



유청과 표고버섯 추출물의 혼합 발효를 통한 기능성 음료 제조

양희선¹ · 조준희¹ · 최유진¹ · 정후길¹ · 박태영² · 진성우² · 최봉석² · 서경순² · 허창기^{1*}

¹(재)임실치즈과학연구소, ²(재)장흥군버섯산업연구원

Preparation of a Functional Drink by Mixed Fermentation of Oak Mushrooms Extract and Whey

Hee-Sun Yang¹, Jun-Hee Jo¹, Yu-Jin Choi¹, Hoo-Kil Jung¹, Tae-Young Park², Seong-Woo Jin²,
Bong-Suk Choi², Kyoung-Sun Seo² and Chang-Ki Huh^{1*}

¹*Imsil Research Institute of Cheese Science, Imsil 566-881, Korea*

²*Jangheung Research Institute for Mushroom Industry, Jangheung 529-851, Korea*

Abstract

This study was carried out to investigate the quality characteristics and antioxidant activity of a functional drink prepared by mixed fermentation of oak mushroom extract and whey. As the ratio of oak mushroom extract increased, the pH value of the whey fermentative solution decreased proportionally, and the titratable acidity increased significantly. The number of lactic acid bacteria after 24 hours of culture was at a level of 10^{11} CFU/mL in all whey fermentative solutions containing oak mushroom extracts. DPPH and ABTS radical scavenging activities after 24 hours of culture were higher in a fermentative solution containing oak mushroom extract than in the control. After 24 hours of culture, the nitric oxide production in whey fermentation solution by LPS-induced RAW 264.7 cells was lower compared to that in whey fermentation solution with oak mushroom. Sensory evaluation revealed that, color, flavor, taste, and overall acceptability of the whey fermentation solution sample, which contained 1.0% oak mushroom extract, were much better than those of the other groups. Sensory evaluation of a whey drink containing oak mushroom flavor indicated that the whey drink containing 0.001% oak mushroom flavor was better than the other samples.

Keywords: whey, oak mushroom, mixed fermentation, functional drink, antioxidant activity

서론

유청(乳清)은 치즈 생산물의 부산물로만 여겨져 대부분이 폐기되어 왔으나, 국내 치즈 생산 증가와 더불어 유청 생성 역시 증가하는 추세에 있어 유청을 활용한 가공품 개발에 관심이 커져 가고 있다. 유청은 치즈 제조 중 원료유의 85~90% 정도가 유청으로 흘러나오므로 단백질, 유당, 무기질 및 비타민의 함량이 상당히 높다(Gallardo-Escamilla

et al., 2005; Yoon *et al.*, 2010). 또한 유청은 우수한 유화 작용, 거품 생성, 기포 형성, 젤라틴 화, 용해성 등 여러 기능적인 특성으로 인하여 과거에는 폐기 처분되었던 물질이 최근에는 새로운 식품재료와 식품 첨가물로써 관심을 받고 있다(Hujanen and Linko, 1996; Yun, 2004; Park *et al.*, 1988).

현재 유청에 대한 산업적 이용은 외국에서는 유제품, 제빵, 제과, 후식류, 시럽류, 육제품, 발효제품, 식품강화 등에 다양하게 이용되고, 이에 관한 연구가 활발히 수행 중이다(Gallardo-Escamilla *et al.*, 2005). 하지만 국내의 경우, 유청 단백질에 대한 기능성 연구가 아주 미진하게 이루어지고

* Corresponding author: Chang-Ki Huh, Imsil Research Institute of Cheese Science, Imsil 566-881, Korea. Tel: +82-63-644-2181, Fax: +82-63-644-2185, E-mail: moonerhuh@irics.re.kr

있는 상황이며, 유청 가공을 통한 식품 개발에 관한 연구는 거의 없는 실정이다(Yang *et al.*, 2012).

유청은 다양한 기능적, 영양적 및 생리활성적 기능을 가지는 소재로써 항산화 효과, 영양 강화, 대장암 예방, 콜레스테롤 조절 및 면역 증강 등의 다양한 기능을 가지고 있는 것으로 보고되어 있다(Kosikowsky, 1979; Chmile, 1997; Lagrange, 1998; Bounous, 2000). 따라서 이러한 기능성을 갖고 있는 유청을 활용해 기능성 음료 등으로 개발이 이루어진다면 유청의 활용 가치가 커질 것으로 판단된다.

표고버섯은 식물 분류학상 진균문, 담자균강, 주름버섯목, 느타리과에 속하며, 학명은 *Lentinus edodes*(berk)라고 하였으나, 1975년부터는 일부 분류학자에 의하여 *Lentinula edodes*(berk) Pegler라고 불려지고 있다. 일본어는 シイタケ(稚茸)이며, 영어는 oak mushroom, dried mushroom 또는 Shiitake라고 한다(Lee, 1991; Sung *et al.*, 1998).

표고는 각종 무기질과 비타민이 풍부하며, 섬유소가 위와 소장의 소화를 도와 비만증, 당뇨병, 심장병, 간장 질환에 좋다(Chihara, 1985). 또한 단백질, 칼슘, 인, 철분이 많고, 뼈를 튼튼히 하는 비타민 D, 조혈 작용에 필수적인 비타민 B, 혈액의 대사를 돕는 엘리트테닌 등의 성분이 풍부해 노약자 및 성장기 어린이들에게도 좋다. 햇볕에 말린 표고는 생표고보다 2배 정도 영양이 많은데, 특히 칼슘 흡수를 돕는 비타민 D가 많아 이를 튼튼하게 하고, 골다공증을 예방한다(Bobek *et al.*, 1997; Kim *et al.*, 1997).

표고는 특유한 맛, 향기, 아미노산, 비타민 및 무기질이 풍부하게 함유되어 있으나, 향미가 강하여 대량 소비용 가공식품 개발은 미흡하다.

따라서 본 연구에서는 이러한 다양한 기능성을 갖는 유청과 표고버섯을 혼합한 기능성 음료를 개발해 유청의 활용 범위를 넓히고자 하였다. 연구 수행 내용은 고다 치즈 제조 후 발생된 유청과 표고버섯을 혼합하여 유산균 발효를 시킨 다음 발효 전·후 성분 비교 및 항산화 활성 평가를 실시하였고, 음료의 기호도를 높이기 위해 각 첨가물의 배합 비율에 따른 기호도를 평가하였다.

재료 및 방법

1. 재료

유청은 임실 지역에서 가장 많이 제조되고 있는 고다 치즈 제조 과정 중 생긴 유청(pH 6.5)을 냉동보관하면서 사용하였고, 표고버섯 추출물은 (재)장흥군버섯산업연구원에서 제공한 전체 중량비의 8~10배의 정제수를 가하고, 80℃에서 열수 추출하여 제조한 추출물을 사용하였다. 음료 제조에 사용된 첨가물은 백설탕 (주)삼양사 제품, 사과과즙농축

액(60 brix), 합수구연산, 구연산나트륨, 요거트향, 표고버섯향은 (주)이에스기술연구소 제품을 구입하여 사용하였다. 또한 음료 제조에 사용된 균주로는 한국미생물보존센터로부터 분양받은 *Lactobacillus acidophilus* KCCM 40265 균주를 사용하였고, 세포 배양에 사용된 DMEM, FBS, antibiotic-antimycotic은 Gibco(USA), 유산균 배양에 사용된 MRS는 OXOID(USA), 항산화 활성 평가를 위한 Griss reagent system은 Promega(USA), LPS, 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid(ABTS), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), potassium persulfate는 Sigma(USA)에서 구입하여 사용하였다.

2. 세포 배양

실험에 사용한 RAW 264.7 세포는 한국세포주은행에서 분양받아 형태를 관찰하며, 10회 이하로 계대배양한 세포를 실험에 사용하였다. RAW 264.7 세포는 10% FBS가 첨가된 DMEM 배지를 사용하여 37℃, 5%의 CO₂ incubator에서 2~3일마다 계대배양하며 실험에 사용하였다.

3. 표고버섯 유청 발효액 제조

고다치즈를 제조한 후에 생긴 유청(pH 6.5) 5 L를 70℃에서 15분간 살균하고, 살균된 유청 1 L씩을 기준으로 표고버섯 자실체 추출물을 각각 무첨가, 0.5%, 1.0%, 1.5% 및 2.0%와 전 배양한 유산균액 *Lactobacillus acidophilus* KCCM 40265 배양액 50 mL씩을 첨가하여 37℃에서 24시간 발효시켜 유청 발효액을 제조하였다.

4. pH 및 적정산도

pH는 pH meter(UB-10 Delux, Denver, USA)를 사용하여 측정하였으며, 적정산도는 발효유 10 g에 증류수 10 mL를 혼합한 후 0.1 N NaOH 용액을 첨가하여 pH가 8.3에 도달할 때까지 소요된 양으로부터 산출하여 유산 함량으로 표시하였다.

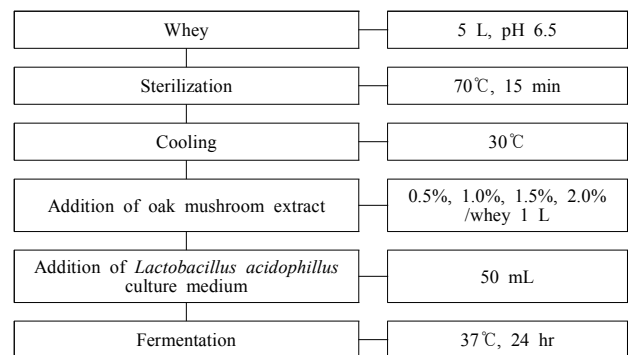


Fig. 1. Schematic diagram for mixed fermentative solution of oak mushroom extract and whey.

5. 유산균수 측정

유산균수 측정은 시료 1 mL를 십진희석법으로 희석하여 평판배양법으로 BCP 한천배지(Difco, USA)에 1 mL씩 분주하고, 37°C에서 48시간 동안 배양한 후 노랑색 콜로니를 계수하여 시료 1 g 당 CFU(colony forming unit)로 표시하였다.

6. 단백질 및 지방 함량 측정

조단백질과 조지방은 AOAC(1990) 방법에 따라 분석하였다. 조단백질의 함량은 Kjeldahl법으로 측정된 질소량에 질소계수 6.25를 곱하여 산출하였으며, 조지방의 함량은 Soxhlet 추출법으로 구하였다.

7. 유리당 함량 측정

유리당은 Wilson 등(1981)의 방법에 따라 분석하였다. 즉, 시료를 일정량 취해 여과(Whatman No. 2)하여 Sep-pak C₁₈ cartridge로 정제시킨 다음 0.45 µm membrane filter (millipore Co., USA)로 여과한 여액을 HPLC(Waters M510, USA)를 이용하여 분석하였다. Column은 Zorbax Carbohydrate 5u(150 mm L. × 4.6 mm I.D., Alltech, USA)를 사용하였으며, column oven 온도는 30°C, mobile phase는 acetonitrile-water(75 : 25, v/v), flow rate는 1.0 mL/min, 시료주입량은 20 µL의 조건으로 Waters 2414(Refractive Index Detector)에서 검출하였다.

8. 아미노산(유리 아미노산 측정) 함량 측정

유리아미노산은 ample 10 mL에 sulfosalicylic acid 25 mg을 첨가하여 4°C에서 4시간 동안 방치시킨 후 원심분리(50,000 rpm, 30분)하여 단백질 등을 제거하고, 상등액을 0.45 µm membrane filter로 여과하여 얻은 여액을 일정량 취하여 AccQ-Tag 시약을 사용하여 유도체화 시킨 후 HPLC로 분석하였다. Column은 AccQ-Tag™(Waters Co., 150 mm L × 3.9 mm ID)를 사용하였으며, column oven 온도는 37°C, mobile phase는 A : AccQ-Tag Eluent(acetate-phosphate buffer), B : AccQ-Tag Eluent B(60% acetonitrile), flow rate는 1.0 mL/min, 시료주입량은 5 µL의 조건으로 Agilent Technologies 1200 Series FLD에서 검출하였다.

9. DPPH radical 소거 활성 측정

표고버섯 첨가 유청 발효액 메탄올 추출물 50 µL에 100 µM DPPH 용액 150 µL를 혼합하여 실온에서 30분간 반응 후 ELISA reader로 530 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 50 µM ascorbic acid로 시료와 같은 조건에서 흡광도를 측정하여 radical 소거 활성을 비교하였다.

DPPH radical scavenging activity (%)

$$= (1 - \text{Sample absorbance} / \text{Control absorbance}) \times 100$$

10. ABTS radical 소거 활성 측정

7 mM ABTS와 2.4 mM potassium persulfate 용액을 혼합하여 16시간 동안 차광상태에서 ABTS⁺·를 형성시킨 후 ELISA reader로 630 nm에서 흡광도를 측정하여 흡광도 값이 0.7±0.02가 되도록 희석하였다. 유청 발효액 메탄올 추출물 100 µL에 희석된 ABTS⁺· 용액을 동량으로 가하여 630 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 50 µM ascorbic acid로 시료와 같은 조건에서 흡광도를 측정하여 radical 소거 활성을 비교하였다.

ABTS radical scavenging activity (%)

$$= (1 - \text{Sample absorbance} / \text{Control absorbance}) \times 100$$

11. NO 생성량 측정

표고버섯 첨가 유청 발효액 메탄올 추출물이 RAW 264.7 세포에서 LPS 자극을 통해 생성되는 NO를 억제할 수 있는지 확인하기 위해 RAW 264.7 세포를 5×10⁴ cells/well의 수로 계대배양하고, 24시간 안정화시켰다. 표고버섯의 첨가량을 달리한 유청 발효액 메탄올 추출물을 세포에 처리하고, 1시간 후 LPS(1 µg/mL)를 첨가하여 24시간 더 반응시켰다. 배양액 50 µL와 동량의 Griess reagent를 첨가하여 20분 후 ELISA reader로 530 nm에서 흡광도를 측정하였다. Nitrite의 농도는 sodium nitrite를 이용하여 64 µM까지 2배씩 희석하여 얻은 표준곡선과 비교하여 계산하였다.

12. 표고버섯 유청 발효 음료 브랜딩

1) 음료의 배합비율

고다 치즈 제조 후 얻어진 유청에 표고버섯 1%를 첨가하여 *Lactobacillus acidophilus* KCCM 40265로 발효시킨 유청 발효액에 사과농축액, 설탕, CMC, 합수구연산, 구연산나트륨, 요구르트 및 표고버섯 향을 첨가한 배합비는 Table 1과 같다. 시료군 구성은 표고버섯향을 제외한 첨가물은 일정하게 첨가하고, 표고버섯향을 음료 총량 1 L에 향을 첨가하지 않은 대조구와 0.05 g, 0.1 g, 0.3 g, 0.5 g으로 첨가한 비교구로 구성하였다.

2) 음료 제조 방법

유청 발효액 제조 방법은 위에서 제시한 바와 같고, 제조된 유청 발효액에 각종 첨가물을 혼합 및 교반하고 여과한 다음 유청 음료로 제조되었다. 음료 브랜딩 방법은 제조된

Table 1. The constituent of drink added materials

Raw	Sample ¹⁾				
	Control	PUD-1	PUD-2	PUD-3	PUD-4
Apple concentrate(60 Brix)(g)	2.9	2.9	2.9	2.9	2.9
Sugar(g)	74	74	74	74	74
CMC(mg)	3	3	3	3	3
Citric acid(g)	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4
Sodium citrate(g)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Yoghurt flavor(mL)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Oak mushroom flavor(mL)	-	0.05	0.1	0.3	0.5
Whey fermentation solution(mL)	918.1	918.05	918	917.8	917.6
Total(g)	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

¹⁾ Control: Whey drink added with oak mushroom flavor 0%, PUD-1: Whey drink added with oak mushroom flavor 0.005%, PUD-2: Whey drink added with oak mushroom flavor 0.01%, PUD-3: Whey drink added with oak mushroom flavor 0.03%, PUD-4: Whey drink added with oak mushroom flavor 0.05%

유청 발효액 1 L에 설탕 74 g과 구연산나트륨 0.1 g을 첨가하여 용해한 후, 그 중 발효액 300 mL를 취해 교반(RPM 50,000)하면서 CMC를 소량씩 첨가하며 용해하였다. CMC가 완전 용해된 후 사과농축액 2.9 g, 합수구연산 1.4 g과 함께 본 발효액에 다시 첨가하고, 최종적으로 요구르트향 0.5 mL와 표고버섯향 0.05~0.5 mL씩을 첨가한 후 10분간 교반시키고 여과한 다음, 표고버섯 유청 음료로 제조하였다.

13. 관능 평가

표고버섯이 첨가된 유청 발효액 및 브랜딩한 유청 음료의 최적 formulation을 선별하기 위한관능검사를 실시하였다. 평가는 (재)임실치즈과학연구소 연구원을 10명을 대상으로 9점 척도 법을 사용하며, 「대단히 좋아함 9점, 아주 좋아함 8점, 보통 좋아함 7점, 약간 좋아함 6점, 좋지도 싫지도 않음 5점, 약간 싫어함 4점, 보통 싫어함 3점, 아주 싫어함 2점, 대단히 싫어함 1점」으로 검사하였다. 결과의 통계 처리는 SPSS program(19.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용한 Duncan's multiple range test(Duncan, 1995)로 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 표고버섯 유청 발효액 품질특성

표고버섯 (추출물)첨가량에 따른 유청 발효액의 발효 기간별 pH를 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 발효 시간에 따른 pH는 *Lactobacillus acidophilus* KCCM 40265 접종 후 3시간까지는 급격히 감소하였고, 이후에는 완만히 감소하는 경향을 보였으며, 발효 24시간 후의 pH는 3.72~3.78 수준이었다.

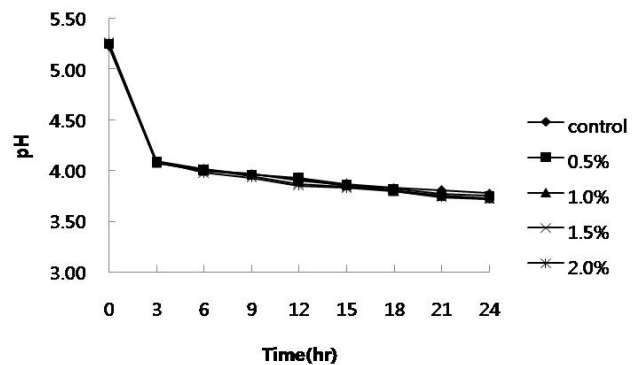


Fig. 2. Changes in pH of whey fermentation solution made by oak mushroom extract concentration during fermentation. ¹⁾ Control: Whey fermentation solution added with oak mushroom extract 0%, 0.5%: Whey fermentation solution added with oak mushroom extract 0.5%, 1.0%: Whey fermentation solution added with oak mushroom extract 1.0%, 1.5%: Whey fermentation solution added with oak mushroom extract 1.5%, 2.0%: Whey fermentation solution added with oak mushroom extract 2.0%

표고버섯 첨가량에 따른 pH 변화를 보면 버섯 첨가량이 증가할수록 약간 감소하는 경향을 보였으나, 시료구별 큰 유의적인 차이를 보이지 않았다. 표고버섯 첨가량에 따른 유청 발효액의 발효 기간별 산도를 측정된 결과는 Fig. 3과 같다. 발효 시간에 따른 산도는 유산균 접종 후 발효 3시간까지 급격히 증가하였고, 이후에도 지속적으로 증가하는 경향을 보였으며, 발효 21시간대 에서 증가하는 폭이 좀 더 높았다. 발효 24시간 후의 산도는 0.236~0.244% 수준이었고, 표고버섯 첨가량별 산도는 2.0% 첨가 시료구가 0.244%로

가장 높았으며, 대조구인 표고버섯 무첨가 시료구는 0.236% 가장 낮은 함량을 보였다. 표고버섯 첨가량이 증가할수록 산도가 높아지는 걸 확인하였다. 표고버섯 첨가량에 따른 유청 발효액의 발효 기간별 유산균수를 측정 한 결과는 Fig. 4와 같다. 먼저 표고버섯을 첨가한 유청의 유산균 발효를 진행한 결과, 전 시료구의 유산균수가 10^{11} 수준을 보여 발

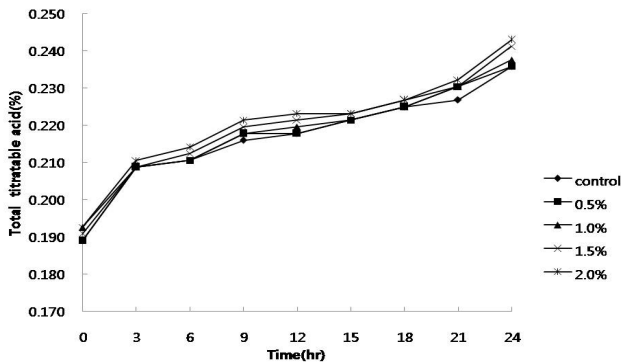


Fig. 3. Changes in total titratable acid contents of whey fermentation solution made by oak mushroom extract concentration during fermentation. Symbols are referred to Fig. 2.

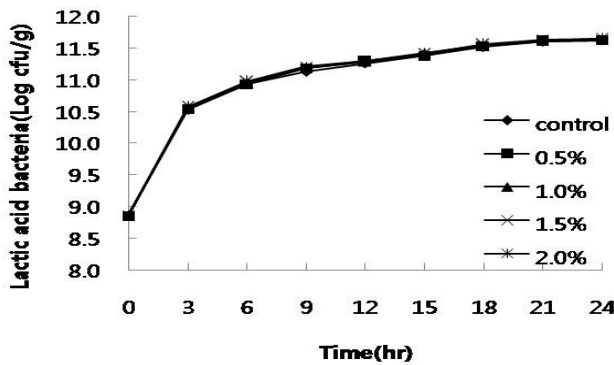


Fig. 4. Changes in lactic acid bacteria of whey fermentation solution made by oak mushroom extract concentration during fermentation. Symbols are referred to Fig. 2.

효가 잘 진행된 것을 확인할 수 있었고, 표고버섯 첨가량에 따른 유산균수는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 발효 시간별 유산균수를 보면 발효 0시간의 10^8 에서 발효 3시간째 10^{10} 으로 급격히 증가하였고, 이후에는 완만하게 증가하여 발효 24시간째의 유산균수는 10^{11} 의 값을 보였다. 일반적으로 유산균 음료로 알려진 발효유의 유산균수는 평균 $10^8 \sim 10^{10}$ 수준(Choi *et al.*, 2013)이나 본 실험의 유청 발효액 유산균수는 10^{11} 까지 확인되어 유산균 음료로의 가능성을 확인하였다.

2. 발효 전·후 성분 비교

표고버섯 첨가량에 따른 유청 발효액의 단백질 및 지방 함량을 측정 한 결과는 Table 2와 같다. 발효 전 유청과 발효 후 유청 발효액의 단백질 함량은 1.06%와 1.04%로 유의적인 차이를 보이지 않았다. 표고버섯 첨가량에 따른 단백질 함량은 첨가량이 증가할수록 단백질 함량이 증가하는 것으로 확인되어 표고버섯에 함유된 단백질이 포함된 것을 확인할 수 있었다. 발효 전 유청과 발효 후 유청 발효액의 지방 함량은 0.31%에서 0.63%로 발효 후 유청 발효액이 약 2배 정도 증가하였고, 표고버섯 첨가량이 증가할수록 약간씩 증가하는 경향을 보였다. 표고버섯 첨가량에 따른 유청 발효액의 유리당 함량을 분석한 결과는 Table 3과 같

Table 2. Comparison of protein and fat contents in whey fermentation solution according to the oak mushroom extract concentration (%)

Sample ¹⁾	Protein	Fat
Whey	1.06	0.31
Control ¹⁾	1.04	0.63
Fermentation whey		
0.5%	1.14	0.70
1.0%	1.36	0.71
1.5%	1.74	0.71
2.0%	2.20	0.74

¹⁾ Symbols are referred to Fig. 2.

Table 3. Comparison of free sugar contents in whey fermentation solution according to the oak mushroom extract concentration (%)

Free sugars	Whey	Fermentation whey				
		Control ¹⁾	0.5%	1.0%	1.5%	2.0%
Fructose	-	-	-	-	-	-
Glucose	0.07	0.06	0.03	0.06	0.07	0.05
Sucrose	-	-	-	-	-	-
Lactose	4.83	2.61	2.60	2.57	2.48	2.54
Total	4.90	2.67	2.63	2.63	2.55	2.59

¹⁾ Symbols are referred to Fig. 2.

다. 총 4개의 유리당을 분석한 결과, 주요 유리당은 lactose로 검출되었고, glucose는 소량 검출되었으며, fructose과 sucrose는 검출되지 않았다. 발효 전 유청과 발효 후 유청 발효액의 유리당은 lactose의 경우 발효 전 4.83%에서 발효 후 2.48~2.61%로 급격히 감소하였다. 이는 발효가 진행되면서 lactose가 분해된 것을 의미하며, 유청을 발효시켜 음료로 개발했을 경우, 동양인들에게 많이 나타나는 유당불내증(Yoon, 2009)에 효과가 있을 것으로 판단된다. Glucose의 경우, 발효 전과 발효 후의 함량이 큰 차이를 보이지 않았고, 표고버섯 첨가량에 따른 유리당 함량 또한 유의적인 차이를 보이지 않았다. 표고버섯 첨가량에 따른 유청 발효액의 유리아미노산 함량을 분석한 결과는 Table 4와 같다. 발효 전 유청과 발효 후 유청 발효액의 아미노산 함량을 보면 발효 전 유청은 196.7 mg%였고, 발효 후 유청 발효액의 경우 260.16~462.16 mg%로 함량이 증가하였다. 이는 유청 및 표고버섯에 함유된 단백질이 발효 과정을 거치면서 아미노산류로 분해되어 나타난 결과로 판단되며, 표고버섯 첨가량이 증가할수록 아미노산 또한 증가하는 경향을 보였다. 검출된 유리 아미노산류 중 아르기닌 함량이 가장 높

게 나타났고, 트립토판과 메티오닌은 검출되지 않았다. 시료구별 필수 아미노산 비율은 발효 전 유청의 경우 9.3%로 낮게 나타났고, 발효 후 유청 발효액의 경우 22.9~35.4%로 필수 아미노산이 차지하는 비율이 높게 나타났다. 아미노산 조성에서 20여 가지 아미노산 중 9가지의 필수아미노산은 인체에서는 합성이 불가능하며, 식품에서 필수적으로 섭취하여야 하는데(Kim, 2002), 본 연구의 표고버섯 유청 발효음료는 이러한 필수아미노산이 차지하는 비율이 높아 영양적 가치가 매우 클 것으로 판단된다.

3. 표고버섯 유청 발효액의 항산화 활성

표고버섯 첨가량에 따른 유청 발효액의 DPPH radical 소거 활성을 측정하여 시료 구별 항산화 활성을 확인한 결과는 Fig. 5와 같다. 발효 전·후 DPPH radical 소거 활성은 유산균 접종 후 즉시 측정한 값과 비교해 발효 24시간째 측정한 값이 모든 시료구에서 높게 나타났다. 이러한 결과는 유청을 이용한 단순 가공이 아닌 발효 과정을 통해 활성을 높여 보고자 하는 연구 목적에 부합된 내용이다. 표고 첨가량에 따른 DPPH radical 소거 활성은 표고 첨가량이 증가

Table 4. Comparison of free amino acid contents in whey fermentation solution according to the oak mushroom extract concentration (mg%)

Amino acid	Whey	Fermentation whey				
		Control ¹⁾	0.5%	1.0%	1.5%	2.0%
Asp	2.62	-	2.83	4.30	4.51	6.97
Ser	-	1.80	5.15	6.86	8.07	12.11
Glu	13.53	12.63	18.66	19.51	20.05	24.50
Gly	-	3.06	5.53	5.99	6.69	8.77
His	-	3.79	8.70	10.79	11.44	12.92
Arg	146.10	152.49	134.53	214.47	220.97	269.38
Thr	12.49	12.90	19.40	16.88	16.35	20.12
Ala	5.58	10.29	19.78	17.70	18.30	21.85
Pro	10.57	9.03	12.75	11.50	11.36	12.53
Tyr	-	-	-	-	-	-
Val	-	2.58	6.48	6.55	7.27	8.56
Met	-	-	-	-	-	-
Lys	-	3.79	8.03	6.87	7.38	5.71
Ilu	-	2.48	0.96	2.70	2.24	2.38
Leu	0.78	1.30	2.32	3.49	4.66	5.92
Phe	5.02	44.01	63.22	60.42	50.11	50.43
Total	196.70	260.16	308.35	388.04	389.39	462.16
Essential amino acid	18.29	70.85	109.10	107.71	99.45	106.05
Essential amino acid/Total(%)	9.3	27.2	35.4	27.8	25.5	22.9

¹⁾ Symbols are referred to Fig. 2.

할수록 약간 증가하는 경향을 보여, 이는 표고버섯에서 기인된 것으로 판단되며, 대조구로 사용된 비타민 C와 비교해 표고버섯 첨가 유청 발효액의 활성도가 비타민 C의 활성도에 50% 이상 값을 보여 항산화 활성이 높은걸 확인하였다. DPPH radical 소거 활성과 ABTS radical 소거 활성은 항산화 활성을 측정하는데 많이 이용되는 방법(Oh et al., 2014) 중 하나이다. 표고버섯 첨가량에 따른 유청 발효액의 ABTS radical 소거 활성을 측정한 결과(Fig. 6), 발효 전·후 ABTS radical 소거 활성은 DPPH radical 소거 활성 측정 결과와 마찬가지로 발효한 시료가 발효 전 시료에 비해 활성이 매우 높게 나타났다. 또한 시료구별 항산화 활성도 표고버섯 첨가량이 증가할수록 활성이 높게 나타났다. 본 연구의 DPPH radical 소거 활성과 ABTS radical 소거 활성 측정 결과로 볼 때, 유청 소재에 대한 유산균 발효 기술을 이용해서 항산화 활성을 높이고, 항산화 활성을 가진 표고버섯을 부원료 사용하였기 때문에, 본 연구에서 개발된 제품은 항산화 제품으로 적합하다고 판단된다. 표고버섯 첨가량에 따른 유청 발효액이 산화질소 생성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 산화질소 생성량을 측정한 결과는 Fig. 7과 같다. LPS를 단독 투여한 대조군은 13.07~13.38 uM으로 산화질소 생성량이 가장 높았고, 표고버섯이 첨가된 시료구의 경우, 첨가량이 증가할수록 산화질소 생성량이 낮아졌다. 발효 전·후 산화질소 생성량을 보면 발효 후의 산화질소 생성량이 발효 전의 산화질소 생성량에 비해 낮아지는 경향을 보여, 발효 효과가 있는 것으로 확인이 되었다.

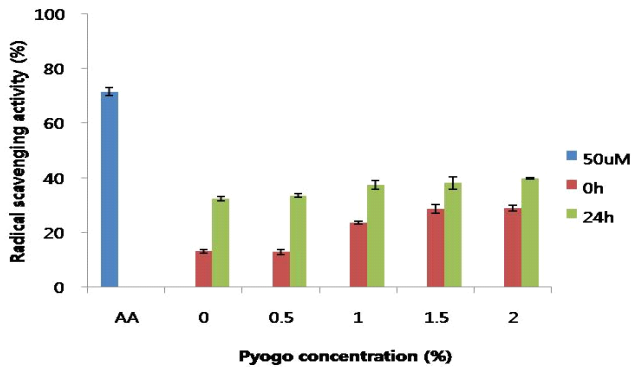


Fig. 5. Comparison of DPPH radical scavenging activity on whey fermentation solution according to the oak mushroom extract concentration. AA: ascorbic acid, 0: Whey fermentation solution added with oak mushroom extract 0%, 0.5: Whey fermentation solution added with oak mushroom extract 0.5%, 1: Whey fermentation solution added with oak mushroom extract 1.0%, 1.5: Whey fermentation solution added with oak mushroom extract 1.5%, 2: Whey fermentation solution added with oak mushroom extract 2.0%

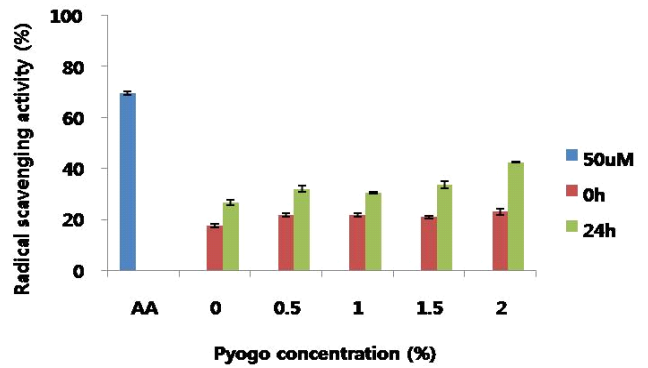


Fig. 6. Comparison of ABTS radical scavenging activity on whey fermentation solution according to the oak mushroom extract concentration. Symbols are referred to Fig. 5.

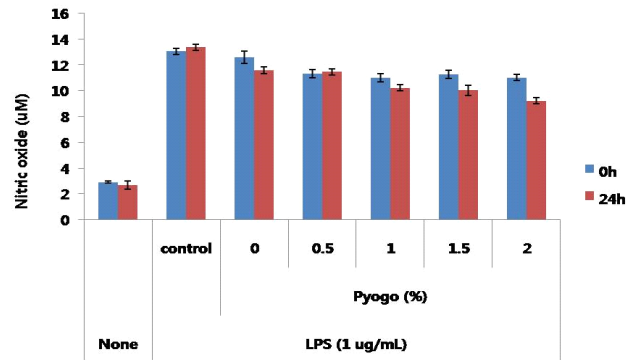


Fig. 7. Comparison of nitric oxide production on whey fermentation solution by LPS induced in RAW 264.7 cells. RAW 264.7 cells were treated with various concentrations of the whey fermentation solution for 2 h prior to the addition of LPS (1 µg/mL), and the cells were further incubated for 24 h. Data shown are the mean±SD. Symbols are referred to Fig. 5.

4. 관능평가

표고버섯 첨가량에 따른 유청 발효액의 관능평가를 실시한 결과는 Table 5와 같다. 향은 표고버섯 첨가량이 0.5%와 1.0%에서 4.6으로 가장 높은 기호도를 보였고, 색, 맛 및 종합기호도 항목에서는 1.0% 첨가구에서 4.7, 4.5 및 4.8로 가장 높은 기호도를 보였다. 표고버섯 첨가량이 1.5% 이상부터는 기호도가 낮아지는 경향을 보였는데, 이는 표고버섯의 특유의 맛이 강하게 느껴져 기호도가 오히려 떨어진 것으로 판단된다. 발효액의 종합적인 기호도를 보면 9점 평가법에서 5점 이하로 떨어져 발효액의 브랜딩이 필요할 것으로 판단되어, 다양한 첨가물을 이용해 품질 개선을 위한 브랜딩 실험을 실시하였다. 유청 발효액의 브랜딩을 통한 유청 음료의 관능평가를 실시한 결과는 Table 6과 같다. 유청

Table 5. Sensory evaluation of whey fermentation solution according to the oak mushroom extract concentration

Sample ¹⁾	Sensory evaluation			
	Flavor	Color	Taste	Overall preference
Control	4.5±0.26 ^{2) b3)}	4.4±0.22 ^{ab}	4.2±0.32 ^b	4.5±0.34 ^{ab}
0.5%	4.6±0.33 ^b	4.5±0.30 ^{ab}	4.3±0.36 ^{bc}	4.6±0.37 ^{ab}
1.0%	4.6±0.33 ^b	4.7±0.26 ^b	4.5±0.34 ^c	4.8±0.29 ^b
1.5%	4.1±0.37 ^a	4.3±0.42 ^a	4.0±0.44 ^b	4.5±0.26 ^{ab}
2.0%	4.0±0.33 ^a	4.4±0.16 ^{ab}	3.6±0.30 ^a	4.2±0.24 ^a

¹⁾ Symbols are referred to Fig. 2.

²⁾ All values are mean±SD.

³⁾ Means with different superscript within a column are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test. a<b

Table 6. Sensory evaluation of whey drink made by different oak mushroom flavor concentrations

Sample ¹⁾	Sensory evaluation			
	Flavor	Color	Taste	Overall preference
Control	7.7±0.33 ^{2) b3)}	8.0±0.29	7.9±0.34 ^{ab}	7.9±0.17
PUD-1	7.8±0.32 ^b	7.9±0.27	8.0±0.29 ^{ab}	7.9±0.37
PUD-2	7.8±0.32 ^b	8.1±0.31	8.2±0.20 ^b	8.0±0.59
PUD-3	7.5±0.26 ^{ab}	8.0±0.21	7.4±0.30 ^{ab}	7.5±0.34
PUD-3	6.6±0.33 ^a	8.0±0.25	6.9±0.65 ^a	6.9±0.37

¹⁾ Symbols are referred to Table 1.

²⁾ All values are mean±SD(n=3).

³⁾ Means with different superscript within a column are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test. a<b

발효액의 기호도와 브랜딩 후 유청 음료의 기호도 평가 결과를 보면 유청 발효액의 경우, 9점 평가법에서 5점 이하로 낮은 기호도를 보였으나, 브랜딩 후 유청 음료는 7~8점 정도의 기호도를 보여 음료로써의 기호도 값을 확보하였다. 표고버섯향 첨가량에 따른 기호도를 보면 0.01% 첨가 시료구에서 모든 항목의 기호도가 높게 나타났다. 종합적인 기호도를 보면 표고버섯향 0.01% 첨가 시료구가 8.0으로 가장 높은 기호도를 보였고, 향을 첨가하지 않은 시료구와 0.005% 첨가 시료구가 7.9로 다음으로 높게 나타났다. 0.03% 이상 첨가구에서는 첨가량이 증가할수록 기호도가 떨어지는 경향을 보였다. 이상의 결과로 볼 때 표고버섯향 첨가량은 0.01%가 적당할 것으로 판단된다.

요 약

다양한 가능성을 갖는 유청과 표고버섯을 혼합한 기능성 음료를 개발해 유청의 활용 범위를 높이고자, 유청과 표고버섯을 혼합하여 유산균 발효를 시킨 다음, 발효 전·후 성분 비교, 항산화 활성 평가 및 관능검사 등을 실시한 결과는 다음과 같다. 표고버섯 첨가량에 따른 pH 변화는 버섯

첨가량이 증가할수록 약간 감소하는 경향을 보였으나, 시료구별 큰 유의적인 차이를 보이지 않았다. 산도는 표고버섯 첨가량이 증가할수록 높아지는 걸 확인하였다. 표고버섯 첨가 유청 발효액의 유산균수는 10^{11} 까지 확인되어 유산균 음료로의 가능성을 확인하였다. 발효 전 유청과 발효 후 유청 발효액의 단백질 함량은 유의적인 차이를 보이지 않았고, 지방 함량은 0.31%에서 0.63%로 발효 후 유청 발효액이 약 2배 정도 증가하였다. 유리당은 lactose의 경우, 발효 전 4.83%에서 발효 후 2.48~2.61%로 급격히 감소하였다. 유리아미노산 함량은 발효 전 유청은 196.7 mg%였고, 발효 후 유청 발효액의 경우 260.16~462.16 mg%로 함량이 증가하였다. 발효 전·후 DPPH radical 소거 활성은 유산균 접종 후 즉시 측정된 값과 비교해, 발효 24시간째 측정된 값이 모든 시료구에서 높게 나타났다. ABTS radical 소거 활성은 DPPH radical 소거 활성 측정 결과와 마찬가지로 발효한 시료가 발효 전 시료에 비해 활성이 매우 높게 나타났다. 발효 전·후 산화질소 생성량은 발효 후의 산화질소 생성량이 발효 전의 산화질소 생성량에 비해 낮아지는 경향을 보였다. 유청 발효액의 관능평가 결과는 색, 맛 및 종합기호도 항목에서는 1.0% 첨가구에서 4.7, 4.5 및 4.8

로 가장 높은 기호도를 보였다. 유청 발효액의 브랜딩을 통한 유청 음료의 관능평가 결과, 브랜딩 후 유청 음료는 7~8 점 정도의 기호도를 보여 음료로서의 기호도 값을 확보하였다. 표고버섯향 첨가량에 따른 기호도를 보면 0.01% 첨가 시료구에서 모든 항목의 기호도가 높게 나타났다.

감사의 글

본 연구는 산업통상자원부 지역특화산업 융복합연구지원사업(R0002042)의 일환으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. AOAC. 1990. Official methods of analysis. 15th. ed., Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.
2. Bobek, P., Odzin, L. and Kuniak, L. 1997. Effect of oyster mushroom and isolated β -glucan on lipid peroxidation and on the activities of antioxidative enzymes in rats fed the cholesterol diet. *Nutr. Biochem.* 8:469-471.
3. Bounous, G. 2000. Whey protein concentrate (WPC) and glutathione modulation in cancer treatment. *Anticancer Research* 20:4785-4792.
4. Chihara, G. 1985. Immune modulation agents and their mechanisms (Lentinan, a T-cell oriented immunopotentiator). NY and Basel. 19:409-436.
5. Chmile, J. F. 1997. Anti-tumor effects of dietary whey protein and its value for head and neck cancer patients. Presentation at International Whey Conference. Chicago, IL. USA.
6. Choi, Y. J., Yang, H. S., Huh, C. K., Oh, H. H., Park, J. H., Kim, M. K., Jin, S. W., Seo, K. S. and Jung, H. K. 2013. Quality characteristics and antioxidant activity of fermented milk containing mushroom extracts. *Korean J. Dairy Sci. Technol.* 31:187-194.
7. Duncan, D. B. 1995. Multiple range and multiple F test. *Biometrics*, 11.
8. Gallardo-Escamilla, F. J., Kelly, A. L. and Delahunty, C. M. 2005. Sensory characteristics and related volatile flavor compound profiles of different types of whey. *Dairy Sci.* 88:2689-2699.
9. Hujanen, M. and Linko, Y. Y. 1996. Effect of temperature and various nitrogen sources on L-lactic acid production by *Lactobacillus casei*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 45:307-313.
10. Kim, C. H. 2002. Effect of essential amino acid deficient diets in feeding response and c-fos expression in rats brain in response to methionine deficiency. *Korean J. Anim. Sci. Technol.* 44:727-738.
11. Kim, M. W., Park, M. H. and Kim, G. H. 1997. Effects of mushroom protein-bound polysaccharides on blood levels and energy metabolism in streptozotocin induced diabetic rats. *Kor. J. Nutr.* 30:743-750.
12. Kosikowsky, F. V. 1979. Whey utilization and whey products. *J. Food Sci.* 62:1149-1153.
13. Lagrange, V. 1998. International markets for milk powders. First Annual Concentrated and Dried Milk and Whey Products Symposium. March 30-31, San Francisco, CA.
14. Lee, J. Y. 1991. Mycology, mushroom cultivation. Seoul, Korea: Deakwang Co.. pp 259.
15. Oh, Y. N., Jin, S. J., Park, H. J., Kwon, H. J. and Kim, B. W. 2014. Anti-oxidative and anti-cancer activities by cell cycle regulation of *Salsola collina* extract. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* 42:73-81.
16. Park, H. M., Hong, Y. H. and Oh, S. H. 1988. Studies on the development of whey drinks. *Korean J. Dairy Sci.* 10:92-100.
17. Sung, J. M., Yoo, Y. B., Cha, D. Y. 1998. Mushroom. Seoul, Korea: Kyohak Co. pp 64.
18. Wilson, A. M., Work, T. M., Bushway, A. A. and Bushway, R. J. 1981. HPLC determination of fructose, glucose and sucrose in potatoes. *J. Food Sci.* 46:300.
19. Yang, H. S., Oh, H. H., Choi, H. Y., Park, J. H., Kim, K. H., Oh, J. H. and Jung, H. K. 2012. Immunological activity of bovine colostrum whey protein containing TGF- β from Imsil province. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* 32:339-345.
20. Yoon, S. S. 2009. Distribution, lactose malabsorption and alleviation strategies of lactose intolerance. *Korean J. Dairy Sci. Technol.* 27:55-62.
21. Yoon, Y. C., An, S. I., Jeong, A. R., Han, S. I., Kim, M. H. and Lee, C. K. 2010. Characteristics of whey protein (WPC-30) hydrolysate from cheese whey. *J. Animal Sci. Technol.* 52:435-440.
22. Yun, M. S. 2004. New practical bread and cake. Seoul, Korea: Jigumunhwasa, pp 41.