

## 식물유래 천연색소의 항산화 활성

부희옥\*, 황성진<sup>1</sup>, 배춘식<sup>2</sup>, 박수현<sup>2</sup>, 송원섭<sup>3</sup>조선대학교 자연과학대학 생물학과, <sup>1</sup>전남대학교 자연과학대학 생물학과,  
<sup>2</sup>전남대학교 수의과대학, <sup>3</sup>순천대학교 생명산업과학대학

## Antioxidant Activity According to Each Kind of Natural Plant Pigments

Hee-Ock Boo\*, Sung-Jin Hwang<sup>1</sup>, Chun-Sik Bae<sup>2</sup>, Su-Hyun Park<sup>2</sup> and Won-Seob Song<sup>3</sup>

Department of Biology, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

<sup>1</sup>Department of Biology, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea<sup>2</sup>College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea<sup>3</sup>Department of Horticulture, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

**Abstract** - The objective of this study was to determine the effect of antioxidant enzyme activity and radical scavenging activities of thirteen kinds of natural plant pigments. The analytic method of antioxidant activities were measured by estimating DPPH free radical scavenging and nitrite scavenging ability activity. The free radical scavenging activity by method using stable free radical DPPH was the highest in the red cabbaged pigment. Addition of ethanol extract 1mg/ml from onion peel pigment displayed remarkable effect on nitrite scavenging ability about 91.9%. Antioxidative enzyme activity was evaluated in terms of superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT), and ascorbate peroxidase(APX) activity. The bitter melon pigment had the highest SOD activity of 87.3%. The activities of CAT and APX were higher in the mulberry leave pigment compared with other natural plant pigments. In contrast, CAT activity of plant pigment samples were unaffected. These results suggest that natural plant pigment had the potent biological activities such as antioxidant enzyme activities, and that their activities exhibited differently depending on each kind of pigments.

**Key words** - Antioxidative enzyme activity, DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), Nitrite scavenging ability, Natural plant pigment

## 서 언

예로부터 우리나라는 다양한 천연식물에서 필요한 색소를 생산하여 식용 및 염료용 색소로 사용되어 왔으나, 현대에 이르러 색소 적용의 편의성과 경제성, 안정성, 지속성을 추구하게 되면서 각종 합성색소가 광범위한 분야에서 천연색소에 대체하여 사용하게 되었다. 그러나 최근 합성색소의 발암성위험 등 인체에 대한 부작용 문제가 부각되면서 합성색소 사용에 대한 거부감이 증대됨으로서 천연색소에 대한 관심이 급증하고 있다. 천연색소는 생리활성 기능과 함께 합성색소에 비해 안전하고 자연스러운 색상을 낼 수 있는 장점이 있지만 색소의 안정성이 떨어지는 관계로 제

한된 분야에서만 일부 이용되어져왔다. 근래 들어 천연염색 소재를 중심으로 천연색소 연구가 일부 이루어지고 있으나, 식물유래 천연색소 전반에 대한 체계적이고 과학적인 연구는 아직 미흡한 실정이다. 일반적인 의미에서의 색소란 색깔을 나타낼 수 있는 가시광선의 파장영역인 350-750 nm 범위에서 파장을 흡수할 수 있는 유기 또는 무기화합물을 말하며, 제품의 색상은 소비자가 최종적으로 상품을 구별, 선택하는데 결정적인 역할을 하는 중요한 요소이기도 하다. 색소가 지니고 있는 이러한 역할로 인해 현재 식품공업, 화장품, 의약품 및 가축사료에 첨가제 또는 보조제 등으로 다양하게 사용되고 있다(Park, 2004a; Park, 2004b).

최근 자연계에 존재하는 다양한 동식물 및 미생물로부터 얻어지는 각종 유용성분들 중에서 특히 인체의 생리기능

\*교신저자(E-mail) : swboo@chosun.ac.kr

조절이나 항상성 유지에 관련된 각종 기능성 소재를 찾는 연구들이 광범위하게 수행되고 있으며(Jeong *et al.*, 2008), 특히 식물류 중에 들어있는 생리활성 성분에 대한 관심이 높아지면서 국내·외적으로 이들 생리활성 성분을 함유한 유용식물들을 기능성 소재의 원료로 사용하려는 시도가 많이 이루어지고 있다(Kim *et al.*, 2001; Min *et al.*, 2008). 천연식물색소도 색소자체가 지니고 있는 다양한 생리활성으로 인해 항산화 및 항암, 항균활성 등에 관련된 다양한 생리활성물질들이 확인되고 있으며, 이에 대한 구체적인 연구들이 수행되고 있다.

일반적으로 천연물에 존재하는 생리활성 물질은 대부분 페놀성 화합물로 항산화 및 항균효과를 가지고 있다. 즉, 식물체는 다양한 형태의 항산화 물질을 함유하고 있으며 그 중에서 페놀성 물질은 항산화성을 가진 대표적인 물질로 알려져 있다. 이들로부터 분리된 천연 항산화 물질들은 각종 노화관련 질환 예방에 대하여 유익한 작용을 할 것으로 추측되고 있다. 특히 항산화 효소 중 superoxide dismutase (SOD)는 superoxide anion radical을 제거하여 hydrogen peroxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)로 전환시키는 촉매효소로서 작용하며 산소를 소비하는 모든 생물종에 존재하여 생체 내에서 활성산소의 독성으로부터 방어 작용을 하는 중요한 효소이다. 또한 Catalase(CAT)는 주로 peroxisome에 존재하며 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 물과 산소로 분해시키는 효소로 작용하며, CAT와 더불어 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 제거하는 중요한 효소인 ascorbate peroxidase (APX)는 엽록체, 미토콘드리아, 세포질 및 세포벽에 존재하고, ascorbate를 산화시킴으로써 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 불활성화시키는 것으로 알려져 있다(Kang *et al.*, 2003). 이러한 항산화효소는 생체 내에서 활성 산소로부터 생체를 보호하는 작용을 함으로서 각종 성인병 예방 및 항암, 항노화 기능을 수행한다. 자연계의 다양한 식물유래 천연색소물질들도 항산화적 방어기구인 항산화 효소가 존재하며 이들은 항산화 활성 뿐 아니라 생체 건강에 연관된 많은 생리활성들을 나타낸다(Rice-Evans *et al.*, 1996; Rein *et al.*, 2000).

식물성 천연색소는 안토시아닌계 색소인 적자색과 흑색계열, 카로티노이드계 색소인 황색계열 그리고 클로로필계 색소인 녹색계열로 크게 나눌 수 있으며, 이들 천연색소는 유해 활성산소를 제거하는 항산화 효과가 탁월하고 다양한 약리효과와 생리활성을 지니고 있다. 본 실험의 소재인 식물성 천연색소도 항산화 효과가 우수할 것으로 추측됨과 동시에 천연소재로서 각종 제품에 적용하는데 있어서 색소

의 안정성 및 대량으로 소재확보가 용이하다고 판단되어 선발하게 되었다.

따라서 본 연구에서는 다양한 생리기능성을 지니고 있어 천연색소로서 활용가치가 높고 일부는 현재 식품이나 염료로 이미 활용되고 있는 색소 13종에 대하여 항산화 활성 및 항산화효소 활성을 비교 분석함으로써 향후 고부가가치의 향장소재 및 식품소재로서의 개발가능성과 함께 그 이용성을 증대시키고자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용한 천연색소 소재 중 적양배추, 치자청, 치자황, 양파껍질 색소는 2009년 7월 중순경 (재)나주시천연염색문화재단에서 동결건조분말로 시판되는 제품을 구입하여 -20℃ 정도의 냉동고에 보관하면서 사용하였고, 그 외 시료는 직접 동결건조하여 미세한 밀도(20 mesh 정도)로 분쇄하여 분말 시료를 제조하였다. 색소추출은 색소 분말 시료와 증류수를 일정한 비율(1 g : 10 mL)로 혼합하여 상온에서 추출하였다. 모든 시료 추출은 천연제품에 적용할 것을 목표로 안전성을 위해 유기용매를 전혀 사용하지 않고 증류수에만 용해시켰다. 일부 난용성인 시료도 자석교반기 혹은 Sonicator 등을 이용하여 최대한 용해되도록 처리하였다. α,α'-diphenyl-β-picrylhydrazyl(DPPH), Bovine serum albumin(BSA), Superoxide dismutase(SOD) Kit, Ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA)는 Sigma Co. 제품을 사용하였으며, 기타 시약은 분석용 등급을 사용하였다.

### 항산화활성

#### DPPH radical 소거능(전자공여능)

각 추출물을 Choi 등의 방법(2003)에 의한 수소전자공여능에 의해 항산화 활성을 측정하였다. 여러 종류의 시료를 메탄올(or DMSO) 용매로 용해하여, 900 μL의 DPPH 용액(100 μM)과 각 시료 100 μL를 혼합하여 교반한다. 이 혼합 시료를 암소에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 수소전자공여능은 각 실험을 3회 반복하여 평균을 낸 다음 대조구에 대한 흡광도의 감소 정도를 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$A_n = (A_0 - A) / A_0 * 100$$

$A_n$  : DPPH radical 소거능에 대한 항산화 활성(%)

$A_0$  : 시료가 첨가되지 않은 DPPH 용액의 흡광도

A : 반응용액중의 DPPH와 시료의 반응한 흡광도

### 아질산염 소거능

시료 추출물의 아질산염 소거작용의 측정은 1 mM NaNO<sub>2</sub> 20 μL에 시료의 추출액 40 μL와 0.1 N HCl(pH 1.2) 또는 0.2 M citrate buffer(pH 4.2, 6.0)를 140 μL 사용하여 부피를 200 μL로 맞추었다. 이 반응액을 37°C 항온수조에서 1시간 반응시킨 후 2% acetic acid 1000 μL, Griess 시약(30% acetic acid로 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1:1 비율로 혼합한 것, 사용 직전에 조제) 80 μL를 가하여 잘 혼합시켜 빛을 차단한 상온에서 15분간 반응시킨 후 520 nm에서 흡광도를 측정하여 아래와 같이 아질산염 소거능을 구하였다.

$$N(\%) = [1 - (A - C) / B] \times 100$$

N : nitrite scavenging ability

A : absorbance of 1 mM NaNO<sub>2</sub> added sample after standing for 1hour

B : absorbance of 1NaNO<sub>2</sub>

C : absorbance of control

### 항산화 효소 활성 검정

#### 효소액 조제

시료 0.5 g에 Extract Buffer [100 mM K-PO<sub>4</sub> buffer (pH7.5), 100 mM EDTA, 1% PVP, 100 mM PMSF] 2 mL로 균질화하여 15,000 g로 20분간 원심분리한 다음 상층액을 항산화활성 측정에 사용하였다. Ascorbate peroxidase (APX)의 경우 extraction buffer에 위의 조성액에 10 mM를 첨가하여 사용하였다. 단백질 정량은 BSA를 표준물질로 사용하여 Bradford(1976)방법에 따라 측정하였다.

#### SOD(SuperOxide Dismutase)

SOD효소 활성 검정은 분석용 Kit(SOD Assay Kit-WST, Sigma-Aldrich, Switzerland)를 사용하여 측정하였다. 즉, SOD의 효소활성이 NBT(Nitroblue tetrazolium)의 환원을 저해하는 능력을 검정하는 photochemical NBT method를 사용하였다. 반응액은 50 mM carbonic buffer(pH 10.2),

0.1 mM EDTA, 0.1 mM Xanthine, 0.025 mM NBT로 하였으며, NBT환원 저해율을 흡광도 450 nm에서 측정하였다. 각 시료에 대하여 3회 반복으로 하였으며, SOD효소 활성은 다음의 계산식에 의해 환산하였다.

SOD활성 (NBT환원 저해율, %) =

$$\frac{[(A_{\text{blank1}} - A_{\text{blank3}}) - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank2}})]}{(A_{\text{blank1}} - A_{\text{blank3}})} \times 100$$

#### CAT(Catalase)

CAT활성은 Aebi 등(1984)의 방법에 의해 측정하였으며, 반응액은 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0)와 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 하였다. CAT 활성은 반응액에 추출액을 가한 다음 240 nm에 2분간의 흡광도 변화를 측정하였다.

#### APX(Ascorbate Peroxidase)

APX 활성은 Nacano and Asada(1981)방법에 따라 ascorbate의 산화 정도를 290 nm에서 2분간의 흡광도 변화를 측정하였다. APX의 반응액은 0.5 mM ascorbate와 0.2 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 첨가된 100 mM potassium phosphate buffer(pH 7.5)로 하였다.

### 통계처리

본 실험 결과는 각 항목에 대해 3회 반복 실시한 결과를 평균 ± 표준편차로 나타내었으며, 통계처리는 SAS(version 9.1.3)를 이용하여 다중범위검정(Duncan's multiple range test)을 실시하여 5% 수준에서 유의성을 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 천연색소 종류별 수소전자공여능

전자공여능 측정은 지질과산화 연쇄반응에 관여하는 산화성 free radical에 전자를 공여함으로써 free radical의 생성 억제 정도를 간접적으로 측정할 수 있다. DPPH는 자체가 안정한 free radical을 지니고 있는 화합물로 항산화 물질에 의해 환원되어 항산화능력을 확인하는데 많이 사용되는 물질이다. 선발된 천연색소 추출물에 대하여 free radical 소거활성을 측정한 결과를 Table 1에 나타내었다. 각 천연색소 추출물의 free radical 소거활성은 적양배추(red

Table 1. DPPH radical scavenging activities of natural plant pigments

Natural plant pigment	DPPH radical scavenging activity, % of control				
	Concentration (ppm.)				
	78.13	156.3	312.5	1250	2500
Black rice	27.4 ± 2.1 <sup>c</sup>	44.4 ± 4.1 <sup>c</sup>	66.7 ± 6.2 <sup>b</sup>	87.1 ± 6.1 <sup>a</sup>	80.6 ± 7.5 <sup>ab</sup>
Purple sweet potato	21.7 ± 3.5 <sup>cd</sup>	31.9 ± 2.6 <sup>ef</sup>	57.6 ± 4.2 <sup>c</sup>	76.1 ± 6.9 <sup>a</sup>	75.7 ± 8.2 <sup>b</sup>
Mature bitter melon	17.7 ± 2.5 <sup>de</sup>	24.7 ± 1.8 <sup>fg</sup>	34.5 ± 4.5 <sup>de</sup>	41.3 ± 5.8 <sup>b</sup>	55.2 ± 6.3 <sup>c</sup>
Paprika	16.7 ± 1.3 <sup>de</sup>	35.4 ± 4.1 <sup>de</sup>	55.0 ± 6.5 <sup>c</sup>	79.3 ± 7.3 <sup>a</sup>	84.6 ± 7.9 <sup>ab</sup>
Red cabbage	73.2 ± 6.9 <sup>a</sup>	86.3 ± 7.5 <sup>a</sup>	90.4 ± 8.6 <sup>a</sup>	88.2 ± 6.2 <sup>a</sup>	90.7 ± 4.7 <sup>a</sup>
Yellow gardenia	14.8 ± 2.7 <sup>ef</sup>	20.9 ± 2.3 <sup>g</sup>	31.3 ± 2.4 <sup>f</sup>	44.3 ± 5.9 <sup>b</sup>	49.3 ± 5.2 <sup>c</sup>
Blue gardenia	7.0 ± 1.5 <sup>g</sup>	10.3 ± 1.1 <sup>h</sup>	12.7 ± 2.1 <sup>f</sup>	13.9 ± 2.7 <sup>c</sup>	15.3 ± 1.0 <sup>d</sup>
Chinese foxglove	5.7 ± 1.1 <sup>g</sup>	4.0 ± 0.8 <sup>h</sup>	4.5 ± 1.2 <sup>g</sup>	24.1 ± 3.8 <sup>c</sup>	81.9 ± 7.5 <sup>ab</sup>
Mulberry leave	8.6 ± 1.8 <sup>g</sup>	19.0 ± 2.3 <sup>g</sup>	34.2 ± 1.8 <sup>de</sup>	79.4 ± 9.1 <sup>a</sup>	77.0 ± 8.7 <sup>ab</sup>
Onion peel	44.1 ± 6.5 <sup>b</sup>	72.4 ± 8.5 <sup>b</sup>	89.2 ± 5.7 <sup>a</sup>	86.8 ± 7.3 <sup>a</sup>	89.0 ± 9.5 <sup>ab</sup>
Grape peel	11.6 ± 2.1 <sup>efg</sup>	24.7 ± 2.6 <sup>fg</sup>	41.6 ± 3.5 <sup>d</sup>	82.5 ± 6.2 <sup>a</sup>	87.2 ± 9.1 <sup>ab</sup>
Mulberry	24.8 ± 2.6 <sup>c</sup>	39.8 ± 2.7 <sup>cd</sup>	67.3 ± 3.9 <sup>b</sup>	86.1 ± 7.8 <sup>a</sup>	84.6 ± 8.3 <sup>ab</sup>
Redbeet	46.0 ± 5.2 <sup>b</sup>	77.7 ± 6.7 <sup>b</sup>	88.3 ± 5.6 <sup>a</sup>	83.5 ± 5.9 <sup>a</sup>	82.6 ± 4.6 <sup>ab</sup>

<sup>Z</sup>Data represent the mean values ± SD of three independent experiments.

<sup>Y</sup>Different letters indicate a significant difference by Duncan's multiple range test at p<0.05.

cabbage), 양파껍질(onion peel), 레드비트(redbeet), 흑미(black rice), 오디(mulberry) 색소 등에서 free radical 소거 활성이 상대적으로 높게 나타났으나, 청치자(blue gardenia) 및 황치자(yellow gardenia), 완숙여주(mature bitter melon) 색소 등에서는 비교적 낮은 활성을 보였다. 세포가 성장하면서 발생하는 Free radical에 의해 세포가 산화되어 손상되는데 페놀성 화합물은 환원성이 강해서 free radical에 전자를 공여하여 산화를 억제하는 항산화능력이 있는 것으로 보고되고 있다(Sanchez *et al.*, 2007; Saija *et al.*, 1998). 식물성 천연색소는 페놀성 화합물이며 본 실험의 결과, 적양배추, 양파껍질, 포도과피, 오디 색소 등에서 free radical에 전자를 공여하여 산화를 억제하는 능력이 높은 것으로 확인되었으며 이는 페놀 화합물 함량이 높을수록 전자공여능 또한 높게 나타난다는 여러 다른 식물들의 연구 결과와도 일치한다고 볼 수 있다(Joung *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 1995; Lee *et al.*, 2005; Matkowski and Piotrowska, 2006; Rhim and Choi, 2010).

**천연색소 종류별 아질산염 소거능**

아질산염은 우리가 흔히 섭취하는 생선이나 육류 등에 발색, 풍미증진, 항균작용 및 산패 방지를 위해 첨가제로 많이 이용되고 있지만, 이러한 아질산염을 섭취했을 경우 동물이나 인체의 위 내에서 아민류와 반응하여 발암성 물

질로 알려진 nitrosamine을 생성하게 되며(Greenblatt, *et al.*, 1971; Lim *et al.*, 2007), 또한 아질산염은 체내에서 신장기능의 조절에 관여하고 염증질환을 유도하기도 한다(Lee *et al.*, 2003). 따라서 인체에 유해한 물질이라고 할 수 있는 아질산염을 효과적으로 제거할 수 있는 식물유래 천연물에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 천연색소 종류별로 발암물질인 nitrosamine 생성의 원인물질인 nitrite 제거 활성을 분석한 결과를 보면 Table 2에 나타난 바와 같다. 즉, 13종의 천연색소 추출물을 아질산나트륨 용액에 첨가하여 아질산염에 대한 소거능을 조사한 결과, 반응 용액의 pH가 1.2일 경우에는 양파껍질(91.9%), 레드비트(84.8%), 치자황(83.7%), 지황(80.8%), 치자청(80.3%) 색소에서 아질산염을 80% 이상 분해시켰다. 이 중 양파껍질 색소가 가장 높은 아질산염 소거 활성을 나타냈으며, 적양배추와 오디 색소에서는 상대적으로 낮은 소거활성을 보였다. pH 4.0에서는 공시한 대부분의 천연색소 추출물에서 35% 이상의 아질산염 소거활성을 나타냈으며, pH 6.0에서는 대부분의 색소에서 활성을 나타내지 않았다. 이는 pH가 높아짐에 따라 활성도 점차 감소되거나 상실되는 것을 의미하며, 이러한 결과는 식물 소재는 다르지만 아질산염 소거율이 pH 1.2에서 가장 높았다는 다른 연구결과들과도 일치했다(Lee *et al.*, 2000; Hong *et al.*, 2004; Shin *et al.*, 2005). 이와 같이 강산성 조건하에서 아질산염 소거능이 크다는 사실은

Table 2. Nitrite scavenging activities of natural plant pigments

Natural plant pigment	Nitrite scavenging ability (%)		
	pH 1.2	pH 4.0	pH 6.0
Black rice	73.7 ± 4.5 <sup>de</sup>	40.5 ± 3.8 <sup>cde</sup>	ND <sup>c</sup>
Purple sweet potato	71.9 ± 2.7 <sup>de</sup>	39.2 ± 2.5 <sup>de</sup>	ND <sup>c</sup>
Mature bitter melon	74.6 ± 4.0 <sup>de</sup>	40.2 ± 2.9 <sup>cde</sup>	ND <sup>c</sup>
Paprika	76.6 ± 0.5 <sup>g</sup>	43.8 ± 2.7 <sup>bcd</sup>	ND <sup>c</sup>
Red cabbage	54.8 ± 4.5 <sup>b</sup>	31.7 ± 3.1 <sup>f</sup>	ND <sup>c</sup>
Yellow gardenia	83.7 ± 2.1 <sup>b</sup>	46.5 ± 3.0 <sup>ab</sup>	ND <sup>c</sup>
Blue gardenia	80.3 ± 1.5 <sup>bc</sup>	44.3 ± 2.3 <sup>abcd</sup>	ND <sup>c</sup>
Chinese foxglove	80.8 ± 1.6 <sup>bc</sup>	46.9 ± 2.1 <sup>ab</sup>	0.2 ± 0.00 <sup>b</sup>
Mulberry leave	70.1 ± 2.6 <sup>ef</sup>	40.8 ± 1.9 <sup>cd</sup>	ND
Onion peel	91.9 ± 1.3 <sup>a</sup>	49.6 ± 2.8 <sup>a</sup>	0.3 ± 0.00 <sup>a</sup>
Grape peel	66.3 ± 2.7 <sup>f</sup>	35.2 ± 3.6 <sup>ef</sup>	ND <sup>c</sup>
Mulberry	52.5 ± 2.5 <sup>g</sup>	31.9 ± 3.8 <sup>f</sup>	ND <sup>c</sup>
Redbeet	84.8 ± 2.3 <sup>b</sup>	45.5 ± 2.2 <sup>abc</sup>	0.3 ± 0.00 <sup>a</sup>

<sup>Z</sup>Data represent the mean values ± SD of three independent experiments.

<sup>Y</sup>Different letters indicate a significant difference by Duncan's multiple range test at p<0.05.

<sup>X</sup>ND=Not detected.

이 물질을 인체 내로 섭취 시 위내에서 nitrosamine의 생성 억제에 기여할 뿐 아니라 인체에 안전한 천연물로서 기능성 소재나 식품으로 이용 가치가 높다고 생각된다. 본 실험의 천연색소 종류별 추출물의 아질산염 소거활성 결과에서 나타난 바와 같이 인체의 위 내 pH 조건과 비슷한 pH 1.2에서 활성이 가장 우수한 것으로 확인되었으며 천연색소의 종류에 따라서는 아질산염 소거작용에 탁월한 효능이 있는 유용물질로서의 역할을 하는 것으로 사료된다.

### 천연색소 종류별 항산화 효소의 활성

13종의 천연식물색소 추출물의 항산화효소 활성을 비교 분석한 결과는 Table 3, 4 및 5에 나타났다. 각 천연색소 추출물의 SOD 활성도를 조사한 결과 여주과실(87.83%), 흑미(87.20%), 포도과피(83.18%) 등에서 높은 활성을 나타냈고, 자색고구마, 지황에서도 비교적 높은 활성을 보였다(Table 3). 또한 천연색소 추출물의 APX의 활성을 보면, 뽕잎이 3.88(μmol ascorbate oxidized/min/g DW), 오디 3.56, 지황 3.43의 순으로 높은 활성을 보였으며(Table 4), CAT 활성은 뽕잎 17.73(μmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> decomposed/min/mg DW), 지황 16.38, 오디 12.62의 순으로 활성이 높게 나타났다(Table 5). 이와 같이 천연색소의 항산화효소 활성에 있어 APX와 CAT의 결과는 비슷한 양상을 보였으나 SOD에서는 다른 양상을 나타냈다. 이는 천연색소에 있어 항산

화 효소의 종류에 따라 그 활성에 차이가 있음을 알 수 있다. 천연식물색소도 2차대사산물로서 항산화 물질을 생산하여 효소적 방어시스템의 역할을 한다고 볼 수 있는데, 일반적으로 고착생활을 하는 식물은 외부 스트레스에 대한 환경 적응 능력이 다른 생물체 보다 높아 많은 종류의 항산화 물질을 만들어낸다(Alsher and Hess, 1993). 항산화 효소인 SOD는 산패로 인하여 형성된 세포에 해로운 환원 산소종을 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉매하는 생체 내 효소 중 하나로 대부분의 호기성 생물이나 혐기성 생물에서 생성되어 과산화수소를 발생하고 이는 CAT와 APX에 의해 물과 산소로 전환되어져 독성을 상실하게 된다. 식물체에서 APX는 세포질과 엽록체에서 작용하는 가장 중요한 제거제 역할을 한다. 이들은 환원용 기질로 ascorbic acid를 이용하며, GPX(glutathione peroxidases)가 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 제거하고 지질의 과산화과정에서 중요한 역할을 한다고 밝혀졌다(Wheeler et al., 1998). 또한 CAT는 생체내의 유해한 산소들을 신속히 처리하여 세포를 보호하는 항산화계 효소로 APX와 함께 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 분해 소거하는 대표적인 효소이다. 이와 같이 생체 내에서 유해한 활성산소를 제거하는데 있어 높은 활성을 나타내는 항산화 효소들은 각종 질병 및 노화를 예방하고 억제하는 효능이 있으며 식물성 천연색소 또한 이러한 효능을 기대할 수 있다고 보기 때문에 향후 각종 식품이나 화장품 등에 천연색소 적용의 필요성이

Table 3. SOD activities of natural plant pigments

Natural plant pigment	SOD activity (inhibition rate %)
Black rice	87
Purple sweet potato	79.46 ± 0.51 <sup>c</sup>
Mature bitter melon	87.83 ± 0.27 <sup>a</sup>
Paprika	63.36 ± 1.09 <sup>de</sup>
Red cabbage	33.96 ± 2.75 <sup>h</sup>
Yellow gardenia	49.93 ± 3.69 <sup>f</sup>
Blue gardenia	42.37 ± 0.52 <sup>g</sup>
Chinese foxglove	80.22 ± 0.18 <sup>bc</sup>
Mulberry leave	64.79 ± 3.68 <sup>d</sup>
Onion peel	52.89 ± 2.39 <sup>f</sup>
Grape peel	83.18 ± 0.18 <sup>b</sup>
Mulberry	60.98 ± 1.78 <sup>c</sup>
Redbeet	34.68 ± 2.45 <sup>h</sup>

<sup>Z</sup>Data represent the mean values ± SD of three independent experiments.

<sup>Y</sup>Different letters indicate a significant difference by Duncan's multiple range test at p<0.05.

Table 4. APX activities of natural plant pigments

Natural plant pigment	APX activity (umol ascorbate oxidized/min/g DW)
Black rice	2.61 ± 0.06 <sup>d</sup>
Purple sweet potato	1.71 ± 0.10 <sup>g</sup>
Mature bitter melon	2.76 ± 0.10 <sup>cd</sup>
Paprika	2.20 ± 0.11 <sup>f</sup>
Red cabbage	2.39 ± 0.02 <sup>e</sup>
Yellow gardenia	1.29 ± 0.07 <sup>i</sup>
Blue gardenia	1.04 ± 0.06 <sup>j</sup>
Chinese foxglove	3.43 ± 0.13 <sup>b</sup>
Mulberry leave	3.88 ± 0.01 <sup>a</sup>
Onion peel	1.53 ± 0.08 <sup>h</sup>
Grape peel	2.84 ± 0.07 <sup>c</sup>
Mulberry	3.56 ± 0.16 <sup>b</sup>
Redbeet	2.66 ± 0.06 <sup>d</sup>

<sup>Z</sup>Data represent the mean values ± SD of three independent experiments.

<sup>Y</sup>Different letters indicate a significant difference by Duncan's multiple range test at p<0.05.

요구된다는 관점에서 본 실험의 결과는 의미있는 것으로 사료된다. 본 실험에서는 동결건조한 분말상의 천연색소를 시료로 사용한 점에서 SOD, APX, CAT 등의 항산화 효소 활성 간에 기능적으로 다소 차이를 보였지만, 생체시료에서는 다른 양상을 보일 수 있을 것으로 추측되므로 이에 대

Table 5. CAT activities of natural plant pigments

Natural plant pigment	CAT activity (umol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> decomposed/ min/mg DW)
Black rice	8.73 ± 0.09 <sup>de</sup>
Purple sweet potato	8.22 ± 0.15 <sup>de</sup>
Mature bitter melon	8.02 ± 0.57 <sup>de</sup>
Paprika	8.07 ± 0.81 <sup>de</sup>
Red cabbage	4.57 ± 0.55 <sup>g</sup>
Yellow gardenia	5.92 ± 0.32 <sup>fg</sup>
Blue gardenia	7.08 ± 0.08 <sup>ef</sup>
Chinese foxglove	16.38 ± 1.56 <sup>a</sup>
Mulberry leave	17.73 ± 1.82 <sup>a</sup>
Onion peel	8.91 ± 0.68 <sup>d</sup>
Grape peel	12.35 ± 0.59 <sup>b</sup>
Mulberry	12.62 ± 1.46 <sup>b</sup>
Redbeet	10.32 ± 1.03 <sup>c</sup>

<sup>Z</sup>Data represent the mean values ± SD of three independent experiments.

<sup>Y</sup>Different letters indicate a significant difference by Duncan's multiple range test at p<0.05.

한 비교실험도 필요하다고 본다. 본 연구를 통해 식품이나 향장소재 및 천연염색 소재로 활용가치가 높을 것으로 기대되는 다양한 천연식물색소에 대해서 높은 항산화효소 활성을 확인함으로써 향후 천연화장품, 건강기능성 식품 및 천연 항산화물질 개발의 가능성을 제시해준다고 할 수 있다.

## 적 요

선발된 13종의 천연색소 추출물에 대하여 free radical 소거활성 및 아질산염 소거활성, 그리고 항산화효소 활성에 대하여 조사하였다. 천연색소 종류별 free radical 소거활성을 보면 적양배추(red cabbage), 양파껍질(onion peel), 레드비트(redbeet), 흑미(black rice), 오디(mulberry) 색소 등에서 상대적으로 높게 나타났고, 청치자(blue gardenia) 및 황치자(yellow gardenia), 완숙여주(mature bitter melon) 색소 등에서는 비교적 낮은 활성을 보였다 또한 아질산염에 대한 소거능을 조사한 결과, 반응용액 pH 1.2의 경우 양파껍질, 레드비트, 치자황, 지황(chinese foxglove), 치자청 색소에서 높은 소거 활성을 나타냈으며, 적양배추와 오디 색소에서는 상대적으로 낮은 소거활성을 보였다. 그리고 반응용액 pH 6.0에서는 대부분의 색소 추출물에서 아질산염 소거활성을 나타내지 않았다. 그리고 항산화효소

활성 결과를 보면, SOD 활성의 경우 여주, 흑미, 포도과피 등에서 높은 활성을 나타냈고, 자색고구마, 지황에서도 비교적 높은 활성을 보였다. 또한 APX 활성은 뽕잎, 오디, 지황의 순으로 높은 활성을 보였으며, CAT 활성도 APX 결과와 비슷한 양상으로 나타났다. 이는 천연색소에 있어 항산화 효소의 종류에 따라 그 활성에 차이가 있음을 알 수 있다. 본 연구결과를 통해 다양한 생리활성을 지니고 있는 천연식물색소에 대해 높은 항산화 기능을 확인함으로써 향후 고부가가치의 향장소재 및 식품소재로서의 개발가능성이 매우 높음을 시사해 주고 있다.

## 사 사

본 연구는 농림수산식품부 농림기술개발사업 지원에 의해 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

- Aebi, H.E. 1983. Catalase: in methods of enzymatic analyses (Bergmeyer, H.U. ed.). Verlag Chemie. Weinheim. 3:273-282.
- Alscher, R.G. and J.L. Hess. 1993. Antioxidants in higher plants. CRC Press, Boca Ra ton. 1-174.
- Braford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochemistry 72:248-254.
- Choi, Y.M., M.H. Kim, J.J. Shin, J.M. Park and J.S. Lee. 2003. The antioxidant activities of the some commercial teas. J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr. 32(5):723-727 (in Korean).
- Greenblatt M., S. Mirvish and B.T. So. 1971. Nitrosamine studies: induction of lung adenomas by concurrent administration of sodium nitrite and secondary amines in Swiss mice. J. National Cancer Institute. 46:1029-1034.
- Han, B.S., K.H. Kim and I.S. Chung. 1998. Supercritical fluid extraction of safflower yellow pigments from *carthamus tinctorius* L. J. Kor. Soc. Agri. Chem. Biotech. 41(5):363-366 (in Korean).
- Jeong, C.H., S.G. Choi and H.J. Heo. 2008. Analysis of nutritional components and evaluation of functional activities of *Sasa borealis* leaf tea. Kor. J. Food Sci. Technol. 40(5):586-592 (in Korean).
- Joung, Y.M., S.J. Park, K.Y. Lee, J.Y. Lee, J.K. Suh, S.Y. Hwang, K.E. Park and M.H. Kang. 2007. Antioxidative and antimicrobial activities of *Lilium* species extracts prepared from different aerial parts. Kor. J. Food Sci. Tech.. 37(4):452-457 (in Korean).
- Kang, N.J., J.K. Kwon, H.C. Lee, H.B. Jeong and H.T. Kim. 2003. Antioxidant Enzymes as Defense Mechanism against Oxidative Stress induced by Chilling in *Cucurbita ficifolia* Leaves. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 44(5):605-610 (in Korean).
- Kim, H.K., Y.E. Kim, J.R. Do, Y.C. Lee and B.Y. Lee. 1995. Antioxidative activity and physiological activity of some Korean Medicinal Plants. Kor. J. Food Sci. Technol. 27(1):80-86 (in Korean).
- Kim, M.H., M.C. Kim, J.S. Park, J.W. Kim and J.O. Lee. 2001. The antioxidative effects of the water-soluble extract of pants used as tea materials. Kor. J. Food Sci. Technol. 33(1):12-18 (in Korean).
- Hong, T.G., Y.R. Lee, M.H. Yim and C.H. Choung. 2004. Physiological Functionality and Nitrite Scavenging Ability of Fermentation Extracts from Pine Needles. Kor. J. Food Preservation. 11(1):94-99 (in Korean).
- Lee, S.H., I.J. Hong, H.G. Park, S.S. Jew and K.T. Kim. 2003. Functional Characteristics from the Barley Leaves and its antioxidant mixture. J. Kor. Soc. Agric. Chem. Biotechnol. 46(4):333-337 (in Korean).
- Lee, S.J., M.J. Chung, J.H. Shin and N.J. Sung. 2000. Effect of natural plant components on the nitrite-scavenging. J. Fd Hyg. Safety. 15(2):88-94 (in Korean).
- Lee, S.O., M.J. Kim, D.G. Kim and H.J. Choi. 2005. Antioxidative activities of temperature-stepwise water extracts from *Inonotus obliquus*. J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr. 34(2):139-147 (in Korean).
- Lim J.A., B.W. Yun and S.H. Beak. 2007. Antioxidative Activity and Nitrite Scavenging Ability of Methanol Extract from *Salvia plebeia* R. Br. Kor. J. Medicinal Crop Sci. 15:183-188 (in Korean).
- Matkowsk, A. and M. Piotrowska. 2006. Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. Fitoterapia. 77:346-353.
- Min O.J., M.S. Kim, B.H. Kwak and D.Y. Rhyu. 2008. Peroxynitrite and Hydroxyl Radical Scavenging Activity

- of Medicinal Plants. Korean. J. Plant. Res. 21(4):254-259.
- Nakano Y. and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide os scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. Plant Cell Physiol. 22: 867-880.
- Park, S.E. 2004a. A barrier of the pigment industry in food using coloring agents (I). The Monthly Food Industry. 22(1): 65-83 (in Korean).
- Park, S.E. 2004b. A barrier of the pigment industry in food using coloring agents (II). The Monthly Food Industry. 22(2):75-95 (in Korean).
- Rein, D., T.G. Paglieroni, T. Wun, D.A. Pearson, H.H. Schmitz, R. Gosselin and C.L. Keen. 2000. Cocoa inhibits platelet activation and function. Am. J. Clin. Nutr. 72:30-35.
- Rhim, T.J. and M.Y. Choi. 2010. The antioxidative effects of Ampelopsis brevipedunculata extracts. Kor. J. Plant. Res. 23(5):445-450 (in Korean).
- Rice-Evans, C.A., N.J. Miller and G Paganga. 1996. Structure antioxidant activity relationship of flavonoids and phrnicolic acids. Free Radical Biol. Med. 20:933-956.
- Saija, A., D. Trombetta, A. Tomaino, R.L. Cascio, P. Princi, N. Uccella, F. Bonina and F. Castelli. 1998. 'In vitro' evaluation of the antioxidant activity and biomembrane interaction of the plant phenols oleu-ropein and hydroxy-tyrosol. Int J. Pharmacology. 166:123-133.
- Sanchez, C.S., A.M.T. Gozalez, M.C. Garcia-parrilla, J.J.Q. Granados, H.L.G. Serrana and M.C.L. Martinez. 2007. Different radical scavenging tests in vigin olive oli and their relation to the total phenol content. Anal. Chemical Acta. 593:103-107.
- Shin, J.H., J.Y. Lee, J.C. Ju, S.J. Lee, H.S. Cho and N.J. Sung. 2005. Chemical Properties and Nitrite Scavenging Ability of Citron (*Citrus junos*). J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr. 34(4):496-502 (in Korean).
- Wheeler, G.L., M.A. Jones and N. Smirnoff. 1998. The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. Nature 393(6683):363-369.

(접수일 2010.12.27; 수락일 2011.2.16)