

특용작물 : 복분자의 화학적 특성 및 복분자 부위별
(잎, 열매, 줄기) 추출물을 이용한 농업해충 복숭아혹진딧물,
배추좀나방 및 담배거세미나방에 대한 살충효과 연구*

이희권** · 이희선***

Chemical Characterization and Insecticidal Activity of
Rubus coreanus Miquel Extracts (Leaves, Fruits and Stems)
against Three Agricultural Insect Pests, *Myzus persicae*,
Plutella xylostella and *Spodoptera litura*

Lee, Hee-Kwon · Lee, Hoi-Seon

In the growth of the *Rubus coreanus* Miquel fruits, the unripened (10 days) and ripened (25 days) fruits after flowering were harvested. The chemical characteristics of different maturational stages of the unripened and ripened fruits were investigated. Total amount of phenolic compounds was 4.00-7.56% in the unripened fruits and 3.78-5.57% in the ripened fruits, respectively. Furthermore, total amounts of organic acids such as malic, citric, succinic, and oxalic acids were 16.40 mg/100 g in the unripened fruits and 28.82 mg/100 g in the ripened fruits, respectively. In organic acids of the unripened and the ripened fruits, citric acid (8.76-15.47 mg/100 g) was the highest amount among other organic acids. Soluble sugars were significantly increased from 11.07 to 21.54% in the unripened and ripened fruits. Therefore, ripened fruits had the high levels of phenolic compounds, organic acids and soluble sugars. For the biological studies of *R. coreanus*, methanol extracts of *R. coreanus* leaves, fruits, and stems were evaluated for their insecticidal activities against *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae), *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) and *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) by leaf dipping method. From these results, the extract of *R. coreanus* leaves revealed potent insecticidal

* 본 논문(산업재산권)은 농촌진흥청 연구사업(세부과제명 : 고수, 길초근, 계피, 양강근 유래 고효율 기능성물질 추출기술 개발, 세부과제번호 : PJ011983022016)의 지원에 의해 이루어진 것임.

** First author and Corresponding author, 고창군 농업기술센터 농촌개발과(lhk0611@korea.kr)

*** Corresponding author, 전북대학교 농업생명과학대학 생물환경화학과(hoiseon@jbn.ac.kr)

activity against *P. xylostella*. However, the methanol extracts of *R. coreanus* fruits and stems had no any insecticidal activity against *M. persicae*, *P. xylostella* and *S. litura*. The *R. coreanus* leaves have promising potential as new insecticidal agent against *P. xylostella*.

Key words : agricultural pest, organic acids, *Rubus coreanus*, soluble sugars, total phenols

I. 서 론

나무딸기의 원산지로 알려진 중국에서는 20여종의 *Rubus* 속(屬) 식물의 미성숙 과실을 증기로 찌서 햇볕에 말린 것을 복분자로 정의하여 강장제 등 약용으로 쓰이고 있으며, 우리나라에서는 복분자(*Rubus coreanus* Miquel) 종만을 약용으로 분류하고 있다(Park, 2000). 복분자(*R. coreanus*)는 장미과에 속하는 낙엽 활엽성 관목으로 그 길이가 2-3 m 정도이며, 우리나라의 제주도와 중·남부지방 그리고 일본, 중국, 미국, 유럽 등 해발 50-1,000 m 지역의 산기슭 양지에서 자생하는 것으로 알려져 있다.

기존 복분자에 대한 연구는 복분자 완숙딸기의 일반성분에 대한 연구로 복분자열매는 카로틴, 염화시아닌 배당체, 벤즈알데히드의 색소, 레몬산, 사과산, 개미산 등 다양한 유기산, 포도당(43%), 과당(80%), 서당(1.5%), 펙틴 등 탄수화물, 비타민 A, B1, B2 등 다양한 비타민과 무기질로 구성되어 있음이 보고되었다(Tanaka, 1981; Ohtani, 1990). 또한 복분자의 열매, 잎, 줄기는 당, 유기산, 색소, 무기성 및 페놀성 화합물 등을 함유하고 있으며, 줄기와 잎으로부터 분리한 색소 및 페놀성 화합물에 대해 연구가 진행되어져 왔다(Lee and Do, 2000; Park, 2000; Kim, 1989). 복분자의 완숙딸기가 미숙딸기에 비하여 당도나 각종 비타민이 풍부하고 더 우수한 것으로 조사되었음(Park, 2000)에도 불구하고 기존에 알려진 복분자 미숙딸기의 한의약서 지침을 원용하다 보니 완숙딸기의 활용이 미미한 상태이다. 한편, 복분자 열매, 잎 및 줄기에 대한 항균활성 연구(Cha et al., 2001)와 복분자에 함유된 페놀성 화합물들의 항산화 작용, 고지혈증 억제 및 항종양 작용 등이 보고되고 있지만(Papadopoulos and Boskou, 1991; Cha and Cho, 1997; Cha and Cho, 1999), 복분자를 구성하는 바이오소재를 이용한 농업해충에 대한 살충활성에 관한 연구는 아직 미비한 실정이다. 이에 본 연구에서는 한방적 해석에 의하여 복분자 미숙딸기만을 활용해 오던 가공분야를 복분자 완숙딸기를 활용한 식품으로 이용하고자 식품가공을 위한 복분자 딸기의 적정 수확시기를 조사하고 복분자 과실의 숙기별 유효성분을 비교하는 것과 복분자 부위별 추출물을 이용하여 농업해충인 복숭아혹진딧물, 배추좀나방 및 담배거세미나방에 대한 살충활성을 평가하여 천연 살충 방제제로서의 가능성을 연구하였다.

II. 본 론

1. 실험재료

본 실험에 사용한 복분자 과실은 2001년 전라북도 고창군 농업기술센터 복분자 시험장의 노지포장에서 재배된 것을 사용하였다. 복분자 미숙딸기와 완숙딸기의 유효성분 비교를 위하여 개화 후 10일째 된 녹색상태와 개화 후 25일째로 붉은 빛을 띠는 복분자 딸기를 수확하여 선별 후 -20℃에 냉동 보관하면서 사용하였다.

2. 복분자 추출 방법

완숙기의 복분자 부위별 채집을 통하여 농업해충 3종에 대해 복분자 부위별의 메탄올 추출물 살충활성을 시험하였다. 부위별 복분자 시료는 60℃에서 3일간 건조시켜 분쇄기로 마쇄한 후 메탄올 500 ml과 혼합하여 상온에서 추출한다. 얻어진 추출액은 여과하여 감압농축기(rotary vacuum evaporator, Model: N-3NM, EYELA, Japan)를 사용하여 감압농축하여 4℃ 암조건에 냉장 보관하여 실험에 사용하였다.

3. 총 페놀함량 분석

5% 탄산나트륨 2 ml에 10% 시료용액 0.1 ml를 첨가하여 잘 혼합하고, 2분 후에 발색을 위하여 50% folin-ciocalteau 시약 0.1 ml를 첨가하여 30분 동안 실온에서 방치한 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총페놀의 정량을 위한 표준물질은 chlorogenic acid로써 표준 검량선 작성을 위하여 30, 60, 90 µg이 함유된 용액을 이용하였다.

4. 유기산 함량 분석

건조한 시료를 증류수로 용출하여 0.45 µm membrane filter로 여과하여 유기산 분석에 사용하였다. 0.45 µm membrane filter로 여과한 시료를 Sep-pak C₁₈ (Waters, USA)에 통과시켜 색소와 고분자 물질을 제거한 후 reverse phase C₁₈ column (3.9 mm×30 cm, Nova-pak)을 장착한 HPLC (Waters, Model 2690, USA)를 이용하여 0.2 M KH₂PO₄ (pH 2.4)용매로 분석하였다. 표준물질로는 0.01% oxalic acid, 0.05% tartaric acid, 0.1% malic acid, 0.1% citric acid 및 0.1% succinic acid를 각각 혼합한 후 정량분석에 사용하였다.

5. 가용성 당 함량 분석

건조한 시료를 증류수로 용출하여 0.45 μm membrane filter로 여과하여 당 분석에 사용하였다. 0.45 μm membrane filter로 여과한 시료를 Sep-pak C18 (Waters, USA)에 통과시켜 색소와 고분자 물질을 제거한 후 carbohydrate column (3.9 mm \times 30 cm, Waters, USA)을 장착한 HPLC를 이용하여 acetonitril : H₂O (78:22, v/v)를 용매로 사용하여 분석하였다. 표준물질은 fructose, glucose, sucrose 및 maltose를 각 당류의 함량이 0.5% 되게 혼합용액을 조제한 후 정량분석에 사용하였다.

6. 시험해충

본 연구는 온도 24 \pm 2 $^{\circ}\text{C}$, 상대습도 60 \pm 5% 조건으로 복숭아혹진딧물(*Myzus persicae*, Green peach aphid: GPA)과 배추좀나방(*Plutella xylostella*, Diamondback moth: DBM)은 각각 담배(*Nicotiana tabacum* L.)과 비트(*Rhaphanus sativus* L.)를 기주로 이용하여 아크릴 사육상자(26 \times 30 \times 20 cm)에서 누대 사육하였으며, 담배거세미나방(*Spodoptera litura*, Tobacco cutworm: TCW)은 인공 사료(Lee et al., 2000)를 먹이로 하여 플라스틱 상자(24 \times 16 \times 8 cm)에서 어떠한 살충제 노출 없이 사육하였다.

7. 살충활성 검정

진딧물과에 속하는 복숭아혹진딧물과 나방목인 배추좀나방과 담배거세미나방에 대한 식이습성을 고려하여 복분자 추출물의 섭식독성실험은 엽침지법으로 선정하였다(Sawicki and Rice, 1978; Kalra and Chawla, 1997). 배추좀나방과 담배거세미나방은 배추잎(지름 5 cm)을 희석액에 40-60초간 침지 후 음건하여 petri dish (60 \times 15 mm)에 넣어 접종하였다. 복숭아혹진딧물의 경우 본 실험에서 약제를 각 농도로 희석하여 20마리씩 3반복으로 수행하였으며, 온도 24 \pm 2 $^{\circ}\text{C}$, 상대습도 60 \pm 5% 항온항습실에서 보관하고 48시간 후 사충수를 조사하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 총 페놀함량 변화

복분자 완숙딸기와 미숙딸기를 대상으로 성숙여부에 따른 총 페놀함량을 비교분석한 결과는 Table 1과 같았다. 추출용매 증류수, 25% ethanol (v/v) 및 80% ethanol (v/v)을 사용하여

총 페놀함량을 측정된 결과, 열수추출 시 복분자 과육부분의 총 페놀함량은 미숙기(개화 후 10일)의 복분자 딸기 4.00%, 등숙기(개화 후 25일)의 복분자 딸기 3.38%였으며, 25% ethanol (v/v)로 추출하였을 때는 미숙기의 복분자 딸기 7.56%, 등숙기의 복분자 딸기는 5.57%였다. 80% ethanol (v/v)로 추출하였을 때의 미숙기 복분자딸기 총 페놀함량은 5.93%, 등숙기 복분자 딸기 4.79%였다. 전반적으로 개화 후 25일째 적색 상태의 복분자 딸기가 개화 후 10일째 녹색상태의 미숙 복분자 딸기보다 많은 총 페놀함량을 나타냈으며, 추출용매별로는 25% ethanol (v/v)로 추출하였을 때 총 페놀함량이 가장 높게 나타났고, 열수추출 조건에서 가장 낮게 나타났다. 총 폴리페놀 화합물 함량은 실험절차, 표준물질 및 추출방법에 따라 그 값이 차이가 크므로(0.40-8.64%) 총 폴리페놀 화합물 함량의 단순한 수치적 비교는 적합하지 않으나(Maxson and Rooney, 1997), Park (2000)의 총 폴리페놀 함량 정량 시 75% 아세트톤(v/v)을 사용하여 추출 하였을 때의 총 폴리페놀 추출효율이 메탄올과 열수 추출에 비해 높은 값을 나타내었고 열수 추출 조건에서 본 실험의 결과와 같이 그 추출수율이 가장 저조하였다.

Table 1. Total amounts (%) of phenols in *R. coreanus* fruits

Extraction solvent	Maturational stages of fruits after flowering	
	Unripened (10 days)	Ripened (25 days)
Water	4.00	3.38
25% EtOH	7.56	5.57
80% EtOH	5.93	4.79

2. 유기산 함량 변화

복분자 딸기의 성숙단계별 유기산 함량을 HPLC로 측정 비교분석한 결과는 Table 2에 나타나 있다. 복분자 미숙딸기와 완숙딸기에서 malic acid, citric acid, succinic acid 및 oxalic acid의 유기산이 검출되었다. 과육부분에서의 malic acid의 함량은 개화 후 10일째 녹색 상태의 미숙 복분자딸기 1.59 mg/100 g, 개화 후 25일째 적색 상태의 등숙 복분자 딸기 4.24 mg/100 g이었다. succinic acid의 함량은 1.23, 3.57 mg/100 g이었고 oxalic acid의 함량은 4.82, 5.54 mg/100 g이었다. citric acid의 함량은 미숙기와 등숙기 복분자 딸기 각각 8.76, 15.47 mg/100 g으로 복분자에 함유된 유기산 가운데 citric acid가 가장 높은 농도로 검출되었다. 이는 박(2000)의 유기산 분석 결과 citric acid 함량이 미숙기와 등숙기 모두에서 가장 큰 비중을 차지하고 있다는 보고와 같은 결과를 나타내었다. *Rubus idaeus L.*이 속하는 raspberry의 경우 citric acid의 함량은 품종에 따라 차이는 있지만 대체적으로 1,392.2-2,439.9 mg을

나타내어(Romero et al., 1992) 복분자 완숙딸기는 raspberry에 비하여 citric acid 함량이 낮음을 알 수 있었다. 한편, 미숙기와 등숙기 복분자 딸기의 과육부분 대상으로 총 유기산 함량을 비교한 결과 각각 16.40, 28.82 mg/100 g으로 나타났다. 결론적으로 복분자 딸기의 유기산 함량은 과실의 성숙에 따라 증가하는 경향을 보여 미숙 복분자 딸기(개화 후 10일)는 등숙 복분자 딸기(개화 후 25일) 보다 총 유기산 함량이 더 낮게 나타나는 경향이 있었다. Park (2000)의 결과에서도 본 연구의 결과와 같이 미숙 복분자 딸기가 완숙 복분자 딸기로 성숙되어지면서 유기산 함량이 크게 감소함을 알 수 있었다.

Table 2. Content (mg/100 g) of organic acids in *R. coreanus* fruits

Organic acids	Maturational stages of fruits after flowering	
	Unripened (10 days)	Ripened (25 days)
Malic acid	1.59	4.24
Citric acid	8.76	15.47
Succinic acid	1.23	3.57
Oxalic acid	4.82	5.54

3. 가용성 당 함량 변화

복분자 딸기의 성숙단계별 가용성 당 함량을 HPLC로 측정 비교분석한 결과는 Table 3에 나타나 있다. 복분자 미숙딸기와 완숙딸기에서 검출되는 가용성 당은 sucrose, glucose, fructose 및 maltose로 나타났다. 복분자 딸기 과육부분의 sucrose 함량은 미숙기와 등숙기 복분자 딸기에 각각 1.32, 2.84%, glucose 함량은 2.94, 4.96%, fructose 함량은 5.34, 11.22% 그리고 maltose 함량은 1.47, 2.52%로 이들 가용성 당함량은 fructose > glucose > sucrose > maltose의 순서로 분포하는 것으로 조사되었다. 이 결과는 Park (2000)이 미숙딸기와 완숙딸기의 가용성 당을 분석한 결과 미숙딸기에서는 sucrose를 측정하지 못하였고, 미숙딸기와 등숙 딸기에서 maltose를 측정하지 못하였다는 결과와는 상이하게 본 연구에서는 sucrose와 maltose의 가용성 당을 측정할 수 있었다. 복분자 딸기의 과육부분만을 대상으로 한 총 가용성 당 함량은 과실의 성숙이 진행됨에 따라 증가되어 등숙기(개화 후 25일)의 복분자딸기 21.54%, 그리고 미숙기(개화 후 10일)의 복분자 딸기 11.07%로 함유하고 있었다. 결론적으로 성숙단계별로 완숙 복분자 딸기가 미숙 복분자 딸기 보다 가용성 당 함량이 더 높게 나타나는 것을 알 수 있었다.

Table 3. Content (%) of soluble sugars in *R. coreanus*

Organic acids	Maturational stages of fruits after flowering	
	Unripened (10 days)	Ripened (25 days)
Sucrose	1.32	2.84
Glucose	2.94	4.96
Fructose	5.34	11.22
Maltose	1.47	2.52

위의 복분자 미숙딸기와 완숙딸기의 유기산, 총 페놀 그리고 가용성 당에 대한 결과는 과실이 성숙함에 따라서 유기산 농도, 폴리페놀의 함량이 감소하고 당 농도가 증가한다는 Ohtani 등(1990)의 연구결과와 비슷한 경향을 보였다.

4. 복분자 추출물의 살충검정

복숭아혹진딧물(GPA), 배추좀나방(DBM)과 담배거세미나방(TCW)에 대한 복분자 부위별 잎, 과실, 줄기 추출물의 섭식독성을 비교한 결과는 Table 4와 같다. 복분자 잎 추출물은 배추좀나방에 대해 5000 ppm에서 90% 이상의 섭식독성을 보였으며, 2500 ppm에서는 그보다 낮은 80~90%의 살충활성을 보였다. 나머지 복숭아혹진딧물과 담배거세미나방은 복분자 잎 추출물에 대해 40% 이하의 살충활성을 나타내었다. 복분자 과실 추출물의 경우에는 3종 해충에 대해 5000 ppm과 2500 ppm에서 모두 40% 이하의 낮은 살충활성을 보였다. 마지막으로 복분자 줄기 추출물의 섭식독성은 5000 ppm 농도에서 복숭아혹진딧물과 배추좀나방에 대해 40~60%이었으며, 2500 ppm의 결과도 같았다. 하지만 담배거세미나방에 대한 복분자 줄기 추출물은 40% 이하의 낮은 살충활성을 보였다.

본 연구에서 복숭아혹진딧물, 배추좀나방 및 담배거세미나방에 대한 복분자 부위별 추출물의 섭식독성을 비교한 결과, 복분자 잎 추출물이 배추좀나방에 대해 가장 우수한 살충활성을 나타내었으며, 그 다음으로 복분자 줄기 추출물이 복숭아혹진딧물과 배추좀나방에 살충활성을 있음을 보여주었다.

Table 4. Toxicity of the methanol extracts derived from *R. coreanus* against three insect pests

복분자 부위	Concentration (ppm)	살충활성 ^{a)}		
		GPA	DBM	TCW
Leaf	5,000	-	++++	-
	2,500	-	+++	-
Fruit	5,000	-	-	-
	2,500	-	-	-
Stem	5,000	+	+	-
	2,500	+	+	-

^{a)} +++++, >90%; +++, 80-90%; ++, 61-80%; +, 40-60%; and -, <40%. GPA, *Myzus persicae*; DBM, *Plutella xylostella*; TCW, *Spodoptera litura*

IV. 적 요

복분자 딸기의 숙기별 단계를 미숙기(개화 후 10일), 등숙기(개화 후 25일)로 나누고 복분자 과실 성숙단계별 화학적 특징을 조사한 결과, 총 페놀함량은 미숙기 복분자 딸기 4.00-7.56%, 등숙기 복분자 딸기 3.38-5.57%였다. 복분자 딸기의 유기산으로는 미숙기와 등숙기 복분자 딸기에 모두 malic acid, citric acid, succinic acid 및 oxalic acid를 함유하고 있으며, 복분자 과실의 성숙단계별 총 유기산 함량은 미숙기 복분자 딸기 16.4 mg/100 g, 등숙기 복분자 딸기 28.82 mg/100 g으로 조사되었다. 복분자 과실에 함유된 유기산 중 citric acid 함량은 8.76-15.47 mg/100 g으로 다른 유기산 함량(1.23-5.54 mg/100 g)에 비해 가장 많은 비중을 차지하고 있었다. 복분자 미숙딸기와 완숙딸기에서의 가용성 당 함량은 과실의 성숙이 진행됨에 따라 증가하여 등숙기 복분자 딸기의 총 가용성 당은 21.54%로 미숙기의 복분자 딸기 11.07%보다 더 많이 함유하고 있었다. 이는 복분자 과실의 숙기단계별 화학적 특징 비교에 근거하여 총 페놀, 유기산 및 가용성 당 함량이 완숙상태에서 다량 함유하고 있음을 확인하였다. 복분자 잎, 열매, 줄기 등 부위별로 추출한 추출물을 이용한 농업해충 3종(복숭아혹진딧물, 배추좀나방 및 담배거세미나방)에 대한 살충활성을 본 결과, 복분자 잎 추출물이 배추좀나방에 대해 가장 우수한 살충효과의 잠재성을 나타내었다. 앞으로 이들의 구성성분을 이용한 바이오소재 연구가 필요할 것으로 사료된다.

References

1. Cha, H. S., M. S. Park, and K. M. Park. 2001. Physiological activities of *Rubus coreanus* Miquel. Korean J Food Sci Technol, 33(4): 409-415.
2. Cha, J. Y. and Y. S. Cho, 1997. Effects of hesperidin, naringin and their aglycones on the vitro assay phosphatidate phosphohydrolase, and on the proliferation in cultured human hepatocytes HepG2 cells. Agri. Chem. Biotech. 40: 577-582.
3. Cha, J. Y. and Y. S. Cho. 1999. Effect of potato polyphenolics on lipid peroxidation in rats. Korean J. Soc. Food Sci. Nutr. 28: 1131-1136.
4. Kalra, R. L. and R. P. Chawla. 1977. Evaluation of bioassay techniques for the detection of insecticide resistance on *Plutella xylostella*L. FAO Plant Protection Bull. 25: 85-87.
5. Kim, H. C. 1989. A comparative study on the health effect of *Rubus coreanus*. Master' degree. thesis. Kyunghee University.
6. Lee, H. S., G. J. Choi, K. Y. Cho, S. G. Lee, and Y. J. Ahn. 2000. Fungicidal and insecticidal activities of various grain extracts against five insect pests and six phytopathogenic fungi. Kor. J. Pestic. Sci. 4(3): 7-13.
7. Lee, J. W. and J. H. Do. 2000. Determination of total phenolic compounds from the fruit of *Rubus coreanus* and antioxidative activity. Korean J. Soc. Food Sci. Nutr. 29(5): 943-947.
8. Maxson, E. D. and L. W. Rooney. 1972. Evaluation of methods for tannin analysis in Sorghum grain. Cereal Chem. 49: 719-729.
9. Ohtani, K., C. Miyajima, T. Takahasi, R. Kasai, D. Tanaka, D. R. Hahn, and N. Naruhashi. 1990. A dimeric triterpene-glycoside from *Rubus coreanus*. Phytochemistry. 29: 3275-3280.
10. Papadopoulos, G. and D. Boskou. 1991. Antioxidant effect of natural phenols on olive oil. J. Am. Oil Chem. Soc. 68: 669-675.
11. Park, M. S. 2000. Studies on the physicochemical characteristics and physiological activities of *Rubus coreanus* miquel. Master' degree. thesis. Sungkyunkwan University.
12. Romero, R. M. A., O. M. L. Vazquez, H. J. Lopez, and L. J. Simal. 1992. Physical and analytical characteristics of the *Rubus idaeus* L.. J. Chroma. Sci. 30: 433-437.
13. Sawicki, R. M. and A. D. Rice. 1978. Response of susceptible and resistant, *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphididae) to insecticides in leaf dipping bioassay. Pestic. Sci. 9:513-516.
14. Tanaka, T., H. Kohda, O. Tanaka, F. H. Chen, W. H. Chou, and J. L. Leu. 1981. Rubusoside (β -D-glucosyl ester of 13-O- β -D-glucosyl-steviol), a sweet principle of *Rubus chingii* Hu (Rosaceae). Agric. Biol. Chem. 45: 2165-2170.