

포도씨 카테킨류의 마이크로웨이브 추출특성

이은진¹ · 최상원² · 김현구³ · 권중호*

경북대학교 식품공학과, ¹대구지방식품의약품안전청, ²대구가톨릭대학교 식품영양학과, ³한국식품연구원

Characteristics of Microwave-assisted Extraction for Catechins from Grape Seed

Eun-Jin Lee¹, Sang-Won Choi², Hyun-Ku Kim³, and Joong-Ho Kwon*

Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University

¹Korea Food & Drug Administration

²Department of Food Science and Nutrition, Catholic University of Daegu

³Korea Food Research Institute

Abstract Microwave energy was applied to the extraction of functional catechins from grape seed. The solvent, absolute ethanol, reached the boiling point when exposed for less than 3 min microwave treatment at 100 W. The effects of independent variables in microwave-assisted extraction (MAE), including microwave power (0-160W, X₁), ethanol concentration (0-100%, X₂) and extraction time (1-5 min, X₃), were investigated on each response variable (Y_n), and the contents of catechin and its derivatives were determined via response surface methodology, thereby allowing us to predict their optimal extraction conditions. The predicted maximal values of (+)-catechin, procyanidin B₂, (-)-epicatechin, and (-)-epicatechin gallate were 137.99, 72.78, 222.38, and 9.59 mg%, respectively, under different MAE conditions. The predicted extraction conditions for maximum catechin responses were as follows: 104.10 W of microwave power, 45.35% of EtOH, and 4.89 min of extraction time for (+)-catechin (137.99 mg%), 133.16 W, 46.16% and 4.49 min for procyanidin B₂ (72.78 mg%), 136.00 W, 41.37% and 4.39 min for (-)-epicatechin (222.38 mg%), 143.20 W, 37.51% and 1.88 min for (-)-epicatechin gallate (9.59 mg%), respectively. The contents of (+)-catechin, procyanidin B₂ and (-)-epicatechin in MAE were similarly influenced by three independent variables, whereas (-)-epicatechin gallate was influenced less profoundly by ethanol concentration and extraction time.

Key words: grape seed, catechins, microwave-assisted extraction, response surface methodology

서 론

탄닌은 식물의 갈변 원인 물질로서 무색의 폴리페놀성분의 총칭이다. 식품의 짙은 맛 성분이며 효소에 의한 자동 산화 또는 금속이온과의 작용에 의해 쉽게 변색된다(1). 탄닌은 이를 함유한 식품의 종류와 부위에 따라 성분이 다양하며, 식품산업에서는 폴리페놀성분의 생물학적 기능성에 근거하여 탄닌 성분을 다량 함유한 식품재료들에 대하여 관심이 높아지고 있다. 특히, 포도 가공제품의 소비가 증가하면서 대량으로 발생하는 포도씨의 효과적 활용방안이 요구되고 있다(2). 특히 열수, 에탄올 또는 아세톤을 용매로 한 포도종자추출물은 천연첨가물(3)로서 proanthocyanidin 함량기준을 정하고 있으며, 포도씨유 제품은 고시형 건강기능식품으로 등재되어 기능성 지방산 및 catechin 함량(30 mg/100 g)을 기준규격으로 정하고 있다(4). 포도씨의 폴리페놀성분은 (+)-catechin, (-)-epicatechin, (-)-epicatechin-3-O-gallate 등의 단량체

와 epicatechin-(4β→8)-epicatechin(B₂) 및 epicatechin-3-O-gallate-(4β→8)-catechin(B₁-3-O-gallate) 등의 이량체, flavan-3-ol 형태의 화합물이 C₄-C₈ 혹은 C₄-C₆에 결합되어 있는 다량체 proanthocyanidin을 포함하고 있으며(5-9), 이들의 구조 및 분리에 대한 연구도 수행되고 있다(10,11). 특히 proanthocyanidin은 순환기 질환의 치료제로 의약품의 활성성분이 되며(12), 항산화작용(2,13), 항균 작용(14,15) 등의 여러 가지 생리활성이 보고되고 있다. 따라서 포도씨에 함유된 유용성분의 활용은 폐자원의 이용 및 기능성 소재의 확보 측면에서 바람직한 방안이라 할 수 있다.

포도씨로부터 목적성분을 추출하는 방법은 통상적으로 용매추출법이나 열수추출법(7,16,17)이 이용되었으며, 초임계유체추출(SFE)(18) 등도 연구되고 있다. 용매 추출법이나 열수 추출법은 추출용매에 에너지를 가하여 가용성 물질을 용해시켜 추출하는 방법이라 할 수 있다. 이들 방법은 추출효율은 양호하나 많은 양의 용매를 필요로 하고 추출 시간이 길며, 열에 약한 물질의 추출에 어려움이 있다. 또한 초임계 유체 추출법은 환경친화적 용매를 사용하고 추출시간도 길지 않지만, 운영비용이 많이 드는 단점을 지니고 있다. 이러한 기존의 추출법들의 단점을 보완하기 위하여 에너지의 소비가 적으며 단시간에 목적성분을 추출할 수 있는 마이크로웨이브 추출공정(microwave-assisted extraction, MAE)이 개발되었으며(19), 현재까지 육류제품의 조지방 추출(20,21), ergosterol과 지방산(22), essential oil(23), 포도주스와 포도로부터 향기성분 전구체의 추출(24), 인삼성분의 추출(25), 양념

*Corresponding author: Joong-Ho Kwon, Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea
Tel: 82-53-950-5775
Fax: 82-53-950-6772
E-mail: jhkwon@knu.ac.kr
Received July 11, 2008; revised August 18, 2008;
accepted August 25, 2008

채소류 올레오레진의 추출(26) 등에 관하여 보고되면서 용매 및 에너지 사용량이 경제적이며, 환경친화적인 추출방법인 측면에서 적용가능성이 인정되고 있다. 따라서 본 연구는 국내에서 발생하는 폐자원 포도씨로부터 주요 카테킨류의 효과적인 추출방법을 연구하고자, 선택적 가열특성이 알려진 마이크로웨이브 에너지를 이용하여 중심합성계획에 따라 추출조건을 설계하고 추출물의 품질특성을 반응표면 회귀 분석하여 카테킨 성분 별 추출특성을 확인하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 포도(*Vitis vinifera*)는 2002년 8월 경북 영천 산 *Campbell Early*이였으며, 포도씨를 분리하여 깨끗이 세척한 후 35-45°C에서 열풍건조하고 4°C에 냉장 보관하였다. 그리고 사용 시에 밀러에 의해 분쇄하고 표준양체를 사용하여 일정한 크기로 분리한 다음 진공 포장하여 냉동보관하면서 시료로 사용하였다. 시료의 일반성분은 20 mesh(0.833 mm)로 분쇄된 분말을 대상으로 AOAC 방법(27)에 따라 분석하여 본 결과 수분 14.3%, 조단백질 7.6%, 조지방 6.4%, 조회분 1.1%, 조섬유 65.8%, 가용성 무질소물 4.8% 등으로 나타났다.

마이크로웨이브 추출장치 및 추출방법

마이크로웨이브 추출은 2,450 MHz 주파수의 실험실용 상압형 추출장치(Microdigest unit, Prolabo, Fontenay-sous-Bois cedex, France)를 이용하여 programmable power(max. 250 W)와 time control이 가능하고 환류냉각관이 장착된 추출장치를 사용하였다. 추출방법은 extraction vessel에 일정한 시료와 용매를 가한 후 추출공정에 변수를 조절하여 추출하고, 두 겹의 여과지(Whatman No. 1)를 사용하여 흡입 여과한 후 일정한 부피로 하여 분석용 시료로 사용하였다.

추출용매 가열특성 시험

추출에 사용된 추출용매의 가열특성 확인과 추출물의 온도변화를 측정하기 위해서 digital Megal 500 thermometer(Prolabo)를 사용하였으며, microwave power를 100 W로 고정하고 추출시간 3분, 예비실험을 통해 효율성이 확인된 시료 대 에탄올의 비를 1:10으로 고정하여 시료 존재 유무에 따른 가열 특성을 알아보았다.

HPLC에 의한 catechin류 분석

포도씨 추출물의 catechin 분석은 Ricardo da Silva 등(6)의 방법을 변형하여 Moon(28)의 방법에 따라 HPLC에 의해 분석하였다. 각 추출물을 회전증발농축기로 농축하여 80% methanol에 용해하여 얻은 시험용액 1 mL를 0.45 µm membrane filter에 통과시킨 후 10 µL를 HPLC 분석에 이용하였다. 여기에 내부표준물질로서 catechol(catechol 0.2 mg을 methanol 1 mL에 녹인 용액) 1 mL를 시험용액 1 mL에 가하여 0.45 µm membrane filter에 통과시킨 후 HPLC용 시료용액으로 하였다. 이때의 분석조건은 170 UV-vis detector와 231XL autosampler가 부착된 Gilson 506B HPLC system, column은 YMC-Pack Pro C18(5 µm, 4.61.D. × 250 mm, YMC Inc., Meridian, Idaho, USA), mobile phase는 solvent A(4.5% formic acid in H₂O)와 solvent B(90% CH₃CN containing 10% solvent A)를 사용하였다. Detector는 UV 280 nm, flow rate는 1.0 mL/min, sensitivity는 0.01 AUFS 등이었다. 또한

표준물질로는 (+)-catechin, procyanidin B₂, (-)-epicatechin, (-)-epicatechin gallate를 각각 methanol에 용해시켜 mg/mL의 용액을 조제하고, 내부표준물질로 catechol 10 mg을 취하여 methanol에 용해시켜 이 두 용액을 일정량씩 취하고 methanol을 가하여 4-100 µg/mL가 되게 조제하여 표준검량선을 작성하였다.

추출조건 최적화를 위한 중심합성 실험계획 및 결과 분석

마이크로웨이브 추출의 중요한 공정인자는 추출시간 및 추출에 사용된 용매의 농도, microwave power 등으로 추출물의 효율이 달라지므로(29,30), 본 실험에서는 마이크로웨이브 추출조건을 최적화하기 위하여 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)(31-33)을 사용하여 중심합성계획(central composite design)을 실시하였다. 즉, 추출공정의 독립변수(X_i)로서 microwave power(X₁), 용매농도(X₂) 및 추출시간(X₃)에 대해 5단계로 부호화하였고 중심합성계획에 따라 16구간으로 설정하였다(Table 1). 이때 얻어진 추출물의 카테킨류의 함량을 3회 반복 측정하여 그 평균값을 종속변수(Y_n)로 하여 회귀 분석을 실시하였으며, 이때 세 개의 독립변수와 종속변수에 대한 2차 회귀 모형식은 다음과 같다.

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2$$

여기서 Y는 종속(반응)변수, X₁, X₂, X₃는 독립(요인)변수, b₀는 절편, b_n는 회귀계수이다. 회귀분석에 의한 모델식의 예측은 SAS(statistical analysis system) program(34)을 이용하였으며 회귀 분석 결과 임계점이 최대점이거나 최소점이 아니고 안장점일 경우에는 능선분석을 하여 최적점을 구하였다. 또한 각 독립변수가 종속변수에 미치는 영향은 예측된 모델식을 바탕으로 Mathematica program(35)을 이용하여 4차원 반응표면 분석으로 해석하였다.

결과분석

각 조건에서의 추출실험과 추출물의 품질분석은 3회 반복으로 측정하여 평균과 표준편차로 나타내었다.

Table 1. Central composite design by RSM computer program for the prediction of extraction conditions for catechins from grape seed

Experiment number ¹⁾	Microwave power (W)	EtOH conc. (%)	Extraction time (min)
1	40(-1)	25(-1)	2(-1)
2	40(-1)	25(-1)	4(1)
3	40(-1)	75(1)	2(-1)
4	40(-1)	75(1)	4(1)
5	120(1)	25(-1)	2(-1)
6	120(1)	25(-1)	4(1)
7	120(1)	75(1)	2(-1)
8	120(1)	75(1)	4(1)
9	80(0)	50(0)	3(0)
10	80(0)	50(0)	3(0)
11	0(-2)	50(0)	3(0)
12	160(2)	50(0)	3(0)
13	80(0)	0(-2)	3(0)
14	80(0)	100(2)	3(0)
15	80(0)	50(0)	1(-2)
16	80(0)	50(0)	5(2)

¹⁾The number of experimental conditions by central composite design

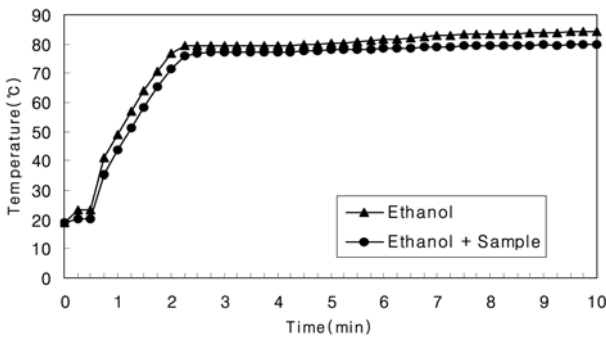


Fig. 1. Heating curves of 50 mL of ethanol with or without grape seed (5 g) at 100W of microwave power.

결과 및 고찰

추출용매의 마이크로웨이브 가열특성 확인

포도씨 추출에 사용되는 용매는 식품첨가물공전에 등재되어 있는 에탄올을 사용하였으며, 에탄올의 마이크로웨이브에 의한 가열특성을 확인하기 위해 megal thermometer와 integration program 을 사용하여 작성하였다. Fig. 1에서와 같이 100 W의 microwave power로 50 mL의 용매에 focused irradiation하였을 때 피조사체인 용매의 온도는 30초 이후부터 신속하게 상승하여 3분 이내에 끓는점(78.5°C/760 mmHg)에 도달하였다. 에탄올(50 mL)의 추출시료 (포도씨 분말, 20 mesh, 5 g) 존재 여부에 따른 가열특성을 측정 한 결과, 시료를 함유한 경우 용매 자체에 비하여 3분가량 늦게 끓는점에 도달하였으며, 온도가 더 이상 상승하지 않는 최대온도는 낮아진 것을 알 수 있었다. 이와 같은 가열특성은 Kwon(36)의 물질의 유전특성에 따른 결과로 판단되며, 용매에 시료가 혼합되었을 경우 최대온도가 낮았다는 보고(37)와 일치하였다. 따라서 본 실험에서는 100 W에서 2-6분 내외의 마이크로웨이브 조사가 필요한 것으로 나타났다.

추출조건에 따른 추출물의 카테킨류 함량의 변화 모니터링

추출물의 카테킨류를 HPLC로 분석한 chromatogram은 Fig. 2에 나타내었으며, procyanidin B₂를 비롯한 카테킨류의 측정결과는 Table 2에 나타내었다. 또한 추출 조건별 최적 추출조건과 품질특성 값을 예측하여 Table 4에 나타내었고, 이들의 4차원 반응표면은 Fig. 3-7에 각각 나타내었다. 뿐만 아니라 각 종속변수별 F-Ratio 산출하여 Table 4에 나타내었다. Table 2에 나타낸 카테킨류의 함량을 반응표면 분석한 결과, 그 회귀식은 아래와 같다.

$$Y_{(+)\text{-catechin}} = -95.252500 + 1.774734X_1 + 2.559575X_2 + 17.981875X_3 - 0.005601X_1X_2 - 0.009844X_1X_3 - 0.030750X_2X_3 - 0.006547X_1^2 - 0.022044X_2^2 - 0.050000X_3^2$$

$$Y_{\text{procyanidin B}_2} = -93.031250 + 0.661938X_1 + 2.075600X_2 + 29.963750X_3 - 0.003220X_1X_2 + 0.003125X_1X_3 - 0.072000X_2X_3 - 0.001827X_1^2 - 0.014422X_2^2 - 2.812500X_3^2$$

$$Y_{(-)\text{-epicatechin}} = -181.302500 + 1.690563X_1 + 4.794600X_2 + 57.498750X_3 - 0.012155X_1X_2 + 0.017250X_1X_3 - 0.129200X_2X_3 - 0.003054X_1^2 - 0.033186X_2^2 - 4.260000X_3^2$$

$$Y_{(-)\text{-epicatechin gallate}} = 5.820625 + 0.059609X_1 + 0.025825X_2 - 4.234375X_3 - 0.000539X_1X_2 - 0.007469X_1X_3 + 0.004650X_2X_3 + 0.000206X_1^2 - 0.00002000X_2^2 + 0.727500X_3^2$$

추출물의 (+)-catechin 함량에서는 회귀식의 R²가 0.9193이고 5% 이내에서 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점은 microwave power 104.10 W, 에탄올 농도 45.35% 및 추출시간 4.89분에서 최대점을 보이면서 최대값은 137.99 mg%로 예측되었다. (+)-Catechin의 함량변화의 반응표면은 Fig. 3과 같이 microwave power는 60 W 이상에서, 에탄올 농도는 19-65%, 추출시간은 3.6분 이상의 범위에서 가장 높은 함량을 나타내었다. 또한 Table 4에서와 같이 에탄올 농도나 추출시간에 어느 정도 영향을 받으나 microwave

Table 2. Experimental data on (+)-catechin, procyanidin B₂, (-)-epicatechin, and (-)-epicatechin gallate contents in grape seed extracts by MAE under different conditions based on central composite design for RSM

Experiment number ¹⁾	(+)-Catechin (mg%, d.b)	Procyanidin B ₂ (mg%, d.b)	(-)-Epicathin (mg%, d.b)	(-)-Epicatechin gallate (mg%, d.b)
1	61.60±2.39	23.72±0.97	83.33±1.51	2.88±0.00
2	80.95±5.70	36.44±2.75	112.59±8.20	N.D.
3	49.01±3.37	31.92±2.16	88.98±7.13	3.07±0.22
4	75.51±4.77	46.82±3.29	136.68±11.00	3.89±0.62
5	98.58±1.00	41.67±1.13	138.72±0.03	6.75±0.84
6	126.58±5.25	64.27±3.18	202.10±16.43	5.91±0.29
7	73.81±4.89	46.37±3.37	127.11±9.72	8.02±1.94
8	88.51±6.79	52.39±4.33	146.21±12.34	4.41±0.20
9	93.35±3.60	54.71±1.78	157.82±3.69	3.60±0.65
10	101.65±6.20	60.30±4.84	169.31±9.49	4.94±2.50
11	18.88±0.21	27.39±0.97	88.81±3.03	2.48±1.16
12	92.32±6.52	64.23±4.44	199.23±15.51	8.70±0.51
13	40.69±0.60	8.32±1.22	59.56±1.64	5.58±0.38
14	44.09±15.05	34.58±2.18	101.64±7.01	2.95±0.01
15	58.01±0.06	21.36±0.11	78.95±0.32	6.49±0.12
16	136.59±2.54	71.15±1.64	214.10±2.61	7.87±0.44

¹⁾The number of experimental condition by central composite design

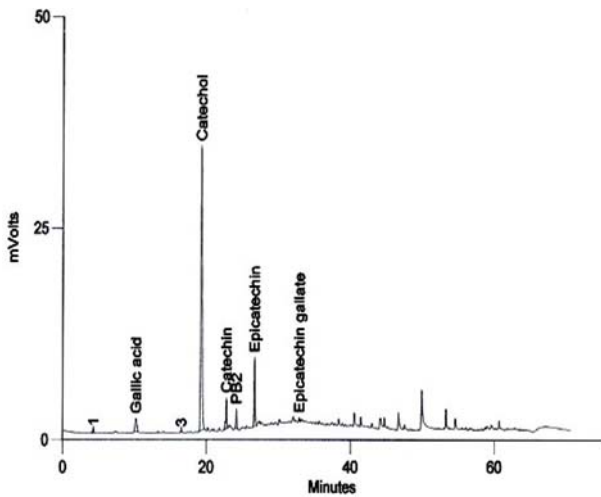


Fig. 2. HPLC chromatogram of catechin derivatives in grape seed extracts by MAE.

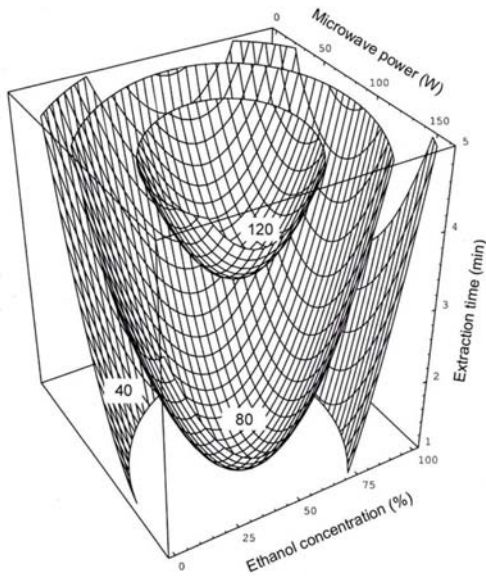


Fig. 3. Four-dimensional response surfaces for (+)-catechin contents of grape seed extracts at constant values (40-80-120 mg%) as functions of microwave power, ethanol concentration and extraction time by MAE.

power에 가장 큰 영향을 받는 것으로 나타났다($p < 0.05$).

추출물의 procyanidin B₂ 함량에서는 회귀식의 R²가 0.9399이고 1% 이내에서 유의성이 인정되었으며, 예측된 정상점은 최대점으로 최대값은 72.78 mg%로 예측되었다. 또한 이 예측값을 추출할 수 있는 조건은 microwave power 133.16 W, 에탄올 농도 46.16% 및 추출시간 4.49 min으로 각각 나타났다. 그리고 4차원 반응표면은 Fig. 4와 같으며, microwave power 60 W 이상, 에탄올 농도 20-73%, 추출시간 2.7 min 이상의 범위에서 가장 높은 함량을 나타내었으며, 이는 (+)-catechin의 결과와 유사하게 나타났다. 추출물의 procyanidin B₂ 함량은 Table 4에서와 같이 microwave power, 에탄올 농도, 추출시간의 3가지 변수 모두에서 비슷하게 영향을 받는 것으로 나타났다($p < 0.05$).

추출물의 (-)-epicatechin의 함량에서는 회귀식의 R²가 0.9301이고 1% 이내에서 유의성이 인정되었다. 예측된 정상점은 최대점

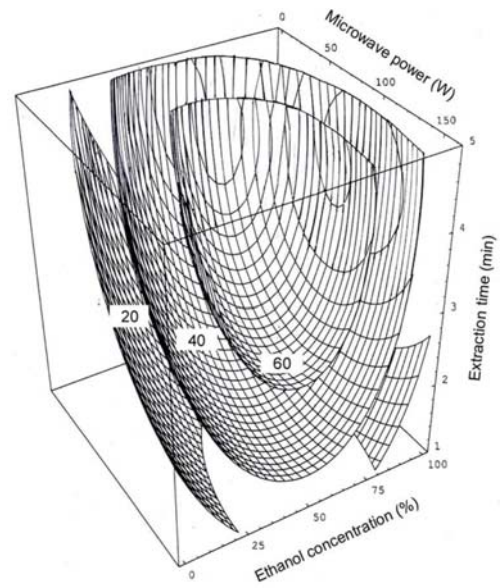


Fig. 4. Four-dimensional response surface for procyanidin B₂ of grape seed extracts at constant values (20-40-60 mg%) as functions of microwave power, ethanol concentration and extraction time by MAE.

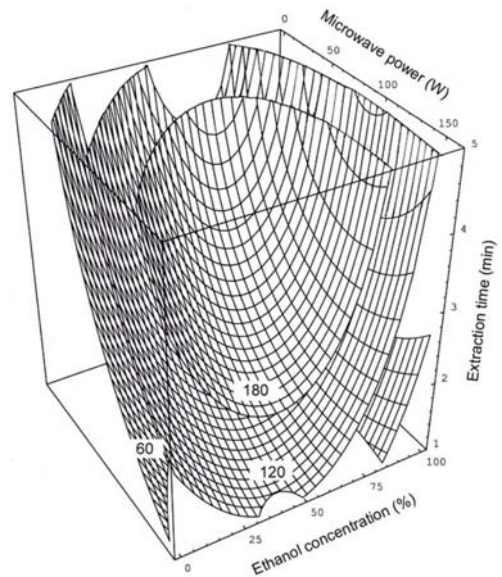
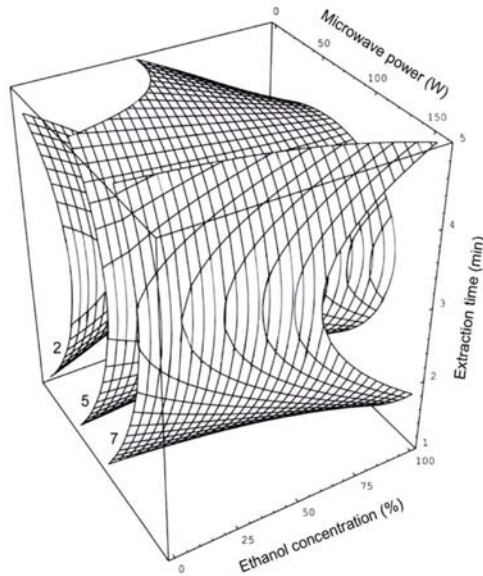


Fig. 5. Four-dimensional response surface for (-)-epicatechin of grape seed extracts at constant values (60-120-180 mg%) as functions of microwave power, ethanol concentration and extraction time by MAE.

으로 최대값은 222.38 mg%로 예측되었으며, 이 예측값을 추출할 수 있는 조건은 microwave power 136.00 W, 에탄올 농도 41.37%, 추출시간 4.39 min으로 각각 나타났다. 그리고 (-)-epicatechin의 4차원 반응표면은 Fig. 5와 같으며 microwave power 60 W 이상, 추출시간 2.6 min 이상의 범위에서 가장 높게 나타났으며, 이는 procyanidin B₂의 추출특성과 유사하게 나타났다. 또한 Table 4의 F-ratio에서와 같이 microwave power, 에탄올 농도, 추출시간의 3가지 변수 모두에서 비슷하게 영향을 받는 것으로 나타났다($p < 0.05$). 추출물의 (-)-epicatechin gallate의 함량에서는 회

Table 3. Predicted levels of extraction conditions for the maximum responses of variables by the ridge analysis

Responses	R ²	Significance	X ₁ (power/W)	X ₂ (EtOH%)	X ₃ (time/min)	Max.	Morphology
(+)-Catechin	0.9193	0.0113	104.10	45.35	4.89	137.99	maximum
Procyanidin B ₂	0.9399	0.0050	133.16	46.16	4.49	72.78	maximum
(-)-Epicatechin	0.9301	0.0076	136.00	41.37	4.39	222.38	maximum
(-)-Epicatechin gallate	0.7528	0.2006	143.20	37.51	1.88	9.59	saddle point

**Fig. 6. Four-dimensional response surface for (-)-epicatechin gallate of grape seed extracts at constant values (2-5-7 mg%) as functions of microwave power, ethanol concentration and extraction time by MAE.**

귀식의 R²가 0.7528이었으며, 예측된 정상점은 안장점(saddle point)으로 능선분석을 실시하여 본 결과, 최대값은 9.59mg%로 예측되었다. 또한 예측된 추출조건은 microwave power 143.20 W, 에탄올 농도 37.51% 및 추출시간 1.88 min으로 나타났다. (-)-Epicatechin gallate의 추출특성에 대한 4차원 반응표면은 Fig. 6에 나타내었으며 microwave power 80 W 이상의 범위에서 가장 높은 값을 나타내었다. 특히, Table 4의 F-ratio에서와 같이 microwave power의 영향을 받으나 다른 카테킨류와는 달리 에탄올 농도 및 추출시간에는 거의 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

이상의 결과에서 포도씨의 유용성분인 카테킨류를 효과적으로 추출하기 위해서는 microwave power, 에탄올 농도 및 추출시간을 모두 고려해야 할 것으로 사료된다(Table 4). 특히 104-143 W의 마이크로파 에너지와 38-46% 범위의 에탄올 농도, 그리고 5분 이내의 짧은 추출시간으로 효과적인 추출이 가능하였다. Lee와 Kwon(37)은 마이크로웨이브를 이용한 포도씨 유용성분 추출에서 총 수율은 아세트>에탄올>물의 순으로, 카테킨 함량은 에탄올>아세트>물의 순으로 높게 나타났다고 보고한 바 있다. 또한 용매추출에서는 에탄올 농도가 높을수록 포도씨 기능성분의 추출률이 높았다는 보고(2,15,17)가 있으나, 본 결과에서는 추출용매인 에탄올의 최적 농도범위가 50% 미만임을 감안할 때 용매사용량을 줄일 수 있음은 물론, 추출시간을 수 시간에서 몇 분으로 단축시킬 수 있는 추출법(20,21,25,36)으로 사료되어 다양한 응용연구가 기대된다.

Table 4. Regression analysis for regression model of variables in MAE

Extraction condition	F-ratio		
	Microwave power (W)	Ethanol conc. (%)	Extraction time (min)
(+)-Catechin	8.08**	4.54**	4.71**
Procyanidin B ₂	7.51**	8.71**	8.74**
(-)-Epicatechin	7.73**	5.23**	7.53**
(-)-Epicatechin gallate	3.79*	0.18	0.73

* $p < 0.1$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$

요 약

포도씨에 함유된 기능성 카테킨류를 효과적으로 추출하기 위해서 마이크로웨이브 에너지를 이용하였다. 에탄올의 마이크로웨이브 가열특성을 확인하였을 때 100 W에서 3분 이내에 끓는점에 도달하였다. 중심합성계획에 따라 추출조건(microwave power 0-120 W, 에탄올 농도 0-100%, 추출시간 1-5분)을 설계하고, 조건별 추출물의 카테킨류 함량을 회귀분석함으로써 최적 추출조건을 예측하였다. (+)-Catechin의 최적 추출조건은 microwave power 104.10 W, 에탄올 농도 45.35%, 추출시간 4.89분으로, 예측된 정상점은 최대점을 보이면서 최대 추출 값이 137.99 mg%였다. Procyanidin B₂의 최적 추출조건은 133.16 W, 46.16%, 4.49분이며, 최대 추출 값은 72.78 mg%으로 예측되었다. 또한 (-)-epicatechin은 136.00 W, 41.37%, 4.39분에서 최대 222.38 mg%를 추출할 수 있으며, (-)-epicatechin gallate는 143.20 W, 37.51% 및 1.88 min에서 9.59 mg%를 추출할 수 있는 것으로 예측되었다. 이때 (+)-catechin, procyanidin B₂ 및 (-)-epicatechin은 microwave power, 에탄올 농도, 추출시간 등 3가지 독립변수에 모두 유사하게 영향을 받았지만, (-)-epicatechin gallate는 microwave power에만 주로 영향을 받는 것으로 나타났다.

문 헌

1. Kwon JH, Park KH, Park YK, Lee KT, Chi SH, Hwang KT. Food Chemistry. Shinkwang Press, Seoul, Korea. pp. 275-278 (2008)
2. Chung HY, Yoon SJ. Antioxidant activity of grape seed extract. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 31: 893-898 (2002)
3. KFDA. Food Additives Code, Korea Food & Drug Administration. Seoul, Korea. pp. 992-993 (2003)
4. KFDA. Health Functional Food Code, Korea Food & Drug Administration, Seoul, Korea. pp. 100-101 (2006)
5. Prieur C, Rigaud J, Cheynier V, Moutounet M. Oligomeric and polymeric procyanidins from grapes. Phytochemistry. 36: 781-784 (1994)
6. Ricardo da Silva JM, Rigaud J, Cheynier V, Cheminat A, Mout-

- ounet M. Procyanidin dimers and trimers from grape seeds. *Phytochemistry*. 30: 1259-1264 (2002)
7. Pekic B, Kovac V, Alonso E, Revilla E. Study of the extraction of proanthocyanidins from grape seeds. *Food Chem.* 61: 201-206 (1998)
 8. Escribano-Bailon T, Gutierrez-Fernandez Y, Rivas-Gonzalo JC, Santos-Buelga C. Characterization of procyanidins of *vinifera* variety Tinta del pais grape seeds. *J. Agr. Food Chem.* 40: 1794-1799 (1992)
 9. Gabetta B, Fuzzati N, Griffini A, Lolla E, Pace R, Ruffilli T, Peterlongo F. Characterization of proanthocyanidins from grape seeds. *Fitoterapia* 71: 162-175 (2000)
 10. Saucier C, Mirabel M, Daviaud F, Longieras A, Glories Y. Rapid fraction of grape seed proanthocyanidins. *J. Agr. Food Chem.* 49: 5732-5735 (2001)
 11. Peng Z, Hayasaka Y, Iland PG, Sefton M, Hoj P, Waters EJ. Quantitative analysis of polymeric procyanidins (tannins) from grape (*Vitis vinifera*) seeds by reverse phase high-performance liquid chromatography. *J. Agr. Food Chem.* 49: 26-31 (2001)
 12. Tabib K, Bitri L, Besancon P, Rouanet J. Polymeric grape seed tannins prevent plasma-cholesterol changes in high-cholesterol-fed rats. *Food Chem.* 49: 403-406 (1994)
 13. 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)
 14. Jayaprakasha GK, Selvi T, Sakariah KK. Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food Res. Int.* 36: 117-122 (2003)
 15. Chung HY, Pack DK. Antimicrobial activity of grape seed extract. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32: 109-114 (2003)
 16. Jang JK, Han JY. The antioxidant ability of grape seed extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 524-528 (2002)
 17. Pack SJ, Lee HY, Oh DH. Free radical scavenging effect of seed and skin extracts from 'Campbell Early' grape (*Vitis labruscana* B.). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32: 115-118 (2003)
 18. Lee WY, Chang KS, Choi YH. Extraction of phenolic compounds from grape seed using supercritical CO₂ and ethanol as a co-solvent. *Korean J. Posthar. Sci. Technol.* 7: 177-183 (2000)
 19. ParJRR, Sigouin M, Lapointe J. Microwave-assisted natural products extraction. US Patent 5,002,784,26 (1991)
 20. ParJRR, Matni G, Yaylayan V, Belanger JMR, Li K, Rule C, Thibert B, Mathe D, Racquqult P. Use of the Microwave-assisted process in extraction of fat from meat, dairy and egg product under atmosphere pressure conditions, *J. Assoc. Off. Ama. Chem.* 80: 928-933 (1997)
 21. Lopez-Avila V, Young R, Tepitsky N. Microwave-assisted process as an alternative to soxhlet, sonication, and supercritical fluid process. *J. Assoc. Off. Ama. Chem.* 79: 142-156 (1996)
 22. Young JC. Microwave-assisted process of the fungal metabolite ergosterol and total fatty acids. *J. Agr. Food Chem.* 43: 2904-2910 (1995)
 23. Chen SS, Spiro M. Study of microwave process of essential oil constituents from plant materials. *J. Microwave Power EE* 29: 231-241 (1994)
 24. Bureau S, Razungles A, Baumes R, Bayonove C. Glycosylated flavor precursor extraction by microwave from grape juice and grapes. *J. Food Sci.* 61: 557-561 (1996)
 25. Kwon JH, Blanger JMR, ParJRR, Yaylayan VA. Application of microwave-assisted process (MAP) to the fast extraction of ginseng saponins. *Food Res. Int.* 36: 491-498 (2003)
 26. Lee JE, Kwon JH, Kim HK. Pre-establishment of microwave-assisted extraction conditions for oleoresins from dried red pepper. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.* 7: 267-272 (2000)
 27. AOAC. Official Method of Analysis of AOAC Intl. 15th ed. Method I. 976.06, 954.02, 942.05, 989.03. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA (1990)
 28. Moon SO, Lee JY, Kim EJ, Choi SW. An improved method for determination of catechin and its derivatives in extract and oil of grape seeds. *Korean J Food Sci Technol.* 35: 576-585 (2003)
 29. Kwon JH, Blanger JMR, ParJRR. Optimization of microwave-assisted extraction (MAP) for ginseng components by response surface methodology. *J. Agr. Food Chem.* 51: 1807-1810 (2003)
 30. Kwon JH, Lee GD, Belanger JMR, Pare JRJ. Effect of ethanol concentration on the efficiency of extraction of ginseng saponins when using a microwave-assisted process (MAP). *Int. J. Food Sci. Tech.* 38: 615-622 (2003)
 31. Lee GD, Lee JE, Kwon JH. Application of response surface methodology in food industry. *Food Sci. Ind.* 33: 33-45 (2000)
 32. Myers RH. Response Surface Methodology. Allyn and Bacon Inc., Boston, MA, USA. pp. 61-28 (1971)
 33. Gontard N, Guilbert S, Cuq JL. Edible wheat gluten films: Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *J. Food Sci.* 57: 190-196 (1992)
 34. SAS Institute Inc. SAS User's Guide. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC, USA (2002)
 35. Matha LA, James PB. The Mathematica Handbook, compatible with Mathematica Version 2.0. Academic Press, Inc., Harcourt Brace & Co., MA, USA (1992)
 36. Kwon JH. High speed extraction of phytochemicals from food and natural products using microwave-assisted process. *Food Sci. Ind.* 31: 43-55 (1998)
 37. Lee EJ, Kwon JH. Establishment of microwave-assisted extraction for grape seed ingredients by extraction conditions. *Korean J. Food Preserv.* 13: 216-222 (2006)