

얼레지 화피에 함유된 안토시아닌 색소의 군락지별 함량

이 명 선 · 임 상 철 · 박 희 준

상지대학교 자원식물학과

The Anthocyanin Contents of the Petals of *Erythronium japonicum* Collected from Several Stocks

Myung Sun Lee, Sang Cheol Lim and Hee Juhn Park

Dept. of Botanical Resource, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

Abstract—The anthocyanin isolated from the petals of *Erythronium japonicum* was elucidated as delphinidin 3-rutinoside on the basis of PPC and UV spectral evidences. To evaluate phytochemical and botanical utilization of this plant, the quantitative analysis of anthocyanin content was carried out by using the visible absorption spectra at 540nm. By the results of our experiment, it was found that the anthocyanin content of petals collected from the summit of Mt. Odae are higher than that of the lowest region. However, there is no significant difference between the anthocyanin contents of the petals collected from the east- and west-side area of the mountain.

Keywords—*Erythronium japonicum* · Liliaceae · anthocyanin · quantitative analysis

얼레지 (*Erythronium japonicum* Decne.)는 백합과(Liliaceae)에 속하는 다년생 초본식물로서 산록이나 숲속에서 무리지어 자라는 식물이다.¹⁾ 인경은 길이 4~6 cm의 긴 타원형이며 땅속 깊이 있고 잎은 2개이며 표면에 자색 반점이 있고 길이 7~12 cm, 폭 4~6 cm로서 긴 타원형 또는 좁은 난형으로 끝이 어느정도 뾰족하고 기부는 긴 자루로 이어지며 줄기 중간부에서 마무난다.²⁾

얼레지는 한방에서 차전염산자고라하여 전초를 말려서 약용으로 하고 있는데 주 용도는 강장약 및 진해제로 사용되며 어린 잎은 식용으로 사용되고 있고 탄수화물이 많이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다.³⁾

저자 등은 얼레지의 식물화학적 연구가 미진한 점에 착안하여 그 자원식물학적 유용 가능성을 모색하기 위하여 본 실험에 착수하여 이 식물

의 화피의 안토시아닌의 종류를 밝힐 수 있었고 군락지 별로 자생하는 이 식물의 특수성에 따라 오대산의 저지대(해발 600 m), 해발 1,300 m의 동쪽과 서쪽 그리고 정상(해발 1,500 m)의 4 군락지에서 각각 동일한 시기에 따로 채취한 식물의 신선 화피에 대한 안토시아닌 색소의 함량을 분석하였다.

안토시아닌에 대한 함량을 분석한 연구로서 Hiraoka 등⁴⁾과 Hemingson 등⁵⁾이 조직배양한 칼루스에 대하여 구조적으로 또는 함량적으로 변화하는 안토시아닌 색소를 가시부 흡광광도법으로 관찰한 바 있다.

본 연구에서는 오대산 정상의 얼레지 화피가 저지대의 그것보다 신선품 중량당 약 30% 정도의 안토시아닌을 더 많이 함유한 결과를 밝힐 수 있었으므로 그 결과를 보고하고자 한다.

실 험 방 법

실험재료—1993년 5월 초순 중에 강원도 오대산의 진고개(해발 600 m), 해발 1,300 m, 그리고 해발 1,500 m의 정상에서 각각 따로 채취한 얼레지를 채취 당일 세척하고 화피를 분리한 후 군락지 별로 밀봉하고 냉장고에 보관한 후 사용하였다.

시약 및 기기—안토시아닌의 정성 및 정량을 위해 Shimadzu사의 UV-160 UV/vis recording spectrophotometer을 사용하였으며 시약은 일급 시약을 사용하였다. 여지크로마토그래피(PPC)는 Whatmann 1을 사용하였고 분무용 발색시약을 사용하지 않고 육안으로 관찰하거나 암모니아 가스에 의한 발색 또는 UV lamp로서 반점을 확인하였다.

이하에서 서술하는 PPC 전개용매는 BAW, BuHCl, 1% HCl 및 Formic은 각각 *n*-BuOH-HOAc-H₂O(4:1:5, 상층), *n*-BuOH-2M-HCl(1:1, 상층), 1% HCl 수용액 및 HCl-HCOOH-H₂O(2:5:3)을 조제하여 사용한 것을 나타낸다.

안토시아닌의 추출—안토시아닌의 정성 및 정량을 위한 표품을 확보하기 위하여 1% HCl-MeOH 용액으로 20 g의 얼레지 화피를 가한 플라스크에 넣고 70°C의 항온수조에서 환류하면서 10분간 가온하였다. 이를 반량으로 감압농축한 후 냉각시켰다. 여기에 동량의 증류수를 가하였으며 이를 EtOAc로 세척하여 제거하고 남은 수층으로부터 *n*-BuOH로 2회 분배추출하였고 이를 70°C에서 감압농축하여 안토시아닌 분획의 건조물 60 mg을 얻었다.

안토시아닌의 추출—안토시아닌을 가수분해시킨 후 안토시아니딘을 추출하기 위하여 2M-HCl 200 ml로 신선한 얼레지 화피 20 g을 가한 플라스크에 넣고 환류하면서 100°C에서 1시간 동안 항온수조에서 가열하였다. 착색된 추출액을 신속히 냉각시키고 여과한 후 여액을 EtOAc로 2회 세척하여 플라본 등의 화합물을 포함하는 분획을 제거시켰으며 여기서 얻은 수층을 80°C에서 3분간 가열하여 EtOAc를 완전히 증발시키고

다시 충분히 냉각시켰다. 냉각한 수층을 소량의 amyl alcohol로 안토시아닌을 추출한 다음 이 amyl alcohol 층을 감압 농축하여 안토시아니딘 분획의 건조물 약 48 mg을 얻었다.

TLC 및 PPC—Whatmann 1 Chr 용지 폭 3 cm 길이 20 cm로 자른 PPC 용지에 안토시아닌 분획과 안토시아니딘 분획을 2% HOAc 용액에 녹인 용액을 모세관으로 점적하고 반점의 Rf치를 측정하였다. 안토시아닌과 안토시아니딘을 TLC에서 점점 소실하는 반점을 확인 할 수 있었으며 50% H₂SO₄의 발색에 의한 명료한 반점을 확인할 수 없었다.

안토시아닌과 안토시아니딘의 분리정제—PPC에서 두 분획은 심홍색의 유일한 반점을 각각 나타내었으므로 분리용 PPC용지에 BAW용매로 10시간 전개시켜 같은 Rf치의 반점들을 절취하여 2% HOAc 용액으로 용출한 후 농축하였고 UV/vis spectrophotometer에서 200 nm에서 600 nm까지 UV spectrum을 작성하였고 흡수 극대치를 나타내는 파장을 기록하였다.

한편, 배당체의 구성당을 확인하기 위하여 상법으로 가수분해한 후 당 분획을 증화한 후 TLC 및 PPC에서 D-glucose 및 L-rhamnose임을 표품으로 확인하였다.

얼레지 화피의 안토시아닌 정량을 위한 검량선 작성—30 mg의 안토시아닌을 100 ml의 1% HCl-MeOH 용액에 녹이고 이를 원액으로 하였으며 이로부터 희석법에 의하여 0.150 mg/ml, 0.075 mg/ml, 0.0375 mg/ml, 0.0187 mg/ml 및 0.009 mg/ml용액을 조제하고 고정된 540 nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 각각 2.01, 0.99, 0.41, 0.21, 0.06의 측정치를 얻었으며 이로부터 회귀직선 방정식을 작성하였다.

그리고 4군락지에서 채취한 얼레지의 화피에 대하여 각각 한 군락지의 시료 1 g을 1% HCl-MeOH 20 ml가 들어있는 시험관에 넣고 같은 시간에 70°C에서 5분간 추출하고 빙수에 급냉시켰다. 이를 여과시켜 정량을 위한 시료로 사용하였고 정량 조건은 검량선 작성시와 동일하였다. 이와 같은 조작을 3회 반복하여 각각의 흡광치를 기록하였다.

통계량 분석은 t-검정법에 의하여 동향(east)

과 서향(west), 그리고 저지대(ridge)와 정상(summit)에 대하여 각각 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

얼레지 화피의 안토시아닌은 UV/visible spectrum에서 540.0 nm의 흡수극대치 파장을 나타내었으며 AlCl₃ 첨가에 의하여 장파장이 이동하였다. 또한 안토시아닌에 비하여 6.5 nm전색이동 하였으므로 당이 결합한 배당체임을 알 수 있었다(Table I). 이를 산가수분해한 안토시아닌은 UV/visible spectrum에서 극대치를 나타내는 파장이 546.5 nm이었고 AlCl₃의 첨가에 의해서 이 흡수 극대치가 장파장으로 이동하였으므로 cyanidin과 pelargonidin이 아닌 delphinidin으로 추정 되었으며 표품 delphinidin과 비교한 바 일치하였다.^{6,7)} 당은 TLC에서 표품과 비교한 결과 D-glucose와 L-rhamnose임을 알 수 있었다.

또한 안토시아닌은 Table II의 BAW, BuHCl 및 1% HOAc 용액에서 각각 그 Rf치가 0.29, 0.16, 0.11로 나타나고 심홍색의 색상을 나타내었으므로 문헌치의 delphinidin-3-rutinoside와 비교한 결과 일치하였으므로 얼레지 화피에 함유한 안토시아닌은 delphinidin-3-rutinoside임을 알 수 있었다.⁸⁾

그리고, 본 실험 방법에 있어서 다양한 용매에 의한 PPC의 결과 육안으로 관찰한 결과나 UV에 의해 관찰한 결과나 본 식물의 안토시아

Table I. Data from the visible spectra of anthocyanin and anthocyanidin isolated from *E. japonicum*

	λ_{max}	$E_{440}/E_{max\ vis}(\%)$	AlCl ₃ shift
Anthocyanin	540	37	+
Anthocyanidin	546.5	23	+
Cyanidin-3,5-di-glc ⁵⁾	530	72	+

Table II. Rf values of anthocyanin and anthocyanidin from *Erythronium japonicum* on PPC

Compound \ Solvent	BAW	BuHCl	1% HCl	Formic	Color	NH
Anthocyanin	0.29	0.16	0.11	—	magenta	blue
Anthocyanidin	0.41	0.42	—	0.13	magenta	blue

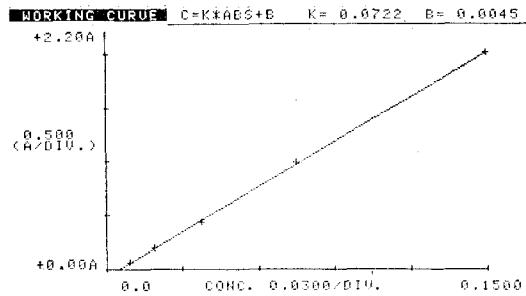


Fig. 1. Calibration curve of delphinidin-3-rutinoside X=conc.(mg/ml), Y=ABS

닌은 단일 반점을 나타내었고 TLC를 행하였을 때 안토시아닌 이외의 반점을 확인 할 수 없었으므로 식물로부터 delphinidin-3-rutinoside의 확보자료로서 좋은 대상식물로 사료되었다.

한편, 농도와 흡광도로부터 회귀직선 방정식의 검량선을 작성하였으며(Fig. 1), $C=0.0722 \cdot ABS+0.0045$ (C는 농도이며 ABS는 흡광도)이었고 0.01 mg/ml~0.15 mg/ml가 정량범위로서 적당하였다.

각각 해발 600 m(동향), 1,300 m(동향 및 서향) 및 정상의 해발 1,500 m에서 얻은 화피의 안토시아닌을 정량한 결과 각각 2.22 mg/g, 2.52 mg/g, 2.30 mg/g, 3.12 mg/g(mg of anthocyanin/g of fresh petals)의 평균치를 나타내었으며 이 결과에 의하면 동, 서향에 야생한 두 식물간의 안토시아닌 함량차는 유의성이 없었으며 산지의 도로변 저지대와 고지대의 정상에 야생한 군락간에서 유의성 있는 차이를 나타내었다(Table III).

이 결과에 따르면 고지대의 기후적 특성이 저지대의 기후적 특성과 상이하므로 안토시아닌의 함량과 생육에 영향을 미쳤으리라 판단 되었으며, 동향 및 서향에 배향한 두 군락지의 안토시아닌 함량 간에는 큰 영향이 없었는데 그것은 고도의 차에 따른 기후의 영향이 동, 서향의 방향에 따른 영향보다도 훨씬 크게 미쳤기 때문인

Table III. The contents of anthocyanin from the petals of *Erythronium japonicum*

Contents	Stocks			
	East ^{a)}	West	Summit ^{b)}	Ridge
mg/ml	0.107 (1.423)*	0.138 (1.848)	0.145 (1.946)	0.103 (1.360)
	0.124 (1.651)	0.114 (1.521)	0.166 (2.259)	0.116 (1.550)
	0.115 (1.535)	0.126 (1.706)	0.155 (2.094)	0.114 (1.516)
Average contents (mg/ml±error)	0.115 ±0.009	0.126 ±0.002	0.156 ±0.011	0.111 ±0.008
Anthocyanin weight/petals(mg/g)	2.30	2.52	3.12	2.22

* ABS in the parentheses.

a) $p > 0.05$ vs west group

b) $p < 0.05$ vs ridge group

것으로 판단되었다.

여기서 4 군락에서 얻은 식물에 대하여 이종 또는 변종 식물로 규정할 근거는 전혀 발견할 수 없었으며, 고산지대에 주로 야생하는 이 식물에 대해 식물화학적 및 자원식물학적 연구가

더욱 계속되어야 하리라 생각된다.

〈1993년 5월 19일 접수 : 7월 9일 수리〉

문헌

1. 이창복 : 대한식물도감, 향문사, p. 209 (1982).
2. 고경식, 김윤식 : 원색한국식물도감, 아카데미서적, p. 441 (1988).
3. 채영복 외 : 한국유용식물자원연구총람, 한국화학연구소, p. 568 (1988).
4. Hiraoka, N., Kodama, T. and Tomita, Y.: *J. Nat. Prod.* 49, 470 (1986).
5. Hemingson, J.C. and Collins, R.P.: *J. Nat. Prod.* 45, 385 (1982).
6. Harborne, J.B.: *Phytochemical Methods*, Chapman and Hall, London, p. 62 (1973).
7. Heftmann, E.: *Chromatography*. A laboratory handbook of chromatographic and electroproric methods, Van Nostrand Reinhold Company, London, p. 763 (1975).
8. 林孝三編 : 植物色素, 養賢堂, 東京, p. 172 (1980).