

배양액 제조에 사용된 당의 종류와 농도 및 배양 온도가 Tea Fungus 발효 홍차의 pH 변화와 Total Acids 생성에 미치는 영향

최미애 · 김정옥* · 최경호

대구효성가톨릭대학교 식품영양학과, *부산여자대학교 화학과

Effects of Saccharides and Incubation Temperature on pH and Total Acidity of Fermented Black Tea with Tea Fungus

Mi Ae Choi, Jeong Ok Kim* and Kyung Ho Choi

Department of Food and Nutrition, Taegu Hyosuong Catholic University

*Department of Chemistry, Pusan Women's University

Abstract

The fermented black tea with tea fungus (FBTF) known to cure various diseases was prepared by culturing tea fungus biomass in black tea with different kinds (sucrose, glucose, fructose and corn syrup) and concentrations (10-60% w/v) of saccharides. pH changes and total acid production of FBTF were investigated during 14 days incubation at 5-45°C. The patterns of acid production in sucrose and fructose black tea solution were similar each other, and those in glucose and corn syrup black tea solution were similar each other showing that tea fungus biomass utilizes fructose than glucose more efficiently. The optimum incubation temperature for the formation and growth of tea fungus biomass, and the acid production was 30°C. Low contents of total acids (0.1%-0.2%) were produced in 20% or higher concentrations of sucrose and fructose black tea solution, while 1.8% and 0.68% were produced in the 10% of sucrose and fructose black tea solutions, respectively. pH of FBTF dropped to 2.74-3.56 after 2 days of incubation of all the culture solution and kept this level to 14 days incubation.

Key words: tea fungus, fermented black tea, pH, total acidity, effects of saccharides, incubation temperature

서 론

Tea fungus 발효 홍차는 장수, 항암, 시력 회복, 변비, 당뇨, 신장병, 불면증, 심장병 등에 약효가 있는 음료로 알려져 민간요법에 사용되고 있다⁽¹⁾. 건강 식품에 대한 관심이 높아지면서 이와 같이 몸에 좋고 장수할 수 있다는 많은 건강 식품이 개발 또는 외국으로부터 들어와 소비되고 있다. 반면, 기호식품으로 수세기 동안 애용되어 온 cola 또는 각종 인공 향료를 섞어서 만든 탄산수다는 인류의 건강을 위해서는 결코 도움이 되지 않는다는 비난을 받기 시작하면서 차츰 그 수요가 줄어들기 시작하고 있다⁽²⁾. 따라서 건강 음료의 개발은 국민 건강을 위해서 뿐만 아니라 cola와 같은 외국산 음료 소재의 수입을 줄이기 위해서도 필요한 부

분으로 생각되지만, 많은 종류의 건강 식품에 대한 과학적인 근거를 제시할 수 있는 자료는 매우 부족하다.

미생물을 이용하여 유기산을 생성시킨 발효 음료는 다양한 형태로 제조되어 오래 전부터 활용되고 있다⁽³⁾. 일본인의 건강 음료인 현미 발효 식초⁽⁴⁾, 코카사스인의 알코올 발효유인 Kefir⁽⁵⁾, 시베리아인의 koumiss⁽⁶⁾, 유럽과 미국에서 애용되고 있는 cider 등은 공통적으로 발효 후 pH가 낮아지고 total acidity가 높아지는데, 이는 발효 과정에서 여러 가지 유기산이 생성되기 때문인 것으로 알려져 있다⁽⁷⁾.

전래되어 온 tea fungus 발효 홍차의 제조 방법은 끓인 홍차 용액에 약 10% 지당(sucrose)을 용해시킨 배양액에 tea fungus 우무덩어리를 접종하여, 호기적 조건하에서 3일간 배양하면 서서히 배양액 표면에 새로운 우무질 막이 형성되면서 반혐기적인 조건으로 바뀌어지고, 14일간 배양 후에는 5 mm 정도의 하얀 막이 생긴다(Fig. 1). 이때 배양액의 pH는 낮아지고 total acidity

Corresponding author: Jeong Ok Kim, Department of Chemistry, Pusan Women's University, San 1-1 Goabup-dong, Sasang-gu, Pusan 616-736, Korea.

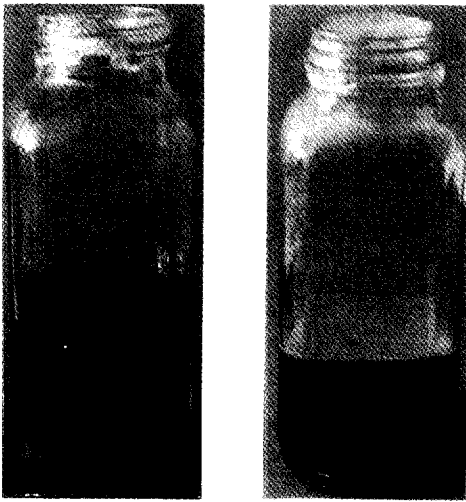


Fig. 1. Photographs of the fermented black tea with tea fungus in 10% sucrose black tea solution incubated at 30°C left: 0 day incubation, right: 14 day incubation

는 높아져서 발효 홍차는 신맛과 단맛이 홍차의 향과 어울려서 훌륭한 음료로 된다. 산 생성은 배양액에 사용된 당의 종류와 농도, 그리고 배양 온도에 의해 영향을 받는 것으로 예비 실험 결과 나타났다. Tea fungus 우무덩어리를 현미경 하에서 관찰한 바로는 타원형의 균체가 자라고 분열되면서 한데 뭉쳐져 우무덩어리를 형성하며, 초기의 급속한 pH 저하로 인하여 발효초기의 미생물은 생육이 억제되고 대신 새로운 균종이 나타나는 것으로 관찰되었다¹⁰⁾. 우무덩어리를 형성하고 있는 균주 및 공생 미생물에 대한 상세한 연구는 현재 진행 중에 있다. 최근 Reiss는 10% 이하의 당용액에서 (3, 5, 7, 10%) tea fungus를 배양할 때 lactic acid의 생성 및 pH 변화를 보고하였다¹¹⁾. 그의 보고에 의하면 10% 이하의 당용액에서는 lactic acid의 생성은 감소되고 pH가 높은 것으로 나타나, 10%가 acids생성에 최적조건임을 보고하였다. 공생균들의 형성 및 산 생성력에 tea fungus 개체간 차가 있으므로, 가능한 고농도의 산 생성을 유도한 후에 다시 희석하여 사용하는 것이 tea fungus 발효음료를 산업적으로 생산하는데 품질관리가 유리할 것으로 생각된다. 따라서, 본 연구에서는 10% 이상의 당용액에서(10-60%) 당의 종류별로 만든 배양액을 각 배양 온도에서 tea fungus를 배양하여 만든 발효 홍차의 pH와 total acidity의 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

Tea fungus 발효 홍차의 제조

당의 종류와 농도에 따른 pH와 total acidity 변화를 조사하기 위한 발효 홍차의 제조 방법은 다음과 같다. 증류수 3 l를 끓인 후 홍차(태평양화학 tea bag제품) 8 g을 넣고 끓기 시작하여 10분 뒤 배양 병에 200 ml씩의 홍차 액을 취한 다음, 자당(sucrose), 포도당(glucose), 과당(fructose), 옥수수 물엿(corn syrup)을 각 홍차 용액에 10, 20, 30, 40, 50, 60%의 농도가 되도록 넣고 저은 다음 식혀서 tea fungus 우무덩어리를 각 시험구당 10 g씩 접종하여 30°C에서 14일간 배양하였다. 예비 실험에서 산은 35°C에서 가장 많이 생성되었으나, 계대 배양에서 tea fungus 우무덩어리가 잘 자라지 못하였으므로 산의 생성이 어느 정도 높으면서 계대 배양에서 잘 자라는 온도인 30°C를 배양 온도로 하였다. 또한 민간 배양 법에서 14일간 배양 후 음료로 사용하는 것으로 알려져 있어 배양 기간을 14일로 정하였다. 당의 종류와 농도를 달리하여 산의 생성을 조사한 시험에서 산의 생성이 가장 높았던 10% sucrose 홍차 용액을 배양액으로 하여 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50°C에서 14일 간 tea fungus 우무 덩어리를 배양하여 total acidity, pH 변화, 생육에 대한 최적 온도를 조사하였다.

발효 홍차 배양액의 pH와 total acidity 측정

배양액의 pH는 Corning pH meter 220을 사용하여 측정하였으며, total acids 함량은 erlenmyer flask에 배양액 7.5 ml를 취한 다음 0.01 N NaOH로 pH meter를 사용하여 pH 7.0이 될 때까지 적정하였다. Total acids 함량의 계산은 1 ml의 0.01 N NaOH가 0.0006 g의 acetic acid와 중화 반응된 것으로 계산하였다¹²⁾.

Total acidity (% acetic acid, w/v)=

$$\frac{\text{ml of 0.01 N NaOH titrated} \times 0.0006 \text{ g acetic acid}}{7.5 \text{ ml}}$$

결과 및 고찰

당의 종류와 농도가 tea fungus 발효 홍차의 pH변화에 미치는 영향을 조사하기 위해, 자당, 포도당, 과당, 옥수수물엿을 각각 10, 20, 30, 40, 50, 60% (w/v)가 되도록 제조한 홍차에 tea fungus 우무덩어리 10 g을 접종하여 30°C에서 14일간 배양하면서 매 24시간마다 액의 pH를 측정된 결과는 Table 1에서 보는 바와 같다. 자당, 포도당, 과당을 사용하였을 경우, 배양 24시간 후에는 당의 농도가 낮은 배양액(10, 20, 30%)의 pH가 높은 용액(40, 50, 60%)에 비해 약간 낮은 경향

Table 1. pH changes of the fermented black tea with tea fungus in different saccharide solutions at 30°C during 14 days

Culture media		Days								
		0	1	2	4	6	8	10	12	14
Sucrose	10%	5.64	3.76	2.90	3.06	2.84	2.69	2.58	2.53	2.55
	20%	5.64	3.74	2.89	3.06	2.80	2.66	2.55	2.59	2.57
	30%	5.64	2.70	2.87	3.02	2.82	2.79	2.67	2.73	2.69
	40%	5.53	4.14	2.84	3.01	2.87	2.76	2.66	2.71	2.69
	50%	5.74	4.86	2.86	2.95	2.69	2.82	2.71	2.78	2.71
	60%	5.96	4.91	3.67	3.44	2.87	3.03	2.95	3.10	3.05
Glucose	10%	5.64	3.39	3.04	2.98	2.93	2.71	2.80	2.89	2.75
	20%	5.64	3.37	2.96	2.96	2.89	2.74	2.79	2.88	2.77
	30%	5.64	3.51	2.88	2.91	2.84	2.74	2.85	2.83	2.73
	40%	5.53	4.14	2.84	2.79	2.81	2.72	2.73	2.82	2.70
	50%	5.74	4.11	2.91	2.77	2.87	2.76	2.73	2.80	2.72
Fructose	10%	5.64	2.96	2.93	2.75	2.86	2.84	2.70	2.74	2.53
	20%	5.64	3.34	2.88	2.76	2.80	2.78	2.70	2.74	2.54
	30%	5.64	3.31	2.81	2.76	2.83	2.78	2.70	2.73	2.54
	40%	5.53	3.72	2.75	2.68	2.74	2.81	2.72	2.74	2.46
	50%	5.74	4.09	2.74	2.64	2.81	2.81	2.75	2.81	2.50
	60%	5.96	4.25	2.77	2.66	2.80	2.87	2.78	2.90	2.58
Corn syrup	10%	5.64	3.36	3.05	2.84	2.89	2.85	2.78	2.76	2.67
	20%	5.64	2.97	2.95	2.70	2.72	2.73	2.73	2.72	2.60
	30%	5.64	3.34	2.96	2.77	2.80	2.74	2.67	2.56	2.58
	40%	5.53	3.37	2.93	2.84	2.90	2.92	2.82	2.81	2.66
	50%	5.74	3.54	2.88	2.77	2.86	2.89	2.80	2.80	2.66
	60%	5.96	3.89	2.90	2.73	2.76	2.90	2.82	2.82	2.67

이었으나, 배양 2일 이후에는 당의 종류와 농도에 크게 관계없이 pH가 유사하게 낮아져서 배양 14일째는 pH 2.53에서 pH 3.05 사이에 머물렀다. 옥수수 물엿을 사용한 배양액의 경우 농도에 크게 영향을 받지 않고 배양 1일 후 pH가 2.97-3.89로 떨어졌다. 자당, 과당, 포도당을 사용한 배양액에서 당의 농도가 40% 이상 일 때는 우무덩어리의 형성이 현저히 저하되었으며 막이 잘 형성되지 않았다. 막의 형성이 잘 되지 않는 처리구에서는 전반적으로 산 생성력이 저하되었다.

일반적으로 발효 음료의 경우 우유 발효 음료가 pH 3.8-4.6⁽¹⁰⁾, kefir가 pH 5-8⁽⁵⁾, wine이 pH 4⁽¹¹⁾, perry가 pH 3.2⁽¹²⁾, 현미 식초가 pH 2.0-2.5⁽⁴⁾이므로 14일간 배양된 tea fungus 발효 홍차의 pH는 평균 2.53-3.05로 현미 식초와 거의 유사하였다. 일반적으로 효모와 *Acetobacter*를 이용한 초산 발효에서는 먼저 혐기성 조건에서 효모의 작용에 의해 에탄올이 생성된 다음, 호기성 상태에서 *Acetobacter*의 작용으로 초산이 생성된다⁽¹⁴⁾. 그러나, tea fungus를 이용한 발효의 경우, ethanol 생성 과정을 거치지 않고⁽¹³⁾ 초기 발효의 호기성 조건에서 막이 생성된 후에는 오히려 배양액은 반

혐기성 조건으로 될 가능성이 있어, 이러한 점이 일반 초산 발효와 다른 특이한 점으로 관찰되었다.

Tea fungus 발효 홍차액의 total acidity 변화를 당의 종류별로 살펴본 결과는 Fig. 2-Fig. 5에서 보는 바와 같다. 자당과 과당을 사용하여 배양한 tea fungus 발효 홍차 배양액의 산 생성은 경향이 서로 유사하며 생성량이 높은 반면, 포도당과 옥수수 물엿을 사용하여 배양한 tea fungus 발효 홍차에서의 산 생성은 경향이 서로 유사하고 자당과 과당을 사용한 구에 비해 산 생성량은 낮은 편이었다. 자당은 포도당과 과당으로 구성되어 있는 이당류이며 옥수수 물엿은 포도당으로 구성되어 있는 당임을 생각할 때, 유기산 생성에 있어서 과당의 활용성과 포도당의 활용성에 대한 차이에 의한 영향으로 생각된다. 즉, 산 생성에서 포도당보다 과당이 훨씬 이용성이 높음을 알 수 있었다. 이는 포도당을 fructose 6-phosphate로 전환시키는데 관여하는 효소인 glucokinase, phosphoglucose isomerase와 같은 효소의 생성이 약한 반면, 과당을 fructose 1-phosphate와 glyceraldehyde 3-phosphate로 전환시키는 효소의 활성이 높기 때문으로 추정될 수 있으나, 아직

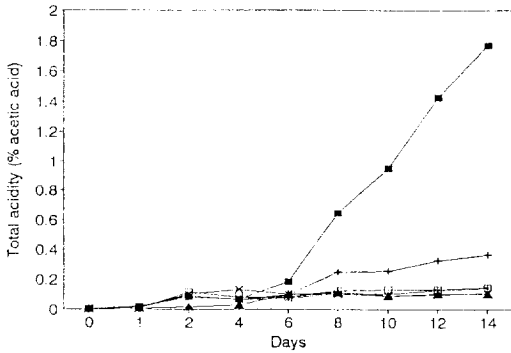


Fig. 2. Changes in total acidity of the fermented black tea with tea fungus in sucrose black tea solution incubated at 30°C ■—■; 10% Sucrose, +—+; 20% Sucrose, *—*; 30% Sucrose, □—□; 40% Sucrose, ×—×; 50% Sucrose, ▲—▲; 60% Sucrose

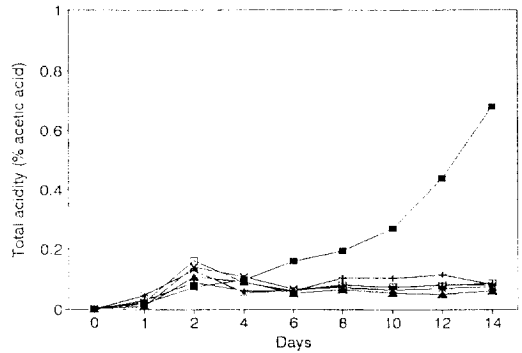


Fig. 4. Changes in total acidity of the fermented black tea with tea fungus in fructose black tea solution incubated at 30°C ■—■; 10% Fructose, +—+; 20% Fructose, *—*; 30% Fructose, □—□; 40% Fructose, ×—×; 50% Fructose, ▲—▲; 60% Fructose

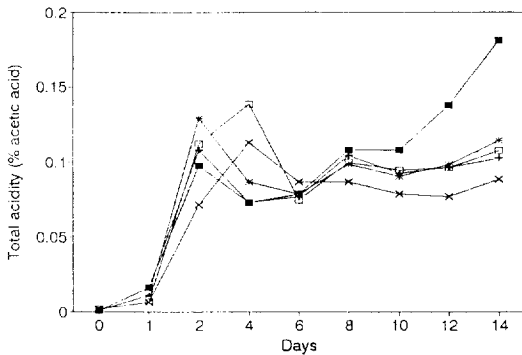


Fig. 3. Changes in total acidity of the fermented black tea with tea fungus in glucose black tea solution incubated at 30°C ■—■; 10% Glucose, +—+; 20% Glucose, *—*; 30% Glucose, □—□; 40% Glucose, ×—×; 50% Glucose, ▲—▲; 60% Glucose

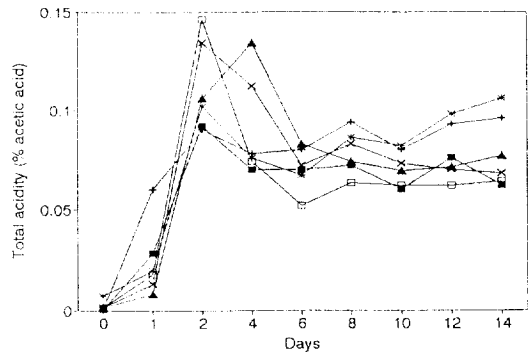


Fig. 5. Changes in total acidity of the fermented black tea with tea fungus in corn syrup black tea solution incubated at 30°C ■—■; 10% Corn syrup, +—+; 20% Corn syrup, *—*; 30% Corn syrup, □—□; 40% Corn syrup, ×—×; 50% Corn syrup, ▲—▲; 60% Corn syrup

이에 대한 확실한 실험 근거는 없고 이를 규명하기 위한 실험을 현재 진행 중에 있다. 실험의 결과는 수차례의 예비 실험을 거쳐, 2반복의 분실험 결과를 평균한 값들로서, pH 값의 경우 5-10% 그리고 total acidity의 경우는 5-25%의 차이를 보였다. 그러나 이러한 반복간의 차이에도 불구하고 동일 tea fungus biomass를 접종 하였을 때 당의 종류, 농도 및 배양온도에 의한 산생성 경향은 본 실험에서 얻은 결과와 항상 일치하였다.

당의 농도별 산 생성을 보면, 20% 이상의 자당과 과당을 사용한 배양액에서는 0.1-0.2%의 낮은 생성율을 보였으며 10%농도의 배양액에서는 배양 기간이 경과함에 따라 계속해서 산이 생성되어 14일간 배양된 발효액에서는 total acidity가 각각 1.8%(자당)와 0.68%

(과당)가 되었다. 포도당과 옥수수 붙엿을 사용한 배양액에서는 당의 농도에 관계없이 산의 생성이 0.05-0.2%로 저조하였다. 이는 포도당에 비해 과당의 이용성이 훨씬 높는데 그 원인이 있을 것으로 추정된다. 자당을 사용한 배양액을 14일 이후 27일간 계속 배양하였을 때 30%의 당 농도에서도 계속적인 산의 생성을 보였다(unpublished data). 따라서 배양액 중의 당의 농도가 높을수록 산 생성의 속도가 늦어질 뿐, 당의 농도 30%까지는 계속적인 산 생성에는 영향이 없는 것으로 나타나, 고농도의 당에서도 산생성이 가능한 특이성을 tea fungus 우무덩어리로 부터 발견하였다.

배양액 표면의 막 형성과 생육, 그리고 산 생성의 최적온도를 조사하기 위해 tea fungus 우무덩어리를 가장 산 생성이 왕성하였던 10% sucrose 홍차 용액에

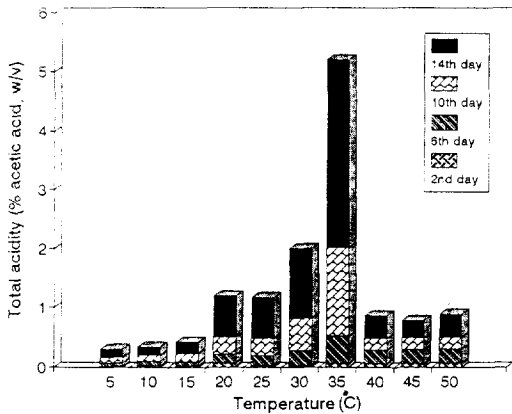


Fig. 6. Total acidity of the fermented black tea with tea fungus in 10% sucrose black tea solution incubated at various temperature

서 온도별로 배양하여 total acidity와 pH생성을 조사한 결과는 Fig. 6과 7에서 보는 바와 같다. 배양액의 산 생성은 35°C에서 배양할 때 가장 왕성하여 14일간 배양 후에는 total acidity가 5.32%에 도달하였으며 (Fig. 6). 신맛이 너무 강하여 발효원액 자체를 음료로 이용하기보다는 식초로서의 활용성이 큰 것으로 생각된다. 그러나 35°C는 산의 생성에는 최적온도이었으나, 우무덩어리의 모양이 비정상적으로 일그러지는 형태로 자랐으며, 우무덩어리내에 기포가 생겼다. 이는 지나치게 급속한 균체의 성장과 빠른 대사 작용에 의한 것으로 생각된다. 따라서, 산의 생성은 약간 저조하지만 계대배양을 위해서는 30°C가 발효 홍차를 제조하는 최적온도로 생각된다. Total acidity와는 달리, 배양액의 pH는 배양 온도에 의해 크게 영향을 받지 않은 것으로 나타난 것은(Fig. 7), 유기산의 완충능에 의해 pH가 크게 변하지 않은 것으로 생각된다. 20, 25, 30, 35°C에서는 막의 형성이 양호하였으나 5, 10, 15, 40, 45, 50°C에서는 막이 형성되지 않았다. 또한 5, 10, 15°C에서 14일간 배양 후 30°C에서 다시 배양을 할 경우 생육 및 산의 생성이 다시 활발히 진행되었으나, 40, 45, 50°C에서 배양에 사용된 우무덩어리의 경우는 계대배양에서 막의 형성이 되지 않을 뿐만 아니라, 산의 생성도 저조하였다. 그리고 tea fungus 우무덩어리를 장기간 저장하였다가 사용할 경우의 저장 온도는 5-10°C가 적합하였다. Tea fungus 개체간 오차로 인해 반복 배양간에 유발되는 배양액의 total acidity 차이때문에, 산생성이 최대로 되는 배양조건에서 tea fungus를 배양한 다음 이를 적정 산도가 되도록 희석하여 사용하는 것도 효과적 품질관리를 위해서는 고려해 볼 만한 사항으로 생각된다.

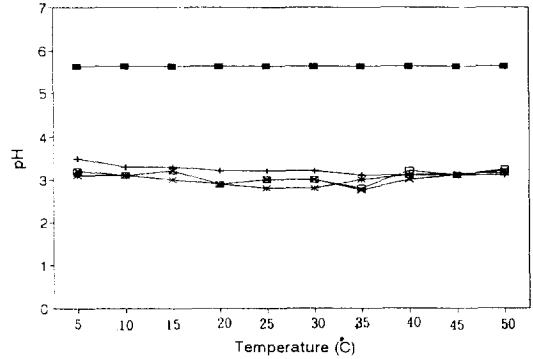


Fig. 7. pH of the fermented black tea with tea fungus in 10% sucrose black tea solution incubated at various temperature ■—■; 0 day, +—+; 2nd day, *—*; 6th day, □—□; 10th day, ×—×; 14th day

이상의 결과로 보아, tea fungus를 이용한 간단한 발효과정을 통해 유기산을 생성할 수 있으며, 이를 유기산의 공업적 생산과 건강 발효음료제조 등의 여러가지 식품소재개발에 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

항암, 시력 회복, 변비, 당뇨병, 신장병, 불면증 등에 치료 효과가 있어 건강 음료로 이용되고 있는 tea fungus 발효 홍차를 당의 종류(자당, 포도당, 과당, 옥수수물엿), 농도(10-60% w/v), 그리고 배양 온도별(5-50°C)로 제조하여 발효액의 pH 변화와 산 생산성을 보였다. 자당과 포도당을 첨가하여 제조한 홍차 용액 중에서 산 생성 경향이 서로 유사하고, 자당과 옥수수물엿을 사용한 홍차 용액에서 산 생성 경향이 서로 유사한 것으로 보아 자당보다 과당의 이용성이 높은 것으로 추정된다. 배양액 표면의 막 형성과 생육, 그리고 산 생성을 위한 최적 온도는 30°C였다. 20% 이상의 자당과 과당을 사용한 홍차 용액을 30°C에서 14일간 배양하였을 때 0.1-0.2%의 낮은 산 생성을 보였으며, 10%의 자당과 과당을 사용한 홍차 용액에서 14일간 배양시킨 발효 홍차의 total acidity는 각각 1.8% w/v(자당)과 0.68% w/v(과당)가 되었다. 발효 홍차의 pH는 배양 2일 후부터 당의 종류, 농도, 배양 온도에 크게 영향을 받지 않고 모든 배양액에서 2.74-3.56으로 떨어져 배양 14일까지 같은 수준의 pH를 유지하였다.

감사의 말

본 논문은 1993년 과학재단 핵심전문연구비 (931-

0600-026-1)의 지원에 의하여 수행된 결과의 일부로써 이에 감사 드립니다.

문 헌

1. Reiss J.: Influence of different sugars on the metabolism of the tea fungus, *Lebensm. Unter. und Forsch. Springer-Verlag*, **258** (1994)
2. Hesseltine, C.W.: The future of Fermented Foods, *Nutrition Reviews*, **41**(10), 293 (1983)
3. Uzogara, S.G., Agu, L.N. and Uzogara, E.O.: A review of traditional fermented foods, condiments and beverages in Nigeria, *Ecol. of Food and Nutr.*, **24**, 267 (1990)
4. Kuroiwa, T.: Rice vinegar, *Kenko Igakusha*, Tokyo, p. 184 (1977)
5. Yoshida, T., and Toyoshima, K.: Lactic acid bacteria and yeast from Kefir, *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.* **47**, 55 (1994)
6. Brian J.B. Wood: *Microbiology of Fermented Foods*, vol 1, Elsevier Applied Science Publishers, London & New York, p.169 (1985)
7. Beech, F.W.: English cyder making. In *Progress Industrial Microbiology*, Churchill living stone, London 11, p.133 (1972)
8. Choi, M.A., Choi K.H. and Kim, J.O.: Tea fungus 발효 음료 제조시 발효계의 미생물상 *Korean J. Life Science*, **6**(1), 20 (1996)
9. AOAC: *Official Methods of Analysis*, 12th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington D. C., p.561 (1975)
10. Tamime, A.Y., and Robinson, R.K.: *Yoghurt, Science and Technology*. Pergamon Press, New York, p.276 (1985)
11. Amerine, M.A., Berg, H.W., Kunkee, R.E., Ough, C.S., Singleton, V.L. and Webb, A.D.: *The Technology of Wine Making*. 4th ed., AVI Publishing, West port, CT. (1980)
12. Rose, A.H.: *Economic Microbiology*, Academic Press London, p.139 (1977).
13. 최미애: Tea fungus에 의한 음료 발효에 관한 연구. 대구효성가톨릭대학교 박사학위논문 (1995)
14. 河德模: 醱酵工學, 文運堂, 한국 서울, p.98 (1990)

(1995년 4월 3일 접수)