

생육단계별 포도 잎의 생리활성 성분 및 항산화능

김정현 · 최수경 · 유영산¹ · 윤광서² · 서정숙*

영남대학교 식품영양학과, ¹대구가톨릭대학교 생명자원학부, ²영천시 농업기술센터

Physiologically Active Components and Antioxidant Capacity of Grapevine Leaves at Growth Stages

Jeong-Hyeon Kim, Soo-Kyong Choi, Yung-San Yu¹, Kwang-Seo Yoon², and Jung-Sook Seo*

Department of Food and Nutrition, Yeungnam University

¹Faculty of Life Resources, Catholic University of Daegu

²Yeongchen-Si Agri-Technology Center

Abstract This study was conducted to investigate physiologically active components and antioxidant capacity of grapevine leaves at growth stages. The leaves from two strains of grapevine, 'Campbell Early' and 'Rosario Bianco', were collected at five different growth stages (leafing, blossom, fruiting, coloring, and maturity). Total flavonoid content was higher in leafing stage than the other stages and gradually decreased during growing. Total phenol content was higher in 'Campbell Early' than in 'Rosario Bianco'. Hydroxyl radical scavenging ability increased in the leafing stage and decreased during growing. The electron donating ability was higher in 'Campbell Early' than 'Rosario Bianco' until blossom stage. Leaves from 'Campbell Early' showed higher total antioxidant capacity than those from 'Rosario Bianco'. According to the above results, grapevine leaves until the blossom stage would possess strong antioxidant activity by physiologically active components such as polyphenol compounds. Therefore, these results suggest that young grapevine leaves can be used as materials for the development of functional foods.

Keywords: antioxidant activity, Campbell Early, Rosario Bianco, flavonoid, polyphenol

서 론

포도는 전세계적으로 가장 많이 재배되는 과수로서 생과뿐만 아니라 포도주, 포도주스 및 건포도 등 다양하게 가공되어 이용되고 있다. 우리나라의 포도 생산량은 2000년에 47만 5천여톤을 정점으로 매년 감소하고 있으며, 2010년에는 32만 6천여톤이 생산되었다(1). 2002년 한칠레 FTA 체결로 생과포도의 수입이 개방됨에 따라 수입량은 매년 급격히 증가하여 2010년 3만 8천여톤이 수입되었다(2). 이 같은 수입량은 시설재배에서 생산되는 포도보다 많아 포도 재배농가에 적지 않은 어려움을 주고 있다. 따라서 국내 포도산업의 경쟁력을 강화하기 위해서는 과실과 수체를 산업적으로 활용하여 부가가치를 증대시킬 수 있는 방법을 모색해야 할 것이다.

최근 우리나라에서는 국민소득의 증가와 생활수준의 향상으로 식품 소비구조가 변화되어 단순한 형태의 식품 소비에서 벗어나 건강기능성 식품에 대한 수요가 크게 증가하고 있다(3). 따라서 미래의 포도농업 분야에서도 건강을 위한 생리활성 효과의 검증

에 근거한 기능성 가공품의 개발을 활성화하여 소비 확대를 유도할 필요가 있다.

포도에는 주석산, 사과산 및 구연산 등의 유기산이 많으며, 비타민 A, B, 그리고 C 등이 많이 함유되어 있다. 특히 anthocyanins과 catechin 등의 플라보노이드와 레스베라트롤을 포함한 다양한 폴리페놀 성분을 함유하고 있는 것으로 보고되고 있다(4). 포도 내 폴리페놀 성분은 주로 포도 과피와 종자에 많이 존재하나, 식용 부위가 아닌 잎에도 많은 함량이 분포하는 것으로 알려져 있다(5). 이러한 폴리페놀 성분은 심혈관질환, 암, 동맥경화, 노화 및 혈전 예방에 효과적인 것으로 알려져 있으며, 혈청 LDL 산화 방지를 통한 항산화작용에도 관여하는 것으로 보고되었다(6). 식생활과 생활습관 등의 문제가 복합적으로 작용하여 체내 산화 스트레스가 증가되면 혈관계 질환, 대사증후군 등의 만성질환 발병 위험성이 높아지며 따라서 만성질환 예방을 위해 체내 항산화능의 중요성이 크게 부각되고 있다(7).

포도의 생육단계는 3-4개의 잎이 자란 전엽기, 개화기, 결실기, 포도 착색기, 그리고 포도 성숙기로 분류할 수 있다. 농가에서는 포도 결실을 촉진하기 위해 개화전에 신초 적심(新梢 摘心)을 한다. 그리고 결실기 이후에도 포도 품질의 향상을 위해 과도하게 뺏어나가는 신초를 2-3회 적심을 실시하며, 포도 수확 전까지는 양의 잎이 전량 폐기되거나 퇴비로 사용되고 있다(8). 포도 잎은 포도 과피와 종자보다 레스베라트롤과 같은 폴리페놀의 함량이 높은 것으로 보고되고 있으며, 시기에 따라 잎의 조성이 변화되는 것으로 알려져 있다(9). 그러나 포도 잎의 생리활성물질에 대한 연구는 아직 미흡한 실정이며, 품종 및 재배시기별 생리활

*Corresponding author: Jung-Sook Seo, Department of Food and Nutrition, Yeungnam University, Gyeongsan, Gyeongbuk 712-749, Korea

Tel: 82-53-810-2875

Fax: 82-53-810-4768

E-mail: jsseo@ynu.ac.kr

Received September 5, 2012; revised September 28, 2012;

accepted September 28, 2012

성물질의 분포로 연결되는 체계적인 연구는 매우 부족하다. 따라서 생육단계에 따른 포도 잎의 생리활성에 대한 연구를 통해 기능성 가공품을 개발한다면 현재 포도원에서 폐기되고 있는 포도 잎을 유용한 자원으로 산업화할 수 있을 것으로 여겨진다.

캠벨얼리(*Vitis labruscana* Bailey, Campbell Early) 품종은 미국 종으로 식미가 우수하고 우리나라 포도 생산량 중 가장 많은 비율을 차지하는 자흑색 품종으로 적색계통 혹은 청색계통의 포도에 비해 레스베라트롤 함량이 높은 것으로 보고되고 있다(10). 그러나 우리나라 전체 재배면적의 90% 이상이 캠벨얼리, 거봉, 그리고 새단으로 단순화되어 소비자의 다양한 소비 욕구를 충족시키지 못하고 있다. 이에 포도의 새로운 수요를 창출하기 위한 노력으로 공급된 로자리오비앙코(*Vitis vinifera* L., Rosario Bianco) 품종은 일본에서 육성한 청색계통의 포도품종으로 단맛이 강해 소비가 점차 증가하고 있다(11). 따라서 본 연구에서는 캠벨얼리 품종과 로자리오비앙코 품종의 포도 잎을 생육단계별로 채취하여 폴리페놀 함량 등의 생리활성 성분과 항산화능에 대해 조사함으로써 포도 잎의 자원화를 위한 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

시약

본 실험에서 사용된 시약인 quercetin, Folin-Ciocalteu, ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA), 2-deoxyribose, thiobarbituric acid, trichloroacetic acid, 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl(DPPH), azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid(ABTS)와 trolox는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였다. Gallic acid와 methanol 등을 비롯한 기타 시약 및 용매는 모두 일급 이상의 등급 시약을 사용하였다.

포도 잎 시료 준비

본 실험에 사용된 포도 잎은 경상북도 경산시 진량읍과 남산면의 재배농가에서 2011년에 재배한 미국종인 캠벨얼리와 유럽종인 로자리오비앙코 두 품종을 생육단계별(전엽기, 개화기, 결실기, 착색기 및 성숙기)로 나누어 채집하였다. 시료 채취 포도원은 친환경(저농약) 인증 과원으로서 무가온 하우스로 포도나무를 재배하였다.

시료채취용 포도나무는 재배형태에 따라 발아시기에 정상적으로 생육한 캠벨얼리 50주, 로자리오비앙코는 10주를 각각 선정하였으며 포도의 생육에 따라 5단계로 나누어 잎을 채취하였다. 전엽기는 잎이 2-3엽 전엽되었을 때 눈따기를 겸해서 잎을 분리하지 않고 눈 전체를 채취하였다. 개화기는 개화 4-5일전에 신초에서 7-8마디째의 정상 생육한 잎을 임의로 채취하였다. 결실기에서 성숙기의 잎 채취방법은 개화기와 동일하며 앞서 잎을 채취하지 않은 정상적으로 생육하는 신초 7-8마디째의 잎을 채취하였다.

채집한 포도 잎은 수세하여 일차로 물기를 제거하고 채반에 담아 차광상태에서 물기를 제거한 후 동결건조(MCFD 5510, EYELA, Tokyo, Japan)하여 포도 잎 분말을 만들었다. 동결 건조된 포도 잎 분말은 80% 메탄올로 60°C에서 30분 동안 sonication하고 10,000×g에서 15분간 원심분리(Supra 25K, Hanil, Incheon, Korea)하여 상층액을 시료로 이용하였다. 포도 잎의 수율은 채취한 포도 잎을 동결건조 한 후 얻은 포도 잎 분말에 대한 수율로 나타내었다.

일반성분 분석

포도 잎의 일반성분 분석은 AOAC법(12)에 따라 측정하였다.

수분은 105°C 상압건조법을 이용한 수분자동측정기(FD-720, Kett Electric Laboratory, Tokyo, Japan)를 사용하였으며, 색도는 색차계(CR-300, Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 Hunter값(L =명도, a =적색도, b =황색도)으로 표시하였다. 포도 잎의 색차를 비교하기 위하여 ΔE 값을 표시하였다. ΔE 값은 전엽기 포도 잎과 비교하여 색도 차이를 수치화한 것으로 전엽기 포도 잎을 0으로 나타내었다. 따라서 ΔE 값이 작을수록 포도 잎의 색이 전엽기 포도 잎과 유사하다는 것을 의미한다. 조지방은 조지방자동추출기(Foss 2050 Soxtec, Hoganas, Sweden)를, 조섬유는 조섬유추출기(FibertestF-6, Raypa, Barcelona, Spain)를 사용하여 측정하였다. 조단백은 Kjeldahl법을 이용하여 분해(K-424, Büchi, Flawil, Switzerland), 종류·중화(B-323, Büchi)와 적정의 단계를 거쳐 측정하고 질소환산계수는 6.25를 곱하여 조단백 함량을 구하였다.

총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Moreno 등(13)의 방법에 준하여 포도 잎 추출물 0.5 mL에 10% 알루미늄질산염 0.1 mL, 1 M 초산칼륨 0.1 mL, 그리고 에탄올 4.3 mL을 혼합한 후 실온에서 40분간 방치한 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 표준물질인 quercetin을 이용하여 계산하였다.

총 페놀 함량 측정

총 페놀 화합물의 함량은 Folin-Denis법(14)으로 측정하였다. 일정 농도의 시료용액 0.1 mL와 2% Na_2CO_3 용액 2.0 mL를 혼합하고, 2분 후 50% Folin-Ciocalteu(2.0 N) 시약 0.2 mL를 넣고 혼합한 다음 실온에서 30분간 방치시켜 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질인 gallic acid로 표준곡선을 작성하여 총 페놀 함량을 계산하였다.

Hydroxyl radical 소거능 측정

포도 잎 중 hydroxyl radical 소거능은 Gutteridge(15)의 방법에 따라 시험관에 1 mM FeSO_4 , EDTA, 10 mM 2-deoxyribose, 그리고 2,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도의 시료 추출물을 각각 0.2 mL를 가하여 0.1 M phosphate buffer(pH 7.2) 1.2 mL와 10 mM H_2O_2 0.2 mL를 혼합하여 37°C 수욕상에서 1시간 반응시켰다. 반응시킨 용액 0.5 mL에 2.8% trichloroacetic acid 용액 1 mL를 가하여 반응을 중지시킨 후, 1% thiobarbituric acid 용액 1 mL를 가하여 다시 100°C의 수욕상에서 10분간 가열시켰으며 이것을 급냉하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

전자공여능 측정

전자공여능은 Blois(16)의 방법에 준하여 DPPH에 포도 잎 추출물의 전자공여 효과로 DPPH radical이 감소하는 정도를 흡광도를 이용하여 측정하였다. 즉, 125 $\mu\text{g/mL}$ 농도의 포도 잎 추출물 1 mL에 0.2 mM DPPH 용액 0.5 mL를 가하고 10초간 혼합한 후 37°C에서 30분간 반응시켜 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

총 항산화능 측정

총 항산화능은 Re 등(17)의 방법에 따라 7.0 mM ABTS와 2.45 mM potassium persulfate를 혼합하여 12시간 이상 상온, 암소에 방치하여 ABTS^+ 을 생성하도록 하였다. 이 용액을 에탄올로 희석하여 734 nm에서 흡광도가 약 0.70이 되도록 하여 사용하였다. 메탄올을 이용하여 2,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 추출한 포도 잎에 ABTS^+ 용액을 첨가하여 6분 동안 흡광도를 측정하였으며 총 항산화능은 표준물질인 Trolox와 비교하여 ABTS radical 소거능(%)

으로 나타내었다.

통계분석

본 실험결과는 SPSS 프로그램(ver 18.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 평균과 표준편차로 나타내었다. 각 군의 유의성을 검증하기 위해 one-way ANOVA로 분석한 후, 각 군 간의 유의성은 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 검정하였다. 포도 잎의 생리활성 성분과 항산화능 간의 상관관계는 Pearson 상관분석으로 검증하였다.

결과 및 고찰

포도 잎 시료 수율

생육단계별 포도 잎을 동결건조한 시료의 수율은 18.5-45.6%로 Table 1과 같다. 품종과 재배조건을 달리한 실험군을 각각 비교할 때 전엽기에서 수율이 가장 낮게 나타났으며, 성숙기가 되면서 수율이 점차 증가되었다. 생육시기가 지남에 따라 시료 수율이 증가된 것은 일반성분의 변화와 비교해 볼 때 포도 잎의 생육과정 중 성숙이 진행됨에 따라 섬유소 함량이 증가된 것과 관련이 있을 것으로 생각된다.

포도 잎의 일반성분 및 색도

포도 잎의 일반성분은 Table 2에 나타내었다. 수분 함량의 경우 52.6-83.0%의 분포를 나타내었으며, 생육시기가 지남에 따라 유의적으로 감소하는 경향을 보였다. Lee 등(18)의 연구에서는 포도 잎의 수분 함량이 71-73%로 본 연구에 비해 좁은 범위를 나타내었는데 이는 포도 잎 채취 시기와 재배지역 간의 차이에 의한 것으로 생각된다. 조지방 함량은 0.34-1.92%로 다양한 분포를 보였으며, 재배시기가 지남에 따라 유의적으로 증가하는 경향을 보였다. 품종별로 보았을 때 로자리오비앙코 품종에 비해 캠벨얼리 품종의 조지방 함량이 비교적 높은 것으로 나타났다. 조단백

Table 1. Yield of freeze-dried leaves powder from two strains of grapevine at growth stages during growing (%)

Growth stage	Campbell Early	Rosario Bianco
Leafing	20.3	19.1
Blossom	21.7	29.7
Fruiting	31.6	29.1
Coloring	45.6	24.4
Maturity	38.4	38.1

Table 2. Proximate composition of leaves from two strains of grapevine at growth stages during growing (%)

Variety	Growth stage	Moisture	Crude lipid	Crude protein	Crude fiber
Campbell Early	Leafing	82.8±0.60 ^{1(a2)}	0.45±0.14 ^b	7.08±0.20 ^a	3.42±0.54 ^c
	Blossom	75.7±2.30 ^b	0.35±0.10 ^b	6.40±0.27 ^a	4.64±0.24 ^b
	Fruiting	71.0±0.50 ^c	0.52±0.17 ^b	6.51±1.12 ^a	4.50±0.46 ^b
	Coloring	72.6±1.20 ^c	1.59±0.26 ^a	4.30±0.10 ^b	7.33±0.32 ^a
	Maturity	52.6±1.90 ^d	1.92±0.24 ^a	6.53±0.48 ^a	7.67±0.91 ^a
Rosario Bianco	Leafing	83.0±1.07 ^a	0.34±0.01 ^c	6.86±0.18 ^a	2.43±0.23 ^c
	Blossom	80.8±0.12 ^{ab}	0.42±0.00 ^d	5.24±0.34 ^c	2.67±0.31 ^c
	Fruiting	75.6±2.63 ^{bc}	0.80±0.04 ^c	6.43±0.53 ^{ab}	3.87±0.06 ^b
	Coloring	70.0±5.42 ^{cd}	1.09±0.01 ^b	6.09±0.05 ^b	8.90±0.26 ^a
	Maturity	67.9±3.63 ^d	1.25±0.04 ^a	5.35±0.57 ^c	8.83±0.38 ^a

¹⁾Values are mean±SD (n=5).

²⁾Values with the same superscript letter in a column are not significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

질 함량은 4.30-7.08%의 분포를 보였고, 섬유소 함량은 2.43-8.90%의 분포를 보였으며, 생육단계가 지남에 따라 높아지는 경향을 보였다. 이러한 결과는 Kim 등(19)의 연구에서 동백잎의 채취시기가 늦을수록 조섬유 함량이 높게 나타난 결과와 유사한 경향이였다. 이는 포도 잎이 성장하면서 섬유소 함량이 증가되어 수분과 조단백질 함량비를 감소시키는데 영향을 미쳤기 때문인 것으로 생각된다.

포도 잎의 색도는 Table 3에 나타내었다. 명도를 나타내는 L-value는 로자리오비앙코 품종에서는 시기별로 큰 차이를 보이지 않았다. 적색도를 나타내는 a-value는 모두 -값을 나타내어 녹색이 진한 것으로 나타났으며, 개화기와 결실기에서 가장 낮게 나타났다. 황색도를 나타내는 b-value는 시기가 지나면서 대부분 낮은 수치를 나타내었다. 엽록소는 잎에 푸른색을 띠게 하며, 광합성을 일으키는 주요한 성분으로 활성산소의 제거 효과를 갖는 것으로 알려져 있다(20). 본 연구에서는 개화기와 결실기에서 a-value가 가장 낮게 나타나 엽록소의 함량이 가장 높을 것으로 생각된다. 또한 결실기 이전의 잎에서 b-value가 높게 나타나 비교적 황색을 띠었으며, 이는 노란색 색소인 carotenoids와 관련이 있을 것으로 생각된다. 캠벨얼리 품종에서는 ΔE값이 개화기에서 가장 높게 나타났으며 이는 L-value의 차이에 영향을 받은 것으로 생각된다. 반면 로자리오비앙코 품종에서는 착색기에서 ΔE값이 높게 나타나 전엽기에 비해 색차 변화가 가장 큰 것으로 나타났다.

총 플라보노이드 및 총 페놀 함량

총 플라보노이드 함량은 생육단계별로 보면 전엽기에서 높게 나타났으며, 시기가 지남에 따라 감소되었다(Table 4). 특히 캠벨얼리 품종은 성숙기에서 총 플라보노이드 함량이 다른 시기에 비해 유의적으로 낮은 함량을 보였다. 품종 간 총 플라보노이드 함량은 캠벨얼리 품종이 착색기까지 높은 함량을 보였으나 성숙기에서는 로자리오비앙코 품종이 높은 함량을 나타내었다.

포도 잎 추출물의 총 페놀 함량을 분석한 결과는 Table 4에서와 같다. 생육단계별로 보면 개화기까지 증가하다가 다시 감소하는 경향을 보였다. 캠벨얼리 품종에서 페놀함량은 성숙기에서 다른 시기에 비해 유의적으로 낮게 나타나 총 플라보노이드 함량의 양상과 유사하였다. 품종별로 보았을 때 총 플라보노이드 함량에서와 같이 캠벨얼리 품종에서 대부분 높게 나타났으나 성숙기에서는 로자리오비앙코 품종에서 높게 나타났다.

Bogs 등(21)에 따르면 포도 잎에 많이 함유되어 있는 epicatechin은 생육단계 중 2번째 단계인 잎의 면적이 5-6 cm²일 때 가장 높은 수치를 보이다가 점차 감소한 것으로 나타났다. 심혈관질환과

Table 3. The color of leaves from two strains of grapevine at growth stages during growing

Variety	Growth stage	Hunter color values			ΔE
		L	a	b	
Campbell Early	Leafing	32.3±1.7 ^{1)ab2)}	-8.6±0.5 ^c	+15.2±2.9 ^b	0.0
	Blossom	32.6±0.5 ^b	-12.3±0.6 ^{bc}	+19.8±1.6 ^a	6.1 ^b
	Fruiting	35.3±1.6 ^a	-16.3±0.5 ^a	+22.8±1.3 ^a	11.3 ^a
	Coloring	30.3±0.6 ^b	-9.0±0.2 ^c	+9.7±0.7 ^c	5.8 ^b
	Maturity	35.7±1.2 ^a	-13.4±0.7 ^{ab}	+16.1±1.0 ^b	6.1 ^b
Rosario Bianco	Leafing	36.0±5.1 ^{NS}	-13.5±2.4 ^a	+22.5±5.0 ^a	0.0
	Blossom	36.8±1.9	-14.6±2.6 ^a	+21.6±4.6 ^a	4.6 ^b
	Fruiting	35.9±0.6	-11.2±0.5 ^{ab}	+14.9±1.4 ^b	7.9 ^b
	Coloring	34.2±1.5	-9.0±1.5 ^b	+10.1±2.7 ^b	13.4 ^a
	Maturity	32.2±2.0	-11.6±1.7 ^{ab}	+14.0±2.3 ^b	9.0 ^{ab}

¹⁾Values are mean±SD (n=5).

²⁾Values with the same superscript letter in a column are not significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 4. Total flavonoids and total polyphenol contents of leaves extracts from two strains of grapevine at growth stages during growing (mg/g powder)

Growth stage		Campbell Early	Rosario Bianco	t-value
Total flavonoid	Leafing	30.3±0.90 ^{1)ab2)}	27.5±0.57 ^a	6.341***
	Blossom	27.6±0.18 ^b	26.9±0.57 ^a	2.799*
	Fruiting	26.2±0.32 ^b	24.7±1.06 ^b	3.339**
	Coloring	21.3±2.42 ^c	21.1±0.98 ^c	0.204
	Maturity	17.8±1.72 ^d	21.4±1.63 ^c	-3.692**
Total polyphenol	Leafing	81.3±3.2 ^{1)ab2)}	73.1±2.7 ^b	4.856**
	Blossom	95.7±11.3 ^a	76.6±3.1 ^a	3.981**
	Fruiting	56.0±1.3 ^d	52.0±1.6 ^d	4.663**
	Coloring	70.0±1.5 ^c	54.6±2.5 ^d	13.028***
	Maturity	40.1±3.7 ^e	61.8±2.9 ^e	-11.257***

¹⁾Values are mean±SD (n=5).

²⁾Values with the same superscript letter in a column are not significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

*Significant at $p<0.05$ by *t*-test.

**Significant at $p<0.01$ by *t*-test.

***Significant at $p<0.001$ by *t*-test.

암을 예방하는데 효과가 있는 것으로 알려진 proanthocyanidin의 함량도 잎의 성장시기에 따라 달라져 잎이 15-40 cm²일 때 가장 높았다가 그 후 감소되는 것으로 나타났는데 이는 잎의 성장시기 중 후기에 tannin 함량이 감소되는데 기인한 것으로 보고되었다(21,22). 본 연구에서도 총 플라보노이드와 총 페놀 함량은 잎이 성장함에 따라 점차 감소하는 경향을 보여 유사한 결과를 나타내었다. 포도에 대한 생리활성 효과는 대부분 포도 과피와 종실에 대한 연구에 집중되어 있으나(23), 본 연구결과 포도 잎에도 총 페놀과 총 플라보노이드 함량이 다량 분포되어 있는 것으로 나타나 포도 잎이 유용한 자원으로 이용될 수 있는 가능성을 보여주었다.

잎에는 폴리페놀의 일종인 레스베라트롤 함량이 과실이나 과피보다 높은 것으로 보고되고 있다(24). 또한, 잎의 레스베라트롤 함량은 품종에 따라 다양한 것으로 알려져 있는데 Lee와 Choi(10)의 연구에 의하면 경조정, 머스캄부르크 및 캠벨얼리 품종의 잎에서 레스베라트롤 함량이 다른 종에 비해 높은 것으로 보고되었다. 이러한 결과는 페놀 함량이 자흑색 품종인 캠벨얼리에서 청색계 품종인 로자리오비앙코에 비해 높게 나타난 본 연구 결과와 같은 경향이었다.

Hydroxyl radical 소거능

Hydroxyl radical 소거능은 재배시기별로 보았을 때 전엽기에서 가장 높았고, 생육시기가 지남에 따라 낮아져 성숙기에서 가장 낮은 소거능을 나타내었다(Table 5). 전엽기에서 캠벨얼리 품종은 90.2%, 로자리오비앙코 품종 91.4%로 높은 hydroxyl radical 소거능을 보였다. 전엽기에서는 로자리오비앙코 품종이 캠벨얼리 품종에 비해 유의적으로 높은 소거능을 보였으나 결실기 이후로는 캠벨얼리 품종이 높은 소거능을 나타내었다.

포도 잎에 강력한 빛을 조사하면 약한 빛에 비해 peroxidase의 활성이 증가하는 것으로 보고되었다(25). 포도 잎의 생육시기로 보면 7월 중순부터 8월까지의 햇빛이 가장 강한 시기로 자외선에 의해 포도 잎이 산화스트레스를 받아 hydroxyl radical 소거능이 감소한 것으로 사료된다. 또한, 플라보노이드 함량과 radical 소거능은 높은 상관관계가 있다고 보고된 것과 같이(26) 본 연구 결과에서도 포도 잎의 생육단계가 지남에 따라 플라보노이드 함량이 감소되어 hydroxyl radical 소거능이 낮아진 것으로 사료되므로 플라보노이드 함량과 radical 소거능 간에는 상호 연관성이 있는 것으로 생각된다.

Table 5. Antioxidant activity of leaves extracts from two strains of grapevine at growth stages during growing (%)

Growth stage		Campbell Early	Rosario Bianco	t-value
Hydroxyl radical scavenging ability (2000 µg/mL)	Leafing	90.2±0.62 ^{1(a2)}	91.4±0.54 ^a	-3.868**
	Blossom	89.4±0.53 ^b	90.0±0.47 ^b	-1.980
	Fruiting	87.5±0.21 ^c	83.8±0.34 ^c	22.437***
	Coloring	86.3±0.74 ^d	85.5±0.35 ^d	2.424*
	Maturity	85.5±0.70 ^e	83.6±1.39 ^d	3.018*
Electron donating ability (125 µg/mL)	Leafing	71.4±1.3 ^{1(a2)}	63.2±4.9 ^b	3.951**
	Blossom	65.7±1.6 ^b	62.0±1.3 ^b	4.308**
	Fruiting	59.9±2.0 ^c	63.5±0.6 ^b	-4.252**
	Coloring	67.8±3.9 ^b	70.2±1.1 ^a	-1.430
	Maturity	73.3±2.0 ^a	70.7±2.9 ^a	1.864
ABTS radical scavenging ability (2,000 µg/mL)	Leafing	61.5±7.1 ^{1(a2)}	51.5±2.9 ^b	3.202**
	Blossom	59.3±1.4 ^a	59.2±1.8 ^a	0.128
	Fruiting	47.1±2.6 ^c	34.9±2.0 ^d	4.650***
	Coloring	52.7±1.8 ^b	46.8±1.3 ^c	6.594***
	Maturity	38.0±4.3 ^d	49.2±1.9 ^{bc}	-5.833***

¹Values are mean±SD (n=5).

²Values with the same superscript letter in a column are not significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

*Significant at $p<0.05$ by *t*-test.

**Significant at $p<0.01$ by *t*-test.

***Significant at $p<0.001$ by *t*-test.

Table 6. Correlation coefficient between physiologically active components and antioxidant capacity of leaves extracts from two strains of grapevine at growth stages during growing

	Total flavonoid	Total polyphenol	Hydroxyl ¹⁾	DPPH ²⁾	ABTS ³⁾
Total flavonoid	1.000	0.698**	0.676**	-0.530**	0.519**
Total phenol		1.000	0.644**	-0.212	0.839**
Hydroxyl ¹⁾			1.000	-0.268*	0.595**
DPPH ²⁾				1.000	0.065
ABTS ³⁾					1.000

¹Hydroxyl radical scavenging ability.

²DPPH radical scavenging activity.

³ABTS radical scavenging ability.

Correlation is significant at * $p<0.05$, ** $p<0.01$.

전자공여능

전자공여능은 생육단계로 보면 전엽기에서 결실기까지는 전자공여능이 감소하였으나 착색기에 다시 높아져 성숙기까지 증가하였다(Table 5). 전엽기와 개화기는 캠벨얼리 품종이 로자리오비앙코 품종에 비해 유의적으로 높았으나 결실기에서는 로자리오비앙코 품종이 높게 나타났다.

전자공여작용은 free radical에 전자를 공여하여 세포의 산화를 억제하는데 관여하는 작용으로 전자공여능이 클수록 산화방지 효과가 크다고 할 수 있다(27). 또한 전자공여능은 지방 산화를 억제시키는 척도와 함께 free radical에 의한 노화를 억제하는 biomarker로도 이용되고 있다(28). 본 실험에서는 모든 군에서 50% 이상의 높은 전자공여 효과를 나타내었다. 캠벨얼리 품종에서 발아 전엽기에 71.4%로 가장 높았으며, 로자리오비앙코 품종은 성숙기에서 70.7%로 높은 전자공여능을 보여 체내 산화를 억제하는 능력이 매우 클 것으로 기대된다. 전자공여능을 측정할 DPPH radical 소거능은 폴리페놀과 플라보노이드 등의 생리활성 성분에 의한 항산화 작용으로 이러한 페놀성 화합물의 함량이 높을수록 DPPH radical 소거능이 크다고 보고되었다(29).

총 항산화능

ABTS radical은 비교적 안정한 free radical로서 항산화 활성을 측정하는데 많이 이용된다(30). 포도 잎 추출물의 총 항산화능은 Table 5에 나타내었다. 생육단계별로 보았을 때 전엽기와 개화기에서 다른 시기에 비해 유의적으로 높은 활성을 보였다. 캠벨얼리 품종은 성숙기에서 다른 시기와 비교했을 때 가장 낮은 활성을 보여 앞에서 보여진 총 페놀과 플라보노이드 함량과 유사한 경향을 보였다. 로자리오비앙코 품종은 결실기에서 총 항산화능이 가장 낮게 나타났으며, 착색기와 성숙기에서 다시 증가되어 총 페놀 함량과 경향이 같게 나타났다. 또한 품종별로 비교하였을 때 성숙기를 제외하고는 캠벨얼리 품종이 로자리오비앙코 품종에 비해 높은 총 항산화능을 보여 총 페놀과 플라보노이드의 함량과 유사하게 나타났다.

생리활성 성분 및 항산화능 간의 상관관계

본 연구에서 조사한 포도 잎 품종 및 생애주기별 생리활성 성분과 항산화능 간의 상관관계를 Table 6에 나타내었다. 그 결과 총 플라보노이드, 총 페놀, hydroxyl radical 소거능 및 총 항산화

능 간에 유의적인 양의 상관관계가 있는 것으로 나타났다. DPPH radical 소거능은 총 페놀 함량 및 총 항산화능과 유의적인 상관관계를 보이지 않았으나 총 플라보노이드와 hydroxyl radical 소거능 간에는 음의 상관관계를 보였다.

DPPH radical 소거능과 ABTS radical 소거능은 높은 연관성을 가지는 것으로 알려져 있으나(31) 본 연구에서는 DPPH radical 소거능에 비해 ABTS radical 소거능이 낮은 것으로 나타났다. 이는 DPPH는 free radical의 소거능을 나타내는 반면 ABTS는 cation radical의 소거능을 측정하는 점에서 차이가 있으며, 두 기질과 반응하는 반응물의 결합 정도가 상이하여 radical 제거능에 차이가 있는 것으로 보인다(32). 또한 DPPH radical 소거능은 pH, 온도 및 빛에 영향을 받는 반면, ABTS를 이용한 총 항산화능은 이러한 조건에 그다지 민감하게 작용하지 않는 것으로 알려져 있다(33). 즉, 총 항산화능은 DPPH radical 소거능에 비해 비교적 안정화된 대표적인 항산화능 측정 방법이다. 본 연구 결과 총 항산화능이 총 페놀 및 플라보노이드 함량과 유사한 양상을 보여 페놀성 화합물과 총 항산화능 간에 유의적인 상관관계가 있는 것으로 보고한 연구와 일치하였다(34). 이는 총 항산화능이 페놀성 화합물의 함량과 관련성이 크다고 할 수 있다.

본 연구 결과에서 캠벨얼리 품종이 로자리오비앙코 품종에 비해 성숙기를 제외하고는 폴리페놀 함량이 높게 나타났으며, 이는 총 항산화능이 로자리오비앙코 품종보다 캠벨얼리 품종에서 높게 나타난 것에 영향을 미친 것으로 생각된다. 특히, 개화기 이전의 포도 잎은 다른 재배 시기에 비해 폴리페놀 함량이 높으며, hydroxyl radical과 DPPH radical 소거능이 비교적 우수하였다. 포도 잎 추출물의 폴리페놀 함량이 높고 항산화능이 우수한 것으로 보아 포도 잎은 천연 항산화 소재로 기능성 제품 개발의 가능성이 클 것으로 기대된다.

요 약

본 연구에서는 포도 잎의 품종별, 재배시기별 생리활성 효과를 분석하여 포도 잎의 자원화에 기여할 수 있는 기초자료를 제공하고자 하였다. 사용된 포도 잎은 캠벨얼리와 로자리오비앙코 품종으로 생육단계별로 전엽기, 개화기, 결실기, 착색기 및 성숙기로 분류하여 포도 잎의 생리활성의 차이를 분석하였다. 수분과 조단백질 함량은 생육단계별로 유의적으로 감소하였으나 섬유소의 함량은 시기가 지남에 따라 유의적으로 증가하였다. 총 플라보노이드 함량은 캠벨얼리와 로자리오비앙코 품종 모두에서 전엽기에서 높게 나타났으며, 생육단계가 진행됨에 따라 감소되었다. 총 페놀 함량은 캠벨얼리 품종이 로자리오비앙코 품종에 비해 높은 경향이였다. Hydroxyl radical 소거능은 전엽기에서 가장 높게 나타났으며 생육단계가 지남에 따라 점차 낮은 소거능을 보였다. 포도 잎의 전자공여능은 개화기까지 캠벨얼리 품종이 로자리오비앙코 품종에 비해 높았으며, 총 항산화능은 성숙기를 제외하고는 생육단계별로 캠벨얼리 품종이 로자리오비앙코 품종에 비해 높은 수준을 나타내었다. 본 연구 결과로 미루어 볼 때 특히 개화기 이전의 포도 잎은 폴리페놀 함량이 높으며 강력한 항산화 효능을 가진 것으로 나타나 이 시기의 포도 잎은 건강기능식품의 소재로 산업화하는데 유용한 자원으로 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 지역전략작물산학협력사업(PJ00776032011)

의 연구비 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. KATC, Grape. 2010 Circulation for Main Agricultural Products. Korea Agro-Fisheries Trade Corporation, Gwacheon, Korea. pp. 643-665 (2011)
2. KCS. Trade Statistics. 08-0806-HS6. Korea Customs Service, Seoul, Korea (2011)
3. Kim NM, Lee JS. Effect of fermentation period on the qualities and physiological functionalities of the mushroom fermentation broth. J. Korean Soc. Microbiol. 31: 28-33 (2003)
4. Iacopini P, Baldi M, Storchi P, Sebastiani L. Catechin, epicatechin, quercetin, rutin, and resveratrol in red grape: Content *in vitro* antioxidant activity and interactions. J. Food Compos. Anal. 21: 589-598 (2008)
5. Ahn JB. Manufacturing process and food safety of functional food material containing high level of trans-resveratrol with domestic grape and fruit stem. Food Eng. Process 22: 192-197 (2008)
6. Karthikeyan K, Bai BR, Devaraj SN. Efficacy of grape seed proanthocyanidins on cardioprotection during isoproterenol-induced myocardial injury in rats. J. Cardiovasc. Pharm. 53: 109-115 (2009)
7. Roberts CK, Sindhu KK. Oxidative stress and metabolic syndrome. Life Sci. 84: 705-712 (2009)
8. Chang SW, Shin NS, Song JH, Kim HJ, Lee KY, Rho YT. Production of high-level polyphenol powders from young grape leaves. Korean J. Food Preserv. 16: 714-718 (2009)
9. Deytieux C, Geny L, Lapallierie D, Claverol S, Bonneau M, Donèche B. Proteome analysis of grape skins during ripening. J. Exp. Bot. 58: 1851-1862 (2007)
10. Lee NR, Choi SJ. Contents of resveratrol in different parts of various grape cultivars. Korean J. Food Preserv. 16: 959-964 (2009)
11. Gyeongsangbukdo Agricultural Information Database. Variety and distribution of the genus grape. http://db.gba.go.kr/sub02/sub01_view.php?kind_code=16&info_no=534. Accessed Dec. 4, 2011.
12. AOAC. Official methods of analysis of AOAC. 15th. Chapter 4. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA (1990)
13. Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. J. Ethnopharmacol. 71: 109-114 (2000)
14. Singleton VL Jr, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic- phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Viticult. 16: 144-158 (1965)
15. Gutteridge JM. Reactivity of hydroxyl and hydroxyl-like radicals discriminated by release of thiobarbituric acid-reactive material from deoxy sugars, nucleosides, and benzoate. Biochem. J. 224: 761-767 (1984)
16. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 181: 1199-1200 (1958)
17. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Bio. Med. 26: 1231-1237 (1999)
18. Lee OS, Moon SW, Kim EJ, Kang BS. Studies on physicochemical and sensory characteristics of new grape leaves tea by roasting treatment. Int. J. Integr. Alter. Med. 4: 17-24 (2008)
19. Kim BS, Choi OJ, Shim KH. Properties of chemical components of *Camellia japonica* L. leaves according to picking time. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 34: 681-686 (2005)
20. Kwon YD, Ko EY, Hong SJ, Park SW. Comparison of sulforaphane and antioxidant contents according to different parts and maturity of broccoli. Korean J. Hort. Sci. Technol. 26: 344-349 (2008)
21. Bogs J, Downey MO, Harvey JS, Ashton AR, Tanner GT, Robinson SP. Proanthocyanidin synthesis and expression of genes encoding leucoanthocyanidin reductase and anthocyanidin reduc-

- tase in developing grape berries and grapevine leaves. *Plant Physiol.* 139: 652-663 (2005)
22. Cos P, De Bruyne T, Hermans N, Apers S, Berghe DV, Vlietinck AJ. Proanthocyanidins in health care: Current and new trends. *Curr. Med. Chem.* 11: 1345-1359 (2004)
23. Kennedy JA, Matthews MA, Waterhouse AL. Changes in grape seed polyphenols during fruit ripening. *Phytochemistry* 55: 77-85 (2000)
24. Cho YJ, Kim JE, Chun HS, Kim CT, Kim SS, Kim CJ. Contents of resveratrol in different parts of grapes. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35: 306-308 (2003)
25. Pérez FJ, Villegas D, Mejia N. Ascorbic acid and flavonoid-peroxidase reaction as a detoxifying system of H₂O₂ in grapevine leaves. *Phytochemistry* 60: 573-580 (2002)
26. Maisuthisakul P, Suttajit M, Pongsawatmanit R. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chem.* 100: 1409-1418 (2007)
27. Jung SI, Kim YJ, Gal SW, Choi YJ. Antimicrobial and antioxidant activities and inhibition of nitric oxide synthesis of oak wood vinegar. *J. Life Sci.* 17: 105-109 (2007)
28. Jung SJ, Lee JH, Song HN, Seong NS, Lee SE, Baek NI. Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 47: 135-140 (2004)
29. Kang YH, Park YK, Oh SR, Moon KD. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27: 978-984 (1995)
30. Yook HS, Kim KH, Jang SA. Quality characteristics of grape pomace with different drying methods. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 1353-1358 (2010)
31. Choi SY, Lim SH, Kim JS, Ha TY, Kim SR, Kang KS, Hwang IK. Evaluation of the estrogenic and antioxidant activity of some edible and medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* 37: 549-556 (2005)
32. Li H, Choi YM, Lee JS, Park JS, Yeon KS, Han CS. Drying and antioxidant characteristics of the shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom in a conveyer-type far-infrared dryer. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36: 250-254 (2007)
33. Ku KM, Kim HS, Kim BS, Kang YH. Antioxidant activities and antioxidant constituents of pepper leaves from various cultivars and correlation between antioxidant activities and antioxidant constituents. *J. Appl. Biol. Chem.* 52: 70-76 (2009)
34. Kim HS, Kang YH. Antioxidant activity of ethanol extracts of non-edible parts (stalk, stemleaf, seed) from oriental melon. *Korean J. Plant Res.* 23: 451-457 (2010)