

포도 송이가지에서 레스베라트롤의 분리 정제

신 현 재 · ¹강 병 선 · ²안 준 배 · † ²김 복 희
조선대학교 공과대학 생명화학공학과, ¹영동대학교 와인발효식품학과, ²서원대학교 RIC
(접수 : 2007. 9. 7., 게재승인 : 2007. 10. 23.)

Isolation and Purification of Resveratrol from a Grape Twig

Hyun-Jae Shin, Byung-Sun Kang¹, Jun-Bae Ahn², and Bokhee Kim^{2†}

Department of Chemical & Biochemical Engineering, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

¹Department of Food Fermentation Technology, Youngdong University, Youngdong 370-701, Korea

²Regional Innovation Center, Seowon University, Cheongju-si, Chungbuk 361-742, Korea

(Received : 2007. 9. 7., Accepted : 2007. 10. 23.)

Resveratrol, a polyphenolic compound with antioxidative property, was purified from the grape's twig to be used as functional additives of food and/or cosmetics. Extraction of the grape's twig was performed using 80% ethanol in ultrasonic extractor for 60 min. The crude extract was purified up to 99% after elution through silica gel open column chromatography. The stability of the purified resveratrol was as follows: a half life of 90 days at 40°C and 60 days at 25°C. A sensory test of the commercial grape juice including the 1-10 ppm of purified resveratrol showed better preference than the grape juice without purified resveratrol additive. Color and smell test showed no difference between the samples. The grape twig can be used as a valuable resource for the extraction of resveratrol, which would be added to nutraceutical and cosmetic products.

Key Words : Resveratrol, grape, isolation, purification, extraction

서 론

최근 웰빙 (well-being)에 관련된 제품들의 수요가 지속적으로 증가하는 가운데 특히 친환경적인 천연물 추출물을 포함하는 친환경 제품들이 건강기능식품 및 고급 향장산업을 주도하고 있다. 이에 고부가가치를 창출하기 위해서는 지역의 특산물로 새로운 소재를 개발하여 더 나아가 신제품을 개발하는 것이 절실하게 필요하다. 즉, 과실의 단순 생산 또는 가공 판매에서 벗어나 지역의 경제를 활성화할 수 있는 산업으로 진행되어야 한다.

포도에는 건강에 미치는 유익한 물질 즉, 전화당을 비롯한 유기산과 미네랄, 탄닌, 각종 비타민 등이 함유되어 있다. 또한 인체에 기능성을 주는 물질로는 포도 과피에 포함되어 있는 플라보노이드계 식물화학 성분인 안토시아닌류가 있으며(1), 특히 항산화 물질로 알려진 레스베라트롤(resveratrol)은 암 예방물질로 적포도주가 콜레스테롤 수치를 낮추어 주는데 기여한다고 알려져 있고(2), 이를 분리

정제하여 고부가가치의 기능성 식품 및 향장용품 재료로 사용될 수 있는 천연신소재 발굴이 주목을 받고 있다.

Resveratrol (*trans*-3,5,4'-trihydroxystilbene, C₁₄H₁₂O₃)은 스틸벤 계열의 물질로서 야채 및 과일류 식물 (소나무, 땅콩, 포도나무 등)에서 합성되는 물질이다(Fig. 1). 이 물질은 UV조사, 금속이온 혹은 *Botrytis cinerea*나 *Plasmopara viticola*에 의한 병원균 감염 등의 생물학적, 비생물학적 스트레스와 같은 외부 자극으로부터 자신을 보호하기 위하여 자체적으로 합성된다(3-5). Resveratrol은 파이토알렉신 계열의 폴리페놀 물질로서 지방 과산화 억제 및 프리 라디칼 소거 기능과 같은 항산화 작용, cyclooxygenase 저해 등의 항염증 작용, 암세포 성장 억제 및 암 예방 효능, 혈소판 응집억제, 심혈관계질환 방지, 신경보호작용 및 수명 연장 등의 효과가 보고되고 있다(6-10). 이러한 효과에 대한 연구발표에 힘입어 최근 resveratrol이 많이 함유된 적포도주를 비롯하여 포도를 이용한 가공제품의 관심이 집중되고 있다. 우리나라에서 포도는 충북의 남부권 (영동, 옥천 등) 특산물로 널리 재배되고 있는 과실로서 재배면적은 2,466 ha로 전국 재배 면적의 10% 이상을 차지하고 있다. 재배품종은 Campbell종이 대부분이며 resveratrol 함량은 과육에 비하여 버려지는 포도의 부산물인 포도 송이가지에 가장 많이 함유되어 있다고 알려져 있다(11). 특히 청정지

† Corresponding Author : Regional Innovation Center, Seowon University, Cheongju-si, Chungbuk 361-742, Korea

Tel : +82-43-299-8156, Fax : +82-43-299-8158

E-mail : kimbh@seowon.ac.kr

역에서 재배되는 포도는 포도즙을 비롯하여 포도주에 이르기까지 여러 형태로 가공되어 지역의 경제 활성화에 적지 않은 도움을 주고 있다.

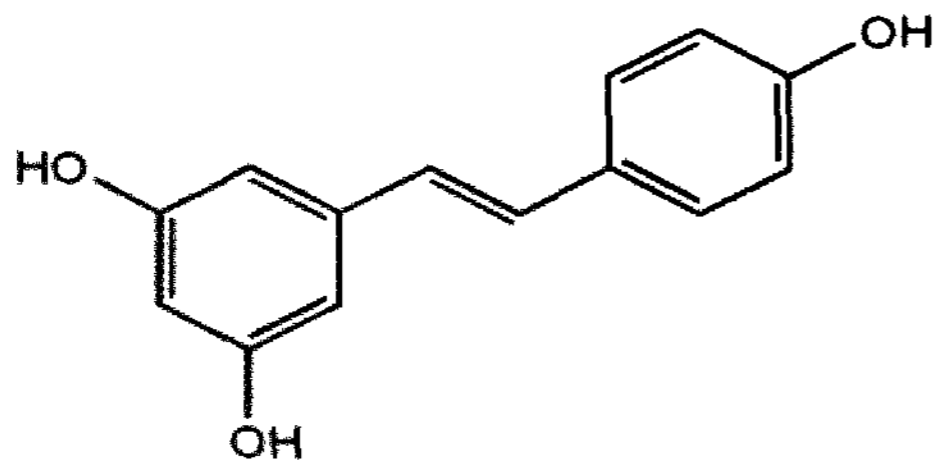


Figure 1. Chemical structure of resveratrol.

이에 본 연구는 포도착즙 공장에서 얻어지는 포도송이가지 부산물로부터 기능성 물질인 resveratrol을 추출 정제하여 건강보조식품 및 향장품 재료로 사용함으로써 제품의 부가가치를 향상시키는 것을 목표로 하였다. 우선 포도송이가지에서 resveratrol를 추출하여 분리 정제하는 방법을 최적화하고, 이 추출물을 기존의 포도즙에 적용하여 관능검사를 수행하여 기능성 성분이 강화된 제품의 개발에 응용하고자 한다.

재료 및 방법

재료

충북 영동에 위치한 옥천농협 농산물가공공장에서 캠벨 포도로 포도즙을 착즙하고 남은 부산물인 포도송이가지를 입수하여 세척 후 (송이가지에 송이껍질이 붙어 있지 않게) 40°C dry oven에서 수분이 완전히 없어질 때까지 잘 말려 파쇄기를 이용해 파쇄한 후 냉동실에 보관하여 사용하였다.

시약

본 실험에서 사용된 시약은 HPLC 분석용 용매로는 acetonitrile (HPLC 100% J.T Baker in USA, CH₃CN), water (HPLC 100% J.T Baker in USA, H₂O)를 사용하였다. 분석을 위한 표준물질인 trans-resveratrol (approx. 99%, Sigma, USA, C₁₄H₁₂O₃)은 초저온냉장고 -40°C에서 보관하여 사용하였다.

사용장비

본 실험에서 사용한 장비로는, 동결 건조기 (일신랩, 모델-PVTED 100R), 초음파 세척기 (성동, 모델 SD-350H, 전류 3.2A, 전압 50~60 HZ, 정격시간-30분), HPLC (WATERS, 모델 Alliance 2695XZ, UV type 996PDA, LC type W2690/5, USA), prep-HPLC (WATERS, Delta prep 4000, USA), 가정용 믹서기 (LG전자, CM-9000, 정격시간 3분, 용량 500 ml), Dry-Oven (Dong-A, 모델-DA-00-SP,220V/2.5KW), membrane filter (Pull GELMAN LAB, USA, pore size 0.45 μm, diameter 4 mm), Rotary evaporator (EYELA SB-1000, Japan), 원심분리기 (Eppendorf, 5415R, Germany)가 사용되었다.

시판 포도즙 제품에 함유된 resveratrol 함량 분석

100 mL의 ethylacetate로 100 mL의 시료를 3회 추출하여 농축 후 최종부피를 10 mL로 보관하였으며, HPLC로 정량 분석하였다

최적 추출용매 조성 및 추출시간 결정

파쇄시킨 포도송이가지 10 g을 초음파 추출기를 이용해 20%, 40%, 60%, 80%의 에탄올을 이용하여 추출시간 20, 40, 60, 80, 100 min으로 40°C에서 각기 1회 추출하였다. 추출된 용액은 빛을 차단하기 위해 추출용기를 호일로 잘 씌워서 냉장고에서 냉각 후 원심분리기를 이용해 4000 rpm, 15 min 원심분리하여 상등액만 취하여 0.45 μm filter를 이용해 필터한 후 HPLC로 분석하였다. HPLC 용매조건은 acetonitrile : water = 30 : 70으로 하여 분석하였다. Resveratrol은 100 ppm, 50 ppm, 10 ppm을 표준으로 하여 검량선을 작성하고 이를 이용하여 정량분석을 실시하였다.

최적화된 조건에서 resveratrol 추출

80% 에탄올 2.4 L에 송이가지 파쇄물 240 g을 잘 혼합한 후 초음파 추출 (40°C, 1 h)을 2회 실시하여 호일로 빛을 차단하고 냉각한 후 원심분리기를 이용해 4000 rpm, 15 min 동안 원심분리 후 상등액만 취하여 감압농축기로 40°C에서 농축해서 500 mL 2차 증류수에 희석하여 0.45 μm filter를 이용해 필터한 후 1/100로 희석하여 HPLC로 분석하였다. 송이가지 추출물 농축시 240 g의 건조물에서 18.4 g의 추출물 분말을 얻을 수 있었다.

n-Hexane을 이용한 비극성 물질의 제거

80% 에탄올 300 mL에 포도송이가지 30 g을 잘 혼합한 후 초음파 추출기를 이용해 40°C에서 1 h 추출을 2회 반복 후 원심분리기를 이용해 4000 rpm, 15 min에서 원심분리 하고 감압농축 후 증류수 50 mL에 희석한다. 비극성 물질을 제거하기위하여 n-hexane을 50 mL 첨가 후 10 min 간 흔들어주고 24 h 방치 후 분리된 용액에서 물층을 모아 3회 반복하여 동결 건조하였다. 건조된 시료 0.1 g을 취해 acetonitrile:water (50 : 50) 50 mL에 1/5로 희석하여 HPLC로 분석하였다.

Resveratrol의 안정성 연구

80% 에탄올 300 mL에 포도송이가지 30 g을 잘 혼합한 후 초음파 추출기를 이용해 40°C에서 1 h 추출 2회 반복 후 원심분리기를 이용해 4000 rpm, 15 min에서 원심분리한 결과 추출액 530 mL을 얻었다. 이 시료를 감압농축 후 증류수 50 mL에 희석하여 0.45 μm filter로 필터한 후 산화방지를 위해 vial에 가득 채워 1 day에 한번 1/10 증류수로 다시 희석하여 5°C, 25°C, 40°C에서 온도별로 보관하면서 안정성 연구를 수행하였다.

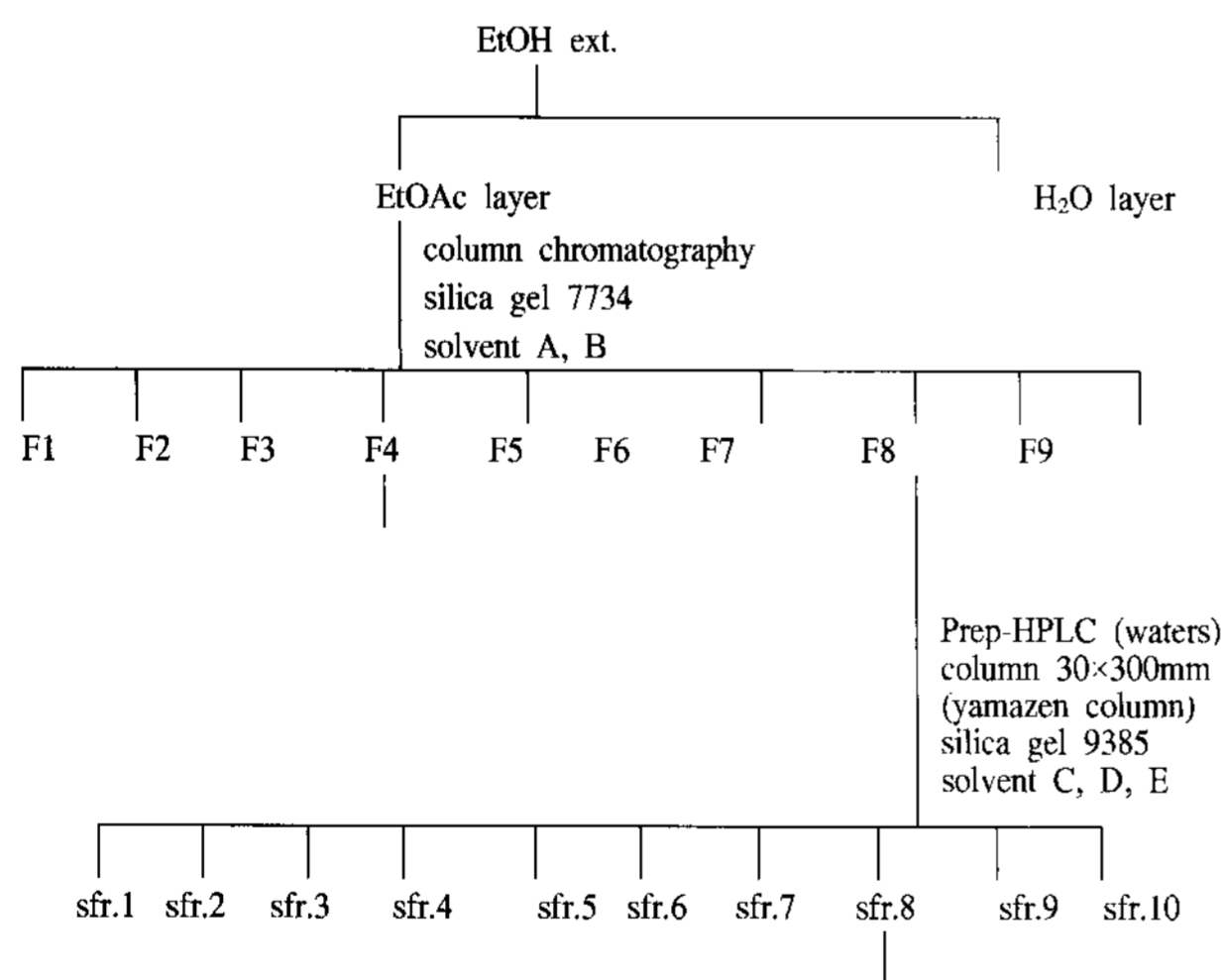
Open column 및 prep-HPLC를 이용한 resveratrol의 정제

포도송이가지를 80% 에탄올을 이용해 2회 초음파 추출한 용액을 4000 rpm에서 15 min 원심분리한 후 상등액을 취

해 물과 에탄올을 완전 농축하여 증류수에 녹여 ethylacetate로 분액한 후 이 층을 농축하였다. 이 농축물에 메탄올을 가하여 silica gel로 코팅하였다. 이때 코팅양은 로딩할 시료량의 1.2배에서 1.5배로 하였으며 농축기에 압을 가하지 않고 80°C에서 메탄올을 증발시켜 코팅하였다. 이렇게 나온 시료를 silica gel Merck #7734로 제조된 open column에 분말형태로 시료를 로딩하였다. 그 후 n-hexane과 ethylacetate 용매 조성을 변경하면서 resveratrol을 분리 정제하였다(Fig. 2).

Table 1. Operating conditions for the analysis of resveratrol by HPLC

Items		Condition	
Instrument		Waters, Alliance 2695XZ	
Column		FUTECS. CO. GROM-SIL 120 ODS-5ST (Saule 250*4.6 nm, 5 μm)	
Injection volume		20 μl	
Detector		UV 996 PDA at 305 nm	
Mobile phase		Acetonitrile : Water (30 : 70, v/v)	
Flow rate		0.3 ml/min	
Gradient table			
Run Time (min)	Flow (ml/min)	Acetonitrile (%)	Water (%)
0	0.3	30	70
10	0.3	30	70
20	0.3	50	50
45	0.3	50	50
50	0.3	30	70



Solvent system

- A: Hexane : EtOAc = 8 : 3
- B: Hexane : EtOAc = 8 : 5
- C: 35% EtOAc in Hexane
- D: 40% EtOAc in Hexane
- E: 57% EtOAc in Hexane

Figure 2. Purification process of resveratrol extract from a grape twig.

관능검사

관능검사는 비훈련된 패널 21명을 대상으로 추출 정제된 resveratrol 1 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 정제하지 않은 80%

에탄올 포도송이가지 추출물 1 ppm을 제조해 첨가하지 않은 일반 포도즙과 유의차 검정을 하기 위해 SAS프로그램을 이용하여 통계 분석하였다.

HPLC 분석

포도에 함유되어 있는 trans-resveratrol의 함량은 high performance liquid chromatography (HPLC)법으로 정량하였다. 자세한 분석조건은 Table 1과 같다.

결과 및 고찰

포도제품의 resveratrol 함량 분석

Resveratrol의 정량분석을 위해 표준물질인 trans-resveratrol을 사용한 표준검량선을 작성하였다. 표준물질의 농도는 1 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 50 ppm로 하여 HPLC에 주입하여 얻은 검량선의 correlation coefficient (R²) 값이 0.999이었다 (data not shown). 이를 이용하여 resveratrol 강화 포도즙을 생산하기 전에 우선 시중에 판매되는 대표적인 포도즙 및 포도주스의 제조사별 resveratrol 함량을 조사하였다. Table 2에서 보는 바와 같이 대부분 시판 제품의 resveratrol 함량은 1 ppm 미만으로 분석되었으며 추후 관능시험분석의 결과를 토대로 기존의 resveratrol을 2~10배의 농도로 조절하여 기능성을 향상시키고자 하였다.

Table 2. Resveratrol contents of commercially available grape juices

Maker	A ¹⁾	B	C	D	E
Conc.					
Resveratrol (ppm)	0.06	0.27	0.42	0.81	1.01

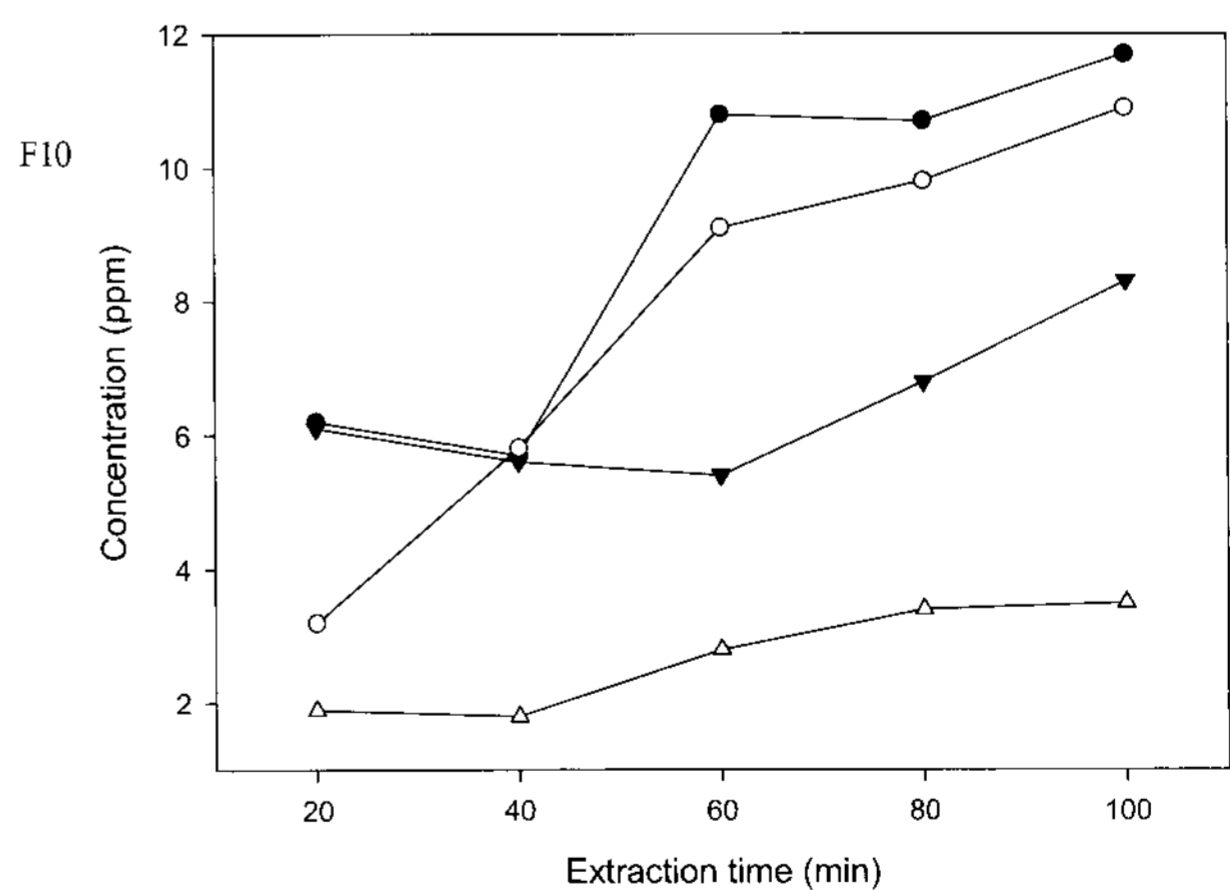


Figure 3. Time course of the amount of resveratrol extracted using a different concentration of ethanol (Symbols: Δ 20% EtOH, ▼ 40% EtOH, ○ 60% EtOH, and ● 80% EtOH).

에탄올과 n-hexane을 이용한 추출

포도 송이가지에 함유한 resveratrol의 추출수율을 알아보기 위하여 40°C에서 추출용매 조성변화에 따른 수율을 비교한 결과 에탄올의 함량이 증가할수록 추출수율이 증가하였으나(Fig. 3), 80% 이상이 함유된 에탄올은 추출된 함

량의 차이가 근소하여 80% 에탄올을 추출용매로 하여 1회 추출한 후 HPLC로 추출시간에 따른 함량 분석을 하였다. Fig. 3에서와 같이 초음파 추출결과, 추출 시간이 증가할수록 추출률이 증가함을 확인할 수 있었으며 60분 이후에는 시간에 따른 수율변화가 미미하여 향후 실험은 본 조건으로 추출하였다. 포도송이가지에 함유한 resveratrol의 추출 함량을 분석한 결과 resveratrol 함량은 183 mg으로 계산되었다. 에탄올 추출물의 총 resveratrol 함량 (%)은 183 mg/18.4 g (추출물)이므로 0.99%가 함유되어 있고, 포도송이가지를 *n*-hexane 처리하여 동결건조하여 얻은 시료를 끓힌 후 분석된 resveratrol 함량 (%)은 0.42%로 계산되었다. 순도를 높이고자 *n*-hexane으로 추출하여 비극성 물질을 제거한 추출물과 resveratrol 함량 (%)을 비교한 결과 지방제거과정에서 resveratrol이 *n*-hexane층으로 상당량 이동되는 것을 알 수 있다. 따라서 추후 실험에서는 *n*-hexane을 이용한 추출과정을 배제하였다.

Open column을 이용한 분리 정제

Resveratrol의 순도를 높이기 위하여 silica gel을 충전한 open column을 사용하여 다양한 용매로 fractionation하였다. 실험의 흐름도는 Fig. 2와 같다. Ethylacetate (EtOAc) 추출물 19.39 g을 open column에 로딩하여 solvent A, B로 순차적으로 elution하여 10개의 fraction으로 나누었으며, 이때 F4는 재결정분획으로 모액은 F3이다. Resveratrol이 포함된 F8을 30 × 300 mm 크기의 Yamazen column에 Merck silica gel #9385를 충전하여 prep-HPLC로 elution하였다. 이때 flow rate는 5 mL/min으로 solvent C 30 min, solvent D 1 h 후 solvent E에서 sfr.8을 얻었으며, sfr.1에서 sfr.7은 F7에 합하였고, sfr.9는 F9에 합하였고, sfr.10은 F10에 합하여, F1에서 F10까지의 분획물을 분취하여 건조하여 보관하였다. 이때 분취된 resveratrol을 HPLC로 분석한 결과 99% 이상의 고순도로 정제되었음을 알 수 있었다.

색도, 당도, 관능평가

상기 방법을 이용하여 포도송이가지에서 추출, 분리 및 정제된 resveratrol 추출물을 첨가한 제품을 기존의 제품과 비교하여 건강보조식품 상품화의 가능성을 진단하여 보기 위하여 80% 에탄올추출물, 위의 방법으로 정제된 resveratrol을 첨가한 포도즙을 대조군과 비교하여 색도와 당도를 측정하였다(Table 3). 색차계를 이용하여 각 L (명도)값, a (적색도)값, b (황색도) 값을 확인한 결과, 포도즙군에 비해 L값은 증가하였지만 a값과 b값 모두 미미한 차이를 보였다. 즉 resveratrol을 첨가하였을 경우 색도와 당

도에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 결과로 나타났다. 기존 포도즙에 resveratrol추출물을 첨가했을 경우 관능검사 실험의 결과를 살펴보았다. 정제된 resveratrol 추출물을 1, 5, 10 ppm 첨가한 포도즙과 80%에탄올만으로 추출한 resveratrol 추출물을 1 ppm 농도로 포도즙에 첨가한 후 추출물을 포함하지 않은 대조군과 비교하여 관능평가한 결과는 Table 4에 나타내었다. 색과 냄새는 모든 처리구에서 시료간에 유의적 차이가 없었고, 맛과 전반적인 기호도는 유의수준 0.1%에서 시료간에 유의적 차이를 보였다. 맛에 있어서는 crude한 resveratrol 추출물 1 ppm을 첨가한 처리구가 쓴맛이 강조되어 가장 낮은 점수를 받았고, 5 ppm의 순수 resveratrol 첨가 처리구가 가장 좋은 맛의 점수를 보였다. 전반적인 기호도에는 대조군에 비해 에탄올 추출 resveratrol 1 ppm 첨가 처리구의 점수가 가장 낮았고, 순도가 높은 resveratrol의 1, 5, 10 ppm 처리구 모두 높은 점수를 받았다. 특히 10 ppm을 첨가한 처리구가 5.57로 가장 높은 기호도를 보였다. 이상의 관능검사 결과를 보면 resveratrol의 첨가시 색과 냄새는 시료간의 유의적 차이를 보이지 않았고, 맛과 전반적인 기호도에 있어서는 고순도의 resveratrol 추출물을 첨가한 포도즙의 기호도가 높게 나타났다.

Table 3. Chromaticity and sugar content of grape juice containing resveratrol

Concentration (ppm)	Sugar content (Brix)	Chromaticity		
		L	a	b
purified resveratrol	1	7.26	18.94	-3.32
	5	6.77	18.51	-4.73
	10	6.16	18.91	-4.73
crude resveratrol	1	7.26	18.94	-3.32
grape juice	-	6.60	18.91	-4.74

온도에 따른 안정성

Resveratrol 추출물의 용액 내에서 안정성을 살펴보기 위하여 저장온도를 4°C, 25°C 및 40°C로 하여 45 day동안 24 h 간격으로 HPLC로 분석하여 Fig. 4와 같은 결과를 얻었다. 4°C에서는 50 day까지 80% 정도는 안정하다고 볼 수 있고, 반감기로 보았을 경우 3 month 정도까지 안정하다고 볼 수 있다. 25°C에서는 44 day까지 거의 60% 정도 떨어지며 반감기로 보면 2 month 정도까지는 안정하다고 판단된다. 상대적으로 40°C 이상에서는 50% 감소하는 시간이 1 month 정도이다. Resveratrol은 빛, 온도, 산소에 매우 불안정한 물질이라서 이 3가지 요소는 가공함에 있어서 매

Table 4. A Sensory test of grape juice containing purified resveratrol

	5 ppm ¹⁾	10 ppm ¹⁾	1 ppm ¹⁾	Grape juice only	Crude resveratrol only (1 ppm)	F-Value
Color	4.86 ± 1.24	5.00 ± 1.10	4.90 ± 1.00	4.62 ± 1.40	4.48 ± 1.44	0.64
Smell	5.10 ± 1.34	4.48 ± 1.40	4.67 ± 1.39	4.14 ± 1.42	4.38 ± 1.47	1.36
Taste	5.05 ± 1.43	4.81 ± 1.33	5.00 ± 1.48	4.86 ± 1.46	1.86 ± 1.39	19.78 ²⁾
Overall preference	5.48 ± 1.29	5.57 ± 1.12	5.48 ± 1.29	3.81 ± 1.33	2.43 ± 1.57	23.29 ²⁾

Grape juice containing the specified amount of resveratrol
p<0.001

우 조심해야할 요소로 판단된다. 상기한 3가지 요소만 차단해 준다면, 가공 상의 안정성 부분에서는 resveratrol 자체 안정성을 보완해 가공할 수 있을 것으로 사료된다.

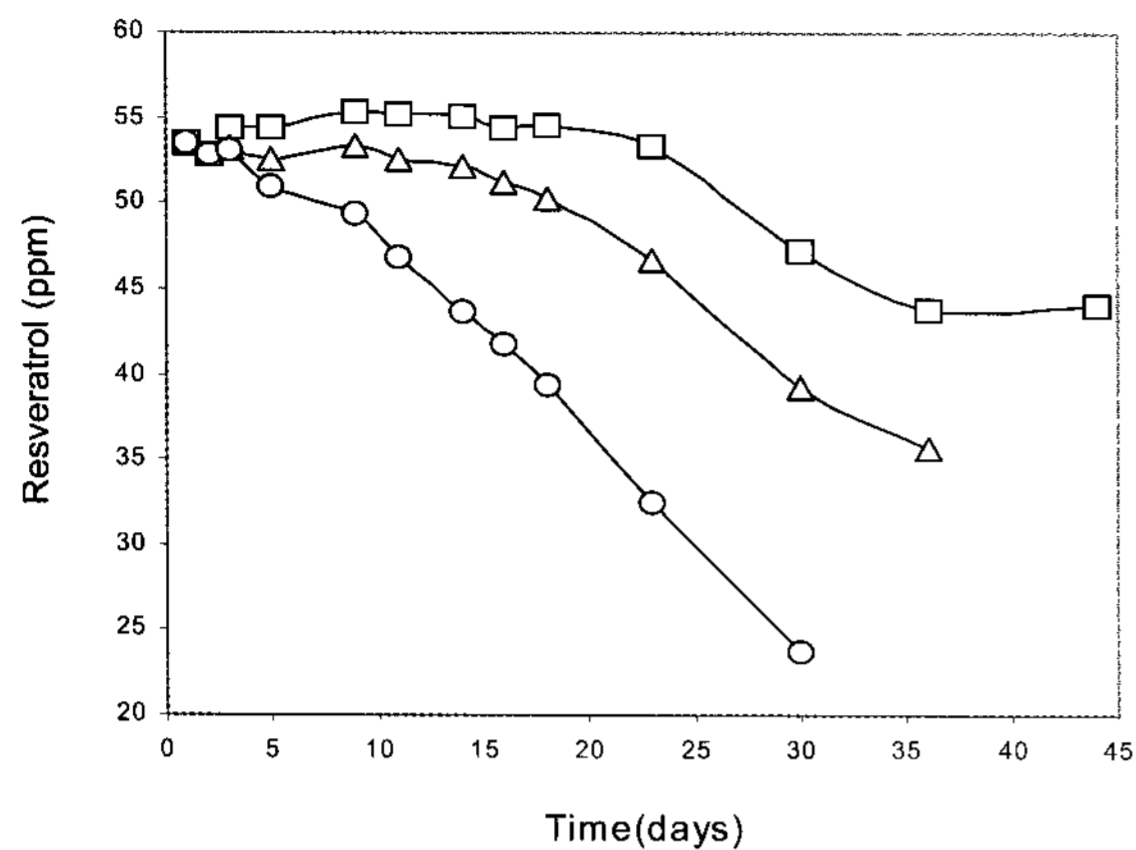


Figure 4. Storage stability of resveratrol with different temperature (symbols: □ 4°C, △ 25°C, and ○ 40°C).

결론적으로 본 실험을 통해 포도즙 착즙 후 폐기되는 포도송이가지로부터 고순도의 resveratrol을 분리 정제하여 기존 포도즙에 첨가하여 관능검사를 실시한 결과 맛, 색, 당도 등의 차이가 미미하거나 오히려 향상되었으며 향후 적절한 scale-up 공정을 확립한다면 resveratrol 강화 포도즙 생산에 무리가 없을 것으로 판단되며, 향장제품을 포함한 기능성 바이오소재로 다양하게 응용될 수 있는 가능성이 있으며 포도부산물물의 부가가치 제고에 상당히 이바지 할 것으로 사료된다.

요 약

포도즙 착즙 후 폐기되는 포도송이가지를 재활용하여 향산화 물질로 잘 알려진 resveratrol을 80% 에탄올로 초음파 추출기를 이용하여 60분 동안 추출한 후 실리카겔 컬럼을 적용시켜 99% 이상의 순도로 정제하였다. 정제된 resveratrol의 안정성은 4°C에서는 반감기가 90일이었으며, 25°C에서는 60일로 조사되었다. 또한 고순도 resveratrol 추출물을 적용하여 기존의 식품에 포함된 양의 2~10배 정도 강화시킨 포도즙의 관능평가를 수행한 결과 전반적인 기호도가 높았으며, 색, 향 및 당도는 일반 포도즙에 비해 유의적인 차이가 없었다. 앞으로 포도착즙의 부산물인 포도송이가지에서 추출된 resveratrol은 건강보조식품, 기능성 향장품 소재 등으로 활용가치가 높을 것으로 사료된다.

감 사

본 연구는 산업자원부의 지역혁신센터 (RIC) 사업의 연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

REFERENCES

- Roy, A. M., M. S. Baliga, C. A. Elmets, and S. K. Katiyar (2005), Grape seed proanthocyanidins induce apoptosis through p53, bax, and caspase 3 pathways, *Neoplasia* **7**, 24-36.
- Brondeur, J. A. (2005), How to live a long time: facts, factoids and descants, *Trans Am. Clin. Climatol. Assoc.* **116**, 77-89.
- Sexton, E., C. van Themsche, K. Leblanc, S. Parent, P. Lemoine, and E. Asselin (2006), Resveratrol interferes with AKT activity and triggers apoptosis in human uterine cancer cells, *Mol. Cancer* **5**, 45.
- Kim, S. H., J. Y. Kim, S. W. Park, K. W. Lee, K. H. Kim, and H. J. Lee (2003), Isolation and purification of anticancer peptides from Korean Ginseng, *Food Sci. Biotechnol.* **12**, 79-82.
- Bae, S. J., S. M. Shim, Y. J. Park, J. Y. Lee, E. J. Chang, and S. W. Choi (2002), Cytotoxicity of phenolic compounds isolated from seeds of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) on cancer cell lines, *Food Sci. Biotechnol.* **11**, 140-146.
- Gao, X., Y. X. Xu, G. Divine, N. Janakiraman, R. A. Chapman, and S. C. Gautam (2002), Disparate *in vitro* and *in vivo* antileukemic effects of resveratrol, a natural polyphenolic found in grapes, *J. Nutr.* **132**, 2076-2081.
- Joe, A. K., H. Liu, M. Suzui, M. E. Vural, D. Xiao, and I. B. Weinstein (2002), Resveratrol induces growth inhibition, S-phase arrest, apoptosis and changes in biomarker expression in several human cancer cell line, *Clin. Cancer Res.* **8**, 893-903.
- Fremont, L. (2000), Biological effects of resveratrol, *Life Sci.* **66**, 663-673.
- Lee, S. K., Z. H. Mbwambo, H. Chung, L. Luyengi, E. J. C. Gamez, R. G. Metha, A. D. Klinghorn, and J. M. Pezzuto (1998), Evaluation of the antioxidant potential of natural products. *Comb. Chem. High Throughput Screening* **1**, 35-46.
- Chanvitayapongs, S., B. Draczynska-Lusiak, and A. Y. Sun (1997), Amelioration of oxidative stress by antioxidants and resveratrol in PC12 cells. *Neuroreport* **8**, 1488-1502.
- Cho, Y. J., J. E. Kim, H. S. Chun, C. T. Kim, S. S. Kim, and C. J. Kim (2003), Contents of resveratrol in different parts of grapes *Korean J. Food Sci. Technol.* **35**, 306-308.