

## 거봉 포도 종자 및 과피 추출물의 항산화 활성

박성진 · 오덕환\*

강원대학교 바이오산업공학부

### Free Radical Scavenging Effect of Seed and Skin Extracts of Black Olympia Grape (*Vitis labruscana* L.)

Sung-Jin Park and Deog-Hwan Oh\*

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

Optimal extraction condition and free radical scavenging effect of ethanol extracts of Olympia grape (*Vitis labruscana* L.) seeds and skins were determined. Extraction yield of grape seeds increased with increasing extraction temperature increased, but was not affected by ethanol concentration in grape skins. Highest extraction yields obtained with 100% ethanol concentration at 78°C were 36 and 49.5% in seeds and skins, respectively. Ethanol extract of grape seeds obtained at 78°C showed stronger  $RC_{50}$  (409.7  $\mu\text{g/mL}$ ) than that of grape skins. Among organic solvent fractions, ethylacetate fraction obtained from ethanol extract of grape seed showed the strongest  $RC_{50}$  (136.7  $\mu\text{g/mL}$ ). Overall, ethanol extracts of grape seeds and their organic fractions showed significantly stronger free radical scavenging effect than those of skin extracts.

**Key words:** black olympia grape seed, black olympia grape skin, free radical scavenging effect

## 서 론

약 8000년 전부터 경작되기 시작하여 현재는 총 15만여 품종에 이르며 인간이 재배한 오래된 과일 중에 하나인 포도(*Grape/Vitis vinifera*)는 갈매나무목(*Rhamnales*) 포도과(*Vitaceae*)에 속하는 낙엽성 덩굴식물로 11속 약 700여종이 있다. Black Olympia는 1955년 일본의 사와노보리(澤登)씨가 campbell early의 4배체 품종인 석원조생(石原早生)에 구주계 4배체 품종인 centenial을 교배하여 육성한 4배체 변이 품종이다<sup>(1)</sup>. 거봉종은 우리나라 전체 경작 면적의 10% 정도를 차지하며 캠벨종 다음으로 많이 이용되고 있는 포도 품종으로서 육질이 연하고 과즙이 많으며 당도가 높아 식미가 우수하다.

현재까지 여러 종의 천연 항산화제가 분리되었으나 토코페롤 등을 비롯한 몇 종을 제외하고는 인체에 대한 독성 문제나 경제적인 측면 때문에 거의 사용되지 않고 있으며, 높은 항산화 효과와 저렴한 가격 등의 이유로 인해 대부분이 인체에 대하여 독성이 밝혀져 있는 합성 항산화제를 이용하고 있는 실정이다. 따라서, 최근에 인위적으로 가공한 화학

적 합성 첨가물에 대한 일반인들의 안전성과 관련된 문제 의식이 상당히 고취되면서 그것을 대체할 수 있는 천연물에 대한 연구가 더욱 필요하게 되었다. 그러한 기능성을 갖는 천연물 중에서는 오래 전부터 인간의 식생활과 밀접한 관계를 갖고 있는 것들이 매우 많다. 또한 많은 천연식품 성분들의 free radical 소거 활성 등의 항산화 활성에 대한 결과가 보고되고 있어 식품 첨가물로서 식품의 기호성을 높일 뿐만 아니라 산화적 품질 저하를 억제하여 식품의 가치를 높일 수 있다<sup>(2-4)</sup>. 포도와 관련한 연구로 이 등<sup>(5)</sup>은 초임계 이산화탄소와 에탄올 보조 용매를 이용하여 포도 종자로부터 페놀성 화합물을 추출하는 방법을, 박 등<sup>(6)</sup>은 포도의 각 품종별 휘발성 향기 성분 분석을, 이 등<sup>(7)</sup>은 포도 과피의 항균 활성을, Jamroz 등<sup>(8)</sup>은 포도주의 항산화 효과를, Shirataki 등<sup>(9)</sup>은 포도의 암세포에 대한 세포독성을 보고하였다.

본 연구에서는 거봉종 포도 종자 및 과피로부터 추출용매의 농도와 추출 온도변화에 따른 수율을 조사하고 그에 따른 DPPH법에 의한 free radical 소거능을 비교하여 거봉종 포도 종자 및 과피의 천연 항산화제로서의 가치를 확인하여 보았다.

## 재료 및 방법

### 재료

실험에 사용된 포도 거봉종의 종자와 과피는 춘천 지역의

\*Corresponding author : Deog-Hwan Oh, School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

Tel: 82-33-250-6457

Fax: 82-33-250-6457

E-mail: deoghwa@kangwon.ac.kr

포도 재배 농가에서 재배된 것으로 각 부위별로 나누어 건조한 후 분쇄하여 보관하면서 사용하였다.

### 추출 및 분획

가장 높은 추출 수율을 나타내는 조건을 찾기 위하여 캠벨종의 종자와 과피는 erlenmeyer flask와 water bath(SWB-10, Korea)를 이용하여 분말시료에 시료중량의 10배량의 ethanol을 농도별(100%, 70%, 50%)로 가하여 각 온도별(78°C, 50°C, 30°C)로 12시간동안 2회 반복 추출한 다음 감압 여과 장치로 여과한 후, rotary vacuum evaporator(EYELA N-N-SERIES, Japan)를 사용하여 농축하고 이를 동결 건조하였다. 각 조건의 ethanol 추출물을 극성이 다른 용매를 이용하여 단계적으로 분획하였다. 즉, ethanol 추출물과 hexane, 증류수를 1:10:9(v/v/v)의 비율로 혼합하여 추출 분획한 후 rotary vacuum evaporator로 농축하여 hexane 분획물을 얻은 후 수층 분획은 분획여두에서 다시 chloroform, ethyl acetate 그리고 butanol로 체계적으로 용매분획한 다음 각각 chloroform(CHCl<sub>3</sub>)층, ethyl acetate(EtOAc)층, butanol(BuOH)층 및 aqueous(H<sub>2</sub>O)층 분획물을 얻어 농축하고 이를 동결건조하여 밀봉한 후 4°C의 냉장고에 보관하면서 실험에 사용하였다. 한편, 에탄올 추출물의 수율은 분말시료 건조중량에 대한 에탄올 추출물의 동결건조중량의 조성비로 나타내었고 유기용매의 추출수율은 에탄올 추출물의 동결건조 중량에 대한 각 유기용매추출물의 동결건조중량의 조성비로 각각 나타내었다.

### Free radical 소거능 활성

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)를 이용한 free radical 소거능 활성을 검증하기 위하여 여러 농도의 시료를 4 mL의 메탄올에 녹여 1.5×10<sup>4</sup> 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 reduction concentration(RC<sub>50</sub>)으로 나타냈으며, 기존의 항산화제인 α-tocopherol과 BHA의 항산화능을 각각 비교하였다.

## 결과 및 고찰

### 추출 수율

에탄올의 농도와 추출 온도를 달리한 각 추출 조건에 따른 포도 종자 및 과피 에탄올 추출물의 최적 추출 조건을 확인하기 위하여 12시간 2회 반복 추출한 후 농축하여 동결 건조한 수율은 Table 1과 같다. 종자 에탄올 추출물의 경우, 모든 수율은 추출 온도 및 에탄올 농도 조건의 증가와 함께 비례적으로 증가하였으며, 과피 에탄올 추출물의 경우, 각 에탄올 농도 조건에서 추출 온도의 증가와 함께 비례적으로 증가하였으나, 각 추출 온도 조건에서는 에탄올 농도의 증가와는 상관없는 수율을 나타내었다. 각 추출 조건 중 가장 높은 수율을 보인 조건은 종자와 과피 모두에서 에탄올 농도 100% 일 때 추출 온도 78°C로 36.0%와 49.5%를 나타내었다.

각 종자와 과피 에탄올 추출물을 hexane, chloroform, ethyl acetate, 그리고 butanol로 분획한 분획물들의 수율은 Table 2와 같다. 분획물은 종자 및 과피의 에탄올 추출물중에서 가

**Table 1. Extraction yields of grape seed and skin by various ethanol concentrations and extraction temperatures**

Extract condition		Yields (%)		
		100% EtOH	70% EtOH	50% EtOH
Seed	78°C	36.0	34.5	31.0
	50°C	35.0	33.5	29.0
	30°C	34.0	29.5	27.0
Skin	78°C	49.5	47.8	44.5
	50°C	43.0	42.3	42.8
	30°C	28.0	31.3	26.8

**Table 2. Extraction yields of organic solvent fractions obtained from 100% ethanol extracts of grape seeds and skins**

Fractions	Yields (%)				
	Hexane fr.	CHCl <sub>3</sub> fr.	EtOAc fr.	BuOH fr.	H <sub>2</sub> O fr.
Seed	19.6	0.4	1.5	6.4	72.1
Skin	1.4	1.5	0.4	4.0	92.7

장 높은 수율을 나타낸 100% 에탄올 추출물을 사용하였다. 분획물 수율에서 종자 에탄올 추출물과 과피 에탄올 추출물 간의 현저한 차이를 확인하였는데, hexane 분획물이 종자에서는 19.6%, 과피에서는 1.4%였고, chloroform 분획물은 종자에서는 0.4%, 과피에서는 1.5%였다. 또한 ethyl acetate 분획물은 종자에서 1.5%를, 과피에서 0.4%를 나타내었으며, butanol 분획물은 종자에서 6.4%를 과피에서 4.0%를, 물 분획물은 종자에서 72.1%를, 과피에서 92.7%를 보였다.

동일한 추출 조건에서 과피 에탄올 추출물의 평균 수율이 39.6%로 종자 에탄올 추출물의 평균 수율 32.3%보다 다소 높게 나타났다. 또한 각 유기 용매별 분획물 수율에서도 종자 에탄올 추출물의 각 유기 용매 분획물과 과피 에탄올 추출물의 각 유기 용매 분획물 간의 현저한 차이를 확인하였는데, 식물체의 색소를 많이 함유하는 chloroform 분획물을 제외한 나머지 분획물에서 종자 에탄올 추출물의 각 유기 용매 분획물이 과피 에탄올 추출물의 유기 용매 분획물에 비하여 높게 나타났으며, 특히 폴리페놀 화합물들을 많이 함유하고 있는 ethyl acetate 분획물은 과피 에탄올 추출물에서 0.4%인데 반하여 종자 에탄올 추출물에서는 1.5%를 차지하였다.

### Free radical 소거능 활성

포도 캠벨종의 종자와 과피 에탄올 추출물과 분획물의 free radical 소거 활성은 DPPH법<sup>(10)</sup>에 의하여 확인하였으며, 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 50% 감소시키는데 필요한 시료의 양(μg)을 RC<sub>50</sub>으로 나타내었다. 종자와 과피 에탄올 추출물의 추출 온도에 따른 free radical 소거 활성에 대한 결과는 Table 3과 같다. 종자 추출물들은 78°C, 50°C, 30°C에서 추출한 추출물들이 409.7 μg, 628.9 μg 및 581.1 μg, 과피 에탄올 추출물은 78°C, 50°C 및 30°C에서 추출한 추출물들이 6528.8 μg, 12779.5 μg 및 7013.5 μg의 RC<sub>50</sub>을 나타내었다. 이같은 결과는 지질 과산화 억제효과에서도 비슷한 경향을 나타내었다. Park *et al.*<sup>(11)</sup>은 종자 에탄올 추출물이 과

**Table 3. Free radical scavenging effect of ethanol extracts of grape seeds and skins at various extraction temperatures**

	Sample <sup>1)</sup>	RC <sub>50</sub> <sup>2)</sup> (µg/mL)
Seed	78°C extract	409.7
	50°C extract	628.9
	30°C extract	581.1
Skin	78°C extract	6528.8
	50°C extract	12779.5
	30°C extract	7013.5
	α-tocopherol	15.4
	BHA	16.9

<sup>1)</sup>100% ethanol concentration was used.

<sup>2)</sup>Dose required for a 50% reduction of DPPH radical at 517 nm.

**Table 4. Free radical scavenging effect of organic solvent fractions obtained from ethanol extracts of grape seeds and skins**

	Sample <sup>1)</sup>	RC <sub>50</sub> <sup>2)</sup> (µg/mL)
Seed	Hexane fr.	859.2
	CHCl <sub>3</sub> fr.	3502.5
	EtOAc fr.	136.7
	BuOH fr.	219.9
	H <sub>2</sub> O fr.	2150.0
Skin	Hexane fr.	3075.8
	CHCl <sub>3</sub> fr.	4107.2
	EtOAc fr.	694.7
	BuOH fr.	1698.2
	α-tocopherol	15.4
	BHA	16.9

<sup>1)</sup>100% ethanol concentration was used.

<sup>2)</sup>Dose required for a 50% reduction of DPPH radical at 517 nm.

피 에탄올 추출물보다 약 70%이상 높은 지질과산화물의 감소를 나타내었다고 보고하였다.

종자와 과피 에탄올 추출물들의 분획물들에 대한 free radical 소거 활성에 대한 결과는 Table 4와 같다. 종자 에탄올 추출물의 유기 용매 분획물들의 free radical 소거 활성은 hexane 분획물, chloroform 분획물, ethyl acetate 분획물, butanol 분획물 및 물 분획물이 859.2 µg, 3502.5 µg, 136.7 µg, 219.9 µg 및 2150.0 µg를 나타내었다. 한편 과피 에탄올 추출물의 유기 용매 분획물들의 free radical 소거 활성은 hexane 분획물, chloroform 분획물, ethyl acetate 분획물 및 butanol 분획물이 3075.8 µg, 4107.2 µg, 694.7 µg 및 1698.2 µg를 나타내었으나, 물 분획물에서는 free radical 소거 활성을 확인할 수 없었다.

최근 천연물의 여러 생리활성에 관한 연구 중 폴리페놀 화합물의 항산화 활성 및 항산화 활성에 기인한 다양한 생리활성에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 본 연구에서는 국내산 거봉종 포도 종자 및 과피로부터 에탄올의 농도와 추출 온도 변화에 의한 수율의 차이와 free radical 소거 활성을 확인하여 보았다. 종자 및 과피 에탄올 추출물의 free radical 소거 활성은 추출 온도 조건의 변화와 무관하게 종자 에탄올 추출물이 과피 에탄올 추출물 보다 높은 free radical 소

거 활성을 보였으며, α-tocopherol과 BHA 보다는 현저히 낮은 free radical 소거 활성을 나타내었다. 이러한 결과는 허 등<sup>(12)</sup>이 보고한 항산화 작용 등의 다양한 생리 활성을 보이는 resveratrol이 다량 함유하고 있을 것으로 유추되는 포도 나무가지 추출물의 free radical 소거 활성 RC<sub>50</sub> = 34.5 µg과는 상당한 차이를 보이는 것으로 종자 및 과피 에탄올 추출물의 free radical 소거 활성에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

각 에탄올 추출물의 각 유기 용매별 분획물간의 free radical 소거 활성의 비교에서는, 종자 및 과피 에탄올 추출물 모두에서 ethyl acetate 분획물과 butanol 분획물이 가장 높은 free radical 소거 활성을 보였다. 그러나 포도 품종별로 free radical 소거 활성은 물론 지질과산화, 항암등 여러가지 생리활성효능이 현저하게 차이가 나는 것으로 나타났다. Park *et al.*<sup>(13)</sup>은 거봉종 포도 종자에탄올 추출물(RC<sub>50</sub> = 409.7 µg/mL) 및 과피 에탄올 추출물 (RC<sub>50</sub> = 6528.8 µg/mL)의 free radical 소거 활성이 캠벨종 포도 종자 (RC<sub>50</sub> = 16.8 µg/mL) 및 과피 에탄올 추출물(RC<sub>50</sub> = 2437.5 µg/mL)보다 현저하게 저하된다고 보고하였으며 지질과산화, 항암등 여러 가지 생리활성효과도 캠벨종이 거봉종보다 우수한 것으로 보고하였다<sup>(11)</sup>.

따라서 현재 식용되지 않고 거의 버려지고 있는 포도 종자와 과피의 실정을 감안할 때 포도 품종별에 대한 종자와 과피의 생리활성효능에 규명과 이를 활용한 각종 질병의 예방 및 치료에 필요한 기능성 식품 또는 의약품으로의 개발에 필요한 free radical 소거 활성의 주성분 물질의 분리, 구조 해석 및 기타 생리활성에 대한 추가적인 연구가 필요하다 하겠다.

## 요 약

본 연구는 거봉종 포도의 종자와 과피로부터 에탄올용매의 농도와 추출 온도변화에 의한 추출물의 수율의 차이와 그에 따른 free radical 소거 활성을 비교하였다. 각 분획물은 에탄올 추출물로부터 hexane 분획물, chloroform 분획물, ethyl acetate 분획물, butanol 분획물 및 물 분획물로 나누어 free radical 소거 활성을 RC<sub>50</sub>으로 나타내었다. 추출 수율은 종자 및 과피 모두에서 추출 온도 78°C, 에탄올 농도 100%에서 36.0%와 49.5%로 다른 온도와 농도 조건에 비하여 높은 수율을 나타내었다. 각 분획물 중에서는 물 분획물이 종자에서는 72.1%인데 비하여 과피에서는 92.7%로 다른 분획층에 비하여 많이 차지하였다. DPPH법에 의한 free radical 소거 활성에서는 종자의 경우, 78°C 에탄올 추출물이 RC<sub>50</sub> = 409.7 µg/mL이며, 분획물에서는 ethyl acetate층이 RC<sub>50</sub> = 136.7 µg/mL로 가장 높은 활성을 나타내었다. 과피의 경우, 78°C 에탄올 추출물이 RC<sub>50</sub> = 6528.8 µg/mL로, 분획물에서는 ethyl acetate층이 RC<sub>50</sub> = 694.7 µg/mL로 가장 높은 활성을 나타내었으나, 물 분획물은 free radical 소거 활성을 보이지 않았다. 이상의 결과를 통하여 추출 온도와 용매 농도에 따른 수율의 차이가 나타났으며 추출온도와 free radical 소거 활성의 효능은 별다른 차이가 없는 것으로 나타났다. 전반적으로, 본 연구 결과 종자 에탄올 추출물과 분획물 모두 과피 추출물 보다 현저히 높은 활성을 나타내었다.

## 문 헌

1. Rural Development Administration. Variety Handbook, RDA, Suwon (1993)
2. Lee, J.H. and Lee, S.R. Some physiological activity of phenolic substance in plant foods. Korean J. Food Sci. Technol. 26: 317-323 (1994)
3. Bagchi, D., Garg, A., Krohn, R.L., Bagchi, M., Tran, M.X. and Stohs, S.J. Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract *in vitro*. Res. Comm. Mol. Pathol. Pharmacol. 95: 179-189 (1997)
4. Manzocco, L., Anese, M., and Nicoli, M.C. Antioxidant properties of tea extracts as affected by processing. Lebensm.-Wiss. u. Technol. 31: 694-698 (1998)
5. Lee, W.Y., Chang, K.S. and Choi, Y.H. Extraction of phenolic compounds from grape seed using supercritical CO<sub>2</sub> and ethanol as a co-solvent. Korean J. Postharvest Sci. Technol. 7: 177-183 (2000)
6. Park, E.R. and Kim, K.S. Volatile flavor components in various varieties of grape. Korean J. Postharvest Sci. Technol. 7: 366-372 (2000)
7. Lee, M.C., Kim, G.P., Kim, S.H., Choung, N.H. and Yim, M.H. Antimicrobial activity of extract from gall-nut and red-grape husk. Korean J. Food Nutr. 10: 174-179 (1997)
8. Jamroz, A. and Bettowski, J. Antioxidant capacity of selected wines. Med. Sci. Monit. 7: 1198-1202 (2001)
9. Shirataki, Y., Kawase, M., Saito, S., Kurihara, T., Tanaka, W., Satoh, K., Sakagami, H. and Motohashi, N. Selective cytotoxic activity of grape peel and seed extracts against oral tumor cell lines. Anticancer Res. 20: 423-426 (2000)
10. Kim, S.M., Cho, Y.S. and Sung, S.K. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 33: 626-632 (2001)
11. Park, S.J., Park, B.K., Lee, H.Y., Lee and Oh, D.H. Screening Biological Activities of Grape Seed and Skin Extracts of Campbell Early (*Vitis labruscana* B.). Nutraceuticals Food 7: 231-237 (2002)
12. Hur, S.K., Kim, S.S., Heo, Y.H., Ahn, S.M., Lee, B.G. and Lee, S.K. Effects of the grapevine shoot extract on free radical scavenging activity and inhibition of pro-inflammatory mediator production. J. Appl. Pharmacol. 9: 188-193 (2001)
13. Park, S.J., Park, B.K., Lee, H.Y., Lee, J.H., Kim, J.D. and Oh, D.H. Biological activities of ethanol extract and fractions of black olympia grape (*Vitis labruscana* L.). Korean J. Food Pre-serv. 9: 338-344 (2002)

---

(2002년 7월 8일 접수; 2002년 12월 18일 채택)