

구기자 맥주의 물리적 특성 및 항산화 효과

강명화 · 최창숙 · 정혜경

호서대학교 자연과학부 식품영양전공

(2003년 11월 8일 접수)

Physical properties and antioxidant activities of *Lycii fructus* beer

Myung Hwa Kang, Chang Suk Choi, and Hae Kyung Chung

Dept. of Food Science & Nutrition, College of Natural Science, Hoseo University, Asan, Korea

(Received November 8, 2003)

Abstract

This study was conducted to investigate the effect of physical properties and antioxidant activities of the beer made by *Lycii fructus* for development of functional beer. Physical properties such as Brix°, pH and hunter values were determined and compared with commercial beer. L(lightness) value was not significant difference among beer, although a(redness) and b(yellowness) values were higher in *Lycii fructus* beer than those of the commercial beer. Total phenolic acid contents were 0.790 mg/mL in *Lycii fructus* beer and 0.603 mg/mL in commercial beer. Electron donatin ability was 93% in *Lycii fructus* beer and 87% in commercial beer. *Lycii fructus* beer showed higher SOD-liked activities than in the commercial beer. The relative antioxidant effects of the *Lycii fructus* beer showed 19% inhibitory effect on the peroxidation of egg yolk lecithin.

Key Words : *Lycii fructus* beer, phenolic acid, SOD-liked activity, Electron donatin ability

I. 서론

구기자(*Lycii fructus*)는 구기자나무(*Lycium chinese Miller*)의 성숙한 과실로써, lysine, threonine, methione과 같은 필수아미노산과 탄닌성분이 풍부하게 함유되어 있다.^{1,2)} 구기자 내에 함유되어 있는 uracill, betain, rutin과 같은 물질들이 혈당강하 효과를 나타내고,³⁾ 구기자차 음용은 카드뮴의 체내축적을 감소시킨다고 한다.⁴⁾ 호도를 이용한 저장안정성 조사에서 영지(*Ganoderma lucidum*)와 녹차(*Camellia sinensis*)보다 구기자 물추출물이 훨씬 높은 항산화 활성을 나타내며,⁵⁾ 구기자 추출물이 *E. coli*의 생육

억제 작용 및 *L. casei*, *L. acidophilus*와 같은 젖산균의 생육을 촉진시키는 것으로 관찰되었다.^{6,7)} 이러한 구기자의 약리작용을 이용한 식품개발 중 구기자주의 저장안정성에 대한 연구가 시도되었지만,⁸⁾ 구기자주의 항산화효과에 대한 연구는 보고된 바 없다.

전통약주에 대해서는 Chung 등⁹⁾이 한약재가 첨가된 발효주의 암세포 증식억제 효과를 보고하였고, 자두(*Prunus salicina*)를 이용한 발효주와 침출주의 SOD 유사활성과 tyrosinase 저해활성이 높은 것으로 나타났다.¹⁰⁾ 또한, 모과(*Chaenomeles sinensis*)의 발효주와 침출주도 기관지 질환에 관여하는 *S. aureus*,

*K. pneumonia*에 대한 강한 항균활성을 나타내어,¹¹⁾ 다양한 한약재나 과실을 이용한 발효주의 약리효능이 증명되었다. 그러나, 탁주와 약주의 출고량은 1966년에 전체 주류의 72%에서 1997년에는 6%로 급격히 감소하였고, 맥주는 5%에서 57%로 급증하였다.¹²⁾ 즉, 주류의 선택에 있어서 소비자의 기호도가 점차 알콜 함량이 적은 주류를 선호하는 경향을 나타내고 있다. 또한, 최근에는 마이크로 브루어리(micro brewery)라 하여 소규모 맥주 생산 설비로 맥주를 생산하고, 다양한 맛과 향을 가진 맥주를 즐길 수 있다는 장점 때문에 사람들의 관심이 날로 증가하고 있으며, 이러한 업체들의 성행과 함께 홈 브루어리(자가 맥주제조)를 통해 직접 맥주를 제조하는 사람들도 늘고 있는 추세이다.

따라서, 본 연구에서는 구기자를 이용하여 맥주를 제조하였고, 구기자 맥주의 물리적 특성 및 항산화 효과를 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시료조제

본 실험에 사용된 구기자는 2002년 청양 구기자 시험장에서 재배된 구기자로, 수확 후 건조된 구기자를 분양 받아 냉장보관하면서 사용하였다. 구기자액은 건구기자(4%, w/v)를 증류수에 넣어 80°C에서 3시간 동안 추출하여 감압여과 한 후 구기자 맥주 제조시 첨가하였다. 맥아즙, 물엿, 호프를 100°C에서 30분~1시간 30분 동안 가열한 후 냉각시키고 구기자액, yeast starter를 첨가하여 20~20°C에서 2일간 1차 발효시켰다. 그리고, 20분 동안 산소를 주입 후 3일 동안 2차 발효를 실시하였고, 발효조로 옮겨 5일 동안 저온 숙성시켰으며, 이때 구기자의 최종농도는 0.2%(w/v)로 조제하였다(Fig. 1).

2. 물리적 측정

구기자 맥주의 명암도(lightness, L), 적색도(redness, a), 황색도(yellowness, b)는 색도계(CR-200, Minolta Co, Japan)로, 당도는 당분농도계(N1, ATAGO, Japan)로 측정하였고, pH는 pH meter를

이용하였다.

3. 페놀성 화합물 정량

제조된 맥주의 페놀성 화합물 측정은 AOAC의 Folin-Denis법¹³⁾을 일부 변형하여 비색정량 하였다. 시료에 Na₂CO₃ (2%,w/v)를 가하고 2분간 실온에 방치한 후 1 N Folin-Denis 시약을 혼합하여 실온에 30분 정치한 후 750nm에서 흡광도를 측정하였다. 페놀성화합물의 양은 chlorogenic acid를 이용하여 표준 곡선을 작성하여 계산하였으며, 모든 정량은 3회 반복하였다.

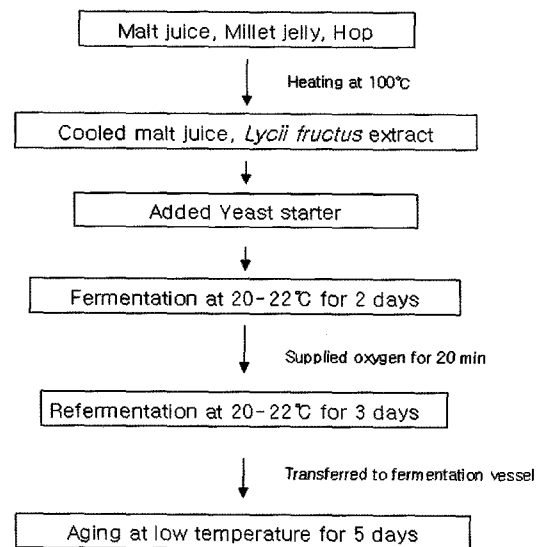
4. 전자공여능(Electron donating ability) 측정

구기자 맥주의 전자공여능은 Brand-Williams등¹⁵⁾의 방법을 일부 변형하여 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl)에 대한 전자 공여능(electron donating ability)으로 측정하였다. 제조된 구기자 맥주에 DPPH 시약을 가하고 잘 섞은 후 실온에서 30분 방치 후 517nm에서 흡광도를 측정하여 다음과 같이 계산하였다.

$$EDA(\%) = 100 - (A/B \times 100)$$

A : 시료 첨가군의 흡광도

B : 시료 무첨가군의 흡광도



<Fig. 1> Preparation schema of *Lycii fructus* beer.

5. Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정

SOD 유사활성 측정은 Marklund등¹⁶⁾의 방법을 일부 변형하여 제조된 맥주에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer와 0.2mM pyrogallol를 가하여 25°C에서 10분간 방치 한 후 1 N-HCl로 반응을 정지시킨 후 420nm에서 흡광도를 측정하여 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{SOD-like activity}(\%) = 100 - [(\text{시료첨가군의 흡광도} / \text{시료무첨가군의 흡광도})] \times 100$$

6. 지방산패

일정량의 egg yolk lecithin을 chloroform에 녹인 후 질소 가스로 용매를 완전히 휘발시키고 구기자 맥주에 2mM FeSO₄, 2mM ascorbic acid를 첨가하여 잘 섞은 후 37°C에서 30분간 incubation 한 후 지질 과산화물을 thiobarbituric acid reactive substance (TBARS)법¹⁴⁾에 의하여 측정하였다. 제조된 맥주의 항산화 효과는 일반 시판맥주와 비교하였고 계산은 다음과 같이 하였다.

$$\text{Relative antioxidant effect(RAE) TBARS}(\%) = (A-B)/A \times 100$$

- A : 시료 무첨가군의 흡광도
- B : 시료 첨가군의 흡광도

7. 통계처리

실험결과는 SAS program을 이용하여 각 실험군마다 평균과 표준편차로 계산하였고, 각 실험군간의 비교는 ANOVA로 분석한 후, 유의적인 차이는 $\alpha=0.05$ 에서 Duncan's multiple range test에 의해 검정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 물리적 특성

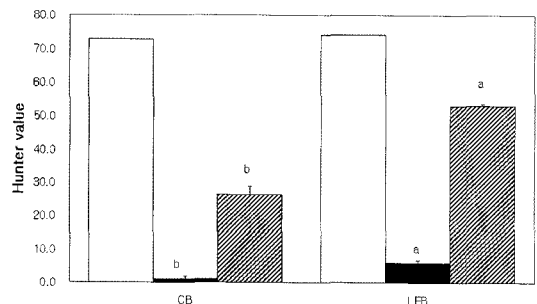
구기자 맥주의 색도를 Hunter 색도계로 측정된 결과는 <Fig. 2>와 같다. 구기자 맥주의 명암(L)은 일반 시판맥주(commercial beer : CB)와 비교해 차이가 나지 않았고, a(적색도)와 b(황색도)값이 높았다.

높은 적색도와 황색도는 구기자의 고유한 색으로부터 유래된 것이라 생각된다. 구기자 맥주가 일반 시판 맥주와 비교해 적색도와 황색도는 높은 반면 명암은 차이가 나지 않은 이유는 구기자 내에 함유되어 있는 탄닌성분이 맥주의 청징화에 도움을 준 것으로 생각된다. Choi 등¹⁷⁾은 도토리 분말을 약주 제조시에 사용했을 때 청징도가 저장기간에 따라 점차적으로 증가하였고, 도토리의 탄닌성분이 단백질 등의 부유물질과 결합하여 응집체를 형성하여 침전을 용이하게 하기 때문인 것으로 보고하였다. Saito 등¹⁸⁾도 포도씨에 함유되어 있는 (+)-catechin을 비롯한 탄닌성분들이 BSA(bovine serum albumin)와 결합하는 성질이 있는 것으로 보고하고 있다.

당도(Brix°)도 구기자 맥주가 일반 시판 맥주보다 약 1.3배 높았고, pH는 두 맥주간에 차이가 나타나지 않았다<Table 1>. 구기자맥주의 당도가 높은 것은 구기자 액에서 유래된 것으로 생각되며, 이러한 단맛이 기호적으로 훨씬 더 부드럽고 순한 맥주의 맛을 부여할 수도 있을 것으로 사료된다.

2. 페놀성 화합물과 전자공여능

일반 시판맥주와 구기자 맥주의 총페놀함량 측정 결과는 <Fig. 3>와 같다. 총페놀함량은 당도와 같이 일반 시판맥주보다 구기자 맥주가 높은 것으로 나타났다. 이것은 구기자에 함유되어 있는 polyphenol계 화합물이 물추출 과정중 유출되어 최종적으로



<Fig. 2> Hunter values of commercial beer and *Lycii fructus* beer.

(CB : Commercial beer, LFB : *Lycii fructus* beer) □ : L(lightness), ■ : a(Redness), ▨ : b(Yellowness). Different letters indicate statistical difference at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.

<Table 1> Brix^o and pH of commercial beer and *Lycii fructus* beer.

	Brix ^o	pH
Commerical beer	4.6±0 ^b	3.62±0.03
<i>Lycii fructus</i> beer	6.0±0 ^a	6.63±0.01

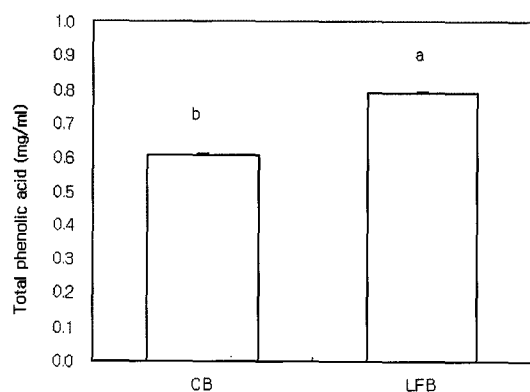
Different letters indicate statistical difference at α =0.05 by Duncan's multiple range test.

맥주의 페놀함량에 영향을 미친 것으로 사료된다.

DPPH법을 이용한 전자공여능을 측정한 결과 구기자 맥주는 53.77%, 일반 시판맥주는 43.77%로 나타나 구기자 맥주의 항산화 활성이 높은 것으로 나타났다(Fig. 4). Lee 등¹⁰⁾은 자두를 이용하여 침출주와 발효주를 제조하여 항산화력을 측정한 결과 발효주는 25.2%, 침출주는 침출기간이 120일 이었을 때 67% 인 것으로 보고하였다. 발효주에 비해 침출주가 항산화력이 높은 이유는 단기적인 발효기간에 비해 침출기간이 증가하면서 지속적으로 자두 속에 함유되어 있는 기능성 물질이 용출되었기 때문인 것으로 판단된다. 본 연구에서는 구기자 액을 제조할 때 열수추출법을 사용하였는데, 침출법과 열수추출법의 차이를 분석해 볼 필요가 있는 것으로 사료된다.

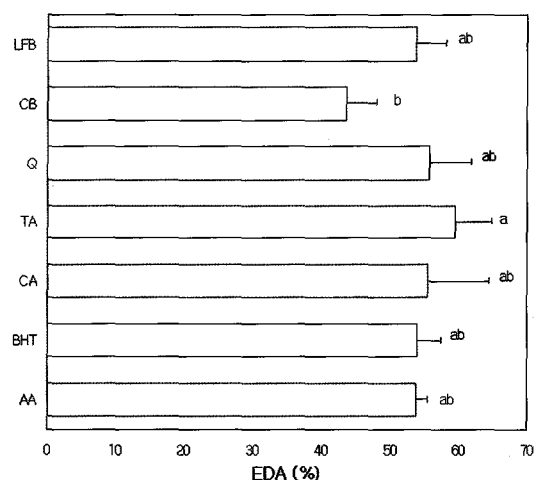
3. SOD 유사활성

Pyrogallol은 수용액에서 자동산화가 빠르게 일어나는데 여기에는 superoxide가 관여한다고 알려져



<Fig. 3> Total phenolic acid contents of commercial beer (CB) and *Lycii fructus* beer (LFB).

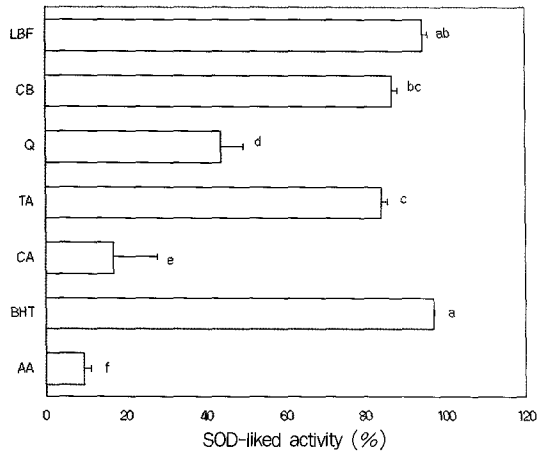
Different letter indicate statistical difference at α=0.05 by Duncan's multiple range test.



<Fig. 4> Electron donating ability of *Lycii fructus* beer.

Each bar is the mean±standard deviations for triplication experiment. Different letters indicate statistical difference at α=0.05 by Duncan's multiple range test. (AA : Ascorbic acid, BHT : Butylated hydroxytoluene, CA : Chlorogenic acid, TA : Tannic acid, Q : Quercetin , CB : Commercial beer, LFB : *Lycii fructus* beer)

있다.¹⁹⁾ 그러므로 SOD나 SOD유사활성물질이 존재하는 경우 자동산화가 억제될 수 있으며, 억제되는 정도를 비교하여 실험대상 물질의 효능을 비교할 수 있다. 따라서, 구기자 맥주를 pyrogallol 산화가 일어날 수 있는 수용액에 첨가한 후 superoxide가 관여하는 pyrogallol의 자동산화를 감소시키는 효과를 측정하는 경우 SOD효소 자체는 아니더라도 SOD의 작용과 유사한 superoxide를 소거하는 역할로 간주할 수 있다. 분석결과, 구기자 맥주와 일반 시판맥주 간의 유의적인 차이는 나타나지 않았지만, 두 맥주 모두 SOD 유사활성이 BHT와 같은 강한 항산화제와 비슷한 수준의 항산화 효과를 나타내었다(Fig. 5). SOD 유사활성은 구기자 맥주 94.34%, 일반 시판 맥주 86.89%로 나타났다. Lee 등¹¹⁾은 모과주의 SOD 유사활성 측정결과 22.2-24.8%로 보고한 바 있다. 한편 Lee 등¹⁰⁾은 자두를 60일 침출시킨 술의 경우 61.5%로 보고하여 구기자 맥주의 항산화 활성은 높은 것으로 관찰되었다.



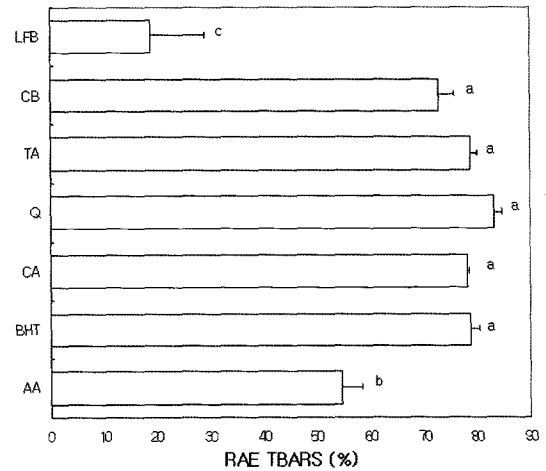
<Fig. 5> SOD-like activity of *Lycii fructus* beer.

Each bar is the mean \pm standard deviations for triplication experiment. Different letters indicate statistical difference at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test. (AA : Ascorbic acid, BHT : Butylated hydroxytoluene, CA : Chlorogenic acid, TA : Tannic acid, Q : Quercetin , CB : Commercial beer, LFB : *Lycii fructus* beer)

4. 지방산과

Lecithin을 기질로 하여 지질과산화물 생성 억제 시험에서는 <Fig. 6>에 나타난 것과 같이 ascorbic acid 55%, BHT 79%, chlorogenic acid 78%, quercetin 83%, tannic acid 79%, commercial beer 73% 그리고 *Lycii fructus* beer 19%로 나타났다. 총페놀함량과 SOD 유사활성이 높았던 구기자 맥주에서 지방산화 생성물의 함량이 높은 것은 당도가 높은 구기자 맥주가 실험과정 중 가열로 인한 maillard 반응 단계에서 갈색화물질이 다량 생성되어 흡광도에 영향을 미친 것으로 생각된다. TBA 측정법은 불포화 지질로부터 과산화 반응에 의해 생성되는 lipid peroxide, malondialdehyde 등과 TBA 시약이 반응하여 적색 색소를 생성하는 원리는 이용하여 정량하는 방법으로, 본 실험에서는 반응 직후 반응물의 색이 붉은색이 아닌 갈색으로 변하였다. Shim 등²⁰⁾은 가열온도에 따라 백삼 추출물의 갈변도가 상승하고, 적색도(a)와 황색도(b)가 증가하는 것으로 보고하였다. 본 연구결과에서는 당도가 높은 구기자 맥주가 가열로 인해 갈색화 물질을 생성시켜 흡광도를 상승시킨 것으로 사료된다.

구기자 추출물의 경우 영지나 녹차 추출물에 비해 호도의 저장성을 높이는데 훨씬 더 우수한 효과



<Fig. 6> Relative antioxidant effects (RAE) of *Lycii fructus* beer on the peroxidation of egg yolk lecithin.

Each bar is the mean \pm standard deviations for triplication experiment. Different letters indicate statistical difference at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test. (AA : Ascorbic acid, BHT : Butylated hydroxytoluene, CA : Chlorogenic acid, TA : Tannic acid, Q : Quercetin , CB : Commercial beer, LFB : *Lycii fructus* beer)

를 나타냈고,⁵⁾ 분말멸치의 저장기간에 미치는 영향도 녹차와 BHT 보다도 높은 것으로 보고되어 있는 바,²¹⁾ 이것은 산패도 측정에 있어 AV(acid value)와 POV(peroxide value)와 같은 실험방법 상의 차이 때문인 것으로 생각된다.

IV. 요약 및 결론

구기자를 이용하여 맥주를 개발하여 구기자 맥주의 물리적 특성과 항산화 효과를 측정하였다. 구기자 맥주의 색도를 측정된 결과, 적색도와 황색도가 일반 시판 맥주보다 유의적으로 높았고, 당도와 총페놀함량도 높은 것으로 나타났다. 전자공여능은 구기자 맥주가 일반 시판맥주보다 높으며, 기존의 항산화제와 비교해도 높은 활성을 지닌 것으로 나타났다. SOD 유사활성도 구기자 맥주가 일반 시판맥주보다 높게 나타났고, chlorogenic acid 나 quercetin 보다도 높았다. 그러나, lecithin을 기질로 하여 지방산화 억제도를 측정된 결과, 일반 시판맥주와 기존의 항산화제에 비해 낮은 것으로 나타났는데, 이것

은 구기자 맥주내에 함유되어 있는 당이 실험방법 상 가열이라는 단계에서 maillard 반응으로 생성된 갈색화 물질 때문인 것으로 생각된다.

■ 참고문헌

- 1) Lee MY, Sheo HJ. Quantitative analysis of total amino acids and free sugars in *Lycii fructus*. J. Korean Soc. Food Nutri. 15: 249-252, 1986.
- 2) Oh SL, Kim SS, Min BY, Chung DH. Composition of free sugars, free amino acids, non-volatile organic acids and tannins in the extracts of *L. chinensis* M., *A. acutiloba* K., *S. chinensis* B. and *A. sessiliflorum* S. Korean J. Food Sci. Technol. 22: 76-81, 1990.
- 3) Kim KS, Shim SH, Jeong GH, Cheong CS. Anti-diabetic activity of constituents of *Lycii fructus*. The Journal of applied pharmacology 6: 378-382, 1998.
- 4) Han SH, Shin MK, Lee HS. Effect of Korean Gu-Gi-Ja tea on plasma hormone in Cd-administered rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutri. 30: 1272-1277, 2001.
- 5) Lee SK. Effect of water extracts of *ganoderma lucidum*, *camellia sinensis* and *Lycii fructus* on the lipid stability of walnut. J. Fd. Hyg. Safety 14: 333-338, 1999.
- 6) Lim SD, Kim KS, Kim HS, Choi IW, Park YK. A study on effects of medicinal herbs extract on the growth of lactic acid bacteria. Korean J. Dairy Sci. 19: 329-336, 1997.
- 7) Joo IS, Sung CK, Oh MJ, Kim CJ. The influence of *Lycii fructus* extracts on the growth and physiology of microorganism. J. Korean Soc. Food Sci. Nutri. 26: 625-631, 1997.
- 8) Choi SH, Lee MH, Shin CS, Sung C, Oh MJ, Kim CJ. Effect of storage condition on the quality of the wine and Yakju made by *Lycium chinense* Miller. Agric. Chem. Biotech. 39: 338-342, 1996.
- 9) Chung KS, Oh WT, Nam SM, Son BS, Park YS. Effect of Korean rice-wine(Yakju) on in vitro and in vivo progression of B16BL6 mouse melanoma and HRT18 human colon adenocarcinoma cells. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 1470-1475, 1998.
- 10) Seo SB, Han SM, Kim JH, Kim NM, Lee JS. Manufacture and physiological functionality of wines and liquors by using plum(*prunus slicina*). Korean J. Biotechnol. Bioeng. 16: 153-157, 2001.
- 11) Lee DH, Kim JH, Kim NM, Choi JS, Lee JS. Physiological functionality of chinese quince wine and liquors. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 17: 266-270, 2002.
- 12) Chung HK. A view of Korean alcoholic liquor industry in 21st century. Food Industry and Nutri. 4: 3-8, 1999.
- 13) AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 14th ed. 187-188, 1984.
- 14) Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. Methods in Enzymology 52: 302-306, 1978.
- 15) Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel Wissenschaft und-Technologie. 28: 25-30, 1995.
- 16) Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur. J. Biochem. 47: 469-474, 1974.
- 17) Choi SH, Bock JY, Nam SH. Effect of tannic substances from acorn (*Quercus acutissima carruthers*) on the storage quality of rice wine. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 1420-1425, 1998.
- 18) Saito M, Hosoyama H, Ariga T, Kataoka S, Yamaji N. Antiulcer activity of grape seed extract and procyanidins. J. Agric. Food Chem. 46: 1460-1464, 1998.
- 19) Gao R, Yuan Z, Zhao Z, Gao X. Mechanism of pyrogallol autoxidation and determination of superoxide dismutase enzyme activity. Bioelectrochem. Bioenergetics. 45: 41-45, 1998.
- 20) Lee JW, Lee SK, Do JH, Sung HS, Shim KH. Browning reaction of fresh ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) as affected by heating temperature. Korean J. Ginseng. Sci. 19: 249-253, 1995.
- 21) Lee SK. Effect of water extract from Gree Tea (*Camellia Sinensis*) and boxthorn (*Lycii fructus*) on the storage stability of powdered anchovy. J. Fd. Hyg. Safety 14: 238-243, 1999.