

포도종자의 처리별 추출조건 및 저장에 따른 항산화활성 및 총페놀함량의 변화

김영국 · 이현용 · 오덕환[†]

강원대학교 바이오산업공학부 식품생명공학전공

Changes in Antioxidative Activity and Total Polyphenols of Crude and Defatted Grape Seed Extract by Extraction Condition and Storage

Young-Kuk Kim, Hyeon-Yong Lee and Deog-Hwan Oh

Kangwon National University Division of Food Biotechnology School of Biotechnology and Bioengineering,
Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

Abstract

This study was conducted to determine the yield, free radical scavenging effect and total phenol contents of various solvent fractions on the crude and defatted grape seed extract during storage. The optimal condition for the extraction yield, free radical scavenging effect and total phenol contents was 90% ethanol for 6 hour at 70°C. The extraction yield for crude and defatted grape seed at optimal condition was 8.9% and 9.16%, respectively. Also, the strongest free radical scavenging effect with 41.52 µg/mL was observed in 95% ethanol of defatted grape seed extracted for 6 hour at 70°C. Similar result was observed in total phenol contents of defatted grape seed. The ethyl acetate fraction obtained from ethanol extract of defatted grape seed showed the strongest RC50(12.35 µg/mL) compared to other organic fractions. Free radical scavenging effect of crude and defatted grape seed extracts treated with alkali condition(pH 10) was reduced compared to that of acidic condition(pH 2) during storage for 1 month at 50°C. Overall, more stronger free radical scavenging effect and higher total phenol contents in defatted grape seed extracts was observed than that of crude grape seed.

Key words : grape seed, free radical scavenging effect, total phenol content

서 론

포도나무는 갈대나무목(*Rhamnales*), 포도과(*Vitaceae*)에 속하며, 포도과에는 11속, 약 700여 종이 있다. 우리나라에서 재배되고 있는 포도는 주로 미국종(*Vitis labrusca L.*)과 그들의 상호간의 교잡종(*Vitis labruscana B.*)이다. 포도는 주로 식용으로 이용되며 음료, 주류 가공 등에도 이용되고 있는데 이 과정에서 배출되는 씨앗은 포도 중량의 약 3~5%를 차지하며 이를 다른 씨와 같이 약용자원 등에 이용하는 방안이 연구되고 있다.

포도(*Vitis vinifera*)는 세계적으로 광범위하게 재배되는 명물성의 과수로서 우리나라에서는 연간 약 30~40만톤의 포도가 생산되고 있으며 포도의 가공 과정에서 약 천 톤 정도의 포도 종실이 부산물로 배출되는 것으로 추정되고 있다

(1,2). 현재 이들은 모두 폐기 처리되고 있으나 최근에 들어서야 미활용 농산자원의 활용 측면에서 일부 검토되고 있으며 국내에서는 아직 적극적으로 이용되지 못하고 있는 실정이다. 포도는 과피와 과육 및 종실로 구성되어 있는데 최근에는 종실에 함유되어 있는 탄닌 성분의 효과와 이용에 대한 연구가 많이 진행되고 있다(3-7). 포도 종실에 함유된 폴리페놀 화합물로 알려진 프로안토시아닌의 항산화성은 잘 알려져 있는 반면에 항균활성에 대한 보고는 거의 되어 있지 않고 있다(8-12). 프로안토시아닌은 (+)-카테킨이나 (-)-에피카테킨과 같은 플라반-3-올 형태의 C₄-C₈ 혹은 C₄-C₆ 결합에 의해 연결되어 있는 다량체 형태의 화합물인데(13) 차엽에 함유된 카테킨 성분의 김치 발효, 관련 미생물에 대한 증식 억제효과가 보고되었고(14), Sakanaka(15) 등이 카테킨류의 세균 및 효모에 대한 생육억제 효과를 보고하였다.

본 연구에서는 유기용매별로 탈지 및 비탈지한 포도종자 분말을 추출하여, 추출수율, 항산화활성 및 총페놀함량을 분석하였으며, 이중 항산화활성이 가장 높은 것으로 나타난

[†]Corresponding author. E-mail : deoghwa@kangwon.ac.kr,
Phone : 82-33-250-6457, Fax : 82-33-250-6457

에탄올 추출물로부터 기능성 식품소재로서의 가능성을 검토하기 위하여 식용주정으로 추출시 최적 추출조건을 탐색하였으며, 포도종자 추출물을 pH(2, 7, 10)에서 처리하여 50°C에서 1달 동안 저장동안의 항산화력 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 포도종자는 강원도 춘천시 소재 만나포도원에서 얻은 켈벨종 포도 종자를 견조 후 분말화하여 추출용 시료로 사용하였고, 추출용 시료는 핵산처리한 탈지분말(defat)과, 탈지하지 않은 분말(crude)을 사용하였다. 탈지분말은 포도종자 분말가루를 10배의 hexane을 넣어 24시간 추출한 후 여과지(Whatman NO.2)로 추출액을 여과하였고 지방을 제거 한 후 음건(陰乾)하여 실험에 사용하였으며 탈지하지 않은 분말은 hexane을 처리하지 않고 직접 추출용 시료로 사용하였다.

추출 및 분획

추출용매에 의한 포도종자 추출물의 수율 및 항산화활성을 측정하기 위하여 탈지(defat) 및 비탈지 포도종자분말을 수직으로 환류냉각관을 부착시킨 flask를 이용하여 분말시료 중량의 10배량의 유기용매 70% ethanol, 70% methanol, 70% acetone과 70% acetone + 1% acetic acid를 가하여 70°C에서 6 시간씩 2회 반복 추출하여 Whatman No.2 여과지로 여과한 후 rotary vacuum evaporator (EYELA N-N-SERIES, Japan)를 사용하여 농축하고 이를 동결 건조하였다. 한편, 가장 높은 수율 및 항산화활성을 나타낸 에탄올 추출물의 산업적 활용을 위하여 주정으로 탈지 및 비탈지 추출물을 다음과 같이 얻었다. 즉, 포도종자 시료를 탈지 및 비탈지로 나누어 위와 같은 방법으로 중류수와 식용주정을 추출용매로 사용하여 최적추출조건을 검토하였다. 중류수는 70°C와 90°C에서 각각 1, 6, 12 시간씩 추출하였으며 주정은 50%, 70%, 90%의 농도별로 각각 30°C, 50°C, 70°C에서 1, 6, 12시간씩 추출한 다음 감압 여과 장치로 여과한 후, rotary vacuum evaporator를 사용하여 농축하고 이를 동결 건조하였다. 이중 가장 좋은 추출조건을 나타낸 90% 주정으로 70°C에서 6시간 동안 2회 추출한 탈지 및 비탈지 추출물을 극성이 다른 hexane, chloroform(CHCl₃), ethyl acetate(EtOAc), butanol(BuOH)을 이용하여 단계적으로 분획하였다. 즉, 주정 추출물과 hexane, 중류수를 1:10:9의 비율로 혼합하여 추출 분획한 후 rotatory vacuum evaporator로 농축하여 hexane 분획물을 얻은 후 수중 분획은 분획여두에서 다시 chloroform, ethyl acetate 그리고 butanol로 순차적으로 용매분획 한 다음

각각 chloroform총, ethyl acetate총, butanol총 및 aqueous(H₂O)총 분획물을 얻어 농축하고 이를 동결건조하여 밀봉한 후 4°C의 냉장고에 보관하면서 실험에 사용하였다. 한편, 주정 추출물의 수율은 분말시료 전조중량에 대한 주정 추출물의 동결건조량의 조성비로 나타내었고 유기용매의 추출수율은 주정 추출물의 동결건조 중량에 대한 각 유기용매추출물의 동결건조량의 조성비로 각각 나타내었으며 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)에 의한 free radical 소거능과 total phenol 함량을 측정하였다.

DPPH에 의한 free radical 소거능 측정

DPPH를 이용한 free radical 소거능 활성을 검정하기 위하여 여러 농도의 시료를 4 mL의 메탄올에 녹여 1.5×10^4 M DPPH 메탄올 용액 1 mL를 첨가한 후, 30분간 상온에 방치하고 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 50% 감소시키는데 필요한 시료의 양(μg)을 RC_{50} 으로 나타냈으며, 기존의 항산화제인 α -tocopherol과 BHA를 비교하였다.

Total phenol 함량 측정

Gallic acid 0.5 g을 100 mL의 flask에 넣고 10 mL 중류수로 녹인 후 다시 원 용매로 100 mL 까지 맞추고 냉장고에 2주 저장한 후 gallic acid를 0, 1, 2, 3, 5, 10 mL 씩을 100 mL의 중류수에 넣어 희석하여 0, 50, 100, 150, 250, 500 mg/L의 농도로 만들어 실험에 사용하였다. 또한, Na₂CO₃ 20 g을 80 mL의 중류수에 넣고 끓여 cooling 한 후 Na₂CO₃를 조금 더 넣어 포화용액을 만든 후 24시간 후 여과하여 200 mL의 중류수를 첨가하여 1000 mL로 만들어 실험에 사용하였다. 각 tube에 1.58 mL의 중류수를 넣고 희석한 시료와 희석한 각 농도의 gallic acid 20 μL 를 넣은 후 Folin-Ciocalteau reagent를 100 μL 넣고 혼합하여 8분 동안 정치한 후 300 μL 의 Na₂CO₃를 넣고 mixing 한 후 20°C에서 2 시간 배양하여 765 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid의 흡광도로 추세선을 그린 후 각 시료의 total phenol 값을 gallic acid equivalents(mg GAE/g)으로 나타냈다.

저장 중 포도종자 추출물의 항산화활성 안전성

포도종자 추출물의 산, 알칼리 및 저장 안전성을 측정하기 위하여 탈지 및 비탈지 포도종자 분말을 90% 주정으로 70°C에서 6시간 동안 2회씩 추출하여 얻는 각각의 추출물을 pH 2, 7, 10인 buffer 용액에 넣어 50°C에서 4주 동안 저장하면서 1주일마다 시료를 채취하여 DPPH에 의한 free radical 소거능 측정방법으로 항산화활성을 측정하였으며 ascorbic acid를 대조구로 비교하였다.

결과 및 고찰

유기용매별 포도종자 추출물의 수율, 항산화활성 및 총페놀함량 비교

탈지 및 비탈지 포도종자 분말로부터 4 종류의 추출용매를 사용하여 추출한 추출물의 수율과 항산화활성은 Table 1에 나타내었다. 추출수율은 탈지와 비탈지 처리한 포도종자 분말 모두 70% 에탄올로 70°C에서 6시간 추출하였을 때 각각 8.9%, 9.16%로 다른 유기용매에 비하여 가장 높은 것으로 나타났고, methanol, acetone-acetic acid 및 acetone 순으로 나타났으며 탈지분말이 비탈지분말보다 추출수율이 높게 나타났다. 한편, 포도종자 추출물의 DPPH에 의한 free radical 소거능을 측정한 결과, 70% ethanol 탈지 및 비탈지 추출물의 항산화활성이 각각 45.54 μg, 41.52 μg으로 나타나 다른 용매의 추출물보다 훨씬 높았으며 탈지추출물이 비탈지 추출물보다 높았다. 이러한 결과는 각각의 추출용매 및 포도종자 분말의 상태에 따른 total phenol 함량의 결과에서와 같이 total phenol 함량이 높을수록 항산화성이 높은 것으로 나타났다(Table 1). 70% ethanol 추출물의 총페놀함량이 다른 유기용매에 비하여 가장 높았으며, 탈지추출물(1135.31 mg GAE/g)이 비탈지추출물(1003.26 mg GAE/g)보다 높게 나타났다. 70% acetone 추출물도 탈지추출물(1008.15 mg GAE/g)과 비탈지추출물(956.28 mg GAE/g) 모두 70% methanol 과 70% methanol-1% acetic acid 추출물에 비하여 높게 나타났으며 이러한 결과는 acetone 추출물의 항산화활성이 methanol추출물보다 높은 것으로 나타나 항산화활성은 총페놀함량과 비례하는 것으로 나타났다. 포도종자 추출물의 항산화력은 추출용매에 따라 다양하게 나타났다. Jayaprakasha(16)등은 acetone, methanol, ethyl acetate 등의 추출수율은 각각 6.7, 8.1, 4.5%로 methanol이 제일 많았고, Jang(17)등은 70%의 ethanol이 4.3%의 수율과 51.0%의 total phenol content로 가장 효율적이라고 하였다. 병용처리시에는 Nilgun(18)등은 acetone:water:acetic acid(90:9.5:0.5)의 용매로 추출한 포도종자 추출물에는 total phenolics 함량이 667.87±9.04 mg GAE/g였고, ethylacetate:methanol:water(60:30:10)의 용매로 추출한 포도종자 추출물에는 627.98±8.09 mg GAE/g 였다고 보고하였다.

포도에서 추출할 수 있는 total phenol 함량은 과육에 10% 정도 있고, 60~70%가 포도종자에 있으며 28~35%가 껍질에 있고 이중 포도종자 중에 함유하는 phenol 함량은 포도종자 무게의 5~8%정도이다. Revilla(19)등은 19 종류의 포도를 비교한 결과, 포도 종자에 함유된 catechins과 procyanidins의 함량은 414~2,593 mg/kg 존재한다고 보고하였으며, 이는 재배하는 지방에 따라 차이가 있다고 보고하였다. 본 연구결과에 의하면, 각 추출용매에 의한 포도종자 추출물의 수율, 항산화력 및 total phenol 함량을 분석한 결과, 에탄올로 추출하는 것이 가장 효과적이었기에 식품에

사용할 때의 안전성을 높이기 위하여 이후의 연구에서는 식용주정을 사용하여 포도종자를 추출하였으며 이의 최적 추출조건을 검토하였다.

Table 1. Extraction yields, free radical scavenging effect and total phenol content of crude and defatted grape seed extracts by various organic solvents in 70°C and 6 hours

Solvent	Treat	yield (%)	RCSO μ g/mL	Total phenol (mg GAE ^b /g)
70% EtOH	Crude	8.9	45.52	1003.26
	Defat	9.16	41.13	1135.31
70% MeOH	Crude	7.96	59.54	562.46
	Defat	8.28	52.05	706.19
70% Acetone	Crude	6.34	47.30	956.28
	Defat	6.96	43.33	1008.15
70% Acetone + 1% Acetic acid	Crude	7.96	59.59	564.55
Control	Defat	8.12	54.96	678.72
	ascorbic acid			31.30
	a-tocopherol			31.72

^b GAE : gallic acid equivalents.

주정의 추출조건에 따른 항산화활성 및 총페놀함량

주정의 농도별, 추출온도 및 시간별로 추출한 각각의 탈지추출물과 비탈지추출물의 항산화활성을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 70% 주정농도에서 50°C로 1시간 추출하였을 때 비탈지추출물에서는 81 μg/mL의 활성을 나타내었으나 추출시간이 경과함에 따라 점차 증가하였으며 12시간 추출 후에는 59.03 μg/mL로 현저하게 항산화활성이 증가하였다. 또한, 탈지추출물에서도 마찬가지로 1시간 추출 후 80.69 μg/mL에서 12시간 후에는 53.98 μg/mL로 항산화활성이 증가하였다. 한편, 추출온도를 70°C로 증가하여 1시간 추출하였을 때는 탈지 및 비탈지추출물에서 각각 74.07, 66.10 μg/mL로 활성이 증가하였으나 6시간 후에는 비탈지추출물에서는 87.26 μg/mL로 항산화활성이 감소하였고 비탈지추출물에서는 48 μg/mL로 활성이 증가하였으며 12시간 후에는 탈지 및 비탈지추출물 모두 93.7, 49.25 μg/mL로 오히려 항산화활성이 약간 더 저해되었다. 한편, 90% 주정농도로 50°C에서 1시간 추출하였을 때 비탈지추출물에서는 84.76 μg/mL, 6시간 후에는 80.27 μg/mL로 70% 주정농도보다 항산화활성이 약간 증가하였으나 12시간 추출 후에는 97.92 μg/mL로 현저하게 항산화활성이 감소하였다. 또한, 탈지추출물에서도 마찬가지로 50°C에서 1시간 추출 후 74.88 μg/mL, 6시간 후에는 56.85 mL로 70% 주정농도보다 항산화활성이 약간 증가하였으나 12시간 추출 후에는 57.42 μg/mL로 오히려 항산화활성이 약간 감소하였다. 그러나 추출온도

를 70°C로 증가하여 1시간 추출하였을 때는 비탈지추출물에서는 50°C와 비교하여 차이가 없었으나 탈지추출물에서는 54.92 µg/mL로 활성이 증가하였으며, 6시간 후에는 탈지 및 비탈지 추출물 모두 58.35, 45.45 µg/mL로 항산화활성이 가장 증가하였으며 12시간 추출 후에는 항산화활성이 오히려 감소하는 경향을 나타내었다. 따라서 본 연구결과, 포도종자 추출물은 탈지 및 비탈지 추출물 모두 주정농도는 90%, 추출온도는 70°C, 추출시간은 6시간에서 가장 항산화활성이 좋았으며 70°C에서 추출시간이 길어질수록 열에 의한 변성으로 인하여 항산화활성이 오히려 감소하였다. 이러한 결과는 같은 조건하에서 각 추출물의 total phenol함량을 측정한 결과와 유사한 것으로 나타났다(Table 3). 총페놀함량은 탈지 및 비탈지 추출물 모두 주정농도 70%와 90%를 이용시 추출온도 50°C에서는 추출시간이 길수록 증가하였다. 반면에, 70°C에서는 시간이 증가할수록 페놀함량이 증가하다가 6시간 후에는 70%농도에서 탈지 및 비탈지추출물 모두 768, 800.43 mg GAE/g, 90%농도에서 856.32, 1005.71 mg GAE/g,로 페놀함량이 최대로 생성되었으나 12시간 후에는 오히려 70%농도에서 715.62, 744.67 mg GAE/g, 90%농도에서 847.16, 976.07 mg GAE/g로 각각 감소하였다. 따라서 70°C에서 12시간 추출할 경우에는 6시간 추출에 비해 폐쇄성 물질과 항산화활성이 감소하는 것으로 보아 추출온도와 추출시간의 적절한 선택조건 규명이 매우 중요한 것으로 사료된다.

Table 2. Free radical scavenging effect of crude and defatted grape seeds extracts at different temperature and alcohol concentration.

Concentrate of alcohol (%)	Temperature (°C)	RC ₅₀ (µg/mL)					
		1 hr		6 hr		12 hr	
		Crude	Defat	Crude	Defat	Crude	Defat
70	50	81	80.69	86.18	71.40	59.03	53.98
	70	74.07	66.10	87.26	48	93.7	45.25
90	50	84.76	74.88	80.27	56.85	97.92	57.42
	70	74.05	54.92	58.35	45.45	72.38	85.97
Control	a-tocopherol			31.72			
	ascorbic acid			31.30			

Table 3. Total phenol contents of Crude and defatted grape seeds extracts at different temperature and alcohol concentration

Concentrate of alcohol(%)	Temperature (°C)	Total phenol (mg GAE ¹⁾ /g)					
		1 hr		6 hr		12 hr	
		Crude	Defat	Crude	Defat	Crude	Defat
70	50	345.81	411.53	523.99	571.05	608.46	648.32
	70	396.12	425.14	768.49	800.43	715.62	744.67
90	50	378.32	422.96	579.35	691.26	726.51	792.45
	70	496.29	507.45	856.32	1005.71	847.16	976.07

¹⁾ GAW : gallic acid equivalents.

탈지 및 비탈지 포도종자 분획물의 항산화활성 및 총페놀함량

탈지 및 비탈지 에탄올 추출물로부터 유기용매 hexane, chloroform, ethylacetate, butanol에 의한 분획물의 항산화활성과 총페놀함량은 Fig. 1에 나타내었다. 비탈지추출물의 경우, ethylacetate 분획총이 RC₅₀값이 14.78 µg/mL로 항산화활성이 가장 컸으며, butanol, water, chloroform, hexane 분획총으로 나타났다. 또한, 탈지추출물경우도, ethylacetate 분획총에서 RC₅₀값이 12.35 µg/mL로 항산화활성이 가장 컸으며, 비탈지추출물의 경우와 비슷한 경향을 나타내었다. 이러한 ethylacetate 분획물의 항산화 활성은 대조구인 ascorbic acid 와 BHT와 비교하여 높은 항산화활성을 나타내었다. 이러한 결과는 박(20)등이 캠벨종자 에탄올 추출물의 ethyl acetate총 분획물에서 RC₅₀ 값이 15.4 µg/mL였다는 보고와 거의 비슷하였으며, 이는 ethylacetate 분획물에 함유되어 있는 폴리페놀화합물에 기인하는 것으로 사료된다. 박(20)등은 폴리페놀화합물들을 많이 함유하고 있는 것으로 알려진 ethylacetate 분획물은 과피 에탄올 추출물보다 종자에탄올추출물에서 약 7배 이상 많이 들어 있다고 보고하였다.

저장중 포도종자 추출물의 pH조건에 따른 항산화활성의 변화

포도종자추출물이 pH조건(산성, 중성, 알칼리성)에 의한 항산화활성의 영향을 조사하기 위하여 90% 주정으로 70°C에서 6시간 2회 추출한 탈지 및 비탈지 포도종자 추출물을 pH 2, 7, 10의 표준 buffer 용액에 녹인 후 50°C에서 1달간 저장하여 항산화활성을 측정한 결과를 Table 4에 나타내었다. 탈지 및 비탈지 포도종자 추출물 모두 산성조건(pH 2)에서 처리하였을 때는 pH처리하지 않은 추출물에 비하여 항산화활성이 약간 저하되었으나, 중성(pH 7)과 알칼리성(pH 10) buffer에 노출하였을 때는 항산화활성의 차이가 없었다. 그러나 50°C에서 저장하는 동안 pH처리하지 않은 비탈지 추출물의 경우, 저장 1주일까지는 중성 buffer에서 항산화성이 매우 안정하게 유지되었으나 그이후 부터는 서서히 감소하였으며, 산성조건에서는 저장 3주까지 저장전과 비교하여 비교적 안정한 항산화활성을 나타내었다. 그러나 알칼리성 조건에서는 저장 1주일부터 현저하게 항산화활성이 감소하였으며 저장기간이 증가할수록 더욱 감소하는 경향을 나타내었다. 반면, 탈지추출물의 경우 pH처리하지 않은 추출물에 비하여 산성처리구가 중성과 알칼리성 처리구에 비하여 항산화활성이 약간 저하되었으나, 3주까지 저장하는 동안 오히려 다른 처리구보다 현저하게 안정한 항상화활성을 유지하였다. 그러나 중성처리구와 알칼리성 처리구는 저장 2주째부터 현저하게 항산화활성 저하되기 시작하였다. 그러나 대조구인 ascorbic acid는 pH처리를 하지 않았을 때는 저장기간 동안 매우 안정한 항산화활성을 나타내었으나 산성,

중성, 알칼리성처리한 용액상태에서는 저장기간 동안 매우 불안정한 상태로 현저하게 항산화활성이 감소하였다. 본 연구결과, 탈지 및 비탈지추출물은 산성조건보다는 알칼리성조건에 더욱 항산화활성이 감소하였다.

Table 4. Changes in free radical scavenging effects of the grape seed alcohol extracts treated with different pH buffer at 50°C for 1 month

pH	RC50(μg/mL)					
	0 d	1 wk	2 wk	3 wk	4 wk	
Crude	crude extract ^{b)}	58.35	58.26	54.83	59.03	59.13
	2	77.4	71.98	78.84	82.64	99.93
	7	54.17	52.85	79.84	76.15	123.875
	10	58.86	102.42	234.36	259.08	745.25
Defat	crude extract ^{b)}	45.45	45.45	47.99	44.05	45.4
	2	65.44	61.74	62.375	64.04	76.29
	7	56.19	86.13	87.9	91.77	114.96
	10	44.32	69.19	117.18	309.3	377.375
Ascorbic acid	ascorbic acid ^{b)}	31.30	34.76	34.29	34.87	31.69
	2	61.15	347.9	196.625	288.5	368.625
	7	81.13	605.83	844.25	822.07	788
	10	60.94	928.25	860	768.75	801

^{b)} crude extract or ascorbic acid was not adjusted with pH buffer and stored with dried condition.

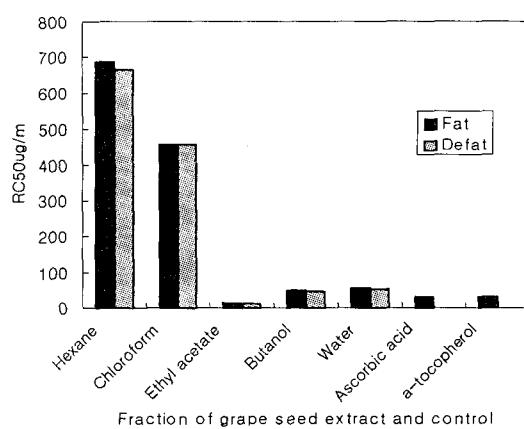


Fig 1. DPPH free radical scavenging effect of crude and defatted grape seed extraction in 90% alcohol for 6 h at 70°C.

요약

본 연구는 추출용매 및 주정에 의한 탈지 및 비탈지 포도

종자 추출물의 수율, 항산화활성 및 총페놀함량을 분석하였으며, 각종 pH에서 처리된 추출물의 저장시 항산화력 변화를 살펴보았다. 추출수율은 탈지 및 비탈지 처리한 포도종자 분말 모두 70% 에탄올로 70°C에서 6시간 추출하였을 때 각각 8.9%, 9.16%로 다른 유기용매에 비하여 가장 높은 것으로 나타났으며, methanol, acetone-acetic acid 및 acetone 순으로 나타났으며 70% ethanol 탈지추출물의 항산화활성이 41.52 μg으로 나타나 다른 용매의 추출물보다 훨씬 높았다. 포도종자 추출물은 탈지 및 비탈지추출물 모두 주정농도는 90%, 추출온도는 70°C, 추출시간은 6시간에서 가장 항산화활성이 좋았으며 70°C에서 추출시간이 길어질수록 열에 의한 변성으로 인하여 항산화활성이 오히려 감소하였다. 이러한 결과는 같은 조건하에서 각 추출물의 total phenol함량을 측정한 결과와 유사한 것으로 나타났다. 탈지 및 비탈지 추출물의 경우, ethylacetate 분획총이 RC₅₀값이 14.78, 12.35 μg/mL로 항산화활성이 가장 커졌으며, butanol, water, chloroform, hexane 분획총로 나타났다. 한편, 탈지 및 비탈지 포도종자 추출물을 pH 2, 7, 10의 표준 buffer 용액에 녹인 후 50°C에서 1달간 저장하여 항산화력을 측정한 결과, 산성조건보다는 알칼리성조건에서 더욱 항산화활성이 감소하였으며 건조상태로 저장시 고온에 매우 안정한 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 과기처의 지역개발용역사업(강원도 농산자원의 고부가가치 창출을 위한 핵심기술개발, 과제번호 0101029-1(2001213))의 지원으로 수행된 것으로 이에 심심한 사의를 표합니다.

참고문헌

- Kim, W.S. (1995) Grape processing industries. In New Cultivation Method of Grape. Munum Publishing Co., Seoul, p.58~92
- Sung, J.K. (1996) The present of grape processing industries. In Grape, from Platation to Sales. The Nongmin Press, Seoul, p.23~41
- Teresa, E.B., Yolanda, G.F., Julian, C.R., and Celestino, S.B. (1992) Characterisation of procyandins of *Vitis vinifera* varity Tinta del pais grape seeds. J. Agric. Food Chem., 40, 1794~1799
- Prieur, C., Rigaud, J., Cheynier, V. and Moutounet, M. (1994) Oligomeric and polymeric procyandins from grapes. Phytochemistry, 36, 781~784

5. Ricardo da Silva, J.M., Darmon, N., Fernandez, Y. and Mitjavila, S. (1991) Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds. *J. Agric. Food Chem.*, 39, 1549~1552
6. Tebib, K., Bitri, L., Besancon, P. and Rouanet, J. (1994) Polymeric grape seed tannins prevent plasma-cholesterol changes in high-cholesterol-fed rats. *Food Chemistry*, 49, 403~406
7. Tebib, K., besancon, P. and Rouanet, J. (1994) Dietary grape seed tannins affect lipoproteins, lipoprotein lipases and tissue lipids in rats fed hypercholesterolemic diets. *J. Nutrition*, 124, 2451~2457
8. Kanner, J., Frankel, E.N., Granit, R., German, B. and Kinsella, J.E. (1994) Natural antioxidant in grapes and wines. *J. Agric. Food Chem.*, 42, 64~69
9. Frankel, E.N., Waterhouse, A.L. and Tissedre, P.L. (1995) Principle phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoprotein. *J. Agric. Food Chem.*, 43, 890~894
10. Teissedre, P.L., Frankel, E.N., Waterhouse, A.L., Peleg, H. and German, J.B. (1996) Inhibition of in vitro human LDL oxidation by phenolic antioxidants from grapes and wines. *J. Sci. Food Agric.*, 70, 55~61
11. Mayer, A.S., Person, D.A., Waterhouse, A.L. and Franke, E.N. (1997) Inhibition of human LDL oxidation in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes(*Vitis vinifera*). *J. Agric. Food Chem.*, 45, 1638~1643
12. Walker, M. (1991) Antioxidant properties of pycnogenol, Townsend Letters for Doctors Aug/Sep., p.616~619
13. Jayaprakasha, G.K., Singh, R.P. and Sakariah, K.K. (2001) Antioxidant activity of grape seed(*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chemistry*, 73, 285~290
14. Wee, J.H. and Park, K.H. (1997) Retardation of kimchi fermentation and growth inhibition of related microorganisms by tea catechin. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 29, 1275~1280
15. Sakanaka, S., Okubo, T., Akachi, S., Mabe, K. and Matsumoto, M. (1996) Tales of data on the antimicrobial activities of green tea extracts. In *Chemistry and Applications of Green Tea*. Yamamoto T, eds. CRC Press, New York., p.146~147
16. Jayaprakasha, G.K., Singh, R.P. and Sakariah, K.K. (2001) Antioxidant activity of grape seed(*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chemistry*, 73, 285~290
17. Jang, J.K. and Han, J.Y. (2002) The antioxidant ability of grape seed extract. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 34, 524~528
18. Nilgun, G.B. and Gulcan, O. (2003) Osman Sagdic: Total phenolic contents and antibacterial activities of grape(*Vitis vinifera* L.) extracts; *Food Control*, 335~339
19. Revilla, E., Escalona, J.M., Alonso, E. and Kovac, V (1995) The phenolic composition of table grapes. Generation, Analysis and Process Influence (Charalambous G., ed.), Elsevier Science Publishers, Amsterdam, p.132-141.
20. Park, S.J., Lee, H.Y. and Oh, D.H. (2003) Free Radical Scavenging of Seed and Skin Extracts from Campbell Early Grape (*Vitis labruscana* B.). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 32, 115~118

(접수 2004년 10월 29일, 채택 2004년 11월 30일)