최 종
연구보고서

GA0358-0231

구기자열매를 이용한 기호성 대중음료 개발 및 기타 가공제품 개발

Development of Drinks and Various Processed Products Using Boxthorn(*Lycium chinense* Mill)

연구기관
한국식품개발연구원

농 림 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 "구기자열매를 이용한 기호성 대중음료 개발 및 기타 가공제품 개발" 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2002. 12.

주관연구기관 : 한국식품개발연구원
연 구 책 임 자 : 김 상 희
참 여 연 구 원 : 차 환 수
참 여 연 구 원 : 박 형 우
참 여 연 구 원 : 김 병 삼
참 여 연 구 원 : 홍 석 인
참 여 연 구 원 : 조 임 식

요 약 문

I. 제 목

구기자열매를 이용한 기호성 대중음료 개발 및 기타 가공제품 개발

II. 연구개발의 목적 및 중요성

약리적 기능이 탁월한 구기자의 새로운 소비창출을 위하여 기호성과 대중성이 좋은 생약 스포츠 이온음료와 패션생수를 개발하고 공장의 가동률 증대를 위해서 산업화와 현장접목이 쉬운 액상차와 과립차, 구기환 등을 다양하게 개발함으로서 지방자치의 1군 1명품화사업 활성화를 도모하고자 함

Ⅲ. 연구개발의 내용 및 범위

1. 구기자의 성분분석

2. 구기자의 기능성확인 시험
   - 총폴리페놀 화합물
   - 전자공여도
   - 아질산염 소거능
   - SOD 유사활성

3. 추출공정의 최적화 및 농축액 제조

4. 구기자를 이용한 다양한 가공식품 개발
   - 스포츠음료 개발
   - 패션생수(미과즙 음료) 개발
   - 과립차 제조
   - 액상차 제조
   - 환 제조

5. 가공제품의 저장 중 품질평가 및 기호도 조사

6. 구기자 가공제품의 성분분석

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 구기자의 성분분석

구기자의 성분분석 결과는 수분 20.2%, 회분 5.4%, 조지방 14.5%, 조단백 18.1%, 조섬유 11.2%, 유리아미노산 12.39 mg%, 유리당 6.2%, 탄닌 633.1 mg% 및 유기산 1877.5mg%로 나타났다.

2. 구기자의 기능성 확인

구기자의 추출 용매에 따른 총폴리페놀 함량은 80% 메탄올 추출물과 75% 아세톤 추출물이 각각 3.09 g 및 3.10 g으로 비슷한 함량을 보였으며, 열수 추출물의 경우 이들 추출물의 값보다 높은 3.41g을 나타내었다. 또한 전자공여효과는 63.90~66.21%로 추출 용매에 따른 차이는 크지 않는 것으로 나타났다. 구기자의 아질산염 소거율은 동일조건의 pH 1.2에서 80% 메탄올 추출물 36.91%, 75% 아세톤 추출물 29.28% 그리고 열수 추출물은 30.96%로 80% 메탄올 추출물이 다소 높게 나타났으며, SOD유사활성은 80% 메탄올 추출물 및 열수 추출물이 각각 29.37%, 28.14%로 75% 아세톤 추출물의 17.06%보다 다소 높았다.

3. 추출공정의 최적화 및 농축액 제조

구기자 추출공정의 최적화 및 농축액 제조를 위하여 압착추출, 효소추출, 당침추출 및 열수추출로 추출시험을 시행한 결과 압착추출의 경우 생과를 그대로 압착하였을 때 추출효율이 50% 미만으로 비교적 낮았으며 반면 효소추출은 추출효율이 83.40~90.65%로 매우 높았지만 추출액의 갈변 및 침전이 문제가 되었다. 당침추출의 경우 생과 당침액은 신맛이 살아있고 깨끗한 맛을 낼 수 있어 패션생수에 적합하였고, 건조 구기자 당

침액은 구기자 생과의 비릿한 냄새가 없고 구수한 냄새가 나 이온음료나 혼합음료 제조에 적합하였다.

각각의 방법에 의해 얻어진 추출액의 저장 및 보관의 용이성을 위해 농축액을 제조하였는데 농축시 5% maltodextrin과 0.5% 베타-싸이클로덱스트린을 첨가하는 것이 구기자 특유의 향미 보존 및 수율 향상에 유리하였다. 또한 농축시 구연산을 0.5% 첨가하여 농축하는 것이 색유지와 저장성 향상에 좋았다.

4. 구기자를 이용한 다양한 가공식품 개발

가. 스포츠음료 개발

여러 가지 추출방법에 따른 농축액을 이용하여 스포츠 이온음료를 제조한 결과 건조 구기자 당침 농축액을 사용한 음료가 기호도 측면에서 가장 우수하였다. 스포츠 이온음료는 건조 구기자 당침 농축액을 사용하여 설탕, 액상과당, 구연산, 구연산 나트륨, 염화나트륨, 염화마그네슘, 젖산칼슘, 비타민 C, 사과산, 트레할로스, 스테비오사이드, 베타-싸이클로덱스트린, 염화칼륨, MSG, 말토덱스트린 및 정제수를 계량 및 배합하여 제조하였다.

나. 패션생수(미과즙 음료) 개발

미과즙 음료는 생수에 가까우면서 약간의 신맛과 단맛을 나타내는 음료이므로 구기자 고유의 향이 살아있는 구기자 생과 당침액을 기본으로 하여 제조하였다.

다. 과립차 제조

구기자를 이용한 과립차 제조는 건조 구기자의 추출 농축액을 이용하여 농축액의 함량은 7~8% 범위, 포도당 함량은 60~70% 범위 일 때 과립화에 유리하였다. 또한 과립화시 매실향 0.1%, 구연산 나트륨 1.5%, 스테비오사이드는 0.2%를 첨가하는 것이 향, 맛 등 기호도에서 우수하였다.

라. 액상차 제조

구기자 액상차는 건조 구기자 농축액(60。brix) 10%에 꿀 9%, 액상과당 19%, 설탕 20%, 솔스타 4.5%, 말토덱스트린 6.0%, 비타민 C 0.2%, 구연산 나트륨 0.2% 및 정제수 32.1%를 배합하여 제조한 액상차가 겔형성능, 물에 희석시 입안에서의 느낌 및 기호적으로 가장 우수하였다.

마. 환 제조

구기자 환을 제조하기 위하여 한방에서 강정제로 알려진 오자환의 형태로 제조시험을 행하였다. 복분자, 구기자, 사상자, 오미자, 토사자는 30 mesh가 되도록 분말화하여 준비하고 구기자 농축액은 추출하여 60。brix로 농축시킨 것을 25。brix로 희석한 후 사용하였다. 분말원료는 믹서기로 혼합한 다음 구기자 농축액, 꿀, 밀가루 풀, 정제수와 함께 혼합, 반죽하여 자환기에서 국수가닥 모양으로 성형하여 절단기에 환 모양으로 제환하고 절단된 환들을 환제틀에 넣고 정환한 다음 열풍건조기에서 40~65℃, 12시간 이상 건조하였다. 1차 건조된 환은 스프레이를 사용하여 60% 꿀을 뿌려주며 코팅한 후 열풍건조기에 2차로 45℃, 12시간 건조시켜 수분흡수제와 같이 포장하여 제품화하였다.

5. 가공제품의 저장 중 품질평가 및 기호도 조사

구기자 가공제품을 각 배합비에 따라 제조하고 37℃에서 가온 저장하면서 품질 변화를 측정한 결과 이온음료, 패션생수, 과립차, 액상차, 구기자 환 모두 저장 12주까지 가용성 고형분 함량, pH, 산도, 미생물에서 안정한 것으로 나타났으나 색도에 있어서는 갈색화가 다소 진행되었다. 기호도 조사에서도 색, 향 및 종합적 기호도가 저장일수가 증가함에 따라 다소 감소하는 것으로 나타났으나 저장 12주까지 전체적으로 안정하였다.

6. 제조된 구기자 제품의 기능성 성분 분석

구기자 과립차 및 구기자 환의 총폴리페놀 함량, 아질산염 소거능 및 전자공여도 측정결과 구기자 과립차는 각각 3.43 mg/g, 7.87% 및 2.0%임을 알 수 있었으며, 구기자 환은 7.24 mg/g, 16.07% 및 5.24%임을 알 수 있었다.

Summary

I. Title

Development of drinks and various processed products using Boxthorn (*Lycium Chinense* Mill)

II. Purpose and Significance of the Study

The purpose of this study was to create new consumptions of Boxthorn which have been reputed for their excellent pharmaceutical functions. For this purpose, it was attempted to develop a popular luxury herb sports ion drink and a fashion fresh water as well as liquid state tea, granule tea and pill for a higher rate of factory operation.

III. Scope and Contents of the Study

1. Analysis of chemical composition of Boxthorn

2. Analysis of functional activities of Boxthorn
   - Total phenolic compounds
   - Electron donating ability
   - Nitrite scavenging ability
   - SOD-like activity

3. Optimum modelling of extract processing and preparation of concentrate

4. Development of various processed products using Boxthorn
   - Development of sports ion drink
   - Development of fashion fresh water (near water drink)
   - Preparation of granule tea
   - Preparation of liquid state tea
   - Preparation of pill

5. Quality change of processed products during storage and sensory evaluation

6. Analysis of component of processed products made from Boxthorn

IV. Results and recommendations

1. Analysis of chemical composition of Boxthorn

As a result of this analysis, it was found that Boxthorn contains water (20.2%), ash (5.4%), crude fat (14.5%), crude protein (18.1%), crude fiber (11.2%), free amino acids (12.39 mg%), free sugar (6.2%), tannin (633.1 mg%) and organic acids (1,877.5 mg%).

2. Analysis of functional activities of Boxthorn

Total phenolic content by means of the extract solvent of Boxthorn showed a similar contents as 3.09 g and 3.10 g respectively for 80% methanol extract and 75% acetone extract, while hot water extract showed 3.41g which is higher than these extract values. Moreover, electron donating ability showed 63.90~66.21% so the difference by the extract solvent is not much.

As for nitrite scavenging ability of Boxthorn, it showed 36.91% of 80% methanol extract and 29.28% of 75% acetone extract at pH 1.2 under the same condition, while hot water extract showed 30.96% so 80% methanol extract is somewhat higher.

SOD-like activity showed that 80% methanol extract and hot water extract was 29.37% and 28.14% respectively, so it was some higher than 17.06% of 75% acetone extract.

3. Optimum modelling of extract processing and preparation of concentrate

As a results of testing expression extraction, enzyme extraction, sugar solution extraction and hot water extraction for optimization of the extracting process and preparation of concentrate, it was found that the efficiency of expression extraction for raw fruits was relatively lower or less than 50% when expressed as it is, while the efficiency of enzyme extraction was very high from 83.50% to 90.65%, but that the latter method caused such problems as browning and

sedimentation. In case of sugar solution extraction, the sour taste for raw fruit remained, while the extract tasted clean. So, such an extraction method seems to fit the fashion fresh water. In particular, the sugar solution extract from dried fruits did not taste fishy, unlike the raw fruit. The liquid tasted savory, and therefore, it was thought to fit ion drink or mixed drinks.

In order to easily store the concentrate produced by each method, the extracts were concentrated to be tested. It was effective in maintaining the unique flavor and moisture when 5% maltodextrin and 0.5% beta-cyclodextrin were added to the extracts. In addition, it was effective in maintaining color and extending the period of storage when 5% citric acid was added.

4. Development of various processed products using Boxthorn

a. Preparation of sports ion drink

Various extracts prepared by diverse methods were used to produce sports ion drinks. Among them, the drink made from the extract prepared by sugar solution extraction method was found most excellent in terms of taste. For this sports ion drink, various ingredients in addition to the sugar solution extract were used: sugar, liquid state fructose, citric acid, sodium citrate, sodium chloride, magnesium chloride, calcium lactate, vitamin C, malic acid, trehalose, stevioside, beta-cyclodextrin, potassium chloride, MSG, maltodextrin

and purified water.

b. Preparation of fashion fresh water(near water drink)

Since a fashion fresh water should be near fresh water which tastes sour and sweet a little, the sugar solution extraction liquid prepared with the raw fruit was used; the liquid maintained the unique flavor much.

c. Preparation of granule tea

The concentrated extract from dried fruits was used; the extract could be easily processed into granules when the moisture was around 7~8% and the content of glucose was between 60~70%. In addition, the granule tea was better in terms of flavor and taste when it contained 0.1% Japanese apricot flavor, 1.5% sodium citrate and 0.2% stevioside.

d. Preparation of liquid state tea

For this liquid state tea, various ingredients were mixed: 10% dried fruit extract concentrated (60。brix), 9% honey, 19% liquid state fructose, 20% sugar, 4.5% solstar, 6.0% maltodextrin, 0.2% vitamin C, 0.2% sodium citrate and 32.1% purified water. The liquid state tea mixed thus was excellent in terms of gel forming and taste in the mouth when diluted with water.

e. Preparation of pill

In order to manufacture the Boxthorn pills, Ojahwans known as tonic in the Oriental medicine were tested. Fruits from Rubus coreanus, Boxthorn, Torilis japonica, Schisandra chinensis and Cuscutae semen were powdered into 30 meshes, while Boxthorn extracts were concentrated at 60。 brix and then, diluted into 25。 brix. After the material powders were blended with a mixer to be kneaded with concentrated Boxthorn extracts, honey, wheat powder paste and purified water to be formed by a pill making device into noodles and then, cut into pills. The pills were refined and it was dried at 40~65℃ from the hot air drier for 12 hours. Then, the pills were sprayed with 60% honey to be coated and again, dried for 12 hours at the 45℃ before being packed with a moisture absorber.

5. Quality change of processed products during storage and sensory evaluation

As a results of the test for the quality change during the heated storage at 37℃ manufacturing the processed products of Boxthorn according to each compound mix rate, it was clarified that all products (ion drink, fashion fresh water, granule tea, liquid state tea and pill) could be stored up to 12 weeks with their soluble solid contents, pH level, acidity and microorganism stable, except that the products were browned a little. It was found that the longer the storage was, color, flavor and taste were deteriorated a little more. But, the products remained stable up to 12 weeks during storage.

6. Analysis of component of processed products made from Boxthorn

Total phenolic compound contents of granule tea and pills for Boxthorn, nitrite scavenging ability and electron donating ability for granule tea were 3.43 mg/g, 7.87% and 2.0%, respectively, and for the pills they were 7.24 mg/g, 16.07% and 5.24%, respectively.

CONTENTS

Summary in Korean ····· 3
Summary in English ····· 9
Ⅰ. Introduction ····· 20
Ⅱ. Materials and Methods ····· 23
1. Materials ····· 23
2. Methods ····· 23
1) Total phenolic compound content ····· 23
2) Electron donating ability ····· 23
3) Nitrite scavenging ability ····· 26
4) SOD-like activity ····· 28
5) Soluble solid content ····· 30
6) pH ····· 30
7) Test of microorganism ····· 30
8) Total acidity ····· 30
9) Analysis of color ····· 31
10) Anti-microbial activity ····· 31
11) Sensory evaluation ····· 31
Ⅲ. Result and Discussion ····· 33
1. Analysis of chemical composition of Boxthorn ····· 33
2. Analysis of functional activities of Boxthorn ····· 33
1) Extraction condition ····· 33
2) Total phenolic compound content ····· 36
3) Electron donating ability ····· 37

4) Nitrite scavenging ability ····· 38
5) SOD-like activity ····· 38
6) Anti-microbial activity ····· 39
3. Optimum modelling of extract processing and preparation of concentrate ····· 40
4. Development of various processed products ····· 49
1) Sports ion drink ····· 49
2) Fashion fresh water ····· 53
3) Granule tea ····· 55
4) Liquid state tea ····· 58
5) Pill processing ····· 60
5. Quality change of processed products during storage and sensory evaluation ····· 65
6. Analysis of component of processed products ····· 72
7. Analysis method for quality control ····· 76
Ⅳ. Reference ····· 94

목 차

요 약 문 ····· 3
SUMMARY ····· 9
제1절 서 론 ····· 23
제2절 재료 및 방법 ····· 23
1. 실험재료 ····· 23
2. 실험방법 ····· 23
1) 총폴리페놀 함량 ····· 23
2) 전자공여도 ····· 23
3) 아질산염 소거능 ····· 26
4) SOD 유사활성 ····· 28
5) 가용성 고형분 함량 ····· 30
6) pH ····· 30
7) 미생물 검사 ····· 30
8) 총산도 ····· 30
9) 색도 측정 ····· 31
10) 항균활성 ····· 31
11) 기호도 조사 ····· 31
제3절 결과 및 고찰 ····· 33
1. 구기자의 성분분석 ····· 33
2. 기능성 확인시험 ····· 33
1) 추출물 제조 ····· 33
2) 총폴리페놀 화합물 ····· 36
3) 전자공여도 ····· 37
4) 아질산염 소거능 ····· 38

5) SOD 유사활성 ····· 38
6) 항균 활성 ····· 39
3. 추출공정의 최적화 및 농축액 제조 ····· 40
4. 다양한 가공식품 개발 ····· 49
1) 스포츠 이온음료 ····· 49
2) 패션생수 ····· 53
3) 과립차 ····· 55
4) 액상차 ····· 58
5) 환제조 ····· 60
5. 구기자 가공제품의 저장중 품질평가 및 기호도조사 ····· 65
6. 가공제품의 성분분석 ····· 72
7. 품질관리를 위한 분석방법 ····· 76
제4절 참고문헌 ····· 94

제1절 서 론

구기자 나무(*Lycuum chinense* Mill)는 가지과(Solanaceae)에 속하는 낙엽성 소관목으로 소아시아 지방이 원산지이다. 일본, 대만, 중국 및 우리나라 남부지방, 중부지방에 자생하며, 7~8월에 꽃이 피고, 열매는 9~10월에 성숙되어 길이 1.5~2.5cm의 난상원형 또는 긴 타원형으로 붉게 익는데 그 열매를 구기자(Boxthorn), 뿌리의 껍질을 지골피, 잎은 구기엽이라고 부른다.

구기자는 중국의 진시황제가 불로장생약(不老長生藥)을 찾아 각지로 신하를 보내 마련한 궁중비법의 불로장수처방에 오로환동환(五老還童丸), 칠보미발단(七寶美髮丹), 연영고본환(年齡固本丸)의 3가지가 있었는데 이 3가지 처방에 공통적으로 사용되었을 정도로 신비의 생약으로 전해내려오고 있으며, 명나라 이시진(李時珍)의 저서 "본초강목(本草綱目)"과 일본 平安시대 深根輔仁의 저서 "본초화명(本草花名)" 그리고 우리나라 허준의 "동의보감(東醫寶鑑)" 등에도 구기자를 장복하면 근골이 튼튼해지고 정기를 보하여 장수한다는 기록이 있다.

구기자의 주요 약효성분은 베타인(betaine), 루틴(rutin), 베타-시토스테롤(β-sitosterol)로 베타인은 간장과 위장의 기능촉진, 동맥경화와 고혈압 예방 및 근골강화에 효과가 있는 성분으로 구기자에는 6~11 mg/g이 함유되어 있으며, 루틴은 항고혈압성 기능, 즉 혈압과 혈청콜레스테롤 저하 효과가 있으며, 또한 베타-시토스테롤은 콜레스테롤의 흡수억제효과가 뛰어나 전립선 비대의 치료에 사용되고 있다.

우리나라의 구기자 생산현황은 표 1에서 보는 바와 같이 2001년을 기준으로 볼 때 전국의 2,303호 농가가 생산에 참여하여 재배면적 261.3 ha에서 549.2 M/T을 생산하고 있으며 이 가운데 충남지역이 172.6 ha에서

373.4 M/T을 생산하고 있으며 전남지역은 80.0 ha에서 144.5 M/T을 생산하고 있어 이들 두 지역 특히 충남 청양군과 전남 진도군에서 전국 구기자 생산량의 대부분을 차지하고 있다.

표 1. 지역별 구기자 재배 및 생산현황

지역	2000년도				
	농가수(호)	전체면적(ha)	수확면적(ha)	단수(kg/10a)	생산량(M/T)
계	2,734	271	264	189	500
충북	5	1	1	225	2
충남	2,022	178	178	232	414
전북	689	90	83	98	81
전남	689	90	83	98	81
경북	10	1	1	137	1
경남	8	1	1	283	2
지역	2001년도				
	농가수(호)	전체면적(ha)	수확면적(ha)	단수(kg/10a)	생산량(M/T)
계	2,303.0	261.3	258.8	212.2	549.2
광주	1.0	0.3	0.3	167.0	0.5
충남	1,631.0	172.6	172.4	217.0	373.4
전북	44.0	6.3	6.3	394.0	24.8
전남	623.0	80.0	77.8	185.7	144.5
경북	10.0	0.8	0.8	137.0	1.1
경남	12.0	1.3	1.2	406.7	4.9

*농림부 특용작물생산실적 자료

표 2. 연도별 전국 구지자 생산현황

년도	'90	'91	'92	'93	'94	'95	'96	'97	'98	'99	'00	'01
전체면적 (ha)	183.8	214	381	555	629	557	486	1,133	794	691	942	732
수확면적 (ha)	180.3	214	368	553	627	557	485	721	485	494	661	503
생산량 (M/T)	318.4	514	769	1,179	1,226	857	1,185	3,702	3,006	3,889	4,809	3,205

*농림부 특용작물생산실적 자료

전국의 년도별 구기자의 재배 면적 및 생산현황은 표 2에서 보는 바와 같이 '90년 이후 계속 증가하다가 '95년을 기점으로 약간씩 감소 추세에 있는데 이는 구기자를 이용한 여러 가지 가공제품 즉 한과류, 다류, 주류 등의 소비한계와 대중화된 신제품의 부재 및 기존제품의 품질 고급화를 통한 품질개선 등이 계속적으로 이루어지지 않아 생산량이 감소하는 것으로 판단된다.

전남 진도군의 경우, 캔 음료 생산업체인 동진농협의 생산 중단 등의 영향으로 '98년 생산량이 364톤이었던 것이 '99년 255톤으로 크게 감소하였다. 청양군의 경우 '93년 6월에 지역 특화작목시험장으로 구기자 시험장을 준공하여 본격적인 구기자의 육종재배, 기능성 시험 및 가공제품개발 등의 구기자에 대한 전반적인 연구를 수행하여 요구르트, 면류, 잼, 잎차, 시럽, 침출주 등 다양한 가공제품을 개발하여 왔으나 산업화에는 미진한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 구기자에 대한 소비 촉진 및 대중성을 높이고자, 체내 흡수가 빠른 스포츠 음료 및 미과즙 음료, 과립차, 환 등의 가공제품 개발과 생과 자체의 수율 증대를 위한 추출공정의 최적화 및 추출물을 이용한 여러가지 기능성 확인시험을 행하였다.

제2절 재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 구기자(*Lycuum chinense* Mill)는 전남 진도와 충남에서 구기자 생과와 건조과실을 구입하여 4℃에서 보관하면서 시료로 사용하였다.

2. 실험방법

1) 총폴리페놀 함량

구기자의 총폴리페놀 화합물 함량은 Folin-Ciocalteu 변법에 따라 측정하였다. 즉, 그림 1과 같이 각각의 추출물 0.1 mL에 증류수 8.4 mL, Folin-Ciocalteu 시약 0.5 mL를 가하여 혼합하고 8분 후에 20% Na_2CO_3 1 mL를 가한 후 실온에서 1시간 방치 후에 725 nm에서 흡광도를 측정하여 gallic acid로 환산하여 정량하였다.

2) 전자공여도

전자공여도(electron donating ability)는 각 화합물의 DPPH에 대한 전자공여 효과로 시료의 환원력을 측정하였다. 즉, 그림 2에 나타낸바와 같이 각 추출물 0.2 mL에 4×10^{-4}M DPPH 용액 0.8 mL를 가한 후 vortex mixer로 10초간 진탕하고 실온에서 10분 방치 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였고 전자공여 효과는 시료 첨가구와 첨가하지 않은 경우의 흡광도를 백분율로 나타내었다.

0.1 mL 시료

↓

8.4 mL 증류수, 0.5 mL Folin-Ciocalteu 시약

↓

교반(8 min)

↓

20% Na_2CO_3 용액 2 mL 첨가

↓

실온에서 1시간 방치

↓

725nm 흡광도 측정

그림 1. 총폴리페놀 함량 측정 방법

0.2 mL 시료

↓

4×10^{-4}M DPPH 용액, 0.8 mL

↓

교반(10 sec)

↓

방치(10 min)

↓

525nm 흡광도 측정

그림 2. 전자공여도 측정 방법

3) 아질산염 소거능

구기자의 아질산염 소거능은 Kato 등의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 1mM $NaNO_2$ 용액 2 mL에 각각의 추출물 1 mL를 가하고 0.1N HCl(pH 1.2) 및 0.2 M citrate buffer(pH 4.2, 6.0)를 사용하여 반응용액의 pH를 각각 1.2, 4.2 및 6.0으로 조정하여 총 부피가 10 mL가 되도록 한 후 37℃에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응액을 각각 1 mL을 취하고 여기에 2% acetic acid 5 mL와 griess 시약 0.4 mL를 가한 후 실온에서 빛을 차단하여 15분간 방치시킨 후 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염을 구하였다. Griess 시약은 sulfanilic acid와 naphtylamine을 각각 1% 상당량 정량한 후 100% 초산을 첨가하여 교반 용해시키고 30% 초산이 되도록 일정량을 정용하여 사용직전에 조제하였다. 아질산염 소거율은 시료용액을 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우의 흡광도를 백분율로 나타내었으며 대조구로는 비타민 C 10 mg/100g을 사용하였다.

$$SA(\%) = (1 - \frac{A - C}{B}) \times 100$$

SA: Nitrite scavenging ability

A : Absorbance of 1 mM $NaNO_2$ added sample after standing for 1 hour

B : Absorbance of $NaNO_2$

C : Absorbance of control

1 mM $NaNO_2$ 용액, 2 mL

↓

구기자 추출물 1mL 첨가

↓

pH 조절(pH 1.2)

↓

정용(10 mL)

↓

Incubation(37℃, 1hr)

↓

1 mL sample solution

↓

2% acetic acid 5 mL, Griess 시약 0.4 mL

↓

방치(15 min, 암소)

↓

520nm 흡광도 측정

그림 3. 아질산염 소거능 측정방법

4) SOD 유사활성

구기자의 SOD 유사활성은 pyrogallol의 자동산화가 SOD 유사활성 물질의 첨가에 의해 산화속도가 억제되는 원리를 이용한 Marklund의 방법을 변형하여 사용하였다. 즉, 동결건조 시킨 구기자를 각각 0.4 g 취한 후 tris aminomethane과 cacodylic acid로 제조한 50 mM tris-cacodylic acid buffer(TCB, pH 8.20) 30 mL를 가하여 실온에서 1시간 동안 shaking incubation 시킨 후 10,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 그 상등액을 여과한 후 pH 8.2로 조절하여 SOD 유사활성 측정을 위한 추출물로 사용하였다. 1회용 cuvette($100_{1/2}$ micro disposable cuvettes, Germany)에 추출물 0.9 mL를 취하여 여기에 10 mM HCl을 용매로하여 제조한 pyrogallol(1,2,3-benzenetriol) 용액을 0.1 mL 가하여 3회 혼합한 후 실온을 유지하면서 420 nm에서 2분간 흡광도 변화를 측정하였다. SOD 유사활성은 TCB 0.9 mL를 사용하여 동일한 방법으로 측정한 흡광도 변화를 대조구로 하여 pyrogallol의 자동산화 억제 정도를 아래의 식에 따라 계산하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{SOD-like activity}(\%) = \left(1 - \frac{B}{A}\right) \times 100$$

A : Autoxidation rate of pyrogallol in absence of plant extract

B : Autoxidation rate of pyrogallol in presence of plant extract

구기자 분말 0.4 g

↓

TCB 30 mL 첨가

↓

Shaking incubation(150 rpm, 1hr)

↓

원심분리(10,000 rpm, 30 min)

↓

상등액

↓

여 과

↓

pH 조절(pH 8.2)

↓

구기자 추출물

그림 4. SOD 유사활성 측정을 위한 구기자 추출물 제조공정

5) 가용성 고형분 함량

가용성 고형분 함량은 디지털 당도계(Atago, PR-32, Japan)를 이용하여 측정하였다.

6) pH

pH의 측정은 pH meter(HANNA HI9321, Singapore)를 사용하여 측정하였다.

7) 미생물 검사

3M Petrifilm plate를 사용한 간편한 미생물 분석법으로 실시하였다. 즉, 상부 필름을 걷어올리고 하부 필름의 중앙에 시료 1 mL를 수직으로 접종한 후 상부 필름을 기포가 생기는 것을 방지하면서 부드럽게 위에서 아래로 덮은 후 누름판을 필름 상부에 올려 놓고 살짝 눌러주었다. 30~60초 후에 겔화가 완료되면 배양기에 옮겨 사용 필름 종류에 따라 지정된 온도에서 배양하였다.

8) 총산도

AOAC의 적정법에 의해 측정하였다. 즉, 시료의 정확한 무게(약 10 g)를 재어 넣은 후 증류수 25 mL를 가하고 0.1% phenolphthalein in EtOH 2~3방울을 가하고 0.1N-NaOH로 pH가 8.0이 될 때까지 적정하였다. 이때 소비된 0.1N-NaOH의 양을 기록하여 구연산으로 환산하여 총산 함량으로 나타내었다.

$$\text{총산도} = \frac{\text{소비된 } 0.1\text{N} - \text{NaOH(mL)} \times 0.0064 \times \text{F} \times 100}{\text{시료의 양(g)}}$$

0.0064 : 구연산 계수

F : 0.1N-NaOH의 factor

9) 색도 측정

구기자 제품의 저장 중 색도변화를 측정하기 위해 색차계(ColorQuest Ⅱ, Hunter Lab, USA)를 사용하여 Hunter L, a, b값을 구하였다.

10) 항균활성

구기자 추출물의 항균활성 측정을 위해 *Escherichia coli* O111, *Salmonella typhimurim* ATCC13311, *Bacillus cereus* SKK12, *Staphylococcus aureus* SKK14를 가축위생연구소와 성균관대학교 응용미생물 연구실로부터 분양 받아 구기자 추출물의 생육저해 여부를 확인하기 위한 시험균주로 사용하였다.

미생물 배양배지로는 nutrient broth(Difco. Co. U.S.A.)에 agar가 0.7%가 되도록 조제하여 사용하였다. 추출물의 항균성 유무를 확인하기 위하여 paper disk를 이용한 agar diffusion test를 실시하였다. 즉, 시험균주를 nutrient broth에서 2~3회 계대 배양하여 활력을 높인 후 37℃에서 18시간을 배양시켜 대수기에 도달한 균을 g당 10^7으로 희석하여 petri dish에 20 μL씩 접종한 후 멸균시킨 배지 10 mL를 pouring하여 표면의 수분을 완전히 증발시켜 굳힌 후에 멸균된 paper disk(8 mm thick, Advantec)를 추출액에 2초간 침지한 후 한천배지 표면위에 올려놓고 42시간 동안 항온배양기(37℃)에서 배양한 후 paper disk 주위에 생육저지대(clear zone)의 직경(mm)을 측정하여 항균성의 유무와 강도를 비교하였다. 대조구는 증류수를 사용하여 항미생물 활성을 비교하였다.

11) 기호도 조사

구기자 제품의 배합비 설정 및 저장 중 품질변화를 측정하기 위하여 직원을 대상으로 평가항목을 색상, 향, 단맛, 신맛, 종합적 기호도로 구분하여 표 3과 같은 서식으로 기호도 검사를 실시하였다.

표 3. 구기자 제품의 기호도 조사를 위한 관능검사 서식

기호도 조사표

다음은 구기자를 이용한 제품입니다. 개발시제품의 기호도를 조사하고자 하오니 아래의 항목을 평가하여 ①,②,③,④,⑤,⑥,⑦,⑧,⑨점 위치에 표시하여 주시기 바랍니다.

날짜 :　　성별 : 남　여　　나이 :

1. 색상

①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
대단히 싫어한다				좋지도 싫지도 않다				대단히 좋아한다

2. 향

①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
대단히 싫어한다				좋지도 싫지도 않다				대단히 좋아한다

3. 신맛

①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
대단히 싫어한다				좋지도 싫지도 않다				대단히 좋아한다

4. 신맛

①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
대단히 싫어한다				좋지도 싫지도 않다				대단히 좋아한다

5. 종합적 기호도

①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
대단히 싫어한다				좋지도 싫지도 않다				대단히 좋아한다

대단히 감사합니다.

제3절 결과 및 고찰

1. 구기자의 성분분석

본 실험에 사용한 구기자의 성분분석 결과는 표 3과 같다.

표 3. 구기자의 성분분석

수분(%)	20.2
회분(%)	5.4
조지방(%)	14.5
조단백(%)	18.1
조섬유(%)	11.2
유리아미노산(mg%)	12.39
유리당(%)	6.2
유기산(mg%)	1877.5
탄닌(mg%)	633.1

2. 기능성 확인시험

1) 추출물 제조

구기자의 기능성 확인을 위한 추출물은 그림 5와 같이 메탄올, 아세톤, 열수 처리구로 나누어 조제하였다. 메탄올 추출물은 각 시료 1 g을 사용하여 80% 메탄올 300 mL에 현탁시킨 후 80℃에서 1시간 환류 추출하고 여과하였다. 여액은 유기용매가 완전히 휘발될 때까지 감압농축하고 원심분리(13,000 rpm, 15min)하여 100 mL로 정용한 후 1 mL용 microtube에 나누어 냉동보관하였다. 아세톤 추출물은 각 시료 1g을 75% 아세톤 300 mL에 현탁시키고 70℃에서 1시간 환류 추출한 후 메탄올 추출물과 동일한 방법으로 처리하였으며, 열수 추출물은 증류수 300 mL에 각 시료 1g

을 현탁시킨 후 70℃에서 1시간 환류 추출하여 메탄올 추출물과 같은 방법으로 처리하였다. 이렇게 제조한 시료는 총폴리페놀 함량, 전자공여도 및 아질산염 소거능의 시료로 사용하였다.

구기자 분말 1g

↓ 80% methanol 300 mL 추출(80℃ for 1hr)

↓ 75% acetone 300 mL 추출(70℃ for 1hr)

↓ 증류수 300 mL 추출(100℃ for 1hr)

여과(whatman filter paper No. 2)

↓

감압 농축

↓

원심분리(13,000 rpm for 15 min)

↓

상등액

↓

증류수로 정용(100 mL)

↓

기능성 확인을 위한 시료

그림 5. 총폴리페놀 함량, 전자공여도 및 아질산염 소거능 측정을 위한 구기자 추출물 제조공정

2) 총폴리페놀 화합물

구기자의 추출 용매에 따른 총폴리페놀 화합물 함량을 측정한 결과는 표 4와 같다. 추출용매에 따른 총폴리페놀 화합물은 80% 메탄올 추출물이 3.09 g%, 75% 아세톤 추출물이 3.10 g%, 열수 추출물이 3.41 g%로 열수추출물이 다른 추출물보다 높은 값을 보였다. 국내산 식물성 식품 중의 총폴리페놀 화합물 함량을 분석한 결과를 보면 모과(1.18g), 밤속껍질(5.16g), 감잎(5.24g), 복분자딸기(3.21~5.87g) 등으로 조사되어 이것과 비교할 때 구기자의 총폴리페놀 화합물은 탄닌 함량이 많은 밤속껍질이나 감잎 등보다는 비교적 낮은 농도로 나타났다. 또한 선인장의 경우에는 씨 1.47g, 줄기 1.86g, 열매 3.4~4.9g의 폴리페놀 화합물을 함유하는 것으로 보고하였으며, 꾸지뽕나무의 경우 잎 1.34g, 줄기껍질 1.30g, 뿌리껍질 1.31g, 열매 1.54g의 총폴리페놀 화합물을 함유하고 있어 주로 열매에 폴리페놀 함량이 높은 것으로 보고하였다.

표 4. 추출용매에 따른 구기자 추출물의 총폴리페놀 화합물

	Total polyphenol contents*(g%)
80% MeOH	3.09±0.81**
75% Acetone	3.10±0.97
Hot water	3.41±0.76

* 시료 : FD powder(1g/100ml)

**평균 ± 표준편차(3 replicates)

3) 전자공여도

전자공여도(electron donating ability)는 각 화합물의 DPPH에 대한 전자공여 효과로 시료의 환원력을 측정하는 것으로 DPPH가 아스코르빈산 및 토코페롤, polyhydroxy 방향족 화합물, 방향족 아민류에 의해 전자나 수소를 받아 불가역적으로 안정한 분자를 형성하여 환원되어짐에 따라 짙은 자색이 탈색되어지는 원리를 이용하여 측정한다. 구기자추출물의 전자공여효과는 표 5에 나타낸바와 같이 80% 메탄올 추출물 66.21%, 75% 아세톤 추출물은 63.90%, 열수 추출물은 64.34%로 추출 용매에 따른 차이는 크지 않은 것으로 밝혀졌다. 이는 같은 조건으로 추출한 복분자 열매 추출물의 전자공여도 80% 메탄올 추출물 82.64%, 열수 추출물 88.93%와 비교할 때 복분자에 비해 전자공여도가 다소 떨어지는 것으로 나타났다.

표 5. 추출용매에 따른 구기자 추출물의 전자공여도

	Electron donating ability(%)*
80% MeOH	66.21±13.38**
75% Acetone	63.90±12.10
Hot water	64.34±10.41

* 시료 : FD powder(1g/100ml)

**평균 ± 표준편차(3 replicates)

4) 아질산염 소거능

추출 용매에 따른 구기자 추출물의 아질산염 소거율은 표 6에 나타낸 바와 같이 동일조건의 pH 1.2에서 80% 메탄올 추출물은 36.91%, 75% 아세톤 추출물은 29.28%, 열수추출물 30.96%로 메탄올 추출물에서 다소 높게 나타났다. 이는 복분자 딸기 추출물의 아질산염 소거율 80% 메탄올 57.35%, 75% 아세톤 추출물 59.26%, 열수 추출물 47.33% 보다 낮게 나타났다.

표 6. 추출용매에 따른 구기자 추출물의 아질산염 소거능

	Nitrite scavenging activity(%)* pH 1.2
80% MeOH	36.91±2.46**
75% Acetone	29.28±1.90
Hot water	30.96±0.09

* 시료 : FD powder(1g/100ml)

**평균 ± 표준편차(3 replicates)

5) SOD 유사활성

Superoxide에 의해 촉매되어 산화되는 pyrogallol을 기질로 사용해서 측정한 SOD 유사활성을 측정한 결과는 표 7에 나타내었다. 80% 메탄올 추출물 29.37%, 75% 아세톤 추출물은 27.06%, 열수 추출물 28.14%로 나타나 80% 메탄올 추출물과 열수 추출물에서 높게 나타났다. 이는 복분자

딸기의 경우 80% 메탄올 추출물 43.16%, 75% 아세톤 추출물 43.99%, 열수 추출물 41.12% 보다 낮은 경향을 나타내었다.

표 7. 추출용매에 따른 구기자 추출물의 SOD 유사활성

	SOD-like activity(%)*
80% MeOH	29.37±1.26**
75% Acetone	27.06±3.83
Hot water	28.14±0.65

* 시료 : FD powder(5g/100mL)
**평균 ± 표준편차(3 replicates)

6) 항균활성

추출용매에 따른 구기자 추출물의 항균활성을 측정한 결과는 표 8과 같다. 각 추출물 모두 실험에 사용한 *Escherichia coli* O111, *Salmonella typhimurim* ATCC13311, *Bacillus cereus* SKK12, *Staphylococcus aureus* SKK14 등에서 항균활성을 나타내지 않는 것으로 나타났다. 따라서 구기자 가공식품의 경우 다른 종류 식물보다 미생물에 대한 오염 위험성이 높을 것으로 예상되므로 구기자 가공시 미생물 관리에 유의해야 할 것으로 생각된다.

표 8. 추출용매에 따른 구기자 추출물의 항균활성

	80% MeOH	75% Acetone	Water
Escherichia coli	-	-	-
Salmonella typhimurim	-	-	-
Bacillus cereus	-	-	-
Staphylococcus aureus	-	-	-

3. 추출공정의 최적화 및 농축액 제조

1) 압착추출

구기자 추출액을 얻기 위해 생과를 그대로 압착하는 방법과 생과를 -20℃에 냉동 보관한 후 이를 적정온도까지 해동하여 압착하는 방법 등 2가지로 실험하였다. 먼저 생과는 이물질을 제거하기 위해 물로 세척하여 체에 건져 탈수시킨 후 이를 압착추출기로 추출하였으며, 냉동 보관하여 둔 구기자는 내부 온도가 -4~0℃가 되도록 해동시킨 다음 이를 압착추출기를 이용하여 추출하였다. 그 결과 생과를 그대로 압착하였을 경우 구기자 과육의 점도가 매우 높아 추출효율이 50% 미만인 반면, 냉동시킨 구기자를 반 해동하여 압착 추출하였을 경우는 약 60% 정도의 추출효율을 보였다. 즉, 구기자를 세척 탈수 후 급속동결하여 -20℃에서 보관하면서 해동하여 압착 추출하는 것이 수율 및 품질유지 면에서 유리한 것으로 나타났다.

2) 효소추출

구기자를 세척, 탈수 한 후 믹서로 분쇄 후 효소처리를 행하였으며 사용 효소는 M.A., sumyzyme, collupulin 및 Maxazyme NNP.(protease) 효소 등 이었다. 효소 추출액 제조공정은 그림 6과 같다.

이중 symyzyme이 83.40%, M.A.는 90.65%를 나타내어 본 실험에서 추출효율이 가장 좋은 M.A.를 이용하여 효소 추출액을 제조하였다. 구기자 생과를 이용하여 추출액 제조시 시간이 경과함에 따라 추출액에서 황색의 색소물질이 침전되어 액층과 분리되고 추출액의 색도 전체적으로 갈색화되는 경향을 나타내었다. 이의 해결을 위해 여과, 침전 및 원심분리 등을 다음과 같이 행하였다. 즉, 효소 추출액을 80℃로 가열하여 효소 불활성화를 시키고 급속 냉각한 후 8,000rpm에서 10분간 원심 침강하고 상층액만을 여과하여 효소 추출액으로 사용하였다.

냉동구기자

↓

마 쇄

↓

구기자 : 정제수 = 1 : 1

↓

총량의 0.05% 효소첨가

↓

shaking incubator(40℃, 200rpm, 2hr)

↓

40mesh 여과

↓

80℃ 가열(효소 불활성화)

↓

냉각

↓

원심분리(8,000rpm, 10분)

↓

micro filter paper로 여과

↓

구기자 효소 추출액

그림 6. 구기자를 이용한 효소 추출액 제조 공정.

3) 당침 추출

구기자의 당액추출은 생과와 건조된 것을 사용하였다. 생과와 건조된 것은 수분함량의 차이가 있기 때문에 설탕의 양을 다르게 하여 사용하였으며 그 제조공정은 그림 7과 같다.

(1) 생과 당침

구기자 생과량의 2배에 해당하는 설탕에 30%의 정제수를 가하고 50℃에서 용해시킨다. 설탕 용해액은 냉각 후 주정을 2% 첨가하고 세척 탈수된 구기자 생과를 넣는다. 이를 0~4℃ 저장고에 2달간 숙성시키고 여과한 후 구기자 생과 당침액으로 사용하였다.

(2) 건과 당침

건조된 구기자를 물에 세척한 후 탈수시키고 이를 강한 불에서 5분 정도 볶다가 물기가 어느 정도 없어지면 구기자가 부풀어오를 때까지 약한 불에서 15분 정도 볶아주었다. 이를 냉각하여 건조 구기자 당침액을 제조하는 시료로 사용하였다. 건조 구기자에 50% 설탕액 3배, 주정은 총량의 2%를 첨가하여 저온 저장고에서 숙성시켰다. 이를 두달간 저온에서 숙성한 후 여과포로 여과하여 다시 저온에서 숙성시키며 건조 구기자 당침액으로 사용하였다.

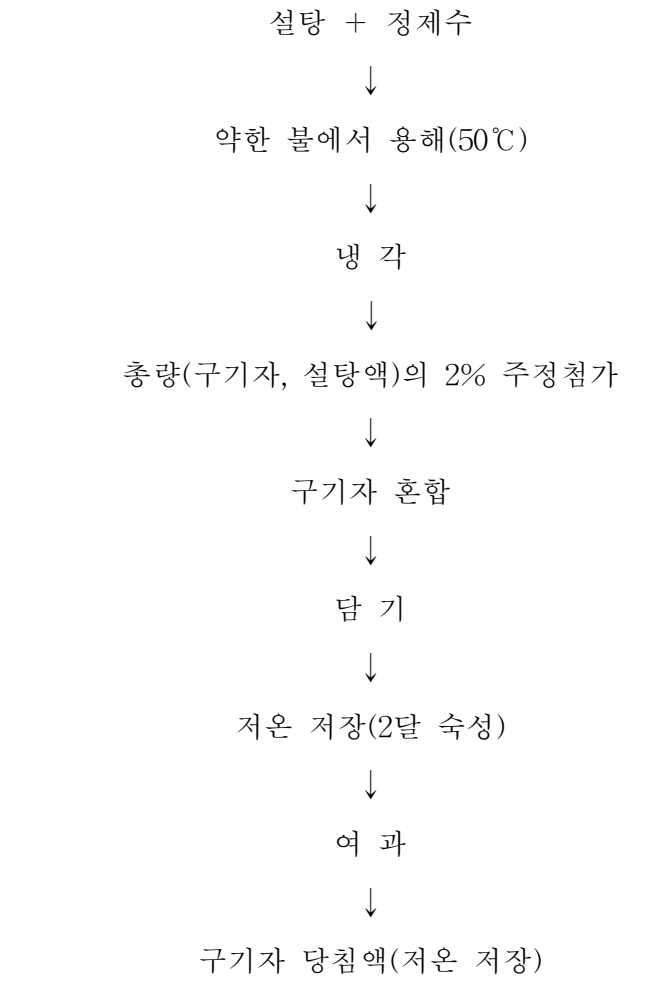

그림 7. 건조 구기자를 이용한 당침 추출액 제조 공정.

4) 열수추출

구기자의 열수추출 공정은 그림 8에 나타낸 바와 같다. 즉, 자연건조시킨 구기자를 정선하고 세척한 후 강한 불에서 5분간 볶음처리 후 다시 약한 불에서 15분간 가열하여 구기자 과피가 부풀어오를 때까지 교반하면서 잘 저어 준다. 이를 체에서 즉시 냉각 후 정제수를 보충하면서 100℃에서 2시간정도 열수 추출하고 여과한 후 얻어진 추출액을 음료 제조용으로 사용하였다.

건조구기자

↓

정선 및 물세척

↓

탈수

↓

강한 불에서 5분간 볶음

↓

약한 불에서 15분간 볶음

↓

냉각

↓

구기자 : 정제수 = 1 : 30

↓

열수추출, 100℃, 2시간

↓

냉각

↓

부직포 여과

↓

열수 추출액

그림 8. 건조 구기자를 이용한 열수 추출액 제조 공정.

5) 농축액 제조

압착 추출, 효소 추출, 당침 추출 및 열수 추출하여 얻어진 추출액을 저장 및 보관의 용이성을 높이기 위해 농축액을 제조하였다.

모두 상압 가열 농축하였는데 추출액만으로 농축시 저장성을 높이기 위해서는 60。brix이상으로 농축되어야하므로 덱스트린류를 첨가하여 농축하였다. 실험에 사용된 덱스트린으로는 말토덱스트린, 싸이클로덱스트린, β-싸이클로덱스트린 등을 사용하였다. 각각의 덱스트린을 추출액의 20%, 10%, 5%, 0.5%를 첨가하여 농축하였다. β-싸이클로덱스트린은 0.5%를 제외하고 모두 60。brix이상 농축하였을 때 흰색 침전물이 생성되었다. 이는 많은 양의 덱스트린으로 농축시 결정화된 것으로 사료되어지는데 β-싸이클로덱스트린은 첨가시 방향성 물질을 포집하여 냄새 성분이 휘발되는 것을 막아주지만 원가가 싸이클로덱스트린에 비해 3배정도 비싸므로 다른 덱스트린류로 추출효율을 높이고 β-싸이클로덱스트린은 향기성분을 잡아주는 역할을 위해 0.5%정도만 첨가하기로 하였다.
말토덱스트린의 경우 20%(수율이 30%이상)나 10%정도(수율이 21%이상) 첨가시 수율이나 농축액의 안정화에는 유리하였으나 구기자 향보다는 덱스트린의 과량 첨가로 엿의 향미가가 매우 강하게 느껴졌다.

구기자 농축액 제조시 구기자 특유의 향과 맛 그리고 수율에서 5% 말토덱스트린과 0.5% β-싸이클로덱스트린을 첨가하여 제조한 경우가 가장 적당하였다. 무첨가시에 5~7%정도의 수율에서 5%의 말토덱스트린과 0.5% β-싸이클로덱스트린첨가시 15.5%로 높여주었다. 또 맛이나 향에서도 무첨가시보다 더 좋았다.

그리고 구기자는 다른 과실에 비해 구연산이나 비타민 등의 산의 함량이 낮고 항균효과가 거의 없어 추출액이 미생물에 의한 오염 확률이 매우 높았다. 추출액의 저장성을 높이기 위해서는 농축액의 pH가 낮게 유지되

어야 하므로 추출액에 구연산 0.5%를 첨가하여 가열농축한 후 미첨가구와 저장 안정성을 비교하였다. 25℃에서 5일 경과 후 구연산 미첨가구에서는 쉰 냄새와 함께 흰곰팡이와 노란 곰팡이가 나타났지만 0.5% 구연산 첨가구에서는 안정하였다.

4. 구기자를 이용한 다양한 가공식품 개발

1) 스포츠 이온음료

구기자 생과를 효소 분해한 후 제조한 구기자 농축액을 이용하여 표 9와 같은 배합비로 스포츠 이온음료 제조실험을 행하였다. 본 스포츠 음료는 구기자의 향미를 가지면서 스포츠 음료로서의 기능성 및 기호성을 동시에 부여하기 위해 여러 가지 당, 산 및 무기이온 등을 첨가하였다. 또한 음료로서의 저장성을 높이기 위해서 pH를 낮게 유지하였다. 기호도 조사 결과 설탕 등 당의 함량이 낮고 염화나트륨의 함량이 비교적 많은 4172를 가장 선호하였다. 그러나 4172 등 모든 시험구에서 음료를 마신 뒤 구기자 농축액의 가열과정에서 생성된 것으로 보이는 이미가 남아 기호도를 떨어뜨렸다. 따라서 건조구기자 농축액을 열수추출 후 소량의 덱스트린과 구연산을 첨가하여 감압 농축한 구기자 농축액을 이용하여 4721 배합비를 기본 배합비로 하여 표 10과 같이 제조한 후 기호도 조사를 실시하였다.

기호도 조사 결과 말토덱스트린, MSG 등을 첨가한 5083이 가장 좋은 것으로 나타났다. 효소추출 농축액보다 열수추출 농축액의 사용이 구기자 특유의 향과 맛의 부여 및 스포츠 음료의 기호도를 전체적으로 개선시켰다. 그러나 아직도 후미에서 느껴지는 끈적끈적함과 단맛 때문에 전체적으로 선호도가 떨어졌다. 또한 생과와 다르게 구기자를 볶는 과정에서 구기자 씨에서 기름 등이 추출되어 좋지 않는 맛을 부여하였으며 제조된 스포츠 음료의 색상이 좋지 않아 천연색소를 첨가해야 하는 문제점이 발생했다.

따라서 건조 구기자를 이용하여 제조된 당침 추출액을 사용하여 기호도가 좋았던 5083을 기본 배합비로 하여 표 11과 같이 스포츠 음료를 제조하였다. 음료를 첨가 배합비에 따라 조제한 후 병입살균하여 기호도 조사를 실시한 결과 구기자 향미와 전체적인 맛이 조화를 잘 이룬 5241 배

합비가 가장 선호도가 좋은 것으로 나타나 스포츠 이온음료 배합비로 최종 확정하였다.

표 9. 구기자 효소추출 농축액을 이용한 스포츠 이온음료 배합비

	4121	4122	4171	4172
구기자추출농축액	1.00	1.00	1.00	1.00
설탕	4.00	3.00	2.80	2.60
액상과당	5.00	4.00	3.70	3.50
구연산	0.10	0.10	0.10	0.12
구연산나트륨	0.10	0.10	0.10	0.12
염화나트륨	0.05	0.05	0.06	0.08
염화칼슘	0.03	0.03	0.03	0.03
염화마그네슘	0.004	0.004	0.004	0.05
젖산칼슘	0.01	0.01	0.01	0.01
비타민 C	0.05	0.05	0.05	0.06
사과산	0.05	-	-	0.03
트레할로스	0.30	0.20	0.20	0.20
스테비오사이드	0.01	0.01	0.01	0.01
β-싸이클로덱스트린	0.10	0.10	0.10	0.10
정제수	89.196	91.346	91.836	92.135
pH	3.54	3.84	3.83	3.62
가용성고형분 함량 (°brix)	9.50	7.80	7.50	7.00
종합적 기호도*)	5.8±1.2	5.2±1.5	5.8±1.0	6.3±1.3

*) 평균±표준편차, 관능요원 30명

표 10. 건조 구기자의 열수 추출 농축액을 이용한 스포츠 음료 배합비

	5071	5072	5073	5074	5081	5082	5083
구기자추출농축액	1.00	1.00	1.00	0.50	0.60	0.60	0.60
설탕	-	-	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
액상과당	6.78	6.78	5.00	5.00	5.00	4.00	3.50
구연산	-	0.05	0.06	0.06	0.07	0.10	0.11
구연산나트륨	0.10	0.10	0.10	0.10	0.11	0.11	0.11
염화나트륨	0.07	0.09	0.09	0.10	0.10	0.10	0.10
염화마그네슘	-	-	0.04	0.04	0.004	0.004	0.004
젖산칼슘	0.031	0.031	0.031	0.031	0.031	0.031	0.031
비타민 C	0.05	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.07
사과산	-	-	-	-	0.03	0.05	0.05
트레할로스	-	0.05	0.10	0.10	0.10	0.15	0.15
스테비오사이드	-	-	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
β-싸이클로덱스트린	-	-	-	-	-	0.50	-
염화칼륨	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
MSG	-	-	-	-	0.015	0.015	0.015
말토덱스트린	-	-	-	-	-	-	1.00
정제수	91.93	91.80	91.50	91.99	91.83	92.23	92.21
pH	5.08	4.56	4.54	4.55	4.42	4.17	4.15
가용성고형분 함량 (°brix)	6.30	6.40	7.10	6.70	7.11	7.30	7.20
종합적 기호도*)	5.5±1.5	5.9±1.4	6.0±1.2	5.9±1.0	6.0±1.2	6.2±1.5	6.8±1.2

*) 평균±표준편차, 관능요원 30명

표 11. 건조 구기자의 당침 추출 농축액을 이용한 스포츠 음료 배합비

	5084	5085	5086	5241
구기자추출농축액	0.70	0.70	0.60	0.60
설탕	2.00	2.00	1.70	1.70
액상과당	5.00	4.00	3.30	3.30
구연산	0.07	0.10	0.11	0.11
구연산나트륨	0.11	0.11	0.11	0.11
염화나트륨	0.10	0.10	0.10	0.10
염화마그네슘	0.004	0.004	0.004	0.004
젖산칼슘	0.031	0.031	0.031	0.031
비타민 C	0.06	0.06	0.07	0.09
사과산	0.03	0.05	0.05	0.07
트레할로스	0.10	0.15	0.15	0.20
스테비오	0.01	0.01	0.01	0.01
β-싸이클로덱스트린	-	0.50	-	-
염화칼륨	0.04	0.04	0.04	0.04
MSG	0.015	0.015	0.015	0.015
말토덱스트린	-	-	1.00	1.00
정제수	91.73	92.13	92.71	92.62
pH	4.45	4.15	4.10	4.01
가용성고형분 함량 (°brix)	7.00	7.30	6.40	6.50
종합적 기호도*)	6.5±1.2	6.8±1.3	6.8±1.0	7.2±1.2

*) 평균±표준편차, 관능요원 30명

2) 패션생수(미과즙 음료)

미과즙 음료는 생수에 가까우면서 약간의 단맛과 신맛을 나타내는 음료로서 시중에서 판매되는 패션생수의 배합비를 기본으로 하여 제조하였다. 즉, 시중에 판매되고 있는 패션생수는 대부분 7.5~7.9。brix, pH 3.5 내외이었다. 여러 가지 구기자 추출액으로 음료를 제조한 결과 본 미과즙 음료에는 구기자 생과 당침액(50。brix)이 가장 좋은 것으로 나타났다. 즉, 구기자 생과 당침액(50。brix)을 이용하여 음료를 제조 후 기호도 조사를 실시한 결과 표 12와 같이 당도와 pH가 비교적 낮게 유지되어 구기자 생과의 특유한 깨끗한 향미가 약하게 살아있는 1227를 선호하였다.

표 12. 구기자 생과 당침액을 이용한 미과즙 음료 배합비

	1211	1227
구기자당침액	2.00	2.00
백설탕	2.00	1.50
액상과당	3.00	2.50
올리고당	1.00	1.00
비타민C	0.03	0.05
사과산	-	0.03
구연산	0.05	0.05
구연산나트륨	0.07	0.07
β-싸이클로덱스트린	0.50	0.50
트레할로스	0.20	0.30
스테비오사이드	0.01	0.01
정제수	91.14	91.99
pH	4.17	3.98
가용성고형분 함량 (°brix)	7.20	6.80
종합적 기호도*)	6.3±1.4	7.0±1.2

*) 평균±표준편차, 관능요원 30명

3) 과립차

구기자 과립차 제조는 구기자 농축액을 제외한 포도당, 구연산, 구연산나트륨, 스테비오사이드, 설탕 등의 분말원료를 먼저 계량 후 잘 혼합한 다음 구기자 농축액을 첨가 후 과립기에 밀어 과립화하였으며, 과립화된 것을 40~45℃의 열풍건조기에 수분이 10%이하가 되도록 건조하여 제조하였다.

(1) 부원료 선정 및 배합비 조정

건조 구기자의 추출 농축액을 이용하여 과립차 제조를 위한 원·부재료 및 배합비 선정 결과는 표 13과 같다. 구기자 농축액의 함량은 7~8% 범위, 포도당 함량은 60~70% 범위 일 때 과립화하기에 유리하였으며 과립제조를 위한 부원료로 매실향을 0.1% 첨가시 기호적으로 우수하였다. 또한 구연산 나트륨의 경우는 1.5% 수준에서 단맛과 조화를 잘 이루었고 스테비오사이드는 0.2% 수준에서 기호적으로 우수하였으며 그 이상 첨가시는 단맛이 후미로 남는 느낌이 있어 좋지 않았다. 기호도검사 결과 308번 배합비가 가장 우수한 것으로 나타나 이 배합비를 최종 배합비로 결정하였다. pH와 당도는 과립차 10g을 음용수 100ml에 희석하여 측정하였다.

표 13. 구기자 과립차 배합비

	124	305	**308**	663
구기자 농축액	10.0	7.0	**7.0**	8.0
설탕	20.0	20.0	**20.0**	20.0
스테비오사이드	0.2	0.2	**0.2**	0.2
구연산	0.5	0.5	**0.5**	0.5
구연산 나트륨	1.5	1.5	**1.5**	1.5
비타민 C	-	-	**0.3**	0.2
매실 향	-	-	**0.1**	0.1
무수결정 포도당	67.8	70.8	**70.4**	70.5
pH	4.69	4.76	**4.57**	4.60
가용성고형분 함량 (°brix)	9.6	8.9	**9.0**	9.3
종합적 기호도*)	5.8±1.3	6.3±1.4	6.8±1.2	6.5±1.0

*)관능요원 30명

(2) 제조 공정 확립

구기자 농축액 첨가 과립차의 제조공정은 표 14에 나타낸바와 같다.

표 14. 구기자 농축액 첨가 과립차 제조공정

제조공정	주 요 내 용
분말원료	포도당, 구연산, 구연산나트륨, 스테비오사이드, 설탕 등
↓	
계량	분말원료를 저울을 이용하여 미리 계량하여 둔다
↓	
배합 및 혼합	분말 원료를 배합비에 준하여 배합한 다음 믹서기를 이용하여 혼합한다.
↓	
액상 원료 계량 및 첨가	1차로 혼합된 분말원료에 구기자 농축액(60。brix)을 계량하여 첨가한다
↓	
배합 및 혼합	분말원료와 농축액을 배합한 다음 믹서기를 이용하여 충분히 섞이도록 잘 혼합하여준다
↓	
과립	상기의 혼합물을 과립기에 밀어 과립화한다
↓	
건조	과립화된 것을 40~45℃의 열풍건조기에 수분이 10% 이하가 되도록 건조한다
↓	
체로 치기	건조된 과립을 최종적으로 덩어리 및 분말 등이 혼입되지 않도록 30mesh 크기의 체에 거른다
↓	
포장	포장단위는 10g씩 불투명 필름 봉지에 포장한다
↓	
제품	최종제품은 1봉지(10 g)에 끓는물 100 mL 정도를 넣고 음용

4) 액상차

(1) 부원료 선정 및 배합비 조정

구기자 열수추출 농축액을 이용하여 액상차 제조를 위한 원·부원료 배합비 실험결과는 표 15와 같다. 액상 추출차의 경우 가수량 외에 점도가 중요한 역할을 하기 때문에 말토 덱스트린과 솔스타 같은 전분류의 양을 변화시키며 점도를 비교하였다. 기호도 조사는 겔 형성능과 물에 희석시 관능적 특성을 표 16과 같이 비교하였다. 그 결과 789번 배합비가 겔 형성능, 물에 희석시 입안에서의 느낌 및 관능적으로 가장 우수하였다. 따라서 789번 배합비를 최종 배합비로 선정하였으며 pH는 액상차 10 g에 음용수 100 mL로 희석하여 측정하였고 당도는 액상차 원액을 그대로 측정하였다.

표 15. 구기자 액상차 배합비 조정시험 및 제조 액상차의 특성

	429	975	323	**789**
구기자 농축액	10.0	10.0	10.0	**10.0**
꿀	10.0	10.0	10.0	**9.0**
액상과당	20.0	20.0	20.0	**19.0**
설탕	25.0	30.0	20.0	**19.0**
솔스타	2.0	4.0	4.5	**4.5**
말토 덱스트린	3.0	4.0	6.0	**6.0**
비타민 C	0.2	0.2	0.2	**0.2**
구연산	0.2	-	-	**-**
구연산 나트륨	0.2	0.2	0.2	**0.2**
정제수	29.4	21.6	29.1	**32.1**
pH	4.32	4.41	4.39	**4.40**
가용성고형분 함량 (°brix)	56.2	59.2	55.3	**53.8**

표 16. 구기자 액상차의 기호도 조사*)

	429	975	323	789
겔 형성능	6.0	6.5	6.7	6.8
색	6.8	6.6	6.8	7.0
향	6.2	6.3	6.0	6.3
맛	5.8	6.0	6.3	6.7
입안에서의 느낌	6.0	6.3	6.6	6.8
종합적 기호도	6.0	6.2	6.6	7.0

*)관능요원 30명

(2) 구기자 액상차 제조공정

구기자 열수 농축액을 이용한 구기자 액상차의 제조공정은 그림 9에 나타낸바와 같다.

5) 환 제조

(1) 구기자 환 배합비 조정

구기자 환을 제조하기 위하여 한방에서 강정제로 알려진 오자환의 형태로 제조시험을 행하였다. 환의 제조는 자환기에서 국수가닥처럼 내려진 가닥을 절단기에 환 모양으로 절단하여 제환하고 이를 환제틀에 넣고 정환하였다. 정환된 환들을 열풍건조기에 40~65℃까지 단계적으로 온도를 높여 가면서 건조시켰다. 1차로 건조된 환을 코팅하고 재건조하여 제품으로 하였다. 환 제조시 가장 중요한 것은 농축액 원료와 분말원료의 함량

그리고 밀가루풀의 함량이 환 형성에 가장 중요하였다. 이들 원료를 이용하여 여러 가지 배합시험을 한 결과는 표 16에 나타내었다. 다섯가지 원료를 가지고 환을 제조시 526의 배합은 분말원료의 함량을 높이고 밀가루풀의 함량을 낮추어 배합한 것으로 환 형성은 잘 이루어졌으나 원료원가의 부담이 높게 형성되어 가격적인 면에서 일차로 조정할 필요가 있었다. 이를 감안하여 526의 배합을 기준으로 하여 5가지의 원료 분말의 함량을 전체적으로 약 5%로 낮추어 배합조정 시험하였다. 여기에 밀가루 풀과 현미분말을 조정하여 환을 제조한 결과 242의 배합비가 환 형성능, 외관 등 여러 가지 면에서 우수한 것으로 나타났다. 또한 환의 상품성을 높이기 위한 코팅제 첨가실험에서는 정환하여 1차 건조된 환을 환제틀에서 돌리면서 60% 꿀을 스프레이로 뿌려주면서 코팅한 후 건조시키는 것이 제품의 품질에 유리하였다.

(2) 구기자 환 제조공정

구기자 열수 농축액을 이용한 구기자 환의 제조공정은 표 17에 나타낸 바와 같다.

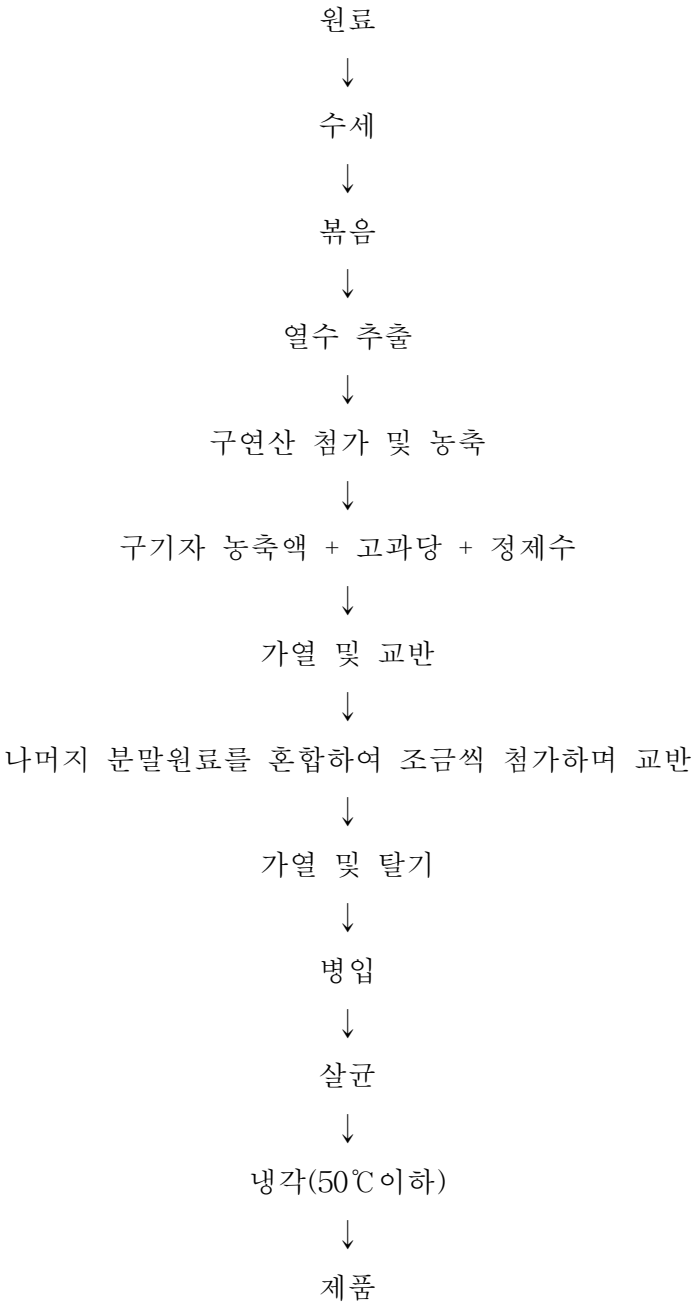

그림 9. 구기자 농축액을 이용한 액상차 제조공정.

표 17. 구기자를 이용한 구기자환 제조를 위한 배합비

	526	365	945	242
구기자 농축액	15.0	15.0	15.0	15.0
구기자 분말	11.5	5.0	5.0	5.0
복분자 분말	11.5	5.0	5.0	5.0
오미자 분말	11.5	5.0	5.0	5.0
사상자 분말	11.5	5.0	5.0	5.0
토사자 분말	11.5	5.0	5.0	5.0
꿀	15.0	5.0	5.0	5.0
밀가루풀	12.5	22.5	25.0	27.0
현미분	-	32.5	30.0	28.0

표 18. 구기자를 이용한 환 제조공정

제조공정	주 요 내 용
원료	환의 원료에 해당되는 복분자, 구기자, 사상자, 오미자, 토사자를 분말화하여 준비하고 구기자 농축액은 추출하여 60。brix로 농축시킨 것을 사용한다
↓	
건조	분말 원료는 수분함량이 10% 이하가 되도록 열풍건조하여 사용
↓	
분쇄	건조된 원료는 분쇄기를 이용해 30 mesh가 되도록 분쇄한다
↓	
계량	원료는 미리 정확하게 계량한다
↓	
배합 및 혼합	분말 원료를 호바트 믹서기로 혼합한 후 액상 원료인 구기자 농축액(25。Brix), 꿀, 밀가루풀(밀가루 : 물 = 1 : 5)을 혼합한다
↓	
반죽	혼합된 반죽을 2단 롤러를 이용하여 반죽한다
↓	
자환	반죽물을 자환기에 들어갈 수 있게 일정한 모양으로 성형한 후 자환기에 내리고 가닥이 서로 붙지않도록 밀가루를 뿌려준다
↓	
제환	내려진 가닥에 골고루 밀가루를 다시 뿌려 준다음 제환기의 절단간격을 조절한 후 한 가닥씩 차례대로 절단하여 제환한다
↓	
정환	제환기에서 절단된 환들을 환제틀에 넣고 정환한다
↓	
건조	정환된 환을 열풍건조기에서 40-65℃, 12시간 이상 건조시킨다. 이때 건조온도는 5℃간격으로 서서히 올려주며 건조한다
↓	
코팅	1차 건조 후 환제틀에 돌리면서 60% 꿀을 스프레이로 뿌려주며 코팅한다
↓	
건조	코팅된 환을 열풍건조기에서 45℃, 12시간 건조한다
↓	
제품	코팅 및 건조된 환을 수분흡수제와 같이 포장하여 제품화하였다

5. 가공제품의 저장 중 품질평가 및 기호도 조사

1) 구기자 스포츠 이온음료

구기자 추출액을 이용한 스포츠 이온음료의 저장 중 성분변화 및 품질변화를 측정한 결과는 표 19에 나타낸 바와 같다. 표 11의 5241번의 배합비율로 조제 후 37℃에서 저장 중 품질변화는 pH, 당도 경우는 거의 변화가 없었으나 색도의 경우는 b값이 증가하는 경향을 나타내었으며 다소 갈색화가 진행되었다. 미생물 검사에서는 대장균군과 일반세균 모두 음성을 나타내었다. 기호도 조사에서는 저장 12주까지 큰 변화는 없었으나 저장기간이 길어짐에 따라 색, 향, 종합적 기호도가 다소 낮아지는 경향을 보였다.

표 19. 구기자 이온음료의 가온(37℃)저장 중 품질 변화

	살균전	살균 직후	저장 초기	1주	3주	6주	9주	12주
가용성 고형분 (°brix)	6.6	6.7	6.7	6.5	6.6	6.6	6.5	6.7
pH	3.49	3.47	3.52	3.54	3.55	3.56	3.56	3.55
효모·곰팡이	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성
대장균	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성
일반세균	2.0×10^{1}	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성
Hunter L	93.77	93.75	93.75	93.72	93.73	93.72	93.72	93.73
a	-1.19	-1.26	-1.26	-1.31	-1.30	-1.32	-1.35	-1.36
b	6.00	7.91	7.91	7.88	7.89	8.10	7.95	8.20

표 20. 구기자 이온음료의 가온(37℃)저장 중 기호도 조사*)

	저장 초기	1주	3주	6주	9주	12주
색상	6.9	6.9	6.8	6.7	6.7	6.5
향	6.0	5.6	5.5	5.2	5.2	5.1
신맛	6.5	6.8	6.6	6.6	6.6	6.5
단맛	5.4	5.7	5.8	5.8	5.8	5.8
종합적 기호도	6.4	6.2	6.2	6.0	5.9	5.7

*)관능요원 30명

2) 구기자 패션생수(미과즙 음료)

구기자 미과즙 음료를 표 12의 1227의 배합비로 제조하여 경시적으로 품질변화를 분석한 결과는 표 21과 같다. 구기자 미과즙 음료의 저장 중 가용성 고형분 함량, pH는 저장 12주까지 거의 변화가 없었으나 색도에 있어서 b값이 시간이 경과함에 따라 약간 증가하였다. 미생물 검사에서는 효모, 대장균, 일반세균 모두 저장 12주까지 음성을 나타내었다. 표 22에서 보는바와 같이 기호도 조사에 있어서는 색상과 종합적 기호도가 저장일수가 증가함에 따라 다소 감소하는 것으로 나타났으나 대체로 안정한 경향을 나타내었다.

표 21. 구기자 미과즙 음료의 가온(37℃) 저장 중 품질변화

	살균전	살균 직후	저장 초기	1주	3주	6주	9주	12주
가용성 고형분 (°brix)	7.0	7.1	7.0	6.9	7.1	7.1	7.2	7.1
pH	3.54	3.54	3.52	3.56	3.58	3.58	3.58	3.57
효모·곰팡이	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성
대장균	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성
일반세균	2.0×10^{1}	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성
Hunter L	95.70	95.75	95.60	95.61	95.58	95.55	95.59	95.60
a	-0.55	-0.56	-0.60	-0.59	-0.79	-0.62	-0.58	-0.55
b	0.98	0.98	1.01	1.53	2.48	2.58	2.79	2.80

표 22. 구기자 미과즙 음료의 가온(37℃) 저장 중 기호도 조사*)

	저장 초기	1주	3주	6주	9주	12주
색상	7.9	7.8	7.0	7.1	6.9	6.8
향	6.5	6.7	6.9	6.5	6.5	6.7
신맛	5.2	5.0	5.0	5.0	5.1	5.0
단맛	6.3	6.0	6.1	6.1	6.1	6.2
종합적 기호도	7.0	7.2	7.3	6.8	6.8	6.5

*)관능요원 30명

3) 구기자 과립차

구기자 과립차를 표 13의 308의 방법으로 제조 후 경시적으로 품질변화를 분석한 결과를 표 23에 나타냈다. 저장 12주까지 가용성 고형분 함량, pH 및 산도에 있어서 거의 변화가 없었으며 미생물 검사도 효모, 대장균, 일반세균 모두 음성이었다. 색도에 있어서는 L값이 감소하고 b값이 다소 증가하는 경향을 나타내었다. 기호도 조사결과도 표 24에서 보는바와 같이 저장 일수가 증가함에 따라 색상, 향 및 종합적 기호도에서 다소 감소하였으나 전체적으로 안정한 결과를 나타내었다. 기호도 조사는 과립차를 10%로 용해하여 실시하였다.

표 23. 구기자 과립차의 가온(37℃) 저장 중 품질변화

	저장초기	1주	4주	8주	12주
가용성 고형분 (°brix)	8.7	9.2	10.2	9.7	9.3
pH	4.25	4.25	4.34	4.33	4.35
산도(%)	0.15	0.13	0.17	0.15	0.16
효모・곰팡이	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성
대장균	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성
일반세균	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성
Hunter L	44.49	42.45	40.95	40.56	39.72
a	8.08	8.17	8.22	7.95	8.55
b	5.58	8.22	10.11	10.44	12.22

표 24. 구기자 과립차의 가온(37℃) 저장 중 기호도 조사*)

	저장 초기	1주	3주	6주	9주	12주
색상	6.8	6.6	6.7	6.5	6.4	6.2
향	6.5	6.4	6.4	6.3	6.0	6.0
신맛	6.8	6.7	7.0	6.5	6.6	6.8
단맛	7.0	6.8	7.0	6.9	6.8	6.9
종합적 기호도	7.0	6.8	6.8	6.5	6.7	6.5

*)관능요원 30명

4) 구기자 액상차

구기자 액상차를 표 15의 789의 방법으로 제조 후 경시적으로 품질변화를 분석한 결과를 표 25에 나타내었다. 저장 12주까지 가용성 고형분 함량, pH 및 산도가 저장 초기와 차이가 거의 없었으며 미생물 검사도 효모, 대장균, 일반세균 모두 음성이었다. 색도에 있어서는 L값이 감소하는 경향을 나타내었다. 기호도 조사에 있어서는 표 26에 나타낸 바와 같이 저장 3주까지는 안정한 경향을 보였으나 저장 6주부터 색상, 향, 종합적 기호도에서 기호성이 다소 떨어지는 것으로 나타났다.

표 27. 구기자 액상차의 가온(37℃) 저장 중 품질변화

	저장초기	1주	4주	8주	12주
가용성 고형분 (°brix)	5.6	5.7	6.0	6.4	5.5
pH	4.33	4.32	4.54	4.52	4.54
산도(%)	0.20	0.17	0.12	0.13	0.11
효모·곰팡이	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성
대장균	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성
일반세균	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성
Hunter L	37.64	37.44	39.93	37.88	34.93
a	27.24	27.16	27.06	28.98	29.16
b	24.22	24.09	25.68	24.44	22.56

표 26. 구기자 액상차의 가온(37℃) 저장 중 기호도 조사*)

	저장 초기	1주	3주	6주	9주	12주
색상	7.0	6.5	6.5	6.0	5.6	5.4
향	6.3	6.4	6.2	5.8	5.7	5.4
신맛	5.8	6.0	5.8	5.8	5.9	5.8
단맛	5.9	5.8	5.6	5.8	5.8	5.6
종합적 기호도	6.8	6.6	6.5	6.0	5.8	5.8

*)관능요원 30명

5) 구기자 환

구기자 환을 표 17의 242의 방법으로 제조 후 저장 중 품질변화를 분석한 결과를 표 27에 나타내었다. 저장 12주까지 가용성 고형분 함량, pH 및 산도의 변화가 거의 없었으며 미생물 검사도 효모, 대장균, 일반세균 모두 음성이었다. 색도에 있어서는 b값이 증가하는 경향을 나타내었다.

표 27. 구기자 환의 가온(37℃) 저장 중 품질변화

	저장초기	1주	4주	8주	12주
가용성 고형분 (°brix)	3.2	2.4	3.6	3.7	3.4
pH	3.80	3.94	4.12	4.15	4.16
산도(%)	0.24	0.32	0.29	0.29	0.22
효모·곰팡이	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성
대장균	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성
일반세균	음 성	음 성	음 성	음 성	음 성
Hunter L	33.11	31.72	32.07	31.85	33.20
a	3.54	2.43	2.46	2.49	2.76
b	-4.94	3.42	3.37	3.40	3.36

6. 구기자 가공제품의 성분 분석

1) 스포츠 이온음료

최종 확정된 구기자 스포츠 이온음료에 대한 영양성분을 분석한 결과는 표 28에 나타낸 바와 같다.

표 28. 구기자 스포츠 이온음료의 FDA 영양성분 분석결과

분석항목	시료 100g 당	분석방법
총지방질(Total Fat)	0.4 g	AOAC
포화지방질(Saturated Fat)	0.1 g	GC
콜레스테롤(Cholesterol)	0.0 mg	GC
나트륨(Sodium)	164.9 g	ICP
총탄수화물(Total Carbohydrate)	53.9 g	USDA
식이섬유(Dietary Fiber)	0.9 g	Enzymatic-Gravimetric
당류(Sugars)	44.0 g	HPLC
단백질(Protein)	0.2 g	Kjeldahl
비타민 A(β-carotene)	0.0 μg	HPLC
비타민 C(Vitamin A)	256.8 mg	HPLC
칼슘(Calcium)	7.4 mg	ICP
철(Iron)	0.31 mg	ICP
수분(Moisture)	44.9 g	식품공전
회분(Ash)	0.6 g	식품공전

2) 구기자 패션생수

최종적으로 관능검사에서 선발된 구기자 패션생수에 대한 영양성분을 분석한 결과는 표 29에 나타낸 바와 같다.

표 29. 구기자 패션생수의 FDA 영양성분 분석결과

분석항목	시료 100g 당	분석방법
총지방질(Total Fat)	5.2 g	AOAC
포화지방질(Saturated Fat)	0.8 g	GC
콜레스테롤(Cholesterol)	0.0 mg	GC
나트륨(Sodium)	38.8 g	ICP
총탄수화물(Total Carbohydrate)	74.0 g	USDA
식이섬유(Dietary Fiber)	4.5 g	Enzymatic-Gravimetric
당류(Sugars)	2.8 g	HPLC
단백질(Protein)	14.3 g	Kjeldahl
비타민 A(β-carotene)	31.3 g	HPLC
비타민 C(Vitamin A)	0.0 mg	HPLC
칼슘(Calcium)	115.6 mg	ICP
철(Iron)	3.7 mg	ICP
수분(Moisture)	4.7 g	식품공전
회분(Ash)	1.8 g	식품공전

3) 구기자 액상차

최종적으로 관능검사에서 선발된 구기자 액상차에 대한 영양성분을 분석한 결과는 표 30에 나타낸 바와 같다.

표 30. 구기자 액상차의 FDA 영양성분 분석결과

분석항목	시료 100g 당	분석방법
총지방질(Total Fat)	8.2 g	BUCHI 지방정량
포화지방질(Saturated Fat)	1.2 g	GC
콜레스테롤(Cholesterol)	0.0 mg	GC
나트륨(Sodium)	136.8 g	ICP
총탄수화물(Total Carbohydrate)	54.1 g	USDA
식이섬유(Dietary Fiber)	19.5 g	Enzymatic-Gravimetric
당류(Sugars)	21.5 g	HPLC
단백질(Protein)	18.9 g	Kjeldahl
비타민 A(β-carotene)	0.0 μg	HPLC
비타민 C(Vitamin A)	0.0 mg	HPLC
칼슘(Calcium)	34.4 mg	ICP
철(Iron)	9.8 mg	ICP
수분(Moisture)	11.9 g	오븐건조법
회분(Ash)	3.9 g	회화법

4) 구기자 과립차 및 환의 기능성 성분

최종적으로 선발된 구기자 과립차 및 환의 총폴리페놀 함량, 전자공여도 및 아질산염 소거능을 측정한 결과는 표 31에 나타낸 바와 같다.

표 31. 구기자 과립차 및 환의 총폴리페놀 함량, 전자공여도 및 아질산염 소거능에 대한 효과

	구기자 과립차	구기자 환
Total polyphenol contents*(mg/g)	3.43±0.51**	7.24±0.67
Electron donating ability(%)*	7.87±1.18	16.07±1.20
Nitrite scavenging activity(%)*, pH 1.2	2.01±1.26	5.24±1.50

* 시료 : powder(1g/100ml)

***평균 ± 표준편차(3 replicates)

7. 품질관리를 위한 분석방법

1) pH

pH meter로 측정한다.

2) 비중

시료 1,000 mL의 무게를 5회 반복 측정하여 m = dv 식에서 계산함

(m= 무게, d= 비중(밀도), v= 부피)

3) 탁도

Spectrophotometer로 측정한 650 nm에서의 흡광도임 (blank는 탈이온 증류수 사용)

4) 가용성 고형분

사용 기기: Handrefractometer (Atago, PR-100, 0-32%, Japan)

1) 스위치를 켠다.

2) 증류수를 사용하여 0점을 맞춘다.

3) 시료를 놓고 start 스위치를 누른다.

5) 총고형분

식품공전 상의 수분 측정법에 따라 수분을 분석하고 100에서 백분율로 표시한 수분함량을 뺀 값이 총고형분 함량이 된다.

이 시험에서 수분이라 함은 건조감량법, 증류법 및 칼피샤법에 따라 정량되는 것을 말한다.

가. 건조감량법

(1) 상압가열건조법

이 시험법은 식품의 종류, 성질에 따라서 가열온도를 ① 98-100℃ ② 100-103℃ ③ 105℃ 전후(100-110℃) 및 ④ 110℃이상으로 한다.

즉, ①은 동물성 식품과 단백질 함량이 많은 식품, ④는 곡류 등의 신속법으로 쓰인다.

[기 구]

① 칭량접시: 상부직경 55 mm, 하부직경 50 mm, 높이 25 mm 또는 상부직경 75 mm, 하부직경 70 mm, 높이 35 mm로서 뚜껑이 있으며 중량은 전자가 약 25 g, 후자가 35 g의 알루미늄으로 만들어진 것을 사용한다.

② 유리봉: 해사(정제) 20 g을 칭량접시에 옆으로 삽입했을 때 적어도 1.5 cm이상 해사로부터 나와 있어야 하며 뚜껑을 닫을 수 있을 정도의 길이

③ 자동조절기가 달린 건조기: 적어도 ±1℃ 이내의 온도조절이 가능해야 한다.

[조작법]

미리 가열하여 함량으로 한 칭량접시에 검체 3-5 g을 정밀히 달아(건조가 어려운 검체인 경우에는 20 메쉬 정제해사 20 g과 유리봉을 넣어 항량이 되게 하고 이에 검체를 넣어 잘 섞은 후 유리봉은 그대로 넣어 둔다.), 뚜껑을 약간 열어 놓고 각 식품마다 규정된 온도의 건조기에 넣어 3-5시간 건조한 후 데시케이타 중에서 약 30분간 식히고 무게를 단다. 다시 칭량접시를 1-2시간 건조하여 항량이 될 때까지 같은 조작을 반복한다. 일반적인 것은 1회에 4시간(유 및 유제품 등은 3시간) 건조하여 수분량을 측정한다.

$$수분(\%) = \frac{b-c}{b-a} \times 100$$

a : 칭량접시의 무게(g)

b : 칭량접시와 검체의 무게(g)

c : 건조 후 항량이 되었을 때의 무게(g)

(2) 감압가열건조법

[기 구]

① 칭량접시 : 앞의 (1)항과 같은 것을 사용한다.

② 자동조절기가 붙은 감압건조기 또는 수욕식 감압건조기

[조작법]

100-110℃로 건조하여 항량으로 한 칭량병에 검체 2-5 g을 정밀히 달아 넣고 일정온도로 조절하여(일반적으로 98-100℃) 감압건조기에 넣어 일정분압으로 감압하여 약 5시간 건조한다. 다음 세기병(황산)을 통하여 습기를 제거한 공기를 건조기 중에 조용히 넣어 기내가 상압으로 되었을 때 칭량병을 꺼내어 데시케이타에서 식힌 다음 무게를 단다. 다시 칭량병을 감압건조기에 넣고 1시간 건조하여 항량이 될 때까지 같은 조작을 반복한다. 단, 국수, 식빵 등은 미리 건조하여 가루로 한 다음 실시한다. 연유, 생계란 등은 해사와 유리봉을 넣고 칭량병을 수욕상에서 미리 건조한 다음 실시한다. 연유, 생계란 등은 해사와 유리봉을 넣은 칭량병을 수욕상에서 미리 건조한 다음 실시한다. 유지류는 120-125℃에서 건조시간은 1시간으로 하여 전·후 2회의 칭량에 있어서 중량의 차가 3 mg이하가 되었을 때 항량이 된 것으로 한다.

6) 총산도

AOAC의 적정법에 의해 측정한다.

1) 100 ml beaker에 sample의 정확한 무게를 재어 넣는다. (약 10 g)

2) 증류수 25 ml를 가한다.

3) 0.1% phenolphthalein in EtOH 2-3 방울(지시약)을 가한다.

4) 0.1N-NaOH로 pH가 8.0이 될 때까지 적정한다. 이때 들어간 0.1N-NaOH의 양을 기록.

$$\text{총산도} = \frac{\text{소비된 } 0.1\text{N} - \text{NaOH(ml)} \times 0.0064 \times 1.001 \times 100}{\text{시료의 양 (g)}}$$

0.0064: 구연산 계수(사과산의 경우 0.0067, 주석산의 경우 0.0075 등)

1.001 : 0.1N-NaOH의 factor

7) 색도 측정

사용 기기: Colorimeter (Color Quest II, Hunter Lab)

(1) Computer와 Color Quest Ⅱ Sphere Sensor의 전원을 켠다.

(2) Microsoft Window 3.1 프로그램 관리자중 Hunter Lab으로부터 Universal 선택

(3) Standardization : standardize 혹은 sensor 선택시 Color Quest Sphere상의 mode 선정

	고체시료	액체시료
Mode	RSIN	TTRAN
Area view	1.00″	1.00″
Port size	1.00″	1.00″
UV filter	Out	
UV lamp	None	

(고체시료) : Reflectance

→ Light trap, White Standard Tile, Gray Standard Tile 순으로 조정(Calibration) 한 후 백색 표준판으로 standard 값을 읽는다.

→ 시료를 Cell에 4/5 정도 담고 Reflectance Port에 시료 클램프로 고정하여 시료값을 읽는다.

(액체시료) : Transmittance

→ Black card, White Standard Tile 순으로 조정한 후 고체시료 측정시와 동일하게 조작

4) Configure를 선택하여 다음과 같은 데이터나 그림을 인쇄

- Master Color Data
- Color Plot
- 3D Spectral Plot (Reflectance)
- Trend Plot
- Spectral Data

8) 3M Petrifilm plate를 사용한 간편한 미생물 분석법

(1) 상부 필름을 걷어올리고 하부 필름의 중앙에 시료 1 ml를 수직으로 접종한다(대장균군과 대장균 배지는 중앙의 약간 윗부분에 접종한다).

(2) 상부 필름을 기포가 생기는 것을 방지하면서 부드럽게 위에서 아래로 덮는다(상부 필름을 빨리 놓게되면 기포가 생겨서 결과가 불명확해 진다).

(3) 누름판을 필름 상부에 올려놓고 살짝 눌러준다.(원이 형성되면 완료). 30~60초 후에 겔화가 완료되면 배양기로 옮겨 사용 필름 종류에 따라 지정된 온도에서 필요한 시간만큼 배양한다.

(4) 판매 및 catalogue와 정보 제공처: 휴코양행, Tel) 02-3473-5421

9) 미생물 분석법

1) 대장균군

대장균군이라 함은 그람음성, 무아포성 간균으로서 유당을 분해하여 가스를 발생하는 모든 호기성 또는 통성 혐기성세균을 말한다. 대장균군 시험에는 대장균군의 유무를 검사하는 정성시험과 대장균군의 수를 산출하는 정량시험이 있다.

(1) 정성시험

① 유당부이온법

대장균군의 정성시험은 추정시험, 확정시험, 완전시험의 3단계로 나눈다. 1) 일반사항 (1)검체의 채취 및 취급 ②의 시험용액 10 ㎖를 2배 농도의 유당부이온배지(배지 2)에 가하고 시험용액 1 ㎖ 및 0.1 ㎖를 2개이상의 유당부이온배지(배지 2)에 가한다.

가) 추정시험

유당부이온배지를 가한 발효관에 검체를 넣어 35±1℃에서 48±3시간 동안 배양하여 가스 발생이 있으면 대장균군의 존재가 추정된다. 시험에 사용하는 발효관은 듀람 발효관 또는 스미스 발효관으로 희석액을 가하여 유당 부이온의 농도가 되도록 한다.

발효관의 수는 각 희석액에 따라 5개씩을 쓴다. 즉, 검액을 10, 1, 0.1 ㎖씩 접종하여 35±1℃에서 24±2시간 배양하여 발효관내에 가스가 발생하면 추정시험 양성이고 만약 24±2시간 내에 가스가 발생 하지 아니하였을 때에는 더 배양을 계속하여 48±3시간까지 관찰 한다.

이 때까지 가스가 발생하지 않았을 때에는 추정시험 음성이고 가스발생이 있을 때에는 추정시험 양성이며 다음의 확정시험을 실시한다.

나) 확정시험

확정시험에서 가스발생이 있는 발효관으로부터 BGLB배지(배지3)에 이식하여 35±1℃에서 48±3시간 동안 배양하였을 때에 가스발생을 보거나 가스를 발생한 BGLB배지로부터 평판배지에 획선분리 배양하여 전형적인 대장균군 집락이 확인될 경우에는 확정시험 양성으로 하고 비전형적인 집락의 경우에는 완전시험을 하지 않으면 안된다.

확정시험에는 BGLB배지, Endo평판배지(배지 5) 또는 EMB 한 천 평 판 배지(배지 6)를 사용한다.

평판배양의 경우에는 35±1℃에서 24±2시간 배양 후 전형적인 집락이 발생되면 확정시험 양성으로 한다. BGLB배지에서 35±1℃로 48±3시간 동안 배양하였을 때 배지의 색이 갈색으로 되 었을 때에는 완전시험을 하지 않으면 안된다.

다) 완전시험

대장균군의 존재를 완전히 증명하기 위하여 위의 평판상의 집락이 그람음성, 무아포성의 간균임을 확인하고, 유당을 분해하 여 가스의 발생 여부를 재확인한다. 확정시험때 Endo 평판배지나 EMB 평판배지상에서 전형적인 집락을 인정하였을 때에는 1개 또는 비전형적인 집락일 경우에는 2개이상을 따서 각각 유당부이온발효관과 보통 한천사면배지(배지 8)에 이식하여 35± 1℃에서 48±3시간 동안 배양하였을 때에 가스를 발생한 발효관에 해당되는 한천사면배지의 집락에 대하여 그람염색을 실시하였을 때에 그람음성, 무아포성 간균이 증명되면 완전시험은 양성이며 대장균군 양성으로 판정한다.

② BGLB 배지법

1) 일반사황 (1) 검체의 채취 및 취급 ②의 시험용액 1~0.1㎖를 2개의 BGLB 발효관에 가한다.

가) 정성시험

검체는 필요에 따라 적당한 전처리를 하고 희석시 그 1~0.1㎖를 2개씩 BGLB발효관에 가한다. 대량의 검체를 가할 필요가 있을 때에는 대량의 배지를 넣은 발효관을 사용한다.

검체를 가한 배지는 35±1℃에서 48±3시간까지 관찰하고 가스의 발생을 인정하였을 때에는(배지를 흔들 때 거품 모양의 가스의 존재를 인정하였을 때에도) EMB평판배지 또는 Endo 평판배지에 획선 도말하고 분리배양한다.

이하의 조작은 유당부이온을 사용한 시험법의 확정시험 또는 완전시험 때와 같이 행하고 대장균군의 유무를 시험한다.

③ 데스옥시콜레이트 유당한천배지법

가) 정성시험

1) 일반사항 (1) 검체의 채취 및 취급 ②의 시험용액 1㎖와 각 단계 희석액 1㎖씩을 2매이상의 멸균 페트리접시에 취하고 미리 가온 용해하여 약 50℃에 보존한 데스옥시콜레이트 유당한천배지(배지 9) 약 15㎖를 무균적으로 분주하고 페트리접시 뚜껑에 부착하지 않도록 주의하면서 조용히 회전하여 좌우로 기울이면서 검체와 배지를 잘 혼합한 후 냉각응고 시킨다.

그리고 그 표면에 동일한 배지 또는 보통한천배지를 3~5㎖를 가하여 중첩시킨다(평판상에 배지를 중첩하는 방법을 생략할 수 있다).

이것을 35±1℃에서 20±2시간 배양하여 전형적인 암적색의 집락을 인

정하였을 때에는 1개이상의 집락을, 의심스러운 집락일 경우에는 2개이상을 EMB평판배지 또는 Endo평판배지에서 분리 배양한다.

이것을 35±1℃에서 24±2시간 배양한다. 이하의 조작은 유당부이온의 확정시험 및 완전시험법에 따라 실시하고 대장균군의 유무를 결정한다.

(2) 정량시험

① 최확수법

최확수법이란 수단계의 연속한 동일희석도의 검체를 수개씩 유당부이온 발효관에 접종하여 대장균군의 존재 여부를 시험하고 그 결과로부터 확률론 적인 대장균군의 수치를 산출하여 이것을 최확수(MPN)로 표시하는 방법이다.

최확수(별표 1)는 검체 10, 1 및 0.1㎖씩을 각각 5개씩 또는 3개씩의 발효관에 가하여 배양후 얻은 결과에 의하여 검체 100㎖중 또는 100g 중에 존재하는 대장균군수를 표시하는 것이다. 최확수란 이론상 가장 가능한 수치를 말한다.

가) 시험조작

대장균군의 정량시험에는 희석검체(0.1㎖이하의 경우에는 10배수 희석액 1㎖씩을 사용한다) 10, 1, 0.1, 0.01㎖와 같이 연속해 서 4단계 이상을 5개 또는 3개씩을 유당부이온 발효관에 접종시킨다. 이 때 검체의 최대량을 가한 발효관의 대다수 또는 전부에서 가스를 발생하고 최소량을 접종한 발효관의 전부 또는 대다수가 가스를 발생하지 않도록 적당히 희석하고 사용한다.

가스발생 발효관 각각에 대하여 추정, 확정, 완전시험을 행하고 대장균군의 유무를 확인한 다음 최확수표로부터 검체 100㎖중의 최확수를 구한

다. 예로써 대장균군의 최확수법에 의한 정량 시험에 의하여 검체 또는 희석검체의 각각의 발효관을 5개씩 사용하여 다음과 같은 결과를 얻었다면

검체접종량	10㎖	1㎖	0.1㎖
가스양성관수	5개	3개	1개

최확수표에 의한 검체 100㎖중의 MPN은 110으로 된다.

이때 검체접종량이 1, 0.1, 0.01㎖일 때에는 110×10=1,100으로 한다. 검체의 3접종이 3단계 이상으로 행하여졌을 때에는 다음 표와 같이 취급한다. 이때의 숫자는 양성관수, ○내의 숫자는 유효숫자이다.

접종량 / 예	1㎖	0.1㎖	0.01㎖	0.001㎖
Ⅰ	5	⑤	②	⓪
Ⅱ	⑤	④	③	0
Ⅲ	⓪	①	⓪	0
	(5	3	1	1)
Ⅳ	⑤	③	②	

예 Ⅰ, Ⅱ : 5개 양성을 표시한 최소 접종량으로부터 시작한다.

예 Ⅲ : 양성을 인정한 접종량을 중간으로 한다.

예 Ⅳ : 최소유효 접종량(이 경우는 0.01㎖)보다 1단계 적은 접종량(0.001㎖)일 때에는 양성관을 인정할 경우 최초 접종량에 의한 양성관수(이 경우 1)를 상단위에 가한다. 즉 접종량 0.01㎖ 양성관수 1에 접종량 0.001㎖의 양성관수를 가하여 2로 한다.

[최확수표]

별표 1에 의하여 또 3개씩 접종했을 때에는 위 5개 법에 준하여 별표 2에 따라 최확수를 구한다.

② BGLB 배지에 의한 정량법

시험용액 10, 1 또는 0.1㎖를 5개씩의 BGLB 배지에 접종한다. 0.1㎖이하를 접종할 필요가 있을 때에는 10배 희석단계액을 각각 1㎖씩 사용한다. 이때에 시험용액의 최대량을 가한 배지의 전부 또는 대부분에서 가스발생을 인정하고 최소량을 가한 배지의 전부 또는 대부분이 가스를 발생하지 않도록 접종량과 희석도를 고려하여야 한다. 이하의 조작은 각 발효관에 대하여 BGLB 배지에 의한 정성시험법에 따라 하고 대장균군의 유무를 조사하여 최확수표에 따라 검체 100㎖ 또는 100g중의 대장균군수를 산출한다.

③ 데스옥시콜레이트 유당한천배지에 의한 정량법

1) 일반사항 (1) 검체의 채취 및 취급 ②의 시험용액 1㎖와 각 단계 희석액 1㎖에 대하여 이 배지에 의한 정성시험법과 같은 조작으로 35±1℃에서 20±2시간 배양한 후 생성된 집락중 전형적인 집락 또는 의심스러운 집락에 대하여 정성시험 때와 같은 조작으로 대장균군의 유무를 결정한다. 균수 산출은 세균수(일반세균수) 측정법에 따라 한다.

2) 대장균

식품의 종류에 따라 대장균의 검출이 대장균군보다 정확한 오염지표가 되는 경우가 있다. 대장균의 시험법에는 최확수법에 의한 정량시험과 일정한 한도까지 균수를 정성으로 측정하는 한도 시험법이 있다.

별표 1. 대장균군시험의 최확수표 다음의 희석과 시험관수에 의한 양성수에 대한 최확수와 95% 신뢰한계 A-10mL씩 5개 B-10mL씩 5개, 1mL씩 5개, 0.1mL씩 5개

양성관수			MPN	MPN의 신뢰한계		B			MPN	MPN의 신뢰한계	
A			10mL			10mL씩 5개	1mL씩 5개	0.1mL씩 5개	100mL		
10mL 씩 5개				하한	상한					하한	상한
0			<2.2	0	6.0	1	0	2	6	<0.5	15
1			2.2	0.1	12.6	1	0	3	8	1	19
2			5.1	0.5	19.2	1	1	0	4	<0.5	11
3			9.2	1.6	29.4	1	1	1	6	<0.5	15
4			16	3.3	52.9	1	1	2	8	1	19
5			<16	8.0	∞	1	2	0	6	<0.5	15
B			MPN	MPN의 신뢰한계		1	2	1	8	1	19
10mL씩 5개	1mL씩 5개	0.1mL씩 5개	10mL			1	2	2	10	2	23
				하한	상한	1	3	0	8	1	19
						1	3	1	10	2	23
0	0	1	2	<0.5	7	1	4	0	11	2	25
0	0	2	4	<0.5	11	2	0	0	5	<0.5	13
0	1	0	2	<0.5	7	2	0	1	7	1	17
0	1	1	4	<0.5	11	2	0	2	9	2	21
0	1	2	6	<0.5	15	2	0	3	12	3	28
0	2	0	4	<0.5	11	2	1	0	7	1	17
0	2	1	6	<0.5	15	2	1	1	9	2	21
0	3	0	6	<0.5	15	2	1	2	12	3	28

B			MPN	MPN의 신뢰한계		B			MPN	MPN의 신뢰한계	
10mL씩 5개	1mL씩 5개	0.1mL씩 5개	100mL	하한	상한	10mL씩 5개	1mL씩 5개	0.1mL씩 5개	100mL	하한	상한
1	0	0	2	<0.5	7	2	2	0	9	2	21
1	0	1	4	<0.5	11	2	2	1	12	3	28
2	2	2	14	4	34	4	5	1	48	16	124
2	3	0	12	3	28	5	0	0	23	7	70
2	3	1	14	4	34	5	0	1	31	11	89
2	4	0	15	4	37	5	0	2	43	15	114
3	0	0	8	1	19	5	0	3	58	19	144
3	0	1	11	2	25	5	0	4	76	24	180
3	0	2	13	3	31	5	1	0	33	11	93
3	1	0	11	2	25	5	1	1	46	16	120
3	1	1	14	4	34	5	1	2	63	21	154
3	1	2	17	5	46	5	1	3	84	26	197
3	1	3	20	6	60	5	2	0	49	17	126
3	2	0	14	4	34	5	2	1	70	23	168
3	2	1	17	5	46	5	2	2	94	28	219
3	2	2	20	6	60	5	2	3	120	33	281
3	3	0	17	5	46	5	2	4	148	38	366
3	3	1	21	7	63	5	2	5	177	44	515
3	4	0	21	7	63	5	3	0	79	25	187
3	4	1	14	8	72	5	3	1	109	31	253
3	5	0	25	8	75	5	3	2	141	37	343

B			MPN 100mL	MPN의 신뢰한계		B			MPN 100mL	MPN의 신뢰한계	
10mL씩 5개	1mL씩 5개	0.1mL씩 5개		하한	상한	10mL씩 5개	1mL씩 5개	0.1mL씩 5개		하한	상한
4	0	0	13	3	31	5	3	3	175	44	503
4	0	1	17	4	46	5	3	4	212	53	669
4	0	2	21	7	63	5	3	5	253	77	788
4	0	3	25	8	75	5	4	0	130	35	302
4	1	0	17	5	46	5	4	1	172	43	486
4	1	1	21	7	63	5	4	2	221	57	698
4	1	2	26	9	78	5	4	3	278	90	849
4	2	0	22	7	67	5	4	4	345	117	999
4	2	1	26	9	78	5	4	5	426	145	1,161
4	2	2	32	11	91	5	5	0	240	68	754
4	3	0	27	9	80	5	5	1	348	118	1,005
4	3	1	33	11	93	5	5	2	542	180	1,405
4	3	2	39	13	106	5	5	3	920	300	3,200
4	4	0	34	12	96	5	5	4	1,600	640	5,800
4	4	1	40	14	108	5	5	5	22,400	800	∞
4	5	0	41	14	110						

별표 2. 3단계 희석(10, 1, .1 mL) 시험관 3개씩 시험하였을 때의 양성에 대한 최확수와 95%의 신뢰한계

양성관수			MPN	MPN의 신뢰한계		B			MPN	MPN의 신뢰한계	
10mL씩 5개	1mL씩 5개	0.1mL씩 5개	100mL	하한	상한	10mL씩 5개	1mL씩 5개	0.1mL씩 5개	100mL	하한	상한
0	0	0		0		2	0	0	9.1	1.0	36
0	0	1	3		9	2	0	1	14	2.7	37
0	0	2	6			2	0	2	20		
0	0	3	9			2	0	3	26		
0	1	0	3	0.085	13	2	1	0	15	2.8	44
0	1	1	6.1			2	1	1	20		
0	1	2	9.2			2	1	2	27		
0	1	3	12			2	1	3	34		
0	2	0	6.2			2	2	0	21	3.5	47
0	2	1	9.3			2	2	1	28		
0	2	2	12			2	2	2	35		
0	2	3	16			2	2	3	42		
0	3	0	9.4			2	3	0	29		
0	3	1	13			2	3	1	36		
0	3	2	16			2	3	2	44		
0	3	3	19			2	3	3	53		
1	0	0	3.6	0.085	20	3	0	0	23	3.5	120
1	0	1	7.2	0.87	21	3	0	1	39	6.9	130
1	0	2	11			3	0	2	64		
1	0	3	15			3	0	3	95		
1	1	0	7.3	0.88	23	3	1	0	43	7.1	210
1	1	1	11			3	1	1	75	14	230
1	1	2	15			3	1	2	120	30	380
1	1	3	19			3	1	3	160		
1	2	0	11	2.7	36	3	2	0	93	15	380
1	2	1	15			3	2	1	150	30	440
1	2	2	20			3	2	2	210	35	470
1	2	3	24			3	2	3	290		
1	3	0	16			3	3	0	240	36	1,300
1	3	1	20			3	3	1	460	71	2,400
1	3	2	24			3	3	2	1,100	150	4,800
1	3	3	29			3	3	3	22,400	460	

1) 최확수법

1) 일반사항 (1) 검체의 채취 및 취급 ②의 시험용액 10㎖, 1㎖ 및 0.1㎖를 각각 5개의 EC(배지 10)발효관에 접종한 다음 항온수조 중에서 44.5±0.2℃에서 24±2시간 배양한다. 다만 시험용액 10㎖를 첨가할 경우 배농도의 배지 10㎖를 이용한다. 그때에 가스발생을 인정한 발효관을 대장균*(E.coil)*양성이라고 판정한다. 이 양성관으로부터 별표 1 최확수표에 따라 검체 100g중의 대장균수를 산출한다.

2) 한도시험

1) 일반사항 (1) 검체의 채취 및 취급 ②의 시험용액 1㎖를 3개의 EC 발효관에 접종하고 44.5±0.2℃에서 24±2시간 배양한다. 이때에 가스발생을 인정한 발효관은 추정시험 양성으로 하고 가스발생이 인정되지 않을 때에는 추정시험 음성으로 한다.

추정시험이 양성일 때에는 해당 EC발효관으로부터 1백금이를 EMB 평판배지에 획선접종하여 35±1℃에서 24±2시간 배양한 후 전형적 집락을 취하여 유당부이온발효관 및 보통한천사면배지에 각각 이식한다. 유당부이온발효관에 접종한 것은 35±1℃에서 48±3시간 배양하고 보통 한천사면배지에 접종한 것은 35±1℃에서 24±2시간 배양한다. 유당부이온 발효관에서 가스발생을 인정하였을 때에는 이에 해당하는 보통한천사면배지에서 배양된 집락을 취하여 그람염색을 실시하고 검경후 그람음성, 무아포성 간균을 인정하였을 때에는 대장균 양성으로 판정한다.

3) 총균수

주로 생유중 오염된 세균을 측정하기 위하여 일정량의 생유를 슬라이드 글라스 위에 일정면적으로 도말 하고 건조시켜 염색한 후 현미경으로

검경하고 염색된 세균수를 측정한다. 측정된 세균수를 현미경 시야 면적과의 관계에 따라 검체중에 존재하는 세균수를 측정하는 방법이다.

(1) 시험조작

① 표본제작

검체를 그 용기와 같이 25회이상 잘 흔들어 우유세균검사용 마이크로피펫으로 검액 적당량을 흡입시키고 백포(백색헝겊)로 피펫 외벽에 부착한 우유를 깨끗이 씻은 다음 피펫내의 우유를 그 선단으로부터 백포를 사용하여 흡입시키면서 정확히 0.01㎖로 하고 그 전부를 슬라이드글라스 위에 방출하고 도말침을 사용하여 1㎠ 면적에 도말하고 약 5분간 가온하여 건조시킨 다음, 뉴만염색액(시액 3)중에 순간적으로 적셔서 염색하고 남은 액을 즉시 흔들어 떨어 뜨린 다음 건조시켜 물로 씻고 다시 건조시켜 표본을 만든다.

② 측정

유침렌즈를 장치한 현미경을 미리 대물측미계를 사용하여 시야의 직경을 0.206㎜로 조절하고 여기에 위에서 제작한 표본을 장착하고 그 도말면의 중심을 통과하는 직선상의 등간격의 16시야에 모든 세균수를 측정하고 1시야중에 대한 평균수를 구한다.

여기에 30만을 곱한 수의 첫째자리 숫자로부터 3째단위를 4사5입하고 상위 2단위 수로 표시한다. 1시야에 나타난 세균의 수를 측정하는 방법은 다음과 같다.

가) 개체법

1시야에 나타난 세균이 균괴를 형성하였을 때 그것이 쌍쌍을 이루고 있거나 연쇄상을 이루고 있는 세균은 1개씩 측정한다. 균괴로 되어 있을 때에는 개개의 균을 눈으로 보아 균을 구별 할 수 없을 때에는 1개로 측정한다.

나) 균괴법(Group Count)

1시야에 나타난 세균이나 균괴를 형성하고 있을 때 즉 쌍쌍 또는 연쇄 균괴를 형성하고 있을 때에는 각각 1군을 1개로 계산한다. 그러나 옆에 인접한 균 또는 균괴가 최소의 균경(균의 지름)에 2배이상 떨어져 있을 때에는 별도균의 Clamp로 측정한다. 따라서 떨어져 있는 1개의 균은 Clamp로서 측정하는 것으로 한다.

제4절 참고문헌

1. 송전의, 권경학, 이철휘, 김길호: 지역특산작목 경영모델 개발 연구 - 구기자 유통실태에 관한 연구, 시험연구보고서 1995, 충청남도 농촌진흥원, 54-62 (1996)
2. 김성훈, 차우석 : 구기자의 열매, 잎 및 뿌리의 약침이 보간작용과 면역반응에 미치는 영향 - 구기자, 구기엽 및 지골피의 약침이 면역반응에 미치는 영향, 농업과학논문집 농업산학협동사업편, 38, 71-78, (1996)
3. 이부용, 김은정, 최희돈, 김윤숙, 김인환, 김성수 : 볶음 조건에 따른 구기자 열수 추출물의 이화학적 특성, 한국식품과학회지, 27(5), 768-772 (1995)
4. 인무성, 조임식, 이봉훈, 노인호 : 획기적인 수요확대를 위한 구기자의 신제품 개발 연구, 농업특정연구과제 결과 요약집 1996, 농촌진흥청, 92-93 (1998)
5. 주이선, 성창근, 오만진, 김찬조 : 구기자(*Lycii fructus*) 추출물이 미생물 생육에 미치는 영향, 한국식품과학회지, 29(4), 625-631 (1997)
6. 조임식, 박종상, 노재관, 인무성 : 구기자 나무의 제품화 연구:구기자, 구기엽, 지골피의 엑기스 제조방법 구명, 시험연구보고서 1997, 충청남도 농촌진흥원, 808-810 (1998)
7. 김종우, 이조윤 : 구기자 첨가 요구르트의 제조 및 특성, *Korean journal of dairy science,* 19(3), 189-200 (1997)
8. 김희선, 박영숙, 김창임 : 구기자 섭취에 의한 고지방식이를 하는 흰쥐의 혈중 지질 상태변화, 한국영양학회지, 31(3), 263-270 (1998)
9. 서관석 : 획기적인 수요확대를 위한 구기자의 신제품 개발 연구, 농업특정연구과제 결과요약집 1995, 농촌진흥청, 355-356 (1996)
10. 이종곡, 김미혜, 김명철, 박종석, 박은지, 김종옥, 송경희, 신동우, 목진

민 : 다류원료 식물류중 폐놀성 화합물과 항산화성에 관한 연구(Ⅱ), 식품의약품안전본부연보, 1, 21-30 (1997)

11. 이정숙 : 한국산 구기자, 갈근, 쑥이 납중독된 흰쥐의 제독에 미치는 영향 연구, 식품산업과 영양, '96 불포화 지방산의 생리적 기능과 건강 심포지움, 1(2), 49-79 (1996)
12. 이정숙, 이선익, 신두임, 이경희, 김석환 : 구기자 추출물이 납중독된 흰쥐의 혈액성분 및 조직의 무기질 축적에 미치는 영향, 식품산업과 영양, '97 급식·외식 산업의 현황과 발전방향, 2(2), 51-110 (1997)
13. 배지현, 김기진, 김성미, 이원재, 이선장 : 매실 추출물을 함유한 기능성 음료 개발, 한국식품과학회지, 32(3) 2000
14. 최재도 : 2000년 상반기 음료시장 동향, 식품산업과 영양, 5(2), 85-87 (2000)
15. 주창순 : 생약재 수출현황과 활성화 방안, 한국약용작물의 발전전략에 관한 국제 심포지엄 1996, 한국약용작물학회, 49-55 (1996)
16. 윤종국, 전태원, 오만진, 이규희, 정재홍 : 흰쥐에 있어서 구기자 알콜 추출물이 Oxygen free radical 및 Alcohol 대사효소 활성에 미치는 영향, 한국식품영양과학회지, 29(2), 268-273 (2000)
17. 곽이성, 주종재, 신현주, 박관하 : 생약복방제의 조성변화가 부패성 효모 *Zygosaccharomyces* sp.의 성장에 미치는 영향
18. 박윤자, 김미향, 배송자 : 구기자 추출성분의 항발암 효과 및 비타민 C 첨가에 의한 상승효과, 한국식품영양과학회지, 31(1), 143-148 (2002)
19. 한성희, 신미경, 이호섭 : 구기자가 카드뮴 급여에 의한 흰쥐의 혈중 호르몬에 미치는 영향, 한국식품영양과학회지, 30(6), 1272-1277 (2001)

20. 윤종국, 김현희, 채순님, 오만진, 이규희 : 흰쥐에 있어서 구기자 추출물 첨가식이가 간조직의 유해산소 및 알콜대사 효소활성에 미치는 영향, 한국식품영양과학회지, 30(4), 668-672 (2001)
21. 서기원, 김홍진 : 지역농업 개발을 위한 특화산업 육성에 관한 연구 - 충청남도를 중심으로, 대산논총 제6집, 271-286 (1998)
22. 이봉춘, 박종상, 곽태순, 문창식 : 구기자 수집종의 성분함량, 한국육종학회지, 30(3), 267-272 (1998)
23. 이상덕, 이미현, 손현주, 복진영, 성창근, 오만진, 김한조: 가열처리에 따른 구기자 추출물의 성분변화, 한국농화학회지, 39(4), 268-373 (1996)
24. 難波恒雄 : 和漢藥百科圖鑑 Ⅰ, 保育社(東京), 285-286 (1994)
25. 김태정 : 韓國의 資源植物(2), 서울대학교 출판부 (1996)
26. 청양구기자시험장 : 구기순 드링크의 제조방법, 특허 제138539
27. 청양구기자시험장 : 구기순 엑기스의 제조방법, 특허 제151730
28. 청양구기자시험장 : 구기순 칵테일의 제조방법, 특허 제138538
29. 청양구기자시험장 : 들깨가 피복된 볶음 구기자의 제조방법, 특허 제149485
30. 청양구기자시험장 : 참깨가 피복된 볶음 구기자의 제조방법, 특허 제149486
31. 청양구기자시험장 : 지골피 발효주의 제조방법, 특허 제146722
32. 청양구기자시험장 : 지골피 침출주의 제조방법, 특허 제146724
33. 청양구기자시험장 : 드링크제의 제조방법, 특허 제 146723
34. 청양구기자시험장 : 구기자 시럽 및 그의 제조방법, 특허 제169289
35. 청양구기자시험장 : 지골피 엑기스 및 그의 제조방법, 특허 제169290
36. 청양구기자시험장 : 구기잎 혼합차 및 그의 제조방법, 특허 제160087

37. 청양구기자시험장 : 생구기자 쨈 및 그의 제조방법, 특허 제182997
38. 청양구기자시험장 : 구기자 드링크제의 제조방법, 특허 제171562
39. 청양구기자시험장 : 구기자 부산물을 포함하는 가축사료 첨가제, 출원 96-65644
40. 청양구기자시험장 : 구기순이 포함된 면류의 제조방법, 출원 96-65645
41. 청양구기자시험장 : 구기자를 이용한 기능성 요구르트의 제조방법, 출원 97-65382
42. 명형철 : 구기자 식초의 제조방법, 출원 98-7476
43. 명형철 : 구기자 김치의 제조방법, 출원 98-3195441.
44. 명형철 : 구기자 된장의 제조방법, 출원 98-11590
45. 노승헌 : 면류 제조방법 및 그 면, 출원 97-47753
46. 김현영 : 구기자를 이용한 고추장 및 그 제조방법, 출원 99-19670
47. 정인석 : 구기자 함유 전병의 제조방법, 출원 99-14119
48. 노승헌 : 가래떡 제조방법, 출원 98-8942
49. 김복실 : 구기자 유밀과의 제조방법, 출원 96-10434
50. 라성물산(주) : 한방식물 증류액을 함유한 아이스크림의 제조방법 및 상기 방법으로 제조된 아이스크림, 출원 2002-23961
51. 임승수 : 구기자분말과 지골피 열수 추출물을 함유한 국수 제조방법 및 그 국수, 출원 2001-41394
52. 임승수 : 구기자와 지골피 열수 출물을 함유한 국수 제조방법 및 그 국수, 출원 2001-39179
53. 최병선 : 분말 구기자 차의 제조방법, 출원 93-28544
54. 청양농업기술센터 : 구기자 침출주, 특허 제66095
55. 청양농업기술센터 : 구기자 증류주, 특허 제66096
56. 청양농업기술센터 : 구기자 발효주, 특허 제68216

57. 청양농업기술센터 : 구기자 엑기스, 특허 제80612
58. 김강권 : 구기자 부산물을 포함하는 가축사료 첨가제, 출원 96-65644
59. 애경산업(주) : 화장수 조성물, 출원 96-70387
60. 조종원 : 비듬 치료제, 출원 99-32661
61. 조종원 : 피지 예방 및 치료제, 출원 2000-817
62. 지수옥 : 영양성분들의 그 기능성, 출원 2001-12369
63. 송윤강 : 건강보조 발효식품의 제조방법, 출원 2001-73536
64. 퓨리메드(주) : 구기자 추출물을 포함하는 학습능력 및 기억력 향상 생약 조성물, 출원 2000-68591
65. 김박광, 고광호 : 구기자 추출물을 함유하는 혈당강하제 조성물 및 구기자 추출물의 제조방법, 출원 96-25162
66. 유제경 : 발기부전 치료용 조성물, 출원 99-19100
67. 노승헌 : 구기자를 이용한 건강식품 및 이의 제조방법, 출원 95-17415
68. 최병선 : 분말 구기자 차의 제조방법, 출원 93-28544
69. Kato, H., Lee, I. E., Chuyen, N. V., Kim, S. B. and Hayase, F.: Inhibition of nitrosamine formation by nondialyable melanoidins, *Agri. Bio. Chem.*, 51(5), 1333-1338, (1987)
70. Marklund, S. and 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(1974)