

국내 재배 베리류의 화학 조성 및 기능성 성분과 항산화 활성

이용철^{1,2} · 이집호² · 김성단² · 장민수² · 조인순² · 김시정² · 황금택¹ · 조한빈² · 김정현²

¹서울대학교 식품영양학과·생활과학연구소

²서울특별시 보건환경연구원

Chemical Composition, Functional Constituents, and Antioxidant Activities of Berry Fruits Produced in Korea

Yongcheol Lee^{1,2}, Jib-Ho Lee², Sung-Dan Kim², Min-Su Chang², In-Soon Jo²,
Si-Jeong Kim², Keum Taek Hwang¹, Han-Bin Jo², and Jung-Hun Kim²

¹Department of Food and Nutrition, and Research Institute of Human Ecology, Seoul National University

²Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment

ABSTRACT Berry fruits are rich in phytochemicals, including polyphenols, anthocyanins, phenolic acids, and organic acids, which are known to have beneficial effects on health. The aim of this study was to investigate chemical composition, functional constituents, and antioxidant activities of mulberry, black raspberry, raspberry, and blueberry cultivated in Korea. Acidity of the four berries ranged from 0.26% to 1.10%, and pH ranged from 3.3 to 5.2. Total mineral contents of the four berries ranged from 92.9 to 256.0 mg/100 g. Among the berries, mulberry contained the most abundant total free sugars, and glucose and fructose were the major sugars in the berries. Mulberry contained more than three times as much γ -aminobutyric acid as the content of the other berries. Blueberry contained more free phenolic acid than the other berries. Especially, chlorogenic acids were the major free phenolic acids in blueberry. Black raspberry had the highest amount of polyphenols, anthocyanins, and flavonoids among the berries and showed the highest antioxidant activity.

Key words: polyphenol, anthocyanin, mulberry, raspberry, blueberry

서 론

최근 암, 당뇨, 고혈압, 심혈관계 질환 등과 같은 만성질환 유병률이 증가하고 건강에 대한 관심이 증대됨에 따라 이들 질병을 예방하거나 지연시키기 위한 노력들이 활발히 진행되고 있다. 따라서 식물에 존재하는 기능성 물질을 탐색하고 생리활성을 규명하여 건강에 도움을 줄 수 있는 건강기능성 식품 소재로서의 식물 자원의 영역 확대와 더불어 각종 과일과 이를 이용한 여러 가지 제품 개발에 관한 연구가 증가하는 추세이다(1-3). 특히 베리류 과일은 anthocyanin 색소가 다른 과일에 비해 풍부하고, polyphenol, phenolic acid(PA), tannin 및 유기산 등이 함유되어 있어서 항산화, 항암, 항염증, 심혈관계 질환 예방 등에 효과가 있다고 알려져 있다(4-7). 국내에서 재배되는 대표적인 베리류 중 하나인 오디(mulberry)는 뽕나무과(*Moraceae*)에 속하는 뽕나무(*Morus alba* L.)의 열매로서 전통적으로 당뇨병 및 노화 예방, 관절

염 치료 등에 식용 및 약용으로 쓰여 왔다. *Rubus* 속 식물인 나무딸기류 중 상업적으로 가장 중요한 품종은 라즈베리(raspberry, *Rubus idaeus*) 및 블랙라즈베리(black raspberry, *Rubus occidentalis*)이며(8), 국내에서는 주로 블랙라즈베리가 보급되어 재배되고 있다. 블루베리(blueberry, *Vaccinium corymbosum*)는 산앵두나무속에 속하는 관목성 식물로 국내에서 그 수요가 증가하여 2010년 약용식물 재배업 실태조사에 따르면 우리나라의 재배면적이 복분자(블랙라즈베리)보다 2배 이상인 것으로 보고되었다(9).

베리류는 항산화 활성을 가지며 phenolic compound가 특히 이 활성에 기여한다고 알려져 있다. 따라서 이에 대한 베리류의 기능성 연구가 활발히 진행되고 있는데, 국외 연구로는 6종 베리류의 phenolic compound와 항암 효능 연구(6), 재배 및 야생 베리 25종에 함유된 당, 유기산, phenolic compound의 분석(10), 3종 이상의 베리류 품종별 anthocyanin과 phenolic compound 함량 및 항산화능 연구(7) 등 여러 베리 및 다양한 품종별 연구가 보고되었다. 그에 비해 국내에는 품종별 오디(11)와 라즈베리를 비롯한 나무딸기류(8,12)의 화학적 조성 및 기능성 분 및 항산화 활성 연구, 그리고 블랙라즈베리와 오디의 항산화 특성(13), 국내산

Received 27 May 2015; Accepted 26 July 2015

Corresponding author: Keum Taek Hwang, Department of Food and Nutrition, and Research Institute of Human Ecology, Seoul National University, Seoul 08826, Korea
E-mail: keum@snu.ac.kr, Phone: +82-2-880-2531

블랙초크베리와 블루베리의 polyphenol 및 생리활성 비교(14), 국내 시판 블루베리와 라즈베리의 영양성분 및 항산화 활성(15) 등 단일 베리 및 단일 베리 품종, 혹은 단지 두 종 베리류 간의 연구가 대부분이고 여러 종의 베리류를 동시에 분석하여 비교한 연구는 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 국내에서 재배되고 있는 대표 베리류의 기능성을 파악하고 이를 이용한 제품 개발을 위한 기초 자료를 제공하고자 오디, 블랙라즈베리, 라즈베리, 블루베리에 대한 화학 조성 및 phenolic compound 등의 기능성 성분과 항산화 활성을 조사하였다.

재료 및 방법

실험 재료

오디(청일뽕), 블랙라즈베리, 라즈베리, 블루베리(하이부시블루베리)는 2013년 6~7월에 걸쳐 전라북도 고창군 소재 농장에서 수확한 것을 냉동상태로 구입하였고, -20°C의 냉동고에 보관하여 실험에 사용하였다. Total polyphenol, phenolic compound, total anthocyanin, total flavonoid 및 항산화 활성 분석을 위한 추출물 시료는 다음과 같이 조제하여 사용하였다. 과일 약 15 g에 5%(v/v) formic acid (Kanto Chemical Co., Tokyo, Japan)를 함유한 50%(v/v) methanol(Merck Chemicals, Darmstadt, Germany) 용액 (pH 1.73) 100 mL를 넣고 균질기(Omni Macro Homogenizer, Omni International, Kennesaw, GA, USA)를 이용하여 3,000 rpm으로 10분 동안 분쇄, 교반한 후 1시간 동안 40°C의 항온수조에서 진탕하며 추출하였다. 여과지(Shark Skin Paper, E&K Scientific Products, Santa Clara, CA, USA)로 여과한 후 회전농축기(Genevac Evaporation EZ-2 MK2, Genevac Ltd., Ipswich, UK)로 감압, 농축한 용액을 증류수를 이용하여 50 mL로 희석하였고, 이 추출물 시료를 소분하여 -20°C에 냉동 보관 후 해동하여 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 증류수는 PRIMA & UHQ-MKII Water Purification(ELGA, Bucks, UK)을 이용하여 정제 후 사용하였다.

pH 및 산도

과일 약 10 g을 증류수 100 mL에 넣고 균질기(Omni Macro Homogenizer)를 이용하여 3,000 rpm으로 5분간 분쇄하며 추출한 후 이 중 20 mL를 분석에 사용하였다. pH는 pH meter(Orion 3 Star pH Portable, Thermo Scientific Inc., Waltham, MA, USA)를 이용하여 측정하였고, 산도(% w/w)는 pH가 8.2가 되는 데 소요되는 0.1 N sodium hydroxide(Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japan)의 소비량을 구하여 산출하였다.

유리당 분석

과일 50개 이상을 분쇄하여 균질화한 시료 약 2 g을 넣고

50%(v/v) ethanol(Fisher Scientific Korea Ltd., Seoul, Korea) 20 mL로 진탕 추출한 후 5분간 3,000 rpm에서 원심분리(Combi-514R, Hanil Science Industrial Co., Incheon, Korea) 하였다. 하층 잔여물에 위의 과정을 반복하여 상층액을 50 mL 부피플라스크에 정용한 후 0.45 µm nylon filter(Chemco Scientific Co., Osaka, Japan)로 여과하여 HPLC 분석에 사용하였다. HPLC는 Agilent Technologies 1200 Series(Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)에 evaporative light scattering detector(Agilent Technologies)를 장착하여 사용하였다. 40°C에서 carbohydrate 칼럼(4.6×250 mm, 5 µm, Agilent Technologies)에 이동상 용액 75% acetonitrile(Merck Chemicals)을 분당 1.0 mL 유속으로 25분 동안 분석하였다. 표준품은 Dr. Ehrenstorfer(Augsburg, Germany)에서 생산하는 D(-)-fructose(99.5%), α-D(+)-glucose(99.5%), D(+)-saccharose(99.5%)를 구매하여 사용하였다.

무기질 분석

과일 50개 이상을 분쇄하여 균질화한 시료 약 1 g과 nitric acid(Wako Pure Chemical Industries) 10 mL를 마이크로웨이브용 PTFE vessel(OMNI/XP 1500, CEM Co., Matthews, NC, USA)에 넣고 16시간 동안 상온 방치하여 예비 분해한 후, micro digestion system(MARS 5, CEM Co.)을 이용하여 다음의 단계로 분해하였다. 800 W의 출력으로 15분 동안 190°C까지 올린 후 10분 유지하고 30분 동안 상온에 이르게 하였다. 분해한 시료는 증류수로 50 mL 부피플라스크에 정용한 후 ICP-OES(Varian 730-ES, Agilent Technologies)를 이용하여 분석하였고, 무기질 분석을 위하여 혼합 표준액(ICP multi-element standard solution, Merck Chemicals)을 사용하였다.

γ-Aminobutyric acid(GABA) 함량

GABA 함량은 아미노산자동분석기(Amino Acid Analyzer, L-8800, Hitachi, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. 과일 약 40 g을 3% trichloroacetic acid(TCA) (Wako Pure Chemical Industries) 용액 100 mL와 혼합한 후 균질기(Omni Macro Homogenizer)로 5분 동안 분쇄, 교반하여 삼각플라스크에 옮겨 담고, 40°C에서 1시간 동안 초음파 추출한 다음 40°C 항온수조에서 1시간 동안 진탕한 후 3% TCA 용액으로 200 mL가 되도록 정용하였다. 이 액을 3,000 rpm으로 5분간 원심분리(Combi-514R) 한 후 0.45 µm nylon filter로 여과하여 분석하였다. 완충용액 (PF1~4 MCI buffer, Mitsubishi Chemical Co., Tokyo, Japan)과 표준품(amino acid mixture standard solution, Wako Pure Chemical Industries)을 구매하여 사용하였다.

Total polyphenol 함량

Total polyphenol은 Folin-Ciocalteu 방법(16)에 따라

측정하였다. 추출물 시료 용액과 0.2 N Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 용액을 반응시킨 후 분광광도계(UV/visible spectrophotometer, Agilent Technologies)를 이용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였고, gallic acid(Sigma-Aldrich Co.)의 농도별 표준곡선을 이용하여 polyphenol 함량을 산출하였다.

Phenolic compound의 HPLC 분석

추출물 시료 용액에 함유되어 있는 phenolic compound는 HPLC(Acquity UPLC H-Class, Waters, Milford, MA, USA)를 이용하여 분석하였다. 이동상 용액은 1%(v/v) formic acid 수용액(pH 2.25)(A)과 100% methanol(B)을 이용하여 다음과 같은 기울기 용매 조건으로 분당 1.0 mL 속도로 흘려주었다. 초기 5분 동안 A : B=95:5(v/v), B 용매를 다음 5분 동안 10%로 증가시키고 5분 유지, 다음 5분 동안 20%로 증가시키고 5분 유지, 다음 5분 동안 30%로 증가시키고 10분 동안 45%로 증가, 다음 10분 동안 60%로 증가시키고 5분 유지, 다음 5분 동안 95%로 증가시키고 5분 유지, 다음 5분 동안 초기 용매조건(A : B=95:5(v/v))으로 조정 후 5분 동안 평형상태에 이르게 하여 총 75분간 흘려주었다. 칼럼 온도는 30°C를 유지하며 Capcell Pak C18 칼럼(4.6 mm×250 mm, 5 µm, Shiseido, Tokyo, Japan)을 사용하였고, 검출과장은 254, 320, 360, 520 nm였으며, PDA scan은 200~800 nm 범위에서 분석하였다. 표준물질은 protocatechuic acid(PCA), 4-hydroxybenzoic acid(4-HBA), ferulic acid(FA), cinnamic acid(CNA), p-coumaric acid(p-CA), caffeic acid(CA), chlorogenic acid(CGA), ellagic acid(EA), quercetin-3-rutinoside(Q_{rut}), cyanidin-3-glucoside(C_{glu}), cyanidin-3-rutinoside(C_{rut})를 Sigma-Aldrich Co.에서 구입하여 사용하였다. 개별 표준품을 methanol에 녹여 혼합표준용액을 만들었고, 이 용액을 4개의 농도로 단계 희석한 후 HPLC로 분석하였다. Phenolic acid 중 PCA, 4-HBA, CNA, EA는 254 nm, FA, p-CA, CA, CGA는 320 nm, Q_{rut}는 360 nm, C_{glu}와 C_{rut}는 520 nm의 검출 과장에서 나타난 peak의 면적을 이용하여 검량선을 작성한 후, 시료 중 개별 phenolic compound의 농도를 산출하였다.

Total anthocyanin 함량

Total anthocyanin은 pH differential method(17)에 의하여 함량을 구하였다. 희석배수를 고려하여 추출물 시료 용액 1~2 mL를 50 mL 부피플라스크에 넣고, pH 1.0 완충용액과 pH 4.5 완충용액으로 각각 따로 정용하였다. 30분 동안 상온에 방치한 후 분광광도계(Agilent Technologies)를 이용하여 520 nm와 700 nm에서 측정하였고, 아래의 수식에 따라서 anthocyanin 함량을 계산하였다.

$$\text{Anthocyanin 함량 (cyanidin-3-gulcoside equivalents, mg/L)} = \frac{A \times MW \times DF \times 10^3}{\epsilon}$$

$$A: (A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH 1.0}} - (A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH 4.5}}$$

$$MW: \text{cyanidin-3-glucoside의 분자량} = 449.2 \text{ g/mol}$$

$$DF: \text{희석배수, } \epsilon: \text{몰흡광계수} = 26,900$$

Total flavonoid 함량

Total flavonoid는 건강기능식품공전방법(18)에 따라서 추출물 시료 용액을 10% aluminum nitrate(Wako Pure Chemical Industries) 및 1 M potassium acetate(Wako Pure Chemical Industries)와 반응시켜 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시험용액에 대하여 10% aluminum nitrate 대신 증류수를 넣은 공시험을 진행하였고, quercetin(Sigma-Aldrich Co.)을 표준용액으로 하여 농도별 표준곡선에서 total flavonoid 함량을 구하였다.

DPPH free radical scavenging activity 측정

항산화 활성은 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) free radical scavenging activity를 측정하여 분석하였다(19). 추출물 시료 용액과 DPPH(Sigma-Aldrich Co.)를 methanol에 녹여 0.1 mM 농도로 조제한 용액 3.9 mL를 암소에서 상온 반응시켰고 시험용액 대신 증류수로 반응시킨 시험용액 무첨가구도 같이 실험하였으며, 30분 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 아래의 식에 의해 DPPH free radical scavenging activity(%)를 구하였으며, (+/-)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid(Trolox, Sigma-Aldrich Co.)를 표준물질로 검량선을 작성하여 Trolox equivalent antioxidant capacity(TEAC, mmol TEAC/100 g FW)를 산출하였다.

$$\text{Free radical scavenging activity (\%)} =$$

$$\left(1 - \frac{\text{시험용액 첨가구의 흡광도}}{\text{시험용액 무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

ABTS free radical scavenging activity 측정

2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)(ABTS) free radical scavenging activity는 Re 등(20)의 방법에 준하여 측정하였다. 7 mM ABTS(Sigma-Aldrich Co.) 용액과 2.45 mM potassium persulfate(Sigma-Aldrich Co.) 용액을 혼합하여 암소에 16시간 상온 방치 후 흡광도 값이 약 0.7(±0.02)이 되도록 ethanol로 희석하여 반응용액으로 사용하였다. 추출물 시료 용액과 반응용액 3.6 mL를 1분간 반응시켜 734 nm에서 흡광도를 측정하였고, 시험용액 대신 증류수로 반응시킨 시험용액 무첨가구를 동시에 측정하였다. 아래의 식으로 ABTS free radical scavenging activity(%)를 구하였고, Trolox(Sigma-Aldrich Co.)를 표준물질로 검량선을 작성하여 TEAC(mmol TEAC/100 g FW)를 산출하였다.

$$\text{Free radical scavenging activity (\%)} =$$

$$\left(1 - \frac{\text{시험용액 첨가구의 흡광도}}{\text{시험용액 무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

통계처리

실험 결과는 평균과 표준편차로 나타내었고, SPSS program(SPSS version 20.0, IBM Co., Armonk, NY, USA)을 이용하여 one-way ANOVA 시험 후 $P < 0.05$ 수준에서 Duncan의 다중검정법으로 실험군 간의 유의성을 검증하였으며, phenolic compound와 항산화 활성과의 연관성을 알아보기 위해 Pearson 상관분석을 실시하여 상관계수(r , correlation coefficient)를 구하였다.

결과 및 고찰

화학적 조성 및 기능성 성분

국내 재배 베리류 4종의 pH와 구연산으로 환산한 산도를 Table 1에 나타내었다. pH는 블루베리가 3.26으로 가장 낮았고, 블랙라즈베리와 라즈베리는 각각 3.74와 3.72로 비슷하였으며, 오디가 5.17로 가장 높았다. 이는 오디의 pH가 5.6(21), 오디 3개 품종의 pH가 5.36~5.48(22), 블랙라즈베리와 품종별 라즈베리가 각각 pH 3.2~3.9(12)와 pH 3.43~3.95(8)였다는 보고와 유사한 결과였다. 산도는 블랙라즈베리가 1.10%(w/w)로 가장 높았고, 블루베리가 0.82%(w/w), 라즈베리가 0.63%(w/w)였으며, 오디는 0.26%(w/w)로 가장 낮았는데 오디의 총 산도가 0.25%(w/v)였다는 Ercisli와 Orhan(21)의 보고와는 일치하였으나 재배종 및 야생종 라즈베리의 총산이 1.41~2.52%(w/v)라는 보고(8)와는 다소 차이가 있었다. 산도는 과일을 가공하여 제조할 때 맛과 저장성에 기여하고, 특히 과일주의 품질에 영향을 준다. 일반적으로 적포도주 제조를 위해서는 pH가 약 3.5 수준이고 총 산도가 0.6% 이상인 과즙이 바람직하며, 총 산도가 낮은 경우 산을 첨가하지만 산도가 너무 높은 경우는 희석 또는 중화하기도 한다(23). 따라서 와인 제조에 있어서 블루베리와 라즈베리의 경우는 pH와 산도가 적합하나 오디와 블랙라즈베리는 산도를 조절할 필요가 있다.

HPLC-ELSD를 이용하여 fructose, glucose, sucrose를 분석한 결과 모든 시료에서 fructose와 glucose 두 가지 단

당류만 검출되었다. Fructose와 glucose의 함량을 보면 (Table 1) 오디가 각각 6.73%(w/w)와 6.21%(w/w)로 유의적으로 가장 높았고($P < 0.05$), 블루베리가 3.50%(w/w)와 3.11%(w/w), 라즈베리가 3.26%(w/w)와 3.21%(w/w), 블랙라즈베리가 2.65%(w/w)와 2.15%(w/w)로 유의적으로 낮았다($P < 0.05$). 이 결과는 Mikulic-Petkovsek 등(10)이 보고한 fructose와 glucose 함량이 블루베리가 각각 3.93%(w/w)와 3.86%(w/w), 오디가 3.99%(w/w)와 3.68%(w/w), 라즈베리가 2.59%(w/w)와 2.46%(w/w)라는 결과와 다소 차이를 보였다. 또한 Lee 등(22)은 오디 3개 품종에 함유되어 있는 fructose와 glucose가 각각 2.6~7.0%와 2.6~7.4%로 큰 차이를 보인다고 보고하였고, 블랙라즈베리가 미량의 rhamnose를 함유했다는 보고(24)와 블랙라즈베리와 라즈베리를 비롯한 나무딸기류에서 미량의 sucrose가 검출되었다는 보고(12)를 볼 때 품종 및 재배 여건 등에 따라 유리당이 다소 차이를 보인다고 할 수 있다. 그러나 glucose와 fructose가 대략 동량의 비율로 함유되었다는 결과는 본 실험과 기존의 연구들이 일치하였다(10,22,24).

GABA는 인체 내 조직에서 생성되는 신경 활성 아미노산으로써 뇌 혈류의 흐름을 촉진시키고 이뇨 작용 및 혈압을 조절하여 고혈압에 효과가 있는 생리활성물질로 알려져 있다(25). 베리류 4종의 GABA 함량을 보면 (Table 1) 오디가 블랙라즈베리(19.4 mg/100 g)보다 3배 이상, 블루베리(7.9 mg/100 g)와 라즈베리(10.1 mg/100 g)보다는 5배 이상인 69.3 mg/100 g으로 베리류 중 오디가 GABA에 의한 생리 효과가 우수할 것으로 기대된다. 품종별 동결건조 오디의 GABA 함량이 86.1~185.6 mg/100 g 수준이라는 Kim 등(11)의 연구를 볼 때 품종에 따라 GABA 함량에 차이가 있으므로 향후 체계적인 연구가 필요하다고 판단된다.

무기질 함량 분석 결과는 Table 2에 나타내었다. 베리류 4종에 함유된 무기질은 칼륨, 칼슘, 마그네슘이 주였고, 망간, 철, 구리의 함량은 미량 함유되어 있었다. 칼륨의 함량이 칼슘보다 3배 이상 높았고, 총 무기질 함량은 블랙라즈베리가 256.0 mg/100 g, 오디가 233.9 mg/100 g, 라즈베리가 166.1 mg/100 g, 블루베리가 92.9 mg/100 g으로 유의적인 차이가 있었다($P < 0.05$). 기존의 연구들과 개별 무기질의 함량은 다소 차이가 있었으나 무기질 조성이 칼륨, 칼슘, 마그

Table 1. Chemical composition of berry fruits

	Mulberry	Black raspberry	Raspberry	Blueberry
pH	5.17±0.06 ^(c1)2)	3.74±0.06 ^b	3.72±0.03 ^b	3.26±0.08 ^a
Acidity (% w/w, as citric acid, FW ³⁾)	0.26±0.01 ^a	1.10±0.11 ^d	0.63±0.01 ^b	0.82±0.10 ^c
GABA ⁴⁾ (mg/100 g FW)	69.3±0.2 ^d	19.4±1.1 ^c	10.1±1.1 ^b	7.9±0.1 ^a
Free sugars (% w/w, FW)	12.93±0.26 ^c	4.80±0.17 ^a	6.47±0.15 ^b	6.61±0.19 ^b
Fructose (% w/w, FW)	6.73±0.16 ^d	2.65±0.08 ^a	3.26±0.03 ^b	3.50±0.09 ^c
Glucose (% w/w, FW)	6.21±0.10 ^c	2.15±0.09 ^a	3.21±0.14 ^b	3.11±0.10 ^b

¹⁾Values are mean±standard deviation (n=3).

²⁾Values with different letters within the same row are significantly different by Duncan's multiple range test at $P < 0.05$.

³⁾FW: fresh weight.

⁴⁾GABA: γ -aminobutyric acid.

Table 2. Mineral contents in berry fruits

(Unit: mg/100 g FW¹⁾)

	Mulberry	Black raspberry	Raspberry	Blueberry
K	179.4±7.3 ^{c2)3)}	198.6±6.7 ^d	106.3±1.7 ^b	75.4±3.2 ^a
Ca	36.1±8.6 ^b	32.1±6.2 ^b	38.8±9.4 ^b	10.8±1.6 ^a
Mg	17.1±0.4 ^b	21.9±1.0 ^d	20.0±0.5 ^c	5.7±0.1 ^a
Fe	0.8±0.0 ^b	0.9±0.0 ^c	0.4±0.0 ^a	0.4±0.1 ^a
Cu	0.1±0.0 ^a	0.2±0.0 ^b	0.1±0.0 ^a	0.1±0.0 ^a
Mn	0.6±0.0 ^{ab}	2.3±0.1 ^c	0.5±0.0 ^a	0.6±0.1 ^c
Total	233.9±8.3 ^c	256.0±13.5 ^d	166.1±8.2 ^b	92.9±1.6 ^a

¹⁾FW: fresh weight.

²⁾Values are mean±standard deviation (n=3).

³⁾Values with different letters within the same row are significantly different by Duncan's multiple range test at *P*<0.05.

네슘의 순서로 많이 함유되어 있다는 결과는 본 실험 결과와 일치하였다(15,21,24).

Polyphenol, anthocyanin, flavonoid 함량 및 항산화 활성

베리류 4종의 total polyphenol, total anthocyanin, total flavonoid를 분석한 결과를 Fig. 1에 제시하였다. Total polyphenol과 total flavonoid는 블랙라즈베리에 각각 유의적으로 높은 547.2 mg/100 g과 94.6 mg/100 g이 함유되어 있었고(*P*<0.05), 오디에 331.6 mg/100 g과 55.1 mg/100 g, 블루베리에 298.2 mg/100 g과 39.6 mg/100 g이 함유되어 있었으며, 라즈베리에 198.2 mg/100 g과 5.0 mg/100 g으로 유의적으로 낮게 함유되어 있었다(*P*<0.05). Total anthocyanin은 블랙라즈베리가 유의적으로 높은 385.6 mg/100 g이었고(*P*<0.05), 블루베리는 165.0 mg/100 g, 오디는 118.9 mg/100 g, 라즈베리는 19.8 mg/100 g으로 유의적인 차이를 나타냈다(*P*<0.05). Chung(14)은 블루베리 70% methanol 추출물의 total polyphenol과 total flavonoid 함량이 각각 42.26 mg/g과 26.39 mg/g이라고 보고하였고, Jeong 등(15)은 total polyphenol 함량이 블루베리의 경우 9.028 mg/g, 라즈베리는 5.34 mg/g이라고 보고하여 본 연구와 차이를 보였다. Total anthocyanin과 total

polyphenol의 함량 및 항산화 활성이 산지, 품종, 유전형별로 큰 차이를 보였다는 연구(7,26)를 종합하여 볼 때 베리류 간의 명확한 비교를 위해서는 이런 여러 요소를 고려할 필요성이 있다고 생각된다.

HPLC를 이용하여 베리류 4종의 개별 PA, quercetin, anthocyanin의 함량을 분석한 결과는 Table 3에 나타내었고, 크로마토그램은 Fig. 2에 나타내었다. Fig. 2A는 254 nm에서 검출된 9종 PA와 Q_{rut}의 혼합표준용액 크로마토그램으로, Q_{rut}는 38.7분에 검출되었고 256 nm와 355 nm 파장에서 최대 흡광도를 나타냈다. 오디와 라즈베리 추출물에서는 Q_{rut}만 검출되었으나, 블랙라즈베리와 블루베리의 경우 Q_{rut} 이외에 Q_{rut}와 흡광 패턴이 유사한 quercetin derivative(Q_{der})가 각각 34.9분과 43.2분에 검출되었는데 (Fig. 2B, 2C), 이는 블랙라즈베리와 블루베리에서 Q_{der}가 각각 1종과 3종 검출되었다는 Seeram 등(6)의 연구와 유사하였다. 블랙라즈베리의 quercetin 함량이 111.9 mg/kg으로 다른 베리류에 비해 유의적으로 높았으며(*P*<0.05), 오디와 블루베리는 각각 45.3 mg/kg과 39.3 mg/kg으로 차이가 없었고, 라즈베리는 가장 낮았다(Table 3).

Fig. 2D는 C_{glu}와 C_{rut} 표준용액이 520 nm에서 각각 29.6분과 30.6분에 검출된 크로마토그램으로 이 두 anthocyanin은 234 nm, 280 nm, 520 nm 부근의 파장에서 최대 흡광도를 보였다. 오디와 라즈베리에서는 이 두 개의 anthocyanin만 검출된 반면, C_{glu}와 C_{rut} 이외에 이 두 개와 흡광 패턴이 유사한 anthocyanin derivative(A_{der})가 블랙라즈베리에서는 1개(30.4분) 검출되었으며(Fig. 2E), 블루베리에서는 5개(26.9~33.2분)가 검출되었다(Fig. 2F). 이는 오디에서 C_{glu}와 C_{rut}, 블랙라즈베리에서 C_{glu}, C_{rut}, pelargonidin-3-glucoside 3종이 검출되었다는 보고(13)와 일치하는 결과였다. 또한 블루베리에서 가장 많은 종류의 anthocyanin이 검출된 결과는 Seeram 등(6)의 연구와 유사하였는데, 이들은 HPLC-UV-MS/MS를 이용하여 블랙라즈베리에서 3종의 anthocyanin, 블루베리에서 delphinidin-galactoside를 비롯한 9종의 anthocyanin, 라즈베리에서 C_{glu} 등 4종의 anthocyanin을 검출했다고 보고하였다. 본 연구 결과 anthocyanin 함량은 블랙라즈베리의 경우에 3.4 g/kg으로 유의적으로 높았으며(*P*<0.05), 블루베리, 오디, 라즈베리 순

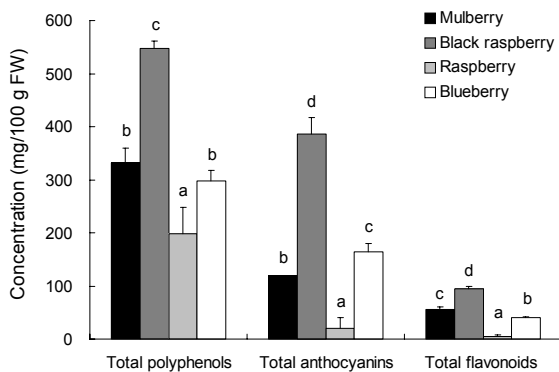


Fig. 1. Total polyphenols (TP), anthocyanins (TA), and flavonoids (TF) in berry fruits. FW: fresh weight. Bars represent mean±standard deviation (n=2). Different letters (a-d) above the bars in the groups of TP, TA, and TF indicate significantly different by Duncan's multiple range test at *P*<0.05.

Table 3. Phenolic compounds in berry fruits

	Phenolic acids (mg/kg FW ¹⁾)				Quercetins (mg Q _{rut} E/kg ² FW)			Anthocyanins (mg/kg FW)				
	PCA ³⁾	CGA	CA	EA	Total	Q _{rut}	Q _{der}	Total	C _{glu}	C _{rut}	A _{der} C _{glu} E ⁴⁾	Total
Mulberry	9.4±3.5 ⁵⁾	23.8±7.4	5.2±1.8	12.0±6.9	50.4±19.6 ^{6b)}	45.3±15.8 ^b	ND	45.3±15.8 ^b	640.2±88.9	197.8±24.4	ND	838.0±113.2 ^b
Black raspberry	7.2±0.2	ND ⁷⁾	0.8±0.1	6.0±1.3	14.0±1.6 ^a	93.3±4.7	18.6±3.1	111.9±7.7 ^c	782.1±25.9	1,674.8±86.2	953.3±147.0	3,410.3±259.0 ^d
Raspberry	ND	0.8±0.7	2.6±2.6	2.6±0.0	5.9±3.4 ^a	4.0±0.8	ND	4.0±0.8 ^a	11.9±4.6	106.0±6.8	ND	117.9±2.2 ^a
Blueberry	2.1±0.1	374.2±33.1	1.1±0.3	14.1±0.4	391.4±32.9 ^b	7.9±0.2	31.5±3.2	39.3±3.0 ^b	193.3±17.9	35.3±3.8	1,294.9±158.3	1,523.6±180.0 ^c

¹⁾FW: fresh weight.

²⁾Q_{rut}E: quercetin-3-rutinoside equivalents.

³⁾PCA, protocatechuic acid; CGA, chlorogenic acid; CA, caffeic acid; EA, ellagic acid; Q_{rut}, quercetin-3-rutinoside; Q_{der}, quercetin derivatives; C_{glu}, cyanidin-3-glucoside; C_{rut}, cyanidin-3-rutinoside; A_{der}, anthocyanin derivatives.

⁴⁾C_{glu}E: cyanidin-3-glucoside equivalents.

⁵⁾Values are mean±standard deviation (n=2).

⁶⁾Values with different letters within the same column are significantly different by Duncan's multiple range test at P<0.05.

⁷⁾ND: not detected.

으로 유의적인 차이를 보였다(P<0.05)(Table 3).

4종 베리류에서 검출된 PCA, CGA, CA, EA의 합을 총 PA로 나타낼 때 블랙라즈베리와 라즈베리가 각각 14.0 mg/kg과 5.9 mg/kg으로 오디의 50.4 mg/kg보다 낮았고, 블루베리의 경우 유의적으로 높은 391.4 mg/kg이었다(P<0.05)(Table 3). 블루베리의 총 PA 중 대부분을 차지하는 CGA는 hydroxycinnamic acid의 하나로서 혈당조절에 효과가 있다고 알려져 있는데, Bassoli 등(27)은 1 mM 농도의 CGA가 쥐 간조직 microsomal fraction의 glucose-6-phosphatase 활성을 40% 억제하였고, 쥐 소장에서 분리한 용모막에서의 glucose 수송 능력을 80% 저하시켰다고 보고하였다. CGA가 블랙라즈베리나 라즈베리에는 미량 함유되어 있는 반면에 오디에는 23.8 mg/kg이 함유되어 있었고, 그에 비해 블루베리에는 374.2 mg/kg 수준으로 많이 함유되어 있어서 블루베리의 항당뇨 효과 잠재력이 기대된다.

EA는 라즈베리에 함유되어 있는 주요 phenolic compound인데, Seeram 등(6)은 블랙라즈베리에서 EA 및 ellagic acid derivative(EA_{der}) 6종과 라즈베리에서 EA_{der} 9종을 검출하였다고 보고하였다. EA의 축합물인 tannin은 대부분의 베리류에 hydrolysable tannin(ellagitannin과 gal-lotannin)과 condensed tannin(proanthocyanin)으로 존재하여 HPLC-UV로 분석한 크로마토그램에는 검출되지 않으므로 본 실험에서 유리형 EA만 일부 검출된 것으로 보인다. 따라서 tannin을 구성하는 전체 EA의 함량을 분석하고자 한다면 산 또는 알칼리를 이용한 가수분해 과정이 필요할 것으로 생각된다.

과일 등의 식물체에 풍부한 phenolic compound는 free radical의 소거를 촉진시키고 금속이온을 환원시키는 효과와 깊은 상관성이 있다고 알려져 있다. 본 연구에서 베리류 4종의 항산화 활성을 비교하고자 DPPH와 ABTS를 이용하여 free radical scavenging activity를 측정하고 이를 Trolox equivalent 값으로 산출하여 TEAC로 나타내었다(Table 4). DPPH의 경우 블랙라즈베리가 다른 베리류보다 약 2배 이상 유의적으로 높은 2.03 mmol TEAC/100 g이었고(P<0.05), 블루베리는 0.86 mmol TEAC/100 g, 오디는 0.85 mmol TEAC/100 g, 라즈베리는 0.77 mmol TEAC/100 g이었다. ABTS도 DPPH와 유사한 경향을 보였는데 블랙라즈베리가 가장 높은 2.99 mmol TEAC/100 g이었으며(P<0.05), 라즈베리가 유의적으로 가장 낮았다(P<0.05). 베리류 4종의 DPPH 및 ABTS의 TEAC 값과 total polyphenol, total anthocyanin, total flavonoid 함량과 Pearson 상관분석을 실시한 결과 상관계수가 0.85(P<0.01) 이상으로 유의적인 양(+)의 상관관계를 나타내었다. Jun 등(13)은 블랙라즈베리와 오디 추출물의 phenolic compound (total phenolic compound와 total flavonoid) 함량과 항산화 활성(DPPH 및 ABTS free radical scavenging activity, reducing power)과의 상관계수가 0.84 이상으로 높은 상관성을 나타냈다고 보고하였고, Chung(14)도 블랙초크베리

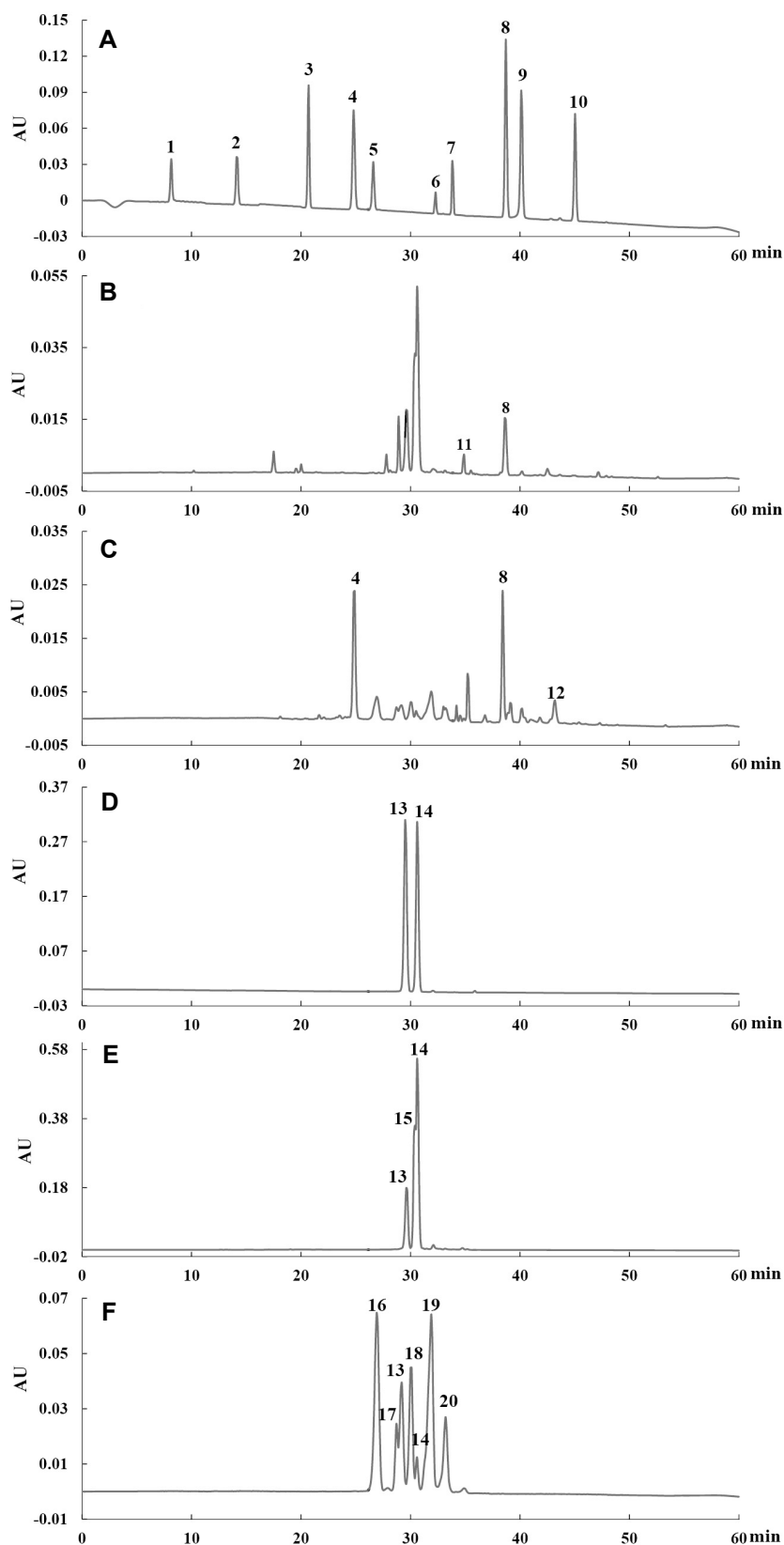


Fig. 2. HPLC chromatograms of phenolic compounds (at 254 nm (A) and 520 nm (D)), black raspberry extracts (at 360 nm (B) and 520 nm (E)) and blueberry extracts (at 360 nm (C) and 520 nm (F)). 1, gallic acid; 2, protocatechuic acid; 3, 4-hydroxybenzoic acid; 4, chlorogenic acid; 5, caffeic acid; 6, p-coumaric acid; 7, ferulic acid; 8, quercetin-3-rutinoside; 9, ellagic acid; 10, cinnamic acid; 11 and 12, quercetin derivatives; 13, cyanidin-3-glucoside; 14, cyanidin-3-rutinoside; and 15~20, anthocyanin derivatives.

Table 4. Antioxidant activities of berry fruits

	Mulberry	Black raspberry	Raspberry	Blueberry
DPPH (mmol TEAC ¹⁾ /100 g FW ²⁾)	0.85±0.02 ³⁾⁴⁾	2.03±0.21 ^b	0.77±0.11 ^a	0.86±0.07 ^a
ABTS (mmol TEAC/100 g FW)	1.41±0.18 ^b	2.99±0.24 ^c	0.77±0.13 ^a	1.47±0.20 ^b

¹⁾TEAC: Trolox equivalent antioxidant capacity.

²⁾FW: fresh weight.

³⁾Values are mean±standard deviation (n=2).

⁴⁾Values with different letters within the same row are significantly different by Duncan's multiple range test at $P<0.05$.

와 블루베리 추출물의 total polyphenol 및 total flavonoid 함량과 항산화 활성 간에 높은 양(+)의 상관성이 있음을 보고하였다. 그러므로 베리류에서 phenolic compound 함량이 높을수록 항산화 활성이 크다고 보이나 phenolic compound와 항산화 활성과의 상관성에 대한 심도 있는 조사를 위해서는 향후 특정 항산화 성분에 대한 더 많은 연구가 필요하다고 본다.

요 약

국내에서 주로 재배되는 대표적인 베리류에 대한 화학 조성 및 기능성을 알아보려고 일정 시기에 수확한 오디, 블랙라즈베리, 라즈베리, 블루베리의 pH, 산도, 유리당, γ -aminobutyric acid(GABA), 무기질 함량, phenolic compound, 항산화 활성을 조사하여 비교하였다. 베리류 4종의 pH는 3.3~5.2로 블루베리가 가장 낮았고 오디가 가장 높은 반면, 산도는 0.26~1.10%(w/w)로 오디가 가장 낮았고 블랙라즈베리가 가장 높았다. 베리류에서 검출된 유리당인 fructose와 glucose는 같은 비율로 존재하였고, 그 총량은 4.80~12.93%(w/w)로 오디가 가장 높았으며 블랙라즈베리가 가장 낮았다. GABA는 오디에 69.3 mg/100 g이 함유되어 있었는데, 이는 다른 베리류에 비해 3배 이상 많은 양이다. 베리류에 함유된 주요 무기질은 칼륨, 칼슘, 마그네슘이었고, 총 무기질 함량은 92.9~256.0 mg/100 g으로 블랙라즈베리에 유의적으로 높게 함유되어 있었으며($P<0.05$) 블루베리가 가장 낮았다. Total polyphenol과 total flavonoid 함량은 각각 198.2~547.2 mg/100 g과 5.0~94.6 mg/100 g의 범위로 블랙라즈베리가 가장 높았고, 라즈베리는 유의적으로 가장 낮았다($P<0.05$). Total anthocyanin은 19.8~385.6 mg/100 g의 범위로 블랙라즈베리가 가장 높았고, 라즈베리가 유의적으로 낮았다($P<0.05$). Total PA(phenolic acids)는 블랙라즈베리와 라즈베리에 각각 14.0 mg/kg과 5.9 mg/kg이 함유되어 있었는데 이는 오디에 함유된 50.4 mg/kg보다 낮았으며, 391.4 mg/kg으로 가장 높게 함유된 블루베리에는 PA의 대부분이 chlorogenic acid였다. 베리류 4종의 항산화 활성을 DPPH 및 ABTS free radical scavenging activity를 분석하여 Trolox equivalent 값으로 나타낸 결과 Trolox equivalent antioxidant capacity와 total polyphenol, total anthocyanin, total flavonoid 함량과는 유의적인 양(+)의 상관관계(Pearson 상관계수 $r \geq$

0.85; $P<0.01$)를 나타내었고, 블랙라즈베리가 DPPH 및 ABTS 항산화 활성이 가장 우수하였다.

REFERENCES

1. Lee HY. 2013. Approval of functional ingredient of health/functional foods in Korea. *Food Industry and Nutrition* 18(1): 1-7.
2. Yu OK, Kim JE, Cha YS. 2008. The quality characteristics of jelly added with *Bokbunja* (*Rubus coreanus* Miquel). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 792-797.
3. Lee HR, Jung BR, Park JY, Hwang IW, Kim SK, Choi JU, Lee SH, Chung SK. 2008. Antioxidant activity and total phenolic contents of grape juice products in the Korean market. *Korean J Food Preserv* 15: 445-449.
4. Bagchi D, Sen CK, Bagchi M, Atalay M. 2004. Anti-angiogenic, antioxidant, and anti-carcinogenic properties of a novel anthocyanin-rich berry extract formula. *Biochemistry (Moscow)* 69: 75-80.
5. Badjakov I, Nikolova M, Gevrenova R, Kondakova V, Todorovska E, Atanassov A. 2008. Bioactive compounds in small fruits and their influence on human health. *Biotechnol Biotechnol Equip* 22: 581-587.
6. Seeram NP, Adams LS, Zhang Y, Lee R, Sand D, Scheuller HS, Heber D. 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: 9329-9339.
7. 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.
8. Lee HH, Moon YS, Yun HK, Park PJ, Kwak EJ. 2014. Contents of bioactive constituents and antioxidant activities of cultivated and wild raspberries. *Kor J Hort Sci Technol* 32: 115-122.
9. Korea Forest Service. 2010. Forestry Business Survey Report I : Medicinal plants cultivation area. Daejeon, Korea. p 10.
10. Mikulic-Petkovsek M, Schmitzer V, Slatnar A, Stampar F, Veberic R. 2012. Composition of sugars, organic acids, and total phenolics in 25 wild or cultivated berry species. *J Food Sci* 77: C1064-1070.
11. Kim EO, Lee YJ, Leem HH, Seo IH, Yu MH, Kang DH, Choi SW. 2010. Comparison of nutritional and functional constituents, and physicochemical characteristics of mulberry from seven different *Morus alba* L. cultivars. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1467-1475.
12. Oh HH, Hwang KT, Kim MY, Lee HK, Kim SZ. 2008. Chemical characteristics of raspberry and blackberry fruits produced in Korea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 738-743.
13. Jun HI, Kim YA, Kim YS. 2014. Antioxidant activities of

- Rubus coreanus* Miquel and *Morus alba* L. fruits. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 381-388.
14. 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.
 15. 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.
 16. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrate and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol* 299: 152-178.
 17. AOAC International. 2005. *AOAC official methods of analysis*. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Rockville, MD, USA. p 37-39.
 18. Korea Food and Drug Administration. 2013. *Health Functional Food Code Testing Methods*. Cheongju, Korea. p 307-309.
 19. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci Technol* 28: 25-30.
 20. 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.
 21. Ercisli S, Orhan E. 2007. Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits. *Food Chem* 103: 1380-1384.
 22. Lee HW, Shin DH, Lee WC. 1998. Morphological and chemical characteristics of mulberry (*Morus*) fruit with varieties. *Korean J Seric Sci* 40: 1-7.
 23. Amerine MA, Merg HW, Kunkee RE, Ough CS, Singleton VL, Webb AD. 1980. Red table wine production. In *The Technology of Wine Making*. 4th ed. AVI Publishing Company Inc., Westport, CT, USA. p 359-380.
 24. Kim JM, Shin M. 2011. Characteristics of *Rubus coreanus* Miq. fruits at different ripening stages. *Korean J Food Sci Technol* 43: 341-347.
 25. Bown AW, Shelp BJ. 1997. The metabolism and functions of γ -aminobutyric acid. *Plant Physiol* 115: 1-5.
 26. Connor AM, Luby JJ, Tong CBS, Finn CE, Hancock JF. 2002. Genotypic and environmental variation in antioxidant activity, total phenolic content, and anthocyanin content among blueberry cultivars. *J Am Soc Hort Sci* 127: 89-97.
 27. Bassoli BK, Cassolla P, Borba-Murad GR, Constantin J, Salgueiro-Pagadigorria CL, Bazotte RB, da Silva RS, de Souza HM. 2008. Chlorogenic acid reduces the plasma glucose peak in the oral glucose tolerance test: effects on hepatic glucose release and glycaemia. *Cell Biochem Funct* 26: 320-328.