천연색소의 활성산소종 억제효과에 대한 화학발광법적 측정

이 경 애
식품기능연구본부

Ⅰ. 서론

천연색소는 식물, 동물, 버섯과 미생물로부터 추출될 수 있으며, 그 기원이나 화학 제품 구조에 의해 분류된다. Anthocyanins, carotenoids, anthraquinones과 같은 일부 천연색소들은 관능적인 측면과 판매가 증가되는 식품첨가물로서 많이 사용된다(Delgado-Vargas, Jimene, & Paredes-Lopez, 2000). 최근에 일부 천연색소들은 그들이 갖는 부가적인 영양, 치료적 효과에 의해 "다기능성 식품첨가물"로서 관심을 받고 있다. 특히, 경구용 ROS 억제제 섭취가 일부 질병을 억제하기 때문에 ROS 억제효과에 대한 관심이 집중되어 왔다. 일반적으로 이러한 효과의 메카니즘은 항산화제에 의한 지방산화 억제와 같은 것으로 생각된다. 오렌지색에서 파란색까지 다양한 색깔을 갖는 anthocyanin계 천연색소는 수용성이며 비독성이다. 또한 ROS를 억제하여 관상혈관질병을 예방하는 다기능성 식품첨가물로 잘 알려져 있다(Aldini, Carini, Piccoli, Rossoni, & Facino, 2003; Bagchi et al., 2003). 이러한 점에서, ROS를 억제하는 천연색소를 찾는 것은 매우 중요하다. 식품추출물이나 구성분의 항산화력을 규명하기 위해 많은 방법들이 사용되어 왔다(Arouma, 2003). 전자 회전 공명 기술로 폴리페놀의 free radical 제거 효과를 직접적으로 측정할 수 있다(Bergman, Perelman, Dubinsky, & Grossman, 2003; Leonard et al., 2003). Espin, Soler-Rivas, Wichers, Garcia-Viguera(2000) 등은 free radical 생성물질로서 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl hydrate(DPPH)를 측정함으로써 anthocyanin계 천연색소의 효과를 보고하였다(Espin et al., 2000). Thiobarbituric acid (TBA)방법은 gerbil brain homogenate중 폴리페놀의 항산화 효과를 측정하는데 사용되었다(Lee, Im, Suh, & Jung, 2003). Luminol이나 2-methyl-6-(p-methoxyphenyl)-3,7-di-hydroimidazo[1,2-a]-pyrazin-3-one(MCLA)을

이용한 화학발광법(Chemiluminescent assay)이 *in vitro*에서의 ROS 억제효과 측정에 적용되었다. 화학발광법을 이용하여 probucol(Cynshi, Takashima, Katoh, & Tamura, 1995), flavonols (Selloum-Djelili, Sebihi, & Arnhold, 2004), Chinese herbal ingredients(Choi et al., 2000), melatonin(Sariahmetoglu, Wheatley, Cakycy, & Townshend, 2003) 등이 측정되었다. 이전의 보고에서 flavastain이나 그 대사물과 같은 약품(Nakashima et al., 2001)과 비수용성, 수용성의 rosemary 추출물(Wada et al., 2004) 등의 효과를 측정하였다. 본 연구의 목적은 superoxide anion (O_2^-), singlet oxygen ($^1O_2$), hydroxyl radical (· OH), hypochlorite ion (ClO^-), linolenic acid peroxide (LOO ·)와 같은 ROS에 대한 천연식품 색소의 억제효과를 luminal chemiluminescent assay에 의해 규명하는데 있다. Fig. 1과 같이, 포도씨 추출물과 폴리페놀류(즉, chalcone, pelargonidin, cyanidin, delphinidin, transresveratrol) 등에 대해 연구하였다. Pelargonidin과 cyanidin과 delphinidin의 차이는 B ring에 있는 hydroxyl group의 수이다. 항산화 특성이 잘 알려진 trans- Resveratrol은 구조적으로 pelargonidin와 유사하다(Leonard et al., 2003). 이들 폴리페놀류의 억제효과와 구조적 특성

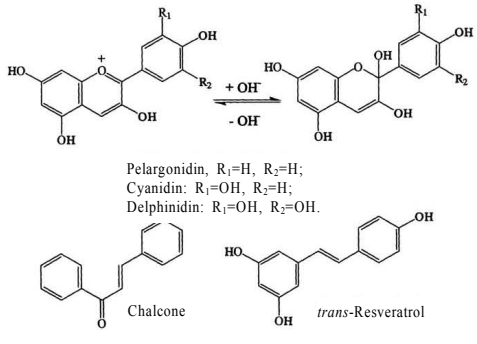

Fig. 1. Structures of polyphenolics examined.

의 연관성도 연구되었다. 또한, monascus, gardenia, red radish와 같은 다른 천연 식품색소들에 대해서도 ROS 억제능을 측정하여 다기능성 식품첨가물을 개발하고자 하였다. 추가적으로, 억제효과와 색도 또는 퇴색도에 대한 연관성도 규명하였다.

Ⅱ. 재료 및 방법

2.1 재료 및 시약

Grape seed extracts A (proanthocyanin 99%), B (proanthocyanin > 80%), red radish colour (Mitsubishi-Kagaku Foods Corporation, Kanagawa, Japan), monascus red colour (Mitsubishi-Kagaku Foods Corporation), gardenia yellow colour (Mitsubishi-Kagaku Foods Corporation), gardenia blue colour (Mitsubishi-Kagaku Foods Corporation) 등은 Mitsubishi Chemical Corporation (Kanagawa)로부터 구입하였다. Chalcone, pelargonidin, Cyanidin, delphinidin 등은 Funakoshi Co.(Tokyo, Japan)로부터 구입하였다. Xanthine oxidase from buttermilk, H_2O_2(30%), $FeCl_2$, NaClO solution 등은 Wako Pure Chemicals (Osaka, Japan)로부터 구입하였다. Luminol, hypoxanthine, NaBr, diethylentri aminepentaacetic acid (DETAPAC), lactoperoxidase, N-2-hydroxyethylpiperaine-N′-2-ethanesulphonic acid (Hepes), trans-resveratrol, linolenic acid 등은 Sigma Chemical Corporation(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였다. MCLA는 Tokyo Kasei(Tokyo)로부터 구입하였다. 물은 Aquarius GSR-500 증류 장치(Advantec, Tokyo)에 의해 탈이온 및 증류되었다. 모든 천연색소와 폴리페놀류는 dimethyl

sulfoxide(DMSO)에 적절 농도(0.02 to 2 ㎎/㎖)으로 용해하여 ROS 억제능 측정에 사용되었다. 그러나 ·OH에 대한 억제능 측정을 위해서는 dimethylformamide (DMF)에 용해하여 사용하였다.

2.2 활성산소종 억제효과 측정

ROS에 대한 천연색소의 억제효과측정은 전보(Wada et al., 2004)와 같으며 아래와 같다. (O_2^-) : 시험 관 (φ12x75 mm)에서 DMSO에 녹인 샘플 6 ㎕에 600 ㎕의 0.8 mM hypoxanthine(in 100 mM Hepes buffer, pH 7.4)와 300 ㎕의 1.6 mM luminolin(Hepes buffer)을 순차적으로 가한다. 37℃에서 10분후, 여기에 300 ㎕의 1.0 U/㎖ of xanthine oxidase(Hepes buffer)를 가하고 즉시 화학발광(CL) 강도를 측정한다. ($^1O_2$) : DMSO에 녹인 6 ㎕의 샘플에 300 ㎕의 0.4% H_2O_2 (in 100 mM acetate buffer, pH 4.5), 300 ㎕의 80 mM NaBr(in acetate buffer), 0.8 mM luminol(in acetate buffer)를 가한다. 10 min동안 37℃에서 10분간 반응시킨 후 300 ㎕의 10 ㎍/㎖ solution of lactoperoxidase(in acetate buffer)를 가하고 CL 강도를 즉시 측정한다. (·OH) : DMF에 녹인 샘플 6 ㎕에 150 ㎕의 1.6% H_2O_2(in 100 mM Hepes buffer, pH 7.4), 150 ㎕의 0.8 mM DETAPAC(in Hepes buffer), 0.8 mM luminol(in Hepes buffer)를 순차적으로 가한다. 37℃에서 10분후, 300 ㎕의 200 ㎛ $FeCl_2$(in Hepes buffer)를 가하고 즉시 화학발광(CL) 강도를 측정한다. (ClO^-) : DMF에 녹인 샘플 6 ㎕에 900 ㎕의 0.53 mM luminol in 50 mM borate buffer(pH 9.5)를 가한다. 37℃에서 10분후, 300 ㎕의 40 ㎛ NaClO in borate buffer를 가하고 즉시 화학발광(CL) 강도를 측정한다. (LOO·) : n-BuOH에 녹인 5 mM linolenic acid를 60분 동안 37℃에서 산화시킨다. DMSO에 녹은 샘플 6 ㎕에 900 ㎕의 산화 용액을 가하고 37℃에서 10분간 반응. 300 ㎕의 8 ㎛ MCLA(in n-BuOH)을 가하고 CL강도를 측정한다. CL측정은 실온에서 1분간 Lumatag Analyzer, Auto-250 (Berthold, UK)에 의해 측정. 생성된 radical의 농도는 측정할 수 없었으며, ROS 억제 효과 백분율은 다음의 식으로부터 계산되었다.

억제효과 % (Quenching effect %) = $\{(RCI_0 - RCI)/RCI_0\} \times 100$

RCI_0 : blank(DMSO or DMF)로부터 생성된 CL의 강도
RCI : 샘플로부터 생성된 CL의 강도
증가 수치는 억제효과의 증가를 나타낸다.

ROS에 50% 억제하는 농도 (EC_{50})는 3회 측정하여 산출하였다. 자료는 평균 SD (n=3)로서 표현되었다.

2.3 천연 색소의 색도

추출물의 흡광도(Ab) 측정은 Shimadzu UV visible recording spectrophotometer(model: UV-265FS, Kyoto, Japan)로 측정하였다. Red radish, monascus red, gardenia yellow, gardenia blue 색 흡광도는 각각 520, 480, 440, 585 nm에서 0.1% 수용액상으로 측정하였다. 색도는 다음의 식에 의해 계산하였다.

색도 (Colour value, 10%E) = Ab x 100/샘플양(g)

2.4 천연 색소의 퇴색도(colour fading ratio) 측정

ROS에 대한 천연색소의 퇴색도 측정은 다음과 같다.

(O_2^-) : 0.1% 샘플 0.1 ㎖에 2.4 ㎖의 50 mM carbonate buffer (pH 8.0), 0.1 ㎖의 3 mM EDTA, 0.1 ㎖의 0.75 mM tetrazolium을 순차적으로 가한다. 25℃에서 10분후, 0.1 ㎖의 xanthine oxidase(1.0 U/㎖)를 가한다. 실온에서 20분후 0.1 ㎖의 6 mM $CuCl_2$를 가한다. 각 샘플의 흡광도를 측정한다. ($\cdot$OH) : 0.1% 샘플 4.5 ㎖과 30% H_2O_2용액 0.5 ㎖를 혼합하여 30분간 실온에서 반응. 각 샘플의 흡광도를 측정한다. (ABTS) : 2,20-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride(ABTS, 1 mM, 0.5 ㎖)을 4.5 ㎖의f 0.1% 샘플용액에 가한다. 30 분간 실온에서 반응 후 각 샘플의 흡광도를 측정한다. 측정된 각 샘플의 파장은 Table 1에 요약되었다.

Table 1. Wavelengths of each compound for measurement of colour fading ratio

Sample	Wavelength, nm		
	O_2	OH	ABTS
Monascus red	497	497	497
Red radish	514	514	514
Gardenia yellow	438,462	438,462	438,462
Gardenia blue	595	595	595

Ⅲ. 결과 및 고찰

3.1 ROS에 대한 포도씨 추출물과 폴리페놀의 억제효과

포도씨 추출물 A, B와 폴리페놀류, 즉 chalcone, pelargonidin, cyanidin, delphinidin, trans-resveratrol등의 억제효과를 연구하였다. 시험용액은 0.02-2 ㎎/㎖로 하여 억제효과를 측정하였다. ROS에 의해 유도된 CL은 포도씨 추출물 A, B와 pelargonidin, cyanidin, delphinidin, trans-resveratrol에 의해 농도 의존적으로 억제되었다. (O_2^-) : 는 Fig. 2에 나타난 바와 같이 포도씨 추출물과 폴리페놀은 억제효과를 보였다. 포도씨 추출물 A, B의 EC_{50}은 각각 0.24±0.01 and 0.28±0.02 ㎎/㎖였다. Chalcone과 pelargonidin은 억제효과를 보이지 않았다. 폴리페놀류의 억제효과 순서는 : delphinidin (EC_{50}: 0.10±0.01) > cyanidin(0.49±0.03) > trans-resveratrol (>2.0 ㎎/㎖). [$^1O_2$]의 경우 Fig. 3에 나타난 바과 같이, luminol과 $^1O_2$에 의해 형성된 CL은 chalcone을 제외한 모든 샘플에서 억제되었다. 포도씨 추출물은 높은 억제효과를 나타내었다(EC_{50}:A, 0.11±0.01; B, 0.12±0.02 ㎎/㎖). 폴리페놀류의 억제효과 순서는 : delphinidin(EC_{50}:0.19±0.01) = cyanidin (0.19±0.01) > trans-resveratrol (0.26±0.01) >

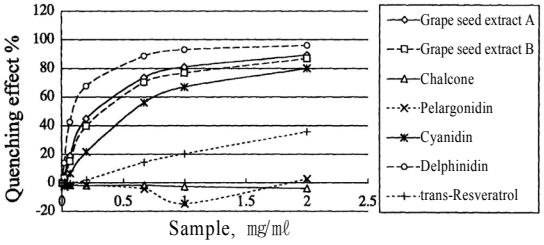

Fig. 2. Quenching effects of grape seed extracts and polyphenolics against superoxide anion. Sample concentrations: 0.02-2 ㎎/㎖. Experimental details are shown in Section 2.

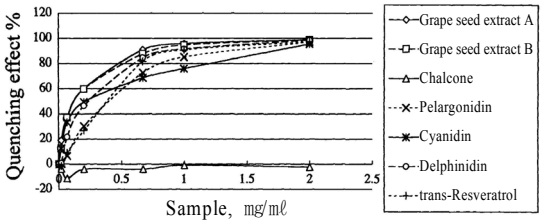

Fig. 3. Quenching effects of grape seed extracts and polyphenolics against singlet oxygen. Sample concentrations: 0.02-2 ㎎/㎖. Experimental details are shown in Section 2.

pelargonidin (0.28±0.04 ㎎/㎖). (· OH) : 모든 샘플에서 높은 억제효과를 나타내었다(Fig. 4). 0.2 ㎎/㎖ 이상의 농도에서 CL은 매우 억제되었다. 특히, 포도씨 추출물과 cyanidin, delphinidin의 억제율은 0.2 ㎎/㎖ 농도에서 91-97%에 달했다. Chalcone는 매우 낮은 억제효과를 보였고(EC_{50}: > 2.0) trans-resveratrol은 중간 정도였다(0.28±0.03 ㎎/㎖). (ClO^-) : Fig. 5에 나타난 바와 같다. 모든 샘플에서 다른 ROS에 대한 억제효과보다 ClO^-에 대한 억제효과가 더 낮았다. 포도씨 추출물 A, B 의 억제율은 1.0 ㎎/㎖에서 각각 27.7±4.2%, 22.0±3.7%였다. 1.0 ㎎/㎖에서 폴리페놀류의 억제효과 순서는 : delphinidin > cyanidin > trans-resveratrol > pelargonidin. Chalcone은 억제효과가 없었다. (LOO ·) : linolenic acid peroxide에

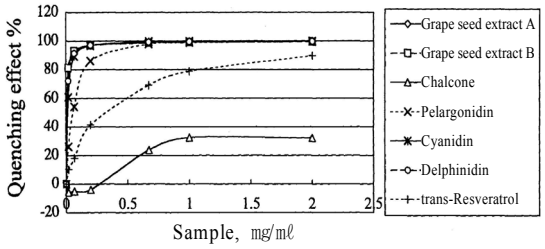

Fig. 4. Quenching effects of grape seed extracts and polyphenolics against hydroxyl radical. Sample concentrations: 0.02-2 ㎎/㎖. Experimental details are shown in Section 2.

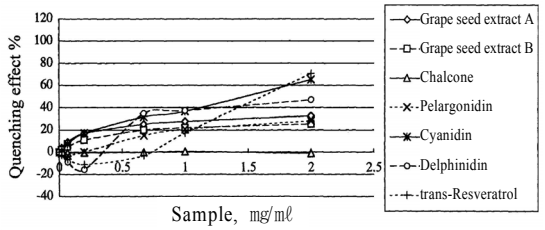

Fig. 5. Quenching effects of grape seed extracts and polyphenolics against hypochlorite ion. Sample concentrations: 0.02-2 ㎎/㎖. Experimental details are shown in Section 2.

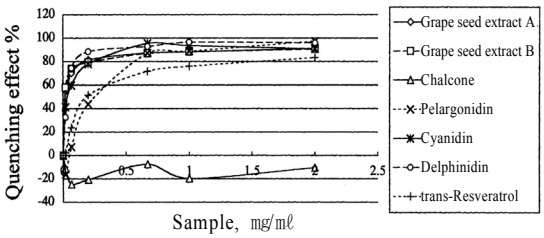

Fig. 6. Quenching effects of grape seed extracts and polyphenolics against linolenic acid peroxide. Sample concentrations: 0.02-2 ㎎/㎖. Experimental details are shown in Section 2.

의해 유도된 MCLA CL의 억제는 Fig. 6과 같다. 폴리페놀유의 억제효과 순서는 : delphinidin (EC_{50}: 0.03±0.002) > cyanidin (0.04±0.004) > trans-resveratrol (0.20±0.01) > pelargonidin (0.23±0.01 ㎎/㎖). 1.0 ㎎/㎖ 농도에서 포도씨 추출물 A, B는 각각 88.3±1.0%, 88.3±0.9%의 억제율을 보였다. Kinetic curve에 있어서의 차이는 Fig. 2-6에 나타내었다. 그 차이는 샘플과 ROS의 반응성, pH의 영향에 의한 것으로 보인다. 각 샘플의 억제효과는 delphinidin에 대한 equivalency value로서 나타낼 수 있는데(Table 2), 이는 샘플과 delphinidin간 억제효과 곡선의 기울기 비율이며 delphinidin의 기울기를 1.00으로 하였다. 포도씨 추출물 A, B는 대부분의 ROS에 대해 높은 equivalency value를 보였다(0.39-1.78). 모든 ROS에서, 포도씨 추출물 A는 B보다 높은 equivalency value를 보였다. 이 결과는 proanthcyanin의 양과 일치한다. Fig. 7에 나타난 것과 같이, 이 연구에서 사용된 폴리페놀류는 3 그룹으로 잠정 분류되었다 : (1) low quenching effect(chalcone), (2) moderate quenching effect(pelargonidin and trans-resveratrol), (3) high quenching effect(cyanidin and delphinidin). 그룹 (2)와 (3)을 보면, B ring에 있는 OH기의 수가 억제효과 증가에 결정적인 역할하였다.

Table 2. Delphinidin equivalent value of grape seed extracts and ployphenolics against ROS

Sample	Delphindin equivalency value				
	O_2^-	$^1O_2$	·OH	ClO^-	LOO^-
Grape seed extract A	0.46	1.78	0.86	0.64	0.43
Grape seed extract B	0.39	1.56	0.54	0.59	0.40
Chalcome	n.d.[a]	n.d.[a]	4.40×10^4	n.d.[a]	n.d.[a]
Pelargonidin	n.d.[a]	0.69	0.04	0.20	0.15
Cyanidin	0.22	1.03	0.57	1.02	0.99
Delphinidin	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Trans-Resveratrol	0.03	0.75	0.01	1.63	0.17

[a] n.d., not detectable.

Flavonoids의 억제효과는 주로 B ring의 electron donating 특성에 의존하며 OH기의 수 증가에 의해 상승하였다(Choi et al., 2000; Selloum et al., 2004). 본 결과도 이러한 사실과 일치한다.

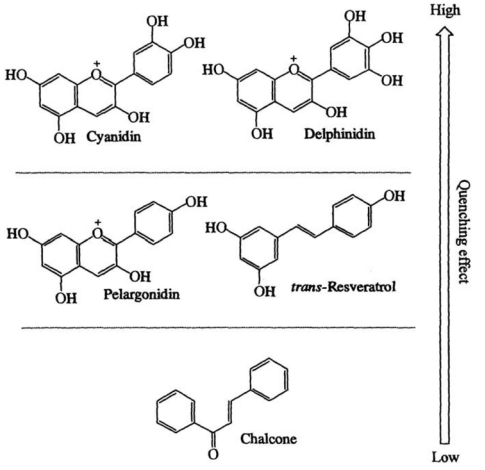

Fig. 7. Quenching effects of polyphenolics against ROS and their structural properties.

3.2 ROS에 대한 천연색소의 억제효과

다기능성 식품첨가물 개발을 위해 monascus, gardenia, red radish 등과 같은 천연 식품 색소의 억제효과를 측정하고 포도씨 추출물 A와 비교하였다. 이들 색소는 일본에서 식품첨가물로 사용되고 있다. Fig. 8에 1.0 ㎎/㎖ 농도에서 추출물들의 억제효과가 나타나 있다. 모든 샘플 중에서, 포도씨 추출물 A는 (O_2^-), ($^1O_2$), (·OH)와 (ClO^-)에 대한 억제효과가 가장 높았다. 모든 ROS에서 포도씨 추출물과 다른 색소들간에 큰 차이가 나타났다($p<0.001$). Red radish, gardenia

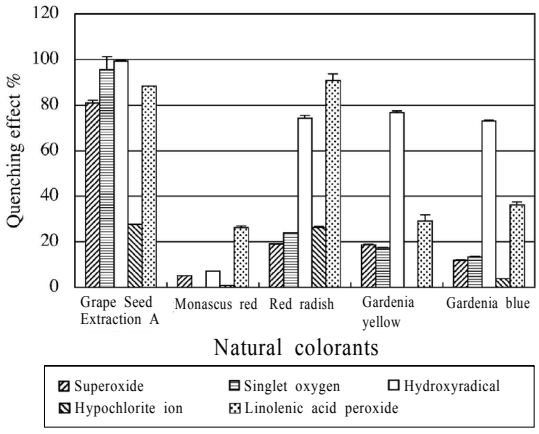

Fig. 8. Quenching effects of grape seed extracts and polyphenolics against hypochlorite ion. Sample concentrations: 0.02-2 ㎎/㎖. Experimental details are shown in Section 2.

yellow and blue는 hydroxyl radical에 대해 비교적 높은 억제를 보였다(>73%). 또 red radish는 linolenic acid peroxide를 91%억제하였다. Gardenia yellow, blue는 (· OH)와 (LOO ·)를 억제하였다. Monascus red는 ($^1O_2$)와 (ClO^-)에 대한 억제가 매우 낮았으나 LOO · 에 대해서는 중간 수준의 억제효과를 보였다. 바꾸어 말하면, 이 색소는 이러한 ROS 들에 대해 안정하였다. 이러한 결과들은 red radish extract, gardenia yellow, blue가 다기능성 식품첨가물로 사용될 수 있음을 나타낸다. 포도씨 추출물은 proanthocyanin 유도체들로 구성되어 있다(Delgado-Vargas et al., 2000). 포도씨 추출물의 proanthocyanidin 기본 구조는 Fig. 9와 같다. Procyanidin trimer와 더 많이 중합된 procyanidins가 포도씨 추출물에 포함되어 있다(Shi, Yu, Pohorly, & Kakuda, 2003). Red radish 추출물은 acylated pelargonidin glucosides(Otsuki, Matsufuji, Takeda, Toyoda, & Goda, 2002)로 구성되어 있다. Malien-Aubert,

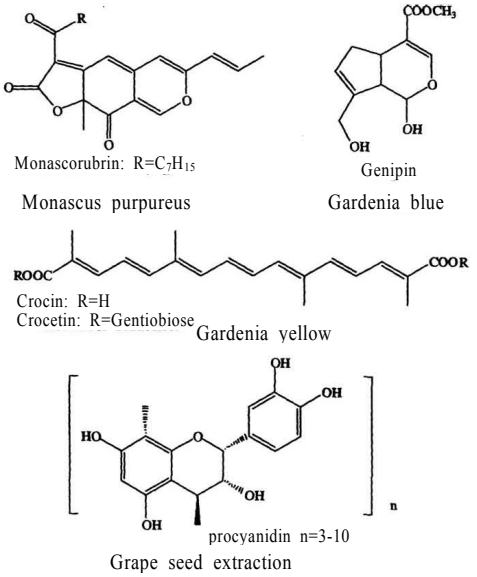

Fig. 9. The structures of constituents of grape seed extract and natural colorants.

Dangles, Amiot(2001)등은 intramolecular co-pigmentation 때문에 안정된 acylated anthocyanin가 주로 red radish에 함유되어 있다고 보고했다. 이 특성은 ROS의 억제효과에 영향을 줄 것이다. Crocetin과 crocin은 gardenia yellow의 주성분으로 알려져 있다(Watanabe & Terabe, 2000). 이 성분들의 항산화력은 thiocyanate법과 TBA법에 의해 측정되었다(Pham, Cormier, Farnworth, Tong, & Van Calsteren, 2000). 또한 β-carotene와 같은 carotenoid류의 lipid peroxidation에 대한 항산화특성에 대한 연구도 Toyosaki(2002)에 의해 이루어졌다. Iridoid 유도체인 Genipin은 gardenia blue의 주성분이다(Paik, Lee, Cho, & Hahn, 2001). 이 성분은 중성이나 산성 pH보다 알칼리성 pH에서 더욱 안정하다. 최근, Tanaka, Nishikawa, Ishimaru(2003)는 Cornus capitata의 부정근 배양 유래의 iridoid glycosides가 DPPH, (O^-_2), (LOO ·)에 대한 매우 낮은 억제효과를 갖는다고 보고했다. 이 결과들은 본 결과와 관련이 있다. 최근까지 monascus red에 의한 억제효과는 많이 보고되지 않았다. Monascus red의 주성분중 하나는 Monascorubrin이다(Martinkova et al., 1999). 반면, Obon, Castellar, Cascales, Fernandez-Lopez (2005)는 합성 적색색소의 항산화력을 ABTS redical을 이용하여 측정하였다. Azorubine amaranth, ponceau 4R와 같은 색소 6종은 trolox에 비해 35배 낮은 항산화력을 나타내었다. Gardenia yellow, blue와 monascus red의 주성분의 구조는 Fig. 9와 같다. 다음으로 색소의 억제효과와 색도의 연관성에 대해 연구하였다. Monascus red, red radish, gardenia yellow and blue의 색도는 각각 71, 60, 365와 265였다. 그러나 억제효과와 색도의 연관성은 발견되지 않았다. 천연색소의 퇴색도를 (O^-_2), (· OH), ABTS radical에 대해 측정하였다. 3회 측정 평균치가 Table 3에 요약되어 있다. 본 연구에서

Table 3. Colour fading ratio of natural colorant against ROS

Sample[a]	Colour fading ration%[b]		
	O_2^-	·OH	ABTS
Monascus red	n.d.[c]	14.1	48.9
Red radish	22.1	73.0	54.2
Gardenia yellow	3.3	-9.2	99.0
Gardenia blue	1.8	-5.3	19.9

[a] Sample concentration=1.0㎎/㎖.
[b] Average of triplicate measurements.
[c] n.d. means that a significant difference was not detected against the value of the blank.

각 색소의 흡광도는 비교적 안정하였고 급격한 변화는 보이지 않았다. Red radish 추출물이 (O_2^-) (22.1)와 (·OH) (73.0%)에 가장 많은 영향을 받았다. Anthocyanin의 퇴색은 C2 position에서의 산화작용에 의해 시작되며, 결과적으로 무색의 hemiketal이나 chalcone형태를 갖는다(Malien-Aubert et al., 2001). 또 한편으로는, 본 연구의 조건(pH 8)이 red radish 색소의 퇴색에 영향을 주었을 수도 있다. Fig. 1에 나타난 것과 같이, Clifford(2000)는 pH 값이 anthocyanin transformation의 정도에 영향을 미친다고 보고했다. Chigurupati, Saiki, Gayser, Dash(2002)는 여러 pH와 온도에서 anthocyanin의 안정도를 조사하였다. 37℃에서 10일후, 536 nm에서 흡광도의 80% 이상이 감소됨을 확인하였다. 따라서 본 연구에서의 퇴색은 ROS뿐 아니라 pH값도 중요한 원인인 것으로 보인다. 다른 ROS와 비교하면, ABTS radical은 색소를 더 많이 분해시킨다. ROS에 대해 높은 억제효과를 갖는 색소는 비교적 높은 퇴색도를 보였다. Gardenia yellow는 ABTS radical에 의해 거의 완전히 분해되었다(fading ratio of 99.0%). 또한 (·OH)와 (LOO·)에 대해 높은 억제를 보인 Gardenia blue는 ROS에 의해 쉽게 퇴색되지 않았다. 반면 ROS에 낮은 억제능을 보였던 monascus red는 ABTS radical에 의해 퇴색되었다. 천연색소의 억제효과와 퇴색도간의 확실한 상관관계는 찾을 수 없었지만 본 연구의 내용은 식품에서의 천연색소 품질관리에 유용할 수 있다.

Ⅳ. 결론

ROS에 대한 천연색소의 억제효과를 화학발광 측정법에 의해 연구하였다. 포도씨와 red radish 추출물은 ROS에 대해 높은 억제효과를 나타내었다. 억제효과에 대한 구조적 특성을 폴리페놀류와 비교하였다. 또한 다기능성 식품으로서 천연색소의 잠재성을 확인하였다. 추출물의 억제효과와 그들의 색깔 특성(색도, 퇴색도 등)에 대한 확실한 연관성은 찾을 수 없었다. 그러나 radical species가 색소 분해를 유도하는 것으로 추정되었다. 본 연구에서 얻어진 발견 내용은 식품에서의 색소 품질관리에 유용할 것이다.

Ⅴ. 참고문헌

1. Aldini, G., Carini, M., Piccoli, A., Rossoni, G., & Facino, R. M. (2003). Procyanidins from grape seeds protect endothelial cells from peroxynitrite damage and enhance endothelium-dependent relaxation in human artery: new evidences for cardio-protection. *Life Science, 73,* 2883 - 2898.
2. Arouma, O. I. (2003). Methodological consideration for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. *Mutation Research, 523 - 524, 9 - 20.*
3. Bagchi, D., Sen, C. K., Ray, S. D., Das, D.

K., Bagchi, M., Preuss, H. G., et al. (2003). Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. *Mutation Research, 523 - 524,* 87 - 97.

4. Bergman, M., Perelman, A., Dubinsky, Z., & Grossman, S. (2003). Scavenging of reactive oxygen species by a novel glucurinated flavonoid antioxidant isolated and purified from spinach. *Phytochemistry, 62,* 753 - 762.
5. Chigurupati, N., Saiki, L., Gayser, C., & Dash, A. K. (2002). Evaluation of red cabbage dye as a potential natural color for pharmaceutical use. *International Journal of Pharmaceutics, 241,* 293 - 299.
6. Choi, H. Y., Jhun, E. J., Lim, B. O., Chung, I. M., Kyung, S. H., & Park, D. K. (2000). Application of flow injection-chemiluminescence to the study of radical scavenging activity in plants. *Phytotherapy Research, 14,* 250 - 253.
7. Clifford, M. N. (2000). Anthocyanins-nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 80,* 1063 - 1072.
8. Cynshi, O., Takashima, Y., Katoh, Y., & Tamura, K. (1995). Action of phenolic antioxidants on various active oxygen species. *Journal of Bioluminescence and Chemiluminescence, 10,* 261 - 269.
9. Delgado-Vargas, F., Jimene, A. R., & ParedesLopez, O. (2000). Natural pigments: Carotenoids, anthocyanins, and betalains-Characteristics, biosynthesis, processing and stability. *Critical Review in Food Science and Nutrition, 40,* 173 - 289.
10. Espin, J. C., Soler-Rivas, C., Wichers, H. J., & Garcia-Viguera, C. (2000). Anthocyanin-based natural colorants: a new source of antiradical activity for foodstuff. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48,* 1588 - 1592.
11. Lee, S. R., Im, K. J., Suh, S. I., & Jung, J. G. (2003). Protection effect of green tea polyphenol (-)-epigallocatechin gallate and other antioxidants on lipid peroxidation in gerbil brain homogenates. *Phytotherapy Research, 17,* 206 - 209.
12. Leonard, S. S., Xia, C., Jiang, B. H., Stinefelt, B., Klandorf, H., Harris, G. K., et al. (2003). Resveratrol scavenges reactive oxygen species and effects radical-induced cellular responses. *Biochemical and Biophysical Research Communication, 309,* 1017 - 1026.
13. Malien-Aubert, C., Dangles, O., & Amiot, M. J. (2001). Color stability of commercial anthocyanin-based extracts in relation to the phenolic composition. Protective effects by intra- and intermolecular copigmentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49,* 170 - 176.
14. Martinkova, L., Patakova-Juzlova, P., Krent, V., Kucerova, Z., Havlicek, V., Olsovsky, P., et al. (1999). Biological activities of oligoketide pigments of Monascus purpureus. *Food Additives and Contaminants, 16,* 15 - 24.
15. Nakashima, A., Ohtawa, M., Iwasaki, K., Wada, M., Kuroda, N., & Nakashima, K. (2001). Inhibitory effects of flavastain and its metabolite on the formation of several

reactive oxygen species. *Life Sciences, 69,* 1381 - 1389.

16. Obon, J. M., Castellar, M. R., Cascales, J. A., & Fernandez-Lopez, J. A. (2005). Assessment of the TEAC method for determining the antioxidant capacity of synthetic red food colorants. *Food Research International, 38,* 843 - 845.
17. Otsuki, T., Matsufuji, H., Takeda, M., Toyoda, M., & Goda, Y. (2002). Acylated anthocyanins from red radish *(Raphanus sativus L.). Phytochemistry, 60,* 79 - 87.
18. Paik, Y., Lee, C., Cho, M., & Hahn, T. (2001). Physical stability of the blue pigments formed from geniposide of gardenia fruits: effect of pH, temperature, and light. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49,* 430 - 432.
19. Pham, T. Q., Cormier, F., Farnworth, E., Tong, V. H., & Van Calsteren, M. R. (2000). Antioxidant properties of crocin from Gardenia jasminoides Ellis and study of the reactions of crocin with linolenic acid and crocin with oxygen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48,* 1455 - 1461.
20. Sariahmetoglu, M., Wheatley, R. A., Cakycy, Y., & Townshend, A. (2003). Evaluation of the antioxidant effect of melatonin by flow injection analysis-luminol chemiluminescence. *Pharmacological Research, 48,* 361 - 367.
21. Selloum, L., Djelili, H., Sebihi, L., & Arnhold, J. (2004). Scavenger effect of flavonols on HOCl-induced luminal chemiluminscence. *Luminescence, 19,* 199 - 204.
22. Shi, J., Yu, J., Pohorly, J. E., & Kakuda, Y. (2003). Polyphenolics in grape seeds-biochemistry and functionality. *Journal of Medicinal Food, 6,* 291 - 299.
23. Tanaka, N., Nishikawa, K., & Ishimaru, K. (2003). Antioxidative capacity of extracts and constituents in *Comus capitata* adventitious roots. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51,* 5906 - 5910.
24. Toyosaki, T. (2002). Antioxidant effect of b-carotene on lipid peroxidation and synergism with tocopherol in an emulsified linolenic acid model system. International *Journal of Food Science and Nutrition, 53,* 419 - 423.
25. Wada, M., Kido, H., Ohyama, K., Kishikawa, N., Ohba, Y., Kuroda, N., et al. (2004). Evaluation of quenching effects of non-water-soluble and water-soluble rosemary extracts against active oxygen species by chemiluminescent assay. *Food Chemistry, 87,* 261 - 267.
26. Watanabe, T., & Terabe, S. (2000). Analysis of natural food pigments by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A, 880,* 311 - 322.

<출처 : Food Chemistry, 101, 980 - 986, 2007>