Journal of Biotechnology and Bioindustry
Vol.8, December, 2020. 30~37
https://doi.org/10.37503/jbb.2020.8.30

젖산균 및 효모-아로니아박 발효물의 항산화 활성

유 광 원*

충청북도 증평군 대학로 61 한국교통대학교 보건생명대학 식품생명학부 식품영양학전공 27909

Antioxidant Activity of Fermented Aronia Residues with Lactic Acid Bacteria and Yeast

Kwang-Won Yu*

Division of Food and Nutrition, Korea National University of Transportation, Jeungpyeong 27909, Korea

ABSTRACT

To enhance the industrial usability of residues obtained after extraction of aronia (*Aronia melanocarpa*) fruit, aronia residues (AR), by-product, were fermented with lactic acid bacteria (*Lactobacillus acidophilus*/LA, *L. plantarum*/LP, *Pediococcus acidilactici*/PA) and *Saccharomyces cerevisiae* (SC). After four kinds of fermented aronia residues (AR-LA, AR-LP, AR-PA and AR-SC) were extracted by EtOH (E) and hot-water (HW), antioxidant content and radical scavenging activity were investigated for the possibility as a functional materials. The total polyphenol content was the highest in AR-SC-HW (66.1 μg GAE/mg extracts), followed by AR-SC-E (57.8 μg GAE/mg), and yeast ferments (AR-SC) were enhanced more than non-ferments and aronia fruit. However, lactic acid bacteria ferments were low to 50% level (32.3～38.8 μg GAE/mg). In addition, ABTS and DPPH radical scavenging activity was the best in yeast ferments (AR-SC), and its EtOH extract was much higher (65.2 & 37.0 μg AEAC/mg extract) than hot-water extract (26.8 & 19.6 μg AEAC/mg). In conclusion, *S. cerevisiase*-fermented aronia residues showed the possibility of functional materials as antioxidant activity was improved compared to aronia fruit and non-fermented aronia residues.

Key words : aronia residue, ferments, lactic acid bacteria, yeast, antioxidant activity

Ⅰ. 서 론

국내에 재배되는 베리류는 복분자, 오디, 블루베리, 블랙베리 및 아로니아 등이 주류를 이루고 있으며, 최근 기능성 베리류에 대한 소비자의 관심이 높아지면서 전국적으로 재배면적이 증가하고 있다(1). 또한, 이러한 베리류는 안토시아닌 색소, 폴리페놀, 플라보노이드, 탄닌 및 유기산 등이 풍부하여 항산화, 항암, 항염 및 심혈관계 질환 등에 도움을 준다고 알려져 관심이 높아지고 있다(2, 3). 따라서 소비자들이 쉽게 접할 수 있는 각종 과실에서 항산화 활성 등과 같은 생리활성을 가지는 화합물을 얻고자 하는 관심이 점차적으로 증가하고 있어 이에 대한 연구도 활발히 이루어지고 있다. 특히, 아로니아(aronia, *Aronia melanocarpa*)는 아로니아 나무의 열매로 식용 또는 약용으로 사용되어 왔으며, 식용 색소의 원료로 쓰이기도 하고 관상용으로도 재배되는데, 'red chokeberry', 'black chokeberry', 'purple chokeberry'의 3가지를 합쳐서 아로니아라고 한다(4). 적포도주 음용량이 많은 프랑스와 지중해 연안 등지에서의 resveratrol과 심혈관계 질환예방의 상관관계 규명으로부터 'French Paradox'가 알려진 것처럼, 서부 폴란드에서는 육식이 주요 식이임에도 불구하고 아로니아 음용이 고혈압 및 심맥계 질환예방과 관련이 있다는 연구로부터 'Polish Paradox'가 홍보되기 시작하였다(5). 현재 폴란드는 국책사업으로 아로니아를 재배하고 있어 전 세계 아로니아 생산의 90% 이상이 폴란드에서 이루어지고 있다. King's Berry(중세유럽 왕족과 귀족들이 여러 질병의 치유를 위해서 만병통치약처럼 먹었다고 해서 붙여짐)로도 불리는 아로니아는 활성산소를 제거하는 안토시아닌 성분이 블루베리의 약 4배, 포도의 80배, 복분자의 20배 이상 함유하고 있으며(6), 폴리페놀 함유량도 포도의 80배, 복분자의 20배, 크랜베리의 13배에 달해서 강력한 항산화 효과를 보이는 것으로 알려져 있을 뿐만 아니라(7), 노화방지, 항

* kwyu@ut.ac.kr

암효과는 물론 심혈관 질환, 성인병 예방, 시력보호 등에도 탁월한 효과를 나타내고 있다고 보고되었다(8, 9). 국내에서도 2014년 한국아로니아협회가 출범하여 농가 소득 작목으로 급부상하였으나, 가공산업으로 연계가 원활하지 못하고 재배량 급증에 따른 시장의 판로 확보 등에서 어려움이 있음을 드러내고 있다. 따라서 아로니아를 가공식품으로 활용할 수 있는 전략의 확보와 함께 착즙 후 발생된 아로니아박을 아로니아 과즙과 함께 농가의 새로운 소득 작목으로 가공산업과 연계해 고부가가치 산업으로 발전시켜 나갈 수 있다면 아로니아 재배농가의 소득증대와 국민건강증진 등 아로니아 산업 발전이 가능할 것으로 보인다. 따라서 본 연구는 아로니아 착즙 후 폐기처분되는 아로니아박의 산업적 활용성을 높여 부가가치를 창출하기 위한 목적으로 생물전환 기법을 이용한 젖산균과 효모의 아로니아박 발효물을 조제하고 그들의 용매추출물에 대한 항산화 성분과 활성의 증진 여부를 관찰하였다. 또한, 이러한 생리활성 증진 및 산업적 활용성이 높은 아로니아박 발효물 개발은 부산물 이용 및 아로니아 가공제품 활성화에 요구되는 기초자료의 제공과 농민의 수익창출 측면에서도 중요한 의의를 가지는 것으로 사료된다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 아로니아와 착즙 후 회수한 아로니아박의 4종의 젖산균과 효소 발효물은 ㈜이글벳(Chungnam, Korea)으로부터 지원받아 본 실험에 사용하였다. 발효물의 균질성을 위하여 소포장된 팩에서 각각 100 g씩 취하고 한 곳에 모아 혼합한 후 분쇄기(Bazzatra, Gyeonggi-do, Korea)를 사용하여 분쇄하였다. 분쇄한 시료는 소분하여 −70℃의 급속냉동기에 보관하여 품질 저하를 방지하면서 실험에 사용하였다.

2. 아로니아박 발효물 및 그 용매추출물 제조

아로니아 생과로부터 과즙을 착즙하고 회수한 부산물인 아로니아박을 열풍건조하여 각각의 생육 최적배지에서 액체배양한 4종 미생물 *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *Pediococcus acidilactici* 및 *Saccharomyces cerevisiae*를 아로니아박에 대하여 50%(v/w)로 접종하여 4종 미생물의 생육 최적온도에서 2일간 발효시켜 4종 미생물에 대한 아로니아박 발효물로 조제하였으며, 4종 미생물에 대한 아로니아 생과 발효물도 대조군으로 발효하여 항산화 활성의 시료로 사용하였다. 한편, 이들의 열수 추출물은 각 발효물에 20배의 증류수를 첨가하여 믹서기로 5,000 rpm에서 10분간 분쇄한 후 절반 부피가 되도록 decoction하였으며, 여과지(No. 2)를 이용하여 잔사와 추출여액을 분리한 후 잔사는 다시 20배의 증류수를 첨가하여 반복추출하고, 모든 추출 여과액은 원심분리(10,000×*g*, 5℃, 30분)를 통해 불용성 침전물을 제거하고 농축 및 동결건조하여 발효미생물에 따른 아로니아박 발효물(AR-LA-, AR-LP-, AR-PA- 및 AR-SC-HW) 및 아로니아 생과의 열수추출물(AF-LA-, AF-LP-, AF-PA- 및 AF-SC-HW)로 각각 조제하였다. 또한, 주정 추출물은 발효물에 대해 5배의 95% 에탄올을 첨가한 후 stirring mantle에서 교반하면서 70℃의 온도로 2시간 동안 환류시켜 추출하고, 추출액은 여과지를 이용하여 잔사와 추출여액으로 분리하고, 잔사는 다시 5배의 95% 주정을 첨가하여 반복추출(총 3회)한 후 추출여액을 합쳐 열수추출과 마찬가지로 원심분리, 상등액 농축 및 동결건조를 통하여 4종 미생물에 대한 아로니아박 발효물의 주정 추출물(AR-LA-, AR-LP-, AR-PA- 및 AR-SC-E) 및 아로니아 생과 발효물의 주정 추출물(AF-LA-, AF-LP-, AF-PA- 및 AF-SC-E)로 각각 조제하였다.

3. 발효물 용매추출물의 항산화 성분 분석

총 폴리페놀 화합물 함량은 Folin-Ciocalteus'reagent가 알칼리 조건에서 발효물 열수 및 주정 추출물 시료의 폴리페놀 화합물에 의해 환원되면 청색에서 노란색으로 발색되는 원리를 이용하여 분석하였다. 즉, 발효물의 추출물 시료 100 μL에 알칼리 조건을 형성하기 위해 2% Na_2CO_3을 2 mL를 가한 후 3분간 반응시키고, 50%의 Folin-Ciocalteu's 시약 100 μL를 첨가해 30분간 반응된 색을 750 nm에서 측정함으로써 주요한 항산화 성분인 총 폴리페놀 함량을 확인할 수 있었다(10). 표준물질로는 gallic acid를 사용하여 표준곡선을 작성한 후 발효물 용매 추출물 시료 100 μg에 대한 gallic acid 상당량(GAE) μg으로 나타내었다. 한편, 총 플라보노이드 함량 측정은 플라보노이드에 알칼리를 반응시키면 플라반 또는 플라보놀 배당체가 황색을 나타내는 것을 원리(11)로 하여 측정하였는데, 80% 에탄올을 사용해 적당히 희석한 발효물의 추출물 시료 500 μL에 10% aluminium nitrate 100 μL와 1 M potassium acetate 100 μL를 가한 후 암소에서 40분간 방치하고 변한 흡광도 값을 415 nm에서 측정하여 발효물 용매 추출물 시료 100 μg에 대한 표준물질인 quercetin 상당량(QE) μg으로 나타내었다.

4. 발효물 용매추출물의 항산화 활성

화학적으로 안정화된 자유 라디칼인 DPPH 및 ABTS는

항산화 물질과 반응하면 전자를 내어주면서 라디칼이 소멸되고 색이 변하게 되므로, 이를 실험에 응용하여 발효물 용매추출물에 따라 DPPH 및 ABTS의 색이 옅어지는 정도를 측정하여 항산화력으로 나타내었다. DPPH 라디칼을 이용한 항산화력 측정은 0.2 mM DPPH 라디칼 용액에 발효물의 추출물 시료 50 μL를 가한 후 상온에서 60분간 반응시켜 반응액의 흡광도 변화를 517 nm에서 측정하여 발효물 용매 추출물 시료 100 μg에 대한 표준물질인 ascorbic acid의 상당량(ascorbic acid equivalent antioxidant capacity, AEAC) μg으로 나타내었다(12). 다음으로 ABTS 라디칼을 이용한 항산화력 측정은 7.4 mM ABTS 용액과 2.6 mM potassium persulphate 용액을 12시간 이상 암소에 방치하여 청록색 ABTS 라디칼을 형성시킨 다음 734 nm에서 흡광도 값이 1.5가 되도록 희석해 사용하였다(13). 이 용액에 발효물의 추출물 시료 50 μL를 가한 후 상온에서 60분 방치시켜 반응액의 흡광도 값의 변화를 측정하고, 발효물 용매 추출물 시료 100 μg에 대한 AEAC μg으로 나타내었다.

5. 통계처리

모든 실험결과는 평균치±SD(standard deviation)로 나타내었고, Student t-test를 이용하여 비발효물 대조군과 각 측정값 간의 유의성을 $p<0.05$ 수준에서 검증하였다.

Ⅲ. 실험결과 및 고찰

Lactobacillus acidophilus(LA), *L. plantarum*(LP), *Pediococcus acidilactici*(PA)의 젖산균 3종과 *Saccharomyces cerevisiae* (SC) 효모 등 4종 미생물을 배양하여 아로니아박과 균체량을 1:1로 혼합한 후 48시간 발효시킨 아로니아박 발효물(AR-LA, AR-LP, AR-PA와 AR-SC)을 믹서기로 분쇄한 후 20배(w/v)의 증류수를 넣고 decoction 방법으로 추출한 후 표준체(#200)로 여과하고, 잔사는 다시 동일 추출과정(총 2회 decoction)을 거쳐 여과액만 합친 후 원심분리(10,000×*g*, 5℃, 30분)로 상등액을 분리하고, 이를 농축 후 동결건조를 통해 열수추출물(HW)로 조제하였다. 한편, 발효물 주정추출물(E)은 건조되지 않은 발효물을 믹서기로 분쇄한 후, 5배(w/v)의 주정을 넣고 환류장치에 연결한 후 2시간 동안 추출한 후 표준체(#200)로 여과하고, 잔사는 다시 동일 추출과정(총 3회 reflux)을 거쳐 여과액만 합친 후 원심분리(9,000×*g*, 5℃, 30분)로 상등액을 분리하고, 이를 농축 후 동결건조를 통해 주정추출물로 조제하였다. 이와 같이 조제된 발효물의 표준관리를 목적으로 decoction에 의한 열수추출 후 여과 및 원심분리를 통해 얻은 추출액을 농축하기 전에 수용성 물질 굴절율을 이용한 당도계(Atago)를 이용하여 발효물 열수추출물의 당도(Brix, 용해성분량)를 측정하였다(주정추출물은 용매가 주정이라 굴절율에 영향을 주기 때문에 주정추출물의 당도는 측정하지 않았다). Table 1의 결과처럼 대부분 아로니아박 발효물의 열수 추출물은 20배의 증류수를 첨가하여 decoction 추출한 경우, 균주와 무관하게 2일간 발효시켰을 때 표준관리 기준으로 설정하고 있는 1 Brix 수준을 나타내고 있음을 알 수 있었다. 그러나 비교군인 생과 발효물은 그 편차가 아로니아박 발효물보다 커서 표준관리가 용이하지 않음을 보여주었는데, 이는 생과의 경우 배양조건마다 다를 수 있지만 아로니아박은 착즙 후 일정 고형분 함량으로 농축된 부산물 원료이기 때문에 원료로서의 표준관리가 훨씬 용이할 수 있음을 보여주었다.

4종 미생물에 대한 아로니아박 발효물의 주정 추출물을 조제한 후 항산화 주요 성분인 총 폴리페놀 화합물 함량을 분석한 결과, *S. cerevisiae*-아로니아박 발효물의 주정추출물(AR-SC-E, 57.8 μg GAE/mg 추출물)은 3종의 젖산균-아로니아박 발효물(32.3～34.4 μg GAE/mg) 및 생과 발효물의 모든 주정 추출물보다도(19.3～20.8 μg GAE/mg) 우수한 함량을 나타내었고, 비발효 대조군 중에서 높은 AR-E(30.9 μg GAE/mg)와 비교하여도 유의적으로 높은 폴리페놀 함량을 나타내었다(Table 2). 비발효 아로니아박은 원료가 100% 함유되어 있는 시료를 분석한 것이고, 발효물은 아로니아박과 균체가 배양되어 있는 원료의 특성을 고려할 때 이는 발효를 통하

Table 1. Sugar contents (°Bx) of hot-water extracts from fermented aronia residues

Fermented aronia residues	Sugar content (°Bx)	Fermented aronia	Sugar content (°Bx)
AR-HW (Non-fermented)	1.0	AF-HW (Non-fermented)	1.0
AR-LA-HW (*L. acidophilus*)	0.9	AF-LA-HW	1.6
AR-LP-HW (*L. plantarum*)	1.0	AF-LP-HW	0.6
AR-PA-HW (*P. acidilactici*)	1.4	AF-PA-HW	1.7
AR-SC-HW (*S. cerevisiae*)	1.1	AF-SC-HW	0.9

Table 2. Total polyphenol contents of EtOH extracts from fermented aronia residues

Fermented aronia residues	Total polyphenol[1)] (μg GAE/mg)	Fermented aronia	Total polyphenol (μg GAE/mg)
AR-E (Non-fermented)	30.9±1.8	AF-E (Non-fermented)	16.5±1.8
AR-LA-E (*L. acidophilus*)	32.3±2.7	AF-LA-E	19.3±3.9
AR-LP-E (*L. plantarum*)	34.4±5.5	AF-LP-E	20.8±2.2*
AR-PA-E (*P. acidilactici*)	34.3±4.1	AF-PA-E	20.5±2.3*
AR-SC-E (*S. cerevisiae*)	57.8±3.7*[2)]	AF-SC-E	31.4±3.5*

[1)] Total polyphenol content: μg gallic acid equivalent (GAE)/mg EtOH extract.
[2)] * $p<0.05$; Significant difference between non-fermented group and each ferments.

여 항산화 활성 성분이 훨씬 더 증진되었음을 보여주고 있다고 사료된다.

한편, *S. cerevisiae*-아로니아박의 열수추출물(AR-SC-HW, 66.1 μg GAE/mg)도 젖산균-아로니아박(32.4~38.8 μg GAE/mg) 및 생과 발효물의 모든 열수추출물(20.3～23.8 μg GAE/mg)보다 높은 함량을 나타내고 있을 뿐만 아니라, 주정 추출물보다도 높은 총 폴리페놀 함량을 나타내었다(Table 3). 또한, AR-SC-HW이 비발효 아로니아박 대조군(AR-HW)에 비교하여 유의적으로 총 폴리페놀 함량의 증진효과를 나타냄으로써 아로니아박과 균체가 배양된 원료의 특성까지 고려한다면 열수 추출물에서 발효를 통한 뚜렷한 증진효과를 보이는 것으로 추정되나, 생과 발효물의 경우에는 *S. cerevisiae*를 제외하고는 비발효 대조군보다 낮거나 유사한 수준의 총 폴리페놀 함량을 나타내었다(Table 3).

다음으로, 항산화 활성을 갖는 또 다른 성분인 총 플라보노이드 화합물 함량을 발효물의 주정 추출물에서 분석한 결과, 아로니아박을 *S. cerevisiae*로 발효시킨 AR-SC-E에서 젖산균-아로니아박 및 생과 발효물의 모든 주정 추출물(2.2～6.2 μg QE/mg)보다 우수한 함량(11.2 μg QE/mg 추출물)을 나타내고 있으며, 비발효 아로니아박 대조군(AR-E, 5.9 μg QE/mg)보다 2배 정도의 높은 함량을 나타내었다(Table 4). AR-E 대조군은 아로니아박 100%의 원료인 반면 *S. cerevisiae* 발효물은 50% 아로니아박에 50% 미생물을 접종하여 발효한 것이므로 발효를 통하여 총 플라보노이드 함량이 증진된 것으로 추정되나, 생과 발효물의 경우에는 모든 미생물 발효물에서 비발효 대조군보다 현저히 낮은 함량을 보였다(Table 4). 그러나 총 폴리페놀 화합물 함량과 비교하면 플라보노이드 함량이 현저히 낮은 수준을 보이고 있어 아로니아박 발효물의 항산화 활성의 주요 성분은 폴리페놀 화합물일 것으로 추정되었다(14, 15).

한편, 열수추출물에서는 아로니아박을 *S. cerevisiae*로 발효시킨 AR-SC-HW(9.5 μg QE/mg)는 젖산균-아로니아박(4.5～5.8 μg QE/mg) 및 생과 발효물의 열수추출물(2.1～2.4 μg QE/mg)보다 우수한 함량을 나타내고 있으며, 비발효 아로니아박 대조군(AR-HW, 4.9 μg QE/mg)과 비교하여도 다소 높은 플라보노이드 함량을 보였으나, 폴리페놀 함량보다는 현저히 낮은 수준의 함량을 나타내었다(Table 5).

또한, 4종 미생물의 아로니아박 발효물에 대한 주정과 물의 용매 추출물을 조제한 후 ABTS와 DPPH 자유라디칼을 이용한 라디칼 소거능을 측정하였다. 항산화 활성을 나타내

Table 3. Total polyphenol contents of hot-water extracts from fermented aronia residues

Fermented aronia residues	Total polyphenol[1)] (μg GAE/mg)	Fermented aronia	Total polyphenol (μg GAE/mg)
AR-HW (Non-fermented)	29.8±1.5	AF-HW (Non-fermented)	22.3±1.3
AR-LA-HW (*L. acidophilus*)	38.8±2.5*[2)]	AF-LA-HW	23.8±0.7*
AR-LP-HW (*L. plantarum*)	33.6±3.3	AF-LP-HW	20.3±0.3*
AR-PA-HW (*P. acidilactici*)	32.4±0.6*	AF-PA-HW	23.7±0.2*
AR-SC-HW (*S. cerevisiae*)	66.1±0.4*	AF-SC-HW	38.7±0.9*

[1)] Total polyphenol content: μg gallic acid equivalent (GAE)/mg hot-water extract.
[2)] * $p<0.05$; Significant difference between non-fermented group and each ferments.

Table 4. Total flavonoid contents of EtOH extracts from fermented aronia residues

Fermented aronia residues	Total flavonoid[1)] (μg QE/mg)	Fermented aronia	Total flavonoid (μg QE/mg)
AR-E (Non-fermented)	5.9±0.2	AF-E (Non-fermented)	2.8±0.1
AR-LA-E (*L. acidophilus*)	5.3±0.1	AF-LA-E	2.2±0.1
AR-LP-E (*L. plantarum*)	5.9±0.1[*2)]	AF-LP-E	3.2±0.7
AR-PA-E (*P. acidilactici*)	6.2±0.1[*]	AF-PA-E	2.5±0.1[*]
AR-SC-E (*S. cerevisiae*)	11.2±0.1[*]	AF-SC-E	3.6±0.1[*]

1) Total flavonoid content: μg quercetin equivalent (QE)/mg EtOH extract.
2) * $p<0.05$; Significant difference between non-fermented group and each ferments.

Table 5. Total flavonoid contents of hot-water extracts from fermented aronia residues

Fermented aronia residues	Total flavonoid[1)] (μg QE/mg)	Fermented aronia	Total flavonoid (μg QE/mg)
AR-HW (Non-fermented)	4.9±0.8	AF-HW (Non-fermented)	2.8±0.4
AR-LA-HW (*L. acidophilus*)	5.8±0.6	AF-LA-HW	2.1±0.1
AR-LP-HW (*L. plantarum*)	4.5±0.1[*2)]	AF-LP-HW	2.3±0.2[*]
AR-PA-HW (*P. acidilactici*)	5.0±0.1[*]	AF-PA-HW	2.4±0.1[*]
AR-SC-HW (*S. cerevisiae*)	9.5±0.6[*]	AF-SC-HW	3.4±0.1[*]

1) Total flavonoid content: μg quercetin equivalent (QE)/mg hot-water extract.
2) * $p<0.05$; Significant difference between non-fermented group and each ferments.

는 대표적인 평가방법 중 하나인 ABTS 라디칼(16)을 이용하여 발효물 주정 추출물의 소거능을 검토한 결과, 아로니아박을 *S. cerevisiae*로 발효시킨 AR-SC-E(65.2 μg AEAC/mg 추출물)에서 3종 젖산균-아로니아박 발효물(18.8～19.6 μg AEAC/mg) 및 생과 발효물의 모든 주정 추출물(22.5～22.6 μg AEAC/mg)보다 유의적으로 우수한 활성을 나타내었고, 비발효 아로니아박 대조군(AR-E, 32.7 μg AEAC/mg)보다도 증진된 라디칼 소거능을 나타내었다(Figure 1). 그러나 생과를 4종 미생물로 배양하여 얻은 발효물의 주정 추출물은 비발효 대조군인 생과의 주정 추출물과 거의 유사한 수준으로 AR-SC-E보다는 현저히 낮은 ABTS 라디칼 소거능 수준을 나타내었다(Figure 1).

열수 추출물의 경우에서도 ABTS 라디칼 소거 활성은 유사한 경향을 나타내어 아로니아박을 *S. cerevisiae*로 발효시킨 AR-SC-HW(26.8 μg AEAC/mg)에서 젖산균-아로니아박(13.4～14.7 μg AEAC/mg) 및 생과 발효물의 주정 추출물(7.6～9.0 μg AEAC/mg)보다 우수한 함량을 나타내고 있으나(Figure 2), 주정 추출물의 라디칼 소거능보다는 낮은 수준을 유지하였는데, 이는 추출용매(주정과 열수)의 극성에 기인하는 추출성분의 차이에 따른 것으로 보이며, 주정에서

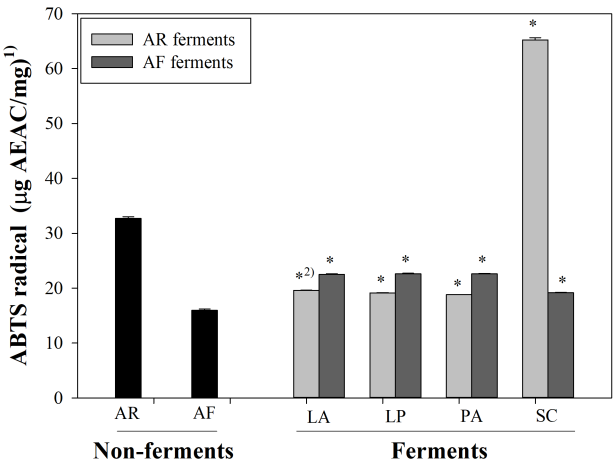

Figure 1. ABTS radical scavenging activity of EtOH extract from fermented aronia residues. 1) Radical scavenging: μg ascorbic acid equivalent anti-oxidant capacity (AEAC)/mg EtOH extract. 2) * $p<0.05$; Significant difference between non-fermented group and each ferments.

항산화 활성에 관여하는 저분자 성분의 추출이 증가한 것으로 보인다(17, 18). 그러나 생과로부터 얻은 발효물은 *S.*

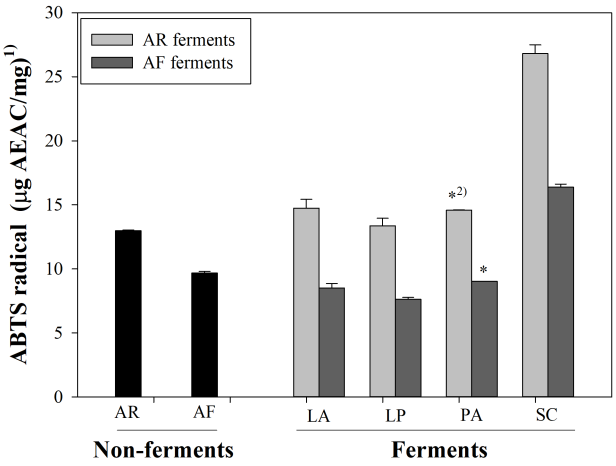

Figure 2. ABTS radical scavenging activity of hot-water extract from fermented aronia residues. [1] Radical scavenging: μg ascorbic acid equivalent anti-oxidant capacity (AEAC)/100 μg hot-water extract. [2] * p<0.05; Significant difference between non-fermented group and each ferments.

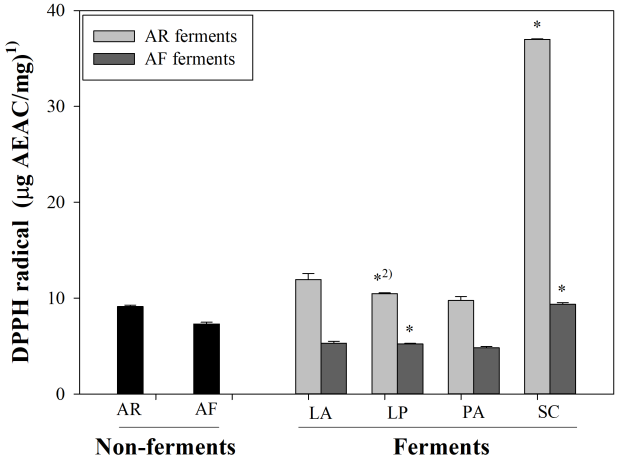

Figure 3. DPPH radical scavenging activity of EtOH extract from fermented aronia residues. [1] Radical scavenging: μg ascorbic acid equivalent anti-oxidant capacity (AEAC)/mg EtOH extract. [2] * p<0.05; Significant difference between non-fermented group and each ferments.

cerevisiae 발효물을 제외하고는 비발효 대조군보다 낮은 ABTS 라디칼 소거의 항산화 활성을 나타내었다(Figure 2).

한편, 항산화 활성 검색방법 중 또 다른 라디칼로 사용되는 DPPH를 이용한 주정 추출물의 소거능(19)을 검토한 결과, 아로니아박을 *S. cerevisiae*로 발효시킨 AR-SC-E(37.0 μg AEAC/mg 추출물)에서 3종의 젖산균-아로니아박(9.8～11.9 μg AEAC/mg) 및 생과 발효물의 모든 주정 추출물(4.8～5.3 μg AEAC/mg)보다 우수한 DPPH 라디칼 소거능을 나타낼 뿐만 아니라, 비발효 아로니아박 대조군(AR-E, 9.1 μg AEAC/mg)과 비교하여 유의적인 증진 효과를 나타내었다(Figure 3). 그러나 생과를 이용하여 4종 미생물로부터 배양된 생과 발효물은 모든 주정 추출물에서 비발효 생과 대조군보다 오히려 낮은 DPPH 라디칼 소거능을 보였다(Figure 3). 또한, *S. cerevisiae*의 아로니아박 발효물은 아로니아박과 균체가 배양된 발효물임을 고려할 때 대조군인 100% 비발효 아로니아박보다 발효를 통한 항산화 활성의 증진을 확인할 수 있었다.

마지막으로, 열수추출물의 경우에는 아로니아박에 *S. cerevisiae* 배양액을 첨가하여 발효시킨 AR-SC-HW(19.6 μg AEAC/mg 추출물)에서 아로니아박의 젖산균 발효물(9.1～10.8 μg AEAC/mg) 및 생과 발효물의 열수 추출물(6.7～7.8 μg AEAC/mg)보다 우수한 함량을 나타내는 반면, 생과의 모든 발효물은 비발효 생과 대조군(AF-HW, 9.6 μg AEAC/mg)보다 낮은 DPPH 라디칼 소거능을 보였다(Figure 4).

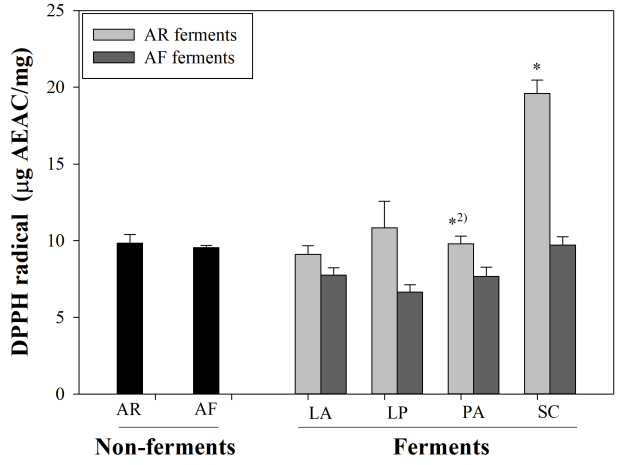

Figure 4. DPPH radical scavenging activity of hot-water extract from fermented aronia residues. [1] Radical scavenging: μg ascorbic acid equivalent anti-oxidant capacity (AEAC)/mg hot-water extract. [2] * p<0.05; Significant difference between non-fermented group and each ferments.

이상의 결과로부터 *Saccharomyces cerevisiae*-아로니아박 발효물이 3종의 젖산균 발효물들보다 유의적으로 높은 항산화 성분과 ABTS와 DPPH 라디칼 소거의 항산화 활성을 보여주었으며, 생과보다 아로니아박 발효물이 항산활 활성의 증진효과를 나타내었다. 열수추출물은 총 폴리페놀 화합물 함량에서 주정 추출물보다 다소 높은 함량을 보인 반면,

플라보이드 함량과 라디칼 소거의 항산화 활성에서는 주정 추출물이 열수 추출물보다 현저히 높은 결과를 보여, 아로니아박의 효모 발효물은 항산화 활성소재로서 활용가능성을 제시하였다.

Ⅳ. 결 론

아로니아 열매(aronia, *Aronia melanocarpa*)를 추출 후 얻은 박의 산업적 유용성을 높이기 위해, 부산물인 아로니아박(AR)을 유산균(*Lactobacillus acidophilus*/LA, *L. plantarum*/LP와 *Pediococcus acidilactici*/PA)과 *Saccharomyces cerevisiae* (SC)로 발효시켰다. 이와 같이 조제된 4종의 아로니아박 발효물(AR-LA, AR-LP, AR-PA와 AR-SC)은 주정(EtOH, E)과 열수(hot-water, HW)로 추출한 후 용매추출물을 조제하고, 항산화 성분 함량과 ABTS와 DPPH 라디칼 소거활성을 검토하여 기능성 물질로서의 가능성을 확인하였다. 먼저, 총 폴리페놀 함량은 AR-SC-HW(66.1 μg GAE/mg 추출물)가 가장 높았고, 다음으로 AR-SC-E(57.8 μg GAE/mg)의 순이었으며, 효모 발효물(AR-SC)이 젖산균 발효물(32.3～38.8 μg GAE/mg)보다 높았을 뿐만 아니라, 비발효물과 아로니아 생과보다도 유의적으로 더 높았다. 플라보노이드 함량에서도 효모 발효물이 가장 높은 함량을 보였으나, 폴리페놀보다는 낮은 수준의 함량을 나타내었다. 또한, 효모 발효물(AR-SC)은 ABTS와 DPPH 라디칼 소거활성에서 젖산균 발효물보다 유의적으로 우수하였으며, EtOH 추출물(AR-SC-E; 65.2 μg과 37.0 μg AEAC/mg 추출물)이 열수추출물(AR-SC-HW; 26.8 μg과 19.6 μg AEAC/mg 추출물)보다 훨씬 높은 항산화 활성을 나타내었다. 결론적으로 *S. cerevisiae*-아로니아박 발효물은 항산화 활성이 유산균 발효물 및 아로니아 생과 발효물 또는 비발효군에 유의적으로 높은 항산화 활성을 보여 기능성물질로서의 개발 가능성을 보여주었다.

사 사

이 논문은 2020년도 한국교통대학교 교내학술연구비의 지원을 받아 수행한 연구임.

참고문헌

1. Choi SR, Song EJ, Song YE, et al. (2017) Quality characteristics of black berry powder obtained by various drying methods. Korean J Food Nutr. 30, 609~17.
2. Seeram NP, Adam LS, Zhang Y, et al. (2006) Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells *in vitro*. J Agric Food Chem. 54, 9329~39.
3. Lee Y, Lee JH, Kim SD, et al. (2015) Chemical composition and functional constituents, and antioxidant activities of berry fruits produced in Korea. J Korean Soc Food Sci Nutr. 44, 1295~1303.
4. Chung HJ (2016) Comparison of bioactive constituents and biological activities of aronia, blackcurrant, and maquiberry. J Korean Soc Food Sci Nutr. 45, 1122~29.
5. Gasiorowski K, Szyba K, Brokos B, et al. (1997) Antimutagenic activity of anthocyanins isolated from *Aronia melanocarpa* fruits. Cancer Lett. 119, 37~46.
6. Wangensteen H, Bräunlich M, Nikolic V, et al. (2014) Anthocyanins, proanthocyanidins and total phenolics in four cultivars of aronia: Antioxidant and enzyme inhibitory effects. J Funct Foods. 7, 746~52.
7. Lee JE, Kim GS, Park S, et al. (2014) Determination of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) polyphenol components using liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Overall contribution to antioxidant activity. Food Chem. 146, 1~5.
8. Sidor A, Drożdżyńska A, Gramza-Michalowska A. (2019) Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) and its products as potential health-promoting factors – An overview. Trends Food Sci Technol. 89, 45~60.
9. Kim JH, Auger C, Kurita I, et al. (2013) *Aronia melanocarpa* juice, a rich source of polyphenols, induces endothelium-dependent relaxations in porcine coronary arteries via the redox-sensitive activation of enthothelial nitric oxide synthase. Nitric Oxide. 35, 54~64.
10. Marinova D, Ribarova F, Atanassova M. (2005) Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. J Univ Chem Technol Metall. 40, 255~60.
11. Stankovic MS. (2011) Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. Kragujevac J Sci. 33, 63~72.
12. Guopy P, Dufour C, Loonis M, et al. (2003) Quantitative kinetic analysis of hydrogen transfer reactions from dietary

polyphenols to the DPPH radical. J Agric Food Chem. 51, 615~22.

13. Choi Y, Lee SM, Chun J, et al. (2006) Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. Food Chem. 99, 381~87.
14. Kokotkiewicz A, Jaremicx Z, Luczkiewicz M. (2010) Aronia plants: A review of traditional use, biological activities, and perspectives for modern medicine. J Med Food. 13, 255~69.
15. Slimestad R, Solheim H. (2002) Anthocyanins from black currants (*Ribes nigrum* L). J Agric Food Chem. 50, 3228~31.
16. Hwang SJ, Yoon WB, Lee OH, et al. (2014) Radical-scavenging-linked antioxidant activities of extracts from black chokeberry and blueberry cultivated in Korea. Food Chem. 146, 71~7.
17. López-Cobo A, Gómez-Caravaca AM, Cerretani L, et al. (2014) Distribution of phenolic compounds and other polar compounds in the tuber of *Solanum tuberosum* L. by HPLC-DAD-q-TOF and study of their antioxidant activity. J Food Compost Anal. 36, 1~11.
18. Wang N, Pei D, Yu P, et al. (2020) Strategy for the separation of strongly polar antioxidant compounds from *Lycium barbarum* L. via high-speed counter-current chromatography. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 1153, 122268.
19. Schaich KM, Xie XT. (2015) Reprint of “Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assay”. J Funct Foods. 18, 782~96.

Received Dec. 4, 2020, Revised Dec. 21, 2020, Accepted Dec. 23, 2020