

## 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), gallic acid gallate (GCG) and gallic acid catechin (GC) (GCG: 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 pseudomesenteroides* 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)			