

식품공학 학사학위논문

콤부차 유래 우수 발효 균주 발굴 및 이를 활용한 콤부차 제조

국립목포대학교 공과대학

식품공학과

류 하 연

김 정 은

강 시 은

지도교수: 마 승 진

2026년 2월

콤부차 유래 우수 발효 균주 발굴 및 이를 활용한 콤부차 제조

이 논문을 식품공학 학사학위 논문으로 제출함

국립목포대학교 공과대학

식품공학과

류 하 연

김 정 은

강 시 은

지도교수 마 승 진

상기자의 식품공학 학사학위 논문을 인준함

심사위원장

김 현 중



(인)

심사위원

마 승 진



(인)

2026년 2월

목 차

국문초록

제1장 서론	1
제2장 재료 및 방법	3
1. 실험 재료	3
2. 실험 방법	4
1) 콤부차 제조	4
2) 콤부차 유래 발효 균주의 분리 및 동정	6
(1) SCOBY를 이용하여 제조한 콤부차 내 생육 미생물의 분리 ..	6
(2) 분리한 미생물의 동정	6
3) 제조된 콤부차의 이화학적 특성 분석	7
1) pH 및 총산도	7
2) 당도 및 환원당 함량	7
3) 색도	8
4) 흡광도	8
5) 관능검사	8
3. 통계처리	9
제3장 결과 및 고찰	10
1. 콤부차 유래 발효 균주의 분리 및 동정	10
1) SCOBY를 이용하여 제조한 콤부차 내 미생물의 분리 및 동정	10
2) SCOBY를 이용하여 제조한 콤부차의 발효과정 중 미생물 조성 ..	15
2. 분리된 개별 균주의 발효 화학적 특성 분석	19

1) pH 및 총산도	20
2) 당도 및 환원당 함량	23
3) 색도	26
4) 흡광도	28
5) 관능검사	30
3. 선별된 중균을 활용하여 제조한 콤부차의 이화학적 특성 분석 ..	32
1) pH 및 총산도	32
2) 당도	35
3) 관능검사	37
 제4장 결 론	 39
 참고문헌	 41

콤부차 유래 우수 발효균주 발굴 및 이를 활용한 콤부차 제조

류하연, 김정은, 강시은

목포대학교 공과대학 식품공학과
(지도교수 : 마 승 진)

(초록)

콤부차(kombucha)는 홍차나 녹차를 우린 물에 당분을 첨가해 발효시킨 음료로 다양한 건강 기능 효과가 있다고 알려지면서 전 세계적으로 관심과 수요가 급증하고 있다. 현재 대부분의 콤부차는 SCOBY(Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast)를 이용한 자연 발효 방식으로 제조되는데 이 과정에서 생육 미생물의 조성이 변화할 수 있어 균일한 품질의 제품생산에 어려움이 있다. 따라서 산업화가 가능한 대량 생산 시스템을 확립하기 위해서는 우수한 발효 종균을 활용한 선택적 발효 기술이 필요하다. 본 연구에서는 SCOBY를 접종하여 발효시키면서 각 발효 단계에서 주요 생육 미생물을 분리하였다. 이들 미생물에 대해 분자생물학적 기법(26s 및 16s rRNA 염기서열)으로 동정하여 효모 5종과 초산균 6종을 우수 발효 균주로 확보하였다. 확보된 발효 균주를 종균으로 사용하여 콤부차를 제조한 결과, SCOBY를 활용하여 제조한 자연 발효 방식의 콤부차보다 발효 특성과 관능적 기호도가 높게 나타나 산업적 활용도와 상업적 가치가 높을 것으로 평가되었다.

제1장 서론

콤부차(kombucha)는 중국과 동아시아 지역에서 기원하여 수 세기에 걸쳐 전 세계로 널리 퍼져 온 전통적인 발효 음료이다(1). 최근 건강상 이점과 독특한 풍미로 인해 콤부차 발효에 대한 소비자 수요와 산업 규모가 급속히 성장하였다(2,3). 글로벌 콤부차 시장은 2019년 기준 18억 4천만 달러에 이르렀고, 2027년까지 연평균 23.2%의 성장률이 예상된다(4). 국내에서는 중소기업을 중심으로 2018년부터 콤부차 제품이 출시되기 시작하였고, 2021년에는 대기업에서도 관련 제품을 출시하였다(5). 또한 건강에 대한 소비자의 관심이 증가하면서 시장에 서의 입지도 점차 강화되는 추세에 있다(6).

콤부차는 발효 과정 중 유기산, 폴리페놀, 비타민, 아미노산 등의 생리활성 물질을 생성하며, 이에 따라 항산화, 항균, 항염 등의 기능성을 나타내어 인체 건강 증진에 기여하는 것으로 알려져 있다(7). 국내의 콤부차 관련 연구로는 콤부차의 항산화 활성 및 생물학적 특성(8), 감귤 콤부차의 항산화 및 항암 능력 평가(9), 한방재 첨가 콤부차의 생리활성(10), 감귤 콤부차 발효에 의한 카로티노이드 변화 및 가공 특성(11) 등 기능성을 탐색하는 연구가 진행된 바 있다. 또한 SCOBY를 구성하는 콤부차 미생물 동정(12), 콤부차 제조를 위한 미생물 4종의 복합 발효 조건 개발(13), 콤부차 개발을 위한 초산균 분리, 동정 및 발효 특성(14) 등 미생물 조성에 관한 연구가 진행된 바 있으나 콤부차에 대한 기준은 확립되지 않았으며, 발효물 제조에 이용되는 미생물과 발효 과정에서의 발효 시간, 온도, 기질 등 정형화된 제조 방법에 관한 연구는 미미한 실정이다(13,14).

콤부차는 일반적으로 박테리아와 효모의 공생 배양체(다종 미생물 군집)인 SCOBY(Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast)를 이용하여 당이 첨가된 차를 발효함으로써 제조되며 국내에서 사용되는 SCOBY는 대부분 수입에 의존하고 있다(14,15).

콤부차 발효에 관여하는 미생물은 다양하지만 주로 효모와 초산균이 주요 발효 미생물로 알려져 있다(15,16). SCOBY 내 효모는 단당류를 대사하여 에탄올과 이산화탄소를 생성하며 동시에 초산균은 에탄올을 아세트산으로 전환 시켜

pH를 낮추고 콤부차 특유의 새콤한 맛을 부여한다(3). 이와 같은 발효 과정은 미생물들의 상호작용에 이루어지므로, 미생물 조성의 변화는 발효 환경에 따라 변화되어 독특한 콤부차를 만들 수 있다(2).

콤부차의 다양한 발효 조건은 미생물 군집의 구성뿐만 아니라 최종 제품 분포에 영향을 미칠 수 있으며, 이는 콤부차 미생물군의 생리활성 성분과 품질특성에 영향을 준다(1). 또한 접종 균주의 종류나 비율에 따라 콤부차의 이화학적 특성(산도, 당도, 환원당, 알코올 등)이 달라질 수 있음은 여러 선행 연구에서 보고되었다(17).

일반적으로 전통적인 콤부차 생산은 SCOBY를 활용한 자연 발효 방식을 따르고 있다(2). 이러한 방식은 발효 조건에 따라 미생물 조성의 변동성이 크고 품질이 일정하지 않다는 한계를 지니며(18), 발효 과정에서 위생 관리가 미흡할 경우 병원성 미생물 오염의 위험이 있다(19). 따라서 미생물의 조절은 발효 품질 향상을 넘어 기능성 음료로서의 부가가치 창출에 기여할 수 있다는 점에서 산업적 가치가 크다고 할 수 있다(20).

따라서 본 연구에서는 전통 발효 콤부차의 관능적 특성을 유지하면서도 품질의 균일성을 확보할 수 있는 고품질 콤부차의 대량 생산 기술 개발을 목적으로 하였다. 이를 위해 전통 발효 콤부차로부터 발효 종균을 분리하고, 분리된 종균을 활용한 콤부차 제조 기술을 개발함으로써 콤부차의 산업적 활용 가능성을 제시하고자 한다.

제2장 재료 및 방법

1. 실험 재료

본 연구에 사용된 2종의 SCOBY(Slow, Seoul, Korea; Fermentaholics, Clearwater, USA), 녹차(아망티, Gunpo, Korea), 홍차(이한영생가, Gangjin, Korea), 자당(CJ 제일제당, Seoul, Korea) 및 시판 콤부차(아임얼라이브, Nonsan, Korea)는 온라인 마켓을 통해 구매하였다. 콤부차 제조에 사용된 포도당과 과당(BD Difco, Sparks, USA), 배지 제조에 사용된 YM, agar, peptone, yeast extract 및 agar(BD Difco, Sparks, USA), 그리고 calcium carbonate(Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)는 구입하여 사용하였다.

2. 실험 방법

1) 콤부차 제조

콤부차를 제조하기 위하여 멸균수(1 L)에 녹차(6.6 g)와 홍차(3.4 g)를 혼합한 후 100°C에서 10분간 가열하여 차 추출물을 제조하였다. 차 추출물은 종이 필터로 여과한 뒤, 여과액에 자당 25 g, 포도당 50 g, 과당 25 g을 첨가하여 완전히 용해될 때까지 충분히 혼합하였다. 이후 차 용액은 멸균 처리한 후 실온에 방냉하여 콤부차 제조에 사용하였다.

콤부차는 Table 1에 제시된 조건에 따라 SCOBY를 이용한 콤부차(SK; Slow n, Seoul, Korea; Fermentaholics, Clearwater, USA)와 종균을 이용한 콤부차(SCK)로 제조하였다. SCOBY를 이용한 콤부차는 상기 제조된 차 용액에 SCOBY를 접종하여 제조하였으며, 종균을 활용하여 제조한 콤부차는 콤부차로부터 분리한 발효 균주인 효모 5종과 초산균 6종, 총 11종의 균주를 개별 또는 혼합 접종하여 제조하였다. 각각 제조한 콤부차는 30°C로 설정된 인큐베이터에서 12일간 발효하였으며 발효 단계별(0, 3, 6, 9, 12일)로 시료를 채취하여 발효 특성 분석을 하였다.

Table 1. preparation conditions of kombucha samples

Ingredient(%)	Samples of kombucha	
	SCK	SK
Green tea	0.66	0.66
Black tea	0.34	0.34
Sucrose	2.5	2.5
Fructose	2.5	2.5
Dextrose	5.0	5.0
SCOBY	–	2.72
Starter culture	10	10
Strain inoculation	1 colony per 5 mL	–

All concentrations are expressed as % (w/v), except for starter culture, which is expressed as % (v/v). SCK: Starter culture kombucha, SK: SC OBY kombucha.

2) 콤부차 유래 발효 균주의 분리 및 동정

(1) SCOBY를 이용하여 제조한 콤부차 내 생육 미생물의 분리

SCOBY를 이용하여 제조한 콤부차로부터 미생물을 분리하기 위해 발효 단계별 콤부차 시료를 효모는 YM agar, 초산균은 GYP agar와 YGC agar에 각각 도말하였다. 효모는 30℃에서 최대 96시간, 초산균은 30℃에서 최대 120시간 동안 인큐베이터에서 배양하였다. 배양 과정에서 집락이 형성되었을 때, 형태적 특성과 배양 특성을 기준으로 초기(3일), 중기(6일), 후기(12일) 시점에서 균주를 분리하였다. 분리된 균주들은 형태학적 특성에 따라 군집화하였으며, 이 중 출현 빈도가 높은 균주를 주요 균주로 선별하였다. 선별된 균주는 효모 YM agar에, 초산균은 GYP agar와 YGC agar에서 각각 증식시켰다.

(2) 분리한 미생물의 동정

선별된 균주의 염기서열은 Macrogen(Gwangju, Korea)에 의뢰하여 분석하였다. 효모는 26S ribosomal RNA의 염기서열 분석을 의뢰하였으며, 초산균은 16S ribosomal RNA 염기서열 분석을 통해 동정하였다.

3) 제조된 콤부차의 이화학적 특성 분석

(1) pH 및 총산도

pH는 시료 10 mL를 취한 후 pH meter(pH-240L, ISTEK, Korea)를 사용하여 측정하였다. 총산도는 시료 10 mL 취하고 지시약 1% phenolphthalein 용액 2~3방울 떨어뜨린 후 0.1 N NaOH로 중화 적정하여 소비된 용액 양을 acetic acid(%)로 계산하여 아래 식으로 총산도를 환산하였다(14,21).

$$\text{산도}(W/V\%) = \frac{\text{소비된 } NaOH \times 0.006 \times NaOHfactor(F)}{\text{시료량}(g)} \times 100 \times \text{희석배수}$$

*0.006 : 0.1N NaOH 용액 1 mL에 해당하는 acetic acid 양

(2) 당도 및 환원당 함량

당도는 굴절당도계(Master-M, ATAGO, Japan)를 이용하여 측정하였으며, 환원당 함량은 DNS법(22)을 이용하여 측정하였다. 시료 1 mL에 DNS 시약 1 mL를 넣고 90°C에서 10분간 반응시킨 후 냉각시켰다. 이후 증류수 3 mL를 넣어준 후 분광광도계인 Genesys 20 spectrophotometer(Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA)를 이용하여 546 nm에서 측정하였다.

(3) 색도

색도는 색차계(CR-400 chroma meter, Osaka, Japan)를 사용하였고, Hunter 색상 척도에 따라 L값(명도, brightness), a값(적색도, redness), b값(황색도, yellowness)으로 나타내었다(23).

(4) 흡광도

흡광도는 분광광도계인 Genesys 20 spectrophotometer(Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA)의 600 nm 파장에서 흡광도(Optical Density, OD)를 측정하고 배양액 내 균체 농도의 지표로 사용하였다(22).

(5) 관능검사

균주를 개별 접종한 콤부차는 식품공학과 재학생 10명을 패널로 선정하여 관능검사를 실시하였으며, 선별된 균주를 조합한 콤부차는 20명을 패널로 선정하여 7점 척도법에 따라 관능검사를 수행하였다. 시판 콤부차 제품(아임얼라이브 사)을 대조군으로 설정하고 이를 4점으로 고정한 후, 분리한 종균을 활용하여 제조한 콤부차와 SCOBY를 이용하여 제조한 콤부차의 상대적 기호도를 평가하였다. 평가 항목은 신맛(sourness), 단맛(sweetness), 색(color), 탄산감(carbonation) 및 전체적인 기호도(total preference)였으며, 각 항목은 7점 척도(1점: 대조군에 비해 매우 좋지 않음, 7점: 대조군에 비해 매우 좋음)를 이용하여 평가하였다.

3. 통계처리

본 연구의 결과에 대한 데이터 신뢰성을 확보하기 위해 각 실험을 3회 반복 측정하였으며, 측정값의 평균과 표준편차를 계산하였다. 각 측정 평균값 간의 유의성은 $p < 0.05$ 수준으로 Duncan의 다중범위검정(Duncan's multiple range test)을 실시하여 유의성을 검증하였다(21).

제3장 결과 및 고찰

1. 콤부차 유래 발효 균주의 분리 및 동정

1) SCOBY를 이용하여 제조한 콤부차 내 미생물의 분리 및 동정

SCOBY를 이용하여 제조한 콤부차로부터 각 발효 단계별 주요 생육 미생물을 분리·배양하였으며 집락의 형태학적 특성에 따라 균집화한 결과 Table 2와 같다. 형태학적 관찰 결과, 효모 집락은 소형 또는 중형 크기로 나타났으며 색상은 흰색 또는 크림색을 띠었고 형태는 원형 또는 타원형으로 관찰되었다. 또한 집락의 표면은 매끄럽고 윤기와 광택이 관찰되는 특징을 보였다. 초산균의 경우 크기는 소형이었으며 색상은 반투명하거나 크림색을 띠는 것으로 관찰되었다. 일부 집락에서는 배지 가장자리 부위에 갈색이 형성된 특징이 확인되었다. 집락의 형태는 원형 또는 타원형이었으며, 집락의 표면은 효모와 유사하게 매끄러운 특징을 나타냈다.

발효 단계는 미생물의 검출 빈도와 우점 양상을 기준으로 초기, 중기 및 후기의 세 단계로 구분하여 분석하였으며, 단계별 미생물 동정 결과는 Table 3, Table 4와 같다. SCOBY를 이용한 콤부차로부터 분리 동정된 미생물은 총 11종으로 확인되었으며 이 중 효모인 *Brettanomyces bruxellensis*와 초산균인 *Komagataeibacter rhaeticus*는 콤부차 미생물 균집에서 가장 흔하게 검출되는 우점종으로 확인되었다. 해당 균주들은 선행 연구에서 보고된 콤부차 발효 미생물 균집의 주요 우점종과도 유사한 양상이 보였다(24). 또한 *Zygosaccharomyces bisporus*는 검출 빈도가 1% 미만으로 낮았으나, 콤부차 발효 과정에서 반복적으로 검출되는 효모로 보고되고 있으며(25) 본 연구에서도 동일하게 분리 동정되었다. 초산균의 경우 *Komagataeibacter*, *Acetobacter* 속 및 *Gluconobacter* 속 균주가 분리·동정되었다. 선행 연구에 따르면 *Komagataeibacter* 속 균주는 콤부차 발효 과정에서 박테리아 셀룰로오스 막 및 셀룰로오스 섬유 생산에 관여하는 항

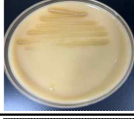
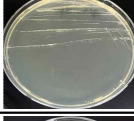
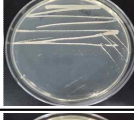
균성 초산균으로 알려져 있으며, 생성된 셀룰로오스는 향균 특성을 바탕으로 식품 포장재로의 활용 가능성이 제시된 바 있다(26). 또한 *Acetobacter* 속 및 *Gluconobacter* 속 균주는 콤부차 발효 과정에서 주요 초산균으로 빈번하게 검출되며, 초산균에 의해 생성된 아세트산은 콤부차의 pH를 낮추어 산성 환경을 형성함으로써 발효 과정 중 유해 미생물의 성장을 억제하고, 초산균 및 효모를 포함한 미생물 군집 형성에 기여하는 것으로 보고되고 있다(27). 본 연구에서도 *Acetobacter tropicalis*를 포함한 *Acetobacter* 속 균주가 분리·동정되어, 기존 문헌에서 보고된 콤부차 발효 미생물의 구성 특성과 부합하는 결과를 보였다.

이러한 점을 종합하면, 본 연구에서 SCOBY로부터 분리·동정된 효모 및 초산균은 기존 문헌에서 보고된 콤부차 발효 미생물의 구성 및 우점 양상과 부합하였으며, 이를 통해 본 연구에서 확보한 균주들이 콤부차 제조 공정에서 종균으로 활용하기에 타당한 미생물 자원임을 확인할 수 있었다.

Table 2. Morphological characteristics of yeast and bacteria isolated from traditional kombucha during fermentation

Strain No.	Morphological chracteristics			
	Size	Colour	Shape	Texture
Y-1	Medium	cream	oval	Glossy + Lustrous
Y-2	small	white	round+ oval	smooth
Y-3	small	cream	oval	smooth
Y-4	Medium	cream	round+ oval	Glossy + Lustrous
Y-5	Medium	cream	round+ oval	Glossy
A-1	small	Translucent	oval	smooth
A-2	small	Translucent	round+ oval	smooth
A-3	small	Translucent + Brownish margin	oval	smooth
A-4	small	cream	round	smooth
A-5	small	cream	round	smooth
A-6	small	cream	oval	smooth

Table 3. Characteristics of yeast and bacteria isolated from Traditional Kombucha during Fermentation

Strain No.	Media		Dominant stage
Y-1	YM		Early stage: +++ Middle stage: + Late stage: +
Y-2	YM		Early stage: - Mid stage: + Late stage: +++
Y-3	YM		Early stage: - Mid stage: ++ Late stage: ++
Y-4	YM		Early stage: +++ Mid stage: - Late stage: ++
Y-5	YM		Early stage: +++ Mid stage: - Late stage: +
A-1	GYP		Early stage: - Mid stage: + Late stage: +
A-2	YGC		Early stage: +++ Mid stage: - Late stage: -
A-3	YGC		Early stage: ++ Mid stage: ++ Late stage: -
A-4	GYP		Early stage: + Mid stage: - Late stage: +++
A-5	GYP		Early stage: - Mid stage: - Late stage: +++
A-6	GYP		Early stage: +++ Mid stage: + Late stage: +

Fermentation-stage appearance was classified into three levels (+ to +++), based on strain-specific isolation proportions ($\geq 60\%$, 30–59%, and $< 30\%$).

Table 4. List of yeast and bacteria identification results of yeast and bacteria isolated from traditional Kombucha during fermentation based on 26S, 16S rRNA gene analysis

Strain No.	Identified species	Similarity (%)	Accession No.
Y-1	<i>Brettanomyces bruxellensis</i>	100	NG_055124.1
Y-2	<i>Dekkera bruxellensis</i>	100	AM850055.1
Y-3	<i>Starmerella vitis</i>	94.63	MN319575.1
Y-4	<i>Zygosaccharomyces bisporus</i>	99.7	NG_058447.1
Y-5	<i>Zygosaccharomyces parabailii</i>	95	CP019493.1
A-1	<i>Acetobacter senegalensis</i>	99.78	HG424424.1
A-2	<i>Acetobacter tropicalis</i>	99.78	NR_036881.1
A-3	<i>Gluconobacter potus</i>	99.8	NR_181154.1
A-4	<i>Komagataeibacter intermedius</i>	99.9	NR_113394.1
A-5	<i>Komagataeibacter rhaeticus</i>	99.85	LC108743.1
A-6	<i>Komagataeibacter saccharivorans</i>	100	NR_108135.1

2) SCOBY를 이용하여 제조한 콤부차의 발효과정 중 미생물 조성

두 종의 SCOBY를 이용하여 제조한 콤부차의 발효 과정에서 나타나는 효모 및 초산균 군집을 Species-level taxonomic composition으로 분석하였으며(22), 그 결과는 Fig. 1과 Fig. 2와 같다. 구매한 SCOBY(Slowen, Seoul, Korea)를 이용하여 제조한 콤부차의 발효 과정에서 미생물 군집 변화를 분석한 결과, 발효 초기(3일차)에는 *Brettanomyces bruxellensis*가 가장 높은 비율을 차지하여 우점종으로 확인되었다. 이와 함께 *Zygosaccharomyces parabailii*, *Zygosaccharomyces bisporus*, *Gluconobacter potus* 및 *Komagataeibacter intermedius* 등이 함께 검출되어, 발효 초기에는 다양한 효모류를 중심으로 한 군집 구성이 형성되는 경향을 보였다. 발효 중기(6일차)에는 *Brettanomyces bruxellensis*의 점유율이 발효 초기 대비 감소한 반면 *Gluconobacter potus* 검출 비율은 증가하였다. 이 단계에서는 두 종만이 관찰되어 미생물 군집 구성이 단순화되었으며, *Brettanomyces bruxellensis*와 *Gluconobacter potus*가 우점하는 군집 구조로 전환되는 경향이 나타났다. 발효 후기(12일차)에는 군집의 다양성이 다시 증가하면서 미생물 구성이 재구성되었다. 이 단계에서는 *Brettanomyces bruxellensis*가 가장 높은 비율로 나타났으며, 그 다음으로 *Komagataeibacter intermedius*, *Zygosaccharomyces bisporus* 및 *Zygosaccharomyces parabailii* 순으로 나타났다.

한편, 구매한 SCOBY(Fermentaholics, Clearwater, USA)를 이용하여 제조한 콤부차의 발효 과정에서 미생물 군집 변화를 분석한 결과, 발효 초기(3일차)에는 *Komagataeibacter saccharivorans*가 가장 높은 비율을 차지하여 우점종으로 확인되었다. 이와 함께 *Acetobacter tropicalis*가 소량 검출되어 발효 초기부터 초산균 중심의 군집 구조를 형성되는 특징이 나타났다. 발효 중기(6일차)에는 발효 초기와 달리 효모가 출현하면서 군집 다양성이 증가하였다. 이 단계에서는 *Dekkera bruxellensis*, *Starmerella vitis*, *Acetobacter senegalensis*, *Acetobacter tropicalis* 및 *Komagataeibacter saccharivorans*의 총 5종이 검출되어, 효모와 초산균이 공존한 복합적인 군집 구성으로 전환되었다. 발효 후기(12일차)에는 *D*

ekkera bruxellensis, *Acetobacter senegalensis* 및 *Komagataeibacter rhaeticus*가 유사한 비율로 검출되어 공우점(co-dominant) 구조를 형성하였다. 그 외에 *Komagataeibacter saccharivorans*와 *Starmerella vitis*가 뒤이어 확인되었으며, 특히 *Komagataeibacter* 속은 후기 발효 단계에서도 주요 군집 구성원으로 유지되는 것으로 나타났다.

Landis 등(27)에 따르면, shotgun metagenomic sequencing을 활용하여 콤부차 발효 과정의 미생물 군집을 분석한 결과, 효모인 *Zygosaccharomyces bisporus*가 *Brettanomyces bruxellensis*에 비해 상대적으로 성장 속도가 느리다고 보고하였다. 또한 Njieukam 등(28)은 *Acetobacter tropicalis*가 발효 초기 단계에서만 검출된 반면 *Komagataeibacter* 속은 거의 모든 채취 시점에서 검출되었다고 보고하였다.

이러한 기존 연구 결과는 본 연구에서 관찰된 발효 단계별 군집 변화와도 일치하는 경향을 보인다. 본 연구에서도 발효 과정 전반에 걸쳐 *Brettanomyces* 및 *Komagataeibacter* 속이 반복적으로 검출되는 반면 *Acetobacter tropicalis*는 발효 초기에만 확인되었다. 이는 발효 단계에 따라 효모와 초산균이 상호 보완적으로 군집을 형성하는 특성이 콤부차 발효 미생물 생태의 공통적인 특징임을 시사한다.

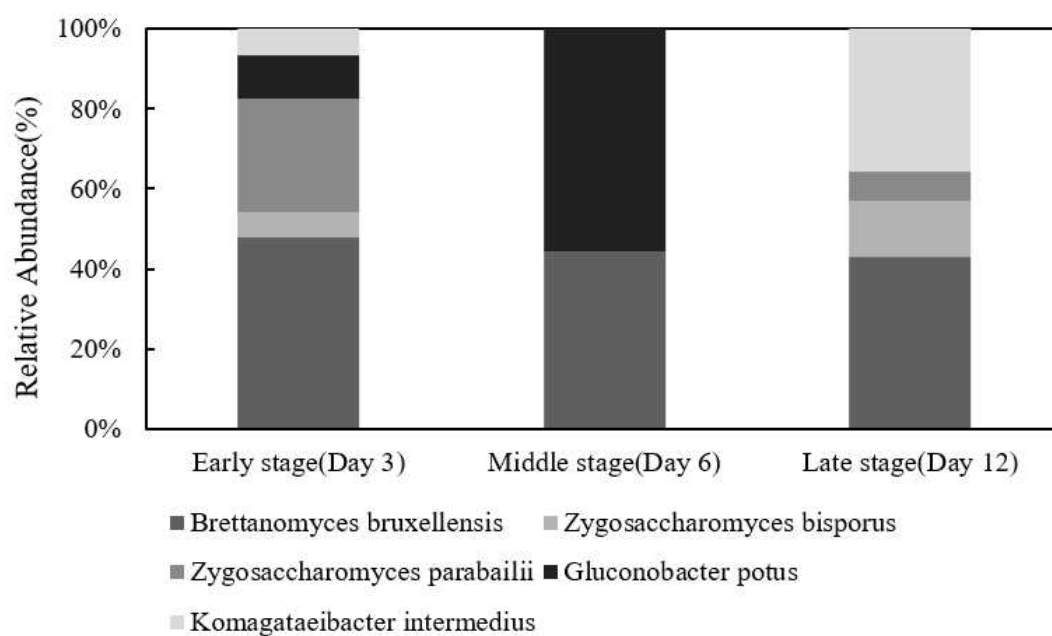


Fig. 1. Species-level taxonomic composition of yeast and bacterial communities in traditional kombucha during fermentation, including a commercially available Slow SCOBY product. Early stage(Day 3), Middle stage(Day 6), and Late stage(Day 12) represent the early, mid, and late stages of fermentation, respectively.

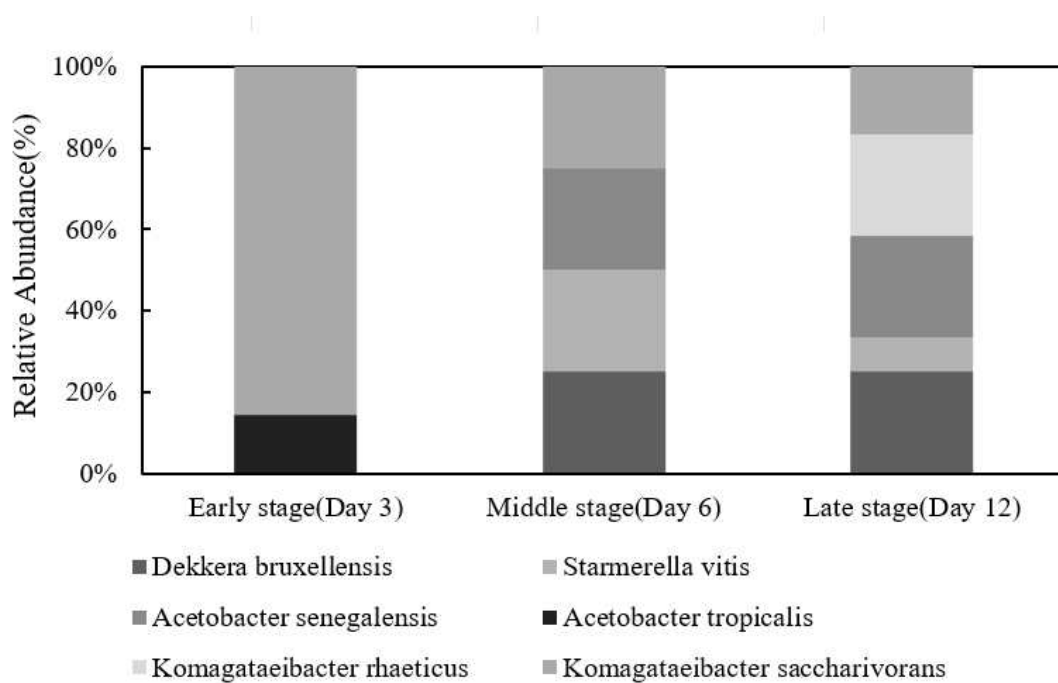


Fig. 2. Species-level taxonomic composition of yeast and bacterial communities in traditional kombucha during fermentation, including a commercially available Fermentaholics SCOBY product. Early stage (Day 3), Middle stage (Day 6), and Late stage (Day 12) represent the early, mid, and late stages of fermentation, respectively

2. 분리된 개별 균주의 발효 화학적 특성 분석

동정된 효모 5종과 초산균 6종을 대상으로 콤부차 제조에 적합한 우수 발효 균주를 선별하기 위해 단일 접종(Single Inoculation) 조건에서 발효 특성을 평가하였다. SCOBY를 이용한 콤부차 제조 방식과 동일하게 차 추출액을 제조한 후 각 균주를 단일 접종하여 배양하였으며, 배양액의 pH, 산도 및 당도 등 대사 특성을 측정하여 균주별 발효 특성을 비교 분석하였다. 이를 통해 각 미생물의 산 생성 능력과 당 대사 특성을 화학적 지표로 평가하고, 콤부차 발효에 적합한 균주 선발을 위한 객관적 기준을 마련하고자 하였다.

1) pH 및 총산도

발효음료에서 pH와 적정산도는 제품의 품질을 나타내는 중요한 지표이며 특히, 콤부차의 경우 이러한 지표는 초산균이 생성하는 유기산과 관련이 있다(14). 균주를 단일 접종(single inoculation)한 콤부차의 발효 특성을 비교하기 위해 pH 및 총산도를 측정한 결과 Fig. 3, Fig. 4과 같다. 효모 균주를 단독 접종한 콤부차의 pH는 2.83-3.92 범위로 나타났으며, 균주 간 유의적 차이가 확인되었다($p < 0.05$). 이 중 *Brettanomyces bruxellensis*와 *Dekkera bruxellensis* 균주는 pH 3.92로 가장 높은 값을 나타냈다. 반면 효모 균주를 단독 접종한 총산도는 0.07-0.14% 범위의 낮은 수준을 보였으며, 균주 간 유의적인 차이는 관찰되지 않았다($p > 0.05$). 이러한 결과는 효모 단독 발효 시 유기산 생성이 제한적으로 이루어짐을 시사하며, 효모가 주로 알코올 발효에 관여한다는 선행 연구의 보고와 유사한 발효 특성을 나타낸다(17,29).

한편, 초산균 균주를 단독 접종한 콤부차의 pH는 2.41-3.20 범위로 효모 균주에 비해 전반적으로 낮은 값을 나타냈으며, 균주 간 유의적인 차이가 확인되었다($p < 0.05$). 특히 *Gluconobacter potus* 균주는 pH 2.41로 가장 낮은 값을 나타냈다. 총산도는 초산균 균주에서 0.66-1.55% 범위로 나타나 효모 균주에 비해 높은 수준을 보였으며, 균주 간 유의적 차이가 확인되었다($p < 0.05$). 이 중 *Gluconobacter potus* 균주는 총산도 1.55%로 가장 높은 값을 나타내 다른 초산균 균주에 비해 우수한 산 생성 능력을 보였다. 또한 *Komagataeibacter intermedius* 균주 역시 pH 2.8 수준의 낮은 pH와 1.2% 이상의 높은 총산도를 나타내어, 초산균 단독 발효 조건에서 비교적 높은 산 생성을 보였다.

이러한 결과는 콤부차 발효 과정에서 *Gluconobacter* 및 *Komagataeibacter* 종 초산균이 산화적 대사를 통해 유기산 생성을 주도한다는 선행 연구의 보고와 유사한 경향을 보였다(29).

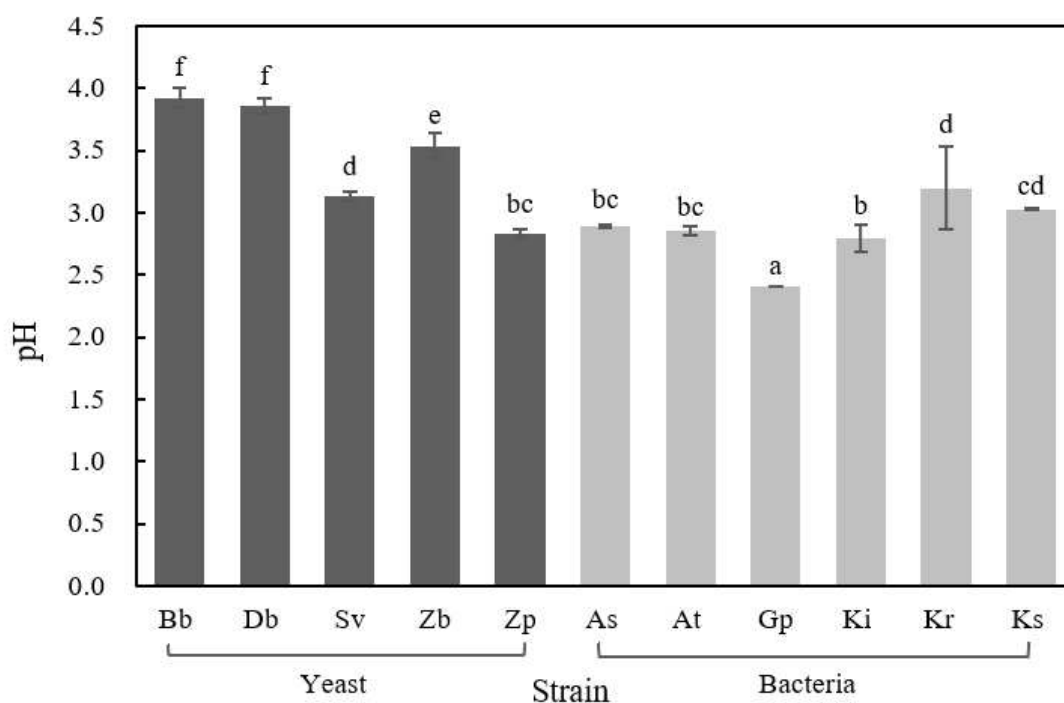


Fig. 3. Changes in pH according to fermentation day by strains isolated from traditionally fermented kombucha. Bb, *Brettanomyces bruxellensis*; Db, *Dekkera bruxellensis*; Sv, *Starmerella vitis*; Zb, *Zygosaccharomyces bisporus*; Zp, *Zygosaccharomyces parabailii*; As, *Acetobacter senegalensis*; At, *Acetobacter tropicalis*; Gp, *Gluconobacter potus*; Ki, *Komagataeibacter intermedius*; Kr, *Komagataeibacter rhaeticus*; Ks, *Komagataeibacter saccharivorans*. Different superscript letters indicate significant difference by Duncan's test ($p < 0.05$).

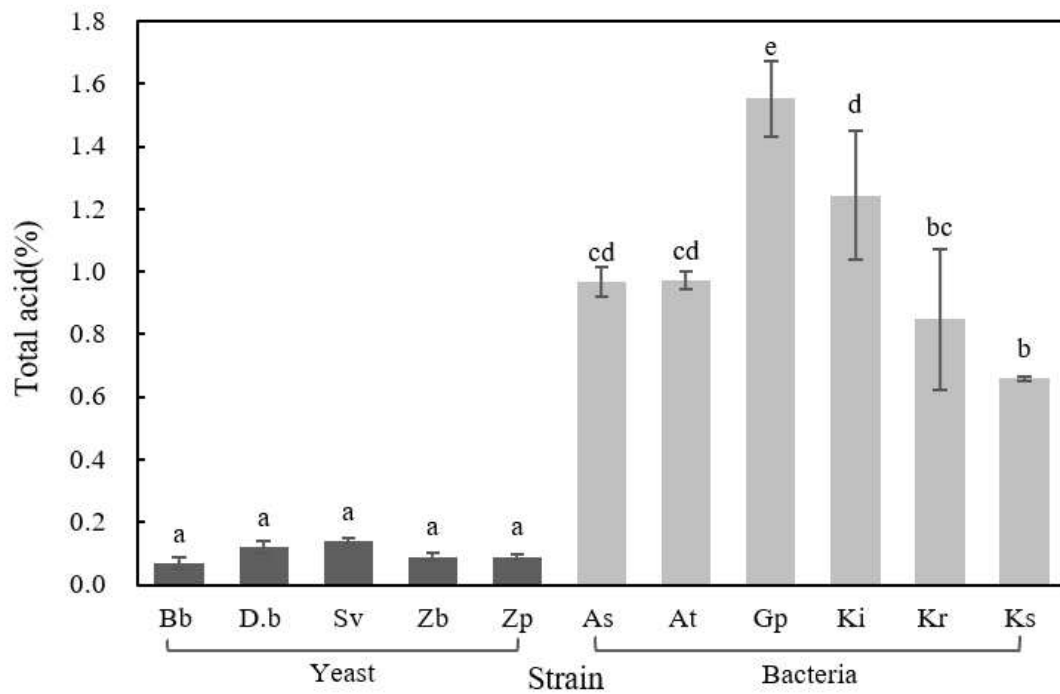


Fig. 4. Changes in total acidity according to fermentation day by strains isolated from traditionally fermented kombucha. Bb, *Brettanomyces bruxellensis*; Db, *Dekkera bruxellensis*; Sv, *Starmerella vitis*; Zb, *Zygosaccharomyces bisporus*; Zp, *Zygosaccharomyces parabailii*; As, *Acetobacter senegalensis*; At, *Acetobacter tropicalis*; Gp, *Gluconobacter potus*; Ki, *Komagataeibacter intermedius*; Kr, *Komagataeibacter rhaeticus*; Ks, *Komagataeibacter saccharivorans*. Different superscript letters indicate significant difference by Duncan's test ($p < 0.05$).

2) 당도 및 환원당 함량

균주를 단일 접종(Single Inoculation)한 콤부차의 발효 특성을 비교하기 위하여 당도 및 환원당 함량을 측정한 결과 Fig 5, Fig 6과 같다. 효모 균주를 접종한 콤부차의 당도는 8.0-9.1 °Brix 범위로 나타났으며, 균주 간 유의적 차이가 확인되었다($p < 0.05$). 이 중 *Starmerella vitis*와 *Zygosaccharomyces parabailii* 균주는 가장 낮은 당도를 나타내 발효 과정에서 당이 상대적으로 활발하게 소비된 것으로 판단된다. Ferremi Leali 등(30)에 따르면 *Brettanomyces bruxellensis*는 포도당을 선호하는 반면 *Zygosaccharomyces parabailii*는 과당 이용성이 높아 발효 중 더 많은 당을 소비하는 것으로 보고되었다. 본 연구에서도 *Zygosaccharomyces parabailii*에서 당 함량의 감소가 더 크게 나타나 해당 연구와 유사한 경향을 보였으며, 이는 발효 과정에서 효모가 환원당을 알코올 발효의 주요 기질로 이용함에 따라 잔존 당 함량이 감소한 결과로 확인되었다(17).

환원당 함량은 효모 균주에서 전반적으로 0.1% 미만의 낮은 수준을 나타내어, 발효 과정 중 환원당이 효율적으로 소비되었음을 시사한다. 이러한 결과는 콤부차 발효 과정에서 효모 활성에 따라 당 함량이 감소한다고 보고한 연구 결과와 유사한 경향을 보인다(31). 다만, 사용 균주의 차이에 따라 환원당 감소 속도 및 최종 함량에는 차이가 나타난 것으로 판단된다.

한편, 초산균 균주의 경우 당도는 10.2-10.5 °Brix 범위로 효모 균주에 비해 상대적으로 높은 값을 유지하였다. 이는 초산균 발효 과정에서 당이 주요 소비 기질로 작용하기보다는, 발효 과정 중 생성된 대사산물이 유기산 생성에 이용되는 산화적 발효 특성과 관련된 것으로 해석된다(17). 환원당 함량은 초산균 균주 간 차이를 보였으며, 특히 *Gluconobacter potus* 균주에서 가장 낮은 함량으로 확인되었다. 이러한 결과는 *Gluconobacter* 속 균주가 glucose를 산화적 대사를 통해 글루콘산(gluconic acid)으로 전환하는 특성이 있다는 선행 연구 보고와 유사한 양상을 나타내며(14), 이 과정에서 환원당은 감소하나 생성된 유기산으로 인해 당도는 상대적으로 유지되는 것으로 해석된다.

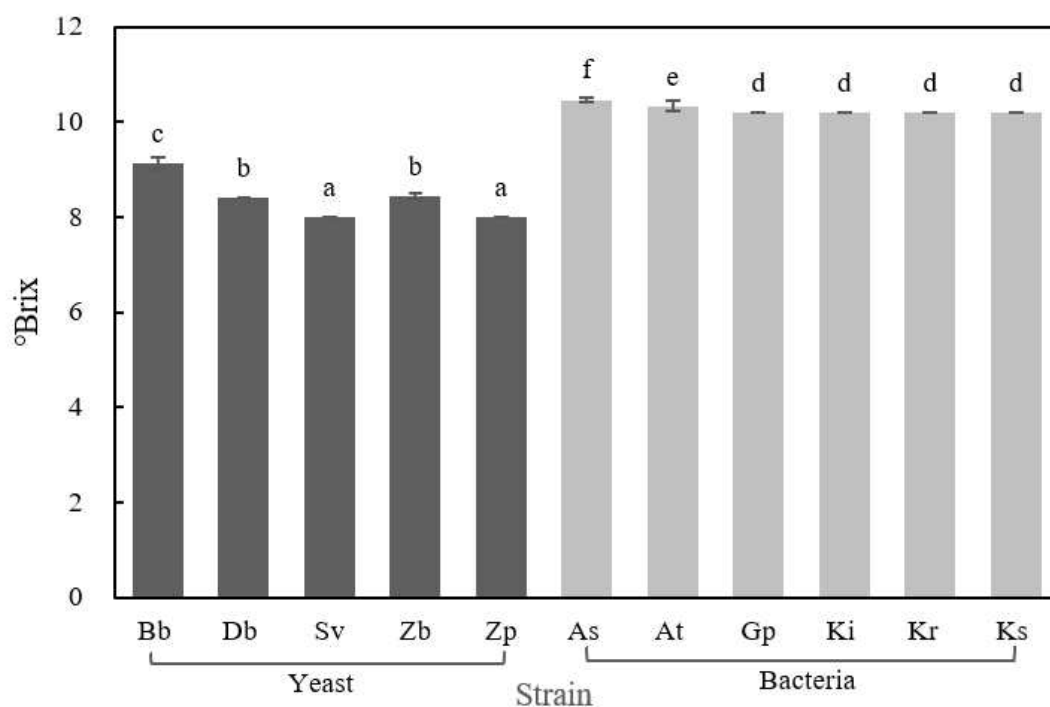


Fig. 5. Changes in °Brix according to fermentation day by strains isolated from traditionally fermented kombucha. Bb, *Brettanomyces bruxellensis*; Db, *Dekkera bruxellensis*; Sv, *Starmerella vitis*; Zb, *Zygosaccharomyces bisporus*; Zp, *Zygosaccharomyces parabailii*; As, *Acetobacter senegalensis*; At, *Acetobacter tropicalis*; Gp, *Gluconobacter potus*; Ki, *Komagataeibacter intermedius*; Kr, *Komagataeibacter rhaeticus*; Ks, *Komagataeibacter saccharivorans*. Different superscript letters indicate significant difference by Duncan's test ($p < 0.05$).

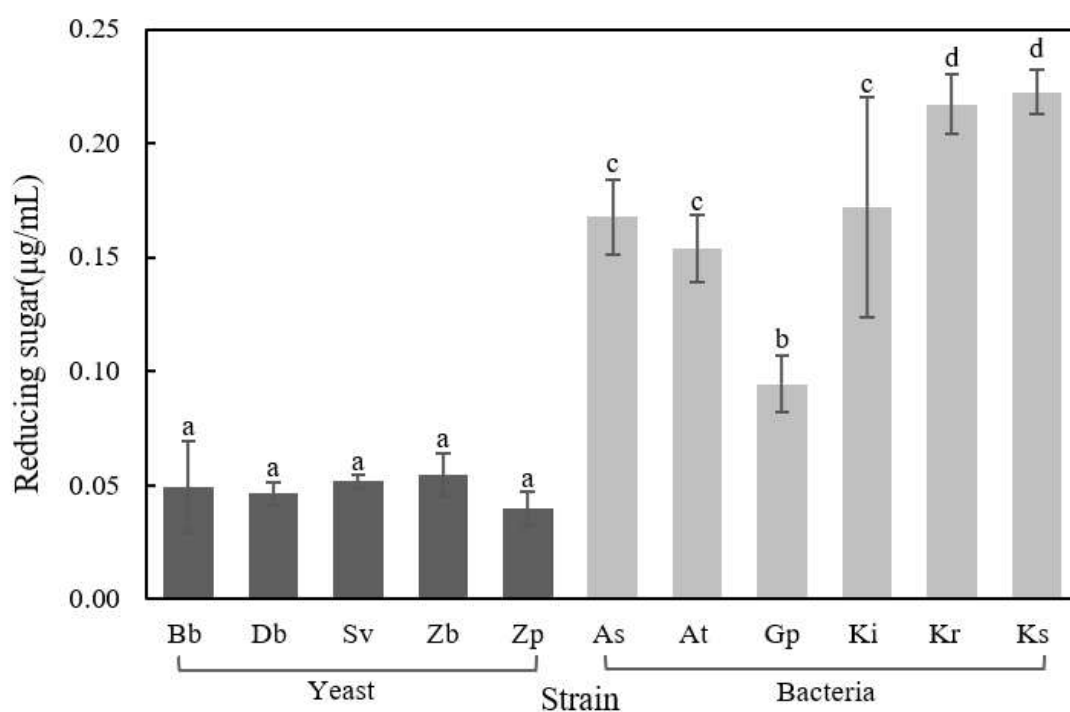


Fig. 6. Changes in reducing sugar according to fermentation day by strains isolated from traditionally fermented kombucha. Bb, *Brettanomyces bruxellensis*; Db, *Dekkera bruxellensis*; Sv, *Starmerella vitis*; Zb, *Zygosaccharomyces bisporus*; Zp, *Zygosaccharomyces parabailii*; As, *Acetobacter senegalensis*; At, *Acetobacter tropicalis*; Gp, *Gluconobacter potus*; Ki, *Komagataeibacter intermedius*; Kr, *Komagataeibacter rhaeticus*; Ks, *Komagataeibacter saccharivorans*. Different superscript letters indicate significant difference by Duncan's test ($p < 0.05$).

3) 색도

균주를 단일 접종(single inoculation)한 콤부차의 발효 특성을 비교하기 위하여 색도를 측정하였으며, 밝기를 나타내는 L*값, 적색도를 나타내는 a*값, 황색도를 나타내는 b*값으로 구분하여 분석한 결과 Fig. 7과 같다. L*값은 46.1-54.0 범위로 나타나 전반적으로 밝은 색조를 보였으며, 균주 간 차이가 일부 확인되었다. 이 중 일부 효모 균주인 *Brettanomyces bruxellensis*, *Dekkera bruxellensis* 및 *Zygosaccharomyces parabailii* 균주와 초산균인 *Gluconobacter potus* 균주에서는 상대적으로 낮은 L*값이 관찰되어 다른 시료에 비해 다소 어두운 색조를 보였다.

a*값의 경우, 단일 접종한 콤부차에서 초산균이 효모 균주에 비해 상대적으로 높은 값을 나타내는 경향을 보였다. 특히 *Brettanomyces bruxellensis* 균주는 효모 균주 중 가장 높은 a*값을 나타냈다. 반면 초산균 균주 중에서는 *Gluconobacter potus* 균주가 가장 높은 a*값을 보여, 균주에 따른 색조 차이가 일부 확인되었다. b*값은 모든 콤부차 시료에서 23.0-27.0 범위로 나타났으며, 균주에 따른 황색도 차이는 크지 않은 것으로 확인되었다.

이러한 결과는 콤부차 발효 과정에서 미생물의 대사 특성에 따라 색도 변화가 일부 나타날 수 있음을 시사하며, 발효 과정 중 폴리페놀 성분 변화가 색도 변화와 연관될 수 있다고 보고한 선행 연구의 결과와 유사한 경향을 나타낸다(32).

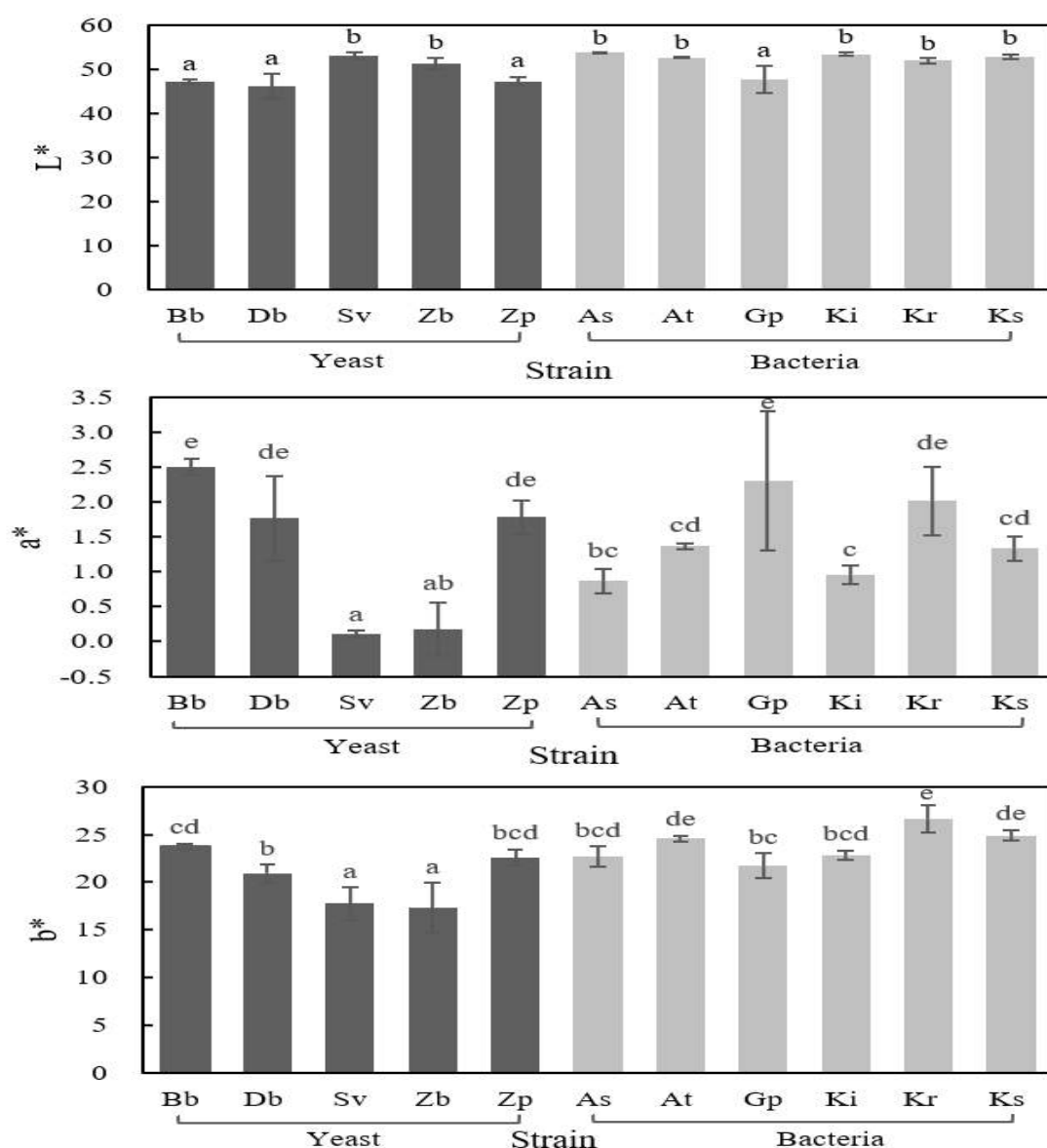


Fig. 7. Changes in L*, a* and b* values according to fermentation day by strains isolated from traditionally fermented kombucha. Bb, *Brettanomyces bruxellensis*; Db, *Dekkera bruxellensis*; Sv, *Starmerella vitis*; Zb, *Zygosaccharomyces bisporus*; Zp, *Zygosaccharomyces parabailii*; As, *Acetobacter senegalensis*; At, *Acetobacter tropicalis*; Gp, *Gluconobacter potus*; Ki, *Komagataeibacter intermedius*; Kr, *Komagataeibacter rhaeticus*; Ks, *Komagataeibacter saccharivorans*. Different superscript letters indicate significant difference by Duncan's test ($p < 0.05$).

4) 흡광도

흡광도는 미생물 생육 정도를 평가하는 지표로 활용되며(33), 효모와 초산균은 성장 속도 및 대사산물 생성 특성이 상이한 것으로 보고된 바 있다(24). 이에 따라 균주를 단일 접종(single inoculation)한 콤부차 발효 과정에서 효모와 초산균 간 생육 및 대사 활성의 차이를 비교하기 위하여 600 nm에서 흡광도(optical density, OD₆₀₀)를 측정한 결과 Fig. 8과 같다.

효모 균주의 경우 발효 초기인 3일차부터 흡광도 값이 증가하는 경향을 보였으며, 발효가 진행됨에 따라 점진적으로 증가하여 발효 후기에는 0.46-0.85 범위를 나타냈다. 반면 초산균의 경우 발효 초기에는 전반적으로 낮은 흡광도 값을 보였으나, 발효 후기로 갈수록 생육 활성이 증가하여 0.24-0.80 범위를 나타냈다. 다만 *Komagataeibacter rhaeticus*와 *Komagataeibacter saccharivorans* 균주는 발효 전 기간 0.25 이하의 낮은 흡광도 값을 나타내어, 단독 접종 조건에서는 생육 활성이 제한적인 것으로 나타났다. 이러한 결과는 콤부차 발효 과정에서 효모와 초산균 간 성장 속도 및 생육 특성의 차이가 발효 단계에 따라 다르게 나타날 수 있음을 시사한다. 이러한 생육 양상은 Landis 등(25)이 보고한 바와 같이 효모인 *Zygosaccharomyces bisporus*가 *Brettanomyces bruxellensis*에 비해 빠른 성장 속도를 보인다는 결과와 유사한 경향을 나타냈다. 또한 Tran 등(34)이 *Komagataeibacter saccharivorans* 균주가 생존은 가능하지만, 배양이 불가능한 VBNC(viable but non-culturable) 상태에 있을 가능성을 제시한 바와 같이, 본 연구에서도 해당 균주에서 낮은 흡광도 값이 지속적으로 관찰되어 선행 연구 결과와 유사한 양상을 보였다.

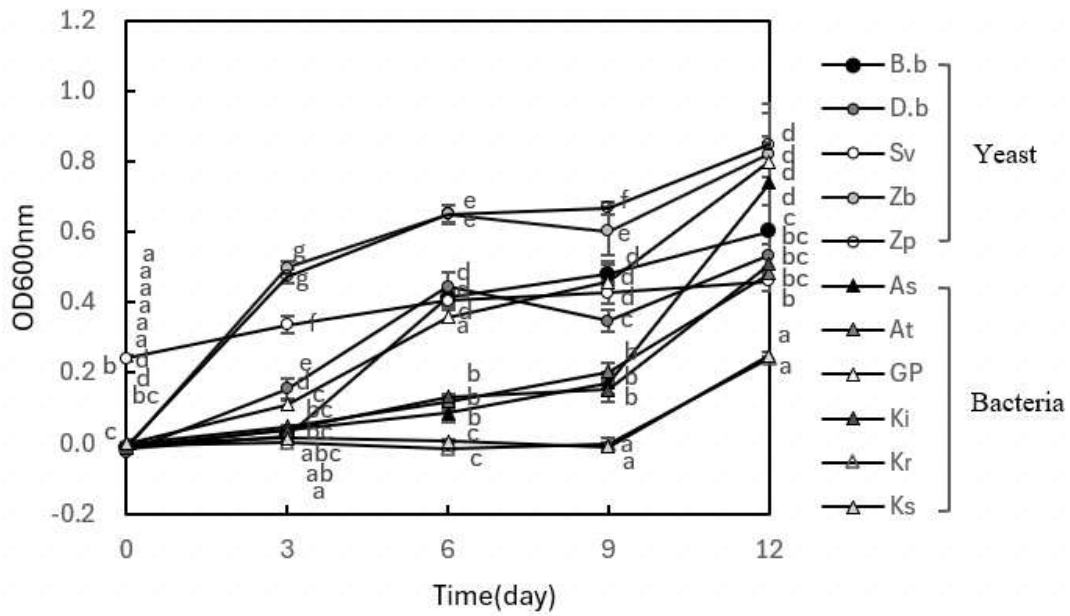


Fig. 8. Changes in OD₆₀₀ according to fermentation day by strains isolated from traditionally fermented kombucha. Bb: *Brettanomyces bruxellensis*, D b: *Dekkera bruxellensis*, Sv: *Starmerella vitis*, Zb: *Zygosaccharomyces bisporus*, Zp: *Zygosaccharomyces parabailii*, As: *Acetobacter senegalensis*, A t: *Acetobacter tropicalis*, Gp: *Gluconobacter potus*, Ki: *Komagataeibacter i ntermedius*, Kr: *Komagataeibacter rhaeticus*, Ks: *Komagataeibacter saccha rivorans*

5) 관능검사

균주를 단일 접종(single inoculation)한 콤부차의 발효 특성을 비교하기 위하여 식품공학과 재학생 10명을 패널로 구성하고, 7점 척도법을 적용한 관능검사를 실시하였다. 시판 콤부차 제품(아임얼라이브 사)을 기준점인 4점으로 설정하여 이에 대한 상대적 기호도를 평가하였으며, 그 결과는 Table. 5과 같다.

신맛 항목에서 효모 균주 대부분은 기준점 대비 1-2점대의 낮은 점수를 나타냈다. 반면 *Zygosaccharomyces parabailii* 균주는 신맛 항목에서 4.44로 다른 효모 균주에 비해 상대적으로 높은 점수를 나타냈으며, 전체적인 기호도 또한 3.94로 효모 균주 중 가장 높은 값을 보여 차별화된 특성을 보였다. 이 균주는 탄산감 항목에서도 비교적 높은 기호도를 나타냈으며, 이는 *Brettanomyces bruxellensis* 균주에 비해 상대적으로 높은 에탄올 생성 능력을 보인다는 선행연구의 보고와 연관된 결과로 해석할 수 있다(30).

초산균 균주 중에서는 *Acetobacter senegalensis* 균주가 전체적인 기호도 항목에서 5.06으로 가장 높은 점수를 나타냈으며, 신맛 항목에서도 높은 평가를 받아 관능적으로 우수한 특성을 보였다. 반면 *Komagataeibacter intermedius*, *Komagataeibacter rhaeticus* 및 *Komagataeibacter saccharivorans* 균주는 신맛 항목에서 기준점 대비 2-3점대의 점수를 나타냈다. 이러한 경향은 초산 발효 과정에서 아세트산 농도에 따라 우점하는 아세트산(AAB) 종이 변화하며, 아세트산 농도가 낮은 초기 단계에는 *Acetobacter* 속이 우세하고, 발효가 진행됨에 따라 *Komagataeibacter* 속이 우세해진다는 선행 연구의 보고와도 일치한 경향을 보였다(35). 이는 콤부차 발효가 비교적 낮은 산도 조건에서 진행될 경우 *Acetobacter* 속 균주가 관능적 신맛과 전체적인 기호도에 긍정적인 영향을 미칠 수 있음을 시사한다. 한편 단맛, 색 및 탄산감 항목에서는 균주 간 유의미한 차이가 관찰되지 않았으나, 전체적인 기호도 평가에서는 *Acetobacter senegalensis* 균주가 가장 높은 점수를 나타내 콤부차의 풍미 증진에 기여할 수 있는 균주로 판단되었다.

Table 5. Sensory properties of kombucha fermented by different starters

Strain	Sourness	Sweetness	Color	Carbonation	Total preference
Bb	2.31±1.10 ^a	3.31±2.19 ^a	4.19±1.36 ^a	2.56±1.00 ^a	3.69±1.62 ^a
Db	2.19±1.19 ^a	4.31±1.22 ^a	3.94±1.02 ^a	2.81±1.19 ^a	3.31±1.22 ^a
Sv	1.81±1.00 ^a	3.06±1.21 ^a	3.94±1.02 ^a	2.56±1.45 ^a	3.06±1.32 ^a
Zb	2.44±1.35 ^a	3.69±1.91 ^a	4.06±1.08 ^a	2.44±1.55 ^a	3.31±1.49 ^a
Zp	4.44±0.82 ^b	2.94±1.70 ^a	4.06±1.47 ^a	3.44±1.05 ^a	3.94±1.32 ^a
As	4.44±1.68 ^{bc}	4.56±1.29 ^a	4.44±1.18 ^a	3.19±1.00 ^a	5.06±1.15 ^a
At	5.56±1.68 ^{bc}	3.19±1.56 ^a	4.69±2.02 ^a	3.19±1.46 ^a	4.44±1.95 ^a
Gp	5.19±1.85 ^c	2.94±1.97 ^a	4.44±1.29 ^a	3.94±1.66 ^a	4.06±1.21 ^a
Ki	2.19±1.25 ^a	4.31±1.33 ^a	3.94±1.52 ^a	2.69±1.62 ^a	3.69±1.33 ^a
Kr	3.44±1.40 ^{ab}	4.31±1.33 ^a	4.69±1.44 ^a	2.56±0.82 ^a	4.44±1.40 ^a
Ks	3.06±1.27 ^{ab}	4.81±1.13 ^a	4.44±1.12 ^a	2.94±1.52 ^a	4.44±1.45 ^a

Means followed by different lowercase letters within the same column indicate significant differences ($p < 0.05$). Bb: *Brettanomyces bruxellensis*, Db: *Dekkera bruxellensis*, Sv: *Starmerella vitis*, Zb: *Zygosaccharomyces bisporus*, Zp: *Zygosaccharomyces parabailii*, As: *Acetobacter senegalensis*, At: *Acetobacter tropicalis*, Gp: *Gluconobacter potus*, Ki: *Komagataeibacter intermedius*, Kr: *Komagataeibacter rhaeticus*, Ks: *Komagataeibacter saccharivorans*

3. 선발된 종균을 활용하여 제조한 콤부차의 이화학적 특성 분석

효모와 초산균의 공생 배양(co-culture) 특성을 확인하기 위해 우수 종균으로 선별된 효모 5종과 초산균 6종을 일부 조합(A, B, C 조합) 또는 전체 혼합하여 콤부차(S)를 제조하였으며, 이를 SCOBY(Slow, Seoul, Korea)를 이용해 제조한 콤부차와 비교하여 이화학적 특성을 분석하였다.

1) pH 및 총산도

균주를 혼합 접종(Mixed Inoculation)한 콤부차의 발효 특성을 비교하기 위해 pH 및 총산도를 측정한 결과 Fig 9, 10과 같다. A, B, C 조합 및 S의 pH는 발효 초기(3일차) 4.7-4.9 범위로 나타났으며, 발효가 진행됨에 따라 점진적으로 감소하는 경향을 보였다. 발효 후기(12일차)에는 모든 실험군에서 pH가 2.5-2.8 범위로 나타나 콤부차 발효 시 제안된 적정 pH 범위(2.5-4.2)에 해당하였다(36).

총산도의 경우 발효 초기(3일차)에는 모든 실험군에서 0.05-0.20% 범위로 낮게 나타났으나 발효가 진행됨에 따라 유기산 생성으로 증가하여 발효 후기(12일차)에는 1.1-1.5% 범위로 측정되었다. 이는 Kombucha Brewers International (KBI)에서 제안한 적정 산도 범위(0.27-2.03%)에 포함되는 값으로, 모든 실험군이 콤부차의 적정 산도 수준에 도달하였음을 보여준다(36). 이러한 결과는 발효 과정에서 pH는 감소와 총산도 증가라는 콤부차의 일반적인 발효 특성이 나타났으며, 균주를 혼합 접종한 콤부차가 SCOBY를 이용한 콤부차와 비교하여 유사한 산 생성 특성을 보였음을 시사한다.

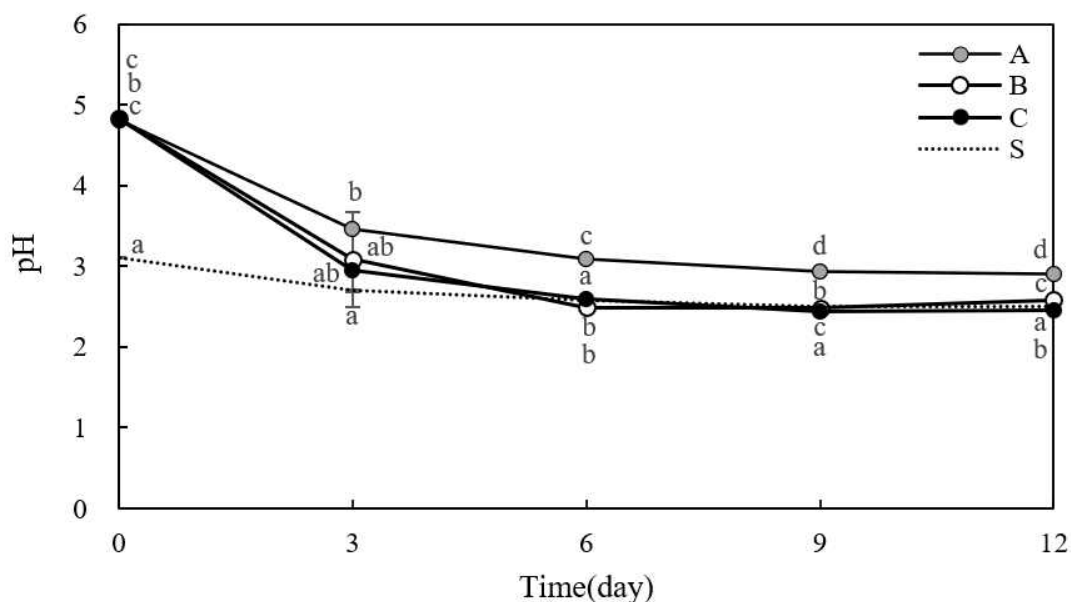


Fig. 9. Changes of pH, total acid contents during 12 days of fermentaion by isolated Yeast and bacteria from traditional kombucha. A: *Brettanomyces bruxellensis*, *Dekkera bruxellensis*, *Starmerella vitis*, *Zygosaccharomyces bisporus*, *Zygosaccharomyces parabailii*, *Acetobacter senegalensis*, *Komagataeibacter intermedius*, *Komagataeibacter rhaeticus*, *Komagataeibacter saccharivorans*, B: *Brettanomyces bruxellensis*, *Starmerella vitis*, *Zygosaccharomyces parabailii*(2), *Acetobacter senegalensis*(2), *Acetobacter tropicalis*, *Gluconobacter potus*, *Komagataeibacter intermedius*, *Komagataeibacter rhaeticus*, C: *Brettanomyces bruxellensis*, *Dekkera bruxellensis*, *Starmerella vitis*, *Zygosaccharomyces bisporus*, *Zygosaccharomyces parabailii*, *Acetobacter senegalensis*, *Acetobacter tropicalis*, *Gluconobacter potus*, *Komagataeibacter intermedius*, *Komagataeibacter rhaeticus*, *Komagataeibacter saccharivorans*. S: SCOBY(Slown, Seoul, Korea). Different superscript letters indicate significant difference by Duncan's test ($p < 0.05$).

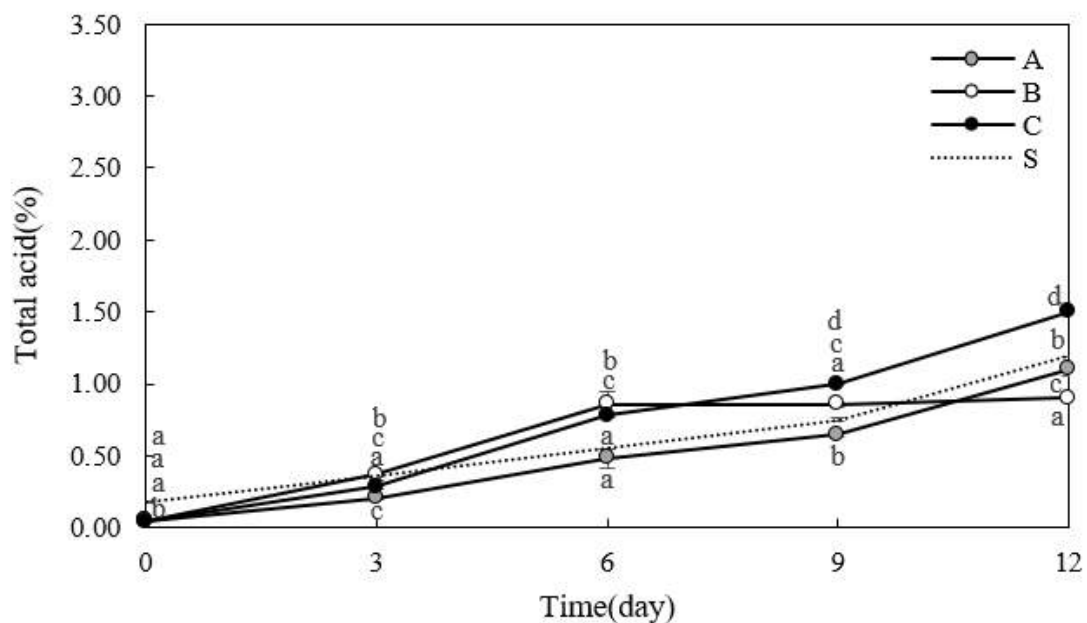


Fig. 10. Changes of pH, total acid contents during 12 days of fermentation by isolated Yeast and bacteria from traditional kombucha. A: *Brettanomyces bruxellensis*, *Dekkera bruxellensis*, *Starmerella vitis*, *Zygosaccharomyces bisporus*, *Zygosaccharomyces parabailii*, *Acetobacter senegalensis*, *Komagataeibacter intermedius*, *Komagataeibacter rhaeticus*, *Komagataeibacter saccharivorans*, B: *Brettanomyces bruxellensis*, *Starmerella vitis*, *Zygosaccharomyces parabailii*(2), *Acetobacter senegalensis*(2), *Acetobacter tropicalis*, *Gluconobacter potus*, *Komagataeibacter intermedius*, *Komagataeibacter rhaeticus*, C: *Brettanomyces bruxellensis*, *Dekkera bruxellensis*, *Starmerella vitis*, *Zygosaccharomyces bisporus*, *Zygosaccharomyces parabailii*, *Acetobacter senegalensis*, *Acetobacter tropicalis*, *Gluconobacter potus*, *Komagataeibacter intermedius*, *Komagataeibacter rhaeticus*, *Komagataeibacter saccharivorans*. S: SCOBY(Slown, Seoul, Korea). Different superscript letters indicate significant difference by Duncan's test ($p < 0.05$).

2) 당도

균주를 혼합 접종(Mixed Inoculation)한 콤부차의 발효 특성을 비교하기 위해 당도를 측정한 결과 Fig. 11과 같다. A, B, C 조합 및 S의 당도는 발효 초기(3일차) 9.2-10.5 °Brix 범위로 나타났으며, 발효가 진행됨에 따라 전반적으로 감소하는 경향을 보였다. 발효 후기(12일차)에는 모든 실험군에서 당도가 6.4-8.2 °Brix 범위로 감소하여 발효 과정 중 당 소비가 이루어졌음을 확인할 수 있었다.

특히 A조합과 B조합은 발효 후기(12일차)에 모두 6.4 °Brix로 나타나 C 조합과 S에 비해 당도 감소 폭이 크게 나타났다. 이 중 A조합은 발효 기간 동안 당도가 지속적으로 감소하는 양상을 보인 반면, B조합은 발효 중기 이후 당도가 급격히 감소하여 발효 후기에는 A조합과 유사한 수준을 나타냈다. 이러한 결과는 균주 조합에 따라 발효 과정 중 당 소비 양상과 감소 시점에 차이가 나타났음을 보여주며, 혼합 접종 조합 중 일부는 SCOBY를 이용한 콤부차와 비교하여 보다 활발한 당 소비 특성을 보였음을 시사한다.

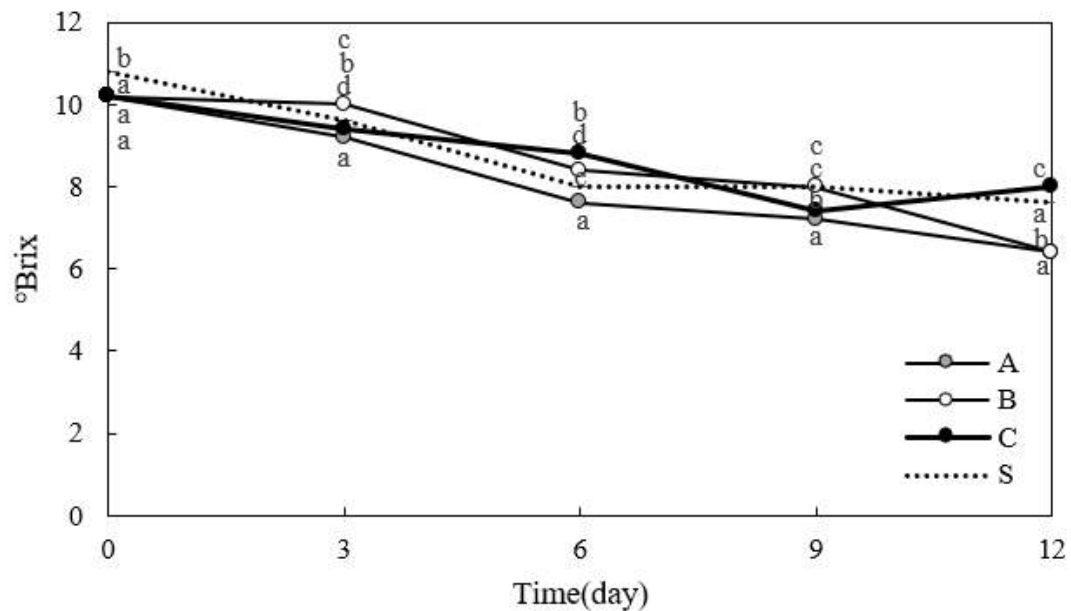


Fig. 11. Changes of °Brix contents during 12 days of fermentaion by isola ted Yeast and bacteria from traditional kombucha. A: *Brettanomyces brux ellensis*, *Dekkera bruxellensis*, *Starmerella vitis*, *Zygosaccharomyces bispo rus*, *Zygosaccharomyces parabailii*, *Acetobacter senegalensis*, *Komagataeib acter intermedius*, *Komagataeibacter rhaeticus*, *Komagataeibacter sacchari vorans*, B: *Brettanomyces bruxellensis*, *Starmerella vitis*, *Zygosaccharomyc es parabailii*(2), *Acetobacter senegalensis*(2), *Acetobacter tropicalis*, *Gluco nobacter potus*, *Komagataeibacter intermedius*, *Komagataeibacter rhaeticu s*, C: *Brettanomyces bruxellensis*, *Dekkera bruxellensis*, *Starmerella vitis*, *Zygosaccharomyces bisporus*, *Zygosaccharomyces parabailii*, *Acetobacter s enegalensis*, *Acetobacter tropicalis*, *Gluconobacter potus*, *Komagataeibacte r intermedius*, *Komagataeibacter rhaeticus*, *Komagataeibacter saccharivora ns*. S: SCOPY(Slown, Seoul, Korea). Different superscript letters indicate si gnificant difference by Duncan's test ($p < 0.05$).

3) 관능검사

균주를 혼합 접종(mixed inoculation)한 콤부차의 관능적 특성을 비교하기 위하여 식품공학과 재학생 20명을 패널로 선정하여 7점 척도법에 기반한 관능검사를 실시한 결과는 Table 6과 같다. A, B, C 조합 및 S 간의 관능 평가 결과 신맛과 단맛 및 전체 기호도 항목에서 조합에 따른 차이가 관찰되었으나, 색상과 탄산감 항목에는 조합 간 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

신맛 항목에서는 A, B, C 조합 및 S는 각각 3.75점, 3.80점, 3.50점으로 낮은 점수를 보인 반면, C조합은 4.45점으로 높게 평가되어 산미 인식에 대한 조합 간 차이가 나타났다. 단맛 항목에서는 A조합이 5.45점으로 가장 높은 점수를 나타냈으며, 신맛 점수가 높게 평가된 B조합과 S에서는 단맛 점수가 상대적으로 낮게 인식되는 경향을 보였다.

전체 기호도 항목에서는 시제품 대비 C조합과 A조합이 각각 4.80점과 4.35점으로 긍정적인 평가를 받았다. 반면 B조합과 S는 각각 3.70과 3.45점으로 상대적으로 낮은 기호도를 나타냈다. 이러한 결과는 균주의 구성에 따라 콤부차의 기호도에 차이가 나타날 수 있음을 보여주며, 선별된 종균을 활용한 콤부차가 SCOBY를 이용한 콤부차와 비교하였을 때 관능적 측면에서 경쟁력 있는 평가를 받았음을 시사한다.

Table 6. Sensory properties of kombucha fermented with scoby and mix starters

Sample	Sourness	Sweetness	Color	Carbonation	Total preference
A	3.75±1.74 ^a	5.45±1.19 ^b	5.05±1.19 ^a	3.00±1.49 ^a	4.35±1.42 ^{ab}
B	3.80±1.70 ^b	3.45±1.28 ^b	5.00±1.30 ^a	3.50±1.54 ^a	3.70±1.38 ^a
C	4.45±1.36 ^a	4.80±1.47 ^b	4.80±1.36 ^a	3.80±1.64 ^a	4.80±1.61 ^b
S	3.5±1.7 ^a	3.55±1.19 ^a	4.60±1.35 ^a	3.30±1.49 ^a	3.45±1.36 ^a

A: *Brettanomyces bruxellensis*, *Dekkera bruxellensis*, *Starmerella vitis*, *Zygosaccharomyces bisporus*, *Zygosaccharomyces parabailii*, *Acetobacter senegalensis*, *Komagataeibacter intermedius*, *Komagataeibacter rhaeticus*, *Komagataeibacter saccharivorans*, B: *Brettanomyces bruxellensis*, *Starmerella vitis*, *Zygosaccharomyces parabailii*(2), *Acetobacter senegalensis*(2), *Acetobacter tropicalis*, *Gluconobacter potus*, *Komagataeibacter intermedius*, *Komagataeibacter rhaeticus*, C: *Brettanomyces bruxellensis*, *Dekkera bruxellensis*, *Starmerella vitis*, *Zygosaccharomyces bisporus*, *Zygosaccharomyces parabailii*, *Acetobacter senegalensis*, *Acetobacter tropicalis*, *Gluconobacter potus*, *Komagataeibacter intermedius*, *Komagataeibacter rhaeticus*, *Komagataeibacter saccharivorans*. S: SCOBY(Slown, Seoul, Korea). Different superscript letters indicate significant difference by Duncan's test (p<0.05).

제4장 결 론

본 연구는 SCOBY를 활용한 전통 발효 방식 콤부차의 한계점인 품질 불균일성 문제를 개선하고, 향후 산업적 활용이 가능한 표준화된 제조 기술 개발을 위한 기초 자료를 확보하고자 수행되었다. 이를 위해 전통 발효 방식으로 제조된 콤부차로부터 우수 발효 균주를 분리·동정하고, 균주별 발효 특성을 분석하였다. 또한 선발된 균주를 조합한 혼합 종균과 2종의 SCOBY(Slow, Seoul, Korea; Fermentaholics, Clearwater, USA)를 이용한 전통 발효 방식의 발효 특성 및 관능적 품질을 비교 분석하여, 균주 구성에 따른 발효 특성과 품질 차이를 확인하였다.

그 결과, 전통 발효 콤부차의 발효 과정에서 총 11종의 균주를 분리되었으며, 이 중 효모 5종(*Brettanomyces bruxellensis*, *Dekkera bruxellensis*, *Starmeryella vitis*, *Zygosaccharomyces bisporus*, *Zygosaccharomyces parabailii*), 초산균 6종(*Acetobacter senegalensis*, *Acetobacter tropicalis*, *Gluconobacter potus*, *Komagataeibacter intermedius*, *Komagataeibacter rhaeticus*, *Komagataeibacter saccharivorans*)으로 확인되었다. 각 균주의 단일 접종 발효 특성을 분석한 결과, 효모는 안정적인 생육과 당 분해 능력을 보였으며 초산균은 높은 산 생성 능력을 나타내어 분리된 모든 균주가 콤부차 발효에 관여하는 고유한 특성을 보유하고 있음을 확인하였다.

C조합을 이용하여 제조한 콤부차의 발효 특성을 분석한 결과, pH는 4.83에서 2.46까지 감소하였고, 총산도는 0.04에서 1.50으로 증가하였다. 또한 당도는 10.2에서 8.0 °Brix까지 감소하여 발효가 정상적으로 진행되었음을 확인하였다. 이러한 발효 특성은 C조합과 비교했을 때, S에 비해 전반적으로 발효가 활발하게 진행된 것으로 판단된다. 관능평가 결과에서도 혼합 종균 조합에 따라 전체적인 기호도에 차이가 나타났으며, 특히 C조합은 전체적인 기호도에서 4.80점을 기록한 반면, S는 3.45점으로 상대적으로 낮은 평가를 받았다. 이러한 결과는 C조합은 S와 비교하여 발효 효율뿐만 아니라 관능적 품질 측면에서도 경쟁력을 가질 수 있음을 시사한다.

따라서 본 연구에서는 개발한 종균을 활용하여 제조한 콤부차는 SCOBY를 이용한 전통 발효 방식 콤부차의 단점을 보완하여 균일한 품질 생산이 가능할 뿐만 아니라, 높은 유기산 함량과 우수한 관능적 품질을 갖춘 콤부차 제조에 적합함을 확인하였다. 결론적으로, 본 연구에서 확보한 총 11종의 균주와 이를 활용한 콤부차 제조 기술은 향후 소비자의 기호를 충족시키고 산업적 대량 생산에 기여할 수 있는 고부가가치 원천 기술로써 활용 가능성이 클 것으로 판단된다.

참고문헌

1. Li X, Tso N, Huang S, Wang J, Zhou Y, Liu R. A comprehensive evaluation of microbial synergistic metabolic mechanisms and health benefits in kombucha fermentation: A review. *Biology* 14(8), 952 (2025)
2. Kim GH, Baek KR, Lee GE, Lee JH, Moon JH, Seo SO. Development of Starter Cultures for Precision Fermentation of Kombucha with Enriched Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) Content. *Fermentation* 11(1), 17 (2025)
3. Kim J, Adhikari K. Current Trends in Kombucha: Marketing Perspectives and the Need for Improved Sensory Research. *Beverages* 6(1), 15 (2020)
4. Choi BY. Research trends and news article analysis of kombucha in South Korea. *Journal of Tea Culture & Industry Studies*, 201–234 (2025)
5. Lee T, Lee Y. Physicochemical properties of kombucha with fruit peels during fermentation. *Food Science and Preservation* 30(2), 321–333 (2023)
6. Lee JE, Cho JH, Kim JH, Choi HJ, Lee DS, Kim JN, Kim YH, Ryu SD. Evaluation of the fermentation characteristics and functionality of kombucha for commercialization. *Korean Journal of Food and Nutrition* 51(8), 811–818 (2022)

7. Jayabalan R, Malbaša RV, Lončar ES, Vitas JS, Sathishkumar M. A review on kombucha tea—microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 13, 538–550 (2014)
8. Kim EY. Antioxidant activity and biological characteristics of kombucha, Master's Thesis, Graduate School of Education, Andong National University. Gyeongsangbuk-do, Korea (2003)
9. Ko HM, Shin SS, Park SS. Functional study of citrus kombucha fermented broth with 3 representative strains: antioxidant activity and anticancer effects. *Journal of Food Science and Nutrition* (2017)
10. Kim MK, Heo JY, Shin SS, Park SS. Study on the physiological activities of kombucha supplemented with medicinal herbal materials. *Proceedings of the Korean Society of Food Science and Nutrition Conference* (2016)
11. Wi HY, Park SS. Changes in carotenoids and processing characteristics during citrus kombucha fermentation. *Proceedings of the Korean Society of Food Science and Nutrition, 2019 KFN International Symposium and Annual Meeting*, 361 (2019)
12. Park SS. Identification of the kombucha microorganisms that make up the SCOBY. *Food Science & Nutrition* (Jeju National University) (2023)

13. Jo HW, Kim SH, Lee WH, Kim EH, Jang JS, Choi BK, and Huh CK. Isolation, identification, and fermentation characteristics of lactic acid bacteria and yeast for kombucha production. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 56(4), 505–512 (2024)

14. Lee DH. Development of complex fermentation conditions for four types of microorganisms (*Gluconobacter oxydans* SFT-27, *Acetobacter pasteurianus* SFT-18, *Leuconostoc mesenteroides* SFT-45, and *Saccharomyces cerevisiae* SFT-71) for Kombucha production. Master's Thesis, Graduate School, Suncheon National University (2024)

15. Wang B, Rutherford-Markwick K, Zhang X-X, Mutukumira AN. Kombucha: Production and microbiological research. *Foods* 11(21), 3456 (2022)

16. Ben Saad E, Friedrich A, Fischer F, Courot O, Schacherer J, Bleykasten C. Comprehensive survey of kombucha microbial communities of diverse origins and fermentation practices. *FEMS Yeast Research* 25 (2025)

17. Villarreal-Soto S.A, Beaufort S, Bouajila J, Souchard JP, Taillandier P. Chemical composition and biological properties of fermented tea kombucha. *Food Chemistry* 286, 47–54 (2019)

18. Marsh AJ, O'Sullivan O, Hill C, Ross RP, Cotter PD. Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. *Food Microbiology* 38, 171–178 (2014)

19. Kitwetcharoen H, Phung LT, Klanrit P, Thanonkeo S, Tippayawat P, Yamada M, Thanonkeo P. Kombucha healthy drink—Recent advances in production, chemical composition and health benefits. *Fermentation* 9(1), 48 (2023)
20. Kim MJ, Kim HY, Choi YJ, Kim MR. Quality characteristics and antioxidant activities of kombucha fermented with probiotic strains. *Journal of Applied Biological Chemistry* 64(3), 237–244 (2021)
21. Oh SY, Ha SY, Park DH, Min YS. Extension of shelf life of low-salt dongchimi supplemented with green tea. Mokpo National University, Undergraduate thesis (2025)
22. Yang S. Development of manufacturing method for natural brown rice vinegar using starter cultures from traditional fermented vinegar. Mokpo National University, Master's thesis (2017)
23. Kim J. Development of quality characteristics and biological activities of spray-dried citrus kombucha powder. Jeju National University, Master's thesis (2025)
24. Landis EA, Fogarty E, Edwards JC, Popa O, Eren AM, Wolfe BE. Microbial diversity and interaction specificity in kombucha tea fermentations. *mSystems* 7(3), e00157–22 (2022)
25. Harrison K, Curtin CD. Microbial diversity and interaction specificity in kombucha tea fermentations. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 20, 563–583 (2021)

26. Marsh AJ, O'Sullivan O, Hill C, Cotter PD, Ross RP. Probiotic potential of acetic acid bacteria isolated from kombucha in New Zealand in vitro. *Journal of Applied Microbiology* 119, 172–182 (2015)
27. Waisundara VY, Perera ODK, Jayawardena B. Isolation and selection of high activity acetic acid bacteria from shredded green tea kombucha fermentation. *Food Science and Technology Research* 24, 577–584 (2018)
28. Njieukam JA, Ciccone M, Gottardi D, Ricci A, Parpinello GP, Siroli L, et al. Microbiological, functional, and chemico-physical characterization of artisanal kombucha: an interesting reservoir of microbial diversity. *Foods* 13(12), 1947 (2024)
29. Suhre T, Fabricio MF, Tischer B, Ayub MAZ, Evans JD, Frazzon J, Kothé CI. Fermentation of native Brazilian fruits with kombucha: A novel opportunity for producing low-alcohol beverages. *Food Bioscience* 65, 106122 (2025)
30. Ferremi Leali N, Binati RL, Martelli F, et al. Reconstruction of simplified microbial consortia to modulate sensory quality of kombucha tea. *Foods*, 11(19), 3045 (2022)
31. Zhao S, Adade SYS S, Wang Z, Wu J, Jiao T, Li H, Chen Q. On-line monitoring of total sugar during kombucha fermentation process by near-infrared spectroscopy: Comparison of linear and non-linear multiple calibration methods. *Food Chemistry* 423, 136208 (2023)

32. Muhialdin BJ, Osman FA, Muhamad R, Che Wan Sapawi CWNS, Anzian A, Voon WWY, Hussin AS. Effects of sugar sources and fermentation time on the properties of tea fungus (kombucha) beverage. *International Food Research Journal* 26(2) (2019)
33. Stevenson K, McVey AF, Clark IB, Swain PS, and Pilizota T. General calibration of microbial growth in microplate readers. *Scientific Reports*, 6, 38828 (2016)
34. Tran T, Grandvalet C, Verdier F, Martin A, Alexandre H, and Tourdot-Maréchal R. Microbial dynamics between yeasts and acetic acid bacteria in kombucha: Impacts on the chemical composition of the beverage. *Foods*, 9, 963 (2020)
35. Gomes RJ, de Fatima Borges M, de Freitas Rosa M, Castro-Gómez R JH, Spinosa WA. Acetic acid bacteria in the food industry: systematic s, characteristics and applications. *Food Technology and Biotechnology* 56(2), 139–154 (2018)
36. Kim MJ. Impact of kombucha on health functional properties. Master's thesis (2024)