

반응표면분석법을 이용한 복분자 콤부차의 조성 최적화

유수정¹ · 이창영² · 강경석² · 김상관³ · 김성학³ · 서동호^{1,2*}

¹전북대학교 식품공학과, ²전북대학교 농축산식품융합학과, ³영농조합법인 토굴밭호

Optimization of Compositions for Kombucha with *Rubus coreanus*

Su-Jeong Ryu¹, Chang-young Lee², Gyeong-Seok Kang², Sang-Gwan Kim³,
Seong-Hak Kim³, and Dong-Ho Seo^{1,2*}

¹Department of Food Science and Technology, Jeonbuk National University, Jeonju, 54896, Republic of Korea

²Department of Agricultural Convergence Technology, Jeonbuk National University, Jeonju 54896, Republic of Korea

³Togulbalhyo Agricultural Association Corporation, Gochang, 56410, Republic of Korea

Abstract

This study was conducted to manufacture a Bokbunja (*Rubus coreanus*) Kombucha by combining black tea liquor with Bokbunja sugar syrup and inoculating it with an *Acetobacter* sp. and *Lactobacillus* spp. The biochemical and antioxidant properties of the manufactured Kombucha were then investigated. Using response surface methodology (RSM), a total of 9 combinations of Bokbunja Kombucha were made using various combination ratios. These were then fermented to select the best antioxidant activity, acidity, and organic acid content. Fermentation was carried out with the best Bokbunja Kombucha mixture ratio, and the experimental values were compared with the antioxidant activity, acidity, and organic acid content of the predicted RSM values. Additionally viable cell count and total polyphenols were also measured. After fermentation, Bokbunja Kombucha contained acetic acid at 3,705.34 mg/100 mL, followed by lactic acid at 117.95 mg/100 mL. The total polyphenol content increased from 480.83 µg catechin equivalents (CE)/mL to 763.33 µg CE/mL, and the ABTS radical and DPPH radical scavenging activity decreased from 96.12% to 89.81% and 74.05% to 46.09%, respectively.

Key words: Kombucha, *Rubus coreanus*, antioxidant activity, black tea, response surface methodology

서 론

콤부차(Kombucha)는 홍차나 녹차 등과 같은 차 추출액에 설탕을 넣고 효모와 초산균 등을 함유하고 있는 발효제인 SCOBY (Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast)를 이용하여 발효시킨 발효 음료로 새콤한 맛과 청량감이 특징이다(Kim et al., 2020). 콤부차는 혈중 콜레스테롤 감소, 항암, 항염증 등과 같은 여러 효능을 가지고 있는 것으로 알려지면서 관심이 높아지고 있다(Yang et al., 2009; Ko et al., 2017; Vázquez-Cabral et al., 2017). 콤부차는 발효 기질, 균총의 조성, 발효 환경 조건에 의해서 관능적 및 미생물적 특성의 차이가 나타난다(McHugh & Sinrod, 2019). 일반적으로 콤부차는 발효 기간이 길어질수록 항산화능이 증가하지만, 장기간 발효를 진행하게 되면 섭취했을 때 인체에 해로운 정도의 유기산이 축적된다는 보고가

있으므로 콤부차를 장기간 발효하는 것은 권장하지 않는다(Greenwalt et al., 2000). 콤부차에 대한 사람들의 관심이 높아지면서 감귤, 두유, 커피 등 다양한 재료를 첨가하는 새로운 제조 방법이 연구되고 있다(Watawana et al., 2015; Ko et al., 2017; Xia et al., 2019).

복분자(覆盆子)는 복분자딸기(*Rubus coreanus*)의 열매로 원산지는 중국이며 한국, 미국, 일본 등 여러 나라에서 자생하고 있다(Kwon et al., 2006). 복분자는 인, 철, 칼륨, 비타민 C, 유기산 등을 영양성분으로 많이 함유하고 있으며(Pang et al., 1996), gallic acid, tannin, quercetin 등의 유용성분을 많이 함유하고 있다는 보고가 있다(Lee, 1995; Lee & Lee, 1995). 복분자는 피로로 인해 손상되는 간(肝)을 보호하며 눈을 밝게 하고 이뇨작용을 일으키는 것으로 알려져 있다(Kwon et al., 2006). 또한 복분자에는 여성 호르몬과 남성 호르몬에 영향을 줄 수 있는 성분이 함유되어 있다는 보고가 있어 성기능과 관련된 질환에도 영향을 미칠 수 있다(Baek et al., 2005a; Baek et al., 2005b). 이외에도 복분자의 탄수화물분해효소와 지방분해효소 저해 작용(Ra et al., 2004), 복분자 추출물의 간세포 괴사 억제(Kim et al., 2007), 복분자의 혈관 이완 효과(Chin & Park, 2013)

*Corresponding author: Sang-Gwan Kim, Department of Food Science and Technology, Jeonbuk National University, Jeonju, 54896, Republic of Korea

Tel: +82-63-270-2570; Fax: +82-63-270-2571

E-mail: dhseo@jbnu.ac.kr

Received April 9, 2021; revised April 27, 2021; accepted April 30, 2021

등이 보고되고 있다. 그러나 복분자는 농산물이라는 특성 상 품질이 고르지 못하며 저장과 유통 기한이 짧은 단점이 있어 이것을 극복하기 위해 복분자청, 복분자 식초, 복분자주, 그레이비소스, 복분자주스 등 복분자를 이용한 다양한 가공방법들이 개발되었다(Lee & Ahn, 2009; Yang & Rho, 2011; Hong et al., 2012; Park et al., 2012a; Park et al., 2012b; Ra & Kim, 2016).

복분자를 이용한 가공식품에 대한 연구는 많이 진행되고 있지만, 복분자 콤부차에 대한 연구는 부족한 상황이다. 따라서 본 연구는 여러 가지 다양한 생리활성을 갖는 것으로 알려진 복분자와 홍차 주정 추출액을 사용하여 배합비가 다른 9개의 콤부차를 제조하고 반응표면분석법(Response Surface Methodology, RSM)을 통해 항산화능, 산도 및 유기산의 함량이 고루 뛰어난 1개의 복분자 콤부차를 선별하였으며, 선발된 복분자 콤부차 배합비에 대한 이화학적 특성과 항산화 활성을 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

실험 재료 및 사용 균주

본 실험에서 사용한 홍차 잎과 복분자 당침액은 영농조합법인 토굴발효(Gochang, Korea)에서 제공하였으며, 홍차 잎은 전라남도 보성에서 수확하여 가공된 홍차를 구매해서 덩어 후 말린 것을 받아 사용하였다. 복분자 당침액은 전라북도 고창에서 수확한 것을 구매한 후 설탕과 동일한 비율로 섞어서 병에 담아 3개월간 발효시킨 후 냉동 보관하였다. 홍차 발효 추출액을 위해 사용된 발효 주정은 주식회사 주정관매월드(Jeonju, Korea)에서 구입하였다. 초산 발효에 사용된 초산균(*Acetobacter pasteurianus* SRCM101388)은 재단법인 발효미생물산업진흥원(Sunchang, Korea)에서 분양받아 사용하였고 젯산 발효에 사용된 유산균(Danisco® VEGE 011 LY0; *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. plantarum*, DuPont de Nemours, Inc., Wilmington, DE, USA)은 구매하여 사용하였다.

초산균을 배양하기 위해 사용한 고체 배지(GYCE Agar)의 조성은 dextrose (Daejung Co., Ltd., Siiheung, Korea) 3% (w/v), yeast extract (Becton, Dickinson & Co., Franklin, NJ, USA) 0.5% (w/v), CaCO₃ (Duksan Pure Chemicals Co., Ltd., Ansan, Korea) 0.1% (w/v), Agar (Becton, Dickinson & Co.) 1.5% (w/v), ethanol (EtOH) 4% (w/v)이며 EtOH을 제외한 나머지를 제조하고 고압멸균기로 멸균한 다음 EtOH을 사용 직전에 첨가하였다. 배양온도는 30°C이다. 유산균을 배양하기 위한 고체 배지(MRS Agar)의 조성은 Lactobacilli MRS Agar (Becton, Dickinson & Co.) 7% (w/v), nystatin (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) 0.01% (w/v)이고 배양온도는 30°C이다.

복분자 콤부차 제조

배합비에 따라 홍차 잎을 95% (w/v) 발효 주정에 넣는다. 홍차 잎이 다 잠길 수 있도록 물을 주정 전체의 1/4정도 넣고 3일간 숙성한다. 숙성한 95% (w/v) 홍차 주정에 물을 첨가하여 10% (w/v) 홍차 주정을 만든다. 배합비에 따라 복분자 당침액을 10% (w/v) 홍차 주정에 넣어서 최종 부피가 500 mL가 되도록 배합한다. 초산균과 유산균은 각각 5.6×10^{10} CFU/mL, 6.7×10^{10} CFU/mL 접종한다. 산막 형성을 방지하기 위해 60 rpm으로 설정하고 30°C에서 2주간 발효한다.

반응표면분석법(RSM)

복분자 콤부차 배합비의 최적화 조건을 찾기 위해 Design Expert 13 (Design Expert 13, Stat-Easy Co., Minneapolis, MN, USA)의 Mixture design을 이용하였다. 실험군은 예비실험을 바탕으로 중심합성계획법(Central Composite Design)을 사용하여 설정하였다. 콤부차의 독립변수로 홍차 10-20% (w/v)와 복분자 5-10% (w/v)를 설정하여 총 9개의 실험을 설계하였다. 복분자 콤부차의 종속변수로 산도, 유기산, ABTS 라디칼 소거활성을 설정하였다.

pH, 산도, 생균수 및 유기산 측정

pH는 pH meter (DocuClip pH Meter, Sartorius Co., Gottingen, Germany)를 이용하여 측정하였으며 총 산도는 10배로 희석한 시료 10 mL에 페놀프탈레인 용액을 첨가하여 0.1 N NaOH 용액으로 적정하였다. 또한 생균수는 복분자 콤부차를 0.1 mL 무균적으로 취하여 증류수로 연속 희석법(serial dilution)에 따라 희석한 후 GYCE Agar와 MRS Agar에 접종하여 30°C에서 72시간 배양한 후 생균수를 측정하였다.

유기산은 원심분리시킨 시료를 YMC-Triart C18 column (S-5m, 12 nm, 250×4.6 mm, YMC Co., Ltd., Kyoto, Japan)이 장착된 High-performance liquid chromatography (HPLC, LC-20A series, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)에 주입하여 40°C에서 100% 이동상 용매 A (0.1% phosphoric acid)를 등용매 용리(isocratic elution)로 분석하였다. 용매의 유속은 1 mL/min로 20분간 이동시키고 PDA 검출기(Photodiode Array Detector, SPD-M30A, Shimadzu Co.)로 210 nm에서 분석하였다.

총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀은 시료 0.1 mL에 증류수 3.9 mL와 Folin-Ciocalteu's phenol reagent (Junsei Chemical Co., Ltd, Tokyo, Japan) 0.5 mL를 첨가하여 혼합하고 5분 후에 20% Na₂CO₃ (Daejung Co.) 0.5 mL를 첨가한다. 그 후 30분간 암소에서 반응시키고 725 nm에서 흡광도를 측정했다. 표준물질로 catechin (Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.,

Tokyo, Japan)을 이용하여 $\mu\text{g catechin equivalents (CE)/mL}$ 로 총 폴리페놀 함량을 나타냈다.

ABTS 라디칼 소거활성

7 mM ABTS radical 용액(Biosesang inc., Seongnam, Korea)과 2.45 mM potassium persulfate (Samchun Chemical Co., Ltd., Seoul, Korea)를 혼합 후 암실에서 16시간 반응시켰다. ABTS 용액은 734 nm에서 흡광도가 0.7 ± 0.02 가 되도록 조정했다. 시료 30 μL 에 ABTS 용액 3 mL를 혼합하고 암실에서 6분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정했다.

DPPH 라디칼 소거활성

EtOH에 DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, Thermo Fisher Scientific Inc.)를 용해시키고 암실에서 5-8시간 녹여준다. DPPH 용액은 515 nm에서 흡광도가 1.074 ± 0.003 이 되도록 조정한다. 시료 100 μL 에 DPPH 용액 2 mL를 혼합하고 암실에서 20분간 반응시킨 후 흡광도를 측정했다.

결과 및 고찰

반응표면분석법(RSM)

홍차의 농도와 복분자의 농도에 의한 복분자 콤부차의 산도, 유기산, ABTS 라디칼 소거활성에 대한 반응표면은 Fig. 1과 같다. 홍차의 농도와 복분자의 농도에 의한 복분자 콤부차의 산도 변화에 대한 회귀곡선의 결정계수(R^2)는 0.8436 ($p < 0.001$), 유기산의 R^2 는 0.7752 ($p < 0.001$), ABTS 라디칼 소거활성의 R^2 는 0.9970 ($p < 0.001$)로 산도, 유기산, ABTS 라디칼 소거활성의 통계적 적합성은 인정되었다. 산도와 유기산은 두 독립변수가 상호작용하는 2FI (two-

factor interaction) Model이 선택되었고 ABTS 라디칼 소거활성은 독립변수가 각각 작용하는 Linear Model이 선택되었다. 콤부차의 산도와 유기산 함량은 홍차의 농도가 낮고 복분자의 농도가 높을수록 증가하는 경향을 보였고 ABTS 라디칼 소거활성은 복분자의 농도가 낮을수록 증가하는 경향을 보였다. 홍차 시럽을 첨가하여 제조한 그릭 요거트의 이화학적 특성에 대한 연구에서 홍차 시럽의 첨가량이 증가할수록 산도가 감소하는 경향이 나타났다(Yang & Choi, 2021). 또한 복분자의 농도를 다르게 하여 제조한 복분자와인의 품질 특성에 대한 연구에서 복분자의 농도가 증가할수록 산도가 증가하는 경향이 나타나(Seo et al., 2014) 본 연구 결과와 일치하는 경향이 나타났다. 산딸기의 첨가가 해당화주의 발효에 미치는 영향에 대한 연구에서 산딸기-해당화 혼합 발효주의 유기산 함량이 해당화 단독 발효주의 유기산 함량보다 높다는(Han et al., 2010) 본 연구와 유사한 경향을 나타내는 보고가 있다. 복분자 콤부차의 최적 배합비는 독립변수인 홍차의 농도, 복분자의 농도에 영향을 받으며 유의적인 차이가 인정된 종속변수인 산도, 유기산, ABTS 라디칼 소거활성의 전체적인 최적 조건의 최대 범위로 설정한다. 독립변수인 홍차의 농도와 복분자의 농도는 설정한 범위 내에서 최소로 한 것을 최적으로 설정하였고 홍차 농도와 복분자 농도 중에서는 복분자 농도가 최소인 것을 최적으로 하였다. 이것을 통해 얻은 복분자 콤부차의 최적 배합비는 홍차 농도 10% (w/v), 복분자 농도 8.01% (w/v)로 나타났으며 이 배합비의 종속변수 예측값은 산도 4.26%, 유기산 3,679.64 mg/100 mL, ABTS 라디칼 소거활성 93.68%로 나타났다.

최적 배합비의 종속변수 예측값과 홍차 농도 10% (w/v), 복분자 농도 8.01% (w/v) 복분자 콤부차의 산도, 유기산, ABTS 라디칼 소거활성 실험값의 차이는 Table 1과 같으

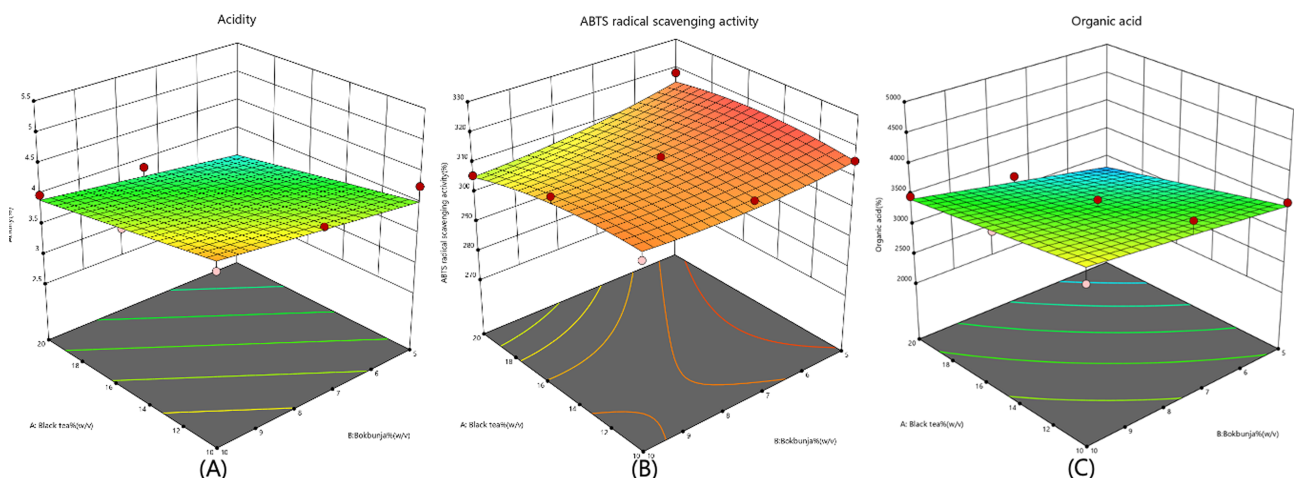


Fig. 1. Response surface of the Bokbunja Kombucha after fermentation. (A) Response surface to acidity of the Bokbunja Kombucha as a function of black tea concentration and Bokbunja concentration. (B) Response surface to ABTS radical scavenging activity of the Bokbunja Kombucha as a function of black tea concentration and Bokbunja concentration. (C) Response surface to organic acid content of the Bokbunja Kombucha as a function of black tea concentration and Bokbunja concentration.

며 예측값과 실험값의 평균차(Mean difference, MD)를 계산하면 산도의 평균차는 0.065, 유기산의 평균차는 0.041, ABTS 라디칼 소거활성의 평균차는 0.061이다. 그러므로 최적 배합의 예측값과 홍차 농도 10% (w/v), 복분자 농도 8.01% (w/v) 복분자 콤부차의 실험값은 유사하다.

복분자 콤부차의 특성 변화(pH, 산도, 생균수 및 유기산)

최적 배합비로 제조한 복분자 콤부차의 발효 과정에서 pH와 산도의 변화는 Fig. 2와 같고 초산균과 유산균의 생균수 변화는 Fig. 3와 같다. 초산 발효가 진행되면서 0.06%이었던 산도가 발효 3일차부터 급격하게 증가하여 4.00%가 되었고 pH의 경우 초반에 4.15로 나타났으며 그 후 급격하게 감소하여 7일째에 2.77로 나타났고 이후에는 거의 변하지 않았다. 이 결과를 통해서 복분자 콤부차는 산도가 증가하면서 pH가 다소 감소한다는 것을 알 수 있었다. 일반적으로 초산균의 초산 발효가 진행되면서 생성되는 유기산 acetic acid로 인해 산도가 높아지고 pH가 약간 감소되는 현상이 발생하며 본 연구도 오디를 이용하여 식초를 만든 연구처럼(Bang et al., 2020) 발효가 진행되면서 생성된 유기산으로 인해 산도가 올라가고 pH가 감소한 것으로 나타났다(Bang et al., 2020). 초산균과 유산균의 생균수는 감소하는 형태로 나타났다. 이러한 현상은 보리와 밀 혼합 막걸리의 품질 특성에 대한 연구에서 관찰되었으며 발효가 진행되면서 미생물에 의한 영양소의 고갈, pH, 산도 등의 발효 환경의 변화로 인해 나타나는 것으로

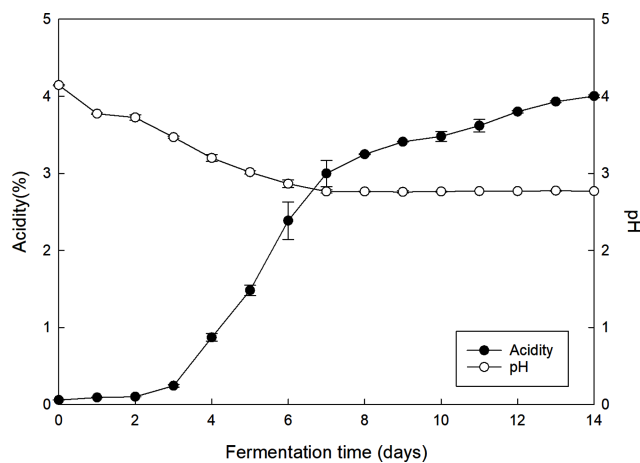


Fig. 2. Changes in pH and acidity of Bokbunja Kombucha during fermentation for 14 days at 30°C.

Table 1. Post analysis confirmation table of the Bokbunja Kombucha with 10% (w/v) concentration of black tea and 8.09% (w/v) concentration of Bokbunja.

Analysis	Predicted Mean	Data Mean	Standard Deviation	R ²
Acidity (%)	4.26086	4	±0.02	0.8436
ABTS (%)	93.6768	89.81	±0.84	0.997
Organic acid (mg/100 mL)	3679.64	3,907.15	±234.39	0.7752

판단된다(Shin et al., 2017).

복분자 콤부차 내 유기산의 발효 전과 발효 후 변화는 Table 2와 같다. 발효 전 복분자 콤부차 내 유기산의 함량은 lactic acid, acetic acid, oxalic acid 순으로 많았지만, 발효 후에는 초산균의 초산발효로 인해 acetic acid가 3,705.34 mg/100 mL로 가장 높았고 lactic acid는 117.95 mg/100 mL의 함량을 나타냈다. 홍차와 녹차로 만든 콤부차에 함유되어 있는 유기산 중에서 acetic acid의 함량이 가장 높으며(Jayabalan et al., 2007), 복분자 콤부차 또한 유기산 중에서 acetic acid의 함량이 가장 높다는 것을 확인할 수 있었다.

총 폴리페놀 및 항산화 활성

폴리페놀은 식물계에 널리 분포되어 있으며 과일과 잎 채류에 다량 함유되어 있다. 폴리페놀에 존재하는 다수의 -OH는 여러 화합물과 쉽게 결합하는 특성을 가지고 있으며 항산화, 항암, 항염 효과가 뛰어나다는 보고가 있다(Dai

Table 2. Changes in organic acid contents in Bokbunja Kombucha

Organic acid	mg/100 mL of sample	
	0 day	14 day
Oxalic acid	33.49±1.12	77.86±3.31**
Lactic acid	174.31±4.31**	117.95±12.33
Acetic acid	40.38±0.73	3,705.34±249.11**
Total	248.18±2.62	3,907.15±234.39**

Values are mean±SD. Means having the stars are highly significantly different ($p < 0.001$).

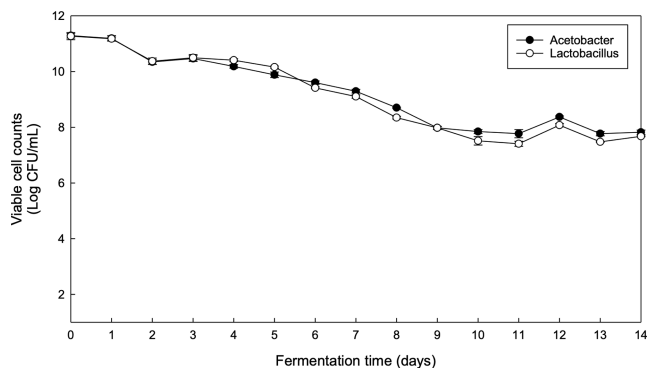


Fig. 3. Microbial growth of acetobacter and lactobacillus during the Bokbunja Kombucha fermentation for 14 days at 30°C.

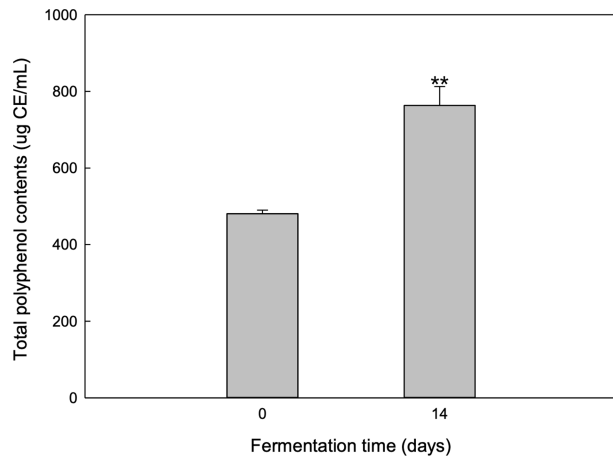


Fig. 4. Changes in total polyphenol contents of the Bokbunja Kombucha before and after fermentation. Error bars are SD of the Mean. The stars indicate a highly significant difference as revealed by a Tukey test ($p < 0.001$).

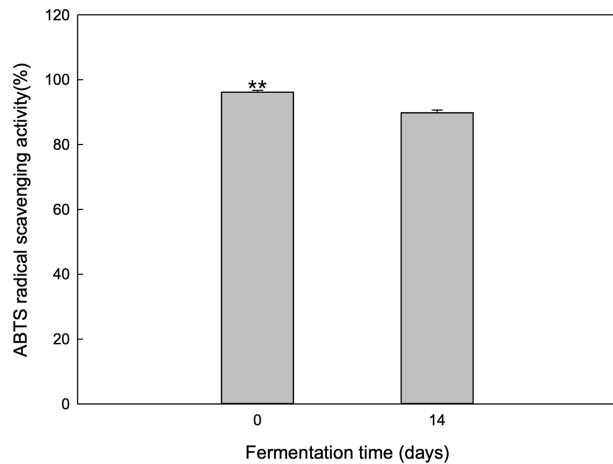


Fig. 5. Changes in the ABTS radical scavenging activity of the Bokbunja Kombucha before and after fermentation. Error bars are SD of the Mean. The stars indicate a highly significant difference as revealed by a Tukey test ($p < 0.001$).

& Mumper, 2010). 복분자 콤부차의 발효 전과 후 총 폴리페놀 함량의 변화는 Fig. 4와 같다. 발효 전 복분자 콤부차 내 총 폴리페놀 함량은 $480.83 \mu\text{g CE/mL}$ 이며 발효 후에는 $763.33 \mu\text{g CE/mL}$ 로 증가하였다.

복분자 콤부차의 발효에 따른 항산화 활성의 변화는 ABTS, DPPH 라디칼 소거활성 측정법을 통해 측정된 결과 각각 Fig. 5, Fig. 6와 같다. 복분자 콤부차의 ABTS 라디칼 소거활성은 발효 전 96.12%에서 발효 후 89.81%로 활성이 감소했으며 DPPH 라디칼 소거활성 또한 발효 전 74.05%에서 발효 후 46.09%로 활성이 감소하여 ABTS와 유사한 경향이 나타났다. 본 연구에서 복분자 콤부차는 총 폴리페놀 함량이 증가하였으나 항산화 활성이 감소하는 현상이 나타났다. 이러한 현상은 콤부차의 장기간 발효시 SCOBY의 물리화학적 특성과 항산화 활성에 대한 연구

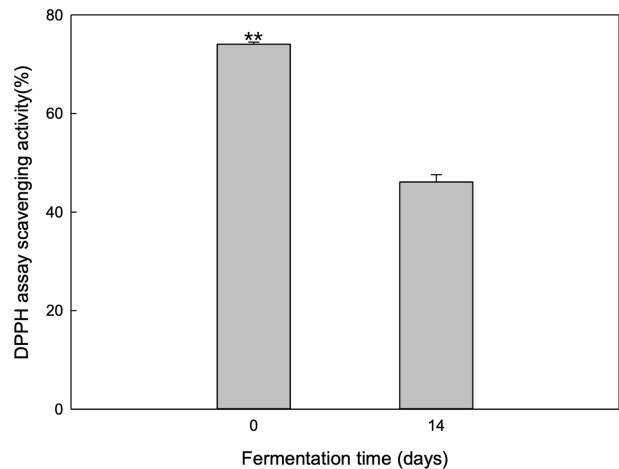


Fig. 6. Changes in the DPPH radical scavenging activity of the Bokbunja Kombucha before and after fermentation. Error bars are SD of the Mean. The stars indicate a highly significant difference as revealed by a Tukey test ($p < 0.001$).

(Amarasinghe et al., 2018)와 차와 쌀, 보리로 제조한 콤부차의 생화학적 변화와 항산화 활성에 대한 연구에서 관찰되었다(Ahmed et al., 2020).

요 약

본 연구에서는 복분자 콤부차의 최적 배합비를 찾고 이화학적 특성과 항산화 활성을 알아보았다. 반응표면분석법을 통해 복분자 콤부차의 최적 배합비는 홍차 농도 10% (w/v), 복분자 농도 8.09% (w/v)로 나타났고 이 배합비로 홍차 발효 주정에 복분자 당침액과 균을 첨가하여 14일간 초산 발효와 젖산 발효 과정을 통해서 산도 4%와 pH 2.77인 콤부차를 만들 수 있었다. 복분자 콤부차의 주요 유기산은 acetic acid, lactic acid, oxalic acid로 나타났으며 그 중에서 acetic acid가 $3,705.34 \text{ mg/100 mL}$ 로 가장 높았다. 발효 후 총 폴리페놀의 함량은 $763.33 \mu\text{g CE/mL}$ 로 발효 전보다 증가하였으나 콤부차 발효 후 DPPH, ABTS 라디칼 소거활성을 측정된 결과 항산화활성은 각각 46.09%, 89.81%로 발효 전보다 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 반응표면분석법을 통해 얻은 최적 배합비의 종속변수 예측값과 최적 배합비 콤부차 실험값의 산도의 평균차는 0.065, 유기산의 평균차는 0.041, ABTS 라디칼 소거활성의 평균차는 0.061이므로 예측값과 실험값은 유사하다.

감사의 글

본 연구는 교육부와 한국연구재단의 재원으로 지원을 받아 수행된 사회맞춤형 산학협력 선도대학(LINC+) 육성사업의 연구결과입니다.

References

- Ahmed RF, Hikal MS, Abou-Taleb KA. 2020. Biological, chemical and antioxidant activities of different types Kombucha. *Ann. Agric. Sci.*, 65(1): 35-41.
- Amarasinghe H, Weerakkody NS, Waisundara VY. 2018. Evaluation of physicochemical properties and antioxidant activities of kombucha "Tea Fungus" during extended periods of fermentation. *Food Sci. Nutr.*, 6(3): 659-665.
- Baek BK, Lim CW, Choi YG, Lee SI, Jeon BH. 2005a. Effects of black raspberry wine on estrogen in sprague-dawley rats. *J. Physiol. Pathol. Korean Med.*, 19(2): 426-428.
- Baek BK, Lim CW, Jung JM, Choi MJ, Lee SI, Lee HK, Jeon BH. 2005b. Effect of black raspberry wine on testosterone level of new zealand white rabbits. *J. Physiol. Pathol. Korean Med.*, 19(2): 375-379.
- Bang SI, Gwon GH, Cho EJ, Lee AY, Seo WT. 2020. Characteristics of fermented vinegar using mulberry and its antioxidant activity. *Korean J. Food Preserv.*, 27(5): 651-662.
- Chin JH, Park SY. 2013. Endothelium-dependent vasorelaxation effects of *Rubus coreanus* extract on rabbit carotid artery. *J. of Physiol. Pathol. Korean Med.*, 27(4): 437-445.
- Dai J, Mumper RJ. 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10): 7313-7352.
- Greenwalt C, Steinkraus K, Ledford R. 2000. Kombucha, the fermented tea: microbiology, composition, and claimed health effects. *J. Food Prot.*, 63(7): 976-981.
- Han WC, Ji SH, Surh JH, Kim MH, Lee JC, Kim SH, Jang KH. 2010. Effect of supplementation of *Rubus crataegifolius* on fermentation characteristics of rosa rugosa wine. *J. East Asian Soc. Diet. Life*, 20(2): 321-327.
- Hong SM, Kang MJ, Lee JH, Jeong JH, Kwon SH, Seo KI. 2012. Production of vinegar using *Rubus coreanus* and its antioxidant activities. *Korean J. Food Preserv.*, 19(4): 594-603.
- Jayabalan R, Marimuthu S, Swaminathan K. 2007. Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. *Food Chem.*, 102(1): 392-398.
- Kim ID, Kang KS, Kwon RH, Ha BJ. 2007. Anti-oxidative effects of *Rubus coreanus* Miquel extract on hepatic injury induced by lipopolysaccharide. *Toxicol Res.*, 23(4): 347-352.
- Kim JY, Shin HJ, Kim HG, Park H, Kim PK, Park S, Kim SH. 2020. The compositional and functional properties of Kombucha: a literature review. *Food Eng. Prog.*, 24(1): 1-14.
- Ko HM, Shin SS, Park SS. 2017. Biological activities of Kombucha by stater culture fermentation with *Gluconacetobacter* spp. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 46(7): 896-902.
- Kwon KH, Cha WS, Kim DC, Shin HJ. 2006. A research and application of active ingredients in Bokbunja *Rubus coresnus* Miuuel. *Korean Soc. Biotechnol. Bioeng. J.* 21(6): 405-409.
- Lee MW. 1995. Phenolic compounds from the leaves of *Rubus coreanus*. *Yakhak Hoeji*, 39(2): 200-204.
- Lee SJ, Ahn BI. 2009. Changes in physicochemical characteristics of black raspberry wines from different regions during fermentation. *Food Sci. Biotechnol.*, 41(6): 662-667.
- Lee YA, Lee MW. 1995. Tannins from *Rubus coreanus*. *Korean J. Pharmacogn.*, 26(1): 27-30.
- McHugh T, Sinrod A. 2019. Kombucha: how is it processed? *Food Technol. Mag.*, 73: 67-69.
- Pang KC, Kim MS, Lee MW. 1996. Hydrolyzable tannins from the fruits of *Rubus coreanus*. *Korean J. Pharmacogn.*, 27(4): 366-370.
- Park HJ, Song JY, Chea KS, Lee HK, Choi HR. 2012a. Quality characteristics and functional components of Bokbunja (Black Raspberry) juice. *Food Eng. Prog.*, 16(1): 52-57.
- Park SY, Chae KS, Son RH, Jung JH, Im YR, Kwon JW. 2012b. Quality characteristics and antioxidant activity of Bokbunja (Black Raspberry) vinegars. *Food Eng. Prog.*, 16(4): 340-346.
- Ra HN, Kim NG. 2016. Antioxidant activities and quality characteristics of gravy sauce added with Bokbunja (*Rubus coreanus* Miquel), mulberry and blueberry. *Korean J. Food Cook. Sci.*, 32(4): 458-465.
- Ra JC, Lee HY, Choi MK, Park HG, Kang KS. 2004. Effect of decreasing body weight with plant extracts containing *Rubi fructus*. *Toxicol Res.*, 20(2): 167-172.
- Seo SH, Yoo SA, Kang BS, Son HS. 2014. Quality characteristics of Korean black raspberry Bokbunja wines produced using different amounts of water in the fermentation process. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 46(1): 33-38.
- Shin DS, Jeong ST, Sim EY, Lee SK, Kim HJ, Woo KS, Oh SK, Kim SJ, Park HY. 2017. Quality Characteristics of mixed Makgeolli with barley and wheat by fermentation temperature. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 30(2): 305-311.
- Vázquez-Cabral BD, Larrosa-Pérez M, Gallegos-Infante JA, Moreno-Jiménez MR, González-Laredo RF, Rutiaga-Quiñones JG, Gamboa-Gómez CI, Rocha-Guzmán NE. 2017. Oak Kombucha protects against oxidative stress and inflammatory processes. *Chem. Biol. Interact.*, 272: 1-9.
- Watawana MI, Jayawardena N, Waisundara VY. 2015. Enhancement of the functional properties of coffee through fermentation by "Tea Fungus" (Kombucha). *Korean J. Food Preserv.*, 39(6): 2596-2603.
- Xia X, Dai Y, Wu H, Liu X, Wang Y, Yin L, Wang Z, Li X, Zhou J. 2019. Kombucha fermentation enhances the health-promoting properties of soymilk beverage. *J. Funct. Foods*, 62, 103549.
- Yang HS, Rho JO. 2011. A study on the consumption patterns, the importance of product properties, and the satisfaction levels of blackberry and mulberry fruit beverage products in the Jeonbuk area. *Int. J. Hum. Ecol.*, 49(10): 29-37.
- Yang JW, Choi IS. 2021. Comparisons of the physicochemical characteristics, antioxidant properties, and consumer acceptance of Greek-style yogurt enhanced with black tea syrup instead of sugar syrup. *J. East Asian Soc. Diet. Life*, 31(1): 36-49.
- Yang Z, Ji B, Zhou F, Li B, Luo Y, Yang L, Li T. 2009. Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of Kombucha tea in high-cholesterol fed mice. *J. Sci. Food Agric.*, 89(1): 150-156.

Author Information

- 유수정: 전북대학교 식품공학과, 학부과정
이창영: 전북대학교 농축산식품융합학과, 석사과정
강경석: 전북대학교 농축산식품융합학과, 석사과정
김상관: 토굴발효 영농조합법인, 대표
김성학: 토굴발효 영농조합법인, 팀장
서동호: 전북대학교 식품공학과, 전북대학교 농축산식품
융합학과, 조교수