

반응표면분석법에 의한 노루궁뎅이 버섯 에탄올 추출조건의 최적화

최미애 · 박난영¹ · 우승미² · 정용진^{2,*}

양산대학 호텔조리과, ¹(주)계명푸덱스, ²계명대학교 식품가공학과

Optimization of Extraction Conditions from *Hericium erinaceus* by Response Surface Methodology

Mi-Ae Choi, Nan-Young Park¹, Seung-Mi Woo² and Yong-Jin Jeong^{2,*}

Department of Hotel Culinary Arts, Yangsan College

¹Keimyung Foodex Co. Ltd.

²Department of Food Science and Technology, Keimyung University

Response surface methodology (RSM) was used to monitor the characteristics of ethanol extracts from *Hericium erinaceus*. A central composite design was applied to investigate the effects of independent variables, ethanol concentration (X_1), and sample ratio (X_2) on dependent variables, soluble solid (Y_1), total phenols (Y_2), crude protein (Y_3), electron donating ability (Y_4), and browning color (Y_5) of the extracts. As the sample ratio increased, the soluble solid content increased. Ethanol concentration played a minor role. Total phenols and crude protein increased with sample ratio. Sample ratio had a greater effect than alcohol concentration in the extraction of soluble solid, total phenols, crude protein, and browning color, with an exception of electron donating ability. The optimum ranges at 2 hr extraction was 3.9~5.0 g/100 mL in sample ratio and 36~52% in ethanol concentration. Predicted values at the optimized conditions were acceptable when compared to experimental values.

Key words: *Hericium erinaceus*, response surface methodology (RSM), electron donating ability

서 론

버섯은 영양이 풍부할 뿐 아니라 독특한 맛과 향기를 지니고 있어 예로부터 식용 및 약용으로 널리 이용되어져 왔다⁽¹⁾. 버섯은 약리적인 특성 즉 생체방어, 질병회복과 뇌졸중, 심장병 등의 성인병에 대한 예방과 노인성 치매 등의 개선효과가 있는 것으로 나타났다^(2,3). 버섯에서 분리된 β -D-glucan류는 항암활성, 항산화성, 면역증강기능이 보고되어, 버섯 다당류에 대한 연구가 많이 이루어져왔다⁽⁴⁾. 또한, 노화에 관련된 생체대사 과정 중 생성되는 superoxide anion radical의 경우 전자환원으로 반응성과 파괴성이 매우 강하여 세포와 조직에 독성을 일으켜 종양을 촉진하거나 십이지장궤양, 당뇨병, 알츠하이머병, 피부의 노화 등을 유발시키는 것으로 알려져 있다⁽⁵⁾. Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 물질은 SOD와 유사한 기능을 하는 저분자물질로 superoxide의 반응성을 억제하여 생체를 보호하며 노화억제의 효과를 기대할

수 있는 것으로 보고되었다⁽⁶⁻⁸⁾. 이러한 자연계에 존재하는 버섯은 다양한 기능성과 그에 관련된 여러 성분을 함유하고 있어 의약품 소재로 개발 가능성이 높을 뿐만 아니라 고부가 가치의 건강식품으로도 주목을 받고 있다. 노루궁뎅이 버섯 (*Hericium erinaceus*)은 가을철 떡갈나무나 너도밤나무 등 활엽수의 고목이나 생목에서 발생하며 일본에서는 Yamabushitake로 불리어지고 있고⁽⁹⁾, 중국에서는 원숭이머리 버섯, 후두버섯이라고 불리어지고 있으며⁽¹⁰⁾, 자실체는 지름 5~25 cm로 초기에는 계란형 또는 반구형으로 성장하며 완전히 성장하면 길이와 폭이 각각 10~25 cm가 되며, 항암 및 면역기능이 증진되는 효능이 있다고 보고되었다⁽¹¹⁾. 또한 노루궁뎅이 버섯은 열수 추출액의 암세포 종식 효과가 있는 것으로 보고되었으며⁽²⁾, 항돌연변이원성과 버섯추출물의 벤조페린 유발간독성에 대한 보호효과가 있는 것으로 보고되었다^(12,13). 이러한 노루궁뎅이 버섯은 일본, 중국에서는 식품원료로 사용이 되고 있으며 국내에서는 현재까지 가공용 식품 원료로 사용은 허가되지 않고 있으나 치매억제에 관한 기능성분이 보고되면서⁽¹²⁾ 향후 고부가가치 기능성 식품원료로의 사용이 기대되고 있으나 식품학적 성분에 관한 연구는 체계적으로 이루어지지 않고 있다.

따라서 본 연구에서는 노루궁뎅이 버섯의 기능성 식품소

*Corresponding author : Yong-Jin Jeong, Department of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 702-701, Korea
 Tel: 82-53-580-5557
 Fax: 82-53-580-6477
 E-mail: yjeong@kmu.ac.kr

재 개발을 검토하기 위하여 에탄을 추출에 따른 식품성분 및 그 추출물의 특성을 측정하였다.

재료 및 방법

재료

본 연구에서 사용된 노루궁뎅이 버섯은 망절농장(경남 양산)으로부터 제공받아 음건한 후(수분함량 15.32%) 분쇄기로 분말화하여 냉동 보관하면서 시료로 사용하였다.

실험계획

노루궁뎅이 버섯으로부터 유효성분을 추출하고자 추출조건에 대한 실험계획은 중심합성계획에⁽¹⁴⁾ 의하여 설계하였고, 반응표면 회귀분석을 위해서 SAS(statistical analysis system) program을⁽¹⁵⁾ 사용하였다. 이 때 추출조건은 시료에 대한 추출용액의 농도, 시료에 대한 용매비와 추출시간이었으며, 이를 독립변수들은 5단계(-2, -1, 0, 1, 2)로 부호화하였다. 또 추출물의 품질특성에 관련된 종속(반응)변수(Y_n)로서는 가용성 고형분(Y_1), 총 폐놀함량(Y_2), 조단백 함량(Y_3), α,α -diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH)(Y_4), 갈색도(Y_5)로 하였다. 이 때 추출시간은 예비실험을 토대로 2시간으로 고정하였고, 추출물은 Whatman No. 1으로 여과한 다음 전체의 양을 일정하게 맞추어 분석용 시료로 사용하였다.

가용성고형분 분석

가용성 고형분 함량은 시험용액 20 mL를 항량을 구한 수기에 취하여 105°C에서 증발 건고시킨 후 그 무게를 측정하였으며, 추출액 조제에 사용된 건물 시료량에 대한 백분율로 씨 고형분 함량을 나타내었다.

폐놀성 화합물 함량 측정

노루궁뎅이 버섯의 에탄을 추출액의 폐놀성 화합물 함량을 Amerine과 Ough의 방법⁽¹⁶⁾에 준하여 비색 정량하였다. 즉, 추출액 2 mL에 Folin-ciocalteau 시약 2 mL를 가하여 혼합하고 3분 후 10% Na₂CO₃ 2 mL를 넣어 진탕한 다음 실온에서 1시간 방치하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

조단백 함량

노루궁뎅이 버섯의 에탄을 추출액의 조단백 함량은 Lowry 법⁽¹⁷⁾에 의해 일카리성 CuSO₄ · 5H₂O 시약을 반응시켜 750 nm에서 비색 정량하였다.

전자공여작용 측정

노루궁뎅이 버섯의 에탄을 추출액의 DPPH를 이용한 방법⁽¹⁸⁾으로 측정하였다. 즉, DPPH 16 mg을 100 mL 무수에탄 올에 용해한 후 중류수 100 mL를 가하고 여과하였다. 시료 1 mL(0.2 mg/mL)를 시험관에 가하고 DPPH 용액 4 mL를 혼합하여 1분간 반응시킨 후, 517 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다.

갈색도

갈색도는 각각의 조건에서 추출한 추출액을 여과하여 일정 배수로 희석하여 spectrophotometer(UV-1601 PC Shimadzu, Japan)를 사용하여 420 nm에서 흡광도로 측정하였다⁽¹⁹⁾.

결과 및 고찰

가용성고형분에 대한 추출조건의 영향

노루궁뎅이 버섯으로부터 최적 에탄을 추출물을 얻기 위한 실험계획과 각각의 조건에서 추출한 추출물의 특성은 Table 1과 같다. 이러한 결과를 이용하여 에탄을 농도(X_1), 시료에 대한 용매비(X_2)의 추출조건과 가용성 고형분, 폐놀성 화합물 함량, 조단백 함량, 전자공여작용, 색도(Y_1 ~ Y_5)에 대한 각각의 반응표면 회귀식은 Table 2에 나타낸 바와 같이 노루궁뎅이 버섯의 에탄을 추출물의 가용성 고형분은 R^2 가 0.9960으로 1% 이내의 수준에서 유의성이 인정되었으며, 반응표면은 안장점의 형태를 나타내었다. 노루궁뎅이 버섯의 에탄을 농도(10~90%)와 시료의 용매비(1~5 g/100 mL)에서 추출액의 가용성 고형분의 변화는 에탄을 농도에 대해서는 영향을 거의 받지 않는 것으로 나타났으며, 시료의 용매비가 증가할수록 가용성 고형분이 증가하는 경향을 나타내었다. 생약재의 경우 친수성 용매로 추출하는 것이 높은 용출율을 보였다는 보고와^(20,21) 비교할 때 본 연구는 소수성보다는 친수성 물질

Table 1. Properties of ethanol extracts from *Hericium erinaceus*

Extraction condition ¹⁾			Soluble solids (%)	Total phenols (mg/mL)	Crude protein (mg%)	Electron donating ability (unit)	Browning color (OD)
Exp. No.	Ethanol conc. (%)	Sample ratio (g/100 mL)					
1	70(1)	4(1)	1.07	45.26	260	40.7	0.490
2	70(1)	2(-1)	0.53	18.53	135	22.8	0.232
3	30(-1)	4(1)	2.18	38.09	313	13.3	1.400
4	30(-1)	2(-1)	0.77	23.86	186	3.20	0.708
5	50(0)	3(0)	1.12	40.17	250	40.7	0.758
6	50(0)	3(0)	0.94	41.46	275	38.9	0.845
7	90(2)	3(0)	0.19	16.68	118	13.7	0.114
8	10(-2)	3(0)	1.52	36.55	296	0.10	1.586
9	50(0)	5(2)	2.58	67.56	397	43.4	1.410
10	50(0)	1(-2)	0.49	15.14	112	15.8	0.262

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

Table 2. Polynomial equation calculated by RSM program for extraction of *Hericium erinaceus*

Dependent variable (Y_n)	The second order polynomial ¹⁾	R^2	Pro>F
Soluble solids (Y_1)	$Y_1 = -0.4484 + 0.0273X_1 + 0.3077X_2 - 0.0001X_1^2 - 0.0108X_1X_2 + 0.1244X_2^2$	0.9960	0.0001
Total phenols (Y_2)	$Y_2 = 17.8029 + 0.1543X_1 + 0.9791X_2 - 0.0078X_1^2 + 0.1562X_1X_2 + 0.5597X_2^2$	0.9229	0.0241
Crude protein (Y_3)	$Y_3 = 0.5634 + 0.0121X_1 + 0.7183X_2 - 0.0003X_1^2 - 0.00025X_1X_2 - 0.0034X_2^2$	0.9670	0.0046
Electron donating ability (Y_4)	$Y_4 = -51.5159 + 1.9117X_1 + 13.4907X_2 - 0.0189X_1^2 + 0.0975X_1X_2 - 1.9053X_2^2$	0.8471	0.0871
Browning color (Y_5)	$Y_5 = 0.2911 - 0.0068X_1 + 0.4408X_2 + 0.00005X_1^2 - 0.0054X_1X_2 + 0.0168X_2^2$	0.9937	0.0002

¹⁾X₁: Ethanol concentration (%); X₂: Sample ratio (g/100 mL).

Table 3. Analysis of variance for regression model of extraction conditions of *Hericium erinaceus*

	F-Ratio	
	Ethanol conc.	Sample ratio
Soluble solids (Y_1)	99.46***	227.57***
Total phenols (Y_2)	2.34	13.26**
Crude protein (Y_3)	10.20**	28.56***
Electron donating ability (Y_4)	5.09*	2.33
Browning color (Y_5)	51.75***	29.77***

*Significant at 10% level (p<0.10)

**Significant at 5% level (p<0.05)

***Significant at 1% level (p<0.01).

이 더 많이 함유되어 있는 것으로 사료된다. 또한, 계피의 경우 물보다 70% 에탄올에 가용성 고형분이 잘 용출되는 것으로 나타났으며⁽²²⁾, Oh 등⁽²⁰⁾은 당귀, 구기자, 오미자, 오갈피 등의 생약재 추출에서 에탄올 농도가 증가할수록 추출액의 고형분 수율은 낮아졌다는 보고와는 다소 상이한 경향을 나타내었다.

페놀성 화합물에 대한 추출조건의 영향

노루궁뎅이 버섯의 페놀성 화합물 함량에 대한 반응표면은 안장점의 형태를 나타내었으며 능선분석(ridge analysis)을 실시하여 본 결과(Fig. 1), 총 페놀성 화합물의 최대값은 64.29 mg/100 mL로 예측되었다. 페놀성 화합물 함량에 대한 최적 추출조건은 에탄올 농도 54.41%, 시료에 대한 용매비 4.98 g/100 mL이었다(Table 4). 페놀성 화합물 함량은 에탄올 농도가 낮을수록, 시료의 용매비가 높을수록 페놀성 성분의 함량이 증가하는 반응표면을 나타내었으며, 에탄올 농도보다는 시료의 용매비에 더 큰 영향을 받는 것으로 나타났다. 또한, 페놀성 화합물 함량에 대한 R^2 는 0.9229이었으며 5% 이내의 수준에서 유의성이 인정되었다(Table 2).

조단백에 대한 추출조건의 영향

노루궁뎅이 버섯의 조단백 함량에 대한 반응표면은 최대

점의 형태를 나타내었으며 이 때 최대값은 397.97 mg/100 mL로 예측되었다. 조단백 함량에 대한 R^2 는 0.9670으로 나타났으며 1% 이내의 수준에서 유의성이 인정되었다(Table 2). 에탄올 농도가 감소할수록 증가하다가 일정시점 이후로 약간의 감소하는 경향을 나타내었으며, 시료의 용매비가 증가할수록 증가하는 경향을 나타내었다(Fig. 2). 또한, 노루궁뎅이 버섯의 조단백 함량은 에탄올 농도보다는 시료의 용매비가 더 큰 영향을 미치는 것으로 나타났으며 최적 추출조건은 에탄올 농도 36.94%, 시료의 용매비는 4.89 mg/100 mL로 나타났다(Table 4).

전자공여작용에 대한 추출조건의 영향

각각의 추출조건에 따른 노루궁뎅이 버섯의 전자공여작용에 대한 반응표면은 최대점의 형태를 나타내었으며 최적 추출조건은 에탄올 농도 63.74%와 시료의 용매비는 5.17 g/100 mL로 나타났다(Table 4). 이 때 최대값은 44.29 unit로 나타났으며 추출물의 전자공여작용은 에탄올 농도가 증가할수록 증가하다가 최적 추출조건에서 최대점을 보인 후 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 2). 특히 시료의 용매비보다는 에탄올 농도가 더 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다. Kang 등⁽²³⁾은 전자공여능은 전반적으로 시료의 용매비가 증가할수록 증가한다고 보고하여 본 연구와는 상이한 경향을 나타내었다. 전자공여작용에 대한 R^2 는 0.8471이었으며 10% 이내의 수준에서 유의성이 인정되었다.

갈색도에 대한 추출조건의 영향

노루궁뎅이 버섯의 갈색도에 대한 반응표면은 안장점의 형태를 나타내었으며 이 때 최대값은 1.92로 예측되었다(Table 4). 갈색도에 대한 R^2 는 0.9937로 나타났으며 1% 이내의 수준에서 유의성이 인정되었다. 갈색도는 에탄올 농도가 감소할수록 증가하였고 시료의 용매비가 높아질수록 증가하는 경향을 나타내었다(Fig. 3). 노루궁뎅이 버섯의 갈색도는 에탄올 농도보다는 시료의 용매비가 더 큰 영향을 미치는 것으로 나타났으며 최적 추출조건은 에탄올 농도 19.54%, 시료의 용매비는 4.29 g/100 mL로 나타났다(Table 4). 계피 추

Table 4. Predicted levels of extraction conditions for the maximum responses by the ridge analysis

Responses	Ethanol conc.	Sample ratio	Response	Morphology
Soluble solids (Y_1)	30.87	4.75	2.96	Saddle point
Total phenols (Y_2)	54.41	4.98	64.29	Saddle point
Crude protein (Y_3)	36.94	4.89	397.97	Maximum
Electron donating ability (Y_4)	63.74	5.17	44.29	Maximum
Brown color (Y_5)	19.54	4.29	1.92	Saddle point

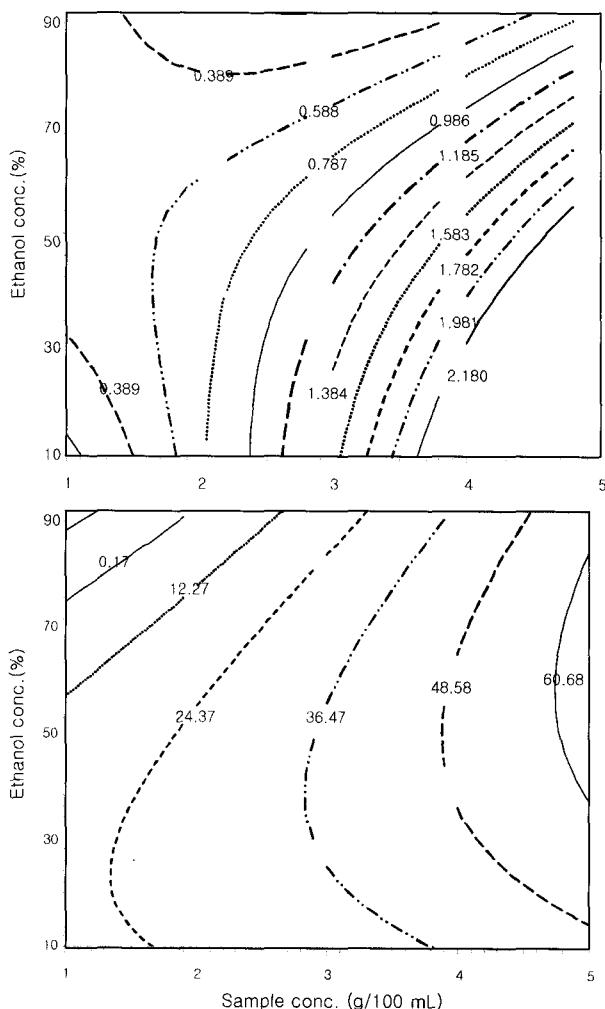


Fig. 1. Contour maps of soluble solid (top) and total phenol (bottom) in ethanol extracts from *Hericium erinaceus*.

출액의 경우 에탄올 농도에 따라 증가하였다가 70% 에탄올 추출액에서 최대값을 나타내었으며 그 이후로는 감소하였다 는 보고⁽²⁴⁾와는 다른 경향을 나타내었다.

추출조건의 최적화

노루궁뎅이 버섯에 대한 에탄올 추출조건을 최적화할 목적으로 추출시간을 120분으로 고정하고, 에탄올 농도와 시료에 대한 용매비에 대한 각 종속변수들의 contour map을 superimposing하여 추출물의 특성을 모두 만족시켜 주는 추출조건 범위를 나타내 보았다(Fig. 4). 에탄올 추출물의 특성 변화에 대한 contour map을 이용하여 superimposed map을 작성한 결과, 예측된 최적조건 범위는 Fig. 4의 빛금친 부분으로 Table 5와 같이 에탄올 농도 36~52%, 시료의 용매비 3.9~5.0%로 각각 나타났다. 이상의 예측 모델식을 검증하기 위하여 최적조건 범위내의 임의의 최적점 즉, 에탄올 농도 44%, 시료의 용매비 4.5 g/100 mL로 추출조건을 설정하여 실제 추출실험을 실시하고 그 추출물의 특성을 측정하여 본 결

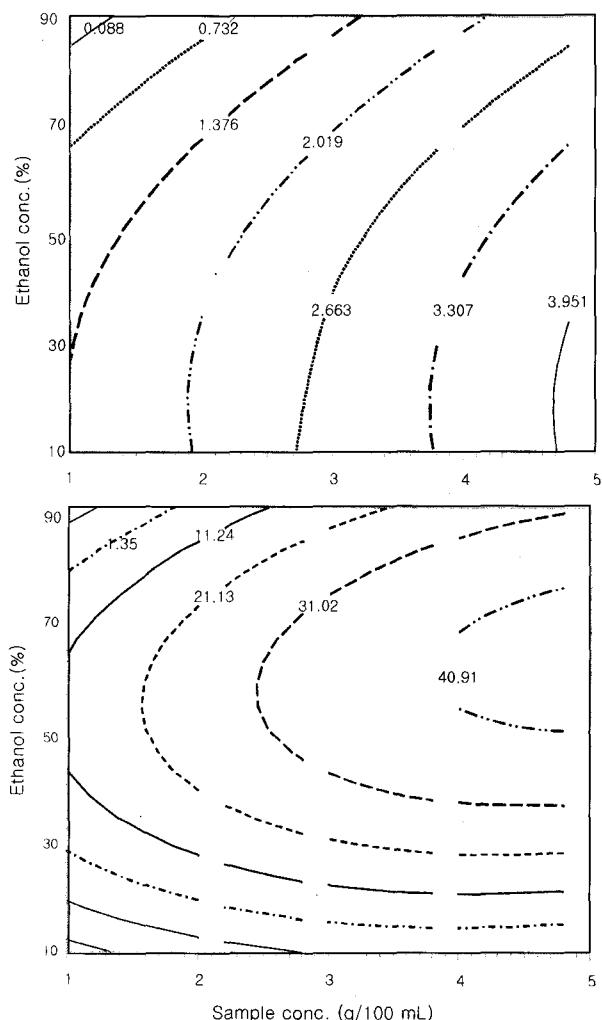


Fig. 2. Contour maps of crude protein (top) and DPPH (bottom) in ethanol extracts from *Hericium erinaceus*.

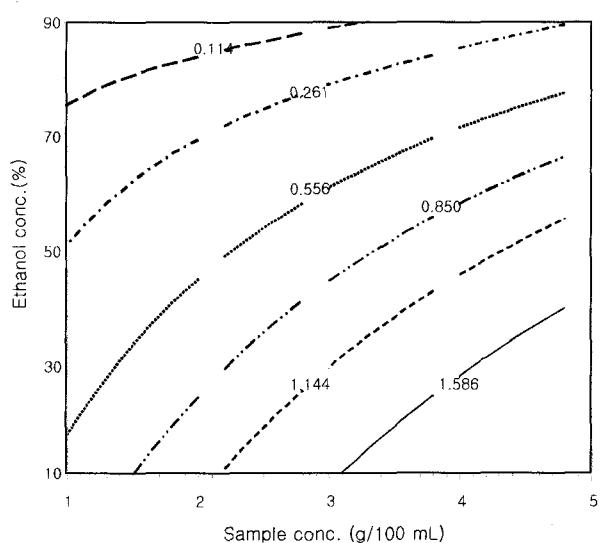


Fig. 3. Contour map of browning color in ethanol extracts from *Hericium erinaceus*.

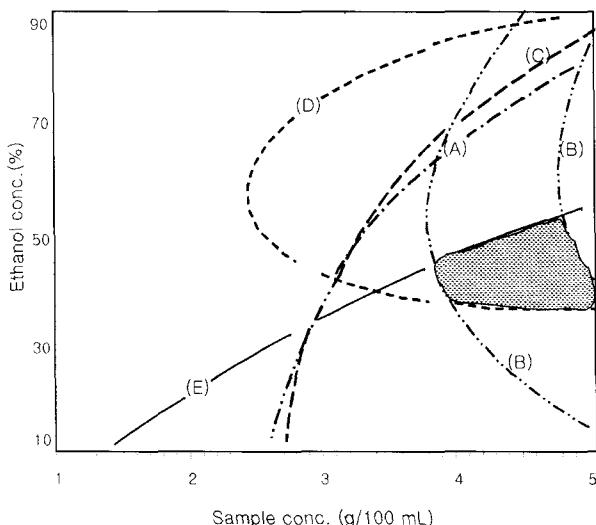


Fig. 4. Superimposed contour map for optimization of soluble solids (A), total phenols (B), crude protein (C), DPPH (D) and browning color (E) of ethanol extracts from *Hericium erinaceus*.

Table 5. The optimum range of ethanol extraction conditions for response variables by superimposing of contour maps for *Hericium erinaceus*

Ethanol conc. (%)	Sample ratio (g/100 mL)
Optimum ranges	36~52
	3.9~5.0

Table 6. Predicted and experimental values of response variables for *Hericium erinaceus* at a given condition within the range of optimum ethanol extraction conditions

Response variables ¹⁾	Predicted values	Experimental values
Soluble solids (Y_1)	2.32	2.17
Total phenols (Y_2)	56.16	65.90
Crude protein (Y_3)	3.62	3.82
Electron donating ability (Y_4)	37.44	39.00
Brown color (Y_5)	1.34	1.21

¹⁾Soluble solid (%), total phenols (mg/mL), crude protein (%), electron donating ability (DPPH, unit) and brown color (O.D.).

과, Table 6과 같이 실제 값들은 예측된 값들과 유사한 수준으로 비교되었다. 이와 같은 최적 추출조건들은 추출물에 대해 고려되어지는 특성에 따라 다소 변화되어질 수 있다.

요 약

노루궁뎅이 버섯의 기능성 식품소재 개발과 가능성을 검토하기 위하여, 반응표면분석에 의해 추출조건의 최적화 및 추출특성을 모니터링하였다. 중심합성계획에 따라 에탄올 농도(X_1), 시료의 용매비(X_2)를 요인변수로 하고 추출물의 특성 즉, 가용성 고형분(Y_1), 총페놀 함량(Y_2), 조단백(Y_3), 전자공여능(Y_4), 갈색도(Y_5)를 종속변수로 하여 추출을 실시하였다. 추출물의 가용성 고형분은 에탄올 농도에 의해 거의 영향을 받지 않는 것으로 나타났으며 시료의 용매비가 증가할수록

증가하는 경향을 나타내었다. 에탄올 농도가 낮을수록, 시료의 용매비가 높을수록 페놀성 성분의 함량이 증가하는 반응 표면을 나타내었으며, 조단백 함량의 경우 에탄올 농도가 감소할수록 증가하였다가 일정시점 이후로 약간의 감소하는 경향을 나타내었으며, 시료의 용매비가 증가할수록 증가하는 경향을 나타내었다. 추출물의 전자공여작용을 제외하고는 에탄올 농도보다는 시료의 용매비에 더 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다. 이를 추출물의 특성을 모두 만족시키는 최적 추출조건은 에탄올 농도 36~52%, 시료의 용매비 3.9~5.0 g/100 mL로 나타났으며 예측된 최적 추출조건의 임의의 점에서 실험한 결과, 각 반응변수들의 예측값과 실제값이 유사하였다.

문 헌

- Ota, S. Shiitake (*Lentinus edodes*). New Food Ind. 26: 49-54 (1984)
- Yearul, K.A. and Shuichi, K. Dietary mushroom reduce blood pressure in spontaneously hypertensive rat. J. Nutr. Sci. Vitaminol. 35: 91 (1989)
- Yamaguchi, M. and Yearul, K.A. Effect of shiitake and maitake mushroom on blood pressure and plasma lipids of spontaneously hypertensive rats. J. Nutr. Sci. Vitaminol. 33: 341-345 (1987)
- Ebihara, K. and Minamishima, Y. Protective effect of biological response modifiers on murine cytomegalovirus infection. J. Virol. 51: 117 (1984)
- Troll, W., Frenkel, K. and Teebor, G. Free oxygen radicals: necessary contributors to tumor promotion and cocarcinogenesis. Princess Takamatsu Symp. 14: 207-218 (1993)
- Sato, Y., Hotta, N., Sakamoto, N., Matsuoka, S., Ohishi, N. and Yagi, K. Lipid peroxide level in plasma of diabetic patients. Biochem. Med. 21: 104-107 (1979)
- Wolff, S.P. and Dean, R.T. Glucose autoxidation and protein modification. The potential role of autoxidative glycosylation in diabetes. Biochem. J. 245: 243-250 (1987)
- Salim, A.S. Oxygen-derived free radicals and the prevention of duodenal ulcer relapse. Am. J. Med. Sci. 300: 1-8 (1990)
- Chang, H.Y. and Roh, M.G. Physiological characteristics of *Hericium erinaceus* in sawdust media. Korean J. Mycol. 27: 252-255 (1999)
- Ahn, D.K. Medicinal fungi in Korea. Korean J. Mycol. 20: 154 (1992)
- Mizuno, T., Wasa, T., Ito, H., Suzuki, C. and Ukai, N. Antitumor-active polysaccharides isolated from the fruiting body of *Hericium erinaceum*; an edible and medicinal mushroom called yamabushitake or houtou. Biosci. Biotech. Biochem., 56: 347-348 (1992)
- Park, S.H., Kim, O.M. and Lee, K.R. Antimutagenic and quinone reductase inducing activities of *Hericium erinaceus* extracts. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 1287-1292 (2001)
- Park, S.H., Kim, J.Y., Chang, J.S., Oh, E.J., Kim, O.M. and Bae, J.T. Protective effect of *Hericium erinaceus* extracts on hepatic injury induced by benzo(a)pyrene in mice. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 928-932 (2001)
- Kang, K.C., Park, J.H., Baek, S.B., Jhin, H.S. and Rhee, K.S. Optimization beverage preparation from *Schizandra chinensis* bailei by response surface methodology Korean J. Food Sci. Technol. 24: 74-81 (1992)
- SAS. SAS/ STAT. User's Guide Version 6, 4th ed., Ch. 37, Vol. 2, p. 1457. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA (1995)
- Amerine, M.A. and Ough, C.S. Methods for Analysis of Musts and Wine, pp. 177. John Wiley & Sons Co., New York, USA (1980)
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. Pro-

- tein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-269 (1951)
18. Blois, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1202 (1958)
19. Park, M.H., Kim, K.C. and Kim, J.S. Changes in the physicochemical properties of ginseng by roasting. *Korean J. Ginseng Sci.* 17: 228-231 (1993)
20. Oh, S.L., Kim, S.S., Min, B.Y. and Chung, D.H. Composition of free sugars, free amino acids, non-volatile organic acids and tannins in the extracts of *L. chinensis* m., *A. acutiloba* K., *S. chinensis* B. and *A. sessiliflorum* S. *Korean J. Food Sci. Technol.* 22: 76-81 (1990)
21. Sung, H.S. Stydies on the effect of extracting conditions on the physicochemical properties of Korean ginseng extract. Ph.D. dissertation, Hanyang Univ., Seoul, Korea (1983)
22. Kim, N.M., Ko, S.R., Choi, K.J. and Kim, W.J. Effect of some extraction conditions on efficiency composition in cinnamon extracts. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* 36: 17-22 (1993)
23. Kang, Y.H., Park, Y.K. and Lee, G.D. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 232-239 (1996)
24. Kim, N.M., Yang, J.W. and Kim, W.J. Effect of ethanol concentration on index components and physicochemical characteristics of cinnamon extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 15: 282-287 (1993)

(2003년 6월 17일 접수; 2003년 7월 10일 채택)