

## 복분자 딸기의 생리활성

차환수\* · 박민선 · 박기문

성균관대학교 식품 · 생명자원학과, \*한국식품개발연구원

## Physiological Activities of *Rubus coreanus* Miquel

Hwan-Soo Cha\*, Min-Sun Park and Ki-Moon Park

Department of Food and Life Science, Sungkyunkwan University

\*Korea Food Research Institute

Physiological activities of unripened fruit, ripened fruit and leaf of *Rubus coreanus* Miquel were examined. Total polyphenolic compound content, electron donating ability (EDA), nitrite scavenging activity and SOD-like activity were examined using extracts of *Rubus coreanus* Miquel extracted with various extraction solvents such as 80% methanol, 75% acetone and water. The leaf part of *Rubus coreanus* Miquel included higher contents of total polyphenol compound compared with those of the other sample groups, unripened and ripened fruit. The total polyphenol compound content of leaf (100 g, dry base) extracted with 75% acetone showed the highest value of 5.06~5.87g. As for EDA, unripened fruit showed over 90% of electron donating ability. No significant difference in EDA was found among the extracts prepared with various extraction solvents, 80% methanol, 75% acetone and water. *Rubus coreanus* Miquel extracts showed different nitrite scavenging abilities under different pH conditions. The nitrite scavenging abilities at pH 1.2 were in the range of 41.25~63.24% whereas they were 1.59~10.99% at pH 4.2 and -2.84~7.94% at pH 6.0. The high levels of SOD-like activities were found in ripened fruit when different extracting methods were applied. Agar diffusion tests were accomplished to examine the antimicrobial activities of the extracts prepared from unripened fruit, ripened fruit and leaf with various extraction solvents. All of the extracts revealed antimicrobial activity against *Bacillus cereus* whereas no antimicrobial activities were observed against *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*.

**Key words :** *Rubus coreanus* Miquel, electron donating ability, nitrite scavenging ability, SOD-like activity, antimicrobial activity

## 서 론

한방에서는 복분자 딸기(*Rubus coreanus* Miquel)의 딸기 열매, 즉 미성숙과실을 복분자(覆盆子)라고 하며 보간신(補肝腎), 명목(明目), 이뇨제의 효능이 있고, 정력감퇴, 유정, 빈뇨를 치료한다고 알려져 있으며 그 사용법으로는 미숙과를 물에 넣고 딸여서 복용하거나 술에 담가 복용하는 것으로 알려져 있다<sup>(1)</sup>. 또한, 원산지로 알려진 중국에서도 미성숙과실을 증기로 써서 햅볕에 말려 강장제 등 약용으로 사용하고 있다.

복분자딸기의 생리활성 성분에 관련되어 복분자딸기 잎의 phenol성 화합물 연구<sup>(2)</sup>에서는 4종의 가수분해성 탄닌과 4종의 플라보노이드를 분리·동정하였으며, 복분자딸기 열매의

탄닌 화합물 연구<sup>(3)</sup>에서는 가수분해성 탄닌인 sanguin H-4와 H-6를 각각 확인·동정하였고, 그밖에 복분자의 terpenoids 성분 연구<sup>(4,5)</sup>가 이루어져 있다. 복분자딸기의 생리활성에 대한 연구로는 *Ribes*, *Rubus*, *Vaccinium*속으로부터의 polyphenol이 superoxide기의 제거 작용과 xanthine oxidase의 억제 작용이 있음을 보고하였다<sup>(6)</sup>.

Superoxide와 같은 free radical은 epinephrine의 산화, 미토콘드리아, 세포질 중 xanthin oxidase나 glutathione reductase등의 flavoenzyme에 의해 정상적인 대사과정에서 여러 가지 생물학적 반응에 의해 형성되며 전자공여작용은 이러한 산화성 생물활성 free radical에 전자를 공여하여 산화를 억제하게 된다. 노화와 관련되어 생체 대사과정 중 생성되는 superoxide anion radical(O<sub>2</sub><sup>-</sup>·)의 경우 전자환원으로 반응성과 파괴성이 매우 크며 세포와 조직에 해로운 독성을 일으켜 질병을 유발시키는 것으로 알려져 있다<sup>(7)</sup>. O<sub>2</sub><sup>-</sup>·는 종양을 촉진하며, 암을 유발할 수 있고, 십이지장 궤양, 당뇨병, 류마티스 관절염, 알쓰하이머병, 피부암, 피부염, 피부의 노화 등을 일으킬 수 있다<sup>(8-10)</sup>. 인체 내에서는 O<sub>2</sub><sup>-</sup>·를 제거하기 위하여 superoxide dismu-tase(SOD)가 분비되어

Corresponding author : Ki-Moon Park, Department of Food and Life Science, Sungkyunkwan University, 300 Chunchun-dong, Jangan-gu, Suwon, Kyunggi-do, 440-746, Korea

Tel: 82-331-290-7806

Fax: 82-331-290-7816

E-mail: kimoon@yurim.skku.ac.kr

$O_2^-$  · 를 과산화수소와 정상상태의 산소로 전화시켜 주는 역할을 하는 것으로 알려져 있다<sup>(11)</sup>. SOD유사활성 물질은 효소는 아니지만 SOD와 유사한 역할을 하는 저분자 물질로 주로 pytochemical에 속하며 superoxide의 반응성을 억제하여 superoxide로부터 생체를 보호하는 것으로 보고되어 있다. 따라서 SOD유사활성 물질의 섭취로 인해 인체내의 superoxide를 제거함으로써 산화적 장해를 방어하고 노화 억제의 효과를 기대할 수 있을 것으로 보고 있다<sup>(12)</sup>. 또한, 발암에 관련된 물질로 알려진 nitrite는 독성을 가지고 있으며 nitrate도 체내 및 체외에서 효소작용에 의해 nitrite로 환원되기 때문에 일정 농도 이상 섭취할 경우 식품내의 amine류와 반응하여 발암물질인 nitrosamine을 생성하고 또한 혈액 중의 hemoglobin이 산화되어 methemoglobin을 형성하여 methemoglobin 중 등 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있다<sup>(13,14)</sup>. 야채류나 향신료 등의 추출물이 nitrite를 제거하여 그 위험성을 저하시킬 수 있는 능력이 있는 것으로 밝혀져 있다<sup>(15)</sup>. 그리고 천연항균성 물질은 식물이나 동물의 구성성분으로서 존재하거나 외부의 자극에 의하여 생체 내에서 대량물질로 만들어지기도 하고, 발효 과정 중 생성된 대사생성물질이 다른 미생물의 생장을 저지하기도 하며, 그 작용 성분으로는 단백질, 유기산, 식물의 정유, 그리고 식품의 특정성분 등이 항균성을 나타내는 것으로 알려지고 있다<sup>(16)</sup>. 이와 같이 천연물로부터 추출한 성분들이 인체 내에서 생리활성을 나타냄으로써 기능성 소재로 활용이 점차 증가하고 있다. 따라서, 본 실험에서는 복분자딸기의 미숙과 및 완숙과, 잎 등의 추출물을 사용하여 총폴리페놀 함량 및 전자공여작용, 아질산염 소거율, SOD유사활성, 항균활성 등을 확인함으로써 생리활성을 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 복분자딸기(*Rubus coreanus* Miq.)의 미숙과 및 완숙과, 잎은 2000년 6, 7월에 고창군 심원면에서 채취하여 동결건조한 후 미숙과와 완숙과는 분쇄기로 분쇄하였고, 잎은 ball mill로 분쇄하여 빛을 차단시킨 desicator에 보관하면서 사용하였다.

### 추출물의 조제

복분자딸기의 미숙과 및 완숙과, 잎의 추출물은 Fig. 1과 같이 메탄올, 아세톤, 열수 처리구로 나누어 조제하였다<sup>(17)</sup>. 메탄올 추출물은 각 시료 1 g을 사용하여 80% 메탄올 300 mL에 혼탁시킨 후 80°C에서 1시간 환류 추출하고 여과하였다. 여액은 유기용매가 완전히 휘발될 때까지 감압농축하고 원심분리(13,000 rpm, 15 min)하여 100 mL로 정용한 후 1 mL씩 microtube에 나누어 냉동 보관하였다. 아세톤 추출물은 각 시료 1 g을 75% 아세톤 300 mL에 혼탁시키고 70°C에서 1시간 환류 추출한 후 메탄올 추출물과 동일한 방법으로 처리하였으며, 열수 추출물은 증류수 300 mL에 각 시료 1 g을 혼탁시킨 후 70°C에서 1시간 환류 추출하여 메탄올 추출물과 같은 방법으로 처리하였다. 이렇게 제조한 시료는 전자공여작용, 총폴리페놀 화합물 함량, 아질산염 소거능 시험

*Rubus coreanus* Miq. F.D. powder 1g

Extracted with 80% methanol 300mL at 80°C for 1hr  
75% acetone 300mL at 70°C for 1hr  
distilled water 300mL at 100°C for 1hr

Filtered with whatman filter paper No. 2

↓

Evaporated under reduced pressure

↓

Centrifuged at 13,000 rpm for 15 mims

↓

Supernatant solution

↓

100 mL mess up with distilled water

↓

*Rubus coreanus* Miq. extracts

Fig. 1. Procedure to prepare *Rubus coreanus* Miq. extract for measuring electron donating ability, total polyphenolic compound contents and nitrite scavenging ability.

의 시료로 사용하였다.

### 총폴리페놀 화합물 함량

복분자딸기의 미숙과 및 완숙과, 잎 추출물의 총 폴리페놀 화합물 함량은 Folin-Ciocalteu's 방법에 따라 측정하였다<sup>(18)</sup>. 즉, 각각의 추출물 0.1 mL에 증류수 8.4 mL와 2 N Folin-Ciocalteu's 시약(Sigma Co.) 0.5 mL를 첨가하고 20% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1 mL를 가하여 1시간 방치 후 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 gallic acid(Sigma Co.)를 이용하여 추출 용매별로 100 mg% stock solution을 제조한 후 20, 40, 60, 80 mg%가 되도록 희석하여 측정하였다.

### 전자공여능

복분자딸기의 미숙과 및 완숙과, 잎 추출물의 전자공여능은 추출물 각각 0.2 mL에  $4 \times 10^{-4}$  M DPPH 용액 0.8 mL (absolute ethanol로 용해)를 가한 후 vortex mixer로 10초간 진탕하고 실온에서 10분방치 후 분광광도계를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다<sup>(19)</sup>. 전자공여 효과는 시료 첨가구와 첨가하지 않은 경우의 흡광도를 아래 식에 따라 백분율로 나타내었다.

$$\text{EDA (\%)} = (1 - \frac{A}{B}) \times 100$$

A: Absorbance of sample

B: Absorbance of blank

### 아질산염 소거능

복분자딸기의 미숙과 및 완숙과, 잎 추출물의 아질산염 소거능은 kato 등<sup>(20)</sup>의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 1 mM

$\text{NaNO}_2$  용액 2 mL에 각각의 추출물 1 mL를 가하고 0.1 N HCl(pH 1.2) 및 0.2 M citrate buffer(pH 4.2 6.0)를 사용하여 반응용액의 pH를 각각 1.2 및 4.2, 6.0으로 조정하여 총 부피가 10 mL가 되도록 한 후 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응액을 각각 1 mL씩 취하고 여기에 2% acetic acid 5 mL와 griess 시약 0.4 mL를 가한 후 실온에서 빛을 차단하여 15분간 방치시킨 후 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염량을 구하였다. Griess 시약은 sulfanilic acid (Sigma, Co.)와 naphthylamine(Sigma. Co.)을 각각 1% 상당량 정량한 후 100% 초산을 첨가하여 교반 용해시키고 30% 초산이 되도록 일정량을 정용하여 사용직전에 조제하였다. 아질산염 소거율은 시료용액을 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우의 흡광도를 백분율로 나타내었으며 대조구로는 비타민C 10 mg/100 g을 사용하였다.

$$\text{SA (\%)} = \left( 1 - \frac{A - B}{B} \right) \times 100$$

SA: Nitrite scavenging ability

A: Absorbance of 1 mM  $\text{NaNO}_2$  added sample after standing for 1 hour

B: Absorbance of  $\text{NaNO}_2$

C: Absorbance of control

### SOD 유사활성

복분자딸기의 미숙과 및 완숙과, 잎 추출물의 SOD 유사활성은 pyrogallol의 자동산화가 SOD 유사활성 물질의 첨가에 의해 산화 속도가 억제되는 원리를 이용한 Marklund의 방법<sup>(21)</sup>을 변형하여 사용하였다. 즉, 동결건조 시킨 복분자딸기의 미숙과 및 완숙과, 잎을 각각 0.4 g씩 취한 후 tris amnomethane(Sigma, Co.)와 cacodylic acid(Sigma, Co.)로 제조한 50 mM tris-cacodylic acid buffer(TCB, pH 8.20) 30 mL를 가하여 실온에서 1시간 동안 shaking incubation 시킨 후 10,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 그 상등액을 여과한 후 pH 8.2으로 조절하여 SOD 유사활성 측정을 위한 추출물을 사용하였다.

1회용 cuvette(100½ micro disposable cuvettes, Germany)에 추출물 0.9 mL를 취하고 여기에 10 mM HCl을 용매로 하여 제조한 20 mM pyrogallol(1,2,3-benzenetriol, Simga, Co.)용액을 0.1 mL가하여 1 mL pipett으로 3회 혼합 한 후 실온을 유지하면서 420 NM에서 2분간 흡광도 변화를 측정하였다. SOD 유사활성은 TCB 0.9 mL를 사용하여 동일한 방법으로 측정한 흡광도 변화를 대조구로 하여 pyrogallol의 자동산화 억제 정도를 아래의 식에 따라 계산하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{SOD-like activity (\%)} = \left( 1 - \frac{B}{A} \right) \times 100$$

A: Autoxidation rate of pyrogallol in absence of plant extract

B: Autoxidation rate of pyrogallol in presence of plant extract

또한, 동결건조 시킨 복분자딸기의 미숙과 및 완숙과, 잎

을 80% 메탄올 및 75% 아세톤 및 열수로 추출했을 때 추출물간의 SOD 유사활성 정도를 비교하기 위하여 각 시료 5 g을 Fig. 1의 방법에 따라 추출한 후 증류수를 첨가하고 최종 50 mL로 제조하여 추출물간의 SOD 유사활성을 비교하였다.

### 항균활성

복분자딸기의 미숙과 및 완숙과, 잎의 항균활성 측정을 위한 추출물은 SOD 유사활성 측정에 사용한 시료를 사용하였다. 시험 균주로는 *Escherichia coli* O111, *Salmonella typhimurium* ATCC13311, *Bacillus cereus* SKK12, *Staphylococcus aureus* SKK14를 가축위생연구소와 성균관대학교 응용미생물 연구실로부터 분양 받아 사용하였으며, nutrient broth(Difco. Co.)에 agar가 0.7%되도록 조제하여 실험하였다. 추출물의 항균활성은 paper disk를 이용한 agar diffusion test를 사용하였다. 즉, 대수기에 도달한 균을 g당  $10^7$ 으로 희석하여 petri dish에 20  $\mu\text{l}$ 씩 접종한 후 멸균시킨 배지 10 mL를 pouring하고 멸균된 paper disk(8 mm thick, Advantec)를 추출액에 2초간 침지하여 plate상에 접착시키고 42시간 동안 37°C에서 배양한 후 clear zone의 직경(mm)을 측정하여 항균력을 비교하였다.

### 결과 및 고찰

#### 총폴리페놀 화합물 함량

Gallic acid를 사용하여 추출 용매별로 표준 곡선을 작성한 결과는 다음과 같다. 80% 메탄올의 경우 Fig. 2와 같이 검량선의 결정계수( $R^2$ )는 0.9985였으며, 75% 아세톤과 물의 경우 0.9983, 0.9997로 양호한 직선상을 나타났다. 추출 용매에 따른 복분자딸기의 미숙과 및 완숙과 및 잎의 건물기준 100 g 당 총폴리페놀 화합물 함량을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 복분자딸기의 총폴리페놀 화합물 함량은 전체적으로 높은 함량을 나타내었으며, 추출 용매별로 폴리페놀 화합물은 75% 아세톤 추출물이 5.06~5.87 g으로 80% 메탄올 추출물 3.21~5.02 g, 열수 추출물 3.76~5.21 g에 비하여 높은 값을 나타냈다. 국내산 식물성 식품 중의 총폴리페놀 화합물 함량

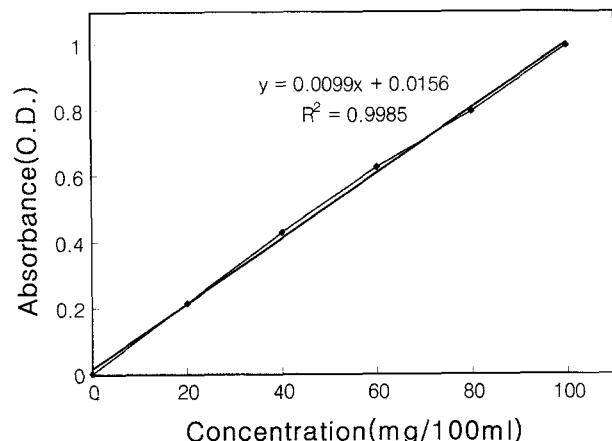


Fig. 2. Calibration curve of gallic acid in 80% methanol for the determination of total polyphenolic compound contents

**Table 1. Total polyphenolic compound contents of *Rubus coreanus* Miq. by different extracting conditions**

Extractin conditions	Materials	Total polyphenolic compound contents (g/100 g, Dry base)
80% Methanol	unripened fruit	4.70 ± 0.22 <sup>1)</sup>
	ripened fruit	5.02 ± 0.13
	leaf	3.21 ± 0.02
75% Acetone	unripened fruit	5.83 ± 0.14
	ripened fruit	5.87 ± 0.02
	leaf	5.06 ± 0.03
Water	unripened fruit	3.95 ± 0.04
	ripened fruit	3.76 ± 0.08
	leaf	5.21 ± 0.07

<sup>1)</sup>Mean values ± standard deviations (3 replicates)

을 분석한 결과를 보면 모과(1.18 g), 밤속껍질(5.16 g), 감잎(5.24 g) 등에서 비교적 높은 농도로 조사되어 이것과 비교하였을 때 복분자딸기는 폴리페놀 화합물이 3.21~5.87 g으로 높은 함량을 나타냄을 알 수 있었다<sup>(22)</sup>. 선인장의 경우에는 씨 1.47 g, 줄기 1.86 g, 열매 3.4~4.9 g의 폴리페놀 화합물을 함유하는 것으로 보고하였으며, 꾸지뽕나무의 경우 잎 1.34 g, 줄기껍질 1.30 g, 뿌리껍질 1.31 g, 열매 1.54 g의 총폴리페놀 화합물을 함유하고 있어 주로 열매에 폴리페놀 함량이 높은 것으로 보고하였다<sup>(23,24)</sup>. 본 실험에서는 유기용매로 추출한 복분자딸기의 경우 잎에 비하여 열매인 미숙과와 완숙과가 4.70~5.87 g으로 상대적으로 높은 폴리페놀 화합물 함량을 나타내어 위의 보고 등과 유사한 경향을 나타내었다. 그러나 열수 추출물의 경우에서는 잎의 총폴리페놀 화합물 함량이 5.21 g으로 미숙과 3.95 g, 완숙과 3.76 g에 비하여 높은 함량을 나타내어 위의 보고 등과는 다른 결과를 나타내었다. Red raspberry의 경우 품종에 따라 차이는 있지만 덜익은 미숙과에서 성숙되어 완숙됨에 따라 0.15~0.22 g에서 0.21~0.26 g으로 대체적으로 총폴리페놀 화합물 함량이 증가하는 것으로 보고<sup>(25)</sup>되었으나, 본 실험에서 복분자딸기 미숙과와 완숙과의 총폴리페놀 화합물 함량은 각각 3.95~5.83 g, 3.76~5.87 g으로 뚜렷한 증가현상을 보이지 않아 raspberry와는 다른 양상을 나타내었다.

### 전자공여능

DPPH는 아스코르빈산 및 토코페롤, polyhydroxy 방향족 화합물, 방향족 아민류에 의해 전자나 수소를 받아 불가역적으로 안정한 분자를 형성하여 환원되어짐에 따라 짙은 자색이 탈색되어지는 원리를 이용하여 측정한 복분자딸기의 미숙과 및 완숙과, 잎 추출물의 전자공여효과는 Table 2와 같다. 복분자딸기는 전체적으로 82.31~92.61%의 높은 전자공여효과를 나타내었으며 추출 용매에 따른 차이는 크지 않는 것으로 밝혀졌다. 이는 솔잎의 열수 추출물과 70% 아세톤 추출물의 전자공여효과는 각각 80.9%, 82.6%로 나타나 큰 차이가 없었다고 보고<sup>(26)</sup>된 것과 유사한 경향을 나타내었다. 시료별로 전자공여효과를 살펴보면 미숙과는 91.90~92.61%, 완숙과는 82.31~88.93%, 잎의 경우는 85.60~88.36%로 미숙과가 전자공여능이 가장 우수한 것으로 나타났다. 80% 메탄올을

**Table 2. Electron donating abilities of *Rubus coreanus* Miq. extracts by different extracting conditions**

Extracting conditions	Materials	Electron donating ability (%)
80% Methanol	unripened fruit	92.59 ± 0.95 <sup>1)</sup>
	ripened fruit	82.31 ± 0.88
	leaf	87.46 ± 2.02
75% Acetone	unripened fruit	92.61 ± 0.87
	ripened fruit	82.64 ± 0.71
	leaf	88.36 ± 1.59
Water	unripened fruit	91.90 ± 0.92
	ripened fruit	88.93 ± 0.98
	leaf	85.60 ± 2.05

<sup>1)</sup>Mean values ± standard deviations (3 replicates)

과 75% 아세톤으로 추출한 유기용매 추출물에서는 미숙과 92.59~92.61%, 완숙과 82.31~82.64%, 잎 84.46~88.36%의 전자공여효과를 나타내었으나 열수 추출물은 미숙과 91.90%, 완숙과 88.93%, 잎 85.60% 순으로 전자공여효과를 나타내어 복분자딸기를 유기용매로 추출했을 때와 열수로 추출했을 경우 전자공여효과가 시료에 따라 다른 경향을 나타낼 수 있었다. 일반적으로 폴리페놀 함량이 증가하면 전자공여능도 증가하는 것으로 알려져 있으나 본 실험에서 열수추출물의 경우 미숙과 및 완숙과의 총 폴리페놀함량은 낮았음에도 전자공여능은 높게 나타났다. 이와 같은 결과는 추출용매에 따라 폴리페놀 이외에 다른 전자공여물질이 동시에 추출되었기 때문으로 판단된다. 한방에서는 복분자딸기의 미숙과를 달여서 복용하거나 술에 담가 복용하는 것으로 알려져 있는데 이는 전자공여효과에서 나타나듯이 미숙과가 완숙과에 비해 효과가 우수하여 사용되어진 것으로 볼 수 있다. 그러나, 미숙과의 경우 맵은맛이 아주 강하며, 완숙과에 비해 상대적으로 중량이 적어 상품성이 저하되므로 전자공여효과는 약간 떨어지지만 당분의 함량이 미숙과에 비하여 높아 맛이 좋고 색상이 수려하며 또한 산딸기류와 유사한 향기성분을 함유한 완숙과를 사용하여서 기능성식품 등으로 활용하는 것이 보다 바람직할 것으로 생각된다.

### 아질산염 소거능

추출 용매에 따른 복분자딸기의 미숙과 및 완숙과, 잎 추출물의 아질산염 소거율을 조사한 결과는 Table 3과 같다. 복분자딸기의 미숙과 및 완숙과, 잎 추출물은 pH 1.2의 조건에서 전체적으로 41.25~63.24%로 가장 높은 소거율을 나타내었으며 pH 4.2에서는 1.59~10.99%, pH 6.0에서는 -2.84~7.94%로 pH가 증가할수록 소거율이 크게 감소하여 추출물에 따른 pH 의존적인 경향을 나타내었다. 이는 솔잎과 쑥, 결명자에서도 pH가 낮을수록 아질산염 소거작용이 높고, pH 1.2에서 녹차 메탄올을 가용성분획의 경우 거의 100%에 가까운 아질산염 소거작용을 나타내었다는 결과<sup>(27,28)</sup>와도 유사하였다. Nitrosamine 생성 최적 pH는 2.5~3.0으로 pH 의존적이며 아질산염 소거율 역시 강산성에서 높고 pH가 높아질수록 감소하는 것으로 보고한 결과와도 동일한 경향을 나타내었다<sup>(29)</sup>. 이상의 결과로 볼 때 위장 내의 낮은 pH 조건에서는

**Table 3.** Nitrite scavenging abilities of *Rubus coreanus* Miq. extracts by different extracting conditions at pH 1.2, 4.2 and 6.0

Extracting conditions	Materials	Nitrite scavenging activity(%)		
		pH 1.2	pH 4.2	pH 6.0
80% Methol	unripened fruit	63.24 ± 1.77 <sup>1)</sup>	10.99 ± 1.68	7.94 ± 0.43
	ripened fruit	57.35 ± 2.54	1.59 ± 3.13	-2.89 ± 0.40
	leaf	41.25 ± 3.41	8.57 ± 2.43	5.65 ± 1.29
75% Acetone	unripened fruit	60.56 ± 1.51	9.16 ± 2.61	4.89 ± 0.69
	ripened fruit	59.26 ± 2.12	2.53 ± 2.15	-1.83 ± 1.08
	leaf	45.86 ± 1.60	5.62 ± 2.33	2.35 ± 0.25
Water	unripened fruit	42.42 ± 1.85	6.37 ± 2.80	-0.88 ± 1.87
	ripened fruit	47.33 ± 1.78	4.81 ± 2.22	-0.34 ± 0.41
	leaf	49.83 ± 2.81	6.22 ± 1.70	1.92 ± 0.58

<sup>1)</sup>Mean values ± standard deviations (3 replicates)

nitrosamine이 쉽게 형성되므로 이와 같이 낮은 pH에서의 아질산염 소거율이 큰 것은 nitrosamine 형성을 효과적으로 억제하는 것으로 판단된다. 대조군으로 사용한 vitamin C, 10 mg의 아질산염 소거율은 pH 1.2에서 99.67%였으며, pH 4.2에서는 88.00%, pH 6.0의 조건에서는 67.16%으로 나타났다.

### SOD 유사활성

Marklund의 방법<sup>(21)</sup>을 이용하여 TCB로 추출한 복분자딸기의 미숙과 및 완숙과, 잎 추출물의 SOD유사활성을 측정한 결과는 Table 4와 같다. 복분자딸기는 완숙과 추출물이 91.72%의 높은 SOD유사활성을 나타내었으며 미숙과 추출물 65.21%, 잎 추출물은 41.50%순으로 나타났다. 열경채류, 차류, 과채류 및 약용식물류 등 총 55개의 식물성 식품의 추출물을 대상으로 Marklund의 방법으로 SOD유사활성을 측정한 결과 복분자딸기 미숙과 추출물의 경우 18.1%로 보고<sup>(30)</sup>하였으나, 본 실험에서는 65.21%의 높은 활성을 나타내어 차이를 보였는데, 이는 미숙과 시료의 체취시기 차이에 의한 과실의 성숙도에 따라 SOD 유사활성이 다르게 나타났거나, 시료 제조 시 SOD 유사활성과 비례적 관계가 있는 항산화 활성을 가지는 복분자딸기의 안토시아닌 색소를 활성탄에 의해 제거한 것이 주된 요인으로 판단되어진다<sup>(31)</sup>.

추출 용매에 따른 복분자딸기의 미숙과 및 완숙과, 잎 추출물의 SOD유사활성을 측정한 결과는 Table 5와 같다. 추출 용매에 따른 SOD유사활성 정도를 비교해 보면 미숙과 추출물의 경우 전체적으로 29.71~31.86%, 완숙과 추출물은 41.12~43.39%를 나타내어 추출 용매에 따른 뚜렷한 차이를 보이지 않았으나 잎 추출물의 경우는 열수 추출물이 27.95%로 80% 메탄올 추출물 10.13%, 75% 아세톤 추출물 18.85%에 비하

여 높은 활성을 나타내었다. Table 4, 5에 나타낸 바와 같이 복분자딸기 완숙과 추출물이 TCB로 추출한 경우 91.72%, 추출 용매를 달리하여 추출한 경우 41.12~43.39%로 전체적으로 완숙과 추출물에서 높은 SOD유사활성을 나타내는 것을 알 수 있었다. 복분자딸기는 성숙되어 감에 따라 검붉은 색으로 완숙되어 지는데 앞서 언급한 바와 같이 이러한 색소 성분이 항산화성과 관련하여 여러 가지 기능적 역할을 수행하는 것으로 생각되어 진다. 이에 뒷받침하여 품종별 고구마 에탄올 추출물의 항산화 정도를 비교하였을 때 유색고구마인 자색고구마와 황색고구마가 다른 품종에 비하여 항산화성이 높은 것으로 보고하였다<sup>(32)</sup>.

### 항균활성

추출 용매에 따른 복분자딸기의 미숙과 및 완숙과, 잎 추출물의 항균활성을 측정한 결과는 Table 6과 같다. 복분자딸기 추출물은 모두 *Bacillus cereus*에서만 높은 항균 효과를 나타내었으며 미숙과 추출물의 clear zone은 13.75~16.95 mm, 완숙과 추출물은 10.65~16.65 mm, 잎 추출물은 9.5~12.95 mm를 나타내었다. 이는 한약재 190종을 메탄올로 추출하여 그람양성세균4종, 그람음성세균 3종, 효모 2종, 곰팡이 3종에 대한 항균활성을 측정한 결과 복분자 추출물이 *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*에 대해서 활성을 가지고 있다는 보고<sup>(33)</sup>와 비교하여 다른 결과를 나타내었다. 복분자딸기의 항균활성을

**Table 4.** SOD-like activities of *Rubus coreanus* Miq. extracts by tris-cacodylic acid buffer

Materials	SOD-like activity(%)
unripened fruit	65.21 ± 1.80 <sup>1)</sup>
ripened fruit	91.72 ± 0.08
leaf	41.50 ± 3.57

<sup>1)</sup>Mean values ± standard deviations (3 replicates)

**Table 5.** SOD-like activities of *Rubus coreanus* Miq. extracts by different extracting conditions

Extracting conditions	Materials	SOD-like activity(%)
80% Methanol	unripened fruit	29.71 ± 0.97 <sup>1)</sup>
	ripened fruit	43.16 ± 1.24
	leaf	10.13 ± 4.00
75% Acetone	unripened fruit	33.07 ± 1.17
	ripened fruit	43.39 ± 2.70
	leaf	18.85 ± 3.94
Water	unripened fruit	31.86 ± 3.09
	ripened fruit	41.12 ± 3.59
	leaf	27.95 ± 1.46

<sup>1)</sup>Mean values ± standard deviations (3 replicates)

**Table 6. Antimicrobial activity of *Rubus coreanus* Miq. extract by different extracting conditions**

Extracting conditions	Materials	Diameter(mm) of inhibition zone			
		<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
80% Methol	unripened fruit	-	-	16.95±0.35 <sup>1)</sup>	-
	ripened fruit	-	-	16.00±2.16	-
	leaf	-	-	9.50±0.78	-
75% Acetone	unripened fruit	-	-	16.50±2.23	-
	ripened fruit	-	-	16.65±0.11	-
	leaf	-	-	12.95±0.88	-
Water	unripened fruit	-	-	13.75±3.50	-
	ripened fruit	-	-	10.65±1.98	-
	leaf	-	-	12.70±1.13	-

<sup>1)</sup>Mean values ± standard deviations (3 replicates)

추출 용매별로 보면 80% 메탄올 추출물의 clear zone이 9.5~16.95 mm, 75% 아세톤 추출물은 12.95~16.65 mm로 10.65~13.75 mm를 나타낸 열수 추출물 보다 다소 높은 항균 효과를 보였다. 오미자 종자의 메탄올, 에탄올, 에틸아세테이트, 열수 추출물의 실험결과 *B. subtilis*에 대하여 강한 항균활성을 나타내었다고 보고<sup>(34)</sup>하였으며, 본 실험에서 복분자딸기 추출물이 *B. cereus*에서만 항균 효과를 나타내는 것은 위의 보고와 비슷한 경향을 나타내었다. 한편, 유백피의 메탄올, 아세톤, 에틸아세테이트, 에테르, 열수 추출물의 7개 균주에 대한 항균력을 측정한 결과 메탄올 추출물이 항균력이 가장 높았으며, 메탄올 추출물에 대한 7개 균주의 항균력은 *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus* 순으로 강하여 항균성 물질을 추출하는데 메탄올이 효과적이었다고 보고하였다<sup>(35)</sup>(박주성 등, 1999). 본 실험에서도 메탄올과 아세톤 추출의 경우가 열수 추출의 경우 보다 항균력이 약간 우세하게 나타내었으나 *B. cereus*에서만 항균활성을 나타내어 위의 보고 등과는 다른 결과를 보여주었다.

이상의 결과를 요약하면 총 폴리페놀 함량의 경우 80% 메탄올 추출물과 75% 아세톤 추출물의 경우 완숙과 및 미숙과, 잎의 순으로 높게 나타나 아질산염 소거능 및 SOD유사활성, 항균력과 비슷한 경향을 나타냈다. 그러나, 총 폴리페놀 함량과 전자공여능은 유의성이 없는 결과를 보여 추출용매에 따라 폴리페놀 성분 이외에 전자공여에 관여하는 물질이 존재하기 때문으로 판단되었다.

## 요 약

복분자딸기 열매의 미숙과와 완숙과 그리고 잎을 사용하여 추출방법에 따른 생리활성을 측정한 결과는 다음과 같다. 즉, 총 폴리페놀 함량은 추출용매에 의한 차이는 보이지 않았고 전체적으로 복분자딸기의 잎에서 높은 총 폴리페놀 함량을 나타내었으며, 특히 75% 아세톤으로 추출한 경우 잎에서 건물기준으로 100 g당 11.38 g으로 가장 높은 값을 나타내었다. 복분자딸기의 전자공여능은 추출 용매에 따른 차이는 보이지 않았으며, 전체적으로 미숙과가 완숙과나 잎에 비하여 90%이상의 높은 전자공여능을 나타내었다. 복분자딸기의 아질산염 소거능을 pH 1.2, 4.2, 6.0의 조건으로 조사한

결과 pH 1.2일 때 가장 높은 아질산염 소거율을 나타내었다. pH 1.2의 조건에서 미숙과의 아질산염 소거율은 80% 메탄올 추출물이 63.24%, 75% 아세톤 추출물은 60.56%로 완숙과나 잎에 비하여 높은 값을 나타내었고, 열수 추출물에서는 잎이 49.83%로 미숙과와 잎에 비하여 높은 아질산염 소거율을 나타내었다. 복분자딸기의 SOD유사활성은 완숙과가 미숙과나 잎에 비하여 모든 추출조건에서 높은 SOD유사활성을 나타내었다. 복분자딸기 추출물의 항균활성을 조사하기 위하여 *E. coli*, *S. typhimurium*, *B. cereus*, *S. aureus*를 시험균주로 하여 agar diffusion test를 실시한 결과 모든 추출물이 *B. cereus*에서만 높은 항균활성을 나타내었다.

## 감사의 글

본 연구는 농림부 농림기술관리센터(ARPC) 현장애로기술개발사업의 일환으로 수행된 연구의 일부이며, 연구비를 지원해 준 ARPC에 깊이 감사드립니다.

## 문 헌

1. Bae, G.H. The Medicinal Plants of Korea, Kyohak Publishing Co., Ltd. p. 231(2000)
2. Kim, M.S. Phenolic compounds from the leaves of *Rubus Coreanum*. M.S. Thesis, Chung-ang Univ., Korea (1996)
3. Bang, G.C. Tannins from the fruits of *Rubus Coreanum*, M.S. Thesis, Chung-ang Univ., Korea (1996)
4. Chou, W.H., Oinaka, T., Kanamaru, F., Mizutani, K., Chen, F. H. and Tanaka, O. Diterpene glycoside from leaves of chinese *Rubus chingii* and fruits of *R. suavissimus* and identification of the source plant of the chinese folk medicine "Fu-pen-zhi". Chem. Pharm. Bull., 35: 3021-3024 (1987)
5. Hattori, M., Kuo, K.P., Shu, Y.Z., Tezuka, Y., Kikuchi, T. and Namba, T.A. Triterpenses from the fruits of *Rubus chingii*. Phytochemistry, 27: 3975-3976 (1988)
6. Costantino, L., Albasini, A., Rastelli, G. and Benvenuti, S. Activity of polyphenolic crude extracts as scavengers of superoxide radicals and inhibitors of xanthine oxidase. Planta Med., 58(4):342-345 (1992)
7. Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. In free radicals in Biology and Medicine. Oxford, Clarendon Press. (1989)
8. Salim, A.S. Oxygen-derived free radicals and the prevention of duodenal ulcer relapse. Am. J. Med. Sci. 300(1): 1-8 (1990)

9. Sato, Y., Hotta, N., Sakamoto, N., Matsuoka, S., Ohishi, N. and Yagi, K. Lipid peroxide level in plasma of diabetic patients. *Biochem. Med.* 21(1): 104-107 (1979)
10. Halliwell, B., Gutteridge, J.M. and Cross, C.E. Free radicals, and human disease: where are we now? *J. Lab. Clin. Med.* 119(6): 598-620 (1992)
11. Devy, C. and Gautier, R. New perspectives on the biochemistry of superoxide anion and the efficiency of superoxide dismutase. *Biochem. Pharmacol.*, 39:399-405 (1990)
12. Kuramoto, T. Development and application of food materials from plant extract such as SOD. Up to date *Food Processing*, 27(3): 22-23 (1992)
13. Rorald, W. Naturally occurring nitrite in food. *J. Japan Soc. Food Agric.*, 26:1735 -1742 (1975)
14. Peter, F. Swann. The toxicology of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *J. Sci. Fd. Agric.* 26: 1761-1770 (1975)
15. Kim, J.H. and Park, K.M. Nitrite scavenging and superoxide dismutase-like activities of herb, spices and curries. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32(3): 706-712 (2000)
16. Beuchat, L.R. and Golden, D.A. Antimicrobials occurring naturally in food, *Food Technol.*, 43(1):134-147 (1989)
17. McGrath, R.M., Zaluza, W.Z., Daiber, K. H., Riet, W. B. and Glennie, C.W. Poly- phenols of sorghum grain, their changes during malting and their inhibitory nature. *J.Agric. Food Chem.*, 30: 450-453 (1982)
18. Slinkard, K. and Singleton, V.L. Total phenol analysis: automation and comparison with manual method. *Am. J. Ecol. Vitic.* 28(1): 49-56 (1977)
19. Fujita, Y., Uehara, I., Morimoto, Y., Nakashima, M., Hatano, T. and Okuda, T. Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids. II. inhibition mechanism of caffetannin isolated from leaves of Artemisia species on lipoxygenase dependent lipid peroxidation. *Yakugaku Zasshi* 108: 129-132 (1988)
20. Kato, H., Lee, I.E., Chuyen, N.V., Kim, S.B. and Hayase, F. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyable melanoidins. *Agri. Bio. Chem.* 51(5): 1333-1338 (1987)
21. Marklund, S. and Gudrun, M. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* 47: 469-474 (1974)
22. Lee, J.H. and Lee, S.R. Some physiological activity of phenolic substances in plant foods. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26(3): 310-316 (1994)
23. Lee, Y.C., Hwang, K.H., Han, D.H. and Kim, S.D. Composition of *Opuntia ficus-indica*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29(5): 847-853 (1997)
24. Cha, J.Y., Kim, H.J., Chung, J.H. and Cho, Y.S. Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of *Cudrania tricuspidata*. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 28(6): 1310-1315 (1999)
25. Wang, S.Y. and Lin, H.S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *J. Agric. Food Chem.* 48: 140-146 (2000)
26. Kang, Y.H., Park, Y.K., Oh, S.R. and Moon, K.D. Studies and the physiological functionality of Pine Needle and Mugwort extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27(6): 978-984 (1995)
27. Park, Y.B., Lee T.G., Kim, O.K., Do, J.R., Yeo, S.G., Park, Y.H. and Kim, S.B. Characteristics of Nitrite scavenger derived from seeds of cassia tora L. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27(1): 124-128 (1995)
28. Yeo, S.G., Yeum, D.M., Lee, D.H., Ahn, C.W., Kim, S.B. and Park, Y.H. The Nitrite-Scavenging Effects by component of Green Tea EXtracts. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 23(2): 287-292 (1994)
29. Kytopoulos, S.A. Ascorbic acid and formation of N-nitroso compounds; possible role of ascorbic acid in cancer prevention. *Am. J. Clin. Nutr.* 45: 1344-1350 (1987)
30. Son, E.S. Contents of Total Flavonoid and Biological Activities of Edible Plants. M.S. Thesis, Ewha Womans Univ., Korea (1999)
31. Noda, Y., Kneyuki, T., Igarashi, K., Mori, A. and Packer, L. Antioxidant activity of nasunin, an anthocyanin in eggplant peels. *Toxicology*, 148: 119-123 (2000)
32. Lee, H.H., Kang, S.G. and Rhim, J.W. Characteristics of antioxidative and antimicrobial activities of various cultivars of sweet potatoes. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31(4):1090-1095 (1999)
33. Kim, H.Y., Lee, Y.J., Hong, K.H., Kwon, Y.K., Lee, J.Y., Kim, S.H., Ha, S.C., Cho, H.Y., Jang, E.S., Lee, C.E. and Kim, G.S. Studies on the development of natural Preservatives from natural products. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31(6): 1667-1678 (1999)
34. Jung, G.T., Ju, I.O., Choi, J.S. and Hong, J.S. The antioxidative, antimicrobial and nitrite scavenging effects of *schizandra chinensis RUPRECHT(omija)* seed. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32(4): 928-935 (2000)
35. Park, J.S., Shim, C.J., Jung, J.H., Lee, G.H., Sung, C.K. and Oh, M.J. Antimicrobial activity of *Ulmus cortex* extracts. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 28(5): 1022-1028 (1999)

(2001년 5월 10일 수리)