

반응표면분석을 이용한 로스팅 뽕잎과 오디 혼합차 개발

김애정 · 강현정 · †김민주
경기대학교 대체의학대학원

Development of Optimization Mixture Tea prepared with Roasting Mulberry Leaf and Fruit

Ae-Jung Kim, Hyun-Jeong Kang and †Min-Ju Kim

The Graduate School of Alternative Medicine, Kyonggi University, Seoul 03752, Korea

Abstract

In this study, we aimed to develop a mixed tea prepared with roasted mulberry leaf and fruit using response surface methodology (RSM). Roasting of mulberry leaf was by 6 stages, as shown in Fig. 1; and mulberry fruit was roasted in 4 stages, as shown in Fig. 2. Subsequently, physicochemical measurements such as total polyphenol content, nitric oxide production content, and α -glucosidase inhibitory effect were obtained for each sample. Central composite design was applied to prepare samples containing varying contents of roasted mulberry leaf (RoML) and roasted mulberry fruit (RoMF); subsequently, sensory evaluation was conducted. The total polyphenol content of roasted samples (RoML and RoMF) were significantly higher than that of raw samples (RaML and RaMF), respectively. The nitric oxide (NO) production of roasted samples were significantly lower than that of control (LPS induced RAW 264.7 cell). The α -glucosidase inhibitory effect of roasted samples was significantly higher than that of raw samples, respectively. Based on the RSM estimation for determination of optimum ratio by sensory evaluation (taste, color, and flavor) among 13 mixed samples, the optimum mixing ratio of RoML and RoMF for taste, color, and flavor were 1.64 g (RoML) and 0.88 g (RoMF), 1.35 g (RoML) and 0.92 g (RoMF), 1.65 g (RoML) 1.03 g (RoMF), respectively. Based on results of three sensory evaluations, mixing ratio comprising 1.54 g of RoML and 0.92 g of RoMF is desirable for delicious tea with functionality.

Key words: mulberry leaf, mulberry fruit, roasting, tea, RSM

서 론

생활수준의 향상, 식생활의 서구화 및 운동 부족은 현대인의 질병구조를 변화시켜 비만, 당뇨병, 고혈압, 동맥경화증 등 만성질환을 증가시켜 왔다. 이들 만성질환은 개인의 삶의 질 저하뿐 아니라 경제, 사회적 부담을 가중시키고 있다(Choi 등 2011). 이와 같이 식생활 변화가 질병 발생과 연계되면서 어떤 천연물이 원활한 생체조절 물질로 합당한가에 대한 관심이 집중되고 있다(Kim 등 2003). 이에 당뇨 예방, 노화 방지, 혈압 강하 및 미네랄 공급과 같은 기능성이 강화된 천연물 소재 음료 시장이 확대되고 있다(Aruoma OI 1998; Yoo 등

2005; Hyun 등 2011).

그 중 차는 특유의 향과 맛뿐만 아니라 건강을 위해 동서양에서 오래전부터 널리 응용되어 왔으며, 최근에는 소비자의 needs를 반영해 다양한 형태의 기능성 차들이 제조·시판되고 있다(Cha 등 2004; Kim 등 2014).

차에 대한 연구로는 항산화 효과(Roh 등 2000), 항암 효과(Lee 등 2003; Hwang 등 2007), 콜레스테롤 감소 효과(Bursill 등 2007; Diepvens 등 2007), 항당뇨 효과(Choe 등 2008), 중금속 제거 효과(Jeong 등 2009), 식중독 예방 효과(Cho 등 2010a), 충치 예방 효과(Han 등 2011), 노화 억제 효과(Cho 등 2010b), 간세포 보호 효과(Lee 등 2011) 등이 보고되고 있다.

† Corresponding author: Min-Ju Kim, The Graduate School of Alternative Medicine, Kyonggi University, Seoul 03752, Korea.
Tel: +82-2-390-5012, Fax: +82-2-313-4131, E-mail: 75food@daum.net

이와 같이 차에 대한 다양한 기능성 효과가 보고되면서 식품산업계에서는 녹차, 감잎, 두충, 구기자, 산수유, 뽕잎 등을 튀김 처리(roasting)한 형태를 출시해 왔다(Choi 등 2003; Yoo 등 2005). 그 가운데 뽕잎은 뽕나무(*Morus alba*)의 부산물로 열매인 오디와 함께 식·의약소재로 주목받고 있다(Ye & Bae 2010). 뽕잎에는 다양한 무기성분 외에 비타민류, polyphenol, flavonoid, deoxyojirimycin, rutin, γ -amino butyric acid(GABA) 등 기능성물질을 함유하고 있어 혈당 강하, 항암, 노화 억제, 항스트레스, 혈압 조절 효과 등이 있다고 알려져 있다(Li SK 1978; Kim 등 2006). 오디에 함유되어 있는 anthocyanin 색소는 항산화 작용(Kim 등 2003)과 항염증 효과(Kim 등 1998)와 같은 생리활성이 우수하다고 보고되었다. 이에 인체에 무해한 천연색소 및 기능성 소재로서 각광을 받고 있으나 오디를 소재로 한 제품은 미비한 실정이다.

차 제조 시 사용되는 튀김 처리(Choi 등 2003; Yoo 등 2005; Kim 등 2010; Choi & Lee 2014)는 해당 허브의 기호성 향상뿐 아니라 기능성 성분도 향상된다(Song 등 2013; Lee 등 2014; Kim AJ 2016). 최근 Lee JA(2016)는 뽕잎과 오디분말 혼합 시 항산화 및 항염증 효과가 단일 소재에 비해 향상되었다고 보고하였다. 이러한 결과는 뽕잎과 오디가 각각 함유하고 있는 기능성 성분 간의 시너지 효과로 보여진다. 따라서 본 연구에서는 기능성과 기호성을 고려하여 5월 중순에 채취한 뽕잎과 오디(Kim HB 2005; Park 등 2013)로 반응표면분석을 이용하여 뽕잎과 오디 혼합차의 최적 혼합비율을 모니터링하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

차의 품질은 찻잎의 채취시기에 크게 좌우되며(Takayanagi & Nakagawa 1978), 더불어 차의 화학성분 함량에도 영향을 주어 차의 풍미가 달라진다(Kim 등 1980).

따라서 본 연구에서는 풋내가 적고 기능성 성분 함량도 높은 5월 중순 뽕잎을 시료로 선정하였다. 오디는 경도가 높고 단맛이 적어 차로 제조하기에 좋은 5월 중순 오디를 시료로 선정하였으며, 전북 국립농업과학원에서 채취하여 실험에 사용하였다.

2. 로스팅 처리

본 연구에서는 기호성과 기능성이 우수한 뽕잎과 오디 혼합차를 제조하고자 맛, 향 및 경도가 차로 제조하기에 좋은 조건인 5월 중순에 뽕잎과 오디를 채취하여 로스팅(Kim 등 2016; Lee 등 2014; Song 등 2013)하였다.

1) 뽕잎

뽕잎 로스팅 처리는 Fig. 1에 제시된 바와 같이 총 6단계로 나누어 수행하였다. 1단계에서는 5월 중순에 채취한 뽕잎 150 g을 온도 200~220°C인 로스팅 팬(BR-2003, Fineart, Incheon, Korea)에 넣고 5분간 로스팅 후 꺼내어 5분간 유념 후 실온에서 식히는 과정을 1회 실시하였다(1단계). 2단계에서는 온도

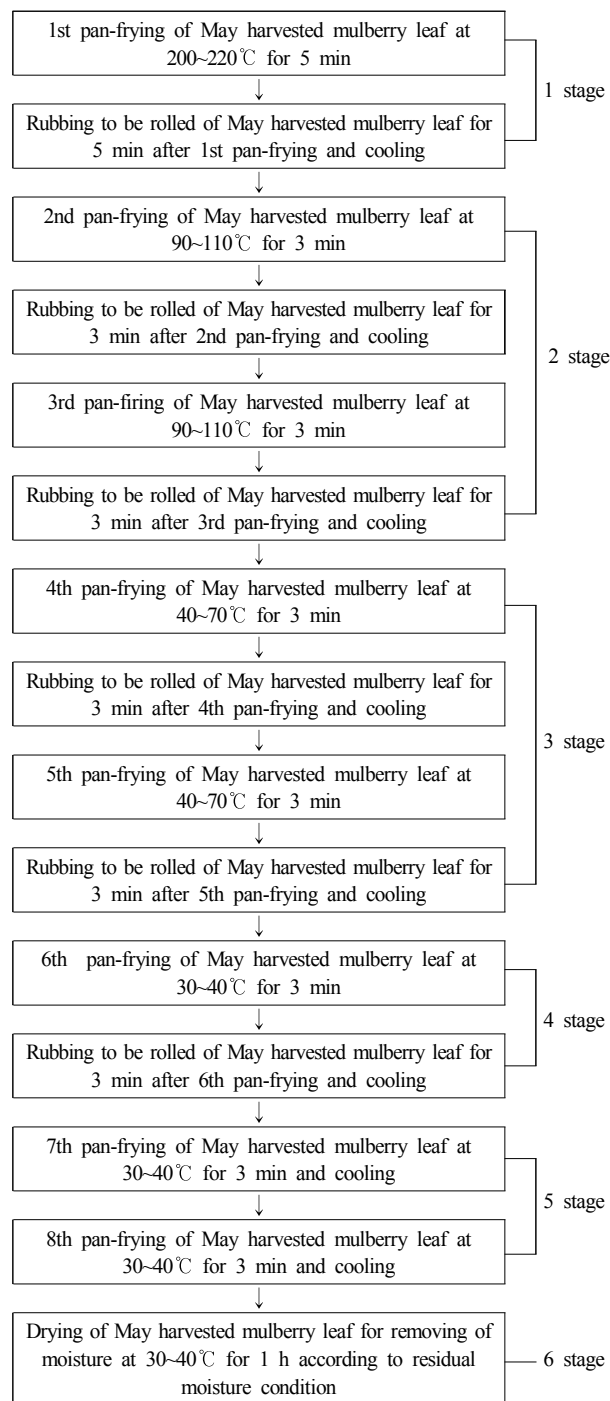


Fig. 1. Roasting procedure of May harvested mulberry leaf.

90~110℃인 로스팅 팬에 1단계를 거친 빵잎을 넣고 1단계와 같은 방법을 2회 3분 동안 반복하였다(2단계). 3단계에서는 2단계를 거친 빵잎을 온도 40~70℃인 로스팅 팬에 넣고 1단계와 같은 과정을 2회 3분 동안 반복하였다(3단계). 4단계에서는 내부 온도 30~40℃인 로스팅 팬에 3단계를 거친 빵잎을 넣고 1회 3분 동안 반복하였다(4단계). 5단계에서는 4단계를 거친 빵잎을 온도 30~40℃인 로스팅 팬에 넣고 2회 3분 동안 반복하였다(5단계). 6단계에서는 5단계를 거친 빵잎을 로스팅 팬 내부 온도 30~40℃를 유지하면서 1시간 정도 건조시켜 잔여 수분을 제거하였다(6단계: 수분 함량 5.5% 내외). 완성된 로스팅 빵잎은 4℃ 냉장고에 보관하면서 시료로 사용하였다(Fig. 1).

2) 오디

오디 로스팅 처리는 Fig. 2에 제시된 바와 같이 총 4단계로 나누어 수행하였다. 1단계에서는 5월 중순에 채취한 오디 200 g을 온도 90~110℃인 로스팅 팬에 넣고 5분간 로스팅 후, 로스팅 팬에서 꺼내 실온에서 식히는 과정을 2회 반복하였다(1단계). 2단계에서는 내부 온도 40~70℃인 팬에 1단계를 거친 오디를 넣고 5분간 로스팅 후 로스팅 팬에서 꺼내 실온에서 식히는 과정을 4회 반복하였다(2단계). 3단계에서는 2단계를 거친 오디를 온도 30~40℃인 팬에 넣고 로스팅 후 실온에서 식히는 과정을 5회 반복하였다(3단계). 마지막으로 로스팅 팬 내부 온도 30~40℃를 유지하면서 오디의 잔여 수분 제거를 위해 1시간에서 3시간 정도 건조시켰다(4단계: 수분 함량 9% 내외). 완성된 로스팅 오디는 4℃에서 냉장보관하면서 시료로 사용하였다(Fig. 2).

3. 생리활성 효과 측정

1) 추출물 제조

생리활성(항산화, 항염증 및 효소 활성) 효과 측정용 추출물 제조는 빵잎과 오디 동결 건조 분말(생것과 로스팅 처리된 것) 시료 무게 대비 각각 20배 부피의 증류수를 첨가한 후 72시간 동안 80℃에서 추출 후 여과(No. 2, Whatman, Maidstone, England)하여 빵잎과 오디 열수추출물을 얻었다. 열수추출물은 rotatory vacuum evaporator(HS-2005S-N, Hahn Shin Scientific Co. Gyeonggi, Korea)로 용매를 증발시켜 50 mL까지 농축하여 동결 건조시킨 후 분석용 시료로 사용하였다.

2) Total polyphenol 함량

빵잎과 오디 열수추출물의 총 페놀함량은 Folin-Denis변법(Folin & Denis 1912)에 의하여 측정하였다. 추출물 1 mL를 취하여 2%(w/v) Na₂CO₃ 용액 1 mL를 가한 후 3분간 방치한

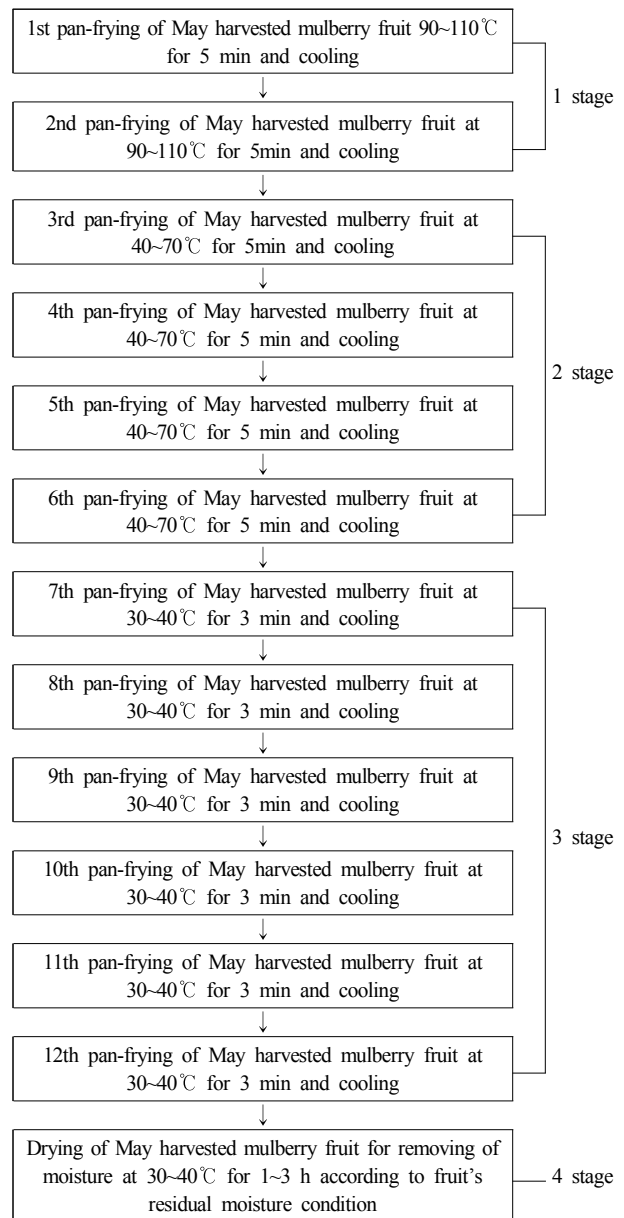


Fig. 2. Roasting procedure of May harvested mulberry fruit.

후, 50% Folin-Ciocalteu 시약 0.2 mL를 가하여 반응시켜 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 구하였다.

3) NO(Nitric Oxide) 측정

(1) 세포배양

실험에 사용한 마우스의 대식세포주인 RAW 264.7 세포주는 한국 세포주 은행에서 분양받았고, 10% fetal bovine serum (FBS, GibcoBRL, Life Technologies Inc, Gaithersburg), 1% penicillin/

streptomycin(GibcoBRL)이 포함된 DMEM 배지에서 37°C, 5% CO₂ 조건으로 배양하였다.

(2) Nitric oxide(NO) 생성량 측정

RAW 264.7 세포주를 10% FBS가 첨가된 DMEM 배지를 이용하여 1×10⁵ cells/well로 조절한 후 24 well plate에 분주하고 24시간 배양하였다. 배양 후 빵잎과 오디 열수추출물 시료를 각각 농도별로 처리하고 1시간 후에 LPS(1 µg/mL)를 처리한 후 24시간 배양하였다. 생성된 NO의 양은 Griess 시약 [1% (w/v) sulfanilamide, 0.1%(w/v) naphylethylenediamine in 2.5% (v/v) phosphoric acid]을 이용하여 세포 배양액 중에 존재하는 NO²⁻의 형태를 측정하였다. 세포 배양 상등액 100 µL와 Griess 시약 100 µL를 혼합하여 24 well plate에서 10분 동안 반응시킨 후 ELISA reader(BTO Tek Co., USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 생성된 NO량은 sodium nitrite(NaNO₂)를 표준물질로 비교하였다.

4) α-Glucosidase 저해활성

빵잎과 오디 열수추출물의 α-glucosidase 저해활성 측정은 Tibbot & Skadsen(1996)의 방법에 따라 측정하였다. 50 mM sodium succinate buffer(pH 4.2)에 p-nitrophenol-α-D-glucopyranoside (PNPG, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 용해시켜 1 mg/mL의 농도로 기질을 만들고, 기질용액 1 mL와 효소액 (Sigma-Aldrich) 30 unit/0.1 mL를 혼합하였다. 대조구에는 증류수 0.1 mL, 반응구에는 시료 0.1 mL를 넣어 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1 N NaOH 0.1 mL를 첨가하여 발색시켰다.

Positive control로는 acarbose를 사용하였다. 이때 생성된 p-nitrophenol(PNP)은 ELISA(Tecan Infinite M200 Pro, Green Mate Bio, Seoul, Korea)를 이용하여 400 nm에서 흡광도를 측정한다. 후 다음의 계산식을 이용하여 저해율을 구하였다.

$$\text{저해율(\%)} = [1 - (\text{반응구의 } p\text{-nitrophenol 생성량} / \text{대조구의 } p\text{-nitrophenol 생성량})] \times 100$$

4. 반응표면분석을 이용한 최적화 분석

로스팅 처리된 빵잎과 오디의 최적 혼합조건을 확립하기 위하여 중심합성계획(central composite design)에 의한 반응표면분석법을 사용하였다. 독립변수로 로스팅 처리된 빵잎(X₁)과 로스팅 처리된 오디(X₂)의 함량을 2개의 요인으로 설정하였고, 예비실험을 통해 각 요인의 최소 및 최대 범위를 로스팅 처리된 빵잎 0.5~2.5 g, 로스팅 처리된 오디 0.5~1.5 g으로 실험범위를 선정하여 5단계로 부호화하여 13개의 혼합조건을 설정하였다. 종속변수는 관능평가를 실시하여 나온 맛(Y₁), 향(Y₂) 및 색(Y₃)에 대한 평가 값으로 선정하여 분석에 사용

하였다. 실험 자료의 분석 및 최적화는 Design Expert8(Stat-Easy Co. Minneapolis, MIN,USA)Program의 ANOVA test 및 회귀분석을 이용하였으며, 모델의 적합성은 F-test로 유의성을 검증하였다.

5. 관능평가

관능평가는 식품치료 전공 10명의 패널에게 실험 목적과 평가방법을 충분히 훈련시킨 후 관능검사에 참여하도록 하였다. 시료는 90°C 물 200 mL에 로스팅 여린 빵잎(0.5~2.5 g)과 로스팅 미숙 오디(0.5~1.5 g)를 각각 혼합하여 3분간 우려낸 후 투명컵에 50 mL씩 담아 제공하였으며, 정확한 평가를 위하여 1주일간 총 4회에 걸쳐 관능평가를 실시하였다. 평가 항목은 맛, 색 및 향으로 정하였으며, 13개의 시료간의 우위 비교를 통해 기호도가 높을 경우 최고 9점의 높은 점수를, 기호도가 낮으면 최저 1점의 낮은 점수를 부여토록 하는 9점 척도법을 사용하였다.

6. 통계처리

모든 자료는 SPSS statistics 21(SPSS Institute, Chicago, IL, USA)을 이용하여 평균과 표준편차를 구하였으며, 시료간의 유의성은 ANOVA를 실시한 후, Duncan's multiple range test로 각 시료의 평균차이에 대한 사후 검정을 유의수준 5%에서 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 생리활성 효과

본 연구에서는 로스팅 처리로 빵잎과 오디의 생리활성 효과가 향상되는지 알아보하고자 total polyphenol 함량, nitric oxide 생성 억제 효과 및 α-glucosidase 저해활성을 측정하여 Fig. 3~5에 제시하였다.

Total polyphenol 함량의 경우 Fig. 3에 제시된 바와 같이 생 빵잎(RaML: 878.33±10.12 mg TAE/g)에 비해 로스팅 빵잎(RoML: 1,024.98±9.59 mg TAE/g)의 total polyphenol 함량이 유의적으로 높게 나타났다. 오디의 total polyphenol 함량의 경우도 생 오디(RaMF: 270.17±2.06 mg TAE/g)에 비해 로스팅 오디(RoMF: 289.56±6.21 mg TAE/g)에서 높게 나타나 빵잎과 오디 모두 로스팅 처리로 폴리페놀 함량이 증가됨을 알 수 있었다. 이러한 결과는 차 제조 공정의 가열 과정에 의해 polyphenol oxidase의 활성이 저해되어 폴리페놀함량을 감소시키지 못했기 때문으로 보여 진다(Lee 등 2009).

NO는 정상적으로 작용할 경우, 혈관의 항상성, apoptosis 유도 등 주요 생리기능을 매개하지만 다량 분비될 경우, 염증을 유도하여 급성 혹은 만성 염증질환의 주요 요인이 된다

(Halliwell B 1992). 본 연구결과, NO 생성량은 Fig. 4에 제시된 바와 같이 LPS 처리군(28.64 μM)에 비해 생 뽕잎(RaML: 19.35 μM)과 로스팅 뽕잎(RoML: 18.28 μM)에서 모두 NO 생

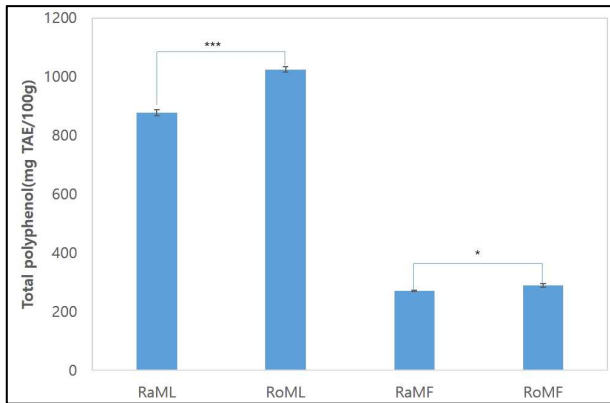


Fig. 3. The total polyphenol contents of hot water extracts of raw mulberry leaf, roasted mulberry leaf, raw mulberry fruit, and roasted mulberry fruit. RaML: raw mulberry leaf, RoML: roasted mulberry leaf according to Fig. 1, RaMF: raw mulberry fruit, RoML: roasted mulberry fruit according to Fig. 2, * $p < .05$, *** $p < .001$ significant difference between raw and roasting by student's *t*-test.

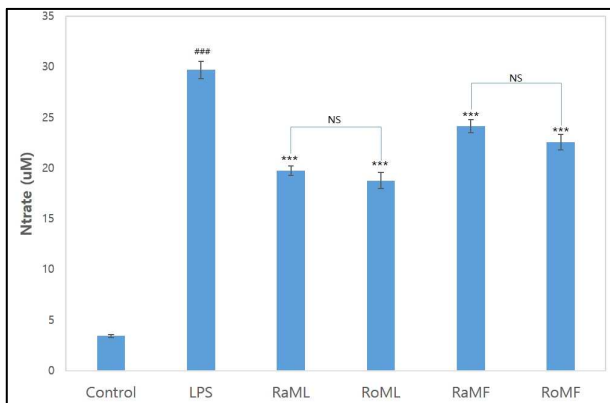


Fig. 4. The inhibitory effects of hot water extracts of raw mulberry leaf, roasted mulberry leaf, raw mulberry fruit, and roasted mulberry fruit on NO production in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. Control: normal RAW 264.7 cell, LPS: LPS induced RAW 264.7 cell, RaML: raw mulberry leaf, RoML: roasted mulberry leaf according to Fig. 1, RaMF: raw mulberry fruit, RoML: roasted mulberry fruit according to Fig. 2, Significant differences between treated groups were determined using the Student's *t*-test, ### represents $p < .001$ compared to the control, *** represents $p < .001$ compared to the LPS, significant difference between raw and roasting by student's *t*-test, NS: not significant.

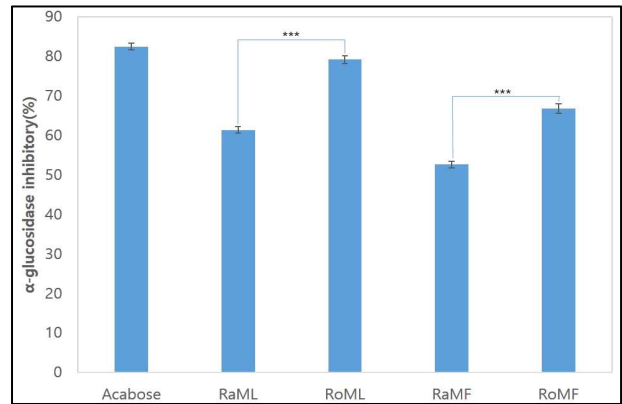


Fig. 5. α -Glucosidase inhibitory effect of hot water extracts of raw mulberry leaf, roasted mulberry leaf, raw mulberry fruit, and roasted mulberry fruit. Acabose: oral hypoglycemic drug, RaML: raw mulberry leaf, RoML: roasted mulberry leaf according to Fig. 1, RaMF: raw mulberry fruit, RoML: roasted mulberry fruit according to Fig. 2. *** $p < .001$ significant difference between raw and roasting by student's *t*-test.

성량이 낮게 나타났다. 그리고 오디의 경우도 LPS 처리군(28.64 μM)에 비해 로스팅 오디(RaMF: 23.60 μM)와 생 오디(RaMF: 25.06 μM) 모두 NO 생성량이 낮게 나타났다. 그러나 로스팅된 시료들(뽕잎과 오디)과 생 시료(뽕잎과 오디) 간에는 유의적인 차이가 나타나지는 않았다. 이러한 결과는 로스팅 처리보다는 뽕잎과 오디 자체의 항염증 효과로 보여진다.

α -Glucosidase는 소장 상피세포의 brush-border membrane에 있는 탄수화물의 소화 흡수에 관여하는 효소로서, α -glucosidase의 효소 활성을 억제하면 포도당의 흡수를 지연시키게 되어 식후 혈당을 조절할 수 있다(Gua 등 2006; Kim 등 2011). 본 연구결과, α -glucosidase 저해효능은 Fig. 5에 제시된 바와 같이 로스팅 뽕잎(RoML: 79.16%)이 생 뽕잎(RaML: 61.37%)에 비해 높았으며, 로스팅 뽕잎은 대조군인 acabose(82.43%)와도 유사한 수준이었다. 오디의 경우도 생 오디(RaMF: 52.62%)에 비해 로스팅 오디(RaMF: 66.79%)에서 α -glucosidase 활성 억제효과가 높게 나타나, 열 처리 온도 증가에 따라 돼지감자의 항당뇨 활성이 증가한 Jeong 등(2011)의 결과와 유사한 경향을 보였고, 로스팅 처리에 의해 α -glucosidase 활성 억제효과가 높아졌음을 알 수 있었다.

2. 반응표면분석을 이용한 뽕잎, 오디 최적 혼합차 개발

로스팅 처리된 뽕잎과 오디의 최적 혼합차를 제조하기 위하여 로스팅 뽕잎과 오디를 독립변수로 하고, 관능검사에 따른 맛, 향, 색을 종속변수로 설정하였다. 조합된 뽕잎, 오디 혼합차 시료 13개의 관능평가 결과는 Table 1에 제시된 바와 같고, 반응표면 회귀분석을 통해 얻어진 결과는 Table 2에 제

Table 1. The sensory properties of roasting mulberry leaf and roasting mulberry fruit mixture tea at various conditions by response surface design

| Samples | X ₁ (RoML) | X ₂ (RoMF) | Y ₁ (Taste) | Y ₂ (Color) | Y ₃ (Flavor) |
|---------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| 1 | 0.5 | 1.5 | 2.2 | 4.1 | 1.3 |
| 2 | 1.5 | 1 | 8.5 | 8.5 | 8.5 |
| 3 | 0.5 | 0.5 | 2.7 | 3.9 | 1.3 |
| 4 | 1.5 | 1.5 | 4.3 | 4.7 | 7.3 |
| 5 | 1.5 | 1 | 7.7 | 8.1 | 8.6 |
| 6 | 2.5 | 0.5 | 4.9 | 2.1 | 3.9 |
| 7 | 2.5 | 1 | 5.1 | 3.0 | 5.2 |
| 8 | 1.5 | 1 | 8.2 | 8.5 | 8.5 |
| 9 | 2.5 | 1.5 | 3.7 | 1.3 | 4.2 |
| 10 | 1.5 | 1 | 8.1 | 8.3 | 8.5 |
| 11 | 1.5 | 0.5 | 7.4 | 7.3 | 6.9 |
| 12 | 1.5 | 1 | 7.7 | 7.7 | 8.2 |
| 13 | 0.5 | 1 | 3.9 | 5.1 | 2.4 |

X₁: RoML (roasted mulberry leaf according to Fig. 1)

X₂: RoMF (roasted mulberry leaf according to Fig. 2)

시된 바와 같다.

반응표면 회귀분석결과, 맛의 경우 독립변수(RoML과 RoMF) 간의 교호작용이 존재하는 quadratic model이 선정되었으며, *p*-value는 0.0001로 유의하게 나타났다. 맛에 가장 큰 영향을 미치는 독립변수 요인은 로스팅 오디였다. 그리고 perturbation plot과 반응표면곡선을 살펴본 결과, 로스팅 뽕잎과 로스팅 오디의 첨가량이 증가할수록 맛에 대한 선호도가 증가하다가 일정 수준부터는 완만하게 감소하였다. 맛에 대한 기호도가 가장 높을 것으로 예측되는 최적 혼합 비율은 로스팅 뽕잎 1.64 g과 로스팅 오디 0.88 g이었으며, 맛에 대한 예상 관능평가 점수는 8.04이었다(Table 2, Fig. 6).

반응표면 회귀분석결과, 색의 경우 독립변수 간의 교호작용이 존재하는 quadratic model이 선정되었으며, *p*-value는 0.0001로 유의하게 나타났다. 색에 가장 큰 영향을 미치는 독립변수 요인은 로스팅 오디였다. 그리고 perturbation plot과 반

응표면곡선을 살펴본 결과, 로스팅 뽕잎과 로스팅 오디의 첨가량이 증가할수록 선호도가 증가하다가 일정 수준 이상 첨가시 급격하게 감소하였다. 색에 대한 기호도가 가장 높을 것으로 예측되는 최적 혼합 비율은 로스팅 뽕잎 1.35 g과 로스팅 오디 0.92 g이었으며, 색에 대한 예상 관능평가 점수는 8.21로 나타났다(Table 2, Fig. 7).

반응표면 회귀분석결과, 향의 경우 독립변수 간의 교호작용이 존재하는 quadratic model이 선정되었으며, *p*-value는 0.0001로 유의하게 나타났다. 향에 영향을 미치는 독립변수 요인은 맛과 색의 경우처럼 로스팅 오디였다. 그리고 perturbation plot과 반응표면곡선을 살펴본 결과, 로스팅 뽕잎의 첨가량이 증가할수록 선호도가 급격히 증가하다가 일정 수준에서 감소하는 경향을 보였다. 향에 대한 기호도가 가장 높을 것으로 예측되는 최적 혼합 비율은 뽕잎 1.65 g과 오디 1.03 g이었으며, 예상 관능평가 점수는 8.54로 나타났다(Table 2, Fig. 8).

맛, 색 및 향을 종합적으로 고려한 관능적 최적 혼합비율은 로스팅 뽕잎 1.55 g과 로스팅 오디 0.93 g이었다(Fig. 9).

이상의 결과를 종합해 보면 로스팅 뽕잎 1.55 g과 로스팅 오디 0.93 g의 혼합 비율로 차가 제조될 경우 기능성(항산화, 항염증 및 항당뇨)과 기호성을 함께 갖춘 차가 될 것으로 생각된다.

요약 및 결론

본 연구에서는 기호성과 기능성이 우수한 뽕잎, 오디 혼합차 제조를 위해 5월 중순에 채취한 뽕잎과 오디를 로스팅 처리하여 생리활성 효과를 분석한 후, 반응표면분석을 이용하여 뽕잎과 오디 최적 혼합조건을 모니터링하고자 하였다. 뽕잎은 6단계로 나누어 로스팅 처리하였으며, 오디는 4단계로 나누어 로스팅 처리하였다. Total polyphenol 함량의 경우, 생 뽕잎(RaML: 878.33 mg TAE/g)에 비해 로스팅 뽕잎(RoML: 1,024.98 mg TAE/g)의 total polyphenol 함량이 유의적으로 높게 나타났다. 오디의 total polyphenol 함량의 경우도 생 오디(RaMF: 270.17 mg TAE/g)에 비해 로스팅 오디(RoMF: 289.56 mg TAE/g)에서 높게 나타났다. NO 생성 억제효과의 경우, LPS 처리군(28.64 μM)에 비해 생 뽕잎(RaML: 19.35 μM)과

Table 2. Analysis of predicted model equation for sensory quality roasting mulberry leaf and roasting mulberry fruit mixture tea

| Responses | Polynomial equation | R ² ¹⁾ | F-value | p-value |
|-------------------------|--|------------------------------|---------|---------|
| Y ₁ (Taste) | -5.24353+9.89425*RoML+11.80690*RoMF - 3.02586*RoML ² - 6.70345*RoMF ² | 0.9485 | 36.80 | 0.0001 |
| Y ₂ (Color) | -4.36394+9.91609*RoML+12.75402*RoMF - 3.67759*RoML ² - 6.91034*RoMF ² | 0.9608 | 48.97 | 0.0001 |
| Y ₃ (Flavor) | -9.09670+15.02299*RoML+10.20575*RoMF - 4.54655*RoML ² - 4.98621*RoMF ² | 1,116.98 | 0.9982 | 0.0001 |

¹⁾ 0 ≤ R² ≤ 1, close to 1 indicates regression line fit the model.

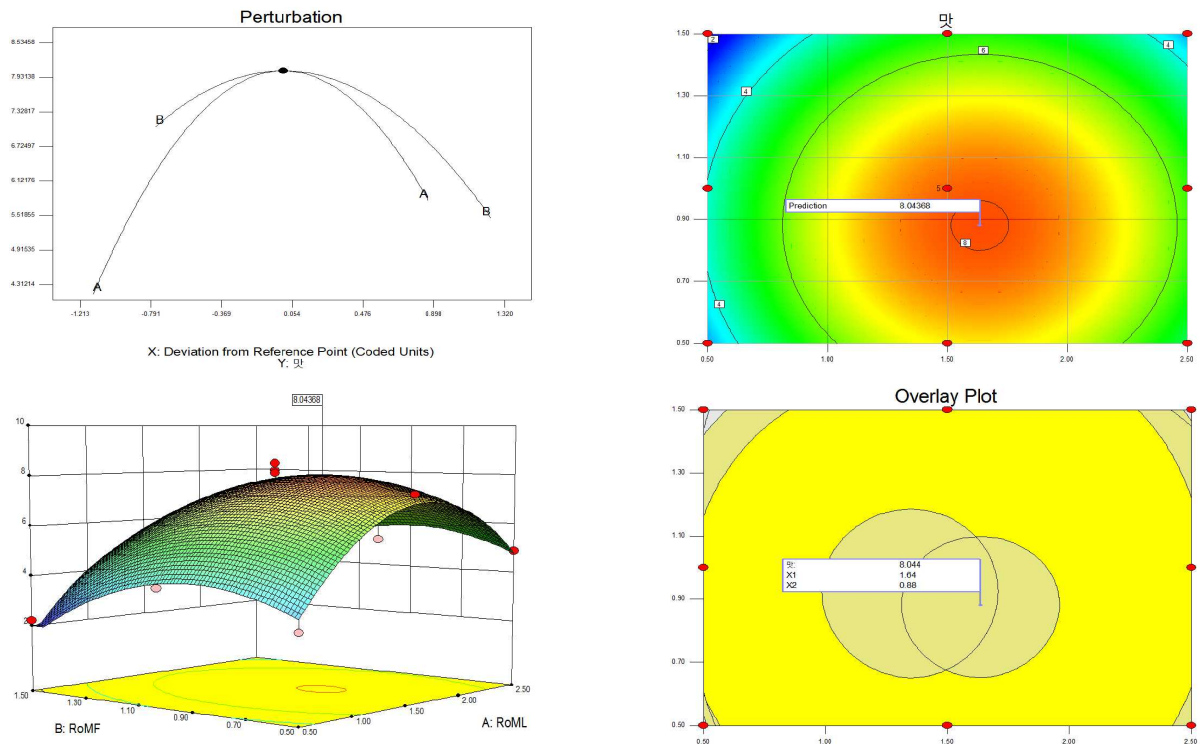


Fig. 6. Perturbation plot and response surface plot for the effect of roasting mulberry leaf (A), roasting mulberry fruit (B) on taste preference of roasting mulberry leaf and roasting mulberry fruit mixture tea.

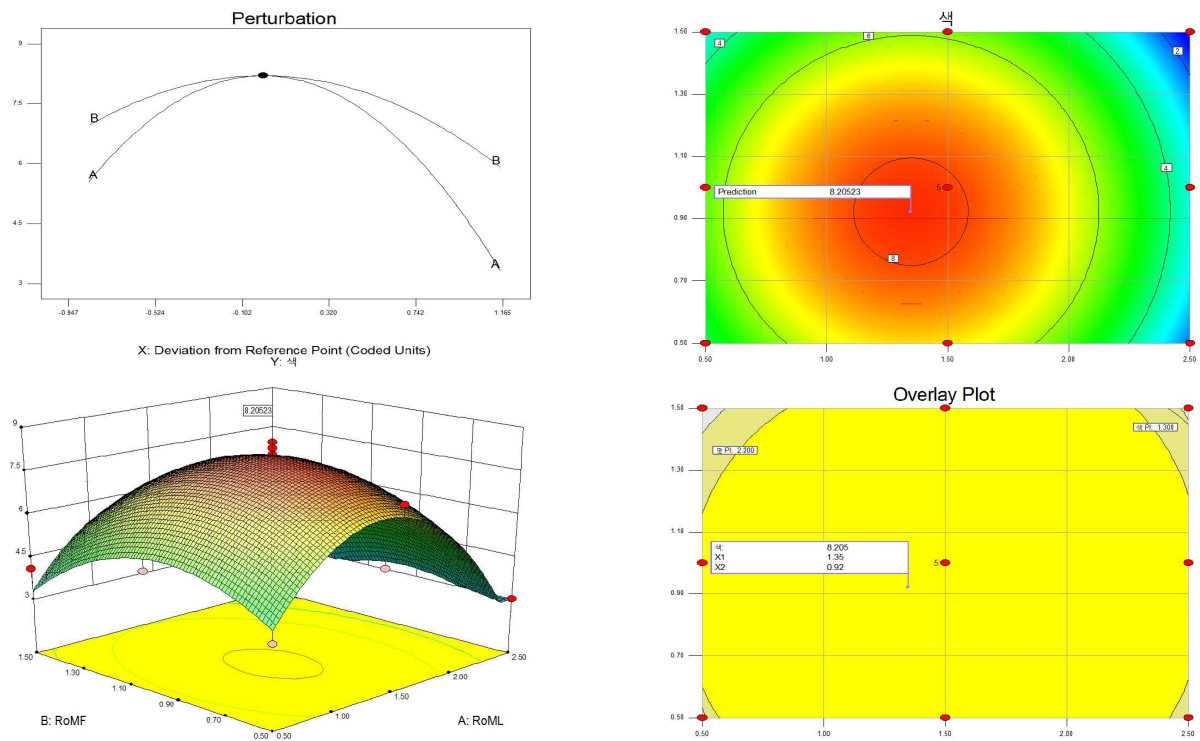


Fig. 7. Perturbation plot and response surface plot for the effect of roasting mulberry leaf (A), roasting mulberry fruit (B) on color preference of roasting mulberry leaf and roasting mulberry fruit mixture tea.

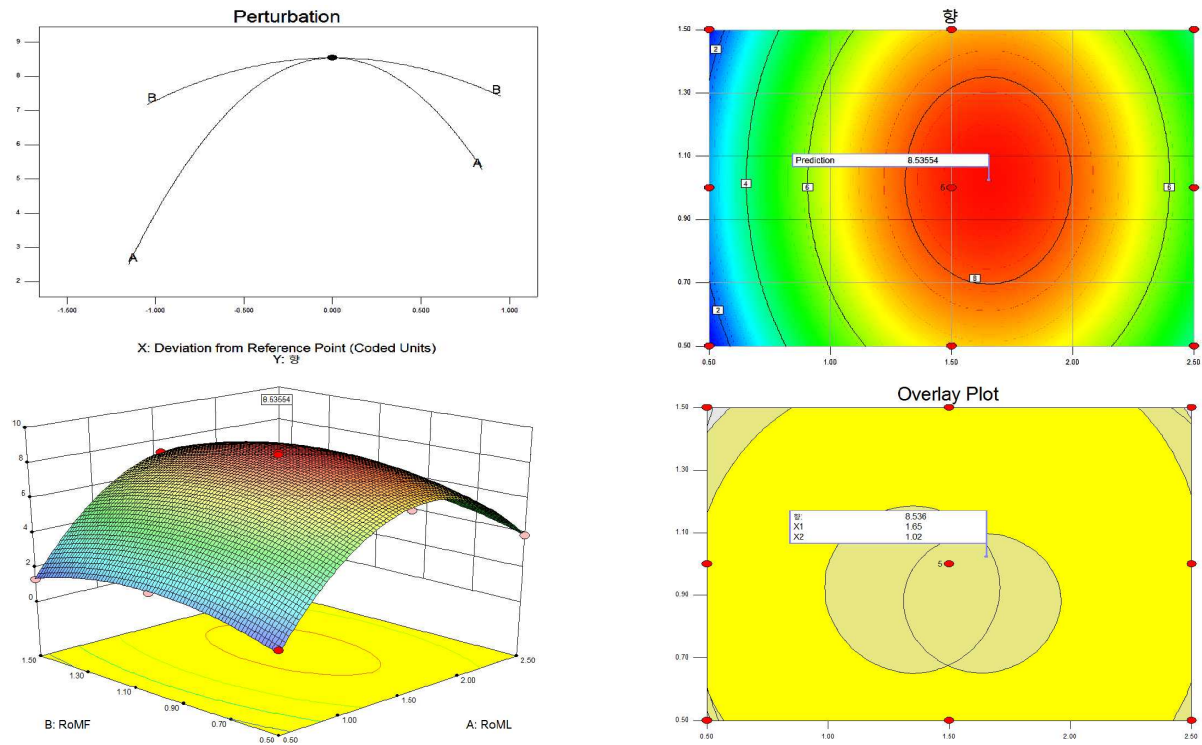


Fig. 8. Perturbation plot and response surface plot for the effect of roasting mulberry leaf (A), roasting mulberry fruit (B) on flavor preference of roasting mulberry leaf and roasting mulberry fruit mixture tea.

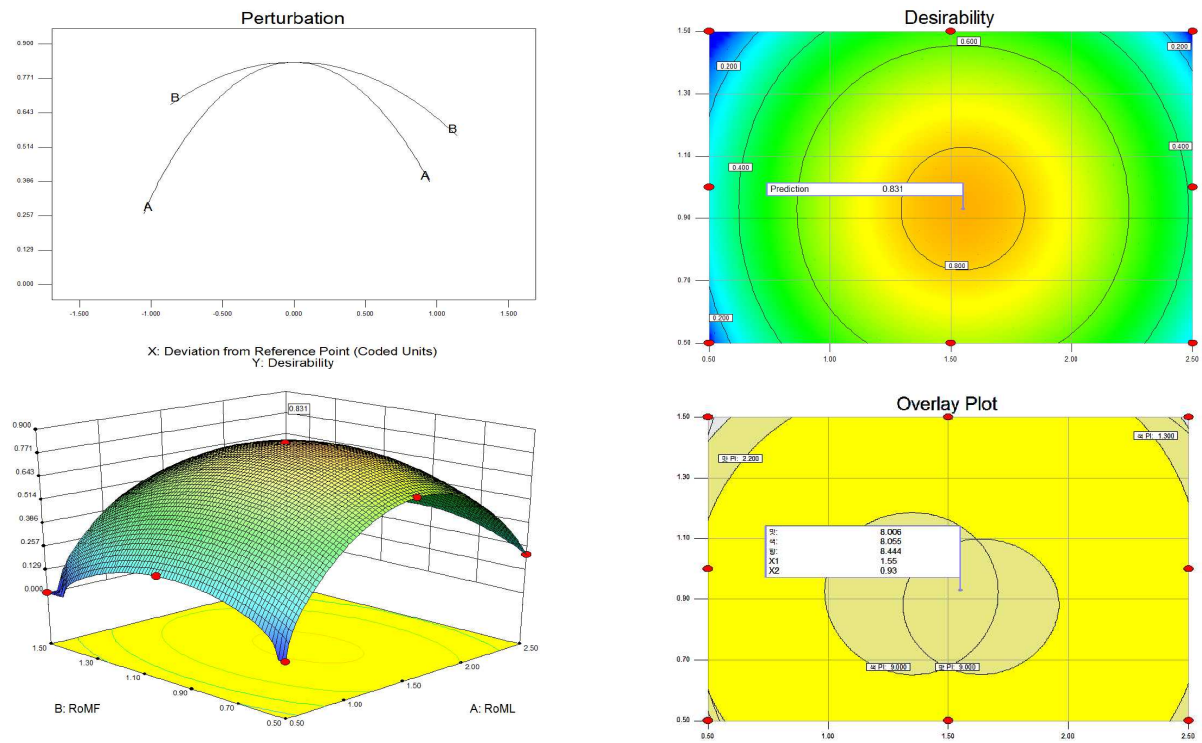


Fig. 9. Perturbation plot and response surface plot for the effect of roasting mulberry leaf (A), roasting mulberry fruit (B) on desirability of roasting mulberry leaf and roasting mulberry fruit mixture tea.

로스팅 팥잎(RoML: 18.28 μ M)의 NO 생성 억제효과가 유의적으로 높게 나타났다. 그리고 오디의 경우도 팥잎과 마찬가지로 LPS 처리군(28.64 μ M)에 비해 로스팅 오디(RaMF: 23.60 μ M)와 생 오디(RaMF: 25.06 μ M) 모두 NO 생성 억제효과가 크게 나타났다. α -Glucosidase 저해활성의 경우, 생 팥잎(RaML: 61.37%)에 비해 로스팅 팥잎(RoML: 79.16%)의 α -glucosidase 저해율이 높게 나타났다. 오디의 경우도 생 오디(RaMF: 52.62%)에 비해 로스팅 오디(RaMF: 66.79%)에서 α -glucosidase 저해율이 높게 나타났다. 위 연구 결과, 로스팅 처리는 팥잎과 오디 모두의 생리활성을 증가시키는 방법임을 확인할 수 있었다. 반응표면분석 결과, 맛(taste)에 대한 최적 비율은 로스팅 팥잎 1.64 g과 로스팅 오디 0.88 g으로 예측되었으며, 색(color)에 대한 최적 비율은 로스팅 팥잎 1.35 g과 로스팅 오디 0.92 g으로 예측되었다. 그리고 향(flavor)에 대한 기호도에 최적 비율은 로스팅 팥잎 1.65 g과 로스팅 오디 1.03 g으로 예측되었다. 세 가지 관능적 기호도 평가 점수를 종합적으로 분석한 결과 예측되는 최적 비율은 로스팅 팥잎 1.54 g과 로스팅 오디 0.92 g으로 나타났다. 이상의 결과, 로스팅 팥잎 1.54 g과 로스팅 오디 0.92 g의 혼합 비율 차는 기능성과 기호성을 함께 갖춘 차로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 연구사업(세부과제번호: PJ01180903)의 지원에 의해 이루어진 것임.

References

- Aruoma OI. 1998. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *JAOCS* 75:199-212.
- Bursill CA, Abbey M, Roach PD. 2007. A green tea extract lowers plasma cholesterol by inhibiting cholesterol synthesis and upregulating the LDL receptor in the cholesterol-fed rabbit. *Atherosclerosis* 193:86-93
- Cha YJ, Lee JW, Kim JH, Park MH, Lee SY. 2004. Major components of teas manufactured with leaf and flower of Korean native *Camellia japonica* L. *Korean J Medical Crop Sci* 12:183-190
- Cho EK, Cho HE, Choi YJ. 2010a. Antioxidant and antibacterial activities, and tyrosinase and elastase inhibitory effect of fermented *omija* (*Schizandra chinensis* Baillon) beverage. *J Applied Biological Chem* 53:212-218
- Cho HE, Choi YJ, Cho EK. 2010b. Antioxidant and nitrite scavenging activity and α -glucosidase inhibitory effect of water extract from *Schizandra chinensis* Baillon. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39:481-486
- Choe M, Kim DJ, Lee HJ, You JK, Seo DJ, Lee JH, Chung MJ. 2008. A study on the glucose-regulating enzymes and antioxidant activities of water extracts from medicinal herbs. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37:542-547
- Choi IS, Kim KA, Yim JE, Kim YS. 2011. Calorie restriction and obesity under the regulation of SIRT1. *Korean J Obes* 20:170-176
- Choi SH, Lee SA. 2014. Sensory characteristics and volatile flavor components of commercial mulberry leaf powder tea. *J Korean Tea Soc* 20:65-70
- Choi Y, Kim MH, Shin JJ, Park JM, Lee J. 2003. The antioxidant activities of the some commercial teas. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32:723-727
- Diepvens K, Westerterp KR, Westerterp-Plantenga MS. 2007. Obesity and thermogenesis related to the consumption of caffeine, ephedrine, capsaicin, and green tea. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 292:R77-85
- Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12:239-249
- Gua J, Jin YS, Han W, Shim TH, Sa JH, Wang MH. 2006. Studies for component analysis, antioxidative activity and α -glucosidase inhibitory activity from *Equisetum arvense*. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49:77-81
- Halliwell B. 1992. Reactive oxygen species and the central nervous system. *J Neurochem* 59:1609-1623
- Han YS, Kang SJ, Park SA, Lee SS, Song HJ. 2011. Antibacterial activities of flower tea extracts against oral bacteria. *Korean J Food and Cookery Sci* 27:21-28
- Hwang KM, Oh SH, Park KY. 2007. Increased antimutagenic and *in vitro* anticancer effects by adding green tea extract and bamboo salt during *doenjang* fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36:1-7
- Hyun SK, Kim YG, Choi SH. 2011. Manufacturing process and DPPH scavenging activity of partially fermented tea from several medicinal herbs. *J Korean Tea Soc* 17:54-58
- Jeong CH, Kang ST, Joo OS, Lee SC, Shin YH, Shim KH, Cho SH, Choi SG, Heo HJ. 2009. Phenolic content, antioxidant effect and acetylcholinesterase inhibitory activity of Korean commercial green, puer, oolong, and black teas. *Korean J Food Preserv* 16:230-237
- Jeong HJ, Kim JS, Sa YJ, Kim MO, Yang JF, Kim MJ. 2011. Antioxidant activity and α -glucosidase inhibitory effect of

- jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) methanol extracts by heat treatment conditions. *Korean J Medicinal Crop Sci* 19:257-263
- Kim AJ, Kim HB, Bang IS, Kim SY. 2006. The effects of mulberry fruit extracts supplementation on the serum mineral contents and oxidative stress markers of middle-aged humans living in Choongman area. *Food Sci Biotechnol* 38:284-289
- Kim AJ, Lee H, Ko HW, Ko SH, Woo N. 2016. Physiological activity of coffee beans and roasted black beans (*Rhynchosia nulubilis*) mixture extracts for coffee alternative beverage development. *Korean J Food Nutr* 29:178-185
- Kim AJ, Rho JO, Woo KJ, Chei WS. 2003. The study on the characteristics of cooked rice according to the different coating ratio of mulberry leaves. *J Korean Soc Food Cookery Sci* 19:571-580
- Kim AJ. 2016. The inhibitory effects of roasted black bean (*Rhynchosia nulubilis*) extracts on RANKL-mediated RAW264.7 cells differentiation. *Food Sci Biotechnol* 25:839-846
- Kim CM, Choi JC, Oh SK. 1980. Chemical change of major tea constituents during tea manufacture. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 12:99-104
- Kim DC, In MJ, Chae HJ. 2010. Preparation of mulberry leaves tea and its quality characteristics. *J Applied Biological Chemistry* 53:56-59
- Kim HY, Lim SH, Park YH, Ham HJ, Lee KJ, Park DS, Kim KH, Kim SM. 2011. Screening of α -amylase, α -glucosidase and lipase inhibitory activity with Gangwon-do wild plants extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40:308-315
- Kim SH, Lee MH, Jeong YJ. 2014. Current trends and development substitute tea and plan in the Korean green tea industry. *Food industry & Nutr* 19:20-25
- Kim SY, Lee WC, Kim HB, Kim AJ, Kim SK. 1998. Anti-hyperlipidemic effects of methanol extracts from mulberry leaves in cholesterol-induced hyperlipidemia rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27:1217-1222
- Lee HJ, Hwang YI, Park EJ, Choi SU. 2011. Antihepatotoxic and antigenotoxic effects of herb tea composed of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40:78-83
- Lee HK, Kim JS, Kim NY, Kim MJ, Park SU, Yu CY. 2003. Antioxidant, antimutagenicity and anticancer activities of extracts from *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* Kitamura. *Korean J Medicinal Crop Sci* 11:53-61
- Lee KH, Kim MJ, Kim AJ. 2014. Physicochemical composition and antioxidative activities of *Rhynchosia nulubilis* according to roasting temperature. *Korean J Food & Nutr* 43:675-681
- Lee KS, Kim GH, Kim HH, Kim ES, Park HM, Oh MJ. 2009. Physiological functionalities of tea thermally processed from *Ilex dentata* root. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38:496-501
- Lee TH, Chua LS, Tan ET, Yeong, C, Lim CC, Ooi SY, bin Abdul Aziz R, bin Aziz A, Sarmidi MR. 2009. Kinetics of thermal inactivation of peroxidases and polyphenol oxidase in pineapple (*Ananas comosus*). *Food Sci Biotechnol* 18:661-666
- Li SK. 1978. Composition of Material Media People's Medical Publishing House. Beijing. China
- Park JH, Hong SI, Jeong MC, Kim D. 2013. Quality characteristics and changes in mulberry (*Morus alba* L.) depending on their maturity during distribution. *Korean J Food Preserv* 20:304-316
- Roh YK, Park SH, Jang SH, Sung JJ. 2000. Analysis of components and leaf yield by cultivar for persimmon leaf tea. *Korean J Postharvest Sci Technol* 7:99-102
- Song YB, Lee KS, Lee MS, Kim AJ. 2013. Bioactivity changes in mung beans according to the roasting time. *Korean J Food & Nutr* 26:502-507
- Takayanagi H, Nakagawa M. 1978. Distribution of the chemical constituents in different position of tea shoot. *J Tea Res* 47:48-52
- Tibbot BK, Skadsen RW. 1996. Molecular cloning and characterization of a gibberellin-inducible, putative α -glucosidase gene from barley. *Plant Mol Biol* 30:229-241
- Ye EJ, Bae MJ. 2010. Comparison of components between mulberry leaf tea and fermented mulberry leaf tea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39:421-427
- Yoo KM, Kim CE, Kim DI, Huh D, Hwang IK. 2005. Antioxidant activity and physicochemical characteristics of tangerine peel tea with *Citrus unshiu* cultivated in Cheju. *Korean J Food Cookery Sci* 21:354-359

Received 07 October, 2016

Revised 26 October, 2016

Accepted 19 December, 2016