

## 미생물을 이용한 후발효차의 발효기간별 항산화 성분 및 활성의 변화

김용식<sup>1</sup> · 조철훈<sup>2</sup> · 최구희<sup>1</sup> · 이경행<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>충주대학교 식품영양학과  
<sup>2</sup>충남대학교 동물자원생명과학과

### Changes of Antioxidative Components and Activity of Fermented Tea during Fermentation Period

Yong-Shik Kim<sup>1</sup>, Cheorun Jo<sup>2</sup>, Goo-Hee Choi<sup>1</sup>, and Kyung-Haeng Lee<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food and Nutrition, Chungju National University, Chungbuk 368-701, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Animal Science and Biotechnology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

#### Abstract

Changes of antioxidative components and activity of fermented tea manufactured by *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, and *Lactobacillus bulgaricus* were evaluated during the fermentation period. The ascorbic acid content in the fermented tea was relatively lower (43.62~62.84 mg%) than that of green tea (66.74 mg%) during the entire fermentation period. The tea fermented by *L. bulgaricus*, which had the least contact with air, showed less change in ascorbic acid content. The polyphenol content of green tea was 14.88%, whereas that of fermented tea was 11.54~14.12% and it decreased during the fermentation period. The amount of flavonoids in green tea was 7.78 mg%, whereas that of fermented tea was 4.33~7.88 mg%. DPPH radical scavenging activity and ABTS reducing activity of green tea were 87.47% and 203.22 AEAC mg% (ascorbic acid equivalent antioxidant capacity), respectively, whereas those of fermented tea were lower than green tea. Results indicated that the antioxidative components and activity of fermented tea were lower than those of green tea during the fermentation period. But, when the sensory and hygienic quality are considered, fermented tea can be one of the higher quality tea products on the market.

Key words: fermented tea, antioxidant, green tea

#### 서 론

산업화의 진척에 따른 환경오염의 증가로 건강과 식품의 안전성에 대한 인식이 증대되면서 현대인들은 건강증진과 마음의 풍요를 동시에 즐길 수 있는 차를 더욱 선호하고 있다. 이로 인하여 최근 국내 차 시장은 빠르게 성장하고 있으며(1) 차의 생리활성 작용이 과학적으로 증명되고 상쾌한 향과 제조 과정 중 생성되는 독특한 향으로 인하여 많이 응용되는 기호식품으로 자리매김하였으며 소비자의 관심 또한 높아지고 있다(2). 또한 현대의 차는 단순히 마시는 기호 음료로서의 용도 이외에도 차를 이용한 생활용품, 요리, 식품 등 새로운 기능성 소재로서도 널리 이용되고 있는 등 차에 대한 일반인들의 인식이 크게 변화·확대되고 있다(1).

차는 크게 제조 방법에 따라 불발효차(녹차 등), 반발효차(10~65% 발효, 백차, 황차, 우롱차 등), 발효차(85% 이상 발효, 홍차 등) 및 후발효차(보이차 등)로 분류한다. 그중 후발효차는 녹차의 제조방법과 같이 효소를 파괴시킨 뒤, 찻잎을 퇴적하여 공기 중에 있는 미생물의 번식을 유도해 미생물

에 의한 발효가 진행되도록 하여 만든 차(미생물 발효차)를 말한다(3,4).

대표적인 후발효차 중의 하나인 보이차는 홍차, 녹차와는 달리 일반적으로 중국 운남성의 대엽종 차나무(*Camelia sinensis* (L.) O. Kuntze)의 찻잎으로 제조되며, 일부는 사천 지방의 중엽종으로도 제조된다. 제조과정은 독특하게 *Aspergillus* 속과 *Penicillium* 속 등의 미생물을 번식시켜 이 미생물이 분비하는 효소에 의해 발효가 진행된다(3). 녹차는 저장기간이 지남에 따라 가용성분이 감소하고 이에 따라 녹차 특유의 떫은맛과 단 뒷맛이 없어지게 되는 반면, 후발효차는 보존 중에 가용성분이 증가함에 따라 감칠맛이 증가하게 되는데(5) 이것이 저장기간이 긴 후발효차가 가지는 인기의 이유라 생각된다.

한편, 우리나라에서는 차에 대한 대부분의 연구가 녹차를 중심으로 이루어졌으며(6-8) 발효차 또는 후발효차에 대한 연구는 아직 미미한 실정이다. 또한 식품의약품안전청 연구결과(9)에서 곰팡이 독소 및 식중독균에 오염된 후발효차가 많다고 발표하는 등 후발효차에 대한 안전성 확보 문제가

\*Corresponding author. E-mail: leekh@cjnu.ac.kr  
Phone: 82-43-820-5334, Fax: 82-43-820-5272

대두되고 있다.

전보(10)에서 본 연구자들은 위생적으로 안전성이 확보된 후발효차를 개발하기 위하여 식품 또는 식품첨가물로서 직접 사용이 가능한 *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* 및 *Lactobacillus bulgaricus* 3종을 선정하여 후발효차를 제조하였을 때 *B. subtilis*를 이용한 후발효차에서 색을 제외한 맛, 향 및 종합적 기호도 즉 관능적 평가에서 시판 보이차에 비하여 우수한 제품을 제조할 수 있었으며 위생화된 후발효차 개발이 가능한 것으로 판단되었다.

따라서 본 연구에서는 기호성을 갖는 후발효차를 제조하는 과정 중 녹차가 가지는 기능성 중의 하나인 항산화 활성이 변화되는지를 확인하기 위하여 항산화 성분 및 활성을 측정하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 시료는 2008년도 06월 제주도 서광다원에서 재배된 녹차 중 아미노산 함량이 2.7% 이상인 옥목차를 이용하여 후발효 공정을 진행하였다. 후발효를 위해 사용된 균주로는 Amore Pacific 기술연구원(Yongin, Korea)에서 *B. subtilis*, *S. cerevisiae*, *L. bulgaricus*를 분양받아 사용하였다(10).

### 균주별 후발효차의 제조

후발효차의 제조는 전보(10)와 마찬가지로 녹차에 선택된 균주와 차엽의 수분함량이 37~40% 되도록 멸균 증류수를 공급하여 발효를 진행하였다. 즉 녹차를 발효시키기 위해 멸균 처리가 된 비닐팩에 녹차와 멸균 증류수에 각각의 균주 ( $1.5 \times 10^7$  CFU/g)를 용해시킨 조성물을 6:4(w/w)의 비율로 수분평형이 될 수 있도록 충분히 혼합시킨 후 incubator에서 발효시켰다. 이때 *B. subtilis* 처리군은 50°C에서, *S. cerevisiae*는 30°C에서 발효시켰으며 *L. bulgaricus* 처리군은 진공포장기를 이용하여 비닐팩을 험기 상태로 만들어 준 후 30°C에서 발효시켰다. 시료는 1일, 4일, 7일, 10일, 15일, 20일 동안 발효를 진행하면서 채취하였으며 채취 후 수분 함량이 2%가 되도록 건조 과정을 거친 후 밀봉 충전봉투(12×21 cm, 100 μm, Samji, Ansan, Korea)에 넣어 보관하면서 실험에 사용하였다. 대조군으로는 발효시키지 않은 원료 녹차를 사용하여 후발효차와 비교하였다.

### Ascorbic acid 함량 변화

*B. subtilis*, *S. cerevisiae* 및 *L. bulgaricus*를 이용하여 발효기간별로 발효시킨 후발효차에 존재하는 ascorbic acid의 함량은 Park 등(11)의 방법에 따라 측정하였다. 시료 추출은 시료 3.0 g에 95°C의 물을 120 mL 넣어 정확히 3분 동안 용출시킨 후 시료로 사용하였다. 즉 시료 0.2 mL에 10% TCA 용액 0.8 mL를 넣어 3,000 rpm에서 5분 동안 원심분리하고 상등액 0.5 mL, 증류수 1.5 mL 및 10% folic phenol

reagent 0.2 mL를 차례대로 넣은 후 혼합하고 실온에서 10분간 방치하고 760 nm에서 흡광도를 측정하여 ascorbic acid의 함량을 측정하였다. 표준물질로는 L-ascorbic acid(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하였다.

### Polyphenol 화합물의 함량 변화

위생적인 후발효차를 제조하기 위하여 *B. subtilis*, *S. cerevisiae* 및 *L. bulgaricus*를 녹차에 접종하고 발효기간별로 발효시킨 후 후발효차의 polyphenol 화합물의 함량은 AOAC법(12)에 따라 측정하였다. 즉 시료 1 mL에 0.5 mL의 Folin-Denis 시약과 1 mL의 포화  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 용액, 7.5 mL의 증류수를 차례로 혼합하여 30분 경과한 뒤 760 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 표준물질로는 gallic acid(Sigma Chemical Co.)를 사용하였다.

### Flavonoid 화합물 함량 변화

발효기간별로 발효시킨 후발효차의 flavonoid 화합물의 함량 측정은 Moreno 등(13)의 방법에 의해 측정하였다. 즉 시료 0.1 mL에 80% ethanol 0.9 mL를 가하여 이 혼합액 0.5 mL에 10% aluminium nitrate 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL 및 80% ethanol 4.3 mL를 각각 가하였다. 위 반응액을 상온에서 40분간 방치한 후 415 nm에서 흡광도 값을 측정하였다. 표준물질로는 quercetin(Sigma Chemical Co.)을 사용하였다.

### DPPH 전자공여능 측정

*B. subtilis*, *S. cerevisiae* 및 *L. bulgaricus*를 이용하여 발효기간별로 발효시킨 후발효차의 전자공여능 측정은 Blois(14)의 방법을 이용하여 측정하였다. 즉 추출 시료 2 mL를 0.2 mM DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Sigma Chemical Co.) 2 mL와 혼합한 후, 실온에서 30분 방치시킨 후, 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며 전자공여능(electron donating ability, %)은 다음 식에 의하여 산출하였다.

$$\text{Electron donating ability (EDA, \%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

### ABTS radical cation decolorization 측정

*B. subtilis*, *S. cerevisiae* 및 *L. bulgaricus*를 이용하여 발효기간별로 발효시킨 후발효차의 ABTS radical cation decolorization 측정은 Robert 등(15)의 방법을 이용하였다. 7.4 mM ABTS(2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), Sigma Chemical Co.)와 2.6 mM potassium persulphate를 제조한 후, 암소에 하루 동안 방치하여 양이온(ABTS<sup>+</sup>)을 형성시킨 후, 734 nm에서 흡광도를 측정하여 흡광도 값이 1.5 이하가 되도록 희석하고 희석된 ABTS<sup>+</sup>용액 1 mL에 시료 20 μL를 가하여 흡광도의 변화를 정확히 30분 후에 측정하였다. 0.1 mM ascorbic acid를 이용하여 표준곡선을 작성한 후 시료의 항산화력(AEAC, ascorbic acid equivalent antioxidant capacity, mg%)을 계산하였다.

통계처리

본 시험에서 얻어진 결과는 SPSS 14.0(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) program을 사용하여 각 실험구간의 유의성을 검증한 후 Duncan's multiple range test에 의해 실험군 간의 차이를 분석하였다.

결과 및 고찰

Ascorbic acid 함량 변화

위생적인 후발효차를 제조하기 위하여 *B. subtilis*, *S. cerevisiae* 및 *L. bulgaricus*를 녹차에 접종하고 발효기간별로 발효시킨 후발효차의 ascorbic acid의 함량 변화를 측정 한 결과는 Table 1과 같다. 녹차의 경우, 66.74 mg%로 가장 많은 함량을 함유하여 이미 알려진 바와 같이 항산화 활성이 높을 것으로 판단되었다. *B. subtilis* 균에 의한 발효차는 48.20~51.39 mg% 정도였으며 *S. cerevisiae* 균에 의한 발효차는 43.62~51.75 mg%, *L. bulgaricus* 균에 의한 발효차는 53.28~62.84 mg%로 발효기간 내내 균종에 관계없이 녹차의 ascorbic acid의 함량에 비하여는 다소 낮은 함량을 보였고 산소와의 접촉을 최소화한 *L. bulgaricus* 균에 의한 발효가 비교적 함량 변화가 적은 것으로 나타났다. 이와 같이 ascorbic acid의 함량이 기존 녹차보다 발효가 진행됨에 따라 감소하는 이유는 발효 및 건조과정 등을 거치는 과정에서 산소와의 접촉, 산화 등에 의하여 감소하는 것으로 판단되었다.

Kim 등(16)은 산지별 시판 녹차의 ascorbic acid의 함량을 측정한 결과, 112.37~257.52 mg%라고 하여 본 실험 결과와 비교할 때 비교적 많은 함량의 차이를 볼 수 있는데 이와 같은 이유는 본 실험에서는 시료 3.0 g에 95°C의 물을 120 mL 넣어 3분 동안 용출시킨 후 실험하였기 때문에 Kim 등(16)의 방법보다는 적은 함량을 보이는 것으로 사료되었다.

한편 Park 등(1)은 후발효차인 보이차의 품질 및 보존기

간 판별을 위하여 ascorbic acid의 함량을 측정한 결과, 녹차나 우롱차에서는 ascorbic acid가 다량 검출되나 보이차에서는 검출되지 않았고 이는 제조과정 및 보존과정 중 ascorbic acid가 산화되었기 때문이라고 하여 본 결과와 유사한 경향이였다.

Polyphenol 화합물의 함량 변화

후발효차 발효기간에 따른 차의 품질을 결정하는 중요한 인자인 polyphenol 화합물의 함량 변화를 측정한 결과는 Table 2와 같다. 초기 녹차의 polyphenol 화합물의 함량은 14.88%였으며 발효가 진행됨에 따라 *B. subtilis* 균의 발효는 11.54~12.77%, *S. cerevisiae* 균의 발효는 11.58~12.88%, *L. bulgaricus* 13.34~14.12%로 *L. bulgaricus*에 의한 발효가 가장 감소폭이 적은 것으로 나타났다. 그러나 대체적으로 발효 균주에 관계없이 발효가 진행됨에 따라 점점 polyphenol 화합물의 함량은 감소하는 것으로 판단되었다.

Park 등(1)은 보이차의 품질 및 보존기간 판별을 위한 평가에서 polyphenol 화합물의 함량을 측정한 결과, 약 7.7~9.5% 수준으로 보이차의 보존기간이나 등급에 관계없이 현저한 차이를 보이지 않았다고 하였으나 본 실험에서는 미생물을 이용한 후발효차 제조 직후 측정 한 것으로써 보존기간이 참고자료와 많은 차이를 가지고 있어 polyphenol 화합물의 함량에 차이를 보이는 것으로 판단되었다.

Polyphenol 화합물이 지나치게 많으면 감칠맛이 적고 쓰며 떫은맛이 강해져 풍미를 저하시키는 원인이 되기도 하며, 공기 중에서 polyphenol oxidase에 의해 쉽게 산화되어 갈변의 원인으로 작용한다. 일부는 흑갈색 불용성 물질을 만들어 polyphenol 화합물의 양이 감소되고 떫은맛이나 쓴맛이 없어지기도 한다(17). 또한 Woo 등(18)은 녹차의 polyphenol 화합물이 혈압예방, 통풍 및 미백효과 기능이 있다고 하였다. Liu(19)의 보고에 의하면 녹차에서의 polyphenol 화합물의 함량이 10~24%라고 하여 본 연구의 후발효차에서도 polyphenol 화합물의 함량이 그 범위 안에 있는 것으로 보아

Table 1. Changes in ascorbic acid contents of microbial fermented tea during fermentation period (unit: mg%)

Treatment <sup>1)</sup>	Fermentation period (days)						
	0	1	4	7	10	15	20
<i>B. subtilis</i>	66.74±0.38 <sup>aA2)</sup>	50.28±0.35 <sup>cC</sup>	49.98±0.73 <sup>bC</sup>	48.51±0.20 <sup>bD</sup>	48.26±0.42 <sup>bD</sup>	48.20±0.35 <sup>bD</sup>	51.39±0.27 <sup>bB</sup>
<i>S. cerevisiae</i>	66.74±0.38 <sup>aA</sup>	51.75±0.30 <sup>bB</sup>	48.13±0.36 <sup>cD</sup>	47.38±0.85 <sup>bD</sup>	43.62±0.46 <sup>eE</sup>	48.75±0.46 <sup>bC</sup>	48.69±0.28 <sup>cC</sup>
<i>L. bulgaricus</i>	66.74±0.38 <sup>aA</sup>	58.20±0.36 <sup>aD</sup>	61.86±0.71 <sup>aB</sup>	59.42±0.50 <sup>aC</sup>	53.28±1.06 <sup>aE</sup>	53.85±0.31 <sup>aE</sup>	62.84±0.22 <sup>aB</sup>

<sup>1)</sup>Fermented tea using microorganism.

<sup>2)</sup>Values with different superscripts within the same column (a-c) and row (A-E) were significantly different (p<0.05).

Table 2. Changes in polyphenol compounds contents of microbial fermented tea during fermentation period (unit: %)

Treatment <sup>1)</sup>	Fermentation period (days)						
	0	1	4	7	10	15	20
<i>B. subtilis</i>	14.88±0.06 <sup>aA2)</sup>	12.77±0.21 <sup>bB</sup>	12.71±0.27 <sup>bB</sup>	12.63±0.11 <sup>bB</sup>	11.54±0.16 <sup>cC</sup>	11.59±0.11 <sup>bC</sup>	11.57±0.17 <sup>bC</sup>
<i>S. cerevisiae</i>	14.88±0.06 <sup>aA</sup>	12.88±0.03 <sup>bB</sup>	12.85±0.26 <sup>bB</sup>	12.39±0.19 <sup>bC</sup>	12.50±0.09 <sup>bC</sup>	11.71±0.16 <sup>bD</sup>	11.58±0.09 <sup>bD</sup>
<i>L. bulgaricus</i>	14.88±0.06 <sup>aA</sup>	14.12±0.35 <sup>aB</sup>	13.78±0.11 <sup>aBC</sup>	13.34±0.27 <sup>aD</sup>	13.66±0.12 <sup>aCD</sup>	13.83±0.10 <sup>aBC</sup>	13.91±0.14 <sup>aBC</sup>

<sup>1)</sup>Fermented tea using microorganism.

<sup>2)</sup>Values with different superscripts within the same column (a-c) and row (A-D) were significantly different (p<0.05).

녹차와도 견주어 볼 때 polyphenol 화합물에 의한 기능성 효과는 유사할 것으로 판단된다.

#### Flavonoid 화합물 함량 분석

Flavonoid는 차의 기능적인 우수성을 제시하는 지표 인자 중 하나로 인식되고 있어 후발효차 제조 과정 중 발효의 진행 정도에 따른 flavonoid의 함량 변화를 측정하였으며 그 결과는 Table 3과 같다. 실험에 사용한 녹차의 flavonoid 함량은 7.78 mg%였으며 미생물을 이용한 후발효차의 경우에는 세 균주 모두 발효가 시작되면서 flavonoid 함량은 감소하였다가 발효기간이 증가하면서 다시 서서히 증가하는 경향이 있었다. 그러나 실험에 적용한 발효기간 동안의 flavonoid 함량은 녹차보다는 적은 것으로 나타나 발효 초기 및 후기에서의 flavonoid의 함량 차이에 관한 연구는 좀 더 체계적인 연구가 이루어져야 할 것으로 판단되었다.

Jeong 등(20)은 국내 시판 차에서 가장 많이 함유되어 있는 플라보놀 성분은 차의 종류에 관계없이 quercetin이었고, 그 함량은 우롱차, 녹차, 홍차, 보이차 추출물 순으로 나타났고, 총 플라보놀 함량에서도 우롱차(242.99 mg/100 g) 열수 추출물에 가장 많이 함유되었으며, 녹차(242.74 mg/100 g), 홍차(185.9 mg/100 g) 및 보이차(168.42 mg/100 g) 열수 추출물 순이었다고 하여 본 실험에서도 초기 녹차보다 낮은 플라보노이드 함량을 확인함으로써 기존 연구 결과와 동일함을 확인할 수 있었다. 다만 flavonoid 함량의 차이는 Jang 등(21)의 결과와 비교해볼 때 녹차를 98.48°C에서 6.03분 추출하였을 때 8.51 mg%의 flavonoid가 추출되어진다고 하여 본 결과와 거의 일치하였으나 Jeong 등(20)의 결과와 비교할 때 많은 함량의 차이는 추출 방법의 차이인 것으로 사료되었다.

Flavonoid의 생리활성 작용으로 가장 주목 받는 것 중의 하나는 항산화 작용으로 유리기에 수소원자를 공여하여 생체 내에서 산화 스트레스에 의해서 과잉으로 생성된 활성 산소 등의 자유 라디칼의 생성을 억제시킴으로써 항산화 작

용을 발휘하는 것으로 알려져 있다(22).

#### DPPH 전자공여능

위생적인 후발효차를 제조하기 위하여 *B. subtilis*, *S. cerevisiae* 및 *L. bulgaricus*를 각각 녹차에 접종하고 발효 과정 중 DPPH 전자공여능의 변화를 측정된 결과는 Table 4와 같다. 발효기간에 따른 전자공여능을 측정된 결과, 발효 전 87.47%의 전자공여능을 가진 녹차는 발효 1일차에는 *B. subtilis*에 의해 65.47%, *S. cerevisiae* 균의 발효는 65.13%, *L. bulgaricus* 균의 발효는 66.67%로 세 균주 모두 급격히 감소하였다. 그러나 발효기간이 증가하면서 서서히 증가하여 발효 20일에는 *B. subtilis* 균에 의한 발효에서 75.02%, *S. cerevisiae* 균의 발효는 61.04%, *L. bulgaricus* 균의 발효는 71.10%를 나타내었다. 이와 같은 결과로 보면 녹차의 항산화 활성이 매우 뛰어나도록 다시 한 번 확인할 수 있었으며 후발효차는 녹차보다는 다소 낮은 활성이지만 항산화 활성이 현저히 감소하지는 않은 것으로 판단되었다.

Son 등(22)의 연구에서 녹차와 후발효차 추출물의 hydroxyl radical의 소거 효과를 확인 해본 결과, 녹차추출물이 후발효차 추출물보다 높게 나왔으며,  $\beta$ -carotene-linoleate system을 이용하여 농도의 변화에 따른 항산화 효과를 측정된 결과에 따르면 녹차 추출물이 후발효차의 항산화 효과보다 5% 정도 높게 나타났다고 하여 본 실험에서도 초기 녹차보다 발효과정을 거친 후발효차의 항산화 활성이 낮은 것으로 나타나 일치하는 결과를 확인할 수 있었다.

또한 Park 등(1)은 후발효차인 보이차의 DPPH 전자공여능을 측정된 결과, 실험에 사용한 보이차 모두 녹차나 우롱차보다 활성이 낮은 것으로 나타났으며 이는 보이차의 발효와 보존기간 동안 카테킨류를 포함한 vitamin E 및 vitamin C 등의 항산화 화합물들이 산화되었기 때문이라고 하여 본 결과에서의 항산화 활성을 갖는 성분들과 DPPH 전자공여능의 결과들을 뒷받침하였다.

Table 3. Changes in flavonoid contents of microbial fermented tea during fermentation period

(unit: mg%)

Treatment <sup>1)</sup>	Fermentation period (days)						
	0	1	4	7	10	15	20
<i>B. subtilis</i>	7.78±0.4 <sup>aA2)</sup>	4.63±0.36 <sup>aB</sup>	5.26±0.31 <sup>aB</sup>	5.38±0.49 <sup>aB</sup>	5.87±1.26 <sup>aB</sup>	7.88±0.84 <sup>aA</sup>	7.55±0.31 <sup>aA</sup>
<i>S. cerevisiae</i>	7.78±0.47 <sup>aA</sup>	4.33±0.28 <sup>aC</sup>	4.52±0.08 <sup>bC</sup>	4.56±0.14 <sup>aC</sup>	4.35±0.08 <sup>aC</sup>	5.96±0.28 <sup>bB</sup>	5.57±0.38 <sup>bB</sup>
<i>L. bulgaricus</i>	7.78±0.47 <sup>aA</sup>	4.53±0.13 <sup>aD</sup>	4.70±0.22 <sup>bCD</sup>	4.87±0.48 <sup>aCD</sup>	5.23±0.18 <sup>aC</sup>	5.09±0.12 <sup>bCD</sup>	6.93±0.25 <sup>aB</sup>

<sup>1)</sup>Fermented tea using microorganism.

<sup>2)</sup>Values with different superscripts within the same column (a,b) and row (A-D) were significantly different (p<0.05).

Table 4. Changes in DPPH radical-scavenging of microbial fermented tea during fermentation period

(unit: %)

Treatment <sup>1)</sup>	Fermentation period (days)						
	0	1	4	7	10	15	20
<i>B. subtilis</i>	87.47±0.60 <sup>aA</sup>	65.47±0.66 <sup>abF</sup>	67.35±0.38 <sup>aE</sup>	68.88±0.56 <sup>aD</sup>	70.84±0.71 <sup>aC</sup>	71.18±0.34 <sup>aC</sup>	75.02±0.55 <sup>aB</sup>
<i>S. cerevisiae</i>	87.47±0.60 <sup>aA</sup>	65.13±0.56 <sup>bB</sup>	62.32±0.44 <sup>bC</sup>	61.30±0.55 <sup>cCD</sup>	61.89±0.61 <sup>bCD</sup>	59.08±0.68 <sup>cE</sup>	61.04±0.51 <sup>cD</sup>
<i>L. bulgaricus</i>	87.47±0.60 <sup>aA</sup>	66.67±0.67 <sup>aD</sup>	68.12±0.76 <sup>aC</sup>	67.60±0.59 <sup>bCD</sup>	71.95±0.59 <sup>aB</sup>	67.60±0.74 <sup>bCD</sup>	71.10±0.48 <sup>bB</sup>

<sup>1)</sup>Fermented tea using microorganism.

<sup>2)</sup>Values with different superscripts within the same column (a-c) and row (A-F) were significantly different (p<0.05).

Table 5. Changes in ABTS ·<sup>+</sup> cation decolorization assay activities of microbial fermented tea during fermentation period (unit: AEAC, ascorbic acid equivalent antioxidant capacity, mg%)

Treatment <sup>1)</sup>	Fermentation period (days)						
	0	1	4	7	10	15	20
<i>B. subtilis</i>	203.22±0.52 <sup>aA2)</sup>	156.63±0.56 <sup>aD</sup>	155.86±0.72 <sup>bD</sup>	156.21±1.20 <sup>bD</sup>	158.76±0.91 <sup>aC</sup>	158.52±0.92 <sup>aC</sup>	169.78±0.83 <sup>bB</sup>
<i>S. cerevisiae</i>	203.22±0.52 <sup>aA</sup>	158.95±0.10 <sup>aB</sup>	135.60±1.70 <sup>cE</sup>	138.30±1.07 <sup>cD</sup>	119.98±1.33 <sup>bG</sup>	122.48±0.90 <sup>bF</sup>	143.10±0.65 <sup>cC</sup>
<i>L. bulgaricus</i>	203.22±0.52 <sup>aA</sup>	160.96±3.85 <sup>aE</sup>	180.84±1.75 <sup>aC</sup>	170.66±1.39 <sup>aD</sup>	159.69±0.66 <sup>aE</sup>	159.35±4.30 <sup>aE</sup>	196.49±2.07 <sup>aB</sup>

<sup>1)</sup>Fermented tea using microorganism.

<sup>2)</sup>Values with different superscripts within the same column (a-c) and row (A-G) were significantly different ( $p < 0.05$ ).

### ABTS 항산화 활성

*B. subtilis*, *S. cerevisiae* 및 *L. bulgaricus*를 이용하여 발효기간별로 발효시킨 후발효차의 ABTS 항산화 활성의 변화를 측정 한 결과는 Table 5와 같다. 녹차의 ABTS 항산화 활성은 203.22 AEAC였으며 *B. subtilis*에 의한 발효차는 155.86~169.78 AEAC mg% 정도였으며 *S. cerevisiae*에 의한 발효차는 119.98~143.10 AEAC mg%, *L. bulgaricus*에 의한 발효차는 159.35~196.49 AEAC mg%로 발효기간 내 세 균주 모두 녹차에 비하여 낮은 활성을 보였고 산소와의 접촉이 적었던 *L. bulgaricus* 균에 의한 발효차가 가장 적은 변화를 보이는 것으로 사료되었다.

각 시료 발효기간별 ascorbic acid의 함량(Table 1)과 ABTS 항산화 활성과의 상관관계를 분석한 결과, *B. subtilis* 균에 의한 발효차는  $R^2=0.985$ , *S. cerevisiae* 균에 의한 발효차는  $R^2=0.995$ , *L. bulgaricus* 균에 의한 발효차는  $R^2=0.941$ 로 세 균주 모두 상관도가 매우 높은 것으로 나타나 ascorbic acid의 함량이 ABTS 항산화 활성과 상관관계가 매우 높음을 확인할 수 있었다.

Jeong 등(20)의 연구에서 국내에 시판되는 녹차, 보이차, 우롱차, 홍차의 항산화를 비교한 결과 ABTS 항산화 활성은 녹차가 가장 높고 보이차, 우롱차, 홍차 순이었다고 하였으며 이는 차의 카테킨 중 EGCG와 EGC 함량이 높은 시료에서 높은 라디칼 소거능을 나타내었다고 보고하였다. 본 실험에서도 후발효차가 녹차보다는 ABTS 항산화 활성이 감소되는 것으로 보아 후발효차 제조 시 카테킨류 이외에도 ascorbic acid 등의 감소에 의한 영향도 있는 것으로 사료되었다.

이상의 결과를 종합하여 보면, 미생물을 이용한 후발효차 제조 시 *Bacillus subtilis*를 이용하였을 때 위생적이고 기호도가 우수한 제품(10)을 생산할 수 있었다. 그러나 후발효차 제조 시 ascorbic acid, polyphenol 화합물 및 flavonoid 화합물 등의 항산화 성분들의 함량은 녹차보다는 다소 감소하게 되고 이에 따라 항산화 활성도 감소하게 되었지만 항산화 활성이 제조과정 중 현저하게 감소하지는 않은 것으로 판단되며 항산화 활성이 감소하지 않으면서도 기호도가 우수한 후발효차 개발에 관한 차후 연구가 필요할 것으로 사료되었다.

### 요 약

위생적으로 안전성이 확보된 후발효차를 제조하기 위해 *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* 및 *Lactobacillus bulgaricus*를 이용하여 후발효차를 제조한 후 발효시간에 따른 항산화 성분 및 활성의 변화를 측정하였다. 후발효차의 ascorbic acid의 함량은 발효기간 내내 균종에 관계없이 녹차(66.74 mg%)에 비하여 비교적 낮은 함량(43.62~62.84 mg%)을 보였고 산소와의 접촉을 최소화한 *L. bulgaricus* 균에 의한 발효가 비교적 적은 변화를 보였다. Polyphenol 화합물의 함량은 녹차의 경우 14.88%였으며 후발효차는 11.54~14.12%로 세 균주 모두 발효가 진행됨에 따라 함량이 다소 감소하였다. 실험에 사용한 녹차의 flavonoid 함량은 7.78 mg%였으며 미생물을 이용한 후발효차의 경우에는 4.33~7.88 mg%로 대부분 녹차에서의 함량보다 적은 것으로 나타났다. 항산화 활성의 경우, 녹차의 DPPH 전자공여능 및 ABTS 항산화 활성은 각각 87.47% 및 203.22 AEAC mg%였으나 발효기간에 따른 후발효차에서는 녹차에 비하여는 낮은 활성을 보여 후발효차 제조 시 어느 정도 항산화 성분의 함량 및 활성이 다소 감소하게 되지만 미생물을 이용하여 후발효차를 제조 시 위생적이고 기호도가 우수한 제품을 생산할 수 있는 것으로 판단되었다.

### 문 헌

- Park SH, Lee HJ, Ma SJ, Park KH, Moon JH. 2009. An investigation on establishment of index for estimation of quality and preservation period of Pu-erh tea. *J Kor Tea Soc* 15: 59-67.
- Kim SH, Park J, Lee LS, Han DS. 1999. Effect of pH on the green tea extraction. *Korean J Food Sci Technol* 31: 1024-1028.
- Kim JT. 1996. *Science and culture of green tea*. Borim publisher, Paju, Korea. p 8-261.
- Jung DH, Kim JT. 2003. *Science of tea*. Daekwang publisher, Jeonju, Korea. p 51-53.
- Choi OJ, Choi KH. 2003. The physicochemical properties of Korean wild teas (green tea, semi-fermented tea, and black tea) according to degree of fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 356-362.
- Wickremasinghe RL. 1978. Tea. In *Advances in Food Research*. Chichester CO, ed. Academic Press, New York. NY, USA. Vol 24, p 229-286.
- Byun JO, Han JS. 2004. A study on perception and actual

- status of utilization for green tea. *Korean J Food Culture* 19: 184-192.
8. Lee EH, Lee JK, Hong JT, Jung KM, Kim YK, Lee SH, Chung SY, Lee YW. 2001. Protective effect of green tea extract, catechin on UVB-induced skin damage. *J Fd Hyg Safety* 16: 117-124.
  9. KFDA. 2007. Study of the safety evaluation for fermentation tea. Korea Food & Drug Administration. p 15-102.
  10. Kim YS, Choi GH, Lee KH. 2010. Changes of chemical components of fermented tea during fermentation period. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1807-1813.
  11. Park YK, Kim SH, Choi SH, Han JG, Chung HG. 2008. Changes of antioxidant capacity, total phenolics and vitamin C contents during *Rubus coreanus* fruit ripening. *Food Sci Biotechnol* 17: 251-256.
  12. AOAC International. 1995. AOAC official method 952.03 tannin in distilled liquors. *Official methods of analysis*. 16th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD, USA. p 16 - 17.
  13. Moreno MN, Isla MIN, Sampietro AR, Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *J Ethnopharmacol* 71: 109-114.
  14. Blois MS. 1958. Antioxidant activity determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
  15. Robert R, Nicoletta P, Anna P, Ananth P, Ananth P, Min Y, Catherine RE. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237.
  16. Kim BS, Yang WM, Choi J. 2002. Comparison of caffeine, free amino acid, vitamin C and catechins content of commercial green tea in Bosung, Suncheon, Kwangyang, Hadong. *J Kor Tea Soc* 8: 55-62.
  17. Kim K. 1977. Studies on the chemical constituents of the tea leaf. *Korean J Food Sci Technol* 9: 10-12.
  18. Woo HS, Choi HJ, Han HS, Park JH, Son JH, Ahn BJ, Son GM, Choi C. 2003. Isolation of polyphenol from green tea by HPLC and its physiological activities. *Korean J Food Sci Technol* 35: 1199-1203.
  19. Liu TL. 2003. Mechanism and clinical studies on the anti-caries effect of green tea polyphenols. *Korean J Food Sci Technol* 7: 83-100.
  20. Jeong CH, Kang ST, Joo OS, Lee SC, Shin YH, Shim KH, Cho SH, Choi SG, Heo HJ. 2009. Phenolic content, antioxidant effect and acetylcholinesterase inhibitory activity of Korean commercial green, puer, oolong, and black teas. *Korean J Food Preserv* 16: 230-237.
  21. Jang MJ, Ha HJ, Yoon SR, Noh JE, Kwon JH. 2006. Prediction of optimal leaching conditions for green tea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 747-753.
  22. Son MY, Kim SH, Nam SH, Park SK, Sung NJ. 2004. Antioxidant activity of Korean green and fermented tea extracts. *J Life Sci* 14: 920-924.

(2011년 5월 11일 접수; 2011년 7월 27일 채택)