

오디와 포도의 안토시아닌 색소 물질 조성 비교 및 C3G 정량

김현복*

농업과학기술원 잠사곤충부

Quantification of Cyanidin-3-glucoside(C3G) in Mulberry Fruits and Grapes

Hyun Bok Kim

Department of Sericulture and Entomology, National Institute of Agriculture Science and Technology, RDA, Suwon 441-100, Korea

ABSTRACT

This study was carried out to investigate the anthocyanin pigments in the fruits of mulberry and grape. The anthocyanin pigments in the fruits of mulberry and grape were extracted with 1% methanolic hydrochloric acid. The cyanidin-3-glucoside (C3G) was separated and quantified by HPLC system using a Nova-Pack C₁₈ column. The cyanidin-3-glucoside (C3G) contents of mulberry fruits were higher than that of grapes. Especially, anthocyanin pigments of mulberry fruits showed only C3G peak, but anthocyanin pigments of grapes showed some species peaks.

Key words : Anthocyanin pigments, Cyanidin-3-glucoside (C3G), Mulberry, Grape

서 론

최근 건강식품에 대한 소비자들의 선호도 증가와 더불어 인공합성색소의 안전성에 대한 논란으로 인하여 천연 색소가 지니고 있는 기능성 및 이용성에 대한 가치가 재조명됨에 따라 각종 작물에 함유된 색소물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 포도의 경우 껍질에 존재하는 안토시아닌 색소의 다양한 기능성이 알려지면서 생식용 이외에 포도주, 주스, 잼 등의 가공식품과 시력개선제 등 의약품으로 판매되고 있어 경제성이 매우 크다. 또한 유색미, 검정콩, 검정 찰옥수수 등도 대표적인 안토시아닌 색소 함유 작물로 알려짐에 따라 이용성이 증대되고 있으며, 대부분의 과실이나 꽃에 존재하는 안토시아닌 색소를 이용하여 기능성을 높인 상품을 개발함으로써 고부가가치 산업으로 활용하기 위한 방안들이 연구되고 있는 실정이다.

그러나 표 1과 표 2에서 알 수 있듯이, 작물마다 안토시아닌 색소 계열의 화학적 조성이 다르고, 품종 및 계통에 함유된 색소의 함량을 계량화하는데 많은 어려움이 있어 비색계로 흡광도를 측정하여 시료간 흡광도의 상대비교로 함량의 다소를 판단하거나(Fuleki and Francis, 1968a), HPLC로 측정(Martin and Harzdina, 1978; Park *et al.*, 1998)

또는 색차계를 이용하는 간접적인 방법을 적용(Watada and Abbott, 1975)하여 왔다.

뽕나무는 열매인 오디에 안토시아닌 색소를 다량 함유하고 있어 천연색소를 이용하기 위한 차원에서 유망시되는 작물이며, 동의보감 탕액편(湯液篇)에 '까만 오디는 뽕나무의 정령(精靈)이 모여 있는 것이며, 당뇨병에 좋고 오장에 이로우며 오래먹으면 배고픔을 잊게 해준다(黑椹桑之精英 盡在於此 主消渴利五臟 久服不飢)'고 하고 '귀와 눈을 밝게 한다(明耳目)'라고 했으며, '오디를 오래 먹으면 백발이 검게 변하고 노화를 방지한다(久服 變白不老)'고 기록되어 있어 기능성에 있어서도 기대가 되는 작물이다.

그러나 지금까지 뽕나무 육종 목표가 누에사육을 위한 양질다수 위주의 뽕잎 생산이었기 때문에 오디의 성분이나 기능성에 대한 연구자료는 매우 미흡한 실정이다.

김 등(2002)은 오디에 존재하는 색소는 안토시아닌 색소로서 천연색소이며, C3G 단일물질로 존재한다고 보고하였으며, 수량, 과중, 당도 등 과실로서의 오디특성을 만족시키면서 C3G까지 1% 내외 함유한 오디용 뽕 품종(계통)을 4종 선발한 바 있다.

본 실험은 천연색소 자원 및 기능성 소재로서 적합한 오디에 대해 안토시아닌 색소 조성을 포도와 비교하고, 특히 항산화 작용이 높은 것으로 알려진 C3G 함량을 분

* Corresponding author. E-mail: hyunbok@rda.go.kr

Table 1. Color and distribution of major anthocyanidins in some common fruits and vegetables.

Compound	Color ^a	Fruits and vegetables ^d
delphinidin cyanidin	bluish red orange red	Concord grape, blueberry, bilberry, black currant strawberry, blackberry, rhubarb, black currant, cherry, red cabbage, bilberry, cranberry, elderberry, Concord grape, corn, plum, raspberry, red onion
pelargonidin malvidin	orange bluish red	strawberry, corn grape, blueberry, bilberry
peonidin	red	cherry, cranberry, sweet potato, plum

^aSources : Francis (1989); Timberlake and Henry (1988); Strack and Wray (1993); Terajara *et al.* (1994).

Table 2. Total anthocyanidin content in some common fruits and vegetables^{a,b}

Fruits and vegetables	Total anthocyanidins
blackberry	83~326
blueberry	25~495
raspberry	
- black	214~428
- red	20~60
sweet cherry	350~450
cranberry	78
- juice	18~87
strawberry ^c	7~30
- juice ^d	21~333
red grapes	30~750
red wine ^e	100~1000
currant	
- black	250
- red	12~19
apple (Scugog)	10
red cabbage ^f	25
red onion	9~21

^aAll values expressed of fresh weight basis (mg/100 g) except values for juice and wine, which were expressed in mg/L.

^bData from Mazza and Miniati (1993) unless noted differently.

^cFrom Kikoku *et al.* (1995).

^dFrom Bakker *et al.* (1994).

^eFrom Glories (1988).

^fFrom Timberlake and Henry (1988).

석함으로써 생리활성물질 고함유 오디생산용 뽕품종 육종 효율을 높임은 물론 기초자료를 제시함으로써 오디를 이용한 상업화 이용 가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 공시재료

본 시험에 공시한 오디는 농업과학기술원 잠사곤충부 시험포장(수원시 서둔동 소재)에 유전자원으로 보존되고 있는 뽕 품종(계통) 중 과중 2.0 g 이상의 대과종 10계통과 모상 2계통으로서 收穫盛期(오디가 완숙되기 시작하여 미숙오디가 10% 정도 남아 있을 때)에 채취한 후 즉시 초저온 냉동고에 보관하였다가 동결건조하여 사용하였다. 포도는 원예연구소(수원시 이목동 소재)로부터 4종을 분

양받아 껍질과 과육을 분리하여 동결건조하였으며, 분석 시까지 -70°C의 초저온냉동고에 보관하였다.

2. 색소의 추출

김 등(2000)의 방법에 따라 동결건조된 오디와 포도 1 g 씩을 취하여 1%의 HCl을 함유한 methanol로 색소를 2회 추출하였다. 색소 추출 효율을 높이기 위하여 진탕기를 이용하여 4°C 암소에서 24시간 진탕한 후, Whatmann No. 1 여과지로 Buchner funnel에서 흡인여과 하였다.

여과된 색소추출액은 35°C 이하에서 slurry 상태가 될 때까지 감압농축 후 최종적으로 지질성분을 제거하기 위해 ethylether:hexane(1:6, v/v)의 혼합액으로 2회 세척하였으며, 이를 다시 slurry 상태로 농축하여 남아있는 ethylether와 hexane을 제거하였다.

3. HPLC를 이용한 색소물질 조성 비교

지질이 제거된 포도와 오디의 색소 추출물을 Shimadzu LC system에 주입하여 538 nm에서 안토시아닌 색소물질의 조성패턴을 비교하였다. 컬럼은 Nova-Pack C₁₈(300×3.9 mm)을 사용하였으며, 컬럼의 온도는 35°C를 유지하였다. 이동상으로는 Water : CH₃CN : HoAC : H₂PO₄ = 81.7 : 8.4 : 8.4 : 1.5(V/V)을 사용하였으며, Flow rate는 1.0 ml/min 이 되도록 하였다. 표 3은 HPLC 분석조건을 나타낸 것이다.

4. C3G(cyanidin-3-glucoside) 정량

Anthocyanin의 표준물질인 cyanidin-3-glucoside (C3G)와 HPLC chromatogram을 비교하여 정량분석을 실시하였다. 각 시료에 대한 C3G의 농도는 C3G 표준물질의 농도를 기준으로 면적비로 계산하였으며, anthocyanin 표준물질인 C3G는 Genay France 社로부터 구입하여 사용하였다.

결과 및 고찰

1. 오디와 포도의 안토시아닌 색소 패턴 비교

안토시아닌 색소는 꽃, 과일, 야채 등에 널리 분포하는 천연색소로서 각종 곤충, 조류 등을 유인하여 화분의

수분 및 종자의 확산에 기여하는 등 식물학적 중요성과 노화억제, 망막장애의 치료 및 시력개선 효과, 항산화 작용 등 인체에 대한 다양한 생리활성기능이 밝혀지면서 관심이 매우 높아져 식품이나 화장품 등에 이용하고자 하는 연구들이 추진되고 있다. 그러나 색소 자체의 불안정성 때문에 분리 및 정제가 어렵고, 조리 또는 가공 중에 쉽게 변색되는 등 이용시 문제점이 지적되어 왔다. 따라서 보다 안정적이고 분리 및 정제 과정을 최소화 할 수 있는 색소함유 작물의 선발이 무엇보다 중요시되어 왔다.

뽕나무 오디는 껍질뿐 만 아니라 과육에도 안토시아닌 색소를 다량 함유하고 있어 천연색소 자원으로서 유망시 되는 작물이다. 특히 껍질과 과육을 분리하지 않고 과실 전체부위를 이용하기 때문에 안토시아닌 색소의 수율도 매우 높다. 현재 안토시아닌 색소를 가장 상업적으로 이용하고 있는 가장 대표적인 작물은 포도이며, 껍질로부터 추출한 안토시아닌 색소 조성물질을 이용하고 있다.

오디의 상업화 이용 가능성을 검토하기 위하여 오디와 포도에 있어서 안토시아닌 색소의 조성패턴을 비교하였다(그림 1). 오디는 C3G 단일물질로 존재하는 반면 포도는 여러 가지 안토시아닌 색소물질이 혼합된 형태로 존재함을 알 수 있었다. 포도에 존재하는 주요 안토시아닌 색소

는 malvidin, cyanidin 및 delphinin 계열의 색소인 것으로 보고되었다(Hong *et al.*, 1997).

또한 현재 안토시아닌 색소 함유 작물로서 그 가치를 인정받고 있는 유색미, 검정콩, 검정찰옥수수에 있어서 주요 안토시아닌 색소는 cyanidin, delphinidin 및 (또는) pelargonidin 계열의 색소가 혼합되어 존재하는 것으로 알려져 있다.

그러나 뽕나무 오디는 안토시아닌 색소의 조성이 단순하므로 색소를 분리·정제하는 과정을 최소화함으로써 안토시아닌 색소의 안정성을 유지시킬 수 있고, 분리·정제 과정에서의 손실을 줄여 수율도 매우 높을 것으로 기대된다.

또한 뽕나무 오디는 안토시아닌 색소가 과실전체에 함유되어 있어서 이용효율도 타작물에 비해 매우 높다. 과실의 경우 안토시아닌 색소는 주로 껍질에 존재하기 때문에 색소자원 또는 기능성식품 재료로 이용시 한계점을 지니고 있다. 포도의 경우 껍질로부터 안토시아닌 색소를 추출하기 때문에 과실 전체에 대한 이용부위의 효율이 떨어진다고 볼 수 있으며, 검정콩, 유색미, 자색 옥수수 등도 안토시아닌 색소의 이용부위, 조성형태 및 함량이 고려되어야 한다.

이러한 점에서 볼 때 뽕나무 오디는 천연색소 자원으로서 상품화 이용 가능성이 매우 큰 것으로 여겨진다.

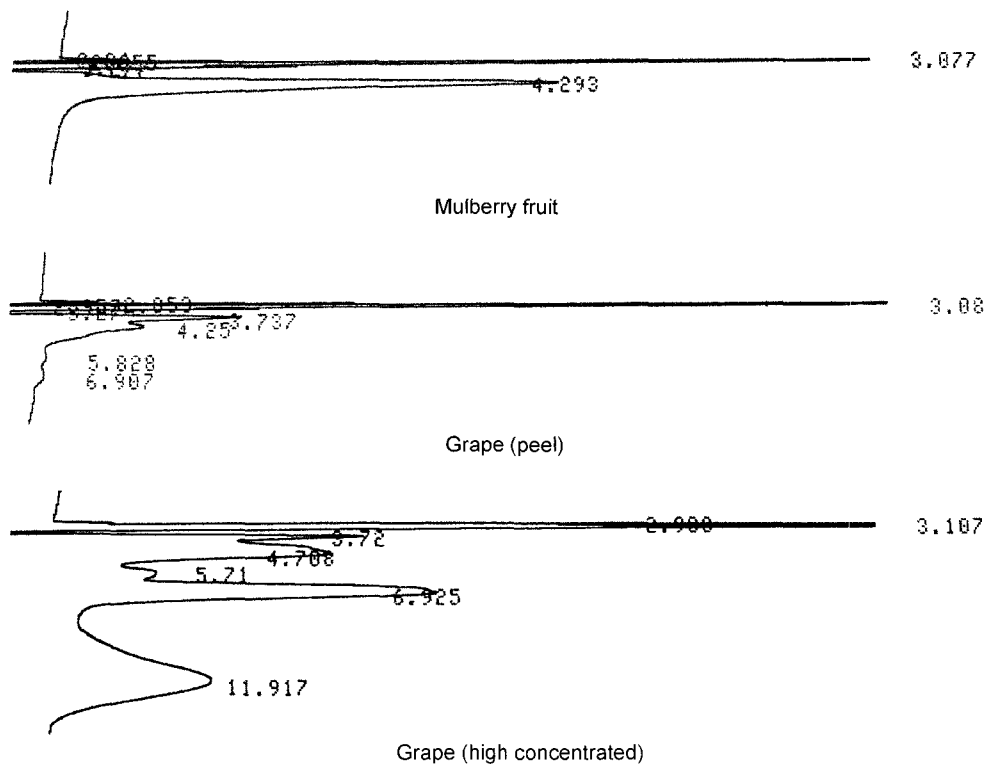


Fig. 1. Anthocyanin pigment pattern of mulberry fruit and grape.

2. 계통별 오디와 포도의 C3G(cyanidin-3-glucoside) 정량 분석

오디와 포도에 존재하는 C3G(cyanidin-3-glucoside)의 함량을 분석하였다(표 4). 공시계통 모두에서 C3G가 검출되었으나, 포도에 비해 오디의 C3G 함량이 상대적으로 매우 높았다.

포도의 경우 'Concord'와 'Sheridan'의 껍질에 각각 0.329%, 0.324% 함유되어 있는 반면, 껍질+과육에 각각 0.039%, 0.036% 함유되어 있어 안토시아닌 색소 C3G는 주로 포도껍질에 존재함을 알 수 있었다. 또한 거봉계통인 'Gabbiro (KaiJi)'와 'Dongbugae gerbong'에서는 껍질과 껍질+과육 모두 0.02% 수준으로 함유되어 있어 C3G 함량이 매우 낮았다.

한편, '강선'은 0.980%로서 뽕나무 공시계통 중 가장 높은 함량을 나타냈으며, '원고'와 모상계통인 'PC 11'은 각각 자색포도의 껍질수준인 0.3%와 거봉 계통 수준인 0.02%

가 검출됨으로써 계통간 변이가 심하였다. 따라서 천연색소 자원인 뽕나무 오디 이용에 있어 C3G 고함유 계통의 선발이 무엇보다 중요하다고 볼 수 있으며, 동시에 과실의 크기, 당도, 수량성을 고려한다면 경제적 수종으로서 적합할 것으로 판단되었다.

적 요

최근 안토시아닌 색소의 생리활성에 대한 관심이 고조됨에 따라 천연색소 자원으로서 유망시되는 뽕나무 오디의 이용성을 높이고 생리활성물질로서 C3G(cyanidin-3-glucoside) 색소를 다량 함유한 뽕나무의 품종육성을 위하여 유전자원으로 보존되고 있는 뽕 계통에 대하여 오디를 수확한 후 색소를 추출, 분리 및 정량 분석을 실시하였다.

1. 오디 함유 anthocyanin 색소의 추출은 1% HCl-MeOH 용액을 사용하였으며, 분석 기기로는 Shimadzu LC, Nova-Pack C₁₈ Column(300×3.9 mm)을 사용하였다.

2. 오디와 포도에 존재하는 안토시아닌 색소의 조성 패턴을 비교한 결과, 오디는 C3G(cyanidin-3-glucoside) 단일 물질로 존재하는 반면, 포도는 여러 가지 안토시아닌 색소가 혼합되어 존재하는 것으로 나타났다.

3. 오디와 포도의 계통별 C3G(cyanidin-3-glucoside) 함량을 분석한 결과, 포도에 비해 오디의 C3G 함량이 상대적으로 매우 높았다.

4. 이상의 결과 뽕나무 열매인 오디는 안토시아닌 색소의 존재형태, 이용부위 및 함량에 있어 천연색소 자원으로서 유망시되며, 색소자원으로 이용시 타작물보다 유리한 경제수종으로 판단된다.

인용문헌

Bakker, J., Bridle, P. and Bellworthy, S. J. (1994) Strawberry juice color : a study of quantitative and qualitative pigment composition of juices from 39 genotypes. *J. Sci. Food Agric.* **64** : 31~37.
 Francis, F. J. (1989) Food colorants : Anthocyanins. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **28** : 273~314.
 Fuleki T. and Francis, F. J. (1968a) Quantitative methods for anthocyanins. 1. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. *J. of Food Sci.* **33** : 254~259.
 Glories, Y. (1988) Anthocyanins and tannins from wine : organoleptic properties. *Prog. Clin. Biol. Res.* **280** : 123~134.
 Kikoku, Y., Fukuhara, K., Saito, I. and Oota, H. (1995) Identification and high performance chromatographic determination of strawberry anthocyanin pigments. *J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol.* **42**(2) : 118~123.
 김현복·김선림·문재유(2002) 오디 Anthocyanin 색소 정량 및 품종 변이. *韓育誌.* **34**(3) : 207~211.
 김선림·황종진·송진·송정춘·정국현(2000) 유색미, 김정콩, 김정찰옥수수 안토시아닌 색소의 추출, 정제 및 정량. *韓育誌.*

Table 3. Instrument and analysis conditions for pigments in mulberry fruits and grapes

Classification	Anthocyanin
Instruments	Shimadzu LC system
Wave length	538 nm
AUFS	0.04
Column	Nova-Pack C ₁₈ (300×3.9 mm)
Column Temp.	35°C
Mobile phase	Water : CH ₃ CN : HoAC : H ₂ PO ₄ (81.7:8.4:8.4:1.5, V/V)
Flow rate	1.0 ml/min

Table 4. Cyanidin-3-glucoside (C3G) content in the mulberry fruits and grapes

Classification	Accession	C3G content (% DW)
Mulberry fruits	Kangsun	0.980
	Wongo	0.391
	Sangbansibmunja(jeonnam)	0.801
	Jaelaenosang	0.416
	Suwonnosang	0.625
	Daemansang	0.671
	Sangchonchosaeng	0.706
	Kuksang 13	0.854
	Daegajokhongpisang	0.699
	Cheongilppong	0.897
	PC 5	0.470
Grapes(peel)	PC 11	0.027
	Concord	0.329
	Sheridan	0.324
	Gabbiro	0.028
Grapes (peel + flesh)	Dongbugae geobong	0.020
	Concord	0.039
	Sheridan	0.036
	Gabbiro	0.025
	Dongbugae geobong	0.020

- 32(2) : 146~152.
- 김선림 · 김이훈 · 손영구 · 송정춘 · 황종진 · 허한순(1999) 검정찰 옥수수 종실에서 안토시아닌색소 분리 및 동정. 韓育誌. 31(4): 408~415.
- Martin W. and Harzdina G. (1978) High-pressure liquid chromatographic separation of 3-glucoside, 3,5-diglucosides, 3-(6-O-p-coumaryl)-glucosides and 3-(6-O-p-coumaryl)glucoside)-5-glucosides of anthocyanins. *J. Chromatography* 155 : 389~398.
- Mazza, G. and Miniati, E. (1993) Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains; CRC Press Inc.:Boca Raton, FL.
- 농촌진흥청 고령지농업시험장(2002) 기능성자생식물을 이용한 고부가가치 상품화 방안.
- Park S. J., Lee J. H., Han S. J., Kim H.Y. and Ryu S.N. (1998) Quantitative analysis and varietal difference of cyanidin 3-glucoside in pigmented rice. *Korean J. Crop Sci.* 43(3) : 179~183.
- 박세원, 정이숙, 고광출(1997) 오더 품종간 안토시아닌 정량분석 및 생리활성 검색. 韓園誌 38(6) : 722~724.
- Strack, D. and Wray, V. (1993) The anthocyanins. *The Flavonoids : Advances in research since 1986* ; Harbone, J. B., Ed.; Chapman & Hall : London; pp 1~22.
- Terahara, N., Yamaguchi, M. and Honda, T.(1994) Malonylated anthocyanins from bulbs of red onion, *Allium cepa* L. *Biosci., Biotechnol., Biochem.* 58(7) : 1324~1325.
- Timberlake, C. F. and Henry, B. S.(1988) Anthocyanins as natural food colorants. *Prog. Clin. Biol. Res.* 280 : 107~121.
- Watada A. E. and Abbott J. A. (1975) Objective method of estimating anthocyanin content and determining color grade of grapes. *J. of Food Sci.* 40 : 1278~1279.