

발간등록번호

11-1541000-001386-01

천연색소 및 항노화 물질 함유 립케어 제품 개발

Development of Lip Care Cosmeceuticals Containing
Natural Pigments and Anti-aging Agents

(주) 파이토M&F

농림수산식품부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “천연색소 및 항노화 물질 함유 립케어 제품 개발” 과제의 보고서로 제출합니다.

제1세부연구과제 : 립케어용 천연화장료 조성물의 제조공정 확립 및 시제품 제조

제1협동연구과제 : 천연색소 및 안티에이징 작용 물질 분리

제2협동연구과제 : 천연색소 및 안티에이징 천연물 소재의 in vitro 및 in vivo 피부
기능성 분석

2012년 4월 일

주관연구기관명 : (주)파이토M&F

주관연구책임자 : 부 희 옥

연 구 원 : 김 학 현

연 구 원 : 신 지 산

연 구 원 : 김 윤 희

연 구 원 : 권 수 정

협동연구기관명 : 전남대학교

협동연구책임자 : 황 성 진

연 구 원 : 김 병 로

연 구 원 : 강 려 은

연 구 원 : 김 학 중

협동연구기관명 : 전남대학교

협동연구책임자 : 강 성 수

연 구 원 : 최 정 원

연 구 원 : 백 일 엽

연 구 원 : 이 진 용

요 약 문

I. 제 목

천연색소 및 향노화 물질 함유 립케어 제품 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 기술적 측면

- 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 되었지만, 합성색소의 인체에 대한 발암성과 위험성이 끊임없이 제기되면서 천연색소에 대한 관심이 더욱 증대되고 있는 실정이다.
- 최근 향장소재, 섬유염색, 건강기능식품 등에 건강과 안전을 위해 천연색소를 사용하는 경향이 점차 확대되고 있으며, 천연색소 이용에 관한 연구 또한 활발히 진행되고 있지만, 활용 가능한 각종 천연색소 소재들의 기능성, 안전성, 안정성 등에 대한 실증적 연구가 뒷받침되지 못하고 있는 실정이므로 이에 대해 좀 더 체계적이고 다양한 연구가 필요한 시점이다.
- 천연색소가 지니고 있는 특징으로는 합성색소에 비해 환경에 미치는 영향이 적고 인체에 대한 독성이 현저히 낮거나 혹은 거의 무해하며, 향균, 향암, 항염 등의 효능이 있는 것으로 알려져 있고, 또한 발색이 자연스럽게 우아하며 변색 또는 퇴색이 되어도 색감이 안정적이어서 은은한 색상을 낼 수 있을 뿐만 아니라 재료의 성질에 따라 다양한 색상을 얻을 수 있다는 장점이 있다. 그러나 천연색소는 인공합성색소보다 가격이 높고 발색력이 떨어질 뿐만 아니라 생산성이 낮으며, 용해성 또한 떨어지고 열, 빛 및 pH 등의 환경 요인에 따라 색소의 안정성이 떨어진다는 단점을 지니고 있어서 이러한 문제에 대한 연구를 보완할 필요가 있다.
- 식물유래 천연색소 및 참마의 피부보호 효과 및 피부반응 실험을 통해 향장소재로서의 효용성을 과학적으로 입증하는 것이 중요하다.
- 유용식물자원 개발 측면에서 유색식물로부터의 천연색소 및 참마의 기능성 가치를 재조명하고 이를 토대로 이용방법 및 현대적 수요경향에 맞는 립케어용 제품 개발을 위한 초석을 마련할 필요가 있다.

2. 경제·산업적 측면

- 농촌자원의 산업화 측면에서 각종 유색식물과 참마는 개발가치가 매우 큰 자원임에도 불구하고 그 중요성에 대한 인식이 높지 않은 실정이며, 천연색소

중 일부 개발되어 제품에 적용하고 있는 것도 자색고구마, 적양배추, 파프리카 등 한정된 몇 가지 종류에 불과하고 상품성도 낮은 실정이다. 그러므로 유용 식물자원의 발굴, 다양한 가공기술 개발과 고부가가치 제품화를 시도한다면 식물천연색소 분야도 첨단 산업화가 가능할 것이다.

- 천연 기능성 화장품 시장은 제품 개발정도에 따라 무한한 성장가능성이 있기 때문에 다양한 식물소재를 개발하고 산업화하면 수많은 농가의 활로 모색에도 영향을 미칠 만큼 파급효과가 클 것이다.
- 천연소재를 적용한 천연 립케어 제품은 입술피부 보호 효과와 함께 고기능성 성분이 함유되어 있고, 또한 다채로운 색조를 연출할 수 있는 특성이 있기 때문에 소비자 기호도를 한층 극대화시킴으로서 다양한 유통 채널을 통한 판매 전략 구축이 가능하여 관련 산업분야의 소득증대에도 기여할 것이다.
- 천연 립케어 제품의 기능성을 살려 각종 입술피부 트러블성 증상이나 효과에 따른 천연 색소 및 식물추출물을 조합한 고기능성 립케어 제품 개발은 기능성 화장품 전문 판매점, 약국, 백화점, 천연화장품 전문점 등의 체인점 업종의 등장을 촉발시키고, 이는 고용창출 및 천연 립케어 제품시장의 규모 확대에 의한 각종 식물소재 재배농가의 소득증대에 기여할 것이다.
- 참마는 우리나라 원산의 자원식물로서 최근 그 기능성이 더욱 새롭게 인식되면서 이를 이용한 각종 건강식품이 출시되고 있지만, 참마에 함유된 항노화 물질을 이용한 항장제품개발은 없는 실정이므로 참마의 항노화 작용 물질을 적용한 립케어 제품 개발은 다양한 관련제품의 수출효과도 기대할 수 있을 것이다.
- 각종 유색식물과 참마의 다양한 약리기능성 구명을 통해 그 가치를 발굴하고 제품화한다면, 새로운 소득작물 창출과 함께 유용자원의 이용을 극대화시킬 것이다.
- 1차 산업인 식물자원을 활용하여 상품화하면 고도화된 융복합 산업으로 육성이 가능하다.

3. 사회·문화적 측면

- 천연색소는 인류 역사의 시작과 함께 이용되어 왔다고 해도 과언이 아니며, 예로부터 우리나라에서는 다양한 천연식물에서 필요한 색소를 생산하여 사용해 왔는데, 최근에는 천연색소에 비해 편의성과 경제성, 안정성 등으로 인해 각종 제품에 합성색소를 폭넓게 사용되고 있는 관계로 전통적인 천연색소 자원이 점점 사라지고 있는 실정이다. 따라서 현시점에서 각종 유색식물로부터 추출한 천연색소의 기능성을 과학적으로 구명하여 천연색소 적용 범위를 확대함으로써 소중한 우리의 식물자원과 전통문화 자산을 보존할 필요가 있다.
- 전통 식물유래 천연색소 문화의 개발과 전승에 의해 다양한 천연색소 소재의 발굴에 따른 천연화장품 관련 제품 개발은 우리의 독자적 문화전통으로의 발

전이 가능하다고 본다.

- 유용식물 천연 소재를 대중적인 소재 및 제품화에 연계함과 동시에 그 효능을 과학적, 실증적으로 입증함으로써 새로운 색조제품 개발의 중요한 사례로 남을 수 있을 것이다.
- 천연색소 성분 및 향노화 작용물질이 함유된 유용식물의 종류는 상당히 많을 것으로 예상되지만, 아직 이들 식물의 기능성을 이용한 관련제품 개발은 미미한 실정으로, 향후 이러한 개발가치가 높은 자원들을 발굴하여 그 이용성을 확대시키는 것이 새로운 가치창출면에서도 필요성이 크다 하겠다.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 천연색소 및 안티에이징 작용 물질 분리

- 식물유래 천연색소 소재의 안정적인 생산 및 색조화장품 제조에 유용한 고순도의 천연색소를 확보하기 위해 다양한 색소추출 기술을 개발한다.
- 야생 참마 부위별로 안티에이징 작용 물질의 효율적인 추출기술 정립한다.
- 참마 추출물로부터 분리된 안티에이징 활성획분의 구조를 분석한다.
- HPLC를 이용하여 시제품에 함유된 참마 활성 성분의 안정성을 분석한다.

2. 천연색소 및 안티에이징 천연물 소재의 in vitro 및 in vivo 피부 기능성 분석

- 야생 참마의 부위별, 분획별 향노화 및 피부 보호효과를 규명한다.
- 식물유래 천연색소의 피부보호 효과를 규명한다.
- 천연색소 및 효과 야생 참마 분획의 세분화에 따른 항산화 기능 분석 및 in vitro 피부 보호효과를 규명한다.
- 각 효과 소재의 피부 기능 개선을 위한 동물실험을 수행한다.
- 천연색소 및 참마 추출물을 함유하여 제조한 시제품에 대한 세포활성, 세포독성, 동물실험을 통한 피부반응 실험 등 활성을 검증한다.

3. 립케어용 천연화장료 조성물의 제조공정 확립 및 시제품 제조

- 립케어용 제품에 적용할 천연색소를 선별하고, 그 특성을 조사한다.
- 선별된 다양한 색조의 식물천연색소에 대해 항산화 효능 및 미백활성, 항균활성 등을 검증한다.
- 다양한 조건에서의 천연색소의 안정성 및 물성변화 등을 조사한다.
- 천연색소와 향노화 물질 혼합한 화장료조성물에 대한 안정성 및 기능성을 분석한다.
- 천연색소와 향노화 물질 혼합한 화장료조성물 제조의 표준화 조건을 확립하고, 립케어 제품 제형별 최적 제조공정을 정립한다.

- 크림 및 에멀전 타입으로 제형화한 베이스에 식물추출물 및 생리활성물질의 목적별 최적 배합비율 및 첨가 형태 등에 대한 기술을 개발한다.
- 참마로부터 추출한 향노화물질 및 천연색소 함유한 각 제형별 립케어 시제품 제조하여 안전성과 안정성 및 제품에 대한 관능평가를 실시한다.
- 립케어용 제품의 사업화 방안 확립 및 차별화된 마케팅 전략을 구축한다.

IV. 연구개발결과(필요에 따라 제목을 달리할 수 있음)

본 연구는 천연색소로서 다양한 생리기능성과 색상을 지니고 있어 색조화장품에 적용하는데 있어 그 이용가치가 높을 것으로 예상되는 15종의 식물유래 천연색소 및 향노화 활성이 높은 것으로 기대되는 유용자원식물인 참마를 함유한 립케어용 제품을 개발함으로써 향후 이들 소재를 활용한 고부가가치성 천연 색조화장품 개발 및 천연색소의 이용성을 증대시키고자 하는 필요성에서 수행되었으며, 이에 대한 연구결과는 다음과 같다.

1. 천연색소 및 안티에이징 작용 물질 분리

가. 야생 참마로부터 활성분획 추출

야생 참마의 전초 500 g 썩을 냉동건조기에서 건조 후 메탄올에 72시간 동안 실온에서 침지시켜 조추출물을 얻었으며, 이 조작을 3회 실시하였다. 참마 500 g을 감압농축하여 얻은 추출물을 노르말헥산 (n-hexane), 클로로포름(CHCl₃), 및 에틸아세테이트(EtOAc) 등의 용매를 사용하여 순차적으로 연속추출하여 분획하여 각 분획별 시료를 얻었다.

각 분획별 추출수율은 노르말헥산 가용부 113.2 mg, 클로로메탄 가용부 6.6 mg, 에틸아세테이트 가용부 24.6 mg, 잔사 487.3 mg을 얻을 수 있었다.

나. 참마 조직으로부터 약리활성물질인 diosgenin의 추출 및 함량 분석

(1) 공시재료

Steroidal sapogenin인 diosgenin의 함량 측정은 지역별로 자생하고 있는 1년 이상된 야생 참마를 채취하여 사용 하였으며, 배양조직은 본 실험실에서 야생 참마로부터 유도한 3종류의 배양조직(켈러스, 형질전환 모상근, 부정근)을 사용하였다.

(2) Diosgenin 추출 및 함량분석

참마 조직으로부터 diosgenin의 함량분석은 냉동건조 분말을 2.5 M HCl에서 4시간 가수분해 시킨 후 Whatman No.41 여과지로 거르고 잔사체로부터 산이 제거될 때 까지 반복해서 세척 하였다. 잔사체는 재건조 후 petroleum ether: 2-propanol (12:1) 용액을 가하여 속실릿 장치에서 3회 환류 추출한 다음 Rotary evaporater를 이용하여 농축 하였다. Diosgenin 표준품은 Sigma Co.에서 구입하였으며, Reverse phase HPLC를 이용하여 분석하였다.

다. Red beet 배양근 RB-103으로부터 betalain 색소 추출

(1) 공시재료

식물호르몬 유전자의 도입에 의해 형질전환된 red beet (*Beta vulgaris*) 배양근으로부터 색소합성능과 성장률의 차이를 통해 1차로 23개 세포주를 선발하고 이들 중 다시 반복적인 선발을 통해 색소합성능이 가장 우수한 (RB-103)을 생물반응기에서 36주 배양한 후 시료로 사용하였다.

(2) Betalain 추출 및 수율 측정

배양된 RB-103 세포주를 냉동건조 후 미세한 분말로 마쇄하고 70% 에탄올 추출용매로 하여 4℃에서 3회 반복 추출하였다. 추출액은 15,000 rpm으로 10분간 원심분리 후 침전물을 버리고 상정액만을 얻어 Nilsson방법에 따라 UV-VIS spectrophotometer를 이용하여 535, 476 nm에서 측정하였다. 배양된 RB-103 세포주를 이용한 색소를 추출하고 그 수율을 측정한 결과, betalain 평균 수율은 재배종보다 약 2배 가량으로 매우 고효율의 적색색소를 얻을 수 있었다.

라. 자색고구마 및 적양배추 색소의 분리 및 동정

색소분석을 위한 시료는 가수분해를 거쳐 당을 제외한 aglycone 부분을 취하여 TLC, HPLC 분석시료로 사용하였다. 이 때 색소성분을 확인하기 위하여 표준물질인 cyanidin, peonidin을 사용하여 530nm에서 측정하였다. 자색고구마 및 적양배추에 함유된 색소의 aglycone(anthocyanidin)에 대한 성분을 확인하기 위해 TLC 및 HPLC를 이용하여 분석한 결과, 자색고구마의 주 색소는 peonidin, 적양배추의 주 색소는 Cyanidin 성분임을 알 수 있었으며, 이는 다른 연구결과들과도 일치하였다.

마. 야생 참마로부터 안티에이징 작용물질 단리 및 대량 분리정제

(1) 야생 참마 잎으로부터 활성 성분 단리

공시재료는 경북 봉화군 일원에서 여름(6-8월)에 채취한 야생 참마(*Dioscorea japonica*)의 잎만을 수집하여 사용하였다. 야생 참마의 잎 500 g 썩을 냉동 건조기에서 건조 후 메탄올에 72시간 동안 실온에서 침지시켜 조추출물을 얻었으며, 이 조작을 3회 실시하였다. 참마 500 g을 감압농축하여 얻은 추출물을 노르말헥산(*n*-hexane), 클로로포름(CHCl_3), 및 에틸아세테이트(EtOAc) 등의 용매를 사용하여 순차적으로 연속추출하여 분획하였을 때 추출수율은 노르말헥산 가용부 48.3 mg, 클로로메탄 가용부 7.6 mg, 에틸아세테이트 가용부 12.6 mg, 잔사 117.3 mg을 얻을 수 있었다.

(2) 야생 참마 근의 부탄올 가용부의 추출 성분 단리

1차년도 연구결과에서 활성을 보인 부탄올 가용부로부터 활성 물질을 단리하기 위하여 야생 참마의 근을 실온에서 72시간 동안 메탄올에 침지시켜 3회에 걸쳐 추출하였다. 야생 참마의 메탄올 조추출물을 에틸아세테이트, 부탄올의 용매로 순차

적으로 분획하였다. 분획된 참마 근의 부탄올 가용부 2.44 g을 충전제 HP20에 용매 H₂O를 사용하여 column (4 X 20 cm)에 충전 시키고 시료를 H₂O에 녹여 column에 loading하여 이동상으로 H₂O : MeOH 혼합 용매를 극성이 낮은 MeOH를 순차적으로 높여 20% (H₂O : MeOH = 8:2, v/v), 40%, 60%, 80%, 100%의 농도별로 각각 300 ml 씩 분취하여 5개의 분취물을 얻어 농축하였다.

바. 천연색소 추출 및 정제 효율 증진

6종의 천연색소로부터 추출공정의 pH 조건 및 온도 조건에서의 최적 용매를 검토하기 위하여 알칼리성 용매로는 수산화나트륨(NaOH) 용액을 사용하였으며, 산성 용매로는 시트르산(Citric acid) 용액을 사용하였다. 또한 온도 조건으로는 40℃, 60℃, 80℃로 하여 추출하였다.

(1) 추출 용매의 pH 조건에 따른 추출효율 탐색

용매의 pH를 변수로 하여 최적 추출조건을 흡광도 측정으로 확인한 바, 백년초, 자미, 적양배추, 흑미 등 안토시아닌계 색소는 pH 조건에 따라 추출색소의 색상 변화에 큰 차이가 있었으며, 특히 알칼리성 용매에서는 색소 고유의 색상이 완전히 사라져버렸다. 그러나 여주, 뽕잎 등의 카로티노이드계 색소 및 클로로필계 색소는 pH 변화에 비교적 안정하였다. 따라서 백년초, 자미, 적양배추 등의 색소 추출은 pH 3~4의 산성용매에서 추출하는 것이 색상의 변화를 예방하고 추출 효율을 증대시킬 수 있을 것으로 판단된다.

(2) 추출 용매의 온도 조건에 따른 추출효율 탐색

동결 건조하여 미세하게 분쇄한 각 색소분말에 적당량의 증류수를 붓고 혼합한 다음, Shaking Waterbath에 넣어 각 온도 조건에서 3시간 추출하였다. 추출된 색소 용액을 여과한 다음 각 색소의 최대 흡수파장에서 흡광도를 측정하였다. 추출용매의 온도 조건을 변수로 하여 최적 추출 온도조건을 흡광도 측정으로 확인한 바에 의하면, 공시한 모든 시료에서 온도에는 비교적 안정된 결과를 보였다. 따라서 천연색소를 추출하는데 있어 60℃ 이상의 비교적 고온에서도 색상 변화에 크게 문제가 되지 않을 것으로 추측된다.

사. 생리활성 획득 확보 및 특성 분석

(1) 참마 부탄올 가용부로부터 활성성분 분리

참마 부탄올 분획물을 메탄올에 녹이지 않는 것을 여과한 후 농축하고 물에 녹인 다음 Diaion사의 HP-20 resin을 이용하여 당질을 제거 하였다. 메탄올을 이용하여 흡착된 화합물을 용출하여 농축한 조추출물을 관동제약 silicagel 6을 가지고 클로포름 : 메탄올 : 물 (14:6:1)에서 10:6:1로 gradient 방법으로 10개의 분획물을 얻었으며 이 중 Fr-6를 MPRC(EYELA VSP-3050)를 이용하여 5% 아세트나이트릴 용매로 ODS-A column에서 분당 3 ml로 하여 단리한 물질을 NMR을 통해 분석하였다.

(2) 참마로부터 diosgenin 추출

참마의 활성성분인 diosgenin의 추출 및 분석을 위해 잘게 쪼개진 건조 근경을 각각 5g 씩 2N HCl 100 ml를 가하여 12시간 환류 시킨 후 여과지(No.2)로 여과하여 추출된 상등액에 에틸아세테이트 100 ml을 첨가하여 분획하여 HPLC 분석에 사용하였다. HPLC는 Agilent 1200(Agilent Tech. Inc. 2006, Germany)을 이용하여 분석하였다. 용매는 아세토니트릴 20%에서 60%까지 50분간 농도구배를 주었으며 유속은 1.0 ml/min.으로 하였다. Column은 XDB-C18을 사용하였으며 210 nm에서 측정하였다. 표준물질로 사용한 diosgenin은 Sigma Chemical Co.에서 구입하여 사용하였다.

(3) n-butanol 분획으로부터 화합물 분리

참마 추출물에 대한 활성 검정에서 얻은 결과를 통해 부탄올분획으로부터 화합물을 분리하였다. ¹H-NMR에서 6.8 ppm에서 7.7 ppm 사이에 페놀에서 기인하는 peak를 확인하였으며, 2.4 ppm에서 3.7 ppm 사이에서는 알킨에 기인하는 peak, 그리고 11.0 ppm에서 NH에 기인하는 peak를 확인하였다. ¹³C-NMR과 HSQC에서 27.1 ppm에서 CH₂를 확인하였으며, 54.7 ppm에서 측쇄에 기인하는 CH, 1000 ppm 이상에서 페놀과 이중결합을 가진 CH 5개, C 3개를 확인 할 수 있었다. 170.5 ppm에서는 카르복실기에서 기인하는 C 한 개를 확인하였다. HMBC에서 11.0 ppm에서 N-H와 C-2, C-1, C-3, C-8과의 교차 peak를 확인하였고, 3.01 ppm에서 H-9과 C-2, C-1, C-11, C-3과의 교차 peak를 확인하였다. 또한 3.33 ppm에서 H-3와 C-2, C-1, C-11과의 교차 peak와 3.51 ppm에서 H-10과 C-11, C-2와의 교차 peak를 확인하였다. 벤젠링의 7.05 ppm에서 H-5와 C-6, C-8의 교차 peak와 6.96 ppm의 H-9과 C-4, C-4, C-3와의 교차 peak를 확인하였다. 또한 7.24 ppm에서 H-1과 C-3, C-3, C-8과의 교차 peak와 7.56 ppm에서 H-4와 C-7, C-3, C-2, C-9과의 교차 peak를 확인하였으며, 7.35 ppm에서 H-7은 C-5, C-3와 교차 peak를 확인하였다. ESI-MASS를 통하여 분자량을 측정한 결과 2-amino-3-(1H-indole-3-yl)propionic acid로 L-tryptophan으로 구조 동정하였다. L-tryptophan은 동식물세포에서 생합성되는 아미노산 중 하나로 전통의학에서는 수면장애, 진정, 우울증, 주의력 결핍등과 같은 증상에 효능이 있는 것으로 알려지고 있다. 본 실험 결과 L-tryptophan은 건조 참마 근경에 다량 (0.7 mg/g DW) 포함되어 있으며, 면역활성 검정에서 높은 활성을 나타낸 n-butanol 분획의 10개 화합물 중 활성에 영향을 주는 지표 물질로 사료되었다.

(4) 참마 근경으로부터 지표성분 diosgenin에 대한 시제품 검정

참마의 에탄올 추출물이 함유된 시제품으로부터 천연추출성분에 대한 검정을 하기 위해 지표물질로 diosgenin을 이용하여 분석한 결과, 참마 근경 추출물이 함유된 시제품 5종에 대한 지표물질 diosgenin을 확인한 결과 5개의 시제품 모두에서 검출되었다.

2. 천연색소 및 안티에이징 천연물 소재의 in vitro 및 in vivo 피부 기능성 분석

가. 야생 참마의 항노화 및 피부 보호효과 규명

(1) 야생 참마 분획의 항산화 활성 분석

야생 참마 분획의 Superoxide Dismutase (SOD) 유사활성능, Xanthine Oxidase 저해활성, DPPH radical 소거능 등의 항산화 활성 분석을 수행하였다.

DPPH radical 소거능 실험 결과, K670 (Chloroform 추출물) 및 K671군 (ethyl acetate 추출물)에서 DPPH 소거능이 vitamin C 1 mM에 준하는 현저한 능력이 있음을 볼 수 있었다. K668 (Me-OH 추출물) 및 K669 (Hexane 추출물)의 경우는 두 군 보다 그 능력이 다소 작게 나타났으나 이 역시 DPPH 소거 기능이 강한 것을 확인하였다. 이에 반하여 K672 (DMSO 분획) 및 K673 (butanol 층)의 경우는 DPPH 소거능이 미약하게 인정이 되었다.

야생 참마 분획을 농도별로 처리한 후 xanthine oxidase활성을 측정된 결과, K668, K671, K672, 및 K673군에서 xanthine oxidase 활성이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 이에 반해 K669 및 K670의 경우는 인정이 되지 않았다. 또한 야생 참마 분획을 농도별 (25, 50 ug/ml)로 처리한 후 SOD 유사 활성능을 측정된 결과, 전체 모든 군에서 vitamin C에서 보였던 비슷한 활성은 전혀 인정되지 않았다.

(2) 야생 참마 분획의 항균효과 검정 (최소억제농도; Minimal Inhibition Concentration, MIC)

식물추출물의 병원미생물에 대한 항균효과를 알아보기 위하여 한국미생물보존센터(한국)로부터 표준균주를 구입하여 실험에 사용하였다. 각각의 균주는 최적배지를 이용하여 배양조건에 따라 24시간 동안 배양 후 사용하였고, 혐기성 균주의 경우는 CO₂ 배양기에서 배양하였다. 시험에 사용한 *Pityrosporum ovale*에 대한 항균효과는 모든 추출물에서 항균력이 확인되지 않았다. 그러나 *Escherichia coli*와 *Streptococcus mutans*균주에서는 모든 식물 추출물에서 확인되었다.

(3) 야생 참마 분획물의 피부미백 효과 검정

멜라닌 생성성에 관여하는 mushroom tyrosinase를 이용하여 식물추출물의 멜라닌 합성 저해 활성을 측정된 결과, 시험에 사용한 식물 추출물 중 야생참마 (butanol 층)와 K668에서 tyrosine의 hydroxylation 억제 효과가 확인되었다. 또한 식물추출물의 멜라닌 생성 억제 효과를 확인하기 위하여 B16F1세포를 이용하여 봉독 처리 후 멜라닌 함량을 측정된 결과, 시험에 사용한 식물 추출물 중 야생참마와 K668은 기미와 주근깨 등의 원인이 되는 멜라닌의 생성을 효과적으로 억제하는 것으로 확인되었다.

(4) 각질세포 배양 및 자외선 B 조사

각질형성세포주인 HaCaT 세포를 세포배양기에서 배양하면서 실험에 사용하였으며, 세포는 실험을 위해 고안된 몇 가지 그룹으로 분리하여 준비하였다. PBS가 들어있는 상태에서 UVB lamp를 이용하여 UVB (290~320 nm)는 50 mJ/cm² 강도로 조사하였다. 시료는 UVB의 조사 전후로 2회에 걸쳐 처리하였다.

피부 세포에 자외선을 다양한 양을 조사하여 실험 조건을 잡았다. 실험 결과 UV-B의 경우 40 mJ/cm² 이상 처리 시 피부 세포 사멸을 관찰할 수 있었으며 이러한 반응은 60 mJ/cm²에서 급격히 증가하는 것으로 관찰되었다. 따라서 본 실험에서는 sublethal dosage인 50 mJ/cm²양을 선정하였다. 피부 세포에 자외선 50 mJ/cm² 조사 후 야생 참마 용매 분획을 처리하였으며, 실험 결과 K669군에서 차단 효과가 유의성 있게 인정이 되었으나 그 외 다른 분획에서는 유의성 있는 차단효과는 인정되지 않았다. 다음으로는 미리 야생 참마 용매 분획을 먼저 처리하고 UV-B를 조사한 후 다시 야생 참마 용매 분획을 처리한 결과, 모든 용매 분획군에서 UV-B에 의한 피부세포 사멸효과를 차단하는 것으로 나타났다.

야생 참마의 UV에 의한 피부 세포 보호효과가 어떠한 신호전달 물질과 관련되는지를 알아보았다. 세포 사멸이 증가하는 경우에는 세포사멸을 일으키는 것으로 알려져 있는 caspase-3 및 caspase-9의 단백질 발현이 증가하고 uncleaved form인 uncleaved caspase-3 및 caspase-9의 발현이 감소한다. 본 실험에서도 UV 조사시 uncleaved caspase-3 및 caspase-9의 발현이 감소하였으며 이러한 작용은 야생 참마 처리시 현저하게 억제 되는 것을 관찰하였다. 또 다른 세포 사멸사의 특징인 핵안의 PARP 단백질이 caspase-3에 의해 절단되는데 본 실험에서 UV 조사 시 PARP 단백질의 분절이 유도되었으며 이러한 작용은 야생 참마 추출물 분획에서 부분적으로 차단되는 것으로 나타났다.

UV 조사 시 세포 사멸 촉진 단백질인 Bax의 발현은 증가하였으며, 세포 사멸 억제 단백질인 Bcl-2의 발현은 감소하는 것으로 나타났다. 이러한 작용은 야생 참마 처리시 현저하게 억제 되는 것을 관찰하였다.

UV 조사 시 세포 사멸 유전자 및 NO 관련 유전자와 관련성을 살펴본 결과, UV 조사 시 caspase-3 유전자는 검출이 되지 않았으며, caspase-9의 경우는 증가하는 것으로 나타났다. 아울러 NO 관련 유전자인 iNOS 및 eNOS의 경우 iNOS는 변화가 인정이 되지 않았으나 eNOS 유전자의 경우는 증가하는 것으로 나타났다. 야생 참마 추출물 처리시 증가되었던 caspase-3 및 eNOS 유전자는 부분적으로 차단되는 것으로 나타났다.

(5) Nitric oxide (NO) 생성량 측정

NO 소거활성은 HaCaT 세포를 지시세포로 이용하여 Murakami 등의 방법에 의해 측정하였다. 이러한 야생 참마의 피부 보호효과가 nitric oxide와 관련되는지를 확인하였는데, UV 조사시 NO 생성은 증가하는 것으로 나타났다. 그러나 야생 참마

추출물 처리 시 UV에 의한 NO 증가는 차단되지 않는 것으로 나타났다.

(6). MTT assay에 의한 세포독성 검증

Mitochondrial dehydrogenase activity의 index를 나타내는 MTT colorimetric reduction assay를 수행하여 추출물이 세포 생존율에 미치는 영향을 측정하였다. 야생 참마 분획을 처리하였을 때, 자체가 피부세포에 미치는 영향을 살펴보았는데, 실험결과 야생 참마 분획 자체는 피부세포에 가장 강한 농도(100 ug/ml)에서 약간의 세포 사멸이 인정이 되었으나 대체적으로는 대조군과 차이는 인정이 되지 않았다.

(7) RNA 분리 및 RT-PCR

RNA는 UVB 조사한 후 24시간 뒤에 TRIzol 시약을 사용하여 분리하였으며, 260 nm에서 흡광도를 측정하여 RNA를 정량하고, RT premix™ (Bioneer) 제품을 이용하여 1 ug의 RNA를 이용하여 cDNA를 합성하고, PCR premix™ (Bioneer) 제품을 이용하여 1ul의 cDNA와 특정 primer 를 혼합하여 증폭시킨 후 2% agarose gel상에서 발현량을 알아보았다.

(8) 단백질 분리 및 확인

단백질은 UVB 조사한 후 24시간 뒤에 protein lysis buffer를 이용하여 분리하였으며, 세포로부터 분리된 단백질 시료는 Bradford 시약을 이용하여 595 nm에서 정량을 실시하여, 40 ug의 단백질에 5분간 열을 가하여, sodium dodecyl sulphate (SDS)-polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)를 이용하여 분석하였다. 현상은 enhanced chemiluminescence kit (ECL, Amersham Life Science, Inc.)를 이용하여 수행하였다.

나. 천연색소의 피부보호 효과 규명

천연 색소 자체가 피부세포에 미치는 효과에 대해 알아보았다. 예비실험 결과 천연 색소 적정 농도를 설정하였다. 뽕잎, 여주열매 및 치자의 경우는 50 ug/ml을 자색 고구마, 지황 및 흑미의 경우는 500 ug/ml을 설정하였다. 실험 결과 천연색소 (뽕잎, 여주열매, 자색 고구마, 지황, 치자 및 흑미) 자체는 피부 세포의 세포사멸에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

피부 세포에 자외선 50 mJ/cm² 조사 후 천연 색소 (뽕잎, 여주열매, 자색 고구마, 지황, 치자 및 흑미) 용매 분획을 적정 농도에 맞춰 처리하였다. 실험 결과 K669군에서 차단효과가 유의성 있게 인정이 되었으나 그 외 다른 분획에서는 유의성 있는 차단효과는 인정되지 않았다.

UV 조사 시 세포 사멸 촉진단백질인 Bax의 발현은 증가하였으며, 세포 사멸 억제 단백질인 Bcl-2의 발현은 감소하는 것으로 나타났다. 이러한 작용은 천연 색소 추출물 처리시 현저하게 억제 되는 것을 관찰하였다.

다. 효과 야생 참마분획의 세분화에 따른 항산화기능 분석 및 in vitro 피부보호효과 규명

(1) 야생 참마 추출물의 항산화 및 피부 보호 효과 규명

(가) 야생 참마 분획의 피부세포의 자외선 차단 효과

○ 야생 참마 용매 분획을 통하여 HaCaT 피부세포에 대한 자외선 차단효과를 조사한 결과, UV에 의한 피부 각화형성 세포는 세포 사멸 효과를 보였다. 이러한 효과는 야생 참마의 chloroform 분획 C2 및 C7에 의해서 유의성 있게 차단되었다. Et-OH 분획 (E3, E4), Me-OH 분획 (M3, M7), Hexane 분획 (H1, H4) 및 Butanol (B1, B6) 분획물에 의해서 차단되는 것을 확인할 수 있었다. 이중 특히 Bt-OH 층에 대한 부분을 %별로 추출하여 실험을 실시하였다. 참마 분획의 Bt-OH% 자체에 대한 HaCaT 피부세포에 대한 자체 효과를 살펴보았다. 실험결과 자체 부분은 30 µg/ml의 경우 세포 사멸에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 분획별로 측정된 결과 20%, 40% 및 80%의 경우 자외선에 의한 세포 사멸효과를 차단하는 것으로 나타났다. 이에 반해 60% 및 100%는 자외선에 의한 피부 세포 사멸을 차단하지 않는 것으로 나타났다.

○ 피부 각화형성 세포에서 자외선에 의한 산화성 스트레스 유발이 이들 Bt-OH 층의 농도 분획에 대해서 차단효과가 있는지를 알아보았다. 분획별로 측정된 결과 20%, 40% 및 80%의 경우 자외선에 의한 산화성 스트레스 증가 작용을 차단하는 것으로 나타났다. 이에 반해 60% 및 100%는 자외선에 의한 피부 세포 산화성 스트레스 증가 작용을 차단하지 않는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 피부세포 사멸 효과와 비슷한 양상을 보여줬다.

○ 피부 각화형성 세포에서 자외선에 의한 NO 생성에 대한 차단효과를 알아보았다. UV 조사시 NO 형성은 증가하였으나 분획별로 측정된 결과 20%, 40%, 60%, 80% 및 100% Bt-OH 참마 분획에 의한 차단작용은 인정되지 않았다.

(나) 야생 참마 분획의 항산화 활성 분석

○ 야생 참마 Bt-OH 농도별 추출한 추출액을 처리하여 항산화 활성을 분석한 결과 50 µg/ml 처리 시 DPPH radical 소거능의 경우는 1 mM의 vitamin C에 의한 능력에는 미치지 않았지만 약간의 효과가 인정되는 것으로 나타났다.

○ 야생 참마 Bt-OH 농도 별 추출한 추출액을 처리하여 항산화 활성을 분석한 결과 50 µg/ml 처리 시 xanthine oxidase 활성의 경우 1 mM의 vitamin C에 의한 능력에는 미치지 않았지만 약간의 효과가 인정되는 것으로 나타났다.

(다) 야생 참마 Bt-OH 분획의 미백 효과

시험에 사용한 식물 추출물 중 야생 참마(butanol 층)의 농도별을 측정된 결과 a-MSH에 의한 melanin 합성을 차단하는지를 확인하였다. 실험 결과 Kojic acid에

는 못하지만 이들 추출물이 tyrosinase 활성 억제 효과가 인정되는 것으로 나타났다.

(2) 천연 색소 추출물의 항산화 및 피부 보호 효과 규명

(가) 천연 색소의 피부세포의 자외선 차단 효과

○ 실제로 실생활에서 쓰일 수 있는 물 추출물에서의 전체 천연 색소에 대한 효능 부분을 비교 분석한 결과, 뽕잎, 백련초, 여주열매, 자색고구마, 지황, 치자 및 흑미 추출물을 처리하였을 때 자체는 세포 사멸에 유의성 있는 차이는 인정이 되지 않았으며, 자외선에 의한 산화성 스트레스 증가작용은 현저하게 억제되었다

○ 천연 색소 자체가 자외선에 의한 피부세포 손상 작용에 cPLA2 및 COX-2의 발현과 관련되는지를 확인한 결과, 자외선 조사시 cPLA2 발현 및 COX-2 발현이 증가하였으며 이러한 작용은 뽕잎, 백련초, 여주열매, 자색고구마, 지황, 치자 및 흑미 추출물을 처리하였을 때 현저하게 억제되었다.

○ 천연 색소 자체가 자외선에 의한 피부세포 손상 작용에 세포 사멸 관련 단백질인 Bax 및 Bcl-2 발현 변화와 관련성을 알아본 결과, 자외선 조사 시 세포 사멸 촉진 단백질인 Bax 발현은 증가하였으나 세포 사멸 억제 단백질인 Bcl-2의 발현은 감소시키는 것으로 나타났으며, 이러한 작용 역시 뽕잎, 백련초, 여주열매, 자색고구마, 지황, 치자 및 흑미 추출물을 처리하였을 때 현저하게 억제되었다.

(나) 천연 색소의 피부세포의 항노화 효과

천연 색소 자체가 자외선에 의한 피부세포 손상 작용에 노화 관련 단백질인 MMP-1 및 Sirt1 발현을 조사하였다. 자외선 조사시 MMP-1의 발현은 증가하였으며 장수 단백질인 SIRT-1의 발현은 감소하였다. 이러한 작용은 뽕잎, 백련초, 여주열매, 자색고구마, 지황, 치자 및 흑미 추출물을 처리하였을 때 현저하게 차단되었다.. 피부세포의 MMP-1 유전자 발현의 경우에서도 같은 양상을 볼 수 있었다.

(다) 천연 색소의 피부세포의 미백 효과

천연 색소 자체가 α -MSH에 의한 melanin 합성을 차단하는지를 확인한 결과, Kojic acid에는 못하지만 역시 뽕잎, 백련초, 여주열매, 자색고구마, 지황, 치자 및 흑미 추출물을 처리하였을 때 tyrosinase 활성 억제 효과가 인정되는 것으로 나타났다.

(3) 피부 기능 개선을 위한 동물실험

(가) 야생 참마 분획의 피부주름 형성에 대한 효과 검색

자외선 단독 조사군의 경우 조사 기간의 경과에 따라 주름 등급은 계속 증가되었으며 무처리 자외선 단독 조사 대조군의 경우 7주에 평균 1.25를 나타냈으며, 시험종료 시점인 10주에 평균 2.30의 주름 등급을 나타냈다. 야생 참마 분획 복용내

주사투여군에서는 전 기간에 걸쳐 무처치 자외선 단독 조사 대조군과 유사한 경향을 나타내어 유의성 있는 주름 형성 경감 소견이 관찰되지 않았다. 부형제 도포 자외선 조사 대조군에서는 무처치 자외선 단독 조사 대조군에 비하여 연고기재의 물리적 방어 효과에 기인하여 등급이 다소 낮은 수치를 보였으며 야생 참마 분획 도포의 경우에도 부형제 도포 자외선 조사 대조군과 비슷한 경향을 나타내어 그룹 간에 유의성 있는 주름 형성 감소는 관찰되지 않았다.

(나) 피부조직 현미경지표(표피두께, 세포침윤도, 진피 낭종형성) 변화에 대한 효과검색

무처치 자외선 단독 조사 대조군의 경우 10주에 평균치를 기준으로 표피두께는 1.40, 세포침윤도는 1.30, 진피 낭종형성도는 1.60을 나타냈으며, 야생 참마 분획 복강내 주사군에서는 무처치 자외선 단독 조사 대조군과 유사한 경향을 나타내어 유의성 있는 경감 소견이 관찰되지 않았다. 부형제 도포 자외선 조사 대조군에서는 무처치 자외선 단독 조사 대조군에 비하여 연고기재의 물리적 방어 효과에 기인하여 등급이 다소 낮은 수치를 보였으며 야생 참마 분획 도포의 경우에도 부형제 도포 자외선 조사 대조군과 비슷한 경감효과가 관찰되었으나 그룹간에는 유의성 있는 변화를 보이지 않았다.

(4) 각 효과 소재의 피부 기능 개선을 위한 동물실험

(가) 피부자극시험

백련초와 참마를 시료로 시험동물을 이용한 피부자극시험 결과, 시험물질의 투여에 기인된 일반증상과 사망은 인정되지 않았다. 시험물질 적용 후 24시간 및 72시간째에 적용부위의 자극성을 평가한 결과는 표 8 및 9에 요약하였다. 모든 동물의 무처치 대조구획 및 시험물질 처치구획에서 모든 자극지표상의 변화는 관찰되지 않았다. 이러한 결과에서 백련초와 참마의 피부자극 효과는 없는 것으로 사료된다.

(나) 안점막 자극시험

식품의약품안전청고시 제2005-60호(2005년 10월 21일)의 ‘의약품등의 독성시험기준(10)과 식품의약품안전청고시 제2000-63호(2000년 12월 11일) ‘비임상시험관리기준’ 및 OECD Principles of Good Laboratory Practice (1997)에 준하여 실시하였다. 시험기간 중 시험물질의 적용에 기인된 사망동물은 관찰되지 않았다. 이러한 결과로 보아 New Zealand White계 토끼에 있어서 백련초 및 참마의 안점막 적용은 어떠한 자극성도 유발하지 않는 것으로 나타났으며, 따라서 본 시험물질은 무자극성 물질인 것으로 판단된다.

시험물질 적용 후 1, 2, 3, 4 및 7일째에 적용부위의 국소자극성을 관찰한 결과, 시험물질의 적용에 의한 어떠한 이상소견도 인정되지 않았다. 따라서 본 시험물질의 급성 안자극지수(acute ocular irritation index)는 세안군 및 비세안군이 각각 “

0” 으로서 무자극성 물질로 평가되었다.

3. 립케어용 천연화장료 조성물의 제조공정 확립 및 시제품 제조

가. 적용 천연색소 선별 및 특성조사

본 실험에 사용한 천연색소는 선행실험을 통해 15종류의 식물성 천연색소를 선별하였다.

(1) 건조조건에 따른 특성조사

건조조건에 따른 추출시료의 회수량을 보면, 동결건조법에서 공시한 3종류 색소(포도과피, 오디, 파프리카) 모두 상대적으로 높았으며, 자연건조법과 열풍건조법에서도 비교적 높은 회수율을 보여 각 처리구간 추출시료의 회수량에 큰 차이를 보이지는 않았다.

(2) 추출용매 증류수 온도조건에 따른 회수율

추출 증류수의 온도조건에 따라 천연색소가 회수되는 물질의 양을 조사한 결과, 추출용매인 증류수의 온도를 100℃로 하여 20분 동안 추출 처리하였을 때 회수량이 가장 많았던 반면에 실온에서 24시간 추출 처리한 시료의 회수량은 상대적으로 적었다. 증류수의 온도를 50℃로 하여 2시간 추출 처리한 시료의 회수량도 비교적 많은 양을 나타냈다.

(3) 분쇄 조건에 따른 색소분말의 용해도

동결건조한 포도과피, 오디 및 황색 파프리카 분말색소의 입자 크기별 용출능을 확인하고자 mesh size별로 증류수에 녹여 그 용해도를 조사한 결과, 가장 미세한 입자인 mesh size 100μm에서의 용해도가 가장 높았다.

나. 선별 천연색소 항산화활성 및 미백활성 검증

(1) 총 페놀 화합물 함량 및 플라보노이드 함량

13종의 천연색소에 대해 총페놀화합물 함량을 측정된 결과, 양파껍질의 폴리페놀 함량이 가장 높았고 적양배추, 오디 등에서도 비교적 높은 함량을 나타냈다. 플라보노이드 함량은 적양배추가 가장 높았고 파프리카(황색), 뽕잎, 오디 등에서도 높은 함량을 보였다.

(2) 항산화활성

선별된 천연색소 추출물에 대하여 DPPH radical 소거능(전자공여능)을 측정된 결과를 보면, 적양배추, 양파껍질, 포도과피, 오디 색소 등에서 free radical 소거활성이 상대적으로 높게 나타났다. 그러나 황색 파프리카, 황색 여주과실 등에서는 비교적 낮은 활성을 보였다. 또한 아질산염에 대한 소거능을 조사한 결과, 레드비트와 양파껍질, 지황, 황색 파프리카 색소에서 아질산염을 80%이상 분해시킬 수 있었다. 이 중 양파껍질 색소가 91.98%로 가장 높은 아질산염 소거 활성을 나타냈다. 그러

나 적양배추, 오디 색소에서는 상대적으로 낮은 소거활성을 보였다.

(3) 항산화효소 활성

적용된 천연색소의 항산화 효소 활성을 측정된 결과를 보면, SOD 활성도는 여주과실과 흑미, 포도과피 등에서 높은 활성을 나타냈고, 자색고구마, 지황에서도 비교적 높은 활성을 보였다. 그러나 APX 활성, CAT 활성도는 뽕잎, 지황, 오디 등에서 모두 높은 활성을 보여 항산화 효소의 종류에 따라 활성에 차이가 있음을 알 수 있었다.

(4) Tyrosinase의 저해 활성

선발된 천연색소의 tyrosinase 활성억제 효과를 보면, 뽕잎에서 가장 높게 나타났고, 다음으로 적양배추, 포도과피, 파프리카, 흑미 등에서 상대적으로 높은 활성을 보였으며 양파껍질, 치자황 등에서는 거의 활성이 나타나지 않았다.

다. 소재의 항균활성 및 안정성 검증

(1) 천연색소 추출물의 항균활성 검증

13종의 천연색소 추출물에 대하여 agar diffusion test를 이용한 항균활성을 검색한 결과, Gram 양성균인 *Bacillus subtilis* 및 *Micrococcus luteus*와 Gram 음성균인 *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Proteus mirabilis* 등에 대하여 대부분의 천연색소에서 저해환을 형성하였으며, 특히 자색고구마, 오디, 뽕잎, 포도과피, 지황 등에서 높은 항균활성을 나타냈다.

(2) 천연색소의 특성 및 안정성 검증

(가) 천연색소의 분광학적 특성

① pH의 영향

천연색소는 pH에 따라 분자구조가 변하면서 색이 변하는 것이 많다. 특히 안토시아닌계 색소는 pH에 따라 적색에서 자색, 암청색으로 변하며, 카로티노이드계 색소는 pH에는 크게 변하지는 않지만 알카리에서는 불안정화한다. 본 실험에 공시한 모든 색소에서도 시일이 경과할수록 pH의 변화에 따라 각 색소의 최대 흡수파장역에서 경시적으로 흡광도의 변화를 관찰할 수 있었다. 즉, pH로 조절된 색소용액의 색의 강도는 pH가 증가할수록 낮아지는 경향을 보였다. 이는 천연색소 종류에 따라 pH 요인이 색소의 안정성을 결정하는 중요한 요소가 됨을 나타내는 것이다.

② 유기산의 영향

유기산의 종류 및 저장기간에 따른 천연색소의 색깔 강도 및 안정성에 미치는 영향을 조사한 결과, 5종류의 유기산 모두 저장 시일이 경과할수록 흡광도에 다소 차이가 있었으며, 이는 색소 종류 및 유기산 종류에 따라 흡광도 변화에도 차이가 있음을 알 수 있었다. 유기산 첨가에 의해 pH가 저하되어 안토시아닌계 색소의 경우는 색상 강도가 더 증가되는 것으로 생각되지만, 10일 이상 시일이 경과하면 색상 강도가 다소 낮아지는 경향을 보였다.

③ 금속이온의 영향

색소성분에 대한 금속이온의 영향으로서는 금속이온의 촉매작용으로 색소의 산화분해가 촉진되거나 금속이온과 반응하여 착염을 형성하여 변색 불용화하게 된다. 특히 안토시아닌계 색소에서 금속이온을 함유한 성분이나 포장용기 사용시 이러한 현상이 일어날 수 있다. 본 실험에서 적용한 카로티노이드계 색소, 안토시아닌계 색소 모두 저장기간이 경과함에 따라 금속이온의 영향으로 색소의 변성을 크게 유발하지는 않았으며, 단지 Ag^{2+} 처리구에서는 소량의 침전물이 발생하는 경향이 있었다.

④ 광의 영향

황색계열의 천연색소는 가시광선에서도 쉽게 분해되는 경향이 있다. 본 실험에서 일광(그늘) 및 형광등에 노출시켜 저장한 경우와 광을 차단하여 암흑상태에 저장한 경우에서의 색상의 변화를 관찰한 결과, 공시한 대부분의 색소에서 일광에 노출한 처리구의 색상 강도가 감소됨을 알 수 있었다. 이는 빛에 장시간 노출되면 색소의 안정성을 저하시킨다는 것을 의미하며, 천연색소 함유 제품 제조 및 저장시 이에 대한 고려가 필요하다고 본다.

⑤ 열(온도)의 영향

천연색소는 열을 받으면 열분해 및 중합반응으로 갈변화하거나 퇴색, 변색된다. 가열온도와 시간에 따른 색소 추출물의 색상변화 정도를 조사한 결과, 치자청 추출물이 열에 가장 안정하였으며, 뽕잎 추출물이 열에 가장 약한 것으로 나타났다.

⑥ 당류의 영향

당을 첨가하여 가열했을 경우 가열시간에 따라 색상이 많이 퇴색됨을 알 수 있었다. 이는 열에 의한 영향과 당에 의한 색상 변화가 서로 시너지 효과가 일어나 단일처리에서보다 색상이 더 퇴색되는 경향을 보였다.

(나) 다양한 요인에 따른 천연색소의 색차 변이

① pH변화에 따른 색차 변이

천연색소는 pH에 따라 분자구조가 변하면서 색이 변하는 경우가 많다. 본 실험에 적용된 13종의 천연색소에 대해 1~7까지의 pH 변화에 따른 경시적인 색차변이를 15일간 3일 간격으로 측정하였다. 그 결과를 보면, 대부분 L 값에서는 큰 변화가 없었지만, a 값과 b 값은 색소종류에 따라 변화됨을 알 수 있었다. 안토시아닌계 색소인 포도과피, 자미, 오디, 적양배추 등에서는 15일 저장기간 동안 큰 색차변이가 없는 것으로 나타나 비교적 안정된 결과를 보였지만, 이보다 장기간 경과했을 경우는 색소 안정화에 문제가 발생할 수 있을 것으로 추측되며 이 부분에 대해서는 향후 보완실험이 필요한 것으로 사료된다.

② 유기산에 따른 색소의 색차 변이

유기산 종류에 따른 천연색소의 경시적인 색차변이를 15일간 3일 간격으로 측정한 결과를 보면, 대부분 L 값에서는 큰 변화가 없었지만, a 값과 b 값은 색소종류에 따라 다소 변이를 보였다. 즉, 사용한 5가지 유기산 모두 포도과피, 오디, 적양

배추 등에서는 15일 저장기간 동안 큰 색차변이가 없는 것으로 나타나 비교적 안정된 결과를 보였지만, 뽕잎과 레드비트에서는 색소의 안정성이 크게 저하되는 것으로 나타났다. 특히 치자황색소의 경우 L, a 값보다 b 값이 많이 감소되었다. 파프리카색소의 경우도 유기산 종류에 따라 색차변이에 다소 차이를 보였다.

③ 금속이온에 따른 색소의 색차 변이

금속이온 종류에 따른 천연색소의 경시적인 색차변이를 15일간 3일 간격으로 측정된 결과를 보면, 대부분 L, a, b 값에 큰 변화가 없었으며 비교적 금속이온의 영향을 덜 받는 것으로 나타났다. 그 외 다른 안토시아닌계 천연색소에서도 금속이온에 대해 크게 불안정성을 보이지는 않았다. 그러나 이는 비교적 단기간인 15일 동안의 색차 변이 추세를 측정한 것으로 향후 보다 장기적인 실험 필요성이 있다고 사료된다.

④ 당류에 따른 색소의 색차 변이

당 첨가(1%)에 의한 색소 추출액의 색차변이를 가열조건에서 60분 간격으로 측정된 결과를 보면, 천연색소 종류에 따라 색도 변화에 다소 차이가 있었다. 적양배추, 자색고구마 등에서는 비교적 색차에 큰 변화가 없었지만, 레드비트, 여주 색소에서는 다소 불안정성을 나타냈다. 그러나 비교적 안정성을 보였던 색소에서도 120분 이상의 장시간 처리했을 경우는 안정성에 큰 변화가 있을 것으로 추측된다.

⑤ 열에 대한 색소의 색차 변이

100℃의 가열조건에서의 천연색소의 안정성을 조사하기 위하여 60분 간격으로 색차변이를 측정한 결과, 대부분 L 값에서는 큰 변화가 없었고 a 값과 b 값에서 다소 차이를 보였다. 여주, 지황, 레드비트 색소에서는 색차의 변이가 상대적으로 증가했지만, 그 외 색소에서는 큰 차이를 보이지는 않았다. 그러나 3시간 이상의 장시간 처리했을 경우는 이보다 훨씬 큰 변이를 보일 것으로 추측된다.

⑥ 광에 대한 색소의 색차 변이

일광(그늘) 및 형광등에 노출시켜 저장한 경우와 광을 차단하여 암흑 상태에 저장한 경우에서의 색차 변이를 측정한 결과, 대부분 L 값에서는 큰 변화가 없었고 a 값과 b 값에서 일광처리와 암흑처리 사이에 다소 차이를 보였다. 즉, 암흑 상태에서 저장하는 경우가 색소의 안정성이 높은 것으로 판단되지만, 15일 저장기간 동안 두 처리 간 색차 변이에 큰 차이는 없었다.

라. 1차 혼합 조성물의 기능성 검증

립케어 제품 제조를 위한 기초단계로서 포도과피, 오디, 파프리카 색소를 시료로 하여 첨가제를 넣지 않고 조제된 1차적인 혼합 조성물에 대한 기능성을 분석한 결과, 오디 혼합조성물에서의 총 페놀화합물 함량은 320.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 높은 함량을 보였고 플라보노이드도 261.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 단일 소재에 비해 높은 함량을 보였다. 혼합 조성물의 DPPH radical 소거능은 포도과피 혼합물의 경우 525.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 무처리에 비해 50% 소거능을 보여 높은 활성을 보였고, 아질산염도 무처리에 비해

71.3%의 소거능을 보였다. tyrosinase에 대한 저해 활성도 포도과피의 경우 2500 μ g/ml의 농도에서 20.3%의 활성을 보였다. 단일소재에 비해 혼합 조성물에서 전체적으로 좋은 결과를 보인 것은 조성물에 혼합되어 있는 각종 기능성 천연오일 물질의 영향도 있는 것으로 추측된다.

마. 천연색소 혼합조성물 제조 및 변색 안정성 조사

(1) 색소혼합 조성물의 분광학적 특성

(가) pH의 영향

천연색소는 pH에 따라 분자구조가 변하면서 색이 변하는 것이 많다. 특히 안토시아닌계 색소는 pH에 따라 적색에서 자색, 암청색으로 변하며, 카로티노이드계 색소는 pH에는 크게 변하지는 않지만 알카리에서는 불안정화한다. 본 실험에 공시한 15종의 천연색소 혼합 조성물에서도 시일이 경과할수록 pH의 변화에 따라 각 색소의 최대 흡수파장영역에서 경시적으로 흡광도의 변화를 관찰할 수 있었다. 즉, pH로 조절된 혼합조성물의 색의 강도는 pH가 높아질수록 낮아지는 경향을 보였다. 이는 천연색소 종류에 따라 pH 요인이 색소의 안정성을 결정하는 중요한 요소가 됨을 나타내는 것이다. 15일 간의 경시적인 변화 양상을 보면, 시간이 경과할수록 적자색을 띠는 안토시아닌계 색소 혼합조성물의 경우 색도가 다소 떨어지는 경향을 보였다. 그러나 파프리카 색소 혼합물의 경우는 pH에 따른 경시적 변화가 거의 없어 비교적 안정된 상태를 유지하였다.

(나) 유기산의 영향

유기산의 종류 및 저장기간에 따른 천연색소 혼합조성물의 색깔 강도 및 안정성에 미치는 영향을 조사한 결과, 5종류의 유기산 모두 저장 시일이 경과할수록 흡광도에 다소 차이가 있었으며, 이는 색소 종류 및 유기산 종류에 따라 흡광도 변화에도 차이가 있음을 알 수 있었다. 유기산 첨가에 의해 pH가 저하되어 안토시아닌계 색소의 경우는 색상 강도가 더 증가되는 것으로 생각되지만, 10일 이상 시일이 경과하면 색상 강도가 다소 낮아지는 경향을 보였다.

아래 사진은 각 유기산 종류별 저장기간이 경과함에 따라 색소혼합 조성물의 변화양상을 나타내는 것으로, 시일이 경과할수록 색상이 다소 옅어지고 선명해지는 경향을 보였다.

(다) 금속이온의 영향

각 색소혼합 조성물에 대한 금속이온의 영향으로서는 금속이온의 촉매작용으로 색소의 산화분해가 촉진되거나 금속이온과 반응하여 착염을 형성하여 변색 불용화하게 된다. 특히 안토시아닌계 색소에서 금속이온을 함유한 성분이나 포장용기 사용시 이러한 현상이 일어날 수 있다. 본 실험에서 적용한 카로티노이드계 색소, 안토시아닌계 색소 모두 저장기간이 경과함에 따라 금속이온의 영향으로 색소의 변성을 크게 유발하지는 않았지만 경시적으로 색상이 다소 탁해지는 경향이 있었다.

(라) 광의 영향

황색계열의 천연색소는 가시광선에서도 쉽게 분해되는 경향이 있다. 본 실험에서 일광(그늘) 및 형광등에 노출시켜 저장한 경우와 광을 차단하여 암흑 상태에 저장한 경우에서의 혼합조성물의 색상 변화를 관찰한 결과, 공시한 대부분의 색소 혼합 조성물에서 일광에 노출한 처리구의 색상 강도가 약간 감소됨을 알 수 있었다. 이는 빛에 장시간 노출되면 색소의 안정성을 저하시킨다는 것을 의미하며, 천연색소 함유 제품 제조 및 저장시 이에 대한 고려가 필요하다고 본다. 그러나 전체적으로 일광(그늘)노출 조건과 암흑 조건에서 큰 차이는 없었으며, 본 혼합조성물은 비교적 광에 대해서 안정한 것으로 판단되었다.

(마) 열(온도)의 영향

천연색소는 열을 받으면 열분해 및 중합반응으로 갈변화하거나 퇴색, 변색된다. 가열온도와 시간에 따른 색소 혼합 조성물의 색상 변화 정도를 조사한 결과, 레드비트, 적양배추, 포도과피, 자색고구마 혼합조성물이 비교적 열에 안정하였으며, 백년초, 뽕잎 혼합물이 다소 열에 약한 것으로 나타났다.

(2) 다양한 요인에 따른 색소 혼합 화장료 조성물의 색차 변이

(가) pH 변화에 따른 색차 변이

천연색소는 pH에 따라 분자구조가 변하면서 색이 변하는 경우가 많다. 본 실험에서는 15종의 천연색소 추출물을 혼합한 조성물에 대해 1~7까지의 pH 변화에 따른 경시적인 색차 변이를 15일간 3일 간격으로 측정하였다. 그 결과를 보면, 대부분 L 값에서는 큰 변화가 없었지만, a 값과 b 값은 색소 종류에 따라 변화됨을 알 수 있었다. 특히 pH 5~7의 경우 적양배추, 자미, 오디 등 적자색을 띠는 색소를 혼합한 조성물에서는 다소 색차 변이가 있음을 알 수 있었다. 그러나 카로티노이드계 색소 및 클로로필계 색소를 함유한 조성물에서는 색차 변이에 큰 차이를 보이지는 않는 것으로 나타나 비교적 안정된 결과를 보였지만, 이보다 장기간 경과했을 경우는 색소 안정화에 문제가 발생할 수 있을 것으로 추측된다.

(나) 유기산에 따른 색소의 색차 변이

유기산 종류에 따른 혼합조성물의 경시적인 색차 변이를 15일간 3일 간격으로 측정한 결과를 보면, 대부분 L 값에서는 큰 변화가 없었지만, a 값과 b 값은 색소 종류에 따라 다소 변이를 보였다. 즉, 사용한 5가지 종류의 유기산 모두 15일 저장 기간 동안 큰 색차 변이가 없는 것으로 나타나 비교적 안정된 결과를 보였지만, 포도과피, 적양배추, 지치, 양파껍질, 치자황 등의 색소 혼합물에서는 ΔE 값이 점차 높아지는 경향을 나타냈다. 특히 뽕잎 색소 혼합물의 경우 시일이 경과함에 따라 ΔE 값이 다소 감소되었다.

(다) 금속이온에 따른 색소의 색차 변이

금속이온 종류에 따른 천연색소 혼합조성물의 경시적인 색차 변이를 15일간 3일 간격으로 측정한 결과를 보면, 대부분 L, a, b 값에 큰 변화가 없었으며 비교적 금속이온의 영향을 덜 받는 것으로 나타났다. 그러나 시일이 경과할수록 또는 금속

이온 농도가 높을수록 혼합조성물 종류에 따라 색상이 약간 탁해지는 경향을 보였으며, 특히 적양배추, 지치, 오디, 자색고구마, 양파껍질 등의 색소혼합물에서는 ΔE 값이 다소 높아지는 추세를 보였다. 전체적으로 금속이온에 대해 크게 불안정성을 보이지는 않았지만, 이는 비교적 단기간인 15일 동안의 색차 변이 추세를 측정하는 것으로 향후 보다 장기적인 관점에서 금속안정성 실험이 필요하다고 본다.

(라) 열에 대한 색소의 색차 변이

100℃의 가열조건에서의 혼합조성물의 안정성을 조사하기 위하여 60분 간격으로 색차변이를 측정하는 결과, 대부분 L 값에서는 큰 변화가 없었고 a 값과 b 값에서 다소 차이를 보였다. 또한 흑미, 자색고구마, 적양배추, 포도과피, 레드비트 색소 등의 혼합물에서는 색차의 변이가 비교적 안정되었지만, 뽕잎 색소 혼합물에서는 상대적으로 색차에 변이차가 있었다. 그러나 3시간 이상의 장시간 처리했을 경우는 이보다 색차변이에 더 큰 차이를 보일 것으로 추측된다.

(마) 광에 대한 색소의 색차 변이

일광(그늘) 및 형광등에 노출시켜 저장한 경우와 광을 차단하여 암흑 상태에 저장한 경우에서의 색차 변이를 측정하는 결과, 대부분 L 값에서는 큰 변화가 없었고 a 값과 b 값에서 일광처리와 암흑처리 사이에 약간 차이를 보였다. 즉, 암흑 상태에서 저장하는 경우가 색소조성물의 안정성이 다소 높은 것으로 판단되지만, 이는 색소 종류에 따라서 달랐으며 결과적으로 15일 저장기간 동안 두 처리 간 색차 변이에 큰 차이는 없었다.

(3) 색소혼합 화장료조성물의 자외선에 대한 안정성 분석

총 12시간 동안 자외선 조사에 따른 조성물의 색조변화를 관찰한 결과, 자외선을 조사하지 않은 색소 혼합 조성물의 0h과 비교하여 시간의 흐름에 따른 자외선 조사에 의한 흡광도 변화가 거의 없는 것으로 나타났다. 따라서 본 실험에서의 천연색소 혼합조성물은 전체적으로 자외선에 대한 변색 안정성이 우수한 것으로 나타났다.

바. 천연색소 및 항노화 물질 혼합조성물 기능성 분석

(1) 항산화활성

항산화활성 분석은 색소혼합물에 항노화물질 소재인 야생 참마(*Dioscorea japonica*)추출물을 혼합한 조성물을 시료로 하였다. 천연색소 및 참마추출물 혼합조성물에 대하여 free radical 소거활성을 측정하는 결과를 보면, 적양배추, 뽕잎, 포도과피, 오디 혼합조성물에서 free radical 소거활성이 상대적으로 높게 나타났다. 그러나 치자청, 치자황, 지황 등의 혼합조성물에서는 비교적 낮은 활성을 보였다.

(2) 항산화효소 활성

항산화효소 활성 분석은 색소혼합물에 항노화물질 소재인 야생 참마(*Dioscorea*

japonica)의 각 분획추출물을 혼합한 조성물을 시료로 하였다. 색소추출물과 참마 분획별 추출물을 혼합한 조성물의 SOD활성을 보면, 참마추출물을 혼합하지 않은 조성물에서는 지황, 뽕잎 등에서 높은 활성을 보였으며, 그 외 조성물과 큰 차이를 보였다. 분획별 참마 추출물 혼합 조성물에서는 EtOAc층에서 활성이 가장 높았으며, BuOH층은 EtOH층에서 보다 활성이 다소 낮은 경향을 보였다. 이상의 결과에서 보면 색소 종류에 따른 정도 차이는 있지만 in vitro에서 참마분획이 SOD활성을 촉진시키는 것으로 판단된다. APX활성을 보면, 참마추출물을 혼합하지 않은 조성물에서는 백년초, 오디, 적양배추 등에서 높은 활성을 보였으며, 흑미, 치자청, 치자황 조성물에서는 상대적으로 낮은 활성을 나타냈다. 분획별 참마 추출물 혼합 조성물에서는 대부분 EtOAc층과 BuOH층에서 상대적으로 활성이 높았으며, EtOH층에서는 참마 무첨가 혼합물과 다소 비슷한 양상을 보였다. 이상의 결과에서 보면 색소 종류에 따른 정도 차이는 있지만 참마 분획물을 첨가했을 때 APX활성이 증가함을 알 수 있었다. 또한 CAT활성을 보면, 참마추출물을 혼합하지 않은 조성물에서는 적양배추, 뽕잎, 양파껍질, 포도과피, 오디, 백년초 등에서 높은 활성을 보였으며, 치자청, 치자황, 여주, 지치 조성물에서는 상대적으로 낮은 활성을 나타냈다. 분획별 참마 추출물을 혼합한 조성물에서는 첨가하지 않은 조성물에 비해 모든 층에서 CAT활성이 낮았으며, 특히 EtOAc층에서 가장 낮은 활성을 보였다. 이는 항산화효소 종류에 따라 참마 분획추출물 첨가 효능이 다르게 나타남을 알 수 있었다.

(3) 항균활성

15종의 천연색소 혼합조성물 및 분획별 참마추출물 첨가 조성물에 대하여 agar diffusion test를 이용한 항균활성을 검색한 결과, 참마 추출물을 첨가하지 않은 색소혼합 조성물의 경우 Gram 양성균인 *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* 에 대해서 치자청 및 치자황 색소를 제외한 대부분의 색소조성물에서 항균활성이 높은 것으로 확인되었다. 또한 색소혼합 조성물에 분획별 참마추출물을 혼합한 조성물의 경우도 *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* 및 Gram 음성균인 *Vibrio parahaemolyticus*에 대해서 대부분의 색소 혼합조성물에서 저해환을 형성하였으며, 특히 EtOH, BuOH, EtOAc 분획추출물 간 항균활성에 큰 차이를 나타내지는 않았다.

사. 천연색소 및 향노화물질 함유 화장품조성물 제조 표준화 조건 확립

천연색소 및 향노화 물질을 포함하는 입술용 화장품 조성물 제조를 위한 표준화 조건을 확립하기 위해 다양한 방법으로 실험을 수행하여 함유되는 각 내용물과 첨가제의 용량 기준을 상세하게 정립하였다. 각 소재의 함량은 제품 유형에 따라 달리 할 수 있으며, 제시된 내용은 각 제품을 제조하기 위한 기본 베이스가 되는 조성물의 표준화라고 볼 수 있다.

아. 립케어 제품 품목별 제조공정 확립

(1) 제형별 제조공정

조제한 혼합조성물을 기본제제로 하여 각 품목별 립케어 제품을 만드는 공정을 정립하기 위하여 적용된 천연색소 색상이 비교적 안정화되는 다양한 조건에서 제조 실험을 반복 수행하였다. 각 제품의 적정 혼합조건과 비율 등은 화장료 조성물 제조를 위한 표준화 조건에서 제시한 내용을 기본으로 하여 제조하였으며, 이는 향후 시제품 제조에 있어 기본 매뉴얼이 될 것이다. 대부분의 천연색소는 오일류에 잘 용해되지 않으므로 직접 오일류에 혼합할 수 없는 문제가 있어 색소추출물을 오일류에 유중수화된 형태로 색소혼합 조성물을 만들었다.

(2) 천연색소 혼합 조성물로 제조한 립글로스 기초제품의 보습력 검증

립케어 제품을 위한 천연색소 혼합 조성물 함유 샘플 제품의 보습력을 알아보기 위해 경시적인 수분 및 유분 함량을 측정된 결과, 상기 표에 나타난 바와 같이, 색소 종류 및 시간 경과에 따라 다소 차이를 보였으나, 전체적으로 우수한 보습력을 지니는 것으로 나타났다.

자. 천연색소, 향노화 물질 함유 시제품 제조 및 안전성/안정성 조사

(1) 립케어용 시제품 제형별 최적 배합비율 조사

15종의 천연색소와 참마 주정알코올 추출물, 오일류, 버터류, 왁스류 및 부가첨가제를 이용하여 각 천연색소 추출물 첨가량을 달리하여 혼합 제조한 예비실험 과정을 통해 외관적 특성과 물성 등을 고려한 평가방법으로 각 제형별 최적의 배합비율을 판정하였다. 즉, 천연색소 추출물(참마추출물 함유)을 총량 대비 3%, 5%, 7%, 9%, 11%, 13%, 15% 중량비로 각각 혼합하여 유화가 적정하게 이루어지는 첨가 비율을 조사한 바, 립밤 7%, 립글로스 9% 그리고 립스틱은 11% 비율이 적합한 것으로 나타났다. 또한 립크림 제품을 제조하여 외관적 특성과 물성 등을 고려한 최적의 배합비율을 판정하였다. 즉, 다양한 기능성 식물 추출액과 증류수로 용해한 천연색소 추출물(참마추출물 함유)을 총량 대비 50%, 55%, 60%, 65%, 70% 중량비로 각각 혼합하여 크림상으로 유화가 적정하게 이루어지는 첨가 비율을 조사한 바, 워터계열 색소 추출물 65% 비율이 가장 적합한 것으로 나타났다. 이 때 참마 추출물은 각 색소 추출물에 약 5% 중량비로 혼합하였다.

(2) 립케어용 시제품의 기능성 및 안전성, 관능평가

(가) 제형별 시제품의 유효성 검색 위한 항산화능 평가

천연색소 및 참마추출물을 혼합하여 제조한 시제품에 대하여 free radical 소거 활성을 측정된 결과를 보면, 립크림에서는 자색고구마, 여주, 적양배추, 지치에서, 립밤에서는 적양배추, 레드비트, 포도과피, 오디에서, 립글로스에서는 포도과피, 레드비트, 지치, 백년초에서 그리고 립스틱에서는 여주, 파프리카, 적양배추, 포도과피

에서 free radical 소거활성이 상대적으로 높게 나타났다. 또한 각 제형별 시제품 추출물의 ABTS 양이온 소거활성은 추출물의 농도가 증가할수록 비례적으로 증가되는 경향을 보였다. 립크림에서는 포도과피, 오디, 여주, 자색고구마에서 15종류의 시제품 중 비교적 높은 소거활성을 보였으며, 립밤에서는 적양배추, 레드비트, 지치에서, 립글로스에서는 지치, 레드비트, 백년초, 적양배추에서 그리고 립스틱에서는 자색고구마, 치자청, 양파껍질, 백년초에서 상대적으로 소거활성이 높았다.

또한 시제품의 SOD활성을 보면, 제형별로 활성에 차이를 나타냈다. 즉, 립크림에서는 흑미, 양파껍질, 백년초 등에서, 립밤에서는 여주, 파프리카, 자색고구마 등에서, 립글로스에서는 자색고구마, 여주, 파프리카, 오디 등에서, 그리고 립스틱에서는 치자황, 지황, 백년초 등에서 SOD가 상대적으로 높은 활성을 보였다. APX활성을 보면, 립크림에서는 포도과피, 오디, 백년초 등에서, 립밤에서는 자색고구마, 여주, 오디, 지치, 백년초 등에서, 립글로스에서는 자색고구마, 여주, 레드비트, 지치, 백년초 등에서, 그리고 립스틱에서는 뽕잎, 포도과피, 오디, 지치, 백년초 등에서 APX가 상대적으로 높은 활성을 나타냈다. CAT활성을 보면, 제품의 제형별 그리고 색소 종류별로 활성에 다소 차이를 나타냈다. 립크림에서의 결과를 보면 자색고구마, 지황, 포도과피, 레드비트, 지치 등에서 상대적으로 다소 높은 활성을 보였지만 그 외 다른 색소 종류들과의 큰 차이를 보이지는 않았다. POX활성에 대한 결과를 보면, 립크림에서는 흑미, 자색고구마, 포도과피, 오디에서 등에서, 립밤에서는 자색고구마, 양파껍질, 오디, 지치, 백년초에서, 립글로스에서는 흑미, 양파껍질, 포도과피, 오디 등에서 그리고 립스틱에서는 포도과피, 오디, 레드비트 등에서 상대적으로 높은 POX활성을 보였다.

(나) 제형별 시제품의 유효성 검색 위한 항균성 평가

15종의 천연색소와 참마추출물을 첨가한 화장품에 대하여 agar diffusion test를 이용한 항균활성을 검색한 결과, 립밤과 립글로스의 경우 천연색소와 참마 추출물이 첨가된 화장품이 첨가되지 않은 화장품에 비해 Gram 양성균인 *Propionibacterium acnes*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, 진균류인 *Malassazia furfur*에서 대부분 높은 항균활성이 갖고 있었다. 립크림이나 립스틱은 립밤과 립글로스에 비해 항균활성정도는 떨어지는 것으로 확인되었으나, 립글로스나 립밤과 마찬가지로 천연색소가 첨가되지 않은 화장품인 control은 항균 활성이 없는 반면 천연색소가 첨가된 화장품 중 일부는 항균활성을 보이는 경우도 있다. *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*에 대해서는 립밤과 립글로스의 경우 대부분 저해환을 형성하며, 립크림이나 립스틱의 경우에는 몇몇 종류를 제외하고 항균활성이 거의 없는 것으로 나타났다.

(3) 제형별 시제품의 안정성 및 안전성 평가

(가) 시제품의 안정성 평가

① 가시광선 하에서 천연색소 함유 시제품의 경시적 색차 변이

천연색소 및 참마 추출물을 함유한 제형별 립케어 시제품을 제조하여 실내 가시광선 하에서 상온에 1개월간 보관하면서 1주일 간격으로 각 샘플에 대해 색차계 (Minolta CR-10, Japan)를 이용하여 명도(L), 적색(a), 황색(b)값의 색도 변화를 측정하였다. 측정 결과, 립크림에서는 대부분 L값이 시일이 경과할수록 낮아지는 경향을 보였으며, a와 b값은 색소 종류에 따라 편차를 보였다. 반면, 립글로스, 립밤, 립스틱의 경우는 L값에는 큰 변화가 없었으나 a 값과 b 값은 색소종류에 따라 다소 변화됨을 알 수 있었다.

② 가시광선 하에서 천연색소 함유 시제품의 경시적 색상 변화

실내 가시광선 하에서 시간경과에 따라 제형별 립케어 제품의 색상이 어떻게 변화하는지를 육안으로 관찰한 결과, 색조가 다소 퇴색되는 경향을 보였으며, 외관적 물성은 1개월이 시간이 경과한 관계로 다소 건조된 상태였으나 큰 변화를 나타내지는 않았다.

③ UV B 노출에 따른 천연색소 함유 시제품의 경시적 색차 변이 및 색상 변화

피부 노화의 주범인 자외선은 파장이 200~400 nm로 피부에 광생물학적 반응을 유발하는 중요한 광선이다. 자외선(Ultraviolet:UV)은 파장 길이에 따라 A, B, C의 3가지로 나뉘는데, 이 중 UVC는 오존층에서 차단되고, UVA와 UVB가 피부에 영향을 미친다. 시제품에 UVB를 조사하여 12시간 간격으로 경시적 색도변화를 측정한 결과, 4가지 제형의 제품 모두 대부분 색소에서 L값에서는 큰 변화가 없었고 a값과 b값에서 다소 차이를 보였다. 또한 외관적 색상 및 물성 변화에 있어서는 큰 차이를 나타내지 않았다.

④ UV A 노출에 따른 천연색소 함유 시제품의 경시적 색차 변이 및 색상 변화

시제품에 UVA 광을 조사하여 12시간 간격으로 경시적 색도 변화를 측정한 결과, 립밤, 립글로스, 립크림, 립스틱 제품 모두에서 시간경과에 따라 L값이 약간 높아지는 경향을 보였지만, a값은 대부분 낮아졌다. 이는 UVB 조사 실험 경우와는 다소 다른 결과를 보였다. 또한 색상변화를 관찰한 결과, 육안적인 차이와 물질의 변성이나 이물질 발생 등은 나타나지 않았다.

(나) 시제품의 안전성 평가

시제품의 정상세포 보호 및 독성의 정도를 확인하기 위해 Raw264.7, B16, HepG2 세포에 대한 독성을 MTT assay로 측정한 결과, 실험한 모든 농도에서 4종류 제품 모두 세포독성을 나타내지 않았다.

(4) 시제품의 사용성 검색 위한 관능평가

제형별로 제조한 시제품의 여러 가지 관능적 특성을 알아보기 위해 20~40대 여성 15명을 패널로 선정하여 제품을 5일 동안 사용한 후에 관능평가를 실시하였다. 관능평가는 5점 평점법을 이용하여 색상 느낌, 발색력, 발림성, 유분감, 흡수력, 보습력, 끈적임, 향취, 피부자극, 도포 후 전반적인 느낌 등의 항목에 대해 경시적으로 평가하였다. 도포 후 전반적 느낌은, 립밤, 립크림에서는 오디와 흑미 함유 제품에서 다소 높게 평가되었고, 립글로스에서는 자미, 오디에서 그리고 립스틱에서는 여주, 오디 함유 제품에서 조금 높게 나타났지만, 전체적으로 색소 종류별 의미있는 차이를 보이지는 않았다.

(5) 제형별 시제품의 입술피부에 대한 보습력 평가

천연색소 및 참마 추출물을 함유한 제형별 시제품의 보습력을 측정하기 위해, 정상적인 입술피부의 특성을 지닌 것으로 판단되는 20~40대 여성 10명을 대상으로 각 천연색소 종류별로 제조한 4 종류의 립케어 제품을 입술피부에 도포한 다음 유수분측정기(Skin Analyzer HL-611, Beautistyle Int. Co., Taiwan)를 이용하여 30분 간격으로 경시적인 보습유지 효과를 측정하였다. 측정 결과, 색소 종류 및 시간 경과에 따라 다소 차이를 보였으나, 전체적으로 우수한 보습력을 지니는 것으로 판단되었다.

차. 천연 립케어 제품의 사업화 및 마케팅 전략 구축

개발된 천연 립케어 제품의 사업화를 위한 방안으로서 국내외의 관련시장 현황을 면밀하게 분석하여 소비자 욕구 및 Target 소비자층에 맞춘 전략적 아이템을 선정하고, 차별화된 독창적 브랜드 이미지를 구축하도록 한다.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

- 다양한 식물유래 천연색소 및 참마의 기능성 소재화에 따른 재배자의 품종선택의 다양화를 기할 수 있고, 재배농가가 생산한 소재 식물의 기능성물질 분석을 지원
- 천연색소 및 참마의 고기능성 유용물질의 발굴을 위한 자료 제공함과 동시에 기능성 립케어 제품의 수출촉진을 위한 소재개발에 활용
- 참마에 함유된 항노화 천연물질 등의 생리활성물질 추출·단리기술 산업화 및 이를 이용한 제품개발에 적극 활용
- 천연 립케어 제품의 기능성과 안전성 검증이 효과적으로 수행된 결과를 바탕으로 환경친화적 건강생활 개선을 통해 국민 건강 증진 및 삶의 질을 향상시키기 위한 근거 자료를 제공할 수 있으리라 기대됨

- 식물유래 천연색소 및 참마의 이용성 확대방안 모색이 필요하며, 앞으로 국내 외적으로 이를 소재로 한 건강뷰티제품산업 분야 활성화에 기여
- 수입의존도가 높은 립케어 천연화장품 시장을 활성화시킬 수 있는 수입대체 효과 및 도출된 기술의 특허에 대한 기술이전을 통해 관련 기업과의 기술제휴에 활용
- 식물유래 천연색소 및 참마로부터 항노화 물질을 분리함으로써 주름개선에 작용하는 단일물질의 대량생산 및 이를 적용한 항노화 천연 화장품 제조에 응용하여 차별화된 제품 생산에 활용
- 국내외 화장품 전시회 및 박람회에 개발 제품을 출시하여 소비자 기호도 유발

SUMMARY

This study is conducted based on the necessity that higher value-added natural makeup is developed and use of natural pigments increases by developing lip care products containing *D. japonica* Thunb., one of economic resource plants that are expected to have anti-aging activity and 15 types of plant-made natural pigments that are expected to be useful for applying to makeup because they have various physiological functionality and colors, and the findings are as follows:

1. Separation of Natural Pigments and Anti-Aging Agents

1) Extraction of Active fractionation and Diosgenin, An Active Pharmaceutical Ingredient from *D. japonica* Thunb. and Analysis on Content

The whole plant of *D. japonica* Thunb. was fractionized with continuous sequential extraction using solvents such as n-hexane, CHCl_3 and EtOAc to gain samples by fractionation. For analysis on content of diosgenin from tissue of *D. japonica* Thunb., after freeze-drying powder was hydrolyzed for four hours in 2.5 M HCl, it was filtered with Whatman No.41 filter, then cleaned repeatedly until acid was removed from the residual body. The solution of petroleum ether: 2-propanol (12:1) was added to the residual body after re-drying for 3 times of reflux extraction in Soxhlet extraction apparatus, then concentrated using Rotary evaporater. The sample of Diosgenin was purchased from Sigma Co. and analyzed by Reverse phase HPLC.

2) Extraction of Betalain Pigments from Cultured Red Beet RB-103

Initially, 23 cell strains were selected through gap between growth rate and ability to synthesize these pigments from the cultured red beet (*Beta vulgaris*) transformed by introduction of gene of plant hormone, and RB-103 which had the best ability to synthesize these pigments among them through repetitive selection was used as a sample after culturing for 36 weeks in bioreactor. After freeze-drying the cultured RB-103 cell strain, it was triturated for fine powder and extracted three times at 4°C in 70% of ethanol extract as a solvent. For the

extract, after centrifuging for ten minutes with 15,000 rpm, the precipitate was thrown away and only the supernatant was measured at 535, 476 nm using UV-VIS spectrophotometer following the method of Nilsson. As a result of measuring the harvest rate of extracted pigments using the cultured RB-103 cell strain, the average harvest rate of betalain was two times higher than cultivar, which generated red pigment very efficiently

3) Separation and Identification of Pigments from Purple Sweet Potato and Red Cabbage

The sample for analysis on pigments was hydrolyzed, aglycone was selected excluding sugar, and then used as assay samples of TLC and HPLC. In order to identify pigment ingredients, they were measured at 530nm using cyanidin and peonidin, which were standard substances. As a result of analysis using TLC and HPLC to identify ingredients for aglycone (anthocyanidin) of pigments in purple sweet potato and red cabbage, it was found that the main pigment in purple sweet potato was peonidin and the one in red cabbage was Cyanidin.

4) Isolation of Anti-Aging Agents from *D. japonica* Thunb. and Purification in Quantity

After drying each 500g of *D. japonica* Thunb. leaves in a freeze-dryer, they were soaked for 72 hours in methanol to gain crude extract, which was conducted three times. The extract from vacuum concentration of 500g of *D. japonica* Thunb. was fractionized with continuous sequential extraction using solvents such as n-hexane, CHCl_3 and EtOAc to gain samples by fractionation. 2.44 g of available part for butanol of the fractionized root of *D. japonica* Thunb. was filled with HP20 of filler using H_2O of solvent in column (4 X 20 cm), the sample was dissolved in H_2O and loaded to column, MeOH of solvent mixing $\text{H}_2\text{O} : \text{MeOH}$, which had low polarity was dissolved gradually, each 300 ml was pulverized according to concentration of 20% ($\text{H}_2\text{O} : \text{MeOH} = 8:2$, v/v), 40%, 60%, 80% and 100%, and then five pulverized substances were concentrated.

5) Extraction of Natural Pigments and Improvement in Efficiency of Purification

In order to check optimum solvents at pH and temperature conditions of

extraction process from six types of natural pigments, NaOH solution was used for alkaline solvent and Citric acid was used for acid solvent. Furthermore, for temperature condition, they were extracted at 40°C, 60°C and 80°C. As a result of checking optimum extraction conditions according to pH of solvents using absorbance, Anthocyanin pigments such as prickly pear, purple rice, red cabbage and black rice made a large difference in color change of extracted pigments according to pH conditions, and in particular, the unique color of the pigments disappeared completely in alkaline solvent. As a result of checking optimum extraction condition according to temperature of solvents using absorbance, all the above samples showed stable results relatively, Therefore, it was believed that even high temperature such as more than 60°C did not matter for color change in extracting natural pigments.

6) Security of Bioactive Fractionation and Analysis on Characteristics

For fractionation of *D. japonica* Thunb. butanol, after filtering insoluble one in methanol, it was concentrated and dissolved in water, and then sugar was removed using HP-20 resin produced by Diaion. The compounds absorbed by methanol eluted, then ten units of fractionation were gained from the concentrated crude extract using gradient method from 14:6:1 to 10:6:1 of CHCl₃ : Methanol : water with silicagel 6 produced by kwandong Pharmaceutical Co., Ltd., and among them, Fr-6 was isolated using MPRC(EYELA VSP-3050) in ODS-A column with 5% of acetonitrile solvent at 3 ml a minute and analyzed through NMR.

For extraction and analysis of diosgenin, active ingredient of *D. japonica* Thunb., after each 5g of the splitted and dried rhizome was applied to 2N HCl 100 ml and refluxed for 12 hours, 100 ml of EtOAc was added to the supernatant extracted by filtering with the filter No.2 and the solution was fractionized for HPLC analysis. HPLC used Agilent 1200 (Agilent Tech. Inc. 2006, Germany). The solvent was given concentration gradient for 50 minutes in 20% up to 60% of Acetonitrile and the velocity of flow was 1.0 ml/min. The Column used XDB-C18 and was measured at 210 nm. The diosgenin for the standard substance was purchased from Sigma Chemical Co.

7) Separation of Compounds from fractionation of n-butanol

Compounds were separated form fractionation of butanol through the results

from examination of activities for *D. japonica* Thunb. extract. The peak resulting from phenol between 6.8 ppm and 7.7 ppm, the one from alkyne between 2.4 ppm and 3.7 ppm and the one from NH at 11.0 ppm in ¹H-NMR were identified. CH₂ at 27.1 ppm, CH resulting from chain at 54.7 ppm, and five CHs and three Cs having a double bond with phenol at more than 1000 ppm were found. One C resulting from carboxyl group at 170.5 ppm was shown. The peak crossing between N-H and C-2, C-1, C-3, C-8 was confirmed at 11.0 ppm, and the one crossing between H-9 and C-2, C-1, C-11, C-3 at 3.01 ppm was identified in HMBC. Furthermore, the peak crossing between H-3 and C-2, C-1, C-11 at 3.33 ppm, and the one crossing between H-10 and C-11, C-2 at 3.51 ppm were found. The peak crossing between H-5 and C-6, C-8 at 7.05 ppm of benzene ring, and the one crossing between H-9 and C-4, C-4, C-3 were shown. In addition, the peak crossing between H-1 and C-3, C-3, C-8 at 7.24 ppm, and the one crossing between H-4 and C-7, C-3, C-2, C-9 at 7.56 ppm were identified. As a result of measuring molecular weight through ESI-MASS, its structure was identified as L-tryptophan with 2-amino-3-(1H-indole-3-yl) propionic acid. L-tryptophan is one of amino acids biosynthesized from animal and plant cells and the traditional medical believed that it was effective in sleep disorder, sedation, depression and ADD. As a result of this experiment, L-tryptophan was included in rhizome of dried *D. japonica* Thunb. plentifully (0.7 mg/g DW), and was considered an index influencing activities among ten compounds of fractionation of n-butanol which showed high activities in examination of immunoreactivity.

8) Examination of Prototype for diosgenin of Index Component from Rhizome of *D. japonica* Thunb.

As a result of analysis using diosgenin for index component to examine natural extract component from prototype containing ethanol extract of *D. japonica* Thunb., all the five types of prototypes containing rhizome extract of *D. japonica* Thunb. showed diosgenin.

2. Analysis on Functionality to Skin of *in vitro* and *in vivo* of Natural Pigments and Anti-Aging Natural Substances

1) Investigation into Anti-Aging and Protective Effects of *D. japonica* Thunb. on Skin

As a result of experiment for DPPH radical scavenging activity of fractionation of *D. japonica* Thunb., DPPH scavenging activities in K670 (Chloroform extract) and K671 group (ethyl acetate extract) showed the same remarkable abilities as vitamin C 1 mM. K668 (Me-OH extract) and K669 (Hexane extract) were a little small the two groups but they also had strong DPPH scavenging activities. On the contrary, K672 (DMSO fractionation) and K673 (butanol layer) were recognized as weak DPPH scavenging activities. As a result of measuring xanthine oxidase activities after treating fractionation of *D. japonica* Thunb. according to concentration, it was found that xanthine oxidase activities increased in K 668, K671, K672, and K673 groups. K669 and K670 were not, per contra, recognized. Furthermore, as a result of measuring SOD-like activity after treating fractionation of *D. japonica* Thunb. according to concentration (25, 50 ug/ml), the similar activity shown in vitamin C were not recognized at all in the whole group.

2) Examination of Antimicrobial Properties of fractionation of *D. japonica* Thunb. (Minimal Inhibition Concentration, MIC)

In order to investigate antimicrobial properties of plant extract for pathogenic microbe, the standard strains was purchased from the Korean Culture Center of Microorganisms and used for experiment. Each strain was cultured for 24 hours according to culture conditions using optimum medium, in particular, anaerobic strain was cultured at CO₂ culture medium. Antimicrobial properties for *Pityrosporum ovale* used for experiment was not found in all the extracts. However, the properties for *Escherichia coli* and *Streptococcus mutans* strains were shown in all the plant extracts.

3) Examination of Skin-Lightening Effect of fractionation of *D. japonica* Thunb.

As a result of measuring inhibition activity of melanin synthesis of plant extract using mushroom tyrosinase involved in melanin biosynthesis, depression effect on hydroxylation of tyrosine was found in *D. japonica* Thunb. (butanol layer) and K668 among the plant extracts using the experiment. Furthermore, in order to show depression effect of plant extract on melanin formation, as a

result of measuring melanin content after treating with bee venom using B16F1 cell, *D. japonica* Thunb. (butanol layer) and K668 among the plant extracts using the experiment depressed melanin formation which caused chloasma and freckle.

4) Dead Keratin Cell Culture and Irradiation of Ultraviolet B

HaCaT cell, keratinocyte was cultured at a medium and used for the experiment, the cell was prepared as some groups devised for the experiment. They were investigated under the condition with PBS using UVB lamp, which was 290~320 nm with 50 mJ/cm² intensity. The sample was treated two times before and after irradiating UVB.

Various volumes of ultraviolet to skin cells were investigated and set as experimental conditions. As a result of the experiment, when UV-B was treated with more than 40 mJ/cm², there was apoptosis, which increased rapidly at 60 mJ/cm². Thus, this experiment selected 50 mJ/cm², sublethal dosage. After irradiating 50 mJ/cm² of ultraviolet to skin cell, solvent fractionation of *D. japonica* Thunb. was treated, and the experiment showed that block effect was meaningful in K669 group, however, other fractionation did not have meaningful block effect. As a result of treating solvent fractionation of *D. japonica* Thunb. beforehand, irradiating UV-B and then treating solvent fractionation of *D. japonica* Thunb. again, apoptosis of skin was blocked by UV-B in all solvent fractionation groups.

It was investigated which messengers protective effect of *D. japonica* Thunb. on skin cell from UV was related to. In case that apoptosis increases, protein of aspase-3 and caspase-9 which were known to cause apoptosis grow, and uncleaved caspase-3 and caspase-9, uncleaved form decline. In this experiment, uncleaved caspase-3 and caspase-9 decreased when irradiating UV, which was controlled significantly when treating *D. japonica* Thunb.. PARP protein inside nucleus is cut by caspase-3, which is another characteristics of apoptosis, and in this experiment, segment of PARP protein was induced when irradiating UV, which was blocked partly in fractionation of *D. japonica* Thunb. extract.

Bax, a protein increasing apoptosis rose when irradiating UV but Bcl-2, a protein controlling apoptosis dropped. Such action was depressed when treating *D. japonica* Thunb.

As a result of examining relevance to apoptosis gene and NO-related gene

when irradiating UV, caspase-3 gene was not detected, but caspase-9 increased. For iNOS and eNOS, NO-related genes, change in iNOS was not recognized but eNOS grew. Caspase-3 and eNOS genes which increased when treating *D. japonica* Thunb. extract were blocked partly.

5) Measurement of Yield of Nitric Oxide (NO)

Scavenging activity of NO was measured by the method of Murakami using HaCaT as a presenting cell. It was checked whether the protective effect of *D. japonica* Thunb. on skin is related to nitric oxide, and NO formation increased when irradiating UV. However increase in NO was not blocked when treating *D. japonica* Thunb. extract.

6) Examination of Cytotoxicity by MTT assay

The effect of extract on cell viability was measured through conducting MTT colorimetric reduction assay which showed index of Mitochondrial dehydrogenase activity. The effect on skin cell when treating fractionation of *D. japonica* Thunb. was examined, and the result showed that fractionation of *D. japonica* Thunb. was recognized to have a little apoptosis at the highest concentration (100 ug/ml), but was not recognized to have difference with the control group generally.

7) Separation of RNA and RT-PCR

RNA was separated using TRIzol reagent 24 hours after irradiating UVB, RNA was analyzed in quantity by measuring absorbance at 260 nm, cDNA was synthesized using 1 ug of RNA with RT premix™ (Bioneer), and 1ul of cDNA and certain primer were synthesized with PCR premix premix™ (Bioneer) to examine expression level in 2% of agarose gel.

8) Separation and Identification of Protein

Protein was separated using protein lysis buffer 24 hours after irradiating UVB, the protein sample separated from cell was measured in quantity using Bradford reagent at 595 nm, and 40 ug of protein was analyzed using sodium dodecyl sulphate (SDS)-polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) after apply heat. It was conducted by enhanced chemiluminescence kit (ECL, Amersham

Life Science, Inc.)

9) Investigation into Protective Effect of Natural Pigment on Skin

The effect of natural pigments on skin cell was looked into. As a result of the pilot experiment, reasonable concentration of natural pigments were set. 50 ug/ml for mulberry leaves, balsam pear and gardenia and 500 ug/ml for purple sweet potato, foxglove, gardenia and black rice were set. As a result of the experiment, natural pigments (mulberry leaves, balsam pear purple, sweet potato, foxglove, gardenia and black rice) themselves did not affect apoptosis of skin cell. After irradiating 50 mJ/cm² of ultraviolet to skin cell, solvent fractionation of natural pigments (mulberry leaves, balsam pear purple, sweet potato, foxglove, gardenia and black rice) were treated according to reasonable concentration. The experiment showed that block effect was meaningful in K669 group, however, other fractionation did not have meaningful block effect. Bax, a protein increasing apoptosis rose when irradiating UV but Bcl-2, a protein controlling apoptosis dropped. Such action was depressed when treating natural pigment extract.

10) Analysis on Anti-Aging and Investigation into Protective Effect in vitro on Skin According to Segmentation of Fraction of *D. japonica* Thunb.

A) UV Block Effect of fractionized *D. japonica* Thunb. on Skin Cell

○ As a result of investigation into UV block effect on HaCaT skin cell through solvent fractionation of *D. japonica* Thunb. keratinocyte by UV showed apoptosis. Such effect was blocked meaningfully by C2 and C7 chloroform fractionation of *D. japonica* Thunb. It is blocked by Et-OH fractionation (E3, E4), Me-OH fractionation (M3, M7), Hexane fractionation (H1, H4) and Butanol fractionation (B1, B6). In particular, part for Bt-OH layer was experimented by extracting according to %. The effect of fractionation of *D. japonica* Thunb. for Bt-OH% on HaCaT skin cell was examined. The experiment showed that 30 μg/ml did not affect apoptosis. As a result of measuring by fractionation, 20%, 40% and 80% blocked apoptosis by ultraviolet. On the contrary, 60% and 100% did not block apoptosis by ultraviolet.

○ The block effect of on oxidative stress by ultraviolet concentration

fraction of Bt-OH layer in keratinocyte was checked. As a result of measuring by fractionation, 20%, 40% and 80% blocked increase in oxidative stress by ultraviolet. On the contrary, 60% and 100% did not block increase in oxidative stress of skin cell by ultraviolet. The result were similar to the effect on apoptosis.

○ The block effect on NO formation by ultraviolet in keratinocyte was investigated. NO formation grew when irradiating UV, however as a result of measuring by fractionation, the block effect by fraction of 20%, 40%, 60%, 80% and 100% Bt-OH *D. japonica* Thunb. was not recognized.

B) Analysis of antioxidant activity of graduating wild *D. japonica* Thunb.

○ The result which has processed the extracts to extract the wild *D. japonica* Thunb.s by density of Bt-OH showed that in processing 50ug/ml, an ability to eliminate DPPH radical does not reach the ability by vitamin C of 1mM but it has been recognized for some effect.

○ The result which has processed the extracts to extract the wild *D. japonica* Thunb.s by density of Bt-OH showed that in processing 50ug/ml, an activity of xanthine oxidase does not reach the ability by vitamin C of 1mM but it has been recognized for some effect.

C) Lightening Effect of Graduating Bt-OH in Wild *D. japonica* Thunb.

Among extracts of plants used in the test, the result to measure each density of wild *D. japonica* Thunb.s (layer of butanol) confirmed whether it shuts out a synthesis of melanin by α -MSH. The result showed that these extracts has been recognized for the effect to repress an activity of tyrosinase even though less than Kojic acid.

11) Examination of antioxidant effect and effect of skin protection of extracts of natural pigments

A) Effect of shutting out ultraviolet rays in cells of skin of natural pigments

○ In fact, the result which compares and analyzes the part of effect to entire natural pigments in water extracts to use in daily life showed that when processing the extracts of mulberry leaves, prickly pear, fruit of balsam pear,

purple sweet potato, foxglove, gardenia seeds and black rice, a significant difference is not recognized and an increase of oxidant stress by ultraviolet rays is remarkably repressed.

○ At the result to confirm whether the natural pigment itself relates to manifestation of cPLA2 and COX-2 in damaging the cells of skin by ultraviolet rays, when taking ultraviolet rays, manifestation of cPLA2 and COX-2 has increased and this action is remarkably repressed when processing the extracts of mulberry leaves, prickly pear, fruit of balsam pear, purple sweet potato, foxglove, gardenia seeds and black rice.

○ At the result to confirm whether the natural pigment itself relates to the change of manifestation of Bax and Bcl-2 which are proteins relevant to killing cells in damaging the cells of skin by ultraviolet rays, when taking ultraviolet rays, manifestation of Bax, protein to promote killing cells increases but this action is remarkably repressed when processing the extracts of mulberry leaves, prickly pear, fruit of balsam pear, purple sweet potato, foxglove, gardenia seeds and black rice.

B) Effect of Anti-aging in cells of skin of Natural Pigments

The natural pigments themselves increase manifestation of MMP-1 and Sirt1 which are proteins relevant to an aging in damaging the cells of skin by ultraviolet rays. When taking ultraviolet rays, manifestation of MMP-1 increases and manifestation of SIRT-1, protein of longevity, decreases. This action is remarkably shut out when processing the extracts of mulberry leaves, prickly pear, fruit of balsam pear, purple sweet potato, foxglove, gardenia seeds and black rice. The same aspect is shown even in the case of revealing gene of MMP-1 of cells of skin.

C) Effect of Lightening in cells of skin of Natural Pigments

The result to confirm whether natural pigments themselves shut out synthesis of melanin by α -MSH showed that it has been recognized for the effect to repress an activation of tyrosinase when processing the extracts of mulberry leaves, prickly pear, fruit of balsam pear, purple sweet potato, foxglove, gardenia seeds and black rice even less than Kojic acid.

12) Experiment on Animals

A) Search of Effect on forming wrinkles of skins of graduating wild *D. japonica* Thunb.

For the group of irradiating only ultraviolet rays, a grade of wrinkle has been increased continuously over the time to irradiate and for the group of irradiating only ultraviolet rays without process, it showed average 1.25 for seven weeks and it showed average 2.30 of wrinkle grade at the tenth week, the time to finish the experiment. The group which an graduation of wild *D. japonica* Thunb. is administered into the abdominal cavity by an injection showed a similar tendency with the group of irradiating only ultraviolet rays without process over the entire period and a significant impression to reduce the forming of wrinkle is not observed. The group to irradiating ultraviolet rays with spraying excipient showed somewhat lower number of degree due to physical defensive effect of ointment than the group of irradiating only ultraviolet rays without process and also even the one with spraying graduation of wild *D. japonica* Thunb. showed similar tendency with the control group of irradiating ultraviolet rays with spraying excipient and then it is not observed for significant reduction of forming wrinkle between these groups.

B) Search for Effect to change of index of microscope on skin's tissue (Epidermal thickening, Dermal cellularity and Dermal cystic change)

The control group of irradiating only ultraviolet rays without process showed 1.40 for epidermal thickening, 1.30 for dermal cellularity and 1.60 for dermal cystic change by the average over ten weeks and the group of injecting graduation of wild *D. japonica* Thunb. into abdominal cavity showed similar tendency with the control group of irradiating only ultraviolet rays without process and it is not observed for significant opinion of reduction. The group to irradiating ultraviolet rays with spraying excipient showed somewhat lower number of degree due to physical defensive effect of ointment than the group of irradiating only ultraviolet rays without process and also even the one with spraying graduation of wild *D. japonica* Thunb. showed similar tendency with the control group of irradiating ultraviolet rays with spraying excipient and then it is not observed for significant reduction of forming wrinkle between these groups.

13) Experiment on animal in order to improve dermal function of every materials with effect

A) Experiment for Dermal Stimulus

At the result of the experiment on dermal stimulus by means of test animal with specimen of prickly pear and *D. japonica* Thunb., general symptom and death from administering the specimen has not been recognized. At the result to evaluating the stimulus in the applying part at 24th hour and 72th hours after applying the specimen, any change in the every index of stimulus is not observed in every control graduation of animals without process and graduation with processing the specimen. From these results, it is considered that the prickly pear and the *D. japonica* Thunb. do not have any effect on dermal stimulus.

B) Experiment to stimulate ocular mucous membrane

It is carried out in accordance of 'Standard of Toxic Test on Medicine and medical supplies(10) of No. 2005-60, Notification of KFDA (Oct, 21, 2005), 'Standard of Management of Non-clinical test', No. 2000-63, Notification of KFDA (Dec 11, 2000) and OECE Principles of Good Laboratory Practice (1997). During the test, the dead animals from applying the specimen has not been observed. From the result, it has been shown that applying prickly pear and *D. japonica* Thunb. in ocular mucous membrane in the rabbit in the kind of New Zealand White did not induce any stimulus and so it is judged that these specimens are non-stimulant matter. At the result to observe partial stimulus, at first, second, third, fourth and seventh day after applying the specimen, any abnormal impression by applying the specimen has not been recognized. Therefore, an acute ocular irritation index of the specimen is '0' for the Rinsing and the Non-rinsing respectively and has been assessed for non-stimulant matter.

3. Establishment of manufacturing process of composites for natural cosmetics for lip care and manufacturing of test product

1) Selection of applying natural pigments and Investigation of their properties

A) Investigation of properties according to dry condition

Looking for the recovery amount of extracting specimen according to dry condition, three kinds of pigment (grapes peel, mulberry and paprika) are comparatively high and show comparatively high recollection rate even in the natural drying method and hot air drying method and a big difference does not show in recovery amount of extracting specimen in each processing interval.

B) Recovery by Temperature Condition of Distilled Water of Extracted Solvent

The result to investigate the amount of matter which the natural pigments are recollected according to temperature condition of extracted diluted water showed that the recovery amount is the highest when extracting for 20 minutes, making the temperature of diluted water which is an extracted solvent 100°C, but the recovery amount of the specimen to extracting for 24 hours at the room temperature is little comparatively. The recovery amount of the specimen to extracting for two hours, making the temperature of diluted water 50°C, showed comparatively big amount.

C) Solubility of Powder of Pigments According to Grinding Condition

At the result to melting the pigments by the mesh size and to investigate their solubility in order to confirm eluting ability by particular size of the powdery pigments of grapes peels, mulberry and yellow paprika which are freeze-dried, the solubility in the 100µm of mesh size which is the tiniest particle is the highest.

2) Verification of antioxidant activity and lightening activity of selected natural pigments

A) Aggregate content of phenol composite and content of Flavonoid

At the result to measure the content of aggregate content of phenol for thirteen kinds of natural pigments, the content of polyphenol of onion peel is the highest and it is shown for comparatively high content even in the red cabbage and mulberry. The content of flavonoid is the highest and high content is shown in paprika(yellow), mulberry leaves and mulberry.

B) Antioxidant Activity

Looking for the result to measure the ability to eliminate DPPH radical (ability to donate an electron) for the extract of selected natural pigments, an activity to eliminate the free radical has been shown comparatively high in pigments of red cabbage, onion peel, grapes peel and mulberry. However, it showed comparatively low activity in yellow paprika and yellow balsam pear. In addition, at the result to investigate an ability to eliminate nitrite, the pigments of red beet, onion peel, foxglove, yellow paprika are able to dissolve the nitrite over 80%. For them, the pigment of onion peel is 91.88% and showed the highest activity to eliminate the nitrite. But, the pigments of red cabbage and mulberry showed comparatively low activity to eliminate.

C) Activity of Antioxidant Enzyme

Looking for the result to measure an activity of antioxidant enzyme of the applied natural pigments, the SOD activity showed high activity in the balsam pear, black rice and grapes peel and comparatively high in the purple sweet potato and foxglove. However, it is known that APX activity and CAT activity showed high activity in the mulberry leaves, foxglove and mulberry and there is a difference in the activity according to the kind of the antioxidant enzyme.

D) Activity of impediment of Tyrosinase

Looking for the effect of suppression of activity of tyrosinase of the selected natural pigments, it is shown the highest in the mulberry leaves, and then relatively high activity in red cabbage, grapes peel, paprika and black rice and rarely activity in onion peel and Gardenia Yellow.

3) Verification of Antibiotic Activity and Stability of Materials of Natural Pigments

A) Verification of Antibiotic Activity of Extracts of Natural Pigments

At the result to search the antibiotic activity by means of agar diffusion test for thirteen extracts of natural pigments, most natural pigments formed impeding ring to the *Bacillus subtilis* and *Micrococcus luteus*, Gram positive bacteria and *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Proteus mirabilis*, etc, Gram negative bacteria and in particular, purple sweet potato, mulberry, mulberry leaves, grapes peel and foxglove showed high antibiotic activity.

B) Spectroscopic Properties of Natural Pigments

① Influence of pH

There are many natural pigments as the molecular structure changes according to pH. In particular, the anthocyanin pigments changes red into purple and black blue according to pH and the carotenoid pigments does not change much in pH but becomes intable in alkali. It is observed that there are changes of the absorbance in the maximum absorption wavelength band of each pigment by the change of pH as the day passes in the every pigments publicized in this experiment. That is to say, the strength of color of solution of pigments adjusted by pH showed to lower as pH gets higher. This showed pH factor is an important factor to determine the stability of pigment by the kind of natural pigments.

② Influence of Organic Acid

At the result to investigate the effect to take on the strength and stability of the natural pigments according to the kinds of organic acids and period of storage, all the five kinds of organic acid has somewhat difference in absorbance as the time of storage passes and it is known that it showed a difference in the change of absorbance according to the kinds of pigments and organic acids. It is considered that pH gets lower by adding organic acid and the strength of color gets higher in the anthocyanin pigments but it showed a tendency that the strength of color gets somewhat lower, when the time passes more than ten days.

③ Influence of Metal Ion

An influence of metal ion to pigment composite is that oxidant breakdown of pigment is enhanced by catalysis of metal ion or it reacts with metal ion, form complex salts and is disused with change of color. In particular, when using composite or packaging container to contain metal in the anthocyanine pigments, such phenomenon may bring about. Both cartinod pigments and anthocyanine pigments applied in this experiment did not induce change of pigments so much by an influence of metal ion as the time of storage passes and only Ag^{2+} processing are has a tendency to bring about small amount of precipitate.

④ Influence of Light

Natural pigments in the yellow have a tendency to be broken down easily even in the visible light. At the result to observe the change of colors in the case which is exposed to daylight(shade) and fluorescent light and stored and in the case which shut out the light and is stored in the darkness in this experiment, it is known that the strength of color in the processing area exposed to daylight is reduced in the most pigments publicized. It means that

long-time exposure to the light deteriorates the stability of pigments and it seems that it has to be considered in manufacturing and storing the products which contain natural pigments.

⑤ Influence of Heat(Temperature)

The natural pigments, when taking a heat, bring about maillard reaction, discolors or changes the color by thermal breakdown and polymerization. At the result to investigate the degree of changing the color of the extracts of pigments according to heating temperature and time, it is shown that the extract of Gardenia Blue is the most stable in the heat and the extract of mulberry leaves is the weakest in the heat.

⑥ Influence of Sugar

When adding the sugar and heating, it is known that the color gets deteriorated much over the heating time. It showed that the influence by the heat and the change of color by the sugar bring about synergy mutually and the color gets more deteriorated than single process.

C) Deviation of color difference of natural pigments by various factors

① Deviation of color difference by pH change

There are many natural pigments as the molecular structure changes according to pH. We have measured the longitudinal change of color by change of pH from 1 to 7 to the thirteen kinds of natural pigments applied in this experiment every three days for fifteen days. Looking for the results, it is known that most did not a big change in the L value but a value and b value changed according to the kinds of pigments. Although grapes peel, purple rice, mulberry and red cabbage do not have a big change of color for the time of storage for fifteen days and show comparatively stable result, it is assumed that when the time passes more than those days, a problem may occur in the stability of pigment.

② Change of color of Pigments According to Organic Acid

Looking for the result to measure the longitudinal change of color in the natural pigments according to the kinds of organic acids, they do not have a big change in L value in most but show more or less change in a value and b value according to the kind of pigments. That is to say, all the five organic acids used do not have a big change of color for the period of storage for

fifteen days in grapes peel, mulberry and red cabbage and show comparatively stable result but it is shown that the stability of pigment gets deteriorated much in mulberry leaves and red beet. In particular, in the case of gardenia yellow, b value gets reduced much more than L and a values. Even the pigment of paprika showed more or less difference in the change of color according to the kind of organic acid.

③ Change of Color of Pigment According to Metal Ion

Looking for the result to measure the longitudinal change of color of the natural pigments every three days for fifteen days according to the kinds of metal ion, most does not have a big change in L, a and b values and it is shown that most takes less influence comparatively from metal ion. Besides, other anthocyanine natural pigments do not show instability much to the metal ion. But, it is to measure the trend in the change of color for fifteen days which are comparatively short times and it is thought that it needs longer experiment in the future.

④ Change of Color in the Pigment According to Sugar

Looking for the result to measure the change of color of the extracts of pigments by adding the sugar(1%) every sixty minutes, there is somewhat difference in the change of color according to the kinds of natural pigments. Red cabbage and purple sweet potato do not have a big change in the color comparatively but the pigments of red beet and balsam pear showed somewhat instability. But, even in the pigments which showed stability comparatively, when processing for long time more than 120 minutes, it is assumed that there may be a big change in stability.

⑤ Change of Color in the Pigments to the Heat

The result to measure the change of color every sixty minutes in order to investigate the stability of the natural pigments in the heating condition of 10 0°C, did not show a big change in L value in most but showed somewhat difference in a value and b value. The change of color increased relatively in the pigments of balsam pear, foxglove and red beet but a big change did not show in other pigments. But, it is assumed that it shows a bigger change than this when processing for a long time more than three hours.

⑥ Change of Color in the Pigments to the Light

The result to measure the change of color in the case which is exposed to daylight(shade) and fluorescent lamp and store and in the case to shut out the

light and store in the darkness did not have a big change in L value in most but showed somewhat difference between the daylight process and darkness process in a value and b value. That is to say, it is judged that the case to store in the darkness is more stable but there is no big difference in change of color between both processes for the storing period of fifteen days.

4) Verification of Functionality of the First Mixing Composite

At the result to analyze the functionality to the first mixing composite made by the specimen of the pigments of grapes peel, mulberry and paprika without adding any excipient as a basic stage to manufacture the products of lip care, the aggregate content of phenol composite was $320.7\mu\text{g}/\text{ml}$ and showed high content and the flavonoid is $261.8\mu\text{g}/\text{ml}$ and showed higher content than single material. For the ability to eliminate DPPH radical of the mixing composite, the composite of grapes peel showed 50% of ability to eliminate compared to non-process in the density of $525.2\mu\text{g}/\text{ml}$ and showed high activity and the nitrite showed 71.3% of ability to eliminate compared to non-process. For the activity to impede the tyrosinase, the grapes peel showed 20.3% of activity in the density of $2500\mu\text{g}/\text{ml}$. It is assumed that that the mixing composite showed good result entirely comparing to single material has also an effect of every functional natural oily matter mixed in the composite.

5) Manufacturing of Mixing Composite of Natural Pigments and Investigation of Stability of Change in Color

A) Stereoscopic Properties of Pigment mixing Composite

① Influence of pH

There are many natural pigments as the molecular structure changes according to pH. In particular, the anthocyanin pigments changes red into purple and black blue according to pH and the carotenoid pigments does not change much in pH but becomes unstable in alkali. It is observed that there are changes of the absorbance in the maximum absorption wavelength band of each pigment by the change of pH as the day passes in fifteen kinds of pigments publicized in this experiment. That is to say, the strength of color of mixing composite adjusted by pH showed to lower as pH gets higher. This showed pH factor is an important factor to determine the stability of pigment by the kind of natural pigments. Looking for the longitudinal aspect of change for fifteen days,

as time passed, for the mixing composite of anthocyanine pigments to show red purple, the color has shown the tendency to be lightened. But, the compound of pigment of paprika have little longitudinal change according to pH and maintained comparatively stable state.

② Influence of Organic Acid

At the result to investigate the effect to take on the strength and stability of the natural pigments according to the kinds of organic acids and period of storage, all the five kinds of organic acid has somewhat difference in absorbance as the time of storage passes and it is known that it showed a difference in the change of absorbance according to the kinds of pigments and organic acids. It is considered that pH gets lower by adding organic acid and the strength of color gets higher in the anthocyanin pigments but it showed a tendency that the strength of color gets somewhat lower, when the time passes more than ten days.

The below picture is to show the aspect of change of composite of pigments mixture as the time to store by every kind of organic acid passed and the color has a tendency to be lightened somewhat and clearer over the time.

③ Influence of Metal Ion

An influence of metal ion to each composite of pigment mixture is that oxidant breakdown of pigment is enhanced by catalysis of metal ion or it reacts with metal ion, form complex salts and is disused with change of color. In particular, when using component or packaging container to contain metal in the anthocyanine pigments, such phenomenon may bring about. Both cartinod pigments and anthocyanine pigments applied in this experiment did not induce change of pigments so much by an influence of metal ion as the time of storage passes and longitudinally they have a tendency which the color gets thicker.

④ Influence of Light

Natural pigments in the yellow have a tendency to be broken down easily even in the visible light. At the result to observe the change of colors in the case which is exposed to daylight(shade) and fluorescent light and stored and in the case which shut out the light and is stored in the darkness in this experiment, it is known that the strength of color in the processing area exposed to daylight is reduced in the most composite of pigments mixture publicized. It means that long-time exposure to the light deteriorates the

stability of pigments and it seems that it has to be considered in manufacturing and storing the products which contain natural pigments. But, entirely, there was no big difference in the condition exposed to daylight(shade) and the condition of darkness and it is judged that the mixture composite is comparatively stable to the light.

⑤ Influence of Heat (Temperature)

The natural pigments, when taking a heat, bring about maillard reaction, discolors or changes the color by thermal breakdown and polymerization. The result to investigate the degree to change the color in the composite for the pigments mixture according to the heating temperature and time showed that the mixture composite of red beet, red cabbage, grapes peel and purple sweet potato is comparatively stable to the heat and the mixture of prickly pear and mulberry leaves were somewhat weak to the heat.

B) Change of Color in the Composite of Cosmetics of Pigments Mixture According to Various Factors

① Change of Color According to Change of pH

There are many natural pigments as the molecular structure changes according to pH. We have measured the longitudinal change of color by change of pH from 1 to 7 to the fifteen kinds of extracts of natural pigments in this experiment every three days for fifteen days. Looking for the results, it is known that most did not a big change in the L value but a value and b value changed according to the kinds of pigments. In particular, for pH 5 ~ 7, it is known that the composites to mix the pigments which showed red purple including red cabbage, purple rice and mulberry has somewhat change in color. But, although the composite to contain the carotinoid pigments and chlorophyll pigments did not demonstrate a big difference in the change of color and showed comparatively stable result, it is assumed that a problem may bring about in stabilizing the pigments when longer time passed than this.

② Change of color of Pigments According to Organic Acid

Looking for the result to measure the longitudinal change of color in the natural pigments according to the kinds of organic acids, they do not have a big change in L value in most but show more or less change in a value and b value according to the kind of pigments. That is to say, although all the five kinds of organic acid used did not have a big change of color during the period

of storage for fifteen days and showed comparatively stable result, it showed a tendency that a value of ΔE gets higher in the composite of pigments including grapes peel, red cabbage, gromwell, onion peel, gardenia yellow, etc. In particular, for the compound of pigment of mulberry, a value of ΔE reduced somewhat over the time.

③ Change of Color of Pigment According to Metal Ion

Looking for the result to measure the longitudinal change of color of the natural pigments every three days for fifteen days according to the kinds of metal ion, most does not have a big change in L, a and b values and it is shown that most takes less influence comparatively from metal ion. But, as the time passed or the density of metal ion gets higher, the color has shown a tendency which the color got thicker somewhat according to the kind and in particular, the compound of pigment including red cabbage, gromwell, mulberry, purple sweet potato, onion peel, etc., has demonstrated a tendency that a value ΔE of got higher somewhat. Entirely it does not show instability to the metal ion so much but it is to measure a trend of change in color for fifteen days which are comparatively short time and it may be necessary for an experiment on the metal stability in the long-term respect later.

④ Change of Color in the Pigments to the Heat

The result to measure the change of color every sixty minutes in order to investigate the stability of the natural pigments in the heating condition of 10 0°C, did not show a big change in L value in most but showed somewhat difference in a value and b value. In addition, for the compound including pigments of black rice, purple sweet potato, red cabbage, grapes peel and red beet, the change of color gets stable comparatively but the compound of pigment of mulberry leaves has difference of change in color comparatively. But, it is assumed that it shows a bigger change in change of color than this when processing for a long time more than three hours.

⑤ Change of Color in the Pigments to the Light

The result to measure the change of color in the case which is exposed to daylight(shade) and fluorescent lamp and store and in the case to shut out the light and store in the darkness did not have a big change in L value in most but showed somewhat difference between the daylight process and darkness process in a value and b value. That is to say, it is judged that the case to store in the darkness is more stable in the composite of pigment, but there is no big difference in change of color between both processes for the storing

period of fifteen days.

C) Analysis of Stability to Ultraviolet Rays of Cosmetic Composite of Pigments Mixture

The result to observe the change of color in the composite according to irradiating the ultraviolet rays for aggregate twelve hours has demonstrated that the change of absorbance by irradiating the ultraviolet rays over the time has little compared to 0h of the composite in the pigments mixture not irradiating the ultraviolet rays. Therefore, the composite of natural pigments mixture in the experiment has demonstrated that the stability of discoloration to the ultraviolet rays entirely.

6) Analysis of functionality of compounds of natural pigments and anti-aging materials

A) Antioxidant and antioxidant activities

The antiaging materials, *D. japonica* Thunb. extracts was mixed with pigment compounds to analyze antioxidant activities. For the compounds of natural pigments and *D. japonica* Thunb. extracts, free radical elimination activities were relatively high in the compounds of red cabbage, mulberry leaves, grapes peel, and mulberry. However, they were relatively low in the compounds of gardenia blue, gardenia yellow and foxglove.

Antioxidant activities were analyzed with the compounds of the antiaging material, each fractionized *D. japonica* Thunb. and color compounds. For SOD activities of compounds of pigment extracts and *D. japonica* Thunb. extracts, compounds not containing *D. japonica* Thunb. extracts show high activities and big difference from other compounds. For compounds of each fractionized *D. japonica* Thunb. The SOD activities was the highest in EtOAc layer and a little bit lower in BuOH layer than EtOH layer. From the results, it is considered that each fractionized *D. japonica* Thunb. promotes SOD activities in vitro even though there is difference upon the types of pigments. For APX activities, compounds not containing *D. japonica* Thunb. showed high activities in prickly pear, mulberry and red cabbage while relatively low activities in compounds of black rice, gardenia blue, gardenia yellow.

For the compounds of fractionized *D. japonica* Thunb., APX activities was relatively high in EtOAc and BuOH layer while a little bit similar aspects to the

compounds without *D. japonica* Thunb. in EtOH layer. From the above results, it was found that APX activities increase by fractionized *D. japonica* Thunb. even though there is difference by the type of pigments. Also for CAT activities, compounds without *D. japonica* Thunb. it shows high activities in red cabbage, mulberry leaves, onion peel, grapes peel, mulberry, prickly pear while relatively low activities in compounds of gardenia blue, gardenia yellow, balsam pear, and borage. These results show that the effect of *D. japonica* Thunb. differs by the type of antioxidase.

B) Antimicrobial activities

Agar diffusion test was employed to test antimicrobial activities on compounds of 15 types of natural pigments and fractionized *D. japonica* Thunb.. the results indicate that, for gram positive bacteria, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, and *Listeria monocytogenes*, most compounds of pigments without containing *D. japonica* Thunb. extracts, except pigments of gardenia blue and gardenia yellow, had high antimicrobial activities. For *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, and *Listeria monocytogenes* as well as gram negative bacteria, *Vibrio parahaemolyticus*, compounds containing fractionized *D. japonica* Thunb., with pigments compounds also form inhibition ring. Especially, there was no significant difference in antimicrobial activities between differential extracts of EtOH, BuOH, and EtOAc.

7) Establishment of standard condition for manufacturing cosmetic ingredients containing natural pigment and anti-aging materials

In order to establish standard condition for manufacturing lips cosmetics ingredients containing natural pigment and anti-aging materials, various methods were employed to experiment to establish standard dose of each ingredient and additive. The dose of each pigment may be changed by product types and indicated facts are considered as standardization of basic ingredients to manufacture each product.

8) Establishment of manufacturing process by each lip care products

A) Manufacturing process by product type

Manufacturing experiments were repeatedly performed under various conditions

that relatively stabilize the colors of natural pigment in order to establish manufacturing process of lip care products by each product type based on mixture components. The appropriate mixture ratios and conditions of each product were selected under standardization condition for manufacturing cosmetic compounds, which will be the fundamental manual to manufacture a prototype. Most natural pigments are not mixed to oil directly due to its insoluble property in oil. Accordingly, pigment mixture compounds were made by hydrating pigment extracts in oil.

B) Verification of moisturizing capability of lip gloss products using natural pigment compounds

Moisture and oil contents were longitudinally measured to verify moisturizing power of sample products containing natural pigment compounds. As shown in the above table, the results shows a little difference by the type of pigments and time but they it is considered that they mostly have excellent moisturizing power.

9) Manufacturing a prototype containing natural pigments and anti-aging materials and investigating stability and safety

A) Optimal mixture ratio by type of lip care prototype

Preliminary experiment was performed to manufacture a prototype using 15 natural pigments, *D. japonica* Thunb. extracts, oil, butter, wax and additives under different amount of natural pigment extracts. Optimal mixture ratio of each type was determined by considering properties of appearance and matters. Natural pigment extracts(containing *D. japonica* Thunb. extracts) were added by the weight ratios of 3%, 5%, 7%, 9%, 11%, 13% and 15% each to find the optimal point of hydration. The results indicate that 7% of extracts was appropriate for lip gloss while 11% of extracts for lipsticks. Also, lip cream was manufactured to determine optimal mixture rate by considering the properties of appearance and matters. Natural pigment extracts(containing *D. japonica* Thunb. extracts) was dissolved in various plant extracts and distilled water and added by the weight ratios of 50%, 55%, 60%, 65%, and 70% each. After investigating the optimal hydration point that cream type is made, it was found that 65% of pigment extract of water series was the most appropriate. Here, approx. 5% of the weight ratio of *D. japonica* Thunb. extracts were mixed to each pigment

extract.

B) Functionality, safety and sensory test of lip care prototypes

① Anti-oxidant function test to find availability of prototypes by product type

Free radical elimination activities were measured for the prototypes made by compounds of natural pigments and *D. japonica* Thunb. extracts. The results indicate that free radical elimination activities of lip cream were high in purple sweet potatoes, balsam pears, red cabbages, and borage; those of lip balm high in red cabbage, red beet, grapes peel, and mulberry; those of lip gloss high in grapes peel, red beet, borage, and prickly pear; those of lipsticks high in balsam pear, paprika, red cabbage, and grapes peel. Also, ABTS anion elimination activities of prototype extracts tended to increase along with the concentration of extracts by each type of prototypes. Among 15 prototypes, the elimination activities of lip cream were relatively high in red cabbage, red beet and borage; those of lip gloss high in borage, red beet, prickly pear, and red cabbage; those of lipsticks high in purple sweet potato, gardenia, onion peel, and prickly pear.

Also, SOD activities of prototypes shows difference by product type: that is, those of lip cream was high in black rice, onion peel, prickly pear; those of lip gloss high in purple sweet potatoes, balsam pear, paprika and mulberry; those of lipsticks high in gardenia yellow, foxglove, and prickly pear. For APX activities, lip cream shows relatively high in grapes peel, mulberry, and prickly pear; lip balm shows high in purple sweet potatoes, balsam pear, mulberry, borage, and prickly pear; lip gloss shows high in purple sweet potato, balsam pear, red beet, borage, prickly pear; lipstick shows high in mulberry leaves, grapes peel, mulberry, borage, and prickly pear. For CAT activities, it shows a little difference by product type and pigment type: Lip cream shows a bit high in purple sweet potatoes, gardenia yellow, grapes peel, red beet, and borage but no big difference was shown between other pigments. For POX activities, lip cream shows relatively high in black rice, purple sweet potato, grapes peel and mulberry; lip balm high in purple sweet potato, onion peel, mulberry, borage, and prickly pear; lip gloss high in black rice, onion peel, grapes peel, and mulberry; lipstick high in grapes peel, mulberry, and red beet.

② antimicrobial test for availability search of prototypes by product type

Agar diffusion test was performed to find antimicrobial activities on cosmetics

containing 15 types of natural pigments and *D. japonica* Thunb. The results indicate that lip balm and lip gloss had mostly high antimicrobial activities for gram positive bacterias such as *Propionibacterium acnes*, *Bacillus subtilis*, and *Staphylococcus epidermidis*, and Eumycetes such as *Malassazia furfur*. Lip cream and lipstick had lower antimicrobial activities than lip balm and lip gloss but control product not containing natural pigments had no antimicrobial activities while some containing natural pigments sometimes had the activities. For *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, and *Vibrio parahaemolyticus*, lip balm and lip gloss mostly formed inhibition ring while lip cream and lipstick showed almost no antimicrobial activities except a few types of them.

C) Safety test of prototypes by product type

① Longitudinal variance of color difference of prototypes containing natural pigments under visible ray

Lip care prototypes containing natural pigments and *D. japonica* Thunb. extracts by product type were prepared and stored under visible ray at room temperature for a month. For each sample, color-difference meter (Minolta CR-10, Japan) was employed to measure the change of chromaticity of brightness (L), red color (a), and yellow color (b) in a week interval. The results indicate that for lip cream, most L value tended to decrease as time while a and b value had deviations by type of pigments. On the contrary, for lip gloss, lip balm and lipsticks, no big change was shown in L value while a and b value were a bit changed by type of pigments.

② Longitudinal change in color of prototypes containing natural pigments under visible ray

Under visible ray in the room temperature, the colors of lip care products were observed with the naked eyes by time. The results show that color tone was a bit faded but property of appearance did not have a big change except the dried condition due to the progress of time after a month.

③ Variation of color difference and color change of prototypes containing natural pigments by UV B exposure

Ultraviolet, the main factor of skin aging, has 200 - 400nm in wavelength, which causes photobiological responses. Ultraviolet (UV) is classified into three types, A, B, and C according to wavelength. Of those, UV C is protected from ozon layer and UV A and UV B has a influence on skin. UV Bs of prototypes

were investigated to measure longitudinal change of color difference in 12 hours interval. All four types of products had no big difference in L value but a little difference in a and b value. Also there was no big difference in the change of exterior color and matter.

④ Longitudinal variation of color difference and color change of prototypes containing natural pigments by UV A exposure

UV A was radiated to prototypes and longitudinal variation of color difference was measured in 12 hour interval. The results indicate that for lip balm, lip gloss, lip cream, and lipstick, L value tended to increase a little by time but a value mostly decreased, which shows a bit different results with UV B radiation experiment. Also, the color change did not show any difference, change of matter or formations of foreign materials when observed with the naked eyes.

D) Safety test of prototypes

To investigate the level of protection and toxicity of normal cells and in prototypes, toxicity to Raw264.7, B16, HepG2 cells were measured by MTT assay. The results indicate no cell toxicity for all four products types under all level of prototypes.

E) Sensory test for availability search of prototypes

Sensory test was performed to test various functional properties of prototypes prepared by product type. 15 female panels between 20s and 40s were participated in the test after using the products for five days. In the sensory test, 5-point rating method was used and longitudinally evaluated for color feeling, color fixation, application feeling, oil feeling, absorbance, moisturizing power, stickiness, fragrance, skin irritation, and overall feeling after application. The results show that overall feeling was relatively high in lip balm and lip cream products containing mulberry and black rice, while no significant difference by type of pigments in lipstick products.

F) Moisturizing power test for lip protection in prototypes by product type

In order to measure moisturizing power of prototypes containing natural pigments and *D. japonica* Thunb. extracts, 10 female panels between 20s and 40s who are considered to have normal property of lip skin were participated in

the experiments. Four types of lip care products were applied to the subjects and longitudinal effect of moisturizing effect in 30 minutes interval using Skin Analyzer(HL-611, Beautistyle Int. Co., Taiwan). The results indicate that the effect had a little difference by type of color and time but it is considered to have excellent moisturizing power.

10) Establishment of business and marketing strategy of natural lip care products

In order to plan business and marketing strategy of natural lip care products developed, it is necessary to analyze the related market status in and out of country closely, to select strategic items aimed for consumer desire and target consumers and to build differentiated and unique brand image.

CONTENTS

Documents for submission	1
SUMMARY	28
CONTENTS	56
Chapter 1. Subject outline of research & development	61
Section 1. Induction	61
Section 2. Properties of <i>D. japonica</i> Thunb. and natural plant pigment	63
Section 3. Object of research & development	65
Section 4. Necessity & province of this study	66
Chapter 2. Present state of home & abroad technical development	69
Section 1. Associated field of this study	69
Section 2. Positioning state of this study possessed in the home & abroad technical development	70
Chapter 3. Results & discussion	71
Section 1. Separation of Natural Pigments and Anti-Aging Agents ..	71
1. Extraction of Active fractionation and Diosgenin	71
2. An Active Pharmaceutical Ingredient from <i>D. japonica</i> Thunb. and Analysis on Content	73
3. Extraction of Betalain Pigments from Cultured Red Beet RB-103.....	74
4. Separation and Identification of Pigments from Purple Sweet Potato and Red Cabbage.....	75
5. Isolation of Anti-Aging Agents from <i>D. japonica</i> Thunb. and Purification in Quantity	77
6. Extraction of Natural Pigments and Improvement in Efficiency of Purification	80
7. Security of Bioactive Fractionation and Analysis on Characteristics	82
Section 2. Analysis on Functionality to Skin of in vitro and in vivo of Natural Pigments and Anti-Aging Natural Substances	96

1. Investigation into Anti-Aging and Protective Effects of <i>D. japonica</i> Thunb. on Skin	96
2. Investigation into Protective Effect of Natural Pigment on Skin	111
3. Examination of antioxidant effect and effect of skin protection of extracts of natural pigments	113
4. Experiment on animal in order to improve dermal function of every materials with effect	127
Section 3. Establishment of manufacturing process of composites for natural cosmetics for lip care and manufacturing of test product	139
1. Selection of applying natural pigments and Investigation of their properties	139
2. Verification of antioxidant activity and lightening activity of selected natural pigments	142
3. Verification of Antibiotic Activity and Stability of Materials of Natural Pigments	148
4. Verification of Functionality of the First Mixing Composit	200
5. Manufacturing of Mixing Composite of Natural Pigments and Investigation of Stability of Change in Color	201
6. Analysis of functionality of compounds of natural pigments and anti-aging materials	280
7. Establishment of standard condition for manufacturing cosmetic ingredients containing natural pigment and anti-aging materials	299
8. Establishment of manufacturing process by each lip care products	301
9. Manufacturing a prototype containing natural pigments and anti-aging materials and investigating stability and safety	303
10. Establishment of business and marketing strategy of natural lip care products	356
Chapter 4. Object point & Contribution to associated field	359
Section 1. Object by year & achievement degree	359
Section 2. Technical contribution to associated field	361
Section 3. Quantitative analysis	363
Chapter 5. Practical useful plan of this results	366
Section 1. Necessity of supplemental research	366

Section 2. Application to other study & promotion of commercialization ··	366
Chapter 6. Abroad science technical information during research & development ············	368
Chapter 7. References ············	370

목 차

제 출 문	1
요 약 문	2
SUMMARY	28
CONTENTS	56
목 차	59
제 1 장 연구개발과제의 개요	61
제1절 서 언	61
제2절 식물천연색소 및 참마의 특성	63
제3절 연구개발의 목적	65
제4절 연구 필요성 및 범위	66
제 2 장 국내외 기술개발 현황	69
제1절 국내·외 관련분야에 대한 기술개발현황	69
제2절 연구결과가 국내·외 기술개발현황에서 차지하는 위치	70
제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과	71
제1절 천연색소 및 안티에이징 작용 물질 분리	71
1. 야생 참마로부터 활성분획 추출	71
2. 참마 조직으로부터 약리활성물질인 diosgenin의 추출 및 함량 분석	73
3. Red beet 배양근 RB-103으로부터 betalain 색소 추출	74
4. 자색고구마 및 적양배추 색소의 분리 및 동정	75
5. 야생 참마로부터 안티에이징 작용물질 단리 및 대량 분리정제	77
6. 천연색소 추출 및 정제 효율 증진	80
7. 생리활성 획분 확보 및 특성 분석	82

제2절 천연색소 및 안티에이징 천연물 소재의 <i>in vitro</i> 및 <i>in vivo</i> 피부 기능성 분석	96
1. 야생 참마의 항노화 및 피부 보호효과 규명	96
2. 천연색소의 피부보호 효과 규명	111
3. 효과 야생 참마 분획의 세분화에 따른 항산화 기능 분석 및 <i>in vitro</i> 피부 보호 효과 규명	113
4. 각 효과 소재의 피부 기능 개선을 위한 동물실험	127
제3절 립케어용 천연화장료 조성물의 제조공정 확립 및 시제품 제조.....	139
1. 적용 천연색소 선별 및 특성조사	139
2. 선별 천연색소 노화억제 효능 및 미백활성 검증	142
3. 소재의 항균활성 및 안정성 검증	148
4. 1차 혼합 조성물의 기능성 검증	200
5. 천연색소 혼합조성물 제조 및 변색 안정성 조사	201
6. 천연색소 및 항노화 물질 혼합조성물 기능성 분석	280
7. 천연색소 및 항노화물질 함유 화장료조성물 제조 표준화 조건 확립	299
8. 립케어 제품 품목별 제조공정 확립	301
9. 천연색소, 항노화 물질 함유 시제품 제조 및 안전성/안정성 조사	303
10. 천연 립케어 제품의 사업화 및 마케팅 전략 구축	356
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	359
제1절 연도별 연구목표 및 연구개발목표의 달성도	359
제2절 관련분야 기술발전예의 기여도	361
제3절 정량적 성과	363
제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획	366
제1절 추가연구의 필요성	366
제2절 연구개발 성과활용 계획	366
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	368
제 7 장 참고문헌	370

제 1 장 연구개발과제의 개요

제1절 서 언

천연색소는 인류 역사의 시작과 함께 사용되어 왔다고 해도 과언이 아니다. 예로부터 우리나라에서는 다양한 천연식물로부터 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 합성색소의 인체에 대한 발암성과 위험성이 끊임 없이 제기되면서 천연색소에 대한 관심이 더욱 증대되고 있다. 이러한 추세에 부응하여 최근 향장소재, 섬유염색, 건강기능식품 등에 건강과 안전을 위해 천연색소를 사용하는 경향이 점차 확대되고 있고, 천연색소 이용에 관한 연구 또한 활발히 진행되고 있지만, 활용 가능한 각종 천연색소 소재들의 기능성, 안전성, 안정성 등에 대한 실증적 연구가 뒷받침되지 못하고 있는 실정으로 이에 대해 좀 더 체계적이고 다양한 연구가 필요한 시점이다. 천연색소는 생리활성 기능과 함께 합성색소에 비해 안전하고 자연스러운 색상을 낼 수 있는 장점이 있지만, 색소의 안정성이 떨어지는 관계로 제한된 분야에서만 일부 이용되어져왔다. 근래 들어 천연염색 소재를 중심으로 천연색소 연구가 일부 이루어지고 있지만, 식물유래 천연색소 전반에 대한 실증적이고 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). 천연색소의 특징으로는 합성색소에 비해 환경에 미치는 영향이 적고 인체에 대한 독성이 현저히 낮거나 혹은 거의 무해하며, 향균, 향암, 항염 등의 효능이 있는 것으로 알려져 있다(Kim and Cho, 2008). 또한 발색이 자연스럽고 우아하며 변색 또는 퇴색이 되어도 색감이 안정적이어서 은은한 색상을 낼 수 있을 뿐만 아니라 재료의 성질에 따라 다양한 색상을 얻을 수 있다는 장점이 있다(Park *et al.*, 2010). 그러나 천연색소는 인공합성색소보다 가격이 높고 발색력이 떨어질 뿐만 아니라 생산성이 낮으며, 용해성 또한 떨어지고 열, 빛 및 pH 등의 환경 요인에 따라 색소의 안정성이 떨어진다는 단점을 지니고 있다(최 등, 2009).

최근 자연계에 존재하는 다양한 동식물 및 미생물로부터 얻어지는 각종 유용성분들 중에서 특히 인체의 생리기능 조절이나 항상성 유지에 관련된 각종 기능성 소재를 찾는 연구들이 광범위하게 수행되고 있으며(Jeong *et al.*, 2008), 특히 식물류 중에 들어있는 생리활성 성분들에 대한 관심이 높아지면서 국내·외적으로 이들 생리

활성 성분을 함유한 유용식물들을 기능성 소재의 원료로 사용하려는 시도가 많이 이루어지고 있다(Kim *et al.*, 2001; Min *et al.*, 2008). 천연 식물색소도 색소자체가 지니고 있는 다양한 생리기능성으로 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(H₂O₂)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 H₂O₂를 물과 산소로 분해시키는 효소로 작용하며, CAT와 더불어 H₂O₂를 제거하는 중요한 효소인 ascorbate peroxidase (APX)는 엽록체, 미토콘드리아, 세포질 및 세포벽에 존재하고, ascorbate를 산화시킴으로써 H₂O₂를 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).

본 연구에서 사용한 천연색소 소재는 식물체에 널리 존재하는 것으로서, 안토시아닌 계통 색소로는 자색고구마, 적양배추, 포도과피, 오디, 흑미, 백년초 등, Betalain 계통 색소로는 레드비트, 플라보노이드계 색소 일종인 quercetin 황색계통 색소를 지닌 양파껍질, 카로티노이드계 색소인 황색의 완숙여주, 황색 파프리카, 치자황 그리고 녹색식물의 잎에서 흔히 보이는 포르피린계열 녹색의 chlorophyll 성분이 주요 색소인 뽕잎 등을 포함하고 있다. 일반적으로 파프리카는 capsanthine, β -cryptoxanthine, zeaxanthine 등의 색소 성분을 함유하고 있으며, 치자황은 carotenoid에 속하는 crocin의 황색계통 색소를 지니며(Yoon and Kim, 1999), 지치의 색소 성분으로는 naphthoquinone 유도체인 shikonin, acetylshikonin, isobutylshikonin, propionylshikonin 등으로 알려져 있다(Ju *et al.*, 2010). 이들 천연색소는 유해 활성산소를 제거하는 항산화 효과가 탁월하고 다양한 약리적 효능과 생리기능성을 지니고 있다. 본 실험의 소재인 식물성 천연색소도 항산화 효과가 우수할 것으로 예상됨과 동시에 천연소재로서 각종 제품에 적용하는데 있어서 색소의 안정성 및 대량으로 소재확보가 용이한 종류들이다. 예로부터 식품이나 의약품, 화장품, 의복 염색 등에 다양한 천연소재 색소들이 이용되어 왔으며, 이러한 천연색소들은 항균 및 항산화 작용에 탁월한 효능이 있는 것으로 보고되고 있다(Kim *et al.*,

2005; Kim *et al.*, 2006; Park and Chang, 2000; Park and Lee, 2011). 특히 적자색, 청자색을 띠는 안토시아닌 색소는 우수한 항산화성을 지닌 기능성 물질로서 항암, 항노화, 항염 등의 효과도 뛰어난 것으로 알려져 있으며, 비름과(Amaranthaceae) 식물로부터 추출한 Betalain 색소 또한 강력한 항산화능을 지니고 있는 것으로 보고되고 있다(Cai *et al.*, 2003). 이와 같이 다양한 생리기능성과 자연적인 색조와 발색력을 지닌 천연색소를 활용하여 색조화장품 제조에 적용하면 인체에 건강하고 친환경적인 제품 개발이 가능하다고 판단된다. 본 실험에서 사용된 천연색소들도 비교적 높은 항산화 및 항균 효과를 지니고 있을 것으로 추측되며, 제품에 실제로 적용하기 위해서는 대량으로 소재확보가 용이해야 하기 때문에 비교적 주변에서 구하기 쉬우면서 활용가치가 높다고 판단되는 소재들을 선발하였다.

따라서 본 연구에서는 천연색소로서의 다양한 생리기능성과 색상을 지니고 있어서 색조화장품 적용에 있어 그 이용가치가 높을 것으로 예상되는 15종의 천연색소 및 항노화 활성 물질이 다량 함유되어 있는 것으로 기대되는 고부가가치 자원식물인 참마로부터 추출한 기능성 물질을 함유한 립케어용 제품을 개발함으로써 향후 이들 소재를 활용한 천연 색조화장품 개발 및 식물유래 천연색소와 참마의 이용성을 증대시키고자 한다.

제2절 식물천연색소 및 참마의 특성

1. 식물유래 천연색소의 특성

식물유래 천연색소는 안전성이 높지만 합성색소와 비교하여 착색력과 빛, 열, pH, 금속이온등에 대한 안정성이 떨어지는 결점이 있어서 광범위하게 사용되지 못하고 있는 실정이다. 그러나 합성색소는 인체에 미치는 독성과 발암성 등 안전성에 문제가 제기되어 사용에 많은 제한이 있으며, 소비자 또한 안전한 색소에 대한 인식이 높아지면서 최근 천연색소에 대한 수요가 증가하고 있는 추세이다. 천연색소는 안전성에서 뿐만 아니라 항균, 살균, 항암, 항염 효과 등 다양한 생리기능성을 지니고 있어 향후 향장산업 및 식품산업에 고부가가치를 창출할 신기능성 소재로 기대되고 있다. 특히 식물유래 천연색소는 색소자체가 지니고 있는 다양한 약리효과와 생리기능성으로 인해 항산화 및 항암, 항균활성 등에 관련된 다양한 생리활성 물질들이 확인되고 있으며, 이러한 특성을 살려 식품공업, 화장품, 의약품 및 가축사료에 첨가제 또는 보조제, 염료 등으로 광범위하게 사용되고 있다. 천연색소의 특징으로는 합성색소에 비해 환경에 미치는 영향이 적고 인체에 대한 독성이 현저히 낮거나 혹은 거의 무해하며, 또한 발색이 자연스럽고 우아하며 변색 또는 퇴색이 되어도 색감이 안정적이어서 은은한 색상을 낼 수 있을 뿐만 아니라 재료의 성질에 따라 다양한 색상을 얻을 수 있다는 장점이 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. 자연계의 다양한 식물유래 천연색소물질들은 항산화적 방어기구인 항산화 효소가 존재하며 이들은 항산화 활성 뿐 아니라 생체 건강에 연관된 많은 생리활성들을 나타내는 것으로 알려져 있다. 특히 적자색, 청자색을 띠는 안토시아닌 색소는 우수한 항산화성을 지닌 기능성 물질로서 항암, 항노화, 항염 등의 효과도 뛰어난 것으로 알려져 있으며, 비름과(Amaranthaceae) 식물로부터 추출한 Betalain 색소 또한 강력한 항산화능을 지니고 있는 것으로 보고되고 있다. 이와 같이 다양한 생리기능성과 자연적인 색조와 발색력을 지닌 천연색소를 활용하여 색조화장품 제조에 적용하면 인체에 건강하고 친환경적인 제품 개발이 가능하며 천연색소의 이용성 또한 증대될 것이다.

2. 참마의 특성

참마는 백합목 마과에 속하는 덩굴성 다년생 초본식물로 햇볕이 잘 드는 야산이나 들에 많이 자라며, 주로 한국과 일본, 중국 등지에 분포하고 있다. 마는 지구상에 600여 종이 분포하는 것으로 알려져 있으며 재배지에 따라 크기, 모양, 색깔이 다양하며 현재 국내에는 장마, 단마, 둥근마 등 세 종류가 재배되고 있는데 특히 경북 안동지역은 마 재배에 적합한 사질토양이어서 우리나라 전국 생산량의 2/3 정도를 생산하고 있다. 안동지역에서는 주로 장마보다 길이가 짧고 굵은 단마를 재배하는데, 단마는 장마보다 수분이 적고 단단한 특징이 있다. 또한 장마보다 가늘고 기다란 종을 야생마라 하기도 한다. 기록에 의하면 오늘날처럼 재배되기 이전에는 야생에서 자라는 마를 흔하게 먹었으며, 한방에서는 말린 마를 산약이라 하여 한약재로 이용해왔다. 이에 비해 보통 참마라고 하면 생것을 의미한다고 볼 수 있다. 마는 땅 속에 긴 원주형의 육질 뿌리를 내리며 뿌리 속은 하얀 점액질의 성분이 많이 함유되어 있다. 이 점액질은 단백질의 흡수를 돕는 물질인 뮤신이라는 성분으로 위장을 보호하는 기능이 있으며, 그 외에도 마는 기침, 천식, 식은땀, 숨 가쁨 치료, 허약체질 개선, 당뇨병, 항암, 신장 기능 개선, 장염치료 효과 등의 약리기능성을 지니고 있다. 참마는 영양이 풍부하여 녹말과 당분이 많고 비타민 B, B2, C 및 사포닌(Saponin), 아르기닌(Arginine), 콜린(Choline), 디오스진(Dioscin), 바타타신(Batatasin), 뮤친(Mucine), 아밀라제(Amylase) 등 약용성분과 아미노산, 칼륨, 철분, 비타민, 미네랄, 단백질, 지방, 전분, 인 등이 함유되어 있다. 또한 참마에는 여성호르몬의 원료로 되는 디하이드로에피안드로스테론(Dehydroepiandrosterone)의 생성량을 증가시키는 효과도 있는 것으로 알려져 있으며, 특히 Dioscin의 aglycone인 Diosgenin 성분은 항노화 성분으로서 피부노화를 개선하는데 효능이 있을 것으로 기대되는 물질이다. 본 연구는 이러한 참마의 특성에 근거하여 항노화 작용물질을 립케어 제품에 적용하여 그 효능을 입증함으로써 향후 참마 소재의 효용성을 증대시키는데 크게 기여할 것이라고 본다.

제3절 연구개발의 목적

1. 천연색소 및 안티에이징 작용 물질 분리

- 식물유래 천연색소 소재의 안정적인 생산 및 색조화장품 제조에 유용한 고순도의 천연색소를 확보하기 위해 다양한 색소추출 기술을 개발한다.
- 야생 참마 부위별로 안티에이징 작용 물질의 효율적인 추출기술 정립한다.
- 참마 추출물로부터 분리된 안티에이징 활성 화합물의 구조를 분석한다.
- HPLC를 이용하여 시제품에 함유된 참마 활성 성분의 안정성을 분석한다.

2. 천연색소 및 안티에이징 천연물 소재의 in vitro 및 in vivo 피부 기능성 분석

- 야생 참마의 부위별, 분획별 항노화 및 피부 보호효과를 규명한다.
- 식물유래 천연색소의 피부보호 효과를 규명한다.
- 천연색소 및 효과 야생 참마 분획의 세분화에 따른 항산화 기능 분석 및 in vitro 피부 보호효과를 규명한다.
- 각 효과 소재의 피부 기능 개선을 위한 동물실험을 수행한다.
- 천연색소 및 참마 추출물을 함유하여 제조한 시제품에 대한 세포활성, 세포독성, 동물실험을 통한 피부반응 실험 등 활성을 검증한다.

3. 립케어용 천연화장료 조성물의 제조공정 확립 및 시제품 제조

- 립케어용 제품에 적용할 천연색소를 선별하고, 그 특성을 조사한다.
- 선별된 다양한 색조의 식물천연색소에 대해 항산화 효능 및 미백활성, 항균활성 등을 검증한다.
- 다양한 조건에서의 천연색소의 안정성 및 물성변화 등을 조사한다.
- 천연색소와 항노화 물질 혼합한 화장료조성물에 대한 안정성 및 기능성을 분석한다.
- 천연색소와 항노화 물질 혼합한 화장료조성물 제조의 표준화 조건을 확립하고, 립케어 제품 제형별 최적 제조공정을 정립한다.
- 크림 및 에멀전 타입으로 제형화한 베이스에 식물추출물 및 생리활성물질의 목적별 최적 배합비율 및 첨가 형태 등에 대한 기술을 개발한다.
- 참마로부터 추출한 항노화물질 및 천연색소 함유한 각 제형별 립케어 시제품 제조하여 안전성과 안정성 및 제품에 대한 관능평가를 실시한다.
- 립케어용 제품의 사업화 방안 확립 및 차별화된 마케팅 전략을 구축한다.

제4절 연구 필요성 및 범위

1. 기술적 측면

- 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 되었지만, 합성색소의 인체에 대한 발암성과 위험성이 끊임없이 제기되면서 천연색소에 대한 관심이 더욱 증대되고 있는 실정이다.
- 최근 향장소재, 섬유염색, 건강기능식품 등에 건강과 안전을 위해 천연색소를 사용하는 경향이 점차 확대되고 있으며, 천연색소 이용에 관한 연구 또한 활발히 진행되고 있지만, 활용 가능한 각종 천연색소 소재들의 기능성, 안전성, 안정성 등에 대한 실증적 연구가 뒷받침되지 못하고 있는 실정이므로 이에 대해 좀 더 체계적이고 다양한 연구가 필요한 시점이다.
- 천연색소가 지니고 있는 특징으로는 합성색소에 비해 환경에 미치는 영향이 적고 인체에 대한 독성이 현저히 낮거나 혹은 거의 무해하며, 향균, 향암, 항염 등의 효능이 있는 것으로 알려져 있고, 또한 발색이 자연스럽고 우아하며 변색 또는 퇴색이 되어도 색감이 안정적이어서 은은한 색상을 낼 수 있을 뿐만 아니라 재료의 성질에 따라 다양한 색상을 얻을 수 있다는 장점이 있다. 그러나 천연색소는 인공합성색소보다 가격이 높고 발색력이 떨어질 뿐만 아니라 생산성이 낮으며, 용해성 또한 떨어지고 열, 빛 및 pH 등의 환경 요인에 따라 색소의 안정성이 떨어진다는 단점을 지니고 있어서 이러한 문제에 대한 연구를 보완할 필요가 있다.
- 식물유래 천연색소 및 참마의 피부보호 효과 및 피부반응 실험을 통해 향장소재로서의 효용성을 과학적으로 입증하는 것이 중요하다.
- 유용식물자원 개발 측면에서 유색식물로부터의 천연색소 및 참마의 기능성 가치를 재조명하고 이를 토대로 이용방법 및 현대적 수요경향에 맞는 립케어용 제품 개발을 위한 초석을 마련할 필요가 있다.

2. 경제·산업적 측면

- 농촌자원의 산업화 측면에서 각종 유색식물과 참마는 개발가치가 매우 큰 자원임에도 불구하고 그 중요성에 대한 인식이 높지 않은 실정이며, 천연색소 중 일부 개발되어 제품에 적용하고 있는 것도 자색고구마, 적양배추, 파프리카 등 한정된 몇 가지 종류에 불과하고 상품성도 낮은 실정이다. 그러므로 유용식물자원의 발굴, 다양한 가공기술 개발과 고부가가치 제품화를 시도한다면 식물천연색소 분야도 첨단 산업화가 가능할 것이다.
- 천연 기능성 화장품 시장은 제품 개발정도에 따라 무한한 성장가능성이 있기

때문에 다양한 식물소재를 개발하고 산업화하면 수많은 농가의 활로 모색에도 영향을 미칠 만큼 파급효과가 클 것이다.

- 천연소재를 적용한 천연 립케어 제품은 입술피부 보호 효과와 함께 고기능성 성분이 함유되어 있고, 또한 다채로운 색조를 연출할 수 있는 특성이 있기 때문에 소비자 기호도를 한층 극대화시킴으로서 다양한 유통 채널을 통한 판매 전략 구축이 가능하여 관련 산업분야의 소득증대에도 기여할 것이다.
- 천연 립케어 제품의 기능성을 살려 각종 입술피부 트러블성 증상이나 효과에 따른 천연색소 및 식물추출물을 조합한 고기능성 립케어 제품 개발은 기능성 화장품 전문 판매점, 약국, 백화점, 천연화장품 전문점 등의 체인점 업종의 등장을 촉발시키고, 이는 고용창출 및 천연 립케어 제품시장의 규모 확대에 의한 각종 식물소재 재배농가의 소득증대에 기여할 것이다.
- 참마는 우리나라 원산의 자원식물로서 최근 그 기능성이 더욱 새롭게 인식되면서 이를 이용한 각종 건강식품이 출시되고 있지만, 참마에 함유된 항노화 물질을 이용한 항장제품 개발은 없는 실정이므로 참마의 항노화 작용 물질을 적용한 립케어 제품 개발은 다양한 관련제품의 수출효과도 기대할 수 있을 것이다.
- 각종 유색식물과 참마의 다양한 약리기능성 구명을 통해 그 가치를 발굴하고 제품화한다면, 새로운 소득작물 창출과 함께 유용자원의 이용을 극대화시킬 것이다.
- 1차 산업인 식물자원을 활용하여 상품화하면 고도화된 융복합 산업으로 육성이 가능하다.

3. 사회·문화적 측면

- 천연색소는 인류 역사의 시작과 함께 이용되어 왔다고 해도 과언이 아니며, 예로부터 우리나라에서는 다양한 천연식물에서 필요한 색소를 생산하여 사용해 왔는데, 최근에는 천연색소에 비해 편의성과 경제성, 안정성 등으로 인해 각종 제품에 합성색소를 폭넓게 사용되고 있는 관계로 전통적인 천연색소 자원이 점점 사라지고 있는 실정이다. 따라서 현시점에서 각종 유색식물로부터 추출한 천연색소의 기능성을 과학적으로 구명하여 천연색소 적용 범위를 확대함으로써 소중한 우리의 식물자원과 전통문화 자산을 보존할 필요가 있다.
- 전통 식물유래 천연색소 문화의 개발과 전승에 의해 다양한 천연색소 소재의 발굴에 따른 천연화장품 관련 제품 개발은 우리의 독자적 문화전통으로의 발전이 가능하다고 본다.
- 유용식물 천연 소재를 대중적인 소재 및 제품화에 연계함과 동시에 그 효능을 과학적, 실증적으로 입증함으로써 새로운 색조제품 개발의 중요한 사례로 남을 수 있을 것이다.
- 천연색소 성분 및 항노화 작용물질이 함유된 유용식물의 종류는 상당히 많을

것으로 예상되지만, 아직 이들 식물의 기능성을 이용한 관련제품 개발은 미미한 실정으로, 향후 이러한 개발가치가 높은 자원들을 발굴하여 그 이용성을 확대시키는 것이 새로운 가치창출면에서도 필요성이 크다 하겠다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제1절 국내·외 관련분야에 대한 기술개발 현황

- 합성색소의 유해성과 부작용에 대한 우려로 각종 제품에 적용 가능한 천연색소 개발에 대한 필요성 및 식물유래 기능성 물질에 대한 관심이 급증하고 있지만, 현재 우리나라에서의 천연색소 대부분은 수입에 의존하고 있으며 활용 가능한 각종 천연색소 소재 및 기능성 물질의 기능성, 안전성, 안정성 등에 대한 실증적 연구가 뒷받침되지 못하고 있는 실정이므로 이에 대해 좀 더 체계적이고 다양한 연구가 필요한 시점이다.
- 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).
- 천연색소의 특징으로는 합성색소에 비해 환경에 미치는 영향이 적고 인체에 대한 독성이 현저히 낮거나 혹은 거의 무해하며, 향균, 향압, 향염 등의 효능이 있는 것으로 알려져 있다(Kim and Cho, 2008). 또한 발색이 자연스럽고 우아하며 변색 또는 퇴색이 되어도 색감이 안정적이어서 은은한 색상을 낼 수 있을 뿐만 아니라 재료의 성질에 따라 다양한 색상을 얻을 수 있다는 장점이 있다(Park *et al.*, 2010). 그러나 천연색소는 인공합성색소보다 가격이 높고 발색력이 떨어질 뿐만 아니라 생산성이 낮으며, 용해성 또한 떨어지고 열, 빛 및 pH 등의 환경 요인에 따라 색소의 안정성이 떨어진다는 단점을 지니고 있어서(최 등, 2009) 이용성 면에서는 기호도가 낮다고 볼 수 있다.
- 최근 자연계에 존재하는 다양한 동식물 및 미생물로부터 얻어지는 각종 유용성분들 중에서 특히 인체의 생리기능 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 생리기능성으로 인해 항산화 및 향압, 향균활성 등에 관련된 다양한 생리활성물질들이 확인되고 있으며, 이에 대한 구체적인 연구들이 수행되고 있다.
- 식물체는 다양한 형태의 항산화 물질을 함유하고 있고, 그 중에서 페놀성 물질은 항산화성을 가진 대표적인 물질로 알려져 있으며, 이들로부터 분리된 천

연 항산화 물질들은 각종 노화관련 질환 예방에 대하여 유익한 작용을 할 것으로 추측되고 있다. 특히 항산화효소는 생체 내에서 활성 산소로부터 생체를 보호하는 작용을 함으로서 각종 성인병 예방 및 항암, 항노화 기능을 수행하는데, 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)고 보고하고 있다.

- 특히 참마는 다양한 생리기능성을 지니고 있어 건강식품 소재로 많이 이용되고 있지만, 참마에 함유된 항노화 물질인 Diosgenin 성분을 이용한 항장제품 개발 및 이에 대한 연구는 국내외적으로 전무한 실정이다.
- 예로부터 식품이나 의약품, 화장품, 의복 염색 등에 다양한 천연소재 색소들이 이용되어 왔으며, 이러한 천연색소들은 항균 및 항산화 작용에 탁월한 효능이 있는 것으로 보고되고 있다(Kim *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2006; Park and Chang, 2000; Park and Lee, 2011). 특히 적자색, 청자색을 띠는 안토시아닌 색소는 우수한 항산화성을 지닌 기능성 물질로서 항암, 항노화, 항염 등의 효과도 뛰어난 것으로 알려져 있으며, 비름과(Amaranthaceae) 식물로부터 추출한 Betalain 색소 또한 강력한 항산화능을 지니고 있는 것으로 보고되고 있다(Cai *et al.*, 2003).
- 천연색소를 이용한 색조화장품으로서는 과거 일본 화장품회사 '시세이도'에서 자색고구마 색소를 이용한 립스틱을 출시한 적이 있지만, 당시 천연화장품에 대한 인식이 부족한 부분도 있어서 판매시장 확보에는 성공하지 못한 것으로 알려져 있다.
- 립케어 색조화장품에 천연색소 및 항노화 물질을 적용하는 기술이 현재까지는 여러 가지 한계성으로 인해 잘 진행되지 않았지만, 본 연구결과를 바탕으로 향후 첨단 융복합 기술 적용 등 새로운 연구결과들이 도출됨으로서 이러한 문제들이 해결된다면 가까운 장래에 고부가가치를 창출할 수 있는 제품이 개발될 수 있을 것으로 기대된다.

제2절 연구결과가 국내·외 기술개발현황에서 차지하는 위치

- 현재 국내외적으로 천연색소 및 항노화 기능성 천연물질을 적용한 립케어 색조화장품 개발은 전무한 실정이므로 향후 미진한 부분에 대한 추가보완실험을 통해 제품의 완성도를 높이면 천연 색조화장품 시장에 큰 반향을 불러일으킬 것으로 판단된다.
- 입술용 천연 색조화장품은 건강 지향적, 환경 친화적인 자연주의 생활을 추구

하는 현대인들에게 있어 그 수요가 급격하게 증가할 것으로 생각된다.

- 몇 종류의 한정된 천연색소만 이용되어왔던 제품시장에서 다양한 색상을 표현할 수 있는 소재들을 발굴, 개발함으로써 입술용 화장품 시장에서의 소비자 호응도를 높여 꾸준히 시장이 확대될 것으로 예상된다.
- 천연 립케어 색조화장품은 새로운 소비자층의 시대적 트렌드에 맞춰 유통채널을 다변화하고 쉽게 접할 수 있도록 할 것이다.
- 대기업 화장품 회사 위주의 유통구조에서 새로운 아이템과 브랜드이미지 개발로 천연화장품 시장의 차별화된 블루오션 전략으로 새로운 시장을 창출하여 소비자의 요구에 부응할 수 있을 것이라고 본다.
- 천연 색조화장품 개발은 전 세계적 한류열풍에 부응하여 우리나라 화장품에 대한 국제적 관심과 위상에 걸맞는 고품격 제품출시의 촉매제가 될 것이며, 향후 수출상품으로도 큰 성장 잠재성이 있다고 판단된다.

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

제1절 천연색소 및 안티에이징 작용 물질 분리

1. 야생 참마로부터 활성분획 추출

가. 공시재료

공시재료는 경북 봉화군 일원에서 채취한 야생 참마(*Dioscorea japonica*)의 전초를 가지고 실험하였다.

나. 추출 및 용매분획

야생 참마의 전초 500 g 썩을 냉동건조기에서 건조 후 메탄올에 72시간 동안 실온에서 침지시켜 조추출물을 얻었으며, 이 조작을 3회 실시하였다.

참마 500 g을 감압농축하여 얻은 추출물을 노르말헥산 (n-hexane), 클로로포름 (CHCl_3), 및 에틸아세테이트(EtOAc) 등의 용매를 사용하여 순차적으로 연속추출하여 분획하여 각 분획별 시료를 얻었다.

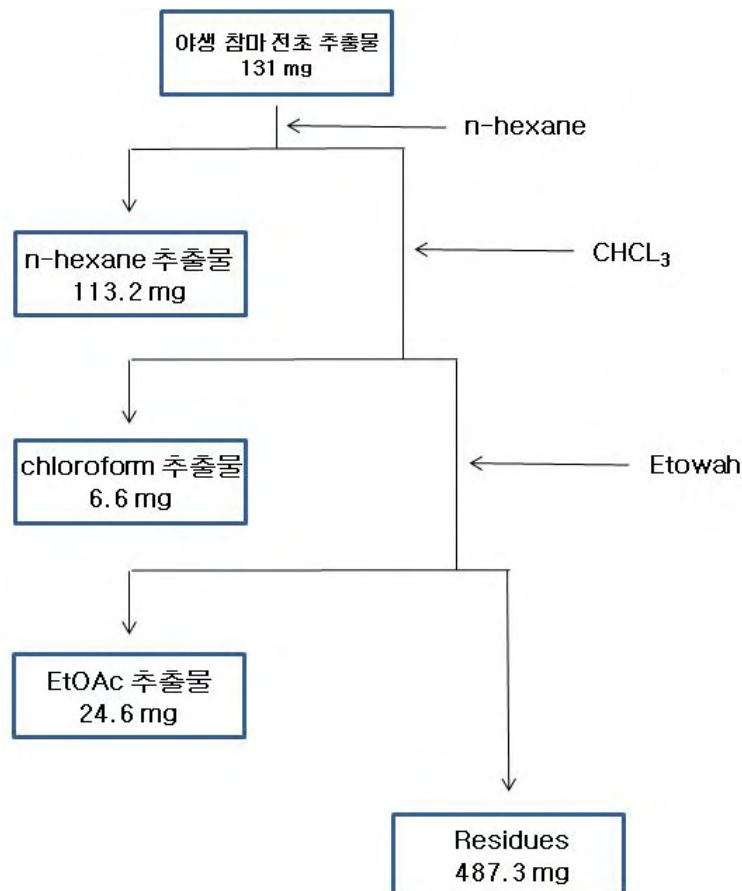


Fig. 1. Procedure of extraction for solvent fraction of *D. japonica*

각 분획별 추출수율은 노르말핵산 가용부 113.2 mg, 클로로메탄 가용부 6.6 mg, 에틸아세테이트 가용부 24.6 mg, 잔사 487.3 mg을 얻을 수 있었다.

2. 참마 조직으로부터 약리활성물질인 diosgenin의 추출 및 함량 분석

가. 공시재료

Steroidal sapogenin인 diosgenin의 함량 측정은 지역별로 자생하고 있는 1년 이상된 야생 참마를 채취하여 사용 하였으며, 배양조직은 본 실험실에서 야생 참마로부터 유도한 3종류의 배양조직(캘러스, 형질전환 모상근, 부정근)을 사용하였다.

나. Diosgenin 추출 및 함량분석

참마 조직으로부터 diosgenin의 함량분석은 냉동건조 분말을 2.5 M HCl에서 4시간 가수분해 시킨 후 Whatman No.41 여과지로 거르고 잔사체로부터 산이 제거 될 때 까지 반복해서 세척 하였다. 잔사체는 재건조 후 petroleum ether: 2-propanol (12:1) 용액을 가하여 속실릿 장치에서 3회 환류 추출한 다음 Rotary evaporater를 이용하여 농축 하였다. Diosgenin 표준품은 Sigma Co.에서 구입하였으며, Reverse phase HPLC를 이용하여 분석하였다.

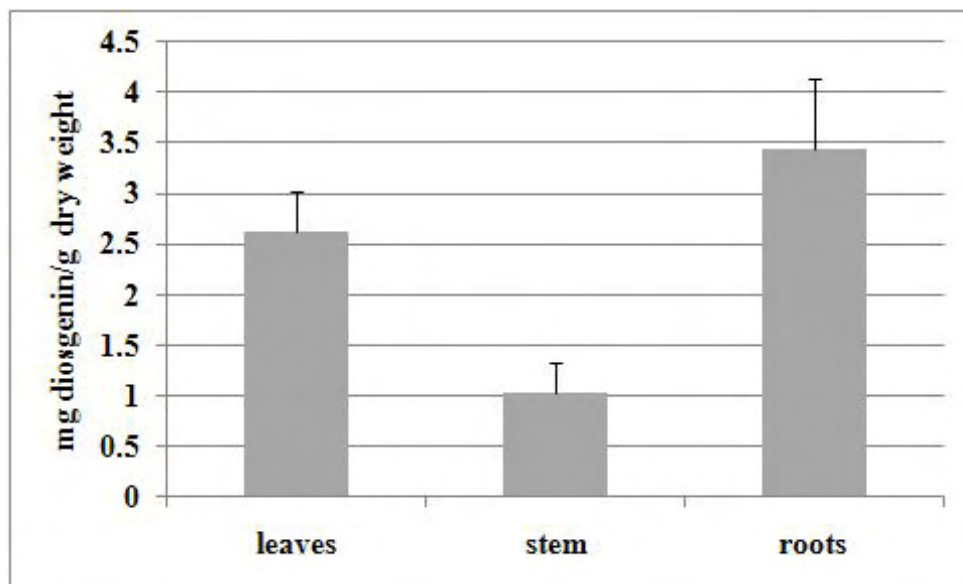


Fig. 2. Diosgenin contents in leaves, stem, and roots of *D. japonica*

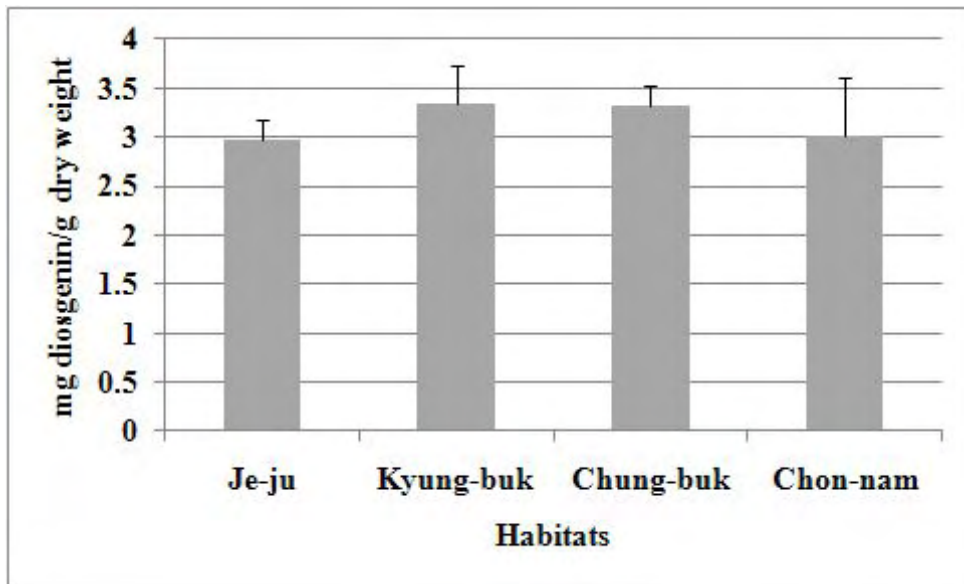


Fig. 3. Diosgenin contents in roots of *D. japonica* grown on various region

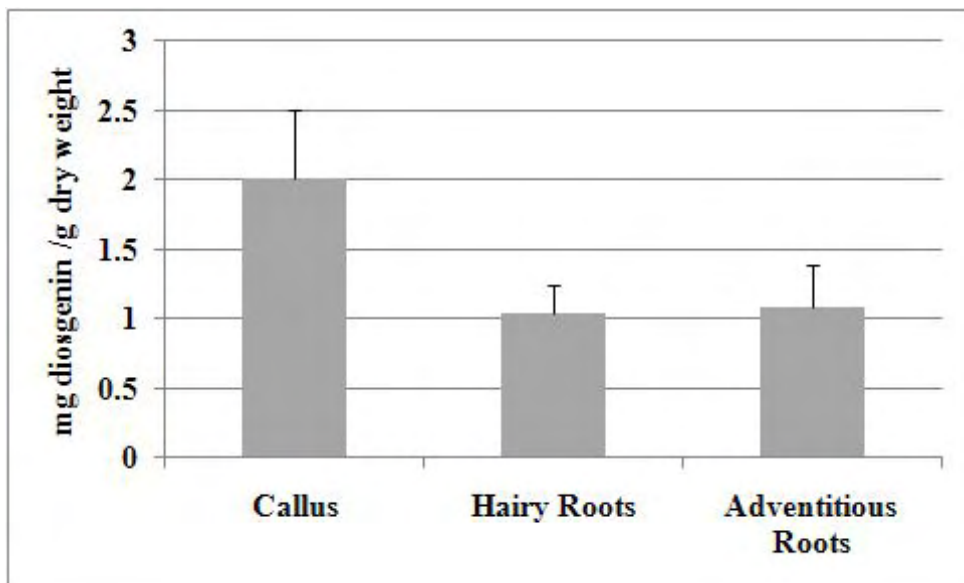


Fig. 4. Diosgenin contents in *in vitro* cultured tissues of *D. japonica*

참마의 각 부위별, 지역별 약리활성물질인 diosgenin의 함량을 보면, 뿌리에서 가장 함량이 높았으며, 지역은 경북지역에서 생산되는 참마가 상대적으로 높았다.

3. Red beet 배양근 RB-103으로부터 betalain 색소 추출

가. 공시재료

식물호르몬 유전자의 도입에 의해 형질전환된 red beet (*Beta vulgaris*) 배양근 으로부터 색소합성능과 성장률의 차이를 통해 1차로 23개 세포주를 선발하고 이들

중 다시 반복적인 선발을 통해 색소합성능이 가장 우수한 (RB-103)을 생물반응기에서 36주 배양한 후 시료로 사용하였다.

나. Betalain 추출 및 수율 측정

배양된 RB-103 세포주를 냉동건조 후 미세한 분말로 마쇄하고 70% 에탄올 추출용매로 하여 4℃에서 3회 반복 추출하였다. 추출액은 15,000 rpm으로 10분간 원심분리 후 침전물을 버리고 상정액만을 얻어 Nilsson방법에 따라 UV-VIS spectrophotometer를 이용하여 535, 476 nm에서 측정하였다.

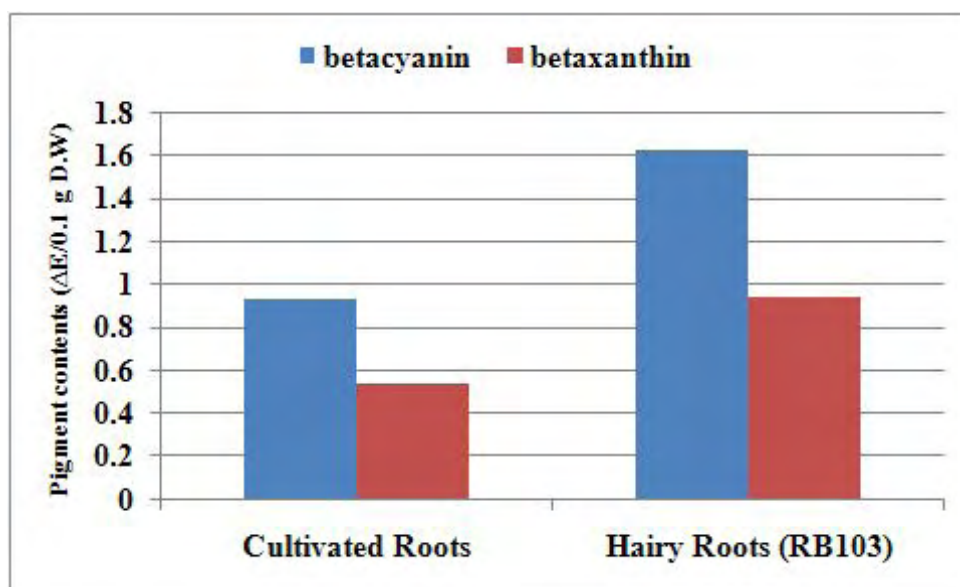


Fig. 5. Comparison of red pigment contents between hairy root RB-103 lines and cultivated roots

배양된 RB-103 세포주를 이용한 색소를 추출하고 그 수율을 측정한 결과, betalain 평균 수율은 재배종보다 약 2배 가량으로 매우 고효율의 적색색소를 얻을 수 있었다.

4. 자색고구마 및 적양배추 색소의 분리 및 동정

가. 색소 추출 · 정제 및 aglycone 확인

색소분석을 시료는 당을 제외한 aglycone 형태로 하였다. 자색고구마 및 적양배추를 잘게 절단한 다음 1%(v/v) HCl MeOH 용액에 시료가 완전히 잠기도록 넣어 4℃ 암소에서 24시간 방치하여 색소를 추출하였다. 추출액을 Whatman No.1 여과지를 사용한 Buchner funnel을 사용하여 흡인여과하였으며 잔사는 시료의 색소가 완전히 제거될 때까지 동일용매를 사용하여 반복 추출하였다. 이렇게 얻어진 추출액을 회전감압농축기를 사용하여 농축한 후, 농염산을 첨가하여 hot plate 상에서

비등할 때까지 가열하여 색소를 완전히 가수분해하였다. 가수분해한 색소액을 식힌 후에 물을 첨가하여 원래 양의 2배로 희석하였다. 희석액에 isoamyl alcohol을 첨가하여 강하게 흔든 후, 잠시 방치하여 aglycone은 상층의 알코올층으로 전용하였다. 상층의 알코올층을 다른 비이커에 옮긴 다음, ether 혹은 벤젠을 첨가하여 여러 지질성분을 제거하는 정제과정을 3회 반복하였다. 이렇게 정제된 색소액에 소량의 isoamyl alcohol를 첨가하여 상층의 aglycone을 부분을 취하여 TLC, HPLC 분석시료로 사용하였다. 이 때 색소성분을 확인하기 위하여 표준물질인 cyanidin, peonidin을 사용하여 530nm에서 측정하였다.

Table 1. Retention time in HPLC chromatogram of anthocyanin pigment from purple sweet potato and red cabbage

Identification	Retention time(min)	Color
Cyanidin(standard substance)	9.02	red
Peonidin(standard substance)	11.60	red purple
red cabbage sample	9.05	red
purple sweet potato sample	11.65	red purple

*Solvent; H₂O : MeOH : CH₃COOH = 63 : 35 : 2 (v/v/v)

Table 2. Retention time in TLC chromatogram of anthocyanin pigment from purple sweet potato and red cabbage

Sample	Rf value	
	AHW	Color
Cyanidin(standard substance)	0.52	red
Peonidin(standard substance)	0.67	red purple
red cabbage	0.54	red
purple sweet potato	0.65	red purple

*Elution solvent(AHW); CH₃COOH : HCl : H₂O = 30 : 3 : 10 (v/v/v)

자색고구마 및 적양배추에 함유된 색소의 aglycone(anthocyanidin)에 대한 성분을 확인하기 위해 TLC 및 HPLC를 이용하여 분석한 결과, 자색고구마의 주 색소는 peonidin, 적양배추의 주 색소는 Cyanidin 성분임을 알 수 있었으며, 이는 다른 연구결과들과도 일치하였다.

5. 야생 참마로부터 안티에이징 작용물질 단리 및 대량 분리정제

가. 야생 참마 잎으로부터 활성 성분 단리

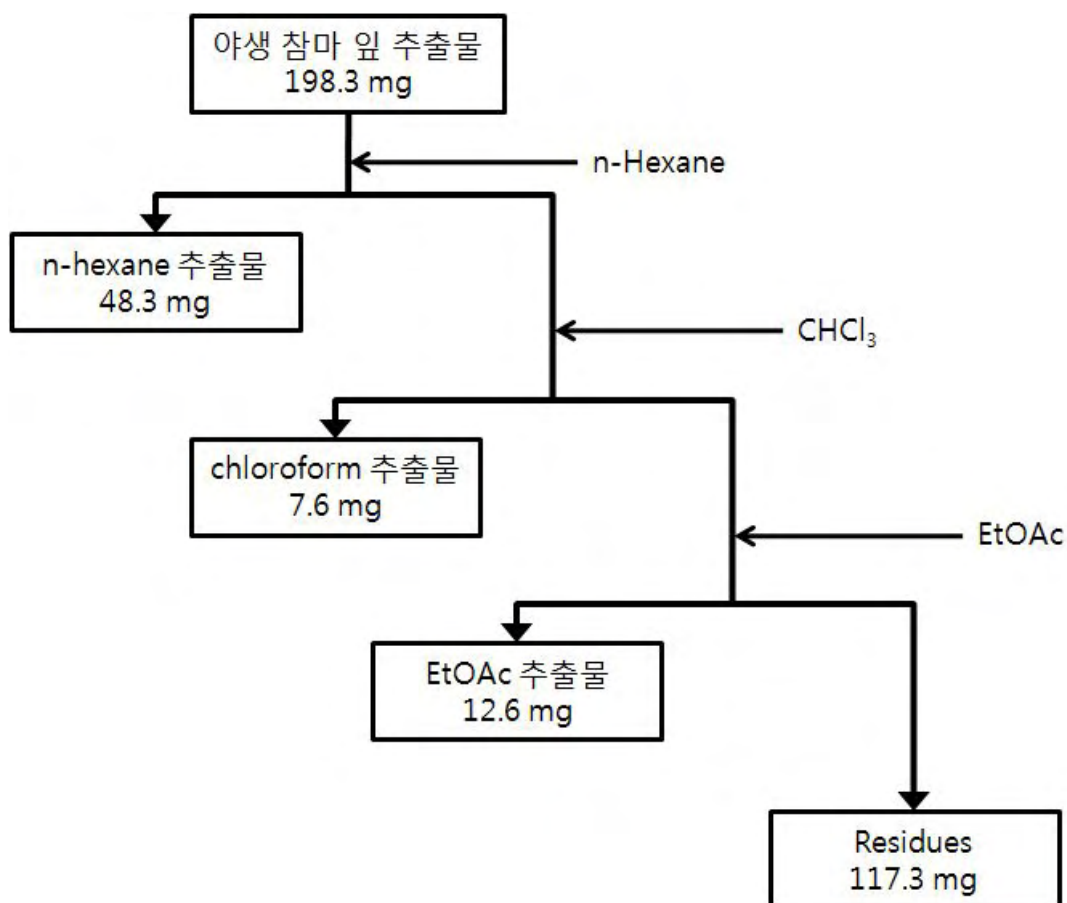
(1) 공시재료

공시재료는 경북 봉화군 일원에서 여름(6-8월)에 채취한 야생 참마(*Dioscorea japonica*)의 잎만을 수집하여 사용 하였다.

(2) 추출 및 용매분획

야생 참마의 잎 500 g 씩을 냉동 건조기에서 건조 후 메탄올에 72시간 동안 실온에서 침지시켜 조추출물을 얻었으며, 이 조작을 3회 실시하였다.

참마 500 g을 감압농축하여 얻은 추출물을 노르말헥산 (*n*-hexane), 클로로포름 (CHCl_3), 및 에틸아세테이트(EtOAc) 등의 용매를 사용하여 순차적으로 연속추출하여 분획하였을 때 추출수율은 노르말헥산 가용부 48.3 mg, 클로로메탄 가용부 7.6 mg, 에틸아세테이트 가용부 12.6 mg, 잔사 117.3 mg을 얻을 수 있었다.



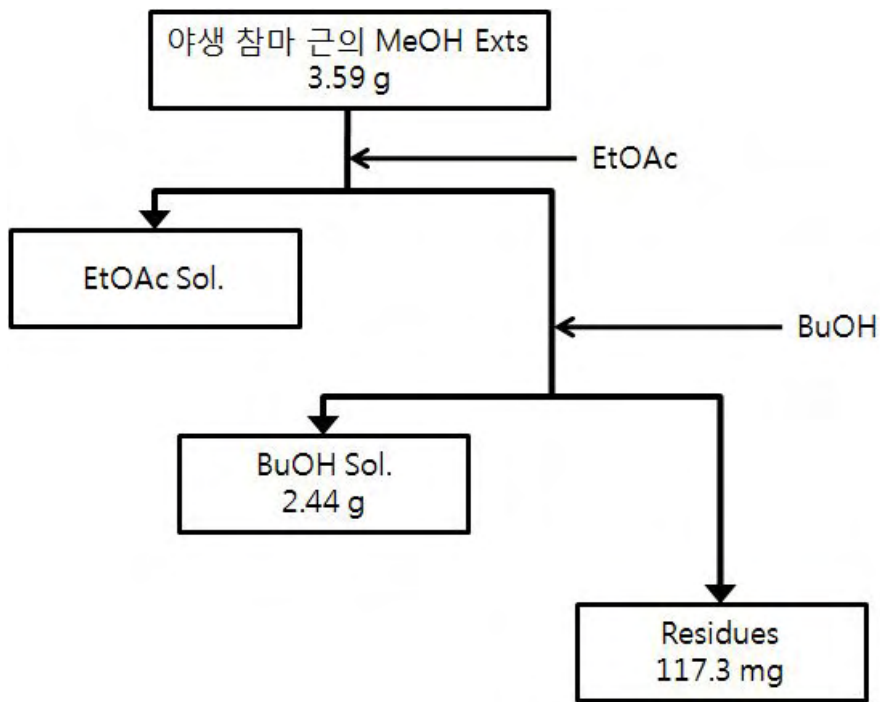
나. 야생 참마 근의 부탄올 가용부의 추출 성분 단리

(1) 참마 부탄올 가용부

1차년도 연구결과에서 활성을 보인 부탄올 가용부로부터 활성 물질을 단리하기 위하여 야생 참마의 근을 실온에서 72시간 동안 메탄올에 침지 시켜 3회에 걸쳐 추

출 하였다. 야생 참마의 메탄올 조추출물을 에틸아세테이트, 부탄올의 용매로 순차적으로 분획하였다.

분획된 참마 근의 부탄올 가용부 2.44 g을 충전제 HP20에 용매 H₂O를 사용하여 column (4 X 20 cm)에 충전 시키고 시료를 H₂O에 녹여 column에 loading하여 이동상으로 H₂O : MeOH 혼합 용매를 극성이 낮은 MeOH를 순차적으로 높여 20% (H₂O : MeOH = 8:2, v/v), 40%, 60%, 80%, 100%의 농도별로 각각 300 ml 씩 분취하여 5개의 분취물을 얻어 농축 하였다.



(2) TLC 분석



Fig. 6. Toluene : Ethyl formate : Formic acid (5:4:1, v/v/v)

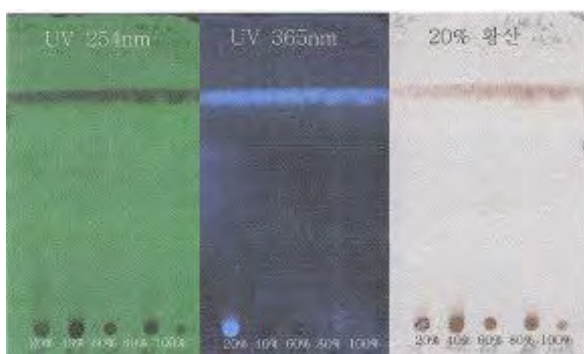


Fig. 7. Acetone : Ethyl acetate : H₂O (10:10:1, v/v/v)

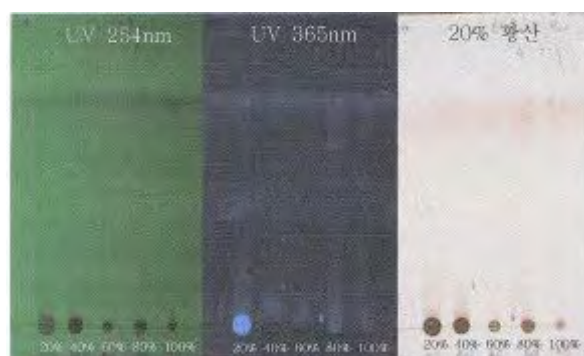


Fig. 8. Ethyl acetate : BuOH : H₂O (4:2:1, v/v/v)

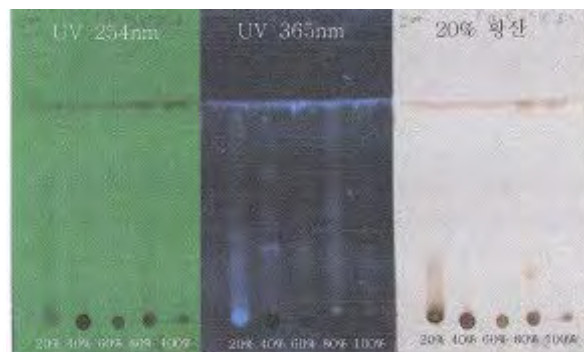


Fig. 9. Chloroform : MeOH : H₂O (15:6:1, v/v/v)

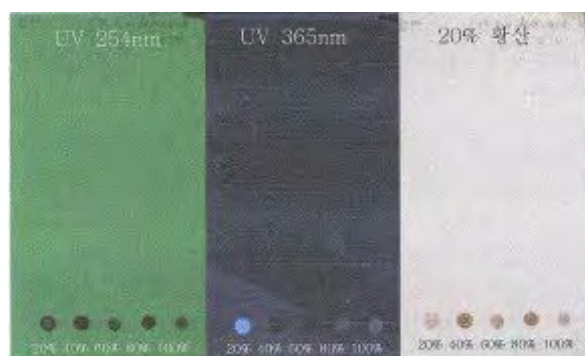


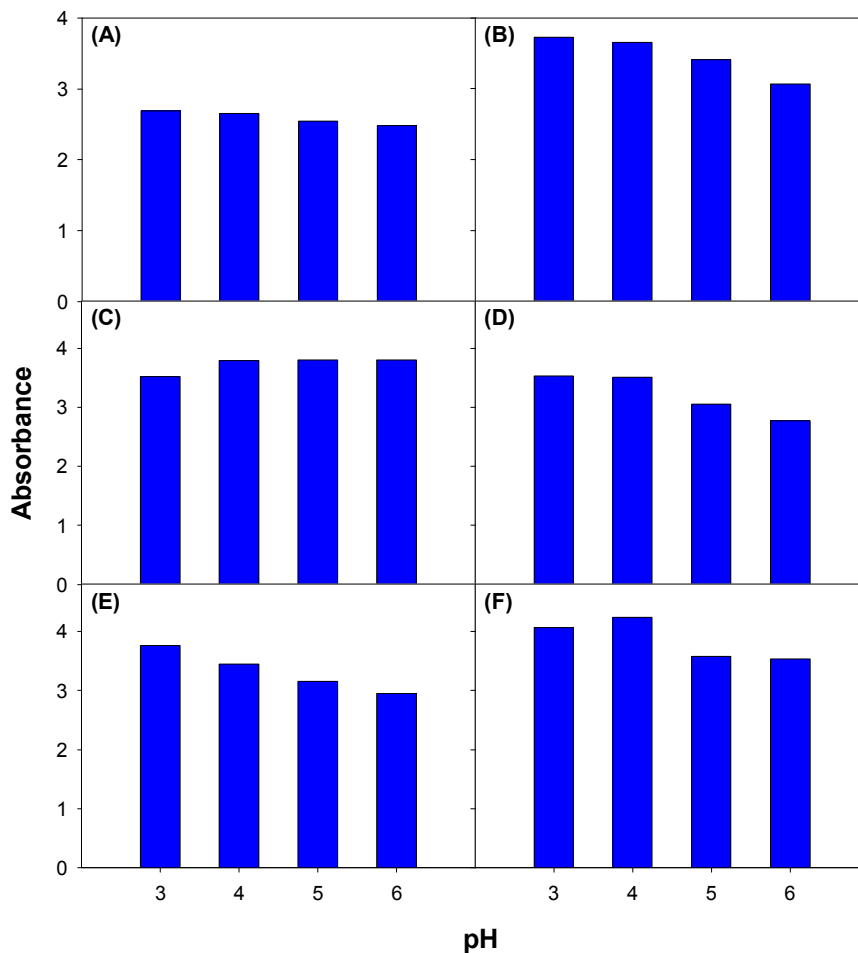
Fig. 10. Chloroform : MeOH : H₂O : Acetic acid (65:25:4:3, v/v/v/v)

6. 천연색소 추출 및 정제 효율 증진

6종의 천연색소로부터 추출공정의 pH 조건 및 온도 조건에서의 최적 용매를 검토하기 위하여 알칼리성 용매로는 수산화나트륨(NaOH) 용액을 사용하였으며, 산성 용매로는 시트르산(Citric acid) 용액을 사용하였다. 또한 온도 조건으로는 40℃, 60℃, 80℃로 하여 추출하였다.

가. 추출 용매의 pH 조건에 따른 추출효율 탐색

동결 건조하여 미세하게 분쇄한 각 색소분말을 수산화나트륨(NaOH)과 시트르산(Citric acid) 용액을 사용하여 pH 3~6과 pH 9~12로 조정한 증류수에 넣고 추출하였다. 이 경우 색소분말을 넣은 다음 pH의 변화를 재확인하여 추출조건에 맞게 다시 재조정하였다.



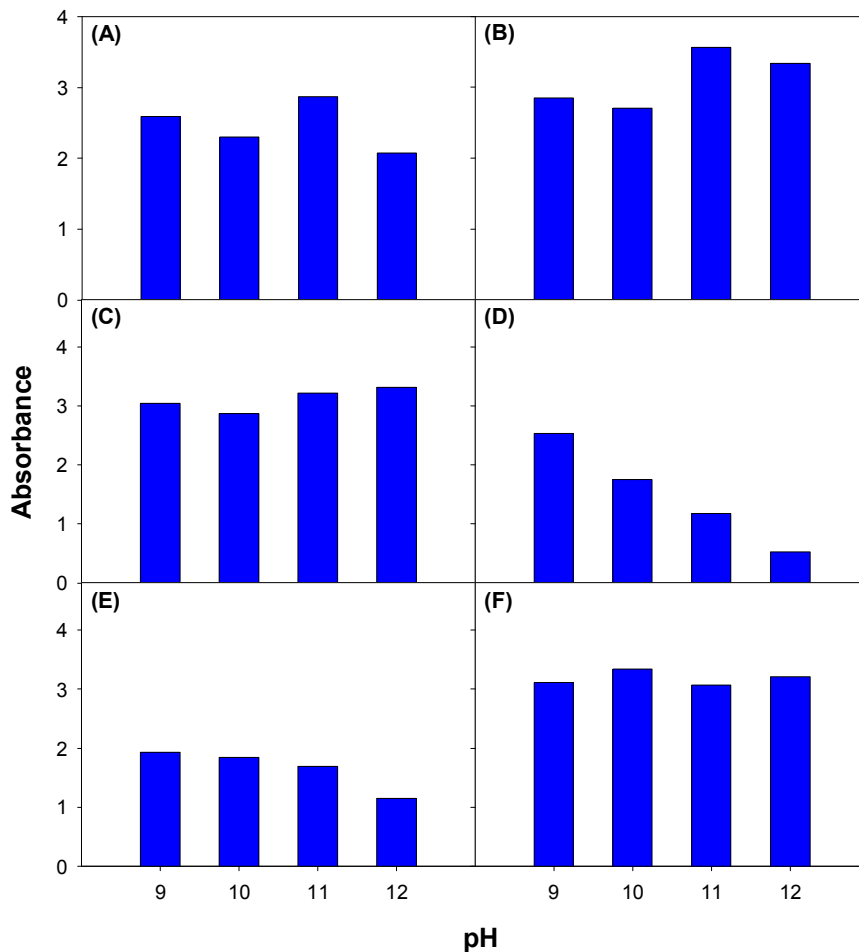


Fig. 11. Absorbance of natural plant pigments under various pH condition.
 A: Cactus B: Mulberry leaves C: Bitter melon D: Purple sweet potato
 E: Red cabbage F: Black rice

용매의 pH를 변수로 하여 최적 추출조건을 흡광도 측정으로 확인한 바, 백년초, 자미, 적양배추, 흑미 등 안토시아닌계 색소는 pH 조건에 따라 추출색소의 색상 변화에 큰 차이가 있었으며, 특히 알칼리성 용매에서는 색소 고유의 색상이 완전히 사라져버렸다. 그러나 여주, 뽕잎 등의 카로티노이드계 색소 및 클로로필계 색소는 pH 변화에 비교적 안정하였다. 따라서 백년초, 자미, 적양배추 등의 색소 추출은 pH 3~4의 산성용매에서 추출하는 것이 색상의 변화를 예방하고 추출 효율을 증대시킬 수 있을 것으로 판단된다.

나. 추출 용매의 온도 조건에 따른 추출효율 탐색

동결 건조하여 미세하게 분쇄한 각 색소분말에 적당량의 증류수를 붓고 혼합한 다음, Shaking Waterbath에 넣어 각 온도 조건에서 3시간 추출하였다. 추출된 색소 용액을 여과한 다음 각 색소의 최대 흡수파장에서 흡광도를 측정하였다.

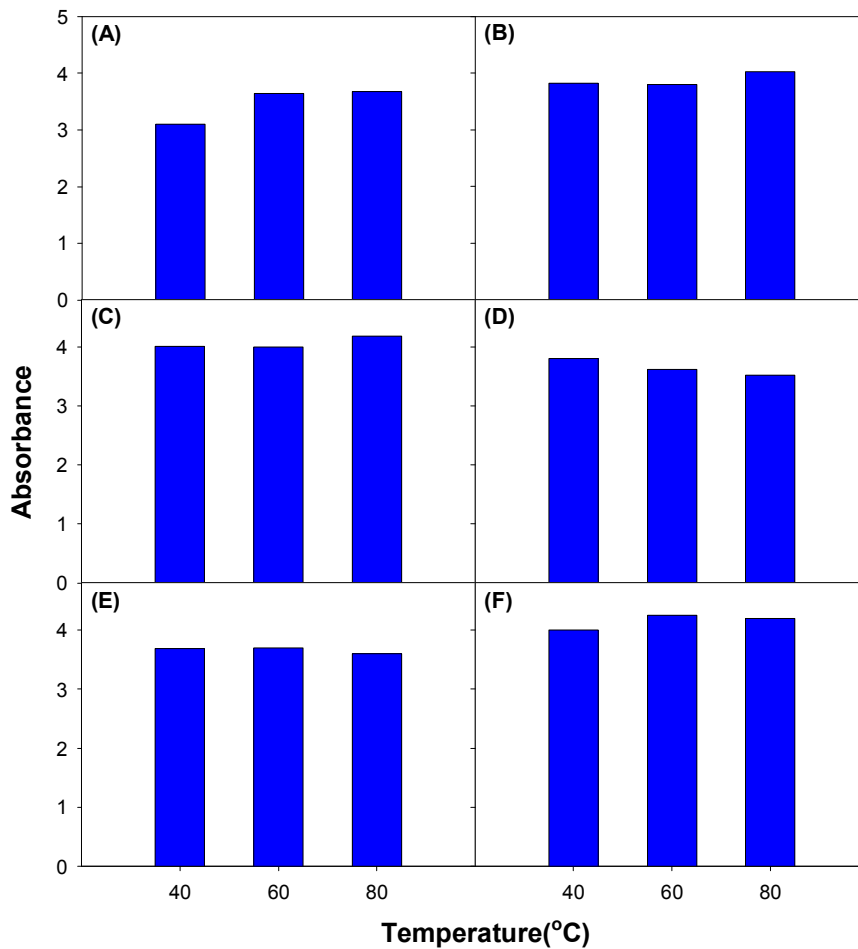


Fig. 12. Absorbance of natural plant pigments under various temperature condition.
 A: Cactus B: Mulberry leaves C: Bitter melon D: Purple sweet potato
 E: Red cabbage F: Black rice

추출용매의 온도 조건을 변수로 하여 최적 추출 온도조건을 흡광도 측정으로 확인한 바에 의하면, 공시한 모든 시료에서 온도에는 비교적 안정된 결과를 보였다. 따라서 천연색소를 추출하는데 있어 60°C 이상의 비교적 고온에서도 색상 변화에 크게 문제가 되지 않을 것으로 추측된다.

7. 생리활성 획득 확보 및 특성 분석

가. 실험내용 및 방법

(1) 공시재료

경북 봉화군 일원에서 채취한 야생 참마(*Dioscorea japonica*)를 구입하여 전남대

학교 식물분류학 실험실에서 동정 후 실험에 사용 하였다.

(2) 추출 및 용매분획

참마는 건조 후 잘게 쪼개어 20kg을 50% 에탄올로 3회 상온 추출한 다음 감압 농축하여 에탄올 추출물(2000g)을 얻었다. 이를 다시 증류수에 현탁시켜 노르말헥산 (*n*-hexane), 클로로포름(CHCl₃), 부탄올(*n*-butanol)등의 용매를 사용하여 순차적으로 연속 추출하여 분획하였을 때 추출수율은 노르말헥산 가용부 8.7g, 클로로포름 가용부 9.1g, 부탄올 가용부 73g을 각각 얻었다.

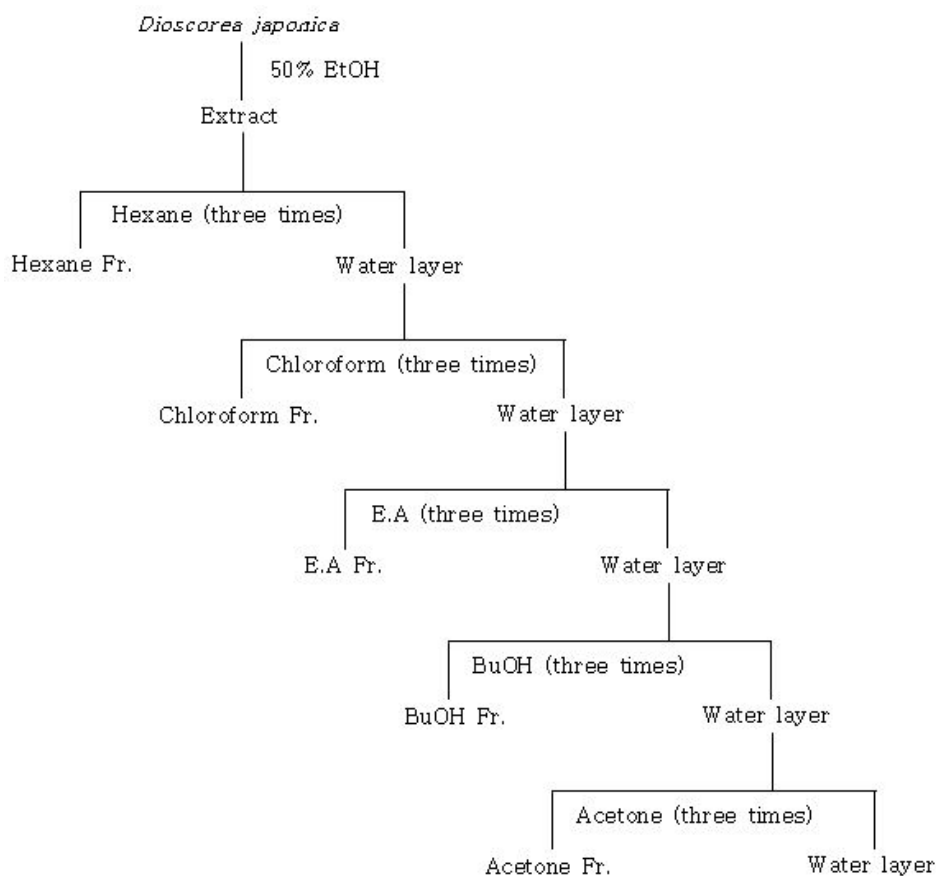


Fig. 13. Extraction and solvent partition in roots of *Dioscorea japonica*

(3) 참마 부탄올 가용부로부터 활성성분 분리

참마 부탄올 분획물을 메탄올에 녹지 않는 것을 여과한 후 농축하고 물에 녹인 다음 Diaion사의 HP-20 resin을 이용하여 당질을 제거 하였다. 메탄올을 이용하여 흡착된 화합물을 용출하여 농축한 조추출물을 관동제약 silicagel 6을 가지고 클로포름 : 메탄올 : 물 (14:6:1)에서 10:6:1로 gradient 방법으로 10개의 분획물을 얻었으며 이 중 Fr-6를 MPRC(EYELA VSP-3050)를 이용하여 5% 아세트나이트릴 용매로 ODS-A column에서 분당 3 ml로 하여 단리한 물질을 NMR을 통해 분석 하였다.

(4) 참마로부터 diosgenin 추출

참마의 활성성분인 diosgenin의 추출 및 분석을 위해 잘게 쪼개진 건조 근경을 각각 5g 씩 2N HCl 100 ml를 가하여 12시간 환류 시킨 후 여과지(No.2)로 여과하여 추출된 상등액에 에틸아세테이트 100 ml을 첨가하여 분획하여 HPLC 분석에 사용하였다. HPLC는 Agilent 1200(Agilent Tech. Inc. 2006, Germany)을 이용하여 분석하였다. 용매는 아세토니트릴 20%에서 60%까지 50분간 농도구배를 주었으며 유속은 1.0 ml/min.으로 하였다. Column은 XDB-C18을 사용하였으며 210 nm에서 측정하였다. 표준물질로 사용한 diosgenin은 Sigma Chemical Co.에서 구입하여 사용하였다.

나. 실험결과

(1) n-butanol 분획으로부터 화합물 분리

참마 추출물에 대한 활성 검정에서 얻은 결과를 통해 부탄올분획으로부터 화합물을 분리하였다. $^1\text{H-NMR}$ 에서 6.8 ppm에서 7.7 ppm 사이에 페놀에서 기인하는 peak를 확인하였으며, 2.4 ppm에서 3.7 ppm 사이에서는 알킨에 기인하는 peak, 그리고 11.0 ppm에서 NH에 기인하는 peak를 확인하였다. $^{13}\text{H-NMR}$ 과 HSQC에서 27.1 ppm에서 CH_2 를 확인하였으며, 54.7 ppm에서 측쇄에 기인하는 CH, 1000 ppm 이상에서 페놀과 이중결합을 가진 CH 5개, C 3개를 확인 할 수 있었다. 170.5 ppm에서는 카르복실기에서 기인하는 C 한 개를 확인하였다. HMBC에서 11.0 ppm에서 N-H와 C-2, C-1, C-3, C-8과의 교차 peak를 확인하였고, 3.01 ppm에서 H-9과 C-2, C-1, C-11, C-3과의 교차 peak를 확인하였다. 또한 3.33 ppm에서 H-3와 C-2, C-1, C-11과의 교차 peak와 3.51 ppm에서 H-10과 C-11, C-2와의 교차 peak를 확인하였다. 벤젠링의 7.05 ppm에서 H-5와 C-6, C8의 교차 peak와 6.96 ppm의 H-9과 C-4, C-4, C-3와의 교차 peak를 확인하였다. 또한 7.24 ppm에서 H-1과 C-3, C-3, C-8과의 교차 peak와 7.56 ppm에서 H-4와 C-7, C-3, C-2, C-9과의 교차 peak를 확인하였으며, 7.35 ppm에서 H-7은 C-5, C-3와 교차 peak를 확인하였다. ESI-MASS를 통하여 분자량을 측정한 결과 2-amino-3-(1H-indole-3-yl)propionic acid로 L-tryptophan으로 구조 동정하였다. L-tryptophan은 동식물세포에서 생합성되는 아미노산 중 하나로 전통의학에서는 수면장애, 진정, 우울증, 주의력 결핍등과 같은 증상에 효능이 있는 것으로 알려지고 있다. 본 실험 결과 L-tryptophan은 건조 참마 근경에 다량 (0.7 mg/g DW) 포함되어 있으며, 면역활성 검정에서 높은 활성을 나타낸 n-butanol 분획의 10개 화합물 중 활성에 영향을 주는 지표 물질로 사료 되었다.

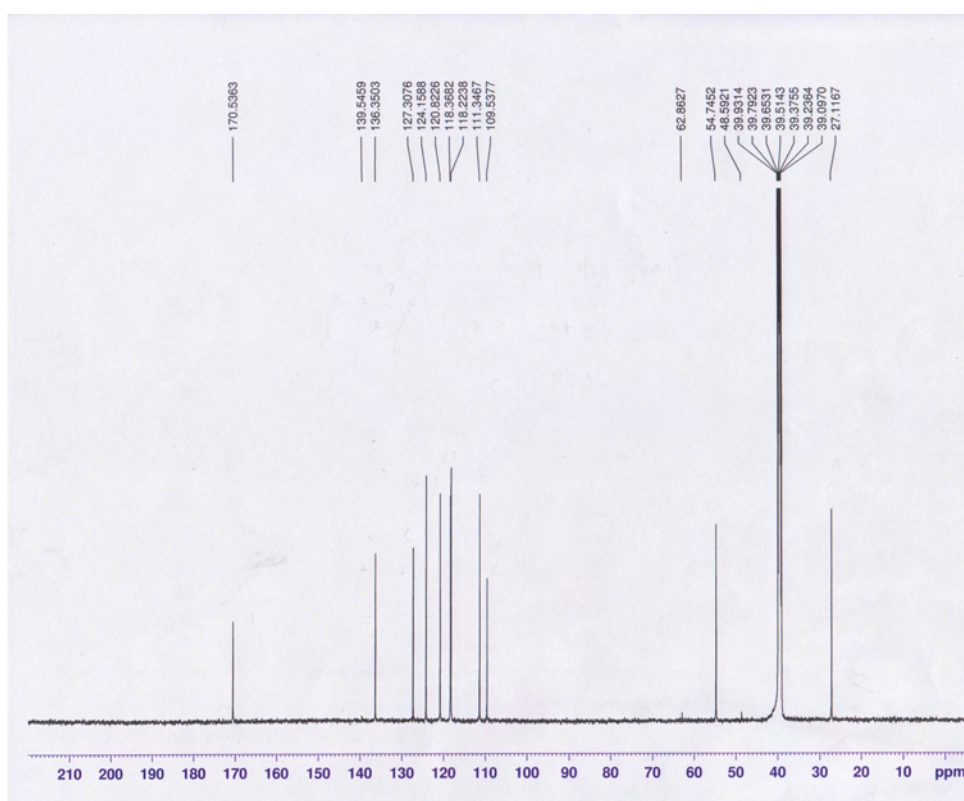


Fig. 14a. The ^{13}C -NMR spectrum of compounds

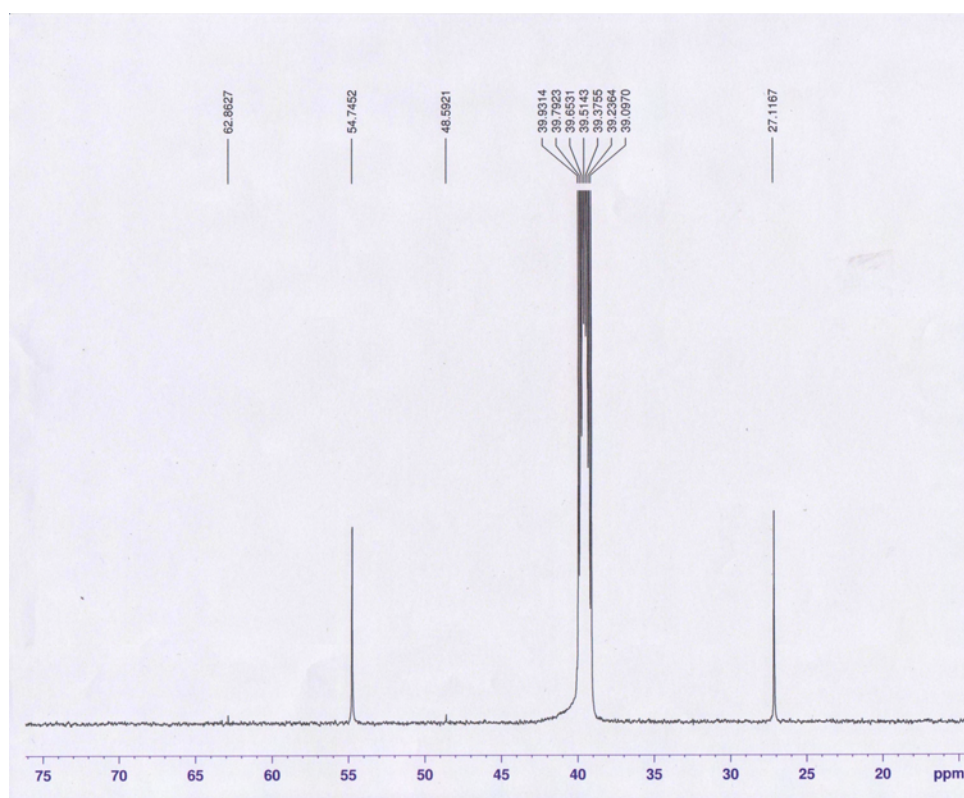


Fig. 14b. The ^{13}C -NMR spectrum of compounds

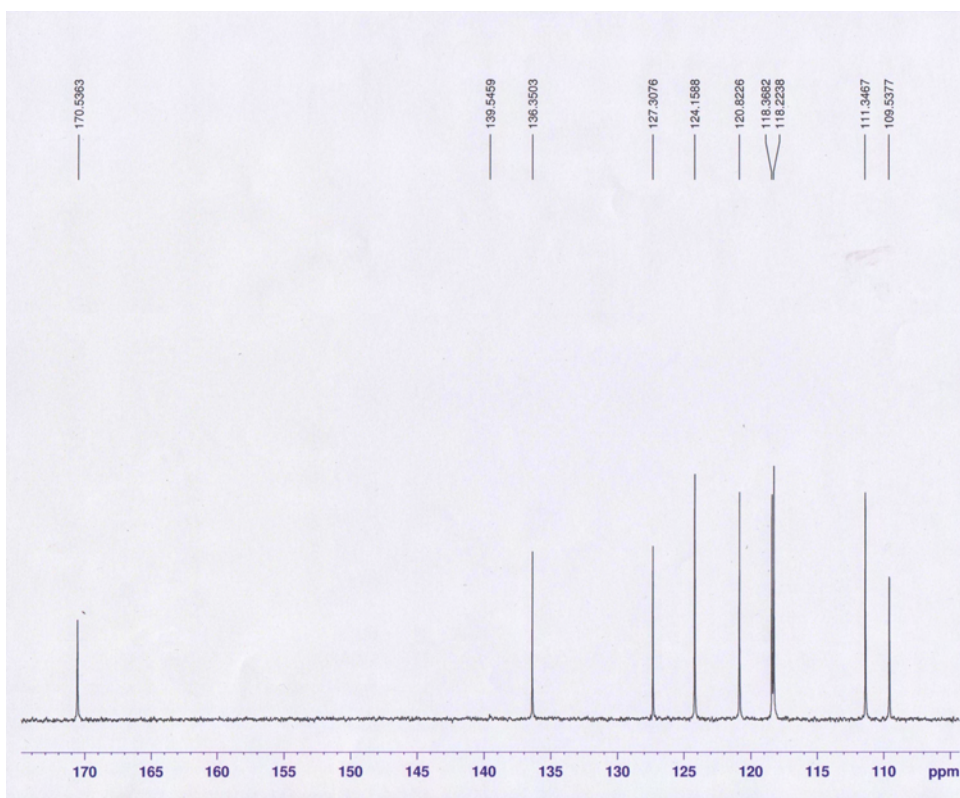


Fig. 14c. The ^{13}C -NMR spectrum of compounds

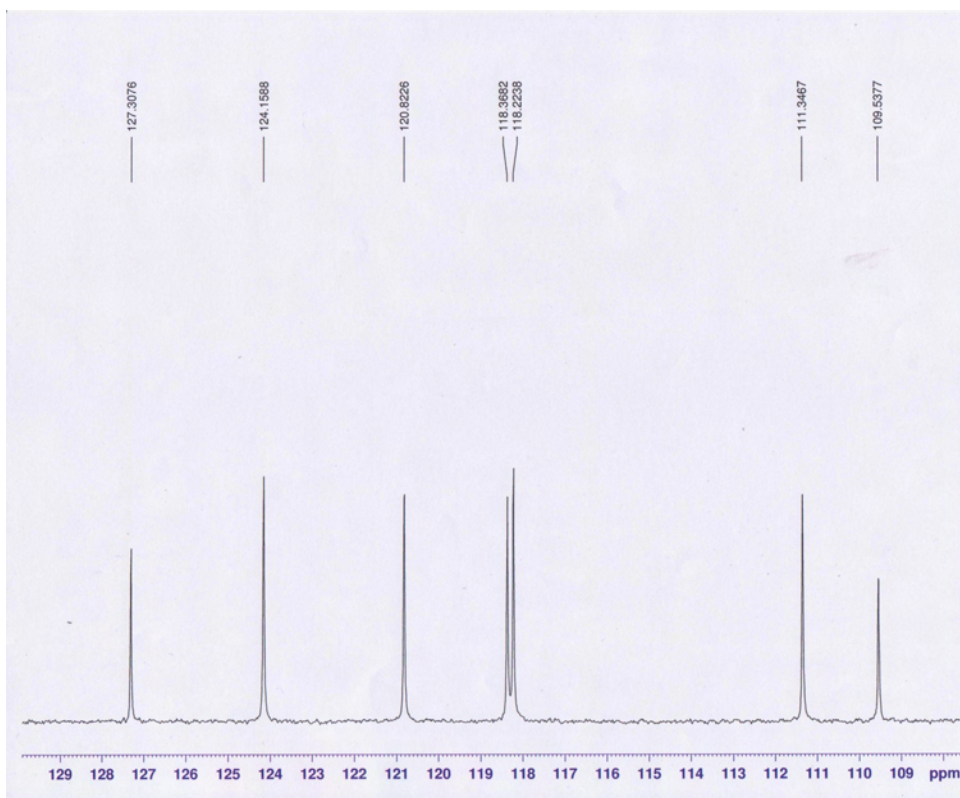


Fig. 14d. The ^{13}C -NMR spectrum of compounds

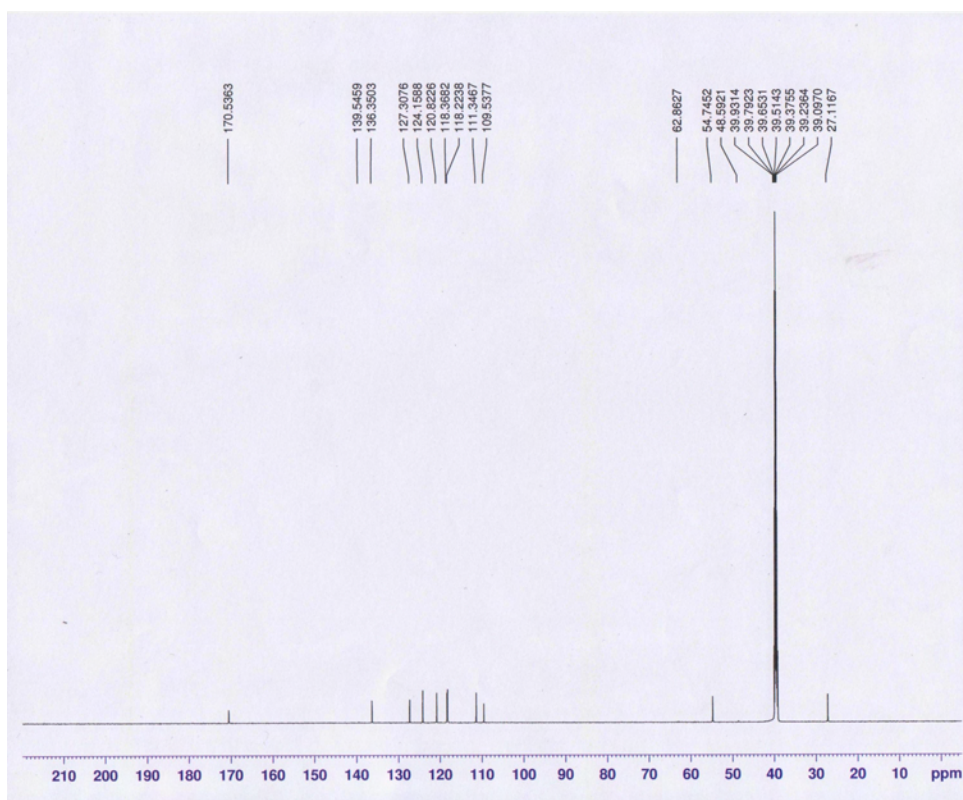


Fig. 14e. The ^{13}C -NMR spectrum of compounds

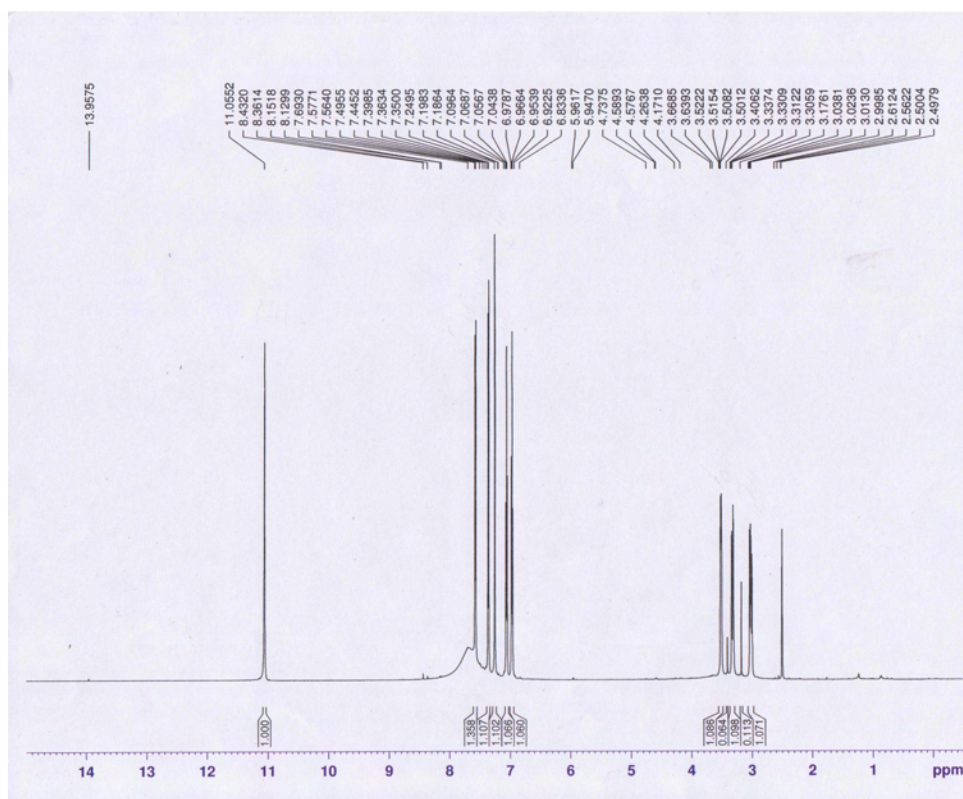


Fig. 14f. The ^1H -NMR spectrum of compounds

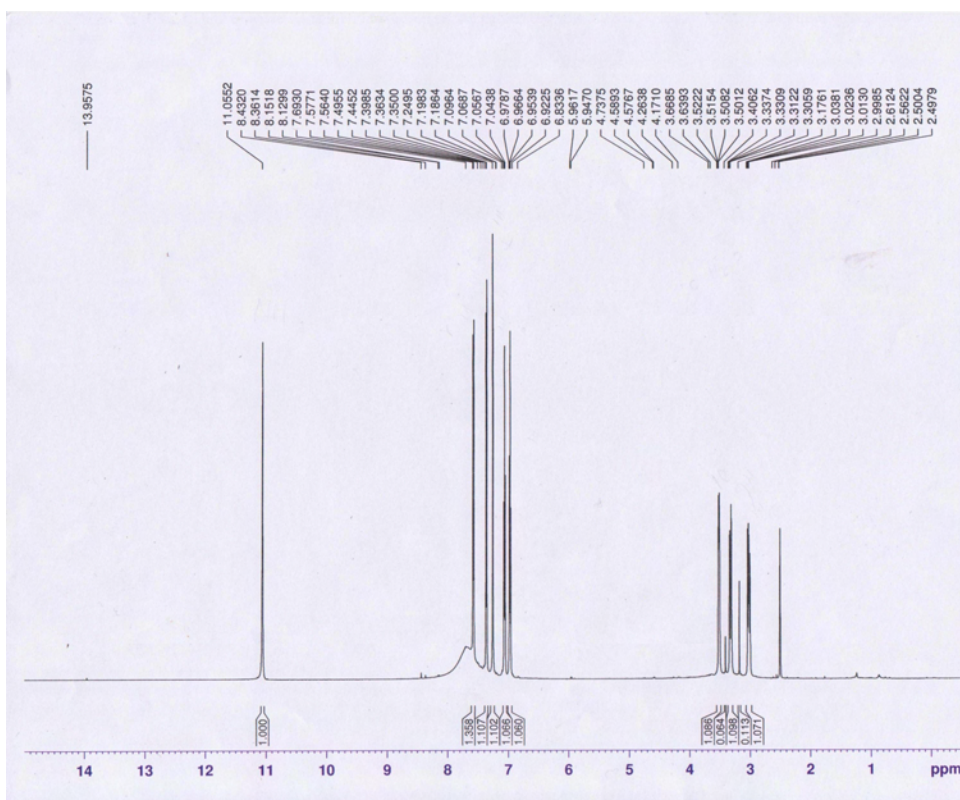


Fig. 15a. The ^1H -NMR spectrum of compounds

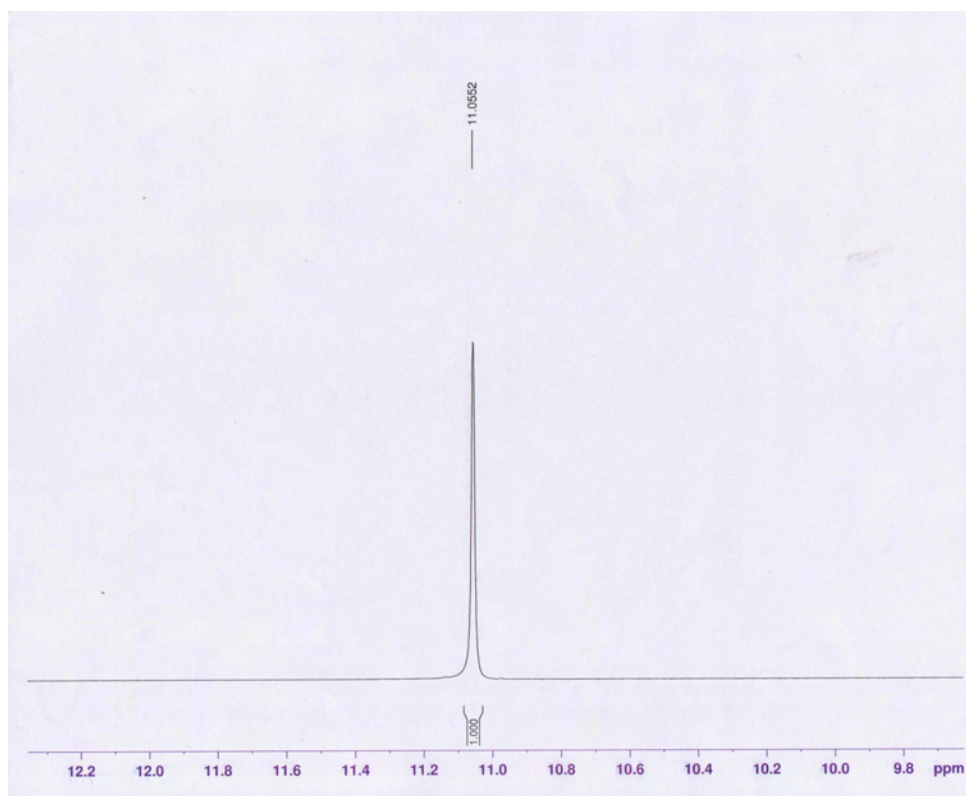


Fig. 15b. The ^1H -NMR spectrum of compounds

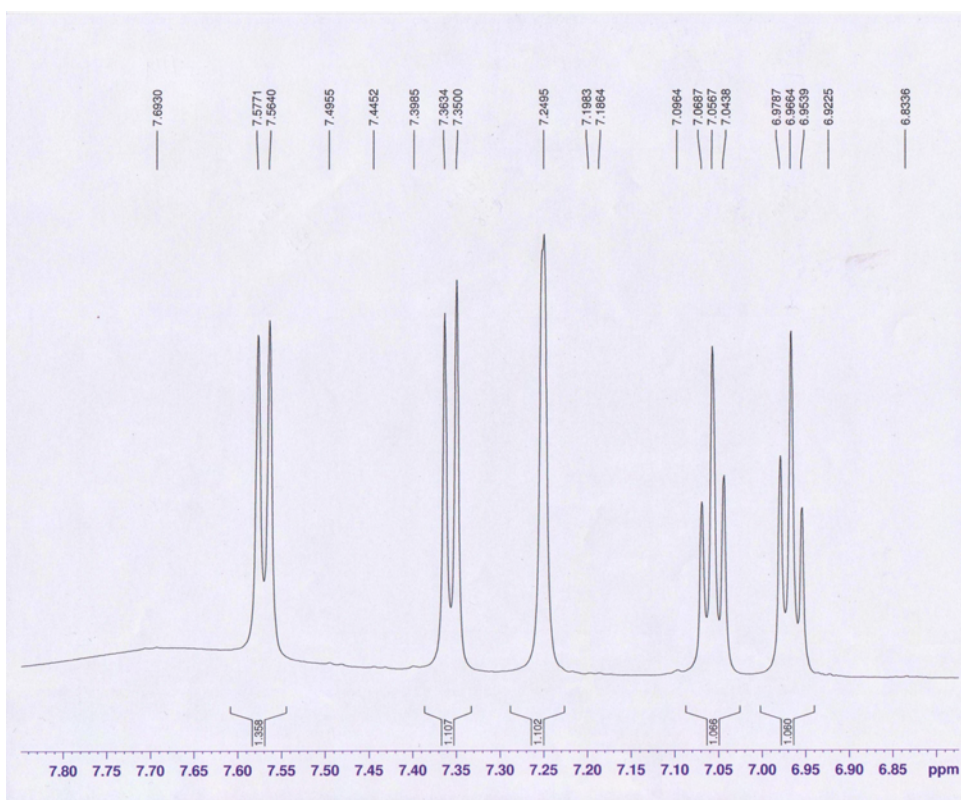


Fig. 15c. The ^1H -NMR spectrum of compounds

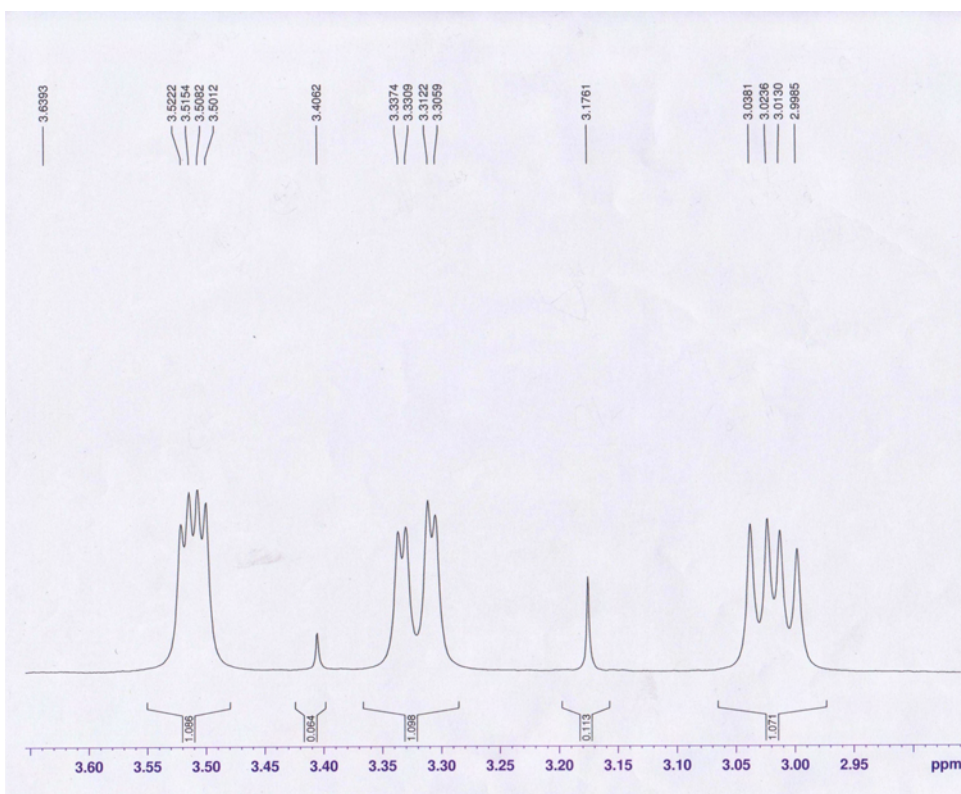


Fig. 15d. The ^1H -NMR spectrum of compounds

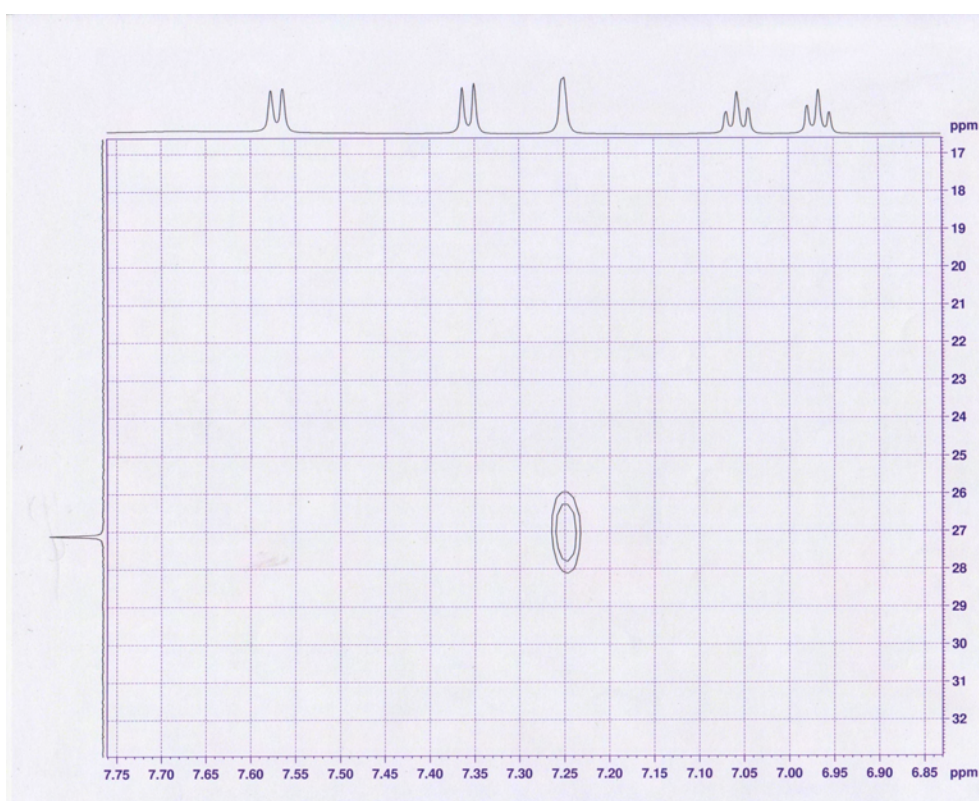


Fig. 16a. HMBC spectrum of compounds

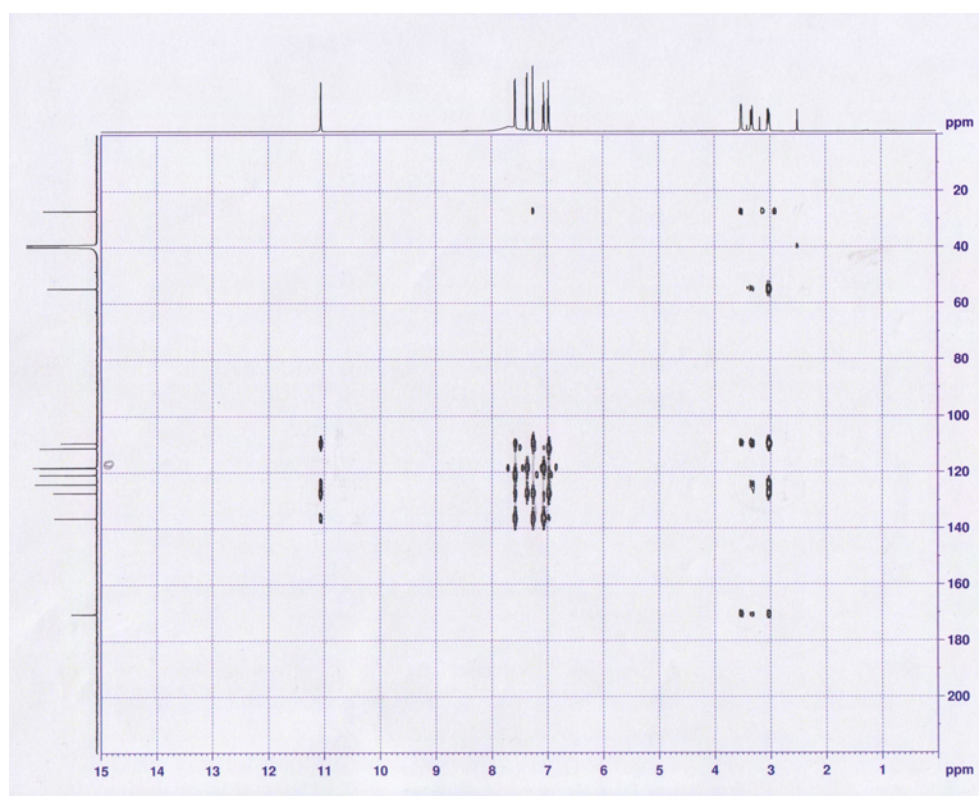


Fig. 16b. HMBC spectrum of compounds

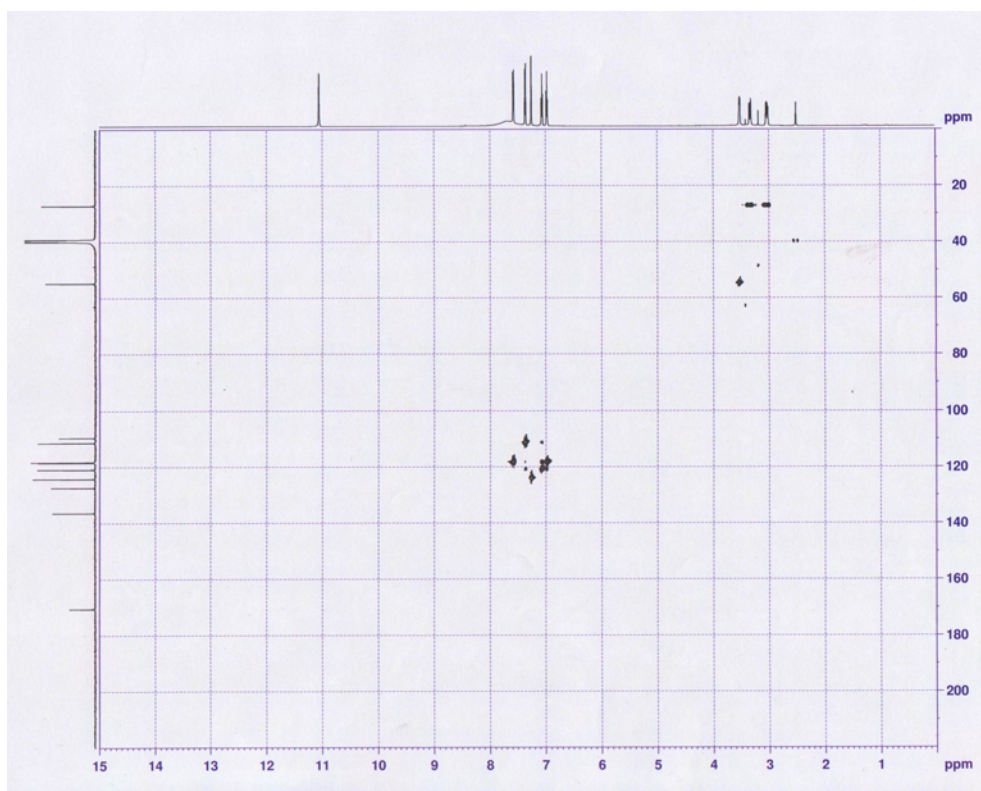


Fig. 16c. HMBC spectrum of compounds

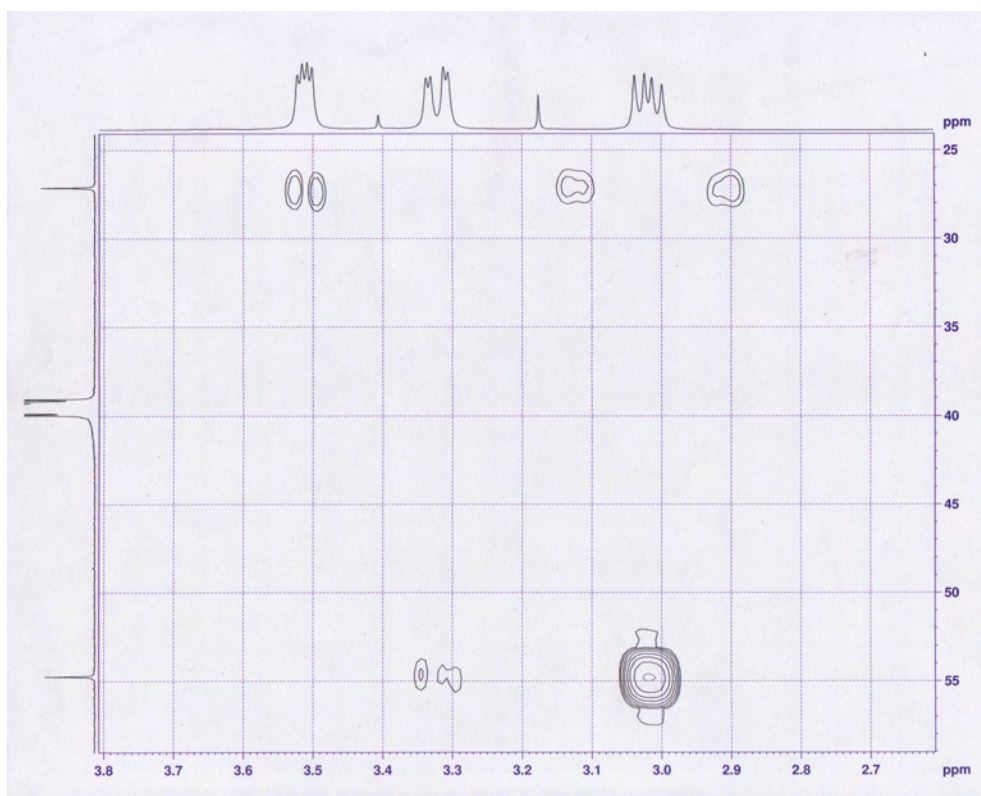


Fig. 16d. HMBC spectrum of compounds

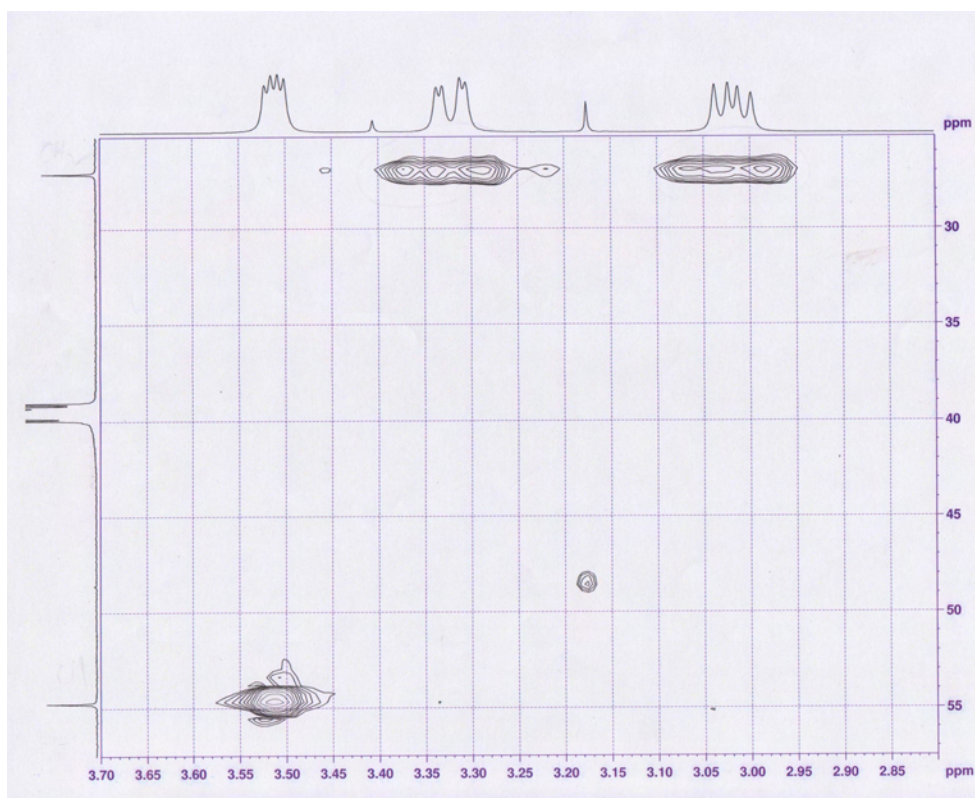


Fig. 16e. HMBC spectrum of compounds

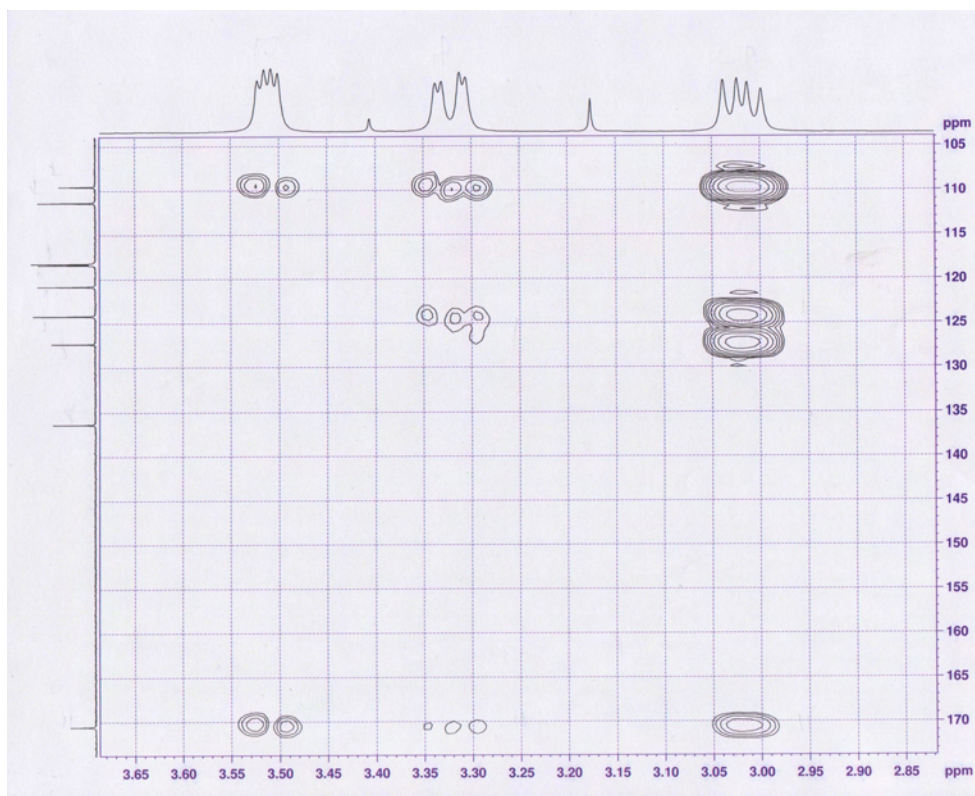


Fig. 16f. HMBC spectrum of compounds

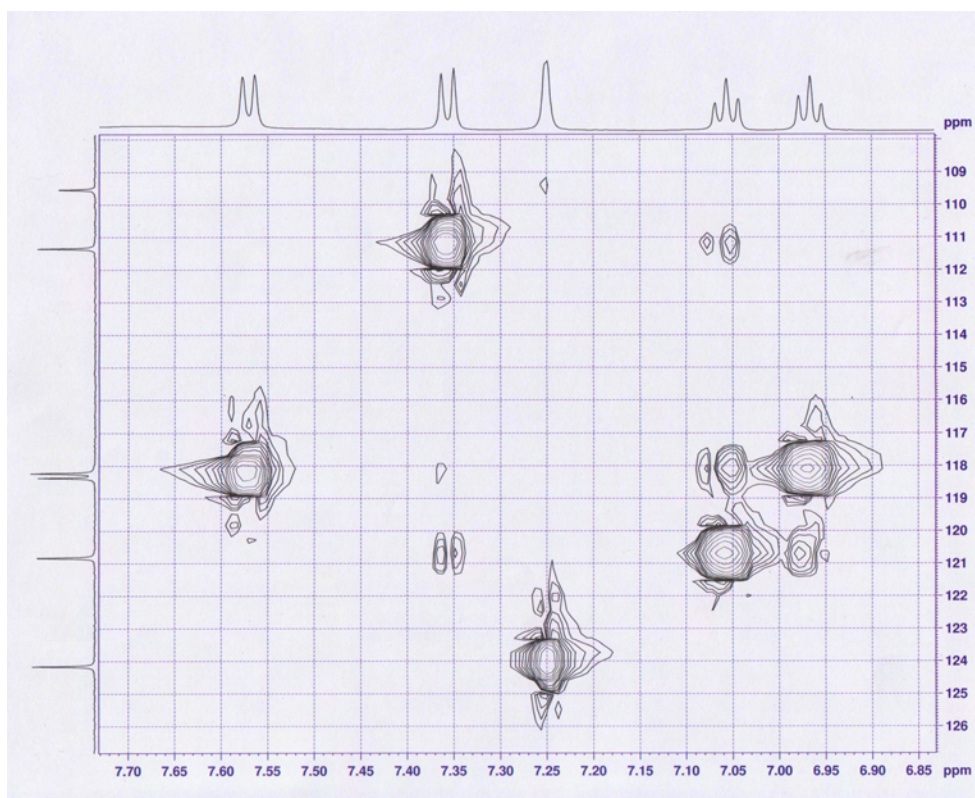


Fig. 16g. HMBC spectrum of compounds

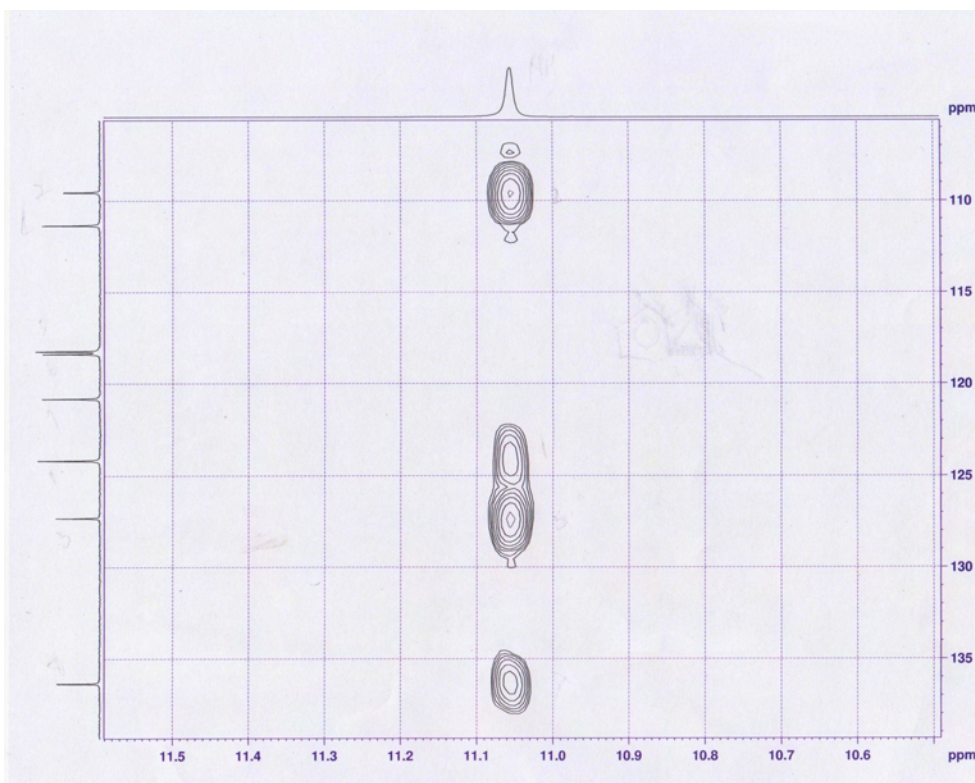


Fig. 16h. HMBC spectrum of compounds

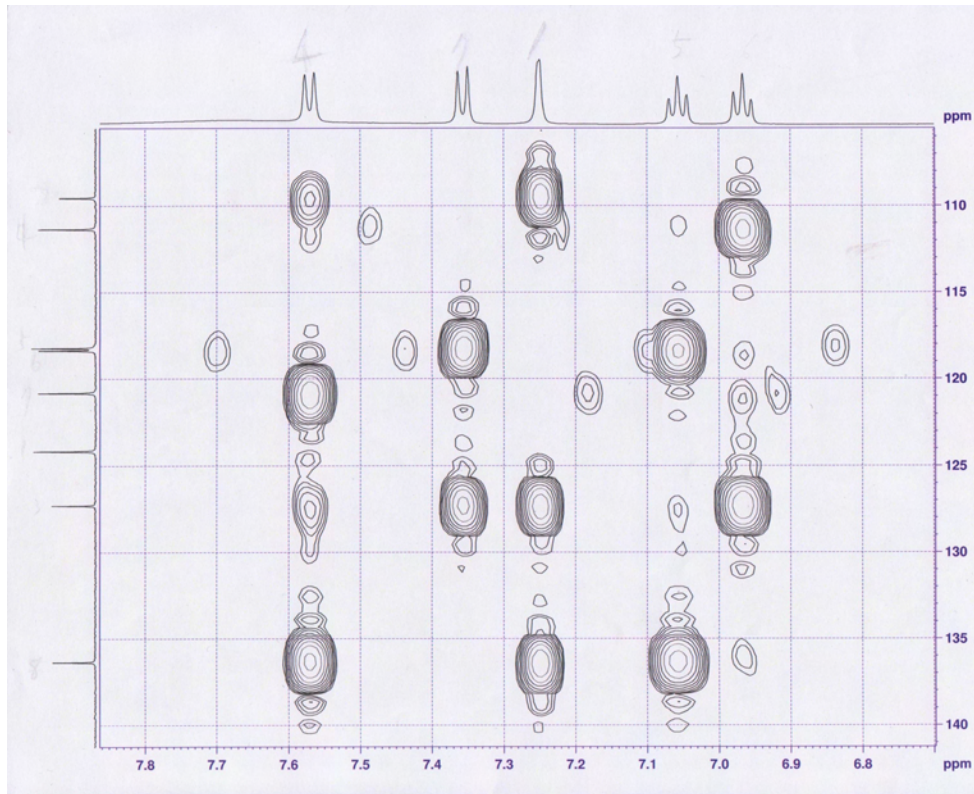


Fig. 16i. HMBC spectrum of compounds

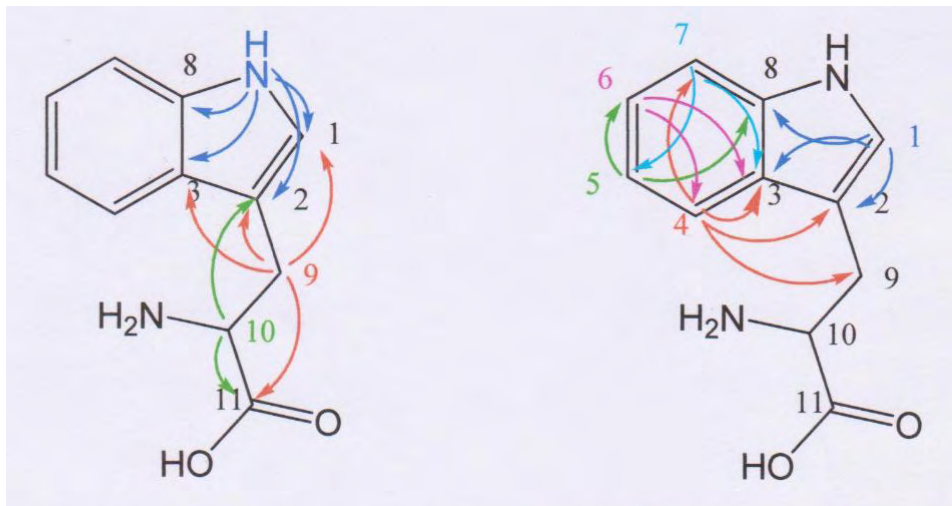


Fig. 17. Chemical structure of compound isolated from roots of *D. japonica*.

(5) 참마의 근경으로부터 지표성분 diosgenin에 대한 시제품 검정

참마의 에탄올 추출물이 함유된 시제품으로부터 천연추출성분에 대한 검정을 하기 위해 지표물질로 diosgenin을 이용하여 분석 하였다. 각 시제품에 대한 diosgenin 분석은 방법 4)에 준해 실시하였다.

참마 근경 추출물이 함유된 시제품 5종에 대한 지표물질 diosgenin을 확인한 결과 5개의 시제품 모두에서 검출되었다.

Table 3. Diosgenin detection in first application of lip gross with herbal mixtures

A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
+	+	+	+	+

*A-1, Purple sweet potato mixture; A-2, Cactus mixture; A-3, Mulberry leaves mixture; A-4, Black-rice mixture; A-5, Mature bitter melon(yellow) mixture.

** +, detected; -, non-detected

제2절 천연색소 및 안티에이징 천연물 소재의 in vitro 및 in vivo 피부 기능성 분석

천연 색소란 자연계에 자연 상태에서 존재하는 색깔을 나타낼 수 있는 가시광선의 파장 영역인 350~750 nm 범위에서 파장을 흡수할 수 있는 유기 또는 무기화합물을 말한다. 천연 색소는 다시 생체 색소와 광물 색소로, 생체 색소는 다시 식물 색소와 동물 색소로 구분한다(Cserhati *et al.*, 2000). 이중 식물 색소는 식물의 색소를 직접 추출하여 사용되며 다양한 생리활성을 띄는 것으로 최근 문헌에 의해서 보고되고 있다 (Kanakis *et al.*, 2007).

피부는 인간의 신체에서 가장 큰 기관으로 자외선 조사에 직접적으로 노출되는 유일한 기관이다 (Assefa *et al.*, 2005). 자외선은 피부 세포에 여러 가지 자극을 일으켜 피부 손상을 일으키는데, 여러 자극 요인들 중 피부가 자외선에 노출이 되면 산화적 스트레스가 유발되게 되는데 이때 어느 정도의 산화적 스트레스는 생체 안에 존재하는 항산화계에 의해 제거되지만 산화적 스트레스가 항산화계의 수준을 초과하여 제거되지 못하면 피부 세포의 DNA 변형과 기능 상실에 관여하여 피부 세포 사멸까지 유도한다는 보고가 되고 있다 (Isoir *et al.*, 2006).

산화성 스트레스는 피부 세포 사멸 이외에도 피부 노화를 촉진시키는 것으로 보고되고 있다 (Burke, 2010). Kim 등 (2009)은 천연 색소인 안토시아닌이 항산화 능력이 있다고 보고하였다. Solovchenko과 Schmitz-Eiberger(2003)은 사과 과일의 피부의 플라보노이드가 자외선 차단 효과가 있다고 발표하였다. Carotinoid의 대표적 물질인 β -carotene의 경우 자외선에 대한 방어 효과가 인정이 된다고 최근 보고되었다 (Dinkova-Kostova, 2008). 그러나 직접적인 피부 세포에서의 UV에 대한 천연 색소의 효능에 대한 보고는 이루어지고 있지 않고 있다. 따라서 자외선 차단 효과가 있는 천연 색소 물질들을 규명하고 나아가 이들 천연 색소 물질들이 어떠한 기전을 통해 자외선 차단 효과가 있는지를 규명하는 것은 의미가 크다고 사료된다.

본 실험에서는 다양한 천연 색소 및 야생 참마 항노화 활성 획득의 피부보호 효과를 구명하고 동물실험 통한 피부반응 실험 등 활성을 검증함으로써 향후 천연색소 함유 항노화 립케어 제품을 개발하는데 있어 근거자료를 제공하고자 한다.

1. 야생 참마의 항노화 및 피부 보호효과 규명

가. 야생 참마 분획의 항산화 활성 분석

(1) Superoxide Dismutase (SOD) 유사활성능

SOD 유사활성능은 Marklund의 방법에 의하여 측정하였다(Marklund, 1990). 즉, 각 시료 0.2 mL에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer (50 mM tris +10 mM EDTA) 3 mL과 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL을 가하고 실온에서 10분간 방치한 후, 1 N HCl 1 mL을 첨가하여 반응을 정지시킨 다음 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 {1-

(시료첨가구의 흡광도/시료 무첨가구의 흡광도) $\times 100$ 으로 나타냈으며 대조구로는 ascorbic acid 10 mM/mL을 이용하여 비교하였다.

(2) Xanthine Oxidase 저해활성

Xanthine oxidase 저해활성은 Noro 등의 방법에 준하여 실시하였다(Noro *et al.*, 1983). 즉, 소정의 시료 추출물 1 mL에 40 mU의 xanthine oxidase 0.1 mL 및 50 mM phosphate buffer (pH 7.5) 2.9 mL을 가하여 25°C에서 15분간 반응시켰다. 여기에 0.15 mM xanthine 2 mL을 가하고, 다시 30분간 반응시킨 후 1 N HCl 1 mL을 첨가하여 반응을 정지시킨 다음 290 nm에서 흡광도를 측정하였다. Xanthine oxidase 저해능은 $\{1 - (\text{시료첨가구의 흡광도} / \text{시료 무첨가구의 흡광도})\} \times 100$ 으로 나타냈으며 대조구로는 ascorbic acid 10 mM/mL을 이용하여 비교하였다.

(3) DPPH radical 소거능 측정

농도별로 제조한 시료 0.4 mL에 0.2 mM DPPH 0.4 mL을 가하고 vortex mixing 후 37°C에서 30분간 반응시킨 후 분광광도계를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하여 DPPH의 환원에 의한 흡광도 감소를 조사하였다. 이 때 IC₅₀ (ug/mL)은 추출물을 첨가하지 않은 대조군의 값을 50% 감소시키는 추출물의 농도를 나타냈으며, 대조구로는 기존의 항산화제로 잘 알려진 ascorbic acid 10 mM/mL을 이용하여 비교하였다.

먼저 야생 참마 분획을 농도별 (10-100 ug/ml)로 처리한 후 DPPH 소거능을 검사하였다. 실험 결과 K670 (Chloroform 추출물) 및 K671군 (ethyl acetate 추출물)에서 DPPH 소거능이 vitamin C 1 mM에 준하는 현저한 능력이 있음을 볼 수 있었다 (Fig. 1). K668 (Me-OH 추출물) 및 K669 (Hexane 추출물)의 경우는 두 군보다 그 능력이 다소 작게 나타났으나 이 역시 DPPH 소거 기능이 강한 것을 확인하였다. 이에 반하여 K672 (DMSO 분획) 및 K673 (butanol 층)의 경우는 DPPH 소거능이 미약하게 인정이 되었다.

야생 참마 분획을 농도별로 처리한 후 xanthine oxidase활성을 측정하였다. 실험 결과 K 668, K671, K672, 및 K673군에서 xanthine oxidase 활성이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 이에 반해 K669 및 K670의 경우는 인정이 되지 않았다(Fig. 2).

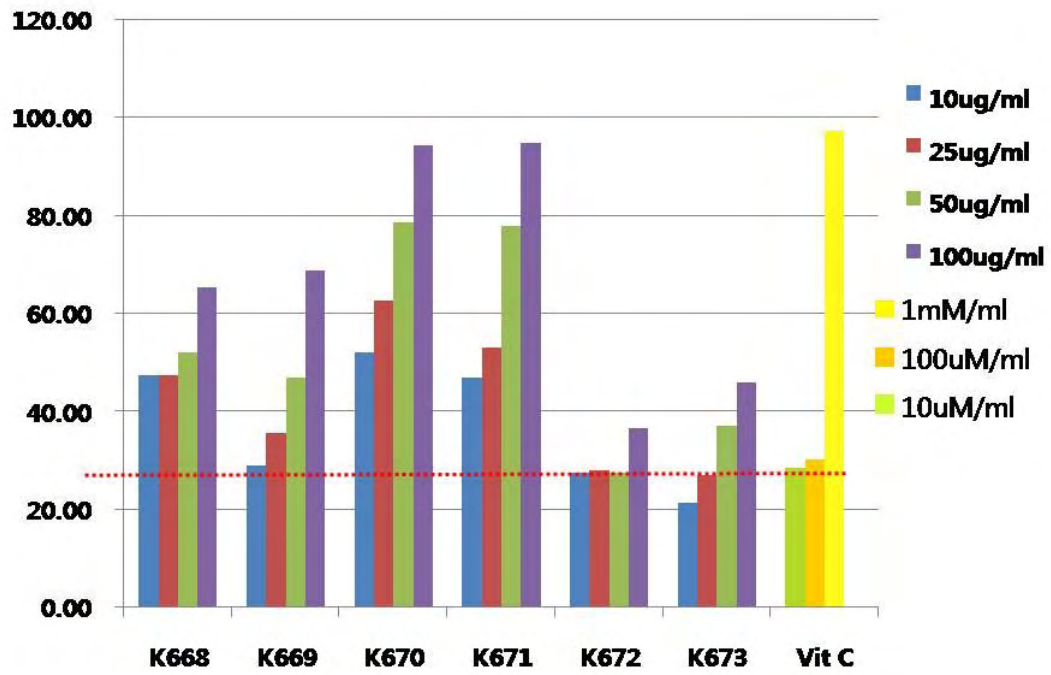


Fig 1. 야생 참마 분획의 DPPH 소거능 검사

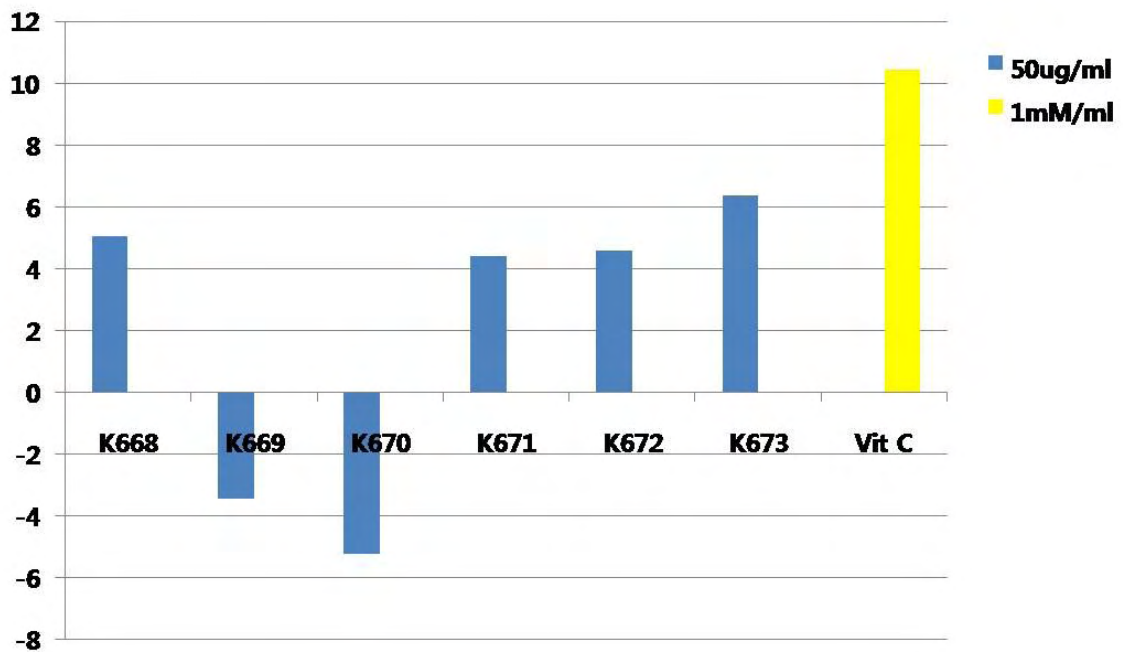


Fig. 2. 야생 참마 분획의 xanthine oxidase 활성

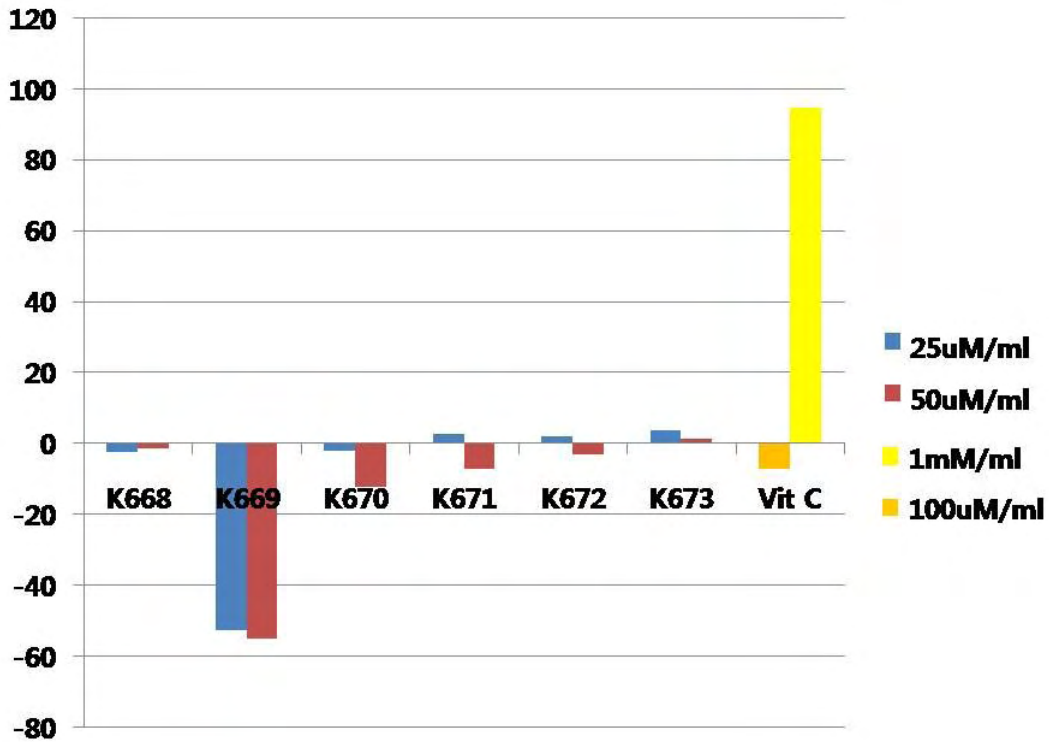


Fig. 3. 야생 참마 분획의 SOD 유사 활성

야생 참마 분획을 농도별 (25, 50 ug/ml)로 처리한 후 SOD 유사 활성능을 측정하였다. 실험 결과 전체 모든 균에서 vitamin C에서 보였던 비슷한 활성은 전혀 인정 되지 않았다(Fig. 3).

나. 야생 참마 분획의 항균효과 검정 (최소억제농도; Minimal Inhibition Concentration, MIC)

식물추출물의 병원미생물에 대한 항균효과를 알아보기 위하여 한국미생물보존센터(한국)로부터 표준균주(Table 1)를 구입하여 실험에 사용하였다. 각각의 균주는 최적배지를 이용하여 배양조건에 따라 24시간 동안 배양 후 사용하였고, 혐기성 균주의 경우는 CO₂ 배양기에서 배양하였다. 각각의 접종 균은 2×10^6 CFU/well이 되도록 조절하여 식물추출물 시료와 함께 18시간 동안 배양한 후, 육안 및 현미경으로 균의 성장을 관찰하였고, 흡수파장 540 nm에서 흡광도를 측정하여 순수 배양액의 흡광도 값과 같은 결과를 얻은 것을 최소억제농도로 결정하였다.

Table 1. 항균효과 검정에 사용한 표준균주

미생물명	KCCM No.	배양조건
<i>Escherichla coli</i>	11569	37℃, 호기성
<i>Bachillus subtills</i>	11881	30℃, 호기성
<i>Pityrosporum ovale</i>	11894	30℃, 호기성
<i>Streptococcus pyogenes</i>	12303	37℃, 호기성
<i>Streptococcus mutans</i>	40105	37℃, 혐기성
<i>Streptococcus oralis</i>	41567	37℃, 혐기성
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	35494	37℃, 호기성
<i>Propionibacterlum acnes</i>	41747	37℃, 혐기성

시험에 사용한 *Pityrosporum ovale*에 대한 항균효과는 모든 추출물에서 항균력이 확인되지 않았다. 그러나 *Escherichla coli*와 *Streptococcus mutans*균주에서는 모든 식물 추출물에서 확인되었다. 그 결과는 Table 2와 같다.

Table 2. 야생 참마 분획물의 항균활성

미생물명	식물추출물	MIC (ug/ml)					
		야생참마	K-668	K-669	K-670	K-671	K-672
<i>Escherichla coli</i>		85	68	54	68	54	68
<i>Bachillus subtills</i>		> 100	> 100	85	54	54	54
<i>Pityrosporum ovale</i>		> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
<i>Streptococcus pyogenes</i>		54	> 100	68	68	68	43.6
<i>Streptococcus mutans</i>		43.6	85	34.9	68	85	85
<i>Streptococcus oralis</i>		> 100	68	> 100	85	68	68
<i>Staphylococcus epidermidis</i>		> 100	68	43.6	> 100	> 100	85
<i>Propionibacterlum acnes</i>		> 100	> 100	85	85	85	> 100

다. 야생 참마 분획물의 피부미백 효과 검정

(1) Tyrosine의 hydroxylation 억제 활성 측정

멜라닌 생합성에 관여하는 mushroom tyrosinase를 이용하여 식물추출물의 멜라닌 합성 저해 활성을 측정하였다. 0.3% tyrosine 용액 50 μ l와 다양한 농도의 봉독 수용액 50 μ l를 96 micro well plate에 넣고 분광광도계를 이용하여 475 nm에서 흡광도를 측정한다. 이후 mushroom tyrosinase 50 μ l를 첨가하였다. 37℃에서 10분간 배양한 후, 475 nm에서 흡광도를 측정한다. 시료를 첨가하지 않은 무첨가 대조군과 활성을 비교하였으며, 아래 식에 따라 계산하였다.

$$(\text{Control OD}-\text{Blank OD})-(\text{Sample OD}-\text{Blank OD}) \times 100 (\text{Control OD}-\text{Blank OD})$$

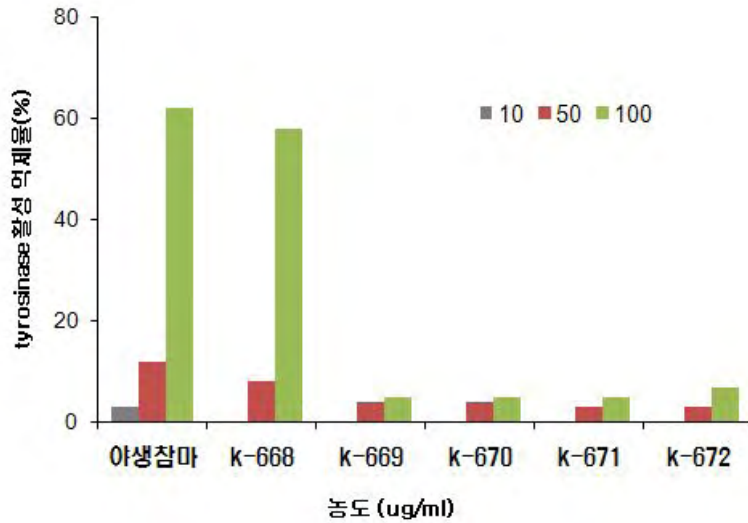


Fig. 4. 식물추출물의 tyrosinase 활성 억제 효과

시험에 사용한 식물 추출물 중 야생참마(butanol 층)와 K668에서 tyrosine의 hydroxylation 억제 효과가 확인되었으며, 그 결과는 Fig. 4와 같다.

(2) 멜라닌 생성 억제 활성 측정

식물추출물의 멜라닌 생성 억제 효과를 확인하기 위하여 B16F1세포를 이용하여 봉독 처리 후 멜라닌 함량을 측정하였다. B16F1세포는 10% FBS와 1% penicillin-streptomycin이 함유된 DMEM 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다. B16F10세포를 24 well plate에 5×10⁴ cell/well이 되도록 접종하여 배양한다. 24 시간 후부터, 각각 10 nM의 α-Melanocyte Stimulate Hormone (α-MSH)와 함께 다양한 농도의 식물추출물과 양성 대조군으로 phenylthiourea (PTH, 10 μg/ml)를 3 일 동안 처리한다. 배양한 세포에서 배지를 제거한 후 세포를 10 mM, pH 7.4인 PBS로 세척한 다음 세포를 회수하였다. 회수된 세포를 10 mM PBS로 다시 세척하고, 4°C, 8,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 얻어진 cell pellet에 10% DMSO가 포함된 1 N NaOH을 첨가한 후, 60°C에서 3시간 동안 배양하여 멜라닌을 용해시킨 후, 405 nm에서 475 nm에서 흡광도를 측정하였다.

시험에 사용한 식물 추출물 중 야생참마와 K668은 기미와 주근깨 등의 원인이 되는 멜라닌의 생성을 효과적으로 억제하는 것으로 확인되었으며, 그 결과는 Fig. 5와 같다.

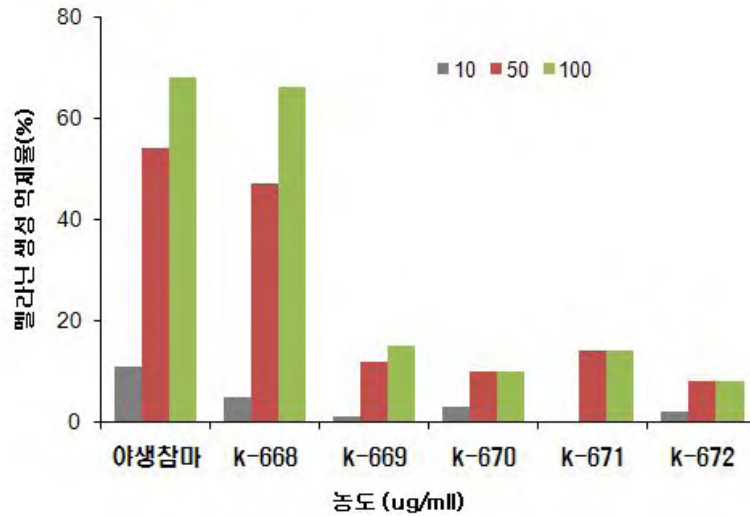


Fig. 5. 식물추출물의 멜라닌 생성 억제효과

라. 각질세포 배양 및 자외선 B 조사

각질형성세포주인 HaCaT 세포를 10% fetal bovine serum (FBS)과 penicillin/streptomycin (100 units/ml) 을 첨가한 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Gibco, USA) 배지를 사용하여 5% CO₂, 37°C 세포배양기에서 배양하면서 실험에 사용하였다. 세포는 실험을 위해 고안된 몇 가지 그룹으로 분리하여 준비한다. 세포가 80~90% 자랐을 때, 배지를 제거한 후 phosphate buffered saline (PBS)를 이용하여 2번 세척한다. PBS가 들어있는 상태에서 UV B lamp를 이용하여 UV B (290~320 nm)는 50 mJ/cm² 강도로 조사하였다. 그리고 PBS를 이용하여 2번 세척 후 DMEM 배지에서 24h 배양하였다. 시료는 UV B의 조사 전후로 2회에 걸쳐 처리하였다.

(1) 야생 참마 분획의 피부세포의 자외선 차단 효과

피부 세포에 자외선을 다양한 양을 조사하여 실험 조건을 잡았다. 실험 결과 UV-B의 경우 40 mJ/cm² 이상 처리 시 피부 세포 사멸을 관찰할 수 있었으며 이러한 반응은 60 mJ/cm²에서 급격히 증가하는 것으로 관찰되었다. 따라서 본 실험에서는 sublethal dosage인 50 mJ/cm²양을 선정하였다 (Fig. 6).

피부 세포에 자외선 50 mJ/cm² 조사 후 야생 참마 용매 분획을 처리하였다. 실험 결과 K669군에서 차단효과가 유의성 있게 인정이 되었으나 그 외 다른 분획에서는 유의성 있는 차단효과는 인정되지 않았다 (Fig. 7). 다음으로는 미리 야생 참마 용매 분획을 먼저 처리하고 UV-B를 조사한 후 다시 야생 참마 용매 분획을 처리하였다. 실험 결과 모든 용매 분획군에서 UV-B에 의한 피부세포 사멸효과를 차단하는 것으로 나타났다 (그림 8).

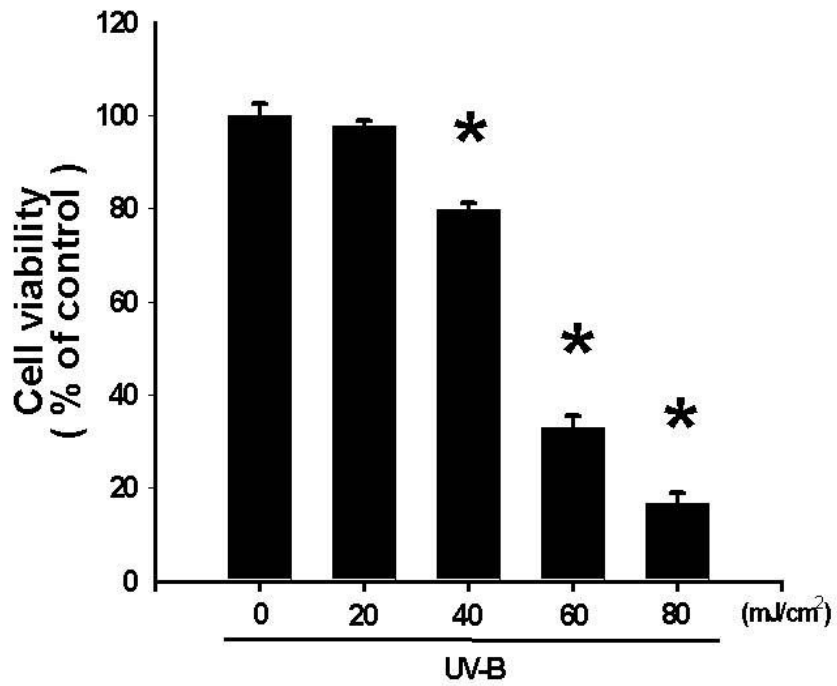


Fig. 6. UV-B의 용량에 따른 피부 세포 사멸 효과.
* $p < 0.05$ vs. control.

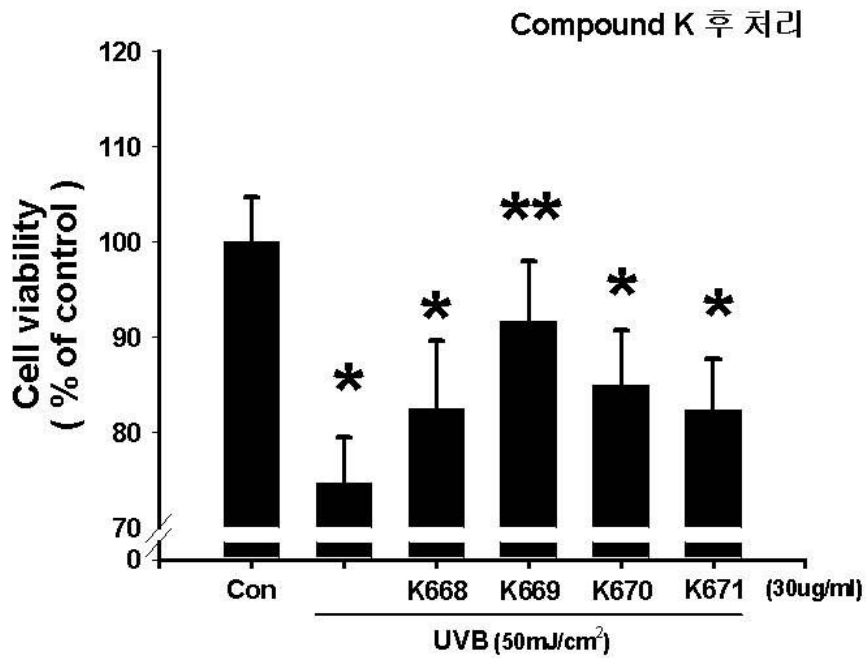


Fig. 7. UV-B에 조사된 피부세포 사멸에 대한 야생 참마 용매 분획의 후처리. * $p < 0.05$ vs. control, ** $p < 0.05$ vs. UV alone.

Compound K 선, 후 처리

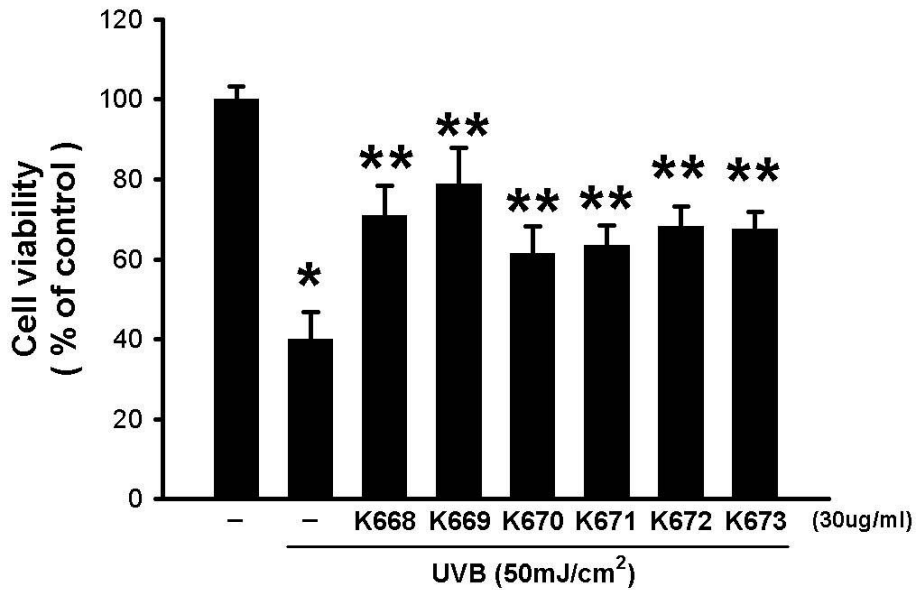


Fig. 8. UV-B에 조사된 피부세포 사멸에 대한 야생 참마 용매 분획의 선, 후처리. *p < 0.05 vs. control, **p < 0.05. vs. UV alone.

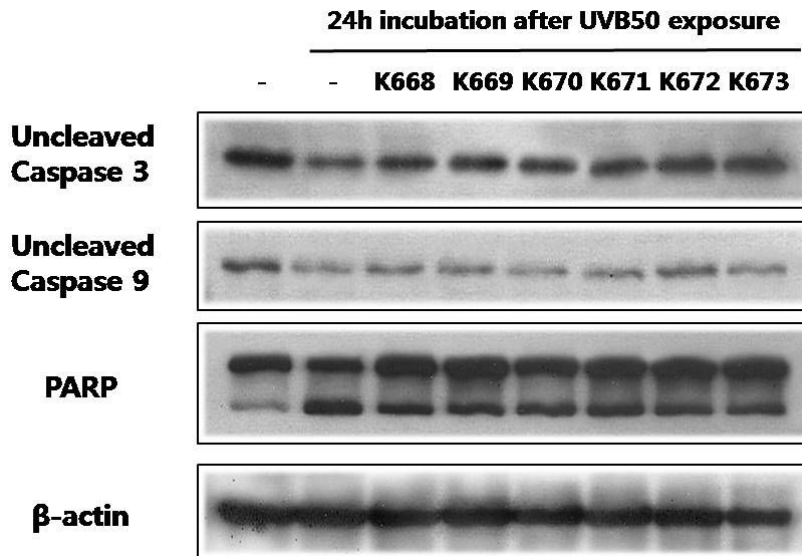


Fig. 9. 피부세포에서 UV에 의한 caspase-3 및 -9 발현에 대한 야생 참마 분획의 차단효과

이러한 야생 참마의 UV에 의한 피부 세포 보호효과가 어떠한 신호전달 물질과 관련되는지를 알아보았다. 세포 사멸이 증가하는 경우에는 세포사멸을 일으키는 것으로 알려져 있는 caspase-3 및 caspase-9의 단백질 발현이 증가하고 uncleaved form인 uncleaved caspase-3 및 caspase-9의 발현이 감소한다. 본 실험에서도 UV

조사시 uncleaved caspase-3 및 caspase-9의 발현이 감소하였으며 이러한 작용은 야생 참마 처리시 현저하게 억제 되는 것을 관찰하였다(Fig. 9). 또 다른 세포 사멸사의 특징인 핵안의 PARP 단백질이 caspase-3에 의해 절단되는데 본 실험에서 UV 조사 시 PARP 단백질의 분절이 유도되었으며 이러한 작용은 야생 참마 추출물 분획에서 부분적으로 차단되는 것으로 나타났다.

UV 조사 시 세포 사멸 촉진 단백질인 Bax의 발현은 증가하였으며, 세포 사멸 억제 단백질인 Bcl-2의 발현은 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 10). 이러한 작용은 야생 참마 처리시 현저하게 억제 되는 것을 관찰하였다(Fig. 10).

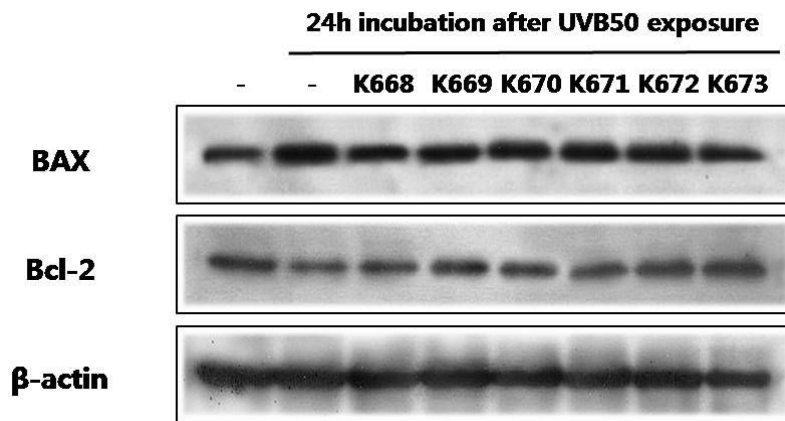


Fig. 10. 피부세포에서 UV에 의한 Bax 및 Bcl-2 발현 효과에 대한 야생 참마 추출물의 차단효과

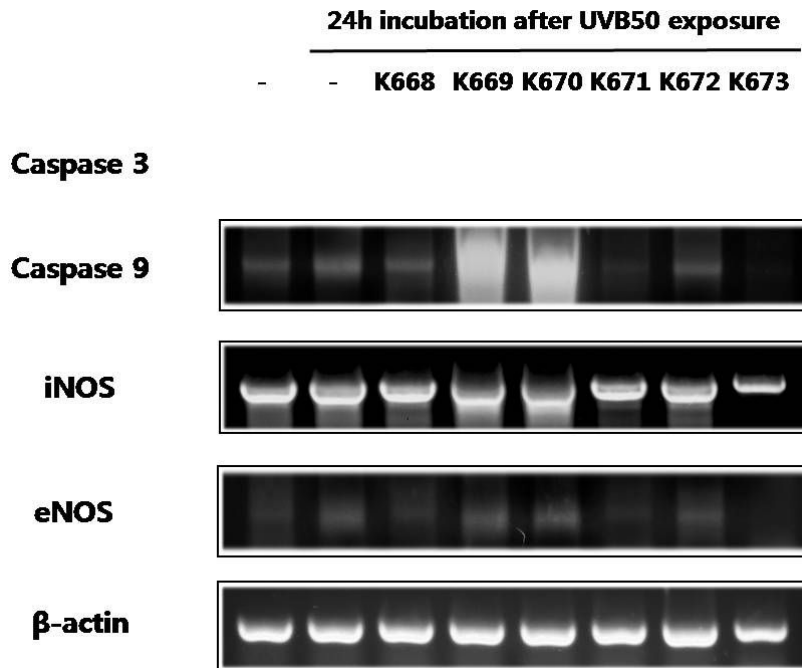


Fig. 11. 피부세포에서 UV에 의한 caspase-3, -9, iNOS 및 eNOS의 역할

UV 조사 시 세포 사멸 유전자 및 NO 관련 유전자와 관련성을 살펴보았다. 실험 결과 UV 조사 시 caspase-3 유전자는 검출이 되지 않았으며, caspase-9의 경우는 증가하는 것으로 나타났다. 아울러 NO 관련 유전자인 iNOS 및 eNOS의 경우 iNOS는 변화가 인정이 되지 않았으나 eNOS 유전자의 경우는 증가하는 것으로 나타났다 (Fig. 11). 야생 참마 추출물 처리시 증가되었던 caspase-3 및 eNOS 유전자는 부분적으로 차단되는 것으로 나타났다.

마. Nitric oxide (NO) 생성량 측정

NO 소거활성은 HaCaT 세포를 지시세포로 이용하여 Murakami 등의 방법에 의해 측정하였다(Murakami *et al.*, 1996). NO 소거활성을 측정하기 위하여 HaCaT 세포를 96 well plate에 well당 1×10^5 cells 을 분주한 다음 시료를 적정 농도가 되도록 세포배양 well에 첨가하여 37°C, 48시간 동안 5% CO₂의 공기조건에서 배양하였다. 배양 후, 상층액 100 uL를 회수하고, 여기에 동량의 Griess solution을 첨가하여 15분간 방치한 다음 상층액의 발색도를 microplate reader를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

이러한 야생 참마의 피부 보호효과가 nitric oxide와 관련되는 지를 확인하였다. UV 조사시 NO 생성은 증가하는 것으로 나타났다(Fig. 12). 그러나 야생 참마 추출물 처리 시 UV에 의한 NO 증가는 차단되지 않는 것으로 나타났다(Fig. 13).

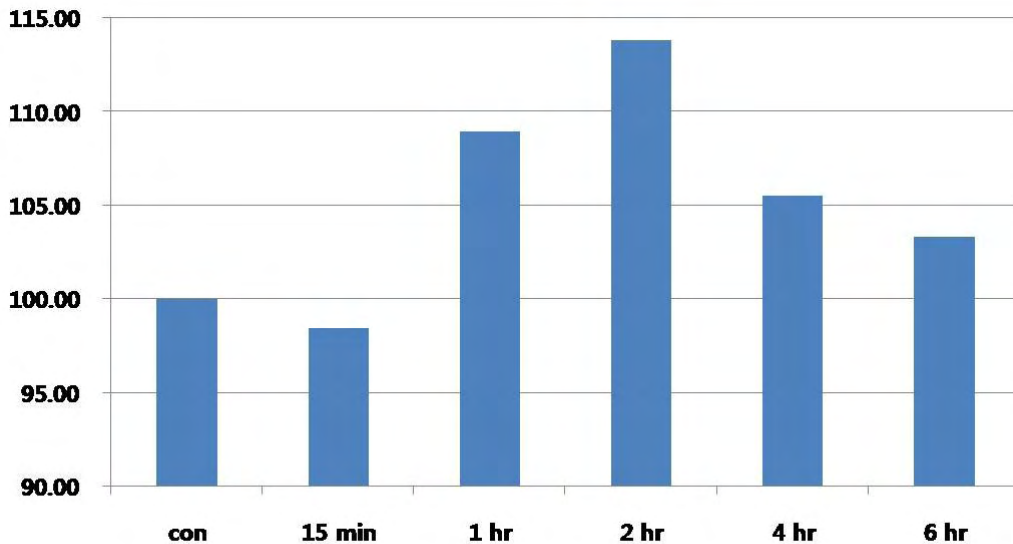


Fig. 12. 피부세포에서 UV에 의한 nitric oxide 분비

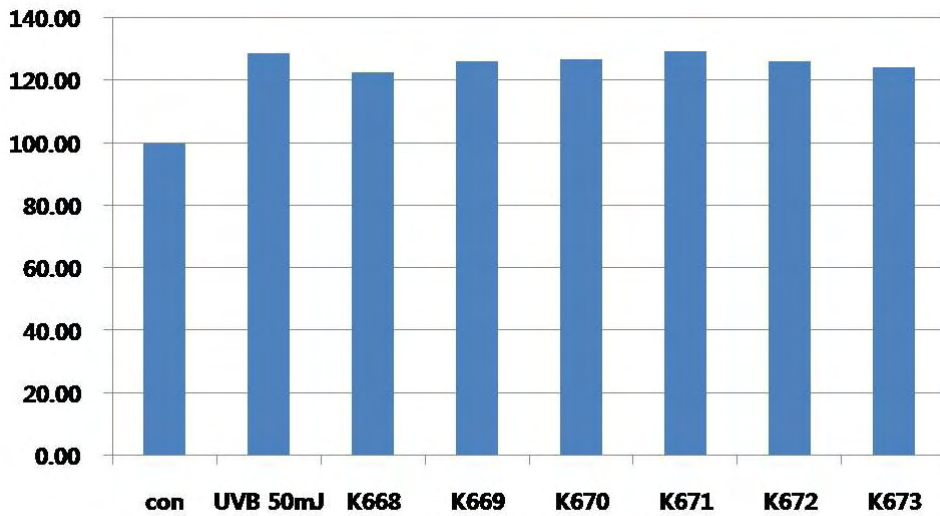


Fig. 13. 피부세포에서 UV에 의한 nitric oxide 분비작용에 대한 야생 참마 분획의 차단효과

마. MTT assay에 의한 세포독성 검정

Mitochondrial dehydrogenase activity의 index를 나타내는 MTT colorimetric reduction assay를 수행하여 추출물이 세포 생존율에 미치는 영향을 측정하였다 (Weichert *et al.*, 1991). HaCaT 세포를 96 well plate에 well당 1×10^5 cells을 분주하였다. 세포가 80~90% 자랐을 때, 배지를 제거한 후 phosphate buffered saline (PBS)를 이용하여 2번 세척한다. PBS가 들어있는 상태에서 UV B lamp를 이용하여 UV B (290~320 nm)는 50 mJ/cm^2 강도로 조사하였다. 그리고 PBS를 이용하여 2번 세척 후 DMEM 배지에서 24시간 동안 배양하였다. 시료는 UVB의 조사 전후로 2회에 걸쳐 처리하였다. 배양이 끝나면 배양액의 5mg/mL의 MTT (sigma chemicals, st. Louis, MO, USA) 용액 10 μ L 을 첨가하고 37 $^{\circ}$ C에서 3시간 처리한 다음 DMSO 100 μ L를 첨가한 상태에서 세포내에 들어간 색소를 충분히 용출시킨 후 microplate reader를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

야생 참마 분획을 처리하였을 때, 자체가 피부세포에 미치는 영향을 살펴보았다. 실험결과 야생 참마 분획 자체는 피부세포에 가장 강한 농도(100 ug/ml)에서 약간의 세포 사멸이 인정이 되었으나 대체적으로는 대조군과 차이는 인정이 되지 않았다(Fig. 14-18).

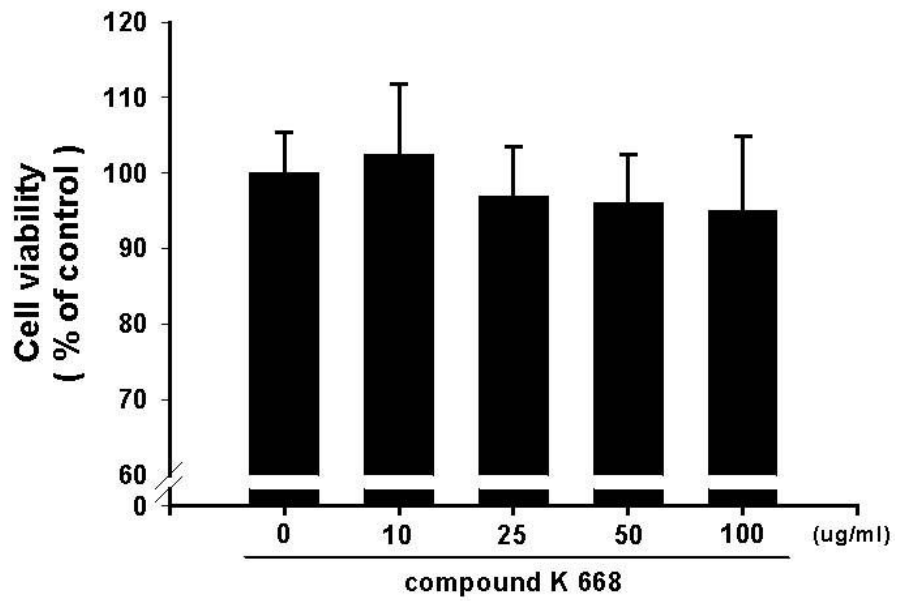


Fig. 14. Compound K668 (Me-OH) 추출물의 피부 세포 독성

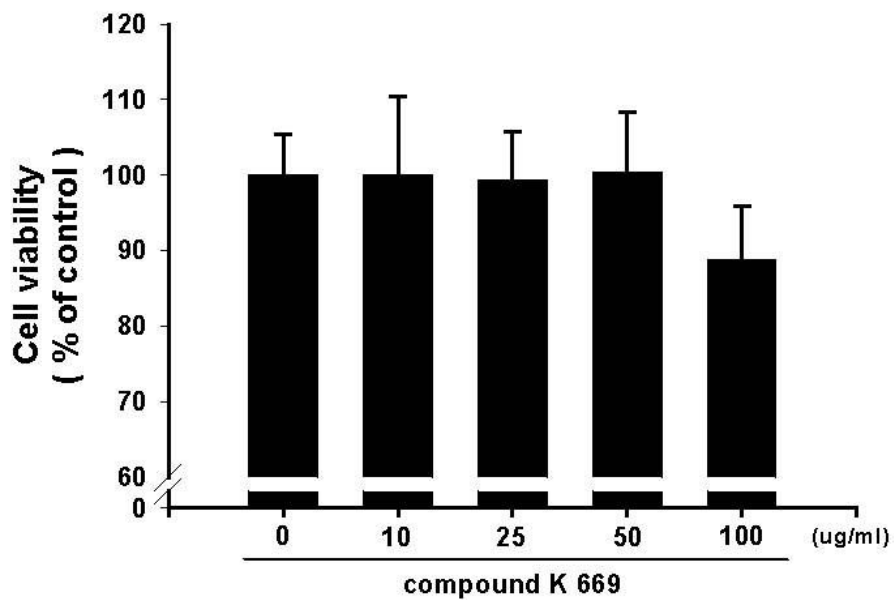


Fig. 15. Compound K669 (Hexane) 추출물의 피부 세포 독성

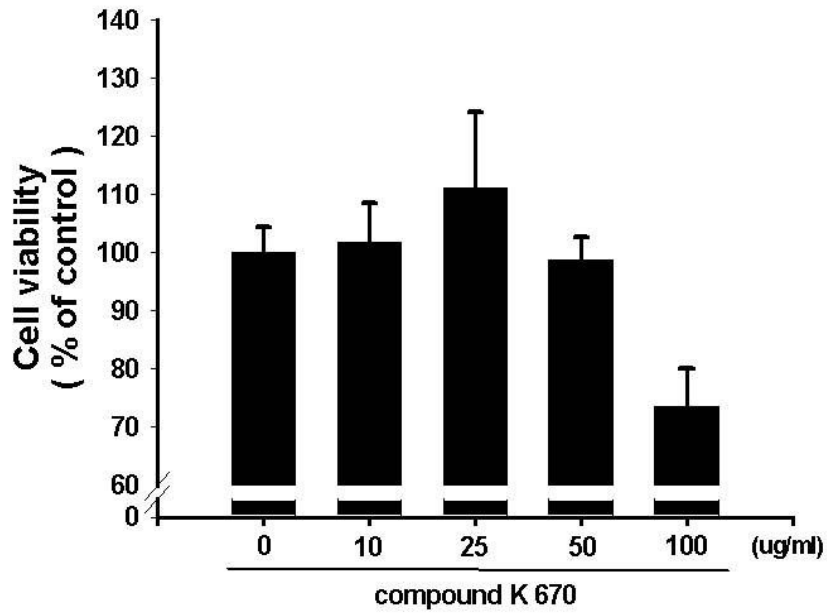


Fig. 16. Compound K668 (Chloro- form) 추출물의 피부 세포 독성

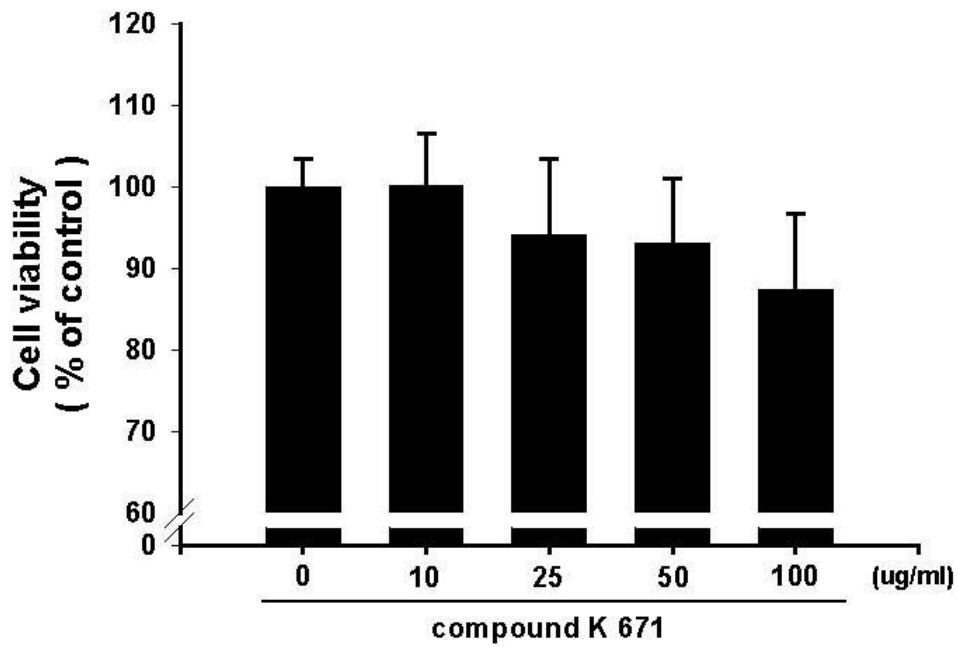


Fig. 17. Compound K668 (ethyl- acetate) 추출물의 피부 세포 독성

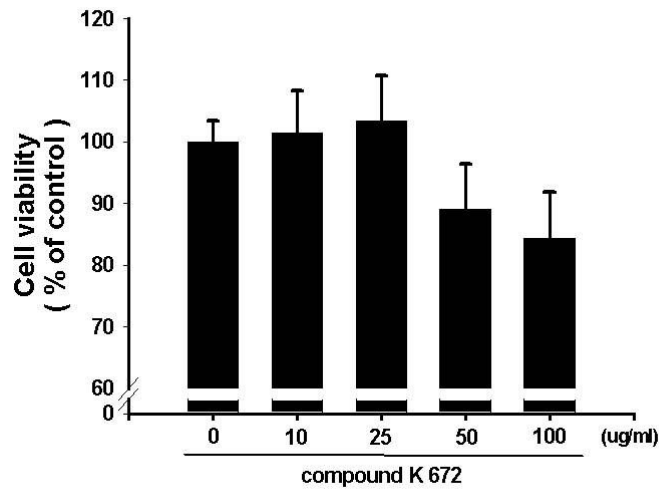


Fig. 18. Compound K668 (DMSO) 추출물의 피부 세포 독성

사. RNA 분리 및 RT-PCR

RNA는 UV B 조사한 후 24시간 뒤에 TRIzol 시약을 사용하여 분리하였다. 배양된 세포에 1 mL의 TRIzol 시약을 넣고 세포를 용해시켜 상온에 5분간 방치한 후, 여기에 0.2 mL의 chloroform을 추가하고 잘 혼합한 후 4°C, 13,000 rpm으로 10분간 원심분리한 후 상층액을 새로운 tube에 옮기고, 동량의 isopropanol을 첨가하여 시료들을 4°C에서 10분간 반응시킨 후 4°C, 12,000 rpm으로 15분간 원심분리하여 RNA를 침전시킨다. 상층액을 제거하고 RNA pellet을 75% ethanol 1 mL로 두 번 세척한다. RNA pellet을 진공 속에서 말린 후 DEPC를 처리한 물에 용해시킨다. 260 nm에서 흡광도를 측정하여 RNA를 정량하고, RT premix™ (Bioneer) 제품을 이용하여 1 ug의 RNA를 이용하여 cDNA를 합성하고, PCR premix™ (Bioneer) 제품을 이용하여 1ul의 cDNA와 특정 primer (Table 3)를 혼합하여 증폭시킨 후 2% agarose gel상에서 발현량을 알아보았다.

Table 3.

Caspase 3	Sense	TGT ATA ATA ATT AAT AAT AAG AA
	Antisense	GAA GTC GGC CTC CAC TGG TAT
Caspase 9	Sense	CCC TGT GGC CAC TGC CTC AT
	Antisense	AGC TTG GGC TTC CCT CCC AGG CTG
eNOS	Sense	TAC TAC TCC ATC AGC TCC TC
	Antisense	TCT GGG TGC GGA TGC GGC
iNOS	Sense	ATC ATG GAC CAC CAC ACA GC
	Antisense	GGT GTT GAA GGc GTA GCT GA
Beta-actin	Sense	AAC CGC GAG AAG ATG ACC CAG ATC ATG TTT
	Antisense	AGC AGC CGT GGC CAT CTC TTG CTC GAA GTC

아. 단백질 분리 및 확인

단백질은 UV B 조사한 후 24시간 뒤에 protein lysis buffer를 이용하여 분리하였다. 세포로부터 분리된 단백질 시료는 Bradford 시약을 이용하여 595 nm에서 정량을 실시하여, 40 ug의 단백질에 5분간 열을 가하여, sodium dodecyl sulphate (SDS)-polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)를 이용하여 분석하였다. SDS-PAGE는 8% acrylamide gel에서 실시하여 polyvinylidene difluoride membranes로 transfer 하였다. 면역검출은 horseradish peroxidase (HRP) 방법을 이용하였으며, membrane은 5% nonfat dried milk를 이용하여 1시간 동안 block 시킨다. 연속해서 TBST에 1차 항체 (1;1000, Bcl-2, Caspase 3, Caspase 9, PARP)로 4°C, 16시간 반응시킨 후 HRP-conjugated 2차 항체로 실온에서 1시간 반응시킨다. 그리고 enhanced chemiluminescence kit (ECL, Amersham Life Science, Inc.)를 이용하여 현상하였다.

2. 천연색소의 피부보호 효과 규명

(1) 각질세포 배양 및 자외선 B 조사

각질형성세포주인 HaCaT 세포를 10% fetal bovine serum (FBS)과 penicillin/streptomycin (100 units/ml) 을 첨가한 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Gibco, USA) 배지를 사용하여 5% CO₂, 37°C 세포배양기에서 배양하면서 실험에 사용하였다. 세포는 실험을 위해 고안된 몇 가지 그룹으로 분리하여 준비한다. 세포가 80~90% 자랐을 때, 배지를 제거한 후 phosphate buffered saline (PBS)를 이용하여 2번 세척한다. PBS가 들어있는 상태에서 UV B lamp를 이용하여 UV B (290~320 nm)는 50 mJ/cm² 강도로 조사하였다. 그리고 PBS를 이용하여 2번 세척 후 DMEM 배지에서 24h 배양하였다. 시료는 UV B의 조사 전후로 2회에 걸쳐 처리하였다.

(2) 천연색소의 피부세포의 자외선 차단 효과

천연 색소 자체가 피부세포에 미치는 효과에 대해 알아보았다. 예비실험 결과 천연 색소 적정 농도를 설정하였다. 뽕잎, 여주열매 및 치자의 경우는 50 ug/ml을 자색 고구마, 지황 및 흑미의 경우는 500 ug/ml을 설정하였다. 실험 결과 천연색소 (뽕잎, 여주열매, 자색 고구마, 지황, 치자 및 흑미) 자체는 피부 세포의 세포사멸에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다 (Fig. 19).

피부 세포에 자외선 50 mJ/cm² 조사 후 천연 색소 (뽕잎, 여주열매, 자색 고구마, 지황, 치자 및 흑미) 용매 분획을 적정 농도에 맞춰 처리하였다. 실험 결과 K669군에서 차단효과가 유의성 있게 인정이 되었으나 그 외 다른 분획에서는 유의성 있는 차단효과는 인정되지 않았다 (Fig. 20).

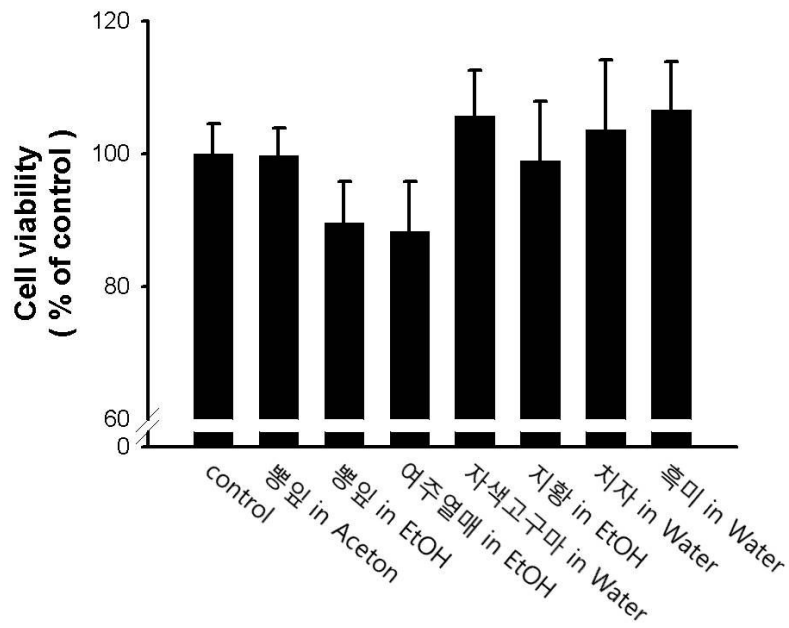


Fig. 19. 천연색소 자체가 피부세포의 세포 사멸에 미치는 영향

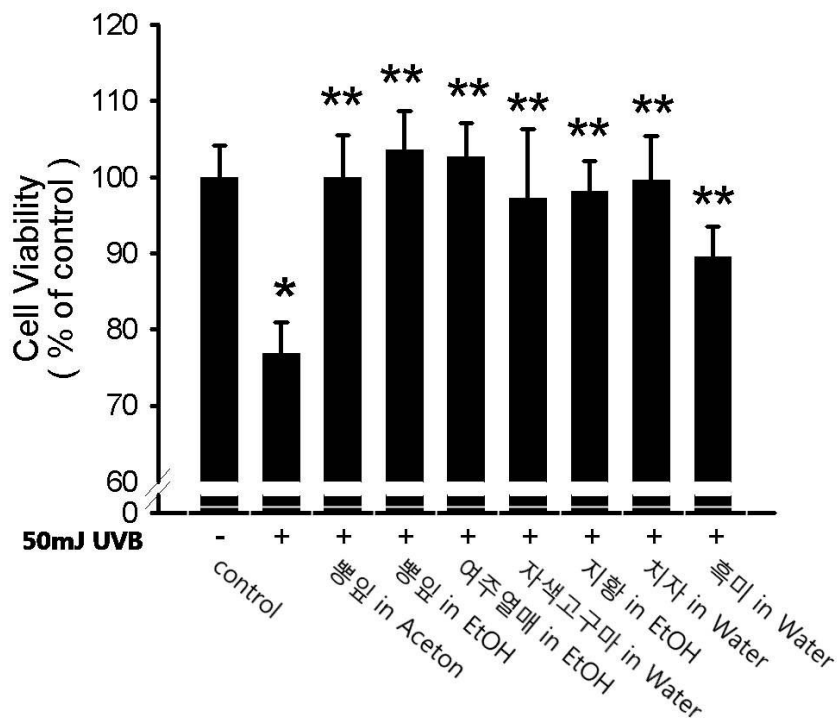


Fig. 20. UV-B에 조사된 피부세포 사멸에 대한 천연 색소 추출물의 선, 후처리. * $p < 0.05$ vs. control, ** $p < 0.05$. vs. UV alone

UV 조사 시 세포 사멸 촉진단백질인 Bax의 발현은 증가하였으며, 세포 사멸 억제 단백질인 Bcl-2의 발현은 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 21). 이러한 작용은 천연 색소 추출물 처리시 현저하게 억제 되는 것을 관찰하였다(Fig. 21).

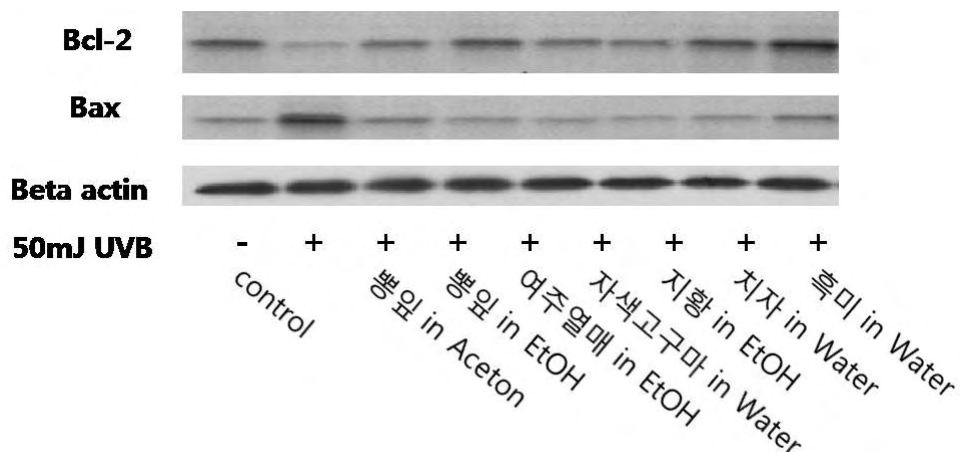


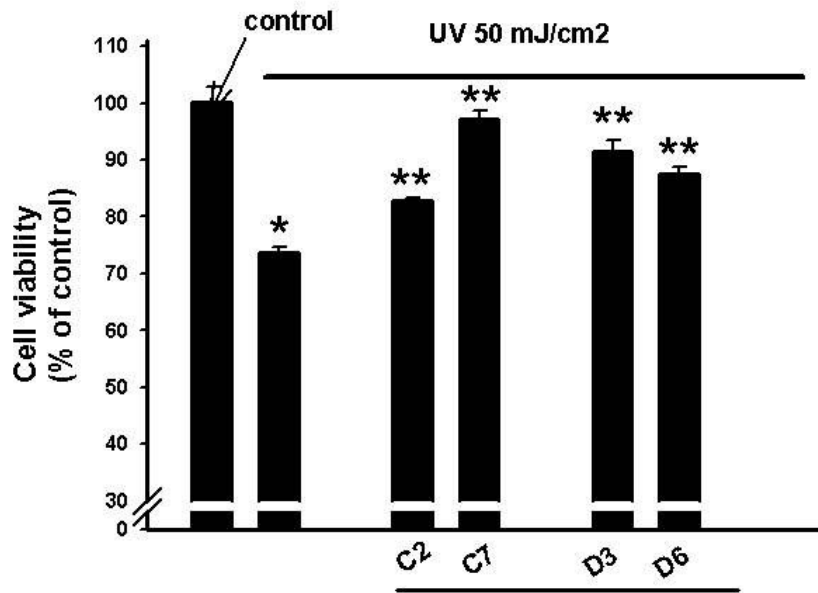
Fig. 21. 피부세포에서 UV에 의한 Bax 및 Bcl-2 발현 효과에 대한 천연 색소 추출물의 차단효과

3. 효과 야생 참마 분획의 세분화에 따른 항산화 기능 분석 및 in vitro 피부 보호 효과 규명

가. 야생 참마 추출물의 항산화 및 피부 보호 효과 규명

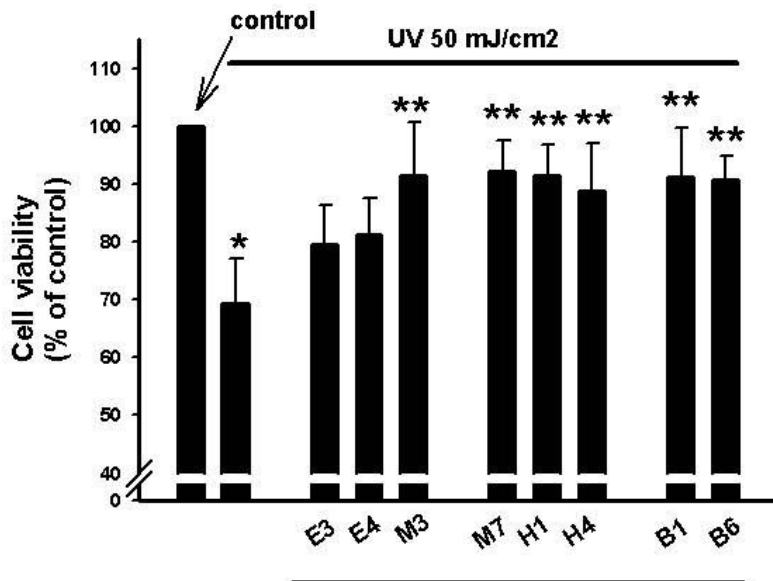
(1) 야생 참마 분획의 피부세포의 자외선 차단 효과

○ 야생 참마 용매 분획을 통하여 HaCaT 피부세포에 대한 자외선 차단효과를 조사하였다. 실험 결과 UV에 의한 피부 각화형성 세포는 세포 사멸 효과를 보였다. 이러한 효과는 야생 참마의 chloroform 분획 C2 및 C7에 의해서 유의성 있게 차단되었다(Fig. 22). Et-Oh 분획 (E3, E4), Me-OH 분획 (M3, M7), Hexane 분획 (H1, H4) 및 Butanol (B1, B6) 분획물에 의해서 차단되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 23).



참마분획 (DMSO, 15 μ g, 1000x), 1 hr pretreat, UV post treat

Fig. 22. 참마 용매분획에 대한 피부 HaCaT세포에서 세포 사멸 차단효과



참마 fraction extracts (1000x), 1 hr pretreat, UV posttreat

Fig. 23. 참마 용매분획에 대한 피부 HaCaT 세포에서 세포 사멸 차단효과

○ 이중 특히 Bt-OH 층에 대한 부분을 %별로 추출하여 실험을 실시하였다. 참마 분획의 Bt-OH% 자체에 대한 HaCaT 피부세포에 대한 자체 효과를 살펴보았다. 실험결과

자체 부분은 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 경우 세포 사멸에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다(Fig. 24). 분획별로 측정된 결과 20%, 40% 및 80%의 경우 자외선에 의한 세포 사멸효과를 차단하는 것으로 나타났다. 이에 반해 60% 및 100%는 자외선에 의한 피부 세포 사멸을 차단하지 않는 것으로 나타났다(Fig. 25).

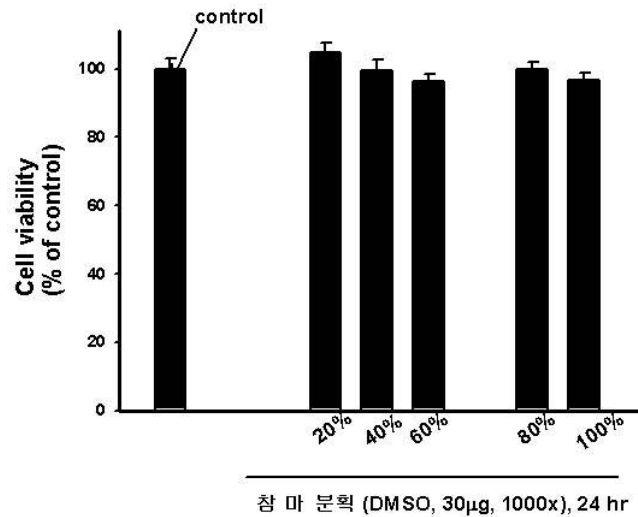


Fig. 24. 참마 Butanol 층에 대한 Bt-OH 농도추출에 따른 세포 사멸 효과

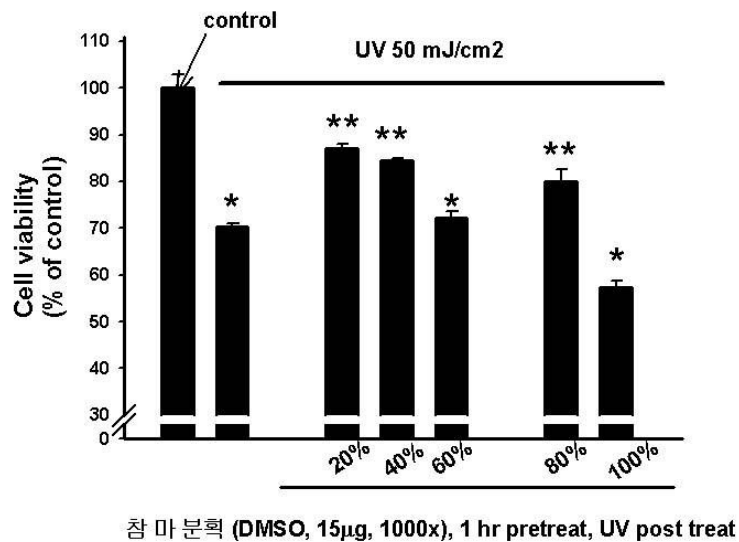
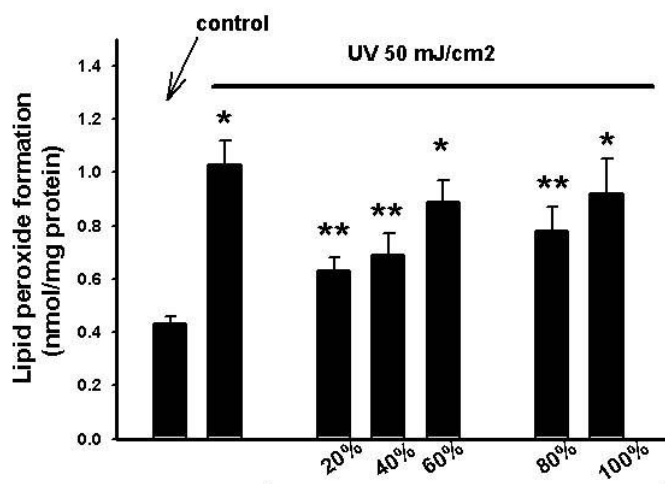


Fig. 25. 참마 Butanol 층에 대한 Bt-OH 농도추출에 따른 UV에 의한 세포 사멸 차단효과

○ 피부 각화형성 세포에서 자외선에 의한 산화성 스트레스 유발이 이들 Bt-OH 층의 농도 분획에 대해서 차단효과가 있는지를 알아보았다. 분획별로 측정된 결과 20%, 40% 및 80%의 경우 자외선에 의한 산화성 스트레스 증가 작용을 차단하는

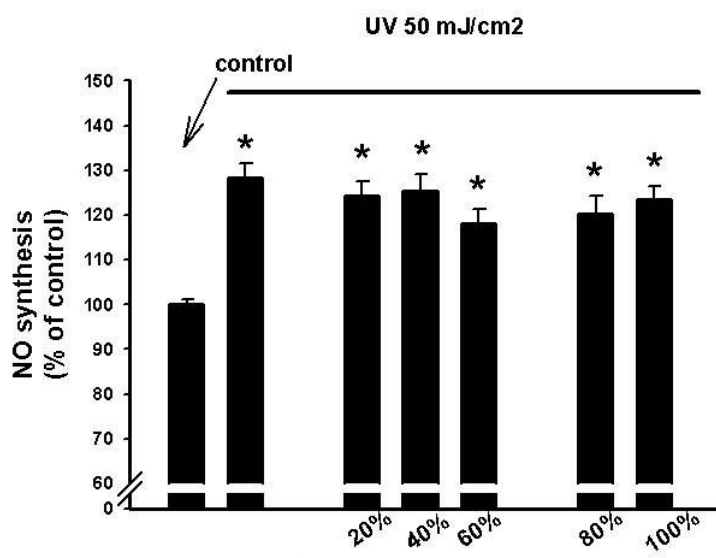
것으로 나타났다. 이에 반해 60% 및 100%는 자외선에 의한 피부 세포 산화성 스트레스 증가 작용을 차단하지 않는 것으로 나타났다(Fig. 26). 이러한 결과는 피부세포 사멸 효과와 비슷한 양상을 보여줬다.



참 마분획 (DMSO, 15 μ g, 1000x), 1 hr pretreat, UV post treat

Fig. 26. 참마 Butanol 층에 대한 Bt-OH 농도추출에 따른 UV에 의한 산화성 스트레스 증가 차단효과

○ 피부 각화형성 세포에서 자외선에 의한 NO 생성에 대한 차단효과를 알아보았다. UV 조사시 NO 형성은 증가하였으나 분획별로 측정된 결과 20%, 40%, 60%, 80% 및 100% Bt-OH 참마 분획에 의한 차단작용은 인정되지 않았다(Fig. 27).



참 마분획 (DMSO, 15 μ g, 1000x), 1 hr pretreat, UV post treat

Fig. 27. 참마 Butanol 층에 대한 Bt-OH 농도추출에 따른 UV에 의한 NO 생성 차단효과

(2) 야생 참마 분획의 항산화 활성 분석

○ 먼저 야생 참마 Bt-OH 농도 별 추출한 추출액을 처리하여 항산화 활성을 분석한 결과 50 ug/ml 처리 시 DPPH radical 소거능의 경우는 1 mM의 vitamin C에 의한 능력에는 미치지 않았지만 약간의 효과가 인정되는 것으로 나타났다(Fig. 28).

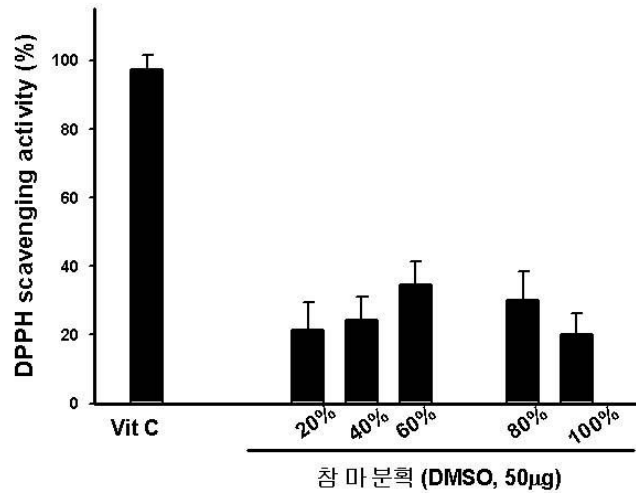


Fig. 28. 참마 Butanol 층에 대한 Bt-OH 농도 추출에 따른 DPPH 활성 소거능 분석

○ 야생 참마 Bt-OH 농도 별 추출한 추출액을 처리하여 항산화 활성을 분석한 결과 50 ug/ml 처리 시 xanthine oxidase 활성의 경우 1 mM의 vitamin C에 의한 능력에는 미치지 않았지만 약간의 효과가 인정되는 것으로 나타났다(Fig. 29).

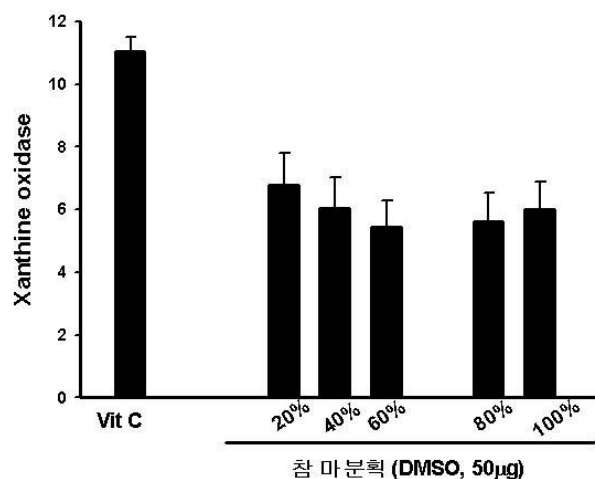
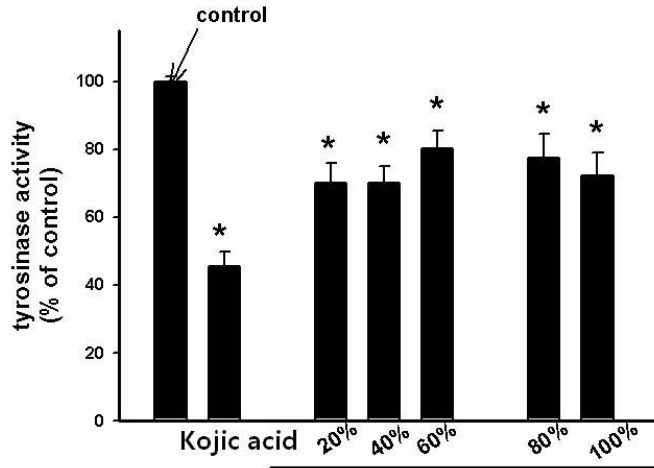


Fig. 29. 참마 Butanol 층에 대한 Bt-OH 농도 추출에 따른 xanthine oxidase 활성 분석

(3) 야생 참마 Bt-OH 분획의 미백 효과

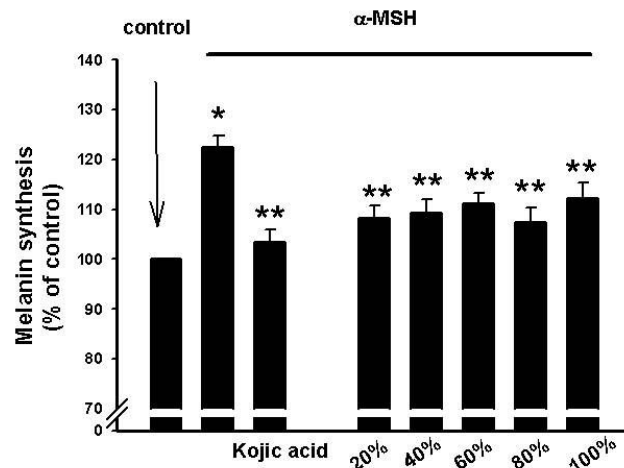
○ 시험에 사용한 식물 추출물 중 야생 참마(butanol 층)의 농도별을 측정한 결과 Kojic acid에는 못하지만 이들 추출물이 tyrosinase 활성 억제 효과가 인정되는 것으로 나타났다(Fig. 30).



참마분획 (DMSO, 50 μ g, 1000x), 1 hr pretreat, UV post treat

Fig. 30. 참마 Butanol 층에 대한 Bt-OH 농도추출에 따른 tyrosinase 활성 억제 분석

○ 시험에 사용한 식물 추출물 중 야생 참마(butanol 층)의 농도별을 측정한 결과 α -MSH에 의한 melanin 합성을 차단하는지를 확인하였다. 실험 결과 Kojic acid에는 못하지만 이들 추출물이 tyrosinase 활성 억제 효과가 인정되는 것으로 나타났음 (Fig. 31).



참마분획 (DMSO, 30 μ g, 1000x), 24 hr

Fig. 31. 참마 Butanol 층에 대한 Bt-OH 농도추출에 따른 tyrosinase 활성 억제 분석

나. 천연 색소 추출물의 항산화 및 피부 보호 효과 규명

(1) 천연 색소의 피부세포의 자외선 차단 효과

○ 1차년도 에서는 천연 색소 자체 Et-OH, Aceton, H₂O 용매 추출물의 피부세포 차단 효과를 알아보았다. 이에 2차년도 에서는 실제로 실생활에서 쓰일 수 있는 물 추출물에서의 전체 천연 색소에 대한 효능 부분을 비교 분석하였다. 실험결과 뽕잎, 백련초, 여주열매, 자색고구마, 지황, 치자 및 흑미 추출물을 처리하였을 때 자체는 세포 사멸에 유의성 있는 차이는 인정이 되지 않았다(Fig. 32).

○ 1차년도 에서는 천연 색소 자체 Et-OH, Aceton, H₂O 용매 추출물의 피부세포 차단 효과를 알아보았다. 이에 2차년도 에서는 실제로 실생활에서 쓰일 수 있는 물 추출물에서의 전체 천연 색소에 대한 효능 부분을 비교 분석하였다. 실험결과 뽕잎, 백련초, 여주열매, 자색고구마, 지황, 치자 및 흑미 추출물을 처리하였을 때 자외선에 의한 산화성 스트레스 증가작용은 현저하게 억제되었다(Fig. 33).

○ 천연 색소 자체가 자외선에 의한 피부세포 손상 작용에 cPLA2 및 COX-2의 발현과 관련되는 지를 확인하였다. 실험결과 자외선 조사시 cPLA2 발현 및 COX-2 발현이 증가하였으며 이러한 작용은 뽕잎, 백련초, 여주열매, 자색고구마, 지황, 치자 및 흑미 추출물을 처리하였을 때 현저하게 억제되었다(Fig. 34).

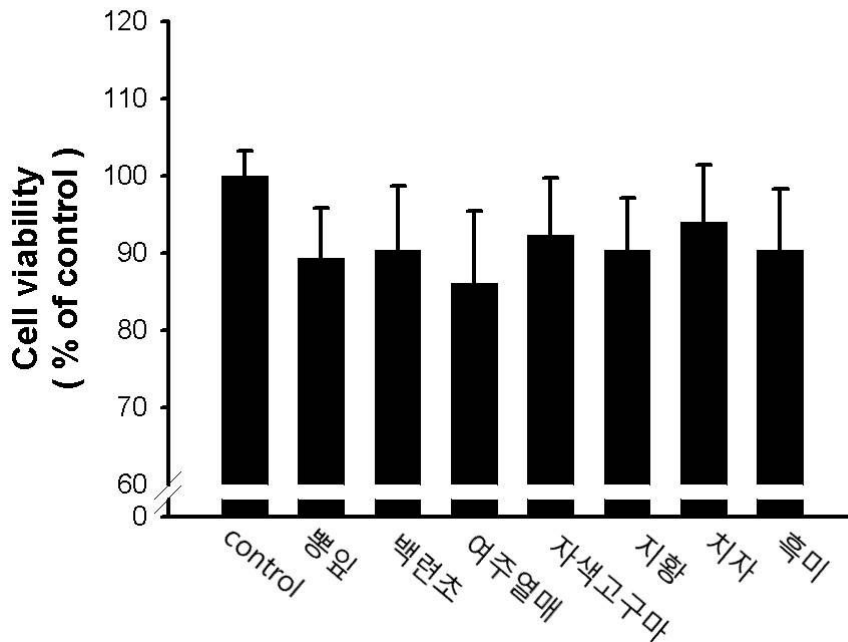


Fig. 32. 피부세포에서 천연 색소 자체에 대한 세포 사멸 효과

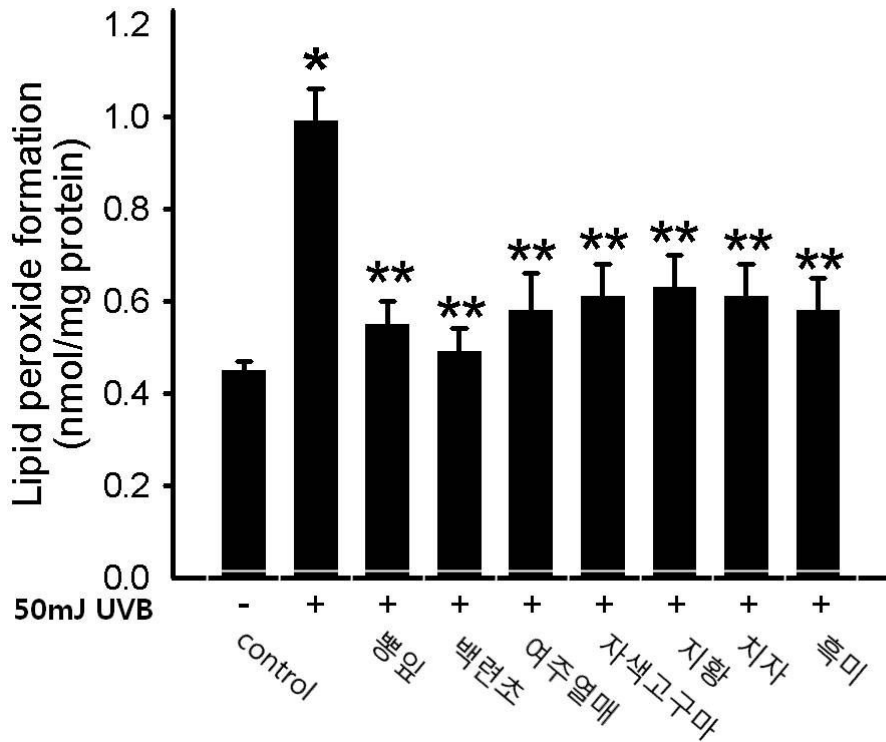


Fig. 33. 천연 색소 물 용매 추출물에 의한 UV에 의한 산화성 스트레스 증가 차단효과

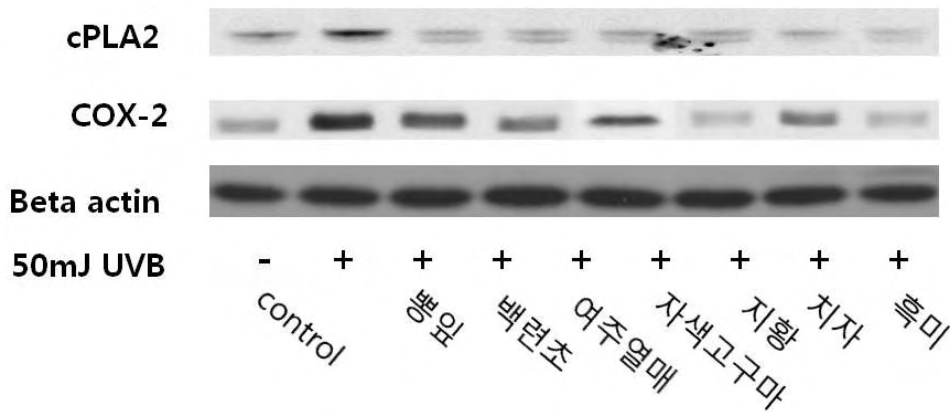


Fig. 34. 천연 색소 물 용매 추출물에 의한 UV에 의한 cPLA2 및 COX-2 발현 변화 차단작용

○ 천연 색소 자체가 자외선에 의한 피부세포 손상 작용에 세포 사멸 관련 단백질인 Bax 및 Bcl-2 발현 변화와 관련성을 알아보았다. 실험결과 자외선 조사 시 세포 사멸 촉진 단백질인 Bax 발현은 증가하였으나 세포 사멸 억제 단백질인 Bcl-2의

발현은 감소시키는 것으로 나타났다. 이러한 작용 역시 뽕잎, 백련초, 여주열매, 자색고구마, 지황, 치자 및 흑미 추출물을 처리하였을 때 현저하게 억제되었다(Fig. 35).

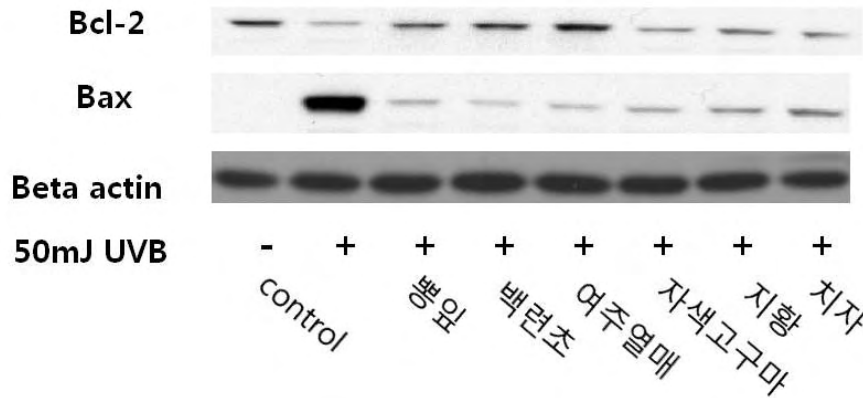


Fig. 35. 천연 색소 물 용매 추출물에 의한 UV 에 의한 Bcl-2 및 Bax 발현 변화 차단작용

(2) 천연 색소의 피부세포의 항노화 효과

○ 천연 색소 자체가 자외선에 의한 피부세포 손상 작용에 노화 관련 단백질인 MMP-1 및 Sirt1 발현을 조사하였다. 자외선 조사시 MMP-1의 발현은 증가하였으며 장수 단백질인 SIRT-1의 발현은 감소하였다. 이러한 작용은 뽕잎, 백련초, 여주열매, 자색고구마, 지황, 치자 및 흑미 추출물을 처리하였을 때 현저하게 차단되었다(Fig. 36). 피부세포의 MMP-1 유전자 발현의 경우에서도 같은 양상을 볼 수 있었다(Fig. 37).

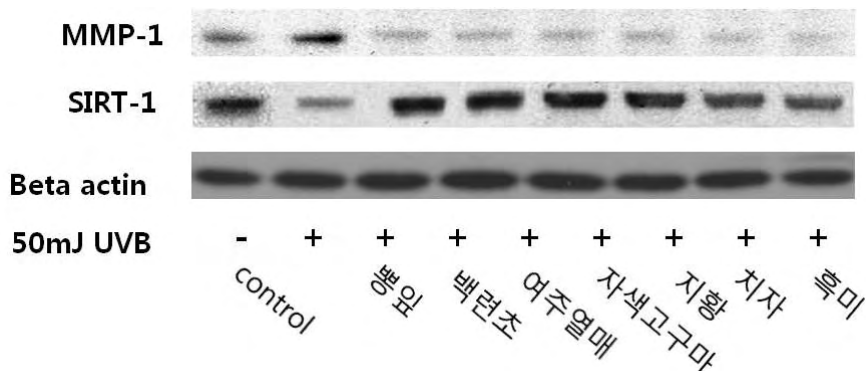


Fig. 36. 천연 색소 물 용매 추출물에 의한 UV에 의한 MMP-1 및 Sirt 1 발현 변화 차단작용

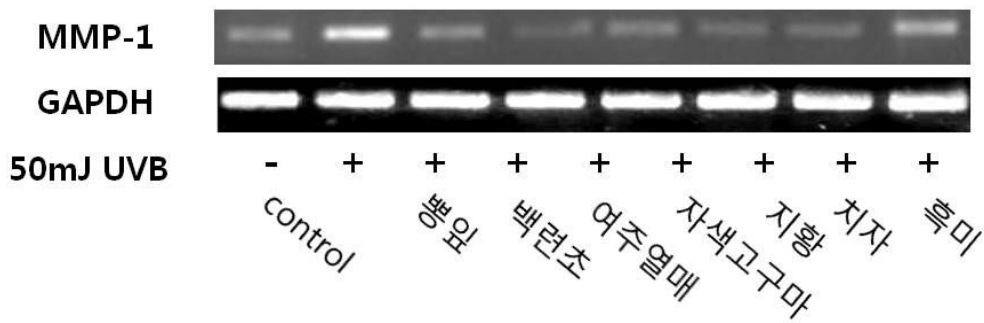


Fig. 37. 천연 색소 물 용매 추출물에 의한 UV 에 의한 MMP-1 및 Sirt 1 발현 변화 차단작용

(3) 천연 색소의 피부세포의 미백 효과

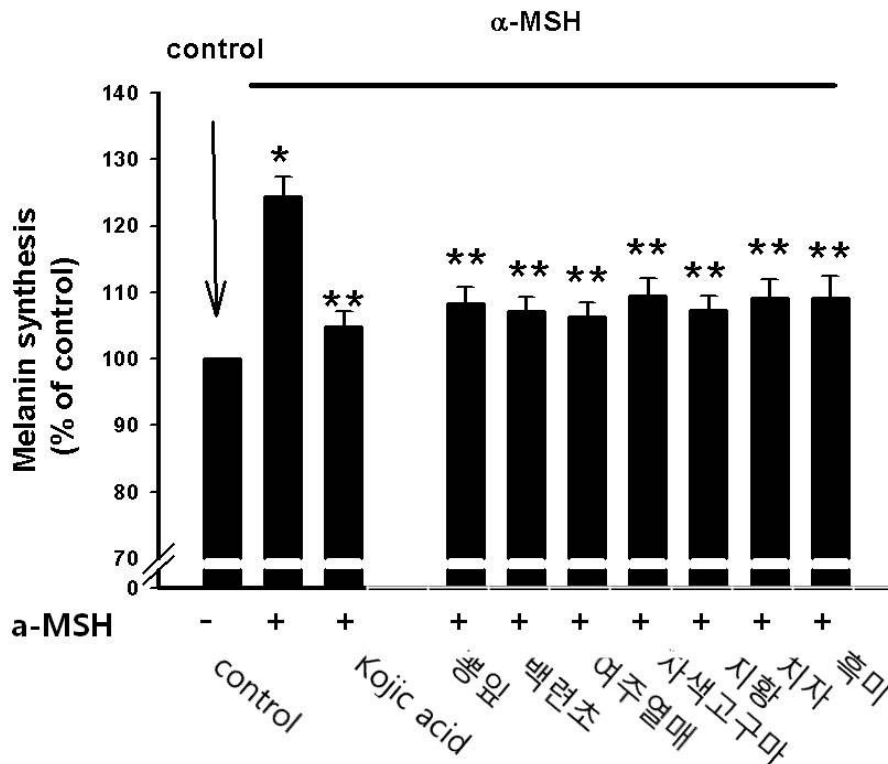


Fig. 38. 천연 색소에 대한 Bt-OH 농도추출에 따른 tyrosinase활성 억제 분석

○ 천연 색소 자체가 α-MSH에 의한 melanin 합성을 차단하는지를 확인하였다. 실험 결과 Kojic acid에는 못하지만 역시 뽕잎, 백련초, 여주열매, 자색고구마, 지황, 치자 및 흑미 추출물을 처리하였을 때 tyrosinase 활성 억제 효과가 인정되는 것으로 나타났다(Fig. 38).

다. 피부 기능 개선을 위한 동물실험

(1) 야생 참마 분획의 피부주름 형성에 대한 효과 검색

(가) 실험동물

7-8주령의 체중 25-30 g의 성숙된 hairless 마우스 (SKH1-hr) (오리엔트바이오, 성남) 40마리를 복강내 주사 실험군 (n=20) 및 피부도포 실험군 (n=20)으로 분류하였다. 동물의 사육은 온도 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 10\%$, 조명시간은 12시간(오전 8시 점등, 오후 8시 소등) 및 조도 200~300 lux로 설정된 시설에서 수행하였다. 순화기간을 거쳐 polycarbonate 사육 상자에 5마리씩 수용하였고 실험동물용 고품사료(삼양사료, 원주)와 정수 장치를 통과한 수도수를 자유롭게 섭취하도록 하였다.

(나) 자외선조사

자외선 B의 광원으로 UV-B lamp GL20SE (Sankyo denki, Tokyo, Japan)를 이용하여 제작한 UV-B 조사기를 사용하였으며 광량은 Solarmeter (Solartech Inc., Harrison Township, MI, USA)로 측정하였다. 정상 대조군을 제외한 실험군 마우스 등쪽면에 자외선 B를 0.5 mW/sec의 용량으로 최초 1주간 90 mJ/cm²을, 이후 8주까지 매주 10%의 용량을 증가시켜 조사하고, 8주부터 10주까지 175 mJ/cm²으로 고정하여 조사하였다. 이상의 용량으로 주당 3회 조사하였다.

(다) 시료제조 및 투여

시험에 사용한 야생 참마(*Dioscorea japonica*, DJ) 분획의 1회 주사 용량으로 체중 kg 당 50 mg을 적용용량으로 정하였다. 복강내 주사군은 체중 kg당 25 mg의 용량으로 각 자외선 조사전 24시간에 주사하였으며, 피부도포시험은 연고기재(1,3-butylene glycol, aloe vera gel, cyclopentasiloxane, decamethylcyclopentasiloxan, dimethicone copoyol crosspolymer, glycerin, imidazolidinyl urea, methyl parahydroxybenzoate, sodium meta bisulfate가 주성분이며 각종 화장품 제조시 기재로 사용되고 있고, 한국콜마 주식회사에서 제공받았음) (한국콜마, 연기군)에 야생 참마 분획을 0.2%로 혼합하여 제조하였고 각 자외선 조사전 15분에 도포하였다.

(라) 부검 및 현미경적 검사

자외선 조사 7주부터 10주 까지 1주 간격으로 피부주름의 상태를 Bissett 등의 방법에 따라 육안으로 검사하였다(2). 간단히 설명하면, 등급 판정은 0-3.0의 범위이며, 다수의 미세 줄무늬가 등과 외측면을 덮고, 미세 줄무늬는 머리쪽에서 꼬리쪽으로 주행하는 상태(등급 0), 등쪽 미세 줄무늬의 소실이 있고 외측 미세줄무늬는 잔존하는 상태(등급 0.5), 등쪽 및 외측 미세 줄무늬가 모두 소실되고 피부가 매끈하게 평탄한 상태(등급 1.0), 등쪽 및 외측 미세 줄무늬가 모두 소실되고, 약간의 얇은

영구 주름이 머리와 꼬리 방향의 수직으로 나타난 상태(등급 1.5), 등쪽 및 외측 미세 줄무늬가 모두 소실되고, 몇몇의 얇은 영구 주름에서 중등도의 깊은 영구주름이 머리와 꼬리 방향의 수직으로 나타난 상태(등급 2.0), 등쪽 및 외측 미세 줄무늬가 모두 소실되고, 다수의 중등도의 깊은 영구주름에서 깊은 영구주름이 머리와 꼬리 방향의 수직으로 나타난 상태(등급 2.5), 등쪽 및 외측 미세 줄무늬가 모두 소실되고, 다수의 깊은 영구주름이 머리와 꼬리 방향의 수직으로 나타난 상태(등급 3.0)로 분류하였다(Fig. 39).

(마) 통계처리

모든 성적은 평균 및 표준편차 또는 표준 오차로 표시하였으며, 통계분석은 Graph PAD In Plot 프로그램 (GPIP, Graph PAD software, USA)을 사용하였다.

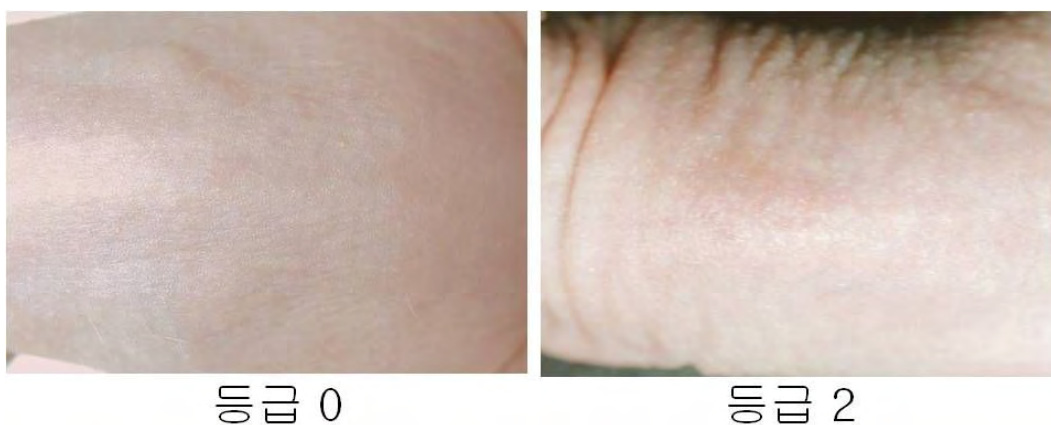


Fig. 39. hairless 마우스 피부주름의 등급판정 기준

결과 : 자외선 단독 조사군의 경우 조사 기간의 경과에 따라 주름 등급은 계속 증가 되었으며 무처치 자외선 단독 조사 대조군의 경우 7주에 평균 1.25를 나타냈으며, 시험종료 시점인 10주에 평균 2.30의 주름 등급을 나타냈다. 야생 참마 분획 복강내 주사투여군에서는 전 기간에 걸쳐 무처치 자외선 단독 조사 대조군과 유사한 경향을 나타내어 유의성 있는 주름 형성 경감 소견이 관찰되지 않았다. 부형제 도포 자외선 조사 대조군에서는 무처치 자외선 단독 조사 대조군에 비하여 연고기재의 물리적 방어 효과에 기인하여 등급이 다소 낮은 수치를 보였으며 야생 참마 분획 도포의 경우에도 부형제 도포 자외선 조사 대조군과 비슷한 경향을 나타내어 그룹 간에 유의성 있는 주름 형성 감소는 관찰되지 않았다(Table 4).

Table 4. 참마(*Dioscorea japonica*, DJ) 분획의 자외선 조사 후 피부주름 형성에 대한 효과

Groups	Wrinkle grade (mean±S.D.) (Weeks)			
	7	8	9	10
UV + vehicle (i.p.) ^a	1.25±0.26	1.65±0.24	2.15±0.34	2.30±0.26
UV + DJ (i.p.) ^a	1.30±0.35	1.60±0.21	1.95±0.44	2.25±0.26
UV + vehicle (topical) ^b	1.05±0.37	1.40±0.32	1.55±0.16	1.65±0.24
UV + DJ (topical) ^b	1.15±0.34	1.35±0.41	1.55±0.37	1.60±0.32

SKH-1 hairless mice were exposed to 90 mJ cm² three times per week; the dose was increased by 10% per week until the dose reached 175 mJ cm². UVB treatment was stopped at 10 weeks after first irradiation and the mice were sacrificed.

^aDJ (25 mg/kg of body weight) or vehicle (saline) was given i.p. at 24 hours prior to each irradiation.

^bDJ cream (0.2% in cream base) or vehicle (cream base) was topically treated at 15 minutes prior to each irradiation.

(2) 피부조직 현미경 지표(표피두께, 세포침윤도, 진피 낭종형성) 변화에 대한 효과 검색

(가) 실험동물

7-8주령의 체중 25-30 g의 성숙된 hairless 마우스 (SKH1-hr) (오리엔트바이오, 성남) 40마리를 복강내 주사 실험군 (n=20) 및 피부도포 실험군 (n=20)으로 분류하였다. 동물의 사육은 온도 22 ± 2°C, 상대습도 50 ± 10%, 조명시간은 12시간(오전 8시 점등, 오후 8시 소등) 및 조도 200~300 lux로 설정된 시설에서 수행하였다. 순화기간을 거쳐 polycarbonate 사육 상자에 5마리씩 수용하였고 실험동물용 고품사료(삼양사료, 원주)와 정수 장치를 통과한 수도수를 자유롭게 섭취하도록 하였다.

(나) 자외선조사

자외선 B의 광원으로 UV-B lamp GL20SE (Sankyo denki, Tokyo, Japan)를 이용하여 제작한 UV-B 조사기를 사용하였으며 광량은 Solarmeter (Solartech Inc., Harrison Township, MI, USA)로 측정하였다. 정상 대조군을 제외한 실험군 마우스 등쪽면에 자외선 B를 0.5 mW/sec의 용량으로 최초 1주간 90 mJ/cm²을, 이후 8주까지 매주 10%의 용량을 증가시켜 조사하고, 8주부터 10주까지 175 mJ/cm²으로 고정하여 조사하였다. 이상의 용량으로 주당 3회 조사하였다.

(다) 시료제조 및 투여

시험에 사용한 야생 참마(*Dioscorea japonica*, DJ) 분획의 1회 주사 용량으로 체중 kg 당 50 mg을 적용용량으로 정하였다. 복강내 주사군은 체중 kg당 25 mg의 용량으로 각 자외선 조사전 24시간에 주사하였으며, 피부도포시험은 연고기재

(1,3-butylene glycol, aloe vera gel, cyclopentasiloxane, decamethylcyclopentasiloxan, dimethicone copoyol crosspolymer, glycerin, imidazolidinyl urea, methyl parahydroxybenzoate, sodium meta bisulfate가 주성분이며 각종 화장품 제조시 기제로 사용되고 있고, 한국콜마 주식회사에서 제공받았음) (한국콜마, 연기군)에 야생 참마 분획을 0.2%로 혼합하여 제조하였고 각 자외선 조사전 15분에 도포하였다.

(라) 부검 및 현미경적 검사

각 실험군은 자외선 조사 후 10주에 부검을 실시하고 등쪽 피부를 제거하고 현미경 표본제작 시 정확한 횡단면을 얻기 위하여 조직을 두터운 종이에 부착하고 10% 중성포르말린 액에 고정하였다. 고정된 조직은 근육과 지방을 제거하고 적당한 두께로 자른 후 마리당 3-4개씩 원통모양으로 감아 통상적인 방법에 따라 파라핀 포매, 절편을 제작하여 hematoxylin 및 eosin 염색을 실시하여 현미경 검경을 실시하였다. Bissett 등의 방법에 따라 기준을 적용하여 표피두께, 세포침윤도, 진피 낭종 형성의 등급을 산출하였다(2). 간단히 설명하면, 표피두께는 정상 표피 두께 상태(등급 0), 약간 증가(등급 1), 중등도 증가(등급 2), 크게 증가(등급 3)이며, 세포 침윤도는 정상 세포수(등급 0), 약간 증가(등급 1), 중등도 증가(등급 2), 크게 증가(등급 3)이고, 진피 낭종 변화는 정상 낭종 상태(등급 0), 낭종 크기 증가(등급 1), 경미에서 중등도의 낭종 수 증가(등급 2), 중등도에서 크게 증가한 낭종 수(등급 3), 경미에서 중등도의 낭종 수 소실(등급 4), 중등도에서 완전한 낭종 소실(등급 5)로 하였다.

Table 5. 참마(*Dioscorea japonica*, DJ) 분획의 자외선 조사 후 표피두께, 세포침윤도, 진피 낭종형성에 미치는 효과

Groups	Histological score (mean±S.D.)		
	Epidermal thickening	Dermal cellularity	Dermal cystic change
UV + vehicle (i.p.) ^a	1.40±0.52	1.30±0.48	1.60±0.70
UV + DJ (i.p.) ^a	1.30±0.48	1.20±0.42	1.40±0.70
UV + vehicle (topical) ^b	1.30±0.48	1.10±0.32	1.30±0.48
UV + DJ (topical) ^b	1.20±0.42	1.00±0.47	1.30±0.48

SKH-1 hairless mice were exposed to 90 mJ cm² three times per week; the dose was increased by 10% per week until the dose reached 175 mJ cm². UVB treatment was stopped at 10 weeks after first irradiation and the mice were sacrificed.

The histological parameters and grading scales follow: epidermal thickness, 0-3 scale; dermal cellularity, 0-3 scale; dermal cyst changes, 0-5 scale.

^aDJ (25 mg/kg of body weight) or vehicle (saline) was given i.p. at 24 hours prior to each irradiation.

^bDJ cream (0.2% in cream base) or vehicle (cream base) was topically treated at 15 minutes prior to each irradiation.

결과 : 무처치 자외선 단독 조사 대조군의 경우 10주에 평균치를 기준으로 표피두께는 1.40, 세포침윤도는 1.30, 진피 낭종형성도는 1.60을 나타냈으며, 야생 참마 분획 북강내 주사군에서는 무처치 자외선 단독 조사 대조군과 유사한 경향을 나타내어 유의성 있는 경감 소견이 관찰되지 않았다. 부형제 도포 자외선 조사 대조군에서는 무처치 자외선 단독 조사 대조군에 비하여 연고기재의 물리적 방어 효과에 기인하여 등급이 다소 낮은 수치를 보였으며 야생 참마 분획 도포의 경우에도 부형제 도포 자외선 조사 대조군과 비슷한 경감효과가 관찰되었으나 그룹간에는 유의성 있는 변화를 보이지 않았다(Table 5).

4. 각 효과 소재의 피부 기능 개선을 위한 동물실험

가. 피부자극시험

(1) 실험방법

(가) 시험동물 및 사육환경

본 시험에서는 4개월령의 New Zealand White 계통의 수컷 토끼를 샘타코 바이오 코리아(오산)로부터 구입하여 1주일간의 순화 및 검역을 거친 후 시험에 공시하였다. 본 계통의 토끼는 피부자극시험에 일반적으로 많이 사용되는 종으로서, 동일한 조건하에서 사람 피부보다 예민하게 반응하며 또한 비교적 풍부한 시험 기초자료가 있어 시험결과의 해석 및 평가가 용이하여 선택되었다. 입수 시 8마리(체중, 2,078~2,465 g)를 구입하여 피부에 이상이 없고 건강한 6마리(체중, 2,150~2,514 g)를 선발하여 시험에 이용하였다. 사육조건은 온도 22±3 °C, 상대습도 50±20 %, 환기횟수 12~15회/시간, 조명 150~300 Lux로 12시간 (인공조명, 오전 8시~오후 8시)으로 하였으며, 순화, 검역 및 시험기간 동안 3단 4열의 사육상자대에 배열된 스테인레스제 사육상자(420W×500L×300H mm)에 개체별로 수용하였다. 사육상자에는 시험번호와 동물번호를 기재한 개체식별카드를 부착하였다. 사료는 토끼용 고형사료(퓨리나 코리아, 평택)를, 물은 상수도수를 자유섭취 시켰다.

(나) 시험물질

본 시험에 사용한 백년초는 제1세부과제에서 그리고 참마는 제1협동과제로부터 공급받아 사용하였으며, 공급된 원제를 사용하여 시험하였다.

(다) 시험군의 구성 및 시험물질의 적용

시험물질을 적용하기 위해 적용 전날에 동물의 배부(가로세로 약 15 cm씩)를 동물용 전기제모기로 제모하였다. 동물의 척추를 중심으로 좌우 각각 2개소(각각 찰과 및 비찰과 부위, 2.5 cm×2.5 cm 크기)를 설정하여, 좌측구획은 무처치 대조구획으

로, 우측구획은 시험물질을 적용하는 처치구획으로 정하여 시험하였다. 찰과는 주사침을 이용하여 표피만 손상되고 출혈이나 진피에 손상이 가지 않을 정도로 “#” 모양으로 실시하였다. 투여 당일 오전에 백련초와 참마 원제를 우측의 찰과 부위 1개소와 비찰과 부위 1개소에 각각 0.5 ml을 적용하였고, 대조구획에는 처치를 하지 않았다. 적용 후 처치구획 및 대조구획을 가아제로 덮고 비자극성 테이프로 잘 고정하여 24시간 동안 적용시켰다. 시험물질을 적용하고, 24시간 경과 후 잔류하는 시험물질을 제거하기 위해 미온수로 적용부위를 부드럽게 세정해 주었다.

(라) 일반증상 및 사망의 관찰

검역 및 순화기간에는 매일 1회씩 모든 동물에 대해 관찰하였고, 시험물질 적용기간에는 투여 전과 후에 1회씩 일반증상 및 사망의 유무에 관하여 관찰하였다. 단, 이상 증상이 발생되면 증상의 종류, 발현일 및 증상의 정도를 개체별로 기록하였다.

(마) 적용부위의 관찰 및 자극성의 평가

적용부위의 피부반응 평가는 식품의약품안전청의 “의약품등의 독성시험기준”에 표시된 피부반응의 평가기준에 따라 실시하였다(식품의약품안전청, 2005). 24시간 동안 시험물질을 적용한 후 패취를 제거하여 24시간째(패취제거 직후) 및 72시간째(패취제거 후 48시간째)에 홍반(erythema)과 가피(eschar), 부종(edema) 등의 자극성 반응을 관찰하였다. 모세혈관의 울혈에 의한 피부 발적 등 여러 가지 원인으로 인하여 혈액에 의해 피부에 나타난 적색반응은 홍반으로 평가하였고, 부식작용 또는 괴저에 의하여 생긴 피부조직의 부육상태는 가피로 하였으며, 체액이 피하조직에 축적되어 부어오른 것은 부종으로 평가하였다. 결과에 대한 자극성의 정도판정은 일반적으로 많이 이용되는 Draize의 일차피부자극지수(primary skin irritation index, PII)의 산출방법에 따랐다(Draize *et al.*, 1944; Patrick and Maibach, 1989).

(2) 결과

(가) 일반증상 및 사망률

시험물질의 투여에 기인된 일반증상과 사망은 인정되지 않았다(Table 6, 7).

Table 6. 피부자극실험에서 그룹별 사망률과 임상증상

Treatment	No. of rabbits	Mortality	Clinical signs
백련초	6	0/6 ^{a)}	No gross finding
참마	6	0/6	No gross finding

^{a)} No. of dead animals/No. of tested animals

Table 7. 피부자극실험에서 개체별 사망률과 임상증상

Treatment	Animal number	Days after treatment			
		0	1	2	3
백련초	1	N	N	N	N
	2	N	N	N	N
	3	N	N	N	N
	4	N	N	N	N
	5	N	N	N	N
	6	N	N	N	N
참마	1	N	N	N	N
	2	N	N	N	N
	3	N	N	N	N
	4	N	N	N	N
	5	N	N	N	N
	6	N	N	N	N

N : No gross finding.

(나) 피부자극성의 평가

시험물질 적용 후 24시간 및 72시간째에 적용부위의 자극성을 평가한 결과는 Table 8 및 9에 요약하였다. 모든 동물의 무처치 대조구획 및 시험물질 처치구획에서 모든 자극지표상의 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 40).

이상의 결과에서 백련초와 참마의 피부자극 효과는 없는 것으로 사료된다.

Table 8. 백련초의 피부자극실험 결과

Change	Control sites				Test site			
	Erythema & Eschar		Edema		Erythema & Eschar		Edema	
	Intact 24 72	braded 24 72	Intact 24 72	braded 24 72	Intact 24 72	Abraded 24 72	Intact 24 72	Abraded 24 72
Animal No.								
1	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
2	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
3	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
4	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
5	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
6	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Mean Score	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Total Score	0		0		0		0	
Total	0				0			
PII ^{b)}	0				0			

Erythema was scored as follows: no erythema = 0, very slight erythema (barely perceptible) = 1, well-defined erythema = 2, moderate to severe erythema = 3, and severe erythema (beet redness) to slight eschar formation (injuries in depth) = 4. Edema formation was scored as follows: no edema = 0, very slight edema (barely perceptible) = 1, slight edema (edges of area well-defined by definite raising) = 2, moderate edema (raised approximately 1 mm) = 3, and severe edema (raised more than 1 mm and extending beyond area of exposure) = 4.

^{a)} Time after topical application

^{b)} PII (primary irritation index) = total/4

Table 9. 참마의 피부자극실험 결과

Change	Control sites				Test site			
	Erythema & Eschar		Edema		Erythema & Eschar		Edema	
	Intact 24 72	braded 24 72	Intact 24 72	braded 24 72	Intact 24 72	Abraded 24 72	Intact 24 72	Abraded 24 72
Animal No.								
1	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
2	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
3	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
4	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
5	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
6	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Mean Score	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Total Score	0		0		0		0	
Total	0				0			
PII ^{b)}	0				0			

Erythema was scored as follows: no erythema = 0, very slight erythema (barely perceptible) = 1, well-defined erythema = 2, moderate to severe erythema = 3, and severe erythema (beet redness) to slight eschar formation (injuries in depth) = 4. Edema formation was scored as follows: no edema = 0, very slight edema (barely perceptible) = 1, slight edema (edges of area well-defined by definite raising) = 2, moderate edema (raised approximately 1 mm) = 3, and severe edema (raised more than 1 mm and extending beyond area of exposure) = 4.

^{a)} Time after topical application

^{b)} PII (primary irritation index) = total/4

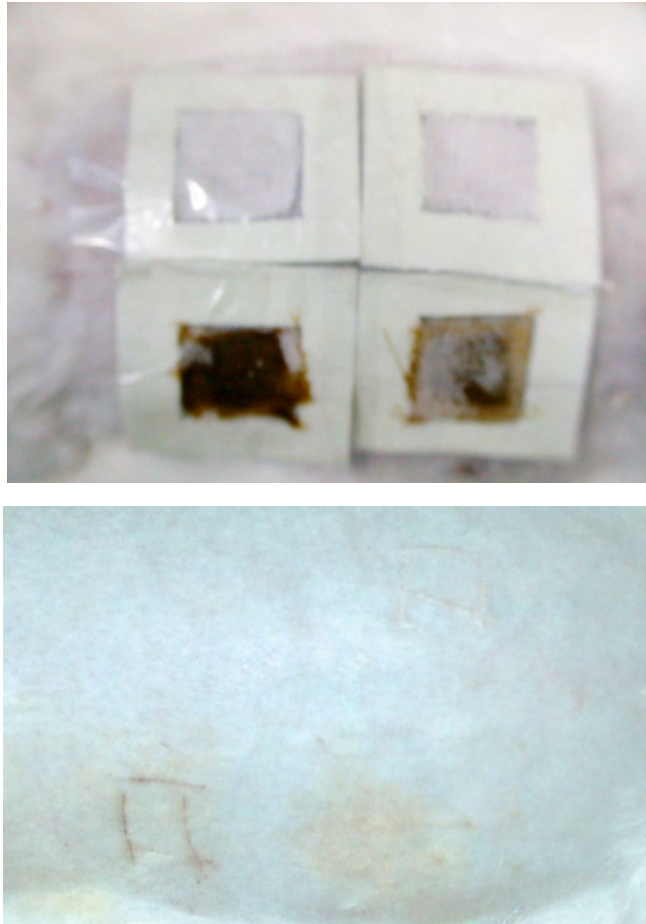


Fig. 40. 토끼 등의 피부자극실험 부위

나. 안점막 자극시험

상기 시험은 식품의약품안전청고시 제2005-60호(2005년 10월 21일)의 ‘의약품등의 독성시험기준(식품의약품안전청, 2005)과 식품의약품안전청고시 제2000-63호(2000년 12월 11일) ‘비임상시험관리기준’ 및 OECD Principles of Good Laboratory Practice (1997)에 준하여 실시하였다.

(1) 실험방법

(가) 시험동물 및 사육환경

본 시험에서는 4개월령의 New Zealand White 계통의 수컷 토끼를 샘타코 바이오 코리아(오산)로부터 구입하여 1주일간의 순화 및 검역을 거친 후 시험에 공시하였다. 본 계통의 토끼는 피부자극시험에 일반적으로 많이 사용되는 종으로서, 동일한 조건하에서 사람 피부보다 예민하게 반응하며 또한 비교적 풍부한 시험 기초자료가 있어 시험결과와의 해석 및 평가가 용이하여 선택되었다. 입수 시 10마리(체중, 2,078~2,465 g)를 구입하여 피부에 이상이 없고 건강한 9마리(체중, 2,150~

2,514 g)를 선발하여 시험에 이용하였다. 사육조건은 온도 22±3 ℃, 상대습도 50±20 %, 환기횟수 12~15회/시간, 조명 150~300 Lux로 12시간 (인공조명, 오전 8시~오후 8시)으로 하였으며, 순화, 검역 및 시험기간 동안 3단 4열의 사육상자대에 배열된 스테인레스제 사육상자(420W×500L×300H mm)에 개체별로 수용하였다. 사육상자에는 시험번호와 동물번호를 기재한 개체식별카드를 부착하였다. 사료는 토끼용 고형사료(퓨리나 코리아, 평택)를, 물은 상수도수를 자유섭취 시켰다.

(나) 시험물질

본 시험에 사용한 백련초와 참마는 제1협동연구책임자로부터 공급받아 사용하였으며, 공급된 원제를 사용하여 시험하였다.

(다) 시험군의 구성

건강한 수컷 9마리를 이용하여 비세안군 6마리와 세안군 3마리로 구성하였다. 비세안군 및 세안군 동물에 대해서 우안은 시험물질을 처치하였고, 좌안은 대조를 위해 무처치 하였다.

군번호	동물수	동물번호	처치 및 세척	좌우 구분
T1 (비세안군)	6	1~6	. 시험물질 : 세안하지 않음 . 무 처 치 : 세안하지 않음	우안 좌안
T2 (세안군)	3	7~9	. 시험물질 : 30초 후 세안 . 무 처 치 : 30초 후 세안	우안 좌안

(라) 시험물질 투여

시험개시 24시간 이내에 동물의 양안을 검사하여 각막 등의 안구손상이 없는 개체를 선발하여 사용하였다. 점안은 토끼를 보정한 후 우안의 결막낭내에 시험물질을 마리당 0.1 ml씩 적용하였고 좌안은 대조로 하여 무처치 하였다. 점적 후 시험물질의 누출을 방지하기 위해 약 1초간 양안검을 잡아 폐안시켰다. 이러한 처치를 실시한 후 T2군의 3마리에 관해서는 30초 후에 20 ml 정도의 미온 무균생리식염수로 1분간 세안하여 시험물질을 제거하였다. 이때 대조측도 동일한 요령으로 세안하였다. T1군의 6마리는 점적 후 그대로 두고 세안을 실시하지 않았다.

(마) 관찰 및 검사항목

- **일반증상관찰** : 시험물질 적용 후 7일째까지 매일 일반증상의 변화, 중독증상 및 사망동물의 유무를 관찰하였다.

- **적용부의 관찰** : 시험물질 적용 후 1, 2, 3, 4 및 7일째에 각막, 홍채 및 결막 등의 이상 유무를 관찰하였다.

(바) 안점막 반응의 평가 및 자극성의 판정

안점막 반응의 평가는 식품의약품안전청고시 제2005-60호 “의약품등의 독성시험 기준(식품의약품안전청, 2005)”에 표시된 안구병변의 등급기준에 따라 실시하였다. 결과에 대한 자극성의 정도 판정은 안구병변의 등급에 따른 각 관찰시점의 개체별 안자극지수(IOI, individual ocular irritation index)를 산출하였고, 이를 이용하여 각 시기별 평균 안자극지수(MOI, mean ocular irritation index)를 산출하였으며, 평균 안자극지수중 최고치를 급성 안자극지수(AOI, acute ocular irritation index)로 하였다(Ballantyne, 1993; Chan and Hayer, 1994). 이 결과에서 얻어진 급성안자극지수를 다음 표에 따라 안점막 자극 정도를 구분하였다.

급성 안자극지수	자극 구분
0~ 5	Non irritant
5~ 15	Mild irritant
15~ 30	Moderate irritant
30~ 60	Severe irritant
60~ 80	Extreme irritant
80~110	Maximal irritant

(2) 결과

(가) 일반증상 및 사망률

시험기간 중 시험물질의 적용에 기인된 사망동물은 관찰되지 않았다(Table 10, 11).

이상의 결과로 보아 New Zealand White계 토끼에 있어서 백련초 및 참마의 안점막 적용은 어떠한 자극성도 유발하지 않는 것으로 나타났으며, 따라서 본 시험물질은 무자극성 물질인 것으로 판단된다.

Table 10. 안점막 자극실험에서 그룹별 사망률과 임상증상

Treatment	No. of rabbits	Mortality	Clinical signs
백련초	9	0/9 ^{a)}	No gross finding
참마	9	0/9	No gross finding

^{a)} No. of dead animals/No. of tested animals

Table 11. 안점막 자극실험에서 개체별 사망률과 임상증상

Treatment	Animal number	Days after treatment				
		1	2	3	4	7
백련초						
Test 1 (Non-rinsing)	1	N	N	N	N	N
	2	N	N	N	N	N
	3	N	N	N	N	N
	4	N	N	N	N	N
	5	N	N	N	N	N
	6	N	N	N	N	N
Test 2 (Rinsing)	7	N	N	N	N	N
	8	N	N	N	N	N
	9	N	N	N	N	N
참마						
Test 1 (Non-rinsing)	1	N	N	N	N	N
	2	N	N	N	N	N
	3	N	N	N	N	N
	4	N	N	N	N	N
	5	N	N	N	N	N
	6	N	N	N	N	N
Test 2 (Rinsing)	7	N	N	N	N	N
	8	N	N	N	N	N
	9	N	N	N	N	N

N : No gross finding.

(나) 안자극성의 평가

시험물질 적용 후 1, 2, 3, 4 및 7일째에 적용부위의 국소자극성을 관찰한 결과, 시험물질의 적용에 의한 어떠한 이상소견도 인정되지 않았다. 따라서 본 시험물질의 급성 안자극지수(acute ocular irritation index)는 세안균 및 비세안균이 각각 “0”으로서 무자극성 물질로 평가되었다(Table 12, 13, Fig. 41).

Table 12. 백련초의 안점막 자극실험 결과

Group			T1 (Non-rinsing)						T2 (Rinsing)		
Animal No.			1	2	3	4	5	6	7	8	9
Cornea	Degree of opacity (A)	Day 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Day 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Day 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Day 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Day 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Diffuse areas of opacity (B)	Day 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Day 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Day 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Day 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Day 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Iris (C)	Day 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Day 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Day 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Day 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Day 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Conjunctiva	Redness (D)	Day 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Day 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Day 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Day 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Day 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Edema (E)	Day 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Day 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Day 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Day 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Day 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Discharge (F)	Day 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Day 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Day 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Day 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Day 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IOI	Day 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Day 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Day 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Day 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Day 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
MOI	Day 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Day 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Day 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Day 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Day 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

IOI (individual ocular irritation index) = (A x B x 5) + (C x 5) + (D + E + F) x 2
 MOI (mean ocular irritation index)

Table 13. 찜마의 안점막 자극실험 결과

Group			T1 (Non-rinsing)						T2 (Rinsing)			
Animal No.			1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Cornea	Degree of opacity (A)	Day 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Day 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Day 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Day 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Day 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Diffuse areas of opacity (B)	Day 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Day 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Day 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Day 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Day 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Iris (C)		Day 1	0	0	0	0	0	0	0	0		
		Day 2	0	0	0	0	0	0	0	0		
		Day 3	0	0	0	0	0	0	0	0		
		Day 4	0	0	0	0	0	0	0	0		
		Day 7	0	0	0	0	0	0	0	0		
Conjunctiva	Redness (D)	Day 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Day 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Day 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Day 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Day 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Edema (E)	Day 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Day 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Day 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Day 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Day 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Discharge (F)	Day 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Day 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Day 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Day 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Day 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		IOI		Day 1	0	0	0	0	0	0	0	0
				Day 2	0	0	0	0	0	0	0	0
				Day 3	0	0	0	0	0	0	0	0
		Day 4	0	0	0	0	0	0	0	0		
		Day 7	0	0	0	0	0	0	0	0		
MOI		Day 1	0	0	0	0	0	0	0	0		
		Day 2	0	0	0	0	0	0	0	0		
		Day 3	0	0	0	0	0	0	0	0		
		Day 4	0	0	0	0	0	0	0	0		
		Day 7	0	0	0	0	0	0	0	0		

IOI (individual ocular irritation index) = (A x B x 5) + (C x 5) + (D + E + F) x 2
 MOI (mean ocular irritation index)



Fig. 41. 정상 토끼 눈

제3절 립케어용 천연화장료 조성물의 제조공정 확립 및 시제품 제조

1. 적용 천연색소 선별 및 특성조사

가. 재료

천연색소 소재는 13종류를 선별하여 일부는 천연색소 전문회사에서 동결건조된 시료를 구입하여 사용하였고, 일부는 직접 건조한 후 미세한 밀도로 분말화한 것을 시료로 사용하였다. 모든 시료 추출은 천연 립케어 제품에 적용하는 것이므로 안전성을 위해 유기용매를 전혀 사용하지 않고 증류수에만 용해시켰다. 일부 난용성인 시료도 자석교반기 혹은 Sonicator 등을 이용하여 최대한 용해되도록 처리하였다.

Table 1. Selected natural plant pigment

Material source	Class of coloring matter
Red group	
purple sweet potato	Antocyanins
redbeet	Betalines
red cabbage	Antocyanins
grape peel	Antocyanins
Yellow group	
mature bitter melon	Carotinoids (including Xanthophylls)
paprika	Carotinoids (including Xanthophylls)
yellow gardenia	Carotinoids (including Xanthophylls)
<i>Rehmannia glutinosa</i>	Carotinoids (including Xanthophylls)
onion peel	Carotinoids (including Xanthophylls)
Black group	
black rice	Antocyanins
mulberry	Antocyanins
Blue group	
blue gardenia	Iridoid, Flavonoid
Green group	
mulberry leave	Chlorophylls



Fig. 1. Powders of natural plant pigment used this experiment

나. 건조 조건에 따른 특성 조사

포도과피, 오디 및 황색 파프리카를 얇게 절단한 후, 그늘에서의 자연건조법, 60°C dry oven에서의 열풍건조법, 동결건조법 등 3가지 방법으로 분리하여 건조시켰다.

유효성분 함량 분석을 위해 각 처리별 건조시료를 미세하게 분쇄하였으며, 각 건조 분말시료를 10g씩 정량하여 삼각플라스크에 넣고 100ml 증류수에 침지하여 추출하였다. 추출은 수일간에 걸쳐 3회 반복하여 행한 다음 추출액을 여과지로 여과한 후, 감압농축기로 농축하여 분석시료를 조제하였다. 각 시료의 회수율은 시료를 완전 농축한 후 각 처리구별로 수거한 다음 그 무게를 측정하는 방법으로 행하였다.

Table 2. Yield of extract sample according to dry methods

Sample	Yield (g)		
	air-dry method	hot air-dry method	freeze-dry method
grape peel	1.10	1.13	1.25
mulberry	1.15	1.05	1.32
paprika	0.84	0.87	1.09

건조조건에 따른 추출시료의 회수량을 보면, 동결건조법에서 공시한 3종류 색소 (포도과피, 오디, 파프리카) 모두 상대적으로 높았으며, 자연건조법과 열풍건조법에서도 비교적 높은 회수율을 보여 각 처리구간 추출시료의 회수량에 큰 차이를 보이

지는 않았다.

다. 추출용매 증류수 온도조건에 따른 회수율

천연색소를 립케어 제품에 적용하기 위해 색소의 유효성분과 기능성을 최적화할 수 있는 추출조건을 구명하기 위하여 추출 증류수의 온도조건에 따라 회수되는 물질의 양을 조사하였다. 동결건조된 각 분말시료는 10g씩 정량하여 증류수의 온도를 실온에서 24시간, 50℃에서 2시간, 70℃에서 1시간, 100℃에서 20분 동안으로 조정하여 추출용매로 사용하였다. 추출용매 증류수의 온도에 따른 각 시료의 회수율은 시료를 완전농축한 후 각각 수거하여 그 무게를 측정하는 방법으로 행하였다.

Table 3. Yield of extract sample according to temperature condition of distilled water solvent

Sample	Yield (g)			
	room temperature (24hrs)	50℃(2hrs)	70℃(1hrs)	100℃(20min)
grape peel	1.21	1.28	1.30	1.43
mulberry	1.19	1.34	1.25	1.52
paprika	0.89	1.08	1.12	1.22

추출 증류수의 온도조건에 따라 천연색소가 회수되는 물질의 양을 조사한 결과, 추출용매인 증류수의 온도를 100℃로 하여 20분 동안 추출 처리하였을 때 회수량이 가장 많았던 반면에 실온에서 24시간 추출 처리한 시료의 회수량은 상대적으로 적었다. 증류수의 온도를 50℃로 하여 2시간 추출 처리한 시료의 회수량도 비교적 많은 양을 나타냈다.

라. 분쇄 조건에 따른 색소분말의 용해도

동결건조한 포도과피, 오디 및 황색 파프리카를 대용량 분쇄믹서기를 이용하여 분말화하였으며, 이렇게 분쇄된 분말 색소를 각 mesh size별 체로 걸러서 시료로 사용하였다. Mesh size별 분말색소를 증류수에 용해시켜 그 용해도를 조사하였다.

Table 4. Solubility of pigment powder according to the mesh size

Sample/ Mesh size	Solubility (%)		
	500µm	200µm	100µm
grape peel	82	92	96
mulberry	79	92	95
paprika	64	81	85

동결건조한 포도과피, 오디 및 황색 파프리카 분말색소의 입자 크기별 용출능을 확인하고자 mesh size별로 증류수에 녹여 그 용해도를 조사한 결과, 가장 미세한

입자인 mesh size 100 μ m에서의 용해도가 가장 높았다.

2. 선발 천연색소 노화억제 효능 및 미백활성 검증

가. 총 페놀 화합물 함량 및 플라보노이드 함량

총 페놀 화합물 함량은 Folin-Denis 방법에 따라 분석하였다. 추출물을 1mg/ml 농도로 조제한 후, 이 시료액 1ml에 증류수 3ml를 첨가하고, Folin & Ciocalteu's phenol reagent 1ml를 첨가한 후 27 $^{\circ}$ C Shaking bath에서 혼합하였다. 5분 후 NaCO₃ 포화용액 1ml를 넣어 혼합하여 실온에서 1시간 방치한 후 640nm에서 분광광도계(UV-1650PC, SHIMADZU)로 흡광도를 측정하였다. 페놀화합물 함량은 표준물질 catechin, tannic acid, chlorogenic acid의 농도를 이용하여 검량선을 작성한 다음 정량하였다.

Table 5. Total polyphenol and total flavonoid content according to each kind of natural plant pigment

Natural plant pigment	Total polyphenol (μ g/ml)	Total flavonoid (μ g/ml)
Black rice	30.7 \pm 2.5	10.4 \pm 1.3
Purple sweet potato	23.8 \pm 3.2	20.8 \pm 2.5
Mature bitter melon	18.2 \pm 2.1	7.2 \pm 1.2
Paprika	24.8 \pm 1.9	8.8 \pm 1.5
Red cabbage	117.2 \pm 3.9	95.5 \pm 8.3
Yellow gardenia	16.1 \pm 1.8	66.1 \pm 3.7
Blue gardenia	13.1 \pm 2.0	9.9 \pm 1.1
<i>Rehmannia glutinosa</i>	11.4 \pm 2.2	12.9 \pm 1.5
Mulberry leave	64.9 \pm 4.8	52.4 \pm 4.8
Onion peel	404.2 \pm 5.3	31.2 \pm 2.9
Grape peel	62.2 \pm 4.2	31.2 \pm 3.5
Mulberry	112.1 \pm 9.1	52.4 \pm 4.6
Redbeet	65.7 \pm 2.7	8.3 \pm 1.2

*Data represent the mean values \pm SE of three independent experiments

플라보노이드 함량은 각 시료 0.1g에 Davis 변법에 따라 75% methanol을 가하여 실온에서 하룻밤 동안 추출한 다음 이 검액 1.0mL를 시험관에 취하고 10mL의 diethylen glycol을 가하여 잘 혼합하였다. 다시 여기에 1N NaOH 0.1mL를 잘 혼합시켜 37 $^{\circ}$ C의 water bath에서 1시간 동안 반응시킨 후 420nm에서 흡광도를 측정하였다. 공시험은 시료 용액 대신 50% methanol 용액을 동일하게 처리하였으며, 표준곡선은 Naringin(Sigma co., USA)을 이용하여 작성하고 이로부터 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

식물에 널리 존재하는 폴리페놀 물질들은 식물체 및 인체의 항산화 효과 및 방어기작 등의 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 일반적으로 페놀화합물은 한 개 또는 두 개 이상의 수산기(hydroxyl group)로 치환된 방향족 환 (aromatic ring)

을 가지고 있는 물질로서, phenolic acid, coumarin류, flavonoid류 그리고 탄닌류로 나누며, 그 구조에 따라 이하학적 성질 및 생리적 기능이 달리 나타난다. 이러한 페놀물질들은 식물체에 특수한 색깔을 부여하고 산화-환원 반응시 기질로 작용하며 미생물의 공격을 막아 식물자체를 보호하는 기능을 한다. 13종의 천연색소를 선별하여 총페놀화합물 함량을 측정된 결과, 양파껍질의 폴리페놀 함량이 가장 높았고 적양배추, 오디 등에서도 비교적 높은 함량을 나타냈다. 플라보노이드 함량은 적양배추가 가장 높았고 파프리카(황색), 뽕잎, 오디 등에서도 높은 함량을 보였다.

나. 항산화활성

(1) DPPH radical 소거능(전자공여능)

각 추출물을 Choi 등의 방법에 의한 수소전자공여능에 의해 항산화 활성을 측정하였다. 여러 농도의 시료를 메탄올(or DMSO) 용매로 용해하여, 900 μ L의 DPPH 용액(100 μ M)과 각 시료 100 μ L를 혼합하여 교반한다. 이 혼합 시료를 암소에서 30분간 반응시킨 후 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 수소전자공여능은 각 실험을 3회 반복하여 평균을 낸 다음 대조구에 대한 흡광도의 감소정도를 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

Table 6. DPPH radical scavenging activities according to each kind of natural plant pigment

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

*Data represent the mean values \pm SE of three independent experiments

전자공여능 측정은 지질과산화 연쇄반응에 관여하는 산화성 free radical에 전자를 공여함으로써 free radical의 생성 억제 정도를 간접적으로 측정할 수 있다. 선발된 천연색소 추출물에 대하여 free radical 소거활성을 측정한 결과를 보면, 적양배추, 양파껍질, 포도과피, 오디 색소 등에서 free radical 소거활성이 상대적으로 높게 나타났다. 그러나 황색 파프리카, 황색 여주과실 등에서는 비교적 낮은 활성을 보였다.

(2) 아질산염 소거능

시료 추출물의 아질산염 소거작용의 측정은 1mM NaNO₂ 20 μ l에 시료의 추출액 40 μ l와 0.1N HCl(pH 1.2) 또는 0.2M citrate buffer (pH 4.2) 또는 0.2M citrate buffer (pH 6.0)을 140 μ l 사용하여 부피를 200 μ l로 맞추었다. 이 반응액을 37 $^{\circ}$ C 항온수조에서 1시간 반응시킨 후 2% acetic acid 1000 μ l, Griess 시약 (30% acetic acid로 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1:1 비율로 혼합한 것, 사용직전에 조제) 80 μ l를 가하여 잘 혼합시켜 빛을 차단한 상온에서 15분간 반응시킨 후 520nm에서 흡광도를 측정하여 아래와 같이 아질산염 소거능을 구하였다.

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

N : nitrite scavenging ability

A : absorbance of 1mM NaNO₂ added sample after standing for 1hour

B : absorbance of 1NaNO₂

C : absorbance of control

Table 7. Nitrite scavenging activities according to each kind of natural plant pigment

Natural plant pigment	Nitrite scavenging ability (%)
Black rice	73.7 \pm 4.5
Purple sweet potato	71.9 \pm 2.7
Mature bitter melon	74.6 \pm 4.0
Paprika	76.6 \pm 0.5
Red cabbage	54.8 \pm 4.5
Yellow gardenia	83.7 \pm 2.1
Blue gardenia	80.3 \pm 1.5
<i>Rehmannia glutinosa</i>	80.8 \pm 1.6
Mulberry leave	70.1 \pm 2.6
Onion peel	91.9 \pm 1.3
Grape peel	66.3 \pm 2.7
Mulberry	52.5 \pm 2.5
Redbeet	84.8 \pm 2.3

*Data represent the mean values \pm SE of three independent experiments

13종의 천연색소 추출물을 아질산나트륨 용액에 첨가하여 아질산염에 대한 소거능을 조사한 결과, 레드비트와 양파껍질, 지황, 황색 파프리카 색소에서 아질산염을 80%이상 분해시킬 수 있었다. 이 중 양파껍질 색소가 91.98%로 가장 높은 아질산염 소거 활성을 나타냈다. 그러나 적양배추, 오디 색소에서는 상대적으로 낮은 소거 활성을 보였다.

다. 항산화 효소 활성 측정

(1) 효소액 조제

동결건조 시료 0.5g에 2mM EDTA, 1% PVP-40, 1mM PMSF가 첨가된 100 mM potassium phosphate buffer (pH 7.5)에서 균질화하여 15.000g 로 20분간 원심 분리한 다음 상층액을 항산화효소에 사용하였다. Ascorbate peroxidase (APX) 경우 extraction buffer에 위의 조성액에 10mM를 첨가하여 사용하였다. 단백질 정량은 BSA를 표준물질로 사용하여 Bradford (1976)방법에 따라 측정하였다.

(2) SOD (Superoxide Dismutase)

SOD효소 활성 측정은 분석용 Kit (Sigma사,19160)를 사용하여 측정하였다. 즉, SOD의 효소활성이 NBT(Nitroblue tetrazolium)의 환원을 저해하는 능력을 측정하는 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 450nm에서 측정하였다. 각 시료에 대하여 3회 반복으로 하였으며, SOD효소 활성은 다음의 계산식에 의해 환산하였다.

$$\text{SOD활성 (NBT환원 저해율, \%)} = \frac{[(A_{\text{blank1}} - A_{\text{blank3}}) - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank2}})]}{(A_{\text{blank1}} - A_{\text{blank3}})} \times 100$$

(3) CAT (Catalase)

CAT활성은 Mishra 등(1993)의 방법에 의해 측정하였으며, 반응액은 50mM potassium phosphate buffer (pH 7.0)와 10mM H₂O₂로 하였다. CAT 활성은 반응액에 추출액을 가한 다음 240nm에 2분간의 흡광도 변화를 측정하였다.

(4) APX (Ascorbate Peroxidase)

APX 활성은 Chen and Asada(1989)방법에 따라 ascorbate의 산화 정도를 290nm에서 2분간의 흡광도 변화를 측정하였다. APX의 반응액은 0.5mM ascorbate와 0.2mM H₂O₂가 첨가된 100mM potassium phosphate buffer (pH 7.5)로 하였다.

Table 8. SOD activities according to each kind of natural plant pigment

Natural plant pigment	SOD activity (inhibition rate %)
Black rice	39.92±2.31
Purple sweet potato	34.16±3.32
Mature bitter melon	40.39±1.93
Paprika	22.16±3.63
Red cabbage	0.26±0.001
Yellow gardenia	12.56±1.54
Blue gardenia	6.52±0.69
<i>Rehmannia glutinosa</i>	34.72±1.34
Mulberry leave	23.22±1.99
Onion peel	14.36±2.67
Grape peel	36.92±3.09
Mulberry	20.39±2.53
Redbeet	0.78±0.002

*Data represent the mean values±SE of three independent experiments

Table 9. CAT activities according to each kind of natural plant pigment

Natural plant pigment	CAT activity (U/mg protein)
Black rice	468.19±13.67
Purple sweet potato	443.18±24.38
Mature bitter melon	430.67±29.42
Paprika	375.15±13.18
Red cabbage	347.38±16.42
Yellow gardenia	320.13±23.52
Blue gardenia	380.65±37.38
<i>Rehmannia glutinosa</i>	880.85±32.27
Mulberry leave	957.88±28.52
Onion peel	480.69±23.64
Grape peel	664.77±35.57
Mulberry	683.77±42.32
Redbeet	557.72±36.55

*Data represent the mean values±SE of three independent experiments

Table 10. APX activities according to each kind of natural plant pigment

Natural plant pigment	APX activity (U/mg protein)
Black rice	1427.19±33.51
Purple sweet potato	930.80±14.12
Mature bitter melon	1506.66±22.75
Paprika	1202.08±23.22
Red cabbage	1302.47±33.76
Yellow gardenia	567.41±23.54
Blue gardenia	705.65±32.65
<i>Rehmannia glutinosa</i>	1870.45±22.78
Mulberry leave	2119.46±34.14
Onion peel	837.56±23.21
Grape peel	1552.31±23.39
Mulberry	1945.52±32.98
Redbeet	1450.26±42.88

*Data represent the mean values±SE of three independent experiments

적용된 천연색소의 항산화 효소 활성을 측정한 결과를 보면, SOD 활성도는 여주 과실과 흑미, 포도과피 등에서 높은 활성을 나타냈고, 자색고구마, 지황에서도 비교적 높은 활성을 보였다. 그러나 APX 활성, CAT 활성도는 뽕잎, 지황, 오디 등에서 모두 높은 활성을 보여 항산화 효소의 종류에 따라 활성에 차이가 있음을 알 수 있었다.

라. Tyrosinase의 활성 저해 측정

미백효과 검증을 위한 Tyrosinase 저해 활성 측정은 다음과 같이 수행한다. 반응구는 0.175M sodium phosphate buffer(pH 6.8) 0.5ml에 10mM L-DOPA를 녹인 기질액 0.2ml 및 시료 용액 0.1ml의 혼합액에 mushroom tyrosinase (110U/ml) 0.2ml을 첨가하여 25℃에서 2분간 반응시켜 반응액 중에 생성된 DOPA chrome을 475nm에서 측정한다. Tyrosinase 저해 활성은 시료 용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타낸다.

$$\text{저해율(\%)} = 1 - \frac{\text{시료첨가군의 uric acid의 생산량}}{\text{무첨가군의 uric acid 생산량}} \times 100$$

피부에서 melanin 색소는 tyrosine이 tyrosinase에 의한 작용에 의하여 최종적으로 melanin 생합성에 이르는 경로로 생성된다.

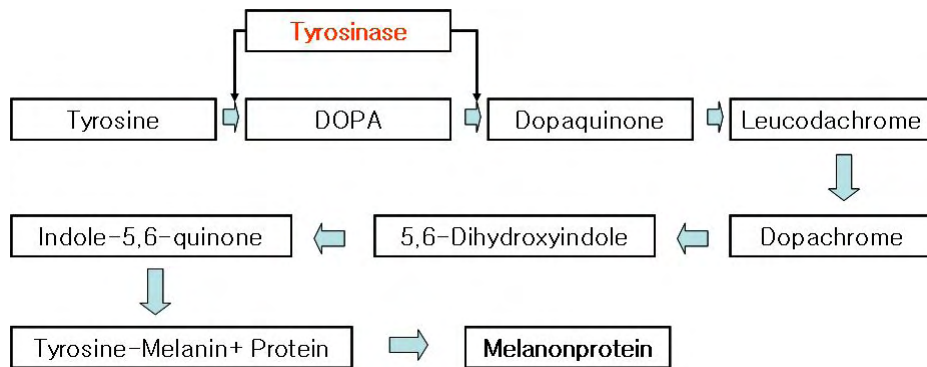


Fig. 2. Biosynthetic pathway of melanin from tyrosine

선발된 천연색소의 tyrosinase 활성억제 효과를 보면, 뽕잎에서 가장 높게 나타났고, 다음으로 적양배추, 포도과피, 파프리카, 흑미 등에서 상대적으로 높은 활성을 보였으며 양파껍질, 치자황 등에서는 거의 활성이 나타나지 않았다.

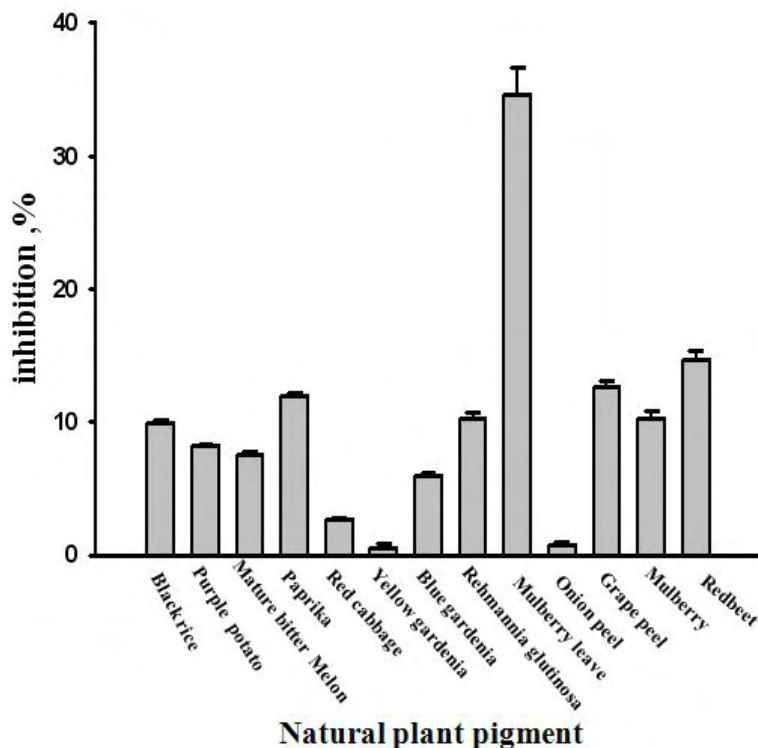


Fig. 3. Tyrosinase inhibition activities of natural plant pigment

3. 소재의 항균활성 및 안정성 검증

가. 천연색소 추출물의 항균활성 검증

항균활성 검증은 한천배지확산법(disk agar plate diffusion method)으로 측정한다. 즉, 각 시험미생물에 적합한 배지에 10^7 CFU/mL 농도로 시험미생물을 배양한 soft agar를 petri dish에 분주한 후 paper disc를 올려놓고 시료 추출물 40 μ L씩 분

주 후 배양하여 저해환의 생성을 관찰하였다. 24시간 이내에 저해환이 생성된 경우 항균활성이 양성인 것으로 판정하였으며, 저해환의 직경을 측정, 비교하였다.

Table 11. List of strains and cultivation conditions used for screening of antimicrobial activity test

Strains	Cultivarion conditions
Gram positive bacteria	
<i>Bacillus subtilis</i> (KCCM 11316)	30°C, Nutrient Agar
<i>Micrococcus luteus</i> (KCCM 11326)	30°C, Trypticase Soy Agar
Gram negative bacteria	
<i>Salmonella typhimurium</i> (KCCM 40253)	30°C, Medium 211
<i>Escherichia coli</i> (KCCM 11234)	37°C, Trypticase Soy Agar
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (KCCM 11965)	37°C, Nutrient Agar with 3% NaCl
<i>Proteus mirabilis</i> (KCCM 40888)	37°C, Nutrient Agar

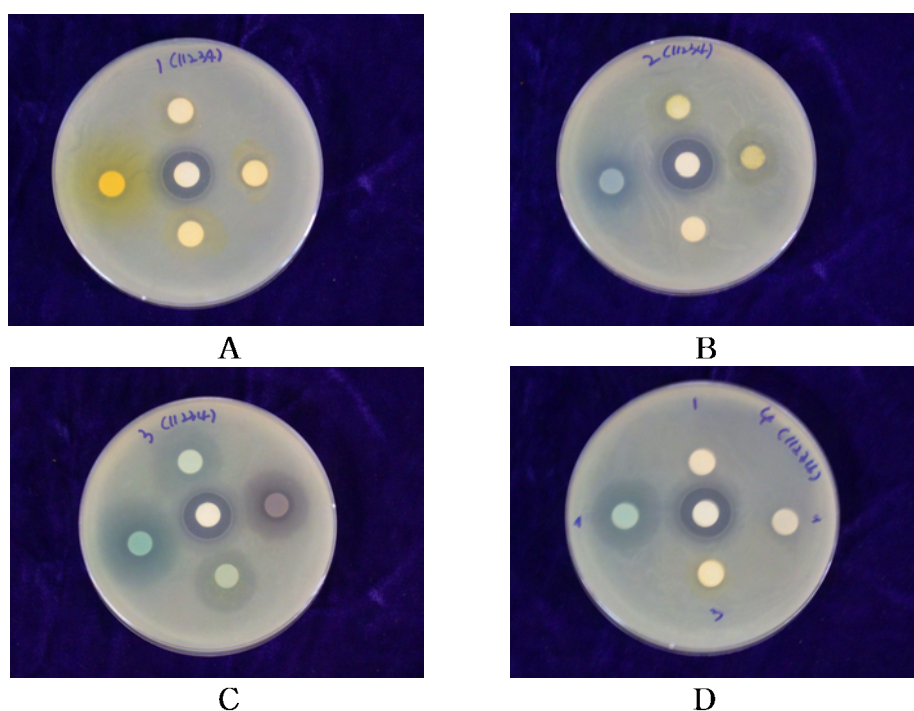


Fig. 4. Inhibition activity of the natural plant pigmemt against the microorganism (*Escherichia coli*) in paper disc diffusion assay.

- A: mature bitter melon, paprika, *Rehmannia glutinosa*, yellow gardenia
 B: immature bitter melon, mulberry leaf, onion peel, blue gardenia
 C: purple sweet potato, mulberry, grape peel, red cabbage
 D: redbeet, black rice, mature bitter melon, purple potato
 (in a clockwise direction)

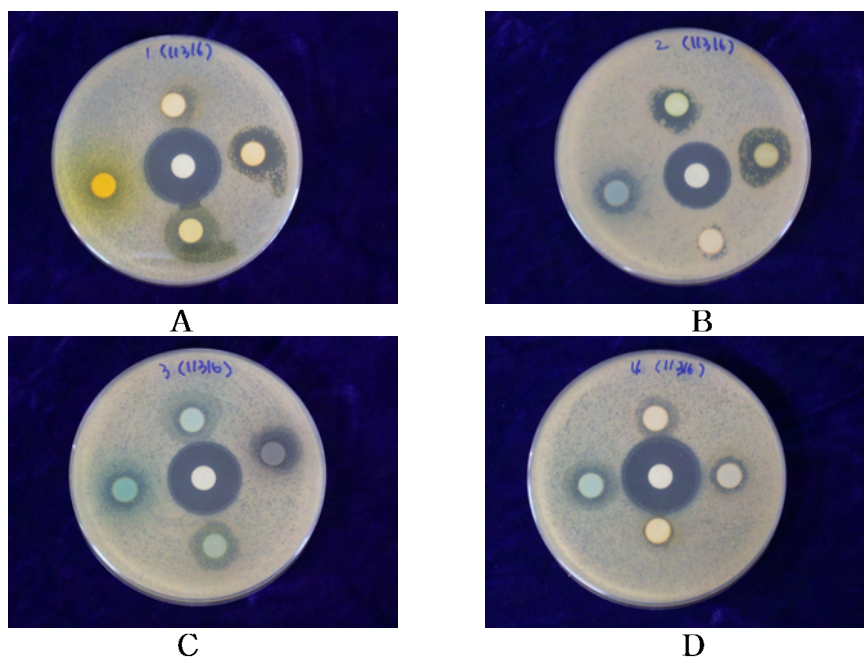


Fig. 5. Inhibition activity of the natural plant pigment against the microorganism (*Bacillus subtilis*) in paper disc diffusion assay.

- A: mature bitter melon, paprika, *Rehmannia glutinosa*, yellow gardenia
 B: immature bitter melon, mulberry leave, onion peel, blue gardenia
 C: purple sweet potato, mulberry, grape peel, red cabbage
 D: redbeet, black rice, mature bitter melon, purple potato
 (in a clockwise direction)

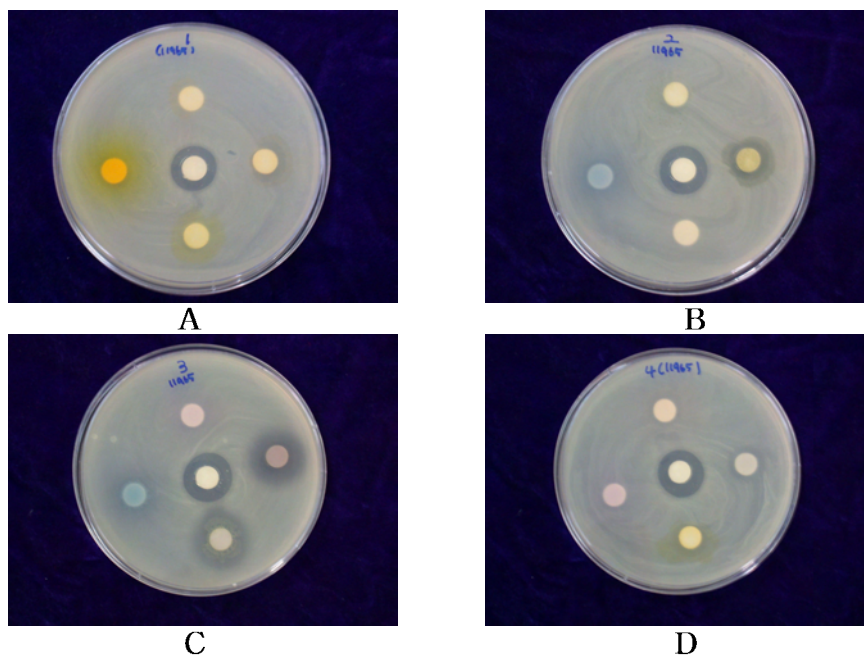


Fig. 6. Inhibition activity of the natural plant pigment against the microorganism (*Vibrio parahaemolyticus*) in paper disc diffusion assay.

- A: mature bitter melon, paprika, *Rehmannia glutinosa*, yellow gardenia
 B: immature bitter melon, mulberry leave, onion peel, blue gardenia
 C: purple sweet potato, mulberry, grape peel, red cabbage
 D: redbeet, black rice, mature bitter melon, purple potato
 (in a clockwise direction)

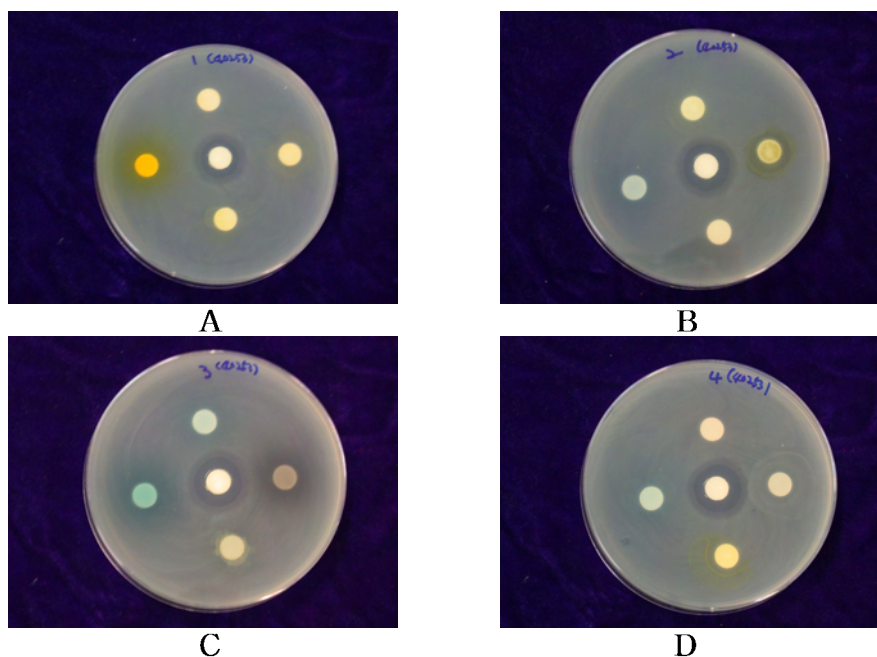


Fig. 7. Inhibition activity of the natural plant pigment against the microorganism (*Salmonella typhimurium*) in paper disc diffusion assay.

- A: mature bitter melon, paprika, *Rehmannia glutinosa*, yellow gardenia
 B: immature bitter melon, mulberry leave, onion peel, blue gardenia
 C: purple sweet potato, mulberry, grape peel, red cabbage
 D: redbeet, black rice, mature bitter melon, purple potato
 (in a clockwise direction)

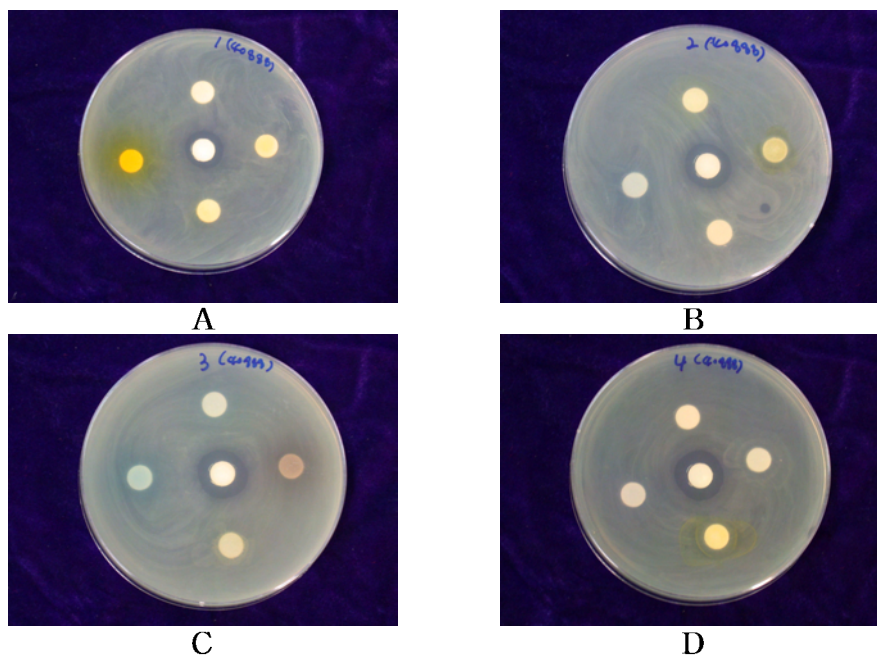


Fig. 8. Inhibition activity of the natural plant pigment against the microorganism (*Proteus mirabilis*) in paper disc diffusion assay.

- A: mature bitter melon, paprika, *Rehmannia glutinosa*, yellow gardenia
 B: immature bitter melon, mulberry leave, onion peel, blue gardenia
 C: purple sweet potato, mulberry, grape peel, red cabbage
 D: redbeet, black rice, mature bitter melon, purple potato
 (in a clockwise direction)

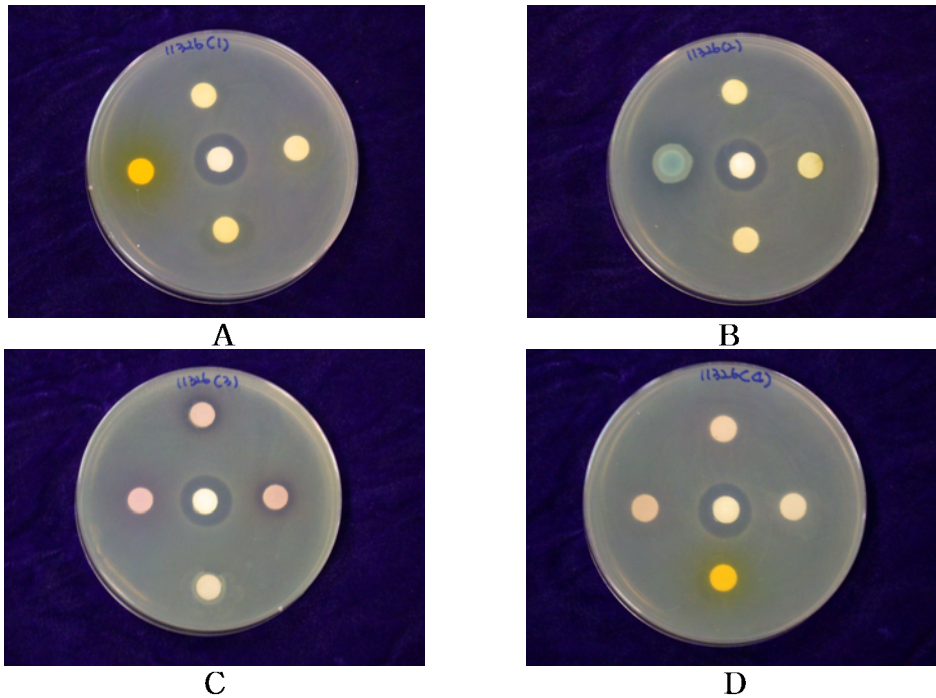


Fig. 9. Inhibition activity of the natural plant pigment against the microorganism (*Micrococcus luteus*) in paper disc diffusion assay.

- A: mature bitter melon, paprika, *Rehmannia glutinosa*, yellow gardenia
 B: immature bitter melon, mulberry leave, onion peel, blue gardenia
 C: purple sweet potato, mulberry, grape peel, red cabbage
 D: redbeet, black rice, mature bitter melon, purple potato
 (in a clockwise direction)

13종의 천연색소 추출물에 대하여 agar diffusion test를 이용한 항균활성을 검색한 결과, Gram 양성균인 *Bacillus subtilis* 및 *Micrococcus luteus*와 Gram 음성균인 *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Proteus mirabilis* 등에 대하여 대부분의 천연색소에서 저해환을 형성하였으며, 특히 자색고구마, 오디, 뽕잎, 포도과피, 지황 등에서 높은 항균활성을 나타냈다.

나. 천연색소의 특성 및 안정성 검증

(1) 분말색소 및 색소 추출액 조제

본 연구는 립케어 천연제품 개발이 목적이기 때문에, 모든 시료는 동결건조하여 미세하게 분말화하여 사용하였으며, 추출용매도 유기용매를 사용하지 않고 물로 용해하도록 하였다. 일부 난용성인 시료는 자석교반기 및 Sonicator를 이용하여 최대한 용해되도록 하고, 침전물은 최소화하였다.

(2) 천연색소의 분광학적 특성

동결건조하여 분말화한 시료 10g에 200ml의 물을 넣고 진탕하면서 상온에서 반복 추출한 다음, Whatman No. 1로 여과하였다. 이렇게 여과한 색소 추출액을 syringe와 syringe filter (Nylon 66 syringe filter 13mm, 0.45 μ m)를 이용하여 다시

여과한 다음 각 색소의 흡수 파장에 대한 흡광도의 변화를 분광광도계 (Libra S22 UV-VIS, Biochem, England)를 사용하여 측정하였다.

(가) pH의 영향

각 색소의 안정성에 대한 pH의 영향을 조사하기 위하여 완충용액을 사용하여 pH를 1.0~7.0으로 조절하였다. pH 1.0과 2.0은 Clark-Lubs 완충용액 (0.2M KCl + 0.2M HCl)을, pH 3.0~7.0까지는 MacIlvaine 완충용액 (0.1M citric acid + 0.2M Na₂HPO₂)을 사용하였다. 색소액을 각각의 pH용액으로 10배 희석하여 cap test tube에 40mL씩 넣고 밀봉한 후 상온에 15일간 보관하면서 3일 간격으로 샘플을 취하여 spectrophotometer를 사용하여 흡광도 변화를 측정하였다. 이 때 흡광도는 각 pH로 조절된 색소용액의 최대흡광도를 나타내는 파장에서 측정하였다.

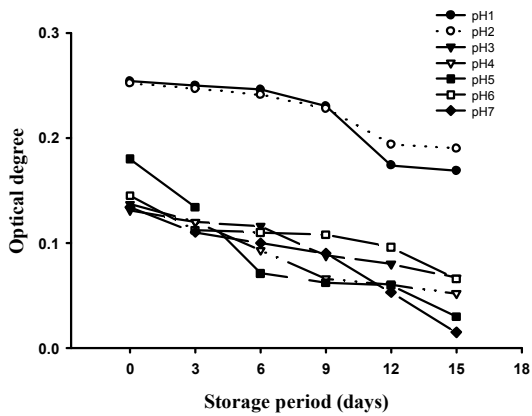


Fig. 10. Effect of pH on the stability of stability of pigment of black rice extract

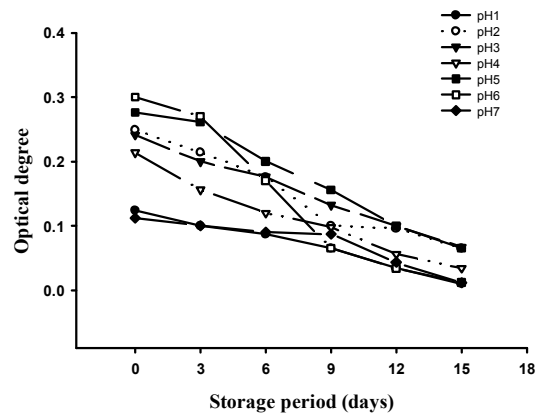


Fig. 11. Effect of pH on the pigment of grape peel extract

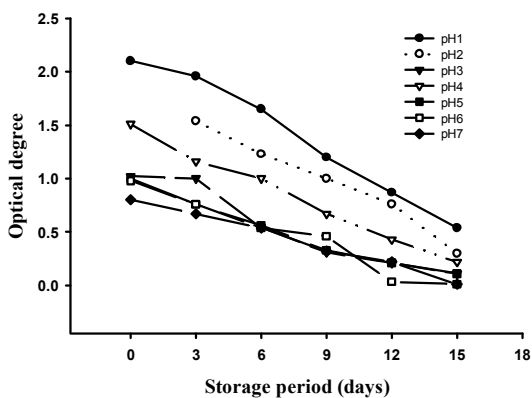


Fig. 12. Effect of pH on the stability of pigment of redbeet extract

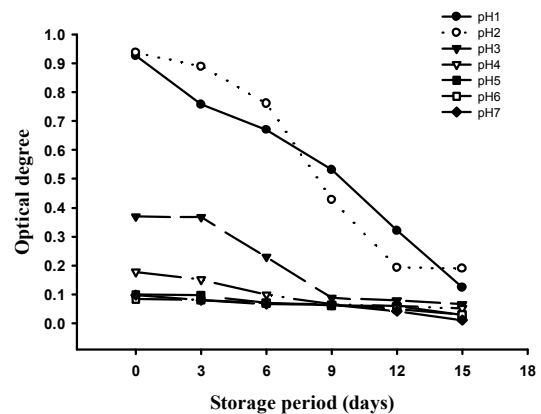


Fig. 13. Effect of pH on the stability of pigment of red cabbage extract

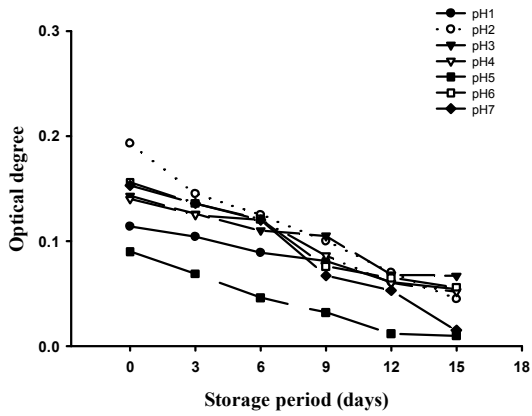


Fig. 14. Effect of pH on the stability of pigment of mulberry extract

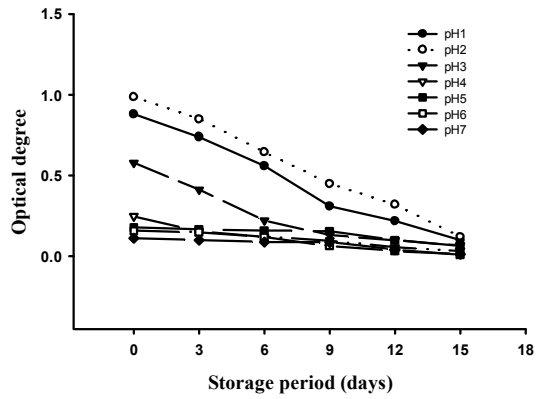


Fig. 15. Effect of pH on the stability of pigment of purple sweet potato extract

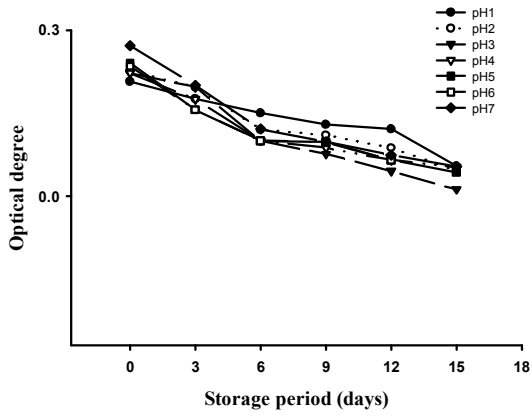


Fig. 16. Effect of pH on the stability of pigment of paprika extract

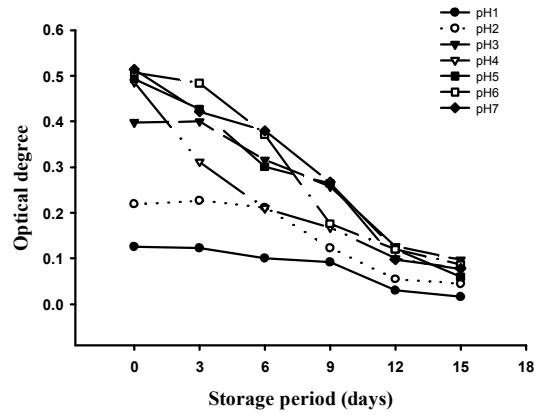


Fig. 17. Effect of pH on the stability of pigment of *Rehmannia glutinosa* extract

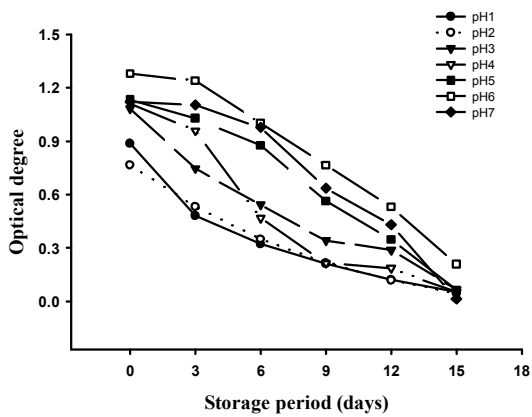


Fig. 18. Effect of pH on the stability of pigment of yellow gardenia extract

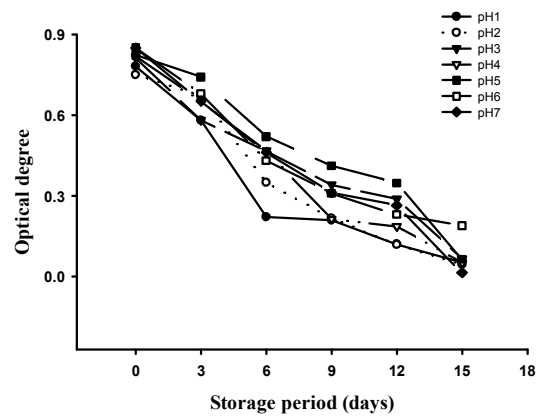


Fig. 19. Effect of pH on the stability of pigment of blue gardenia extract

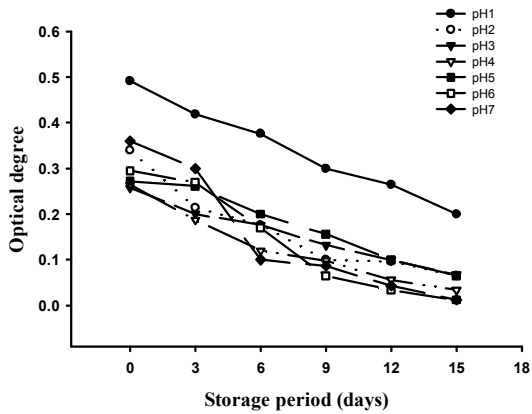


Fig. 20. Effect of pH on the stability of pigment of onion peel extract

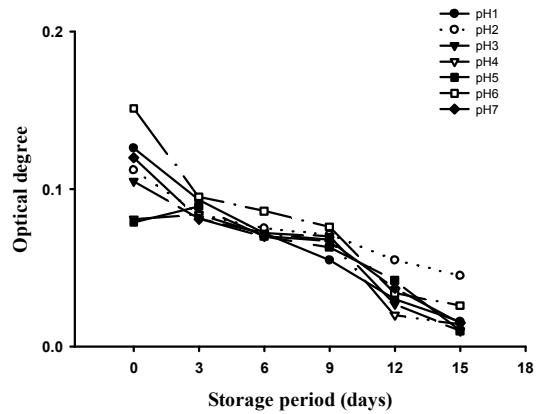


Fig. 21. Effect of pH on the stability of pigment of mature bitter melon extract

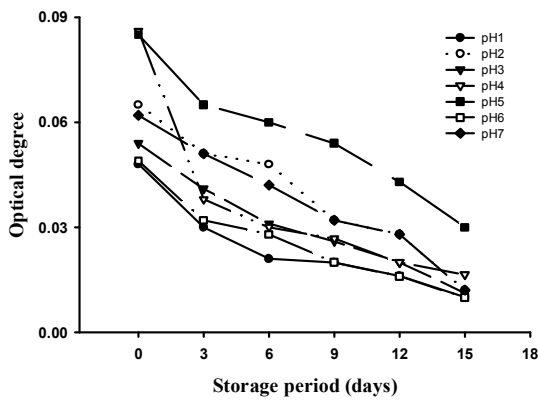


Fig. 22. Effect of pH on the stability of pigment of mulberry leave extract

천연색소는 pH에 따라 분자구조가 변하면서 색이 변하는 것이 많다. 특히 안토시아닌계 색소는 pH에 따라 적색에서 자색, 암청색으로 변하며, 카로티노이드계 색소는 pH에는 크게 변하지는 않지만 알카리에서는 불안정화한다. 본 실험에 공시한 모든 색소에서도 시일이 경과할수록 pH의 변화에 따라 각 색소의 최대 흡수파장영역에서 경시적으로 흡광도의 변화를 관찰할 수 있었다. 즉, pH로 조절된 색소용액의 색의 강도는 pH가 증가할수록 낮아지는 경향을 보였다. 이는 천연색소 종류에 따라 pH 요인이 색소의 안정성을 결정하는 중요한 요소가 됨을 나타내는 것이다.

아래 사진(pH 1과 pH 7만 제시)은 각 pH별 시일이 경과함에 따라 색소의 변화양상을 나타내는 것으로 흡광도가 경시적으로 변화하는 결과에서와 같이 외관적인 색상변화 양상도 pH에 따라 크게 달라지는 것을 알 수 있다.

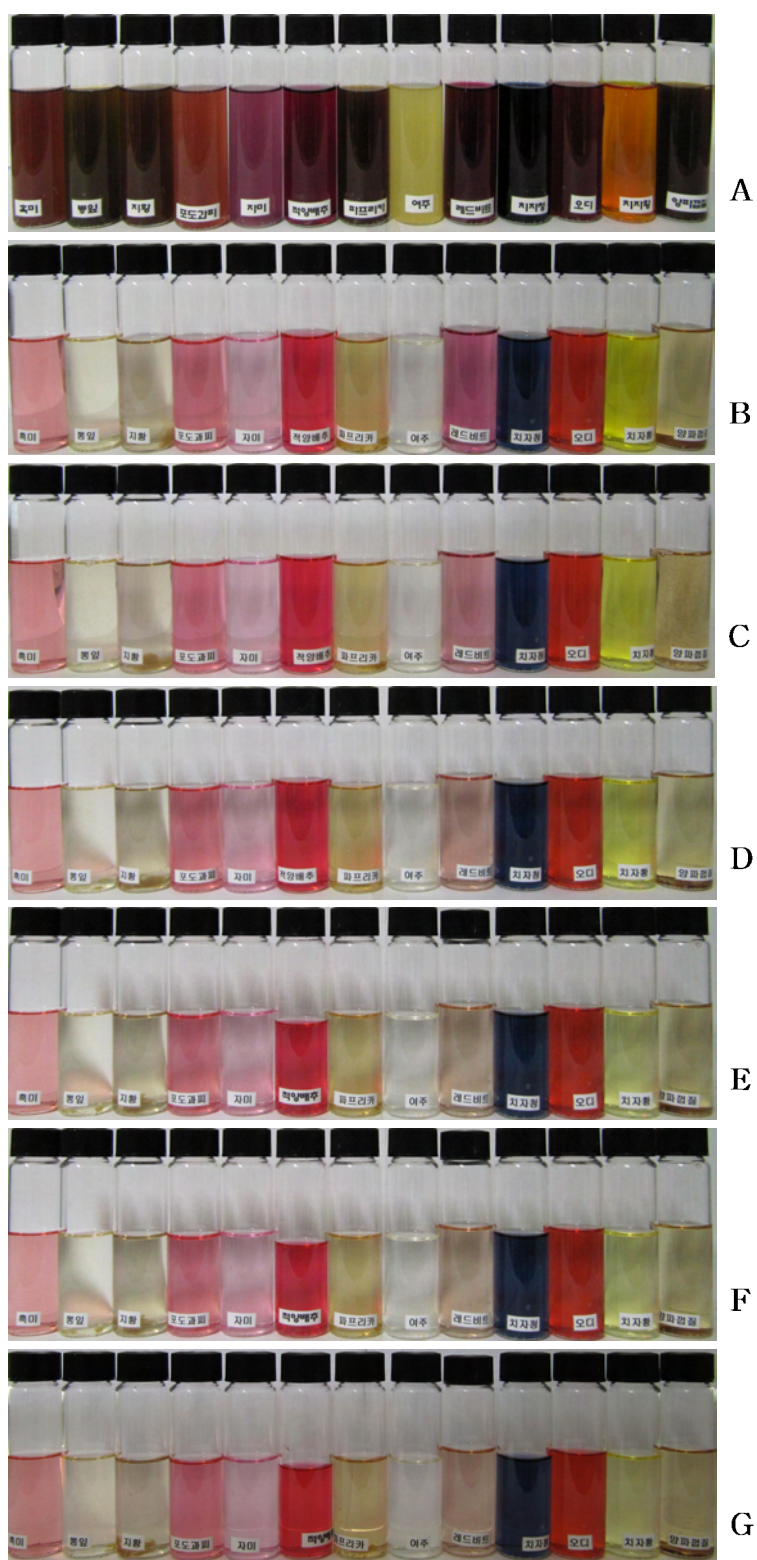


Fig. 23. Change of coloring of natural plant pigment as affected by storage period at pH 1

A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

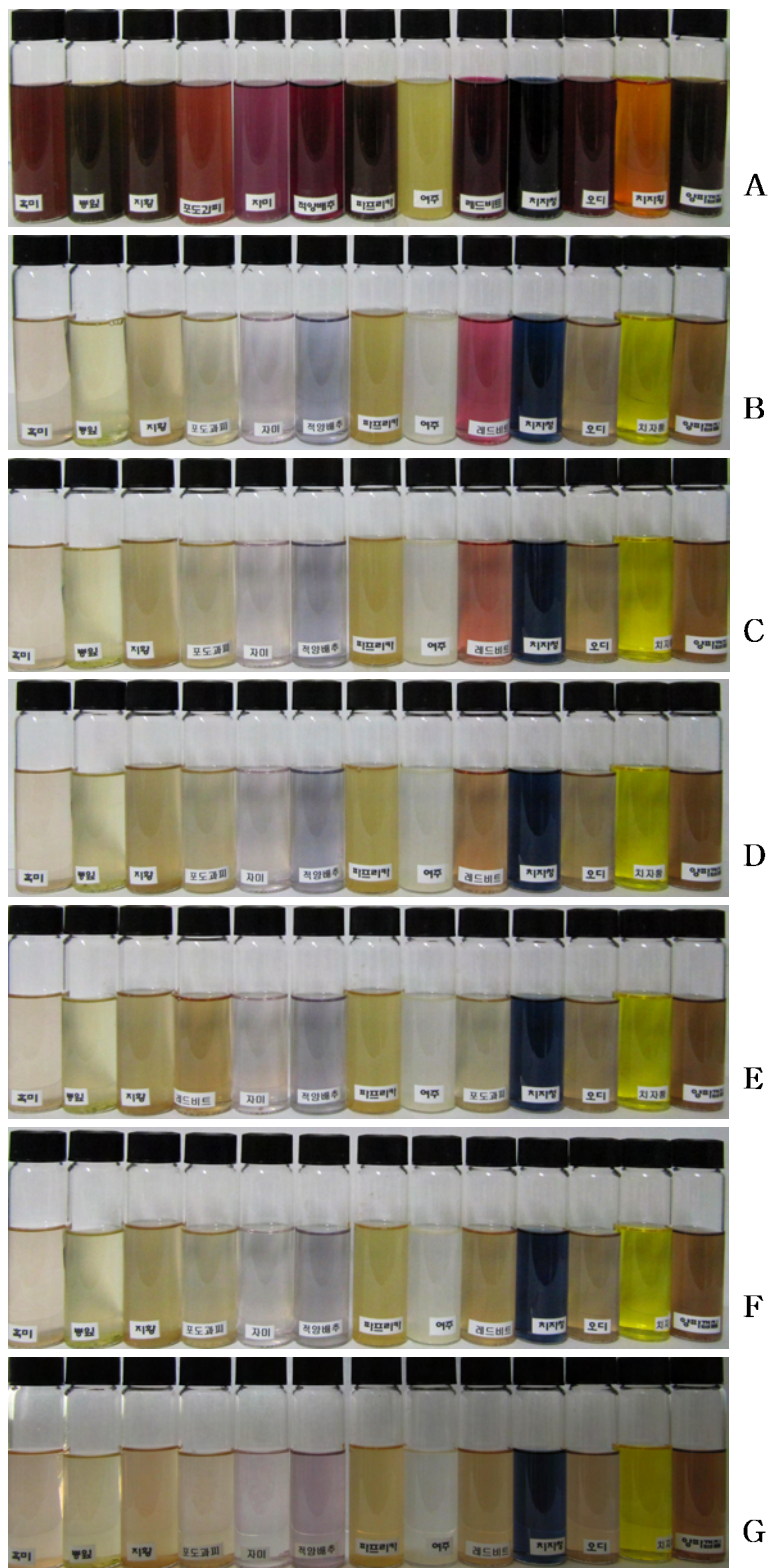


Fig. 24. Change of coloring of natural plant pigment as affected by storage period at pH 7

A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

(나) 유기산의 영향

각 색소의 유기산에 대한 안정성을 조사하기 위해 malonic acid, malic acid, tartaric acid, citric acid, succinic acid 등 5종의 유기산을 사용하였다. 먼저 pH 2.0의 완충용액을 사용하여 5배로 희석하여 제조한 색소액에 유기산 농도가 1M이 되도록 각각의 유기산을 첨가한 후 cap test tube에 40mL씩 넣고 밀봉한 후 상온에 15일간 보관하면서 3일 간격으로 샘플을 취하여 spectrophotometer를 사용하여 흡광도 변화를 측정하였다.

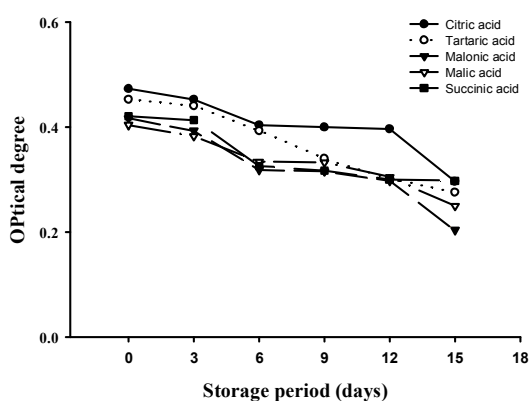


Fig. 25. Effect of organic acid on the stability of pigment of black rice extract

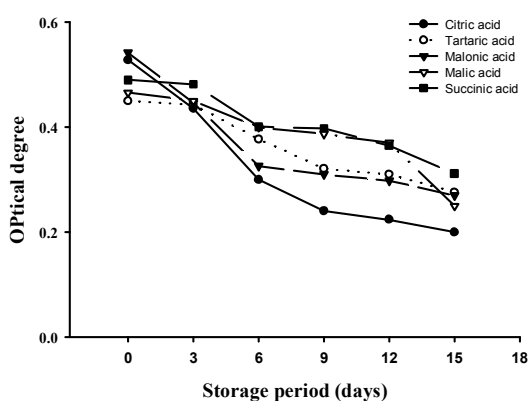


Fig. 26. Effect of organic acid on the stability of pigment of grape peel extract

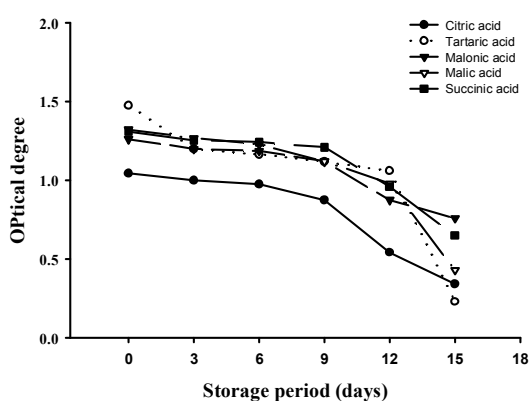


Fig. 27. Effect of organic acid on the stability of pigment of redbeet extract

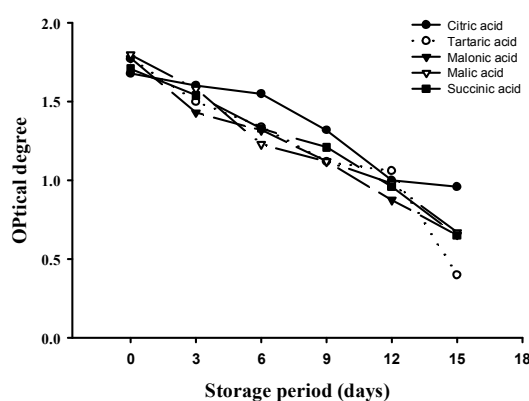


Fig. 28. Effect of organic acid on the stability of pigment of red cabbage extract

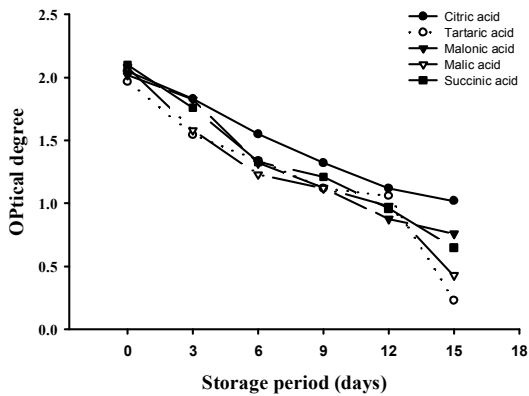


Fig. 29. Effect of organic acid on the stability of pigment of mulberry extract

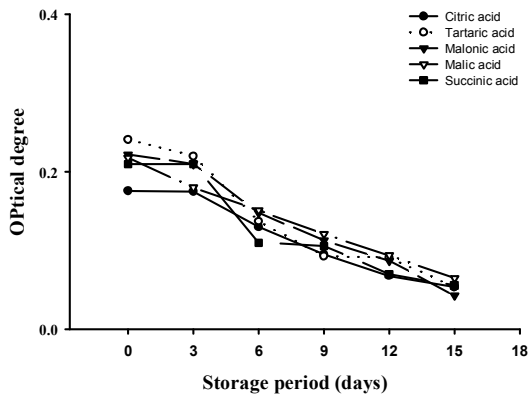


Fig. 30. Effect of organic acid on the stability of pigment of sweet potato extract

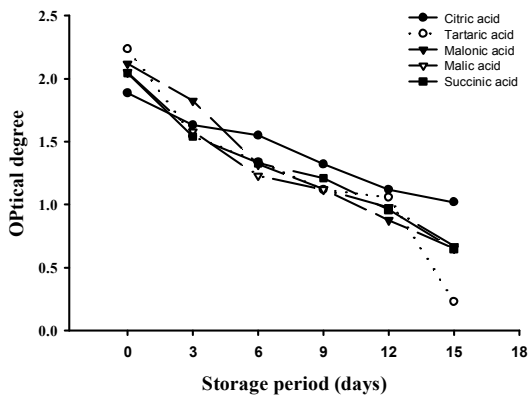


Fig. 31. Effect of organic acid on the stability of pigment of yellow gardenia extract

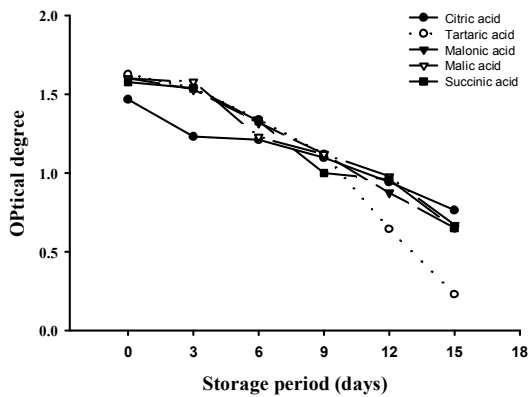


Fig. 32. Effect of organic acid on the stability of pigment of blue gardenia extract

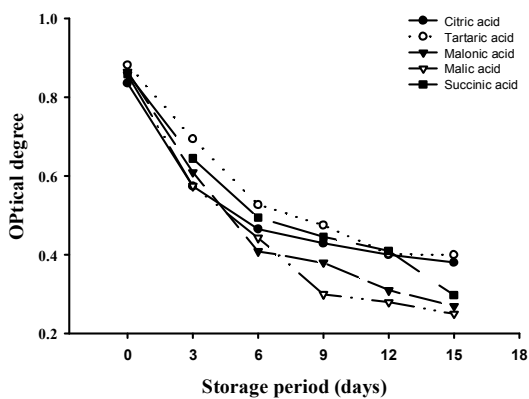


Fig. 33. Effect of organic acid on the stability of pigment of paprika extract

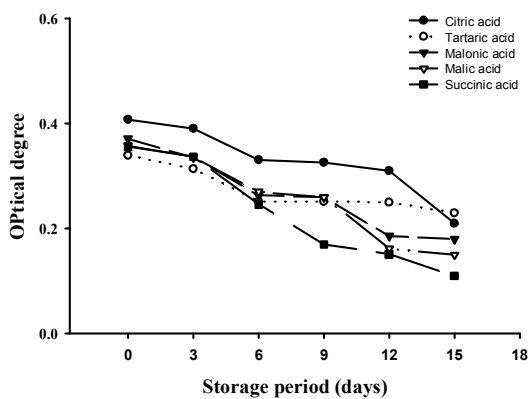


Fig. 34. Effect of organic acid on the stability of pigment of *Rehmannia glutinosa* extract

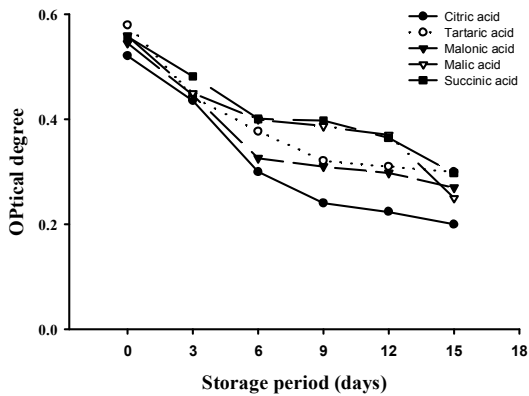


Fig. 35. Effect of organic acid on the stability of pigment of onion peel extract

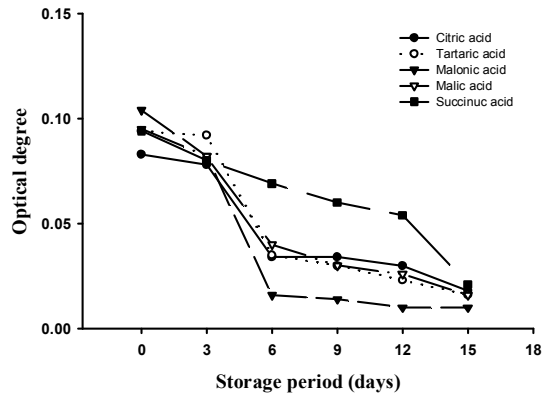


Fig. 36. Effect of organic acid on the stability of pigment of bitter melon extract

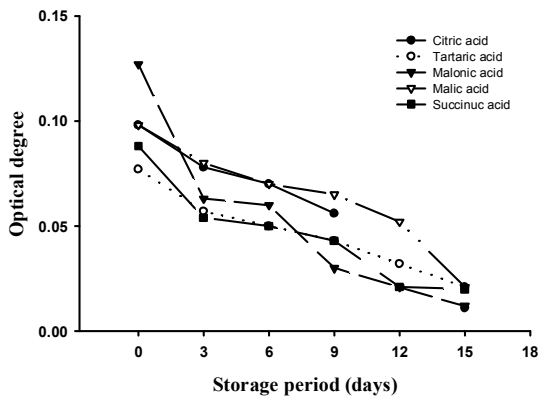


Fig. 37. Effect of organic acid on the stability of pigment of mulberry leave extract

유기산의 종류 및 저장기간에 따른 천연색소의 색깔 강도 및 안정성에 미치는 영향을 조사한 결과, 5종류의 유기산 모두 저장 시일이 경과할수록 흡광도에 다소 차이가 있었으며, 이는 색소 종류 및 유기산 종류에 따라 흡광도 변화에도 차이가 있음을 알 수 있었다. 유기산 첨가에 의해 pH가 저하되어 안토시아닌계 색소의 경우는 색상 강도가 더 증가되는 것으로 생각되지만, 10일 이상 시일이 경과하면 색상 강도가 다소 낮아지는 경향을 보였다.

아래 사진(citric acid와 succinic acid만 제시)은 각 유기산 종류별 저장기간이 경과함에 따라 색소의 변화양상을 나타내는 것으로, 시일이 경과할수록 색상이 다소 옅어지고 선명해지는 경향을 보였다.

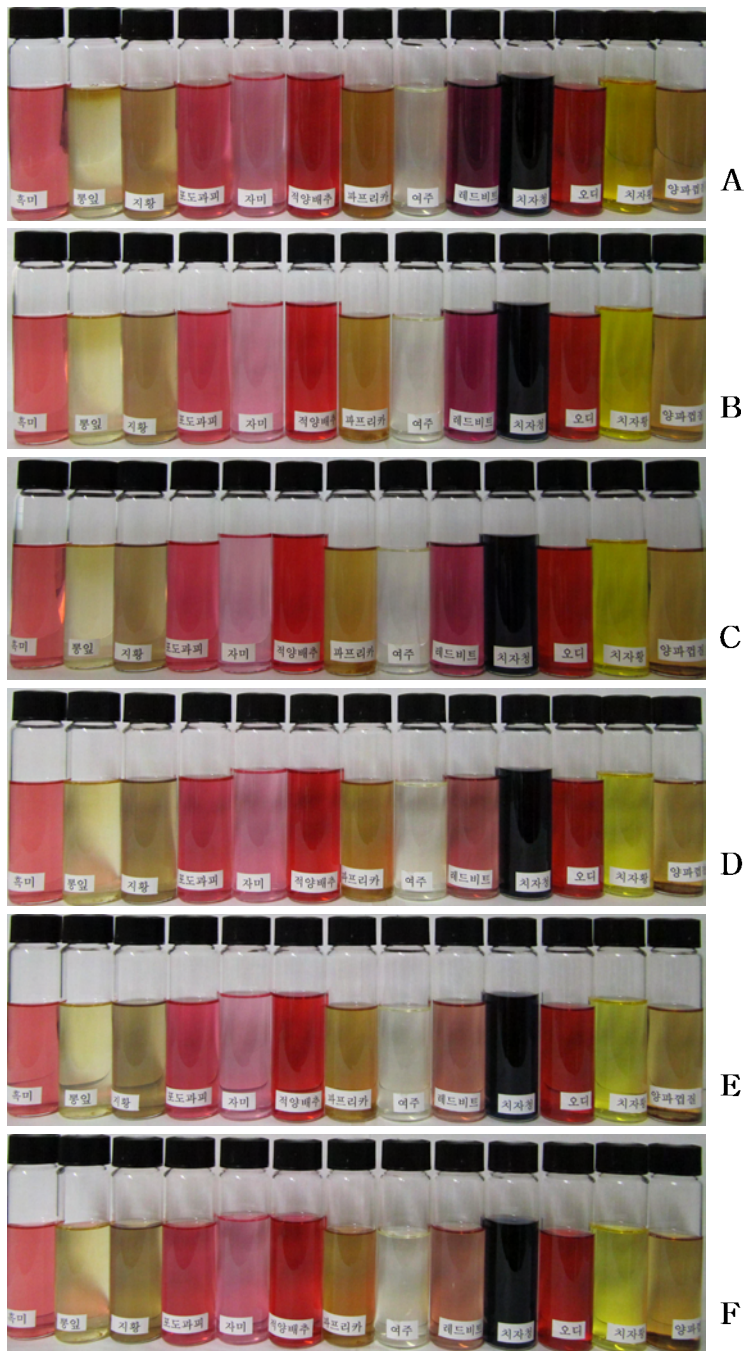


Fig. 38. Change of coloring of natural plant pigment as affected by storage period with citric acid

A: 0 days, B: 3 days, C: 6 days, D: 9 days, E: 12 days, F: 15 days

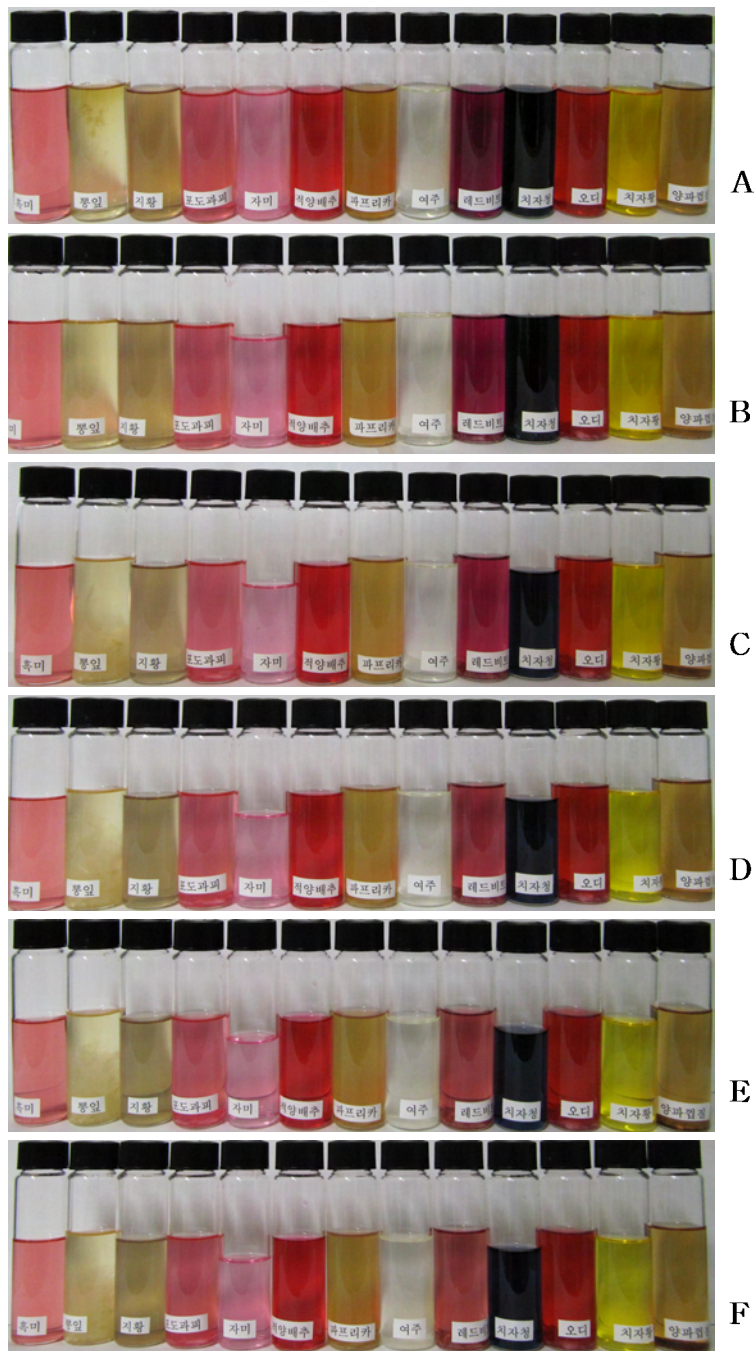


Fig. 39. Change of coloring of natural plant pigment as affected by storage period with succinic acid

A: 0 days, B: 3 days, C: 6 days, D: 9 days, E: 12 days, F: 15 days

(다) 금속이온의 영향

각 색소의 안정성에 대한 금속이온의 영향을 조사하기 위하여 금속이온으로서 $\text{Hg}^{2+}(\text{HgCl}_2)$, $\text{Ag}^{2+}(\text{AgNO}_3)$, $\text{Fe}^{2+}(\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3)$, $\text{Mn}^{2+}(\text{MnSO}_4)$, $\text{Al}^{3+}(\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3)$, $\text{Zn}^{2+}(\text{ZnSO}_4)$, $\text{Cu}^{2+}(\text{CuSO}_4)$ 등 7종의 금속염을 pH 3.0인 완충용액으로 5배 희석하여 제조한 색소액에 금속이온의 농도가 10 ppm 및 100 ppm이 되도록 각각의 금속염

을 첨가한 후 앞서와 같은 방법으로 흡광도의 변화를 5일 간격으로 경시적으로 측정하였다.

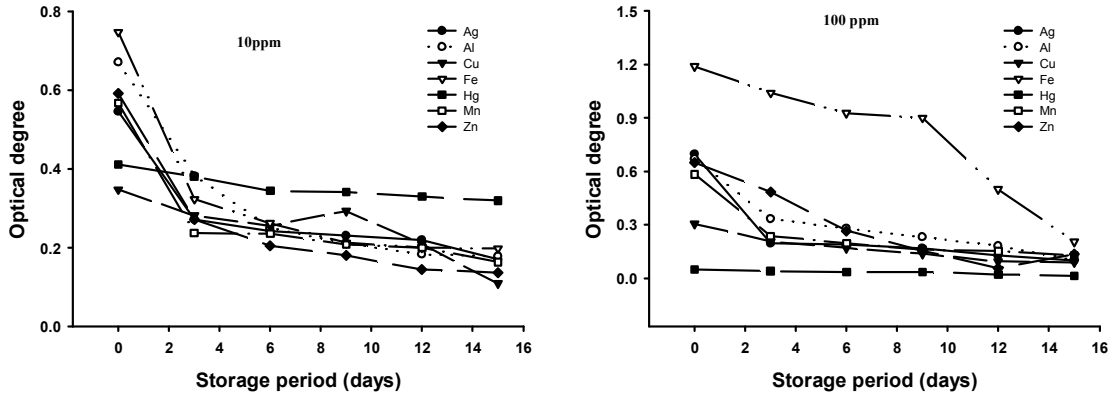


Fig. 40. Effect of metal ions on the stability of pigment of black rice extract

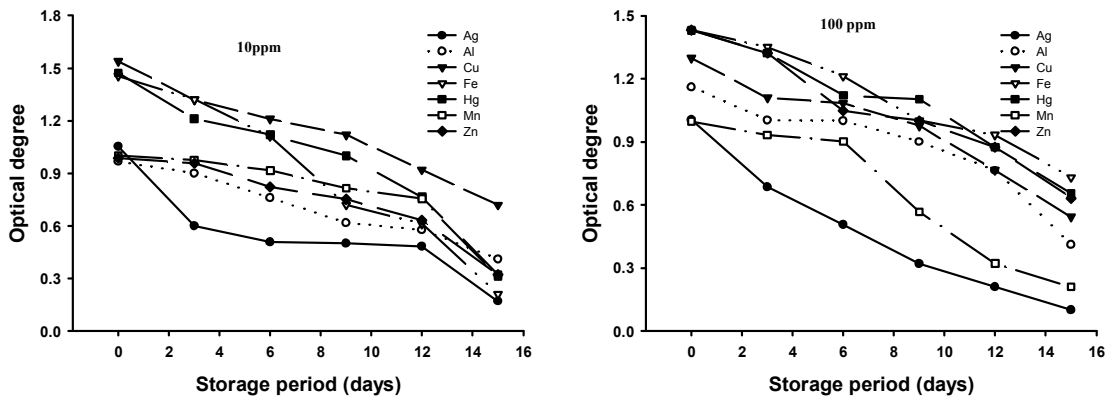


Fig. 41. Effect of metal ions on the stability of pigment of red cabbage extract

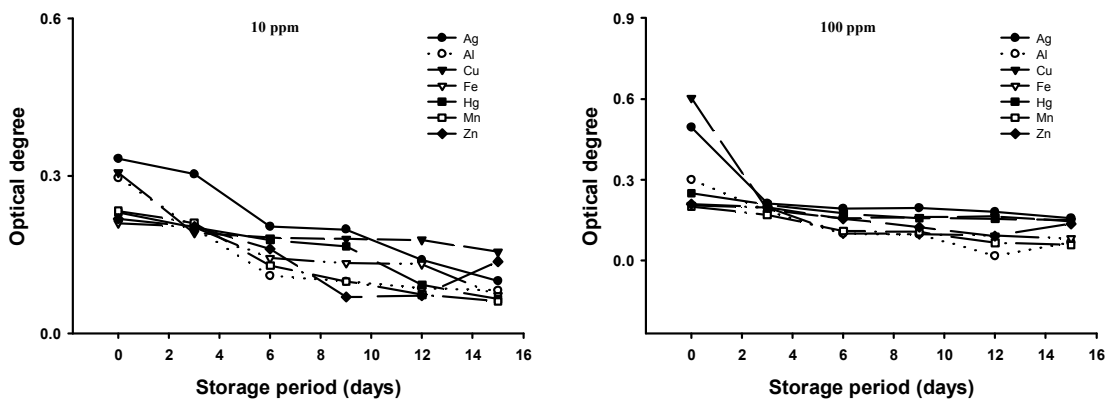


Fig. 42. Effect of metal ions on the stability of pigment of purple sweet potato extract

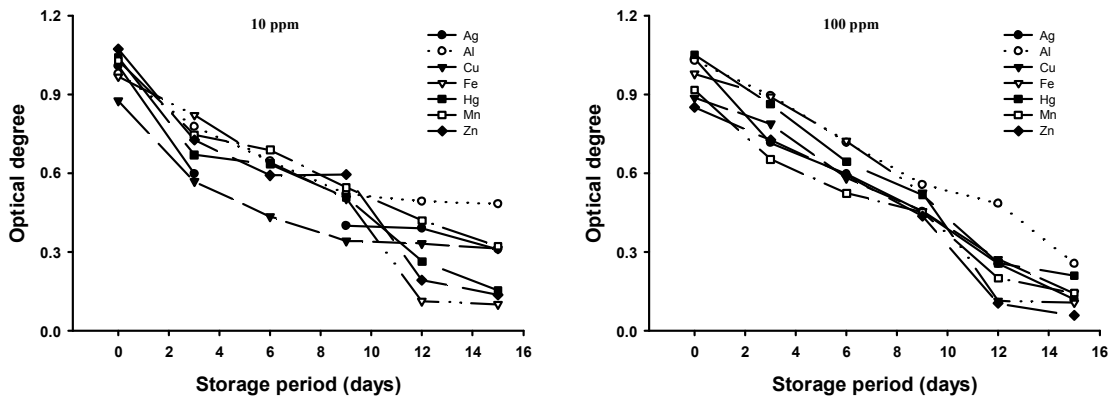


Fig. 43. Effect of metal ions on the stability of pigment of paprika extract

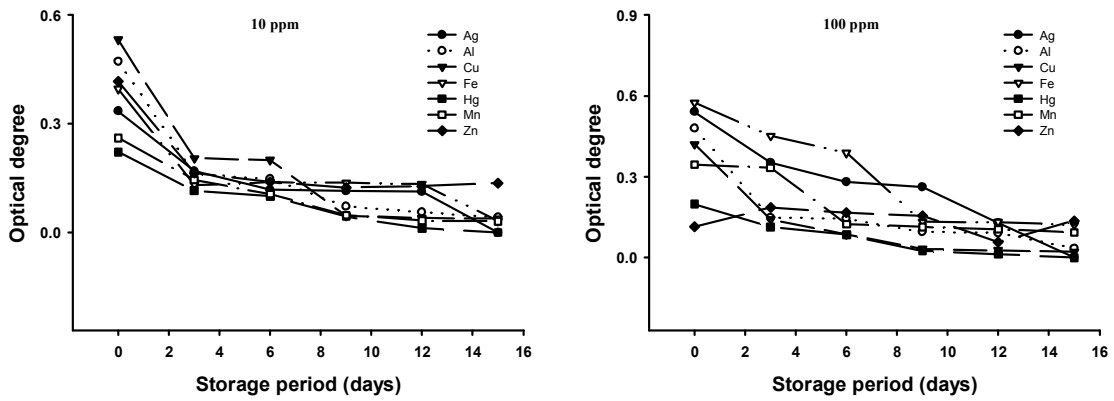


Fig. 44. Effect of metal ions on the stability of pigment of mature bitter melon extract

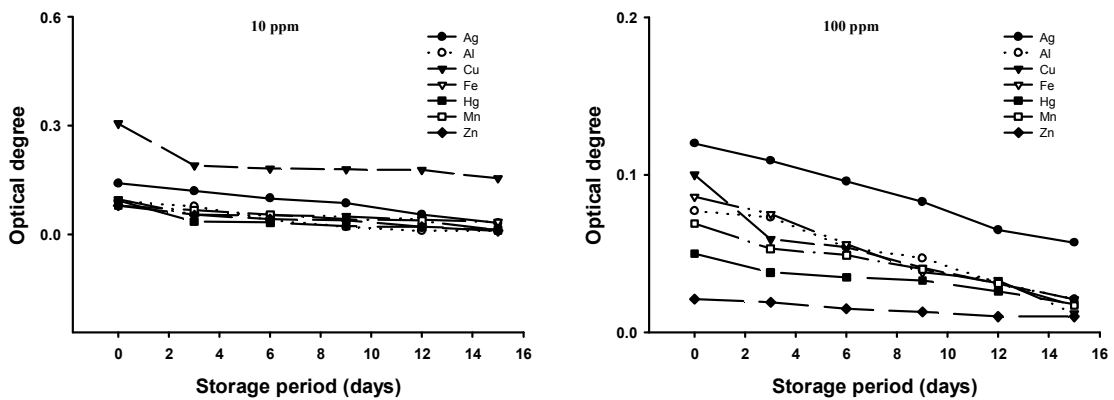


Fig. 45. Effect of metal ions on the stability of pigment of mulberry leave extract

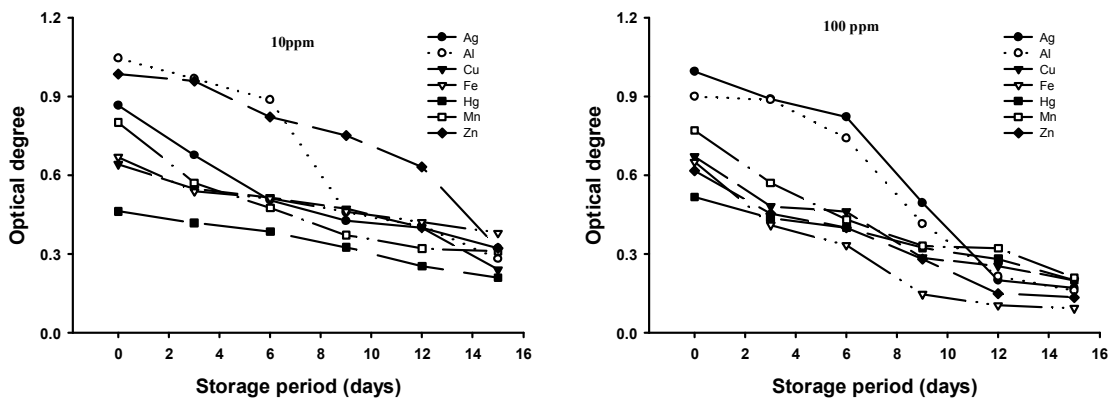


Fig. 46. Effect of metal ions on the stability of pigment of onion peel leave extract

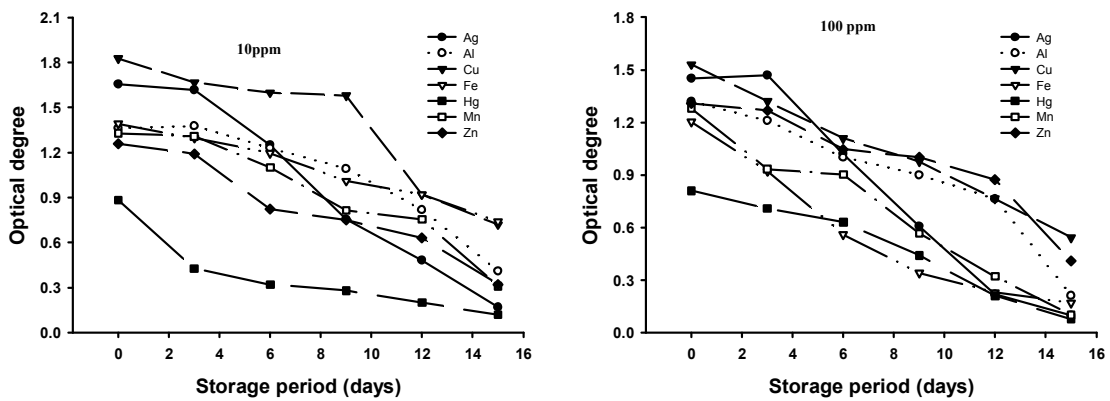


Fig. 47. Effect of metal ions on the stability of pigment of mulberry extract

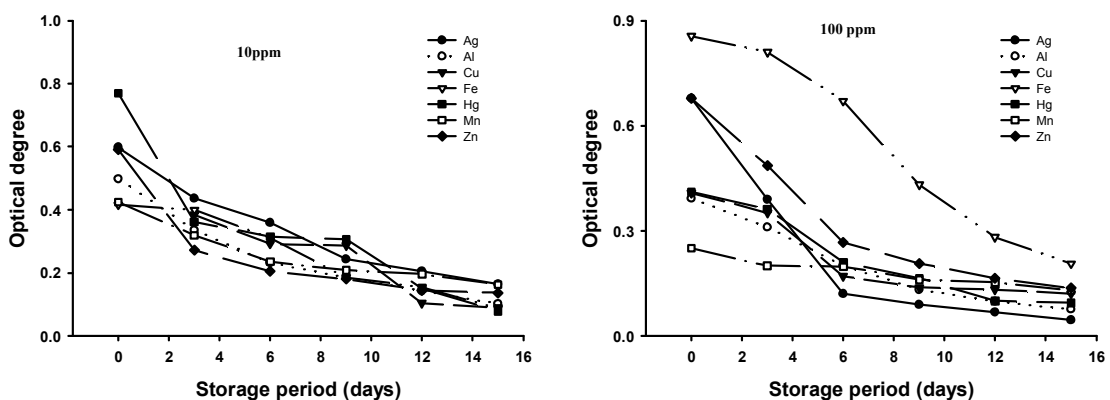


Fig. 48. Effect of metal ions on the stability of pigment of *Rehmannia glutinosa* extract

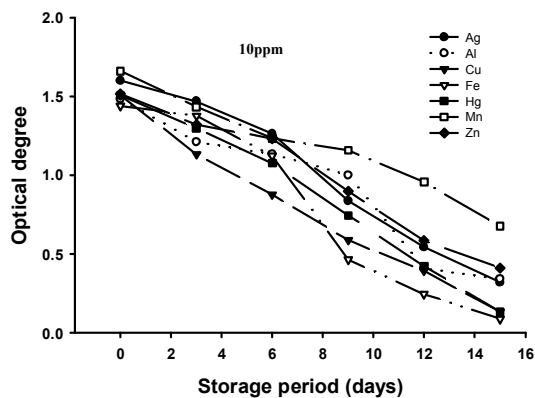
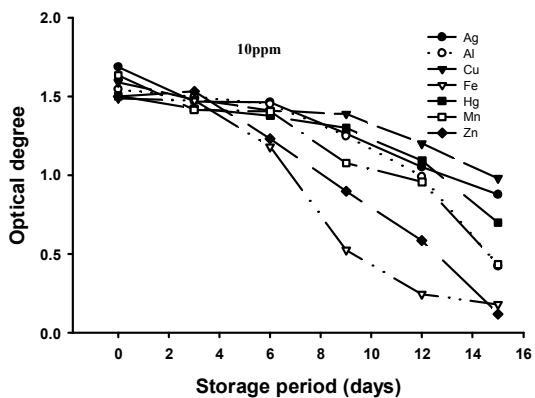


Fig. 49. Effect of metal ions on the stability of pigment of blue gardenia extract

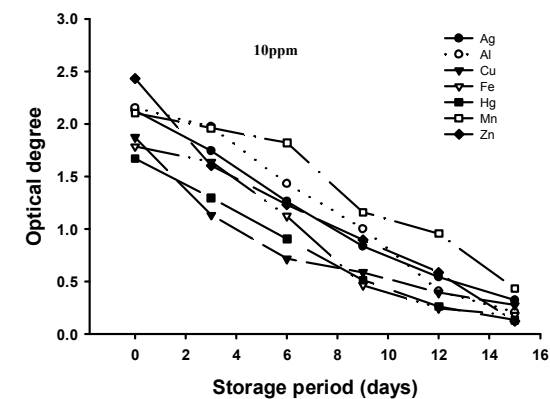
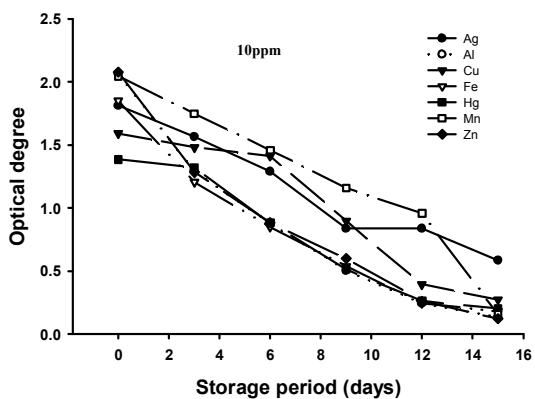


Fig. 50. Effect of metal ions on the stability of pigment of yellow gardenia extract

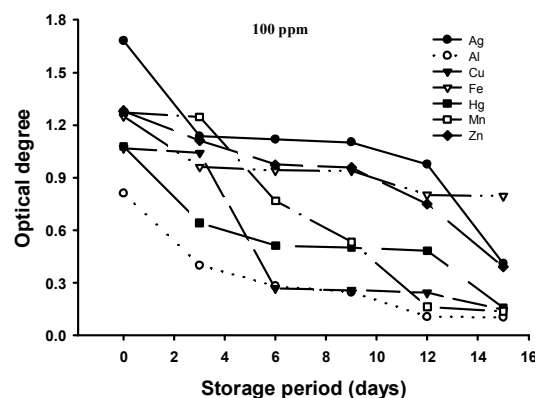
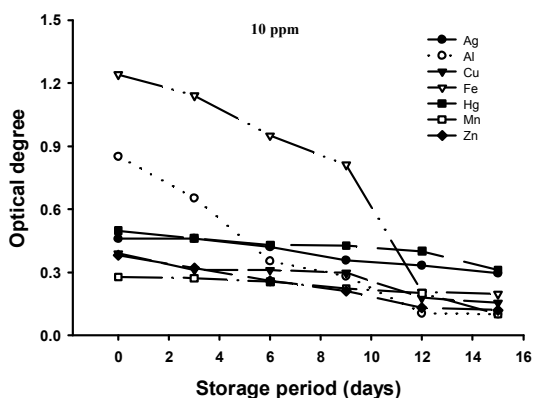


Fig. 51. Effect of metal ions on the stability of pigment of grape peel extract

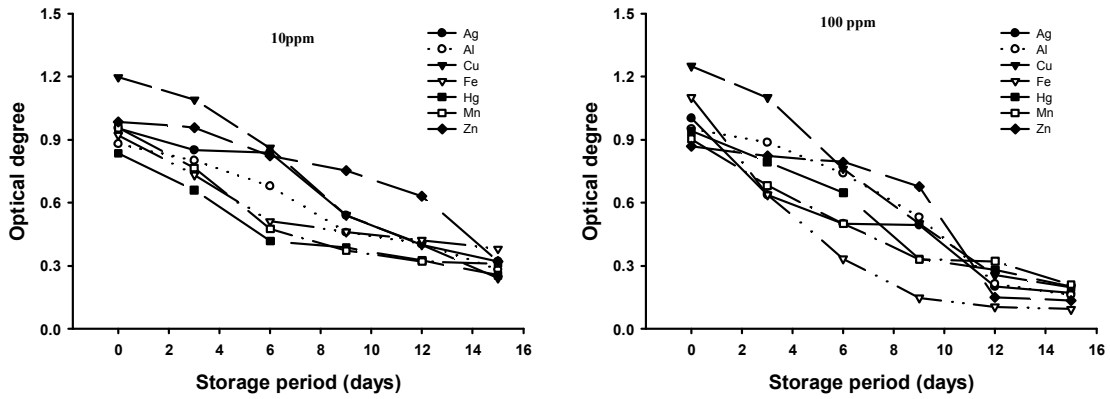


Fig. 52. Effect of metal ions on the stability of pigment of redbet extract

색소성분에 대한 금속이온의 영향으로서는 금속이온의 촉매작용으로 색소의 산화 분해가 촉진되거나 금속이온과 반응하여 착염을 형성하여 변색 불용화하게 된다. 특히 안토시아닌계 색소에서 금속이온을 함유한 성분이나 포장용기 사용시 이러한 현상이 일어날 수 있다. 본 실험에서 적용한 카로티노이드계 색소, 안토시아닌계 색소 모두 저장기간이 경과함에 따라 금속이온의 영향으로 색소의 변성을 크게 유발하지는 않았으며, 단지 Ag^{2+} 처리구에서는 소량의 침전물이 발생하는 경향을 있었다.

아래 사진(Ag^{2+} 와 Fe^{2+} 만 제시)은 저장기간이 경과함에 따라 금속이온의 영향으로 색상이 어떻게 변화하는지 외관상 관찰할 수 있는 사진으로서, 시일이 경과할수록 색상이 다소 옅어지고 선명해지는 경향을 보였다.

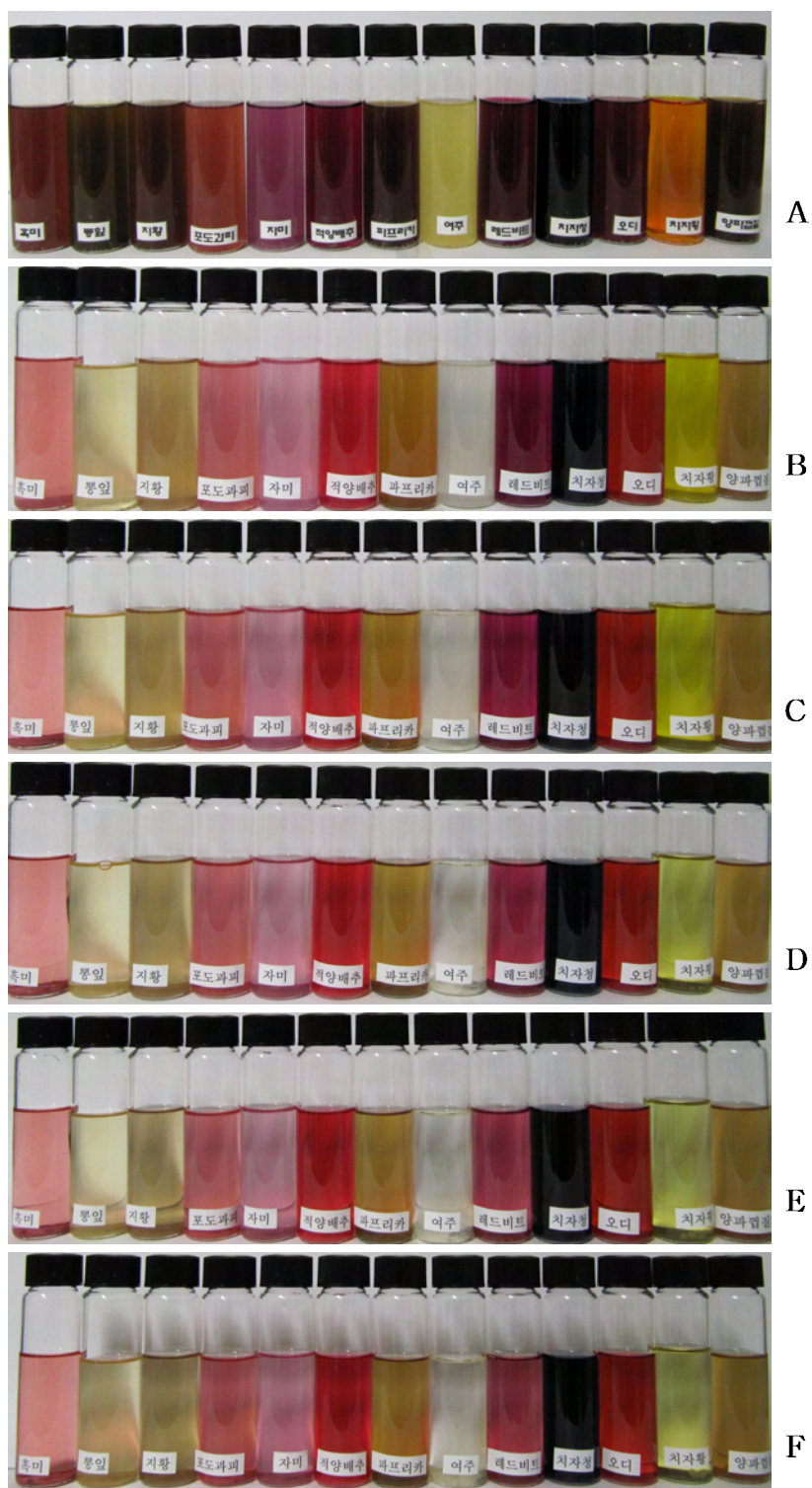


Fig. 53. Change of coloring of natural plant pigment as affected by storage period with Ag^{2+} (10ppm)

A: before treatment, B: 3 days, C: 6 days, D: 9 days, E: 12 days, F: 15 days

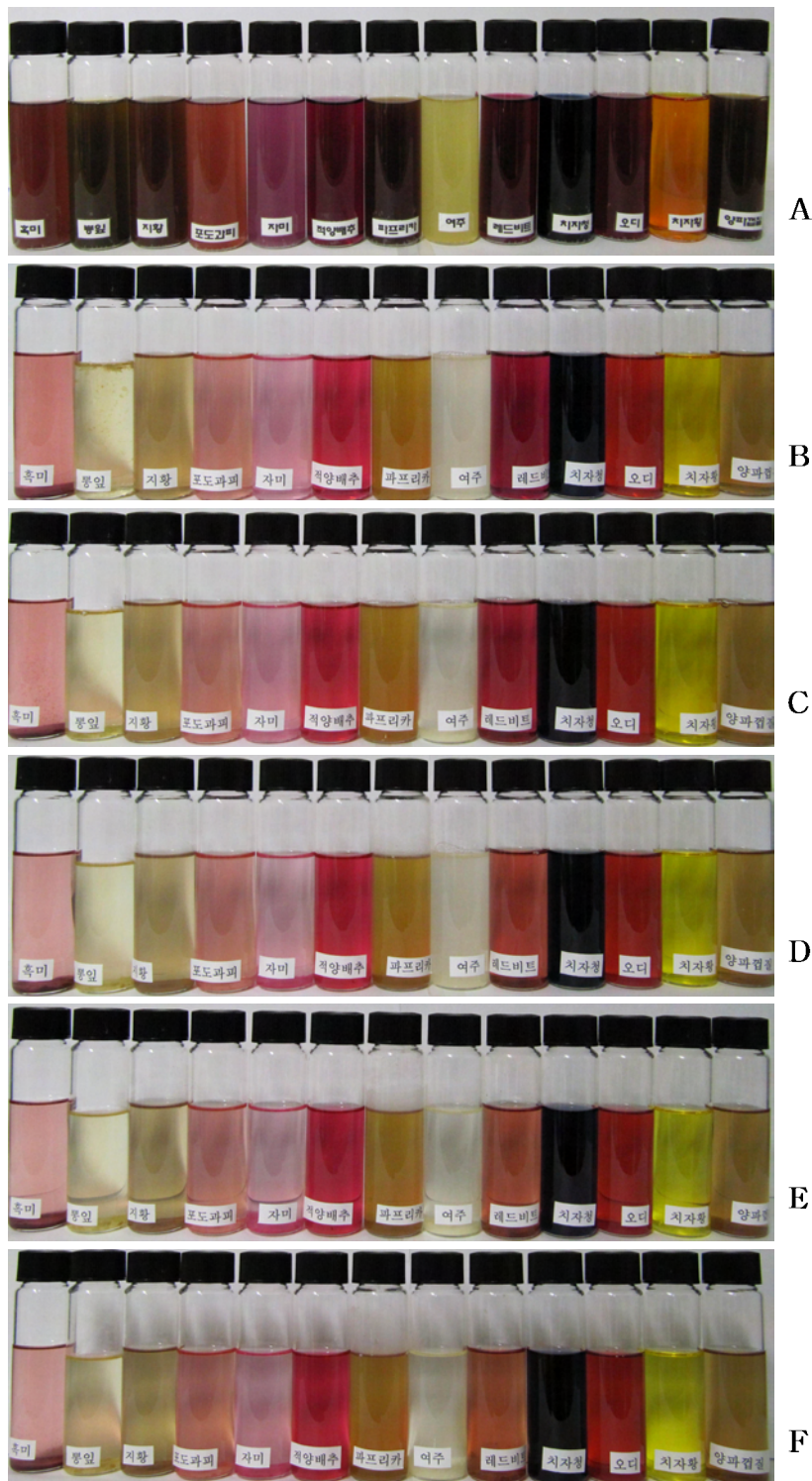


Fig. 54. Change of coloring of natural plant pigment as affected by storage period with Fe^{2+} (10ppm)

A: before treatment, B: 3 days, C: 6 days, D: 9 days, E: 12 days, F: 15 days

(라) 광의 영향

각 색소의 안정성에 대한 광의 영향을 조사하기 위하여 pH 2.0인 완충용액을 사

용하여 5배로 희석하여 제조한 색소액을 cap test tube에 40mL씩 넣고 밀봉한 후 일부는 일광 혹은 형광등에 노출시키면서 상온에 보관하였으며, 나머지 일부는 암소에 보관하면서 색소액의 경시적인 흡광도를 5일 간격으로 측정하였다.

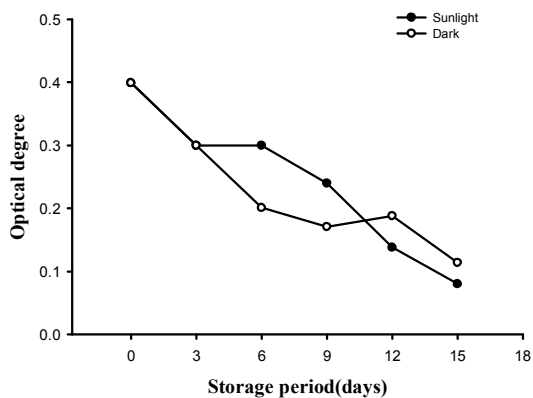


Fig. 55. Effect of lights on the stability of pigment of black rice extract

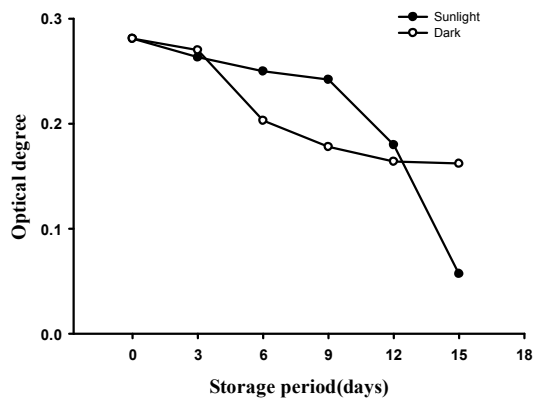


Fig. 56. Effect of lights on the stability of pigment of grape peel extract

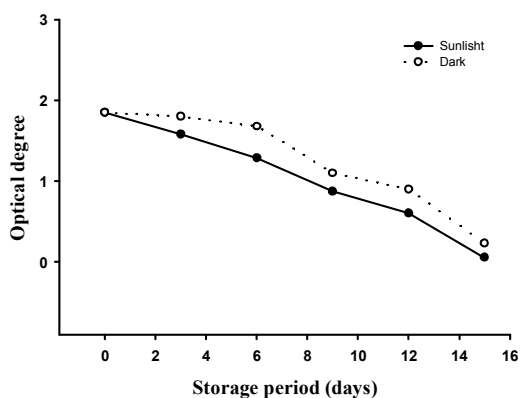


Fig. 57. Effect of lights on the stability of pigment of redbet extract

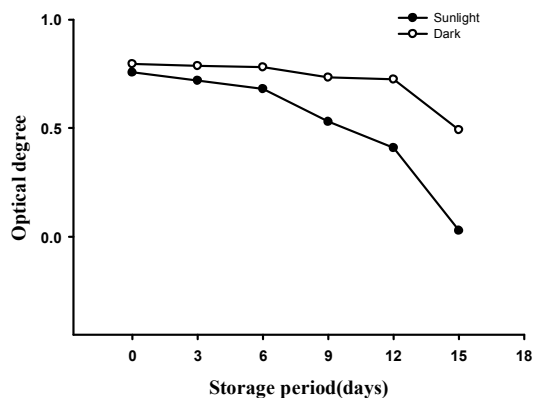


Fig. 58. Effect of lights on the stability of pigment of red cabbage extract

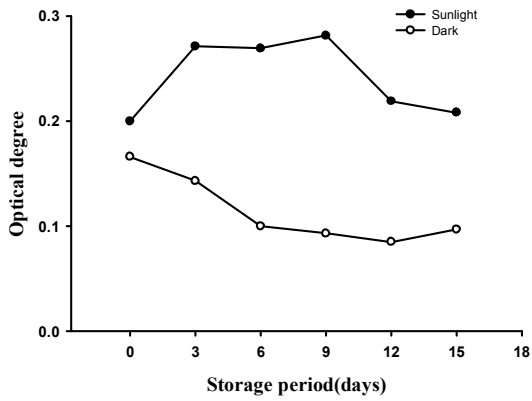


Fig. 59. Effect of lights on the stability of pigment of mulberry extract

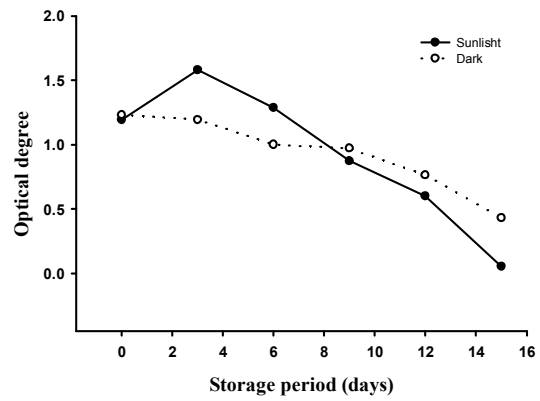


Fig. 60. Effect of lights on the stability of pigment of purple sweet potato extract

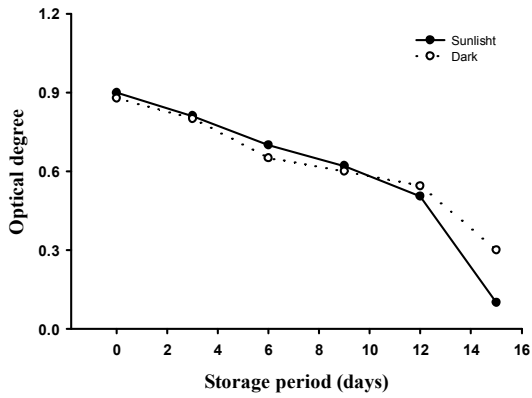


Fig. 61. Effect of lights on the stability of pigment of paprika extract

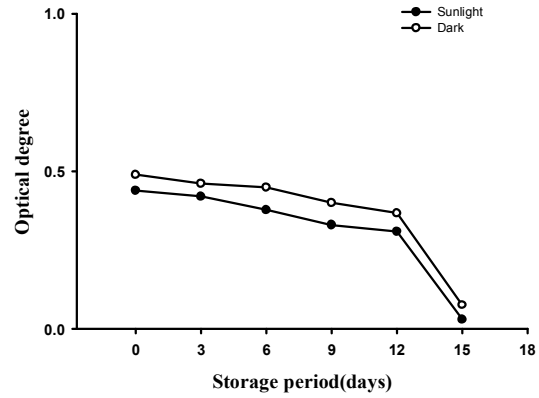


Fig. 62. Effect of lights on the stability of pigment of *ehmannia glutinosa* extract

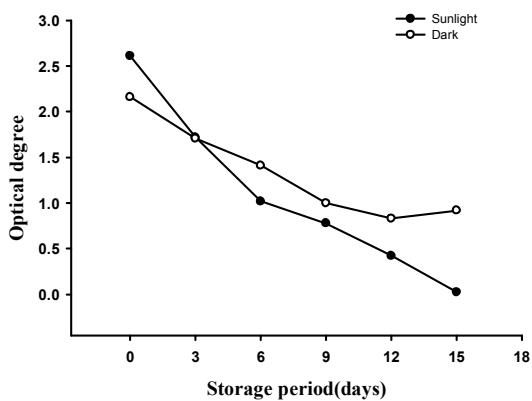


Fig. 63. Effect of lights on the stability of pigment of yellow gardenia extract

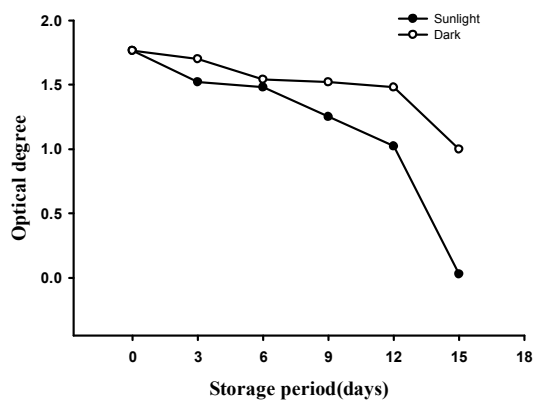


Fig. 64. Effect of lights on the stability of pigment of blue gardenia extract

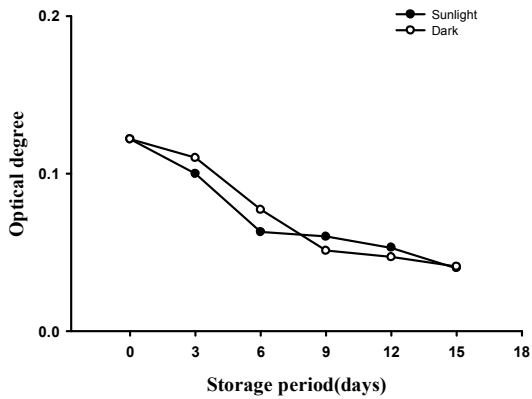


Fig. 65. Effect of lights on the stability of pigment of onion peel extract

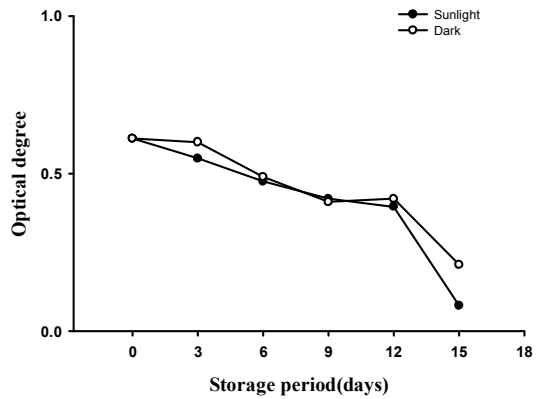


Fig. 66. Effect of lights on the stability of pigment of bitter melon extract

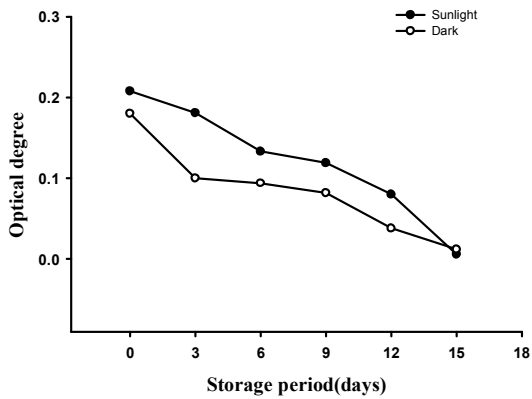


Fig. 67. Effect of lights on the stability of pigment of mulberry leave extract

황색계열의 천연색소는 가시광선에서도 쉽게 분해되는 경향이 있다. 본 실험에서 일광(그늘) 및 형광등에 노출시켜 저장한 경우와 광을 차단하여 암흑상태에 저장한 경우에서의 색상의 변화를 관찰한 결과, 공시한 대부분의 색소에서 일광에 노출한 처리구의 색상 강도가 감소됨을 알 수 있었다. 이는 빛에 장시간 노출되면 색소의 안정성을 저하시킨다는 것을 의미하며, 천연색소 함유 제품 제조 및 저장시 이에 대한 고려가 필요하다고 본다.

아래 사진은 저장기간이 경과함에 따라 색소의 일광에 대한 영향을 나타내는 것으로 외관상으로는 큰 변화가 없는 것처럼 보였지만 최대 흡수파장에서의 흡광도 측정 결과, 대부분의 시료에서 시일경과에 따라 경시적인 차이를 보였다.

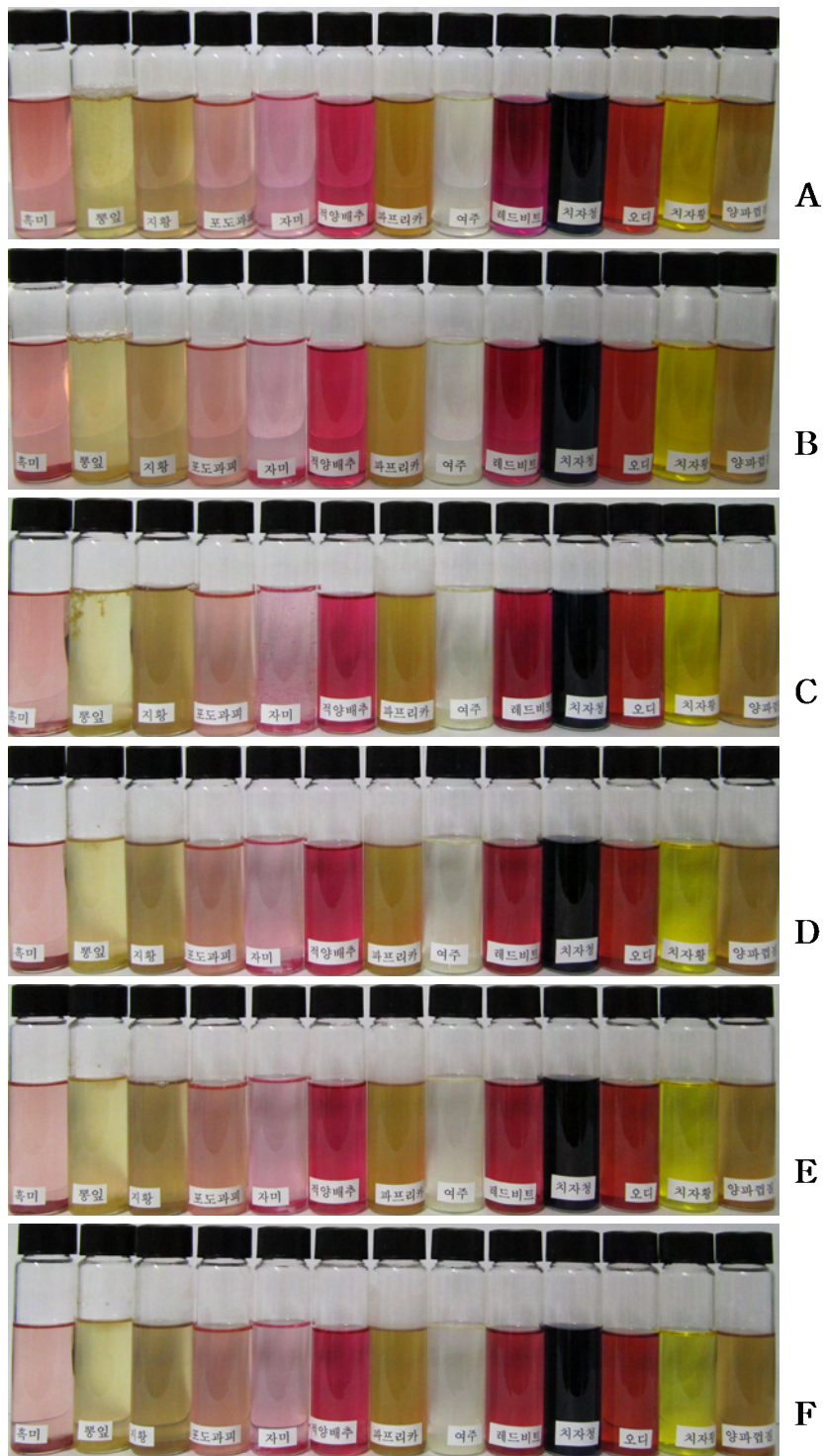


Fig. 68. Change of coloring of natural plant pigment as affected by storage period under light condition

A: 0 days, B: 3 days, C: 6 days, D: 9 days, E: 12 days, F: 15 days

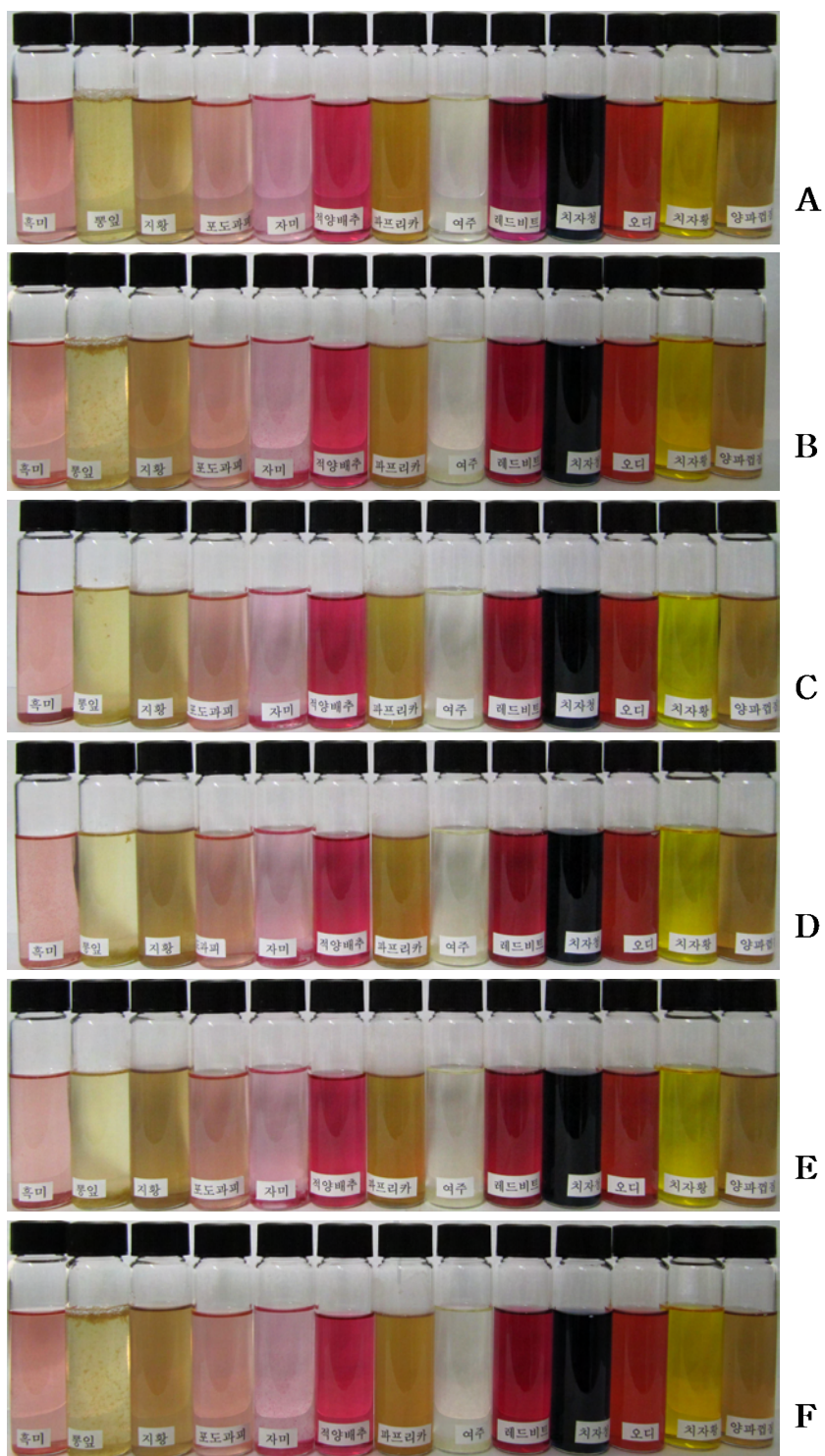


Fig. 69. Change of coloring of natural plant pigment as affected by storage period under dark condition

A: 0 days, B: 3 days, C: 6 days, D: 9 days, E: 12 days, F: 15 days

(마) 열(온도)의 영향

각 색소의 열 안정성을 조사하기 위하여 cap test tube에 색소액을 40mL씩 넣고 밀봉한 후 가열 변색에 대한 안정화제의 효과를 명확히 구명하기 위해 비교적 높은 온도인 100℃에서 0~180분간 가열하면서 60분 간격으로 샘플을 취하여 흡광도를 측정하였다.

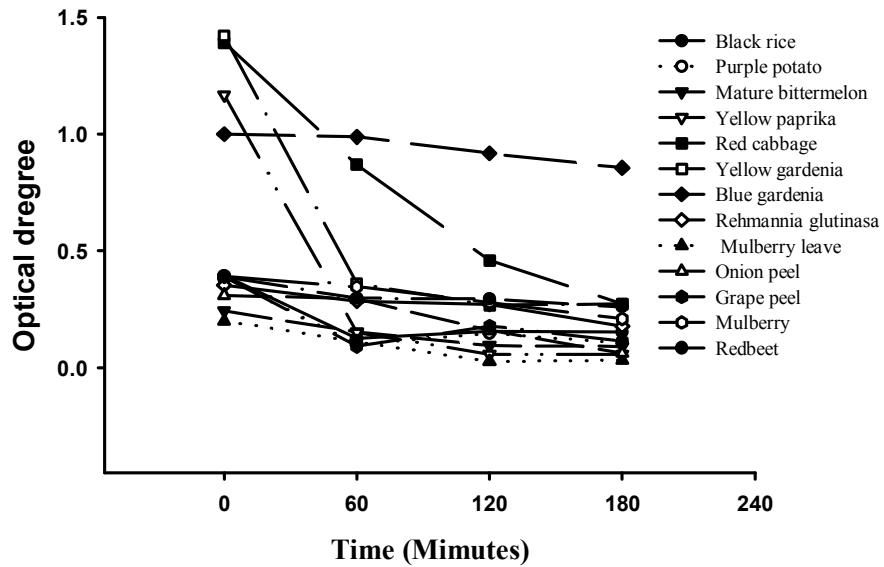


Fig. 70. Effect of heating (100℃, pH 1) on the color stability of natural plant pigment

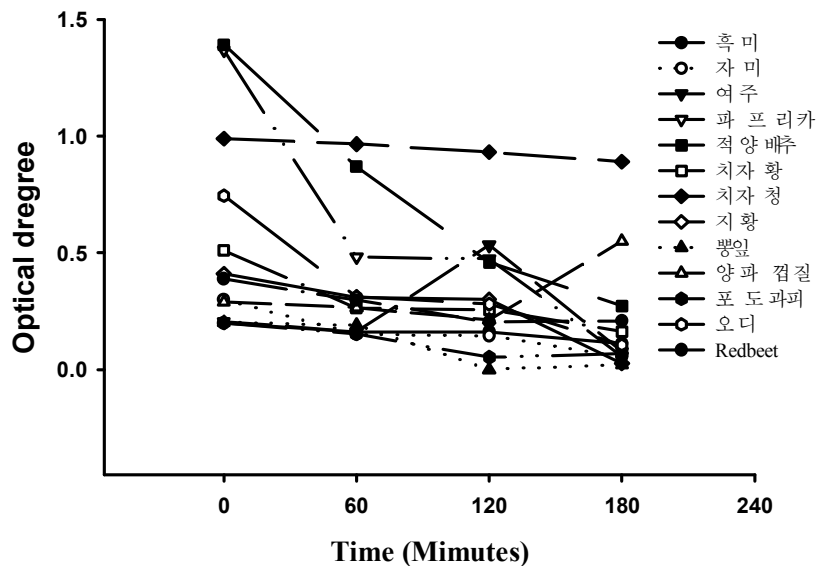


Fig. 71. Effect of heating (100℃, pH 4.5) on the color stability of natural plant pigment

천연색소는 열을 받으면 열분해 및 중합반응으로 갈변화하거나 퇴색, 변색된다. 가열온도와 시간에 따른 색소 추출물의 색상변화 정도를 조사한 결과, 치자청 추출물이 열에 가장 안정하였으며, 뽕잎 추출물이 열에 가장 약한 것으로 나타났다.

아래 사진은 가열온도와 시간에 따라 색상이 어떻게 변화했는지를 나타내는 것으로서 외관상으로도 가열처리 전보다 가열 후 색상이 퇴색하고 다소 침전물이 발생함을 알 수 있다.

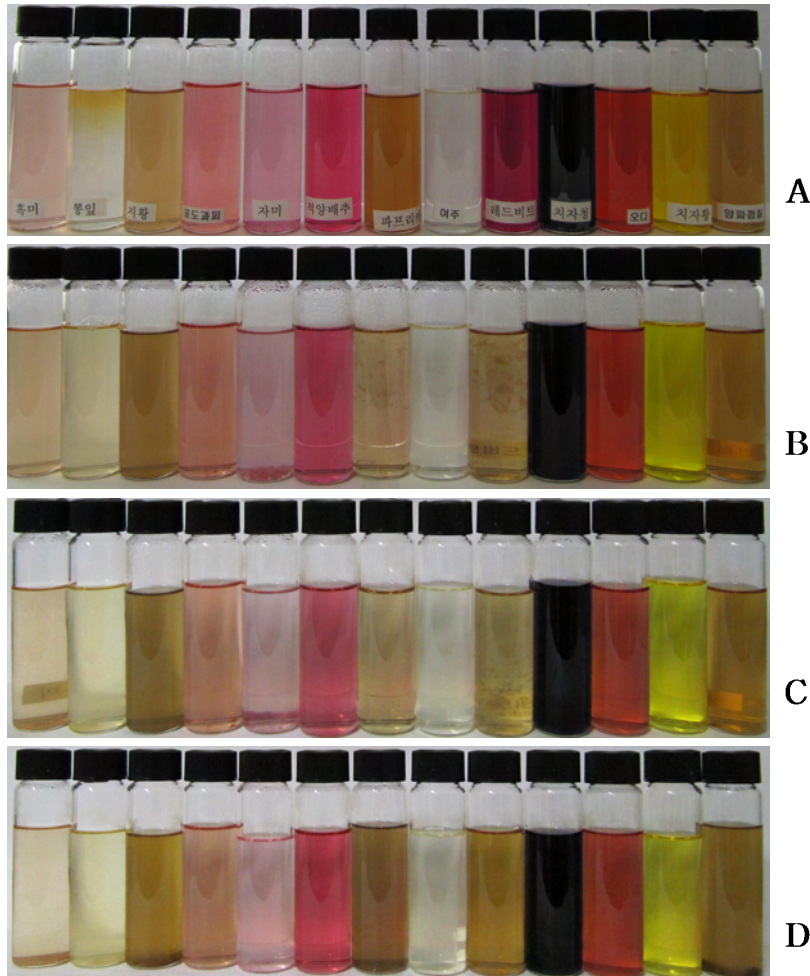


Fig. 72. Change of coloring of natural plant pigment as affected by heating time
A: 0 hours, B: 1 hours, C: 2 hours, D: 3 hours

(마) 당류의 영향

당 첨가에 의한 색소 추출액의 열 안정성 변화를 조사하기 위하여 대표적인 당류인 glucose, galactose, fructose, maltose, sucrose를 사용하여 색소액에 당 농도가 1%가 되도록 첨가하여 반응액을 제조하였다. 반응액의 pH를 3.0으로 조절하고 100℃에서 0~120분 동안 가열한 후 흡광도를 측정하였다(데이터 분실로 미제시).

아래 사진은 당을 첨가하여 가열했을 경우 가열시간에 따른 색상변화를 외관상 확인할 수 있는 사진으로서, 가열시간에 따라 색상이 많이 퇴색됨을 알 수 있다. 이

는 열에 의한 영향과 당에 의한 색상 변화가 서로 시너지 효과가 일어나 단일처리
에서보다 색상이 더 퇴색되는 경향을 보였다.

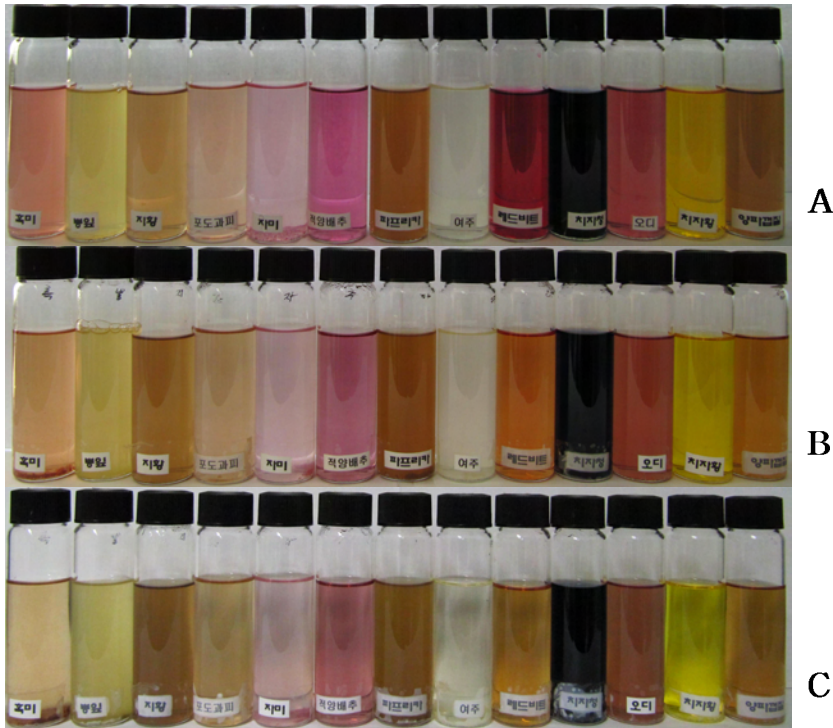


Fig. 73. Change of coloring of natural plant pigment as affected by sugar (glucose)
A: 0 hours, B: 1 hours, C: 2 hours

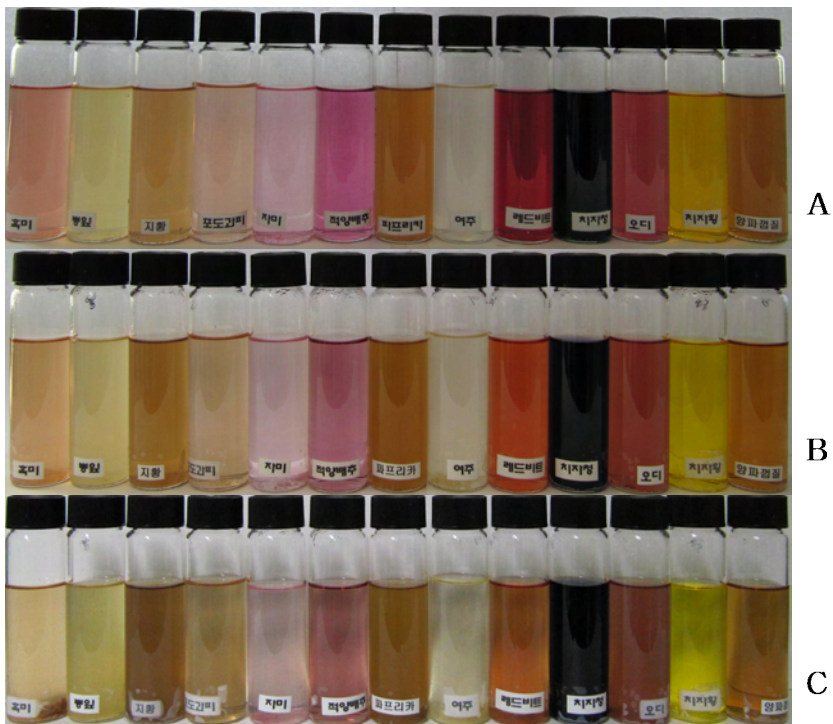


Fig. 74. Change of coloring of natural plant pigment as affected by sugar (maltose)
A: 0 hours, B: 1 hours, C: 2 hours

(3) 다양한 요인에 따른 천연색소의 색차 변이

(가) pH변화에 따른 색차 변이

각 색소의 안정성에 대한 pH의 영향을 조사하기 위하여 완충용액을 사용하여 pH를 1.0~7.0으로 조절하였다. pH 1.0과 2.0은 Clark-Lubs 완충용액 (0.2M KCl + 0.2M HCl)을, pH 3.0~7.0까지는 MacIlvaine 완충용액 (0.1M citric acid + 0.2M Na₂HPO₂)을 사용하였다. 색소액을 각각의 pH용액으로 10배 희석하여 cap test tube에 40mL씩 넣고 밀봉한 후 상온에 15일간 보관하면서 3일 간격으로 샘플을 취하여 spectrophotometer를 사용하여 흡광도 변화 및 색차계 (Minolta CR-10, Japan)를 이용하여 색도 변화를 측정하였다. 색도 변화는 Hunter 색도체계의 L, a와 b값으로 비교하였다.

Table 12. Variation of hunter value of grape peel extracts as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	27.5	10.6	1.3	27.4	9.6	2.0	26.9	9.7	1.6	27.1	10.0	1.2	27.0	9.5	1.2	27.3	9.9	0.8
2	27.5	9.7	1.5	26.5	8.8	1.7	27.6	10.1	1.2	27.5	9.6	0.9	27.5	9.4	0.6	27.3	9.3	1.1
3	32.3	3.8	1.9	30.2	4.5	1.1	29.7	3.7	1.6	30.4	4.0	1.1	30.4	4.0	0.8	31.0	4.0	0.3
4	32.7	0.7	2.2	31.0	1.8	1.4	31.2	1.3	1.6	31.3	1.4	2.0	31.2	1.4	1.8	31.0	1.4	1.6
5	32.9	0.1	2.9	31.0	0.8	2.9	30.2	0.8	2.8	31.1	0.9	2.0	31.1	0.9	2.3	30.6	0.8	2.3
6	31.8	0.0	4.0	30.3	0.9	2.6	29.6	0.5	3.1	30.7	0.7	3.1	30.3	1.0	2.7	30.7	0.7	3.0
7	31.8	0.1	4.4	30.0	0.7	3.7	30.2	0.7	3.7	30.3	0.6	4.1	30.1	0.9	3.2	30.2	0.7	3.6

Table 13. Variation of hunter value of black rice extracts as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	27.2	9.1	1.9	27.9	8.4	3.9	27.2	8.8	2.4	27.2	8.6	1.9	26.6	8.0	4.0	25.8	7.2	5.6
2	27.2	8.1	2.7	28.1	8.3	2.5	27.4	8.5	1.9	27.2	8.7	2.0	27.1	8.3	2.0	27.6	8.8	1.5
3	31.5	4.1	1.9	29.9	4.2	1.4	30.2	3.7	1.2	30.3	3.5	0.8	30.1	3.3	1.2	30.1	3.3	1.2
4	32.7	1.5	2.1	31.4	2.2	1.0	30.7	2.2	1.4	31.3	1.7	1.4	31.2	1.6	1.5	31.4	1.5	1.1
5	32.6	0.5	2.6	31.4	1.6	1.7	31.4	1.0	2.1	31.5	1.3	2.1	32.1	1.4	0.5	32.1	1.1	0.1
6	31.1	1.7	3.1	30.1	2.3	2.9	29.8	1.9	2.7	30.5	1.7	3.3	30.5	1.8	2.8	30.0	1.9	2.3
7	31.3	1.8	3.3	29.2	2.2	2.9	29.4	2.1	3.1	29.1	1.7	3.5	29.5	1.9	2.9	29.3	2.1	3.0

Table 14. Variation of hunter value of purple sweet potato extracts as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	36.5	3.7	-0.4	31.4	3.4	-1.8	30.2	6.0	-2.5	30.2	6.1	-2.5	30.0	6.2	-2.6	29.9	6.1	-2.2
2	32.9	3.9	-1.7	31.2	4.5	-2.2	31.7	4.3	-2.4	31.5	4.4	-2.5	31.7	4.4	-3.4	31.1	4.2	-2.2
3	33.0	4.7	-1.8	30.5	4.7	-2.0	30.6	4.4	-2.9	30.8	4.5	-2.2	31.1	3.7	-2.0	30.9	3.6	-2.0
4	32.4	1.4	-1.6	30.8	2.4	-2.2	31.9	1.9	-1.2	32.0	2.3	-1.9	32.2	2.2	-2.1	31.9	2.1	-2.3
5	32.6	1.6	-1.9	31.8	2.0	-1.5	30.7	1.7	-0.7	31.5	2.1	-1.8	31.4	2.3	-2.4	31.3	2.0	-1.6
6	33.0	1.6	-1.4	31.1	2.2	-1.9	30.6	1.6	-1.5	30.9	1.0	-0.9	31.0	2.0	-1.5	31.3	1.5	-1.1
7	32.6	0.2	-1.7	30.8	1.4	-1.9	30.9	0.9	-1.3	31.6	0.8	-1.9	31.3	0.7	-1.0	31.3	0.9	-1.2

Table 15. Variation of hunter value of mature bitter melon extracts as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	33.1	-1.6	0.9	33.9	-0.4	0.0	33.4	-0.3	-0.7	33.4	-0.4	-0.4	33.5	-0.5	-0.9	33.7	-0.4	-0.7
2	35.3	-1.7	0.0	33.5	-1.7	0.2	33.4	-0.6	-0.5	33.8	-1.0	-0.3	33.3	-0.4	-0.9	32.8	-0.5	-0.2
3	31.8	-1.6	0.3	32.9	-0.6	0.0	33.5	-1.9	0.8	33.4	-0.6	-0.4	33.0	-0.8	-0.7	33.4	-0.7	-0.1
4	35.4	-1.7	0.4	33.0	-0.2	0.0	34.1	-1.9	-0.2	33.1	-0.5	-0.4	33.4	-0.3	-0.8	33.5	-0.4	-0.6
5	34.3	-1.0	0.7	32.6	-0.8	0.2	32.7	-0.5	-0.1	32.8	-0.2	0.0	32.4	-0.2	0.4	32.9	-0.3	0.0
6	32.9	-0.5	1.6	31.1	-0.1	1.1	30.8	-0.4	1.0	30.9	0.2	1.2	31.8	-0.4	1.2	32.0	-0.3	0.9
7	31.9	-0.6	0.1	31.5	-1.7	1.1	32.4	-0.3	0.2	32.8	-2.3	1.4	32.7	-0.2	0.1	32.7	-0.5	0.4

Table 16. Variation of hunter value of paprika extracts as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	28.9	1.8	5.8	29.3	1.5	5.9	29.4	1.7	6.5	29.4	1.4	6.2	29.4	1.5	5.5	29.0	1.5	6.4
2	29.7	0.7	6.3	29.4	1.1	6.4	29.0	0.4	6.3	30.1	0.8	6.5	29.7	1.1	5.9	30.0	0.7	6.5
3	29.8	1.9	7.7	28.0	2.1	6.0	28.4	1.8	6.9	28.7	1.6	6.9	29.1	1.8	6.4	28.7	2.1	6.6
4	28.3	1.8	7.1	28.8	1.8	7.2	28.9	1.7	6.6	29.4	1.5	6.5	29.5	1.7	6.5	29.3	1.7	6.6
5	29.0	2.1	6.7	28.0	1.7	5.9	28.2	1.3	5.6	29.0	1.7	6.6	28.9	1.9	7.3	29.1	1.8	6.8
6	29.1	2.3	7.1	27.6	2.0	5.4	28.2	1.8	6.3	28.4	1.8	6.4	28.7	1.8	6.1	28.5	1.7	6.4
7	28.3	2.0	5.4	28.2	-0.6	6.8	28.4	1.2	6.7	28.4	1.8	6.4	28.9	1.8	6.0	28.6	1.5	6.4

Table 17. Variation of hunter value of red cabbage extracts as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	27.0	13.4	5.8	24.9	10.7	2.8	25.0	11.3	3.3	25.0	11.0	2.9	25.3	10.5	2.7	25.5	10.5	2.5
2	25.5	10.6	2.9	25.0	10.9	2.8	24.8	10.9	3.4	25.0	10.7	3.6	25.3	10.8	2.2	25.1	10.5	2.6
3	26.8	12.0	0.0	26.9	11.3	1.2	25.8	10.6	0.4	25.7	11.0	0.0	25.9	11.0	-0.4	25.8	10.8	-0.2
4	29.0	8.9	-2.7	27.5	8.1	-2.9	27.3	7.4	-1.3	27.7	7.4	-2.1	28.0	7.7	-2.1	27.8	7.2	-2.2
5	29.9	5.1	-3.1	28.1	5.0	-3.0	28.3	4.9	-2.9	28.2	4.8	-2.9	28.3	4.8	-2.9	27.9	4.6	-1.3
6	28.3	2.9	-2.6	27.9	3.4	-2.7	28.1	3.3	-2.6	27.9	3.5	-2.3	27.9	3.2	-2.2	27.9	2.8	-2.3
7	28.6	1.0	-1.7	27.1	1.2	-1.9	27.2	0.9	-1.4	27.3	0.7	-1.0	27.4	1.5	-1.1	27.4	1.6	-1.3

Table 18. Variation of hunter value of yellow gardenia extracts as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	31.6	-1.8	14.2	33.2	-3.3	14.1	32.6	-2.9	12.8	32.8	-2.5	10.6	32.7	-2.4	9.4	32.6	-2.1	8.8
2	32.7	-3.2	17.1	32.3	-2.2	14.6	32.2	-2.8	13.0	32.7	-2.6	11.7	32.6	-2.4	10.3	33.0	-2.5	10.6
3	33.5	1.0	12.4	32.2	-2.2	15.1	30.8	-1.4	12.3	32.6	-2.6	12.0	32.9	-2.4	10.8	33.0	-2.9	11.4
4	31.9	-0.9	16.1	31.7	-0.7	15.1	32.0	-1.0	15.4	32.3	-1.5	15.8	32.4	-1.9	15.4	32.0	-1.5	14.6
5	32.2	-0.3	15.7	31.8	-0.7	15.3	31.4	-2.7	15.2	31.9	-0.2	14.8	31.4	-0.1	13.4	31.5	-0.2	13.9
6	31.7	1.2	15.5	31.3	1.3	14.7	31.3	0.9	14.4	31.0	1.0	13.8	30.7	1.0	12.9	30.6	0.9	12.5
7	33.0	0.5	14.1	32.8	-0.6	15.4	31.6	0.2	14.7	31.7	-0.1	14.8	31.0	0.3	12.9	31.3	0.3	13.3

Table 19. Variation of hunter value of blue gardenia extracts as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	23.1	0.5	-1.1	22.6	-0.2	-0.9	23.0	0.3	-0.9	22.8	0.2	-1.0	22.9	0.2	-0.7	23.0	0.4	-1.0
2	23.2	0.5	-0.8	22.6	0.0	-0.8	22.8	0.4	-1.0	22.9	0.3	-0.9	23.0	0.7	-1.2	22.9	0.3	-1.0
3	23.5	0.5	-0.9	22.6	0.1	-0.7	23.1	0.4	-1.0	22.9	0.2	-0.9	23.1	0.5	-1.0	23.1	0.7	-1.1
4	23.6	0.2	-1.1	22.9	0.1	-1.2	23.1	0.2	-0.8	23.2	0.6	-1.3	23.2	0.4	-1.1	23.0	0.3	-1.1
5	23.0	0.7	-0.6	22.9	0.3	-0.9	22.5	-0.6	-0.7	22.6	0.1	-0.9	23.0	0.5	-1.0	22.9	0.5	-0.6
6	23.5	0.6	-0.9	23.0	0.4	-1.1	22.7	-0.4	-0.8	23.0	0.0	-0.9	23.1	0.4	-1.0	23.0	0.2	-0.9
7	23.4	0.2	-1.1	23.0	0.4	-0.9	22.8	0.0	-0.5	23.1	0.6	-0.9	23.2	0.5	-1.1	23.2	0.4	-0.9

Table 20. Variation of hunter value of *Rehmannia glutinosa* extracts as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	29.1	0.9	2.4	28.8	0.8	3.0	29.8	1.5	3.9	29.2	0.7	2.9	28.9	1.1	2.8	29.1	0.9	2.6
2	30.0	0.4	3.7	28.4	0.5	3.6	28.7	0.3	3.2	29.1	1.0	3.0	28.3	0.8	4.7	29.0	0.4	4.2
3	30.6	0.4	4.6	29.0	0.8	4.3	29.4	0.9	3.7	29.9	0.6	3.4	29.0	0.2	5.1	30.2	0.6	3.6
4	29.2	0.7	4.5	29.7	1.0	4.0	29.7	0.8	3.8	29.5	1.1	3.4	29.6	0.8	4.0	30.2	0.7	3.6
5	30.3	0.9	4.7	29.0	1.3	3.9	29.5	1.0	4.0	29.3	1.3	4.0	28.8	1.3	3.4	29.1	1.1	3.7
6	30.0	1.4	5.3	28.5	1.5	4.0	28.3	1.3	4.3	28.2	0.3	4.7	28.4	1.6	3.6	28.3	1.5	3.7
7	28.5	1.5	4.5	27.5	1.8	3.8	27.4	1.6	4.1	27.7	0.1	5.4	28.1	1.9	4.2	27.8	1.6	4.6

Table 21. Variation of hunter value of mulberry leave extracts as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	31.9	-0.5	3.7	32.9	-1.0	4.0	33.0	-1.9	5.0	32.1	-0.9	3.6	32.3	-0.4	3.3	32.3	-0.5	3.5
2	31.5	-0.5	4.1	31.6	-1.1	4.2	32.1	-1.2	5.0	32.0	-0.9	4.3	31.6	-0.3	3.9	30.2	0.0	5.0
3	34.5	-2.1	4.6	32.8	-0.7	2.3	32.6	-1.2	4.2	32.5	-1.1	3.8	31.9	-0.7	3.5	32.5	-1.0	4.0
4	34.0	-2.2	5.8	31.9	-0.3	3.4	31.8	-1.0	4.8	31.8	-0.3	4.0	32.2	-0.3	4.1	32.1	-0.2	4.0
5	32.4	-1.6	5.7	31.8	-0.5	4.1	31.4	-0.9	4.0	32.1	-0.8	4.5	31.6	-0.7	4.5	31.9	-0.4	3.9
6	35.0	-2.4	9.0	31.1	0.0	4.8	31.6	-0.6	5.3	31.1	-0.6	5.5	31.1	-0.2	4.8	31.1	-0.5	5.5
7	33.0	-1.0	7.6	30.4	0.1	5.4	30.5	-0.3	5.8	31.0	-3.1	7.2	30.4	0.1	5.4	30.2	-0.2	5.6

Table 22. Variation of hunter value of onion peel extracts as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	31.9	-0.7	8.3	31.0	0.4	7.0	30.2	0.8	6.5	31.2	0.6	6.2	31.3	0.6	6.2	32.3	0.1	5.8
2	31.0	0.4	7.5	31.0	-0.2	7.4	31.6	0.1	7.2	30.9	0.7	6.1	32.3	0.5	6.5	31.1	0.7	6.4
3	29.2	1.6	6.6	28.7	1.5	6.2	28.6	2.0	6.8	28.8	2.3	6.7	28.9	2.3	6.2	28.8	2.2	6.4
4	29.8	2.2	7.5	28.9	2.3	5.9	28.3	2.7	6.2	28.5	2.5	6.2	28.5	2.7	6.3	28.4	2.6	6.4
5	28.1	3.1	7.2	27.7	3.2	5.5	28.3	1.2	7.3	27.7	2.3	6.6	26.2	4.1	7.3	27.7	3.3	5.6
6	27.8	4.0	6.6	26.8	4.0	4.9	26.9	3.9	5.7	26.9	4.0	5.6	26.8	4.1	5.0	26.8	3.5	5.5
7	25.9	4.0	3.3	24.5	2.6	1.6	24.3	2.5	1.8	24.4	2.8	1.9	24.7	3.1	1.6	24.6	3.0	1.9

Table 23. Variation of hunter value of mulberry extracts as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	25.0	10.0	3.6	25.0	7.4	5.1	25.9	4.5	6.6	25.0	9.7	3.2	25.0	9.5	4.1	24.9	9.1	3.4
2	24.8	8.8	2.9	25.9	7.1	5.4	25.8	6.2	5.8	25.5	9.8	3.3	25.3	9.6	3.4	25.0	8.8	3.6
3	26.1	9.2	3.6	26.6	5.6	5.2	26.9	6.9	4.1	26.1	9.2	2.6	26.3	8.9	2.6	26.2	9.1	2.8
4	26.9	7.2	1.9	26.7	6.3	1.2	27.3	6.8	1.9	27.7	6.6	1.5	27.7	6.1	2.2	27.4	6.0	1.8
5	28.6	4.5	2.1	27.8	4.4	1.7	28.1	4.0	2.1	28.1	4.2	2.4	28.0	4.1	2.4	27.9	3.8	3.0
6	28.8	3.8	2.7	27.8	4.0	1.8	27.6	3.7	2.5	28.0	2.8	3.8	27.6	3.4	2.4	27.6	3.5	2.9
7	28.4	2.8	4.3	26.8	2.0	3.7	27.2	2.7	3.7	28.0	2.4	6.0	27.2	2.7	3.3	27.1	2.6	3.7

Table 24. Variation of hunter value of redbeet extracts as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	27.0	8.2-0.1		31.0	8.3	4.0	28.8	5.0	2.6	29.2	4.6	2.2	29.6	4.0	3.2	29.7	3.7	3.4
2	25.8	11.2-0.8		26.5	5.0	1.8	26.4	7.8	0.4	27.6	7.5	1.3	28.5	6.2	1.7	28.2	6.3	1.8
3	25.0	11.1	0.1	24.1	9.1	1.2	24.8	10.1	1.0	25.2	9.8	0.8	25.0	8.3	1.7	25.8	9.8	1.1
4	24.5	10.2	1.0	24.0	9.1	0.6	24.1	9.0	0.9	24.3	9.0	0.6	24.7	9.3	0.5	24.6	9.2	0.6
5	24.5	9.8	0.5	24.1	9.2	0.6	24.4	8.8	0.2	24.6	9.4	0.4	24.7	9.2	0.6	24.9	8.9	0.2
6	25.4	11.3	2.3	24.6	9.2	1.8	25.1	8.8	1.3	26.5	8.2	2.0	26.0	7.3	2.2	25.7	6.6	1.9
7	25.7	7.4	2.4	25.9	5.0	3.0	27.1	3.5	4.4	27.5	2.4	5.7	28.0	2.6	5.1	27.7	2.1	5.4

천연색소는 pH에 따라 분자구조가 변하면서 색이 변하는 경우가 많다. 본 실험에 적용된 13종의 천연색소에 대해 1~7까지의 pH 변화에 따른 경시적인 색차변이를 15일간 3일 간격으로 측정하였다. 그 결과를 보면, 대부분 L 값에서는 큰 변화가 없었지만, a 값과 b 값은 색소종류에 따라 변화됨을 알 수 있었다. 안토시아닌계 색소인 포도과피, 자미, 오디, 적양배추 등에서는 15일 저장기간 동안 큰 색차변이가 없는 것으로 나타나 비교적 안정된 결과를 보였지만, 이보다 장기간 경과했을 경우는 색소 안정화에 문제가 발생할 수 있을 것으로 추측되며 이 부분에 대해서는 향후 보완실험이 필요한 것으로 사료된다.

(나) 유기산에 따른 색소의 색차 변이

각 색소의 유기산에 대한 안정성을 조사하기 위해 malonic acid, malic acid, tartaric acid, citric acid, succinic acid 등 5종의 유기산을 사용하였다. 먼저 pH 2.0

의 완충용액을 사용하여 5배로 희석하여 제조한 색소액에 유기산 농도가 1M이 되도록 각각의 유기산을 첨가한 후 cap test tube에 40mL씩 넣고 밀봉한 후 상온에 15일간 보관하면서 3일 간격으로 샘플을 취하여 색차계 (Minolta CR-10, Japan)를 이용하여 색도 변화를 측정하였다.

Table 25. Variation of hunter value of black rice extracts as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	26.5	9.7	2.2	25.0	7.2	2.4	26.1	9.8	2.8	26.1	9.3	3.1	25.5	8.7	2.4	25.6	8.6	2.2
2	24.8	5.6	0.8	25.9	9.0	3.2	26.0	9.6	2.7	26.2	10.0	2.8	26.1	9.8	2.6	26.1	9.3	2.5
3	27.0	10.3	3.0	24.7	8.8	3.8	26.5	10.0	3.0	27.0	8.3	4.3	26.4	9.4	2.5	26.3	9.3	2.2
4	26.5	10.1	3.4	25.2	9.7	3.9	25.5	10.3	2.9	25.4	10.2	3.1	25.7	9.7	2.2	25.4	9.2	2.2
5	26.3	9.4	1.9	25.2	9.8	2.5	25.3	9.6	2.6	25.1	9.9	3.0	25.4	9.4	2.3	25.2	9.2	2.5

*1:succinic acid, 2:malic acid, 3:malonic acid, 4:tartaric acid, 5:citric acid

Table 26. Variation of hunter value of purple sweet potato extracts as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	28.8	9.5	-0.5	28.8	8.8	-2.4	29.1	8.9	-2.0	28.9	8.7	-2.0	28.6	8.6	-1.9	28.4	8.2	-1.4
2	28.3	7.9	-1.4	27.7	7.4	-1.0	27.7	8.7	-1.9	27.8	8.9	-2.2	27.5	8.1	-2.2	27.4	8.3	-2.0
3	26.7	6.0	-1.0	27.7	8.5	-1.3	28.3	8.8	-1.7	28.1	8.7	-1.4	28.3	8.5	-1.8	28.4	8.7	-1.6
4	28.7	9.3	-1.1	27.9	9.9	-1.4	27.8	9.7	-1.8	28.0	10.0	-1.8	27.7	9.2	-1.9	27.6	9.2	-1.5
5	27.9	8.1	-1.0	27.6	8.5	-1.3	27.7	9.2	-1.3	27.9	9.5	-1.2	27.8	9.2	-1.3	27.7	8.9	-1.2

*1:succinic acid, 2:malic acid, 3:malonic acid, 4:tartaric acid, 5:citric acid

Table 27. Variation of hunter value of mature bitter melon extracts as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	35.7	-1.8	1.5	33.1	-1.5	0.1	33.8	-1.1	0.6	33.5	-0.9	0.5	32.3	-0.5	0.3	32.7	-0.8	0.4
2	32.3	-1.3	1.3	33.9	-2.7	2.2	33.8	-1.1	1.5	33.3	-0.7	1.3	32.8	-0.7	1.0	33.4	-0.8	1.1
3	30.2	-2.6	1.6	34.3	-3.5	1.3	33.5	-1.0	0.6	33.4	-1.2	0.9	32.4	-0.6	0.7	33.3	-1.0	0.9
4	32.0	-1.0	1.4	32.4	-1.2	2.3	33.1	-0.6	1.2	33.3	-0.9	1.5	32.9	-1.1	1.5	32.4	-0.7	1.3
5	32.9	-1.5	2.0	33.0	-0.9	1.1	33.5	-1.1	1.8	33.2	-0.7	1.4	32.8	-0.5	1.0	32.9	-0.8	1.5

*1:succinic acid, 2:malic acid, 3:malonic acid, 4:tartaric acid, 5:citric acid

Table 28. Variation of hunter value of paprika extracts as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	26.8	3.8	4.8	27.8	4.7	6.8	26.9	3.0	5.3	26.8	2.8	5.4	26.9	3.3	5.5	26.7	2.9	5.7
2	26.0	4.0	4.4	26.5	3.0	5.8	27.2	3.1	6.1	27.1	2.9	6.3	26.9	3.0	5.2	27.0	3.1	5.5
3	26.4	3.5	4.6	26.7	3.2	6.2	27.8	2.7	6.4	28.1	2.9	6.4	27.8	2.8	6.1	27.6	2.6	6.7
4	25.2	3.1	2.5	25.2	2.7	3.7	26.4	3.5	4.6	26.3	3.3	4.8	26.1	3.5	4.4	26.3	3.6	4.6
5	25.8	2.9	2.4	26.3	3.7	5.1	26.7	3.6	5.5	26.6	3.7	5.7	26.7	3.4	5.3	26.9	3.0	6.0

*1:succinic acid, 2:malic acid, 3:malonic acid, 4:tartaric acid, 5:citric acid

Table 29. Variation of hunter value of red cabbage extracts as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	24.9	7.9	1.7	25.7	6.7	3.0	24.5	10.0	2.3	24.5	9.2	2.0	23.9	9.1	2.0	23.7	7.7	2.9
2	24.8	9.1	2.1	23.8	9.0	2.7	24.2	9.3	2.2	24.2	10.0	2.3	24.0	9.4	2.2	24.1	8.9	1.7
3	25.4	9.9	1.7	24.5	8.9	3.6	24.8	10.2	2.5	24.7	10.5	2.7	24.6	9.6	2.1	24.5	10.2	2.8
4	24.9	9.3	1.9	23.8	8.6	1.9	24.2	9.4	2.0	24.1	9.5	2.0	24.1	9.1	1.8	23.8	9.1	2.2
5	23.6	9.0	3.3	24.3	9.8	2.2	24.2	9.8	2.3	24.2	9.2	2.0	23.9	9.6	2.4	24.1	9.4	2.0

*1:succinic acid, 2:malic acid, 3:malonic acid, 4:tartaric acid, 5:citric acid

Table 30. Variation of hunter value of yellow gardenia extracts as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	31.4	3.1	12.2	31.1-0.4	15.1	30.9	0.1	13.6	31.9-1.3	16.1	30.9	0.0	13.2	30.5-0.1	12.4			
2	29.2	2.6	9.1	31.0	0.8	14.7	31.3-0.1	14.1	31.6	0.0	14.7	31.0-0.5	13.3	31.3-0.8	14.2			
3	30.3	1.5	11.2	31.4-0.4	14.2	32.4-2.2	13.4	32.2-2.1	13.2	32.1-2.4	12.3	31.7-2.2	12.3					
4	31.6	1.6	13.8	31.2	0.5	14.5	31.9-0.9	14.3	31.5-0.4	13.5	31.0-0.9	12.6	31.2-1.1	13.1				
5	29.5	1.9	9.7	30.8	0.3	12.8	31.7-0.9	13.9	31.5-1.0	13.6	31.4-1.2	13.1	31.4-1.4	13.5				

*1:succinic acid, 2:malic acid, 3:malonic acid, 4:tartaric acid, 5:citric acid

Table 31. Variation of hunter value of blue gardenia extracts as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	23.4	0.5	0.9	22.6	0.0	0.6	22.8	0.7	0.7	22.5	0.2	0.5	22.9	0.6	0.9	22.7	0.2	0.7
2	22.9	0.7	0.3	22.8	0.3	0.8	22.6	0.1	0.4	22.6	0.0	0.5	22.6	0.2	0.6	22.4	0.1	0.5
3	23.0	0.3	0.3	22.6	0.1	0.4	22.7	0.0	0.4	22.9	0.4	0.6	22.8	0.4	0.7	22.8	0.3	0.6
4	23.2	0.3	0.5	22.5	0.0	0.9	22.8	0.4	0.7	22.7	0.2	0.7	22.9	0.4	0.7	22.8	0.1	0.6
5	23.2	0.6	0.5	22.8	0.3	0.7	22.8	0.4	0.6	22.7	0.4	0.7	22.7	0.2	0.7	22.7	0.5	0.7

*1:succinic acid, 2:malic acid, 3:malonic acid, 4:tartaric acid, 5:citric acid

Table 32. Variation of hunter value of *Rehmannia glutinosa* extracts as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	25.6	2.2	2.6	26.8	0.7	4.3	28.0	1.2	5.1	28.3	2.2	4.1	26.7	1.8	3.2	26.3	1.8	4.0
2	25.7	2.6	3.8	27.2	2.2	5.2	26.6	1.6	3.6	26.5	1.7	3.4	26.4	1.9	3.1	26.3	1.6	3.6
3	27.8	1.7	3.4	26.6	0.1	5.1	26.9	1.5	4.0	26.9	1.7	4.2	27.0	1.9	3.8	26.9	1.6	3.9
4	25.6	1.7	1.9	26.2	1.0	3.3	26.2	1.8	3.3	26.0	1.4	3.5	26.1	1.9	2.8	26.1	1.8	3.1
5	25.5	1.9	1.9	25.3	1.3	3.9	25.6	2.2	2.9	25.5	1.9	3.0	25.6	2.0	2.6	25.6	1.9	2.5

*1:succinic acid, 2:malic acid, 3:malonic acid, 4:tartaric acid, 5:citric acid

Table 33. Variation of hunter value of mulberry leave extracts as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	29.9	0.2	6.8	30.1	1.2	7.9	28.2	0.2	4.7	28.2	0.0	4.5	30.4	0.3	3.2	30.5	0.3	3.1
2	29.2	0.8	6.5	29.6	0.1	6.9	30.0	0.6	7.1	30.1	0.4	7.7	29.5	0.4	6.7	29.7	0.3	7.2
3	29.0	1.2	6.7	29.3	0.0	7.4	30.0	0.6	6.8	30.3	0.2	7.7	29.8	0.4	6.6	30.2	0.1	7.3
4	28.8	0.4	5.2	30.8	0.4	6.1	30.1	0.6	6.7	30.1	0.4	7.2	29.4	0.4	6.3	29.5	0.2	6.7
5	28.8	0.8	6.3	30.3	0.3	7.4	30.3	0.3	6.7	30.2	0.2	6.7	30.0	0.2	6.6	30.2	0.0	7.0

*1:succinic acid, 2:malic acid, 3:malonic acid, 4:tartaric acid, 5:citric acid

Table 34. Variation of hunter value of onion peel extracts as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	26.5	4.1	4.3	27.6	2.7	5.9	27.4	3.8	6.8	27.5	3.1	7.3	26.8	3.8	5.2	27.0	3.8	5.7
2	25.2	3.6	4.5	27.0	2.1	6.3	28.0	3.6	7.0	27.8	3.6	7.1	27.8	3.5	6.2	28.0	3.3	7.0
3	26.9	3.9	4.3	26.5	3.0	5.6	27.6	3.4	6.5	27.7	3.5	6.7	27.6	3.5	6.2	27.7	3.3	6.6
4	27.2	3.8	5.1	26.6	3.6	4.7	26.8	3.6	5.1	26.8	3.8	4.7	26.8	3.6	4.8	26.9	3.4	5.3
5	26.0	3.2	3.3	26.7	3.1	5.2	27.9	3.7	6.4	27.8	3.5	7.0	27.7	3.5	7.2	27.5	3.6	6.4

*1:succinic acid, 2:malic acid, 3:malonic acid, 4:tartaric acid, 5:citric acid

Table 35. Variation of hunter value of grape peel extracts as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	26.1	9.2	2.2	26.6	8.8	2.4	26.4	10.1	2.2	26.5	10.0	1.7	26.1	9.6	1.9	26.0	9.1	2.1
2	25.0	8.4	1.5	26.1	10.3	2.4	25.6	10.7	2.4	25.7	10.8	2.5	25.4	9.5	1.8	25.5	10.2	2.3
3	25.9	9.7	2.5	26.2	10.8	2.0	26.2	9.7	2.8	26.3	9.7	2.5	26.3	9.4	2.4	26.1	9.4	2.6
4	25.8	9.1	1.3	24.9	9.3	2.0	25.1	9.9	2.3	25.1	10.1	2.3	25.1	9.7	2.0	24.9	10.0	2.6
5	25.8	9.1	1.3	24.8	9.1	2.3	25.4	10.2	2.0	25.3	10.0	2.3	25.2	10.2	2.6	25.2	9.7	2.0

*1:succinic acid, 2:malic acid, 3:malonic acid, 4:tartaric acid, 5:citric acid

Table 36. Variation of hunter value of mulberry extracts as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	25.1	9.0	1.0	24.8	6.3	3.6	24.2	8.5	1.9	24.1	8.6	2.2	23.8	7.9	2.3	24.2	8.4	2.0
2	24.4	7.4	1.6	23.5	8.0	2.3	24.2	8.7	1.8	24.2	8.5	1.6	24.0	8.2	1.6	23.9	8.4	1.8
3	24.5	8.7	2.2	24.0	9.3	2.6	24.3	9.5	2.3	24.4	9.1	2.1	24.3	8.9	2.0	24.1	9.4	2.6
4	24.4	6.5	1.0	23.9	8.5	1.7	24.0	8.4	1.7	23.9	7.9	2.8	24.0	8.1	1.6	23.8	8.2	1.8
5	24.0	6.6	1.7	23.7	6.3	1.6	23.9	8.6	1.7	23.8	9.0	2.1	23.8	8.5	1.7	23.7	8.5	2.0

*1:succinic acid, 2:malic acid, 3:malonic acid, 4:tartaric acid, 5:citric acid

Table 37. Variation of hunter value of redbeet extracts as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
1	23.3	5.4	0.6	23.3	7.2	0.4	24.1	8.4	1.4	24.3	7.0	2.4	24.3	7.8	1.5	24.4	8.1	1.5
2	23.7	6.2	0.0	24.1	5.6	2.0	26.8	6.3	3.5	27.0	6.4	4.3	27.3	4.9	4.2	27.1	4.8	3.7
3	23.4	5.9-0.4		24.9	6.5	2.3	28.8	3.6	4.5	28.6	3.8	4.4	28.6	2.9	4.1	28.8	3.0	4.2
4	23.7	4.5-0.6		23.4	6.5-0.6		24.7	7.8	0.8	24.5	7.6	1.1	25.6	7.2	1.8	25.5	7.2	1.7
5	23.7	4.2-0.8		23.0	5.9-0.2		24.9	7.4	1.1	24.8	7.5	1.4	25.7	6.9	2.1	25.8	7.1	2.3

*1:succinic acid, 2:malic acid, 3:malonic acid, 4:tartaric acid, 5:citric acid

유기산 종류에 따른 천연색소의 경시적인 색차변이를 15일간 3일 간격으로 측정 한 결과를 보면, 대부분 L 값에서는 큰 변화가 없었지만, a 값과 b 값은 색소종류에 따라 다소 변이를 보였다. 즉, 사용한 5가지 유기산 모두 포도과피, 오디, 적양배추 등에서는 15일 저장기간 동안 큰 색차변이가 없는 것으로 나타나 비교적 안정된 결과를 보였지만, 뽕잎과 레드비트에서는 색소의 안정성이 크게 저하되는 것으로 나타났다. 특히 치자황색소의 경우 L, a 값보다 b 값이 많이 감소되었다. 파프리카 색소의 경우도 유기산 종류에 따라 색차변이에 다소 차이를 보였다.

(다) 금속이온에 따른 색소의 색차 변이

각 색소의 안정성에 대한 금속이온의 영향을 조사하기 위하여 금속이온으로서 Hg^{2+} ($HgCl_2$), Ag^{2+} ($AgNO_3$), Fe^{2+} ($Fe_2(SO_4)_3$), Mn^{2+} ($MnSO_4$), Al^{3+} ($Al_2(SO_4)_3$), Zn^{2+} ($ZnSO_4$), Cu^{2+} ($CuSO_4$) 등 7종의 금속염을 pH 3.0인 완충용액으로 5배 희석하여 제조한 색소액에 금속이온의 농도가 10 ppm 및 100 ppm이 되도록 각각의 금속염을 첨가한 후 앞서와 같은 방법으로 색도변화를 5일 간격으로 경시적으로 측정하였다.

Table 38. Variation of hunter value of red cabbage extracts as affected by metal ions

Metal ions (10ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag^{2+}	24.2	9.1	2.3	24.2	9.6	2.4	24.3	8.6	1.7	24.1	8.6	2.2	24.4	8.4	1.6	24.2	8.1	1.7
Hg^{2+}	24.2	8.8	1.9	24.0	8.4	2.1	24.4	9.0	1.9	24.1	9.5	2.6	24.4	8.1	1.1	24.1	8.2	1.6
Fe^{2+}	24.3	9.6	1.9	24.2	9.5	2.1	24.4	8.7	1.5	24.1	9.2	2.8	23.9	7.4	2.9	24.4	8.1	1.8
Mn^{2+}	24.7	9.9	1.7	24.4	9.2	2.0	24.5	9.4	1.7	24.4	9.6	2.0	24.4	8.9	1.4	24.3	8.6	2.2
Al^{3+}	24.2	8.8	1.9	24.4	9.9	2.1	24.6	9.1	1.4	24.3	8.8	2.2	24.2	7.4	1.8	24.7	8.5	1.0
Zn^{2+}	24.3	9.6	1.9	24.3	9.9	2.0	24.5	8.8	1.9	24.4	9.2	2.0	24.5	8.1	1.4	24.5	8.5	1.5
Cu^{2+}	24.2	9.3	2.5	24.3	8.7	1.8	24.2	8.1	1.6	24.3	8.5	1.7	24.3	7.9	1.5	24.3	8.5	1.6

Table 39. Variation of hunter value of black rice extracts as affected by metal ions

Metal ions (10ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	26.1	8.1	2.6	26.5	8.5	2.4	26.8	8.6	2.6	26.8	8.9	2.7	26.7	8.4	2.5	26.6	8.2	2.7
Hg ²⁺	25.8	8.8	2.7	26.0	8.7	2.5	28.3	8.8	2.4	26.1	9.0	3.1	25.5	7.2	2.9	25.8	7.6	2.0
Fe ²⁺	26.3	7.8	2.3	26.3	7.9	2.6	27.1	7.2	2.0	27.1	7.3	2.1	26.8	6.3	2.0	26.9	6.3	1.9
Mn ²⁺	26.7	7.9	2.1	27.0	7.8	1.9	26.9	6.4	1.6	27.4	7.3	2.4	27.0	6.2	2.6	27.4	6.0	1.9
Al ³⁺	26.8	7.5	1.9	25.9	7.2	1.7	26.9	7.1	3.0	27.3	7.3	2.3	26.7	5.6	1.4	26.8	6.1	1.8
Zn ²⁺	27.0	8.5	2.5	26.9	8.2	2.5	27.1	7.7	2.2	27.1	7.7	2.4	27.1	7.5	2.0	27.0	7.6	2.3
Cu ²⁺	26.2	9.0	2.6	26.1	8.4	2.1	26.0	8.4	3.5	26.5	8.8	2.5	25.5	6.2	1.4	25.4	6.3	1.7

Table 40. Variation of hunter value of purple sweet potato extracts as affected by metal ions

Metal ions (10ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	27.9	7.0	-1.4	28.6	7.3	-1.4	28.5	7.2	-1.9	28.6	7.4	-1.8	28.6	6.7	-1.5	29.6	6.8	-1.8
Hg ²⁺	28.0	8.9	-1.5	27.8	8.3	-1.0	28.1	8.7	-1.5	28.1	8.8	-1.3	27.6	8.3	-0.8	27.4	8.1	0.2
Fe ²⁺	28.0	7.2	-1.2	28.1	7.3	-1.2	29.4	6.4	-1.7	29.6	6.5	-1.3	29.4	5.9	-1.6	29.5	6.0	-1.7
Mn ²⁺	28.5	7.2	-2.4	28.5	7.3	-1.7	30.1	6.2	-2.4	30.0	6.2	-2.1	29.2	5.4	0.3	30.0	6.0	-2.5
Al ³⁺	28.2	6.9	-1.0	28.7	7.5	-1.9	30.0	6.4	-2.4	29.9	6.1	-1.6	27.8	4.9	0.4	27.9	4.5	0.2
Zn ²⁺	28.5	7.5	-1.5	28.3	7.2	-1.4	28.8	5.7	-1.7	29.0	6.0	-1.0	29.3	5.9	-1.9	29.7	6.1	-2.5
Cu ²⁺	28.5	6.7	-1.1	28.4	8.2	-2.0	28.0	7.3	-1.6	28.5	7.6	-1.4	27.9	5.9	-1.6	28.1	5.9	-2.7

Table 41. Variation of hunter value of bitter melon extracts as affected by metal ions

Metal ions (10ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	31.9	-0.7	1.0	32.5	-0.6	0.7	32.8	-0.7	0.1	33.5	-0.7	0.0	31.2	-0.5	0.1	31.4	-0.7	0.3
Hg ²⁺	33.8	-1.7	0.5	30.8	-1.3	1.0	32.5	-0.7	1.4	32.9	-0.7	0.5	32.3	-1.3	0.2	31.4	-1.1	1.5
Fe ²⁺	32.7	-0.9	2.0	32.6	-1.2	2.1	31.0	-0.5	2.3	30.9	-0.4	2.4	32.9	-1.1	1.8	32.7	-0.9	1.4
Mn ²⁺	32.1	-0.6	1.4	32.5	-1.3	2.5	33.0	-0.7	1.5	33.1	-0.8	1.6	32.3	-1.3	2.6	33.3	-0.9	0.7
Al ³⁺	32.3	-1.1	2.2	32.5	-0.4	1.5	32.3	-0.5	1.5	32.4	-0.7	1.8	31.6	-0.6	1.6	33.0	-0.9	1.4
Zn ²⁺	32.5	-0.9	1.9	32.0	-0.7	1.5	32.3	-0.9	2.3	32.5	-0.7	1.9	32.0	-0.9	1.2	32.3	-0.8	1.4
Cu ²⁺	33.4	-0.6	0.0	32.4	-1.2	0.8	33.7	-1.5	1.9	32.9	-0.8	1.5	31.9	-0.8	2.2	31.5	-0.5	3.1

Table 42. Variation of hunter value of paprica extracts as affected by metal ions

Metal ions (10ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	26.1	3.4	4.7	26.1	3.6	5.1	26.6	3.5	5.7	27.0	3.6	5.5	26.3	3.0	5.4	26.8	3.0	5.1
Hg ²⁺	25.8	3.1	3.8	25.8	3.4	4.0	26.8	3.2	5.3	26.9	3.1	5.1	25.6	2.6	5.5	26.2	2.7	5.2
Fe ²⁺	25.7	3.0	4.2	25.8	3.4	3.8	24.4	8.7	1.5	26.2	2.3	5.3	26.0	3.5	4.8	26.5	3.3	4.5
Mn ²⁺	25.9	3.3	4.2	26.1	3.2	4.6	26.9	3.6	4.9	26.5	3.3	5.3	25.9	3.1	4.6	26.7	3.2	5.1
Al ³⁺	26.1	3.4	4.3	25.8	3.1	4.8	26.5	3.6	4.7	26.5	3.6	5.1	25.6	2.7	3.4	25.9	2.5	3.5
Zn ²⁺	26.0	2.5	4.9	25.5	2.5	4.0	26.5	3.3	4.7	26.3	3.1	5.1	26.6	3.2	4.8	26.9	3.3	4.9
Cu ²⁺	26.9	3.9	5.4	26.5	3.3	5.0	27.1	3.3	6.2	26.8	3.5	5.6	26.9	3.3	5.1	27.1	3.1	5.4

Table 43. Variation of hunter value of yellow gardenia extracts as affected by metal ions

Metal ions (10ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	29.8	-0.7	11.4	30.4	-1.0	12.8	31.4	-2.1	10.9	32.2	-2.7	12.6	31.2	-2.3	9.5	31.0	-2.6	10.8
Hg ²⁺	30.6	2.3	13.3	30.1	0.8	13.2	30.5	0.5	13.0	31.0	0.9	13.8	30.5	-0.6	12.4	31.1	-0.6	13.0
Fe ²⁺	30.9	1.6	14.5	30.3	1.9	12.5	30.9	0.1	13.1	30.6	0.4	12.5	30.7	-0.8	12.7	30.4	-0.6	11.7
Mn ²⁺	30.1	2.7	12.8	29.9	3.5	11.9	30.3	2.2	12.0	30.5	1.9	12.6	29.4	0.8	10.9	30.2	1.7	11.8
Al ³⁺	30.5	2.2	13.0	30.6	1.9	12.8	30.7	0.3	12.8	30.7	-0.2	13.7	30.7	-1.3	13.2	30.7	-0.9	12.7
Zn ²⁺	30.5	2.2	13.4	30.9	1.5	14.4	31.2	0.2	13.4	31.3	-0.1	13.9	30.7	-0.7	12.3	31.2	-1.0	13.5
Cu ²⁺	30.0	1.8	12.4	29.6	1.7	11.1	31.9	-1.2	15.4	31.4	-0.5	13.5	31.2	-1.5	12.6	30.5	-1.6	10.7

Table 44. Variation of hunter value of blue gardenia extracts as affected by metal ions

Metal ions (10ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	22.7	0.1	-0.6	22.6	0.4	-0.5	22.7	0.2	-0.6	22.8	0.4	-0.6	22.7	0.1	-0.6	22.7	0.2	-0.5
Hg ²⁺	22.9	0.2	-0.5	22.7	0.41	-0.5	22.8	0.4	-0.3	22.6	-0.1	-0.4	22.6	0.2	-0.2	22.5	0.4	0.0
Fe ²⁺	22.9	0.3	-0.7	22.6	0.2	-0.6	22.8	0.4	-0.7	22.9	0.3	-1.0	22.9	0.2	-0.4	23.2	0.2	-1.0
Mn ²⁺	22.6	0.2	0.0	22.6	0.1	-0.1	22.9	0.5	-0.7	22.9	0.3	-0.7	22.8	0.2	-0.7	22.8	0.5	-0.5
Al ³⁺	22.8	0.3	-0.8	22.6	0.1	-0.6	22.7	0.3	-0.4	22.7	0.3	-0.3	22.6	0.5	-0.9	22.8	0.3	-0.8
Zn ²⁺	22.6	-0.1	-0.5	22.6	0.2	-0.7	22.8	0.3	-0.3	22.8	0.5	-0.6	22.8	0.2	-0.6	22.9	0.3	-0.6
Cu ²⁺	22.8	0.3	-0.6	22.6	-0.4	-0.3	22.9	0.4	-0.5	22.7	0.2	-0.5	22.9	0.3	-0.6	22.8	0.1	-0.5

Table 45. Variation of hunter value of *Rehmannia glutinosa* extracts as affected by metal ions

Metal ions (10ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	26.6	2.1	3.3	26.6	1.9	3.8	26.7	1.7	3.3	27.1	1.4	3.0	26.8	1.4	4.8	27.3	1.6	3.7
Hg ²⁺	26.4	2.0	3.5	25.9	1.6	3.4	26.1	1.7	3.5	26.2	1.8	3.7	25.9	1.7	3.7	26.6	1.7	3.3
Fe ²⁺	26.6	2.2	3.6	26.6	2.2	4.0	26.6	1.8	3.0	26.7	1.7	4.2	27.1	1.9	3.5	27.3	1.9	3.3
Mn ²⁺	27.1	1.9	4.3	27.9	1.9	3.4	27.4	2.0	3.8	27.2	1.9	4.2	28.1	1.6	3.6	27.3	1.5	3.8
Al ³⁺	27.3	1.8	4.0	27.6	1.9	4.5	27.6	1.9	4.0	27.6	1.8	4.1	27.4	1.8	3.1	27.6	1.6	3.7
Zn ²⁺	27.1	2.1	4.2	26.8	1.8	4.2	27.6	1.9	3.9	27.6	1.8	4.2	27.7	1.7	4.1	27.7	1.8	3.9
Cu ²⁺	27.2	-0.2	5.1	27.2	2.0	4.4	27.0	2.1	3.4	27.0	1.9	3.5	26.5	1.8	2.6	26.1	1.8	3.0

Table 46. Variation of hunter value of mulberry leave extracts as affected by metal ions

Metal ions (10ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	30.1	-0.1	6.0	30.3	-0.1	6.1	30.8	-0.1	5.7	30.7	0.1	5.6	30.6	-0.3	5.6	30.6	-0.2	5.1
Hg ²⁺	30.7	-0.4	6.0	30.8	-0.1	6.0	30.5	0.1	6.0	30.7	-0.3	7.0	28.9	0.1	6.2	29.4	-0.1	5.7
Fe ²⁺	31.1	-0.3	6.1	31.6	-1.7	7.1	31.4	-0.2	5.6	31.3	-0.4	5.8	30.3	-0.1	6.2	29.5	-0.5	7.2
Mn ²⁺	28.4	0.8	5.2	30.3	0.2	6.2	31.0	-0.1	5.5	31.1	-0.3	6.2	31.2	-0.3	5.6	31.9	-0.9	5.5
Al ³⁺	30.6	-0.1	6.0	31.2	-0.3	0.5	31.4	-0.4	5.9	31.7	-0.7	6.1	30.1	-0.4	4.4	30.3	-0.4	4.9
Zn ²⁺	31.4	-0.6	5.9	31.6	-0.6	6.2	31.2	-0.8	5.4	30.9	-0.4	4.8	30.3	0.0	4.8	30.8	-0.4	4.7
Cu ²⁺	29.4	0.2	5.8	29.8	0.4	5.7	31.0	-0.1	6.1	31.0	-0.4	6.2	31.1	-0.3	5.2	30.9	-0.3	5.4

Table 47. Variation of hunter value of onion peel extracts as affected by metal ions

Metal ions (10ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	25.9	2.9	3.5	25.9	3.1	3.4	26.2	3.2	3.9	26.3	3.1	3.9	24.8	3.1	4.2	24.7	2.7	3.6
Hg ²⁺	26.7	3.2	5.8	26.6	2.7	5.1	28.5	2.7	6.4	28.6	2.7	7.5	27.1	3.1	7.6	28.4	2.2	6.2
Fe ²⁺	25.4	2.9	3.1	25.6	3.3	3.4	26.0	3.3	3.5	25.9	2.4	4.3	25.0	3.1	3.8	25.7	3.2	4.1
Mn ²⁺	25.9	2.5	5.1	26.2	3.7	4.1	26.4	3.7	4.2	26.1	3.3	4.7	26.5	3.3	4.6	26.1	2.8	3.8
Al ³⁺	25.9	3.4	3.6	26.1	3.8	4.0	26.1	3.2	3.6	26.0	3.2	4.6	25.8	2.9	3.1	25.6	2.7	3.0
Zn ²⁺	26.1	3.4	4.3	26.0	2.7	5.0	26.4	3.5	4.6	25.2	3.8	5.0	26.4	3.3	4.1	26.5	3.2	4.0
Cu ²⁺	25.5	3.2	3.2	25.4	3.1	3.1	26.1	3.7	3.8	26.2	3.8	3.8	25.7	2.9	3.1	26.3	3.2	3.6

Table 48. Variation of hunter value of grape peel extracts as affected by metal ions

Metal ions (10ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	26.3	7.8	1.9	26.1	7.9	2.0	26.5	8.5	1.6	26.4	8.6	2.0	26.3	8.0	1.7	26.4	8.3	1.6
Hg ²⁺	26.1	9.2	2.4	25.9	9.8	2.2	25.6	8.8	2.0	25.7	9.0	1.7	25.1	7.9	3.9	25.2	7.6	2.3
Fe ²⁺	26.7	6.7	2.6	27.1	7.3	2.2	26.9	7.1	1.9	26.9	7.1	2.5	26.4	6.2	3.2	26.8	6.6	2.5
Mn ²⁺	26.9	7.6	1.7	27.2	7.2	2.0	27.4	7.2	1.9	27.5	7.4	1.9	27.7	7.3	1.4	27.4	6.3	2.1
Al ³⁺	27.0	6.9	1.9	27.0	6.9	2.0	27.0	6.8	1.7	27.2	7.1	1.8	25.7	5.2	3.3	26.4	6.3	3.1
Zn ²⁺	27.4	7.2	1.9	27.5	6.5	2.6	26.9	6.7	2.3	27.2	7.0	1.9	27.4	6.8	1.4	27.4	7.0	1.6
Cu ²⁺	26.3	8.1	1.7	26.0	8.5	2.4	26.5	9.0	1.8	26.4	9.0	1.5	26.6	8.8	1.3	26.5	8.6	1.5

Table 49. Variation of hunter value of mulberry extracts as affected by metal ions

Metal ions (10ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	24.0	7.6	1.7	24.1	7.7	1.8	24.0	8.5	2.2	24.3	8.0	1.7	23.8	6.9	1.9	23.6	6.4	2.2
Hg ²⁺	26.1	9.2	2.4	23.9	7.6	1.7	24.2	8.0	1.7	23.9	7.4	1.8	24.1	7.5	1.5	24.4	7.6	1.6
Fe ²⁺	24.1	7.1	1.5	24.2	7.3	1.5	24.2	7.6	1.7	24.2	7.5	1.7	24.2	7.2	1.8	24.3	7.5	2.0
Mn ²⁺	24.2	7.6	2.0	24.0	7.4	2.0	24.3	8.1	1.9	24.1	8.4	2.3	23.7	7.2	2.6	24.4	7.9	2.2
Al ³⁺	24.2	7.5	1.7	24.9	7.3	2.0	24.4	7.9	1.8	24.2	8.0	1.9	24.4	8.0	1.9	24.9	8.1	1.2
Zn ²⁺	24.1	8.2	2.2	24.1	7.9	2.1	24.6	7.7	2.0	24.6	8.0	2.3	24.6	7.7	2.1	24.6	7.5	1.9
Cu ²⁺	24.3	8.0	1.8	24.6	7.5	1.6	24.2	7.9	1.9	24.5	8.3	1.5	24.2	7.5	1.7	24.2	8.0	1.8

Table 50. Variation of hunter value of redbeet extracts as affected by metal ions

Metal ions (10ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	23.4	6.7	0.2	23.3	7.2	0.4	24.1	7.8	0.4	24.0	8.4	0.4	24.2	7.7	1.9	23.9	7.3	2.7
Hg ²⁺	23.6	6.0	0.0	23.3	6.2	6.3	24.9	8.0	0.9	24.8	7.8	1.1	25.4	6.9	2.6	25.9	7.3	1.6
Fe ²⁺	23.4	7.2	1.2	23.5	7.3	1.2	24.8	8.3	2.1	24.6	8.4	2.3	25.5	6.8	2.9	25.6	7.0	3.2
Mn ²⁺	24.6	8.9	0.5	24.7	8.8	0.0	26.3	6.9	1.2	27.3	6.7	2.6	27.6	6.3	2.3	28.3	6.8	2.0
Al ³⁺	23.3	6.5	0.5	23.5	6.6	0.7	23.9	7.9	0.6	23.7	7.9	0.8	23.9	6.2	0.5	24.1	6.9	0.5
Zn ²⁺	23.2	6.4	0.0	23.2	7.0	0.2	23.7	7.0	1.1	23.8	7.7	0.5	23.9	7.0	0.1	24.1	7.6	-0.1
Cu ²⁺	23.3	5.4	0.1	23.3	6.1	-0.1	24.1	8.1	-0.1	24.1	8.5	-0.4	24.6	8.4	-0.2	24.7	8.5	-0.4

Table 51. Variation of hunter value of black rice extracts as affected by metal ions

Metal ions (100ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	27.1	8.4	2.7	27.2	8.6	2.7	27.4	8.0	2.2	27.4	8.1	2.7	27.1	7.1	2.1	27.0	7.1	2.8
Hg ²⁺	25.8	8.7	2.7	25.9	8.3	2.4	26.1	8.8	2.6	26.1	9.1	2.8	25.2	7.6	3.7	25.8	8.0	2.3
Fe ²⁺	26.2	7.7	2.4	26.0	7.5	2.8	26.9	6.9	2.8	26.8	6.8	3.1	26.2	5.6	3.7	26.8	5.9	2.7
Mn ²⁺	27.0	7.8	1.8	27.0	7.6	2.0	27.8	7.2	2.0	28.0	7.0	3.2	28.4	7.4	2.1	28.2	7.3	1.7
Al ³⁺	26.4	7.9	1.9	26.1	7.5	2.0	27.0	7.2	2.0	27.0	7.1	1.7	26.9	6.6	1.7	27.1	6.8	1.5
Zn ²⁺	26.7	8.2	2.3	26.2	7.1	2.1	27.0	7.7	2.2	27.0	7.7	2.1	26.7	6.7	1.4	26.4	6.5	2.1
Cu ²⁺	27.1	5.6	2.7	27.8	6.6	-0.9	28.5	5.0	2.5	28.2	4.5	3.5	27.9	4.1	1.9	27.8	3.5	1.2

Table 52. Variation of hunter value of purple sweet potato extracts as affected by metal ions

Metal ions (100ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	28.2	6.9	-1.7	28.2	6.8	-1.3	27.1	6.0	1.6	27.1	5.9	1.7	25.7	2.7	2.1	26.1	2.9	1.3
Hg ²⁺	27.9	8.4	-1.3	28.0	8.5	-1.7	28.0	8.7	-1.8	28.1	8.6	-1.3	27.8	8.2	-1.3	27.7	8.0	-1.3
Fe ²⁺	28.1	6.6	0.3	28.1	6.5	0.0	29.3	5.2	0.5	29.9	5.3	0.7	28.5	4.3	0.6	29.0	4.6	-0.3
Mn ²⁺	28.1	6.8	-1.4	28.2	7.1	-2.1	30.1	5.9	-2.2	30.3	5.9	-2.3	29.9	5.7	-2.0	29.9	5.6	-2.2
Al ³⁺	28.0	7.0	-1.5	28.2	7.0	-1.7	29.5	6.2	-2.0	29.5	6.2	-2.1	29.2	5.7	-2.1	29.3	5.3	-2.8
Zn ²⁺	28.2	7.2	-1.8	28.4	7.4	-1.6	28.9	7.2	-2.0	28.7	6.9	-1.7	29.4	6.0	-2.3	29.1	5.7	-1.7
Cu ²⁺	28.2	7.1	-1.9	27.8	6.6	-0.9	27.9	6.4	-1.5	27.5	6.2	-0.1	28.4	7.2	-2.3	28.1	7.0	-1.7

Table 53. Variation of hunter value of bitter melon extracts as affected by metal ions

Metal ions (100ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	30.1	1.2	0.0	29.4	1.5	0.2	26.1	4.0	1.0	26.0	4.2	1.0	24.6	2.3	0.3	24.5	2.4	0.5
Hg ²⁺	33.2	-1.3	0.5	33.0	-0.6	0.5	32.8	-0.7	0.6	32.9	-0.7	0.5	32.9	-0.7	-0.1	33.0	-0.6	-0.2
Fe ²⁺	32.4	-1.2	3.2	31.8	-1.1	2.8	31.7	-0.9	3.0	32.5	-1.7	3.5	32.8	-1.7	2.6	32.8	-1.5	2.9
Mn ²⁺	32.4	-0.8	2.2	32.6	-0.9	1.6	33.0	-0.6	1.1	33.0	-1.0	1.8	31.5	-0.4	1.7	32.1	-0.9	1.1
Al ³⁺	32.2	-0.8	1.7	32.7	-1.0	2.3	31.3	-1.5	1.3	32.2	-0.9	2.4	32.2	-1.3	1.9	32.6	-0.9	1.3
Zn ²⁺	32.0	-0.7	2.3	32.5	-1.1	2.5	32.0	-0.5	1.4	31.9	-0.8	2.3	32.3	-0.7	1.3	32.8	-1.2	1.7
Cu ²⁺	33.8	-0.2	-0.2	32.9	-2.3	1.9	32.7	-1.3	1.4	32.9	-1.1	1.1	31.8	-0.9	1.0	32.3	-1.2	0.8

Table 54. Variation of hunter value of paprica extracts as affected by metal ions

Metal ions (100ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	28.5	1.0	3.1	28.3	0.7	3.4	29.5	1.2	4.7	29.4	0.5	5.0	28.8	1.1	4.5	28.7	1.2	4.7
Hg ²⁺	25.6	2.9	4.0	25.6	2.7	4.2	26.7	3.1	4.9	26.5	2.7	5.4	26.6	2.8	4.6	25.6	2.7	4.1
Fe ²⁺	25.8	3.4	3.7	25.6	3.2	3.7	25.9	3.0	4.0	26.0	3.1	4.2	24.8	3.0	4.0	25.3	2.8	3.9
Mn ²⁺	25.9	3.9	5.0	26.1	2.6	4.7	26.9	3.1	5.2	27.0	3.1	5.3	27.2	3.4	4.8	26.8	2.5	4.9
Al ³⁺	25.7	3.4	3.8	25.9	3.5	3.8	26.6	3.7	4.7	26.4	4.3	4.4	26.5	3.3	5.2	25.3	3.7	5.1
Zn ²⁺	25.8	2.6	3.9	26.2	3.4	4.7	26.6	3.2	4.7	26.0	3.0	4.7	26.4	3.2	4.8	26.4	3.1	4.7
Cu ²⁺	25.8	3.2	4.2	25.8	3.8	4.3	26.6	3.4	4.8	25.8	3.1	5.1	27.2	2.6	4.4	26.3	3.0	4.5

Table 55. Variation of hunter value of red cabbage extracts as affected by metal ions

Metal ions (100ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	24.3	8.5	1.5	24.3	9.0	1.9	24.4	8.5	1.7	24.3	8.9	1.7	24.2	8.1	1.4	24.3	8.0	1.3
Hg ²⁺	24.2	9.5	2.3	24.3	9.6	2.1	24.4	8.8	1.8	24.3	9.1	1.9	24.2	7.9	1.5	24.0	8.1	2.0
Fe ²⁺	24.3	9.1	1.9	24.4	8.8	1.6	24.3	8.0	1.7	24.3	8.6	1.8	24.3	7.3	2.4	24.5	7.9	1.9
Mn ²⁺	24.4	9.3	2.0	24.2	8.4	1.8	24.3	8.9	1.6	24.4	9.3	1.7	24.5	9.0	1.7	24.3	8.5	1.4
Al ³⁺	24.1	8.3	1.5	24.4	8.6	1.9	24.5	8.4	1.9	24.4	9.0	1.8	24.1	7.4	2.4	24.5	9.0	1.5
Zn ²⁺	24.3	8.2	1.5	24.5	9.2	1.7	24.5	9.2	1.6	24.3	9.4	2.1	24.4	8.5	1.6	24.6	8.7	1.3
Cu ²⁺	24.4	9.6	1.8	24.2	8.9	1.8	24.5	8.8	1.7	24.4	9.2	1.7	24.2	7.8	1.7	24.7	9.3	1.2

Table 56. Variation of hunter value of yellow gardenia extracts as affected by metal ions

Metal ions (100ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	29.5	3.4	10.8	29.7	3.3	11.4	30.0	1.7	11.4	30.5	1.2	13.2	30.7	0.8	11.9	29.5	1.1	10.7
Hg ²⁺	30.1	1.8	13.3	30.4	1.7	13.3	30.6	0.4	13.0	31.1	0.3	13.5	29.5	-0.1	10.9	30.1	-0.1	11.5
Fe ²⁺	31.6	-0.2	15.1	30.9	0.1	13.2	31.9	-1.6	12.3	32.3	-2.1	13.5	31.8	-1.9	10.6	31.3	-1.9	10.5
Mn ²⁺	30.0	2.9	12.1	29.7	3.7	11.8	29.3	2.6	10.5	30.3	2.9	12.1	28.5	2.5	9.4	29.3	2.4	10.2
Al ³⁺	29.9	2.1	11.5	30.3	2.3	12.4	31.0	0.0	12.7	31.0	0.0	13.0	31.3	-1.3	13.0	31.0	-0.8	13.5
Zn ²⁺	30.4	2.7	12.9	29.9	2.6	11.9	30.6	0.9	12.6	30.6	0.7	12.8	30.3	0.2	11.8	30.8	-0.1	12.6
Cu ²⁺	30.5	2.7	13.1	30.9	1.8	12.0	31.5	-0.6	14.1	31.6	-0.7	14.2	31.3	-1.7	11.6	31.5	-1.1	12.3

Table 57. Variation of hunter value of blue gardenia extracts as affected by metal ions

Metal ions (100ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	22.9	0.4	-0.6	22.9	0.3	-0.6	22.8	0.0	-0.4	23.0	0.3	-0.6	23.1	0.2	-0.7	23.1	0.4	-0.8
Hg ²⁺	22.6	-0.2	-0.3	22.9	0.3	-0.6	23.0	0.3	-0.5	23.0	0.3	-0.7	22.7	0.3	-0.3	22.8	0.2	-0.2
Fe ²⁺	22.7	0.4	-0.6	22.4	-0.2	-0.4	22.9	0.3	-0.6	22.6	0.1	-0.6	22.6	0.2	-0.3	23.0	0.0	-0.1
Mn ²⁺	22.7	0.4	-0.6	22.8	0.3	-0.6	29.3	2.6	10.5	22.5	0.0	-0.5	22.9	0.4	-0.8	22.7	0.0	-0.5
Al ³⁺	22.8	0.3	-0.6	22.8	0.0	-0.6	22.7	0.4	-0.6	22.5	0.0	-0.4	22.7	0.4	-0.5	22.7	0.2	-0.5
Zn ²⁺	22.8	0.4	-0.7	22.7	0.1	-0.5	22.8	0.1	-0.5	22.9	0.4	-0.6	22.6	0.0	-0.6	22.9	0.3	-0.7
Cu ²⁺	22.6	0.1	-0.4	22.7	0.1	-0.6	22.6	-0.1	-0.6	22.8	0.3	-0.7	22.7	0.2	-0.2	22.7	0.4	-0.6

Table 58. Variation of hunter value of *Rehmannia glutinosa* extracts as affected by metal ions

Metal ions (100ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	26.9	2.0	3.5	26.8	1.9	3.9	27.3	1.9	3.6	27.2	1.5	4.3	26.9	1.6	2.9	26.8	1.7	3.6
Hg ²⁺	26.6	2.4	3.7	27.0	1.9	3.4	26.6	2.0	3.5	26.4	1.7	3.9	26.1	1.6	3.9	26.0	1.5	3.8
Fe ²⁺	27.1	2.2	4.1	26.6	1.8	4.0	26.9	1.6	3.7	27.8	1.8	4.7	27.4	1.6	4.8	27.4	1.3	4.8
Mn ²⁺	26.7	1.0	4.3	27.2	1.8	4.2	27.6	1.9	4.0	27.8	1.6	4.3	27.1	1.8	3.7	28.1	1.7	3.5
Al ³⁺	26.5	1.7	4.3	27.0	2.2	3.9	27.3	1.7	3.7	27.3	1.6	4.5	27.3	1.6	4.3	27.0	1.4	4.7
Zn ²⁺	27.0	1.6	3.9	27.4	1.7	4.3	28.1	1.8	4.1	28.1	1.7	4.4	27.8	1.9	3.9	27.8	1.6	3.8
Cu ²⁺	27.2	-0.2	5.1	26.6	1.9	3.8	26.3	1.7	3.1	25.7	0.9	4.5	26.8	1.8	3.3	26.7	1.8	3.7

Table 59. Variation of hunter value of mulberry leave extracts as affected by metal ions

Metal ions (100ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	29.8	0.4	4.6	30.3	0.1	5.7	30.5	0.2	4.9	30.7	-0.1	5.7	28.6	1.4	4.5	28.0	1.3	5.6
Hg ²⁺	30.5	-1.1	6.1	30.9	-0.4	5.5	29.9	0.4	6.0	30.3	0.1	6.7	30.1	0.1	6.1	30.0	0.2	6.5
Fe ²⁺	30.5	-0.3	6.5	30.3	-0.4	6.2	30.7	-0.4	5.6	30.9	-0.5	6.4	30.1	-0.4	5.4	30.1	-0.6	5.5
Mn ²⁺	30.4	-0.3	5.3	30.5	-0.3	6.3	31.0	0.0	5.5	31.1	-0.2	5.9	30.2	-0.4	5.7	32.2	-0.6	5.3
Al ³⁺	30.1	-0.1	5.4	31.0	-0.4	6.0	31.8	-0.7	5.2	31.5	-0.6	5.9	31.2	-1.2	5.4	31.1	-0.5	4.9
Zn ²⁺	31.0	0.0	6.2	30.0	-0.7	5.8	31.3	-0.4	6.1	31.4	-0.5	5.7	31.0	-0.3	4.4	31.2	-0.2	5.2
Cu ²⁺	30.0	-0.5	5.1	30.7-2.8	7.5	30.7	-0.6	6.6	31.1	-0.7	6.0	30.0	-0.3	6.2	30.8	-0.6	4.9	

Table 60. Variation of hunter value of onion peel extracts as affected by metal ions

Metal ions (100ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	26.3	2.9	2.7	26.4	3.0	2.5	30.5	0.2	4.9	25.6	2.7	1.3	25.8	1.5	1.4	25.5	1.2	1.6
Hg ²⁺	26.1	3.2	4.6	26.5	3.4	5.4	27.9	3.1	6.5	27.9	3.0	6.9	27.4	2.6	6.0	27.6	2.4	6.1
Fe ²⁺	25.0	2.9	2.6	25.1	3.0	2.7	25.4	3.1	3.2	24.8	2.2	2.5	25.4	2.8	2.4	25.2	2.8	2.6
Mn ²⁺	26.3	3.4	3.6	25.8	3.4	4.4	26.3	3.6	3.5	26.4	3.4	3.6	26.6	3.0	3.4	26.5	3.1	3.5
Al ³⁺	26.2	3.5	4.3	26.3	3.7	4.1	26.5	3.8	4.3	26.5	3.5	4.7	26.2	3.5	4.9	26.9	3.7	4.7
Zn ²⁺	25.9	3.5	4.4	26.0	3.6	4.0	26.5	3.5	4.3	26.3	3.4	4.7	26.4	3.3	4.0	26.6	3.4	4.3
Cu ²⁺	25.2	3.3	3.4	25.6	3.1	3.5	25.9	3.6	4.1	25.7	3.4	3.9	26.0	3.1	3.4	25.7	3.0	3.1

Table 61. Variation of hunter value of grape peel extracts as affected by metal ions

Metal ions (100ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	26.6	6.9	2.0	26.7	6.9	1.8	25.5	2.7	1.4	25.1	4.6	2.9	25.5	3.2	1.1	25.3	2.9	1.4
Hg ²⁺	25.8	9.3	2.3	25.8	9.3	2.2	27.9	3.1	6.5	25.7	9.5	2.7	25.1	7.5	3.0	25.5	8.4	2.4
Fe ²⁺	27.1	7.2	2.7	27.0	6.9	2.8	26.9	6.5	2.2	26.9	7.0	2.9	26.4	5.9	3.2	26.5	5.5	2.9
Mn ²⁺	26.5	6.2	2.7	27.1	7.0	2.4	27.5	7.2	2.0	27.4	7.4	2.1	27.2	7.0	2.0	27.1	6.6	2.0
Al ³⁺	26.9	7.1	2.6	27.2	7.3	2.0	27.3	7.4	1.8	27.1	7.0	2.1	26.3	6.3	2.2	26.6	6.4	1.9
Zn ²⁺	26.9	7.3	2.1	27.2	7.6	2.2	27.5	7.2	1.3	27.1	7.1	2.6	27.3	7.0	1.2	27.2	6.9	1.9
Cu ²⁺	26.9	7.6	1.7	26.7	7.3	1.8	27.0	7.5	1.8	26.8	7.5	2.2	26.6	6.9	1.4	27.2	7.2	0.3

Table 62. Variation of hunter value of mulberry extracts as affected by metal ions

Metal ions (100ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	24.3	6.9	1.3	24.1	7.2	1.6	24.1	7.0	1.4	24.1	7.7	1.8	24.1	6.8	1.5	24.2	7.0	1.4
Hg ²⁺	24.1	8.3	2.0	24.1	8.2	1.9	24.3	7.5	0.9	23.9	8.1	1.9	23.8	6.7	1.6	24.0	7.1	1.4
Fe ²⁺	24.1	7.3	1.6	24.0	7.0	1.8	24.3	7.2	1.6	24.1	7.4	1.9	23.7	5.3	2.2	23.8	6.2	2.4
Mn ²⁺	24.5	7.8	2.1	24.2	7.2	2.2	24.7	8.4	2.3	24.7	7.8	2.3	24.6	7.4	2.1	24.5	7.3	2.2
Al ³⁺	23.8	6.1	1.5	24.1	7.6	2.0	24.1	7.3	1.8	24.0	7.3	1.9	23.9	7.6	1.8	23.9	7.4	1.6
Zn ²⁺	23.9	7.5	2.1	24.3	7.8	1.7	24.5	7.9	1.9	24.2	7.9	2.3	24.5	7.7	1.9	24.4	7.7	1.8
Cu ²⁺	24.2	7.5	1.7	24.2	7.6	1.6	24.2	7.9	1.9	24.4	8.2	1.9	24.3	7.3	1.6	24.2	7.2	1.7

Table 63. Variation of hunter value of redbeet extracts as affected by metal ions

Metal ions (100ppm)	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Ag ²⁺	24.1	8.2	0.8	23.9	8.6	1.1	26.1	7.5	2.5	26.2	7.6	2.5	27.2	5.0	3.0	26.8	4.8	2.9
Hg ²⁺	23.1	5.9	0.3	23.6	6.5	0.0	24.8	8.2	0.9	24.7	8.0	1.3	25.5	7.1	1.6	25.2	7.1	2.7
Fe ²⁺	23.6	6.6	1.8	23.8	7.0	1.0	25.7	6.4	2.7	25.7	6.8	3.2	26.4	4.3	4.7	26.0	4.2	5.3
Mn ²⁺	24.4	8.0	0.8	24.6	9.3	0.2	27.9	6.8	1.5	27.5	7.0	2.3	27.9	4.2	2.1	27.8	3.4	1.1
Al ³⁺	23.6	6.1	0.6	23.2	6.7	0.7	23.9	7.63	0.6	23.8	7.7	0.8	24.0	7.5	0.6	23.8	6.6	0.7
Zn ²⁺	23.5	6.6	-0.2	23.1	6.1	0.1	23.8	7.9	0.3	23.6	7.6	0.8	24.2	8.2	-0.5	24.1	8.2	-0.1
Cu ²⁺	23.3	6.3	0.4	23.5	6.1	-0.3	24.5	8.3	-0.3	24.2	8.2	0.5	25.5	7.4	0.3	25.4	7.6	0.5

금속이온 종류에 따른 천연색소의 경시적인 색차변이를 15일간 3일 간격으로 측정 한 결과를 보면, 대부분 L, a, b 값에 큰 변화가 없었으며 비교적 금속이온의 영향을 덜 받는 것으로 나타났다. 그 외 다른 안토시아닌계 천연색소에서도 금속이온에 대해 크게 불안정성을 보이지는 않았다. 그러나 이는 비교적 단기간인 15일 동안의 색차 변이 추세를 측정 한 것으로 향후 보다 장기적인 실험 필요성이 있다고 사료된다.

(라) 당류에 따른 색소의 색차 변이

당 첨가에 의한 색소 추출액의 열 안정성 변화를 조사하기 위하여 대표적인 당류인 glucose, galactose, fructose, maltose, sucrose를 사용하여 색소액에 당 농도가 1%가 되도록 첨가하여 반응액을 제조하였다, 반응액의 pH를 3.0으로 조절하고 10 0℃에서 0~120분 동안 가열한 후 색도변화를 측정하였다.

당 첨가(1%)에 의한 색소 추출액의 색차변이를 가열조건에서 60분 간격으로 측정 한 결과를 보면, 천연색소 종류에 따라 색도 변화에 다소 차이가 있었다. 적양배추, 자색고구마 등에서는 비교적 색차에 큰 변화가 없었지만, 레드비트, 여주 색소에서는 다소 불안정성을 나타냈다. 그러나 비교적 안정성을 보였던 색소에서도 120분 이상의 장시간 처리했을 경우는 안정성에 큰 변화가 있을 것으로 추측된다.

Table 64. Variation of hunter value of natural plant pigment as affected by sugars

Natural plant pigment	Hunter value														
	glucose			fructose			galactose			maltose			sucrose		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
0 minutes heating															
Black rice	25.4	4.2	1.0	24.6	3.5	0.7	24.9	3.4	0.7	26.0	4.2	1.6	25.6	4.0	1.5
Purple sweet potato	28.7	4.6	-1.5	28.6	4.6	-1.4	28.9	4.6	-1.4	28.0	3.9	-0.6	28.5	4.9	-0.9
Mature bitter melon	31.8	-0.9	1.7	31.1	-1.0	1.9	31.3	-1.6	2.0	31.8	-0.6	2.0	31.5	-0.7	2.3
Paprika	24.5	2.0	1.3	25.1	3.1	2.3	24.6	2.1	1.4	25.1	2.8	1.8	25.3	2.3	2.0
Red cabbage	24.4	6.4	-1.6	24.8	7.3	-1.9	24.3	6.9	-1.2	24.5	6.3	-1.8	25.1	6.8	-1.4
Yellow gardenia	29.2	3.6	10.5	29.2	3.7	10.2	28.1	3.7	8.8	29.4	3.4	10.0	29.6	3.2	10.8
Blue gardenia	22.9	0.4	-0.6	22.9	0.5	-0.7	23.0	0.5	-0.6	23.1	0.3	-0.8	23.4	0.6	-0.8
<i>Rehmannia glutinosa</i>	25.7	2.4	3.0	24.8	2.2	1.3	25.3	2.4	1.9	25.9	2.3	2.9	25.5	2.6	2.3
Mulberry leave	28.0	0.8	4.7	28.3	0.3	6.2	28.4	0.6	5.7	28.4	0.2	5.8	28.1	0.4	5.2
Onion peel	25.1	2.5	1.6	24.9	2.7	1.6	24.5	2.4	1.7	25.1	3.5	1.9	25.3	3.1	1.5
Grape peel	28.3	2.9	2.5	27.4	2.0	2.2	28.4	2.9	3.2	28.4	2.7	2.5	28.0	2.3	2.3
Mulberry	24.2	5.7	0.9	24.3	5.3	0.6	24.0	4.6	0.3	24.3	5.2	0.3	24.2	5.5	0.4
Redbeet	23.4	4.4	0.1	23.4	4.9	0.1	23.8	4.6	0.3	23.5	5.4	0.1	23.8	5.1	0.2
60 minutes heating															
Black rice	26.4	3.9	3.6	26.0	4.0	2.7	26.4	3.9	3.1	27.0	3.5	3.5	26.7	3.3	3.8
Purple sweet potato	28.5	3.3	-0.9	29.5	3.4	-0.9	28.8	3.3	-0.6	29.4	3.5	-1.1	29.0	3.2	-0.9
Mature bitter melon	31.3	-0.6	2.8	31.9	-0.3	2.4	30.8	-0.2	2.6	30.5	-0.3	2.8	30.8	-0.5	2.6
Paprika	24.7	1.6	1.1	24.8	2.9	2.3	24.3	2.1	1.2	25.3	2.5	1.9	25.1	2.1	2.0
Red cabbage	25.2	5.8	-0.5	25.4	6.1	-1.0	25.2	5.0	-0.6	25.4	5.4	-0.5	25.2	5.0	-0.3
Yellow gardenia	29.8	2.3	10.9	30.8	1.4	12.4	28.8	1.3	10.0	29.7	1.4	10.9	29.8	1.4	11.2
Blue gardenia	23.1	0.3	-0.6	22.4	0.7	-0.6	23.0	0.5	-0.7	23.4	0.1	-0.6	23.0	0.3	-0.6
<i>Rehmannia glutinosa</i>	24.9	2.2	1.6	24.3	2.4	1.3	24.8	2.3	1.2	25.1	2.3	1.7	24.9	2.3	1.5
Mulberry leave	27.3	0.6	2.5	28.8	0.5	4.5	28.0	0.6	3.9	28.5	0.5	4.8	28.1	0.7	4.2
Onion peel	25.8	4.3	3.6	26.5	4.5	4.5	25.8	4.3	3.4	25.4	4.9	4.2	25.7	4.5	3.9
Grape peel	27.9	2.3	3.2	27.7	2.3	3.7	27.7	2.6	3.7	28.3	2.5	3.7	28.0	2.4	3.5
Mulberry	24.6	5.2	1.2	24.1	4.4	0.7	24.6	4.3	0.5	24.2	4.3	0.6	24.5	4.0	0.5
Redbeet	26.0	6.7	4.0	24.7	7.5	2.7	25.6	5.4	3.5	24.5	6.6	2.2	25.2	6.2	3.1
120 minutes heating															
Black rice	27.1	3.2	4.3	26.4	3.9	3.2	26.9	3.8	3.6	27.7	3.1	4.5	27.3	3.5	3.9
Purple sweet potato	29.3	3.3	-0.8	28.6	2.6	1.0	29.5	2.9	-0.3	29.9	3.1	-0.6	29.4	3.1	-0.8
Mature bitter melon	31.3	-1.4	2.8	31.2	-0.6	2.8	30.5	-0.6	3.6	32.0	-0.5	3.2	31.6	-0.7	3.5
Paprika	24.6	1.6	0.9	24.8	2.3	1.9	24.4	2.0	1.2	25.0	2.3	2.1	24.8	2.0	2.2
Red cabbage	25.3	5.6	0.9	25.3	5.6	0.5	25.7	5.2	0.8	25.2	5.2	1.9	25.6	5.5	1.4
Yellow gardenia	30.2	1.1	11.9	30.2	1.3	11.7	29.6	1.6	10.8	30.0	0.9	11.6	30.4	1.2	11.2
Blue gardenia	23.3	0.3	-0.7	22.7	0.4	-0.5	23.0	0.2	-0.4	23.4	0.2	-0.3	23.1	0.4	-0.5
<i>Rehmannia glutinosa</i>	24.2	1.8	0.5	24.3	2.1	1.0	24.5	2.0	0.9	24.6	2.0	1.2	24.4	1.8	1.5
Mulberry leave	27.2	0.9	3.9	28.1	0.5	4.9	27.9	0.6	4.8	27.6	0.7	5.1	27.3	0.7	4.8
Onion peel	25.6	4.1	3.6	26.4	4.3	4.3	25.3	4.1	3.2	24.6	4.3	3.3	25.2	4.5	3.6
Grape peel	27.5	2.6	4.2	28.0	2.6	4.2	27.2	2.5	4.8	27.5	2.7	5.1	27.8	2.5	5.3
Mulberry	24.8	4.7	1.8	24.6	4.5	1.4	23.8	4.1	1.0	24.3	4.3	1.2	24.7	4.5	1.5
Redbeet	25.1	4.0	3.9	25.8	6.0	4.0	27.1	4.4	5.4	25.7	6.5	4.2	26.3	5.8	4.0

(마) 열에 대한 색소의 색차 변이

각 색소의 열 안정성을 조사하기 위하여 cap test tube에 색소액을 40mL씩 넣고 밀봉한 후 가열 변색에 대한 안정화제의 효과를 명확히 구명하기 위해 비교적 높은 온도인 100℃에서 0~180분간 가열하면서 60분 간격으로 샘플을 취하여 색도 변화를 측정하였다.

100℃의 가열조건에서의 천연색소의 안정성을 조사하기 위하여 60분 간격으로 색차변이를 측정된 결과, 대부분 L 값에서는 큰 변화가 없었고 a 값과 b 값에서 다소 차이를 보였다. 여주, 지황, 레드비트 색소에서는 색차의 변이가 상대적으로 증가했지만, 그 외 색소에서는 큰 차이를 보이지는 않았다. 그러나 3시간 이상의 장시간 처리했을 경우는 이보다 훨씬 큰 변이를 보일 것으로 추측된다.

Table 65. Variation of hunter value of natural plant pigment as affected by heating time (pH4.5)

Natural plant pigment	Hunter value											
	0minutes			60minutes			120minutes			180minutes		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Black rice	27.4	3.9	1.7	28.3	2.3	3.7	29.0	2.3	4.1	29.1	2.1	4.9
Purple potato	27.4	8.0	-0.8	28.2	3.9	-1.9	30.1	3.8	-0.6	30.3	5.2	-1.4
Mature bitter melon	31.8	0.1	2.7	31.7	-0.6	1.4	30.3	-0.6	3.6	32.5	-0.8	2.0
Paprika	24.7	2.1	1.5	28.1	1.5	4.3	27.3	2.0	5.9	25.0	1.8	1.8
Red cabbage	24.8	8.6	1.0	24.9	7.1	0.6	25.7	8.0	1.2	26.0	8.2	1.7
Yellow gardenia	29.4	3.3	10.5	29.7	0.2	10.3	30.0	-0.3	13.3	31.6	-0.8	12.4
Blue gardenia	23.1	0.4	-0.4	23.3	0.5	-0.7	23.2	0.4	-0.4	23.2	0.1	-0.6
<i>Rehmannia glutinosa</i>	26.8	2.5	3.6	25.2	1.9	2.0	25.0	1.9	1.8	25.7	2.6	2.7
Mulberry leave	30.8	-0.2	5.5	29.8	-0.1	4.6	30.6	0.3	5.6	30.6	0.1	4.9
Onion peel	25.7	3.2	3.4	26.2	3.6	4.1	26.9	3.9	4.5	26.1	2.5	2.1
Grape peel	27.6	1.4	3.6	26.9	5.8	2.3	27.0	5.8	3.5	28.2	5.1	2.8
Mulberry	24.4	8.0	1.9	24.9	7.0	2.1	24.4	7.4	4.0	25.2	6.7	2.5
Redbeet	24.1	6.0	0.2	27.5	1.9	4.1	28.2	2.4	5.2	27.5	3.6	4.2

Table 66. Variation of hunter value of natural plant pigment as affected by heating time (pH1.0)

Natural plant pigment	Hunter value											
	0minutes			60minutes			120minutes			180minutes		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Black rice	25.5	7.8	2.0	27.8	4.3	4.1	28.7	3.3	5.4	29.2	2.7	5.6
Purple potato	26.5	7.7	0.1	27.3	8.4	-0.2	27.0	8.1	0.5	28.3	7.8	0.3
Mature bitter melon	32.4	-0.5	0.4	30.9	-0.4	2.5	32.1	-0.5	3.0	32.6	-0.3	2.4
Paprika	26.3	2.7	4.1	28.1	1.9	5.3	28.9	2.0	5.8	28.5	2.0	4.6
Red cabbage	24.4	8.8	1.9	24.4	7.6	1.8	24.3	9.1	2.8	26.5	8.4	2.1
Yellow gardenia	29.7	3.5	11.3	31.5	-1.1	6.1	31.4	-0.9	5.7	32.6	-0.9	5.1
Blue gardenia	23.0	0.4	-0.6	23.0	0.3	-0.4	23.0	0.4	-0.4	24.2	0.2	-0.9
<i>Rehmannia glutinosa</i>	26.2	1.9	3.8	24.4	1.8	1.0	24.7	1.8	0.7	25.2	2.1	1.1
Mulberry leave	31.5	-0.3	5.8	29.5	0.4	5.2	28.9	0.9	6.9	30.4	0.5	6.0
Onion peel	25.3	3.2	3.4	26.1	3.5	3.6	26.6	4.0	4.5	27.7	3.8	4.9
Grape peel	25.6	9.0	2.1	26.0	7.0	2.8	26.8	6.6	3.9	26.8	6.3	3.5
Mulberry	24.1	7.5	1.4	24.9	7.4	2.7	26.1	8.2	3.2	25.8	7.8	2.2
Redbeet	23.3	4.1	-0.3	26.3	2.9	3.1	26.1	2.5	3.3	27.4	2.5	2.7

(바) 광에 대한 색소의 색차 변이

각 색소의 안정성에 대한 광의 영향을 조사하기 위하여 pH 2.0인 완충용액을 사용하여 5배로 희석하여 제조한 색소액을 cap test tube에 40mL씩 넣고 밀봉한 후 일부는 일광 혹은 형광등에 노출시키면서 상온에 보관하였으며, 나머지 일부는 암소에 보관하면서 색소액의 경시적인 색도 변화를 5일 간격으로 측정하였다.

Table 67. Variation of hunter value of natural pigment as affected by light

Sample	Hunter value / storage period(days)																	
	0day			3days			6days			9days			12days			15days		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Sunlight																		
1	27.5	7.5	2.6	27.2	7.3	2.2	27.4	6.5	2.2	28.0	6.5	2.1	28.0	6.1	2.6	27.7	5.7	2.1
2	30.1	6.4-1.8		29.7	4.6-1.2		29.6	6.5-2.1		29.5	6.5-2.1		29.2	6.0-1.8		29.6	6.2-1.8	
3	31.0-0.5	0.2		33.2-0.9	1.0		33.3-1.0	1.2		33.1-0.9	1.1		33.1-1.2	1.3		32.9-0.8	0.8	
4	26.7	2.9	5.5	26.8	3.2	4.9	26.4	2.4	5.2	27.1	3.0	5.4	27.3	3.1	5.3	27.0	3.0	5.7
5	24.3	9.6	1.5	24.1	8.7	1.2	24.2	9.0	1.2	24.4	9.5	1.3	24.6	9.1	1.0	24.4	8.0	1.3
6	30.9	1.2	13.2	30.5	1.2	12.7	31.6-0.5	15.1		31.3-0.8	13.9		31.2-1.1	13.2		31.0-1.3	12.8	
7	22.7	0.1-0.4		22.4-0.6-0.2			22.7	0.4-0.6		22.8	0.4-0.6		22.8	0.4-0.6		22.9	0.5-1.1	
8	26.6	2.3	3.9	26.6	2.4	3.8	26.4	2.3	3.8	26.5	2.6	3.5	26.4	2.4	3.6	26.5	2.2	3.8
9	29.7	0.7	5.9	29.6	0.6	6.0	29.8	0.5	6.3	29.8	0.6	5.8	29.7	0.5	5.7	29.6	0.4	5.7
10	26.6	3.8	5.0	26.7	3.7	4.6	26.4	3.5	5.4	26.7	3.7	5.2	26.6	3.5	4.7	26.5	3.6	5.1
11	27.8	6.4	2.1	27.5	6.3	2.1	27.6	6.3	2.1	27.7	6.3	2.1	27.3	5.3	2.5	27.1	5.7	2.2
12	24.0	7.6	2.1	23.9	7.4	2.0	24.0	7.5	2.0	24.1	7.7	2.2	24.4	7.6	1.8	24.3	7.3	2.0
13	23.7	7.6	1.1	23.7	8.0	1.2	23.8	8.2	1.2	24.0	8.0	1.3	24.3	8.2	1.1	24.3	7.8	1.2

Sample	Hunter value / storage period(days)																						
	0day			3days			6days			9days			12days			15days							
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b					
Dark																							
1	27.6	7.4	2.1	27.7	7.6	2.4	26.8	6.4	2.2	27.8	6.6	2.2	28.0	6.0	2.2	27.8	5.8	2.3					
2	29.9	6.5-1.9		29.9	6.3-1.8		29.6	6.4-2.0		29.5	6.0-1.8		29.6	5.9-2.0		29.5	5.8-1.8						
3	33.1-1.1	1.7		33.4-1.1	1.5		33.2-1.0	1.3		33.0-0.8	1.3		32.7-0.6	1.4		32.8-1.0	1.4						
4	26.3	3.5	4.5	26.0	3.3	4.8	26.1	2.7	5.0	26.3	3.4	4.7	26.2	3.3	4.2	26.0	3.0	4.3					
5	24.5	9.4	1.2	24.5	9.2	1.1	24.2	9.4	1.3	24.5	9.4	1.2	24.4	8.6	0.9	24.3	8.5	1.0					
6	30.0	2.5	11.8	30.1	2.5	12.5	30.6	1.6	13.4	30.4	1.5	12.4	30.4	1.2	12.3	30.5	0.8	12.3					
7	22.5	0.0-0.4		22.8	0.4-0.7		22.4-0.2-0.5			22.6	0.6-0.7		22.6-0.1-0.6		22.8	0.0-0.6							
8	26.0	2.6	3.4	25.6	2.3	3.8	25.7	3.0	3.4	25.8	2.7	3.1	25.8	2.6	3.0	25.5	2.1	3.4					
9	30.5	0.2	6.2	30.4-0.1	6.4		30.5-0.1	6.5		30.4	0.2	6.1	30.8-0.4	6.7		30.7-0.1	5.9						
10	25.9	3.9	4.6	26.1	3.9	4.3	26.1	3.8	4.6	26.2	3.8	4.2	26.3	3.6	4.2	26.2	3.8	4.4					
11	27.7	6.3	2.3	27.6	6.1	2.0	27.5	6.1	2.4	27.6	6.2	2.0	27.3	5.7	2.7	27.5	6.0	2.9					
12	24.1	7.7	2.0	24.2	7.6	1.8	24.0	7.6	2.0	24.3	7.6	1.6	24.5	7.9	1.7	24.4	7.9	2.0					
13	23.9	6.9	0.8	23.3	7.1	1.1	23.5	7.4	1.2	23.7	7.4	0.8	23.9	7.9	1.3	23.7	7.6	1.2					

*1: Black rice, 2: purple potato, 3: mature bitter melon, 4: paprika, 5: red cabbage, 6: yellow gardenia, 7: blue gardenia, 8: *Rehmannia glutinosa*, 9: mulberry leave, 10: onion peel, 11: grape peel, 12: mulberry, 13: red beet

일광(그늘) 및 형광등에 노출시켜 저장한 경우와 광을 차단하여 암흑 상태에 저장한 경우에서의 색차 변이를 측정된 결과, 대부분 L 값에서는 큰 변화가 없었고 a 값과 b 값에서 일광처리와 암흑처리 사이에 다소 차이를 보였다. 즉, 암흑 상태에서 저장하는 경우가 색소의 안정성이 높은 것으로 판단되지만, 15일 저장기간 동안 두 처리 간 색차 변이에 큰 차이는 없었다.

4. 1차 혼합 조성물의 기능성 검증

가. 1차 혼합 조성물 조제

일반적으로 립케어 제품 기본 조성물은 크게 오일성분, 왁스성분, 색소성분 등 3가지 주요성분으로 이루어지는데, 조성물의 기본적인 특성조사를 위해 본 실험에 공시한 천연색소에 왁스, 오일류를 혼합하여 1차 조성물을 조제하였다. 이 조성물은 색소 15 중량%, 왁스 15 중량%, 오일류 70 중량%로 이루어져 있으며, 첨가제는 함유하지 않았다.

나. 1차 혼합 조성물의 기능성 검증

조제된 혼합조성물에 대해 항노화 및 미백효능을 검증하기 위해 총 페놀화합물 함량, 플라보노이드 함량, 유리산소 소거능, 아질산염 소거능 등 항산화활성 분석 및 Tyrosinase저해 활성 등을 측정하였다.

Table 68. Total polyphenol and total flavonoid content from mixed composition according to each kind of natural plant pigment

Sample	Total polyphenol (ug/ml)	Total flavonoid (ug/ml)
grape peel mixed composition	245.1±13.8	153.5±16.1
mulberry mixed composition	320.7±18.7	261.8±22.5
paprika mixed composition	61.5±6.6	25.7±3.1

*Data represent the mean values±SE of three independent experiments

Table 69. Functionality of mixed composition according to each kind of natural plant pigment

Sample	DPPH radical scavenging activity (RC ₅₀ , ug/ml)	Nitrate scavenging activity (% of control)	Tyrosinase inhibitory activity (% of control)
grape peel mixed composition	525.2±22.5	71.3±3.4	20.3±2.2
mulberry mixed composition	576.1±31.7	62.5±3.1	17.5±2.6
paprika mixed composition	621.3±28.3	65.2±6.5	19.2±1.8

*Data represent the mean values±SE of three independent experiments

립케어 제품 제조를 위한 기초단계로서 포도과피, 오디, 파프리카 색소를 시료로 하여 첨가제를 넣지 않고 조제된 1차적인 혼합 조성물에 대한 기능성을 분석한 결과, 오디 혼합조성물에서의 총 페놀화합물 함량은 320.7µg/ml로 높은 함량을 보였고 플라보노이드도 261.8µg/ml로 단일 소재에 비해 높은 함량을 보였다. 혼합 조성물의 DPPH radical 소거능은 포도과피 혼합물의 경우 525.2µg/ml의 농도에서 무처리제에 비해 50% 소거능을 보여 높은 활성을 보였고, 아질산염도 무처리제에 비해 71.3%의 소거능을 보였다. tyrosinase에 대한 저해 활성도 포도과피의 경우 2500µg/ml의 농도에서 20.3%의 활성을 보였다. 단일소재에 비해 혼합 조성물에서 전체적으로 좋은 결과를 보인 것은 조성물에 혼합되어 있는 각종 기능성 천연오일 물질의 영향도 있는 것으로 추측된다.

5. 천연색소 혼합조성물 제조 및 변색 안정성 조사

천연색소 소재로는 자색고구마, 적양배추, 흑미, 오디, 백년초, 양파껍질, 포도껍질, 파프리카, 여주, 지치, 뽕잎, 지황, 치자청, 치자황, 레드비트 등 15종류의 미세 색소 분말을 사용하였다. 색소혼합 조성물은 이러한 각 색소 추출물에 왁스와 오일류, 식물성 글리세린, 수용성 내추럴 베타인, 산화방지제(천연비타민E), 천연방부제 등을

혼합하여 조제하였다. 혼합조성물은 향후 립스틱, 립글로스, 립밤(Lipbalm), 립크림 등 각 제형 제조의 베이스가 될 수 있으며, 물성이 묽은 겔 형태에 가까운 혼합조성물을 본 실험의 시료로 사용하였다.

가. 색소혼합 조성물의 분광학적 특성

색소혼합 조성물은 15종의 각 색소 추출물에 왁스와 오일류, 식물성 글리세린, 수용성 내추럴 베타인, 산화방지제(천연비타민E), 천연방부제 등을 혼합하여 조제하였으며, 각 혼합조성물의 흡수 파장에 대한 흡광도의 변화를 분광광도계 (Libra S22 UV-VIS, Biochem, England)를 사용하여 측정하였다.

(1) pH의 영향

각 혼합조성물의 안정성에 대한 pH의 영향을 조사하기 위하여 완충용액을 사용하여 pH를 1.0~7.0으로 조절하였다. pH 1.0과 2.0은 Clark-Lubs 완충용액 (0.2M KCl + 0.2M HCl)을, pH 3.0~7.0까지는 MacIlvaine 완충용액 (0.1M citric acid + 0.2M Na₂HPO₂)을 사용하였다. 색소액을 각각의 pH용액으로 10배 희석하여 cap test tube에 40mL씩 넣고 밀봉한 후 상온에 15일간 보관하면서 3일 간격으로 샘플을 취하여 spectrophotometer를 사용하여 흡광도 변화를 측정하였다. 이 때 흡광도는 가 pH로 조절된 색소용액의 최대흡광도를 나타내는 파장에서 측정하였다.

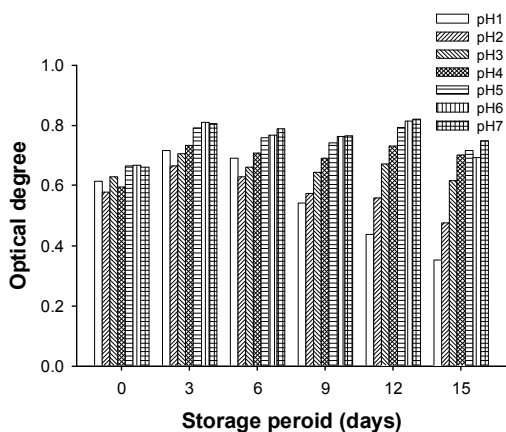


Fig. 75. Effect of pH on the stability of the cosmetic composition having black rice pigment

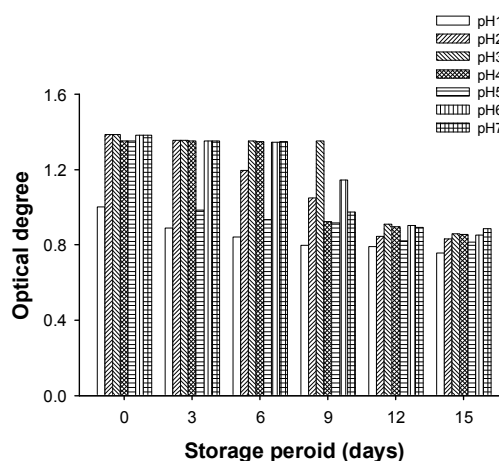


Fig. 76. Effect of pH on the stability of the cosmetic composition having grape peel pigment

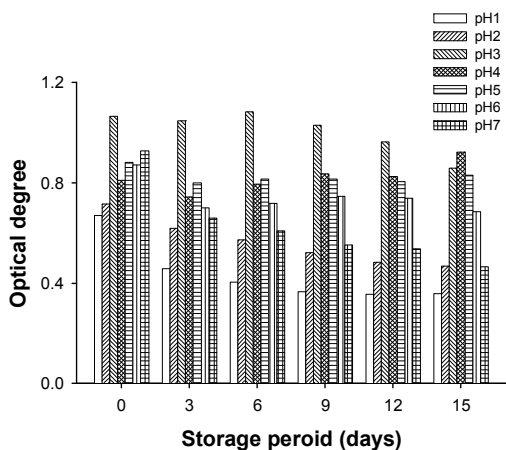


Fig. 77. Effect of pH on the stability of the cosmetic composition having red beet pigment

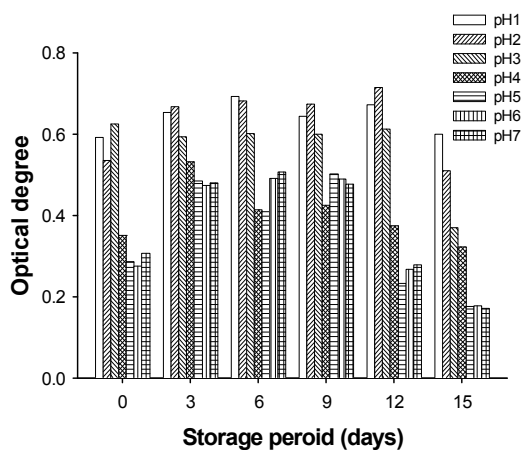


Fig. 78. Effect of pH on the stability of the cosmetic composition having red cabbage pigment

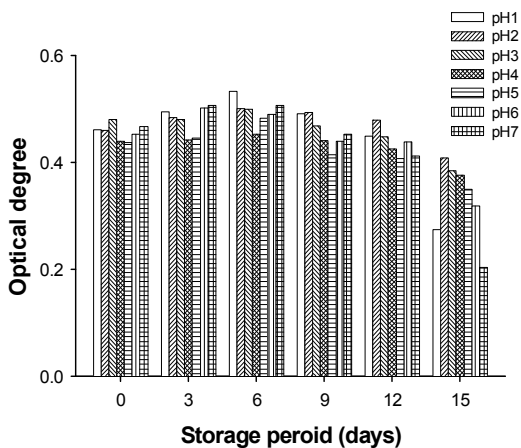


Fig. 79. Effect of pH on the stability of the cosmetic composition having mulberry pigment

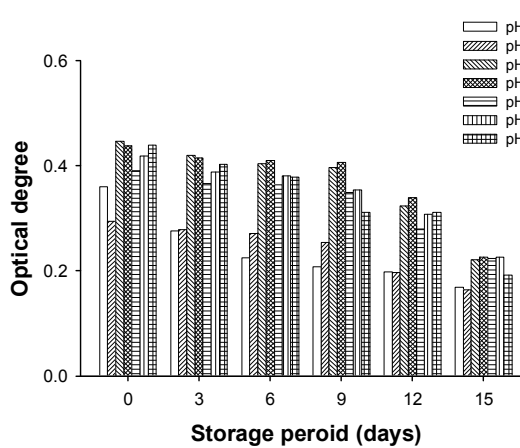


Fig. 80. Effect of pH on the stability of the cosmetic composition having purple sweet potato pigment

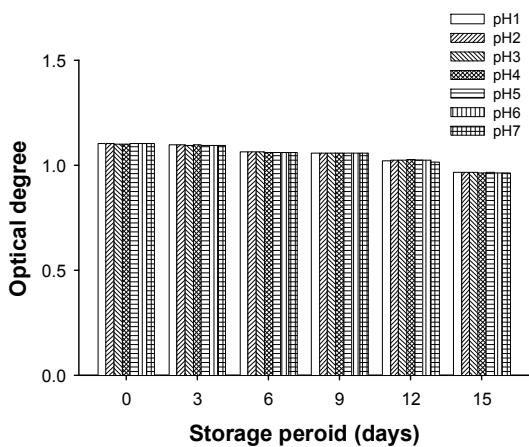


Fig. 81. Effect of pH on the stability of the cosmetic composition having paprika pigment

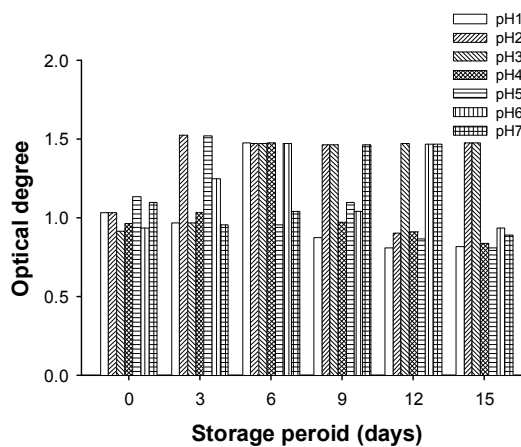


Fig. 82. Effect of pH on the stability of the cosmetic composition having chinese foxglove pigment

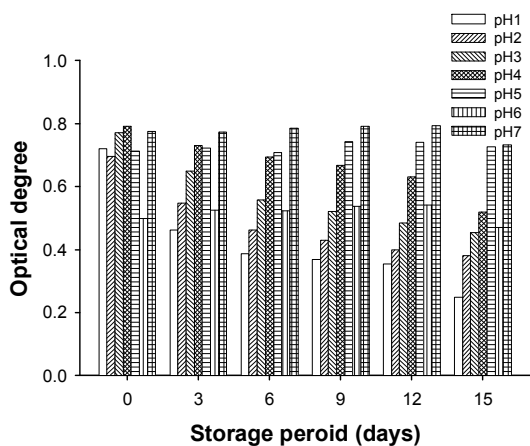


Fig. 83. Effect of pH on the stability of the cosmetic composition having yellow gardenia pigment

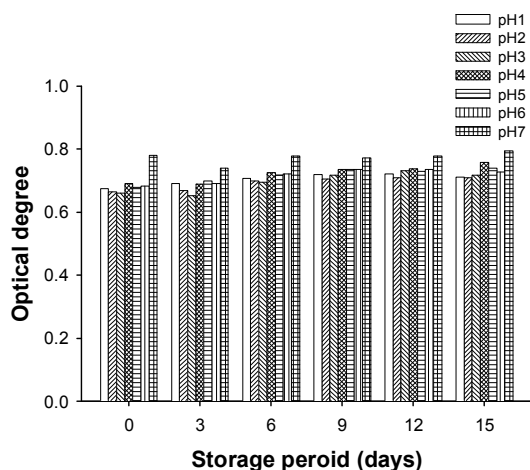


Fig. 84. Effect of pH on the stability of the cosmetic composition having blue gardenia pigment

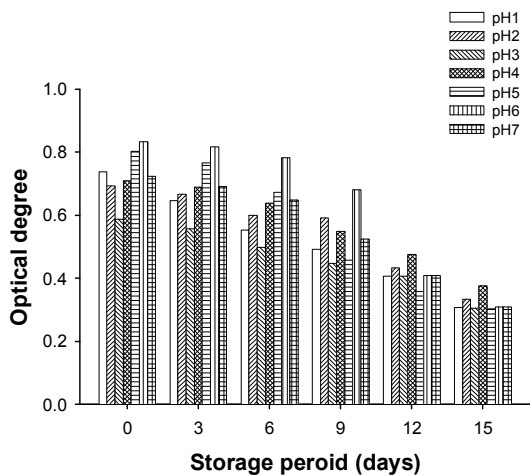


Fig. 85. Effect of pH on the stability of the cosmetic composition having onion peel pigment

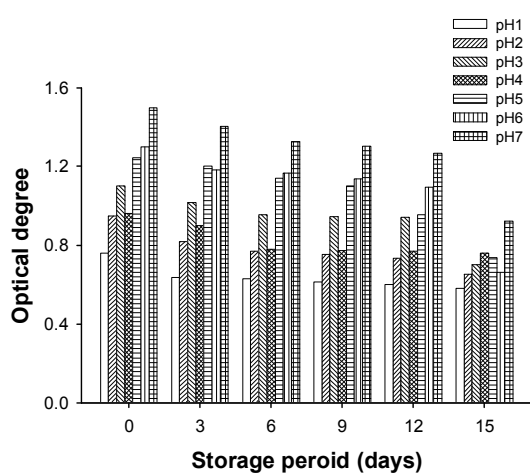


Fig. 86. Effect of pH on the stability of the cosmetic composition having mature bitter melon pigment

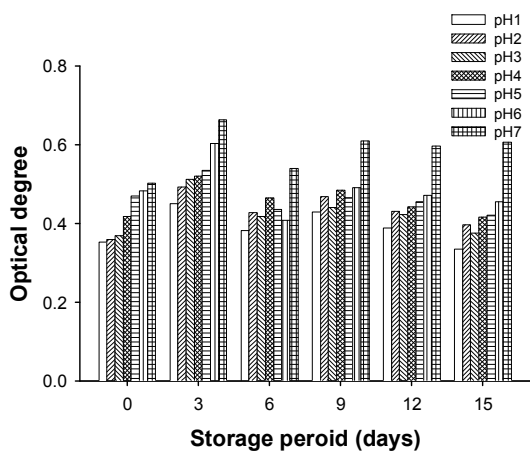


Fig. 87. Effect of pH on the stability of the cosmetic composition having mulberry leaves pigment

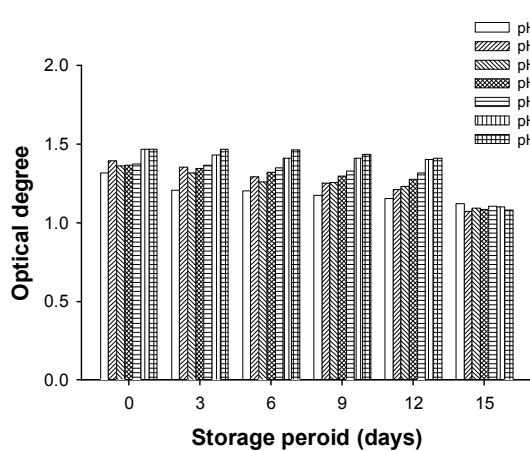


Fig. 88. Effect of pH on the stability of the cosmetic composition having gromwell pigment

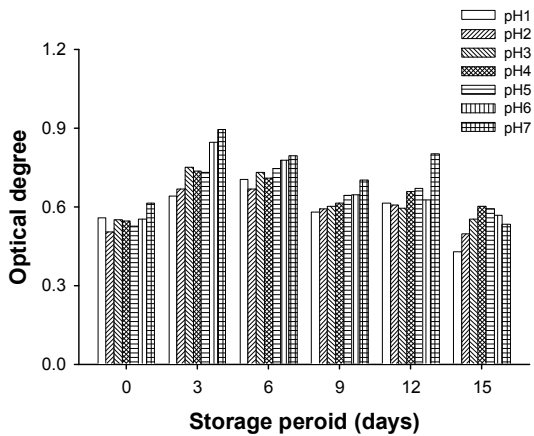


Fig. 89. Effect of pH on the stability of the cosmetic composition having cactus pigment

천연색소는 pH에 따라 분자구조가 변하면서 색이 변하는 것이 많다. 특히 안토시아닌계 색소는 pH에 따라 적색에서 자색, 암청색으로 변하며, 카로티노이드계 색소는 pH에는 크게 변하지는 않지만 알카리에서는 불안정화한다. 본 실험에 공시한 15종의 천연색소 혼합 조성물에서도 시일이 경과할수록 pH의 변화에 따라 각 색소의 최대 흡수파장역에서 경시적으로 흡광도의 변화를 관찰할 수 있었다. 즉, pH로 조절된 혼합조성물의 색의 강도는 pH가 높아질수록 낮아지는 경향을 보였다. 이는 천연색소 종류에 따라 pH 요인이 색소의 안정성을 결정하는 중요한 요소가 됨을 나타내는 것이다. 15일 간의 경시적인 변화 양상을 보면, 시간이 경과할수록 적자색을 띠는 안토시아닌계 색소 혼합조성물의 경우 색도가 다소 떨어지는 경향을 보였다. 그러나 파프리카 색소 혼합물의 경우는 pH에 따른 경시적 변화가 거의 없어 비교적 안정된 상태를 유지하였다.

아래 사진은 각 pH별 시일이 경과함에 따라 색소혼합 조성물의 변화양상을 나타내는 것으로 흡광도가 경시적으로 변화하는 결과에서와 같이 외관적인 색상변화 양상도 pH에 따라 크게 달라지는 것을 알 수 있다.

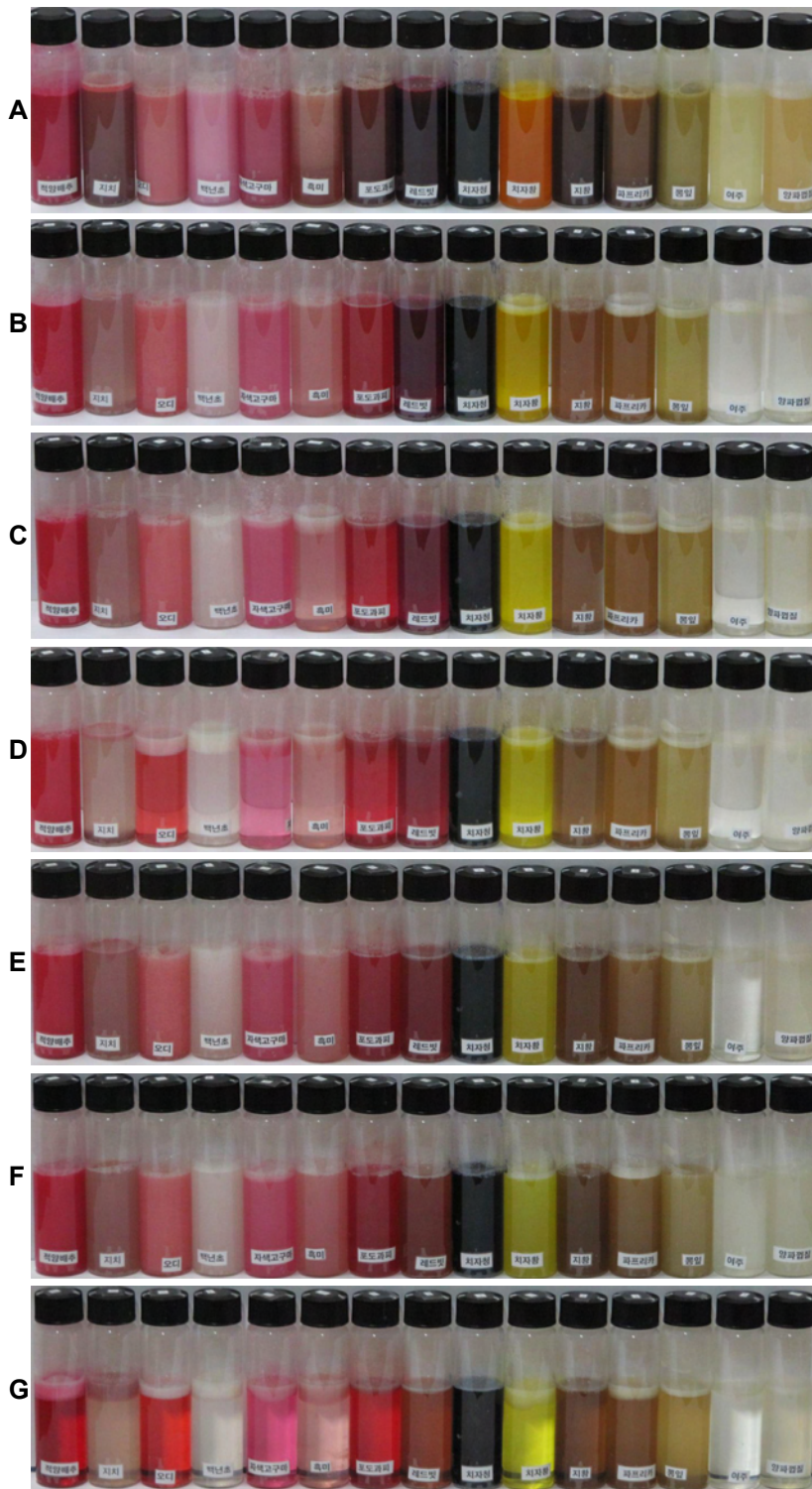


Fig. 90. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period at pH 1
 A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

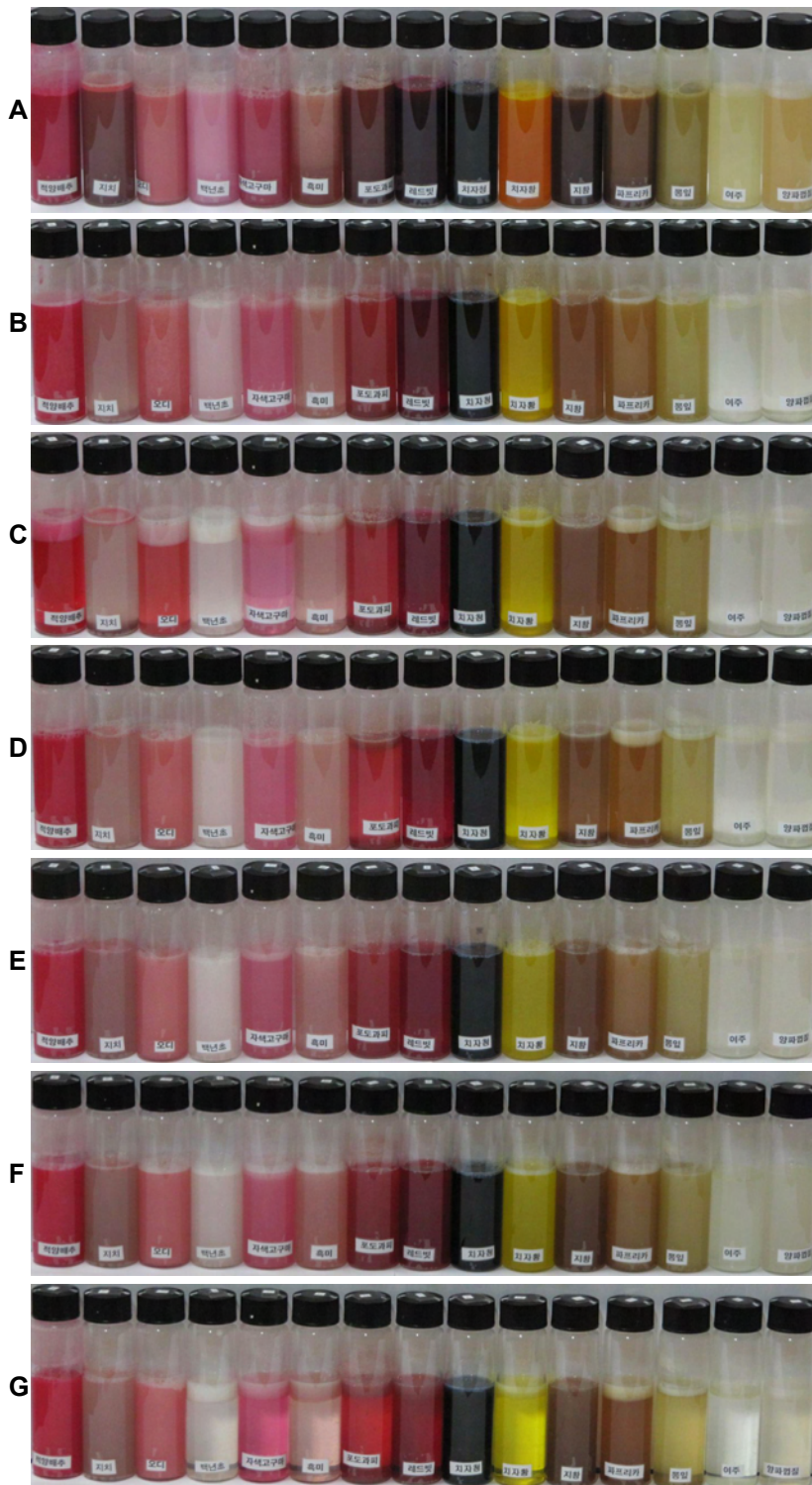


Fig. 91. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period at pH 2

A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

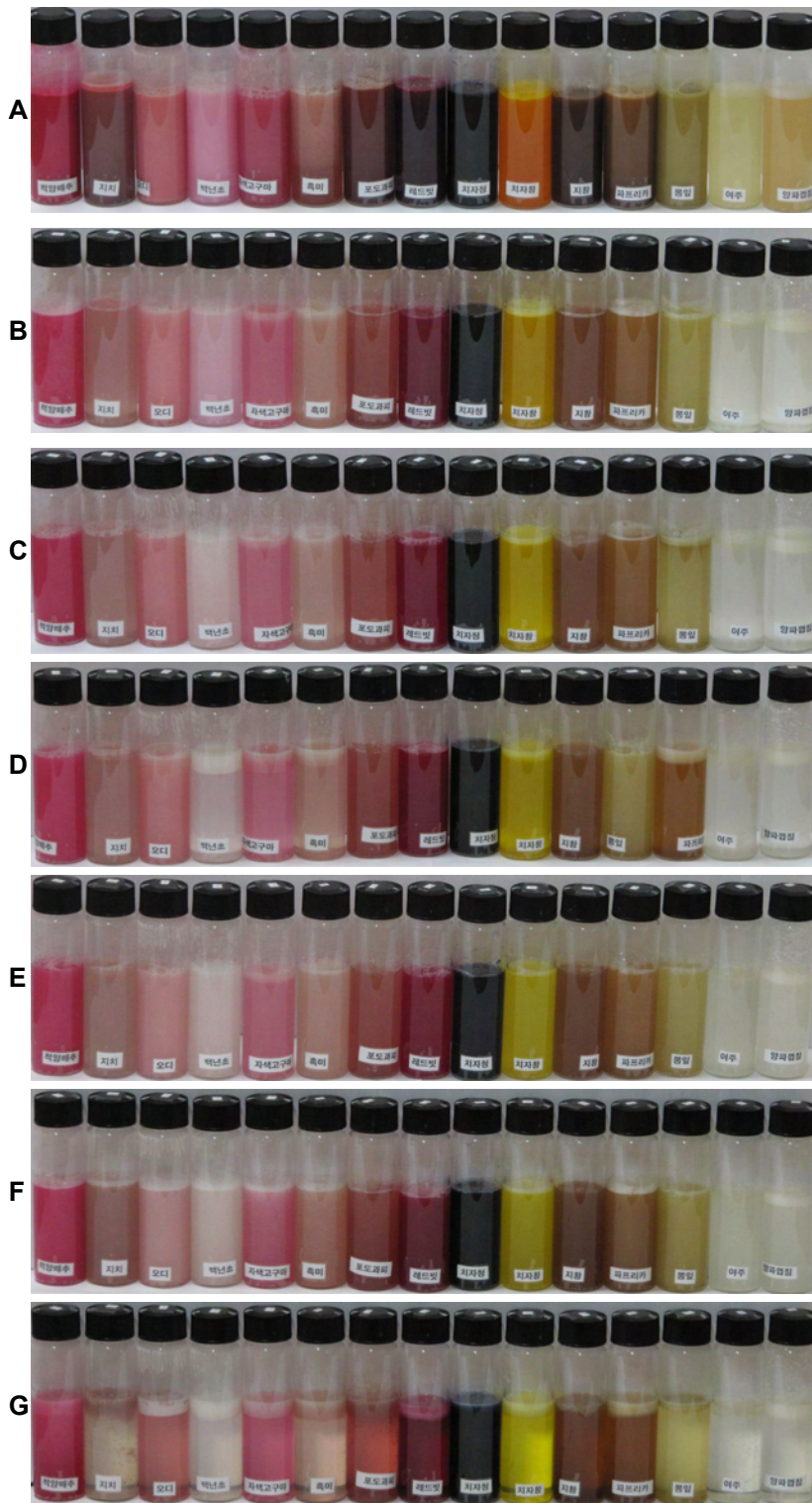


Fig. 92. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period at pH 3

A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

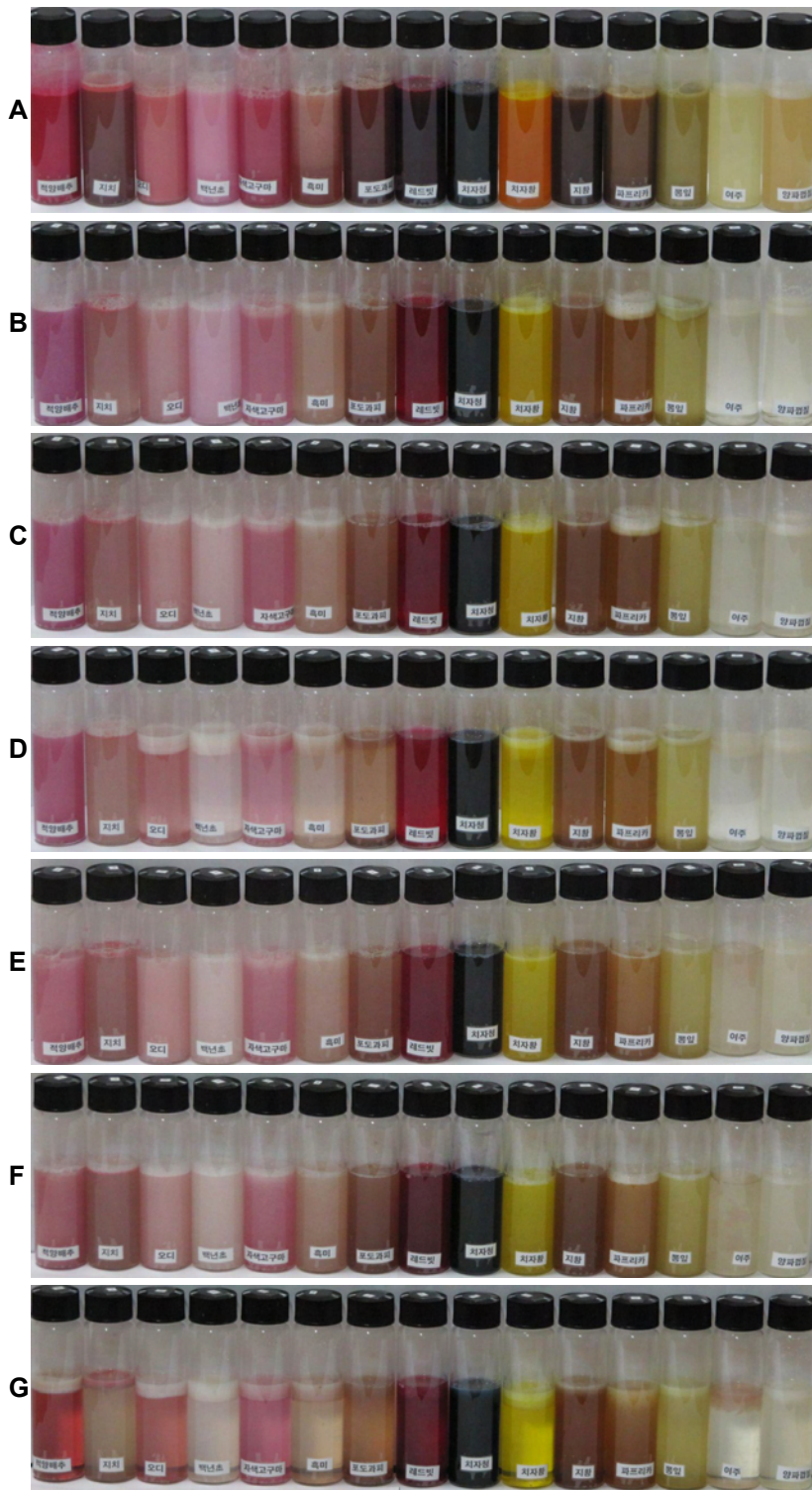


Fig. 93. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period at pH 4
 A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

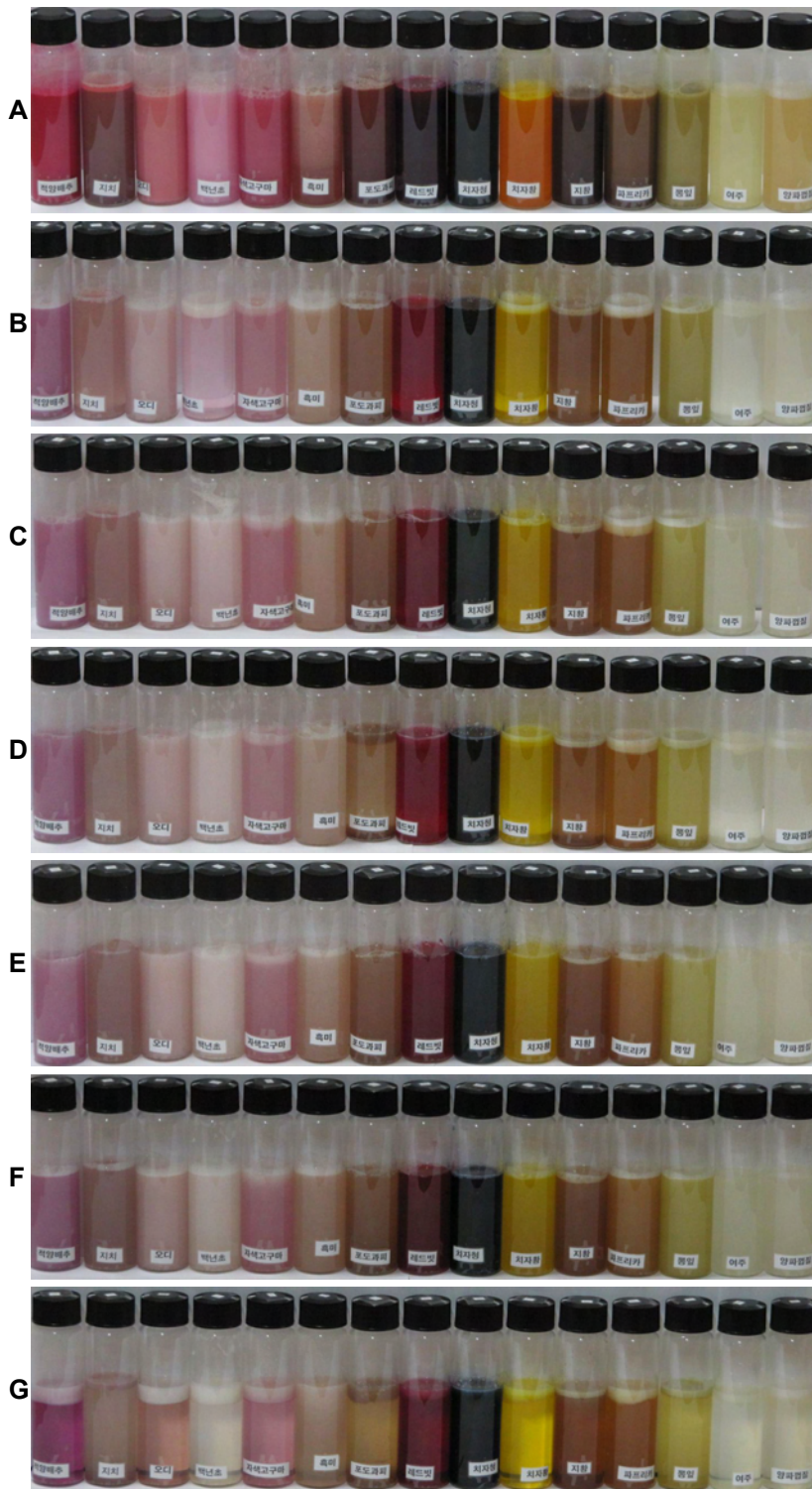


Fig. 94. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period at pH 5
 A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

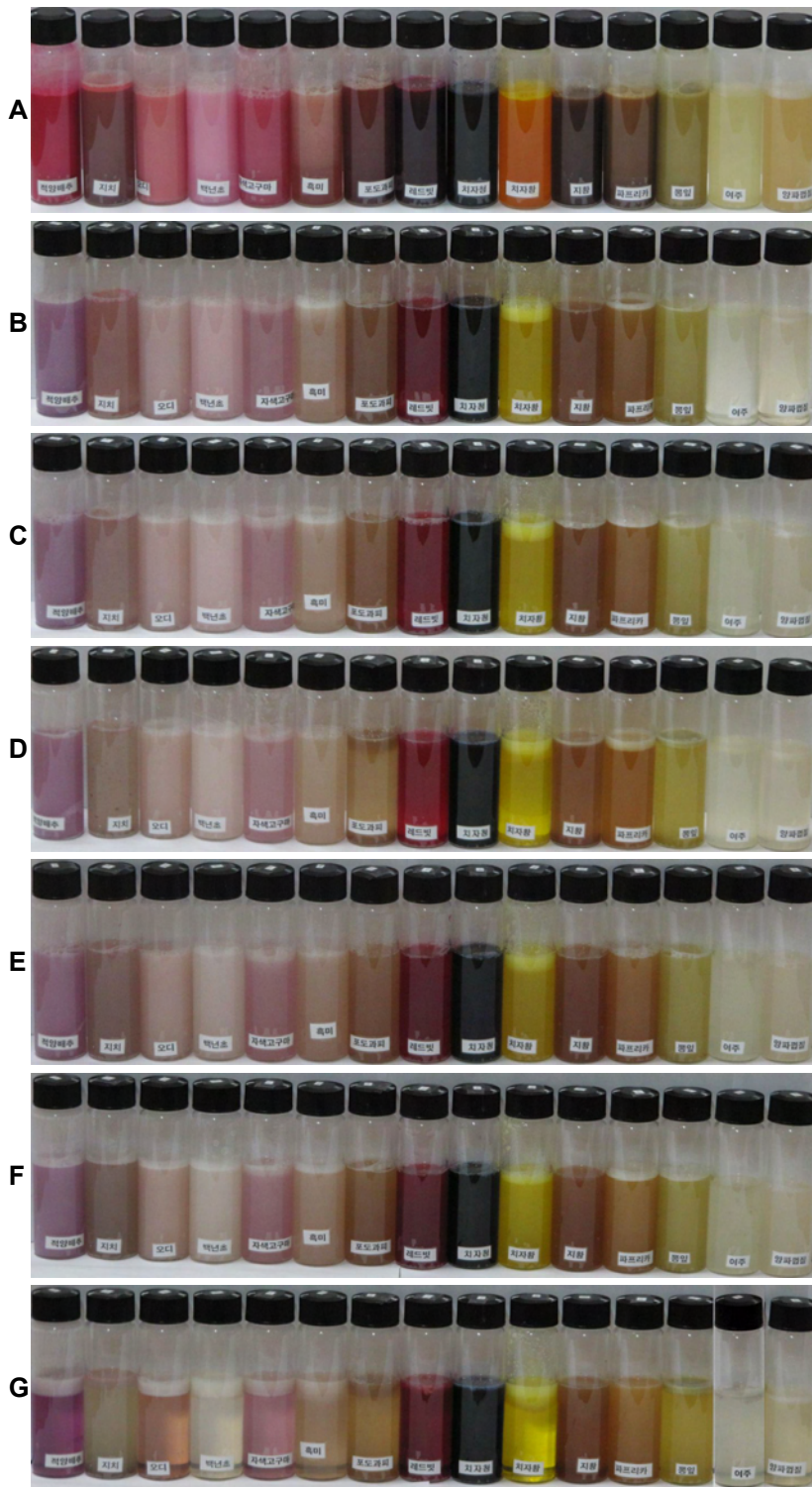


Fig. 95. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period at pH 6
 A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

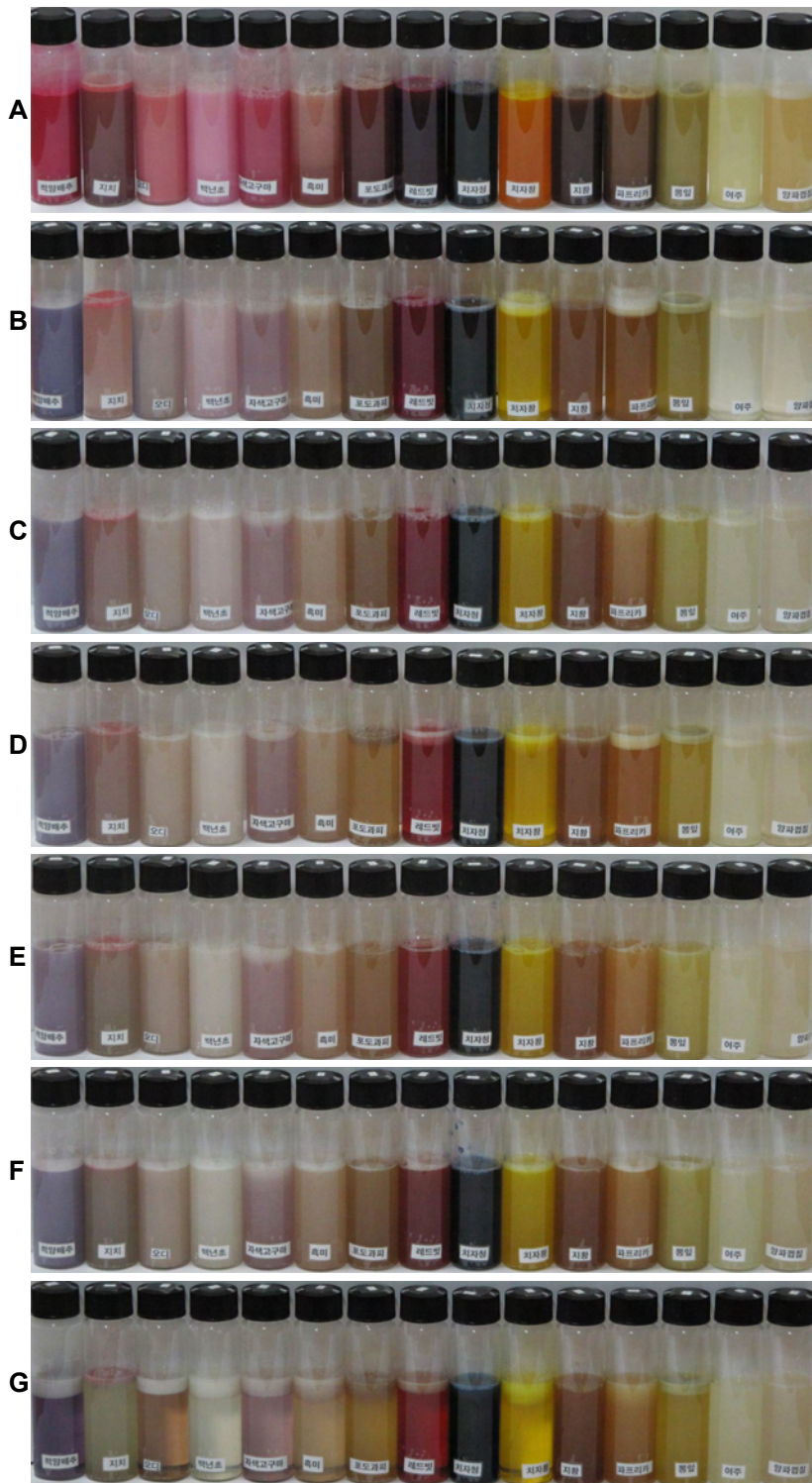


Fig. 96. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period at pH 7
 A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

(2) 유기산의 영향

각 색소혼합 조성물의 유기산에 대한 안정성을 조사하기 위해 malonic acid, malic acid, tartaric acid, citric acid, succinic acid 등 5종의 유기산을 사용하였다. 먼저 pH 2.0의 완충용액을 사용하여 5배로 희석하여 제조한 색소혼합 조성물에 유기산 농도가 1M이 되도록 각각의 유기산을 첨가한 후 cap test tube에 40mL씩 넣고 밀봉한 후 상온에 15일간 보관하면서 3일 간격으로 샘플을 취하여 spectrophotometer를 사용하여 흡광도 변화를 측정하였다.

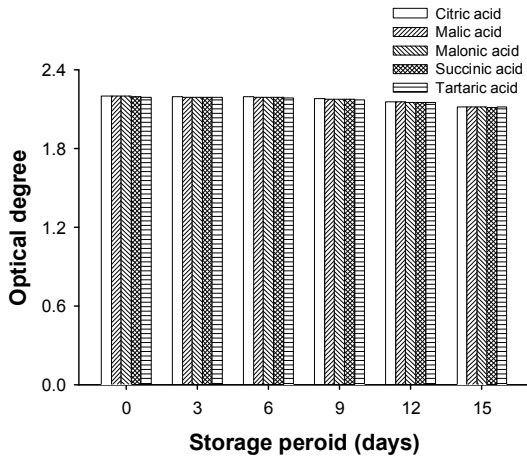


Fig. 97. Effect of organic acid on the stability of the cosmetic composition having black rice pigment

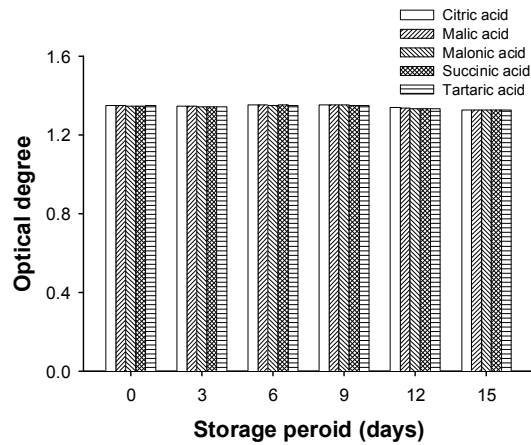


Fig. 98. Effect of organic acid on the stability of the cosmetic composition having grape peel pigment

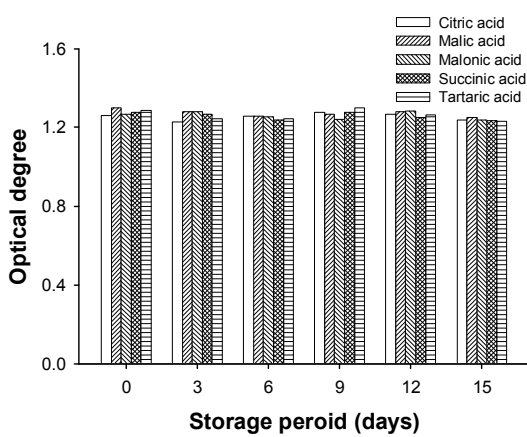


Fig. 99. Effect of organic acid on the stability of the cosmetic composition having red beet pigment

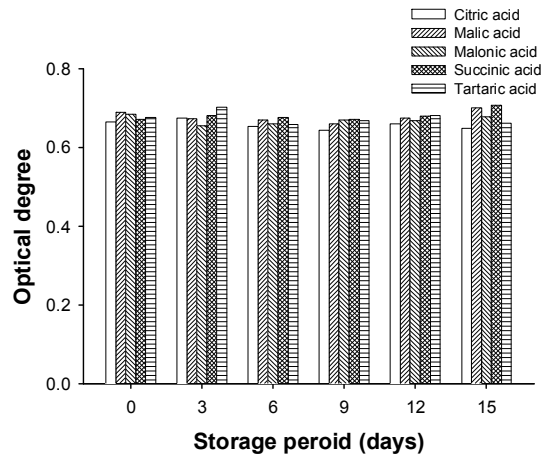


Fig. 100. Effect of organic acid on the stability of the cosmetic composition having red cabbage pigment

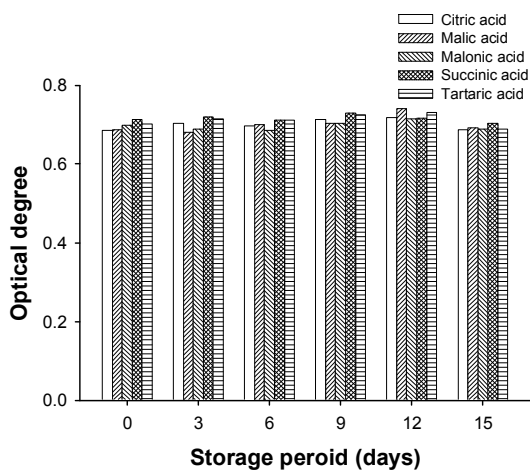


Fig. 101. Effect of organic acid on the stability of the cosmetic composition having mulberry pigment

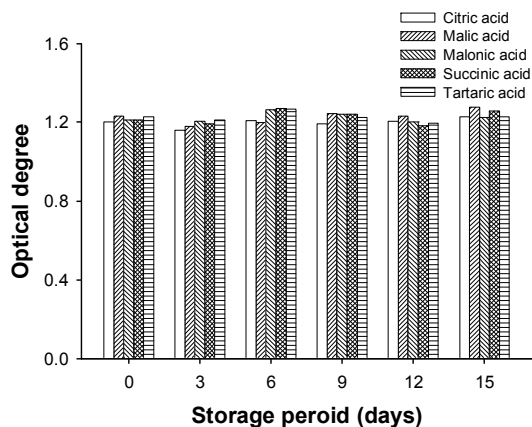


Fig. 102. Effect of organic acid on the stability of the cosmetic composition having purple sweet potato pigment

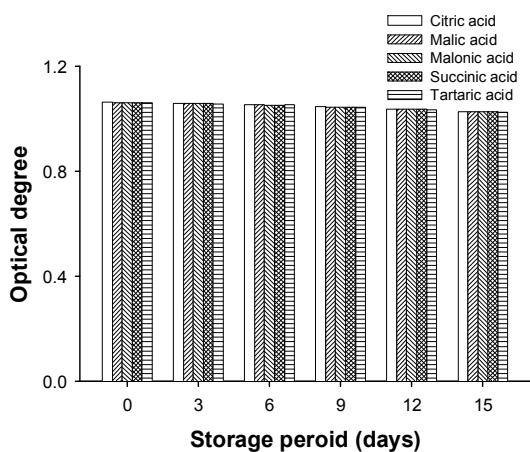


Fig. 103. Effect of organic acid on the stability of the cosmetic composition having paprika pigment

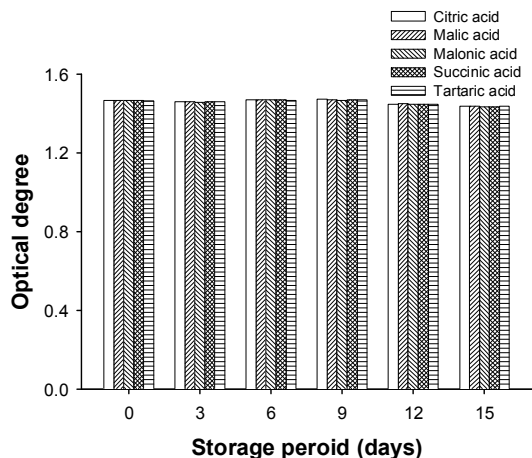


Fig. 104. Effect of organic acid on the stability of the cosmetic composition having chinese foxglove pigment

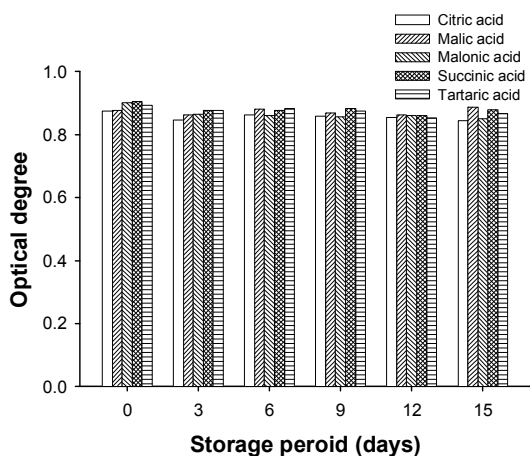


Fig. 105. Effect of organic acid on the stability of the cosmetic composition having yellow gardenia pigment

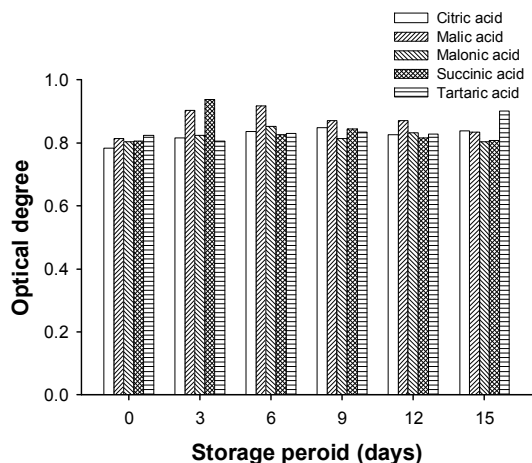


Fig. 106. Effect of organic acid on the stability of the cosmetic composition having blue gardenia pigment

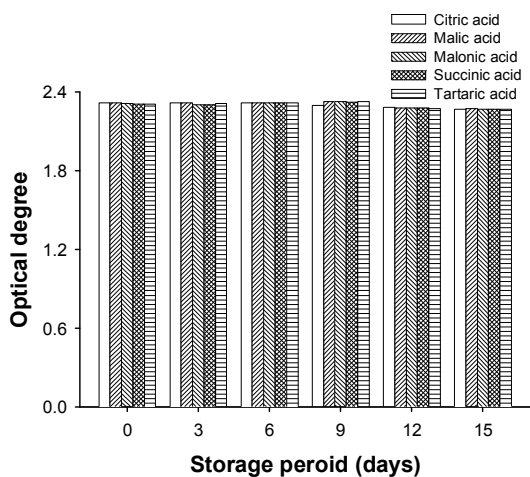


Fig. 107. Effect of organic acid on the stability of the cosmetic composition having onion peel pigment

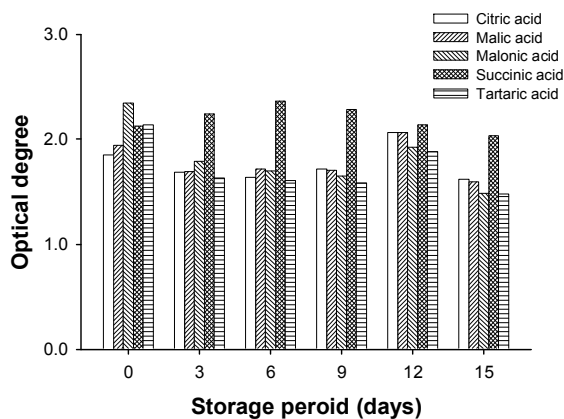


Fig. 108. Effect of organic acid on the stability of the cosmetic composition having mature bitter melon pigment

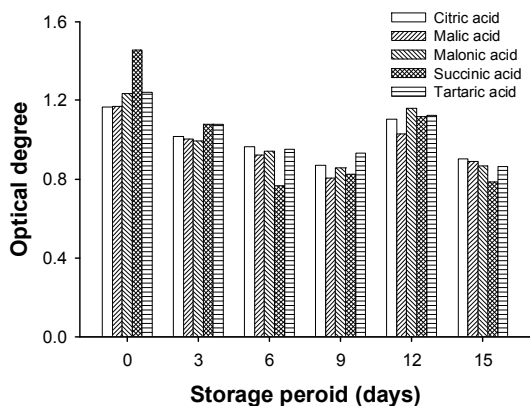


Fig. 109. Effect of organic acid on the stability of the cosmetic composition having mulberry leaves pigment

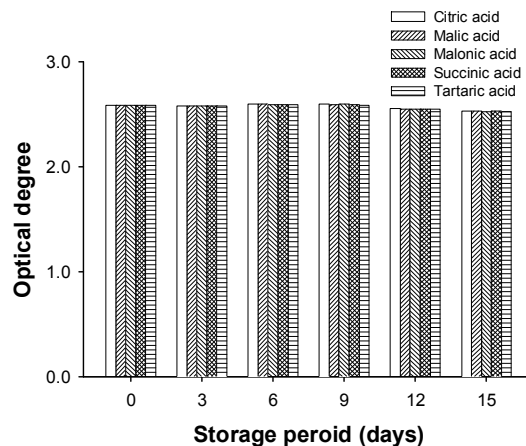


Fig. 110. Effect of organic acid on the stability of the cosmetic composition having gromwell pigment

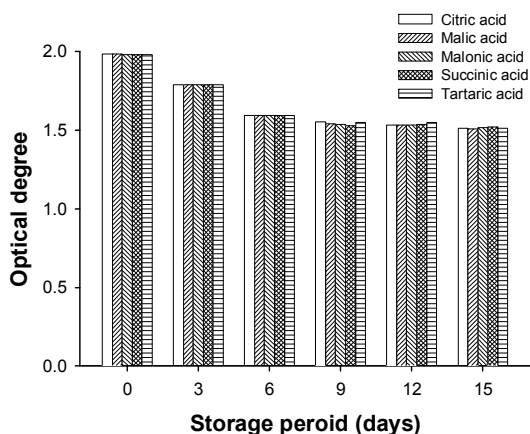


Fig. 111. Effect of organic acid on the stability of the cosmetic composition having cactus pigment

유기산의 종류 및 저장기간에 따른 천연색소 혼합조성물의 색깔 강도 및 안정성에 미치는 영향을 조사한 결과, 5종류의 유기산 모두 저장 시일이 경과할수록 흡광도에 다소 차이가 있었으며, 이는 색소 종류 및 유기산 종류에 따라 흡광도 변화에도 차이가 있음을 알 수 있었다. 유기산 첨가에 의해 pH가 저하되어 안토시아닌계 색소의 경우는 색상 강도가 더 증가되는 것으로 생각되지만, 10일 이상 시일이 경과하면 색상 강도가 다소 낮아지는 경향을 보였다.

아래 사진은 각 유기산 종류별 저장기간이 경과함에 따라 색소혼합 조성물의 변화양상을 나타내는 것으로, 시일이 경과할수록 색상이 다소 옅어지고 선명해지는 경향을 보였다.

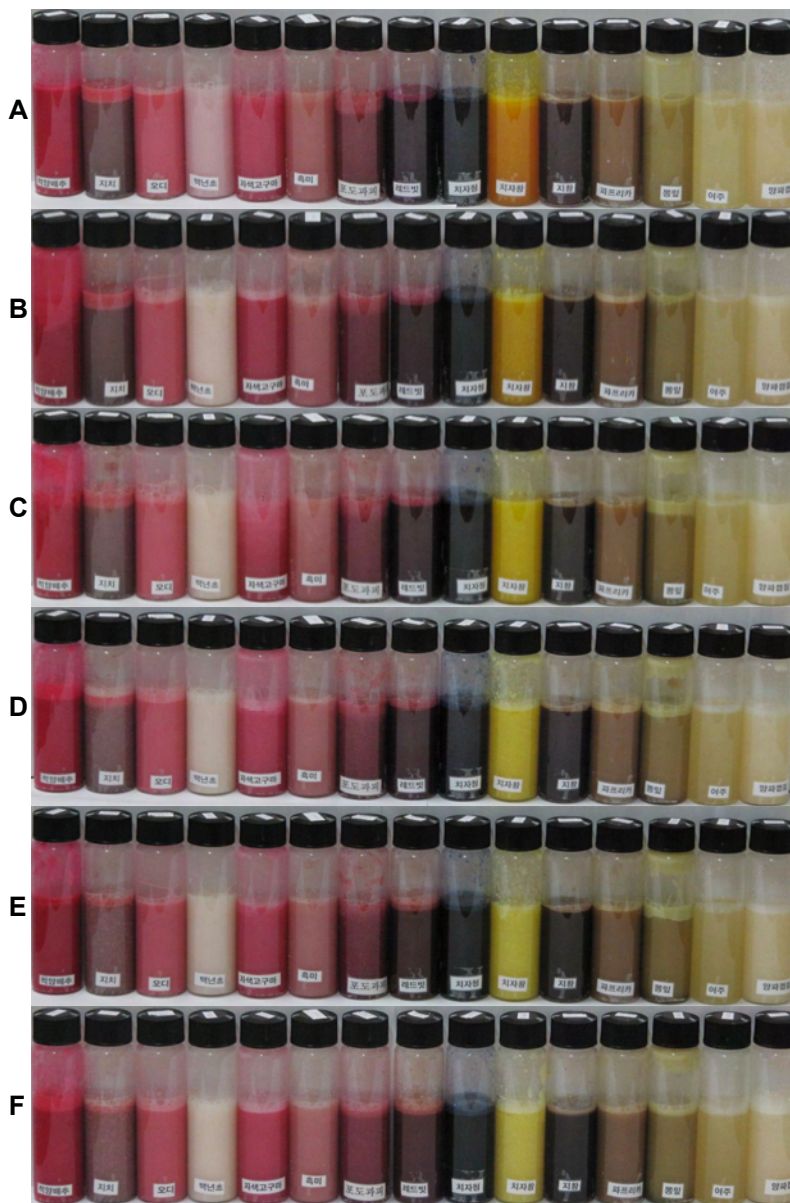


Fig. 112. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period with citric acid

A: 0 days, B: 3 days, C: 6 days, D: 9 days, E: 12 days, F: 15 days

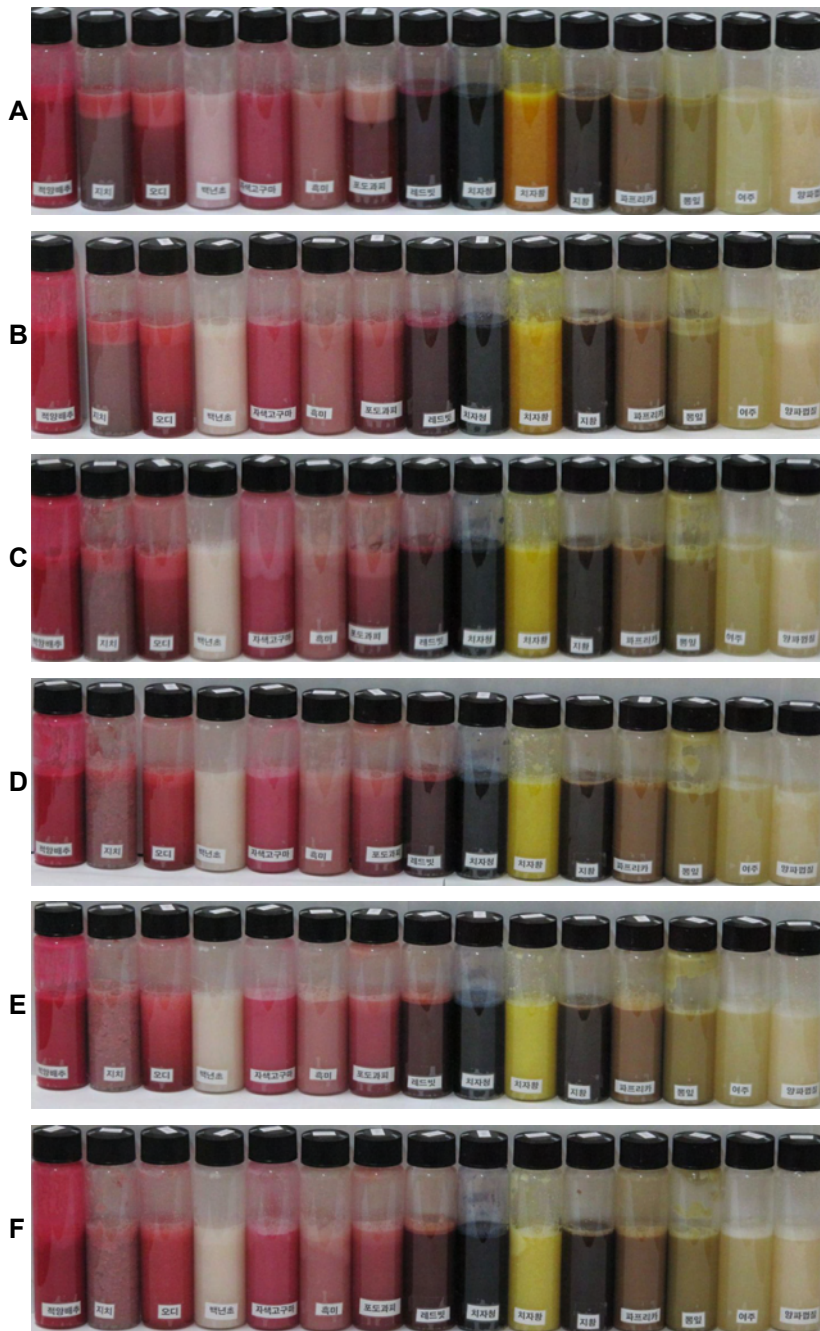


Fig. 113. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period with malic acid

A: 0 days, B: 3 days, C: 6 days, D: 9 days, E: 12 days, F: 15 days

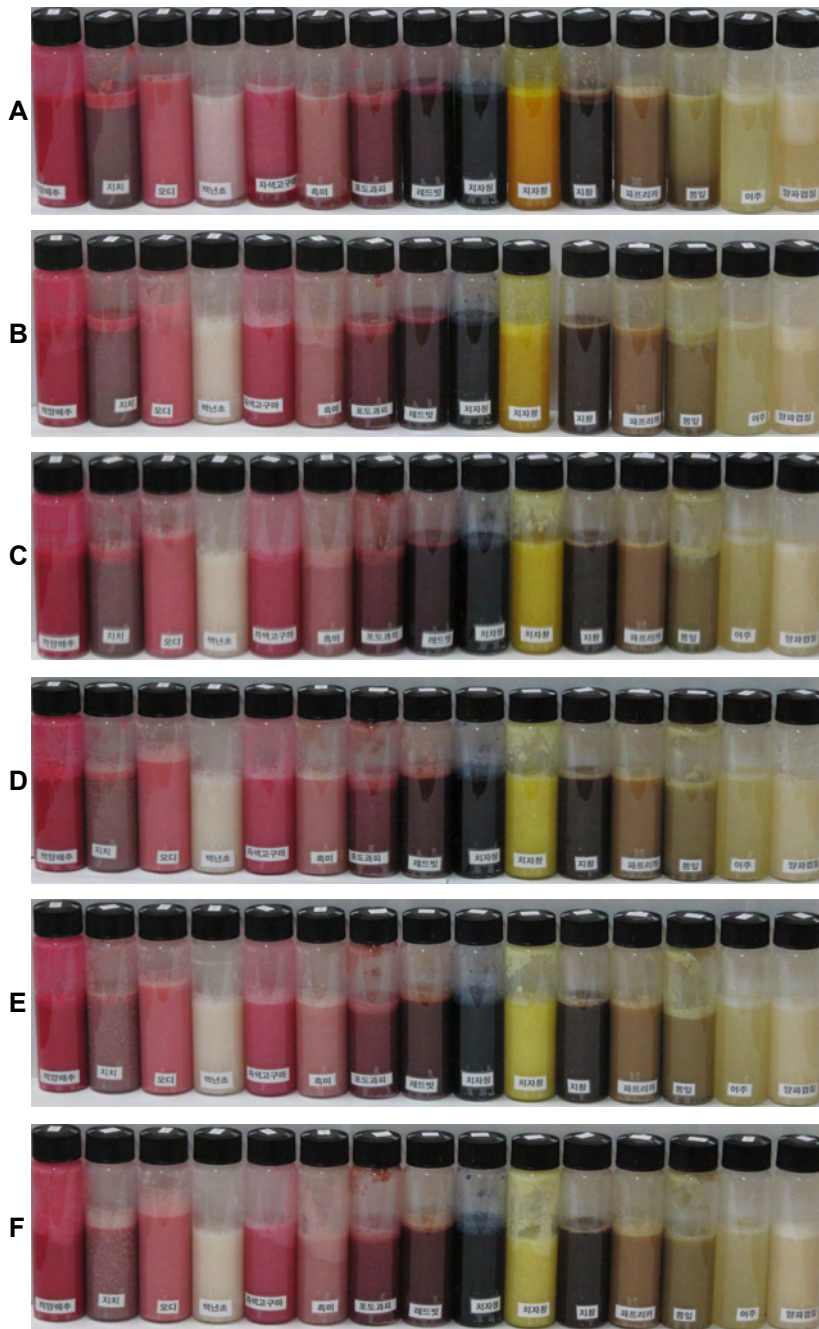


Fig. 114. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period with malonic acid

A: 0 days, B: 3 days, C: 6 days, D: 9 days, E: 12 days, F: 15 days

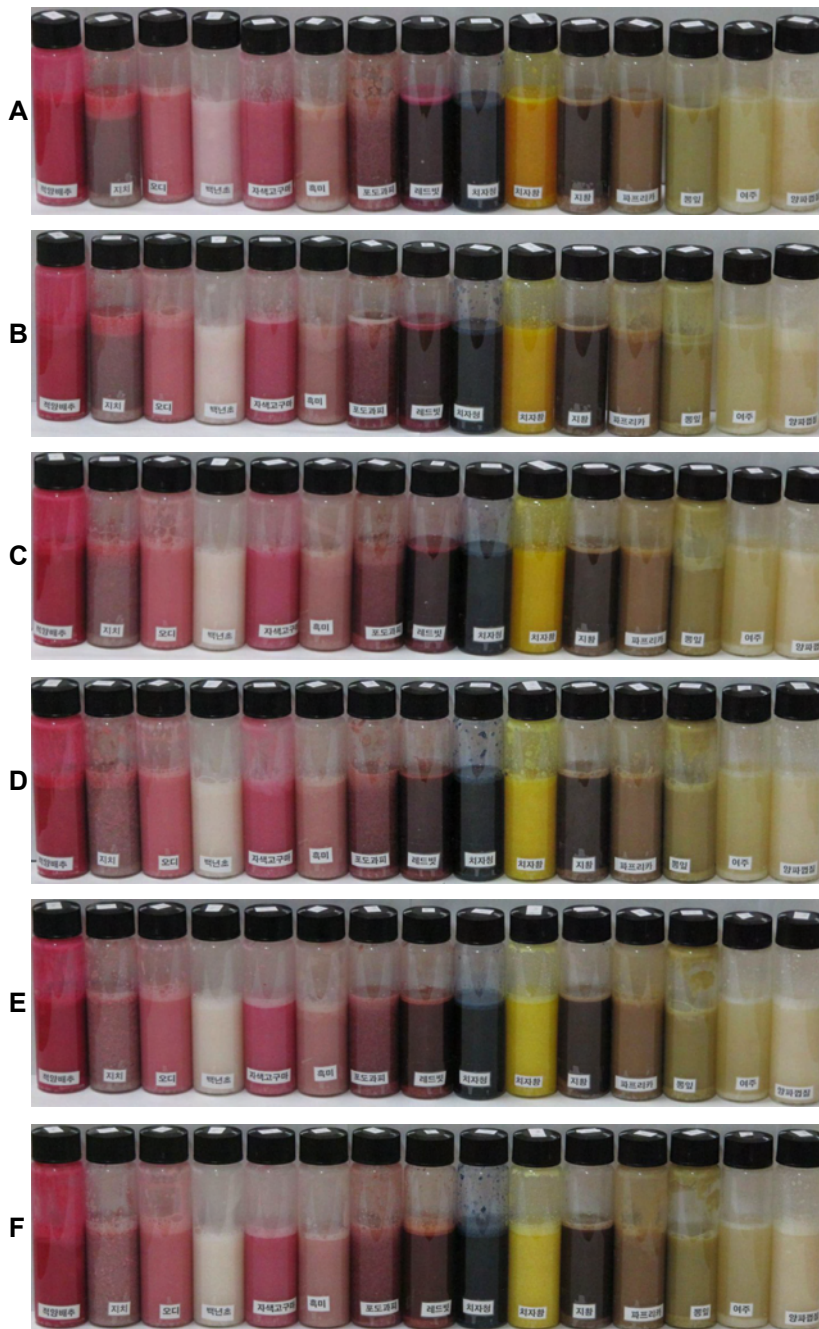


Fig. 115. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period with succinic acid

A: 0 days, B: 3 days, C: 6 days, D: 9 days, E: 12 days, F: 15 days

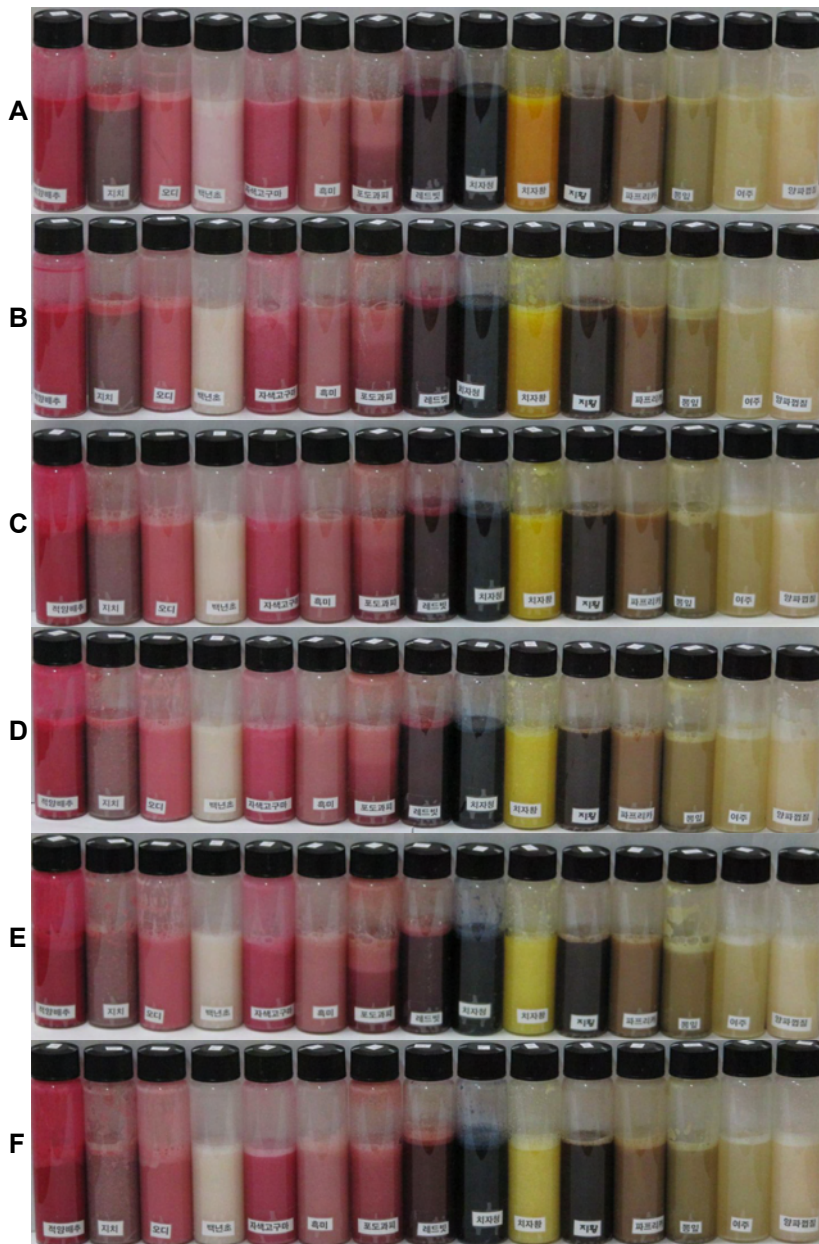


Fig. 116. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period with tartaric acid

A: 0 days, B: 3 days, C: 6 days, D: 9 days, E: 12 days, F: 15 days

(3) 금속이온의 영향

각 색소혼합 조성물의 안정성에 대한 금속이온의 영향을 조사하기 위하여 금속이온으로서 Hg^{2+} (HgCl_2), Ag^{2+} (AgNO_3), Fe^{2+} ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$), Mn^{2+} (MnSO_4), Al^{3+} ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$), Zn^{2+} (ZnSO_4), Cu^{2+} (CuSO_4) 등 7종의 금속염을 pH 3.0인 완충용액으로 5배 희석하여 제조한 색소액에 금속이온의 농도가 10 ppm 및 100 ppm이 되도록 각각의 금속염을 첨가한 후 앞서와 같은 방법으로 흡광도의 변화를 3일 간격으로 경시적으로 측정하였다.

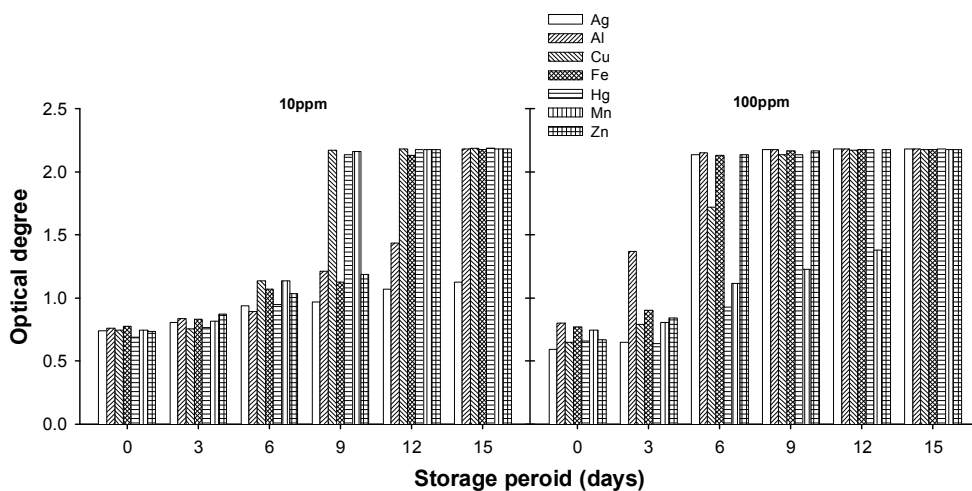


Fig. 117. Effect of metal ions on the stability of the cosmetic composition having black rice pigment

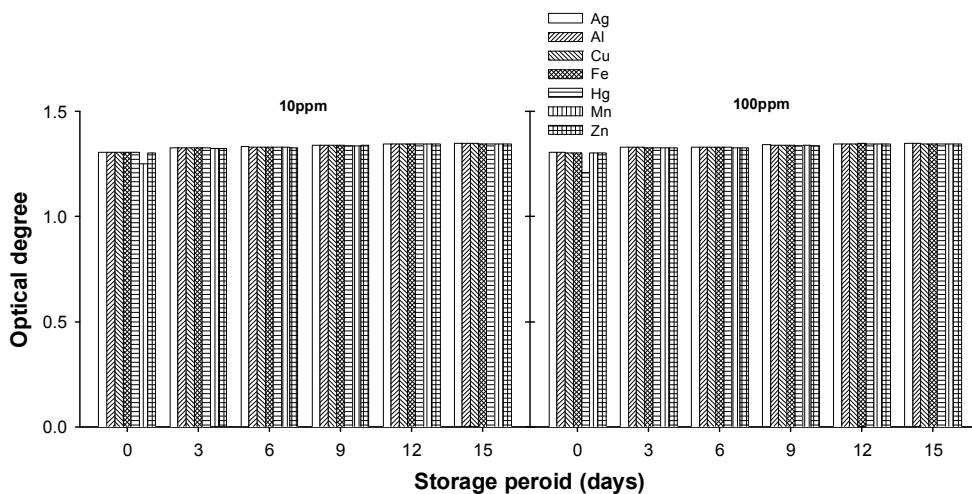


Fig. 118. Effect of metal ions on the stability of the cosmetic composition having grape peel pigment

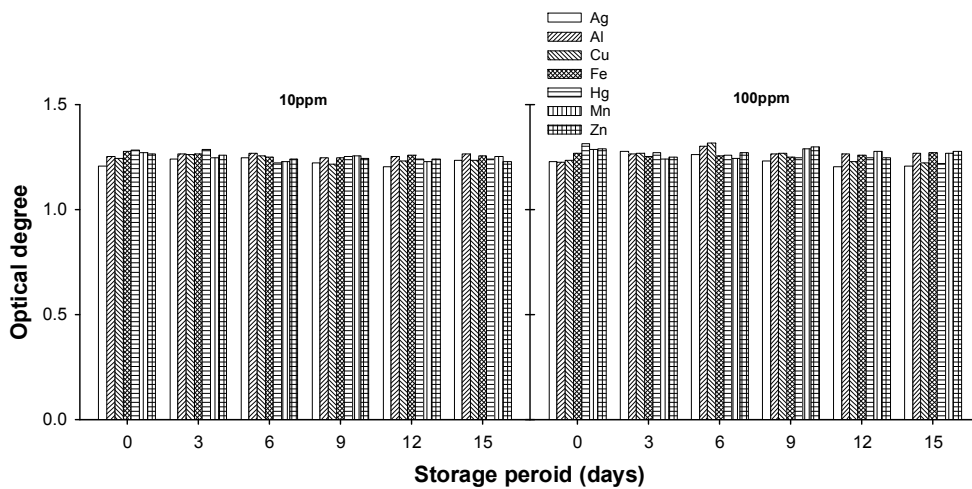


Fig. 119. Effect of metal ions on the stability of the cosmetic composition having red beet pigment

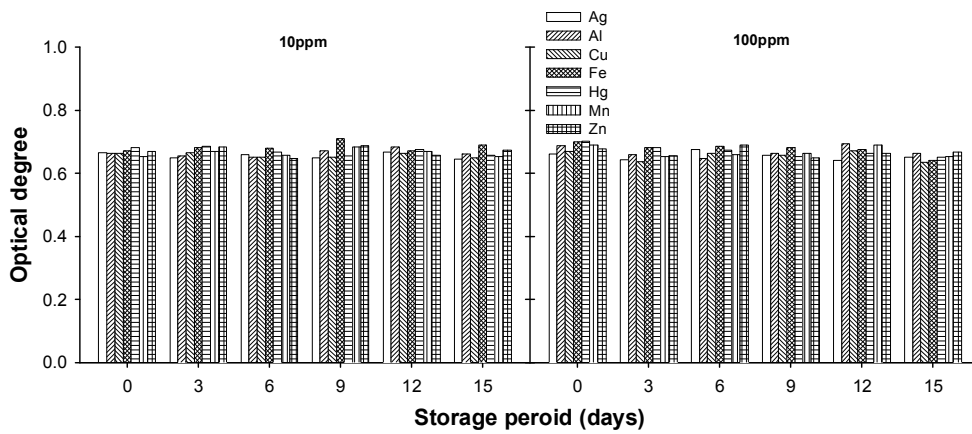


Fig. 120. Effect of metal ions on the stability of the cosmetic composition having red cabbage pigment

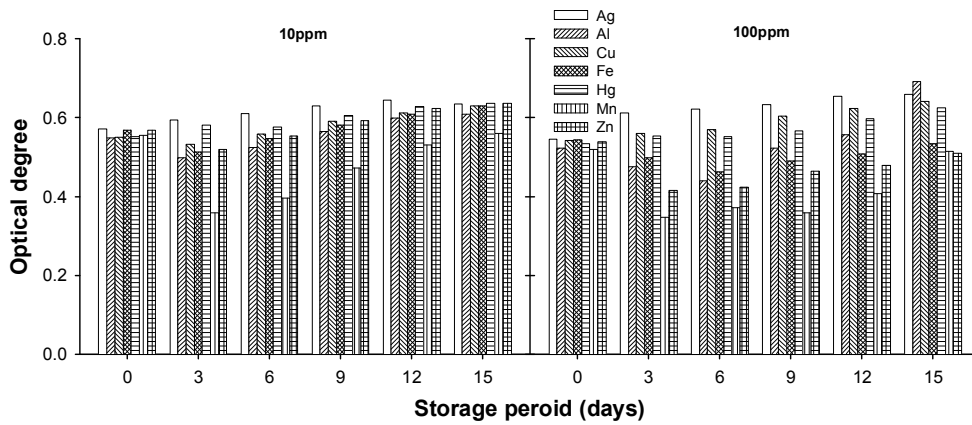


Fig. 121. Effect of metal ions on the stability of the cosmetic composition having mulberry pigment

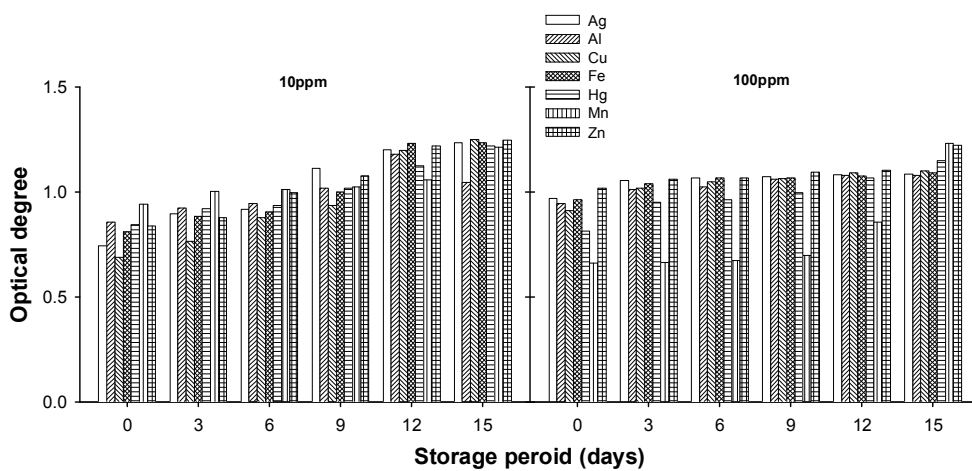


Fig. 122. Effect of metal ions on the stability of the cosmetic composition having purple sweet potato pigment

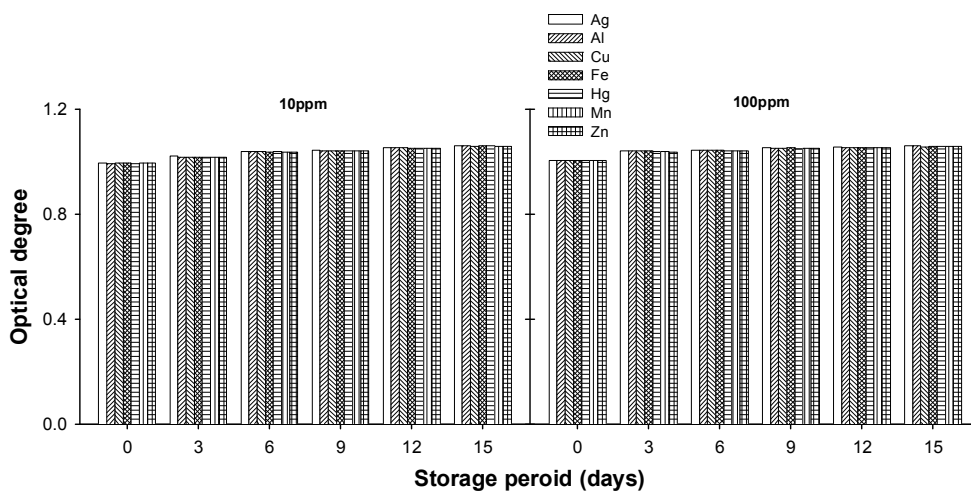


Fig. 123. Effect of metal ions on the stability of the cosmetic composition having paprika pigment

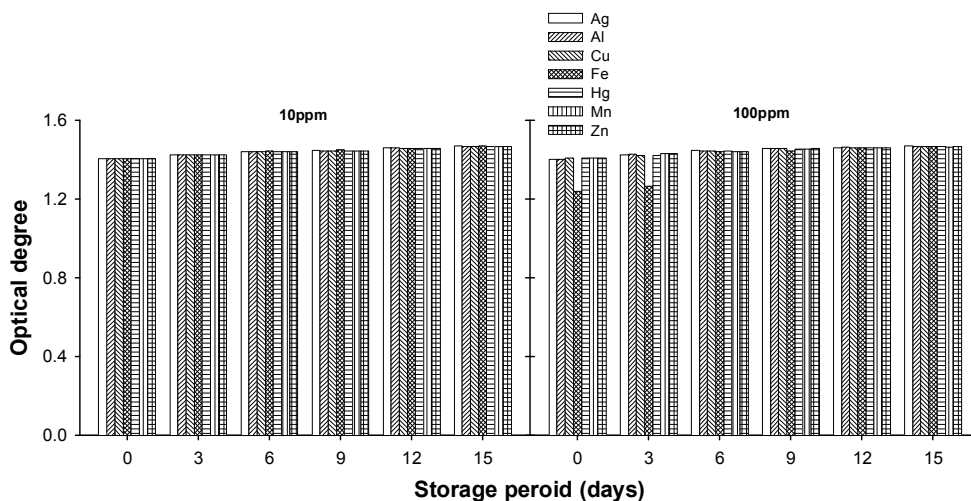


Fig. 124. Effect of metal ions on the stability of the cosmetic composition having chinese foxglove pigment

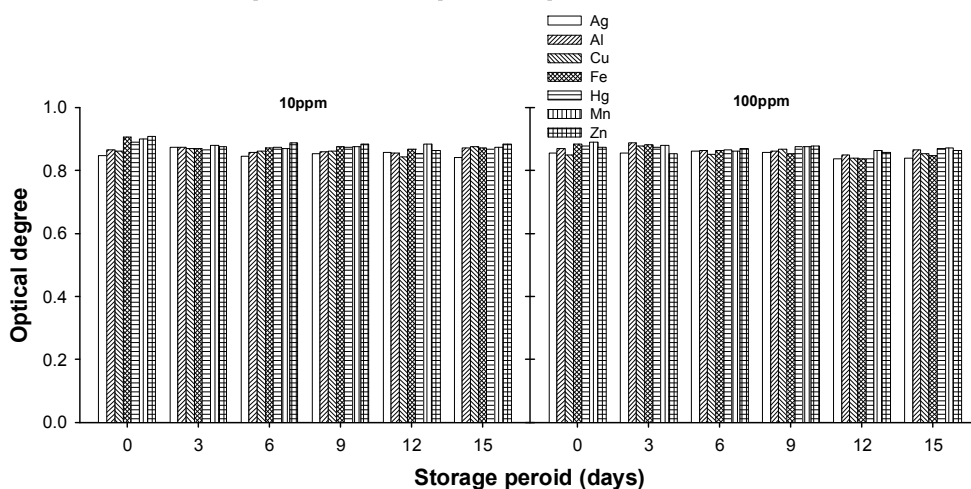


Fig. 125. Effect of metal ions on the stability of the cosmetic composition having yellow gardenia pigment

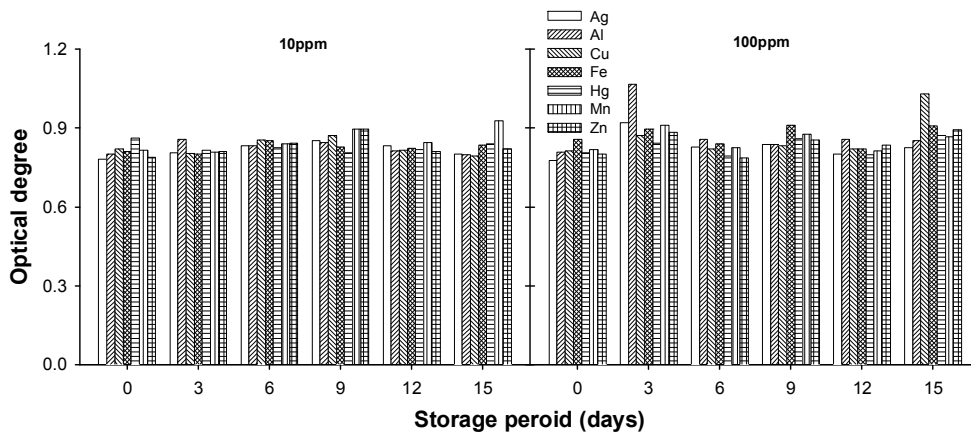


Fig. 126. Effect of metal ions on the stability of the cosmetic composition having blue gardenia pigment

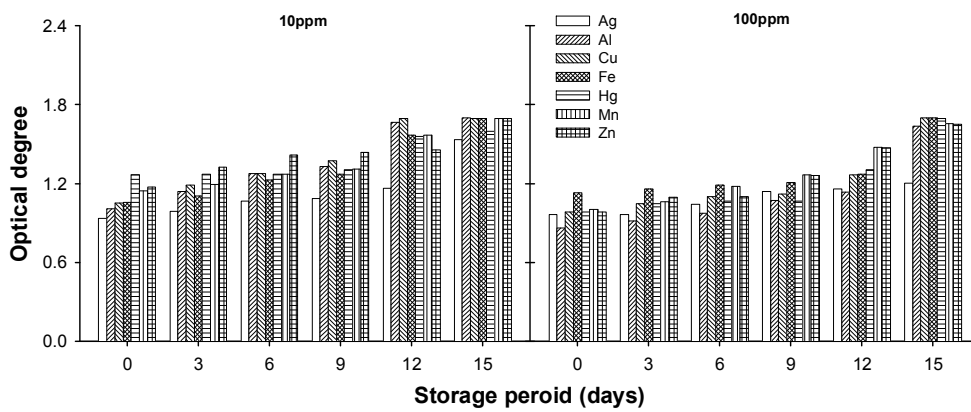


Fig. 127. Effect of metal ions on the stability of the cosmetic composition having onion peel pigment

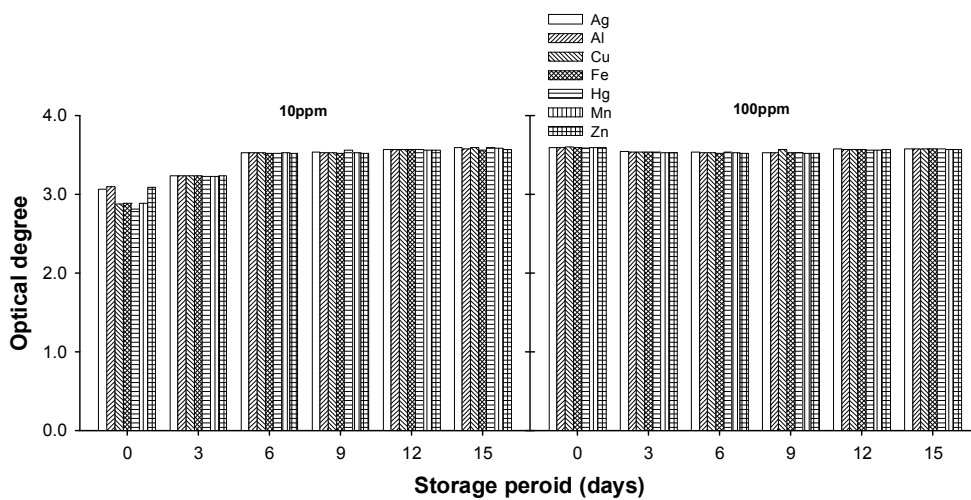


Fig. 128. Effect of metal ions on the stability of the cosmetic composition having mature bitter melon pigment

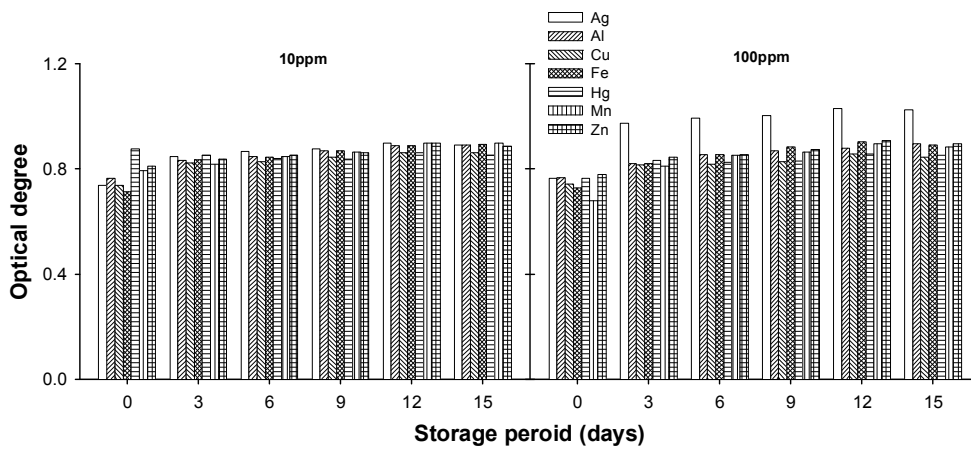


Fig. 129. Effect of metal ions on the stability of the cosmetic composition having mulberry leaves pigment

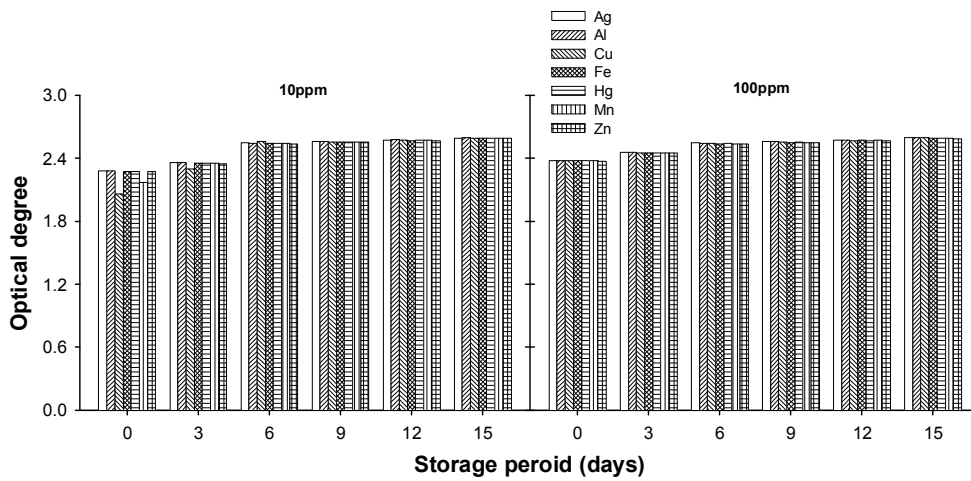


Fig. 130. Effect of metal ions on the stability of the cosmetic composition having gromwell pigment

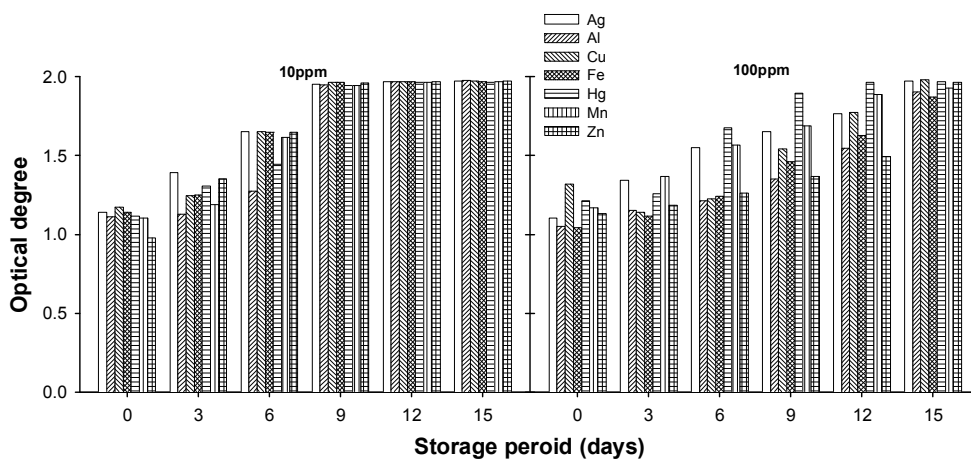


Fig. 131. Effect of metal ions on the stability of the cosmetic composition having cactus pigment

각 색소혼합 조성물에 대한 금속이온의 영향으로서는 금속이온의 촉매작용으로

색소의 산화분해가 촉진되거나 금속이온과 반응하여 착염을 형성하여 변색 불용화하게 된다. 특히 안토시아닌계 색소에서 금속이온을 함유한 성분이나 포장용기 사용시 이러한 현상이 일어날 수 있다. 본 실험에서 적용한 카로티노이드계 색소, 안토시아닌계 색소 모두 저장기간이 경과함에 따라 금속이온의 영향으로 색소의 변성을 크게 유발하지는 않았지만 경시적으로 색상이 다소 탁해지는 경향이 있었다.

아래 사진은 저장기간이 경과함에 따라 금속이온의 영향으로 색상이 어떻게 변화하는지 외관상 관찰할 수 있는 사진으로서, 시일이 경과할수록 대부분의 금속이온에서 색상이 다소 짙어지는 것을 확인할 수 있었다.

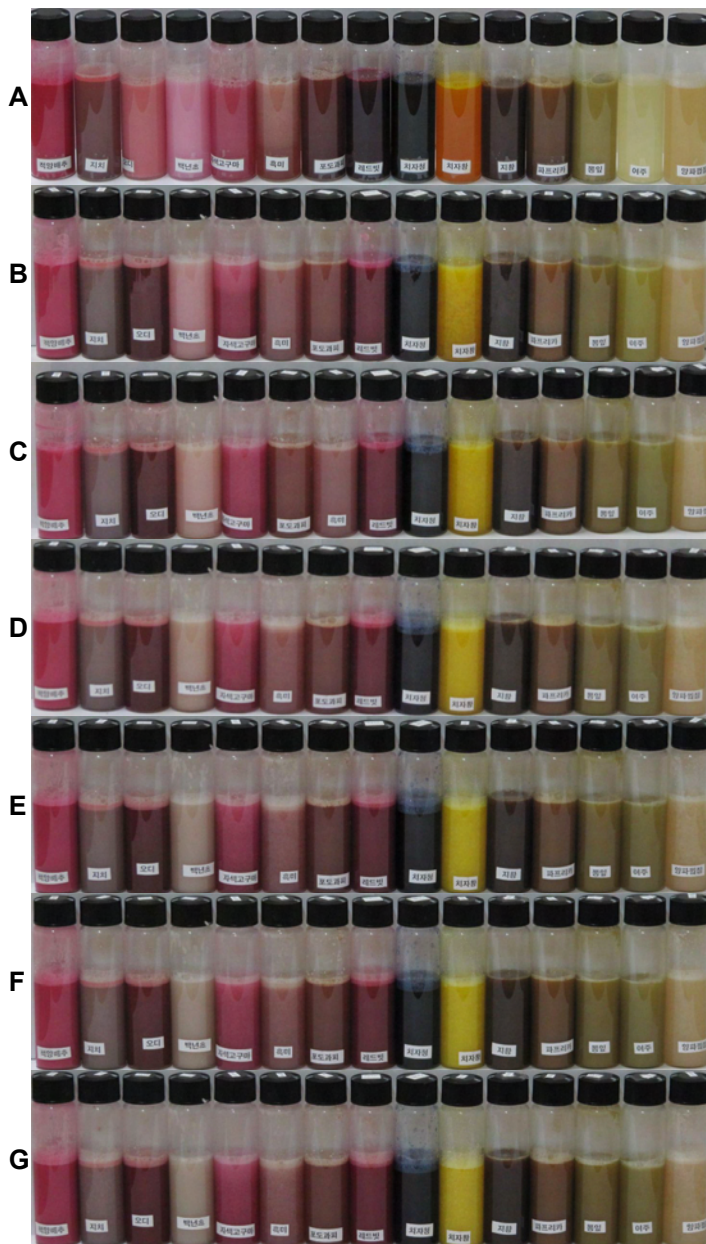


Fig. 132. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period with Ag^{2+} (10ppm)

A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

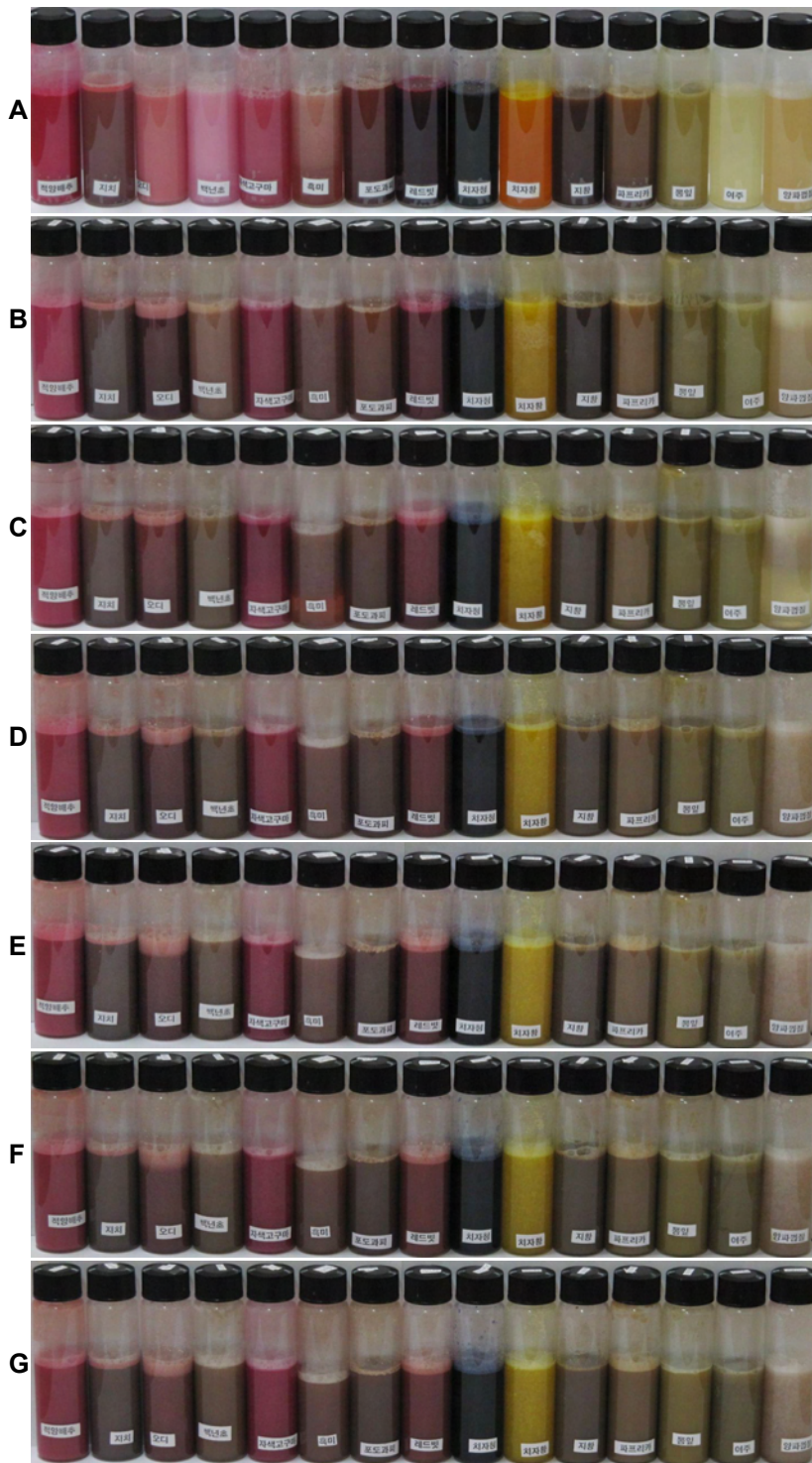


Fig. 133. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period with Ag^{2+} (100ppm)

A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

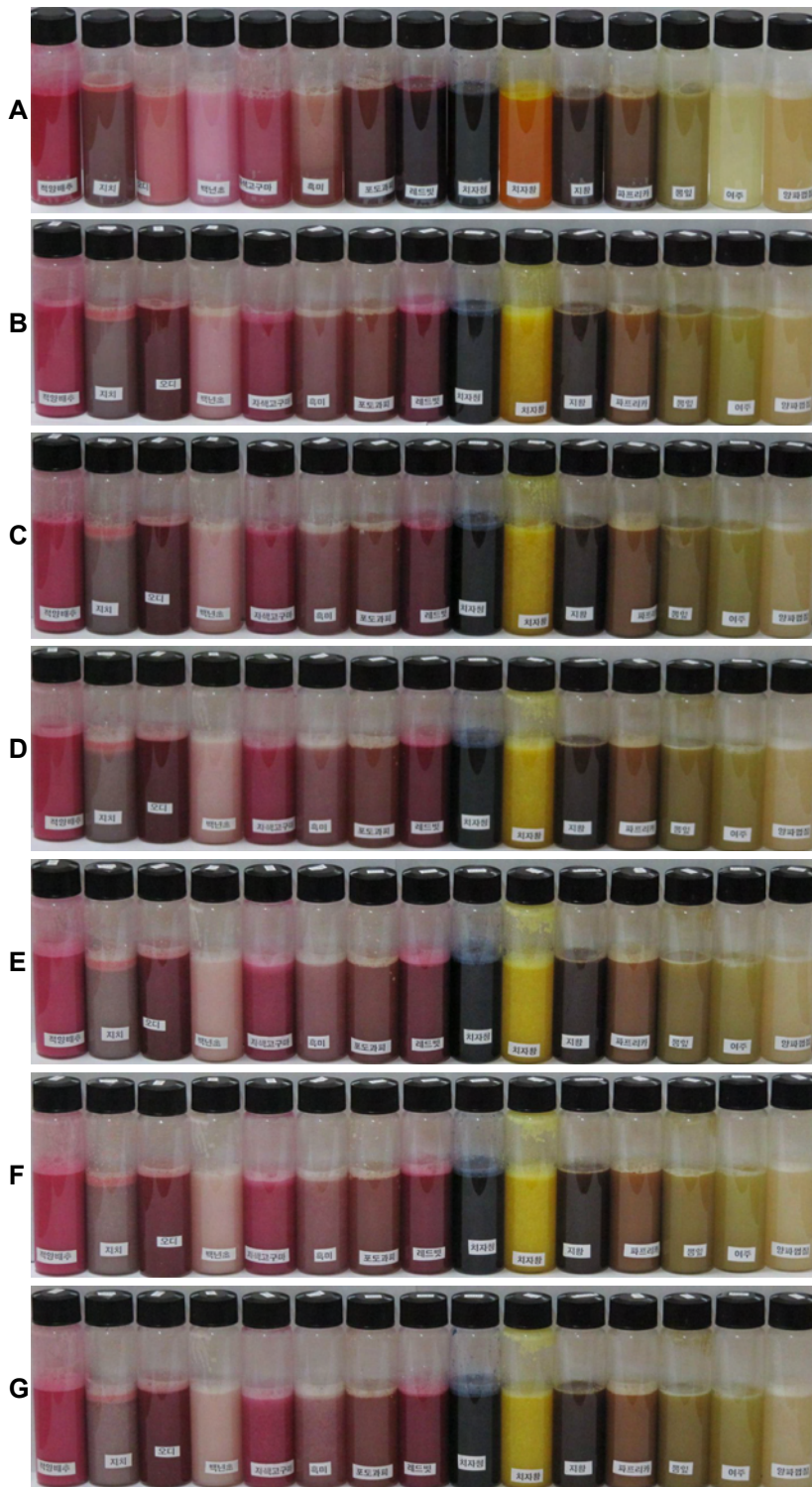


Fig. 134. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period with Al³⁺(10ppm)
 A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

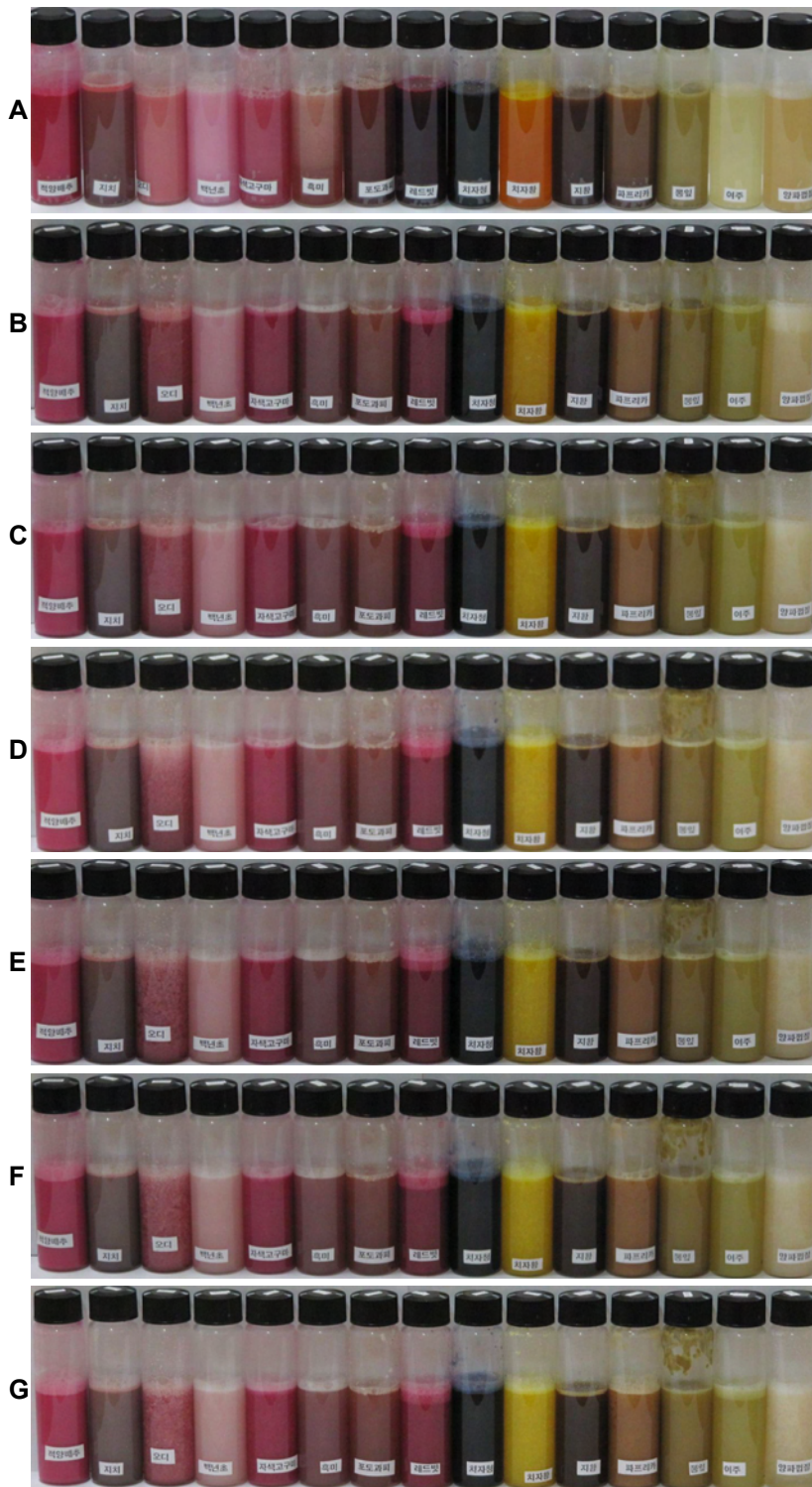


Fig. 135. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period with Al^{3+} (100ppm)
 A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

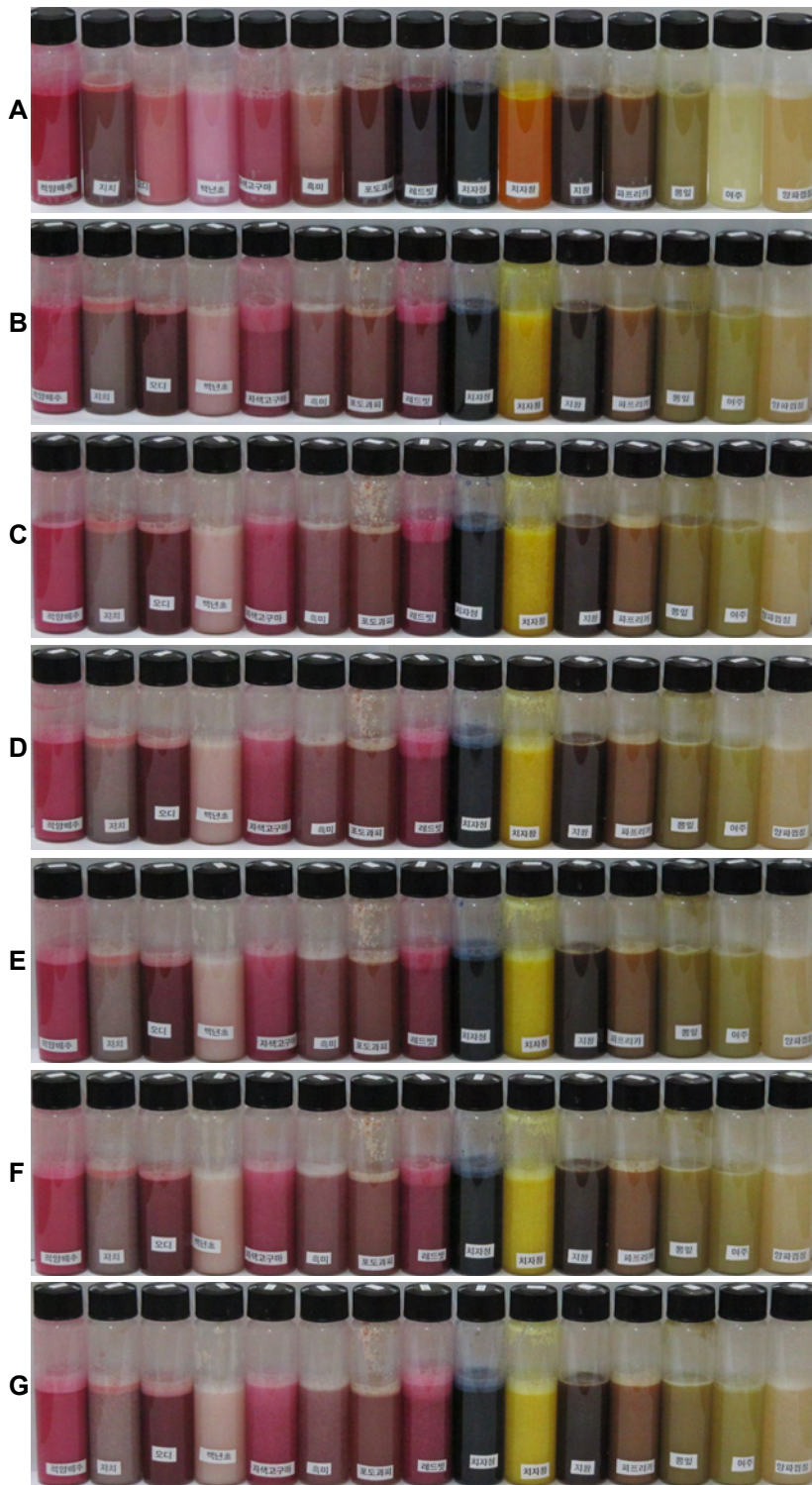


Fig. 136. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period with Cu^{2+} (10ppm)
 A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

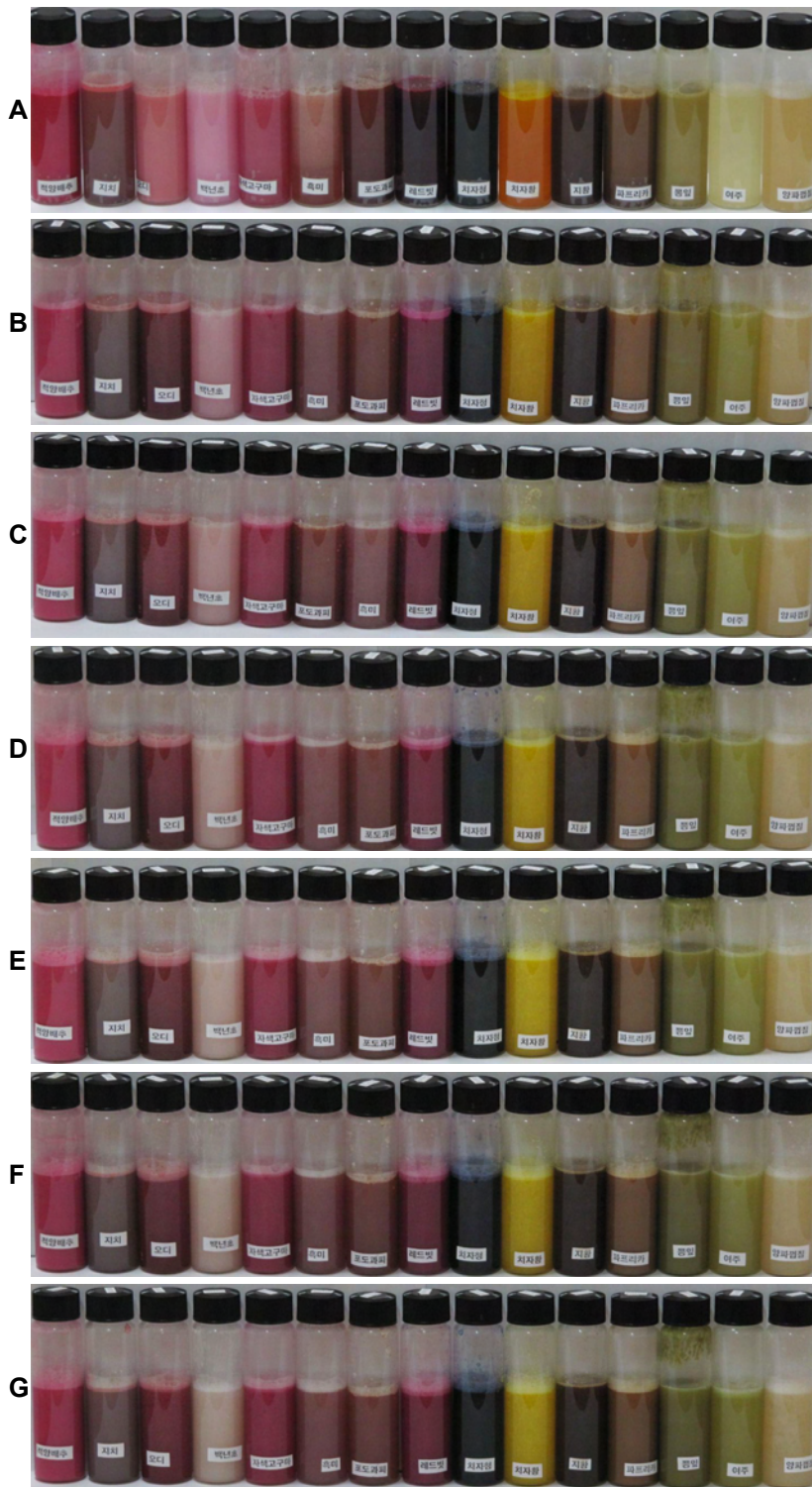


Fig. 137. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period with Cu^{2+} (100ppm)
 A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

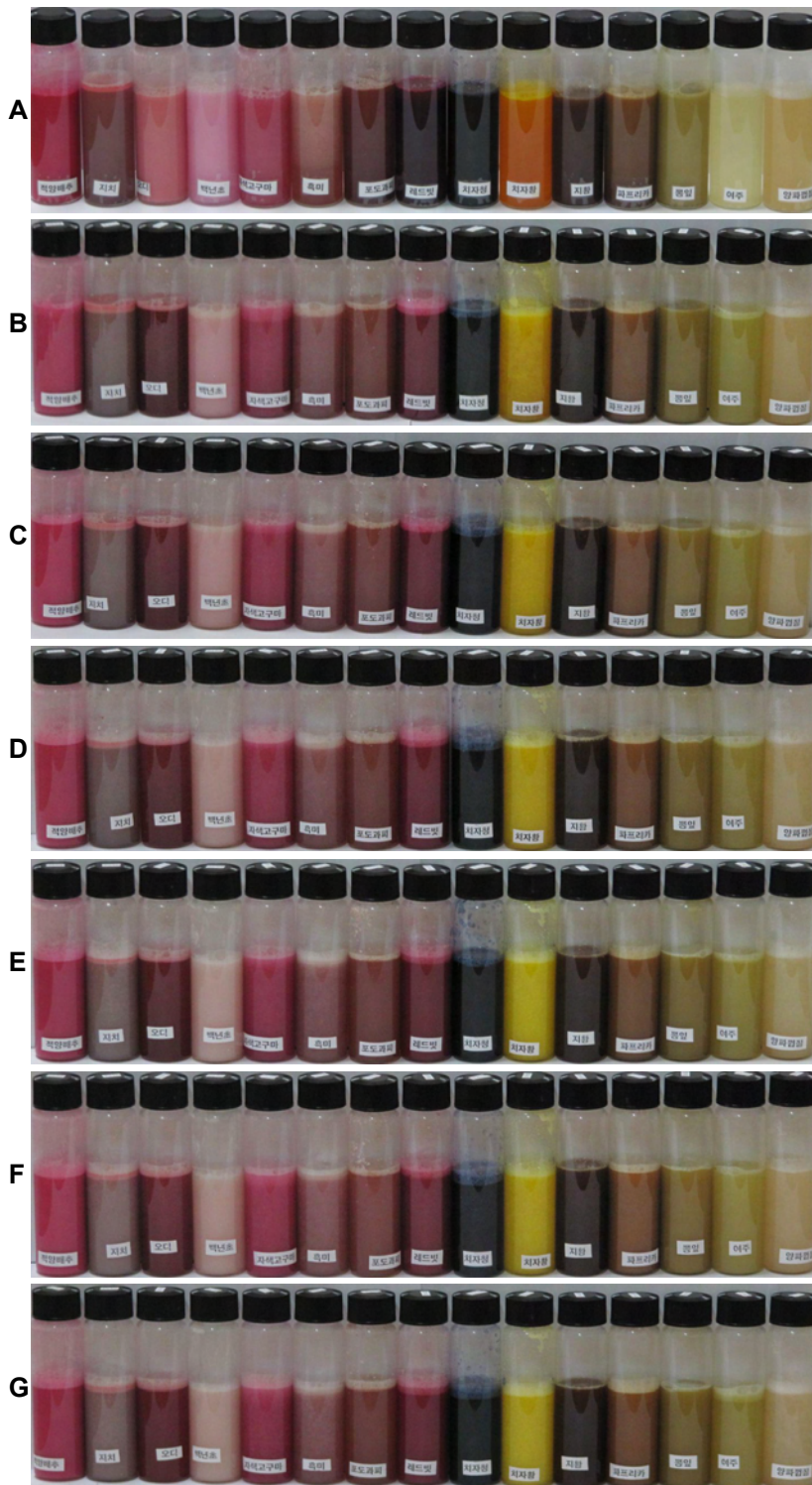


Fig. 138. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period with Fe²⁺(10ppm)
 A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

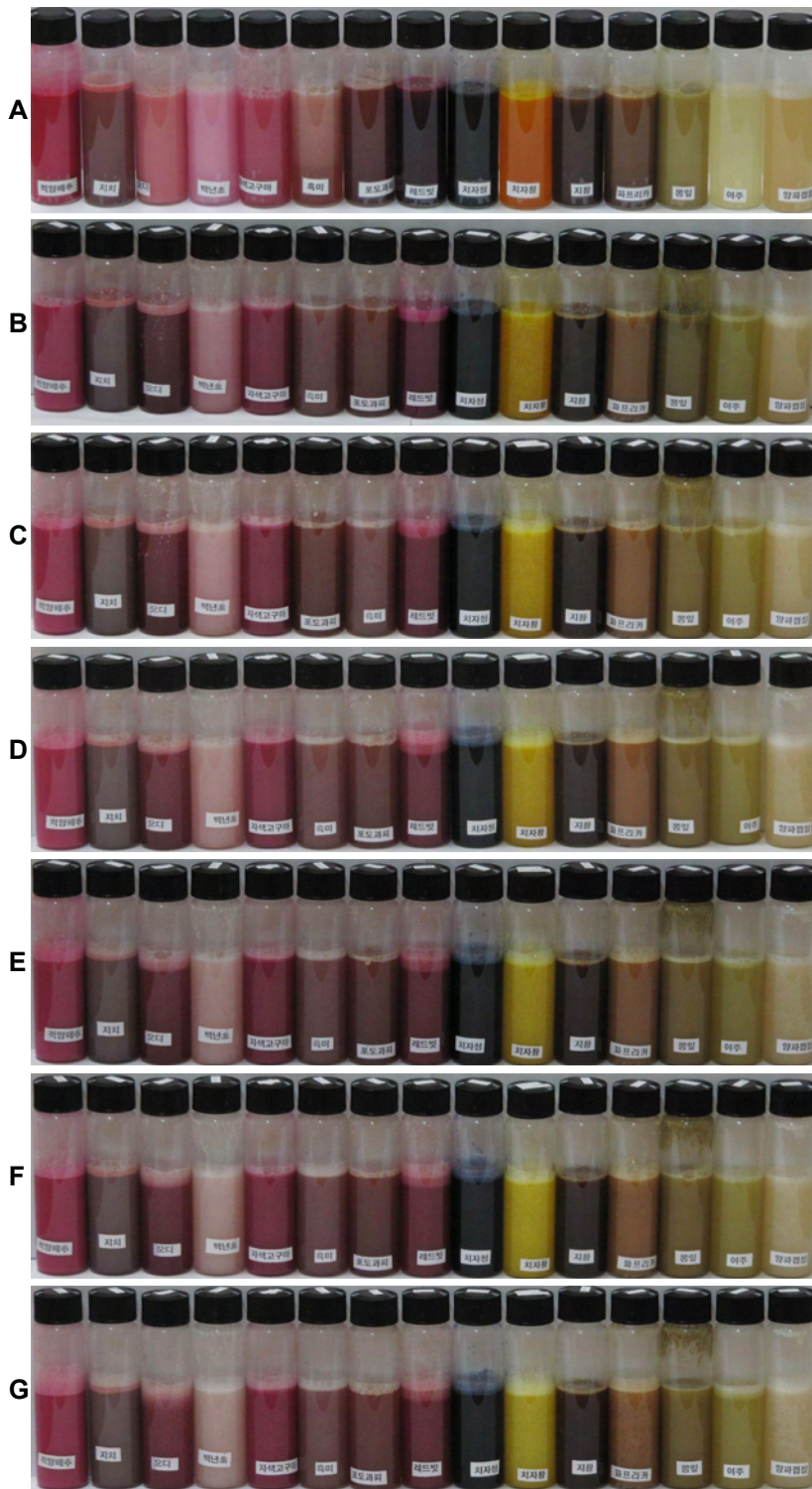


Fig. 139. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period with Fe^{2+} (100ppm)
 A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

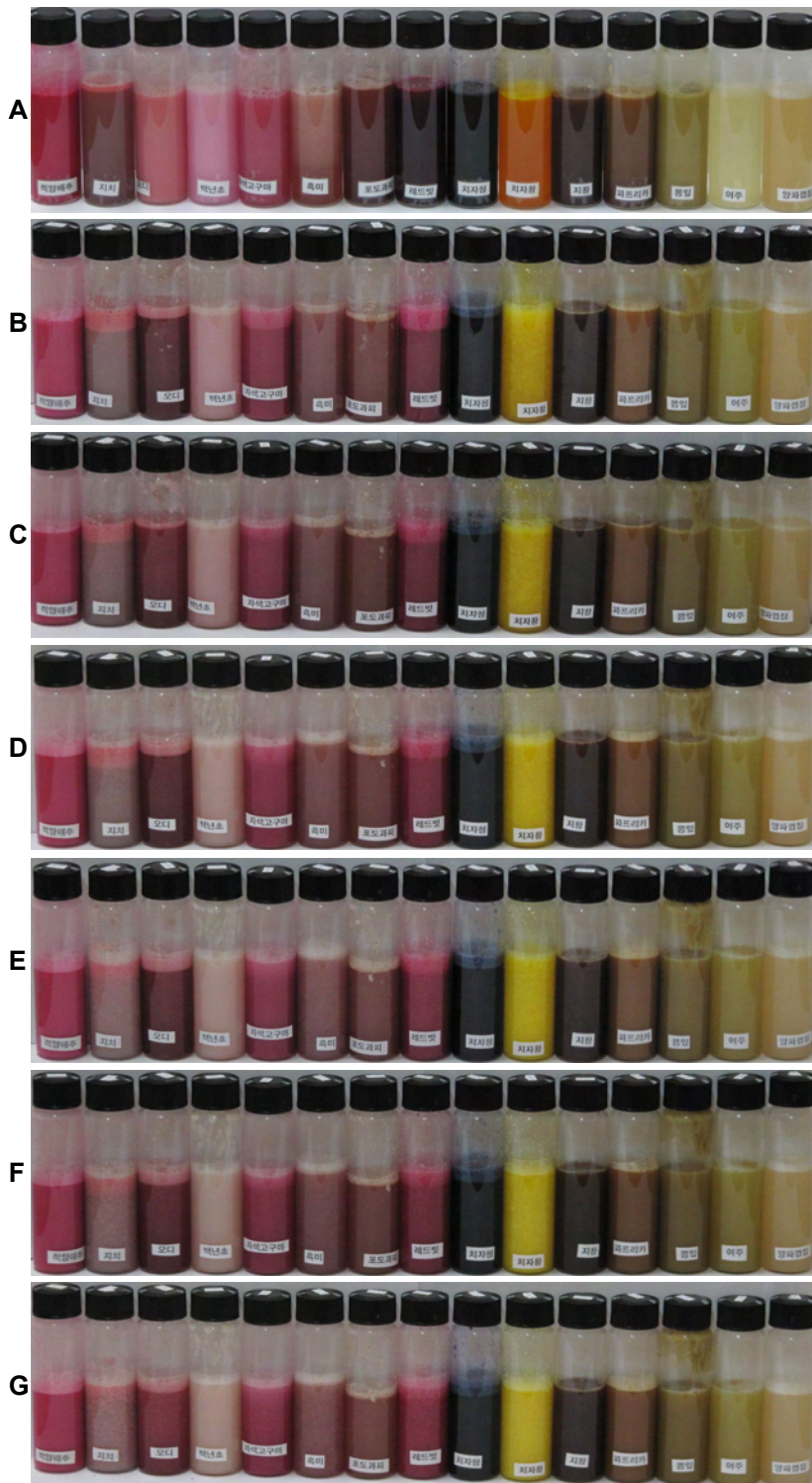


Fig. 140. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period with Hg^{2+} (10ppm)
 A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

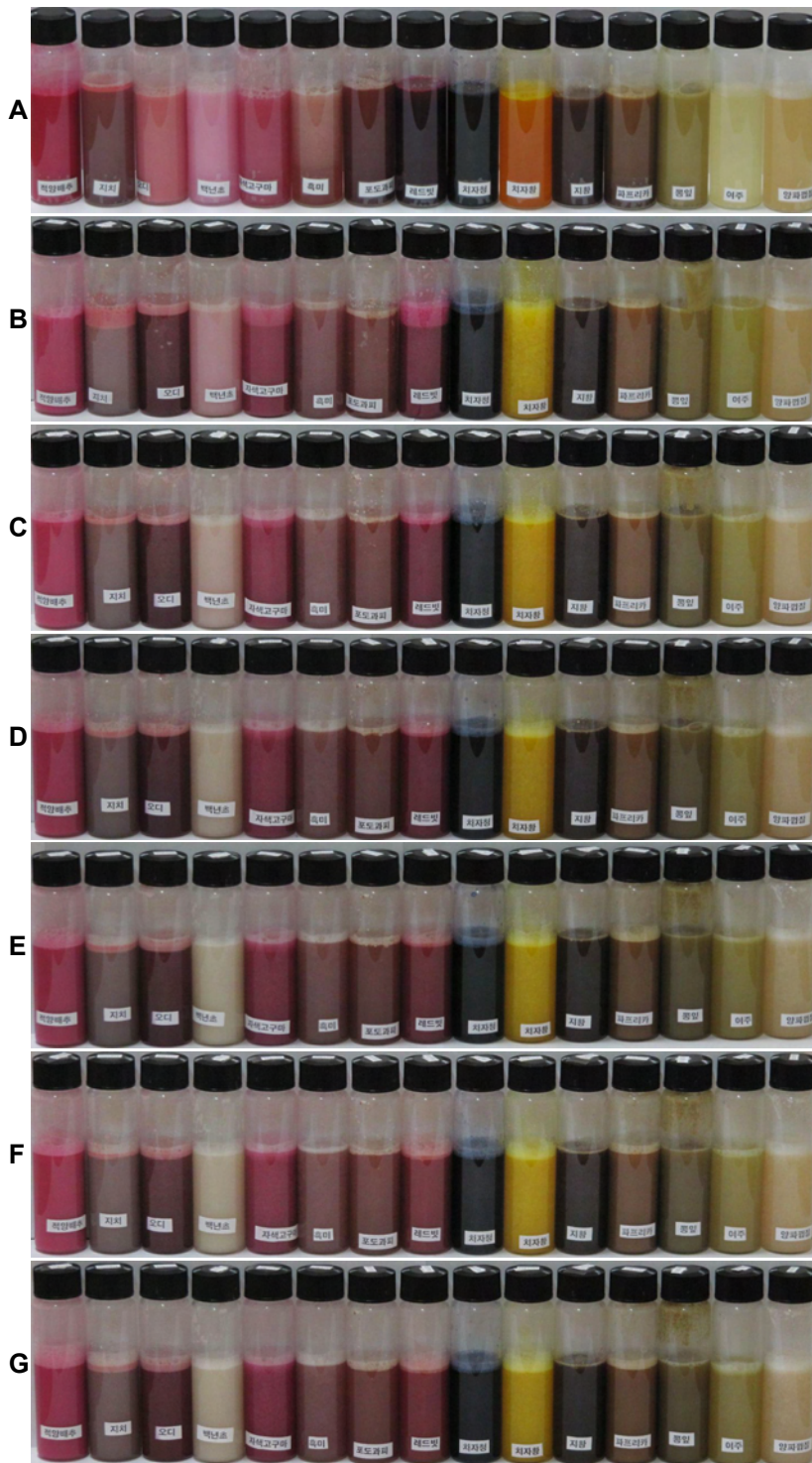


Fig. 141. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period with Hg^{2+} (100ppm)

A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

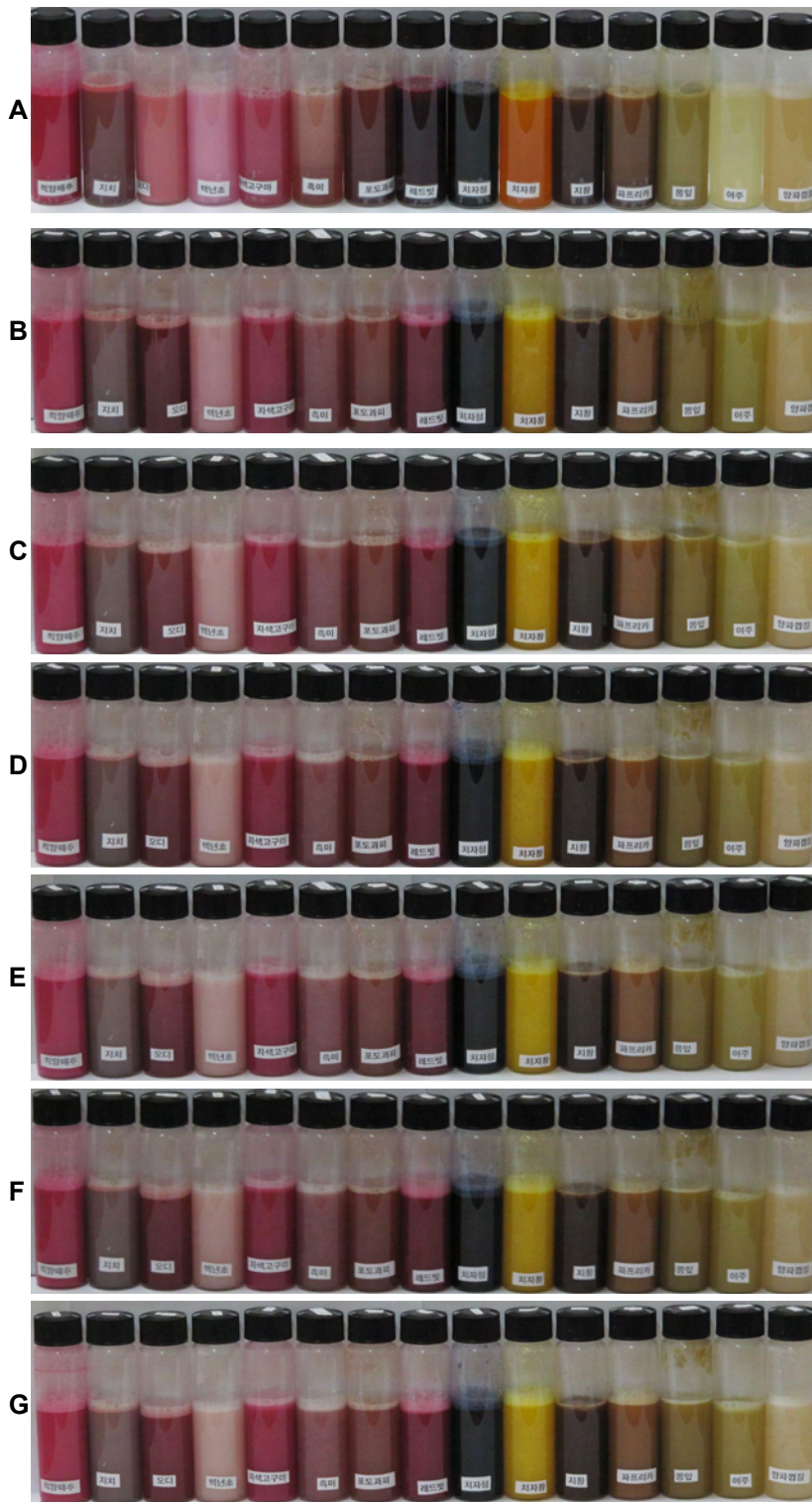


Fig. 142. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period with Mn²⁺ (10ppm)

A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

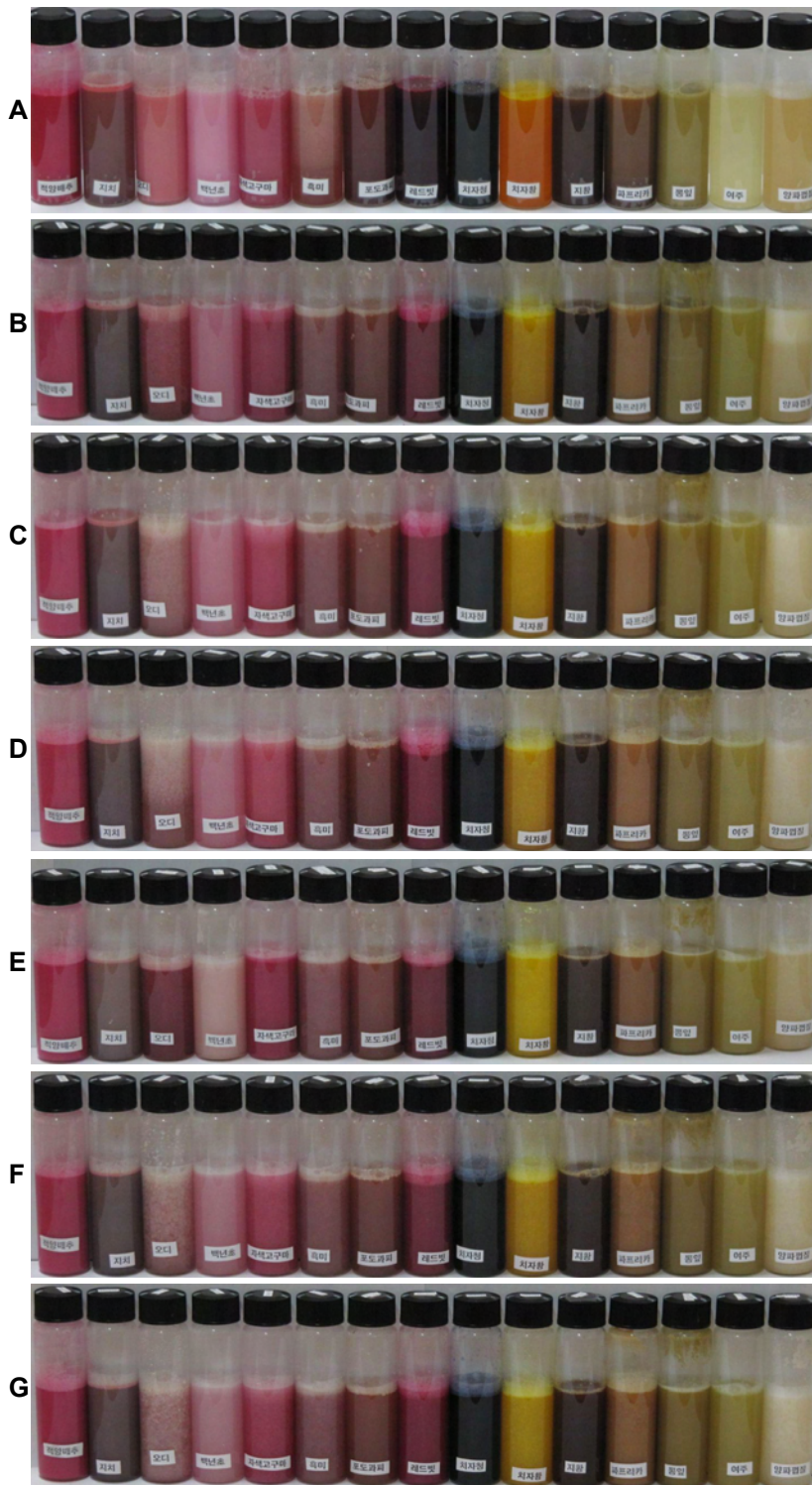


Fig. 143. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period with Mn²⁺ (100ppm)
 A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

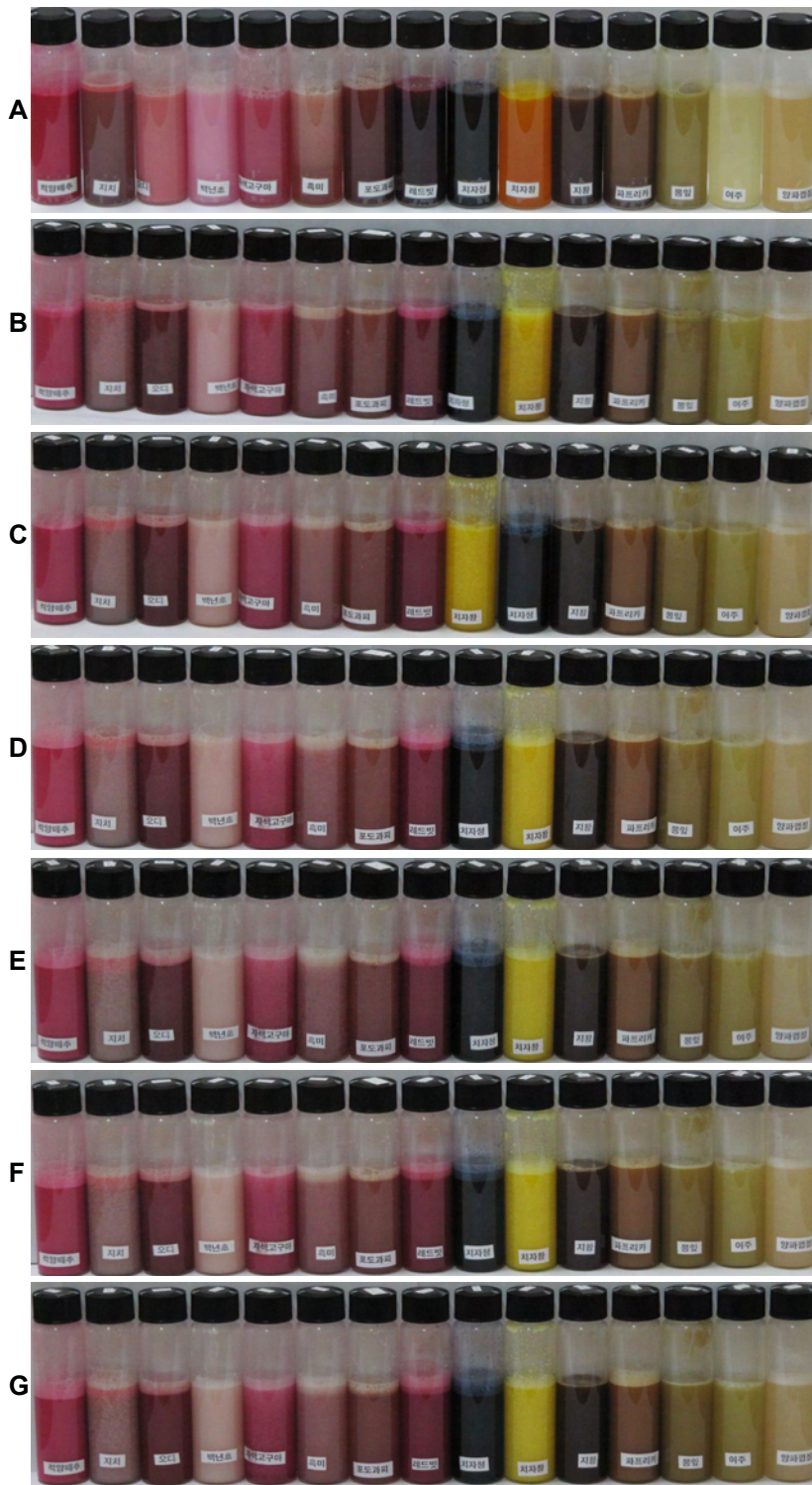


Fig. 144. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period with Zn²⁺(10ppm)
 A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

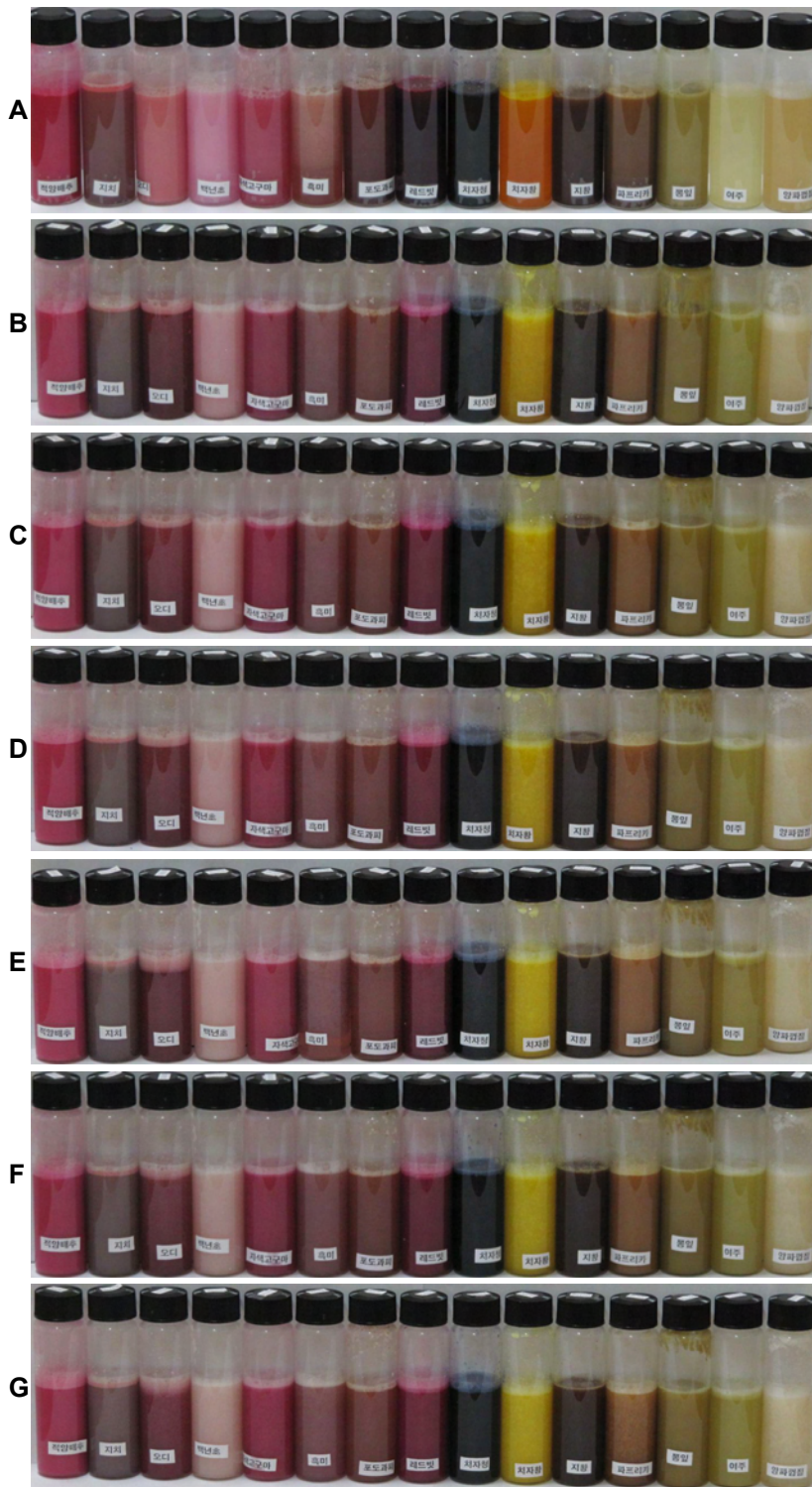


Fig. 145. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period with Zn^{2+} (100ppm)
 A: before treatment, B: 0 days, C: 3 days, D: 6 days, E: 9 days, F: 12 days, G: 15 days

(4) 광의 영향

각 색소혼합 조성물의 안정성에 대한 광의 영향을 조사하기 위하여 pH 2.0인 완충용액을 사용하여 5배로 희석하여 제조한 색소액을 cap test tube에 40mL씩 넣고 밀봉한 후 일부는 일광 혹은 형광등에 노출시키면서 상온에 보관하였으며, 나머지 일부는 암소에 보관하면서 혼합조성물의 경시적인 흡광도를 3일 간격으로 측정하였다.

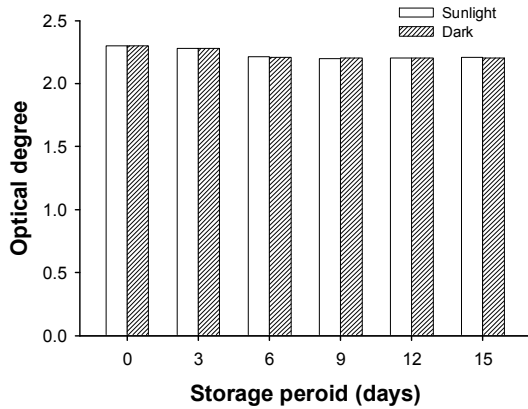


Fig. 146. Effect of light on the stability of the cosmetic composition having black rice pigment

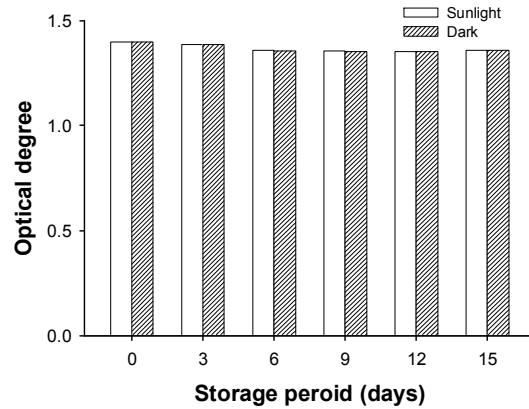


Fig. 147. Effect of light on the stability of the cosmetic composition having grape peel pigment

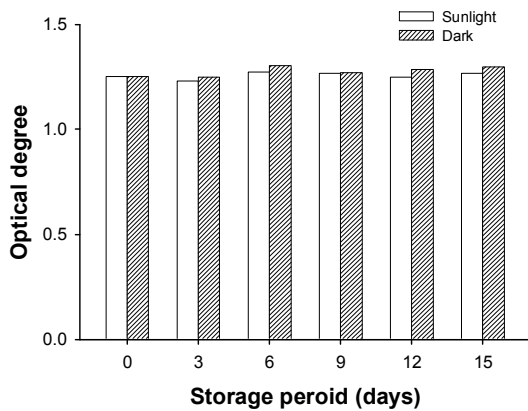


Fig. 148. Effect of light on the stability of the cosmetic composition having red beet pigment

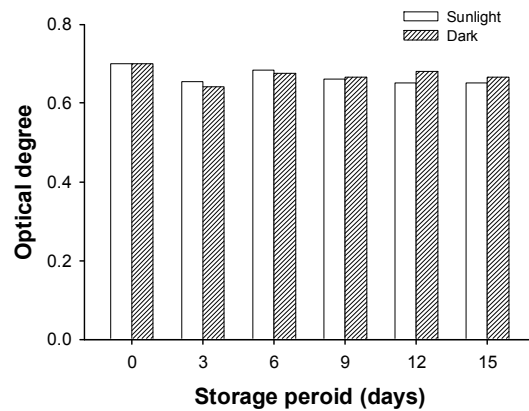


Fig. 149. Effect of light on the stability of the cosmetic composition having red cabbage pigment

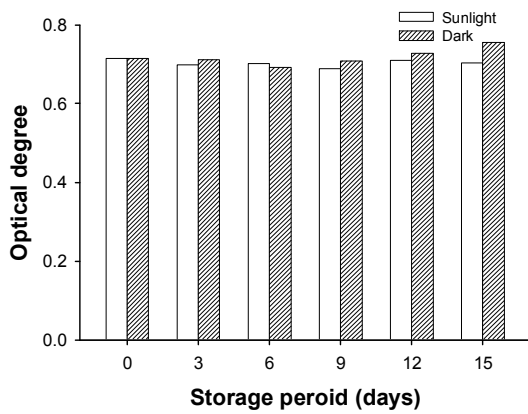


Fig. 150. Effect of light on the stability of the cosmetic composition having mulberry pigment

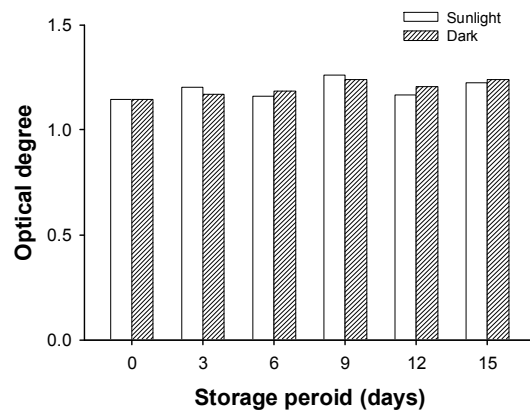


Fig. 151. Effect of light on the stability of the cosmetic composition having purple sweet potato pigment

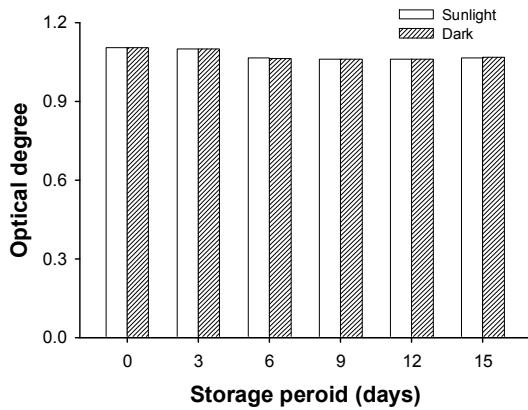


Fig. 152. Effect of light on the stability of the cosmetic composition having paprika pigment

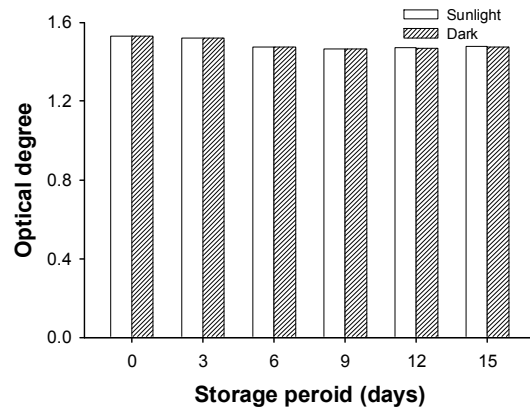


Fig. 153. Effect of light on the stability of the cosmetic composition having chinese foxglove pigment

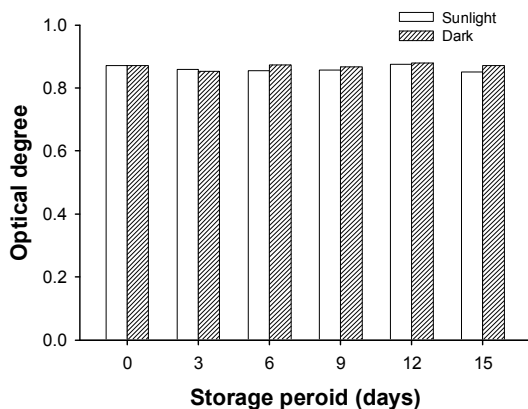


Fig. 154. Effect of light on the stability of the cosmetic composition having yellow gardenia pigment

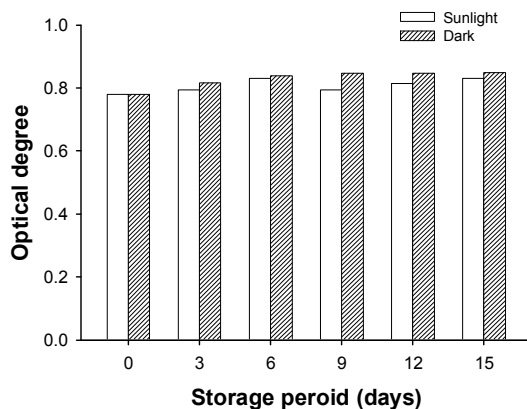


Fig. 155. Effect of light on the stability of the cosmetic composition having blue gardenia pigment

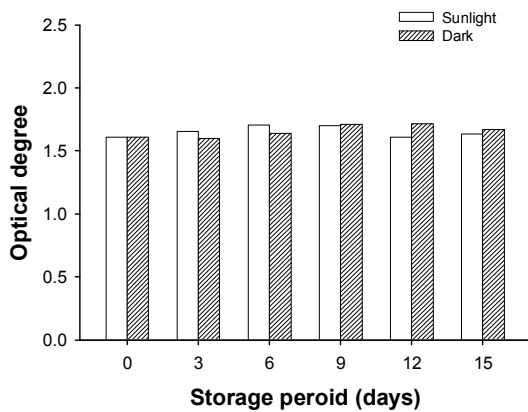


Fig. 156. Effect of light on the stability of the cosmetic composition having onion peel pigment

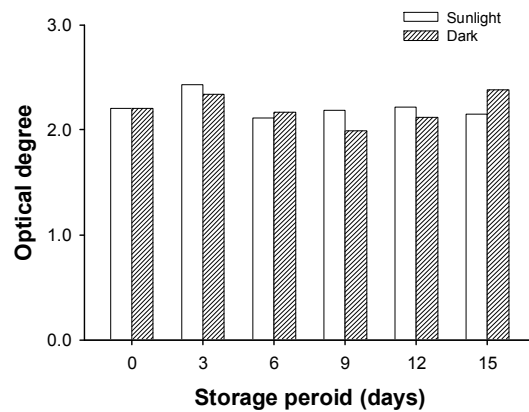


Fig. 157. Effect of light on the stability of the cosmetic composition having mature bitter melon pigment

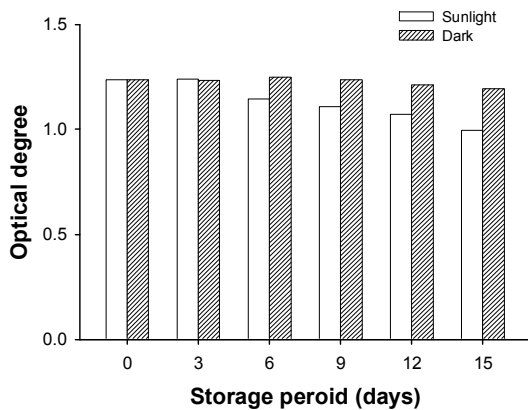


Fig. 158. Effect of light on the stability of the cosmetic composition having mulberry leaves pigment

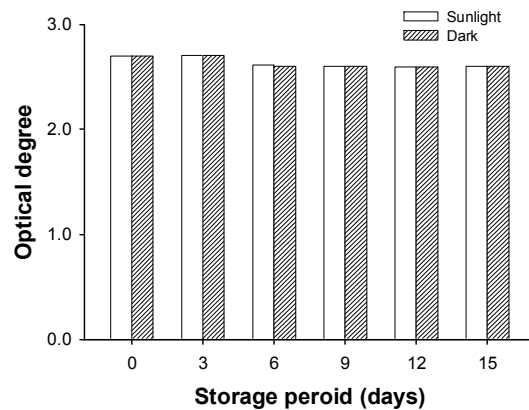


Fig. 159. Effect of light on the stability of the cosmetic composition having gromwell pigment

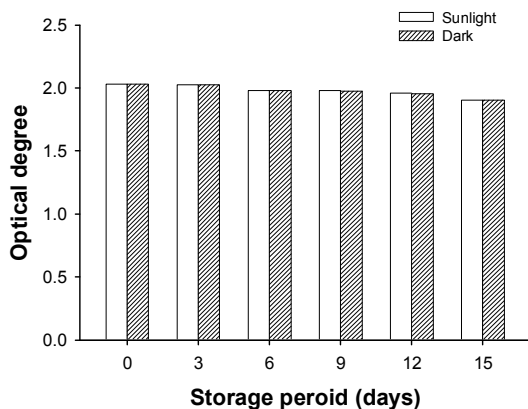


Fig. 160. Effect of light on the stability of the cosmetic composition having cactus pigment

황색계열의 천연색소는 가시광선에서도 쉽게 분해되는 경향이 있다. 본 실험에서 일광(그늘) 및 형광등에 노출시켜 저장한 경우와 광을 차단하여 암흑 상태에 저장한 경우에서의 혼합조성물의 색상 변화를 관찰한 결과, 공시한 대부분의 색소혼합 조성물에서 일광에 노출한 처리구의 색상 강도가 약간 감소됨을 알 수 있었다. 이는 빛에 장시간 노출되면 색소의 안정성을 저하시킨다는 것을 의미하며, 천연색소 함유 제품 제조 및 저장시 이에 대한 고려가 필요하다고 본다. 그러나 전체적으로 일광(그늘)노출 조건과 암흑 조건에서 큰 차이는 없었으며, 본 혼합조성물은 비교적 광에 대해서 안정한 것으로 판단되었다.

아래 사진은 저장기간이 경과함에 따라 색소혼합 조성물의 일광에 대한 영향을 나타내는 것으로 외관상으로는 큰 변화가 없는 것처럼 보였으며, 일부 조성물에서 최대 흡수파장에서의 흡광도 측정 결과, 시일 경과에 따라 다소 차이를 보였다.

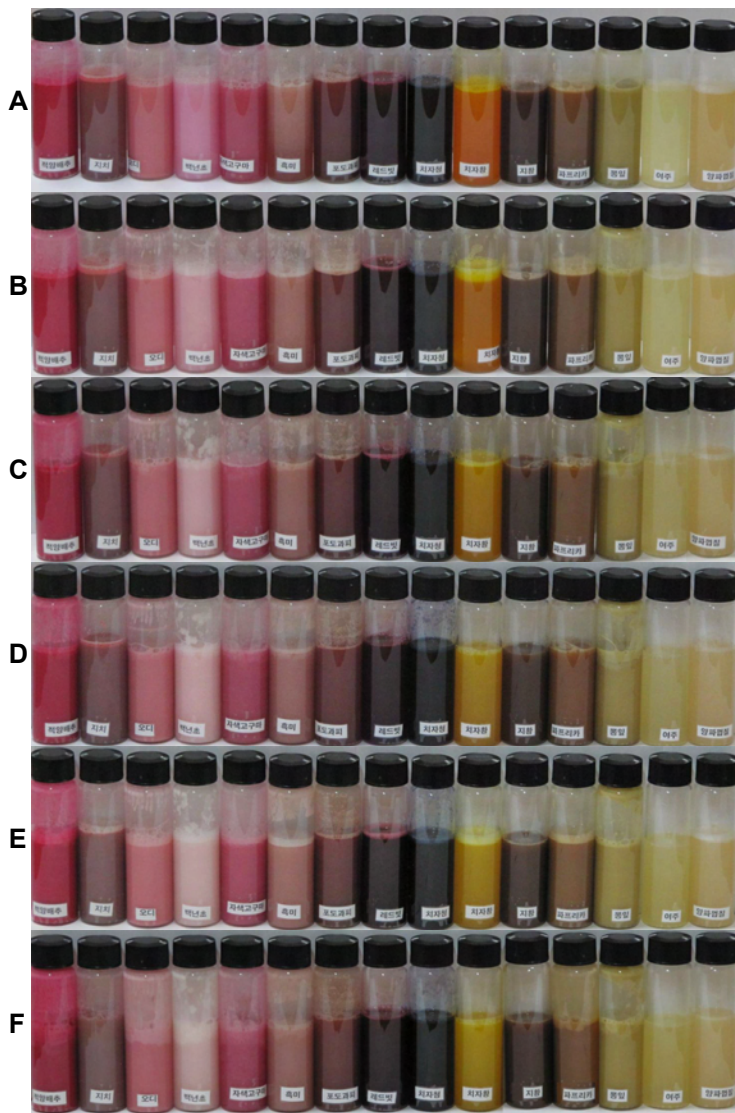


Fig. 161. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period under light condition

A: 0 days, B: 3 days, C: 6 days, D: 9 days, E: 12 days, F: 15 days

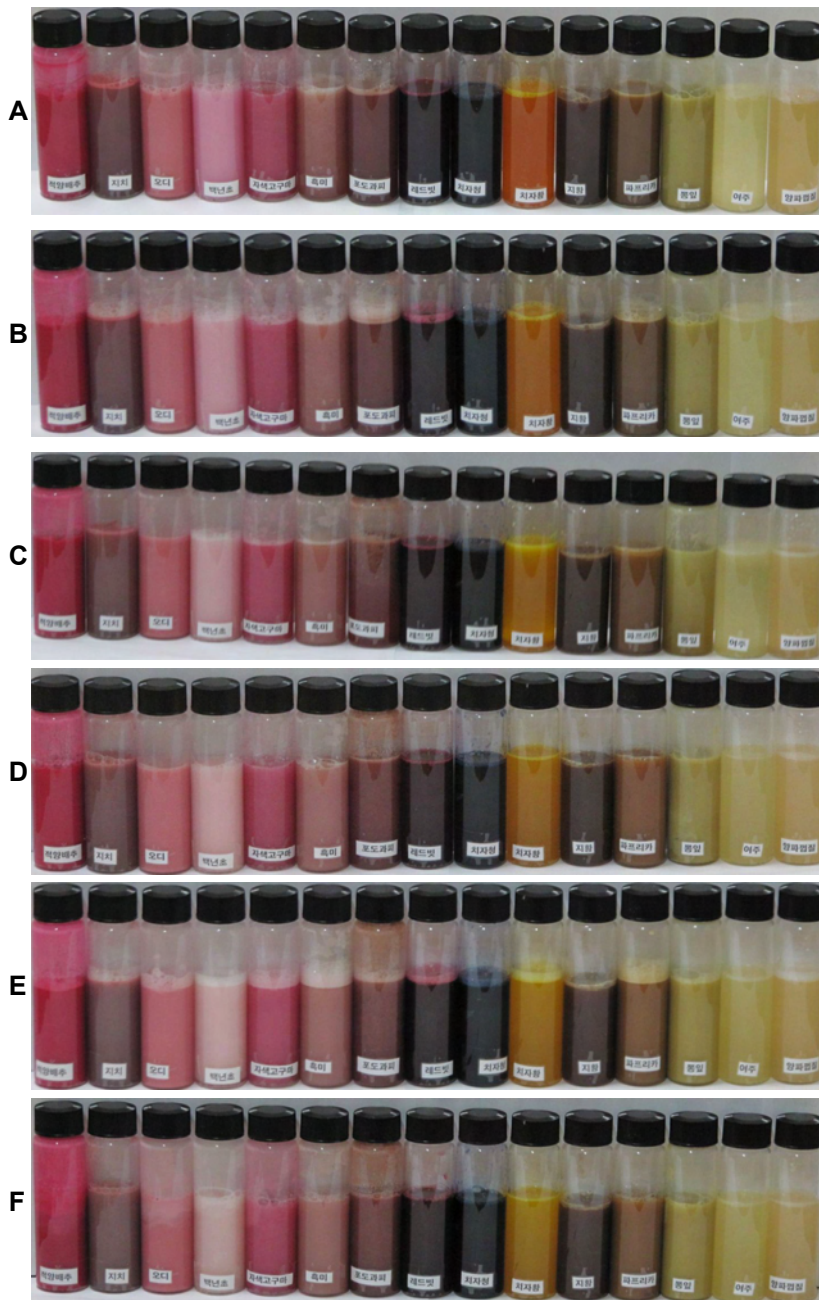


Fig. 162. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by storage period under dark condition

A: 0 days, B: 3 days, C: 6 days, D: 9 days, E: 12 days, F: 15 days

(5) 열(온도)의 영향

각 색소혼합 조성물의 열 안정성을 조사하기 위하여 cap test tube에 혼합조성물을 40mL씩 넣고 밀봉한 후 가열 변색에 대한 안정화제의 효과를 명확히 구명하기 위해 비교적 높은 온도인 100℃에서 0~180분간 가열하면서 60분 간격으로 샘플을 취하여 흡광도를 측정하였다.

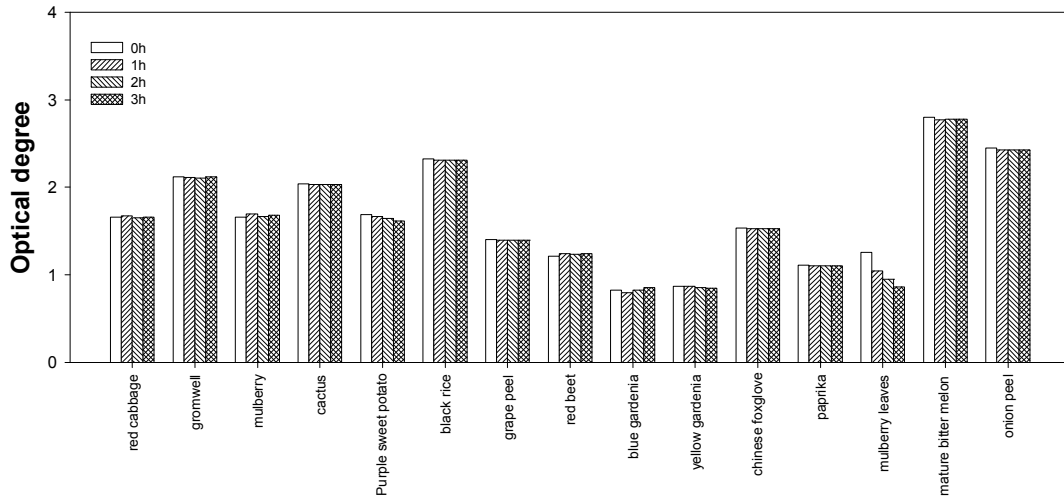


Fig. 163. Effect of heating on the color stability of the cosmetic composition

천연색소는 열을 받으면 열분해 및 중합반응으로 갈변화하거나 퇴색, 변색된다. 가열온도와 시간에 따른 색소혼합 조성물의 색상변화 정도를 조사한 결과, 레드비트, 적양배추, 포도과피, 자색고구마 혼합조성물이 비교적 열에 안정하였으며, 백년초, 뽕잎 혼합물이 다소 열에 약한 것으로 나타났다.

아래 사진은 가열온도와 시간에 따라 색상이 어떻게 변화했는지를 나타내는 것으로서 외관상으로도 가열처리 전보다 가열 후 색상이 퇴색하고 다소 침전물이 발생함을 알 수 있다.



Fig. 164. Change of coloring of the cosmetic composition as affected by heating time

A: 0 hours, B: 2 hours, C: 4 hours

나. 다양한 요인에 따른 색소혼합 화장품조성물의 색차 변이

(1) pH변화에 따른 색차 변이

각 색소혼합 화장품조성물의 안정성에 대한 pH의 영향을 조사하기 위하여 완충용액을 사용하여 pH를 1.0~7.0으로 조절하였다. pH 1.0과 2.0은 Clark-Lubs 완충용액 (0.2M KCl + 0.2M HCl)을, pH 3.0~7.0까지는 MacIlvaine 완충용액 (0.1M citric acid + 0.2M Na₂HPO₂)을 사용하였다. 색소혼합조성물을 각각의 pH용액으로 10배 희석하여 cap test tube에 40mL씩 넣고 밀봉한 후 상온에 15일간 보관하면서 3일 간격으로 샘플을 취하여 색차계 (Minolta CR-10, Japan)를 이용하여 색도 변화를 측정하였다. 색도 변화는 Hunter 색차식 $\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$ 를 이용하여 비교하였다.

Table 70. Variation of hunter value of the cosmetic composition having grape peel pigment as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	25.1	4.1	-0.5	25.4	27.3	-11.6	5.5	30.2	25.0	3.2	-0.1	25.2	24.8	3.1	-0.1	25.0	25.1	3.8	-0.2	25.4	25.0	3.2	-0.3	25.2
2	25.3	2.6	0.0	25.4	26.6	-5.4	3.6	27.4	25.8	2.9	-0.2	26.0	26.7	-2.2	1.9	26.9	26.2	3.8	-0.3	26.5	26.2	3.6	-0.2	26.4
3	25.8	1.7	-0.1	25.9	26.3	1.0	0.5	26.3	26.0	1.7	0.0	26.1	26.7	1.7	-0.2	26.8	26.7	1.9	0.1	26.8	26.4	1.9	-0.3	26.5
4	26.0	1.3	0.3	26.0	27.4	0.8	-1.4	27.4	26.0	1.1	0.9	26.0	26.8	1.2	0.1	26.8	27.4	1.3	0.0	27.4	27.0	1.4	0.3	27.0
5	26.0	1.2	-0.2	26.0	26.2	-1.4	1.1	26.3	27.1	1.0	0.5	27.1	27.7	0.3	0.0	27.7	27.1	-0.2	0.8	27.1	27.1	0.8	0.6	27.1
6	26.4	0.9	0.0	26.4	26.5	-2.0	1.5	26.6	27.0	0.5	0.7	27.0	27.6	-1.9	1.3	27.7	27.5	0.5	0.3	27.5	27.1	0.7	0.6	27.1
7	26.5	-0.2	-0.1	26.5	27.4	-8.7	3.8	29.0	27.2	0.1	0.7	27.2	27.0	-0.1	1.4	27.0	27.4	0.2	1.2	27.4	27.0	0.6	0.9	27.0

Table 71. Variation of hunter value of the cosmetic composition having black rice pigment as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	31.6	0.9	-0.4	31.6	30.8	-0.9	1.3	30.8	31.2	1.9	0.2	31.3	31.5	2.6	-0.7	31.6	31.7	2.7	-0.7	31.8	30.7	2.8	-0.2	30.8
2	31.7	-1.9	1.1	31.8	33.4	-16.7	6.5	37.9	33.1	-6.8	3.5	34.0	31.5	1.6	0.0	31.5	32.2	2.2	-1.3	32.3	31.6	2.4	-0.8	31.7
3	31.4	1.4	-0.4	31.4	30.6	-1.0	0.6	30.6	31.9	1.5	-0.6	31.9	31.8	1.2	-0.6	31.8	31.7	1.3	-1.6	31.8	31.2	1.4	-0.1	31.2
4	32.2	0.8	-0.1	32.2	32.7	-7.2	3.0	33.6	32.6	-2.7	1.9	32.8	33.4	0.7	-2.1	33.5	33.2	1.4	-0.6	33.2	32.6	1.2	-0.6	32.6
5	31.9	1.4	-0.2	31.9	32.4	-4.9	2.1	32.8	32.3	1.1	-0.2	32.3	32.9	-4.8	2.3	33.3	33.0	1.2	-1.0	33.0	32.5	1.1	-0.1	32.5
6	32.8	-5.9	2.7	33.4	31.2	1.1	0.0	31.2	32.4	1.1	-0.8	32.4	32.5	1.2	-1.5	32.6	33.9	-6.5	2.1	34.6	32.1	1.1	0.1	32.1
7	31.4	1.0	-0.5	31.4	31.5	-6.0	2.7	32.2	32.3	1.2	-2.1	32.4	29.4	1.2	-0.9	29.4	31.4	1.1	-0.1	31.4	32.0	0.9	-0.2	32.0

Table 72. Variation of hunter value of the cosmetic composition having purple sweet potato pigment as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	27.4	3.6	-1.3	27.7	26.8	2.4	-0.6	26.9	28.0	3.7	-1.1	28.3	29.3	4.5	-1.5	29.7	29.0	4.9	-1.7	29.5	28.9	4.5	-1.0	29.3
2	27.2	3.4	-1.3	27.4	28.8	-6.5	2.8	29.7	28.3	3.6	-0.7	28.5	28.8	4.0	-1.9	29.1	28.7	3.6	-2.0	29.0	29.6	4.0	-0.8	29.9
3	27.0	2.0	-1.0	27.1	27.6	-5.4	2.2	28.2	28.8	2.9	-1.6	29.0	29.5	3.3	-1.7	29.7	29.7	3.7	-1.9	30.0	31.0	3.5	-1.3	31.2
4	27.5	2.3	-2.4	27.7	28.8	-6.3	2.8	29.6	29.7	2.5	-1.5	29.8	29.7	0.6	-1.1	29.7	31.2	-0.7	-0.2	31.2	32.1	3.3	-1.3	32.3
5	27.4	1.8	-1.1	27.5	27.9	-2.9	0.2	28.1	28.3	1.7	-1.6	28.4	28.2	-0.2	-0.4	28.2	29.9	2.1	-2.4	30.1	30.7	1.5	-1.6	30.8
6	27.9	1.5	-2.7	28.1	27.3	0.9	0.4	27.3	29.2	1.8	-2.8	29.4	29.7	1.3	-1.1	29.7	29.7	1.5	-1.2	29.8	30.9	1.8	-1.1	31.0
7	27.8	1.2	-2.9	28.0	30.2	-13.7	3.9	33.4	28.0	0.9	-0.9	28.0	30.4	-13.1	5.6	33.6	30.2	1.3	-2.0	30.3	31.6	1.3	-1.0	31.6

Table 73. Variation of hunter value of the cosmetic composition having mature bitter melon pigment as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	25.1	-0.4	-0.1	25.1	25.3	-0.6	0.0	25.3	26.3	-0.6	-1.2	26.3	24.3	-2.5	2.8	24.6	26.7	0.1	-3.7	27.0	25.1	0.3	1.0	25.1
2	26.7	-0.1	-1.4	26.7	26.3	-1.3	0.1	26.3	26.6	-0.4	-1.6	26.7	25.1	-0.2	0.7	25.1	26.0	0.2	-2.5	26.1	25.3	-0.2	1.3	25.3
3	26.1	0.2	-2.7	26.2	27.4	-9.5	2.6	29.1	26.6	0.7	-1.5	26.7	26.5	0.0	-2.3	26.6	26.9	-0.1	-1.9	27.0	26.1	-0.6	-1.1	26.1
4	26.2	0.3	-0.2	26.2	26.6	-7.3	3.8	27.8	27.2	0.0	-1.2	27.2	26.2	0.1	-1.2	26.2	27.1	0.2	-0.2	27.1	28.1	0.3	-2.2	28.2
5	29.6	-15.0	3.8	33.4	26.4	0.0	-0.3	26.4	29.4	-0.5	-3.9	29.7	26.6	-1.3	2.1	26.7	29.0	-0.2	-3.5	29.2	28.1	-0.4	0.2	28.1
6	25.2	-0.5	0.4	25.2	25.2	-1.1	0.4	25.2	25.5	-0.9	-0.6	25.5	25.3	-0.5	0.3	25.3	25.3	-0.1	0.8	25.3	25.3	0.0	1.0	25.3
7	35.3	-0.8	5.3	35.7	27.0	-0.5	-0.1	27.0	29.9	-0.1	-2.1	30.0	31.6	0.1	-3.2	31.8	30.8	-0.9	-2.7	30.9	29.9	-0.1	0.1	29.9

Table 74. Variation of hunter value of the cosmetic composition having paprika pigment as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	30.8	-2.5	4.5	31.2	30.7	1.4	3.2	30.9	31.8	0.9	3.3	32.0	31.5	1.2	2.9	31.7	31.3	0.6	3.4	31.5	31.4	1.1	3.3	31.6
2	34.8	2.3	5.0	35.2	33.4	1.6	5.2	33.8	35.5	2.1	5.3	36.0	34.9	1.5	5.6	35.4	35.4	2.0	5.4	35.9	35.6	2.1	5.0	36.0
3	31.5	1.8	4.0	31.8	33.2	-8.5	8.1	35.2	31.8	1.6	3.9	32.1	31.7	1.5	3.6	31.9	31.2	1.4	4.5	31.6	31.9	1.5	4.1	32.2
4	30.7	1.3	3.9	31.0	30.9	-1.7	5.1	31.4	31.2	0.2	4.7	31.6	31.3	1.5	3.9	31.6	31.6	1.6	3.7	31.9	31.8	1.7	3.9	32.1
5	30.9	0.6	4.3	31.2	30.9	-0.6	4.7	31.3	32.0	1.2	4.5	32.3	31.6	1.2	4.3	31.9	31.8	1.7	4.6	32.2	32.0	1.3	4.6	32.4
6	30.0	-0.6	3.7	30.2	30.4	1.3	3.4	30.6	31.2	-3.1	5.4	31.8	30.6	-0.4	4.2	30.9	30.7	1.3	3.6	30.9	31.1	0.8	3.9	31.4
7	30.8	1.1	3.9	31.1	32.4	1.2	4.8	32.8	33.1	1.4	4.8	33.5	32.4	1.4	4.4	32.7	33.1	-0.6	5.7	33.6	33.4	1.1	4.9	33.8

Table 75. Variation of hunter value of the cosmetic composition having red cabbage pigment as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	33.3	17.4	0.0	37.6	29.5	15.5	0.7	33.3	31.5	19.6	1.3	37.1	31.9	17.5	2.2	36.5	31.4	19.3	1.3	36.9	31.3	19.5	1.6	36.9
2	31.5	17.3	0.3	35.9	32.3	12.6	2.3	34.7	31.2	19.1	1.1	36.6	31.0	17.9	0.5	35.8	31.3	18.8	0.9	36.5	31.1	18.1	0.7	36.0
3	33.5	14.5	-2.8	36.6	35.5	4.6	1.5	35.8	33.5	14.4	-2.5	36.5	33.5	14.5	-2.3	36.6	33.4	14.6	-2.4	36.5	33.2	14.4	-2.3	36.3
4	35.6	7.5	-3.4	36.5	39.4	-6.0	1.5	39.9	35.7	8.1	-3.2	36.7	37.3	5.2	-1.7	37.7	37.3	7.7	-2.9	38.2	37.8	5.8	0.1	38.2
5	36.3	5.7	-3.9	37.0	36.8	5.8	3.8	37.4	36.1	6.2	-5.2	37.0	36.9	5.7	-4.2	37.6	36.3	5.9	-3.9	37.0	36.3	5.7	-3.8	36.9
6	35.4	4.1	-5.5	36.1	36.1	4.6	-3.7	36.6	38.1	-0.1	-3.0	38.2	36.9	4.3	-4.0	37.4	36.3	2.3	-4.7	36.7	36.4	4.4	-3.7	36.9
7	36.7	-6.1	-0.8	37.2	35.7	2.4	-4.0	36.0	35.1	2.4	-4.1	35.4	36.1	2.0	-4.3	36.4	36.5	2.3	-5.0	36.9	35.6	2.4	-3.3	35.8

Table 76. Variation of hunter value of the cosmetic composition having yellow gardenia pigment as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	27.7	-1.0	7.0	28.6	27.3	-0.7	5.6	27.9	29.3	-1.4	6.3	30.0	29.3	-0.9	5.4	29.8	29.5	-1.7	5.5	30.1	29.5	-1.1	4.0	29.8
2	27.3	0.1	5.8	27.9	29.5	-5.0	1.4	30.0	23.7	0.8	-0.6	23.7	23.7	1.4	-0.5	23.7	23.9	1.1	-0.5	23.9	24.3	1.6	-0.6	24.4
3	28.1	-0.2	6.6	28.9	28.7	-11.4	9.5	32.3	29.8	-2.0	8.2	31.0	29.6	-0.9	6.4	30.3	31.1	-1.7	8.1	32.2	30.3	-1.1	6.3	31.0
4	27.5	-0.2	6.8	28.3	30.7	-7.1	12.2	33.8	31.6	-4.6	12.0	34.1	30.9	-0.8	9.3	32.3	32.0	-1.6	10.7	33.8	31.9	-1.5	9.5	33.3
5	28.2	-4.4	8.6	29.8	28.4	-0.3	7.7	29.4	28.0	-3.0	7.8	29.2	37.9	-0.5	6.4	38.4	28.9	-0.2	7.3	29.8	29.0	-0.6	7.9	30.1
6	26.7	0.0	4.4	27.1	32.2	-12.8	13.8	37.3	32.2	-0.9	11.3	34.1	33.4	-1.3	12.4	35.7	34.1	-1.2	12.9	36.5	33.3	-3.0	12.3	35.6
7	28.9	-0.7	7.4	29.8	28.8	-2.8	8.7	30.2	29.7	-0.4	9.5	31.2	30.4	-0.6	9.4	31.8	31.0	-2.5	12.1	33.4	31.1	-0.6	10.4	32.8

Table 77. Variation of hunter value of the cosmetic composition having blue gardenia pigment as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	23.0	-0.8	0.0	23.0	24.9	-10.1	3.6	27.1	23.1	0.2	-0.4	23.1	24.0	-6.7	2.2	25.0	23.0	0.1	0.0	23.0	23.2	-0.8	-0.3	23.2
2	23.3	0.6	-0.9	23.3	25.7	-15.2	6.1	30.5	23.2	0.0	-0.8	23.2	24.7	-9.3	2.7	26.5	23.5	0.3	-1.1	23.5	23.7	0.4	-1.3	23.7
3	23.5	0.4	-0.6	23.5	27.2	-21.3	7.7	35.4	23.4	0.2	-0.6	23.4	23.6	0.0	-0.9	23.6	23.5	0.3	-0.9	23.5	23.7	0.4	-1.1	23.7
4	23.1	0.2	-1.2	23.1	25.5	-12.8	4.6	28.9	23.2	-1.6	0.0	23.3	23.4	0.1	-0.7	23.4	23.4	0.1	-0.7	23.4	23.3	0.1	-0.6	23.3
5	23.5	0.4	-0.6	23.5	23.1	0.2	-0.3	23.1	22.7	-0.2	0.3	22.7	23.8	0.2	-1.2	23.8	23.5	0.0	-0.7	23.5	23.3	-1.3	-1.2	23.4
6	23.3	0.3	-0.8	23.3	23.3	-3.1	0.6	23.5	23.1	0.0	-0.8	23.1	23.1	0.0	-0.9	23.1	23.3	0.3	-1.1	23.3	23.4	0.4	-1.0	23.4
7	23.2	-0.6	-0.5	23.2	23.6	0.3	-0.6	23.6	23.6	0.2	-0.7	23.6	23.5	0.2	-0.9	23.5	23.3	-0.3	-0.7	23.3	23.4	0.2	-0.7	23.4

Table 78. Variation of hunter value of the cosmetic composition having chinese foxglove pigment as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	24.8	0.5	0.2	24.8	26.9	-11.5	5.0	29.7	24.7	0.4	0.1	24.7	25.2	-2.4	1.5	25.4	25.1	0.4	0.3	25.1	25.6	0.0	0.0	25.6
2	25.1	0.8	0.1	25.1	26.5	-8.0	3.8	27.9	25.2	0.3	0.5	25.2	25.3	0.3	0.3	25.3	25.4	-1.0	0.7	25.4	25.9	1.1	-0.8	25.9
3	25.3	0.8	0.3	25.3	25.0	0.4	0.4	25.0	25.1	0.6	0.5	25.1	25.6	0.8	0.6	25.6	25.9	0.6	0.5	25.9	24.8	0.7	0.6	24.8
4	29.9	-21.1	9.2	37.7	25.9	-5.8	2.6	26.7	28.3	-14.2	7.0	32.4	25.5	0.7	0.4	25.5	26.0	0.7	0.8	26.0	25.8	0.7	0.8	25.8
5	27.9	0.2	0.0	27.9	27.7	-5.6	2.4	28.4	27.2	0.4	1.1	27.2	27.2	0.6	0.6	27.2	27.0	0.9	1.4	27.1	27.6	1.2	1.7	27.7
6	28.9	-19.8	8.8	36.1	24.7	-1.1	0.9	24.7	25.9	-0.3	1.5	25.9	25.8	0.8	0.6	25.8	25.9	0.5	0.6	25.9	25.6	0.7	0.6	25.6
7	25.9	0.6	0.2	25.9	24.5	0.4	0.2	24.5	25.4	0.6	0.7	25.4	25.9	1.0	1.3	26.0	25.9	0.9	1.2	25.9	25.9	0.9	1.1	25.9

Table 79. Variation of hunter value of the cosmetic composition having mulberry leaves pigment as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	35.7	0.3	4.5	36.0	35.0	0.4	4.2	35.3	35.8	0.3	3.7	36.0	35.5	0.0	3.7	35.7	35.8	0.4	3.5	36.0	35.7	0.4	4.0	35.9
2	36.3	-1.4	5.5	36.7	36.3	-2.4	5.5	36.8	36.6	0.3	4.4	36.9	36.1	0.1	4.6	36.4	36.3	0.1	4.4	36.6	36.3	0.5	4.2	36.5
3	37.1	-0.2	4.6	37.4	37.4	-5.4	7.0	38.4	37.3	-4.7	6.9	38.2	36.3	-0.3	4.6	36.6	36.5	0.0	4.4	36.8	36.2	0.0	4.6	36.5
4	36.0	0.9	4.8	36.3	36.0	-0.5	5.4	36.4	36.8	-0.4	5.3	37.2	36.6	-0.3	5.1	37.0	37.0	-0.6	4.9	37.3	37.4	-0.2	5.1	37.7
5	37.5	-8.6	8.6	39.4	36.2	-3.9	7.0	37.1	37.8	-3.1	6.4	38.5	36.2	-0.7	4.9	36.5	36.1	-0.3	5.0	36.4	36.0	-0.5	4.9	36.3
6	35.2	-1.0	5.7	35.7	35.1	-0.3	5.1	35.5	36.5	-0.5	5.6	36.9	35.3	-0.6	4.7	35.6	36.3	-1.2	5.6	36.7	36.0	-0.3	5.2	36.4
7	28.9	-9.7	1.8	30.5	38.1	-12.6	9.7	41.3	36.5	-0.2	4.4	36.8	35.7	-0.6	5.4	36.1	36.1	-0.4	5.0	36.4	37.1	-0.8	5.5	37.5

Table 80. Variation of hunter value of the cosmetic composition having onion peel pigment as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	31.2	-17.4	5.6	36.2	28.9	-12.3	5.1	31.8	26.2	0.2	0.5	26.2	26.8	-0.6	-0.8	26.8	27.6	0.1	-1.4	27.6	28.8	0.5	-1.9	28.9
2	26.9	-1.2	-0.4	26.9	27.9	-10.3	3.9	30.0	26.9	-0.5	-0.5	26.9	26.7	0.4	0.4	26.7	28.3	-0.2	-2.1	28.4	28.4	-0.2	-0.8	28.4
3	26.5	0.3	-2.0	26.6	26.1	-3.3	2.1	26.4	29.5	-6.4	0.8	30.2	28.0	0.4	-1.1	28.0	29.3	-0.1	0.0	29.3	30.9	0.3	-1.2	30.9
4	27.5	0.6	1.0	27.5	27.2	0.5	0.3	27.2	27.5	-0.4	0.2	27.5	29.4	0.1	-2.1	29.5	31.0	0.0	-3.8	31.2	29.8	0.2	-0.9	29.8
5	28.8	0.8	-4.2	29.1	26.5	0.4	0.6	26.5	28.1	-0.7	-0.5	28.1	28.0	0.0	-0.5	28.0	29.2	-0.2	-1.6	29.2	29.5	0.0	-1.0	29.5
6	26.1	-0.2	0.1	26.1	27.4	-4.3	1.2	27.8	27.2	-0.2	-2.7	27.3	28.2	0.2	-1.1	28.2	28.0	0.3	-0.3	28.0	29.1	0.2	-1.0	29.1
7	26.5	0.2	-0.4	26.5	27.6	-9.2	4.1	29.4	27.3	-4.9	1.2	27.8	27.7	-0.8	-0.9	27.7	27.2	-4.4	2.9	27.7	28.2	0.1	-0.8	28.2

Table 81. Variation of hunter value of the cosmetic composition having mulberry pigment as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	39.1	12.3	0.6	41.0	39.5	12.0	0.9	41.3	39.5	8.4	2.1	40.4	39.6	12.5	0.7	41.5	39.5	12.1	1.1	41.3	39.5	12.3	0.2	41.4
2	38.9	11.1	0.3	40.5	37.9	6.6	1.7	38.5	39.9	11.0	0.5	41.4	37.3	9.9	0.1	38.6	40.6	7.7	1.7	41.4	40.2	11.4	0.4	41.8
3	37.0	5.3	-0.2	37.4	40.4	1.5	1.5	40.5	40.6	7.4	-0.5	41.3	35.4	5.0	-1.3	35.8	40.4	4.8	-1.5	40.7	42.4	4.6	-1.1	42.7
4	39.0	3.2	-0.8	39.1	36.8	-2.3	0.6	36.9	40.3	4.4	-1.1	40.6	39.1	4.0	-1.3	39.3	41.6	4.4	-1.2	41.8	41.8	4.4	-0.9	42.0
5	43.7	-0.7	-0.1	43.7	42.9	2.9	-1.1	43.0	44.0	3.2	-2.2	44.2	44.3	-0.3	-0.2	44.3	43.7	3.1	-0.9	43.8	44.3	3.0	-0.9	44.4
6	42.5	1.4	-1.2	42.5	40.8	-3.9	1.4	41.0	44.5	2.6	-2.5	44.6	41.1	2.6	-1.0	41.2	42.6	2.9	-1.0	42.7	43.6	3.0	-0.3	43.7
7	38.2	0.4	-1.1	38.2	39.1	-0.7	0.5	39.1	40.1	1.6	0.3	40.1	41.1	1.9	-0.3	41.1	40.9	0.1	0.6	40.9	41.3	1.9	0.2	41.3

Table 82. Variation of hunter value of the cosmetic composition having red beet pigment as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	23.9	1.7	-1.1	24.0	26.7	-8.0	4.7	28.3	26.1	-10.6	4.1	28.5	24.1	0.8	-0.4	24.1	24.8	1.6	-0.8	24.9	24.8	-0.2	0.2	24.8
2	23.7	1.4	-0.9	23.8	24.4	-5.0	1.4	24.9	23.7	0.8	-0.6	23.7	23.7	1.4	-0.5	23.7	23.9	1.1	-0.5	23.9	24.3	1.6	-0.6	24.4
3	24.8	4.6	-1.3	25.3	25.0	4.2	-1.7	25.4	25.2	5.4	-1.5	25.8	25.3	5.5	-1.9	26.0	24.7	4.5	-1.4	25.1	25.2	4.8	-1.8	25.7
4	23.5	1.7	-0.7	23.6	27.0	-16.0	7.0	32.2	23.5	1.3	0.0	23.5	23.7	1.8	-0.5	23.8	23.8	2.2	-0.7	23.9	23.8	1.9	-0.8	23.9
5	23.7	1.7	-0.7	23.8	23.8	1.3	-0.4	23.8	24.7	-6.5	3.2	25.7	23.8	-1.5	1.0	23.9	23.7	0.4	0.2	23.7	23.8	2.0	-0.6	23.9
6	23.6	1.4	-0.4	23.6	23.4	0.7	-0.2	23.4	23.8	2.2	-0.6	23.9	23.7	-1.0	0.4	23.7	23.6	1.6	-0.5	23.7	24.0	2.0	-0.6	24.1
7	24.1	1.6	-0.1	24.2	24.1	2.0	-0.2	24.2	24.7	2.1	0.0	24.8	25.0	2.0	0.0	25.1	25.8	-4.4	2.7	26.3	25.3	1.7	0.5	25.4

Table 83. Variation of hunter value of the cosmetic composition having gromwell pigment as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	27.5	1.1	-2.5	27.6	28.2	1.9	-2.9	28.4	27.2	-0.1	-0.9	27.2	27.4	1.1	-1.6	27.5	27.7	0.1	-1.2	27.7	27.9	-0.1	-1.1	27.9
2	27.8	1.5	-1.7	27.9	27.3	0.0	-1.0	27.3	27.1	1.3	0.1	27.1	28.0	-0.6	-0.6	28.0	28.9	1.3	-2.5	29.0	28.9	0.9	-0.9	28.9
3	27.5	1.5	-1.8	27.6	27.4	0.8	-1.4	27.4	27.6	0.7	-1.4	27.6	28.0	0.9	-2.3	28.1	28.8	1.1	-2.3	28.9	28.6	0.0	-0.5	28.6
4	27.3	1.3	-0.9	27.3	29.9	-9.9	3.9	31.7	29.8	1.2	-3.8	30.1	28.1	0.8	-1.2	28.1	29.7	1.8	-3.1	29.9	28.8	0.6	-1.2	28.8
5	26.9	0.9	-1.4	27.0	26.9	-0.1	-1.0	26.9	27.5	-2.9	-0.3	27.7	27.4	-2.8	-0.2	27.5	27.9	0.4	-2.2	28.0	27.8	-0.2	-1.2	27.8
6	27.2	1.2	-1.5	27.3	27.5	-1.3	-0.4	27.5	28.7	1.1	-3.7	29.0	28.0	0.3	-1.4	28.0	28.6	-2.8	-0.3	28.7	28.2	1.0	-1.6	28.3
7	28.9	-5.6	2.4	29.5	29.6	1.1	-1.0	29.6	30.7	-4.0	0.7	31.0	31.4	-1.1	-1.5	31.5	30.7	1.1	-1.2	30.7	30.9	0.9	-0.7	30.9

Table 84. Variation of hunter value of the cosmetic composition having cactus pigment as affected by pH

pH	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	37.8	-0.5	-0.5	37.8	37.9	-0.9	-0.3	37.9	38.7	-1.2	-1.8	38.8	38.0	0.0	-0.8	38.0	37.9	0.4	-1.1	37.9	38.0	1.0	-1.6	38.0
2	37.4	1.2	-1.0	37.4	40.9	-11.5	4.3	42.7	39.0	0.7	-1.0	39.0	39.6	-5.6	1.4	40.0	39.0	0.5	-2.1	39.1	40.3	0.7	-2.0	40.4
3	35.0	1.8	-1.3	35.1	38.3	-10.2	3.5	39.8	37.9	0.3	-1.4	37.9	37.3	0.8	-0.9	37.3	37.7	0.9	-1.3	37.7	37.3	0.6	-1.4	37.3
4	36.7	2.0	-3.4	36.9	37.7	-1.3	-1.6	37.8	37.9	1.6	-0.9	37.9	36.3	0.8	-1.0	36.3	38.6	1.1	-2.7	38.7	38.3	1.1	-1.1	38.3
5	35.6	1.9	-1.1	35.7	37.4	-1.9	0.7	37.5	37.8	1.0	-0.9	37.8	37.2	0.9	-1.7	37.2	38.2	1.0	-1.0	38.2	38.7	0.5	-0.5	38.7
6	31.2	1.1	-0.6	31.2	35.4	1.3	-0.6	35.4	35.9	1.0	-1.6	35.9	35.1	-0.8	0.0	35.1	36.6	0.4	-0.6	36.6	36.7	1.0	-0.5	36.7
7	35.1	1.3	-5.2	35.5	36.5	-4.7	1.4	36.8	33.3	0.0	-0.5	33.3	39.9	-8.2	2.2	40.8	37.6	0.6	-2.7	37.7	36.3	0.4	-0.6	36.3

천연색소는 pH에 따라 분자구조가 변하면서 색이 변하는 경우가 많다. 본 실험에서는 15종의 천연색소 추출물을 혼합한 조성물에 대해 1~7까지의 pH 변화에 따른 경시적인 색차변이를 15일간 3일 간격으로 측정하였다. 그 결과를 보면, 대부분 L 값에서는 큰 변화가 없었지만, a 값과 b 값은 색소종류에 따라 변화됨을 알 수 있었다. 특히 pH 5~7의 경우 적양배추, 자미, 오디 등 적자색을 띠는 색소를 혼합한 조성물에서는 다소 색차변이가 있음을 알 수 있었다. 그러나 카로티노이드계 색소 및 클로로필계 색소를 함유한 조성물에서는 색차변이에 큰 차이를 보이지는 않는 것으로 나타나 비교적 안정된 결과를 보였지만, 이보다 장기간 경과했을 경우는 색소 안정화에 문제가 발생할 수 있을 것으로 추측된다.

(2) 유기산에 따른 색소의 색차 변이

각 색소혼합 화장료조성물의 유기산에 대한 안정성을 조사하기 위해 malonic acid, malic acid, tartaric acid, citric acid, succinic acid 등 5종의 유기산을 사용하였다. 먼저 pH 2.0의 완충용액을 사용하여 5배로 희석하여 제조한 혼합조성물에 유기산 농도가 1M이 되도록 각각의 유기산을 첨가한 후 cap test tube에 40mL씩 넣고 밀봉한 후 상온에 15일간 보관하면서 3일 간격으로 샘플을 취하여 색차계 (Minolta CR-10, Japan)를 이용하여 색도 변화를 측정하였다.

Table 85. Variation of hunter value of the cosmetic composition having black rice pigment as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	43.5	8.2	2.4	44.3	45.6	5.4	3.9	46.1	40.4	8.1	1.5	41.2	42.8	9.0	2.1	43.8	44.0	9.5	2.2	45.1	45.6	8.0	3.4	46.4
2	40.0	6.3	2.4	40.6	42.0	3.8	4.3	42.4	41.5	10.1	1.9	42.8	39.6	9.0	1.6	40.6	42.4	10.5	1.6	43.7	44.7	10.7	1.8	46.0
3	43.4	3.3	5.2	43.8	41.5	10.2	1.3	42.8	43.9	10.7	1.7	45.2	41.2	10.0	1.3	42.4	43.2	10.3	1.5	44.4	47.1	10.6	2.5	48.3
4	42.3	9.6	2.1	43.4	38.5	5.4	2.3	38.9	43.5	11.3	1.4	45.0	41.7	10.7	1.2	43.1	43.1	10.4	1.5	44.4	44.9	11.6	1.9	46.4
5	41.6	-2.6	5.9	42.1	40.3	9.7	1.7	41.5	40.1	9.9	1.5	41.3	40.1	10.0	1.4	41.4	41.6	10.4	1.7	42.9	44.8	9.7	2.3	45.9

*1: succinic acid, 2: malic acid, 3: malonic acid, 4: tartaric acid, 5: citric acid

Table 86. Variation of hunter value of the cosmetic composition having purple sweet potato pigment as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	37.9	17.7	-0.9	41.8	35.0	16.5	-0.8	38.7	39.2	19.2	-0.8	43.7	37.3	17.6	-0.8	41.3	37.2	17.5	-1.3	41.1	38.8	18.6	-1.0	43.0
2	35.9	16.2	-0.7	39.4	32.6	13.5	-0.7	35.3	35.6	17.1	-1.2	39.5	33.7	15.7	-0.8	37.2	37.2	18.9	-0.6	41.7	37.9	19.5	-0.7	42.6
3	35.4	16.8	-0.7	39.2	34.5	16.2	-0.7	38.1	37.2	18.6	-0.6	41.6	35.7	17.5	-0.3	39.8	37.2	18.2	-0.4	41.4	37.2	18.7	-0.4	41.6
4	36.5	17.6	-0.6	40.5	35.2	17.2	-0.8	39.2	36.0	19.5	0.0	40.9	35.2	18.3	-0.5	39.7	37.0	19.8	0.0	42.0	35.4	18.7	-0.3	40.0
5	34.0	15.0	-0.4	37.2	36.7	6.2	3.5	37.4	36.5	17.1	-1.2	40.3	33.4	15.2	-0.7	36.7	35.5	17.8	-0.3	39.7	35.1	17.1	-0.2	39.0

*1: succinic acid, 2: malic acid, 3: malonic acid, 4: tartaric acid, 5: citric acid

Table 87. Variation of hunter value of the cosmetic composition having mature bitter melon pigment as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	31.7	-0.9	1.3	31.7	33.6	-0.2	1.2	33.6	34.6	0.0	1.5	34.6	34.7	-0.3	1.8	34.7	34.7	0.0	1.6	34.7	34.5	0.0	1.5	34.5
2	27.2	-0.4	0.7	27.2	30.7	-2.2	1.3	30.8	30.8	-0.3	1.7	30.8	31.0	0.3	1.1	31.0	32.4	0.2	1.2	32.4	32.6	0.3	1.1	32.6
3	29.5	-1.7	0.7	29.6	30.4	-3.8	1.8	30.7	29.9	0.4	1.7	30.0	31.2	-2.2	1.5	31.3	31.3	-0.5	0.5	31.3	31.4	0.2	1.0	31.4
4	29.0	0.3	0.3	29.0	29.7	0.0	1.2	29.7	31.0	-1.4	1.0	31.0	30.9	-0.2	1.2	30.9	31.4	0.3	0.8	31.4	32.1	0.0	0.7	32.1
5	28.7	-5.9	2.9	29.4	28.9	-4.2	2.2	29.3	29.8	0.5	0.7	29.8	29.0	0.3	0.9	29.0	30.0	0.0	0.8	30.0	30.1	0.0	1.0	30.1

*1: succinic acid, 2: malic acid, 3: malonic acid, 4: tartaric acid, 5: citric acid

Table 88. Variation of hunter value of the cosmetic composition having paprika pigment as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	40.8	8.1	2.4	41.7	41.8	6.2	15.1	44.9	41.3	8.2	13.8	44.3	39.4	7.5	12.9	42.1	40.5	7.8	13.3	43.3	42.9	7.5	13.2	45.5
2	39.6	39.1	40.9	69.1	39.1	7.8	12.5	41.8	40.9	8.1	13.9	44.0	39.9	7.7	12.6	42.5	40.2	7.9	12.8	42.9	41.8	7.9	13.3	44.6
3	39.5	8.1	13.2	42.4	39.9	7.3	12.1	42.3	42.0	7.6	13.9	44.9	43.5	7.4	14.5	46.4	43.0	7.2	13.8	45.7	43.9	7.2	14.3	46.7
4	39.7	8.2	13.8	42.8	40.0	8.0	13.4	42.9	40.9	7.7	13.1	43.6	41.3	7.6	13.0	44.0	41.5	7.5	12.9	44.1	42.6	7.4	13.5	45.3
5	38.9	7.4	12.0	41.4	38.4	7.5	12.5	41.1	38.5	6.6	12.6	41.0	39.2	7.4	12.0	41.7	39.5	7.3	12.8	42.2	39.7	7.7	11.5	42.0

*1: succinic acid, 2: malic acid, 3: malonic acid, 4: tartaric acid, 5: citric acid

Table 89. Variation of hunter value of the cosmetic composition having red cabbage pigment as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	37.3	40.0	4.8	54.9	35.6	39.6	6.5	53.6	35.1	38.9	6.2	52.8	34.8	38.2	6.0	52.0	34.5	39.7	7.8	53.2	35.7	39.1	5.9	53.3
2	34.8	36.1	5.4	50.4	34.6	32.6	8.6	48.3	34.4	35.1	6.9	49.6	33.2	36.5	6.6	49.8	33.2	36.5	6.7	49.8	33.8	37.1	6.2	50.6
3	36.4	39.7	6.3	54.2	36.1	34.3	9.0	50.6	35.5	39.1	7.0	53.3	35.3	38.7	7.2	52.9	35.6	38.3	6.5	52.7	36.0	38.4	6.6	53.0
4	35.8	39.6	5.9	53.7	35.3	35.3	8.0	50.6	34.6	38.6	6.5	52.2	33.6	37.6	6.9	50.9	35.3	40.6	7.1	54.3	32.4	36.0	6.9	48.9
5	34.4	38.3	6.3	51.9	35.2	31.0	10.0	48.0	32.8	36.6	6.9	49.6	32.8	34.3	5.4	47.8	33.0	36.0	6.2	49.2	33.7	37.3	6.5	50.7

*1: succinic acid, 2: malic acid, 3: malonic acid, 4: tartaric acid, 5: citric acid

Table 90. Variation of hunter value of the cosmetic composition having yellow gardenia pigment as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	40.1	6.1	27.0	48.7	43.2	4.0	30.8	53.2	47.2	2.2	34.0	58.2	47.3	1.3	32.0	57.1	21.7	0.8	35.2	41.4	55.9	-0.3	36.6	66.8
2	38.3	1.3	26.2	46.4	34.2	-2.4	17.9	38.7	45.8	-0.5	28.6	54.0	46.8	-0.8	26.4	53.7	50.0	-1.5	25.9	56.3	55.8	-1.9	26.7	61.9
3	39.7	-3.0	27.8	48.6	43.3	1.4	28.3	51.7	47.3	-0.9	26.4	54.2	48.6	-1.9	24.8	54.6	50.8	-2.0	24.1	56.3	24.9	-2.5	23.7	34.5
4	38.0	5.4	24.0	45.3	42.4	2.7	28.7	51.3	46.7	0.2	28.6	54.8	50.1	-0.7	28.0	57.4	52.1	-1.1	27.9	59.1	54.7	-1.4	25.3	60.3
5	37.5	3.1	23.8	44.5	40.0	-5.6	27.2	48.7	46.1	-0.3	28.4	54.1	36.3	-0.1	16.3	39.8	50.8	-1.5	27.4	57.7	55.0	-1.8	25.5	60.7

*1: succinic acid, 2: malic acid, 3: malonic acid, 4: tartaric acid, 5: citric acid

Table 91. Variation of hunter value of the cosmetic composition having blue gardenia pigment as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	23.2	-0.6	-0.4	23.2	23.0	-1.3	0.1	23.0	23.2	-0.5	-0.6	23.2	23.0	-0.3	-0.3	23.0	23.2	-0.2	-0.5	23.2	23.0	-0.1	-0.3	23.0
2	23.6	0.3	-0.9	23.6	23.0	-0.6	-0.5	23.0	23.5	0.1	-1.0	23.5	23.5	0.5	-0.8	23.5	23.6	-1.4	-0.6	23.6	23.4	0.3	-0.8	23.4
3	23.1	-0.3	-0.4	23.1	23.3	-2.8	0.4	23.5	23.3	0.1	-0.6	23.3	23.5	-0.2	-1.1	23.5	23.3	0.2	-0.5	23.3	23.2	0.5	-0.7	23.2
4	23.7	0.2	-0.5	23.7	23.4	0.0	-0.5	23.4	23.6	-0.2	-0.5	23.6	23.8	0.5	-0.5	23.8	23.8	0.3	-0.5	23.8	23.6	0.4	-0.2	23.6
5	23.0	-0.2	-0.3	23.0	24.5	-7.9	2.2	25.8	23.9	0.6	-2.3	24.0	23.3	0.3	-0.9	23.3	23.9	0.4	-0.7	23.9	22.3	0.1	3.2	22.5

*1: succinic acid, 2: malic acid, 3: malonic acid, 4: tartaric acid, 5: citric acid

Table 92. Variation of hunter value of the cosmetic composition having chinese foxglove pigment as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	30.4	-19.3	10.4	37.5	28.7	-10.4	7.0	31.3	26.4	2.4	2.2	26.6	26.7	2.7	2.2	26.9	27.2	2.7	2.5	27.4	26.9	2.9	2.1	27.1
2	25.3	0.3	2.0	25.4	25.2	1.5	1.4	25.3	25.4	1.7	1.5	25.5	25.5	1.8	1.4	25.6	25.6	2.0	1.4	25.7	25.6	2.1	1.3	25.7
3	25.5	1.3	1.9	25.6	25.6	1.5	1.7	25.7	25.9	2.0	1.3	26.0	25.8	0.9	1.9	25.9	25.8	1.3	1.8	25.9	25.9	1.8	1.6	26.0
4	25.1	-0.2	2.4	25.2	25.5	1.2	1.1	25.6	25.5	1.5	1.0	25.6	25.6	1.7	0.9	25.7	25.7	1.8	1.0	25.8	24.7	1.3	3.0	24.9
5	24.9	1.3	1.3	25.0	26.9	-10.5	5.8	29.5	25.2	1.8	1.1	25.3	25.2	1.7	1.1	25.3	25.2	1.6	1.1	25.3	25.6	1.8	1.4	25.7

*1: succinic acid, 2: malic acid, 3: malonic acid, 4: tartaric acid, 5: citric acid

Table 93. Variation of hunter value of the cosmetic composition having mulberry leaves pigment as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	50.0	1.4	17.7	53.1	48.4	1.9	17.5	51.5	47.3	2.3	17.0	50.3	45.3	1.9	16.2	48.1	47.1	0.4	17.8	50.4	46.4	2.1	16.1	49.2
2	46.6	-2.0	18.3	50.1	41.2	1.5	14.1	43.6	43.3	2.1	14.9	45.8	43.0	1.9	15.0	45.6	39.4	1.7	12.9	41.5	41.5	1.2	15.8	44.4
3	47.1	1.3	17.4	50.2	44.2	-0.2	16.0	47.0	43.5	2.6	15.0	46.1	43.3	0.9	15.0	45.8	42.6	2.5	13.6	44.8	42.1	2.5	13.0	44.1
4	47.4	-2.7	18.6	51.0	44.3	0.9	16.3	47.2	42.4	1.6	14.1	44.7	42.2	2.4	13.7	44.4	43.5	2.4	15.1	46.1	42.9	2.4	13.9	45.2
5	44.4	1.4	16.3	47.3	39.9	1.8	13.9	42.3	42.2	2.2	14.5	44.7	39.3	1.9	13.2	41.5	40.5	2.1	13.9	42.9	43.2	2.1	15.1	45.8

*1: succinic acid, 2: malic acid, 3: malonic acid, 4: tartaric acid, 5: citric acid

Table 94. Variation of hunter value of the cosmetic composition having onion peel pigment as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	45.1	0.8	3.6	45.3	48.0	0.3	1.9	48.0	42.6	0.8	1.2	42.6	49.1	1.0	2.2	49.2	50.3	1.0	2.3	50.4	51.2	1.1	2.1	151.3
2	40.9	0.4	2.7	41.0	42.3	0.7	1.3	42.3	40.8	0.7	1.0	40.8	44.6	0.7	1.4	44.6	45.2	0.8	1.4	45.2	49.0	0.9	1.7	49.0
3	42.0	-0.7	2.7	42.1	44.9	-1.6	2.3	45.0	46.1	0.6	2.1	46.2	46.6	1.0	1.9	46.6	47.0	0.8	1.9	47.0	49.4	0.5	2.0	49.4
4	42.1	0.9	4.2	42.3	41.3	0.7	1.4	41.3	44.5	0.9	1.4	44.5	43.1	0.9	1.2	43.1	46.6	1.0	1.7	46.6	50.8	1.2	2.1	50.9
5	38.7	0.2	1.6	38.7	41.7	0.6	1.4	41.7	42.3	0.6	1.2	42.3	38.3	0.7	0.5	38.3	45.3	0.8	1.6	45.3	47.4	0.7	1.5	47.4

*1: succinic acid, 2: malic acid, 3: malonic acid, 4: tartaric acid, 5: citric acid

Table 95. Variation of hunter value of the cosmetic composition having grape peel pigment as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	32.8	5.8	5.9	33.8	33.9	12.3	5.3	36.4	33.8	16.2	3.7	37.7	33.6	15.4	2.9	37.1	33.2	15.0	3.3	36.6	35.4	16.6	2.6	39.2
2	28.2	-8.4	6.0	30.0	34.3	14.9	2.2	37.5	35.7	11.3	3.6	37.6	33.3	14.6	2.3	36.4	34.8	15.3	2.1	38.1	36.1	15.5	1.9	39.3
3	29.8	15.4	2.3	33.6	29.4	16.1	2.1	33.6	30.5	17.4	2.5	35.2	31.0	17.0	3.0	35.5	30.7	16.4	2.8	34.9	31.3	17.2	3.1	35.8
4	25.5	3.7	0.4	25.8	26.8	7.3	0.6	27.8	35.1	15.9	2.6	38.6	33.9	15.4	2.2	37.3	33.4	14.9	2.0	36.6	35.9	16.1	2.5	39.4
5	28.7	12.3	2.6	31.3	30.0	7.1	2.2	30.9	30.8	15.8	3.3	34.8	30.1	17.2	2.3	34.7	30.6	18.1	2.5	35.6	30.8	18.0	2.5	35.8

*1: succinic acid, 2: malic acid, 3: malonic acid, 4: tartaric acid, 5: citric acid

Table 96. Variation of hunter value of the cosmetic composition having mulberry pigment as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	50.2	27.4	5.0	57.4	50.2	28.3	5.1	57.9	48.8	29.2	5.2	57.1	49.8	28.6	5.1	57.7	50.1	28.1	4.7	57.6	50.0	28.2	4.5	57.6
2	24.6	3.6	0.3	24.9	29.0	14.7	3.5	32.7	32.4	19.7	5.1	38.3	32.5	19.8	4.6	38.3	32.4	19.8	4.7	38.3	36.2	25.0	6.1	44.4
3	48.3	28.6	4.9	56.3	47.2	28.7	5.3	55.5	48.9	28.2	5.2	56.7	49.7	28.1	5.7	57.4	49.7	27.1	5.0	56.8	50.3	26.3	4.6	56.9
4	48.0	29.6	5.1	56.6	48.4	27.7	6.6	56.2	47.3	29.9	6.2	56.3	47.9	29.9	5.3	56.7	47.4	29.4	5.5	56.0	47.4	29.4	5.3	56.0
5	46.2	26.5	4.8	53.5	44.9	30.0	4.6	54.2	46.8	27.1	6.4	54.5	45.5	29.7	4.7	54.5	45.4	29.4	4.8	54.3	46.1	29.9	5.0	55.2

*1: succinic acid, 2: malic acid, 3: malonic acid, 4: tartaric acid, 5: citric acid

Table 97. Variation of hunter value of the cosmetic composition having red beet pigment as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	25.0	2.1	1.2	25.1	26.1	0.7	1.9	26.2	25.2	6.8	0.1	26.1	25.6	6.4	0.3	26.4	26.2	7.2	0.2	27.2	26.1	7.8	1.5	27.3
2	24.6	5.1	0.1	25.1	24.8	1.7	1.3	24.9	25.4	8.5	0.1	26.8	25.1	7.1	0.4	26.1	25.7	7.8	0.8	26.9	26.6	9.2	2.0	28.2
3	24.2	4.7	-0.8	24.7	24.6	5.8	-1.1	25.3	25.5	7.3	0.3	26.5	25.9	7.2	0.7	26.9	26.4	7.2	1.5	27.4	27.1	7.6	2.5	28.3
4	24.4	5.5	-0.9	25.0	24.0	4.3	-1.0	24.4	24.9	7.5	-0.3	26.0	24.7	6.4	0.0	25.5	25.4	7.6	0.1	26.5	25.4	7.6	0.6	26.5
5	24.2	5.2	-1.1	24.8	24.5	5.7	-1.2	25.2	24.8	6.9	-0.2	25.7	25.0	6.8	0.0	25.9	25.4	7.2	0.7	26.4	25.5	8.1	1.4	26.8

*1: succinic acid, 2: malic acid, 3: malonic acid, 4: tartaric acid, 5: citric acid

Table 98. Variation of hunter value of the cosmetic composition having gromwell pigment as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	34.1	5.1	-1.6	34.5	35.2	6.1	-1.2	35.7	39.2	9.9	-0.3	40.4	40.8	10.9	-0.1	42.2	41.8	11.8	0.1	43.4	44.8	14.5	0.3	47.1
2	34.3	5.8	-0.9	34.8	35.0	6.6	-1.0	35.6	37.8	8.4	-0.3	38.7	39.3	9.2	-0.3	40.4	41.0	11.9	0.3	42.7	43.8	14.0	0.4	46.0
3	34.1	5.2	-1.3	34.5	35.8	0.3	0.9	35.8	36.8	6.7	-0.5	37.4	37.6	7.1	-0.4	38.3	39.7	9.0	0.0	40.7	42.4	11.5	0.4	43.9
4	34.3	4.8	-1.7	34.7	35.5	6.3	-1.0	36.1	37.4	7.4	-0.4	38.1	38.7	8.9	-0.4	39.7	39.1	8.8	-0.1	40.1	40.0	9.2	0.2	41.0
5	32.8	0.5	0.3	32.8	33.0	5.2	-1.2	33.4	34.1	5.8	-0.2	34.6	35.8	6.7	-1.0	36.4	36.6	6.8	-0.5	37.2	39.1	8.4	0.0	40.0

*1: succinic acid, 2: malic acid, 3: malonic acid, 4: tartaric acid, 5: citric acid

Table 99. Variation of hunter value of the cosmetic composition having cactus pigment as affected by organic acids

Organic acids	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
1	56.7	8.8	-2.4	57.4	58.6	2.4	1.5	58.7	58.7	3.5	0.9	58.8	59.9	3.2	1.0	60.0	57.1	2.9	0.7	57.2	61.5	2.8	1.0	61.6
2	53.7	4.0	-0.7	53.9	56.1	3.6	0.6	56.2	57.6	3.0	1.0	57.7	56.9	2.8	1.0	57.0	57.9	2.8	1.5	58.0	58.9	2.7	1.2	59.0
3	56.6	7.4	-2.7	57.1	58.1	2.4	1.5	58.2	58.4	2.1	2.1	58.5	58.6	2.2	1.8	58.7	59.5	2.0	2.0	59.6	59.5	2.0	2.0	59.6
4	54.5	2.5	-0.2	54.6	56.7	3.1	0.6	56.8	57.6	2.4	1.6	57.7	56.4	2.5	0.9	56.5	58.1	2.5	1.1	58.2	59.2	2.3	1.4	59.3
5	54.2	4.6	-1.0	54.4	57.4	-1.4	5.4	57.7	58.3	3.1	1.4	58.4	55.3	2.9	1.3	55.4	57.9	2.8	1.5	58.0	59.6	2.7	1.7	59.7

*1: succinic acid, 2: malic acid, 3: malonic acid, 4: tartaric acid, 5: citric acid

유기산 종류에 따른 혼합조성물의 경시적인 색차변이를 15일간 3일 간격으로 측정된 결과를 보면, 대부분 L 값에서는 큰 변화가 없었지만, a 값과 b 값은 색소종류에 따라 다소 변이를 보였다. 즉, 사용한 5가지 종류의 유기산 모두 15일 저장기간 동안 큰 색차변이가 없는 것으로 나타나 비교적 안정된 결과를 보였지만, 포도과피, 적양배추, 지치, 양파껍질, 치자황 등의 색소혼합물에서는 ΔE값이 점차 높아지는 경향을 나타냈다. 특히 뿌일색소 혼합물의 경우 시일이 경과함에 따라 ΔE값이 다소 감소되었다.

(3) 금속이온에 따른 색소의 색차 변이

각 천연색소 혼합조성물의 안정성에 대한 금속이온의 영향을 조사하기 위하여 금속이온으로서 Hg^{2+} ($HgCl_2$), Ag^{2+} ($AgNO_3$), Fe^{2+} ($Fe_2(SO_4)_3$), Mn^{2+} ($MnSO_4$), Al^{3+} ($Al_2(SO_4)_3$), Zn^{2+} ($ZnSO_4$), Cu^{2+} ($CuSO_4$) 등 7종의 금속염을 pH 3.0인 완충용액으로 5배 희석하여 제조한 혼합조성물에 금속이온의 농도가 10 ppm 및 100 ppm이 되도록 각각의 금속염을 첨가한 후 앞서와 같은 방법으로 색도변화를 3일 간격으로 경시적으로 측정하였다.

Table 100. Variation of hunter value of the cosmetic composition having black rice pigment as affected by metal ions

Metal ions	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
(10ppm)																								
Ag^{2+}	34.8	4.8	0.3	35.1	35.5	5.0	-0.2	35.9	35.1	4.9	0.4	35.4	36.0	5.7	0.4	36.5	36.6	5.3	0.4	37.0	36.0	5.4	0.3	36.4
Hg^{2+}	31.4	3.4	-0.4	31.6	33.0	4.5	-0.1	33.3	33.1	4.7	0.0	33.4	34.4	4.7	-1.0	34.7	34.6	4.2	0.5	34.9	35.3	4.8	-0.1	35.6
Fe^{2+}	33.2	4.1	0.3	33.5	33.8	4.8	0.0	34.1	33.7	4.8	-0.4	34.0	35.6	5.5	-0.2	36.0	36.1	5.3	-0.3	36.5	35.4	5.5	-0.2	35.8
Mn^{2+}	31.3	4.0	-0.3	31.6	31.9	5.2	-1.3	32.3	32.6	3.9	0.1	32.8	33.7	5.1	-0.4	34.1	33.2	5.0	-0.6	33.6	33.9	5.0	-0.7	34.3
Al^{3+}	32.6	4.5	0.1	32.9	34.4	5.2	-0.2	34.8	34.8	5.1	-0.7	35.2	35.2	5.2	-0.3	35.6	35.6	5.3	-0.6	36.0	35.6	5.2	-0.1	36.0
Zn^{2+}	32.5	5.2	-1.9	33.0	34.7	5.2	-0.1	35.1	34.3	5.1	0.0	34.7	36.8	5.3	0.6	37.2	36.1	5.7	-0.1	36.5	38.8	5.8	-0.2	39.2
Cu^{2+}	30.8	4.0	-1.0	31.1	32.3	4.7	-0.2	32.6	32.4	4.8	-0.3	32.8	33.0	5.0	-0.5	33.4	33.1	4.9	-0.1	33.5	33.1	4.9	-0.2	33.5
(100ppm)																								
Ag^{2+}	30.5	3.2	0.0	30.7	32.1	3.1	0.3	32.3	32.3	2.8	0.7	32.4	33.2	3.3	0.3	33.4	32.2	4.1	1.7	32.5	32.0	5.4	0.2	32.5
Hg^{2+}	32.4	5.0	-0.9	32.8	32.6	4.2	-0.8	32.9	32.3	4.0	-0.4	32.5	31.3	3.7	0.1	31.5	32.8	4.5	-0.1	33.1	31.9	4.3	0.1	32.2
Fe^{2+}	30.5	3.2	-0.3	30.7	32.2	3.9	-0.1	32.4	31.0	3.3	0.2	31.2	31.9	3.9	-0.2	32.1	32.6	3.9	-0.4	32.8	32.7	4.5	-0.1	33.0
Mn^{2+}	31.0	3.4	-0.2	31.2	30.9	3.7	-0.2	31.1	33.5	4.4	0.0	33.8	34.0	4.9	-0.1	34.4	35.2	5.1	-0.6	35.6	35.6	5.3	-0.4	36.0
Al^{3+}	28.7	3.2	-0.4	28.9	30.1	3.9	-0.3	30.4	30.7	3.4	-0.5	30.9	31.5	4.6	-1.7	31.9	30.9	4.1	-0.5	31.2	30.8	4.4	-0.4	31.1
Zn^{2+}	31.0	3.8	-0.3	31.2	31.7	4.7	-0.6	32.1	31.9	4.5	-0.5	32.2	32.2	4.5	-0.7	32.5	32.7	4.6	-0.6	33.0	33.5	4.8	-0.5	33.8
Cu^{2+}	30.6	3.4	-0.2	30.8	31.9	4.1	0.1	32.2	31.8	4.1	-0.3	32.1	32.0	4.0	-0.2	32.2	32.3	4.6	-0.5	32.6	32.1	4.6	-0.5	32.4

Table 101. Variation of hunter value of the cosmetic composition having purple sweet potato pigment as affected by metal ions

Metal ions	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
(10ppm)																								
Ag ²⁺	31.4	14.0	-2.1	34.4	32.3	15.6	-2.2	35.9	32.9	15.8	-1.8	36.5	34.0	17.1	-2.3	38.1	34.3	17.2	-2.3	38.4	34.6	18.2	-1.6	39.1
Hg ²⁺	30.6	-0.3	2.5	30.7	31.4	15.6	-3.1	35.2	32.0	16.5	-2.3	36.1	31.6	16.4	-2.2	35.7	32.5	17.1	-2.1	36.8	32.9	17.7	-2.4	37.4
Fe ²⁺	30.3	11.9	-1.5	32.6	31.7	16.1	-2.0	35.6	32.1	16.7	-2.2	36.3	32.4	17.5	-1.7	36.9	33.4	18.4	-2.0	38.2	33.5	18.5	-2.0	38.3
Mn ²⁺	29.9	13.0	-1.9	32.7	31.7	15.7	-2.0	35.4	30.8	16.6	-1.0	35.0	31.2	18.0	-1.9	36.1	32.0	16.8	-1.6	36.2	31.4	17.0	-2.0	35.8
Al ³⁺	30.4	14.3	-1.7	33.6	30.5	14.7	0.2	33.9	32.0	16.6	-1.9	36.1	32.1	16.9	-1.2	36.3	32.8	17.5	-1.8	37.2	32.7	17.8	-1.0	37.2
Zn ²⁺	31.3	15.0	-3.3	34.9	31.7	14.8	0.2	35.0	33.1	16.9	-2.2	37.2	34.3	18.7	-2.6	39.2	34.2	17.6	-2.5	38.5	33.8	18.2	-1.9	38.4
Cu ²⁺	30.7	13.0	-1.8	33.4	27.4	14.6	1.0	31.1	33.0	15.7	-2.1	36.6	33.4	16.5	-2.1	37.3	34.5	17.1	-2.4	38.6	34.2	18.2	-2.5	38.8
(100ppm)																								
Ag ²⁺	31.0	12.0	-0.8	33.3	31.0	15.2	-1.2	34.5	32.0	14.3	-3.0	35.2	31.8	16.0	-1.9	35.6	31.6	15.8	-2.4	35.4	31.6	16.7	-1.9	35.8
Hg ²⁺	30.6	12.8	-2.3	33.2	31.3	15.2	-1.8	34.8	29.2	12.7	-1.9	31.9	32.5	16.0	-2.3	36.3	30.7	14.4	-2.2	34.0	31.6	15.3	-2.7	35.2
Fe ²⁺	30.7	14.0	-1.5	33.8	31.8	15.2	-2.8	35.4	32.1	17.0	-1.8	36.4	31.5	15.5	-1.9	35.2	38.4	29.0	-1.5	48.1	38.4	29.3	-1.9	48.3
Mn ²⁺	30.0	13.1	-1.3	32.8	33.2	13.2	-1.4	35.8	34.7	12.9	-1.3	37.0	33.9	13.0	-4.1	36.5	37.9	17.2	-1.9	41.7	36.7	15.4	-1.4	39.8
Al ³⁺	30.7	14.9	-1.9	34.2	31.5	16.0	-2.0	35.4	31.9	16.1	-2.0	35.8	32.1	15.7	-2.9	35.9	32.1	17.1	-1.6	36.4	32.3	17.3	-3.3	36.8
Zn ²⁺	31.2	14.7	-2.2	34.6	25.5	4.5	-1.5	25.9	32.3	16.2	-2.3	36.2	32.4	16.8	-1.9	36.5	32.6	17.4	-1.9	37.0	32.0	17.2	-2.0	36.4
Cu ²⁺	30.4	14.2	-1.6	33.6	31.3	15.7	-2.0	35.1	32.7	16.1	-2.8	36.6	31.9	16.5	-1.9	36.0	31.8	15.1	-2.1	35.3	28.6	11.1	-2.7	30.8

Table 102. Variation of hunter value of the cosmetic composition having bitter melon pigment as affected by metal ions

Metal ions	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
(10ppm)																								
Ag ²⁺	32.4	-0.5	4.1	32.7	31.8	-0.3	3.5	32.0	31.8	-0.2	3.4	32.0	33.4	1.9	1.9	33.5	33.3	-0.1	3.7	33.5	33.6	-0.2	3.7	33.8
Hg ²⁺	30.5	-2.1	3.4	30.8	31.8	-0.2	3.0	31.9	32.6	-0.5	3.5	32.8	32.9	3.8	3.8	33.3	32.9	-0.5	4.7	33.2	31.8	-0.3	3.4	32.0
Fe ²⁺	31.3	-1.1	2.6	31.4	31.8	-0.2	3.0	31.9	32.7	-0.5	3.8	32.9	34.1	4.3	4.3	34.6	34.5	-0.4	4.2	34.8	34.3	-0.5	4.3	34.6
Mn ²⁺	32.2	-2.2	4.1	32.5	31.9	-0.7	3.4	32.1	33.1	-2.1	4.3	33.4	35.4	4.3	4.3	35.9	33.5	-0.8	4.1	33.8	34.1	-0.6	4.5	34.4
Al ³⁺	30.6	-1.9	3.5	30.9	31.1	-0.5	3.1	31.3	31.3	-0.3	3.5	31.5	32.2	3.8	3.8	32.6	32.4	-0.8	4.3	32.7	33.1	-0.5	3.9	33.3
Zn ²⁺	32.6	-3.3	4.6	33.1	33.2	-1.8	4.8	33.6	32.5	-1.1	4.1	32.8	33.2	4.1	4.1	33.7	34.4	-0.6	4.6	34.7	33.9	-0.6	4.3	34.2
Cu ²⁺	32.1	-1.2	3.2	32.3	31.0	-1.0	3.7	31.2	32.0	-0.8	3.9	32.2	33.5	4.0	4.0	34.0	28.2	-2.9	6.8	29.2	33.1	-1.3	4.8	33.5
(100ppm)																								
Ag ²⁺	31.5	-1.0	2.7	31.6	33.5	-0.6	3.6	33.7	34.9	-0.8	3.1	35.0	33.0	0.3	3.4	33.2	35.2	0.5	5.0	35.6	35.3	1.4	5.0	35.7
Hg ²⁺	30.9	-1.4	3.5	31.1	32.0	-0.9	3.7	32.2	32.4	-0.6	3.8	32.6	33.5	-0.9	4.2	33.8	34.0	-1.0	2.5	34.1	33.3	0.0	3.6	33.5
Fe ²⁺	29.9	-1.2	3.0	30.1	31.0	-0.3	2.9	31.1	31.6	-0.6	3.3	31.8	32.9	-1.0	4.7	33.2	33.0	-0.4	4.7	33.3	33.9	-0.9	4.7	34.2
Mn ²⁺	31.3	-0.5	2.7	31.4	31.8	-0.5	4.1	32.1	32.5	-1.0	3.4	32.7	33.8	-0.4	4.0	34.0	34.5	-0.5	5.2	34.9	34.4	-0.4	3.4	34.6
Al ³⁺	30.4	-0.4	2.5	30.5	31.5	-0.6	3.4	31.7	33.9	-0.9	3.5	34.1	33.7	-4.7	6.3	34.6	33.6	-0.4	4.1	33.9	33.3	0.8	3.2	33.5
Zn ²⁺	31.5	-0.5	3.2	31.7	32.2	-0.9	3.8	32.4	32.2	-0.5	3.4	32.4	33.5	-0.6	3.8	33.7	34.2	-0.6	4.0	34.4	35.0	-0.5	4.5	35.3
Cu ²⁺	30.7	-1.2	3.0	30.9	31.6	-0.9	3.4	31.8	32.6	-0.9	3.9	32.8	32.7	-0.9	3.9	32.9	32.1	-1.0	3.7	32.3	33.4	0.3	3.1	33.5

Table 103. Variation of hunter value of the cosmetic composition having paprika pigment as affected by metal ions

Metal ions	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
(10ppm)																								
Ag ²⁺	33.2	4.8	8.7	34.7	33.7	4.7	8.4	35.0	33.6	4.7	8.5	35.0	33.8	4.6	8.1	35.1	34.5	5.1	8.4	35.9	34.5	5.1	9.1	36.0
Hg ²⁺	34.3	5.4	9.7	36.1	35.5	5.5	7.9	36.8	34.2	5.5	9.5	35.9	34.8	5.2	9.8	36.5	35.6	5.1	9.4	37.2	34.6	5.6	9.7	36.4
Fe ²⁺	32.0	4.6	7.6	33.2	34.8	5.7	9.1	36.4	34.2	5.5	10.0	36.1	35.0	5.6	10.6	37.0	35.4	5.9	10.1	37.3	35.3	5.6	10.2	37.2
Mn ²⁺	35.6	4.9	4.7	36.2	35.6	5.8	10.3	37.5	36.0	5.8	10.7	38.0	35.2	5.6	11.3	37.4	36.6	6.1	11.3	38.8	35.9	6.0	11.3	38.1
Al ³⁺	34.2	5.1	9.5	35.9	34.7	5.9	8.2	36.1	34.4	5.9	10.2	36.4	35.8	5.7	10.4	37.7	35.0	5.7	10.1	36.9	35.4	5.8	10.3	37.3
Zn ²⁺	33.3	5.4	10.0	35.2	34.9	5.7	10.0	36.7	34.7	5.5	9.4	36.4	34.7	5.3	11.8	37.0	36.1	5.6	10.8	38.1	35.8	5.8	10.5	37.8
Cu ²⁺	33.2	4.7	8.1	34.5	34.0	5.8	9.9	35.9	35.5	5.6	9.7	37.2	35.0	5.3	10.1	36.8	34.8	5.7	9.8	36.6	35.9	5.7	10.5	37.8
(100ppm)																								
Ag ²⁺	36.4	5.3	10.1	38.1	39.8	4.0	10.3	41.3	39.4	3.5	9.5	40.7	39.4	3.4	9.4	40.6	39.3	2.8	9.3	40.5	39.9	4.8	9.5	41.3
Hg ²⁺	36.3	6.1	8.4	37.8	35.0	5.3	9.4	36.6	34.6	5.0	9.0	36.1	34.8	5.0	8.9	36.3	35.1	5.2	9.2	36.7	35.5	5.3	9.5	37.1
Fe ²⁺	30.1	3.7	5.8	30.9	37.2	6.2	11.5	39.4	38.2	6.5	12.5	40.7	39.3	6.6	13.3	42.0	40.2	6.6	11.9	42.4	39.0	6.8	13.0	41.7
Mn ²⁺	35.0	5.5	9.2	36.6	40.0	6.9	13.0	42.6	40.8	7.2	12.8	43.4	38.8	6.4	13.0	41.4	40.2	7.2	13.8	43.1	40.8	7.2	13.9	43.7
Al ³⁺	32.0	-1.0	9.3	33.3	38.0	6.4	12.0	40.4	37.2	6.1	11.9	39.5	38.5	6.3	12.6	41.0	39.5	6.8	12.9	42.1	40.0	7.2	13.9	43.0
Zn ²⁺	32.5	4.6	7.6	33.7	36.6	5.8	10.3	38.5	36.9	6.1	11.3	39.1	36.7	6.0	11.2	38.8	37.8	6.4	12.1	40.2	38.0	6.4	12.0	40.4
Cu ²⁺	31.6	3.6	6.5	32.5	34.5	5.3	9.0	36.0	35.3	5.5	10.0	37.1	36.5	5.6	9.3	38.1	37.7	6.1	9.5	39.4	36.5	6.3	10.0	38.4

Table 104. Variation of hunter value of the cosmetic composition having red cabbage pigment as affected by metal ions

Metal ions	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
(10ppm)																								
Ag ²⁺	37.7	30.7	0.6	48.6	38.9	31.5	-0.9	50.1	36.2	28.6	-0.6	46.1	39.7	30.8	-0.7	50.3	38.4	30.9	-0.7	49.3	37.7	30.7	-0.5	48.6
Hg ²⁺	38.1	29.4	-1.0	48.1	38.8	29.7	-1.6	48.9	38.1	29.1	-1.7	48.0	38.3	29.3	-1.6	48.2	38.6	29.2	-1.6	48.4	38.6	29.8	-1.2	48.8
Fe ²⁺	39.9	24.1	2.2	46.7	38.1	30.5	-0.9	48.8	37.0	29.5	-0.8	47.3	38.3	30.3	-1.6	48.9	38.6	30.5	-1.3	49.2	37.9	30.5	-0.7	48.7
Mn ²⁺	38.6	31.4	-1.1	49.8	38.1	30.9	-1.2	49.1	37.1	31.0	-0.4	48.3	36.9	29.9	-0.7	47.5	38.5	32.1	-0.9	50.1	37.8	31.7	-0.3	49.3
Al ³⁺	38.3	30.2	-0.7	48.8	40.2	33.9	-2.4	52.6	37.6	31.1	-0.8	48.8	38.2	31.7	-0.7	49.6	38.1	31.3	-0.7	49.3	37.4	31.1	-0.4	48.6
Zn ²⁺	38.4	31.6	-1.2	49.7	38.8	30.5	-3.0	49.4	38.0	31.1	-0.8	49.1	38.9	31.8	-1.1	50.3	38.4	31.2	-1.0	49.5	38.3	31.2	-0.8	49.4
Cu ²⁺	38.0	31.1	-0.5	49.1	38.2	31.3	-1.7	49.4	37.6	31.2	-0.7	48.9	38.2	31.5	-1.0	49.5	38.0	30.8	-1.0	48.9	37.7	31.5	-0.2	49.1
(100ppm)																								
Ag ²⁺	38.3	30.0	-1.1	48.7	38.3	28.0	0.1	47.4	37.5	25.8	-0.2	45.5	38.4	24.8	1.0	45.7	38.4	22.6	1.4	44.6	38.6	23.9	0.6	45.4
Hg ²⁺	39.1	30.5	-2.8	49.7	39.3	31.5	-2.2	50.4	38.1	30.6	-1.6	48.9	37.5	29.6	-1.9	47.8	38.5	30.5	-1.7	49.1	37.9	30.6	-1.2	48.7
Fe ²⁺	39.1	28.9	-1.9	48.7	38.6	30.4	-1.7	49.2	38.4	29.1	-2.3	48.2	38.5	28.5	-1.9	47.9	38.4	29.0	-1.5	48.1	38.4	29.3	-1.9	48.3
Mn ²⁺	38.3	30.4	-1.3	48.9	38.9	30.5	-1.7	49.5	34.0	24.9	-1.0	42.2	38.8	30.8	-1.8	49.6	39.2	30.7	-1.5	49.8	38.4	30.1	-1.4	48.8
Al ³⁺	39.0	38.8	-1.3	55.0	39.5	30.9	-1.7	50.2	38.7	31.3	-0.9	49.8	39.7	30.8	-2.3	50.3	38.0	29.1	-1.4	47.9	38.9	31.9	-1.4	50.3
Zn ²⁺	35.4	24.9	-1.6	43.3	38.7	30.9	-1.3	49.5	39.0	30.9	-1.3	49.8	37.7	30.7	-1.4	48.6	40.4	30.6	-2.4	50.7	39.3	31.8	-1.3	50.6
Cu ²⁺	38.5	30.7	-1.0	49.3	38.4	30.5	-1.3	49.1	38.8	31.3	-1.0	49.9	38.9	31.1	-1.4	49.8	38.3	30.2	-1.2	48.8	38.1	30.1	-1.0	48.6

Table 105. Variation of hunter value of the cosmetic composition having yellow gardenia pigment as affected by metal ions

Metal ions	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
(10ppm)																								
Ag ²⁺	41.1	2.1	25.6	48.5	11.6	0.7	29.5	31.7	46.4	-0.1	30.9	55.7	47.7	-0.4	32.1	57.5	48.9	-1.0	30.5	57.6	48.8	-1.0	29.5	57.0
Hg ²⁺	45.7	0.4	31.6	55.6	49.7	0.1	35.5	61.1	50.2	0.4	35.6	61.5	56.1	-0.7	36.1	66.7	55.6	-0.5	37.9	67.3	55.1	-1.3	37.7	66.8
Fe ²⁺	39.9	1.1	24.5	46.8	45.4	0.1	29.5	54.1	45.6	-0.2	30.7	55.0	50.0	-0.3	30.3	58.5	49.2	-1.0	31.0	58.2	48.6	-1.3	29.5	56.9
Mn ²⁺	38.3	1.9	18.3	42.5	39.9	1.4	24.1	46.6	41.1	1.0	25.1	48.2	44.9	0.8	28.8	53.3	43.3	0.5	29.2	52.2	43.7	0.5	28.2	52.0
Al ³⁺	27.5	1.2	4.0	27.8	45.2	0.0	30.1	54.3	42.7	0.7	29.5	51.9	45.0	-0.2	29.8	54.0	45.4	-0.4	29.6	54.2	46.7	-0.8	29.7	55.3
Zn ²⁺	27.5	1.7	5.5	28.1	49.1	0.1	35.1	60.4	50.3	0.3	35.8	61.7	52.1	-0.3	34.7	62.6	48.5	-0.1	32.2	58.2	52.9	-1.3	36.6	64.3
Cu ²⁺	26.2	0.6	4.2	26.5	42.6	1.0	25.0	49.4	46.7	-0.2	31.5	56.3	50.2	-0.1	31.9	59.5	48.4	-0.8	32.0	58.0	49.9	-1.1	30.3	58.4
(100ppm)																								
Ag ²⁺	36.2	1.0	18.7	40.8	34.8	0.3	16.5	38.5	37.9	-0.7	20.8	43.2	40.1	0.0	23.5	46.5	40.1	-0.3	22.0	45.7	40.7	-0.3	21.5	46.0
Hg ²⁺	37.4	1.3	21.9	43.4	37.4	-0.6	24.4	44.7	40.4	0.7	23.9	46.9	43.9	0.4	28.1	52.1	42.8	-0.1	27.0	50.6	42.3	0.2	25.3	49.3
Fe ²⁺	35.8	1.2	18.6	40.4	40.1	0.6	23.7	46.6	43.3	-1.4	23.7	49.4	42.8	-1.4	22.7	48.5	42.9	-2.0	22.0	48.3	43.7	-1.8	22.7	49.3
Mn ²⁺	34.9	1.5	17.2	38.9	38.4	1.0	20.9	43.7	38.9	1.0	22.1	44.8	39.0	1.6	23.4	45.5	39.1	1.2	23.8	45.8	40.8	0.8	24.9	47.8
Al ³⁺	34.2	1.0	16.6	38.0	36.9	0.5	19.3	41.6	40.5	-1.1	24.9	47.6	44.4	-0.4	26.9	51.9	45.8	-0.6	28.5	53.9	43.3	-1.6	24.1	49.6
Zn ²⁺	39.8	6.8	24.0	47.0	41.9	0.4	27.4	50.1	43.5	0.3	28.0	51.7	45.6	-0.1	30.5	54.9	44.9	-0.4	27.9	52.9	48.7	-1.3	27.8	56.1
Cu ²⁺	36.6	1.0	20.0	41.7	40.5	0.3	24.5	47.3	41.0	0.2	25.3	48.2	42.3	-0.1	27.1	50.2	43.7	-0.8	26.2	51.0	42.8	-0.2	25.8	50.0

Table 106. Variation of hunter value of the cosmetic composition having blue gardenia pigment as affected by metal ions

Metal ions	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
(10ppm)																								
Ag ²⁺	23.8	-0.2	-1.7	23.9	23.5	0.4	-1.2	23.5	23.6	0.6	-1.1	23.6	23.2	0.2	-0.9	23.2	23.2	0.5	-0.6	23.2	23.9	0.5	-1.5	24.0
Hg ²⁺	23.2	-0.6	-0.1	23.2	23.7	0.5	-1.0	23.7	23.8	0.3	-1.2	23.8	23.2	0.4	-0.6	23.2	22.7	0.1	-0.3	22.7	23.6	0.4	-1.7	23.7
Fe ²⁺	24.5	0.2	-2.1	24.6	23.5	-0.4	-0.7	23.5	23.5	0.4	-0.6	23.5	23.6	0.2	-1.3	23.6	23.8	0.3	-1.3	23.8	24.0	0.7	-2.1	24.1
Mn ²⁺	23.0	-0.3	-0.3	23.0	23.4	0.5	-0.8	23.4	23.0	0.2	-0.3	23.0	22.9	0.3	0.2	22.9	23.4	0.5	-0.5	23.4	23.7	0.7	-1.4	23.8
Al ³⁺	23.1	0.3	-0.9	23.1	24.0	1.6	-2.5	24.2	23.5	0.4	-1.0	23.5	25.8	1.0	-5.9	26.5	24.0	0.7	-1.8	24.1	23.6	0.6	-1.5	23.7
Zn ²⁺	23.5	-1.9	-0.2	23.6	23.2	0.1	-1.2	23.2	23.6	0.2	-1.5	23.6	23.0	0.0	-0.6	23.0	23.1	-1.2	0.1	23.1	22.8	0.2	0.4	22.8
Cu ²⁺	22.5	0.4	-0.8	22.5	23.1	0.6	-1.8	23.2	22.9	0.2	-1.2	22.9	23.1	0.6	-1.1	23.1	22.7	0.6	-0.4	22.7	23.0	0.3	-1.5	23.1
(100ppm)																								
Ag ²⁺	23.5	0.7	-1.1	23.5	23.8	0.3	-0.5	23.8	24.2	0.9	-1.4	24.3	34.1	0.7	-1.6	34.1	23.9	0.3	-1.6	24.0	24.2	1.1	-1.5	24.3
Hg ²⁺	23.3	-0.4	-0.3	23.3	23.5	0.0	-0.9	23.5	23.3	0.2	-0.6	23.3	23.5	0.4	-0.8	23.5	23.8	0.5	-1.1	23.8	23.7	0.5	-0.8	23.7
Fe ²⁺	23.5	0.3	-0.7	23.5	23.7	0.4	-1.3	23.7	23.3	0.5	-0.6	23.3	23.3	0.3	-0.5	23.3	23.5	0.4	-0.5	23.5	23.6	0.8	-1.7	23.7
Mn ²⁺	23.5	0.5	-0.6	23.5	23.6	0.4	-0.9	23.6	23.7	0.2	-1.0	23.7	23.2	0.3	0.0	23.2	23.4	0.7	-1.0	23.4	23.9	0.6	-1.5	24.0
Al ³⁺	24.8	-8.2	2.0	26.2	23.3	0.5	-0.6	23.3	23.5	0.1	-1.2	23.5	25.1	2.3	-3.6	25.5	23.7	0.2	-1.2	23.7	23.4	0.9	-0.7	23.4
Zn ²⁺	23.5	0.0	-0.6	23.5	23.4	0.4	-0.9	23.4	23.3	0.4	-0.4	23.3	23.6	0.4	-1.0	23.6	23.2	0.6	-0.5	23.2	23.4	0.4	-0.7	23.4
Cu ²⁺	24.4	-6.6	1.9	25.3	23.7	0.5	-1.1	23.7	23.4	0.2	-0.6	23.4	23.6	0.5	1.1	23.6	23.3	0.0	-0.5	23.3	24.2	1.3	-2.7	24.4

Table 107. Variation of hunter value of the cosmetic composition having chinese foxglove pigment as affected by metal ions

Metal ions	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
(10ppm)																								
Ag ²⁺	25.2	-0.2	0.5	25.2	26.3	1.2	1.9	26.4	25.9	0.8	1.3	25.9	25.8	1.0	0.9	25.8	25.6	0.7	1.2	25.6	26.9	1.6	1.8	27.0
Hg ²⁺	25.2	1.3	0.0	25.2	24.9	1.7	-0.2	25.0	25.1	1.4	0.7	25.1	25.1	1.6	0.5	25.2	25.4	1.8	0.5	25.5	25.5	1.6	0.3	25.6
Fe ²⁺	24.6	-4.4	2.6	25.1	25.7	2.1	-3.0	26.0	24.0	0.8	-0.2	24.0	24.7	1.1	0.2	24.7	24.0	0.9	-0.1	24.0	25.0	1.2	0.1	25.0
Mn ²⁺	25.1	1.3	0.2	25.1	24.2	0.8	0.5	24.2	25.0	1.4	0.9	25.1	25.7	1.8	1.1	25.8	25.2	2.2	0.8	25.3	25.7	2.0	1.3	25.8
Al ³⁺	24.5	0.7	-0.3	24.5	24.0	0.2	-0.4	24.0	24.8	1.1	0.6	24.8	25.4	1.6	-0.4	25.5	24.1	0.0	-0.4	24.1	24.9	1.5	0.1	24.9
Zn ²⁺	24.0	-0.3	0.5	24.0	24.3	0.8	0.8	24.3	24.7	0.9	1.0	24.7	24.0	0.8	-0.3	24.0	25.0	1.1	0.5	25.0	24.9	1.4	0.6	24.9
Cu ²⁺	23.4	0.6	0.7	23.4	24.3	1.7	-0.3	24.4	24.0	1.3	0.6	24.0	23.1	0.6	0.2	23.1	24.3	1.4	1.0	24.4	24.5	1.4	1.5	24.6
(100ppm)																								
Ag ²⁺	25.1	0.6	0.3	25.1	32.3	2.0	2.6	32.5	34.1	2.3	3.8	34.4	35.5	2.1	4.9	35.9	36.2	2.8	4.4	36.6	34.0	3.3	4.7	34.5
Hg ²⁺	25.0	0.9	0.4	25.0	24.5	0.7	-0.1	24.5	25.3	1.0	0.8	25.3	24.2	0.6	-0.4	24.2	25.8	1.5	0.7	25.9	25.8	1.5	0.7	25.9
Fe ²⁺	24.5	0.7	0.6	24.5	23.9	0.7	0.1	23.9	24.6	1.1	0.9	24.6	24.5	1.2	0.8	24.5	25.0	1.3	1.2	25.1	25.3	1.5	0.3	25.3
Mn ²⁺	24.3	0.6	0.4	24.3	24.9	1.1	0.6	24.9	26.3	2.0	-1.3	26.4	25.0	1.1	0.6	25.0	24.3	1.2	0.0	24.3	25.4	1.6	0.4	25.5
Al ³⁺	25.2	-3.6	2.2	25.6	24.9	1.6	0.2	25.0	25.4	1.6	0.7	25.5	25.3	1.1	0.5	25.3	25.5	2.4	0.5	25.6	25.4	1.1	1.2	25.5
Zn ²⁺	24.7	0.7	0.0	24.7	25.0	0.9	0.0	25.0	25.3	1.1	0.5	25.3	24.6	0.7	-0.5	24.6	25.3	1.5	0.4	25.3	25.2	1.1	0.6	25.2
Cu ²⁺	24.4	0.4	0.4	24.4	24.2	0.6	-0.5	24.2	23.4	0.3	0.9	23.4	25.0	1.1	0.3	25.0	24.2	0.6	-0.2	24.2	24.9	2.1	0.0	25.0

Table 108. Variation of hunter value of the cosmetic composition having mulberry leaves pigment as affected by metal ions

Metal ions	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
(10ppm)																								
Ag ²⁺	35.9	0.6	10.7	37.5	36.0	0.6	10.3	37.4	36.7	0.6	11.0	38.3	35.0	0.5	9.3	36.2	35.7	0.2	8.4	36.7	37.2	0.9	11.3	38.9
Hg ²⁺	35.5	0.5	10.1	36.9	33.3	0.2	7.3	34.1	32.8	0.0	6.9	33.5	30.7	0.5	5.8	31.2	35.3	1.0	9.1	36.5	34.0	0.7	8.5	35.1
Fe ²⁺	36.0	0.7	10.4	37.5	33.3	0.2	7.3	34.1	36.3	0.7	10.8	37.9	37.0	0.3	11.2	38.7	37.7	0.8	11.5	39.4	36.7	0.7	10.7	38.2
Mn ²⁺	35.2	0.5	9.5	36.5	37.4	0.7	11.5	39.1	36.8	0.9	11.2	38.5	36.6	0.2	11.9	38.5	37.0	0.7	11.3	38.7	36.6	0.8	10.6	38.1
Al ³⁺	35.3	0.8	10.2	36.8	33.5	0.2	7.6	34.4	35.6	0.8	10.0	37.0	36.9	0.9	10.8	38.5	35.0	0.4	8.7	36.1	36.9	0.8	11.3	38.6
Zn ²⁺	36.0	0.4	9.4	37.2	36.1	0.8	11.2	37.8	34.9	0.2	8.2	35.9	35.1	0.6	8.4	36.1	36.7	1.0	10.7	38.2	36.5	0.5	10.5	38.0
Cu ²⁺	34.4	0.1	10.1	35.9	34.3	0.1	7.3	35.1	35.2	0.6	9.4	36.4	33.8	0.3	7.5	34.6	34.3	0.1	7.4	35.1	36.4	0.5	9.7	37.7
(100ppm)																								
Ag ²⁺	37.2	0.5	10.8	38.7	37.9	1.2	10.7	39.4	38.4	1.2	12.6	40.4	40.5	1.3	13.9	42.8	39.6	1.6	12.5	41.6	41.1	2.3	14.3	43.6
Hg ²⁺	33.7	0.6	8.4	34.7	32.7	0.6	0.8	32.7	33.8	0.7	7.9	34.7	34.2	0.7	7.7	35.1	33.5	0.9	7.6	34.4	34.1	0.7	7.7	35.0
Fe ²⁺	35.3	0.5	9.6	36.6	33.3	0.4	7.6	34.2	35.0	0.4	9.2	36.2	33.3	0.3	6.3	33.9	35.9	0.8	8.7	36.9	36.7	1.0	12.2	38.7
Mn ²⁺	35.3	0.9	10.5	36.8	35.8	0.8	0.0	35.8	37.1	0.6	12.1	39.0	37.3	1.0	11.5	39.0	36.5	0.7	10.2	37.9	36.5	0.5	8.8	37.5
Al ³⁺	32.6	0.6	8.2	33.6	36.4	0.8	0.6	36.4	36.3	0.2	10.7	37.8	34.8	0.2	8.1	35.7	37.8	-0.1	9.4	39.0	33.7	-0.5	0.4	33.7
Zn ²⁺	34.4	0.4	9.8	35.8	35.0	0.5	9.4	36.2	36.6	0.8	10.7	38.1	35.7	1.1	10.6	37.3	36.0	-0.1	9.5	37.2	36.8	0.5	11.2	38.5
Cu ²⁺	35.2	0.4	10.0	36.6	34.2	-0.8	8.8	35.3	35.1	-1.0	9.8	36.5	35.3	-0.9	9.4	36.5	34.9	-0.9	9.3	36.1	34.4	-0.2	8.9	35.5

Table 109. Variation of hunter value of the cosmetic composition having onion peel pigment as affected by metal ions

Metal ions	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
(10ppm)																								
Ag ²⁺	35.2	0.8	3.3	35.4	37.3	0.4	0.8	37.3	36.2	0.5	0.7	36.2	38.1	0.8	1.2	38.1	37.2	1.2	1.0	37.2	37.7	30.7	-0.5	48.6
Hg ²⁺	31.1	-0.1	0.7	31.1	32.7	0.7	-0.8	32.7	32.8	0.5	0.9	32.8	36.8	0.1	-1.2	36.8	33.9	0.8	0.6	33.9	34.4	0.8	0.3	34.4
Fe ²⁺	32.1	0.0	0.8	32.1	34.3	0.6	0.7	34.3	35.5	0.5	1.1	35.5	38.8	0.4	-0.3	38.8	36.2	0.9	0.9	36.2	36.4	0.5	0.8	36.4
Mn ²⁺	37.3	-6.4	3.9	38.0	37.6	1.5	-0.1	37.6	36.7	0.7	1.0	36.7	40.7	2.7	-0.5	40.8	38.4	0.7	0.6	38.4	38.2	0.7	0.8	38.2
Al ³⁺	34.5	1.0	0.7	34.5	37.5	0.9	0.0	37.5	35.9	0.6	0.7	35.9	36.5	0.1	1.8	36.5	36.5	1.0	1.1	36.5	37.0	0.7	1.0	37.0
Zn ²⁺	33.3	0.7	-0.6	33.3	34.0	0.4	0.8	34.0	30.4	0.0	0.6	30.4	35.9	0.6	0.3	35.9	34.9	0.7	0.9	34.9	35.0	0.8	0.6	35.0
Cu ²⁺	31.6	1.0	-0.1	31.6	34.5	0.4	0.9	34.5	34.7	0.4	1.1	34.7	36.5	0.4	1.2	36.5	35.9	0.7	1.1	35.9	36.1	0.4	1.5	36.1
(100ppm)																								
Ag ²⁺	36.2	0.6	0.8	36.2	39.1	1.0	0.4	39.1	41.2	1.5	0.5	41.2	41.4	1.6	1.2	41.4	43.4	2.0	1.0	43.5	43.0	2.5	1.3	43.1
Hg ²⁺	28.4	0.8	-2.3	28.5	37.1	1.2	-0.9	37.1	36.5	0.6	0.4	36.5	39.3	1.0	1.0	39.3	40.4	0.7	2.0	40.5	40.8	1.4	1.3	40.8
Fe ²⁺	32.9	0.3	1.4	32.9	38.4	0.5	1.4	38.4	41.6	0.5	1.6	41.6	42.1	0.6	1.6	42.1	42.1	0.3	1.6	42.1	41.4	0.9	1.8	41.4
Mn ²⁺	28.8	0.3	0.0	28.8	33.9	0.9	0.4	33.9	39.1	0.6	0.8	39.1	51.2	0.5	-1.3	51.2	49.0	0.7	1.1	49.0	50.0	0.9	1.6	50.0
Al ³⁺	30.5	0.3	0.4	30.5	35.9	0.5	0.4	35.9	44.1	0.7	1.6	44.1	47.3	1.1	1.6	47.3	45.1	0.4	0.1	45.1	45.9	1.0	3.3	46.0
Zn ²⁺	39.1	0.7	2.1	39.2	33.3	0.6	-1.2	33.3	42.9	0.6	1.7	42.9	46.4	0.8	1.2	46.4	47.2	0.8	1.3	47.2	46.7	1.0	1.4	46.7
Cu ²⁺	33.6	0.8	1.1	33.6	35.7	0.5	1.0	35.7	37.3	0.5	0.9	37.3	39.1	0.7	1.0	39.1	37.0	0.9	1.0	37.0	37.7	1.4	0.6	37.7

Table 110. Variation of hunter value of the cosmetic composition having grape peel pigment as affected by metal ions

Metal ions	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
(10ppm)																								
Ag ²⁺	28.6	3.7	0.3	28.8	29.4	3.5	0.9	29.6	29.1	3.9	1.2	29.4	29.6	3.6	1.0	29.8	28.2	3.4	3.6	28.6	29.9	4.1	1.1	30.2
Hg ²⁺	28.5	3.1	0.9	28.7	29.5	3.3	0.7	29.7	29.2	3.8	1.0	29.5	29.7	4.0	1.1	30.0	30.0	4.2	2.0	30.4	32.3	4.0	1.4	32.6
Fe ²⁺	28.1	2.9	0.7	28.3	28.9	3.5	0.3	29.1	28.8	3.8	0.4	29.1	29.3	3.7	1.4	29.6	30.2	4.2	1.2	30.5	30.1	4.3	1.3	30.4
Mn ²⁺	27.6	2.7	0.5	27.7	29.1	3.8	1.1	29.4	28.7	3.9	0.5	29.0	30.2	4.4	0.7	30.5	30.0	3.2	1.2	30.2	30.0	4.3	0.8	30.3
Al ³⁺	27.7	3.1	0.8	27.9	29.1	4.0	1.0	29.4	28.5	3.6	0.8	28.7	29.7	4.4	1.1	30.0	29.7	4.2	1.1	30.0	29.7	4.2	1.1	30.0
Zn ²⁺	29.1	3.9	0.1	29.4	28.9	3.7	1.0	29.2	29.6	4.2	1.4	29.9	30.2	4.2	1.3	30.5	32.2	5.2	2.2	32.7	33.5	6.1	2.1	34.1
Cu ²⁺	27.6	3.5	1.1	27.8	29.0	3.5	1.1	29.2	29.1	4.0	0.8	29.4	31.1	4.1	0.9	31.4	29.8	4.2	1.1	30.1	30.8	4.8	1.7	31.2
(100ppm)																								
Ag ²⁺	28.0	2.7	1.1	28.2	29.6	2.5	1.8	29.8	30.2	1.8	1.5	30.3	32.7	2.6	0.0	32.8	32.6	1.6	-1.0	32.7	31.3	2.6	2.4	31.5
Hg ²⁺	28.2	2.9	0.9	28.4	28.5	3.4	0.6	28.7	29.3	3.7	0.4	29.5	28.5	3.1	0.3	28.7	30.1	4.4	1.3	30.4	31.0	4.2	1.3	31.3
Fe ²⁺	27.7	3.0	1.0	27.9	28.2	2.9	0.4	28.4	28.9	3.4	0.9	29.1	28.8	3.5	0.8	29.0	29.6	4.2	1.3	29.9	28.9	3.8	1.0	29.2
Mn ²⁺	28.0	3.1	1.0	28.2	28.7	3.5	0.8	28.9	29.5	3.7	1.2	29.8	29.5	3.2	1.6	29.7	30.0	3.5	1.1	30.2	29.7	4.1	1.3	30.0
Al ³⁺	27.9	3.2	0.7	28.1	28.0	3.2	0.8	28.2	29.9	4.5	-0.7	30.2	29.8	4.2	0.8	30.1	29.3	3.7	1.4	29.6	29.2	3.8	-0.1	29.4
Zn ²⁺	28.2	2.8	0.5	28.3	29.2	3.4	0.5	29.4	28.7	3.5	0.8	28.9	29.3	3.9	1.7	29.6	30.3	3.2	1.0	30.5	29.7	4.3	1.0	30.0
Cu ²⁺	28.0	3.1	1.2	28.2	28.9	3.6	1.1	29.1	28.7	3.2	1.1	28.9	29.8	3.9	1.3	30.1	28.7	3.9	1.9	29.0	30.5	4.5	1.3	30.9

Table 111. Variation of hunter value of the cosmetic composition having mulberry pigment as affected by metal ions

Metal ions	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
(10ppm)																								
Ag ²⁺	28.2	8.0	0.3	29.3	28.3	9.1	0.3	29.7	28.2	9.6	0.7	29.8	29.9	10.9	0.7	31.8	29.0	11.5	1.5	31.2	30.5	11.9	1.3	32.8
Hg ²⁺	28.8	10.2	0.8	30.6	29.8	12.0	0.8	32.1	30.5	11.2	0.8	32.5	31.8	13.9	1.3	34.7	33.8	14.7	1.0	36.9	31.8	14.6	1.5	35.0
Fe ²⁺	26.9	6.9	0.9	27.8	28.5	9.8	0.6	30.1	29.4	9.7	0.0	31.0	29.8	11.1	0.3	31.8	28.6	10.9	0.7	30.6	31.1	11.0	-0.5	33.0
Mn ²⁺	27.7	8.9	-0.5	29.1	30.7	6.2	-0.9	31.3	32.0	6.2	-1.3	32.6	33.7	10.5	0.0	35.3	29.1	5.0	0.6	29.5	30.9	9.9	1.5	32.5
Al ³⁺	27.3	6.3	0.3	28.0	28.4	8.1	0.2	29.5	28.0	7.7	0.3	29.0	29.1	9.8	0.3	30.7	29.9	10.3	0.4	31.6	30.5	10.2	0.3	32.2
Zn ²⁺	27.8	8.4	-0.5	29.0	28.6	9.8	0.5	30.2	29.8	10.1	0.7	31.5	30.0	12.0	0.7	32.3	31.0	11.4	0.1	33.0	30.5	11.2	0.6	32.5
Cu ²⁺	27.5	8.2	0.2	28.7	28.8	7.3	1.4	29.7	30.1	10.1	0.0	31.7	29.9	12.1	0.7	32.3	30.3	11.5	1.1	32.4	30.8	12.5	1.1	33.3
(100ppm)																								
Ag ²⁺	28.6	8.4	0.8	29.8	32.7	9.8	1.7	34.2	34.2	9.9	1.3	35.6	35.6	10.7	1.8	37.2	36.7	10.6	2.0	38.3	38.0	12.4	2.1	40.0
Hg ²⁺	24.7	1.8	-0.8	24.8	27.1	6.7	0.0	27.9	30.7	9.2	-0.2	32.0	31.6	10.6	0.2	33.3	31.0	11.5	0.7	33.1	31.5	11.6	0.4	33.6
Fe ²⁺	28.4	6.6	1.2	29.2	28.6	7.7	0.1	29.6	31.4	9.4	-0.8	32.8	32.0	7.2	-1.0	32.8	33.5	11.5	-0.1	35.4	33.9	11.7	0.0	35.9
Mn ²⁺	27.3	1.1	2.8	27.5	40.8	6.3	-0.5	41.3	43.4	6.3	0.0	43.9	44.6	4.5	-0.1	44.8	47.0	5.8	2.1	47.4	49.5	7.1	0.3	50.0
Al ³⁺	27.2	7.1	0.0	28.1	35.6	13.0	0.1	37.9	37.4	13.0	-0.4	39.6	41.2	13.8	0.2	43.5	39.6	14.3	0.1	42.1	42.8	15.0	0.0	45.4
Zn ²⁺	28.1	8.4	0.4	29.3	29.4	6.5	-0.8	30.1	32.7	8.8	-0.9	33.9	35.0	10.2	-0.6	36.5	35.7	10.5	-0.6	37.2	35.7	11.5	-0.4	37.5
Cu ²⁺	27.9	8.0	0.4	29.0	24.9	2.7	-0.5	25.1	29.6	10.6	0.6	31.4	31.3	13.0	0.6	33.9	32.4	13.8	0.8	35.2	32.9	14.2	-1.1	35.9

Table 112. Variation of hunter value of the cosmetic composition having red beet pigment as affected by metal ions

Metal ions	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
(10ppm)																								
Ag ²⁺	26.8	12.8	-0.3	29.7	26.8	14.1	-0.6	30.3	27.0	12.2	-0.2	29.6	28.3	14.5	0.9	31.8	28.3	12.8	0.5	31.1	28.8	14.5	1.2	32.3
Hg ²⁺	27.0	14.0	-0.4	30.4	27.9	14.9	-0.8	31.6	29.1	16.5	-0.9	33.5	30.0	17.5	0.1	34.7	30.8	19.3	0.3	36.3	31.7	19.4	0.7	37.2
Fe ²⁺	27.4	12.5	-1.6	30.2	28.2	14.7	-1.2	31.8	27.7	14.3	-0.3	31.2	28.0	14.8	0.2	31.7	29.0	15.1	-0.2	32.7	29.1	14.8	-0.5	32.7
Mn ²⁺	27.4	13.0	-1.9	30.4	27.2	13.0	-0.9	30.2	27.7	14.5	-0.9	31.3	28.3	14.3	-1.0	31.7	28.0	14.3	-0.6	31.4	27.8	14.6	-0.1	31.4
Al ³⁺	26.4	12.2	-0.6	29.1	27.6	14.0	-2.3	31.0	27.5	13.6	-0.7	30.7	26.8	13.5	-0.1	30.0	27.7	14.7	-0.1	31.4	27.0	14.5	1.6	30.7
Zn ²⁺	27.6	14.0	-2.3	31.0	26.7	15.1	-1.0	30.7	27.2	15.5	-0.9	31.3	28.4	16.2	-1.3	32.7	28.8	16.5	-0.8	33.2	28.9	16.7	-0.6	33.4
Cu ²⁺	26.7	11.3	-1.7	29.0	28.1	15.6	-1.6	32.2	28.3	15.9	-1.3	32.5	27.3	13.5	-2.2	30.5	29.6	17.2	-1.1	34.3	30.1	18.4	-1.0	35.3
(100ppm)																								
Ag ²⁺	26.0	8.8	-0.9	27.5	28.6	12.1	1.3	31.1	29.6	12.1	1.8	32.0	31.0	12.0	3.3	33.4	32.2	11.8	2.6	34.4	31.6	11.6	4.6	34.0
Hg ²⁺	27.7	11.6	-1.4	30.1	28.4	14.1	-1.5	31.7	29.1	12.8	-0.5	31.8	28.6	12.3	1.0	31.1	30.0	13.7	2.2	33.1	31.9	12.6	0.2	34.3
Fe ²⁺	26.1	9.5	-1.0	27.8	29.5	14.3	-1.1	32.8	29.8	13.5	-0.5	32.7	29.2	12.9	0.9	31.9	28.5	12.0	0.8	30.9	30.6	13.6	0.4	33.5
Mn ²⁺	25.6	7.1	-1.7	26.6	28.4	15.2	-1.7	32.3	27.5	12.6	-1.4	30.3	28.3	14.3	-1.3	31.7	29.7	17.7	-1.2	34.6	30.1	16.6	-2.2	34.4
Al ³⁺	26.1	10.6	-0.7	28.2	26.1	10.7	-0.9	28.2	24.8	6.5	-0.2	25.6	28.8	15.9	-0.7	32.9	29.1	17.6	-0.5	34.0	28.9	18.0	0.9	34.1
Zn ²⁺	26.9	13.4	-1.6	30.1	27.5	15.0	-2.2	31.4	27.5	14.1	-2.6	31.0	27.5	15.6	-2.2	31.7	28.0	15.6	-2.2	32.1	28.3	15.4	-2.5	32.3
Cu ²⁺	26.9	12.4	-2.1	29.7	28.1	14.4	-3.1	31.7	28.2	15.0	-3.2	32.1	28.9	15.2	-3.2	32.8	29.2	15.1	-3.5	33.1	29.2	16.3	-3.1	33.6

Table 113. Variation of hunter value of the cosmetic composition having gromwell pigment as affected by metal ions

Metal ions	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
(10ppm)																								
Ag ²⁺	33.7	2.6	-2.8	33.9	36.6	3.7	-2.3	36.9	37.7	3.8	-1.8	37.9	39.3	4.5	-1.5	39.6	39.6	4.5	-1.2	39.9	39.1	4.5	-1.2	39.4
Hg ²⁺	36.2	3.3	-1.5	36.4	36.7	3.6	-1.9	36.9	41.3	6.0	-1.3	41.8	42.8	6.3	-1.1	43.3	44.3	7.4	-0.6	44.9	44.9	10.1	0.2	46.0
Fe ²⁺	35.0	2.9	-1.5	35.2	36.9	3.7	-2.0	37.1	37.0	3.7	-1.7	37.2	41.0	5.2	-2.4	41.4	41.1	5.2	-1.3	41.4	40.9	5.0	-1.8	41.2
Mn ²⁺	34.0	2.2	-2.1	34.1	35.6	2.7	-2.3	35.8	36.1	2.9	-2.7	36.3	37.4	3.1	-2.1	37.6	37.7	3.3	-1.7	37.9	37.5	3.6	-1.2	37.7
Al ³⁺	34.7	3.0	-1.8	34.9	35.9	3.2	-2.0	36.1	37.8	3.7	-1.8	38.0	40.3	5.2	-1.3	40.7	41.0	5.4	-1.2	41.4	41.9	6.4	-0.4	42.4
Zn ²⁺	37.0	4.0	-1.5	37.2	41.2	6.2	-3.3	41.8	42.6	6.8	-1.0	43.2	45.3	9.3	-0.3	46.2	45.4	8.5	-0.4	46.2	44.9	8.5	-0.1	45.7
Cu ²⁺	35.7	3.3	-1.6	35.9	39.1	2.7	-2.3	39.3	39.8	5.0	-1.6	40.1	42.1	5.9	-1.1	42.5	41.9	6.1	-0.5	42.3	43.1	6.6	-0.5	43.6
(100ppm)																								
Ag ²⁺	31.3	1.1	-2.2	31.4	33.8	2.4	-1.1	33.9	34.8	3.3	-0.5	35.0	35.7	3.9	0.1	35.9	34.7	2.8	-0.1	34.8	34.8	5.1	-0.9	35.2
Hg ²⁺	32.9	2.1	-2.1	33.0	35.3	3.1	-2.0	35.5	35.6	3.6	-1.8	35.8	37.8	4.1	-1.8	38.1	38.5	4.4	-1.6	38.8	39.5	5.1	-1.1	39.8
Fe ²⁺	30.9	1.3	-1.8	31.0	34.1	3.2	-1.7	34.3	34.9	3.2	-1.5	35.1	36.1	3.5	-1.7	36.3	36.7	3.8	-1.3	36.9	37.5	3.9	-1.4	37.7
Mn ²⁺	30.8	1.0	-1.2	30.8	32.5	2.9	-1.4	32.7	34.8	3.4	-3.4	35.1	35.2	3.5	-1.7	35.4	34.3	3.4	-0.9	34.5	35.0	3.7	-1.4	35.2
Al ³⁺	30.7	2.0	-1.3	30.8	34.3	3.5	-2.3	34.6	34.1	3.2	-2.2	34.3	35.2	3.5	-1.8	35.4	35.5	3.7	-2.2	35.8	35.3	3.6	-1.5	35.5
Zn ²⁺	31.6	1.9	-2.0	31.7	34.4	3.0	-2.4	34.6	34.9	3.1	-2.3	35.1	34.5	3.5	-2.0	34.7	35.8	2.7	-2.2	36.0	36.5	4.0	-1.7	36.8
Cu ²⁺	31.7	1.7	-1.9	31.8	33.9	2.9	-1.7	34.1	34.5	2.8	-2.3	34.7	36.0	3.0	-2.2	36.2	36.2	3.4	-1.9	36.4	35.8	5.3	-1.9	36.2

Table 114. Variation of hunter value of the cosmetic composition having cactus pigment as affected by metal ions

Metal ions	Hunter value / storage period(days)																							
	0days				3days				6days				9days				12days				15days			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
(10ppm)																								
Ag ²⁺	39.1	4.5	-1.2	39.4	42.8	3.9	-0.1	43.0	10.6	3.0	0.2	11.0	44.5	2.7	0.8	44.6	44.9	2.6	0.7	45.0	44.9	2.1	0.3	45.0
Hg ²⁺	41.9	-2.2	1.7	42.0	44.9	4.3	-1.1	45.1	44.1	3.7	-0.3	44.3	44.9	3.5	-0.6	45.0	44.8	3.5	0.4	44.9	45.6	3.3	0.3	45.7
Fe ²⁺	42.5	5.2	-0.2	42.8	44.7	4.5	-0.8	44.9	44.9	4.2	-0.8	45.1	43.3	3.2	3.4	43.6	45.8	3.9	0.0	46.0	46.0	3.6	-0.6	46.1
Mn ²⁺	40.4	1.9	-2.7	40.5	41.9	4.4	-1.6	42.2	41.6	4.2	-1.3	41.8	42.1	3.8	-1.6	42.3	44.5	4.2	-0.7	44.7	44.6	3.6	-0.6	44.7
Al ³⁺	36.6	4.3	-1.5	36.9	42.3	4.6	-1.8	42.6	40.3	4.0	-1.7	40.5	43.6	4.3	-2.1	43.9	40.4	3.0	-2.4	40.6	44.9	3.7	-0.5	45.1
Zn ²⁺	46.1	6.3	-0.6	46.5	46.4	5.0	-0.3	46.7	46.6	4.5	-0.5	46.8	47.7	4.6	-1.6	47.9	46.6	3.9	0.1	46.8	49.3	3.9	-0.3	49.5
Cu ²⁺	41.8	6.8	-6.7	42.9	44.4	4.9	-1.0	44.7	44.4	4.2	-0.5	44.6	44.8	3.8	0.4	45.0	44.4	4.0	-0.1	44.6	45.9	3.8	-0.6	46.1
(100ppm)																								
Ag ²⁺	38.2	4.6	-2.6	38.6	35.7	2.9	2.2	35.9	33.6	2.4	2.9	33.8	34.7	3.0	3.0	35.0	35.1	2.8	3.5	35.4	35.0	3.4	3.8	35.4
Hg ²⁺	41.6	5.5	-1.4	42.0	46.3	5.5	-5.9	47.0	43.4	2.0	1.1	43.5	46.8	1.4	1.1	46.8	47.0	1.2	1.3	47.0	47.1	1.4	0.8	47.1
Fe ²⁺	30.5	2.9	-1.3	30.7	44.6	2.3	0.7	44.7	40.3	3.2	-1.2	40.4	41.2	2.9	-1.2	41.3	41.3	3.0	-1.0	41.4	42.1	2.9	-0.1	42.2
Mn ²⁺	32.3	3.7	-1.7	32.6	33.3	3.7	-1.4	33.5	33.2	3.5	-1.2	33.4	35.0	4.8	-4.5	35.6	34.1	3.3	-1.5	34.3	34.9	3.4	-1.6	35.1
Al ³⁺	31.2	3.2	-1.5	31.4	37.1	4.0	-1.7	37.4	38.5	4.5	-3.0	38.9	39.4	4.8	-2.1	39.7	41.7	5.1	-3.3	42.1	40.4	4.4	-2.2	40.7
Zn ²⁺	40.2	5.1	-1.7	40.6	44.1	5.0	-1.1	44.4	42.6	4.2	-1.1	42.8	42.9	4.0	-1.1	43.1	46.4	4.2	-0.6	46.6	45.9	3.8	-0.6	46.1
Cu ²⁺	37.5	4.8	-2.1	37.9	42.1	3.9	-1.1	42.3	40.0	2.9	-0.8	40.1	44.6	2.8	-0.4	44.7	44.7	2.2	-0.4	44.8	44.0	2.1	-0.6	44.1

금속이온 종류에 따른 천연색소 혼합조성물의 경시적인 색차변이를 15일간 3일 간격으로 측정된 결과를 보면, 대부분 L, a, b 값에 큰 변화가 없었으며 비교적 금속이온의 영향을 덜 받는 것으로 나타났다. 그러나 시일이 경과할수록 또는 금속이온 농도가 높을수록 혼합조성물 종류에 따라 색상이 약간 탁해지는 경향을 보였으며, 특히 적양배추, 지치, 오디, 자색고구마, 양파껍질 등의

색소혼합물에서는 ΔE 값이 다소 높아지는 추세를 보였다. 전체적으로 금속이온에 대해 크게 불안정성을 보이지는 않았지만, 이는 비교적 단기간인 15일 동안의 색차 변이 추세를 측정된 것으로 향후 보다 장기적인 관점에서 금속안정성 실험이 필요하다고 본다.

(4) 열에 대한 색소의 색차 변이

각 천연색소 혼합조성물의 열 안정성을 조사하기 위하여 cap test tube에 혼합조성물을 40mL씩 넣고 밀봉한 후 가열 변색에 대한 안정화제의 효과를 명확히 구명하기 위해 비교적 높은 온도인 100℃에서 0~180분간 가열하면서 60분 간격으로 샘플을 취하여 색도 변화를 측정하였다.

Table 115. Variation of hunter value of the cosmetic composition as affected by heating time (pH4.5)

Natural plant pigment	Hunter value															
	0minutes				60minutes				120minutes				180minutes			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
Black rice	43.1	7.9	5.9	44.2	45.5	7.2	6.3	46.5	51.6	7.6	8.5	52.8	49.6	7.1	7.4	50.6
Purple potato	39.3	13.8	2.4	41.7	38.5	14.1	2.6	41.0	37.3	16.3	1.4	40.7	38.1	13.5	1.9	40.5
Mature bitter melon	48.9	-0.6	7.8	49.5	40.8	-0.5	6.9	41.4	29.2	-9.9	6.6	31.5	32.6	-1.5	7.2	33.4
Paprika	40.5	5.9	16.3	44.1	41.6	5.1	15.5	44.7	34.1	8.2	10.3	36.6	33.8	8.1	12.6	37.0
Red cabbage	40.0	28.2	0.9	48.9	35.5	25.2	0.6	43.5	27.1	20.5	0.3	34.0	34.8	26.5	0.7	43.7
Yellow gardenia	41.7	10.8	30.0	52.5	43.7	9.9	32.3	55.2	49.6	8.2	40.5	64.6	48.1	7.8	35.6	60.3
Blue gardenia	23.6	-2.5	0.4	23.7	22.8	-2.1	0.6	22.9	23.4	-0.6	-0.7	23.4	25.2	-1.9	0.7	25.3
Chinese foxglove	26.6	3.3	2.3	26.9	28.9	2.9	2.7	29.2	27.7	-2.6	5.4	28.3	28.5	1.8	2.2	28.6
Mulberry leaves	50.7	2.9	22.3	55.5	42.8	1.6	18.5	46.7	37.2	1.5	13.2	39.5	40.1	1.8	13.5	42.3
Onion peel	49.2	-0.7	11.3	50.5	48.7	-0.5	9.6	49.6	53.6	-1.4	11.6	54.9	50.3	-0.6	8.5	51.0
Grape peel	31.7	10.6	4.5	33.7	32.1	7.6	5.3	33.4	29.3	-0.6	5.9	29.9	32.8	6.5	5.1	33.8
Mulberry	58.3	14.7	2.0	60.2	52.6	15.2	2.2	54.8	45.1	4.6	7.3	45.9	53.8	6.2	3.8	54.3
Red beet	26.3	2.5	4.7	26.8	26.8	8.1	2.1	28.1	26.0	10.7	1.3	28.1	25.8	7.2	2.9	26.9
Gromwell	38.6	20.7	2.2	43.9	37.1	17.8	2.1	41.2	38.7	12.6	0.2	40.7	40.2	15.9	1.8	43.3
Cactus	61.6	10.9	0.2	62.6	58.2	0.5	4.6	58.4	55.4	-0.6	7.1	55.9	52.6	0.3	6.3	53.0

100℃의 가열조건에서의 혼합조성물의 안정성을 조사하기 위하여 60분 간격으로 색차변이를 측정 한 결과, 대부분 L 값에서는 큰 변화가 없었고 a 값과 b 값에서 다소 차이를 보였다. 또한 흑미, 자색고구마, 적양배추, 포도과피, 레드비트 색소 등의 혼합물에서는 색차의 변이가 비교적 안정되었지만, 뽕잎 색소 혼합물에서는 상대적으로 색차에 변이차가 있었다. 그러나 3시간 이상의 장시간 처리했을 경우는 이보다 색차변이에 더 큰 차이를 보일 것으로 추측된다.

(5) 광에 대한 색소의 색차 변이

광 안정성을 조사하기 위하여 pH 2.0인 완충용액을 사용하여 5배로 희석하여 제조한 혼합조성물을 cap test tube에 40mL씩 넣고 밀봉한 후 일부는 일광 혹은 형광등에 노출시키면서 상온에 보관하였으며, 나머지 일부는 암소에 보관하면서 혼합조성물의 경시적인 색도 변화를 5일 간격으로 측정하였다.

Table 116. Variation of hunter value of the cosmetic composition as affected by light

Sample	Hunter value / storage period(days)																								
	0days				3days				6days				9days				12days				15days				
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	
Sunlight																									
1	37.5	2.3	3.5	37.7	40.9	0.4	5.2	41.2	40.9	1.4	5.1	41.2	40.6	-2.6	6.0	41.1	40.7	7.0	2.4	41.4	40.9	8.1	2.3	41.8	
2	36.8	2.4	4.0	37.1	35.9	4.9	2.5	36.3	36.0	15.1	-0.8	39.0	37.2	9.9	1.8	38.5	37.1	16.3	-0.9	40.5	38.2	17.6	-1.1	42.1	
3	28.9	-8.8	3.7	30.4	28.6	-3.9	1.6	28.9	30.0	-11.3	5.9	32.6	31.0	0.0	-1.0	31.0	30.6	-7.0	3.0	31.5	28.7	0.0	1.4	28.7	
4	34.4	4.0	10.9	36.3	30.1	4.6	6.6	31.2	35.7	6.5	11.5	38.1	35.4	7.0	12.1	38.1	36.3	7.2	12.5	39.1	36.2	7.3	13.5	39.3	
5	34.9	37.3	4.7	51.3	29.5	25.2	3.2	38.9	34.9	37.6	4.5	51.5	36.0	37.1	5.4	52.0	35.3	38.5	4.9	52.5	36.4	35.7	6.0	51.3	
6	30.8	3.4	12.0	33.2	31.1	2.5	12.7	33.7	32.9	1.2	15.1	36.2	33.0	0.9	15.1	36.3	33.4	0.7	15.8	37.0	33.8	0.4	15.4	37.1	
7	26.0	-16.6	5.9	31.4	23.0	-2.6	0.6	23.2	25.1	-11.9	4.3	28.1	23.0	-1.5	0.0	23.0	22.7	-1.2	0.6	22.7	22.9	-1.6	0.3	23.0	
8	26.9	-2.2	4.2	27.3	27.6	-3.9	4.9	28.3	28.4	-4.0	5.8	29.3	28.8	-6.9	6.9	30.4	27.5	0.9	4.1	27.8	27.6	3.4	3.2	28.0	
9	47.9	0.6	18.8	51.5	48.1	1.5	18.2	51.4	48.6	-2.7	19.7	52.5	49.4	1.1	19.3	53.0	48.6	1.8	17.0	51.5	49.3	0.9	18.4	52.6	
10	31.1	-2.9	2.6	31.3	31.0	-0.2	0.9	31.0	32.6	0.5	0.8	32.6	32.3	0.3	0.7	32.3	33.0	0.5	0.6	33.0	34.0	0.2	0.7	34.0	
11	30.3	-8.5	7.2	32.3	30.8	-7.0	7.8	32.5	30.5	-3.3	5.3	31.1	29.1	6.1	2.4	29.8	29.3	6.3	2.4	30.1	29.9	7.3	2.4	30.9	
12	49.6	25.9	5.4	56.2	50.0	22.1	6.8	55.1	51.5	25.2	5.4	57.6	51.0	25.9	4.6	57.4	51.4	26.1	4.7	57.8	51.8	25.7	4.7	58.0	
13	23.8	-1.6	1.0	23.9	23.7	-1.7	1.0	23.8	23.4	2.4	-0.1	23.5	23.6	3.0	0.0	23.8	23.3	2.1	0.3	23.4	24.1	2.9	-0.8	24.3	
14	32.8	1.2	0.6	32.8	32.1	5.3	-1.0	32.5	34.6	0.0	1.4	34.6	35.4	-3.1	2.4	35.6	34.4	5.9	-0.6	34.9	35.9	6.8	-0.8	36.5	
15	50.0	2.3	2.2	50.1	44.0	5.9	-1.8	44.4	52.9	0.2	1.5	52.9	51.5	6.6	-0.8	51.9	54.8	6.4	-1.3	55.2	55.8	5.1	-0.1	56.0	

Sample	Hunter value / storage period(days)																											
	0days				3days				6days				9days				12days				15days							
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE				
Dark																												
1	39.3	-2.5	5.7	39.8	38.4	6.9	2.2	39.1	50.5	1.2	4.5	50.7	39.1	6.9	2.3	39.8	40.8	7.2	2.3	41.5	41.2	7.4	2.0	41.9				
2	35.6	9.6	1.2	36.9	31.1	3.7	1.6	31.4	37.3	15.3	-0.3	40.3	35.8	14.7	-0.5	38.7	36.7	16.3	-0.9	40.2	37.1	16.7	-1.0	40.7				
3	26.1	-0.5	0.7	26.1	25.8	0.1	0.8	25.8	27.9	-0.1	1.2	27.9	27.2	-2.8	2.7	27.5	26.2	1.1	1.4	26.3	27.8	0.0	1.2	27.8				
4	35.3	-0.8	12.5	37.5	35.6	-1.3	12.7	37.8	37.1	-1.4	14.7	39.9	36.4	5.1	12.8	38.9	36.0	6.9	12.2	38.6	37.0	7.3	12.4	39.7				
5	37.0	34.2	5.9	50.7	35.6	35.7	5.8	50.7	36.1	32.9	7.1	49.4	35.2	37.7	5.1	51.8	35.2	37.9	4.8	51.9	35.5	38.6	5.3	52.7				
6	29.7	-10.5	11.7	33.6	27.9	1.8	7.7	29.0	30.9	-9.4	13.9	35.2	29.3	0.6	10.1	31.0	29.3	0.8	10.7	31.2	30.8	-0.1	10.8	32.6				
7	27.9	-23.0	9.6	37.4	27.1	-20.3	7.7	34.7	26.9	-19.5	7.6	34.1	26.1	-0.5	-0.6	26.1	23.3	0.4	-0.9	23.3	23.0	-1.7	0.4	23.1				
8	31.0	-19.0	9.8	37.7	26.8	2.5	2.1	27.0	30.1	-12.7	9.6	34.1	30.7	-14.0	11.1	35.5	27.8	-1.3	3.5	28.0	27.2	3.1	2.8	27.5				
9	48.4	-2.5	19.1	52.1	49.9	-6.7	22.9	55.3	50.1	1.9	19.5	53.8	50.2	-2.0	20.9	54.4	48.5	1.7	19.2	52.2	48.6	1.2	19.4	52.3				
10	28.9	0.7	0.7	28.9	28.9	-1.1	0.9	28.9	30.0	-1.0	1.2	30.0	30.2	0.7	0.5	30.2	30.8	-0.1	0.4	30.8	32.2	-2.2	1.5	32.3				
11	32.1	-3.9	7.6	33.2	33.1	-2.6	7.7	34.1	32.5	6.3	4.2	33.4	31.8	7.8	3.7	33.0	31.7	8.6	3.5	33.0	31.9	8.1	2.6	33.0				
12	50.1	21.7	7.0	55.0	46.0	27.1	5.6	53.7	50.4	22.3	6.4	55.5	49.6	26.2	5.4	56.4	50.3	25.9	4.6	56.8	50.2	24.3	5.2	56.0				
13	28.8	-22.7	10.3	38.1	23.8	-1.0	0.8	23.8	23.7	1.8	0.1	23.8	23.7	2.5	-0.1	23.8	23.9	2.6	-0.3	24.0	23.8	2.8	0.0	24.0				
14	34.6	-10.1	5.2	36.4	33.3	-2.2	1.2	33.4	34.6	-2.5	2.5	34.8	34.4	-0.1	1.1	34.4	33.1	4.6	-0.8	33.4	33.9	4.7	-0.3	34.2				
15	47.9	10.2	-2.7	49.0	50.4	1.2	1.4	50.4	51.6	7.2	-0.9	52.1	51.7	6.8	-0.8	52.2	51.0	6.2	-0.5	51.4	53.3	5.6	-0.4	53.6				

*1: Black rice, 2: purple sweet potato, 3: mature bitter melon, 4: paprika, 5: red cabbage, 6: yellow gardenia, 7: blue gardenia, 8: chinese foxglove 9: mulberry leaves, 10: onion peel, 11: grape peel, 12: mulberry, 13: redbeet, 14: gromwell, 15: cactus

일광(그늘) 및 형광등에 노출시켜 저장한 경우와 광을 차단하여 암흑 상태에 저장한 경우에서의 색차 변이를 측정된 결과, 대부분 L 값에서는 큰 변화가 없었고 a 값과 b 값에서 일광처리와 암흑처리 사이에 약간 차이를 보였다. 즉, 암흑 상태에서 저장하는 경우가 색소조성물의 안정성이 다소 높은 것으로 판단되지만, 이는 색소 종류에 따라서 달랐으며 결과적으로 15일 저장기간 동안 두 처리 간 색차 변이에 큰 차이는 없었다.

다. 색소혼합 화장품조성물의 자외선에 대한 안정성 분석

천연색소 혼합 조성물의 자외선에 대한 색조 변색 여부를 조사하기 위해, 자외선 램프를 이용하여 각 천연색소 종류별 혼합 조성물에 자외선을 조사하고, 각 천연색소 혼합 조성물의 흡광도 변화를 3시간 간격으로 측정하여 경시적인 안정성을 분석하였다.

Table 117. Stability of ultraviolet in cosmetic composition having the natural plant pigment

Cosmetic composition	Optical density				
	0h	3h	6h	9h	12h
Red cabbage	0.647	0.661	0.673	0.681	0.651
Mulberry	0.697	0.697	0.698	0.729	0.676
Purple potato	1.229	1.227	1.189	1.217	1.241
Black rice	2.171	2.166	2.171	2.164	2.164
Grape peel	1.342	1.340	1.340	1.338	1.340
Red beet	1.243	1.271	1.286	1.268	1.250
Blue gardenia	0.813	0.868	0.853	0.846	0.820
Yellow gardenia	0.870	0.855	0.869	0.864	0.856
Chinese foxglove	1.458	1.454	1.463	1.453	1.454
Paprika	1.108	1.049	1.045	1.049	1.050
Mulberry leaves	1.205	1.189	1.160	1.181	1.179
Bitter melon	3.577	3.568	3.569	3.543	3.569
Onion peel	1.445	2.295	2.297	2.293	2.295
Cactus	1.962	1.961	1.960	1.958	1.959
Gromwell	2.569	2.563	2.562	2.557	2.559

상기 표에 나타난 바와 같이, 총 12시간 동안 자외선 조사에 따른 조성물의 색조 변화를 관찰한 결과, 자외선을 조사하지 않은 색소 혼합 조성물의 0h과 비교하여 시간의 흐름에 따른 자외선 조사에 의한 흡광도 변화가 거의 없는 것으로 나타났다. 따라서 본 실험에서의 천연색소 혼합조성물은 전체적으로 자외선에 대한 변색 안정성이 우수한 것으로 나타났다.

6. 천연색소 및 항노화 물질 혼합조성물 기능성 분석

가. 항산화활성

항산화활성 분석은 색소혼합물에 항노화물질 소재인 야생 참마(*Dioscorea japonica*) 추출물을 혼합한 조성물을 시료로 하였다.

(1) DPPH radical 소거능(전자공여능)

각 혼합조성물을 Choi 등의 방법에 의한 수소전자공여능에 의해 항산화 활성을

측정하였다. 여러 농도의 시료를 메탄올(or DMSO) 용매로 용해하여, 900 μ L의 DPPH 용액(100 μ M)과 각 시료 100 μ L를 혼합하여 교반한다. 이 혼합 시료를 암소에서 30분간 반응시킨 후 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 수소전자공여능은 각 실험을 3회 반복하여 평균을 낸 다음 대조구에 대한 흡광도의 감소정도를 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$A_n = (A_0 - A) / A_0 \times 100$$

A_n : DPPH radical 소거능에 대한 항산화 활성(%)

A_0 : 시료가 첨가되지 않은 DPPH 용액의 흡광도

A : 반응용액중의 DPPH와 시료의 반응한 흡광도

Table 118. DPPH radical scavenging activities of cosmetic composition having the natural plant pigment and *Dioscorea japonica* extract

Cosmetic composition	DPPH radical scavenging activity, % of control				
	Concentration(ppm.)				
	100	250	500	1000	2500
Black rice	9.9±0.42	11.3±0.42	15.2±0.59	20.4±0.94	34.2±1.29
Purple sweet potato	9.6±0.33	9.3±0.26	12.3±0.61	15.7±0.11	27.7±0.31
Mature bitter melon	9.4±0.57	12.1±0.15	17.9±0.52	25.8±0.77	48.7±1.05
Paprika	9.5±0.26	10.7±0.24	13.4±0.35	16.5±0.50	37.4±0.77
Red cabbage	11.7±0.24	15.2±0.26	21.7±0.48	34.1±0.74	67.1±1.57
Yellow gardenia	9.2±0.26	10.2±0.37	11.7±0.15	15.4±0.48	24.1±0.83
Blue gardenia	9.1±0.26	9.9±0.35	11.0±0.35	15.1±1.40	20.8±0.59
Chiese foxglove	9.6±0.31	10.1±0.26	12.3±0.31	17.2±1.88	25.4±0.85
Mulberry leaves	10.6±0.28	18.8±0.50	27.6±0.70	46.9±1.51	75.0±0.03
Onion peel	9.9±0.20	12.7±0.09	16.1±0.37	21.5±0.59	37.5±0.77
Grape peel	11.6±0.44	15.5±0.26	23.7±0.81	37.8±1.27	63.6±1.40
Mulberry	8.8±0.22	9.3±0.24	19.9±0.28	41.1±0.28	67.8±0.46
Red beet	9.8±0.15	11.3±0.46	13.6±0.90	18.9±0.46	34.9±0.96
Gromwell	9.7±0.20	10.5±0.37	13.2±0.17	16.4±0.42	27.8±0.48
Cactus	8.3±0.07	9.0±0.22	12.8±0.17	18.7±0.20	28.1±0.52

*Data represent the mean values±SE of three independent experiments

전자공여능 측정은 지질과산화 연쇄반응에 관여하는 산화성 free radical에 전자를 공여함으로써 free radical의 생성 억제 정도를 간접적으로 측정할 수 있다. 천연 색소 및 참마추출물 혼합조성물에 대하여 free radical 소거활성을 측정된 결과를 보면, 적양배추, 뽕잎, 포도과피, 오디 혼합조성물에서 free radical 소거활성이 상대적으로 높게 나타났다. 그러나 치자청, 치자황, 지황 등의 혼합조성물에서는 비교적 낮은 활성을 보였다.

나. 항산화 효소 활성

항산화효소 활성 분석은 색소혼합물에 항노화물질 소재인 야생 참마(*Dioscorea japonica*)의 각 분획추출물을 혼합한 조성물을 시료로 하였다.

(1) 효소액 조제

100mM potassium phosphate buffer (pH 7.5)에 2mM EDTA, 1% PVP-40, 1mM PMSF가 포함되도록 조제한 extraction buffer에서 동결건조 시료 0.5g를 넣고 15.000g로 20분간 원심분리한 다음 상층액을 항산화효소활성분석에 사용하였다. Ascorbate peroxidase (APX) 경우 extraction buffer에 위의 조성액에 10mM를 첨가하여 사용하였다. 단백질 정량은 BSA를 표준물질로 사용하여 Bradford (1976)방법에 따라 측정하였다.

(2) SOD (Super Oxide Dismutase)

SOD효소 활성 검정은 분석용 Kit (Sigma사,19160)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 450nm에서 측정하였다. 각 시료에 대하여 3회 반복으로 하였으며, SOD효소 활성은 다음의 계산식에 의해 환산하였다.

SOD활성 (NBT환원 저해율, %)

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

(3) CAT (Catalase)

CAT활성은 Mishra 등(1993)의 방법에 의해 측정하였으며, 반응액의 최종농도는 10mM H₂O₂이 포함되도록 한 50mM potassium phosphate buffer (pH 7.0)로 하였다. CAT 활성은 반응액에 추출액을 가한 다음 240nm에 2분간의 흡광도 변화를 측정하였다.

(4) APX (Ascorbate Peroxidase)

APX 활성은 Chen and Asada(1989)방법에 따라 ascorbate의 산화 정도를 290nm에서 2분간의 흡광도 변화를 측정하였다. 반응액의 최종농도는 0.5mM ascorbate와 0.2mM H₂O₂가 포함되도록 한 100mM potassium phosphate buffer (pH 7.5)로 하였다.

Table 119. SOD activities of cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica*

Cosmetic composition	SOD activity (inhibition rate %)			
	Pigment composition	Pigment composition + EtOH extract	Pigment composition + BuOH extract	Pigment composition + EtOAc extract
Black rice	23.3±0.23	32.4±0.17	26.1±2.41	41.9±0.40
Purple sweet potato	33.7±0.88	41.5±0.48	36.3±2.15	44.0±2.04
Mature bitter melon	26.8±3.09	34.0±1.99	27.6±2.80	39.7±0.65
Paprika	29.3±0.26	40.3±1.08	33.1±0.20	42.7±0.88
Red cabbage	35.8±2.34	31.4±2.67	28.0±0.85	42.5±0.54
Yellow gardenia	16.9±1.37	27.2±2.95	22.1±1.33	38.0±1.81
Blue gardenia	19.3±0.14	23.1±0.43	27.4±1.02	35.2±1.47
Chinese foxglove	65.5±1.62	67.3±1.30	58.4±0.71	72.8±2.26
Mulberry leaves	67.1±1.36	58.7±1.13	49.5±1.33	66.3±1.10
Onion peel	15.3±1.02	16.6±1.93	23.6±0.99	31.6±0.54
Grape peel	38.9±0.88	34.4±1.05	26.9±0.23	43.8±0.34
Mulberry	30.5±3.73	30.4±0.65	28.7±1.25	40.7±0.54
Red beet	26.9±1.88	51.3±0.11	47.4±1.59	55.4±0.26
gromwell	31.5±0.17	33.5±1.22	33.3±0.28	46.0±1.95
cactus	22.0±1.14	28.7±1.11	22.8±2.49	34.7±0.88

*Data represent the mean values±SE of three independent experiments

색소추출물과 참마 분획별 추출물을 혼합한 조성물의 SOD활성을 보면, 참마추출물을 혼합하지 않은 조성물에서는 지황, 뽕잎 등에서 높은 활성을 보였으며, 그 외 조성물과 큰 차이를 보였다. 분획별 참마 추출물 혼합 조성물에서는 EtOAc층에서 활성이 가장 높았으며, BuOH층은 EtOH층에서 보다 활성이 다소 낮은 경향을 보였다. 이상의 결과에서 보면 색소 종류에 따른 정도 차이는 있지만 in vitro에서 참마 분획이 SOD활성을 촉진시키는 것으로 판단된다.

Table 120. APX activities of cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica*

Cosmetic composition	APX activity ($\mu\text{mol ascorbat oxidazed}/\text{min}/\text{mg protein}$)			
	Pigment composition	Pigment composition + EtOH extract	Pigment composition + BuOH extract	Pigment composition + EtOAc extract
Black rice	554.7 \pm 45.79	845.2 \pm 51.96	2635.9 \pm 104.18	3233.0 \pm 81.82
Purple sweet potato	875.3 \pm 39.85	839.6 \pm 26.41	1560.6 \pm 132.17	2001.2 \pm 48.73
Mature bitter melon	863.6 \pm 65.53	782.1 \pm 61.30	2654.1 \pm 146.23	4635.7 \pm 94.75
Paprika	1191.6 \pm 68.23	1232.9 \pm 107.56	2468.9 \pm 87.73	5062.3 \pm 127.05
Red cabbage	1715.7 \pm 143.34	2433.1 \pm 55.36	1938.0 \pm 44.46	4375.3 \pm 189.09
Yellow gardenia	458.0 \pm 22.71	945.4 \pm 79.35	1125.2 \pm 145.38	1451.6 \pm 49.28
Blue gardenia	379.7 \pm 78.35	508.4 \pm 50.78	399.3 \pm 31.58	901.7 \pm 89.34
Chinese foxglove	1146.0 \pm 68.02	1299.4 \pm 37.36	2590.8 \pm 42.75	5161.2 \pm 107.29
Mulberry leaves	1287.3 \pm 62.87	279.2 \pm 52.14	1541.8 \pm 49.24	2052.3 \pm 106.94
Onion peel	714.6 \pm 86.08	2260.5 \pm 206.44	2824.4 \pm 170.20	3433.0 \pm 90.50
Grape peel	1662.8 \pm 125.33	1598.5 \pm 129.32	5266.4 \pm 122.70	5839.5 \pm 114.68
Mulberry	2183.5 \pm 105.66	1255.8 \pm 40.40	2209.4 \pm 85.52	3413.0 \pm 137.25
Red beet	1052.3 \pm 75.29	2344.4 \pm 157.37	3381.0 \pm 179.01	3654.6 \pm 181.50
Gromwell	1290.9 \pm 146.20	1992.2 \pm 57.38	1732.4 \pm 69.73	2565.1 \pm 131.51
Cactus	2633.3 \pm 143.48	2738.0 \pm 252.38	4819.9 \pm 136.74	6262.2 \pm 145.62

*Data represent the mean values \pm SE of three independent experiments

색소추출물과 참마 분획별 추출물을 혼합한 조성물의 APX활성을 보면, 참마추출물을 혼합하지 않은 조성물에서는 백년초, 오디, 적양배추 등에서 높은 활성을 보였으며, 흑미, 치자청, 치자황 조성물에서는 상대적으로 낮은 활성을 나타냈다. 분획별 참마 추출물 혼합 조성물에서는 대부분 EtOAc층과 BuOH층에서 상대적으로 활성이 높았으며, EtOH층에서는 참마 무첨가 혼합물과 다소 비슷한 양상을 보였다. 이상의 결과에서 보면 색소 종류에 따른 정도 차이는 있지만 참마 분획물을 첨가했을 때 APX활성이 증가함을 알 수 있었다.

Table 121. CAT activities of cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica*

Cosmetic composition	CAT activity ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ decomposed/min/mg protein)			
	Pigment composition	Pigment composition + EtOH extract	Pigment composition + BuOH extract	Pigment composition + EtOAc extract
Black rice	179.3±5.55	81.2±8.71	53.5±3.95	25.7±1.03
Purple sweet potato	152.3±11.24	76.9±2.74	33.7±2.32	31.8±1.77
Mature bitter melon	110.1±2.35	103.3±7.58	43.8±2.23	21.5±3.44
Paprika	133.4±6.13	121.2±3.44	33.0±2.93	29.4±1.10
Red cabbage	343.5±12.68	307.2±4.18	139.4±6.22	57.1±2.64
Yellow gardenia	86.3±5.15	98.7±5.40	35.9±3.54	23.1±2.53
Blue gardenia	35.5±3.61	32.2±0.33	12.4±1.78	12.5±1.29
Chinese foxglove	176.3±11.25	169.3±11.25	52.2±3.69	41.7±1.63
Mulberry leaves	207.3±8.27	87.1±4.37	61.1±2.09	53.9±2.29
Onion peel	250.2±6.38	213.7±12.90	118.3±4.53	50.2±5.26
Grape peel	234.4±12.36	260.6±5.36	62.0±9.63	43.0±3.48
Mulberry	314.7±14.10	315.1±8.15	128.6±13.36	62.0±1.40
Red beet	178.3±7.65	196.1±8.98	106.3±8.57	52.1±5.73
gromwell	109.6±5.32	96.3±10.33	33.7±5.96	47.7±2.60
cactus	478.9±5.98	336.1±31.03	134.0±9.02	67.3±5.82

*Data represent the mean values±SE of three independent experiments

색소추출물과 참마 분획별 추출물을 혼합한 조성물의 CAT활성을 보면, 참마추출물을 혼합하지 않은 조성물에서는 적양배추, 뽕잎, 양파껍질, 포도과피, 오디, 백년초 등에서 높은 활성을 보였으며, 치자청, 치자황, 여주, 지치 조성물에서는 상대적으로 낮은 활성을 나타냈다. 분획별 참마 추출물을 혼합한 조성물에서는 첨가하지 않은 조성물에 비해 모든 층에서 CAT활성이 낮았으며, 특히 EtOAc층에서 가장 낮은 활성을 보였다. 이는 항산화효소 종류에 따라 참마 분획추출물 첨가 효능이 다르게 나타남을 알 수 있었다.

다. 항균활성 검정

항균활성 검정은 한천배지확산법(disk agar plate diffusion method)으로 측정한다. 즉, 각 시험미생물에 적합한 배지에 10^7 CFU/mL 농도로 시험미생물을 배양한 soft agar를 petri dish에 분주한 후 paper disc를 올려놓고 시료 추출물 40 μL 씩 분주 후 배양하여 저해환의 생성을 관찰하였다. 24시간 이내에 저해환이 생성된 경우 항균활성이 양성인 것으로 판정하였으며, 저해환의 직경을 측정, 비교하였다.

Table 122. List of strains and cultivation conditions used for screening of antimicrobial activity test

Strains	Cultivarion conditions
Gram positive bacteria	
<i>Staphylococcus aureus</i> (1621)	37°C, Nutrient Agar
<i>Bacillus subtilis</i> (2023)	37°C, Nutrient Agar
<i>Listeria monocytogenes</i> (3569)	37°C, Brain Heart Infusion Agar
Gram negative bacteria	
<i>Escherichia coli</i> (2593)	37°C, Nutrient Agar
<i>Salmonella enterica</i> (1925)	37°C, Nutrient Agar
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (2471)	37°C, Marine Agar
<i>Proteus vulgaris</i> (2433)	37°C, Nutrient Agar
Fungus	
<i>Aspergillus flavus</i> (6905)	37°C, Potato Dextrose Agar

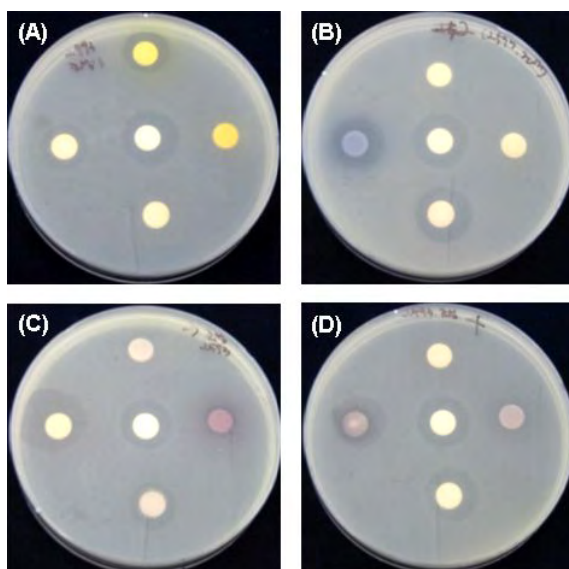


Fig. 165. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment against the microorganism (*Escherichia coli*) in paper disc diffusion assay.(in a clockwise direction)

- A: mature bitter melon, paprika, chinese foxglove, yellow gardenia
- B: immature bitter melon, mulberry leaves, onion peel, blue gardenia
- C: purple sweet potato, mulberry, grape peel, red cabbage
- D: red beet, black rice, cactus, gromwell

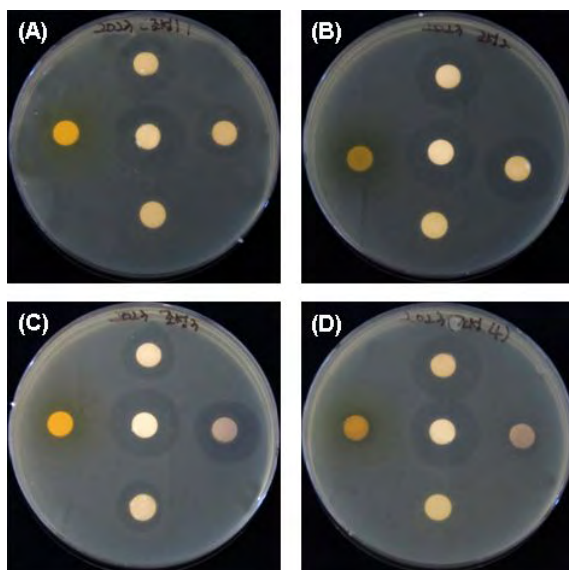


Fig. 166. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment against the microorganism (*Bacillus subtilis*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction)

- A: mature bitter melon, paprika, chinese foxglove, yellow gardenia
- B: immature bitter melon, mulberry leaves, onion peel, blue gardenia
- C: purple sweet potato, mulberry, grape peel, red cabbage
- D: red beet, black rice, cactus, gromwell

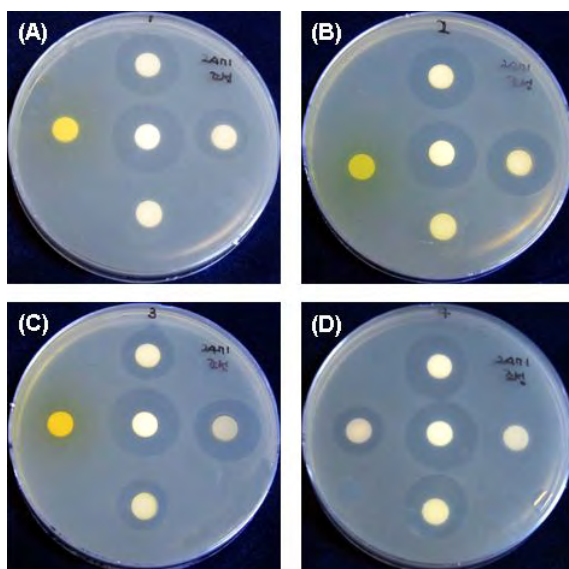


Fig. 167. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment against the microorganism (*Vibrio parahaemolyticus*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction)

A: mature bitter melon, paprika, chinese foxglove, yellow gardenia

B: immature bitter melon, mulberry leaves, onion peel, blue gardenia

C: purple sweet potato, mulberry, grape peel, red cabbage

D: red beet, black rice, cactus, gromwell

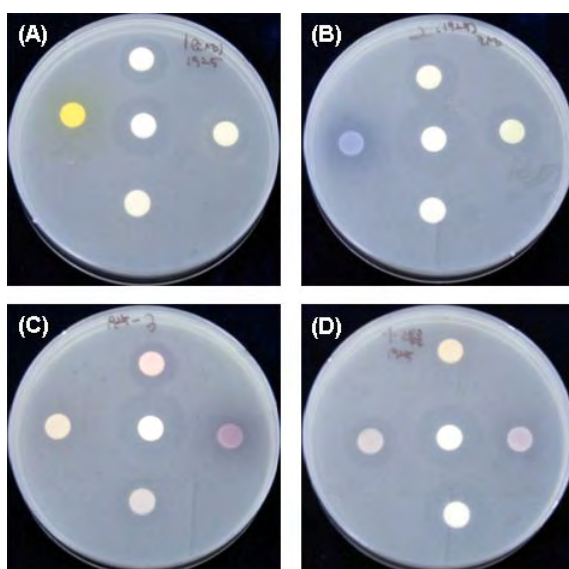


Fig. 168. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment against the microorganism (*Salmonella enterica*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction)

A: mature bitter melon, paprika, chinese foxglove, yellow gardenia

B: immature bitter melon, mulberry leaves, onion peel, blue gardenia

C: purple sweet potato, mulberry, grape peel, red cabbage

D: red beet, black rice, cactus, gromwell

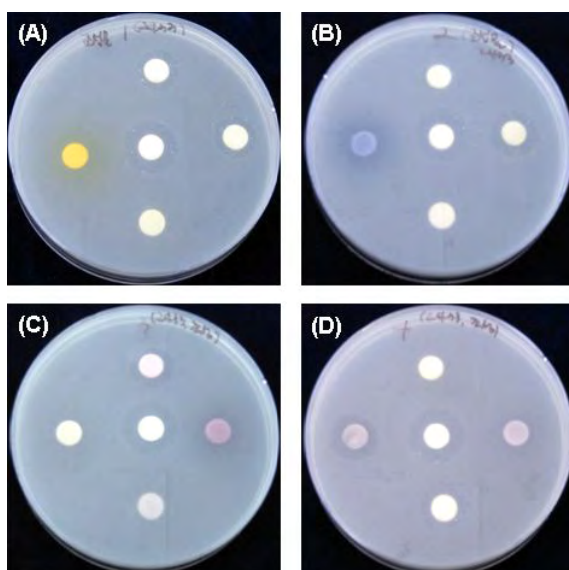


Fig. 169. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment against the microorganism (*Proteus vulgaris*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction)

A: mature bitter melon, paprika, chinese foxglove, yellow gardenia

B: immature bitter melon, mulberry leaves, onion peel, blue gardenia

C: purple sweet potato, mulberry, grape peel, red cabbage

D: red beet, black rice, cactus, gromwell

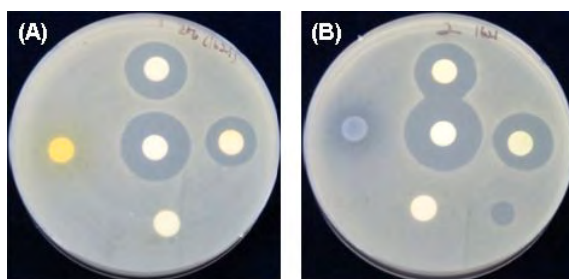


Fig. 170. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment against the microorganism (*Staphylococcus aureus*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction)

- A: mature bitter melon, paprika, chinese foxglove, yellow gardenia
- B: immature bitter melon, mulberry leaves, onion peel, blue gardenia
- C: purple sweet potato, mulberry, grape peel, red cabbage
- D: red beet, black rice, cactus, gromwell

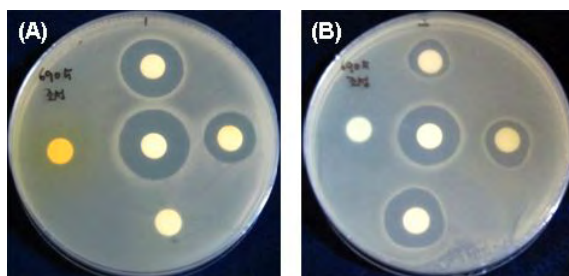
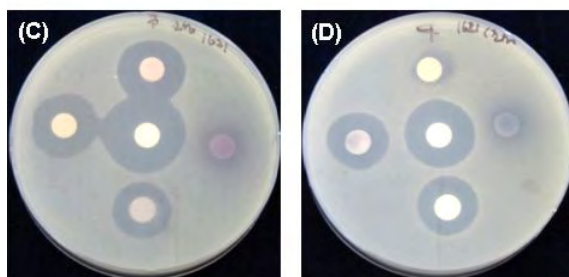


Fig. 171. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment against the microorganism (*Aspergillus flavus*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction)

- A: mature bitter melon, paprika, chinese foxglove, yellow gardenia
- B: immature bitter melon, mulberry leaves, onion peel, blue gardenia
- C: purple sweet potato, mulberry, grape peel, red cabbage
- D: red beet, black rice, cactus, gromwell

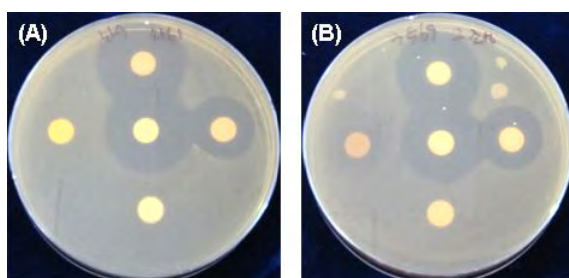
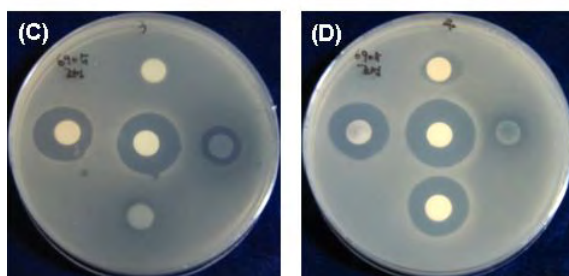
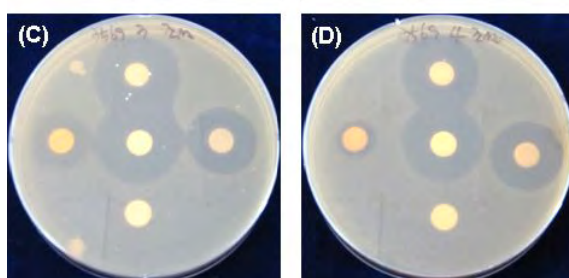


Fig. 172. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment against the microorganism (*Listeria monocytogenes*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction)

- A: mature bitter melon, paprika, chinese foxglove, yellow gardenia
- B: immature bitter melon, mulberry leaves, onion peel, blue gardenia
- C: purple sweet potato, mulberry, grape peel, red cabbage
- D: red beet, black rice, cactus, gromwell



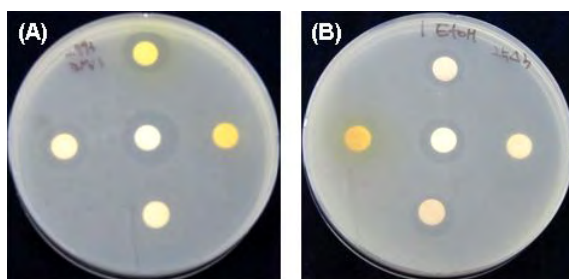


Fig. 173. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Escherichia coli*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : mature bitter melon, paprika, Chinese foxglove, yellow gardenia)

A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract

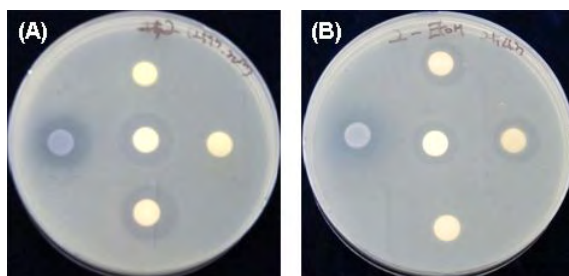
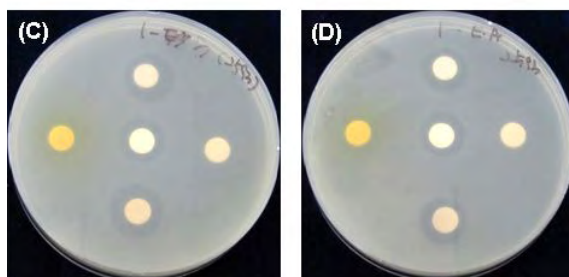


Fig. 174. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Escherichia coli*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : immature bitter melon, mulberry leaves, onion peel, blue gardenia)

A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract

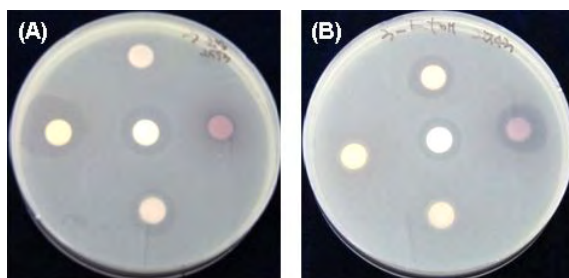
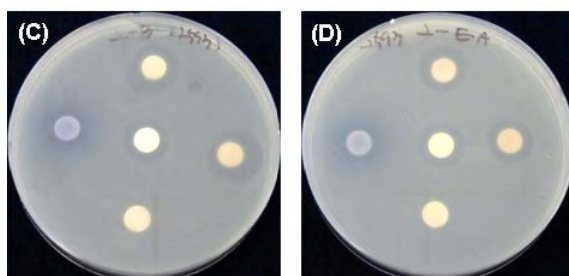
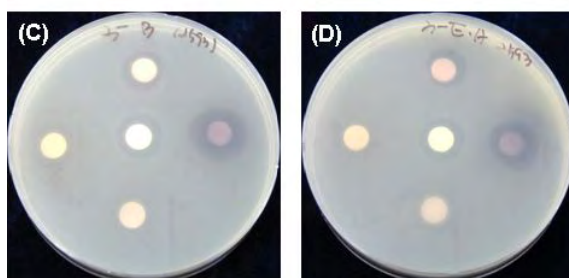


Fig. 175. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Escherichia coli*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : purple sweet potato, mulberry, grape peel, red cabbage)

A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract



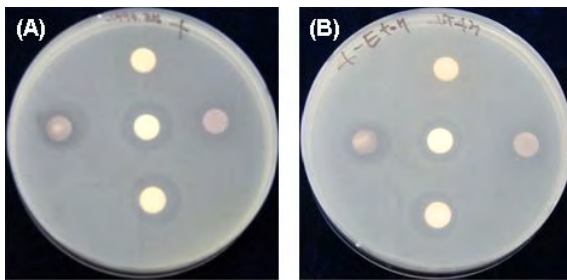


Fig. 176. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Escherichia coli*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : red beet, black rice, cactus, gromwell)

A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract

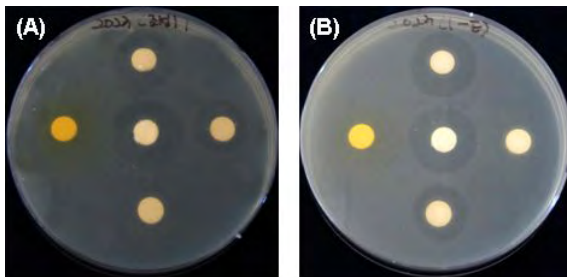
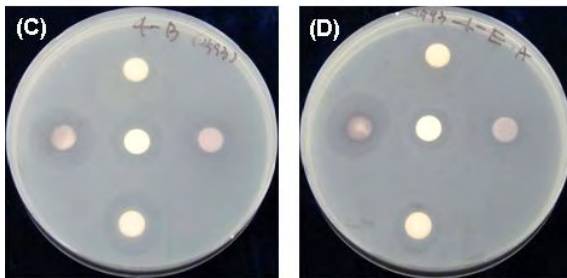


Fig. 177. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Bacillus subtilis*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : mature bitter melon, paprika, chinese foxglove, yellow gardenia)

A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract

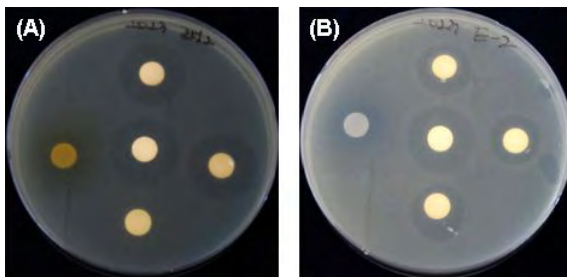
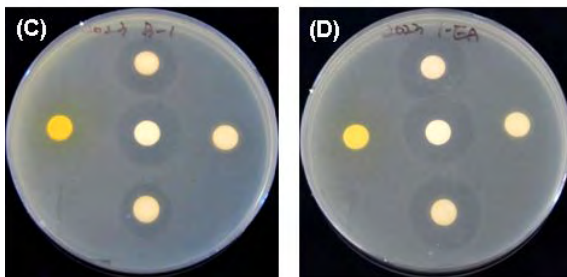
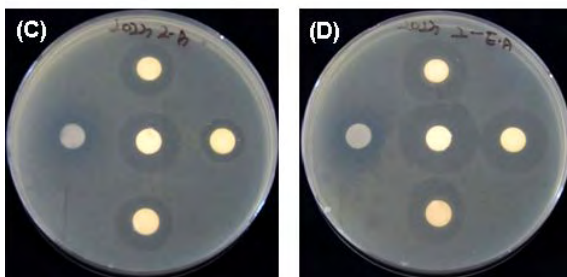


Fig. 178. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Bacillus subtilis*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : immature bitter melon, mulberry leaves, onion peel, blue gardenia)

A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract



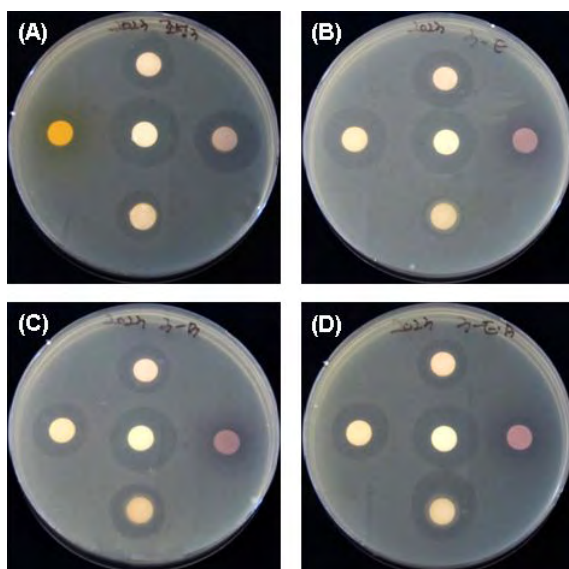


Fig. 179. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Bacillus subtilis*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : purple sweet potato, mulberry, grape peel, red cabbage)

A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract

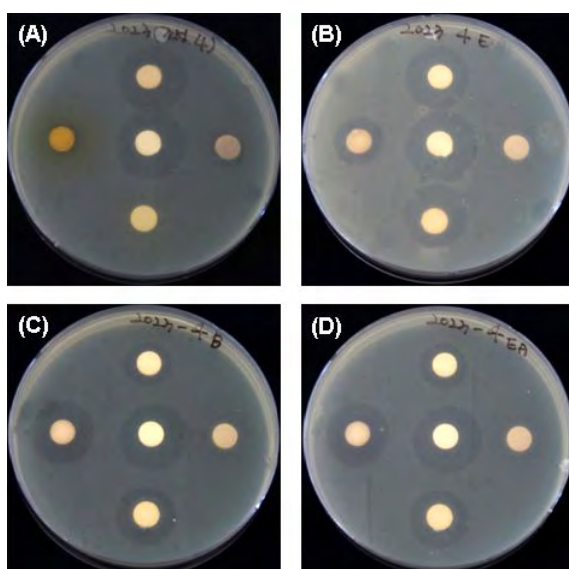


Fig. 180. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Bacillus subtilis*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : red beet, black rice, cactus, gromwell)

A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract

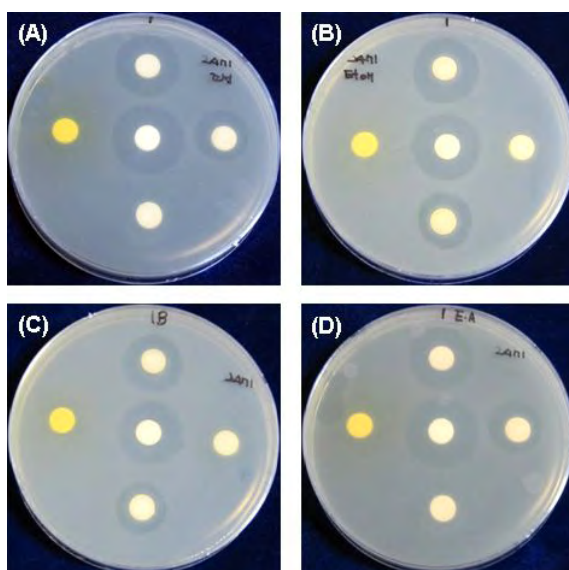


Fig. 181. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Vibrio parahaemolyticus*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : mature bitter melon, paprika, chinese foxglove, yellow gardenia)

A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract

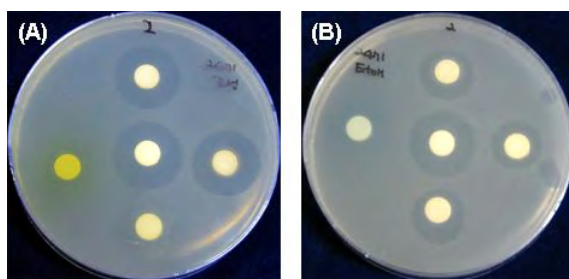


Fig. 182. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Vibrio parahaemolyticus*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : immature bitter melon, mulberry leaves, onion peel, blue gardenia)

A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract

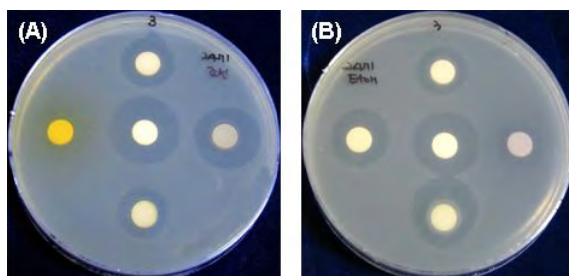
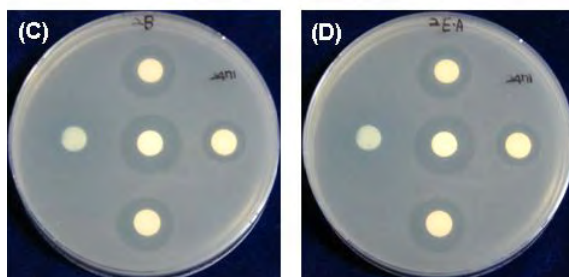


Fig. 183. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Vibrio parahaemolyticus*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : purple sweet potato, mulberry, grape peel, red cabbage)

A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract

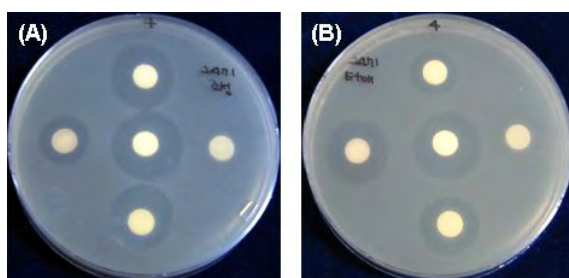
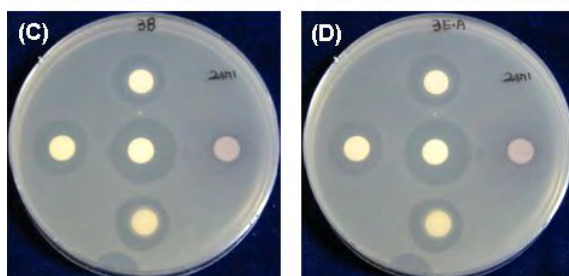
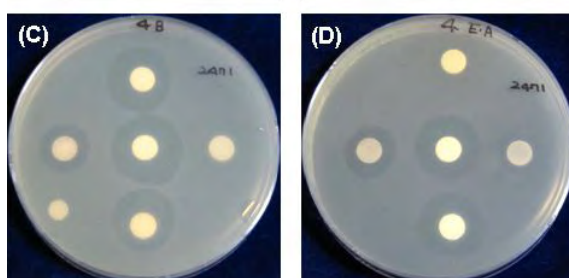


Fig. 184. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Vibrio parahaemolyticus*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : red beet, black rice, cactus, gromwell)

A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract



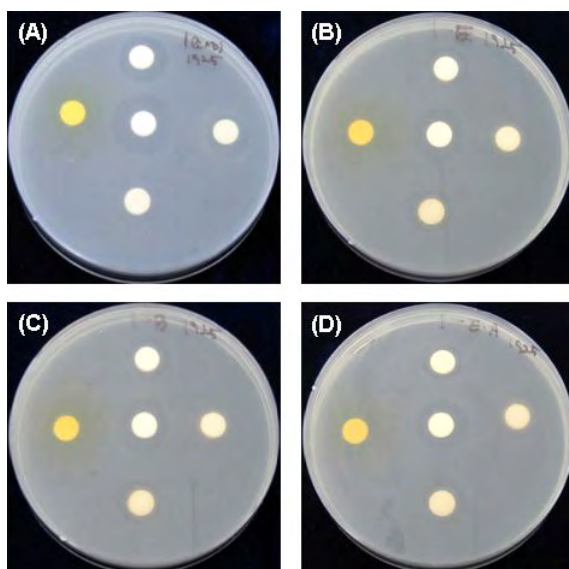


Fig. 185. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Salmonella enterica*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : mature bitter melon, paprika, chinese foxglove, yellow gardenia)

A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract

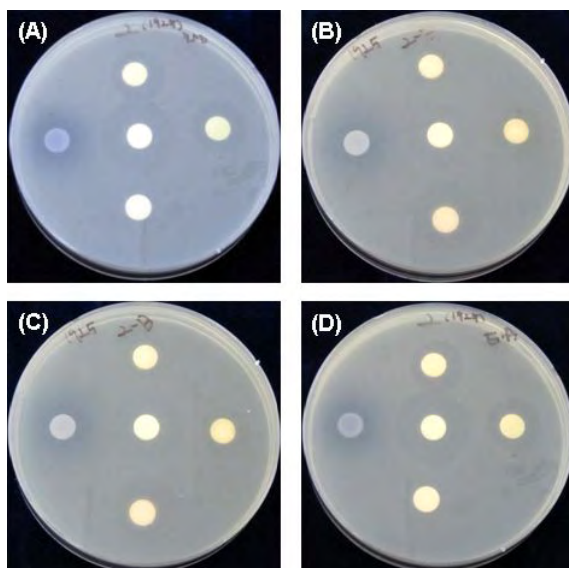


Fig. 186. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Salmonella enterica*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : immature bitter melon, mulberry leaves, onion peel, blue gardenia)

A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract

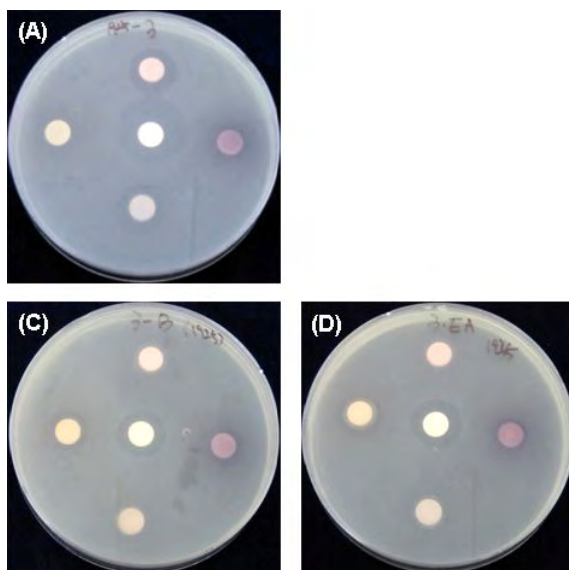


Fig. 187. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Salmonella enterica*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : purple sweet potato, mulberry, grape peel, red cabbage)

A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract

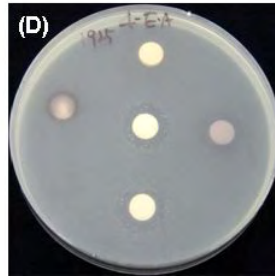
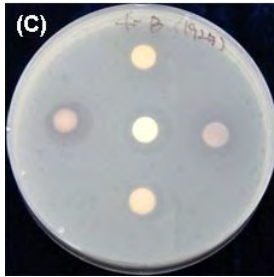
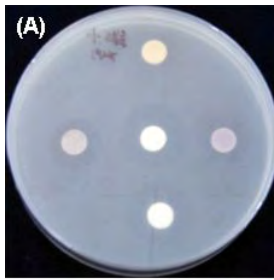


Fig. 188. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Salmonella enterica*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : red beet, black rice, cactus, gromwell)

A: Pigment composition

B: Pigment composition+EtOH extract

C: Pigment composition+BuOH extract

D: Pigment composition+EtOAc extract

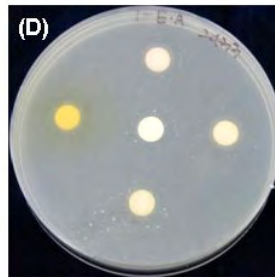
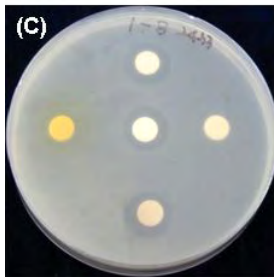
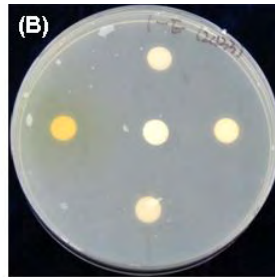
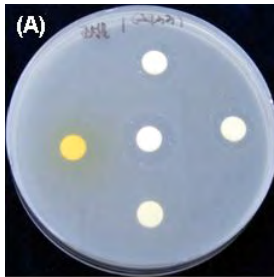


Fig. 189. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Proteus vulgaris*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : mature bitter melon, paprika, chinese foxglove, yellow gardenia)

A: Pigment composition

B: Pigment composition+EtOH extract

C: Pigment composition+BuOH extract

D: Pigment composition+EtOAc extract

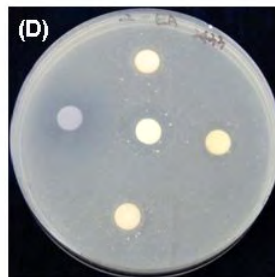
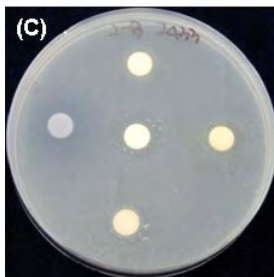
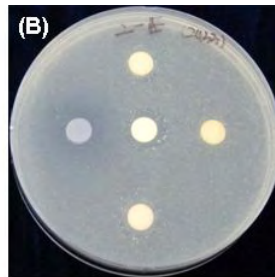
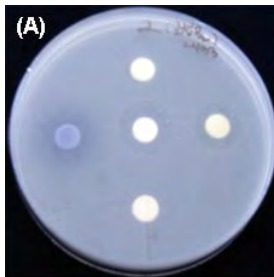


Fig. 190. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Proteus vulgaris*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : immature bitter melon, mulberry leaves, onion peel, blue gardenia)

A: Pigment composition

B: Pigment composition+EtOH extract

C: Pigment composition+BuOH extract

D: Pigment composition+EtOAc extract

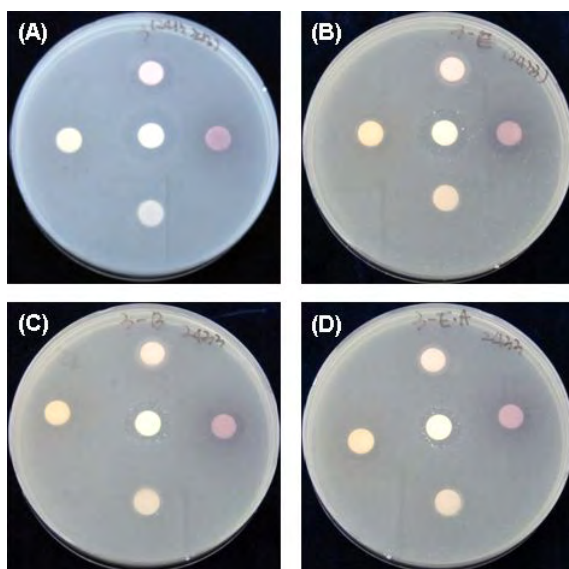


Fig. 191. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Proteus vulgaris*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : purple sweet potato, mulberry, grape peel, red cabbage)
 A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract

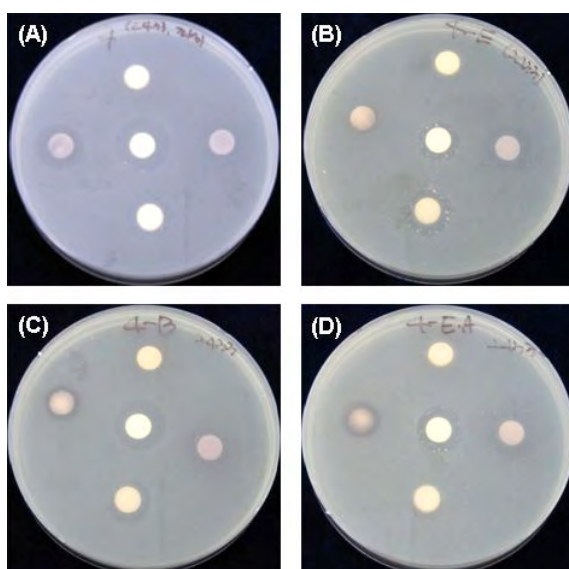


Fig. 192. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Proteus vulgaris*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : red beet, black rice, cactus, gromwell)
 A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract

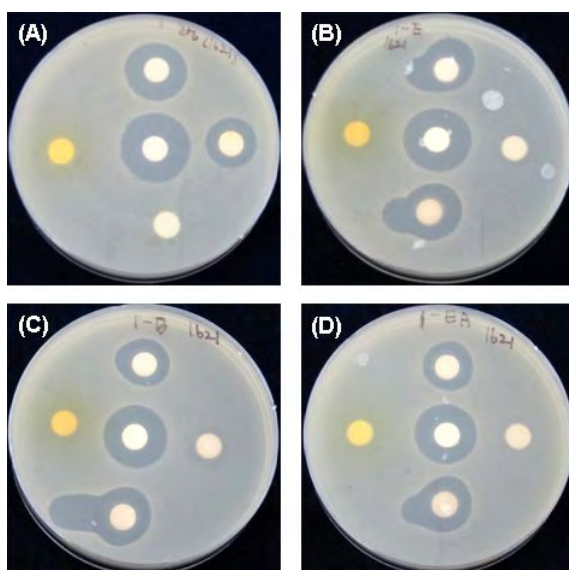


Fig. 193. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Staphylococcus aureus*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : mature bitter melon, paprika, chinese foxglove, yellow gardenia)
 A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract

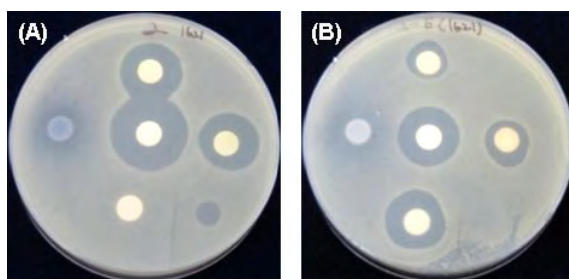
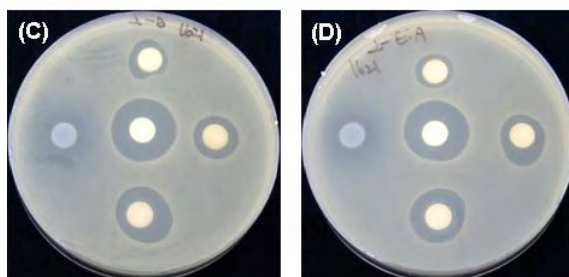


Fig. 194. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Staphylococcus aureus*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : immature bitter melon, mulberry leaves, onion peel, blue gardenia)



A: Pigment composition
B: Pigment composition+EtOH extract
C: Pigment composition+BuOH extract
D: Pigment composition+EtOAc extract

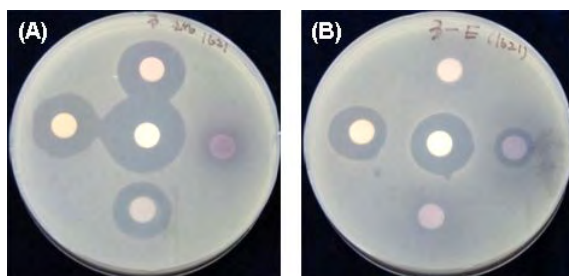
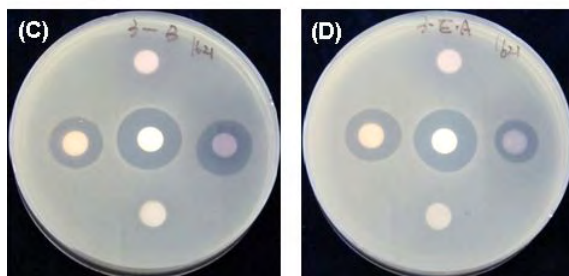


Fig. 195. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Staphylococcus aureus*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : purple sweet potato, mulberry, grape peel, red cabbage)



A: Pigment composition
B: Pigment composition+EtOH extract
C: Pigment composition+BuOH extract
D: Pigment composition+EtOAc extract

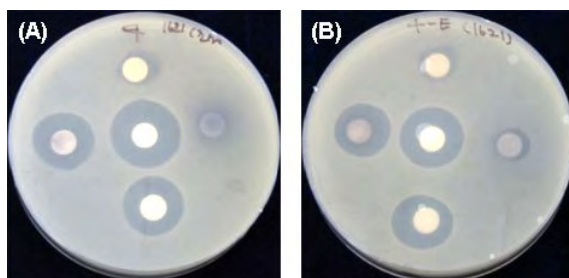
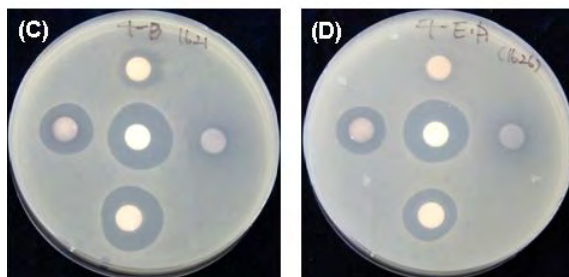


Fig. 196. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Staphylococcus aureus*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : red beet, black rice, cactus, gromwell)



A: Pigment composition
B: Pigment composition+EtOH extract
C: Pigment composition+BuOH extract
D: Pigment composition+EtOAc extract

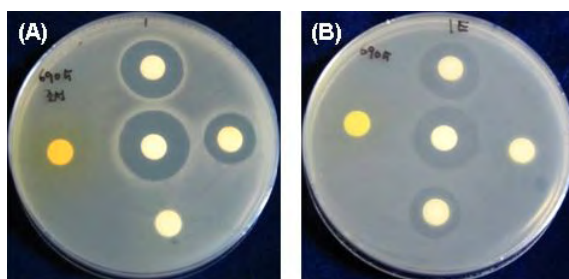
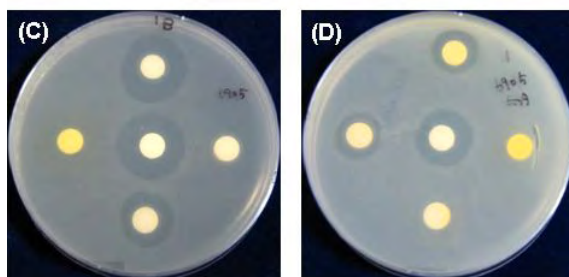


Fig. 197. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Aspergillus flavus*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : mature bitter melon, paprika, chinese foxglove, yellow gardenia)



A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract

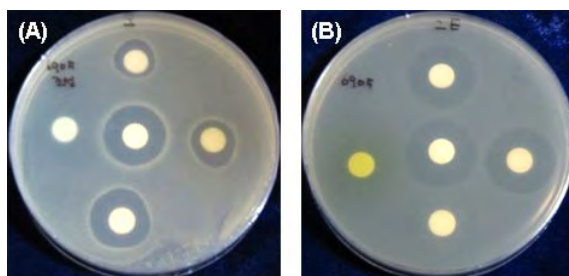
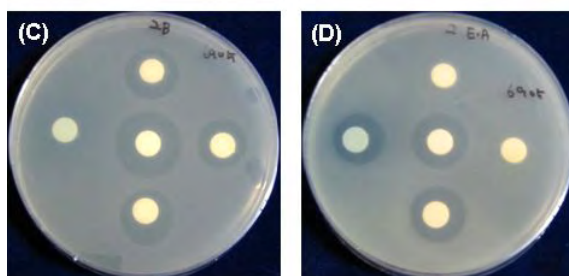


Fig. 198. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Aspergillus flavus*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : immature bitter melon, mulberry leaves, onion peel, blue gardenia)



A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract

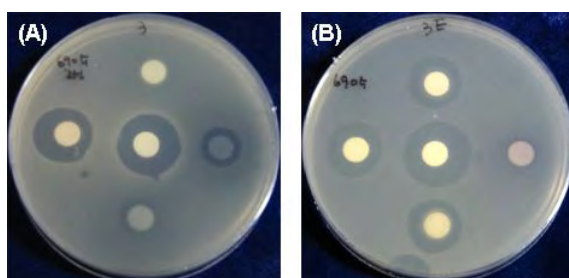
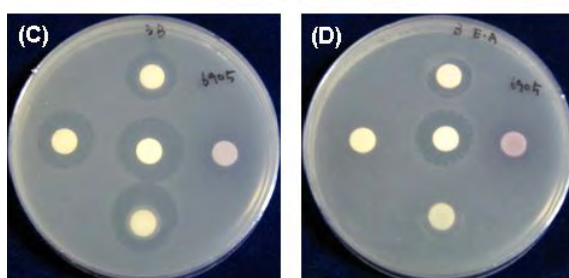


Fig. 199. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Aspergillus flavus*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : purple sweet potato, mulberry, grape peel, red cabbage)



A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract

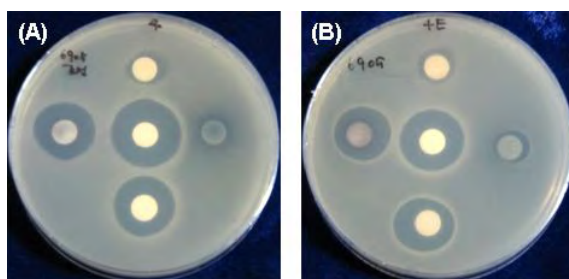


Fig. 200. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Aspergillus flavus*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : red beet, black rice, cactus, gromwell)

A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract

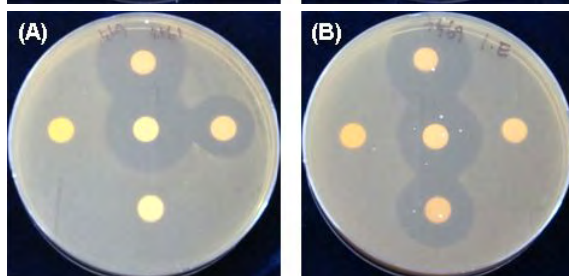
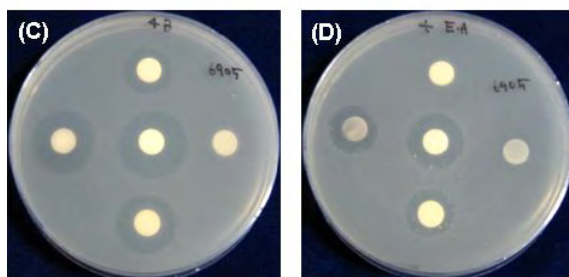


Fig. 201. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Listeria monocytogenes*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : mature bitter melon, paprika, chinese foxglove, yellow gardenia)

A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract

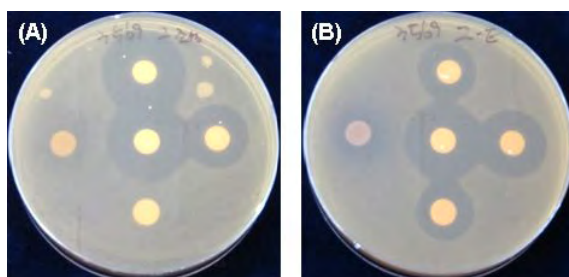
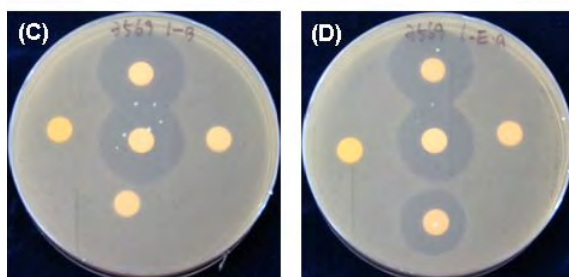
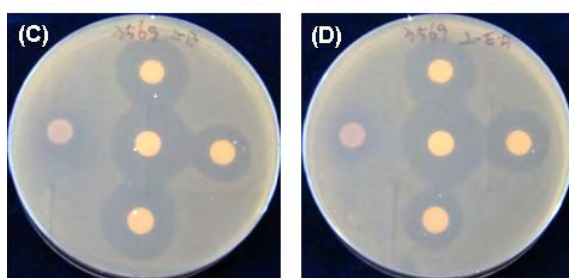


Fig. 202. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Listeria monocytogenes*) in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : immature bitter melon, mulberry leaves, onion peel, blue gardenia)

A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract



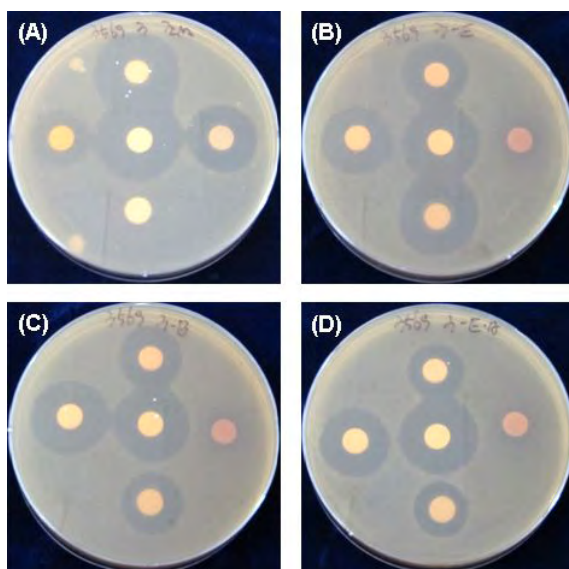


Fig. 203. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Listeriaia monocytogenes* in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : purple sweet potato, mulberry, grape peel, red cabbage)
 A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract

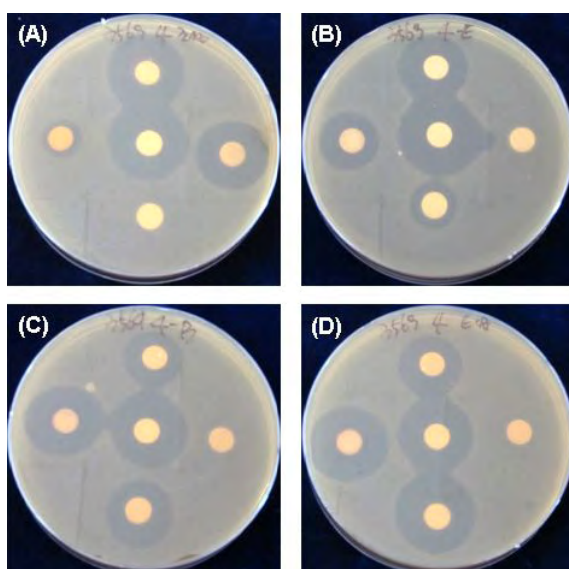


Fig. 204. Inhibition activity of the cosmetic composition having the natural plant pigment and various partition extracts in *Listeriaia monocytogenes* in paper disc diffusion assay. (in a clockwise direction : red beet, black rice, cactus, gromwell)
 A: Pigment composition
 B: Pigment composition+EtOH extract
 C: Pigment composition+BuOH extract
 D: Pigment composition+EtOAc extract

15종의 천연색소 혼합조성물 및 분획별 참마추출물 첨가 조성물에 대하여 agar diffusion test를 이용한 항균활성을 검색한 결과, 참마 추출물을 첨가하지 않은 색소혼합 조성물의 경우 Gram 양성균인 *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeriaia monocytogenes* 에 대해서 치자청 및 치자황 색소를 제외한 대부분의 색소조성물에서 항균활성이 높은 것으로 확인되었다. 또한 색소혼합 조성물에 분획별 참마추출물을 혼합한 조성물의 경우도 *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeriaia monocytogenes* 및 Gram 음성균인 *Vibrio parahaemolyticus*에 대해서 대부분의 색소 혼합조성물에서 저해환을 형성하였으며, 특히 EtOH, BuOH, EtOAc 분획추출물 간 항균활성에 큰 차이를 나타내지는 않았다.

7. 천연색소 및 향노화물질 함유 화장품조성물 제조 표준화 조건 확립

천연색소 및 향노화물질을 포함하는 입술용 화장품 조성물 제조를 위한 표준화

조건을 확립하기 위해 다양한 방법으로 실험을 수행하여 정립된 결과를 아래 표에 정리하였다. 각 소재의 함량은 제품 유형에 따라 달리할 수 있으며, 제시된 내용은 각 제품을 제조하기 위한 기본 베이스가 되는 조성물의 표준화라고 볼 수 있다. 조성물을 만드는 과정을 기술하면 다음과 같다. 즉, 미세분말화한 천연색소를 자석교반기 혹은 Sonicator 등을 이용하여 증류수 또는 증류수로 추출한 식물추출물에 용해시켜 색소추출물을 만들고, 여과하여 잔여물을 제거하였다. 잔여물을 제거한 색소추출물을 내열용기에 옮겨 전열기(hot plate) 위에서 70℃ 전후로 가열한 다음, 부가첨가제로 글리세린, 내추럴베타인을 넣고 혼합하였다. 이와 동시에 다른 내열용기에 오일류, 버터류 및 왁스류 재료를 넣고 잘 혼합되어 완전히 용해되도록 저어주면서 전열기(hot plate) 위에서 70℃ 전후로 가열하여, 완전히 용해된 오일계열 재료에 색소추출물을 시약용 스푼으로 잘 저으면서 조금씩 부어가며 잘 혼합되도록 섞어주었다. 이 때, 오일과 색소추출물 비율은 7:3으로 하였다. 그리고 핸드 블렌더(hand blender)를 이용하여 15분 정도 잘 저어주었으며, 모든 재료가 잘 섞여 유중수화된 조성물을 실온에서 서서히 식힌 다음 각종 첨가제를 적당량 넣고 잘 혼합하여 묽은 젤 타입의 색소혼합 조성물의 제조를 완성하였다. 이와 같은 색소 추출물 함유 유화 조성물을 제조하기 위한 상세한 재료를 하기 표 123에 나타내었다.

Table 123. Standardization of manufactures of cosmetic composition having the natural plant pigment and extracts in *Dioscorea japonica*

	1	2	3	4	5	6	7	8	Content (%)
Natural plant pigment extracts	Black rice	Mulberry leaves	Chinese foxglove	Grape peel	Red cabbage	Bitter melon	Mulberry	Onion peel	20
Antiaging substance	<i>Dioscorea japonica</i> extract	<i>Dioscorea japonica</i> extract	<i>Dioscorea japonica</i> extract	<i>Dioscorea japonica</i> extract	<i>Dioscorea japonica</i> extract	<i>Dioscorea japonica</i> extract	<i>Dioscorea japonica</i> extract	<i>Dioscorea japonica</i> extract	3
Plant extracts	감초, 오미자 추출물	여성초 추출물	녹차 추출물	카렌둘라 추출물	창포 추출물	인삼 추출물	당귀 추출물	은행잎 추출물	5
Oil	포도씨 오일, 코코넛 오일	아보카도오일, 코코넛 오일	호호바 오일, 포도씨 오일	호호바 오일, 피마자 오일	마카다미아 너트오일	스윗아몬드 오일, 코코넛 오일	달맞이 (꽃,종자) 오일	동백 오일, 카렌둘라오일	45
Butter	코코아 버터	호호바 버터	망고버터	시어버터	코코아 버터	망고버터	시어버터	호호바 버터	12
Wax	칸테릴라왁스	밀납	올리브 유화왁스	몬타왁스	이멜시 화잉왁스	이멜시 화잉왁스	몬타왁스	밀납	5
Additive	식물성 글리세린	식물성 글리세린	식물성 글리세린	식물성 글리세린	식물성 글리세린	식물성 글리세린	식물성 글리세린	식물성 글리세린	2
	내추럴 베타인	내추럴 베타인	내추럴 베타인	내추럴 베타인	내추럴 베타인	내추럴 베타인	내추럴 베타인	내추럴 베타인	2
	에센셜 오일	에센셜 오일	에센셜 오일	에센셜 오일	에센셜 오일	에센셜 오일	에센셜 오일	에센셜 오일	2
	천연 비타민E	천연 비타민E	천연 비타민E	천연 비타민E	천연 비타민E	천연 비타민E	천연 비타민E	천연 비타민E	2
	천연 방부제	천연 방부제	천연 방부제	천연 방부제	천연 방부제	천연 방부제	천연 방부제	천연 방부제	2
Total									100

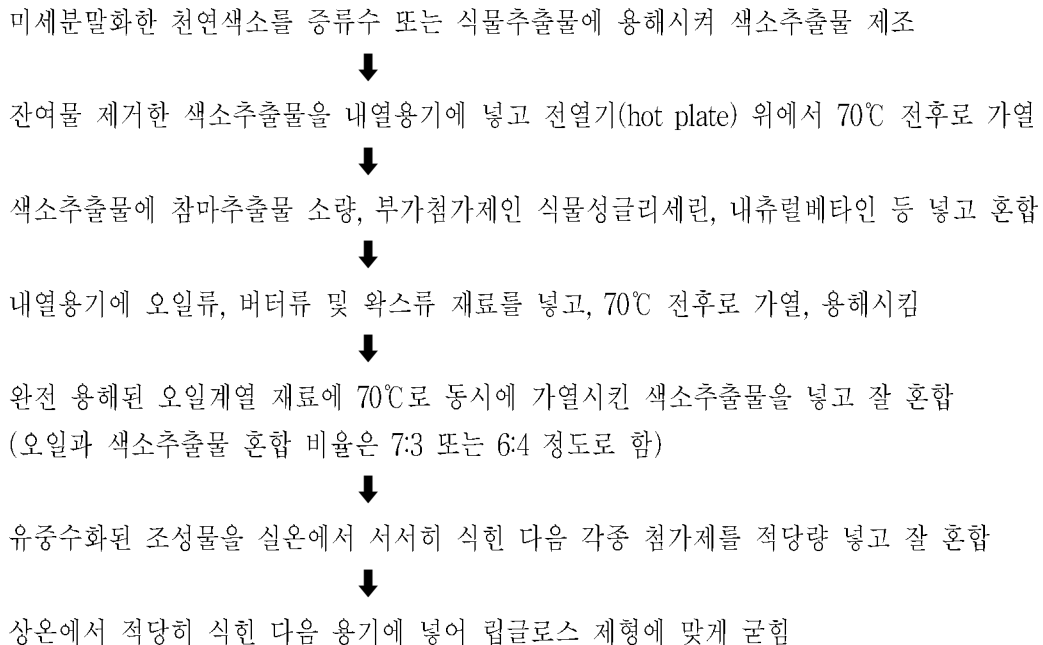
8. 립케어 제품 품목별 제조공정 확립

상기 실험결과들을 토대로 조제한 혼합조성물을 기본제제로 하여 각 품목별 립케어 제품을 만드는 공정을 정립하기 위하여 적용된 천연색소 색상이 비교적 안정화되는 다양한 조건에서 제조실험을 반복 수행하였다. 각 제품의 적정 혼합조건과 비율 등은 상기 Table 123에서 제시한 내용을 기본으로 하여 제조하였으며, 이는 향후 시제품 제조에 있어 기본 매뉴얼이 될 것으로 예상된다.

현재 제품 제조상의 적정 조건을 구명하기 위해 수행 중에 있는 각 제형별 천연색소 함유 립케어 제품 제조공정을 간단히 요약해 보면 다음과 같다. 전반부 제조공정은 모든 제형에서 공통으로 해당되며, 첨가되는 모든 재료는 되도록 천연소재 사용을 원칙으로 한다. 그러나 대부분의 천연색소는 오일류에 잘 용해되지 않으므로 직접 오일류에 혼합할 수 없는 문제가 있어 색소추출물을 오일류에 유중수화된 형태로 색소혼합 조성물을 만들었다.

가. 제형별 제조공정

(1) 립글로스 제조공정



(2) 립스틱 및 립밤 제조과정

미세분말화한 천연색소를 증류수 또는 식물추출물에 용해시켜 색소추출물 제조



잔여물 제거한 색소추출물을 내열용기에 넣고 전열기(hot plate) 위에서 70℃ 전후로 가열



색소추출물에 참마추출물 소량, 부가첨가제인 식물성글리세린, 내추럴베타인 등 넣고 혼합



내열용기에 오일류, 버터류 및 왁스류 재료를 넣고, 70℃ 전후로 가열, 용해시킴
(립스틱 형상을 갖추기 위해 고체성의 왁스류 용량을 다소 높게 정량)



완전 용해된 오일계열 재료에 70℃로 동시에 가열시킨 색소추출물을 넣고 잘 혼합
(오일과 색소추출물 혼합 비율은 8:2 또는 9:1 정도로 함)



유중수화된 조성물을 실온에서 서서히 식힌 다음 각종 첨가제를 적당량 넣고 잘 혼합



상온에서 적당히 식힌 다음 립스틱 및 립밤 용기 틀에 부어 굳힘

(2) 천연색소 혼합 조성물로 제조한 립글로스 기초제품의 보습력 검증

천연색소 함유 유화 조성물을 베이스로 하여 제조한 기초제품의 보습력을 측정하기 위해, 정상적인 입술피부의 특성을 지닌 것으로 판단되는 20~40대 여성 10인을 선발하였다. 그리고 이들을 대상으로 각 천연색소 종류별 색소혼합 조성물로 제조한 립글로스를 입술피부에 도포한 다음 유수분측정기(Skin Analyzer HL-611, Beautistyle Int. Co., Taiwan)를 이용하여 1시간 간격으로 경시적인 보습유지 효과를 측정하였다.

Table 124. Standards for valuation of oil and moisture amount on lip skin of cosmetic composition

Standards for valuation of moisture amount					
moisture amount	33% 이하	34~37%	38~42%	43~46%	47% 이상
skin type	greatly dry skin	dry skin	normal skin	moist skin	very moist skin
Standards for valuation of oil amount					
oil amount	1	2	3	4	5
skin type	greatly dry skin	dry skin	normal skin	oily skin	very oily skin

Table 125. Sustainability of oil and moisture amount on lip skin of cosmetic composition

Cosmetic composition	Moisture amount(%)			Oil amount		
	0h	1h	2h	0h	1h	2h
red cabbage	53	48	42	5	3	3
mulberry	53	47	42	5	3	2
purple potato	49	47	41	5	3	2
black rice	47	42	37	4	3	2
grape peel	52	41	39	5	4	2
red beet	53	42	36	5	3	2
blue gardenia	56	43	37	4	3	2
yellow gardenia	54	41	39	4	3	2
chinese foxglove	52	41	36	5	3	2
paprika	49	42	40	5	3	2
mulberry leaves	53	46	42	5	4	3
biter melon	55	45	42	5	4	3
onion peel	53	40	36	4	3	2
cactus	55	47	40	5	4	3
gromwell	56	42	39	4	3	2

립케어 제품을 위한 천연색소 혼합 조성물 함유 샘플 제품의 보습력을 알아보기 위해 경시적인 수분 및 유분 함량을 측정된 결과, 상기 표에 나타난 바와 같이, 색소 종류 및 시간 경과에 따라 다소 차이를 보였으나, 전체적으로 우수한 보습력을 지니는 것으로 나타났다.

9. 천연색소, 향노화 물질 함유 시제품 제조 및 안전성/안정성 조사

가. 립케어용 시제품 제형별 최적 배합비율 조사

(1) 립밤, 립글로스, 립스틱(립팔레트) 제조 및 최적 배합 비율

15종의 천연색소와 참마 주정알코올 추출물, 오일류, 버터류, 왁스류 및 부가첨가제를 이용하여 각 천연색소 추출물 첨가량을 달리하여 혼합 제조한 예비실험 과정을 통해 외관적 특성과 물성 등을 고려한 평가방법으로 각 제형별 최적의 배합비율을 판정하였다. 즉, 천연색소 추출물(참마추출물 함유)을 총량 대비 3%, 5%, 7%, 9%, 11%, 13%, 15% 중량비로 각각 혼합하여 유화가 적정하게 이루어지는 첨가 비율을 조사한 바, 립밤 7%, 립글로스 9% 그리고 립스틱은 11% 비율이 적합한 것으로 나타났다. 특히 립스틱 제조에서의 천연색소 첨가량은 립밤, 립글로스보다 5배의 색소분말을 용해하여 추출물을 만들었으며, 참마 추출물은 각 색소추출물에 10% 중량비로 혼합하였다. 일반적으로 립밤, 립글로스, 립스틱을 제조하는데 있어 물 등의 수용성 계열은 첨가되지 않기 때문에 대부분 수용성인 천연색소 추출물을 서로 용

해되지 않는 오일계열에 혼합하기 위해서 W/O유화법으로 젤에멀전을 만들어서 시제품을 제조하였다. 각 색소 첨가 제형별 최적 배합비율을 하기 표에 나타내었다.

Table 126. The optimum mixture ratio of manufactures of lip balm, lip gloss and lip stick having the natural plant pigment and extracts of *Dioscorea japonica*.

Ingredient (mL)	Lip balm	Lip gloss	Lip stick (Lip palette)
Natural plant pigment extracts(including plant extracts)	6.3%	8.1%	10%
<i>Dioscorea japonica</i> extract	0.7%	0.9%	1%
Oil	Castor oil 35%	Castor oil 53% Hempseed oil 16% Grape seed oil 8%	Castor oil 30% Coconut oil 21%
Butter	Cocoa butter 33% Mango butter 16%	Shea butter 5%	
Wax	Candelilla wax 3.5% Bees wax 3.5%	Candelilla wax 3.5%	Candelilla wax 7% Bees wax 6%
Lanolin		2.5%	10%
Plant glycerin			10%
Aloe vera gel		1%	
Cetyl alcohol			3%
Vitamin E	1%	1%	1%
Natural preservative	0.7%	0.7%	0.7%
Essential oil	0.3%	0.3%	0.3%
Total content (%)	100%	100%	100%

(2) 립크림 제조 및 최적 배합 비율

오일류, 버터류, 왁스류 등을 용해 혼합한 오일계열과 15종의 천연색소를 용해한 추출물인 각 워터계열의 비율을 달리하여 립크림 제품을 제조하여 외관적 특성과 물성 등을 고려한 최적의 배합비율을 판정하였다. 즉, 다양한 기능성 식물 추출액과 증류수로 용해한 천연색소 추출물(참마추출물 함유)을 총량 대비 50%, 55%, 60%, 65%, 70% 중량비로 각각 혼합하여 크림상으로 유화가 적정하게 이루어지는 첨가 비율을 조사한 바, 워터계열 색소 추출물 65% 비율이 가장 적합한 것으로 나타났다. 이 때 참마 추출물은 각 색소 추출물에 약 5% 중량비로 혼합하였다.

Table 127. The optimum mixture ratio of manufacture of lip cream having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

Ingredient (mL)	Lip cream
Natural plant pigment extracts (including plant extracts)	62%
<i>Dioscorea japonica</i> extract	3%
Oil	Green tea seed oil 5% Grape seed oil 5% Wheatgerm oil 4% Coconut oil 4%
Butter	Cocoa butter 3.5% Shea butter 3.5%
Wax	Emulsifying Wax 6%
Aloe vera gel	1.5%
Vitamin E	1.5%
Natural preservative	0.7%
Essential oil	0.3%
Total content (%)	100%

나. 립케어용 시제품의 기능성 평가

(1) 제형별 시제품의 유효성 검색 위한 항산화능 평가

(가) DPPH radical 소거능(전자공여능)

각 시제품을 용해한 추출물을 Choi 등의 방법에 의한 수소전자공여능에 의해 항산화 활성을 측정하였다. 여러 농도의 시료를 메탄올 용매로 용해하여, 900 μ L의 DPPH 용액(100 μ M)과 각 시료 100 μ L를 혼합하여 교반한다. 이 혼합 시료를 암소에서 30분간 반응시킨 후 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 수소전자공여능은 각 실험을 3회 반복하여 평균을 낸 다음 대조구에 대한 흡광도의 감소 정도를 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$A_n = (A_0 - A) / A_0 \times 100$$

A_n : DPPH radical 소거능에 대한 항산화 활성(%)

A_0 : 시료가 첨가되지 않은 DPPH 용액의 흡광도

A : 반응용액중의 DPPH와 시료의 반응한 흡광도

Table 128. DPPH radical scavenging activities of lip cream having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

Natural plant pigment	DPPH radical scavenging activity, % of control				
	Concentration (ppm)				
	2500	5000	10000	20000	30000
Black rice	12.5±1.38	14.9±1.23	28.2±1.58	44.2±0.92	59.2±0.38
Purple sweet potato	10.2±0.91	18.8±0.44	37.4±0.19	63.6±0.93	85.6±1.32
Mature bitter melon	15.8±0.41	19.4±0.10	38.6±0.42	62.5±1.93	91.0±0.52
Paprika	11.0±0.15	16.8±0.38	32.5±0.57	55.1±0.76	69.9±3.30
Red cabbage	10.1±0.62	20.8±0.56	40.8±0.41	68.1±2.42	88.3±1.44
Yellow gardenia	9.0±0.19	16.3±0.44	21.1±0.70	29.0±0.18	36.5±0.47
Blue gardenia	9.6±0.70	16.2±0.99	29.1±0.81	32.9±2.56	50.3±0.77
Chinese foxglove	12.1±0.34	20.2±0.16	32.7±0.25	51.8±0.21	70.1±0.86
Mulberry leaves	10.6±0.54	18.2±0.26	27.0±0.29	42.8±0.15	60.7±0.67
Onion peel	11.6±0.39	19.8±0.40	32.7±1.10	59.6±1.36	79.1±1.16
Grape peel	13.9±0.32	22.5±0.38	36.6±0.39	60.8±0.56	86.4±0.41
Mulberry	12.6±0.44	20.4±0.91	36.6±0.61	65.5±1.05	83.4±0.15
Red beet	10.3±0.38	16.4±0.44	27.5±0.71	45.0±1.27	54.2±0.29
Gromwell	13.5±0.20	20.4±2.23	41.6±0.69	73.2±0.95	93.5±0.38
Cactus	12.0±1.06	18.6±0.22	28.7±0.59	48.6±0.22	70.2±0.94
Control	8.2±0.23	12.4±1.45	17.1±0.43	29.7±1.02	28.1±0.87

*Data represent the mean values±SE of three independent experiments.

The sample of control does not include the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

Table 129. DPPH radical scavenging activities of lip balm having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

Natural plant pigment	DPPH radical scavenging activity, % of control				
	Concentration (ppm)				
	2500	5000	10000	20000	30000
Black rice	10.9±0.31	12.0±0.09	12.9±0.12	15.5±0.30	21.6±1.04
Purple sweet potato	10.9±0.12	11.8±0.22	13.8±0.24	11.7±0.07	17.1±0.40
Mature bitter melon	10.5±0.06	12.1±0.14	12.2±0.19	13.8±0.23	17.0±0.81
Paprika	10.7±0.06	12.2±0.29	12.9±0.07	14.2±0.25	24.6±0.46
Red cabbage	12.0±0.34	13.3±0.16	16.8±0.38	18.3±0.42	27.2±0.48
Yellow gardenia	9.3±2.86	10.1±0.13	9.8±0.15	9.3±0.66	11.9±0.79
Blue gardenia	10.0±0.15	9.2±0.47	8.6±0.20	9.6±0.95	13.3±1.16
Chinese foxglove	10.5±0.12	11.0±0.17	12.1±0.15	11.4±0.15	22.5±0.60
Mulberry leaves	10.9±0.10	11.0±0.06	12.8±0.04	12.4±0.15	25.2±0.18
Onion peel	10.9±0.11	10.7±0.07	12.0±0.23	12.1±0.17	28.8±0.72
Grape peel	11.3±0.14	11.5±0.06	13.3±0.24	11.1±0.08	31.0±0.82
Mulberry	11.2±0.14	11.0±0.03	13.8±0.07	12.1±0.28	31.9±1.39
Red beet	12.7±0.15	11.1±0.26	14.3±0.32	14.2±0.05	27.0±0.26
Gromwell	12.1±0.22	10.3±0.12	12.5±0.25	12.3±0.20	28.3±1.42
Cactus	11.2±0.14	11.8±0.24	12.3±0.19	14.8±0.34	32.6±0.35
Control	8.2±0.10	7.4±0.14	9.1±0.21	9.5±0.58	16.0±0.42

*Data represent the mean values±SE of three independent experiments.

The sample of control does not include the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

Table 130. DPPH radical scavenging activities of lip gloss having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

Natural plant pigment	DPPH radical scavenging activity, % of control				
	Concentration (ppm)				
	2500	5000	10000	20000	30000
Black rice	9.3±0.22	14.9±0.27	14.7±0.06	20.8±0.20	21.8±0.37
Purple sweet potato	11.6±0.40	16.2±0.04	15.5±0.44	18.7±0.21	18.9±0.20
Mature bitter melon	10.8±0.46	14.1±0.28	17.3±0.19	17.8±0.03	18.4±0.23
Paprika	9.3±0.50	14.7±0.27	15.3±0.65	21.6±0.24	22.7±1.13
Red cabbage	11.5±0.52	12.7±1.10	14.4±1.00	20.7±0.06	23.8±0.59
Yellow gardenia	7.9±0.19	11.4±0.50	11.2±0.76	14.7±0.67	15.4±0.39
Blue gardenia	8.7±0.37	13.3±1.35	14.9±0.11	15.7±0.34	16.0±0.39
Chinese foxglove	10.6±0.68	14.2±0.46	14.4±0.30	17.1±0.18	19.5±0.56
Mulberry leaves	10.0±0.30	13.7±0.25	13.2±0.56	18.4±0.37	19.3±0.24
Onion peel	9.4±0.49	14.3±1.01	16.9±0.91	23.3±0.44	23.5±0.46
Grape peel	11.6±0.95	20.6±0.95	22.7±2.64	23.5±0.64	23.6±0.51
Mulberry	9.6±0.54	16.5±0.46	18.8±0.54	20.4±0.20	20.7±0.31
Red beet	8.5±0.06	17.0±0.93	17.7±0.56	19.1±0.46	23.7±1.43
Gromwell	13.5±0.99	23.9±0.98	24.3±0.50	28.7±1.92	29.8±0.26
Cactus	12.2±0.17	26.3±0.32	25.9±1.70	28.4±5.70	31.3±0.20
Control	8.4±0.36	11.9±0.28	11.2±0.77	12.9±1.10	14.6±0.29

*Data represent the mean values±SE of three independent experiments.

The sample of control does not include the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

Table 131. DPPH radical scavenging activities of lip stick having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

Natural plant pigment	DPPH radical scavenging activity, % of control				
	Concentration (ppm)				
	2500	5000	10000	20000	30000
Black rice	15.3±0.43	21.1±1.45	34.6±0.87	53.2±1.30	68.7±0.43
Purple sweet potato	11.7±0.58	14.4±0.56	23.3±1.31	28.9±1.07	47.5±2.25
Mature bitter melon	17.3±0.34	25.1±1.12	40.4±0.82	54.6±0.93	80.5±1.64
Paprika	19.8±0.20	28.9±1.38	48.6±0.53	62.4±1.78	91.2±0.60
Red cabbage	24.2±0.20	33.6±1.49	60.6±2.02	77.8±1.74	80.9±0.95
Yellow gardenia	16.2±0.39	17.6±0.97	28.9±1.02	41.5±1.26	56.2±2.41
Blue gardenia	14.7±0.90	17.9±1.01	28.3±1.02	35.3±1.70	57.7±1.62
Chinese foxglove	14.4±0.34	18.8±1.06	31.9±0.72	50.1±0.66	68.3±0.19
Mulberry leaves	13.8±0.10	18.8±0.43	27.1±0.68	35.7±1.07	56.0±0.93
Onion peel	14.0±0.58	19.6±0.43	29.8±0.73	42.1±1.59	72.3±0.44
Grape peel	17.7±0.58	26.0±0.59	41.7±0.58	62.6±1.69	88.4±0.77
Mulberry	16.3±0.24	21.8±1.34	34.6±0.53	62.4±0.78	78.2±0.78
Red beet	14.8±0.28	21.7±0.87	33.1±0.66	44.2±1.59	68.4±0.43
Gromwell	18.6±0.11	22.7±0.20	29.5±0.60	37.7±0.40	71.0±0.25
Cactus	13.8±0.64	17.9±0.72	26.2±1.59	33.6±1.31	55.4±1.47
Control	8.7±0.10	8.9±0.40	7.5±0.51	7.4±0.63	11.1±0.55

*Data represent the mean values±SE of three independent experiments.

The sample of control does not include the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

전자공여능 측정은 지질과산화 연쇄반응에 관여하는 산화성 free radical에 전자를 공여함으로써 free radical의 생성 억제 정도를 간접적으로 측정할 수 있다. 천연 색소 및 참마추출물을 혼합하여 제조한 시제품에 대하여 free radical 소거활성을 측정한 결과를 보면, 립크림에서는 자색고구마, 여주, 적양배추, 지치에서, 립밤에서는 적양배추, 레드비트, 포도과피, 오디에서, 립글로스에서는 포도과피, 레드비트, 지치, 백년초에서 그리고 립스틱에서는 여주, 파프리카, 적양배추, 포도과피에서 free radical 소거활성이 상대적으로 높게 나타났다.

(나) ABTS에 의한 총 항산화력 측정

ABTS cation decolorization assay 방법을 이용하여 총 항산화력을 측정하였다. 즉, 2,2'-Azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid(ABTS, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 7.4 mM과 potassium persulfate 2.6 mM을 하루 동안 암소에 방치하여 ABTS^{•+} 이온을 형성시킨 후 이 용액을 735 nm에서 흡광도 값이 1.4~1.5가 되도록 물 흡광계수($\epsilon=3.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 이용하여 메탄올로 희석하였다. 희석된 ABTS용액 1 mL에 추출액 50 μL 를 가하여 흡광도의 변화를 60분 후에 측정하였으며, 다음의 식으로 계산하였다.

$$\text{ABTS radical scavenging activity (\%)} \\ = (\text{Blank O.D.} - \text{Sample O.D.}) / \text{Blank O.D.} \times 100$$

Table 132. ABTS radical scavenging activities of lip cream having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

Natural plant pigment	ABTS radical scavenging activity, % of control		
	Concentration (ppm)		
	10000	20000	30000
Black rice	21.1±1.93	24.9±3.20	34.3±2.40
Purple sweet potato	36.2±3.19	57.9±3.50	77.9±4.50
Mature bitter melon	35.1±2.84	64.2±1.31	79.8±3.03
Paprika	36.1±2.27	64.0±3.22	72.0±3.44
Red cabbage	40.2±2.61	78.4±2.96	91.2±2.20
Yellow gardenia	20.6±1.24	19.1±1.01	22.6±2.53
Blue gardenia	32.1±2.06	32.5±0.75	38.2±1.05
Chinese foxglove	44.9±1.85	53.9±3.55	63.0±5.25
Mulberry leaves	31.4±1.86	47.8±3.50	54.9±4.26
Onion peel	35.4±1.39	58.1±2.30	69.0±4.42
Grape peel	50.0±1.33	70.4±2.71	81.9±3.31
Mulberry	42.4±1.60	72.3±2.59	87.6±3.31
Red beet	21.0±0.91	25.4±2.41	34.3±0.88
Gromwell	41.4±1.11	61.5±1.66	71.1±2.24
Cactus	30.4±0.84	35.4±3.42	45.6±3.61
Control	17.1±1.07	28.4±2.34	28.4±2.34

*Data represent the mean values±SE of three independent experiments.

The sample of control does not include the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

Table 133. ABTS radical scavenging activities of lip balm having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

Natural plant pigment	ABTS radical scavenging activity, % of control		
	Concentration (ppm)		
	10000	20000	30000
Black rice	21.8±1.74	31.7±2.00	38.4±2.17
Purple sweet potato	19.6±1.08	33.2±1.43	40.9±1.60
Mature bitter melon	20.0±1.35	28.5±0.89	39.3±1.64
Paprika	20.1±1.98	39.3±2.16	49.1±2.05
Red cabbage	31.8±1.04	64.6±2.39	77.1±4.06
Yellow gardenia	20.6±1.09	24.1±2.14	38.3±3.64
Blue gardenia	21.5±0.98	24.8±0.91	32.3±3.64
Chinese foxglove	19.2±1.10	30.3±2.11	38.0±1.75
Mulberry leaves	16.5±0.90	15.9±1.72	19.3±1.98
Onion peel	10.2±0.96	24.4±2.76	32.4±3.44
Grape peel	7.9±0.73	27.3±1.61	38.8±3.81
Mulberry	5.6±0.40	27.9±3.27	36.8±2.87
Red beet	10.9±0.56	31.6±1.37	46.4±1.47
Gromwell	8.8±0.61	30.8±3.78	40.8±2.21
Cactus	6.6±0.70	25.2±1.19	36.7±2.88
Control	4.5±0.50	7.6±0.49	13.2±1.47

*Data represent the mean values±SE of three independent experiments.

The sample of control does not include the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

Table 134. ABTS radical scavenging activities of lip gloss having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

Natural plant pigment	ABTS radical scavenging activity, % of control		
	Concentration (ppm)		
	10000	20000	30000
Black rice	14.0±1.26	22.6±0.91	34.3±2.40
Purple sweet potato	12.3±1.03	28.8±1.93	42.2±1.93
Mature bitter melon	15.6±0.95	30.3±2.67	42.1±3.61
Paprika	12.3±1.04	44.6±3.07	56.4±4.80
Red cabbage	19.8±1.04	67.8±3.67	82.9±4.14
Yellow gardenia	20.9±2.00	33.3±3.00	44.2±4.69
Blue gardenia	19.4±1.93	41.7±1.92	56.3±1.92
Chinese foxglove	19.5±1.93	30.3±2.69	44.1±2.19
Mulberry leaves	13.2±0.96	28.4±1.39	41.5±1.59
Onion peel	12.8±0.98	28.5±1.89	44.1±2.36
Grape peel	12.2±1.02	39.8±2.10	53.3±2.89
Mulberry	11.2±1.25	24.8±2.85	37.5±3.44
Red beet	13.0±1.89	64.2±0.55	82.0±1.72
Gromwell	19.2±1.96	67.2±2.14	93.8±2.14
Cactus	17.9±2.48	65.0±2.61	94.5±1.63
Control	7.2±0.69	11.6±1.91	18.3±1.91

*Data represent the mean values±SE of three independent experiments.

The sample of control does not include the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

Table 135. ABTS radical scavenging activities of lip stick having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

Natural plant pigment	ABTS radical scavenging activity, % of control		
	Concentration (ppm)		
	10000	20000	30000
Black rice	17.3±1.65	23.5±0.98	29.8±1.23
Purple sweet potato	26.5±0.13	23.9±1.40	32.2±0.74
Mature bitter melon	8.6±0.47	14.3±1.89	24.8±0.48
Paprika	10.3±0.70	16.1±1.26	27.3±0.98
Red cabbage	6.9±0.26	14.4±0.63	26.5±1.69
Yellow gardenia	15.5±0.44	20.0±1.69	31.1±0.94
Blue gardenia	21.4±0.72	19.3±1.30	31.4±0.91
Chinese foxglove	15.4±0.84	18.3±1.61	29.0±1.55
Mulberry leaves	17.6±0.66	18.5±0.95	29.5±0.38
Onion peel	23.4±0.82	20.9±3.23	31.3±0.29
Grape peel	13.2±0.86	18.5±0.65	28.9±0.32
Mulberry	10.1±0.19	17.0±0.60	29.8±0.74
Red beet	9.8±1.07	17.3±0.37	26.7±0.26
Gromwell	23.2±0.21	17.2±1.70	27.9±0.27
Cactus	19.1±2.42	19.5±1.19	32.0±1.98
Control	3.2±0.53	5.6±0.55	10.6±0.94

*Data represent the mean values±SE of three independent experiments.

The sample of control does not include the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

ABTS 양이온 소거활성 분석은 ABTS의 양이온 라디칼의 흡광도가 항산화제에 의해 감소되는 원리에 기초한 방법으로 potassium persulfate와 ABTS의 산화에 의해 라디칼을 형성시킨 후 각각의 시료에 대한 free radical 소거능을 측정함으로써 항산화능을 확인할 수 있다. 각 제형별 시제품 추출물의 ABTS 양이온 소거활성은 추출물의 농도가 증가할수록 비례적으로 증가되는 경향을 보였다. 립크림에서는 포도과피, 오디, 여주, 자색고구마에서 15종류의 시제품 중 비교적 높은 소거활성을 보였으며, 립밤에서는 적양배추, 레드비트, 지치에서, 립글로스에서는 지치, 레드비트, 백년초, 적양배추에서 그리고 립스틱에서는 자색고구마, 치자청, 양파껍질, 백년초에서 상대적으로 소거활성이 높았다.

(다) 항산화효소 활성 측정

① 효소액 조제

100mM potassium phosphate buffer (pH 7.5)에 2mM EDTA, 1% PVP-40, 1mM PMSF가 포함되도록 조제한 extraction buffer에서 0.5g를 넣고 15,000g로 20분간 원심분리한 다음 상층액을 항산화효소활성분석에 사용하였다. Ascorbate peroxidase (APX) 경우 위의 추출 buffer에 10mM ascorbate를 첨가하였고, 단백질 정량은 BSA를 표준물질로 사용하여 Bradford (1976)방법에 따라 측정하였다.

② SOD (Superoxide Dismutase)

SOD의 활성은 0.1mM EDTA, 0.015mM ferricytochrome C, 0.05mM xanthine이 첨가된 50mM $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ buffer(pH 10.2)를 사용하였다. SOD 활성은 550nm에서 1분당 0.025-0.035 정도로 흡광도가 증가될 수 있도록 충분한 양의 xanthine oxidase와 조효소액을 넣어 흡광도 감소율로 활성을 측정하였다(Spychalla와 Desborough 1990). SOD 활성의 단위는 cytochrome C의 환원이 50% 저해되는데 필요한 조효소의 양을 기준으로 하여 계산하였다.

③ CAT (Catalase)

CAT활성은 Mishra 등(1993)의 방법에 의해 측정하였으며, 반응액의 최종농도는 10mM H_2O_2 이 포함되도록 한 50mM potassium phosphate buffer (pH 7.0)로 하였다. CAT 활성은 반응액에 추출액을 가한 다음 240nm에 2분간의 흡광도 변화를 측정하였다.

④ APX (Ascorbate Peroxidase)

APX 활성은 Chen and Asada(1989)방법에 따라 ascorbate의 산화 정도를 290nm에서 2분간의 흡광도 변화를 측정하였다. 반응액의 최종농도는 0.5mM ascorbate와 0.2mM H_2O_2 가 포함되도록 한 100mM potassium phosphate buffer (pH 7.5)로 하였다.

⑤ POX (Peroxidase)

POX활성은 Egley 등 (1983)의 방법에 의해 측정하였으며, 반응액은 최종농도가 40mM K- PO_4 buffer (pH6.9), 1.5mM guaiacol, 6.5mM H_2O_2 가 되도록 만든다. POX 활성은 반응액에 sample을 혼합하여 spectrophotometer를 이용해서 470nm에서 2분간 흡광도 변화를 측정하였다.

Table 136. SOD activities of lip care products having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

Natural plant pigment	SOD activity (Unit of SOD/mg protein)			
	Lip cream	Lip balm	Lip gloss	Lip stick
Black rice	118.7±6.88	13.9±0.30	27.3±1.95	114.5±16.0
Purple sweet potato	78.2±3.10	33.5±3.19	69.7±12.95	128.1±1.46
Mature bitter melon	94.8±6.10	44.2±24.49	52.9±2.87	154.2±2.49
Paprika	79.8±7.66	36.9±2.56	35.3±0.94	80.4±6.27
Red cabbage	107.1±3.08	21.9±0.93	26.1±3.99	158.0±12.40
Yellow gardenia	71.5±6.44	12.9±0.97	25.7±2.57	56.5±3.27
Blue gardenia	64.1±5.30	13.6±0.55	13.7±0.20	48.9±4.73
Chinese foxglove	83.4±1.24	18.2±1.33	32.0±3.63	185.6±9.49
Mulberry leaves	86.5±2.78	15.6±0.74	31.2±3.64	174.5±14.93
Onion peel	122.9±6.08	15.1±0.14	25.1±1.80	72.6±4.11
Grape peel	92.1±7.36	16.2±0.84	30.9±1.09	120.6±9.83
Mulberry	101.0±1.53	20.7±0.95	38.1±1.66	170.3±14.89
Red beet	73.3±2.46	12.1±0.26	13.6±0.74	120.9±18.10
Gromwell	104.5±3.39	17.5±0.51	20.5±1.86	111.9±10.52
Cactus	126.3±6.25	24.7±4.00	25.3±1.76	195.7±2.43
Control	6.3±0.06	12.7±1.84	6.2±1.60	44.8±6.43

*Data represent the mean values±SE of three independent experiments.

The sample of control does not include the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

색소추출물과 참마 추출물을 혼합한 시제품의 SOD활성을 보면, 제형별로 활성에 차이를 나타냈다. 즉, 립크림에서는 흑미, 양파껍질, 백년초 등에서, 립밤에서는 여주, 파프리카, 자색고구마 등에서, 립글로스에서는 자색고구마, 여주, 파프리카, 오디 등에서, 그리고 립스틱에서는 치자황, 지황, 백년초 등에서 SOD가 상대적으로 높은 활성을 보였다.

Table 137. APX activities of lip care products having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

Natural plant pigment	APX activity (μmol ascorbate oxidized/min/mg protein)			
	Lip cream	Lip balm	Lip gloss	Lip stick
Black rice	93.5 \pm 6.25	189.6 \pm 17.24	164.6 \pm 13.51	2571.4 \pm 544.93
Purple sweet potato	123.1 \pm 0.63	234.4 \pm 22.23	312.0 \pm 45.85	3504.9 \pm 412.11
Mature bitter melon	102.5 \pm 7.35	255.5 \pm 15.60	371.5 \pm 27.94	2193.0 \pm 16.15
Paprika	134.9 \pm 5.45	160.3 \pm 16.09	188.9 \pm 21.41	3140.3 \pm 308.21
Red cabbage	103.7 \pm 5.51	92.6 \pm 8.82	205.3 \pm 21.30	3362.9 \pm 402.02
Yellow gardenia	99.4 \pm 8.61	119.8 \pm 28.75	196.4 \pm 23.65	2518.0 \pm 834.06
Blue gardenia	95.6 \pm 7.83	131.0 \pm 20.90	164.2 \pm 14.92	3048.2 \pm 356.29
Chinese foxglove	134.0 \pm 6.86	167.4 \pm 2.54	205.2 \pm 16.92	3971.0 \pm 287.60
Mulberry leaves	113.5 \pm 5.82	118.5 \pm 10.87	199.1 \pm 16.03	4574.6 \pm 66.32
Onion peel	175.8 \pm 14.35	134.4 \pm 4.87	255.5 \pm 28.48	2432.1 \pm 185.23
Grape peel	290.5 \pm 21.32	228.5 \pm 7.97	254.8 \pm 10.91	4948.8 \pm 460.85
Mulberry	278.6 \pm 21.14	263.1 \pm 13.71	240.3 \pm 12.27	5069.3 \pm 492.8
Red beet	116.6 \pm 12.56	163.9 \pm 46.75	274.4 \pm 52.73	3566.5 \pm 449.35
Gromwell	121.2 \pm 0.77	251.7 \pm 31.94	328.8 \pm 32.49	4136.4 \pm 226.08
Cactus	193.1 \pm 10.32	311.5 \pm 29.46	352.9 \pm 33.45	5146.2 \pm 520.79
Control	92.0 \pm 35.36	110.0 \pm 47.05	168.9 \pm 17.36	1825.3 \pm 577.22

*Data represent the mean values \pm SE of three independent experiments

The sample of control does not include the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

색소추출물과 참마 추출물을 혼합한 시제품의 APX활성을 보면, 제품의 제형별 그리고 색소 종류별로 활성에 차이가 있음을 알 수 있었다. 즉, 립크림에서는 포도과피, 오디, 백년초 등에서, 립밤에서는 자색고구마, 여주, 오디, 지치, 백년초 등에서, 립글로스에서는 자색고구마, 여주, 레드비트, 지치, 백년초 등에서, 그리고 립스틱에서는 빵잎, 포도과피, 오디, 지치, 백년초 등에서 APX가 상대적으로 높은 활성을 나타냈다.

Table 138. CAT activities of lip care products having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

Natural plant pigment	CAT activity ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ decomposed/min/mg protein)			
	Lip cream	Lip balm	Lip gloss	Lip stick
Black rice	7.4±0.06	6.5±0.19	3.5±0.67	48.5±7.29
Purple sweet potato	9.7±0.88	7.3±0.23	7.4±1.28	31.4±1.71
Mature bitter melon	6.2±0.04	13.6±2.00	6.2±0.62	22.5±0.36
Paprika	5.0±0.02	5.9±0.01	2.3±0.36	39.7±3.64
Red cabbage	7.5±0.18	3.3±0.41	2.9±0.46	47.3±0.44
Yellow gardenia	8.9±1.16	5.4±0.64	2.5±0.39	42.0±10.60
Blue gardenia	7.1±0.72	3.0±0.41	2.9±0.36	49.9±4.41
Chinese foxglove	10.7±0.82	3.7±0.19	3.2±0.41	48.7±2.68
Mulberry leaves	8.1±0.65	5.4±0.21	3.4±0.61	26.5±1.29
Onion peel	6.8±0.09	8.0±0.87	4.8±0.44	20.6±0.62
Grape peel	9.4±1.52	8.1±0.25	3.5±0.52	56.5±2.14
Mulberry	8.3±0.63	9.6±0.31	5.1±0.66	53.2±2.48
Red beet	9.1±0.98	4.1±0.19	4.6±0.54	44.3±4.90
Gromwell	8.9±0.76	5.2±0.26	5.2±0.56	61.1±3.73
Cactus	7.5±0.99	11.2±1.13	6.3±0.57	45.0±4.23
Control	3.1±0.77	4.2±0.34	2.7±0.09	21.9±2.02

*Data represent the mean values±SE of three independent experiments.

The sample of control does not include the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

색소추출물과 참마 추출물을 혼합한 시제품의 CAT활성을 보면, 제품의 제형별 그리고 색소 종류별로 활성에 다소 차이를 나타냈다. 립크림에서의 결과를 보면 자색고구마, 지황, 포도과피, 레드비트, 지치 등에서 상대적으로 다소 높은 활성을 보였지만 그 외 다른 색소 종류들과의 큰 차이를 보이지는 않았다. 립밤에서는 여주, 양파껍질, 포도과피, 오디, 백년초 등에서, 립글로스에서는 자색고구마, 여주, 지치, 백년초 등에서 그리고 립스틱에서는 흑미, 포도과피, 오디, 지치에서 비교적 높은 CAT활성을 나타냈다.

Table 139. POX activities of lip care products having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

Natural plant pigment	POX activity ($\mu\text{mol tetraguaiacol formed}/\text{min}/\text{mg protein}$)			
	Lip cream	Lip balm	Lip gloss	Lip stick
Black rice	3.7±0.08	9.5±0.47	14.8±0.74	65.6±6.24
Purple sweet potato	4.5±0.55	22.7±2.42	12.9±0.09	111.5±1.52
Mature bitter melon	3.0±0.03	15.6±0.86	13.0±0.19	110.5±1.33
Paprika	3.6±0.47	11.4±0.22	8.9±0.21	89.5±1.32
Red cabbage	2.5±0.06	13.2±1.03	6.6±0.18	58.0±3.14
Yellow gardenia	3.2±0.80	8.9±0.65	5.2±0.25	74.7±13.65
Blue gardenia	1.9±0.48	7.0±0.16	5.9±0.46	53.9±4.46
Chinese foxglove	2.6±0.04	8.6±0.17	10.2±0.29	114.5±9.80
Mulberry leaves	2.8±0.57	10.3±0.60	9.0±0.86	62.0±0.99
Onion peel	2.3±0.03	16.4±1.88	16.6±1.82	54.5±1.41
Grape peel	6.9±0.37	15.4±0.48	23.5±0.78	148.2±15.78
Mulberry	5.9±0.80	18.6±2.05	17.7±1.79	214.6±34.23
Red beet	3.7±0.04	9.6±0.94	9.3±0.61	189.7±27.94
Gromwell	4.2±0.03	18.0±1.59	9.1±0.52	112.1±1.65
Cactus	3.8±0.06	19.8±2.22	13.2±0.58	132.5±2.83
Control	2.2±0.03	9.7±1.89	6.9±0.34	35.8±5.23

*Data represent the mean values±SE of three independent experiments.

The sample of control does not include the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

색소추출물과 참마 추출물을 혼합한 시제품의 POX활성에 대한 결과를 보면, 제품의 제형별 그리고 색소 종류별로 활성에 다소 차이를 나타냈지만, 특히 립크림에서는 다른 제형에 비해 색소 종류별로 큰 차이를 보이지는 않았다. 즉, 립크림에서는 흑미, 자색고구마, 포도과피, 오디에서 등에서, 립밤에서는 자색고구마, 양파껍질, 오디, 지치, 백년초에서, 립글로스에서는 흑미, 양파껍질, 포도과피, 오디 등에서 그리고 립스틱에서는 포도과피, 오디, 레드비트 등에서 상대적으로 높은 POX활성을 보였다.

(2) 제형별 시제품의 유효성 검색 위한 항균성 평가

항균활성 검정은 한천배지확산법(disk agar plate diffusion method)으로 측정한다. 즉, 각 시험미생물에 적합한 배지에 10^7 CFU/mL 농도로 시험미생물을 배양한 soft agar를 petri dish에 분주한 후 paper disc를 올려놓고 시료 추출물 40 μL 씩 분주 후 배양하여 저해환의 생성을 관찰하였다. 24시간 이내에 저해환이 생성된 경우 항균활성이 양성인 것으로 판정하였으며, 저해환의 직경을 측정, 비교하였다.

Table 140. List of strains and cultivation conditions used for screening of antimicrobial activity test

Strains	Cultivarion conditions
Gram positive bacteria	
<i>Propionibacterium acnes</i> (KCCM 41747)	37°C, Trypticase Soy Agar
<i>Bacillus subtilis</i> (KCTC 2023)	37°C, Nutrient Agar
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (KCTC 1917)	37°C, Nutrient Agar
<i>Listeria monocytogenes</i> (KCTC 3569)	37°C, Brain Heart Infusion Agar
Gram negative bacteria	
<i>Escherichia coli</i> (KCCM11234)	37°C, Trypticase Soy Agar
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (KCTC 2471)	30°C, Marine Agar
Fungus	
<i>Malassezia furfur</i> (KCTC 7743)	30°C, YM Agar + 1% oil

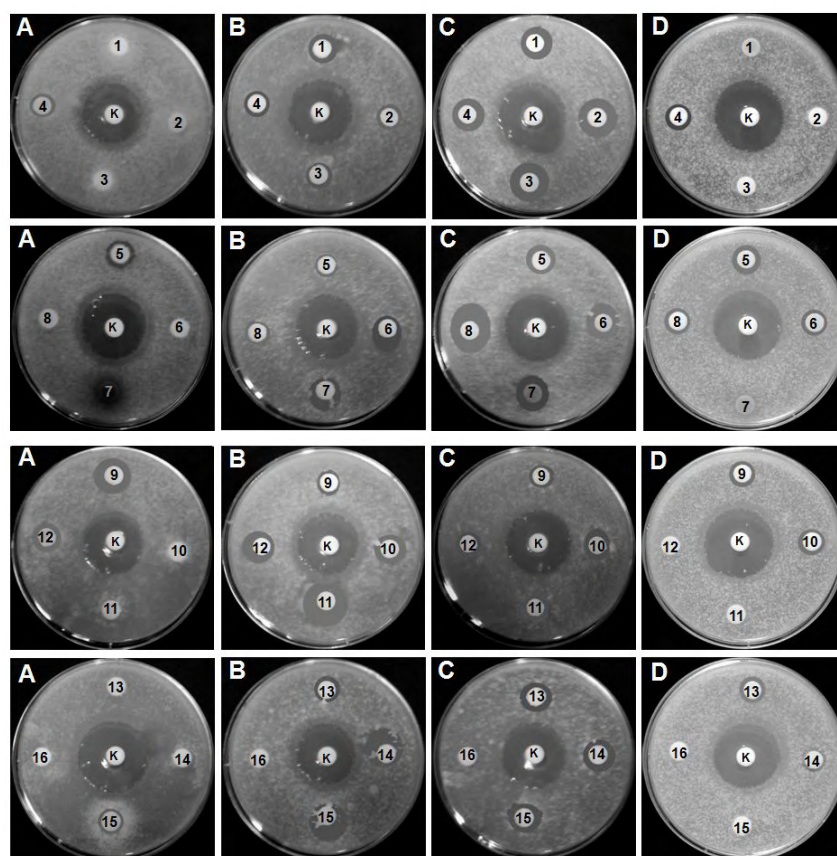


Fig. 205. Inhibition activity of the lip care products having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Propionibacterium acnes*) in paper disc diffusion assay. The sample of control does not include the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

A: Lip Cream, B: Lip balm, B: Lip gloss, D: Lip stick

1: Black rice, 2: Purple sweet potato, 3: Mature bitter melon, 4: Paprika, 5: Red cabbage, 6: Yellow gardenia, 7: Blue gardenia, 8: Chinese foxglove, 9: Mulberry leaves, 10: Onion peel, 11: Grape peel, 12: Mulberry, 13: Red beet 14: Gromwell, 15: Cactus, 16: Control

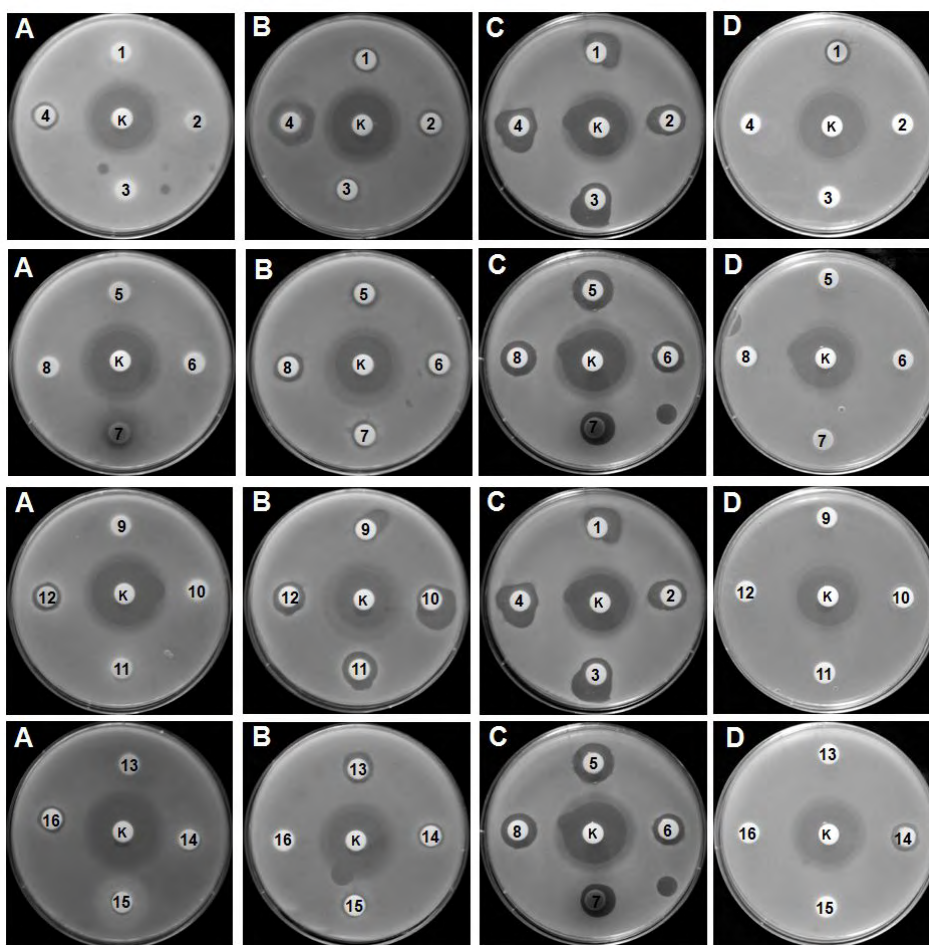


Fig. 206. Inhibition activity of the lip care products having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Bacillus subtilis*) in paper disc diffusion assay. The sample of control does not include the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

A: Lip Cream, B: Lip balm, B: Lip gloss, D: Lip stick

1: Black rice, 2: Purple sweet potato, 3: Mature bitter melon, 4: Paprika, 5: Red cabbage, 6: Yellow gardenia, 7: Blue gardenia, 8: Chinese foxglove, 9: Mulberry leaves, 10: Onion peel, 11: Grape peel, 12: Mulberry, 13: Red beet 14: Gromwell, 15: Cactus, 16: Control

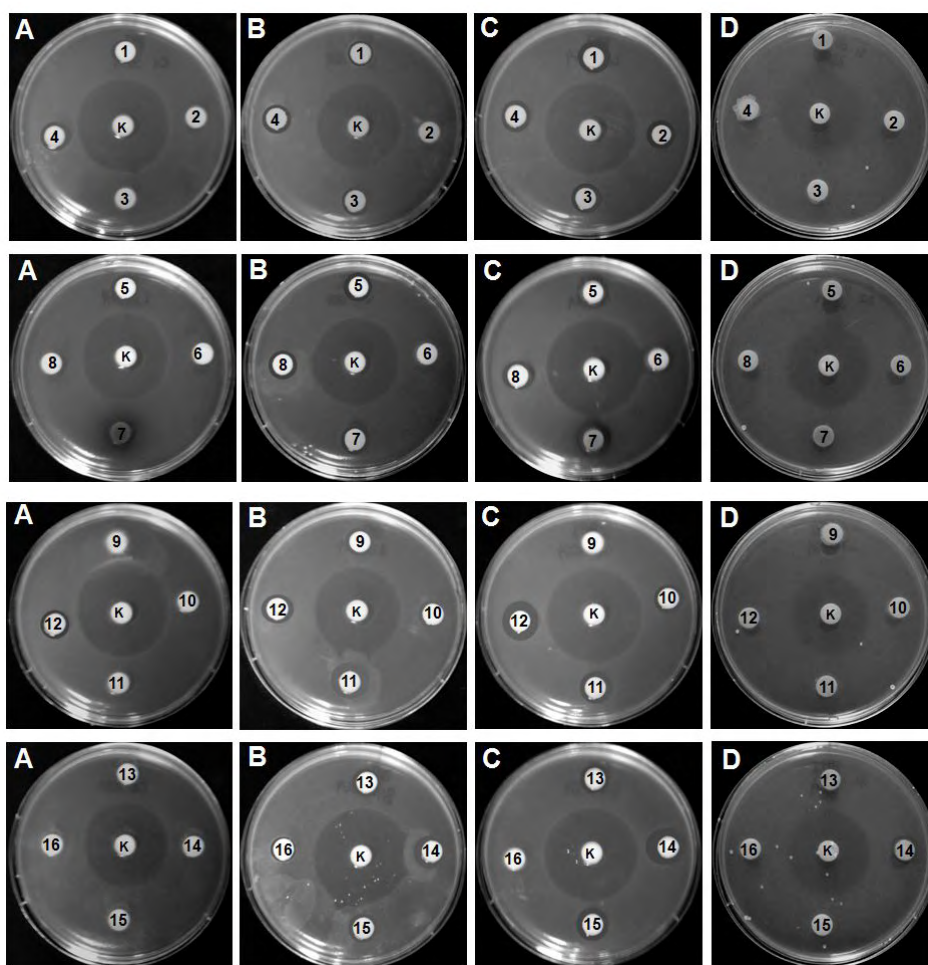


Fig. 207. Inhibition activity of the lip care products having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Listeria monocytogenes*) in paper disc diffusion assay. The sample of control does not include the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

A: Lip Cream, B: Lip balm, B: Lip gloss, D: Lip stick

1: Black rice, 2: Purple sweet potato, 3: Mature bitter melon, 4: Paprika, 5: Red cabbage, 6: Yellow gardenia, 7: Blue gardenia, 8: Chinese foxglove, 9: Mulberry leaves, 10: Onion peel, 11: Grape peel, 12: Mulberry, 13: Red beet 14: Gromwell, 15: Cactus, 16: Control

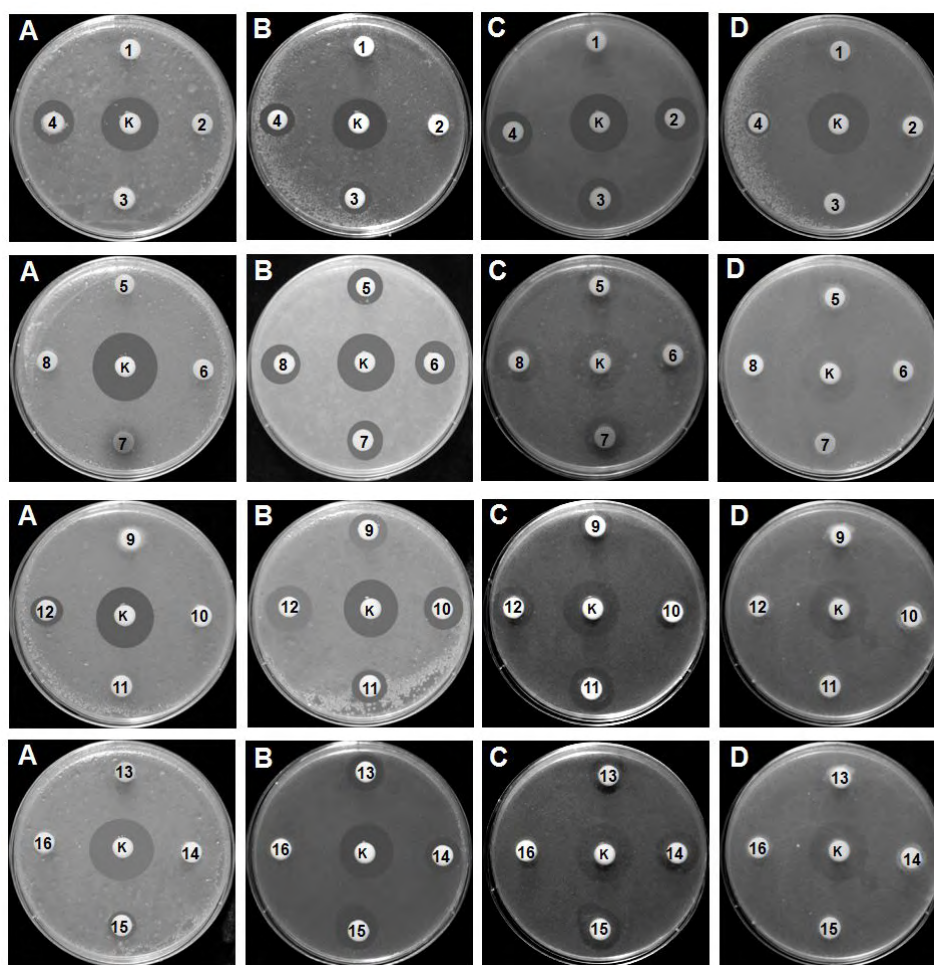


Fig. 208. Inhibition activity of the lip care products having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Malassazia furfur*) in paper disc diffusion assay. The sample of control does not include the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

A: Lip Cream, B: Lip balm, B: Lip gloss, D: Lip stick

1: Black rice, 2: Purple sweet potato, 3: Mature bitter melon, 4: Paprika, 5: Red cabbage, 6: Yellow gardenia, 7: Blue gardenia, 8: Chinese foxglove, 9: Mulberry leaves, 10: Onion peel, 11: Grape peel, 12: Mulberry, 13: Red beet 14: Gromwell, 15: Cactus, 16: Control

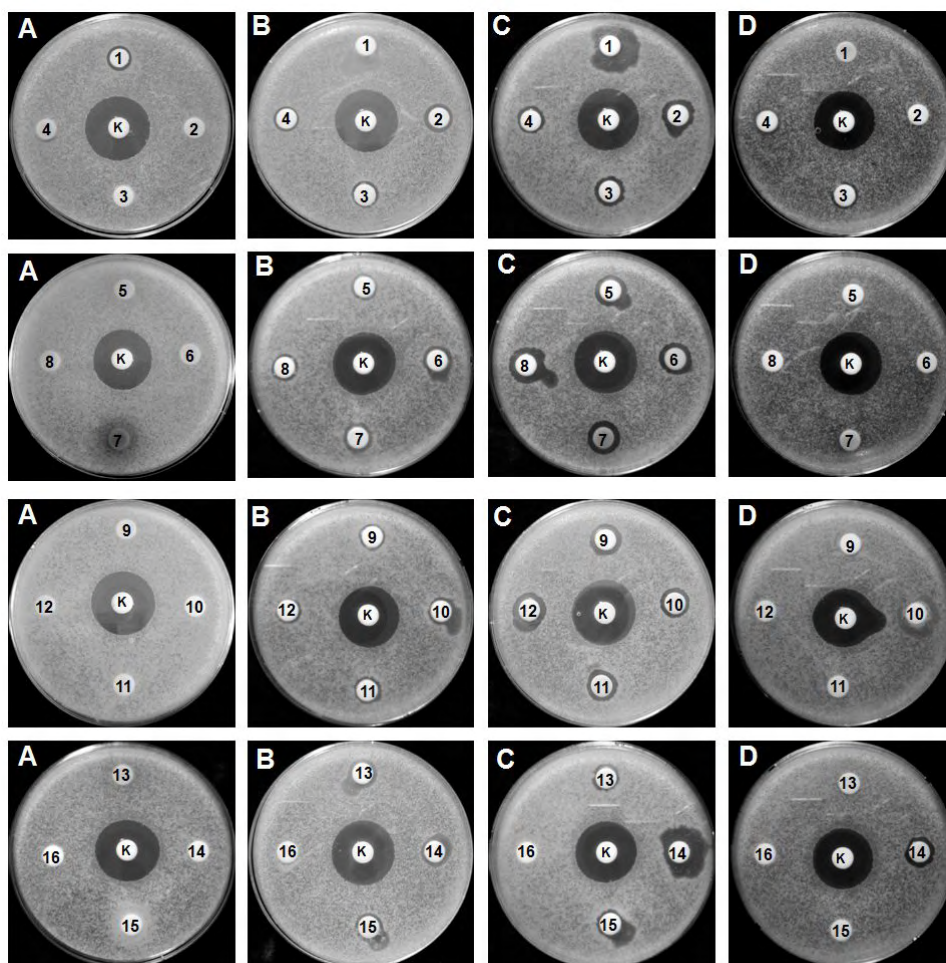


Fig. 209. Inhibition activity of the lip care products having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Escherichia coli*) in paper disc diffusion assay. The sample of control does not include the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

A: Lip Cream, B: Lip balm, B: Lip gloss, D: Lip stick

1: Black rice, 2: Purple sweet potato, 3: Mature bitter melon, 4: Paprika, 5: Red cabbage, 6: Yellow gardenia, 7: Blue gardenia, 8: Chinese foxglove, 9: Mulberry leaves, 10: Onion peel, 11: Grape peel, 12: Mulberry, 13: Red beet 14: Gromwell, 15: Cactus, 16: Control

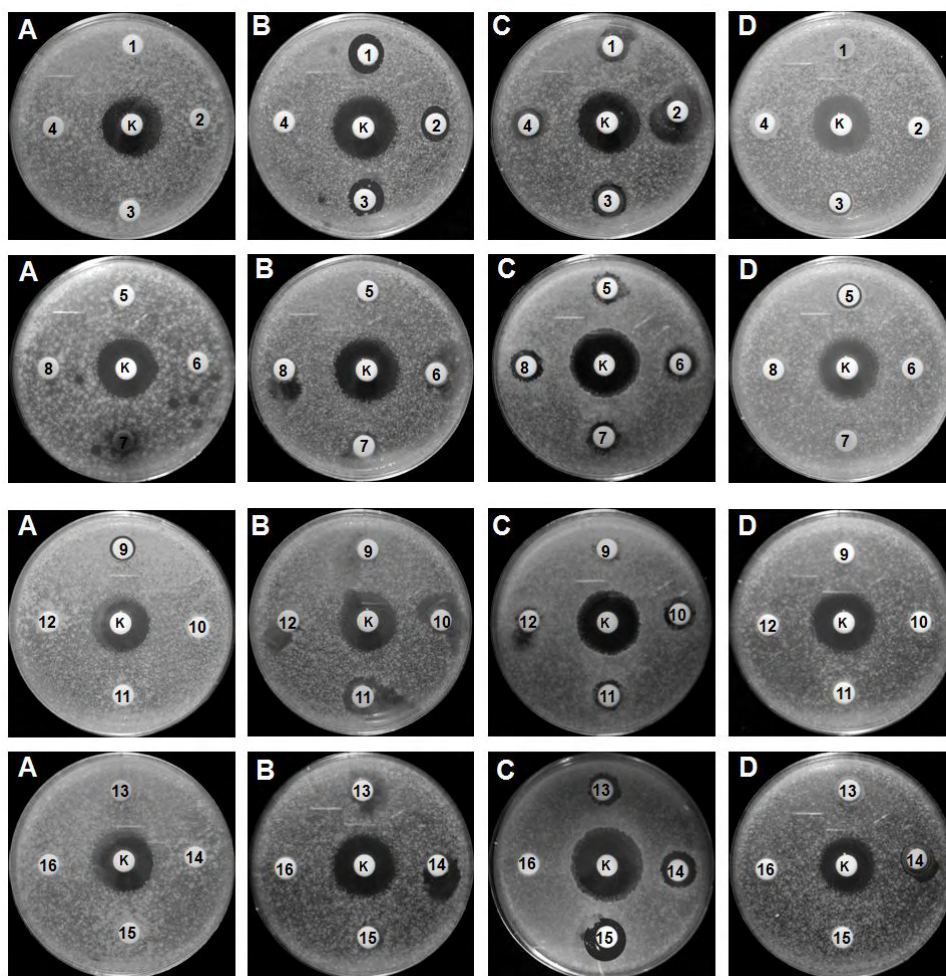


Fig. 210. Inhibition activity of the lip care products having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Staphylococcus epidermidis*) in paper disc diffusion assay. The sample of control does not include the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

A: Lip Cream, B: Lip balm, B: Lip gloss, D: Lip stick

1: Black rice, 2: Purple sweet potato, 3: Mature bitter melon, 4: Paprika, 5: Red cabbage, 6: Yellow gardenia, 7: Blue gardenia, 8: Chinese foxglove, 9: Mulberry leaves, 10: Onion peel, 11: Grape peel, 12: Mulberry, 13: Red beet 14: Gromwell, 15: Cactus, 16: Control

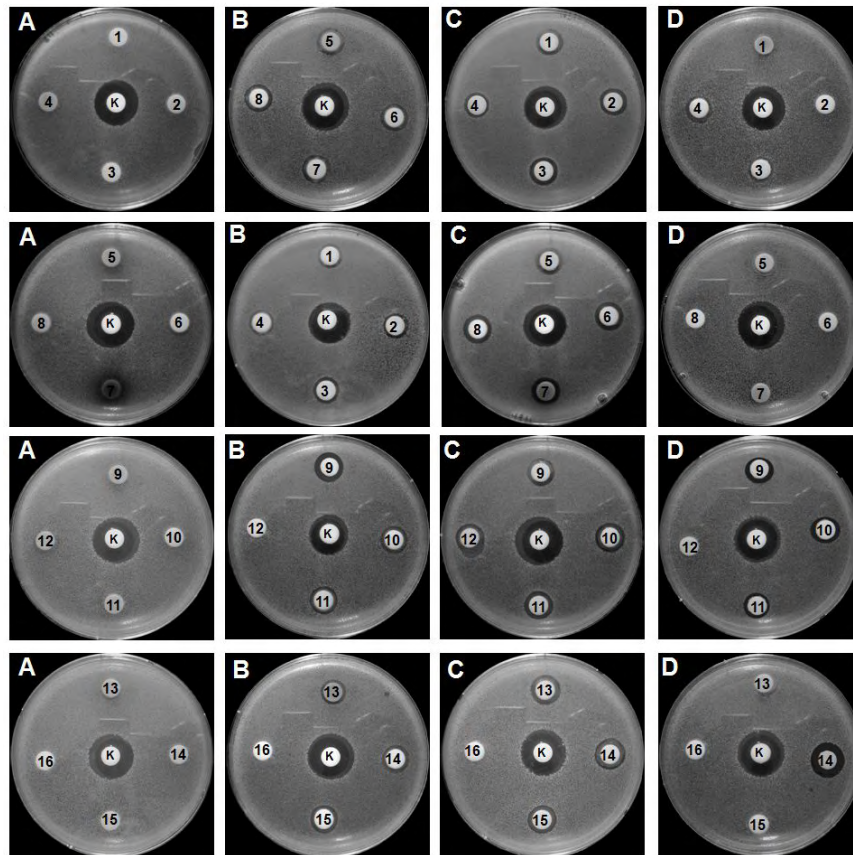


Fig. 211. Inhibition activity of the lip care products having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* against the microorganism (*Vibrio parahaemolyticus*) in paper disc diffusion assay. The sample of control does not include the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica*

A: Lip Cream, B: Lip balm, C: Lip gloss, D: Lip stick

1: Black rice, 2: Purple sweet potato, 3: Mature bitter melon, 4: Paprika, 5: Red cabbage, 6: Yellow gardenia, 7: Blue gardenia, 8: Chinese foxglove, 9: Mulberry leaves, 10: Onion peel, 11: Grape peel, 12: Mulberry, 13: Red beet, 14: Gromwell, 15: Cactus, 16: Control

15종의 천연색소와 참마추출물을 첨가한 시제품에 대하여 agar diffusion test를 이용한 항균활성을 검색한 결과, 립밤과 립글로스의 경우 천연색소와 참마 추출물이 첨가된 화장품이 첨가되지 않은 화장품에 비해 Gram 양성균인 *Propionibacterium acnes*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, 진균류인 *Malassazia furfur*에서 대부분 높은 항균활성을 나타냈다. 그러나 립크림과 립스틱에서는 립밤, 립글로스과 비교하여 항균활성 정도는 떨어지는 것으로 확인되었다. 그리고 4종류의 제형 모두 천연색소와 참마 추출물이 첨가되지 않은 Control에서는 항균활성이 거의 나타나지 않았다. *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*에 대해서는 립밤과 립글로스의 경우 대부분 저해환을 형성하여 항균성이 있는 것으로 확인되었지만, 립크림이나 립스틱의 경우에는 일부 제품을 제외하고는 거의 항균활성을 보이지 않았다.

다. 제형별 시제품의 안정성 및 안전성 평가

(1) 시제품의 안정성 평가

(가) 가시광선 하에서 천연색소 함유 시제품의 경시적 색차 변이

천연색소 및 참마 추출물을 함유한 제형별 립케어 시제품을 제조하여 자연광 하에서 상온에 1개월간 보관하면서 1주일 간격으로 각 샘플에 대해 색차계 (Minolta CR-10, Japan)를 이용하여 색도 변화를 측정하였다. 색도 변화는 Hunter 색차식 $\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$ 를 이용하여 비교하였다.

Table 141. Variation of hunter value of lip cream having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by visible light time

natural pigment	Hunter value / storage period(weeks)																							
	0week				1week				2week				3week				4week				5week			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
Black rice	55.3	16.8	4.7	58.0	51.2	15.5	3.5	53.6	49.8	17.6	3.9	53.0	47.4	18.2	3.1	50.9	46.8	16.1	4.3	49.7	44.6	15.7	2.5	47.3
Purple potato	50.3	20.9	2.8	54.5	48.4	22.9	3.7	53.8	47.3	20.5	0.7	51.6	46.5	19.9	3.3	50.7	42.6	20.8	-0.1	47.4	40.0	18.7	-0.6	44.2
Mature bitter melon	65.4	15.5	15.5	69.0	62.7	16.6	15.2	66.6	60.5	15.6	13.0	63.8	60.0	17.9	14.2	64.2	54.4	14.8	10.6	57.4	51.2	15.4	9.5	54.3
Paprika	44.8	13.6	10.8	48.0	45.8	12.4	9.0	48.3	44.7	12.1	9.5	47.3	44.4	12.5	7.5	46.7	40.7	10.9	8.0	42.9	37.3	11.3	8.7	39.9
Red cabbage	42.6	28.8	-3.0	51.5	38.8	27.5	-0.4	47.6	37.2	23.1	-2.1	43.8	36.2	25.1	-1.3	44.1	33.4	19.3	-4.2	38.8	33.2	17.9	-4.2	38.0
Yellow gardenia	53.4	15.0	32.2	64.1	49.5	15.6	25.0	57.6	47.7	17.3	14.7	52.8	46.2	16.0	15.3	51.2	42.8	14.1	8.8	45.9	42.4	15.1	7.7	45.7
Blue gardenia	36.0	2.4	-8.4	37.0	36.7	1.4	-2.0	36.8	35.5	2.3	-4.9	35.9	35.0	3.0	-1.7	35.2	33.7	1.6	-4.3	34.0	32.2	1.5	-6.4	32.9
Chinese foxglove	43.7	12.7	10.1	46.6	45.5	12.1	7.8	47.7	43.7	13.5	5.9	46.1	44.1	10.0	5.7	45.6	38.9	12.3	4.3	41.0	36.4	10.5	2.0	37.9
Mulberry leave	54.9	9.9	10.8	56.8	46.1	10.6	9.4	48.2	43.2	11.0	9.6	45.6	43.6	8.7	7.2	45.0	45.8	11.6	4.7	47.5	35.9	10.8	3.7	37.7
Onion peel	68.3	10.6	11.9	70.1	61.9	11.4	11.1	63.9	59.4	13.0	6.7	61.2	59.5	9.9	9.2	61.0	54.8	12.2	6.5	56.5	48.7	11.5	5.0	50.3
Grape peel	56.7	21.2	2.4	60.6	55.3	19.7	-2.9	58.8	52.4	19.8	1.5	56.0	52.4	18.5	-7.3	56.0	47.8	16.1	-5.6	50.7	43.5	18.2	-4.2	47.3
Mulberry	46.5	18.9	4.1	50.4	45.1	20.9	5.7	50.0	43.0	19.6	2.2	47.3	42.7	19.4	4.5	47.1	40.6	20.7	2.5	45.6	38.3	17.8	-0.5	42.2
Redbeet	40.5	20.1	1.8	45.2	36.7	18.2	0.6	41.0	36.3	17.2	-2.9	40.3	36.8	19.7	-0.4	41.7	36.0	18.3	-2.4	40.5	34.3	17.5	-5.1	38.8
Gromwell	60.8	13.1	9.3	62.9	58.1	12.6	8.5	60.1	54.7	14.4	8.1	57.1	54.9	12.5	7.7	56.8	51.1	15.8	5.7	53.8	47.6	13.1	3.0	49.5
Cactus	66.1	22.6	4.8	70.0	59.1	22.9	7.1	63.8	56.4	24.2	2.9	61.4	55.5	19.8	8.7	59.6	52.3	20.4	6.9	56.6	48.4	21.2	6.5	53.2

Table 142. Variation of hunter value of lip balm having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by visible light time

natural pigment	Hunter value / storage period(weeks)																							
	0week				1week				2week				3week				4week				5week			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
Black rice	62.2	16.4	5.8	64.6	59.0	17.4	5.7	61.8	56.2	17.0	4.3	58.9	57.8	16.4	5.3	60.3	56.6	15.0	3.5	58.7	56.2	15.8	3.6	58.5
Purple potato	56.5	23.2	4.2	61.2	58.6	22.0	4.9	62.8	56.7	21.8	2.8	60.8	57.7	19.7	3.4	61.1	55.9	22.9	1.2	60.4	55.7	20.8	0.9	59.5
Mature bitter melon	64.6	17.7	12.7	68.2	65.9	16.0	10.9	68.7	64.2	16.8	7.4	66.8	64.4	15.3	8.2	66.7	63.5	15.7	6.4	65.7	63.2	14.7	6.1	65.2
Paprika	47.1	18.5	10.6	51.7	48.8	19.4	8.2	53.2	47.2	17.5	7.6	50.9	48.4	15.3	7.9	51.4	45.9	16.8	4.7	49.1	46.8	15.1	4.4	49.4
Red cabbage	53.5	29.4	-5.8	61.3	51.1	27.7	-4.2	58.3	50.3	22.5	-7.1	55.3	52.1	23.6	-4.7	57.4	50.1	23.4	-9.7	56.1	51.2	21.7	-8.3	56.2
Yellow gardenia	66.1	17.6	17.1	70.5	66.0	15.8	18.4	70.3	64.2	16.3	15.6	68.0	65.1	18.2	17.6	69.8	61.6	15.1	11.3	64.4	63.2	15.6	13.4	66.5
Blue gardenia	53.8	12.3	-6.0	55.5	54.7	12.0	-4.3	56.2	52.5	9.7	-7.3	53.9	54.1	10.4	-4.9	55.3	51.0	10.6	-12.0	53.5	53.5	8.3	-8.9	54.9
Chinese foxglove	57.9	16.8	7.6	60.8	55.5	16.1	7.8	58.3	54.0	17.1	5.3	56.9	55.0	14.0	6.9	57.2	52.2	14.9	2.1	54.3	53.3	15.3	3.9	55.6
Mulberry leave	65.1	14.0	11.7	67.6	66.7	15.2	10.6	69.2	64.9	13.3	11.5	67.2	66.1	13.7	10.8	68.4	62.1	16.1	6.0	64.4	63.9	15.4	8.0	66.2
Onion peel	68.0	14.2	10.7	70.3	68.6	18.1	9.2	71.5	66.6	13.9	9.3	68.7	67.2	14.8	11.7	69.8	63.6	16.8	6.5	66.1	65.6	16.1	7.6	68.0
Grape peel	61.0	18.1	-7.1	64.0	60.8	18.7	-5.8	63.9	59.1	16.9	-4.7	61.6	59.9	18.8	-5.3	63.0	56.9	17.5	-6.3	59.9	58.2	19.0	-8.3	61.8
Mulberry	64.6	25.3	1.5	69.4	65.6	24.9	1.8	70.2	63.6	23.3	2.6	67.8	65.2	25.8	2.2	70.2	61.8	22.3	1.4	65.7	64.0	18.0	2.3	66.5
Redbeet	55.4	28.5	-3.4	62.4	55.2	26.2	-1.1	61.1	53.9	23.9	-3.5	59.1	55.5	28.3	-1.5	62.3	53.8	23.5	-6.3	59.0	55.4	23.8	-4.2	60.4
Gromwell	68.5	18.9	8.8	71.6	68.4	17.8	9.5	71.3	66.8	16.7	8.4	69.4	68.1	19.6	7.2	71.2	66.9	16.4	8.4	69.4	66.2	17.9	7.1	68.9
Cactus	66.8	21.2	4.8	70.2	67.7	22.7	2.1	71.4	63.2	21.4	3.4	66.8	63.8	24.4	3.5	68.4	62.5	20.4	4.4	65.9	62.6	19.1	4.6	65.6

Table 143. Variation of hunter value of lip gloss having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by visible light time

natural pigment	Hunter value / storage period(weeks)																							
	0week				1week				2week				3week				4week				5week			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
Black rice	48.8	13.6	2.2	50.7	49.3	12.4	3.1	50.9	48.4	8.9	2.7	49.3	48.8	10.5	3.8	50.1	47.0	9.6	1.0	48.0	46.6	11.4	1.6	48.0
Purple potato	42.7	15.4	1.6	45.4	41.8	16.2	0.5	44.8	40.3	16.5	-1.2	43.6	40.9	14.9	-0.2	43.5	39.7	13.4	-3.3	42.0	39.8	11.9	-2.8	41.6
Mature bitter melon	45.4	12.1	7.0	47.5	47.0	14.4	6.6	49.6	46.1	14.1	5.2	48.5	46.5	13.5	6.1	48.8	44.4	15.4	2.2	47.0	44.5	12.6	3.7	46.4
Paprika	38.6	11.6	3.9	40.5	38.3	10.3	3.2	39.8	37.3	13.3	2.0	39.7	37.9	12.3	3.2	40.0	36.6	11.8	3.6	38.6	36.2	10.7	2.9	37.9
Red cabbage	37.2	12.5	-1.6	39.3	37.5	14.0	-2.0	40.1	37.0	12.3	-3.3	39.1	38.0	10.5	-2.5	39.5	36.7	12.5	-5.1	39.1	36.7	10.8	-4.0	38.5
Yellow gardenia	38.2	13.7	2.6	40.7	38.0	11.0	0.5	39.6	37.1	12.1	-0.7	39.0	37.2	12.2	-0.8	39.2	35.5	14.7	-3.7	38.6	36.8	11.0	-1.7	38.4
Blue gardenia	37.6	7.6	-1.2	38.4	37.3	8.3	-2.2	38.3	36.4	7.2	-3.3	37.3	37.1	6.7	-1.7	37.7	36.9	7.6	-3.2	37.8	36.7	5.5	-3.5	37.3
Chinese foxglove	39.5	13.5	1.2	41.9	39.0	14.3	0.5	41.5	38.5	14.5	1.8	41.2	39.4	12.6	0.9	41.4	37.6	10.7	4.4	39.3	38.5	9.5	2.5	39.7
Mulberry leave	43.8	10.6	4.5	45.1	43.4	9.3	3.6	44.5	42.3	8.7	3.7	43.3	43.1	9.5	2.7	44.2	40.5	11.7	2.1	42.2	41.7	10.2	0.7	42.9
Onion peel	46.0	8.8	3.6	47.0	45.4	11.3	3.9	46.9	44.3	8.5	2.4	45.2	44.5	9.4	3.6	45.6	41.9	7.9	1.5	42.7	42.2	8.3	1.7	43.0
Grape peel	43.6	13.3	1.8	45.7	43.0	12.9	1.2	44.9	42.0	13.6	1.5	44.2	42.8	14.1	3.8	45.2	41.1	13.9	1.0	43.4	40.6	11.9	1.4	42.3
Mulberry	41.1	14.2	0.8	43.5	40.6	15.1	1.4	43.3	39.9	13.3	0.7	42.1	41.1	13.8	1.0	43.4	39.1	14.2	-1.8	41.6	39.2	11.8	-0.9	40.9
Redbeet	37.0	12.6	-1.0	39.1	36.7	14.4	-1.7	39.5	36.2	13.6	-3.2	38.8	37.4	14.5	-1.4	40.1	35.8	12.2	-5.0	38.2	36.1	10.4	-4.1	37.8
Gromwell	44.6	10.9	4.1	46.1	44.5	11.6	2.9	46.1	43.7	9.1	1.1	44.7	44.9	10.7	2.7	46.2	43.0	9.8	1.2	44.1	42.9	7.9	1.0	43.6
Cactus	46.2	14.8	0.5	48.5	46.4	12.9	0.8	48.2	45.9	13.2	1.1	47.8	46.9	13.5	0.2	48.8	45.1	12.1	0.8	46.7	45.1	10.5	2.2	46.4

Table 144. Variation of hunter value of lip stick having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by visible light time

natural pigment	Hunter value / storage period(weeks)																							
	0week				1week				2week				3week				4week				5week			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
Black rice	42.7	11.9	-2.6	44.9	42.0	9.8	-2.1	43.2	41.8	11.0	-1.9	43.3	41.8	10.0	-1.9	43.0	40.3	12.2	-4.4	42.3	39.0	15.3	-5.8	42.3
Purple potato	44.9	18.6	-5.0	48.9	44.6	16.7	-3.9	47.8	44.5	17.3	-4.4	47.9	44.5	16.3	-4.4	47.6	42.9	19.2	-7.0	47.5	41.1	23.1	-8.6	47.9
Mature bitter melon	42.3	9.0	4.0	43.4	42.5	9.5	4.7	43.8	42.7	7.5	4.5	43.6	42.7	8.5	4.5	43.8	41.6	11.3	2.0	43.2	38.8	13.9	2.2	41.3
Paprika	43.4	15.8	5.6	46.5	44.4	14.1	6.4	47.0	44.3	13.9	6.3	46.9	44.3	13.5	6.3	46.7	42.1	14.2	2.6	44.5	42.9	13.8	2.9	45.2
Red cabbage	42.6	18.3	-4.3	46.6	42.4	17.6	-3.8	46.1	42.1	16.7	-3.6	45.4	42.1	17.7	-3.6	45.8	39.5	18.5	-7.8	44.3	40.5	16.4	-7.3	44.3
Yellow gardenia	45.0	15.3	13.4	49.4	42.6	15.8	22.7	50.8	45.7	13.6	17.3	50.7	45.7	16.6	17.3	51.6	43.1	15.7	15.8	48.5	44.0	17.3	14.8	49.5
Blue gardenia	25.9	6.3	-3.1	26.8	25.8	6.1	-3.0	26.7	27.1	5.7	-3.3	27.9	27.1	7.7	-3.3	28.4	22.7	5.4	-6.4	24.2	22.8	6.3	-5.4	24.3
Chinese foxglove	42.4	12.1	0.0	44.1	41.7	11.2	0.6	43.2	41.4	12.8	0.5	43.3	41.4	9.8	0.5	42.5	39.1	10.7	-4.2	40.8	39.9	8.7	-2.3	40.9
Mulberry leave	42.8	8.3	1.7	43.6	43.1	8.0	2.8	43.9	43.1	9.3	2.9	44.2	43.1	7.8	2.9	43.9	40.6	7.2	-2.1	41.3	41.3	6.5	-1.0	41.8
Onion peel	62.8	9.9	8.6	64.2	60.2	10.6	9.2	61.8	59.5	8.9	10.3	61.0	59.5	11.9	10.1	61.5	57.1	11.5	11.2	59.3	57.7	12.5	9.8	59.8
Grape peel	42.2	14.6	-1.1	44.7	42.0	13.4	-0.5	44.1	42.2	13.8	-0.5	44.4	42.2	14.5	-0.5	44.6	38.2	12.2	-5.3	40.4	39.0	11.5	-3.3	40.8
Mulberry	41.6	15.1	-1.1	44.3	41.6	15.3	-0.4	44.3	41.3	14.6	-0.4	43.8	41.3	13.6	-0.4	43.5	38.3	14.0	-5.0	41.1	39.2	13.2	-3.3	41.5
Redbeet	40.3	17.4	-1.4	43.9	39.7	18.2	-0.7	43.7	40.0	19.1	-1.0	44.3	40.0	17.1	-1.0	43.5	37.6	16.7	-6.0	41.6	38.0	14.7	-3.9	40.9
Gromwell	39.8	9.7	-1.4	41.0	39.1	8.9	-0.8	40.1	39.0	9.2	-0.9	40.1	39.0	7.2	-0.9	39.7	36.8	7.3	-5.8	38.2	37.2	6.8	-4.5	38.1
Cactus	46.2	18.5	2.5	49.8	47.3	19.6	3.2	51.3	47.6	20.4	2.4	51.8	47.6	19.8	2.4	51.6	44.6	18.7	-2.1	48.4	45.2	19.2	-0.3	49.1

그 결과, 립크림과 립밤에서는 명도 L 값이 시간이 경과함에 따라 점차 낮아지는 경향을 보였지만, 립글로스, 립스틱에서는 L 값에 큰 변화를 보이지 않았다. 그리고 a 값의 경우를 보면, 립스틱에서는 점차 높아졌으나 립글로스에서는 다소 낮아지는 경향을 보였지만, 색소 종류에 따라 다소 정도의 차이가 있었다. 그러나 립밤과 립크림의 경우에는 a 값에 큰 변화를 보이지 않았다. b 값의 경우, 4종류의 시제품 모두에서 시간 경과에 따라 별다른 변화를 보이지 않아 가시광선 하에서 1개월 이상 상온에 보관하여도 색상과 물성에 비교적 안정한 것으로 판단되었다.

(나) 가시광선 하에서 천연색소 함유 시제품의 경시적 색상 변화

제형별로 제조한 각 시제품을 실내 가시광선 조건 하에서 5주간 보관하면서 1주 간격으로 제품의 물성 및 색상변화를 육안으로 관찰하였다. 그 결과, 립밤, 립스틱, 립크림, 립글로스 등 4 종류 제형의 시제품 모두 외관상 색조에는 별다른 변화가 없었지만, 특히 립크림의 경우에는 밀봉하고 보관하여도 물질의 특성상 내용물이 다소 건조해지는 현상으로 표면의 물성이 약간 탄탄해지는 경향을 보였다. 그러나 전체적으로 큰 물성의 변화나 이물질 발생 등은 나타나지 않아 비교적 장기간 보관하여도 상품성에는 큰 문제가 없을 것으로 판단되었다.

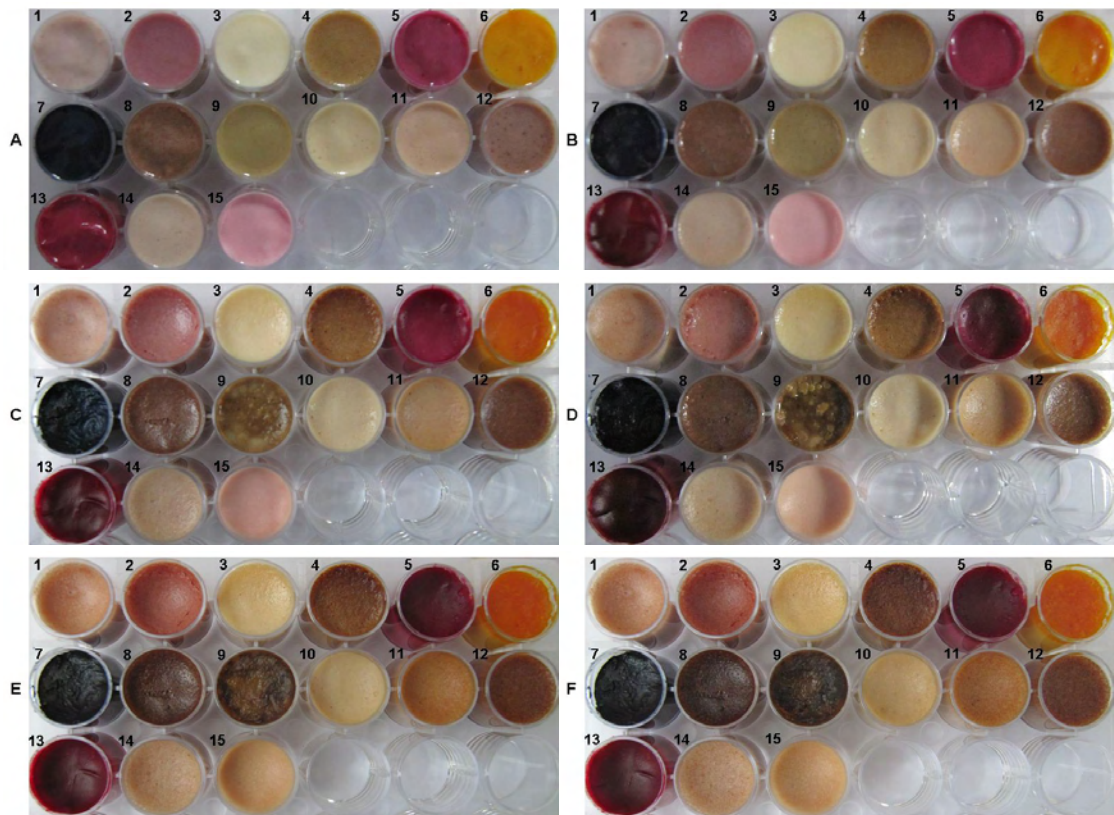


Fig. 212. Change of coloring of lip cream having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by visible light time

A: 0 week, B: 1 week, C: 2 week, D: 3 week, E: 4 week, F: 5 week

1: Black rice, 2: Purple sweet potato, 3: Mature bitter melon, 4: Paprika, 5: Red cabbage, 6: Yellow gardenia, 7: Blue gardenia, 8: Chinese foxglove, 9: Mulberry leaves, 10: Onion peel, 11: Grape peel, 12: Mulberry, 13: Red beet 14: Gromwell, 15: Cactus

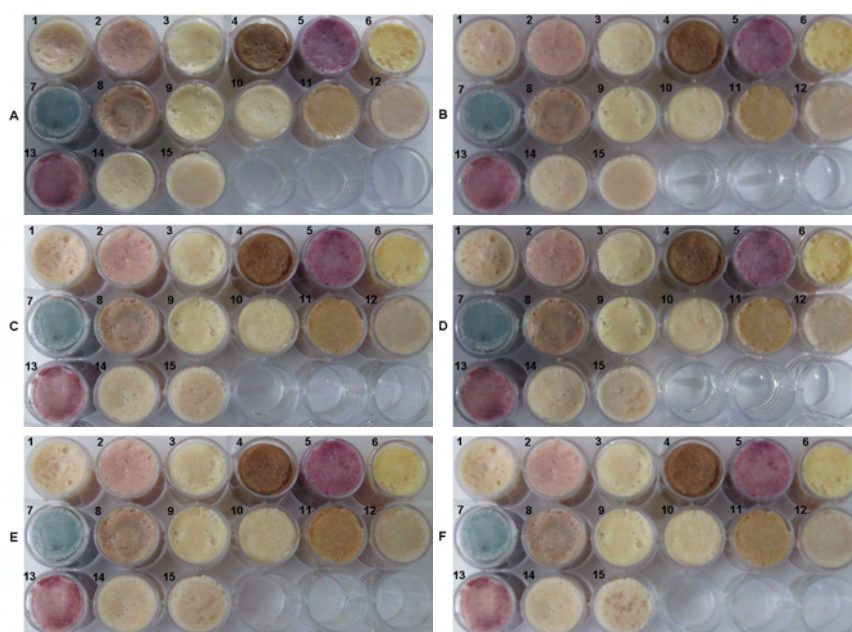


Fig. 213. Change of coloring of lip balm having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by visible light time

A: 0 week, B: 1 week, C: 2 week, D: 3 week, E: 4 week, F: 5 week

1: Black rice, 2: Purple sweet potato, 3: Mature bitter melon, 4: Paprika, 5: Red cabbage, 6: Yellow gardenia, 7: Blue gardenia, 8: Chinese foxglove, 9: Mulberry leaves, 10: Onion peel, 11: Grape peel, 12: Mulberry, 13: Red beet 14: Gromwell, 15: Cactus

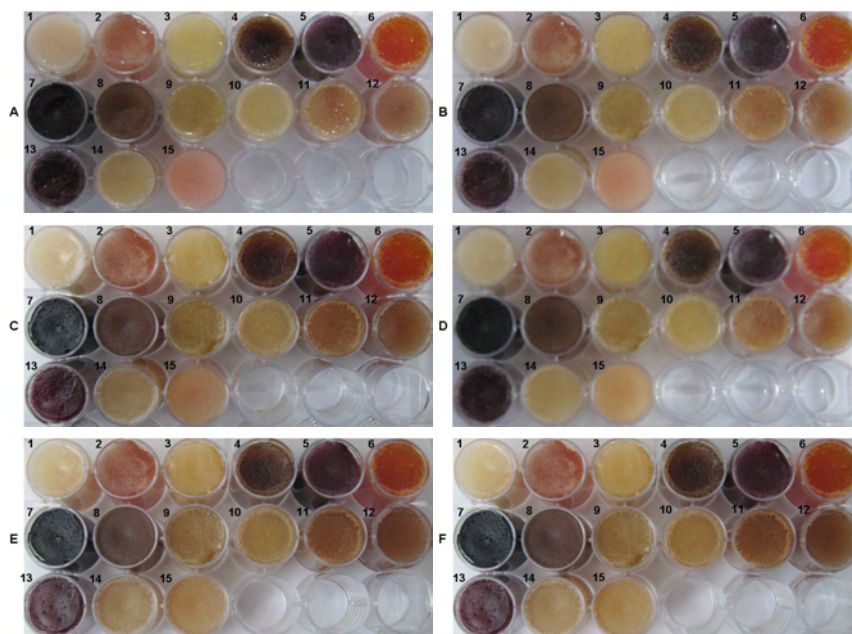


Fig. 214. Change of coloring of lip gloss having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by visible light time

A: 0 week, B: 1 week, C: 2 week, D: 3 week, E: 4 week, F: 5 week

1: Black rice, 2: Purple sweet potato, 3: Mature bitter melon, 4: Paprika, 5: Red cabbage, 6: Yellow gardenia, 7: Blue gardenia, 8: Chinese foxglove, 9: Mulberry leaves, 10: Onion peel, 11: Grape peel, 12: Mulberry, 13: Red beet 14: Gromwell, 15: Cactus

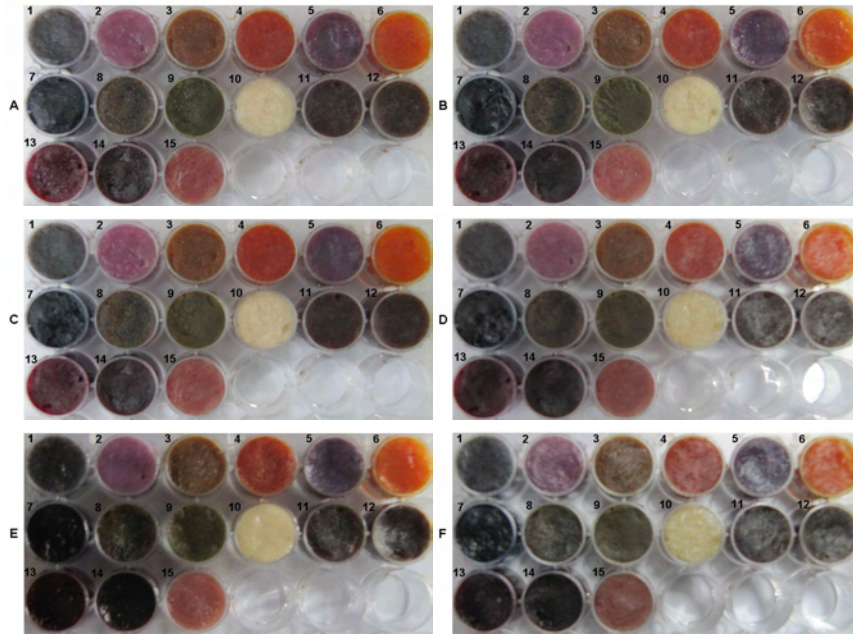


Fig. 215. Change of coloring of lip stick having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by visible light time

A: 0 week, B: 1 week, C: 2 week, D: 3 week, E: 4 week, F: 5 week

1: Black rice, 2: Purple sweet potato, 3: Mature bitter melon, 4: Paprika, 5: Red cabbage, 6: Yellow gardenia, 7: Blue gardenia, 8: Chinese foxglove, 9: Mulberry leaves, 10: Onion peel, 11: Grape peel, 12: Mulberry, 13: Red beet 14: Gromwell, 15: Cactus

(다) UV B 노출에 따른 천연색소 함유 시제품의 경시적 색차 변이 및 색상 변화

① UV B 노출에 따른 천연색소 함유 시제품의 경시적 색차 변이

천연색소 및 참마 추출물을 함유한 제형별 립케어 시제품을 제조하여 UV광 하에서 상온에 48시간 보관하면서 12시간 간격으로 각 샘플에 대해 색차계 (Minolta CR-10, Japan)를 이용하여 색도 변화를 측정하였다. 색도 변화는 Hunter 색차식 $\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$ 를 이용하여 비교하였다. 그 결과, 립밤, 립글로스, 립크림, 립스틱 제품 모두에서 시간경과에 따라 명도 L 값에는 큰 변화를 보이지 않았으며, 색소종류별 그리고 제형별로 다소 차이는 있지만 전체적으로 a 값은 점차 낮아지고 b 값은 점차 높아지는 경향을 나타냈다. 이는 UVB 조사에 의해 적색계열의 색조는 시간이 경과됨에 따라 색상이 다소 퇴색되는 반면 황색계열의 색상은 약간 더 선명해지는 경향을 보이는 것으로 생각된다

Table 145. Variation of hunter value of lip cream having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by UV B light time

natural pigment	Hunter value / storage period(weeks)																			
	0h				12h				24h				36h				48h			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
Black rice	56.6	17.6	-0.5	59.3	56.9	17.5	2.8	59.6	55.9	15.1	1.1	57.9	52.3	14.3	-2.6	54.3	55.5	11.3	2.4	56.7
Purple potato	59.4	25.5	-2.9	64.7	58.1	21.0	-1.1	61.8	58.3	22.8	-1.1	62.6	55.2	18.2	-5.4	58.4	58.6	19.4	0.3	61.7
Mature bitter melon	62.5	11.4	22.1	67.3	63.4	10.0	20.9	67.5	62.9	9.0	19.6	66.5	59.9	9.3	14.9	62.4	63.0	6.5	19.3	66.2
Paprika	62.8	14.5	10.6	65.3	64.3	14.9	12.2	67.1	62.5	11.9	11.2	64.6	59.2	12.8	7.0	61.0	62.6	9.0	12.1	64.4
Red cabbage	37.2	18.8	-2.4	41.7	38.2	17.3	-0.4	41.9	37.7	17.1	-1.1	41.4	35.3	16.8	-3.7	39.3	37.4	9.2	-0.2	38.5
Yellow gardenia	53.2	23.1	32.5	66.5	54.5	20.3	31.3	66.0	55.1	20.9	31.9	67.0	52.9	15.2	27.7	61.6	52.7	17.8	28.5	62.5
Blue gardenia	38.5	4.5	-5.8	39.2	39.3	2.7	-2.8	39.5	38.9	3.3	-3.5	39.2	36.4	5.6	-6.3	37.4	36.3	5.0	-5.8	37.1
Chinese foxglove	57.6	15.5	9.0	60.3	58.4	14.6	9.3	60.9	57.4	10.3	8.6	58.9	55.0	8.9	4.9	55.9	55.6	7.5	5.7	56.4
Mulberry leave	64.6	8.3	11.9	66.2	65.7	8.8	10.2	67.1	65.5	9.2	11.5	67.1	62.8	6.4	8.9	63.7	63.0	5.9	9.6	64.0
Onion peel	70.5	16.1	3.0	72.4	71.6	15.0	7.3	73.5	70.8	15.3	6.6	72.7	68.3	11.4	2.1	69.3	68.4	6.1	3.6	68.8
Grape peel	39.0	23.8	-3.7	45.8	40.4	25.5	-1.9	47.8	40.3	22.9	-2.7	46.4	38.0	15.4	-5.0	41.3	38.5	12.9	-4.5	40.9
Mulberry	62.3	25.2	3.4	67.3	61.7	24.4	6.5	66.7	61.3	21.4	5.7	65.2	58.3	19.7	2.1	61.6	58.1	18.3	3.5	61.0
Redbeet	53.0	35.2	-3.1	63.7	51.6	28.3	-0.6	58.9	52.3	29.8	-0.7	60.2	49.7	26.1	-2.6	56.2	51.8	24.7	-1.7	57.4
Gromwell	67.9	18.9	1.5	70.5	66.0	13.8	4.5	67.6	65.0	16.5	4.4	67.2	60.6	15.2	1.2	62.5	60.8	13.8	2.8	62.4
Cactus	65.7	30.7	-3.0	72.6	66.4	32.2	1.0	73.8	65.9	25.9	1.0	70.8	61.9	20.7	-0.6	65.3	62.3	19.0	1.0	65.1

Table 146. Variation of hunter value of lip balm having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by UV B light time

natural pigment	Hunter value / storage period(weeks)																			
	0h				12h				24h				36h				48h			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
Black rice	52.7	14.6	-1.9	54.7	49.9	13.3	-0.7	51.6	50.7	13.1	-1.0	52.4	51.5	10.5	-0.3	52.6	51.6	9.2	0.3	52.4
Purple potato	57.5	26.9	-4.9	63.7	45.7	26.6	-4.8	53.1	47.7	23.0	-3.2	53.1	48.0	21.6	-2.0	52.7	48.5	19.9	-1.7	52.5
Mature bitter melon	64.8	12.6	13.6	67.4	64.9	8.9	13.8	66.9	65.2	8.2	13.9	67.2	66.4	4.0	15.6	68.3	66.3	3.3	15.7	68.2
Paprika	55.3	19.1	11.7	59.7	54.0	15.3	13.7	57.8	55.7	12.8	15.9	59.3	57.1	8.8	13.7	59.4	56.9	7.9	15.8	59.6
Red cabbage	38.7	22.1	-7.9	45.3	38.2	20.7	-6.9	44.9	39.5	19.9	-6.4	44.7	40.3	16.7	-5.9	44.0	42.8	17.6	-6.6	46.7
Yellow gardenia	54.6	13.4	11.4	57.4	54.0	16.2	16.8	58.8	56.5	14.7	15.8	60.5	57.4	13.0	15.0	60.7	57.8	11.7	16.8	61.3
Blue gardenia	37.4	6.1	-6.5	38.4	37.6	4.5	-6.8	38.5	37.9	2.7	-5.8	38.4	39.8	1.3	-5.1	40.1	38.9	0.8	-4.6	39.2
Chinese foxglove	43.4	9.7	3.6	44.6	44.7	12.9	4.0	46.7	46.8	11.3	4.4	48.3	46.9	9.1	6.5	48.2	46.4	9.4	5.5	47.7
Mulberry leave	63.7	12.0	6.7	65.2	63.3	8.6	10.4	64.7	64.5	7.4	11.0	65.8	65.6	4.3	12.4	66.9	65.2	4.9	12.1	66.5
Onion peel	56.7	14.5	5.3	58.8	57.4	10.9	7.0	58.8	58.2	8.8	7.5	59.3	59.0	6.5	8.4	59.9	58.6	6.8	8.2	59.6
Grape peel	36.2	21.2	-5.2	42.3	36.3	17.1	-4.5	40.4	37.7	15.5	-3.6	40.9	36.8	14.5	-2.4	39.6	37.1	14.7	-3.0	40.0
Mulberry	47.9	23.4	1.1	53.3	48.9	19.4	2.0	52.6	50.8	13.8	3.4	52.8	51.4	11.5	4.5	52.9	51.3	12.1	4.7	52.9
Redbeet	47.4	21.4	-5.3	52.3	47.3	19.9	-3.2	51.4	48.0	13.1	-2.9	49.8	48.8	11.3	-2.9	50.2	48.4	11.8	-2.5	49.9
Gromwell	55.0	15.1	1.8	57.1	54.9	15.5	2.4	57.1	56.4	14.7	2.7	58.3	56.8	12.7	3.5	58.3	55.8	13.2	3.0	57.4
Cactus	53.9	25.6	-2.8	59.7	54.1	27.4	-1.8	60.7	55.9	25.9	-1.8	61.6	57.3	22.0	0.4	61.4	56.5	21.7	-0.5	60.5

Table 147. Variation of hunter value of lip gloss having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by UV B light time

natural pigment	Hunter value / storage period(weeks)																			
	0h				12h				24h				36h				48h			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
Black rice	46.7	15.7	2.8	49.3	47.4	12.5	2.2	49.1	46.3	10.8	2.4	47.6	45.1	13.0	2.6	47.0	47.0	9.5	3.4	48.1
Purple potato	49.9	21.4	-1.3	54.3	51.2	16.4	1.1	53.8	50.1	16.9	0.2	52.9	48.6	19.1	-3.4	52.3	51.2	15.7	1.4	53.6
Mature bitter melon	46.0	11.5	14.6	49.6	45.5	10.9	15.0	49.1	44.6	12.4	13.8	48.3	42.7	11.0	11.6	45.6	44.6	7.7	14.4	47.5
Paprika	46.7	10.6	10.9	49.1	47.6	12.0	12.1	50.6	47.1	9.8	11.0	49.4	44.5	8.9	9.5	46.4	47.3	5.6	11.7	49.0
Red cabbage	32.6	14.3	-1.4	35.6	32.7	12.4	-1.3	35.0	32.5	12.3	-2.3	34.8	30.7	9.7	-3.5	32.4	32.5	6.7	-2.0	33.2
Yellow gardenia	34.6	11.2	3.3	36.5	34.7	9.2	4.4	36.2	34.8	12.4	3.0	37.1	32.5	9.5	3.4	34.0	35.1	10.6	3.6	36.8
Blue gardenia	31.8	6.8	-2.1	32.6	32.0	7.9	-1.3	33.0	31.3	5.5	-1.8	31.8	30.1	7.6	-2.9	31.2	32.6	4.1	-1.2	32.9
Chinese foxglove	34.4	10.3	4.2	36.2	34.1	12.0	5.0	36.5	33.3	9.6	3.8	34.9	31.6	11.4	3.2	33.7	33.6	7.6	4.4	34.7
Mulberry leave	40.7	9.5	10.2	43.0	41.5	9.4	8.2	43.3	40.6	10.5	9.5	43.0	38.1	6.1	9.4	39.7	40.4	5.0	10.5	42.0
Onion peel	41.3	9.8	6.8	43.0	4.5	10.2	7.4	13.4	39.5	8.6	5.6	40.8	37.8	5.7	6.3	38.7	40.2	5.5	6.8	41.1
Grape peel	33.5	13.5	-2.2	36.2	32.8	12.1	-1.2	35.0	32.6	13.5	-2.0	35.3	31.6	10.8	-4.6	33.7	32.9	9.2	-1.5	34.2
Mulberry	34.5	17.6	-0.3	38.7	35.0	16.1	1.0	38.5	35.4	18.0	0.5	39.7	33.8	13.8	-1.8	36.6	36.1	9.3	0.9	37.3
Redbeet	30.6	13.1	-1.8	33.3	32.1	11.9	-0.9	34.2	31.1	13.7	-1.9	34.0	29.9	8.3	-3.8	31.3	31.9	8.1	-1.7	33.0
Gromwell	39.9	9.4	3.1	41.1	40.0	8.2	4.0	41.0	39.7	6.1	3.2	40.3	37.8	4.6	0.2	38.1	40.1	4.8	3.7	40.6
Cactus	38.6	19.2	-3.2	43.2	38.8	16.9	-2.7	42.4	38.5	15.2	-3.3	41.5	37.0	15.9	-4.9	40.6	39.0	17.7	-2.0	42.9

Table 148. Variation of hunter value of lip stick having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by UV B light time

natural pigment	Hunter value / storage period(weeks)																			
	0h				12h				24h				36h				48h			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
Black rice	34.8	10.7	-3.0	36.5	35.0	8.2	-4.2	36.2	32.3	8.8	-5.7	34.0	33.2	7.9	-3.6	34.3	32.3	9.1	-5.7	34.0
Purple potato	33.6	21.1	-3.7	39.8	35.9	20.8	-3.7	41.7	32.2	15.9	-5.1	36.3	34.1	12.5	-2.6	36.4	35.6	13.0	-5.7	38.3
Mature bitter melon	32.9	13.5	6.5	36.2	32.9	14.3	6.7	36.5	31.8	14.5	8.5	36.0	31.7	13.0	9.4	35.5	30.0	16.0	8.6	35.1
Paprika	36.1	13.8	12.5	40.6	35.4	15.0	11.5	40.1	36.0	12.4	12.9	40.2	36.1	13.6	13.2	40.8	34.5	13.1	12.4	38.9
Red cabbage	35.4	15.1	-5.4	38.9	37.1	13.1	-7.2	40.0	36.9	13.0	-5.8	39.6	36.0	8.7	-5.7	37.5	33.7	6.3	-8.4	35.3
Yellow gardenia	34.1	13.7	7.7	37.5	33.0	15.7	6.4	37.1	34.0	13.4	8.1	37.4	34.1	13.6	8.3	37.6	32.9	16.5	7.0	37.5
Blue gardenia	36.2	4.1	-4.4	36.7	37.5	4.9	-4.3	38.1	38.3	2.6	-3.6	38.6	37.7	3.1	-3.6	38.0	37.8	4.5	-4.7	38.4
Chinese foxglove	32.4	6.2	6.0	33.5	31.5	8.2	5.9	33.1	32.6	6.6	7.3	34.1	32.5	5.4	7.6	33.8	32.1	7.4	6.3	33.5
Mulberry leave	31.5	3.5	4.4	32.0	31.4	4.2	4.6	32.0	32.0	3.0	5.0	32.5	31.3	3.0	5.2	31.9	31.0	3.9	4.7	31.6
Onion peel	57.3	8.3	7.9	58.4	59.4	7.7	7.9	60.4	59.6	6.7	8.1	60.5	59.6	6.5	7.9	60.5	59.6	7.2	7.7	60.5
Grape peel	35.6	10.5	0.0	37.1	37.9	8.3	0.0	38.8	38.0	6.4	0.2	38.5	34.7	5.4	0.7	35.1	33.6	7.0	0.5	34.3
Mulberry	35.8	13.5	0.1	38.3	33.4	11.2	-0.3	35.3	32.9	7.5	0.8	33.8	36.8	8.3	1.2	37.7	34.6	7.9	1.0	35.5
Redbeet	36.1	14.7	-0.6	39.0	38.7	13.5	-0.5	41.0	39.7	12.3	0.1	14.6	39.0	11.9	-0.1	40.8	36.9	13.7	0.5	39.4
Gromwell	33.6	8.3	-1.4	34.6	33.2	7.5	-1.9	34.1	33.4	6.1	-1.4	34.0	33.4	5.4	-1.4	33.9	32.9	6.4	-1.7	33.6
Cactus	46.7	14.4	3.4	49.0	46.1	13.3	-0.1	48.0	46.6	9.5	1.5	47.6	46.6	8.9	1.8	47.5	46.0	10.1	1.6	47.1

② UV B 노출에 따른 천연색소 함유 시제품의 경시적 색상 변화

제형별로 제조한 각 시제품에 UVB 광을 조사하여 12시간 간격으로 48시간 동안 제품의 색상변화를 육안으로 관찰하였다. 그 결과, 립밤, 립스틱, 립크림, 립글로스 제품 모두 외관상 색조에는 별다른 변화가 없었지만, 특히 립크림과 립글로스에서는 물성이 다소 물러지는 경향을 나타냈다. 그러나 이물질 발생 등의 상품성을 떨어뜨리는 현상은 나타나지 않았다.

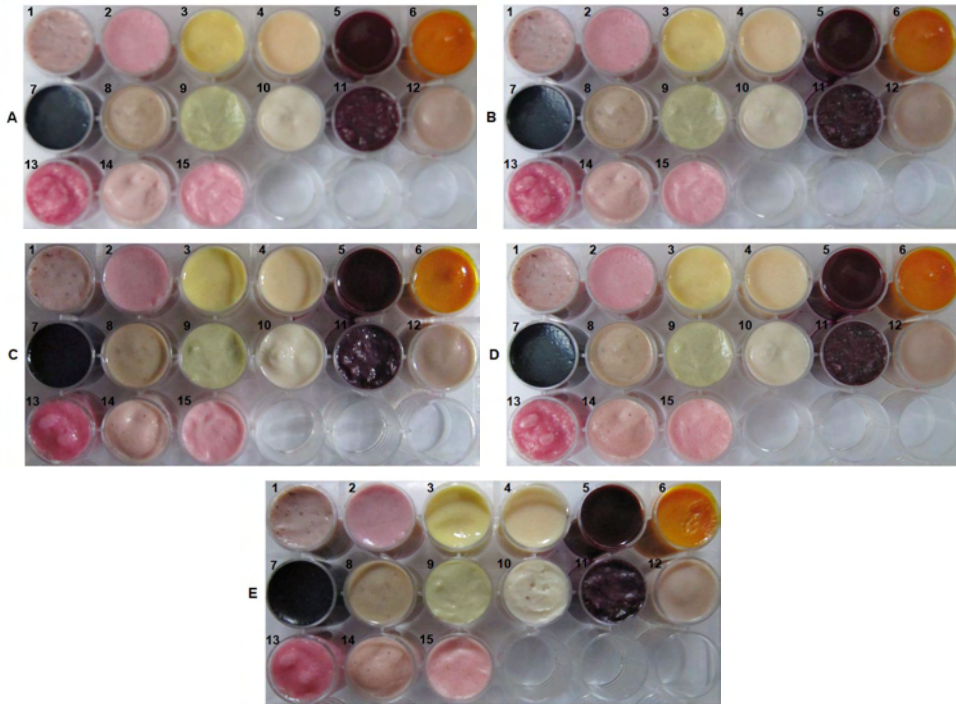


Fig. 216. Change of coloring of lip cream having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by UV B light time
 A: 0h, B: 12h, C: 24h, D: 36h, E: 48h
 1: Black rice, 2: Purple sweet potato, 3: Mature bitter melon, 4: Paprika, 5: Red cabbage, 6: Yellow gardenia, 7: Blue gardenia, 8: Chinese foxglove, 9: Mulberry leaves, 10: Onion peel, 11: Grape peel, 12: Mulberry, 13: Red beet 14: Gromwell, 15: Cactus

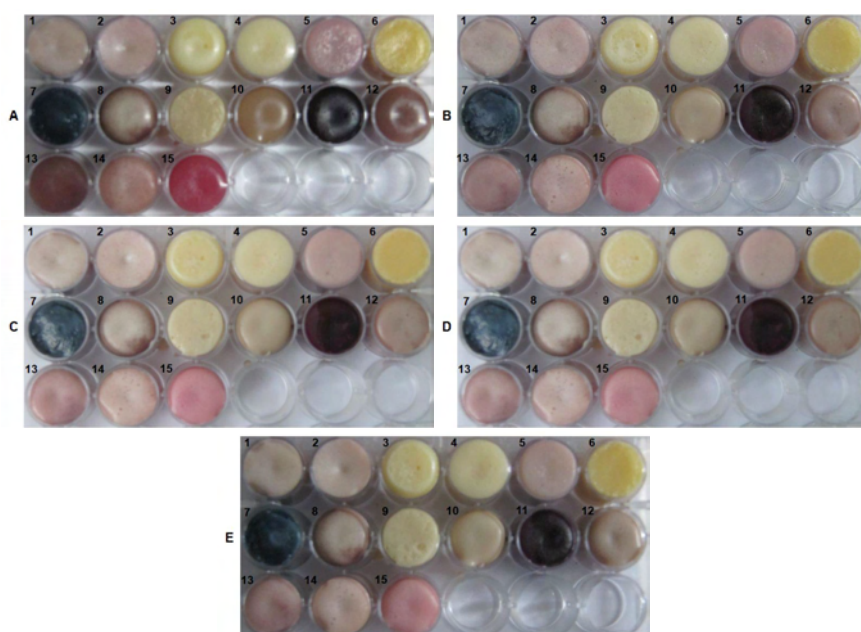


Fig. 217. Change of coloring of lip balm having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by UV B light time

A: 0h, B: 12h, C: 24h, D: 36h, E: 48h

1: Black rice, 2: Purple sweet potato, 3: Mature bitter melon, 4: Paprika, 5: Red cabbage, 6: Yellow gardenia, 7: Blue gardenia, 8: Chinese foxglove, 9: Mulberry leaves, 10: Onion peel, 11: Grape peel, 12: Mulberry, 13: Red beet 14: Gromwell, 15: Cactus

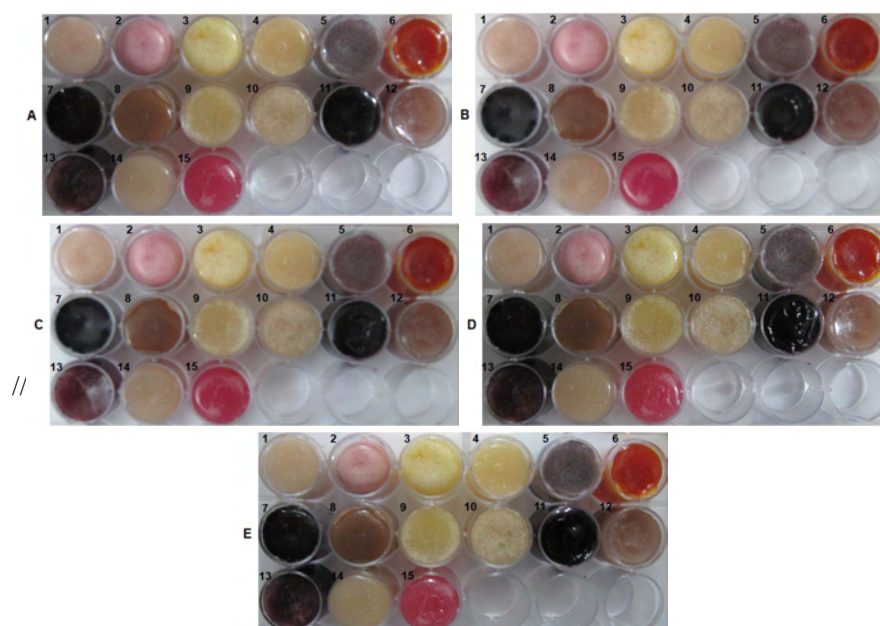


Fig. 218. Change of coloring of lip gloss having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by UV B light time

A: 0h, B: 12h, C: 24h, D: 36h, E: 48h

1: Black rice, 2: Purple sweet potato, 3: Mature bitter melon, 4: Paprika, 5: Red cabbage, 6: Yellow gardenia, 7: Blue gardenia, 8: Chinese foxglove, 9: Mulberry leaves, 10: Onion peel, 11: Grape peel, 12: Mulberry, 13: Red beet 14: Gromwell, 15: Cactus

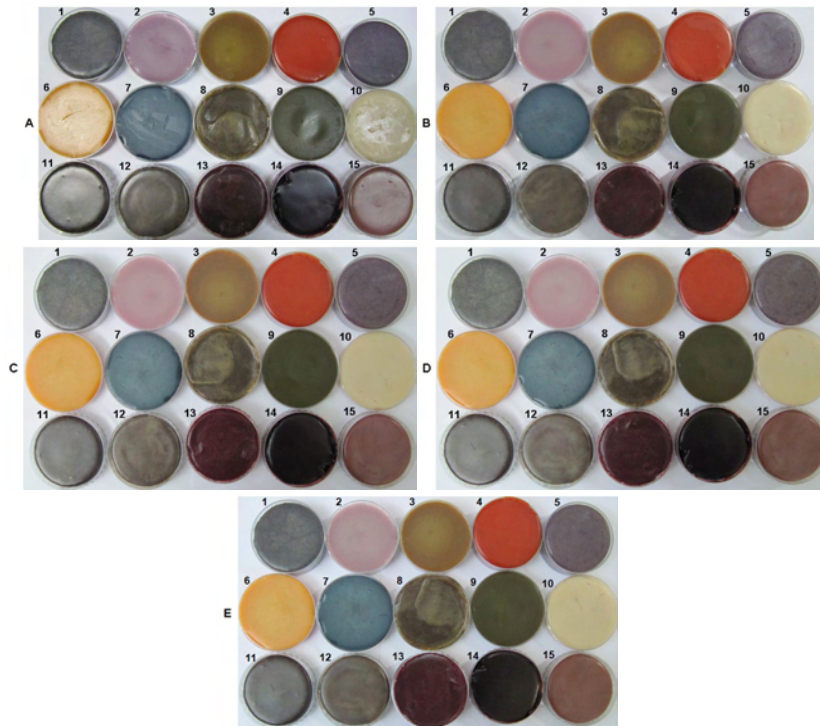


Fig. 219. Change of coloring of lip stick having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by UV B light time

A: 0h, B: 12h, C: 24h, D: 36h, E: 48h

1: Black rice, 2: Purple sweet potato, 3: Mature bitter melon, 4: Paprika, 5: Red cabbage, 6: Yellow gardenia, 7: Blue gardenia, 8: Chinese foxglove, 9: Mulberry leaves, 10: Onion peel, 11: Grape peel, 12: Mulberry, 13: Red beet 14: Gromwell, 15: Cactus

(라) UV A 노출에 따른 천연색소 함유 시제품의 경시적 색차 변이 및 색상 변화

① UV A 노출에 따른 천연색소 함유 시제품의 경시적 색차 변이

천연색소 및 참마 추출물을 함유한 제형별 립케어 시제품을 제조하여 UV광 하에서 상온에 48시간 보관하면서 12시간 간격으로 각 샘플에 대해 색차계 (Minolta CR-10, Japan)를 이용하여 색도 변화를 측정하였다. 색도 변화는 Hunter 색차식 $\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$ 를 이용하여 비교하였다. 그 결과, 립밤, 립글로스, 립크림, 립스틱 제품 모두에서 시간경과에 따라 명도 L 값이 약간 높아지는 경향을 보였지만, a 값과 b 값은 함유된 색소 종류에 따라 각각 다른 결과를 보였다. 특히 립글로스에서의 a 값은 UVA 조사 전보다 점차 낮아져서 색조가 많이 퇴색됨을 알 수 있었다. 전체적으로 UVB 조사 실험 경우와는 다소 다른 경향을 보여 이는 자외선 특성에 따라 제품의 색상에도 영향을 미치는 것으로 생각되었다.

Table 149. Variation of hunter value of lip cream having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by UV A light time

natural pigment	Hunter value / storage period(weeks)																			
	0h				12h				24h				36h				48h			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
Black rice	58.5	22.2	-0.9	62.6	56.1	20.5	-2.7	59.8	57.1	20.8	-2.1	60.8	59.6	10.4	2.6	60.6	58.9	10.1	2.4	59.8
Purple potato	57.1	32.5	-8.2	66.2	55.4	29.7	-7.6	63.3	57.3	32.5	-5.0	66.1	59.5	18.3	0.3	62.3	59.4	17.9	0.4	62.0
Mature bitter melon	66.0	15.9	20.8	71.0	66.5	14.5	20.5	71.1	68.4	10.8	22.0	72.7	71.0	6.0	17.5	73.4	70.9	5.4	16.2	72.9
Paprika	65.0	13.8	13.3	67.8	65.6	12.1	10.8	67.6	66.7	12.5	13.2	69.1	69.7	10.1	10.9	71.3	69.6	9.2	9.8	70.9
Red cabbage	29.2	22.6	-4.3	37.2	32.2	20.8	-3.9	38.5	32.7	17.7	-3.1	37.3	35.9	15.6	-0.9	39.2	35.6	15.9	-0.7	39.0
Yellow gardenia	54.4	21.7	31.3	66.4	54.0	17.1	29.6	63.9	54.2	25.1	29.9	66.8	52.9	26.1	27.7	65.2	53.8	14.6	28.9	62.8
Blue gardenia	34.8	1.5	-9.6	36.1	34.3	1.2	-7.1	35.0	34.5	0.2	-6.2	35.1	36.6	0.0	-1.8	36.6	36.4	-0.1	-0.6	36.4
Chinese foxglove	56.6	17.5	12.3	60.5	56.5	13.4	14.4	59.8	57.1	11.5	15.1	60.2	60.6	6.7	10.7	61.9	60.7	6.4	10.4	61.9
Mulberry leave	63.4	11.0	7.2	64.7	63.5	7.5	7.7	64.4	64.2	6.0	7.9	65.0	67.8	1.4	11.0	68.7	67.4	1.5	9.7	68.1
Onion peel	67.0	17.9	2.6	69.4	68.0	13.5	3.7	69.4	68.5	11.1	3.5	69.5	70.7	10.1	4.7	71.6	69.4	4.2	8.2	70.0
Grape peel	37.4	27.0	-7.9	46.8	39.7	24.7	-7.2	47.3	38.8	24.4	-7.5	46.4	42.8	12.0	-2.9	44.5	42.5	11.4	-3.2	44.1
Mulberry	60.4	27.7	-1.0	66.5	59.8	24.5	1.6	64.6	59.3	23.1	2.9	63.7	58.3	16.1	4.7	60.7	59.5	15.0	4.9	61.6
Redbeet	50.2	37.8	-7.4	63.3	52.0	42.1	-5.8	67.2	51.7	30.9	-3.2	60.3	55.2	23.2	3.3	60.0	59.1	20.8	4.8	62.8
Gromwell	58.5	22.7	2.5	62.8	56.7	20.3	2.3	60.3	55.1	21.7	5.0	59.4	56.4	16.4	3.2	58.8	54.8	16.5	3.4	57.3
Cactus	64.4	30.7	-6.3	71.6	64.4	27.3	-4.5	70.1	65.5	27.8	3.5	71.2	66.4	17.1	2.0	68.6	67.6	18.5	2.9	70.1

Table 150. Variation of hunter value of lip balm having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by UV A light time

natural pigment	Hunter value / storage period(weeks)																			
	0h				12h				24h				36h				48h			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
Black rice	61.4	15.4	3.0	63.4	60.0	21.6	1.6	63.8	59.4	15.8	3.2	61.5	62.1	7.0	3.1	62.6	62.9	6.8	1.3	63.4
Purple potato	62.5	27.0	1.8	68.1	60.1	28.6	1.2	66.6	59.1	16.7	2.6	61.5	62.5	14.2	3.0	64.2	63.1	13.5	3.2	64.6
Mature bitter melon	67.2	16.3	11.1	70.0	68.4	13.7	12.0	70.8	67.1	11.6	12.5	69.2	71.6	2.0	17.6	73.8	70.7	1.5	16.0	72.5
Paprika	65.8	20.3	9.1	69.5	67.3	14.8	9.7	69.6	66.6	13.8	7.7	68.4	69.8	6.4	10.3	70.8	69.9	2.8	15.2	71.6
Red cabbage	41.9	29.4	-10.9	52.3	42.1	30.9	-8.2	52.9	41.9	31.9	-9.2	53.5	44.9	19.7	-5.0	49.3	45.6	19.6	-4.8	49.9
Yellow gardenia	55.6	21.1	12.0	60.7	55.8	20.3	13.2	60.8	56.7	20.8	14.1	62.0	59.7	12.0	19.2	63.8	59.5	12.2	18.9	63.6
Blue gardenia	34.5	12.7	-8.0	37.6	35.9	11.9	-7.2	38.5	36.6	7.0	-5.0	37.6	37.9	0.2	-1.8	37.9	38.3	0.1	-2.0	38.4
Chinese foxglove	51.8	11.0	5.8	53.3	52.5	12.7	5.4	54.3	52.4	13.7	6.8	54.6	55.2	8.0	8.4	56.4	55.3	7.9	8.3	56.5
Mulberry leave	67.4	11.6	6.6	68.7	67.1	10.6	8.8	68.5	65.6	9.5	8.5	66.8	71.3	3.5	11.9	72.4	70.0	3.5	11.7	71.1
Onion peel	64.3	16.7	5.9	66.7	64.7	15.9	4.7	66.8	64.3	10.7	8.8	65.8	67.1	5.2	12.9	68.5	66.9	5.2	12.9	68.3
Grape peel	35.7	23.5	-6.3	43.2	37.2	22.2	-6.7	43.8	36.8	15.9	-7.2	40.7	38.8	9.5	-1.5	40.0	39.0	9.4	-1.6	40.1
Mulberry	57.3	26.5	1.7	63.2	57.5	24.3	3.8	62.5	56.7	16.8	5.0	59.3	60.7	8.1	4.7	61.4	60.5	8.1	4.8	61.2
Redbeet	44.5	30.5	-7.7	54.5	46.4	26.7	-5.9	53.9	46.2	19.3	-3.8	50.2	49.4	12.4	-0.5	50.9	49.4	12.1	-0.9	50.9
Gromwell	62.1	19.2	0.2	65.0	62.2	15.9	2.1	64.2	61.1	16.5	3.3	63.4	64.6	11.2	3.6	65.7	64.1	11.1	3.5	65.1
Cactus	61.3	34.1	-1.8	70.2	63.5	25.7	1.9	68.5	62.5	17.5	0.5	64.9	67.1	8.9	2.5	67.7	67.3	7.8	2.7	67.8

Table 151. Variation of hunter value of lip gloss having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by UV A light time

natural pigment	Hunter value / storage period(weeks)																			
	0h				12h				24h				36h				48h			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
Black rice	55.7	21.4	-1.0	59.7	55.6	14.6	2.0	57.5	53.9	13.6	-0.4	55.6	59.0	8.0	6.6	59.9	58.9	8.9	6.4	59.9
Purple potato	48.6	28.0	-3.8	56.2	49.2	19.4	-0.9	52.9	47.8	12.0	-2.7	49.4	50.9	8.7	4.1	51.8	50.6	8.0	4.0	51.4
Mature bitter melon	48.6	16.6	10.9	52.5	49.1	12.4	8.4	51.3	47.4	12.6	7.6	49.6	49.4	6.9	12.1	51.3	49.9	5.9	12.1	51.7
Paprika	49.1	15.5	8.3	52.2	50.0	10.9	8.5	51.9	48.7	8.6	7.7	50.1	51.1	2.0	8.7	51.9	52.0	2.3	9.0	52.8
Red cabbage	36.8	17.1	-6.6	41.1	37.4	11.1	-3.6	39.2	35.9	12.8	-5.8	38.6	38.7	6.3	-0.6	39.2	38.4	3.3	-1.0	38.6
Yellow gardenia	36.5	13.5	2.2	39.0	34.7	14.3	1.2	37.6	34.3	10.1	1.8	35.8	38.3	5.0	2.6	38.7	38.7	4.8	2.5	39.1
Blue gardenia	34.9	7.9	-4.6	36.1	35.5	7.2	-2.9	36.3	35.0	5.2	-4.4	35.7	37.2	0.4	-0.5	37.2	37.3	0.2	-0.6	37.3
Chinese foxglove	34.8	15.1	4.0	38.1	39.2	11.8	4.3	41.2	39.5	12.3	3.1	41.5	43.0	4.1	4.4	43.4	42.7	2.9	3.1	42.9
Mulberry leave	51.4	13.9	6.7	53.7	51.7	9.7	7.0	53.1	49.8	5.4	7.5	50.7	54.8	1.8	8.6	55.5	52.5	1.8	9.0	53.3
Onion peel	45.3	12.2	5.5	47.2	48.2	9.1	5.3	49.3	47.1	10.2	6.3	48.6	50.8	1.6	6.8	51.3	49.4	1.8	6.2	49.8
Grape peel	32.1	16.7	-5.2	36.6	35.3	12.4	-3.4	37.6	34.5	7.1	-4.4	35.5	36.1	1.1	-0.2	36.1	37.6	1.5	-0.2	37.6
Mulberry	43.4	19.7	-1.1	47.7	44.1	13.7	1.5	46.2	43.8	10.4	1.7	45.0	47.1	4.5	2.1	47.4	46.1	4.9	2.8	46.7
Redbeet	31.8	14.5	-6.4	35.5	34.7	11.3	-2.9	36.6	34.0	7.9	-2.8	35.0	36.3	2.2	-0.9	36.4	36.4	2.8	-1.3	36.5
Gromwell	45.4	15.4	4.3	48.1	45.8	8.7	3.8	46.8	45.7	3.5	3.2	45.9	49.9	1.9	4.5	50.1	49.1	1.7	4.3	49.3
Cactus	38.5	20.9	-6.1	44.2	40.7	14.3	-3.2	43.3	40.0	12.8	-4.2	42.2	42.2	6.7	0.2	42.7	42.9	5.9	0.0	43.3

Table 152. Variation of hunter value of lip stick having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by UV A light time

natural pigment	Hunter value / storage period(weeks)																			
	0h				12h				24h				36h				48h			
	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE	L	a	b	ΔE
Black rice	39.8	12.9	-6.4	42.3	41.2	13.4	-4.3	43.5	40.0	7.6	-3.9	40.9	42.8	6.8	-0.7	43.3	42.7	6.5	-1.1	43.2
Purple potato	39.8	22.7	-8.0	46.5	41.6	22.1	-5.9	47.5	40.2	16.4	-7.8	44.1	43.2	12.7	-2.3	45.1	43.7	13.7	-2.9	45.9
Mature bitter melon	41.0	16.4	1.4	44.2	42.2	16.9	2.6	45.5	41.0	11.8	3.6	42.8	43.7	9.5	5.9	45.1	43.7	8.3	5.5	44.8
Paprika	41.7	15.5	4.1	44.7	42.9	19.7	5.7	47.5	42.2	18.8	5.4	46.5	44.2	12.8	7.7	46.7	44.0	13.4	7.9	46.7
Red cabbage	40.9	14.5	-6.0	43.8	40.9	16.1	-5.4	44.3	39.9	11.2	-7.1	42.0	42.8	10.5	-2.2	44.1	43.3	10.9	-2.6	44.7
Yellow gardenia	46.8	14.2	13.7	50.8	46.6	13.9	13.9	50.6	46.2	18.4	13.4	51.5	48.2	18.5	16.9	54.3	48.5	18.4	17.0	54.6
Blue gardenia	37.8	8.4	-4.5	39.0	37.5	9.4	-3.8	38.8	36.4	6.0	-5.7	37.3	38.8	3.4	-1.2	39.0	38.7	2.3	-1.3	38.8
Chinese foxglove	43.0	10.3	1.0	44.2	43.9	12.8	2.6	45.8	42.0	7.8	-0.1	42.7	44.3	6.0	4.1	44.9	44.0	6.1	3.9	44.6
Mulberry leave	41.2	8.4	1.5	42.1	41.8	7.0	2.0	42.4	40.8	6.6	3.2	41.5	43.2	3.5	5.0	43.6	43.0	3.5	4.7	43.4
Onion peel	68.0	11.2	7.1	69.3	67.5	13.5	8.9	69.4	65.3	11.6	6.5	66.6	68.1	6.1	13.4	69.7	67.0	6.8	12.5	68.5
Grape peel	40.1	12.7	-2.0	42.1	40.4	13.2	-1.1	42.5	38.9	10.6	1.2	40.3	41.9	10.4	1.6	43.2	40.8	11.3	1.3	42.4
Mulberry	40.9	15.4	-1.1	43.7	41.6	12.5	-0.1	43.4	40.2	11.6	-2.9	41.9	42.3	12.7	2.1	44.2	42.3	12.9	2.0	44.3
Redbeet	38.0	14.6	-2.3	40.8	37.7	14.2	-1.8	40.3	36.6	12.6	-2.2	38.8	39.1	11.3	0.6	40.7	39.0	10.7	0.4	40.4
Gromwell	34.0	10.4	-3.3	35.7	37.2	8.3	-2.9	38.2	35.8	7.5	-2.3	36.6	36.9	7.0	-0.2	37.6	37.3	5.3	-0.5	37.7
Cactus	42.9	17.7	2.6	46.5	42.5	13.3	3.8	44.7	41.7	12.7	2.1	43.6	43.7	10.5	5.9	45.3	44.2	9.7	5.4	45.6

④ UV A 노출에 따른 천연색소 함유 시제품의 경시적 색상 변화

시제품에 UVA 광을 조사하여 12시간 간격으로 48시간 동안의 제품의 색상 변화를 육안으로 관찰하였다. 그 결과, 립크림과 립밤, 립글로스, 립스틱 제품 모두 외관상 색조 변화에 큰 차이가 없었으며, 물질의 변성이나 이물질 발생 등도 나타나지 않아 UVA 광에 비교적 안정한 것으로 판단되었다.

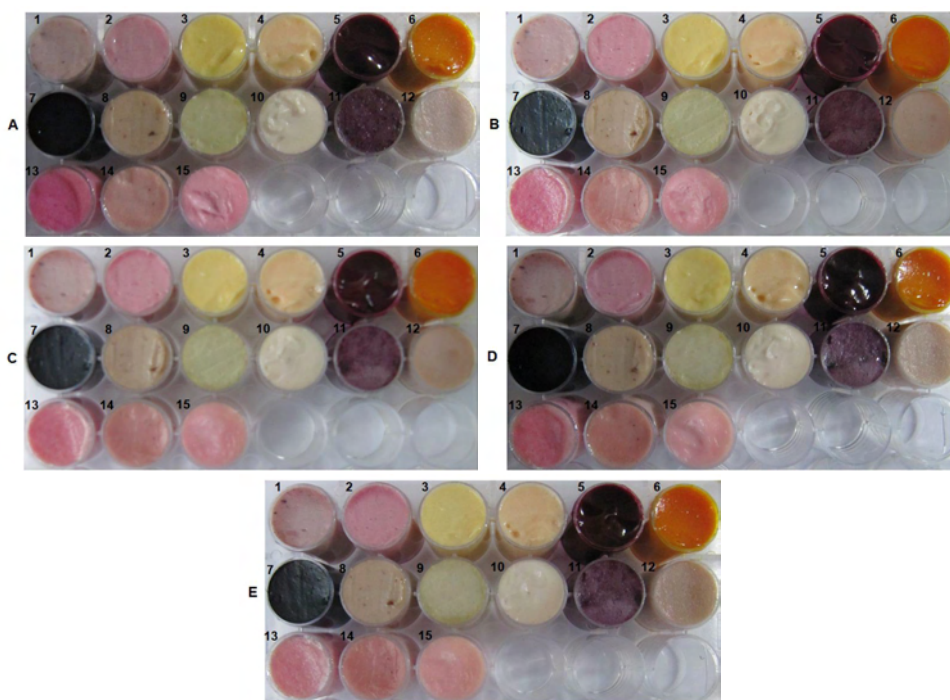


Fig. 220. Change of coloring of lip cream having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by UV A light time

A: 0h, B: 12h, C: 24h, D: 36h, E: 48h

1: Black rice, 2: Purple sweet potato, 3: Mature bitter melon, 4: Paprika, 5: Red cabbage, 6: Yellow gardenia, 7: Blue gardenia, 8: Chinese foxglove, 9: Mulberry leaves, 10: Onion peel, 11: Grape peel, 12: Mulberry, 13: Red beet 14: Gromwell, 15: Cactus



Fig. 221. Change of coloring of lip balm having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by UV A light time

A: 0h, B: 12h, C: 24h, D: 36h, E: 48h

1: Black rice, 2: Purple sweet potato, 3: Mature bitter melon, 4: Paprika, 5: Red cabbage, 6: Yellow gardenia, 7: Blue gardenia, 8: Chinese foxglove, 9: Mulberry leaves, 10: Onion peel, 11: Grape peel, 12: Mulberry, 13: Red beet 14: Gromwell, 15: Cactus



Fig. 222. Change of coloring of lip gloss having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by UV A light time

A: 0h, B: 12h, C: 24h, D: 36h, E: 48h

1: Black rice, 2: Purple sweet potato, 3: Mature bitter melon, 4: Paprika, 5: Red cabbage, 6: Yellow gardenia, 7: Blue gardenia, 8: Chinese foxglove, 9: Mulberry leaves, 10: Onion peel, 11: Grape peel, 12: Mulberry, 13: Red beet 14: Gromwell, 15: Cactus



Fig. 223. Change of coloring of lip stick having the natural plant pigment and extract of *Dioscorea japonica* as affected by UV A light time

A: 0h, B: 12h, C: 24h, D: 36h, E: 48h

1: Black rice, 2: Purple sweet potato, 3: Mature bitter melon, 4: Paprika, 5: Red cabbage, 6: Yellow gardenia, 7: Blue gardenia, 8: Chinese foxglove, 9: Mulberry leaves, 10: Onion peel, 11: Grape peel, 12: Mulberry, 13: Red beet 14: Gromwell, 15: Cactus

(2) 시제품의 안전성 평가

(가) 시료의 제조

MTT실험을 위한 시료를 제조하기 위하여 시료 200mg을 1.5ml tube에 넣은 다음 cell용 DMSO로 녹여서 200mg/ml 농도의 stock을 제조하였고, 멸균수를 이용하여 0.05, 0.5, 5, 50mg/ml의 농도로 희석하여 실험에 사용하였다.

(나) 세포독성 측정

시료의 세포독성을 측정하기 위해 MTT(3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazoliumbromide) assay를 실시하여 측정하였다. RAW264.7 세포 1×10^5 cells/well($500 \mu\text{l}$), B16 5×10^4 cells/well($500 \mu\text{l}$), HepG2 cells 2×10^4 cells/well($500 \mu\text{l}$)을 48well plate에 분주하고 37°C , 5%, CO_2 incubator에서 24hr동안 배양하였다. 배양한 세포에 시료 농도가 1, 10, 100, $100 \mu\text{g/ml}$ 이 되도록 $10 \mu\text{l}$ 처리한 후, 각각 24시간 배양하여 5mg/ml 의 MTT 용액 $10 \mu\text{l}$ 를 각 well에 넣고 incubator에서 4시간 동안 배양하였다. 배양 종료 후 상등액을 제거하고 각 well에 $500 \mu\text{l}$ 의 DMSO를 첨가하여 생성된 formazan 결정을 용해시켜 microplate reader로 540nm에서 흡광도를 측정하였고, 세포독성은 시료의 흡광도를 대조군의 흡광도에 대한 백분율로 나타내었다.

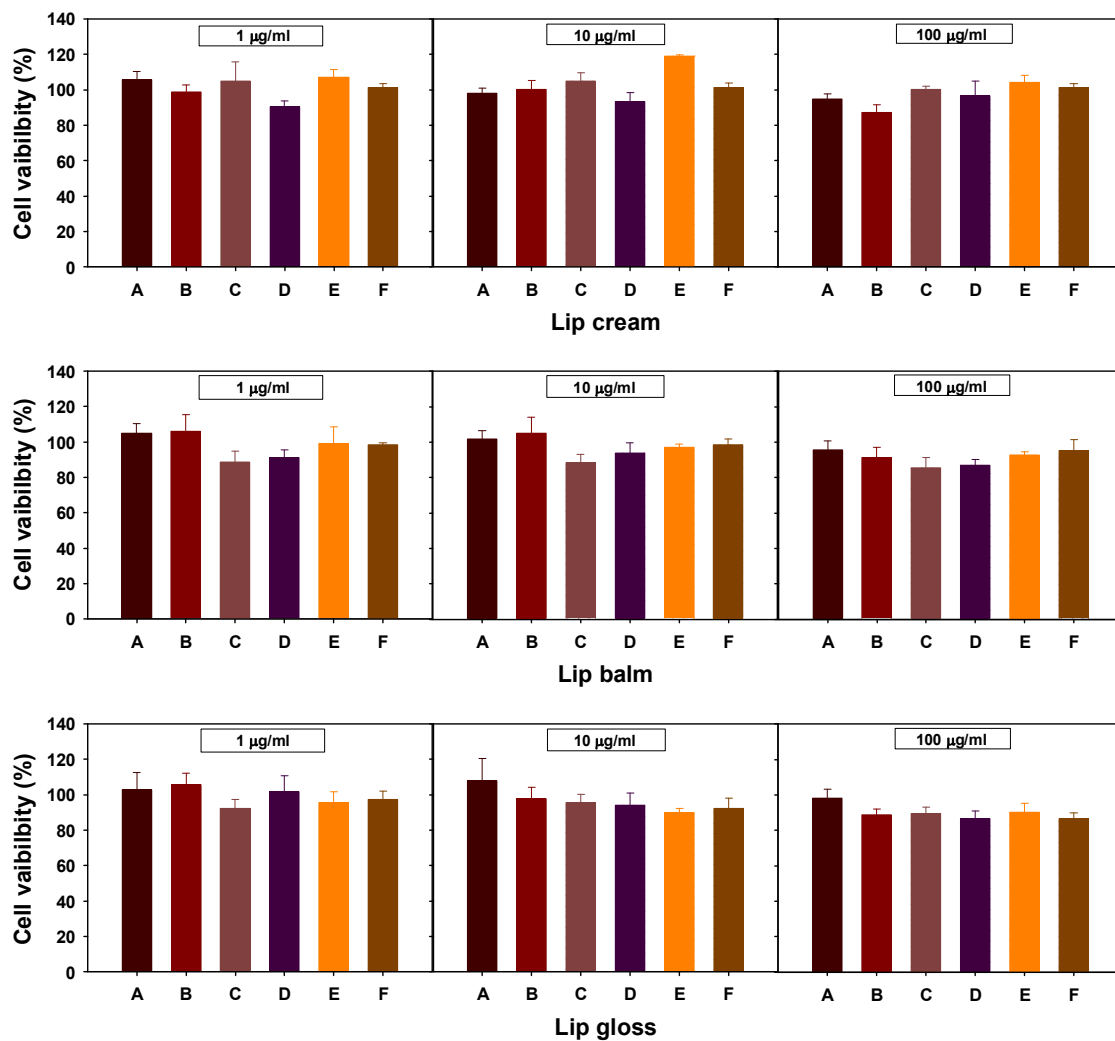


Fig. 224. The cytotoxic effect of lip care products on RAW264.7 macrophage cells by MTT assay.

A: Control, B: Mulberry leaf, C: Purple sweet potato, D: Bitter melon, E: Cactus, F: Black rice

시제품의 정상 세포보호 및 독성의 정도를 확인하기 위해 마우스 대식세포인 Raw 264.7세포에 대한 독성을 MTT assay를 하여 세포생존율을 측정된 결과, 립크림, 립밤, 립글로스 모두 시제품간에 다소 차이는 있으며, 립글로스를 제외하고는 세포생존율이 농도 의존적인 경향으로 감소되지 않았으나, 1, 10, 100 µg/ml의 농도에서 세포생존율이 80% 이상으로 세포독성이 보이지 않았다.

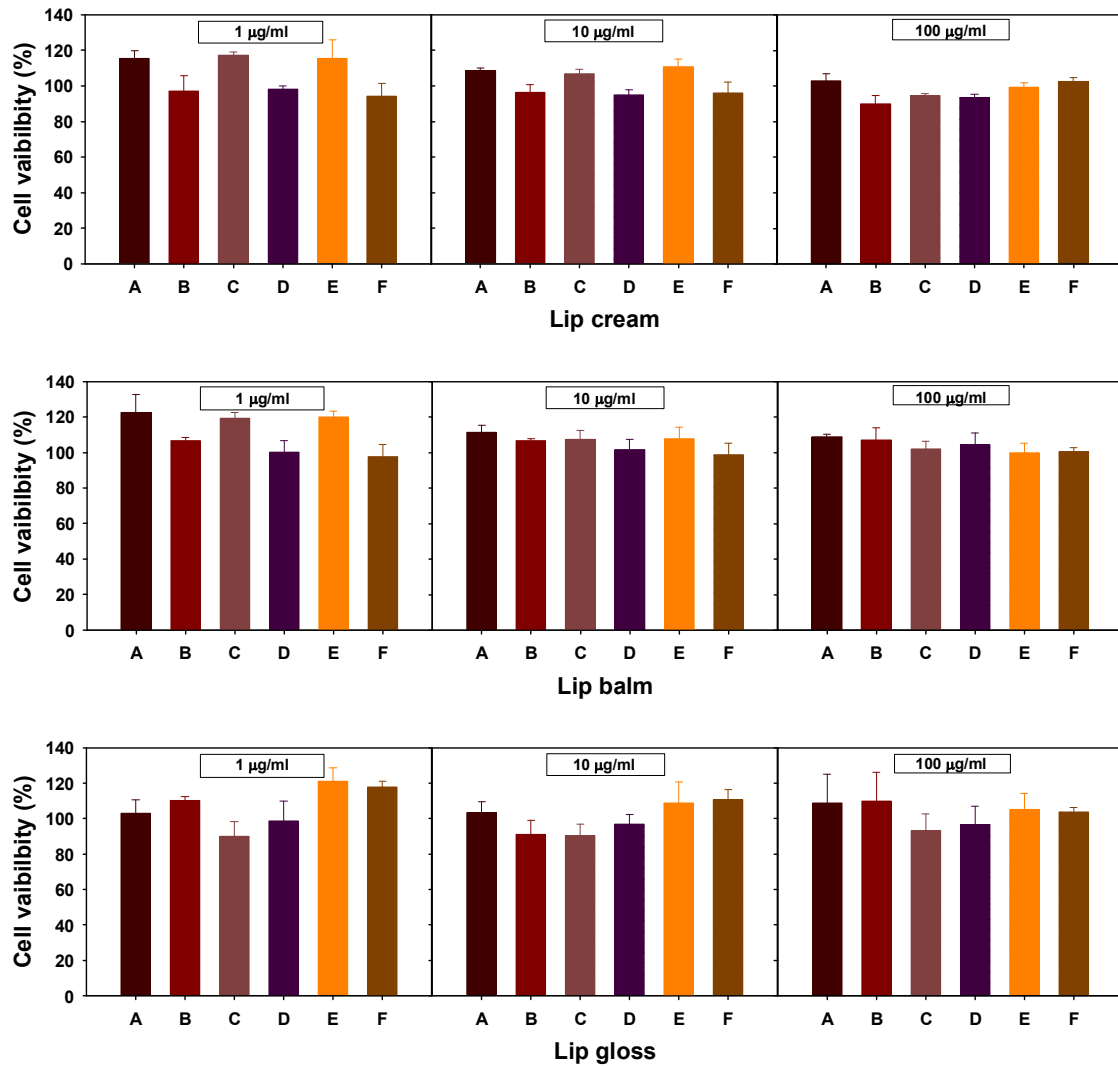


Fig. 225. The cytotoxic effect of lip care products on B16 cells by MTT assay.

A: Control, B: Mulberry leaf, C: Purple sweet potato, D: Bitter melon, E: Cactus, F: Black rice

B16 cell에 나타내는 세포독성 유발 효과를 MTT assay를 하여 조사한 결과, 립 크림, 립밤, 립글로스 모두 시제품 간에 다소 차이는 있었으나, 1, 10, 100 µg/ml의 농도에서 세포생존율이 80% 이상으로 세포독성이 보이지 않았으며, 립밤의 경우 세포생존율이 100% 이상으로 가장 좋았으며, 세포생존율이 농도 의존적인 경향으로 감소되지 않았다.

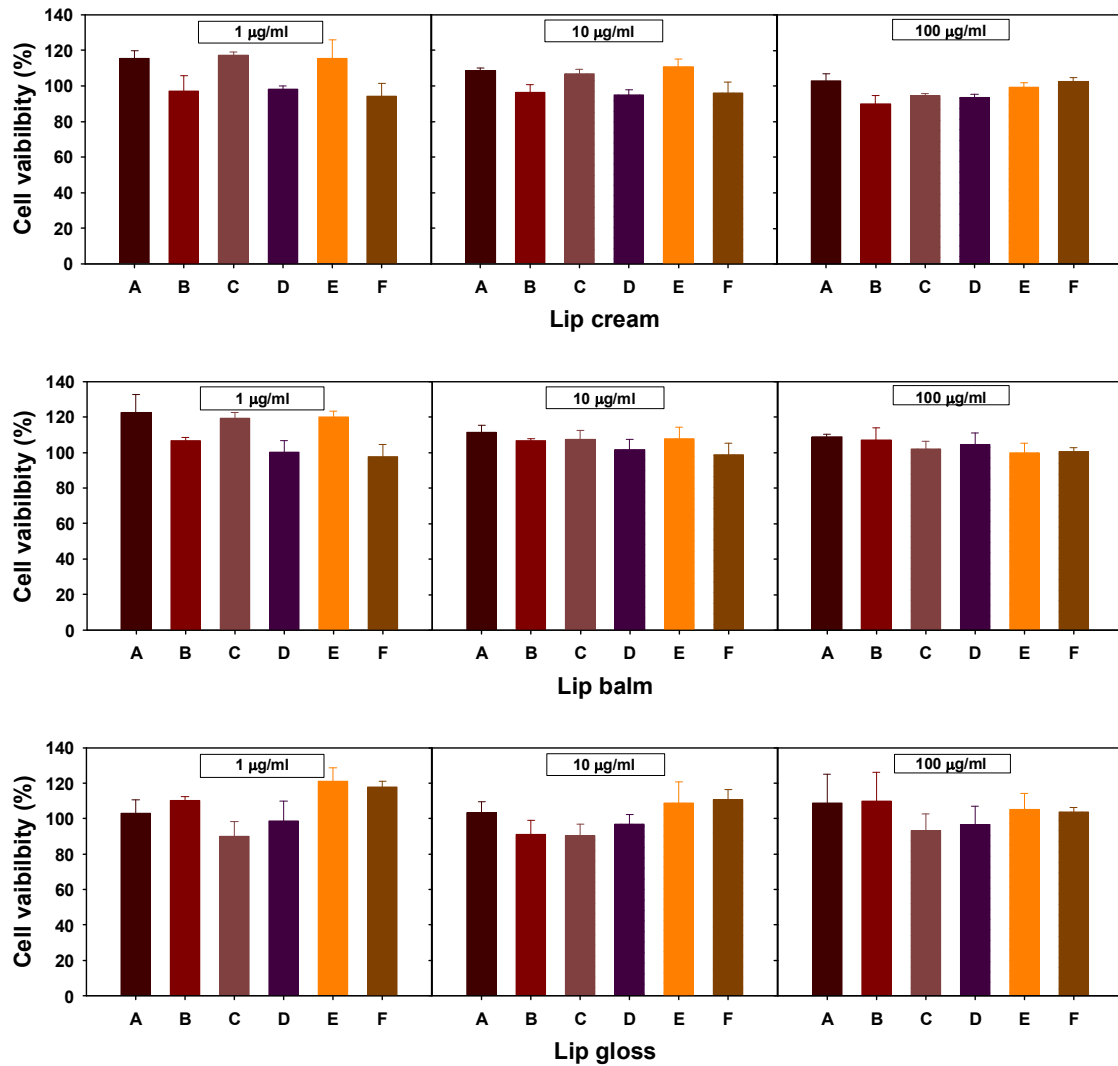


Fig. 225. The cytotoxic effect of lip care products on B16 cells by MTT assay.

A: Control, B: Mulberry leaf, C: Purple sweet potato, D: Bitter melon, E: Cactus, F: Black rice

B16 cell에 나타내는 세포독성 유발 효과를 MTT assay를 하여 조사한 결과, 립 크림, 립밤, 립글로스 모두 시제품 간에 다소 차이는 있었으나, 1, 10, 100 µg/ml의 농도에서 세포생존율이 80% 이상으로 세포독성이 보이지 않았으며, 립밤의 경우 세포생존율이 100% 이상으로 가장 좋았으며, 세포생존율이 농도 의존적인 경향으로 감소되지 않았다.

라. 시제품의 사용성 검색 위한 관능평가

제형별로 제조한 시제품의 여러 가지 관능적 특성을 알아보기 위해 20~40대 여성 15명을 패널로 선정하여 제품을 5일 동안 사용한 후에 관능평가를 실시하였다. 참가한 여성들의 입술피부 특성은 자가진단으로 본인들이 각각 인지하고 있는 타입별로 지나친 건성이거나 트러블성 피부 등 극단적인 특성을 지닌 패널은 제외하였다. 평가자료 수집 위한 설문지는 제품시범 사용에 참가한 패널들에게 배부한 후 제조된 제품을 직접 사용해 보면서 설문 항에 답하는 형식으로 진행하였다. 관능 테스트는 5점 평점법을 이용하여 색상 느낌, 발색력, 발림성, 유분감, 흡수력, 보습력, 끈적임, 향취, 피부자극, 도포 후 전반적인 느낌 등의 항목에 대해 경시적으로 평가하였다. 제조한 제품을 평상시 다른 립케어용 제품 사용 때와 마찬가지로 방법으로 입술 피부에 아침, 저녁으로 바른 후 5일 동안 매일 각 설문지 문항에 답하도록 하였다. 관능평가에 이용한 시제품은 뽕잎(녹색), 자색고구마(자미, 적자색), 여주(황색), 오디(흑자색), 흑미(검정) 등 색상별로 5종류를 선별하였으며, 결과는 15명 패널의 평가점수 평균값으로 나타냈다.

관능평가 결과, 립밤의 경우를 보면 ‘색상 느낌’에서 오디, ‘발색력’에서는 자미와 오디, ‘흡수력’과 ‘도포 후 전반적 느낌’에 있어서는 자미와 여주에서 다소 양호한 평가를 하였으나 전반적으로 색소종류 간 차이는 없었다. 립크림의 경우는 ‘색상 느낌’과 ‘흡수력’에서는 여주와 오디, ‘유분감’에서는 자미와 오디, ‘도포 후 전반적 느낌’에 있어서는 오디와 흑미에서 상대적으로 다소 양호한 평가를 나타냈다. 또한 립글로스의 경우는 ‘색상 느낌’과 ‘발색력’에서는 자미와 오디, ‘보습력’에서는 자미와 여주에서 양호한 평가를 했으며 ‘도포 후 전반적 느낌’에 있어서는 모든 제품에서 양호한 평가를 내렸다. 그리고 립스틱(립팔레트) 제품에 대한 평가를 보면 ‘색상 느낌’과 ‘발색력’에서는 자미와 오디, ‘흡수력’과 ‘보습력’에서는 자미와 여주에서 좋은 평가를 하였으며, ‘도포 후 전반적 느낌’에 있어서는 전반적으로 양호한 평가를 했다.

Table 227. 립밤 시제품의 관능평가

평가항목		관능테스트 평점									
		색상 느낌	발색력	발립성	유분감	흡수력	보습력	끈적임	향취	피부자극	도포 후 전반적 느낌
1일째	뽕잎	3.67	2.46	3.67	3.60	3.80	3.87	3.87	4.00	4.13	3.87
	자미	3.60	2.53	3.60	3.73	3.87	3.93	3.73	3.87	4.20	4.00
	여주	3.53	2.46	3.53	3.73	3.87	3.87	3.73	3.80	4.13	4.20
	오디	3.80	2.53	3.67	3.87	3.73	3.73	3.93	3.93	4.33	4.20
	흑미	3.33	2.46	3.33	3.87	3.80	3.80	3.87	3.87	4.20	4.13
2일째	뽕잎	3.67	2.53	3.60	3.60	3.73	3.93	3.93	3.87	4.00	3.93
	자미	3.60	2.60	3.60	3.73	3.87	3.93	3.87	3.87	4.13	3.93
	여주	3.53	2.46	3.53	3.87	3.80	3.87	3.87	3.93	4.13	4.13
	오디	3.67	2.60	3.67	3.93	3.67	3.73	3.93	4.13	4.27	4.27
	흑미	3.33	2.46	3.33	3.87	3.73	3.80	3.80	3.87	4.27	4.20
3일째	뽕잎	3.67	2.53	3.60	3.67	3.80	3.87	3.93	3.87	4.20	3.87
	자미	3.60	2.53	3.60	3.87	3.87	3.93	3.87	4.00	4.13	4.13
	여주	3.53	2.46	3.53	3.73	3.80	3.93	3.93	3.93	4.13	4.13
	오디	3.73	2.60	3.67	3.73	3.73	3.80	3.93	3.80	4.00	4.27
	흑미	3.47	2.46	3.33	3.87	3.73	3.80	3.87	3.93	4.27	4.13
4일째	뽕잎	3.67	2.53	3.53	3.60	3.80	3.93	3.93	3.87	4.27	3.93
	자미	3.60	2.60	3.60	3.87	3.87	3.87	3.80	4.13	4.13	4.20
	여주	3.53	2.46	3.53	3.73	3.80	3.93	3.87	3.93	4.20	3.93
	오디	3.80	2.53	3.67	3.73	3.73	3.80	3.93	3.80	4.00	4.27
	흑미	3.47	2.46	3.33	3.80	3.73	3.80	3.87	3.93	4.27	4.13
5일째	뽕잎	3.67	2.53	3.53	3.67	3.80	3.93	4.00	3.87	4.20	4.00
	자미	3.60	2.53	3.60	3.87	3.87	3.87	3.87	4.00	4.33	3.93
	여주	3.67	2.46	3.53	3.73	3.80	3.93	4.00	3.93	4.13	4.13
	오디	3.80	2.60	3.67	3.80	3.73	3.80	3.93	3.87	4.13	4.13
	흑미	3.33	2.46	3.33	3.73	3.80	3.87	3.93	3.87	4.00	4.20

Table 228. 립크림 시제품의 관능평가

평가항목		관능테스트 평점									
		색상 느낌	말색력	발림성	유분감	흡수력	보습력	끈적임	향취	피부자극	도포 후 전반적 느낌
1일째	뽕잎	3.73	2.53	3.80	3.87	3.93	3.87	3.73	3.93	4.33	3.93
	자미	3.60	2.67	3.60	4.13	3.93	4.13	3.67	3.93	4.27	4.13
	여주	3.87	2.46	3.73	3.93	4.13	4.13	3.73	3.87	4.27	4.13
	오디	3.87	2.67	3.93	4.13	4.00	4.27	3.87	4.13	4.40	4.33
	흑미	3.40	2.46	3.33	3.93	3.93	3.97	3.93	3.67	4.33	4.20
2일째	뽕잎	3.73	2.53	3.80	3.87	3.93	3.87	3.73	3.93	4.33	3.93
	자미	3.87	2.67	3.87	4.13	3.93	4.13	3.67	3.93	4.27	4.13
	여주	3.87	2.46	3.87	3.93	4.13	4.13	3.73	3.87	4.27	4.13
	오디	3.93	2.67	3.93	4.13	3.93	4.27	3.87	4.13	4.40	4.33
	흑미	3.33	2.46	3.40	3.93	3.87	3.97	3.93	3.67	4.33	4.20
3일째	뽕잎	3.53	2.53	3.80	3.87	3.93	3.87	3.93	3.93	4.33	3.93
	자미	3.60	2.67	3.87	4.20	3.93	4.13	3.87	4.13	4.27	4.13
	여주	3.87	2.46	3.87	4.13	4.13	4.13	3.73	3.87	4.27	4.13
	오디	3.93	2.67	3.93	4.13	4.00	4.27	3.87	4.13	4.40	4.33
	흑미	3.47	2.46	3.40	3.93	3.93	3.97	3.93	3.87	4.33	4.20
4일째	뽕잎	3.67	2.53	3.87	3.87	3.87	3.87	3.93	3.93	4.33	3.93
	자미	3.80	2.67	3.93	4.20	3.93	4.13	3.87	4.13	4.33	4.00
	여주	3.87	2.46	3.93	4.13	4.13	4.13	3.73	3.87	4.27	4.13
	오디	3.93	2.67	4.13	4.13	4.00	4.27	3.87	4.13	4.40	4.33
	흑미	3.47	2.46	3.53	3.93	3.93	3.97	3.93	3.87	4.33	4.20
5일째	뽕잎	3.67	2.53	3.87	3.87	3.93	3.87	4.00	4.00	4.33	3.93
	자미	3.80	2.67	3.93	4.13	3.93	4.33	3.87	4.13	4.40	4.13
	여주	3.93	2.46	3.93	4.27	4.13	4.20	3.73	3.87	4.27	4.00
	오디	3.93	2.67	4.13	4.20	4.00	4.27	4.13	4.13	4.40	4.13
	흑미	3.47	2.53	3.53	3.93	3.93	4.13	3.93	3.93	4.33	4.20

표 229. 립글로스 시제품의 관능평가

평가항목		관능테스트 평점									
		색상 느낌	발색력	발립성	유분감	흡수력	보습력	끈적임	향취	피부자극	도포 후 잔반적 느낌
1일째	뽕잎	3.93	2.93	3.93	4.13	3.87	3.80	3.87	4.13	4.20	3.87
	자미	3.87	3.20	4.00	4.20	3.80	3.93	3.80	3.93	4.13	4.00
	여주	3.87	2.93	4.20	3.93	3.93	4.00	3.73	3.93	4.27	3.93
	오디	3.93	3.27	4.13	4.33	3.73	3.87	3.93	4.00	4.33	4.13
	흑미	3.80	3.20	3.93	4.00	3.93	3.87	3.80	3.93	4.20	4.13
2일째	뽕잎	3.93	3.00	3.93	4.00	3.87	3.67	3.87	3.87	4.33	3.93
	자미	4.13	3.20	4.13	4.20	3.87	3.87	3.93	3.93	4.20	4.13
	여주	3.93	2.87	4.13	4.13	3.80	3.93	3.80	4.00	4.33	3.93
	오디	3.93	3.20	4.00	4.27	3.93	3.80	4.00	4.13	4.27	4.20
	흑미	3.87	3.27	3.93	3.93	3.73	3.80	3.93	3.80	4.20	3.93
3일째	뽕잎	4.00	3.20	4.00	4.00	3.93	3.87	4.00	3.93	4.33	3.93
	자미	3.93	3.27	4.20	4.20	3.87	3.93	3.93	4.13	4.27	4.13
	여주	3.87	3.00	4.13	4.13	3.93	3.93	3.87	3.93	4.33	4.00
	오디	3.93	3.33	4.13	4.27	3.80	3.73	3.87	4.00	4.20	4.20
	흑미	3.87	3.20	4.20	3.93	3.87	3.87	4.13	3.93	4.33	3.93
4일째	뽕잎	4.00	3.27	4.00	4.00	3.73	3.80	3.93	3.87	4.27	3.93
	자미	3.93	3.27	4.13	4.20	3.80	3.93	4.13	4.13	4.27	4.13
	여주	3.87	3.20	3.93	4.13	3.87	3.93	3.93	3.87	4.20	4.00
	오디	4.13	3.27	4.20	4.27	3.73	3.87	3.87	4.13	4.33	4.13
	흑미	3.93	3.00	4.00	3.93	3.87	3.80	4.00	3.87	4.13	3.93
5일째	뽕잎	3.93	3.20	3.93	4.20	3.87	3.87	4.13	3.93	4.33	4.00
	자미	4.13	3.27	4.20	4.13	3.73	4.00	3.93	4.20	4.33	4.13
	여주	3.87	3.00	4.00	4.13	3.87	3.93	3.87	3.87	4.13	3.93
	오디	3.93	3.33	4.13	4.33	3.73	3.87	3.93	4.00	4.20	4.13
	흑미	3.87	3.27	4.13	4.00	3.80	3.93	4.13	3.93	4.13	4.13

표 230. 립스틱 시제품의 관능평가

평가항목		관능테스트 평점									
		색상 느낌	발색력	발림성	유분감	흡수력	보습력	끈적임	향취	피부자극	도포 후 전반적 느낌
1일째	뽕잎	3.87	2.87	3.73	3.47	3.73	3.67	3.93	3.73	4.13	4.00
	자미	3.93	3.27	3.67	3.53	3.80	3.87	3.87	3.93	4.00	4.13
	여주	3.80	2.80	3.47	3.67	3.87	3.80	3.87	3.87	4.13	4.13
	오디	3.87	3.27	3.87	3.60	3.73	3.73	3.93	3.80	4.20	4.20
	흑미	3.73	2.53	3.60	3.40	3.67	3.73	3.80	3.93	4.13	4.13
2일째	뽕잎	3.93	2.80	3.67	3.33	3.73	3.80	3.93	3.87	3.93	4.00
	자미	3.93	3.00	3.73	3.53	3.87	3.87	3.87	3.93	4.20	3.93
	여주	3.87	2.73	3.80	3.53	3.80	3.67	3.80	3.73	4.13	4.20
	오디	3.93	3.20	3.93	3.67	3.67	3.73	3.93	3.93	4.33	4.27
	흑미	3.73	2.46	3.87	3.47	3.67	3.67	3.87	3.73	4.27	4.13
3일째	뽕잎	3.93	2.87	3.80	3.40	3.73	3.87	3.87	3.80	4.20	3.93
	자미	3.93	3.00	3.87	3.53	3.80	3.87	3.93	3.87	4.13	4.20
	여주	3.80	2.80	3.53	3.67	3.87	3.67	4.13	3.87	4.20	4.13
	오디	3.87	3.27	3.93	3.60	3.73	3.80	4.00	3.93	4.33	4.13
	흑미	3.60	2.46	3.73	3.53	3.80	3.87	3.93	3.80	4.13	4.20
4일째	뽕잎	3.87	2.73	3.87	3.47	3.80	3.73	3.93	3.67	4.20	3.93
	자미	3.87	3.20	3.93	3.60	3.93	3.80	4.00	3.93	4.13	4.13
	여주	3.53	2.73	3.60	3.53	3.87	3.67	3.93	3.93	4.20	4.00
	오디	3.73	3.33	4.00	3.67	3.80	3.67	4.13	3.87	4.13	4.13
	흑미	3.53	2.46	3.47	3.53	3.87	3.80	3.93	3.80	4.33	3.93
5일째	뽕잎	3.73	2.73	3.73	3.60	3.80	3.73	3.93	3.73	4.13	4.13
	자미	3.67	3.20	3.93	3.67	3.93	3.87	4.13	3.87	4.20	3.93
	여주	3.60	2.67	3.67	3.40	3.87	3.80	3.87	3.80	4.13	4.00
	오디	3.87	3.27	3.93	3.53	3.73	3.73	4.00	3.87	4.20	4.13
	흑미	3.53	2.53	3.53	3.47	3.67	3.73	3.93	3.67	4.13	4.13

마. 제형별 시제품의 입술피부에 대한 보습력 평가

천연색소 및 참마 추출물을 함유한 제형별 시제품의 보습력을 측정하기 위해, 정상적인 입술피부의 특성을 지닌 것으로 판단되는 20~40대 여성 10명을 선발하였다. 그리고 이들을 대상으로 각 천연색소 종류별로 제조한 4 종류의 립케어 제품을 입술피부에 도포한 다음 유수분측정기(Skin Analyzer HL-611, Beautistyle Int. Co., Taiwan)를 이용하여 30분 간격으로 경시적인 보습유지 효과를 측정하였다. 측정 결과, 하기 표에 나타난 바와 같이 색소 종류 및 시간 경과에 따라 다소 차이를 보였으나, 전체적으로 우수한 보습력을 지니는 것으로 판단되었다.

Table 231. Standards for valuation of oil and moisture amount on lip skin of lipcare products

Standards for valuation of moisture amount					
moisture amount	33% 이하	34~37%	38~42%	43~46%	47% 이상
skin type	greatly dry skin	dry skin	normal skin	moist skin	very moist skin
Standards for valuation of oil amount					
oil amount	1	2	3	4	5
skin type	greatly dry skin	dry skin	normal skin	oily skin	very oily skin

Table 232. Sustainability of oil and moisture amount on lip skin of lip balm.

Cosmetic composition	Moisture amount(%)					Oil amount				
	0h	0.5h	1h	1.5h	2h	0h	0.5h	1h	1.5h	2h
black rice	42	41	38	36	33	4	4	3	3	2
purple sweet potato	45	43	38	35	33	5	4	3	3	2
bitter melon	43	41	37	35	32	4	3	3	2	2
paprika	42	40	38	36	34	4	4	3	3	2
red cabbage	45	42	39	34	32	5	4	3	3	2
yellow gardenia	42	41	36	33	33	4	3	3	2	2
blue gardenia	43	41	38	35	34	4	3	3	3	2
chinese foxglove	45	43	37	34	32	4	3	3	3	2
mulberry leaves	46	42	39	36	35	5	4	3	3	2
onion peel	45	43	40	37	34	4	4	3	2	2
grape peel	47	45	41	35	34	5	4	4	3	2
mulberry	43	42	41	34	32	5	4	3	3	3
red beet	45	43	38	36	35	4	3	3	3	2
gromwell	43	42	43	35	31	5	4	4	3	2
cactus	46	44	39	34	33	4	4	3	2	2

Table 233. Sustainability of oil and moisture amount on lip skin of lip gloss.

Cosmetic composition	Moisture amount(%)					Oil amount				
	0h	0.5h	1h	1.5h	2h	0h	0.5h	1h	1.5h	2h
black rice	44	43	42	39	35	5	5	4	3	2
purple sweet potato	45	43	43	38	36	5	4	3	3	2
bitter melon	44	42	41	38	35	5	4	4	4	2
paprika	43	42	40	36	33	4	4	3	3	2
red cabbage	46	44	43	37	35	5	4	3	3	2
yellow gardenia	43	41	38	36	34	4	4	3	2	2
blue gardenia	43	42	37	35	34	4	4	3	3	2
chinese foxglove	47	45	43	39	37	5	4	4	3	3
mulberry leaves	46	45	44	38	35	5	5	4	3	2
onion peel	47	46	44	42	39	5	4	3	3	2
grape peel	47	45	43	40	38	5	4	4	3	2
mulberry	46	43	42	38	35	5	5	4	4	3
red beet	46	44	42	37	35	4	4	3	3	2
gromwell	45	44	43	38	36	5	4	4	3	3
cactus	47	45	43	40	37	5	4	4	3	3

Table 234. Sustainability of oil and moisture amount on lip skin of lip cream.

Cosmetic composition	Moisture amount(%)					Oil amount				
	0h	0.5h	1h	1.5h	2h	0h	0.5h	1h	1.5h	2h
black rice	48	46	43	39	37	5	5	4	3	3
purple sweet potato	49	46	42	38	37	5	4	4	3	2
bitter melon	49	45	42	38	36	5	5	4	4	3
paprika	48	45	43	36	35	5	5	4	3	2
red cabbage	49	46	41	37	36	5	4	4	4	2
yellow gardenia	48	44	41	36	35	4	4	3	3	2
blue gardenia	49	45	43	35	34	5	4	4	4	3
chinese foxglove	47	45	41	39	37	5	5	4	3	3
mulberry leaves	49	44	42	38	37	5	5	4	3	2
onion peel	48	45	41	42	39	5	5	4	4	3
grape peel	49	45	43	40	38	5	4	4	3	3
mulberry	48	45	41	38	37	5	5	4	4	3
red beet	46	43	42	37	37	4	4	4	3	2
gromwell	47	46	44	40	38	5	4	4	3	3
cactus	48	46	43	41	40	5	5	4	4	3

Table 235. Sustainability of oil and moisture amount on lip skin of lip stick.

Cosmetic composition	Moisture amount(%)					Oil amount				
	0h	0.5h	1h	1.5h	2h	0h	0.5h	1h	1.5h	2h
black rice	43	42	39	38	35	4	4	3	2	2
purple sweet potato	45	43	40	38	36	4	4	3	3	2
bitter melon	44	43	41	37	36	4	3	3	2	2
paprika	42	41	40	37	35	4	4	3	2	2
red cabbage	45	43	42	38	33	5	4	3	3	2
yellow gardenia	43	42	40	36	34	4	3	2	2	2
blue gardenia	43	43	41	38	36	4	3	3	3	2
chinese foxglove	45	43	42	36	35	4	3	3	2	2
mulberry leaves	45	44	40	37	36	5	4	3	3	2
onion peel	45	43	41	37	36	4	3	3	2	2
grape peel	47	46	43	39	35	5	4	3	2	2
mulberry	45	43	42	39	37	5	4	3	2	2
red beet	45	44	40	37	35	4	3	3	3	2
gromwell	44	42	42	40	36	4	3	3	2	2
cactus	46	45	42	39	38	4	4	3	3	2

■ 제형별 립케어 시제품



[립크림 제품]



[립밤 제품]



[립글로스 제품]



[립밤 제품]



[립스틱(립팔레트) 제품]



[립케어 시제품 4종 세트]

10. 천연 립케어 제품의 사업화 및 마케팅 전략 구축

가. 천연 립케어 제품 사업화 위한 시장 분석

(1) 국내시장 분석

○ 불황일수록 빨간 립스틱을 선호하게 되며, 다른 화장품 소비를 줄이고 립스틱 하나만으로 간단하고 저렴하게 화장을 하는 경향이 있음. 아모레퍼시픽 라네즈의 경우 2008년도 말부터 립스틱 판매량이 립글로스의 판매량을 압도하기 시작했으며, 과거 립스틱은 성장이 정체되었던 것과 달리 립글로스 매출은 매년 10% 이상씩 성장해왔지만 2008년도 이후부터는 립글로스의 성장이 3% 정도인 반면에 립스틱 판매율은 크게 성장하였음. 화장품 업계에 따르면 최근 자연스럽게 윤기나는 메이크업이 뜨면서 윤기나는 피부 표현과 볼륨감과 컬러감이 있는 입술의 화장이 유행하는 추세임.

○ LG생활건강에서 럭셔리 립스틱'은 백화점에서 꾸준한 인기를 얻고 있으며 출시 열흘 만에 약 2만개가 판매됨. 특히, 주름진 입술을 앵두같이 도톰하고 볼륨감 있게 보이도록 하는 LG '이자녹스 링클 프리 립스틱은 매년 판매량이 15%이상 증가하는 것으로 조사되었음. 또한 랑콤에서 나온 신제품 립스틱 '압솔뤼 루즈'의 경우 안티에이징 성분인 프록실린이 들어 있기 때문에 메이크업 효과와 동시에 입술의 탄력과 생기를 되찾을 수 있다는 장점이 있어 출하 일주일 만에 판매가 완료됨.

○ 최근 국내 화장품 시장도 수입 화장품에 맞서 브랜드 고급화 바람이 불고 있으며, 「가격이 떨어지면 소비가 증가한다」는 수요공급의 법칙이 잘 적용되지 않고 비쌀수록 잘 팔리는 경향이 있음.

○ 화장품은 “고급”이라는 이미지가 강하면 잘 팔리는 전형적인 브랜드 산업이다. 그래서 소득수준 향상에 따라 성장할 수 있는 잠재력이 높은 산업으로 최근 몇 년간 수입 브랜드들은 고급 화장품의 주요 유통채널인 백화점 시장을 90% 가량 점유하면서 매년 20~30%의 높은 성장률을 보이고 있음.

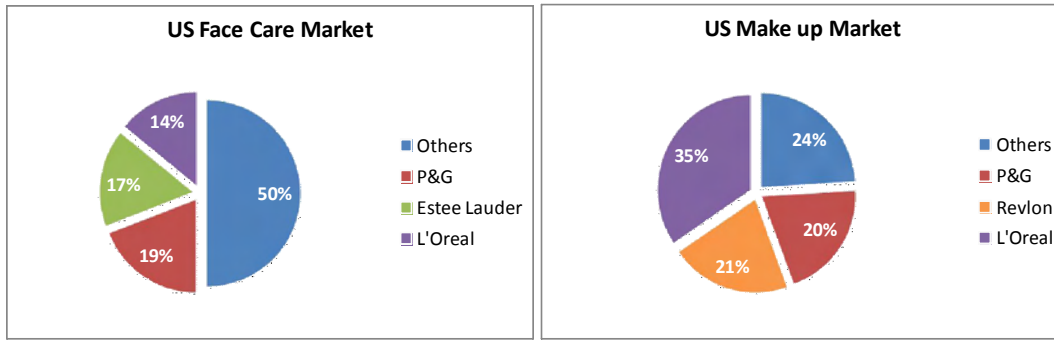
(2) 국외시장 분석

○ 현재 미국의 립케어 화장품 시장은 약 5억불 정도로 추정되고 있으며, 꾸준히 성장하고 있는 분야임.

○ 21세기 화장품의 개발 방향은 유효성과 안정성이 뛰어난 고기능성의 추구로 각종 천연물을 소재로 한 기능성 화장품 개발로 시장이 확대되고 있음. 특히 주름 개선, 노화방지 및 미백효과가 있는 화장품 개발을 위한 연구가 국내외의 많은 화장품 관련업계의 주요 테마가 되고 있음. 현재 화장품에 많이 적용되고 있는 천연물로서는 주로 사용경험이 오래되고 동서양을 막론하고 고대로부터 화장에 널리 이용되었던 식물 추출액이 대부분을 이루고 있음.

○ 전 세계적으로 립케어 제품을 비롯한 다양한 기능성 천연 색조화장품들이 범람하고 있지만 단지 식물 추출액을 혼합 적용하는데 그치고 있으므로 보다 정밀한 정제 및 적용 기술에 근거한 안전성과 그 효과의 과학적 검증된 고기능성 천연화장품의 개발이 절실히 요구되어지는 추세임.

○ 현재 미국 색조화장품 시장구조는 얼굴용 화장품 유형이 가장 큰 비중을 차지하고 있으며 다음으로는 눈(Eye)-입술(Lip)-손톱(Nail) 순으로 시장을 형성하고 있는 것으로 조사되고 있으며, 얼굴용 색조화장품의 상당수는 자외선에 의해 발생할 수 있는 피부암 및 주름을 예방해주는 컨셉이 주류를 이루고 있는 반면 손톱용 화장품은 화려한 톤의 손톱에 대한 유행이 사라지고 순수한 손톱건강을 위한 고객들이 증가함에 따라 손톱용 화장품에 대한 수요는 매년 줄어들 것으로 전망되고 있지만, 입술용 화장품의 경우 꾸준히 시장이 확대될 것으로 기대됨. 미국은 세계 최대의 화장품 단일시장을 구축하고 있으므로 미국소비자 기호도에 맞는 립케어용 색조제품 개발로 미국시장 진출을 위한 전략방안 모색할 필요.



나. 천연 립케어 제품 사업화 위한 마케팅 전략

- SWOT분석 통한 전략적 아이템 개발



- 입술 화장품은 여성에게 있어 필수적 재화로서 수요가 지속될 수 있는 품목
- 독창성이 있고 기존 제품과 차별화되는 품목
- 유해물질로 인한 피부병 발생 우려 등 화장품에도 환경과 건강을 고려한 자연친화적 제품 중요성 증가
- 천연 립케어 화장품에 대한 소비자 관심 급증
- 국내외 립케어 제품의 Target 소비자층 반응도 분석
- 수요시장 분석에 따른 상품화 전략 방향 설정
- 제품의 목표시장 분석 및 마케팅 전략 수립
- 제품의 브랜드 이미지 전략수립
- 제품 거래선 발굴 전략 수립

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제1절 연도별 연구목표 및 연구개발목표의 달성도

1. 1차년도 (2009. 04. 10 ~2010.04. 09)

목표	연구개발 수행내용	달성도 (%)
주요 천연색소 추출 분리 및 야생 참마 부위별 물질 추출	<ul style="list-style-type: none"> ○ 자색고구마 및 적양배추 색소 추출 분리 및 성분분석 ○ Red beet 배양근 RB-103으로부터 betalain 색소 추출 ○ 참마의 추출 용매별 물질단리 ○ 참마 조직으로부터 약리활성물질인 diosgenin의 추출 	100%
야생 참마, 천연색소의 항노화 및 피부 보호효과 규명	<ul style="list-style-type: none"> ○ 야생 참마의 생리활성 평가 ○ 야생 참마의 Superoxide dismutase(SOD) 유사활성, 전자공여능 측정 ○ 야생 참마의 전자공여능 및 Xanthine Oxidase(XOase)저해활성 측정 ○ 야생 참마의 항균활성 및 미백효과 측정 ○ 야생 참마, 천연색소의 자외선 차단효과 평가 ○ 천연색소의 피부 세포 사멸 단백질 변화 규명 	100%
적용 천연색소 선별 및 생리기능성, 안정성, 물성변화 등 특성조사	<ul style="list-style-type: none"> ○ 자색고구마, 흑미, 오디 색소 등 13종류의 천연색소 선별 ○ 선별 색소의 건조 조건, 최적용출 분쇄조건 등 구명 ○ 총페놀화합물, 플라보노이드 함량 분석 ○ 항산화효소 및 항산화활성, Tyrosinase 억제 활성 분석 ○ 적용 천연색소의 항균활성 검증 ○ pH, 열, 광, 당, 유기산, 금속이온 등에 대한 색소 안정성 검증 ○ 1차 혼합조성물의 기능성 검증 	100%

2. 2차년도 (2010. 04. 10 ~ 2011. 04. 09)

목표	연구개발 수행내용	달성도 (%)
<p>고효율 색소 추출, 정제조건 구명 및 야생 참마로부터 활성 분획 단리, 정제</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 백년초, 자색고구마 등 6종의 색소 선별하여 색소추출의 최적 용매 조건 구명위한 pH 및 온도 조건 탐색 실험 ○ 야생 참마로부터 활성 분획 단리 ○ 참마로부터의 단리물질 대량 추출, 정제하여 세부·협동과제에 제공 	<p>100%</p>
<p>야생 참마 분획과 천연색소 세분화에 따른 항산화 기능분석, in vitro 피부 보호효과 규명 및 각 효과 소재의 피부기능 개선을 위한 동물실험</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 야생참마의 항노화 및 피부 보호효과 규명 <ul style="list-style-type: none"> - 야생참마 효과 용매 분획 세분화 - 항산화 활성, 미백효과 분석 - 피부보호효과 및 항노화 실험 (MMP-1, SIRT-1) ○ 천연색소의 피부 보호효과 규명 <ul style="list-style-type: none"> - 천연색소 용매 분획의 세분화 - 피부보호효과 및 항노화 실험 (MMP-1, SIRT-1) ○ 기니픽을 이용한 미백 효과 검증 <ul style="list-style-type: none"> - 멜라닌 색소 침착 육안적 평가 - 멜라닌 색소 침착 기기 평가 - 멜라닌 세포 생성 조직학적 비교 (S-100 단백질) ○ 기니픽을 이용한 주름 형성 억제 실험 <ul style="list-style-type: none"> - 피부 두께 검사 - elastase 활성 저해 효과 측정 - collagen 생성 시험 	<p>100%</p>
<p>천연색소 혼합조성물 조제 및 조성물의 기능성, 안정성 분석과 제형별 표준화 조건 및 제조공정 확립</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 백년초, 오디 등 15종류의 천연색소 혼합한 화장품조성물 조제 ○ pH, 온도, 열, 광, 금속이온, 유기산 등 다양한 조건에서 혼합조성물의 안정성, 변색 가능성 검증 ○ 항산화효소 및 항산화활성, 항균 활성 분석 ○ 제품의 재료가 되는 색소추출물, 오일류, 왁스류 및 산화방지제, 천연방부제, 에센셜오일 등 각종 첨가제 혼합 비율 등 최적의 표준화 조건 검증 ○ 립글로스, 립스틱, 립밤 등에 대한 기초 제조공정 정립 및 제조된 기초제품의 보습력 검증 	<p>100%</p>

3. 3차년도 (2011. 04. 10 ~ 2012. 04. 09)

목표	연구개발 수행내용	달성도 (%)
참마로부터 분리된 활성획분 구조분석 및 시제품 참마 활성획분 안정성 검정	<ul style="list-style-type: none"> ○ 야생 참마 추출물로부터 생리활성 획분 확보 ○ 야생 참마로부터 분리한 항노화 활성물질의 NMR 구조 분석 ○ HPLC에 의한 시제품에서 참마 활성 획분의 안정성 분석 	100%
립케어 시제품의 활성 검증	<ul style="list-style-type: none"> ○ 세포활성 검정 ○ 세포독성 검정 ○ 동물실험을 통한 피부반응 실험 	100%
립케어용 천연 제품 제조 및 관능평가, 안전성/안정성 평가	<ul style="list-style-type: none"> ○ 크림 및 에멀전 타입으로 제형화한 베이스에 천연 추출물 및 생리활성물질의 목적별 최적 배합비율 및 첨가형태 보완 ○ 분리된 항노화물질 및 천연색소 함유한 각 제형별 립케어 시제품 제조 및 안전성/안정성과 관능평가 ○ 립케어 제품의 사업화 구축 및 차별화된 마케팅 전략방안 구축 	100%

제2절 관련분야 기술발전예의 기여도

1. 유용식물자원의 데이터 베이스화

- 식물유래 천연색소류 및 야생 참마 자원에 대한 실증적인 특성조사를 통해 관련 연구나 산업계에 근거자료를 제공하고 활용할 수 있는데 기여한다.
- 현재 일부 식물천연색소가 다양한 제품에 적용되고 있지만, 안전성, 안정성 등에 대한 구체적인 연구가 이루어지지 않았으며 사용되고 있는 색소 종류 또한 제한되어 있는 실정이다. 따라서 적용 가능한 다양한 천연색소 종류에 대한 재

정리 필요성과 함께 독성 유무와 기능성의 분석을 위한 기초자료로 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

- 참마는 유용식물자원임에도 불구하고 기초적인 건강식품에만 부분적으로 이용되고 있는 실정으로 피부 항노화 관련 향장제품 및 식의약품 개발 등 고부가가치 산업에의 이용성은 거의 없었다고 볼 수 있다. 본 연구는 참마를 비롯한 유용자원의 발굴과 산업화를 위한 기초자료 확보 측면에서 그 생리기능성을 과학적으로 입증함으로써 관련업체나 소비자들이 기능성 효과 파악에 크게 도움이 되도록 하였다.

2. 식물유래 천연색소 및 참마의 기능성 분석

- 상용적으로 또 관습적으로 건강에 이롭다고 알려진 천연색소 및 참마에 대한 항노화 작용물질 분석, 항산화, 세포독성, 피부보호효과 등을 분석함으로써 이러한 소재를 활용한 기능성 천연화장품을 개발할 수 있는 토대를 마련하였으며, 이는 관련 산업계의 제품 제조의 비용절감에 크게 도움이 될 것으로 기대된다.
- 우리나라에서 자생 혹은 재배되는 참마 및 유색식물 종류 및 그 활용법은 세계적으로 볼 때 독특함이 있는데, 종류별 기능성을 분석하여 국제 학술지에 게재함으로써 한국의 자원식물에 대한 관심을 불러일으키고 동시에 이를 적용한 기능성 제품에 대한 소비를 촉진시킬 것으로 기대된다.

3. 천연색소 및 참마를 적용한 가공기술

- 식물유래 천연색소는 매우 불안정하여 제품에 적용하기에는 부적합한 부분이 많았다. 이를 개선하기 위해서는 색소의 안정성을 확보할 수 있는 가공기술 정립이 무엇보다도 중요하다고 판단되는 바, 본 연구를 통한 립케어 색조제품 제조기술은 향후 더욱 완성도 높은 천연 색조화장품 개발에 크게 도움이 될 것으로 기대된다.
- 천연 립케어용 색조화장품 개발을 위한 여러 가지 전처리 방법 중 천연색소를 혼합하는 과정은 대부분의 내용물이 지용성인 특성 때문에 색소를 첨가하는 공정에 상당한 어려움이 있으며, 이를 해결하기 위한 다양한 방법을 시도함으로써 향후 색조제품 생산에 크게 기여할 것으로 생각된다.

제3절 정량적 성과

1. 논문게재

게재연도	논문명	저자			학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분	SCI구분
		주저자	교신저자	공동저자				
2011	식물유래 천연색소의 항산화 활성	부희옥	부희옥	황성진 배춘식 박수현 송원섭	한국자원 식물학회지	24(1)	국내 (학진등 재지)	비SCI
2012	천연색소 함유 화장료 조성물의 항균효과 및 항산화활성	부희옥	부희옥	신지산 황성진 배춘식 박수현	한국자원 식물학회지	25(1)	국내 (학진등 재지)	비SCI
2012	Preventive effect of natural pigments against ultraviolet B-induced cell death in HaCat cells	임재청 배춘식	박수현	정수영, 부희옥, 황성진, 임슬기, 박민정, 김종춘, 강성수, 한호재	J. Exp. Biomed. Sci	17(1)	국내 (학진등 재 후보지)	비SCI
2012	Analytical ethods for Enzyme and DPPH Radical Scavenging Activities of Natural Pigments from Some Plants	Hee-Ock Boo	Hee-Ock Boo	Buk-Gu Heo, Shela Gorinstein	Food Anal. Methods	Published online; March 2012	국외	SCI
2012	Extraction and Characterization of Some Natural Plant Pigments	Hee-Ock Boo	Hee-Ock Boo	Sung-Jin Hwang, Chun-Sik Bae, Su-Hyun Park, Buk-Gu Heo, Shela Gorinstein	Industrial Crops & Products	40	국외	SCI

2. 논문 발표

발표연도	논문명	저자		학회명	국내외 구분	발표구분
		주저자	공동저자			
2010	Antioxidative enzyme activity and tyrosinase inhibition activity according to each kind of natural plant pigments	부희옥	김윤희 황성진 배춘식 박수현	한국생명 공학회	국내	포스터
2010	식물유래 천연색소 추출물의 항균활성 비교	부희옥	김윤희 황성진 배춘식 박수현	한국약용 작물학회	국내	포스터
2010	Total phenolic compounds and activity and tyrosinase inhibition activities according to each kind of natural plant pigments	부희옥	김윤희 송원섭	한국자원 식물학회	국내	포스터
2010	Antioxidative enzyme activity and radical scavenging activities according to each kind of natural plant pigments	부희옥	김윤희 송원섭	한국자원 식물학회	국내	포스터
2011	Antimicrobial effects of the cosmetic composition having natural plant pigments	부희옥	이현화 신정화 배춘식 박수현 황성진	한국약용 작물학회	국내	포스터
2011	Antioxidant enzyme and DPPH radical scavenging activities of the cosmetic composition having natural plant pigments	부희옥	이현화 신정화 송원섭	한국자원 식물학회	국내	포스터
2011	천연색소 함유 화장품 조성물의 pH변화에 따른 분광학적 특성	부희옥	이현화 신정화 송원섭	한국자원 식물학회	국내	포스터
2011	천연색소 함유 화장품 조성물의 열 및 광 요인에 따른 색차변이	부희옥	배춘식 박수현 황성진 송원섭	한국자원 식물학회	국내	포스터

발표연도	논문명	저자		학회명	국내외 구분	발표구분
		주저자	공동저자			
2011	Antioxidative enzyme activities of the cosmetic composition having natural plant pigments and extracts of different partition layers in <i>Dioscorea japonica</i>	부희옥	황성진 배춘식 박수현	한국약용 작물학회	국내	포스터
2011	천연색소 및 참마 분획 추출물 함유 화장품 조성물의 항균효과	부희옥	신지산 황성진 배춘식 박수현 송원섭	한국자원 식물학회	국내	포스터

3. 특허출원

출원연도	재산권 종류	출원/등록	출원제목	출원일/등록일	출원번호/등록번호	출원인	발명인	출원국
2011	특허	출원	천연색소를 포함하는 입술용 화장품 조성물	2011.02.28	10-2011-0011199	(주)파이토 M&F	부희옥 황성진 배춘식 박수현	대한민국
2012	특허	출원	천연색소를 포함하는 노화방지용 입술 화장품 조성물	2012.04.06	10-2012-0036134	(주)파이토 M&F	부희옥 황성진 배춘식 박수현	대한민국
2012	특허	출원	천연색소를 포함하는 입술보호용 립밤 화장품 조성물	2012.04.06	10-2012-0036135	(주)파이토 M&F	부희옥 황성진 배춘식 박수현	대한민국

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제1절 추가연구의 필요성

- 본 연구에서 선발된 식물천연색소, 참마 외 고기능성 유색식물을 추가 발굴하여 자원식물로 개발할 필요
- 천연색소 이용성 확대를 위한 추출정제 및 안정화 기술을 추가 보완할 필요
- 참마의 항노화 작용물질을 이용한 타 산업에의 응용가능성 연구
- 국내 유용자원의 포괄적 이용을 통한 세계적인 상품화 개발로 수출 유망 품목으로 개발 추진
- 본 연구에서 도출된 결과를 바탕으로 보다 구체적인 임상실험 수행 필요

제2절 연구개발 성과활용 계획

- 천연색소 및 항노화 물질 소재가 되는 유용식물자원의 소비확대로 이용성이 증가함으로서 재배농가 소득증대에 활용
- 개발된 기술에 대하여 특허를 출원하고, 기술이전 등을 통해 관련 산업 활성화에 활용
- 천연 립케어 화장품 및 관련 제품의 수입 대체 효과가 있으며, 관련 분야 산업의 전반적인 품질 향상과 기능성 화장품 분야 등에 경쟁력 있는 신제품 개발 가능
- 기술 개발에 의한 고기능성 립케어 제품의 생산으로 소비자 수요증진에 따른 관련 화장품 산업계 활성화 유도하고, 개발된 원천기술을 활용하여 다양한 용도의 천연 색조화장품 제조에 활용
- 외국으로부터의 기술 도입이 필요 없고 국내의 자원식물을 이용함으로써 저렴한 비용으로 대량생산 할 수 있는 기틀을 마련하고, 본 연구사업과 연계한 지속적인 연차별 제품 개발로 수출 활성화에 활용
- 기능성 물질이 함유된 추출물과 이를 이용한 실험결과는 산학의 신속한 협력 및 연구를 통한 활발한 교류로 산업적으로 사용될 수 있음
- 국내외 화장품 전시회 및 박람회에 개발 제품을 출시하여 소비자 기호도 유발
- 참마에 함유된 항노화 물질인 Diosgenin의 성분 등의 생리활성물질 추출기술 산업화 및 이를 이용한 제품개발로 관련 산업에 기여하고, Antiaging 천연화장품이나 기능성식품, 의약품 등의 소재로 적극 활용
- 식물성 천연색소 소재의 가공기술 확보로 타 산업에의 응용이 가능하고, 품질의 고급화 및 브랜드화를 통한 고부가가치 상품생산 효과로 국제시장에서의 경쟁력 제고에 활용
- 전문 인력의 고용창출 효과가 클 것으로 기대되고 산학연 기술개발 및 산업화로 관련 산업의 경쟁력 제고에 활용 기대.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

해외에서는 천연색소의 생리활성 연구와 참마의 주요성분인 Diosgenin에 관한 연구가 다양한 분야에서 활발히 진행 중에 있다. 최근 발표된 논문들을 조사해 본 결과 아래와 같다.

- Liu(2006) 등은 참마 근경 저장단백질의 항산화활성을 품종별로 비교하는 연구를 하였으며, Bhandari(2004) 등은 네팔에 자생하는 4종류의 야생 참마의 유기산, 페놀함량, 항산화성 등을 비교 분석하여 발표하였다.
- Lin(2006) 등은 murine model에서 참마 곡수의 hypolipidaemic 효과에 대해 보고하였고, Chou(2006) 등은 대만산 참마를 소재로 저장온도 조건에 따른 항산화활성 변화에 대해 보고하였다.
- Chen(2007, 2008) 등은 참마 품종별로 Dioscorin 성분의 열 및 pH에 대한 안정성을 조사한 결과, 가열온도 및 pH에 따라 성분이 변화함을 보고하였다.
- Li(2010) 등은 Diosgenin 성분이 human hepatocellular carcinoma cells에서 chemosensitization을 유도하는 STAT3 signaling pathway를 억제하는 것으로 보고하였으며, Lepage(2010) 등은 HT-29 and HCT-116 colon cancer cells에서 diosgenin 유도 apoptosis의 Cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase 경로에 대해서 연구 발표하였다.
- Liu(2010) 등은 발효한 마로부터 diosgenin과 스테로이드성 사포닌을 추출하였으며, Ying(2010)은 자색 마로부터 Diosgenin 성분 분리하고 그 함량을 조사분석하여 발표하였다.
- Oki(2002) 등은 자색고구마 품종별 Anthocyanin색소 함량과 페놀화합물, 항산화성과의 관련성에 대해서 연구 발표하였으며, Singh(2009) 등은 적색 양파껍질에서 그리고 Sompong(2011) 등은 다양한 흑미 품종에서의 항산화능을 분석하여 유색식물이 항산화성이 높다는 것을 보고하였다.
- Zhao(2012) 등은 Chili 분말색소에서 23종류의 염료를 liquid chromatography-electrospray ionization-tandemmass spectrometry (LC/ESI/MS)을 사용하여 분리하였으며, Burdulis(2009) 등은 Bilberry와 Blueberry 과실에서의 Anthocyanin색소 성분과 항균성, 항산화성을 비교분석하여 이들 간의 상관관계를 밝혀냈고, Singh(2005) 등은 몇 종류의 천연색소 염료에서 항균효과가 있음을 보고하였다.
- Cai(2003) 등은 비름과 식물들로부터 추출, 분리한 Betalain 색소성분의 항산화능을 보고하였으며, Duan(2007) 등은 오디의 적색 색소 실험에서 높은 항균성이 있음을 밝혔다.
- Katsube(2003) 등은 Bilberry를 소재로 한 연구에서 Anthocyanin색소 성분이 암세포의 apoptosis를 유도하는 결과를 발표하였으며, Lazze(2004) 등도

Anthocyanin색소 성분이 여러 종의 인간 세포주에서 cell cycle perturbations와 apoptosis를 유도한다고 보고하였다.

- Wang(2002) 등은 Anthocyanin색소 성분이 LPS/IFN-gamma-activated RAW 264.7 대식세포에서 종양괴사인자 α 의 생성을 유도하는데 효과가 있는 것으로 연구 발표하였다.
- Yang(2005) 등은 백년초 추출물의 항균효과를 보고하였고, Shi(2008) 등은 Citrus로부터 천연색소를 분리하여 분리된 색소의 안정성에 대하여 분석하였으며, Mei(2011) 등은 천연색소 Laccic Acids을 UPLC/TUV and UPLC - MS를 이용하여 분리·동정하였다.

제 7 장 참고문헌

- 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 Raton. 1-174.
- An RB, Sohn DH, and Kim YC. 2006. Hepatoprotective compounds of the roots of *Cudrania tricuspidata* on tacrine-induced cytotoxicity in Hep G2 cells. Biol Pharm Bull. 29: 838-840.
- Araghiniknam, M., Chung, S., Nelson-White, T., Eskelson, C. and R.R. Watson. 1996. Antioxidant activity of dioscorea and dehydroepiandrosterone (DHEA) in older humans. Life Science. 59:PL147-157.
- Assefa Z, Laethem AV, Garmyn M, and Agostinis P. 2005. Ultraviolet radiation-induced apoptosis in keratinocytes: on the role of cytosolic factors. Biochim Biophys Acta. 1755: 90-106.
- Ballantyne B. 1993. Ophthalmic Toxicology in General & Applied Toxicology (Ballantyne B, ed). pp. 567-593, Stockton Press, New York.
- Bartsh, H., H. Ohshima and B. Pignatelli. 1988. Inhibitors of endogenous nitrosation: Mechanisms and implications in human cancer prevention. Mutation Research. 202:307-324.
- Bhandari, M.R. and J. Kawabata. 2004. Organic acid, phenolic content and antioxidant activity of wild yam (*Dioscorea spp.*) tubers of Nepal. Food Chemistry. 88:163-168.
- Bissett DL, Chatterjee R, and Hannon DP. 1990. Photoprotective effect of topical anti-inflammatory agents against ultraviolet radiation-induced chronic skin damage in the hairless mouse. Photodermatol. Photoimmunol Photomed 7:153-158.
- Boo, H.O., Hwang, S.J., Bae, C.S., Park, S.H. and W.S. Song. 2011. Antioxidant Activity According to Each Kind of Natural Plant Pigments. Korean J. Plant Res. 24(1):134-141.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72:248-254.
- Burdulis D, Sarkinas A, Jasutienė I, Stackevičienė E, Nikolajevs L, Janulis V. 2009. Comparative study of anthocyanin composition, antimicrobial and antioxidant activity in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruits. Acta Poloniae Pharmaceutica 66(4):399-408.

- Burke KE. 2010. Photoaging: the role of oxidative stress. *G Ital Dermatol Venereol.* 145: 445-459.
- Cai, Y.Z., M. Sun and H. Corke. 2003. Antioxidant Activity of Betalains from Plants of the Amaranthaceae. *J. Agric. Food Chem.* 51:2288-2294.
- Cha H.S., A.R. Youn, P.J. Park, H.R. Choi and B.S. Kim. 2007. Comparison of physiological activities of *Rubus coreanus* Miquel during maturation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36(6):683-688.
- Chan KP and Hayer AW. 1994. Acute toxicity and eye irritancy in Principals and Methods of Toxicology. pp. 600-647, Raven Press, New York.
- Chan, Y. C., Hsu, C. K., Wang, M. F. and T.Y. Su. 2004. A diet containing yam reduces the cognitive deterioration and brain lipid peroxidation in mice with senescence accelerated. *International Journal of Food Science and Technology.* 39(1):99 - 107.
- Chang SH, Jung EJ, Lim DG, Oyungerel B, Lim KI, Her E, Choi WS, Jun MH, Choi KD, Han DJ, and Kim SC. 2008. Anti-inflammatory action of *Cudrania tricuspidata* on spleen cell and T lymphocyte proliferation. *J Pharm Pharmacol.* 60: 1221-1216.
- Chaturvedi P. 2009. Bitter melon protects against lipid peroxidation caused by immobilization stress in albino rats. *Int J Vitam Nutr Res.* 79: 48-56.
- Chen CJ, Huang CY, Huang JK, Lin CY, and Lin CT. 2011. Cloning, Expression, and Purification of a Functional Glutathione Reductase from Sweet Potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam): Kinetic Studies and Characterization. *J Agric Food Chem.* (in press)
- Chen, G.X. and K. Asada. 1989. Ascorbate peroxidase in tea leaves : Occurrence of two isozymes and the differences in their enzymatic and molecular properties. *Plant Cell Physiol.* 30:987-998.
- Chen, Y.T., Kao, W.T. and K.W. Lin. 2008. Effects of pH on the total phenolic compound. Antioxidative ability and the stability of dioscorin of various yam cultivars. *Food Chemistry.* 107:250-257.
- Cho EJ, Yokozawa T, Rhyu DY, Kim HY, Shibahara N, and Park JC. 2003. The inhibitory effects of 12 medicinal plants and their component compounds on lipid peroxidation. *Am J Chin Med.* 31: 907-917.
- Choi, C.S., S.S. Shin, S.I. Chung and Y.T. Yang. 1986. Antibacterial activity of soluble extracts of *Gardenia jasminoides* against mycobacteria other than *Tubercle bacilli*. *J. Korea Soc. Microbiol.* 21(1):53-62.
- 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. Korean Soc. Food. Sci. Nutr.*

- 32(5):723-727.
- Chou, S.T., Chiang B.H., Chung, Y.C., Chen, P.C. and C.K. Hsu. 2006. Effects of storage temperatures on the antioxidative activity and composition of yam. *Food Chemistry*. 98:618-623.
- Chung, H.J. and K.L. Noh. 2000. Screening of electron donating ability, antibacterial activity and nitrite scavenging effect of some herbal extracts. *Korean J. Soc. Food Sci.* 16(4):372-377.
- Cserhati T, Forgacs E, Morais MH, and Mota T. 2000. Liquid chromatography of natural pigments. *Biomed Chromatogr.* 14: 281-286.
- Danijela A. Kostic, Snezana S. Mitic, Milan N. Mitic, Aleksandra R. Zarubica, Jasmina M. Velickovic, Aleksandra S. Dordevic and Sasa S. Randelovic. 2010. Phenolic contents, antioxidant and antimicrobial activity of *Papaver rhoeas* L. extracts from Southeast Serbia. *Journal of Medicinal Plants Research.* 4(17):1727-1732.
- Davis, WB. 1947. Determination of flavanones in citrus fruits. *Anal Chem.* 19: 476-478.
- Dinkova-Kostova AT. 2008. Phytochemicals as protectors against ultraviolet radiation: versatility of effects and mechanisms. *Planta Med.* 74: 1548-1559.
- Draize JH, Woodard G, and Calvery H. 1944. Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. *J Pharmacol Exp Ther* 82:377-390.
- DUAN Jiang-Lian and XU Jian-Guo. 2007. Study on Antimicrobial Effects of Mulberry Red Pigment. *Food Science.* 28(10):87-89.
- Egley, G.H., Paul, R.N., Vaughn, K.C. and S.O. Duke. 1983. Role of peroxidase in the development of water-impermeable seed coats in *Sida Spinosa* L. *Planta.* 157:224-232.
- Farombi, E.O., Britton, G. and G.O. Emerole. 2000. Evaluation of the antioxidant activity and partial characterization of extracts from browned yam flour diet. *Food Research International.* 33:493-499.
- Ferdes, M., C. Ungureanu, N. Radu and A. A. Chirvase. 2009. Antimicrobial effect of *Monascus purpureus* red rice against some bacterial and fungal strains. *Chemical engineering transaction.* 17:1089-1094.
- Gray, J.I. and L.R. Dugan Jr. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. *J. Food Sci.* 40:981-984.
- 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. *Journal of 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. Korean Soc. Agri. Chem. Biotech. 41(5):363-366.
- 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. Korean Journal of Food Preservation. 11(1):94-99.
- Hou Z, Qin P, and Ren G. 2010. Effect of anthocyanin-rich extract from black rice (*Oryza sativa* L. *Japonica*) on chronically alcohol induced liver damage in rats. J Agric Food Chem. 58:3191-3196.
- Hou, W.C., Hsu,F.L. and M.H. Lee. 2002. Yam (*Dioscorea batatas*) tuber mucilage exhibited antioxidant *in vitro*. Planta Med. 68: 1072-1076.
- Hsu, C. L., Chen, W., Weng, Y. M. and C.Y. Tseng. 2003. Chemical composition, physical properties, and antioxidant activities of yam flours as affected by different drying methods. Food Chemistry. 83(1):85 - 92.
- Hsu, F. L., Lin, Y. H., Lee, M. H., Lin, C. L. and W.C. Hou. 2002. Both dioscorin, the tuber storage protein of yam (*Dioscorea alata* cv.Tainong No. 1), and its peptic hydrolysates exhibited angiotensin converting enzyme inhibitory activities. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50(21):6109 - 6113.
- Hsu, H.Y., Chen, Y.P., Hsu, S.J., Chen, J.J. and S.C. Chang. 1984. Essentials of material medica. Taipei; New Medicine and Pharmacy press.
- Humphrey, A.M. 2004. Chlorophyll as a Color and Functional Ingredient. Journal Food Science. 69(5):C422-425.
- Hyung SH and Min KJ, 2010. Kim YC. Alleviating effect of Gardeniae fructus water extract on inflammation and skin-barrier damage. The Journal of Cosmetological Science. 6: 63-72.
- Isoir M, Buard V, Gasser P, Voisin P, Lati E, and Benderitter M. 2006. Human keratinocyte radiosensitivity is linked to redox modulation. J Dermatol Sci. 41: 55-65.
- Iwu, M. M., Okunji, C. O., Ohiaeri, G. O., Akah, P., Corley, D. and M.S. Tempesta. 1999. Hypoglycaemic activity of dioscoretine from tubers of *Dioscorea dumetorum* in normal and alloxan diabetic rabbits. Planta Medica. 56(3):264 - 267.
- Jeon, T.W., Y.S. Cho, S.H. Lee, S.M. Cho, H.M. Cho, K.S. Chang and H.J. Park. 2005. Studies on the biological activities and physicochemical characteristics of pigments extracted from Korean purple-fleshed potato. Korean J. Food Sci. Technol. 37(2):247-254.

- 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. Korean J. Food Sci. Technol. 40(5):586-592.
- Jin-Yuarn Lin, Shin Lu, Yi-Lin Liou, How-Lan Liou. 2006. Antioxidant and hypolipidaemic effects of a novel yam - . boxthorn noodle in an *in vivo* murine model. Food Chemistry. 94: 377-384.
- 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. Korean J. Food Sci. Tech.. 37(4):452-457.
- Joy R. Borchardt, Donald L. Wyse, Craig C. Sheaffer, Kendra L. Kauppi, R. Gary Fulcher, Nancy J. Ehlke, David D. Biesboer and Russell F Bey. 2009. Antioxidant and antimicrobial activity of seed from plants of the Mississippi river basin. Journal of Medicinal Plants Research. 3(10):707-718.
- Ju, J.H., H.H. Cho and Y.S. Lee. 2010. Progress on phytochemical and atopic dermatitis-related study of the root of *Lithospermum erythrorhizon*. Korean J. Pharmacogn. 41(2):73-88.
- Kanakis CD, Tarantilis PA, Polissiou MG, Diamantoglou S, and Tajmir-Riahi HA. 2007. An overview of DNA and RNA bindings to antioxidant flavonoids. Cell Biochem Biophys. 49: 29-36.
- 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. Korean Soc. Hort. Sci. 44(5):605-610.
- Kang, YH., Y.K. Park and G.D. Lee. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. Korean J. Food Sci. Technol. 28:232-239.
- Katsube, N., K. Iwashita, T. Tsushida, K. Yamaki and M. Kobori. 2003. Induction of apoptosis in cancer cells by Bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and the anthocyanins. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51(1):68-75.
- Kim SH, Joo MH, and Yoo SH. 2009. Structural identification and antioxidant properties of major anthocyanin extracted from Omija (*Schizandra chinensis*) fruit. J Food Sci. 74: C134-C140.
- Kim, E.Y. and M.R. Rhyu. 2008. Antimicrobial activities of *Monascus koji* extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 40(1):76-81.
- Kim, H.B., S.Y. Kim, H.Y. Lee, S.L. Kim and S.W. Kang. 2005. Protective effect against neuronal cell and inhibitory activity against bacteria of mulberry fruit extracts. Korean J. Crop Sci. 50(5):220-223.

- 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. Korean J. Food Sci. Technol. 27(1):80-86.
- 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. Korean J. Food Sci. Technol. 33(1):12-18.
- Kim, S.Y and J.A Cho. 2008. Research paper : A study based on natural dyes usage shown with shade makeup. J. Korean Soc. Cosm. 14(1):106-113.
- Kim, Y.H., D.S. Kim, S.S. Woo, H.H. Kim, Y.S. Lee, H.S. Kim, K.O. Ko and S.K. Lee. 2008. Antioxidant activity and cytotoxicity on human cancer cells of anthocyanin extracted from black soybean. Korean J. Crop Sci. 53(4):407-412.
- Kim, Y.H., J.H. Lee, Y.S. Lee and H.T. Yun. 2006. Antioxidant activity and extraction efficiency of anthocyanin pigments in black colored soybean. Korean Soybean Digest. 23(1):1-9.
- Kong, J.M., L.S. Chia, N.K. Koh, T.F. Chia and R. Brouillard 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. Phytochemistry. 64(5):923 - 933.
- Kytopoulos, S.A. 1975. Ascorbic acid and formation of N-nitroso compounds; possible role of ascorbic acid in cancer prevention. American J. Clin. Nutr. 45:1344-1350.
- Lazze, M.C., M. Savio, R. Pizzala, O. Cazzalini, P. Perucca, A.I. Scovassi, L.A. Stivala and L. Bianchi. 2004. Anthocyanins induce cell cycle perturbations and apoptosis in different human cell lines. Carcinogenesis. 25(8):1427-1433.
- Lee IK, Kim CJ, Song KS, Kim HM, Koshino H, Uramoto M, and Yoo ID. 1996. Cytotoxic benzyl dihydroflavonols from *Cudrania tricuspidata*. Phytochemistry. 41: 213-216.
- Lee, H.H., S.G. Kang and J.W. Rhim. 1999. Characteristics of antioxidative and antimicrobial activities of various cultivars of sweet potato. Korean J. Food Sci. Technol. 31(4):1090-1095.
- 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. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol. 46(4):333-337.
- 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.
- 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. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 34(2):139-147.
- Lepage, C., Liagre, B., Cook-Moreau, J., Pinon, A. 2010. Cyclooxygenase-2 and

- 5-lipoxygenase pathways in diosgenin-induced apoptosis in HT-29 and HCT-116 colon cancer cells. *International journal of oncology*. 36(5): 1183-1192.
- Li, F., Fernandez, P. P., Rajendran, P., Hui, K. M. 2010. Diosgenin, a steroidal saponin, inhibits STAT3 signaling pathway leading to suppression of proliferation and chemosensitization of human hepatocellular carcinoma cells. *Cancer letters*. 292(2): 197-207.
- 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. *Korean J. Medicinal Crop Sci*. 15:183-188.
- Liu HR, Tang XY, Dai DZ, and Dai Y. 2008. Ethanol extracts of *Rehmannia* complex (Di Huang) containing no *Corni fructus* improve early diabetic nephropathy by combining suppression on the ET-ROS axis with modulate hypoglycemic effect in rats. *J Ethnopharmacol*. 118: 466-472.
- Liu, L., Dong, Y. S., Xiu, Z. I. 2010. Three-liquid-phase extraction of diosgenin and steroidal saponins from fermentation of *Dioscorea zingibersis* C. H. Wright. *Process biochemistry*. 45(5): 752-756.
- Marklund SL. 1990. Expression of extracellular superoxide dismutase by human cell lines. *Biochem J*. 266(1):213-219.
- Martin, S., G. Giannone, R. Andriantsitohaina and M.C. Martinez. 2003. Delphinidin, an active compound of red wine, inhibits endothelial cell apoptosis *via* nitric oxide pathway and regulation of calcium homeostasis. *British Journal of Pharmacology*. 139(6): 1095 - 1102.
- Masaki H. 2010. Role of antioxidants in the skin: anti-aging effects. *J Dermatol Sci*. 58: 85-90.
- Matkowski, A. and M. Piotrowska. 2006. Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia*. 77:346-353.
- McAnuff, M. A., Omoruyi, F. O. St. A., Morrison, E. Y. and H.N. Asemota. 2002. Plasma and liver distributions in streptozotocin-induced diabetic rats fed saponin extract of the Jamaican bitter yam (*Dioscorea polygonoides*). *Nutrition Research*. 22:1427 - 1434.
- Megh Raj Bhandari, Jun Kawabata. 2004. Organic acid, phenolic content and antioxidant activity of wild yam (*Dioscorea spp.*) tubers of Nepal. *Food Chemistry*. 88: 163-168.
- Mei, M., Yang, W. H and, Du, Z. X. 2011. Determination and Identification of Natural Pigment of Laccic Acids in Juice by UPLC/TUV and UPLC - MS. *Journal of Instrumental Analysis*. 30(12): 1338-1344.

- 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.
- Mishra N.P., Mishra R.K. and Singhal G.S. 1993. Changes in the Activities of Anti-Oxidant Enzymes during Exposure of Intact Wheat Leaves to Strong Visible Light at Different Temperatures in the Presence of Protein Synthesis Inhibitors. Plant Physiol. 102:903-910.
- Murakami A, Ohura S, Nakamura Y, Koshimizu K, and Ohigashi H. 1996. 1'-Acetoxychavicol acetate, a superoxide anion generation inhibitor, potently inhibits tumor promotion by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in ICR mouse skin. Oncology 53(5):386-391,
- Nakano Y. and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide os scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. Plant Cell Physiol. 22: 867-880.
- Noro T, Oda Y, Miyase T, Ueno A, and Fukushima S. 1983. Inhibitors of xanthine oxidase from the flowers and buds of *Daphne genkwa*. Chem Pharm Bull (Tokyo) 31(11):3984-3987.
- Ohkawa H, Ohishi N and Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem. 95: 351-358.
- Oki, T., M. Masuda, S. Furuta, Y. Nishibia, N. Terahara and I. Suda. 2002. Involvement of anthocyanins and other phenolic compounds in radical-scavenging activity of purple-fleshed sweet potato cultivars. Food Chemistry and Toxicology 67:1752-1756.
- Park YS, Kim SJ, and Chang HI. 2008. Isolation and anthocyanin from black rice (*Heugjinjubyeo*) and screening of its antioxidant activities. Kor J Microbiol Biotechnol. 36: 55-60.
- Park, B.R., K.S Kim, H.R. Park, K.O. Shin, K.M. Ahn and K.Y. Kim. 2010. A study on lip-balm usability from *Lithospermum erthrohizon*. J. Cosmetological Science 6(3):239-247.
- Park, S.E. 2004a. A barrier of the pigment industry in food using coloring agents (I). The Monthly Food Industry. 22(1): 65-83.
- Park, S.E. 2004b. A barrier of the pigment industry in food using coloring agents (II). The Monthly Food Industry. 22(2):75-95.
- Park, Y.B., T.G. Lee, O.K. Kim, J.R. Do, S.G. Yeo, Y.H. Park and S.B. Kim. 1995. Characteristics of nitrite scavenger derived from seeds of *Cassia tora* L. Korean J Food Sci Technol 27:124-128.
- Park, Y.H. and C.S. Lee. 2011. Efficacy of Safflower on the Acne Skin and Its

- Application for Facial Cleansing Biomedical Material. *Journal of the Korean Chemical Society*. 55(3):400–404.
- Park, Y.H. and S.K. Chang. 2000. Effects of shikonin pigments from the roots of *Lithospermum erythrorhizon* on rabbit platelets. *J. Food Hygiene and Safety*. 15(2):167–172.
- Patrick E and Maibach HI. 1989. Dermatotoxicology. In *Principles and Methods of Toxicology*. pp. 383–406, 2nd ed. Raven Press, New York.
- Piluzza, G. and S. Bullitta. 2011. Correlations between phenolic content and antioxidant properties in twenty-four plant species of traditional ethnoveterinary use in the Mediterranean area. *Pharm Biol*. 49(3):240–247.
- Puupponen-PimiäR., L. Nohynek, S. Hartmann-Schmidlin, M. Kähkönen, M. Heinonen, K. Määttä-Riihinen and K.M. Oksman-Caldentey. 2005. Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. *J. Applied Microbiology*. 98:991–1000.
- 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. *Korean. J. Plant. Res.* 23(5):445–450.
- Rice-Evans, C.A., N.J. Miller and G Paganga. 1996. Structure antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biol. Med.* 20:933–956.
- Sajja, 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 oleuropein and hydroxytyrosol. *Int Journal of 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 tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content. *Anal. Chemical Acta*. 593:103–107.
- Shi, H. X. and Zhong, S. M. 2008. Study on Initial Identification and Stability of Natural Pigment of *Citrus changshan-huyou*. *Forest Research-Chinese Academy of Forestry*. 21(6): 852–856.
- 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. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34(4):496–502.
- Sin HJ. 2007. A trend in research and development of natural gardenia pigments. *Kor J Biotechnol Bioeng.* 22: 271–277.

- Singh BN, Singh BR, Singh RL, Prakash D, Singh DP, Sarma BK, Upadhyay G, Singh HB. 2009. Polyphenolics from various extracts/fractions of red onion (*Allium cepa*) peel with potent antioxidant and antimutagenic activities. *Food Chem Toxicol* 47:1161 - 1167.
- Singh, R., A. Jain, S. Panwar, D. Gupta and S.K. Khare. 2005. Antimicrobial activity of some natural dyes. *Dyes and Pigments*. 66(2):99-102.
- Solovchenko A and Schmitz-Eiberger M. 2003. Significance of skin flavonoids for UV-B-protection in apple fruits. *J Exp Bot*. 54: 1977-1984.
- Sompong R, Siebenhandl-Ehn S, Linsberger-Martin G, Berghofer E. 2011. Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China and Sri Lanka. *Food Chem* 124:132 - 140.
- Sung YY, Yoon T, Jang JY, Park SJ and Kim HK. 2011. Topical application of *Rehmannia glutinosa* extract inhibits mite allergen-induced atopic dermatitis in NC/Nga mice. *J Ethnopharmacol*. (in press)
- Su-Tze Chou, Been-Huang Chiang, Yun-Chin Chung, Pei-Chun Chen, Cheng-Kuang Hsu. 2006. Effects of storage temperatures on the antioxidative activity and composition of yam. *Food Chemistry*. 98: 618-623.
- Teoh SL, Latiff AA, Das S. 2009. The effect of topical extract of *Momordica charantia* (bitter gourd) on wound healing in nondiabetic rats and in rats with diabetes induced by streptozotocin. *Clin Exp Dermatol*. 34: 815-822.
- Wang, J. and G. Mazza. 2002. Effects of anthocyanins and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor α in LPS/IFN- γ -activated RAW 264.7 macrophages. *Journal of agricultural and food chemistry*. 50(15):4183-4189.
- Weichert H, Blechschmidt I, Schroder S, and Ambrosius H. 1991. The MTT-assay as a rapid test for cell proliferation and cell killing: application to human peripheral blood lymphocytes (PBL). *Allerg Immunol (Leipz)* 37(3-4):139-144.
- Wheeler, G.L., M.A. Jones and N. Smirnov. 1998. The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. *Nature* 393(6683):363-369.
- Wlaschek M, Tantcheva-Poor I, Naderi L, Ma W, Schneider LA, Razi-Wolf Z, Schuller J, and Scharffetter-Kochanek K. 2001. Solar UV irradiation and dermal photoaging. *J Photochem Photobiol. B*. 63: 41-51.
- Wrilstad, R.E. 2004. Anthocyanin Pigments-Bioactivity and Coloring Properties. *Journal of Food Science*. 69(5):C419-421.
- Yang, Y., C. LIU, Ji-jie QIN, X.Y. WEI and L. Hong. 2005. Antimicrobial Activities of the Extracts from Cactus. *Fine Chemical*. 22(4):269-271.

- Yen, K.Y. 1992. The illustrated chinese material medica. Taipei; SMC Publishing Inc. p.84.
- Ying, L. 2010. Determination of Nutritious Compositions and Diosgenin Contents of Purple Yam (*Dioscorea batatas* Decne.). Journal of Anhui Agricultural Sciences. 38(9): 4563.
- Yi-Tzu Chen, Kuo-Wei Lin. 2007. Effects of heating temperature on the total phenolic compound, antioxidative ability and the stability of dioscorin of various yam cultivars. Food Chemistry. 101: 955-963.
- Yi-Tzu Chen, Wen-Tzu Kao, Kuo-Wei Lin. 2008. Effects of pH on the total phenolic compound, antioxidative ability and the stability of dioscorin of various yam cultivars. Food Chemistry. 107: 250-257.
- Yoon, H.H. and M.S. Kim. 1999. Some natural food colorants. Food Industry and Nutrition 4(2):24-34.
- Yuh-Hwa LIU, Hong-Jen LIANG, Huey-Chuan CHENG, Yen-Wenn LIU, and Wen-Chi HOU. 2006. Comparisons of *in vitro* antioxidant activities of storage proteins in tuber of two *Dioscorea* species. Botanical Studies 47: 231-237.
- Yun, K.J., D.H. Kim, J.H. Ryu and C.S. Yook. 1999. Studies on the constituents and their antibacterial effect of the root of *Lithospermum erythrorhizon*. 1999. Bull. K.H. Pharma. Sci. 27:31-36.
- Yuodim, K.A., J. McDonald, W. Kalt and J.A. Joseph. 2002. Potential role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults. The Journal of Nutritional Biochemistry. 13(5):282 - 288.
- Zhao S, Yin J, Zhang J, Ding X, Wu Y, Shao B. 2012. Determination of 23 dyes in chili powder and paste by high-performance liquid chromatography - electro spray ionization tandem mass spectrometry.
- Zhoh, C.K., H.J. Kwon and S.R. Ahn. 2010. Antioxidative and antimicrobial effects to skin flora of extracts from peel of *Allium cepa* L. Korean J. Aesthetics and Cosmetics Society. 8(3):49-58.
- 식품의약품안전청. 2005. 의약품등의 독성시험기준, 식품의약품안전청 고시 2005-60 호, 식품의약품안전청, 서울.
- 최진현, 염정현, 배도규. 2009. 천연색소 자원의 활용. 한국섬유공학회지. 13(2):113-121.

주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.