

## 포도종실 에탄올 추출물에 함유된 (+)-카테킨, (-)-에피카테킨의 모세관 전기영동법에 의한 분석

최원균\* · 정양섭 · 정하열

한경대학교 식품생물공학과 및 식품생물산업연구소

### Capillary Electrophoretic Method for the Determination of (+)-Catechin, (-)-Epicatechin in Grape Seed Ethanol Extract

One-Kyun Choi\*, Yang-Seop Chung, and Ha-Yull Chung

Department of Food Science & Biotechnology and Food & Bio-industrial Research Center,  
Hankyong National University

Capillary electrophoresis (CE) method was developed to determine (+)-catechin and (-)-epicatechin contents in grape seed ethanol extract. CE separation was achieved using 100 mM phosphate and borate buffer at pH 6.0 as background electrolyte and fused silica capillary with 50 microns i.d. x 375 microns O.D. (effective length 20.0 cm) maintained at 25°C. The applied voltage was 10 kV, and detection was performed by DAD at 210 nm. Two catechins were well separated within 6 min with repeatability of <0.8% RSD for migration time and <2.0% RSD for peak area, and correlation coefficients higher than 0.994 were obtained from 58.0 to 174.0 mg/L with detection limit of 0.035 mg/L. Separated compounds were successfully determined. CE method was easy to handle and showed good reproducibility. CE method was compared with conventional coloring and HPLC methods, and main advantages of CE method were low amount of sample required, simple pre-sample treatment, good recovery rate, and short analysis time.

**Key words:** capillary electrophoresis, catechin, epicatechin, grape seed ethanol extract

### 서 론

최근 화학적 합성품에 대한 일반인들의 안정성에 대한 문제 의식과 건강에 대한 관심이 집중되면서 식품의 건강기능성 천연소재에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 그 중 포도종실 추출물은 강한 항산화 활성을 갖는 소재로서 주목을 받고 있다(1-8). 포도종실추출물의 항산화 작용은 proanthocyanidin에 의한 것으로 보고 되고 있으며 일본과 구미 국가에서는 천연 보 존제나 건강식품으로 상품화되었을 뿐만 아니라(9,10) 우리나라에서도 식품첨가물공전에 천연첨가물로서 등재작업이 이루어진 바 있다(11). 포도종실추출물에는 (+)-catechin이나 (-)-epicatechin, (-)-epicatechin-3-O-gallate와 같은 단량체 페놀화합물외에도 epicatechin-(4β→8)-epicatechin(B2) 및 epicatechin-3-O-gallate-(4β→8)-catechin(B1-3-O-gallate)와 같은 이량체를 비롯하여 flavan-3-ol형태의 화합물이 C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub> 혹은 C<sub>4</sub>-C<sub>6</sub> 결합에 의해 연결되어 있는 삼량체에서 육량체까지의 다량체 형태의 화합물인

proanthocyanin이 포함되어 있다(12). 그러나 이들을 비롯한 폴리페놀계 flavonoid류는 천연상태에서 존재하는 방식의 다양함과 구조의 유사성으로 인하여 정확히 분리 및 정량 분석하는 것은 쉽지 않기 때문에 아직도 많은 연구자들의 연구 대상이다.

Proanthocyanin의 정성 및 정량 분석방법은 proanthocyanin을 가수분해한 후 분해된 (+)-catechin이나 (-)-epicatechin에 바닐린-메탄올 용액을 가해 발색시키는 비색법(11)에 의해 분석하고 있다. 그러나, 이러한 비색법은 시료 자체에서부터 유래되는 색소 성분에 의한 간섭에 의하여 정확한 정량적인 분석에 어려움이 따르는 실정이어서 HPLC에 의한 방법도 보고 되었다(13-17). 최근 새로운 분석방법으로 시도되고 있는 방법으로 1979년 Mikker 등(18)에 의해 소개된 모세관 전기영동법(capillary electrophoresis, CE)이 있다 이는 모세관 양단에 30 kV 정도 고전압을 걸어 모세관내에서 이온성 및 비이온성 물질을 분석하는 방법이다(Fig. 1). CE에서는 내경이 25-75 μm 정도로 매우 작은 모세관을 사용하며, 이 모세관은 완충액으로 채워지며 모세관의 양끝이 완충액 저장용기 안에 놓이게 되는데 저장용기에는 고압 전원 공급부와 모세관 사이에 전기적 접촉이 가능하도록 전극이 연결되어 있다. 저장용기 중 하나를 시료 저장용기로 바꾸고(주로 양극에서) 전기장이나 외부 압력을 걸어서 시료를 모세관 내로 주입하고 시료용기를 다시 완충액 저장용기로 교환한 후 전기장을 걸어주면 분리가 일어나게 되어

\*Corresponding author: One-Kyun Choi, Department of Food Science & Biotechnology and Food & Bio-industrial Research Center, Hankyong National University, Ansong 456-749, Korea  
Tele: 82-31-670-5156  
Fax: 82-31-670-5015  
E-mail: eoflow@hanmail.net

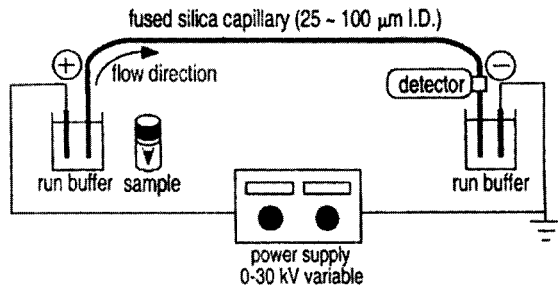


Fig. 1. Schematic diagram for capillary electrophoresis system.

크로마토그래피의 분리 매커니즘과는 다르므로 상호보완적인 분석이 가능한 것으로 알려져 있다(19-21).

본 연구에서는 포도종실 추출물의 항산화효과를 나타내는 주된 성분으로 알려진 proanthocyanin의 정확한 정량적 측정법을 조사하기 위하여 proanthocyanin을 가수분해 후 생성되는 (+)-catechin과 (-)-epicatechin을 CE를 이용한 분석법을 정립하고, 기존의 비색법 및 HPLC에 의한 정량 분석법과 비교, 고찰하였다.

### 재료 및 방법

#### 재료 및 시약

포도종실은 국내 포도 가공업체에서 포도 음료 제조 시 수거된 것을 세척, 건조 후 분쇄한 후 Chung과 Lee(5)의 공정에 따라 포도종실 에탄올 추출물의 제조에 사용하였다. HPLC 용매는 아세트산(Merck, Germany), 증류수(EM, USA) 그리고 아세토니트릴(EM, USA)을 HPLC급으로 사용하였다. CE 분석에 사용한 phosphate, borate 및 실험에 사용한 모든 시약 및 표준품은 Sigma 사(St. Louis, USA) 제품을 사용하였다. (+)-catechin, (-)-epicatechin 표준용액은 (+)-catechin, (-)-epicatechin 표준물질들을 각각 290 mg/L의 농도가 되도록 메탄올에 용해시켜 표준원액을 만든 후 각각의 원액에서 일정량을 취하고 희석시켜 1-174 mg/L 농도의 표준용액을 조제하여 실험에 사용하였다.

#### 비색법에 의한 분석

포도종실추출물 시료를 proanthocyanin으로서 농도가 10-50 mg%가 되도록 정밀히 달아 메탄올을 가하여 100 mL로 한 것을 시험용액으로 하고 시험용액 0.5 mL를 갈색 시험관에 취하고 바닐린-메탄올 용액(4 g in 100 mL) 3.0 mL를 가해준 다음 뚜껑을 덮고 10초간 교반하였다. 이후 염산 1.5 mL를 정확하게 가해주고 즉시 뚜껑을 덮은 후 18-22°C에서 15분간 방치하였다. 물을 대조액으로 하여 500 nm에서 흡광도를 측정하고 표준곡선으로부터 시험용액의 (+)-catechin 상당량을 구한 다음 이를 proanthocyanin으로 하였다. 따로 검체 중에 존재하는 anthocyanidin을 보정하기 위한 보정시험으로 바닐린-메탄올용액 3 mL 대신에 메탄올 3 mL를 사용하여 이하 시험용액의 시험조작과 동일하게 조작하여 물을 대조액으로 하여 500 nm에서 흡광도를 측정할 값을 시험용액의 흡광도에서 감하였다. 시험용액의 공시험용으로 바닐린-메탄올용액 3.0 mL 대신에 메탄올 3.0 mL를 사용하여 이하 시험용액의 시험조작과 동일하게 조작하였다. 이 반응용액들을 물을 사용하여 500 nm에서 각각의 흡광도를 측정하고 표준곡선으로부터 시험용액의 (+)-catechin의 상당량을 구한 다음 이를 proanthocyanin으로 한 후 다음의 계산식에 따라 proanthocyanin의 함량을 구하였다.

$$\text{Proanthocyanin 함량(\%)} = (A/\text{검체의 체취량(mg)}) \times \text{희석배수} \times 100$$

A: 표준곡선에서 얻어진 시험용액의 (+)catechin의 상당량(mg)

#### HPLC 분석

페놀성 화합물 표준품의 HPLC 분석을 위하여 510 pump, 486 detector에 600E system controller (Waters, USA)를 Table 1의 조건에서 사용하였다. (+)-catechin, (-)-epicatechin 표준품의 분석은 메탄올에 용해된 표준품의 혼합물을 HPLC에 주입하여 분석하였으며, HPLC 분석조건은 Table 1과 같다. 또한 표준품의 농도를 50-400 mg/L로 조제하고 HPLC로 3회 분석한 후 평균값을 이용하여 검량선을 작성하였다.

#### CE 분석

CE 분석을 위해서는 HPCE 5500(Beckman, USA) 시스템을 이용하였다. 시료주입은 기기자체에 부착된 자동 hydrodynamic 방법으로 0.5 psi에서 5초간 주입하였다. 검출기는 UV 190-600 nm까지 가능한 photodiode-array 검출기를 사용하였고, 고전압은 10-20 kV까지 사용하였다. 모세관 온도는 냉매 순환으로 지정온도에서 ±0.1°C 이내로 일정하게 유지시켜 주었다. 사용한 모세관은 fused silica capillary로서 내경 50 μm 외경 375 μm이었다(Polymicro Co., USA). 기기의 조작과 CE 결과의 수집 및 분석은 Beckman P/ACE Station software(Version 7.0)를 사용하였다. 전해질용액은 sodium phosphate 와 sodium borate에 phosphoric acid와 boric acid를 사용하여 2.0-10.0의 범위에서 pH를 조정하였으며 농도는 50-100 mM로 제조하였다.

#### CE분석 운전조건의 설정

이동버퍼의 최적 pH 수준을 정하기 위하여 phosphate와 borate를 이용하여 pH 2.0-pH 10.0으로 변화를 주면서 분석하고 두 물질사이의 분리도(R)와 이론단수(N) 값을 계산하였다.

CE 분석의 최적 전압을 결정하기 위하여 모세관 양단의 전압을 5-20 kV로 변화를 주어 두 물질사이의 분리도(R)와 이론단수(N) 값을 계산하였으며 분석 결과의 재현성을 알아보기 위하여 5회 반복실험을 하여 이동시간과 면적에 대한 재현성을 조사하였다. 최소검출한계는 표준품의 농도를 계속 희석하여 신호 대 잡음(signal/noise, S/N)의 비가 3이 되는 농도를 선정하였다. CE 분석에 의한 검량선은 (+)-catechin, (-)-epicatechin 표준품 농도를 58-174 mg/L로 조제하고 3회 분석한 평균값을 이용하여 작성하였다.

#### 포도종실 추출물의 분석

포도종실 추출물을 증류수에 용해시킨 후, 1 N HCl로 산 가수분해 시켜 proanthocyanin의 다량체형 catechin을 (+)-catechin과 (-)-epicatechin으로 분해한 후 각각을 HPLC와 CE로 분석하였다.

### 결과 및 고찰

#### 비색법에 의한 포도종실 추출물의 분석

포도종실추출물에는 항산화 효능 성분인 proanthocyanin이 다량체 형태로 존재하고 있으며 구성단위인 (+)-catechin과 (-)-epicatechin의 분석을 위해서는 산 가수분해 등의 방법으로 단량체 형태로 분리하여야 한다. Proanthocyanin의 (+)-catechin 상당량을 비색법에 의해 정량 분석하기 위하여는 (+)-catechin 표준품을 농도별로 조제한 후 발색시켜 500 nm에서의 흡광도를

**Table 1. HPLC conditions for the detection of (+)-catechin, (-)-epicatechin standards**

Instrument	: Waters system												
Column	: Nova-Pak C18												
Column Temp.	: 22°C												
Detector	: UV detector (Waters)												
Wavelength	: 254 nm												
Injection Volume	: 20 µL												
Mobile phase	: Solvent A-water : Acetic acid (99.5 : 0.5) Solvent B-Acetonitrile : Acetic acid (99.5 : 0.5)												
Flow rate	: 1.2 mL/min												
Gradient table													
	<table border="1"> <tr> <th>Time (min)</th> <th>A (%)</th> <th>B (%)</th> </tr> <tr> <td>0</td> <td>88</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>25</td> <td>80</td> <td>20</td> </tr> <tr> <td>30</td> <td>75</td> <td>25</td> </tr> </table>	Time (min)	A (%)	B (%)	0	88	12	25	80	20	30	75	25
Time (min)	A (%)	B (%)											
0	88	12											
25	80	20											
30	75	25											

측정하고 이 결과에 따라 검량선을 작성한다. 시료는 산 가수분해 후 발색 처리하고 흡광도를 측정하여 (+)-catechin 상당량을 계산하는데 본 실험에서도 (+)-catechin 표준용액의 농도를 1-5 mg/L로 조제한 후 500 nm에서 흡광도를 측정하여 검량선을 작성하였으며 1-5 mg/L 범위에서 직선관계( $y = 0.197x + 0.069$ )를 나타내었다. 이때  $R^2$ 값은 0.979였다. 비색법에 따라 포도종실추출물의 산 가수분해물에 함유된 (+)-catechin 상당량을 측정하는 경우에는 시료에 함유된 catechin 유도체가 전부 측정되어 (+)-catechin과 (-)-epicatechin 각각의 함량은 측정할 수 없었다.

#### HPLC에 의한 포도종실 추출물의 분석

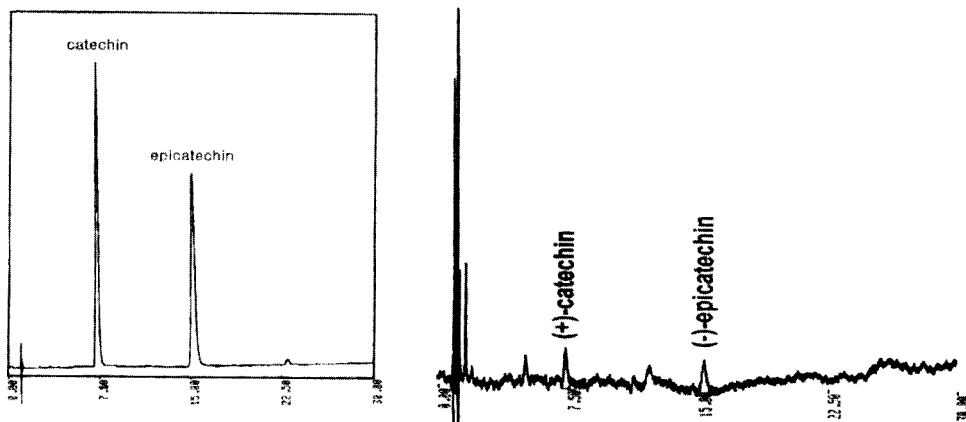
HPLC에 의해 Table 1의 조건에서 (+)-catechin, (-)-epicatechin 표준품을 분석하여 Fig. 2의 chromatogram을 얻었다. 이 때 재현성을 확인하기 위하여 5회 반복 실험한 값의 평균, 표준편

차, 상대 표준편차의 값을 구한 결과 용출시간에 있어서 상대 표준편차가 (+)-catechin은 2.21, (-)-epicatechin은 0.82로 나타났으며, 피크면적의 상대표준편차는 각각 1.70과 3.91을 나타내어 분석 결과의 재현성이 높은 것으로 나타났다(Table 2). (+)-catechin과 (-)-epicatechin 표준품 각각의 농도에 따른 HPLC 크로마토그램에서의 면적비의 직선관계 상관도를 분석하기 위하여 표준품의 농도를 50-400 mg/L의 농도로 조제하여 검량선을 작성한 결과 이때의 회귀식은 (+)-catechin은  $y = 151500x - 127500$ , (-)-epicatechin 은  $y = 121000x - 72500$ 이었고  $R^2$ 값은 각각 0.9984와 0.9954로 직선성을 나타내었다.

시료인 포도종실 추출물은 1N HCl로 산 가수분해 시킨 후 강산에 의한 컬럼의 손상을 방지하기 위해 약 400배로 희석하여 HPLC 분석을 한 결과 정량 분석을 하기에는 검출이 충분하지 못하였다(Fig. 2). 즉 산 가수분해물의 산성을 제거하기 위해 시료를 희석하여 측정하는 경우에는 검출이 어려웠으며 시료를 중화 처리하는 경우에도 생성되는 염에 의해 분리 컬럼이 막히게 되므로 HPLC에 의한 포도종실 추출물 산 가수분해물의 (+)-catechin과 (-)-epicatechin의 분석은 어려운 것으로 판단되었다. Dalluge 등(22)도 역상 HPLC에 의해 catechin유도체 등을 분석하였고 Sun 등(23)은 적포도주와 포도종실 추출물에 함유된 (+)-catechin과 (-)-epicatechin을 HPLC로 분석하였으나 시료를 산 가수분해 하지 않고 분석한 것으로 시료에 단량체 형태로 함유된 것만 측정된 것이므로 proanthocyanin의 함량은 예측할 수 없었다. Matthews 등(24)도 proanthocyanin의 함량을 측정하기 위하여 thiolysis시킨 후 HPLC로 측정하였으나 thiolysis 반응 조건의 정확한 제어가 분석 결과에 많은 영향을 주므로 적용이 용이하지 않은 것으로 생각되었다.

#### CE분석의 최적화 조건

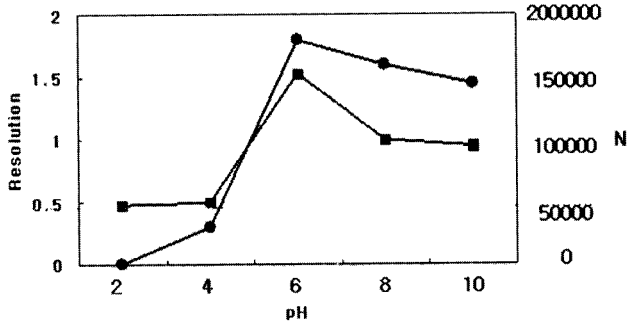
CE에서 이동버퍼의 최적 pH를 알기 위하여 이동버퍼로서 100 mM phosphate buffer에 borate를 혼합하여 pH를 2.0에서

**Fig. 2. HPLC chromatogram of (+)-catechin and (-)-epicatechin standards (left) and grape seed ethanol extract (right).****Table 2. Reproducibility of HPLC analysis of (+)-catechin and (-)-epicatechin standards**

(n=5)

	Retention time (min)			Peak area		
	Mean	SD <sup>1)</sup>	RSD (%) <sup>2)</sup>	Mean	SD <sup>1)</sup>	RSD (%) <sup>2)</sup>
(+)-catechin	7.19	0.16	2.21	115,912	1,971	1.70
(-)-epicatechin	15.09	0.12	0.82	117,202	4,577	3.91

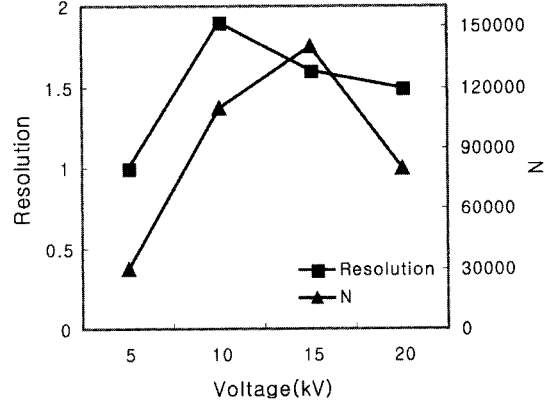
<sup>1)</sup>SD: Standard deviation.<sup>2)</sup>RSD: Relative standard deviation.



**Fig. 3. Effect of buffer pH on the analysis of (+)-catechin and (-)-epicatechin by CE.**

●: the number of theoretical plate (N), ■: Resolution, (Conditions: fused silica capillary-20 cm × 50 μm, Current 56 μA, Voltage 20 kV, phosphate and borate buffer-pH 6.0-10.0)

10.0까지 변화시키면서 (+)-catechin, (-)-epicatechin 표준품의 분석을 수행하였고 각각의 조건에서 이론단수(N)와 분리도(R)를 구하여 최적의 pH를 구하였다. Fig. 3과 같이 pH 6.0에서 분리도와 이론단수의 값이 가장 크게 나타났으며, pH가 증가함에 따라 분리도와 이론단수의 값은 감소하는 경향을 보였다. CE 분석에 있어서 최적의 전압조건을 설정하기 위하여는 전압을 5-20 kV로 변화를 주면서 (+)-catechin, (-)-epicatechin 표준품을 분석하여 분리도와 이론단수를 계산하였다. 분석결과 분리도는 10 kV에서 1.8로 최고의 분리도를 나타내었으며, 이론단수는 15 kV에서 135,000으로 최고의 값을 나타내었고 전압을 20 kV로 하였을 때는 오히려 분리도와 이론단수가 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 4). 따라서 최적 전압은 10 kV로 정하고 이후의 실험에 적용하였다. (+)-catechin, (-)-epicatechin 표준품의 CE분석에 있어서 최소 검출한계를 알아보기 위하여 표준용액의 농도를 계속 희석시키면서 분석하였다. 신호대 잡음(S/N)의 비가



**Fig. 4. Effect of voltage variation on the analysis of (+)-catechin and (-)-epicatechin by CE.**

N: the number of theoretical plate, (Conditions: fused silica capillary-20 cm × 50 μm, Current 56 μA, Voltage 5-20 kV, phosphate and borate buffer-pH 6.0)

3이 되는 점을 찾아서 표준용액의 최소 검출한계를 결정하였는데 분석결과 최소 검출한계는 0.035 mg/L로 나타났다. (+)-catechin, (-)-epicatechin 표준품을 CE로 분석 할 때 재현성을 알아보기 위하여 5회 반복 실험한 값의 평균과 표준편차, 상대 표준편차의 값을 구하였다. 계산결과 Table 3에서 보는바와 같이 이동시간에 있어서 상대표준편차가 (-)-epicatechin은 0.80, (+)-catechin은 0.73으로 나타났으며, 피크면적의 상대표준편차는 각각 2.00과 1.75를 나타내어 이동시간과 피크면적 모두 재현성이 높은 것으로 나타났다. 이상의 최적화된 조건으로 (+)-catechin, (-)-epicatechin 표준품을 CE로 분석할 때 (+)-catechin, (-)-epicatechin을 6분 이내로 분석할 수 있어(Fig. 5) Horie 등 (25)이 설정한 조건에서의 결과인 7 min 보다 조금 빠르게 검

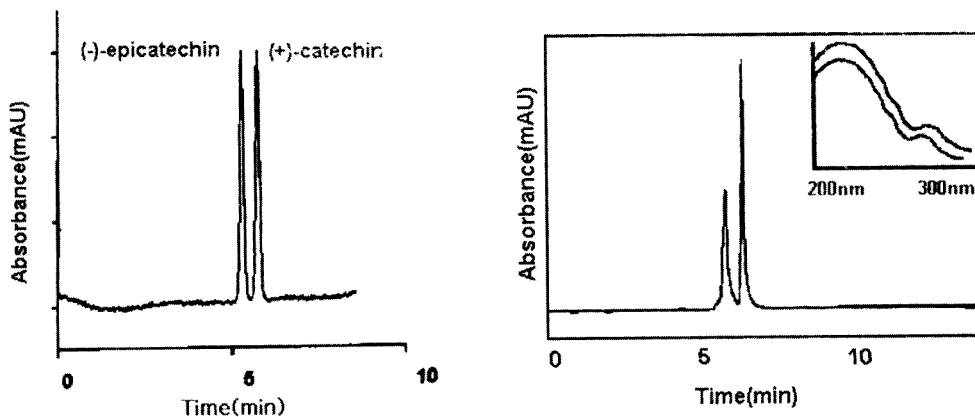
**Table 3. Reproducibility of CE analysis of (+)-catechin, (-)-epicatechin standards**

(n=5)

	Retention time (min)			Peak area		
	Mean	SD <sup>1)</sup>	RSD (%) <sup>2)</sup>	Mean	SD <sup>1)</sup>	RSD (%) <sup>2)</sup>
(+)-catechin	5.46	0.04	0.73	249,644	4,367	1.75
(-)-epicatechin	4.99	0.04	0.80	213,192	4,281	2.00

<sup>1)</sup>SD: Standard deviation.

<sup>2)</sup>RSD: Relative standard deviation.



**Fig. 5. Capillary electropherogram of (-)-epicatechin and (+)-catechin standards (left) and the hydrolyzate of grape seed ethanol extract (right).**

(Conditions: fused silica capillary-20 cm × 50 μm, Current 56 μA, Voltage 10 kV, phosphate and borate buffer-pH 6.0)

출할 수 있었다. 또한 이들의 농도와 CE상에서 면적간의 직선성을 알아보기 위하여 표준품의 농도를 각각 58-174 mg/L의 범위에서 검량선을 작성하여 회귀식과 R<sup>2</sup>값은 각각 (+)-catechin은  $y = 50975x - 32667$ 과 R<sup>2</sup>값은 0.9995 그리고 (-)-epicatechin은  $y = 35000x + 13533$ , R<sup>2</sup>값은 0.9943을 얻어 농도와 면적간의 직선성이 잘 성립됨을 알 수 있었다.

### CE에 의한 포도종실 추출물의 분석

이상에서 확립된 CE의 운전조건을 포도종실 추출물의 (+)-catechin과 (-)-epicatechin의 분석에 적용하여 보았다. HPLC분석에 있어서는 산 가수분해로 시료가 강산성을 나타내므로 컬럼에 손상을 줄 우려가 있어 분석에 어려움이 있었으나, CE분석에 있어서는 산 가수분해물을 별 다른 처리없이 분석할 수 있었다. 분석결과 proanthocyanin의 구성 단량체인 (-)-epicatechin과 (+)-catechin을 순서대로 쉽게 분리할 수 있었다(Fig. 5). 비색법의 대안으로서 HPLC에 의한 분석법과 CE에 의한 방법을 비교해 보면 검출시간의 경우 HPLC는 약 15분 이내에, CE는 약 6분 이내에 분석이 되어 분석 소요시간이 HPLC가 CE보다 2배 더 길었다. Horie 등(25)도 녹차에 함유된 catechin 유도체를 CE로 약 7분 이내에 (+)-catechin과 (-)-epicatechin을 분리할 수 있었다고 하였다. 검출한계에 있어서도 CE분석에서는 0.035 mg/L로서 매우 낮은 농도로 검출이 가능하였다. 직선성과 재현성의 경우에는 HPLC나 CE방법 모두 우수한 것으로 나타났다. 그러나 시료의 분석에 있어서는 가수분해를 위하여 산처리를 함으로써 시료가 강산성을 띠어 HPLC분석의 경우에 있어서는 컬럼 손상의 우려로 인해 직접 분석이 불가능하였고 희석을 하여 분석하였을 경우 정량적인 분석을 하기에는 부적합한 것으로 판명이 되었다. 반면 CE분석의 경우 전처리한 시료를 그대로 주입하여 분석할 수 있었으며 결과도 매트릭스의 방해 없이 곧바로 분리되어 분석시간에 있어서나 분석방법의 용이성, 분석결과와 정확성에 있어서 CE분석 방법이 기존의 비색법이나 HPLC 분석 방법보다 우수하였다. 본 연구실에서는 계속해서 CE를 이용한 다른 catechin유도체들의 분석에 대한 연구를 진행하고 있다.

## 요 약

포도종실추출물에 함유되어 강력한 항산화 작용을 나타내는 성분인 proanthocyanin의 구성 성분인 (+)-catechin과 (-)-epicatechin을 CE법을 이용하여 분석하였다. CE법을 이용한 catechin류 분석의 최적 조건은 fused silica capillary(20 cm×50 μm), current 56 μA, voltage 10 kV, phosphate/borate buffer(pH 6.0), 온도 20°C로서 (+)-catechin과 (-)-epicatechin을 6분 이내에 매트릭스의 방해없이 분석할 수 있었다. 비색법, HPLC법과 CE분석법의 특징을 비교해 보면 비색법은 (+)-catechin과 (-)-epicatechin함한 총 함량을 알 수 있으나 두성분의 분리는 할 수 없었다. 또한 HPLC방법은 표준품은 두 성분이 잘 분리되었으나 시료 분석 시 proanthocyanin을 가수분해하기 위해 첨가한 산으로 인해 시료가 강산성을 띠어 컬럼 손상되는 문제가 있어 직접 분석이 불가능하여 시료를 희석해야했으며, 희석을 하여 분석할 경우에도 많은 잡 피크들로 정량적인 결과를 얻기에 용이하지 않았다. 한편 CE법의 경우 산 가수분해한 시료를 별다른 처리 없이도 다른 성분의 방해 없이 분석할 수 있었다. 분석소요시간의 경우 비색법은 실험단계가 복잡하여 많은 시간이 걸렸으며 HPLC는 15분 그리고 CE는 6분

이내에 분석이 가능하였다. 재현성과 직선성을 보면 HPLC와 CE의 방법이 모두 양호하였고 검출한계에 있어서는 CE법이 0.035 mg/L로서 검출감도가 매우 우수하였다. 이와 같이 CE법은 포도종실에 존재하는 (+)-catechin과 (-)-epicatechin을 분석하는데 방법의 용이성, 분석결과와 정확성에 있어서 기존 방법인 비색법과 HPLC 방법보다 우수한 결과를 나타내었다.

## 문 헌

1. Kanner J, Frankel EN, Granit R, German B, Kinsella JE. Natural antioxidant in grapes and wines. *J. Agric. Food Chem.* 42: 64-69 (1994)
2. Frankel EN, Waterhouse AL, Tusstedre PL. 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 (1995)
3. Teissedre PL, Frankel EN, Waterhouse AL, Peleg H, German JB. Inhibition of *in vitro* human LDL oxidation by phenolic antioxidants from grapes and wines. *J. Sci. Food. Agric.* 70: 55-61 (1996)
4. Mayer AS, Yi OS, Person DA, Waterhouse AL, Franke EN. Inhibition of human LDL oxidation in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes (*Vitis vinifera*). *J. Agric. Food Chem.* 45: 1638-1643 (1997)
5. Chung HY, Lee JH. Processing method of grape seed extract containing natural antioxidant activity. Korean patent 0,298,512 (2001)
6. Chung HY, Yoon SJ. Antioxidant activity of grape seed ethanol extract. *J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr.* 31: 893-898 (2002)
7. Chung HY, Yoon SJ. Antioxidant activity of grape seed ethanol extract according to serial solvent fractionation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31: 1092-1096 (2002)
8. Chung HY, Yoon SJ. Antimicrobial activity of grape seed ethanol extract. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32: 109-114 (2003)
9. Jayaprakasha GK, Singh RP, Sakariah KK. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models *in vitro*. *Food Chem.* 73: 285-290 (2001)
10. Laparra J, Michaud J, Masquelier J. Action of oligomeric procyanidins on vitamin C deficient guinea pig. *Bull. Soc. Pharmacol. Bordeaux.* 118: 7-13 (1979)
11. Korea Foods Industry Association. 161. grape seed extract. In *Food Additive Revolution*. Korea Foods Industry Association. pp.942-943 (1998)
12. Teresa EB, Yolanda GF, Julian CR, Celestino SB. Characterisation of procyanidins of *Vitis vinifera* variety Tinta del pais grape seeds. *J. Agric. Food Chem.* 40: 1794-1799 (1992)
13. Ricardo da Silva JM, Rigaud J, Cheynier V, Cherminati A, Moutounet M. Procyanidin dimers and trimers from grape seeds. *Phytochem.* 30: 1259-1264 (1991)
14. Oszamiński J, Ramos T, Bourzeix M. Fractionation of phenolic compounds in red wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 39: 259-262 (1988)
15. Vande Castele K, Geiger H, Van Sumere CF. Separation of phenolics and coumarins by reversed-phase high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 258: 111-114 (1983)
16. Burtcher E, Binder H, Concini R, Bobleter O. Separation of phenols, phenolic aldehydes, ketones and acids by high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 252: 167-176 (1982)
17. Singleton VL, Trousdale E. White wine phenolics: varietal and processing differences as shown by HPLC. *Am. J. Enol. Vitic.* 34: 27-34 (1983)
18. Mikkers FEP, Everaerts FM, Verheggen TPEM. High-performance zone electrophoresis. *J. Chromatogr.* 169: 11-20 (1979)
19. Claire RL. Capillary electrophoresis. *Anal. Chem.* 68: 569-586 (1996)
20. Knox JH. Terminology and nomenclature electrophoresis systems. *J. Chromatogr.* 680: 3-13 (1994)
21. Tavares MFM, McGuffin VL. Theoretical model of electroosmotic flow for capillary zone electrophoresis. *Anal. Chem.* 67: 3687-3696 (1995)

22. Dalluge JJ, Nelson BC, Thomas JB, Sander LC. Selection of column and gradient elution system for the separation of catechins in green tea using high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 793: 265-274 (1998)
23. Sun B, Leandro C, Julian CR, Icardo da Silva JM, Spranger I. Separation of grape and wine proanthocyanidins according to their degree of polymerization. *J. Agric. Food Chem.* 46: 1390-1396 (1998)
24. Matthews S, Milla I, Scalbert A, Pollet B, Lapiere C, Herve du Penhoat CLM, Rolando C, Donnelly DMX. Method for estimation of proanthocyanidins based on their acid depolymerization in the presence of nucleophiles. *J. Agric. Food Chem.* 45: 1195-1201 (1997)
25. Horie H, Mukai T, Kohata K. Simultaneous determination of qualitatively important components in green tea infusions using capillary electrophoresis. *J. Chromatogr.* 758: 332-335 (1997)

---

(2004년 9월 23일 접수; 2005년 7월 14일 채택)