

반응표면분석에 의한 만가닥 버섯의 추출조건 최적화

김현구[†] · 최맑음 · 김미옥 · 김공환^{*}

한국식품개발연구원

^{*}아주대학교 화학·생물공학부

Optimization of Extraction Conditions for *Lyophyllum ulmarium* by Response Surface Methodology

Hyun-Ku Kim[†], Mal-Gum Choi, Mi-Ok Kim and Kong-Hwan Kim^{*}

Korea Food Research Institute, Songnam 463-746, Korea

^{*}Division of Chemical Engineering and Biotechnology, Ajou University, Suwon 442-749, Korea

Abstract

Optimal extraction conditions for yield, browning color, electron donating ability, nitrite scavenging effect, total polyphenol content and tyrosinase inhibitory activity of *Lyophyllum ulmarium* were determined by using response surface methodology (RSM) through the central composite design. The extraction yield of *Lyophyllum ulmarium* was effected by ethanol concentration and browning color was improved with the increase of ethanol concentration than microwave power. The nitrite scavenging effect was improved with the increase of ethanol concentration and decrease of microwave power. The electron donating ability, browning color, tyrosinase inhibitory activity and total polyphenol content were improved with the increase in ethanol concentration and microwave power. The optimal ranges of extraction conditions for effective components of *Lyophyllum ulmarium* were predicted as 60.05~102.75 watt of microwave power, 53.20~64.01% of ethanol concentration and 7.77 min of extraction time.

Key words: *Lyophyllum ulmarium*, extraction conditions, response surface methodology (RSM)

서 론

만가닥버섯(*Lyophyllum ulmarium* 또는 *Hypsizygus ulmarium*)은 분류학적으로 진정담자균강, 동담자균아강(모균아강), 주름버섯목, 송이과에 속하며 가을철 느릅나무 등의 활엽수 고목이나 그루터기에서 다발로 발생하는 백색목재부후균이다. 이 버섯은 다발성이 매우 강해 수많은 개체가 발생된다고 하여 우리나라에서는 만가닥버섯 이라고 부르며 일본에서는 혼시메지 또는 부나시메지라고 부른다. 만가닥 버섯은 느타리버섯이나 표고버섯에 비하여 조직이 연하고 잘 부스러지며 씹는 질감이 좋아 동양인의 기호에 적합할 뿐만 아니라 맛과 향이 좋아 식용버섯으로 병재배 시설에 의한 대량재배가 가능하다(1). 우리나라에서 만가닥 버섯 생산현황을 살펴보면 수향 버섯에서 연간 100톤 정도 시험 생산되고 있으며 일본에서는 연간 2만톤 정도 생산되어 팽이버섯, 표고버섯에 이어 세 번째로 소비량이 많으며 그의 지역에서는 전혀 생산되고 있지 않다.

만가닥 버섯의 영양가를 살펴보면 100 g당 열량은 33 kcal, 단백질은 2.7 g, 지방은 0.5 g, 탄수화물은 5.4 g이다. 기타

무기질과 비타민 C를 함유하고 있으며 강심작용과 비만억제 등 다양한 효능이 있는 것으로 알려지고 있다(2). 또한 고분자 성분을 추출하여 분석한 결과 다당류 유도체가 항암효과를 나타내는 것으로 밝혀졌다. 만가닥 버섯은 식용버섯으로도 뛰어나지만, 아울러 면역증강 작용을 발현하여 질병예방에 유효할 것으로 보인다(3). 그러나 앞으로 우수한 식품소재로 개발될 가능성이 높은 버섯이나 식품소재화에 관한 연구는 아직 이루어진 바 없다.

따라서 본 연구에서는 만가닥 버섯의 식품소재화를 목적으로 유효성분 추출 기술 개발을 위하여 버섯 추출물의 특성 및 반응표면 분석에 의한 최적 추출 조건을 설정하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 만가닥버섯(*Lyophyllum ulmarium*)은 가락시장에서 구입하여 깨끗이 세정한 후 표면의 물기를 제거하고 세절하여 사용하였다. 추출 용매로는 water, 50% ethanol, 99% ethanol을 사용하였으며 마이크로웨이브 추출법

[†]Corresponding author. E-mail: hyunku@kfri.re.kr
Phone: 82-31-780-9134. Fax: 82-31-780-9234

(microwave-assisted extraction, MAE)으로 추출하였다.

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), 추출시간(min) 및 시료 대 용매비에 따른 추출을 실시하였다. 추출은 상압에서 실시하였으며 밀폐형 추출관을 사용하였다.

추출조건의 예비설정

추출조건의 예비설정에서 필요한 기초실험으로서 microwave power별, 추출용매별, 추출시간별, 시료대 용매비(1:10, 1:5, 1:2.5)에 따른 추출효율을 확인하여 추출조건 최적화 실험의 기본조건으로 활용하였다.

추출조건의 최적화를 위한 중심합성 실험계획

만가닥버섯의 마이크로웨이브 추출조건의 최적화를 위하여 예비 실험조건을 바탕으로한 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)을 사용하였으며, 실험계획은 중심합성계획(central composite design)(4,5)을 적용하였다. 즉, 추출공정의 독립변수(X_i)인 microwave power(X_1), 추출용매(X_2), 추출시간(X_3)에 대한 실험범위를 선정하여 시료별로 각각 5단계로 부호화(Table 1)하여 중심합성계획에 의해 13개 군의 추출조건을 각각 설계하였으며, Table 2는 만가닥 버섯의 추출조건을 나타내었다. 각 조건에서 얻어진 추출물의 품질특성(종속변수, Y_n)을 3회 반복으로 측정하여 각각 퇴귀분석을 실시하였다. 퇴귀분석에 의한 최적조건의 예측은 SAS(statistical analysis system) program을 이용(6)하였고, 퇴귀분석 결과 임계점이 최대점이거나 최소점이 아니고 안장점일 경우에는 능선분석을 하여 최적점을 구하였다. 추출특성의 모니터링과 최적조건 범위 예측은 각 종속변수의 3차원 반응표면을 이용(7-9)하여 분석하였다.

추출물의 품질 특성

수율(yield)은 추출액을 회전 감압 증발기(rotavapor R-123, Buchi, Swizerland)로 감압 농축한 후 건조오븐(forced convection oven, Jeico Tech, Korea)을 이용하여 항량이 될 때까지 건조하였으며, 추출액 조제에 사용한 원료 건물량에 대한 그형분 수율(% d.b.)로 나타내었다. 또한 추출액을 감압 농축한 후 처음 추출액의 반량인 증류수로 녹여 폴리페놀 함량, 전자공여작용, tyrosinase 저해작용, 아질산염 소거작

Table 1. Extraction conditions based on experimental design for extraction from *Lyophyllum ulmarium* by microwave-assisted extraction (MAE)

X_i	Extraction condition	Level				
		-2	-1	0	1	2
X_1	Microwave power (watt)	0	60	90	120	150
X_2	Ethanol conc. (%)	0	25	50	75	100
X_3	Extraction time (min)	1	3	5	7	10

Table 2. Central composite design by RSM computer program for the optimization of extraction conditions for extraction from *Lyophyllum ulmarium* by microwave-assisted extraction (MAE)

Experimental number ¹⁾	Microwave power (Wt)	Ethanol conc. (%)	Extraction time (min)
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	0(-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)	10(2)

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

용 및 갈색도를 측정하는데 사용하였다.

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

추출물의 전자공여작용(electron donating abilities, EDA)은 Kang 등(11)의 방법을 변형하여 각각의 추출물에 대한 DPPH(α, α -diphenyl-picrylhydrazyl)의 전자공여효과로 각 시료의 환원력을 측정하였다. 즉, 추출물 0.2 mL에 4×10^{-4} M DPPH용액(99.9% EtOH에 용해) 0.8 mL, 0.1 M phosphate buffer(pH 6.5) 2 mL와 99.9% ethanol 2 mL을 가하여 총액의 부피가 5 mL가 되도록 하였다. 이 반응액을 약 10초간 혼합하고 실온에 10분 방치한 후 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여효과는 추출물의 첨가 전·후의 차이를 백분율로 나타내었다.

Tyrosinase 저해 효과 측정은 Wong 등(12)의 방법에 따라 측정하였으며, tyrosinase 조효소액은 mushroom tyrosinase (Sigma, T7755, 110 units/mL)을 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 광도계를 사용하여 420 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다. Tyrosinase에 대한 효소활성 저해 효과는 단위시간당 변화된 초기 흡광도의 변화값을 측정하여 다음의 식에 의해 계산하였다.

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

A: 효소액 첨가구의 흡광도 변화값

B: 효소액 대신 buffer 첨가구의 흡광도 변화값

C: 추출물 대신 증류수 첨가구의 흡광도 변화값

아질산염 소거효과(nitrite-scavenging effect)는 Gray와 Dugan(13)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% sulfanylic acid와 1% naphthylamine을 1:1 비율로 혼합한 것으로 사용직전에 제조) 0.4 mL를 가하여 잘 혼합시켜 15분간 실온에서 방치시킨 후 분광 광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하고, 잔존하는 아질산염량을 구하였다. 그리고 대조구는 Griess 시약 대신 증류수 0.4 mL를 가하여

상기와 동일하게 행하였다. 아질산염 소거능은 추출액 첨가 전후의 아질산염 백분율(%)로 표기하였다.

갈색도는 분광광도계를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다.

최적 추출조건의 예측

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

결과 및 고찰

추출물의 품질 특성 및 추출공정 최적화

Microwave 추출조건의 최적화를 위하여 microwave power별, 추출용매별, 추출시간별, 시료대 용매비에 따른 추출효율을 확인하여 추출조건의 예비설정에서 필요한 기초실험을 실시하였다(Table 3, 4). 따라서 Table 3, 4의 결과에 따른

Table 3. Effect of microwave power, extraction time and sample to solvent ratio in MAE on yield, total polyphenol content, electron donating ability and tyrosinase inhibitory effect of *Lyophyllum ulmarium*

	Extraction solvent	Yield (% d.b)	Total polyphenol content (mg %)	Electron donating ability (%)	Tyrosinase inhibitory effect (%)		
Microwave power (watt) ¹⁾	60	Water	3.98	1.52	3.74	0.51	
		50% ethanol	39.79	1.82	2.89	0.77	
		99% ethanol	36.46	1.04	3.34	1.03	
	90	Water	44.27	2.26	4.73	0.87	
		50% ethanol	41.70	1.98	4.04	1.11	
		99% ethanol	37.22	1.26	4.67	2.12	
	120	Water	45.41	2.92	5.25	2.99	
		50% ethanol	41.98	2.32	4.16	3.15	
		99% ethanol	37.41	1.60	4.83	5.97	
Extraction time (min) ²⁾	1	Water	32.56	0.78	3.58	0.73	
		50% ethanol	32.08	1.32	3.13	0.95	
		99% ethanol	25.99	1.12	3.20	1.16	
	2	Water	34.27	1.10	4.01	1.10	
		50% ethanol	36.84	1.70	3.82	1.20	
		99% ethanol	27.42	1.16	4.10	1.56	
	5	Water	44.27	2.26	1.73	0.87	
		50% ethanol	41.71	1.58	4.04	1.11	
		99% ethanol	37.22	1.26	4.67	2.12	
	10	Water	44.93	2.20	7.08	1.33	
		50% ethanol	42.08	1.90	6.26	1.61	
		99% ethanol	40.27	1.34	6.39	2.85	
	15	Water	45.60	2.26	7.43	1.69	
		50% ethanol	42.55	1.88	6.44	1.07	
		99% ethanol	41.03	1.48	6.85	2.99	
	Sample to solvent ratio ³⁾	1:10	Water	31.72	0.36	2.59	-
			50% ethanol	31.68	0.29	1.88	-
			99% ethanol	31.12	0.21	2.33	-
1:5		Water	33.48	0.64	3.50	0.79	
		50% ethanol	33.29	0.44	2.37	1.17	
		99% ethanol	32.17	0.31	3.16	1.60	
1:2.5		Water	44.27	2.26	4.73	0.87	
		50% ethanol	41.70	1.58	4.04	1.11	
		99% ethanol	37.22	1.26	4.67	2.12	

¹⁾MAE was performed for 5 min on mixture composed of 20 g and 50 mL of solvent.

²⁾MAE was performed for 90 W on mixture composed of 20 g and 50 mL of solvent.

³⁾MAE was performed for 90 W, 5 min on mixture composed of sample (5~20 g) and 50 mL of solvent.

Table 4. Effect of microwave power, extraction time and sample to solvent ratio and pH in MAE on nitrite-scavenging effect of *Lyophyllum ulmarium*

		Extraction solvent	pH 1.2	pH 3.0	pH 4.2	pH 6.0
Microwave power (watt) ¹⁾	60	Water	15.41	13.89	8.54	5.87
		50% ethanol	66.61	31.16	24.58	23.87
		99% ethanol	95.41	43.97	36.80	34.91
	90	Water	20.74	16.59	10.70	6.91
		50% ethanol	87.93	39.03	32.05	31.13
		99% ethanol	97.50	49.39	40.07	39.86
	120	Water	29.05	18.11	14.11	10.91
		50% ethanol	95.44	53.26	42.86	37.58
		99% ethanol	99.97	75.39	55.86	49.28
Extraction time (min) ²⁾	1	Water	16.01	5.84	4.85	3.40
		50% ethanol	79.18	24.10	21.80	19.36
		99% ethanol	92.89	44.10	42.92	42.79
	2	Water	20.10	5.10	3.50	2.29
		50% ethanol	78.07	29.72	28.16	26.99
		99% ethanol	93.09	44.39	41.87	41.84
	5	Water	20.74	16.59	10.70	6.91
		50% ethanol	87.93	39.03	32.05	31.13
		99% ethanol	97.50	49.39	40.07	39.86
	10	Water	21.35	7.35	5.01	4.36
		50% ethanol	92.26	49.26	41.98	39.46
		99% ethanol	98.39	48.79	42.71	39.13
	15	Water	14.47	4.04	3.22	1.73
		50% ethanol	99.41	50.40	44.81	34.82
		99% ethanol	99.88	49.87	47.22	45.89
Sample to solvent ratio ³⁾	1:10	Water	9.42	3.05	2.33	1.66
		50% ethanol	30.38	12.55	10.05	9.71
		99% ethanol	29.49	11.05	9.72	10.78
	1:5	Water	15.78	4.11	2.58	1.22
		50% ethanol	76.11	32.05	26.36	27.15
		99% ethanol	67.22	26.31	21.30	22.71
	1:2.5	Water	20.75	16.59	10.70	6.91
		50% ethanol	87.98	39.03	32.05	31.13
		99% ethanol	97.50	49.39	40.07	39.86

¹⁾MAE was performed for 5 min on mixture composed of 20 g and 50 mL of solvent.

²⁾MAE was performed for 90 W on mixture composed of 20 g and 50 mL of solvent.

³⁾MAE was performed for 90 W, 5 min on mixture composed of sample (5~20 g) and 50 mL of solvent.

예비실험 조건을 바탕으로 중심합성계획을 실시하였다.

중심합성계획에 의한 16구의 추출조건의 품질특성으로 수율, 전자공여작용, 총 폴리페놀 함량, tyrosinase 저해작용, 갈색도, 아질산염 소거작용을 3회 반복 실시하고 평균값을 Table 5에 나타내었다. 이들 결과를 이용하여 회귀분석을 실시하였으며 각 요인변수에 따른 반응변수들 즉, 수율(Y_1), 전자공여작용(Y_2), 총 폴리페놀 함량(Y_3), tyrosinase 저해작용(Y_4), 아질산염 소거작용(Y_5), 갈색도(Y_6)에 대한 회귀식과 반응표면분석에 의해 최적추출조건을 예측하였다. 이들 회귀식에서 요인변수들 중 상수가 가장 낮은 변수 즉, 영향이 가장 작은 것으로 나타난 추출시간을 7.77분으로 고정하여 반응표면을 나타내었다(Fig. 1).

추출조건별 만가닥버섯 추출물의 수율, 갈변도, 전자공여능, 아질산염 소거작용, 총 폴리페놀함량, tyrosinase 저해작용 등에 대한 회귀식의 유의성과 회귀분석에 의한 정상점(stationary point)을 예측하였다(Table 6). 추출조건별 만가닥 버섯 추출물의 수율의 변화에서 회귀식의 R^2 는 0.8272로

10%의 수준에서 유의성이 인정되었다. 반응 표면분석을 통하여 예측된 정상점은 52.49%로 예측되었으며, 이때 요인변수인 추출조건은 microwave power 71.92 watt, 에탄올 농도 43.53%, 추출시간 8.13분이었다. 만가닥버섯의 전자공여작용 및 총 폴리페놀 함량의 변화에서 회귀식의 R^2 는 각각 0.8870, 0.8033으로 10%의 수준에서 유의성이 인정되었다. 반응표면분석을 통하여 예측된 정상점은 각각 6.65% 및 8.08 mg%로 예측되었으며, 이때 요인변수인 추출조건은 전자공여작용 및 총 폴리페놀 함량에서 각각 microwave power 119.73 watt 및 90.85 watt, 에탄올 농도 89.47 % 및 70.10%, 추출시간 6.15분 및 9.50분이었다. 또한 추출조건에 따른 갈변도, 아질산염 소거작용, tyrosinase 소거작용에 대한 만가닥 버섯 추출물에 대한 회귀식 및 R^2 는 각각 0.6165, 0.3469, 0.8033으로 매우 낮았으며 유의성이 인정되지 않았다.

만가닥버섯 추출물의 반응표면(Fig. 1)에서 볼 때, 고행분 수율의 변화는 에탄올 농도에 가장 큰 영향을 받았으며, microwave power, 추출시간의 순으로 영향을 받는 것으로 나

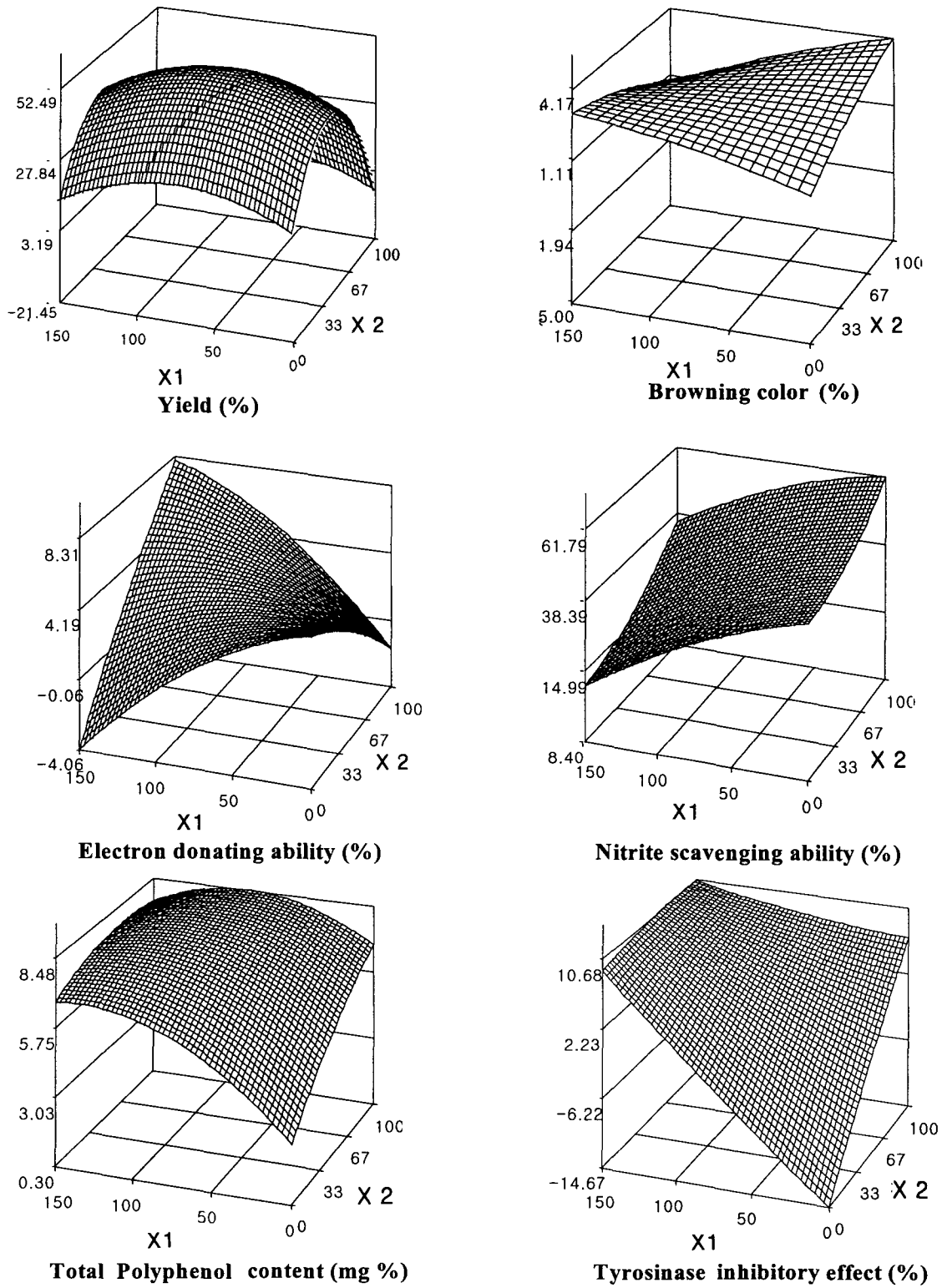


Fig. 1. Response surface for the effects of extraction conditions on yield, browning color, electron donating ability, nitrite scavenging activity, total polyphenol content and tyrosinase inhibitory effect of *Lyophyllum ulmarium* by microwave-assisted extraction.

X1: microwave power (watt), X2: ethanol conc. (%).

Table 5. Experimental data on yield, electron donating ability, total polyphenol content, inhibitory effect of tyrosinase activity, nitrite-scavenging ability (in pH 1.2) and browning color of *Lyophyllum ulmarium* extracted by MAE under conditions based on central composite design for response surface analysis

Experimental number ¹⁾	Yield (%)	Electron donating ability (%)	Total polyphenol content (mg%)	Inhibitory effect of tyrosinase activity (%)	Nitrite-scavenging ability (%)	Browning color (O.D)
1	33.12	3.50	5.81	1.54	10.41	0.216
2	39.03	4.28	6.48	1.81	13.08	2.209
3	21.51	3.95	7.15	5.38	22.20	2.800
4	29.65	3.94	7.65	6.21	23.51	3.005
5	33.45	2.45	6.71	9.76	12.86	2.342
6	42.07	2.07	7.03	9.90	15.87	2.467
7	25.36	5.36	7.32	7.14	39.72	2.870
8	29.64	6.64	7.54	12.66	31.21	3.159
9	56.08	4.08	5.98	2.41	38.42	2.104
10	54.83	4.33	5.83	2.27	37.51	2.098
11	42.99	2.99	2.99	1.93	11.40	0.780
12	32.24	2.24	7.24	2.22	36.68	2.988
13	21.75	1.75	4.25	2.07	13.47	1.244
14	10.23	5.23	7.43	1.83	40.58	2.531
15	30.72	2.72	6.72	2.16	32.29	1.321
16	54.71	3.71	7.51	2.31	43.95	2.688

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

Table 6. The second order polynomials for yield, browning color, electron donating ability, nitrite scavenging activity, total polyphenol content, tyrosinase inhibitory effect of *Lyophyllum ulmarium* extracted by MAE under different conditions of power, ethanol concentration and extraction time

Responses	Second order polynomials	R ²	Significance
Yield	$Y_1 = -13.692308 + 0.284993X_1 + 1.288060X_2 + 6.840250X_3 - 0.000088333X_1X_2 - 0.000313X_1X_3 - 0.007775X_2X_3 - 0.001938X_1^2 - 0.014001X_2^2 - 0.396713X_3^2$	0.8272	0.0857
Browning color	$Y_1 = -5.206113 + 0.056724X_1 + 0.071329X_2 + 0.866572X_3 - 0.000360X_1X_2 - 0.003717X_1X_3 - 0.004060X_2X_3 - 0.000042007X_1^2 - 0.000136X_2^2 - 0.016487X_3^2$	0.6165	0.4844
Electron donating ability	$Y_1 = 4.677630 - 0.022655X_1 - 0.059632X_2 + 0.487825X_3 + 0.001228X_1X_2 + 0.000271X_1X_3 + 0.002175X_2X_3 - 0.000255X_1^2 - 0.000254X_2^2 - 0.048908X_3^2$	0.8870	0.0285
Nitrite scavenging activity	$Y_1 = 1.097476 + 0.257882X_1 + 0.179623X_2 + 1.461266X_3 + 0.003330X_1X_2 - 0.019750X_1X_3 - 0.032200X_2X_3 - 0.001110X_1^2 - 0.002928X_2^2 + 0.252248X_3^2$	0.3469	0.9214
Total polyphenol content	$Y_1 = 0.355430 + 0.074387X_1 + 0.069205X_2 - 0.080215X_3 - 0.000232X_1X_2 - 0.001313X_1X_3 - 0.000675X_2X_3 - 0.000225X_1^2 - 0.000200X_2^2 + 0.030695X_3^2$	0.8033	0.1178
Tyrosinase inhibitory effect	$Y_1 = -0.850060 + 0.050696X_1 + 0.095713X_2 - 0.858119X_3 - 0.001350X_1X_2 + 0.009500X_1X_3 + 0.014850X_2X_3 + 0.000090180X_1^2 - 0.000263X_2^2 - 0.053600X_3^2$	0.3164	0.9444

타났다 그리고 반응표면에 나타난 여러 가지 생리활성의 추출특성을 살펴보면, 전자공여작용의 경우 에탄올 농도가 높고, microwave power가 높은 조건에서 높은 추출률을 나타내었다. 갈변도 및 tyrosinase 저해작용의 경우 에탄올 농도가 증가할수록 microwave power가 증가할수록 더욱 크게 나타났다. 아질산염 소거작용의 경우 에탄올 농도와 추출시간의 조건에 크게 영향을 받지 않는 것으로 판단되었으며, 총폴리페놀 함량은 에탄올 농도가 증가할수록 증가폭이 크고, microwave power가 증가할수록 추출물의 생리활성이 우수한 것으로 나타났다.

최적 추출조건의 예측

MAE(microwave-assisted processing) 추출법에 의한 만가닥 버섯의 추출조건을 최적화하기 위하여 추출물의 특성인 수율(Y_1), 전자공여작용(Y_2), 총 폴리페놀 함량(Y_3), tyrosinase 저해작용(Y_4), 아질산염 소거작용(Y_5), 갈색도(Y_6) 등

의 contour map을 superimposing 하여 최적 추출조건 범위를 예측하였다. 만가닥 버섯의 경우 Fig. 2에서와 같이 반응표면이 중복된 부분의 범위는 추출물의 품질특성(반응변수, $Y_1 \sim Y_6$)을 대상으로 하였을 경우 microwave power 53.20~64.01 watt, 에탄올 농도 60.15~102.75%, 추출시간 7.77분 (Table 7)이었으며, 최적조건은 microwave power 81 watt,

Table 7. Optimum extraction conditions for maximum responses of yield, electron donating ability (EDA), total phenolics, inhibitory effect of tyrosinase activity, nitrite-scavenging effect and browning color of *Lyophyllum ulmarium* by superimposing their contour maps

Extraction condition	Range of optimum condition	Optimum condition
Microwave power (watt)	60.15~102.75	81
Ethanol conc. (%)	53.20~64.01	64
Extraction time (min)	7.77	7.8

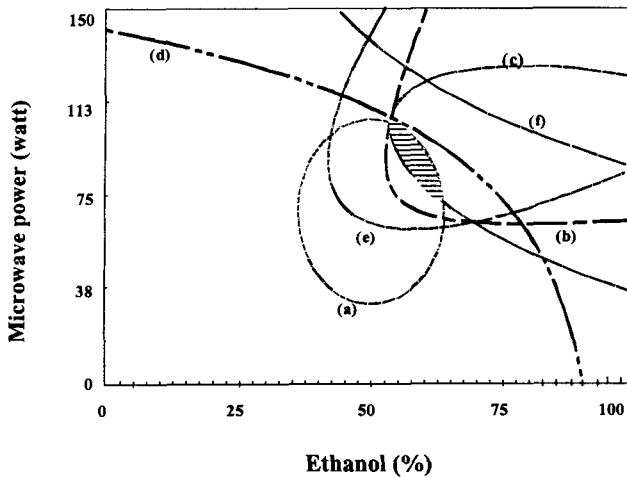


Fig. 2. Superimposing contour map of optimized conditions for yield, electron donating ability (EDA), total phenolics, inhibitory effect of tyrosinase activity, nitrite-scavenging effect and browning color of *Lyophyllum ulmarium* as functions of microwave power, ethanol concentration and extraction time (7.77 min) by microwave-assisted extraction.

(a) yield, (b) electron donating ability (EDA), (c) total phenolics, (d) inhibitory effect of tyrosinase activity, (e) nitrite-scavenging effect, (f) browning color.

에탄올 농도 64%, 추출시간 7.8분이었다.

요 약

만가닥 버섯 추출물의 수율 및 전자공여작용, 총폴리페놀 함량, tyrosinase 저해작용, 갈색도, 아질산염 소거작용에 대하여 반응표면분석에 의해 추출조건을 최적화하였다. 만가닥 버섯의 경우 수율은 에탄올 농도에 가장 큰 영향을 받았으며, 전자공여작용의 경우 에탄올 농도가 높고 microwave power가 높은 조건에서 높은 추출률을 나타내었다. 갈색도 및 tyrosinase 저해작용의 경우 에탄올 농도가 증가할수록 microwave power가 증가할수록 더욱 크게 나타났다. 아질

산염 소거작용의 경우 에탄올 농도와 추출시간의 조건에 크게 영향을 받지 않는 것으로 판단되었으며 총 폴리페놀 함량은 에탄올 농도가 증가할수록 증가폭이 크고, microwave power가 증가할수록 추출물의 생리활성이 우수한 것으로 나타났다. 따라서 만가닥버섯의 최적 추출조건 범위는 microwave power 60.15~102.75 watt, ethanol 농도 53.20~64.01%, 추출시간 7.77분으로 예측되었다.

문 헌

1. Chang ST, Miles PG. 1989. Edible mushrooms and their cultivation. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. p 335.
2. Breene WM. 1990. Nutritional and medicinal value of specially mushrooms. *J Food Prot* 53: 883-893.
3. Kim BK. 1993. Mushroom products. *J Microbiol* 19: 45-52.
4. Cochran WG, Cox GM. 1957. *Experimental design*. 2nd ed. John Wiley & Sons Inc, New York, USA. p 335-375.
5. Box GEP, Hounter JS. 1957. Multifactor experimental design for exploring response surfaces. *Annals Math Stat* 28: 195-242.
6. SAS Institute Inc. 1990. *SAS user's guide version 6*. 4th ed. SAS institute Inc, NC, USA. Vol 2, p 1457-1478.
7. Motycka PR, Devor RE, Bechtel PJ. 1992. Response surface methodology. *J Food Sci* 57: 190-196.
8. Lee GD, Jeong YJ. 1999. Optimization on organoleptic properties of red pepper jam by response surface methodology. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 1269-1274.
9. Box GEP, Wilson KG. 1951. On the experimental attainment of optimum conditions. *J Royal Stat Soc* 13: 1-45.
10. Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239-243.
11. 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.
12. Wong TC, Luh BS, Whitaker JR. 1971. Isolation and characterization of polyphenol oxidase of clingstone peach. *Plant Physiol* 48: 19-23.
13. Gray JI, Dugan JLR. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food system. *J Food Sci* 40: 981-984.

(2003년 1월 30일 접수; 2003년 6월 2일 채택)