

# 나무딸기 Anthocyanin에 관한 연구

주 광 지, 박 정 미  
계명대학교 이공대학 식생활과  
(1983년 1월 5 일수리)

## Studies on Identification of the Anthocyanins in Raspberries

Kwang Jee Joo and Jung Mi Park  
Science and Engineering College, Keimyung University  
Daegu, Korea  
(Received January 5, 1983)

### Abstract

The anthocyanins isolated from raspberries, were studied by column chromatography on polyvinylpyrrolidone, paper chromatography, total hydrolysis, partial hydrolysis, color classification and spectroscopy. Four individual pigments were identified as cyanidin 3 digalactoside with caffeic acid, cyanidin 3 diglucoside with caffeic acid, cyanidin-3, 5- diglucoside with caffeic acid and cyanidin-3-monoglucoside with caffeic acid, respectively.

### 序 論

우리나라에 分布되어 있는 나무딸기의 주요계통은 16種이며<sup>1)</sup>, 有望視되고 있는 것은 5 系統으로 *Rubus Crataegifolius*, *R. Coreanus*, *R. Parvifolius*, *R. corcholifolius*, *R. Corceacantha* 등이다. 이 중에서 *R. Crataegifolius*는 果汁이 많고 濃赤色으로서 비교적 다른 種보다 우수하다<sup>2)</sup>. 대체로 나무딸기 anthocyanin에 대한 報文은 稀小한데 Torre와 Barritt<sup>3)</sup>가 *Rubus*류에 관하여 보고한 바에 의하면 *R. Crataegifolius*에는 cyanidin-3-glucoside와 pelargonidin-3-glucoside가 함유되어 있다고 보고하였다. 본 연구자는 우리나라 남부지방에서 생산되는 나무딸기 주요품종인 *R. Crataegifolius*의 果汁色素를 분리하여 개별색소를 확인하였기에 보고하는 바이다.

### 材料 및 方法

#### 1. 材 料

濃赤色の 나무딸기(*R. Crataegifolius*)로써 경남

진주 고려식품주식회사로부터 寄贈받은 果粒을 사용하였다.

#### 2. 方 法

##### 1) Anthocyanin의 抽出 및 精製

원과즙에 포화염기성 초산납처리를 하여 前報<sup>4)</sup>와 동일한 방법으로 색소를 抽出하였다.

##### 2) 개별색소의 分離

개별색소의 수를 確認하기 위하여 avicel cellulose를 도포한 TLC에 정제한 색소액을 점찍어 2 차전개(i-BAW, AWH)시켜서 개별색소의 수를 確認하였다.

확인된 개별색소의 分取를 위하여 不溶性 polyvinylpyrrolidone(PVP)를 현탁시켜 上澄液을 20회 세척 제거한 후 column(4.2×30)에 充填시켜 탈이온수로 세척하였다. 이 column에 정제된 색소액 250 ml를 流入시켜 다시 세척하고 0.1% HCl-80% ethanol로 전개하여 fraction collector로 용출액을 3 ml씩 分画하였으며 吸光度는 520nm에서 측정했다. 이때 얻은 개별 색소는 진공 건조기로 乾固시켜 사용

하였다.

3) Aglycone과 糖

乾固시킨 개별색소를 0.01N HCl - MeOH로 녹인 2 ml 용액에 2N HCl 2ml를 가하고 냉각관을 부착시켜 질소가스 통과하에서 80°C, 30분간 가열 냉각시킨 후 isoamylalcohol 을 1ml씩 3회 加하여 aglycone부분을 抽出하고 증류수로 세척하 후 濃縮하였다<sup>6)</sup>. 이 추출 용액에 포화 Ba(OH)<sub>2</sub>를 2ml 가하여 역시 냉각관을 부착시켜 질소가스를 加하면서 100°C에서 30분간 가열하고 얼음물로 냉각시킨 후 2N HCl로 중화시켰다<sup>7)</sup>.

다시 ethyl ether를 10ml씩 3회 加하여 aglycone부분을 추출하고 증류수로 세척한 후 농축하였다. 몇방울의 물을 加하여 기지물질인 vanillic acid, syringic acid, gallic acid, protocatechuic acid, p-hydroxy benzoic acid, phloroglucinol 등을 사용하여 2%HOAc BAW로 PPC를 실시하고 aglycone을 확인했다. 발색제로는 DPNA와 20% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 사용했다.

당용액은 aglycone을 제거한 용액에 ethylether로 3회 세척 불순물을 제거하고 1ml의 chloroform으로 두 번 세척하여 잔여 amine을 제거하였으며 질소가스 通氣下에서 濃縮 후 소량의 물에 용해시켰다. 기지의 당인 glucose, xylose, galactose, rhamnose, arabinose로 PPC를 행하였다.

4) Acyl 基

色素 2~3 mg을 2ml의 methanol에 녹여서, 2N NaOH 1ml 加하여 질소를 충전시킨 후 실온에 2시간 방치하고 2N HCl 1.5ml로 중화시켰다. 유기산 부분은 10ml의 ethyl ether로 3회 抽出하여 증류수로 2회 세척하고 질소공기 通氣下에서 농축, 몇방울의 에테르로 녹여 PPC를 행하였다. 이때 사용된 표준품은 p-coumaric acid, chlorogenic acid,

caffeic acid, ferulic acid였으며 전개용매는 BAW, 2% HOAc를 사용했다. 그리고 발색제로는 DPNA와 20%Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 사용했다.

5) 酸部分 加水分解

色素 1~2 mg을 2ml의 2N HCl을 가하여 水浴槽 위에서 가온하면서 0,1,2,5,10,15,25,30분 그리고 45분에 각각 색소액 0.2ml씩을 채취 냉각시킨 후 PPC를 행하였다<sup>8)</sup>. 전개용매로 BAW와 AWH를 사용했다.

6) 分光学的인 方法

자의 및 가시 吸收spectra로서 個別色素의 極大 吸收波長과 5% AlCl<sub>3</sub>에 의한 波長의 이동을 測定했다.<sup>10)</sup>

溶媒는 0.01%HCl - MeOH로서 Beckman model 26, Shimadzu UV-100-01 spectrophotometer를 사용했다.

結果 및 考察

1. 個別色素의 分離

개별색소의 수를 確認하기 위하여 avicel S. F. cellulose를 도포한 TLC에 색소를 2차 전개시킨 結果를 Fig. 1에 표시했다.

4개의 斑點이 나타났으며 상승순위에 따라 아래로부터 1, 2, 3, 4라고 번호를 붙였다. 이상의 4개의 色素는 UV조사에서 형광을 발하였고 molybdate 시약에 푸른색으로 呈色하였으므로 分離된 개별색소 1, 2, 3, 4는 acyl화된 색소이며 anthocyanin의 B 환에 수산기를 2개 갖고있는 cyanidin이나 delphinidin, petunidin으로 推定되었다.

상기 확인된 개별색소를 分取하기 위하여 PVP를 충전시킨 column에 色素液을 용출시켜 3ml씩 分

Table 1. Solvent systems used in chromatography

Composition (abbreviation)	Proportion(v/v)	Solvent used for	Phase used
Isobutanol-acetic acid-water (i-BAW)	8 : 2 : 3	Anthocyanin	Miscible
Acetic acid-water-HCl (AWH)	15 : 82 : 3	Anthocyanin	Miscible
Butanol-acetic acid-water (BAW)	4 : 1 : 5	Anthocyanidin, Sugar	Upper phase
Acetic acid-water (2% HOAc)	2 : 98	Anthocyanidin	Miscible
Butanol-pyridine-water (BPW)	6 : 3 : 1	Sugar	Miscible
Butanol-formic acid-water (BFW)	100 : 25 : 60	Anthocyanin	Upper phase

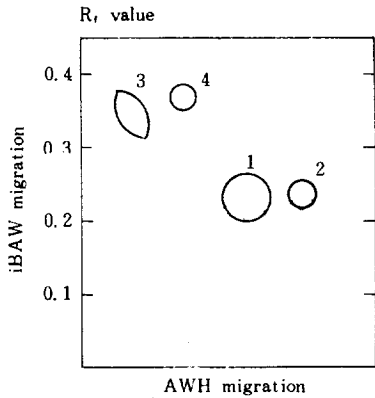


Fig.1 Two-dimensional thin-layer chromatogram of anthocyanins in raspberries.

화한 결과 Fig. 2의 A에서 보는 바와 같이 4개의 peak를 얻었으며 용출순서에 따라 이를 각각 1, 2, 3, 4라고 번호를 붙여서 분취하고 이 4개의 개별

색소를 點적어 展開溶媒 BFW를 사용하여 PPC를 행한 결과를 Fig. 2의 B에 나타내었다.

이 分離된 개별색소 1, 2, 3, 4의 PPC R<sub>f</sub> 값의 결과는 개별색소의 수를 확인하기 위하여 행한 TLC의 개별색소 1, 2, 3, 4의 R<sub>f</sub> 값보다 다소 높았으나 이는 TLC와 PPC의 분리기능의 차이라고 생각되어진다. 이 두 물질의 상대적 R<sub>f</sub> 값과 色調, molybdate 시약의 반응 등으로 보아 個別色素 1, 2, 3, 4 (Fig. 1)는 fraction collector로부터 分画한 4개의 색소 (Fig. 2의 B)와 동일 물질임이 확인되었다.

2. Aglycone과 糖

個別色素의 알카리 加水分解物로부터 抽出한 aglycone을 PPC시킨 결과 R<sub>f</sub> 값과 色調는 Table 2와 같다. 전개용매 BAW에서는 각 개별색소에서 분리된 2點이 관찰되어 졌는데 표준품의 R<sub>f</sub> 값인

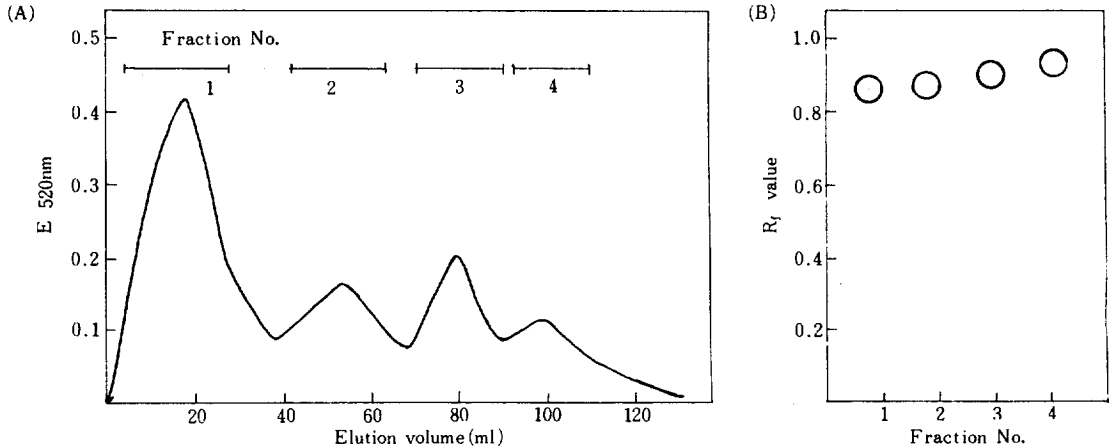


Fig.2 Column chromatogram on polyvinylpyrrolidone of anthocyanins from raspberries(A) and paper chromatogram of four pigment fraction(B)

Table 2. R<sub>f</sub> values and color characteristics of alkaline degradation products

Pigment	R <sub>f</sub> values		Color	Identification
	BAW	2%HOAc		
1	0.90	0.50	Pink-brown	Protocatechuic acid
	0.81	0.59	Pale-brown	Phloroglucinol
2	0.90	0.50	Pink-brown	Protocatechuic acid
	0.81	0.59	Pale-brown	Phloroglucinol
3	0.90	0.50	Pink-brown	Protocatechuic acid
	0.81	0.59	Pale-brown	Phloroglucinol
4	0.90	0.50	Pink-brown	Protocatechuic acid
	0.81	0.59	Pale-brown	Phloroglucinol
Phloroglucinol	0.81	0.59	Pale-brown	
Protocatechuic acid	0.90	0.50	Pink-brown	
Vanillic acid	0.96	0.55	Violet	
p-OH benzoic acid	0.97	0.64	Blue-orange	
Gallic acid	0.76	0.43	Blue-brown	
Syringic acid	0.93	0.53	Yellow	



**Table 4.** R<sub>f</sub> values and color characteristics of the acyl group of raspberry.

Acyl group	R <sub>f</sub> values		Color with DPNA+Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Identification	
	BAW	2% HOAc			
Pigment	1	0.86	0.25	Yellow-brown	Caffeic acid
	2	0.86	0.25	Yellow-brown	Caffeic acid
	3	0.87	0.25	Yellow-brown	Caffeic acid
	4	0.87	0.25	Yellow-brown	Caffeic acid
p-Coumaric acid	0.97	0.36		Tan	
Chlorogenic acid	0.70	0.59		Purple	
Caffeic acid	0.87	0.25		Yellow-brown	
Ferulic acid	0.93	0.30		Blue-brown	

화 색소일 때는 각각 중간 생성물인 3MG, 3DG, 3,5DG 의 1 점씩 더 나타난다는 보고가<sup>9, 10, 11, 12)</sup> 있다. 그러므로 각 개별색소는 전부 caffeic acid를 유기산으로 가진 색소로 1 번은 3,5-digalactoside, 2 번은 3-diglucoside, 3 번은 3, 5-diglucoside, 4 번은 3-monoglucoside 라고 확인하였다. Fig. 3 에 나타난 당류의 R<sub>f</sub> 값이 상호간에 반드시 일치하지 않았으나 이를 각각 다른 조건으로 PPC행하여 그결과를 한곳에 취합하였으므로 다소의 차이가 있다고 생각되며 형광이나 색소에 따라 각 糖의 斑點物質을 3-glucoside, 5-glucoside, 3, 5-diglucoside 라고 추정할 수 있었다<sup>14, 16)</sup>.

**5. 分光学的 確認**

각 개별색소를 0.01% HCl - MeOH에 용해하여 吸光度를 측정한 결과는 Table 5 와 같다. 各 個別色素는 273nm에 특징적인 吸光度를 나타내어서 caffeic acid의 존재<sup>10)</sup>를 확인하였으며 역시 acyl화된 기의 특징적인 두 개의 273nm, 304nm의 peak를 나타내었다. AlCl<sub>3</sub>를 몇 방울 추가하므로 Vis λ<sub>max</sub>가 이동함으로써<sup>14, 15, 16)</sup> aglycone이 cyanidin임을 다시 確認하였다.

이상의 모든 결과로 개별색소 1 번은 cyanidin -

3,5-digalactoside with caffeic acid, 2 번은 cyanidin-3-diglucoside with caffeic acid, 3 번은 cyanidin-3, 5-diglucoside with caffeic acid, 4 번은 cyanidin-3-monoglucoside with caffeic acid라는 사실을 確認하였다.

**要 約**

나무딸기 果汁色素를 포화염기성 초산 납처리를 하여 色素를 抽出하고 polyvinylpyrrolidone을 充填시킨 column에 색소를 流入시켜 fraction collector로 分劑하여 4 개의 個別色素를 分離, 眞空乾燥시켜 乾固시켰으며 各 個別색소에 대해 糖, aglycone 酸部分 加水分解, acyl기, 分光学的인 성질 등의 실험결과에 의하여 anthocyanin의 구조를 確認하였다. 개별색소 1은 cyanidin-3, 5-digalactoside with caffeic acid 2 번은 cyanidin-3-diglucoside with caffeic acid 3 번은 cyanidin-3, 5-diglucoside with caffeic acid 4 번은 cyanidin-3-monoglucoside with caffeic acid로 同定하였다.

**文 獻**

1. 임업시험장 한국수목도감 81(1966)
2. 나무딸기과집 농예시험장(농촌진흥청) (1968)
3. Torre Louis C. and Barritt Bruce H.: *J. Food Sci.*, **42**(2), 488(1977)
4. 박정미, 주광지: 한국영양식량학회지, **11**(3), 67 (1982)
5. 太田英明, 芥田三郎, 白石眞一, 篠島豊: 日本食品工業学会誌, **25**(8), (1978)
6. Philip Thomas: *J. Food Sci.*, **39**, 449(1974)
7. Dekazos Elias D.: *J. Food Sci.*, **35**(237) (1970)
8. Du C. T. and Francis F. J.: *J. Food Sci.*, **38** 810(1973)

**Table 5.** Spectral absorption characteristics of individual anthocyanins

Pigment	λ <sub>max</sub> (nm)			AlCl <sub>3</sub> shift
	1	2	3	
1	274	304	528	+
2	274	304	525	+
3	273	304	528	+
4	273	304	530	+

**Table 6.** Result of identification of anthocyanins in raspberries.

Pigment	Name of anthocyanins
1	Cyanidin-3-digalactoside with caffeic acid
2	Cyanidin-3-diglucoside with caffeic acid
3	Cyanidin-3, 5-diglucoside with caffeic acid
4	Cyanidin-3-monoglucoside with caffeic acid

9. Puech A., Constantine A., Cattin Rebeiz B and Crane Tulianc: *J. Food Sci.*, **40**, 775 (1975)
10. Sakellariades H. C. and Luh B. S.: *J. Food Sci.*, **39**, 329 (1974)
11. Tibor Fuleki: *J. Food Sci.*, **36**, 101 (1971)
12. 太田英明, 箴島豊: 日本 果汁協會報, **251**, 11 (1978)
13. 津久井亜紀夫, 桑野和民, 三田材敏男, 谷村和八郎: 日本 豊化誌, **51**(8), 41 (1977)
14. 芥田三郎, 松富直利: 日本食品工業学会誌, **23** (3), 101 (1976)
15. 芥田三郎, 松富直利: 日本食品工業学会誌, **23** (3), 108 (1976)
16. 松富直利, 山村益土, 太田英明, 箴島豊芥田三郎: 日本食品工業学会誌, **24**(7) 342 (1977)
17. Lynn D. Y. C. and Luh B. S.: *J. Food Sci.*, **30**, 735 (1965)
18. 윤태현, 이상직, 김광수: 한국식품과학회지, **10** (2), (1978)