

## 인진쑥을 기질로 한 노루궁뎅이버섯 균사체 배양물과 흑마늘을 이용한 기능성 혼합음료 개발

정현 · 김연숙\* · 박표잠\* · 최웅규 · 정재현 · 이웅수 · \*최원석

한국교통대학교 식품공학과, \*건국대학교 생명공학과

### Development of Functional Mixed Drink using Extract of *Hericium erinacium* Cultivated with *Artemisia capillaris* and Black Garlic

Heon Jeong, Yon-Suk Kim\*, Pyo-Jam Park\*, Ung-Kyu Choi, Jae-Hyun Jeong,  
Ung-Soo Lee and \*Won-Seok Choi

Dept. of Food Science & Technology, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 368-701, Korea

\*Dept. of Biotechnology, Konkuk University, Chungbuk 380-701, Korea

#### Abstract

In this study, we examined the hepatocyte toxicity and protective effects of an extract of *Hericium erinacium* cultivated with *Artemisia capillaris* (HEAC), and also examined the hepatocyte protective and antioxidative effects of a mixture of the HEAC and black garlic. At a concentrations of more than 0.05 mg/mL, the HEAC extract significantly reduced cell viability. The extract of HEAC treated with the same ratio of water and ethanol at 80°C showed the highest hepatocyte protective effect. No significant difference in the hepatocyte protective effect was observed between the mixtures of HEAC with and without black garlic. In addition, higher antioxidative activity was shown with the addition of less black garlic. As a result of the sensory evaluation, a significant difference of sweetness was observed with varying liquid fructose concentration, but there were no significant differences in bitterness, flavor, thickness and overall acceptability according to the liquid fructose concentration.

Key words: *Hericium erinacium* cultivated with *Artemisia capillaris* (HEAC), black garlic, hepatocyte protective effect, antioxidative effect

#### 서 론

노루궁뎅이버섯(*Hericium erinaceus*)은 오래 전부터 식용 및 약용으로 이용되어 왔으며, 활엽수의 고목에서 발생하는 버섯으로 중국은 후두버섯, 일본에서는 Yamabushitake로 불려지고 있다(Ahn 1992). 노루궁뎅이버섯의 알려진 성분으로는 9,10-dihydroxy-8-oxo-12-octadecenic acid와 chitin, hetero-xyloglucan, galactoxyloglucan, glucoxy-lanprotein, glucoxylan, xylan 등의 다당체, hericenones A, B, C, D, E, F, G, H 등이

존재하며, 이들 성분들에 의해 항암, HeLa 세포 증식 억제, 항염, 항균 및 면역기능이 증가되며, 만성위염, 신체허약 등의 약리작용이 나타나는 것으로 알려져 있다(Kawagishi 등 1990, Ahn 1992, Kawagishi 등 1994, Sakamoto 등 1996, Wang 등 2004).

인진쑥(*Artemisia capillaris*)은 국화과(Compositae) 쑥 속에 속하며, 우리나라를 비롯하여 동남아시아 및 유럽 등에 널리 분포하고, 번식력이 강한 다년생 본초이다(Lee 등 2002). 세계에 약 400여종과 한국에 약 300여종의 품종이 자생하며, 참

\* Corresponding author: Won-Seok Choi, Dept. of Food Science & Technology, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 368-701, Korea. Tel: +82-43-820-5249, Fax: +82-43-820-5240, E-mail: choiws@ut.ac.kr

쑥, 개똥쑥, 쓴쑥, 사자발쑥 등 다양한 품종 중에서 인진쑥과 약쑥이 가장 많이 식품으로 이용되고 있다(Choi 등 2005). 한 방에서 인진쑥은 변비, 천식, 소염, 진통, 이뇨, 혈압 강하, 신경통, 급·만성간염, 황달, 지방간 및 간 보호 효과, 항균 작용, 당 대사 개선 효과, 항암 효과, 담즙 분비 효과, 지질과산화 억제 효과 등이 있는 것으로 알려져 있다(Kim 등 1992, Lee 등 1992).

발효는 효소작용을 이용하여, 식품 내 성분을 분해 또는 변화시켜 특유의 최종산물을 만들어내는 가공기술이다. 식이 섬유와 같이 인체 내의 소화효소로는 분해되지 않는 고분자 화합물을 버섯류(mushroom)의 균사체(mycelium) 등을 이용, 발효시킨 후, 발효물의 생리활성에 대해 연구하는 시도가 꾸준히 진행되고 있다(Chang 1999, Wasser 2002, Yang 등 2003, Sanchez 2004).

우리나라 식생활에 있어 필수불가결한 조미료로서, 국민 1인당 일년에 약 7~9 kg을 소비하는 마늘은 산화스트레스를 중화시키는 대표적인 항산화제로, ROS(reactive oxygen species)를 제거하고, 지질과산화물 형성과 LDL 산화를 억제하며, 항산화 체계를 증강시키고, 여러 종류의 암 예방과 치료 등에 효능이 있다고 알려지면서 많은 연구가 진행되고 있다(Imai 등 1994, Kim 등 2006, Kang 등 2008, Lee 등 2012, Kang 등 2013). 한편, 마늘은 기능성은 좋으나, 특유의 거북스런 냄새 때문에 즐겨먹지 못하였으나, 최근 들어 이러한 냄새를 억제하고, 마늘의 화학적 성분은 살린 흑마늘이 인기에 판매되고 있다. 흑마늘은 생마늘을 높은 온도와 습도에서 장시간 숙성시켜, 생마늘 특유의 거북한 냄새를 억제하고, 먹기 좋은 새콤달콤한 맛을 내게 한 제품이다. 흑마늘은 겉은 통마늘과 같은 모양을 유지하고 있으나, 속이 검다고 하여 붙여진 이름이다. 흑마늘은 오랜 숙성기간을 거치면서 마늘의 당 성분과 아미노산이 비효소적 갈변반응을 일으켜 melanoidin이 생성되는 Maillard 반응이며, 휘발성 물질은 거의 소실되며, 총 폴리페놀, 플라보노이드 함량이 증가하고, 수용성 성분인 S-allylcysteine(SAC), S-allyl melcaptocystein(SAMC) 등이 생성되어 다른 기능성을 갖는다. 흑마늘의 대표적인 수용성 유효화합물인 SAC는 항산화, 암세포 증식 억제, 간 보호 등의 기능성이 보고되었다(Nakagawa 등 1985, 1989). 생마늘이나 흑마늘 분말은 고콜레스테롤 흰쥐에 급식되었을 때, 혈액 및 간 조직의 지질 개선, 체내 항산화 활성 증가에 효과적이라고 보고된 바 있다(Kang 등 2008).

본 연구에서는 경제수준의 향상으로 건강에 대한 관심이 증가하면서, 다양한 기능성을 지닌 기호식품을 통해 신체를 방어하며, 건강한 삶을 영위하려는 욕구가 높아짐에 따라, 약용식물인 인진쑥과 노루궁뎅이버섯 균사체를 이용한 발효배양물 및 간 보호 효과를 지닌 것으로 알려진 흑마늘을 혼합하

였을 경우, 이들 혼합물의 항산화 작용 및 간보호 효과 등에 관한 상승작용 등을 확인하고자 하였으며, 이들 결과를 바탕으로 새로운 기능성 음료의 개발 가능성을 제시하는데 목적을 두었다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

#### 1) 사용균주 및 재료

실험에 사용한 균주는 노루궁뎅이버섯(*Hericium erinaceus*)으로, 농촌진흥청 국립농업과학원(경기도, 수원)에서 분양받아 한국교통대학교 식품공학과 기능성식품개발실험실에서 보존하고 있는 균주를 사용했으며, 균주는 PDA(potato dextrose agar) 평판배지에서 25℃로 10일간 4주마다 계대 배양하여 실험에 사용하였다. 인진쑥은 2013년에 충북 괴산 연풍에서 구입하여 사용하였다.

#### 2) 균사체 배양

균사체는 앞서 설명한 방법으로 계대 배양한 노루궁뎅이버섯 종균을 멸균되어 있는 인진쑥 배지에 5%로 접종하여 25℃에서 40일 내지 50일간 배양하였다(Choi 등 2008).

#### 3) 인진쑥기질 노루궁뎅이버섯 배양 추출물(이하 “배양 추출물”로 표기) 제조

배양된 균사체 배양물은 -80℃로 유지되는 deep freezer(DF8524, Ilshin Lab Co. Ltd, 경기도, 대한민국)에 보관하면서 사용하였으며, 추출은 배양물 100 g에 추출용매(증류수, 에탄올)와 추출조건(온도)을 달리하여 10배수(1 L)로 12시간 추출하여 Whatman No. 2 여과지를 사용하여 여과하였다. 추출물

Table 1. Extraction conditions of *Hericium erinaceum* cultivated with *Artemisia capillaris* (HEAC)

Condition	Water:Ethanol(%)	Extraction temperature(℃)
1	75:25	70
2	75:25	80
3	75:25	90
4	50:50	70
5	50:50	80
6	50:50	90
7	100:0	70
8	100:0	80
9	100:0	90

을 60℃에서 rotary evaporator(N-1000S, EYELA, Tokyo, Japan)를 사용 감압농축하여 용매를 제거한 후, 모든 시료는 350 mL로 농축하여 동일 농도로 하였으며, 보관 중 성분 변화를 막기 위하여 동결건조시켜 보관하면서 실험에 사용하였다(Table 1).

#### 4) 흑마늘 추출물 제조 및 혼합

흑마늘은 부일농산(충남 공주시)에서 구입하여 흑마늘 100 g에 증류수 300 mL를 넣어 75℃에서 7시간 동안 추출하였으며, 추출한 다음 100 micro filter를 이용하여 여과 후 감압농축하였다. 인진쑈기질 노루궁뎅이버섯 배양 추출물(배양 추출물)과 혼합농도를 동일하게 하기 위해 배양 추출물 농도인 2 Brix로 흑마늘 추출물을 희석하여 혼합(배양 추출물:흑마늘 추출물 = 7:3, 8:2, 9:1)한 후, 동결건조시켜 보관하면서 실험에 사용하였다.

#### 5) 세포 배양

정상 간세포(human liver cells, Chang)를 불활성화한 fetal bovine serum(FBS) 10%와 1.0% penicillin-streptomycin이 첨가된 Dulbecco's modified eagle medium(DMEM) 배지에서 37℃ 및 5% CO<sub>2</sub> 조건하에서 배양하였다.

#### 6) 시약

Folin-Ciocalteu's reagent, ferrous chloride(FeCl<sub>2</sub>), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS), potassium persulfate, 2,4,6-tripyrindyl-S-triazine(TPTZ), linoleic acid는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였으며, 그 외에 사용된 시약은 특급 및 일급을 구입하여 사용하였다.

### 2. 실험방법

#### 1) 세포독성 측정 및 t-BHP에 의한 세포의 손상으로부터 간세포 보호 효과 측정

세포의 생존율은 3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide(MTT) 환원 방법을 이용, 측정하였다(Je 등 2009, Kim 등 2011). 즉, Chang 세포를  $7 \times 10^4$  cells/mL 농도로, 96-well plates에 200  $\mu$ L씩 분주한 다음, 24시간 배양 후, 각 배양 추출물 시료를 농도가 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5 mg/mL가 되도록 세포에 처리하여 다시 24시간 동안 배양하였다. 이후 MTT 용액(5.0 mg/mL)을 가하고, 37℃에서 4시간 배양하여 MTT를 환원시킨 다음, 생성된 formazan이 배지에 떨어져 나가지 않도록 배지를 제거하였다. Dimethyl sulfoxide(DMSO)를 200  $\mu$ L 분주하여 20분 동안 혼합한 후, 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 더불어 t-BHP에 의한 산화적 손상

에 대한 배양 추출물 및 흑마늘 혼합액의 세포 보호 효과를 관찰하기 위하여 Chang 세포를 48-well plates에  $7 \times 10^4$  cells/mL 농도로 1.0 mL씩 분주한 뒤 24시간 동안 배양한 다음, 각 시료를 농도 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1 mg/mL가 되도록 세포에 한 시간 전에 처리한 후 t-BHP(최종 농도 90  $\mu$ M)를 첨가하고 다시 24시간 배양하였다. 이후 MTT assay로 세포의 생존율을 측정하였다.

#### 2) Electron spin resonance(ESR)을 이용한 DPPH radical 소거능 측정

DPPH radical 소거능 측정은 Lee 등(2009)의 방법에 따라 메탄올에 용해시킨 60  $\mu$ M DPPH 60  $\mu$ L를, 앞서 언급한 농축된 배양 추출물과 흑마늘 시료를 혼합한 혼합액 시료(7:3, 8:2, 9:1)에 각각 60  $\mu$ L와 섞은 후, 10초간 강하게 교반한 다음, 2분간 실온에서 방치한 후 capillary tube에 옮겨 ESR spectrometer(Jeol Co. Ltd., Tokyo, Japan)에서 측정하였다. 측정 조건은 central field: 3475 G, modulation frequency: 100 kHz, modulation amplitude: 2 G, microwave power: 5 mW, gain:  $6.3 \times 10^5$ , temperature: 298K였다.

#### 3) ESR을 이용한 alkyl radical 소거능 측정

10  $\mu$ L의 농도별 혼합액 시료에 10  $\mu$ L의 PBS, 10  $\mu$ L의 40 mM AAPH와 10  $\mu$ L의 40 mM 4-POBN을 차례로 첨가한 후, 10초 간 강하게 교반한 다음, 37℃ 항온 수조에서 30분간 반응시키고, 이를 capillary tube로 옮겨 alkyl radical 발생량을 ESR spectrometer로 측정하였다. 측정 조건은 central field: 3475 G, modulation frequency: 100 kHz, modulation amplitude: 2 G, microwave power: 10 mW, gain:  $6.3 \times 10^5$ , temperature: 298 K였다(Kim 등 2011).

#### 4) ABTS radical을 이용한 총 항산화력 측정

ABTS radical을 이용한 항산화능의 측정은 Park & Kim (2009)의 방법에 의해, 7 mM ABTS 용액에 potassium persulfate를 2.4 mM이 되도록 용해시킨 후, 암실에서 12~16시간 동안 반응시킨 다음, 414 nm에서 흡광도값이 1.0 이하가 되도록 증류수로 희석 후, 이 용액 3.0 mL와 혼합액 시료 1.0 mL를 가하여 실온에서 10분간 반응시킨 다음, 414 nm에서 spectrophotometer(DU 650, Beckman, Indianapolis, USA)로 흡광도를 측정하였다.

#### 5) Ferric reducing antioxidant power(FRAP)을 이용한 총 항산화력 측정

FRAP 측정은 Benzie & Strain(1999)의 방법에 따라, 300 mM acetate buffer(pH 3.6)와 40 mM HCl에 용해된 10 mM

TPTZ와 20 mM FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O를 각각 10:1:1(v/v/v)의 비율로 혼합해 FRAP 시약을 제조한 다음, 고형분 함유량이 1~5 mg 되도록 희석한 혼합액 시료 0.15 mL와 3.0 mL의 FRAP 시약을 혼합하여 37°C, 5분간 반응시킨 후, spectrophotometer로 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O를 표준물질로 사용하였으며, mM FeSO<sub>4</sub> eq./mg extract으로 표시하였다.

## 6) 관능평가

관능검사는 훈련을 받은 한국교통대학교 식품공학과 학생 총 22명(남 7명, 여 15명)을 대상으로 실시하였다. 시료에는 발효인진숙 추출액(1.9 Brix) 15%에 액상과당(과당55, 삼양제넥스(주), 대한민국) 10, 15, 20%를 첨가하였다. 단맛, 쓴맛과 향(flavor), 농도, 전반적인 기호도(overall acceptability)를 5단계 평점법으로 “1. 매우 좋다~5. 매우 좋지 않다”로 평가하였다.

## 7) 통계분석

모든 실험은 3반복 이상 실시한 후, 평균값을 구하여 표시하였으며, 통계적 유의성은 SPSS(18.0 ver.) 통계프로그램을 사용하여 분산분석하였으며, 시료간 차이는 Duncan's multiple range test를 사용하여 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 인진숙기질 노루궁뎅이버섯 균사체 배양 추출물의 세포 생존율

정상 간세포(human liver, Chang cell)에 대한 인진숙기질 노루궁뎅이버섯 균사체 배양 추출물(배양 추출물)의 세포독성을 알아보기 위해, 실험방법에서 언급하였듯이 0.0125~0.5 mg/mL 농도 범위에서 MTT assay를 수행하였으며, 실험결과 0.05 mg/mL 농도 이상에서는 유의적으로 세포생존율이 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 1~3). 따라서 배양 추출물의 간세포 보호 효과를 알아보기 위한 실험에서는 추출물의 농도를 0.0125, 0.025 mg/mL로 제한하여 실험을 진행하였다.

### 2. 간세포 보호 효과

먼저 배양물 추출물을 물로 추출한 물 추출물을 한 시간 동안 처리한 후, 90 µM t-BHP를 처리했을 때, 간세포 생존율은 65% 미만으로, 물 추출물의 경우 간세포 보호 효과가 없었으며, 에탄올 추출물의 경우 물:에탄올=50:50(%), 80°C 추출조건에서 90 µM t-BHP 처리구 대비 약 10% 정도 세포생존율이 증가하여 실험범위 내 가장 높은 간세포 보호 효과가 확인되었다. 한편, 80°C에서 50% 에탄올로 추출한 배양 추출물의 간세포 보호 효과는 대표적 간세포 보호제인 silymarin 보다는 유의적으로 낮았으며( $p<0.05$ ), 추출물의 농도(0.0125,

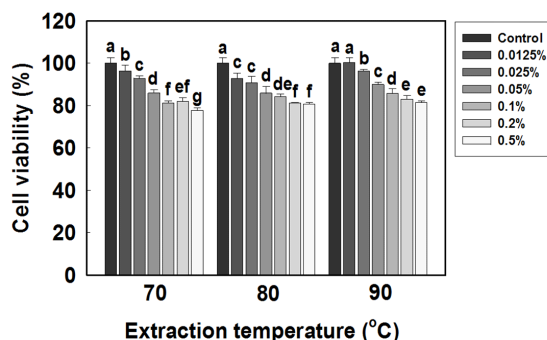


Fig. 1. Effect of 25% ethanol HEAC extracts on cytotoxicity in Chang cells. <sup>a-g</sup> Means not sharing a common letter are significantly different ( $p<0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

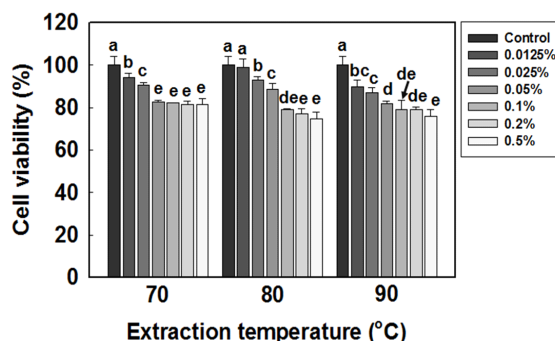


Fig. 2. Effect of 50% ethanol HEAC extracts on cytotoxicity in Chang cells. <sup>a-c</sup> Means not sharing a common letter are significantly different ( $p<0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

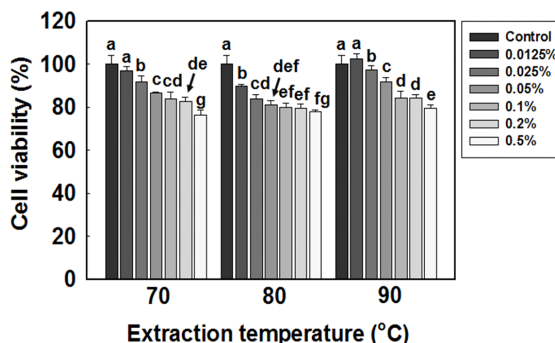


Fig. 3. Effect of water HEAC extracts on cytotoxicity in Chang cells. <sup>a-g</sup> Means not sharing a common letter are significantly different ( $p<0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

0.025 mg/mL)에 의한 유의적 차이는 나타나지 않았다(Fig. 4~6).

Choi 등(2008)은 인진숙 배지에서 배양한 노루궁뎅이버섯 균사체 추출물의 알콜대사 촉진활성을 조사한 결과, 배양 추출물이 노루궁뎅이버섯 추출물보다 체내 알콜농도 감소시간

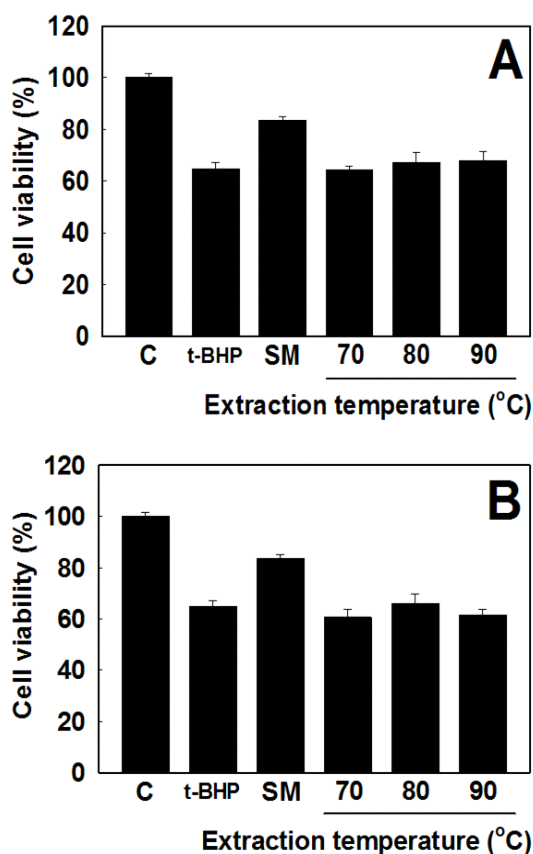


Fig. 4. Protective effect of HEAC extracts on *t*-BHP induced oxidative damage in Chang cells. A: 0.0125 mg/mL, B: 0.025 mg/mL (SM: silymarin, 70, 80, 90°C: extraction temperature of 25% ethanol extracts)

및 알콜탈수소효소 활성 등의 측면에서 알콜 분해 촉진 작용이 높았다고 보고하여, 배양 추출물은 알콜 분해 촉진 작용 및 간세포 보호 작용이 있는 것으로 나타났다.

앞선 실험결과를 토대로 간세포 보호 효과가 가장 높이 나타난 조건에서 추출한 배양 추출물과 역시 간보호 기능이 있는 것으로 알려진 흑마늘 추출물을 7:3, 8:2, 9:1로 혼합하여, 이들 혼합물의 간세포 보호 효과를 동일한 실험 방법으로 실시하였다. 실험결과, 혼합물은 본 실험범위 내에서는 배양 추출물 단독처리 경우(10:0)와 비교하여 간세포 생존율을 증가시키지 못하였으며, 따라서 흑마늘 추출물에 의한 상승 효과는 나타나지 않았다(Fig. 7). 즉, 정상 간세포인 Chang 세포의 *t*-BHP로 유도된 세포 손상에 대해, 배양 추출물이 보호 효과가 있음이 확인되었지만, 흑마늘 추출물을 낮은 농도로 배양 추출물과 혼합할 경우, *t*-BHP로 유도된 간세포 손상을 보호하는 상승효과는 나타나지 않아, 흑마늘의 경우 농도에 따라 간세포 보호 효과가 달리 나타나는 것으로 추정된다.

Noh 등(2011)과 Lee 등(2013)은 식이로 제공된 흑마늘 추

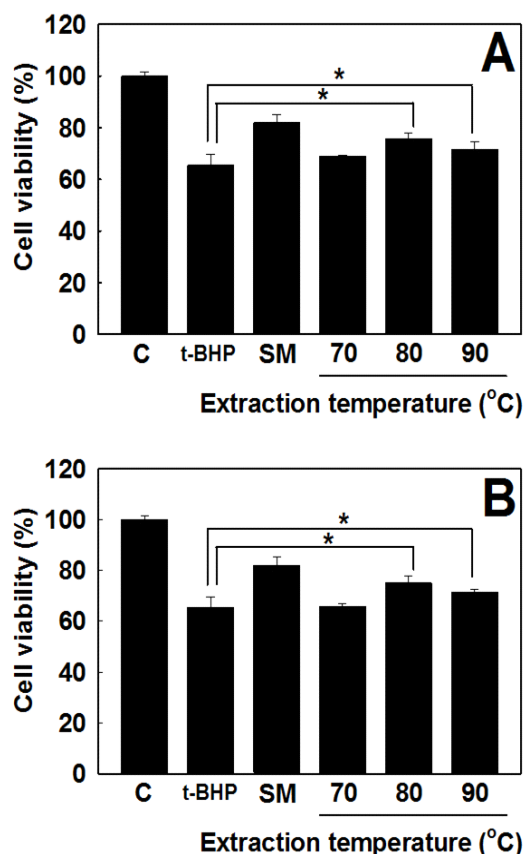


Fig. 5. Protective effect of HEAC extracts on *t*-BHP induced oxidative damage in Chang cells. \* $p < 0.05$  is significantly different as analyzed by *t*-test that compared the *t*-BHP group with sample group. A: 0.0125 mg/mL, B: 0.025 mg/mL (SM: silymarin, 70, 80, 90°C: extraction temperature of 50% ethanol extracts)

출물이 쥐의 간 조직내 총 콜레스테롤 및 중성지방 함량을 낮추었으며, 간 조직내 항산화 효소 활성을 증가시켜 산화적 스트레스와 지질과산화물 함량의 증가를 억제함으로써 간조직 손상을 경감하였다고 보고하였으며, 특히 Noh 등(2011)은 투여된 흑마늘의 농도차에 의해 간조직의 손상을 감소시키는 작용이 차이가 있음을 보고하여, 본 실험결과와 유사한 결과를 보여주었다.

### 3. 인진쑈기질 노루궁뎅이버섯 균사체 추출물과 흑마늘 추출물 혼합액의 항산화력 측정

#### 1) ESR을 이용한 radical 제거 활성 측정

ESR(Electron Spin Resonance) spectroscopy를 이용한 항산화 활성 측정방법은 색소에 의한 오차를 줄일 수 있는 정밀도 높은 측정방법으로써, 방사선 조사 등으로 분자결합을 붕괴

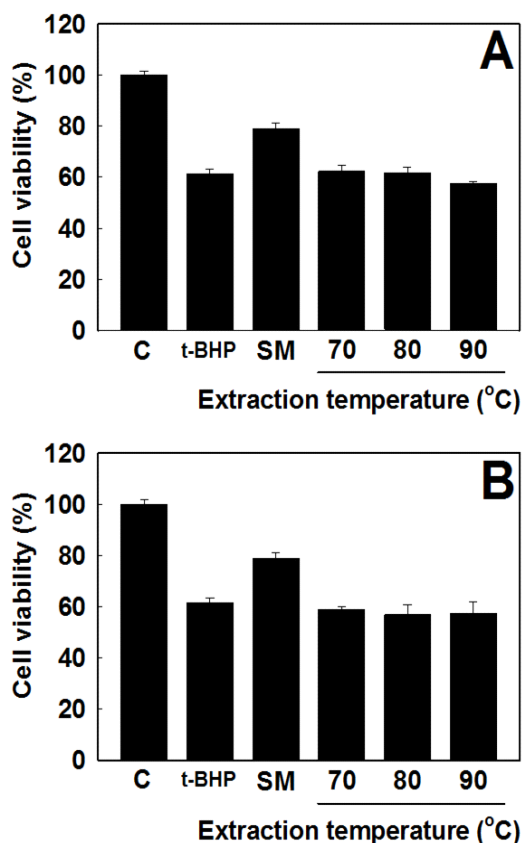


Fig. 6. Protective effect of HEAC extracts on *t*-BHP induced oxidative damage in Chang cells. A: 0.0125 mg/mL, B: 0.025 mg/mL (SM: silymarin, 70, 80, 90°C: extraction temperature of water extracts)

시켜 방출된 free radical이나 이온들을 분광학적으로 측정하며, 시료 준비가 간편하고 신속하며, 시료에 손상을 주지 않는 검지기술로 알려져 있다(Janzen 등 1987, Kadiiska & Masom 2002). DPPH는 비교적 안정한 free radical로서 다양한 천연물로부터 항산화 물질을 검색하는데 많이 이용되고 있다.

배양 추출물과 흑마늘 추출물 혼합액(7:3, 8:2, 9:1)의 경우, DPPH radical 제거 활성은 배양 추출물의 비율이 높을수록 증가하였는데, 배양 추출물과 흑마늘 추출물 7:3, 8:2, 9:1의 비율에서 각각 75.18%, 81.13%, 85.62%의 DPPH radical 제거 활성을 나타내었다. IC<sub>50</sub> 값 또한 혼합비율(7:3, 8:2, 9:1)별로 각각 0.060 mg/mL, 0.049 mg/mL, 0.041 mg/mL로 나타나, 배양 추출물과 흑마늘 추출물 혼합액의 경우 배양 추출물의 비율이 높을수록 DPPH radical 제거능이 높게 나타남을 보여 주었다(Table 2). 배양 추출물과 흑마늘 추출물 혼합액의 alkyl radical 제거능 또한 DPPH radical 제거활성 실험결과와 유사한 경향을 보여주었다(Table 2).

ESR을 이용한 배양 추출물과 흑마늘 추출물 혼합액의 radical

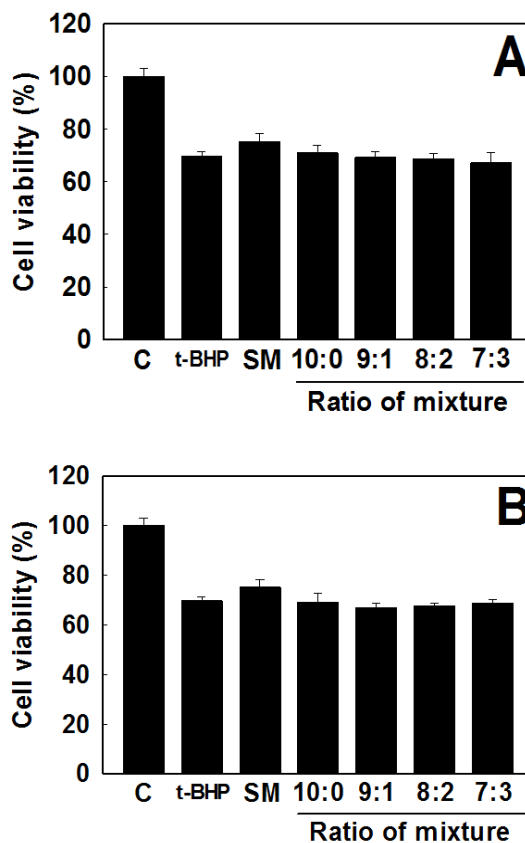


Fig. 7. Protective effect of HEAC and black garlic mixture on *t*-BHP induced oxidative damage in Chang cells. A: 0.0125 mg/mL, B: 0.025 mg/mL (SM: silymarin, HEAC: Black garlic = 10:0, 9:1, 8:2, 7:3)

Table 2. DPPH, and alkyl radical scavenging activity of the *Hericium erinacium* cultivated with *Artemisia capillaris* (HEAC) and black garlic mixture measured by an ESR spectrophotometer

Sample <sup>1)</sup>	DPPH radical scavenging activity (IC <sub>50</sub> mg/mL)	Alkyl radical scavenging activity (IC <sub>50</sub> mg/mL)
7:3	0.060±0.003	0.037±0.002
8:2	0.049±0.004	0.036±0.003
9:1	0.041±0.001	0.031±0.003

<sup>1)</sup> HEAC: black garlic (ratio)

제거능 측정 결과, 앞선 간세포 보호 효과실험에서처럼 전반적으로 배양 추출물의 비율이 높을수록 radical 소거능이 높게 나왔으며, 따라서 적은 농도의 흑마늘 추출액 혼합으로는 항산화 활성을 증가시키지 못하는 것으로 추정되었다.

## 2) ABTS radical 및 FRAP을 이용한 항산화력 측정

표준물질로 Trolox를 이용하여 총 항산화력(ABTS radical 소거능)을 측정한 결과를 Table 3에 나타내었다. 앞선 radical 제거 활성 측정 결과와 마찬가지로 배양 추출물의 비율이 높아질수록 ABTS radical 제거능이 높아지는 것으로 나타났다. 즉, 배양 추출물과 흑마늘 추출물 혼합비율(7:3, 8:2, 9:1)별로 각각 0.311 mM Trolox, 0.327 mM Trolox, 0.358 mM Trolox의 항산화력을 나타내었고, 비교물질로 사용된 BHT의 0.729 mM Trolox와 비교하여 약 50% 정도의 항산화 활성을 보여주었다.

FRAP법은 전자공여 능력을 통해 산화 활성을 검증하는 방법 중 하나로, 산화제로 작용하는  $Fe^{3+}$ 와 항산화제와의 반응을 통해 생성된  $Fe^{2+}$ 을 흡광도를 통해 정량할 수 있는 방법이다. 측정 결과 역시, 앞선 항산화 실험과 유사한 결과를 나타내었는데, 배양 추출물과 흑마늘 추출물 혼합비율(7:3, 8:2, 9:1)별로 각각 0.231 mM  $FeSO_4$ , 0.253 mM  $FeSO_4$ , 0.298 mM  $FeSO_4$ 로 측정되어, 배양 추출물이 많은 혼합물이 상대적으로 높은 항산화력을 보였으며, 비교물질인 BHT의 항산화력 (1.829 mM)보다는 매우 낮게 나타났다( $p<0.05$ )(Table 3).

#### 4. 관능평가

흑마늘 추출물을 첨가한 배양 추출물 혼합액의 간세포 보호 및 항산화력 실험 결과, 두 물질을 혼합할 경우 상승작용이 있으리라 추정하였으나, 본 실험범위 내에서는 흑마늘 추

출물 첨가가 유의적인 상승 효과를 나타내지는 못하였다. 이러한 사실은 제품 개발 시 참고할 필요가 있으며, 따라서 배양 추출물만으로 음료를 제조할 목적으로, 발효인진쑥의 쓴맛을 억제하기 위해 액상과당의 첨가량을 달리하면서(10, 15, 20%) 맛, 향, 농도 및 전반적 기호도에 대한 관능검사를 실시하였다(Table 4). 맛은 단맛과 쓴맛을 구분하여 조사하였다. 단맛의 경우, 액상과당 15% 또는 20% 첨가 시료가 10% 첨가 시료보다 기호도가 좋게 평가되었다( $p<0.01$ ). 한편, 첨가량 15%와 20%의 차이는 단맛의 기호도에 유의적 영향을 끼치지 않은 것으로 평가되었다, 쓴맛과 향, 농도 및 전반적인 기호도에서는 액상과당 첨가량 차이에 의한 시료간 유의적 차이는 없는 것으로 평가되었으며, 전반적으로 시료에 대한 기호도가 부정적으로 평가되었는데, 이는 관능검사요원들이 모두 대학생인 젊은 층이어서, 익숙하지 않은 인진쑥의 쓴맛과 향에 대한 부정적 견해에 기인한 듯하다. 한편, 본 실험에서 성별에 의한 유의적 차이는 나타나지 않았다(자료 미 제공).

이상의 결과들을 종합해 보면, 인진쑥을 기질로 한 노루궁뎅이버섯 균사체 배양물을 주원료로 한 음료를 제조함에 있어, 액상과당의 첨가량을 달리하여 맛에 대한 기호도 차이를 나타낼 수 있으나, 젊은 층(20대)을 대상으로 할 경우 액상과당 첨가만으로는 인진쑥 고유의 부정적 쓴맛과 향을 감소시키기에는 부족할 것으로 사료된다. 따라서 본 음료를 시판하기에 앞서 주 고객층 파악을 위한 다양한 연령층(중·장년 포함)에서의 관능검사가 필요하며, 더불어 액상과당 외에 다양한 감미료 및 첨가물 첨가 등의 보완책 마련이 필요할 것으로 사료된다.

## 요 약

본 연구에서는 인진쑥 배지에서 배양한 노루궁뎅이버섯 균사체 배양 추출물의 간세포 독성 및 간세포 보호 효과와 이 배양 추출물에 흑마늘 추출물을 혼합한 혼합액의 간세포 보호 효과와 항산화력을 측정하였다. 배양 추출물의 세포 독

**Table 3. ABTS radical scavenging and FRAP activity of the *Hericium erinacium* cultivated with *Artemisia capillaris* (HEAC) and black garlic mixture**

Sample <sup>1)</sup>	TEAC (mM Trolox eq./ mg extract)	FRAP (mM $FeSO_4$ eq./ mg extract)
7:3	0.311±0.006 <sup>2)</sup>	0.231±0.013
8:2	0.327±0.001	0.253±0.004
9:1	0.358±0.003	0.298±0.011
BHT	0.729±0.001	1.829±0.045

<sup>1)</sup> HEAC: black garlic (ratio)

<sup>2)</sup> Values represent means±S.D. (n=3)

**Table 4. Sensory evaluation<sup>1)</sup> of *Hericium erinacium* cultivated with *Artemisia capillaris* (HEAC) prepared with different concentration of liquid fructose**

Sample	Sweetness	Bitterness	Flavor	Thickening	Overall acceptability
HEAC+LF 10% <sup>2)</sup>	3.41±0.96 <sup>3a</sup>	3.41±1.30	3.32±0.89	3.00±1.20	3.91±1.11
HEAC+LF 15%	2.50±1.01 <sup>b</sup>	3.59±1.01	3.45±0.80	3.05±0.84	3.59±1.18
HEAC+LF 20%	2.27±0.98 <sup>b</sup>	3.23±1.19	3.41±0.85	3.05±1.09	3.27±1.12
F-value	5.308**				

<sup>1)</sup> Sensory properties were assessed on 5 point scale where 1=extremely good, 5=extremely bad.

<sup>2)</sup> HEAC + LF 10%: HEAC with liquid fructose 10%, <sup>3)</sup> Values represent means±S.D. (n=22).

<sup>a,b</sup> Values with different superscripts within the same column are significantly at \*\* $p<0.01$  by Duncan's multiple range test.



성을 농도별로 측정한 결과, 0.05 mg/mL의 농도 이상에서는 세포생존율이 유의적으로 감소하는 것으로 나타났으며, 배양 추출물의 간세포 보호 효과를 측정한 결과, 물과 ethanol의 비율 5:5, 80℃의 조건에서 추출한 추출물이 상대적으로 가장 좋은 간세포 보호 효과를 나타내었다. 이 조건에서 추출한 배양 추출물에 흑마늘을 혼합(배양 추출물:흑마늘 추출물=9:1, 8:2, 7:3)하여 간세포 보호 효과와 항산화력을 측정하였다. 측정 결과, 간세포 보호 효과는 흑마늘 추출물 첨가 시 유의적인 차이가 나타나지 않았으며, 항산화력 측정 결과에서는 오히려 흑마늘 추출물 첨가 비율이 낮을수록 상대적으로 높은 항산화 활성을 보여, 흑마늘 추출물의 경우, 적은 농도에서는 간세포 보호 효과 및 항산화력에 영향을 주지 않는 것으로 추정되었다. 배양 추출물만으로(1.9 Brix, 15%) 액상과당 농도를 달리하여(10, 15, 20%) 제조한 음료의 관능검사 실시 결과, 액상과당 농도 차이가 단맛에서는 유의적 차이를 나타내었으나, 쓴맛, 향, 농도 및 전반적 기호도에 있어서는 유의적 차이를 나타내지 않았다.

## References

- Ahn DK. 1992. Medicinal fungi in Korea. *Kor J Mycol* 20: 154-166
- Benzie IFF, Strain JJ. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods Enzymol* 299:15-27
- Chang ST. 1999. Global impact of edible and medicinal mushrooms on human welfare in the 21st century: nongreen evolution. *Int J Med Mushr* 1:1-7
- Choi BB, Lee HJ, Bang SK. 2005. Studies on the volatile flavor components and biochemical characterizations of *Artemisia princeps* and *A. argyi*. *Korean J Food Nutr* 18:334-340
- Choi WS, Jang DY, Cha KM, Park CK. 2008. Enhanced activities of alcohol metabolism by extracts from *Hericum erinaceum* Hypha cultivated with *Artemisia capillaris*. *J Kor Academia-industrial Cooperation Soc* 9:189-194
- Imai J, Ide N, Nagae S, Moriguchi T, Matsuura H, Itakura Y. 1994. Antioxidant and radical scavenging effects of aged garlic extract and its constituents. *Planta Med* 60:417-420
- Janzen EG, Towner DL, Haire DL. 1987. Detection of free radical generated from the *in vitro* metabolism of carbon tetrachloride using improved ESR spin trapping techniques. *Free Radical Res* 3:357-364
- Je JY, Park PJ, Kim EK, Ahn CB. 2009. Antioxidant and angiotensin I converting enzyme inhibitory activity of *Bambusae caulis* in liquamen. *Food Chem* 113:932-935
- Kadiiska MB, Masom RP. 2002. *In vivo* copper mediate free radical production: an ESR spin-trapping study. *Spectrochim Acta A* 58:1227-1239
- Kang MJ, Lee SJ, Shin JH, Kang SK, Kim JG, Sung NJ. 2008. Effect of garlic with different processing on lipid metabolism in 1% cholesterol fed rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37:162-169
- Kang MJ, Lee SJ, Shin JH, Kang SK, Kim JG, Sung NJ. 2008. Effect of garlic with different processing on lipid metabolism in 1% cholesterol fed rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37:162-169
- Kang MJ, Lee SJ, Sung NJ, Shin JH. 2013. The effect of extract powder from fresh and black garlic on main components in serum and organs of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Life Science* 23:432-442
- Kawagishi H, Ando M, Mizuno T. 1990. Hericenone A and B as cytotoxic principles from the mushroom *Hericum erinaceum*. *Tetrahedron Lett* 31:373-376
- Kawagishi H, Shimada A, Shirai R, Okamoto K, Ojima F, Sakamoto H, Isiguro Y, Funkawa S. 1994. Erinacines A, B and C strong stimulators of nerve growth factor (NGF)-synthesis from the mycelia of *Hericum erinaceus*. *Tetrahedron Lett* 35:1569-1572
- Kim JO, Kim YS, Lee JH, Kim MN, Lee SH, Park GY. 1992. Antimutagenic effect of the major volatile compounds identified from mugwort (*Artemisia asiatica* Nakai) leaves. *J Korean Soc Food Nutr* 21:308-313
- Kim YP, Lee GW, Oh HI. 2006. Optimization of extraction conditions for garlic oleoresin and changes in the quality characteristics of oleoresin during storage. *Korean J Food & Nutr* 19:219-226
- Kim YS, Lee SJ, Hwang JW, Kim EH, Park PY, Jeon BT. 2011. Antioxidant activity and protective effects of extracts from *Helianthus tuberosus* L. leaves on *t*-BHP induced oxidative stress in chang cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40:1525-1531
- Lee GD, Kim JS, Bae JO, Yoon HS. 1992. Antioxidative effectiveness of water extract and ether extract in wormwood (*Artemisia montana* Pampan). *J Korean Soc Food Nutr* 21:17-22
- Lee HJ, Hwang EH, Yu HH, Song IS, Kim CM, Kim MC, Hong JH, Kim DS, Han SB, Kang KJ, Lee EJ, Chung HW. 2002.



- The analysis of nutrients in *Artemisia capillaris* Thunberg. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31:361-366
- Lee OJ, Lee JJ, Lee MY, Lee HJ. 2012. Effects of baked garlic powder on lipid metabolism in rats fed a high-fat/high-cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41:49-56
- Lee SJ, Kang MJ, Shin JH. 2013. Effect of black garlic and mugwort extracts on lipids profile during restraint stress. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42:577-586
- Lee SJ, Kim EK, Hwang JW, Oh HJ, Yang SI, Lee SJ, Jeon BT, Kim SK, Park PJ. 2009. Free radical scavenging activity of  $\beta$ -chitooligosaccharides. *J Chitin Chitosan* 14:24-28
- Nakagawa S, Kasuga S, Matsuura H. 1989. Prevention of liver damage by aged garlic extract and its components in mice. *Phytotherapy Res* 3:50-53
- Nakagawa S, Yoshida S, Hirao Y, Kasuga S, Fuwa T. 1985. Cytoprotective activity of compound of garlic, ginseng and ciuwjia on hepatocyte injury induced carbon-tetrachloride *in vitro*. *Hiroihma Med Sci* 34:303-309
- Noh BK, Lee JK, Won YD, Park HJ, Lee SJ. 2011. The anti-oxidative effect of black garlic extract on paraquat-induced oxidative stress in ICR mice. *Korean J Food Sci Technol* 43:760-765
- Park MK, Kim CH. 2009. Extraction of polyphenols from apple peel using cellulase and pectinase and estimation of anti-oxidant activity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38:535-540
- Sakamoto H, Furukawa S. 1996. Erinacine D, a stimulator of (NGF)-synthesis from the mycelia of *Heridium erinaceus*. *Heterocycl Commun* 2:51-54
- Sanchez C. 2004. Modern aspects of mushroom culture technology. *Appl Microbiol Biotechnol* 64:756-762
- Wang X, Luo D, Liang X. 2004. Structure of polysaccharides from the fruiting body of *Heridium erinaceus* pers. *Carbohydr Polym* 57:241-247
- Wasser SP. 2002. Medicinal mushrooms as a source of anti-tumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl Microbiol Biotechnol* 60:258-274
- Yang BK, Park JB, Song CH. 2003. Hypolipidemic effect of an exo-biopolymer produced from a submerged mycelial culture of *Heridium erinaceus*. *Biosci Biotechnol Biochem* 67:1292-1298

---

접 수 : 2014년 3월 31일  
최종수정 : 2014년 7월 13일  
채 택 : 2014년 8월 15일