

Tea fungus 발효음료 제조시 발효계의 미생물상

최미애 · 최경호[†] · 김정옥*

대구효성가톨릭 대학교 식품영양학과
부산여자대학교 화학과*

Microflora Occurring in the Fermentation by Tea Fungus

Mi-Ae Choi, Kyoung-Ho Choi[†], Jeong-Ok Kim*

Department of Food Science and Nutrition, Taegu Hyosung Catholic University, Taegu, 705-716

*Department of Chemistry, Pusan Women's University, Pusan, 617-736

Abstract

Black tea extract supplemented with 10% sucrose was fermented by tea fungus at 30°C. A pellicle thick as 7~8 mm covered entire surface of the medium and the tea extract converted to acidic beverage(abbreviated below as fermented black tea) by 14 days of fermentation. It was a kind of acetic acid fermentation depending on symbiotic microorganisms. During the fermentation strains of yeasts(*Saccharomyces cerevisiae* and *Eeniella sp.*) and bacteria(*Bacillus subtilis*, *Kurthia zopfii*, *Gluconobacter oxydans* and *Deinococcus sp.*) were isolated from aqueous layer. Contrastly to it, a bacterial strain(*Acetobacter aceti*) was isolated from thick pellicle. The bacteria grew as a viscouse cluster on solid agar medium differently from usual strains of *A. aceti*. Fermented black tea had sweet-sour taste and sweet smell.

Key words : Tea fungus, Fermented black tea, Microflora

서 론

Tea fungus라 불리우는 일단의 미생물로 당을 침가한 홍차 추출물을 발효시킨 홍차 발효음료(이하 발효홍차로 약함)는 러시아 지역의 전통음료의 하나로서, 국내에 장수, 항암, 시력회복, 변비, 당뇨, 신장병, 불면증, 심장병 등에 효과가 있는 것으로 알려져 민간에 급속히 확산되고 있다.

근간, 건강식품에 대한 관심이 높아지면서 오래 동안 기호식품으로 애용되어 온 콜라, 탄산소다 등의 첨가물을 함

유한 음료의 수요가 줄어들고¹⁾ 있는 반면에 수정과, 식혜와 같은 전통음료에 기초한 새로운 제품들이 개발되어 소비량이 급속히 신장되고 있다. 이것은 식품중에 험유된 각종의 화학합성 첨가물이 인체에 해를 끼칠수 있다는 인식이 보편화된 결과로서, 이러한 인식이 오랜 기간을 통하여 안전성이 보장된 전통음료를 현대인의 기호에 맞는 새로운 음료로 개발하는 것을 촉진하고 있다.

미생물을 이용한 발효음료는 ethanol을 중심으로한 알콜형음료와 유기산을 중심으로한 산형음료로 나누어지며 지

* Corresponding author

역에 따라 다양한 형태로 제조되고 있다²⁻⁴⁾. 알콜형 음료로는 코카사스 지방의 kefir⁵⁾, 시베리아의 koumiss⁶⁾, 유럽과 미국의 cider 등^{7, 8)}이 있으며 이들은 0.5~3.0%의 ethanol을 함유하고 있다. 산형음료로는 calpis, 액상 yoghurt⁹⁾ 있으나 모두가 pH 3.0~4.0의 젖산계 음료로서 젖산 이외의 유기산을 중심으로 하는 음료는 찾아보기 힘들다.

이상 기술한 바와 같이 tea fungus에 의한 홍차발효는 새로운 acetate형 음료로서 활용될 소지가 높으나 연구가 거의 수행되지 아니한 상태인 바, 본 논문에서는 발효균, 발효경과 및 발효전반에 관한 기초조사를 하였다.

재료 및 방법

Tea fungus 음료 발효용 배지 제조

끓는 중류수 3 liter에 홍차(태평양화학, tea bag제품) 8g을 넣고 10분간 추출한 후 실온에서 냉각시키고 발효병에 200ml씩 분주하였다. 여기에 백설탕을 가하여 당도를 10%로 조정한 것을 배지로 하였다. 배지에 tea fungus를 10g씩 접종하여 30°C에서 14일간 배양하였다.

미생물상 검사

균주 분리

분리용 배지 : Sucrose 자화성 균주는 meat extract-sucrose(MS)배지, 산 생성균은 nutrient-glucose(NG)배지, 효모류 및 피막 생성균은 yeast and malt extract(YM)배지를 사용하여 분리하였으며 각 배지의 조성은 다음과 같다. 배지의 pH를 0.1N NaOH 및 0.1N HCl을 사용하여 조정한 후 0.75kg에서 10분간 가압 살균하였다.

MS배지 : meat extract 20.0g, yeast extract 5.0g, sucrose 30.0g, agar 10.0g, distilled water 1.0 liter. pH 7.1

NG배지 : meat extract 3.0g, yeast extract 3.0g, glucose 10g, peptone (Bacto) 10g, bromothymol blue 0.08g, agar 20.0g, distilled water 1.0 liter. pH 6.5

YM배지 : yeast extract 3.0g, malt extract 3.0g, glucose 10.0g, peptone 5.0g, agar 20.0g, distilled water 1.0 liter. pH 6.5

균주 분리 : 발효액과 상충부의 피막을 각각 한천 평판배지에 도말하여 특징적인 colony 총 21개를 1차 선별하고 그

중에서 sucrose 자화성 세균(3균주), 산 생성 세균(3균주), 피막 생성세균(1균주) 및 효모(2균주)를 최종적으로 분리하여 동정하였다. 분리과정중 피막생성균은 피막을 70% alcohol 용액으로 세척한 후 살균한 석영세사로 분쇄하여 여과한 여액을 도말하였고 효모류는 tetracycline(1.0mg/ml)을 가하여 48시간 배양하여 세균류를 도태시킨 후 도말하여 분리하였다.

생균수 측정 : 발효액을 평판배지에 도말한 후 30°C에서 48시간 배양하여 생성된 colony 수로 측정하였으며 효모는 methylene blue로 염색한 후 hemocytometer를 사용하여 염색되지 아니한 효모의 수를 생균수로 하였다.

균주 동정

형태관찰 : 균체의 형태는 주로 광학현미경으로 관찰하였으며 피막 생성균의 부착상태는 주사형 전자현미경으로 관찰하였다. 광학현미경 시료 제작시 세균류는 crystal violet으로 염색하였고 효모류는 methylene blue로 염색하였다. 균체의 크기는 염색하지 아니한 생균을 시료로하여 micrometer를 사용하여 측정하였다.

전자현미경¹⁰⁾ 시료는 발효액을 membrane filter (opening 0.45μm)로 여과하여 집균한 후 균체를 2.5% glutaldehyde로 1차 고정 (4°C, 12hr)시키고 0.2% osmic acid로 2차 고정(25°C, 3hr) 하였다. 여기에 3ml의 25%, 50%, 75%, 95%, pure ethanol, isoamylacetate를 가하여 각각 2회식 순차적으로 탈수한 다음 membrane filter로 여과하였다. Filter 위에 부착된 균체를 critical point dryer로 건조시켜서 stub위에 mount하여 gold로 coating시켜 주사형 전자현미경(JEOL, JSM 6400)으로 균체의 형태를 관찰하였다.

생리적 성상 조사 : 세균류의 생리적 성상은 Bergy's manual¹¹⁾과 微生物の分類と同定¹²⁾에 준하여 조사하였고 효모류는 The Yeasts¹³⁾에 준하여 조사하였다.

결과 및 고찰

발효계의 경시적 외관변화

발효계의 모습이 발효시간이 경과함에 따라 Fig. 1과 같이 현저히 변화하였다. 홍차배지에 균체를 접종한 직후(plate A)에는 접종한 균체가 배양 플라스크의 아랫쪽에 가라 앉은 이외에는 특이한 변화는 없었다. 그러나 배양 1

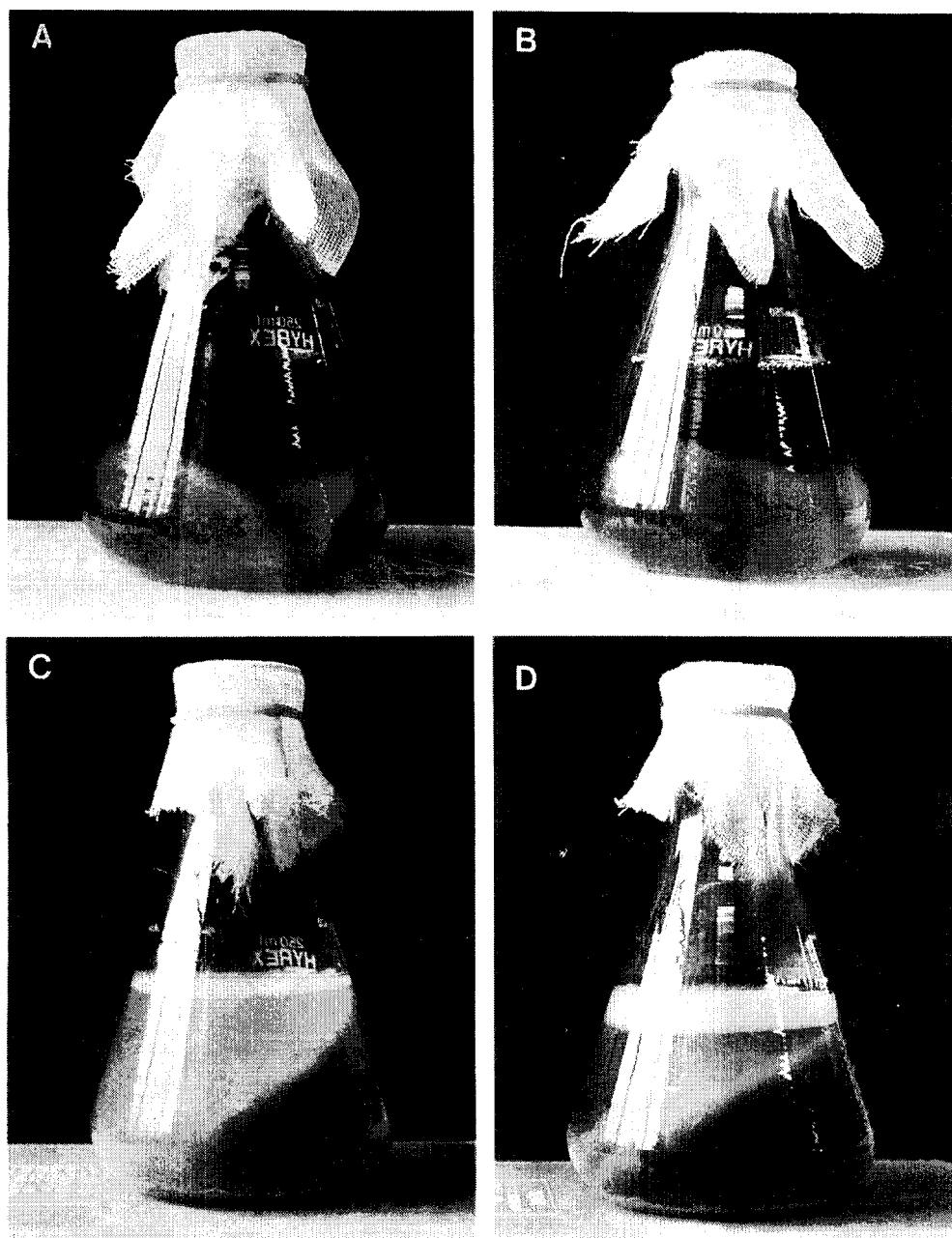


Fig. 1. Progress of tea fermentation by tea fungus. Seed pellicle from old culture was inoculated to black tea medium (plate A). Bubbles appeared after incubation for one day at 30°C (plate B). After 7 days of incubation, entire surface of the medium was covered by a thin film and the medium became turbid (plate C). The film grew into a thick pellicle after 14 days and the medium became transparent (plate D).

일 후(plate B)부터 배양액 상부에 미세한 기포가 생성이 되기 시작하였으며, 배양 7일 후 (plate C)에는 발효액이 혼탁해지면서 배양액 상층부에 백색의 얇은 막이 생성되었다.

이후 얇은 막의 윗쪽에 새로운 막이 형성되기 시작하였으며 배양 14일 후 (plate D)에는 새로 형성된 피막의 두께가 7~8mm로 성장하였고 혼탁되었던 배양액이 다시

투명하게 되었다. 새로운 피막은 생성되는 과정에서는 백색이었으나 점차 갈색으로 변색되었으며, 완성된 피막은 비슷한 두께의 2중층으로 구성되었다.

발효계의 미생물상

피막 부위

Fig. 2는 두꺼운 막 내부의 미생물상을 나타낸 것이다.

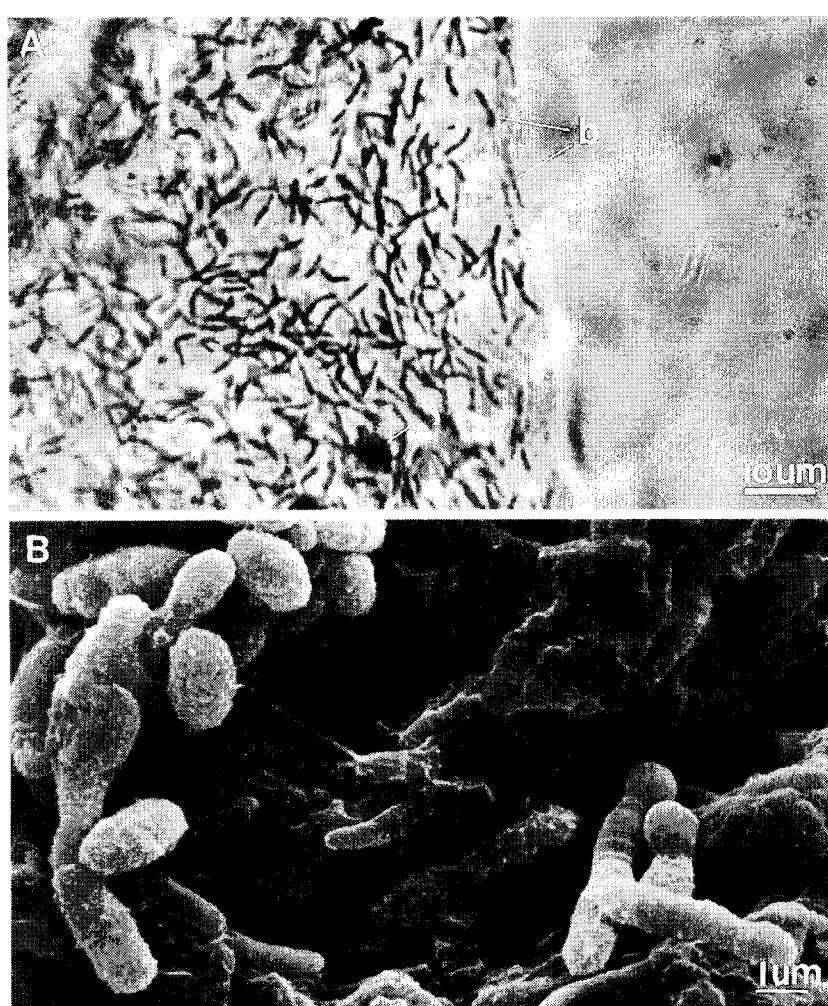


Fig. 2. Morphology and microflora of inside of the pellicle. Inside of the pellicle was full by a large numbers of rod shaped bacteria (b-plate A) and a few of yeast cells (y-plate A). Inside surface of the pellicle was very rough. Bacterial cells firmly attached to the surface (plate B). Photographes were taken by using a light microscope (plate A) and a scanning electron microscope (plate B).

Plate A와 B는 막의 중간부위를 절단한 후 각각 광학현미경과 전자현미경으로 관찰한 것이다. 막의 내부에는 무수한 수의 桿狀세균(A-b, 이하 간균으로 약함)과 약간의 효모(A-y)가 존재하였다. 전자현미경 상(plate B)으로도 막의 내부에서 수많은 간균이 관찰되었으며, 특히 막의 안쪽 표면의 굴곡부위는 거의 세균으로 차 있었다.

Fig. 3-A는 피막내부의 간균의 모습을 나타낸 것으로서, 막대모양으로 균일한 것도 있었으나, *Vibrio*와 같이 휘어진 것(v), *Corynebacterium*과 같이 끝이 가늘어 진 것, 분열면에서 격어진 것(s) 등으로 다양한 모양을 나타내었다. 반면에 효모는 원형~타원형(*cerevisiae*)으로 균일한 모양이었다. Fig. 3-B는 Fig. 2-B의 우측 하단부를 확대한 것으로써, 비정상적으로 휘어져 있는 세균의 모양과 아울러 세균과 세균, 세균과 피막이 실같은 물질(화살표 부위)에 의하여 상호 연결되어 있었다.

현미경 시료 제작 과정중 균체를 slide glass상에 위치시키기 위하여 통상적으로 사용하는 백금이로 도말하거나 막 전체를 glass 표면에 접촉시키는 방법으로는 균체가 분리되지 아니하여 피막내부를 날카로운 유리로(slide glass를 절단한 것) 긁어서 집균하였다. 이는 2-B로 관찰된 상호연결된 구조에 기인하며, 집균한 균체가 점성이 높은 점으로

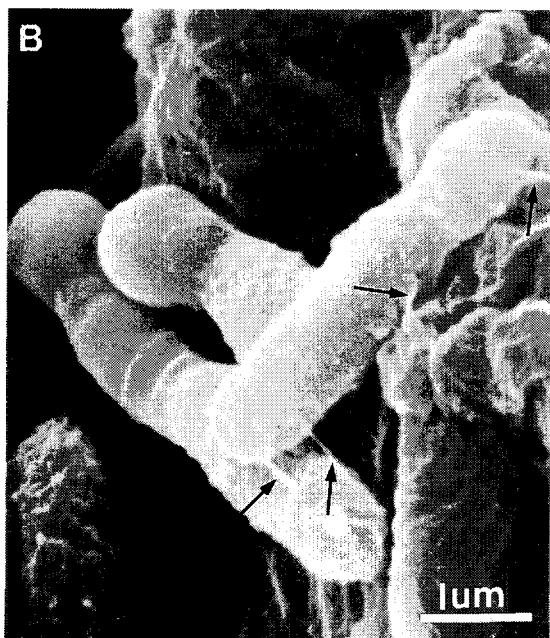
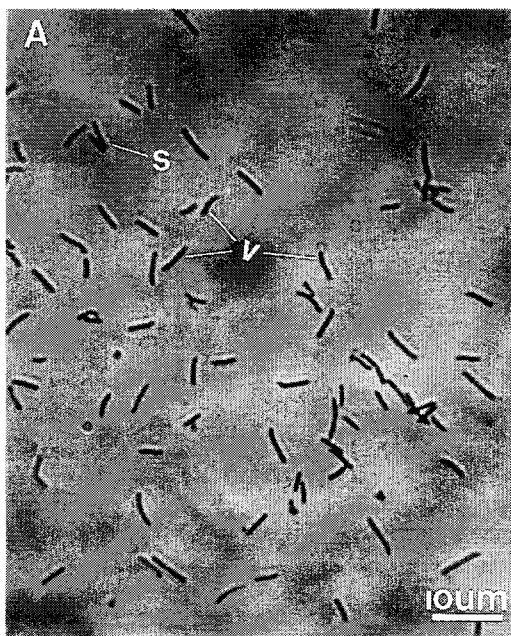


Fig. 3. Detailed morphologies of the bacterial cells attached to inside of pellicle. The cells showed irregular rod shape by snapping (s-plate A) and by taking vibroid forms (v-plate A). Curved cell attached spontaneously to pellicle and neighbouring cell(plate B). Arrows in plate B indicate thread-like mucous material. Plate A was taken after harvest the cells by scraching inside of the pellicle. Plate B was enlarged from Fig.-B.

미루어 동 세균이 점질물을 생성하여 상호 연결되는 것으로 판단되었다. *Acetobacter*¹⁴⁾는 식초가 발효될 때 D-sorbitol에서 L-sorbose로 산화되어 전환되는 동안에 사용되는 것으로 특징적인 것은 *Acetobacter xylinum*의 셀루로즈 형성으로 최근 새로운 산업 재료로 이용되고 있다. Tea fungus에서 생성된 점질물이 셀루로즈와 유사한 것으로 식이섬유로 이용이 가능하리라 판단되었다.

Fig. 4는 두꺼운 피막의 하부에 부착된 film상의 얇은 갈색막을 관찰한 것으로서, 동 피막은 위쪽의 두꺼운 피막에서 발견된 것과 같은 *cerevisiae* 형 효모의 균체로 형성되었다.

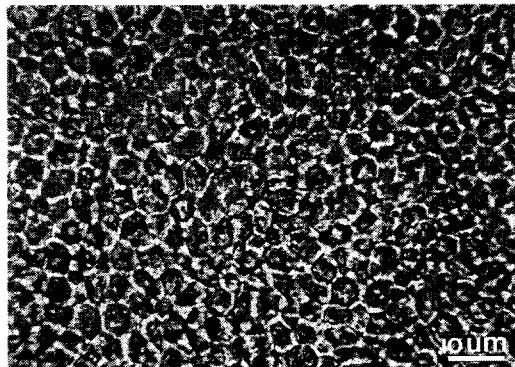


Fig. 4. Microscopic morphology of film-like pellicle. White colored film-like pellicle was peeled from harvested thick pellicle. The pellicle was entirely consisted by a single strain of yeast cells. The cells showed a typical *cerevisiae* form.

배양액 부위

Fig. 5는 피막 하부의 배양액의 미생물 상을 나타내는 것으로서, 효모(y) 및 세균으로 구성되었으며 곰팡이와

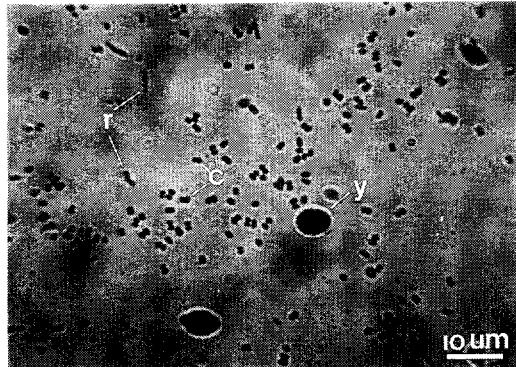


Fig. 5. Microscopic morphology of fermentation fluid. Various microorganisms, yeast cells(y) and rod-shaped(r) and coccus-shaped(c) bacteria were exist in the fluid.

버섯류는 관찰되지 아니하였다. 세균류로는 간균(r)과 아울러 구균(c)이 관찰되었다.

Fig. 6은 발효중기(7일, plate A 및 B) 및 발효종료 후(20일, plate C)의 배양액 중 미생물 상을 나타낸 것으로

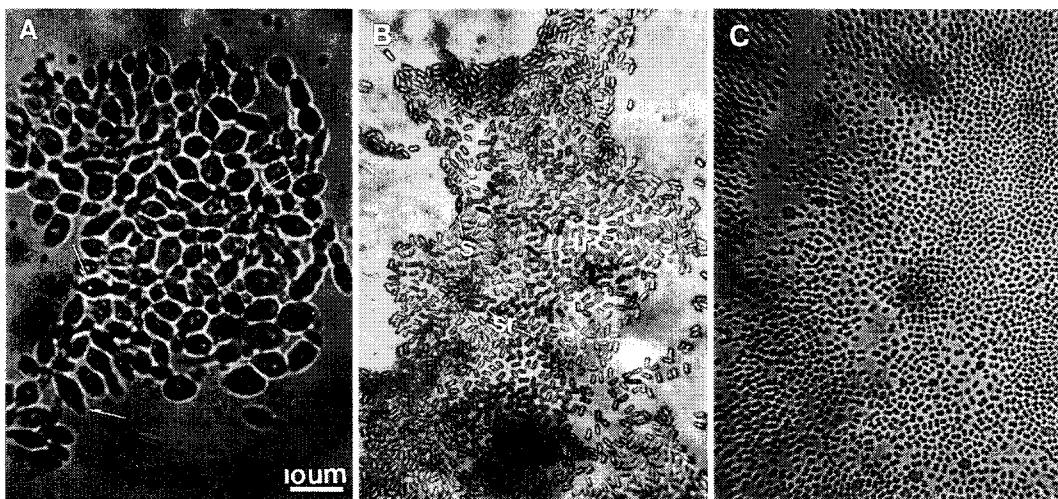


Fig. 6. Detailed morphology of microorganisms exist in the fermentation fluid. Microorganisms in fermentation fluid was fractionated into yeast cells, bacterial cocci and rods by using differential centrifuge. Yeast cells were predominantly consisted by *cerevisiae* forms through out the fermentation. A few of apiculate form yeast cells were found at the arrows in plate A. During fermentation, various forms of bacteria such as spore forming rods (s-plate B), short rods (sr) and long rods(lr) were found. After completion of the fermentation (plate C), paired cocci were predominant.

Table 1. Morphological and biochemical characteristics of isolated microorganisms

Test—Strain		MS			NG			YM		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
Colony	shape	entire convex	entire flat	rough flat	rough umbonate	rough umbilicate	smooth convex	entire convex	entire convex	entire convex
	color	grey	grey	creamy	grey & white	grey	creamy	pale grey	creamy	white
	size (mm)	1-3	5-8	4-8	3-5	5-6	3-7	0.5-1.0	4-5	1-2
Cell	shape	rod	rod	rod	rod	rod	rod	rod	lemon type	oval type
	size(μm)									
	diameter	0.9	0.8	1.0	0.8	1.0	0.8-1.2	1.0	4.0-5.0	3.0-4.5
	length	2.0-4.4	2.2-4.0	2.0-4.0	2.0-4.0	3.0-6.0	2.5-5.0	1.2-3.5	5.0-8.0	5.0-7.0
forms	single,	single,	single,	single.	single.	single.	single.	bipolar budding	multi-lateral budding	
	pair,	pair,	pair.	pair.	shortchain.	pair,	filament	pair.	irregular.	
Spore formation	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+
Flagella	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Motility	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Capsule	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Granule	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-
Gram stain	+	+	+	+ (v)	+	+	+ (v)	NT	NT	
Acid fast	-	-	-	-	-	-	-	NT	NT	
O ₂ reaction	SA	SA	SA	SA	SA	WA	SA	WA	FA	
Gelatin liquefact	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-
NO ₃ reduction	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-
Denitrification	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H ₂ S production	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
Pigment production	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gas production	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Indol formation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

MS : isolates by using the meat extract-sucrose medium.

NG : isolates by using the nutrient-glucose medium.

YM : isolates by using the yeast and malt extract medium.

+ : positive, - : negative, v : variable, NT : not tested

SA : strict aerobe, WA : weak aerobe, FA : facultative anaerobe

Tea fungus 발효음료 제조시 발효계의 미생물상

Table 1. continued

Test—Strain	MS			NG			YM		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
V-P reaction	+	+	-	+	+	+	-	+	-
MR reaction	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O-F test	-	-	0	0	0	0	0	F	F
Acid from glucose	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Urease	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oxidase	-	+	+	-	-	-	+	+	+
Growth as N- source	nitrate	-	+	+	-	+	-	+	+
	nitrite	-	-	+	+	-	+	-	+
	ammonium	+	+	+	+	+	+	+	+
Growth as C- source	D-Arabinose	+	+	+	+	+	-	-	-
	D-glucose	+	+	+	+	-	+	+	+
	D-mannose	+	+	+	+	+	-	+	+
	L-rhamnose	+	+	+	+	+	+	+	-
	D-sorbitol	+	+	+	+	+	+	+	-
	D-xylose	-	-	-	-	+	+	+	-
	Sucrose	+	+	+	-	-	-	+	-
	lactose	+	+	+	-	-	+	-	-
	maltose	+	+	+	+	+	+	+	+
	starch	+	+	+	-	-	+	-	-
	citrate	+	+	+	+	-	+	-	-
	ethanol	+	+	+	+	+	+	+	NT
	acetate	+	+	-	+	-	+	+	NT

O : aerobic acid production

F : anaerobic acid production

서 효모와 세균은 각각 2,000rpm×20min, 6,000rpm×15min간 원심분리하여 분별하였다. 효모는 methylene blue, 세균은 Gram시약으로 염색한 후 광학현미경으로 관찰하였다. Plate A는 효모류를, B 및 C는 세균류를 나타내고 있다. 효모는 발효시기에 관계없이 *cerevisiae*형의 효모가 주를 이루었으나 레몬형의 효모(화살표)도 상당한 비율로 관찰되었다. 세균상은 보다 복잡하여 중기에는 포자형성 간균(B-s), 장간균(lr) 및 단간균(sr)이 관찰되었으나 발효종료 후(C)에는 구균이 절대 다수를 차지하였다.

균주 동정

MS, NG 및 YM 배지를 사용하여 피막 및 배양액으로

부터 균주를 순수분리하여 동정한 결과는 Table 1과 같다. 배양액 중의 포자 형성 간균은 *Bacillus subtilis*(MS-1)로, 무포자 장간균은 *Kurthia zopfii*(MS-2)로, 무포자 단간균은 *Acetobacter pasteurianus*(synonyme : *A. aceti* var. *xylium*, NG-1)와 *Gluconbacter oxydans*(NG-2)로, 두꺼운 피막형성균은 *Acetobacter aceti*(YM-1)로, flim상 효모는 *Saccharomyces cerevisiae*(YM-3)로 동정되었다. 분리균중 MS-3은 NG-1의 근연주(유화수소생성, 질산염환원성에서 차이)로, NG-3은 MS-1의 근연주(유화수소생성, 질산염환원, 호기적으로 산생산)로 동정되었다. 발효액중의 레몬형효모는 *Eeniella*속으로 추정되었으나 동정용 text [The yeasts : a ta-

xonomic study, vol 3, ed. by Kreger, 1984, Elsevier]에 종이 등재되지 아니하여 종을 규명하지 못하였다. 배양말기 예 출현한 구균은 *Deinococcus*속 균주이나 검토결과 tea fungus 발효와는 상관이 없는 오염균으로 판정되었다.

이와 같은 분리균의 종류 및 성상의 균주로 미루어 보아 tea fungus 발효는 효모로부터 세균에 이르는 수종의 미생물에 의하여 수행되는 symbiotic acetate fermentation으로 판단된다. 즉, 주된 발효균인 *Acetobacter*와 *Gluconobacter*는 탄소원으로 공여된 sucrose를 자화할 능력이 없으나 *S. cerevisiae*가 sucrose를 monosaccharide로 분해하고 최종적으로 ethanol을 생성함으로써, *Acetobacter*와 *Gluconobacter*의 산생성에 결정적인 역할을 하는 것으로 추정된다. 아울러 *Eeniella*, *Saccharomyces* 및 *Bacillus*가 유기산으로부터 알콜에 이르는 여러가지 향미성분을 생산하여 acetate의 강한 산미를 완화시키는 것으로 판단된다. 그러나, *A. xylinum*은 발효를 지연시킴과 아울러 불쾌한 냄새를 부여하고, *Deinococcus*는 병원성의 우려가 있으며, *Acetobacter*는 생성된 acetate를 과산화하여 분해하는 성질이 있음으로 이들 균주를 적절히 제어하여야 할 것이다.

Reiss¹⁵⁾는 tea 발효 과정중 효모로서 *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces ludwigii* 및 *Pichia* sp.(종 불명)를 분리하였고, 세균으로서는 *A. xylinum*, *A. xyloides* 및 *Bacterium gluconicum*을 분리하여 tea fungus 발효를 이들 균주에 의한 symbiotic acetate 발효로 정의하였다. 한편, Benk¹⁶⁾도 효모로서 *Saccharomyces cerevisiae*와 *S. uvarum*을, 세균으로서 *A. aceti* 및 *A. xylinum*을 분리하고 같은 symbiotic fermentation으로 규정하였다. Benk¹⁶⁾가 분리한 균주와 본 연구에서 분리한 균주는 *S. cerevisiae*가 당분해 및 알콜생성을 담당하고, *Acetobacter*가 acetic acid생산의 주된 균주가 된다는 점에서 거의 일치하고 있으나, 당분해력과 산생성능력이 상대적으로 떨어지는 *Schizosaccharomyces*, *Saccharomyces* 및 *Gluconobacter*를 주된 균주로 보고한 Reiss¹⁵⁾의 결과와는 차이가 있으며, 이는 주로 발효온도(Reiss : 20~22°C)의 차이에 의한 것으로 분석된다.

생균수 측정

Fig. 7과 같이 세균은 초기 ml당 200 cells로부터 3일 후에는 10^7 cells 이상으로 그 수가 급격히 증가하였고, 3일~6일까지는 서서히 증가하였다. 6일과 9일 사이에 세균수가 10^6 cells로 현저히 감소되었으나 이후로는 변화가

없었다. 효모는 8.0×10^3 cells에서 3일째는 1.2×10^6 cells로 현저히 증가되었으나 이후로는 서서히 감소하였다.

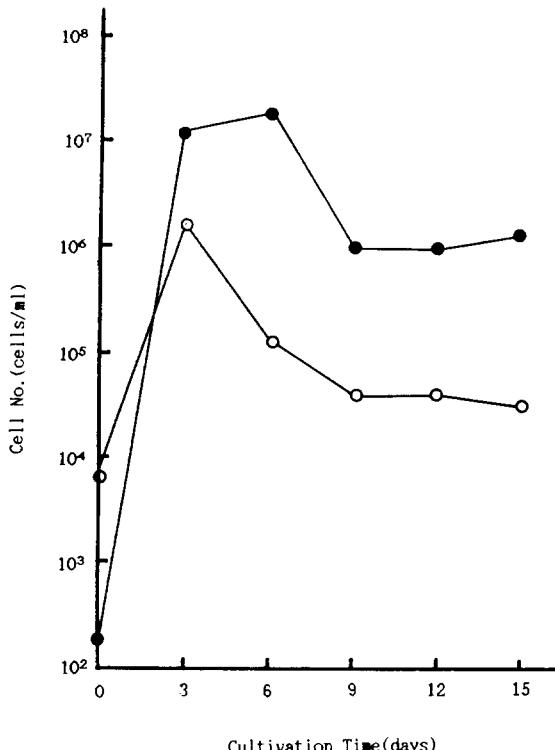


Fig. 7. Changes in microbial counts during the fermentation of Black tea by tea fungus containing 10 % of sucrose was fermented at 30°C. Symbols represent the number of bacterial cells : ●—● and yeast cells : ○—○, respectively. Bacterial colonies formed on nutrient agar medium was counted. Yeast cells were counted by using a hemacytometer.

요약

10%의 sucrose를 첨가한 홍차추출물에 tea fungus를 접종하여 30°C에서 정치배양하여 발효하였다. 14일 동안의 발효에 의해 배양액의 전표면에 7~8mm의 두꺼운 괴막이 생겼으며, 배양액의 pH가 2.5 부근으로 저하되었다. 발효 과정중 아래쪽의 배양액에서는 효모(*Saccharomyces cerevisiae* and *Eeniella* sp.)와 여러종류의 세균(*Bacillus subtilis*,

Kurthia zoppii, *Gluconobacter oxydans*와 *Deinococcus sp.*)이 분리되었다. 반면에 피막 부위에서는 *Acetobacter aceti*의 단일균주가 분리되었으며 이 세균은 통상의 *Acetobacter*와는 달리 점질상의 덩어리로 성장하였다. 발효음료는 달고 새콤한 맛과 약간의 달콤한 과일향을 나타내었다. 이상의 결과로부터 tea fungus에 의한 홍차발효는 다양한 미생물이 공동으로 작용하여 진행되는 symbiotic acetate 발효로서, 발효음료는 생물학적으로 안전한 뿐만아니라 적당한 발효조건에 의해 좋은 향미를 갖춘 유망한 음료로 판단되었다.

감사의 글

본 연구는 1996년도 대구가톨릭 대학교 교비 연구지원에 의하여 수행 되었음.

참 고 문 헌

1. Hesseltine, C.W. : The future of Fermented Foods, *Nutrition Reviews*, 41(10), 293~301 (1983)
2. Uzogara, S.G., Agu, L.N. and Uzogara, E.O. : A review of traditional fermented foods, condiments and beverages in nigeria, *Ecol. of Food and Nutr.*, 24, 267(1990)
3. Steinkaraus, K.H. : Nutritional significances of fermented food. *Frod. Research International.*, 27(3), 259(1994)
4. Ekunadayo, J.A. : Production of pito, a Nigerian fermented beverage. *J. Food Technology*, 217(1969)
5. Yoshida, T., Toyoshima, K. : Lactic acid bacteria and yeast from Kefir, *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.* 47, 55(1994)
6. Brian J. B. Wood : Microbiology of fermented foods, Vol 1, pp. 169~175 Elsevier applied Science Publishers, London & New York, (1985)
7. Beech, F. W. : English cyder making, Prog. Ind. Microbiol, pp. 11~20 Churchill living stone, London, 133 (1972)
8. Delage, E., Bohuon, G., Bason, A., and Drilleau, J. F. : High-performance liquid chromatography of the phenolic compounds in the juice of some french cider apple varieties. *J. of chromatography*. 555, 125 (1991)
9. Davis, J.G., Ashton, I.R., Mccaskill, M. : Enumeration and viability of *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* in yoguris. *Dairy Ind.*, 36. 569 (1971)
10. Bahn, K.N. : Potent anticarcinogenic effect of the extracts from *Artemisia capillaris* and *Poewa suffruticosa*, MS thesis. Graduate school, Gyeongsang National University.
11. John G.H., Wlliams and Wilkins : Bergey's manual of determinative bacteriology (1984)
12. 山里一英, 宇田川俊一, 児玉徹, 林地敏樹 : 微生物의 分利法, R & D フワフフニフワ, 454
13. Kreger-van R. : The yeasts. Elsevier Sci. Publishers B. V., 396(1984)
14. Beppu T. : Genetic organization of Acetobacter for acetic acid fermentation. Antonie van Leeuwenhoek, 64, 121(1993)
15. Reiss, J. : Influence of different sugars on the metabolism of the tea fungus, Zeitschrift fur lebensmittel-unter suchung und Forschung, 198(3), 258(1994)
16. Benk, E. : The tea fungus fermented drink, Verbraucherdiest. 33(10), 213(1988)