

버섯균사체 배양액 처리에 의한 아로니아 균질액의 탄닌 감소 및 이화학적 변화

한현아 · 최소라 · 송영은 · 이송이 · 신소희 · 유영진* · 김명곤**

전라북도농업기술원 지방농업연구소, *전라북도 농업기술원 지방농업연구소, **전북대학교 식품공학과 교수

Tannin-Reducing Effect and Changes of Physicochemical Properties in Aronia Homogenate after Treatment with Liquid Cultured Mushroom Mycelia

†Hyun Ah Han, So Ra Choi*, Young Eun Song, Song Yee Lee,
So Hee Shin, Young Jin Yu* and Myung Kon Kim**

Researcher, Jeollabukdo Agricultural Research & Extension Services, Iksan 54591, Korea

*Senior Researcher, Jeollabukdo Agricultural Research & Extension Services, Iksan 54591, Korea

**Professor, Dept. of Food Science & Technology, Chonbuk National University, Jeonju 54896, Korea

Abstract

Although aronia (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott) contains higher levels of polyphenols and more antioxidant activity than other berries, it is a berry that is difficult to eat raw due to its strong astringent taste and lack of sweetness. Therefore, in this study, we investigated the effect of tannin reduction of aronia by bioconversion method using mushroom mycelia cultures. Aronia and liquid cultures of *Lentinula edodes* and *Phellinus linteus* mycelia were mixed and then treated for 48 hours at 60°C. Tannin content, total polyphenol, total flavonoid and antioxidant activities (DPPH, ABTS radical-scavenging activities and FRAP activities) were investigated. The tannin content decreased from 64.2 mg ECE/g to 57.9 mg ECE/g (9.8% reduction) when treated with liquid culture of *L. edodes* and from 77.3 mg ECE/g to 47.9 mg ECE/g (38.1% reduction) from treatment with a liquid culture of *P. linteus*. Therefore treatment with mushroom mycelia culture solution may improve the palatability of aronia reducing the astringent taste.

Key words: *Aronia melanocarpa*, mushroom mycelia, tannin reduction, *Lentinula edodes*, *Phellinus linteus*

서 론

베리류는 phenolic acid류, flavonoid류, anthocyanin과 같은 polyphenol 화합물들이 풍부하게 함유되어 있어 항산화 활성이 뛰어난 식품 소재로 주목받고 있다(Moyer 등 2002; Szajdek & Borowska 2008). 그 중에서도 아로니아는 다른 베리류에 비해 anthocyanin, polyphenol류와 같은 phytochemical 함량이 높아 항산화 활성은 강하지만 단맛이 적고 떫은맛이 강한 편이어서 생과로 섭취하기에는 한계가 있다. 아로니아의 떫은맛은 축합된 탄닌(proanthocyanidin)에서 기인하는 것으로 알려져 있으며(Slimestad 등 2005), 그동안 미생물에 의한 발효

로 아로니아의 떫은맛을 감소시키고, 생리 활성을 증대시킴으로써 이용성을 높이기 위한 연구가 수행된 바 있다. 그 예로 Kim 등(2014a)은 아로니아 추출물을 이용한 유산균 발효액의 항염증 효능을 제시한 바 있고, Shin 등(2015)은 젓갈에서 분리한 효모를 이용한 발효를 통해 아로니아의 탄닌 감소 가능성을 보고하였다. 그러나 버섯류를 이용한 아로니아의 탄닌 감소 연구는 보고되어 있지 않다.

한편, 담자균류에 속하는 버섯류의 기능성 성분이나 생리 활성에 관한 연구로는 심장병, 고지혈증, 뇌졸중 등의 성인병 예방과 항암, 면역증강 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Ota SS 1984; Yamaguchi 등 1987). 또한 버섯 균사체

† Corresponding author: Hyun Ah Han, Researcher, Jeollabukdo Agricultural Research & Extension Services, Iksan 54591, Korea. Tel: +82-63- 290-6044, Fax: +82-63-290-6059, E-mail: hha208@korea.kr

는 자실체와 마찬가지로 항암, 체지방 감소, 콜레스테롤 저하 및 면역증강 효과(Suzuki 등 1976; Kim 등 2006)가 있을 뿐 아니라, 성장 중에 섬유소, 단백질, 지방질 분해 효소와 같은 다양한 가수분해 효소를 분비한다(Jung 등 1995; Ha 등 2002)고 밝혀졌다.

따라서 본 연구에서는 아로니아의 관능적 특성 개선과 이용성 증대를 목적으로 아로니아 균질액에 식용버섯인 표고버섯과 상황버섯 균사체를 혼합하여 처리시간 경과에 따른 탄닌 감소 여부 및 이화학적 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료 및 시약

아로니아는 2017년 6~7월 사이에 전라북도 완주군 용진농협의 로컬푸드 직매장에서 구입하여 미숙과나 병든 부위를 제거한 후 -20°C 의 냉동고에 보관하면서 사용하였다. 시약인 gallic acid, rutin, Folin-Ciocalteu's solution, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH), 2,4,6-tripirydyl-s-triazine(TPTZ), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid(trolox), 2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt(ABTS), 2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine(TPTZ), potassium persulfate는 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA) 제품을 구입하여 사용하였고, 기타 시약은 시판 특급을 구입하여 사용하였다.

2. 버섯 균사체를 이용한 아로니아의 생물전환

표고버섯(*Lentinula edodes* Berk.) 종균은 전라북도농업기술원, 상황버섯(목질진흙버섯, *Phellinus linteus* L. ex Fr.)은 국립원예특작과학원 버섯과에서 분양받아 사용하였다. 버섯 종균을 potato dextrose agar(PDA, Difco Laboratories, MI, USA) 배지에 접종 후 25°C 에서 10일간 배양하였다. PDA 배지에서 배양한 균사체(원균)의 액체 배양을 위해 potato dextrose broth(PDB, Difco Laboratories) 배지에 4×4 mm 크기로 절단하여 접종 후 25°C 에서 110 rpm으로 2주간 진탕 배양하였다. 냉동 아로니아 열매와 물을 3:1(w/v)의 비율로 분쇄기에 넣어 균질화한 다음 121°C 에서 10분간 멸균하였다. 멸균한 아로니아에 버섯 균사체 배양액을 4:1(v/v) 비율로 혼합하였고, 대조구는 멸균한 아로니아균질액으로 하였다. 대조구와 버섯균사체 배양액을 60°C 인큐베이터에서 48시간 동안 반응시키면서 0, 6, 12, 24, 48시간이 경과 후 배양 혼합물을 취하여 동결 건조 후 -20°C 에 냉동 보관하면서 당도, pH, 총 산도, 색도, 성분 분석 및 항산화 활성 측정에 사용하였다.

3. 시료 추출

동결 건조 분말 1 g을 50 mL 코니컬 튜브에 담아 증류수로

20배 희석하고 초음파로 30분 추출 후 4,000 rpm에서 10분간 원심분리(3-30KS, Sigma, Laborzentrifugen GmbH, Osterode, Germany)하여 상층액으로 당도, pH, 총 산도를 측정하였다. 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 및 탄닌 함량, DPPH와 ABTS 라디칼 소거 활성 및 FRAP(ferric reducing antioxidant power) 활성은 동결건조된 시료 2 g에 80% 메탄올 15 mL를 넣어 강하게 볼텍싱 후 초음파 추출 60분, 상온 10분 방치, 원심분리(4,000 rpm, 10분)하여 상층액을 2회 반복하여 획득 후 총 30 mL로 정용한 것을 사용하였다.

4. 품질 특성 분석

당도는 디지털 당도계(ATAGO Co. LTD, Tokyo, Japan)를 사용하여 20°C 에서 측정하였다. pH는 pH 미터(Seven Excellence, Mettler Toledo, Switzerland)를 사용하여 측정하였고, 총 산도는 시료 10 mL에 0.1% 페놀프탈레인 지시약을 첨가하고, 0.1 N NaOH 용액으로 적정하여 소비량을 측정하고 tartaric acid를 기준으로 환산하였다. 색도는 색도계(CM-5, Konica Minolta, Osaka, Japan)를 이용하여 명도(L, lightness), 적색도(a, redness), 황색도(b, yellowness)를 측정하였다.

5. 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 및 탄닌 함량 분석

총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu's법(Singleton & Rossi 1965)을 변형하여 측정하였다. 추출물 20 μL 에 2% sodium carbonate 용액 200 μL 를 가하고, 5분간 반응 후 50% Folin-ciocalteu's 시약 20 μL 를 가하여 혼합한 다음 30분간 반응시켰다. 반응액은 ELISA microplate reader(Epoch2, Biotek, Winooski, VT, USA)를 사용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid를 이용하여 작성한 검량곡선으로부터 총 폴리페놀 함량을 구하고, 시료 1 g 중의 mg gallic acid equivalent(GAE)로 표시하였다. 총 플라보노이드 함량은 Zhishen 등(1999)의 방법에 따라 측정하였다. 80% 메탄올 추출물 20 μL 에 diethylene glycol 200 μL 를 가하여 혼합하고, 이어서 1 N NaOH 용액 20 μL 를 가한 다음 30°C 에서 1시간 동안 반응하였다. ELISA microplate reader(Epoch2, Biotek, Winooski, VT, USA)를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 총 플라보노이드 함량은 rutin으로 얻어진 검량곡선을 이용하여 함량을 구하고 시료 1 g 중의 mg rutin equivalent(RE)로 표시하였다. 탄닌 함량은 Broadhurst & Jones(1978)의 방법으로 측정하였다. 즉, 80% 메탄올 추출물 200 μL 에 1.2% vanillin-methanol 용액 500 μL 와 20% H_2SO_4 500 μL 를 가하여 실온에서 20분간 반응시킨 다음 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 별도로 epicatechin을 사용하여 1 mL당 10~1,000 μg 농도로 희석하여 검량선을 작성한 다음 시료 중의 탄닌 함량을 정량하고, 시료 1 g 중의 mg epicatechin equivalent(ECE)로 표시하였다.

6. 항산화활성 측정

1) DPPH 라디칼 소거 활성

DPPH 라디칼 소거 활성은 Blois MS(1958)의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 즉, 80% 메탄올 추출물 20 μ L, 0.1 M Tris-HCl 완충용액(pH 7.4) 80 μ L, 500 μ M DPPH(in methanol) 용액 100 μ L를 96-well plate에 넣어 총 200 μ L를 실온에서 20분간 유지한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 음성 대조구는 시료 대신 80% 메탄올을 사용하였다. Trolox를 표준물질로 사용하였으며, 항산화 능력은 mg of trolox equivalent antioxidant capacity(TEAC)/g으로 나타냈다.

2) ABTS 라디칼 소거 활성

ABTS 라디칼 소거 활성은 Thaipong 등(2006)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, ABTS 7 mM 용액과 potassium persulfate 245 mM의 용액을 조제한 다음, 두 용액을 동량(1:1)으로 혼합하여 실온의 암소에서 24시간 반응시킨 다음 734 nm에서 흡광도를 측정하여 값이 0.70 ± 0.02 가 되도록 희석하였다. 희석된 ABTS 용액 3,000 μ L에 추출물 30 μ L를 첨가 후 혼합하여 30 $^{\circ}$ C에서 20분간 반응시켜 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. Trolox를 표준물질로 사용하여 비교 분석하였다. 분석 결과는 mg of TEAC/g으로 나타냈다.

3) FRAP 활성

FRAP 활성은 Benzie & Strain(1996) 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, stock 용액 300 mM acetate buffer(pH 3.6), 10 mM TPTZ와 40 mM HCl을 함유하는 용액, 20 mM $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 용액을 준비하였다. FRAP 용액은 acetate buffer 25 mL, TPTZ 용액 2.5 mL, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 용액 2.5 mL를 사용 직전에 혼합하여 조제하였다. 이어서 시료 추출액 150 μ L와 FRAP 용액 2,850 μ L를 혼합한 다음 암소에서 30분간 반응시킨 후 593 nm에서 생성물(ferrous tripyridyltriazine)의 흡광도를 측정하

였다. Trolox를 표준물질로 이용하여 표준 검량선을 작성하고, FRAP를 계산한 다음 mg of TEAC/g으로 나타냈다.

7. 통계처리

실험에서 얻어진 결과 값은 SAS(SAS 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 one-way analysis of variance (ANOVA)로 분석한 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 품질 특성

아로니아 균질액에 표고버섯과 상황버섯 균사체 배양액을 각각 첨가한 다음 60 $^{\circ}$ C에서 48시간 동안 반응시키면서 당도 변화를 조사한 결과, 대조구에서는 6.57 $^{\circ}$ Bx에서 48시간 경과 후에는 7.03 $^{\circ}$ Bx로 약간 증가하였고, 표고버섯 균사체 배양액 처리에서는 6.90 $^{\circ}$ Bx에서 12시간 경과 후에는 6.17 $^{\circ}$ Bx로 감소, 48시간 반응 후 6.90 $^{\circ}$ Bx로 증가하였고, 상황버섯 균사체 처리에서는 0시간 6.67 $^{\circ}$ Bx에 비해 6시간 경과 후 약간 증가한 다음 24시간까지는 뚜렷한 변화를 보이지 않았으나, 48시간 경과 시점에서는 7.50 $^{\circ}$ Bx로 증가하였다(Table 1).

pH의 경우, 48시간 경과 후에 대조구, 상황버섯 균사체, 표고버섯 균사체 처리 순으로 높아졌으며, 버섯 균사체 종류에 따라 차이를 보였다(Fig. 1). 총 산도는 48시간 처리 후 표고버섯 균사체, 대조구, 상황버섯 균사체 순으로 높아졌다(Fig. 1). Kang 등(2011)은 녹차 추출물 농축액에 탄나아제를 처리 후 pH 변화를 측정한 결과, 효소를 처리하기 전과 후의 pH 변화는 유의적인 차이가 없다고 보고하였는데 본 실험과 다른 결과였으며, 이러한 차이는 효소의 정제 여부와 시료 전 처리 과정의 차이에 의한 것으로 생각된다.

색도의 경우, 상황버섯 균사체 배양액 처리에서 L값은 27.9에서 48시간 이후 28.2로 약간 증가하였지만 유의적 차

Table 1. Changes of sugar content in aronia homogenate after treatment with liquid cultured *L. edodes* and *P. linteus* mycelia

| Treatments | Sugar contents ($^{\circ}$ Bx) | | | | |
|----------------------------|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | 0 hr | 6 hrs | 12 hrs | 24 hrs | 48 hrs |
| Control ¹⁾ | 6.57 \pm 0.06 ^{cC2)} | 7.07 \pm 0.06 ^{bB} | 7.10 \pm 0.00 ^{aAB} | 7.17 \pm 0.06 ^{aA} | 7.03 \pm 0.06 ^{bB} |
| <i>L. edodes</i> mycelium | 6.90 \pm 0.00 ^{aA} | 6.47 \pm 0.06 ^{cB} | 6.17 \pm 0.06 ^{bC} | 6.83 \pm 0.06 ^{cA} | 6.90 \pm 0.00 ^{cA} |
| <i>P. linteus</i> mycelium | 6.67 \pm 0.06 ^{bE} | 7.20 \pm 0.00 ^{aB} | 7.13 \pm 0.06 ^{aC} | 7.00 \pm 0.00 ^{bD} | 7.50 \pm 0.00 ^{aA} |

¹⁾ Control: Homogenize frozen aronia berries and water in a shredder at a ratio of 3:1 (w/v) and sterilize them at 121 $^{\circ}$ C for 10 minutes.

²⁾ These values are means \pm S.D.

^{a-c}Means with different in the same column are significantly different at $p < 0.05$ by a Duncan's multiple range test.

^{A-E}Means with different in the same row are significantly different at $p < 0.05$ by a Duncan's multiple range test.

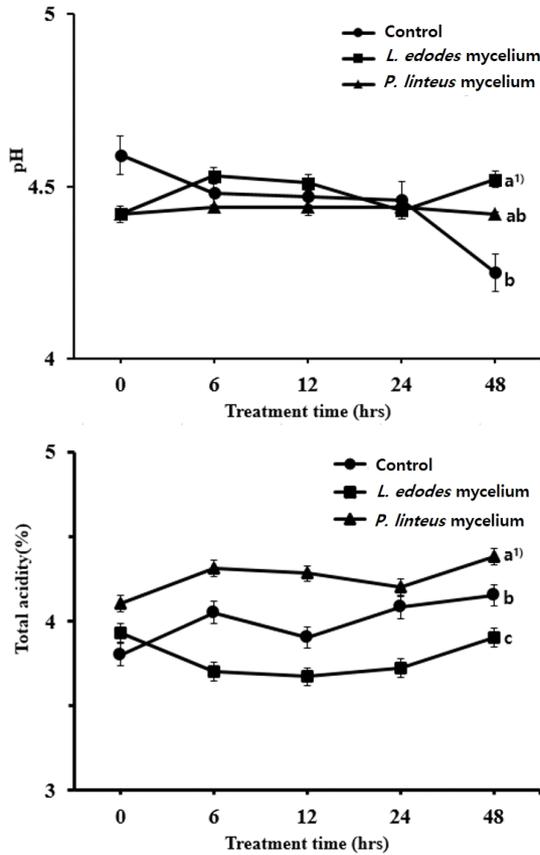


Fig. 1. Changes of pH and total acidity in aronia homogenate after treatment with liquid cultured *L. edodes* and *P. linteus* mycelia. These values are means±S.D. ¹⁾ Means at 48 hours are significantly different at 5% level by Duncan's multiple range test.

Table 2. Changes of chromaticity in aronia homogenate after treatment with liquid cultured *L. edodes* and *P. linteus* mycelia

| Chromaticity | Treatments | Treatment time (hrs) | | | | |
|--------------|----------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | | 0 | 6 | 12 | 24 | 48 |
| L* | Control ¹⁾ | 27.3±0.7 ^{2)C} | 30.1±0.5 ^{bB} | 31.9±0.1 ^{aA} | 29.4±0.2 ^{bB} | 28.2±0.7 ^{bC} |
| | <i>L. edodes</i> mycelium | 27.0±0.5 ^E | 30.9±0.1 ^{aA} | 28.5±0.2 ^{bD} | 30.0±0.0 ^{aB} | 29.2±0.2 ^{aC} |
| | <i>P. linteus</i> mycelium | 27.9±0.4 ^{AB} | 27.7±0.2 ^{cB} | 28.3±0.1 ^{bA} | 28.3±0.1 ^{cA} | 28.2±0.2 ^{cA} |
| a* | Control | 18.2±0.3 ^{aA} | 18.3±0.1 ^A | 18.3±0.1 ^{aA} | 18.0±0.0 ^{aA} | 17.4±0.2 ^{aB} |
| | <i>L. edodes</i> mycelium | 17.6±0.1 ^{bC} | 18.1±0.1 ^B | 18.4±0.0 ^{aA} | 16.6±0.1 ^{bE} | 16.9±0.1 ^{bD} |
| | <i>P. linteus</i> mycelium | 18.5±0.1 ^{aA} | 18.0±0.3 ^B | 17.5±0.1 ^{bC} | 16.5±0.2 ^{bD} | 16.1±0.1 ^{cE} |
| b* | Control | 7.0±0.1 ^{cE} | 8.1±0.1 ^{cC} | 8.6±0.1 ^{cA} | 8.4±0.1 ^{cB} | 7.9±0.1 ^{cD} |
| | <i>L. edodes</i> mycelium | 7.9±0.1 ^{aD} | 9.0±0.1 ^{aB} | 9.1±0.0 ^{aA} | 9.1±0.0 ^{bA} | 8.8±0.1 ^{bC} |
| | <i>P. linteus</i> mycelium | 7.4±0.1 ^{bE} | 8.3±0.1 ^{bD} | 8.8±0.0 ^{bC} | 10.1±0.1 ^{aB} | 10.6±0.1 ^{aA} |

¹⁾ Control: Homogenize frozen aronia berries and water in a shredder at a ratio of 3:1 (w/v) and sterilize them at 121 °C for 10 minutes.

²⁾ These values are means±S.D.

^{a-c}Means with different in the same column are significantly different at $p < 0.05$ by a Duncan's multiple range test.

^{A-E}Means with different in the same row are significantly different at $p < 0.05$ by a Duncan's multiple range test.

이($p < 0.05$)를 보이지는 않았고, a값은 18.5에서 16.1로 감소하였으며, b값은 7.4에서 10.6으로 증가하였다(Table 2). 육안으로 보았을 때 전반적으로 처리 시간이 증가할수록 아로니아의 붉은색이 적갈색으로 변화하였다. Lee & Hong(2015)은 블루베리 유산균 발효물의 L값과 a값이 각각 40.26 및 14.55로 무발효 블루베리 44.70 및 16.29에 비해 낮았고 b값은 높았다고 하였으며, 이것은 안토시아닌 색소가 새롭고 보다 안정한 다중합체로 전환됨에 따라 붉은색이 황갈색으로 변하였기 때문이라고 하였는데, 이는 본 연구결과와 유사한 경향이었다.

2. 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 및 탄닌 함량

총 폴리페놀 함량은 Table 3과 같이 표고버섯 균사체 배양액 처리에서는 대조구와 마찬가지로 반응시간에 따라 감소하였으나, 상황버섯 배양액 처리에서는 0~6시간까지는 대조구보다 증가한 뒤 그 후 48시간이 경과할 때까지 지속적으로 감소하였다. Eom 등(2019)은 서로 다른 초산균을 이용하여 제조한 아로니아 식초의 총 폴리페놀 함량을 분석한 결과, 전체적으로 발효가 진행될수록 감소하는 경향을 보였는데, 이것은 초산 발효 중에 페놀 분해 및 변형에 기인하다고 하였으며, 본 연구 결과와 유사하였다. 한편, Kang 등(2011)은 노루궁뎅이버섯 균사체로 배양한 발아녹미의 70% 에탄올 추출물 중의 총 폴리페놀 함량은 대조구인 발아녹미보다 약 1.7배 높았다고 보고하였다. 또한 팽이버섯 발효액이 느타리버섯이나 표고버섯 발효액보다 총 폴리페놀 함량이 약간 높았다고 보고한 Kim & Lee(2003)의 결과를 고려할 때 발효에 사용된 버섯균사체의 종류나 배지로 사용하는 원료의 차이, 반응 시간 등이 총 폴리페놀 함량에 영향을 미친다고 판단된다.

Table 3. Changes of total polyphenol and total flavonoid contents in aronia homogenate after treatment with liquid cultured *L. edodes* and *P. linteus* mycelia

| Contents | Treatments | Treatment time (hrs) | | | | |
|--|----------------------------|--------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | | 0 | 6 | 12 | 24 | 48 |
| Total polyphenol content (mg GAE/g) | Control ¹⁾ | 38.4±0.1 ^{2)BA} | 38.4±0.3 ^{BA} | 37.1±1.6 ^{BB} | 35.3±0.3 ^{BC} | 34.7±1.3 ^{AD} |
| | <i>L. edodes</i> mycelium | 37.1±0.8 ^{CA} | 35.8±0.2 ^{CB} | 36.0±0.2 ^{CB} | 33.9±0.3 ^{CC} | 31.8±0.4 ^{CD} |
| | <i>P. linteus</i> mycelium | 42.6±1.2 ^{AB} | 45.1±0.4 ^{AA} | 40.2±0.3 ^{AC} | 36.7±0.2 ^{AD} | 32.6±0.4 ^{BE} |
| Total flavonoid content (mg RE/g) | Control | 19.0±2.9 ^{ND3)} | 18.0±0.8 ^{AB} | 18.4±0.5 ^{AB} | 17.6±2.6 ^{AB} | 17.4±2.3 ^{AB} |
| | <i>L. edodes</i> mycelium | 17.3±3.2 ND | 16.2±2.2 ^{BA} | 16.6±2.6 ^{BA} | 16.1±2.8 ^A | 16.3±2.4 ^{AA} |
| | <i>P. linteus</i> mycelium | 19.0±1.1 ND | 18.7±2.5 ^{AA} | 18.5±2.5 ^{AB} | 17.1±1.8 ^B | 14.7±2.7 ^{BC} |

¹⁾ Control: Homogenize frozen aronia berries and water in a shredder at a ratio of 3:1 (w/v) and sterilize them at 121 °C for 10 minutes.

²⁾ These values are means±S.D.

³⁾ ND: Not different.

^{a-c} Means with different in the same column are significantly different at $p < 0.05$ by a Duncan's multiple range test.

^{A-E} Means with different in the same row are significantly different at $p < 0.05$ by a Duncan's multiple range test.

총 플라보노이드 함량은 반응시간이 증가함에 따라 대조구와 상황버섯 배양액 처리에서 감소하는 경향을 보였다 (Table 3). 대조구에서는 19.0 mg RE/g에서 48시간 처리 후에 17.4 mg RE/g으로 비교적 변화가 적었고, 표고버섯 균사체 배양액 처리에서는 17.3 mg RE/g에서, 48시간 후에 16.3 mg RE/g으로 감소하였지만, 대조구보다는 유의적으로 높았으며 ($p < 0.05$), 상황버섯 균사체 배양액 처리에서는 19.0 mg RE/g에서 48시간 후에는 14.7 mg RE/g으로 감소하였다. 플라보노이드는 폴리페놀의 한 종류로 노란색 계통의 색소이고, 식물의 뿌리, 줄기 등에 함유되어 있으며, 항산화 활성, 항암작용 등 다양한 생리활성을 지니고 있는 것으로 밝혀져 있다(Heim 등 2002; Kim 등 2014b). Kim 등(2014b)은 버섯 균사체를 달린 발효가시오가피 추출물의 플라보노이드 함량이 버섯 균사체와 추출 방법에 따라 차이가 있었다고 보고하였고, Cheun 등(2005)은 주정을 첨가한 양파식초 연구에서 원료에 대한 열처리, 사용 부위, 발효 방법에 따라 폴리페놀 함량이 차이가 있다고 보고하였다. 위의 결과로 볼 때 총 플라보노이드 함량은 총 폴리페놀과 같이 버섯 균사체의 종류, 배지로 사용하는 원료의 차이 등에 의해 영향을 받는다고 판단된다. 또한 아로니아의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량은 생리활성과 높은 상관 관계가 있는 것으로 알려져 있다 (Chung HJ 2014).

아로니아 떫은맛의 감소 효과를 알아보려고 버섯균사체 배양액과 아로니아를 혼합하여 60°C 인큐베이터에서 반응시켜 탄닌 함량을 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 표고버섯 균사체 배양액 처리에서는 탄닌 함량이 64.2 mg ECE/g에서 57.9 mg ECE/g으로 9.8%가 감소하였고, 상황버섯 균사체 배양액 처리는 77.3 mg ECE/g에서 47.9 mg ECE/g으로 38.1%가 감소

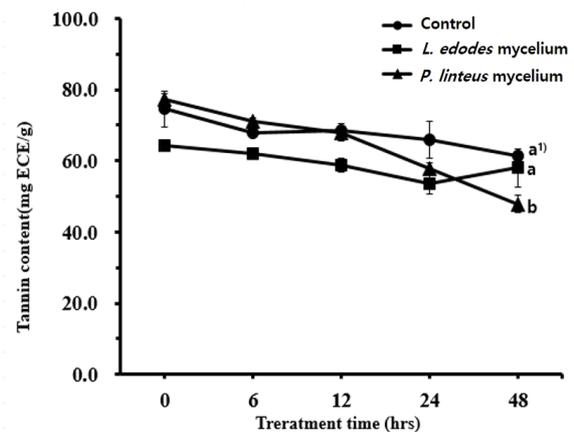


Fig. 2. Changes of tannin content in aronia homogenate after treatment with liquid cultured *L. edodes* and *P. linteus* mycelia. These values are means±S.D. ¹⁾ Means at 48 hours are significantly different at 5% level by Duncan's multiple range test.

하여 유의성을 보였다($p < 0.05$). 이러한 결과는 버섯의 종류가 아로니아의 떫은맛 감소에 다르게 영향을 미칠 수 있음을 시사해 주고 있으며, 탄닌 감소의 원인은 버섯균사체가 분비하는 여러 가지 분해효소 중 특히 탄나아제의 활성에서 기인함을 유추할 수 있다. 탄닌은 암, 심장혈관 질병 등 만성 질환 예방효과가 있지만 단백질과 결합하여 소화와 효소 활성을 억제하고, 식물에서 떫은맛의 주요 원인으로 알려져 있다(Shin 등 2015). 탄나아제를 생성하는 버섯류로는 느타리버섯(*Pleurotus ostreatus*), 표고버섯(*Lentinula edodes*), 영지버섯(*Ganoderma lucidum*), 조개껍질버섯(*Lenzites betulina*) 등이 보고된 바 있다(Hong 등 1990). 버섯류가 생산하는 각종 효소

의 산화(oxidation), 하이드록시화(hydroxylation), 과산화(peroxidation), 생물전환(bio-conversion), 가수분해(hydrolysis) 활성을 이용하여 더욱 유용한 생리활성물질을 생산하기 위한 연구가 수행되었으며, 식품에 적용하여 품질 및 기능성을 개선하기 위한 연구도 수행된 바 있다(Oddou 등 1999; Kulshreshtha 등 2014). 특히 버섯류는 β -glycoside류를 가수분해할 수 있는 β -glycosidase뿐만 아니라, 탄닌을 가수분해할 수 있는 탄나아제를 분비하기도 하는데, 이 효소들의 최적 반응온도는 55~70°C라고 보고되었다(Upadhyaya 등 2016; Kim 등 2018). 한편, Eom 등(2019)은 아로니아 식초의 탄닌 함량이 발효가 진행되면서 감소하였으며, 탄닌 함량은 페놀 성분과 상관관계가 높다고 보고하였다. 본 연구에서도 총 폴리페놀 함량 변화와 탄닌 함량의 변화가 유사하였다.

3. 항산화활성

1) DPPH 라디칼 소거 활성

DPPH 라디칼 소거활성 변화를 측정된 결과는 Table 4와 같다. 처리 시간이 증가함에 따라 표고버섯 균사체 처리에서는 거의 변화가 없었으나, 상향버섯 균사체 처리에서는 시간이 증가와 함께 감소하였고, 48시간 경과 후에는 대조구보다 다소 낮았지만 유의적 차이는 보이지 않았다($p < 0.05$). Kang 등(2011)의 녹차 농축액과 탄나아제를 처리한 녹차 농축액의 DPPH 라디칼 소거활성 측정값은 각각 51.1%, 51.8%로 유의적 차이가 없다는 보고와 유사하였다.

2) ABTS 라디칼 소거 활성

ABTS 용액과 potassium persulfate를 암소에서 반응시키면 ABTS 양이온이 생성되어 청록색을 띠며, 시료 중에 항산화 활성을 갖는 물질이 존재하면 ABTS 양이온이 소거되어 청록색이 탈색되면서 흡광도 값이 낮아진다(Chung HJ 2014). 이 방법은 측정 시간이 짧고 친수성 및 소수성 물질의 항산화 활성 측정에 모두 적용 가능하다(Re 등 1999). 버섯균사체 배양액으로 처리한 아로니아의 ABTS 라디칼 소거활성 측정 결과는 Table 4와 같이 모든 처리에서 반응 시간이 증가할수록 감소하여 DPPH 라디칼 소거활성 측정결과와 유사한 경향을 보였다. Kim 등(2017)은 물리적 처리조건 변화에 따른 아로니아 유래 안토시아닌 함량을 조사한 결과, 60°C 이상 온도에서는 급격하게 감소되었으며, 70°C에서는 24시간 만에 반감되었다고 보고하였다. 따라서 아로니아의 평균 및 60°C 처리에 의해 아로니아의 주요 항산화 물질인 안토시아닌의 감소 및 성분 변화로 항산화 활성이 감소하였다고 생각된다. 또한 Chung HJ(2014)는 총 폴리페놀 함량과 ABTS 라디칼 소거활성의 상관관계수 $r=0.989$ 를 보인다고 하였다. 따라서 본 연구에서의 ABTS 라디칼 소거활성의 감소는 총 폴리페놀 함량 감소가 한 원인으로 생각된다.

3) FRAP 활성

FRAP assay의 원리는 전자 공여 능력을 통해 시료의 항산화력 측정 방법으로 자주 사용되며, 낮은 pH에서 환원제에 의해 3가 철이 2가 철로 환원되는 것을 바탕으로 한 것으로

Table 4. Changes of antioxidant activities in aronia homogenate after treatment with liquid cultured *L. edodes* and *P. linteus* mycelia

| Contents | Treatments | Treatment time (hrs) | | | | |
|--|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | 0 | 6 | 12 | 24 | 48 |
| DPPH radical scavenging activity (mg TEAC/g) | Control ¹⁾ | 127.72±0.85 ^{aA2)} | 112.88±0.77 ^{bAB} | 124.72±2.62 ^A | 100.95±9.46 ^B | 109.65±6.46 ^{AB} |
| | <i>L. edodes</i> mycelium | 103.34±4.92 ^{BB} | 107.95±0.00 ^{bAB} | 97.95±1.69 ^{BC} | 109.18±3.08 ^A | 94.11±2.00 ^C |
| | <i>P. linteus</i> mycelium | 133.18±2.31 ^{aA} | 125.57±3.46 ^{aA} | 117.49±11.23 ^A | 108.11±13.38 ^A | 103.88±2.85 ^A |
| ABTS radical scavenging activity (mg TEAC/g) | Control | 295.00±0.79 ^{bA} | 296.67±0.56 ^{bA} | 302.22±0.00 ^{aA} | 263.89±0.00 ^{bB} | 282.50±1.18 ^{aB} |
| | <i>L. edodes</i> mycelium | 279.17±1.96 ^{cA} | 263.89±3.93 ^{cBC} | 269.44±0.79 ^{cB} | 262.50±0.39 ^{bC} | 263.06±1.96 ^{bC} |
| | <i>P. linteus</i> mycelium | 308.89±0.00 ^{aB} | 312.78±2.36 ^{aA} | 297.78±0.00 ^{bC} | 276.11±2.36 ^{aD} | 246.67±0.00 ^{cE} |
| FRAP activity (mg TEAC/g) | Control | 71.33±1.11 ^{bC} | 72.91±0.78 ^{aB} | 74.34±0.47 ^{aA} | 69.51±0.47 ^{aD} | 68.06±0.24 ^{aE} |
| | <i>L. edodes</i> mycelium | 69.92±0.55 ^{cA} | 64.78±0.31 ^{bB} | 63.34±0.75 ^{cC} | 60.75±1.79 ^{cD} | 62.18±0.05 ^{bE} |
| | <i>P. linteus</i> mycelium | 75.21±0.04 ^{aA} | 72.30±0.54 ^{aB} | 72.38±0.31 ^{bB} | 63.93±0.59 ^{bC} | 55.55±1.21 ^{cD} |

¹⁾ Control: Homogenize frozen aronia berries and water in a shredder at a ratio of 3:1 (w/v) and sterilize them at 121°C for 10 minutes.

²⁾ These values are means±S.D.

^{a-c}Means with different in the same column are significantly different at $p < 0.05$ by a Duncan's multiple range test.

^{A-E}Means with different in the same row are significantly different at $p < 0.05$ by a Duncan's multiple range test.

흡광도 값이 증가할수록 항산화 활성이 높다는 것을 의미한다(Kim 등 2006). 버섯 균사체 배양액으로 처리한 아로니아의 FRAP 활성을 측정한 결과는 Table 4와 같다. 대조구에서는 71.33 mg TEAC/g, 48시간 후 68.06 mg TEAC/g, 표고버섯 균사체 배양액 처리에서는 69.92 mg TEAC/g, 48시간 후 62.18 mg TEAC/g, 상황버섯 균사체 배양액 처리에서는 75.21 mg TEAC/g에서 48시간 후 55.55 mg TEAC/g으로 나타나 버섯 균사체 두 종류 모두에서 감소하는 경향을 보였으며, 대조구와도 유의적인 차이를 보였다($p < 0.05$).

요약 및 결론

아로니아는 다른 베리류에 비해 폴리페놀 함량과 항산화 활성이 높지만 단맛이 적고 떫은맛이 강하여 생과로 섭취하기에는 한계가 있을 뿐 아니라, 가공 후 이용성에도 제한요인으로 작용하고 있다. 따라서 본 연구에서는 아로니아의 떫은맛을 감소시키기 위하여 아로니아 균질액에 표고버섯과 상황버섯 균사체 배양액을 처리한 다음 탄닌 함량 및 이화학적 변화 등을 조사하였다. 아로니아 균질액의 탄닌 함량은 표고버섯 균사체 배양액으로 48시간 처리하였을 때 64.2 mg ECE/g 에서 57.9 mg ECE/g으로 9.8% 감소되었고, 상황버섯 균사체 처리에서는 77.3 mg ECE/g에서 47.9 mg ECE/g으로 약 38.1%가 감소되어 버섯균사체 배양액 처리에 의해 떫은맛의 저감효과를 얻을 수 있지만 총 폴리페놀과 총 플라보노이드의 함량은 감소하였다. 항산화 활성인 DPPH, ABTS 라디칼 소거활성 및 FRAP 활성도 반응시간이 증가할수록 감소하는 경향을 보였다. 따라서 상황버섯 균사체 배양액을 아로니아 균질액과 혼합하여 60°C에서 48시간 처리하면 떫은맛 성분인 탄닌함량을 감소시켜 기호도 향상에 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다.

References

- Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant powder: The FRAP assay. *Anal Biochem* 239:70-76
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200
- Broadhurst RB, Jones WT. 1978. Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *J Sci Food Agric* 29:788-794
- Cheun KS, Kang SG, Kang SK, Jung ST, Park YK. 2005. Changes of the flavonoids in onion vinegar fermented with onion juice and ethanol. *Korean J Food Preserv* 12:650-655
- Chung HJ. 2014. Comparison of total polyphenols, total flavonoids, and biological activities of black chokeberry and blueberry cultivated in Korea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43:1349-1356
- Eom HJ, Yoon HS, Kwon NR, Jeong YJ, Kim YH, Hong ST, Han NS. 2019. Comparison of the quality properties and identification of acetic acid bacteria for aronia vinegar. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 48:1397-1404
- Ha YL, Kim YS, Park CW, Kim SJ, Park SJ, Ryu CH, Cho HJ, Kim JO, Lim DK. 2002. Preparation of mushroom mycelia-cultured traditional meju with enhanced anticarcinogenicity and sensory quality. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31:986-993
- Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. 2002. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J Nutr Biochem* 13:572-584
- Hong JS, Kim MK, Yoon S, Kim KJ, Kwak IG. 1990. Production and properties of tannase from *Lenzites betulina*. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol* 18:591-598
- Jung SW, Lee NK, Kim SJ, Han D. 1995. Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Korean J Food Sci Technol* 27:891-896
- Kang BS, Kim DH, Lee J. 2011. Changes in the quality of green tea concentration through tannase treatment. *Korean J Food Nutr* 24:720-724
- Kim BM, Lee KM, Jung IC. 2017. Changes in anthocyanin content of aronia (*Aronia melanocarpa*) by processing conditions. *Korean J Plant Res* 30:152-159
- Kim DB, Shin GH, Lee JS, Lee OH, Park IJ, Cho JH. 2014b. Antioxidant and nitrite scavenging activities of *Acanthopanax senticosus* extract fermented with different mushroom mycelia. *Korean J Food Sci Technol* 46:205-212
- Kim MC, Heo MS, Kim MJ, Kim T, Park GT, Son HJ, Kim GY, Choi WB, Oh DC. 2006. Comparison of antibacterial and antioxidant activities of mushroom mycelium culture extracts cultivated in the citrus extracts. *Korean Soc Biotechnol Bioeng* 21:72-78
- Kim MJ, Upadhyaya J, Yoon MS, Ryu NS, Song YE, Park HW, Kim YH, Kim MK. 2018. Highly regioselective biotransformation of ginsenoside Rb₂ into compound Y and compound K by b-glycosidase purified from *Armillaria mellea* mycelia. *J Ginseng Res* 42:504-511
- Kim NM, Lee JS. 2003. Effect of fermentation periods on the qualities and physiological functionalities of the mushroom fermentation broth. *Korean J Mycol* 31:28-33

- Kim NY, Lee YD, Cho SC, Lee HY, Shin YC. 2014a. Enhancement of anti-inflammation effect by fermentation process in *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott extract. *Korean J Med Crop Sci* 22:475-482
- Kulshreshtha S, Mathur N, Bhatnagar P. 2014. Mushroom as a product and their role in mycoremediation. *AMB Express* 4:29
- Lee DH, Hong JH. 2015. Physicochemical properties and storage stability of blueberry fermented by lactic acid bacteria. *Korean J Food Preserv* 22:796-803
- Moyer RA, Hummer KE, Finn CE, Frei B, Wrolstad RE. 2002. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: Vaccinium, rubus, and ribes. *J Agric Food Chem* 50:519-525
- Oddou J, Stentelaire C, Lesage-Meessen L, Asther M, Ceccaldi BC. 1999. Improvement of ferulic acid bioconversion into vanillin by use of high-density cultures of *Pycnoporus cinnabarinus*. *Appl Microbiol Biotechnol* 53:1-6
- Ota SS. 1984. *Lentinus edodes*. *New Food Ind* 26:49-54
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol Med* 26:1231-1237
- Shin HJ, Byun OH, Kim YJ, Bang BY, Park JM, Jeong YS, Bai DH. 2015. Study of tannin reducing effect of aronia by yeast isolated from Jeotgal. *Korean J Mycol* 43:247-252
- Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticult* 16:144-158
- Slimestad R, Torskangerpoll K, Nateland HS, Johannessen T, Giske NH. 2005. Flavonoids from black chokeberries, *Aronia melanocarpa*. *J Food Compos Anal* 18:61-68
- Suzuki K, Kubota K, Hasegawa T, Hosaka H. 1976. Shrinkage in dehydration of root vegetables. *J Food Sci* 41:1189-1193
- Szajdek A, Borowska EJ. 2008. Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits. *Plant Foods Hum Nutr* 63:147-156
- Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Byrne DH. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J Food Compos Anal* 19:669-675
- Upadhyaya J, Yoon MS, Kim MJ, Ryu NS, Song YE, Kim YH, Kim MK. 2016. Purification and characterization of a novel ginsenoside Rc-hydrolyzing β -glucosidase from *Armillaria mellea* mycelia. *AMB Express* 6:112
- Yamaguchi M, Yearul KA, Kimura S. 1987. Effect of shitake (*Lentinus edodes*) and maitake (*Grifola frondosa*) mushrooms on blood pressure and plasma lipids of spontaneously hypertensive rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 33:341-346
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 64:555-559

Received 10 April, 2020
 Revised 01 June, 2020
 Accepted 07 June, 2020