Korean Journal of Environmental Agriculture

Korean J Environ Agric. 2017;36(2):87-96. Korean
Published online 2017 June 26. https://doi.org/10.5338/KJEA.2017.36.2.14

Online ISSN: 2233-4173
Print ISSN: 1225-3537

Research Article

CrossMark Open Access

UPLC-DAD-QTOF/MS를 이용한 국내 재배 블루베리(*Vaccinium corymbosum*)와 복분자(*Rubus coreanus*)의 플라보노이드 특성 비교

김영진[1], 김헌웅[1], 이민기[1], 이선혜[1], 장환희[1], 황유진[1], 최정숙[1], 이성현[1], 차연수[2], 김정봉[1*]

[1]국립농업과학원 농식품자원부 기능성식품과, [2]전북대학교 생활과학대학 식품영양학과

Comparison of Flavonoid Characteristics between Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) and Black Raspberry (*Rubus coreanus*) Cultivated in Korea using UPLC-DAD-QTOF/MS

Young Jin Kim[1], Heon-Woong Kim[1], Min-Ki Lee[1], Seon-Hye Lee[1], Hwan-Hee Jang[1], Yu-Jin Hwang[1], Jeong-Sook Choe[1], Sung-Hyun Lee[1], Youn-Soo Cha[2] and Jung-Bong Kim[1*] ([1]Department of Agro-food Resources, National Institute of Agricultural Sciences, Wanju 55365, Korea, [2]Department of Food Science and Human Nutrition, College of Human Ecology, Chonbuk National University, Jeonju 561756, Korea)

Received: 23 May 2017 / Revised: 15 June 2017 / Accepted: 21 June 2017

ORCID
Jung-Bong Kim
http://orcid.org/0000-0002-0589-3886

Abstract

BACKGROUND: The objective of this study was to identify and compare the main phenolic compounds (anthocyanins, flavonoids, phenolic acids) in blueberry and black raspberry cultivated in Korea using ultra-performance liquid chromatography−diode array detection −quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-DAD-QTOF/MS).

METHODS AND RESULTS: Twenty-nine flavonoids were identified by comparison of ultraviolet and mass spectra with data in a chemical library and published data. Blueberry contained flavonols including kaempferol, quercetin, isorhamnetin, myricetin, and syringetin aglycones. Isorhamnetin 3-*O*-robinobioside, kaempferol 3-*O*-(6"-O-acetyl)glucoside, quercetin, quercetin 3-*O*-arabinofuranoside (avicularin), quercetin 3-*O*-(6"-O-malonyl) glucoside, and quercetin 3-*O*-robinobioside were detected for the first time in blueberry. The flavonoids in raspberry consisted of quercetin aglycone and its glycosides. The mean total flavonoid content in blueberry [143.0 mg/100 g dry weight (DW)] was 1.5-times that in raspberry (95.4 mg/100 g DW). The most abundant flavonoid in blueberry was quercetin 3-*O*-galactoside (hyperoside, up to 76.1 mg/100 g DW) and that in raspberry was quercetin 3-*O*-glucuronide (miquelianin, up to 55.5 mg/100 g DW). Miquelianin was not detected in blueberry.

CONCLUSION: Flavonol glycosides were the main flavonoids in blueberry and black raspberry cultivated in Korea. The composition and contents of flavonoids differed between blueberry and black raspberry, and may be affected by the cultivar and cultivation conditions.

Key words: Flavonoid, *Rubus coreanus*, UPLC-DAD-QTOF/MS, *Vaccinium corymbosum*

*Corresponding author: Jung-Bong Kim
Phone: +82-63-238-3701; Fax: +82-63-238-3844;
E-mail: silee83@korea.kr

서 론

블루베리(*Vaccinium* spp.)는 진달래목 진달래과의 관목으로 세계적으로 북반구를 중심으로 400여종이 존재하며, 로

우부시(lowbush), 하이부시(highbush), 래빗아이(rabbiteye) 등 형태에 따라 3개의 품종군이 주를 이루고 있다(Westwood, 1993). 블루베리는 2000년 후반 국내에 보급되었으며, 내한성이 강하고 재배가 쉬운 하이부시(*V. corymbosum*) 품종군이 주로 재배되고 있다(Kim *et al.*, 2010). 복분자는(*Rubus coreanus*)는 '복분자 딸기의 열매'를 이르는 말로 장미과에 속하는 식물이며 동남아시아 및 한국, 일본, 그리고 중국의 남부 지역에 주로 분포하고 있다(Lee *et al.*, 2013, Park and chin, 2007). 블루베리, 복분자 등 베리류에는 당(fructose, glucose), 아미노산(L-arginine, γ-amino butyric acid), 무기질(P, K, Ca, Mg)뿐만 아니라 안토시아닌, 플라보노이드 등과 같은 페놀화합물 성분이 함유되어 있다(Beecher, 2003, Moon *et al.*, 2013). 블루베리 내 안토시아닌은 당뇨, 시력 개선에 효과가 있다고 알려져 있어 블루베리를 첨가한 양갱, 막걸리 등 건강기능식품의 소재로서 활용되고 있다(Ghosh *et al.*, 2007; Han and Chung, 2013; Jeon and Lee, 2011; Kalt *et al.*, 2000). 복분자는 예로부터 과실을 식용뿐만 아니라 시력, 혈관, 방광에 효능이 있다고 알려져 있어 약용으로도 이용되어 왔으며, 이를 활용한 술, 초콜릿 등 가공 관련 연구가 활발하게 이루어지고 있다(Jeon *et al.*, 2013; Lee and Ann, 2009; Yu *et al.*, 2007).

플라보노이드는 2개의 페닐 고리가 3개의 탄소를 매개하여 결합된 C_{15}화합물로, 대표적으로 chalcones, isoflavonoids, flavonols, flavones 등으로 분류되고 일반적으로 각 아글리콘에 당(glucose, galactose, rhamnose 등)이 결합한 배당체 형태에 caffeic acid 등이 결합된 아실화배당체 형태로 존재한다(Corft, 1998). 다양한 플라보노이드와 그 배당체들은 체내 대사과정에서 긍정적인 영향을 미친다고 알려져 있다. 이와 관련하여 베리류 열매 내 플라보노이드는 항산화뿐만 아니라 염증, 노화, 암 등을 개선하는 효과가 있는 것으로 보고되었다(Paredes-López *et al.*, 2010; Samad *et al.*, 2014).

블루베리, 복분자 내 플라보노이드는 LC-ESI-MS/MS와 NMR 분석을 통하여 개별 성분을 분리 및 동정되고 있다. Cardeñosa 등(2016)은 품종별 하이부시 블루베리로부터 총 5종의 quercetin 배당체 및 syringetin 배당체를 동정하였다. 또한 블루베리와 레드커런트, 블랙커런트로부터 총 6종의 플라보노이드를 동정하였고 각 베리류의 플라보노이드 개별 성분 함량을 비교하였다(Gavrilova *et al.*, 2011). Cho 등(2012)은 국내산 복분자 열매로부터 4종의 플라보노이드를 분리, 동정하였다. 그리고 복분자의 미숙과, 숙과 및 잎의 플라보노이드 함량을 비교하여 isoquercitrin을 주요 성분으로 보고하였다(Kim *et al.*, 2008). Lee 등(2015)는 복분자, 라즈베리, 블루베리 등 베리류로부터 총 플라보노이드, 총 페놀 등을 분석하였으나, 국내 재배 베리류의 개별 플라보노이드 비교 연구는 부족한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 국내에서 재배된 7품종('Bluecrop', 'Bluegold', 'Chandler', 'Darrow', 'Elizabeth', 'Legacy', 'Nelson')의 하이부시 블루베리와 4 지역(고창, 광양, 정읍, 순창)에서 수확된 복분자 내 개별 플라보노이드를 UPLC-DAD-QTOF/MS를 이용하여 정성 및 정량하였으며, 품종 및 지역이 베리류 내 플라보노이드 함량에 미치는 영향을 조사하고 이를 이용한 기능성 식품 개발을 위한 기초 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용된 블루베리 7품종('Bluecrop', 'Bluegold', 'Chandler', 'Darrow', 'Elizabeth', 'Legacy', 'Nelson')은 충남농업기술원에서 제공받은 것을 시료로 사용하였고, 복분자 4종은 국내에서 재배된 것으로 고창, 광양, 정읍, 순창지역 농가에서 수확한 것을 사용하였다. 모든 시료는 동결 건조 한 뒤 믹서기로 분말화시켜 밀봉한 후 냉동보관(-60℃)하였다.

플라보노이드 추출

분말 시료 1 g을 칭량하여 50 mL conical tube에 넣은 후 내부 표준물질(galangin 20 ppm)이 포함된 추출 용매(methanol: water: formic acid=50: 45: 5, v/v/v) 10 mL을 넣고 진동혼합 한 뒤 진탕 배양기를 이용하여 5분간 추출하였다. 혼합액을 원심분리(3,000 rpm, 15분, 10℃)하여 얻어진 상층액을 0.2 μm syringe filter (25 mm, Whatman International, Maidstone, Kent, UK)로 여과한 다음, 여과액 0.5 mL과 water 4.5 mL을 섞어 희석시켰다. 플라보노이드 성분의 정제는 Sep-pak C_{18} classic cartridge (Waters, Milford, MA, USA)를 사용하였으며, methanol 2 mL, water 2 mL 순으로 흘려주어 활성화 시킨 뒤 희석된 여과액 5 mL을 loading 한 후 water 2 mL을 흘려 washing 한 다음, methanol 3 mL로 흡착된 플라보노이드 성분을 용출하였다. 용출액 3 mL을 N_2가스로 완전히 날려 버린 후 0.5 mL의 내부 표준물질이 포함되지 않은 추출 용매로 재용해하여 0.2 μm syringe filter (13 mm, Whatman)로 여과한 뒤 HPLC 분석용 갈색 vial에 담아 UPLC-DAD-ESI-QTOF/MS로 분석하였다.

LC-MS/MS를 이용한 플라보노이드 분리 및 동정

플라보노이드 분리 및 동정은 액체크로마토그래피(Waters ACQUITY UPLC™ system, Waters, Milford, MA, USA)와 연결된 Q-TOF 질량분석기(Xevo G2 QTOF, Waters, Milford, MA, USA)를 사용하였다. UPLC 분석 시 C_{18} column (Kinetex 1.7 μ XB-C_{18} 100A, Phenomenex, Torrance, CA, USA)을 사용하였으며, 컬럼 오븐온도는 30℃, 시료 주입량은 5 μL, 검출파장은 210-400 nm로 설정하였다. 이동상으로는 용매 A (water: formic acid: =99.5: 0.5, v/v)및 용매 B (acetonitrile: formic acid: =99.5: 0.5, v/v)를 사용하였으며, 유량은 0.3 mL/min로 설정하였다. 용매 구배조건은 용매 B를 5%로 시작하여 20분까지 25%, 25분까지 50%, 30분까지 90%로 증가시킨 다음 32분까지 2

분간 유지하다 35분까지 5%로 감소시키고 40분까지 유지하였다. 질량분석기 분석 조건은 ion source 온도 120℃, desolvation 온도는 500℃로 설정하였다. Desolvation 가스는 1050 L/hr, cone 가스는 50 L/hr로 설정하였으며, capillary 전압은 3500 V, sampling cone 전압은 40 V, extraction cone 전압은 4.0 V로 설정하였다. 질량 스캔 범위는 *m/z* 200-1200으로 설정하였고, 모든 성분은 양이온 모드로 분석하였다. 검출 시간이 서로 근접한 peak의 경우 LC-MS에서 특정 이온의 분자량을 선택하여 검출하는 방법인 selected ion monitoring (SIM) mode를 사용하여 분석하였다. 검출된 개별 성분 동정은 선행 연구들의 UV spectrum, 단편이온패턴 데이터를 참고하여 수행되었다. 블루베리, 복분자 내 플라보노이드 개별 성분 정량은 내부표준물질의 면적을 기준으로 계산되었으며, 동정된 각 화합물 간의 검출기 내 response factor는 고려하지 않았다.

통계처리

본 실험은 3회 반복하여 얻어진 측정값을 평균값과 표준편차로 나타내었다. 각 평균값간의 차이에 대한 유의성 검정은 PASW Statistics ver. 18.0 (SPSS, Inc. Chicago, IL, USA)을 사용하여 일원배치분산분석(AVONA)을 실시하였으며, 사후 검정은 Duncan's multiple range test를 이용하

Table 1. Identification of 29 flavonoids in the fruit of blueberry (*Vaccinuum corymbosum*) and black raspberry (*Rubus coreanus*)

Peak No.	RT (min)	Identification	Fragment ions pattern	UV spectrum (nm)	Used parts based on literature	
					Blueberry	Black raspberry
1	11.48	Myricetin 3-*O*-galactoside	503, 481, 319	263, 302_{sh}, 355	Fruits[1,3,9], Leaves[10]	-
2	11.75	Myricetin 3-*O*-glucoside	503, 481, 319	253, 262_{sh}, 302_{sh}, 357	Fruits[3,9], Leaves[10]	-
3	13.07	Myricetin 3-*O*-arabinoside	473, 451, 319	253, 262_{sh}, 304_{sh}, 356	Fruits[8,9]	-
4	13.29	Quercetin 3-*O*-robinobioside[NFBa)]	633, 611, 465, 303	257, 266_{sh}, 297_{sh}, 357	Leaves[10]	-
5	13.41	Myricetin 3-*O*-rhamnoside (myricitrin)	487, 465, 319	256, 301_{sh}, 349	Fruits[3,9]	-
6	13.59	Quercetin 3-*O*-rutinoside (rutin)	633, 611, 465, 303	255, 264_{sh}, 295_{sh}, 354	Fruits[1,2,3,4,5,8,9], Leaves[10]	Fruits[14,18,19,20,22]
7	13.71	Quercetin 3-*O*-galactoside (hyperoside)	487, 465, 303	255, 264_{sh}, 294_{sh}, 354	Fruits[1,2,3,4,8,9,11], Leaves[10]	-
8	14.10	Quercetin 3-*O*-glucoside (isoquercitrin)	487, 465, 303	257, 298_{sh}, 354	Fruits[1,2,3,4,5,8,9,11], Leaves[10]	Fruits[1,4,12,14,15,17,18,19,20,21,22], Leaves[16]
9	14.10	Laricitrin 3-*O*-galactoside	517, 495, 333	trace	Fruits[9]	-
10	14.19	Quercetin 3-*O*-glucuronide (miquelianin)	487, 465, 303	255, 264_{sh}, 299_{sh}, 353	-	Fruits[14,18,19,20]
11	14.39	Laricitrin 3-*O*-glucoside	517, 495, 333	254, 263_{sh}, 304_{sh}, 355	Fruits[5,9]	-
12	14.81	Quercetin 3-*O*-xyloside (reynoutrin)	457, 435, 303	255, 265_{sh}, 291_{sh}, 354	Fruits[3], Leaves[10]	-
13	15.23	Quercetin 3-*O*-arabinoside (guaijaverin)	457, 435, 303	255, 264_{sh}, 294_{sh}, 354	Fruits[1,5], Leaves[10]	-
14	15.53	Quercetin 3-*O*-(6''-*O*-malonyl)glucoside[NFB]	573, 551, 303	257, 266_{sh}, 300_{sh}, 356	-	-
15	15.53	Kaempferol 3-*O*-rutinoside (nicotiflorin)	617, 595, 449, 287	266, 298_{sh}, 346	Fruits[7]	-
16	15.72	Isorhamnetin 3-*O*-robinobioside[NFB]	647, 625, 479, 317	256, 267_{sh}, 299_{sh}, 354	-	-
17	15.72	Laricitrin 3-*O*-arabinoside	487, 465, 333	trace	Fruits[9]	-
18	15.83	Quercetin 3-*O*-arabinofuranoside (avicularin)[NFB]	457, 435, 303	255, 263_{sh}, 298_{sh}, 352	-	-
19	16.08	Isorhamnetin 3-*O*-rutinoside (narcissin)	647, 625, 479, 317	254, 264_{sh}, 295_{sh}, 353	Fruits[7]	-
20	16.08	Kaempferol 3-*O*-glucoside (astragalin)	471, 449, 287	266, 294_{sh}, 348	Fruits[6], Leaves[10]	-
21	16.23	Isorhamnetin 3-*O*-galactoside	501, 479, 317	trace	Fruits[11]	-
22	16.23	Quercetin 3-*O*-rhamnoside (quercitirn)	471, 449, 303	254, 262_{sh}, 345	Fruits[8]	-
23	16.52	Syringetin 3-*O*-galactoside	531, 509, 347	252, 264_{sh}, 300_{sh}, 354	Fruits[9]	-
24	16.67	Isorhamnetin 3-*O*-glucoside	501, 479, 317	255, 266_{sh}, 301_{sh}, 355	Fruits[9]	-
25	16.71	Quercetin 3-*O*-(6''-*O*-acetyl)glucoside	529, 507, 303	256, 267_{sh}, 298_{sh}, 356	Fruits[1,9], Leaves[10]	-
26	16.71	Syringetin 3-*O*-glucoside	531, 509, 347	252, 264_{sh}, 301_{sh}, 356	Fruits[5,9]	-
27	19.35	Kaempferol 3-*O*-(6''-*O*-acetyl)glucoside	513, 491, 287	265, 296_{sh}, 337	Leaves[10]	-
28	19.35	Syringetin 3-*O*-rhamnoside	515, 493, 347	trace	Fruits[9]	-
29	21.68	Quercetin[NFB]	341, 303	254, 300_{sh}, 370	-	Fruits[13], Leaves[16]

[a)] NFB: new flavonoid in blueberry fruits.
[1]Borges *et al.*, 2009, [2]Cardenosa *et al.*, 2016, [3]Cho *et al.*, 2004, [4]Diaconeasa *et al.*, 2014, [5]Gabrilova *et al.*, 2011, [6]Kader *et al.*, 1996, [7]Ma *et al.*, 2013, [8]Miles *et al.*, 2013, [9]Vrhovsek *et al.*, 2012, [10]Wang *et al.*, 2015, [11]You *et al.*, 2011, [12]Bradish *et al.*, 2011, [13]Cho *et al.*, 2012, [14]Dincheva *et al.*, 2013, [15]Gevrenova *et al.*, 2013, [16]Han *et al.*, 2012, [17]Kim *et al.*, 2008, [18]Mikulic-Petkovsek *et al.*, 2012, [19]Mullen *et al.*, 2002, [20]Mullen *et al.*, 2003, [21]Nguelefack *et al.*, 2011, [22]Paudel *et al.*, 2013.

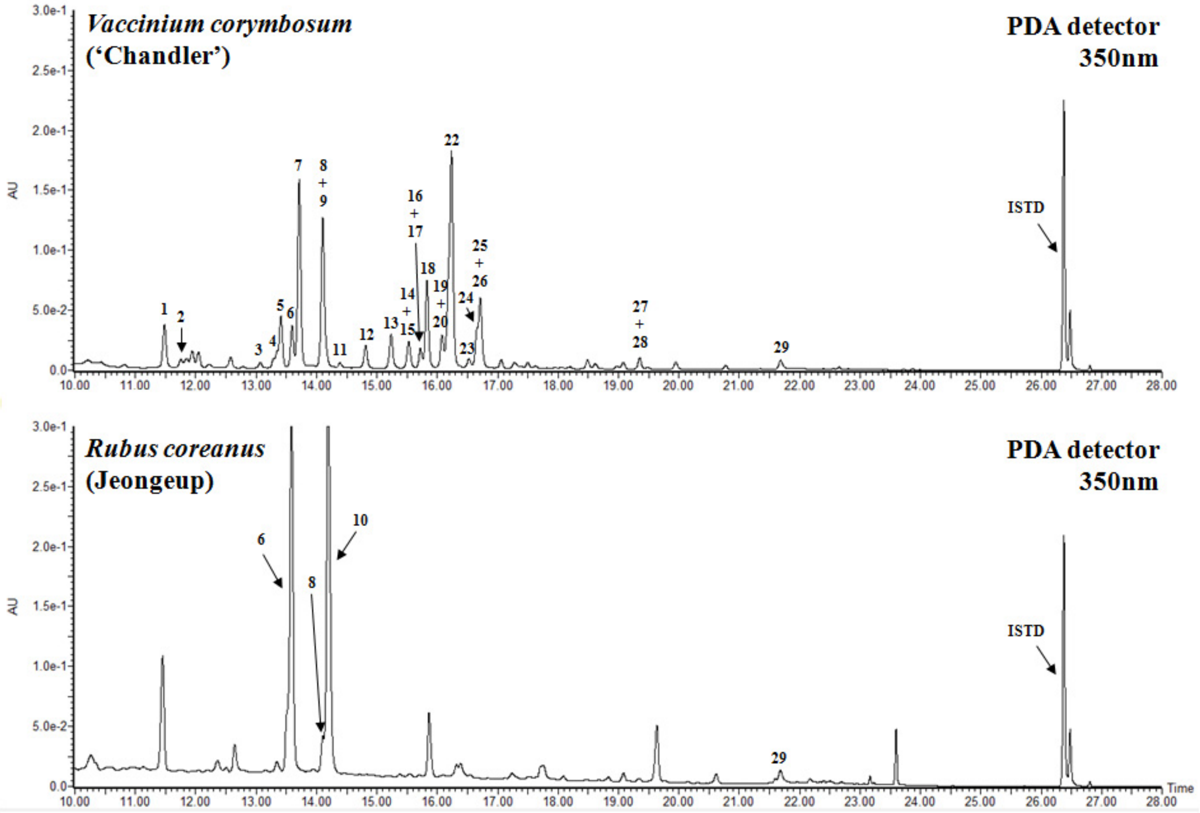

Fig 1. HPLC chromatograms at 350 nm of flavonoids in the fruits of blueberry ('Chandler') and black raspberry (Jeongeup). The peaks are numbered in their order of elution and are identified in Table 1.

여 유의성 $p<0.05$ 수준에서 분석하였다.

결과 및 고찰

UPLC-DAD-ESI-QTOF/MS를 이용한 플라보노이드 개별 성분 분리 및 동정

국내 재배 블루베리, 복분자로부터 총 29종(블루베리 28종, 복분자 4종)의 개별 성분이 분리, 동정되었다(Table 1). 이 중 3종[quercetin 3-*O*-rutinoside (rutin), quercetin 3-*O*-glucoside (isoquercitrin), quercetin]은 블루베리와 복분자 열매에서 모두 검출되었다(Fig. 1). UPLC-DAD를 이용한 UV spectrum을 통해 검출된 모든 플라보노이드는 260과 350 nm 영역에서 높은 흡광도를 가지는 플라보놀 계열임을 확인하였다(Nollet and Toldrá, 2012). Electrospray ionizaion (ESI)의 방법을 사용하여 positive ion mode로 분자량을 확인한 결과 공통적으로 $[M+H]^+$, $[M+Na]^+$형태의 psuedomolecular ion peak가 나타났다. UV spectrum 및 단편이온패턴을 통해 개별 플라보노이드는 아글리콘의 3번 탄소에 1개 또는 2개의 당(rhamnose, galactose, glucose, rutinose 등)이 결합된 배당체로 확인되었다(Wang *et al.*, 2015). 블루베리에서 quercetin, isorhamnetin, myricetin, laricitrin, syringetin 아글리콘의 3번 탄소에 galactose, glucose가 O-glycoside 결합을 하는 배당체 형태의 플라보노이드가 검출되어 일정한 패턴을 나타냈으며, kaempferol 배당체에서는 3-*O*-glucoside 결합만 존재하는 것을 확인하였다(Vrhovsek *et al.*, 2012).

Peak 4, 6은 모두 *m/z* 611을 모분자로 가지며 *m/z* 303을 갖는 것으로 보아 quercetin 배당체로 확인되었으며, 모분자로부터 5탄당인 rhamnose(*m/z* 146)가 제거되고 6탄당(galactose 또는 glucose, *m/z* 162)이 제거되는 동일한 단편이온패턴을 나타내었다. 선행 연구에 따르면, 블루베리의 잎과 열매로부터 모분자의 분자량이 611인 성분은 모두 rutin으로 보고되어 있다(Diaconeasa *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2015). 대추나무(*Zizyphus* spp.)에서는 이와 동일한 단편이온을 갖는 성분 중 quercetin 3-*O*-rhamnosyl(1→6)galactoside(quercetin 3-*O*-robinobioside)와 quercetin 3-*O*-rhamnosyl(1→6)glucoside[quercetin 3-*O*-rutinoside (rutin)]가 동시에 검출되었다고 보고되었으며, 구조적 차이에 의하여 검출시간의 차이를 나타내었다(Lee *et al.*, 2016; Pawlowsak *et al.*, 2009). 단편이온패턴, UV sepctrum, 검출 시간을 토대로 peak 4는 quercetin 3-*O*-robinobioside로 블루베리 열매에서 최초로 동정되었으며, peak 6은 rutin으로 동정하였다. Peak 12, 13, 18은 모두 *m/z* 435의 모분자로부터 *m/z* 132가 소실되는 단편이온패턴을 나타냈으며, *m/z* 303인 querceitn의 ion peak를 확인하였다. 이와 동일한 단편이온을 갖는 배당체 중 xylose(*m/z* 132) 결합이

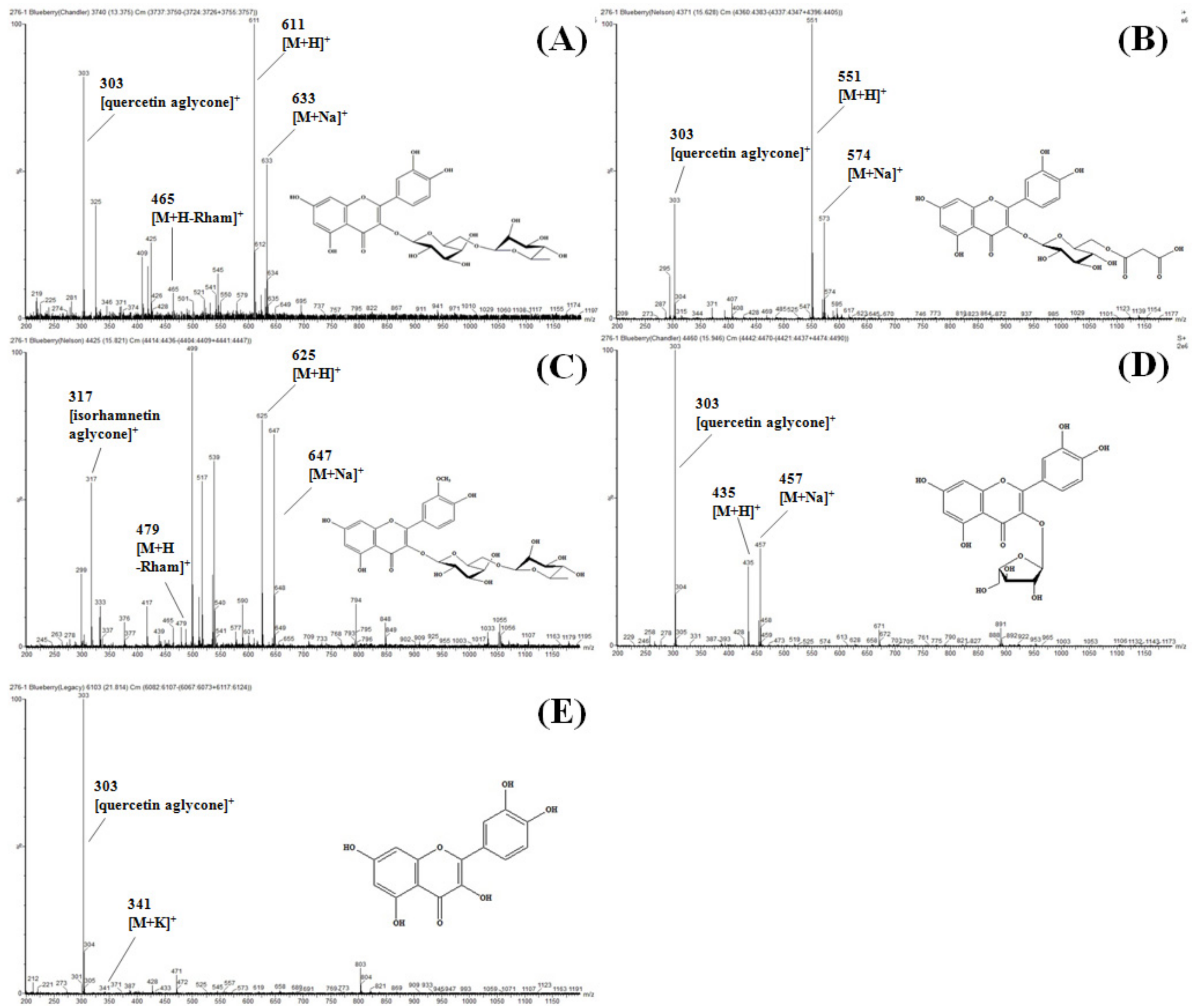

Fig. 2. LC-MS spectra (positive ion mode, $[M+H]^+$) of five newly detected flavonoids from the fruit of blueberry (*Vaccinium corymbosum*). (A) quercetin 3-*O*-robinobioside, *m/z* 611; (B) quercetin 3-*O*-(6''-*O*-malonyl)glucoside, *m/z* 551; (C) isorhamnetin 3-*O*-robinobioside, *m/z* 625; (D) quercetin 3-*O*-arabinofuranoside (avicularin), *m/z* 435; (E) quercetin, *m/z* 303.

arabinose(*m/z* 132) 결합보다 먼저 검출되었고(Wang *et al.*, 2015), arabinose(*m/z* 132) 결합을 가진 배당체가 arabinofuranose(*m/z* 132) 결합을 가진 배당체보다 먼저 검출된 것으로 보고되었다(Marks *et al.*, 2007). 따라서 검출 순서에 따라 peak 12는 quercetin 3-*O*-xyloside(reynoutrin)로, peak 13은 quercetin 3-*O*- arabinoside로, peak 18은 quercetin 3-*O*-arabinofuranoside (avicularin)로 동정하였으며, 특히 avicularin는 블루베리 잎과 열매에서 최초로 동정되었다(Fig. 2). Peak 14에서 *m/z* 573, 551, 303의 ion peak가 확인되었다. 오디(*Morus alba* L.)로부터 이와 동일한 단편이온패턴이 보고되었으며(Dugo *et al.*, 2009; Katsube *et al.*, 2006; Thabti *et al.*, 2012), UV spectrum 및 검출시간을 비교한 결과 quercetin 3-*O*-(6''-*O*-malonyl) glucoside로 동정되었으며, 블루베리 잎과 열매에서는 처음으로 동정되었다.

Peak 16, 19는 모두 isorhamnetin(*m/z* 317)을 기반으로 한 배당체로 확인되었고, 모분자로부터 *m/z* 308이 떨어지는 ion peak가 나타났다. 블루베리 내에서 3-*O*-robinobiose (*m/z* 308) 결합이 3-*O*-rutinoside(*m/z* 308)결합보다 먼저 검출되는 것으로 보고되었으며(Wang *et al.*, 2015), 선행 연구에서 isorhamnetin 3-*O*-rutinoside (narcissin)이 동일한 단편이온 패턴을 갖는 것으로 보고되었다(Ma *et al.*, 2013). 따라서 peak 16은 isorhamnetin 3-*O*-robinobioside로 블루베리 열매에서 최초로 동정하였으며, peak 19는 isorhamnetin 3-*O*-rutinoside (narcissin)로 동정하였다.

Peak 29의 단편이온 패턴은 *m/z* 341, 325, 303으로 나타났으며, 산 가수분해시킨 블루베리의 플라보노이드에서 이와 동일한 단편이온패턴을 확인하여 검출시간을 비교한 결과

Table 2. Flaovnoid contents (mg/100 g DW) in the fruit of blueberry (*Vaccinuum corymbosum*) and black raspberry (*Rubus coreanus)*

Peak No.	Blueberry							Black raspberry			
	‘Bluecrop’	‘Bluegold’	‘Chandler’	‘Darrow’	‘Elizabeth’	‘Legacy’	‘Nelson’	Gochang	Gwangyang	Jeongeup	Sunchang
1	16.5 ± 0.3b	19.7 ± 0.9a	5.2 ± 0.2f	8.6 ± 0.6e	18.4 ± 1.6a	13.4 ± 0.4c	10.8 ± 0.3d	-	-	-	-
2	4.9 ± 0.1a	2.4 ± 0.1b	1.0 ± 0.0e	2.1 ± 0.1c	0.4 ± 0.0f	0.5 ± 0.1f	1.8 ± 0.1d	-	-	-	-
3	1.6 ± 0.0d	3.9 ± 0.4a	0.7 ± 0.0e	1.2 ± 0.1d	2.6 ± 0.3b	1.9 ± 0.1c	1.4 ± 0.0d	-	-	-	-
4	0.8 ± 0.0e	1.3 ± 0.1d	0.7 ± 0.0e	1.9 ± 0.1b	2.1 ± 0.2b	1.6 ± 0.1c	3.0 ± 0.1a	-	-	-	-
5	-	1.3 ± 0.1b	3.2 ± 0.2a	-	-	-	-	-	-	-	-
6	7.0 ± 0.1bc	7.8 ± 0.4b	4.3 ± 0.2e	24.5 ± 1.3a	5.0 ± 0.4e	4.8 ± 0.2e	6.4 ± 0.2d	54.2 ± 2.0a	33.4 ± 1.6b	52.2 ± 3.6a	52.8 ± 2.3a
7	24.7 ± 0.2e	41.1 ± 1.9d	21.5 ± 0.8e	60.7 ± 2.9c	69.9 ± 6.6b	76.1 ± 5.0a	27.6 ± 1.0e	-	-	-	-
8	20.4 ± 0.2b	17.3 ± 0.8c	16.8 ± 0.6c	41.3 ± 2.0a	8.3 ± 0.7e	13.9 ± 1.3d	17.5 ± 0.5c	4.6 ± 0.2b	8.5 ± 0.4a	3.5 ± 0.2c	3.6 ± 0.2c
9	7.5 ± 0.1b	9.4 ± 0.5a	1.4 ± 0.1e	3.9 ± 0.2d	5.5 ± 0.5c	6.9 ± 0.6b	4.3 ± 0.1d	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	45.2 ± 1.7b	13.7 ± 0.7c	55.5 ± 3.6a	47.8 ± 2.0b
11	3.2 ± 0.2a	2.1 ± 0.1b	0.5 ± 0.0d	1.3 ± 0.2c	0.2 ± 0.0e	0.4 ± 0.0de	1.3 ± 0.0c	-	-	-	-
12	-	-	2.8 ± 0.1	-	-	-	-	-	-	-	-
13	2.9 ± 0.0f	5.6 ± 0.2d	4.3 ± 0.2e	9.3 ± 0.6c	12.1 ± 1.1b	13.7 ± 0.9a	5.1 ± 0.2de	-	-	-	-
14	3.2 ± 0.1c	2.2 ± 0.1d	2.9 ± 0.1c	6.5 ± 0.4a	2.5 ± 0.2d	3.0 ± 0.2c	3.6 ± 0.1b	-	-	-	-
15	0.8 ± 0.0b	0.1 ± 0.0d	0.5 ± 0.0c	5.3 ± 0.3a	0.6 ± 0.1c	0.2 ± 0.0d	0.2 ± 0.0d	-	-	-	-
16	0.4 ± 0.0d	0.1 ± 0.0e	1.5 ± 0.1c	4.3 ± 0.2b	1.3 ± 0.1c	0.5 ± 0.1d	7.2 ± 0.2a	-	-	-	-
17	4.9 ± 0.1a	1.4 ± 0.0c	0.6 ± 0.0e	1.3 ± 0.0c	0.9 ± 0.1d	1.0 ± 0.1d	2.3 ± 0.1b	-	-	-	-
18	-	-	10.2 ± 0.4	-	-	-	-	-	-	-	-
19	0.1 ± 0.0e	0.8 ± 0.0c	1.2 ± 0.0b	4.0 ± 0.2a	0.8 ± 0.1c	1.2 ± 0.1b	0.4 ± 0.0d	-	-	-	-
20	1.1 ± 0.0c	0.1 ± 0.0e	0.6 ± 0.0d	1.5 ± 0.1b	1.0 ± 0.1c	2.4 ± 0.2a	0.2 ± 0.0e	-	-	-	-
21	-	0.2 ± 0.0c	-	4.5 ± 0.2a	-	0.9 ± 0.1b	-	-	-	-	-
22	-	3.1 ± 0.3c	26.5 ± 1.2a	-	-	8.7 ± 0.6b	-	-	-	-	-
23	6.3 ± 0.2b	8.6 ± 0.4a	1.1 ± 0.1f	3.4 ± 0.2e	4.2 ± 0.4d	5.2 ± 0.3c	3.2 ± 0.1e	-	-	-	-
24	-	1.0 ± 0.0c	3.6 ± 0.1a	3.0 ± 0.2b	-	0.9 ± 0.1c	-	-	-	-	-
25	9.3 ± 0.2c	-	8.0 ± 0.4d	14.4 ± 1.2a	-	-	10.2 ± 0.3b	-	-	-	-
26	7.2 ± 0.1a	3.6 ± 0.2b	0.7 ± 0.0e	3.2 ± 0.3c	-	1.1 ± 0.1d	3.7 ± 0.1b	-	-	-	-
27	1.0 ± 0.0a	-	0.2 ± 0.0d	0.7 ± 0.0b	-	-	0.6 ± 0.0c	-	-	-	-
28	-	-	1.2 ± 0.1	-	-	-	-	-	-	-	-
29	1.6 ± 0.1c	2.8 ± 0.2b	1.5 ± 0.1c	1.1 ± 0.1c	-	4.5 ± 0.8a	-	0.2 ± 0.1c	1.8 ± 0.1b	2.9 ± 0.1a	1.7 ± 0.3b
Total	125.4 ± 0.6cd	135.7 ± 6.5c	122.6 ± 5.0cd	207.9 ± 11.1a	135.9 ± 12.5c	162.7 ± 11.0b	110.7 ± 3.6d	104.2 ± 4.0a	57.4 ± 2.7b	114.1 ± 7.6a	106.0 ± 4.7a

Each value presented as means ± SD (*n*=3) by using internal standard (galangin); DW, dry weight.
Means in the same column followed by the same letter are not significantly different at the level of 0.05 by using Duncan's multiple range tests.

quercetin으로 동정하였고(You *et al.*, 2011), 산 가수분해 처리하지 않은 블루베리 열매에서는 처음으로 확인되었다.

블루베리와 복분자 내 개별 플라보노이드 함량 비교

국내에서 재배된 7품종(‘Bluecrop’, ‘Bluegold’, ‘Chandler’, ‘Darrow’, ‘Elizabeth’, ‘Legacy’, ‘Neson’) 블루베리 내 총 플라보노이드 함량은 평균 143.0 dry weight(DW)로 나타났으며, ‘Darrow’의 총 플라보노이드 함량(207.9 mg/100g DW)은 ‘Nelson’(110.7 mg/100g DW)에 비해 약 2배 높았다(Table 2). 동정된 개별 플라보노이드의 종류는 품종에 따라서 차이를 보였는데 ‘Darrow’가 27종으로 가장 많았고, 이와 반대로 ‘Elizabeth’에서는 17종으로 가장 적게 나타났다. 국외에서 재배된 하이부시 블루베리의 플라보노이드는 일반적으로 querceitn 배당체가 주를 이루고 있으며 품종, 재배 지역에 따라 아글리콘의 형태가 달라지는 것을 확인하였다(Borges *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2008). 블루베리 내 플라보노이드 배당체의 아글리콘은 총 6종으로 확인되어 선행 연구와 유사한 결과를 나타내었다(Ma *et al.*, 2013; Vrhovsek *et al.*, 2012). 그 중 quercetin 배당체는 101.5 mg/100g DW으로 총 플라보노이드 중 70.9%를 차지하여 가장 높은 비중을 나타내어 여러 연구와 유사한 결과가 확인되었으며(Oszmianski *et al.*, 2011; Su *et al.*, 2012), 다음으로 myricetin 배당체(12.3%), laricitrin 배당체(6.0%), syringetin 배당체(5.3%), isorhamnetin 배당체(3.8%), kaempferol 배당체(1.7%) 순으로 높았다. Quercetin 배당체 중 quercetin 3-*O*-galactoside(hyperoside)가 평균 45.9 mg/100g DW로 총 플라보노이드 함량의 31%를 차지하였으며, 다음으로 isoquercitrin가 평균 19.4 mg/100g DW(13%)로 높게 나타나 블루베리 내 주요 플라보노이드 성분임을 확인하였다. 블루베리 열매에서 hyperoside가 총 플

라보노이드 함량 중 57%로 주요 성분으로 보고하였으며 (Borges *et al.*, 2009), 마찬가지로 Vrhovsek *et al.* (2012)의 연구에서도 'Bluecrop', 'Chandler', 'Legacy'에서 hyperoside, isoquercitrin가 주요 성분으로 보고되어 본 연구와 유사한 결과를 나타냈다.

블루베리 열매 내 주요 성분은 품종, 재배 환경에 따라 다른 경향을 나타낸다고 알려져 있다(Cho *et al.*, 2004; Cardeñosa *et al.*, 2016; Diaconeasa *et al.*, 2014). 본 연구에서 rutin은 'Darrow'에서 총 플라보노이드 함량 중 11.8% (24.5 mg/100g DW)를 차지하였으며 이를 제외한 나머지 6품종에서 평균 4.6%(평균 5.9 mg/100g DW)로 비교적 낮은 함량을 나타냈다. Quercetin 3-*O*-xyloside (reynoutrin), avicularin, syringetin 3-*O*-rhamnoside은 'Darrow'에서만 유일하게 검출되었으며, myricetin 3-*O*-rhamnoside (myricitrin)는 'Bluegold', 'Chandler'에서만 각각 1.3, 3.2 mg/100g DW로 확인되었다. Quercitrin은 'Darrow'에서 26.5 mg/100g DW로 유의적으로 높은 함량을 보였고, 'Legacy'(8.7 mg/100g DW), 'Bluegold' (3.1 mg/100g DW) 순으로 높은 함량을 나타냈으며 다른 품종에서는 검출되지 않았다. 본 실험에 사용된 7품종의 하이부시 블루베리는 숙기에 따라 만생종('Chandler', 'Darrow', 'Nelson'), 중생종('Bluecrop', 'Elizabeth', 'Legacy'), 조생종('Bluegold')으로 분류되었다. 선행 연구에서 숙기가 블루베리의 안토시아닌 함량에 영향을 미친다고 보고하였으나(Lee *et al.*, 2016), 플라보노이드 함량에는 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

복분자의 총 플라보노이드 함량은 평균 95.4 mg/100g DW (57.4-114.1 mg/100g DW)로 블루베리 평균 함량(143.0 mg/100g DW)보다 약 1.5배 낮았다. 지역별 복분자의 총 플라보노이드 함량은 정읍(114.1) > 순창 (106.0) > 고창(104.2) > 광양(57.4 mg/100g DW) 순으로 나타났으며, 정읍, 순창, 고창 간에 유의적인 차이는 보이지 않았다(Table 2). 개별 성분별 평균 함량은 rutin > quercetin 3-*O*-glucuronide (miquelianin) > isoquercitrin > querceitn 순으로 나타났다. Rutin은 평균 48.1 mg/100g DW(총 플라보노이드 중 평균 51.4%)로 블루베리 열매의 평균 함량(8.5 mg/100g DW)보다 5배 이상 높은 것으로 확인되었다. Miquelianin은 평균 40.6 mg/100g DW(40.2%)로 나타났으나 블루베리에서는 검출되지 않았으며, 이 두 성분이 복분자 내 총 플라보노이드 함량의 평균 91% 이상을 차지하는 것으로 나타났다. 메밀에 다량 함유되어 있는 것으로 알려진 rutin은 항산화, 항염증 및 암 예방에 효능이 있다고 알려져 있으며(Kang, 2014; Kang, 2015), miquelianin은 항우울 효과가 있다고 보고되어(Butterweck *et al.*, 1999) 복분자 내 rutin, miquelianin도 이와 유사한 활성을 나타낼 것으로 생각된다. 국내 원주에서 재배된 복분자에서 2''-*O*-*trans*-*p*-coumaroyl astragalin이 1.38 mg/g DW 검출되어 주요 성분으로 보고된 바 있으며(Kim *et al.*, 2008), 고창산 복분자에서는 phloridzin과 quercetin이 각각 2.5 mg/kg, 1.5 mg/kg으로 보고되어(Cho *et al.*, 2012) 본 연구 결과와 차이를 나타냈다.

요 약

UPLC-DAD-QTOF/MS를 이용하여 국내에서 재배한 7품종의 하이부시 블루베리와 4지역에서 재배된 복분자 열매에서 총 29종(블루베리 28종, 복분자 4종)의 개별 플라보노이드 성분을 정성 및 정량 분석하였다. 블루베리의 평균 플라보노이드 함량은 143.0 mg/100g DW로 관찰되었고, 'Darrow'에서 가장 높았으며, 'Nelson'이 가장 낮은 것으로 나타났다. 복분자의 평균 플라보노이드 함량은 95.4 mg/100g DW로 나타났으며, 총 플라보노이드 함량은 정읍 > 순창 > 고창 > 광양 순으로 높았으나 정읍, 순창, 고창간에 유의적인 함량차이는 나타나지 않았다. 블루베리는 hyperoside와 isoqercitrin이 각각 총 플라보노이드 함량 중 평균 31.4%, 13.3%을 차지하였으며, 복분자는 rutin과 miquelianin이 각각 총 플라보노이드 함량 중 평균 51.4%, 40.2%를 차지하여 두 베리류 열매간 주요 플라보노이드 성분의 특성 차이를 확인할 수 있었다. 블루베리 열매에서 quercetin 3-*O*-robinobioside, quercetin 3-*O*-(6''-*O*-malonyl)glucoside, isorhamnetin 3-*O*-robinobioside, avicularin, kaempferol 3-*O*-(6''-*O*-acetyl)glucoside, quercetin이 처음으로 동정되었다. 본 연구 결과는 국내산 블루베리와 복분자를 이용한 기능성 식품 개발에 필요한 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 판단되며, 추후 연구에서는 보다 다양한 베리류에 대한 추가 분석이 필요할 것으로 생각된다. 또한 본 연구 방법은 베리류 뿐만 아니라 다양한 식물에 존재하는 플라보노이드의 정성 및 정량 분석이 가능하여 활용 가치가 높을 것으로 사료된다.

Acknowledgement

This study was carried out with the support of Rural Development Administration (Project No. PJ01178704), Republic of Korea.

References

Beecher, G. R. (2003). Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. The Journal of Nutrition, 133(10), 3248S-3254S.

Borges, G., Degeneve, A., Mullen, W., & Crozier, A. (2009). Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red currants, and cranberries. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58(7), 3901-3909.

Bradish, C. M., Perkins-Veazie, P., Fernandez, G. E., Xie, G., & Jia, W. (2011). Comparison of flavonoid composition of red raspberries (*Rubus idaeus* L.) grown in the Southern United States. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60(23), 5779-5786.

Cardeñosa, V., Girones-Vilaplana, A., Muriel, J. L., Moreno, D. A., & Moreno-Rojas, J. M. (2016). Influence of genotype, cultivation system and irrigation regime on antioxidant capacity and selected phenolics of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). Food Chemistry, 202, 276-283.

Cho, J. Y., Yoon, I., Jung, D. H., Hyun, S. H., Lee, K. H., Moon, J. H., & Park, K. H. (2012). Jaboticabin and flavonoids from the ripened fruit of black rasberry (*Rubus coreanum*). Food Science and Biotechnology, 21(4), 1081-1086.

Cho, M. J., Howard, L. R., Prior, R. L., & Clark, J. R. (2004). Flavonoid glycosides and antioxidant capacity of various blackberry, blueberry and red grape genotypes determined by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84(13), 1771-1782.

Croft, K. D. (1998). The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acidsa. Annals of the New York Academy of Sciences, 854(1), 435-442.

Diaconeasa, Z., Florica, R., Rugina, D., Lucian, C., & Socaciu, C. (2014). HPLC/PDA–ESI/MS identification of phenolic acids, flavonol glycosides and antioxidant potential in blueberry, blackberry, raspberries and cranberries. Journal of Food and Nutrition Research, 2(11), 781-785.

Dincheva, I., Badjakov, I., Kondakova, V., Dobson, P., Mcdougall, G., & Stewart, D. (2013). Identification of the phenolic components in Bulgarian raspberry cultivars by LC-ESI-MS^n. International Journal of Agriculture Sciences, 3, 127-37.

Dugo, P., Donato, P., Cacciola, F., Paola Germano, M., Rapisarda, A., & Mondello, L. (2009). Characterization of the polyphenolic fraction of Morus alba leaves extracts by HPLC coupled to a hybrid IT-TOF MS system. Journal of Separation Science, 32(21), 3627-3634.

Folmer, F., Basavaraju, U., Jaspars, M., Hold, G., El-Omar, E., Dicato, M., & Diederich, M. (2014). Anticancer effects of bioactive berry compounds. Phytochemistry Reviews, 13(1), 295-322.

Gavrilova, V., Kajdzanoska, M., Gjamovski, V., & Stefova, M. (2011). Separation, characterization and quantification of phenolic compounds in blueberries and red and black currants by HPLC－DAD－ESI-MSn. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59(8), 4009-4018.

Gevrenova, R., Badjakov, I., Nikolova, M., & Doichinova, I. (2013). Phenolic derivatives in raspberry (*Rubus* L.) germplasm collection in Bulgaria. Biochemical Systematics and Ecology, 50, 419-427.

Ghosh, D., & Konishi, T. (2007). Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts: role in diabetes and eye function. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 16(2), 200-208.

Han, J. M., & Chung, H. (2013). Quality characteristics of yanggaeng added with blueberry powder. Korean Journal of Food Preservation. 20(2), 265-271.

Han, N., Gu, Y., Ye, C., Cao, Y., Liu, Z., & Yin, J. (2012). Antithrombotic activity of fractions and components obtained from raspberry leaves (*Rubus chingii*). Food Chemistry, 132(1), 181-185.

Jeon, H., Oh, S. J., Nam, H. S., Song, Y. S., & Choi, K. C. (2015). Reduction of plasma triglycerides and cholesterol in high fat diet-induced hyper-lipidemic mice by n-3 fatty acid from bokbunja (*Rubus coreanus* Miquel) seed oil. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition, 44(7), 961-969.

Jeon, M. H., & Lee, W. J. (2011). Characteristics of blueberry added *Makgeolli*. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition, 40(3), 444-449.

Ji, J. R., & Yoo, S. S. (2010). Quality characteristics of cookies with varied concentrations of blueberry powder. Journal of the East Asian Society of Dietary Life, 20(3), 433-438.

Kader, F., Rovel, B., Girardin, M., & Metche, M. (1996). Fractionation and identification of the phenolic compounds of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum*, L.). Food Chemistry, 55(1), 35-40.

Kalt, W., McDonald, J. E., & Donner, H. (2000). Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity of processed lowbush blueberry products. Journal of Food Science, 65(3), 390-393.

Katsube, T., Imawaka, N., Kawano, Y., Yamazaki, Y., Shiwaku, K., & Yamane, Y. (2006). Antioxidant flavonol glycosides in mulberry (*Morus alba* L.) leaves isolated based on LDL antioxidant activity. Food Chemistry, 97(1), 25-31.

Kim, J. G., Ryou, M. S., Jung, S. M., & Hwang, Y. S. (2010). Effects of cluster and flower thinning on yield and fruit quality in highbush 'Jersey' blueberry. Journal of Bio-Environment Control.

Kim, M. Y., Choi, M. Y., Nam, J. H., & Park, H. J. (2008). Quantitative analysis of flavonoids in the unripe and ripe fruits and the leaves of four Korean *Rubus* species. Korean Journal of Pharmacognosy. 39(2), 123-126.

Lee, J., Dossett, M., & Finn, C. E. (2013). Anthocyanin fingerprinting of true bokbunja (*Rubus coreanus* Miq.) fruit. Journal of Functional Foods, 5(4), 1985-1990.

Lee M. K., Kim H. W., Kim Y. J., Lee S. H., Jang H. H., Jung H. A., Kim S. B., Lee S. H., Choe J. S., & Kim J. B. (2016). Profiling of flavonoid glycosides in fruits and leaves of jujube (*Zizyphus jujuba* var. *inermis* (Bunge) Rehder) using UPLC-DAD-QTOF/MS. Korean Journal of Food Preservation. 23(7), 1004-1011.

Lee M. K., Kim H. W., Lee S. H., Kim Y. J., Jang H. H., Jung H. A., Hwang Y. J., Choe J. S., & Kim J. B. (2016). Compositions and contents anthocyanins in blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) varieties. Korean Journal of Environmental Agriculture, 35(3), 184-190.

Lee, S. J., & Ahn, B. M. (2009). Changes in physicochemical characteristics of black raspberry wines from different regions during fermentation. Korean Journal of Food Science and Technology, 41(6), 662-667.

Ma, C., Dastmalchi, K., Flores, G., Wu, S. B., Pedraza-Peñalosa, P., Long, C., & Kennelly, E. J. (2013). Antioxidant and metabolite profiling of North American and neotropical blueberries using LC-TOF-MS and multivariate analyses. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61(14), 3548-3559.

Marks, S. C., Mullen, W., & Crozier, A. (2007). Flavonoid and chlorogenic acid profiles of English cider apples. Journal of the Science of Food and Agriculture, 87(4), 719-728.

Mikulic-Petkovsek, M., Slatnar, A., Stampar, F., & Veberic, R. (2012). HPLC–MS^n identification and quantification of flavonol glycosides in 28 wild and cultivated berry species. Food Chemistry, 135(4), 2138-2146.

Miles, T. D., Vandervoort, C., Nair, M. G., & Schilder, A. C. (2013). Characterization and biological activity of flavonoids from ripe fruit of an anthracnose-resistant blueberry cultivar. Physiological and Molecular Plant Pathology, 83, 8-16.

Moon, H. K., Lee, S. W., & Kim, J. K. (2013). Physicochemical and quality characteristics of the Korean and American blueberries. Korean Journal of Food Preservation, 20(4), 524-531.

Mullen, W., McGinn, J., Lean, M. E., MacLean, M. R., Gardner, P., Duthie, G. G., Yokota, T., & Crozier, A. (2002). Ellagitannins, flavonoids, and other phenolics in red raspberries and their contribution to antioxidant capacity and vasorelaxation properties. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(18), 5191-5196.

Mullen, W., Yokota, T., Lean, M. E., & Crozier, A. (2003). Analysis of ellagitannins and conjugates of ellagic acid and quercetin in raspberry fruits by LC–MS^n. Phytochemistry, 64(2), 617-624.

Nguelefack, T. B., Mbakam, F. H. K., Tapondjou, L. A., Watcho, P., Nguelefack-Mbuyo, E. P., Ponou, B. K., Kamanyi, A., & Park, H. J. (2011). A dimeric triterpenoid glycoside and flavonoid glycosides with free radical-scavenging activity isolated from *Rubus rigidus* var. camerunensis. Archives of Pharmacal Research, 34(4), 543-550.

Nollet, L. M., & Toldrá, F. (2012). *Handbook of analysis of active compounds in functional foods*. pp. 298-301, CRC Press, United States of America.

Oszmiański, J., Wojdyło, A., Gorzelany, J., & Kapusta, I. (2011). Identification and characterization of low molecular weight polyphenols in berry leaf extracts by HPLC-DAD and LC-ESI/MS. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59(24), 12830-12835.

Paredes-López, O., Cervantes-Ceja, M. L., Vigna-Pérez, M., & Hernández-Pérez, T. (2010). Berries: improving human health and healthy aging, and promoting quality life-a review. Plant Foods for Human Nutrition, 65(3), 299-308.

Park, S. Y., & Chin, K. B. (2007). Evaluation of antioxidant activity in pork patties containing bokbunja (*Rubus coreanus*) extract. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, 27(4), 432-439.

Paudel, L., Wyzgoski, F. J., Scheerens, J. C., Chanon, A. M., Reese, R. N., Smiljanic, D., Wesdemiotis, C., Blakeslee, J. J., Riedl, K. M., & Rinaldi, P. L. (2013). Nonanthocyanin secondary metabolites of black raspberry (*Rubus occidentalis* L.) fruits: identification by HPLC-DAD, NMR, HPLC-ESI-MS, and ESI-MS/MS analyses. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61(49), 12032-12043.

Pawlowska, A. M., Camangi, F., Bader, A., & Braca, A. (2009). Flavonoids of *Zizyphus jujuba* L. and *Zizyphus spina-christi* (L.) Willd (*Rhamnaceae*) fruits. Food Chemistry, 112(4), 858-862.

Samad, N. B., Debnath, T., Ye, M., Hasnat, M. A., & Lim, B. O. (2014). In vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of Korean blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) extracts. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 4(10), 807-815.

Su, Z. (2012). Anthocyanins and flavonoids of *Vaccinium* L. Pharmaceutical Crops, 3, 7-37.

Thabti, I., Elfalleh, W., Hannachi, H., Ferchichi, A., & Campos, M. D. G. (2012). Identification and quantification of phenolic acids and flavonol glycosides in Tunisian *Morus* species by HPLC-DAD and HPLC-MS. Journal of Functional Foods, 4(1), 367-374.

Vrhovsek, U., Masuero, D., Palmieri, L., & Mattivi, F. (2012). Identification and quantification of flavonol glycosides in cultivated blueberry cultivars. Journal of Food Composition and Analysis, 25(1), 9-16.

Wang, L. J., Wu, J., Wang, H. X., Li, S. S., Zheng, X. C., Du, H., Xu, Y. J., & Wang, L. S. (2015). Composition of phenolic compounds and antioxidant activity in the leaves of blueberry cultivars. Journal of Functional Foods, 16, 295-304.

Wang, S. Y., Chen, C. T., Sciarappa, W., Wang, C. Y., & Camp, M. J. (2008). Fruit quality, antioxidant capacity, and flavonoid content of organically and conventionally grown blueberries. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(14), 5788-5794.

Westwood, M. N. (1988). *Temperate-zone pomology*. pp. 100-101, second ed. Timber Press, United States of America.

You, Q., Wang, B., Chen, F., Huang, Z., Wang, X., & Luo, P. G. (2011). Comparison of anthocyanins and phenolics in organically and conventionally grown blueberries in selected cultivars. Food Chemistry, 125(1), 201-208.

Yu, O. K., Kim, M. A., Rho, J. O., Sohn, H. S., & Cha, Y. S. (2007). Quality characteristics and the optimization recipes of chocolate added with *Bokbunja* (*Rubus coreanus* Miquel). Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition, 36(9), 1193-1197.