

한약탕제찌꺼기 발효퇴비 처리에 따른 복분자과실의 생리활성

김성조, 김재영, 백승화^{1*}원광대학교 식품·환경학과, ¹충북도립대학교 바이오식품생명과학과Effect of Composts Fermented with Korean Medicinal Herb Wastes on Physiological Activity of *Rubus coreanus* Miquel (*Bokbunja*)Seong Jo Kim, Jae Young Kim and Seung Hwa Baek^{1*}

Department of Food and Environmental Sciences, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

¹Department of Biofood Science and Biotechnology, Chungbuk Provincial University, Okcheon 373-806, Korea

Abstract - Fermented compost made from medicinal herb wastes (MHWC) as an environment-friendly manure resource was applied to determine physiological activities of *Rubus coreanus* Miquel (*Bokbunja*). MHWC, poultry manure compost (PMC), and MHWC+PMC (1:1, w/w) were applied to 2 year-old *Bokbunja* plant at levels of 0, 20, 40 Mg/ha, respectively. Physiological activities of *Bokbunja* were investigated at 15, 20 and 25 days after flowering (DAF). Content of total phenolics in fruit was high in order of 25 > 20 > 15 DAF, showing highest value in fruit treated with MHWC at 40 Mg/ha. The flavonoid level showed same pattern to total phenolics. Electron donation abilities at fruits at 15 and 20 DAF were higher than at 25 DAF. Nitrite scavenging ability (NSA) was increased on in order of pH 1.2 > 4.2 > 6.0. NSA in fruit at 15 and 20 DAF was higher than at 25 DAF. Tyrosinase inhibition ability at fruits treated with MHWC showed the highest value among all composts. Xanthine oxidase inhibition ability in fruit treated with MHWC at 25 DAF was the highest. In conclusion, physiological activities of *Rubus coreanus* Miquel (*Bokbunja*) were improved in MHWC group.

Key words - *Rubus coreanus* Miquel (*Bokbunja*), Medicinal herb waste compost, Poultry manure compost, Physiological activities

서 언

국내에서 장미과(*Rosaceae*) Rubus속 식물은 10종 이상이 자생하며, 대표적으로 복분자(*R. coreanus*), 산딸기(*R. crataegifolius*), 줄딸기(*R. pungens* var. *oldhami*) 등이 있다(Nam *et al.*, 2007). 이 중 복분자는 국내 뿐 아니라 일본, 중국 등 동아시아에 널리 분포하여, 일본의 경우 70여종, 유럽과 미국 등 서구에서는 red raspberry, purple raspberry, black raspberry 등 400여종으로 분류하고 있다(Yang *et al.*, 2007).

복분자는 고문헌에 따르면 강장제, 양위, 유정, 한설, 유뇨, 소변과다, 불임 등에 이용되어 한방과 민간에서 약용으로 이용되어지고 있다(Li, 1973). 약제로서 복분자는 미숙

과를 이용하는데 최근 연구에 의하면 간 손상을 보호하며, 눈을 밝게 하고, 혈액을 맑게 하며, 이노제, 성기능 촉진제 및 발모촉진 등의 효과가 있다 알려져 있고(Jeong *et al.*, 2007), phytochemical을 함유하고 있어 항산화, 항암에 뛰어나며(Park and Chin, 2007), 항염활성을 보여 주는 성분으로 niga-ichigoside F₁ 및 그 비당체인 23-hydroxytormentonic acid 성분이라고 밝혀졌다(Choi *et al.*, 2003). 복분자의 생리활성은 주로 페놀성 화합물에 기인한 전자공여효과, 아질산염 소거효과, tyrosinase 저해 효과 및 xanthine oxidase 저해효과 등이 높아 약용 뿐 아니라 식용으로 건강증진 및 유지의 목적으로 수요가 급증함에 따라 안정적 공급을 위한 재배법과 고품질 다수성 품종 육성을 위한 연구가 체계적으로 필요한 실정이다(Kang *et al.*, 1995; Park *et al.*, 2004).

2005년 복분자 재배면적 조사에 의하면 전국적으로 생

*교신저자(E-mail) : Jinho@cpu.ac.kr

산량이 가장 높은 고창, 순창, 정읍 등 전북지역의 5,864 농가가 1,750 ha, 그 뒤를 이어 경남 125 ha, 전남 104 ha 등으로 전국에 7,742 농가가 2,197 ha를 재배하고 있고, 복분자의 육종기술 발전 및 기능성이 밝혀짐에 따라서 이의 선호도가 날로 높아짐에 힘입어 매년, 많은 농가의 재배면적의 확대로 생산이 증가하고 있다(Korea National Statistical Office, 2005).

유기물, 미생물 및 천연자재를 이용한 유기농업의 경우 생산성이 낮으나 약용작물을 재배 할 경우 생리활성 물질의 함량이 증가할 것으로 생각된다. 또한, 작물의 생산량 증대를 위해 발효시킨 퇴비를 사용하면 토양미생물의 영양원으로 이용될 뿐 아니라 식물생장을 조장하여 생산력 증대에 큰 효과를 줄 것으로 생각된다(Kim *et al.*, 2010).

한편 국내 소비되는 한약재는 2007년 기준으로 국내 생산량이 약 6만여 톤, 수입된 한약재가 약 7만 7천여 톤 이어서 약 14만여 톤이 유통되고 있다(Ministry for Health, Welfare and Family Affairs, 2009). 이들 한약재는 탕제로 대부분 이용되며, 탕제 후 나오는 찌꺼기들의 일부는 분재비료로 쓰이기도 하나 대부분 폐기되고 있는 실정이다(Lee *et al.*, 2005). 폐기처리에 있어 상당한 비용이 소요될 것이며 그대로 폐기하는 것은, 찌꺼기에 여전히 남아있는 영양성분의 낭비가 될 수 있어 재활용이 가능하다면 환경보호 측면과 경제적 면에서 효율적으로 이용 될 것이다. 이러한 유기물자원의 하나인 한약탕제찌꺼기를 발효시킨 퇴비로 약용 및 식용으로 수요가 증가된 복분자를 재배한다면 폐자원의 재활용 뿐 아니라 복분자의 품질 및 수량증대에 기여 할 것으로 생각된다.

따라서 본 연구에서는 식약용 자원으로 널리 이용되는 복분자의 재배에 친환경 퇴비자원으로서 한약탕제찌꺼기 발효퇴비를 처리하여 수확한 복분자 과실의 총 페놀성 화합물, Flavonoid, DPPH-전자공여능, 아질산염 소거능, Tyrosinase 저해효과, Xanthine oxidase 저해활성 등을 조사한 결과를 보고한다.

재료 및 방법

발효퇴비제조 및 처리방법

통성혐기성 발효장치는 외부에 열선을 부착한 유효용량이 15 L(총용량 25 L)인 아크릴로 제작하였으며, 한약탕제찌꺼기(수분함량 : 약 60%)를 채워 발효시키는 동안 55°C로 품온을 유지하고자 1일 1회 섞어주기를 하여 90일간 발효하였다.

퇴비의 처리는 전북 고창군 해리면에 소재하는 포장 내에 시험구당 면적 5.25 m²(0.5 × 11.5 m)에 2년생 복분자(*R. coreanus*) 나무를 재식주수 7주로, 재식거리 50 × 100 cm로 하여 무처리(UC: Untreated control) 1개 군, 한약탕제찌꺼기발효퇴비(MHWC: Medicinal herb waste compost), 계분퇴비(PMC: Poultry manure compost), MHWC+PMC(1:1, w/w)를 각각 20, 40 Mg/ha로 처리한 6개 군 등, 총 7개 군으로 임의 배치 3반복 처리하였다.

퇴비 및 재배포장 토양분석

시험에 사용한 퇴비의 화학적 특성 및 중금속 함량은 Table 1에 나타내었으며, 처리 전 토양을 채취하여 토양 특성 분석을 한 결과는 Table 2와 같다. 퇴비 및 토양의 화학적 특성은 토양 및 식물체 분석법(NIAST, 2000)에 준하여 분석하였다. 즉, 포장 내 토양의 표토를 채취하여 음건한 토양을 시료로 사용하여 pH와 EC는 초자전극 및 전기전도도법(토양/증류수, 1:5), 유기물은 Tyurin법, 전질소는 Kjeldahl 증류법, 유효인산은 Lancaster법, 치환성양이온은 1 N ammonium acetate (pH 7.0) 침출법을 이용하였다. 퇴비의 pH는 초자전극법(퇴비/증류수, 1:5), 탄소함량은 회화법, 질소함량은 micro-Kjeldahl법, 인산, 칼리, 석회, 고토는 H₂SO₄-HClO₄ 습식분해법을 이용해 인산은 Vanadate 법으로 spectrophotometer(V-560, Jasco, Japan)를 이용하여 비색 정량하였고, 칼리, 석회, 고토는 ICP(Integra XL, GBC, Australia)를 이용하여 분석하였다. 토양 및 퇴

Table 1. Chemical properties and heavy metal contents of composts used in the experiment

Composts	pH (1:5)	T-C	T-N	%						mg/kg				
				P ₂ O ₅	K ₂ O	CaO	MgO	Na ₂ O	C/N	Pb	Cd	Ni	Cu	Zn
MHWC ¹	4.17	45.49	1.41	0.17	0.43	0.38	0.11	0.02	32.26	0.00	0.13	0.95	2.27	11.27
PMC	8.58	37.31	2.18	2.01	1.98	1.60	0.50	0.15	17.11	3.23	0.37	3.01	152.64	141.80

¹MHWC : Medicinal herb waste compost, PMC : Poultry manure compost.

Table 2. Chemical properties of the soil used in the experiment

pH (1:5)	EC (1:5) ds/m	OM %	T-N	Av. P ₂ O ₅	Cd	Pb	Ni	Cu	Zn	Exchangeable cations			
										K	Ca	Mg	Na
5.44	0.170	1.648	0.129	591.60	0.35	1.43	6.99	7.26	49.68	0.765	3.326	1.284	0.114

비의 중금속의 분석은 Cao *et al.*(1984)의 방법에 의해 추출하여 AAS(Atomic absorption spectrometer FS-220, Varian, Australia)를 이용하여 Pb, Cd, Ni, Cu, Zn을 분석하였다.

시료의 조제

각 퇴비를 처리하여 성장한 복분자의 꽃이 첫 개화한 시기를 기점으로 15, 20, 25 Days after flowering(DAF)을 수확시기로 하여 수확한 과실을 동결 건조하여 분쇄한 후 시료로 사용하였다. 추출물의 조제는 동결 건조한 복분자 1 g을 50 mL의 80% ethanol용액(v/v)에 현탁시켜 80°C에서 2시간 환류 추출 후 여과하였다. 여과액은 유기용매가 완전히 휘발될 때까지 회전감압농축하고 13,000 rpm으로 15 min. 동안 원심분리(RC-5C, E. I. Dupont, USA)하여 50 mL로 정용한 후 1 mL씩 microtube에 나누어 냉동 보관하였다.

총 페놀 함량

총 페놀성 화합물 함량은 Folin-Ciocalteu's법(Slinkard and Singleton, 1977)에 따라 측정하였다. 추출물 0.1 mL에 증류수 8.4 mL와 2배 희석한 Folin-Ciocalteu's 시약(v/v, Sigma, USA) 0.5 mL를 가하여 혼합하고 3분 후 10% Na₂CO₃ 용액(w/v) 1 mL를 넣어 진탕시킨 후 1시간 실온에서 방치한 후 725 nm에서 spectrophotometer(V-560, Jasco, Japan)를 이용하여 비색정량 하였다. 표준곡선은 gallic acid(Sigma, USA)를 이용하여 작성하고 이로부터 총 페놀성 화합물 함량을 구하였다.

총 Flavonoid 함량

Flavonoid 함량은 Davis법을 변형한 방법(The Korean Society of Food Science and Nutrition, 2000)을 이용해 측정하였다. 추출물 10 mL를 40 mL의 75% methanol 용액(v/v)에 가하여 실온에서 150 rpm으로 15시간 진탕 추출한 후 3,000×g로 10 min. 원심분리(RC-5C, E. I.

Dupont, USA)하고 그 상등액 1 mL를 시험관에 취하여 10 mL의 diethylene glycol을 가한 후 잘 혼합하였다. 여기에 0.1 mL의 1 N NaOH 용액(w/v)을 잘 섞어 37°C의 수조에서 1시간 반응시킨 후 420 nm에서 spectrophotometer(V-560, Jasco, Japan)를 사용하여 비색정량 하였다. 공시험은 시료 용액 대신 50% methanol 용액(v/v)으로 반응시켰으며, 표준곡선은 rutin(Sigma, USA)을 이용하여 작성하고 이로부터 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

DPPH-전자공여능

전자공여능은 DPPH법(Fujita *et al.*, 1988)에 따라 측정하였다. 0.2 mL의 추출물에 0.8 mL의 0.4 mM DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; Sigma, USA) 무수 ethanol 용액(w/v)을 가한 후 10초간 진탕하고 실온에서 10분간 방치 후 spectrophotometer(V-560, Jasco, Japan)를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여 효과는 시료첨가구와 첨가하지 않은 경우의 흡광도를 아래식에 따라 백분율(%)로 나타내었다.

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

A : Absorbance of sample

B : Absorbance of blank

아질산염 소거능

아질산염 소거능은 Kato *et al.*(1987)의 방법에 따라 측정하였다. 각각의 시험관에 2 mL의 1 mM NaNO₂ 용액(w/v)과 1 mL의 추출물을 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. 이 용액을 시험관에 1 mL씩 취한 후 5 mL의 2% acetic acid 용액(v/v)과 0.4 mL의 griess 시약을 가한 후 실온의 암소에서 15분간 방치 후 spectrophotometer(V-560, Jasco, Japan)로 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존

하는 아질산염량을 구하였다. Griess 시약의 조제는 사용 직전에 sulfanilic acid와 naphthylamine(Sigma, USA) 을 각각 1 g씩 칭량 하여 무수 acetic acid으로 용해시킨 후, 30% acetic acid가 되도록 증류수로 희석하여 100 mL 로 정용하였다. 아질산염 소거율은 다음 식을 이용하여 백 분율로 나타내었다.

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

A : 1 mM NaNO₂ 용액과 1시간 반응한 시료의 흡광도
 B : 1 mM NaNO₂ 용액과 1시간 반응한 증류수의 흡광도
 C : 시료 자체의 흡광도

Tyrosinase 저해효과

Tyrosinase 활성 저해능은 Yagi(1987)와 Jung *et al.* (1995)의 방법에 준하였다. 시험관에 0.2 mL의 0.175 M phosphate buffer solution(pH 6.8), 0.2 mL의 5 mM L-3,4-dihydroxyphenylalanine solution(w/v, L-DOPA, Sigma, USA) [0.175 M phosphate buffer solution(w/v, pH 6.8)] 및 0.5 mL의 복분자 추출액을 넣어 혼합한 후에 0.1 mL의 mushroom tyrosinase solution(w/v, 110 unit/mL, Sigma, USA) [0.175 M phosphate buffer solution(w/v, pH 6.8)]을 첨가하여 35°C에서 2분간 반응시킨 후 475 nm 에서 spectrophotometer(V-560, Jasco, Japan)를 이용하여 흡광도를 측정한 후 다음과 같은 식으로 저해율을 구 하였다.

$$\text{Tyrosinase의 활성 저해율(\%)} = (1 - \frac{S_{Abs} - B_{Abs}}{C_{Abs}}) \times 100$$

S_{Abs} : 추출시료의 흡광도
B_{Abs} : 효소액 대신에 증류수 0.1 mL를 첨가하여 측정한 흡광도
C_{Abs} : 추출시료 용액 대신에 증류수 0.5 mL를 첨가하여 측정한 흡광도

Xanthine oxidase 저해활성

Xanthine oxidase 저해 활성은 Stirpe and Corte(1969)의 방법에 준하여 측정하였다. 시험관에 0.2 mL의 기질 2 mM xanthine solution(w/v, Sigma, USA), 0.6 mL의 0.1 M potassium phosphate buffer solution(w/v, pH

7.5)과 0.1 mL의 복분자 추출물을 섞은 후 0.1 mL의 xanthine oxidase(0.2 unit/mL, Sigma, USA) solution (w/v) [0.1 M potassium phosphate buffer solution (w/v, pH 7.5)] 을 가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 후 1 mL의 1 N HCl solution(v/v)을 가하여 반응 정지액을 spectrophotometer(V-560, Jasco, Japan)를 이용하여 292 nm에서 흡광도를 측정하였다. Uric acid의 생성량을 백분율로 계산하여 xanthine oxidase 저해율을 다음과 같이 구하였다.

$$\text{Xanthine oxidase 저해율(\%)} = (1 - \frac{\text{시료구의 uric acid 생성량} - \text{시료구의 Blank}}{\text{대조구의 uric acid 생성량}}) \times 100$$

통계처리

분석항목에 대한 실험은 3회 반복 하였고, 얻은 결과 들을 Excel software(Microsoft, USA)을 사용하여 평균, 표준오차 및 그래프를 작성하였다. 또한 One way ANOVA에 의해 p<0.05에서 유의차가 있는 항목에 대해서는 Duncan's multiple range test로 구간 유의차를 검증 하였다.

결과 및 고찰

총 페놀 및 플라보노이드 함량

Fig. 1은 복분자 과실의 수확시기별 총 페놀성 화합물 함량 변화로써 15 DAF에서는 각 처리구별 페놀 함량의 변화가 나타나지 않았다. 20 DAF에서는 처리량에 따른 유의 성 있는 증가를 보여 20 MHWC Mg/ha에서 3.07%인 반면, 40 MHWC Mg/ha에서는 3.43%로 증가하였으며, 20 MHWC+PMC Mg/ha에서 3.30%, 40 MHWC+PMC Mg/ha 에서 3.63%로 증가하였다. 또한, 25 DAF에서는 퇴비 종류 에 따른 증가 경향을 나타내었는데 MHWC 처리구 4.14-4.27%로 PMC 처리구 3.77-3.91%, MHWC+PMC 처리구 3.62-3.96%에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다(p<0.05). 수확시기별 차이는 15<20<25 DAF 순으로 Cha *et al.* (2007)의 연구에서 중간숙과<미성숙과<완숙과 순의 결 과와는 차이가 있었다. 또한, Cha *et al.* (2001)의 보고와 도 차이가 있었다. 그러나 Wang *et al.* (2000)에 따르면 red raspberry는 품종에 따라 차이는 있지만 미숙과로부

터 완숙됨에 따라 0.15-0.22 g에서 0.21-0.26 g으로 총 폴리페놀 화합물 함량이 증가하는 것으로 보고한 결과와 유사하였다.

Flavonoid는 항알리지성, 항암성, 항바이러스성, 항염성 등 다양한 생리활성 기능을 보유하고 있어 복분자 과실에 함유량을 증가시킬 수 있는 방안으로서 유기질원을 달린한 MHWC, PMC 및 MHWC+PMC를 처리하여 수확한 과실의 flavonoid 함량을 분석하였다. Fig. 2는 복분자 과실의 수확시기별 플라보노이드 함량 변화로써 Fig. 1의 총 페놀성화합물 함량과 유사한 경향을 보였다. 15 DAF에서 20

MHWC Mg/ha 처리 시 UC와 비슷한 경향이나, 40 MHWC Mg/ha 처리 시 1.62%가 증가되었다. 또한, 20 DAF에서도 20 MHWC Mg/ha 처리 시 UC와 비슷한 경향이였으며 40 MHWC Mg/ha에서도 1.44% 증가하였다. 25 DAF에서는 MHWC 처리가 UC에 비해 2.98-3.54% 증가되어 PMC 처리 시 보다 2.75-3.45% 증가되는 경향을 나타내었다.

Table 3의 각 수확 시기별 총 페놀함량을 합산한 평균 값은 모든 퇴비구가 UC보다 증가하는 경향을 나타내었으며 MHWC 40>MHWC+PMC 40>PMC 40>MHWC 20>MHWC+PMC 20=PMC 20>UC의 함량변화를 나타내었다.

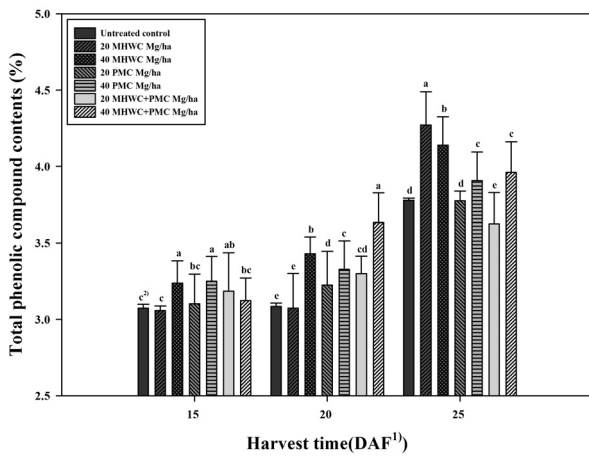


Fig. 1. Changes in content of total phenolics of *Rubus coreanus* Miquel during maturation by application of MHWC, PMC and MHWC+PMC. ¹DAF : day after flowering, ²a-e : Means with the same letter superscripts of histogram's are not significantly different at p<0.05 level by Duncan's multiple range test.

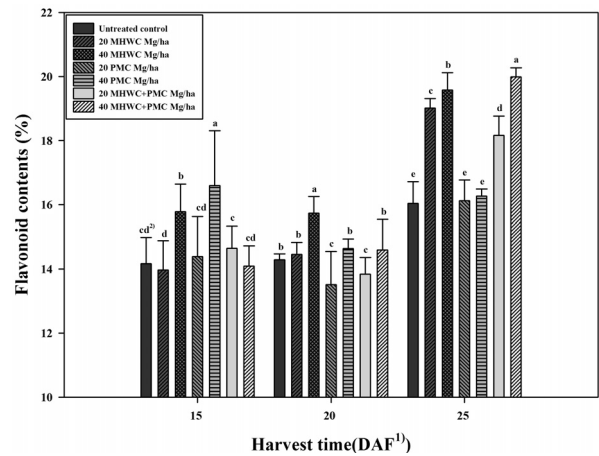


Fig. 2. Changes in flavonoid level of *Rubus coreanus* Miquel during maturation by application of MHWC, PMC and MHWC+PMC. ¹DAF : day after flowering, ²a-e : Means with the same letter superscripts of histogram's are not significantly different at p<0.05 level by Duncan's multiple range test.

Table 3. Physiological activities in *Rubus coreanus* Miquel by application of MHWC, PMC and MHWC+PMC during maturation

Composts ²	Treatment (Mg/ha)	TPCC ¹	FC	EDA			TIA	XIA
				Dry base, %				
	UC	3.31 ± 0.35ns ³	14.83 ± 0.93b	78.00 ± 1.83ns	31.67 ± 2.81b	28.80 ± 1.08ab		
MHWC	20	3.47 ± 0.60ns	15.81 ± 2.42ab	78.89 ± 3.24ns	39.01 ± 11.17ab	28.29 ± 2.97a		
	40	3.60 ± 0.41ns	17.03 ± 1.92a	77.78 ± 1.83ns	43.19 ± 9.81a	29.83 ± 2.22ab		
PMC	20	3.37 ± 0.31ns	14.68 ± 1.19b	79.84 ± 1.55ns	33.64 ± 4.84b	28.31 ± 1.77ab		
	40	3.50 ± 0.31ns	15.83 ± 0.95ab	79.09 ± 1.27ns	35.47 ± 7.03b	29.28 ± 0.75ab		
MHWC+PMC	20	3.37 ± 0.21ns	15.55 ± 2.00ab	79.28 ± 1.42ns	33.65 ± 2.18b	27.84 ± 2.03b		
	40	3.57 ± 0.37ns	16.22 ± 2.84ab	78.68 ± 2.07ns	37.76 ± 7.25ab	29.47 ± 0.59ab		

¹TPCC : Total phenolic compound content, FC : Flavonoid content, EDA : Electron donating ability, TIA : Tyrosinase inhibitory activity, XIA : Xanthine oxidase inhibitory activity, ²UC : Untreated control, MHWC : Medicinal herb waste compost, PMC : Poultry manure compost, MHWC+PMC : Medicinal herb compost 50% + Poultry manure compost 50%, ³Values are mean±standard deviation (n=9), ns : not significant, a-b : Means with the same letter in column are not significantly different at p<0.05 level by Duncan's multiple range test.

이는 유기질 퇴비의 처리량이 많을수록 폴리페놀의 함량이 증가하는 경향을 보인 결과이며, 동일 처리량에서 MHWC 처리구가 높은 결과를 나타내었는데, 이는 한약재찌꺼기에 함유된 다양한 생리활성 성분 분해물의 흡수가 쉬워 재이용률이 높아지기 때문에 다른 퇴비구 보다 함량이 증가한 것으로 생각된다. 이러한 결과는 Han *et al.* (2010)의 보고에서 울금의 총페놀성 화합물 함량이 대조구보다 증가된 원인을 한약부산물발효퇴비의 총페놀성 화합물 함량에 기인된 것으로 추정하는 바 있어 본 연구결과인 MHWC 처리구의 총페놀성 화합물 함량이 증가된 원인 역시 이와 유사한 것으로 생각된다.

Table 3의 15, 20 및 25 DAF 과실 중의 flavonoid 함량을 합산한 평균값은 20 PMC Mg/ha를 제외한 모든 처리구가 UC보다 증가하는 경향이었으며 이는 총 페놀성화합물 함량과 유사하였고 MHWC 40>MHWC+PMC 40>PMC 40>MHWC 20>MHWC+PMC 20>UC>PMC 20 순이었다. 즉, MHWC 처리로 총 flavonoid 함량이 증가된 원인은 총 페놀함량 증가원인과 일치하는 것으로 생각되었고, Han *et al.* (2010)의 한약부산물발효퇴비를 처리시 울금의 총 flavonoid 함량이 증가된 결과와 유사하였다.

DPPH-전자공여능

Fig. 3은 복분자 과실의 수확시기별 전자공여능 효과로서 15 및 20 DAF에서 각각 UC 79.85, 78.41%, MHWC 처리구 79.22-80.51, 78.70-81.48%, PMC 처리구 78.92-80.52, 80.55-81.17%, MHWC+PMC 처리구 80.33-81.38, 77.68-79.98%로 큰 차이가 나타나지 않았다. 그러나 25 DAF에서는 UC 75.75%, MHWC 처리구 74.67-75.40%, PMC 처리구 77.79-77.83%, MHWC+PMC 처리구 76.97-77.52%로 25 DAF보다는 15 및 20 DAF의 전자공여능 효과가 높은 경향을 보였다.

Table 3에서 15, 20 및 25 DAF 과실의 전자공여능 효과를 합산한 평균값은 UC 78.00%, MHWC 처리구 77.78-78.89%, PMC 처리구 79.09-79.84%, MHWC+PMC 처리구 78.68-79.28%로 유의적인 변화를 확인 할 수 없었지만 높은 전자공여능의 결과를 확인 할 수 있었다. 이처럼 복분자가 높은 전자공여능을 보유하는 원인은 폴리페놀 화합물들의 분자 중 hydroxyl group을 가지고 있어 DPPH와 반응하기 쉬운 입체구조를 가지기 때문이라고 하였다 (Yoshida *et al.*, 1989; Chen and Ho, 1997). 따라서 총

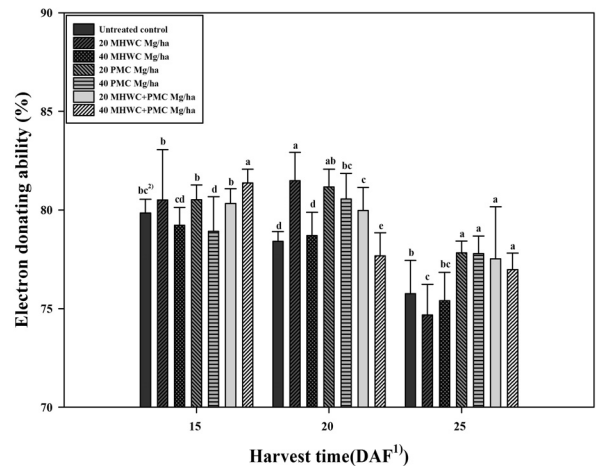


Fig. 3. Electron donating abilities in *Rubus coreanus* Miquel during maturation by application of MHWC, PMC and MHWC+PMC. ¹DAF : day after flowering, ²a-e : Means with the same letter superscripts of histogram's are not significantly different at p<0.05 level by Duncan's multiple range test.

폴리페놀 함량과 전자공여 작용과는 밀접한 관계가 있어 일반적으로 총 폴리페놀 함량이 높을수록 전자공여능도 증가된다. 그러나 본 연구의 결과에서 총 폴리페놀 함량이 많음에도 불구하고 전자공여능이 증가하지 않은 원인은 폴리페놀 화합물들의 분자 내 반응성이 감소되기 때문이다. 즉, 폴리페놀 분자 내에서 카아보늄 이온(carbonium ion)의 형태가 감소하고 옥소늄 이온(oxonium ion)의 형태가 증가하거나 수산기(-OH, hydroxyl groups)의 수가 감소한 경우(Lowe, 1955; Yang and Steele, 1958)에 전자공여능이 낮아지는 것으로 생각된다.

아질산염 소거능

Table 4에서 복분자 과실의 수확시기별 아질산염 소거능은 pH 1.2에서 15 DAF의 경우 69.20-70.47%, 20 DAF의 경우 69.39-71.80%, 25 DAF의 경우 62.46-65.12% 범위로 15 및 20 DAF보다 25 DAF가 저하되었음을 알 수 있었다. pH 4.2에서는 15 DAF의 경우 12.93-13.40%, 20 DAF의 경우 12.45-13.15%, 25 DAF의 경우 7.04-8.47% 범위로 pH 1.2 조건에서 측정된 결과와 유사한 경향이였다. pH 6.0에서는 15 DAF의 경우 7.62-8.18%, 20 DAF의 경우 7.34-7.84%, 25 DAF의 경우 3.93-4.43% 범위로 pH 1.2 및 4.2 조건에서 측정된 결과와 유사한 경향을

Table 4. Nitrite scavenging activities in *Rubus coreanus* Miquel by application of MHWC, PMC and MHWC+PMC during maturation

Composts	Treatment (Mg/ha)	Harvest time (DAF ²)	Nitrite scavenging activity (Dry base, %)			
			pH 1.2	pH 4.2	pH 6.0	
UC ¹			68.96 ± 0.64b ³	12.87 ± 0.17c	8.04 ± 0.08ab	
MHWC	20	15	70.35 ± 0.58a	13.37 ± 0.45ab	8.18 ± 0.19a	
	40		69.52 ± 0.43b	12.93 ± 0.13bc	7.96 ± 0.05ab	
PMC	20		69.20 ± 0.24b	13.00 ± 0.02abc	7.62 ± 0.16c	
	40		69.29 ± 0.15b	13.01 ± 0.19abc	7.86 ± 0.17b	
MHWC+PMC	20		70.47 ± 0.39a	13.40 ± 0.28a	8.15 ± 0.11a	
	40		70.26 ± 0.14b	13.27 ± 0.20abc	8.14 ± 0.10a	
UC			68.67 ± 0.31e	11.56 ± 0.47c	7.07 ± 0.11d	
MHWC	20		20	71.80 ± 0.31a	13.15 ± 0.24a	7.79 ± 0.13ab
	40	69.96 ± 0.08c		12.45 ± 0.19b	7.54 ± 0.21bc	
PMC	20	70.96 ± 0.08b		13.05 ± 0.22ab	7.84 ± 0.18a	
	40	71.08 ± 0.23b		12.81 ± 0.13ab	7.37 ± 0.09c	
MHWC+PMC	20	69.51 ± 0.40d		12.69 ± 0.57ab	7.34 ± 0.08c	
	40	69.39 ± 0.13d		12.70 ± 0.17ab	7.68 ± 0.13ab	
UC				63.54 ± 0.41de	7.83 ± 0.14b	4.16 ± 0.02bcd
MHWC	20	25		62.46 ± 0.51f	7.04 ± 0.11c	4.05 ± 0.08cd
	40		62.90 ± 0.14ef	7.13 ± 0.12c	3.93 ± 0.18d	
PMC	20		64.71 ± 0.41ab	8.42 ± 0.09a	4.33 ± 0.11ab	
	40		65.12 ± 0.51a	8.47 ± 0.31a	4.43 ± 0.20a	
MHWC+PMC	20		64.03 ± 0.19cd	8.02 ± 0.15b	4.05 ± 0.09cd	
	40		64.37 ± 0.20bc	8.11 ± 0.08b	4.27 ± 0.21abc	

¹UC : Untreated control, MHWC : Medicinal herb waste compost, PMC : Poultry manure compost, MHWC+PMC : Medicinal herb compost 50% + Poultry manure compost 50%, ²DAF : day after flowering, ³Values are mean±standard deviation (n=3), a-f : Means with the same letter in column are not significantly different at p<0.05 level by Duncan's multiple range test.

나타내었다. 즉 15, 20 및 25 DAF에 수확한 복분자 과실의 아질산염 소거능은 pH가 증가할수록 퇴비 종류에 관계없이 크게 감소하여 pH 의존적인 경향을 나타내었다. 이는 nitrosoamine 생성 최적 pH는 2.5-3.0으로 pH 의존적이며 아질산염 소거율 역시 강산성에 높고 pH가 높아질수록 감소한다고 보고한 Kytopoulos(1987)의 의견과 일치하였다. 또한 복분자 과실의 아질산염 소거능은 UC, PMC 및 MHWC+PMC 처리 군들과 MHWC 처리 군간의 pH 1.2, 4.2, 6.0에서 일관성을 보이지 않았으나 처리구들간의 유의성은 인정되었다(p<0.05). 특히 MHWC 처리군의 아질산염 소거능이 15, 20 DAF에 수확한 경우 다른 군에 비하여 높았으나 25 DAF에 수확한 경우 다른 군들에 비하여 감소하는 경향을 보였다.

Tyrosinase 저해효과

Fig. 4는 복분자 과실의 수확시기별 tyrosinase 저해효

과로서 15 및 20 DAF의 MHWC, PMC 및 MHWC+PMC 처리 효과를 UC와 비교한바 tyrosinase 저해효과가 증가되어 각각 28.73-34.77%, 28.51-42.41%로 25 DAF의 34.78-55.57%보다 상대적으로 낮은 효과를 보였다(p<0.05). Jung *et al.*(1995)은 복분자의 tyrosinase 저해율이 63%이었고, Park *et al.*(2007)은 복분자 추출물의 tyrosinase 저해율이 1 w/w% 농도에서 미숙과가 43%, 완숙과가 39%라 한 결과와 비교한바 차이가 있었음을 알 수 있었다. 특히 미숙과에서 저해율이 높았으나 본 연구의 결과는 25 DAF 과실의 저해율이 증가되는 경향으로 타 연구자들과는 차이가 있어 깊이 있는 연구가 요구되었다.

Table 3에서 15, 20 및 25 DAF에 수확한 복분자 과실의 tyrosinase 저해효과를 합산한 평균값은 MHWC 처리구가 가장 우수하며, 20 및 40 MHWC Mg/ha 처리구의 저해율은 각각 39.01, 43.18%로 처리량의 증가가 저해효과를 증가시켰으며, UC 31.67% 보다 높은 저해효과를 확인

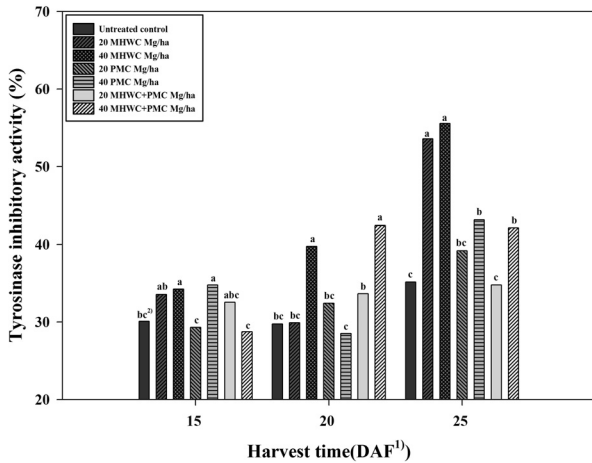


Fig. 4. Tyrosinase inhibitory activities in *Rubus coreanus* Miquel by application of MHWC, PMC and MHWC+PMC during maturation. ¹DAF : day after flowering, ²a-c : Means with the same letter superscripts of histogram's are not significantly different at p<0.05 level by Duncan's multiple range test.

하였고, 20, 40 PMC Mg/ha의 33.64, 35.47%와 20, 40 MHWC+PMC Mg/ha의 33.65, 37.76% 보다 높은 저해효과를 보였다(p<0.05).

Xanthine oxidase 저해활성

Fig. 5는 복분자 과실의 수확시기별 xanthine oxidase 저해율로 15 DAF에서 UC 29.51%에 비해 40 PMC Mg/ha, 20 MHWC+PMC Mg/ha에서만 각각 0.72, 0.68% 증가되었을 뿐 그 외의 처리구에서는 저해효과가 감소되었다(p<0.05). 20 DAF에서는 UC 27.37%에 비해 40 MHWC Mg/ha, 40 PMC Mg/ha, 20, 40 MHWC+PMC Mg/ha에서만 각각 0.87, 1.15, 0.47, 2.86% 증가되었을 뿐 그 외 처리구에서는 저해효과가 감소되었다(p<0.05). 25 DAF에서는 UC 29.52%에 비하여 20, 40 MHWC Mg/ha, 20 PMC Mg/ha, 40 MHWC+PMC Mg/ha에서만 각각 2.40, 3.26, 0.17% 증가되었을 뿐 그 외의 처리구에서는 저해효과가 감소되었다(p<0.05). 수확한 복분자 과실의 xanthine oxidase 저해활성이 가장 좋았던 복분자 과실은 20, 40 MHWC Mg/ha 처리구에서 25 DAF에 수확한 복분자이었고, 전체적으로는 저해경향이 일정하지 않아 퇴비종류에 따른 효과를 확인하기 어려웠다.

Table 3에서 15, 20 및 25 DAF에 수확한 복분자 과실의

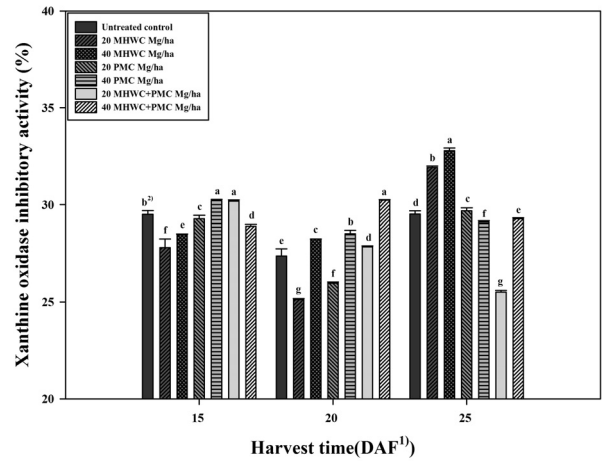


Fig. 5. Xanthine oxidase inhibitory activities in *Rubus coreanus* Miquel during maturation by application of MHWC, PMC and MHWC+PMC. ¹DAF : day after flowering, ²a-g : Means with the same letter superscripts of histogram's are not significantly different at p<0.05 level by Duncan's multiple range test.

xanthine oxidase 저해율을 합산한 평균값은 40 MHWC>40 MHWC+PMC>40 PMC>UC>20 PMC>20 MHWC>20 MHWC+PMC 순이었으나 저해효과가 큰 처리수준은 퇴비의 종류에 관계없이 40 Mg/ha임을 확인 하였다.

Fig. 5 및 Table 3의 xanthine oxidase 저해활성 결과를 타 연구자의 결과와 비교한 바, 복분자 농축액의 경우 저해활성은 43.26% 이었고(Park and Chang, 2003), 복분자 열매의 열수 및 60% ethanol 추출물의 저해활성은 각각 40.9와 17.1%로(Cho *et al.*, 2005), 본 연구의 저해효과보다 복분자 농축액과 열수추출물의 경우에 높았으나 에탄올추출물의 경우는 낮았다.

적 요

본 연구는 한약탕제 찌꺼기를 친환경 퇴비자원으로서 재 활용하기 위하여 발효과정을 거친 퇴비(MHWC: medicinal herb waste compost)와 계분퇴비(PMC: poultry manure compost) 및 이를 혼합한 퇴비(MHWC+PMC, 1:1)를 식재 2년생 복분자 포장에 무처리(0), 20, 40 Mg/ha로 처리하여 꽃이 첫 개화한 시기를 기점으로 15, 20, 25 DAF(day after flowering)를 수확시기로 하여 수확한 복분자 과실의 생리활성을 조사하여 비교한 결과는 다음과 같다.

복분자의 총 페놀성 화합물 함량은 15 DAF 과실에서와

는 달리 20, 25 DAF 과실에서 유의성 있는 증가를 보였다 ($p < 0.05$). 수확시기별로는 25>20>15 DAF 순이었고, 그 함량은 40 MHWC Mg/ha가 가장 높았다. Flavonoid 함량 변화는 총 페놀성 화합물 함량변화와 유사하였다. 전자공여효과는 15, 20 DAF 과실에서는 차이가 없었지만, 25 DAF 과실에서는 낮은 효과를 나타내었다. 아질산염 소거 효과는 pH 1.2>4.2>6.0 순으로 pH 의존적인 경향이었으며 15, 20 DAF 과실보다 25 DAF 과실이 저하되었다. Tyrosinase 저해효과는 MHWC 처리구가 가장 우수하고 처리량에 따라 저해효과가 증가되었으며 15, 20 DAF 과실은 25 DAF 과실보다 낮은 효과를 보였다. Xanthine oxidase 저해효과는 25 DAF 과실의 MHWC 처리구에서 가장 높았고, PMC 및 MHWC+PMC 처리구와 UC와의 차이는 인정하기 어려웠다. 이상의 결과에서 MHWC 처리에 따른 복분자 과실의 생리활성이 증가경향을 보여 친환경 퇴비자원으로서 가치가 있는 것으로 사료되었다.

사 사

이 논문은 2009년도 원광대학교 교비에 의해서 연구되었습니다. 샘플링 및 분석을 도와준 원광대학교 생명자원과학대학 식품환경학과 신민홍, 서정화, 송하연 학생들에게 감사의 말을 전합니다.

인용문헌

- CaO, H.F., A.C. Chang and A.L. Page. 1984. Heavy metal contents of sludge-treated soils as determined by three extraction procedures. *J. Environ. Qual.* 13:632-634.
- Cha, H.S., M.S. Park and K.M. Park. 2001. Physiological activities of *Rubus coreanus* Miquel. *Korean J. Food Sci. Technol.* 33:409-415 (in Korean).
- Cha, H.S., A.R. Youn, P.J. Park, H.R. Choi and B.S. Kim. 2007. Comparison of physiological activities of *Rubus coreanus* Miquel during maturation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36:683-688 (in Korean).
- Chen, J.H. and C.T. Ho. 1997. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *J. Agric. Food Chem.* 45:2374-2378.
- Cho, Y.J., S.S. Chun, H.J. Kwon, J.H. Kim, S.J. Yoon and K.H. Lee. 2005. Comparison of physiological activities between hot-water and ethanol extracts of *Bokbunja* (*Rubus coreanus* F.). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34:790-796 (in Korean).
- Choi, J.W., K.T. Lee, J.H. Ha, S.Y. Yun, C.D. Ko, H.J. Jung and H.J. Park. 2003. Antinociceptive and anti-inflammatory effect of niga-ichigoside F1 and 23-hydroxytormentonic acid obtained from *Rubus coreanus*. *Biol. Pharm. Bull.* 26: 1436-1441.
- Fujita, Y., I. Uehara, Y. Morimoto, M. Nakashima, T. Hatano and T. Okuda. 1988. Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids. II. Inhibition mechanism of caffeetannin isolated from leaves of artemisia species on lipoxygenase dependent lipid peroxidation. *Yakugaku Zasshi.* 108:129-135.
- Han, H.S., S. Woo, D.K. Kim, B.G. Heo and K.D. Lee. 2010. Effects of composts on the growth, yield and effective components of turmeric (*Curcuma longa* L.). *Korean J. of Environ. Agric.* 29:138-145 (in Korean).
- Jeong, E.J., H.E. Kim, D.H. Shin and Y.S. Kim. 2007. Effect of pectinase treatment on the extraction yield improvement from *Rubus coreanus* juice and physicochemical characteristics during alcohol fermentation. *Korean J. Food Preserv.* 14:702-708.
- Jung, S.W., N.K. Lee, S.J. Kim and D.S. Han. 1995. Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Korea J. Food. Sci. Technol.* 27:891-896 (in Korean).
- Kang, Y.H., Y.K. Park, S.R. Oh and K.D. Moon. 1995. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27:978-984 (in Korean).
- Kato, H., I.E. Lee, N.V. Chuyen, S.B. Kim and F. Hayase. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyable melanoidins. *Agri. Bio. Chem.* 51:1333-1338.
- Kim, M.S., J.G. Choi, H.G. Kim, B.J. Chung, G.P. Bang, J.K. Kim, M.S. Park, Y.S. Ahn, Y.G. Kim and C.B. Park. 2010. Effect of organic compost on growth and yield in *Scutellaria baicalensis*. *Korean Medicinal Crop Sci.* 18: 168-172 (in Korean).
- Korea National Statistical Office. 2006. 2005 Forestry census report. Korea National Statistical Office, Daejeon, Korea. pp. 506-511 (in Korean).
- Kytopoulos, S.A. 1987. Ascorbic acid and formation of N-nitroso compounds: possible role of ascorbic acid in cancer prevention. *Am. J. Clin. Nutr.* 45:1344-1350.
- Lee, E.Y., W.S. Cho and J.W. Park. 2005. Development of bio-fertilizers using waste chinese medicine and earthworm

- casting. J. of KSWM. 22:332-338 (in Korean).
- Li, S.Z. 1973. Comprehensive outline of the materia medica. Komunsa, Seoul, Korea. pp. 720-721.
- Lowe, B. 1955. Experimental cookery. 4th ed. John Wiley and Sons. Inc., New York, USA. pp. 126.
- Ministry for Health, Welfare and Family Affairs. 2009. Yearbook of health, welfare and family statistics. Ministry for Health, Welfare and Family Affairs, Seoul, Korea. pp. 142-147 (in Korean).
- Nam, J.H., H.J. Jung, J.W. Choi, W.B. Kim and H.J. Park. 2007. Comparison of triterpenoid contents of the four *Rubus* plants in Korea using TLC-DM. Kor. J. Pharmacogn. 38:187-191 (in Korean).
- NIAST. 2000. Method of soil and plant analysis, National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon, Korea. (in Korean).
- Park, C.M., M.S. Joung, D.O. Yang and J.W. Choi. 2007. The study on the effect of *Rubus coreanus* Miquel extract as a cosmetic ingredient. J. Soc. Cosmet. Scientists Korea. 33:41-45.
- Park, P.J., S.C. Lo and S.S. Han. 2004. Control of disease, insect pest and weed cultivation area of *Rubus coreanus* Miquel. J. Life Sic & Nat. Res. 26:56-67 (in Korean).
- Park, S.Y. and K.B. Chin. 2007. Evaluation of antioxidant activity in pork patties containing *Bokbunja* (*Rubus coreanus*) extract. Korean J. Food Sci. Ani. Resour. 27:432-439 (in Korean).
- Park, Y.S. and H.G. Chang. 2003. Lactic acid fermentation and biological activities of *Rubus coreanus*. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol. 46:367-375 (in Korean).
- Slinkard, K. and V.L. Singleton. 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual method. Am. J. Enol. Vitic. 28:49-55.
- Stirpe, F. and E.D. Corte. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase. J. Biol. Chem. 244:3855-3863.
- The Korean Society of Food Science and Nutrition. 2000. Handbook of Experiments in Food Science and Nutrition. Hyoil, Seoul, Korea. pp. 285-286 (in Korean).
- Wang, S.Y. and H.S. Lin. 2000. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varies with cultivar and developmental stage. J. Agric. Food Chem. 48:140-146.
- Yagi, K. 1987. Lipid peroxide and human disease. Chem. Phys. Lipids. 45:337-351.
- Yang, H.M., S.S. Lim, Y.S. Lee, H.K. Shin, Y.S. Oh and J.K. Kim. 2007. Comparison of the anti-inflammatory effects of the extracts from *Rubus coreanus* and *Rubus occidentalis*. Kor. J. Food Sci. Technol. 39:342-347 (in Korean).
- Yang, H.Y. and W.F. Steele. 1958. Removal of excessive anthocyanin pigment by enzyme. Food Technol. 12:517-519.
- Yoshida, T., K. Mori, T. Hatano, T. Okumura, I. Uehara, K. Komagoe, Y. Fujita and T. Okuda. 1989. Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids V. Radical-scavenging effects of tannins and related polyphenols on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. Chem. Pharm. Bull. 37:1919-1921.

(접수일 2011.4.5; 수락일 2011.4.20)