

물과 에타놀을 보조용매로 하는 초림계CO₂에 의한 포도씨속의 폴리페놀의 추출과 그 항산화활성

김진호, 리승환

경애하는 최고령도자 김정은동지께서는 다음과 같이 말씀하시였다.

《과학기술을 확고히 앞세우고 과학기술과 생산을 밀착시키며 경제건설에서 제기되는 모든 문제들을 과학기술적으로 풀어나가는 기풍을 세워 나라의 경제발전을 과학기술적으로 확고히 담보하여야 합니다.》

현재 세계적으로 초림계류체를 리용하여 리용가치가 높은 물질을 추출하며 공업생산 및 생활과정에 나오는 폐설물을 효과적으로 리용하기 위한 연구가 광범히 진행되고있다.[1, 2]

포도씨속에는 레스베라트롤, 프로안토시아니딘과 같은 폴리페놀계 생리활성물질들이 많이 들어있어 강한 항산화작용[3]과 고혈압, 고지혈증, 당뇨병, 암 등의 예방치료작용을 나타낸다. 지금까지 우리 나라에서는 포도주생산과정에 나오는 부산물인 포도씨를 집짐승먹이로 많이 리용하였으며 그속에 들어있는 유용성분들을 용매추출법으로 추출하였다.[4] 그러나 용매추출법에서는 포도씨에 들어있는 열적으로 불안정한 항산화물질들이 일부 분해되며 용매와의 부단한 접촉으로 하여 항산화물질들의 활성이 떨어져 추출효과가 높지 못한 결함이 있다.

우리는 포도씨속의 폴리페놀을 초림계CO₂로 추출하고 추출물의 항산화활성을 평가하였다.

실 험 방 법

초림계추출용매로는 탄산가스(99.9%)를, 보조용매로는 물과 에타놀(98%)을, 분석시약으로는 카테킨, 폴린시약, 증류수, Na₂CO₃포화용액, 0.1mmol/L 디페닐피크릴히드라진(DPPH) 용액을 리용하였다.

추출원료인 포도씨는 포도주생산과정에 나오는 부산물을 리용하였다.

장치로는 초림계CO₂추출장치(《HA221-50-06》), 자외가시선분광광도계(《Shimadzu Corporation Chart 200-91538》)를 리용하였다.

포도씨속의 기름제거 폴리페놀은 극성분자이므로 보조용매가 없는 초림계CO₂로는 추출되지 않는다.[5] 따라서 보조용매를 리용하여야 하는데 이때 포도씨속에 들어있는 기름이 함께 추출되지 않도록 기름을 제거하여야 한다.

우리는 먼저 포도씨에 들어있는 기름을 순수한 초림계CO₂로 추출제거하였다.

1L들이 초림계추출용기에 진공건조시킨 포도씨가루(립자크기 1mm) 100g을 넣고 1h동안 추출하였다. 기름추출조건은 압력 28.0MPa, 온도 45℃, 류속 20~30L/h로 하였다.

폴리페놀추출 탈지시킨 포도씨속의 폴리페놀을 보조용매로 물과 에타놀을 리용하여 추출하였다. 추출조건은 표 1과 같다.

표 1. 초림계추출법에 의한 포도씨속의 폴리페놀추출조건

추출조건	초림계CO ₂ +에타놀 15%	초림계CO ₂ +물 15%
온도/°C	30, 40, 50	30, 40, 50
압력/MPa	25.0, 27.5, 30.0	25.0, 27.5, 30.0
류속/(L · h ⁻¹)	10	10
추출시간/h	1.5	1.5

포도씨속의 폴리페놀함량분석 포도씨속의 총 폴리페놀함량은 폴린법[4]으로 결정하였다. 시료용액 0.5mL에 증류수 5mL, 폴린시약 0.5mL, Na₂CO₃포화용액 2mL를 넣고 40min동안 방온도에서 반응시킨다. 다음 파장 760nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 검량선은 카테킨표준용액(100μg/mL)으로 작성하였다.

항산화활성분석[6] 항산화활성은 추출물의 자유라디칼소거활성으로 평가하였다.

시험관에 98% 에타놀 1mL, 폴리페놀추출물희석액 1mL, DPPH용액 1mL를 넣고 균일하게 혼합하였다. 이것을 항온수욕(30°C)에서 30min동안 방치하고 517nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.(실험구) 다음 DPPH용액대신 98% 에타놀 1mL를 넣고 우와 같은 방법으로 조작하여 공백구의 흡광도를 측정하였다.

다음 시험관에 DPPH용액 1mL, 98% 에타놀 1mL, 증류수 1mL를 넣고 우와 같은 방법으로 대조구의 흡광도를 측정하였다. 대조구의 흡광도는 0.50~0.55사이에 놓이게 하였다.

DPPH라디칼제거률(%)은 다음식으로 계산하였다.

$$X = (1 - (E_1 - E_0) / E_2) \times 100$$

여기서 E₀은 공백구의 흡광도, E₁은 실험구의 흡광도, E₂는 대조구의 흡광도이다.

폴리페놀의 농도에 따르는 제거률변화곡선을 작성하고 제거률이 50%일 때의 폴리페놀의 농도를 그것의 자유라디칼 50%억제능력(IC₅₀)으로 평가한다. 비교를 위하여 비타민 C에 대해서도 IC₅₀을 구하였다.

실험결과 및 고찰

압력의 영향 추출온도 30°C일 때 압력에 따르는 폴리페놀의 추출량변화는 표 2와 같다.

표 2. 압력에 따르는 폴리페놀의 추출량변화

보조용매	압력/MPa		
	25.0	27.5	30.0
에타놀 15%	11.65	13.95	20.1
물 15%	115.8	140.1	201.8

이때 폴리페놀추출량의 단위는 10⁻²mg/g이다.

표 2에서 보는바와 같이 압력이 높아지면 추출되는 폴리페놀의 양이 많아진다. 그것은 압력이 높아짐에 따라 추출용매의 용해력이 더 커지기때문이다. 따라서 압력을 30.0MPa로 하였다.

온도의 영향 추출압력이 30.0MPa일 때 추출온도에 따르는 폴리페놀의 추출량변화는 표 3과 같다.

표 3에서 보는바와 같이 온도가 높아짐에 따라 추출량이 감소한다. 그것은 온도가 높아지면 초림계류체속에서 분자의 운동이 활발해지면서[2] 추출량이 많아질수도 있지만 초림계CO₂의 밀도가 작아지고 폴리페놀이 열

표 3. 추출온도에 따르는 폴리페놀의 추출량변화

보조용매	온도/°C		
	30	40	50
에타놀 15%	20.01	18.21	16.05
물 15%	201.8	199.3	197.9

에 불안정한 물질이므로 추출량이 감소하게 된다. 따라서 추출온도를 30℃로 정하였다.

보조용매의 영향 표 2, 3에서 보는바와 같이 보조용매로 에타놀 15%를 리용할 때보다 물 15%를 리용할 때 폴리페놀의 추출량이 거의 10배이상 많다. 이것은 폴리페놀분자가 극성 분자이므로 극성용매인 물에서의 용해도가 더 크기때문이다.

항산화활성 추출온도는 30℃, 압력은 30.0MPa이고 보조용매로 물을 15%정도 리용할 때 얻어진 포도씨추출물에 대한 DPPH라디칼소거활성의 IC₅₀은 1.1μg/mL로서 보통의 유기용매를 리용한 추출에 비하여 약 7배 높은 값이다. 이것은 초임계류체로는 낮은 온도에서 여러 가지 용매를 리용하지 않고 간단한 공정으로 추출하기때문에 추출물의 항산화활성이 다른 용매추출에서보다 천연물 그 자체상태를 유지하기때문이다.

맺 는 말

보조용매로 물을 리용할 때 포도씨속의 폴리페놀추출량은 에타놀을 리용할 때보다 훨씬 더 많아진다. 초임계추출법으로 얻어진 추출물은 보통의 용매추출법으로 얻은 추출물보다 더 높은 항산화활성을 나타낸다.

참 고 문 헌

- [1] 리승환 등; 초임계류체물리화학, 김일성종합대학출판사, 134~178, 주체100(2011).
- [2] 신준일 등; 초임계류체기술과 나노기술, 중앙과학기술통보사, 6~19, 주체104(2015).
- [3] S. Mironeasa et al.; J. Agroalimentary Processes and Tech., **16**, 1, 1, 2010.
- [4] Maria José Otero Pareja; Molecules, **20**, 9686, 2015.
- [5] Carlo Da Porto et al.; J. Supercritical Fluids, **87**, 1, 2014.
- [6] J. C. Espin et al.; Agriculture Food Chemistry, **48**, 648, 2000.

주체106(2017)년 8월 5일 원고접수

Extraction of Polyphenol from Grape Seeds by Supercritical Carbon Dioxide with Water and Ethanol as Co-Solvent and Its Antioxidant Activity

Kim Jin Ho, Ri Sung Hwan

Using water as co-solvent, the total amount of polyphenol extracted from grape seeds is more than that using ethanol.

The antioxidant activity of the extracts by the supercritical extraction is higher than that by the conventional solvent extraction.

Key words: supercritical extraction, polyphenol