

아로니아, 블랙커런트, 마키베리의 기능성 성분 및 생리활성 비교

정 해 정

대진대학교 식품영양학과

Comparison of Bioactive Constituents and Biological Activities of Aronia, Blackcurrant, and Maquiberry

Hai-Jung Chung

Department of Food Science and Nutrition, Daejin University

ABSTRACT In this study, bioactive constituents and biological activities of aronia, blackcurrant, and maquiberry were investigated. The 60% ethanol extracts were prepared and evaluated for total polyphenol, total flavonoid, and total anthocyanin contents. Biological activities, including 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging activities, ferric reducing antioxidant power (FRAP), reducing power, tyrosinase inhibitory activity, and nitrite scavenging activity were also examined. Maquiberry showed the highest bioactive constituents as shown based on total polyphenol (73.66 mg GAE/g), total flavonoid (28.08 mg/g), and total anthocyanin (12.82 mg/g) contents compared to aronia and blackcurrant. Maquiberry also exhibited the highest DPPH and ABTS radical scavenging activity, FRAP, and reducing power at a concentration of 5 mg/mL, which were superior to those of ascorbic acid (a positive control). Therefore, maquiberry could be used as a potential source of antioxidants and functional food substances.

Key words: bioactive constituent, biological activity, aronia, blackcurrant, maquiberry

서 론

건강에 대한 소비자들의 관심은 날로 증가하고 있고 식물성 자원이 질병의 예방, 면역력 증강, 노화 억제 등의 다양한 생리활성을 가지는 것으로 밝혀짐에 따라 식물성 식품을 선호하는 경향이 높아지고 있다. 과일은 항산화능이 가장 우수한 천연자원의 하나로 비타민 C, 토코페롤, 카로티노이드, 플라보노이드, 폴리페놀 등이 함유되어 있어서 free radical에 의해 생성되는 산화적 스트레스를 감소시킴으로써 질병의 예방과 감소에 기여한다고 보고되고 있다(1,2). 이에 소비자들은 생리활성 물질이 풍부하게 함유된 과일에 대한 관심과 수요가 증가하게 되었고 학계 및 산업계에서는 새로운 소재 탐색 및 이를 이용한 제품개발 연구가 활발히 진행되고 있다. 그 대표적인 과일이 베리(berry)류로(1) 국내 베리 시장은 오랫동안 딸기가 주종을 이루었으나 최근 베리류의 인기가 급상승하면서 해외로부터 다양한 종류가 지속해서 수입되고 있다. 이들은 영양이 풍부할 뿐만 아니라 선명한 빛깔과 새콤달콤한 맛 등 관능적 특성이 소비자들의 기호에

맞아 소비가 증가하면서 유통경로도 점차 확대되는 추세이다. 베리류에는 폴리페놀, 페놀산, 탄닌 성분 등이 존재하며 항산화, 항암, 항염, 심장병 예방 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다(3,4). 특히 베리에는 안토시아닌 색소가 다량 함유되어 있는데(5,6) 안토시아닌이란 폴리페놀 화합물의 한 부류로 식물체의 꽃, 과실, 줄기, 잎, 뿌리 등에 분포하며 적색, 자색, 청색을 나타내는 수용성 색소이다. 여러 연구에 의하면 안토시아닌의 다량 섭취는 항당뇨, 항산화, 항염증, 항암, 비만 억제, 동맥경화 억제, 지질과산화 저해와 연관성이 높은 것으로 보고되고 있다(7,8).

아로니아(aronia, *Aronia melanocarpa*)는 블랙 초크베리(black chokeberry)라고도 불리는 북아메리카가 원산지인 다년생 낙엽관목의 열매로 1900년경 유럽으로 건너가 재배되었으며 현재는 폴란드를 중심으로 한 동유럽과 독일에서 주로 생산되고 있다(9). 아로니아는 짙은 자줏빛을 띠고 있는데 이는 안토시아닌 함량이 높기 때문이며, 그 외 폴리페놀, 플라보노이드 등이 풍부하게 함유되어 있어 심혈관계 질환(10), 대장암(11), 당뇨 및 돌연변이(12)에 대한 예방 효과가 있다는 연구 결과가 보고된 바 있다.

블랙커런트(blackcurrant, *Ribes nigrum* L.)는 유럽 중북부와 아시아가 원산지인 낙엽관목의 열매로 북아메리카에서도 많이 재배되나 현재는 러시아, 폴란드, 독일 등 유럽 국가들을 중심으로 대량 생산되고 있다(13,14). 블랙커런트

에는 비타민 C가 많이 들어 있고 불포화지방산, 유기산, 다당류 외에 안토시아닌이 다량 함유되어 있어 검은 보라색을 띠고 있으며 생리활성으로는 항암, 항염증, 항응혈, 항미생물 작용 등이 있는 것으로 보고되었다(15-17).

마키베리(maquiberry, *Aristotelia chilensis*)는 칠레의 중남부지역과 아르헨티나 서부지역에서 자생하는 상록 관목의 열매인데 최근 마키베리에 대한 전 세계인의 관심이 높아지면서 재배지가 증가하고 있다. 폴리페놀이 풍부하고 안토시아닌이 다량 함유되어 있어 검붉은빛을 띠며 항산화 작용이 가장 강력한 베리 중의 하나이다(18). 마키베리의 기능성으로는 항산화(19), 항당뇨(20), 항염증, 지질 생성 억제(21) 등이 보고된 바 있다.

현재 국내에서 유통되고 있는 베리류에 대한 기능성 비교 연구 논문은 그리 많지 않은 실정으로 베리류의 체계적인 연구가 필요한 시점이다. 이에 본 연구에서는 베리류 중 아로니아, 블랙커런트, 마키베리의 기능성을 측정하고 비교함으로써 새로운 식품소재 개발을 위한 기초자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 아로니아(aronia, 폴란드산), 블랙커런트(blackcurrant, 폴란드산), 마키베리(maquiberry, 칠레산)는 동결건조 분말형태인 것을 2015년 11월에 구입하였다. 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), L-3,4-dihydroxy-L-phenylalanine(L-DOPA), Folin-Ciocalteu's phenol reagent, gallic acid, potassium ferricyanide, potassium persulfate, sodium nitrite, 2,4,6-tri-2-pyridyl-1,3,5-triazine(TPTZ), tyrosinase 등은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고 그 외의 시약은 특급 및 일급시약을 구입하여 사용하였다.

추출액의 제조 및 수율 측정

추출액 제조는 각각의 분말 시료에 20배의 60% 에탄올을 가하고 70°C에서 2시간 추출하는 과정을 2회 반복 시행하였다. 추출액을 Whatman filter paper No. 1(Whatman, Maidstone, UK)으로 여과한 후 진공농축기(R-114, Buchi, Flawil, Switzerland)로 감압 농축한 다음 동결 건조하여 추출 수율을 측정하였다. 건조된 시료 일부를 취하여 1, 2.5, 5 mg/mL의 농도가 되도록 50% dimethyl sulfoxide에 각각 용해하여 분석실험에 사용하였으며, 양성대조군으로는 ascorbic acid(1 mg/mL)를 사용하였다.

총폴리페놀, 총플라보노이드 및 총안토시아닌 함량 측정

총폴리페놀 함량은 Dewanto 등(22)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 즉 각 시료용액 0.1 mL에 증류수 1.9 mL

와 Folin-Ciocalteu's phenol reagent 0.2 mL를 가한 다음 실온에서 3분간 반응시키고 포화 Na₂CO₃ 용액 0.4 mL와 증류수 1.9 mL를 가하여 혼합한 후 실온에서 1시간 동안 반응시켜 725 nm(Smart Plus SP-1900PC, Woongki, Seoul, Korea)에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 gallic acid를 이용하여 표준곡선을 작성한 후 폴리페놀 함량을 mg gallic acid equivalents(GAE)/g으로 나타내었다. 총플라보노이드 함량은 Lee 등(23)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 총플라보노이드 함량을 구하였다. 총안토시아닌 함량은 pH differential method(24)에 따라 측정하였다. 즉 시료용액 1 mL에 0.025 M potassium chloride buffer(pH 1.0)와 0.4 M sodium acetate buffer(pH 4.5)를 각각 가하여 최종 부피를 5 mL로 한 다음 510 및 700 nm에서 흡광도를 측정하여 아래의 식으로 계산하였다.

$$\text{Anthocyanin pigment (cyanidin-3-glucoside equivalents, mg/L)} = \frac{A \times MW \times DF \times 103}{\epsilon \times l}$$

$$A \text{ (absorbance value)} = (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1.0} - (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 4.5}$$

$$MW \text{ (molecular weight of cyanidin-3-glucoside)} = 449.2 \text{ g/mol}$$

$$DF \text{ (dilution factor)} = \text{dilution ratio of sample}$$

$$\epsilon \text{ (cyanidin-3-glucoside molar absorbance)} = 26,900 \text{ molar extinction coefficient, in } L \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$$

$$l = \text{pathlength in cm}$$

DPPH radical 소거능 측정

시료용액의 DPPH radical 소거능은 Blois(25)의 방법을 일부 변형하여 0.1 mM DPPH 용액 1.9 mL에 시료용액 0.1 mL를 가하여 잘 혼합하고 실온에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하여 시료용액 첨가군과 무첨가군 간의 흡광도 비(%)로 나타내었다.

ABTS radical 소거능 측정

시료 용액의 ABTS radical 소거능은 Re 등(26)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. ABTS 용액과 2.45 mM potassium persulfate를 14:1로 혼합(v/v)하여 실온의 암소에서 20시간 방치한 후 증류수를 가하여 734 nm에서의 흡광도 값이 0.70 내외가 되도록 희석하였다. 이 중 2 mL를 취하여 시료용액 0.02 mL와 혼합하고 실온에서 5분간 방치한 다음 734 nm에서 흡광도를 측정하여 시료용액 첨가군과 무첨가군 간의 흡광도 비(%)로 나타내었다.

Ferric ion reducing antioxidant power(FRAP) 측정

FRAP는 Benzie와 Strain(27)의 방법을 변형하여 측정하

었다. 즉 300 mM acetate buffer(pH 3.6)와 40 mM HCl에 녹인 10 mM TPTZ 및 20 mM ferric chloride를 10:1:1 (v/v)의 비율로 혼합하여 FRAP 용액을 제조하였다. 이 중 1 mL를 취하여 시료용액 0.05 mL, 증류수 2 mL와 혼합하고 실온에서 4분간 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다.

환원력 측정

시료용액의 환원력(reducing power)은 Wong과 Chye (28)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉 각 시료용액 0.1 mL에 0.2 M phosphate buffer(pH 6.6) 0.5 mL와 1% potassium ferricyanide 0.5 mL를 혼합하여 50°C에서 20분간 반응시킨 다음 10% TCA 용액 0.5 mL를 가하고 10,000 rpm에서 2분간 원심분리 하였다. 상층액 0.5 mL를 취하고 여기에 0.1% FeCl₃ 0.2 mL와 증류수 0.5 mL를 가하여 혼합한 다음 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Tyrosinase 저해 효과 측정

시료용액의 tyrosinase 저해 효과는 Chang 등(29)의 방법을 변형하여 측정하고 10 mM L-DOPA 0.1 mL와 0.175 M phosphate buffer(pH 6.8) 1 mL에 시료용액 0.1 mL를 가하여 혼합하였다. Mushroom tyrosinase(110 unit/mL) 0.05 mL를 가하여 실온에서 2분간 반응시킨 다음 475 nm에서 흡광도를 측정하여 시료용액 첨가군과 무첨가군 간의 흡광도 비(%)로 나타내었다.

아질산염 소거능 측정

시료용액의 아질산염 소거능은 Kato 등(30)의 방법을 변형하여 측정하였다. 각 시료용액 0.15 mL에 1 mM sodium nitrite 0.2 mL를 가하고 0.1 N HCl(pH 1.2) 0.65 mL를 가한 다음 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 그 후 2% acetic acid 2 mL와 Griess 시약 0.4 mL를 가하고 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(Statistical Package for the Social Science, Version 22.0 for Win-

dow, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 평균±표준편차로 표시하였다. 각 실험군 간의 차이는 유의수준 $P<0.05$ 에서 분산분석(ANOVA)으로 분석한 다음 Duncan's multiple range test로 평균치 간의 유의적 차이를 검증하였다.

결과 및 고찰

추출 수율, 총폴리페놀, 총플라보노이드 및 총안토시아닌 함량

아로니아, 블랙커런트, 마키베리를 60% 에탄올로 추출하고 추출 수율, 추출액의 총폴리페놀, 총플라보노이드 및 총안토시아닌 함량을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 추출 수율은 아로니아 46.62%, 블랙커런트 61.90%, 마키베리 57.46%로 시료 간 유의적 차이가 없었다. 폴리페놀은 식물계에 널리 분포되어 있으며 2개 이상의 phenolic hydroxyl기를 가지고 있는 화합물의 총칭으로 superoxide, hydroxyl radical, peroxy radical 등의 활성물질을 제거하는 능력이 있어 항산화, 항암, 항염, 시력개선 효과가 우수한 것으로 보고되고 있다(31,32). 총폴리페놀 함량은 마키베리가 73.66 mg GAE/g으로 가장 높게 나타났고, 그다음으로 아로니아 59.26 mg GAE/g, 블랙커런트 43.70 mg GAE/g 순으로 나타났다($P<0.05$). Wangenstein 등(33)은 품종별 아로니아 80% 에탄올 추출물의 총페놀 함량을 98~175 mg GAE/g FW로 보고하였고, Jeong 등(2)은 블랙커런트의 총페놀 화합물 함량을 34.48 mg GAE/g으로 보고하였다. Rodriguez 등(34)은 마키베리의 총폴리페놀 함량을 3,443~4,162 mg GAE/100 g이라 하였고, Fredes 등(35)과 Rubilar 등(36)은 각각 14.6 g GAE/kg과 45.7 mg GAE/g으로 보고하였다. 이같이 같은 종류의 과일이라도 각 성분 함량이 다르게 나타나는 것은 품종, 생육 환경, 성숙 정도, 추출조건, 추출용매, 실험방법 등이 각기 다른데서 비롯된다고 할 수 있으므로 연구 결과 간의 절대적 비교평가는 어려운 것으로 여겨진다.

플라보노이드는 폴리페놀 화합물에 속하면서 C₆-C₃-C₆의 기본 구조를 가지는 화합물의 총칭으로 자연계에 널리 분포하고 있으며 항산화, 항균, 항염, 항고지혈증, 항궤양 작용 등이 보고된 바 있다(8). 본 연구 결과 총플라보노이드 함량은 마키베리 28.08 mg/g, 아로니아 24.26 mg/g, 블랙커런트 16.82 mg/g 순으로 높게 나타나 총페놀 함량과 같은 경향을 나타내었다($P<0.05$).

Table 1. Extraction yield, total polyphenol, total flavonoid, and total anthocyanin content of aronia, blackcurrant, and maquiberry

	Aronia	Blackcurrant	Maquiberry
Extraction yield (%)	46.62±5.27	61.90±3.79	57.46±3.81
Total polyphenol (mg GAE/g)	59.26±1.39 ^b	43.70±1.03 ^a	73.66±0.78 ^c
Total flavonoid (mg/g)	24.26±0.01 ^b	16.82±0.28 ^a	28.08±0.85 ^c
Total anthocyanin (mg/g)	9.52±0.23 ^a	8.95±0.10 ^a	12.82±0.19 ^b

Each value is mean±standard deviation (SD).

Means with different letters (a-c) within a row are significantly different from each other at $P<0.05$ as determined by Duncan's multiple range test.

안토시아닌은 플라보노이드의 주된 group으로 주로 과일과 꽃에 존재하며 적색, 자색, 청색 등을 띠는 수용성 색소로 강력한 항산화, 항돌연변이, 항염증, 항암 작용 등이 있는 것으로 알려져 있다(7,8,37). 본 실험 결과 총안토시아닌 함량은 마키베리가 12.82 mg/g으로 가장 높았고, 아로니아와 블랙커런트가 각각 9.52 mg/g과 8.95 mg/g으로 유의적인 차이가 없었다($P>0.05$). Li와 Jeong(5)은 블랙커런트의 50% 에탄올 추출물의 총 페놀화합물, 플라보노이드 및 안토시아닌 함량을 각각 46.89 mg/g, 1.04 mg/g, 7.13 mg/g이라고 보고하여 본 실험 결과와 비교하였을 때 총 페놀화합물과 안토시아닌 함량은 유사하지만, 플라보노이드 함량은 현저히 낮게 나타났다. Rodríguez 등(34)은 마키베리의 총폴리페놀 함량을 3,443~4,162 mg GAE/100 g, 총플라보노이드 함량을 2,458~3,450 mg QE(querctin equivalent)/100 g, 총안토시아닌 함량을 2,456~3,080 mg cyanidin-3-glucoside/100 g으로 보고하였다. Wangenstein 등(33)은 아로니아의 품종별 안토시아닌 함량을 252~737 mg cyanidin-3-galactoside equivalents/100 g의 범위로 보고하였고, González 등(18)은 성숙단계별 마키베리의 안토시아닌 함량을 0.07~1.13 g cyanidin-3-glucoside/100 g으로 보고하였다. 아로니아는 폴리페놀 함량의 25%가 안토시아닌으로 cyanidin 3-O-galactoside, cyanidin 3-O-arabinoside, cyanidin 3-O-xyloside, cyanidin 3-O-glucoside가 주요 성분으로 보고되고 있다(9). 블랙커런트는 flavonoid, hydroxycinnamic acid, hydroxybenzoic acid와 같은 폴리페놀과 안토시아닌이 존재하는데, 주 안토시아닌 성분으로는 delphinidin 3-O-glucoside, delphinidin 3-O-rutinoside, cyanidin 3-O-glucoside, cyanidin 3-O-rutinoside 등이 보고된 바 있다(38). 마키베리에 존재하는 폴리페놀에는 phenolic acid, quercetin, rutin, myricetin, catechin, epicatechin 및 안토시아닌이 있으며 마키베리 안토시아닌의 74% 이상은 강력한 항산화 성분으로 알려진 delphinidin으로 delphinidin 3-O-sambubioside, delphinidin 3,5-O-diglucoside, delphinidin 3-O-sambubioside-5-O-glucoside 등이 주된 성분으로 보고되고 있다(21,39).

DPPH radical 소거능

DPPH radical 소거능은 짙은 보라색을 나타내는 DPPH free radical이 항산화 물질로부터 전자나 수소를 제공받으면 노란색으로 탈색되는 원리를 이용하는 방법(40)으로 측정하며 색이 옅어지는 정도가 클수록 소거능이 큰 것을 의미한다. 아로니아, 블랙커런트, 마키베리의 DPPH radical 소거능 측정 결과는 Fig. 1과 같다. 시료 농도 1 mg/mL에서는 블랙커런트가 21.54%로 가장 낮았고 아로니아가 29.90%, 마키베리가 42.44%로 가장 높게 나타났다($P<0.05$). 농도 증가에 따라 소거능은 증가하여 2.5 mg/mL와 5 mg/mL에서는 각각 51.20~82.15%와 77.65~90.59%의 범위를 나

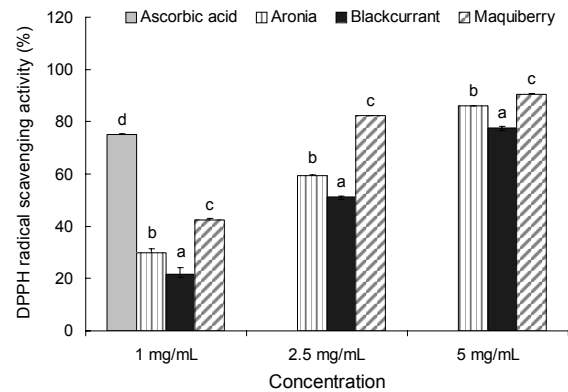


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of aronia, blackcurrant, and maquiberry. Values with different letters (a-d) in the same concentration are significantly different at $P<0.05$.

타내었는데 블랙커런트는 전 농도 범위에서 가장 낮은 소거능을 나타냈지만 마키베리는 가장 높은 소거능을 보여주었고, 특히 2.5 mg/mL 이상의 농도에서는 양성대조군으로 사용한 ascorbic acid(75.16%)보다 우수한 활성을 나타내었다($P<0.05$). Jeong 등(2)은 블랙커런트의 DPPH radical 소거능 측정 결과 0.62~10 mg/mL의 범위에서 농도 의존적으로 소거능이 증가하였다고 보고하였고, Gu 등(37)은 스위트 다크 체리의 DPPH radical 소거능이 1.25~10 mg/mL의 범위에서 31.71~81.83%를 보이며 농도 증가에 따라 증가 추세를 나타내었다고 보고하여 본 실험의 결과와 일치하였다. 페놀성 화합물은 항산화 활성과 관련이 높은 것으로 보고(41)되고 있는데 본 실험에서도 총페놀 함량이 가장 높은 마키베리에서 DPPH radical 소거능이 가장 우수하게 나타났다. 안토시아닌 함량도 마키베리가 아로니아와 블랙커런트보다 높게 관찰되었는데, Fredes 등(42)은 안토시아닌 함량이 높은 경우 항산화능이 우수하게 나타났다고 보고하여 본 실험 결과와 같은 경향을 보였다.

ABTS radical 소거능

ABTS radical 소거능은 ABTS 용액과 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS free radical이 추출물 내에 존재하는 항산화 물질에 의해 제거되어 radical 특유의 청록색이 탈색되는 원리를 이용하여 측정하는 방법이다(26). 아로니아, 블랙커런트, 마키베리의 ABTS radical 소거능 측정 결과는 Fig. 2와 같다. 시료 농도 1 mg/mL에서는 22.75~37.18%로 나타났고 추출물의 농도 증가에 따라 소거능은 지속해서 증가하여 2.5 mg/mL에서 39.71~63.95%, 5 mg/mL에서 67.83~96.38%를 나타내며 마키베리의 radical 소거능이 가장 우수하였는데 이는 마키베리의 높은 폴리페놀 함량이 영향을 준 것으로 여겨진다. Gu 등(37)은 스위트 다크 체리의 ABTS radical 소거능이 농도 의존적으로 증가하여 1.25 mg/mL에서 8.5%이던 것이 10 mg/mL에서는 55.18%로 나타났다고 하였고, Jeong 등(2)의 연구에서는 블랙커런트의 ABTS radical 소거능이 0.62~10 mg/

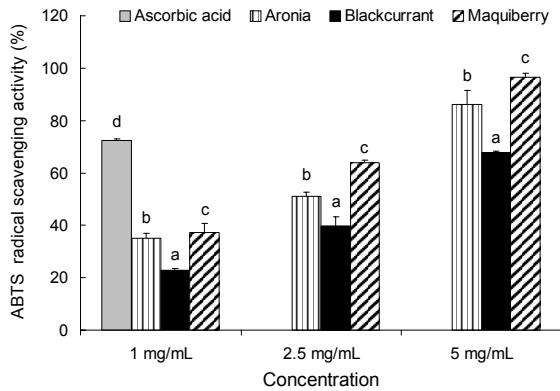


Fig. 2. ABTS radical scavenging activity of aronia, blackcurrant, and maquiberry. Values with different letters (a-d) in the same concentration are significantly different at $P < 0.05$.

mL의 범위에서 농도 의존적으로 증가하였다고 보고하여 본 실험의 결과와 유사한 경향을 나타내었다. Gironés-Vilaplana 등(43)은 아사이베리와 마키베리의 DPPH 및 ABTS radical 소거능을 측정된 결과 아사이베리의 경우 ABTS radical 소거능은 우수하였으나 DPPH radical 소거능은 낮게 나타났고, 마키베리는 ABTS 및 DPPH radical 소거능이 모두 우수하였다고 보고하였다.

FRAP

FRAP는 낮은 pH 조건에서 노란색의 Fe^{3+} -TPTZ가 시료 추출물 중에 존재하는 항산화 물질에 의하여 Fe^{2+} -TPTZ로 환원되어 푸른색을 띠는 원리를 이용한 방법으로 측정하며 흡광도 수치가 높을수록 항산화 활성이 높다는 것을 의미한다(27). 아로니아, 블랙커런트, 마키베리의 FRAP 측정 결과는 Fig. 3과 같이 시료 농도 1 mg/mL에서 0.26~0.43 abs, 2.5 mg/mL에서 0.49~0.77 abs를 나타내었다. 그 이후의 농도에서 FRAP는 급격히 증가하여 5 mg/mL에서는 블랙커런트가 0.89 abs로 가장 낮았고 마키베리가 1.30 abs로 가장 높게 나타났는데 이는 블랙커런트의 1.5배, 아로니아의 1.2배 이상 높은 활성이었으며 ascorbic acid의 1.02 abs보

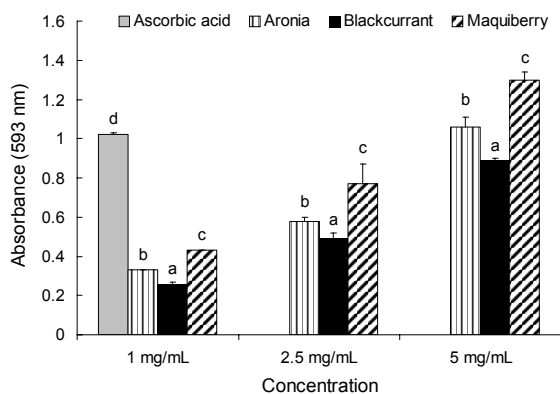


Fig. 3. FRAP of aronia, blackcurrant, and maquiberry. Values with different letters (a-d) in the same concentration are significantly different at $P < 0.05$.

다도 높은 활성이었다($P < 0.05$). 마키베리를 포함하여 6종류 과일(blueberries, raspberries, blackberries, strawberries, pomegranate)의 폴리페놀 함량과 안토시아닌 함량을 측정된 연구(35)에서는 마키베리가 가장 높았고, DPPH radical 소거능 및 FRAP 활성도 가장 우수하였다고 보고하였다. Li와 Jeong(5)은 일부 베리류의 FRAP 활성을 측정된 결과 아로니아가 가장 높았고 그다음 아사이베리 > 블루베리 > 블랙커런트 > 크랜베리 순으로 나타났다고 보고하였다. Fredes 등(42)의 연구에서 마키베리의 FRAP 수치는 마키베리가 숙성됨에 따라 증가하여 완숙기에 가장 높게 나타났고 이 시기의 마키베리는 검붉은 자주색을 띠며 안토시아닌 함량이 가장 많아 높은 항산화 활성에 기여한 것으로 보고하였다. Gironés-Vilaplana 등(43)은 5종류의 라틴 아메리카 과일(acai, maqui, cape gooseberry, papaya, noni)의 항산화능을 측정된 결과 마키베리가 DPPH 및 ABTS radical 소거능뿐만 아니라 FRAP에서도 가장 높은 활성을 보였고 이는 안토시아닌 함량과 높은 상관관계가 있다고 보고하였다. 본 실험에서도 마키베리의 총안토시아닌 함량이 아로니아와 블랙커런트보다 더 높기 때문에 우수한 FRAP 수치를 보인 것으로 여겨진다.

환원력

환원력 측정은 ferric ion(Fe^{3+})이 시료 추출물 중 항산화 물질과 같은 환원제가 존재하면 ferrous ion(Fe^{2+})으로 변하면서 청녹색을 띠게 되고 이때의 흡광도를 700 nm에서 측정하는 원리(44)를 이용하는 것이며 앞에서의 FRAP법과 유사하다. 아로니아, 블랙커런트, 마키베리의 환원력을 측정된 결과는 Fig. 4와 같다. 시료 농도 1 mg/mL에서는 블랙커런트가 0.24 abs로 가장 낮았고 마키베리가 0.43 abs로 가장 높았다($P < 0.05$). 그 이후 2.5 mg/mL의 농도에서는 0.48~0.81 abs를 나타내었고 5 mg/mL에서는 0.88~1.53 abs를 나타내어 추출물의 농도 증가에 따라 지속적인 증가 추세를 보였는데, 이러한 결과는 Chung(45)의 블랙초크베리 및 블루베리 70% 메탄올 추출물의 환원력 측정 결과와 같은

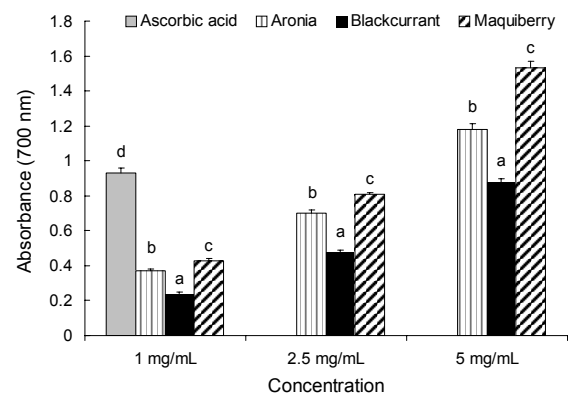


Fig. 4. Reducing power of aronia, blackcurrant, and maquiberry. Values with different letters (a-d) in the same concentration are significantly different at $P < 0.05$.

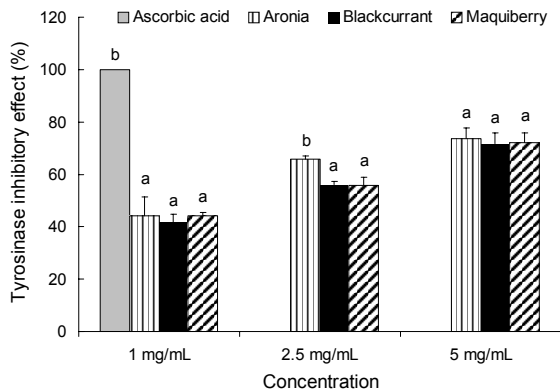


Fig. 5. Tyrosinase inhibitory effect of aronia, blackcurrant, and maquiberry. Values with different letters (a,b) in the same concentration are significantly different at $P<0.05$.

경향이였다. 특히 아로니아와 마키베리는 5 mg/mL 농도에서 양성대조군인 ascorbic acid의 0.92보다 높은 환원력을 보여주었고 블랙커런트보다 각각 1.3배와 1.7배의 높은 환원력을 보여주었다. 본 실험 결과 마키베리는 Fe^{3+} 를 효과적으로 환원시키는 것을 알 수 있었는데 이는 DPPH 및 ABTS radical 소거능, FRAP 결과에서와 같은 경향을 보인 것으로 마키베리의 높은 폴리페놀 및 안토시아닌 함량과 상관성이 큰 것으로 여겨진다.

Tyrosinase 저해 효과

Tyrosinase는 melanin 생합성에서 초기단계를 촉매하는 속도조절 인자로 이 효소에 의해 tyrosine은 L-3,4-dihydroxy-L-phenylalanine(L-DOPA)으로 합성되고 L-DOPA는 DOPA-quinone으로 산화되어 최종적으로 melanin이 합성된다(46). Melanin이 과량으로 생성되면 기미, 주근깨, 반점, 피부 노화 등이 발생할 수 있으므로 특히 미용 분야에서는 미백제 개발의 일환으로 식물성 천연 추출물을 중심으로 한 tyrosinase 저해제 개발에 연구가 집중되고 있다. 아로니아, 블랙커런트, 마키베리의 tyrosinase 저해 효과를 측정할 결과는 Fig. 5와 같다. 시료 추출물의 농도 1 mg/mL에서는 41.70~44.33%로 시료 간에 유의적인 차이가 없었고 농도 증가에 따라 저해 효과는 소폭 증가하여 2.5 mg/mL에서는 아로니아가 65.91%로 블랙커런트와 마키베리의 56.06%와 55.79%보다 높게 나타났다($P<0.05$). 그 이후 5 mg/mL의 농도에서는 71.81~73.64%를 보이며 소폭 증가하였으나 양성대조군인 ascorbic acid의 활성(99.99%)에는 미치지 못하였다. Park(47)은 용매를 달리하여 아로니아를 추출하고 tyrosinase 저해 활성을 측정할 결과 50% 에탄올 추출물이 가장 우수하여 100~1,000 $\mu\text{g/mL}$ 의 범위에서 23.03~33.82%의 활성을 나타내었다고 보고하였다.

아질산염 소거능

아질산염은 식육에 첨가하여 발색제, 독소생성 억제제, 산패방지제로 널리 이용되고 있는데 일정 농도 이상 섭취할

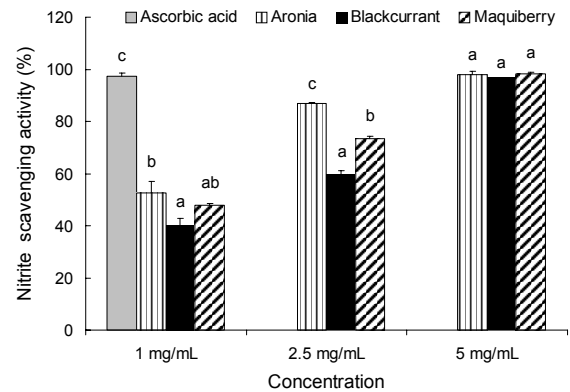


Fig. 6. Nitrite scavenging activity of aronia, blackcurrant, and maquiberry. Values with different letters (a-c) in the same concentration are significantly different at $P<0.05$.

경우 식품 내의 amine류와 반응하여 nitrosamine을 생성한다. Nitrosamine은 암을 유발하고 다량 섭취 시 혈액 중의 헤모글로빈을 산화시켜 메트헤모글로빈증 등의 중독 증상을 유발하는 것으로 알려져 있다(48). 따라서 아질산염을 소거하여 그와 관련된 질병을 억제할 수 있는 천연물질 탐색에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 아로니아, 블랙커런트, 마키베리의 아질산염 소거능을 측정할 결과는 Fig. 6과 같다. 시료 농도 1 mg/mL와 2.5 mg/mL에서는 각각 40.37~52.53%와 59.57~86.79%로 아로니아가 가장 높았고 블랙커런트가 가장 낮게 나타났으나, 5 mg/mL에서는 시료 간에 유의적인 차이 없이 96.73~98.33%의 범위로 나타나 ascorbic acid의 97.47%와 대등한 활성을 보여주었다. Chung(45)의 연구에서 블랙초크베리의 70% 메탄올 추출물의 아질산염 소거능은 0.5~5 mg/mL의 범위에서 농도의존적으로 증가하였고, 5 mg/mL에서는 91.33%를 나타내었다고 보고하였다. 본 실험 결과 아로니아, 블랙커런트, 마키베리는 위 내 환경인 pH 1.2에서 높은 아질산염 소거능을 나타내었으므로 이들을 아질산염이 많이 함유된 식품과 함께 섭취할 경우 아질산염을 효과적으로 소거하여 nitrosamine의 생성을 억제할 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

본 연구에서는 아로니아, 블랙커런트, 마키베리의 생리활성을 비교하기 위하여 총폴리페놀, 총플라보노이드, 총안토시아닌 함량, DPPH radical 소거능, ABTS radical 소거능, FRAP 활성, 환원력, tyrosinase 저해 효과, 아질산염 소거능 등을 측정하였다. 총폴리페놀 함량은 마키베리가 73.66 mg GAE/g으로 가장 높게 나타났고 그다음으로 아로니아 59.26 mg GAE/g, 블랙커런트 43.70 mg GAE/g 순이었다. 총플라보노이드 함량도 같은 경향을 나타내어 마키베리 28.08 mg/g, 아로니아 24.26 mg/g, 블랙커런트 16.82 mg/g 순으로 나타났으며, 총안토시아닌 함량은 마키베리가 12.82 mg/g으로 가장 높았고, 아로니아와 블랙커런트가 각

각 9.52 mg/g과 8.95 mg/g으로 유의적인 차이를 보이지 않았다. 마키베리는 DPPH 및 ABTS radical 소거능, FRAP, 환원력에서 유의적으로 높은 활성을 나타내었고, 시료 농도 5 mg/mL에서는 양성대조군으로 사용한 ascorbic acid보다 우수한 효과를 보여주었다. 그다음으로는 아로니아가 우수한 활성을 보였으며 블랙커런트는 대부분의 기능성 실험 결과 가장 낮은 활성을 나타내었다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 마키베리는 천연 항산화제 및 건강 기능성 식품재료로서의 활용 가능성이 매우 높을 것으로 생각된다.

REFERENCES

- Lim YY, Lim TT, Tee JJ. 2007. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food Chem* 103: 1003-1008.
- Jeong CH, Jang CW, Lee KY, Kim IH. 2012. Chemical components and anti-oxidant activities of black currant. *Korean J Food Preserv* 19: 263-270.
- 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.
- 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.
- Li H, Jeong JM. 2015. Antioxidant activities of various berries ethanolic extract. *Korean J Med Crop Sci* 23: 49-56.
- Lee Y, Lee JH, Kim SD, Chang MS, Jo IS, Kim SJ, Hwang KT, Jo HB, Kim JH. 2015. Chemical composition, functional constituents, and antioxidant activities of berry fruits produced in Korea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44: 1295-1303.
- Miller MG, Shukitt-Hale B. 2012. Berry fruit enhances beneficial signaling in the brain. *J Agric Food Chem* 60: 5709-5715.
- Zafra-Stone S, Yasmin T, Bagchi M, Chatterjee A, Vinson JA, Bagchi D. 2007. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. *Mol Nutr Food Res* 51: 675-683.
- Kulling SE, Rawel HM. 2008. Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) - A review on the characteristic components and potential health effects. *Planta Med* 74: 1625-1634.
- Naruszewicz M, Laniewska I, Millo B, Dluzniewski M. 2007. Combination therapy of statin with flavonoids rich extract from chokeberry fruits enhanced reduction in cardiovascular risk markers in patients after myocardial infarction (MI). *Atherosclerosis* 194: e179-184.
- Malik M, Zhao C, Schoene N, Guisti MM, Moyer MP, Magnuson BA. 2003. Anthocyanin-rich extract from *Aronia melanocarpa* E induces a cell cycle block in colon cancer but not normal colonic cells. *Nutr Cancer* 46: 186-196.
- Gasiorowski K, Szyba K, Brokos B, Kołaczyńska B, Jankowiak-Włodarczyk M, Oszmiański J. 1997. Antimutagenic activity of anthocyanins isolated from *Aronia melanocarpa* fruits. *Cancer Lett* 119: 37-46.
- Chen XY, Huan IM, Hwang LS, Ho CT, Li S, Lo CY. 2014. Anthocyanins in blackcurrant effectively prevent the formation of advanced glycation end products by trapping methylglyoxal. *J Funct Foods* 8: 259-268.
- Xu Y, Cai F, Yu Z, Zhang L, Li X, Yang Y, Liu G. 2016. Optimisation of pressurised water extraction of polysaccharides from blackcurrant and its antioxidant activity. *Food Chem* 194: 650-658.
- Bishayee A, Mbimba T, Thoppil RJ, Háznagy-Radnai E, Sipos P, Darvesh AS, Folkesson HG, Hohmann J. 2011. Anthocyanin-rich black currant (*Ribes nigrum* L.) extract affords chemoprevention against diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinogenesis in rats. *J Nutr Biochem* 22: 1035-1046.
- Cyboran S, Bonarska-Kujawa D, Pruchnik H, Żyłka R, Oszmiański J, Kleszczyńska H. 2014. Phenolic content and biological activity of extracts of blackcurrant fruit and leaves. *Food Res Int* 65: 47-58.
- Orjuela-Palacio JM, Zamora MC, Lanari MC. 2014. Consumers' acceptance of a high-polyphenol yerba mate/black currant beverage: Effect of repeated tasting. *Food Res Int* 57: 26-33.
- González B, Vogel H, Razmilic I, Wolfram E. 2015. Polyphenol, anthocyanin and antioxidant content in different parts of maqui fruits (*Aristotelia chilensis*) during ripening and conservation treatments after harvest. *Ind Crops Prod* 76: 158-165.
- Ruiz A, Hermosín-Gutiérrez I, Mardones C, Vergara C, Hertz E, Vega M, Dorau C, Winterhalter P, von Baer D. 2010. Polyphenols and antioxidant activity of calafate (*Berberis microphylla*) fruits and other native berries from Southern Chile. *J Agric Food Chem* 58: 6081-6089.
- Rojo LE, Ribnicky D, Logendra S, Poulev A, Rojas-Silva P, Kuhn P, Dun R, Grace MH, Lila MA, Raskin I. 2012. *In vitro* and *in vivo* anti-diabetic effects of anthocyanins from Maqui Berry (*Aristotelia chilensis*). *Food Chem* 131: 387-396.
- Schreckinger ME, Wang J, Yousef G, Lila MA, Gonzalez de Mejia E. 2010. Antioxidant capacity and *in vitro* inhibition of adipogenesis and inflammation by phenolic extracts of *Vaccinium floribundum* and *Aristotelia chilensis*. *J Agric Food Chem* 58: 8966-8976.
- Dewanto V, Wu X, Liu RH. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50: 4959-4964.
- Lee YC, Hwang KH, Han DH, Kim SD. 1997. Compositions of *Opuntia ficus-indica*. *Korean J Food Sci Technol* 29: 847-853.
- AOAC International. 2005. *AOAC official methods of analysis*. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Rockville, MD, USA. p 37-39.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- 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.
- Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem* 239: 70-76.
- Wong JY, Chye FY. 2009. Antioxidant properties of selected tropical wild edible mushrooms. *J Food Compos Anal* 22: 269-277.
- Chang MI, Kim JY, Kim US, Baek SH. 2013. Antioxidant, tyrosinase inhibitory, and anti-proliferative activities of gochujang added with cheonggukjang powder made from sword bean. *Korean J Food Sci Technol* 45: 221-226.

30. Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric Biol Chem* 51: 1333-1338.
31. 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.
32. Yu MH, Im HG, Lee HJ, Ji YJ, Lee IS. 2006. Components and their antioxidative activities of methanol extracts from sarcocarp and seed of *Zyzyphus jujuba* var. inermis Rehder. *Korean J Food Sci Technol* 38: 128-134.
33. Wangenstein H, Braunlich M, Nikolic V, Malterud KE, Slimestad R, Barsett H. 2014. Anthocyanins, proanthocyanidins and total phenolics in four cultivars of aronia: Antioxidant and enzyme inhibitory effects. *J Funct Foods* 7: 746-752.
34. Rodríguez K, Ah-Hen KS, Vega-Galvez A, Vasquez V, Quispe-Fuentes I, Rojas P, Lemus-Mondaca R. 2016. Changes in bioactive components and antioxidant capacity of maqui, *Aristotelia chilensis* [Mol] Stuntz, berries during drying. *LWT—Food Sci Technol* 65: 537-542.
35. Fredes C, Montenegro G, Zoffoli JP, Santander F, Robert P. 2014. Comparison of the total phenolic content, total anthocyanin content and antioxidant activity of polyphenol-rich fruits grown in Chile. *Cien Inv Agr* 41: 49-60.
36. Rubilar M, Jara C, Poo Y, Acevedo F, Gutierrez C, Sineiro J, Shene C. 2011. Extracts of Maqui (*Aristotelia chilensis*) and Murta (*Ugni molinae* Turcz.): sources of antioxidant compounds and α -glucosidase/ α -amylase inhibitors. *J Agric Food Chem* 59: 1630-1637.
37. Gu GS, Kim IH, Jeong CH, Kim DC, Jang CW, Kim YS, Lee KY, Shim KH. 2014. Nutrition components and antioxidative activities of sweet dark cherry (*Prunus avium* L.) fruits. *J Agric Life Sci* 48: 151-161.
38. Bordonaba JG, Crespo P, Terry LA. 2011. A new acetonitrile-free mobile phase for HPLC-DAD determination of individual anthocyanins in blackcurrant and strawberry fruits: A comparison and validation study. *Food Chem* 129: 1265-1273.
39. Woodward G, Kroon P, Cassidy A, Kay C. 2009. Anthocyanin stability and recovery: implications for the analysis of clinical and experimental samples. *J Agric Food Chem* 57: 5271-5278.
40. Kim MJ, Park E. 2011. Feature analysis of different *in vitro* antioxidant capacity assays and their application to fruit and vegetable samples. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1053-1062.
41. 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 Med Crop Sci* 13: 93-100.
42. Fredes C, Montenegro G, Zoffoli JP, Gómez M, Robert P. 2012. Polyphenol content and antioxidant activity of maqui (*Aristotelia chilensis* Molina Stuntz) during fruit development and maturation in Central Chile. *Chilean J Agric Res* 72: 582-588.
43. Gironés-Vilaplana A, Baenas N, Villaño D, Speisky H, García-Viguera C, Moreno DA. 2014. Evaluation of Latin-American fruits rich in phytochemicals with biological effects. *J Funct Foods* 7: 599-608.
44. Terpin 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.
45. 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.
46. Cho EJ, Ju HM, Jeong CH, Eom SH, Heo HJ, Kim DO. 2011. Effect of phenolic extract of dry leaves of *Lespedeza cuneata* G. Don on antioxidant capacity and tyrosinase inhibition. *Kor J Hort Sci Technol* 29: 358-365.
47. Park HM. 2014. Physiological activities of *Aronia melanocarpa* extracts on extraction solvents. *Korean J Food Preserv* 21: 718-726.
48. 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.