

완숙 복분자 부위별 지방산 조성과 여드름 원인균에 대한 항균 활성

- 연구노트 -

이경인^{1,3*} · 김수민¹ · 김선민² · 표병식²

¹동신대학교 생물자원산업화지원센터

²동신대학교 한약재산업학과

³조선대학교 바이오신약개발학과

Comparison of Fatty Acids and Antibacterial Activity against Pathogen of Acne in Different Parts of Ripened Black Raspberry (*Rubus coreanus* Miquel)

Kyoung-In Lee^{1,3*}, Su-Min Kim¹, Sun-Min Kim², and Byoung-Sik Pyo²

¹Biotechnology Industrialization Center and ²Dept. of Oriental Medicine Materials, Dongshin University, Jeonnam 520-811, Korea

³Dept. of New Drug Development, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

Abstract

The purpose of this study was to obtain the fatty acid composition and the antibacterial activity against pathogen of acne in various parts including seed, flesh and fruit from ripened black raspberry. In fatty acid analysis of lyophilized black raspberry, total fat of dried seed (11.047%) was much higher than in other parts. Moreover, linoleic acid (5.577%) and linolenic acid (2.317%) identified as the major fatty acids in the seed. By contrast, highest fatty acid of dried flesh was palmitic acid (0.323%) but it was remarkably low level compared with fatty acid composition of dried seed. Total polyphenol content in seed extract and flesh extract were 123.64 mg/g and 55.43 mg/g, respectively. DPPH radical scavenging ability of seed extract was higher than flesh and fruit extract. In antibacterial activity experiment against strains related acne such as *Propionibacterium acne* and *Staphylococcus epidermidis*, antibacterial activity of flesh extract was stronger than seed extract. However, seed extract showed antibacterial activity of 76.96~89.08% against each strain compared to activity of flesh extract. Based on these results, we concluded that seed of black raspberry can be useful in related field.

Key words: *Rubus coreanus* Miquel, black raspberry, fatty acid, antibacterial, acne

서 론

복분자(覆盆子)는 장미과에 속하는 다년생의 낙엽 관목인 복분자 딸기나무(*Rubus coreanus* Miquel)의 열매이다. 원산지는 중국이며 우리나라에서는 중부, 남부 지방의 산기슭 양지에서 자생한다. 한방에서 사용하는 복분자는 미성숙과로 맛이 달고 시며 성질이 따뜻하고 독이 없으며 간(肝)과 신(腎)을 보호하는 작용 등으로 인해 다양한 효능을 가지는 것으로 알려져 있다(1-3). 이러한 복분자의 효능은 다양한 연구를 통하여 구체화되고 있으며(4-9), 복분자의 유효 성분 에 대한 연구도 진행되고 있다(5,10,11).

최근에는 한약재로서의 복분자 뿐만이 아니라 완숙과를 이용한 다양한 식음료 및 주류제품의 개발과 소비가 증가되고 있는데, 특히 생과를 이용하는 각종 음료와 주류가 대부분을 차지하고 있다. 이러한 제품의 가공 과정 중 여과나 착즙의 과정 후 폐기되는 잔사의 대부분이 외피의 종자 부위이다. 특히 종자는 구조적인 특성상 착즙이나 발효 등의 과

정에서도 파괴되지 않고 최종 폐기물에 포함된다. 따라서 종자와 같이 버려지는 부위의 활용도를 높이기 위해 관련 연구가 필요한 상황이다.

한편, 대표적 피부질환 중 하나인 여드름의 발생은 일반적으로 피지생산의 증가, *Propionibacterium acnes*의 모낭 증식 및 유전적 소질 등의 주요인자가 복합적으로 작용하여 나타나는 것으로 알려져 있다(12,13). 물론 미생물학적인 원인균도 단순히 *P. acnes* 뿐만이 아니라 *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* 등과 같은 피부 상재균들이 관여하는 것이 일반적이다(14,15). 주요 원인으로 알려진 세균 감염에는 tetracycline, clindamycin 등과 같은 항생제의 사용으로 개선시킬 수 있으나 장기간 사용 시의 부작용이나 내성의 발현 등의 문제점을 가져올 수 있다(16). 최근에는 이러한 문제를 보완할 수 있는 천연물 유래의 치료제에 대한 연구가 진행되고 있는데 여러 가지 한약재에서 여드름 원인균에 대한 항균활성을 조사한 연구와 우엉 추출물, 버드나무 추출물, 녹차 추출물 등을 혼합한 제품의 항균활성에

*Corresponding author. E-mail: kilee@bic.re.kr
Phone: 82-61-336-3104, Fax: 82-61-336-3118

대한 연구 등이 있었다(17-19).

본 연구에서는 완숙 복분자 과실을 과육과 종자로 구분하여 지금까지 연구되지 않았던 지방함량 및 지방산 조성을 비교 분석하고, 각 부위의 methanol 추출물을 제조하여 여드름 관련 균주에 대한 항균활성, 그리고 polyphenol 함량 및 DPPH radical 소거능을 조사하여 복분자의 활용 범위를 높이는 기초 자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 완숙 복분자(*Rubus coreanus* Miquel) 열매는 2010년 6월에 광주광역시 광산구에서 수확한 것으로 수세 후 동결 건조하였으며, 종자를 분리하지 않은 과실, 종자 그리고 종자를 분리한 과육 등 3종류로 분리하여 4°C 이하로 냉장보관하면서 실험에 사용하였다.

사용 균주 및 배지

항균활성 실험에 사용된 균주는 *Propionibacterium acnes* (KCTC3314), *Staphylococcus epidermidis*(KCTC1917), *Staphylococcus aureus*(KCTC3881)로 한국생명공학연구원 생물자원센터(BRC)에서 분양 받았다. *P. acnes* 균주는 Reinforced Clostridial Medium(RCM), *S. epidermidis*와 *S. aureus* 균주는 nutrient agar 및 broth 배지를 사용하였다.

지방산 함량 분석

각 시료에 internal standard로 tridecanoic acid(C13)를 혼합하여 지방추출 및 검화장치(B-815)에서 지방산 추출 후 GC기반의 fat determination unit(B-820, Büchi, Flawil, Switzerland)으로 지방산 함량 분석을 실시하였다.

Methanol 추출

건조된 과실과 종자, 과육으로 분리한 시료를 99.6% methanol을 추출 용매로 하여 상온에서 24시간씩 3회 반복하여 정지 추출을 실시하였다. 추출액은 여과를 거쳐 감압농축 후 동결 건조하여 실험에 사용하였으며, 추출 수율은 과실, 종자, 과육 추출물이 각각 53.21%, 26.92%, 80.26%로 나타났다.

DPPH radical 소거능 측정

복분자 부위별 추출물의 항산화활성은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)을 사용하여 radical 소거능을 측정하였다(20). 각 추출물을 0.1~10 mg/mL의 다양한 농도로 methanol에 용해시킨 시료액 20 µL와 200 µM DPPH 용액 180 µL를 혼합하여 15분간 암실에서 반응시킨 후 microplate reader(PowerWave X340, BIO-TEK, Winooski, VT, USA)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도로 50%의 DPPH radical을 소거하는데 필요한 농도(SC₅₀)를 계산하였다. 대조군으로 ascorbic acid(vitamin C)를 사용하였다.

Total polyphenol 함량 측정

Folin-Denis법을 이용하여 각 추출물의 페놀성 화합물 함량을 측정하였다(21). Methanol에 1 mg/mL 농도로 용해시킨 시료액 80 µL와 Folin-Denis reagent 80 µL를 혼합하여 3분간 반응시킨 뒤 10% Na₂CO₃ 80 µL를 혼합하여 1시간 동안 암실에서 반응시킨 후, 상등액 120 µL를 취하여 96-well plate에 옮겨 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 tannic acid를 0~500 µg/mL의 농도로 제조하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 표준 검량선을 작성하고 페놀성 화합물의 함량을 mg/g tannic acid equivalent(TAE)로 나타내었다.

Disc diffusion assay에 의한 항균활성 측정

복분자 부위별 추출물의 항균활성은 각 균주를 대상으로 disc diffusion assay로 측정하였다. 항균시험용 평판배지는 계대 배양된 각 균주를 멸균 면봉을 이용하여 100 µL씩 도말하여 준비하였다. Paper disc(직경 6 mm)당 추출물을 3 mg이 되도록 천천히 흡수시킨 뒤 건조과정을 거쳐 용매를 휘발시킨 후 평판배지 위에 얹어 37°C에서 24시간 배양한 후 disc 주변에 생성된 저해환(clear zone, mm)으로 항균활성을 비교하였다. *P. acnes* 균주는 10% CO₂가 공급되는 incubator에서 배양하였다.

통계분석

모든 측정값은 3회 이상 반복 실험한 결과의 평균값과 표준편차(mean±SD)로 표시하였고, 각 실험군 간의 통계학적 분석은 windows용 SPSS 12.0(SPSS Inc, Chicago, IL, USA)을 이용하였다. 각 군 간의 측정치 비교는 one-way analysis of variance(ANOVA)를 시행하였으며, 유의성은 신뢰구간 p<0.01에서 의미를 부여하였다.

결과 및 고찰

완숙 복분자 부위별 주요 지방산 함량

Table 1에서 과실의 지방산 함량은 linoleic acid(C18:2)가 건물 기준 3.573%로 가장 높았으며, 다음으로 1.603%의 linolenic acid(C18:3)였다. 종자의 경우 linoleic acid와 linolenic acid가 각각 5.577%와 2.317%의 함량으로 과실의 주요 지방산의 종류 및 순위에서 동일한 양상을 보였다.

과육의 경우 linoleic acid나 linolenic acid 지방산의 함량이 과실이나 종자에 비해 현저히 낮았다. 이러한 결과에서 복분자 과실의 지방산들은 대부분이 종자에서 유래한 것으로 볼 수 있다.

또한 복분자에 존재하는 지방산 중 종자의 경우 전체 지방함량의 50.484%가 ω-6 지방산인 linoleic acid, 20.974%가 ω-3 지방산인 linolenic acid로 나타났으며, 이를 포함한 불포화지방산의 비율은 전체 지방함량의 81.262%에 해당하는 것으로 분석되었다.

Table 1. Total fat and fatty acid contents in fruit, seed and flesh of ripened black raspberry (unit: %, dry basis)

		Fruit	Seed	Flesh	
Total fat		8.417±0.648 ¹⁾	11.047±0.481	3.107±0.160	
Main fatty acids	C6	Caproic acid	0.033±0.006	0.020±0.000	0.043±0.012
	C14	Myristic acid	0.230±0.050	0.033±0.006	0.317±0.180
	C16	Palmitic acid	0.327±0.025	0.297±0.015	0.323±0.040
	C16:1	Palmitoleic acid	0.063±0.006	0.033±0.012	0.090±0.019
	C18	Stearic acid	0.040±0.010	0.060±0.010	0.033±0.023
	C18:1	Oleic acid	0.720±0.026	1.050±0.056	0.163±0.015
	C18:2	Linoleic acid	3.573±0.103	5.577±0.248	0.237±0.025
	C18:3	Linolenic acid	1.603±0.047	2.317±0.181	0.177±0.045
	C20	Arachidic acid	0.310±0.044	0.640±0.130	0.053±0.055

¹⁾Values are mean±SD (n=3).

Table 2. Total polyphenol contents of extracts from fruit, seed and flesh of ripened black raspberry

	Fruit extract	Seed extract	Flesh extract
Total polyphenol (mg/g TAE ¹⁾)	65.96±0.77 ²⁾	123.64±1.62	55.43±0.10

¹⁾TAE: tannic acid equivalent. ²⁾Values are mean±SD (n=6).

Total polyphenol 함량

종자, 과육 및 과실의 methanol 추출물 중 total polyphenol 함량을 측정 한 결과, 종자의 methanol 추출물에서 123.64 mg/g으로 가장 높은 함량을 보였다(Table 2). 반면 종자를 분리한 과육의 함량이 55.43 mg/g으로 추출물 중 가장 낮은 polyphenol 함량을 나타내었다. 이는 동일하게 동결 건조한 품종별 복분자의 ethanol 추출물을 대상으로 polyphenol 함량을 조사한 결과, 20.89~28.84 mg/g 범위로 나타났다는 연구 보고와 비교할 때 다소 높은 수준이며, 추출 용매에 따른 함량 차이로 판단된다(5).

부위별 항산화 활성

Table 3의 부위별 복분자 methanol 추출물의 DPPH radical 소거능 측정 결과, 종자의 methanol 추출물의 SC₅₀ 값이 0.60 mg/mL로 가장 뛰어난 소거능을 나타내었는데, 이는 양성대조군으로 사용된 ascorbic acid의 소거능을 기준

으로 한 비교 활성에서 약 65.10%에 해당하는 활성이며, 통계적인 의미에서는 동일한 수준의 활성으로 나타났다. 한편, 종자를 제거한 과육의 경우 SC₅₀이 3.19 mg/mL로 ascorbic acid의 12.31%에 해당하는 소거능을 나타냄으로써 종자의 추출물에 비해 낮은 항산화 활성을 가지는 것을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 total polyphenol 함량이 상대적으로 높게 나타났던 종자의 methanol 추출물이 보다 강력한 항산화 활성을 보여준 것이라 할 수 있다.

부위별 항균 활성

여드름의 주요 원인균으로 알려진 *P. acnes*와 각종 피부 질환에 관련된 *S. epidermidis*, *S. aureus*를 대상으로 한 항균 활성 실험의 결과를 Table 4에 나타내었다. 종자와 종자를 분리한 과육, 종자를 분리시키지 않은 과실의 추출물에서 각각 일정 수준 이상의 항균력을 확인할 수 있었다. 실험에 사용된 모든 균주에 대해서 종자를 분리한 과육의 methanol 추출물이 상대적으로 가장 높은 항균 활성을 나타내었으며, 종자 추출물이 가장 낮은 활성을 보여주었다. 그러나 상대적으로 가장 높은 활성을 나타낸 과육 추출물의 항균 활성과 비교해서 종자 추출물의 항균 활성이 *P. acnes*의 경우 약 89.08%, *S. epidermidis*는 76.96%, *S. aureus*는 83.35%에 해당하는 활성을 나타내었고, *S. epidermidis*를 제외한 나머

Table 3. DPPH radical scavenging activity of extracts from fruit, seed and flesh of ripened black raspberry

	Fruit extract	Seed extract	Flesh extract	Ascorbic acid
SC ₅₀ (mg/mL)	2.31±0.48 ^{b1)}	0.60±0.02 ^a	3.19±0.09 ^c	0.39±0.04 ^a
Relative activity ²⁾ (%)	17.04	65.10	12.31	100.00

¹⁾Values are mean±SD (n=6) without relative activity. Different superscript letters in the same line show significant differences at p<0.01 by one-way ANOVA.

²⁾Relative activity: a ratio of SC₅₀ value compared to positive control (ascorbic acid).

Table 4. Antibacterial activities of extracts from fruit, seed and flesh of ripened black raspberry (unit: mm)

Sample	Sample concentration	Bacterial strains		
		<i>P. acnes</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>
Fruit extract	3 mg/disc	12.17±1.91 ^{b1)}	13.33±0.76 ^a	10.11±0.77 ^b
Flesh extract	3 mg/disc	13.10±2.23 ^b	14.02±1.17 ^a	11.65±1.03 ^b
Seed extract	3 mg/disc	11.67±2.16 ^b	10.79±0.38 ^b	9.71±0.23 ^b
Ampicillin	10 µg/disc	35.20±1.57 ^a	13.17±0.50 ^a	39.20±1.76 ^a

¹⁾Values are mean±SD (n=3). Different superscript letters in the same line show significant differences at p<0.01 by one-way ANOVA.

지 균주에 대한 활성의 통계적인 분석에서는 동일한 수준으로 평가할 수 있어서 종자 부위의 활용 가능성을 확인할 수 있었다. Polyphenol 함량에서 과육이나 과실 추출물에 비해 상대적으로 더 높았던 종자 추출물이 항균활성에서는 다른 부위 추출물보다 다소 낮은 것으로 나타남으로써 복분자 부위별 추출물이 가지는 항균 활성의 polyphenol 성분 관련성이 낮은 것으로 판단되었다. 한편, 얼굴을 포함하여 피부 전반에 존재하여 여드름뿐만 아니라 다양한 염증을 유발할 수 있는 병원성 균주인 *S. epidermidis*에 대한 항균 활성에서 대조군으로 사용된 ampicillin(10 µg/disc)의 활성과 비교했을 때, 복분자 추출물의 항균활성이 의미 있는 수준임을 알 수 있었다.

요 약

본 연구는 복분자의 활용도를 높이기 위한 자료를 제공하고자 동결 건조한 완숙 복분자를 종자와 종자를 분리한 과육, 그리고 분리과정을 거치지 않은 과실로 구분하여 지방산 조성 분석과 각 부위별 methanol 추출물의 여드름 관련 균주에 대한 항균 활성, 그리고 polyphenol 함량 및 DPPH radical 소거능을 비교 분석하였다. 지방산 조성 분석 결과 종자의 총 지방 및 지방산 함량이 다른 부위에 비해 월등히 높은 수준임을 알 수 있었다. 아울러 종자의 주요 지방산으로 밝혀진 linoleic acid와 linolenic acid의 함량이 전체 지방산 조성의 81.262%로 대부분을 차지하였다. Polyphenol 함량 측정에서 123.64 mg/g으로 가장 높은 수준의 polyphenol 함량을 보였던 종자의 methanol 추출물이 DPPH radical 소거능에서도 다른 추출물에 비해 높은 활성을 나타내었다. 여드름 원인균에 대한 항균 활성에서 실험에 사용된 모든 균주에 대해서 종자를 분리한 과육의 methanol 추출물이 상대적으로 가장 높은 항균 활성을 나타내었으며, 종자 추출물은 상대적으로 낮은 활성을 보여주었다. 그러나 가장 높은 활성을 나타낸 과육 추출물의 항균 활성과 비교해서 종자 추출물의 항균 활성이 각 균주별로 약 76.96~89.08%에 해당함을 알 수 있었다. 결과적으로 완숙 복분자의 과육 부분뿐만 아니라 잔사나 폐기물로 버려질 수 있는 종자 부위의 활용도를 높일 수 있는 가능성을 확인하였다.

문 헌

- Shin TY, Shin HY, Kim SH, Kim DK, Chae BS, Oh CH, Cho MG, Oh SH, Kim JH, Lee TK, Park JS. 2006. *Rubus coreanus* unripe fruit inhibits immediate-type allergic reaction and inflammatory cytokine secretion. *Natural Product Sciences* 12: 144-149.
- Kim HC, Lee SI. 1991. A comparative study on the health effect of *Rubus coreanus*. *Kor J Herbology* 6: 3-11.
- Shin KS, Park PJ, Boo HO, Ko JY, Han SS. 2003. Chemical components and comparison of biological activities on the fruit of natural *Bogbunja*. *Korean J Plant Res* 16: 109-117.
- Yoon I, Cho JY, Kuk JH, Wee JH, Jang MY, Ahn TH, Park KH. 2002. Identification and activity of antioxidative compounds from *Rubus coreanus* fruit. *Korean J Food Sci Technol* 34: 898-904.
- Park YK, Choi SH, Kim SH, Jang YS, Han JG, Chung HG. 2008. Functional composition and antioxidant activity from the fruit of *Rubus coreanus* according to cultivars. *Mokchae Konghak* 36: 102-109.
- Han JG, Kwon MC, Ha JH, Jeong HS, Kim Y, Jeong MH, Kim JC, Lee HY. 2009. Enhancement of immunomodulatory activities of *Rubus coreanus* Miquel extracts by nano-encapsulation process. *Korean J Medicinal Crop Sci* 17: 54-60.
- Jeon YH, Choi SW, Kim MR. 2009. Antimutagenic and cytotoxic activity of ethanol and water extracts from *Rubus coreanus*. *Korean J Food Cookery Sci* 25: 379-386.
- Kim TG, Park MS, Han HM, Kang SY, Jung KK, Rheu HM, Kim SH. 1999. Inhibitory effects of *Terminalia chebula*, *Sanguisorba officinalis*, *Rubus coreanus* and *Rheum palmatum* on hepatitis B virus replication in HepG2 2.2.15 cells. *Yakhak Hoeji* 43: 458-463.
- Jeong HS, Han JG, Ha JH, Kim Y, Oh SH, Kim SS, Jeong MH, Choi GP, Park UY, Lee HY. 2009. Antioxidant activities and skin-whitening effects of nano-encapsulated water extract from *Rubus coreanus* Miquel. *Korean J Medicinal Crop Sci* 17: 83-89.
- Cha HS, Lee MK, Hwang JB, Park MS, Park KM. 2001. Physicochemical characteristics of *Rubus coreanus* Miquel. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 1021-1025.
- Cha HS, Youn AR, Park PJ, Choi HR, Kim BS. 2007. Physicochemical characteristics of *Rubus coreanus* Miquel during maturation. *Korean J Food Sci Technol* 39: 476-479.
- Burton JL, Shuster S. 1971. The relationship between seborrhea and acne vulgaris. *Br J Dermatol* 84: 600-604.
- Cunliffe WJ, Holland DB, Jeremy A. 2004. Comedone formation: etiology, clinical presentation, and treatment. *Clin Dermatol* 22: 367-374.
- Ahn YG, Kim SK, Shin CS, Min JH. 2002. Inhibitory effects of wax gourd extract on melanin formation and acne-forming bacterial growth. *Korean J Food & Nutr* 15: 137-143.
- Ki HG, Yun SJ, Lee JB, Kim SJ, Lee SC, Won YH. 2005. Microorganism isolated from acne and their antibiotic susceptibility. *Kor J Dermatol* 43: 871-875.
- Lim YS, Myung KB, Chung NE, Chung WS. 1995. A study on the MIC of antibiotics for *Propionibacterium acnes* in patients with acne. *Kor J Dermatol* 33: 437-444.
- Sohn HY, Kim YS, Kum EJ, Kwon YS, Son KH. 2006. Screening of anti-acne activity of natural products against *Propionibacterium acnes*. *Kor J Microbiol Biotechnol* 34: 265-272.
- Kim NR, Lim YH, Park SW, Nam ES. 2009. Antimicrobial activities of the anti-acne compounds from natural sources. *Kor J Microbiol Biotechnol* 37: 80-84.
- Yang HJ, Kim EH, Kang ST, Park SN. 2009. Antibacterial activity of *Platycarya strobilacea* extract and stability of the extract-containing cream. *Kor J Microbiol Biotechnol* 37: 170-175.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- Otto F, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239-243.

(2011년 1월 21일 접수; 2011년 2월 24일 채택)