

## 유산균을 이용한 녹차 추출물의 발효전환

박수범 · 한복경 · 오유진<sup>1</sup> · 이상준<sup>1</sup> · 차성관 · 박영서<sup>2</sup> · 최혁준\*  
(주)비케이바이오, <sup>1</sup>(주)아모레퍼시픽 연구소, <sup>2</sup>가천대학교 식품생물공학과

### Bioconversion of Green Tea Extract Using Lactic Acid Bacteria

Su-Beom Park, Bok-Kyeong Han, Yu Jin Oh<sup>1</sup>, Sang Jun Lee<sup>1</sup>, Seong-Kwan Cha,  
Young-Seo Park<sup>2</sup>, and Hyeok-Jun Choi\*

BK bio Co., Ltd.

<sup>1</sup>Amore Pacific R&D Center

<sup>2</sup>Department of Food Science & Biotechnology, Gachon University

#### Abstract

In order to improve the sensory preference and to mitigate the bitter taste of green tea extract products, 100 microorganisms isolated from Korean traditional fermented foods were used to ferment green tea extract and the analysis of catechins and sensory evaluation of the fermented green tea extract products were undertaken. When the isolates were cultured into 2, 4, 6, 8, and 10% green tea extract, the highest growth rates were observed when 2 and 4% of green tea extract were used as growth medium. When the contents of catechin components of non-fermented and fermented green tea extracts were analyzed by HPLC, there was a significant decrease in content of epigallocatechin gallate (EGCG), epigallocatechin (EGC), epicatechin (EC) (EGCG: 125.45→65.42 µg/mg, EGC: 85.96→38.03 µg/mg, EC: 25.64→13.84 µg/mg), whereas there was a significant increase in content of gallic acid (GA) (GA: 7.79→85.22 µg/mg, GC: 9.46→64.59 µg/mg). Eleven strains of lactic acid bacteria, which showed relatively small content of gallate-type catechins (EGCG, ECG, GCG, CG) in their fermented green tea extracts, were selected and used for sensory test. As a result of sensory evaluation, *Lactobacillus plantarum* 62901 and *Leuconostoc pseudomesenterioides* K200132 showed the best score in overall preference. Their fermented products also showed strong roasted flavor while decreased grass flavor and bitter taste were observed.

**Key words:** bioconversion, green tea extract, lactic acid bacteria, catechin

## 서 론

차(茶)는 그 발효 정도에 따라 불발효차, 반발효차, 발효차, 후발효차로 분류하는데, 발효를 전혀 시키지 않은 한국의 전통 녹차인 덩음차를 불발효차라 하고, 발효 정도가 10-65% 사이인 차를 반발효차 혹은 약발효차, 그리고 홍차와 같이 발효가 85% 이상 진행된 차를 발효차로, 그리고 보이차와 같은 후발효차로 분류한다(Kim, 1996). Chung & Shin(2005)은 불발효차와 발효차의 일반성분 및 catechin 함량을 분석하였는데, 카페인의 경우 녹차와 발효차에 있어 함량 변화가 일어나지 않았고, catechin 성분에서는 녹차의 경우 12.8%이었으나 발효 과정에 의해 catechin 함량

이 현저히 감소하였음을 발견하였다. Kim et al.(2010)은 3 가지 미생물 균주들을 이용하여 후발효차를 제조하였을 때, 후발효차의 발효기간별 화학성분의 변화는 *Bacillus subtilis*에 의한 발효에서 catechin 함량이 발효기간이 증가할수록 유의적으로 낮은 함량을 나타낸 결과를 얻었지만, *Lactobacillus bulgaricus*에 의해서는 catechin의 함량변화가 없다고 보고하였다. Kim et al.(2011)의 실험에서는 flavonoid 함량이 후발효차에서 녹차보다 적은 함량을 나타냈다고 보고하였다.

녹차의 인체에 대한 건강 효능은 세계적으로 주목을 받고 있고, 세계 각국에서 생체 효능에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 녹차에는 알칼로이드, 폴리페놀, theanine 등의 아미노산, 비타민 등 여러 기능성 물질이 함유되어 있으며, 이 기능성 물질들은 혈액순환, 항암효과, 항산화 효과, 노화억제, 항당뇨 효과, 항균 효과, 인체 독성 제거 효과 등이 있는 것으로 알려져 있다(Jung & Kim, 2003). 녹차에는 polyphenol 류가 다량 함유되어 있는데, polyphenol 류 중에서 catechin은 녹차의 여러 가지 생리활성 효능을

\*Corresponding author: Hyeok-Jun Choi, BK bio Co., Ltd., Seongnam 462-819, Korea  
Tel: +82-70-8787-0601; Fax: +82-31-743-7361  
E-mail: hjchoi@bkbio.com  
Received January 18, 2012; revised February 7, 2012; accepted February 7, 2012

나타내는 성분으로 가장 잘 알려져 있다. Catechin은 epigallocatechin(EGC), epicatechin(EC), epigallocatechin gallate(EGCG), epicatechin gallate(ECG) 등으로 구분된다. Catechin의 인체에 유익한 여러 가지 생리학적 기능은 항산화(Kim et al., 2011), 항암(Moyers & Kumar, 2004), 항염증(Tedeschi et al., 2002), 혈청 지질성분 개선(Jeong & Sin, 2000), 콜레스테롤 저하(Jin et al., 2004; Kwon et al., 2007), 항균활성(Yanagawa et al., 2003; Stapleton et al., 2004; Chung & Yoon, 2008)을 가지고 있는 것으로 보고되고 있다.

이러한 catechin 또는 이를 함유하는 녹차의 유용한 생리활성에도 불구하고, 녹차 고유의 쓴맛으로 인해 관능이 저평가되어 소비자 선호도가 낮고, 다양한 적용 및 응용을 통한 제품 개발의 어려움으로 시장 확대에 한계가 있는 실정이다. 일반적으로 gallate 타입의 catechin(EGCG, ECG)이 관능적으로 쓴맛을 나타내는 것으로 알려져 있다. Hayashi et al.(2010)은  $\beta$ -cyclodextrin/surface plasmon resonance (SPR) detection system을 이용하여 녹차의 쓴맛-떫은맛을 사람과 거의 유사한 정도로 감지할 수 있었다고 주장하였다. 그리고 이러한 시스템이 가능한 이유는 이 시스템이 gallate type의 catechin(EGCG, ECG)을 non-gallate type(EGC, EC)의 catechin과 구별하기 때문이라고 설명하였다.

따라서 본 연구에서는 미생물 발효를 통하여 녹차 쓴맛의 주요성분인 gallate-type의 catechin을 non-gallate-type으

로 변환시킴으로써 유용성분의 함량 변화없이 녹차 추출물의 쓴맛 감소와 관능성을 개선할 수 있는 유용 미생물을 탐색하였다.

## 재료 및 방법

### 발효 미생물의 선정 및 접종균의 준비

한국식품연구원 식품미생물 유전자은행이 보유한 세균 중 다양한 전통발효식품으로부터 분리된 100 종의 미생물을 대상으로 탐색하였다. 미생물은 2 mL의 선택배지(TSB 또는 MRS broth)에 접종하여 37°C에서 24 시간 동안 전배양한 후 5,000 rpm에서 10 분 동안 원심분리한 다음 상등액을 제거하였고, 0.85% 멸균 NaCl 용액으로 1 회 세척한 후 1 mL의 동액에 현탁하여 접종균으로 사용하였다.

### 미생물 발효배지의 결정

선발 미생물들의 녹차 발효를 위한 최적 발효배지 농도를 결정하기 위하여 녹차 추출 분말을 최종 농도가 각각 2, 4, 6, 8, 10%(w/v)가 되도록 증류수에 녹여 녹차 추출 분말배지(녹차배지)를 제조하였다. 제조한 각각의 녹차배지는 autoclave한 후 96 well plate에 200  $\mu$ L씩 분주하였고, 각 well에 미생물 접종액을 2%(v/v) 접종하여 30°C에서 48 시간 배양한 후, 620 nm에서 흡광도를 측정하여 미생물의 생육도를 측정하였다.

### 녹차 추출물 용액의 발효

녹차 발효 최적 농도 확인 실험결과 2%(w/v)와 4%(w/v) 녹차 용액에서 최대 성장률을 보였으므로, 2%(w/v)와 4%(w/v)의 녹차배지를 준비하여 멸균한 후, 50 mL conical tube에 10 mL씩 분주하였고, 100 종의 미생물 접종액을 2%(w/v)와 4%(w/v) 녹차배지에 각각 200  $\mu$ L씩 접종하여, 30°C에서 150 rpm으로 72 시간 배양하였다. 배양액 200  $\mu$ L를 취하여 96 well plate에 loading하고 620 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 카테킨 분석

2%(w/v)와 4%(w/v) 녹차배지에서 배양된 100 개의 미생물 배양액은 HPLC를 이용하여 catechin을 분석하였으며, HPLC 분석조건은 Table 1에 나타내었다.

### 발효녹차 시료의 관능검사

Catechin 분석을 통하여 선발된 미생물은 관능검사를 위하여 2%(w/v) 녹차배지를 각각 1.5 L 제조하여 멸균한 후 선발된 미생물 접종액을 2%(v/v) 접종하여 30°C에서 150 rpm으로 72 시간 배양하였다. 배양액을 1,500 rpm으로 원심분리한 후 상등액을 동결건조하여 관능검사 시료로 이용하였다. 발효녹차 시료의 관능검사는 선녹차 전문패널

**Table 1. Analytical conditions of HPLC for the determination of catechin.**

Pump	YL9110 (YOUNG-LIN Co., Ltd., Seoul, Korea)			
Detector	YL9120 (UV, YOUNG-LIN Co., Ltd., Seoul, Korea)			
Detector wavelength	280 nm			
Column	Eclips XDB-C18 (Agilent Co., Ltd., Santa Clara, CA, USA)			
Column size	4.6×250 mm, 5 $\mu$ m			
Column temp.	Room temp.			
Flow rate	1 mL/min			
Eluent	Time (min)	A (%)	B (%)	C (%)
	0	75	20	5
	15	75	20	5
	25	30	65	5
	30	30	65	5
	32	75	20	5
	40	75	20	5
	A : Water			
	B : Methanol			
	C : 1%(v/v) Acetic acid			
Injection volume	10 $\mu$ L			
Integrator	Autochro data module (Young-Lin Co., Ltd., Seoul, Korea)			

5 명을 대상으로 수행하였으며, 동결건조된 발효녹차 시료 들은 180 mg/500 mL가 되도록 물에 용해하여 시음하게 한 후, 맛 패턴 분석(15 점 척도: 1 점-약하다, 15 점-강하다) 및 기호도(9 점 척도: 1 점-매우 싫다, 5 점-보통, 9 점-매우 좋다)를 조사하였다.

관능검사 결과의 통계처리

관능검사 결과는 데이터 분석프로그램 SPSS(2008)를 이용하여 ANOVA 분석을 하였으며, 유의성 검정을 위하여

Duncan's multiple range test를 실시하였다.

결과 및 고찰

미생물 생육을 위한 녹차 추출분말의 최적 농도

녹차 발효에 사용한 미생물은 한국식품연구원 식품미생물 유전자은행 보유 세균 중 16S rDNA 염기서열 확인을 통해 그 분류학적 위치가 확인된 균주 중에서 미생물 중 (species)과 분리원을 다양하게 포함하는 100 주의 미생물

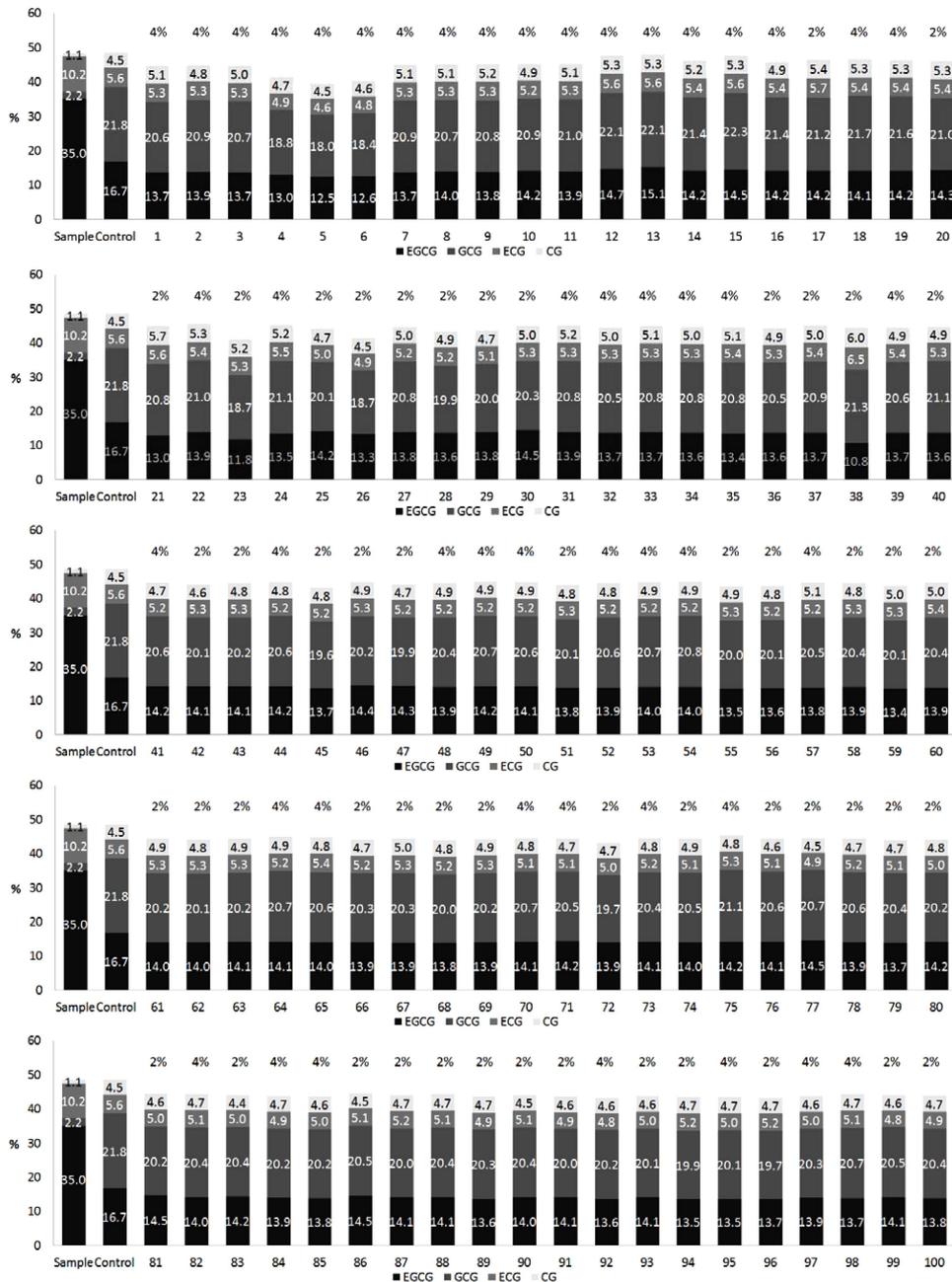


Fig. 1. Proportional content of gallate-type catechins (EGCG, ECG, GCG, CG) in green tea extract (2 and 4%, w/v) after 72 hr fermentation with 100 strains.

을 선발하여 사용하였다.

사용한 100 주의 미생물들의 녹차 배지에서 생육도를 알아보기 위하여 녹차 추출분말을 최종 농도가 각각 2, 4, 6, 8, 10%(w/v)가 되도록 증류수에 녹인 다음 각각의 녹차 추출분말 용액(녹차배지)을 제조한 후 미생물을 접종하여 녹차 추출분말의 농도에 따른 미생물 생육도를 측정하였다. 그 결과 2%(w/v)와 4%(w/v)의 녹차배지에서는 100 주의 미생물이 대부분 성장을 나타내었으나, 6%(w/v), 8%(w/v) 그리고 10%(w/v)의 녹차배지에서는 성장이 되지 않는 경우가 많아 미생물 배양을 위한 녹차배지는 녹차 추출분말이 2%(w/v)와 4%(w/v) 첨가한 용액을 사용하였다(결과 미제시).

**발효에 따른 녹차 추출용액의 catechin 성분 변화**

100 주의 미생물을 2%(w/v)와 4%(w/v) 녹차 용액에 배양하여 녹차 추출용액을 발효시킨 후 발효 전후의 catechin 성분 변화를 카테킨 종류별로 분석한 후, epigallocatechin gallate(EGCG), gallic acid gallate(GCG), epicatechin gallate(ECG), catechin gallate(CG) 등의 gallate-type catechin 성분의 비율(%)을 Fig. 1에 나타내었다. 사용한 미생물들은 2%(w/v)와 4%(w/v) 녹차 배양액 중에서 생육이 우수한 농도의 녹차 추출용액을 선택하여 발효시켰으며 Fig. 1의 각각의 막대그래프 상단에 균주별로 사용한 녹차 추출용액의 농도를 표시하였다. 녹차 추출용액은 살균 전(sample)과 살균 후(control) 카페인 성분의 변화는 없었다(결과 미제시). 그러나 catechin 함량은 살균 전과 후에 상당한 변화가 있었는데 EGCG는 살균 전 125.45 µg/mg에서 살균 후 65.42 µg/mg로, EGC는 살균 전 85.96 µg/mg에서 살균 후 38.03 µg/mg로, EC는 살균 전 25.64에서 13.84 µg/mg로 급격하게 감소하였다. 반면 GCG는 살균 전 7.79 µg/mg에서 살균 후 85.22 µg/mg로, GC는 살균 전 9.46 µg/mg에서 살균 후 64.59 µg/mg로 급격하게 증가하였다.

또한 ECG는 살균에 의해서 감소되었고(36.55→21.83 µg/mg), CG와 C는 각각 4.04 µg/mg에서 17.57 µg/mg, 0 µg/mg에서 18.92 µg/mg로 증가하였다. 일반적으로 gallate-type catechin (EGCG, GCG, ECG, CG)들은 관능적으로 쓴맛을 나타내는 것으로 알려져 있다. 이들 gallate-type catechin 성분들의 비율은 멸균 전(sample)과 멸균 후(control)에 큰 변동을 보여주지 않음(48.5→48.62%)을 알 수 있었다. 발효 후 gallate-type catechin(EGCG, ECG, GCG, CG) 성분이 상대적으로 적은 값을 보여주고 있는 26 주의 균주들은 Table 2에 나타난 것과 같다. 본 연구에서는 gallate-type catechin(EGCG, ECG, GCG, CG) 또는 non-gallate-type catechin(EGC, EC, GC, C)을 HPLC로 분석하였지만, Hayashi et al.(2010)은 β-cyclodextrin/surface plasmon resonance detection system을 이용하여 gallate-type catechin 과 non-gallate-type catechin을 분별하였으며, 이들 시스템은 사람이 쓴맛 및 떫은맛 분별하는 것과 거의 유사한 결과를

**Table 2. Selected strains with relatively small content of gallate-type catechins (EGCG + ECG + GCG + CG).**

Content (%)	Strain No.	Strain name
39-40	5	<i>Bacillus atrophaeus</i>
40-41	6	<i>Bacillus cereus</i>
41-42	4	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
	23	<i>Kocuria atrinae</i>
	26	<i>Lactobacillus graminis</i>
43-43.5	28	<i>Lactobacillus pentosus</i>
	45	<i>Staphylococcus pasteurii</i>
	72	<i>Enterococcus durans</i>
	92	<i>Macrocooccus caseolyticus</i>
	94	<i>Proteus mirabilis</i>
	95	<i>Proteus mirabilis</i>
	96	<i>Providencia rettgeri</i>
43.5-44	29	<i>Lactobacillus pentosus</i>
	51	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
	55	<i>Bacillus methylotrophicus</i>
	56	<i>Bacillus stamensis</i>
	59	<i>Bacillus sonorensis</i>
	68	<i>Bacillus tequilwensis</i>
	79	<i>Lactobacillus plantarum</i>
	84	<i>Leuconostoc citreum</i>
	85	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
	89	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
	91	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>
	93	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
	97	<i>Proteus mirabilis</i>
100	<i>Weissella cibaria</i>	

가져왔다고 주장하였다. Choi & Choi(2003)는 녹차와 발효시간을 각각 다르게 하여 제조한 약발효차(10 시간 발효), 중발효차(17 시간 발효), 강발효차(24 시간 발효)에 대한 이화학적 특성을 분석한 결과 녹차의 catechin 함량은 녹차에서 14.18%이었으나 약발효차에서는 12.46%, 중발효차에서는 9.14% 그리고 강발효차에서는 7.84%로 감소하였다고 보고하였다. 본 실험에서는 100 주의 미생물에 따라 다양한 catechin 분해도를 보여주었는데, 처음 녹차 추출물 시료는 catechin 함량이 20.18%이었으나 72 시간의 발효 후 가장 많이 분해되어 잔존하는 catechin 함량은 strain No. 5(*Bacillus atrophaeus* JCM 9070)의 경우 9.59%이었으며, 가장 적게 catechin이 분해된 경우는 strain No. 10(*Bacillus safensis* FO-036b)의 16.98%이었다. 100 주의 미생물에 의한 녹차발효액의 HPLC catechin 분석에서 gallate-type catechin 성분이 낮은 것으로 밝혀진 총 26 개의 미생물 중에서 안전성을 고려하여 유산균으로 동정된 총 11 주의 미생물을 다음 관능검사 대상 미생물로 선정하였으며, 선정된 11 주의 미생물들은 strain No. 26(*Lactobacillus graminis*), No. 28(*Lb. pentosus*), No. 29(*Lb. pentosus*), No. 72(*Enterococcus durans*), No. 79(*Lb. plantarum*), No. 84(*Leuconostoc citreum*), No. 85(*Leuconostoc mesenteroides*), No. 89(*Leuconostoc mesenteroides*), No. 91(*Leuconostoc*

**Table 3. Analysis of catechin content(%) in green tea extract fermented with 11 lactic acid bacteria.**

Catechin	Sample	Control	Lactic acid bacteria strain no.										
			26	28	29	72	79	84	85	89	91	93	100
GC	2.64 <sup>e1)</sup>	16.52 <sup>bcd</sup>	18.57 <sup>a</sup>	16.49 <sup>bcd</sup>	16.94 <sup>b</sup>	16.77 <sup>bc</sup>	16.38 <sup>cd</sup>	16.21 <sup>d</sup>	16.28 <sup>cd</sup>	16.71 <sup>bcd</sup>	16.80 <sup>bc</sup>	16.43 <sup>bcd</sup>	16.39 <sup>bcd</sup>
EGC	23.99 <sup>a</sup>	9.73 <sup>b</sup>	9.52 <sup>bc</sup>	8.76 <sup>def</sup>	8.87 <sup>bcd</sup>	9.29 <sup>f</sup>	8.52 <sup>def</sup>	8.89 <sup>def</sup>	8.87 <sup>def</sup>	9.23 <sup>bcde</sup>	9.02 <sup>cdef</sup>	8.92 <sup>def</sup>	8.62 <sup>ef</sup>
C	0.05 <sup>d</sup>	4.34 <sup>c</sup>	11.60 <sup>a</sup>	10.50 <sup>b</sup>	10.40 <sup>ab</sup>	10.35 <sup>ab</sup>	9.52 <sup>ab</sup>	9.64 <sup>ab</sup>	9.63 <sup>ab</sup>	9.63 <sup>ab</sup>	9.66 <sup>ab</sup>	9.69 <sup>ab</sup>	9.81 <sup>ab</sup>
CF	17.66 <sup>bc</sup>	16.75 <sup>d</sup>	15.13 <sup>e</sup>	17.36 <sup>cd</sup>	16.84 <sup>d</sup>	16.89 <sup>d</sup>	18.36 <sup>ab</sup>	18.34 <sup>ab</sup>	18.49 <sup>a</sup>	17.74 <sup>abc</sup>	17.72 <sup>bc</sup>	17.91 <sup>abc</sup>	17.93 <sup>abc</sup>
EGCG	35.00 <sup>a</sup>	16.74 <sup>b</sup>	13.26 <sup>d</sup>	13.56 <sup>cd</sup>	13.82 <sup>cd</sup>	13.93 <sup>c</sup>	13.75 <sup>cd</sup>	13.87 <sup>cd</sup>	13.81 <sup>cd</sup>	13.64 <sup>cd</sup>	14.09 <sup>c</sup>	14.06 <sup>c</sup>	13.82 <sup>cd</sup>
EC	7.15 <sup>a</sup>	3.54 <sup>c</sup>	3.87 <sup>b</sup>	3.43 <sup>cd</sup>	3.31 <sup>cd</sup>	3.39 <sup>cd</sup>	3.31 <sup>cd</sup>	3.20 <sup>d</sup>	3.15 <sup>d</sup>	3.16 <sup>d</sup>	3.23 <sup>cd</sup>	3.23 <sup>cd</sup>	3.40 <sup>cd</sup>
GCG	2.17 <sup>c</sup>	22.30 <sup>a</sup>	18.69 <sup>d</sup>	19.85 <sup>bc</sup>	19.97 <sup>bc</sup>	19.71 <sup>c</sup>	20.43 <sup>cb</sup>	20.24 <sup>bc</sup>	20.21 <sup>bc</sup>	20.27 <sup>bc</sup>	20.00 <sup>bc</sup>	20.15 <sup>bc</sup>	20.39 <sup>b</sup>
ECG	10.20 <sup>a</sup>	5.59 <sup>b</sup>	4.92 <sup>c</sup>	5.16 <sup>c</sup>	5.11 <sup>c</sup>	4.97 <sup>c</sup>	5.08 <sup>c</sup>	4.95 <sup>c</sup>	4.96 <sup>c</sup>	4.94 <sup>c</sup>	4.91 <sup>c</sup>	4.99 <sup>c</sup>	4.95 <sup>c</sup>
CG	1.13 <sup>c</sup>	4.53 <sup>ab</sup>	4.45 <sup>b</sup>	4.89 <sup>a</sup>	4.74 <sup>ab</sup>	4.69 <sup>ab</sup>	4.66 <sup>ab</sup>	4.66 <sup>ab</sup>	4.60 <sup>ab</sup>	4.69 <sup>ab</sup>	4.59 <sup>ab</sup>	4.62 <sup>ab</sup>	4.69 <sup>ab</sup>

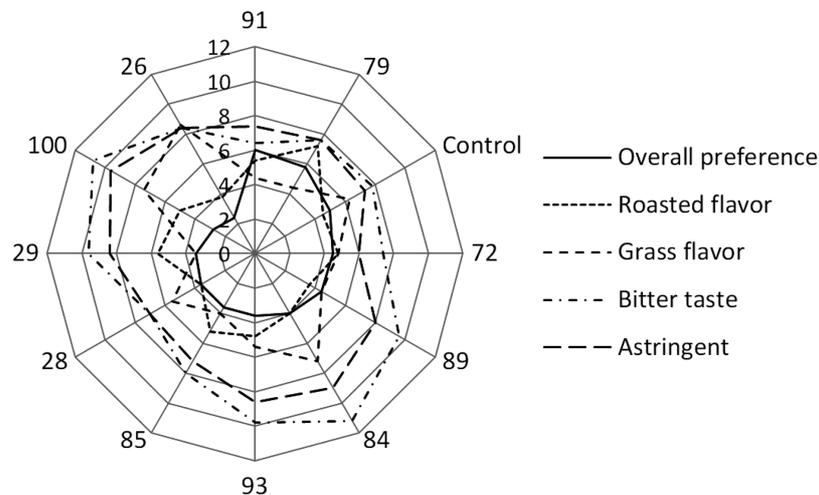
<sup>1)</sup> Means in a row with different superscript letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

*pseudomesenteroides*), No. 93(*Pediococcus pentosaceus*), No. 100(*Weissella cibaria*)이었다. Korea patent(2010)에 의하면 병원성균 또는 잡균의 오염이 없이 안전하며, 곰팡이 냄새와 잡균의 냄새가 경감되고 향미가 우수한 발효녹차를 제조하기 위하여 최적의 식품 미생물, 적절한 수분조건을 비롯한 발효조건 및 숙성조건을 이용하였고, 녹차 잎을 유산균을 이용하여 고체 발효시켰다. 그렇지만 이 특허에서는 균일한 품질의 발효 녹차 제조의 어려움과 공정 제어의 어려움이 있었으며 장시간 발효기간이 소요되었고, 쓴맛 저감 효과가 크지 않은 것으로 보고되었다. 본 실험에서 탐색된 유산균을 이용하여 녹차 추출물을 발효시키면 균일한 품질의 발효녹차를 제조하는데 따른 어려움과 공정제어의 어려움, 그리고 장시간 발효기간의 단점이 보완될 수 있을 것으로 사료된다. 많은 연구실에서 tannase 효소를 생산하는 미생물 탐색 실험(Osawa et al., 2000; Vaquero et al., 2004; Mohapatra et al., 2006; Sabu et al., 2006)이 이루어졌고, Zhong et al.(2004)은 gallate-type catechin을 분해하

기 위하여 *Aspergillus oryzae*의 tannase 효소생산 유전자를 *Pichia pastoris*에 cloning하는 실험을 수행하였다. Hayashi et al.(2005)에 의하면 녹차의 pectinase 처리 실험에서 그들이 개발한  $\beta$ -cyclodextrin/surface plasmon resonance detection system과 <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy를 이용하여 측정하였을 때, gallate-type catechin(EGCG, ECG)의 떫은맛은 감소하였지만, non gallate-type catechin(EGC, EC)의 떫은맛은 감소되지 않았다고 보고하였다. 현재 본 실험실에서 tannase 효소처리에 의한 발효녹차 제조 실험이 이루어지고 있으므로 효소처리와 미생물발효의 복합시스템에 의한 상승효과를 기대할 수 있으리라 본다.

#### 유산균 녹차발효배지의 관능검사

녹차 추출물의 발효에 의한 쓴맛 감소와 관능도 개선여부를 판단하기 위하여 관능검사를 수행하였다. 관능검사는 선발된 11개 미생물을 이용하여 발효시킨 시료를 대상으로 하여 수행하였으며, 관능검사 시료는 동결건조된 발효

**Fig. 2. Sensory evaluation of green tea extract fermented with 11 lactic acid bacteria.**

액을 20%로 맞추어 사용하였다. 관능검사에 이용된 12 개 샘플(control, 26, 28, 29, 72, 79, 84, 85, 89, 91, 93, 100)의 catechin 성분 구성비는 다음 Table 3에서 보여주는 것과 같다. 관능검사 결과는 Fig. 2에서 보여주는 것과 같이 전체 기호도에서 strain No. 91(*Lactobacillus plantarum* 62901)과 No. 79(*Leuconostoc pseudomesenteroides* K200132)의 두 균주가 유의적으로 가장 좋은 값을 보여주었다. 또한 풀 비린 향미에서는 10% 수준에서 No. 91과 No. 79 두 균주 이외에도 No. 89, No. 85, No. 29 균주가 유의적으로 동일한 값을 보여주었다. 다른 세 항목(구수한 향미, 쓴맛, 떫은 감각)의 통계처리에 있어서는 시료간의 유의성을 보여주지 않았다. 전체 기호도 조사에서 가장 우수한 결과를 보여준 No. 91과 No. 79 두 균주는 맛 패턴 특성에서 구수한 향미는 강해지고 상대적으로 풀 비린 향미와 쓴맛이 낮아졌음을 확인할 수 있었다. 현재 본 실험실에서 수행하고 있는 tannase 처리 실험과 발효녹차 제조 실험을 통하여 tannase 처리와 미생물발효의 복합시스템에 의한 관능성의 상승효과를 기대한다.

## 요 약

미생물 발효에 의한 녹차 추출물의 쓴맛 감소와 관능성 개선을 위하여 식품으로부터 분리된 미생물을 이용하여 녹차 추출물을 발효시킨 후 catechin 성분 분석과 관능검사를 실시하였다. 다양한 발효식품으로부터 분리된 100 종의 미생물을 2, 4, 6, 8, 10%(w/v) 녹차 추출물에 배양하였을 때 2%와 4% 녹차 배지에서 최대 생육도를 나타내었다. 녹차 추출물 발효액의 HPLC에 의한 catechin 종류별 분석 결과 epigallocatechin gallate(EGCG), epigallocatechin(EGC), epicatechin(EC)는 발효에 의해 함량이 급격히 감소하였고(EGCG : 125.45→65.42 µg/mg, EGC : 85.96→38.03 µg/mg, EC : 25.64→13.84 µg/mg), gallic acid(GA)와 gallic acid gallate(GCG)와 gallic acid(GC)의 함량은 급격하게 증가하였다(GCG : 7.79→85.22 µg/mg, GC : 9.46→64.59 µg/mg). 발효 후 galloyl residue를 가지는 catechin(EGCG, ECG, GCG, GC)의 함량이 상대적으로 작은 값을 나타낸 유산균 11주를 선정하여 녹차 추출물을 발효시킨 후 관능검사를 실시한 결과 *Lactobacillus plantarum* 62901과 *Leuconostoc pseudomesenteroides* K200132가 전체 기호도 조사에서 가장 우수한 결과를 보여주었다. 기호도가 좋게 나타난 샘플의 맛 패턴 특성을 살펴보면 구수한 향미는 강해지고 상대적으로 풀 비린 향미와 쓴맛이 낮아졌음을 확인할 수 있었다.

## 감사의 글

본 연구는 경기도 경기과학기술진흥원의 산업혁신클러스

터 기술개발사업(과제번호 C10102210)의 일환으로 수행되었으며 연구비 지원에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Amore Pacific. 2010. Method for manufacturing fermented green tea, and green tea therefrom. Korea patent NO. 100975199.
- 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.
- Chung SH, Yoon KH. 2008. Antimicrobial activity of extracts and fractions of green tea used for coarse tea. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37: 1382-1388.
- Chung YH, Shin MK. 2005. A study on the physicochemical properties of Korean teas according to degree of fermentation. *Korean J. Food Nutr.* 18: 94-101.
- Hayashi N, Chen R, Hiraoka M, Ujihara T, Ikezaki H. 2010.  $\beta$ -Cyclodextrin/surface plasmon resonance detection system for sensing bitter-astringent taste intensity of green tea catechins. *J. Agric. Food Chem.* 58: 8351-8356.
- Hayashi N, Ujihara T, Kohata K. 2005. Reduction of catechin astringency by the complexation of gallate-type catechins with pectin. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 69: 1306-1310.
- Jeong WH, Sin MK. 2000. The effect on rats serum lipid of treadmill exercise and green tea extracts intake with high fat diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29: 683-690.
- Jin HH, Yang JL, Chung JH, Kim Y. 2004. Hypocholesterolemic effects of green tea in cholesterol-fed rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 33: 47-51.
- Jung DH, Kim JT. 2003. *Science of Tea*. Daekwang Publisher, Jeonju, Korea, pp. 147-261.
- Kim JT. 1996. *Science and Culture of Green Tea*. Borim Publisher, Paju, Korea, pp. 103-106.
- 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.
- Kim YS, Jo C, Choi GH, Lee KH. 2011. Changes of antioxidative components and activity of fermented tea during fermentation period. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 40: 1073-1078.
- Kwon EK, Kim YE, Han D, Kim IH, Lee CH. 2007. Effects of green tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) extract on lipid metabolism in F1B Golden Syrian Hamsters fed with the atherogenic diet. *Korean J. Food Sci. Technol.* 39: 181-188.
- Mohapatra PKD, Mondal KC, Pati BR. 2006. Production of tannase through submerged fermentation of tannin-containing plant extracts by *Bacillus licheniformis* KBR6. *Polish J. Microbiol.* 55: 297-301.
- Moyers SB, Kumar NB. 2004. Green tea polyphenols and cancer chemoprevention: Multiple mechanisms and endpoints for phase II trials. *Nutr. Rev.* 62: 204-211.
- Osawa R, Kuroiso K, Goto S, Shimizu A. 2000. Isolation of tannin-degrading lactobacilli from humans and fermented foods. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 3093-3097.
- Sabu A, Augur C, Swati C, Pandey A. 2006. Tannase production by *Lactobacillus* sp. ASR-S1 under solid-state fermentation. *Process Biochem.* 41: 575-580.

- SPSS Korea. 2008. SPSS Introduction, Seoul, Korea.
- Stapleton PD, Shah S, Anderson JC, Hara Y, Hamilton-Mitter JMT, Taylor PW. 2004. Modulation of  $\beta$ -lactam resistance in *Staphylococcus aureus* by catechins and gallates. *Intl. J. Antimicrob. Agents* 23: 462-467.
- Tedeschi E, Suzuki H, Menegazzi M. 2002. Antiinflammatory action of EGCG, the main component of green tea, through STAT-1 inhibition. *Ann. NY Acad. Sci.* 973: 435-437.
- Vaquero I, Marcobal A, Munoz R. 2004. Tannase activity by lactic acid bacteria isolated from grape must and wine. *Intl. J. Food Microbiol.* 96: 199-204.
- Yanagawa Y, Yamamoto Y, Hara Y, Shimamura T. 2003. A combination effect of epigallocatechin gallate, a major compound of green tea catechins, with antibiotics on *Helicobacter pylori* growth *in vitro*. *Curr. Microbiol.* 47: 244-249.
- Zhong X, Peng L, Zheng S, Sun Z, Ren Y, Dong M, Xu A. 2004. Secretion, purification, and characterization of a recombinant *Aspergillus oryzae* tannase in *Pichia pastoris*. *Protein Exp. Purif.* 36: 165-169.