

五味子の 一般成分, 有機酸 및 Anthocyanin 色素에 관하여

金京任 · 南周亨 · 權泰完
한국과학기술연구소 식량자원연구실
(1973년 7월 24일 수리)

On the Proximate composition, Organic acids and Anthocyanins of Omija, *Schizandra chinensis* Baillon

by

Kyung-Im Kim, Joo-Hyung Nam and Tai-Wan Kwon

Food Resources Laboratory, Korea Institute of Science and Technology, Seoul, Korea

(Received July 24, 1973)

Abstract

Omija (*Schizandra chinensis* Baillon) grown widely in Korea has been used as a traditional drink and as an ingredient in herbal medicine. A determination of the proximate composition, organic acids and major anthocyanins in Omija was made.

1. The proximate composition of Omija showed water to be 84.2%, protein to be 1.1%, fats to be 0.9%, reducing sugars to be 10.9% and total anthocyanins to be 0.2% in terms of weight percent of fresh, ripe Omija.
2. Gas chromatography showed citric acid (3.5%), malic acid (1.4%) and succinic acid (0.2%) to be the major organic acids of the fruit.
3. The anthocyanins, the major pigments present in Omija were separated and isolated into 3 fractions using column chromatography on insoluble polyvinylpyrrolidone. The main anthocyanin was tentatively identified as peonidin 3-glucoside on the basis of its absorptive properties before and after treatments with acid and $AlCl_3$ in the UV and visible ranges.

序 論

五味子(*Schizandra chinensis* Baillon)는 古來로 우리나라 漢方醫學에서 鎮咳·收斂·滋養 및 強壯藥 등으로 利用되고 있는 한편,五味子茶로서 또는 飲料의 味를 주는 基液으로서도 널리 通用되어 왔다. 따라서 藥理學的 有效成分의 分離, 確認 및 食品化學的 有效成分의 探索은 많은 사람들에게 關心의 對象이 되고 있다. 이에 관한 研

究로서는 精油成分에 대한 小川⁽¹⁾, 森川⁽²⁾, Ohta^(3, 4) 등의 研究報告와 Seed oil 成分에 대한 Kochetkov⁽⁵⁻⁹⁾ 등의 報告가 있고, paper partition chromatography 法에 의한 鄭⁽¹⁰⁾의 有機酸定性分析報告가 있다

本報에서는五味子の 有機酸을 gas chromatography 法에 依하여 定量分析하였고, 또 主要色素인 anthocyanin을 分離하여 일부 性質을 얻었기에 그 結果를 여기에 報告하는 바이다.

實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

가) 新鮮 五味子

1972年 9月 大관령 근처에서 完熟한 열매상태의 五味子を 직접 採取하여, -15~-20°C에서 冷凍저장하면서, 각종 실험에 使用하였다.

나) 新鮮 五味子汁

冷凍된 五味子を 室溫에서 녹인 다음, 압착기 (Carver Presser Freds. Carver Inc., USA)로 압착한 後 여과하여 生 五味子汁을 얻었다

2. 實驗方法

가) 一般成分의 分析

水分, 脂質, 粗蛋白質은 A. O. A. C.⁽¹¹⁾의 方法, 펙틴은 McInney의 方法⁽¹²⁾, 總糖 및 還元糖은 Lane and Eynon의 方法⁽¹²⁾과 Schorl의 方法⁽¹³⁾, 總酸은 Ruck의 方法⁽¹²⁾, ascorbic acid는 Roe의 方法⁽¹⁴⁾, total anthocyanin은 Fuleki 등의 方法⁽¹⁵⁾에 依하여 各各 定量하였다

나) 有機酸의 分析⁽¹⁶⁾

新鮮 五味子에 3倍量의 95% ethanol을 加하여 磨碎 抽出하고, lead acetate 용액으로 이를 침전분리 하였다. 分離된 lead salt를 85% ethanol 및 ether로 洗滌하고 충분히 乾燥(1 hr at 100°C)시킨다음 trimethylsilyl reagent와 반응시켜 휘발성 유도체를 만들었으며, 이를 gas chromatography用 試料로 하였다 이때의 器機分析은 Table 1과 같은 條件에서 行하였다.

Table 1. Gas chromatographic conditions

Instrument : Varian Aerograph Model 202
Detector : Thermal Conductivity Detector
Column : 5'x1/4" stainless steel column containing 3% SE-30
Carrier gas : Helium 60 ml/min
Column temperature : initial 75°C, final 39°C
Program rate : 6°C/min
Inject temperature : 200°C
Detector temperature : 250°C
Chart speed : 20 in/hr

다) Anthocyanin 色素의 分離 및 同定

1) Polyvinylpyrrolidone(PVP) column의 제작⁽¹⁷⁾

Polyclar AT (insoluble PVP:GAF Corp., New York, USA) 25g을 증류수에 정처시킨 다음 윗 부분의 浮遊하는 微細한 粒子들을 제거하는 조작을 수회 반복하였다. 이를 column (Pharmacia 2.6x40 cm)에 10 cm 充

塡시킨 다음, 증류수로 충분히 洗滌하여 水溶性 不純物을 완전히 제거하였다.

2) Anthocyanin의 分離⁽¹⁷⁾

anthocyanin의 分離는 Fig.1과 같이 行하였다. 즉, 新鮮 五味子汁 50 ml를 PVP column의 上部에 붓고 流出시켰으며, 流出되어 나오는 物質이 아무 맛도 없어질 때 까지 증류수로 씻어 내었다. 다음, column에 吸着되어 있는 色素를 1% HCl-methanol 용액⁽¹⁸⁾으로 0.5 ml/min의 速度로써 溶出시켜 fraction collector (Beckman

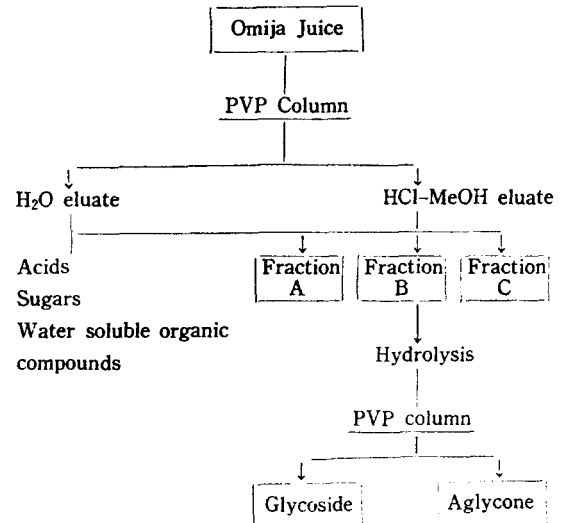


Fig.1. Fractionation of anthocyanins

Model 132)로 100개의 劃分(10 ml)을 얻었다. 이를 530 mμ(S-pectronic 20)에서 各 劃分의 吸光度를 測定하여 Fig. 3의 chromatogram을 얻었다

3) Absorption spectra의 測定

Cary14 spectrophotometer를 利用하여 220~580 mμ 범위에서의 吸光特性을 測定하므로써 劃分 A, B 및 C의 吸光曲線을 각각 얻었다. 또한 5% AlCl₃ 용액 (in ethanol)⁽¹⁹⁾을 加하였을 때 생기는 最高吸光帶의 移動에 關係서도 觀察하였다

4) 劃分 B의 同定

위에서 얻은 spectrum의 結果로써 代表的인 anthocyanin으로 나타난 劃分 B를 rotary evaporator (40°C, N₂ atmosphere)에서 流出溶媒를 完全히 蒸발시킨 後, 5 ml의 2N HCl로 100°C에서 2시간 加水分解시켰으며 (Fig.1 참조), 同 加水分解物을 다시 Polyclar AT column을 通하여 流出시켰다. 이 때 分解物 중 aglycone은 column에 吸着된다.⁽²⁰⁾ 流出된 糖은 濃縮하여 thin layer chromatography法을 利用, n-BuOH:pyridine:benzene:water(5:3:1:3)⁽²¹⁾ 展開溶媒에 展開시킨 後 aniline oxalate로 發色시켜 anthocyanin을 이루는 構

成糖을 確認하였다. 그다음 column에 吸着되어 있는 anthocyanin의 aglycone을 確認하기 위하여 1% HCl-methanol 용액으로 溶出시켜 Cary 14 Spectrophotometer 로 가시부 및 자외선부에서 吸收 spectra를 얻었다.

結果 및 考察

1. 一般成分

完熟한 新鮮五味子の 主要成分을 分析한 結果는 Table 2와 같다. 즉, 水分이 84.2%, ether extract가 0.9%, protein이 1.1% 그리고 pectin, total sugar 및 total acid가 각각 1.5%, 13.4% 및 4.9%이었다. 또한 ascorbic acid와 總 anthocyanin은 각각 6.3 mg% 및 168 mg%이었다. 이와같이 높은 함량의 acid와 anthocyanin이 함유되어 있으므로 五味子가 강한 신 맛과 독특한 붉은 색을 지니고 있는 것이라 하겠다.

Table 2. Proximate composition of fresh Omija

Composition	Content(%, w/w)
Moisture	84.2
Fat	0.9
Protein	1.1
Pectin	1.5
Total sugar	13.4
Reducing sugar	10.9
Total acid(as citric acid)	4.9
Ascorbic acid	6.3(mg%)
Total anthocyanin	168.0(mg%)

2. 有機酸

五味子 抽出液의 가장 큰 特性中의 하나인 강렬한 酸味를 규명하기 위하여 gas chromatography法에 의한 有機酸을 分析한 結果, Fig. 2와 같은 gas chromatogram을 얻었다. glutaric acid를 internal standard⁽¹⁶⁾로 하여 溶出된 各 peak의 面積에서 求한 各種 有機酸의 組成比는 citric acid 3.5%, malic acid 1.4% 및 succinic acid 0.2%로 되어있다. 이들 確認된 有機酸의 合計는 5.1%로서, citric acid를 基準으로 한 總酸含量 4.9%와 잘 一致한다. citric acid는 일반적으로 이 酸이 多量 含有된 lemon (2.6%)이나 lime (1.7%)의 경우보다도 훨씬 많았다.⁽¹⁶⁾ 또한 별도의 paper chromatography 分析, 즉, 新鮮 五味子를 ether로 연속추출(90hr)하여 n-BuOH: formic acid: water (10 : 2 : 15)의 溶媒로써 Whatman No.1 여지에 展開시켜 BPB로 發色, 確認한 結果, citric acid, malic acid, succinic acid 및 未知의 다른 한개의 酸을 分離함으로써 G.C. 分析 結果를 뒷바침

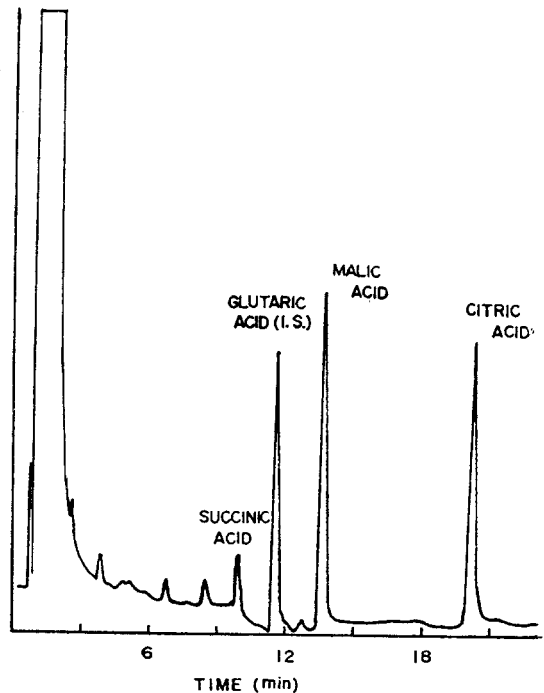


Fig.2. Gas chromatogram of trisilyl derivatives of acids in Omija

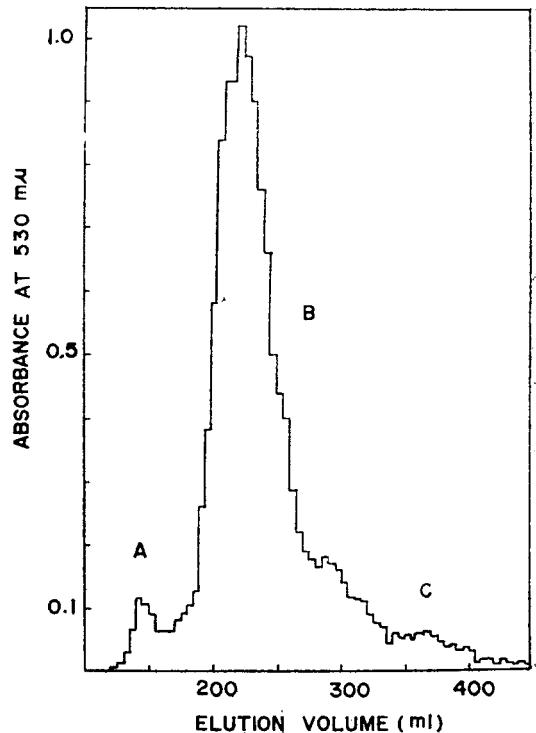


Fig.3. Fractionation of the anthocyanins in Omija with Polyclar AT column

하였다. 한편, 鄭⁽¹⁰⁾은 ether 로써五味子の 有機酸을 抽出하여 *n*-BuOH: formic acid: water (10 : 1 : 5)의 展開溶媒로써 malic acid와 tartaric acid를 確認하였고 두개의 未知有機酸을 分離하였다고 報告한 바 있다.

3. 五味子 anthocyanin의 分離 및 確認

一般的으로 植物에서 anthocyanin을 分離, 精製하는 方法으로서는 alcoholic-HCl과 ether에 의한 recrystallization⁽²²⁾, *n*-BuOH: acetic acid: water (4 : 1 : 5), *n*-BuOH: 2NHCl(1 : 1) 같은 展開溶媒를 利用한 paper chromatography⁽²²⁾ 및 thin layer chromatography, cellulose, silica gel, magnesol, polyamide, alumina, cation exchange resins 같은 充填劑를 使用하여 分離하는 column chromatography^(17, 22, 24) 등 여러가지 方法이 있으나 그 中에서도 PVP column chromatography는 anthocyanin 化合物의 분리와 精製에 가장 많이 쓰이고 있다. (17, 24)

PVP column chromatography 法에 의한五味子の anthocyanin은 1% HCl-methanol 용액에 溶出되는 anthocyanin의 가시부 最高吸光帶인 530m μ 에서 各 劃分의 吸光度를 測定하여 Fig. 3과 같은 結果를 얻었다. 이 때 PVP column에 의한 오미자 anthocyanin의 總 回收率은 75%나 되었다. 이와같이 PVP column을 利用하였을 때는 미리 다른 전처리 과정을 거치지 않고도 相當量의 anthocyanin을 잘 分離, 精製할 수 있었다. Fig. 3에서와 같이 3종류의 anthocyanins으로 分離되었는바, 劃分 B가 全體의 80%에 해당하는 代表的인 anthocyanin이라 생각되므로 이 劃분에 대해서 좀 더 자세한 관찰을 계속하였다.

anthocyanin의 分光學的인 性質은 一般的으로 가시부(465~550 m μ)와 자외선부(275 m μ)에서 각기 最高吸光度를 나타내는데, 測定時 使用하는 溶媒의 種類에 따라 最高吸光帶의 位置에 약간의 差異를 나타낸다. (22) 實驗 結果 나타난 劃分 A, B, C의 分光學的인 性質은 Fig. 4와 같으며, 代表的인 anthocyanin B의 最高吸光帶의 位置, AlCl₃ 용액을 加했을 때 생기는 最高吸光帶의 移動

및 440 m μ 과 最高吸光帶에서의 吸光度의 比를 Harborne⁽²²⁾의 資料와 比較하여 보면 Table 3과 같다.

특히 Harborne의 資料 중 peonidin의 結果와 比較해 보면, 劃分 B의 最高吸光帶의 位置는 258 m μ 과 538 m μ 인데 비해 Harborne의 경우 277 m μ 과 532 m μ 에서 나타났으며, E₄₄₀/E_{max}는 각각 25%와 26%, AlCl₃ 용액에 의한 最高吸光帶의 移動은 양쪽 다 없었으며,

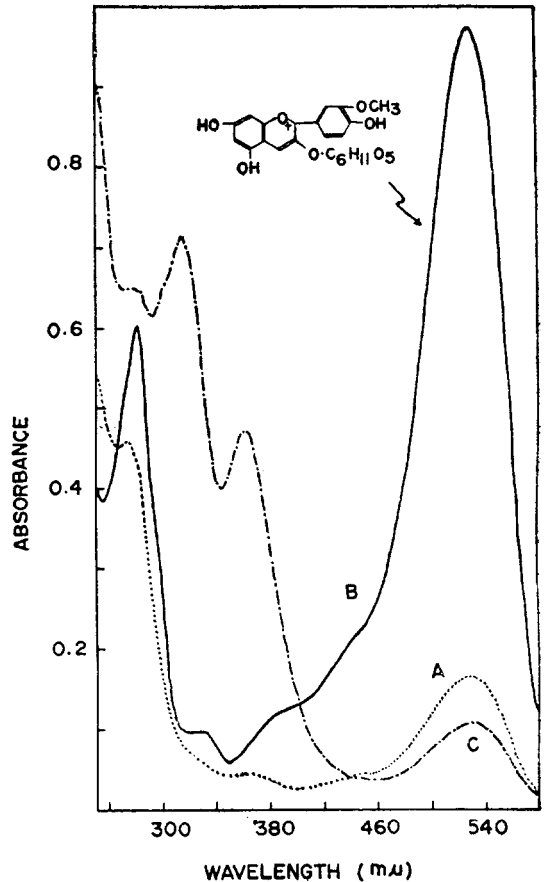


Fig. 4. Absorption spectra in 1% HCl-MeOH of the fractionated anthocyanins in Omiza

Table 3. Properties of the naturally occurring anthocyanidins⁽¹⁷⁾

Pigment	HCl-MeOH max(m μ)	E ₄₄₀ /E _{max} (%)	AlCl ₃ $\Delta\lambda$ (m μ)	Anthocyanidin 3-glucoside($\Delta\lambda$)
Pelargonidin	270, 520	39	0	
Cyanidin	277, 535	19	+18	524(-11)
Delphinidin	277, 546	16	+23	534(-12)
Petunidin	276, 543	17	+14	534(-9)
Malvidin	275, 542	19	0	534(-8)
Peonidin	277, 532	25	0	523(-9)
Fraction B의 Aglycone	258, 538	26	0	530(-8)

anthocyanidin 3-glucoside 가 될 경우 8 μ 및 9 μ 의 hypsochromic shift 를 하였다

한편, anthocyanin 을加水分解하여 얻은 glycoside 를 TLC 에 의한 分析 結果, anthocyanin B 의 glycoside 는 glucose 임을 알았으므로 劃分 B 가 Peonidin 3-glucoside 일 것으로 推定하였다. Trevisan⁽²⁵⁾은 Myrciaria Fruit (*Myrciaria jaboticaba*, Berg)의 anthocyanins 에서 peonidin 3-glucoside 를 分離, 確認한 바 있고, 또한 Albach⁽²⁶⁾ 등은 vinifera grape 에서 역시 代表的인 anthocyanin 이 peonidin 3-glucoside 임을 밝히고 있다.

요 약

五味子 열매의 一般成分을 살렸고, 有機酸을 定量 하였으며, 色素를 分劃하여 一部 同定하였다.

1. 熟成한五味子에는 水分 84.2%, 脂肪 0.9%, 還元糖 10.9%, 그리고 蛋白質이 1.1% 함유되었으며, Total anthocyanin 의 含量은 168 mg%이다.

2.五味子中 確認된 有機酸의 含量은 5.1%로서 citric acid 3.5%, malic acid 1.4%, 그리고 succinic acid 0.2%로 組成되었다.

3.五味子の 色素를 polyvinylpyrrolidone column 에 通過시켜서 3個의 劃分을 分離하였고, 그 중 80%를 차지하는 anthocyanin 을 peonidin 3-glucoside 로 잠정적으로 同定하였다.



본 연구는 동양맥주 주식회사와의 연구 용역 계약에 의거 이루어진 결과의 일부이다.

문 헌

(1) 小川三枝子, 廣瀬善雄: 第8回 TEAC, 仙台 137 (1964).

(2) 森川久美子, 廣瀬善雄: 第14回 TEAC, 27 (1970).

(3) Ohta, Y. and Hirose, Y.: *Tetrahedron Letters*, 1251 (1968).

(4) Ohta, Y. and Hirose, Y.: *Tetrahedron Letters*, 2483 (1968).

(5) Kochetkov, N. K., Khorlin, A., Chizhov, O. S. and Sheichenko, V. I.: *Tetrahedron Letters*, 730 (1961).

(6) Kochetkov, N. K., Khorlin, A. and Chizhov, O. S.: *Tetrahedron Letters*, 361 (1962).

(7) Kochetkov, N. K., Khorlin, A., Chizhov, O. S. and Sheichenko, V. I.: *Chem. Abstr.*, 57, 13704d (1962).

(8) Kochetkov, N. K., Khorlin, A. and Chizhov, O. S.: *Chem. Abstr.*, 57, 3334g (1962).

(9) Kochetkov, N. K., Khorlin, A. and Chizhov, O. S.: *Chem. Abstr.*, 61, 8250C (1964).

(10) 鄭思弘: 中大藥大學報, 5, 124 (1961).

(11) AOAC: *Official Methods of Analysis*, 10th Ed. (1965).

(12) Ruck, J. A.: *Chemical Methods for Analysis of Fruit and Vegetable Products*, Canada Department of Agriculture, 8(1963).

(13) Am. Associ. of Cereal Chemists: *Cereal Lab., Methods* (6th Ed.), Am. Associ. of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, 80~68 (1962).

(14) Freed, M.: *Methods of Vitamin Assay*, The Association of Vitamin Chemists, Inc., Interscience Pub., New York, 317 (1966).

(15) Fuleki, T. and Francis, F. J.: *J. Food Sci.*, 33, 72 (1968).

(16) Fernandez-Flores, E., Kline, D.A. and Johnson, A.R.: *JAOAC*, 53, 17(1970).

(17) Hrazdina, G.: *J. Agr. Food Chem.*, 18, 243 (1970).

(18) Timberlike, C. F. and Bridle, P.: *J. Sci. Fd Agric.*, 22, 509(1971).

(19) Francis, F. J. and Harborne, J. B.: *J. Food Sci.*, 31, 524(1966).

(20) Kagan, J. and Mabry, T. J.: *Anal. Chem.*, 37, 288(1965).

(21) Lee, K. Y., Lee, C. Y., Lee, T. Y. and Kwon, T. W.: *Seoul, Univ. J.*, 8 (Biol. and Agric.), 35 (1959).

(22) Harborne, J.B.: *Comparative Biochemistry of the Flavonoids*, Academic Press, London and New York, Chapt. I(1967).

(23) Seikel, M.: *The Chemistry of Flavonoid Compounds*, T. A. Geissman, Ed., Macmillan, New York, Chapt. 3(1962).

(24) Wrolstad, R. E. and Putnam, T. B.: *J. Food Sci.*, 34, 154(1969).

(25) Trevisan, L. M., Bobbio, F. O. and Bobbio P. A.: *J. Food Sci.* 37, 818 (1972).

(26) Albach, R. F., Kepner, R. E. and Webb, A. D.: *J. Food Sci.*, 28, 55(1963).