

## 감마선 조사에 의한 복분자 착즙액 에탄올 추출물의 색상 및 생리활성 변화

김희정<sup>1</sup> · 조철훈<sup>1</sup> · 김현주<sup>1</sup> · 신동화<sup>2</sup> · 손준호<sup>3</sup> · 변명우<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>한국원자력연구소 방사선식품·생명공학연구팀

<sup>2</sup>전북대학교 식품공학과

<sup>3</sup>대구한의대학교 화장품소재공학과

### Effects of Gamma Irradiation on Color Changes and Biological Activities of Ethanol Extract of a Mechanically Pressed Juice of Bokbunja (*Rubus coreanus* Miq.)

Hee-Jung Kim<sup>1</sup>, Cheorun Jo<sup>1</sup>, Hyun Joo Kim<sup>1</sup>, Dong-Hwa Shin<sup>2</sup>,  
Jun-Ho Son<sup>3</sup> and Myung-Woo Byun<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Radiation Food Science and Biotechnology Team, Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeonbuk 580-185, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Food Science and Technology, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea

<sup>3</sup>Dept. of Cosmeceuticals, Daegu Hanny University, Gyeongsan 712-715, Korea

#### Abstract

A mechanically pressed juice of *Bokbunja* (*Rubus coreanus* Miq.) extract was prepared using 70% ethanol solution. The extract was subjected to gamma-irradiation treatment (20 kGy) and investigated for its change of color and biological activities. Hunter L\* values of the irradiated *Bokbunja* extract were increased in comparison with the non-irradiated extracts, and the a\* and b\* values decreased by the irradiation treatment. The content of the total phenolic compounds in the non-irradiated and irradiated extracts were 58.4 and 56.5 mg/g, respectively. The 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activities of non-irradiated and irradiated extracts at a 250 ppm level were 80% and 79%, respectively. Lipid oxidation was retarded by addition of *Bokbunja* powder. Nitrite scavenging activity was the highest in the *Bokbunja* powder at pH 1.2 and the effect was not changed by irradiation. The *Bokbunja* powder showed antimicrobial activity against *Salmonella* Typhimurium and *Bacillus cereus*. However, irradiation of *Bokbunja* did not affect any physiological functions (p>0.05). A *Salmonella* mutagenicity assay indicated that the irradiated *Bokbunja* extract did not show any mutagenicity. Therefore, *Bokbunja* extract could be used in various applications as a functional material, such as ingredients of food and cosmetic, compositions with functions.

**Key words:** *Rubus coreanus* Miq., biological activity, gamma irradiation

#### 서 론

생약재는 우리나라를 비롯한 동양권에서 오랜 기간 질병 치료와 예방 목적으로 사용되어 왔으며, 생약재의 2차 대사산물들이 생체에 대한 생리활성을 나타내면서 많은 천연자원에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 복분자 딸기(*Rubus coreanus* Miquel)는 생약재의 하나로, 한방에서는 미숙과를 복분자(覆盆子)라고 하며 보간신(補肝腎), 명목(明目) 및 이뇨제의 효능이 있고, 정력 감퇴, 유정 및 빈뇨를 치료한다고 알려져 있으며 그 사용법으로는 미숙과를 물에 넣고 달여서 복용하거나 술에 담가 복용한다고 알려져 있다(1). 원산지로 알려진 중국에서는 미성숙 과실을 증기로 찌서 햇빛에 말려 강장제 등 약용으로 사용하고 있고, 일본의 경우 복분자와

유사한 품종을 70여종으로 분류하고 있다. 유럽과 미국 등에서는 *Rubus*속 식물의 열매를 raspberry류로 통칭하며 이 속에 속하는 식물은 400여종 이상이나 되지만 red raspberry, purple raspberry, black raspberry류로 대별하여 사용하고 있다.

복분자의 생리활성 성분에 대한 연구로는 우리나라의 경우 복분자 열매, 줄기, 잎의 phenolic 화합물 및 terpenoids 화합물에 대한 연구가 이루어졌다. 열매의 80% acetone 추출물에서는 가수분해성 tannin인 sanguin H-4와 H-6, gallic acid 등이 확인, 동정되었고(2), 줄기에서는 축합형 tannin으로서 epicatechin과 procyanidin H-4가 분리된 바 있으며(3), 잎의 phenolic 화합물에 관한 연구에서는 4종의 가수분해성 tannin과 4종의 flavonoids를 분리 동정한 바 있

\*Corresponding author. E-mail: mwbyun@kaeri.re.kr  
Phone: 82-63-570-3200. Fax: 82-63-570-3202

다(4). 복분자의 약리적인 연구로는 항암활성 및 면역증진효과(5), 항산화 및 항균효과(6), polyphenol의 superoxide기의 제거 작용과 xanthine oxidase의 억제 작용이 있음을 보고하였다(7). 이와 같이 다양한 약리작용을 지니고 있는 복분자를 이용한 가공제품 개발에 관한 기술적 연구는 술을 제외하면 국내에서 거의 이루어지지 않고 있으며, 최종제품에 복분자 자체를 이용하여 기능성 식품이나 화장품 등을 제조한 예는 보고되어 있지 않다. 그 이유 중의 하나는 복분자 고유의 진한 색상이 가공에 바람직하지 않기 때문으로 분석되고 있다.

한편, 방사선 조사는 모든 식품 및 소재의 부패방지, 제품의 안전성 및 보존성 향상의 효과가 보고되어 식품뿐만 아니라 제약, 의료 및 화장품과 같은 공중보건산물에 널리 사용되고 있다(8). 또한 감마선 조사기술은 잔류독성이 전혀 없고 식품 원래의 품질을 유지하면서 여러 가지 긍정적인 효과가 보고된 바 있고(9), 가공 공정 및 기능성 향상(10)까지 이용범위가 확대되고 있는 추세로, 앞으로도 식품 산업의 여러 분야에 효과적으로 활용할 수 있을 것으로 판단된다. 특히 최근에는 천연물 추출물에 감마선 조사를 응용하여 첨가제 등으로 사용하기에 바람직하게 색택을 밝고 투명하게 변화시키면서 본래 가지고 있던 생리활성은 유지할 수 있다는 연구결과가 보고되었으며(11), 이의 공중 보건 제품 소재로서 활용도 진행 중에 있다(12).

따라서 본 연구에서는 복분자 딸기를 식품이나 화장품의 기능성 소재로서 활용하기 위한 기초 자료를 마련하기 위해, 복분자 착즙액을 에탄올로 추출하여 감마선 조사한 후 색상 및 생리활성 변화를 보았다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용된 복분자(*Rubus coreanus* Miq.)는 2005년에 3~5월에 전북 고창에서 수확된 것을 실험에 사용하였다.

### 복분자 착즙액 제조, 추출 및 감마선 조사

복분자 착즙액은 복분자 열매만 분리한 후 착즙 및 여과하여 제조하였고, 추출은 복분자 착즙액과 70% 에탄올을 3:7 비율로 희석한 다음 간헐적으로 흔들며 추출한 후 에탄올 추출액 상태에서 감마선 조사를 하였다. 감마선 조사는 한국 원자력연구소 내 선원 10만 Ci의 Cobalt-60 감마선 조사 시설(point source AECL, IR-79, MDS Nordion International Co. Ltd., Ottawa, ON, Canada)을 이용하여 실온(14±1°C)에서 분당 83.3 Gy의 선량율로 0 및 20 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였다. 흡수선량 확인은 alanine dosimeter(5 mm, Bruker Instruments, Rheinstetten, Germany)를 사용하였다. Dosimetry 시스템은 국제원자력기구(IAEA)의 규격에 준용하여 표준화한 후 사용하였으며, 총 흡수선량의 오차는 2% 이내였다. 비조사구인 0 kGy는 동일한 온도효과를 얻기 위하여 감마선 조사시설 외부에 둔 후 조사 직후 처리구와

함께 4°C 냉장고에 저장하였다. 각 추출물은 감압농축(Rotary Vacuum Evaporator N-11, Rikakikai Co., Ltd., Tokyo, Japan)한 후에 동결건조(Vacuum Freeze Dryer, Model SFDSF12, Samwon Freezing Co., Seoul, Korea)하여 분말로 제조한 후 분석용 시료로 사용하였다. 또한, 추출된 분말을 이용하여 수율을 계산하였다.

### 복분자 추출액의 색도 측정

복분자 추출액의 감마선 조사와 비조사구의 색도변화를 측정하기 위해 추출물 10 mL를 quartz cell(CM A-98, 10 mm in width)에 옮기고 Color Difference Meter(Spectrophotometer CM-3500d, Minolta Co., Ltd., Osaka, Japan)를 이용하여 측정하였으며 Illuminant D65 10° 광원을 사용하였다. 기기는 측정 전 표준회광판과 표준백판으로 표준화한 후 사용하였으며 Hunter color L\*(명도, lightness), a\*(적색도, redness) 및 b\*(황색도, yellowness)를 측정하였다. 측정된 값은 Spectra Magic Software(version 2.11, Minolta Cyber Chrom Inc., Osaka, Japan)를 이용하여 기록하였다.

### 복분자 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량

복분자 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 화합물 함량은 Folin-Ciocalteu의 방법(13)을 사용하여 분석하였다. 복분자 추출물을 증류수로 녹여 최종농도를 1,000 ppm으로 하였고 각각의 시료 0.1 mL에 Folin-Ciocalteu's reagent(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 0.2 mL를 첨가하고 23°C에서 1분간 유지시켰다. 그 후 5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 3 mL를 가하여 23°C에서 1시간 방치 후 분광광도계(Shimadzu UV-1601PC, Osaka, Japan)를 사용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 gallic acid(Sigma)를 이용하여 검량곡선을 작성한 후 함량 계산에 활용하였다.

### 복분자 에탄올 추출물의 항산화효과

복분자 에탄올 추출물의 항산화효과는 전자공여능(electron donating ability)과 지질산패도(2-thiobarbituric acid reactive substance value, TBARS)를 이용하여 측정하였다.

복분자 에탄올 추출물의 전자공여능 측정은 Blois의 방법(14)에 준하여 각 추출물의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)에 대한 수소공여 효과로 측정하였다. 복분자 에탄올 추출물을 증류수로 녹여 최종농도를 100, 250 및 500 ppm으로 하였고, 일정 농도의 시료 1 mL에 0.2 mM DPPH용액(99% methanol)을 1 mL 가하고, 약 10초 동안 혼합하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. 이 반응액을 분광광도계(Shimadzu UV-1601PC, Osaka, Japan)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 다음과 같은 계산식에 의해 환산되었다.

$$\text{전자공여능(\%)} = [1 - (\text{시료첨가구의 흡광도} / \text{무첨가구의 흡광도})] \times 100$$

지질산패도(TBARS)의 측정은 분쇄돈육 5 g을 15 mL 증

류수를 첨가한 후 여기에 최종농도가 5,000 ppm인 복분자 에탄올 추출물 1 mL와 함께 균질기(DIAX 900, Heidoph Co., Ltd., Germany)를 사용하여 균질화하였다. 균질화된 시료를 37°C 항온수조에서 저장하면서 0, 60, 120 및 180분 후에 시료 1 mL를 취하여 2-thiobarbituric acid(TBA)/trichloroacetic acid(TCA) 용액(20 mM TBA in 15% TCA) 2 mL와 50 µL BHA를 혼합하고 90°C 수조에서 15분간 가열한 후 얼음물에서 10분간 냉각하였다. 반응용액을 원심분리기(VS-5500, Vision scientific Co., Seoul, Korea)를 이용하여 600×g에서 20분 동안 원심분리한 후 그 상등액을 분광광도계(UV 1600 PC, Shimadzu, Osaka, Japan)를 이용하여 532 nm에서 측정하였다. 대조구는 시료 대신 증류수를 사용하였다. 측정된 흡광도를 기준으로 표준곡선에 따라 TBARS 값을 mg malondialdehydes/kg meat로 계산하였다.

**복분자 에탄올 추출물의 아질산염 소거능 측정**

아질산염 소거능은 Kato 등(15)의 방법을 이용하여 시료 최종농도 10,000 ppm을 사용하여 측정하였다. 즉, 1 mM NaNO<sub>2</sub> 용액 1 mL에 준비된 복분자 에탄올 추출물 1 mL 첨가하고 여기에 0.1 N HCl(pH 1.2)과 0.2 M 구연산 완충액(pH 4.2, 6.0)을 사용하여 반응용액의 pH를 각각 1.2, 4.2 및 6.0으로 조정된 후 각 반응용액을 10 mL로 정용하였다. 각 반응용액은 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 1 mL를 취해 2% 초산용액 5 mL를 첨가한 다음 Griess 시약(1:1 solution of 1% of naphthylamine in 30% acetic acid) 4.0 mL를 가하여 잘 혼합한 후 실온에서 15분간 방치하였다. 반응용액을 분광광도계(Shimadzu UV-1601PC, Shimadzu, Osaka, Japan)를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 Griess reagent 대신 증류수를 가하여 측정하였으며, 아질산염 소거능은 아래의 식으로 나타내었다.

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

- A: 1 mM NaNO<sub>2</sub> 용액에 시료를 첨가하여 1시간 방치시킨 후의 흡광도
- B: NaNO<sub>2</sub> 용액의 흡광도
- C: 시료자체의 흡광도

**복분자 에탄올 추출물의 항균활성**

복분자 에탄올 추출물의 항균효과는 최소저해농도(minimum inhibitory concentration, MIC)를 이용하여 측정하였다. 대상균주는 *Bacillus subtilis*와 *Salmonella Typhimurium* 이었으며, 최소저해농도 측정을 위해 멸균된 배지에 일정농도의 복분자 에탄올 추출물을 첨가한 후 활성화시킨 미생물 배양액을 각각의 배지에 1%(v/v)씩 접종하였고, 48시간동안 배양한 후 표준천배양법을 이용하여 측정하였다. 이때 복분자 에탄올 추출물을 녹이기 위해 사용한 증류수 자체의 항균력을 배제하기 위하여 처리농도와 동일하게 증류수만을 첨가한 대조구를 설정하였다.

**복분자 에탄올 추출물의 돌연변이원성 시험**

시험방법은 Maron과 Ames의 방법(16)에 준하여 실시하였다. 시험에 사용된 균주는 *Salmonella Typhimurium* LT2를 친주로 하는 *S. Typhimurium* TA98과 TA100으로 한국 화학연구소 안전성센터에서 분양받아 형질을 확인한 후 사용하였다. 대사 활성을 위한 간 균질액(S9 fraction)은 Sprague-Dawley rat의 간으로부터 분리한 것으로 Oriental Yeast Co.(Tokyo, Japan)에서 구입하였으며, 5%(v/v)의 S9 mixture를 제조하여 사용하였다. S9 mixture는 0.5 mL/plate로 처리했으며, 그의 활성은 2-aminoanthracene(2-AA)의 돌연변이 유발로 확인하였다. 음성대조물질로는 시험물질의 조제에 사용한 DMSO(dimethyl sulfoxide)를 사용하였으며, 양성대조물질로는 4-nitroquinoline-1-oxide(4-NQO), sodium azide(SA) 및 2-AA를 Sigma사(St Louis, MO, USA)로부터 구입하여 이용하였다.

시험물질의 처리는 대사활성계를 적용(+S) 및 미적용(-S)하여 direct plate incorporation 방법으로 하였으며, 각 농도군당 2개 plate를 사용하였다. 시험물질 0.1 mL와 S9 mixture(또는 멸균 증류수) 0.5 mL에 nutrient broth에서 12시간 배양시켜 대수기(약 2×10<sup>9</sup> cells/mL)상태에 이르도록 한 균의 배양액 0.1 mL를 top agar에 혼합하여 minimal glucose agar plate에 부어 고화시킨 다음, 37°C에서 48시간 배양한 후 복귀돌연변이 집락수를 계수하였다.

시험결과는 복귀돌연변이 집락수의 평균과 표준편차로 나타내었으며, 돌연변이 유발성의 판정은 복귀변이 집락수가 용매 대조군의 2배 이상이면서 용량의존성을 갖는 경우를 양성으로 하였다.

**통계분석**

모든 실험은 3회 반복 실시하였으며, 얻어진 결과들은 SPSS software(17)에서 분산분석하고 유의성이 있는 경우, least square 평균값을 Duncan의 multiple range test를 통하여 평균 간의 유의성차를 확인하였다(p<0.05).

**결과 및 고찰**

**복분자 에탄올 추출물의 수율, 총 폴리페놀 화합물 함량 및 색도**

복분자를 에탄올로 추출하여 얻은 추출물의 수율 및 폴리페놀 화합물 함량은 Table 1에 나타내었다. 복분자 에탄올 추출물의 수율은 조사구와 비조사구 모두 1.02%로 같았으며, Do 등(17)은 복분자 열매의 물 및 에탄올 추출물의 수율이 각각 2.5%, 1.7%라는 결과보다 약간 낮았다. 이는 복분자 열매만을 이용하여 착즙, 여과하는 과정동안 껍질 등이 모두 제거되었기 때문이며 추출 용매에 따라 수율이 다르다는 것을 보여준다. 복분자 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 화합물의 함량은 비조사구와 조사구 각각 58.4 및 55.5 mg/g이었으며

**Table 1.** Extraction yield, Hunter color value, and total polyphenolic content of ethanol extract of a mechanically pressed juice of *Bokbunja*

Irradiation (kGy)	Yield (%)	Hunter color value				Polyphenolic content (mg/g sample)
		L*	a*	b*	$\Delta E^{1)}$	
0	1.02	16.6±0.01 <sup>b2)</sup>	49.5±0.01 <sup>a</sup>	27.8±0.01 <sup>a</sup>	59.2±0.01 <sup>b</sup>	58.4±4.70
20	1.02	91.0±0.01 <sup>a</sup>	1.9±0.01 <sup>b</sup>	18.7±0.01 <sup>b</sup>	92.9±0.01 <sup>a</sup>	56.5±1.02

<sup>1)</sup>  $\Delta E$ =Overall color difference [ $(\Delta L^*)^2+(\Delta a^*)^2+(\Delta b^*)^2$ ]<sup>1/2</sup>.

<sup>2)</sup> Different letters (a, b) within the same column differ significantly ( $p<0.05$ ).

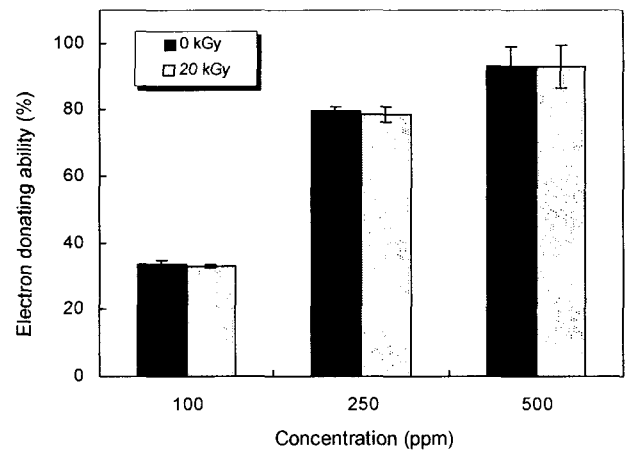
통계적으로 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다( $p>0.05$ ).

복분자 에탄올 추출물 감마선 조사전과 20 kGy 조사후의 색도를 측정 한 결과는 Table 1로 나타내었다. 조사 후 명도(L\*값)는 16.59에서 90.94로 증가한 것으로 나타나 상당히 밝은 색을 나타냄을 확인하였고, 적색도(a\*값)는 49.49에서 1.90로 급격히 떨어졌으며 황색도(b\*값)의 경우에도 27.82에서 18.69로 조사 후에 감소하였다( $p<0.05$ ). 이는 감마선 조사한 간장의 갈색도(18)가 없어진다는 보고와 감마선을 이용하여 유지 중의 잔류 클로로필을 제거할 수 있다는 보고(19)와도 유사한 경향을 나타내었다. 또한 총 색차( $\Delta E$ )에서도 수치적으로 큰 차이를 확인할 수 있었고, 육안으로 관찰하였을 때 조사 전에는 검붉은 색인 반면 조사 후에는 투명에 가까운 옅은 노란색을 나타내었다. Jeon 등(20)의 오미자 천연물 내에 색소성분으로 다량 존재하는 anthocyanin 색소가 감마선 조사에 의해 파괴되면서 적색도와 황색도가 감소되고 명도가 증가하였다는 보고와 비교해볼 때 anthocyanin이 다량으로 존재하는 것으로 알려진 복분자 에탄올 추출액이 조사 후에 적색도와 황색도가 감소되고 명도가 증가하는 결과와 일치하는 것으로 나타났다.

감마선 조사에 의해서 진한색상이 제거된 천연물질은 식품이나 화장품 등 산업적으로 유리하게 적용 가능하며, 천연물의 색소를 제거하기 위하여 기존의 복잡한 처리과정을 거치지 않기 때문에 시간과 비용을 절감할 수 있어서 천연물의 고부가가치화가 가능할 것이라 사료된다.

#### 복분자 에탄올 추출물의 항산화효과

전자공여작용은 활성 라디칼에 전자를 공여하여 연쇄반응을 중단시키고 식품 내 지질산화억제나 인체 내에서 노화를 억제하는 작용의 척도로도 이용되고 있다. 따라서 본 시험에서 환원성 물질의 분석시약으로 안정한 free radical인 DPPH를 이용하여 복분자 에탄올 추출물의 전자공여능을 측정하여 Fig. 1에 나타내었다. 감마선 조사 및 비조사 추출물 모두에서 시료의 농도가 높아질수록 DPPH에 대한 전자공여능도 증가하는 경향을 보였으며 감마선 조사에 의한 영향은 없었다. 이 결과는 페놀화합물의 전자공여능은 전반적으로 농도가 상승할수록 증가한다는 Kang 등(21)의 보고와도 일치하였다. 또한, Kim 등(22)의 국내산 생약 추출물의 전자공여능 측정결과와 비교하면, 300 ppm의 농도에서 작약(86.6%), 목단(80.4%) 및 오미자(85.7%) 등과 비슷한 결과를 나타내었다. 따라서 복분자 에탄올 추출물은 비교적 전자



**Fig. 1.** Electron donating ability (%) of irradiated ethanol extract of a mechanically pressed juice of *Bokbunja* at various concentrations ( $p<0.05$ ).

공여능력이 높고 천연항산화제의 이용가치가 있는 것으로 생각된다. 한편, Son 등(23)의 녹차추출물의 감마선 조사에서도 조사 전과 후에 전자공여능의 변화에 영향을 주지 않는 보고와 같은 경향을 보인다. Kim 등(24)은 감마선 조사된 curcumin을 NMR분석을 통해 구조 분석한 결과 조사된 curcumin 구조가 enol form을 형성하여 생리활성을 오히려 증가시킨다고 보고하였으며, 색상을 나타내는 화학구조와 기능성을 나타내는 구조, 즉 예를 들어 폴리페놀 구조는 감마선 감수성에서 차이가 있는 것으로 보인다(Data not shown).

복분자 에탄올 추출물이 지질산패에 미치는 영향을 알아보기 위해 분쇄돈육을 이용하여 저장시간에 따른 지질산패도를 측정하여 Fig. 2에 나타내었다. 육류의 지질 산화가 진행되면 malonaldehyde의 유리량이 증가하게 되고 여기에 TBA를 반응시키면 적색물질인 TBA색소가 생성된다. 이를 비색정량하여 TBARS값으로 나타내는데 이러한 TBARS 값은 육류의 지질산패도 측정법으로 자주 이용된다. 대조군(증류수처리구)과 복분자 에탄올 추출물에 따른 지질산패도는 복분자 에탄올 추출물 첨가(1%) 시 대조군보다 낮게 나타나 지질산패가 억제되었음을 확인하였다. Yoon 등(25)은 methanol을 용매로 사용하여 복분자에서 항산화물질로 동정된 3,4,5-trihydroxybenzoic acid와 3,4-dihydroxycinnamic acid가  $\alpha$ -tocopherol보다 항산화력이 높고 malnoaldehyde 생성억제효과가 있다고 보고한 내용과 유사하였다. 그리고 감마선 조사에 의한 변화는 유의적인 차이가 없는 것으로

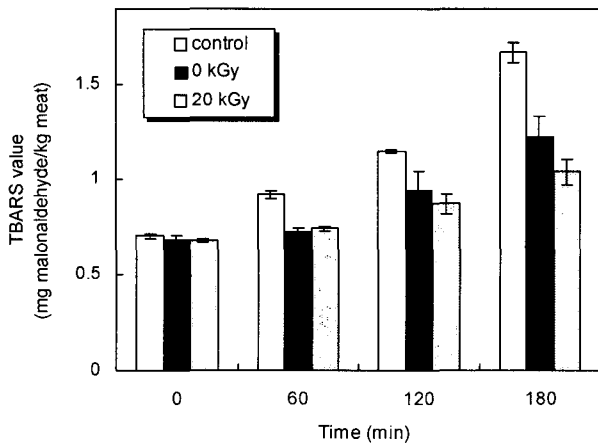


Fig. 2. 2-thiobarbituric acid reactive substance value (TBARS) of meat homogenate containing ethanol extract of a mechanically pressed juice of *Bokbunja* during incubation at 37°C (p<0.05).

확인되었다(p<0.05). 본 연구결과에서 보듯이 복분자 에탄올 추출물을 식육에 첨가 시 지방산화 억제효과가 있는 것으로 판단된다.

복분자 에탄올 추출물의 아질산염 소거능

아질산나트륨 용액에 복분자 에탄올 추출물을 일정농도 첨가하고 pH 조건을 각각 pH 1.2, 3.0 및 6.0으로 조정하여 아질산염에 대한 소거율을 측정된 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 이들 pH 범위는 인체내 위에서의 pH 변화를 고려하였으며, 각 pH 조건하에서 아질산염 소거율은 각각 51.1%, 8.3%, 7.6%로 나타나 pH 의존적인 아질산염 소거능을 보였고 감마선 조사에 의한 유의적인 차이가 없는 것으로 확인되었다 (p>0.05). 식물류 내의 페놀 화합물은 높은 아질산염 소거능을 나타내며(21), 아질산염은 식육제품에 첨가되어 발색제 및 보존제로 이용되고 있으나, 식품 중에 존재하는 amine류와 반응하여 발암물질인 nitrosamine을 생성하는데 이 과정은 pH가 낮은 조건에서 쉽게 일어나는 것으로 알려져 있다

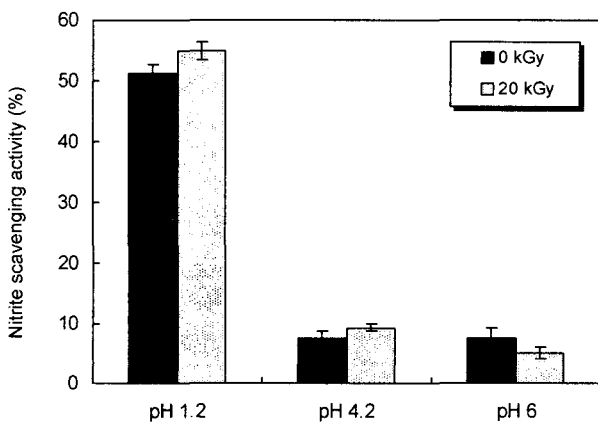


Fig. 3. Nitrite-scavenging ability (pH 1.2, 4.2 and 6.0) of ethanol extract of a mechanically pressed juice of *Bokbunja* (p<0.05).

(26). 니트로화(nitrosation)에 영향을 주는 nitrite는 nitrous acid(HNO<sub>2</sub>)를 형성하기 위해서 산성화되고 HNO<sub>2</sub>는 H<sub>2</sub>NO<sub>2</sub><sup>+</sup>으로 proton화되어 선택적으로 amide와 반응하여 nitrosamide를 형성한다. 이러한 산성화(acidification)과정 때문에 니트로화반응은 주로 생체 내 산성 위(acid stomach)에서 발생한다(27). 연구결과에 의하면, 아질산염 소거능이 인체의 위내 pH 조건과 비슷한 pH 1.2에서 가장 우수한 것으로 측정되어 복분자 에탄올 추출물은 생체 내에서도 효과적인 아질산염 소거작용을 통해 nitrosamine 생성을 억제할 것으로 생각된다.

복분자 에탄올 추출물의 항균효과

감마선 조사에 의한 복분자 에탄올 추출물의 농도별 *Bacillus cereus*와 *Salmonella Typhimurium*에 대한 항균효과를 Table 2에 나타내었다. 1,000 ppm의 복분자 에탄올 추출물은 *B. cereus*와 *S. Typhimurium*의 증식을 억제하지 못하는 것으로 나타났고 10,000 ppm 추출물은 *B. cereus*의 증식을 0.90~1.02 log CFU/mL, *S. Typhimurium*의 증식을 0.37~0.60 log CFU/mL 억제하였으며, 감마선 조사에 의한 유의적인 차이는 보이지 않았다(p<0.05). 따라서 *B. cereus*와 *S. Typhimurium*에 대한 복분자 에탄올 추출물의 항균효과는 감마선 조사 전과 후 동일하였으며, 추출물 10,000 ppm 이상에서 *S. Typhimurium* 및 *B. cereus*에 항균효과를 나타내었다. Park과 Chang(28)은 복분자 과육 농축액이 *B. cereus*, *S. aureus* 및 *S. Typhimurium*에 대하여 약 3.7~9.1%의 저해효과를 가지고 있다고 보고하였고, Ryan 등(29)은 *Rubus idaeus*로 제조한 복분자 주스가 *Salmonella*, *Shigella* 및 *E. coli*에 대해 항균활성이 있으며 곰팡이에는 효과가 없다고 보고하였으나 Cha 등(30)은 80% 메탄올로 추출한 복분자 추출물이 *E. coli*와 *S. Typhimurium*, *B. cereus* 중에서 *B. cereus*에서만 항균활성을 가지고 있다는 보고와는 다른 결과를 나타내었다. 이러한 결과들을 종합하여볼 때 사용한 복분자의 종류와 수확시기가 다르고 추출방법이나 추출 용매가 다르기 때문에 항균물질의 활성이 차이가 나는 것으로 생각된다.

복분자 추출물의 유전 독성학적 안전성 평가

감마선 조사한 복분자 에탄올 추출물의 유전 독성학적 안

Table 2. Inhibition of ethanol extract of a mechanically pressed juice of *Bokbunja* at different concentrations

Sample	Concentration (ppm)	Microorganisms (log CFU <sup>1)</sup> /mL)	
		<i>B. cereus</i>	<i>S. Typhimurium</i>
Control		8.77±0.08 <sup>2)</sup>	9.18±0.08
0 kGy	1000	8.94±0.01	9.07±0.15
	10,000	7.75±0.11	8.58±0.12
20 kGy	1000	9.08±0.23	9.13±0.08
	10,000	7.87±0.00	8.15±0.01

<sup>1)</sup>CFU: colony forming unit.

<sup>2)</sup>Mean±standard deviation (p<0.05).

Table 3. Revertant colonies in the *Salmonella* Typhimurium reversion assay of ethanol extract of a mechanically pressed juice of *Bokbunja*<sup>1)</sup>

Irradiation dose (kGy)	Dose ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	Number of revertant colonies (His <sup>+</sup> ) per plate			
		TA98 (-S9)	TA98 (+S9)	TA100 (-S9)	TA100 (+S9)
0	10000	21 $\pm$ 3 <sup>1)</sup>	37 $\pm$ 2	304 $\pm$ 13	417 $\pm$ 23
	5000	27 $\pm$ 9	22 $\pm$ 3	275 $\pm$ 17	410 $\pm$ 12
	2500	17 $\pm$ 2	24 $\pm$ 7	267 $\pm$ 10	370 $\pm$ 36
	1250	19 $\pm$ 2	21 $\pm$ 5	237 $\pm$ 4	371 $\pm$ 36
	625	13 $\pm$ 5	29 $\pm$ 9	264 $\pm$ 25	365 $\pm$ 4
20	10000	19 $\pm$ 2	30 $\pm$ 2	241 $\pm$ 26	273 $\pm$ 15
	5000	17 $\pm$ 1	17 $\pm$ 0	236 $\pm$ 8	282 $\pm$ 13
	2500	15 $\pm$ 5	21 $\pm$ 1	218 $\pm$ 26	408 $\pm$ 1
	1250	16 $\pm$ 0	22 $\pm$ 3	310 $\pm$ 10	320 $\pm$ 40
	625	21 $\pm$ 8	27 $\pm$ 11	289 $\pm$ 7	398 $\pm$ 1
Negative control	H <sub>2</sub> O	26 $\pm$ 1	16.5 $\pm$ 1	231 $\pm$ 22	360 $\pm$ 9
Positive control <sup>2)</sup>	4-NQO	1460 $\pm$ 283			
	2-AA			1193 $\pm$ 123	
	SA			1940 $\pm$ 57	
	2-AA			1209 $\pm$ 564	

<sup>1)</sup>Values are the mean $\pm$ standard deviation ( $p < 0.05$ ).

<sup>2)</sup>Abbreviations: 4-NQO, 4-nitroquinoline-1-oxide; SA, sodium azide; 2-AA, 2-aminoanthracene.

전성을 평가하기 위하여 *Salmonella* Typhimurium TA98 및 TA100 균주를 이용한 유전자 복귀돌연변이 시험(Ames test)을 시행하여 복귀변이 집락수를 조사한 결과는 Table 3에 나타내었다. 예비시험결과에 따라 모든 시료는 최대 포화농도인 10,000  $\mu\text{g}/\text{plate}$ 를 최고 농도로 설정하여 실험을 수행하였다. 현재 판정기준은 식품의약품안전청 기준으로 대사활성 유, 무에 관계없이 최소 1개 균주에서 평판당 복귀변이 집락수에 있어서 1개 이상의 농도에서 재현성이 증가를 나타낼 때 양성으로 판정한다. 본 실험을 보면 먼저 대사활성 부재시의 경우, 감마선 조사한 복분자 에탄올 추출물은 모든 시험균주에서 시험 적용 농도인 10,000  $\mu\text{g}/\text{plate}$ 까지의 농도에서 복귀변이 집락수의 농도 의존적인 증가 혹은 감소를 보이지 않았으며 용매 대조구와 비교해서도 차이를 보이지 않았다.

일반적으로 돌연변이원성의 판정은 음성대조구 복귀변이 집락수의 2배 이상인 경우를 양성으로 하므로 본 실험의 감마선 조사한 복분자 에탄올 추출물에 대하여 전 시험적용농도에서 복귀변이를 유발하지 않는 것으로 보아 감마선 조사에 의한 돌연변이원성은 없는 것으로 판단되었다. 따라서 감마선 조사된 복분자 에탄올 추출물이 직접변이원이나 간접변이원으로 작용하지 않음을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 유전독성학적 변이원성시험에서 쇠고기의 감마선 조사가 돌연변이를 유발하지 않았다는 Kang 등(31)의 결과와 감마선 조사가 생약재가 유전독성학적으로 안전하다는 Jo 등(32)의 보고와도 잘 일치하였다. 따라서 10,000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  이하 복분자 에탄올 추출물은 독성을 일으키지 않으므로 식품 및 화장품의 소재로서 적합할 것이라 사료된다.

이상의 결과를 종합한다면 복분자 에탄올 추출물은 항산

화, 항균 및 아질산염소거능 등의 기능을 가진 천연 소재로 감마선 조사에 의한 여러 생리활성의 변화를 나타내지 않고 색택이 개선되어 감마선 조사기술을 이용한다면 산업적으로 활용도가 높은 천연소재를 제조할 수 있으리라 생각된다.

## 요 약

본 연구에서는 복분자 착즙액을 에탄올로 추출하여 감마선 조사(20 kGy)한 후 색상 및 생리활성의 변화를 살펴보았다. 복분자 에탄올 추출물의 감마선 조사에 의한 색도변화는 명도(L\*)의 경우 조사 후에 증가한 반면, 적색도(a\*) 및 황색도(b\*)의 경우에는 감소하였다. 복분자 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 화합물의 함량은 비조사구와 조사구 각각 58.4 및 56.5 mg/g으로 조사후의 유의적인 차이는 없었다. 전자공여능은 복분자 에탄올 추출물 250 ppm 이상의 모든 시료에서 80%이상의 활성을 나타내었으며 추출물(1%)을 돈육에 적용하여 저장시간에 따른 지질산패도를 TBARS로 측정된 결과 추출물을 첨가 시 지질산패도를 억제하는 것으로 확인하였다. 아질산염 소거능도 pH 1.2, 4.2 및 6.0에서 각각 51.1%, 8.3% 및 7.6%로 나타났으며 전자공여능, 지질산패억제 및 아질산염 소거능 모두 조사에 의한 변화는 관찰되지 않았다. 복분자 에탄올 추출물에 대한 항균활성은 농도에 따른 생육 저해효과를 측정된 결과 10,000 ppm에서 *B. cereus* 및 *S. Typhimurium*의 생육이 억제되었으며 Ames test를 이용한 복귀돌연변이 시험에서는 10,000  $\mu\text{g}/\text{plate}$ 이하일 때 복분자 에탄올 추출물의 돌연변이원성이 나타나지 않는 것으로 확인되었다. 따라서, 복분자 추출물에 감마선 조사기술을 이용한다면 산업적으로 활용도가 높은 천연소재를 제조할 수 있

으리라 사료된다.

## 문헌

- Bae GH. 2000. *The Medicinal Plants of Korea*. Kyohak Publishing Co., Seoul. p 231.
- Bang GC. 1996. Tannins from the fruits of *Rubus coreanum*. MS Thesis. Chungang University, Ansung.
- Lee YA. 1995. Tannins from *Rubus coreanus*. *Kor J Pharmacogn* 26: 27-35.
- Chou WH, Oinaka T, Kanamaru F, Mizutani K, Chen FH, Tanaka O. 1987. Diterpene glycoside from leaves of Chinese *Rubus chingii* and fruits of *R. suavisissimus* and identification of the source plant of the Chinese folk medicine Fu-pen-zi. *Chem Pharm Bull* 35: 3021-3024.
- Lee MK, Lee HS, Choi GP, Oh DH, Kim JD, Yu CY, Lee HY. 2003. Screening of biological activities of the extracts from *Rubus coreanum* Miq. *Korean J Medicinal Crop Sci* 11: 5-12.
- Cha HS, Park MS, Park MS, Park KM. 2001. Physiological activities of *Rubus coreanus* Miquel. *Korean J Food Sci Technol* 33: 409-415.
- Kim HC, Lee SI. 1991. Comparison of functional effects of geni *Rubus*. *J Herb* 6: 3-11.
- Byun MW. 1994. Application of irradiation techniques to food industry. *Radioisotope News* 9: 32-37.
- Thayer DW. 1990. Food irradiation: Benefits and concerns. *J Food Quality* 13: 147-169.
- Lee JW, Yook HS, Cho KH. 2001. The change of allergenic and antigenic properties of egg white albumin (*Gal dl*) by gamma irradiation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 500-504.
- Jo C, Son JH, Byun MW. 2003. Irradiation application for color removal and purification of green tea leaves extracts. *Radiat Phy Chem* 66: 179-184.
- Jo C, Jeong IY, Cim DS, Son JH, An BJ, Choi JS, Byun MW. 2005. Comparison of the biological activity between a radiation processed natural extract and a commercial counterpart for an industrial applization. *Food Engineering Progress* 9: 177-181.
- Gao X, Bjork L, Trajkovski V, Uggla M. 2000. Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extracts in different test system. *J Sci Food Agric* 80: 2021-2027.
- Blois MS. 1958. Antioxidant activity determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialzable melanoidins. *Agric Biol Chem* 51: 1333-1336.
- Maron DM, Ames BN. 1983. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat Res* 113: 173-215.
- Do JR, Kim KJ, Jo JH, Kim YM, Kim BS, Kim HK, Lim SD, Lee SW. 2005. Antimicrobial, antihypertensive and anticancer activities of medicinal herbs. *Korean J Food Sci Technol* 37: 206-213.
- Song TH, Kim DH, Park BJ, Shin MG, Byun MW. 2001. Changes in microbiological and general quality characteristics of gamma irradiated *Kanjang* and *Shoyu*. *Korean J Food Sci Technol* 33: 338-344.
- Byun MW, Jo C, Lee KH, Kim KS. 2002. Chlorophyll breakdown by gamma irradiation in model system containing linoleic acid. *J Am Oil Chem Soc* 79: 145-150.
- Jeon TW, Park JH, Shin MG, Kim KH, Byun MW. 2003. Effects of gamma-irradiation on biological activities and color changes of extracts of *Schizandrae fructus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 137-142.
- Kang YH, Park YK, Lee GD. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenol compounds. *Korean J Food Sci Technol* 28: 232-239.
- Kim HK, Kim YE, Do JR, Lee YC, Lee BY. 1995. Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medical plants. *Korean J Food Sci Technol* 27: 80-85.
- Son JH, Jo C, Kim MR, Kim JO, Byun MW. 2001. Effect of gamma irradiation on removal of undesirable color from green tea extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 1305-1308.
- Kim JK, Jo C, An BJ, Son JH, Byun MW. 2005. Change of chemical structure and antioxidant activity of gamma irradiated curcumin P167. International Symposium and Annual Meeting of the Korean Society for Applied Biological Chemistry. Nov. 3-4, Jeju, Korea.
- Yoon I, Cho JY, Kook JH, Wee JH, Jang MY, Ahn TH, Park KH. 2002. Identification and activity of antioxidative compounds from *Rubus coreanum* fruit. *Korean J Food Sci Technol* 34: 898-904.
- Gray JI, Dugan Jr LR. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. *J Food Sci* 40: 981-984.
- Mirvish SS. 1975. Formation of N-nitroso compounds: Chemistry, kinetics, and *in vivo* occurrence. *Toxicol Appl Pharmacol* 31: 325-351.
- Park YS, Chang HG. 2003. Lactic acid fermentation and biological activities of *Rubus coreanus*. *Korean J Soc Agric Chem Biotechnol* 46: 367-375.
- Ryan T, Wilkinson JM, Cavanagh HMA. 2001. Antibacterial activity of raspberry cordial *in vitro*. *Res Vet Sci* 71: 155-159.
- Cha HS, Park MS, Park KM. 2001. Physiological activities of *Rubus coreanus* Miquel. *Korean J Food Sci Technol* 33: 409-415.
- Kang IJ, Kwak HJ, Lee BH, Kim KH, Byun MW, Yook HS. 1998. Genotoxicological and acute toxicological safeties of gamma irradiated beef. *Korean J Food Sci Technol* 30: 775-780.
- Jo SK, Yook HS, Byun MW. 1997. Genotoxicological safety of the gamma irradiated medicinal herbs in the *Salmonella typhimurium* reverse assay. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 958-964.

(2005년 11월 14일 접수; 2006년 2월 14일 채택)