J Korean Soc Food Sci Nutr
43(9), 1349~1356(2014)

한국식품영양과학회지
http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2014.43.9.1349

국내산 Black Chokeberry와 Blueberry의 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량 및 생리활성 비교

정 해 정

대진대학교 식품영양학과

Comparison of Total Polyphenols, Total Flavonoids, and Biological Activities of Black Chokeberry and Blueberry Cultivated in Korea

Hai-Jung Chung

Department of Food Science and Nutrition, Daejin University

ABSTRACT This study investigated the biological activities of 70% methanol extracts from black chokeberry and blueberry by measuring DPPH, superoxide anion and ABTS radical scavenging activities, metal chelating effect, reducing power, and nitrite scavenging activity. Extraction yields of black chokeberry and blueberry were 62.90% and 67.09%, respectively. Total polyphenol and total flavonoid contents were 117.20 mg/g and 32.50 mg/g for black chokeberry and 42.26 mg/g and 26.39 mg/g for blueberry, respectively. Black chokeberry had higher antioxidant activity than blueberry. DPPH and ABTS radical scavenging activities, nitrite scavenging activity, and metal chelating effect of black chokeberry were 98.29%, 96.68%, 97.64%, and 91.33%, respectively, at a concentration of 5 mg/mL, which were equal to those of ascorbic acid (positive control). These results suggest that black chokeberry has potent biological activities, and in the future, the availability of black chokeberry will increase in the field of value added food products.

Key words: black chokeberry, blueberry, extraction yield, biological activity

서 론

성인병 및 노화 관련 질환들은 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)과 관련성이 있는 것으로 알려져 있는데, 활성산소종에는 superoxide anion radical($\cdot O_2^-$), hydrogen peroxide(H_2O_2), hydroxyl radical(·OH), nitric oxide(NO) 등과 같이 반응성이 매우 큰 산소화합물이 포함된다(1,2). 이들은 체내의 화학적 또는 효소적 반응에 의해 생성되지만 glutathione peroxidase, superoxide dismutase, catalase 등의 항산화 효소와 식품으로부터 섭취하는 비타민 C, 비타민 E, 베타카로틴 등의 항산화 성분에 의해 제거된다(3,4). 그러나 어떤 병리학적 요인에 의하여 체내 산화-항산화 시스템 간에 균형이 깨져 활성산소종이 과잉으로 존재하게 되면 지질 과산화를 유도하고 조직의 세포를 손상시켜 심장질환, 뇌졸중, 암, 당뇨, 동맥경화 등 각종 질병을 유발하게 된다(5,6). 이에 활성산소종을 조절하거나 제거하는 능력을 지닌 물질 연구의 필요성이 제기되어 연구가 활발히 진행되고 있으며 특히 천연물을 이용한 소재 개발에 연구가 집중되고 있다.

블랙초크베리(black chokeberry)는 아로니아(*Aronia melanocarpa*)라고도 불리는 장미과(Rosaceae)에 속하는 베리류의 열매로 북아메리카가 원산지이며 미국 초기 정착인들과 인디언들이 여러 질병 치유를 위해 약재로 사용할 만큼 효과가 좋은 것으로 알려져 있다(7). 국내에서도 블랙초크베리에 대한 관심이 높아져 6~7년 전부터 농가에 도입되어 전국적으로 재배 붐이 일어나고 있으며 머지않아 블루베리의 인기를 뛰어 넘을 것으로 예상하고 있다(8). 블랙초크베리는 일반적으로 수분 84.36%, 조단백 0.7%, 조지방 0.14%, 회분 0.44%를 함유하는 것으로 보고되고 있다(9).

블루베리는 진달래과(Ericaceae) 산앵도나무속(*Vaccinium*) 작물로 북아메리카가 원산지이며 세계 10대 건강식품 중 하나에 포함되면서 그 수요가 급증하게 되었고 국내에는 2000년대 초반에 도입되어 전국에서 재배되고 있다(10,11). 블루베리에는 수분 84.60%, 조단백 0.70%, 조지방 0.40%, 회분 0.20%를 함유하는 것으로 보고된 바 있어(12) 블랙초크베리와 비교하여 유사한 일반성분 비율을 나타내고 있다.

이 같은 기본 영양성분 외에도 블랙초크베리와 블루베리에는 항산화 및 항암 작용을 하는 페놀성 물질이 함유되어 있고 특히 플라보노이드의 한 부류인 안토시아닌 색소가 다량 함유되어 있어 심장병 예방, 항암, 항염증, 항산화 작용

Received 13 May 2014; Accepted 23 June 2014
Corresponding author: Hai-Jung Chung, Department of Food Science and Nutrition, Daejin University, Pocheon, Gyeonggi 487-711, Korea
E-mail: haijung@daejin.ac.kr, Phone: +82-31-539-1861

등의 생리활성이 탁월한 것으로 보고되고 있다(13,14). 블랙초크베리와 블루베리가 건강식품으로서의 가치를 인정받으면서 우리나라에서도 그 수요 및 사용빈도가 증가하고 있으므로 국내 실정에 맞는 과학적 연구가 병행되어야 올바른 정보를 제공하고 이들의 오남용을 방지할 수 있을 것이다. 블랙초크베리에 대한 국내의 연구보고는 많지 않은 편이고 기능성을 보고한 연구는 거의 없는 실정이다. 이에 본 연구에서는 국내산 블랙초크베리와 블루베리의 생리활성을 탐색하고 비교함으로써 고부가가치 소재로서의 개발 타당성을 위한 기초자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 블랙초크베리는 충남 음성산을 2013년 9월에 구입하였고 블루베리는 전북 고창산을 2013년 7월에 구입하여 각각 조직을 파쇄한 후 -70°C에서 동결시킨 다음 동결건조기(TFD, Ilshin, Seoul, Korea)를 이용하여 건조하였다. 건조된 시료는 분말화한 후 -20°C에 냉동보관하며 사용하였다. Folin-Ciocalteau's phenol reagent, tannic acid, naringin, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), xanthine, xanthine oxidase, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS), potassium persulfate, potassium ferricyanide, ferrozine, sodium nitrite 등은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고 그 외에 사용된 시약은 특급 및 일급을 구입하여 사용하였다.

추출액의 제조 및 추출수율 측정

추출물의 제조는 각각의 분말 시료에 20배의 70% 메탄올을 가하고 80°C에서 2시간 환류냉각 추출과정을 2회 반복하였다. 추출액을 여과지(Whatman filter paper No.1, Springfield Mill, UK)로 여과한 후 진공농축기(Buchi R-114, Flawil, Switzerland)로 감압 농축하여 동결 건조시킨 다음 각각의 추출수율을 측정하였다. 이 중 일부를 취하여 0.5, 1, 3, 5 mg/mL의 농도가 되도록 dimethyl sulfoxide에 용해하여 시료를 제조하였으며, 양성대조군으로는 ascorbic acid를 시료와 동일 농도로 제조하여 사용하였다.

총 폴리페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Dewanto 등(15)의 방법에 따라 각 시료용액 0.1 mL에 증류수 1.9 mL와 Folin-Ciocalteau's phenol reagent 0.2 mL를 가하여 실온에서 3분간 반응시켰다. 여기에 포화 Na_2CO_3 용액 0.4 mL와 증류수 1.9 mL를 가하여 혼합하고 실온에서 1시간 반응시킨 후 725 nm (Smart Plus SP-1900PC, Seoul, Korea)에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 tannic acid를 이용하여 농도별 표준곡선을 작성한 후 총 폴리페놀 함량을 구하였다. 총 플라보노이드 함량은 Lee 등(16)의 방법을 변형하여 시료용액 0.2 mL에 1 N NaOH 0.6 mL와 diethylene glycol 4 mL를 가하여 37°C에서 1시간 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 naringin을 이용하여 표준곡선을 작성한 후 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

DPPH radical 소거능 측정

시료용액의 DPPH radical 소거능은 Blois(17)의 방법에 따라 시료용액 0.2 mL에 0.1 mM DPPH 용액 2 mL를 가하여 혼합하고 실온에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하여 시료용액 첨가군과 무첨가군 간의 흡광도 비(%)로 나타내었다.

Superoxide anion radical 소거능 측정

시료용액의 superoxide anion radical 소거능은 Wang 등(18)의 방법을 약간 응용하였다. 각 시료용액 50 μL에 0.4 mM xanthine과 0.24 mM Nitro Blue Tetrazolium(NBT)을 1:1로 혼합한 용액 1 mL, 0.049 U/mL의 xanthine oxidase 0.75 mL를 가한 다음 37°C에서 40분간 반응시켰다. 여기에 69 mM SDS 2 mL를 가하여 반응을 정지시킨 다음 560 nm에서 흡광도를 측정하여 시료용액 첨가군과 무첨가군의 흡광도 비(%)로 나타내었다.

ABTS radical 소거능 측정

시료 용액의 ABTS radical 소거능은 Re 등(19)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. ABTS 용액과 2.45 mM potassium persulfate를 14:1로 혼합(v/v)하여 실온의 어두운 곳에 20시간 동안 방치하였다. 그 후 증류수를 가하여 734 nm에서의 흡광도 값이 0.70 내외가 되도록 희석한 후 3 mL를 취하여 시료용액 30 μL를 가하고 실온에서 5분간 방치한 다음 734 nm에서 흡광도 값을 측정하여 시료용액 첨가군과 무첨가군 간의 흡광도 비(%)로 나타내었다.

금속 킬레이트 효과 측정

시료용액의 금속 킬레이트 효과(metal chelating effect)는 Gülçin(20)의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 각 시료용액 0.5 mL에 2 mM $FeCl_2$ 0.1 mL를 가하고 5 mM ferrozine 0.1 mL와 ethanol 2.8 mL를 가한 후 실온에서 10분간 방치한 다음 562 nm에서 흡광도를 측정하여 시료용액 첨가군과 무첨가군 간의 흡광도 비(%)로 나타내었다.

환원력 측정

시료용액의 환원력(reducing power)은 Wong과 Chye (21)의 방법을 변형하여 각 시료용액 0.5 mL에 0.2 M phosphate buffer(pH 6.6) 1 mL와 1% potassium ferricyanide 1 mL를 혼합하여 50°C에서 20분간 반응시킨 후 10% TCA 용액 1 mL를 가하였다. 이를 원심분리 하여 상층액 0.5 mL를 취하고 증류수 0.5 mL와 0.1% $FeCl_3$ 0.1 mL를 각각

혼합한 다음 700 nm에서 흡광도 값을 측정하였다.

아질산염 소거능 측정

시료용액의 아질산염 소거능(nitrite scavenging activity)은 Kato 등(22)의 방법을 응용하였다. 각 시료용액 0.4 mL에 1 mM sodium nitrite 0.2 mL와 0.1 N HCl(pH 1.2) 0.4 mL를 가하여 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 2% acetic acid 3 mL와 Griess 시약 0.4 mL를 가하고 잘 혼합하여 실온에서 15분간 방치한 다음 520 nm에서 흡광도를 측정하여 시료용액 첨가군과 무첨가군 간의 흡광도 비(%)로 나타내었다.

통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복 측정하였고 SPSS 12.0(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 평균±표준편차를 구하였다. 분산분석(ANOVA)을 실시하여 유의적 차이가 있는 항목은 Duncan의 다중범위검정(Duncan's multiple range test)을 실시하여 시료 간의 유의차를 $P<0.05$에서 검정하였다. 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량과 생리활성 간의 연관성을 알아보고자 Pearson 상관분석을 실시하여 상관계수(r, correlation coefficient)로 비교하였다.

결과 및 고찰

추출수율, 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량

블랙초크베리와 블루베리를 70% 메탄올로 추출하고 추출수율, 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 추출수율은 블루베리가 67.09%, 블랙초크베리가 62.90%로 두 시료 간에 유의적인 차이가 없었다. 폴리페놀 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있으며 분자 내에 두 개 이상의 phenolic hydroxyl기를 가지고 있는 방향족 화합물로(23) 단백질 및 여러 화합물과 쉽게 결합하는 특성을 가지고 있어 항산화, 항암, 항염, 시력증진 등의 효과가 우수한 것으로 보고되고 있다(24-26). 블랙초크베리와 블루베리의 총 폴리페놀 함량은 117.20 mg/g과 42.26 mg/g으로 나타나 블랙초크베리가 약 2.8배 더 높은 함량을 보였다($P<0.05$). 총 플라보노이드 함량은 블랙초크베리가 32.50 mg/g, 블루베리가 26.39 mg/g으로 유의적인 차이가 없었다. Hwang 등(27)은 블랙초크베리와 블루베리의 70% 에탄올 추출물에서 총 폴리페놀 함량이 각각 110 mg/g과 27.4 mg/g으로 나타났다고 보고하여 본 실험의 결과와 유사한 경향을 보인 반면, 총 플라보노이드 함량은 각각 5.3 mg/g과 1.6 mg/g으로 보고하여 본 실험의 결과보다 낮은 값을 보고하였다. Jeong 등(28)의 연구에서는 블루베리 80% 메탄올 추출물의 총 페놀 함량이 9.028 mg/g이라고 보고하여 본 실험의 결과보다 낮은 값을 보고하였다. Jeong(7)은 아로니아 주정 추출물의 총 페놀성 화합물이 745.4 mg/g, 플라보노이드가 74.63 mg/g 함유되어 있는 것으로 보고하여 본 실험의 결과보다 높게 나타났다. 이처럼 실험 결과에 차이가 나는 것은 각기 다른 재배지, 품종, 건조방법, 추출용매, 추출방법 등에서 비롯된 것으로 추측된다. 블랙초크베리와 블루베리에 함유되어 있는 주된 폴리페놀 화합물은 neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cyanidin-3-arabinoside, cyanidin-3-galactoside, quercetin-3-rutinoside 등(27,29)이며 폴리페놀 화합물은 항산화 활성과 관련이 높은 것으로 보고(30)되고 있어, 본 실험의 경우 총 폴리페놀 함량이 높은 블랙초크베리에서 항산화 활성이 높게 나타날 것으로 예측하고 있다.

Table 1. Extraction yield, total polyphenol and total flavonoid contents of black chokeberry and blueberry cultivated in Korea

	Yield (%)	Total polyphenol (mg/g)	Total flavonoid (mg/g)
Black chokeberry	62.90±1.13	117.20±3.95[b1)]	32.50±3.19
Blueberry	67.09±1.56	42.26±2.80[a]	26.39±0.81

[1)]Different letters in the same column indicate significantly different at $P<0.05$.

DPPH radical 소거능

DPPH는 짙은 보라색을 띠는 비교적 안정한 free radical로서 cysteine, glutathione, ascorbic acid, aromatic amine 등 항산화 활성을 갖는 물질로부터 전자나 수소를 제공받으면 환원되면서 노란색으로 탈색되므로 항산화능 측정에 많이 이용되고 있다(31,32). 블랙초크베리와 블루베리의 DPPH radical 소거능을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 블랙초크베리는 0.5 mg/mL의 농도에서 39.37%의 소거능을 나타내었고 1 mg/mL와 3 mg/mL에서는 각각 63.30%와 95.26%로 농도 의존적으로 증가하였으나 그 이상의 농도에서는 유의적인 증가 없이 5 mg/mL에서 98.29%를 나타내며 양성대조군으로 사용한 ascorbic acid의 소거능 97.48%와 대등한 활성을 나타내었다($P<0.05$). Jeong(7)은 아로니아 추출물의 DPPH radical 소거능을 측정한 결과, 양성대조군으로

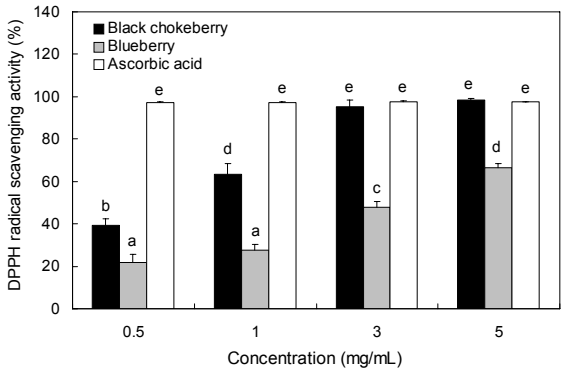

Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of 70% methanol extracts from black chokeberry and blueberry cultivated in Korea. Different letters above the bars indicate significantly different at $P<0.05$.

사용한 비타민 C보다 약 1.5배 우수한 radical 포착 효능을 나타내었다고 보고하였다. 블루베리는 시료 농도 0.5 mg/mL에서 21.73%를 나타내었고 1 mg/mL, 3 mg/mL, 5 mg/mL에서 각각 27.46%, 47.65%, 66.43%로 농도 증가에 따라 증가하는 경향이었으나 블랙초크베리의 약 0.6~0.8배에 해당하는 활성을 보여주었다. Park 등(33)은 국내산 블루베리의 물 추출물 및 50% 에탄올 추출물의 DPPH radical 소거능을 측정한 결과 각각 50.09%와 77.642%라고 보고하였다. 본 실험에서 블루베리의 소거능이 블랙초크베리의 소거능보다 낮게 나타난 것은 총 폴리페놀 함량이 블랙초크베리보다 낮은 결과와 관련이 있는 것으로 추측된다.

Superoxide anion radical 소거능

Superoxide anion radical은 xanthine-xanthine oxidase 반응에 의하여 생성되고 이때 공존하는 NBT를 환원시켜 청색을 띠게 되는데 시료 중에 항산화 물질이 존재하면 superoxide anion radical-NBT complex의 형성을 방해하여 청색이 탈색된다(7,20). Superoxide anion radical은 독성이 강한 radical로 노화와 관련된 산화반응의 개시단계에 관여하고 있다. 또한 hydrogen peroxide, hydroxyl radical, singlet oxygen 등의 전구체로 작용하므로 이 radical에 대한 소거활성 측정은 시료의 항산화 물질 탐색에 효과적인 방법으로 알려져 있다(34). 블랙초크베리와 블루베리의 superoxide anion radical 소거능을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 블랙초크베리는 시료 농도 0.5 mg/mL에서 42.01%를 나타내어 블루베리보다 5배 이상의 높은 활성을 보였고, 1 mg/mL와 3 mg/mL에서는 59.54%와 74.23%로 농도 의존적으로 증가하는 경향을 보였으며, 5 mg/mL에서는 81.44%로 3 mg/mL에서와 유의적인 차이를 보이지 않았다. 블루베리는 동일 농도 범위에서 7.99~59.53%를 나타내어 블랙초크베리의 약 0.2~0.7배에 해당하는 낮은 활성을 보여주었다. 양성대조군으로 사용한 ascorbic acid는 0.5 mg/mL와 1 mg/mL에서 각각 27.06%와 49.74%를 보였으나 그 이상의 농도에서는 활성이 나타나지 않아 superoxide anion radical을 포착하는 능력에는 최적의 농도가 있는 것으로 추측된다. Jeong 등(35)은 비타민 C, 비타민 E, butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene 등의 상용 항산화제에서 superoxide anion radical 소거능이 나타나지 않았다고 보고하였다. 이로써 본 실험에서 조사한 농도 범위에서는 블랙초크베리가 ascorbic acid보다 우수한 활성을 가진 것을 알 수 있었다.

ABTS radical 소거능

ABTS 용액과 potassium persulfate를 암소에서 반응시키면 ABTS cation radical($ABTS^{\cdot+}$)이 생성되어 청록색을 띠게 되고 시료 중에 항산화 활성을 갖는 물질이 존재하면 ABTS cation radical이 소거되어 청록색이 탈색되면서 흡광도의 변화를 나타내게 된다. 이 방법은 단시간 내에 측정이 가능하고 친수성 및 소수성 물질의 항산화 활성 측정에 모두 적용할 수 있어(19) 많이 사용되고 있다. 블랙초크베리와 블루베리의 ABTS radical 소거능 측정 결과는 Fig. 3과 같다. 블랙초크베리는 0.5 mg/mL에서 12.12%의 소거능을 나타내었고 농도 증가에 따라 유의적으로 증가하여 1 mg/mL와 3 mg/mL에서는 각각 32.13%와 64.23%를 나타내었으며 5 mg/mL에서는 96.68%를 나타내어 ascorbic acid와 대등한 활성을 보여주었다($P<0.05$). 블루베리는 4.73~27.58%의 범위로 모든 농도에서 블랙초크베리의 약 1/3에 해당하는 낮은 활성을 보여주었다. 이러한 결과는 Hwang 등(27)의 연구에서 블랙초크베리의 ABTS radical 소거능은 10~500 μg/mL의 농도 범위에서 4.6~46.3%, 블루베리의 소거능은 2.3~8.6%로 블랙초크베리보다 낮은 활성을 보였다고 보고하여 본 실험의 결과와 유사하였다.

금속 킬레이트 효과

금속 킬레이트 효과는 ferrozine이 금속 이온 중 Fe^{2+}와 반응하여 복합체를 형성하면 붉은색을 띠게 되고 이때 시료 추출물 중에 킬레이트 효과를 가진 성분이 존재하면 Fe^{2+}-ferrozine 복합체 형성을 방해하여 발색이 저해되는 원리를

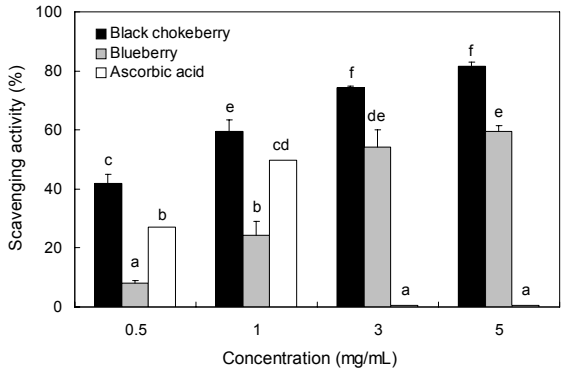

Fig. 2. Superoxide anion radical scavenging activity of 70% methanol extracts from black chokeberry and blueberry cultivated in Korea. Different letters above the bars indicate significantly different at $P<0.05$.

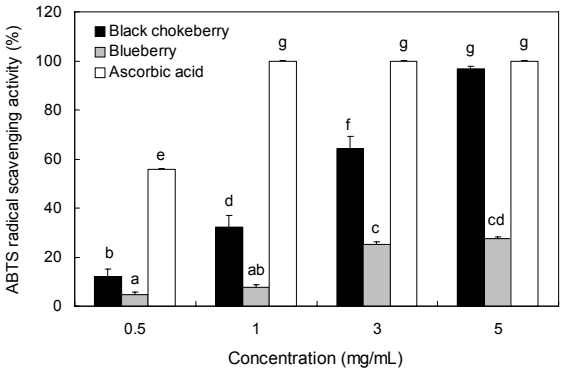

Fig. 3. ABTS radical scavenging activity of 70% methanol extracts from black chokeberry and blueberry cultivated in Korea. Different letters above the bars indicate significantly different at $P<0.05$.

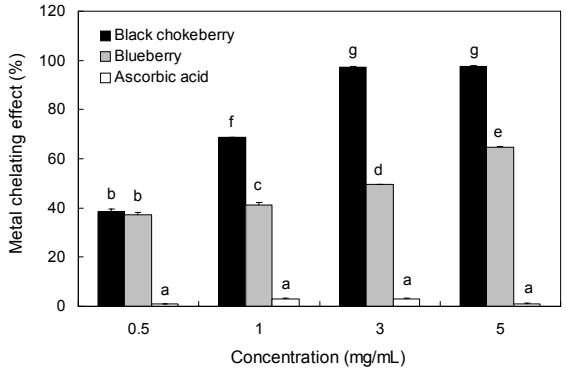

Fig. 4. Metal chelating effects of 70% methanol extracts from black chokeberry and blueberry cultivated in Korea. Different letters above the bars indicate significantly different at $P<0.05$.

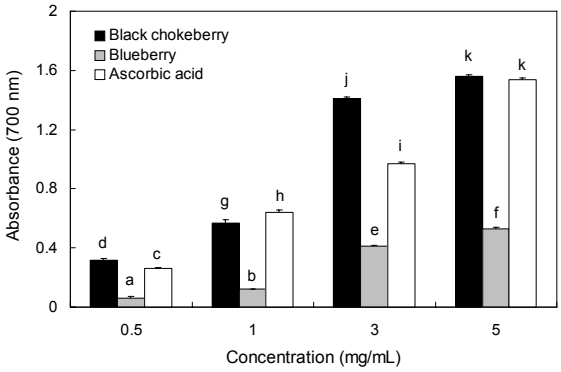

Fig. 5. Reducing power of 70% methanol extracts from black chokeberry and blueberry cultivated in Korea. Different letters above the bars indicate significantly different at $P<0.05$.

이용하여 측정하였다(32). 블랙초크베리와 블루베리의 금속 킬레이트 효과는 Fig. 4와 같다. 시료 농도 0.5 mg/mL, 1 mg/mL, 3 mg/mL에서 블랙초크베리는 각각 38.55%, 68.57%, 97.17%를 나타내어 농도 증가에 따라 점차 증가하는 것으로 나타났으며 그 이상의 농도에서는 큰 변화 없이 5 mg/mL에서 97.64%를 나타내었다($P<0.05$). 블루베리는 0.5 mg/mL에서 37.22%를 나타내었고 1 mg/mL, 3 mg/mL, 5 mg/mL에서는 각각 41.22%, 49.45%, 64.81%로 농도 의존적으로 점차 증가하였으나 블랙초크베리의 효과에는 미치지 못하는 것으로 나타났다($P<0.05$). 양성대조군으로 사용한 ascorbic acid는 모든 농도에서 활성이 거의 나타나지 않았는데 이러한 결과는 Yen 등(36)의 연구에서 ascorbic acid는 Fe^{2+}에 대한 킬레이트 효과가 없으며 오히려 prooxidant로 작용함을 시사한 보고와 유사하였다. Kanner 등(37)은 ascorbic acid가 처리 조건 및 농도에 따라 antioxidant 또는 prooxidant로 모두 작용할 수 있다고 하였다. 이상의 결과들을 종합하여 볼 때 금속이온 Fe^{2+}에 대한 킬레이트 효과는 양성대조군보다 블랙초크베리 및 블루베리가 우수한 것을 알 수 있었으며 블랙초크베리는 블루베리보다 더 탁월한 효과를 보여주었는데 이는 총 폴리페놀 함량과 상관성이 있는 것으로 추측된다.

환원력

식물 추출물에서 나타나는 환원력은 항산화 활성과 밀접한 관계가 있다. 시료 추출물 중에 항산화 물질이 존재하면 ferric ion(Fe^{3+})-ferricyanide 복합체를 ferrous(Fe^{2+}) 상태로 환원시키면서 푸른색을 띠게 되고(32) 700 nm에서 최대의 흡광도를 가지게 된다. 이때 흡광도 수치는 그 자체가 시료의 환원력을 나타내므로 발색 정도가 높을수록 높은 환원력을 나타낸다고 할 수 있다(20). 블랙초크베리와 블루베리의 환원력을 측정한 결과는 Fig. 5와 같다. 블랙초크베리는 시료 농도 증가에 따라 점차 증가하는 경향을 보여 0.5 mg/mL와 1 mg/mL에서 각각 0.32와 0.57을 나타내었고, 3 mg/mL의 농도에서는 1.41을 나타내어 ascorbic acid의 0.94보다 높은 수치를 보였으며, 5 mg/mL에서는 1.56으로 ascorbic acid의 1.54와 대등한 환원력을 보였다($P<0.05$). 블루베리는 0.5~5.0 mg/mL의 농도 범위에서 0.06~0.53의 환원력을 나타냄으로써 블랙초크베리의 0.2~0.3배에 해당하는 낮은 환원력을 보여주었다. Hwang 등(27)의 연구에서 블랙초크베리는 500 μg/mL의 농도에서 0.71의 흡광도를 나타내어 ascorbic acid의 농도 50 μg/mL에서와 비슷한 환원력을 보여주었고 모든 농도에서 블루베리보다 높은 환원력을 나타냈다고 보고하여 본 실험의 결과와 유사하였다.

아질산염 소거능

아질산염은 염지 육제품에 산화 방지, 육색의 고정 및 발색제로서 뿐만 아니라 *Clostridium botulinum*의 억제제로 중요하게 사용되고 있는데 그 자신이 독성을 가지고 있어 일정한 농도 이상 계속 섭취하면 혈액 중의 헤모글로빈을 산화시켜 메트헤모글로빈산화증을 유발할 수 있다(38). 질산염은 질산 환원 효소나 아질산염 환원 세균에 의해 아질산염으로 환원되며 단백질 식품, 의약품 등에 존재하는 2급 및 3급 아민류와 반응하여 발암물질인 nitrosamine을 생성

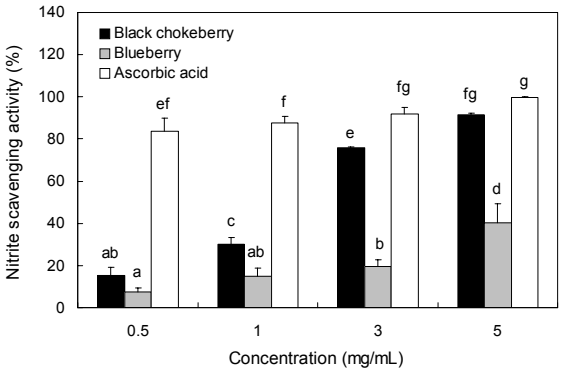

Fig. 6. Nitrite scavenging activity of 70% methanol extracts from black chokeberry and blueberry cultivated in Korea. Different letters above the bars indicate significantly different at $P<0.05$.

Table 2. Correlation coefficient (r) between total polyphenol content, total flavonoid content and antioxidant activities from black chokeberry cultivated in Korea

	TPC[1)]	TFC	DPPH	SOA	ABTS	MEC	REP	NSA
TPC	1	0.997**	0.903**	0.917**	0.989**	0.867**	0.951**	0.968**
TFC		1	0.901**	0.912**	0.984**	0.862**	0.946**	0.961**
DPPH			1	0.961**	0.929**	0.986**	0.977**	0.961**
SOA				1	0.961**	0.979**	0.953**	0.964**
ABTS					1	0.912**	0.958**	0.978**
MEC						1	0.955**	0.946**
REP							1	0.994**
NSA								1

[1)]TPC: total polyphenol content, TFC: total flavonoid content, DPPH: DPPH radical scavenging activity, SOA: superoxide anion radical scavenging activity, ABTS: ABTS radical scavenging activity, MEC: metal chelating effect, REP: reducing power, NSA: nitrite scavenging activity. **P<0.01.

Table 3. Correlation coefficient (r) between total polyphenol content, total flavonoid content and antioxidant activities from blueberry cultivated in Korea

	TPC[1)]	TFC	DPPH	SOA	ABTS	MEC	REP	NSA
TPC	1	0.999**	0.895**	0.914**	0.984**	0.864**	0.947**	0.969**
TFC		1	0.899**	0.917**	0.987**	0.866**	0.950**	0.970**
DPPH			1	0.961**	0.929**	0.986**	0.977**	0.961**
SOA				1	0.961**	0.979**	0.953**	0.964**
ABTS					1	0.912**	0.958**	0.978**
MEC						1	0.955**	0.946**
REP							1	0.994**
NSA								1

[1)]TPC: total polyphenol content, TFC: total flavonoid content, DPPH: DPPH radical scavenging activity, SOA: superoxide anion radical scavenging activity, ABTS: ABTS radical scavenging activity, MEC: metal chelating effect, REP: reducing power, NSA: nitrite scavenging activity. **P<0.01.

한다(3,39). 이 같은 반응은 인체 내 위의 pH와 같은 산성조건에서 쉽게 일어나기 때문에 nitrosamine 생성을 억제하는 물질에 대한 관심과 연구가 활발히 이루어지고 있다. 블랙초크베리와 블루베리의 아질산염 소거능을 측정한 결과는 Fig. 6과 같다. 시료 농도 0.5 mg/mL, 1 mg/mL, 3 mg/mL에서 블랙초크베리는 각각 15.16%, 30.09%, 75.70%를 나타내었고 5 mg/mL에서는 91.33%를 나타내었는데 이는 ascorbic acid의 99.79%와 대등한 활성이었다. 반면에 블루베리의 소거능은 모든 농도 범위에서 블랙초크베리의 1/2 이하로 나타나 0.5 mg/mL에서 7.24%, 1 mg/mL, 3 mg/mL, 5 mg/mL에서 각각 14.82%, 19.63%, 40.13%를 나타내었다. 본 실험 결과 블랙초크베리는 높은 아질산염 소거능을 보이므로 블랙초크베리 추출물을 질산염이나 아질산염이 함유되어 있는 가공식품과 함께 섭취할 경우 nitrosamine의 생성을 강력하게 억제하여 항암작용에 기여할 것으로 기대된다.

상관관계

블랙초크베리와 블루베리 추출물의 폴리페놀 함량, 플라보노이드 함량과 생리활성 간의 상관관계를 조사한 결과는 Table 2 및 Table 3과 같다. 블랙초크베리의 경우 총 폴리페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량은 본 연구에서 조사한 생리활성과 모두 양(+)의 상관관계를 나타내었는데(Table 2) 이는 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 농도가 증가할수록 항산화 활성이 증가하였다는 것을 의미하며 Hwang 등(27)의 연구에서도 동일한 경향을 보고하였다. 특히 총 폴리페놀 함량과 ABTS radical 소거능 간에는 가장 높은 양의 상관관계(r=0.989)를 나타내었고 그 다음 아질산염 소거능(r=0.968)> 환원력(r=0.951)> superoxide anion radical 소거능(r=0.917) 순으로 나타났다(P<0.05). 블루베리도 블랙초크베리 경우에서와 같은 경향을 보여주어 총 폴리페놀 함량과 ABTS radical 소거능, 아질산염 소거능, 환원력, superoxide anion radical 소거능 사이에 각각 r=0.984, r=0.969, r=0.947, r=0.914의 강한 양의 상관성을 나타내었다(Table 3). Terpinc 등(40)은 페놀성 화합물 이외에 ascorbic acid, 비타민 E, carotenoid, sodium sulfite 등의 물질이 존재하면 항산화능이 증가한다고 보고하였다. 그럼에도 불구하고 본 실험 결과 블랙초크베리와 블루베리의 생리활성은 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량과 매우 높은 상관성을 나타냄으로써 이들이 항산화능 및 기능성에 주된 물질로 작용했음을 보여주고 있다.

요 약

본 연구에서는 국내에서 생산되는 블랙초크베리와 블루베리의 기능적 특성을 비교 조사하기 위하여 총 폴리페놀 함

량, 총 플라보노이드 함량, DPPH radical 소거능, superoxide 음이온 소거능, ABTS radical 소거능, 금속 킬레이트 효과, 환원력, 아질산염 소거능 등을 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 블랙초크베리가 117.20 mg/g, 블루베리가 42.26 mg/g이었으며 총 플라보노이드 함량은 블랙초크베리가 32.50 mg/g, 블루베리가 26.39 mg/g으로 나타났다. 생리활성 측정 결과 블랙초크베리는 본 실험에서 조사한 기능성에서 탁월한 활성을 나타내었는데 추출물의 농도가 증가함에 따라 전반적으로 활성이 증가하는 경향을 보였으며, 특히 DPPH radical 소거능, ABTS radical 소거능, 금속 킬레이트 효과, 아질산염 소거능은 5 mg/mL의 농도에서 90% 이상의 활성을 나타냄으로써 양성대조군으로 사용한 ascorbic acid의 활성과 대등하였다. 블루베리도 추출물의 농도 증가에 따라 활성이 증가하는 경향을 나타내었으나 블랙초크베리의 0.2~0.7배에 해당하는 낮은 활성을 나타내어 블랙초크베리보다 기능성이 떨어지는 것을 알 수 있었다. 블랙초크베리와 블루베리 추출물의 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량과 생리활성 간의 상관관계를 조사한 결과, 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 농도가 증가할수록 생리활성이 증가하는 경향을 나타내었고 이들 간에는 높은 양(+)의 상관성이 있음을 보여주었다.

감사의 글

이 논문은 2014학년도 대진대학교 학술연구비 지원에 의하여 수행되었기에 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Matés JM. 2000. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology* 153: 83-104.
2. Samak G, Shenoy RP, Manjunatha SM, Vinayak KS. 2009. Superoxide and hydroxyl radical scavenging actions of botanical extracts of *Wagatea spicata*. *Food Chem* 115: 631-634.
3. Min KJ, Cheon JU, Cha CG. 2008. Anti-oxidative and anti-cancer activities of extracting of Yacon. *J Fd Hyg Safety* 23: 163-168.
4. Kang YK, Lee EA, Park HR. 2012. Neuroprotecitve effect according to reactive oxygen species scavenging activity from extracts of *Cudrania tricuspidata* leaves. *Korean J Food Cookery Sci* 28: 821-828.
5. Wickers AP. 2001. Ageing and the free radical theory. *J Respir Physiol* 128: 379-391.
6. Wiseman H. 1996. Important in protection against oxidative damage and disease. *Nutr Biochem* 7: 2-6.
7. Jeong JM. 2008. Antioxidative and antiallergic effects of aronia (*Aronia melanopcarpa*) extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 1109-1113.
8. Hwang ES, Lee YJ. 2013. Quality characteristics and antioxidant activities of yanggaeng with aronia juice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 45: 416-421.
9. Tsuneo T, Akira T. 2001. Chemical components and characteristics of black chokeberry. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 48: 606-610.
10. Zheng W, Wang SY. 2003. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and ligonberries. *J Agric Food Chem* 51: 502-509.
11. Hong SK, Choi HW, Lee YK, Lee SY, Kim WG. 2011. Occurrence of gray mold on blueberry trees caused by *Botrytis cinerea* in Korea. *Kor J Mycol* 39: 213-216.
12. The Korean Nutrition Society. 2000. *Recommended dietary allowances for Koreans*. 7th ed. The Korean Nutrition Society, Seoul, Korea. p 320-321.
13. Hou DX. 2003. Potential mechanisms of cancer chemoprevention by anthocyanins. *Curr Mol Med* 3: 149-159.
14. Tsang C, Higgins S, Duthie GG, Duthie SJ, Howie M, Mullen W, Lean ME, Crozier A. 2005. The influence of moderate red wine consumption on antioxidant status and indices of oxidative stress associated with CHD in healthy volunteers. *Br J Nutr* 93: 233-240.
15. Dewanto V, Wu X, Liu RH. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50: 4959-4964.
16. Lee YC, Hwang KH, Han DH, Kim SD. 1997. Compositions of *Opuntia ficus-indica*. *Korean J Food Sci Technol* 29: 847-853.
17. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
18. Wang J, Yuan X, Jin Z, Tian Y, Song H. 2007. Free radical and reactive oxygen species scavenging activities of peanut skins extract. *Food Chem* 104: 242-250.
19. 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 Radic Biol Med* 26: 1231-1237.
20. Gülçin I. 2006 Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology* 217: 213-220.
21. Wong JY, Chye FY. 2009. Antioxidant properties of selected tropical wild edible mushrooms. *J Food Compos Anal* 22: 269-277.
22. Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric Biol Chem* 51: 1333-1338.
23. Yu MH, Im HG, Lee HJ, Ji YJ, Lee IS. 2006. Components and their antioxidative activities of methanol extracts from sarcocarp and seed of *Zyzypus jujuba* var. inermis rehder. *Korean J Food Sci Technol* 38: 128-134.
24. Kang MH, Cho CS, Kim ZS, Chung HK, Min KS, Park CG, Park HW. 2002. Antioxidative activities of ethanol extract prepared from leaves, seed, branch and aerial part of *Crotalaria sessiflora* L. *Korean J Food Sci Technol* 34: 1098-1102.
25. Lee SY, Shin YJ, Park JH, Kim SM, Park CS. 2008. An analysis of the Gyungokgo's ingredients and a comparison study on anti-oxidation effects according to the kinds of extract. *Kor J Herbology* 23: 123-136.
26. Kalt W, Hanneken A, Milbury P, Tremblay F. 2010. Recent research on polyphenolics in vision and eye health. *J Agric Food Chem* 58: 4001-4007.
27. Hwang SJ, Yoon WB, Lee OH, Cha SJ, Kim JD. 2014. Radical-scavenging-linked antioxidant activities of extracts from black chokeberry and blueberry cultivated in Korea. *Food Chem* 146: 71-77.
28. Jeong CH, Choi SG, Heo HJ. 2008. Analysis of nutritional compositions and antioxidative activities of Korean commercial blueberry and raspberry. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 1375-1381.
29. Jakobek L, Drenjancevic M, Jukic V, Seruga M. 2012. Phe-

nolic acids, flavonols, anthocyanins and antiradical activity of "Nero", "Viking", "Galicianka" and wild chokeberries. *Sci Hortic* 147: 56-63.
30. Lee SY, Hwang EJ, Kim GH, Choi YB, Lim CY, Kim SM. 2005. Antifungal and antioxidant activities of extracts from leaves and flowers of *Camellia japonica* L. *Korean J Medicinal Crop Sci* 13: 93-100.
31. Kim KB, Yoo KH, Park HY, Jeong JM. 2006. Anti-oxidative activities of commercial edible plant extracts distributed in Korea. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49: 328-333.
32. Gulcin I, Berashvili D, Gepdiremen A. 2005. Antiradical and antioxidant activity of total anthocyanins from *Perilla pankinensis* decne. *J Ethmopharmacol* 101: 287-293.
33. Park HM, Yang SJ, Kang EJ, Lee DH, Kim SI, Hong JH. 2012. Quality characteristics and granule manufacture of mulberry and blueberry fruit extracts. *Korean J Food Cookery Sci* 28: 375-382.
34. Jin SY. 2011. Study on antioxidant activities of extracts from different parts of Korean and Iranian pomegranates. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1063-1072.
35. Jeong SJ, Lee H, Song HN, Seong NS, Lee SE, Baeg NI. 2004. Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 47: 135-140.
36. Yen GC, Duh PD, Tsai HL. 2002. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Food Chem* 79: 307-313.
37. Kanner J, Mendel H, Budowski P. 1977. Prooxidant and antioxidant effects of ascorbic acid and metal salts in a β-carotene-linoleate model system. *J Food Sci* 42: 60-64.
38. Jeong CH, Nam EK, Shim KH. 2006. Antioxidative activities and nitrate scavenging activity in different parts of *Erigeron annuus*. *J Agric Life Sci* 40: 13-29.
39. Fiddler W, Pensabene JW, Kushnir I, Piotrowski EG. 1973. Effect of frankfurter cure ingredients on N-nitrosodimethylamine formation in a model system. *J Food Sci* 38: 714-717.
40. Terpinc P, Ceh B, Ulrih NP, Abramovic H. 2012. Studies of the correlation between antioxidant properties and the total phenolic content of different oil cake extracts. *Ind Crops Prod* 39: 210-217.