

어젠다코드	1 - 6 - 21		구분	완결	
기술분야코드	V1	기술유형코드	H03	작목구분코드	FR-03-FR36
과제종류	기관고유		세세부사업		
연구과제 및 세부과제			수행기간	소속	과제책임자
기능성 천연 식용색소 소재화연구			'14~'17	농식품연구소	김희연
1) 색소 추출 및 안정화 방법 확립			'14~'16	농식품연구소	김희연
2) 색소 추출물의 기능성 탐색			'14~'16	농식품연구소	김시창
색인용어	식용색소, 기능성, 식물				

ABSTRACT

We investigated a functional color material from plants in Gangwon Province. Eventually, we selected 4 species (omija, *Eleutherococcus senticosus* fruits, *Angelica gigas* leaves, Corn). The fruits extract of Chinese Magnolia Vine(*Schizandra chinensis* Baill.) is a red color, and has excellent anti oxidant activity and anti-diabetes activity. *Eleutherococcus senticosus* fruits extract is a red color, and has excellent antioxidant and anti-diabetes activity. *Angelica gigas* leaves extract is green and brown colors and has excellent anti-diabetes and anti-inflammatory activities. Corn extract is yellow and has excellent anti oxidant activity. Extracts of 4 species were easy to extract and make powders. Functional pigment extracts are expected to be applied to the processed goods in Gangwon-do.

1. 연구목표

천연색소는 고가이고, 발색 및 안정성 등에서 문제가 있다고 여겨져 왔으나, 제제나 관련기술이 개발되고, 천연색소의 기능성 성분에 관한 연구가 진행됨에 따라 최근주목 받기 시작하였다. 천연 식용색소 시장 점유율은 39%로 연간 성장률 4~5%이며, 국내 천연 식용색소 시장규모('10)는 약 270억원으로, 가공식품시장의 성장과 합성색소를 비롯한 인공 첨가물에 대한 소비자의 불안감으로 인해 합성착색료에서 천연지향적인 천연색소로의 전환이 진행되고 있다. 천연색소를 개발하기 위하여 검정콩, 오디, 구기자, 자색고구마, 유색미, 약용작물 등으로부터 색소자원 선별, 기능성 검정, 추출방법 안정화 등 다양한 연구가 현재 진행중이며, 오감만족 김치, 컬러 쌀국수(방풍나물, 자색 고구마 이용), 분홍 막걸리(천년초 선인장), 다양한 천연 색소 비타민 음료 등 컬러푸드 마케팅을 활발히 이용하고 있다. 현재 천연 식용색소는 빛, 열, pH, 산화 등에 대한 안정성의 향상, 색의 조화 향상, 색의 강도와 명도 향상, 수분산형 유용성 색소의 개발, 수용성 색소의 유분산 기술, 소비자 비선호 성분교체, 신규 천연색소 개발 등이 요구되고, 식용 가능한 식물자원으로부터 기능성 천연색소 자원 소재 선별 및 소재별 색소 추출물의 안정화방법 확립이 필요하다.

2. 재료 및 방법

〈제1세부과제 : 색소 추출 및 안정화 방법 확립〉

(시험 1) 식용 가능한 소재 확보 및 추출방법별 색소 변화 측정

본 연구는 색소 후보자원의 잎 부분은 세척 후, 냉풍제습건조기를 사용하여 40℃에서 건조 후 마쇄하여 사용하였고, 열매부분은 종자제거 유무에 따른 착즙액을 사용하였고, 분말은 동결건조 후, 사용하였다.

(시험 2) 후보 소재의 공급 제형별 색소 안정화 방법 확립

색소의 최적 추출을 위하여 pH, 추출온도, 추출 시간에 따라 색소를 추출하였다. 분쇄된 시료 각각 1 g을 3차 증류수 100 ml을 첨가하여 추출하였다. pH가 조정된 각각의 추출용매에 시료를 넣어 60℃에서 2시간 동안 추출하였다. 최적 색소 추출을 위한 추출 온도와 시간에 따른 추출 정도를 알아보기 위하여 시료를 추출온도 4, 15, 50℃에서 각각 12 시간 동안 shaking water bath에서 추출하였다.

(시험 2) 색소 지표성분 분석

가. 총안토시아닌 함량 측정

건조분말시료 0.1 g에 1% citric acid가 함유된 60% 에탄올을 10 mL씩 첨가하고 12시간동안 상온 교반하여 2회 반복 추출하였다. 추출액을 0.45 μ m membrane filter에 통과시켜 분광광도계 (Evolution 201, Thermo, Waltham, MA, USA)를 사용하여 535nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 cyanidin 3-O-glucoside chloride(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하여 정량곡선을 작성하고 총 안토시아닌 함량을 정량하였다.

나. 카로테노이드 함량 측정

카로테노이드(Lutein, zeaxantin, beta-carotene, alpha-carotene) 함량은 시료 0.2g에 CHCl₃:MeOH(1:1) 10ml를 넣고 2시간 진탕 후 감압농축하고, CHCl₃:MeOH(8:2)로 재용해하여 HPLC로 측정하였다.

표 1. 카로테노이드 분석 조건

사용 기기	조 건
HPLC	Nano space SI-2
Detector	UV_460nm
column	Cadenza CL-C18, 150*3mm, 3 μ m
column Temp (°C)	37 °C
Injection volume (μ L)	5 μ L
run time (min)	50 min
mobile phase	A : 90% MeOH, B : 100% MeOH

다. 총 폴리페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법(Folin and Denis, 1915)을 응용하여, 각 추출물 1 mg을 95% 에탄올 1 mL에 녹이고 2~10배 희석한 희석액 2 mL에 Folin 시약 2 mL을 첨가하고 잘 혼합하여 5분간 방치한 후 2 mL의 10% Na₂CO₃를 혼합하여 1시간 동안 방치한 후 UV/VIS spectrophotometer (DU 730, Beckman Coulter, Brea, CA, USA)로 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 garlic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 구하였으며, 표준곡선은 garlic acid 최종 농도가 0, 100, 200, 300, 400, 500 µg/mL이 되도록 하여 725 nm에서 흡광도를 측정한 후 작성하였다. 총 플라보노이드 함량은 각 추출물 1 mg을 95% 에탄올 1 mL에 용해시키고 diethylenglycol 2 mL, 1 N NaOH 0.02 mL를 혼합하여 37°C에서 1시간 동안 방치한 후 UV/VIS spectrophotometer (DU 730, Beckman Coulter)로 420nm에서 흡광도를 측정하였다(Boo *et al.*, 2009). 총 플라보노이드 함량은 naringin을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 구하였으며, 표준곡선은 naringin의 최종 농도가 0, 100, 200, 300, 400, 500 µg/mL이 되도록 하여 420 nm에서 흡광도를 측정 후 작성하였다.

〈제2세부과제 : 색소 추출물의 기능성 탐색〉

(시험 1) 색소 추출물의 선별을 위한 기능성 실험

가. DPPH 및 ABTS radical 소거활성 측정

추출물에 대한 항산화 활성은 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Sigma-Aldrich) 및 ABTS(2,2-azino-bis-3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid, Sigma-Aldrich) radical의 소거활성을 측정하였다. DPPH radical 소거활성은 Blois의 방법(Blois, 1958)을 변형하여 측정하였으며, 각 농도의 황기 추출물 50 µl 에 0.2 mM DPPH용액 100 µl를 혼합하여 실온에서 30분간 반응 시키고 microplate reader(UVM 340, ASYS Hitech GmbH, Engendorf, Austria)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였고, 각 시료를 3회 반복 실시하여 평균하였다. ABTS radical 소거활성은 7.4 mM ABTS와 2.6 mM potassium persulfate를 혼합 후 실온 암소에서 15시간 동안 방치하여 radical을 형성시킨 후 이 용액을 734 nm에서 흡광도 값이 0.70 ± 0.02 가 되도록 에탄올로 희석한 후, 희석된 ABTS용액 0.8 mL에 황기 추출액 0.2 mL을 가하여 실온에서 15분 동안 방치한 다음 microplate reader를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다(Houghton and Soumyanath, 2006). DPPH 및 ABTS radical 소거활성은 시료 용액의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율로 나타냈으며, 기존의 항산화제인 Ascorbic acid(Sigma, St. Louis, MO, USA)를 대조물질로 사용하여 활성을 비교하였다.

나. α-Amylase 저해활성

α-Amylase의 저해활성(Fuwa, 1954)은 5 g의 agar와 5 g의 가용성 전분을 500 ml 증류수에 녹여 멸균한 후, 15 ml씩 분주하여 plate를 제조하였다. 10 mg/ml 농도의 산채 추출물과 200 Unit/ml 농도의 α-amylase(porcine pancreas, Sigma, St Louis, MO, USA)를 혼합하여 항생물질 검정용

여과지(paper disc, Advantec, Tokyo, Japan) 위에 각각 분주하여 평판배지위에 올려놓고 37℃에서 3일간 배양한 후, I₂/KI(5 mM I₂ in 3% KI) 5 ml를 가하여 15분간 발색시킨 후 면적의 측정은 clear zone의 반지름을 측정하여 πr^2 로 계산하여 다음의 식으로 저해율을 계산하였다(Houghton and Soumyanath, 2006). 대조구로는 acarbose를 사용하였으며, 시료와 같은 농도로 제조하여 측정하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \frac{\text{대조구의 면적} - \text{반응구의 면적}}{\text{대조구의 면적}} \times 100$$

다. α -Glucosidase 저해활성

α -Glucosidase 저해활성(Wang *et al.*, 2006)은 10 mg/ml 농도의 산채 추출물과 0.15 U/ml α -glucosidase 효소액 50 μ L 및 0.2 M potassium phosphate buffer(pH 6.8) 360 μ L를 혼합하여 405 nm에서 흡광도를 측정한 다음, 5분간 실온에서 유지하고 5 mM 4-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside(pNPG) 50 μ L를 가하여 실온에서 10분간 더 반응시킨 뒤 동일한 파장에서 흡광도를 측정하였고, 흡광도의 변화로부터 효소 저해활성을 계산하였다.

라. Nitric oxide 생성량 및 세포독성 측정

Nitric oxide(NO) 생성량은 한국세포주은행에서 분양받은 RAW264.7 세포주(mouse macrophage cell line)를 이용하여 측정하였다. RAW264.7 세포주는 10% FBS가 함유된 DMEM media를 이용하여 계대배양하였으며, NO 생성량 측정을 위해 96 well plate에 1×10^5 cells/well의 농도로 분주하여 24시간 동안 배양한 다음 황기 추출물을 최종 100 μ g/mL의 농도가 되도록 처리하여 24시간 배양 후 NO 생성량을 확인하였다. NO의 정량은 상등액 100 μ L를 회수하여 griess reagent(Fluka Chemie AG, Buchs, Switzerland)를 첨가하여 상온에서 15분간 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포가 생성한 NO는 sodium nitrate로 표준곡선을 작성한 후 NO 함량을 정량하였으며, 대조구는 lipopolysaccharide(LPS)를 0.1 μ g/mL의 농도로 처리하였다. 황기 추출물의 세포독성은, RAW264.7 세포주를 1×10^5 cells/well의 농도가 되도록 희석하여 100 μ L씩 96 well plate에 분주한 후 24시간 동안 37℃ CO₂ incubator에서 배양한 다음, 황기 추출물을 최종농도가 100 μ g/mL이 되도록 처리하여 37℃ CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 24시간 후 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide(MTT) 용액을 첨가하여 동일한 배양조건에서 4시간 동안 배양한 다음, 생성된 formazan결정을 DMSO에 녹여서 microplate reader를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포의 생존율은 시료를 처리하지 않은 대조군에 대비한 시료 처리군의 흡광도로 표시하였다.

$$\text{세포 생존율(\%)} = (\text{시료 처리군의 흡광도} / \text{대조군의 흡광도}) \times 100$$

(시험 2) 최종 선발된 색소 추출물의 기능성 검증(동물실험)

가. 실험재료

본 실험에 사용한 자색옥수수포엽 시료는 강원도농업기술원 옥수수연구소에서 2013년에 수확하여 냉풍제습건조기에 넣고 30℃에서 72시간 건조 후 세절하여 분말 시료량에 10배(v/w)에 해당하는 60% ethanol(1% 구연산 함유)을 첨가하여 상온에서 200 rpm의 진탕기(EUROSTAR digital, IKA, Staufen, Germany)에서 12시간 동안 2회 추출하였다. 추출물을 여과지(No. 2, Whatman, Maidstone, England)가 깔려있는 Buchner funnel을 통과시켜 잔재물을 제거한 후 rotary vacuum evaporator(N-21NS, EYELA, Tokyo, Japan)로 50℃에서 감압농축 시킨 후 동결건조기를 이용하여 건조한 후 -20℃의 냉동고에서 보관하면서 동물실험용 시료로 사용하였다.

나. 실험동물 및 사육 환경

실험동물은 Sprague Dawley(SD)계 4주령 옹성 흰쥐 40마리를 (주)오리엔트바이오(Seongnam, Korea)에서 구입하여 1주일간 rat용 일반사료(5L79 PMI Inc., St. Louis, MO, USA)로 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험기간 동안 실험동물은 습도50%±5%, 온도 24±2℃ 유지되는 동물 실험실에서 사육하였으며, 물과 사료는 자유로이 섭취할 수 있도록 공급하였다. 본 동물실험은 강원도 농업기술원 동물실험윤리위원회의 승인을 거쳐 진행하였다.

다. 실험군 분리 및 식이

1주일간 실험실에서 적응된 실험동물을 난괴법(randomized block design)에 따라 각 처리군당 10마리씩 총 6군으로 나누어 실험에 사용하였고, 군 분리, 투여물질, 투여물질의 용량은 표 2와 같다. 군 분리 후 정상군, 대조군과 자색옥수수 포엽 추출물 투여군, 양성대조군(실리마린 투여군)에는 AIN-93G 사료를 시험 개시일부터 시험 종료시점인 1 주간 자유 급여 방법으로 공급하였으며, 자색옥수수 포엽 추출물 투여군과 양성대조군은 4일 동안 표 2의 용량으로 경구 투여하였다. 마지막 경구 투여 2시간 후 아세트아미노펜을 복강에 투여하여 급성간독성을 유발하였다.

표 2. Classification of experimental group and dose administration.

Experimental group	Diet	Treatment chemical	mg/kg body weight
Normal		—	—
Control		—	—
Treatment 1	AIN-93G	자색옥수수 포엽	100
Treatment 2		자색옥수수 포엽	300
Treatment 3		자색옥수수 포엽	500
Positive control		silymarin	1,200

라. 체중 및 식이섭취량의 변화

체중, 음수섭취량 및 사료섭취량은 시험 개시일과 개시 후 측정하였다.

마. 혈액 채취 및 혈액생화학적 검사

시험 종료일에 Zoletil : Rumpun(4:1)으로 마취(복강주사 50 μ L/100g body weight) 후 복대 정맥에서 2 mL 채혈하여 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리하였다. 그 다음 상등액을 취하여 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청 중 total cholesterol, triglyceride, HDL(high density lipoprotein)-cholesterol, LDL(low density lipoprotein)-cholesterol, LDH를 자동혈청분석기(BT1000, Biotechnical Instrument, Rome, Italy)를 이용하여 분석하였다.

바. 장기중량 및 지방조직 무게 측정

시험 종료일 복대정맥 채혈 후 방혈을 실시하였으며 간 중량, 부고환 지질 중량, 복강 내의 지방 세포 조직의 중량을 측정하기 위해 적출하였으며 흡수지에 체액 및 혈액을 제거 후 각각의 중량을 측정하였다.

사. 통계처리

실험 결과는 평균값과 표준편차로 나타내었으며, 통계처리는 SPSS(statistical package for social sciences, version 12.0, SPSS Inc., Chicago, USA)를 이용하여 one-way ANOVA 분석을 실시한 후 Duncan's multiple range test로 유의성을 p<0.05 수준에서 검증 하였다.

3. 결과 및 고찰

<제1세부과제 : 색소 추출 및 안정화 방법 확립>

(시험 1) 식용 가능한 소재 확보 및 추출방법별 색소 변화 측정

오미자, 가시오갈피 열매, 꿀풀꽃을 용매별(In 1% citric acid)로 추출 후, 수율을 측정한 결과, 60~80% 에탄올 추출물이 가장 높은 경향이었으며, 자색옥수수 포엽은 추출수율은 60% 에탄올 추출물이 높았으나, 총 안토시아닌은 80% 에탄올 추출물이 높았다. 꿀풀꽃의 추출수율은 30%대로 수율이 낮아 최종선발에서 제외하였다.

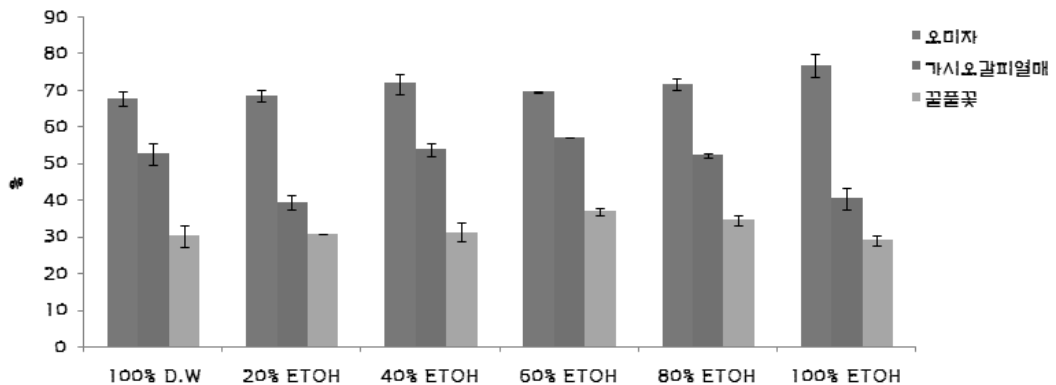


그림 1. 오미자, 가시오갈피열매, 꿀풀 꽃의 용매별 추출 수율

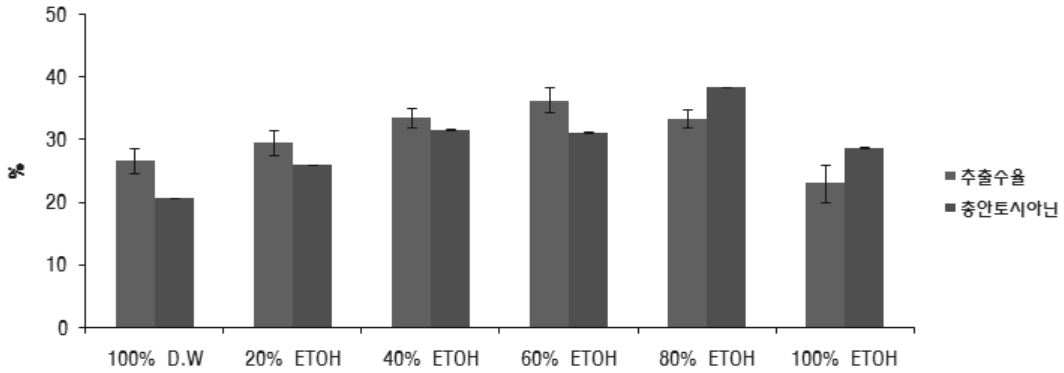


그림 2. 자색옥수수 포엽의 추출수율 및 총안토시아닌 함량

(시험 2) 후보 소재의 공급 제형별 색소 안정화 방법 확립

자색옥수수 포엽의 추출용매의 종류, 온도, pH에 따른 총안토시아닌 함량변화를 측정한 결과, 60% 에탄올 추출했을 때 가장 높았으며, 온도별로 큰차이가 없었으나, 추출용매의 pH에 따라서는 차이가 나타났다. 자색옥수수 포엽은 본 결과를 바탕으로 신규 공동연구과제에 응모를 위해 최종 선발에서 제외하였다.

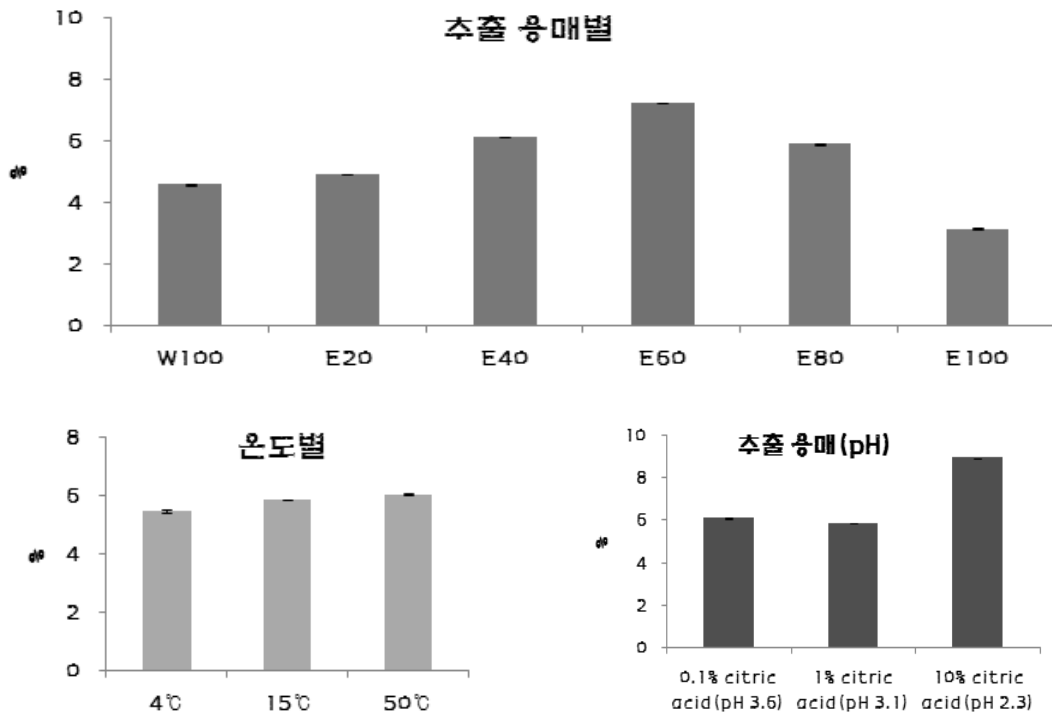


그림 3 자색옥수수 포엽의 처리별 총안토시아닌 함량 변화

오미자의 용매별 추출 수율 및 총안토시아닌 함량을 분석한 결과, 오미자의 수율은 에탄올 100%을 제외하고 비슷한 수준이었으며, 오미자의 총안토시아닌 함량은 물 100% 추출물이 가장 높았다.



그림 4. 오미자의 생과(좌), 건체 분말(중), 추출용매별 사진(우)

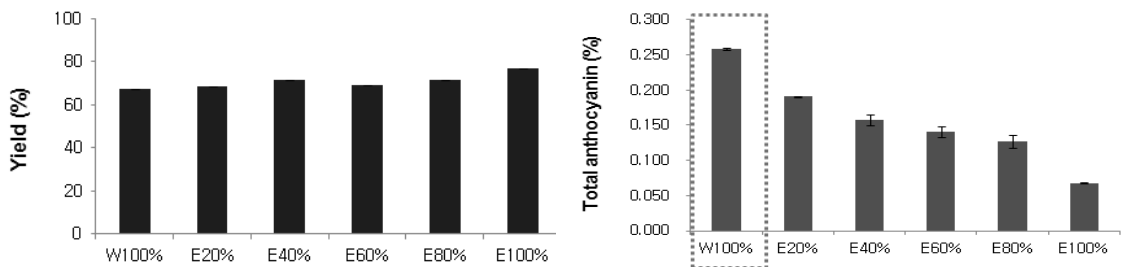


그림 5. 오미자 추출 수율(좌) 및 총안토시아닌 함량(우)

오미자 착즙액의 이화학적 특성을 분석한 결과, 쓴맛을 내는 오미자 종자를 제거한 오미자 과육 착즙액의 총 당도와 산도가 매우 높아 첨가량에 따른 가공식품의 관능검사 필요함을 시사하였다.

표 3. 오미자 착즙액의 이화학적 특성

색도			Sugar content (Brix)	Fructose (%)	Glucose (%)	Acidity (%)
L (Lightness)	a (redness)	b (yellowness)				
26.04±0.01	57.15±0.06	44.74±0.04	11.8±0.5	2.24±0.04	4.31±0.25	20.3±1.4

가시오갈피 열매의 용매별 추출 수율 및 총안토시아닌 함량을 분석한 결과, 추출 수율은 에탄올 40~60% 함량에서 가장 높았고, 총안토시아닌 함량은 에탄올 60%에서 가장 높았다.



그림 6. 가시오갈피 열매의 생과(좌), 건체 분말(중), 추출용매별 사진(우)

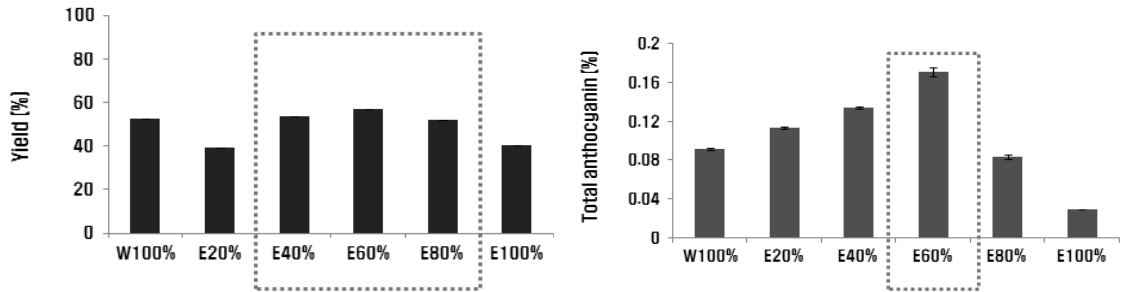


그림 7. 가시오갈피 열매 추출 수율(좌) 및 총안토시아닌 함량(우)

가시오갈피 열매 추출물의 이화학적 특성을 분석한 결과, 가시오갈피 열매 추출물의 색상은 자색 이고, 총당도는 0.1brix, 산도는 0.04%로 매우 낮았다.

표 4. 가시오갈피 열매 추출물의 이화학적 특성

색 도			Sugar content (Brix)	Fructose (%)	Glucose (%)	Acidity (%)
L (Lightness)	a (redness)	b (yellowness)				
60.17±0.01	11.03±0.01	28.43±0.01	0.10±0.01	1.54±0.08	0.36±0.04	0.04±0.01

참당귀 잎 분말의 용매별 추출 후 발현 색상을 살펴본 결과, 에탄올 추출물에서는 녹색, 물 추출물에서는 갈색, 50% 에탄올 추출물에서는 황색으로 여러 색상의 색소 분말조제가 가능하였다.

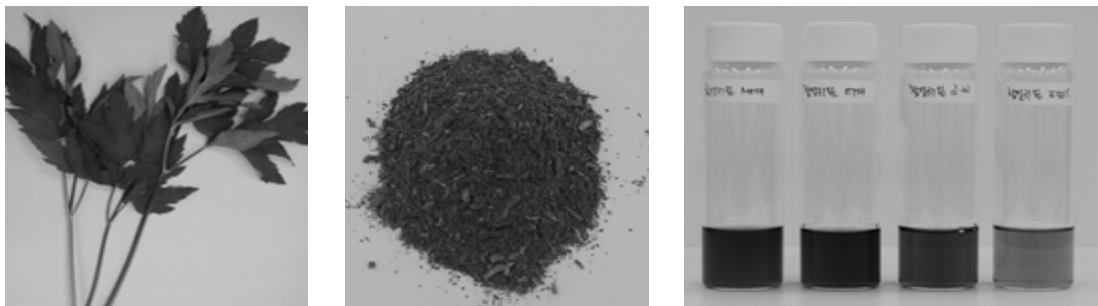


그림 8. 참당귀 잎의 생체(좌), 건체 분말(중), 추출용매별 사진(우)

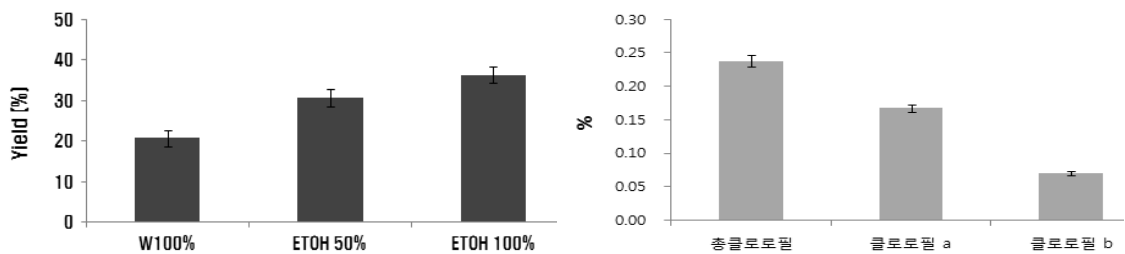


그림 9. 참당귀 잎의 추출 수율(좌) 및 클로로필 함량(우)

참당귀 잎 물추출물의 이화학적 특성을 분석한 결과, 참당귀 잎 물 추출물의 색상은 황색이고, 총당도는 0.9brix, 산도는 2.84%였다.

표 5. 참당귀 잎 추출물의 이화학적 특성

색 도			Sugar content (Brix)	Acidity (%)
L (Lightness)	a (redness)	b (yellowness)		
67.18±0.06	-2.35±0.01	40.74±0.04	0.90±0.01	2.84±1.07

황옥 알곡의 용매별 추출 후 발현 색상을 살펴본 결과, 에탄올 추출물에서 노란색을 나타내었고, 황옥 알곡의 카로테노이드 함량 분석결과 lutein, zeaxantin 각각 0.12, 0.04 mg/100g을 확인하였다.

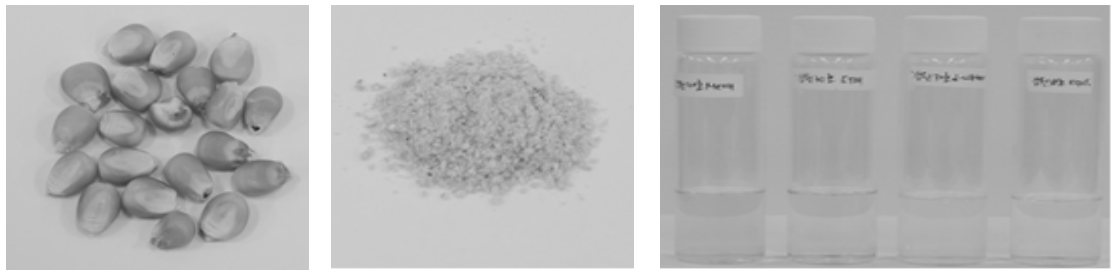


그림 10. 황옥(강일옥)의 알곡(좌), 분말(중), 추출용매별 사진(우)

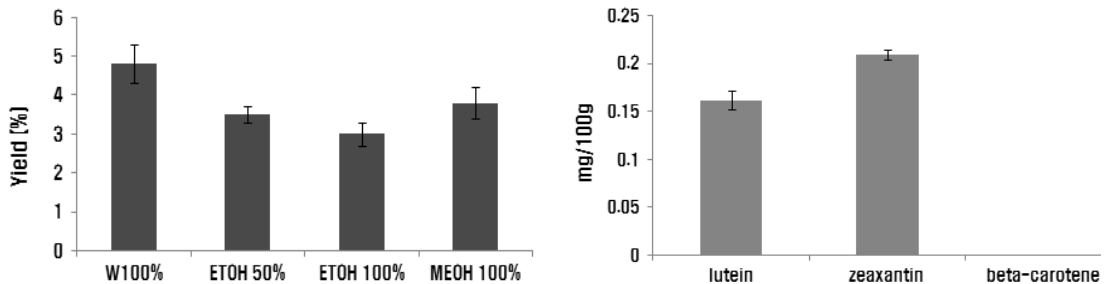


그림 11. 황옥(강일옥) 알곡의 추출 수율(좌) 및 카로테노이드 함량(우)

황옥(강일옥)알곡 물추출물의 이화학적 특성을 확인한 결과, 색상은 옅은 미색이었으며, 총당도는 0.5 brix, 총산도는 0.91%였다.

표 6. 황옥(강일옥) 알곡 추출물의 이화학적 특성

색 도			Sugar content (Brix)	Acidity (%)
L (Lightness)	a (redness)	b (yellowness)		
84.85±0.17	-0.84±0.01	-5.84±0.01	0.50±0.01	0.91±0.05

(시험 3) 선발 소재의 농축액 및 건조분말

농축액 및 건조 분말은 각종 가공식품 적용 편이성 높아 주로 사용되는 제형으로, 오미자, 참당귀 잎, 강일옥 알곡 모두 농축액 및 분말조제가 용이하였다.



그림 12. 추출물의 농축액(좌), 건조분말(우)

<제2세부과제 : 색소 추출물의 기능성 탐색>

(시험 1) 색소 추출물의 선발을 위한 기능성 실험

자색옥수수 포엽, 꿀풀 꽃 추출물 용매별(In 1% citric acid)로 0.01 mg/ml 처리시 RAW 264.7 cell에서 세포독성은 나타나지 않았고, 자색옥수수 포엽, 꿀풀 꽃 추출물 용매별(In 1% citric acid)로 처리시 항산화 효과는 모두 높았다.

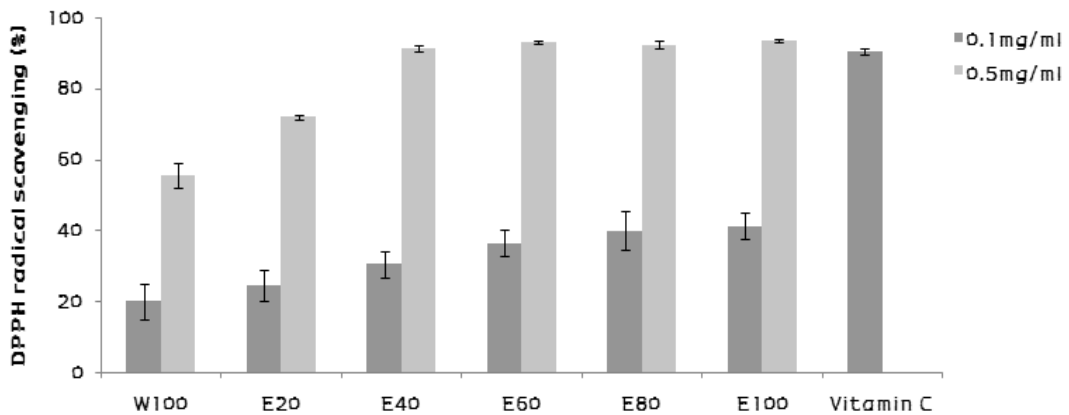


그림 13. 꿀풀 꽃의 항산화 활성

자색옥수수 포엽, 꿀풀 꽃 추출물 용매별로 RAW 264.7 cell에서 NO 함량 측정 결과, 자색옥수수 포엽, 꿀풀 꽃 추출물에서 NO 함량이 억제되었다. 자색옥수수 포엽 추출 용매별로 RAW 264.7 cell에서 NO(0.001 mg/ml 처리) 측정 결과, NO 함량은 에탄올 20% 추출물에서 가장 낮았고, 꿀풀 꽃은 80% 에탄올 추출물이 가장 낮았다.

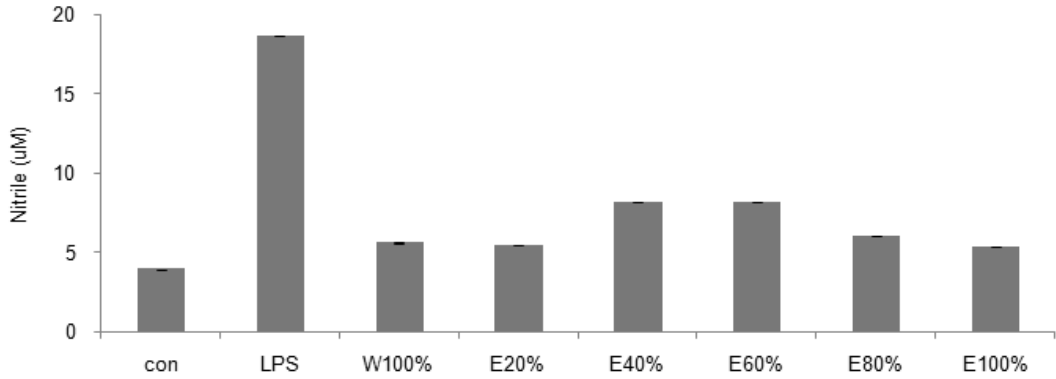


그림 14. 자색옥수수 포엽 추출 용매별 NO 함량 변화

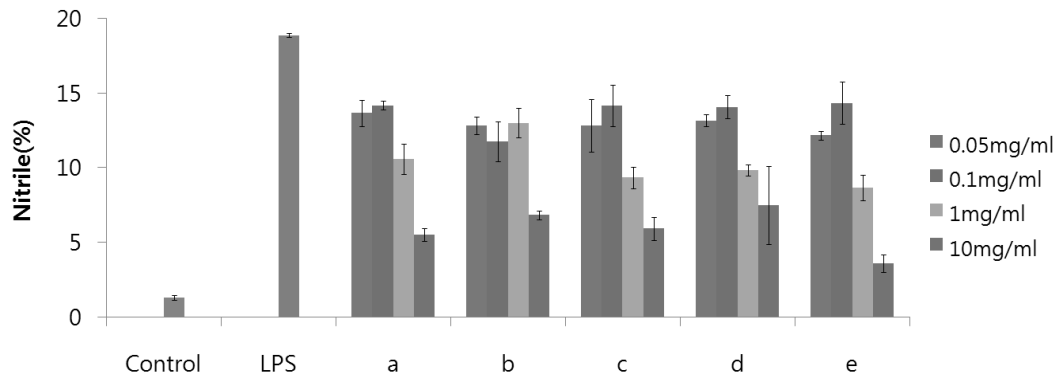


그림 15. 꿀풀 꽃 추출물의 NO 함량 측정

(a: 100% D.W, b: 20% EtOH, c: 40% EtOH, d: 60% EtOH, e: 80% EtOH, f: 100% EtOH)

오미자 종자를 제거한 생과를 분쇄하여 1% 구연산을 포함하고 에탄올과 물의 비율을 달리한 용매로 추출, 농축하여 분석시료로 사용함. 오미자 추출물의 항산화 활성은 에탄올 40~80% 함유되었을 때 항산화 활성과 항당뇨 활성이 높음을 확인하였다.

표 7. 오미자 추출물의 항산화 활성

DPPH radical scavenging (%)					
	10mg/ml	1mg/ml	0.5mg/ml	IC ₅₀ (mg/ml)	
Vit. C	91.30 ± 0.34	91.66 ± 0.72	-	-	
W100%	90.45 ± 0.52	25.58 ± 3.08	16.94 ± 4.31	4.59	
E 20%	96.01 ± 1.09	29.35 ± 3.36	17.67 ± 1.22	4.13	
1% citric acid	E 40%	96.37 ± 0.30	40.25 ± 3.92	25.94 ± 5.25	3.23
E 60%	94.81 ± 2.03	38.20 ± 3.92	24.64 ± 5.25	3.46	
E 80%	95.90 ± 0.60	38.13 ± 4.12	26.63 ± 6.47	3.32	
E 100%	91.79 ± 0.54	22.80 ± 2.34	14.01 ± 2.56	4.73	

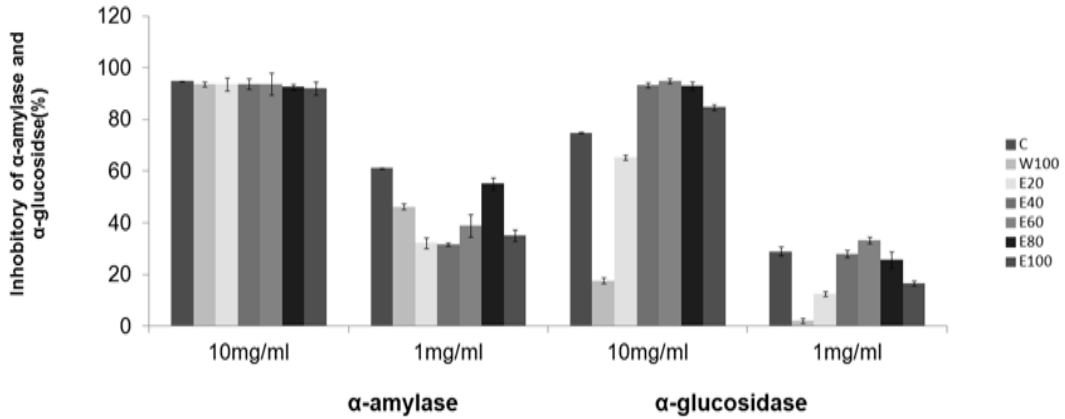


그림 16. 오미자 추출물의 항당뇨 활성

가시오갈피 열매 추출물(80%에탄올) 10mg/ml 처리시 DPPH 라디칼 소거능은 66%, ABTS 라디칼 소거능은 59%로 높은 항산화 활성을 나타냈다.

표 8. 가시오갈피 열매의 항산화 효과

	DPPH radical scavenging activity(%)	ABTS radical scavenging activity(%)	superoxide dismutase-like activity(%)
ascorbic acid	86.94 ± 0.11	94.03 ± 0.40	98.77 ± 0.61
가시오갈피 열매추출물(10mg/ml)	65.59 ± 0.55	59.11 ± 0.70	-

가시오갈피 열매 추출물(80%에탄올) 10mg/ml 처리시 탄수화물저해효소인 아밀레이즈 활성 59% 억제, 글루코시데이즈 활성 92%을 나타냈다.

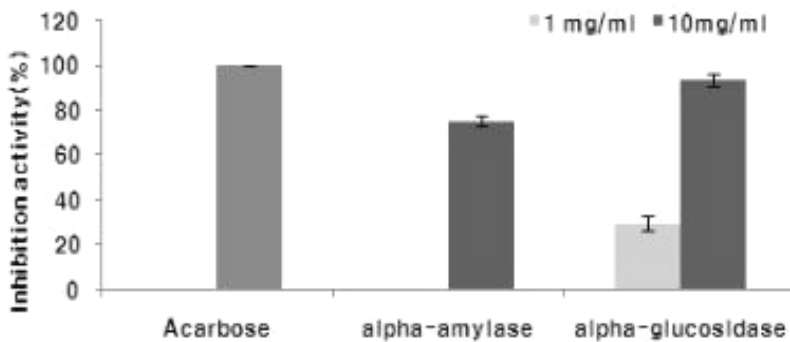


그림 17. 가시오갈피 열매 추출물의 항당뇨 효과

참당귀 잎 추출물의 생리활성을 검정한 결과, 추출물 10 mg/ml 처리시 DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능이 각각 92, 98%임을 확인하였다.

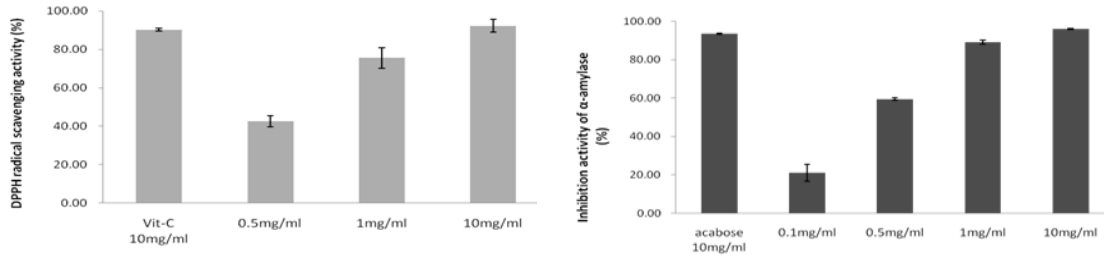


그림 18. 참당귀 잎의 항산화 활성

황옥 알곡 추출물(60% 에탄올)의 생리활성을 검정한 결과, 추출물 10 mg/ml 처리시 DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능이 각각 76, 58%임을 확인하였다.

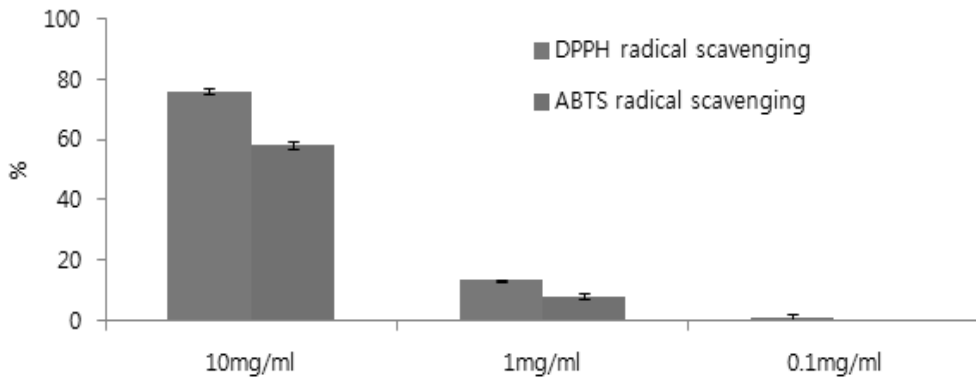
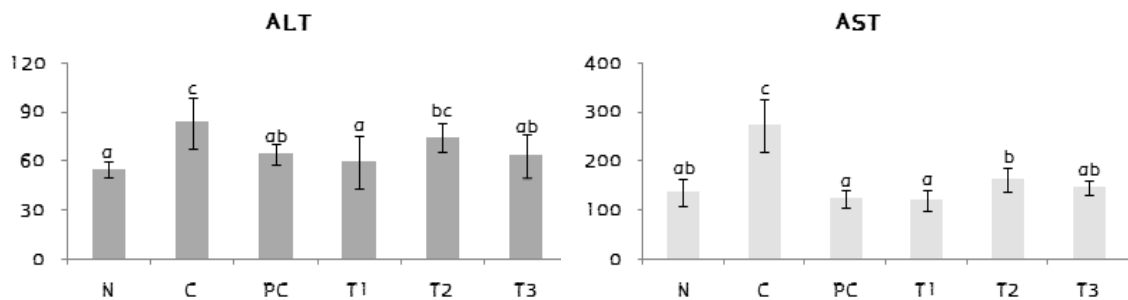


그림 19. 황옥(강일옥) 알곡 추출물의 항산화 활성

(시험 2) 최종 선발된 색소 추출물의 기능성 검정(동물실험)

아세트아미노펜으로 유도한 SD-rat 대상 급성 간독성 효과(정상군, 대조군, 양성대조군(silymarin), 자색옥수수 포엽 100, 300, 500 mg/kg 처리군) 처리군은 각각의 용량으로 4일간 경구 투여 후 아세트아미노펜(1.2g/kg) 처리한 후, 간보호효과 지표인 ALT, AST, LDH를 측정한 결과, 자색옥수수포엽 모든 처리군이 양성대조군인 silymarin과 동등한 효과를 나타냈다.



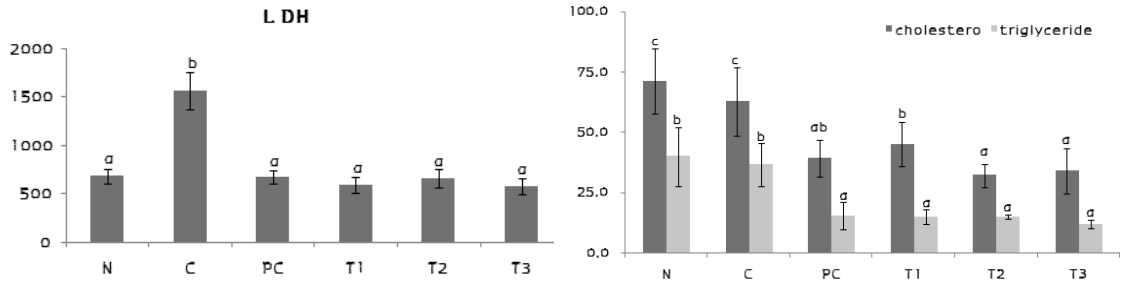


그림 20. 자색옥수수 포엽 추출물의 간보호효과

4. 적 요

〈제1세부과제 : 색소 추출 및 안정화 방법 확립〉

- 가. 자색옥수수 포엽, 오미자, 가시오갈피 열매, 꿀풀꽃 용매별 추출 결과, 60~80% 에탄올 추출물이 가장 높은 경향이였다. 꿀풀꽃의 추출수율은 30%대로 너무 낮아 최종선발에서 제외하였다.
- 나. 오미자 : 오미자의 수율은 에탄올 100%을 제외하고 비슷한 수준이었으며, 오미자의 총안토시아닌 함량은 물 100% 추출물이 가장 높았고, 총 당도와 산도가 매우 높았다.
- 다. 가시오갈피 열매 : 가시오갈피 열매의 용매별 추출 수율 및 총안토시아닌 함량은 60% 에탄올가장 높았고, 이화학적 분석결과, 물 추출은 색상은 다홍색을 띄었으며, 총산도는 0.1 brix, 산도는 0.44%로 나타났다.
- 라. 참당귀 잎 : 참당귀 잎 분말의 에탄올 추출물에서는 녹색, 물 추출물에서는 갈색, 50% 에탄올 추출물에서는 황색을 나타냄. 에탄올 추출물에서 총클로로필의 함량은 0.24%였음. 여러 색상의 참당귀 잎 추출물 분말 확보가 가능하였다.
- 마. 황옥(강일옥) 알곡 : 황옥 알곡의 에탄올 추출물에서 노란색을 나타내었고, 황옥 알곡의 카로테노이드 함량 분석결과 lutein, zeaxantin 각각 0.12, 0.04 mg/100g을 확인하였다.

〈제2세부과제 : 색소 추출물의 기능성 탐색〉

(시험 1) 색소 추출물의 선발을 위한 기능성 실험

- 가. 자색옥수수 포엽 추출물은 항산화, 항염, 항당뇨 활성이 높았으며, 동물실험에서 급성 간독성으로 인한 간보호효과가 높음을 확인하였다.
- 나. 오미자 : 오미자 추출물의 항산화 활성은 에탄올 40~80% 함유되었을 때 항산화능과 항당뇨능이 높음을 확인하였다.
- 다. 가시오갈피 열매 : 가시오갈피 열매 에탄올 80% 추출물의 항당뇨, 항산화 활성을 확인하였다.
- 라. 참당귀 잎 : 참당귀 잎 추출물의 생리활성을 검증한 결과, 추출물 10 mg/ml 처리시 DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능이 각각 92, 98%임을 확인하였다.

마. 황옥(강일옥) 알곡 : 황옥 알곡 추출물(60% 에탄올)의 생리활성을 검정한 결과, 추출물 10 mg/ml 처리시 DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능이 각각 76, 58%임을 확인하였다.

(시험 2) 최종 선발된 색소 추출물의 기능성 검증(동물실험)

가. 자색옥수수 포엽 추출물 대상 동물실험에서 급성 간독성으로 인한 간보호효과가 높음을 확인하였다.

5. 인용문헌

Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature, 181:1198-1201.

Choi, H. J., Jeong, Y. K., Kang, D. O., Joo, W. H. 2008. Inhibitory effects of four solvent fractions of *Alnus firma* on α -amylase and α -glucosidase. J Life Sci, 18:1005-1010.

Cho, M. H., Lee, D. J., You, S. G. 2012. Radical scavenging activity of ethanol extracts and solvent partitioned fractions from various red seaweeds. Ocean and Polar Research, 34:445-451.

Choi, H. J., Jeong, Y. K., Kang, D. O., Joo, W. H. 2008. Inhibitory effects of four solvent fractions of *Alnus firma* on α -amylase and α -glucosidase. J Life Sci, 18:1005-1010.

Green, L. C., Wagner, D. A., Glogowski, J., Skipper, P. L., Wishnok, J. S., Tannenbaum, S. R. 1982. Analysis of nitrate, nitrite and [15N]nitrate in biological fluids. Anal Biochem, 126:131-138.

Heo, J. S., Cha, J. Y., Kim, H. W., Ahn, H. Y., Eom, K. E., Heo, S. J., Cho, Y. S. 2010. Bioactive materials and biological activity in the extracts of leaf, stem mixture and root from *Angelica gigas* Nakai. J Life sci, 20:750-759.

Li C. Y., Kim H. W., Won S. R., Min H. K., Park K. J., Park J. Y., Ahn M. S., Rhee H. I.: 2006. Corn husk as a potential source of anthocyanins. J. Agric. Food Chem., 56, 11413-11416.

6. 연구결과 활용

연도(연차)	활용방안	제 목
2014(1년)	학술발표	꿀풀 꽃 추출물의 항염 및 항당뇨 활성
2015(2년)	학술발표	오미자 차즙액의 이화학적 특성
2016(3년)	학술발표	참당귀 잎 추출물의 이화학적 특성 및 생리활성
	학술발표	가시오갈피 열매 추출물의 이화학적 특성 및 총안토시아닌 함량 측정
	세미나	강원지역 기능성 소재 연구현황

7. 연구원 편성

구분	소속	직급	성명	수행업무	참여년도		
					'14	'15	'16
과제책임자	농식품연구소	농업연구사	김희연	과제 총괄	○	○	○
1세부책임자	농식품연구소	농업연구사	김희연	세부주관 수행	○	○	○
공동연구자	농식품연구소	공무직	이기연	지표성분 분석	○	○	○
	"	"	홍수영	품질조사 지원	○	-	○
	"	"	김태희	품질조사 지원	-	-	○
2세부책임자	농식품연구소	농업연구관	김시창	세부주관 수행	-	-	○
공동연구자	농식품연구소	농업연구관	임상현	세부주관 수행	○	○	-
	"	농업연구사	노희선	생리활성 검정	-	○	○
	"	공무직	정은경	활성검정 지원	○	○	○

6. 연구결과 활용

연도(연차)	활용방안	제 목
2014(1년)	영농정보	옥수수를 이용한 라떼 제조방법
2015(2년)	책자발간	강원도 세월속에 맛, 삶은 이어지고(*15.11)
	영농정보	감자 증숙 분말을 이용한 외플제조방법
	영농정보	감자증숙 분말 이용 제빵 적용
	영농정보	옥수수 분말을 이용한 또띠아 제조방법
	기술이전	감자짬뽕 제조기술
	기술이전	체험용 감자치즈빵 제조기술
	홍보	감자, 옥수수 가공품제조기술 교육
2016(3년)	영농기술	감자 증숙분말 제과, 제빵 활용
	기술이전	감자, 옥수수 이용 가공품 제조방법
	특허출원	옥수수를 이용한 누룽지 제조과정
	홍보	6차 산업화 희망 드림 컨설팅 등 2

7. 연구원 편성

구분	소속	직급	성명	수행업무	참여년도		
					'14	'15	'16
과제책임자	농식품연구소	농업연구사	권혜정	과제 총괄	○	○	○
1세부책임자	농식품연구소	농업연구사	권혜정	세부주관 수행	○	○	○
공동연구자	농식품연구소	농업연구사	이재형	시험수행 및 평가	○	○	○
			이효영	시험수행 및 평가	○	-	-
2세부책임자	농식품연구소	농업연구사	박지선	세부주관 수행	-	-	○
공동연구자	농식품연구소	농업연구사	이재형	시험수행 및 평가	○	○	○
			박아름	시험수행 및 평가	○	○	-
			이하연	시험분석 지원	-	○	○
			안문섭	상품개발 지원	-	○	○