

## 다시마추출액을 이용한 발효음료개발 및 품질특성

김미림 · 최미애<sup>1</sup> · 정지숙<sup>2\*</sup>

대구한의대학교 한방식품조리영양학부, <sup>1</sup>양산대학교 호텔조리과, <sup>2</sup>대구가톨릭대학교 식품영양학과

## Development of Fermented Beverage Using the Sea Tangle Extract, and Quality Characteristics Thereof

Mi-Lim Kim, Mi-Ae Choi<sup>1</sup> and Ji-Suk Jeong<sup>2\*</sup>

Department of Faculty of Herbal Cuisine and Nutrition, Daegu Hanny University, Gyeongbuk 712-715, Korea

<sup>1</sup>Department of Hotel Culinary Arts, Yangsan College, Yangsan 626-740, Korea

<sup>2</sup>Department of Food Science and Nutrition, Catholic University of Daegu, Gyeongbuk 712-702, Korea

### Abstract

This study investigated the fermentation and quality characteristics of a fermented beverage, prepared by semi-anaerobic culture, using sea tangle extract. A central composite design using alcohol(0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 % [all v/v] ), sugar(0, 5, 10, 15, 20 % [all w/v] ) and 65 °Brix citrus juice(0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 % [all v/v] ) was used to find the optimal mix for fermentation. Sensory characteristics, such as color, flavor, taste, sweetness, saltiness, sourness and overall quality, were measured using a response surface methodology computer program. The optimal conditions that produced the highest acidity of 0.94 were 2.0 % ethanol, 10.17 % sucrose and 1.99 % citrus juice. The optimal conditions that produced gel 20.13 mm in thickness were 1.98 % alcohol, 10.94 % sucrose and 1.62 % citrus juice. The overall optimal conditions that satisfied all the sensory requirements for a sea tangle beverage were 1.0 % alcohol, 10.0 % sucrose and 4.05 % citrus juice.

**Key words** : fermentation, beverage, quality, sea food, sea tangle

### 서 론

발효식품은 발효하지 않은 것에 비하여 영양적·기능적으로 우수하며, 발효를 함으로써 생성된 알코올과 유기산은 식품의 저장과 품질개선, 병원균의 증식을 억제한다. 유기산의 효능은 기존의 식초, 요쿠르트, 김치 등의 많은 연구에서 효과가 입증되어 왔으며(1-3), 특히 유기산은 피로회복에 효과적이고 인체를 알칼리성으로 개선시켜 성인병을 예방할 수 있을 뿐만 아니라 장으로부터 콜레스테롤 섭취를 감소시켜 순환기 계통의 건강 유지와 위내의 pH를 변화시켜 소화효소의 작용을 도움으로써 성장을 촉진하고, 위장관 미생물의 변화에 의한 이상 증상을 방지한다(4,5).

발효음료는 알코올형음료와 산형음료로 나누어지는데(6), 산형발효는 *Acetobacter*를 위시한 수종의 세균과 효모에 의하여 발효가 이루어져 다양한 산(acids)을 형성하며,

정치배양에 의해 배양액의 표면에 겔상의 망상구조를 형성하면서 발효가 진행되어진다(7). 동남아 지역에서는 콤부차(kombucha)라는 이름의 전통 건강음료로 애용되고 있으며, 발효액은 식초산을 주된 성분으로 하여 발효 후에는 발포성의 사과주처럼 청량음료 맛이 난다(8). 홍차를 발효시킨 산형음료를 일정기간 섭취시킨 동물실험결과에서 간이 비대해지는 문제점이 발생하였으나(9), 인체실험결과에서는 T-cholesterol, LDL-cholesterol을 감소시키고 HDL-cholesterol은 증가시키며, 운동시 혈중 젖산의 농도를 감소시켜 피로방지 및 피로회복에 효과적인 것으로, 유기산이 많이 함유된 음료를 매일 운동 상황에서 섭취한다는 것은 세포나 혈관경화방지 및 운동능력향상에도 도움을 주는 것으로 보고되고 있다(4,10).

다시마(*Laminaria longissima*, Sea tangle)는 수산 자원 중 가장 풍부한 해조류 중 하나로 우리나라 전 해안에 광범위하게 분포되어 있어 쉽게 접할 수 있는 재료로 독특한 맛과 향으로 기호성이 양호한 편이다(11). 다시마에는 탄수화물

\*Corresponding author. E-mail : herojisuk@cu.ac.kr,  
Phone : 82-53-850-3521, Fax : 82-53-850-3516

과 무기염류 함량이 높는데, 탄수화물의 20%는 섬유소이고 나머지는 알긴산과 라미나린 등 다당류로 요오드, 비타민 B<sub>2</sub>, 글루탐산 등의 아미노산 또한 풍부하다. 특히, 마그네슘, 칼슘, 칼륨 등의 미네랄이 풍부하며 미네랄류는 부족시 인체의 조화를 깨뜨리고 질병을 유발시키는 원인이 되므로 생리기능 조절에 필수적이다(12). 최근 해조류에 함유된 탄수화물이 혈관내 콜레스테롤 침착 방지 및 장관 운동을 원활히 하고, 중금속 배출을 촉진시키며 고지혈증의 개선에 유효하다는 보고와 함께 식용해조류로부터 생리활성 물질들이 확인되면서 기능성 식품으로서의 개발에 관심이 모아지고 있다(13,14). 근간 당뇨병의 증상완화 및 개선에 주목할 만한 효과가 있는 것으로 밝혀져 민간에서는 혈당조절 목적으로 다시마 분말 및 추출액을 사용한 예도 알려져 있다(15).

그러나 현재 대부분의 해조류는 건조제품, 염장제품의 형태로 제조 판매되고 있으며, 기능성 해조차 소재로의 활용을 위한 김, 미역 및 다시마의 처리 조건(16), 미역과 다시마를 주원료로 한 목 제조(17), 미역귀를 이용한 잼의 제조(18), 분말쥬스(19), 기능성 음료의 개발을 위한 갈조류 생세포액의 제조(20) 등에 관한 연구가 있고, 추출물을 이용한 발효 연구로는 다시마 추출액을 이용한 식초 제조(21)에 관한 연구가 있을 뿐 해조류의 가공 연구가 부족한 편이다.

또한, 다시마 특유의 비린내를 감소시키며 발효 속도를 증가시킬 목적으로 사용한 감귤과즙은 L-ascorbic acid,  $\beta$ -carotene, 식이섬유소 및 flavonoid 화합물을 다량 함유하고 있어 항고혈압, 항산화, 항노화, 항알러지, 항바이러스 및 항염증 효과 등 다양한 생리기능이 있는 것으로 밝혀지고 있다(22-24).

따라서 본 연구는 해조류를 이용한 산형 건강음료를 개발할 목적으로 기능성이 잘 알려진 다시마로부터 수용성 성분을 추출하고 산형발효조건을 모니터링하여 생성된 음료의 기호성을 검토하였으며 동시에 발효시 생성되는 부산물인 젤 생성량도 함께 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 건조 다시마는 소분원-해청식품(원산지 연근해안(서·남해))에서 판매하는 것으로 시중에서 구매하여 사용하였으며, 감귤과즙은 제주개발공사에서 제조한 평균당도 65° Brix의 서귀포 산 온주밀감 농축액으로, -20°C에서 저장하여 사용하였다. 기타 탄소원으로 시판 정백당(제일제당, 한국)과 95% 주정(풍국주정, 이하 알코올로 약함)을 사용하였다.

### 다시마 추출물제조

다시마 추출물 제조는 본 연구의 기초연구인 Lee(25)와

Jung(26)의 추출조건을 참고하여, 건조 다시마를 10 × 10 mm 크기로 자른 후 1%(w/v)를 95 ± 2 °C에서 1시간동안 추출하여 여과지(Whatman No. 2)로 여과한 다음 발효용 배지로 사용하였다. 이때, 건조 다시마의 염분을 제거하기 위하여 흐르는 물에 10분간 침지·세척한 후 사용하였다.

### 배지조성

다시마 추출액에 당, 알코올 및 감귤과즙을 첨가하고 전 배양한 젤 7.5 g (5% w/v)을 접종한 다음 발효병 입구를 살균 솜마개로 덮어 30°C 배양기에서 14일간 정치배양하면서 경시적으로 발효액의 pH, 산도 및 젤 두께를 측정하였다.

### 발효균

Park(27)이 tea fungus로부터 분리한 젤 생성균 *Gluconacetobacter hansenii* TF-2를 배지에 수회 반복배양한 후 배양액 표면에 형성된 두께 10 mm의 젤을 종균으로 사용하였다.

### 중심합성계획에 따른 설계 및 발효

1L 삼각플라스크에 다시마 추출액을 담고 종균을 접종하여 30°C에서 정치배양하면서 0일째(발효전)와 발효 10일 경과 후(발효후)의 발효 성상을 비교하였다. 중심합성계획법에 따라 다시마 추출물에 당, 알코올 및 감귤과즙 첨가량에 따른 발효성상을 비교하였다. Table 1과 같이 알코올 함량(0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0%), 당 함량(0, 5, 10, 15, 20%), 감귤과즙 함량(0, 1, 2, 3, 4%)을 요인으로 설정하여 각 요인들의 수준을 -2, -1, 0, 1, 2의 5단계로 부호화하여 16군의 실험조건을 설계하였다.

Table 1. Levels of independent variables in experimental design of the fermented beverage by sea tangle

Independent variables	X <sub>i</sub>	Coded-variables level				
		-2	-1	0	1	2
Alcohol <sup>1)</sup> (% v/v)	X <sub>1</sub>	0	0.5	1.0	1.5	2.0
Sugar (% w/v)	X <sub>2</sub>	0	5	10	15	20
Citrus juice <sup>2)</sup> (% v/v)	X <sub>3</sub>	0	1.0	2.0	3.0	4.0

<sup>1)</sup>Alcohol for fermentation : 95 %,

<sup>2)</sup>Prepared citrus concentrate juice for fermentation : 65 °Brix (add sucrose)

### pH, 산도 및 당도 측정

발효조건에 따른 발효액의 이화학적 조사를 위해 발효액을 4°C에서 원심분리(8,000 rpm × 15 min)하여 균체를 제거한 후 측정에 사용하였다. pH 측정은 pH meter(691, Methrom, Swiss)를 사용하여 측정하였으며, 총산 함량은 AOAC법(28)에 따라 삼각 flask에 배양액 10 mL를 취한 다음 bromothymol blue 2~3방울을 가하고 0.01N 또는 0.1N-NaOH로 중화적정한 후 NaOH 소비량으로부터 acetic acid(% w/v)로 환산하여 표시하였다. 당도는 휴대용 굴절당도계(ATC-1E, Atago, Japan)를 사용하여 측정하였다.

**색도 측정**

발효액의 색도는 색차계(Chroma meter CR-310, Japan)를 사용하여 명도(L, lightness), 적색도(a, redness), 황색도(b, yellowness) 값을 3회 반복 측정하여 그 평균값을 나타내었다. 이때 표준판(Standard plate)의 색도는 L=100.02, a=-0.01, b=+0.03이다.

**겔의 생성량 측정**

겔 생성량은 배양액 표면에 형성된 겔의 백색 부분의 두께를 기준으로 평가하였으며, 겔 두께는 눈금자를 이용하여 mm 단위로 측정하였다.

**관능검사**

관능적 품질평가는 대구가톨릭대학교 식품영양학과 재학생 중 훈련된 16명을 선정하여 실험에 대한 이해와 평가 기준 등을 숙지시킨 후 설문지를 사용하여 색, 향, 맛의 특성 및 전반적인 기호도에 대한 관능항목에 대하여 5점 척도법으로 평가하였다. 관능검사는 균형 불완전블록 계획법(29)으로 한 번에 3종류의 시료를 제시하여 다시마 색(폴빛), 다시마 향(풀 비린내), 다시마 맛(비린 맛), 감귤 색, 감귤 향, 감귤 맛, 단 맛, 짠 맛, 신맛은 특성이 강할수록 높은 점수를 주었으며, 기호도 검사에서는 다시마 발효음료로서의 색, 향, 맛, 전체적인 기호도를 개인의 기호특성에 따라 5점 척도법에 따라 실시하였다. 시료는 발효액을 원심분리(8,000 rpm × 15 min)하여 균체를 제거한 후 크기가 동일한 투명컵에 30 mL씩 담아 관능검사원들에게 동시에 제공하였다.

**통계처리**

모든 데이터는 3회 반복 측정 후 평균치 ± 표준편차로 나타내었으며, 통계분석은 SAS program (version 8.1)을 사용하였다. 발효조건 모니터링 결과는 회귀분석하여 최적조건

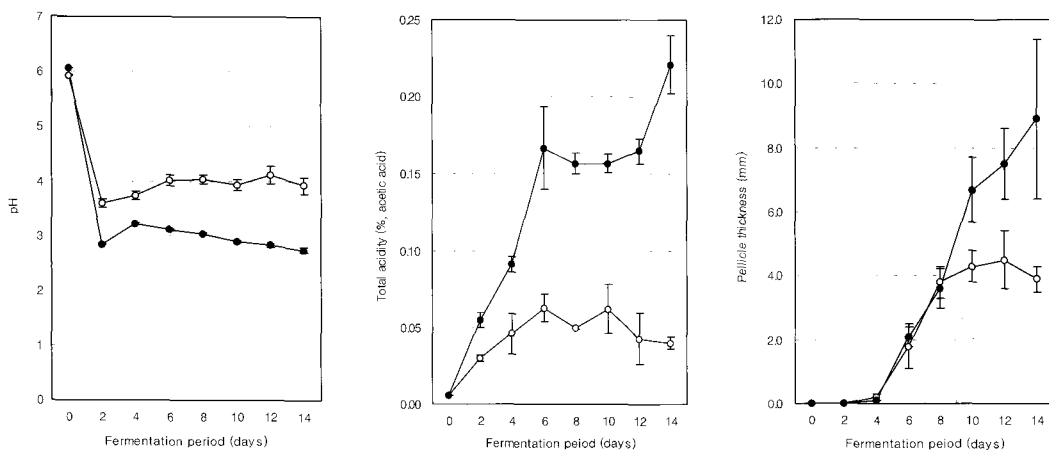
을 예측하였으며, 반응변수와의 관계를 2차 다항회귀식으로 구하였고 1차 선형효과, 2차 곡선효과 및 인자간 교호작용을 살펴보았으며 독립변수에 대한 종속변수의 반응표면 상태를 3차원 그래프와 등고선분석을 실시하였다. 회귀분석 결과 정상점이 안정점일 경우에는 능선분석을 행하여 최적점을 구하였다. 또한, 관능검사와 기계적검사 결과의 평균간의 유의성 분석은 분산분석(ANOVA)하고 다중범위검정(Duncan's multiple range test)에 의해 유의성을 검정하였다.

**결과 및 고찰**

**당 및 알코올 첨가가 발효에 미치는 영향**

다시마의 추출은 Lee(25)의 보고에서는 전반적인 온도환경에서 30분 추출시에 대부분의 가용성 고형분이 추출되어 1시간 이후에는 거의 변화가 없다고 하였으며, Jung(26)은 90℃와 100℃사이에서 2시간 추출하였을 때 고형분 및 알긴산의 함량이 가장 증가한다고 보고하였다. Jo(16)의 보고에서도 해조분말은 뜨거운 물에 의하여 단시간에 추출이 일어나고, 그 추출물 중에는 phyran, fucoidan, sodium alginate 등의 산성 다당류와 타우린 및 요오드 등이 많이 함유되어 있어 기능성 소재로서 해조의 적합성을 강조하고 있다. 위의 결과를 참고로 본 실험지는 추출온도를 95 ± 2 ℃에서 1시간 동안 추출하여 다시마 추출액을 제조하여 사용하였다.

당을 배지에 첨가한 군과 첨가하지 않은 군의 발효성상 비교 결과는 Fig. 1과 같이 발효가 진행되었다. pH는 5.93, 6.07이던 배양액이 배양 2일째 각각 3.61, 2.85로 급격히 감소하였고, 이후 당을 첨가하지 않은 군은 소폭 증가하는 경향을 보였으며, 당 첨가군은 소폭 증가하였다가 다시 서서히 감소하여 배양 14일째는 pH가 2.75이었다. 산도는 발효 전 기간 계속하여 증가하였으나 두 시험군의 변화폭의 차이가 커서 당을 첨가하지 않은 군의 산도는 거의 변화가



**Fig. 1.** Effect of sugar addition on pH, total acidity and pellicle thickness of the culture broth during fermentation by *G. hansenii* TF-2. Symbols represent concentrations of the sucrose as ○: 0%, ●: 10%.

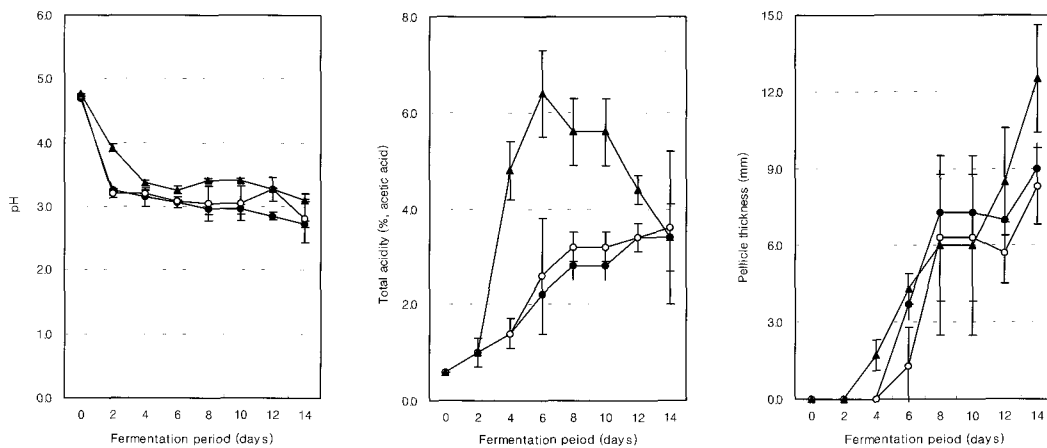
없었으나, 당 첨가군은 배양 6일까지 급격히 증가하다가 이후 다시 소폭 감소하는 경향을 보였다. 그러나, 12일째 이후부터 다시 증가하여 14일째에 산도는 0.221(acetic acid)이 되었으며, 배양 4일째까지는 풀 비린내가 강하게 났으나 6일 이후부터 산도가 증가하면서 풀 비린내는 약해지고 산의 향과 신맛이 형성되었다. 10일째는 배양액을 흔들었을 때 잔거품이 다량 발생하였으며, 겔 두께는 배양 4일째 발효병 가장자리부터 생성되기 시작하여 발효종료 후 3.9 mm와 8.9 mm로 당 첨가군이 첨가하지 않은 군에 비해 두 배 이상 두껍게 생성되었다.

알코올 첨가량에 따른 발효성상을 비교하기 위해 10 °Brix로 조정한 배지에 중균을 접종한 다음 알코올을 0, 0.5 및 1.0%로 첨가하여 발효한 결과는 Fig. 2와 같다. pH는 4.70~4.76이던 배양액이 배양 2일째 3.25~3.91로 급격히 감소한 이후 지속적으로 감소하여 발효종료 후 각각 2.73, 2.82 및 3.10이었다. 알코올 0 및 0.5% 첨가구의 산도 변화는 서로 유사하여 배양 14일째 각각 0.34, 0.36이었으나 1.0% 첨가구는 배양 2일 이후부터 6일까지 급격히 증가하여 산도가 최고 0.64까지 증가하였다가 이후 감소하여 배양 14일째는 0.34를 나타내었다. Choi(7)와 Jeong(30)의 다류와 과즙을 이용한 *tea fungus* 발효 연구에서는 발효최종산물의 산 함량이 0.2~2.0으로 다시마 추출물만을 발효했을 때보다 10배에서 100배 이상 높게 나타나 큰 차이를 보였으나, 다시마 추출물에 당과 알코올을 첨가한 발효액에서는 비슷한 결과를 보였다. 발효가 진행되면서 산도와 겔 두께의 표준편차가 점점 커지는 것은 발효균을 포함하고 있는 종균 겔 덩어리를 접종에 사용하였기 때문에 최초 발효균의 총균수에 따른 것으로, 이는 Chen 등(31)도 배양기간이 길어질수록 표준편차가 커진다고 보고하였다. 또한, Choi 등(32)의 결과에 따르면 겔 두께가 갑자기 두꺼워 질 때는 산의 함량이 크게 줄어들어 겔 생성균이 성장하는데는 유기산을 필요로 하며, 약간의 시간차에 의해서도 유기산의 함량에

는 큰 차이를 줄 수 있다고 보고하였다. 따라서 다시마 발효액의 산 함량을 조절하기 위해서는 적정 농도의 당과 알코올이 필요하며, 발효종료 시점을 찾는 것이 중요할 것으로 판단된다.

**중심합성계획에 의한 발효**

다시마 추출물을 이용한 산형음료 발효조건을 설정하기 위하여 중심합성계획법에 의하여 5수준 3요인(알코올, 당 및 감귤과즙 함량)으로 처리한 16개 실험 처리구와 각 조건에 따른 이화학적 실험값은 Table 2 및 Fig. 3과 같다. 각각의 실험값을 살펴보면 산도는 0.0318~0.8904, pH는 0.64~2.18, 당도는 0.6~8.0 및 겔 두께는 0~17.5 mm 등으로 처리구에 따라 큰 변화가 있었다. 반응표면분석에 의한 산도, pH, 당도 및 겔 두께의 회귀식, R<sup>2</sup> 및 유의성은 Table 3과 같다. 즉 산도의 경우 R<sup>2</sup>가 0.8481으로 10% 이내의 유의수준에서 인정되었으며, Table 4와 같이 산도에 대한 예측된 최대점은 알코올 함량 2.00%, 당 함량 10.17% 및 감귤과즙 함량 1.99%이었으며, 이때 예측된 산도는 0.94이었고 pH, 당도, 겔 두께의 R<sup>2</sup>는 각각 0.6061, 0.7136 및 0.6090으로 유의성이 인정되지 않았다. pH는 알코올 함량이 1.44%, 당 함량 11.14% 및 감귤과즙 함량 0.22%일 때 예측 최대치 2.31이었고, 알코올 함량 0.99%, 당 함량 0.13%, 감귤과즙 함량 2.33%일 때 최소치 1.06으로 예측되었다. 당도는 당 함량이 17.75%, 알코올 함량이 0.51%, 감귤과즙 함량이 2.80%일 때 최대치 8.62 °Brix이었고 당 농도 1.57%, 알코올 함량 0.47%, 감귤농축액 1.86%일 때 최소치 0.12 °Brix이었다. 겔 두께는 알콜 함량 1.98%, 당 함량 10.94%, 감귤과즙 함량이 1.62일 때 최대치 20.13 mm이었으며, 알코올 함량 0.85%, 당 함량 0.18%, 감귤과즙 함량이 1.77%일 때 최소치 5.07 mm로 예측되었다. 사진 1은 배양 14일째의 겔 두께사진이며, 발효조건에 대한 3차원 반응표면은 Fig. 4와 같고, Table 5에서와 같이 전반적으로 알코올



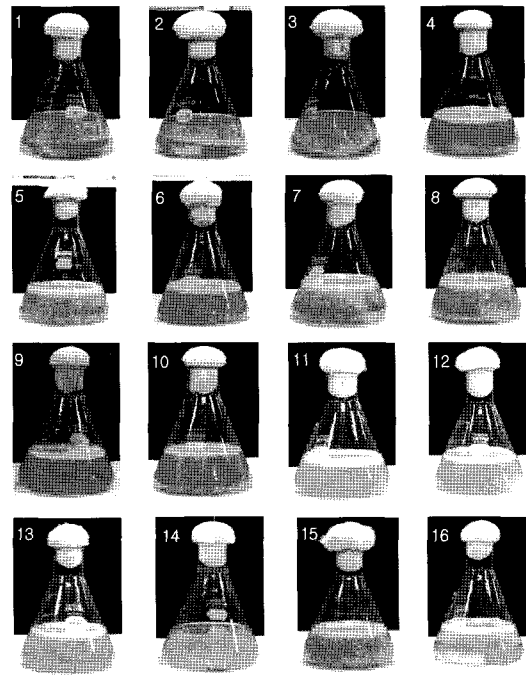
**Fig. 2.** Effect of alcohol content on pH, total acidity and pellicle thickness of the culture broth during fermentation by *G. hansenii* TF-2. Symbols represent concentrations of the sucrose as ○: 0%, ●: 0.5% and ▲: 1.0%.

함량에 영향을 많이 받는 결과였으며 알코올 함량이 높을수록 산도가 증가하였다. Choi 등(32)은 알코올이 배양액의 산도와 겔 두께를 유의적으로 증가시키며 1.0%가 최적 첨가농도라고 보고하였으며, Lee 등(33)도 겔 수율을 높이는 데 ethanol이 효과적인 것으로 보고하였다.

**Table 2. Experimental data on physicochemical properties of acidic beverage fermentation under different conditions based on central composite design for response surface analysis**

Sam. No. <sup>1)</sup>	Conditions			Physicochemical properties			
	Alcohol Conc. (X <sub>1</sub> )	Sugar Conc. (X <sub>2</sub> )	Citrus juice Conc. (X <sub>3</sub> )	Total acidity (% acetic acid)	pH	Soluble solid (°Brix)	Pellicle thickness (mm)
1	0.5(-1)	5.0(-1)	1.0(-1)	0.0942	1.89	1.8	11.0
2	0.5(-1)	5.0(-1)	3.0( 1)	0.0762	1.81	1.2	13.0
3	0.5(-1)	15.0( 1)	1.0(-1)	0.1254	1.82	4.2	13.0
4	0.5(-1)	15.0( 1)	3.0( 1)	0.0756	1.67	7.0	9.0
5	1.5( 1)	5.0(-1)	1.0(-1)	0.6960	2.05	1.2	17.0
6	1.5( 1)	5.0(-1)	3.0( 1)	0.5142	1.70	2.6	14.0
7	1.5( 1)	15.0( 1)	1.0(-1)	0.5634	1.86	2.8	14.5
8	1.5( 1)	15.0( 1)	3.0( 1)	0.6420	1.73	2.2	13.0
9	1.0( 0)	10.0( 0)	2.0( 0)	0.6708	1.12	0.6	7.5
10	1.0( 0)	10.0( 0)	2.0( 0)	0.1134	1.64	5.4	6.0
11	2.0( 2)	10.0( 0)	2.0( 0)	0.8904	1.98	2.4	17.5
12	0.0(-2)	10.0( 0)	2.0( 0)	0.0318	1.79	4.4	14.0
13	1.0( 0)	20.0( 2)	2.0( 0)	0.2322	1.83	8.0	12.2
14	1.0( 0)	0.0(-2)	2.0( 0)	0.0732	0.64	1.0	0.0
15	1.0( 0)	10.0( 0)	4.0( 2)	0.2868	1.72	6.4	10.0
16	1.0( 0)	10.0( 0)	0.0(-2)	0.3174	2.18	4.8	11.0

<sup>1)</sup>The number of experimental conditions by central composite design.



**Fig. 3. Changes in image of fermentation bottle of after acidic fermentation by tea fungus (sample number; 1-16)**

**색도변화**

다시마 발효액의 색도측정 결과는 Table 6과 같다. 명도 (L)는 92.17~99.17 사이로 투명도가 매우 높았으며 적색도 (a)는 유의적으로 green 쪽에 더 가까웠고 황색도(b)는 감귤 과즙 함량이 증가함에 따라 더 높은 결과로, 전 처리구에서 명도, 적색도, 황색도 모두 높은 유의성이 인정되었다 (<0001).

**Table 3. Polynomial equations calculated by RSM program for the fermented beverage by sea tangle**

Responses	Polynomial equations <sup>1)</sup>	R <sup>2</sup>	Significance
Total acidity (% acetic acid)	$Y_1 = -0.262838 + 0.367575X_1 + 0.042517X_2 + 0.027187X_3 + 0.069000X_1^2 - 0.001770X_1X_2 - 0.002394X_2^2 - 0.008850X_1X_3 + 0.005715X_2X_3 - 0.022500X_3^2$	0.8481	0.0619
pH	$Y_2 = 2.273125 - 0.843750X_1 + 0.044125X_2 - 0.646875X_3 + 0.505000X_1^2 - 0.002500X_1X_2 - 0.001450X_2^2 - 0.062500X_1X_3 + 0.003750X_2X_3 + 0.142500X_3^2$	0.6061	0.5069
Soluble solid (°Brix)	$Y_3 = 0.850000 + 2.225000X_1 + 0.272500X_2 - 2.212500X_3 + 0.400000X_1^2 - 0.350000X_1X_2 + 0.015000X_2^2 - 0.350000X_1X_3 + 0.035000X_2X_3 - 0.650000X_3^2$	0.7136	0.2762
Pellicle thickness (mm)	$Y_4 = 12.506250 - 13.562500X_1 + 0.666250X_2 - 2.531250X_3 + 9.000000X_1^2 - 0.075000X_1X_2 - 0.006500X_2^2 - 0.625000X_1X_3 - 0.112500X_2X_3 + 0.937500X_3^2$	0.6090	0.5007

<sup>1)</sup>X<sub>1</sub> : Content of alcohol (% v/v), X<sub>2</sub> : Content of sugar (% w/v), X<sub>3</sub> : Content of citrus juice (% v/v).

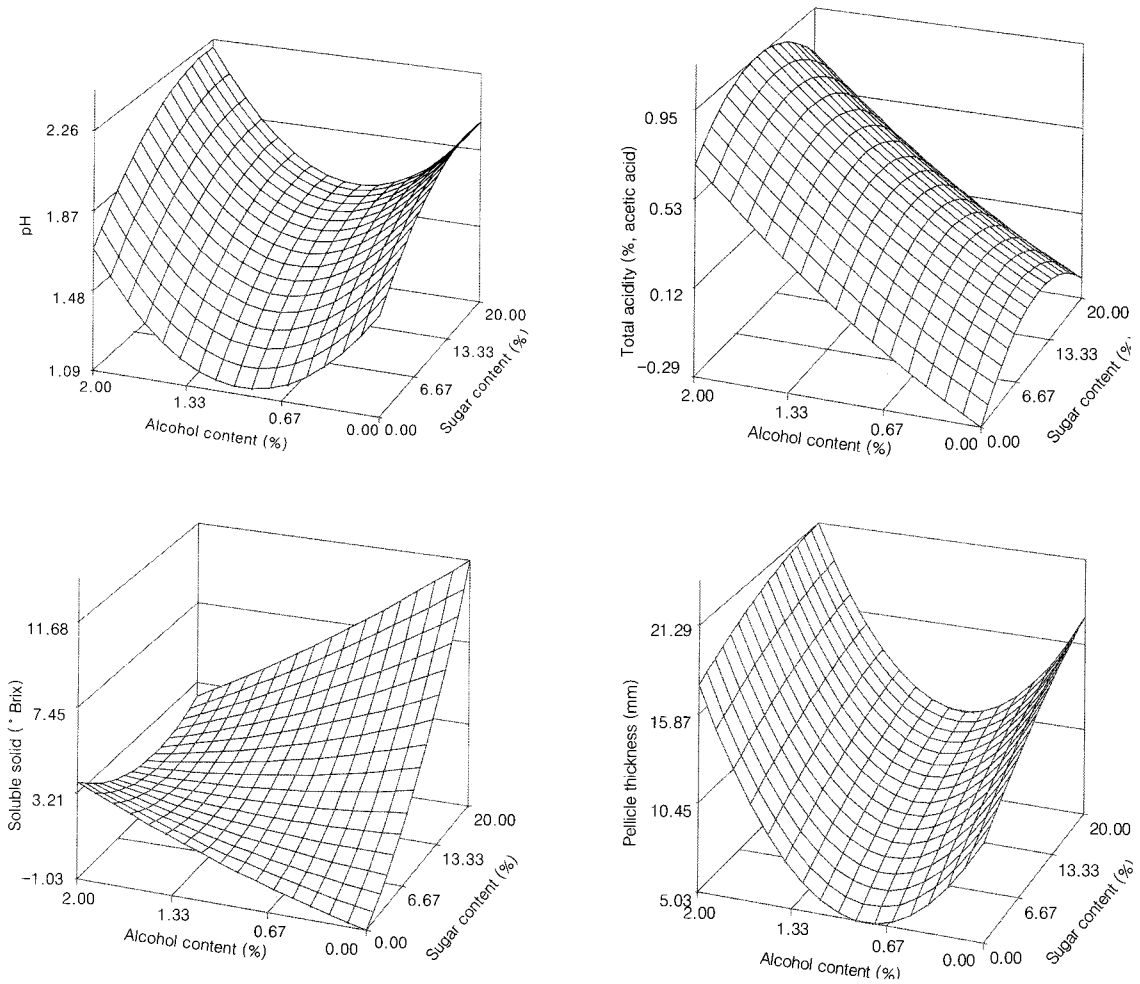


Fig. 4. Total acidity, pH, soluble solid and pellicle thickness of acidic beverages fermentation according to fermentation time

Table 4. Predicted level of optimum perparation conditions for the maximized and minimumed physicochemical properties of acidic beverage fermentation by the ridge analysis of their response surface

Physicochemical properties		Conditions				Morphology
		Alcohol conc. (% v/v)	Sugar conc. (% w/v)	Citrus juice conc. (% v/v)	Estimated response	
Total acidity (% acetic acid)	Max.	2.00	10.17	1.89	0.94	Saddle point
	Min.	0.38	5.21	2.32	0.04	
pH	Max.	1.44	11.14	0.22	2.31	Saddle point
	Min.	0.99	0.13	2.33	1.06	
Soluble solid (°Brix)	Max.	0.51	17.75	2.80	8.62	Saddle point
	Min.	0.47	1.57	1.86	0.12	
Pellicle thickness (mm)	Max.	1.98	10.94	1.62	20.13	Saddle point
	Min.	0.85	0.18	1.77	5.07	

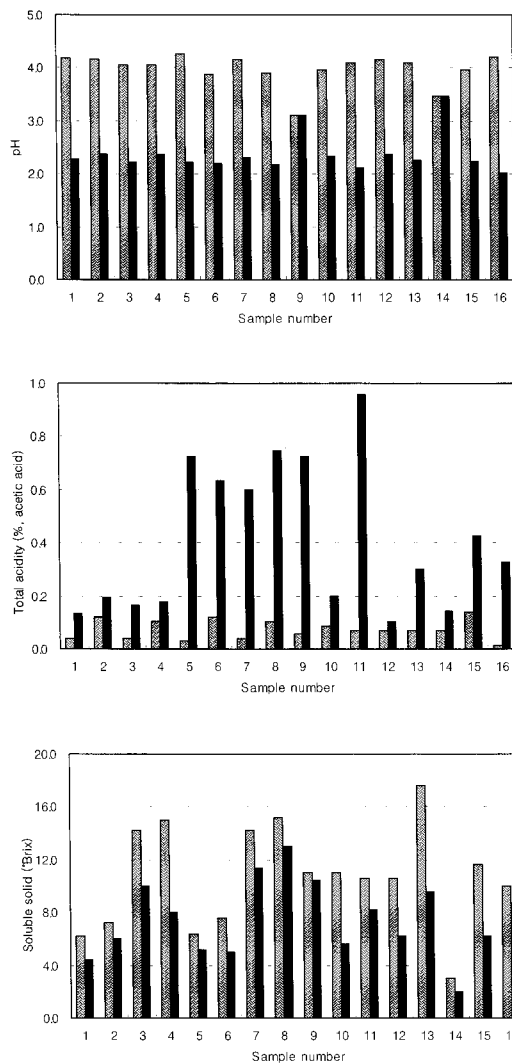
관능적 특성

다시마 추출물에 당, 알코올 및 감귤과즙을 첨가하여 14일간 배양한 발효액의 관능검사 결과는 Table 7과 같으며, 관능검사에 제시된 시료의 배양 전과 배양 후의 액에 대한 pH, 산도 및 당도는 Fig. 5와 같다. 다시마 색(풀 빛), 다시마 향(풀 비린내), 다시마 맛(비린 맛)의 관능항목에 대해서는 유의성이 인정되지 않았으며, 감귤 색은 첨가량이 가장 많은 4.0% 첨가구인 15번과 3.0% 첨가한 4번이 4.67 ± 0.58로 감귤 색을 가장 강하게 나타내었고, 다음으로 3.0% 첨가한 6과 8번 순이었다. 그러나, 감귤 향과 맛은 발효 중에 다양한 유기산 생성으로 인해 감귤 고유의 향과 맛에 대해서는 낮은 유의성을 보였고, 단 맛은 유의성이 인정(<05)되었으나 기계적 당도측정의 결과와는 차이를 보였다. 짠 맛은 유의성이 인정되지 않았고, 신 맛은 기계적 산도 측정결과와 유사한 경향으로 산도가 가장 높은 11번이 관능평가자에서도 가장 강하게 신 맛을 느낀 것으로 확인되었으며, 높은 유의성이 인정되었다(<0001).

**Table 5. Analysis of variables for regression model of dependent variables in preparation conditions for concentration of acidic beverage fermentation**

Conditions	F-ratio			
	Total acidity (% acetic acid)	pH	Soluble solid (°Brix)	Pellicle thickness (mm)
Alcohol conc. (% v/v)	7.39*	0.53	0.79	1.44
Sugar conc. (% w/v)	0.59	0.52	2.81	0.35
Citrus juice conc. (% v/v)	0.15	0.95	0.63	0.30

<sup>1)</sup>Significant at 5% level.



**Fig. 5. Changes in pH, total acidity and soluble solid of before and after fermented beverage at 30 °C for 10days.**

Symbols represent the fermentation conditions as ▨ : fluid of before fermentation, ■ : acidic beverage of after fermentation

**Table 6. Hunter color values of fermented beverage according to kind of experimental conditions**

Sample No. <sup>1)</sup>	Characteristics		
	L	a	b
1	97.29 ± 0.01 <sup>b</sup>	-0.43 ± 0.03 <sup>b</sup>	4.98 ± 0.01 <sup>n</sup>
2	95.30 ± 0.02 <sup>d</sup>	-1.15 ± 0.02 <sup>i</sup>	10.98 ± 0.02 <sup>c</sup>
3	96.66 ± 0.01 <sup>c</sup>	-0.56 ± 0.02 <sup>c</sup>	6.13 ± 0.01 <sup>m</sup>
4	95.75 ± 1.16 <sup>d</sup>	-0.91 ± 0.02 <sup>gh</sup>	8.14 ± 0.01 <sup>h</sup>
5	95.43 ± 0.02 <sup>d</sup>	-0.68 ± 0.02 <sup>d</sup>	7.66 ± 0.01 <sup>i</sup>
6	94.78 ± 0.01 <sup>c</sup>	-0.96 ± 0.00 <sup>b</sup>	11.14 ± 0.01 <sup>b</sup>
7	96.71 ± 0.02 <sup>c</sup>	-0.68 ± 0.05 <sup>d</sup>	6.75 ± 0.02 <sup>k</sup>
8	94.05 ± 0.02 <sup>f</sup>	-1.10 ± 0.03 <sup>i</sup>	12.08 ± 0.02 <sup>a</sup>
9	92.17 ± 0.22 <sup>h</sup>	-0.17 ± 0.05 <sup>a</sup>	9.35 ± 0.02 <sup>e</sup>
10	96.67 ± 0.01 <sup>c</sup>	-0.60 ± 0.04 <sup>c</sup>	6.50 ± 0.01 <sup>l</sup>
11	94.03 ± 0.02 <sup>f</sup>	-0.85 ± 0.02 <sup>fg</sup>	10.37 ± 0.01 <sup>d</sup>
12	96.37 ± 0.01 <sup>c</sup>	-0.76 ± 0.07 <sup>c</sup>	7.52 ± 0.02 <sup>j</sup>
13	95.28 ± 0.01 <sup>d</sup>	-0.68 ± 0.03 <sup>d</sup>	8.83 ± 0.01 <sup>g</sup>
14	93.06 ± 0.01 <sup>g</sup>	-0.42 ± 0.04 <sup>b</sup>	9.05 ± 0.01 <sup>f</sup>
15	92.95 ± 0.02 <sup>g</sup>	-0.80 ± 0.06 <sup>ef</sup>	12.06 ± 0.02 <sup>a</sup>
16	99.17 ± 0.01 <sup>a</sup>	-0.45 ± 0.03 <sup>b</sup>	2.24 ± 0.02 <sup>o</sup>
F-value	114.50 <sup>****</sup>	157.45 <sup>****</sup>	111361 <sup>****</sup>

<sup>1)</sup>The number of experimental conditions by central composite design.

L value; Degree of lightness (white +100 ↔ 0 black).

a value; Degree of redness (red +100 ↔ -80 green).

b value; Degree of yellowness (yellow +70 ↔ -80 blue).

Values are mean±standard deviation of four replicates.

F-value are \*\*\*\*<.0001.

전체적인 기호도면에서 색의 기호도는 4번, 6번이 4.00 ± 1.00으로 가장 높게 평가되었으나 유의성은 인정되지 않았고, 향의 기호도는 14번이 3.67 ± 1.53으로 가장 높게 평가되었으나 유의성이 인정되지 않았으며, 맛에서도 16, 15번이 각각 3.67 ± 1.16, 3.67 ± 1.53으로 평가되었으나 유의성이 인정되지 않았다. 전체적인 기호도에서 15번이 3.67 ± 0.58로 가장 높게 평가되었으며, 다음으로 4와 16번이 3.33 ± 0.58로 가장 높게 평가되었으며, 10과 13번이 3.33 ± 1.16 순으로 유의성이 인정되었다(<0.05). 다시마 특유의 비린내를 제거하기 위해 감귤과즙을 첨가하였으나 감귤과즙을 첨가하지 않은 16번에서도 높은 점수를 얻은 것을 보면 발효과정 중 생성되는 다양한 유기산이 관능에 좋은 영향을 준 것으로 보이며, 다시마 추출액만 발효에 사용하여도 무난할 것으로 판단된다.

Table 7. Sensory properties of fermented beverage according to kind of experimental conditions

Sample No. <sup>1)</sup>	See tangle characteristics			Citrus characteristics			Taste characteristics			Acceptability			
	Color	Flavor	Taste	Color	Flavor	Taste	Sweetness	Saltiness	Sourness	Color quality	Flavor quality	Taste quality	Overall quality
1	3.67±0.58	3.67±1.16	2.33±1.16	3.00±1.00 <sup>abcd</sup>	3.00±2.00 <sup>ab</sup>	3.00±2.00 <sup>ab</sup>	2.67±2.08 <sup>ab</sup>	2.00±1.00	1.33±0.58 <sup>c</sup>	3.00±1.00	3.00±2.00	2.33±2.31	3.00±2.00 <sup>ab</sup>
2	2.67±1.53	2.67±1.53	2.67±1.16	3.00±1.00 <sup>abcd</sup>	2.33±0.58 <sup>ab</sup>	3.00±1.00 <sup>ab</sup>	2.33±0.58 <sup>ab</sup>	2.67±1.16	2.33±0.58 <sup>de</sup>	3.00±1.00	3.00±0.00	3.00±1.00	2.67±0.58 <sup>ab</sup>
3	2.67±1.53	3.00±1.00	3.00±2.00	1.67±1.16 <sup>d</sup>	1.67±1.16 <sup>b</sup>	2.33±1.16 <sup>b</sup>	2.67±1.53 <sup>ab</sup>	1.33±0.58	2.00±0.00 <sup>b</sup>	2.33±0.58	2.67±1.53	2.33±1.16	2.67±0.58 <sup>ab</sup>
4	1.67±0.58	3.00±1.73	2.67±1.53	4.67±0.58 <sup>a</sup>	2.00±1.00 <sup>b</sup>	3.67±1.53 <sup>ab</sup>	4.00±1.00 <sup>a</sup>	1.33±0.58	2.67±0.58 <sup>cd</sup>	4.00±1.00	3.00±1.00	3.00±1.00	3.33±0.58 <sup>ab</sup>
5	3.33±1.16	4.33±0.58	3.67±1.53	1.33±0.58 <sup>d</sup>	1.33±0.58 <sup>b</sup>	1.67±0.58 <sup>b</sup>	2.00±1.00 <sup>b</sup>	2.67±1.16	4.33±0.58 <sup>ab</sup>	2.67±0.58	2.00±0.00	1.67±0.58	2.00±0.00 <sup>b</sup>
6	3.33±1.16	3.33±0.58	2.33±0.58	4.00±0.00 <sup>ab</sup>	2.67±1.53 <sup>ab</sup>	2.33±1.16 <sup>b</sup>	2.00±1.00 <sup>b</sup>	2.33±0.58	4.00±1.00 <sup>ab</sup>	4.00±1.00	2.67±1.16	1.67±0.58	2.67±0.58 <sup>ab</sup>
7	3.00±1.00	4.00±1.00	3.67±1.53	2.67±0.58 <sup>bcd</sup>	2.67±1.16 <sup>ab</sup>	3.00±1.73 <sup>ab</sup>	2.33±0.58 <sup>ab</sup>	1.33±0.58	4.00±1.00 <sup>ab</sup>	2.67±0.58	2.33±0.58	2.00±0.00	2.33±0.58 <sup>ab</sup>
8	2.00±1.00	3.33±1.53	2.67±0.58	4.00±1.00 <sup>b</sup>	2.00±1.00 <sup>b</sup>	2.67±0.58 <sup>ab</sup>	1.67±1.16 <sup>b</sup>	2.33±0.58	4.33±0.58 <sup>ab</sup>	3.00±0.00	2.67±1.16	2.67±0.58	2.33±0.58 <sup>ab</sup>
9	3.00±1.00	3.33±0.58	3.00±1.00	2.67±1.16 <sup>bcd</sup>	1.67±0.58 <sup>b</sup>	2.00±0.00 <sup>b</sup>	2.33±1.53 <sup>ab</sup>	2.67±2.08	4.33±0.58 <sup>ab</sup>	3.00±0.00	2.67±0.58	2.67±0.58	2.67±0.58 <sup>ab</sup>
10	2.33±0.58	3.00±1.00	3.00±1.00	3.00±1.00 <sup>abcd</sup>	2.67±0.58 <sup>ab</sup>	3.33±0.58 <sup>ab</sup>	2.67±1.53 <sup>ab</sup>	1.33±0.58	2.33±0.58 <sup>de</sup>	3.00±1.00	3.00±1.00	3.67±0.58	3.33±1.16 <sup>ab</sup>
11	3.00±0.00	2.67±1.53	2.67±0.58	2.67±0.58 <sup>bcd</sup>	2.33±0.58 <sup>ab</sup>	2.67±1.53 <sup>ab</sup>	2.00±1.00 <sup>b</sup>	3.00±1.73	4.67±0.58 <sup>a</sup>	3.00±0.00	2.00±1.00	2.33±0.58	2.00±0.00 <sup>b</sup>
12	3.00±1.00	2.67±0.58	2.33±0.58	3.00±1.00 <sup>abcd</sup>	1.67±0.58 <sup>b</sup>	2.00±0.00 <sup>b</sup>	2.67±1.16 <sup>ab</sup>	2.33±0.58	1.67±0.58 <sup>de</sup>	3.00±1.00	1.67±0.58	2.33±0.58	2.33±0.58 <sup>ab</sup>
13	2.33±0.58	2.67±1.16	1.67±0.58	3.00±1.00 <sup>abcd</sup>	2.67±1.53 <sup>ab</sup>	3.00±1.00 <sup>ab</sup>	3.67±0.58 <sup>ab</sup>	1.67±0.58	3.33±0.58 <sup>bc</sup>	2.67±0.58	2.33±1.16	2.67±1.16	3.33±1.16 <sup>ab</sup>
14	3.33±0.58	3.00±0.00	3.67±1.53	2.67±1.53 <sup>abcd</sup>	3.33±1.53 <sup>ab</sup>	2.33±1.16 <sup>b</sup>	2.33±1.16 <sup>ab</sup>	3.00±2.00	1.67±0.58 <sup>de</sup>	3.00±1.00	3.67±1.53	2.00±1.00	3.00±1.00 <sup>ab</sup>
15	3.00±2.00	3.33±1.53	2.33±2.31	4.67±0.58 <sup>a</sup>	4.00±1.00 <sup>a</sup>	4.33±1.16 <sup>a</sup>	4.00±1.00 <sup>a</sup>	2.67±2.08	3.33±0.58 <sup>bc</sup>	3.67±1.53	3.33±0.58	3.67±1.53	3.67±0.58 <sup>a</sup>
16	3.67±1.53	3.00±1.00	3.00±2.00	3.33±0.58 <sup>abc</sup>	3.00±1.00 <sup>ab</sup>	3.00±1.00 <sup>ab</sup>	4.00±0.00 <sup>a</sup>	3.00±1.00	3.33±0.58 <sup>bc</sup>	3.67±1.53	3.33±0.58	3.67±1.16	3.33±0.58 <sup>ab</sup>
F-value	0.80	0.56	0.51	3.09**	1.22*	1.04*	1.36*	0.86	9.40****	0.86	0.82	1.22*	1.16*

F-value are \*<5 \*\*<01, \*\*\*<001, \*\*\*\*<0001.

## 요 약

중심합성계획법을 이용한 반응표면분석에 따라 다시마 추출액으로 tea fungus 발효 특성을 모니터링 하였으며, 그 발효액의 관능적 검사를 하였다. 그 결과, 다시마추출액을 이용한 산형 발효 음료 제조시 산도는 0.0318~0.8904, pH는 0.64~2.18, 당도는 0.6~8.0 및 겔 두께는 0~17.5 mm 등으로 처리구에 따라 큰 변화가 있었으며, 산의 함량이 가장 높은 처리구는 알코올 함량 2.00%, 당 함량 10.17% 및 감귤과즙 함량 1.99%이었고, 그때 예측된 산도는 0.94였다. 부수적으로 배양액 표면에 생성되는 겔은 알코올 함량 1.98%, 당 함량 10.94% 및 감귤과즙 함량이 1.62%일때 최대치 20.13 mm를 나타내었다. 겔이 생성될 때 다량의 유기산이 소모되므로 적정량의 유기산을 함유한 발효액을 수거하기 위해서는 겔의 생성을 저해하면서 발효액의 유기산을 확보할 수 있는 방법이 고안되어야 할 것으로 사료된다. 관능검사 결과, 전체적인 기호도에서는 알코올 함량 1.0%, 당 함량 10.0%, 감귤과즙 4.0% 첨가구가 3.67 ± 0.58로 가장 높게 평가되었다. 감귤과즙 첨가 유무는 기호도에 크게 영향을 주지 않는 것으로 보이며 다시마 추출액만 이용하여 발효하여도 다시마 특유의 비린내는 사라지고 발효가 진행되면서 생성되는 유기산에 의해 마시기에 적절한 발효액이 될 것으로 판단된다.

## 참고문헌

- Kim, M.K., Kim, M.Y., Youn, E.K. and Kim, S.D. (2002) Extraction of citrus bioflavonoid with vinegars and effect on blood pressure. Korean J. Food Preserv., 9, 411-417
- Yoon, T.J., Yoo, Y.C., Kang, T.B., Lee, K.H., Kwak, J.H., Baek, Y.J., Huh, C.S. and Kim, J.B. (1999) Fermented extracts of korean mistletoe with *Lactobacillus* (FKM-110) stimulate macrophage and inhibit tumor metastasis. Korean J. Food Sci. Technol., 31, 838-847
- Kim, M.J. and Kim, G.R. (2006) In vitro evaluation of cholesterol reduction by lactic acid bacteria extracted from kimchi. Korean J. Culinary Res., 12, 259-268
- Yang, J.O., Yoo, C.J., Kim, J.O. and Che, M.E. (1999) Utilization fermented tea-fungus beverage for the sports drink. Korean J. Phys. Edu., 38, 277-293
- 백영진. (1993) 유산균과 건강. 한국식품영양학회지 제 14권, p.29-44
- Steinkarus, K.H. (1994) Nutritional significances of fermented food. Food Res. Int., 27, 259-267.
- Choi, M.E. (1995) A study on fermentation of black tea beverage by tea fungus. PhD Dissertation. Catholic University of Daegu.



8. Dufresne, C. and Farnworth, E. (2000) Tea, Kombucha, and health: a review. *Food Res. Int.*, 33, 409-421
9. Koh, K.B. (2000) Effect of tea fungus/kombucha beverage on serum and liver lipids metabolism in rats. *Nutr. Sci.*, 33, 497-501
10. Yang, J.O. (1999) The effects of consumption of tea fungus beverage on the serum lipid. *Korean J. Exercise Nutr.*, 7th, 41-58
11. Ito, K. and Tsuchiya, Y. (1972) The effect of algal polysaccharides on the depressing of plasma cholesterol levels in rat. In *Proc. of 7th Int. Seaweed Symp.* Nishizawa K, ed. Univ. Tokyo Press, Japan. 558-561
12. Kim, J.H., Mok, J.S. and Park, H.Y. (2005) Trace metal contents in seaweeds from Korean coastal area. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 34, 1041-1051
13. Cho, D.M., Kim, D.S., Lee, D.S., Kim, H.R. and Pyeun, J.H. (1995) Trace components and functional saccharides in seaweed-2. *J. Korean Fish. Soc.*, 28, 270-278
14. Kim, H.S. and Kim, G.J. (1998) Effects of the feeding *Hijikia fusiforme*(Harvey) Okamura on lipid composition of serum in dietary hyperlipidemic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 27, 718-723
15. Lee, K.S., Choi, Y.S. and Seo, J.S. (2004) Sea tangle supplementation lowers blood glucose and supports antioxidant systems in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Med. Food.* 7, 130-135
16. Jo, K.S., Do, J.R. and Koo, J.G. (1998) Pretreatment conditions of *Porphyra yezoensis*, *Undaria pinnatifida* and *Laminaria religiosa* for functional algae-tea. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 27, 275-280
17. Jung, Y.H., Kim, G.B., Choe, S.N. and Kang, Y.J. (1994) Preparation of mook with sea mustard and sea tangle -1. The optimum conditions of sea mustard and sea Tangle mooks. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 23, 156-163
18. Kim, S.J., Moon, J.S., Kim, J.M., Kang, S.G. and Jung, S.T. (2004) Preparation of jam using undaria pinnatifida sporophyll. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 33, 598-602
19. Lee, E.H., Cha, Y.J., Kim, J.G. and Kwon, C.S. (1983) Studies on the processing and utilization of seaweeds -1. Preparation of powdered sea mustard, undaria pinnatifida, mixtures for juice type beverage. *Korean J. Food Nutr.*, 12, 382-386
20. Kang, Y.J., Ryu, K.T. and Kim, H.S. (1996) Preparation of cellular liquid from brown seaweeds for functional tonic products. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 25, 94-103
21. Kim, K.E., Choi, O.S., Lee, Y.J., Kim, H.S. and Bae, T.J. (2001) Processing of vinegar using the sea tangle(*Laminaria japonica*) extract. *Korean J. Life Sci.*, 11, 211-217
22. Kana, I., Tojiro, T., Yoko, T., Nobuji, N. and Junji, T. (1995) Antioxidative activity of quercetin and quercetin monoglucosides in solution and phospholipid bilayers. *Biochem. Biophys. Acta.*, 1234, 99-104
23. Marie, H.S., Jole, L., Marie, C., Canivenc, L., Patrick, R. and Marc, S. (1995) Heterogenous effects of natural flavonoids on monooxygenase activities in human and rat liver microsomes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 130, 73-78
24. Bok, S.H., Lee, S.H., Park, Y.B., Bae, K.H., Son, K.H., Jeong, T.S. and Choi, M.S. (1999) Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase and acyl CoA: cholesterol transferase are lower in rat fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. *J. Nutr.*, 129, 1182-1185
25. Lee, J.K., Choi, H.S., Yoon, S.K. and Kim, W.J. (1993) Effect of extraction temperature on some quality of sea tangle extract. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 22, 771-776
26. Jung, J.Y., Hur, S.S. and Choi, Y.H. (1999) Studies on the efficient extraction process of alginic acid in sea tangle. *Food Eng. Prog.*, 3, 90-97
27. Park, E.J. (2002) Isolation of pellicle producing bacterium in fermentation system by tea fungus and establishment of the optimum medium composition for gel production. MS Thesis. Catholic University of Daegu.
28. AOAC. (1980) Official methods of analysis. 13th ed. Association of official analytical chemists, Washington DC. p180
29. Park, S.H. (1991) Modern experimental design method. Minyungsa, Seoul, p547-561
30. Jeong, J.S. (2001) Acidic beverage fermentation by tea fungus and anti-microbial activity of the fermented beverage. MS Thesis. Catholic University of Daegu.
31. Chen, C. and Liu, B.Y. (2000) Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation. *J. Appl. Microbiol.*, 89, 834-839
32. Choi, K.H., Jeong, J.S., Moon, C.H. and Kim ML. (2004) Effect of carbon source supplement on the gel production from citrus juice by *Gluconacetobacter hancenii* TL-2C. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 33, 170-175
33. Lee, O.S., Jang, J.Y. and Jeong, Y.J. (2003) Effect of ethanol on the production of cellulose and acetic acid by *Gluconacetobacter persimonensis* KJ145. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 32, 181-184