한국의 주요 블루베리 품종의 항산화 활성 및 페놀화합물 함량 분석

권순은 · 안순영 · 윤해근

Antioxidant activity and content of phenolic compounds in fruits of mainly cultivated blueberries in Korea

Soon Eun Kwon · Soon Young Ahn · Hae Keun Yun

Received: 27 September 2018 / Revised: 9 November 2018 / Accepted: 9 November 2018
© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract Fruits of 10 cultivars ('Blue Gold', 'Brigitta', 'Coville', 'Duke', 'Nelson', 'North Blue', 'Rancocas', 'Sierra', 'Sunrise', and 'Weymouth') of blueberries (*Vaccinium corymbosum*) were analyzed for characteristics, contents of total phenolic compounds and flavonoids and antioxidant activity in this study. Fruit weights ranged from 0.83 to 1.88 g. Total soluble solids concentration varied from 9.7 in 'Duke' to 16.6 °Brix in 'Sierra' with titratable acidities of 0.94 % in 'Sunrise' and 1.75% in 'Brigitta'. There are relatively high contents in 'North Blue' (23.75 mg GAE·g⁻¹ FW) and low contents in 'Coville' (17.15 mg GAE·g⁻¹ FW) in total phenolic compounds. Contents of total phenolic compounds were high in 'Nelson' (14.1 mg QE·g⁻¹ FW) and low in 'Duke' (10.1 mg QE·g⁻¹ FW). Analysis of antioxidant activity of blueberry fruits showed that there were high activities of ABTS+ radical scavenging in 'Rancocas' (82.2%), 'Bluegold' (79.6%), and 'Nelson' (77.8%), and high activities of DPPH radical scavenging in 'Rancocas' (76.0%), and high in hydroxy radical scavenging in 'Nelson' (73.0%). Quantification analysis method of qualitative data showed that 'Bluegold', 'Nelson', 'Northblue', and 'Rancocas' had high contents of phenol and flavonoid compounds, and activity antioxidants of berries. Blueberry cultivars selected by statistical quantification analysis can be utilized as valuable genetic resources for breeding of blueberry with high antioxidant activities in the future.

Keywords Genetic resources, Quantification analysis, *Vaccinium*, Variation

서 언

블루베리는 *Vaccinium* 속의 식물로서 최근에 상업화된 신생 과수로서 1900대에 미국의 뉴저지에서 육종을 시작하여 1908년에 Frederick Coville 박사에 의해서 1908년 최초의 블루베리 교잡종이 탄생한 이후, 현재까지 100여종류 이상의 품종들이 개발되어 재배되고 있다(Lobos and Hancock 2015). 블루베리는 기능성 식품 중의 하나로 인식되어 수퍼과실로 불리어 북미 대륙을 중심으로 칠레, 중국을 비롯한 전 세계에서 재배면적과 수요가 증가하고 있다(Brazelton 2013; Ding et al. 2006). 블루베리는 진한 보라색의 과실로서 안토시아닌, 카로티노이드, 카테킨, 페놀화합물이 풍부하여 천연의 항산화 활성이 높아 라디칼을 낮추는 역할을 하며(Hakkinen et al. 1999; Kalt et al. 2001; Krikorian et al. 2010; Prior et al. 2001; Srivastava et al. 2007), 저밀도 지질의 농도를 낮추어 혈액의 흐름을 원활하게 하여 심혈관 질환의 발생을 억제한다(Kalt et al. 2008; Shaughnessy et al. 2009). 또한 블루베리 과실은 동물의 DNA의 안정성을 유지하고, 뇌기능을 증진시키며 암세포 형성을 억제하는 것으로 보고되어 있다(Zafra-Stone et al. 2007). 생리활성이 높은 과실을 소비자에게 제공하기 위해서는 높은 함량의 안토시아닌과 식이섬유를 함유하면서 식미가 우수한 과실 생산이 필요하다(Lobos and Hancock 2015; Mudd et al. 2013). 블루베리는 현재 많은 품종이 다양한 기후대에서 널리 재배되고 있으며, 재배기간의 온도, 토성, 강수량 등 환경요인과 재배방식에 따라 수량은 물론 과실품질과 구성성분이 크게 영향을 받게 된다(Lobos and Hancock 2015; Mudd et al. 2013; Skrovankova et al. 2015).

S. E. Kwon · S. Y. Ahn · H. K. Yun (✉)
영남대학교 원예생명과학과
(Department of Horticulture and Life Science, Yeungnam University, Gyeonsan 38541, Korea)
e-mail: haekeun@ynu.ac.kr

블루베리 과실에는 아스코빅산이 풍부하며(10~100 mg/100g), cyanidin 등의 anthocyanins, quercetin 등의 flavonols 등의 성분을 함유하여 높은 생리활성을 나타낸다. 항산화활성은 과실의 성숙시기에 따라 다르게 나타나며 페놀화합물의 함량에 따라 활성의 차이가 나타난다(Rodarte Castrejón et al. 2008).

또한 품종 또는 계통 간에도 유전적인 형질에 따라 기능성 성분함량이 다르고, 관련된 유전자의 발현도 다르게 나타나며, 래빗아이 블루베리 계통이 항산화 활성이 높은 것으로 보고되어 있다(Kim and Yun 2015; Pertuzatti et al. 2014; Rodarte Castrejón et al. 2008; Taruscio et al. 2004; You et al. 2011; Yousef et al. 2013). 또한 Li et al.(2012)은 안토시아닌 함량이 많고, 항산화 활성이 높은 ‘노스랜드’ 품종을 대상으로 안토시아닌 생합성과 관련된 유전자가 특이적으로 발현되는 것을 확인하였다.

따라서 본 연구에서는 과실 내에서 플라보노이드 등의 페놀화합물 함량이 높고 항산화 활성이 강한 블루베리 품종을 선발하고자 국내에서 주로 재배되는 블루베리 10 품종을 대상으로 플라보노이드 및 페놀화합물의 함량을 비교하고 품종 간의 항산화 활성을 분석하였다.

재료 및 방법

식물재료

영남대학교 유전자원포에서 보존하는 10종류의 블루베리 품종(‘블루골드’, ‘브리지타’, ‘코빌’, ‘듀크’, ‘넬슨’, ‘노스블루’, ‘란코카스’, ‘시에라’, ‘선라이즈’, ‘웨이마우스’)의 과실을 수확하여 실험재료로 사용하였다. 모든 과실은 성숙기에 맞추어 6월 말경에서 7월 중순경에 걸쳐 수확하였다. 수확한 과실을 액체 질소에 동결하여 실험 전까지 -70°C에 보관하였으며 총 페놀 및 플라보노이드 함량 분석과 항산화능 측정 실험에 사용하였다.

총 페놀 함량 분석

동결건조한 블루베리 과립 시료를 80% methanol로 추출하여 총 페놀 함량 측정에 사용하였다. 총 페놀 함량 분석은 Folin-Denis법(Folin and Denis 1915)에 따라 분석하였다. 일정 농도의 시료 추출액 100 µL에 2% Na₂CO₃ 용액 2 mL를 가한 뒤 2분 후에 50% Folin-Ciocalteu (2N) 시약 200 µL를 넣고 혼합 후 암소에서 1시간 방치 후 750 nm에서 반응액의 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 gallic acid (Sigma, St, Louis, MO, USA)를 이용하여 표준곡선을 작성하고 총 페놀 함량을 계산하였다. 시료의 총 페놀 함량은 생체중 1 g당 gallic acid equivalent (mg GAE·g-1FW)로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량 분석

과실의 메탄올 추출물을 이용하여 총 플라보노이드 함량을 Moreno et al. (2000)의 방법을 일부 수정하여 측정하였다. 일정 농도의 시료 추출액 1 mL에 10% 알루미늄질산염 100 µL, 1 M 초산칼륨 100 µL를 넣고, ethanol 4.3 mL을 혼합하고 실온에서 50분간 방치한 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 quercetin (Sigma, St, Louis, MO, USA)를 이용하여 표준곡선을 작성하고 총 플라보노이드 함량을 계산하였다. 시료의 총 플라보노이드 함량은 생체중 1 g당 quercetin equivalent (mg QE·g-1FW)로 나타내었다.

항산화능 측정

블루베리 과립의 항산화능을 검증하기 위해 ABTS+, DPPH, hydroxy radical 소거능을 측정하였다. 이러한 방법들은 표준 물질을 이용하면 간편하고 빠르며 반복 가능하기 때문에 식물 추출물의 항산화능을 측정하는 데 있어서 널리 이용된다(Dudonne et al. 2009).

ABTS+ radical 소거능 측정

시료의 ABTS+ radical 소거능은 Re et al.(1999)의 방법에 따라 측정하였다. 7.5 mM ABTS+(2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid, TCI, Japan)과 2.45 mM potassium persulfate를 혼합하고 하루 동안 암소에 방치하여 ABTS+radical cation (ABTS+)을 생성시켰으며, 734 nm에서 흡광도 값이 0.70±0.2가 되도록 ethanol로 희석하였다. 일정 농도의 시료 추출물 300 µL와 ABTS+ 용액 3 mL를 첨가하여 6분 동안 방치한 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 항산화능의 positive control은 ascorbic acid (Sigma, St, Louis, MO, USA)를 사용하였다. 시료의 항산화능은 다음과 같은 식으로 환산하였다.

$$\text{ABTS+ radical 소거 활성(\%)} = (1 - \frac{\text{시료의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}}) \times 100$$

DPPH radical 소거능 측정

시료의 DPPH radical 소거능은 Blois(1958)의 방법에 따라 측정하였다. 시료의 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl)에 대한 전자공여능에 의해 DPPH radical의 감소 정도를 흡광도를 이용하여 측정하였다. 일정 농도의 시료 추출물 1 mL에 0.2 mM DPPH 용액 500 µL를 가하고 37°C에서 30분 동안 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 항산화능의 positive control은 ascorbic acid (Sigma, St, Louis, MO, USA)를 사용하였다. 시료의 항산화능은 다음과 같은 식으로 환산하였다.

$$\text{DPPH radical 소거 활성(\%)} = (1 - \frac{\text{시료의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}}) \times 100$$

Hydroxy radical 소거능 측정

시료의 hydroxy radical 소거능은 Gutteridge (1994)의 방법에 따라 측정하였다. 1 mM FeSO₄, 1mMethylene diamine tetraacetic acid (EDTA), 10 mM 2-deoxyribose와 일정 농도의 시료 추출액을 각각 200 uL씩 혼합한 후, 0.1 M phosphate buffer (pH 7.2) 1.2 mL와 10 mM H₂O₂ 0.2 mL를 가한 후 1시간 동안 37°C 수욕상에서 반응시킨다. 반응시킨 용액 500 uL와 2.8% trichloroacetic acid 용액 1 mL을 섞은 후, 1% thiobarbituric acid 용액 1 mL을 가하여 10분간 100°C의 수욕상에서 반응시킨 후 급냉하여 532 nm에서 흡광도를 측정했다. 항산화능의 positive control은 ascorbic acid (Sigma, St. Louis, MO, USA)를 사용하였다. 시료의 항산화능은 다음과 같은 식으로 환산하였다.

$$\text{Hydroxy radical 소거 활성(\%)} = (1 - \text{시료의 흡광도} / \text{대조구의 흡광도}) \times 100$$

통계 처리 및 다변량 해석

각 항목별 실험결과의 유의성은 SPSS 23.0 version을 통해 처리하였고, $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test (DMRT)로 총 페놀 및 플라보노이드 함량과 항산화능 측정 등의 결과를 각 실험 항목별로 표준화하기 위하여 통계분석 결과에 따라 모든 항목을 10개 등급으로 구분하였으며 등급별로 수치화하고, 수치화한 항목별 점수를 합산하여 총점을 계산하였다. 수치화된 데이터는 Poppr package (R 3.1) 프로그램을 이용하여 UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean analysis) 방법으로 군집분석을 수행한 후, 사후검정으로 Tukey의 다중비교 검증을 통해 다변량 분산분석을 실시하였으며, 검증을 위한 유의수준은 5%이하($p < 0.05$)로 설정하였다.

결과 및 고찰

블루베리 품종별 과실 특성

블루베리 10품종의 과실 특성을 분석한 결과(Table 1), 과립 중은 0.83 ~ 1.88 g의 범위를 나타냈으며, '넬슨' 품종의 과실이 가장 크고, '코빌', '란코카스', '듀크', '시에라', '선라이즈', '웨이마우스', '노스블루' 순이었으며, '블루골드'는 0.83 g으로 가장 작은 과실을 결실하였다. 당함량은 '시에라'에서 16.6°Brix로 가장 높았고, 10품종 중에서 8품종이 12°Brix 이상의 당함량을 보였으며, 전체적으로 9.7-16.6°Brix를 나타내었다. 적정산도는 '브리지타'에서 1.75%로 가장 높았고, '선라이즈'에서 0.94%로 가장 낮았다.

총 페놀 및 총 플라보노이드 함량

블루베리 10품종의 총 페놀 함량을 비교한 결과는 '노스블루'(23.75 mg GAE·g⁻¹ FW)에서 가장 높았고, '블루골드'(23.50 mg GAE·g⁻¹ FW), '웨이마우스'(22.78 mg GAE·g⁻¹ FW), '란코카스'(22.48 mg GAE·g⁻¹ FW) 순으로 총 페놀 함량이 높았다(Table 2). 반면, '코빌'은 17.15 mg GAE·g⁻¹ FW으로 가장 낮은 총 페놀 함량을 보였다.

베리류 과실의 페놀 화합물은 맛, 색 등의 과실 품질, 항산화와 같은 건강 기능성 뿐 만 아니라 세균과 바이러스에 대한 저항성 및 과실 저장력에도 영향을 미치는 중요한 요인으로 보고되어 있다(Tosun et al. 2009).

Nguyen et al. (2014)은 '듀크' 품종에서 약 270 mg GAE·100 g⁻¹ FW이 검출되었다고 보고하였으며, Ribera et al. (2010)은 블루베리 과피의 총 페놀 함량 측정을 통해서 '블루골드'

Table 1 Fruit characteristics of blueberry cultivars tested in this study

Cultivars	Fruit weight (g)	Total soluble solid content (°Brix)	Titrateable acidity (%)
Duke	1.44 c ²	9.70 g	0.95 d
Weymouth	1.12 de	13.50 e	1.25 bcd
Rancocas	1.57 bc	11.70 f	1.45 abc
Blue Gold	0.83 g	14.17 de	1.67 a
North Blue	1.04 ef	13.97 e	1.13 cd
Sunrise	1.18 de	13.97 e	0.94 d
Sierra	1.22 d	16.60 a	1.15 cd
Brigitta	0.94 fg	15.17 bc	1.75 a
Coville	1.60 b	15.50 b	1.17 cd
Nelson	1.88 a	14.67 cd	1.51 ab

²Different letters indicate significance at the P value < 0.05 ($n=3$).

Table 2 Concentration of total phenols and flavonoids in cultivars of blueberries

Cultivars	Total phenols (mg GAE·g ⁻¹ FW)	Total flavonoids (mg QE·g ⁻¹ FW)
Duke	17.89 h ²	10.18 g
Weymouth	22.78 c	13.49 bc
Rancocas	22.48 d	13.03 de
Blue Gold	23.50 b	13.91 a
North Blue	23.75 a	13.79 ab
Sunrise	21.62 e	12.08 f
Sierra	20.89 f	13.24 cd
Brigitta	19.86 g	12.80 e
Coville	17.15 i	10.33 g
Nelson	20.93 f	14.12 a

²Different letters indicate significance at the *P* value < 0.05 (n=3).

(3,109.19 mg GAE·100 g⁻¹ FW)가 ‘브리지타’(3,099.49 mg GAE·100 g⁻¹ FW)보다 높았다고 보고하였다. 또한, 과육의 총 페놀 함량 측정에서 ‘블루골드’(52.91 mg GAE·100 g⁻¹ FW)가 ‘브리지타’(47.64 mg GAE·100 g⁻¹ FW)보다 높았다고 보고하였는데, 본 실험 결과와 비교해 볼 때 함량에서는 차이가 있으나 ‘블루골드’가 총 페놀 함량이 높은 품종에 속하는 것으로 확인되었다.

Su et al. (2017)에 의하면 중국에서 재배되는 16개의 블루베리 품종의 총 페놀 함량 분석에서 ‘노스블루’(15 mg GAE·100 g⁻¹ FW)가 ‘브리지타’(12 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘듀크’(5 mg GAE·100 g⁻¹ FW)보다 높았다고 보고하였다. 국내에서 재배되는 블루베리 45개 품종의 총 페놀 함량을 측정하였으며, ‘란코카스’(385.7 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘선라이즈’(313.0 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘웨이마우스’(291.7 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘블루골드’(289.8 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘시에라’(260.7 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘노스블루’(247.8 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘듀크’(217.6 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘코빌’(188.8 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘브리지타’(173.8 mg GAE·100 g⁻¹ FW) 순서로 총 페놀 함량이 높은 것으로 보고되어 있다(Kim et al. 2013). Li et al. (2017)에서는 ‘노스블루’(400 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘듀크’(370 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘블루골드’(300 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘브리지타’(220 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘선라이즈’(200 mg GAE·100 g⁻¹ FW) 순서로 총 페놀 함량이 높았다.

블루베리 10품종의 총 플라보노이드 함량을 비교한 결과는 ‘넬슨’(14.1 mg QE·g⁻¹ FW)에서 가장 높았고, ‘블루골드’(13.9 mg QE·g⁻¹ FW), ‘노스블루’(13.8 mg QE·g⁻¹ FW) 등에서 총 플라보노이드 함량이 다른 블루베리 품종들보다 높았으며, ‘듀크’에서는 10.1 mg QE·g⁻¹ FW으로 총 플라보노이드 함량이 가장 낮았다(Table 2). Li et al. (2017)에서는 ‘블루골드’(500 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘브리지타’(320 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘노스블루’(250 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘듀크’(220 mg

GAE·100 g⁻¹ FW), ‘선라이즈’(180 mg GAE·100 g⁻¹ FW) 순서로 총 플라보노이드 함량이 높았다고 보고 하였다. 이러한 결과들은 본 실험의 총 페놀함량이 높은 그룹에 속하는 품종과 비슷한 경향을 나타내었다.

항산화능 비교

항산화능을 비교하기 위하여 10품종의 블루베리 추출물에서 ABTS⁺ radical 소거능, DPPH radical 소거능, hydroxy radical 소거능을 분석하였다. ABTS⁺ radical 소거능은 ‘란코카스’(82.2%), ‘블루골드’(79.6%), ‘넬슨’(77.8%), ‘웨이마우스’(76.9%)와 ‘노스블루’(74.4%) 등이 ABTS⁺ radical 소거능이 높았으며, ‘코빌’이 53.1%로 가장 낮았다(Table 3). Choi et al. (2015)은 10 mg·mL⁻¹ 농도로 제조된 블루베리 추출물의 ABTS⁺ radical 소거능은 약 10~20%라고 보고 하였다. Burdulis et al. (2009)은 7가지 블루베리 품종의 활성산소 소거능을 측정하였는데, 본 실험의 결과와 비슷하게 ‘코빌’ (51.30±0.72%)에서 가장 낮았다고 보고하였다.

블루베리 추출물의 DPPH radical 소거능 측정 결과, ‘란코카스’에서 76.0%로 가장 높았으나 ABTS⁺ radical 소거능 측정에서 비교적 낮은 활성을 보였던 ‘코빌’과 ‘듀크’는 DPPH radical 소거능 측정에서 각각 62.7%, 62.1%로 높은 활성을 보였다(Table 3). 다음으로 ‘블루골드’(60.68%), ‘노스블루’(59.66%) 순이며, ‘선라이즈’에서 42.7%로 가장 낮았다.

Ribera et al. (2010)은 블루베리 과육의 DPPH radical 소거능 측정에서 ‘블루골드’(약 90 μmol TE·100 g⁻¹ FW) 품종이 ‘브리지타’(약 90 μmol TE·100 g⁻¹ FW)보다 높았다고 보고 하였으며, Su et al. (2017)은 중국에서 재배되는 16개의 블루베리 품종의 DPPH radical 소거능을 측정한 결과로서 ‘노스블루’(4,200 μmol TE·100 g⁻¹ FW)가 ‘브리지타’(3,900 μmol TE·100 g⁻¹ FW)와 ‘듀크’(3,000 μmol TE·100 g⁻¹ FW)보다 높았다고 보고

Table 3 Activities of ABTS, DPPH, and hydroxy radical scavenging in Korean cultivated blueberries

Cultivars	ABTS+ radical scavenging (10 mg·mL ⁻¹ , %)	DPPH radical scavenging (10 mg·mL ⁻¹ , %)	Hydroxy radical scavenging (10 mg·mL ⁻¹ , %)
Duke	58.97 d ²	62.05 b	64.77 c
Weymouth	76.95 ab	50.53 cde	64.84 c
Rancocas	82.19 a	75.96 a	63.68 c
Blue Gold	79.62 a	60.68 bc	67.68 bc
North Blue	74.36 abc	59.66 bc	66.31 c
Sunrise	55.42 d	42.73 e	55.50 d
Sierra	61.84 cd	60.09 bc	72.39 a
Brigitta	63.14 bcd	48.65 de	71.01 ab
Coville	53.07 d	62.68 b	50.62 e
Nelson	77.76 a	58.09 bcd	72.98 a

²Different letters indicate significance at the *P* value<0.05 (n=3).

하였다. Li et al. (2017)은 블루베리 품종의 DPPH radical 소거능 측정에서 ‘노스블루’(100 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘듀크’(90 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘블루골드’(80 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘브리지타’(50 mg GAE·100 g⁻¹ FW)의 순으로 항산화 활성이 높았다고 보고 하였다. 이들의 결과는 본 연구의 DPPH radical 소거능이 높은 것으로 확인된 품종과 비슷한 것으로 여겨진다.

블루베리 추출물의 hydroxy radical 소거능 측정 결과는 ‘넬슨’(73.0%)에서 가장 높았고, ‘시에라’(72%), ‘브리지타’(71.0%) 순이었으며, ‘코빌’ 품종에서는 50.6%로 가장 낮은 결과를 보였다(Table 3). Kim et al. (2013)은 국내에서 상업적으로 재배되고 있는 블루베리 품종의 FRAP에 의한 항산화능을 측정하였는데, ‘란코카스’(1.50 $\mu\text{mol TE}\cdot 100\text{ g}^{-1}\text{ FW}$), ‘선라이즈’(1.43 $\mu\text{mol TE}\cdot 100\text{ g}^{-1}\text{ FW}$), ‘블루골드’(1.37 $\mu\text{mol TE}\cdot 100\text{ g}^{-1}\text{ FW}$), ‘웨이마우스’(1.19 $\mu\text{mol TE}\cdot 100\text{ g}^{-1}\text{ FW}$), ‘시에라’(1.16 $\mu\text{mol TE}\cdot 100\text{ g}^{-1}\text{ FW}$), ‘노스블루’(1.05 $\mu\text{mol TE}\cdot 100\text{ g}^{-1}\text{ FW}$), ‘코빌’(0.97 $\mu\text{mol TE}\cdot 100\text{ g}^{-1}\text{ FW}$), ‘브리지타’(0.86 $\mu\text{mol TE}\cdot 100\text{ g}^{-1}\text{ FW}$), ‘듀크’(0.80 $\mu\text{mol TE}\cdot 100\text{ g}^{-1}\text{ FW}$)순서로 항산화능이 높아 본 시험과는 다소 차이를 보였으나, ‘란코카스’와 ‘블루골드’의 항산화능이 높은 수준에 있다는 것은 일치하였다. 또한 Li et al. (2017)은 블루베리 품종의 FRAP에 의한 항산화능을 분석하여 ‘노스블루’(200 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘블루골드’(150 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘듀크’(140 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘브리지타’(100 mg GAE·100 g⁻¹ FW), ‘선라이즈’(85 mg GAE·100 g⁻¹ FW)의 순으로 항산화능이 높다고 보고 하였다. 본 연구에서는 기존의 방법과는 다른 3종류의 분석방법을 활용하여 항산화 활성을 분석하였으며, 결과의 정확도를 높이고자 얻어진 결과를 수치화하여 정밀한 통계분석을 수행하였다.

다변량 해석을 통한 블루베리 품종 특성 평가

총 페놀 및 총 플라보노이드와 같은 유용한 성분 함량이 높

고 항산화능이 우수한 블루베리 품종을 육성하기 위한 육종 소재를 선발하기 위해서는 시험 분석 결과를 종합적으로 분석하는 단계가 요구된다. 본 연구에서는 블루베리 품종 간에 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량과 항산화능에 있어서 차이를 보였기 때문에 우수한 육종소재를 선발하기 위하여 다양한 형질을 수치화하여 다변량해석을 수행하였다. 특성 분석을 통해 얻어진 결과를 각 실험 항목별로 표준화를 위하여 10개 등급으로 수치화하여 다변량 해석을 실시하였다.

유용한 형질을 지니고 있어서 상위권에 속하는 블루베리 품종은 ‘Bluegold’, ‘Nelson’, ‘Northblue’, ‘Rancocas’였고, 이러한 품종은 다른 품종들에 비해서 생리활성 물질의 높은 함량과 및 항산화능의 높은 활성을 나타내었다. 상기의 품종은 항산화 활성이 뛰어난 국내 신품종 육성을 위한 육종소재로 활용이 가능하며 생과 또는 블루베리 주스, 블루베리 즙, 잼과 같은 가공품 소재로 사용하기에 적합하다고 여겨진다 (Table 3, 4).

베리류에 함유된 비타민C, 셀룰로스, 펙틴, 안토시아닌, 플라보노이드 등은 항암, 항궤양, 항산화, 항염작용과 같은 생리활성을 나타냄으로써 소장과류 과실이 기능성 식품으로서의 중요한 위치를 차지하고 있다(Skrovankova et al. 2015; Srivastava et al. 2007). 소장과류의 과실 중에서 블루베리는 안토시아닌, 프로시아니딘, 클로로겐산 및 다른 플라보노이드 등 다양한 화합물이 풍부한 강력한 기능성 과실로서 슈퍼푸드 중의 한 종류로 인식되고 있으며(Giovanelli et al. 2013; Hakkinen et al. 1999; Kalt et al. 2001; Krikorian et al. 2010; Prior et al. 2001; Skrovankova et al. 2015; Srivastava et al. 2007), 생리활성은 비타민C 함량보다는 주로 총 항산화능에 의해 결정된다고 보고되어 있다(Borges et al., 2010). 이러한 생리활성 물질의 함량은 과실의 성숙, 재배기술, 열처리 방법 등의 가공 방법 및 기술, 저장방법 등에 따라 크게 영향을 받는다 (Giovanelli et al. 2012; Giovanelli et al. 2013; Gough 1994;

Table 4 Clustering of genetic resources of blueberry cultivar by statistical quantification analysis

Cultivars	Total phenols	Total flavonoids	ABTS+ radical scavenging	DPPH radical scavenging	Hydroxy radical scavenging	Score	P<0.05
Blue Gold	9	10	10	7	8	44	a ^z
Nelson	5	10	10	6	10	41	ab
North Blue	10	9	8	7	7	41	ab
Rancocas	7	6	10	10	7	40	ab
Weymouth	8	8	9	5	7	37	abc
Sierra	5	7	6	7	10	35	abcd
Brigitta	3	5	7	4	9	28	bcd
Duke	2	3	5	8	7	25	cd
Sunrise	6	4	5	3	6	24	cd
Coville	1	3	5	8	5	22	d

^zDifferent letters indicate significance at the *P* value<0.05 (n=3).

Srivastava et al. 2007; Strik et al. 2003).

최근에는 NGS를 이용한 전사체 분석을 통해 미숙과에 비해 완숙된 과실에서 특이적으로 높게 발현되는 유전자가를 선발하였다(Rowland et al. 2012). 블루베리에 있어서 중요한 기능성 물질인 안토시아닌과 플라보노이드 생합성(Gupta et al. 2015; Li et al. 2012; Zifkin et al. 2012)에 관련된 전사체에 대한 연구도 보고되었다. 안토시아닌 함량이 많고, 항산화 활성이 높은 ‘노스랜드’ 품종의 안토시아닌 생합성과 관련된 전사체 profiling를 통해서 과실 성숙 기간 중의 대사변화와 안토시아닌 함량과 관련이 있는 다양한 유전자를 확인하였다(Li et al. 2012).

블루베리 과실은 성숙이 진행되는 단계에 항산화 활성이 높으며 이는 완숙전에 플라보노이드와 전구물질의 함량이 높기 때문이며, 성숙이 진행되면서 안토시아닌의 함량이 증가하기 때문인 것으로 여겨지고 있다(Rodarte Castrejón et al. 2008). 따라서 본 연구에서도 품종별로 성숙이 진행되어 특성을 발휘하는 시기에 과실을 수확하여 성분 함량 분석과 생리활성 검정의 결과를 도출하였다.

블루베리는 품종 간에 생리활성의 차이가 많은 것으로 보고되어 있다(Wang et al. 2017; Pertuzatti et al. 2014; Koca and Karadeniz 2009). 블루베리의 계통 또는 품종간의 항산화 활성의 차이는 고유의 과피의 특성, 페놀화합물의 종류와 함량의 차이에 기인하는 것으로 여겨진다(Pertuzatti et al. 2014). 다양한 블루베리의 재배 품종 및 지역별 자생종을 대상으로 한 연구 결과(Gunduz et al. 2015; Pertuzatti et al. 2014; Wang et al. 2017; Koca and Karadeniz 2009)와 본 연구에서 이루어진 블루베리 과실의 특성 및 생리활성의 차이는 각 나라의 기후와 토양 조건에 따른 형질 특성과 함량차이에 기인한 것으로 생각된다. 또한 본 실험에 이용된 분석방법과는 다른 oxygen radical absorbance capacity (ORAC)이나 peroxyradical scavenging capacity (PSC)와 같은 분석방법(Wang et al. 2017)에 따른 차이

도 있을 것으로 생각된다.

블루베리 재배 및 수요가 증가함에 따라 국내 재배환경에서 적응성이 강하고 고기능성의 과실을 생산할 수 있는 품종 선발과 재배기술에 대한 연구가 필요한 실정이다. 본 연구에서 도출한 블루베리 재배 품종에 대한 생리활성 함량 검정 등의 결과는 폴리페놀 화합물 함량이 높고 활성이 강한 계통을 선발하여 보급하고 향후 육종소재로 활용함으로써 기능성 품종 육성을 위한 육종효율 증진에 기여할 것이다. 또한 이러한 결과와 함께 블루베리 유전체 해석과 전사체 분석, 다양한 마커를 활용한 분자 육종을 도입한다면 블루베리 품종육성 효율을 향상시킬 수 있을 것이다.

적 요

블루베리 10품종의 과실특성으로는 과립중은 0.83~1.88 g의 범위를 나타냈으며, ‘넬슨’이 가장 큰 과실을 결실하였으며 ‘블루골드’의 과실이 0.83 g으로 가장 작았다. 당도는 ‘시에라’에서 16.6°Brix로 가장 높았고, 9.7-16.6°Brix를 나타내었다. 산함량은 ‘브리지타’에서 1.75%로 가장 높았고, ‘선라이즈’에서 0.94%로 가장 낮았다. 총 페놀 함량은 ‘노스블루’ (23.75 mg GAE·g⁻¹ FW)에서 가장 높았고, ‘코빌’ (17.15 mg GAE·g⁻¹ FW)에서 가장 낮았다. 총 플라보노이드 함량은 ‘넬슨’ (14.1 mg QE·g⁻¹ FW)에서 가장 높았고, ‘듀크’에서는 10.1 mg QE·g⁻¹ FW으로 가장 낮았다. 블루베리 추출물의 항산화 활성을 3종류의 방법으로 조사한 결과, ABTS⁺ radical 소거능은 ‘란코카스’ (82.2%), ‘블루골드’ (79.6%), ‘넬슨’ (77.8%) 등에서 높았으며, DPPH radical 소거능은 ‘란코카스’ (76.0%)에서 가장 높았으나, hydroxy radical 소거능은 ‘넬슨’ (73.0%)에서 가장 높았다. 총 페놀 및 플라보노이드 함량, 항산화활성 등의 특성을 수치화하여 다변량 해석을 수행한 결과,

‘Bluegold’, ‘Nelson’, ‘Northblue’, ‘Rancocas’ 등의 품종이 기능성 특성이 가장 양호하여 블루베리 품종 육성을 위한 육종 소재로 활용될 수 있을 것으로 여겨진다.

References

- Blois MS (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199–1200
- Borges G, Degeneve A, Mullen W, Crozier A (2010) Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red currants, and cranberries. *J Agric Food Chem* 58:3901–3909
- Brazelton C (2013) World Blueberry Acreage & Production. North American blueberry council
- Burdulis D, Sarkinas A, Jasutien I, Stackevicen E, Nikolajevs L, Janulis V (2009) Comparative study of anthocyanin composition, antimicrobial and antioxidant activity in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruits. *Drug Res* 66:399–408
- Ding M, Feng R, Wang SY, Bowman L, Lu Y, Qian Y, Castranova V, Jiang BH, Shi X (2006) Cyanidin-3-glucoside, a natural product derived from blackberry, exhibits chemopreventive and chemotherapeutic activity. *J Biol Chem* 281:17359–17368
- Dudonné S, Vitrac X, Coutière P, Woillez M, Mérillon JM (2009) Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS⁺, FRAP, SOD, and ORAC assays. *J Agric Food Chem* 57:1768–1774
- Folin O, Denis W (1915). A colorimetric method for determination of phenols (phenol derivatives) in urine. *J Biol Chem* 22: 305–308
- Giovanelli G, Brambilla A, Rizzolo A, Sinelli N (2012) Effects of blanching pre-treatment and sugar composition of the osmotic solution on physico-chemical, morphological and antioxidant characteristics of osmodehydrated blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) *Food Res Int* 49:263–271
- Giovanelli G, Brambilla A, Sinelli N (2013) Effects of osmo-air dehydration treatments on chemical, antioxidant and morphological characteristics of blueberries. *LWT Food Sci Technol* 54:577–584
- Gough RE (1994) The highbush blueberry and its management. Food Products Press, New York 137–149
- Gündüz K, Serçe S, Hancock JF (2015) Variation among highbush and rabbiteye cultivars of blueberry for fruit quality and phytochemical characteristics. *J Food Compos Anal* 38:69–79
- Gupta V, Estrada AD, Blakley I, Reid R, Patel K, Meyer MD, Anderson SU, Brown A, Lila MA, Loraine AE (2015) RNA-Seq analysis and annotation of a draft blueberry genome assembly identifies candidate genes involved in fruit ripening, biosynthesis of bioactive compounds, and stage-specific alternative splicing. *Giga Science* 4:5
- Gutteridge JMC (1994) Hydroxyl radicals, iron, oxidative stress, and neurodegeneration. *Neurobiol NO* 738:201–213
- Hakkinen SH, Karenlampi SO, Heinonen IM, Mykkanen HM, Torronen AR (1999) Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries. *J Agric Food Chem* 47:2274–2279
- Huang W, Zhang H, Liu W, Li C (2012) Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry, and strawberry in Nanjing. *J Zhejiang-SCI B* 13:94–102
- Kalt W, Ryan DA, Duy JC, Prior RL, Ehlenfeldt MK, Vander Kloet SP (2001) Interspecific variation in anthocyanins, phenolic, and antioxidant capacity among genotypes of highbush and lowbush blueberries (*Vaccinium* Section *cyanococcus* spp.). *J Agric Food Chem* 49:4761–4767
- Kalt W, Foote K, Fillmore SAE, Lyon M, van Lunen TA, McRae KB (2008) Effect of blueberry feeding on plasma lipids in pigs. *Brazilian J Nutr* 100:70–78
- Kim JG and HK Yun (2015) Current status and prospects of blueberry genomics research. *J Plant Biotechnol* 42:336–341
- Kim JG, Kim HL, Kim SJ, Park KS (2013) Fruit quality, anthocyanin and total phenolic contents, and antioxidant activities of 45 blueberry cultivars grown in Suwon, Korea. *J Zhejiang Univ Sci B* 14:793–799
- Koca I, Karadeniz B (2009). Antioxidant properties of blackberry and blueberry fruits grown in the Black Sea Region of Turkey. *Sci Hortic* 121:447–450
- Krikorian R, Shidler MD, Nash TA, Kalt W, Vinqvist-Tymchuk MR, Shukitt-Hale B, Joseph JA (2010) Blueberry supplementation improves memory in older adults. *J Agric Food Chem* 58:3996–4000
- Li X, Sun H, Pei J, Dong Y, Wang F, Chen H, Sun Y, Wang N, Li H, Li Y (2012) De novo sequencing and comparative analysis of the blueberry transcriptome to discover putative genes related to antioxidants. *Gene* 511:54–61
- Li D, Li B, Ma Y, Sun X, Lin Y, Meng X (2017) Polyphenols, anthocyanins, and flavonoids contents and the antioxidant capacity of various cultivars of highbush and half-high blueberries. *J Food Compos Anal* 62:84–93
- Lobos GA, Hancock JF (2015) Breeding blueberries for a changing global environment: a review. *Front Plant Sci* 6:782
- Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA (2000) Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *J Ethnopharmacol* 71: 109–114
- Mudd AB, White EJ, Bolloskis MP, Kapur NP, Everhart KW, Lin Y-C, Brown RH (2013) Students’ perspective on genomics: from sample to sequence using the case study of blueberry. *Front Genet* 4:245
- Nguyen TT, Kim JY, Yoo KS, Lim SY, and Lee EJ. 2014. Effect of prestorage UV-A, -B, and -C radiation on fruit quality and anthocyanin of ‘Duke’ blueberries during cold storage. *J Agric Food Chem* 62:12144–12151
- Pertuzatti PB, Barcia MT, Rodrigues D, da Cruz PN, Hermosín-Gutiérrez I, Smith R, Godoy HT (2014) Antioxidant activity of hydrophilic and lipophilic extracts of Brazilian blueberries. *Food Chem* 164:81–88
- Prior RL, Lazarus SA, Cao G, Muccitelli H, Hammerstone JF

- (2001) Identification of procyanidins and anthocyanins in blueberries (*Vaccinium* spp.) using high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *J Agric Food Chem* 49:1270–1276
- 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
- Ribera AE, Reyes-Díaz M, Alberdi M, Zuñiga GE, Mora ML (2010) Antioxidant compounds in blueberry fruits from southern Chile. *J Soil Sci Plant Nutr* 10:509–536
- Rodarte Castrejón AD, Eichholz I, Rohn S, Kroh LW, Huyskens-Keil S (2008) Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. *Food Chem* 109:567–572
- Rowland L, Alkharouf N, Darwish O, Ogden E, Polashock J, Bassil N, Main D (2012) Generation and analysis of blueberry transcriptome sequences from leaves, developing fruit, and flower buds from cold acclimation through deacclimation. *BMC Plant Biol* 12:46
- Shaughnessy KS, Boswall IA, Scanlan AP, Gottschall-Pass KT, Sweeney MI (2009) Diets containing blueberry extract lower blood pressure in spontaneously hypertensive stroke-prone rats. *Nutr Res* 29:130–138
- Skrovankova S, Sumczynski D, Mlcek J, Jurikova T, Sochor J (2015) Bioactive compounds and antioxidant activity in different types of berries. *Int J Mol Sci* 16:24673–706
- Srivastava A, Akoh CC, Fischer J, Krewer G (2007) Effect of anthocyanin fractions from selected cultivars of Georgia-grown blueberries on apoptosis and phase II enzymes. *J Agric Food Chem* 55:3180–3185
- Strik B, Buller G, Hellman E (2003) Pruning severity affects yield, berry weight, and hand harvest efficiency of highbush blueberry. *HortScience* 38:196–199
- Su X, Zhang J, Wang H, Xu J, He J, Liu L, Zhang T, Chen R, Kang J (2017) Phenolic acid profiling, antioxidant, and anti-inflammatory activities, and miRNA regulation in the polyphenols of 16 blueberry samples from China. *Molecules* 18:22
- Taruscio TG, Barney DL, Exon J (2004) Content and profile of flavanoid and phenolic acid compounds in conjunction with the antioxidant capacity for a variety of northwest *Vaccinium* berries. *J Agric Food Chem* 2:3169–3176
- Tosun M, Ercisli S, Karlidag H, Sengul M (2009) Characterization of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) genotypes for their physico-chemical properties. *J Food Sci* 74:C575–579
- Wang H, Guo X, Hu X, Li T, Fu X, Liu RH (2017) Comparison of phytochemical profiles, antioxidant and cellular antioxidant activities of different varieties of blueberry (*Vaccinium* spp.). *Food Chem* 217:773–781
- You Q, Wang B, Chen F, Huang Z, Wang X, Luo PG (2011) Comparison of anthocyanins and phenolics in organically and conventionally grown blueberries in selected cultivars. *Food Chem* 125:201–208
- Yousef GG, Brown AF, Funakoshi Y, Mbeunkui F, Grace MH, Ballington JR, Loraine A, Lila MA (2013) Efficient quantification of the health-relevant anthocyanin and phenolic acid profiles in commercial cultivars and breeding selections of blueberries (*Vaccinium* spp.). *J Agric Food Chem* 61:4806–4815
- 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
- Zifkin M, Jin A, Ozga JA, Zaharia LI, Scherthaner JP, Gesell A, Abrams SR, Kennedy JA, Constabel CP (2012) Gene expression and metabolite profiling of developing highbush blueberry fruit indicates transcriptional regulation of flavonoid metabolism and activation of abscisic acid metabolism. *Plant Physiol* 158:200–224