

잎새버섯 추출물의 생리 기능 및 음료 제조

이재성¹ · 이종숙^{2*}

¹영남대학교 식품외식학부

²영남대학교 약학대학

Physiological Function and Development of Beverage from *Grifola frondosa*

Jae Sung Lee¹ and Jong Suk Lee^{2*}

¹Food Technology and Food Service Industry and ²College of Pharmacy,
Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

Abstract

Contents of polyphenol compounds and the physiological activity of extracts from *Grifola frondosa* by water and methanol extraction were investigated to determine their functional effects. A functional beverage was developed using the extracts. The yield and phenolic compounds content of the water extracts were highest (49.2% and 327 mg/100 g, respectively), while for the methanol extraction method they were 28.7% and 130 mg/100 g, respectively. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity was 76.3% for the water extract and 65.4% for methanol extract, whereas the superoxide dismutase (SOD)-like activity was low (26.3~36.8% at 1,000 µg/mL concentration). Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory effect of water extract (75.1%) was higher compared to the methanol extracts (41.2%). Tyrosinase inhibition activity was 42.5% for the water extracts and 31.8% for the methanol extracts at 1,000 µg/mL concentration. The most acceptable formulation for *G. frondosa* beverage developed was 0.5% *G. frondosa* water extract, 8.0% oligosaccharide, 2.0% green tea extract, 2.0% jujube extract, 1.0% Solomon's seal extract, 0.01% vitamin C, and 2.0% apple extract. The final product had 9.8 Brix and color values of L, 35.2±1.1; a, 3.2±0.2; b, 13.6±0.3.

Key words: *Grifola frondosa*, antioxidant activity, ACE, beverages

서 론

현대인들은 생활수준의 향상, 물질적 풍요 및 의학의 발달로 수명 연장 등과 같은 많은 혜택을 받으며 살고 있다. 그러나 현대인은 급격한 산업발달로 인한 환경오염, 불규칙한 식사, 운동부족, 스트레스, 피로, 음주, 흡연 및 영양섭취 불균형 등에 의해 자체 면역력이 떨어지고 환경적 독성물질에 의해 암, 혈관성 질환 등 생활습관병이라고 불리어지는 성인병 발병의 비중이 급격하게 증가하고 있다. 그리고 생활수준이 향상되면서 건강에 대한 관심이 고조됨에 따라 식품의 개념이 살기 위해 먹는 것이 아니라 영양성, 기호성, 위생성, 기능성 측면을 중요시하는 것으로 변화하고 있다. 이런 요구에 부합하여 많은 연구자들은 끊임없이 기능성 물질 및 제품을 개발하기 위해 노력하고 있다.

잎새버섯(*Grifola frondosa*(Dicks. ex Fr.) S.F.Gray)은 민주류목 구멍장이버섯과(Polyporaceae)에 속하는 버섯으로서 가을에 졸참나무, 물푸레나무의 뿌리 근처에 사물기생하여 다발로 발생하는 백색 목재부후균으로, 한국, 동아시아,

유럽, 북미 등에 분포되어 있다. 또한, 잎새버섯은 식용 담자균류의 일종으로 향과 맛이 좋아서 일본에서는 송이버섯과 더불어 고급버섯으로 취급되고 있으며 한방에서는 항암작용, 혈압강하, 당뇨병, 비만치료(다이어트), 혈중 콜레스테롤 감소, 항균작용, 이뇨작용, 강장작용, 항빈혈작용 등에 효능이 탁월하다고 하여 한약재로도 이용되고 있다. 잎새버섯에 대한 최근 연구를 조사해보면, 잎새버섯 자실체와 균사체로부터 추출한 다당류가 항암활성이 뛰어난 것으로 보고하였으며(1,2) 또한, 잎새버섯은 lectin 효과, 암예방, 체중감소, 하제와 혈관질환과 같은 노인성 질병 등에도 효과가 있는 것으로 알려져 있다(3). 그리고 Adachi 등(4)은 잎새버섯 분말을 경구 투여한 rat의 혈압강하 효과를 확인하였으며, Horio 등(5)은 인위적으로 당뇨병을 유발한 당뇨 쥐에 잎새버섯 추출물을 투여한 결과, 혈당, 수분 소비, 요산 함량과 당뇨가 유의적으로 감소한다고 보고하였다. 잎새버섯이 고지방 식이로 인해 증가된 간 지질과 혈청 지질을 감소시킨다는 보고(6)와 잎새버섯 추출물을 collagen-induced arthritis(CIA)에서의 효과를 확인한 연구(7)도 있다. Lee 등(8)은 잎새버섯

*Corresponding author. E-mail: jslee1213@ynu.ac.kr
Phone: 82-53-810-2950, Fax: 82-53-810-4662

균사체 추출물이 prolyl endopeptidase, acetylcholine esterase 및 혈전 응고에 대한 저해활성이 있음을 보고하였고, Yang 등(9)은 잎새버섯 균사체가 고지혈증에 효과가 있다고 하였다. Lee 등(10)과 Bae 등(11)은 잎새버섯 균사체가 항산화활성, 미백효과, 사람 섬유아세포의 세포활성 효과, 보습력 효과, 주름개선효과가 있음을 밝혀내어 보고하였다. 따라서 잎새버섯은 새로운 의약품이나 건강식품을 개발하기 위한 생물자원이므로 그 가치가 매우 높으며, 그 자체도 영양분이 풍부한 좋은 식품이라고 할 수 있다. 의약품으로서의 개발은 고도의 기술과 많은 경비를 요구되는 반면에 식품으로서의 개발은 생산원가가 낮으며 성인병을 예방하거나 소비대상이 광범위하여 응용 범위가 매우 높다는 것을 알 수 있다. 이에 본 연구에서는 잎새버섯의 생리적 기능을 확인하고 음료를 제조한 후 기호도 검사를 실시하여 음료로서의 개발 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용한 잎새버섯 자실체(Chiba market, Japan)는 일본에서 건조한 것을 수입한 것으로 잘게 마쇄한 후 -20°C 냉동고에 보관하면서 이용하였다.

추출물 제조 및 수율 측정

잎새버섯 메탄올 추출물은 마쇄한 버섯 시료에 20배량의 methanol을 가한 후 40°C 로 조절된 항온수조에서 12시간 동안 3회 반복 추출하였다. 이 추출액을 여과한 후 rotary evaporator(EYELA Co., Japan)로 용매를 제거한 다음 증류수로 용해하여 동결건조하여 메탄올 추출 시료로 이용하였다. 잎새버섯 물 추출물은 메탄올 추출물 제조 방법과 동일하며 단, 메탄올 대신 증류수를 사용하였다.

각 추출물의 수율 값은 추출액 일정량을 취하여 동결 건조 후 건물 중량을 구한 다음 추출액 조제에 사용한 원료 건물량에 대한 백분율로 계산하였다.

총폴리페놀의 함량

총폴리페놀의 함량(total polyphenol content)은 분석 방법으로 널리 사용되고 있는 Folin-Denis방법(12)으로 측정하였으며, 각각의 추출조건에 따라 제조된 추출액의 2배 희석액을 사용하였다. 즉, 희석액 5 mL에 Folin reagent 5 mL을 가하고 3분간 정치한 다음 5 mL의 10% Na_2CO_3 용액을 가하였다. 이 혼합액을 1시간 동안 정치한 후 분광광도계를 사용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하고 (+)catechin을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 총폴리페놀 함량을 구하였다.

DPPH radical 소거능

Blois의 방법(13)에 따라 메탄올에 녹인 각 버섯 추출물 시료 4 mL에 1.5×10^{-4} M DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)용액을 넣고 10~20초 동안 격렬하게 혼합한 후 실온

에서 30분간 방치한 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였으며 양성 대조군으로는 Sigma 사의 ascorbic acid를 사용하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성

SOD 유사활성 측정은 Marklund와 Marklund의 방법을 변형한 Kim 등(14)의 방법을 이용하여 실시하였다. 즉, 각 시료 0.2 mL에 pH 8.5로 보정한 Tris-HCl Buffer(50 mM tris[hydroxy-methyl]amino-methane + 10 mM EDTA) 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하고 25°C 에서 10분간 방치 후 1 N HCl 1 mL로 반응을 정지시킨 후 분광광도계(UV/VIS spectrophotometer-1601, Shimadzu Co. Ltd., Japan)를 이용하여 420 nm에서의 흡광도를 측정하여 시료 첨가 및 무첨가구간의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다. 또한, 양성대조군으로는 Sigma 사의 ascorbic acid를 사용하였다.

$$\text{SOD 유사 활성}(\%) = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: 추출물 첨가구의 흡광도, B: 추출물 무첨가구의 흡광도 단, A, B는 대조구의 흡광도를 제외한 수치임

Angiotensin converting enzyme(ACE)

Angiotensin converting enzyme 저해 효과 측정은 Cushman과 Cheung의 방법(15)에 준하여 측정하였다. 즉, 2 mg의 가수 분해물을 정평하여 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3, 300 mM NaCl 함유) 1 mL에 녹인 다음, 그 가수 분해액 100 μL 에 25 mU/mL ACE 용액 100 μL 를 가한 후 37°C 에서 30분간 항온 처리하였다. 여기에 25 mM HHL(107.4 mg/10 mL sodium borate buffer) 50 μL 를 넣고 37°C 에서 60분간 반응시킨 후, 1 N HCl 용액 0.5 mL를 가하여 반응을 정지시켰다. 반응용액에 ethyl acetate 1.5 mL를 가하여 교반한 다음, 원심분리(2,500 $\times g$, 5 min)시켜 상층액 1 mL를 분취하였다. 이 상층액을 완전히 건조시킨 다음 증류수 1 mL를 가하여 용해시키고, 228 nm에서 흡광도를 측정하여 가수분해물의 첨가 전, 후의 백분율로써 ACE 저해율을 다음 식으로 계산하였다.

$$\text{ACE inhibitory activity}(\%) = \frac{B-A}{B-C} \times 100$$

A: 저해제를 첨가하여 반응시킨 후 측정된 흡광도 값
B: 저해제를 첨가하지 않고 반응시킨 후 측정된 흡광도 값
C: 1 N HCl용액을 첨가하여 ACE를 실패시킨 후 반응시킨 다음 측정된 흡광도 값

Tyrosinase 저해 활성

Tyrosinase 활성억제 측정 방법은 tyrosinase의 작용결과 생성되는 dopachrome을 비색법에 의해 측정하는 Yagi 등(16)의 방법을 사용하였다. 0.5 mL의 0.175 M sodium phos-

phate buffer(pH 6.8)에 시료 0.1 mL를 첨가하고 기질로서 0.2 mL의 10 mM L-DOPA(Junsei Chemical Co. Ltd., Japan)와 110 unit의 tyrosinase(Sigma Co. Ltd., USA) 0.2 mL를 첨가하여 37°C에서 2분간 반응 후 475 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{Inhibition (\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}}\right) \times 100$$

잎새버섯 음료제조

잎새버섯을 이용한 음료를 제조하기 위하여 물을 추출용제로 하여 잎새버섯을 40°C water bath에서 2시간, 3회 반복, 추출하여 여과한 후 여과액을 동결건조(Deep freezer, ILSIN Co., Korea)하여 음료 제조용 시료로 사용하였다. 사용한 첨가제로는 올리고당, 대추농축액, 녹차농축액, 동굴레농축액, 비타민 C, 사과농축액, 배농축액으로 MSC(주)로부터 공급받아 사용하였다.

각 첨가제로 제조한 음료의 관능검사는 영남대학교 식품가공학과 학부생과 대학원생 20명을 대상으로 실시하였으며, 음료의 맛(taste), 향(flavor), 색(color), 종합적인 기호도(overall acceptability)를 평가하였다. 평가 방법은 7점 채점법으로 아주 나쁘다(1점), 나쁘다(2점), 조금 나쁘다(3점), 보통이다(4점), 조금 좋다(5점), 좋다(6점), 아주 좋다(7점)로 실시하였다.

제품의 색도는 음료 40 mL씩을 1회용 petridish에 부어서 Digital Color Measuring/Difference Calculating Meter (Model CR-200, Minolta, Japan)로 측정하여 Hunter의 "L", "a", "b" 값으로 표현하였으며, 사용한 표준 백색판의 색도는 L=96.43, a=+0.03, b=+1.79이었다. 당도는 굴절당도계(S-28, ATAGO, Japan)로 측정하였다.

통계처리

본 연구에서 얻어진 결과의 통계 처리는 SPSS 12.0 for windows program(SPSS Inc., USA)을 이용하여 실험군당 평균±표준편차로 나타내었으며, 각 군의 평균차에 대한 통계적 유의성 검정은 Duncan의 다중검증법(DMRT: Duncan's multiple range test)으로 실시하였다(17).

결과 및 고찰

추출 수율

잎새버섯을 메탄올과 물로 추출, 동결건조한 후 각 추출용매별로 측정된 수율은(Table 1), 잎새버섯 물 추출물이 49.2%로 메탄올 추출물 28.7%보다 약 1.7배 높은 것으로 나타났다.

총폴리페놀의 함량

Polyphenol이란 한 분자내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl기를 가진 방향족 화합물들을 가리키며, 산야초류, 과채류 등 농산물의 중요 성분 중의 하나로 인체 건강에 대한

Table 1. Proximate composition of *Grifola frondosa* extracts

	Methanol extract	Water extract
Yield (%)	28.7±2.3	49.2±3.1
Total polyphenol content (mg/100 g)	130±15.3	327±9.7

잠재적 유용 효과 즉, 항산화 등의 효과가 널리 인정되고 있다(18). 폴리페놀 화합물을 많이 함유하고 있는 채소와 과일 등 식물성 식품의 섭취량이, 증가할수록 심혈관계질환에 의한 사망률이 낮아질 뿐만 아니라 혈중 총 콜레스테롤 농도를 낮추고 HDL-cholesterol 농도를 높이는 등 혈관 순환계 질환의 예방 및 개선에 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 잎새버섯 추출물의 총 폴리페놀 함량은 물 추출물이 메탄올 추출물(130 mg/100 g)보다 약 2.5배가 높은 327 mg/100 g으로 폴리페놀 화합물을 많이 함유하고 있었다(Table 1). Kim 등(19,20)의 연구에서 팽이버섯과 만가닥 버섯의 물 추출물의 총 폴리페놀 함량은 각각 3.17~3.50 mg/100 g, 1.52~2.92 mg/100 g으로 보고한 것과 비교하면 월등히 높음을 알 수 있었다. 또한, Ahn 등(21)이 새송이 버섯의 폴리페놀 함량을 158~387 mg/100 g으로 보고한 것과 비슷한 함량을 가진 것으로 나타났다. 이에 비추어 보면 잎새버섯 물 추출물이 총 폴리페놀 함량이 높게 나타났기 때문에 항산화효과가 높은 기능성 식품으로 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

DPPH radical 소거능

추출 용매에 따른 잎새버섯의 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과, 잎새버섯 물 추출물에서 45.2~72.4%로 높았으며, 잎새버섯 메탄올 추출물에서는 37.1~65.0%이었다(Fig. 1). Song 등(22)은 영지버섯의 에탄올 추출물이 91.3%의 DPPH 소거효과가 있는 것으로 보고하였다. 또한, Lee 등(23)은 국내산 버섯 자실체의 용매 분획물의 전자공여능을 측정한 결과, butanol 분획물에서 모두 95%이상의 효과가 나타났으며 버섯 자실체의 전자공여능에 관여하는 성분은 극성 부분의 성분일 것으로 추정하였다.

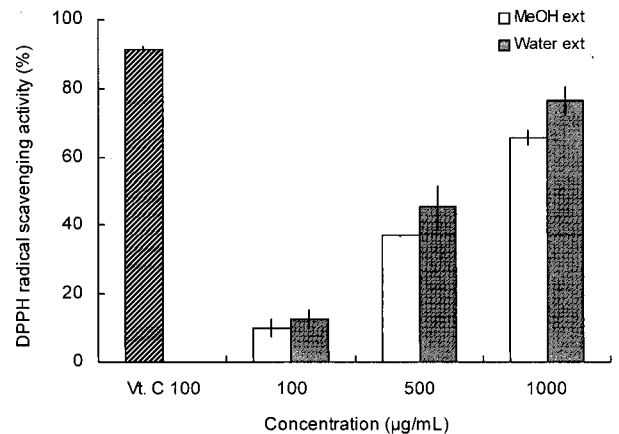


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of *Grifola frondosa* extract.

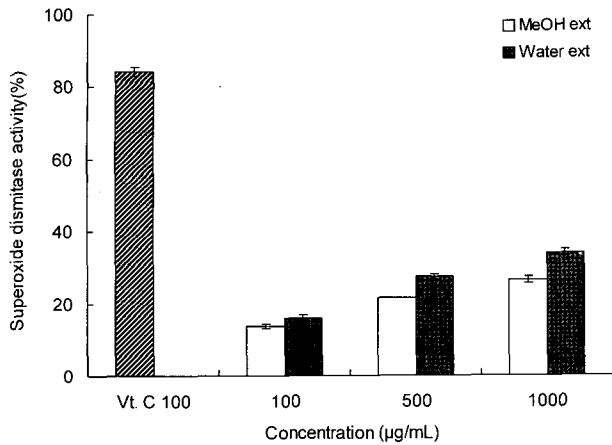


Fig. 2. Superoxide dismutase activity of *Grifola frondosa* extract.

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성

SOD는 superoxide anion을 과산화수소로 환원시키는 효소로서 생체 내 해독 체계 중의 하나로 산화적 스트레스로부터 세포나 호기성 유기체를 보호하는 중요한 역할을 하는 효소로 이것은 superoxide radical에 전자를 전달하여 유독한 superoxide radical을 제거하여 질병을 예방하거나 치료하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다(24). 잎새버섯의 SOD 유사 활성능은 추출물의 농도가 증가할수록 높아졌으나 메탄올 추출물은 500 µg/mL에서 21.5%, 1000 µg/mL에서 26.3%이었고 물 추출물은 500 µg/mL에서 27.2%, 1000 µg/mL에서 33.8%로 나타나 전반적으로 낮은 활성을 가진 것으로 조사되었다(Fig. 2).

Angiotensin converting enzyme(ACE)

ACE는 혈관과 신장의 근위세뇨관 내피, 심장, 폐, 활성화된 대식세포, 뇌조직 등에서 발견되는 dicarboxy peptidase로서 포유류의 혈압 및 수분균형 조절기구인 renin-angiotensin system(RAS)에서 중요한 역할을 한다(25). ACE의 RAS 및 KKS에서의 작용으로 심혈관계에 여러 문제를 발생시키므로 ACE의 작용에 대한 저해물질인 ACE inhibitor는 고혈압뿐만 아니라 만성신장병, 동맥경화, 심장발작과 그로 인한 사망 등을 효과적으로 감소시킬 수 있으며 이러한 효과는 여러 임상실험결과가 뒷받침하고 있다(26). 잎새버섯의 ACE 저해 효과를 측정된 결과 Fig. 3에서 보는 바와 같이 메탄올 추출물은 500 µg/mL에서 21.4%, 1000 µg/mL에서 34.2%의 저해 효과를 보인 반면에, 물 추출물에서는 500 µg/mL에서 36.6%, 1000 µg/mL에서 65.5%로 높은 저해 효과가 나타났다. 이와 같은 결과는 잎새버섯 물 추출물이 Choi 등(27)이 연구한 왕송이버섯 자실체의 물 추출물(61.3%), *G. frondosa*(58.7%), *C. versicolor*(37.7%), *P. coccinea*(37.5%)의 물 추출물보다 더 높은 것을 확인하였다. 또한, Lee 등(28)은 비늘버섯 18종, 차가버섯 2종, 망태버섯 2종, 잎새버섯 9종, 장수버섯 9종 등의 자실체와 꽃송이버섯 4종, 차가버섯

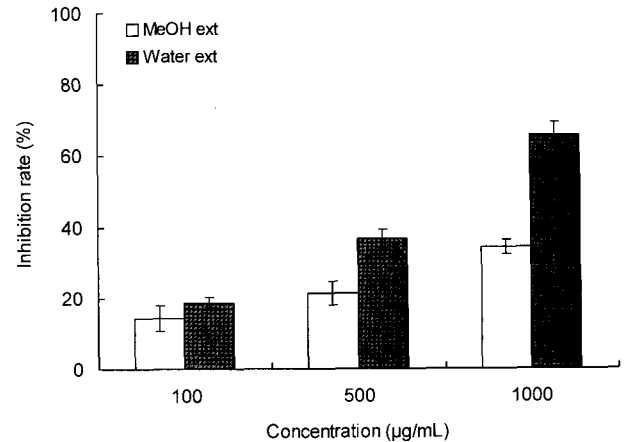


Fig. 3. Inhibitory activity of *Grifola frondosa* extract on angiotensin converting enzyme.

7종, 신령버섯 1종의 균사체를 각 용매별로 추출하여 ACE 저해제를 탐색한 결과, 추출용매로는 물이 가장 적합하다고 보고하였으며 이들 버섯중 비늘버섯종은 66%, 잎새버섯종은 61%의 ACE 저해활성이 있다고 발표한 것과 유사한 결과를 확인하였다. 이와 같이 물 추출물이 메탄올 추출물보다 ACE 저해활성이 높은 것은 ACE 저해활성을 나타내는 물질로 알려진 peptide나 단백질 가수분해물들(27,29)이 물에 많이 용출되었기 때문인 것으로 판단된다.

Tyrosinase 저해활성

멜라닌 형성의 주 역할을 하는 효소인 tyrosinase(mono-phenol monooxygenase, EC.1.14.18.1)는 거의 모든 생물 종에 분포되어 있으며(30), tyrosinase의 생체내 주요 기능은 멜라닌 생합성에 있어 속도 결정 단계를 조절하는 효소이다. 이 기능은 동물에 있어서 멜라닌(melanin)합성의 이상에 따라 백반과 색소 침착 과도와 같은 비정상적인 멜라닌 착색을 유발하며, 나아가서 피부암을 유발시키기도 하여 질병과 밀접한 관련이 있는 것으로 보고하고 있다(31).

각 용매별로 추출한 잎새버섯 추출물의 tyrosinase 저해 효과를 측정된 결과(Fig. 4), 메탄올 추출물의 경우, 500 µg/mL에서 24.0%, 1000 µg/mL에서 31.8%의 tyrosinase 저해 효과를 보였고 물 추출물의 경우, 500 µg/mL에서 31.3%, 1000 µg/mL에서 42.5%의 tyrosinase 저해 활성이 나타났다. Shin 등(32)은 양송이버섯은 44%, 느타리버섯은 33%, 표고버섯은 21%, 팽이버섯은 9%의 tyrosinase 저해 효과가 있다고 보고와 Jung 등(33)의 팽이버섯, 표고버섯, 느타리버섯의 수용성 추출물이 30~35%의 저해능을 보였다고 발표한 것과 비교하였을 때 잎새버섯 추출물로 다른 버섯 추출물들과 마찬가지로 비슷한 tyrosinase 저해 활성을 보이는 것을 확인하였다.

잎새버섯 음료 제조

앞의 실험에서 잎새버섯 물 추출물의 생리적 기능이 우수

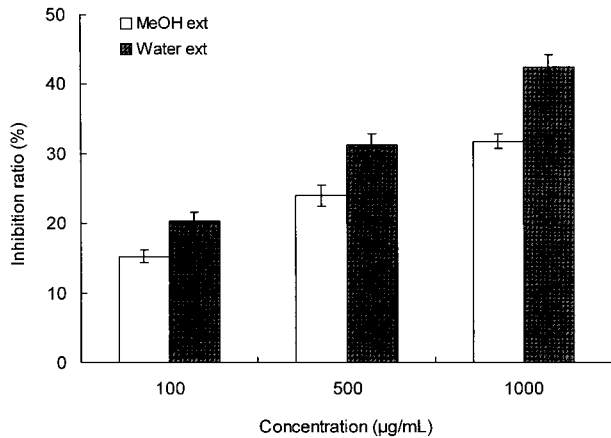


Fig. 4. Inhibitory activity of *Grifola frondosa* extract on the mushroom tyrosinase *in vitro*.

한 것으로 확인하였기에 이것을 쉽게 접할 수 있는 음료에 응용하고자 버섯가루의 첨가량, 부재료의 첨가, 비타민 C와 과일농축액의 첨가, 올리고당의 첨가의 순으로 제조 배합비를 결정하였다.

잎새버섯 물 추출물의 최적 첨가량을 결정하기 위하여 추출물 가루를 0.1~4.0%(w/v)까지 농도별로 첨가, 제조하여 관능검사를 실시하였다(Table 2). 그 결과, 향의 경우 추출물 가루의 첨가 농도가 높을수록 점수는 낮았으나 유의적인 차이는 없었다. 색에 있어서는 첨가량이 높을수록 낮은 점수대가 나타나 음료로서는 1.0%이하로 첨가하는 것이 적당한 것으로 판단되었다. 맛과 종합적인 기호도에서는 버섯 가루를 0.5% 첨가한 것이 다른 것에 비해 높은 점수대로 나타났다.

버섯음료의 맛을 향상시키기 위하여 많은 연구자들에 의해 항암, 항균, 항산화, 항알레르기, 심장질환 및 당뇨병 등과 같은 다양한 생리 기능이 있는 것으로 밝혀져 한방에서도 기를 보충하기 위한 재료로 오래전부터 사용되었으며, 오늘날에는 여러 식품의 주재료 또는 부재료로서 사용되고 있는 녹차, 대추, 둥굴레 농축액을 농도별로 첨가하여 관능검사를 실시하였다. 녹차, 대추, 둥굴레 농축액을 순차적으로 첨가하여 관능검사를 한 결과(Table 3~5), 녹차 농축액의 첨가

Table 2. Sensory evaluation of mushroom beverages added with different levels of *Grifola frondosa* water extract

Ratio	Color	Flavor	Taste	Overall acceptability
0.1%	3.80±1.48 ^{ab}	3.90±1.10 ^a	4.10±0.74 ^a	3.70±0.95 ^{ab}
0.5%	4.70±1.49 ^a	4.30±0.95 ^a	4.30±0.95 ^a	4.50±0.71 ^a
1.0%	4.00±1.41 ^a	4.20±1.14 ^a	3.80±1.14 ^a	4.20±0.79 ^a
2.0%	3.50±0.85 ^{abc}	3.70±1.49 ^a	2.70±1.06 ^b	3.00±1.33 ^{bc}
3.0%	2.60±0.97 ^{bc}	3.70±1.49 ^a	2.40±1.51 ^b	2.30±0.95 ^{cd}
4.0%	2.30±1.64 ^c	3.40±1.58 ^a	1.80±0.79 ^b	1.80±0.92 ^d
F value	4.499 ^{**}	0.664	9.302 ^{***}	8.951 ^{***}

In a column, means followed by the same superscript are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test. Each value is mean±SD.

***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05.

로 향은 높은 점수가 나타났으며 색의 경우 녹차를 첨가하지 않는 것보다 녹차를 첨가한 것을 선호하였다. 맛과 종합적인 기호도에서는 녹차 첨가량이 3%이상인 음료에서는 점수가 낮았는데 이것은 녹차 특유의 쓴맛이 증가하여 오히려 거부감을 일으킨 것으로 판단되었다. 따라서, 녹차 농축액의 첨가는 2%가 가장 좋은 것으로 조사되었다. 대추 농축액의 첨가는 색과 향에 있어서 유의적인 차이가 없었으나 맛과 종합적인 기호도에서 2% 첨가한 것이 높은 점수대로 나타났다. 둥굴레 농축액의 첨가는 첨가하지 않은 음료보다는 선호하였으며 특히, 1% 첨가량이 모든 항목에서 높은 점수대가 나타났다. 따라서, 부재료의 첨가량을 조사한 결과, 녹차와 대추 농축액은 2%, 둥굴레 농축액은 1%가 가장 적합한 것을 확인

Table 3. Sensory evaluation of mushroom beverages added with different levels of green tea extract

Ratio	Color	Flavor	Taste	Overall acceptability
0%	4.06±1.65 ^{ab}	3.25±1.24 ^b	3.88±1.31 ^{ab}	3.56±1.55 ^{bc}
1%	4.81±1.22 ^a	4.44±0.81 ^a	4.56±0.89 ^a	4.38±1.09 ^{ab}
2%	4.50±1.09 ^a	4.44±0.89 ^a	4.69±1.30 ^a	4.75±1.18 ^a
3%	4.19±1.05 ^{ab}	4.50±1.32 ^a	3.88±1.36 ^{ab}	3.88±1.02 ^{abc}
4%	3.50±0.97 ^b	4.38±1.45 ^a	3.00±1.50 ^b	3.13±1.09 ^c
F value	3.321 [*]	2.612 [*]	4.373 ^{**}	4.593 ^{**}

In a column, means followed by the same superscript are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test. Each value is mean±SD.

***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05.

Table 4. Sensory evaluation of mushroom beverages added with different levels of jujube extract

Ratio	Color	Flavor	Taste	Overall acceptability
0%	4.27±1.28 ^a	3.73±0.96 ^a	4.27±0.88 ^{ab}	4.27±0.88 ^{ab}
1%	4.53±1.13 ^a	4.40±0.83 ^a	4.27±0.96 ^{ab}	4.73±0.80 ^{ab}
2%	5.00±0.93 ^a	4.60±0.83 ^a	4.87±0.83 ^a	4.93±0.88 ^a
3%	5.07±0.88 ^a	4.67±0.82 ^a	4.13±0.99 ^{ab}	4.67±1.11 ^{ab}
4%	4.73±0.88 ^a	4.00±1.13 ^a	3.73±1.49 ^b	3.93±1.49 ^{bc}
5%	5.00±0.93 ^a	4.07±1.10 ^a	3.53±1.46 ^b	3.73±1.58 ^c
F value	1.469	2.248	2.551 [*]	2.528 [*]

In a column, means followed by the same superscript are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test. Each value is mean±SD.

***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05.

Table 5. Sensory evaluation of mushroom beverages added with different levels of Solomon's seal extract

Ratio	Color	Flavor	Taste	Overall acceptability
0%	4.33±0.90 ^{ab}	4.33±1.45 ^{ab}	3.13±1.19 ^b	3.40±1.06 ^b
1%	4.87±1.25 ^a	4.73±0.96 ^a	4.67±1.11 ^a	5.00±0.93 ^a
2%	4.47±1.19 ^a	4.60±1.24 ^{ab}	4.13±1.24 ^a	4.33±1.23 ^a
3%	3.53±1.13 ^b	3.80±0.94 ^b	2.93±0.80 ^b	2.93±0.80 ^b
F value	3.723 ^{***}	1.876 [*]	8.392	12.489 ^{***}

In a column, means followed by the same superscript are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test. Each value is mean±SD.

***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05.

Table 6. Sensory evaluation of mushroom beverages added with different levels of ascorbic acid

Ratio	Color	Flavor	Taste	Overall acceptability
Vt. C 0%	4.14±1.17 ^a	4.43±1.16 ^{ab}	4.57±1.16 ^{ab}	4.57±1.02 ^{ab}
Vt. C 0.01%	4.79±1.05 ^a	4.64±1.01 ^a	5.00±1.04 ^a	4.79±0.80 ^a
Vt. C 0.05%	4.79±0.97 ^a	4.14±0.66 ^{abc}	3.79±1.37 ^{bc}	4.07±1.07 ^b
Vt. C 0.1%	4.43±1.02 ^a	3.64±0.84 ^c	3.14±0.95 ^{cd}	3.14±0.77 ^c
Vt. C 0.2%	4.50±1.02 ^a	3.86±1.03 ^{bc}	2.50±0.94 ^d	2.86±0.66 ^c
F value	0.930	2.545*	11.972***	13.269***

In a column, means followed by the same superscript are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test. Each value is mean±SD. ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05.

Table 7. Sensory evaluation of mushroom beverages added with different levels of pear and apple extract

Ratio	Color	Flavor	Taste	Overall acceptability
Control 0%	5.08±0.86 ^a	4.38±1.19 ^c	4.31±0.48 ^b	4.38±1.12 ^c
Pear ext 1.0%	4.08±1.39 ^b	4.31±1.32 ^c	4.62±0.77 ^{ab}	3.77±1.09 ^{bc}
Pear ext 2.0%	4.24±1.17 ^{ab}	4.77±1.24 ^{bc}	4.77±0.93 ^{ab}	4.38±1.19 ^{bc}
Pear ext 3.0%	4.31±1.03 ^{ab}	4.69±1.18 ^{bc}	4.23±0.44 ^b	4.38±0.87 ^{bc}
Apple ext 1.0%	4.38±0.96 ^{ab}	4.69±0.85 ^{bc}	4.77±0.60 ^{ab}	4.69±0.85 ^{ab}
Apple ext 2.0%	4.69±1.03 ^{ab}	5.46±0.52 ^{ab}	5.15±0.55 ^a	5.38±0.65 ^a
Apple ext 3.0%	4.69±1.11 ^{ab}	5.69±0.48 ^a	4.61±0.50 ^{ab}	4.46±1.05 ^{bc}
F value	1.295	3.425**	3.128**	3.073**

In a column, means followed by the same superscript are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test. Each value is mean±SD. ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05.

할 수 있었다.

비타민 C를 0~0.2%까지 첨가하여 음료를 제조한 결과 (Table 6), 0.01% 첨가한 음료가 다른 것에 비해 가장 좋았으며 비타민 C의 첨가량이 증가할수록 색을 제외한 모든 항목에서 낮은 점수가 나타났다. 과일 농축액으로 사과 농축액과 배 농축액을 1~3%까지 농도로 첨가하여 관능검사를 실시하였다 (Table 7). 색에 있어서 농축액을 첨가하지 않은 음료가 농축액을 첨가한 음료보다 점수가 높았으나 95% 유의수준에서 차이는 없었다. 향은 사과 농축액이 배 농축액보다 높은 점수를 나타내었으며 첨가량이 증가할수록 점수가 높았다. 맛과 종합적인 기호도에 있어서 배 농축액보다 사과 농축액을 선호하였으며 특히, 사과 농축액 2.0%를 첨가한 음료가 가장 점수가 높았다. 사과 농축액 3.0%를 첨가한 음료는 향은 좋은 것으로 나타났으나 사과의 신맛이 너무 강하여 오히려 맛과 종합적인 기호도에서는 점수가 낮았다.

Table 8. Sensory evaluation of mushroom beverages with refined level of oligosaccharides contents

Ratio	Color	Flavor	Taste	Overall acceptability
6%	4.40±1.07 ^a	5.00±0.94 ^a	4.10±0.88 ^{bc}	4.00±0.94 ^{bc}
8%	4.00±1.15 ^a	5.30±0.67 ^a	5.30±0.95 ^a	5.40±0.52 ^a
10%	4.10±1.10 ^a	4.60±0.97 ^{ab}	4.70±0.95 ^{ab}	4.60±0.84 ^b
12%	4.20±1.23 ^a	3.90±0.74 ^b	3.40±1.07 ^c	3.50±0.85 ^c
F value	0.224	5.197**	7.119**	10.339**

In a column, means followed by the same superscript are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test. Each value is mean±SD.

***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05.

여러 종류의 농축액을 첨가한 음료를 올리고당을 첨가하여 당함량을 6~12%로 조절하여 최종 음료의 관능검사를 실시하였다 (Table 8). 그 결과, 올리고당을 8%, 10% 첨가한 음료가 모든 항목에서 선호도가 높았으며 이 중 8%가 가장 적합한 것으로 조사되었다. 반면에 올리고당 6%를 첨가한 음료와 12%를 첨가한 음료는 단맛이 약하거나 너무 강한 이유로 인해 색과 향에서 유의적인 차이가 없었으나 맛과 기호도 측면에서는 낮은 점수대가 나타나 잎새버섯 추출물을 첨가한 음료의 당도는 8%가 가장 적합한 것으로 확인되었다.

요 약

잎새버섯을 건조시킨 후 메탄올과 물로 추출하여 생리활성을 측정하고 관능검사로 최적 음료 조건을 조사하였다. 건조한 잎새버섯을 메탄올과 물로 추출한 후 수율과 폴리페놀 함량은 메탄올 추출물 28.7%, 130 mg/100 g, 물 추출물 49.2%, 327 mg/100 g으로 물 추출물이 수율 1.7배, 폴리페놀 함량은 2.5배가량 높았다. 잎새버섯의 DPPH 라디칼 소거능은 메탄올 추출물에서 65.4%, 물 추출물에서 76.3%으로 높았으나 SOD 유사활성능은 1,000 µg/mL에서 26.3~33.8%로 낮은 것으로 나타났다. 또한, ACE 저해 효과는 메탄올 추출물에서 41.2%, 물 추출물에서 75.1%로 나타났다. Tyrosinase 억제 효과는 메탄올 추출물에서 31.8%, 물 추출물에서 42.5%이었다. 이상과 같이 메탄올 추출물보다는 물 추출물에서 생리적 기능이 높음을 확인하였기에 물 추출물을 음료

제조에 이용하였다. 그 결과, 잎새버섯 음료의 최적 배합비는 잎새버섯 물 추출물 0.5%, oligosaccharide 8.0%, green tea extract 2%, jujube extract 2%, solomon's seal extract 1.0%, vitamin C 0.01%, apple extract 2%이었으며, 이때 최종 음료의 당도는 9.8 Brix, 색도는 L, 35.05±1.08; a, 3.24±0.19; b, 13.64±0.33으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 2006년도 농림부의 농림기술개발사업(No. 104018-3)에 의해 수행된 결과의 일부이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

문헌

- Mizuno T, Ohsawa K, Hagiwara N, Kuboyama R. 1986. Fractionation and characterization of antitumor polysaccharides from Maitake, *Grifola frondosa*. *Agric Biol Chem* 50: 1679-1688.
- Hishida I, Nanba H, Kuroda H. 1988. Antitumor activity exhibited by orally administered extract from fruit body of *Grifola frondosa* (Maitake). *Chem Pharm Bull* 26: 1819-1827.
- Mizuno T, Zhuang C. 1995. Maitake, *Grifola frondosa*: pharmacological effects. *Food Rev Int* 11: 135-149.
- Adachi K, Nanba H, Ostuka M, Kuroba H. 1988. Blood pressure-lowering activity present in the fruit body of *Grifola frondosa* (Maitake). *Chem Pharm Bull* 36: 1000-1006.
- Horio H, Ohtsuru M. 2001. Maitake (*Grifola frondosa*) improve glucose tolerance of experimental diabetic rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 47: 57-63.
- Kubo K, Nanba H. 1997. Anti-hyperliposis effect of maitake fruit body (*Grifola frondosa*). *Biol Pharm Bull* 20: 781-785.
- Shigesue K, Kodama N, Nanba H. 2000. Effects of Maitake (*Grifola frondosa*) polysaccharide on collagen-induced arthritis in mice. *Jpn J Pharmacol* 84: 293-300.
- Lee HJ, Kim JS, Heo GY, Lee KB, Rhee IK, Song KS. 1999. Inhibitory activities of basidiomycetes on prolyl endopeptidase, acetylcholine esterase and coagulation. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 42: 336-343.
- Yang BK, Park JB, Song CH. 2002. Hypolipidemic effect of exo-polymer produced in submerged mycelial culture of five different mushrooms. *J Microbiol Biotechnol* 12: 957-961.
- Lee BC, Bae JT, Pyo HB, Choe TB, Kim SW, Hwang HJ, Yun JW. 2003. Biological activities of the polysaccharides produced from submerged culture of the edible basidiomycetes *Grifola frondosa*. *Enzyme Microb Tech* 32: 574-581.
- Bae JT, Sim GS, Lee DH, Lee BC, Pyo HB, Choe TB, Yun JW. 2005. Production of exopolysaccharide from mycelial culture of *Grifola frondosa* and its inhibitory effect on matrix metalloproteinase-1 expression in UV-irradiated human dermal fibroblasts. *FEMS Microbiol Lett* 251: 347-354.
- Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239-249.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- Kim SM, Cho YS, Sung SK. 1996. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. *Korean J Food Sci Technol* 33: 626-632.
- Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-conversion enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20: 1637-1648.
- Yagi A, Kanbara T, Morinobu N. 1986. The effect of tyrosinase inhibition for aloea. *Planta Med* 3981: 517-519.
- Park SH, Cho SS, Kim SS. 2004. Ver. SPSS 12K Hangul SPSS. SPSS Academy, Seoul, Korea. p 183-257.
- Kim HK, Kim YE, Do JR, Lee YC, Lee BY. 1995. Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 27: 80-85.
- Kim HK, Choi YJ, Kim KH. 2002. Functional activities of microwave-assisted extracts from *Flammulina velutipes*. *Korean J Food Sci Technol* 34: 1013-1017.
- Kim HK, Choi YJ, Jeong SW, Kim KH. 2002. Functional activities of microwave-assisted extracts from *Lyophyllum ulmarium*. *Korean J Food Preserv* 9: 385-390.
- Ahn MS, Kim HK, Seo MS. 2006. Physicochemical characteristics of ethanol extracts from each part of the *Pleurotus eryngii*. *Korean J Food Cult* 21: 297-302.
- Song JH, Lee HS, Hwang JG, Jeong TY, Hong SL, Park GM. 2003. Physiological activities of *Phellinus ribis* extracts. *Korean J Food Sci Technol* 35: 690-695.
- Lee GD, Chang HG, Kim HK. 1997. Antioxidative and nitrite-scavenging activities of edible mushrooms. *Korean J Food Sci Technol* 29: 432-436.
- Munday R, Winterbourn CC. 1989. Reduced glutathione in combination with superoxide dismutase as an important biological antioxidant defence mechanism. *Biochem Pharmacol* 38: 4349-4352.
- Esther CR, Marino JEM, Bernstein KE. 1997. The role of angiotensin-converting enzyme in blood pressure control, renal function and male fertility. *Trends Endocrinol Metab* 8: 181-186.
- Thurman JM, Schrier RW. 2003. Comparative effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers on blood pressure and the kidney. *Am J Med* 114: 588-598.
- Choi HS, Cho HY, Yang HC, Ra KS, Suh HJ. 2001. Angiotensin I-converting enzyme inhibitor from *Grifola frondosa*. *Food Res Int* 34: 177-182.
- Lee DH, Kim JH, Cheong JC, Gong WS, Yoo YB, Park JS, Yoo CH, Lee JS. 2003. Screening of mushrooms having angiotensin I-converting enzyme inhibitor. *Kor J Mycol* 31: 148-154.
- Rhyu MR, Nam YJ, Lee HY. 1996. Screening of angiotensin I-converting enzyme inhibitors in cereals and legumes. *Food Biotechnol* 5: 334-337.
- Lerch K. 1978. Amino acid sequence of tyrosinase from *Nurospora crassa*. *Proc Natl Acad Sci* 75: 3635-3539.
- Hearing VJ, Jimenez M. 1989. Analysis of mammalian pigmentation at the molecular level. *Pigment Cell Res* 2: 75-85.
- Shin YJ, Han DS, Kim SJ, Kim IH. 2000. Ability of lipophilic extract obtained from plants to inhibit tyrosinase activity in reverse micelles. *Korean J Food Sci Technol* 32: 736-741.
- Jung SW, Lee NK, Kim S, Han D. 1995. Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Korean J Food Sci Technol* 27: 891-896.