

올리브 잎의 적정 추출조건 및 추출물의 안정성 조사

이옥환 · 이희봉 · 이준수 · 이부용^{1,*}

충북대학교 식품공학과, ¹포천중문의과대학교 대체의학대학원

Optimization of Extraction Condition and Stability of Olive Leaf Extract

Ok-Hwan Lee, Hee-Bong Lee, Junsoo Lee, and Boo-Yong Lee^{1,*}

Department of Food Science and Technology, Chungbuk National University

¹Graduate School of Complementary Alternative Medicine, Pochon CHA University

Basic optimal extraction condition and stability data were determined for prediction of usefulness of olive leaf as functional food material. Solid contents of olive leaf extracts increased with increasing extraction temperature and ethanol content, and was the highest (38%) under 85°C, 80% ethanol, and 5 hr treatment conditions. Total phenol contents and electron-donating abilities of olive leaf extracts also increased with increasing ethanol content, and were the highest under 25°C, 80% ethanol, and 1 hr treatment conditions, then slightly decreased during storage at 25, 55, and 85°C. Olive leaf extract showed high stability under acidic storage condition, while low under alkalic condition.

Key words: olive leaf, extraction condition, stability, total phenol content, electron donating ability

서 론

올리브 나무는 볼푸레나무과(*Oleaceae*)의 상록교목으로 성경에서도 최초의 식물로 언급할 정도로 예로부터(BC 3,000년경) 재배되어져 왔으며 열매는 생과로 그대로 사용하거나 올리브유의 원료로, 잎은 이태리 요리의 향신료나 약용식품으로 현재까지 이용되어 왔다(1-4). 역사적으로 올리브 잎은 말라리아나 고열 등을 치료하는 목적으로 민간 의약품으로 사용되었고 그 밖에도 고혈압, 아테롬성 동맥경화증, 결장암, 염증, 식중독 등의 증상에 효능이 있으며, 올리브 잎 추출물은 혈압을 낮추거나 관상동맥의 혈류 속도를 증가, 부정맥을 완화, 소장 근육의 경련을 예방하는 등의 능력이 있는 것으로 알려져 있다(5-11). 올리브 잎의 주요 생리활성 성분들은 페놀성 화합물들로 hydroxytyrosol, tyrosol, caffeic acid, p-coumaric acid, vanillic acid, luteolin, diosmetin, verbascoside, luteolin-7-glucoside, apigenin-7-glucoside, vanillin, oleuropein, diosmetin-7-glucoside, rutin 등이 있다(12-15).

올리브 잎에 대한 지금까지의 연구들을 보면 올리브 잎으로부터 추출한 페놀성 성분들의 항산화효과(16-19), 항균효과(20-

21), 혈압강하 효과(22), 계절변화에 따른 올리브 잎의 무기질 변화(4), 여러종류 올리브의 페놀성 화합물의 분석(13), 올리브 잎으로부터 페놀성 화합물의 초임계 추출(23), 건조조건에 따른 올리브 잎의 화학성분의 변화(24), hyperthermophilic β -glycosidase에 의한 올리브 잎 추출물로부터 고순도 hydroxytyrosol의 생산(25), oleuropein의 소화대사 경로에 관한 연구(26) 등이 있다. 최근들어 올리브 잎과 추출물들이 서양요리 등의 식재료, 식품첨가물, 기능성식품 가공재료로서 국내에서의 사용빈도가 점차 높아지고 있는 실정에서 올리브 잎의 식품소제화를 위한 추출온도, 추출용매, 추출시간에 따른 올리브 잎 추출물들의 성분 특성 및 이들의 안정성에 대한 연구가 필요한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 추출온도, 추출용매, 추출시간에 따른 올리브 잎 추출물들의 성분 특성을 비교하여 적정 추출조건을 검색하였고, 올리브 잎 추출물에 함유된 총 페놀 성분들의 안정성을 조사하여 올리브 잎의 식품소제화를 위한 기초자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 올리브 잎은 호주산으로 2003년에 수확한 것을 Medifood사(Sydney, Australia)로부터 양도받아 사용하였다. 수확한 올리브 잎을 물로 잘 씻어 흙이나 먼지 등의 이 물질을 제거하고 이를 40±5°C에서 열풍건조 시켰다. 분쇄기(IKA M20, IKA, Germany)를 사용하여 20-30 mesh로 조분쇄한 후 시료로 사용하였다.

*Corresponding author: Boo-Yong Lee, Graduate School of Complementary Alternative Medicine, Pochon CHA University 222, Yatapdong, Bundang-gu, Seongnam-si, Kyonggi-do 463-836, South Korea
Tel: 82-31-725-8371
Fax: 82-31-725-8350
E-mail: bylee@cha.ac.kr

Table 1. Experimental design for the extraction conditions of olive leaf

Extraction conditions			
Exp. no	Temp. (°C)	Solvent	Time (hr)
1	25	D.W	1
2	25	D.W	3
3	25	D.W	5
4	25	40% EtOH	1
5	25	40% EtOH	3
6	25	40% EtOH	5
7	25	80% EtOH	1
8	25	80% EtOH	3
9	25	80% EtOH	5
10	55	D.W	1
11	55	D.W	3
12	55	D.W	5
13	55	40% EtOH	1
14	55	40% EtOH	3
15	55	40% EtOH	5
16	55	80% EtOH	1
17	55	80% EtOH	3
18	55	80% EtOH	5
19	85	D.W	1
20	85	D.W	3
21	85	D.W	5
22	85	40% EtOH	1
23	85	40% EtOH	3
24	85	40% EtOH	5
25	85	80% EtOH	1
26	85	80% EtOH	3
27	85	80% EtOH	5

추출온도, 추출용매, 추출시간에 따른 올리브 잎 추출물의 제조

올리브 잎의 적정 추출조건을 모색하고자 추출온도(25, 55 및 85°C), 추출용매(D.W., 40% 에탄올, 80% 에탄올), 추출시간(1, 3 및 5시간)등을 각각 달리하여 올리브 잎 추출물들을 제조하였다(Table 1). 올리브 잎 추출물의 제조는 20-30 mesh로 조분쇄된 올리브 잎 10 g에 100 mL의 추출용매를 가하고 각 추출조건에 따라 추출한 후 Whatman No. 2로 여과하였다. 여과하고 남은 잔사에 100 mL 추출용매를 가하여 마찬가지로 추출하고 여과하였으며 이와 같은 과정을 2회 반복하였다. 3회 추출하여 얻은 여과액을 24시간 동안 4°C에서 정치, 10,000 g로 원심분리, 40°C에서 감압농축(Rotary evaporator N-1000, EYELA)한 후 동결건조하여 올리브 잎 추출물들을 제조하였다.

추출물의 고형분 함량 및 총 페놀 함량

올리브 잎 추출물들의 고형분 함량은 올리브 잎 추출물을 동결건조한 후 건조물의 무게를 측정하여 나타내었다. 총 페놀 함량은 Folin-Dennis법(27)에 의하여 분석하였다. 즉, Folin-Dennis 시약은 sodium tungstate 10 g, phosphomolybdic 2 g, phosphoric acid 5 mL를 메스플라스크에 넣고 증류수로 정용한 후 삼각플라스크에 옮겨 2시간 동안 환류조작하여 사용하였다. 실험방법으로는 캡튜브에 증류수 7 mL씩 넣고 DMSO(dimethylsulfoxide)에 녹인 시료를 1 mL씩 넣은 후 Folin-Dennis 시약을 0.5 mL를 첨가 후 정확히 3분 후에 sodium carbonate anhydrous 포화용액

1 mL, 증류수 0.5 mL를 넣은 후 725 nm에서 흡광도를 측정하여 표준용액과 비교하여 총 페놀 함량을 구하였다. 표준용액으로는 tannic acid(Sigma Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하였다.

전자공여능

올리브 잎 추출물들의 전자공여능은 DPPH radical 소거능을 이용하여 측정하였다. 즉, Blois 방법(28)을 응용하여 캡튜브에 3.5×10^{-3} M DPPH/EtOH 용액 3 mL과 DMSO에 녹인 시료 0.15 mL을 혼합하여 실온에서 30분간 방치한 후 516 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 다음 식에 의하여 DPPH radical 소거효과를 계산하였다.

$$EDA(\%) = 1 - \frac{SA}{CA} \times 100$$

SA: sample absorbance
CA: control absorbance

올리브 잎 추출물의 저장 안정성

총 페놀 함량과 전자공여능을 기준으로 올리브 잎 추출물의 저장 안정성을 검토하고자 온도(25, 55 및 85°C), pH(1, 4, 7, 10 및 14) 등의 저장조건을 달리하여 시험하였다. 저장 실험은 올리브 잎 추출물들 중 총 페놀 함량 및 전자공여능이 가장 강하게 나타난 Exp. 7 추출물을 이용하였고, 올리브 잎 추출물에 함유된 수용성 및 지용성 페놀성 화합물들을 적절히 용해하기 위하여 50% DMSO를 사용하여 Exp. 7 추출물을 용해하였다. 1%의 농도로 제조한 Exp. 7 추출물(pH 9.35)을 각각 25, 55, 85°C로 저장하면서 온도에 대한 저장 안정성을 검토하였고, pH를 각각 1, 4, 7, 10 및 14로 조절하여 25°C에 저장하면서 pH에 대한 저장 안정성 조사하였다. 각각의 조건에서 저장된 올리브 잎 추출물들은 15일 간격으로 시료를 채취하였고 이들 시료의 총 페놀 함량 및 전자공여능 등을 측정하여 온도, pH에 대한 올리브 잎 추출물의 안정성을 비교, 조사하였다.

결과 및 고찰

추출조건에 따른 올리브 잎 추출물들의 고형분 함량

추출조건에 따른 올리브 잎 추출물들의 고형분 함량은 Table 2와 같다. 먼저 추출온도가 높아질수록, 추출하는 에탄올의 농도가 높을수록 올리브 잎 추출물들의 고형분 함량은 증가하는 경향을 보였다. 그러나 추출시간의 경우, 고형분 함량과 추출시간과의 관계는 일정한 경향을 보이지 않았다. 이들 추출조건들을 모두 고려해 볼 때 고형분 함량이 가장 높게 나타난 조건은 85°C, 80% 에탄올, 5시간 추출한 처리구(38.0%)이었고 55°C, 80% 에탄올, 5시간 추출한 처리구와 85°C, 80% 에탄올, 3시간 추출한 처리구에서 각각 35.1%와 34.7%로 고형분의 함량이 높게 나타났다. Kim 등(29)은 계피 추출액의 유효성분과 가용성 고형분의 용출량에 미치는 추출용매 및 추출시간 등의 추출조건을 연구한 결과에서 물보다는 70% 에탄올로 추출한 추출액의 가용성 고형분 함량이 더 높은 수치를 나타냈고 추출시간이 길어질수록 고형분 함량이 증가하기는 하나 2시간 이상의 추출은 불필요하다고 보고하여 본 연구의 결과와 비슷한 경향을 보였다.

추출조건에 따른 올리브 잎 추출물들의 총 페놀 함량

추출조건에 따른 올리브 잎 추출물들의 총 페놀 함량을 비

Table 2. Solid contents, total phenol contents and electron donating abilities of olive leaf extracts

Exp. no	Solid content (%)	Total phenol content (%)	EDA ¹⁾ (%)
1	20.1	14.4	44.6
2	21.9	13.9	42.4
3	20.2	11.4	35.6
4	25.6	16.0	53.6
5	28.0	16.1	54.5
6	28.3	16.9	54.0
7	23.8	22.1	70.5
8	24.1	18.6	64.2
9	26.1	17.3	62.0
10	17.4	12.9	42.9
11	21.6	15.6	49.4
12	22.8	15.2	48.4
13	25.4	17.2	57.0
14	29.8	16.2	57.7
15	28.1	17.6	62.9
16	26.9	19.3	62.6
17	29.3	17.0	60.5
18	35.1	19.5	65.8
19	26.8	17.5	58.4
20	22.1	15.4	52.2
21	25.2	14.0	48.7
22	30.8	20.4	64.4
23	28.1	18.6	59.9
24	33.1	20.7	65.6
25	34.6	16.7	58.4
26	34.7	17.0	57.5
27	38.0	18.2	58.7

¹⁾Electron donating ability

교한 결과(Table 2), 올리브 잎 추출물들의 총 페놀 함량은 추출용매의 에탄올 농도가 높아질수록 증가하는 경향을 보였다. 그러나 추출시간과 추출온도에 대한 영향은 나타나지 않았다. 총 페놀 함량이 가장 높게 나타난 추출조건은 25°C에서 80% 에탄올로 1시간 추출한 처리구 이었으며 이때의 총 페놀 함량은 22.1%이었다. 고형분 함량이 가장 높은 Exp. 27(38.0%) 처리구에서 총 페놀 함량도 가장 높으리라는 예상과는 달리 비교적 고형분 함량이 낮은 Exp. 7(23.8%) 처리구에서 가장 높은 총 페놀 함량을 보였다.

한편, Skerget 등(17)은 올리브 잎을 메탄올로 추출하여 총 페놀 함량을 측정한 결과, 올리브 잎 메탄올 추출물의 총 페놀 함량은 144 g/kg(14.4%)으로서 본 연구에서 80% 에탄올 추출물들의 총 페놀 함량보다 적은 함량을 보였다. 즉, 에탄올을 이용하여 올리브 잎 추출물을 제조하는 것이 올리브 잎에 존재하는 유용성 폴리페놀 화합물들을 적절히 추출할 수 있으며, 특히 기능성식품의 원료로서 올리브 잎 추출물을 이용한다면 식품으로 사용 가능한 에탄올(주정)을 사용하여 올리브 잎 추출물을 제조하는 것이 적당한 것으로 판단되었다.

추출조건에 따른 올리브 잎 추출물들의 전자공여능

추출조건에 따른 올리브 잎 추출물들의 전자공여능을 측정한 결과(Table 2), 추출용매의 에탄올 농도가 높아질수록 전자공여능도 증가하는 경향을 보였다. 이는 추출조건에 따른 올리브 잎 추출물들의 총 페놀 함량에 대한 결과와도 같은 경향으로 25°C에서 80% 에탄올로 1시간 추출한 추출물(Exp. 7)에서 70.5%의 강한 전자공여능을 보였다. 즉, 올리브 잎 추출물들에 전자공여능은 추출물들에 함유된 총 페놀 함량과 비례적인 관계를 보였으며 총 페놀 함량이 가장 높은 Exp. 7 처리구에서 전자공여능도 가장 높게 나타났다. 이는 올리브 잎 추출물들에 존재하는 페놀성 화합물들에 기인한 것으로 페놀성 화합물들 구조내에 존재하는 hydroxyl group(-OH)에 의해 강한 라디칼 소거효과를 보인 것으로 사료되었다(16).

올리브 잎 추출물의 저장 안정성

온도와 pH에 대한 올리브 잎 추출물의 저장 안정성을 비교한 결과는 Table 3과 같다. 먼저 온도에 대한 영향을 살펴보면, 모든 저장온도에서 저장기간이 길어짐에 따라 총 페놀 함량과 전자공여능은 모두 소량의 감소치를 나타내었다. 이러한 감소치는 저온(25°C)에서 보다 고온(85°C)에서 크게 나타났으며, 이는 열에 의한 일부 페놀성 화합물들의 파괴로 인해 총 페놀 함량이 감소하기 때문인 것으로 판단되었다. 하지만 전체적인 감소치는 매우 적은 양으로 올리브 잎 추출물에 함유된 페놀성 화합물들은 비교적 열에 안정한 것으로 판단되었다. Kim 등(30)은 은행잎 추출물에 함유된 페놀성 화합물들의 반응속도론적 연구에서 은행잎에 함유된 페놀성 화합물들 중 quercetin과 kaempferol의 self life($T_{90\%}$, 20°C)는 약 4.2년 정도로 비교적 열에 안정한 물질이라고 보고해 본 연구의 결과와 비슷한 경향을 나타내었다.

pH의 경우, 산성(pH 1, 4)과 중성(pH 7) 조건에서는 총 페놀 함량과 전자공여능 모두 증가하는 경향을 보였다. 그러나 비교적 약알칼리(pH 10) 조건에서는 약간의 감소치를, 강알칼리(pH

Table 3. Changes of total phenol contents and electron donating abilities of olive leaf extract by storage conditions

Storage conditions	Total phenol content (%)			Electron donating ability (%)			
	0 days	15 days	30 days	0 days	15 days	30 days	
Temp. (°C)	25	22.1	21.6	19.7	70.5	65.5	63.6
	55	22.1	21.8	19.4	70.5	61.8	61.5
	85	22.1	20.8	19.1	70.5	66.9	64.6
pH	1	22.1	33.4	33.4	70.5	89.0	91.2
	4	22.1	25.9	25.7	70.5	86.5	88.9
	7	22.1	25.1	24.3	70.5	78.1	76.5
	10	22.1	22.7	21.7	70.5	68.2	67.9
	14	22.1	13.4	12.6	70.5	12.4	10.4

14) 조건에서는 급격한 감소치를 보여 올리브 잎 추출물에 존재하는 페놀성 화합물들은 산성과 중성 조건에서는 안정하지만 알칼리 조건에서는 매우 불안정한 것으로 나타났다. pH가 포도과피 anthocyanins 색소에 미치는 영향을 조사한 Shim 등(31)에 의하면 포도과피 anthocyanins 색소는 pH가 중성 이상으로 높아지면 anthocyanins 색소가 파괴되고 이러한 현상은 anthocyanins 색소가 안정한 양 이온형으로부터 불안정한 비 이온형으로 되기 때문이라고 보고하였다. 또한 Park 등(32)의 보고에서도 pH가 낮은 산성조건에서의 녹차 catechin은 안정하였지만 pH가 높은 알칼리성에서는 불안정하다고 보고하여 본 연구의 결과와 비슷한 경향을 보였다. 즉, anthocyanins이나 catechin의 구조와 일치하지는 않지만 유사한 구조를 갖는 일부 페놀성 화합물들은 비교적 높은 pH 조건에서 매우 불안정하여 그 구조가 파괴되는 것으로 사료되며 본 연구의 결과에서도 알칼리 조건에서의 페놀성 화합물들은 매우 불안정한 것으로 나타나 올리브 잎 추출물을 저장시 산성 또는 중성 조건에서 저장하는 것이 적절한 것으로 판단되었다.

요 약

본 연구에서는 올리브 잎의 적정 추출조건을 모색하고자 추출온도, 추출용매, 추출시간 등을 달리하여 올리브 잎 추출물들을 제조하였고 이들 추출물의 추출수율, 총 페놀 함량, 전자공여능 등을 비교, 분석하여 올리브 잎의 적정 추출조건을 조사하였다. 또한, 올리브 잎 추출물의 저장 안정성을 온도 및 pH 조건에서 검토하여 올리브 잎의 식품소제화를 위한 기초자료를 제공하고자 하였다. 추출조건에 따른 올리브 잎 추출물의 고형분 함량은 추출온도가 높아질수록, 추출하는 에탄올의 농도가 높을수록 올리브 잎 추출물들의 고형분 함량은 증가하는 경향을 보였다. 그러나 추출시간의 경우, 고형분 함량과 추출시간과의 관계는 일정한 경향을 보이지 않았다. 고형분 함량이 가장 높게 나타난 조건은 85°C, 80% 에탄올, 5시간 추출한 처리구(38%)이었다. 총 페놀 함량과 전자공여능은 추출용매의 에탄올 농도가 높아질수록 증가하는 경향을 보여 가장 많은 총 페놀 함량과 전자공여능을 나타낸 추출조건은 25°C에서 80% 에탄올로 1시간 추출한 추출물이었으며 이때의 총 페놀 함량은 22.1%, 전자공여능은 70.5%이었다. 25, 55, 85°C에서 저장한 올리브 잎 추출물들은 저장기간이 길어짐에 따라 총 페놀 함량과 전자공여능 모두 소량의 감소치를 나타냈지만 올리브 잎 추출물에 함유된 페놀성 화합물들은 비교적 열에 안정하였다. 반면, pH의 경우, 산성과 중성 조건에서는 총 페놀 함량과 전자공여능 모두 증가하는 경향을 보였으나 약알칼리(pH 10) 조건에서는 약간의 감소치를, 강알칼리(pH 14) 조건에서는 급격한 감소치를 보였다. 결론적으로 기능성 식품소재로 올리브 잎 추출물을 제조시 추출용매로는 80% 에탄올을, 추출시간은 1시간 내외로 저온에서 추출하는 것이 바람직하며 올리브 잎 추출물을 저장시 산성 또는 중성 조건에서 저장하는 것이 적절한 것으로 나타났다.

문 헌

1. Gucci R, Lombardini L, Tattini M. Analysis of leaf water relations in leaves of two olive (*Olea europaea*) cultivars differing in tolerance to salinity. *Tree Physiol.* 17: 13-21 (1997)
2. Medifood. Olive. Available from: <http://www.medifood.com.au>. Accessed Dec, 2004.

3. The Korean society of food and nutrition. Dictionary of food and nutrition. Korea dictionary research publishing., Seoul, Korea (1998)
4. Fernandez-Escobar R, Moreno R, Garcia-Creus M. Seasonal changes of mineral nutrients in olive leaves during the alternate-bearing cycle. *Scientia Hort.* 82: 25-45 (1999)
5. Zarzuelo A. Vascoliator effect of olive leaf. *Planta medica* 57: 417-419 (1991)
6. Samuelsson G. The blood pressure lowering factor in leaves of *Olea europaea*. *Farmaceutisk Revy.* 15: 229-239 (1951)
7. Aziz NH, Farag SE, Mousa LA, Abo-Zaid MA. Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. *Microbios.* 93: 43-54 (1998)
8. Ryan D, Prenzler PD, Lavee S, Antolovich M, Robards K. Quantitative changes in phenolic content during physiological development of the olive (*Olea europaea*) cultivar Hardy's Mammoth. *J. Agric. Food Chem.* 51: 2532-2538 (2003)
9. Campeol E, Flamini G, Cioni PL, Morelli I, Cremonini R, Caccarini L. Volatile fractions from three cultivars of *Olea europaea* L. collected in two different seasons. *J. Agric. Food Chem.* 51: 1994-1999 (2003)
10. Flamini G, Cioni PL, Morelli I. Volatiles from leaves, fruits, and virgin oil from *Olea europaea*. *J. Agric. Food Chem.* 51: 1382-1386 (2003)
11. Garcia-Gomez A, Roig A, Bernal MP. Composting of the solid fraction of olive mill wastewater with olive leaves: organic matter degradation and biological activity. *Bioresour. Technol.* 86: 59-64 (2003)
12. Ryan D, Antolovich M, Prenzler P, Robards K, Lavee S. Biotransformations of phenolic compounds in *Olea europaea* L. *Scientia Hort.* 92: 147-176 (2002)
13. Bianco A, Uccella N. Biophenolic components of olives. *Food Res. Int.* 33: 475-485 (2000)
14. Tasioula-Margari M, Ologeri O. Isolation and characterization of virgin olive oil phenolic compounds by HPLC/UV and GC/MS. *J. Food Sci.* 66: 530-534 (2001)
15. Farag RS, El-Baroty GS, Basuny AM. Safety evaluation of olive phenolic compounds as natural antioxidants. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 54: 159-174 (2003)
16. Benavente-Garcia O, Castillo J, Lorente J, Ortuno A, Del-Rio JA. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chem.* 68: 457-462 (2000)
17. Skerget M, Kotnik P, Hadolin M, Hra AR, Simoni M, Knez. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chem.* 89: 191-198 (2005)
18. Somova LI, Shode FO, Ramnanan P, Nadar A. Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies africana leaves. *J. Ethnopharmacol.* 84: 299-305 (2003)
19. Andrikopoulos NK, Antonopoulou S, Kaliora AC. Oleuropein inhibits LDL oxidation induced by cooking oil frying by-products and platelet aggregation induced by platelet-activating factor. *Lebensm.-Wissu.-Technol.* 35: 479-484 (2002)
20. Del-Rio JA, Baidez AG, Botia JM, Ortuno A. Enhancement of phenolic compounds in olive plants (*Olea europaea* L.) and their influence on resistance against *Phytophthora* sp. *Food Chem.* 83: 75-78 (2003)
21. Furneri PM, Marino A, Saija A, Uccella N, Bisignano G. *In vitro* antimycoplasmal activity of oleuropein. *Int. J. Antimicrobial Agents* 20: 293-296 (2002)
22. Khayyal MT, El-Ghazaly MA, Abdallah DM, Nassar NN, Okpanyi SN, Kreuter MH. Blood pressure lowering effect of an olive leaf extract (*Olea europaea*) in L-NAME induced hypertension in rats. *Arzneimittelforschung* 52: 797-802 (2002)
23. Floch FL, Tena MT, Rios A, Valcarcel M. Supercritical fluid extraction of phenol compounds from olive leaves. *Talanta.* 46: 1123-1130 (1998)
24. Delgado-Pertinez M, Gomez-Cabrera A, Garrido A. Predicting the nutritive value of the olive leaf (*Olea europaea*): digestibility and chemistry composition and in vitro studies. *Animal Feed Sci. Technol.* 87: 187-201 (2000)

25. Briante R, Patumi M, Febbraio F, Nucci R. Production of highly purified hydroxytyrosol from *Olea europaea* leaf extract biotransformed by hyperthermophilic beta-glycosidase. *J. Biotechnol.* 111: 67-77 (2004)
26. Polzonetti V, Egidi D, Vita A, Vincenzetti S, Natalini P. Involvement of oleuropein in (some) digestive metabolic pathways. *Food Chem.* 88: 11-15 (2004)
27. Teresa-Satue M, Huang SW, Frankel, EN. Effect of natural antioxidants in virgin olive oil on oxidative stability of refined, bleached and deodorized olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 72: 1131-1137 (1995)
28. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1199-1200 (1958)
29. Kim NM, Ko SR, Choi KJ, Kim WJ. Effect of some factors on extraction of effectual components in cinnamon extracts. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* 36: 17-22 (1993)
30. Kim CK, Park MK, Lee EJ, Hwang, SJ. Stability of ginkgo flavonglycoside in ginkgo extract aqueous solution. *J. Korean Pharm. Sci.* 19: 213-217 (1989)
31. Shim KH, Kang KS, Choi JS, Seo KI, Moon JS. Isolation and stability of anthocyanin pigments in grape peels. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 23: 279-286 (1994)
32. Park YH, Won EK, Son DJ. Effect of on the stability of green tea catechins *J. Fd Hyg. Safety* 17: 117-123 (2002)

(2004년 12월 29일 접수; 2005년 2월 4일 채택)