

와송 첨가 콤부차의 저장기간별 품질특성 및 항산화 활성

전주영 · 김명현 · 한영실*
숙명여자대학교 식품영양학과

Quality Characteristics and Antioxidant Activities of Kombucha Added with *Orostachys japonicus* During Fermentation

Joo Young Jeon, Myung Hyun Kim, and Young Sil Han*

Department of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University

Abstract

In this study, kombucha was prepared by adding 0%, 25%, 50%, 75%, and 100% of *Orostachys japonicus* as a natural functional source to broaden its usage and obtain valuable data for fermented beverage research. The kombucha's pH and sugar content decreased during the fermentation period, but its acidity level increased during the same period. Additionally, its L value increased after decreasing, its a value decreased after increasing, its b value continued to increase, and its sugar reduction increased and then decreased. In the sensory characteristic strength evaluation, its color, fermented odor, and sour taste became stronger, but its sweetness became less. As a result of preference evaluation, fragrance and swallowing capability stood the highest in the 25% addition group, color and taste were the highest in the 50% addition group, and overall preference was highest in the 50% addition group. Total flavonoids, total polyphenols, DPPH, ABTS radical scavenging ability, and reducing power increased until the third day of the experiment and decreased afterward. Therefore, the study determined that fermenting kombucha with 50% *Orostachys japonicus* extract for 9 days would increase its quality characteristics and provide the most palatability.

Keywords: *Orostachys japonicus*, quality characteristics, antioxidant activity, kombucha

서 론

세계적으로 식품의 건강 기능성이 중요해짐에 따라 발효 음료나 기능성 소재를 강화한 식품시장이 커지고 있다. Korea agro fisheries & food trade corporation (2022)에 따르면 음료류 매출 규모는 2018년 61,642억원에서 2020년 62,255억원으로 늘어났으며, 제로 칼로리음료와 기능성음료 등 제품군의 확대와 신제품 출시로 음료류 시장은 꾸준히 성장하고 있다. 그 중 콤부차도 국내에서 소비자들의 관심을 받고있으며, 발효과정에서 유산균이 생성되는 발효차로 기존의 분말 타입 외에도 ready to drink 타입의 음료로도 출시되고 있다.

발효는 재료의 맛과 향미, 조직감을 증진시키고 유기산의 생성하며, 독성물질 파괴, 소화성 증진, 비타민 등을 생성해 영양학적 가치를 높인다(Park, 2012). 발효음료는 알

코올형음료와 산형음료로 나누어지며, 그 중 콤부차는 약간의 단맛과 신맛이 나는 음료로 세균과 효모의 공생균체 발효에 의해 얻어지는 산형발효음료이다(Dufresne & Farnworth, 2000; Kim et al., 2008). 일반적인 콤부차는 홍차나 녹차 등과 같은 차 추출액에 설탕을 넣고 효모와 초산균체를 이용하여 발효시키는 음료이지만 콤부차에 대한 관심이 높아지며, 다양한 재료와 발효균체를 첨가하는 새로운 제조 방법이 연구되고 있다(Kim et al., 2020). 콤부차에 넣은 기능성 부재료는 복분자(Ryu et al., 2021), 유자(Woo et al., 2021), 커피(Watawana et al., 2015), 밀싹주스(Sun et al., 2015) 등이 있으며, 유산균체를 이용한 콤부차(Woo et al., 2021), 균조성에 따른 콤부차(Malbaša et al., 2011) 등이 있다. 중국에서 유래되어 제2차 세계대전 당시 독일, 프랑스, 남아프리카 등 세계 전역에 전파되었다(Jayabalan et al., 2014). 콤부차의 기능성으로는 항산화, 항암, 항염증(Rollan & Taillandier, 2019) 간세포 보호(Bhattacharya et al., 2011), 향미생물(Bhattacharya et al., 2016), 항당뇨(Zubaidah et al., 2019a), 혈중 콜레스테롤 감소(Yang et al., 2009) 효과 등에 대하여 알려져 있으며, 미국, 유럽 등지에서 많이 응용되고 있다(Kim et al., 2020).

*Corresponding author: Young-Sil Han, Professor, Dept. of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Seoul 04310, Korea
Tel: +82-2-710-9471; Fax: +82-2-710-9479

E-mail: ygkmh5@nate.com

Received July 6, 2022; revised August 18, 2022; accepted October 18, 2022

와송(*Orostachys japonicus*)은 오래된 기와지붕 위나 깊은 산의 바위 위에 자라는 돌나무과 바위솔 속에 속하는 다년생 초본식물로 우리나라에서는 와송 또는 바위솔이라고 불린다(Lim et al., 2017). 여름부터 가을에 걸쳐 채취를 하며 뿌리를 제거한 전초를 햇볕에 말려 약용으로 사용되어 왔다(Lee et al., 2009). Fatty acid ester류, flavonoid류, triterpenoid류 sterol류 및 aromatic acid류 등의 다양한 생리활성 성분을 포함하고 있는 것으로 보고되고 있으며, 항산화(Lee et al., 2009), 항균(Yoon et al., 2009), 항암(Kwon & Han, 2004), 항염증(Jung et al., 2016), 항비만(Lee & Lee, 2017) 등 다양한 생리 활성 효과를 가지고 있다고 알려져 있다. 재배기간이 제한적인 와송을 식품 가공에 응용하면 보존성을 향상시키고 여러 방면에 이용할 수 있을 것이라 생각되며, 발효 음료로 제조 시에도 계절에 관계없이 응용할 수 있을 것이라 생각한다. 와송은 다양한 기능이 보고되어 기능성 식품의 소재로서 충분한 가치가 있을 것으로 여겨지며, 와송을 활용한 식품으로 젤리(Lee & Jin, 2021), 청국장(Jun et al., 2018), 소시지(Kim et al., 2018) 등으로 발효음료에 와송을 넣은 연구는 아직 진행되지 않았다. 또한 콤부차는 발효기질이 무엇인지, 어떤 균종을 접종하는지, 발효조건을 어떻게 설정하는지에 등 조건에 따라 화학적 조성 및 관능적 특성이 달라진다(Kim et al., 2020). 따라서 본 연구에서는 콤부차에 와송을 첨가하여 제조하고 12일간의 발효기간 동안 항산화 활성과 품질특성 변화 및 관능평가를 통해 기호도를 알아보고자 하였고, 향후 발효음료에 적용하기 위한 기초자료와 와송의 산업적 이용 증대를 위한 기초자료를 제시하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 와송은 2021년 8월에 여주 청정 와송 농장에서 수확한 것을 구입하여 사용하였다. 와송은 세척 후 동결건조기(MCFD 8508, Ilshin Bio Base, Yangju, Korea)로 72시간 동안 동결건조 시킨 후, 믹서기(HMF-3260S, Hanil, Seoul, Korea)로 분쇄하고 30 mesh로 체친 분말을 -40°C 냉동고에 보관하며 이용하였다. 그 외 *Lactobacillus*

plantarum EMK01, *Lactobacillus sakei* EMK02, *Lactobacillus paracasei* EMK03, *Lactobacillus casei*, EMK04, *Lactobacillus brevis* EMK05, *Leuconostoc mesenteroides* EMK06, *Bacillus subtilis* EMK07, *Saccharomyces cerevisiae* EMK08의 8가지 미생물로 구성된 콤부차 종균(Tea ferment seed, Biotech, Nonsan, Korea), 설탕(White sugar, CJ Cheiljedang Co., Incheon, Korea)은 시중에서 구입하였다. 항산화 실험에 사용한 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), Folin & Cioclateau 등의 시약은 Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였으며, 그 외 시약은 1급을 사용하였다.

콤부차 제조

콤부차의 제조는 Woo et al. (2021)의 제조방법을 참고하였고, 여러 번의 예비실험을 거쳐 배합비율을 Table 1과 같이하였다. 와송 추출물 제조는 와송 분말 20 g에 물 2 L를 넣고 인덕션(BEI3MQT, LG, Seoul, Korea)에서 5단으로 30분간(약 100-110°C) 가열한 후 여과하여 사용하였다. 제조한 와송 추출물은 액체 중량 대비 0%, 25%, 50%, 75%, 100% 비율로 콤부차에 첨가하였으며, 물과 설탕을 배합 비율에 맞게 혼합하고 식힌 후 콤부차 종균을 첨가하였다. 그 후 배양기(MCO-175, SANYO, Osaka, Japan)에서 26°C로 발효하며 0, 3, 6, 9, 12일에 실험하였다.

pH, 산도 및 당도 측정

콤부차의 pH, 산도, 당도는 시료를 취하고 여과한 후 측정하였다. pH 측정은 pH meter (PB-30, Sartorius, Gottingen, Germany)로 3회 반복 측정하였다. 적정 산도는 시료 1 mL에 페놀프탈레인 용액을 첨가하고 0.1 N NaOH 용액으로 적정하여 acetic acid (% w/w)로 환산하였다. 당도는 당도계(PAL-1, ATAGO Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 3회 반복 측정하였다. 각 실험은 평균값과 표준편차로 나타내었다.

색도 측정

콤부차의 색도는 색도계(CR-310, Minolta Co., Osaka, Japan)를 사용하여 L값(lightness, 명도), a값(redness, 적색도), b값(yellowness, 황색도)의 색도 값을 3회 반복 측정하였으며 평균과 표준편차로 나타내었다. 이 때 사용한 표준

Table 1. Composition of fermented beverages using *Orostachys japonicus* extracts

Ingredients (g)	Concentration of <i>Orostachys japonicus</i>				
	0%	25%	50%	75%	100%
<i>Orostachys japonicus</i> extract ¹⁾	0	125	250	375	500
Water	500	375	250	125	0
Kombucha starter	1	1	1	1	1
Sugar	50	50	50	50	50

¹⁾*Orostachys japonicus* extract: about 1% *Orostachys japonicus* content.

백색판(standard plate)의 L, a, b 값은 각각 93.72, -0.15, 3.74이었다.

환원당 측정

콤부차의 환원당은 DNS법(dinitrosalicylic acid)으로 Summer (1925)의 방법을 이용하여 측정하였다. 희석한 시료액 1 mL에 DNS 시약 3 mL를 넣고 water bath (WBT-10, Jeong Bio Tech., Incheon, Korea)에서 5분간 증탕하였으며, 찬물에 냉각한 후 측정하였다. 575 nm에서 흡광도(T60UV, PG Instruments, Wibtoft, England)를 3회 반복 측정하였으며, glucose 표준곡선을 이용해 환원당 함량을 산출하여 평균과 표준편차로 나타내었다.

관능평가

관능평가는 숙명여자대학교 식품영양학 전공자 10명을 패널로 선정하여 실험의 취지 및 목적에 대해 설명하고, 관능검사 사전교육을 한 후 검사에 응하도록 하였다. 콤부차 시료는 냉장온도로 동일한 종이컵에 50 mL씩 제공하였고 검사항목은 색(Color), 향(Flavor), 맛(Taste), 목넘김(Swallowing), 전반적인 기호도(Overall palatability)에 대하여 아주 좋다: 9점, 아주 나쁘다: 1점으로 하였다. 특성 강도의 평가 항목은 색(Color), 발효취(Fermented odor), 신맛(Sour taste), 단맛(Sweet taste), 탄산(Carbonated flavor)를 아주 강하다: 9점, 아주 약하다: 1점으로 하였다. 모든 시료는 3자리 숫자의 난수표로 표기하였으며, 관능평가는 숙명여자대학교 생명윤리위원회에서 승인을 받고(SMWU-2203-HR-010) 그 규정에 따라 시행하였다.

총 폴리페놀 함량 측정

외송 콤부차의 총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu법 Swain & Hillis (1959)의 방법을 이용하여 측정하였으며 gallic acid를 표준물질로 하여 검량선을 작성한 후 계산하였다. 시료액 150 µL에 증류수 2,400 µL와 2 N Folin-Ciocalteu 용액 50 µL를 가하여 교반하였고, 3분간 정치시킨 뒤 1 N sodium carbonate(Na₂CO₃) 300 µL를 가하였다. 그 후 암소에서 2시간 정치시킨 후 725 nm에서 흡광도(T60UV, PG Instruments)를 측정하였다. 실험은 3회 반복 측정하였으며 평균값과 표준편차로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량 측정

외송 콤부차의 총 플라보노이드 함량은 Davis법을 응용한 Um & Kim (2007) 따라 측정하였으며, 표준물질로 rutin (Sigma Co.)을 사용하여 검량 선을 구한 후 계산하였다. 시료액 1 mL에 90% diethylene glycol 10 mL와 1 N NaOH 1 mL를 가하고, 1시간 동안 37°C의 water bath (WBT-10, Jeong Bio Tech.)에서 반응한 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 실험은 3회씩 반복 측정하였으며 평균

값과 표준편차로 나타내었다.

DPPH radical 소거 활성 측정

외송 콤부차의 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical에 대한 소거방법은 Blois (1958)의 방법에 따라 측정하였다. 희석한 시료액 990 µL에 DPPH solution (1.5 × 10⁻⁴ M) 330 µL을 가하고 교반한 뒤 30분 간 암소에서 방치하였다. 517 nm에서 흡광도를 3회 반복 측정하였으며 평균값과 표준편차로 나타내었다.

DPPH radical scavenging activity (%)

$$= (1 - \text{sample absorbance/control absorbance}) \times 100$$

ABTS radical 소거 활성 측정

외송 콤부차의 ABTS radical 소거 활성은 Re et al. (1999)의 방법을 변형하여 실험하였다. 7.0 mM ABTS (2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)와 2.45 mM potassium persulfate를 혼합하여 ABTS solution을 제조하고 12-16시간 암소 반응시켜 ABTS radical (ABTS^{•+}) 생성시켰다. Radical이 생성된 용액은 흡광도 값이 734 nm에서 0.70±0.02가 되도록 PBS buffer로 희석하였다. ABTS solution 900 µL과 시료액 100 µL를 혼합하였고 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 소거 활성을 백분율로 표시하였고, 실험은 3회 반복 측정하였으며 평균값과 표준편차로 나타내었다.

ABTS radical scavenging activity (%)

$$= (1 - \text{sample absorbance/control absorbance}) \times 100$$

Reducing power 측정

외송 콤부차의 Reducing power는 Oyaizu (1986)의 방법을 이용하여 측정하였다. 시료액 2.5 mL에 0.2 M 인산나트륨 완충제(pH 6.6) 2.5 mL와 1% 페리시안화칼륨 2.5 mL를 각각 혼합하였고, 이 혼합물을 50°C의 water bath (WBT-10, Jeong Bio Tech.)에 20분간 반응시켰다. 여기에 10% trichloroacetic acid 2.5 mL를 첨가하여 혼합하고, 상등액 5 mL, 증류수 5 mL, 0.1% ferric chloridide 1 mL를 넣어 700 nm에서 흡광도를 측정하였으며 그 값을 흡광도(O.D.) 값으로 나타내었다. 실험은 3회 반복 측정하였으며 평균값과 표준편차로 나타내었다.

통계처리

통계처리는 SPSS 프로그램(Statistical Analysis Program, version 25, IBM Co., Amonk, NY, USA)을 이용해 평균값과 표준편차로 나타내었다. 유의성 검증을 위하여 일원배치분산분석(One-way ANOVA)과 이원배치분산분석(Two-way ANOVA)을 실시하였으며, 유의성이 있는 경우 사후검증으로 다중범위검정(Duncan's multiple range test)을 실

시하였다($p < 0.05$).

결과 및 고찰

pH의 변화

와송 추출물 첨가 콤부차의 pH 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 첨가량에 따른 pH 측정 결과, 와송 추출물 함량이 증가할수록 pH는 낮아지는 경향을 보였다($p < 0.001$). 발효 기간에 따른 pH는 대조군이 0일차 7.44에서 12일차 4.53으로 감소하였으며, 첨가군은 0일차 4.53-4.99에서 12일차 3.99-4.18로 유의적으로 감소하였다($p < 0.001$). 와송 첨가 소시지(Kim et al., 2018)는 와송 분말 0% 첨가 시 9.58, 5% 첨가 시 6.12로 감소하였고, 젤리(Lee & Jin, 2018)에서도 와송 주스 0% 첨가 시 6.33, 100% 첨가 시 4.47로 감소하는 경향을 보였다. 와송 추출물의 pH를 측정하였을 때 4.61로 와송 추출물의 첨가가 초기 pH의 감소에 영향을 주었다고 생각된다. 밀싹주스 첨가 콤부차(Sun et al., 2015)에서는 0일차 pH 4.00에서 12일차 pH 2.90로 감소하였고, 커피분말 첨가 콤부차(Watawana et al., 2015)에서는 0일차 pH 5.00-5.50에서 7일차 4.10-5.00로 감소하였다. 산머루과즙을 이용한 발효산형음료(Kim & Choi, 2011)에서는 0일차 3.43-3.39에서 15일차 2.09-2.12로 감소하여 부재료에 따라 pH 변화에 차이가 나타나는 것으로 보였다. pH

의 경향은 전부 감소하였는데, 콤부차는 산형음료로서 세균과 효모에 의하여 발효가 이루어지며 다양한 산을 형성하고 이러한 산이 이온(H^+)를 생성하며 pH를 감소시켜 이러한 결과가 나타났다(Zubaidah et al., 2019b).

산도의 변화

와송 추출물 첨가 콤부차의 산도 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 첨가량에 따른 산도 측정 결과, 와송 추출물 함량이 증가할수록 산도는 높아지는 경향을 보였다($p < 0.001$). 발효 기간에 따른 산도는 대조군이 0일차 0.01%에서 12일차 0.05%로 증가하였으며, 첨가군은 0일차 0.03-0.12%에서 12일차 0.10-0.26%로 유의적으로 증가하였다($p < 0.001$). Lee et al. (2009)는 와송 물 추출물과 에탄올 추출물의 pH를 측정하였을 때 잎, 줄기, 뿌리 순으로 낮은 값을 보였으며, 주로 산성 영역이었다고 보고하였다. 따라서 와송 추출물 첨가량이 높을수록 초기 산도가 높은 것은 와송에 함유되어 있는 유기산 성분 때문에 높아지는 것으로 생각된다(Yoon et al., 2009). 콤부차는 bacteria와 효모의 발효에 따라 acetic acid, glucuronic acid, lactic acid, malic acid, succinic acid 등의 다양한 유기산이 생산된다고 알려져있다(Jayabalan et al., 2007). 본 연구에서 사용한 유산균도 젖산 및 초산과 같은 유기산을 생산함으로 발효기간에 따라 산도가 증가하는 결과가 나타났다. 녹차추출액과 유자

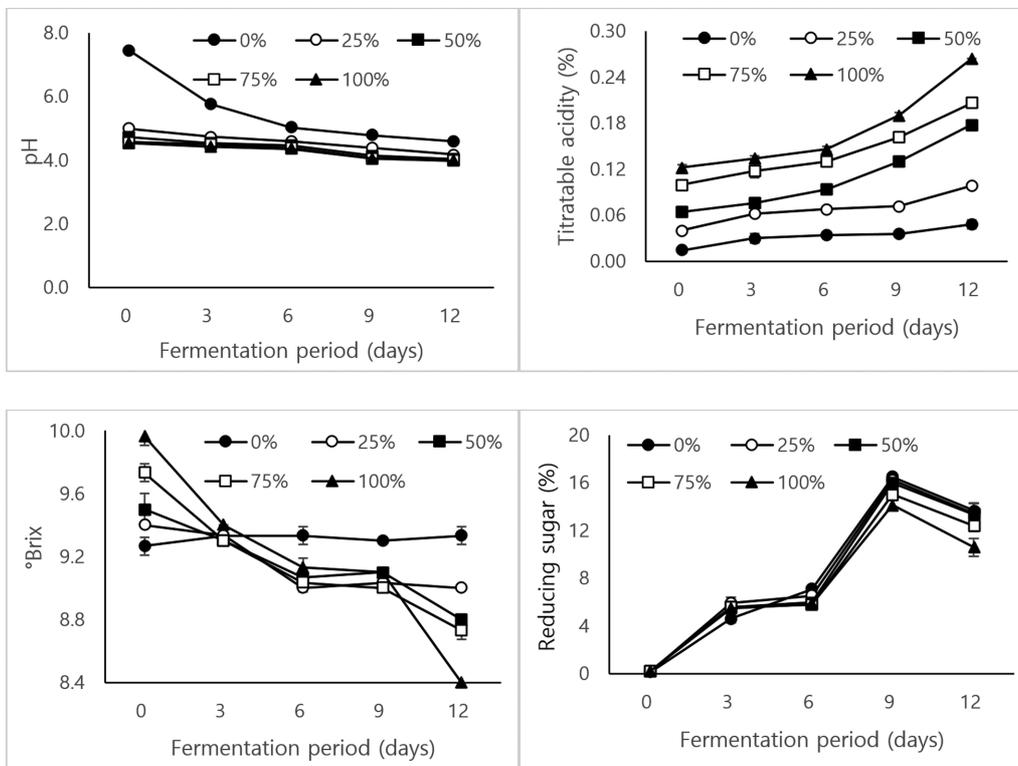


Fig. 1. Changes in pH, acidity, °Brix and reducing sugar content of *Orostachys japonicus* kombucha during fermentation for 12 days at 26°C.

액 혼합비율별 콤부차(Woo et al., 2021) 에서도 발효 종료 시점 20일차에 0.13-0.23%로 증가하는 경향을 보였고 snake fruit 품종별 콤부차에서도 0일차 0.35-0.57%에서 14일차 1.52-1.72%로 증가하는 경향을 보여 본 연구와 유사한 경향이 나타났다.

당도의 변화

외송 추출물 첨가 콤부차의 당도 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 첨가량에 따른 당도 측정 결과, 외송 추출물 함량이 증가할수록 당도는 높은 경향을 보였으나, 발효가 진행되며 외송 추출물의 첨가량이 많을수록 당도 감소율이 커져 12일차에는 추출물 함량이 많을수록 낮은 값을 보였다 ($p<0.001$). 발효 기간에 따른 당도는 대조군에서 큰 차이가 나타나지 않았고, 첨가군은 0일차 9.40-9.97°Brix에서 12일차 8.40-9.00°Brix로 유의적으로 감소하였다($p<0.001$). 외송 추출물의 당도를 측정하였을 때 0.90°Brix로 초기 당도 값의 차이에 영향을 주었음을 알 수 있었다. 콤부차 발효에서 설탕은 포도당과 과당으로 효소 가수분해하며 시작된다(Xia et al., 2019). 그리고 총당의 함량은 발효가 진행되며 감소하는데 이는 특정 유기산의 형태로 셀룰로오스 및 대사산물을 생성하는 대사 과정과 미생물 세포의 성장을 위한 탄소원으로 사용되기 때문이다(Zubaidah et al., 2019b). 4가지 snake fruit 품종을 첨가한 콤부차(Zubaidah et al., 2019b)에서는 모든 품종이 0일차 13.30-14.08°Brix에서 14일차 12.43-12.97°Brix로 감소하는 경향을 보였다. 녹차추출액과 유자액 혼합비율별 콤부차(Woo et al., 2021)에서는 발효 전 10°Brix에서 20일 후 녹차추출액 70:유자액 30 비율 시료가 3.00°Brix였으며 녹차추출액 30:유자액 70 비율 시료가 6.40°Brix가 나와 기존 녹차와 유자 원료에 포함되어 있는 당류의 조성이 발효 대사에 영향을 미쳤다고 하였다. 외송 추출물 첨가 콤부차에서도 외송 자체의 당류 조성이 영향을 발효에 영향을 주어 당도 감소율에 차이를 주었을 것이라 여겨졌다.

환원당의 변화

외송 추출물 첨가 콤부차의 환원당 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 첨가량에 따른 환원당 측정 결과, 외송 추출물 함량이 증가할수록 환원당은 낮은 경향을 보였으나 대조군과 100% 첨가군의 값 차이가 0.1-3.1%로 크지 않았다 ($p<0.001$). 발효기간에 따른 환원당은 0일차 0.14-0.24%에서 9일차 14.13-16.48%로 증가하였으며 이후에는 감소하였다($p<0.001$). 환원당은 단당류와 이당류의 총칭이며 비환원당인 설탕을 제외한 포도당, 과당 및 맥아당 등이 포함된다(Kim et al., 2007). Lee et al. (2022)는 pellicle과 배양액을 스타터로 사용한 콤부차를 비교한 결과, 총당은 모두 감소한 반면, 환원당은 pellicle을 사용한 경우 약간 증가하다가 감소하였고 배양액을 사용한 경우는 점차 증가함을

보고하였다. 이는 발효균주가 설탕을 이용하며 당도는 감소되었고, 환원당은 비환원당이 분해되며 환원당으로 전환됨에 따라 증가하는 것으로 보인다고 하였다. 본 실험에서도 0-3일차에 당도는 0.1-0.6°Brix 감소하였고 환원당은 5.27-5.76%로 증가하는 결과가 나왔고, 효모가 설탕을 환원당으로 분해하여 만드는 생산율이 소비율보다 크기 때문에 환원당의 농도는 증가한 것으로 생각된다. 녹차추출액과 유자액 혼합비율별 콤부차(Woo et al., 2021)에서도 발효 5일차까지 증가하다가 이후에는 감소하는 경향을 보였다. 환원당은 발효 및 숙성 중에 미생물에 의해 분비된 효소로 인하여 높아지다가 발효가 진행되면서 미생물의 영양원과 유기산 발효의 기질로 이용되면서 감소되는 것으로 알려져 있다(Kim et al., 2011; Gil et al., 2016). 외송 추출물 첨가 콤부차에서도 마찬가지로 환원당이 증가하다가 감소하는 경향이 나타났다고 생각된다. 그리고 대조군과 첨가군의 경향이 발효 기간동안 비슷하게 진행되었고, 0일차에는 외송 추출물 첨가량이 많을수록 높은 값을 보였으나 12일차에는 첨가량이 많을수록 낮은 값을 보였다. 이는 외송추출물 자체에 있는 당이 0일차 값에 영향을 주었다고 여겨졌고 12일차에는 외송 추출물 첨가량이 많을수록 발효하면서 당이 영양원으로 많이 이용되었다고 판단되었다(Kim et al., 2011).

색도의 변화

외송 추출물 첨가 콤부차의 색도 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 첨가량에 따른 색도 측정 결과, 명도 L값은 추출물 함량이 높을수록 낮은 값을 보였다($p<0.001$). 발효 기간에 따른 L값은 대조군이 0일차 69.53에서 12일차 66.41로 감소하였으며, 첨가군은 0일차 65.79-68.82%에서 9일차 56.13-62.38로 감소하였다가 12일차에 다시 증가하는 경향을 보였다($p<0.001$). 커피 분말 콤부차(Watawana et al., 2015)에서는 발효가 진행되며 어두워지는 결과가 나타났고, 차에 균류를 첨가하였을 때는 폴리페놀의 미생물 변형과 관련되어 밝아지는 경우가 많으나, 일반적인 발효에서는 페놀 화합물의 중합 반응이 촉진되어 갈색의 생성물을 형성한다고 알려져 있어 발효에 의해 색도에 영향을 주었을 가능성이 있다고 하였다.

적색도 a값은 첨가량에 따라 0일차에는 첨가군들간의 차이가 크지 않았다가 3일차 이후 첨가량에 따라 높은 값을 보였다($p<0.001$). 발효 기간에 따라서 대조군은 0일차 2.58에서 12일차 1.24로 감소하였고, 첨가군은 0일차에 1.26-1.34에서 3일차에 1.44-3.06으로 증가하였으며, 6일차부터는 a값은 다시 감소하여 12일차에 0.21-1.74의 값을 보였다($p<0.001$).

황색도 b값은 첨가량에 따라 높은 값을 보였으나, 대조군과 25%첨가군은 처음에 차이가 없다가 발효 시작 후 25% 첨가군의 b값이 급격하게 증가하여 대조군보다 높은

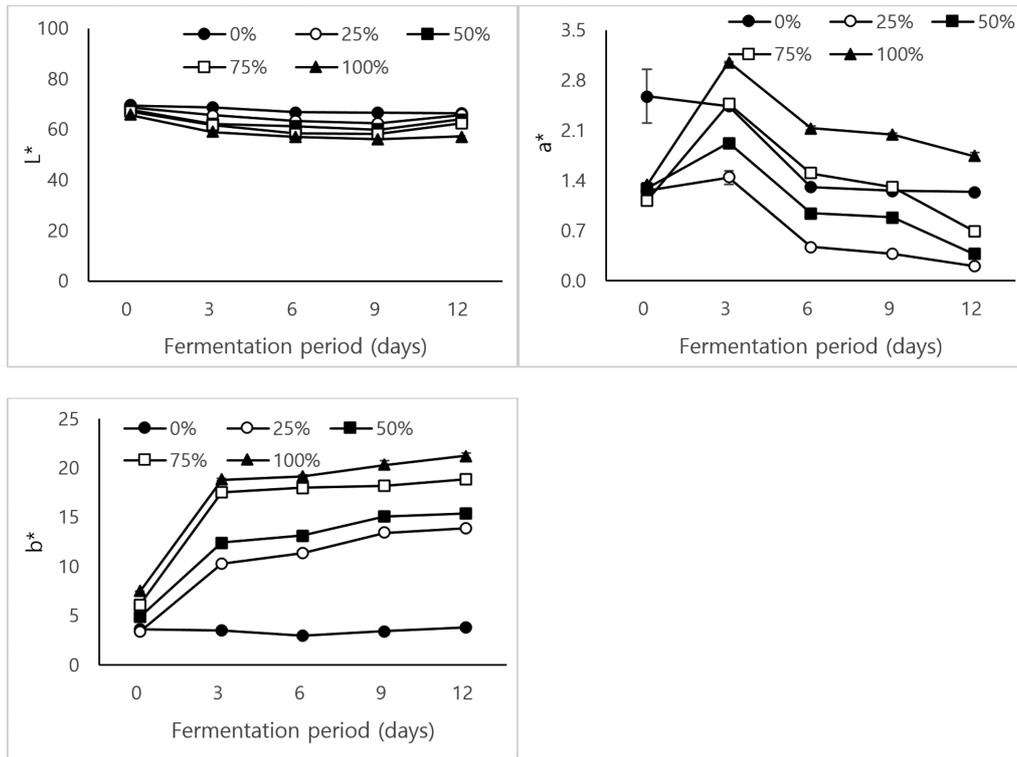


Fig. 2. Hunter color values of *Orostachys japonicus* kombucha during fermentation for 12 days at 26°C.

Table 2. Sensory evaluation of *Orostachys japonicus* kombucha

		Concentration of <i>Orostachys japonicus</i>					F-value
		0%	25%	50%	75%	100%	
Consumer acceptability	Color	4.50±1.72	5.10±1.29	5.20±0.40	5.00±1.49	4.60±1.43	0.54 ^{NS}
	Flavor	5.30±0.95 ^{ab}	6.20±1.40 ^a	5.80±1.14 ^{ab}	4.80±0.92 ^{bc}	4.00±2.00 ^c	4.13 ^{**}
	Taste	5.00±0.82 ^b	5.60±1.17 ^{ab}	6.50±1.18 ^a	4.70±0.95 ^b	3.40±2.07 ^c	7.22 ^{***}
	Swallowing	5.80±1.87 ^a	6.10±1.10 ^a	5.60±0.97 ^a	4.90±0.88 ^a	3.60±1.58 ^b	5.58 ^{***}
	Overall acceptance	5.30±0.82 ^b	6.00±0.47 ^{ab}	6.40±0.70 ^a	4.60±1.06 ^c	2.30±0.82 ^d	42.07 ^{***}
Characteristic intensity rating	Color intensity	2.80±0.79 ^e	3.50±0.53 ^d	4.50±0.53 ^c	5.20±0.79 ^b	6.00±0.67 ^a	36.65 ^{***}
	Off flavor	3.10±1.00 ^e	4.10±0.74 ^d	5.30±0.95 ^c	6.40±0.97 ^a	7.40±0.97 ^a	34.57 ^{***}
	Sour taste	1.50±0.53 ^c	2.80±0.63 ^b	3.20±0.63 ^b	4.10±0.57 ^a	4.30±0.48 ^a	38.79 ^{***}
	Sweet taste	7.20±0.63 ^e	6.40±0.52 ^d	5.60±0.52 ^c	5.00±0.47 ^b	4.20±0.63 ^a	44.10 ^{***}

¹⁾All values are mean±S.D. (n=10).

²⁾Values with different small letters (a-e) within a row differ significantly by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

³⁾NS: Not significant, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$.

값을 보였다($p<0.001$). 발효 기간에 따라서는 대조군은 유의적인 차이가 나타나지 않았고, 첨가군에서는 0일차 3.41-7.48에서 3일차 10.29-18.83으로 급격하게 증가하였으며 이후에는 완만하게 증가하여 12일차에 13.93-21.26의 값을 보였다($p<0.001$). Lee et al. (2009)에서 와송잎 물 추출물을 건조시켜 색도를 측정 한 결과 L값 98.22, a값은 0.04, b값은 3.66이었으며, 와송잎에는 녹색과 황색을 띠는 클로로필과 플라보노이드와 같은 성분들이 많이 들어있어 와송 추출물 첨가 콤부차에서 발효기간에 따라 a값이 감소하고

b값은 증가하는 결과가 나타났다고 생각된다.

관능평가

와송 추출물 첨가 콤부차의 관능평가 결과는 Table 2에 나타내었다. 관능평가는 기호도와 특성 강도 평가 항목으로 나뉘 실시하였다. 기호도 평가 결과 대조군에서의 평가는 색 4.50, 향 5.30, 맛 5.00, 목넘김 5.80, 전반적인 기호도 5.30이었고 가장 높은 점수는 25% 첨가군에서 향($p<0.01$) 6.20, 목넘김($p<0.001$) 6.10과 50% 첨가군에서 색

5.20, 맛($p<0.001$) 6.50이었다. 전반적인 기호도에서는 첨가량에 따라 0% 5.30, 25% 6.00, 50% 6.40, 75% 4.60, 100% 2.30으로 외송 추출물 50% 첨가군에서 가장 높은 기호도를 보였다($p<0.001$).

특성 강도 평가 결과에서는 첨가량이 많아질수록 색 강도($p<0.001$), 발효취($p<0.001$), 신맛($p<0.001$)이 강해지는 것으로 평가되어 100% 첨가군에서 가장 높은 값을 보였으며, 반면 단맛($p<0.001$)은 100% 첨가군에서 가장 낮은 값을 보였다.

외송 착즙액 첨가 젤리(Lee & Jin, 2021), 외송 분말 첨가 패티(Yu, 2020)에서도 외송의 첨가가 전반적인 기호도를 높여 주었고 본 실험에서도 콤부차에 외송의 첨가가 기호도의 증가에 도움을 주었다는 것을 알 수 있었다. 그러나 외송 추출물 첨가량이 높아질수록 발효취, 신맛이 강해

지고 단맛은 약해져 75% 이상 첨가 시 기호도가 다시 감소하게 되었다고 판단된다. 따라서 외송 추출물 첨가 콤부차 제조 시 50% 첨가하는 것이 가장 적합할 것으로 생각된다.

항산화 활성

외송 추출물 첨가 콤부차의 항산화활성 측정 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 외송 추출물 첨가 콤부차의 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과 대조군에서 0일차 2.63 mg GAE/100 g에서 9일차 13.15 mg GAE/100 g으로 증가하다가 이후에는 감소하는 경향을 보였다. 첨가군은 0일차 25%, 50%, 75%, 100%에서 10.06, 13.44, 17.84, 22.33 mg GAE/100 g이었다가 3일차 19.94, 22.02, 25.36, 27.49 mg GAE/100 g으로 증가하다가 이후에는 감소하는 경향을 보였다

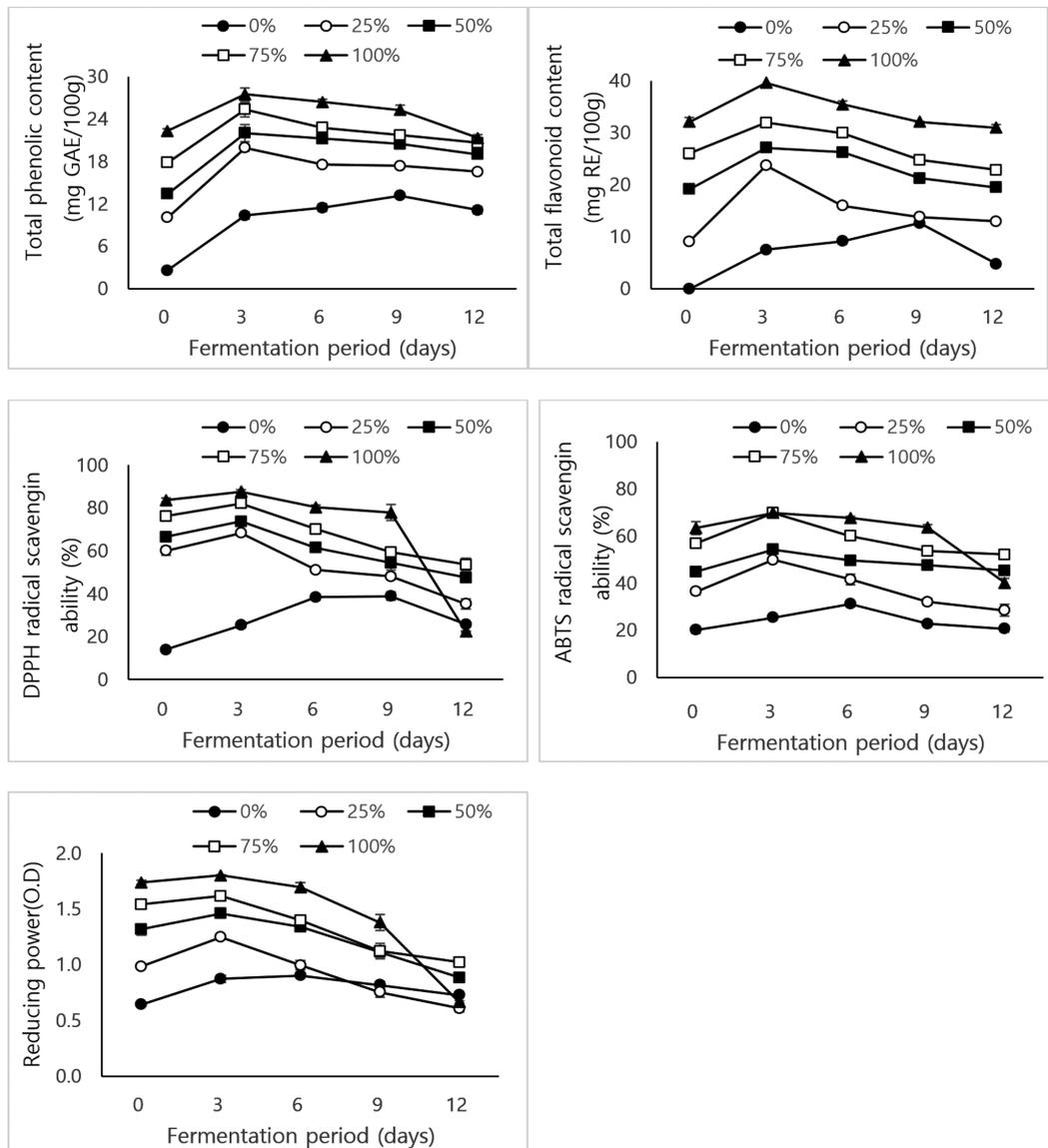


Fig. 3. Changes in antioxidant activity of *Orostachys japonicus* kombucha during fermentation for 12 days at 26°C.

($p < 0.001$). 총 플라보노이드 함량은 대조군에서는 0일차에는 검출되지 않았고, 9일차에 12.64 mg RE/100 g으로 증가하다가 이후에는 감소하는 경향을 보였다. 첨가군은 0일차에 25%, 50%, 75%, 100%에서 9.12, 19.17, 26.01, 32.12 mg RE/100 g이었다가 3일차 23.70, 27.12, 31.96, 39.59 RE/100 g로 증가하다가 6일 이후에는 감소하는 경향을 보였다($p < 0.001$). DPPH radical 소거능은 25 mg/mL 농도에서 측정하였으며, 대조군에서 0일차에 14.02%에서 9일차에 38.9%로 증가하다가 이후에는 감소하는 경향을 보였다. 첨가군은 0일차에 25%, 50%, 75%, 100%에서 60.12%, 66.62%, 76.30%, 83.67%이었다가 3일차 68.36%, 73.79%, 82.10%, 87.67%로 증가하다가 이후에는 감소하는 경향을 보였다($p < 0.001$). ABTS radical 소거능은 100 mg/mL 농도에서 측정하였으며, 대조군에서 0일차에 20.27%, 6일차에 31.25로 증가하다가 이후에는 감소하는 경향을 보였다. 첨가군은 0일차에 25%, 50%, 75%, 100%에서 36.49%, 44.88%, 56.83%, 63.44% 였다가 3일차 49.89%, 54.26%, 69.84%, 69.89%, 56.02%로 증가하다가 이후에는 감소하는 경향을 보였다($p < 0.001$). 환원력은 대조군에서 0일차 0.64에서 6일차 0.90으로 증가하다가 이후에는 감소하는 경향을 보였다. 첨가군은 0일차에 25%, 50%, 75%, 100%에서 0.99, 1.32, 1.54, 1.74이었다가 3일차 1.25, 1.45, 1.62, 1.80로 증가하다가 이후에는 감소하는 경향을 보였다($p < 0.001$).

감귤 콤부차(Wei & Park, 2020)에서도 DPPH radical 소거능을 발효 전 후로 비교하였을 때 100 μ g/mL 농도에서 감귤 첨가 콤부차는 26.43%에서 발효 후 47.10%으로 증가하였으며 감귤껍질 첨가 시에는 43.50%에서 41.00%으로 감소하였다. 복분자 콤부차(Ryu et al., 2021)에서도 발효 전 74.05%에서 발효 후 46.09%로 감소하였다. 두유 콤부차(Xia et al., 2019)와, 커피 콤부차(Watawana et al., 2015)에서는 발효 후 증가하는 경향을 보여 어떤 재료를 사용했냐에 따라 콤부차 발효 시 항산화 활성에 차이를 나타나는 것으로 보였고 시료마다의 적당한 발효 기간도 다른 것으로 보였다. 본 실험에서도 와송 추출물 함량이 많을수록 항산화 활성은 높은 경향을 보였고, 발효기간에 따라서는 대조군에서 9일차에 가장 높은 항산화 활성을 보인 후 감소하였고 첨가군은 3일차에 가장 높은 활성을 보인 후 감소하였다. 항산화 실험 결과 3일 발효 시 가장 높은 항산화 활성을 보였으나 품질특성 결과는 충분한 발효가 진행되지 못하는 것으로 보였다. 관능평가 결과 가장 높은 기호도를 얻은 50% 첨가군으로 항산화 결과를 비교해보았을 때, 9일차에 총 플라보노이드, 총 폴리페놀, ABTS radical 소거능은 0일차보다 더 높은 값을 보였고, DPPH radical 소거능과 환원력은 12%, 0.2 감소하였지만 큰 감소를 보이지는 않았다. 따라서 와송 첨가하여 발효음료 제조 시 발효 기간은 9일간 발효하는 것이 좋을 것이라 판단하였다. Lee et al. (2009)에서 와송잎 물 추출물의 항산화

활성을 측정한 결과 4 mg/mL 농도에서 DPPH radical 소거능은 91%의 활성을 보였고 환원력은 0.14의 값을 보여 높은 항산화 활성을 보였다. Kim (2010)에서 와송과 BHT의 DPPH radical 소거능을 비교한 결과 와송 추출물이 88.75% BHT가 61.10%로 와송이 더 높은 항산화 활성을 나타내었다. 따라서 와송은 천연 항산화제 기능성 식품으로서의 가능성이 높은 것으로 생각되었으며 본 실험 결과 와송 첨가가 항산화 활성 증가에 영향을 주었음을 알 수 있었고, 발효기간에 따라서는 3일차에 가장 높은 항산화 활성을 보였지만 충분한 발효가 이루어지기 위하여 9일 발효하는 것이 적당할 것으로 생각된다.

요 약

본 연구는 다양한 기능성을 가진 와송의 활용도를 넓히고, 발효 음료에 활용하기 위한 기초 자료를 얻고자 와송 추출물을 콤부차의 0%, 25%, 50%, 75%, 100% 첨가하여 제조하였다. 와송을 첨가한 콤부차를 12일간 발효하며 품질특성, 항산화 활성의 변화 및 관능평가를 통한 기호도를 확인하였다. pH는 와송 추출물 함량이 증가할수록 낮은 경향을 보였고 발효기간에 따라 pH는 0일차 4.53-4.99에서 12일차 3.99-4.18로 감소하였다. 산도는 추출물 함량이 증가할수록 높은 경향을 보였고 발효기간에 따라 산도는 0일차 0.04-0.12%에서 12일차 0.10-0.26으로 증가하였다. 당도는 추출물 함량이 증가할수록 높았으나 발효가 진행되며 추출물 함량이 증가할수록 당도 감소율이 커져 12일차에는 추출물 함량이 증가할수록 낮은 값을 보였고, 발효 기간에 따라 당도는 9.40-9.97°Brix에서 8.40-9.00°Brix로 감소하였다. 환원당은 추출물 함량이 증가할수록 낮은 경향을 보였고 발효기간에 따라 0일차 0.14-0.24%에서 9일차 14.13-16.48%로 증가하고 이후에는 감소하였다. 색도에서 L값은 추출물 함량이 증가할수록 낮은 경향을 보였고 발효기간에 따라 0일차 65.79-68.82%에서 9일차 56.13-62.38%로 감소하다가 12일차에 다시 높아졌다. a값은 추출물 함량이 증가할수록 높아지는 경향을 보였고 발효기간에 따라 0일차 1.26-1.34에서 3일차 1.44-3.06으로 증가하였고 이후에는 낮아졌다. b값은 추출물 함량이 증가할수록 높아지는 경향을 보였고 발효기간에 따라 0일차 3.41-7.48에서 12일차 13.93-21.26으로 높아졌다. 관능평가 결과 특성 강도 평가에서는 와송 첨가량이 증가할수록 색, 발효취, 신맛은 강해졌으며 단맛은 약해졌다. 기호도 평가에서는 향과 목넘김 기호도는 25% 첨가군에서 가장 높았고 색과 맛 기호도는 50% 첨가군에서 가장 높았다. 전반적인 기호도는 50%가 가장 높아 콤부차 제조 시 와송 추출물 50% 첨가가 가장 적합할 것으로 생각된다. 항산화 실험 결과 총 폴리페놀, 총 플라보노이드, DPPH radical 소거능, ABTS radical 소거능, 환원력을 측정하였으며, 3일차까지 증가하다가 이후

에는 감소하는 경향을 보였다. 그러나 3일 발효 시 발효가 충분히 진행되지는 않을 것으로 보였고 충분한 발효를 위해서는 콤부차 제조시 외송 추출물을 50% 첨가하고 9일간 발효하는 것이 좋을 것이라 판단되었다. 또는 콤부차 제조 시 발효에 도움을 주기 위하여 이전에 배양했던 배양액을 넣거나 유산균 생육 최적 pH를 맞추는 등 최적 발효조건과 항산화 활성을 확보할 수 있는 추후 연구가 필요할 것이라 생각되었으며, 콤부차는 유산균이 형성되는 음료로 발효 기간에 따른 유산균의 변화와 관련된 추후 연구도 필요할 것이라 생각된다.

References

Bhattacharya D, Bhattacharya S, Patra MM, Chakravorty S, Sarkar S, Chakraborty W, Koley H, Gachhui R. 2016. Antibacterial activity of polyphenolic fraction of kombucha against enteric bacterial pathogens. *Curr. Microbiol.* 73: 885-896.

Bhattacharya S, Gachhui R, Sil PC. 2011. Hepatoprotective properties of kombucha tea against TBHP-induced oxidative stress via suppression of mitochondria dependent apoptosis. *Pathophysiology* 18: 221-234.

Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.

Dufresne C, Farnworth E. 2000. Tea, kombucha, and health: a review. *Food Res. Int.* 33: 409-421.

Gil NY, Kim SY, Choi HS, Park SY, Kim JH. 2016. Investigation of quality characteristics and alcohol content in commercial korean fermented sources. *Korean J. Food Preserv.* 23: 341-346.

Jayabalan R, Malbaša RV, Lončar ES, Vitas JS, Sathishkumar M. 2014. A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Compr. Rev. Food. Sci. Food. Saf.* 13: 538-550.

Jayabalan R, Marimuthu S, Swaminathan K. 2007. Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. *Food Chem.* 102: 392-398.

Jun HI, Oh HH, Ga DS, Jo SW, Yim EJ, Jeong DY, Kim YS, Song GS. 2018. Quality characteristics and functional evaluation of Cheonggukjang added with *Orostachys japonicus*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 47: 536-542.

Jung DJ, Choe TB, Chang BS. 2016. Anti-inflammatory and anti-melanogenic effects of an extract of *Orostachys japonicus* A. Berger. *J. Invest Cosmetol.* 12: 117-125.

Kim DA. 2010. Anti-microbial and antioxidative activities of extracts from herbal medicine for cosmetics. Master's thesis. Konkuk University. pp. 49-50.

Kim JM, Lee MH, Lee JS. 2018. Quality characteristics of sausage prepared with *Orostachys japonicus* powder. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 47: 1036-1043.

Kim JY, Sung KW, Bae HW, Yi YH. 2007. pH, acidity, color, reducing sugar, total sugar, alcohol and organoleptic characteristics of puffed rice powder added takju during fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.* 3: 266-271.

Kim JY, Shin HJ, Kim HJ, Park H, Kim PK, Park S, Kim SH. 2020. The compositional and functional properties of kombucha: A literature review. *Food Eng. Prog.* 24: 1-14.

Kim MJ, Yang SA, Park JH, Kim HI, Lee SP. 2011. Quality characteristics and anti-proliferative effects of dropwort extracts fermented with fructooligosaccharides on HepG2 cells. *Korean J. Food Sci. Technol.* 43: 432-437.

Kim ML, Choi MA, Jeon JS. 2008. Development of fermented beverage using the sea tangle extract, and quality characteristics thereof. *Korean J. Food Preserv.* 15: 21-29.

Kim ML, Choi MA. 2011. Development of fermented acidic beverage using wild grape juice. *Korean J. Food Preserv.* 18: 46-52.

Korea agro fisheries & food trade corporation [aTFIS]. 2022. Available from <https://www.atfis.or.kr/home/board/FB0002.do?act=read&bpold=4225> [cited 21 June 2022].

Kwon J, Han KS. 2004. Effects of *Orostachys japonicus* A. Berger on the immune system. *Korean J. Medicinal Crop SCI.* 12: 315-320.

Lee JY, Jin SY. 2021. Quality and antioxidant properties of jelly according to addition of *Orostachys japonicus*. *Korean J. Food Nutr.* 34: 15-25.

Lee KS, Lee HS. 2017. Antiobesity effects of the water extract from *Orostachys japonicus* in high-fat diet-fed mice. *Microbiol. Biotechnol. Lett.* 12: 284-290.

Lee KR, Jo K, Ra KS, Suh HJ, Hong KB. 2022. Kombucha fermentation using commercial kombucha pellicle and culture broth as starter. *Food Sci Technol.* 42.

Lee SJ, Song EJ, Lee SY, Kim KBWR, Kim SJ, Yoon SY, Lee CJ, Ahn DH. 2009. Antioxidant activity of leaf, stem and root extracts from *Orostachys japonicus* and their heat and pH stabilities. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38: 1571-1579.

Lim SM, Park HJ, Cho YJ. 2017. Antioxidative and biological activity of extracts from *Orostachys japonicus*. *J. Appl. Biol. Chem.* 60: 293-300.

Malbaša RV, Lončar ES, Vitas JS, Čanadanović-Brunet JM. 2011. Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. *Food Chem.*, 127: 1727-1731.

Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reaction: antioxidant activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jap. J. Nutr.* 986: 307-315.

Park KY. 2012. Increased health functionality of fermented foods. *Food Ind. Nutri.* 17: 1-8.

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol Med.* 26: 1231-1237.

Rollan S, Taillandier P. 2019. Impact of fermentation conditions on the production of bioactive compounds with anticancer, anti-inflammatory and antioxidant properties in kombucha tea extracts. *Process Biochem.* 83: 44-54.

Ryu SJ, Lee CY, Kang GS, Kim SG, Kim SH, Seo DH. 2021. Optimization of compositions for kombucha with *Rubus coreanus*. *Food Eng. Prog.* 25: 118-124.

Summer JB. 1925. Dinitrosalicylic acid method for glucose. *J. Biol. Chem.* 60, 393-398.

Sun TY, Li JS, Chen C. 2015. Effects of blending wheatgrass juice on enhancing phenolic compounds and antioxidant activities of traditional kombucha beverage. *J. Food Drug Anal.* 23: 709-718.

Swain T, Hillis WE. 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. - The quantitative analysis of phenolic constituents.

- J. Sci. Food Agric. 10: 63-68.
- Um HJ, Kim GH. 2007. Studies on the flavonoid compositions of *Elsholtzia* spp. Korean J. Food Nutr. 20: 103-107.
- Watawana, MI, Jayawardena N, Waisundara VY. 2015. Enhancement of the functional properties of coffee through fermentation by "tea fungus" (kombucha). J. Food Proc. Preserv. 39: 2596-2603.
- Wei X, Park SS. 2020. Change of carotenoids and comparison of antioxidant activity by fermentation of citrus kombucha. Master's thesis. Jeju National University. pp. 24-26.
- Woo HG, Lee CM, Jeong JH, Choi BK, Huh CK. 2021. Quality characteristics of kombucha made with different mixing ratios of green tea extract and yuzu juice during fermentation. Korean J. Food Preserv. 28: 646-653.
- 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. Func. Foods. 62: 103549.
- Yang ZW, Ji BP, 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: 150-156.
- Yoon SY, Lee SY, Kim KBWR, Song EJ, Kim SJ, Lee SJ, Lee CJ, Ahn DH. 2009. Antimicrobial activity of the solvent extract from different parts of *Orostachys japonicus*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 38: 14-18.
- Yu MY. 2020. Antioxidant activities and quality characteristics of pork patties added with *Orostachys japonicus* powder. Master's Thesis, Sookmyung Women's Univ. Seoul. Korea. pp. 56-57.
- Zubaidah E, Ifadah RA, Afgani CA. 2019a. Changes in chemical characteristics of kombucha from various cultivars of snake fruit during fermentation. E&ES 230: 012098.
- Zubaidah E, Ifadah RA, Kalsum U, Lyrawati D, Putri WD, Srianta I, Blanc PJ. 2019b. Anti-diabetes activity of Kombucha prepared from different snake fruit cultivars. Nutr. Food Sci. 49: 333-343.

Author Information

전주영: 숙명여자대학교 식품영양학과
 김명현: 숙명여자대학교 식품영양학과
 한영실: 숙명여자대학교 식품영양학과