

면역활성을 가진 생약복합물을 이용한 빵의 제조 및 특성

김희숙[†] · 강진순

진주국제대학교 식품과학부 식품영양전공

Preparation and Characteristics of Bread by Medicinal Herb Composites with Immunostimulating Activity

Hee-Suk Kim[†] and Jin-Soon Kang

School of Food Science, JinJu International University, Gyeongnam 660-759, Korea

Abstract

In this study, the breads with medicinal herbs (MH) composites showing immunostimulating activity were prepared and their characteristics were examined. Fourteen kinds of medicinal herbs were extracted with hot water and divided into 3 groups (MH-1, MH-2, MH-3) based on their contents. All groups showed immunostimulating activity in terms of macrophage phagocytosis, nitrite production, cytostatic activity and cytokine production. In the preparation of breads containing MH extracts of various contents (0, 30, 50, 70, and 100%), there was no significant difference among dough pHs of all groups after first fermentation, but loaf volume was significantly ($p < 0.05$) increased in 70% added group while decreased in 30%, 50%, and 100% added groups compared to the control. The "a" and "b" values of bread crumb increased with the content of MH extracts while "L" value decreased, but these values of bread crust were similar to the control group. Most improvements in hardness, adhesiveness, gumminess and chewiness of bread were noticed by the addition of 70% MH extracts, but those of springiness, cohesiveness and resilience were mostly by the 50% addition ones. Through the sensory evaluation, it was revealed that mouth feeling, taste and overall preference decreased at breads containing 70% and 100% extracts, although appearance and crumb texture were not significantly ($p < 0.05$) different among all groups.

Key words: immunostimulating activity, medicinal herbs, preparation of breads, sensory evaluation

서 론

국내 식품산업에 있어서 생약자원의 이용은 민간전통식품으로 한방을 이용하면서부터 시작되었다고 할 수 있으며, 이후 잘 알려지고 기호도를 충족시킬 수 있는 생약재의 일부를 차류로서 이용하여 왔다. 생약류의 이용은 민간요법의 일환으로 가정에서 감기 등의 증세 완화나 만성질환자의 건강회복 등을 위해 생강, 계피, 영지 등의 잘 알려진 일부 생약류를 이용하는 것에서부터 전통식품의 조리 시 사용되는 황기, 인삼, 대추 등과 구기자, 당귀 등의 단일로서 이용되는 경우와 십전대보탕과 같이 한방에서의 처방전이 그대로 차로서 이용되는 일부 생약류가 있다. 많은 생약재가 식품으로의 이용이 활성화되고 있는 실정이며 이들의 이용은 대부분이 질병의 치료보다는 건강을 유지 또는 자양강장을 목적으로 섭취하는 경우가 많다(1). 또한 한약재 내의 유효한 성분이 식품내의 성분과 공존할 경우 synergistic effect를 나타내어 우리의 면역 시스템 중 보체계의 활성화, 여러 가지

cytokine의 활성화 등의 질병에 대한 생체방어 시스템의 보강에 유효하며 식품이나 주위환경에 혼입 또는 잔류되어 있는 환경호르몬의 영향을 상쇄시키는 역할 등 우리 인체의 생체 항상성(homeostasis)에 큰 영향을 미친다(2). 생약의 유효성에 대한 연구는 천연식품소재에서의 기능성 신물질의 탐색연구에 있어서 상당히 많은 부분을 접하게 되었는데, 천연물질로부터 유래된 면역 증강제는 면역 반응을 강화시키거나 저하된 면역능을 원상회복시킴으로써 암치료, 면역결핍증 치료 그리고 만성감염 등을 치료하는데 쓰일 수 있을 것으로 기대하고 있다.

제빵에 관련된 연구로는 영양과 경제적 측면을 감안한 복합물 쌀, 보리, 옥수수 등을 제과·제빵 재료의 첨가물로 사용하여 연구되어 왔으며(3-5), 식이섬유의 생리적 효능에 관한 연구들이 많이 보고됨에 따라 식이섬유를 첨가하여 만든 식품들의 개발이 활발히 진행되고 있다(6,7). 요즘은 식품의 기호성과 더불어 기능성에 대한 관심이 크기 때문에 이전에는 단순히 약재로 알려진 한약재가 기능성 식품의 소재로서

[†]Corresponding author. E-mail: khs6269@hanmail.net
Phone: 82-55-751-8155, Fax: 82-55-751-8157

관심을 끌고 있는 추세이다. 이러한 기능성이 확인된 부재료를 첨가한 다양한 기능성 빵에 관한 연구로는 솔잎 추출물을 이용한 식빵(8), 가루녹차 첨가 식빵(9), 구기자 분말의 첨가 케이크(10) 등이 있으나 실제 생약 추출물을 이용하여 제빵 적성을 검토한 연구는 드문 실정이다.

따라서 본 연구는 한방문헌에 게재되어 있는 생약재중에서 새로운 기능성 식품소재 개발을 위하여 국내산 14가지 생약재의 구성비를 달리하여 유용물질을 추출하여 면역활성 실험을 통해 생약재의 면역능을 확인한 후 이 추출물을 제빵 시 첨가하여 반죽의 pH 및 제품의 부피, 색도, 질감, 관능적 특성 등을 측정하여 제빵적성에 미치는 영향과 기능성 소재로의 이용 가능성을 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 생약재는 진주시 건재상에서 구입하여 사용하였으며 밀가루는 제일제당(주) 강력분을 구입하여 상온 저장하면서 사용하였다.

면역활성 실험을 위한 생약조성물의 조성 및 추출

면역조절 및 증강 소재를 선별하여 기능성 빵 제조에 이용할 생약조성물은 현재 식품위생법에 식품의 주재료 혹은 부재료로 사용인가가 난 생약재인 황기, 백복령, 맥문동, 오가피, 산약, 구기자, 당귀, 하수오, 기사, 토사자, 백출, 오미자, 표고버섯, 감초 등을 사용하였으며 이러한 생약재를 전통의 약서와 현대과학에서 면역 활성이 규명된 연구논문들 기초로 Table 1과 같이 구성하여 최적 생약조성물로 삼았으며 최적조성물 MH-1, MH-2, MH-3 시료를 건조, 분쇄한 후 10배의 증류수를 가하여 90°C에서 10시간 동안 열수추출한 후 감압 농축한 다음 동결 건조하여 조성물 농도 10, 50, 100 (µg/mL) 농도에 따른 면역활성 실험을 수행하였다.

Table 1. The optimal composites of medicinal herbs (g)

Herb names	MH-1	MH-2	MH-3
<i>Astragalus membranaceus</i> Bunge	6	10	10
<i>Poria cocos</i> Wolf.	6	8	10
<i>Liriope platyphylla</i> Wang et Tang	6	8	10
<i>Acanthopanax sessiliflorum</i> Seeman	6	8	10
<i>Dioscorea japonica</i> Thunberg	6	8	10
<i>Lycium chinense</i> Miller	6	5	10
<i>Angelica gigas</i> Nakai	6	5	10
<i>Polygonum multiflorum</i> Thunberg	6	5	10
<i>Agkistrodon acutus</i>	5	4	5
<i>Cuscuta chinensis</i> Lamark	5	4	10
<i>Atractylodes japonica</i> Koidzumi	5	4	10
<i>Schizandra chinensis</i> Baillon	3	2	5
<i>Lentinus edodes</i>	6	5	10
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	5	-	10
Total amount	77	76	130

생약조성물의 대식세포(macrophage) 활성 실험

본 실험에서는 본 연구에서 조제된 최적조성물이 대식세포의 각종 활성, cytokine 발현능력 및 nitric oxide(NO) 생산능에 어떤 영향을 미치는가를 아래와 같이 조사함으로써 면역조절 또는 증강용 식품 소재로서의 활용가치가 있는가를 검증하였다.

In vitro 임파구 세포 증식 반응: 무처치한 mouse (BALB/C mice, female, 5-7주령, KRIBB에서 구입)에서 무균적으로 채취한 비장에서부터 10% fetal calf serum(FCS: GIBCO), 2 mM L-glutamine, 15 mM HEPES 및 5 µg/mL gentamycin이 함유된 RPMI 1640 용액을 사용하여 단일세포 배양액을 조제한 다음 비장세포 배양액을 2×10^5 cells/mL 농도로 조절하여 96-well microtiter plate에 100 µL 첨가하고, 여기에 조성물을 1~200 µg/mL 농도로 처리한 후 72시간 배양하였다. XTT labeling 시약에 electron coupling 시약이 첨가된 XTT labeling 혼합액 5 µL(최종농도 0.3 µL/mL)을 각 well에 첨가한 다음 세포를 전처리하여 450 nm에서 흡광도를 측정함으로써 세포증식능을 조사하였다.

대식세포의 spreading ability 측정: Thioglycollate 액으로 유도된 BALB/C mice로부터 분리된 복강 대식세포를 1×10^5 cell/well로 조절하여 96-well plate에서 조성물과 혼합하여 37°C에서 48시간 동안 배양한 후 대식세포의 위축형성을 관찰하였으며, 활성은 300개의 대식세포를 기준으로 백분율로 표시하였다.

대식세포의 식작용 활성 측정: 복강 대식세포(1×10^6 cell/well)를 46-well culture plate에서 조성물과 혼합하여 48시간 동안 배양한 후 FITC-latex microbead와 조성물을 처리한 다음 37°C에서 90분간 배양하였다. 배양된 세포를 2% FBS가 함유된 phosphate-PBS용액으로 세척한 다음 식작용 활성을 fluorescence spectrophotometer(FL600, Biotek)를 사용하여 570 nm에서 측정하였고, 양성대조군으로는 LPS를 이용하였다.

대식세포의 cytostaticity 측정: 조성물 농도별로 96-well plate에서 48시간 배양한 복강 대식세포(1×10^6 cell/well)을 세척한 후 암세포인 sarcoma 180(10^4 viable cell)과 18시간 동안 공동 배양한 다음 MTT용액 50 µg 각 well에 첨가하여 변형된 MTT 방법(11,12)에 따라 세포활성을 측정하였다. 이때 대조군은 조성물이 처리하지 않은 대식세포를 사용하였으며, cytostaticity 백분율은 $[1 - (\text{실험군 흡광도} / \text{대조군의 흡광도})] \times 100$ 으로 계산하였다.

Nitrite 생성량 측정: 복강대식세포(2×10^5 cell/mL)를 48-well plate에서 24시간 배양한 후 배양 상등액에 존재하는 NO량은 Griess 시약을 사용하여 측정하였다.

Cytokine 생성량 측정: Cytokine 생성량은 면역학적 방법으로 측정하였다. 복강대식세포(2×10^6 cell/mL)를 24-well plate에서 6시간 동안 배양한 다음 상등액을 시간별로 수확

하여 IL-1 β , IL-6, TNF- α 의 생성량을 ELISA kit(Genzyme, USA) 측정하였다. 배양액을 원심분리하여 상층액을 취한 다음 다양한 농도의 추출물과 혼합한 후 37°C에서 30분간 반응시켜 450 nm에서 흡광도를 측정하여 표준물질을 이용해 작성된 표준곡선에 기초하여 cytokine 양을 산출하였다.

생약조성물을 첨가한 빵의 품질특성 실험

빵 제조에 첨가한 생약조성물의 추출: 빵 제조에 첨가한 생약조성물은 위의 면역실험을 통해 규명된 면역증강 활성이 가장 높은 최적조성물 MH-3의 조성(Table 1)으로 생약재 대비 10배의 물을 넣어 90~100°C에서 3시간 동안 추출하여 60°C 이하로 냉각한 다음, 여과하여 찌꺼기가 제거된 순수한 생약 열수 추출액(Brix 5.0)을 얻었다.

반죽배합비와 제빵: 제빵에 사용한 반죽의 구성은 Table 2와 같다. 배합비는 밀가루 100%를 기준으로 각 재료들이 배합되었고 추출물 첨가는 제빵 시 사용되는 급수 65%에 대해 추출물을 각각 30%, 50%, 70%, 100%의 비율로 첨가하였으며 제빵공정은 직접 반죽법(13)에 의해서 실시하였다.

반죽의 pH 측정: 반죽의 pH는 AOAC법(14)을 적용하여 mixing을 마친 다음 반죽에서 10 g을 채취하여 증류수 50 mL와 함께 homogenizer로 10,000 rpm에서 5분간 균질화하여 그 혼탁액의 pH를 측정하였다.

제품의 부피 및 무게측정: 식빵의 부피와 무게는 baking한 다음 실온에서 식힌 후 측정하였으며, 부피는 종자치환법으로 측정하였고, specific loaf volume(cm³/g)은 빵 무게로 나누어 표시하였다.

색도 측정: 색도는 시료를 실온까지 식힌 후, 색차계(Chroma Meter, CR-200b, Minolta, Japan)를 사용하여 표준색판(L: 97.10, a: -0.17, b: +1.99)으로 보정하였다. 식빵의 crust와 crumb의 색도는 L값(명도), a값(적색도), b값(황색도)으로 2회 반복하여 측정하였다.

조직감의 측정: 식빵의 조직감은 Texture analyzer(model TA XT2, Stable Micro Systems, England)를 이용하여 P 20(20 mm dia cylinder aluminium)을 장착하여 시료를 2회 연속적으로 침입시켰을 때 얻어지는 force-time curve로부터 hardness, cohesiveness, gumminess, chewiness, fracturability, adhesiveness, springiness 및 resilience

Table 2. Baking recipe based on flour percentage

Ingredients	Content (%) ¹⁾	Weight (g)
Flour	100	1000
Yeast	3	30
Yeast food	0.1	1
Sugar	5	50
Salt	2	20
Butter	4	40
Water ²⁾	65	650

¹⁾All Ingredient percentages based on wheat flour.

²⁾Extracts percentages (30, 50, 70 and 100%) were added to dough on water.

를 측정하였으며, 분석조건은 sample size: 6 cm×7 cm×2.5 cm, probe: p 20 mm, test speed: 1.0 mm/sec, pre test speed: 5.0 mm/sec, post test speed: 5.0 mm/sec, distance: 50%, trigger type: Auto 50 g, time: 5.00 sec로 하였다.

관능검사: 관능검사를 위하여 훈련을 받은 식품영양과 학생 6명을 선정하여 시료를 시식하고 평가하도록 하였다. 평가내용은 먼저 외형을 눈으로 관찰하고 다음으로 향미를 맡은 후 씹으면서 입안에서의 느낌, 맛, 전체적인 선호도 및 내부의 질감을 5점 척도법으로 3회 반복하여 나타냈다.

통계처리

분석 결과는 평균치와 표준편차로 표기(mean±SD)하였고 통계처리는 SAS(version 6.12 program)를 이용하여 one-way ANOVA분석을 실시한 후 유의성이 있는 경우 면역분석실험은 t-test(p<0.01)로, 빵에 대한 결과는 다중비교의 하나인 Duncan의 다중 범위 검증(15)을 실시하여 각 군의 유의성은 p<0.05 수준에서 통계적 차이를 검증하였다.

결과 및 고찰

대식세포의 활성 및 식작용에 미치는 영향

생약 추출물의 대식세포 활성과 식작용에 미치는 영향은 Table 3과 같다. 대식세포 활성은 조성물 농도가 증가할수록 대식세포의 spreading 및 proliferative activity는 증가하였고, 특히 MH-3(100)농도에서는 대식세포에서 NO생성을 유도하는 물질인 LPS 첨가 시보다 높은 수준으로 증가되었다. 이것은 슬릿의 계통별 물 추출물을 첨가하여 배양한 경우 5~500 µg/mL 모든 농도에서 대식세포 증식을 촉진하였고 1,000 µg/mL 농도에서는 LPS 첨가 시보다 높은 수준으로 증가되었다는 Lee의 보고(16)와 비슷한 경향이었으며 고들빼기(17)와 맨드라미추출물(18)에서도 이와 유사한 결과가 보고된 바 있다. 한편 최적조성물이 대식세포의 식작용에

Table 3. Effect of MH composites on the macrophage functions and phagocytosis

Treatment (µg/mL)	Proliferative activity	Spreading ability	Phagocytosis
Control	1.00±0.11 ¹⁾	1.00±0.13	264.1±23.4
MH-1 (10)	1.38±0.15*	1.74±0.16*	257.6±26.1*
MH-1 (50)	2.25±0.24*	2.94±0.28*	341.7±35.4*
MH-1 (100)	3.21±0.38*	3.98±0.37*	548.9±55.2*
MH-2 (10)	1.56±0.17*	1.98±0.21*	298.2±30.4*
MH-2 (50)	2.49±0.25*	3.63±0.40*	394.5±41.2*
MH-2 (100)	3.42±0.38*	4.91±0.48*	602.1±62.3*
MH-3 (10)	1.73±0.18*	2.15±0.25*	320.2±33.1*
MH-3 (50)	2.80±0.29*	3.81±0.39*	450.3±46.8*
MH-3 (100)	3.78±0.40*	5.73±0.55*	638.7±63.2*
LPS (0.5)	3.87±0.32*	5.09±0.58*	641.5±67.3*

¹⁾Mean±SD (standard deviation) (n=3).

*p<0.01, significantly different from the control.

미치는 영향은 최적 조성물 MH-1, MH-2 및 MH-3에서의 대식세포는 대조군에 비하여 유의성 있게 microbead를 탐식하는 것으로 나타났으며 특히 MH-3(100)농도와 MH-2(100)농도에서는 대식세포에서 NO생성을 유도하는 물질인 LPS 첨가 시와 비슷한 수준으로 증가되어 조성물들이 대식세포의 식작용을 촉진시키는 능력을 가지고 있다는 것을 증명하고 있다. 이것은 본 실험에서 사용된 가시오가피, 감초, 갈근 및 구기자 등의 14가지 생약재의 복합적인 영향으로 생각되며 대식세포는 숙주의 방어기구의 일부로서 면역계에 매우 중요한 역할을 수행하여 외부물질 침입을 가장 먼저 인지하여 체액성 면역과 세포성 면역에 관여하여 대식세포가 활성화되면 증식과 확산능력의 향상 등과 같은 세포의 형태적 변화뿐만 아니라 대식능력의 증강, NO 및 cytokine 생성의 향상을 수반하여 종국적으로 암세포와 각종 유해균의 성장을 억제시킬 수 있는 것으로 여겨진다. 이와 유사한 연구로는 30여종의 전통 생약으로부터 조제된 열수추출물을 대상으로 골수세포 증식활성의 실험결과에서 특히 시료 농도 100 µg/mL에서 진피(대조군의 1.8배), 백출(1.73배), 가시오가피와 감초(1.64배) 및 갈근과 구기자(1.53배) 등이 대조군에 비해 월등히 높았다고 보고(19)한 바 있는데 이는 생약재의 열수 추출물 중에는 alkaloids, flavonoids 및 terpenoids와 같은 저분자 물질과 다당류, 단백질, tannin 등과 같은 고분자 물질이 다양하게 혼재함에 따라 세포활성에 그 영향을 주는 것으로 보고한 바 있다.

조성물의 NO생성과 대식세포의 cytostatic activity에 미치는 영향

조성물의 NO생성과 대식세포의 cytostatic activity는 Table 4와 같다. 대식세포에 조성물을 처리한 후 24시간 배양하여 상등액에 존재하는 NO농도를 Griess 반응으로 측정된 결과 각 조성물의 50 µg/mL 농도 이상에서 유의성 있는

Table 4. Effect of MH composites on NO production and cytostatic activity of macrophages to tumor cells

Treatment (µg/mL)	Nitrite	Cytostaticity (%)
Control	4.53±0.44 ¹⁾	2.5±0.24
MH-1 (10)	8.25±0.87*	10.5±1.10*
MH-1 (50)	28.62±2.91*	32.4±3.54*
MH-1 (100)	42.47±4.35*	54.8±5.11*
MH-2 (10)	9.31±0.92*	13.2±1.10*
MH-2 (50)	30.19±3.24*	40.5±3.95*
MH-2 (100)	45.65±4.45*	59.7±5.45*
MH-3 (10)	10.87±1.10*	15.6±1.10*
MH-3 (50)	39.54±4.05*	48.2±4.21*
MH-3 (100)	62.13±6.38*	60.5±6.18*
LPS (0.5)	63.11±6.45*	58.4±4.85*
S-180+IM-3 (100)		1.3±0.11*

¹⁾Mean±SD (n=3).

*p<0.01, significantly different from the control.

효과가 인정되었고, 100 µg/mL 농도로 증가할수록 활성은 비례적으로 증가되었으며 MH-3(100)농도에서는 대식세포에서 NO생성을 유도하는 물질인 LPS 첨가 시와 비슷한 수준으로 증가되었다. 이것은 생강 열수추출물 투여에 의한 복강 대식세포의 NO 생성량이 추출물의 농도가 증가함에 따라 NO 생성량이 증가하였다는 Ryu와 Kim의 보고(20)와 비슷한 경향을 나타내었다. NO는 면역계에서 종양세포나 세포내 미생물에 대한 방어작용을 하는 중요한 신호전달 물질이며 radical molecule로서 nitric oxide synthetase의 작용에 의해 L-arginine이 L-citruline으로 변화되는 과정에서 생성된 NO는 대부분의 조직세포에 영향을 미쳐 순환기계에서는 혈관이완물질로 중추신경계에서는 신경전달물질로 알려져 있으며(21) 비특이적 숙주방어기작 대식작용, 세균 및 암세포의 증식억제활성이 증명된 바 있다(22). 또한 활성화된 대식세포에서 생산되면서 암세포의 중요 숙주 방어 물질로 인정된 TNF-α, IL-1β와 같은 cytokines은 NO의 중간물질 발생과 연관성이 높은 것으로 알려져 있다(23).

한편 조성물이 대식세포의 cytostatic activity(암세포 증식억제 활성)는 각 조성물에서 농도 10, 50, 100 µg/mL을 처리한 결과 조성물의 농도가 증가함에 따라 대식세포는 Sarcoma 180 암세포를 강하게 억제하였고, 또한 MH-2(100)와 MH-3(100) 농도에서는 대식세포에서 NO생성을 유도하는 물질인 LPS 첨가 시보다 높은 수준으로 Sarcoma 180 암세포를 강하게 억제하였다. 이것은 생약의 열수추출물 대상으로 종양전이 억제활성을 검색한 결과 종양전이 억제율이 가시오가피(75.6%), 백출(71.3%), 인삼(70.0%), 감초(66.3%), 당귀(63.1%), 갈근(58.1%) 및 진피(58.1%) 등이 대조군(종양함유군)에 비해 2.5 mg/kg body weight의 농도에서 50% 이상의 높은 종양전이 억제활성을 나타냈다는 보고(19)에 따라 본 실험에서 사용된 가시오가피, 백출, 감초 및 당귀 등의 종양전이 억제활성이 높은 여러 생약재의 조성 및 그 조성물의 농도 증가가 cytostatic 활성 향상에 의한 암세포 증식을 억제하는 것으로 나타났다. 최근 버섯 분획물이 항돌연변이 활성 및 암세포 성장 억제 효과가 뛰어나며 그 활성성분은 대부분 버섯 자실체나 액체 버섯균사체로부터 추출된 다당류 중 lentinan이 sarcoma-180에 대하여 강한 항암작용을 나타낸다고 보고되고 있다(24). 또한 활성화된 대식세포에서 생산되면서 암세포의 중요 숙주 방어 물질로 인정된 TNF-α, IL-1β와 같은 cytokines은 NO의 중간물질 발생과 연관성이 높은 것으로 나타났다

생약 조성물이 cytokine 생성에 미치는 영향

각 조성물에 의한 대식세포의 cytokine 생성능은 Table 5와 같으며 각 조성물에서 농도 50, 100 µg/mL을 처리한 결과 조성물의 농도가 증가함에 따라 전군의 배양 상등액에서 TNF-α, IL-1β 및 IL-6의 분비량이 증가되었다. 이와 같은 결과는 Ryu 등(25)이 식물 혼합 추출물이 마우스 비장세

Table 5. Effect of MH composites on the macrophage-related cytokine production

Treatment (µg/mL)	TNF-α (ng/mL)	IL-1β (ng/mL)	IL-6 (ng/mL)
Control	0.62±0.06 ¹⁾	0.35±0.03	0.21±0.02
MH-1 (50)	5.38±0.55*	2.42±0.25*	1.28±0.12*
MH-1 (100)	7.21±0.74*	3.29±0.37*	1.95±0.19*
MH-2 (50)	6.21±0.63*	2.69±0.27*	1.42±0.44*
MH-2 (100)	8.15±0.85*	3.58±0.62*	2.08±0.23*
MH-3 (50)	6.59±0.68*	2.87±0.29*	1.53±0.55*
MH-3 (100)	9.43±0.95*	3.92±0.40*	2.41±0.20*
LPS (0.5)	15.21±1.48*	4.31±0.45*	3.87±0.40*

¹⁾Mean±SD (n=3).

*p<0.01, significantly different from the control.

포 증식능 및 복강 대식세포에서 분비하는 사이토카인의 분비능을 조사한 결과 추출물 5~250 µg/mL에서 세포증식을 촉진하는 효과가 있었으나 고농도인 1,000 µg/mL 첨가 시 세포증식이 억제되는 경향을 보였고 TNF-α, IL-1β 및 IL-6 분비량은 추출물 10 µg/mL 농도 첨가에서 대조군에 비해 유의적으로 높았다는 보고와 유사한 경향을 보여주고 있다. 또한 Chae 등(26)은 황기, 감초, 백출 등의 8가지 생약으로 구성된 보충약기타의 추출물 첨가가 대조군보다 T세포의 IL-2 분비량은 약간 적었으나 cytokines의 일종인 IFN-γ 분비량은 증가하였다고 보고하기도 하였다. 이러한 cytokine의 분비량 증가는 autocrine 또는 paracrine 활성 증가에 의한 대식세포의 활성화에 기인되는 것으로 추측되며 그 중에서도 TNF-α는 암세포를 파괴하는 종양 괴사 2인자로서 압과 관계된 연구에서 자주 이용되는 cytokine으로 염증에 의해 유발되는 초기 cytokine cascade에 관여하며 NO생성을 유도하는 것으로 알려져 있다(23,24). 한편 백작약, 참취, 어성초의 경우 이들 시료가 LPS를 처리하지 않은 경우 미미한 cytokines 생성능을 보이다가 LPS를 처리한 후 초기반응에서 TNF-α, IL-1β 및 IL-6의 cytokines 분비량이 상승한 것으로 보고한 Kim의 연구(27)와는 달리 본 실험에서는 전군에서 대조군보다 현저히 증가하였으며 IM-3(100) 농도에서는 LPS 첨가 시와 비슷한 수준으로 증가되었다. 이것은 골수세포 증식활성이 높은 가시오가피, 감초, 백출 등으로 구성된 본 실험 생약조성물이 복강대식세포의 활성화에 작용하여 암세포의 주요 숙주 방어 물질로 인정된 TNF-α, IL-1β와 같은 cytokines 생성을 활성화시키고 이로 인해 NO생성 증가에도 영향을 미쳐 비특이적 면역반응이나 대식세포에 의해 암세포 사멸 및 성장저해에 중요한 역할을 할 것으로 여겨진다.

이상의 결과를 보아 면역증강 조성물 MH-1, MH-2 및 MH-3는 대식세포 면역 활성의 지표가 되는 식세포 작용, NO 생산량, 암세포 증식 억제활성, cytokine 생성량 등에서 유의성 또는 높은 활성을 보였기 때문에 기능성 식품 제조를 위한 면역증강 소재로의 활용가치가 있음이 증명됨에 따라

Table 6. pH of the dough added with extracts of medicinal herbs

Extracts of medicinal herb (%)				
0	30	50	70	100
5.21±0.55 ^{1)NS2)}	5.27±0.55	5.16±0.55	5.21±0.55	5.20±0.55

¹⁾Means±SD (n=3). ²⁾NS: not significant at p<0.05.

면역증진 빵 제조에 활용하였다.

생약조성물을 이용한 면역증강 빵의 제조 및 품질특성

반죽의 pH: 국내산 14가지 생약재의 구성비를 달리하여 유용물질을 추출하여 면역활성 실험을 통해 생약재의 면역능을 확인한 후 이 추출물을 제빵 시 첨가한 반죽의 pH는 Table 6과 같다.

1차 발효시킨 후 반죽의 pH는 일반적으로 가스 보유력이 가장 좋다고 알려진 pH 5.0~5.5의 범위 내에 있었으며 각 군 간에 유의성이 없어 추출물의 첨가가 pH에 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다. 이 같은 결과는 감초와 강황 추출물 첨가에 의한 식빵의 pH는 추출물 첨가군 간에 차이가 없다고 보고한 Lee 등(28)의 연구결과와 비슷한 경향이었으며 한편 솔잎 추출액에서는 그 첨가량이 증가할수록 pH가 낮은 경향을 보였다는 Kim과 Kim의 보고(8)도 있다.

빵의 부피와 무게: 생약추출물을 첨가한 specific loaf volume의 변화는 Table 7과 같다. Baking후 실온에서 냉각시킨 제품의 무게는 유의적인 차이가 없었다. 제품의 부피는 대조군의 제품 부피가 1,754 cm³인 것에 비해 30%, 50% 추출물 첨가군에서는 1,732 cm³, 1,731 cm³로써 유의적인 차이가 없었으나, 70% 추출물 첨가군에서는 1,789 cm³로 유의적인 증가를 보였고 100% 추출물 첨가군에서는 1,701 cm³로써 가장 낮았다. Specific loaf volume은 유의적인 차이가 없었으나 식빵의 부피와 비슷한 경향을 보였다. 70% 추출물 첨가군을 제외한 30%, 50%, 100% 추출물 첨가군에서는 추출물 첨가농도가 증가할수록 부피팽창도가 감소하여 감초와 강황 추출물 첨가에 의한 식빵 반죽의 부피 팽창도는 추출물 첨가 농도가 증가할수록 부피 팽창도는 감소하였다는 Lee 등의 보고(28)와 비슷한 경향이였다. 그러나 70% 추출물 첨가군에서 제품의 부피가 가장 증가한 것은 빵의 부피와 비용적에 영향을 미치는 중요한 요인으로서 가스 발생력과 반

Table 7. Loaf weight and volume of bread added with extracts of medicinal herbs

Groups	Loaf weight (g)	Loaf volume (cm ³)	Specific loaf volume (cm ³ /g)
Control	477.21±19.52 ^{1)NS2)}	1754.51±113.24 ^{ab3)}	3.68±0.29 ^{NS}
30%	477.25±21.23	1732.47±102.33 ^b	3.63±0.22
50%	478.85±25.28	1731.85±121.77 ^b	3.62±0.17
70%	480.56±24.81	1789.21±114.21 ^a	3.73±0.27
100%	484.74±29.14	1701.32±125.90 ^c	3.51±0.30

¹⁾Mean±SD. ²⁾NS: not significant at p<0.05.³⁾Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05.

죽의 가스 보지력의 상호관계를 들 수 있고 가스 발생력은 효모의 양과 질, 당의 양, 반죽의 온도, 반죽의 산도, 소금의 양 등에 따라 좌우되며 가스 보지력은 단백질의 양과 질, 산화정도, 가수량, 산도 등에 의해 영향을 받는 것으로 볼 때 70% 추출물 첨가군에서 가스를 형성할 수 있는 이런 요인들이 상호 복합적으로 작용하여 빵 제조 시 첨가한 효모성장이 양호하였고 이때 발생된 가스도 잘 보존되어 부피와 비용적이 증가된 것으로 생각된다.

빵의 색도: 식빵 crust와 crumb의 색도는 Table 8과 같다. 식빵 crust의 색도는 생약추출물의 첨가된 L(lightness) 값은 대조군에 비해 30%군에서 유의적인 증가를 나타내었으며, a(redness) 값은 추출물 30% 첨가 시 가장 낮았고 70%에서 가장 높았다. b(yellowness) 값은 대조군에 비해 70% 첨가군이 유의적으로 감소하였다. 색은 외관의 평가에서 매우 중요하게 여겨지는 항목으로 굵고 난 후 색이 좋아야 먹음직스럽게 보일 뿐만 아니라 풍미를 향상시킬 수 있기 때문에 식빵은 황갈색을 띠는 것이 좋다(29). 본 연구에서 a값은 낮았고 L, b값은 높게 나타난 추출물 30%를 첨가한 군이 식빵의 기호적 품질에 상당히 좋은 영향을 미치리라 생각되며 이는 관능평가에서 좋은 점수를 얻은 것(Table 10)과도 연관이 있을 것으로 여겨진다. 식빵 crumb의 색도는 대조군이 L값 80.09, a값 -2.15, b값 12.00이었으나 생약추출물의 첨가량이 증가함에 따라 crumb는 L값은 감소하였고 a, b 값은 모두 증가하여 어두운 색을 나타냈다. 추출물첨가량이 많을수록 명도를 나타내는 L값은 유의적으로 감소하고 적색도를

나타내는 a값은 증가하여 추출물 첨가량 간에 유의적인 차이가 있었다. 황색도를 나타내는 b값은 대조군에 비해 생약추출물 첨가량이 많은 군들이 유의적으로 증가하였다. 이와 같은 결과는 식빵에 영지 추출액의 농도가 높아질수록 명도는 조금씩 어두워지며 적색도와 황색도가 증가한다는 보고(30)와 구기자분말을 첨가한 케이크의 내부 색도는 구기자의 첨가량이 증가할수록 L값이 낮아져 어두워진다는 보고(10)와 일치하는 경향이였다. 추출물의 첨가에 의한 영향은 crust 색도보다 crumb 색도에 더 큰 영향을 미쳤으며 육안으로도 색의 변화를 알 수 있었다. 식빵의 색도는 pH, 당의 종류와 양, 온도 등에 많은 영향을 받으며(31) 추출물의 첨가가 표면색에 영향을 주는 부분도 있으나 특히 구울 때 온도에 의한 영향이 더 큰 것으로 생각된다.

조직감의 측정

Table 9는 생약추출물을 첨가하여 제조한 식빵의 조직감을 나타낸 것이다. 경도(hardness)의 경우 대조군에 비해 30% 추출물 첨가 시에 유의적인 차이가 없었으나 50% 이상 첨가 시에 경도값이 유의적으로 증가하였다. 부서짐성(fracturability)의 경우는 대조군에 비해 전군에서 낮게 나타났으며 그중 30%에서 가장 낮았고, 부착성(adhesiveness)은 대조군에 비해 30%와 70%에서는 유의적으로 높았으나 100% 첨가군에서 가장 낮게 나타났다. 탄력성(springiness)은 30% 첨가군에서는 대조군에 비해 높게 나타났으나 다른 군 간에는 유의적인 차이가 없었으며 응집성(cohesiveness)의 경우는 전군에서 대조군과 유사하였다. 점착성(gumminess)의

Table 8. Color of the bread crust and crumb added with extracts of medicinal herbs

		Extracts of medicinal herb (%)				
		0	30	50	70	100
Crust	L ³⁾	56.75±0.60 ^{1b)}	59.30±0.31 ^{2d)}	57.19±0.95 ^{b)}	53.41±0.96 ^{c)}	56.71±1.08 ^{b)}
	a ⁴⁾	13.02±0.26 ^{bc)}	12.16±0.51 ^{d)}	13.52±0.42 ^{ab)}	14.27±0.17 ^{a)}	12.51±0.61 ^{cd)}
	b ⁵⁾	28.14±0.63 ^{a)}	28.17±1.64 ^{a)}	27.55±0.44 ^{a)}	25.31±0.28 ^{b)}	28.67±0.69 ^{a)}
Crumb	L	80.09±0.15 ^{a)}	77.80±1.60 ^{b)}	79.01±0.62 ^{ab)}	78.11±0.41 ^{b)}	74.20±0.58 ^{c)}
	a	-2.15±0.06 ^{c)}	-1.78±0.07 ^{d)}	-1.44±0.11 ^{c)}	-1.26±0.04 ^{b)}	-0.65±0.04 ^{a)}
	b	12.00±0.37 ^{d)}	14.31±0.11 ^{c)}	13.90±0.42 ^{c)}	16.17±0.36 ^{b)}	18.43±0.21 ^{a)}

¹⁾Mean±SD (n=3). ²⁾Values with different superscripts within the same row are significantly different at p<0.05.

³⁾L (lightness) value: Degree of lightness (White +100 ⇔ 0 black).

⁴⁾a (redness) value: Degree of redness (red +100 ⇔ -80 green).

⁵⁾b (yellowness) value: Degree of yellowness (yellow +70 ⇔ -80 blue).

Table 9. Textural characteristics of the bread added with extracts of medicinal herbs

		Extracts of medicinal herb (%)				
		0	30	50	70	100
Hardness		3.70±2.32 ^{1c)}	3.28±1.10 ^{2d)}	6.32±0.62 ^{b)}	10.84±1.37 ^{a)}	6.76±2.34 ^{b)}
Fracturability		12.43±5.34 ^{a)}	3.72±0.72 ^{b)}	5.61±3.33 ^{c)}	7.65±3.29 ^{ab)}	7.55±0.72 ^{ab)}
Adhesiveness		2.27±1.05 ^{b)}	7.82±1.94 ^{a)}	3.99±3.01 ^{b)}	8.15±4.25 ^{a)}	-3.43±0.21 ^{c)}
Springiness		0.98±0.02 ^{b)}	1.20±0.25 ^{a)}	1.00±0.04 ^{b)}	0.99±0.05 ^{b)}	0.95±0.05 ^{b)}
Cohesiveness		0.85±0.01 ^{ab)}	0.87±0.01 ^{a)}	0.84±0.02 ^{ab)}	0.84±0.02 ^{ab)}	0.82±0.01 ^{b)}
Gumminess		3.15±0.28 ^{c)}	2.87±0.65 ^{c)}	5.31±0.58 ^{b)}	9.12±1.28 ^{a)}	5.56±0.95 ^{b)}
Chewiness		3.06±0.29 ^{c)}	3.27±0.53 ^{c)}	5.30±0.58 ^{b)}	9.06±1.40 ^{a)}	5.25±1.78 ^{b)}
Resilience		0.43±0.02 ^{ab)}	0.45±0.02 ^{a)}	0.44±0.02 ^{a)}	0.41±0.03 ^{b)}	0.41±0.01 ^{b)}

¹⁾Mean±SD (n=3). ²⁾Values with different superscripts within the same row are significantly different at p<0.05.

Table 10. Sensory evaluation of the bread added with extracts of medicinal herbs

	Extracts of medicinal herb (%)				
	0	30	50	70	100
Appearance	4.01 ± 0.03 ^{1)NS2)}	4.01 ± 0.05	4.03 ± 0.03	4.05 ± 0.04	3.85 ± 0.42
Flavor	4.34 ± 0.51 ^{a3)}	4.23 ± 0.48 ^a	4.06 ± 0.02 ^{ab}	3.57 ± 0.56 ^{bc}	3.39 ± 0.57 ^c
Mouth feeling	4.03 ± 0.07 ^a	4.04 ± 0.03 ^a	3.85 ± 0.46 ^a	3.58 ± 0.50 ^{ab}	3.09 ± 0.67 ^b
Taste	4.28 ± 0.45 ^a	4.34 ± 0.51 ^a	4.25 ± 0.56 ^a	3.08 ± 0.09 ^b	2.85 ± 0.44 ^b
Overall preference	4.53 ± 0.51 ^a	4.51 ± 0.53 ^a	4.29 ± 0.49 ^a	3.05 ± 0.04 ^b	3.08 ± 0.08 ^b
Crumb texture	4.03 ± 0.04 ^{NS}	4.06 ± 0.08	4.09 ± 0.04	4.02 ± 0.06	3.89 ± 0.40

¹⁾Mean ± SD (n=3). ²⁾NS: not significant at p<0.05.

³⁾Values with different superscripts within the same row are significantly different at p<0.05.

과 씹힘성(chewiness)의 경우는 30% 첨가군은 대조군과 비슷하였으나 70%에서 유의적으로 증가함을 나타내었다. 복원성(resilience)의 경우는 전체적으로 큰 변화가 없었으나 70%와 100%에서 유의적인 감소를 나타내었다. 이와 같이 생약추출물을 첨가하여 식빵을 제조한 결과 전반적으로 조직감 측정 시 경도, 응집성, 점착성, 씹힘성 및 복원성은 30% 첨가군이 대조군과 비슷하였으며 추출물의 첨가량에 따라 유의적인 차이를 볼 수 있었다. 이에 대한 연구로는 식빵에 감초와 강황 열수 추출물을 첨가하여 제조한 빵의 씹힘성, 탄력성, 복원성은 첨가농도에 따른 유의적인 차이가 없었으나 응집성은 유의적으로 증가하였다는 보고(20), 식빵에 신선초(32)나 녹차가루(33)를 첨가할수록 탄력성, 씹힘성은 증가하고 응집성은 낮아진다는 보고와 케이크에 김분말을 첨가할수록 탄력성과 응집성은 유의적인 차이가 없었으나 점착성과 씹힘성은 증가했다(34)는 여러 결과로 미루어 볼 때 빵의 물성 특성은 첨가소재와 첨가량에 따라 많은 영향을 받으며 또한 빵의 수분 함량, air cell의 발달 정도, 부피 등에 의해서도 영향을 받는 것(35)으로 여겨진다.

관능검사

생약추출물은 첨가하여 제조한 식빵의 관능검사 결과는 Table 10과 같다. 식빵 외관의 경우 대조군과 생약추출물 첨가군 간에 유의성이 없었다. 향미의 경우 대조군과 70%, 100% 추출물 첨가군에서 생약 특유의 향을 식빵에서 느낄 수 있었으나 식빵 고유의 빵 향보다는 낮은 점수를 받았다. 입에서의 느낌은 30% 추출물 첨가 시에 대조군과 같은 결과를 얻었으며 첨가량이 높은 100%에서는 가장 낮은 점수를 얻어 대조군과 유의적인 차이가 있었다. 맛에서도 향미의 경우와 마찬가지로 70%, 100% 추출물 첨가 시에서 대조군과 유의적인 차이를 나타냈으며, 100% 첨가 시에 가장 낮은 점수를 나타냈는데 이것은 스폰지 케이크에 새송이 버섯분말(36) 혹은 마분말(37), 양파분말(38)을 첨가한 실험에서도 첨가량이 일정 수준을 넘게 되면 식감이란다가 부드러움이 떨어지는 것으로 보고된 결과와 비슷한 경향이였다. 전반적인 선호도에서 30%, 50% 추출물 첨가 시엔 대조군과 유의적인 차이가 없었으나 70%, 100% 첨가 시 대조군과 유의적인 차이를 나타내었다. 이와 같이 생약추출물을 첨가하여 식빵을 제조한 결과 첨가된 생약추출물들은 빵의 외관, 맛,

내부의 촉감, 전반적인 선호도에서 30%, 50% 추출물 첨가 시엔 대조군과 유의적인 차이가 없었으나 70%, 100% 첨가군에서는 대조군과 유의적인 차이가 있었다. 이상의 결과로 생약 추출물을 첨가하여 면역증강 빵을 제조할 때 식빵의 물리화학적 성질뿐만 아니라 관능적인 성질을 고려해 보면 대조군과 같은 점수를 얻은 생약 추출물 30% 첨가 식빵이 제품으로 생산되었을 때가 가장 적합하고 50% 첨가 시에도 양호하리라 생각되며 생약추출물이 일정 이상 증가할수록 빵의 품질은 떨어지는 것으로 나타났다.

요 약

생약추출물의 기능성 소재로서 이용 가능성을 조사하고자 황기, 백복령, 맥문동, 오가피, 산약, 구기자, 당귀, 하수오, 기사, 토사자, 백출, 오미자, 표고버섯, 감초 등의 생약재를 이용하여 면역활성 실험을 수행한 결과 MH-1, MH-2 및 MH-3은 대식세포 면역 활성의 지표가 되는 식세포 작용, NO 생산량, 암세포 증식 억제활성, cytokine 생성량 등에서 유의성 또는 높은 활성을 보였기 때문에 기능성 식품 제조를 위한 면역증강 소재로의 활용가치가 있음이 증명되었다. 이와 같이 생약재의 면역 활성능을 확인한 후 면역 활성이 높은 위의 생약 열수 추출물을 그 일정한 비율로 혼합(밀가루를 기준으로 추출물은 30%, 50%, 70%, 100%)하여 반죽의 pH, 제품의 부피, 색도, 기계적 질감, 관능검사를 수행하였다. 반죽의 pH는 다른 모든 처리군에서 대조군(0%)과 유사하였으며 제품의 부피는 70% 추출물 첨가군에서 증가하였으나 다른 모든 처리군에서는 대조군에 비해 감소하였다. 식빵 crust의 색도는 추출물의 첨가량에 따른 L, a, b 값의 변화는 일정하지 않았으며, 식빵 crumb의 색도는 추출물의 첨가량이 증가할수록 L값은 감소하고, a, b값은 모두 증가시켜 어두운 색을 나타내었다. 조직감 측정 시 경도, 응집성, 점착성, 씹힘성 및 복원성은 30% 첨가군이 대조군과 비슷하였으며 추출물의 첨가량에 따라 유의적인 차이를 볼 수 있었다. 관능검사 결과 생약 추출물을 30%와 50% 추출물 첨가 시 외관, 향미, 입안에서의 느낌, 맛, 전반적인 선호도 및 내부의 질감에서는 대조군과 같은 높은 점수를 나타내었으며, 최대첨가수준은 70%까지 가능한 것으로 나타났다.

문헌

1. Lee SY. 2000. Use and perspective views of oriental herbs in food industry. *Food Ind Nutr* 5(3): 21-26.
2. Lee JM, Lee SH, Kim HM. 2000. Use of oriental herbs as medical food. *Food Ind Nutr* 5(1): 50-56.
3. Petrofsky KE, Hoseney RC. 1995. Rheological properties of dough made with starch and gluten from several cereal sources. *Cereal Chem* 72: 53-58.
4. Kim MA, Oh SH. 1995. Study on confectionary properties of chow made with flour of rice and rice wheat mixture. *Korean Soc Food Cookery Sci* 11: 69-76.
5. Lee CY, Kim SK, Marston PE. 1979. Rheology and baking studies of rice-wheat flour blends. *J Korean Food Sci Technol* 11: 99-104.
6. Cho MK, Lee WJ. 1995. Preparation of high-fiber bread with soybean curd residue and Makkolli (rice wine) residue. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 632-636.
7. Cho MK, Lee WJ. 1996. Preparation of high-fiber bread with barley flour. *J Korean Food Sci Technol* 28: 702-706.
8. Kim EJ, Kim SM. 1998. Bread properties utilizing extracts of pine needle according to preparation method. *J Korean Food Sci Technol* 30: 542-547.
9. Im JG, Kim YH. 1999. Effect of green tea addition on the quality of white bread. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 15: 395-400.
10. Kim YA. 2005. Effects of *Lycium chinense* powders on the quality characteristics of yellow layer cake. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 403-407.
11. Alley MC, Scudiero DA, Monks A, Hursey ML, Czerwinski MJ, Fine DL, Abbott BJ, Mayo JG, Shoemaker RH, Boyd MR. 1988. Tumor cell line using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Res* 48: 589-601.
12. Carmichael J, De Graff WG, Gazer AF, Minna JD, Mitchell JB. 1987. Evaluation of a tetrazolium based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res* 47: 936-942.
13. Kim LY. 2001. Effect of wheat germ powder on the quality of white bread. *MS Thesis*. Suncheon National University, Jeonnam, Korea.
14. AOAC. 1996. *Official Methods of Analysis*. 16th ed. Association of Official of Analytical Chemists, Washington DC. p 31.
15. SAS Institute, Inc. 1988. SAS / STAT user's guide version 6.03. Statistical analysis systems institute, Cary, NC, USA.
16. Lee JH. 2001. Effect of needle extracts and powder on modulation of immuno competence in mice and human subjects. *PhD Dissertation*. Sookmyung Women's University, Seoul, Korea.
17. Park HA. 2003. Enhancing effect of sonchifolia Hance *Oenanthe japonica* and *Fagopyrum esculentum* Moench on mouse immune cell activation. *MS Thesis*. Sookmyung Women's University, Seoul, Korea.
18. Lee YK. 2001. A study of immunomodulating effects and production of nitric oxide by *C. crists* L. extracts in mice. *MS Thesis*. Sookmyung Women's University, Seoul, Korea.
19. Lee CH, Kim IH, Kim YE, Kim YJ, Hwang JH, Yu KW. 2004. Effect of steam distillates prepared from herbal medicines on immunostimulating activity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 626-632.
20. Ryu HS, Kim HS. 2006. Effect of *Zingiber officinale* and *Hizikia fusiforme* water extracts on NO production in macrophage of mice. *Korean J Food Nutr* 19: 327-331.
21. Moncade S, Higgs A. 1993. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 329: 2002-2012.
22. Duerksen-Hughes PJ, Day D, Laster SM, Zachariades NA, Aquino L, Gooding LR. 1992. Both tumornecrosis factor and nitric oxide participate in lysis of simian virus 40 transformed cells by activated macrophages. *J Immunol* 149: 2114-2122.
23. Vane JR, Mitchell JA, Appleton I, Tomlinson A, Bailey DB, Croxtal J, Willoughb DA. 1994. Inducible isoforms of cyclooxygenase and nitric oxide synthetase in inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 2046-2050.
24. Chihara G, hamuro J, Maeda Y, Arai Y, Fukuoka F. 1970. Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan from *Lentinus edodes* Sing. *Cancer Res* 30: 2776-2781.
25. Ryu HS, Kim JH, Kim HS. 2007. Effect of a plant water extract mixture (*Ixeris sonchifolia* Hance, *Oenanthe javanica*, *Fagopyrum esculentum* Moench, *Hizikia fusiforme*, *Zingiber officinale* Roscoe) on mouse immune cell activation. *Korean J Food Nutr* 20: 74-78.
26. Chae SY, Shin SH, Ha MH, Jo SK, Kim SH, Byun MW, Yee ST. 2004. Effect of Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang on proliferation of T cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1085-1091.
27. Kim J. 2003. Enhancing effect of *Paeonia japonica*, *Houttuynia cordata* and *Aster scaber* extracts on the immunoreactivity in vivo in mice. *PhD Dissertation*. Sookmyung Women's University, Seoul, Korea.
28. Lee SY, Choi JS, Choi MO, Cho SH, Kim KBWR, Lee WH, Park SM, Ahn DH. 2006. Effect of extracts from *Glycyrrhiza uralensis* and *Curculla longa* on shelf-life and quality of bread. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 912-918.
29. Kim JY. 2002. Effects of chitosan in shelf-life and quality of bread. *MS Thesis*. Pukyong National University, Busan, Korea.
30. Chung HC, Lee JT, Kwon OJ. 2004. Bread properties utilizing extracts of *Ganoderma lucidum*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1201-1205.
31. Bowers J. 1992. *Food theory and applications*. 2nd ed. Macmillan, New York. p 326.
32. Choi OJ, Kim YD, Kang SK, Jung HS, Ko MS, Lee HC. 1999. Properties on the quality characteristics of bread added with *Angelica keiskei* Koidz flour. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 118-125.
33. Hwang YK, Hyun YH, Lee YS. 2001. Study on the characteristic of bread with green tea powder. *Korean J Food Nutr* 14: 311-316.
34. Kweon MK, Jeon SW, Kim DS. 2003. Quality characteristics of sponge cake with addition of laver powder. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 1278-1284.
35. Chabot JF. 1979. Preparation of food science sample for SEM. *Scanning Electron Microscopy* 3: 279-286.
36. Jeong CH, Shim KH. 2004. Quality characteristics of sponge cakes with addition of *Pleurotus eryngii* mushroom powder. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 716-722.
37. Yi SY, Kim CS, Song YS, Park JH. 2001. Studies on the quality characteristics of sponge cakes with addition of yam powder. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 48-55.
38. Chun SS. 2003. Development of functional sponge cakes with onion powder. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 62-66.

(2007년 8월 13일 접수; 2007년 11월 27일 채택)