

추출조건에 따른 캠벨얼리와 Muscat Bailey A 포도잎 추출물의 항산화 효과

최수경 · 여계명 · 임은지 · 서정숙[†]

영남대학교 식품영양학과

The Effects of Extraction Conditions on the Antioxidative Effects of Extracts from Campbell Early and Muscat Bailey A Grapevine Leaves

Soo-Kyong Choi, Qi-Ming Yu, Eun-Ji Lim, and Jung-Sook Seo[†]

Dept. of Food and Nutrition, Yeungnam University, Gyeongbuk 712-749, Korea

Abstract

We investigated the physiological activities of extracts from Campbell Early and Muscat Bailey A (MBA) grapevine leaves. Total phenol and flavonoid contents were highest in ethanol extracts from MBA grapevine leaves compared to extracts from Campbell Early grapevine leaves. Specific polyphenols higher in ethanol extracts from MBA grapevine leaves include gallic acid, epicatechin, caffeic acid, naringin, and resveratrol. Resveratrol content from MBA grapevine leaves increased when extracted for more than two hours in ethanol and water. The hydroxyl radical scavenging ability of ethanol extracts was higher than the water extract from both strains of grapevine leaves. DPPH and total antioxidants were highest in ethanol extracts from MBA grapevine leaves among the other extracts. Therefore, these results suggest that ethanol extracts from MBA grapevine leaves are a highly valuable resource for the development of natural functional foods.

Key words: grapevine leaves, resveratrol, polyphenol, antioxidant, extraction time

서 론

최근 우리나라 사람들의 식생활이 서구화되는 경향에 의한 영양불균형과 활동량 감소 및 스트레스 증가로 심혈관질환, 당뇨병과 비만 등 다양한 만성질환이 증가하고 있다(1). 또한 노인 인구의 증가로 국민의료비가 증가하여 국가경제에 부담이 가중되고 있는 실정이다(2). 이에 만성질환을 예방하고 노화를 지연하기 위해 채소와 과일에 함유된 천연의 식물성 화학물질인 phytochemical의 생리활성 성분들에 대한 연구가 활발히 진행 중에 있다.

포도는 세계적으로 가장 많이 소비되는 과일 중의 하나로 anthocyanin, catechin, quercetin 및 resveratrol 등의 폴리페놀을 다량 함유하고 있다(3). 특히 resveratrol은 외부환경으로부터 자신을 보호하기 위해 스스로 생성하는 phytochemical의 일종으로 적포도주 중 resveratrol의 심혈관 보호효과가 보고되면서 다양한 연구가 이루어지고 있다(4). Resveratrol은 항산화 기능을 통해 혈중 LDL의 산화를 지연시키며 심장 질환의 발생 위험을 감소시키는 것으로 알려져 있으나(5), resveratrol을 함유한 식물은 매우 제한되어 있다(6). 또한 각종 암(7,8), 당뇨(9), 동맥경화(10)에도 예방효과가 있으며 인슐린저항성 억제효과(11), 항노화(12) 등 다양

한 기능을 가지는 것으로 보고되면서 강력한 생리활성 성분으로서의 resveratrol에 대한 관심이 크게 대두되었다(13).

포도 및 포도로 만들어진 와인은 resveratrol의 주요 식품 급원이다. 하지만 포도의 과육에는 resveratrol이 거의 존재하지 않으며 주로 포도 과피나 종실에 존재한다. 또한 식용으로 잘 이용되지 않는 포도잎과 가지에도 resveratrol이 다량 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(14). 그러나 포도잎은 포도 재배 시 수확량과 당도를 높이기 위한 순따기를 통해 대부분 폐기되고 있는 실정이다(15).

중동이나 동서유럽에서는 포도잎을 절임이나 통조림으로 조제하여 식용으로 이용하고 있으며, 그리스에서는 포도잎을 이용한 전통음식이 개발되어 소비되고 있다(16). 일본에서는 포도잎을 반발효시켜 포도엽차를 개발하였으며, 적포도잎을 이용하여 미백 효과가 있는 추출 엑기스를 제조하였다(17,18). 그러나 우리나라에서는 포도잎에 함유된 생리활성 성분들에 대한 연구가 미흡하며 포도잎에 대한 국민들의 인식이 낮아 대부분의 포도잎은 여전히 폐기되어 이용되지 못하고 있다.

캠벨얼리는 단위면적당 수확량이 많아 우리나라에서 재배 비율이 가장 높은 품종이다. 반면 Muscat Bailey A (MBA)는 캠벨얼리에 비해 우리나라에서의 재배 비율은 낮

[†]Corresponding author. E-mail: jsseo@ynu.ac.kr
Phone: 82-53-810-2875, Fax: 82-53-810-4768

으나 과피가 단단하여 수송이 용이하고 당도가 높아 경북지역을 중심으로 재배 비율이 꾸준히 증가하고 있다(19). 따라서 본 연구에서는 포도잎의 자원화를 위하여 캠벨얼리와 MBA 품종의 포도잎 생리활성 성분을 확인하고 항산화 효과를 탐색하고자 하였다. 또한 포도잎의 최적 추출조건을 확인하기 위하여 추출방법에 따른 생리활성 성분을 분석하고 포도잎을 건강기능성 식품으로 개발하는 가능성을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

포도잎 시료

본 실험에 사용된 포도잎은 캠벨얼리(Campbell Early, *Vitis labruscana* Bailey)와 MBA(*Vitis vinifera* × *Vitis labrusca*) 두 품종으로 경산시 진량읍에서 재배되는 포도잎을 채집하였다. 시료채취용 포도나무는 친환경 재배 농가의 나무를 이용하였으며 채집 시기는 5월 말에서 6월 초로 10~11엽 정도 자란 개화기 단계의 포도나무 가지 끝에서 4~5마디째 정상 생육한 어린 잎을 임의로 채취하였다. 채집한 포도잎은 수세하여 채반에 담아 물기를 제거한 후 시료로 이용하였다.

포도잎의 생리활성을 측정하기 위한 추출물은 시료 1 g당 에탄올과 증류수를 각각 100 mL를 넣고 80°C shaking water bath에서 추출하였다. 열수 추출물은 3차 증류수를 이용하였으며 에탄올 추출물은 80% 에탄올을 이용하였다. 추출 시간은 30분에서 6시간까지 1시간 단위로 측정하였다. 추출된 시료는 filter paper(Whatman No. 1, Whatman International Ltd., Maidstone, England)로 여과한 후 실험에 사용하였다.

총 페놀 함량 측정

총 페놀 함량은 Folin-Denis법(20)으로 측정하였다. 시료에 2% Na₂CO₃ 용액을 혼합하여 50% Folin-Ciocalteu 시약을 넣어 실온에서 30분간 방치시킨 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 표준물질인 gallic acid(Duksan, Ansan, Korea)로 표준곡선을 작성하여 계산하였다.

총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Moreno 등(21)의 방법에 준하여 측정하였다. 즉 시료에 10% 알루미늄질산염, 1 M 초산칼륨과 에탄올을 혼합한 후 실온에서 40분간 방치하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 표준물질인 quercetin(Sigma, St. Louis, MO, USA)을 이용하여 계산하였다.

폴리페놀 함량 측정

포도잎 추출물의 폴리페놀 함량은 Taware 등(22)의 방법에 준하여 측정하였다. 포도잎 추출물에 ethylether를 가하여 1분간 혼합하고 3,000 rpm에서 15분간 원심분리 하였다. 두번 반복 추출하여 얻은 상층액은 갈색병에 담아 N₂ gas를

이용하여 농축하였다. 완전 농축된 추출물은 메탄올로 녹인 후 syringe filter로 여과하여 HPLC(SCL-10A, Shimadzu, Kyoto, Japan)로 분석하였다. HPLC 분석법에 사용된 column은 μ -Bondapak C₁₈ column(3.9 × 300 mm, 10 μ m), 이동상 용매 A는 formic acid : water : MeOH(1:949:50, v/v), 용매 B는 formic acid : water : MeOH(1:50:949, v/v)로 이동속도는 0.4 mL/min이었으며, 검출기는 UV detector로 280 nm에서 측정하였다. 표준물질인 gallic acid, epicatechin, caffeic acid와 resveratrol을 이용해 표준곡선을 작성하여 폴리페놀 함량을 계산하였다.

Hydroxyl radical 소거능 측정

포도잎 추출물 중 hydroxyl radical 소거능은 Gutteridge(23)의 방법에 따라 측정하였다. 시료에 1 mM FeSO₄, ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA)와 10 mM 2-deoxyribose를 가하여 혼합 후 0.1 M phosphate buffer(pH 7.2)와 10 mM H₂O₂를 혼합하여 37°C 수욕상에서 1시간 반응시켰다. 반응시킨 용액에 2.8% trichloroacetic acid 용액을 가하여 반응을 중지시킨 후, 1% thiobarbituric acid 용액을 가하여 다시 100°C의 수욕상에서 10분간 가열시켰으며 이것을 급랭하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

전자공여능 측정

전자공여능은 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl(DPPH)에 시료의 전자공여 효과로 DPPH radical이 감소하는 정도를 측정하는 Blois(24)의 방법에 준하여 분석하였다. 즉 포도잎 추출물에 0.2 mM DPPH 용액을 가하고 10초간 혼합한 후 37°C에서 30분간 반응시켜 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

총 항산화능 측정

총 항산화능은 Re 등(25)의 방법에 따라 7.0 mM 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)(ABTS) radical과 2.45 mM potassium persulfate를 혼합하여 ABTS^{•+}을 생성하도록 하였다. 이 용액을 에탄올로 희석하여 734 nm에서 흡광도가 약 0.70이 되도록 하여 사용하였다. 포도잎에 ABTS^{•+}용액을 첨가하여 6분 동안 흡광도를 측정하였으며 총 항산화능은 농도별로 조제한 표준물질인 trolox(Sigma)와 비교하여 ABTS radical 소거능(%)으로 나타내었다.

자료 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 사후 검정하였다.

결과 및 고찰

총 페놀 및 플라보노이드 함량

포도잎 추출물의 총 페놀 함량을 측정한 결과는 Table 1과

Table 1. Total phenol content of grapevine leaves extract (mg/g)

Group ¹⁾	Extraction time (hr)						
	0.5	1	2	3	4	5	6
CW	5.7±1.4 ^{dC}	5.9±0.8 ^{dC}	11.7±1.3 ^{aB}	9.6±1.9 ^{bC}	9.3±0.8 ^{bC}	7.2±2.0 ^{cdD}	8.7±1.7 ^{bcD}
MW	6.1±1.1 ^{bC}	12.3±4.3 ^{aB}	11.9±1.1 ^{aB}	11.8±2.6 ^{aBC}	13.0±0.8 ^{aB}	12.9±4.0 ^{aC}	11.5±0.5 ^{aC}
CE	12.3±3.6 ^{bB}	14.1±0.8 ^{bB}	14.1±1.5 ^{bB}	13.8±1.1 ^{bB}	13.6±0.0 ^{bB}	17.0±0.5 ^{aB}	16.9±0.7 ^{bB}
ME	17.5±2.3 ^{aA}	19.1±1.3 ^{bcA}	22.7±3.4 ^{abA}	26.2±5.0 ^{aA}	25.1±4.0 ^{aA}	24.6±0.18 ^{aA}	23.7±3.3 ^{aA}

Mean±SD (n=4).

Values with the same superscript letter in a column (capital letter) and in a row (small letter) are not significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

¹⁾CW, hot water extract from Campbell Early grapevine leaves; MW, hot water extract from MBA grapevine leaves; CE, ethanol extract from Campbell Early grapevine leaves; ME, ethanol extract from MBA grapevine leaves.

같다. 캠벨얼리 포도잎 추출물보다 MBA 포도잎 추출물에서 총 페놀 함량이 높았으며, 추출 용매에 따라서는 열수 추출물보다 에탄올 추출물의 총 페놀 함량이 높게 나타났다. 추출 시간별로 보았을 때 캠벨얼리 포도잎 열수 추출물은 2시간 추출에서 총 페놀 함량이 가장 높게 나타났으며, MBA 포도잎 열수 추출물은 4시간일 때 가장 높게 나타났다. 반면 에탄올 추출물에서는 캠벨얼리 포도잎은 5시간, MBA 포도잎은 3시간에서 가장 높게 나타나 추출 시간에 따라 일정한 패턴을 보이지는 않았다. 하지만 1시간 이하 추출에서는 모두 총 페놀 함량이 낮게 나타났다.

총 플라보노이드 함량은 Table 2에 나타내었다. 열수 추출물에 비해 에탄올 추출물이 전반적으로 총 플라보노이드 함량이 높았으며, 캠벨얼리 포도잎에 비해 MBA 포도잎에서 높은 함량을 보였다. 특히 MBA 포도잎 에탄올 추출물에서 총 플라보노이드 함량이 가장 높게 나타났다. 추출 시간별로 보았을 때 캠벨얼리 포도잎 열수 추출물과 MBA 포도잎 에탄올 추출물은 2시간 추출 시 함량이 가장 높게 나타났으며, MBA 포도잎 열수 추출물은 2시간 이후 추출물이 이전 추출물에 비해 높게 나타났다. 반면 캠벨얼리 포도잎 에탄올 추출물은 5시간 이후의 추출물이 이전 추출물에 비해 높게 나타났다.

페놀성 화합물은 phenolic hydroxyl기가 효소 단백질과 같은 거대 분자와 결합하여 다양한 항산화 기능을 나타낸다(26). 또한 플라보노이드는 페놀 화합물의 일종으로 *in vitro* 연구에서 항산화, 항염증 및 항암효과를 보이는 것으로 알려져 있다(27). 본 연구에서는 총 페놀과 플라보노이드 함량이 유사한 경향을 나타냈으나 MBA 포도잎에서 캠벨얼리 포도

잎보다 높게 나타나고 열수 추출물에 비해 에탄올 추출물에서 높은 함량을 보여, 이러한 조건에서 항산화 활성에 효과가 있을 것으로 기대된다.

Oh 등(28)의 연구에서는 포도 품종별로 제조된 주스의 anthocyanin 함량을 분석한 결과 품종별로 함량이 다양하게 나타났다고 하였다. 캠벨얼리 포도주스에서 anthocyanin 함량이 가장 낮게 나타났으며, MBA 포도주가 캠벨얼리 포도주스에 비해 높은 함량을 보인 것으로 보고되었다. 본 연구에서도 MBA 포도잎에서 캠벨얼리 포도잎에 비해 페놀 및 플라보노이드 함량이 높게 나타나 품종별로 차이를 보였다. 따라서 품종에 따른 다양한 생리활성 성분 및 기능에 대한 심층 분석이 추가로 이루어져야 할 것으로 생각된다. 또한 추출 시간이 1시간 이전에 비해 이후에 페놀 및 플라보노이드 함량이 증가하는 경향은 열처리에 의해 고분자의 페놀성 화합물이 저분자의 페놀성 화합물로 전환된 것과 관계가 있을 것으로 생각된다(29).

폴리페놀 조성

포도잎에 함유된 폴리페놀 중 gallic acid, epicatechin, caffeic acid, naringin과 resveratrol 5종을 분석한 결과는 Table 3과 Fig. 1에 나타내었다. 폴리페놀 5종 모두 캠벨얼리 포도잎에 비해 MBA 포도잎에서 높게 나타났으며, 에탄올 추출물에서 열수 추출물에 비해 높은 수준을 보였다. Gallic acid와 epicatechin 함량은 캠벨얼리와 MBA 포도잎 열수 추출물에서 2시간 이상 추출 시 이전 추출에 비해 높게 나타났다. 반면 gallic acid의 함량은 에탄올 추출물에서 캠벨얼리 포도잎은 5시간 추출이, MBA 포도잎은 6시간 추출이 가장 높게 나타났다. Epicatechin의 함량은 캠벨얼리 포도잎

Table 2. Total flavonoid content of grapevine leaves extract (mg/g)

Group ¹⁾	Extraction time (hr)						
	0.5	1	2	3	4	5	6
CW	1.9±0.4 ^{bB}	2.0±0.2 ^{cd}	4.1±0.1 ^{aB}	3.6±0.4 ^{abC}	3.1±0.03 ^{bB}	2.2±0.3 ^{cC}	3.9±0.9 ^{aB}
MW	2.3±0.3 ^{bB}	2.8±0.6 ^{bC}	3.9±0.4 ^{aB}	4.2±0.4 ^{aB}	3.8±0.3 ^{aB}	4.2±0.9 ^{aB}	3.8±1.2 ^{aB}
CE	3.7±0.6 ^{bA}	3.7±0.3 ^{bB}	3.4±0.6 ^{bB}	3.5±0.5 ^{bC}	3.2±0.1 ^{bB}	4.4±0.3 ^{aB}	4.9±0.1 ^{aA}
ME	4.6±0.9 ^{bA}	5.1±0.4 ^{abA}	6.0±1.0 ^{aA}	5.7±0.3 ^{aA}	5.4±0.8 ^{abA}	5.1±0.1 ^{abA}	5.2±0.9 ^{abA}

Mean±SD (n=4).

Values with the same superscript letter in a column (capital letter) and in a row (small letter) are not significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

¹⁾Groups are the same as in Table 1.

Table 3. Polyphenol content of grapevine leaves extract

(µg/g)

Group ¹⁾		Extraction time (hr)						
		0.5	1	2	3	4	5	6
Gallic acid	CW	77.5±3.1 ^{bcC}	67.6±5.0 ^{cC}	104.2±7.3 ^{ad}	96.5±10.5 ^{abC}	102.3±8.4 ^{ab}	82.9±11.8 ^{abcC}	95.7±5.6 ^{abB}
	MW	95.3±25.9 ^{bc}	85.8±10.2 ^{bcB}	183.8±23.7 ^{aC}	174.8±19.3 ^{abC}	212.1±19.0 ^{ab}	207.9±43.5 ^{abC}	191.9±12.1 ^{ab}
	CE	215.2±34.8 ^{cb}	240.6±8.2 ^{bcB}	319.7±33.1 ^{abB}	249.3±32.2 ^{bcB}	237.3±42.8 ^{bcB}	362.7±26.3 ^{ab}	241.8±4.0 ^{bcB}
	ME	455.8±48.4 ^{da}	757.5±102.0 ^{cdA}	732.7±16.7 ^{cdA}	1130.7±159.3 ^{abA}	919.1±179.1 ^{abcA}	794.9±138.5 ^{bcdA}	1178.9±153.6 ^{aA}
Epicatechin	CW	233.5±10.0 ^{bb}	222.3±15.4 ^{bc}	314.4±24.2 ^{aC}	271.3±28.7 ^{abC}	267.0±22.1 ^{abB}	206.9±24.1 ^{bd}	251.8±21.3 ^{abB}
	MW	265.3±56.9 ^{bb}	282.9±31.7 ^{bc}	468.8±42.2 ^{ab}	439.8±45.6 ^{abC}	556.8±47.5 ^{ab}	478.1±84.9 ^{aC}	445.2±29.2 ^{ab}
	CE	672.6±199.7 ^{ba}	625.7±41.2 ^{bb}	564.2±31.2 ^{bb}	618.7±108.8 ^{bb}	638.0±100.5 ^{bb}	787.8±44.3 ^{bb}	1186.7±25.5 ^{aA}
	ME	955.4±110.6 ^{nsA}	1378.7±163.4 ^A	1390.0±23.5 ^A	1511.4±61.0 ^A	1354.5±344.5 ^A	1191.4±143.9 ^A	1411.3±209.0 ^A
Caffeic acid	CW	42.9±7.1 ^{nsB}	36.1±4.4 ^B	52.2±2.2 ^C	38.2±4.1 ^B	52.5±7.3 ^B	39.4±5.3 ^B	39.5±3.6 ^B
	MW	60.4±18.9 ^{abB}	42.5±4.7 ^{bb}	101.4±13.7 ^{ab}	83.3±12.9 ^{abB}	92.8±14.6 ^{ab}	85.6±21.4 ^{abB}	72.8±4.2 ^{abB}
	CE	68.6±13.4 ^{bb}	74.4±3.0 ^{abB}	91.2±6.3 ^{abB}	76.1±10.0 ^{abB}	70.8±11.8 ^{bb}	98.5±4.3 ^{ab}	94.8±2.2 ^{abB}
	ME	159.5±15.2 ^{ba}	332.7±89.3 ^{aA}	338.6±19.7 ^{aA}	378.3±53.4 ^{aA}	369.2±113.2 ^{aA}	235.4±47.2 ^{aA}	305.9±130.5 ^{aA}
Naringin	CW	0.6±0.1 ^{dc}	1.5±0.3 ^{cdB}	2.1±0.5 ^{bcC}	1.4±0.3 ^{cdC}	3.0±0.7 ^{abB}	3.4±0.2 ^{cC}	2.2±0.1 ^{bcB}
	MW	1.0±0.1 ^{bcB}	1.1±0.08 ^{bb}	2.7±0.3 ^{aC}	2.8±0.2 ^{bcC}	3.0±0.4 ^{ab}	3.5±0.7 ^{cC}	3.2±0.2 ^{ab}
	CE	5.0±1.6 ^{bb}	4.9±1.0 ^{bb}	7.4±0.4 ^{abB}	6.3±0.8 ^{bb}	6.1±1.0 ^{bb}	9.5±1.2 ^{ab}	4.7±0.3 ^{bb}
	ME	9.6±5.0 ^{ba}	14.2±3.5 ^{ba}	13.4±1.7 ^{ba}	19.9±2.2 ^{aA}	12.5±1.3 ^{ba}	15.3±1.4 ^{ba}	12.1±1.1 ^{ba}

Mean±SD (n=4).

Values with the same superscript letter in a column (capital letter) and in a row (small letter) are not significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

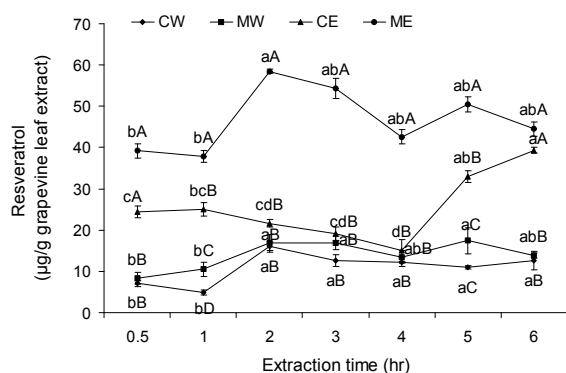
¹⁾Groups are the same as in Table 1.

Fig. 1. Resveratrol content of grapevine leaves extract. Mean±SD (n=4). Values with the same superscript letter in the same extract (a-d) and extraction time (A-D) are not significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test. Groups are the same as in Table 1.

에탄올 추출물에서 6시간 추출이 가장 높은 함량을 보였으나 MBA 에탄올 추출물은 추출 시간에 따른 차이를 보이지 않았다. Caffeic acid 함량은 캠벨얼리와 MBA 포도잎 에탄올 추출물에서 1시간 이상 추출 시 30분 추출에 비해 높게 나타났다. Naringin 함량은 캠벨얼리 포도잎 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 5시간 추출 시 가장 높게 나타났다. MBA 포도잎 열수 추출물은 2시간 이상 추출 시 이전 추출에 비해 naringin 함량이 높게 나타났으며, MBA 포도잎 에탄올 추출물은 3시간 추출 시 가장 높은 함량을 보였다. Resveratrol 함량은 캠벨얼리와 MBA 포도잎 열수 추출물과 MBA 에탄올 추출물 모두 2시간 이상 추출 시 이전 추출에 비해 높은 함량을 보였다. 반면 캠벨얼리 포도잎 에탄올 추출물은 5시간 이상 추출 시 이전 추출에 비해 유의적으로 높게 나타났다.

포도잎에는 다양한 폴리페놀이 분포되어 있으며, 포도 과실과는 조성에서 차이를 보이는데 이는 잎의 성장 단계와 관계가 깊다. Bogs 등(30)은 포도잎의 proanthocyanidins 중에 epicatechin의 함량이 높게 나타나는 것으로 보고하여 본 연구에서 폴리페놀 함량 중 epicatechin 함량이 가장 높은 결과와 유사한 경향을 보였다.

Chang 등(15)의 연구에서는 캠벨얼리 포도잎에 비해 MBA 포도잎의 resveratrol 함량이 낮게 나타나 본 연구와 차이를 보였으나 catechin의 함량은 MBA 포도잎이 캠벨얼리에 비해 높게 나타나 본 연구와 유사한 결과를 나타내었다. 국내 주요 포도 품종인 캠벨얼리와 MBA 및 세단을 이용하여 포도주를 제조하였을 때 MBA 품종에서 resveratrol 함량이 가장 높게 나타난 것으로 보고되었다(31). 본 연구에서도 resveratrol 함량은 MBA 포도잎 추출물에서 캠벨얼리 포도잎 추출물에 비해 높게 나타나 유사한 결과를 보였다.

포도에 다량 함유된 phytoalexin의 일종인 resveratrol은 항산화, 항암, 항염증 및 항노화 효능 등 다양한 생리활성이 밝혀져 최근 기능성식품 소재 성분으로 주목 받고 있다(13). Stilbene synthase는 resveratrol을 합성하는데 관여하는 효소로 Wang 등(32)의 연구에서는 포도잎에서 다른 조직에 비해 2배 이상의 stilbene synthase 단백질 발현이 나타났다. 이는 포도잎이 자외선 등의 외부 환경에 민감하게 반응하는 부위로 외부 자극에 의해 stilbene synthase 유전자 및 단백질 발현이 자극되는 것으로 보고하였다. Cho 등(13)은 캠벨얼리 품종의 포도에서 부위별 resveratrol 함량을 측정된 결과 포도 과피와 씨의 경우 resveratrol이 4~8 µg/g dry-weight로 함량이 매우 적게 나타났으며 과육에는 거의 함유되지 않은 것으로 보고하였다. Choi 등(33)의 연구에서도 캠

벨얼리와 MBA 품종 포도 과피에 resveratrol이 0.003% 함유되어 있으며 종실에서는 발견되지 않은 것으로 보고하였다. 본 연구에서 resveratrol 함량은 캠벨얼리와 MBA 품종의 포도잎 추출물당 4.9~58.5 µg/g으로 비교적 높은 함량을 보여 포도잎은 resveratrol 함량이 높은 부위임을 확인할 수 있었다.

캠벨얼리, 세리단, 뉴욕함부르크, MBA 품종의 포도잎 resveratrol 함량을 측정된 결과 11~23.65 µg/g 수준으로 캠벨얼리에서 가장 높게 나타난 것으로 보고하였다(34). 본 연구에서는 캠벨얼리 포도잎 에탄올 추출물이 15.1~39.3 µg/g, MBA 포도잎 에탄올 추출물이 37.9~58.5 µg/g으로 나타나 비교적 높은 함량을 나타내었으며, 캠벨얼리에 비해 MBA 품종의 포도잎에서 resveratrol 함량이 높은 것으로 나타났다.

Resveratrol은 체내 지질대사를 조절하고 지질과산화물 생성을 감소시켜 항암 및 항염증 효과를 나타내며, 비만과 관련된 질환을 예방하는데도 효과가 있다(35-37). Lee 등(38)은 비만이 유도된 흰쥐에게 resveratrol이 함유된 포도 과피를 급여하였을 때 항산화능이 증가하며, 지질과산화물이 감소되어 산화적 손상을 억제하는데 효과적이라고 하였다. 본 연구 결과 MBA 포도잎 추출물에서 resveratrol 함량이 높게 나타나 지질 산화를 억제하는 항산화 효과가 우수할 것으로 기대된다.

Hydroxyl radical 소거능 및 전자공여능

포도잎 추출물의 hydroxyl radical 소거능은 열수 추출물에 비해 에탄올 추출물에서 높게 나타났다(Fig. 2). 캠벨얼리 포도잎 추출물의 hydroxyl radical 소거능은 MBA 포도잎 추출물보다 비교적 낮은 소거능을 보였다. 캠벨얼리 포도잎 에탄올 추출물을 제외한 캠벨얼리 포도잎 열수 추출물과 MBA 포도잎 열수 추출물 및 에탄올 추출물은 3시간 추출시 가장 높은 소거능을 보여주었다.

포도잎 추출물의 DPPH radical 소거능 결과는 Fig. 3과 같다. 열수 추출물에 비해 에탄올 추출물의 소거능이 높게 나타났으며 캠벨얼리 포도잎에 비해 MBA 포도잎 추출물의

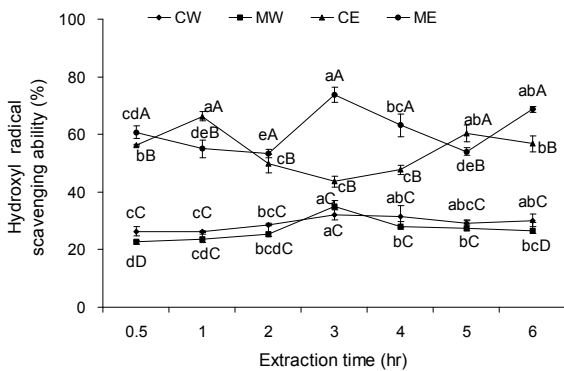


Fig. 2. Hydroxyl radical scavenging ability of grapevine leaves extract. Mean±SD (n=4). Values with the same superscript letter in the same extract (a-d) and extraction time (A-D) are not significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test. Groups are the same as in Table 1.

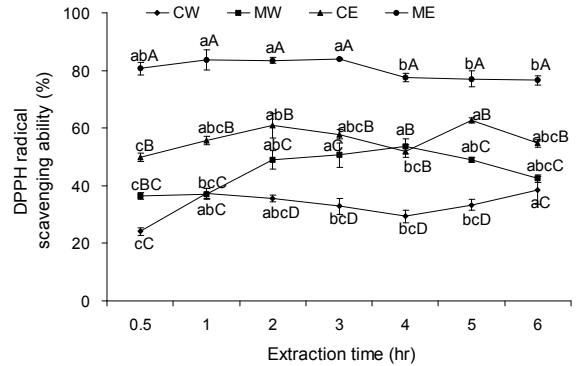


Fig. 3. DPPH radical scavenging ability of grapevine leaves extract. Mean±SD (n=4). Values with the same superscript letter in the same extract (a-c) and extraction time (A-D) are not significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test. Groups are the same as in Table 1.

소거능이 높게 나타났다. MBA 포도잎 에탄올 추출물의 경우 모든 추출 시간에서 50% 이상의 소거능을 보여 높은 항산화 효과가 있을 것으로 생각된다. 반면 열수 추출물은 모든 추출 시간에서 50% 이하의 소거능을 나타내었다.

이는 총 페놀 및 폴리페놀 함량이 에탄올 추출물에 비해 열수 추출물에서 낮게 나타난 것과 관련이 있을 것으로 생각된다. Pari와 Suresh(39)의 연구에서 DPPH radical과 ABTS radical 소거능이 포도잎 추출물에서 농도 의존적으로 증가하였으며 이는 포도잎에 분포하는 폴리페놀 함량과 관련이 있는 것으로 보고하였다. 본 연구결과에서도 폴리페놀 함량과 DPPH radical 소거능이 MBA 포도잎에서 높게 나타났으며, 열수 추출물에 비해 에탄올 추출물에서 높게 나타나 상호 연관성이 있을 것으로 사료된다.

총 항산화능

포도잎의 총 항산화능 결과는 Fig. 4에 나타내었다. MBA 포도잎 에탄올 추출물은 다른 군에 비해 높은 총 항산화능을 나타내었다. 또한 MBA 포도잎 에탄올 추출물은 추출 시간

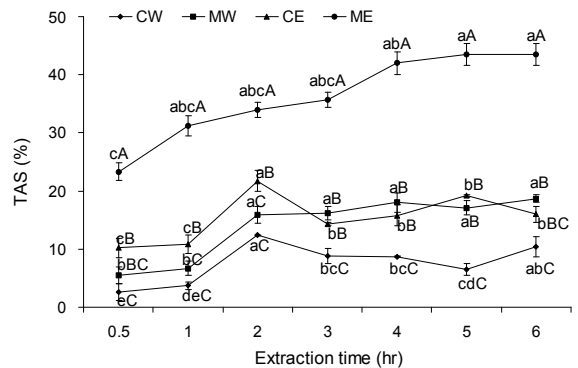


Fig. 4. 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) radical scavenging ability of grapevine leaves extract. Mean±SD (n=4). Values with the same superscript letter in the same extract (a-e) and extraction time (A-C) are not significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test. Groups are the same as in Table 1.

이 증가함에 따라 높은 항산화능을 보였다. 하지만 다른 군에서는 2시간 추출 시 이전 추출 시간에 비해 총 항산화능이 증가되었다. 기존의 연구에 따르면 폴리페놀 함량과 총 항산화능이 상관관계를 나타내었다는 보고가 있다(40). 본 연구에서도 MBA 포도잎 추출물에서 폴리페놀 함량이 높으며 30분 추출 시 함량이 가장 낮게 나타나 총 항산화능의 결과와 유사하게 나타났다. 따라서 폴리페놀 화합물과 총 항산화능 간에 상호연관성이 있을 것으로 생각된다.

요 약

본 연구에서는 포도잎을 기능성식품 소재로 활용하고자 캠벨얼리와 MBA 포도잎 추출물의 생리활성 성분을 분석하였다. 또한 추출 시간에 따른 생리활성의 변화를 확인하여 포도잎의 최적 추출조건을 확인하고자 하였다. 총 페놀 함량 및 플라보노이드 함량은 MBA 포도잎이 캠벨얼리 포도잎에 비해 높은 함량을 보였으며 에탄올 추출물에서 열수 추출물에 비해 높게 나타났다. 캠벨얼리 열수 추출물을 제외하고는 모든 추출물에서 2시간 이상 추출 시 이전 추출에 비해 총 페놀 및 플라보노이드 함량이 높게 나타났다. 폴리페놀 5종(gallic acid, epicatechin, caffeic acid, naringin, resveratrol)을 분석한 결과, MBA 포도잎 에탄올 추출물이 가장 높게 나타났다. Resveratrol 함량은 MBA의 경우 에탄올과 열수 추출물 모두 2시간 이상 추출 시 이전 추출에 비해 높은 함량을 보였다. Hydroxyl radical 소거능은 열수 추출물에 비해 에탄올 추출물이 높은 소거능을 보였으며, 전자공여능은 MBA 에탄올 추출물이 가장 높은 활성을 나타내었다. 총 항산화능도 MBA 에탄올 추출물에서 높은 활성을 보였다. 본 연구 결과 MBA 포도잎 추출물이 캠벨얼리 포도잎 추출물에 비해 높은 항산화 활성을 보였으며, 열수 추출물에 비해 에탄올 추출물이 높은 항산화능을 나타내었다. 또한 추출 시간을 2시간 이상으로 하였을 때 생리활성 성분의 함량이 높은 것으로 확인되었다. 이상의 결과로 볼 때 포도잎의 생리활성 연구에서 캠벨얼리보다는 MBA 품종의 생리활성이 대체로 우수하였고 열수 추출물에 비해 에탄올 추출물을 이용할 경우 생리활성 성분을 높이는데 도움이 될 것으로 생각된다. 그러나 실제로 포도잎 가공품 개발 시에는 관능 특성 등 다양한 가공 조건에 대한 추후 연구가 필요할 것으로 여겨진다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 지역전략작물산학연협력사업(PJ007776032011)의 연구비 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Kang JH, Kim KA, Han JS. 2004. Korean diet and obesity.

- J Korean Soc Study Obes* 13: 34-41.
- Jeong HS, Song YM, Lee KS. 2007. Aging and health care expenditure. *Korean J Health Econ Policy* 13: 95-116.
 - Iacopini P, Baldi M, Storchi P, Sebastiani L. 2008. Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: content, *in vitro* antioxidant activity and interactions. *J Food Compos Anal* 21: 589-598.
 - Dercks W, Creasy LL. 1989. The significance of stilbene phytoalexins in the *Plasmopara viticola*-grapevine interaction. *Physiol Mol Plant Pathol* 34: 189-202.
 - O'Byrne DJ, Devaraj S, Grundy SM, Jialal I. 2002. Comparison of the antioxidant effects of Concord grape juice flavonoids and α -tocopherol on markers of oxidative stress in the healthy adults. *Am J Clin Nutr* 76: 1367-1374.
 - Aggarwal BB, Chanda M, Shishodia S. 2006. Sources and chemistry of resveratrol. In *Resveratrol in Health and Disease*. Aggarwal BB, Shishodia S, eds. CRC Press, New York, NY, USA. p 17-32.
 - Bishayee A. 2009. Cancer prevention and treatment with resveratrol: from rodent studies to clinical trials. *Cancer Prev Res (Phila)* 2: 409-418.
 - Bai Y, Mao QQ, Qin J, Zheng XY, Wang YB, Yang K, Shen HF, Xie LP. 2010. Resveratrol induces apoptosis and cell cycle arrest of human T24 bladder cancer cells *in vitro* and inhibits tumor growth in vivo. *Cancer Sci* 101: 488-493.
 - Lee SM, Yang H, Tartar DM, Gao B, Luo X, Ye SQ, Zaghouani H, Fang D. 2011. Prevention and treatment of diabetes with resveratrol in a non-obese mouse model of type 1 diabetes. *Diabetologia* 54: 1136-1146.
 - Azorín-Ortuño M, Yañez-Gascón MJ, Pallarés FJ, Rivera J, González-Sarrías A, Larrosa M, Vallejo F, García-Conesa MT, Tomás-Barberán F, Espín JC. 2012. A dietary resveratrol-rich grape extract prevents the developing of atherosclerotic lesions in the aorta of pigs fed an atherogenic diet. *J Agric Food Chem* 60: 5609-5620.
 - Kennedy A, Overman A, Lapoint K, Hopkins R, West T, Chuang CC, Martinez K, Bell D, McIntosh M. 2009. Conjugated linoleic acid-mediated inflammation and insulin resistance in human adipocytes are attenuated by resveratrol. *J Lipid Res* 50: 225-232.
 - Baxter RA. 2008. Anti-aging properties of resveratrol: review and report of a potent new antioxidant skin care formulation. *J Cosmet Dermatol* 7: 2-7.
 - Cho CH, Kim SY, Yoo GJ, Son MH, Park KH, Lim BL, Kim DC, Chae HJ. 2008. Resveratrol extraction from grape fruit stem and its antioxidant activity. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 51: 11-16.
 - Lee NR, Choi SJ. 2009. Content of resveratrol in different parts of various grape cultivars. *Korean J Food Preserv* 16: 959-964.
 - Chang SW, Shin NS, Song JH, Kim HJ, Lee KY, Rho YT. 2009. Production of high-level polyphenol powders from young grape leaves. *Korean J Food Preserv* 16: 714-718.
 - Simopoulos AP. 2004. The traditional diet of Greece and cancer. *Eur J Cancer Prev* 13: 219-230.
 - Yusuke O, Kyohei T, Hirokane I. 2006. Composition for bleaching food. *JP* 18296394.
 - Yoshihide H. 2009. Grape-leaves tea and method for producing the same. *JP* 21165410.
 - Korea Agro-Fisheries & Food Trade Corporation. 2011. Grape. In *Agricultural Products Consumption Actual Condition*. Seoul, Korea. Vol 2, p 655-666.
 - Singleton VL, Rossi Jr JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16: 144-158.

21. Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J Ethnopharmacol* 71: 109-114.
22. Taware PB, Dhupal KN, Oulkar DP, Patil SH, Banerjee K. 2010. Phenolic alterations in grape leaves, berries and wines due to foliar and cluster powdery mildew infections. *Int J Pharma Bio Sci* 1: 1-14.
23. Gutteridge JM. 1984. 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.
24. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
25. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237.
26. Lee J, Lee SR. 1994. Some physiological activity of phenolic substances in plant foods. *Korean J Food Sci Technol* 26: 317-323.
27. Ahn MS, Kim HJ, Seo MS. 2007. A study on the anti-oxidative and antimicrobial activities of the citrus *Unshju* peel extracts. *Korean J Food Culture* 22: 454-461.
28. Oh YS, Lee JH, Yoon SH, Oh CH, Choi DS, Choe E, Jung MY. 2008. Characterization and quantification of anthocyanins in grape juices obtained from the grapes cultivated in Korea by HPLC/DAD, HPLC/MS, and HPLC/MS/MS. *J Food Sci* 73: C378-C389.
29. Choi Y, Lee SM, Chun J, Lee HB, Lee J. 2006. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food Chem* 99: 381-387.
30. Bogs J, Downey MO, Harvey JS, Ashton AR, Tanner GJ, Robinson SP. 2005. Proanthocyanidin synthesis and expression of genes encoding leucoanthocyanidin reductase and anthocyanidin reductase in developing grape berries and grapevine leaves. *Plant Physiol* 139: 652-663.
31. Ahn JB. 2006. Development of red wine containing high level of *trans*-resveratrol with domestic grape. *Food Engineering Progress* 10: 226-232.
32. Wang W, Tang K, Yang HR, Wen PF, Zhang P, Wang HL, Huang WD. 2010. Distribution of resveratrol and stilbene synthase in young grape plant (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon) and the effect of UV-C on its accumulation. *Plant Physiol Biochem* 48: 142-152.
33. Choi SY, Lee Y, Lee P, Kim KT. 2011. Comparison of the antioxidative effects and content of anthocyanin and phenolic compounds in different varieties of *Vitis vinifera* ethanol extract. *J Food Sci Nutr* 16: 24-28.
34. Lee OS, Moon SW, Kim EJ, Kang BS. 2008. Studies on physicochemical and sensory characteristics of new grape leaves tea by roasting treatment. *Int J Integrative Alter Med* 4: 17-24.
35. Delmas D, Jannin B, Latruffe N. 2005. Resveratrol: preventing properties against vascular alterations and ageing. *Mol Nutr Food Res* 49: 377-395.
36. Su HC, Hung LM, Chen JK. 2006. Resveratrol, a red wine antioxidant, possesses an insulin-like effect in streptozotocin-induced diabetic rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 290: E1339-E1346.
37. Zhang XH, Choi SK, Seo JS. 2009. Effect of dietary grape pomace on lipid oxidation and related enzyme activities in rats fed high fat diet. *Korean J Nutr* 42: 415-422.
38. Lee SJ, Choi SK, Seo JS. 2009. Grape skin improves antioxidant capacity in rats fed a high fat diet. *Nutr Res Pract* 3: 279-285.
39. Pari L, Suresh A. 2008. Effect of grape (*Vitis vinifera* L.) leaves extract on alcohol induced oxidative stress in rats. *Food Chem Toxicol* 46: 1627-1634.
40. Kang YH, Park YK, Oh SR, Moon KD. 1995. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. *Korean J Food Sci Technol* 27: 978-984.

(2012년 9월 21일 접수; 2013년 2월 4일 채택)