

## 블랙 라스베리의 과실 성숙에 따른 항산화 활성, 총페놀 함량 및 비타민 C 함량 변화

박영기\*, 최선하, 김세현, 한진규, 정현관  
국립산림과학원 산림유전자원부 특용수과

### Changes in Antioxidant Activity, Total Phenolics and Vitamin C Content during Fruit ripening in *Rubus occidentalis*

Youngki Park\*, Sunha Choi, Sea-Hyun Kim, Jingyu Han and Hun-Gwan Chung  
Div. Special Purpose Tree, Korea Forest Research Institute, 44-3 Omokcheon, Suwon 441-350, Korea

**Abstract** - In this study, changes in the overall antioxidant properties and chemical constituents including total phenolics and vitamin C of *R. occidentalis* fruit during ripening are studied. The antioxidant activity was measured by the free-radical scavenging activity (DPPH method) and reducing power (potassium ferricyanide method). Although, the weight and diameter of *R. occidentalis* fruit were increased with the progress of ripening, antioxidant activity and total phenolics were decrease during ripening. The highest free-radical scavenging activity (at 125  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) and reducing power (at 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) in fruit were 61.67% and 0.71, respectively. Total phenolic content and vitamin C content in fruit of 5 days after fruit set were 220.73  $\mu\text{g}/\text{g}$  and 540.45  $\mu\text{g}/\text{g}$ , respectively. A linear correlation ( $r=0.9761$ ) was shown between free-radical scavenging activity and total phenolic content.

**Key words** - *Rubus occidentalis*, Free radical scavenging activity, Reducing power, Total phenolic content, Vitamin C content

## 서 언

Blackcap 혹은 Scotch cap이라고도 하는 블랙 라스베리 (*Rubus occidentalis*)는 북미가 원산지이며 2~3m까지 자라는 낙엽성 관목이다. 줄기에 가시가 있는 것이 특징이며, 잎은 우상이며, 성장이 왕성한 첫해의 가지에는 5개의 어린잎이 자라고, 화기의 말단 가지에는 3개의 어린잎이 자란다. 둥근 모양을 한 열매는 식용으로 사용된다. 블랙 라스베리에는 약 1.7%의 안토시아닌이 함유되어 있으며(Xue *et al.*, 2001), 주요 안토시아닌은 4가지로 다음과 같다. 즉, cyanidin 3-glucoside, cyanidin 3-rutinoside, cyanidin 3-sambubioside, 그리고 cyanidin 3-xylosylrutinoside 등이다(Nybom, 1968). 또한 블랙 라스베리의 붉은 색을 나타내는 주요 색소 화합물은 cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3,5-diglucoside, cyanidin-3-diglucoside 그리고 cyanidin-3-rhamnoglucoside-5-

glucose라 하였다(Daravingas and Cain, 1966). 엘라그산(ellagic acid)과 각종 안토시아닌 등이 풍부한 블랙 라스베리는 천연 염료나 천연 항산화제로도 유용하다.

최근의 연구에 의하면 과실이나 채소의 섭취는 암이나 심장마비와 같은 질병의 위험을 감소시킨다고 보고하고 있다(Ferreyra *et al.*, 2007). 이는 과실이나 채소에 함유되어 있는 항산화제 때문이다(Jeong *et al.*, 2007). 식물이 생산하는 이러한 항산화 화합물은 활성산소와 같은 화학종으로부터의 공격에 대해 방어하는 역할을 한다. 활성산소는 호흡등과 같은 생리작용에 의해 세포에서 생성된 배기가스로 끊임없이 생산되고 소멸하며 정상적인 상태에서는 3~5% 정도 존재한다. 활성산소는 생리계 내에서 세균을 살균하는 생체 방어 작용을 하는 장점도 있지만 일반적으로 생체 내에서 산화를 일으켜 질병의 원인이 되는 유해한 작용을 한다(Marnett, 2000). 최근의 보고에 의하면 활성산소종이 암이나 동맥경화증, 심혈관계질환과 같은 여러 종류의 질병과 관련이 있다고 인식되고 있으며, 또한 생물분자를 공격하여 세포나 조직에 피해를 주며, 노화나 각종 성인병질환에 관여하여 여러 종류의 질병을 야기한다는 보고도 있다

\*교신저자(E-mail) : ykpark@foa.go.kr

(Maxwell, 1995). 항산화제의 능력은 주로 자유라디칼에 대한 높은 반응성으로 자유라디칼의 활성을 중성화시키기 때문이다. 이러한 항산화제는 크게 superoxide dismutase나 glutathione peroxidase와 같은 항산화 효소와 페놀성 화합물(catechine, flavonols, anthocyanins 등) 그리고 비타민류(C, E, A) 등으로 나눌 수 있다(Fang *et al.*, 2002).

따라서 본 연구에서는 항산화 활성과 관련하여 블랙 라스베리 열매의 성숙에 따른 총페놀 함량과 비타민 C의 함량 및 안토시아닌의 함량 변화를 조사하였다. 또한 이러한 물질들이 항산화 활성에 기여하는 정도를 고찰하고자 이들 간의 상관관계를 구명하였다.

### 재료 및 방법

#### 시료

국립산림과학원 산림유전자원부의 클론 보존원에서 채취한 블랙 라스베리를 이용하였다. 성숙시기로 채취하기 위해서 블랙 라스베리 열매가 맺힌 후 5일 간격으로 수확하였으며 마지막 시기인 20일 후는 완전히 성숙하였다.

#### 추출물의 조제

동결 건조한 블랙 라스베리 열매를 분쇄하여 분말화한 다음 실온에서 3일간 에탄올(EtOH)로 추출한 후 농축하여 조추출물을 조제하였으며 분석 실험에 사용하였다.

#### DPPH radical 소거활성

항산화 활성은 DPPH를 이용한 자유라디칼 소거능법에 의해 측정하였다(Park *et al.*, 2006). 즉, 메탄올에 녹인 시료 0.5ml를 100µM의 DPPH용액 3ml에 첨가하였다. 반응액을 완전히 섞은 후에 실온에서 10분간 반응시켰다. 남아있는 DPPH의 양을 측정하기 위해서 UV-vis spectrophotometer(852A Diode Array Spectrophotometer, Hewlett Packard)를 이용하여 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 항산화 활성인 자유라디칼 소거능은 다음의 식에 의해서 구하였다.

$$\text{Free radical scavenging activity (\%)} = \left( 1 - \frac{\text{Absorbance of sample at 513nm}}{\text{Absorbance of control at 513nm}} \right) \times 100$$

#### 환원력

환원력은 Oyaizu(1986)방법에 의해 측정하였다. 에탄올에 용해한 시료 2.5ml에 0.2M sodium phosphate buffer(pH 6.6) 2.5ml와 10% potassium ferricyanide 2.5ml를 첨가하였

다. 혼합액을 50°C에서 20분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후에 10% trichloroacetic acid(w/v) 2.5ml를 첨가한 후 4000rpm으로 10분간 원심분리를 하였다. 상등액 5ml에 증류수 5ml를 혼합한 후 1ml의 0.1% ferric chloride(1mg/mL)를 첨가하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 반응액의 흡광도 증가하면 환원력이 증가함을 의미한다.

#### 총 페놀 함량

총페놀 함량은 Cheung 등(2003)의 방법에 의해 측정하였다. 블랙 라스베리 추출물 용액 1ml에 Folin and Ciocalteu's phenol reagent(1ml, Sigma)를 첨가하였다. 3분이 지난 후에 포화 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1ml를 첨가하고 다시 증류수를 사용하여 혼합물의 총량이 10ml가 되게 하였다. 암실에서 90분간 반응시킨 후 725nm에서 흡광도를 측정하였다. 검량선은 서로 다른 농도(0.01~0.1mM)의 gallic acid(Sigma)를 표준품으로 사용하여 구하였다.

#### 비타민 C 함량

비타민 C 함량은 Jagot and Dani(1982)에 의해 연구된 방법을 사용하였다. 즉, 건조된 시료 0.5g을 증류수로 추출한 후, 여과하였다. 이 중 0.2ml를 취하여 10%(w/v) trichloroacetic acid (TCA) 0.8ml를 4°C에서 첨가하였다. 5분간 3,000rpm으로 원심분리한 후, 0.5ml 상등액에 증류수를 첨가하여 총량이 2ml가 되게 하였다. 그 후 10% (v/v) Folin phenol reagent 0.2ml를 혼합물에 첨가하여 10분간 반응시킨 후 760nm에서 흡광도를 측정하여 비타민 C의 함량을 계산하였다. 검량선은 서로 다른 농도의 ascorbic acid(Sigma)를 표준품으로 사용하여 구하였다.

### 결과 및 고찰

#### 형태적 특성

블랙 라스베리의 과실이 성숙함에 따라 과실색은 녹색에서 적색 그리고 수확기에는 검정색으로 변화하였다. Table 1에서는 과실 성숙에 따른 과실 무게와 과실 직경에 대하여 열거하였다. 과실이 성숙함에 따라 무게와 직경 모두 증가하였으며 무게를 직경으로 나눈 값인 W/D값도 증가하였다.

#### 항산화 활성

항산화 활성은 일반적으로 과실의 기능성을 평가하는데 있어 중요한 지표이므로 본 연구에서는 블랙 라스베리가 성숙함에 따른 항산화 활성(자유 라디칼 소거능과 환원력)의 변화를 분석하였다. Fig. 1에서는 블랙 라스베리 열매의 성숙단계에 따른 자유

Table 1. Characterization of black raspberry fruit ripening stages by fruit weight and diameter

Days after fruit set (date)	Weight (g)	Diameter (cm)	W/D <sup>1)</sup>
5 (June 7)	0.32	0.86	0.37
10 (June 12)	0.47	1.0	0.47
15 (June 17)	0.76	1.23	0.62
20 (June 22)	1.87	1.68	1.11

<sup>1)</sup> W/D means the ratio of weight and diameter.

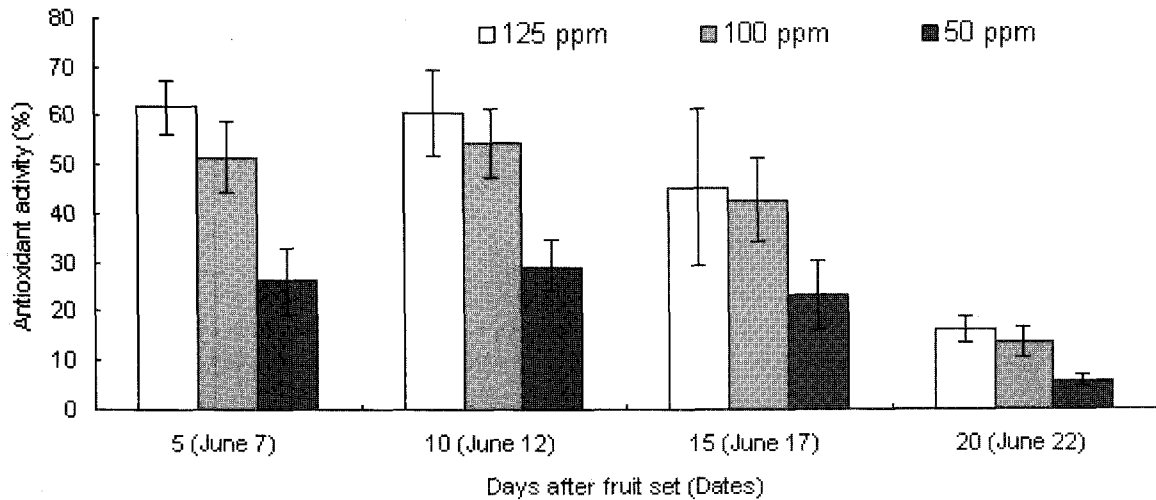


Fig. 1. Antioxidant activity changes of black raspberry during fruit ripening.

라디칼 소거 활성을 나타내었다. 항산화 활성은 과실이 성숙함에 따라 점점 감소하여 열매가 맺힌 20일 후인 완숙과의 항산화 활성이 가장 낮았다. 또한 시료의 농도가 50ppm에서 125ppm으로 증가함에 따라 항산화 활성도 증가하여 블랙라스 베리 추출물의 항산화 활성이 농도 의존적으로 나타났다.

성숙시기별에 따른 블랙 라스베리 열매의 자유 라디칼 소거능은 열매가 맺힌 후 5일째가 125ppm 농도에서 61.67%로 가장 높았으며, 열매가 맺힌 20일 제인 완숙과의 소거능이 16.10%로 가장 낮은 값을 나타냈었다. 이러한 결과는 올리브 열매를 이용한 성숙단계별 항산화 활성과 이와 관련된 인자들의 변화 연구와도 일치하는데 올리브 열매가 성숙하면 항산화 활성 및 이와 관련된 인자들도 감소한다고 하였다(Beltran *et al.*, 2005). 하지만 후추 열매의 성숙단계별에 따른 항산화 활성은 열매가 성숙함에 따라 증가한다고 하였다(Navarro *et al.*, 2006)

환원력은 항산화 활성과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 그러므로 항산화 활성에 대한 중요한 인자로 작용한다. 본 연구에서는 성숙단계가 다른 블랙 라스베리의 열매 추출물의 환원력을 potassium ferricyanide법을 사용하여 측정하였다(Fig. 2). 자유 라디칼 소거능에 의한 항산화 활성의 결과와 마찬가지로 과실이 성숙함에 따라 블랙 라스베리의 환원력도 감소하였다. 가장 높은 환원력은 과실이 맺힌 후 10일째로 이때

의 환원력은 0.71을 나타내었다. 환원력은 일반적으로 항산화 활성과 관련이 있으므로 자유라디칼 소거능으로 표현된 항산화 활성과 관련이 있으며 이들 간에는 고도의 상관관계를 나타내고 있다.

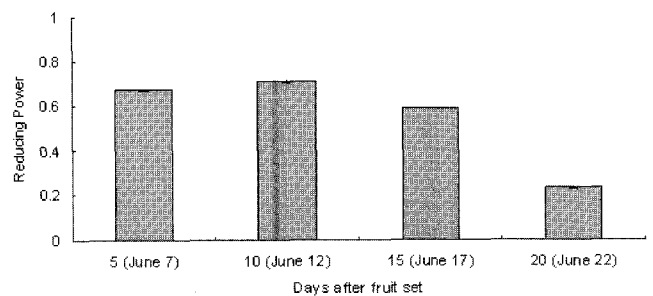


Fig. 2. Reducing power of the black raspberry during ripening (The concentration of extract was 100 ug/mg).

### 총페놀 함량

페놀성 화합물의 주요한 역할은 자유 라디칼을 소거하는 것이라는 연구가 많이 보고되었다(Moller *et al.*, 1999; Madsen *et al.*, 1996). 따라서 이러한 페놀성 화합물인 플라보노이드나 페놀산 그리고 안토시아닌 등의 총량인 총페놀 함량은 DPPH 라디칼 소거능으로 나타내는 항산화 활성에서는 중요한 인자로 작용한다. 일반적으로 항산화 활성이 증가함에 따라 총페놀성 함량도 증가한다. Fig. 3에서는 블랙 라스베리의 성숙단계에 따

른 총페놀 함량을 나타내었다. 과실이 형성된 지 5일 지난후의 열매에 있는 총페놀 함량이 220.73 $\mu$ g/g으로 가장 높았으며 완숙과의 총페놀 함량이 67.94 $\mu$ g/g으로 가장 적게 함유되어 있었다. 이러한 결과로부터 과실이 성숙함에 따라 점차로 총페놀 함량이 감소함을 알 수 있었다. 즉, 블랙 라스베리의 성숙 4 단계 중에서 첫 번째 단계인 과실 형성 5일째는 가장 많은 양의 총페놀 함량이 존재하였지만 마지막 단계인 완숙 단계에서는 미량의 총페놀 함량만이 존재하였다. 일반적으로 과실이 성숙함에 따라 총페놀 함량이 감소하는 이유는 과실 내에 존재하는 폴리페놀들이 다른 물질과 반응하여 다른 형태의 화합물을 형성하고 이것이 과실 내에 축적되기 때문이라 하였다(Kim, 1975).

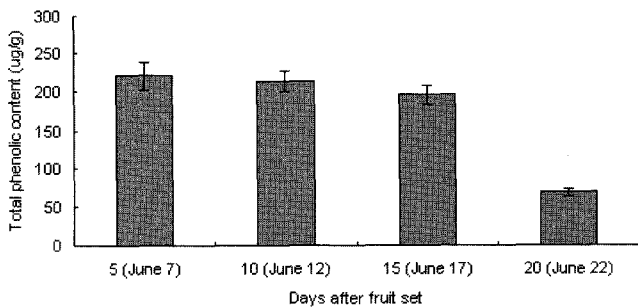


Fig. 3. The total phenolic contents of black raspberry fruit during ripening.

**비타민 C 함량**

비타민 C(아스코르브산)는 대표적인 수용성 비타민으로 식품에 함유되어 있는 다른 영양소와 비교하여 대표성을 나타내므로 영양의 지표로도 종종 사용된다. 비타민 C는 또한 강력한 항산화제이며 이것은 생존을 위해 필요한 성분이다(Padayatty et al., 2003).

Fig. 4는 블랙 라스베리가 성숙하는 동안의 비타민 C 함량 변화를 나타내었다. Fig. 4에 나타낸 결과와 같이 비타민 C의 함량은 540.45 $\mu$ g/g에서 414.78 $\mu$ g/g 범위에 있었으며, 열매가 맺힌 후 5일째가 최고치를 나타내었고 점차 감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 딸보리수 과실의 에탄올 추출물을 사용한 Hong 등(2006)의 연구와도 일치하였다. 즉, 딸보리수 과실에 함유되어 있는 총 비타민 C의 함량은 과실이 성숙함에 따라 감

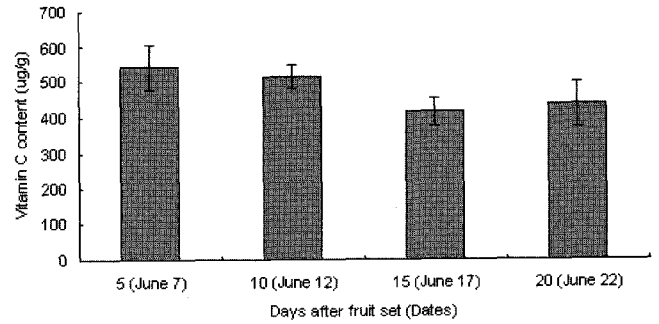


Fig. 4. Vitamin C contents of black raspberry during ripening.

소하였고, 완숙기에 뚜렷이 감소하였다고 보고하였다. 하지만 이와는 반대로 딸기와 구아바에 함유되어 있는 비타민 C의 함량은 과실이 성숙함에 따라 점차로 증가하였다는 보고도 있다(EI Bulk et al., 1997; Ferreyra et al., 2007).

**상관관계**

항산화 활성과 총페놀 함량 및 비타민 C 함량과의 상관관계를 Table 2에 나타내었다. DPPH법에 의해 측정된 자유라디칼 소거능과 환원력은 직선의 상관관계를 나타내었으며, 이때의 상관 계수  $r=0.9862$ 로 고도의 상관관계를 보여주고 있다. 또한 다른 인자들 간에도 높은 상관관계를 나타내었지만, 비타민 C와 총페놀 함량의 상관계수  $r=0.5732$ 로 가장 적은 상관관계를 나타내었다.

딸기를 사용한 항산화 활성과 페놀성 성분간에도 높은 상관관계를 보여주었으며, Yen과 Chen(1995)에 의하면 차 잎에 풍부하게 함유되어 있는 폴리페놀은 항산화 활성과 관련이 깊다고 하였다. 이러한 폴리페놀과 항산화 활성과의 관계는 폴리페놀이 자유 라디칼에게 수소원자를 공급함으로써 발생하는 결과라는 보고가 있다(Madsen et al., 2000).

**적 요**

블랙 라스베리 과실의 성숙정도에 따른 항산화 활성과 이와 관련된 인자인 총페놀성 함량 및 비타민 C 함량의 변화를 측정하였다. 이러한 결과들로부터 과실의 성숙 단계에 따른 활성 및

Table 2. Correlation coefficients (*r*) of antioxidant activity with total phenolic content, and vitamin C content of black raspberry

Factor	Free-radical scavenging activity	Reducing power	Total phenolics	Vitamin C
Free-radical Scavenging activity	-	0.9861	0.9761	0.7316
Reducing power	0.9861	-	0.9889	0.6190
Total phenolics	0.9761	0.9889	-	0.5732
Vitamin C	0.7316	0.6190	0.5732	-

성분변화 그리고 이들 간의 상관관계를 구명하였다.

블랙 라스베리 과실의 항산화활성측정 결과, 자유 라디칼 소거능 및 환원력 모두 과실이 성숙함에 따라 감소하였다. 또한 항산화 활성과 밀접한 관계가 있는 총페놀 함량 및 비타민 함량 역시 과실이 성숙함에 따라 감소하였다. 자유 라디칼 소거능은 과실 결실 5일 후에서 125ppm 농도에서 61.67%로 최대치를 나타내었으며 환원력은 과실 결실 10일 후가 0.71로 최대였다. 총페놀 함량과 비타민 C함량의 최대치는 각각 220.73ug/g과 540.45ug/g였다. 여러 인자들에 의한 상관관계 분석 결과 자유 라디칼 소거 활성과 환원력 그리고 환원력과 총페놀 함량과의 상관관계는 각각  $r=0.9861$ 와  $r=0.9889$ 로 고도의 상관관계를 나타내었다.

이상의 결과를 종합하여 보면, 블랙 라스베리를 수확함에 있어 완숙과보다는 미숙과가 약리적인 측면에서는 유용한 성숙단계라 할 수 있지만 크기나 무게 그리고 맛이나 과색에서는 완숙 단계가 식용으로는 적합하고 항산화 활성 등에서는 낮으나 이용 가능한 약리 효과를 가지고 있다고 할 수 있다.

## 인용문헌

- Beltran, G., M.P. Aguilera, C.D. Rio, S. Sanchez and L. Martinez. 2005. Influence of fruit ripening process on the natural antioxidant content of Hojiblanca virgin olive oils. *Food Chemistry* 89: 207-215.
- Cheung, L.M., P.C.K. Cheung and V.E.C. Ooi. 2003. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chem.* 81: 249-255.
- Daravingas, G. and R.F. Cain. 1966. The anthocyanidin pigments of black raspberries. *J. Food Science* 31: 927-936.
- El Bulk, R.E., E.F.E. Babiker and A.H.E. El Tinay. 1997. Changes in chemical composition of guava fruits during development and ripening. *Food Chemistry* 59: 359-399.
- Fang, Y.Z., S. Yang and G. Wu. 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition.* 18: 872-879.
- Ferreira, R.M., S.Z. Vina, A. Mugridge and A.R. Chaves. 2007. Growth and ripening season effects on antioxidant capacity of strawberry cultivar Selva. *Scientia Horticulturae* 112: 27-32.
- Hong, J.Y., H.S. Nam, N. W. Kim and S.R. Shin. 2006. Changes on the components of *Elaeagnus multiflora* fruits during maturation. *Korean J. Food Preserv.* 13: 228-233 (2006)
- Jagota, S.K. and H.M. Dani. 1982. A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using Folin phenol reagent. *Analytical Biochemistry* 127: 178-182.
- Jeong, J.A., S. H. Kwon and C.H. Lee. 2007. Screeninf for antioxidative activities of extracts from aerial and underground parts of some edible and medicinal ferns. *Korean J. Plant Res.* 20: 185-192.
- Kim, J.H. 1975. Studies on the causal factors of skin browning during storage and its control method in Imamura-aki pear (*Pyrus serotina* Rehder). *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 16: 1-25.
- Madsen, H.L., C.M. Andersen and L.V. Jorgensen. 2000. Radical scavenging by dietary flavonoids. A kinetic study of antioxidant efficiencies. *Eur. Food Res. Tecnol.* 211: 240-246.
- Madsen, H.L., B.R. Nielsen, G. Bertelsen and L.H. Skibsted. 1996. Screen of antioxidative activity of spices. A comparison between assays based on ESR spin trapping and electrochemical measurement of oxygen consumption. *Food Chem.* 57: 331-337.
- Marnett, L. 2000. Oxiradicals and DNA damage. *Carcinogenesis* 21: 361-370
- Maxwell, S.J. 1995. Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs* 49: 345-361.
- Moller, J.K.S., H.L. Madsen, T. Altonen and L.H. Skibsted. 1996. Dittany (*Origanum dictamnus*) as a source of water-extractable antioxidants. *Food Chem.* 64: 215-219.
- Navarro, J.M., P. Flores, C. Garrido and V. Martinez. 2006. Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. *Food Chemistry* 96: 66-73.
- Nybom, N. 1968. Cellulose thin layers for anthocyanin analysis, with special reference to the anthocyanins of black raspberries. *Journal of Chromatography A.* 38: 382-387.
- Oyaizu, M. 1986. Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn. J. of Nutr.* 44: 307-315.
- Padayatty, S.J., A. Katz, Y. Wang, P. Eck, O. Kwon, J.H. Lee, S. Chen, C. Corpe, A. Dutta, S.K. Dutta and M. Levine. 2003. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J. Am. College Nutr.* 22: 18-35.
- Park, Y.K., H.J. Lee, W.Y. Lee, J.K. Ahn and B.H. Hwang. 2006. Study on the relationship between the structure and antioxidant activities of chalcones. *J. Korean Wood Sci. Technol.* 34: 88-94.
- Xue, H., R.M. Aziz, N. Sun, J.M. Cassady, L.M. Kamendulis, Y. Xu, G.D. Stoner and J.E. Klaunig. 2001. Inhibition of cellular transformation by berry extracts. *Carcinogenesis* 22: 351-356.
- Yen, G.C. and H.Y. Chen. 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agri. Food Chem.* 43: 27-32.

(접수일 2007. 6. 25 ; 수락일 2007. 8. 27)