

포도 및 포도주 함유 Resveratrol의 정량 분석

김현웅[†] · 추상미 · 이동진

단국대학교 생명산업과학부

Determination of Resveratrol Content in Grapes and Wines

Heon-Woong Kim[†], Sang-Mi Chu, and Dong-Jin Lee

Bio-industrial Science Department, Dankook University

ABSTRACT A direct HPLC method was used to analyze determination of resveratrol in grapes and wines. Content of resveratrol in different parts of 13 grape cultivars and 13 wines were quantified. The average total resveratrol content was 143.5 $\mu\text{g/g}$. Resveratrol contents in the skin, fruit, seed and fruit stem were distributed range of 0.9~104.8 $\mu\text{g/g}$, 0.1~0.5 $\mu\text{g/g}$, 1.7~173.9 $\mu\text{g/g}$, 2.9~247.4 $\mu\text{g/g}$ respectively. Resveratrol contents in 13 wines were distributed range of 253.3~11,271.6 $\mu\text{g/L}$.

Keywords : grape, wine, resveratrol, seed, fruit, HPLC

레스베라트롤(resveratrol)은 자연계에 *cis* 및 *trans* 형태로 존재한다(Fig. 1). 이 중 *trans-resveratrol* 형은 자연계에서 발생하는 파이토알렉신(phytoalexin)으로 질병에 대한 일종의 식물방어시스템으로서 생산되는 천연화합물의 일종이다(Careri *et al.*, 2004; 김 등, 2003). 레스베라트롤은 포도, 오디, 땅콩, 전나무, 소나무, 유칼립투스, 백합, 작약 등 여러 식물에 함유되어 있으며(Aggarwal *et al.*, 2004), 지방과산화 억제 및 free radical 소거기능과 같은 ‘항산화 작용’, cyclooxygenase 저해 등의 ‘항염증 작용’, 혈소판 응집 저해, LDL(low density lipoprotein)의 산화 억제, 동맥경화방지, 암세포 성장 억제 및 암 예방 효능 등 다양한 생리활성을 지니고 있다(Wang *et al.*, 2002; Bertelli *et al.*, 1995; Soleas *et al.*, 1997; 조 등, 2003; 김 등, 2003). 포도주의 레스베라트롤 함량은 발효과정 중 포도 과피가 존재하는 시간과 상관성이 있으며, 적색 와인은 포도주가 생산되는 동안 먼저 과피가 제거되는 백색 와인보다 레스베라트롤 함량이 높다는 보고가 있었다(Orea *et al.*, 2001).

레스베라트롤 분석은 HPLC(High Performance Liquid Chromatography), GC(Gas Chromatography) 혹은 CE(Capillary Electrophoresis)에 의한 분석 방법 등이 보고되어 있다(Rodriguez-Delgado *et al.*, 2002; Rudolf *et al.*, 2005; Soleas *et al.*, 1995; Gu *et al.*, 1999; Gao *et al.*, 2002). 그러나 CE에 의한 분석 방법의 경우 소량의 시료로도 분석이 가능하지만 재현성이 떨어지며, GC에 의한 분석 방법의 경우 전처리 과정이 복잡하고 까다롭다. HPLC에 의한 분석 방법의 경우 대부분 역상(reverse phase) HPLC 방법을 사용하였지만 이동상에 있어 약간의 유기산이 첨가되거나 복잡한 조성을 가졌으며, 농도 구배를 이용하여 분석하는 등 분석 조건이 까다로운 편이다. 특히 피크 분리를 높이기 위해 약간의 유기산을 첨가한 경우 그에 따른 이동상의 압력 변화가 생겨 머무름시간 역시 변할 우려가 있다. 본 실험 역시

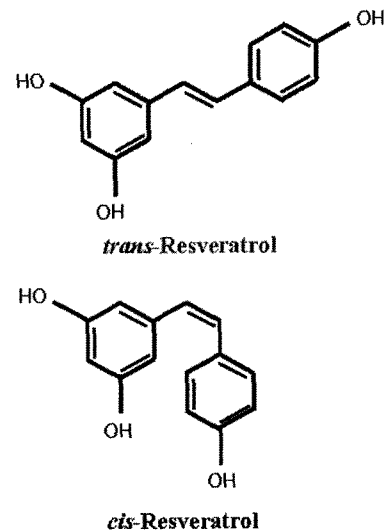


Fig. 1. Chemical structures of *cis*- and *trans*-resveratrol.

[†]Corresponding author: (Phone) +82-41-550-3662
(E-mail) neoegama@hanmail.net

같은 HPLC 방법으로 분석하였으나 약간의 산을 첨가하지 않은 간단한 조성의 이동상만으로도 농도 구배 없이 일정하게 분석하여 높은 피크 분리도 및 재현성을 확인할 수 있었다. 따라서 본 연구는 역상(reverse phase) HPLC 방법을 이용하여 포도과실 및 포도주에 함유되어 있는 레스베라트롤을 분석할 수 있는 정량 분석법을 보고하고자 한다.

재료 및 방법

본 연구에서 레스베라트롤 함량을 분석하기 위해 사용된 포도는 2004년 9월 천안 신계 농가에서 재배된 고사, 텔라웨어, 청수, 버팔로, 튜벤스, 용보, 천수, 거봉, 씨드레스, 캄벨러리, 흥부사, 비안코, 홍이두 총 13 품종을 이용하였으며, 포도주는 13종류를 유통매장에서 구입하여 분석시료로 사용하였다.

기기 및 시약

분석기기로는 PDA(Photo Diode Array) detector를 포함한 정량 분석 HPLC(Varian, Germany)로 분석하였으며, 전처리 과정 중에 Multispeed Refrigerated Centrifuge(ALC Co. Italy), Sonicator(고도기연(주), Korea), Vortex(Scientific Industries, Inc. USA), Pestle and Bowl, Micro-pipet(Gilson, Inc. USA), 일회용 주사기 1 mL(녹십자의료공업(주), Korea), 여과지 Advantec No.1(Toyo Roshi Kaisha, Ltd. Japan), syringe filter(Millipore, USA, 0.45 μ m PVDF)이 사용되었다. *trans*-Resveratrol 표준품은 Sigma Co.(USA) 제품을 그밖의 HPLC시약으로 증류수, Acetonitrile 등은 J. T. Baker(USA) 제품을 사용하였다.

시료 전처리

포도는 과육, 과피, 종자, 송이가지 부분으로 나누고, 과피, 과육, 송이가지 부분은 세절하였으며, 종자는 막자사발로 분쇄하여 시료 1 g으로 정량하였다. 준비된 각 시료 1 g에 80% MeOH 용액 10 mL를 가하여 현탁시킨 후, Sonicator(20°C)로 10분간 추출하였다. 추출물을 Multispeed Refrigerated Centrifuge(20°C, 10,000 rpm)에서 15분간 원심분리하여 상징액을 취한 후 syringe와 syringe filter(0.45 μ m)를 이용하여 filtration한 후 고성능액체크로마토그래피(HPLC)로 분석하였다. 와인은 샘플을 채취하여 여과지(Advantec No.1)로 여과한 후 syringe와 syringe filter(0.45 μ m)를 이용하여 filtration한 후 고성능액체크로마토그래피(HPLC)로 분석하였다. HPLC 분석 조건은 Table 1과 같다.

HPLC 분석 조건

Table 1. HPLC analytical conditions for *trans*-resveratrol in grape and wine.

Item	Conditions
Column	microsorb-mv 100-5 C18, 4.6×250 mm, Varian
Moblie phase	acetonitrile : water (40 : 60, v/v)
Detector	306 nm
Flow rate	0.3 ml/min
Injection volume	20 μ l
Running time	30 min

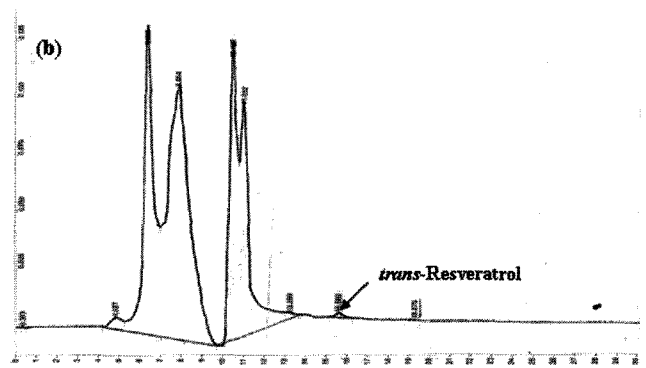
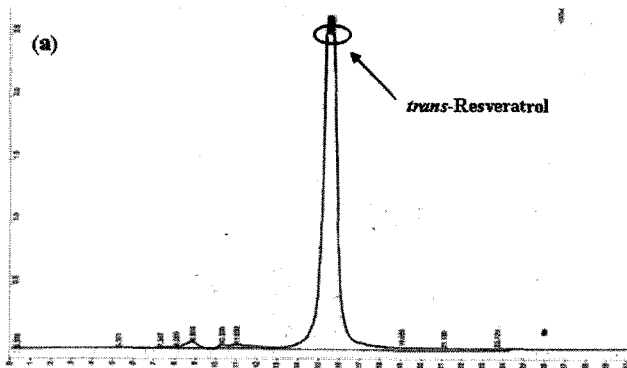


Fig. 2. Continued.

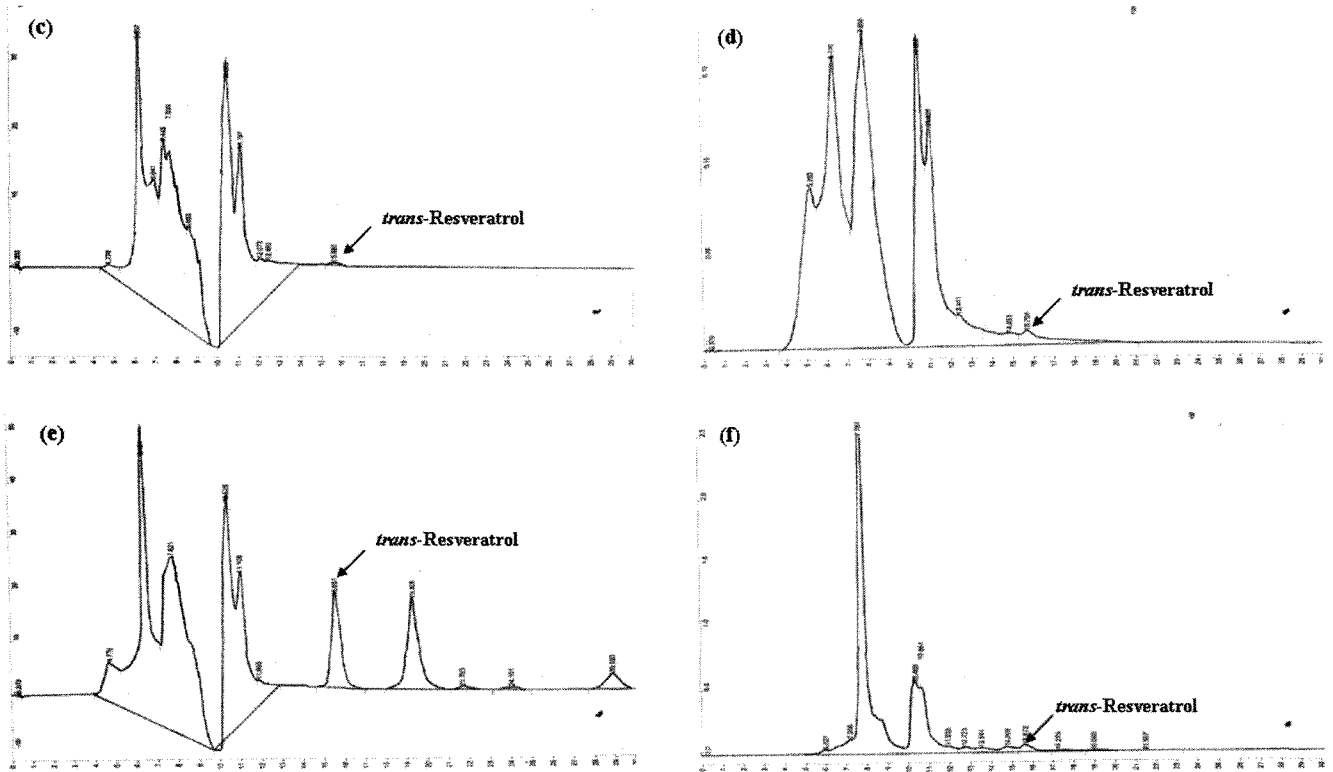


Fig. 2. HPLC chromatograms of *trans*-resveratrol standard, grape extracts and wines. (Retention time of *trans*-resveratrol : 15.53 min, a : *trans*-resveratrol standard (500 ppm), b : skin, c : fruit, d : seed, e : fruit stem, f : wine).

결과 및 고찰

Fig. 2는 *trans*-resveratrol 표준품과 캠벨 포도의 부위별 추출물 및 포도주의 HPLC 크로마토그램을 나타낸 것이며, *trans*-resveratrol의 머무름시간은 15.53분으로 조사되었다. 포도 부위별 추출물의 레스베라트롤 함량 피크를 보면 과피(b), 과육(c), 종자(d)는 낮은 함량의 피크를 나타냈으며, 특히 송이가지(e)는 높은 함량의 피크를 나타내어 분석가치가 높을 것으로 사료되었다. 포도주(f)의 경우 제조 과정 중에 송이가지를 제외한 나머지 부위가 사용되었으므로 역시 낮은 함량의 피크를 나타내었다.

Table 2는 국내에서 생산되는 13개의 포도 재배 품종에 대해서 부위별 레스베라트롤 함량을 나타낸 것이다. 13 품종의 평균 레스베라트롤 함량은 143.5 $\mu\text{g/g}$ 으로 기존 보고된 32 품종의 평균 레스베라트롤 함량 25.94 $\mu\text{g/g}$ (김 등, 2003)보다 약 5배 이상 높은 함량을 나타냈다. 이러한 결과의 차이는 품종 및 재배환경의 차이로 사료되었으며, 앞으로 재배조건 차이에 따른 환경변이에 대한 연구가 필요한 것으로 생각되었다. 품종별 과피, 과육, 종자, 송이가지는

각각 0.9~104.8 $\mu\text{g/g}$, 0.1~0.5 $\mu\text{g/g}$, 1.7~173.9 $\mu\text{g/g}$, 2.9~247.4 $\mu\text{g/g}$ 의 함량 분포를 보였으며, 과피, 과육, 종자, 송이가지 부위별 평균 레스베라트롤 함량은 각각 35.0, 0.2, 25.8, 82.5 $\mu\text{g/g}$ 로서 송이가지에 많이 함유되어 있음을 알 수 있었다. 과피의 경우 용보가 104.8 $\mu\text{g/g}$, 종자의 경우 청수가 173.9 $\mu\text{g/g}$, 송이가지의 경우 델라웨어가 247.4 $\mu\text{g/g}$ 의 높은 함량을 나타냈다. 과육의 경우 과피, 종자, 송이가지에 비해 레스베라트롤 함량이 적게 함유되어 있었다.

Table 3은 13종류의 와인에 대한 레스베라트롤 함량을 나타낸 것이다. 그 결과 253.3~11,271.6 $\mu\text{g/L}$ 의 함량 분포를 나타냈으며, 이는 적색 와인의 레스베라트롤 함량이 0.1~15,000 $\mu\text{g/L}$ 이라는 범위 내에(Vitrac *et al.*, 2002; Rodriguez-Delgado *et al.*, 2002; Gao *et al.*, 2002; Gu *et al.*, 1999) 속하는 것으로 나타났다. 본 실험은 국내에서 보고된 결과에 따르면 9종류 와인의 레스베라트롤 함량이 5.4~275.6 $\mu\text{g/L}$ 인(김 등, 2003) 것보다 훨씬 높은 함량 분포를 나타냈다. 또한 White wine 보다 Red wine의 함량이 높다고 하였는데(Orea *et al.*, 2001), 이는 와인을 만드는 포도 품종, 재배환경, 제조자의 숙련도, 발효과정 등 여러 가지 환경요건에 의

Table 2. Comparison of *trans*-resveratrol content in 13 grape cultivars with different parts.

Cultivars	Resveratrol content ($\mu\text{g/g}$)				Total ($\mu\text{g/g}$)
	Skin	Fresh	Seed	Fruit Stem	
Gosa	97.3	0.1	61.0	230.6	389.0
Dellarware	39.5	0.3	4.5	247.4	291.7
Cheongsu	17.4	0.3	173.9	84.0	275.6
Buffalo	13.6	-	-	169.8	183.4
Tuvense	82.9	0.5	12.8	35.5	131.7
Yongbo	104.8	-	3.1	14.3	122.2
Cheonsu	0.9	0.1	24.5	89.8	115.3
Georbong	54.2	0.3	1.6	38.1	94.2
Sidres	7.6	0.2	-	79.2	87.0
Campbell	2.3	0.5	32.5	22.8	58.1
Heugbusa	4.1	-	3.2	50.3	57.6
Vianko	24.0	0.5	1.7	7.5	33.7
Hongidu	6.5	0.2	16.7	2.9	26.3

Table 3. *trans*-resveratrol content of 13 commercial wine samples.

Wines	Resveratrol content ($\mu\text{g/L}$)	Wines	Resveratrol content ($\mu\text{g/L}$)
A	11,271.6	H	1,939.0
B	8,698.8	I	1,707.5
C	5,414.4	J	952.2
D	4,783.1	K	804.5
E	4,688.6	L	563.3
F	3,622.4	M	253.3
G	2,991.1		

하여 레스베라트롤의 함량이 차이가 나는 것으로 사료된다 (Vassilis *et al.*, 1999).

적 요

포도, 와인에 함유되어 있는 레스베라트롤을 정량적으로 분석할 수 있는 HPLC 정량 분석법을 확립하였으며, 국내에서 생산된 13개의 포도 재배 품종의 부위별과 13종류의 와인에 대한 레스베라트롤 함량 분석 결과는 다음과 같다.

1. 13 품종의 평균 레스베라트롤 함량은 143.5 $\mu\text{g/g}$ 이었으며, 과피, 과육, 종자, 송이가지는 각각 0.9~104.8 $\mu\text{g/g}$, 0.1~0.5 $\mu\text{g/g}$, 1.7~173.9 $\mu\text{g/g}$, 2.9~247.4 $\mu\text{g/g}$ 의 함량 분포를 나타냈다.

2. 과피, 과육, 종자, 송이가지 부위별 평균 레스베라트롤 함량은 각각 35.0, 0.2, 25.8, 82.5 $\mu\text{g/g}$ 이었으며, 과피의 경우 용보 품종이 104.8 $\mu\text{g/g}$, 종자의 경우 청수 품종이 173.9 $\mu\text{g/g}$, 송이가지의 경우 델라웨어 품종이 247.4 $\mu\text{g/g}$ 의 가장 높은 레스베라트롤 함량을 나타냈다.

3. 13종류의 와인에 대한 레스베라트롤은 253.3~11,271.6 $\mu\text{g/L}$ 의 함량 분포를 나타냈다.

인용문헌

Aggarwal B. B., A. Bhardwaj, R. S. Aggarwal, N. P. Seeram, S. Shishodia, and Y. Takada. 2004. Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies (review). *Anticancer Research* 24 : 3-60.

Bertelli A. A. E., L. Giovannini, D. Gianness, M. Migliori, W. Bernini, M. Fregoni, and A. Bertelli. 1995. Antiplatelet activity of synthetic and natural resveratrol in red wine. *Int. J. Tissue React.* 17, 1-3.

Careri M., C. Corradini, L. Elviri, I. Nicoletti, and I. Zagnoni. 2004. Liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry of *cis*-resveratrol and *trans*-resveratrol : development, validation, and application of the method to red wine, grape, and winemaking byproducts. *J. Agric. Food Chem.* 52, 6868-6874.

Gao L. Y., Q. C. Chu, and J. N. Ye. 2002. Determination of *trans*-resveratrol in wines, herbs and health food by capillary electrophoresis with electrochemical detection. *Food Chemistry* 78, 255-260.

- Gu X., L. Creasy, A. Kester, and M. Zeece. 1999. Capillary electrophoretic determination of resveratrol in wines. *J. Agric. Food Chem.* 47, 3223-3227.
- Orea J. M., C. Montero, J. B. Jimenez, and A. G. Urena. Analysis of *trans*-resveratrol by laser desorption coupled with resonant ionization spectrometry. application to *trans*-resveratrol content in vine leaves and grape skin. *Anal Chem.* 73, 5921-5929.
- Rodriguez-Delgado M. A., G. Gonzalez, J. P. Perez-Trujillo, and F. J. Garcia-Montelongo. 2002. *Trans*-resveratrol in wines from the Canary island (Spain) analysis by high performance liquid chromatography. *Food chemistry* 76, 371-375.
- Rudolf J. L., A. V. A. Resurreccion, F. K. Saalia, and R. D. Phillips. 2005. Development of a reverse-phase high-performance liquid chromatography method for analyzing *trans*-resveratrol in peanut kernels.
- Soleas G. J., E. P. Diamandis, and D. M. Goldberg. 1997. Resveratrol: a molecule whose time has come and gone? *Clin. Biochem.* 30, 91-113.
- Vassilis G. D., P. M. Dimitrios, B. D. Fabienne, and Z. Christophoros. 1999. *Trans*-resveratrol concentration in wines produced in greece. *Journal of food composition and analysis* 12, 227-233.
- Vitrac X., J. P. Monti, J. Vercauteren, G. Deffieux, and J. M. Merillon. 2002. Direct liquid chromatographic analysis of resveratrol derivatives and flavanonols in wines with absorbance and fluorescence detection. *Anal. Chim. Acta* 458, 103-110.
- Wang Y., F. Catana, Y. Yang, R. Roderick, and R. Breemen. 2002. An LC-MS method for analyzing total resveratrol in grape juice, cranberry juice, and in wine. *J. Agric. Food Chem.* 50, 431-435.
- 김대중, 김상균, 김명희, 이희봉, 이준수. 2003. 포도와 포도 가공품에 함유되어 있는 *trans*-resveratrol의 함량분석. *한국식품과학회지* 35(5) : 764-768.
- 이동진, 김현웅, 권혁준. 2005. 고 anthocyanin 및 resveratrol 함유 기능성 포도 와인 생산. *한국약용작물학회지* 13(1) : 188-189.
- 조용진, 김재은, 전향숙, 김종태, 김성수, 김철진. 2003. 국내산 포도의 부위별 레스베라트롤 함량. *한국식품과학회지* 35(2) : 306-308.