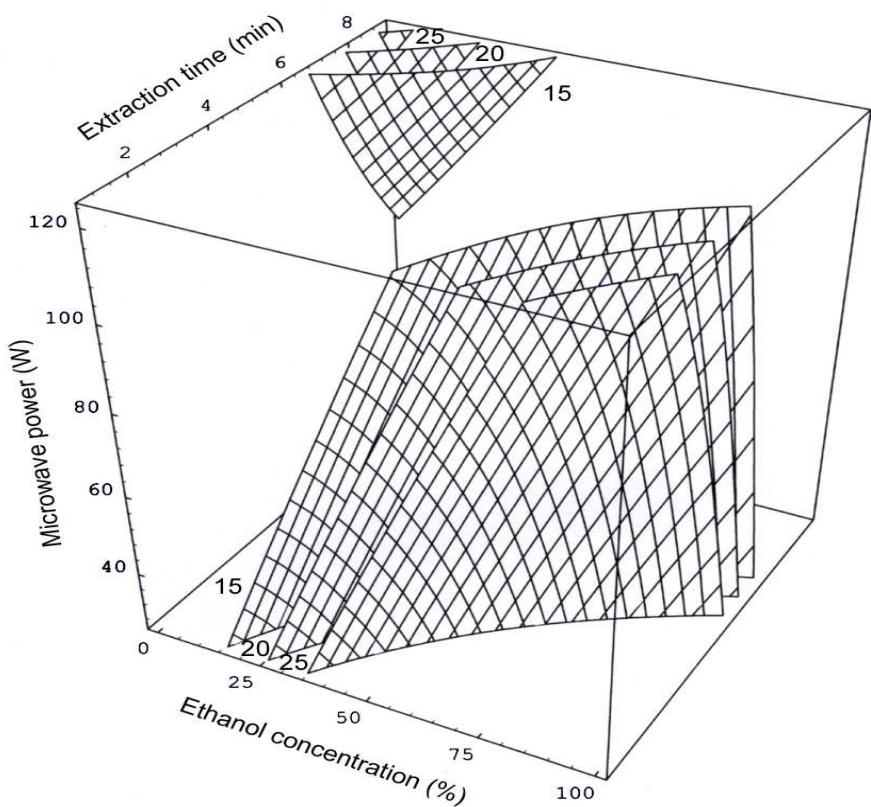


Fig. 64. Response surface for superoxide dismutase like activity of roasted *Pleurotus eryngii* microwave extract at constant values (superoxide dismutase like activity (%)) : 40-45-50) as a function of ethanol concentration, extraction time and microwave power.

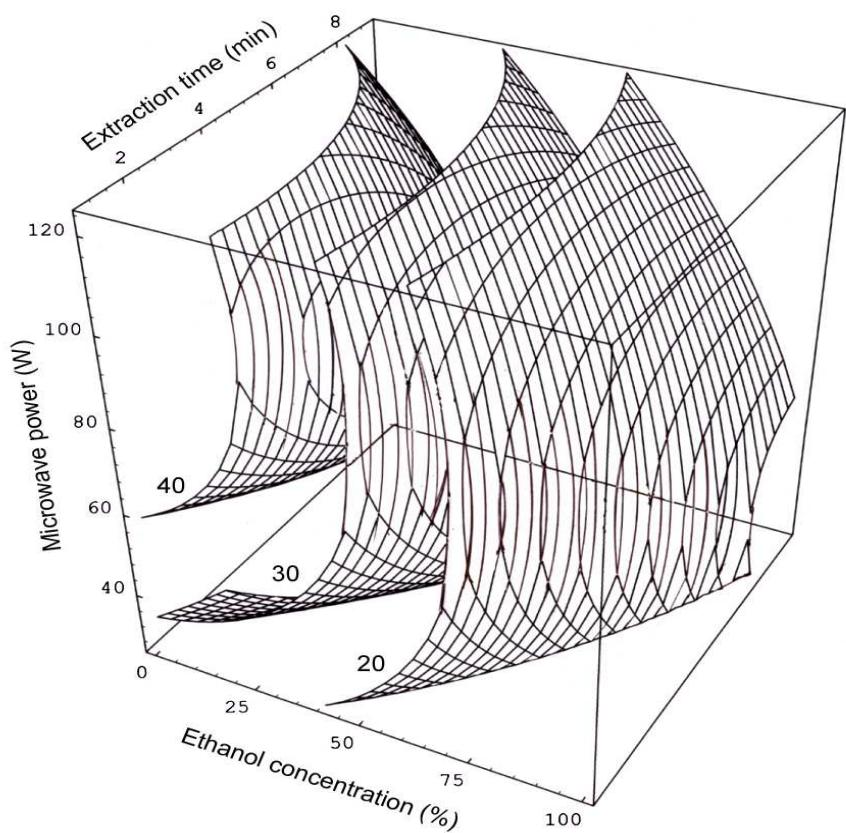


Fig. 65. Response surface for tyrosinase inhibition ability of roasted *Pleurotus eryngii* microwave extract at constant values (tyrosinase inhibition ability (%)) : 20–30–40) as a function of ethanol concentration, extraction time and microwave power.

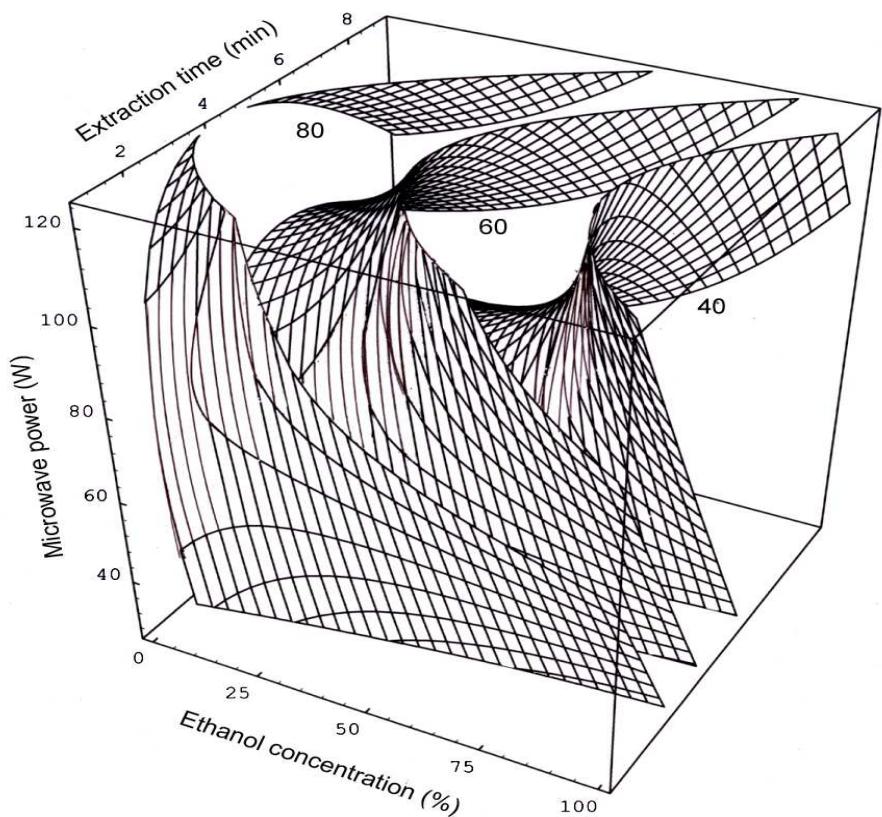


Fig. 66. Response surface for ACE inhibition activity of roasted *Pleurotus eryngii* microwave extract at constant values (ACE inhibition activity(%)) : 40-60-80) as a function of ethanol concentration, extraction time and microwave power.

5) 아질산염 소거능의 변화

마이크로웨이브 추출조건에 따른 새송이버섯의 아질산염 소거능의 변화는 Table 36과 같다. 즉 아질산염 소거능의 경우 pH 1.2 및 3.0에서 높은 활성을 지니는 것으로 나타났으며, pH 4.2 및 pH 6.0에서는 활성이 다소 낮았는데, pH 1.2에서는 60.77 ~ 93.84%였으며, pH 3.0에서는 27.77 ~ 67.17%, pH 4.2에서는 10.64 ~ 34.03% 및 pH 6.0에서는 0.00 ~ 9.94%로 나타났다. 각각의 pH에 대한 실험 치에 대하여 회귀 분석한 결과 회귀식은 Table 37과 같으며 회귀식의 R^2 은 0.9021, 0.9559, 0.9708 및 0.8102였고, pH 1.2, 3.0, 4.2의 경우 1%이내의 범위에서 유의성이 인정되었으나 pH 6.0의 경우는 10%이내의 범위에서 유의성이 인정되지 않는 것으로 나타났다. 회귀식으로 예측된 아질산염 소거능의 최대값은 pH 1.2에서 에탄올 농도 38.87%, 추출시간 4.60min 및 마이크로웨이브 파워 123.49W에서 94.13%로 예측되었으며, pH 3.0에서는 에탄올 농도 31.16%, 추출시간 7.27min 및 마이크로웨이브 파워 82.91W에서 70%로 예측되었다. (Table 38). pH 1.2 및 3.0에 대한 아질산염 소거능의 반응표면은 Fig 67, 68과 같다. 즉 pH 1.2의 아질산염 소거능에 대한 반응표면의 경우 에탄올 농도 25 ~ 50% 범위에서 최대의 활성을 지니는 반응표면으로 나타났고(Fig 67), pH 3.0에서의 아질산염 소거능에 대한 반응표면의 경우도 pH 1.2와 유사하게 에탄올 농도 25 ~ 50% 범위에서 최대의 활성을 가지는 반응표면으로 나타났다.(Fig 68) 전반적으로 아질산염 소거능의 경우 에탄올 농도에 영향을 많이 받는 경향이 있었다. (Table 39)

Table 36. Experimental data on nitrite-scavenging activity of microwave-assisted extraction condition for roasted *Pleurotus eryngii* under different conditions based on central composite design for response surface analysis

Exp. No ¹⁾ .	Extraction conditions			Ntrite-scavenging activity(%)			
	EtOH conc. (%)	Time (min)	Microwave power (W)	pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0
1	25 (-1)	3 (-1)	50 (-1)	87.91	61.76	32.23	9.79
2	25 (-1)	3 (-1)	100 (1)	90.48	63.27	33.66	7.76
3	25 (-1)	7 (1)	50 (-1)	91.58	65.56	34.03	9.94
4	25 (-1)	7 (1)	100 (1)	91.58	66.81	32.91	9.01
5	75 (1)	3 (-1)	50 (-1)	80.89	53.86	18.37	0.00
6	75 (1)	3 (-1)	100 (1)	83.39	54.57	20.09	0.00
7	75 (1)	7 (1)	50 (-1)	81.52	53.86	19.19	0.00
8	75 (1)	7 (1)	100 (1)	81.61	55.01	19.98	0.00
9	50 (0)	5 (0)	75 (0)	92.45	67.17	32.61	2.30
10	50 (0)	5 (0)	75 (0)	92.16	66.55	31.15	1.75
11	0 (-2)	5 (0)	75 (0)	82.11	63.53	33.51	8.07
12	100 (2)	5 (0)	75 (0)	60.77	27.77	10.64	0.00
13	50 (0)	1 (-2)	75 (0)	88.79	61.22	30.36	4.41
14	50 (0)	9 (2)	75 (0)	92.75	66.28	30.43	2.73
15	50 (0)	5 (0)	25 (-2)	88.52	61.93	28.75	1.13
16	50 (0)	5 (0)	125 (2)	93.84	63.98	25.07	4.87

¹⁾ The number of experimental conditions by central composite design

Table 37. Polynomial equations calculated by RSM program on nitrite-scavenging activity from microwave-assisted extraction condition for roasted *Pleurotus eryngii*

Responses	Polynomial equations ¹⁾	R ²	Significance
pH 1.2	$Y = 62.841562 + 0.716250X_1 + 2.993750X_2$ $+ 0.169050X_3 - 0.008346X_1^2 - 0.014800X_1X_2$ $- 0.095937X_2^2 + 0.000004X_1X_3$ $- 0.012450X_2X_3 - 0.000450X_3^2$	0.9921	0.0001
pH 3.0	$Y = 36.440938 + 0.668600X_1 + 3.365312X_2$ $+ 0.262100X_3 - 0.008484X_1^2 - 0.017575X_1X_2$ $- 0.194375X_2^2 - 0.000154X_1X_3$ $+ 0.000275X_2X_3 - 0.001562X_3^2$	0.9559	0.0020
pH 4.2	$Y = 19.165313 + 0.111100X_1 + 1.682500X_2$ $+ 0.308350X_3 - 0.003922X_1^2 - 0.000850X_1X_2$ $- 0.092812X_2^2 + 0.000440X_1X_3$ $- 0.008700X_2X_3 - 0.001988X_3^2$	0.9708	0.0006
pH 6.0	$Y = 17.760313 - 0.238900X_1 - 1.0558125X_2$ $- 0.090550X_3 + 0.000804X_1^2 - 0.003500X_1X_2$ $+ 0.096562X_2^2 + 0.000592X_1X_3$ $+ 0.002750X_2X_3 + 0.000390X_3^2$	0.8102	0.1080

¹⁾ X₁ : Ethanol concentration (%), X₂ : Extraction time (min) X₃ : Microwave power (W)

Table 38. Predicted level of optimum microwave-assisted extraction condition on nitrite-scavenging activity for roasted *Pleurotus eryngii* by the ridge analysis

Responses	Extraction conditions			Estimated responses	Morphology
	EtOH conc. (%)	Time (min)	Microwave power (W)		
pH 1.2	99.94	5.12	73.06	61.62(Min)	Maximum
	38.87	4.60	123.49	94.13(Max)	
pH 3.0	99.98	5.10	74.29	31.44(Min)	Maximum
	31.16	7.27	82.91	70.00(Max)	
pH 4.2	99.99	4.99	73.79	8.70(Min)	Maximum
	17.51	5.81	66.88	35.33(Max)	
pH 6.0	69.55	5.14	71.15	0.36(Min)	Minnum
	0.31	5.20	70.06	11.38(Max)	

Table 39. Analysis of variables for regression model of nitrite-scavenging activity in microwave-assisted extraction conditions of roasted *Pleurotus eryngii*

Extraction condition	F-Ratio			
	Nitrite-scavenging activity (%)			
	pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0
EtOH conc. (%)	151.51***	29.50***	48.43***	6.33***
Time (min)	3.40*	0.86	0.26	0.11
Microwave power (W)	3.74*	0.48	1.86	0.12

***Significant at 1% level, **Significant at 5% level, *Significant at 10% level

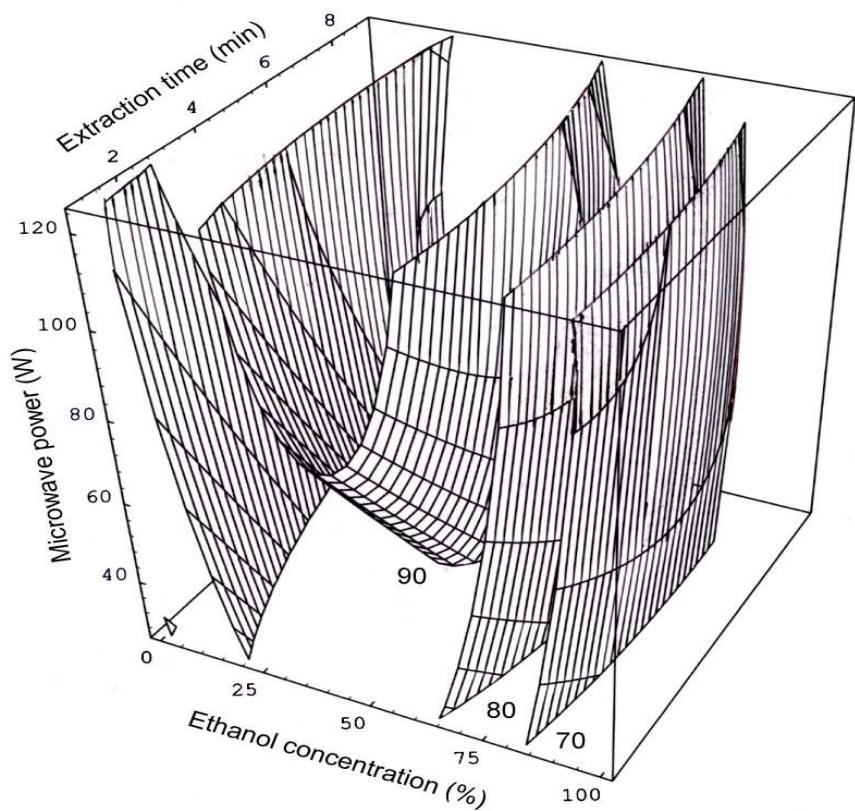


Fig. 67. Response surface for nitrite-scavenging activity(pH 1.2) of roasted *Pleurotus eryngii* microwave extract at constant values (nitrite-scavenging activity(%)) : 70-80-90) as a function of ethanol concentration, extraction time and microwave power.

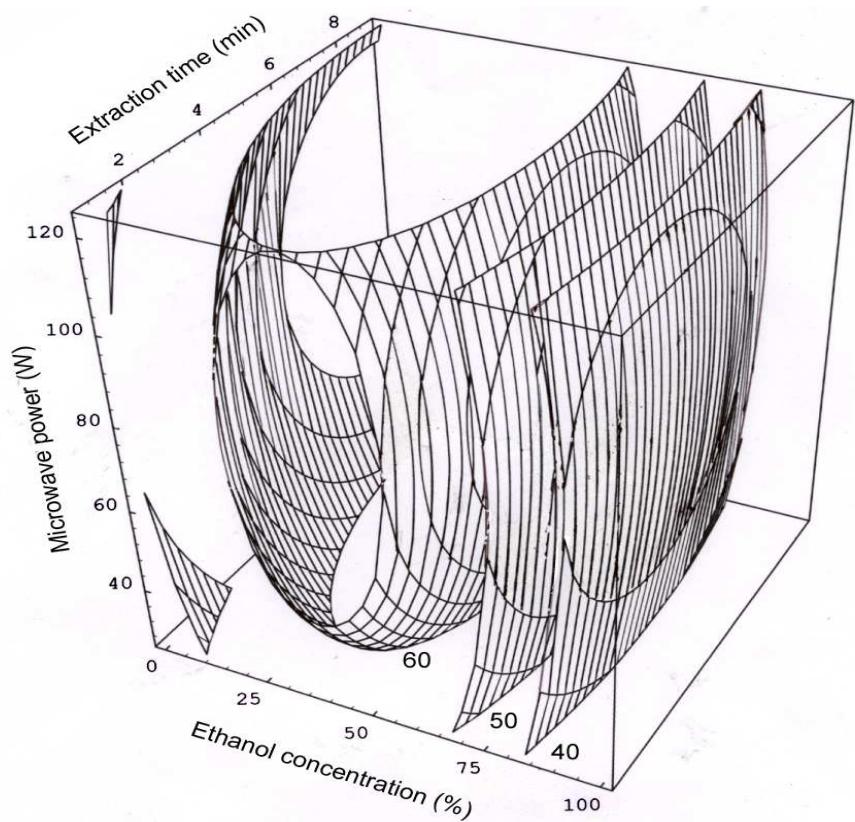


Fig. 68. Response surface for nitrite-scavenging activity(pH 3.0) of roasted *Pleurotus eryngii* microwave extract at constant values (nitrite-scavenging activity(%)) : 40-50-60) as a function of ethanol concentration, extraction time and microwave power.

7. 환류 및 마이크로웨이브 추출조건의 최적화

가. 환류추출조건 최적화

환류 추출공정은 기존의 식품공업에서 많이 사용하는 추출방법으로 알려져 있다. 앞서 실험한 내용을 바탕으로 환류 추출조건을 최적화를 하고자 하였다. 새송이버섯의 기능적 특성에 영향을 주는 물질은 폐놀성 화합물인 것으로 나타났다. 본 연구에서 환류추출의 조건에 가용성 고형분 함량(Fig. 26)과 총 폐놀성 화합물 함량 변화(Fig. 27)의 형태가 유사하였다. 따라서 유용성분 최적 추출조건 설정을 위하여 총 폐놀성 화합물 함량과 수소공여능, ACE 저해활성 및 pH 1.2에서의 아질산염 소거능에 대한 반응표면을 겹치기 하여 여러 가지 기능성을 지니도록 새 송이버섯의 최적 환류추출조건을 설정하고자 하였다. 그 결과 Fig. 69와 같은 반응표면으로 나타낼 수 있었다. 즉 새송이버섯의 기능성을 다량 함유하는 최적 환류추출조건으로 에탄올 농도 30 ~ 50%, 추출시간 6 ~ 9 hr 및 추출온도 76 ~ 100°C로 나타났다.

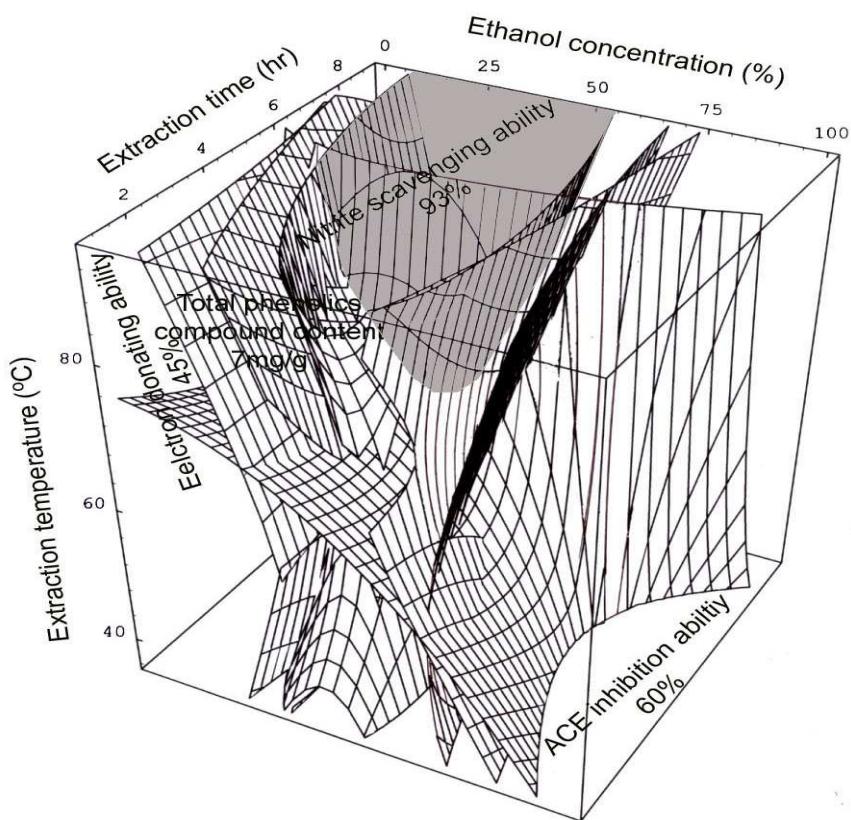


Fig. 69. Superimposed response surface for optimization of reflux extraction condition of roasted *Pleurotus eryngii* as a function of ethanol concentration, extraction time and temperature.

나. 마이크로웨이브 추출조건 최적화

마이크로웨이브 추출은 현재 대량공정으로 이용되고 있지는 않지만 앞으로 이용가능성이 있으므로 마이크로웨이브의 단시간 내에 물질을 추출할 수 있는 장점을 이용하여 새송이버섯의 기능성 물질 최적추출조건을 설정하고자 하였다. 마이크로웨이브 추출 시 총 폐놀성 화합물 함량의 변화(Fig. 61)는 가용성 고형분 함량의 변화(Fig. 62)와 유사한 형태를 나타낸다. 따라서 마이크로웨이브 최적 추출조건 설정을 위하여 총 폐놀성 화합물 함량, 수소공여능, ACE 저해활성 및 pH 1.2에서의 아질산염 소거능의 반응표면을 겹치기 해 보았다. 그 결과 Fig. 70과 같은 반응표면을 얻을 수 있었다.

그 결과, 새송이버섯의 기능성이 높게 나타날 수 있는 마이크로웨이브 최적추출조건은 에탄올 농도 25~50%, 추출시간 3~9 min, 마이크로웨이브 파워 80~125W일 때로 나타났다.

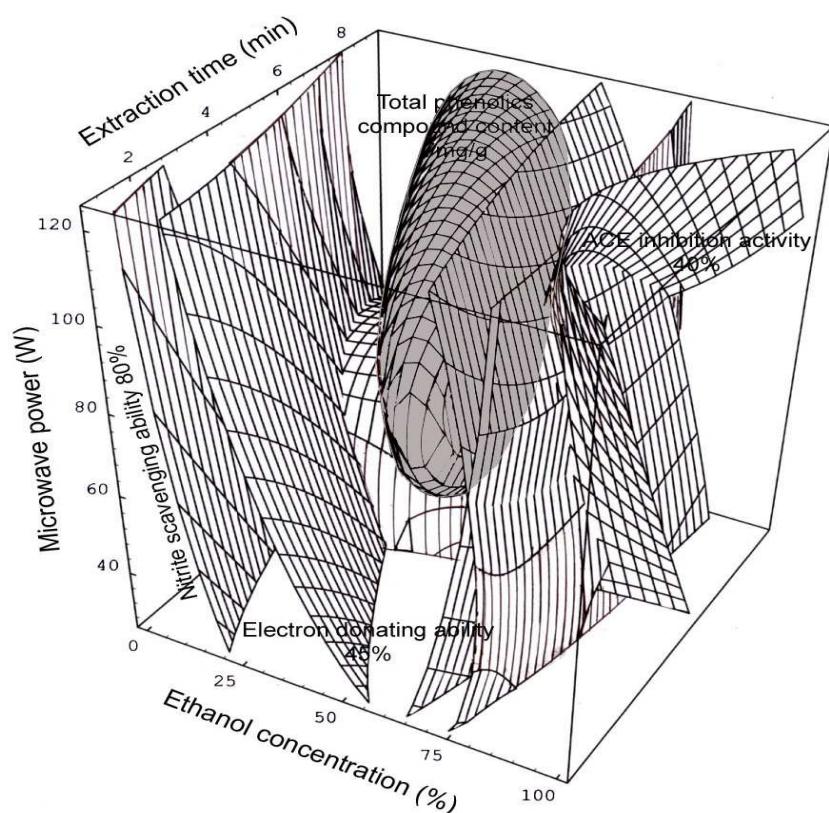


Fig. 70. Superimposed response surface for optimization of microwave extraction condition of roasted *Pleurotus eryngii* as a function of ethanol concentration, extraction time and microwave power.

다. 최적화된 추출물의 예측 및 실증

새송이버섯의 기능성 물질을 많이 추출할 수 있는 환류추출 및 마이크로웨이브 추출의 최적조건으로 설정된 범위에서 임의의 점에서의 예측 및 실증실험을 하여 두 추출방법을 비교해 보았다. 즉 예측된 최적추출조건의 범위에서 임의의 점으로 환류추출조건은 에탄올 농도 40%, 추출시간 7hr 및 추출온도 85°C로 추출하였으며, 마이크로웨이브 추출은 에탄올 농도 40%, 추출시간 6min 및 마이크로웨이브 파워 100W로 추출하여 예측된 값과 각각 비교하였으며, 또한 두 추출조건을 비교해 보았다. 그 결과 Table 40과 같이 반응표면분석에 의한 회귀식으로 예측된 값과 실증 값은 유사한 것으로 나타났으며 회귀식의 신뢰성을 인정할 수 있었다. 또한 두 추출조건을 비교해본 결과 두 추출조건의 최적화된 조건에서의 추출물은 가용성 고형분 함량, 총 폐놀성 화합물 함량, 수소공여능, 아질산염 소거능의 경우 유사하였으나, ACE 저해능의 경우 환류추출물이 더 높은 것으로 나타났다.

Table 40. Comparison between predicted and observed value for optimum condition

Analysis item	Extraction condition			
	Reflux extraction ¹⁾		Microwave extraction ²⁾	
	Predicted value	Observed value	Predicted value	Observed value
Soluble solid content (%)	47.84	46.95±0.24	47.38	48.03±0.78
Total phenolics compound content (mg/g)	7.78	7.91±0.13	7.20	7.42±0.21
Electron donating ability (%)	49.70	50.02±0.56	49.41	51.28±0.92
ACE inhibition activity (%)	71.75	72.21±0.84	49.74	51.21±0.79
Nitrite scavenging acitivity (%)	96.63	95.72±0.25	94.05	95.34±0.24

¹⁾ Reflux extraction : ethanol concentration 40%, extraction time 7hr and extraction temperature 85°C

²⁾ Microwave extraction condition : ethanol concentration 40%, extraction time 6 min and microwave power 100W

라. 최적 추출조건에서의 페놀산 조성

새송이버섯의 기능적 특성을 나타내는 물질이 페놀성 화합물인 것으로 보고되어져 있으므로 그 페놀성 화합물에 있어서 페놀산을 분석해 보았다. 즉 환류추출의 최적조건과 새송이버섯의 최적 조건에서의 페놀산을 분석한 결과 Table 41와 같다. 페놀산으로는 protocatechuic acid, p-hydroxybenzoic acid, catechin, coumaric acid, salicylic acid, hesperidin이 검출되었으며, 이 중 protocatechuic acid가 주로 검출되었으며, 다음으로 salicylic acid, catechin, p-hydroxybenzoic acid 순이었다.

Table 41. Phenolic acid of roasted *Pleurotus eryngii* extracts for optimum condition

(Unit : mg/g)

Phenolic acid	Extraction condition	
	Reflux extraction ¹⁾	Microwave extraction ²⁾
Protocatechuic acid	0.89	1.23
p-hydroxybenzoic acid	0.05	0.04
Catechin	0.05	0.04
Caffeic acid	0.02	0.01
Coumaric acid	0.01	0.01
Salicylic acid	0.09	0.08
Hesperidin	0.01	0.01

¹⁾²⁾ Names refer to Table 40

8. 새송이버섯 소재의 가공을 위한 농축액 제조 및 품질 비교

가. 새송이버섯 농축액 제조

새송이버섯 추출물 그 자체로 음료를 제조할 수 있으나 이 경우 대단위 제조 시 추출물의 보관상 문제가 발생할 수 있으므로 농축액으로 제조하고자 하였다. 환류추출은 최적 추출조건인 추출온도 85°C, 추출시간 7 hr 및 에탄올 농도 40%로 추출하였으며, 마이크로웨이브 추출은 최적 추출조건으로 설정된 마이크로웨이브 파워 125W, 추출시간 6 min 및 에탄올 농도 40%로 추출하였다. 새송이버섯 추출물을 규조토 여과한 후 농축기(Heidolph, Laborota 4001)를 이용해 water bath 온도 60°C에서 50배로 농축을 하여 60°Brix의 농축액을 얻었다.

나. 추출액 및 농축액 품질비교

환류 및 마이크로웨이브 추출물의 추출액 및 농축액 성분의 품질을 비교하기 위해서 동일한 농도로 즉 가용성 고형분 함량 1 g/100 mL 이 되도록 희석을 하였다. 같은 농도로 희석된 추출액 및 농축액을 대상으로 품질비교를 하였다.

1) 총 폐놀성 화합물 함량

환류 및 마이크로웨이브 최적추출조건에서의 추출물 및 이를 농축한 농축액의 총 폐놀성 화합물 함량은 차이가 없었다. (Fig. 71). 이는 농축으로 인한 총 폐놀성 화합물 함량에 있어서는 차이가 없는 것으로 보이며, 이는 통계적으로도 유의적인 차이가 없었다.

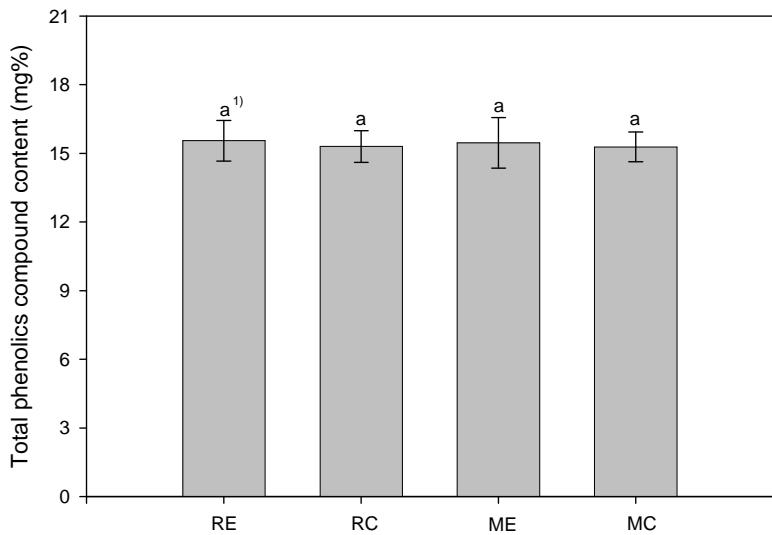


Fig. 71. Comparison of total phenolics compound content between extracts and concentration of reflux and microwave-assisted extraction

¹⁾Means with the same letter on bars are not significantly different ($p<0.05$)

²⁾Abbreviation : RE ; Reflux extracts, RC ; Reflux extraction concentrates

ME ; Microwave extracts, MC ; Microwave concentrates

2) 페놀산 함량

새송이버섯의 환류 및 마이크로웨이브 추출액과 농축액에 대한 페놀산 함량을 분석한 결과 Table 42와 같다. 즉 주된 페놀산으로는 protocatechuic acid, p-hydroxybenzoic acid, catechin, salicylic acid이 검출되었다. 환류 추출의 경우 추출액 및 농축액에 있어서 protocatechuic acid, caffeic acid, cumaric acid는 농축에 되어짐에 따라 다소 감소하였으며, p-hydroxybenzoic acid, catechin, salicylic acid는 다소 증가하였다. 마이크로웨이브 추출의 경우 추출액 및 농축액에서 protocatechuic acid, catechin, cumaric acid, salicylic acid는 농축이 되어짐에 따라 감소하는 것으로 나타났으며, p-hydroxybenzoic acid, caffeic acid는 다소 증가하는 것으로 나타났다.

Table 42. Phenolic acids content of extracts and concentration of reflux and microwave-assisted extraction

(unit : mg%, 10000ppm)

		RE	RC	ME	MC
Phenolic acid	Protocatechuic acid	2.06	1.94	2.62	2.19
	p-hydroxybenzoic acid	0.11	0.15	0.07	0.13
	Catechin	0.12	0.15	0.09	-
	Caffeic acid	0.04	0.03	0.02	0.06
	Cumaric acid	0.02	0.00	0.02	0.01
	Salicylic acid	0.21	0.25	0.17	0.12
	Hesperidin	0.02	0.02	0.01	0.03

*Abbreviation refer to Fig 71

3) 전자공여능

새송이버섯의 마이크로웨이브 추출액의 농축물의 경우 추출액에 비해 전자공여능이 더 높은 것으로 나타났으며, 환류추출물의 농축액보다도 더 높은 활성을 나타내었다. (Fig. 72).

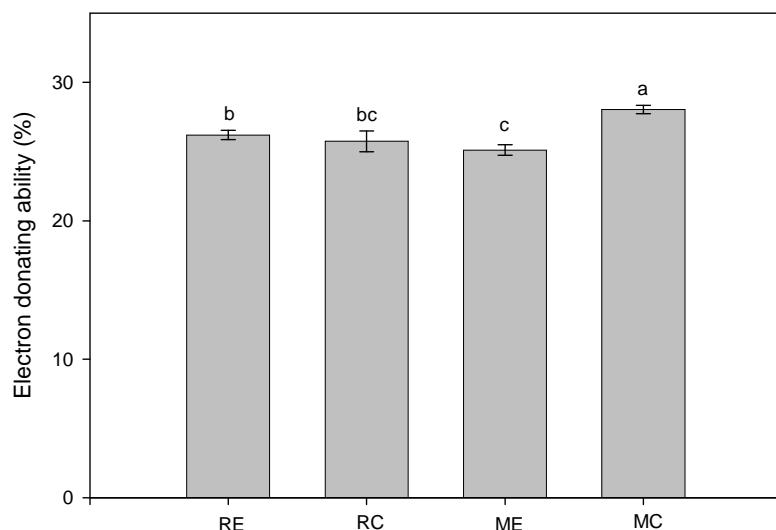


Fig. 72. Comparison of electron donating ability compound content between extracts and concentration of reflux and microwave-assisted extraction.

¹⁾Means with the same letter on bars are not significantly different ($p<0.05$)

²⁾Abbreviation refer to Fig 71

4) Tyrosinase 저해활성

Tyrosinase의 경우 Fig. 73과 같이 추출물을 농축함으로서 그 활성이 감소하는 것으로 나타났으며, 환류 추출의 추출물이 가장 높은 활성을 지니는 것으로 나타났다.

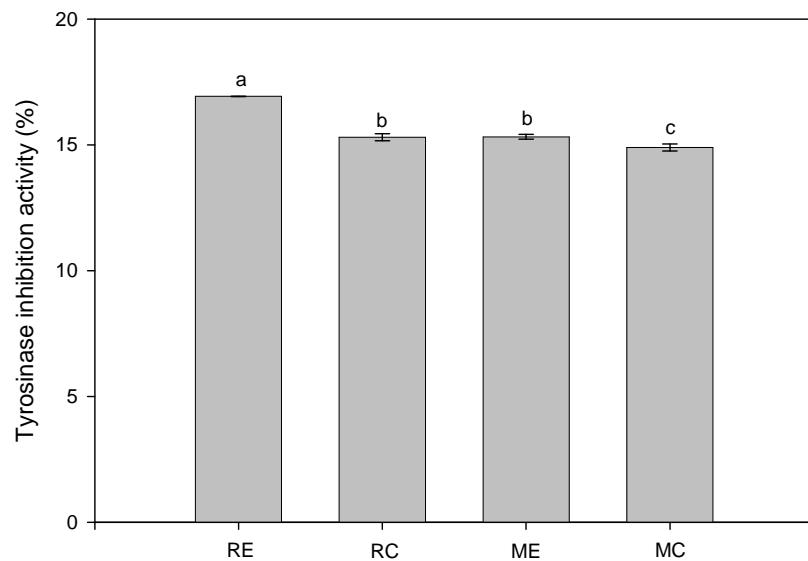


Fig. 73. Comparison of tyrosinase inhibition activity(%) compound content between extracts and concentration of reflux and microwave-assisted extraction.

¹⁾Means with the same letter on bars are not significantly different ($p<0.05$)

²⁾Abbreviation refer to Fig 71

5) ACE 저해능

ACE 저해능의 경우 Fig. 74에서 보는바와 같이 추출물보다 농축물이 대략 2배정도 높은 활성을 지니는 것으로 나타났으며, 환류추출의 추출물 및 농축물이 마이크로웨이브 추출물 및 농축물에 비해 다소 높은 활성을 지니는 것으로 나타났다.

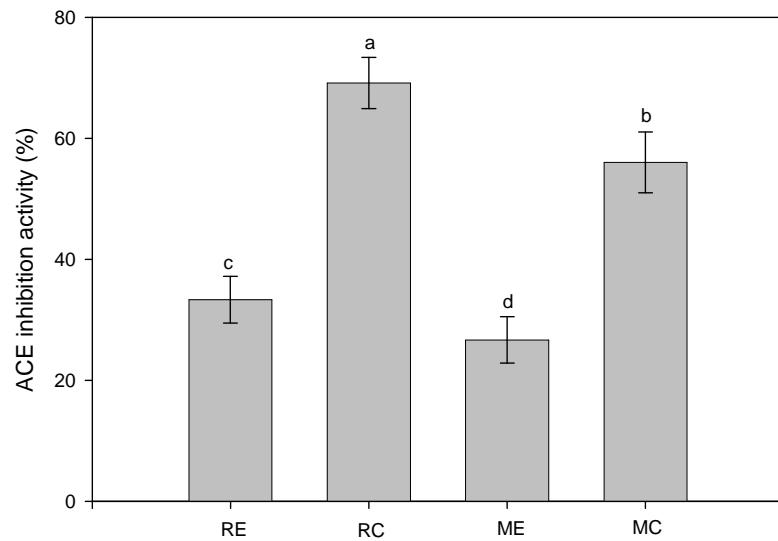


Fig. 74. Comparison of ACE inhibition activity(%) compound content between extracts and concentration of reflux and microwave-assisted extraction.

¹⁾Means with the same letter on bars are not significantly different ($p<0.05$)

²⁾Abbreviation refer to Fig. 71.

6) 아질산염 소거능

환류 및 마이크로웨이브 추출의 추출물 및 농축물의 아질산염 소거능은 Fig 75 ~ 76와 같다. 즉 pH 1.2에서는 환류 추출의 경우 추출물 농축물에 있어서 통계적으로 유의적인 차이가 없었으며, 마이크로웨이브 추출의 경우 농축물이 추출물에 비해 더 높은 활성을 가지고 있었다. 반면에 pH 3.0에서는 추출방법 또는 추출물 및 농축물에 있어서 큰 차이가 없는 것으로 나타났다.

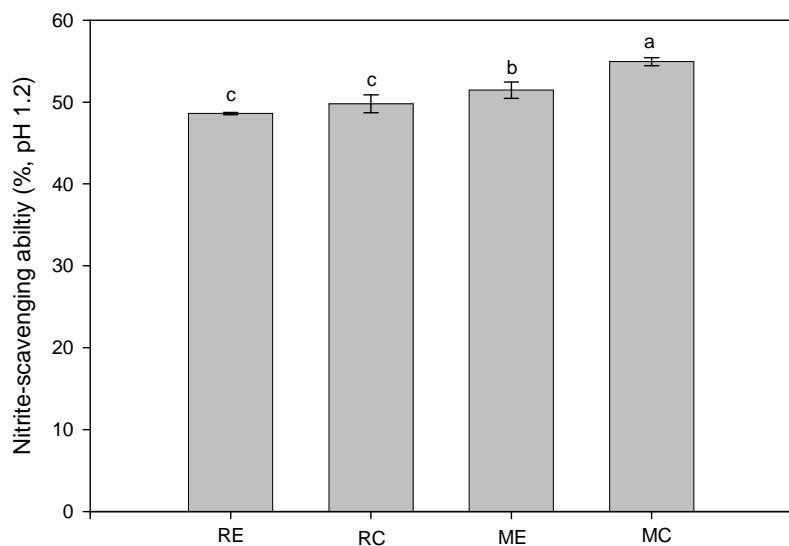


Fig. 75. Comparison of nitrite-scavenging ability(pH 1.2) compound content between extracts and concentration of reflux and microwave-assisted extraction.

¹⁾Means with the same letter on bars are not significantly different ($p<0.05$)

²⁾Abbreviation refer to Fig. 71

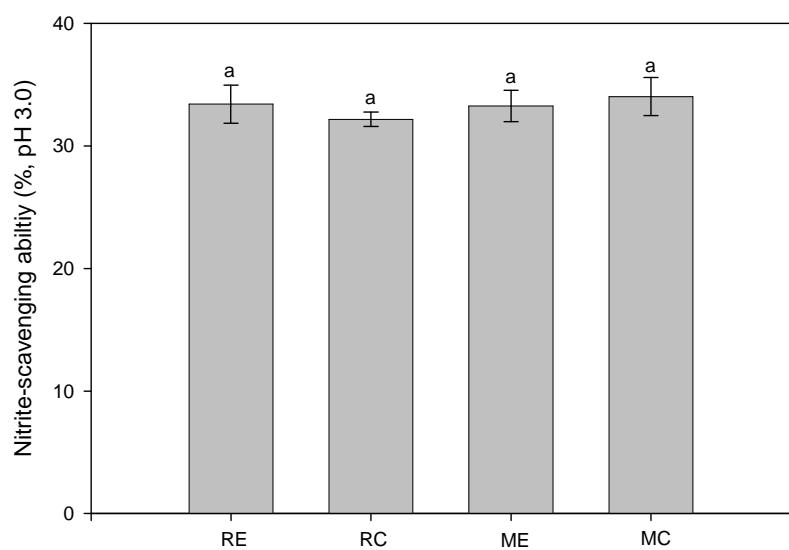


Fig. 76. Comparison of nitrite-scavenging ability(pH 3.0) compound content between extracts and concentration of reflux and microwave-assisted extraction.

¹⁾Means with the same letter on bars are not significantly different ($p<0.05$)

²⁾Abbreviation refer to Fig. 76

9. 새송이버섯을 이용한 가공적성 평가

새송이버섯 추출 농축액을 이용하여 가공적성 평가를 위하여 현재 추출 시 환류추출이 많이 활용되고 있으나, 마이크로웨이브 추출은 대량 상용화 되어져 있지는 않다. 따라서 최적 환류추출 농축액을 사용하여 음료 및 스프를 제조하고 제조된 최적 배합 비를 마이크로웨이브 최적 추출농축액에 적용해서 새송이버섯 음료 및 스프의 가공적성 모델을 설정하고자 하였다.

가. 새송이버섯 음료 제조

1) 새송이버섯 음료 제조조건 설정

새송이버섯의 추출물의 농축액의 경우 다소 쓴맛이 있었다. 따라서 음료 제조 시 이러한 쓴맛을 감소시키고자 감초 농축액 및 사과농축액을 첨가하여 새송이버섯 고유의 맛과 향을 살리고자 하였다. 즉 새송이버섯 농축액의 고형분 함량을 1%가 되도록 조정하여 희석을 하고 다른 부재료를 첨가한 후 감초 농축액 0.01~0.09% 및 사과농축액 0.1~0.5%에 따른 중심합성실험계획에 따라 제조한 후 색, 향, 맛 전반적인 기호도에 대해 반응표면분석하여 최적 배합 비를 설정하고자 하였다. (Table 43, 44).

Table 43. Experimental designing for levels of recipe coditions for *Pleurotus eryngii* beverage

X _i	recipe conditions	Level				
		-2	-1	0	1	2
X ₁	Licorice root concentration	0.01	0.03	0.05	0.07	0.09
X ₂	Apple concentration	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5

Table 44. Central composite designing for two independent variables at five levels of mix conditions for *Pleurotus eryngii* beverage

Exp. No.	Licorice concentrate (%)	Apple concentr ate (%)	Other materials
1	0.07 (1)	0.4 (1)	
2	0.07 (1)	0.2(-1)	
3	0.03 (-1)	0.4(1)	- Fructose 13%
4	0.03 (-1)	0.2(-1)	- Citric acid 0.15%
			- Coffee flavor 0.05%
5	0.05 (0)	0.3(0)	- Others : <i>Pleurotus eryngii</i> extract (10000ppm)
6	0.05 (0)	0.3(0)	
7	0.09 (2)	0.3(0)	
8	0.09 (0)	0.5(2)	
9	0.01 (-2)	0.3(0)	
10	0.03 (0)	0.1(-2)	

2) 관능적 특성 변화

가) 관능적 색상의 변화

부재료 감초농축액 및 사과농축액에 따른 색상의 변화의 경우 5.42 ~ 6.12로 큰 변화를 없었으며(Table 45), 반응표면회귀식의 경우 Table 46과 같이 R^2 은 0.8453으로 10%이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 반응표면은 Fig 77과 같이 최대값을 가지는 형태로 나타났으며, 감초 농축액 0.06% 및 사과 농축액 0.33% 첨가 하였을 때 최대의 관능평점으로 예측되었다. (Table 47). 또한 관능적 색상 값은 감초농축액 및 사과농축액에 골고루 영향을 받는 것으로 나타났으나, 전반적인 관능평점에는 큰 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. (Table 48).

나) 관능적 향의 변화

부재료로 감초농축액 및 사과농축액 첨가에 따른 새송이버섯 음료의 향의 변화를 살펴본 결과 5.50 ~ 6.00으로 큰 변화가 없는 것으로 나타났다. (Table 45). 반응표면 회귀식의 경우 Table 46과 같이 R^2 은 0.8746으로 10%이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 반응표면은 Fig. 78과 같이 감초농축액의 첨가량이 증가함에 따라 관능적인 향의 평점이 감소하였으며, 감초농축액 0.01% 및 사과농축액 0.30%일 때 향에 대한 관능평점이 가장 높은 값을 갖는 것으로 예측되었다. (Table 47). 전반적으로 감초 농축액이 관능적인 향에 영향을 많이 주는 것으로 나타났다. (Table 48).

다) 관능적 맛의 변화

새송이버섯 농축액은 다소 쓴맛이 있기 때문에 이를 보완하기 위하여 감초농축액 및 사과농축액을 첨가하고자 하였다. 이러한 감초농축액 및 사과농축액 첨가량에 따른 새송이버섯 음료의 맛의 변화를 살펴본 결과 Table 45와 같이 5.07 ~ 5.35로 나타났다. 반응표면 회귀식의 경우 Table 46과 같으며, 즉 R^2 은 0.7821로 10%이내의 범위에서 유의성이 인정되지 않았다. 반응표면은 Fig. 79에서 보는바와 같이 최대점의 형태로 나타났으며, 전반적으로 감초농축액에 영향을 받는 것으로 나타났다. (Table 48). 감초농축액 0.06%, 사과농축액 0.33%일 때 새송이버섯 음료의 맛에 대한 관능평점이 최대로 예측되었다. (Table 47).

라) 전반적인 기호도의 변화

새송이버섯 음료 제조 시 감초농축액 및 사과농축액 첨가에 따른 전반적인 기호도 변화를 살펴본 결과 Table 45와 같이 5.52 ~ 5.86으로 나타났다. 반응표면 회귀식의 경우 R^2 은 0.8027이었으며 (Table 46), 전반적인 기호도에 대한 반응표면은 감초농축액 0.05% 및 사과

농축액 0.38%일 때 최대의 관능평점을 나타내는 최대점의 형태로 나타났다. (Fig. 80, Table 47).

Table 45. Experimental data on organoleptic properties of roasted *Pleurotus eryngii* beverage under condition based on central composite design for response surface analysis

Exp. No ¹⁾	Recipe condition		Organoleptic properties			
	Licorice concentrate (%)	Apple concentrate (%)	Color	Flavor	Taste	Overall palatability
1	0.07 (1)	0.4 (1)	5.91	5.67	5.30	5.75
2	0.07 (1)	0.2(-1)	5.84	5.72	5.23	5.60
3	0.03 (-1)	0.4(1)	5.55	5.83	5.07	5.72
4	0.03 (-1)	0.2(-1)	5.48	5.84	5.03	5.59
5	0.05 (0)	0.3(0)	6.12	5.79	5.38	5.86
6	0.05 (0)	0.3(0)	6.11	5.67	5.35	5.82
7	0.09 (2)	0.3(0)	5.95	5.50	5.25	5.71
8	0.05 (0)	0.5(2)	5.83	5.52	5.24	5.78
9	0.01 (-2)	0.3(0)	5.42	6.00	5.02	5.69
10	0.05 (0)	0.1(-2)	5.45	5.63	5.19	5.52

¹⁾ The number of experimental conditions by central composite design

Table 46. Polynomial equations calculated by RSM program on organolpetic properties of recipe condition for roasted *Pleurotus eryngii* beverage

Responses	Polynomial equations ¹⁾	R ²	Significance
Color	$Y = 3.878876 + 30.831845X_1 + 7.044643X_2 - 234.151786X_1^2 + 0.00X_1X_2 - 10.491071X_2^2$	0.8453	0.0890
Flavor	$Y = 5.638564 - 3.855655X_1 + 2.636310X_2 + 0.223214X_1^2 - 5.00X_1X_2 - 4.366071X_2^2$	0.8746	0.0604
Taste	$Y = 4.544717 + 14.949405X_1 + 1.755357X_2 - 123.660714X_1^2 + 3.7500X_1X_2 - 2.946429X_2^2$	0.7521	0.2054
Overall palatability	$Y = 5.062485 + 6.681548X_1 + 2.995238X_2 - 70.982143X_1^2 + 2.5000X_1X_2 - 4.089286X_2^2$	0.8027	0.1380

¹⁾ X₁ : Licorice concentrate (%), X₂ : Apple concentrate (%)

Table 47. Predicted level of optimum recipe condition on organoleptic properties for roasted *Pleurotus eryngii* beverage by the ridge analysis

Responses	Recipe condition		Estimated responses	Morphology
	Licorice concentrate (%)	Apple concentrate (%)		
Color	0.02	0.19	5.29(Min)	Maximum
	0.06	0.33	6.08(Max)	
Flavor	0.07	0.46	5.47(Min)	Saddle point
	0.01	0.30	5.98(Max)	
Taste	0.01	0.30	4.95(Min)	Maximum
	0.06	0.33	5.33(Max)	
Overall palatability	0.05	1.00	5.49(Min)	Maximum
	0.05	0.38	5.82(Max)	

Table 48. Analysis of variables for regression model of organoleptic properties in recipe conditions of roasted *Pleurotus eryngii* beverage

Recipe condition	F-Ratio			
	Organoleptic properties			
	Color	Flavor	Taste	Overall palatability
Licorice concentrate (%)	5.38*	6.89**	3.89	0.91
Apple concentrate (%)	3.29	1.94	0.67	5.28*

**Significant at 5% level, *Significant at 10% level

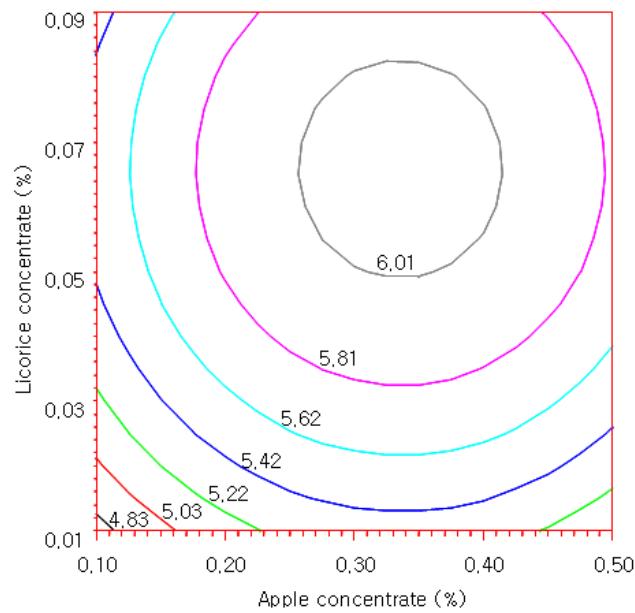


Fig. 77. Contour map for organoleptic color of roasted *Pleurotus eryngii* beverage as a function of licorice and apple concentrate.

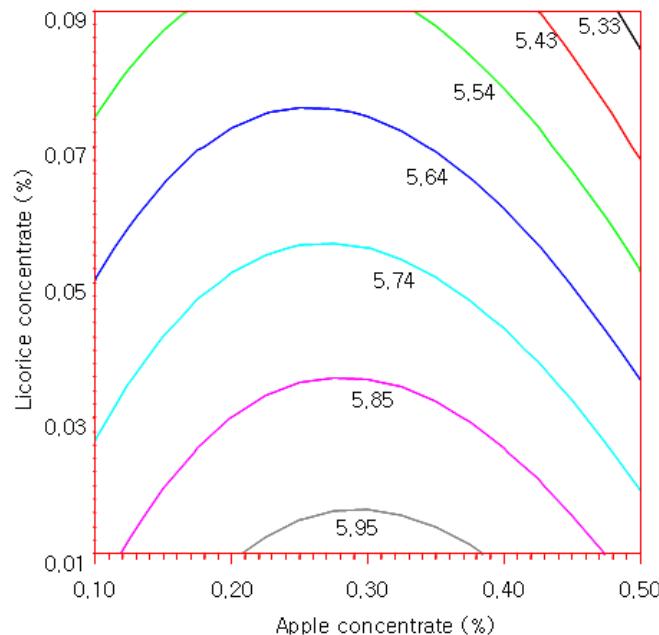


Fig. 78. Contour map for organoleptic flavor of roasted *Pleurotus eryngii* beverage as a function of licorice and apple concentrate.

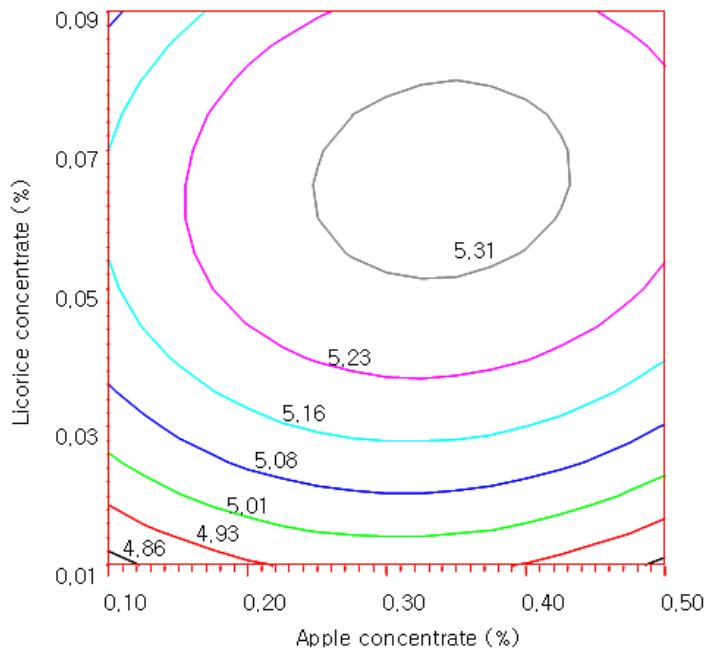


Fig. 79. Contour map for organoleptic taste of roasted *Pleurotus eryngii* beverage as a function of licorice and apple concentrate.

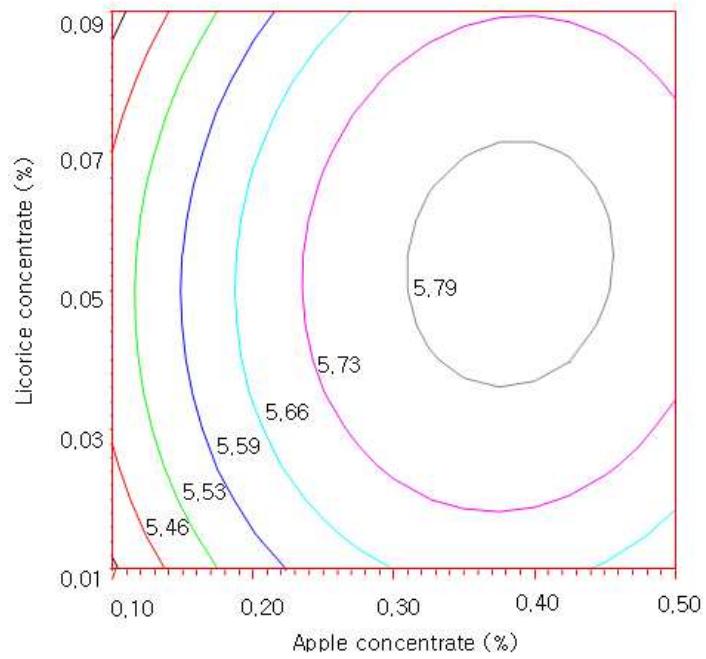


Fig. 80. Contour map for overall palatability of roasted *Pleurotus eryngii* beverage as a function of licorice and apple concentrate

3) 최적 배합조건 설정

새송이버섯 음료 제조 시 부재료의 최적 배합조건을 설정하기 위하여 앞서 행한 관능검사 즉 색상, 향, 맛, 전반적인 기호도의 반응표면을 겹치기 한 결과 Fig .81과 같다. 즉 감초농축액 0.05~0.07% 및 사과농축액 0.31~0.41%에서 최적 새송이버섯 음료제조배합비로 나타났다.

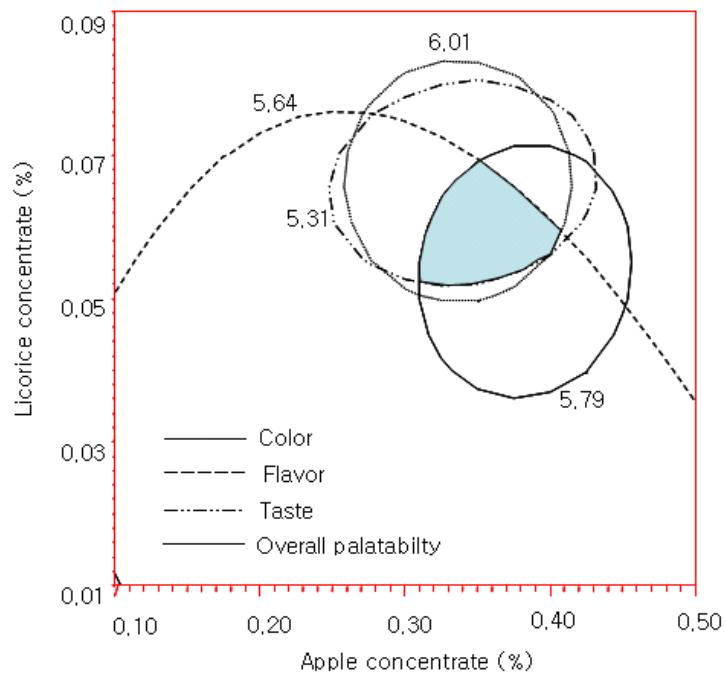


Fig. 81. Superimposed contour map of optimized recipe conditions for organoleptic properties of roasted *Pleurotus eryngii* beverage as a function of licorice and apple concentrate.

나. 새송이버섯 스프 제조

1) 새송이버섯 스프 제조조건 설정

새송이버섯 스프 제조에 있어 기존의 버섯스프는 버섯의 향과 맛에 부족함이 있었으므로 버섯 자체의 맛과 향을 증가시키기 위해 새송이버섯 분말가루 및 최적 추출조건으로 농축한 새송이버섯 농축액을 첨가하고자 하였다. (Table 49). 새송이버섯 분말가루의 경우는 볶음 처리한 새송이버섯 분말을 첨가하여 시각효과를 살리고자 하였으며 이와 더불어 새송이버섯을 동결 건조한 분말을 첨가하여 씹히는 맛을 강조하고자 하였다. 기본적인 스프의 배합 비율은 식물성크림 28.40%, 밀가루 15.20%, 옥수수분말 35.50%, 설탕 1.35%, 소금 1.84%, 마늘분말 1.16%, 조미료 6.10%, 버터 9.95% 후추 0.50%로 설정하였다. 이러한 기본배합비로 설정된 스프믹스를 Table 50과 같이 설정된 볶음 새송이버섯 분말가루 0~4%, 새송이버섯 농축액 0~0.8%를 제외하고 나머지 함량으로 혼합하여 스프혼합물을 제조하였다. 이렇게 제조한 스프혼합물 40g에 물 300ml를 가하고 5분간 가열 후 냉각하여 제조한 새송이버섯 스프를 색, 향, 맛 및 전반적인 기호도에 대해 관능평가를 실시하여 최적 배합조건을 설정하고자 하였다.

Table 49. Experimental designing for levels of recipe conditions for *Pleurotus eryngii* soup

X_i	Recipe conditions	Level				
		-2	-1	0	1	2
X_1	<i>Pleurotus eryngii</i> powder content(%)	0	1	2	3	4
X_2	<i>Pleurotus eryngii</i> concentrate (%)	0	0.2	0.4	0.6	0.8

Table 50. Central composite designing for two independent variables at five levels of recipe conditions for *Pleurotus eryngii* soup

Exp. No ¹⁾	Recipe condition		Other materials
	<i>Pleurotus eryngii</i> powder content(%)	<i>Pleurotus eryngii</i> concentrate (%)	
1	3 (1)	0.6 (1)	
2	3 (1)	0.2 (-1)	Basic soup recipe(%)
3	1 (-1)	0.6 (1)	- Vegetable cream 31.54%
4	1 (-1)	0.2 (-1)	- Wheat flour 16.88%
5	2 (0)	0.4 (0)	- Corn powder 38.42%
6	2 (0)	0.4 (0)	- Sugar 1.50%
7	4 (2)	0.4 (0)	- Salt 2.04%
8	2 (0)	0.8 (2)	- Garlic powder 1.29%
9	0 (-2)	0.4 (0)	- Seasoning 6.77%
10	2 (0)	0.0 (-2)	- Pepper 0.56%

2) 관능적 특성 변화

가) 관능적 색상의 변화

새송이버섯 분말 및 농축액 첨가에 따른 새송이버섯 스프의 색상의 변화를 살펴본 결과 Table 51과 같다. 즉 색상에 대한 관능평점은 5.46 ~ 6.62로 나타났으며, 전반적으로 새송이버섯 분말 또는 농축액을 첨가하지 않거나 과량 첨가하였을 때 색상에 대한 기호도 낮았다. 이러한 색상에 대한 관능평점으로 회귀식을 구한 결과 Table 52에서 보는 바와 같이 R^2 은 0.9585, 5%이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 색상에 대한 반응표면은 Fig. 82와 같이, 최대점을 지니는 형태로 나타났으며, 예측된 최적점은 새송이버섯 분말가루 2.78% 첨가 및 새송이버섯 농축액 0.44% 첨가하였을 때로 예측되었다. (Table 53).

나) 관능적 향의 변화

새송이버섯 스프의 관능적 향을 살펴본 결과 Table 51와 같이 전반적인 관능평점이 5.67 ~ 6.42로 나타났다. 이러한 관능적 향에 대한 결과를 바탕으로 회귀식을 구한 결과 Table 52와

같이 R^2 은 0.8432로 10%이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 관능적 향에 대한 반응표면은 Fig. 83과 같이 최대점을 지니는 형태로 나타났으며, 예측된 최대점은 새송이버섯 분말 가루 2.65% 및 농축액 0.49% 첨가할 때로 나타나 관능적 색상의 예측 값과 유사하게 나타났다. (Table 53).

다) 관능적 맛의 변화

새송이버섯 분말 및 농축액 첨가에 따른 스프의 관능적 맛의 변화의 경우 Table 51과 같아 6.03 ~ 6.41로 전반적으로 맛에 있어서는 높은 평점을 나타내었다. 맛에 대한 결과를 바탕으로 한 회귀식의 경우 Table 52와 같으며, 회귀식의 R^2 은 0.8224로 10%이내의 유의수준에서 유의성이 인정되지 않았다. 회귀식을 바탕으로 그려진 반응표면은 Fig. 84에서 보는 바와 같이 최대점 형태로 나타났으며, 예측된 최대점은 새송이버섯 분말 2.33% 및 농축액 0.45% 예측되었으며(Table 53), 이는 관능적 색상, 향의 예측된 최대점과 유사한 것으로 나타났다.

라) 전반적인 기호도의 변화

새송이버섯 분말 및 농축액 첨가에 따른 스프의 전반적인 기호도의 변화를 살펴본 결과 Table 51과 같다. 즉 전반적은 기호도에 대한 관능평점은 5.98 ~ 6.43으로 나타났으며, 이러한 결과는 바탕으로 한 회귀식은 Table 52에서와 같으며, 회귀식의 R^2 은 0.8661로 10%이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 반응표면은 Fig. 85에서와 같이 최대점 형태로 나타났으며, 예측된 최대점은 새송이버섯 분말가루 2.39% 및 새 송이버섯 농축액 0.49%로 예측되었으며(Table 53), 이는 관능적 색상, 향, 맛의 예측된 최대값과 유사한 것으로 나타났다. 또한 전반적으로 새송이버섯 스프의 경우 색상, 향, 맛 및 전반적인 기호도에 있어서 새송이버섯 분말 및 농축액에 골고루 영향을 받는 것으로 나타났다. (Table 54).

Table 51. Experimental data on organoleptic properties of roasted *Pleurotus eryngii* soup under condition based on central composite design for response surface analysis

Exp. No ¹⁾	Recipe condition		Organoleptic properties			Overall palatability
	<i>Pleurotus eryngii</i> powder content(%)	<i>Pleurotus eryngii</i> concentrate (%)	Color	Flavor	Taste	
1	3 (1)	0.6 (1)	6.41	6.34	6.27	6.31
2	3 (1)	0.2 (-1)	6.20	5.90	6.15	6.15
3	1 (-1)	0.6 (1)	6.01	6.21	6.30	6.27
4	1 (-1)	0.2 (-1)	6.30	5.67	6.25	6.13
5	2 (0)	0.4 (0)	6.62	6.40	6.41	6.43
6	2 (0)	0.4 (0)	6.65	6.42	6.38	6.42
7	4 (2)	0.4 (0)	6.57	6.27	6.26	6.28
8	2 (0)	0.8 (2)	5.63	6.00	6.12	6.26
9	0 (-2)	0.4 (0)	5.46	5.67	6.03	5.98
10	2 (0)	0.0 (-2)	5.57	5.72	6.08	6.09

¹⁾ The number of experimental conditions by central composite design

Table 52. Polynomial equations calculated by RSM program on organoleptic properties of recipe condition for roasted *Pleurotus eryngii* soup

Responses	Polynomial equations ¹⁾	R ²	Significance
Color	$Y = 5.053333 + 0.582500X_1 + 3.954167X_2 - 0.155625X_1^2 + 0.6250X_1X_2 - 6.484375X_2^2$	0.9585	0.0155
Flavor	$Y = 4.803333 + 0.582143X_1 + 3.452381X_2 - 0.100536X_1^2 - 0.1250X_1X_2 - 3.200893X_2^2$	0.8432	0.0912
Taste	$Y = 5.82333 + 0.237857X_1 + 1.380952X_2 - 0.061339X_1^2 + 0.0875X_1X_2 - 1.814732X_2^2$	0.8224	0.1143
Overall palatability	$Y = 5.683333 + 0.318929X_1 + 1.361310X_2 - 0.068482X_1^2 + 0.02500X_1X_2 - 1.430804X_2^2$	0.8661	0.0682

¹⁾ X₁ : *Pleurotus eryngii* powder content (%), X₂ : *Pleurotus eryngii* concentrate (%)

Table 53. Predicted level of optimum recipe condition on organoleptic properties for roasted *Pleurotus eryngii* soup by the ridge analysis

Responses	Recipe condition		Estimated responses	Morphology
	<i>Pleurotus eryngii</i> powder content (%)	<i>Pleurotus eryngii</i> concentrate (%)		
Color	0.71	0.71	5.26(Min)	Maximum
	2.78	0.44	6.72(Max)	
Flavor	0.86	0.07	5.45(Min)	Maximum
	2.65	0.49	6.40(Max)	
Taste	2.21	0.00	6.05(Min)	Maximum
	2.33	0.45	6.39(Max)	
Overall palatability	0.20	0.22	5.98(Min)	Maximum
	2.39	0.49	6.41(Max)	

Table 54. Analysis of variables for regression model of organoleptic properties in recipe conditions of roasted *Pleurotus eryngii* soup

Recipe condition	F-Ratio			
	Organoleptic properties			Overall palatability
	Color	Flavor	Taste	
<i>Pleurotus eryngii</i> powder content (%)	11.70**	3.78	3.81	6.12*
<i>Pleurotus eryngii</i> concentrate (%)	13.88**	4.78*	4.91*	4.74*

** Significant at 5% level, *Significant at 10% level

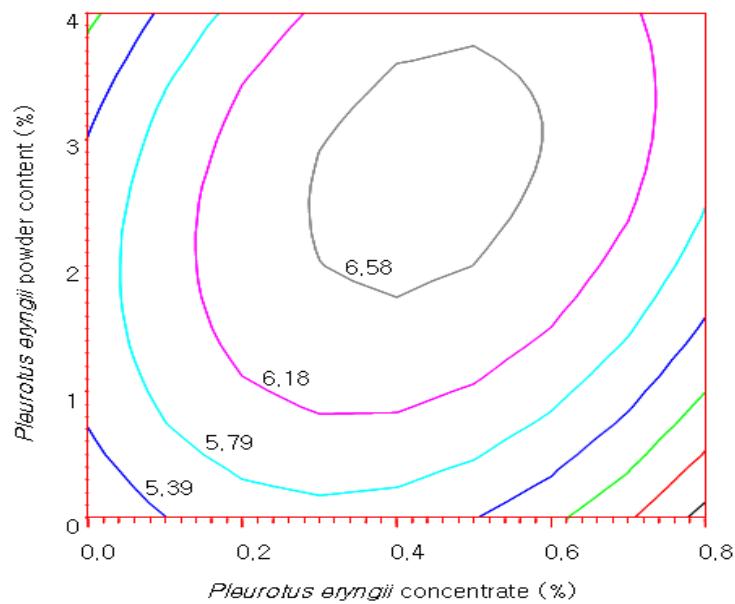


Fig. 82. Contour map for organoleptic color of roasted *Pleurotus eryngii* soup as a function of powder content and concentrate.

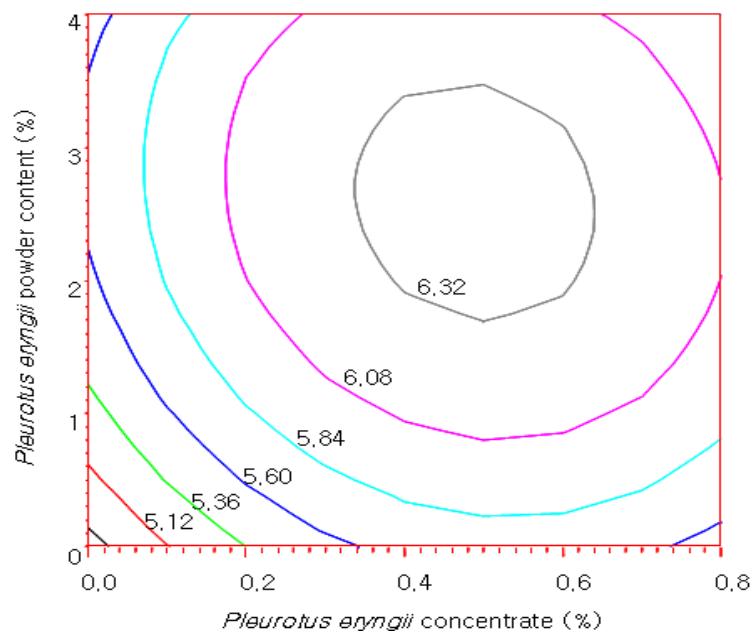


Fig. 83. Contour map for organoleptic flavor of roasted *Pleurotus eryngii* soup as a function of powder content and concentrate.

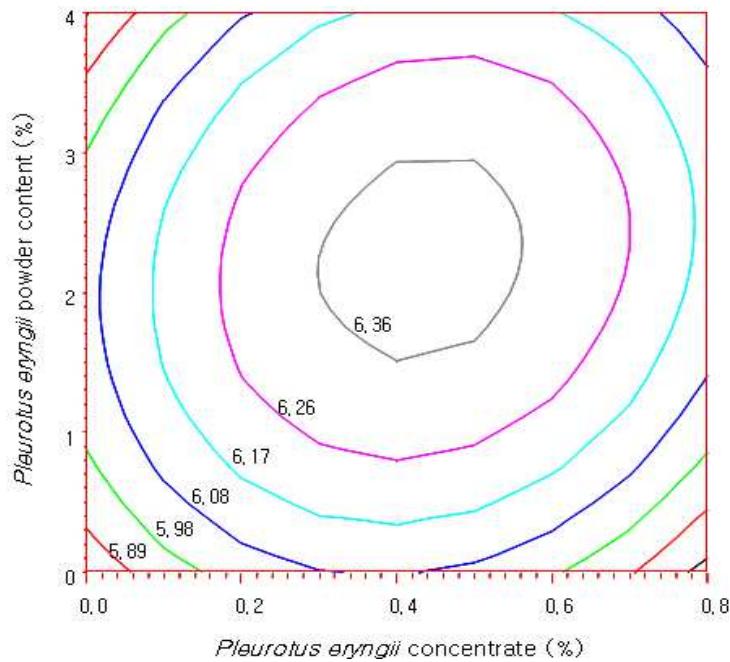


Fig. 84. Contour map for organoleptic taste of roasted *Pleurotus eryngii* soup as a function of powder content and concentrate.

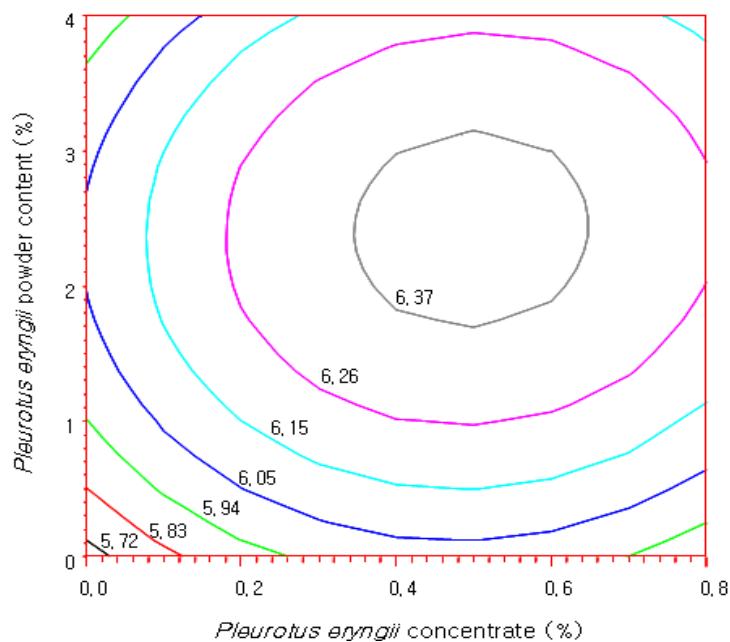


Fig. 85. Contour map for overall palatability of roasted *Pleurotus eryngii* soup as a function of powder content and concentrate.

3) 최적 새송이버섯 스프 배합 비

최적 새송이버섯 스프 배합 비를 설정하기 위해 새송이버섯 분말 및 농축액 첨가에 따른 관능적인 색상, 향, 맛, 및 전반적인 기호도에 대한 반응표면을 겹치기 하였는데 그 결과는 Fig. 86과 같다. 즉 새송이버섯 분말 1.8 ~ 2.9% 및 새송이버섯 농축액 0.36 ~ 0.58% 첨가할 때 최적인 것으로 조사되었다.

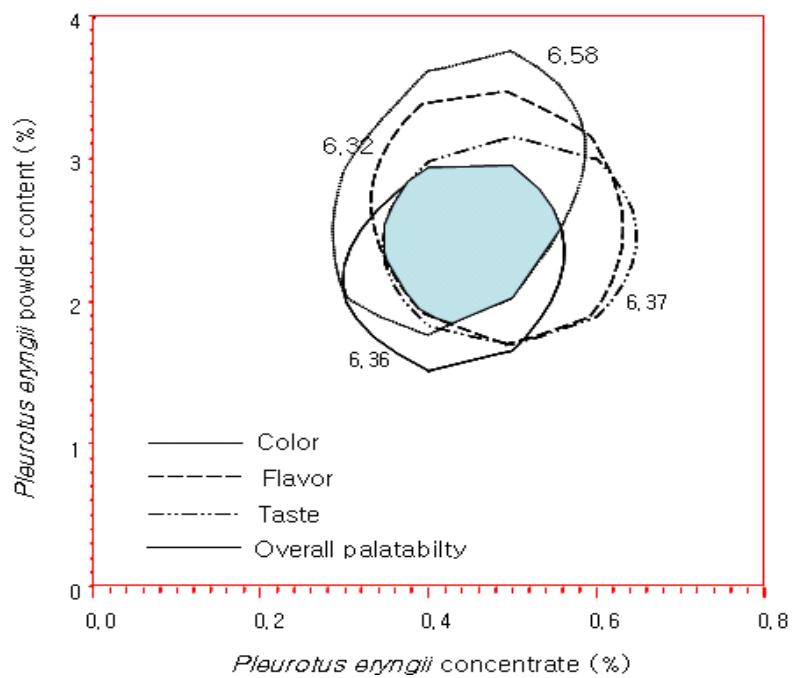


Fig. 86. Superimposed contour map of optimized recipe conditions for organoleptic properties of roasted *Pleurotus eryngii* soup as a function of powder content and concentrate.

10. 가공조건 예측모델 적용

이상의 실험에서 얻어진 추출 및 가공조건을 바탕으로 새 송이버섯을 대상으로 예측된 가공조건의 적용시험을 실시하였다. 즉 환류 및 마이크로웨이브 추출 농축액을 사용하여 예측된 새 송이버섯 음료 및 스프 최적 배합조건으로 배한 한 후 관능평가를 실시하였고 각각의 농축액에 대한 상호 유의성을 분석해 보았다.

최적 배합조건으로 설정된 음료에 대해 9점 체점법에 따라 관능적 품질을 평가해 본 결과 Table. 55와 같다. 환류추출 농축액 예측된 값과 실측된 값에서는 큰 차이가 없는 것으로 나타났으며, 환류추출과 마이크로웨이브 추출 농축액을 비교한 결과 색과 향에 있어서는 차이가 없었으나 맛의 경우 마이크로웨이브추출 농축액이 더 높게 나타났다. 전반적일 기호도의 경우에는 마이크로웨이브추출 농축액을 첨가한 것이 기호도가 더 높은 것으로 나타났다. 이는 마이크로웨이브추출 농축액이 환류 추출농축액에 비해 쓴맛이 다소 감소되었으며 부드러운 맛이 감소되었기 때문이라 사료된다.

Table 55. Comparison between reflux and microwave extraction concentrate on sensory quality of their beverages

Sensory evaluation	Predicted value ¹⁾	Observed value	
		Reflux extraction	Microwave extraction
Color	6.07	6.10 ^{a2)}	6.00 ^a
Flavor	5.69	5.65 ^a	5.71 ^a
Taste	5.33	5.38 ^b	5.60 ^a
Overall palatability	5.81	5.91 ^b	6.21 ^a

¹⁾ Beverage added Licorice concentrate 0.06% and apple concentrate 0.35%

²⁾ ab Mean scores within a row followed by the same superscript are not significantly different at 5% level using Duncan's multiple range test

최적 배합조건을 바탕으로 제조된 스프에 대해 9점 채점법에 따라 관능적 품질을 평가해 본 결과, Table 56과 같다. 즉 예측된 관능평점은 실측된 관능평점과 유사한 것으로 나타났다. 환류추출 농축액과 마이크로웨이브 추출 농축액을 첨가한 스프를 비교한 결과 색, 향, 맛 및 전반적인 기호도에 있어서 큰 차이가 없는 것으로 나타났다.

Table 56. Comparison between reflux and microwave extraction concentrate on sensory quality of their soups

Sensory evaluation	Predicted value ¹⁾	Observed value	
		Reflux extraction	Microwave extraction
Color	6.71	6.73 ^{a2)}	6.72 ^a
Flavor	6.40	6.53 ^a	6.49 ^a
Taste	6.39	6.42 ^a	6.45 ^a
Overall palatability	6.40	6.52 ^a	6.51 ^a

¹⁾ Soup added powder content 2.5% and concentrate 0.45% of *Pleurotus eryngii*

²⁾ ab Mean scores within a row followed by the same superscript are not significantly different at 5% level using Duncan's multiple range test

새송이버섯 추출 농축액으로 음료 및 스프를 제조하였을 때 전반적으로 음료보다는 스프의 형태를 더 선호하는 것으로 나타났다. 이는 추출 농축액이 전반적으로 쓴맛이 강하여 쓴맛을 더 감소시킬 수 있는 스프의 형태를 더 선호하는 것으로 보인다. 최종으로 선택되어 진 음료 및 스프의 최적 배합비율은 Table 57과 같았다.

Table 57. Recipe of beverage and soup containing *Pleurotus eryngii* extraction concentrate

Beverage		Soup	
Material	Recipe(%)	Material	Recipe (%)
<i>Pleurotus eryngii</i> concentrate (60°Brix)	1.16	<i>Pleurotus eryngii</i> concentrate	0.50
Apple concentrate	0.35	<i>Pleurotus eryngii</i> powder	2.77
Licorice concentrate	0.06	Vegetable cream	30.51
Fructos	13.00	Wheat flour	16.33
Citric acid	0.15	Corn powder	38.14
Coffee flavor	0.05	Sugar	1.45
Refined water	85.23	Salt	1.98
		Garlic powder	1.25
		Seasoning	6.55
		Pepper	0.54
Total	100	Total	100

제 4 장 목표 달성도 및 관련분야에의 기여도

구 분	연구개발 목표	달성도 및 기여도(*)
1세부 과제 (2004)	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 새송이버섯의 생리활성 성분 검색 및 유효성분 추출기술개발 ◦ 새송이버섯의 전처리 및 추출방법에 따른 유효성분 대량 추출기술개발 	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 생리활성(전자공여작용, ACE 저해작용, Tyrosinase 저해작용, 아질산염소거능) 성분 측정 ◦ 전처리방법, 추출방법에 따른 새송이버섯의 생리활성비교 분석
위탁 과제 (2004)	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 유용성분의 추출용매별 추출효율 확인 및 용매선택 ◦ 새송이버섯 시료의 유용성분 추출특성 확인 및 실험계획 	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 유용성분의 추출방법별 특성 비교 ◦ 조건별 추출물의 활성 및 특성 분석

구 분	연구개발 목표	달성도 및 기여도(*)
1세부 과제 (2005)	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 추출공정(용매, 추출온도, 시간) 별 새송이버섯 추출물의 특성 비교 ◦ 새송이버섯의 최적 추출 조건 설정 	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 새송이버섯의 추출조건 설정 ◦ 추출공정 최적화 확립 ◦ 추출방법에 따른 생리활성 성분변화 측정 ◦ <i>in vivo</i>에서 콜레스테롤 저하효과 검토 ◦ 추출물의 이화학적 특성 및 활성 추출물의 제조
위탁 과제 (2005)	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 유용성분의 최적 추출조건 예측 및 실증 ◦ 추출조건의 최적화 모델링 	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 선택된 추출법의 유용성분 특성 측정 ◦ 추출물 활성성분의 품질안전성 시험 ◦ 유용성분별 최적예측조건 모델링

구 분	연구개발 목표	달성도 및 기여도(*)
1세부 과제 (2006)	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 생리활성 추출물의 기능성 소재화 및 품질평가 ◦ 새송이버섯을 이용한 가공식품의 개발 	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 생리활성 추출물의 기능성 소재화 및 시제품 제조시험 ◦ 새송이버섯 음료 개발
위탁 과제 (2006)	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 새송이버섯 소재의 가공조건 최적화 ◦ 최적화 모델의 적용 가능성 	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 새송이버섯 주스와 스프의 개발 ◦ 주요 품종 가공조건 예측모델 개발

제 5 장 연구개발 계획의 활용계획

1. 새송이버섯의 생리활성 성분의 검색 및 추출공정 최적화 기술 개발
2. 새송이버섯의 건조, 냉동기술 확립 및 버섯 추출물의 미세캡슐화 기술 개발
3. 새송이버섯을 이용한 가공식품(중간 소재화, 라면 스프, 음료, 차류) 개발, 산업화 모델 시스템

새송이버섯의 생리활성 성분의 검색 및 유효성분의 추출방법을 개발하였고, 전처리 방법이나 추출조건에 따른 생리활성 성분을 비교분석 하였다. 새송이버섯의 생리활성 성분을 추출 방법, 용매, 온도, 시간에 따라 비교하여 최적추출조건을 설정하였다. 또한, 새송이버섯의 다양한 제품 개발을 위해 새송이버섯과 잘 어울리는 소재를 선정하고, 선정한 소재의 적절한 농도를 결정하여 다양한 종류의 음료와 차를 개발하였다. 또, 새송이버섯의 장기간 저장을 위한 바람직한 조건과 공정의 최적화를 설계하였다. 새송이버섯의 최적 추출조건 즉, 추출방법, 용매, 온도, 시간 등의 조건이나 새송이버섯을 소재로 다양하게 개발된 제품들과 최적화된 공정은 산업체나 농협 등에 기술이전을 시도할 것이다.

본 연구결과의 수행 결과 얻어진 성과는 다음과 같이 활용할 계획이다.

- 연구 결과 및 결과별 활용가능영역

- 1) 국내외 관련 학회 논문 게재

- 볶음처리 새송이버섯의 추출조건에 따른 생리기능적 특성 변화, 한국식품영양과학회지, 35(3), 262-270 (2006)
- 마이크로웨이브 추출조건에 따른 볶음 새송이버섯의 품질 특성 변화, 한국식품저장유통학회지, 13(6), 732-739 (2006)
- 새송이버섯 추출물의 생리활성 효과, 한국식품영양과학회지, 제34권 4호, 439-445 (2005)
- 새송이버섯의 항산화성 추출물 제조를 위한 마이크로웨이브 추출조건 설정, 한국식품영양학과학회지, 제35권 1호, 1-6 (2006)

- o Monitoring the functional properties of *Pleurotus eryngii* extracts using response surface methodology, Food Sci. Biotechnol., 16(2), 299–305 (2006)

2) 국내외 관련 학회 논문 발표

- o Physiological activities of *Pileus* extracts from *Pleurotus eryngii*, The Korean Society of Food Culture, Daegu, Kyungbook National Univ. (2004. 10. 16)
- o 새송이버섯의 전처리방법 및 추출용매에 따른 Phytochemicals의 함량 변화. 2004년 한국식품저장유통학회, 목포대학교 교수회관 (2004. 10. 29)
- o Physiological activities of stipe extracts from *Pleurotus eryngii*, 한국식품영양과학회 2004 annual meeting and international symposium, Ramada Plaza Jeju Hotel (2004. 11. 17-19)
- o Physiological activities of *Pleurotus eryngii* extracts, second International Conference on Innovations in Food Processing Technology and Engineering (2005. 1. 11-13)
- o Optimization of the extraction conditions for the maximum physico-chemistry from *Pleurotus eryngii* using response surface methodology , 2005 년도 한국식품영양과학회 국제 심포지엄 및 학술회의, 강원도 용평리조트(2005. 10. 19-21)
- o 마이크로웨이브 추출에 따른 볶음 처리한 새송이버섯의 기능적 특성의 변화. 한국식품과학회, 제주 도 서귀포시 중문 제주 ICC (2006. 6. 14-16)
- o 볶음 새송이버섯의 환류추출에 따른 품질특성 모니터링, 한국식품영양과학회, 경주 교육문화회관 (2006. 10. 18-20)

6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1. Melo PS, Justo GZ, Duran N, Haun M. 2004. Natural killer cell activity and anti-tumour effects of dehydrocrotonin and its synthetic derivatives. *Eur. J. Pharmacol.*, 487(1-3): 47-54.
2. Kiviharju TM, Lecane PS, Sellers RG, Peehl DM. 2002. Antiproliferative and proapoptotic activities of triptolide(PG490), a natural product entering clinical trials, on primary cultures of human prostatic epithelial cells. *Clin. Cancer Res.*, 8(8): 2666-74.
3. Guillen, F., Munoz, C., Gomez-Toribio, V., Martinez, A.T. and Martinez, M.J. Oxygen activation during oxidation of methoxyhydroquinones by laccase from *Pleurotus eryngii*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66: 170-175 (2000)
4. Pamela, M., Loretta, G., Stefania, M., Vittorio, V. and Laura, P. Nutrients in edible mushrooms: and inter-species comparative study. *Food Chem.*, 65: 477-482 (1999)
5. Hui, Y.F., Den, E.S. and Chi, T.H. Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms. *J. Food Lipids.*, 9: 35-46 (2002)
6. Wong, T.C., Luh, B.S. and Whitaker, J.R. Isolation and characterization of polyphenol oxidase of clingstone peach. *Plant Physiol.*, 48: 19-23 (1971)
7. Cushman, D.W. and Ondetti, M.A. Inhibitors of angiotensin converting enzyme for treatment of hypertension. *Biochem. Pharmacol.*, 29: 1871-1877 (1980)
8. Gontard N, Guilbert S, Cuq B. Edible wheat gluten films : Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *J. Food Sci.* 57: 190-196(1992)
9. Folch J, Lees M, Sloane stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226(1): 497-509(1957)

제 7 장 참고문헌

제 1세부 과제

1. Lee JY, Hwang WI, Lim ST. 1998. Effect of Platycodon grandiflorum DC extract on the growth of cancer cell lines. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 30: 13-21.
2. Melo PS, Justo GZ, Duran N, Haun M. 2004. Natural killer cell activity and anti-tumour effects of dehydrocrotonin and its synthetic derivatives. *Eur. J. Pharmacol.*, 487(1-3): 47-54.
3. Kiviharju TM, Lecane PS, Sellers RG, Peehl DM. 2002. Antiproliferative and proapoptotic activities of triptolide(PG490), a natural product entering clinical trials, on primary cultures of human prostatic epithelial cells. *Clin. Cancer Res.*, 8(8): 2666-74.
4. Kim YS, Kim MN, Kim WI, Lee JH. 1994. The effect of hot water-extract and flavor compounds of mugwort on microbial growth. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 23: 994-1000.
5. Jeong CH, Shim KH. 2004. Quality Characteristics of Sponge Cakes with Addition of *Pleurotus eryngii* Mushroom Powders. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 33(4): 716-722.
6. Rajarathnam, S. and Bano, Z. *Pleurotus* mushrooms. Part 1 A. Morphology, life cycle, taxonomy, breeding and cultivation. CRC Crit. Rev. in Food Sci. Nutr., 26: 157-222 (1987)
7. Stamets, P. Growing gourmet and medicinal mushrooms. Ten Speed Press, Hong Kong. pp. 304-308 (1993)
8. Zadrazil, F. The ecology and industrial production of *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus cornucopiae*, and *Pleurotus eryngii*. *Mushroom Sci.*, 9: 621-652 (1974)
9. Kang, M.S., Kang, T.S., Kang, A.S., Shon, H.R. and Sung, J.M. Studies on mycelial growth and artificial cultivation of *Pleurotus eryngii*. *Korean J. Mycol.*, 28: 73-80 (2000)
10. Cho, S.H., Lee, S.D., Ryu, J.S., Kim, N.G. and Lee, D.S. Changes in quality of king oyster mushroom(*Pleurotus eryngii*) during modified atmosphere storage. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.*, 8: 367-373 (2001)
11. Kang, T.S., Jeong, H.S., Lee, M.Y., Park, H.J., Jho, T.S., Ji, S.T. and Shin, M.K. Mycelial growth using the natural product and angiotensin converting enzyme

- inhibition activity of *Pleurotus eryngii*. Korean J. Mycol., 31: 175–180 (2003)
12. Guillen, F., Munoz, C., Gomez-Toribio, V., Martinez, A.T. and Martinez, M.J. Oxygen activation during oxidation of methoxyhydroquinones by laccase from *Pleurotus eryngii*. Appl. Environ. Microbiol., 66: 170–175 (2000)
13. Kim, H.K., Cheong, J.C., Chang, H.Y., Kim, G.P., Cha, D.Y. and Moon, B.J. The artificial cultivation of *Pleurotus eryngii* I). Investigation of mycelial growth conditions. Korean J. Mycol., 25: 305–310 (1997)
14. Pamela, M., Loretta, G., Stefania, M., Vittorio, V. and Laura, P. Nutrients in edible mushrooms: and inter-species comparative study. Food Chem., 65: 477–482 (1999)
15. Pamela, M., Stefania, M., Altero, A. and Laura, P. Commercial mushrooms: nutritional quality and effect of cooking. Food Chem., 84: 201–206 (2004)
16. Wang, H. and Ng, T.B. Eryngin, a novel antifungal peptide from fruiting bodies of the edible mushroom *Pleurotus eryngii*. Peptides, 25: 1–5 (2004)
17. Kang, T.S., Kang, M.S., Sung, J.M., Kang, A.S., Shon, H.R. and Lee, S.Y. Effect of *Pleurotus eryngii* on the blood glucose and cholesterol in diabetic rats. Korean J. Mycol., 29: 86–90 (2001)
18. Hwang, Y.J., Nam, H.K., Chang, M.J., Noh, G.W. and Kim, S.H. Effect of *Lentinus edodes* and *Pleurotus eryngii* extracts on proliferation and apoptosis in human colon cancer cell lines. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 32: 217–222 (2003)
19. Hui, Y.F., Den, E.S. and Chi, T.H. Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms. J. Food Lipids., 9: 35–46 (2002)
20. Jeong, C.H. and Shim, K.H. Quality characteristics ofponge cakes with addition of *Pleurotus eryngii* mushroom powders. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 33: 716–722 (2004)
21. Kim, S.Y., Son, M.H., Ha, J.U. and Lee, S.C. Preparation and characterization of fried surimi gel containing king oyster mushroom(*Pleurotus eryngii*). J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 32: 855–858 (2003)
22. Kim NM, Sung HS, Kim WJ. 1993. Effect of solvents and some extraction conditions on antioxidant activity in cinnamon extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 25: 204–209
23. Official methods of analysis of the AOAC., Fifteenth edition. USA. 1010–1011 (1990)
24. 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.

25. Kim, S.M., Cho, Y.S. and Sung, S.K. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. Korean J. Food Sci. Technol., 33: 626-632 (2001)
26. Wong, T.C., Luh, B.S. and Whitaker, J.R. Isolation and characterization of polyphenol oxidase of clingstone peach. Plant Physiol., 48: 19-23 (1971)
27. Folin O. and Denis W. 1912. On phosphotungastic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J. Biol. Chem.*, 12: 239-243.
28. Cushman, D.W. and Ondetti, M.A. Inhibitors of angiotensin converting enzyme for treatment of hypertension. Biochem. Pharmacol., 29: 1871-1877 (1980)
29. Gray JI, Dugan Jr LR. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food system. *J. Food Sci.*, 40: 981-984.
30. Duncan DB. 1955. Multiple range and multiple F test. *Biometrics* 11: 1-42.
31. Gontard N, Guilbert S, Cuq B. Edible wheat gluten films : Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *J. Food Sci.* 57: 190-196(1992)
32. Lee GD,Lee JE, Kwon JH. Application of response surface methodolg in food industry. *Food and Industry.*, 33: 33-45(2000)
33. SAS Institute, Inc. SAS User's Guide. Statistical Analysis Systems Institute, Cary., NC, USA (1990)
34. Folch J, Lees M, Sloane stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226(1): 497-509(1957)

위탁연구 과제

1. Jeong, C.H., and Shim, K.H. (2004) Quality characteristics of sponge cakes with addition of *Pleurotus eryngii* mushroom powders. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 33, 716 ~ 722.
2. Hwang, Y.J., Nam, H.K., Chang, M.J., Noh, G.W. and Kim, S.H. (2003) Effect of *Lentinus edodes* and *Pleurotus eryngii* extractions on proliferation and apoptosis in human conlon cancer cell lines. J Korean Soc. Food Sci. Nutr., 32, 217 ~ 222.
3. Han, S.Y., Park, M.S. and Seo, K.I. (2002) Changes in the food components during storage of oyster mushroom *Kimchi*. Korean Journal of Food Preservation., 9, 51 ~ 55.

4. Rew, Y.H., Lee, S.H., Jo, W.S. and Yoon, J.T. (2000) Changes of fatty acid composition by various developmental stage and fruit body section in *Pleurotus ostreatus*. Kor. J. Mycol., 28, 109 ~ 111.
5. Lee, K.D. and Min, T.J. (1989) Studies on the light-induced mitochondrial ATPase in *Pleurotus ostreatus*. Kor. J. Mycol., 17, 169 ~ 176.
6. Lee, H.Y. and Min, T.J. (1992) Studies on light-induced mitochondrial ATPase in *Pleurotus ostreatus*(Effect of organic compounds). Kor. J. Mycol., 20, 51 ~ 57.
7. Lee, K.D., Kwon, J.H., Kim, J.G. and Kim, H.K. (1997) Optimization of sensory properties in preparation of canned oyster mushroom. J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr., 26, 443 ~ 449.
8. Lee, D.S., Park, N.H., Shin, D.H. and Min, B.Y. (1984) Heat penetration of canned oyster mushroom. Korean J. Food Sci. Technol., 16, 206 ~ 210.
9. Hong, J.S. and Kim, T.Y. (1988) Contents of free-sugar & free-sugeralcohols in *Pleurotus ostreatus*, *Lentinus edodes* & *Agaricus bisporus*. Korean J. Food Sci. Technol., 20, 459 ~ 462.
10. Lee, K.D., Kim, H.G., Kim, J.G. and Kwon, J.H. (1997) Optimization for the preparation condition of instant rice gruel using oyster mushroom and brown rice. Korean J. Food Sci. Technol., 29, 737 ~ 744.
11. Kim, B.G., Jeong, M.J., Lee, C.S., Lee, H.K., Yoo, Y.B. and Ryu, J.C (1995) Parameters affecting polymerase chain reaction in RADP analysis of *Pleurotus spp*. Kor. J. Mycol., 23, 202 ~ 208
12. Kim, T.Y., Hong, J.S., Lee, T.K., Kim, M.H. and Oh, K.C. (1989) Changes in the contents of general compositions and free sugar of oyster mushrooms. J. Korean Agric. Chem. Soc., 31, 14 ~ 22.

13. Kwon, Y.J. and Uhm, T.B. (1984) A study on the lipid components in oyster mushroom(*Pleurotus florida*). J. Korean Soc. Food Nutr., 13, 175 ~ 180.
14. Lee, H.D., Yoon, H.S., Jeong, H., Cho, K.H. and Park, W.K. (2003) Estimated gas concentrations of MA(Modified Atmosphere) and changes of quality characteristics during the MA storage on the oyster mushrooms. Korean Journal of Food Preservatio,, 10, 16 ~ 22.
15. Yoo, S.J. and Shin, G.C. (1984) Studies on the benomyl resistance of oyster mushroom(*Pleurotus spp.*). Kor. J. Mycol., 12, 1 ~ 8.
16. Min, T.J. and Lee, K.H (1991) Study on the characterization of light-induced mitochondrial ATP synthase in *Pleurotus ostreatus*. Kor. J. Mycol., 19, 32 ~ 40
17. Kim, B.G., Shin, P.G., Jeong, M.J., Park, S.C., Yoo, Y.B., Ryu, J.C. and Kwon, S.T. (1997) Isolation and sequencing of the cDNA encoding β -tubulin from *Pleurotus sajor-caju*. Kor. J. Mycol., 25, 1 ~ 5.
18. Choi, M.H. and Kim, G.H. (2003) Quality changes in oyster mushrooms during modified atmosphere storage ad affected by temperatures and packaging materials. Korean J. Food Sci. Technol., 35, 1079 ~ 1085
19. Kim, S.Y., Son, M.H., Ha, J.U. and Lee, S.C. (2003) Preparation and characterization of fried surimi gel containing king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*). J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 32, 855 ~ 858.
20. Cho, S.H., Lee, S.D., Ryu, J.S., Kim, N.G. and Lee, D.S. (2001) Changes in quality of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) during modified atmosphere storage. Korean J. Postharvest Sci. Technol., 8, 367 ~ 373.
21. Kang, T.S., Kang, M.S., Sung, J.M., Kang, A.S., Shon, H.R. and Lee, S.Y. (2001) Effect of *Pleurotus eryngii* on the blood glucose and cholesterol in diabetic rat. Kor. J. Mycol., 29, 86 ~ 90.

22. Park, Y.H., Byun, M.O. and Hiroshi, F. (1998) Comparison of electrophoretic isozyme band pattern of *Pleurotus spp.* in Korea (I. Homogeneous Gel). Kor. J. Mycol., 2, 87 ~ 94.
23. Park, Y.H., Byun, M.O. and Hiroshi, F. (1988) Comparison of electrophoretic isozyme band pattern of *Pleurotus spp.* in Korea (II. Isoelectric focusing). Kor. J. Mycol., 2, 95 ~ 100.
24. Ahn, Y.S., Shin, D.H., Kang, C.H. and Oh, S.W. (2000) Studied on oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) packed in various environmental friendly trays. J Korean Soc. Food Sci. Nutr., 29, 85 ~ 92.
25. Han, D.S., Ahn, B.H. and Shin, H.K. (1992) Modified Atmosphere storage for extending shelf life of oyster mushroom and shiitake. Korean J. Food Sci. Technol., 24, 376 ~ 381.
35. Jeong, C.H., and Shim, K.H. (2004) Quality characteristics of sponge cakes with addition of *Pleurotus eryngii* mushroom powders. J. Korean Soc Food Sci Nutr., 33, 716 ~ 722.
36. Hwang, Y.J., Nam, H.K., Chang, M.J., Noh, G.W. and Kim, S.H. (2003) Effect of *Lentinus edodes* and *Pleurotus eryngii* extractions on proliferation and apoptosis in human colon cancer cell lines. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 32, 217 ~ 222.
37. Han, S.Y., Park, M.S. and Seo, K.I. (2002) Changes in the food components during storage of oyster mushroom *Kimchi*. Korean Journal of Food Preservation, 9, 51 ~ 55.
38. Rew, Y.H., Lee, S.H., Jo, W.S. and Yoon, J.T. (2000) Changes of fatty acid composition by various developmental stage and fruit body section in *Pleurotus ostreatus*. Kor. J. Mycol., 28, 109 ~ 111.
39. Lee, K.D. and Min, T.J. (1989) Studies on the light-induced mitochondrial ATPase in *Pleurotus ostreatus*. Kor. J. Mycol., 17, 169 ~ 176.
40. Lee, H.Y. and Min, T.J. (1992) Studies on light-induced mitochondrial ATPase in *Pleurotus ostreatus*(Effect of organic compounds). Kor. J. Mycol., 20, 51 ~ 57.

41. Lee, K.D., Kwon, J.H., Kim, J.G. and Kim, H.K. (1997) Optimization of sensory properties in preparation of canned oyster mushroom. *J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr.*, 26, 443 ~ 449.
42. Lee, D.S., Park, N.H., Shin, D.H. and Min, B.Y. (1984) Heat penetration of canned oyster mushroom. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 16, 206 ~ 210.
43. Hong, J.S. and Kim, T.Y. (1988) Contents of free-sugar & free-sugeralcohols in *Pleurotus ostreatus*, *Lentinus edodes* & *Agaricus bisporus*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 20, 459 ~ 462.
44. Lee, K.D., Kim, H.G., Kim, J.G. and Kwon, J.H. (1997) Optimization for the preparation condition of instant rice gruel using oyster mushroom and brown rice. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 29, 737 ~ 744.
45. Kim, B.G., Jeong, M.J., Lee, C.S., Lee, H.K., Yoo, Y.B. and Ryu, J.C (1995) Parameters affecting polymerase chain reaction in RADP analysis of *Pleurotus spp.* *Kor. J. Mycol.*, 23, 202 ~ 208
46. Kim, T.Y., Hong, J.S., Lee, T.K., Kim, M.H. and Oh, K.C. (1989) Changes in the contents of general compositions and free sugar of oyster mushrooms. *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, 31, 14 ~ 22.
47. Kwon, Y.J. and Uhm, T.B. (1984) A study on the lipid components in oyster mushroom(*Pleurotus florida*). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 13, 175 ~ 180.
48. Lee, H.D., Yoon, H.S., Jeong, H., Cho, K.H. and Park, W.K. (2003) Estimated gas concentrations of MA(Modified Atmosphere) and changes of quality characteristics during the MA storage on the oyster mushrooms. *Korean Journal of Food Preservation*, 10, 16 ~ 22.
49. Yoo, S.J. and Shin, G.C. (1984) Studies on the benomyl resistance of oyster mushroom(*Pleurotus spp.*). *Kor. J. Mycol.*, 12, 1 ~ 8.

50. Min, T.J. and Lee, K.H (1991) Study on the characterization of light-induced mitochondrial ATP synthase in *Pleurotus ostreatus*. Kor. J. Mycol., 19, 32 ~ 40
51. Kim, B.G., Shin, P.G., Jeong, M.J., Park, S.C., Yoo, Y.B., Ryu, J.C. and Kwon, S.T. (1997) Isolation and sequencing of the cDNA encoding β -tubulin from *Pleurotus sajor-caju*. Kor. J. Mycol., 25, 1 ~ 5.
52. Choi, M.H. and Kim, G.H. (2003) Quality changes in oyster mushrooms during modified atmosphere storage ad affected by temperatures and packaging materials. Korean J. Food Sci. Technol., 35, 1079 ~ 1085
53. Kim, S.Y., Son, M.H., Ha, J.U. and Lee, S.C. (2003) Preparation and characterization of fried surimi gel containing king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*). J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 32, 855 ~ 858.
54. Cho, S.H., Lee, S.D., Ryu, J.S., Kim, N.G. and Lee, D.S. (2001) Changes in quality of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) during modified atmosphere storage. Korean J. Postharvest Sci. Technol., 8, 367 ~ 373.
55. Kang, T.S., Kang, M.S., Sung, J.M., Kang, A.S., Shon, H.R. and Lee, S.Y. (2001) Effect of *Pleurotus eryngii* on the blood glucose and cholesterol in diabetic rat. Kor. J. Mycol., 29, 86 ~ 90.
56. Park, Y.H., Byun, M.O. and Hiroshi, F. (1998) Comparison of electrophoretic isozyme band pattern of *Pleurotus spp.* in Korea (I. Homogeneous Gel). Kor. J. Mycol., 2, 87 ~ 94.
57. Park, Y.H., Byun, M.O. and Hiroshi, F. (1988) Comparison of electrophoretic isozyme band pattern of *Pleurotus spp.* in Korea (II. Isoelectric focusing). Kor. J. Mycol., 2, 95 ~ 100.
58. Ahn, Y.S., Shin, D.H., Kang, C.H. and Oh, S.W. (2000) Studied on oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) packed in various environmental friendly trays. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 29, 85 ~ 92.

59. Han, D.S., Ahn, B.H. and Shin, H.K. (1992) Modified Atmosphere storage for extending shelf life of oyster mushroom and shiitake. Korean J. Food Sci. Technol., 24, 376 ~ 381.