

한방재 첨가 콤부차의 성상 및 특성

고혜명·박성수*

제주대학교 식품영양학과

Characteristics and Properties of Kombucha Supplemented with Herbal Ingredients

Hye Myoung Ko · Sung Soo Park*

Dept. of Food Science & Nutrition, Jeju National University, Jeju, Korea

(Received January 7, 2024 / Revised January 30, 2024 / Accepted February 29, 2024)

Abstract Background: Kombucha, originating from Northeast Asia, is a fermented beverage produced by fermenting black tea with a symbiotic culture of bacteria and yeast, renowned for its myriad health benefits. The augmentation of its health-promoting attributes, particularly antioxidant properties, through the integration of medicinal herb extracts, has gained attention in recent research. **Purpose:** The objective of this research was to explore the potential enhancement of the antioxidant properties of kombucha through the addition of hot water extracts from selected 7 medicinal herbs native to Jeju Island. Additionally, the study aimed to ascertain the successful transfer of active herbal ingredients into the kombucha. **Methods:** The methodology entailed the hot water extraction of the aforementioned medicinal herbs followed by their incorporation into the kombucha during a secondary fermentation phase. The assessment criteria included the analysis of the kombucha's physical characteristics post-fermentation, the quantification of sugar content, and the evaluation of antioxidant using DPPH, ABTS assays. The presence of specific active compounds(EGCG, 2,5-DHAP) was verified using HPLC and SDS-Gel Electrophoresis. **Results:** The findings indicated a successful fermentation process, as evidenced by an increase in reducing sugars. Moreover, the kombucha exhibited notable antioxidant activities post-fermentation, which implies the effective infusion of the herbal extracts' properties into the beverage. HPLC and electrophoresis analysis confirmed the assimilation of key active ingredients from the herbs into the kombucha. **Conclusions:** This study substantiates the premise that the enrichment of kombucha with hot water extracts from Jeju Island's medicinal herbs enhances its antioxidant properties. The successful integration of these herbal components into kombucha not only amplifies its health benefits but also contributes to the expansion of the functional beverage sector within the domains of health and alternative medicine.

Key words Kombucha, Herbal medicine, Pellicle, Anti-oxidation, Anti-inflammation

초록 배경: 콤부차는 동북아시아의 전통적인 발효 음료로, 홍차 추출물을 세균과 효모의 공생 문화와 함께 발효시켜 만들며 다양한 기능성으로 알려져 있다. 최근 건강 및 대체 의학에 대한 관심이 증가함에 따라 항산화, 항염, 항암 효과를 중심으로 한약재의 약리활동에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. **목적:** 이 연구는 제주도의 한약재 열수

추출물을 첨가하여 발효한 콤부차의 항산화 효과를 평가하고, 이러한 약용 허브 추출물의 활성 성분이 콤부차로의 전이 가능성을 조사하여 콤부차의 기능을 향상시키는 것을 목표로 한다. **방법:** 제주도의 한방재인 오가피, 백수오, 석창포, 질경, 우슬, 방풍, 황금 등이 열수 추출되었다. 이 추출물들은 기본 배양된 콤부차에 첨가되어 이차 발효 과정을 거쳐 한약재가 첨가된 콤부차를 제조하였다. 발효 결과는 발효 후 생성된 펠리클의 형태 및 색상 분석과 총당 및 환원당 수준의 측정을 통해 평가되었다. 항산화 활성은 DPPH 및 ABTS 분석을 사용하여 측정되었으며, 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)는 콤부차 내의 활성 성분, 카테킨 유도체(EGCG) 및 아세토페논 유도체(2,5-DHAP)의 존재를 확인하는 데 사용되었다. **결과:** 선택된 7종의 한약재 열수 추출물을 콤부차에 첨가한 결과, 모든 약초 콤부차에서 총당 대비 환원당 수준이 높아 성공적인 발효가 이루어졌음을 나타냈다. DPPH 및 ABTS 분석에서 모두 유의미한 항산화 활동이 관찰되었다. 또한 HPLC와 전기영동 분석을 통해 한약재 추출물로부터 콤부차로의 핵심 활성 성분인 EGCG 및 2,5-DHAP의 전이를 확인했다. **결론:** 이 연구는 제주도산 한약재 추출물을 통해 콤부차의 기능을 향상시킬 수 있는 가능성을 강조한다. 활성 성분의 성공적인 전이는 콤부차의 항산화 및 항염 프로ファイルを 풍부하게 할 뿐만 아니라 건강 및 대체 의학 분야에서 기능성 음료의 개발을 지원하게 될 것이다.

주제어 콤부차, 한방재, 펠리클, 항산화, 항염

서 론

콤부차(Kombucha)란 녹차, 홍차, 수크로오스(sucrose)를 symbiotic culture of bacteria and yeasts(SCOBY)로 발효시켜 제조하는 음료로, 현재 건강기능 식품군에서 소비자들에게 각광받고 있다. 콤부차는 뛰어난 항산화 작용, 소화 증진, 피부 미용, 항균 작용, 항암 효과가 있다고 밝혀졌다(Villarreal-Soto *et al.*, 2020). SCOBY는 다양한 식음료의 제조에 사용되는 세균 및 효모의 발효 생성물이며, 대표적으로 콤부차, 식초, 사워도우, 케피어 등의 재료로 쓰인다(Gallegos *et al.*, 2016; Link, 2018). 콤부차 내에는 acetic acid bacteria(AAB, 초산균), lactic acid bacteria(LAB, 유산균) 그리고 *Saccharomyces* 속의 yeast가 다양하게 존재한다(Mukadam *et al.*, 2016; Tran *et al.*, 2020). 이들의 존재 및 대사체로 인해 콤부차가 우수한 항균 작용과 항산화능을 갖는다(Villarreal-Soto *et al.*, 2020). 환경과 취향에 따라 발효 시간을 달리하거나 당원 및 찻물을 달리하는 등 다양한 변화를 줄 수 있다. 1차 발효 시에는 설탕 등의 당원을 홍차, 녹차와 같은 대중적인 차와 함께 발효시키는 방법으로 정형화되어 있지만, 2차 발효의 방법 및 재료는 더욱 다양하다. 2차 발효의 재료로는 석류, 자몽, 사과, 포도, 파인애플, 키위 등이 있으며 이 외에도 인삼, 오미자, 커피, 로즈메리를 발효한 콤부차도 존재한다. 이 중에서 석류, 사과, 당근, 포도, 자두를 이용한 콤부차가 대중적으로 큰 인기를 끌고 있으며, 자몽과 인삼, 오미자를 이용한 콤부차는 다이어트 및 우수한 건강관리 음료로

이용되고 있다(Akbarirad *et al.*, 2017). 콤부차는 건강에 다양한 이점을 제공하는 것으로 알려져 있다. 첫째, 콤부차에는 프로바이오틱스와 같은 유익한 세균이 함유되어 있어 장 내 미생물 균형을 조절하고 장 건강을 촉진하는 데 도움을 준다. 둘째, 콤부차에는 다양한 화합물이 생성되는데, 이들은 항산화 효과를 가지고 있어 자유 라디칼의 형성을 억제하고 산화 스트레스로부터 우리 몸을 보호하는 역할을 한다. 또한, 콤부차에는 다양한 비타민, 미네랄, 아미노산 등이 함유되어 있어 영양소 섭취에도 도움을 줄 수 있다(Jayabalan *et al.*, 2014). 특히 콤부차의 항산화 효과는 녹차에 포함된 폴리페놀 성분의 영향으로 효과가 뛰어난 것으로 보고되고 있다(Kim *et al.*, 2020).

우리나라에 자생하는 식물은 총 4,500여 종으로 이 중에서 약성이 강한 1,000여 종의 식물이 약초로써 이용되었다고 기록되어 있으며, 제주에는 해발 1,950m 한라산의 영향으로 약 2,000여 종의 식물들이 분포한다고 알려져 있다. 이 중 식용 및 약용으로 활용 가능성을 가진 식물자원들도 약 800여 종이 있다고 보고되고 있다(Jung, 2012). 대한민국약전(MFDS, 2016), 대한민국약전외한약(생약)규격집(MFDS, 2014)의 한약자원식물 546종 중 현재 제주도에 분포하는 것으로 알려진 분류군은 약 130여종으로, 이 중 제주도에만 분포하는 한약자원식물은 후추등(*Piper kadsura* (Choisy) Ohwi), 땃나무(*Sambucus sieboldiana* (Miq.) Blume ex Miq.), 좁향유(*Elsholtzia minima* Nakai), 목련(*Magnolia kobus* DC.), 좁취손이(*Geranium tripartitum* R.Knuth) 등 총 10 종이 다(KNA, 2016). 한약재는 우리나라와 동양권에서 오랫동안

질병치료와 예방의 목적으로 사용되었고 한약재를 포함한 식물 성분들은 vitamin C, carotenoids, cellulose와 식이섬유, phenolic 화합물, flavonoids 등에 의한 항종양활성, 항암활성, 항산화성, 콜레스테롤 저하작용, 정장작용 등 다양한 생리적 기능들이 보고되고 있다(Kim *et al.*, 2012). 최근 건강과 대체의학에 대한 관심이 높아지고 있어 한약재의 수요는 꾸준히 증가되고 있고 관련 연구가 다양하게 진행되고 있으며 항산화작용, 항암활성에 대한 연구가 주를 이룬다(Lee *et al.*, 2012, Ju *et al.*, 2006, Lee *et al.*, 2022). 본 연구는 여러 생리활성과 기능성을 가진 한약재를 콤부차에 첨가하여 한방재의 유효성분의 콤부차로의 이행 및 생물전환(Bioconversion) 등의 콤부차와 한방재의 기능성 상승효과를 기대하고 고기능성 건강음료 개발을 목표로 하여 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

한방재 열수추출

제주시 한약상에서 구입한 제주도산 한방재인 방풍(A, *Saposhnikovia divaricata*), 백수오(B, *Cynanchum wilfordii*), 오가피(C, *Acanthopanax koreanus* Nakai), 질경(D, *Plantago asiatica* L.), 우슬(E, *Achyranthes bidentata* Blume), 황금(F, *Scutellaria baicalensis*), 석창포(G, *Acorus gramineus*) 각 50g에 1리터의 증류수를 가해 약탕기(DW-990, 대웅, 한국)에서 초탕과 재탕을 한 후 혼합하여 실험에 사용하였다.

한방재 콤부차 배양

콤부차배양은 Kim *et al.*(2016)의 방법에 준하여 수행하였다. 필요한 비커와 메스실린더를 121℃ 20분간 멸균 후 사용하였다. 물 2800ml을 끓이고 300ml 당 녹차 티백 1개씩 하여 티백을 10분간 우린 후 용액의 10% 설탕을 녹인다. 녹차액을 충분히 식힌 후 녹차액 700ml 한방재 추출액 200ml, 콤부차 1차배양액 100ml를 넣는다. 1차 배양액의 펠리클을 조각내서 첨가 후 거즈로 입구를 잘 막고 28℃ 인큐베이터에 10일간 배양하였다.

당 정량

당 정량 실험으로는 우선 시료인 한방재 콤부차를 100배,

200배 희석 하고 희석액에 대하여 페놀-황산법(Phenol-sulfuric acid)법을 응용하여 전당 정량을 DNS(Dinitrosalicylic acid)법을 이용하여 환원당 정량 실험을 하였다.

전당 함량 분석을 위하여 Saha and Brewer(1994)의 페놀-황산법을 변형하여 분석법을 확립하였다. 한방재 콤부차 희석액 및 농도별 maltose(sigma, USA) 표준액을 0.1 mL씩 1.5 mL tube에 넣고 5% phenol 용액 0.1 mL을 넣어 혼합하였다. 이후 진한 황산 0.5 mL을 넣고 20분간 정치시킨 뒤 10분간 방냉한 것을 microplate reader (Molecular Devices Ltd., ASV11D, CA, U.S.A.)에서 470 nm에서 흡광도를 측정하였다. 환원당 함량은 dinitrosalicylic acid (DNS) 법으로 측정하였다(Miller, 1959). DNS 시약은 dinitrosalicylic acid 10 g과 phenol 2 g을 1 L의 volumetric flask에 넣고, 1%의 sodium hydroxide 용액으로 1 L로 묽히면서 stirring시켜충분히 용해시켜 사용하였다. 시료를 10배로 희석하여 여과(Whatman No. 2)시킨 여액 3 mL를 시험관에 넣고 DNS 시약 3 mL를 가하여 boiling bath에서 가열하면서 40%의 Rochell salt(potassium sodium tartarate 4H₂O, Sigma-Aldrich, MO, USA) 1 mL를 가하였다. 5분 동안 가열한 후 시험관을 흐르는 수돗물에서 식힌 뒤 이것을 575 nm에서 흡광도를 측정하여 포도당으로 미리 정해진 검량선에서 환원당 함량을 산출하였다.

항산화 실험

● 시료제조

한방재 추출액 1 ml를 농축기로 0.25 ul까지 농축하고 한방재 추출액 동결건조 후 증류수를 이용하여 5 mg/ml 농도로 제조하여 사용하였다. 대조군으로는 ascorbic acid, BHT, BHA 5 mg/ml 농도로 제조하여 사용하였다.

● DPPH

DPPH 법에 의한 free radical 소거 활성은 Naik *et al.*(2004)의 방법을 변형하여 다음과 같이 검토하였다. 100 µg/mL 농도가 되게끔 시료를 4 mL의 methanol에 녹여 1.5 × 10⁻⁴ M DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Sigma-Aldrich, MO, USA) 용액 1 mL를 첨가한 후, 30분간 실온에 방치하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 전자공여 능력은 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 표현하였다.

● ABTS

Park *et al.*(2000)의 방법에 따라 96 well micro plate에 PBS 100 μ L, 400 μ g/mL 농도의 시료 20 μ L를 넣고, 1 mM H₂O₂를 가하여 5분 방치한 후, 1.25 mM ABTS (2,2'-azino-bis-3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 30 μ L와 PBS에 녹인 1 Unit/mL peroxidase 30 μ L를 첨가하여 37°C에서 10분간 반응시켜 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 표현하였다.

● HPLC 분석

HPLC분석 조건은 Table 1에 표시하였다. 백수오 콤투차 1 ml을 감압 농축기를 이용하여 200 μ l로 농축시킨 후 MeOH을 300 μ l을 첨가하여 제조하였으며, 0.45 μ m syringe filter를 이용하여 필터 후 10 μ l를 injection 하였다. Standard solution은 EGCG 0.001 g + MeOH 500 μ l, 2,5-dihydroxyacetophenone 0.036 mg + MeOH 1 ml을 제조하여 같은 방법으로 필터 후 사용하였다(Table 1).

Table 1. HPLC Analysis Conditions

Item	Condition
	HPLC system
Instrument	(Alliance HPLC System e2695, Waters, MA, USA)
Column	Verspack C18 10 μ , 250mm x 4.1mm
Column temperature	27°C
Mobile phase	EGCG : 20% MeOH solution 2,5-dihydroxyacetophenone : 0.1% phosphoric acid + MeOH(7:3)
Flow rate	1mL/min
Detector	UV(210nm)

● 전기영동

백수오 콤투차는 BCA 정량을 통해 단백질의 양을 조절 한 후 12% acrylamide gel separating gel과 4% acrylamide stacking gel을 제조했으며, 1%의 단백질과 sample buffer를 혼합하여 loading sample을 제조하였다. Separating gel에 standard protein marker(Model#161-0318, Bio-Rad Laboratories)와 함께 전기영동장치(Mini Protean Tetra Cell, Bio-Rad, CA, USA)에 로딩하였다. 150 V에서 약 1





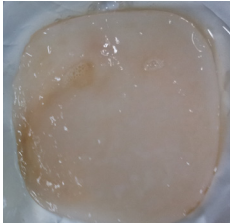

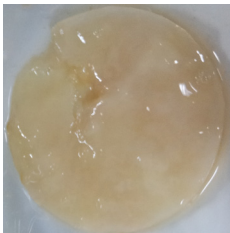
시간 30분 동안 단백질을 분리했다. 젤은 silver staining kit(PowerStainTM, Elpis-Biotech, 대전, 한국)를 이용하여 밴드를 확인 하였다.


결과 및 고찰

콤투차 발효후 제주도산 7종의 한약재인 방풍(*Saposhnikovia divaricata*), 백수오(*Cynanchum wilfordii*), 오가피(*Acanthopanax koreanus* Nakai), 질경(*Plantago asiatica* L.), 우슬(*Achyranthes bidentata* Blume), 황금(*Scutellaria baicalensis*), 석창포(*Acorus gramineus*)의 열수 추출물을 첨가한 한방재콤투차를 제조하여 그 특성을 분석하였다. 우선 한방재콤투차 발효 후 생성된 펠리클의 형태 및 색상 분석을 수행한 결과는 Table 2에 제시하였다. 녹차액으로 전배양한 콤투차의 펠리클은 흰색이고 매끄러우며 두께가 두껍다. 오가피콤투차의 펠리클은 전배양 콤투차와 유사하였고, 백수오콤투차 펠리클은 조금 울퉁불퉁하나 표면이 매끄럽고 두께가 두껍다. 방풍은 가장자리 부분이 얇으나 두꺼운 두께가 일정하고 매끄러웠다. 석창포를 첨가한 경우는 울퉁불퉁한 표면에 색이 갈색이고 두꺼웠으며, 우슬콤투차 펠리클은 전배양 콤투차와 유사한 결과가 나타났다. 황금을 첨가한 콤투차의 경우에는 표면이 울퉁불퉁하며 약간 누런색이고 두꺼웠다. 질경의 경우는 울퉁불퉁한 표면 색은 흰색이며 두꺼웠다. 한방재 콤투차의 전당 및 환원당 정량실험을 통한 발효 결과는 Fig 1에 표시하였다. 발효 후 생성된 한약재 첨가 콤투차의 총당 및 환원당 수준의 측정을 통해 평가되었다. 선택된 7종의 한약재 열수 추출물을 콤투차에 첨가한 결과, 모든 약초 콤투차에서 총당 대비 환원당 수준이 높아 성공적인 발효가 이루어졌음을 나타냈다. 그 결과는 감골콤투차의 연구결과(Kim *et al.*, 2016)와 경향이 유사했으며 일반적으로 콤투차의 1차 발효과정 중에 당원으로 사용한 sucrose가 glucose와 fructose로 분해되며 이렇게 분해된 당류 단당체는 더 발효가 진행됨에 따라 에탄올과 CO₂로 분해되는 과정을 거치는 것으로 알려져 있다(May *et al.*, 2019). 본래 sucrose가 분해되면서 glucose와 fructose가 증가해야 하므로 환원당이 증가하는 경향이 나타난다.

항산화능은 DPPH 및 ABTS분석을 사용하여 BHT, BHA, Vt.C를 positive control로 선정하여 측정되었으며(Fig. 2), DPPH 및 ABTS 분석에서 모두 유의미한 항산화 활동이 관찰되었다. DPPH활성은 Park and Park(2020)의 연구 경향

Table 2. Characteristics of Kombucha Pellicle with Herbal Additives

Sample	Pictures	Characteristics
Standard Kombucha (green tea base)		The specimen exhibits a white coloration with a smooth texture and significant thickness.
[A] <i>Saposhnikovia divaricata</i>		The peripheral regions are characterized by a thinner profile, yet the thickness becomes uniform and retains smoothness towards the center.
[B] <i>Cynanchum wilfordii</i>		Some areas present a slight roughness; however, the surface remains predominantly smooth with a notable thickness.
[C] <i>Acanthopanax koreanus</i>		Upon closer examination, the surface is predominantly smooth with an overall white hue and considerable thickness.
[D] <i>Plantago asiatica</i>		Furthermore, areas with an uneven surface maintain a white coloration and are characterized by a significant thickness.
[E] <i>Achyranthes bidentata</i>		In terms of cleanliness, the surface is notably smooth, pristine, and white, with a pronounced thickness.
[F] <i>Scutellaria baicalensis</i>		Variability is observed in certain regions where the surface becomes uneven with a slight yellowish tint, yet the thickness remains consistent.

Sample	Pictures	Characteristics
[G] Acorus gramineus		The rough surface areas are distinguished by a brown coloration and increased thickness.

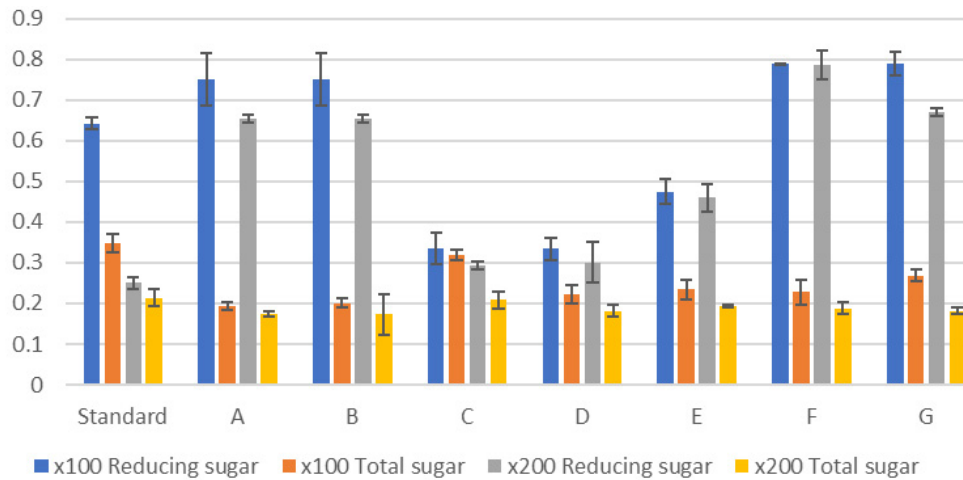


Fig. 1. Quantification of Total Sugars and Reducing Sugars in Herbal-Infused Kombucha

The sugar content was measured in triplicate, and the data are presented as mean ± standard deviation. The alphabetic symbols represent kombucha with the addition of herbal medicine. A: *Saposhnikovia divaricata*, B: *Cynanchum wilfordii*, C: *Acanthopanax koreanus* Nakai, D: *Plantago asiatica* L., E: *Achyranthes bidentata* Blume, F: *Scutellaria baicalensis*, G: *Acorus gramineus*.

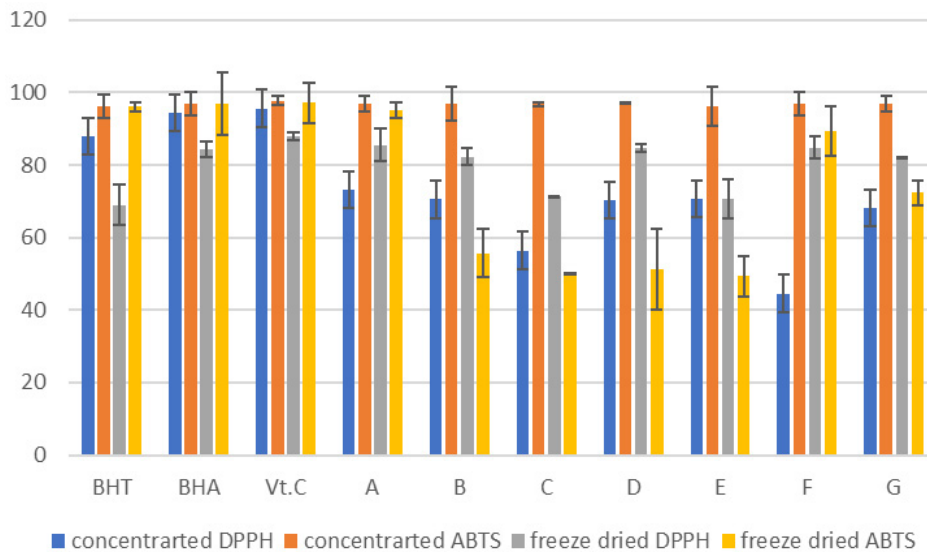


Fig. 2. Antioxidant Capacity of Kombucha Supplemented with Herbal Medicine

The antioxidant capacity was determined in triplicate, and the resulting data are expressed as mean ± standard deviation. The alphabetic symbols denote kombucha supplemented with traditional herbal medicine.

과 유사하였다. 본 연구에서는 한방재 추출물을 4배 농축한 것을 첨가한 경우와 동결건조한 한약재 추출액을 용해시켜 5 mg/ml의 농도가 되게 하여 두 방법으로 제조한 콤부차로 비교분석하였다. 우선 농축법과 동결건조법에 대한 효과의 비교에서 한방재에 종류에 따른 차이를 나타냈으며 DPPH의 경우 전반적으로 동결건조 후 시료로 사용한 경우가 농축한 경우보다 높게 나타났으며 한약재 중에서는 방풍(85.46%)과 질경(84.75%)이 가장 높은 활성을 나타냈다. ABTS의 경우에는 농축한 경우가 동결건조 시료보다 높게 나타났으며 방풍(96.82%), 질경(97.13%), 황금(96.91%)이 타 한방재 보다는 ABTS활성이 높게 나타났다. 이는 DPPH의 경향과도 유사한 결과를 나타냈다. DPPH assay의 경우 시료 분자 크기가 크면 DPPH의 자유 라디칼이 소거되지 않을 수 있으며, pH의 변화에도 영향을 받을 수 있다고 알려져 있어 (Sharma와 Bhat, 2009), DPPH와 ABTS측정법을 추가하였

으나 결과에서는 농축법과 동결건조법에 의한 활성의 차이가 반대로 나타났으나 전반적인 항산화 활성에서는 그 경향이 유사하게 나타나 두 실험법의 병용 또는 추가 항산화 측정법의 활용 등을 고려할 필요가 있을 것으로 판단된다. 일반적으로 한방재들이 높은 항산화활성을 보이고 있는 경향이 있어 사용한 한방재의 유효성분이 콤부차로의 이행됐을 것으로 추측되었다. 이를 확인하고자 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)를 활용하여 콤부차 내의 활성 성분, 카테킨 유도체(EGCG) 및 아세토페논 유도체(2,5-DHAP)의 존재를 확인하고자 하였다. 콤부차 중에 유효물질 연구가 활발히 진행되었으며 유사한방재의 사용으로 사회문제화됐던 백수오를 첨가한 콤부차를 분석하여 유효성분의 이행여부를 확인하였다. 우선 HPLC 분석 결과 백수오의 유효성분인 2,5-dihydroxyacetophenone을 표준품으로 하여 분석한 결과 표준품과 일치한 peak가 백수오콤부차에서도 확인되었으며, epi-

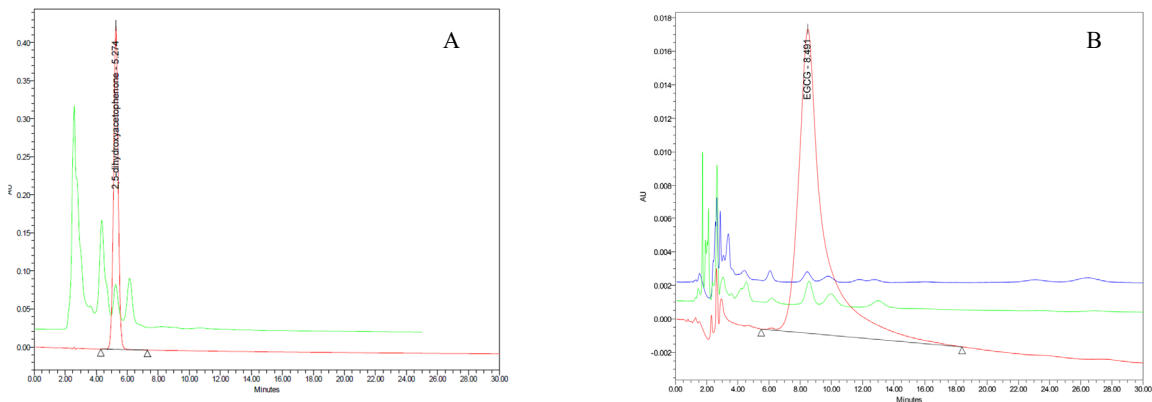


Fig. 3. HPLC Analysis Results of Kombucha Supplemented with *Cynanchum wilfordii*

The red graph represents the standard and green graph represents Kombucha. A, 2,5-dihydroxyacetophenone B, epigallo catechin gallate, EGCG.

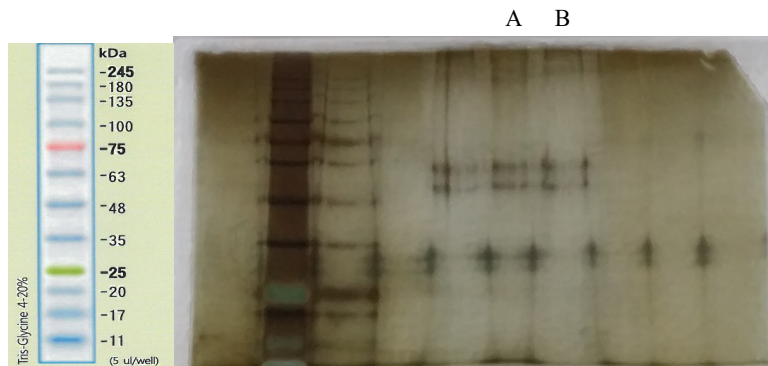


Fig. 4. Electrophoretic Patterns of *Cynanchum wilfordii* and *Cynanchum wilfordii* Kombucha
Line A represents *Cynanchum wilfordii*, while Line B denotes *Cynanchum wilfordii* Kombucha.

gallo catechin gallate, (EGCG)의 경우 또한 백수오콤부차에서 확인됐다(Fig. 3). 이 결과로서 한약재 추출물로부터 콤부차로의 핵심 활성 성분인 EGCG 및 2,5-DHAP의 전이를 확인했다. 이전 콤부차의 연구에서 HPLC를 활용한 사례에서는 콤부차 자체의 발효에 의해 성분의 변화를 HPLC로 분석하거나(Mitanda *et al.*, 2016), 콤부차내 다양한 phytochemical 성분의 동정에 활용한 연구들이 보고되고 있으나(Elvanišová *et al.*, 2019, Lobo *et al.*, 2017) 첨가재료의 유효성분에 활용한 경우는 드물다. 추가적인 확인을 위하여 전기영동(SDS-PAGE)법을 사용하였다. 그 결과 백수오의 밴드 위치가 일치하는 백수오콤부차의 결과에서 고분자 물질 또한 콤부차로 이해됨으로써 한방재 콤부차의 유용성을 높이는 데 그 역할을 수행한다는 것을 확인하였다(Fig. 4). 본 연구를 통해 다양한 기능성 생물자원을 활용하여 유용물질 첨가 콤부차를 제조함으로써 기능성 식품으로의 가능성을 타진하기 위한 연구에 이용될 것으로 사료된다.

결 론

제주산 한방재 7종의 열수추출물을 첨가 하여 발효한 콤부차의 항산화효과와 한방재 열수추출물의 유효성분의 콤부차로의 이행여부를 조사하고자 연구를 수행하였다. 제주산 한방재(오가피, 백수오, 석창포, 우슬, 질경, 방풍, 황금)들을 열수추출물을 첨가한 한방재 콤부차를 제조하였다. 배양 후 생성되는 펠리클은 한방재의 종류에 따라 모양과 색에 대한 차이가 있었고 전당 정량과 환원당 정량의 결과에서는 7가지 한방재 콤부차 전부 환원당이 전당보다 높은 수치를 나타내어 배양이 진행되었음을 확인했다. 이후 DPPH와 ABTS 실험에서 높은 항산화성을 보였다. 백수오 열수추출물 유효성분의 콤부차로의 이행여부를 확인하기 위한 HPLC와 전기영동 분석에서 카테킨 유도체인 EGCG (epigallocatechin-3-gallate)와 Acetophenone 류인 2,5-dihydroxyacetophenone을 확인하였으며 한약재의 고분자 성분들의 이행 또한 확인되었다.

Acknowledgment

본 연구 수행에 도움을 준 김미경, 강혜지 학생에게 감사드립니다.

References

- Akbarirad, H., M.M. Assadi, R. Pourahmad, and A.M. Khaneghah. 2017. Employing of the different fruit juices substrates in vinegar kombucha preparation. *Curr. Nutr. Food Sci.* 13: 303-308.
- Gallegos, A.M.A., S.H. Carrera, R. Parra, T. Keshavarz, and H.M. Iqbal. 2016. Bacterial cellulose: A sustainable source to develop valueadded products-A review. *Bioresources* 11: 5641-5655.
- Ivanišová, E., K. Meňhartová, M. Terentjeva, L. Godočiková, J. Árvay, and M. Kačániová. 2019. Kombucha tea beverage: Microbiological characteristic, antioxidant activity, and phytochemical composition. *Acta Alimentaria* 48(3): 324-331. <https://doi.org/10.1556/066.2019.48.3.7>
- Jayabalan, R., R.V. Malbaša, E.S. Lončar, J.S. Vitas, and M. Sathishkumar. 2014. A Review on Kombucha Tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 13(4): 538-550.
- Ju, J.C., J.H. Shin, S.J. Lee, H.S. Cho, and N.J. Sung. 2006. Antioxidative activity of hot water extracts from medicinal plants. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 35(1): 7-14.
- Jung Y.H. 2012. Industrialization research of Jeju medicinal plants. *Food Industry and Nutrition* 17(1): 13-16.
- Kim, C.I., S.S. Shin, and S.S. Park. 2016. Growth inhibition and induction of apoptosis in human bladder cancer cells induced by fermented citrus Kombucha. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 45(10): 1422-1429.
- Kim, E.J., J.Y. Choi, M. Yu, M.Y. Kim, and S. Lee. 2012. Total Polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* 44(3): 337-342.
- Kim, J.Y., H.J. Shin, H.J. Kim, H. Park, P.K. Kim, S. Park, and S.H. Kim. 2020. The compositional and functional properties of Kombucha: A literature review. *Food Eng. Prog.* 24: 1-14.
- Korea National Arboretum(KNA). 2016. Distribution Map of Korean Vascular Plants. Korea Forest Service.
- Lee, H.J., J.W. Seo, S.H. Kim, C.Y. Lee, and S.Y. Kim.

2022. Apoptotic effects of butanol fraction of *Lysimachia foenum-graecum* by Regulating Akt/mTOR signaling pathways in AGS gastric cancer cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 51(3): 221-228.
- Lee, S.J., J.H. Shin, J.R. Kang, C.R. Hwang, and N.J. Sung. 2012. In vitro evaluation of biological activities of Wa-song(*Orostachys japonicus* A. Berger) and Korean traditional plants mixture. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 41(3): 295-301.
- Link, R. Kombucha SCOBY: What It Is and How to Make One. Available from: <https://www.healthline.com/nutrition/kombuchascoby>. Accessed Oct. 30. 2022.
- May, A., S. Narayanan, J. Alcock, A. Varsani, C. Maley, and A. Aktipis. 2019. Kombucha: A novel model system for cooperation and conflict in a complex multi-species microbial ecosystem. *PeerJ.* 7:e7565. <https://doi.org/10.7717/peerj.7565>
- Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31: 426-428.
- Ministry of Food and Drug Safety(MFDS). 2014. Korean herbal (Medicinal Plant) standards collection outside the Korean pharmacopoeia. Ministry of Food and Drug Safety Notification No. 2014-173.
- Ministry of Food and Drug Safety(MFDS). 2016. The Korean pharmacopoeia, 11th Revision. Ministry of Food and Drug Safety Notification No. 2016-57.
- Miranda, B., N.M. Lawton, S.R. Tachibana, N.A. Swartz, and W.P. Hall. 2016. Titration and HPLC characterization of Kombucha fermentation: A laboratory experiment in food analysis. *J. Chem. Educ.* 93(10): 1770-1775.
- Mukadam, T.A., K. Punjabi, S.D. Deshpande, S.P. Vaidya, and A.S. Chowdhary. 2016. Isolation and characterization of bacteria and yeast from Kombucha tea. *Int J Curr Microbiol Appl Sci.* 5(6): 32-41.
- Naik, G.H., K.I. Priyadarsini, D.B. Naik, R. Gangabagirathi, and H. Mohan. 2004. Studies on the aqueous extract of *Terminalia chebula* as a potent antioxidant and a probable radioprotector. *Phytomedicine* 20: 530-538.
- Park, J.W., S.J. Kim, S.H. Kim, B.H. Kim, S.G. Kang, S.H. Nam, and S.T. Jung. 2000. Determination of mineral and heavy metal contents of various salts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32: 1442-1445.
- Park, S.Y. and S.S. Park. 2020. Inhibitory effect of fermented and non-fermented citrus Kombucha on postprandial hyperglycemia and hypertension. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 49(2): 206-211.
- Saha, A.K. and C.F. Brewer. 1994. Determination of the concentrations of oligosaccharides, complex type carbohydrates, and glycoproteins using the phenol-sulfuric acid method. *Carbohydr. Res.* 254: 157-167.
- Sharma, O.P. and T.K. Bhat. 2009. DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chem.* 113: 1202-1205.
- Tran, T., C. Grandvalet, F. Verdier, A. Martin, H. Alexandre, and R. Tourdot-Maréchal. 2020. Microbial dynamics between yeasts and acetic acid bacteria in Kombucha: Impacts on the chemical composition of the beverage. *Foods* 9: 963. <https://doi.org/10.3390/foods9070963>
- Villarreal-Soto, S.A., J. Bouajila, M. Pace, J. Leech, P.D. Cotter, J.P. Souchard, P. Taillandier, and S. Beaufort. 2020. Metabolome-microbiome signatures in the fermented beverage, Kombucha. *Int J Food Microbiol.* 333: 108778. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108778>