

소나무껍질추출물을 이용한 맥주의 품질특성

박주선 · 강성태*

서울과학기술대학교 식품공학과

Quality characteristics of beer with pine bark extract

Ju-Seon Park and Sung-Tae Kang*

Department of Food Science and Technology, Seoul National University of Science and Technology

Abstract

The pine bark extract was added during the beer manufacturing process to develop a functional beer using natural plant materials. Pilsner beer was prepared by adding 0-0.125% to the wort. Immediately before fermentation, extracts were added with yeast cultured twice for 48 hours, and fermentation was carried out at 25°C for 5 days and storage was carried out at 2°C for 15 days. In the experiment, pH, reducing sugars, soluble solid contents, specific gravity, alcohol contents, chromaticity, total flavonoids, total polyphenols, DPPH, and yeast number were tested during fermentation and storage to characterize. The pH, reducing sugar, soluble solid contents, specific gravity, and alcohol contents of the six samples were not significantly different during fermentation and storage. However yeast number, flavonoids, polyphenols, and DPPH were higher at higher pine bark extract contents. L value in chromaticity was the highest in control, and a value and b value were higher as the amount of extract added. In the sensory test, beer with 0.05% pine bark extract showed the best color, sweetness and aroma. Therefore, it was judged that it is desirable to prepare beer by adding 0.05% pine bark extract to pilsner beer.

Key words : pinexol, functional beer, antioxidant, pine bark, fermentation

서 론

현재 영양가가 높고 지방이 적으며, 질병으로부터의 위험에 대해 부정적 관계가 있다고 과학적으로 인정된 생체 활성 화합물들이 많이 존재하는데, 이러한 물질들이 풍부한 음식들에 대한 소비자의 관심이 증가하고 있다 (Roberfroid, 2007; S. Ruggeri et al., 2008). 그중에서도 특히 식물성 천연 물질에 대한 관심이 증가하면서 천연 물질의 기능성 물질 연구가 활발하게 이루어지고 있고, 수목의 잎이나 목재 등의 추출성분 중 생리기능이 뛰어난 물질들의 활용방안 연구도 신속히 진행되고 있다. 하지만 이러한 연구는 대부분 (Lee & Park, 2011; Sung et al., 2014)과 같이 침엽수가 주로 이용되어 왔으며 침엽수 활용에 대한 연구는 매우 제한적이다 (Jang et al., 2008).

대표적인 침엽수의 하나인 소나무(*Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.)는 한국, 중국, 일본 등에 주로 자생하며 사철 푸

른나무로 잎에는 클로로필과 비타민이 풍부하며, 플라보노이드, 안토시안, 카로틴, 수지 등이 함유되어 있어서 예로부터 건강식품으로 많이 이용되어왔다 (Lim et al., 2001b; Ryu et al., 2017). 특히 한국에서의 적용은 오래 전부터 전통 의약품 영양제로 사용되어 왔다. 또한 소나무에 존재하는 항산화물질이 노화 방지 및 심혈관질환, 암, 고혈압 그리고 당뇨병과 같은 만성 질환을 예방해준다고 한다 (Supeno et al., 2017).

그중 소나무 껍질엔 polymer 형태의 polyphenol 성분이 50년 이상 축적된 물질로서 주로 함유되어 있고 강력한 항균활성 (Lim et al., 2001a; Lim et al., 2001b; Torras et al., 2005), 항산화활성 (Shin, 2005), 관능 및 저장성 증진 (Hong et al., 2008; Park, 2009), 면역력 증진 등 항염증 활성을 포함한 다양한 인체생리활성 효능을 지닌 것으로 보고되었다 (Park, 2009).

또한 프랑스 해상 소나무 껍질에서 추출한 분말형태의 추출물인 pycnogenol은 천연의 polyphenol계 항산화물질 bioflavonoids가 들어있는 물질로 세계에서 가장 많이 사용되는 허브 성분 식품 보충제 중 하나다 (Rohdewald, 2005). 해외에서는 pycnogenol을 이용한 다양한 실험과 요구르트, 과일 주스 등의 제품 연구 (Ruggeri et al., 2008; Frontela et al., 2010)가 활발히 이루어지고 있다. 한국에서는 국내

*Corresponding author: Sung-Tae Kang, Department of Food Science and Technology, Seoul National University of Science and Technology, Seoul 01811, Korea
Tel: +82--2-970-6736; Fax: +82-
E-mail: kst@seoultech.ac.kr

Received October 00, 2013; revised November 00, 2013; accepted November 00, 2013

적송 솔잎을 이용한 쿠키, 빵 등의 다양한 연구(Jin et al., 2006; Choi et al., 2007)가 이루어지고 있지만 소나무껍질 추출물을 이용한 제품 연구는 막걸리, 유기축산 사료첨가제(Kim et al., 2009; Supeno et al., 2017) 외에는 부족한 실정이다(Ryu et al., 2017). 그러나 pycnogenol의 연구 사례처럼 국내 적송에서 추출한 소나무껍질추출물인 pineXol 또한 다양한 제품으로 개발될 수 있을 것으로 기대된다(Park, 2009).

맥주는 보리를 말아서 맥아를 만들 때 생기는 α -amylase, β -amylase 효소들이 전분을 분해하여 당분을 만들고 생성된 당을 효모가 이용해 발효시켜 만든 단핵복 발효형 발효주이다(Jung & Chung, 2017; Sung & Lee, 2017). 현재 맥주 생산 기술은 대체 식물성 원료를 첨가하여 새로운 품종을 개발하는 것을 목적으로 하고 있으며, 이것은 음료에 특정한 맛을 부여하고 농산물에 대한 수요를 증가시킨다(Natalia Penkina et al., 2017a). 또한 식물성 원료를 첨가함으로써 맥주에 산화방지제로서의 역할을 하며 인체에 미치는 알코올의 산화 및 독성 영향을 줄일 수 있고, 기능적인 효과, 관능적 향상 그리고 더 긴 유통기한을 가질 수 있는 이점이 있다(Natalia Penkina et al., 2015; Natalia Penkina et al., 2017b).

따라서 본 실험에서는 천연 식물성 기능성 물질 중 하나인 pineXol을 맥주 발효 과정 중에 다양한 비율로 첨가하여 항산화기능과 관능적 특성이 향상된 기능성 맥주를 개발하고자 한다.

재료 및 방법

재료

본 연구에 사용된 소나무껍질추출물(PineXol)은 뉴트라팜에서 강원도 적송을 원료로 만든 것으로 2018년 10월 16일에 제조한 제품이다. 맥주 제조 시 필요한 재료 Pilsen malt (Briess, Chilton, USA), Cascade 4.5-7% pellets (Yakima Chief, Washington, USA) 그리고 Safale US-05 yeast (*Saccharomyces cerevisiae*, Belgium)는 서울홈브루(Seoul Homebrew, Seoul, Korea)에서 구입하였다. 맥아는 분쇄 후 표준체(12 mesh)를 사용하여 체에 통과시킨 후 사용하였다. 맥주의 발효에 필요한 균주는 맥아 23.5 g과

증류수 100 mL를 당화과정과 멸균과정을 거친 맥즙에 효모를 1 g을 넣고 25°C에 48시간 2회 계대배양 시켜 준비했다.

맥주 제조 방법

소나무껍질추출물 맥주는 Yang et al. (2017)의 방법을 참고하여 Table 1의 배합비에 따라 배합하고 Fig. 1의 방법으로 맥주를 제조하였다. 분쇄 과정을 거친 맥아를 항온수조에서 67°C로 60분간 10분마다 30초씩 100 rpm으로 흔들며 당화액을 제조하였다. 이후 맥아는 걸러내고 홉을 첨가한 뒤 60분간 가열하고 30°C까지 chilling과정을 거쳤다. Ale 맥주 발효에 첨가한 효모액은 맥아즙 총량의 0.5%(v/v)로 생존 균수가 5 log CFU/mL 수준이 되도록 계산하여 wort에 첨가하였고 이 과정에서 소나무껍질추출물을 각 시료별로 일정 비율 첨가하였다.

비중 및 pH

소나무껍질추출물맥주의 비중은 100 mL 메스실린더에 시료 100 mL를 넣고 비중계(200-DK-6, Deakwang, Seoul, Korea)를 이용하여 측정하였고, pH는 pH meter (PHM 210, Radiometer, Lyon, France)를 이용하여 측정하였다.

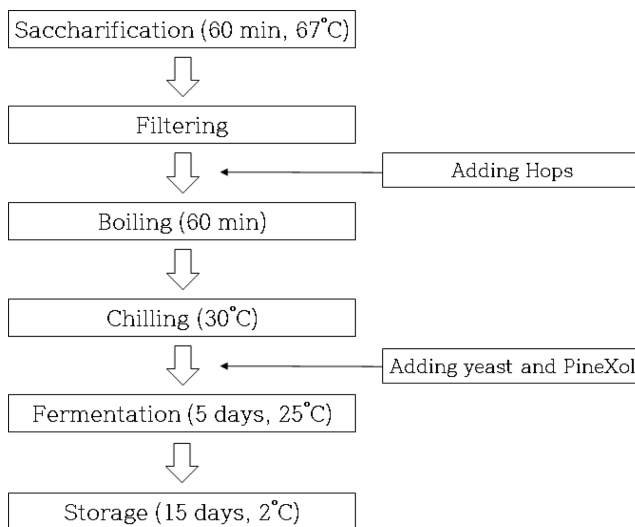


Fig. 1. Flow diagram of pine bark extract beer preparation.

Table 1. Formation for the preparation of pine bark extract beer

	Beer samples					
	Control	p0.025	p0.05	p0.075	p0.1	p0.125
Malt (g)	372	372	372	372	372	372
Pine bark extract ¹⁾ (%) ²⁾	0	0.025	0.05	0.075	0.1	0.125
Hop (g)	2	2	2	2	2	2
Water (mL)	1600	1600	1600	1600	1600	1600

¹⁾Pine bark extract : The ratio to the wort after lautering

²⁾% means the rate of pine bark extract in beer.

효모 수

멸균 식염수 9 mL에 시료 1 mL를 혼합하여 10배 단계 희석법으로 희석한 후, 각각의 희석액 1 mL를 취하고 배지를 분주하였다. 균수 측정배지는 PDA배지(Potato Dextrose Agar; Difco, NJ, USA)를 사용하였고, 25°C 항온기에서 72시간 배양한 후 생성된 집락수를 계수하였다.

색도

원심분리를 과정을 거친 시료의 상등액 10 mL를 투명한 페트리접시(50×12 mm)에 담아 색차계(Color Reader, CR-20, Konica Minolta, Inc., Tokyo, Japan)를 사용하여 Hunter L (lightness), a (redness), b (yellowness)를 측정하였다. 이때 표준 백색판의 L, a, b 값은 각각 95.1, -0.1, 3.9이었다.

환원당

환원당 측정은 DNS법으로 측정하였다. 시험관에 DNS 용액 2 mL, 증류수 7 mL 그리고 시료 1 mL를 혼합하여 증탕으로 105°C에서 5분간 가열하였다. 가열된 시료의 온도를 상온까지 낮추어 UV spectrophotometer (Genesys10 UV, Thermo spectronic Co., US)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 glucose (Sigma-aldrich Co., Germany)를 단계별 희석하여 작성하였다.

가용성 고형분 및 알코올 함량 측정

가용성 고형분은 당도계(N-2E, Atago, Tokyo, Japan)로 측정하여 Brix°로 나타내었다. 맥주의 알코올 함량은 증류법으로 분석하였으며, 증류 후 알코올-온도 보정표에서 15°C로 보정한 알코올 함량을 표준 보정곡선에 대입하여 알코올 함량(% , v/v)을 계산하였다.

총 플라보노이드 및 폴리페놀 함량

총 플라보노이드 함량은 Zhishen et al. (1999)의 방법을 참고하여 표준물질로 catechin을 사용하여 aluminium trichloride방법에 따라 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 Taga et al. (1984)의 방법을 약간 변형시켜 Folin-ciocalteau 법에 따라 측정하였고, 표준물질로는 gallic acid를 사용하였다.

DPPH radical scavenging activity

DPPH 자유라디칼에 대한 환원력 측정은 Blois의 방법에 따라 Cho et al. (2009)의 방법을 응용하여 측정하였다. Methanol에 맥주 시료를 10배 희석한 다음 20분간 원심분리하여 얻은 상등액을 분석시료용액으로 사용하였다. 분석시료용액과 0.2 mM DPPH 용액을 1:4 비율로 혼합한 것을 96 well plate에 triple로 분주하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 methanol을 대조군으로 하여 ELISA reader (BioTek Instruments Inc., Winooski, VT, USA)로 520 nm

에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 다음과 같은 식으로 구하였다.

$$\text{Electron donating ability (\%)} = (1 - A/B) \times 100$$

A: 시료 첨가구의 흡광도, B: 대조군의 흡광도

관능검사

맥주의 관능검사는 관능평가 경험이 있는 서울과학기술대학교 식품공학과 재학생 40명을 대상으로 하였고 평가항목은 색상, 단맛, 신맛, 쓴맛, 입안에서의 느낌, 향기 그리고 종합적 기호도로 이루어졌다. 평가 방법은 9점 척도법으로 선호도가 매우 낮으면 1점, 매우 높으면 9점을 표시하도록 하였다.

통계처리

본 연구의 실험결과들은 SPSS 22.0 (Statistical package for social science, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 평균값과 표준편차를 계산하고, 분산분석(ANOVA)을 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 다중범위 검정(Duncan's multiple range test)을 실시하여 시료 간 유의적인 차이를 검증하였다.

결과 및 고찰

가용성 고형분, 환원당, 비중

발효와 저장 기간 동안 소나무껍질추출물 맥주의 가용성 고형분, 환원당 그리고 비중은 Table 2에 제시한 바와 같다.

모든 시료에서 발효 0일차에 가용성 고형분은 12.5 Brix° 수준으로 유사했으며, 발효 기간에 많은 감소를 보였고 저장 기간에는 5.5-5.6 Brix°로 평이한 수준을 보였다.

환원당도 가용성 고형분과 유사하게 모든 시료에서 맥주 제조 후에 11 g/100 mL의 값을 보였고, 발효 기간에 많은 감소를 보였으며 저장 기간에는 1.4-1.5 g/100 mL의 값을 나타냈다.

마찬가지로 비중도 발효 0일차에 모든 맥주 시료에서 1.054-1.055 g/cm³의 값을 나타냈고, 발효 기간에 값이 매우 감소하여 저장 기간에는 1.008-1.010 g/cm³의 값을 보였다.

pH

맥주의 발효와 저장 기간 동안의 pH 값은 Table 2에 나타난 것과 같다. 제조 직후 pH는 소나무껍질추출물의 함량이 높을수록 더 낮은 pH를 보였다. 그리고 모든 맥주 시료에서 발효가 끝난 후 pH는 매우 감소하였고, 그 후 유의적으로 상승하였다($p < 0.05$). 저장이 끝난 맥주 중 대조군을 제외하고는 추출물의 함량이 높을수록 pH가 더 낮은 수치를 나타내었고 Lee et al. (2017)의 결과와 비슷한 수치를 보였다.

Table 2. Soluble solid contents, reducing sugar, specific gravity and pH of pine bark extract beer during fermentation and storage

	Days	Control	p0.025	p0.05	p0.075	p0.1	p0.125
Soluble solid contents (brix°)	0	12.50±0.10 ^{1)NS3)A2)}	12.47±0.06 ^A	12.53±0.06 ^A	12.50±0.00 ^A	12.47±0.06 ^A	12.53±0.06 ^A
	5	5.73±0.06 ^{NSB}	5.73±0.06 ^B	5.70±0.00 ^B	5.73±0.06 ^B	5.73±0.06 ^B	5.73±0.06 ^B
	10	5.70±0.00 ^{aBC}	5.67±0.06 ^{abBC}	5.67±0.06 ^{abBC}	5.63±0.06 ^{abC}	5.60±0.00 ^{bc}	5.60±0.00 ^{bc}
	15	5.63±0.06 ^{NSBC}	5.60±0.00 ^{CD}	5.67±0.06 ^{BC}	5.63±0.06 ^C	5.60±0.00 ^C	5.60±0.00 ^C
	20	5.60±0.00 ^{NSC}	5.67±0.06 ^D	5.60±0.00 ^C	5.57±0.06 ^C	5.53±0.06 ^C	5.53±0.06 ^C
Reducing sugar (g/100mL)	0	10.95±0.02 ^{cA}	11.06±0.01 ^{aA}	10.96±0.02 ^{bcA}	11.06±0.01 ^{aA}	10.98±0.01 ^{bA}	11.08±0.01 ^{aA}
	5	1.49±0.02 ^{aB}	1.42±0.01 ^{cC}	1.48±0.02 ^{abB}	1.49±0.02 ^{aB}	1.48±0.03 ^{abC}	1.44±0.02 ^{bcB}
	10	1.51±0.01 ^{abB}	1.49±0.03 ^{abcB}	1.44±0.02 ^{cB}	1.44±0.03 ^{cB}	1.52±0.01 ^{aB}	1.45±0.07 ^{bcB}
	15	1.49±0.02 ^{NSB}	1.50±0.01 ^B	1.46±0.07 ^B	1.42±0.08 ^B	1.47±0.03 ^C	1.46±0.07 ^B
	20	1.44±0.01 ^{bc}	1.43±0.03 ^{bc}	1.50±0.01 ^{ab}	1.45±0.02 ^{abB}	1.43±0.01 ^{bd}	1.43±0.06 ^{bb}
Specific gravity (g/cm ³)	0	55.00±1.00 ^{NSA}	54.33±0.58 ^A	54.67±0.58 ^A	54.33±0.58 ^A	54.67±0.58 ^A	54.33±0.58 ^A
	5	8.00±0.00 ^{NSD}	8.67±0.58 ^C	8.33±0.58 ^C	8.67±0.58 ^C	8.67±0.58 ^C	8.33±0.58 ^C
	10	8.67±0.58 ^{NSCD}	9.33±0.58 ^{BC}	9.33±0.58 ^{BC}	9.67±0.58 ^B	9.00±0.00 ^C	9.33±0.58 ^B
	15	9.67±0.58 ^{NSBC}	10.00±1.00 ^B	10.00±1.00 ^B	9.67±0.58 ^B	10.00±0.00 ^B	9.67±0.58 ^B
	20	10.00±0.00 ^{abB}	9.67±0.58 ^{bbC}	10.33±0.58 ^{ab}	10.00±0.00 ^{abB}	10.00±0.00 ^{abB}	10.00±0.00 ^{abB}
pH	0	5.48±0.01 ^{aA}	5.47±0.02 ^{aA}	5.46±0.01 ^{abA}	5.44±0.01 ^{bcA}	5.42±0.02 ^{cA}	5.38±0.02 ^{dA}
	5	4.37±0.01 ^{eD}	4.48±0.00 ^{aE}	4.47±0.02 ^{abD}	4.45±0.02 ^{bd}	4.42±0.00 ^{eE}	4.40±0.02 ^{dE}
	10	4.48±0.01 ^{dC}	4.59±0.00 ^{aD}	4.56±0.00 ^{bc}	4.51±0.00 ^{cC}	4.47±0.00 ^{dD}	4.46±0.01 ^{dD}
	15	4.56±0.02 ^{cdB}	4.63±0.00 ^{ab}	4.60±0.00 ^{bb}	4.56±0.01 ^{EB}	4.56±0.01 ^{cdB}	4.54±0.01 ^{dB}
	20	4.50±0.02 ^{dC}	4.61±0.00 ^{aC}	4.58±0.01 ^{bb}	4.55±0.01 ^{EB}	4.53±0.02 ^{cC}	4.51±0.01 ^{dC}

¹⁾Values are mean ± standard deviation ($n=3$).

²⁾values with different superscripts a row (a-e) and a column (A-E) are significant at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

³⁾NS means no significant difference ($p<0.05$).

⁴⁾Specific gravity is expressed as $(x-1)\times 1000$.

Table 3. L, a, b value of pine bark extract beer during fermentation and storage

	Days	Control	p0.025	p0.05	p0.075	p0.1	p0.125
L value	0	38.73±0.35 ^{1)ad2)}	38.13±0.42 ^{bc}	37.93±0.21 ^{bc}	37.70±0.30 ^{bb}	37.10±0.40 ^{cb}	36.87±0.06 ^{cb}
	5	40.23±0.42 ^{aC}	39.97±0.57 ^{abAB}	39.73±0.40 ^{abcAB}	39.67±0.42 ^{abcA}	39.20±0.36 ^{bcA}	38.93±0.38 ^{cA}
	10	40.43±0.15 ^{aBC}	39.83±0.32 ^{bAB}	39.57±0.38 ^{bcB}	39.47±0.47 ^{bcA}	39.10±0.30 ^{cA}	38.97±0.25 ^{cA}
	15	41.00±0.35 ^{aAB}	39.60±0.10 ^{bB}	39.53±0.55 ^{bb}	39.50±0.20 ^{ba}	39.10±0.40 ^{ba}	39.07±0.49 ^{ba}
	20	41.57±0.50 ^{aA}	40.57±0.40 ^{ba}	40.47±0.59 ^{ba}	40.20±0.61 ^{bcA}	39.63±0.49 ^{bcA}	39.50±0.35 ^{cA}
a value	0	-0.23±0.06 ^{cC}	-0.07±0.06 ^{dD}	0.03±0.06 ^{cB}	0.13±0.12 ^{bc}	0.20±0.10 ^{bc}	0.40±0.00 ^{ab}
	5	0.03±0.06 ^{dA}	0.20±0.00 ^{cA}	0.23±0.06 ^{cA}	0.37±0.06 ^{ba}	0.43±0.06 ^{abA}	0.47±0.06 ^{aAB}
	10	0.10±0.00 ^{eA}	0.20±0.00 ^{dA}	0.23±0.06 ^{cA}	0.33±0.06 ^{cA}	0.40±0.00 ^{ba}	0.50±0.00 ^{aA}
	15	-0.10±0.10 ^{eB}	0.03±0.06 ^{dC}	0.13±0.31 ^{cdAB}	0.20±0.00 ^{bcB}	0.30±0.00 ^{bb}	0.47±0.06 ^{aAB}
	20	-0.27±0.06 ^{cC}	0.10±0.10 ^{dB}	0.27±0.06 ^{cA}	0.30±0.00 ^{cA}	0.43±0.06 ^{ba}	0.53±0.06 ^{ab}
b value	0	4.43±0.12 ^{dA}	4.50±0.10 ^{cdA}	4.70±0.10 ^{cA}	4.97±0.12 ^{ba}	5.57±0.21 ^{aA}	5.80±0.17 ^{aA}
	5	3.33±0.12 ^{eB}	3.63±0.23 ^{deB}	3.93±0.15 ^{cdB}	4.23±0.06 ^{bcB}	4.43±0.29 ^{abB}	4.73±0.06 ^{ab}
	10	2.47±0.15 ^{cC}	2.87±0.06 ^{dC}	3.50±0.00 ^{cB}	3.80±0.20 ^{bcC}	3.90±0.10 ^{bc}	4.43±0.35 ^{aBC}
	15	1.00±0.20 ^{dD}	1.33±0.12 ^{dD}	2.40±0.46 ^{cC}	2.93±0.38 ^{bd}	3.37±0.15 ^{bd}	4.10±0.20 ^{aC}
	20	1.30±0.35 ^{dD}	1.60±0.35 ^{dD}	2.57±0.46 ^{cC}	2.90±0.00 ^{bcD}	3.40±0.26 ^{abD}	3.67±0.23 ^{aD}

¹⁾values are mean ± standard deviation ($n=3$).

²⁾values with different superscripts a row (a-e) and a column (A-D) are significant at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

L, a, b value

맥주의 발효와 저장 기간 중의 색도는 Table 3에 나타난 바와 같다.

L값은 발효와 저장 기간 전반에 걸쳐 소나무껍질추출물의 함량이 높을수록 유의적으로 더 낮은 값을 보였고, 전

시료에서 발효기간이 끝났을 때 L값이 높아졌다($p<0.05$). Yom (2008)의 연구에서 맥주의 polyphenol에 속하는 tannin은 맥주가 lagering하는 동안 tannin으로 변하여 단백질과 결합함으로써 haze particle이 된다고 한다. 또한 Siebert (2006)의 연구에서는 음료 혼탁의 큰 원인을 단백질과 폴

리페놀 사이의 상호작용이라고 하였다 따라서 껍질추출물의 함량이 더 높은 맥주의 L값이 더 낮은 것으로 보인다.

반대로 a값은 발효와 저장 기간 전반에 걸쳐 소나무껍질추출물의 함량이 높을수록 유의적으로 더 높은 값을 보였고 이는 Lim et al. (2001)의 실험에서 김치에 추출물을 넣었을 때 발효 기간 전반에 걸쳐 L값이 control이 제일 높았고, a값이 control이 낮은 것과 유사하였다($p < 0.05$). b 값 또한 소나무껍질추출물의 함량이 높을수록 유의적으로 더 높은 값을 보였으며, 발효와 저장 기간이 진행되면서 b 값은 전반적으로 낮아졌다.

효모 수, 알코올 함량

소나무껍질추출물 맥주를 25°C에서 5일간 발효시키면서 1일 마다, 2°C에서 15일간 저장하면서 5일마다 효모 수와 알코올함량의 변화를 측정하여 각각 Fig. 2, 3에 나타내었다. 초기 효모 수는 5.20 log CFU/mL 수준으로 조절하였다. 발효 2일차에 소나무껍질추출물의 첨가량이 높을수록 효모 수가 더 많았으며 p0.125가 7.85 log CFU/mL로 가장 높은 값을 보였다. 따라서 첨가구의 효모가 대조군의 효모보다 더 높은 발효력을 가진 것으로 판단하였고, 이에 대해서는 후에 추가 실험이 필요할 것으로 사료된다. 이후 발효 5일차까지는 모든 시료에서 유의적 차이를 보이지 않았으며 저장 기간에는 추출물의 함량이 높을수록 효모 수의 감소가 적었다($p < 0.05$). 저장 15일차에 모든 시료의 효모 수가 Jung & Chung (2017)과 같이 6.00 log CFU/mL 수준으로 감소하였고 대조군이 첨가구에 비해 6.25 log CFU/mL로 가장 낮은 값을 보였다. 이는 소나무껍질추출물의 항산화능이 활성산소로 인한 yeast stress를 효율적으로 감소시켜 효모의 생존력을 향상시킨 것으로 추측된다 (Jamieson, 1998; Yom, 2008).

맥주의 알코올 함량은 모든 시료에서 발효 3일차까지 크게 증가하다가 그 후로는 완만한 증가를 보였다($p < 0.05$). Kim et al. (2014)의 연구에 따르면 알코올의 변화는 환원

당이 매우 낮은 값을 유지하는 것과 밀접한 관련이 있다고 한다. 그리고 발효 2일차에서 소나무껍질추출물의 함량이 높을수록 더 높은 알코올 함량을 보였는데 Lee et al. (2013)의 연구에 따르면 효모의 발효력이 추출물의 함량이 더 많을수록 강해져서 시료별로 차이가 있었던 것으로 보인다($p < 0.05$). 저장 이후 맥주 시료에서의 알코올 생성은 6도 정도로 비슷한 수치를 보였다.

폴리페놀, 플라보노이드, DPPH radical scavenging activity

발효와 저장 중의 항산화실험에 대한 결과는 Table 4와 같다. 발효와 저장 과정을 거치면서 폴리페놀의 함량은 유의적으로 줄어들었다. 전반적으로 소나무껍질추출물의 함량이 높은 맥주일수록 폴리페놀의 함량이 높았지만 p0.1과 p0.125의 저장 15일차 폴리페놀 함량은 373 µg/mg 정도로 유사했다. 따라서 맥주에 소나무껍질추출물을 0.1% 이상 첨가하는 것은 바람직하지 않다고 판단되었다.

플라보노이드의 함량 또한 추출물의 함량이 높은 맥주가 더 많은 폴리페놀 함량은 보였다. 하지만 발효와 저장기간을 거치면서 추출물의 함량이 더 높은 맥주가 폴리페놀 함량의 감소 폭이 크게 보였다.

DPPH 라디칼 소거능도 마찬가지로 소나무껍질추출물의 함량이 더 많을수록 더 강한 항산화력을 보였다.

관능검사

소나무껍질추출물 맥주의 색, 단맛, 신맛, 쓴맛, 입안에서의 느낌, 향기, 전반적인 기호도를 평가한 결과를 Table 5에 나타내었다. 신맛, 쓴맛, 입안에서의 느낌, 전반적인 기호도의 평가 점수는 추출물의 첨가량에 상관없이 모두 유의적인 차이를 보이지 않았다($p < 0.05$). 한편 색은 대조군보다 첨가구의 기호도가 더 높았으며, 단맛과 향기의 기호도는 p0.05가 제일 높았다. 따라서 소나무껍질추출물을 0.05% 첨가한 맥주가 관능적으로 가장 우수하다고 판단되었다.

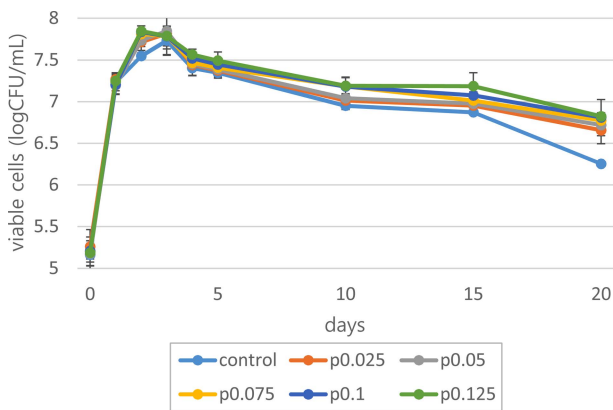


Fig. 2. Viable cell change of pine bark extract beer during fermentation and storage.

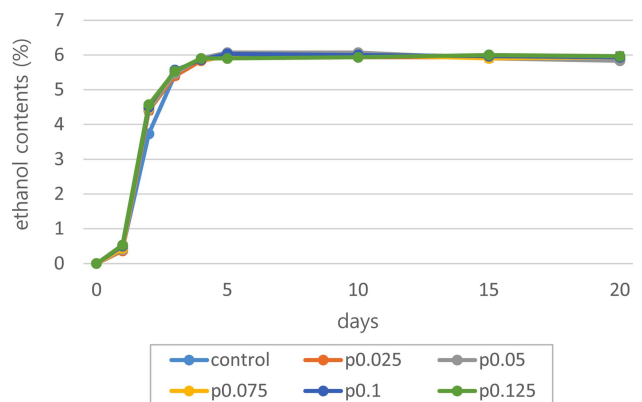


Fig. 3. Ethanol contents change of pine bark extract beer during fermentation and storage.

Table 4. Polyphenol, flavonoid and DPPH radical scavenging of pine bark extract beer during fermentation and storage

	Days	Control	p0.025	p0.05	p0.075	p0.1	p0.125
polyphenol ($\mu\text{g GAE}^4/\text{mg}$)	0	377.10 \pm 7.77 ^{1)(eA2)}	395.71 \pm 1.62 ^{dA}	415.95 \pm 10.64 ^{cA}	429.65 \pm 10.81 ^{cA}	464.42 \pm 2.13 ^{bA}	483.84 \pm 13.22 ^{aA}
	5	356.85 \pm 0.94 ^{fB}	388.96 \pm 6.23 ^{eA}	420.86 \pm 0.61 ^{dA}	443.97 \pm 12.90 ^{cA}	466.26 \pm 3.83 ^{bA}	480.57 \pm 2.15 ^{aA}
	10	347.65 \pm 4.96 ^{fC}	378.73 \pm 7.50 ^{eB}	391.62 \pm 4.96 ^{dB}	405.93 \pm 3.09 ^{cB}	421.47 \pm 6.97 ^{bB}	435.38 \pm 2.32 ^{aB}
	15	322.90 \pm 4.08 ^{fD}	365.24 \pm 7.08 ^{eC}	381.80 \pm 3.03 ^{dB}	392.23 \pm 0.71 ^{cB}	417.79 \pm 2.13 ^{bB}	428.22 \pm 1.84 ^{aB}
	20	294.68 \pm 3.38 ^{eE}	320.04 \pm 1.28 ^{dD}	333.13 \pm 1.23 ^{cC}	346.83 \pm 5.15 ^{bc}	373.82 \pm 4.35 ^{aC}	373.01 \pm 1.06 ^{aC}
flavonoid ($\mu\text{g CE}^5/\text{mg}$)	0	70.57 \pm 1.60 ^{FA}	80.42 \pm 1.22 ^{EB}	95.32 \pm 1.60 ^{dB}	119.28 \pm 2.88 ^{CB}	161.59 \pm 2.40 ^{BA}	187.14 \pm 2.11 ^{AA}
	5	67.11 \pm 0.46 ^{FB}	89.74 \pm 2.77 ^{EA}	102.51 \pm 0.80 ^{DA}	136.84 \pm 5.76 ^{CA}	165.05 \pm 1.22 ^{BA}	180.75 \pm 2.88 ^{AB}
	10	63.12 \pm 0.92 ^{FC}	80.95 \pm 2.11 ^{EB}	93.20 \pm 1.66 ^{DB}	111.56 \pm 2.01 ^{CC}	128.33 \pm 8.08 ^{BB}	147.22 \pm 1.38 ^{AC}
	15	61.26 \pm 1.22 ^{FC}	75.10 \pm 1.22 ^{EC}	87.87 \pm 0.46 ^{DC}	95.86 \pm 1.84 ^{CD}	115.02 \pm 3.32 ^{BC}	123.80 \pm 3.23 ^{AD}
	20	57.53 \pm 3.60 ^{FD}	75.90 \pm 1.22 ^{EC}	83.61 \pm 2.44 ^{DD}	93.20 \pm 2.44 ^{CD}	108.63 \pm 1.22 ^{BC}	115.28 \pm 1.38 ^{AE}
DPPH (%)	0	27.69 \pm 5.88 ^{dNS3)}	36.10 \pm 0.93 ^{dB}	43.89 \pm 7.74 ^{cNS}	53.75 \pm 6.16 ^{bNS}	64.96 \pm 1.32 ^{aA}	71.00 \pm 2.90 ^{aA}
	5	29.58 \pm 1.97 ^e	43.55 \pm 2.10 ^{dA}	49.54 \pm 2.19 ^e	53.94 \pm 5.16 ^c	59.59 \pm 2.06 ^{bB}	69.07 \pm 1.74 ^{aA}
	10	23.63 \pm 1.37 ^e	44.08 \pm 3.12 ^{dA}	47.51 \pm 1.78 ^d	54.57 \pm 1.70 ^c	59.64 \pm 2.25 ^{bB}	68.10 \pm 1.65 ^{aA}
	15	23.92 \pm 1.86 ^e	45.77 \pm 0.88 ^{dA}	48.77 \pm 2.74 ^d	55.20 \pm 2.28 ^c	60.13 \pm 2.54 ^{bB}	66.84 \pm 2.29 ^{aAB}
	20	24.51 \pm 2.30 ^e	42.00 \pm 3.31 ^{dA}	45.14 \pm 4.17 ^{cd}	52.02 \pm 7.22 ^{bc}	58.00 \pm 2.74 ^{abB}	63.68 \pm 2.33 ^{aB}

¹⁾values are mean \pm standard deviation ($n=3$).

²⁾values with different superscripts a row (a-e) and a column (A-E) are significant at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

³⁾NS means no significant difference ($p<0.05$).

⁴⁾GAE means gallic acid equivalents.

⁵⁾CE means catechin equivalents.

Table 5. Sensory scores of pine bark extract beers

Samples ¹⁾ (%)	Color	Sweetness	Sourness	Bitterness	Mouthfeel	Flavor	Overall preference
Control	4.70 \pm 1.69 ^{2)b}	4.80 \pm 1.47 ^{ab}	4.80 \pm 1.77 ^{NS}	4.95 \pm 1.47 ^{NS}	5.25 \pm 1.37 ^{NS}	5.35 \pm 1.27 ^{ab}	5.15 \pm 1.46 ^{NS}
p0.025	5.80 \pm 1.64 ^a	4.35 \pm 1.53 ^{ab}	4.65 \pm 1.46	5.15 \pm 1.66	4.30 \pm 1.42	5.20 \pm 1.40 ^{ab}	4.50 \pm 1.40
p0.05	5.10 \pm 1.59 ^{ab}	5.45 \pm 1.82 ^a	4.70 \pm 2.23	5.20 \pm 1.94	4.90 \pm 2.10	5.85 \pm 1.87 ^a	5.00 \pm 1.86
p0.075	6.00 \pm 2.00 ^a	4.15 \pm 1.46 ^b	4.80 \pm 1.67	4.75 \pm 1.33	4.80 \pm 1.61	5.10 \pm 1.37 ^{ab}	4.70 \pm 1.63
p0.1	5.95 \pm 1.28 ^a	4.90 \pm 1.48 ^{ab}	4.60 \pm 1.85	4.55 \pm 1.39	4.50 \pm 1.32	4.45 \pm 1.39 ^b	4.45 \pm 1.47
p0.125	6.00 \pm 1.30 ^a	4.35 \pm 1.73 ^{ab}	4.55 \pm 1.73	4.85 \pm 1.79	4.60 \pm 1.57	4.75 \pm 1.41 ^b	4.35 \pm 1.23

¹⁾Refer to the Table 1.

²⁾values are mean \pm standard deviation ($n=40$).

³⁾values with different superscripts a column (a-b) are significant at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

⁴⁾NS means no significant difference ($p<0.05$).

요 약

본 연구에서는 맥주에 소나무껍질추출물을 0-0.125%를 첨가한 6개의 펄스너 맥주를 제조하였다. 발효와 저장기간 동안 실험군의 pH, 환원당, 가용성 고형분, 비중, 알코올의 수치는 대조군과 유사한 변화를 보였고 저장 후의 값은 모든 시료에서 유사하게 나타났다. 폴리페놀, 플라보노이드, DPPH와 같은 항산화 수치는 pineXol의 첨가량이 높을수록 더 높은 항산화력을 보였다. 하지만 저장 후의 p0.1과 p0.125의 폴리페놀 수치는 373 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 정도로 유사하게 나타났다. 또한 효모 수는 p0.125가 발효 2일차에 7.85 log CFU/mL로 최대 효모 수를 나타내었고 저장 후에도 p0.125의 효모 수가 가장 높은 수치를 보였다. 발효와 저장 중의 L value는 소나무껍질추출물의 함량이 높을수록

더 낮은 수치를 보였고, a value와 b value는 추출물의 함량이 높을수록 더 높은 수치를 보였다. 관능검사에서 단맛과 향기의 기호도가 p0.05가 제일 높았고 색을 제외한 다른 요소는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 따라서 소나무껍질추출물을 0.05% 첨가한 맥주를 제조하였을 때 효모의 발효력, 항산화 및 관능적 요소가 우수할 것으로 판단되었으며, 다양한 천연 기능성 물질을 이용한 맥주 개발이 가능할 것으로 사료되었다.

감사의 글

이 연구는 서울과학기술대학교 교내연구비의 지원으로 수행되었습니다.

References

- Cho EK, Song HJ, Cho HE, Kim MH, Choi IS, Choi YJ. 2009. Inhibitory effects of ethanol extracts from pine buds (*Pinus densiflora*) on angiotensin converting enzyme, xanthine oxidase and nitric oxide synthesis. *J. Korean Society of Life Science*. 19: 1629-1636.
- Choi DM, Lee DS, Chung SK. 2007. Effects of fermentation pine needle extract on the quality of plain bread. *J. Korean Food Preserv*. 14: 154-159.
- Derek J. Jamieson. 1998. Oxidative stress responses of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J. John Wiley & Son*. 14: 1511-1527.
- Frontela C, Ros G, Martinez C, Sanchez-Siles LM, Canali R, Virgili F. 2011. Staility of pycnogenol as an ingredient in fruit juices subjected to in vitro gastrointestinal digestion. *J. Sci Food Agric*. 91: 286-292.
- Hong BJ, Oh JS, Kim BW, Park BS. 2008. Effect of feeding dietary pitamin as a organic livestock feed additives in laying hens. *J. Korean Organic Agriculture*. 16: 205-218.
- Jang MJ, An BJ, Lee CE, Lee JT, Lee BG, Lee DH. 2008. Study on the anti-oxidant effect of *Pinus rigida* mill. inner bark extracts. *J. Korean Forest Society*. 97: 88-94.
- Jin SY, Joo NM, Han YS. 2006. Optimization of iced-cookies with the addition of pine leaf powder. *J. Korean Food Cookery Sci*. 22: 164-172.
- Jung SJ, Chung CH. 2017. Production and properties of ale beer with nuruk, a Korean fermentation starter. *J. Korean Society of Food Science and Technology*. 49: 132-140.
- Kim BW, Oh JS, Han OT, Park SO, Park BS. 2009. Effect of pitamin as an antibiotics replacement for organic livestock feed additives in broiler chickens. *J. Korean Organic Agriculture*. 17: 111-125.
- Kim NS, An MJ, Choi SU. 2014. Quality characteristics and antioxidant activities of makgeolli using pomegranate powder. *J. East Asian Society of Dietary Life*. 24: 811-818.
- Lee AR, Park HD. 2011. Effects of roasted Korean oak chip addition on the aging of red wine, *J. Korean Society of Food Preservation*. 18: 891-897.
- Lee JK, Jo HJ, Kim KI, Yoon JA, Chung KH, Song BC, An JH. 2013. Physicochemical characteristics and biological activities of makgeolli supplemented with the fruit of *Akebia quinata* during fermentation. *J. Korean Food Science and Technology*. 45: 619-627.
- Lee SK, Park JY, Park HY, Choi HS, Cho DH, Oh SK, Kim HJ. 2017. Evaluation of quality characteristics of beer by addition of rice rate. *J. Food Preserv*. 24: 758-763.
- Lim YS, Park KN, Bae MJ, Lee SH. 2001. Antimicrobial effects of ethanol extracts of *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc on lactic acid bacteria. *J. The Korean Society of Food Science and Nutrition*. 30: 1158-1163.
- Lim YS, Park KN, Bae MJ, Lee SH. 2001. Antimicrobial effects of *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc. extract on pathogenic microorganisms, *J. The Korean Society of Food Preservation*. 8: 462-468.
- Park BS. 2009. The shelf life and meat quality of broilers fed pine bark extract (Pitamin). *J. KOSEA*. 29: 430-436.
- Penkina N, Tatar L, Kolesnyk V, Karbivnycha T, Letuta T. 2017. Research into quality of beer with the addition of pine needles extract. *J. Eastern-European Enterprise Technologies*. 86: 40-48.
- Penkina N, Tatar L, Kolesnyk V, Karbivnycha T, Letuta T. 2017. The study of beer quality with the reduced toxic effect. *J. EUREKA: Life Sciences*. 1: 35-43.
- Penkina N, Tatar L, Zaychenko G, Lytkin D. 2015. Research of the toxicological and pharmacological effects of new blends on the body of biological objects. *J. Ukrainian Food*. 4: 577-586.
- Rohdewald PJ. 2005. Pycnogenol, French maritime pine bark extract. Marcel Dekker Inc. 545-553.
- Roberfroid M. 2007. Prebiotics: the concept revisited. *J. Nutrition*. 137: 830-837.
- Ruggeri S, Straniero R, Pacifico S, Aguzzi A, Virgil Fi. 2008. French marine bark extract pycnogenol as a possible enrichment ingredient for yogurt, *J. Dairy Sci*. 91: 4484-4491.
- Ryu BS, Choi HE, Choi WS, Lee NH, Choi UK. 2017. Antioxidant activity of extracts from different parts of the pine tree. *J. Korean Food and Nutrition*. 30: 1133-1139.
- Shin ZC. 2005. Antioxidative activities and separation of extracts from bark and leaf of *Pinus Densata*(Korean pine). Ph.D. thesis, Wonkwang Univ., Iksan, Korea
- Siebert KJ. 2006. Haze formation in beverages. *J. LWT*. 39: 987-994.
- Supeno D, Kwon SH, Chung SW, Kwon SG, Park JM, Kim JS, Choi WS. 2017. Characteristic of makgeolli and pine (*Pinus koraiensis*) extract fermentation. *J. KSIC*. 20: 377-383.
- Sung MS, Jung HY, Choi JH, Lee SC, Choi BH, Park SS. 2014. Preparation of functional healthy drinks by acanthopanax senticosus extracts. *J. Korean Society of Life Science*. 24: 959-966.
- Sung SA, Lee SJ. 2017. Physicochemical and sensory characteristics of commercial top-fermented beers, *J. Korean Society of Food Science and Technology*. 49: 35-43.
- Taga MS, Miller EE, Pratt DE. 1984. Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *J. AM. Oil Chem*. 61: 928-993.
- Torras MAC, Faura CA, Schönlaui F, Rohdewald P. 2005. Antimicrobial activity of pycnogenol. *J. Phytotherapy Research*. 19: 647-648.
- Yang HN, Oh EB, Park JS, Jung MY, Choi DS. 2017. Brewing and properties of low-malt beer with a sweet potato paste. *Korean J. Food Nutr*. 30: 491-500.
- Yom HC. 2008. The effect of green tea extracts on the fermentation properties of polyphenol-enriched beers. *J. Family and Environment Research*. 46: 49-55.
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects superoxide radicals. *J. Food Chem*. 64: 555-559.

Author Information

박주선: 서울과학기술대학교 석사과정

강성태: 서울과학기술대학교 교수