

Elderberry (*Sambucus*) Anthocyanin에 관한 研究

申 末湜 · 安 承堯

서울대학교 家政大學 食品營養學科

(1980년 10월 8일 수리)

Studies on Identification of the Anthocyanins in Elderberries (*Sambucus*)

Mal Shick Shin and Seung Yo Ahn

Department of Food and Nutrition, Seoul National University, Seoul 151

(Received October 8, 1980)

Abstract

Studies have been carried out on the structure and the content of the anthocyanins in elderberries which were just recently transplanted in Korea.

The anthocyanin pigments of elderberries were extracted with 1% methanolic HCl and purified with Amberlite IRC-50 cation exchange column. The individual pigments were isolated by paper chromatography. Five pigments, identified by various chemical and physical methods were cyanidin-3-monoglucoside(4.3%), cyanidin-3,5-diglucoside(28.3%), cyanidin-3,5-diglucoside with p-coumaric acid(12.9%), cyanidin-3-xyloglucoside-5-glucoside(38.3%), cyanidin-3-xyloglucoside-5-glucoside with p-coumaric acid(16.2%). The content of total anthocyanin in elderberry was 3.13 mg/g fresh weight.

序 論

우리나라에서 황금딸기라고 불리우는 elderberry의 재배는 歷史가 짧아 그 利用度가 낮으나 英國, 스위스, 日本 等地에서는 製菓原料, 清涼飲料 色素 등으로 使用되고 있다. Elderberry 열매의 色素는 anthocyanin으로 알려졌으며 食品色素으로써 이것의 利用價値는 기대된다.

Elderberry anthocyanin에 대한 報告는 稀小하며 Bate-Smith⁽¹⁾는 *Sambucus nigra*種에서 cyanidin-3-pentoseglucoside와 cyanidin-3-monoside를 分離 報告하였고 Szecheny⁽²⁾ 등은 elderberry에서 分離한 4종류의 色素에 cyanidin-3-monoglucoside cyanidin-3-xyloglucoside를 確認하였고, 未確認된 2종류는 cyanidin-3-rhamnoglucoside, cyanidin-3,5-diglucoside일

것이라고 推定하였다. 한편 Shrikhande⁽³⁾는 *Sambucus nigra*種에서 cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3-sambubioside-5-glucoside가 있음을 확인 보고하였다. 最近에 Chiarlo⁽⁴⁾ 등은 *Sambucus ebulus*種에서 caffeic acid와 p-coumaric acid로 acyl화된 cyanidin-3-sambubioside, cyanidin-3-sambubioside-5-glucoside를 確認하였다.

本 研究에서는 우리나라에서 새로 栽培하기 始作한 elderberry anthocyanin을 chromatography로 分離하여 部分 및 完全 酸加水分解에 의한 aglycone, 糖 및 acyl group의 확인^(5,6)과 아울러 열매에 含有된 個別 色素들의 含量과 組成化를 測定하였다.

材料 및 方法

實驗材料

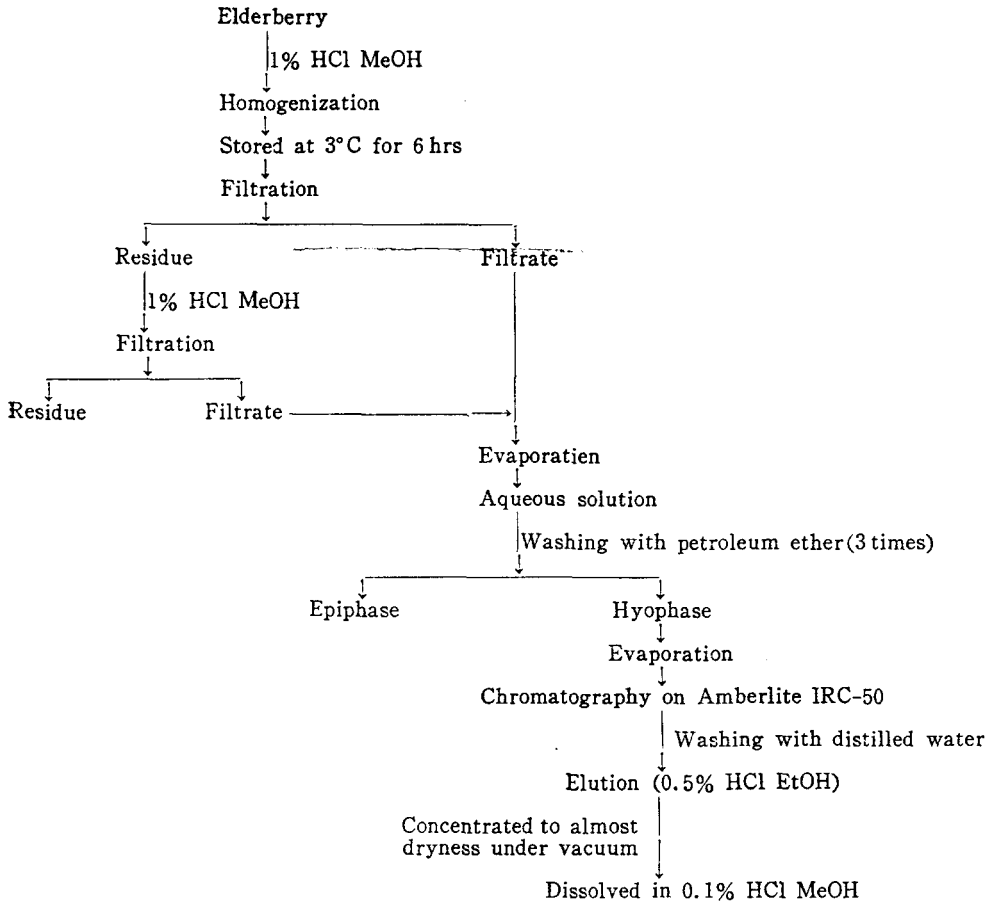


Fig. 1. Flow diagram for the extraction and purification of elderberry anthocyanin

本實驗의 試料 elderberry는 1979년 가을에 수확된 것으로 農漁村開發公社를 通하여 구입하였다. 시료는 비닐봉지에 넣어 -15°C 冷凍機에 저장하였다.

色素의 抽出 및 精製

100 g의 시료를 同量의 1% HCl methanol과 함께 homogenizer로 씨가 파쇄되지 않을 정도로 果肉만 2分間 마쇄하였다. 이 마쇄액을 暗所에서 6時間 放置한 뒤 소량의 Celite를 넣고 Whatman No. 1 여과지를 간 Buchner funnel을 통하여 흡인여과하였다. 잔사는 色素가 완전히 抽出될 때까지 同一한 용매를 利用하여 抽出하였다. 이 여과액을 승하여 40°C에서 rotary evaporator로 감압농축하고 5 ml의 petroleum ether를 3回 加하여 염류소와 지질성분을 제거하였다. 色素濃縮液을 활성화된 Amberlite IRC-50관에 注入시켜 수지에 色素를 흡착시킨 후 유출액이 무색이 될 때까지 증류수로 씻었다(7). 다음 0.5% HCl EtOH 300 ml를 注入하여 色素를 濃출시켰다. 이 色素液을 40°C에서 감압농축하여 소량의 0.1% HCl MeOH에 용해시

켜 0°C에 저장하였다. 시료로부터 色素 抽出順序를 Fig. 1의 flow diagram에 表示하였다(8-10).

個別色素의 分離

精製된 色素液을 Whatman 3MM 여과지의 一端에 0.5 cm 넓이의 帶狀으로 칠하고 1% HCl의 용매제로 展開시켰다.

分離된 각 색소대에 Fig. 2-1과 같이 下端으로부터 1, 2, 3, 4로 기호를 붙였다. 各 色素帶를 stainless steel 가위로 잘게 잘라 관에 完全하게 충전하고 0.1% HCl MeOH로 溶出하였다. 또 色素帶 2는 용매제 BAW로 2個의 색소대로 분리하여 各各을 Fig. 2-2와 같이 2-a, 2-b로 하였다.

Aglycone의 確認

시험관에 濃縮된 色素液과 2 ml의 2NHCl을 넣고 reflux장치로 1時間 加熱한 후 isoamyl alcohol로 aglycone部分을 3回 抽出하였다. Luh(11) 등의 barium hydroxide degradation法에 따라 抽出液에 15% Ba(OH)2의 혼탁액을 5 ml 가하여 reflux장치로 40분간

Table 1. Solvent systems for chromatography

Abbreviation	Composition	Proportion (v/v)	Solvent used for	Layer used
1% HCl	Conc. HCl-water	3 : 97	Anthocyanin	Miscible
AWH	Acetic acid-water-conc. HCl	15 : 82 : 3	Anthocyanin, anthocyanidin	Miscible
BAW	<i>n</i> -Butanol-acetic acid-water	4 : 1 : 5	Anthocyanin, anthocyanidin, phenolic acid	Upper
BuHCl	<i>n</i> -Butanol-2 <i>N</i> HCl	1 : 1	Anthocyanin	Upper
Forestal	Acetic acid-water-conc. HCl	30 : 10 : 3	Anthocyanidin	Miscible
Formic	Formic acid-conc. HCl-water	5 : 2 : 3	Anthocyanidin	Miscible
BPW	<i>n</i> -Butanol-pyridine-water	6 : 3 : 1	Sugar	Miscible
Phenol-water	Phenol-water	4 : 1	Sugar	Miscible
2% HOAc	Acetic acid-water	2 : 98	Phenolic acid	Miscible

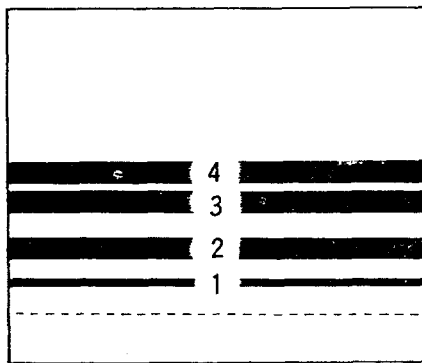


Fig. 2-1. Paper chromatogram of elderberry anthocyanin (1% HCl)

가열분해하였다. ice-water로 냉각한 분해물에 2 ml의 conc. HCl을 가한 뒤 잘 흔들고 에틸 에테르로 抽出하였다. 抽出液을 2회 水洗한 다음 70°C의 수조에서 濃縮하였다. 이것을 Whatman No.1 여과지에 既知物質인 phloroglucinol, protocatechuic acid, vanillic acid, gallic acid, p-hydroxybenzoic acid, syringic acid 등과 點으로 찍어 용매제 2% HOAc BAW로 展開하였다. 展開가 끝난 여과지는 風乾하고 DPNA(diazotized p-nitroaniline)을 분무하여 발색시켰다. 여기에 20% Na₂CO₃를 분무하여 색변화를 비교확인하였다.

Acyl group의 確認

精製된 色素에 1 ml의 2*N*HCl을 넣고 brine bath에서 30분간 가열분해시킨 후 냉각수에서 냉각시켰다. 이 分解液에 에틸 에테르로 3회 抽出한 다음 濃축하였다. Whatman No.1 여과지에 이 濃縮液과 既知物質인 p-coumaric acid, ferulic acid, caffeic acid, chlorogenic acid를 點으로 찍어 용매제 2% HOAc BAW로 展開하였다. 展開가 끝난 여과지를 風乾하여 UV lamp에서 NH₃ gas 노출 전후의 fluorescence 有無를

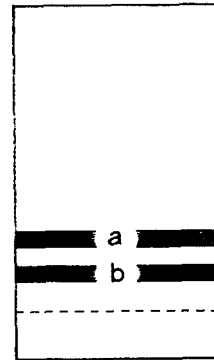


Fig. 2-2. paper chromatogram of pigment 2 (BAW)

관찰하였고 DPNA 20% Na₂CO₃를 분무하여 색변화를 관찰하였다.

結合糖의 確認

가. 部分酸加水分解

Abe-Hayashi⁽¹²⁾法에 따라 精製된 色素에 1.5 ml의 2*N*HCl을 넣고 가열분해하면서 일정시간 간격으로 분해물을 採取하여 Whatman No.1 여과지에 點으로 찍어 용매제 AWH로 展開하였다.

나. 結合糖

精製된 色素에 2 ml의 2*N*HCl을 넣고 brine bath에서 가열분해하였다. 이 분해액을 냉각한 후 Albach⁽¹³⁾ 등의 方法에 따라 isoamyl alcohol로 aglycone을 제거하였고 에틸 에테르로 불순물을 제거하였다. 이 액을 소량의 활성탄으로 탈색하였다. 이 농축액과 기지당인 glucose, xylose, arabinose, galactose, rhamnase 등을 點으로 찍어 용매제 BPW phenol-water로 展開하였다. 1회 展開하여 R_f 값을 구했고 분리능을 높이기 위해 同一한 용매제로 3회 반복전개하여 R_f를 구하였다. 전개가 끝난 여과지는 風乾 후 Partridge reagent를 분무하여 105~110°C의 oven에서 10분간 건조하여

發色시켰다.

다. 糖의 結合順序의 確認

3 位置에 2 당류를 갖는 色素 3, 4의 糖結合順序를 알기 위해서 各各을 13분간 부분산가수분해시켰다. 이 분해액을 Whatman 3MM 여과지에 帶狀으로 칠하여 용매제 AWH로 展開하였고 一次분해중간체만을 올려서 0.1% HCl MeOH로 용출시켰다. 이 색소를 다시 완전산가수분해하여 얻어진 당을 paper chromatography로 확인하였다.

라. 가스 크로마토그래피에 의한 糖의 確認

Sweeley⁽¹⁴⁾ 등의 方法에 따라 완전산가수분해로 얻어진 당을 pyridine에 녹여 hexamethyl disilazane과 trimethylchlorosilane 混合物(2:1)과 함께 stoppered glass vial에 넣고 1분간 흔들었다. 이렇게 얻어진 TMS(trimethylsilyl)유도체를 기지당의 TMS유도체와 병행하여 Table 2의 조건으로 가스 크로마토그래피로 분리 확인하였다.

Table 2. Instrument and condition of gas chromatography

Instrument	: Varian gas chromatograph
Detector	: FID
Column	: Glass column SE-52 (6 ft×0.25 inch)
Packing material	: Acid-washed Chromosorb W (80-100 mesh)
Injector temp.	: 170°C
Detector temp.	: 210°C
Attenuator	: 2 Range : 10 ⁻¹⁰ , 10 ⁻¹¹
Chart speed	: 0.5 inch/min
Carrier gas	: N ₂ (inlet pressure, 18 psi)

Anthocyanin과 anthocyanidin의 paper chromatography

5 개의 分離된 色素를 Whatman No.1 여과지에 점으로 적어 용매제 AWH, 1% HCl, BAW, BuHCl로 展開하였다. 또 抽出된 Aglycone은 용매제 AWH, BAW, Forestal, Formic 등으로 展開하였다. 展開가 끝난 여과지에 Smith⁽¹⁵⁾의 報告에 따라 5% AlCl₃ EtOH을 뿌려서 변색의 여부를 관찰하였다.

Spectrophotometry

分離된 色素帶를 잘라 0.01% HCl MeOH로 下降法の 크로마토그래피로 溶出하였다. 이 色素液을 可視部 吸收極大波長에서 吸光度가 0.8 이상 이 되도록 濃度を 조절하여 260~580 nm 波長範圍에서 Shimadzu UV 200 spectrophotometer로 吸收 spectrum을 求하였다.

얻어진 spectrum에서 各 分離色素의 可視部 및 UV에서 吸收極大波長을 求하고 440 nm와 吸收極大波長에서의 吸光度의 比를 計算하였다. 또한 色素에 5% AlCl₃ EtOH을 3~5滴 加하고 吸收極大波長の 移動程度를 測定하였다. 抽出된 aglycone을 0.01% HCl MeOH로 溶解하여 可視部에서 aglycone의 吸收極大波長을 求하였다.

Quantitative measurements

10 g의 frozen elderberry에 0.1% HCl MeOH 50 ml를 加하고 microhomogenizer로 5분간 마쇄하였다. 이 액을 暗所에서 방치한 후 Whatman No.1로 여과하여 100 ml의 volumetric flask에 옮겨서 0.1% HCl MeOH을 加하여 定量으로 만들었다. Ribereau-gayon 報告에 따라 용매를 0.1% HCl EtOH 10 ml로 하여 Shimadzu UV 200 spectrophotometer로 535 nm에서 吸光度를 測定하여 Fuleki⁽¹⁶⁾ 式으로 총 anthocyanin 含量을 求하였다. 또한 색소 濃縮液의 일정량을 Whatman 3MM으로 分離하여 各 色素帶를 하강법 크로마토그래피를 利用하여 0.01% HCl MeOH로 完全히 溶出하였다. 이 용출액을 일정양으로 하여 吸收極大波長 529 nm에서 吸光度를 測定하여 個別色素의 含量과 比를 求하였다.

結果 및 考察

個別色素의 分離

Elderberry 色素抽出液을 溶媒系 1% HCl로 3회 反復展開시킨 結果 Fig. 2-1과 같이 4개의 色素帶로 分離되었다. 1회 展開했을 때 色素帶 1, 2의 境界面이 뚜렷하지 않았으나 반복전개하여 명백해졌다. 色素帶 2는 용매제 BAW로 Fig. 2-2 같이 2개의 색소대로 분리되었다.

Aglycone의 確認

各 色素를 alkali분해한 液을 용매제 2% HOAc, BAW로 展開하여 aglycone이 분해되어 生成된 phloroglucinol과 benzoic acid 유도체의 2개의 斑點을 얻었다. 본 실험에서 얻은 반점의 R_f値와 各 點에 발색 시약 DPNA와 20% Na₂CO₃를 분무하여 나타난 색변화는 Table 3과 같다.

展開 후 분리된 두 점의 R_f값을 기지물질인 phloroglucinol, protocatechuic acid와 비교하면 溶媒系 2% HOAc에 의한 0.56, BAW의 0.70은 phloroglucinol이고 0.48, 0.82는 protocatechuic acid임을 알 수 있다. 이 사실은 분리點의 色反應과도 一致하여 DPNA를 분무하면 phloroglucinol은 오렌지색, protocatechuic acid는 황갈색을 나타냈다. 또 Na₂CO₃를 분무했을 때

Table 3. R_f values and color characteristics of alkaline degradation products

Pigment	R_f values		Color		Identification
	2% HOAc	BAW	DPNA	DPNA + Na ₂ CO ₃	
1	0.48	0.82	Yellow-brown	Dark brown	Protocatechuic acid
	0.56	0.70	Orange	Deep orange	Phloroglucinol
2-a	0.47	0.82	Yellow-brown	Dark brown	Protocatechuic acid
	0.56	0.70	Orange	Deep orange	Phloroglucinol
2-b	0.47	0.82	Yellow-brown	Dark brown	Protocatechuic acid
	0.56	0.70	Orange	Deep-orange	Phloroglucinol
3	0.47	0.82	Yellow-brown	Dark brown	Protocatechuic acid
	0.56	0.70	Orange	Deep orange	Phloroglucinol
4	0.48	0.81	Yellow-brown	Dark brown	Protocatechuic acid
	0.56	0.70	Orange	Deep orange	Phloroglucinol
Phloroglucinol	0.56	0.70	Orange	Deep orange	
Protocatechuic acid	0.48	0.82	Yellow-brown	Dark brown	
Gallic acid	0.36	0.63	Bright-yellow	Dark yellow	
p-OH benzoic acid	0.60	0.89	Pale-yellow	Red-violet	
Vanillic acid	0.53	0.87	Yellow	Violet	
Syringic acid	0.49	0.83	Orange	Blue yellow	

Table 4. R_f values and color characteristics of the acyl group of elderberry

Acyl group	R_f values		Color characteristics				Identification
	2% HOAc	BAW	U. V.	NH ₃ ⁺ U. V.	DPNA	DPNA +Na ₂ CO ₃	
Pigment 1	—	—	—	—	—	—	
2-a	0.40	0.88	—	Blue F	Tan	Blue-gray	p-Coumaric acid
2-b	—	—	—	—	—	—	
3	0.40	0.89	—	Blue F	Tan	Blue-gray	p-Coumaric acid
4	—	—	—	—	—	—	
Caffeic acid	0.25	0.80	Blue F	Blue P	Yellow -brown	Brown	
p-Coumaric acid	0.41	0.89	—	Blue F	Tan	Blue-gray	
Ferulic acid	0.32	0.82	Blue F	Blue F	Pink	Green -gray	
Chlorogenic acid	0.57	0.59	Blue F	Blue F	Yellow -brown	Brown	

오렌지색은 짙은 오렌지색, 황갈색은 검은 갈색으로 변하였다. Table 3의 결과로 각 色素分解液에 모두 phloroglucinol과 protocatechuic acid가 검출되어 aglycone에 cyanidin을 確認하였다.

Acyl group의 確認

各 色素에서 抽出한 paeonic acid와 기지물질인 caffeic acid, p-coumaric acid, chlorogenic acid, ferulic acid의 각 溶媒系에 따른 R_f 값과 UV에서 各 點의 형광성의 有無 및 DPNA, Na₂CO₃를 분무한 후의 색 반응은 Table 4와 같았다.

위 결과 色素 2-a, 3에서 분리된 點의 2% HOAc B

AW에 의한 R_f 값은 0.40, 0.88로써 Luh 등의 0.48, 0.86과 차이가 있으나 기지물질인 p-coumaric acid의 0.41, 0.89와 거의 같았다. 또 DPNA를 분무하여 주 황색이었던 點이 Na₂CO₃를 분무하니 청회색으로 변하였다. 그 點에 UV를 조사했더니 형광성이 없었으나 NH₃ gas에 노출한 다음에 blue fluorescence를 나타내었다⁽¹⁷⁾. 이와 같은 결과를 종합하여 판단할 때 色素 2-a, 3에 p-coumaric acid가 結合되었음을 확인할 수 있었다.

結合糖의 確認

가. 部分酸加水分解에 의한 確認

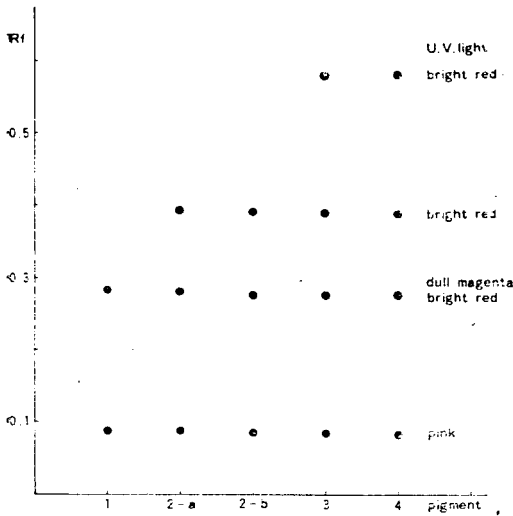


Fig. 3. Chromatogram of partial acid hydrolysis products of elderberry anthocyanin under the UV light (AWH)

各 配糖體 色素에 結合된 糖의 수와 結合形態를 確認하기 위해 各 色素를 部分酸加水分解하여 分離 展開한 chromatogram은 Fig. 3과 같다.

Fig. 3과 같이 色素 1에서는 2點이 얻어졌으며 色素 2-a, 2-b는 肉眼으로는 3點으로 分離되었으나 UV를 照射하던 中間點이 2點으로 分離되어 모두 4點이었고 이 點들은 3,5-diglucoside를 부분산가수분해한 產物인 원색소, 3-glucoside, 5-glucoside, aglycone 등임을 알 수 있었다. 色素 3,4는 肉眼으로 4點이었으나 역시 UV下에서 5點임을 알았다. 部分酸加水分解로 5點을 얻는 trioside는 3-diglycoside-5-monoglycoside, 3-monoglycoside-5-glycoside로 가정되나 後者は 自然界에서 發見된 바 없다는 보고(3)로 色素 3,4는 3-diglycoside-5-monoglycoside임을 알 수 있었다.

나. 結合糖의 確認

各 色素를 完全가수분해하여 얻은 당을 既知糖과 溶媒系 BPW, phenol-water로 展開하여 구한 R_f 및 R_r 값은 Table 5와 같다.

또 既知糖과 시료당의 TMS유도체들을 가스 크로마토그래피하여 얻은 결과는 Table 6과 같다.

色素 1, 2-a, 2-b로부터 glucose만 검출되었고 色素 3,4에서는 glucose와 xylose가 검출되었다. 結果의으로 色素 1은 monoglucoside, 2-a, 2-b는 3,5-diglucoside, 3, 4는 3-xyloglucoside-5-glucoside임을 推定하였다.

色素 3, 4의 3位置의 diglucoside의 結合順序를 알

Table 5. R_f and R_r values of the sugar moiety in elderberry anthocyanin

Sugar	BPW		Phenol-water		Identification
	R _f	R _r	R _f	R _r	
Pigment 1	0.19	1	0.38	1	Glucose
2-a	0.19	1	0.38	1	Glucose
2-b	0.19	1	0.38	1	Glucose
3	0.20	1.02	0.37	0.99	Glucose
2	0.28	1.47	0.45	1.20	Xylose
Pigment 3-PAHI*		1		1	Glucose
Pigment 4	0.19	1	0.38	1	Glucose
	0.28	1.47	0.45	1.20	Xylose
Pigment 4-PAHI		1		1	Glucose
Glucose	0.19	1	0.38	1	
Arabinose	0.24	1.25	0.53	1.41	
Xylose	0.28	1.47	0.45	1.20	

*PAHI: Partial acid hydrolysis intermediate

Table 6. Gas chromatographic data of sugar hydrolyzed from elderberry anthocyanin

Sugar	Retention time (min)	Identification
Pigment 1	7.48, 10.00	Glucose
2-a	7.48, 10.00	Glucose
2-b	7.48, 10.00	Glucose
3	4.09, 4.72, 7.48, 10.00	Glucose, Xylose
4	3.86, 4.49, 7.24, 9.69	Glucose, Xylose
Glucose	7.24, 9.69	
Arabinose	2.84, 6.30	
Xylose	3.86, 4.49	

기 위해 部分가수분해 產物로부터 얻은 당을 paper chromatography한 結果는 Table 5와 같이 glucose만이 검출되어 3,5-diglucoside임을 알 수 있었다. 또 이 중간체의 E₄₄₀/E_{vis,max}는 15로써 Harborne의 cyanidin-3,5-diglucoside의 값과 一致하였다.

Anthocyanin과 aglycone의 paper chromatography

各 個別色素와 aglycone을 다른 용매계로 展開하여 구한 R_f값은 다음과 같다. Table 7에서 R_f값은 Harborne 등의 報告와 달랐으나 이것은 實驗조건의 相異에 기인하는 것으로 생각된다. 그러나 各各의 R_f값의 상대적인 값은 비교적 같아 상호간의 비교는 가능하였다. 색소 2-a, 3이 BuHCl의 용매계에서 2點을 나타내는 것은 Harborne의 報告로 acyl化됨 을 알 수 있었다(18). 各 點들은 AlCl₃ 시약에 의해 淸변하였다(19).

Table 7. R_f values of anthocyanin isolated from elderberry

Pigment	Solvent system				Identification
	BAW	1% HCl	AWH	BuHCl	
1	0.38	0.06	0.24	0.68	Cyanidin-3-glucoside
2-a	0.37	0.10	0.40	0.23	Cyanidine-3,5-diglucoside with p-coumaric acid
2-b	0.28	0.12	0.42	0.05	Cyanidine-3,5-diglucoside
3	0.36	0.27	0.58	0.21	
4	0.26	0.39	0.62	0.06	
Cyanidin-3-glucoside	0.33	0.07	0.28	0.25	
Cyanidin-3,5-diglucoside	0.28	0.16	0.42	0.06	
Cyanidin-3,5-diglucoside with P-coumaric acid	0.35	0.11	0.43	0.34	

Table 8. R_f values of anthocyanidin

Aglycone	Solvent system				Identification
	Forestal	AWH	Formic	BAW	
Pigment 1	0.50	0.08	0.23	0.68	Cyanidin
2-a	0.49	0.08	0.23	0.69	Cyanidin
2-b	0.49	0.08	0.23	0.69	Cyanidin
3	0.49	0.08	0.23	0.69	Cyanidin
4	0.49	0.08	0.23	0.69	Cyanidin
Cyanidin	0.49	0.09	0.22	0.68	
Petunidin	0.46	—	0.20	0.52	
Delphindin	0.32	0.02	0.13	0.42	

Table 8의 aglycone들의 R_f 값은 Harborne의 보고와 일치하였다.

吸收 Spectra

순 色素의 吸收곡선에서 색소 2-a는 310 nm, 색소 2-b는 311 nm의 특징적인 peak를 나타내 p-coumaric acid가 있음을 알았다. 이것은 Somer⁽²⁰⁾ 등이 보고한 p-coumaric acid는 311 nm에, caffeic acid는 328 nm의 특징적인 peak를 갖는다는 것과 일치하였다. 各 色素 spectrum에서 얻은 결과는 Table 9와 같다.

순 色素 Spectrum의 $E_{140}/E_{\text{vis,max}}$ 는 3 위치에만 당

이 있을 때는 23.6, 5 위치에 당이 있을 때는 13~14로써 색소 2-a, 2-b, 3, 4는 5 위치에 당이 있음을 알 수 있었다.

이 모든 結果로부터 色素 1은 cyanidin-3-glucoside, 2-a는 cyanidin-3,5-diglucoside with p-coumaric acid, 2-b는 cyanidin-3,5-diglucoside, 3은 cyanidin-3-xyloglucoside-5-glucoside with p-coumaric acid, 色素 4는 cyanidin-3-xyloglucoside-5-glucoside임을 確認하였다.

Quantitative measurements

Table 9. Absorption peak and characteristics of anthocyanin and aglycone isolated from elderberry

Pigment	Anthocyanin λ_{max} (nm)	Aglycone λ_{max} (nm)	$E_{140}/E_{\text{vis,max}}$ (%)	AlCl ₃ reaction
1	530	537	23.6	+
2-a	528	538	13.3	+
2-b	528	538	13.0	+
3	529	537	14.4	+
4	528	538	13.7	+

Table 10. The amount of anthocyanin in elderberry

Pigment	Structure	Concentration (mg/g of fresh weight)	Relative ratio of pigment (%)
1	Cyanidin-3-glucoside	0.13	4.3
2-a	Cyanidin-3,5-diglucoside with p-coumaric acid	0.40	12.9
2-b	Cyanidin-3,5-diglucoside	0.89	28.3
3	Cyanidin-3-xyloglucoside-5-glucoside with p-coumaric acid	0.51	16.2
4	Cyanidin-3-xyloglucoside-5-glucoside	1.20	38.3
Total		3.13	100

0.1% HCl EtOH로 抽出한 色素液을 535 nm에서 吸光度를 測定하여 Fuleki式에 의해 계산하니 시료 elderberry 1g중에 3.13mg의 anthocyanin이 포함되어 있었다. 個別色素의 含量은 吸收極大波長 529 nm에서 吸光度를 測定하여 구한 組成比를 바탕으로 계산한 結果 Table 10과 같았다.

Elderberry中 가장 많은 anthocyanin은 cyanidin-3-xyloglucoside-5-glucoside로 38.3%, 다음은 28.3%로 cyanidin-3,5-diglucoside이었다. 그러나 acylated anthocyanin은 산에 의해 쉽게 acyl group이 제거될 수 있으므로 各 色素의 比는 저장기간에 따라 변화되는 것 같았다.

要 約

우리나라에서 처음 栽培를 시작한 elderberry anthocyanin의 化學構造를 測定하고 含量을 測定하였다. Elderberry열매에서 1% HCl MeOH로 抽出하여 얻은 色素濃縮液을 Amberlite IRC-50 陽이온교환수지관을 통과시켜 精製하고 paper chromatography로 個別色素를 分離하였다. 各 個別色素에 대해 部分酸加水分解, acyl group, 結合糖, aglycone의 確認, paper chromatography로 얻은 R_f값, spectral data 등을 기초로 구조를 確認하였다.

確認된 elderberry中的 5가지 色素는 cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3,5-diglucoside, cyanidin-3,5-diglucoside with p-coumaric acid, cyanidin-3-xyloglucoside-5-glucoside, cyanidin-3-xyloglucoside-5-glucoside with p-coumaric acid이었다.

총 anthocyanin양은 elderberry 1g당 3.13mg이고 個別色素의 比는 cyanidin-3-glucoside 4.3%, cyanidin-3,5-diglucoside 28.3%, cyanidin-3,5-diglucoside with p-coumaric acid 12.9%, cyanidin-3-xyloglucoside-5-glucoside 38.3%, cyanidin-3-xyloglucoside-5-glucoside with p-coumaric acid가 16.2%이었다.

文 獻

- Bate-Smith E. C. : *Adv. Food Res.*, **5**, 262 (1954)
- Szecheny, L. : *Chem Abstr.*, **61**, 1124 f (1964)
- Shrikhande, A. T. : *Critical Reviews*, **7**, 193 (1976)
- Chiarlo, B., Cajelli, E. and Piazza, G. : *Chem Abstr.*, **90**, 51398b (1979)
- Harbone J. B. : *J. Chromatog.*, **1**, 473 (1958)
- Harborne, J. B. : *Phytochem.*, **3**, 151 (1964)
- Morris, Q. L., Gage, T. B. and Wender, S. H. : *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 3340 (1951)
- 安承堯 : 한국농화학회지, **16**, 53 (1973)
- 黃仁京 : 머루 Anthocyanin에 관한 연구, 서울대 학교 대학원 석사학위논문 (1976)
- 尹泰憲, 李相稷, 金光秀 : 한국식품과학회지, **10**, 194 (1978)
- Luh, B. S., Stachowicz, K. and Hsia, C. L. : *J. Food Sci.*, **30**, 300 (1965)
- Abe, Y. and Hayashi, K. : *Botan. Mag. (Tokyo)*, **69**, 577 (1956)
- Albach, R. F., Webb, A. D. and Kepner, R. E. : *J. Food Sci.*, **30**, 69 (1965)
- Sweely, C. C., Bentley, R. and Wells, W. W. : *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 2497 (1963)
- Smith, R. M. and Luh, B. S. : *J. Food Sci.*, **30**, 995 (1965)
- Fuleki, T. and Francis, F. J. : *J. Food Sci.*, **33**, 72 (1968)
- Carreno-diaz, R. and Grau, N. : *J. Food Sci.*, **42**, 615 (1977)
- Harborne, J. B. : *J. Biochem.*, **70**, 22 (1958)
- Du, C. J., Wang P. L. and Francis, F. J. : *J. Food Sci.*, **40**, 1142 (1975)
- Somers, T. C. : *J. Sci. Food Agr.*, **17**, 215 (1966)