



Research Article

Antioxidant and immunomodulatory effects of the white bread supplemented with blueberry and apple peel

블루베리와 사과껍질을 첨가한 식빵의 항산화 및 면역조절 효과

Yeon Ju Kim[†], SooJung Lee[†], Mi Ja Chung*

김연주[†] · 이수정[†] · 정미자*

Department of Food Science and Nutrition, Gwangju University, Gwangju 61743, Korea

광주대학교 식품영양학과

Abstract We hypothesized that phytochemicals contained in blueberries and apple peels possess antioxidant and immunomodulatory properties. To test this hypothesis, we developed white bread supplemented with blueberry and apple peel powders. The freeze-dried extracts of white bread containing 3% blueberry powder and either 3% or 5% apple peel powder were designated as BP3APP3 and BP3APP5, respectively. The freeze-dried extracts of the control bread, blueberry powder, and apple peel powder were designated as CON, BP, and APP, respectively. Antioxidant activity was evaluated by measuring total polyphenol and flavonoid contents, DPPH and ABTS radical scavenging activities, Fe²⁺ chelating activity, and reducing power. Both BP3APP3 and BP3APP5 exhibited significantly higher levels of polyphenols and flavonoids, as well as enhanced antioxidant activity, compared to the control (CON). These effects are presumed to result from the antioxidant properties of BP and APP. The higher antioxidant activity observed in BP3APP5 compared to BP3APP3 is due to the increased content of apple peel, which exhibited stronger antioxidant effects than blueberry. Furthermore, BP3APP3 and BP3APP5 demonstrated immunomodulatory effects by increasing nitric oxide (NO) production in RAW 264.7 macrophages under basal conditions and suppressing NO production in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. These findings suggest that white bread supplemented with blueberry and apple peel powders has potential as a functional food with both antioxidant and immunomodulatory benefits.

Keywords antioxidant activity, apple peel, blueberry, functional bread, immunomodulatory effects



OPEN ACCESS

Citation: Kim YJ, Lee SJ, Chung MJ. Antioxidant and immunomodulatory effects of the white bread supplemented with blueberry and apple peel. Food Sci. Preserv., 32(6), 1234-1248 (2025)

Received: June 09, 2025

Revised: September 08, 2025

Accepted: September 13, 2025

[†]These authors contributed equally to this study.

***Corresponding author**

Mi Ja Chung

Tel: +82-62-670-2049

E-mail: mijachung@gwangju.ac.kr

Copyright © 2025 The Korean Society of Food Preservation. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. 서론

현대 사회에서 산화 스트레스와 면역 불균형은 다양한 만성 질환의 주요 원인으로 지목되고 있으며 특히, 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)의 과도한 생성은 체내 산화적 손상을 유발하고, 염증을 발생시킬 수 있는 대표적인 염증 인자이다(Pizzino 등, 2017). 과도한 ROS는 염증세포를 모집하고 전염증성 사이토카인 생성을 증가시켜 염증을 유발할 수 있다(Ramos-González 등, 2024).

선천 면역의 핵심 세포인 대식세포(macrophage)는 병원체를 포식하고 손상된 조직을 제거하며, 염증성 사이토카인을 분비하여 면역 반응 전반을 조절하는 중요한 역할을 수행한다(Kim 등, 2025). 대식세포의 활성 과정에서 생성되는 nitric oxide(NO)는 병원체 제거 및 식세포 작용(phagocytosis)에 밀접하게 관여하며, 대식세포 기능을 평가하는 주요 지표로 활용된다(Green 등, 1982; Jain 등, 2019; Kim 등, 2025; Seo와 Shin, 2012).

정상 생리 조건에서 NO의 증가는 대식세포의 활성화를 반영하며, 이는 병원체 제거 능력과 식세포 활성을 촉진하는 면역증진 효과를 나타낸다(Lee 등, 2019). 반면, 염증성 환경에서는 불균형한 면역 반응으로 인해 NO가 과도하게 생성될 수 있으며, 이러한 NO 과잉은 조직 손상 및 과도한 염증 반응을 유발한다(Lee 등, 2019). 따라서 염증 조건에서의 NO 생성 억제는 염증 매개 인자의 과도한 분비를 감소시켜 항염(anti-inflammatory) 효과를 나타내며, 이는 염증성 질환의 조절 및 치료 전략에서 중요한 기전으로 인식되고 있다.

따라서 과도한 면역 반응을 예방하고, 면역체계의 균형을 유지할 수 있는 면역조절 천연 소재가 개발된다면 다양한 가공식품 개발에 활용될 수 있을 것이다.

사과(*Malus pumila*)는 장미과 낙엽교목 식물인 사과나무의 열매로 국내 과일 중에서 생산과 소비가 많고 재배면적이 넓다(Kim 등, 2021). 사과는 과육보다 껍질에 폴리페놀 함량이 약 2-9배 더 높으며(Park 등, 2021; Youn 등, 2017), 이들 성분은 산화적 스트레스 등을 효과적으로 억제하는 것으로 알려져 있다(Kim 등, 2014). 사과 껍질에는 비타민 C뿐 아니라, 퀘르세틴(querctetin), 에피카테킨(epicatechin), 프로시아니딘 B₂(procyanidin B₂) 등 다양한 파이토케미컬(phytochemical)이 풍부하게 존재하여 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(Kim 등, 2014). 따라서 주스, 잼, 음료, 소스, 통조림 등을 가공하는 과정 중 버려지는 사과껍질 폐기물을 활용하여 다양한 기능성 식품 개발이 가능할 것이다.

블루베리(blueberry)는 진달래과(Ericaceae) 산앵도나무속(Vaccinium) 작물로 북아메리카가 원산지이며 세계 10대 건강식품 중 하나에 포함되면서 그 수요가 급증하게 되었고, 국내에는 2000년대 초반에 도입되어 전국에서 재배되고 있다(Hong 등, 2011; Zheng과 Wang, 2003). 페놀성 물질과 플라보노이드계 색소인 안토시아닌(anthocyanin)이 풍부한 블루베리는 뛰어난 항산화, 항암, 항당뇨, 항치매 및 신경질환 개선 효과가 보고되었다(Martineau 등, 2006; Papandreou 등, 2009; Parry 등, 2006; Ramassamy, 2006).

식생활이 서구화됨에 따라 빵 소비는 꾸준히 증가하고 있으며, 기존의 밀가루 중심 제품에서 벗어나 항산화 성분 등 생리활성 물질이 첨가된 건강 지향적 제품에 대한 수요가 증가하고 있다(Ko와 Lee, 2022). 특히 식빵은 간편하게 섭취할 수 있는 식품으로서 활용도가 높으며, 다양한 기능성 원료를 적용하기에 적합한 형태로 주목받고 있다(Ko와 Lee, 2022). 따라서 본 연구에서는 사과껍질과 블루베리와 같은 식품 소재를 활용하여 항산화 및 면역조절 기능을 가진 기능성 식빵을 개발하여 건강을 고려한 식사 대용 식빵으로 활용 가능성을 알아보고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 사과껍질 및 블루베리 분말 제조

본 연구에 사용된 사과인 국내산 부사(*Malus pumila* Mill)와 미국산 냉동 블루베리(WellFresh Co., Seongnam, Korea)는 광주광역시(Gwangju, Korea) 대형마트에서 구입하였다. 사과는 씻어 껍질을 0.1 cm 정도로 벗겨 사용하였고, 블루베리는 해동 후 세척하였다. 사과껍질과 블루베리는 50°C에서 건조하였다. 식빵 제조를 위해서는 건조 후 분말화하여 사용하였다.

2.2. 식빵의 제조

식빵 제조는 강력분에 냉동 블루베리 분말을 밀가루 중량의 3%를 첨가하고 사과껍질은 3%와 5%를 첨가하여 예비 실험한 결과를 참고하여 재료비 배합비는 Table 1과 같다. 예비 실험을 통해 밀가루 함량에 대하여 블루베리 가루 3%와 사과껍질 3%, 5% 첨가량을 결정하여 식빵을 제조하였다. 제조 방법은 버터를 제외한 전 재료를 반죽기(DHLB-303A, Softmill, Dae Hung Co., Seoul, Korea)에 넣고 저속으로 1분 30초 동안 혼합한 후 클립업 단계에서 버터를 첨가하여 중속으로 10분간 반죽하였다. 반죽을 완료한 후 반죽을 둥글리기 한 후 불에 담아 온도 30±5°C, 습도 75±5%인 조건의 발효기(SMP-204, Softmill, Dae Hung Co., Seoul, Korea)에서 40분 동안 1차 발효를 실시한다. 1차 발효가 끝난 반죽은 450 g씩 분할하여 가스를 빼고 둥글리기한 후 비닐로 덮어 실온에서 15분간 중간 발효를 하였다. 반죽의 가스를 빼고 반죽을 식빵 틀에 반죽을 옮긴 후 온도 38±1°C, 습도 80±2% 조건에서 40분간 2차 발효를 실시하였다. 2차 발효 완료 후 180°C 오븐(DH02-2312S, Softmill, Dae Hung

Table 1. Composition of white bread dough supplemented with blueberry powder and apple peel powder (g, w/w)

Ingredients	CON-B ¹⁾	BP3APP3-B	BP3APP5-B
Strong wheat flour	400	376	368
Blueberry powder	0	12	12
Apple peel powder	0	12	20
Sugar	20	20	20
Salt	6	6	6
Dry yeast	8	8	8
Butter	12	12	12
Water	240	240	240

¹⁾CON-B, control-white bread without blueberry powder and apple peel powder; BP3APP3-B, white bread with 3% blueberry powder and 3% apple peel powder; BP3APP5-B, white bread with 3% blueberry powder and 5% apple peel powder.

Co., Seoul, Korea)에서 30분간 구웠다.

제조한 식빵은 상기와 같은 방법으로 건조하여 분쇄하였다. 식빵, 블루베리 및 사과껍질 분말 시료 중량의 20배의 70% 에탄올을 가한 후 60°C shaking incubator(JSSI-100C, JSR)에서 3시간씩 2회 반복 추출하였다. 추출물은 Whatman filter paper No. 2(Whatman International Ltd.)를 사용하여 여과한 후 감압농축기(N-1200, Eyela)를 사용하여 추출 용매를 제거하였다. 농축액은 동결건조기(Clean vac8, Hanil)로 동결건조 한 분말은 -20°C에 보관하면서 사용하였다. 블루베리와 사과껍질 분말이 함유되어 있지 않은 대조군 식빵, 블루베리 3%와 사과껍질 3% 첨가한 식빵, 블루베리 3%와 사과껍질 5% 첨가한 식빵의 추출, 농축 및 동결건조한 시료는 각각 CON, BP3APP3 그리고 BP3APP5라고 하였다. 블루베리와 사과껍질 추출물의 동결건조 시료는 BP와 APP라고 하였다.

2.3. 블루베리와 사과껍질을 첨가한 식빵의 총폴리페놀 및 총플라보노이드 함량 측정

총폴리페놀 함량은 Folin-Denis법(Gutfinger, 1981)에 따라 측정하였다. 총폴리페놀 함량은 시료(1 mg/mL) 1 mL에 Foline-Ciocalteu 시약 및 10% Na₂CO₃ 용액을 각 1 mL씩 차례로 가한 다음 실온에서 1시간 정지한 후 760 nm에서 흡광도를 측정하였으며, gallic acid(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하여 얻은 표준검량선으로부터 총 폴리페놀 함량을 산출하였다(Lee 등, 2018). 시료 1 g 중에 mg gallic acid equivalents(GAE) 함량으로 계산하였다.

총플라보노이드 함량은 Moreno 등(2000)의 방법에 따라, 시료액(1 mg/mL) 1 mL에 10% aluminum nitrate 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL 및 80% 에탄올 4.3 mL를 차례로 가하여 혼합한 다음 실온의 암실에서 40분간 반응시킨 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였으며, quercetin(Sigma-Aldrich Co.)을 사용하여 얻은 표준검량선으로 총 플라보노이드 함량을 계산하였다(Lee 등, 2012). 총 플라보노이드 함량은 시료 1 g 중에 mg quercetin equivalents(QE) 함량으로 계산하였다.

2.4. 블루베리와 사과껍질을 첨가한 식빵의 항산화 효과 측정

2.4.1. 블루베리와 사과껍질을 첨가한 식빵의 DPPH 라디칼 소거작용

2,2-Diphenyl-β-picrylhydrazyl(DPPH; Sigma-Aldrich Co.) 라디칼 소거능은 메탄올에 녹인 일정 농도별(0, 0.1, 1, 2, 5 그리고 10 mg/mL) 시료액 180 μL 시료와 메탄올에 녹인 DPPH 시약(1.5×10⁻⁴ M) 120 μL를 가하여 혼합 후 실온에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다(Blois, 1958;

Lee 등, 2023). DPPH 라디칼소거활성은 대조구에 대한 시료 첨가구의 흡광도를 비교하여 $[1 - (\text{시료의 흡광도} / \text{대조구의 흡광도})] \times 100$ 에 의하여 %로 나타내었다(Lee 등, 2023).

2.4.2. 블루베리와 사과껍질을 첨가한 식빵의 ABTS 라디칼 소거능 측정

ABTS[2,2-azino-bis-(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulphonate)] 라디칼을 이용한 항산화능의 측정은 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS 유리 라디칼이 추출물 내의 항산화 물질에 의해 제거되어 라디칼 특유의 색인 청록색이 탈색되는 것을 이용한 방법으로 Re 등(1999)의 방법에 따라 7 mM의 ABTS 용액에 potassium persulfate를 2.4 mM이 되도록 용해시킨 다음 암실에서 12-16시간 동안 반응시킨 후 415 nm에서 흡광도가 1.5가 되도록 증류수로 조정된 ABTS 용액 3 mL에 추출물 1 mL를 가하여 실온에서 10분간 반응시켜 415 nm에서 흡광도를 측정하였다(Re 등, 1999). 라디칼 소거능은 시료액 무첨가구에 대한 시료액 첨가구의 흡광도 비(%)로 계산하였다(Lee 등, 2012).

2.4.3. 블루베리와 사과껍질을 첨가한 식빵의 Fe²⁺ 킬레이팅 활성 측정

Fe²⁺ 킬레이팅 활성은 시료 추출물 0.2 mL, 메탄올 0.8 mL, 2 mM FeCl₂ · 4H₂O 용액 0.05 mL 및 5 mM ferrozine[3-(2-pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-4,4'-disulfonic acid] 용액 0.2 mL를 혼합하여 실온에서 10분간 반응시킨 후 562 nm에서 흡광도를 측정하였다(Yen 등, 2002). 추출물의 Fe²⁺ 킬레이팅 활성은 시료 무첨가구에 대한 시료 첨가구의 흡광도 비로 나타내었다(Ryu 등, 2011). 철 킬레이팅 활성은 시료액 무첨가구에 대한 시료액 첨가구의 흡광도 비(%)로 계산하였다.

2.4.4. 블루베리와 사과껍질을 첨가한 식빵의 환원력 측정

환원력은 Fe³⁺이 항산화 효과를 가진 추출물에 의한 Fe²⁺으로 환원되면서 흡광도 차이를 나타내고, 이 차이를 이용하여 평가하였다.

블루베리와 사과껍질 그리고 이것들이 함유한 식빵 추출물의 환원력은 Oyaizu(1986)의 방법에 따라 시료액, 200 mM의 인산 완충액(pH 6.6) 및 1%의 potassium ferricyanide 용액을 동량으로 혼합하여 50°C의 항온수조(JSSI-100C, JSR)에서 20분간 반응시켰다. 여기에 10% trichloroacetic acid 용액을 가하여 반응을 정지시키고 5,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 얻은 상층액에 증류수 및 0.1% ferric chloride 용액을 동량으로 혼합한 후 700 nm에서 측정된 흡광도를 시료액의 환원력으로 나타내었다(Lee 등, 2012).

2.5. 블루베리와 사과껍질을 첨가한 식빵의 면역조절 활성 측정

2.5.1. 세포 배양

마우스 대식세포주인 RAW 264.7 세포는 한국세포주은행 (Seoul, Korea)에서 분양받아 사용하였다. RAW 264.7 세포는 10% 비활성화 우태아혈청(fetal bovine serum, FBS; WelGene Co., Daegu, Korea) 용액 및 1% penicillin과 streptomycin (PEST; WelGene Co.) 용액을 함유한 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM; WelGene Co.) 배지를 이용하여 37°C, 5% CO₂가 공급되는 배양기(BB 15, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)에서 배양하였다(Kim 등, 2023).

2.5.2. 세포 생존율 측정

세포 생존율을 알아보기 위해 RAW 264.7 세포(1×10⁴ cells/well)를 96-well plate에 분주하여 24시간 동안 세포를 부착시킨 후, CON, BP3APP3, BP3APP5, BP 그리고 APP를 각각 0, 50, 100 그리고 250 µg/mL를 24시간 동안 처리하였다. 그 후 배지를 제거하고 5 mg/mL 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-dipheylterazolium bromide(MTT; Sigma- Aldrich Co.) 용액과 1% PEST만 함유된 DMEM를 1:10의 비율로 섞은 배지를 교체하였다(Kim 등, 2023). 4시간 후 배지는 완전히 제거한 다음 dimethyl sulfoxide(DMSO; Sigma-Aldrich Co.)를 100 µL 씩 첨가하고, 30분 후 용해한 시료를 DMSO를 blank로 하여 microplate reader(AMR-100, Allsheng Co., Ltd., Hangzhou, China)기를 사용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다(Kim 등, 2023). 세포 생존율(%)은 시료 처리군의 흡광도를 대조군의 흡광도로 나누어 100을 곱한 값이다.

2.5.3. NO 생성량 측정

NO 생성량 측정을 위해 RAW 264.7 세포를 5×10⁵ cells/well 로 24-well plate에 분주하여 48시간 배양한 후 1% PEST만 함유된 DMEM 배지로 교체한 후 2시간 동안 더 배양하였다. CON, BP3APP3, BP3APP5, BP 그리고 APP를 50, 100 그리고 250 µg/mL를 18시간 처리하였다. 양성 대조군으로는 0.01 µg/mL LPS를 같은 조건에서 같은 시간 처리하였다. 항염증 효과를 알아보기 위해 CON, BP3APP3, BP3APP5, BP 그리고 APP를 50, 100 그리고 250 µg/mL를 3시간 처리 후 0.01 µg/mL LPS를 18시간 시간 처리하였다.

RAW 264.7 세포로부터 생성된 NO의 양은 배양 상등액을 분리하여 0.5 mL에 동량의 Griess시약(1% sulfanilamide in 5% phosphoric acid와 1% α-naphtylamide in H₂O) 0.5 mL를 넣고 혼합하여 빛을 차단한 후 10분간 실온에서 방치 후 UV-vis spectrophotometer(Ultrospec 3000, Pharmacia Biotech, Cambridge, UK)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다(Kim 등,

2023). NO의 농도는 sodium nitrite(NaNO₂, Sigma-Aldrich Co.)로 표준 곡선을 작성하여 NO 함량을 산출하였다.

2.6. 통계처리

모든 결과는 3회 이상 반복하여 SPSS package(IBM Corp., Armonk, NY, USA)를 이용하여 평균±표준편차로 나타내었다. 각 시험구에 대한 유의차 검정은 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 한 후 p<0.05수준에서 Duncan's multiple range test로 비교 분석을 하였다. 총폴리페놀 함량, 총플라보노이드 함량, DPPH 라디칼 소거능, ABTS 라디칼 소거능, Fe²⁺ 킬레이팅 활성 및 환원력 간의 상관관계는 Pearson 상관계수 (Pearson's correlation coefficient)를 이용하여 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 블루베리와 사과껍질을 첨가한 식빵의 외관과 단면 구조

블루베리와 사과는 풍부한 파토케미컬(phytochemicals)을 함유하여 우수한 생리활성과 건강 효능을 나타낸다. Xia 등 (2024)의 연구에 따르면, 블루베리 추출물과 사과 껍질 추출물을 혼합했을 때 암세포 증식 억제에 시너지(synergistic) 효과가 나타남을 확인하였다. 해당 연구(Xia 등, 2024)는 다양한 식물성 화학성분 간 상호작용에 의한 시너지 효과의 존재를 보여 주었으며, 이는 건강기능식품 및 기능성 식품 개발에 중요한 이론적 근거를 제공하였다. 이에 본 연구에서는 블루베리와 사과 껍질에 함유된 기능성 성분의 시너지 효과를 기대하여, 두 원료를 혼합한 분말을 활용한 기능성 식빵을 개발하고자 하였다.

강력분의 밀가루에 블루베리 분말 3%와 사과껍질 분말을 각각 3%와 5%를 첨가한 식빵을 제조하여 구운 후 냉각 후 외관과 단면을 촬영한 결과는 Fig. 1과 같다. 외관과 단면을 보면 블루베리 분말과 사과껍질 분말을 각각 3% 첨가하였을 때 블루베리 분말과 사과껍질 분말을 첨가하지 않은 대조군 빵보다 부피가 줄어들었고 사과껍질 분말을 5% 첨가를 했을 때 더 줄어들었다.

본 연구에서는 식빵의 향산화 및 면역조절 특성을 강화하고, 동시에 식품 부산물 재활용 가능성을 검토하기 위하여 두 가지 원료를 조합하여 첨가하였다. 사과껍질은 주스 등 식품 가공 과정에서 다량 발생하는 부산물로, 폴리페놀 및 식이섬유가 풍부하여 기능성 소재로서의 가치가 높다(Park 등, 2021). 블루베리는 안토시아닌, 비타민, 무기질 등 다양한 기능성 물질을 함유한 과실로, 향산화 및 면역증강 효과가 보고되어 있다(Hwang 등 2018; McAnulty 등, 2011; Reque 등, 2014). 또한, 블루베리의 천연 색소와 향미는 사과껍질 분말 첨가로 인한 색과 풍미 변화에 긍정적인 기여를 할 수 있다(Lee 등, 2014). 따라서

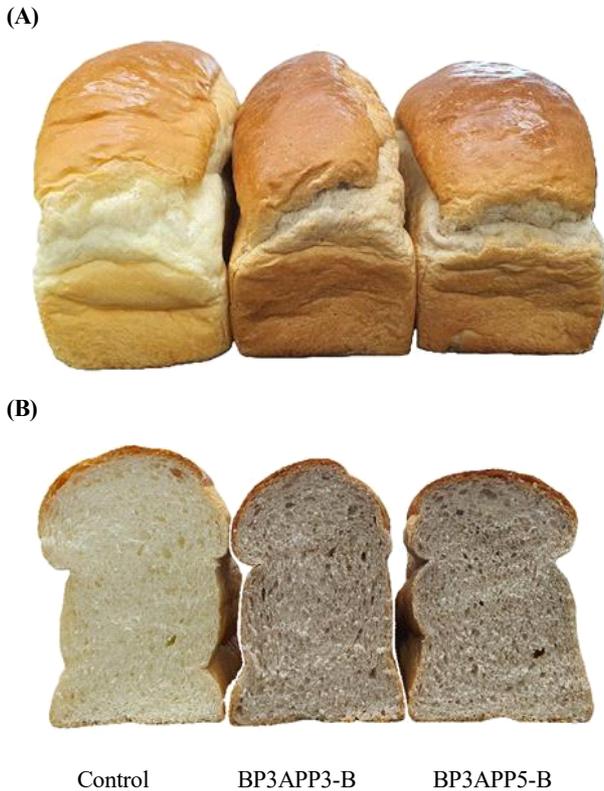


Fig. 1. Appearance (A) and surface (B) of white bread supplemented with blueberry powder and apple peel powder. The control was white bread without blueberry powder or apple peel powder. BP3APP3-B was white bread containing 3% blueberry powder and 3% apple peel powder. BP3APP5-B was white bread containing 3% blueberry powder and 5% apple peel powder.

본 연구에서는 사과껍질 분말(3%, 6%)과 기능성 원료인 블루베리 분말(3%)을 조합하여, 영양학적 상보성과 기능적 시너지 효과를 극대화하고, 동시에 소비자 기호도 측면에서 제품 품질 향상을 도모하고자 하였다.

Lee 등(2014)의 연구에서는 블루베리 분말을 6% 첨가했을 때 가장 우수한 품질 특성을 나타냈으나, 전반적인 기호도에는 3%, 무첨가, 6% 군 간 유의차가 없었으며, 3% 첨가군은 무첨가군과 외관상 유사하였다. Nakov 등(2020)은 사과껍질 분말 함량을 다양한 수준으로 달리하여 제조한 쿠키에서 첨가군이 대조군 대비 항산화 활성이 증가하고 관능 품질이 향상됨을 보고하였다. Valkova 등(2022) 또한 1-10% 사과 부산물 분말 첨가가 품질 및 관능 특성 유지에 적합함을 제시하였다. 본 연구의 예비실험에서는 블루베리와 사과껍질 분말을 포함한 식빵을 준비하여 외관(appearance), 색(color), 향(flavor), 조직감(texture), 맛(taste), 전반적 기호도(overall preference)를 평가한 결과, 블루베리 분말과 사과껍질 분말을 더한 총첨가 비율이 6-8% 범위가 적당하다고 판단되었다(data not shown) 이에 기

준 연구 결과와 본 연구 예비 실험을 근거로 블루베리 분말은 3%, 사과껍질 분말은 각각 3%와 5%의 두 수준으로 첨가하여 기능성 식빵을 제조하였다.

3.2. 블루베리와 사과껍질을 첨가한 식빵의 총폴리페놀 및 플라보노이드 함량

블루베리 분말 3%와 사과껍질 분말 3% 또는 5%를 첨가한 식빵 추출물의 총폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 블루베리 분말 및 사과껍질 분말을 각각 3% 첨가한 식빵 추출물(BP3APP3, 2.50 mg GAE/g)은 이들이 함유되지 않은 대조군 식빵 추출물(CON, 0.82 GAE/g) 보다 총폴리페놀 함량이 유의적으로 높았다. 블루베리 분말은 3%로 같게 하고 사과껍질 분말 함량을 5%로 증가시킨 BP3APP5의 총폴리페놀 함량은 3.59 mg GAE/g이었다. 블루베리 추출물(BP)과 사과껍질 추출물(APP)의 총폴리페놀 함량은 각각 4.44 mg GAE/g와 9.37 mg GAE/g로 CON보다 BP3APP3과 BP3APP5의 총폴리페놀 함량이 높은 것은 블루베리와 사과껍질 분말 첨가에 의한 것이라는 것을 알 수 있었다.

블루베리 분말과 사과껍질 분말 무첨가군인 식빵 추출물인 CON은 플라보노이드가 검출되지 않았고, 블루베리 분말 3%에 사과껍질을 3% 또는 5%를 첨가한 식빵 추출물인 BP3APP3과 BP3APP5의 플라보노이드 함량은 0.25 mg QE/g과 0.77 mg QE/g이었다. 블루베리 및 사과껍질 추출물의 플라보노이드 함량은 0.37 mg QE/g와 3.42 mg QE/g이었다. 따라서 BP3APP3

Table 2. Total polyphenol and total flavonoid contents of white bread containing 3% blueberry powder and varying levels (3% and 5%) of apple peel powder

Samples	Total polyphenol contents (mg GAE ¹⁾ /g)	Total flavonoid content (mg QE ² /g)
CON ³⁾	0.82±0.02 ^{4)bc5)}	0 ^d
BP3APP3	2.50±0.08 ^d	0.25±0.01 ^{cd}
BP3APP5	3.59±0.03 ^c	0.77±0.02 ^b
BP	4.44±0.01 ^b	0.37±0.03 ^c
APP	9.37±0.12 ^a	3.42±0.36 ^a

¹⁾GAE, gallic acid equivalent.

²⁾QE, quercetin equivalent.

³⁾CON, freeze-dried extract of white bread without added blueberry powder or apple peel powder; BP3APP3, freeze-dried extract of white bread containing 3% blueberry powder and 3% apple peel powder; BP3APP5, freeze-dried extract of white bread containing 3% blueberry powder and 5% apple peel powder; BP, freeze-dried extract of blueberry powder; APP, freeze-dried extract of apple peel powder.

⁴⁾All values are mean±SD (n=3).

⁵⁾Mean values with different superscript letters in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

와 BP3APP5의 플라보노이드 함량은 블루베리와 사과껍질을 첨가에 의한 것이라는 것을 알 수 있었다.

페놀성 화합물들은 식물체에 존재하는 2차 대사산물의 하나이고, 폴리페놀화합물은 수산화기(-OH, hydroxyl 그룹)를 통한 수소공여와 페놀고리구조의 공명 안정화에 의한 항산화 능력을 나타낸다(Yusof 등, 1990). 플라보노이드는 페놀성 화합물 중에서 자연적으로 생성되는 큰 그룹 중의 하나이고, 플라보노이드의 생리활성은 플라보노이드의 구조에 따라 결정되는 것으로 보고되고 있으며, 특히 수산화기와 당의 결합 위치와 그 수가 중요한 요소로 작용하고 있는 것으로 보고되고 있다(Heim 등, 2002). 사과의 주요 생리활성 물질인 플라보노이드는 천연 화합물로 항산화 효과가 알려져 있다(Yu 등, 2006).

Lee 등(2016)은 사과(홍로)껍질의 70% 주정 추출물의 총폴리페놀과 플라보노이드 함량이 21.6 mg/g과 4.6 mg/g이라 하였는데 본 연구 결과들보다 높았다. 사과껍질 80% 에탄올 추출물의 총폴리페놀 함량을 건조 시료 g 당 72.6 mg GAE/g이었고, 사과껍질에 함유된 플라보노이드 함량은 건조 시료 g 당 34.2 QE/g이었다(Lee 등, 2012).

베리류 과실의 페놀화합물은 맛, 색 등에 영향을 주고 항산화 효과, 항암 등(Seeram 등, 2006; Tosun 등, 2009)이 알려져 있고, Youn 등의 연구(2016)에서 블루베리 총페놀 함량은 미국산 블루베리보다 국내산이 더 높게 나타났다고 하였다. Park 등(2022)은 제주산 블루베리 물 추출물의 총페놀 함량은 6.34 mg GAE/g이라 하였는데 본 연구에 사용된 미국산 블루베리 총페놀 함량(4.44 mg GAE/g)보다 높았다. Park 등의 연구(2014)에서 블루베리 열수 추출물의 총 플라보노이드 함량이 5.2 mg QE/g이라고 보고하였는데 본 연구에서 사용한 미국산 블루베리 플라보노이드 함량(0.37 mg QE/g)보다 10배 이상 높았다.

이와 같은 차이는 품종, 산지, 추출 방법, 검량선을 작성하기 위한 표준물질 등의 차이에 의한 것이라고 추정된다. 또한 미국산 냉동 블루베리는 유통되는 과정 및 해동하여 건조하는 과정 중 총 페놀 및 플라보노이드 화합물이 파괴되었을 수도 있을 것으로 예상된다. 본 연구에서 미국산 냉동 블루베리를 사용한 것은 가격이 저렴하고 언제나 구입이 가능한 장점을 가지고 있기 때문이다.

또한 제빵 과정에서 요구되는 고온은 일반적으로 열에 불안정한 생리활성 화합물의 열분해(thermal degradation)를 유발하여 유효 성분의 손실을 초래할 수 있다. Blanch와 Castillo(2021)는 흑옥수수(black corn) 빵을 대상으로 제빵 온도가 페놀 화합물 함량과 항산화 활성에 미치는 영향을 평가하였는데, 그 결과 모든 제빵 온도에서 총페놀 함량이 감소하였으며, 총 안토시아닌 함량은 180°C 이상의 고온에서만 유의한 감소가 나타났다. 본 연구에서도 2차 발효 후 180°C에서 30분간 굽는 과정을 거쳤기 때문에, 총페놀 화합물을 비롯한 일부 생리활성 물질이 열

처리 과정에서 손실되었을 가능성이 있을 것으로 추정된다.

3.3. 블루베리와 사과껍질을 첨가한 식빵의 DPPH 라디칼 소거 작용

DPPH 라디칼 소거 작용은 천연 소재의 항산화 활성 측정을 위한 매우 효과적인 방법이다. DPPH는 보라색의 안정한 유리 라디칼로 항산화 효과를 가진 물질과 반응하면 탈색되어 노란 색인 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazine(DPPH-H)으로 변화되어 흡광도 값이 감소한다(Dudonne 등, 2009).

블루베리 및 사과껍질 분말 함유 식빵 추출물의 DPPH 라디칼 소거작용은 Fig. 2와 같다. 블루베리와 사과껍질을 첨가한 식빵에서 DPPH 라디칼 소거작용이 무첨가군인 대조군과 비교하여 유의적으로 높았다. 블루베리 분말 3%와 사과껍질 분말 3% 또는 5%를 첨가한 식빵 추출물인 BP3APP3와 BP3APP5는 농도 의존적으로 DPPH 라디칼 소거작용이 증가하였다. 10 mg/mL 농도에서 BP3APP3와 BP3APP5의 DPPH 라디칼 소거작용은 26.7%와 47.7%이었는데 이는 사과껍질 분말 함량이 증가할수록 DPPH 라디칼 소거작용이 뛰어나다는 것을 알 수 있었다. 10 mg/mL 농도에서 블루베리 추출물(BP)과 사과껍질 추출물(APP)의 DPPH 라디칼 소거작용은 50.9%와 71.7%이었다.

Lee 등(2020)의 연구에서는 3가지 용매(증류수, 70% 에탄올, 80% 메탄올)를 사용하여 톱 추출물을 제조한 후, 각 추출물에 대해 1-10 mg/mL의 농도로 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정하였다. 또한 Kim 등(2014)의 연구에서는 국내 자생 식물 추출물 135종을 대상으로 1 mg/mL 농도에서 DPPH 라디칼 소거능을 평가하였으며, 그 결과 상당수의 시료가 30% 미만의 소거능을 나타냈다. 본 연구에서 사용한 식빵의 경우 블루베리 분말과 사과껍질 분말을 합하여도 함량이 최대 8%에 불과하므로, 일반 식물 추출물에 비해 항산화 효과가 현저히 낮을 것으로 예상되었다. 이에 본 연구에서는 항산화 실험은 최대 10 mg/mL 농도까지 설정하여 항산화 활성을 평가하였다.

Lim 등(2015)은 미국산 블루베리의 70% 에탄올 추출물의 125 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL의 농도에 DPPH 라디칼 소거작용이 25.7%, 28.9%, 32%이었다고 하였는데, 본 연구에서는 100 µg/mL 농도에서 DPPH 라디칼 소거작용이 11.7%로 낮았다. 국내산 블루베리의 80% 메탄올 추출물을 이용하여 DPPH 라디칼 소거작용을 측정한 결과는 농도 10 mg/mL 블루베리 추출물에서 92.60% 소거활성을 보였다고 하였으나(Jeong 등, 2008), 본 연구에서는 70% 에탄올 블루베리 추출물 10 mg/mL에서 DPPH 라디칼 소거작용은 50.9%로 낮았다. 다른 연구에서는 80% 에탄올 추출물에서 국내산 블루베리가 93.48%, 미국산 블루베리가 84.32%의 DPPH 라디칼 소거작용을 나타낸다고 보고하였는데(Moon 등, 2013), 이들 결과는 국내산 블루베리의 DPPH 라디칼 소거작용이 미국산 블루베리보다 높다는 것을 알 수 있었다. 본 연구는 미국산 냉동 블루베리를 사용

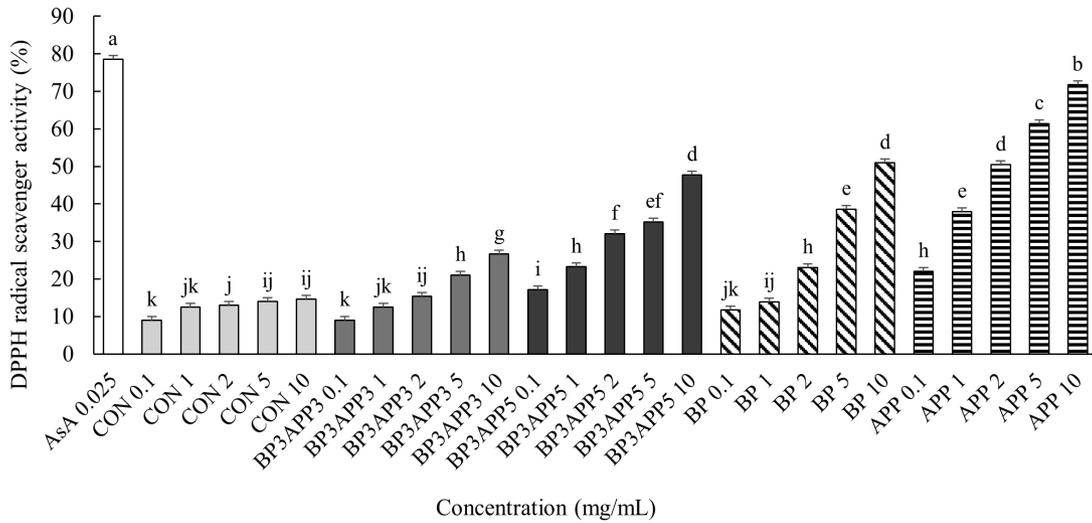


Fig. 2. DPPH radical scavenging activity of white bread containing 3% blueberry powder and varying levels (3% and 5%) of apple peel powder. CON (control), freeze-dried extract of white bread without added blueberry powder or apple peel powder; BP3APP3, freeze-dried extract of white bread containing 3% blueberry powder and 3% apple peel powder; BP3APP5, freeze-dried extract of white bread containing 3% blueberry powder and 5% apple peel powder; BP, freeze-dried extract of blueberry powder; APP, freeze-dried extract of apple peel powder; AsA, ascorbic acid. All values are mean±SD (n=3). Mean values with different letters on the bars are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

하였는데 이것이 본 연구 결과 블루베리 추출물의 DPPH 라디칼 소거작용이 다른 연구들의 DPPH 라디칼 소거작용 결과들보다 낮은 이유 중 하나일 것이라 추정된다.

사과껍질 추출물의 DPPH 라디칼 소거작용은 10 mg/mL에서 85.5%(Lee 등, 2016) 그리고 93.1%(Lee 등, 2012)라고 하였는데 본 연구 결과는 같은 농도에서 71.7%로 낮았다. 사과와 과육보다 껍질에서 DPPH 라디칼 소거 활성이 크게 높았다 (Bang 등, 2015).

따라서 BP3APP3과 BP3APP5가 CON보다 DPPH 라디칼 소거작용이 높은 것은 블루베리와 사과껍질에 의한 것이라는 것을 알 수 있었고 빵 제조 과정 중 항산화 효과는 유지되는 것을 알 수 있었다.

3.4. 블루베리와 사과껍질을 첨가한 식빵의 ABTS 라디칼 소거 작용

ABTS 라디칼 역시 청록색을 나타내며, 항산화제와 반응 시 탈색이 되며 흡광도값이 감소하게 되는데, 유기용매와 수용액에도 용해될 수 있어 친수성 및 소수성 화합물의 항산화 활성을 모두 평가할 수 있는 장점이 있다(Dudonne 등, 2009).

블루베리 및 사과껍질 분말 함유 식빵 추출물의 ABTS 라디칼 소거 작용은 Fig. 3과 같다. 블루베리와 사과껍질을 첨가한 식빵에서 ABTS 라디칼 소거 작용은 무첨가군인 대조군과 비교하여 ABTS 라디칼 소거 작용은 저농도(0.1 mg/mL)를 제외

한 모든 농도에서 유의적으로 높았다. 블루베리 분말 3%와 사과껍질 분말 5% 첨가한 식빵 추출물인 BP3APP5는 농도 의존적으로 ABTS 라디칼 소거 작용을 나타내었다. 10 mg/mL 농도에서 BP3APP3과 BP3APP5의 ABTS 라디칼 소거율은 23.3%와 27.3%로 BP3APP5가 BP3APP3보다 유의적으로 높았다. 블루베리 추출물(BP)과 사과 껍질 추출물(APP)의 ABTS 라디칼 소거 작용은 55.3%, 89.4%이었다. 이는 사과껍질과 블루베리 첨가가 BP3APP3과 BP3APP5에 ABTS 라디칼 소거 작용에 영향을 미치고, 사과껍질 분말 함량이 증가할수록 ABTS 라디칼 소거 작용이 더 뛰어나다는 것을 확인할 수 있었다.

Lim 등(2015) 연구에서는 미국산 블루베리의 70% 에탄올 추출물이 125 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL 농도에서 15.6%, 28.8%, 59.8%의 ABTS 라디칼 소거 작용을 보였고, Jeong 등(2008) 연구에서는 국내산 블루베리의 80% 메탄올 추출물이 10 mg/mL 농도에서 99.1%의 ABTS 라디칼 소거 작용을 보였는데 본 연구에서는 이들 연구보다 낮은 ABTS 라디칼 소거 작용을 나타내었다. Lee 등(2012)은 사과껍질의 80% 에탄올 추출물이 10 mg/mL 농도에서 80.1%의 ABTS 라디칼 소거 작용을 나타내었다고 하였는데, 이는 본 연구 결과보다 낮았다.

3.5. 블루베리와 사과껍질을 첨가한 식빵의 Fe²⁺ 킬레이팅 활성

철(Fe²⁺) 및 구리(Cu²⁺)와 같은 2가 금속이온은 세포 내 지질

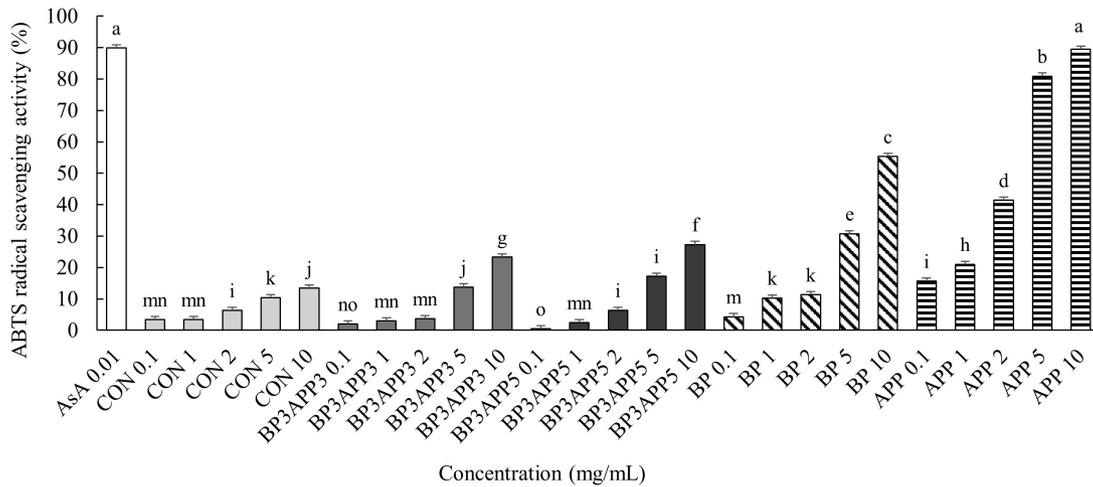


Fig. 3. ABTS radical scavenging activity of white bread containing 3% blueberry powder and varying levels (3% and 5%) of apple peel powder. CON (control), freeze-dried extract of white bread without added blueberry powder or apple peel powder; BP3APP3, freeze-dried extract of white bread containing 3% blueberry powder and 3% apple peel powder; BP3APP5, freeze-dried extract of white bread containing 3% blueberry powder and 5% apple peel powder; BP, freeze-dried extract of blueberry powder; APP, freeze-dried extract of apple peel powder; AsA, ascorbic acid. All values are mean \pm SD (n=3). Mean values with different letters on the bars are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

과산화물을 촉진시킨다. Ferrozine은 Fe^{2+} 와 복합체를 형성하여 붉은색을 띠게 되는데, 이때 Fe^{2+} 에 대해 킬레이팅 효과를 가진 물질이 존재하면 복합체 형성을 방해함으로써 붉은색이 탈색되면서 흡광도가 감소 한다(Haung 등, 2002). 따라서 추출물과

반응하여 탈색의 정도가 클수록 킬레이팅 활성이 크므로 2가 금속이온으로 인한 지질 과산화물을 예방할 수 있다.

블루베리 및 사과껍질 분말 함유 식빵 추출물의 Fe^{2+} 킬레이팅 활성은 Fig. 4와 같다. 블루베리와 사과껍질을 첨가한 식빵

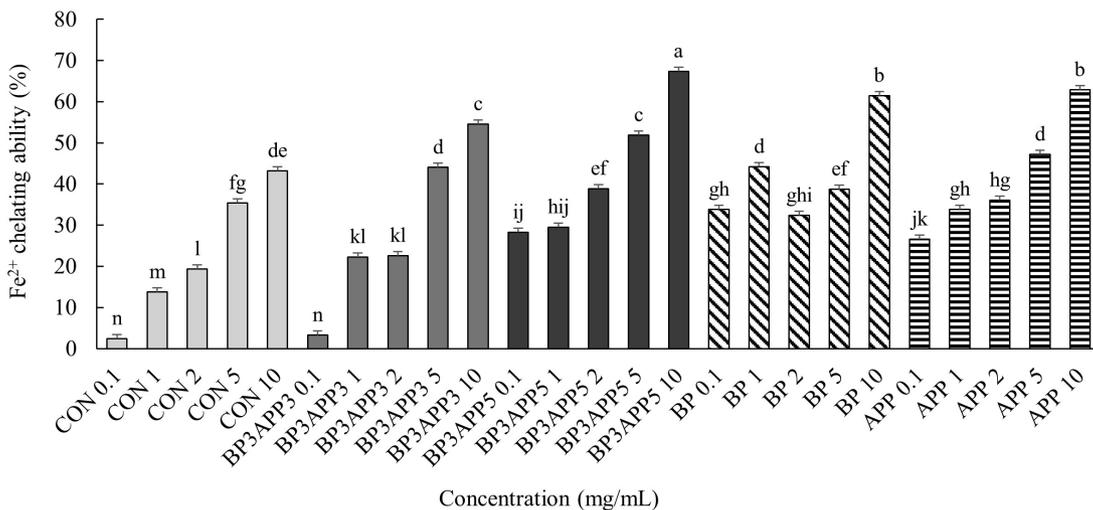


Fig. 4. Fe^{2+} chelating ability of white bread containing 3% blueberry powder and varying levels (3% and 5%) of apple peel powder. CON (control), freeze-dried extract of white bread without added blueberry powder or apple peel powder; BP3APP3, freeze-dried extract of white bread containing 3% blueberry powder and 3% apple peel powder; BP3APP5, freeze-dried extract of white bread containing 3% blueberry powder and 5% apple peel powder; BP, freeze-dried extract of blueberry powder; APP, freeze-dried extract of apple peel powder. All values are mean \pm SD (n=3). Mean values with different letters on the bars are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

추출물(BP3APP3와 BP3APP5)은 무첨가군인 대조군 식빵 추출물(CON)보다 Fe²⁺ 킬레이팅 활성이 유의적으로 높았다. BP3APP3와 BP3APP5는 농도 의존적으로 Fe²⁺ 킬레이팅 활성을 나타내었고, 10 mg/mL 농도에서 54.6%와 67.4%였다. 10 mg/mL BP와 APP의 Fe²⁺ 킬레이팅 활성은 61.5%와 62.9%로 유의적 차이가 없었다.

Fe²⁺ 킬레이팅 활성은 생체 내의 철(iron, Fe) 이온의 과잉으로 철 이온(Fe²⁺)이 과산화수소(H₂O₂)와 반응하는 fenton reaction에 의해 생성되는 강력한 활성산소종 중 hydroxyl radical의 억제에 의한 Fe²⁺ 킬레이팅 반응을 이용한 것이다(Sakanaka 등, 2005).

Chung(2014)은 국내산 블루베리의 70% 메탄올 추출물 0.5 mg/mL, 1 mg/mL, 3 mg/mL, 5 mg/mL에서 각각 37.22%, 41.22%, 49.45%, 64.81%의 Fe²⁺ 킬레이팅 활성을 보였다고 하였으나, 본 연구에서는 70% 메탄올 블루베리 추출물 5 mg/mL와 10 mg/mL에서 38.7%와 61.47%로 낮았다.

대부분의 폴리페놀화합물 및 플라보노이드는 철 이온(Fe²⁺)과 결합하여 활성산소종 생성 및 지질 산화 반응을 억제하는 역할을 하는 것으로 알려져 있어(Perron과 Brumaghim, 2009; Yoshino와 Murakami, 1998), 사과껍질 및 블루베리에 함유된 총폴리페놀 및 플라보노이드가 BP3APP3와 BP3APP5의 Fe²⁺ 킬레이팅 활성에 영향을 미쳤을 것으로 생각된다.

3.6. 블루베리와 사과껍질을 첨가한 식빵의 환원력

환원력은 ferric ion(Fe³⁺)-ferricyanide 복합체를 ferrous(Fe²⁺)

상태로 환원시키는 능력을 측정하는 방법으로 전자를 주는 환원력이 클수록 ferrous(Fe²⁺) 생성이 높아 푸른색을 띠게 되고, 700 nm에서 최대의 흡광도를 가지며 이때 흡광도 수치는 그 자체가 시료의 환원력을 나타낸다(Kim 등, 2010).

블루베리, 사과껍질, 블루베리와 사과껍질 함유 식빵 추출물의 환원력을 측정한 결과는 Fig. 5와 같다. 블루베리 분말 3%와 사과껍질 분말 3% 또는 5%를 첨가한 식빵 추출물인 BP3APP3와 BP3APP5는 대조군(CON)과 비교하여 환원력이 유의적으로 높았다. 10 mg/mL 농도에서 BP와 APP의 환원력은 1.01와 1.82이었다. 10 mg/mL BP3APP3와 BP3APP5의 환원력은 0.75와 0.82로 사과껍질 첨가량이 3%보다 5%일 때 유의적으로 증가하였다.

Jeong 등(2008)은 국내산 블루베리의 80% 메탄올 추출물이 20 mg/mL 농도에서 1.98의 환원력을 보였다고 하였다. Chung (2014)은 국내산 블루베리의 70% 메탄올 추출물이 0.5-5.0 mg/mL의 농도 범위에서 0.06-0.53의 환원력을 나타냈었다고 하였는데, 본 연구에서 70% 메탄올 블루베리 추출물의 0.1-10 mg/mL 농도에서 0.18-1.01의 환원력으로 더 높았다. 사과(홍로) 껍질의 70% 주정 추출물의 환원력은 5 mg/mL 농도에서 1.41(Lee 등, 2016)로 본 연구 결과(0.96)보다 높았다. Kim 등(2014)은 사과껍질 환원력이 포도껍질 및 고구마껍질보다 높다고 하였고, Kim 등(2014)은 과일 껍질의 환원력이 높은 순서는 골드키위 > 포도 > 사과 > 그린키위 > 복숭아 > 참외라고 하였다.

본 연구에서 사용한 미국산 냉동 블루베리는 저렴하게 항상

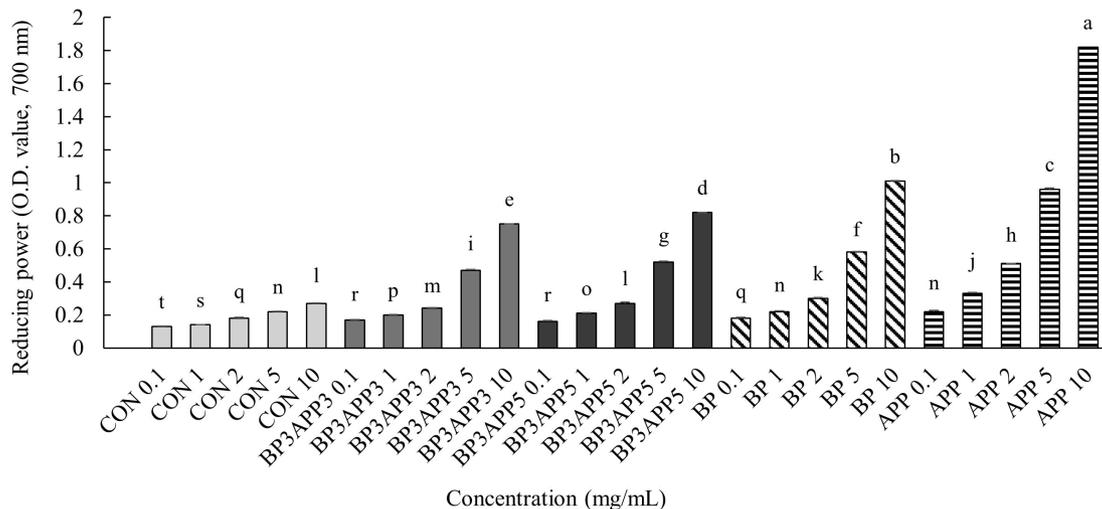


Fig. 5. Reducing powder of white bread containing 3% blueberry powder and varying levels (3% and 5%) of apple peel powder. CON (control), freeze-dried extract of white bread without added blueberry powder or apple peel powder; BP3APP3, freeze-dried extract of white bread containing 3% blueberry powder and 3% apple peel powder; BP3APP5, freeze-dried extract of white bread containing 3% blueberry powder and 5% apple peel powder; BP, freeze-dried extract of blueberry powder; APP, freeze-dried extract of apple peel powder. All values are mean±SD (n=3). Mean values with different letters on the bars are significantly different at p<0.05 by Duncan’s multiple range test.

구입하여 식빵 제조에 사용할 수 있다는 장점이 있지만 유통되는 과정, 해동하여 건조하는 과정 등에서 항산화 효과를 나타내는 생리활성 물질이 일부 파괴되어 항산화 효과에 영향을 미쳤을 것으로 생각된다.

3.7. 블루베리와 사과껍질을 첨가한 식빵의 항산화 효과의 상관관계

DPPH 라디칼 소거능, ABTS 라디칼 소거능, Fe^{2+} 킬레이팅 활성 및 환원력은 각각 0.1, 1, 2, 5 그리고 10 mg/mL의 농도에서 상관관계를 비교하였다. Pearson 상관계수(r) 분석 결과, ABTS 라디칼 소거능($r=0.912$), Fe^{2+} 킬레이팅 활성($r=0.701$), 및 환원력($r=0.876$)은 모두 DPPH 라디칼 소거능과 강한 양의 상관관계를 나타내었다. ABTS 라디칼 소거능과의 상관관계 분석에서는 DPPH 라디칼 소거능($r=0.912$)과 환원력($r=0.917$)이 강한 양의 상관관계를, Fe^{2+} 킬레이팅 활성($r=0.663$)은 중등도의 상관관계를 나타내었다. Fe^{2+} 킬레이팅 활성과의 상관관계 분석에서는 DPPH 라디칼 소거능($r=0.701$) 및 환원력($r=0.736$)이 강한 양의 상관관계를, ABTS 라디칼 소거능($r=0.663$)은 중등도의 상관관계를 나타내었다. 환원력은 DPPH 라디칼 소거능($r=0.876$), ABTS 라디칼 소거능($r=0.917$), Fe^{2+} 킬레이팅 활성($r=0.736$)과 모두 강한 양의 상관관계를 보였다. 또한, 모든 변수의 유의확률(양측 p 값)은 $p<0.05$ 로, 두 변수 간의 선형 상관관계가 통계적으로 유의함이 확인되었다.

총폴리페놀 함량과 총플라보노이드 함량은 한 구간의 농도에서만 측정하였기 때문에, DPPH 라디칼 소거능, ABTS 라디칼 소거능, Fe^{2+} 킬레이팅 활성 및 환원력의 10 mg/mL 결과들과 상관관계를 분석하였다. 총폴리페놀 함량의 상관관계 분석 결과, 총플라보노이드 함량($r=0.943$), DPPH 라디칼 소거능($r=0.942$), ABTS 라디칼 소거능($r=0.969$) 그리고 환원력($r=0.993$)은 모두 강한 양의 상관관계를 나타내었으며, Fe^{2+} 킬레이팅 활성($r=0.615$)은 중등도의 상관관계를 보였다. 총플라보노이드 함량과의 상관관계에서는 총폴리페놀 함량($r=0.943$), DPPH 라디칼 소거능($r=0.826$), ABTS 라디칼 소거능($r=0.875$) 그리고 환원력($r=0.919$)이 강한 양의 상관관계를, Fe^{2+} 킬레이팅 활성($r=0.464$)은 중등도의 상관관계를 나타내었다. DPPH 라디칼 소거능과의 상관관계 분석에서는 총폴리페놀 함량($r=0.942$), 총플라보노이드 함량($r=0.826$), ABTS 라디칼 소거능($r=0.912$), Fe^{2+} 킬레이팅 활성($r=0.808$) 그리고 환원력($r=0.939$) 모두 강한 양의 상관관계를 보였다. ABTS 라디칼 소거능과의 상관관계 분석에서는 총폴리페놀 함량($r=0.969$), 총플라보노이드 함량($r=0.875$), DPPH 라디칼 소거능($r=0.912$) 그리고 환원력($r=0.962$)이 강한 양의 상관관계를, Fe^{2+} 킬레이팅 활성($r=0.536$)은 중등도의 상관관계를 나타내었다. Fe^{2+} 킬레이팅 활성은 DPPH 라디칼 소거능($r=0.808$)과는 강한 양의 상관관계를,

총폴리페놀 함량($r=0.615$), 총플라보노이드 함량($r=0.464$), ABTS 라디칼 소거능($r=0.536$) 그리고 환원력($r=0.645$)과는 중등도의 상관관계를 보여주었다. 환원력과의 상관관계를 분석한 결과, 총폴리페놀 함량($r=0.993$), 총플라보노이드 함량($r=0.919$), DPPH 라디칼 소거능($r=0.939$) 그리고 ABTS 라디칼 소거능($r=0.962$)은 강한 양의 상관관계를, Fe^{2+} 킬레이팅 활성($r=0.645$)은 중등도의 상관관계를 나타내었다. 모든 변수의 유의확률(양측 p 값)은 $p<0.05$ 로, 두 변수 간의 선형 상관관계가 통계적으로 유의함을 확인하였다.

3.8. 블루베리와 사과껍질을 첨가한 식빵의 면역조절 활성

블루베리, 사과껍질 및 이들 함유 식빵 추출물의 면역조절 활성을 알아보기 위해 CON, BP3APP3, BP3APP5, BP 그리고 APP의 세포 독성 여부를 우선 확인하였다. 세포독성을 확인하기 위해 RAW 264.7 대식세포에 CON, BP3APP3, BP3APP5, BP 그리고 APP 각각을 50-250 μ g/mL의 농도로 24시간 처리한 후 세포 생존율을 측정하였다. Fig. 6A 결과와 같이 CON, BP3APP3, BP3APP5, BP 그리고 APP은 모든 농도에서 RAW 264.7 대식세포에 대한 세포 독성이 없는 것으로 판단 되어 이후 면역조절 활성 실험에 50-250 μ g/mL의 농도로 처리하였다.

면역 인자 중 NO는 대식세포, 암세포 등 다양한 세포에서 면역증진, 항염증, 항암과 같은 생리활성에 직접적으로 관여하는 대표적인 물질이다(Smyth 등, 2004). 그러나 NO는 환경에 따라 다른 양상을 나타내는 물질로, 염증 완화를 위해서는 이들 발현이 감소해야 하고 면역력을 높이기 위해서는 이들 발현이 증가해야 한다(Sahebnasagh 등, 2022; Smyth 등, 2004).

따라서 본 연구에서는 정상적인 조건과 염증 조건에서 BP3APP3, BP3APP5, BP 그리고 APP 각각의 처리가 NO의 발현을 적절하게 조절하는지 알아보았다. 그 결과, LPS를 처리하지 않은 RAW 264.7 대식세포의 정상적인 조건에서 BP3APP3, BP3APP5, BP 그리고 APP 각각의 처리는 대조군인 CON 처리군과 비교하여 유의적으로 증가하였다(Fig. 6B). 100 μ g/mL와 250 μ g/mL에서 BP3APP3 처리군은 BP3APP5 처리군보다 유의적으로 증가하였는데(Fig. 6B), 이와 같은 결과는 사과껍질 양의 증가에 의한 것으로 생각된다. 250 μ g/mL 농도에서 BP3APP3, BP3APP5, BP 그리고 APP 처리 후 NO 생성량은 0.45, 0.56, 0.49 그리고 0.72 μ g/mL이었다.

RAW 264.7 대식세포에 LPS를 처리한 염증 조건에서는 100 μ g/mL와 250 μ g/mL에서 BP3APP3와 BP3APP5는 NO 함량을 유의적으로 감소시켰다(Fig. 7). BP와 APP는 모든 농도에서 LPS 단독 처리군과 비교하여 유의적으로 NO 함량이 감소시켰고, BP보다는 APP가 더 효과적으로 NO 함량을 감소시켰다.

기능성 빵 섭취가 건강에 미치는 영향에 대한 연구로써 전립

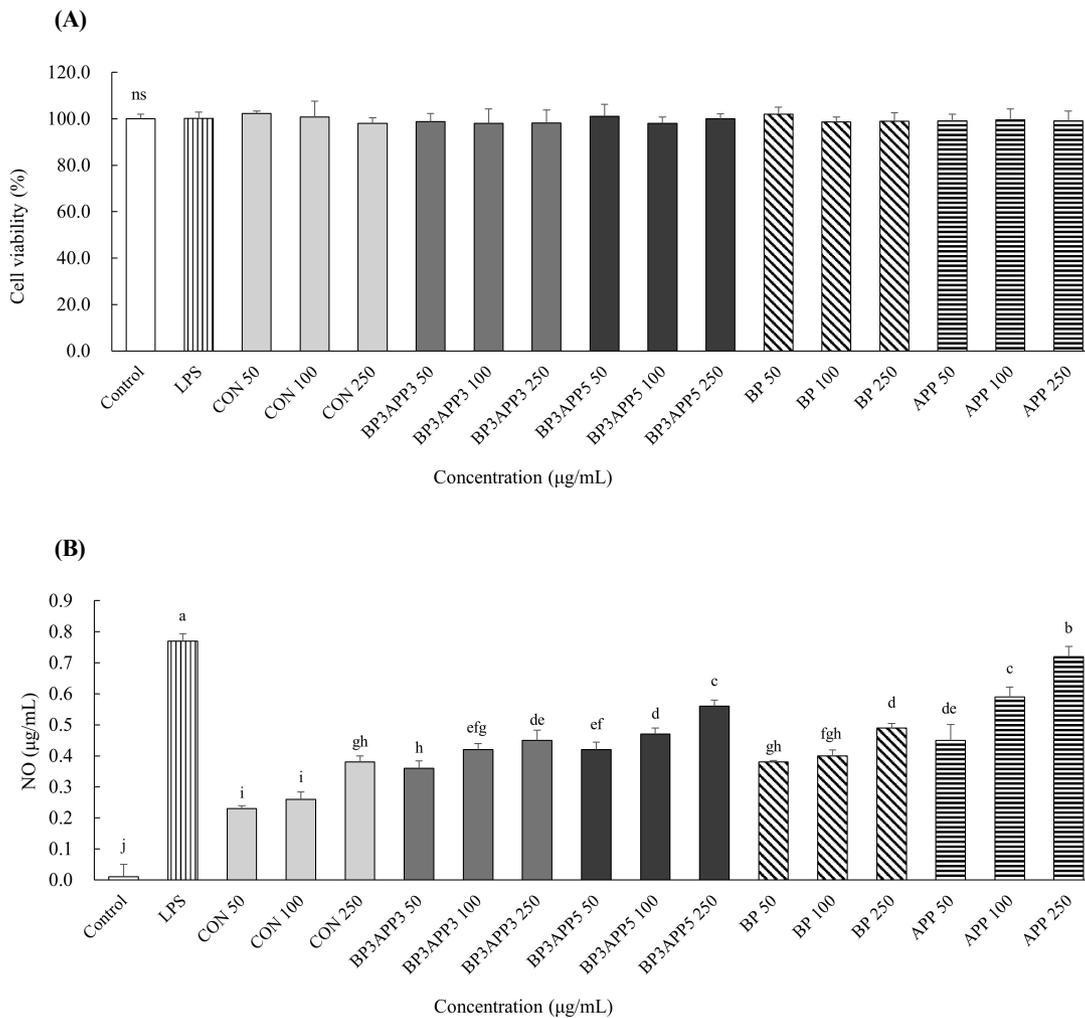


Fig. 6. Effect of white bread containing 3% blueberry powder and varying levels (3% and 5%) of apple peel powder on (A) cell viability and (B) nitric oxide (NO) production in RAW 264.7 macrophage cells. CON (control), freeze-dried extract of white bread without added blueberry powder or apple peel powder; BP3APP3, freeze-dried extract of white bread containing 3% blueberry powder and 3% apple peel powder; BP3APP5, freeze-dried extract of white bread containing 3% blueberry powder and 5% apple peel powder; BP, freeze-dried extract of blueberry powder; APP, freeze-dried extract of apple peel powder. All values are mean±SD (n=3). Mean values with different letters on the bars are significantly different at p<0.05 by Duncan’s multiple range test.

선암 재발 환자에게 대두 빵 섭취는 염증 및 면역 억제 관련 지표를 개선시켜, 면역 기능을 조절 향후 암 예방 또는 면역치료 보조제로서 가능성 있다는 연구 보고가 있다(Lesinski 등, 2015). BP3APP3와 BP3APP5의 면역조절 효과는 블루베리와 사과껍질의 영향이라는 것을 알 수 있었다. 염증 유도 인자들의 과발현은 염증으로 인한 질환의 원인이 되기도 하며, 과도한 항염증 반응은 면역 체계를 망가뜨린다(Smyth 등, 2004). 따라서 NO 함량을 적절하게 조절하는 BP와 APP는 질병 예방을 위한 기능성 소재로 활용할 수 있고, 블루베리와 사과껍질을 함유한 식빵은 항산화 효과와 함께 면역조절로 질병을 예방하고자 하는 사람들의 위한 식사 대응으로 활용할 수 있는 건강 기능성 식

빵으로 개발 가치가 높다는 것을 보여 주었다.

4. 요약

본 연구에서는 블루베리와 사과껍질에 함유된 파이토케미컬(phytochemicals)이 항산화 및 면역조절 특성을 가진다고 가설을 세웠다. 이 가설을 검증하기 위해 블루베리 분말과 사과껍질 분말이 첨가된 식빵을 개발하였다. 블루베리 분말 3%와 사과껍질 분말 3% 또는 5%가 포함된 식빵 추출물의 동결건조물을 각각 BP3APP3와 BP3APP5로 명명되었다. 대조군 식빵, 블루베리 분말, 사과껍질 분말의 추출물의 동결건조물은 각각

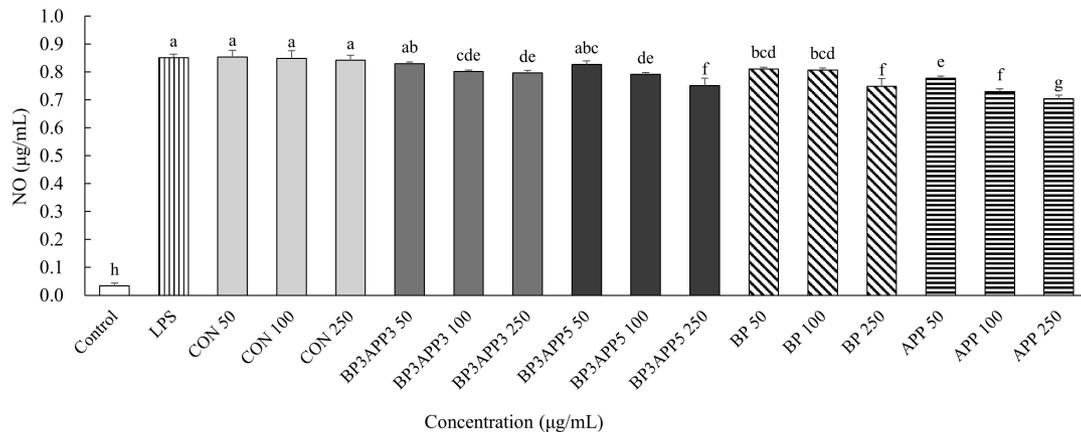


Fig. 7. Effect of white bread containing 3% blueberry powder and varying levels (3% and 5%) of apple peel powder on nitric oxide (NO) production in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophage cells. CON (control), freeze-dried extract of white bread without added blueberry powder or apple peel powder; BP3APP3, freeze-dried extract of white bread containing 3% blueberry powder and 3% apple peel powder; BP3APP5, freeze-dried extract of white bread containing 3% blueberry powder and 5% apple peel powder; BP, freeze-dried extract of blueberry powder; APP, freeze-dried extract of apple peel powder. All values are mean \pm SD (n=3). Mean values with different letters on the bars are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

CON, BP, APP로 명명되었다. 항산화 활성은 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량, DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성, Fe^{2+} 킬레이팅 활성, 환원력을 측정하여 평가하였다. BP3APP3와 BP3APP5 모두 대조군(CON)에 비해 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 유의하게 높고 항산화 활성도 향상된 것으로 나타났다. 이러한 효과는 BP와 APP의 항산화 특성에 기인한 것으로 추정된다. BP3APP5가 BP3APP3보다 더 높은 항산화 활성을 보인 것은 사과껍질 함량이 더 높기 때문이며, 사과껍질은 블루베리보다 더 강한 항산화 효과를 나타냈다. 또한 BP3APP3와 BP3APP5는 정상 상태의 RAW 264.7 대식세포에서 NO 생성을 증가시키고, LPS 처리로 자극된 RAW 264.7 대식세포에서는 NO 생성을 억제하여 면역조절 효과를 보였다. 이 결과들은 블루베리와 사과껍질 분말이 첨가된 식빵이 항산화 및 면역조절 효과를 모두 갖춘 기능성 식품으로서 잠재력이 있음을 시사하였다.

Funding

This study was conducted by research funds from Gwangju University in 2025.

Acknowledgements

None.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflicts of interest.

Author contributions

Conceptualization: Chung MJ. Methodology: Kim YJ, Lee SJ, Chung MJ. Formal analysis: Kim YJ, Lee SJ, Chung MJ. Validation: Kim YJ, Lee SJ, Chung MJ. Writing - original draft: Kim YJ, Lee SJ, Chung MJ. Writing - review & editing: Kim YJ, Lee SJ, Chung MJ.

Ethics approval

This article does not require IRB/IACUC approval because there are no human and animal participants.

ORCID

Yeon Ju Kim (First author)

<https://orcid.org/0009-0002-1811-0155>

SooJung Lee (First author)

<https://orcid.org/0000-0002-0749-2875>

Mi Ja Chung (Corresponding author)

<https://orcid.org/0000-0003-0816-1354>

References

- Bang HY, Cho SD, Kim D, Kim GH. Comparison of antioxidative activities of Fuji apples parts according to production region. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 44, 557-563 (2015)
- Blanch GP, Castillo MLRD. Effect of baking temperature on

- the phenolic content and antioxidant activity of black corn (*Zea mays* L.) bread. *Foods*, 10, 1202 (2021)
- Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200 (1958)
- Chung HJ. 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 (2014)
- Dudonne S, Vitrac X, Coutiere P, Woillez M, Merillon JM. 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 Agr Food Chem*, 57, 1768-1774 (2009)
- Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. *Anal Biochem*, 126, 131-138 (1982)
- Gutfinger T. Polyphenols in olive oil. *J Am Oil Chem Soc*, 58, 966-968 (1981)
- Huang X, Dai J, Fournier J, Ali AM, Zhang Q, Frenkel K. Ferrous ion autoxidation and its chelation in iron-loaded human liver HepG2 cells. *Free Radic Biol Med*, 32, 84-92 (2002)
- Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J Nutr Biochem*, 13, 572-584 (2002)
- Hong SK, Choi HW, Lee YK, Lee SY, Kim WG. Occurrence of gray mold on blueberry trees caused by *Botrytis cinerea* in Korea. *Kor J Mycol*, 39, 213-216 (2011)
- Hwang KH, Jung HN, Choi OJ. Quality characteristics of milk bread added blueberry starter. *Korean J Food Preserv*, 25, 296-303 (2018)
- Jain N, Moeller J, Vogel V. Mechanobiology of macrophages: How physical factors coregulate macrophage plasticity and phagocytosis. *Annu Rev Biomed Eng*, 21, 267-297 (2019)
- Jeong CH, Choi SG, Heo HJ. Analysis of nutritional compositions and antioxidative activities of Korean commercial blueberry and raspberry. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 37, 1375-1381 (2008)
- Kim HS, Ahn JJ, Choi TH, Hwang TY. Screening of DPPH radical scavenging and antimicrobial activity of extracts from local some native plants. *Korean J Food Preserv*, 593-599 (2014)
- Kim HY, Jeong EM, Hwang IG, Jeong JH, Yu KW, Lee JS, Jeong HS. Effect of fermented ginseng extract by mushroom mycelia on antiproliferation of cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 39, 36-41 (2010)
- Kim J, Shin J, Yang JY. Nutritional analysis and antioxidant activity of apple pomace. *J Life Sci*, 31, 617-625 (2021)
- Kim MJ, Kim YG, Kim HS, Cheong C, Jang KH, Kang SA. Effects of antioxidant activities in ethanol extract of apple peel, grape peel, and sweet potato peel as natural antioxidant. *J Korea Academia-Ind Coop Soc*, 15, 3766-3773 (2014)
- Kim NY, Choi MJ, Jung JE, Ahn GH, Park EJ. Antioxidant and immune-enhancing effects of Fuyu persimmons and Hachiya persimmons. *J Nutr Health*, 58, 28-40 (2025)
- Kim SH, Cho DH, Ryu YG, Lee SJ, Bae YR, Chung MJ. Immunostimulatory effect of lactic acid bacteria fermentation using mixtures of barley sprout, plant mixed extract, and baechu. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 52, 1091-1100 (2023)
- Ko SJ, Lee MH. Quality characteristics and functionality of pan bread added with ginseng leaf stem pow. *Culi Sci & Hos Res*, 28, 12-22 (2022)
- Lee CW, Park YI, Kim SH, Lim HK, Chung MJ. Antioxidant and anti-adipogenic activities of bread containing corn silk, Jab's tears, *Lentinus edodes*, and apple peel in 3T3-L1 preadipocytes. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 45, 651-663 (2016)
- Lee ES, Jeong YN, Moon YJ, Hong ST. Study on quality characteristics of pan bread containing blueberry fruit powder. *J East Asian Soc Dietary Life*, 24, 621-630 (2014)
- Lee HI, Kim EH, Lee SH, Chung MJ. Anti-Inflammatory and neuroprotective effects of isoquercitrin isolated from *Aster scaber*. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 48, 1205-1213 (2019)
- Lee MY, Yoo MS, Whang YJ, Jin YJ, Hong MH, Pyo YH. Vitamin C, total polyphenol, flavonoid contents and antioxidant capacity of several fruit peels. *Korean J Food Sci Technol*, 44, 540-544 (2012)
- Lee SJ, Hu WS, Pyo JH, Ryu JH, Kang D, Jeong BY, Sung NJ. Antioxidant and antidiabetic activities of jerusalem artichoke composites containing *Gynura procumbens*, *Momordica charantia*, and *Curcuma longa* via AMPK activation. *J Life Sci*, 28, 26-36 (2018)
- Lee SJ, Kim HJ, Chung MJ. Physiological activities of *Pyrus pyrifolia* Nakai, malt, *Ziziphus jujuba* Mill., *Leonurus japonicus* Houtt., *Scutellaria baicalensis*, and their mixtures. *Korean J Food Preserv*, 30, 999-1011 (2023)
- Lee SJ, Shin JH, Kang JR, Hwang CR, Sung NJ. *In vitro* evaluation of biological activities of Wa-song (*Orostachys japonicus* A. Berger) and Korean traditional plants mixture. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 41, 295-301 (2012)
- Lee YJ, Jeon YJ, Kim YT. Comparison of antioxidant and physiological activities of various solvent extracts from *Hizikia fusiformis*. *Korean J Fish Aquat Sci*, 53, 886-893 (2020)
- Lesinski GB, Reville PK, Mace TA, Young GS, Ahn-Jarvis J, Thomas-Ahner J, Vodovotz Y, Ameen Z, Grainger E, Riedl K, Schwartz S, Clinton SK. Consumption of soy

- isoflavone enriched bread in men with prostate cancer is associated with reduced proinflammatory cytokines and immunosuppressive cells. *Cancer Prev Res*, 8, 1036-1044 (2015)
- Lim HJ, Lee HJ, Lim MH. Antioxidant activity of acaiberry, blueberry, corni, and mulberry. *Kor J Aesthet Cosmetol*, 13, 445-452 (2015)
- Martineau LC, Couture A, Spoor D, Benhadou-Andalousi A, Harris C, Meddah B, Leduc C, Burt A, Vuong T, Le PM, Prentki M, Bennett SA, Arnason JT, Haddad PS. Anti-diabetic properties of the *Canadian lowbush* blueberry *Vaccinium angustifolium* Ait. *Phytomedicine*, 13, 612-623 (2006)
- McAnulty LS, Nieman DC, Dumke CL, Shooter LA, Henso DA, Utter AC, Milne G, McAnulty SR. Effect of blueberry ingestion on natural killer cell counts, oxidative stress, and inflammation prior to and after 2.5 h of running. *Appl Physiol Nutr Metab*, 36, 976-984 (2011)
- Moon HK, Lee SW, Kim JK. Physicochemical and quality characteristics of the Korean and American blueberries. *Food Sci Preserv*, 20, 524-531 (2013)
- Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *J Ethnopharmacol*, 71, 109-114 (2000)
- Nakov G, Brandolini A, Hidalgo A, Ivanova N, Jukić M, Komlenić DK, Lukinac J. Influence of apple peel powder addition on the physico-chemical characteristics and nutritional quality of bread wheat cookies. *Food Sci Technol Int*, 26, 574-582 (2020)
- Oyaizu M. Studies on products of browning reactions: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese J Nutr*, 44, 307-315 (1986)
- Park A, Lee YJ, Kang N, Kang DH, Heo SJ. Antioxidant efficacy of Jeju crop extracts using Jeju lava seawater as a solvent. *J Plant Biotechnol*, 49, 347-355 (2022)
- Park SJ, Choi YB, Ko JR, Kim YE, Lee HY. Enhancement of antioxidant activities of blueberry (*Vaccinium ashei*) by using high-pressure extraction process. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 43, 471-476 (2014)
- Park WH, Park SB, Cha SH, Han IB, Bak SL, Hyun TK, Jang KI. Quality and antioxidant characteristics of apple puree containing peel and added vitamin C. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 50, 992-1000 (2021)
- Parry J, Su L, Moore J, Cheng Z, Luther M, Rao JN, Wang JY, Yu LL. Chemical compositions, antioxidant capacities and antiproliferative activities of selected fruit seed flours. *J Agric Food Chem*, 54, 3773-3778 (2006)
- Perron NR, Brumaghim J. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell Biochem Biophys*, 53, 75-100 (2009)
- Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, Squadrito F, Altavilla D, Bitto A. Oxidative stress: Harms and benefits for human health. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 8416763 (2017)
- Papandreou MA, Dimakopoulou A, Linardaki ZI, Cordopatis P, Klimis-Zacas D, Margarity M, Lamari FN. Effect of a polyphenol-rich wild blueberry extract on cognitive performance of mice, brain antioxidant markers and acetylcholinesterase activity. *Behav Brain Res*, 198, 352-358 (2009)
- Ramassamy C. Emerging role of polyphenolic compounds in the treatment of neurodegenerative diseases: A review of their intracellular targets. *Eur J Pharmacol*, 545, 51-64 (2006)
- Ramos-González EJ, Bitzer-Quintero OK, Ortiz G, Hernandez-Cruz JJ, Ramirez-Jirano LJ. Relationship between inflammation and oxidative stress and its effect on multiple sclerosis. *Neurología*, 39, 292-301 (2024)
- Re R, Pellegrini N, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26, 1231-1237 (1999)
- Reque PM, Steffens RS, Jablonski A, Flôres SH, de O. Rios A, de Jong EV. Cold storage of blueberry (*Vaccinium* spp.) fruits and juice: Anthocyanin stability and antioxidant activity. *J Food Compos Anal*, 33, 111-116 (2014)
- Ryu JH, Lee SJ, Kim MJ, Shin JH, Kang SK, Cho KM, Sung NJ. Antioxidant and anticancer activities of *Artemisia annua* L. and determination of functional compounds. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 40, 509-516 (2011)
- Sahebnaasagh A, Saghafi F, Negintaji S, Hu T, Shabani-Borujeni M, Safdari M, Ghaleno HR, Miao L, Qi Y, Wang M, Liao P, Sureda A, Simal-Gandara J, Nabavi SM, Xiao J. Nitric oxide and immune responses in cancer: Searching for new therapeutic strategies. *Curr Med Chem*, 29, 1561-1595 (2022)
- Sakanaka S, Tachibana Y, Okada Y. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha). *J Food Chem*, 89, 569-575 (2005)
- Seeram NP, Adams LS, Zhang Y, Lee R, Sand D, Scheuller HS, Heber D. 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 (2006)
- Seo YS, Shin KS. Immune system-stimulating activities of mucilage polysaccharides isolated from *Opuntia humifusa*. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 41, 95-102 (2012)
- Smyth MJ, Cretney E, Kershaw MH, Hayakawa Y. Cytokines in cancer immunity and immunotherapy. *Immunol Rev*, 202, 275-293 (2004)
- Tosun M, Ercisli S, Karlidag H, Sengul M. Characterization

- of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) genotypes for their physicochemical properties. *J Food Sci*, 74, 575-579 (2009)
- Valková V, Duranova H, Havrlentova M, Ivanisova E, Mezey J, Tothova Z, Gabriny L, Kacaniova M. Selected physico-chemical, nutritional, antioxidant and sensory properties of wheat bread supplemented with apple pomace powder as a by-product from juice production. *Plants (Basel)*, 11, 1256 (2022)
- Xia W, Song B, Li T, Liu RH. Phytochemical profiles, antioxidant activities, and synergistic antiproliferative effects of blueberry and apple peel extracts. *J Sci Food Agric*, 104, 737-745 (2024)
- Yen GC, Duh PD, Tsai HL. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Food Chem*, 79, 307-313 (2002)
- Yoshino M, Murakami K. Interaction of iron with polyphenolic compounds: Application to antioxidant characterization. *Anal biochem*, 257, 40-44 (1998)
- Youn SJ, Rhee JK, Lee H. Comparison of total phenolics, total flavonoids contents, and antioxidant capacities of an apple cultivar (*Malus domestica* cv. Fuji) peel powder prepared by different powdering methods. *Food Eng Prog*, 21, 326-331 (2017)
- Youn SJ, Rhee JK, Yoo SH, Chung MS, Lee HJ. Total phenolics contents, total flavonoids contents and antioxidant capacities of commercially available Korean Domestic and Foreign intermediate food materials. *Microbiol Biotechnol Lett*, 44, 278-284 (2016)
- Yu MH, Im HG, Lee HJ, Ji YJ, Lee IS. Components and their antioxidative activities of methanol extracts from sarcocarp and seed of *Zizyphus jujuba* var. inermis rehder. *Korean J Food Sci Technol*, 38, 128-134 (2006)
- Yusof S, Ghazali HM, King GS. Naringin content in local citrus fruits. *Food Chem*, 37, 113-121 (1990)
- Zheng W, Wang SY. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and ligoberries. *J Agric Food Chem*, 51, 502-509 (2003)