KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. Vol. 54, No. 4, pp. 455~461 (2022)
https://doi.org/10.9721/KJFST.2022.54.4.455

KOREAN JOURNAL OF
한국식품과학회지
FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY
©The Korean Society of Food Science and Technology

쌀당화액을 이용한 콤부차의 품질 특성

이대형[1,*] · 서재순[1] · 신복음[1] · 이용선[1] · 조창휘[1]
[1]경기도농업기술원 작물연구과

Quality characteristics of kombucha made with saccharified rice solution

Dae-Hyoung Lee[1,*], Jae-Soon Seo[1], Bok-Eum Shin[1], Yong Seon Lee[1], and Chang Hui Cho[1]
[1]*Gyeong gi-do Agricultural Research Extension Services*

Abstract In this study, kombucha was prepared using saccharified rice solution to assess this possible means of increasing rice consumption. Chucheong rice yielded the highest starch content (80.40±1.33%) when used to produce saccharified rice solution. The resultant saccharified rice solution showed the highest 10.42 °Brix at 90 min of saccharification. Chamdream rice yielded the highest acidity at 0.38%, and Kawaji No.1 yielded the lowest at 0.24%. Organic acid analysis on the 15th day of fermenting kombucha made with different rice varieties indicated an acetic acid content of 111.70±1.09 ppm in Chamdream, and 46.86±1.00 ppm in Dongjinchal. Comparison of enzymes used in saccharified rice kombucha fermentation revealed that α-amylase resulted in the highest acidity (1.06%), and β-amylase yielded the lowest acidity (0.58%). Kombucha with green tea yielded the highest acidity (1.09%), and kombucha with rooibos tea yielded the lowest (0.37%). Polyphenol analysis indicated that the amount of polyphenol increased the most (1,623.75 ppm to 3,989.00 ppm) on day 0 of fermentation with green tea. Organic acid analysis revealed that the acetic acid content of kombucha supplemented with green tea increased from 172.89 ppm on day 0 of fermentation to 2,649.11 ppm on day 15. Kombucha with 2.0% added alcohol had the highest acidity (1.32%), and kombucha with 0.5% alcohol had the lowest (0.97%). Taken together, these results confirm that it is possible to make kombucha using saccharified rice solutions.

Keywords: Kombucha, Rice Saccharified, Fermentation

서 론

콤부차(kombucha)는 녹차나 홍차의 찻잎에 설탕을 넣고 끓인 후 발효시켜 만든 식초처럼 새콤한 맛과 함께 다양한 기능성을 가진 것으로 알려져 있는 음료이다(Kim 등, 2020). 콤부차는 중국에서 기원된 것으로 알려져 있으며 1910년경 독일을 거쳐 전 유럽으로 퍼졌다(Kim, 2013). 최근 미국을 중심으로 미국 대형 유기농 마트인 '홀푸드'에서 판매하기 시작하면서 인지도가 높아졌다. 현재 미국 70여개의 콤부차 제조업체가 경쟁 중에 있으며 큰 성장세를 보이고 있다(Woo 등, 2021). 국내의 경우 2018년을 기점으로 부루구루, 아이얼라이브, 티젠 등의 업체들이 시장을 주도하고 있으며 최근에는 풀무원, SPC 그룹, 이디야 커피 등에서도 콤부차를 판매하면서 소비시장이 확대되고 있다(Kim 등, 2020).

콤부차가 인기를 끄는 이유는 음료의 기능성이 다양하기 때문이다. 기능성으로는 항산화, 간세포 보호, 당뇨 증상 완화, 항염증, 혈중 콜레스테롤 감소 등에 대한 보고가 있으며, 콤부차의 항산화 효과는 녹차에 포함된 폴리페놀 성분의 영향으로 효과가 뛰어난 것으로 보고되고 있다(Kim 등, 2020).

*Corresponding author: Dae Hyoung Lee, Gyeonggi-do Agricultural Research and Extension Services, Hwasung, Gyeonggi 18388, Korea
Tel: +82-31-229-5784
Fax: +82-31-229-5962
E-mail: leedh2@gg.go.kr
Received July 15, 2022; revised August 9, 2022; accepted August 9, 2022

집에서 만드는 콤부차는 녹차, 홍차 등에 설탕을 넣고 끓인 후에 박테리아와 효모의 집합체인 일명 스코비(SCOBY, Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast)를 넣어 약 14일간 발효시켜 새콤한 맛이 나는 콤부차를 만든다. 발효 과정 중에 콤부차 상층부에 'tea fungus'라 불리는 cellulose 막을 생성하는 특징이 있다(Pokalwar 등, 2010).

발효 과정 중에 어떤 찻잎을 우려내어 콤부차를 생산하는지, 발효 단계에서 어떤 균총을 접종하는지, 발효 조건을 어떻게 설정하는지 등 제조과정 각 단계의 조건에 따라 콤부차의 균총, 관능적 특성, 기능성이 달라질 수 있으며, 이 덕분에 콤부차는 다양한 종류의 제품이 출시될 수 있다는 강점을 가진다(Dutta와 Paul, 2019).

콤부차 발효에 사용되는 당은 일반적으로 설탕이 가장 많이 사용되는데 콤부차가 발효되면서 발효시간이 증가할수록 설탕이 분해되면서 그 함량이 줄어들고 과당과 포도당 양이 달라지며, 글루쿠론산과 아세트산이 더 생성되어 적정 산도가 증가한다고 알려져 있다(Chen과 Liu, 2000). 반면 발효과정 중에 잔당으로 남는 설탕도 많이 있다. 이런 설탕은 소장의 소화과정에서 효소인 sucrase에 의하여 비교적 쉽게 두 개의 단당류, 즉 포도당과 과당으로 분해된다. 설탕의 주성분인 과당은 에너지원이 높고 포도당으로 전환되어 혈당을 상승시키며, 포도당에 비해 지방산 합성속도가 빨라 혈중 중성지질의 농도를 높일 수 있어 비만의 원인으로 작용한다(Nakamura 등, 2001).

우리나라의 쌀(Rice, *Orzya sativa* L.) 소비량은 생활수준 향상 및 식습관 변화로 국민 1인당 연간 쌀 소비량이 2011년 71.2 kg 이었으나 2019년 59.2 kg으로 60 kg 밑으로 내려 간 후 매년 1-2

kg씩 계속 감소하고 있으며 2020년에는 57.7 kg을 소비하는 실정이다. 쌀의 소비 형태는 주로 밥으로 약 87.4%가 소비되고 있으며, 약 12.6%는 가공용으로 주류 및 떡류 제조에 이용되고 있다. 하지만 쌀의 공급과잉 및 쌀 수입 물량의 소비처를 마련하기 위한 가공용으로의 소비확대는 지속적으로 요구되어 왔다(Korea Agro-Fisheries & Food Trade Corporation, 2021).

일반적인 쌀당화액 식품의 대표인 식혜는 쌀의 수화 정도나 호화특성, 사용하는 양에 따라 맛과 향 등 품질에 영향을 주는 것으로 보고되었다(Faulds 등, 2008). 당화는 다당류를 산이나 효소로 가수분해하여 환원당으로 전환시키는 것으로 곡류를 이용하여 당화시킨 죽류가 개발되고 있다(Hwang 등, 2011). 하지만 식혜 등의 당화에는 엿기름 등이 들어가고 엿기름 특유의 향이 있어 특정 음료나 제품을 만들 때에는 장애 요소가 된다. 본 연구는 새로운 형태의 콤부차 제조와 우리 농산물인 쌀의 소비를 증가시키기 위해 효소를 이용한 쌀당화액을 만든 후 콤부차 제조 실험을 진행하였다.

재료 및 방법

재료 및 사용 균주

쌀 품종으로 멥쌀은 참드림, 보람찬, 추청을 사용했으며 중간찰벼로 가와지1호, 찹쌀로 동진찰벼를 이용했다. 쌀 품종들은 2021년 경기도농업기술원에서 재배한 것을 10°C 저장고에 보관하며 사용하였다. 녹차잎은 정다원(Jeond Da-won, Seoul, Korea)에서 판매되고 있는 2020년에 수확하여 건조시킨 제품을 구입하여 실온에 보관하면서 사용하였다. 콤부차 발효에 사용된 균주는 경기도농업기술원에서 분리 동정한 *Gluconobacter oxydans* 균주를 사용하였다. 균주는 LM (yeast extract 0.5%, glucose 0.5%, glycerin 1%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.02% w/v) 배지를 멸균한 후 제균 여과(filter paper No. 2, Advantec Co., Tokyo, Japan)를 한 후 ethanol 5%, acetic acid 1%를 넣고 30°C 진탕배양기(SI-600R, Jeiotech Co., Daejeon, Korea)에서 150 rpm으로 3일간 배양 후 콤부차에 접종하였으며 일반 분석용 시약은 특급을 사용하였다.

쌀당화액 및 콤부차 제조방법

쌀당화액 제조를 위해 쌀(백미) 1 kg을 세척한 후 2시간 침지하고 30분 동안 물빼기를 한 후 roller mill (DK104, Sejung Tech., Daegu, Korea)을 이용하여 곱게 분쇄하였다. 쌀가루에 물 2 L와 α-amylase (Spezyme, Genencor, CA, USA)를 2% 넣고 90분간 90°C를 유지하면서 당화시켰다. 다른 시험군으로 β-amylase (Maltogenase, Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark)와 glucoamylase (AMG1100BG, Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark)를 사용하였다. 당화가 끝난 후 물을 첨가하여 2 L로 정용한 후 여과를 통해 맑은 쌀당화액을 얻었다.

콤부차 제조는 녹차잎 20 g에 앞에서 만들어진 10°Brix 쌀당화액 2 L를 넣고 100°C에서 10분간 끓여서 녹차를 추출하였다. 상온으로 식힌 녹차 용액에 *G. oxydans* 균주 30 mL을 첨가한 후 30°C 배양기에서 15 일간 발효시켰다.

쌀 품종 및 콤부차 일반성분 분석

쌀의 일반성분은 AOAC 방법에 따라 수분은 105°C 상압가열건조법, 조단백질은 micro-kjeldahl법, 조지방은 soxhlet 추출법, 조회분은 회화법으로 분석하였다(AOAC, 1995). pH는 pH meter (781 pH/Ion meter, Metrohm, Herisau, Switzerland)로 측정하였으며 총산은 시료 1 mL에 naphthalene 2-3방울을 가하여 0.1 N NaOH 용액으로 담녹색이 나타날 때까지 중화 적정하여 그때까지 소비된 NaOH의 양에 0.0064를 곱하여 citric acid로 환산하였다. 가용성 고형분(°Brix)은 시료를 증류한 뒤 증류되지 않고 남아있는 약 20 mL의 시료에 3차 증류수를 첨가하여 100 mL로 정용하여 디지털 굴절계(RX-5000α, ATAGO, Minato-ku, Tokyo, Japan)로 측정하였다. 환원당 함량은 DNS (3,5-dinitrosalicylic acid, Junsei Chemical Co., Tokyo, Japan)가 환원되어 생성된 3-amino-5-nitrosalicylic acid의 흡광도를 UV/VIS spectrophotometer HP 8453 (Hewlett Packard, Palo-alto, CA, USA)으로 550 nm에서 측정하였다(Lee 등, 2009). 별도로 포도당 15-300 μg을 함유하는 표준용액의 검량선을 작성하여, 검체 중의 환원당량(mg/mL)을 구하였다.

차 종류 및 알코올 첨가 방법

녹차 외에 다양한 잎차를 사용하기 위해 옥수수수염차, 둥굴레차, 우엉차, 결명자차, 루이보스차(Damteo F&B Co., Suncheon City, Korea) 등을 구입해서 상온에 보관하며 녹차잎 비교 시험에 사용하였다. 알코올 첨가에 따른 콤부차의 산도 변화 시험을 위해서 식품으로 사용가능 한 주정(Samchun pure chemicals, Pyeongtack City, Korea)을 콤부 균주를 접종한 후 5일차에 전체 발효용액이 0.5-2.0%의 알코올 함량이 되도록 첨가하였다.

총폴리페놀 함량 측정

총폴리페놀 함량은 Folin-Denis (Cha 등, 1999)법에 따라 측정하였다. 각 발효액을 원심분리(5,000×g, 10 min)하여 상등액을 얻고 이를 0.45 μm membrane filter로 여과한 다음 시료액 0.1 mL에 Folin reagent (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 0.5 mL을 가하고 3분간 정치한 다음 1.5 mL의 포화 Na_2CO_3 용액을 가하였다. 이 혼합액에 7.9 mL의 증류수를 넣고 교반 후 실온에서 2시간 동안 정치한 다음 분광광도계(UV/VIS Spectrophotometer, Agilent, Colorado, USA)를 사용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하고 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 총 폴리페놀 함량을 구하였다.

통계처리

처리구는 3반복으로 수행하여 평균과 표준편차로 표현하였으며 이화학적 특성의 분석결과에 대한 통계처리는 SAS 프로그램 (Statistical Analysis System, SAS version 9.1, SAS Institute, Cary, NC, USA)을 이용하여 5% 유의수준에서 분석하였으며 Duncan's multiple range test로 각각의 변수에 대한 영향을 분석하였다.

결과 및 고찰

쌀 품종별 당화액 및 콤부차 제조 특성

콤부차 제조에 적합한 쌀당화액 품종을 선발하기 위해 경기도에서 많이 재배되고 있는 쌀 품종으로 멥쌀은 참드림, 보람찬, 추청을 사용했으며 중간찰벼로 가와지1호, 찹쌀로 동진찰벼를 이용했다. 쌀당화액을 제조하기 위한 쌀들의 일반성분 분석결과는 Table 1과 같다. 조단백질 함량은 가와지1호가 8.18±0.19%로 가장 높았으며, 참드림이 5.65±0.20%로 가장 낮은 분석결과를 보였다. 쌀 당화에 있어 중요한 전분 함량은 가장 높은 것이 추청으로 80.40±1.33%를 나타내었으며 가장 낮은 것은 동진찰로 76.77±0.85%를 나타내었다. 이것은 농촌진흥청 식품성분표(Rural Development Administration, 2016)의 품종별 멥쌀의 단백질 5.7-

Table 1. Proximate analysis of rice varieties and saccharification solution analysis

Rice varieties	Moisture (%)	Ash (%)	Crude protein (%)	Crude lipid (%)	Carbohydrate (%)	Saccharification solution	
						Soluble solid (°Brix)	Reducing sugar (mg/L)
Chamdream	13.57±0.60$^{ab1)2)}$	0.35±0.02^{c}	5.65±0.20^{d}	0.40±0.02^{b}	80.08±0.89^{a}	10.13±0.12^{a}	63.48±0.25^{b}
Boramchan	13.16±0.52^{b}	0.42±0.02^{b}	7.06±0.15^{b}	0.38±0.01^{b}	79.98±0.70^{a}	9.82±0.14^{b}	57.65±0.18^{e}
Chuchung	12.40±0.75^{b}	0.29±0.01^{d}	6.62±0.56^{c}	0.29±0.01^{c}	80.40±1.33^{a}	10.42±0.21^{a}	65.07±0.06^{a}
Kawaji No.1	14.15±0.85^{a}	0.36±0.03^{e}	8.18±0.19^{a}	0.41±0.06^{b}	76.90±1.13^{b}	9.36±0.10^{c}	61.30±0.25^{c}
Dongjinchal	14.56±0.62^{a}	0.48±0.02^{a}	7.15±0.15^{b}	1.04±0.06^{a}	76.77±0.85^{b}	9.30±0.20^{c}	59.20±0.19^{d}

[1)]Each value is expressed as mean±SD (n=3).
[2)]Means with different superscripts within a column are significantly different at $p<0.05$ by a Duncan's multiple range test.

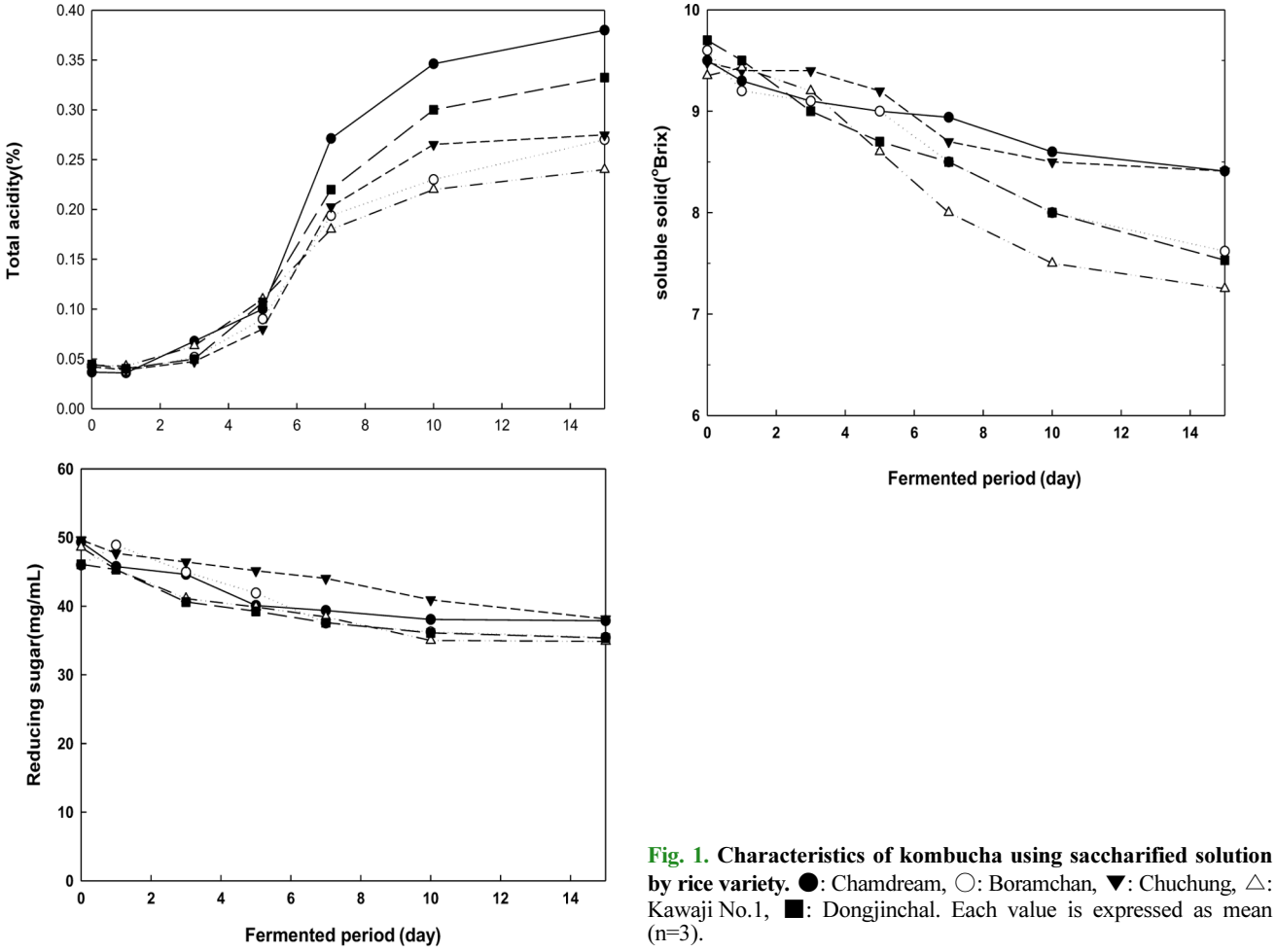

Fig. 1. Characteristics of kombucha using saccharified solution by rice variety. ●: Chamdream, ○: Boramchan, ▼: Chuchung, △: Kawaji No.1, ■: Dongjinchal. Each value is expressed as mean (n=3).

7.7%, 지방 0.1-1.0%, 탄수화물 74.5-80.9% 사이에 있는 것으로 당화액의 원료로써 문제가 없는 것으로 판단된다.

쌀 품종별 콤부차 제조를 위해 당화액 성분 특성을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 쌀 품종별로 α-amylase 효소를 처리하여 제조한 당화액 분석결과 90분 당화 시 9.30-10.42°Brix의 당도를 보였으며 멥쌀인 추청이 가장 높은 10.42°Brix를 나타내었다. 이때 추청의 환원당은 65.07±0.06 mg/L를 나타내었다. 이것은 추청의 탄수화물 함량이 높기 때문에 α-amylase에 의해 전분이 많이 분해되면서 생산되는 당 함량도 높은 것으로 생각된다. 다음으로 참드림이 높은 전분 함량을 보여 결과 역시 두 번째로 높은 당도와 환원당 함량을 나타내었다.

이렇게 제조된 쌀 품종별 당화액을 이용하여 제조한 콤부차의 발효 15일 결과는 Fig. 1과 같다. 모든 처리구에서 발효 5일까지는 산도가 천천히 상승하였으며 이후 7일차부터 산도의 차이가 나기 시작했다. 이것은 쌀당화액의 조성차이에 의해서 *G. oxydans* 균주 수가 증가되는 시간의 차이로 인한 것으로 생각된다. 최종 15일에는 참드림이 0.38%로 가장 높았으며 가와지1호가 0.24%로 가장 낮았다. 이것은 설탕과 녹차를 이용해서 만든 콤부차의 0.13%나 설탕과 녹차에 유자액을 첨가해서 제조한 콤부차의 산도인 0.23%보다는 높은 결과였다. 이것은 설탕만을 첨가해서 만든 콤부차에 비해 쌀당화액을 이용한 콤부차가 당 이외에 다른 성분들이 많아 콤부균의 생육 및 산 생성에 영향을 미친 것으로

Table 2. Analysis of kombucha organic acid using saccharified solution by rice varieties

Fermentation period (day)		Citric acid (ppm)	Malic acid (ppm)	Succinic acid (ppm)	Lactic acid (ppm)	Acetic acid (ppm)	Total acid (ppm)
0	C[1)]	0.00±0.00[2)3)]	0.00±0.00	292.97±9.47[a]	0.00±0.00	111.70±1.09[a]	404.67
	B	0.00±0.00	0.00±0.00	295.51±8.98[a]	0.00±0.00	72.18±3.87[c]	409.86
	CH	0.00±0.00	0.00±0.00	289.71±8.13[b]	0.00±0.00	82.00±1.67[b]	407.62
	K	0.00±0.00	0.00±0.00	304.61±9.80[a]	0.00±0.00	54.25±3.38[d]	397.27
	D	0.00±0.00	0.00±0.00	254.87±9.33[c]	0.00±0.00	46.86±1.00[e]	301.73
15	C	88.98±8.70[d]	112.05±8.12[b]	570.77±1.55[a]	0.00±0.00	197.99±6.37[a]	969.79
	B	92.89±2.14[c]	131.84±6.62[a]	560.70±3.18[c]	0.00±0.00	145.69±10.04[b]	931.12
	CH	87.69±7.43[d]	95.23±6.54[c]	567.20±7.52[b]	0.00±0.00	136.57±5.95[b]	886.69
	K	105.95±10.64[b]	55.72±0.98[d]	510.64±9.76[e]	0.00±0.00	72.04±7.77[d]	744.35
	D	123.79±2.30[a]	57.45±7.14[d]	520.52±10.05[d]	0.00±0.00	94.29±6.45[c]	796.05

[1)]Chamdream=C, Boramchan=B, Chuchung=CH, Kawaji No.1=K, Dongjinchal =D
[2)]Each value is expressed as mean±SD (n=3).
[3)]Means with different superscripts within a column are significantly different at $p<0.05$ by a Duncan's multiple range test.

Table 3. Characteristics of saccharified rice by enzyme treatment

Enzyme treatment	Soluble solid (°Brix)	Reducing sugar (mg/L)	Free sugar	
			Glucose (mg/mL)	Maltose (mg/mL)
β-amylase	6.72±0.14[c1)2)]	47.20±1.25[c]	10.11±1.25[c]	43.24±1.51[a]
α-amylase	9.87±0.17[a]	62.41±1.14[a]	19.49±0.15[a]	42.26±1.12[a]
Glucoamylase	8.12±0.15[b]	52.52±1.41[b]	15.34±0.97[b]	40.24±1.26[b]

[1)]Each value is expressed as mean±SD (n=3).
[2)]Means with different superscripts within a column are significantly different at $p<0.05$ by a Duncan's multiple range test.

보이며 제조법의 차이도 있었을 것으로 생각된다(Woo 등, 2021). 품종별 콤부차 당도는 참드림과 추청이 8.41°Brix로 높은 당도를 보였으며 가와지1호가 7.25°Brix로 낮은 당도를 보였고 환원당도 비슷한 경향을 보였다. 유리당의 경우 참드림이 가장 높은 glucose와 maltose 함량을 보였으며 가와지1호가 가장 낮은 함량을 보였다(data not shown). 이것은 탄수화물 함량이 높은 참드림은 전분 함량이 높기에 발효 15일 이후에도 잔여 당 함량이 높은 것으로 생각되며 반대로 가와지1호는 낮은 탄수화물 함량으로 인해 발효가 끝난 이후의 유리당 함량도 낮은 것으로 생각된다.

쌀 품종별 콤부차의 발효 15일 유기산 분석결과는 Table 2와 같으며 발효 0일차에는 모든 처리구에서 succinic acid가 높게 검출되었으며 다음으로 acetic acid 순위였다. 품종별 유기산 생성에서는 발효 0일에는 succinic acid는 큰 차이가 없는 반면 acetic acid는 참드림이 111.70±1.09 ppm이었으며 동진찰벼는 46.86±1.00 ppm이었다. 발효 15일에는 발효 0일에 없는 malic acid와 citric acid가 생성되었으며 acetic acid 및 succinic acid는 모든 처리구에서 상승하였다. 이것은 Jayabalan 등(2007)의 녹차와 홍차를 이용한 콤부차 실험에서 acetic acid가 주된 유기산으로 발효기간 동안 지속적으로 증가하여 배양 15일째 가장 높은 함량을 나타낸 결과와 유사하였다. 또한, Lee 등(2003)의 *G. persimmonis* 초산균을 이용한 농축 사과배지 발효 실험에서 succinic acid와 acetic acid가 크게 증가하는 것과도 유사하였다. 가장 높은 유기산을 생성한 것은 참드림 품종이며 969.79 ppm의 총유기산을 생성하였고 가장 낮은 것은 가와지1호로 744.35 ppm의 유기산을 생성하였다.

효소 종류에 따른 쌀당화액 콤부차 특성

콤부차 발효에 적합한 쌀당화액의 제조를 위한 효소 처리 실험 결과는 Table 3과 같다. 효소 종류에 따른 참드림 쌀당화액 분석결과 90분 당화시 α-amylase가 9.87°Brix의 당도를 보였으며 β-amylase가 6.72°Brix로 낮은 당도를 보였다. 이때 α-amylase와 β-amylase의 환원당은 62.41±1.14, 47.20±1.25 mg/L를 나타내었으며 유리당 분석에서는 α-amylase, β-amylase의 glucose 함량이 19.49±0.15, 10.11±1.25 mg/mL를 나타내었으며 maltose 함량은 42.26±1.12, 43.24±1.51 mg/mL를 나타내었다. 이것은 α-amylase는 전분의 α-1,4 결합을 절단하는 endo type의 효소로 반응초기에는 glucose나 몇 종의 올리고당 혼합물을 생성하지만 최종적으로 다량의 maltose가 남는다는 An (2018)의 실험 결과처럼 본 실험도 α-amylase 처리구에서 maltose가 많이 생성되는 것으로 보아 당화가 잘 진행된 것으로 생각된다. 또한, β-amylase는 전분의 α-1,4-글루칸(α-1,4-glucan 혹은 α-1,4-glucoside)의 비환원성 말단에서 maltose 단위로 가수분해하는 exo type의 효소로 β-amylase 처리구의 maltose 생성을 보면 α-amylase 처리구와 유사한 결과를 보였다(An, 2018).

효소처리 쌀당화액을 이용해서 콤부차를 제조한 결과는 Fig. 2와 같다. 콤부차 발효 15일 결과 산도는 α-amylase를 처리한 쌀당화액 1.06%로 가장 높았으며 β-amylase가 0.58%로 가장 낮은 산도를 나타내었다. 발효기간에 따른 가용성 고형분(°Brix)는 발효 0일에 비해 발효가 끝나는 15일까지 조금씩 감소하는 경향을 보였으나 그 감소폭이 크지 않았다. 환원당도 가용성 고형분(°Brix)과 비슷한 당 소비 감소 경향을 보였다. 이러한 환원당의 함량

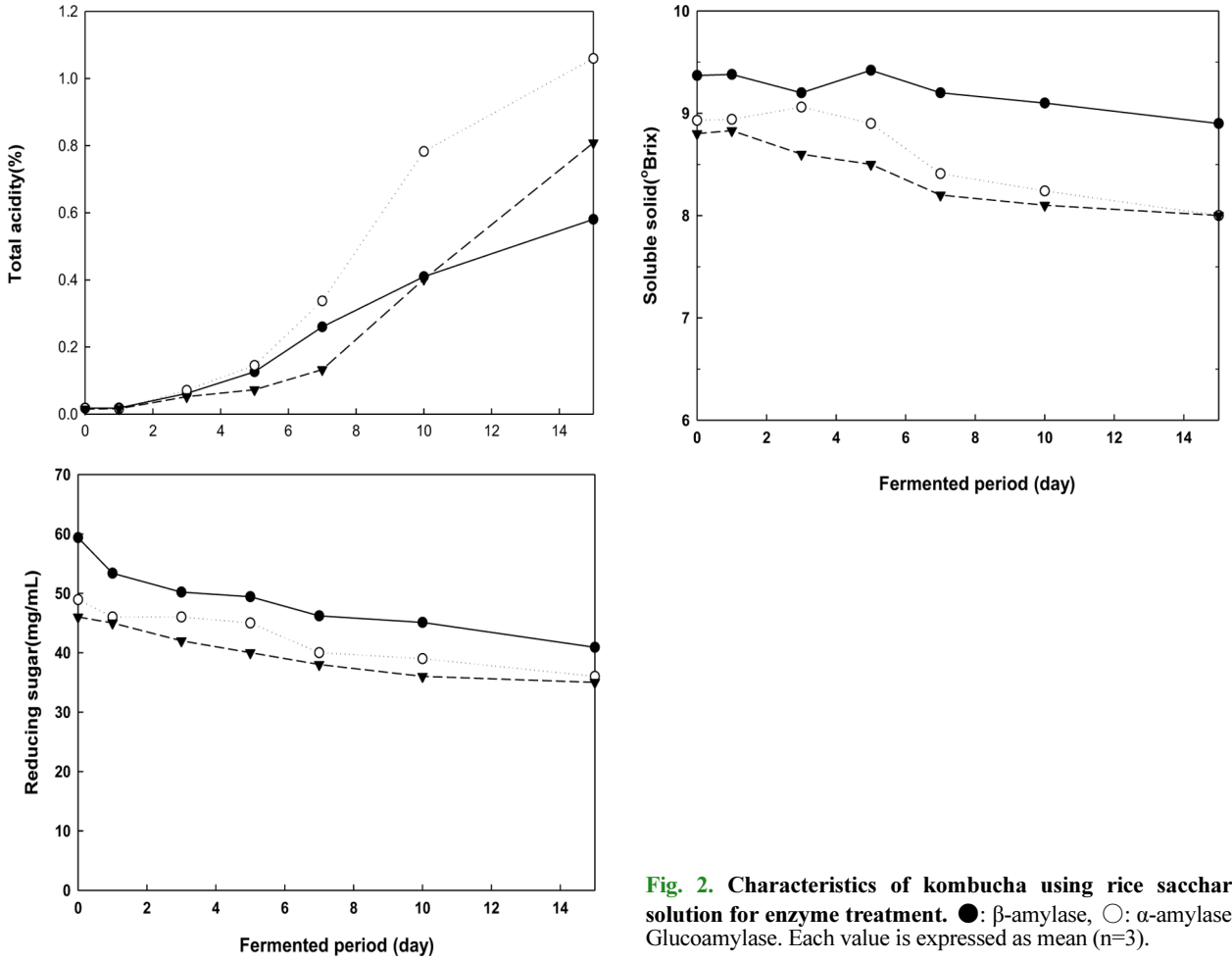

Fig. 2. Characteristics of kombucha using rice saccharified solution for enzyme treatment. ●: β-amylase, ○: α-amylase, ▼: Glucoamylase. Each value is expressed as mean (n=3).

변화는 전형적인 발효 대사에서 당을 이용해서 미생물이 증식하면서 일어나는 과정으로 당을 소비하면서 미생물이 증식되는 과정으로 정상적인 발효가 진행되었고, 환원당을 기질로 종균 증식 과정 중에 다양한 대사산물을 만들어 냈다고 판단할 수 있다(Gil 등, 2016).

차 종류별 콤부차 특성

콤부차의 제조에서는 녹차나 홍차를 이용하는 것이 일반적이나 본 시험에서는 더 다양한 원료를 사용한 콤부차 제조 시험을 진행하였다. 그 결과 차 원료별 콤부차를 제조하고 이화학적 특성을 조사하여 비교하였으며 그 결과는 Table 4와 같다. 차 종류별 콤부차 제조시 발효 15일에 녹차 첨가 콤부차의 산도가 1.09%로 가장 높았으며 루이보스 첨가 콤부차가 0.37%로 가장 낮았다. 당도는 발효 15일에 루이보스차가 가장 낮은 2.82°Brix였으며 반대로 녹차가 8.12°Brix로 가장 높은 당 함량을 보였다. 이때 녹차의 환원당은 54.54±0.45 mg/L를 나타내었으며 유리당 분석에서는 maltose가 34.15±0.35 mg/L, glucose가 13.12±0.12 mg/L를 나타내었다. Polyphenol 분석 결과에서는 발효 초기에 비해 모든 차 종류에서 폴리페놀이 증가하였으며 가장 증가가 많은 것은 녹차로 발효 0일에는 1,623.75 ppm에서 3,989.00 ppm으로 2,3685.25 ppm이 증가하였다. 이것은 다른 처리구에 비해 1,000 ppm 정도가 더 높은 결과로 Jayabalan 등(2007)의 녹차에 존재하던 카테킨들이 자연분해되다가 발효에 따른 pH 감소로 인해 콤부균들이 대사활동을 통해 추가로 카테킨을 생성한다는 실험 결과와 비슷한 결과였다. 이 밖에도 루이보스차를 이용한 콤부차(Gaggìa 등, 2019)에서도 폴리페놀 함량에 있어 녹차가 더 높았다는 결과와도 동일한 결과였다.

이 밖에도 다양한 기질을 이용하여 콤부차를 만드는 실험들이 진행되었으며 레몬밤, snake fruit, 참나무잎 콤부차들의 연구가 있으며 이들 연구에서도 대부분 발효기질이 최종적으로 콤부차의 특성에 영향을 주기에, 콤부차 제조 시 관능 및 적절한 발효를 위해서는 차의 선택이 중요한 것을 알 수 있다(Kim 등, 2020).

차 종류에 따른 콤부차 발효 15일 후의 유기산 분석결과는 Table 5와 같으며 발효 0일차에는 모든 처리구에서 succinic acid가 가장 많이 검출되었으며 다음으로 acetic acid 순위였다. 차 종류별 콤부차의 유기산 생성에서는 발효 0일에는 succinic acid나 acetic acid에서 큰 차이가 없었다. 하지만 발효 15일에는 발효 0일에 없는 malic acid가 생성되었으며 citric acid와 acetic acid 모두 상승하였으며 succinic acid도 상승하였다. 가장 높은 유기산을 생성한 것은 녹차를 이용해서 만든 콤부차이며 3,436.87 ppm의 총유기산을 생성하였고 가장 낮은 것은 둥굴레로 만든 콤부차로 1,802.11 ppm의 총유기산을 생성하였다. 특히, 녹차 첨가 콤부차의 경우 acetic acid가 발효 0일에는 172.89 ppm에서 발효 15일에는 2,649.11 ppm으로 증가하였다. 이것은 산머루즙을 첨가한 콤부차(Kim과 Choi, 2011)등의 유기산 종류별 분석결과 중 succinic acid은 60.4512 ppm에서 77.4148 ppm으로, citric acid은 8.1591 ppm에서 9.0162 ppm으로 증가하는 경향을 보였는데 본 실험과 유사한 결과였다.

Table 4. Characteristics of kombucha fermentation by varieties of tea

Tea varieties	Total acidity (%)	Soluble solid (°Brix)	Reducing sugar (mg/L)	Free sugar		Polyphenol	
				Glucose (mg/mL)	Maltose (mg/mL)	0 day (ppm)	15 day (ppm)
Green tea	1.09±0.19^{a} [1)2)]	8.12±0.07^{a}	54.54±0.45^{a}	13.12±0.12^{a}	34.15±0.35^{a}	1,623.75±14.18^{a}	2,989.00±28.10^{a}
Corn silk tea	0.85±0.07^{b}	7.04±0.14^{b}	41.07±0.90^{b}	10.25±1.14^{b}	30.24±0.64^{b}	1,265.00±3.44^{d}	2,836.67±37.53^{b}
Solomon's Seal tea	0.54±0.04^{c}	5.30±0.24^{d}	35.13±0.36^{c}	7.14±0.54^{c}	25.20±0.85^{c}	1,552.25±13.27^{b}	1,628.17±11.43^{f}
Burdock root tea	0.83±0.05^{b}	6.55±0.11^{c}	40.90±0.19^{b}	9.31±0.65^{b}	29.25±1.05^{b}	1,271.58±3.22^{d}	2,831.75±39.40^{c}
Sicklepod tea	0.44±0.02^{d}	3.18±0.15^{e}	18.53±0.29^{d}	5.90±0.61^{d}	16.17±1.12^{d}	1,248.58±5.86^{e}	2,282.92±22.49^{d}
Rooibos tea	0.37±0.06^{e}	2.82±0.18^{f}	14.65±0.27^{e}	3.25±0.11^{e}	10.22±0.24^{e}	1,369.58±3.00^{c}	2,077.00±10.16^{e}

[1)]Each value is expressed as mean±SD (n=3).
[2)]Means with different superscripts within a column are significantly different at $p<0.05$ by a Duncan's multiple range test.

Table 5. Analysis of organic acids of kombucha by varieties of tea

Fermentation period (day)		Citric acid (ppm)	Malic acid (ppm)	Succinic acid (ppm)	Lactic acid (ppm)	Acetic acid (ppm)	Total acid (ppm)
0	G[1)]	0.00±0.00	0.00±0.00	191.98±5.53^{a}	0.00±0.00	172.89±1.99^{a}	364.87
	C	0.00±0.00	0.00±0.00	191.36±3.17^{a}	0.00±0.00	159.77±4.02^{b}	351.13
	SS	0.00±0.00	0.00±0.00	174.93±1.13^{b}	0.00±0.00	145.08±8.09^{c}	320.01
	B	0.00±0.00	0.00±0.00	121.88±16.22^{d}	0.00±0.00	153.48±2.09^{b}	275.36
	S	0.00±0.00	0.00±0.00	156.42±12.73^{c}	0.00±0.00	148.52±2.55^{c}	304.94
	R	0.00±0.00	0.00±0.00	170.06±6.39^{b}	0.00±0.00	154.15±6.50^{b}	324.21
15	G	197.16±0.58^{a}	311.61±13.79^{c}	278.99±9.77^{e}	0.00±0.00	2649.11±5.36^{a}	3436.87
	C	199.02±1.97^{a}	329.09±9.76^{bc}	258.65±2.54^{f}	0.00±0.00	2472.51±5.62^{b}	3259.27
	SS	173.06±3.02^{c}	337.95±8.42^{b}	367.86±1.56^{b}	0.00±0.00	1401.43±7.63^{d}	2280.30
	B	174.34±7.41^{c}	377.65±8.86^{a}	295.49±6.23^{d}	0.00±0.00	1825.11±8.35^{c}	2672.59
	S	180.25±5.58^{b}	269.71±3.26^{d}	315.71±5.97^{c}	0.00±0.00	1036.44±8.95^{f}	1802.11
	R	181.90±8.10^{b}	238.63±6.81^{e}	383.30±9.64^{a}	0.00±0.00	1073.05±8.96^{e}	1876.88

[1)]Green tea =G, Corn silk tea=C, Solomon's Seal tea = SS, Burdock root tea =B, Sicklepod tea=S, Rooibos tea=R
[2)]Each value is expressed as mean±SD (n=3).
[3)]Means with different superscripts within a column are significantly different at $p<0.05$ by a Duncan's multiple range test.

선발된 녹차의 첨가량에 따른 콤부차 발효 최종 일의 이화학적 특성을 조사하여 비교하였다(data not shown). 산도는 녹차의 농도가 증가할수록 같이 증가하는 것으로 나타났다. 이것은 녹차에 있는 다양한 polyphenol 성분이 콤부균의 성장에 영향을 미치는 것으로 생각되며 이것으로 인해 신맛의 증가로 인한 산성 환경이 미생물의 생장을 억제하여 균총 변화를 일으켰을 가능성이 있다는(Ko 등, 2017) 결과와 유사하였다.

알코올 첨가 콤부차 특성

콤부차 균주의 산 생성 기작에 따르면(Silvia 등, 2018) 초산균이 glucose를 gluconic acid가 되도록 하고 ethanol로부터 acetic acid가 생산되게 한다. 본 실험에서는 효모균을 별도로 추가하지 않았기에 콤부차에서 자연적인 알코올 생성이 되지 않거나 미약하기에 acetic acid를 충분히 생산하기 위해 식품으로 사용할 수 있는 주정을 외부에서 인위적으로 첨가하는 방법을 선택했다. 먼저 알코올 첨가 농도별 시험을 진행한 결과는 Table 6과 같다. 알코올 첨가량별 콤부차 제조시 발효 15일에 알코올 2.0% 첨가 콤부차의 산도가 1.32%로 가장 높았으며 알코올 0.5% 첨가 콤부차가 0.97%로 가장 낮았다. 가용성 고형분(°Brix)은 발효 15일에 알코올 0.5% 첨가 콤부차가 가장 낮은 8.35°Brix 였으며 반대로 알코올 2.0% 첨가 콤부차가 10.42°Brix로 가장 높은 당 함량을 보였다. 이것은 콤부차안에 있는 초산균이 ethanol로부터 acetic acid를 만드는 과정에서 기질로 ethanol를 주로 사용하면서 당을 많이 소모하지 않았기 때문으로 생각된다.

이때 알코올 0.5% 첨가 콤부차의 환원당은 44.47±1.21 mg/L를 나타내었으며 유리당 분석에서는 glucose가 4.92±0.07 mg/L를, maltose는 11.76±0.07 mg/L를 나타내었다. 이것은 알코올 1.0%나 1.5%를 첨가한 콤부차의 glucose는 12.86±0.02와 15.19±0.05 mg/L와 차이가 나는 반면 maltose는 12.01±0.08, 11.67±0.17 mg/L로 비슷한 결과를 보였다. 이것은 일반적인 콤부차에서 산 생성시 콤부균인 *G. oxydans*가 glucose 대신 alcohol을 기질로 사용하기에 alcohol이 많이 함유된 곳에서는 glucose 소비보다 alcohol을 통한 유기산 생산을 많이 하게 되었다. 반면 alcohol 함량이 0.5%로 낮은 실험구에서는 alcohol을 기질로 한 콤부균의 유기산 생산이 낮은 반면 glucose 소비를 통한 gluconic acid로의 전환이 많기에 최종 발효 결과에서 알코올 첨가량에 따른 glucose의 함량 차이가 난 것으로 생각된다. Polyphenol 분석 결과에서는 발효 0일에 비해 발효 15일에는 0.5% 알코올을 함유한 콤부차를 제외하고 다른 처리구에서 비슷하게 증가하였다. 이것은 녹차에 존재하던 콤부균들이 대사활동을 통해 추가로 카테킨을 생성한다는 Jayabalan

Table 6. Characteristics of kombucha fermentation according to the amount of alcohol added

Alcohol addition amount (%)	Total acidity (%)	Soluble solid (°Brix)	Reducing sugar (mg/L)	Free sugar		Polyphenol	
				Glucose (mg/mL)	Maltose (mg/mL)	0 day (ppm)	15 day (ppm)
0.5	0.97±0.10^{c}[1)2)]	8.35±0.08^{c}	44.47±1.21^{c}	4.92±0.07^{d}	11.76±0.07	1,427.08±11.64^{b}	3,558.08±11.52^{c}
1.0	1.16±0.11^{b}	9.94±0.11^{b}	48.26±1.74^{b}	12.86±0.02^{b}	12.01±0.08^{a}	1,386.67±11.38^{c}	3,683.92±12.66^{b}
1.5	1.17±0.08^{b}	10.13±0.14^{a}	51.20±0.96^{a}	15.19±0.05^{a}	11.67±0.17^{b}	1,402.33±11.52^{b}	3,731.33±12.50^{a}
2.0	1.32±0.12^{a}	10.42±0.10^{a}	51.92±1.28^{a}	15.20±0.03^{c}	11.06±0.05^{c}	1,446.67±14.35^{a}	3,501.25±4.11^{d}

[1)]Each value is expressed as mean±SD (n=3).
[2)]Means with different superscripts within a column are significantly different at $p<0.05$ by a Duncan's multiple range test.

등(2017)의 결과와 유사한 것으로 보여진다.

요 약

본 연구에서는 쌀의 소비를 증가시키기 위해 쌀을 당화시킨 쌀당화액을 이용해 콤부차를 제조하였다. 쌀 품종별 당화액 및 콤부차 제조 특성으로는 멥쌀은 참드림, 보람찬, 추청을 사용했으며 중간찰벼로 가와지1호, 찹쌀로 동진찰벼를 이용했다. 쌀 당화에 있어 가장 중요한 전분 함량은 가장 높은 것이 추청으로 80.40±1.33%를 나타내었으며 당화액 분석결과 90분 당화시 가장 높은 10.42°Brix를 나타내었다. 산도는 참드림이 0.38%로 가장 높았으며 가와지1호가 0.24%로 가장 낮았다. 쌀 품종별 콤부차의 발효 15일 유기산 분석결과 acetic acid는 참드림이 111.70±1.09 ppm이었으며 동진찰벼는 46.86±1.00 ppm이었다. 효소 종류에 따른 쌀당화액 콤부차 특성으로는 α-amylase를 처리한 쌀당화액이 1.06%로 가장 높았으며 β-amylase가 0.58%로 가장 낮은 산도를 나타내었다. 차 종류별 콤부차 특성에서는 녹차 첨가 콤부차의 산도가 1.09%로 가장 높았으며 루이보스 첨가 콤부차가 0.37%로 가장 낮았다. Polyphenol 분석결과에서 녹차를 이용한 발효 0일에 1,623.75 ppm에서 3,989.00 ppm으로 가장 많이 증가하였다. 유기산 분석에서 녹차첨가 콤부차가 acetic acid가 발효 0일에는 172.89 ppm에서 발효 15일에는 2,649.11 ppm으로 증가하였다. 알코올(주정) 첨가 콤부차 특성에서는 알코올 2.0% 첨가 콤부차의 산도가 1.32%로 가장 높았으며 알코올 0.5% 첨가 콤부차가 0.97%로 가장 낮았다. 이러한 결과를 종합해볼 때 새로운 쌀 음료로써 쌀당화액을 이용해서 콤부차를 만드는 것이 가능하다는 것을 확인할 수 있었다.

REFERENCES

An JO. Characteristics of korean rice liquor made from different rice pre-treatments. PhD thesis, Sejong University, Seoul, Korea (2018)
AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC Intl. 16th ed, Method 991.43. Association of Official Analytical Communities, Arlington, VA, USA (1995)
Cha JY, Kim HJ, Chung CH, Cho YS. Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of *Cudrania tricuspidata*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 28: 1310-1315 (1999)
Chen C, Liu BY. Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation. J. Appl. Microbiol. 89: 834-839 (2000)
Dutta H, Paul SK. Kombucha drink: production, quality, and safety aspects. Production and management of beverages. 1st ed. Woodhead publishing, Sawston, United Kingdom. pp 259-288 (2019)
Faulds C, Robertson J, Waldron K. Effect of pH on the solubilization of brewers' spent grain by microbial carbohydrates and proteases. J. Agric. Food Chem. 56: 7038-7048 (2008)
Gaggìa F, Baffoni L, Galiano M, Nielsen D, Jakobsen R, Castro-Mejía J, Bosi S, Truzzi F, Musumeci F, Dinelli G, Di Gioia D. Kombucha beverage from green, black and rooibos teas: A comparative study looking at microbiology, chemistry and antioxidant activity. Nutrients. 11: 1-22 (2019)
Gil NY, Kim SY, Choi HS, Park SY, Kim JH. Investigation of quality characteristics and alcohol content in commercial Korean fermented sources. Korean J. Food Preserv. 23: 341-346 (2016)
Hwang IG, Yang JW, Kim JY, Yoo SM, Kim GC, Kim JS. Quality characteristics of saccharified rice gruel prepared with different cereal koji. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 40: 1617-1622 (2011)
Jayabalan R, Marimuthu S, Swaminathan K. Changes in content of organic acid and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. Food Chem. 102: 392-398 (2007)
Kim YH. A study on quality characteristics and consumer preference of tea according to the degree of fermentation. MS Thesis, Chungwoon University, Korea, p. 85 (2013)
Kim ML, Choi MA. Development of fermented acidic beverage using wild grape juice. Korean J. Food Prese. 18: 46-52 (2011)
Kim JY, Shin HJ, Kim HJ, Park H, Kim PK, Park S, Kim SH. The compositional and functional properties of kombucha: A literature review. Food Eng. Prog. 24: 1-14 (2020)
Ko HM, Shin SS, Park SS. Biological activities of Kombucha by stater culture fermentation with *Gluconacetobacter* spp. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 46: 896-902 (2017)
Korea Agro-Fisheries & Food Trade Corporation. 2020 Processed Food Segmentation Market Report(Processed Rice Food). Korea Agro-Fisheries & Food Trade Corporation. pp. 37-42 (2021)
Lee DH, Kim JH, Lee JS. Effect of pears on the quality and physiological functionality of makgeoly. Korean J. Food Nutr. 22: 606-611 (2009)
Lee OS, Jang SY, Jeong YJ. Effect of ethanol on the production of cellulose and acetic acid by *Gluconacetobacter persimmonis* KJ145. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 32: 181-184 (2003)
Nakamura J, Hamada Y, Sakakibara F, Hara T, Wakao T, Mori K, Nakashima E, Naruse K, Kamijo M, Koh N, Hotta N. Physiological and morphometric analyses of neuropathy in sucrose-fed OLETF rats. Diabetes Res. Clin. Pr. 51: 9-20 (2001)
Pokalwar SU, Mishra MK, Manwar AV. Production of cellulose by *Gluconacetobacter* sp. Recent Res. Sci. Technol. 2: 14-19 (2010)
Rural Development Administration (KR). Food composition table. 9th revision edition. Rural Development Administration. Suwon, Korea (2016)
Silvia AV. Sandra B, Jalloul B, Jean-Pierre S, Patricia T. Understanding kombucha tea fermentation: A review. J. Food Sci. 83: 580-588 (2018)
Woo HG, Lee CM, Jeong JH, Choi BK, Huh CK. 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 (2021)