J Korean Soc Food Sci Nutr
36(8), 1062~1069(2007)

볶음 새송이버섯 기능성분의 마이크로웨이브 추출조건 최적화

이명희[1] · 윤성란[2] · 조덕조[2] · 김현구[3] · 이기동[4†]

[1]경북과학대학 바이오식품과, [2]경북과학대학 전통식품연구소
[3]한국식품연구원, [4]대구신기술사업단 바이오산업지원센터

Optimization of Extraction Conditions for Functional Components of Roasted *Pleurotus eryngii* by Microwave-Assisted Extraction

Myung-Hee Lee[1], Sung-Ran Yoon[2], Deokjo Jo[2], Hyun-Ku Kim[3] and Gee-Dong Lee[4†]

[1]Dept. of Bio-Food, Kyongbuk College of Science, Gyeongbuk 718-850, Korea
[2]Traditional Food Institute, Kyongbuk College of Science, Gyeongbuk 718-850, Korea
[3]Korea Food Research Institute, Songnam 463-746, Korea
[4]Bio Industry Center, Daegu New Technology Agency, Daegu 704-801, Korea

Abstract

Response surface methodology was employed to optimize extraction conditions for finding the maximizing the functional properties of roasted *Pleurotus eryngii*. Based on the central composite design, independent variables were ethanol concentration (0~100%), extraction time (1~9 min) and microwave power (25~125 W). Soluble solid content, electron donating ability and nitrite-scavenging ability were mainly affected by ethanol concentration, but ACE inhibition activity was largely affected by extraction time. The optimum ranges of extraction conditions resulting from superimposing the response surface were predicted to be ethanol concentration (25~50%), extraction time (3~9 min) and microwave power (80~125 W). Total protein and total phenolic compound content of optimal extracts were 45.80 mg/g and 7.42 mg/g, respectively. In phenolic compounds of roasted *Pleurotus eryngii* extracts, protocatechuic acid was the highest concentration at 1226.32 μg/g, followed by salicylic acid, catechin, p-hydroxybenzoic acid, caffeic acid, coumaric acid and hesperidin.

Key words: microwave-assisted extraction, *Pleurotus eryngii*, optimization, electron donating ability, ACE inhibition activity

서 론

자연에는 수만종 이상의 버섯이 자생하는 것으로 알려져 있고, 유전자원으로 가치가 대단히 크며, 식품재료와 의약품 개발의 재료로 주목받고 있어 건강식품으로 생산과 소비가 증가추세에 있다(1). 최근에는 버섯에 대한 생리적 특성에 관한 많은 연구가 보고되어지고 있다. 새송이버섯(*Pleurotus eryngii*)은 떡갈나무와 벚나무에 자생하는 주름버섯목 느타리과에 속하는 담자균 버섯으로 생체조절기능으로 노화억제, 항암작용 등의 약리효과가 있는 것으로 알려져 있다(2). 국내에서는 큰 느타리버섯이라고도 하며, 우리나라에서는 상품명으로 "새송이"라 명명하며, 맛과 향이 좋아 소비가 늘어나고 있으며, 다른 버섯에 비해 수분함량이 낮아 수출 상품으로써 가치가 매우 높아 농가의 소득원으로 그 기대가 큰 버섯이다(3,4). 새송이버섯은 노화 억제와 항암작용(2), 대장암 세포증식 억제(5), 혈당강하(6) 및 angiotensin converting enzyme 저해활성(7) 등이 있는 것으로 보고되고 있다. 버섯류의 항산화 활성은 버섯류 추출물의 polyphenol 함량에 따라 free radical 제거활성, reducing power, Fe^{2+} 이온의 chelating effect 등이 농도 의존적으로 증가하며(8-10), 버섯류로부터 추출한 단백 다당체에 대한 free radical 제거활성도 보고되었다(11,12).

버섯 가공품으로는 통조림, 건조품 등이 있으며 제품이 다양화 되어 있지 않으므로 추출액을 이용한 음료, 액상차, 다른 가공제품의 첨가제 형태로 제품을 다양화 할 수 있다. 전보(13,14)에서 환류 및 마이크로웨이브 추출시 볶음 처리한 새송이버섯이 건조만 한 새송이버섯에 비해 기능적 특성이 우수한 것으로 나타났다. 마이크로웨이브 추출방법은 시료 혼합물 전체가 집중적으로 마이크로웨이브 에너지에 노출됨으로써 일반 가열원리와는 달리 천연물 내의 목적성분이 국소적인 과열 현상을 나타내게 되어 그 성분을 신속하게 용리시키는 방법이다(15,16). 마이크로웨이브를 이용하여

†Corresponding author. E-mail: gdlee@hanmail.net
Phone: 82-53-602-1821, Fax: 82-53-602-1898

식품 및 천연물로부터 목적성분을 추출하는 방법은 용매추출에 있어서 가장 중요한 요소인 신속성과 효율성을 극대화하는 특성을 지니고 있으며, 용매사용량, 추출시간 및 에너지 소요량 측면에서 볼 때 환경친화적인 특징을 지니고 있다(15,16).

따라서 본 연구에서는 볶음 처리한 새송이버섯을 대상으로 마이크로웨이브 추출에 따른 기능적 특성의 변화를 살펴보고, 기능적 특성이 우수한 최적 추출조건을 설정하여 설정된 조건에서의 성분을 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

새송이버섯은 2006년도에 재배된 것으로 대구 팔달시장에서 구입하여 사용하였다. 새송이버섯을 2 mm 간격으로 세절하여 열풍건조기(drying oven, HB-502L, Hanbaek Co.) 내에서 볶음처리(150°C, 30 min)하였다. 볶음 처리한 버섯을 분말화(20 mesh)하여 시료로 사용하였다.

마이크로웨이브 추출조건

마이크로웨이브 추출은 마이크로웨이브 추출장치(MAP, Soxwave-100, Prolabo, France)를 사용하였다. 마이크로웨이브 추출조건을 설정하기 위하여 전보(14)의 결과를 바탕으로 하여 용매에 대한 시료의 양 2.5 g/50 mL, 추출횟수 1회로 고정하고 에탄올 농도(0, 25, 50, 75, 100%), 에너지 용량(0, 25, 50, 75, 100, 125 W) 및 추출시간(1, 3, 5, 7, 9 min)에 대하여 Table 1에서와 같이 중심합성실험계획(17)으로 추출하여 SAS(Statistical Analysis System) program(18)의 반응표면분석으로 최적 조건을 설정하고자 하였다.

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.

수소공여능 측정

시험용액의 수소공여능(electron donating ability, EDA) 시험은 α,α-diphenyl-β-picrylhydrazyl(DPPH)를 사용한 방법(19)으로 측정하였다. 즉, DPPH 시약 12 mg을 absolute ethanol 100 mL에 용해한 후 증류수 100 mL를 가하고 50% ethanol 용액을 공시험으로 하여 517 nm에서 DPPH용액의 흡광도를 약 1.0으로 조정한 후 이 용액 5 mL를 취하여 시료용액 0.5 mL와 혼합한 후 상온에서 30초간 방치시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 표시하여 수소공여능으로 하였다.

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

Table 1. 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

ACE 저해활성

Angiotensin converting enzyme 저해효과 측정은 Cushman과 Cheung의 방법(20)을 변형하여 행하였다. 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 ethyl acetate를 1.5 mL 첨가하였다. Ethyl acetate 층으로부터 용매를 증류시킨 잔사에 1 mL의 증류수를 가하여 추출된 hippuric acid를 분광광도계를 사용하여 228 nm에서 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

아질산염 소거능 측정

Kato 등(21)의 방법으로 520 nm에서 비색정량하였다. 즉, 1 mM $NaNO_2$용액 1 mL에 소정 농도의 시료를 첨가하고 여기에 0.1 N HCl(pH 1.2)을 사용하여 반응용액의 pH를 1.2로 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 1:1 비로 혼합한 것, 사용직전 조제) 0.4 mL를 가하여 잘 혼합시켜 실온에서 15분간 방치시킨 후 분광광도계(UVmini-1240, Shimadzu, Japan)를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 아래식에 의하여 아질산염 소거율을 구하였다.

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

N: 아질산염 소거율
A: 1 mM $NaNO_2$ 용액에 시료를 첨가하여 1시간 방치시킨

후의 흡광도
B: $NaNO_2$ 용액의 흡광도
C: 시료자체의 흡광도

총 단백질 함량

총 단백질 함량은 단백질정량에 비교적 넓게 적용되는 Lowry 등의 방법(22)을 사용하였다. 즉 1.0 mL의 시료를 2 N 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 660 nm에서 흡광도를 측정하였다.

총 페놀성 화합물 함량 측정 및 페놀성 물질 분석

추출물의 총 페놀성 화합물 함량은 Folin-Denis법(23)에 따라 비색정량하였다. 즉, 추출액 5 mL에 Folin-Ciocalteu 시약 5 mL를 가하여 혼합하고 3분 후 10% Na_2CO_3 5 mL를 넣어 진탕하고 1시간 실온에서 방치하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 검액 대신 증류수를 넣어 동일하게 처리하였다. 이때 표준물질로는 Sigma 사의 tannic acid를 5~50 μg/mL의 농도로 조제하여 검량곡선의 작성에 사용하였다. 새송이버섯 추출물을 0.45 μm membrane filter로 여과한 후 HPLC(Alliance XE system, Waters, USA) 분석용 시료로 사용하였다. 이때 column은 XTerra RP 18(5 μm, 4.6 mm×250 mm, Waters, USA)을 사용하였으며, column 온도는 30°C, 이동상은 CH_3CN:H_2O(75:25, v/v)를 유속은 0.5 mL/min, 검출기는 PDA(waters 2996, Waters, USA)를 사용하여 UV 300 nm에서 분석하였다. 표준물질로는 Sigma 사의 protocatechuic acid, p-hydroxybenzoic acid, catechin, caffeic acid, coumaric acid, feruic acid, rutin, salicylic acid, naringin, hesperidin을 구입하여 사용하였다.

결과 및 고찰

가용성 고형분 함량의 변화

마이크로웨이브 추출조건에 따른 새송이버섯 추출물의 가용성 고형분 함량의 경우 Table 2와 같다. 즉 가용성 고형분 함량은 30.08~46.99%로 나타났으며, 에탄올 농도 100%, 추출시간 5 min 및 마이크로웨이브 파워 75 W일 때 낮은 가용성 고형분 함량으로 나타났으며, 에탄올 농도 50%, 추출시간 9 min 및 마이크로웨이브 파워 75 W일 때 높은 가용성 고형분 함량으로 나타났다. 이러한 결과를 바탕으로 회귀분석한 결과 회귀식은 Table 3에 나타내었으며, 회귀식의 R^2는 0.9259로 나타났으며, 1%이내의 범위에서 유의성이 인정되는 것으로 나타났다. 이러한 회귀식을 바탕으로 한 가용성 고형분 함량의 최대값은 에탄올 농도 36.78%, 추출시간 5.69 min 및 마이크로웨이브 파워 77.46 W일 때 47.75%로 예측되었다(Table 4). 가용성 고형분 함량의 반응표면은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 최대점을 갖는 형태의 반응표면으로 나타났다. 즉 에탄올 농도 25~50%일 때 최대를 갖는 반응표면의 형태로 나타났다. Lee 등(24)은 마이크로웨이브를 이용한 당귀의 유용성분 추출시 에탄올 농도 50% 농도에서 추출수율이 가장 높게 나타났고, 그 이상의 농도에서는 감소한다고 하였으며, microwave power는 80 W에서 당귀의 유용성분 추출시 효율적이라고 보고한 바 있으며, 본 연구의 결과와 다소 유사한 것으로 나타났다. 새송이버섯의 마이크로웨이브 추출시 전반적으로 에탄올 농도에 영향을 많이 받는 것으로 나타났다(Table 5). Kwon 등(25)의 보고에서는 곰취 마

Table 2. Experimental data on soluble solid content, electron donating ability, ACE inhibition activity and nitrite-scavenging ability 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			Soluble solid content (%)	Electron donating ability (%)	ACE inhibition activity (%)	Nitrite-scavenging ability (pH 1.2, %)
	EtOH conc. (%)	Time (min)	Microwave power (W)				
1	25 (-1)	3 (-1)	50 (-1)	44.85[2)]	43.13	62.92	87.91
2	25 (-1)	3 (-1)	100 (1)	45.50	45.86	63.69	90.48
3	25 (-1)	7 (1)	50 (-1)	46.03	48.82	29.16	91.58
4	25 (-1)	7 (1)	100 (1)	45.43	49.30	56.36	91.58
5	75 (1)	3 (-1)	50 (-1)	40.91	46.15	63.27	80.89
6	75 (1)	3 (-1)	100 (1)	41.50	43.75	45.52	83.39
7	75 (1)	7 (1)	50 (-1)	42.78	48.34	25.83	81.52
8	75 (1)	7 (1)	100 (1)	42.54	42.65	35.66	81.61
9	50 (0)	5 (0)	75 (0)	46.45	48.45	43.52	92.45
10	50 (0)	5 (0)	75 (0)	46.67	50.41	42.02	92.16
11	0 (-2)	5 (0)	75 (0)	44.35	41.08	48.67	82.11
12	100 (2)	5 (0)	75 (0)	30.08	33.69	30.57	60.77
13	50 (0)	1 (-2)	75 (0)	42.49	49.33	85.16	88.79
14	50 (0)	9 (2)	75 (0)	46.99	49.96	46.01	92.75
15	50 (0)	5 (0)	25 (-2)	43.70	48.00	46.92	88.52
16	50 (0)	5 (0)	125 (2)	46.26	47.26	56.22	93.84

[1)]The number of experimental conditions by central composite design.
[2)]Values are mean of triplicate determinations.

Table 3. Polynomial equations calculated by RSM program for microwave-assisted extraction condition of 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
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
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
Nitrite-scavenging ability (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

[1)]X_1: ethanol concentration (%), X_2: extraction time (min), X_3: microwave power (W).

Table 4. Predicted levels of extraction conditions for the maximum responses of variables 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)	
Electron donating ability (%)	98.00	5.43	87.93	33.73 (Min)	Saddle point
	42.00	8.71	58.11	52.27 (Max)	
ACE inhibition activity (%)	97.14	6.27	79.98	24.36 (Min)	Saddle point
	49.49	1.24	57.86	89.69 (Max)	
Nitrite-scavenging ability (pH 1.2)	99.94	5.12	73.06	61.62 (Min)	Maximum
	38.87	4.60	123.49	94.13 (Max)	

Table 5. Analysis of variables for regression model of soluble solid content, electron donating ability, ACE inhibition activity and nitrite-scavenging ability in microwave-assisted extraction conditions of roasted *Pleurotus eryngii*

Extraction condition	F-Ratio			
	Physicochemical properties			
	Soluble solid content	Electron donating ability	ACE inhibition activity	Nitrite-scavenging ability (pH 1.2)
EtOH conc. (%)	16.15***	23.84***	27.65***	151.51***
Time (min)	1.30	2.45	132.64***	3.40*
Microwave power (W)	0.34	3.10	36.11***	3.74*

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

이크로웨이브 추출시 99%, 70%, 50% 에탄올로 추출하였을 때 가용성 고형분이 각각 4.40%, 22.67%, 26.70%로 나타났으며, 이는 용매마다 유전상수(dielectric constant)가 다르며 이것이 마이크로웨이브 추출에 영향을 주었기 때문이라 하였다.

DPPH에 의한 수소공여능의 변화

마이크로웨이브 추출조건에 따른 새송이버섯 추출물의 수소공여능은 Table 2에서 보는 바와 같다. 즉 추출물의 수소공여능은 33.69~50.41%로 나타났으며 이를 바탕으로 회귀분석을 한 회귀식은 Table 3과 같다. 이러한 수소공여능 회귀식의 R^2는 0.9562로 나타났으며, 1%이내의 범위에서 유의성이 인정되는 것으로 나타났다. 회귀식을 바탕으로 한 수소공여능의 최대값은 에탄올 농도 42.00%, 추출시간 5.43 min 및 마이크로웨이브 파워 58.11 W에서 52.27%로 예측되었다(Table 4). Kim 등(26)의 보고에 의하면 향버섯, 번데기동충화초, 만가닥버섯, 아가리쿠스, 영지버섯, 표고버섯 메탄올 추출에서 30~60% 정도의 항산화 활성을 나타내었고,

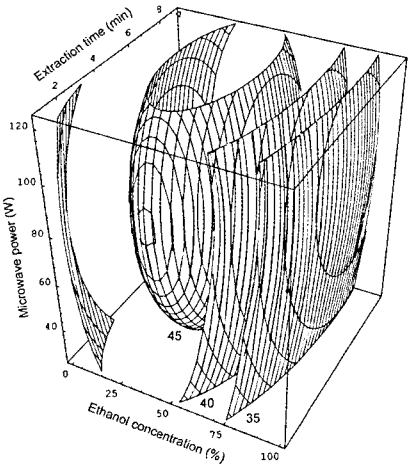

Fig. 1. Response surface for soluble solid content of roasted *Pleurotus eryngii* microwave extract at constant values (soluble solid content (%): 35-40-45) as a function of ethanol concentration, extraction time and microwave power.

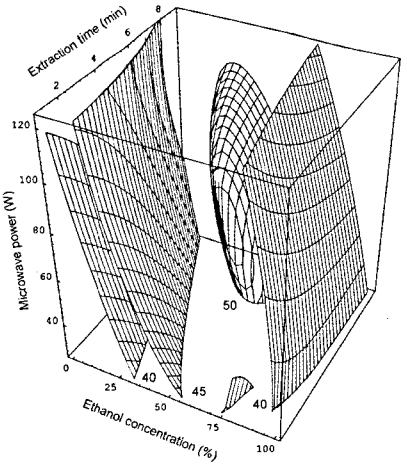

Fig. 2. Response surface for electron donating ability of roasted *Pleurotus eryngii* microwave extract at constant values (electron donating ability (%): 40-45-50) as a function of ethanol concentration, extraction time and microwave power.

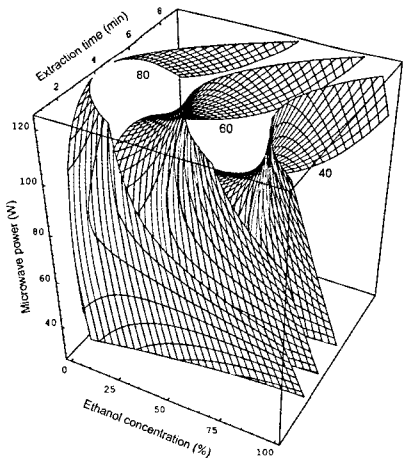

Fig. 3. Response surface for ACE inhibition activity of roasted *Pleurotus eryngii* microwave extract at constant values (ACE inhibition activity (%): 40-60-80) as a function of ethanol concentration, extraction time and microwave power.

목이버섯, 그물버섯, 새송이버섯에서 10~30%의 활성을 보였다고 하였다. 이는 본 실험의 경우 새송이버섯을 볶음처리를 하여 사용하였으며 또한 에탄올 추출로 인해 차이가 난 것으로 보여진다. Kang 등(27)은 버섯 자실체 추출물 내에 존재하는 flavonoids 및 기타 phenol성 물질에 의한 작용으로 산화성 생물활성 free radical에 전자를 공여하여 산화를 억제하는 효과가 새송이버섯에도 존재하기 때문이라고 하였다. 회귀식에 대한 반응표면은 Fig. 2와 같이 에탄올 농도 50% 범위 및 추출시간 6 min 이상의 범위로 갈수록 증가하는 형태의 반응표면으로 나타났으며, 전반적으로 에탄올 농도에 영향을 많이 받는 것으로 나타났다(Table 5). Kim 등(28)의 만가닥 버섯 마이크로웨이브 추출시 에탄올 농도가 높고 마이크로웨이브 파워가 높을수록 전자공여능이 높은 것으로 나타나 본 보고와 유사한 것으로 나타났다.

ACE 저해활성의 변화

ACE 저해제는 ACE 작용을 저해함으로써 angiotensin II의 생성저해, aldosteron 분비감소, 혈관확장제인 bradkinin 증가 등의 과정을 통해 신장혈관을 확장시켜 sodium의 배설을 촉진함으로써 혈압을 낮추어 줄 수 있다(29). 새송이버섯의 마이크로웨이브 추출에 따른 ACE 저해활성을 살펴본 결과 Table 2와 같다. 즉 ACE 저해활성은 29.16~85.16%로 각각의 추출조건에 따라 차이가 나는 것으로 나타났으며 대체적으로 ACE 저해활성이 다소 높은 것으로 나타났다. 중심합성실험계획으로 마이크로웨이브 추출조건에 따른 ACE 저해활성에 대하여 회귀분석을 한 결과 Table 3과 같으며, 회귀식의 R^2는 0.9917로 1%이내의 범위에서 유의성이 인정되는 것으로 나타났다. 회귀식에 의한 ACE 저해활성의 최대값은 에탄올 농도 49.49%, 추출시간 1.24 min 및 마이크로웨이브 파워 57.86 W에서 89.69%로 예측되었다(Table 4). 보고된 다른 버섯류의 ACE 저해활성은 Kang 등(7)이 연구한 큰 느타리버섯 균사배양 배지 추출물에서 84.8%, Song 등(30)이 보고한 찔레 영지버섯 추출물의 경우 12% 및 Choi 등(31)이 보고한 잎새버섯 추출물이 58.7%, Song 등(32)의 능이버섯 추출물의 경우 52.89%로 나타났다. 이는 버섯에서 ACE 저해활성을 나타내는 물질은 대부분 peptide나 단백질 가수분해물의 용출로 ACE 저해활성이 높은 것으로 추정되었다(33). ACE 저해활성의 반응표면은 Fig. 3과 같이 추출시간이 감소할수록 ACE 저해활성이 증가하는 형태의 반응표면으로 나타났으며, 전체적으로 추출시간에 영향을 많이 받는 것으로 나타났다(Table 5).

아질산염 소거능의 변화

질산염을 많이 함유한 식품을 다량 섭취하게 되면, methemoglobin 증 등 중독증상이 발병되고 아질산염과 제2급 및 3급 아민과의 nitroso화 반응은 위장내의 낮은 산성조건에서 쉽게 일어나며, 발암물질인 nitrosoamine을 생성할 수 있게 되므로 이러한 아질산염을 소거하여 그에 동반되는 질병을 억제할 수 있는 천연물에 대한 검색이 많이 이루어지고 있다(27). 마이크로웨이브 추출조건에 따른 새송이버섯의 아질산염 소거능의 변화는 Table 2와 같다. 즉 아질산염 소거능의 경우 pH 1.2에서는 60.77~93.84%로 나타났으며, 그 결과를 바탕으로 회귀분석한 결과 회귀식은 Table 3과 같으며 회귀식의 R^2는 0.9021로 나타났으며, 1%이내의 범위에서 유의성이 인정되었다. 회귀식으로 예측된 아질산염 소거능의 최대값은 pH 1.2에서 에탄올 농도 38.87%, 추출시간 4.60 min 및 마이크로웨이브 파워 123.49 W에서 94.13%로 예측되었다(Table 4). Song 등(32)의 능이버섯 아질산염 소거능의 경우 추출물의 농도 0.5 mg/mL에서 99.14%로 나타났으며, Jung과 Lee(34)는 석이버섯 중 다량의 페놀성 화합물

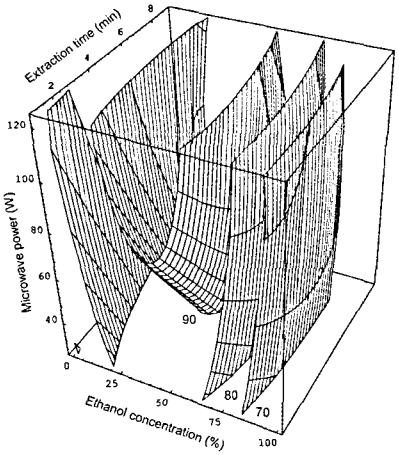

Fig. 4. Response surface for nitrite-scavenging ability (pH 1.2) of roasted *Pleurotus eryngii* microwave extract at constant values (nitrite-scavenging ability (%): 70-80-90) as a function of ethanol concentration, extraction time and microwave power.

이 nitrite 제거활성이 있다고 보고하였다. 아질산염 소거능의 반응표면은 Fig. 4와 같다. 즉 pH 1.2에서 아질산염 소거능에 대한 반응표면의 경우 에탄올 농도 25~50% 범위에서 최대의 활성을 지니는 반응표면으로 나타났다. 전반적으로 아질산염 소거능의 경우 에탄올 농도에 영향을 많이 받는 것으로 나타났다(Table 5).

최적 추출조건 설정 및 최적 추출물의 성분분석

마이크로웨이브 추출은 현재 대량공정으로 이용되고 있지는 않지만 앞으로 이용가능성이 있으므로 마이크로웨이브의 단시간 내에 물질을 추출할 수 있는 장점을 이용하여 새송이버섯의 기능성물질 최적 추출조건을 설정하고자 하였다. 마이크로웨이브 최적 추출조건 설정을 위하여 총 페놀

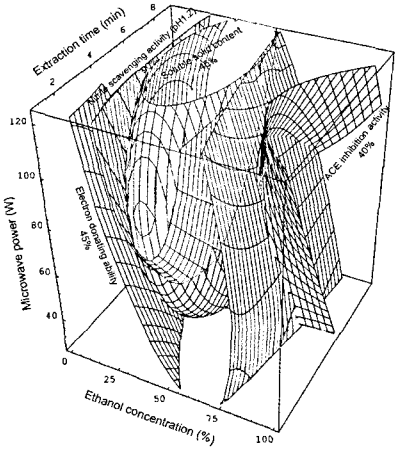

Fig. 5. Superimposed response surface for optimization of soluble solid content (45%), electron donating ability (45%), ACE inhibition activity (40%) and nitrite-scavenging ability (90%) of roasted *Pleurotus eryngii* extracts as a function of ethanol concentration, extraction time and microwave power.

성 화합물 함량(Fig. 1), 수소공여능(Fig. 2), ACE 저해활성(Fig. 3) 및 pH 1.2에서의 아질산염 소거능(Fig. 4)의 반응표면을 겹치기 해 보았다. 그 결과 Fig. 5와 같은 반응표면을 얻을 수 있었다. 즉 새송이버섯의 기능성이 높게 나타날 수 있는 마이크로웨이브 최적추출조건은 에탄올 농도 25~50%, 추출시간 3~9 min, 마이크로웨이브 파워 80~125 W일 때로 나타났다(Table 6). 새송이버섯의 기능성이 높게 추출할 수 마이크로웨이브 추출의 최적조건으로 설정된 범위에서 임의의 중심점인 에탄올 농도 40%, 추출시간 6 min 및 마이크로웨이브 파워 100 W에서의 예측 및 실증실험을 하여 신뢰성을 확인해 보았다(Table 7). 그 결과 반응표면분석에 의한 회귀식으로 예측된 값과 실증값은 유사한 것으로 나타났으며, 회귀식의 신뢰성을 확인할 수 있었다. 또한 새송이버섯의 생리활성이 높은 최적 마이크로웨이브 추출조건에서의 조단백질, 총 페놀성 화합물 함량 및 페놀산 조성을 살펴본 결과, 총 단백질 함량은 45.80 mg/g, 총 페놀성 화합물 함량은 7.42 mg/g으로 나타났으며, 페놀성 물질로는 protocatechuic acid가 1226.32 μg/g으로 가장 많았고, 다음으로 salicylic acid, catechin, p-hydroxybenzoic acid 순인 것으로 나타났다(Table 8). Manzi 등(35)은 새송이버섯의 일반성분으로 100 g 당 수분 86.6 g, 단백질 2.2 g, 탄수화물 9.6 g, 지방 0.8 g 및 회분 1.2 g이고 특수성분으로 수용성 섬유소 0.53 g, 불용성 식이섬유 4.11 g이고 β-glucan 0.41 g, chitin 0.51 g, phenol 51.4 mg으로 보고하였다. 새송이버섯의 생리활성을 보이는 것은 Lie 등(11)과 Lee 등(12)의 보고에서 페놀성 화합물과 단백다당체 등에 의한 것으로 보고하였다.

Table 6. Optimum extraction conditions for the maximum responses of soluble solid content, electron donating ability, ACE inhibition activity, nitrite-scavenging ability of roasted *Pleurotus eryngii* by superimposing their response surface

Extraction condition	Range of optimum condition	Optimum condition
EtOH conc. (%)	25~50	40
Time (min)	3~9	6
Microwave power (W)	80~125	100

Table 7. Predicted and observed values of the response variables at a given condition within the range of optimum extraction conditions (%)

Response variable	Extraction condition	
	Microwave extraction	
	Predicted value[1)]	Observed value
Soluble solid content	47.38	48.03±0.78
Electron donating ability	49.41	51.28±0.92
ACE inhibition activity	49.74	51.21±0.79
Nitrite scavenging ability	94.05	95.34±0.24

[1)]Given conditions of independent variables: ethanol concentration 40%, extraction time 6 min and microwave power 100 W.

Table 8. Chemical composition of microwave-assisted optimal extracts from roasted *Pleurotus eryngii*

Composition		Content of optimal extracts[1)]
Total protein content (mg/g)		45.80±1.23[2)]
Total phenolics compound content (mg/g)		7.42±0.21
Phenolics compounds (μg/g)	Protocatechuic acid	1226.32±1.28
	p-Hydroxybenzoic acid	31.52±0.25
	Catechin	43.06±0.36
	Caffeic acid	11.38±0.05
	Coumaric acid	7.32±0.03
	Ferulic acid	N.D.[3)]
	Rutin	N.D.
	Salicylic acid	81.88±0.68
	Naringin	N.D.
	Hesperidin	6.46±0.02

[1)]Microwave extraction conditions were 40% of ethanol concentration, 6 min of extraction time 6 min, and 100 W of microwave power.
[2)]Values are mean±SD of triplicate determinations.
[3)]Not detected.

요 약

볶음 새송이버섯의 기능성이 우수한 최적 마이크로웨이브 추출조건을 설정하기 위하여 에탄올 농도(0~100%), 추출시간(1~9 min) 및 마이크로웨이브 파워(25~125 W)에 따른 중심합성실험계획으로 반응표면분석하였다. 그 결과 가용성 고형분 함량, 전자공여능 및 아질산염 소거능의 경우 에탄올 농도에 영향을 많이 받는 것으로 나타났으며, ACE 저해활성은 추출시간에 영향을 많이 받는 것으로 나타났다. 볶음 새송이버섯의 최적 추출조건은 에탄올 농도 25~50%, 추출시간 3~9 min, 마이크로웨이브 파워 80~125 W일 때로 나타났다. 최적 추출물의 총 단백질 함량은 45.80 mg/g, 총 페놀성 화합물 함량은 7.42 mg/g으로 나타났으며, 페놀성 물질 중 protocatechuic acid가 1226.32 μg/g으로 가장 많았고, 다음으로 salicylic acid, catechin, p-hydroxybenzoic acid, caffeic acid, coumaric acid 및 hesperidin 순인 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 농림기술개발연구과제(새송이버섯 phyotochemical의 소재화 및 이를 이용한 기능성식품의 개발)의 일환으로 수행된 연구의 일부로써 그 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. Rajarathnam S, Bang Z. 1982. *Pleurotus* mushrooms as a nutritions food. In *Tropical mushrooms*. The Chinese University Press, Hong Kong. p 363-380.
2. Guillen F, Munoz C, Gomo-Toribio V, Martinez AT, Maritinez MJ. 2000. Oxygen activation during oxidation of methoxyhydroquinones by laccase from *Pleurotus eryngii*. *Applied Environ Microbiology* 66: 170-175.
3. Kang MS, Kang TS, Kang AS, Shon HR, Sung JM. 2000. Studies on mycelial growth and artificial cultivation of *Pleurotus eryngii*. *Korean J Mycol* 28: 73-80.
4. Cho SH, Lee SD, Ryu JS, Kim NG, Lee DS. 2001. Changes in quality of King Oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) during modified atmosphere storage. *Korean J Food Preserv* 8: 367-373.
5. Hwang YJ, Nam HK, Chang MJ, Noh GW, Kim SH. 2003. 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.
6. Kang TS, Kang MS, Sung JM, Kang AS, Shon HR, Lee SY. 2001. Effect of *Pleurotus eryngii* on the blood glucose and cholesterol in diabetic rats. *Korean J Mycol* 29: 86-90.
7. Kang TS, Jeong HS, Lee MY, Park HJ, Jho TS, Ji ST, Shin MK. 2003. Mycelial growth using the natural product and angiotensin converting enzyme inhibition activity of *Pleurotus eryngii*. *Korean J Mycol* 31: 175-180.
8. Cheung LM, Cheung PCK, Ooi VEC. 2003. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chem* 80: 1-7.
9. Mau JL, Lin HC, Song SF. 2002. Antioxidant properties of several speciality mushroom. *Food Res Int* 35: 519-526.
10. Yang JH, Lin HC, Mau JL. 2002. Antioxidant properties of several commercial mushroom. *Food Chem* 88: 229-235.
11. Lie F, Ooi VEC, Chang ST. 1997. Free radical scavenging activities of mushroom polysaccharide extracts. *Life Sci* 60: 763-771.
12. 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 Basidiomycete *Grifola Fromdosa*. *Enz Microb Technol* 6274: 1-8.
13. Yoon SR, Lee MH, Kim HK, Lee GD. 2006. Change in functional properties by extraction condition of roasted *Pleurotus eryngii*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 262-270.
14. Yoon SR, Lee MH, Kim HK, Lee GD. 2006. Change in quality properties of extracts from roasted *Pleurotus eryngii* by microwave-assisted extraction condition. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 262-270.
15. Pare JRJ, Belanger JMR, Stafford MR. 1994. Microwave-assisted process: a new tool for the analytical laboratory. Trends in Analytical Chemistry. Elservier Science 13: 176-184.
16. Pare JRJ, Sigouin M, Lapointe J. 1991. Microwave-assisted natural products extraction. 26 March; various international counterparts. *US Patent* 5,2002,784.
17. Kwon JH, Ryu KC, Lee GD. 1997. Dynamic changes in browning reaction substrates of *Polygonatum odoratum* roots during roasting. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 654-661.
18. SAS. 1994. *SAS/STAT*. User's Guide version 6. 4th ed. SAS Institute Inc., Cary, NC. Vol 2, Ch 37, p 1457-1478.
19. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1198-1200.
20. Cushman DW, Cheung HS. 1973. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20: 1637-1648.
21. Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric Biol Chem* 51: 1333-1338.
22. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951.

Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-269.
23. Amerine MA, Ough CS. 1980. *Methods for Analysis of Musts and Win.* Wiley & Sons, New York. p 176-180.
24. Lee SY, Shin SR, Kim KS, Kwon JH. 2000. Establishment of extraction conditions for effective components from *Angelicagigas nakai* using microwave-assisted process. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 442-447.
25. Kwon YJ, Kim KH, Kim HK. 2002. Changes of total polyphenol content and antioxidant activity of *Ligularia fisheri* extracts with different microwave-assisted extraction conditions. *Korean J Food Preserv* 9: 332-337.
26. Kim HJ, Bae JT, Lee JW, Hwang Bo MH, Im HG, Lee IS. 2005. Antioxidant activity and inhibition effects on human leukemia cells of edible mushrooms extracts. *Korean J Food Preserv* 12: 80-85.
27. 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.
28. Kim HK, Choi MG, Kim MO, Kim KH. 2003. Optimization of extraction conditions for *Lyophyllum ulmarium* by response surface methodology. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 574-580.
29. Oh SJ, Kim SH, Baek YJ, Cho KH. 1997. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of the κ-casein fragments hydrolyzated by chymosin, pepsin and trypsin. *Korean J Food Sci Technol* 29: 1316-1318.
30. Song JH, Lee HS, Hwang JK, Chung TY, Hong SR, Park KM. 2003. Physiological activities of *Phellinus ribis* extracts. *Korean J Food Sci Technol* 35: 690-695.
31. 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.
32. Song JH, Lee SH, Hwang JK, Han JW, Ro JG, Keum DH, Park KM. 2003. Physiological activity of *Sarcodon sapratus* extracts. *Korean J Food Sci Ani Resor* 23: 172-179.
33. Rhyu MR, Nam YJ, Lee HY. 1996. Screening of angiotensin I-converting enzyme inhibitors in cereals and legumes. *Food Sci Biotechnol* 5: 334-339.
34. Jung IC, Lee JS. 1998. Antioxidant effect of mycelium-free culture broth extract of *Pleurotus ostreatus*. *J Korean Soc Hygienic Sciences* 5: 19-24.
35. Manzi P, Marconi S, Aguzzi A, Pizzoferrato L. 2004. Commercial mushrooms: nutritional quality and effect of cooking. *Food Chemistry* 84: 201-206.

(2007년 5월 30일 접수; 2007년 6월 20일 채택)