

## カラムクロマトグラフ法を用いるブドウ主要アントシアニン色素の分離

太田, 英明  
九州大学農学部食品分析学教室

岡本, 智子  
九州大学農学部食品分析学教室

芥田, 三郎  
九州大学農学部食品分析学教室

箴島, 豊  
九州大学農学部食品分析学教室

<https://doi.org/10.15017/23273>

---

出版情報 : 九州大学農学部学藝雑誌. 33 (2/3), pp.101-107, 1979-01. 九州大学農学部  
バージョン :  
権利関係 :

## カラムクロマトグラフ法を用いるブドウ 主要アントシアニン色素の分離<sup>†</sup>

太田 英明・岡本 智子\*  
芥田 三郎・箴島 豊

九州大学農学部食品分析学教室

(1978年9月27日受理)

### Column Chromatographic Separation of the Major Anthocyanin Pigments from Grapes

HIDEAKI OHTA, TOMOKO OKAMOTO\*, SABURO AKUTA  
and YUTAKA OSAJIMA

Laboratory of Food Analysis, Faculty of Agriculture,  
Kyushu University 46-09, Fukuoka 812

#### 緒 論

食品の色は品質を支配する重要な因子であり、加工食品には古くから色素による着色が行なわれて来た。近年タール系色素を主とする合成着色料に対する健康への影響が懸念されるに至り、加工食品への天然色素の利用を検討せざる得なくなった。しかしながら、周知のように天然色素は一般に極めて不安定であり、熱や光すなわち食品の加工・貯蔵過程で速やかに退色するのみならず褐変を引き起こし逆に食品の品質を著しく劣化させる。一方、ブドウは白色種を除きアントシアニン色素を豊富に含有しており、世界で最も多く生産されている果実である。わが国でも近年の就農人口減に伴う一般果樹生産の漸減傾向にもかかわらず、ブドウは1960年の18万トンから1974年の30万トンとその生産は増加の一途にあり、加工用途の需要も急速に高揚している。

著者らは天然色素中最も実用性に富むと考えられる水溶性色素、アントシアニンを対象として、その退色防止、安定化さらには高度有効利用に関する研究を行なつて来た。先ず色素の工業的原料として最も可能性の高いブドウを対象に研究を開始し、国産ブドウ中の

構成色素の分離・同定を行なつた(芥田・松富, 1976 a, b; 芥田ら 1977 a, b, c; 松富ら, 1977 a, b; 太田ら, 1978 d)。次に品質評価等を目的とした色素の簡易分析法を設定し(太田ら, 1978 f)、果汁中の色素の安定性を調査(太田ら, 1976)すると共に、色素の化学構造と安定性との関連を理論的かつ実験的に明らかにした。またある種の無機塩、有機酸および糖が一定 pH の色素溶液の赤紫色を強める濃色化効果を有すること、ならびに添加によつて強められた赤紫色を長時間安定化することを見出し(太田・箴島, 1978 a, b; 太田ら, 1978 c)、その濃色化機構を分光学的および電気化学的に追究した(太田ら, 1978 e)。さらに非水ならびに混合溶媒を導入することによつて色素と溶媒との相互作用を物理化学的に検討して来た。

今アントシアニン色素の化学的研究を考える時、その進展を阻む一大要因に必要なかつ充分量の精製色素を単離し得ないことが挙げられる。多量の純粋色素の調製は食品工業上喫緊の要務にもかかわらず、カラムクロマトグラフ法は一般に色素画分の精製のみで使用され、多種類の色素が混在しているブドウアントシアニン色素の分離に対する適用は困難であつた。最近、不

<sup>†</sup> ブドウ果汁の品質に関する研究(第7報)

Studies on Qualities of Grape Juice (Part 7)

\* 現在 東筑紫短期大学

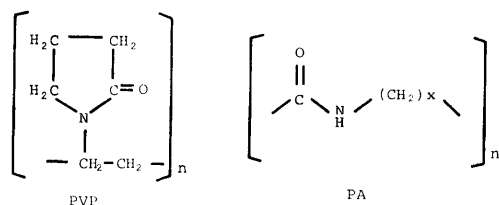


Fig. 1. Polyvinylpyrrolidone (PVP) and Polyamide (PA).

溶性ポリビニルピロリドン（以下 PVP と略す，構造式 Fig. 1 参照）が低分子のフェノール成分を特異的に吸着することから（Wrolstad and Putman, 1969；中林, 1972），アントシアニン色素の分離に使用され良好な結果が得られている（Hrazdina, 1970）。しかしながら PVP は色素を極めて良く吸着し，その溶離が困難なことから色素の分離には不相当とする報告もある（剣持・片山, 1975）。またポリアミド（以下 PA と略す，構造式 Fig. 1 参照）は PVP と類似した吸着剤にもかかわらず，色素画分の精製に使用されるものの，色素の分離例で満足な報告は見当たらない。

本研究においてブドウ中の主要アントシアニン色素をカラムクロマトグラフ法によつて単離することを目的として PVP および PA の両吸着剤の比較ならびに溶出溶媒の条件等を検討し一応の成果を得たので報告する。

## 材料および方法

### 1. 実験材料および原色素液の調製

材料：1974年福岡県園芸試験場で収穫されたベリー・アリカント A ブドウの凍結貯蔵品（ $-30^{\circ}\text{C}$ ）を使用した。

原色素液：凍結果粒（100 g）を電子レンジ（東芝 NE-100）にて解凍後，1%塩酸-エタノール液（500 ml）に浸漬，ブレンダーによつて磨砕した。色素抽出液をプフナー濾斗で濾過（東洋濾紙 No. 2）した後，粗色素液は濾液から塩基性酢酸鉛法（太田ら, 1976）で調製した。原色素液は粗色素を Dowex-50 WX 4 H型陽イオン交換樹脂に吸着させ，カラム管（ $5 \times 30$  cm）に充填，一旦水ついでメタノールで溶出液が無色になるまで洗浄した後，1%塩酸-エタノール液によつて溶出し調製した。

既知色素の標準品を用いたセルロース薄層クロマトグラフィーによる色素分析（太田ら, 1978 f）の

結果，原色素液中には malvidin-3, 5-diglucoside (Mv-3, 5 DG), malvidin-3-monoglucoside (Mv-3 MG), peonidin-3, 5-diglucoside (Pn-3, 5 DG) および peonidin-3-monoglucoside (Pn-3 MG) の計 4 種類の色素が確認された。

ブドウ果汁の調製：ブドウ果汁はベリー・アリカント A ブドウの凍結果粒を解凍後，ガーゼを用いハンドブレッサーによつて搾汁，10,000 rpm, 20 分間遠心分離して得た。

### 2. 吸着剤および装置

#### 2.1 吸着剤

PVP: Polyclar AT（五協産業製）を脱イオン水に懸濁，20 分後に上澄み液を除去する操作を繰り返して（20 回）カラム用に調製した。

PA: Polyamide C-200（和光純薬製）を同様な方法で調製した。

色素の吸着実験には上述の処理を施した吸着剤を定温乾燥器（ $60^{\circ}\text{C}$ ）で乾燥したものを供した。

#### 2.2 装置

pH メーター：日立-堀場製 H-5 型を使用した。

分光光度計：日立 Perkin-Elmer 139 型分光光度計を用いた。

薄層クロマトグラフィー (TLC): Avicel SF セルロースを吸着剤としてガラスプレート（ $20 \times 20$  cm）に厚さ  $300 \mu$  の薄層を作成し，風乾後  $80^{\circ}\text{C}$  で 30 分間活性化を行ない，乾燥剤（シリカゲル）を入れたデシケーター中で放冷して保存した。

### 3. 実験方法

#### 3.1 色素の吸着および回収

吸着量： $E_{530\text{nm}}$ を測定した原色素液（50 ml）を 0.5 N 水酸化ナトリウムで pH 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 および 7.0 の各 pH に調整後，吸着剤（5 g）を添加・混合して 2 時間室温に放置した。色素を吸着した PVP および PA は 6,000 rpm, 10 分間遠心分離して沈降させた。非吸着色素量は上澄み液を濃縮・乾固後，0.1%塩酸-メタノール液に溶解・定容（50 ml）， $E_{530\text{nm}}$ を測定し（上澄み液の  $E_{530\text{nm}}$ ）E 値として表示した。吸着量は下式から E 値として求めた。

吸着量 = 原色素液の  $E_{530\text{nm}}$  - 上澄み液の  $E_{530\text{nm}}$

回収率：色素の回収量は沈降した色素-PVP および色素-PA 混合物から 0.1%塩酸-メタノール液で色素を抽出・定容後， $E_{530\text{nm}}$ を測定することによつて求めた。回収率は下式から計算した。

$$\text{回収率 (\%)} = \frac{\text{回収量 (E}_{530\text{nm}})}{\text{吸着量 (E}_{530\text{nm}})} \times 100$$

### 3.2. カラムクロマトグラフ法の基礎的条件

カラムクロマトグラフ法は室温で下記の条件を用いて行なった。

カラム管, 1×40 cm; カラムベッド, 1×30 cm; 原色素液, 1 ml; 流速, 20~24 ml/hr, 溶出溶媒はメタノールおよびエタノールの両溶媒系を用い, 塩酸濃度 0.01~1% の条件下で検討した。

### 3.3. 吸着剤の再生法

使用した吸着剤は 0.5N 水酸化ナトリウム-脱イオン水-0.5N 塩酸-脱イオン水の順で洗浄して再生した。本再生法で約 5 回繰り返して使用し得る。

## 結果および考察

### 1. 色素の吸着量および回収率に及ぼす pH の効果

PVP および PA による色素の吸着量および回収量に及ぼす pH の効果を Fig. 2 に, また回収率に及ぼす pH の効果を Fig. 3 に示した。Fig. 2 から明らかのように, PVP および PA ともに中性付近で色素をより多量に吸着することを示した。このことは色素の発色形, フラビリウム塩 (赤色) よりも非発色形, カルピノールベース (無色) の方が両吸着剤により吸着されやすいことを示唆している (中林ら, 1972)。PVP と PA の両吸着剤を比較すると, PVP の方が吸着量が高く, より多くの色素を吸着することが認められた。他方, 回収を比較すると, 逆に PA の方が高い回収を示し中性付近では PVP の約 2 倍に達した。また Fig. 3 に見られるように, 色素の回収率は pH の影響をほとんど受けず, PA が約 80%, PVP が約 50% の値を示した。PVP に吸着された色素の回収率が低いことは剣持ら (1975) の報告と一致しており, 微量色素の精製に対する本吸着剤の使用が不適当であることを示すものである。

上述の結果は大量の色素調製を必要とする食品工業において PA の方がより適合していることを示している。これに対して PVP は逆に脱色等を必要とする場合には有効であると考えられる。

### 2. ポリビニルピロリドン (PVP) カラムクロマトグラフィーの検討

前項の結果に基づいて, 原色素液を 0.5N 水酸化ナトリウムで pH 4.5 に調整した後, カラム頂に注加,

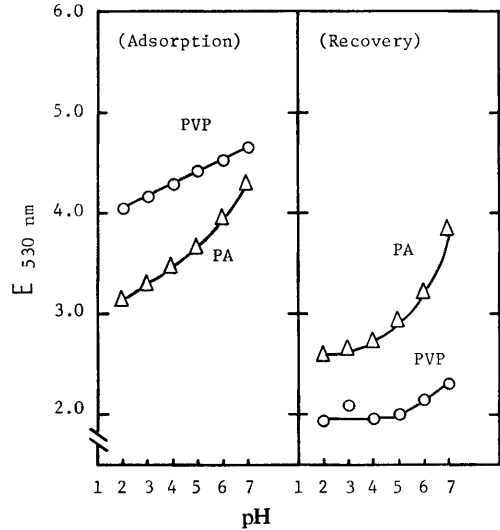


Fig. 2. Effect of pH on the adsorption of pigment and the recovery of pigment from the adsorbates. PVP, polyvinylpyrrolidone; PA, polyamide C-200.

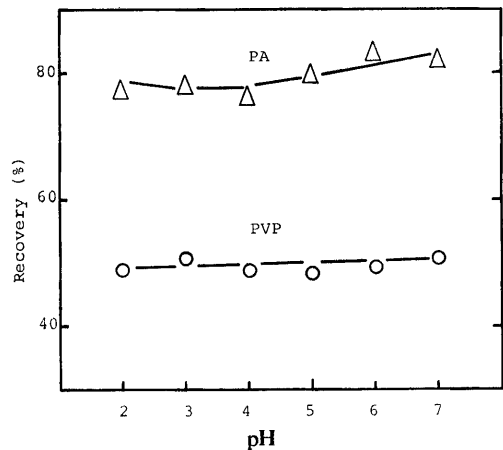


Fig. 3. Effect of pH on the recovery of pigment from the adsorbates. PVP, polyvinylpyrrolidone; PA, polyamide C-200.

充分量の脱イオン水で洗浄した。色素の単離を目的として PVP-カラムクロマトグラフィーを検討した結果を Table 1 に要約した。表に見られるように, 0.1% 塩酸濃度で 30% エタノールおよび 60% メタノール液を用いた場合, 4 個のピークを与え最良の分離を示した。これらの溶出プロファイルを比較すると, 各ピークともに重なりが見られ優劣は判断し得なかつたが, 以後の研究にはエタノール系溶媒を使用した。

色素分離に及ぼす塩酸濃度の影響を調べるために, 最良の分離を示した 30% エタノール液を用いて,

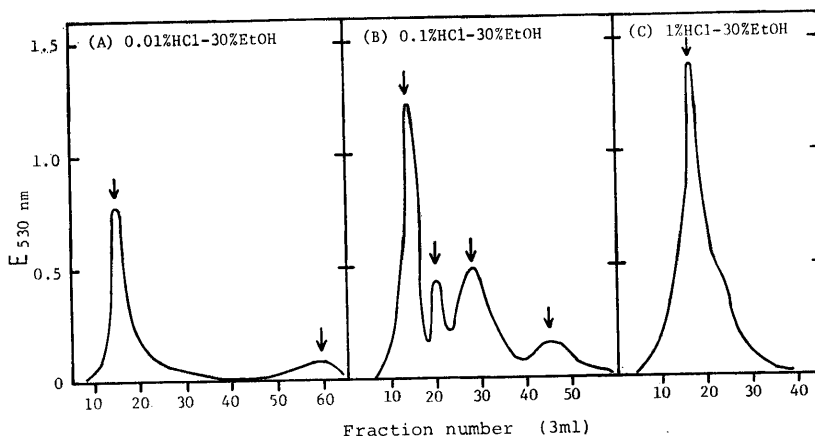


Fig. 4. PVP-column chromatograms of anthocyanins from Bailey Alicante A grapes with 0.01% HCl-30% EtOH (A), 0.1% HCl-30% EtOH (B) and 1% HCl-30% EtOH (C). Column size, 1×40 cm; Flow rate, 20-24 ml/hr; Sample, 1 ml; PVP, polyvinylpyrrolidone.

Table 1. Effect of solvent systems on the separation by PVP-column chromatography of anthocyanins from Bailey Alicante A grapes.

Elution solvent (containing 0.1% HCl)	Development time (hr)	Separation (pigment fraction)
20% EtOH	3.6	2
30% EtOH	7.2	4
40% EtOH	4.8	3
60% EtOH	4.2	2
80% EtOH	3.6	1
30% MeOH	4.8	2
40% MeOH	6.0	2
60% MeOH	6.6	4
80% MeOH	2.4	1

Column size, 1×40 cm; Flow rate, 20-24 ml/hr; Sample, 1 ml; PVP, polyvinylpyrrolidone.

0.01%, 0.1%および1%塩酸濃度で検討した結果をFig. 4に示した。図から明らかなように0.1%塩酸濃度で色素の最良の分離を示すことから、塩酸濃度を0.1%と決定した。

引き続き、ステップワイズ方式による分離の改良を試みた結果、0.1%塩酸-30%エタノール液および0.1%塩酸-80%エタノール液を用いてFig. 5のようなクロマトグラムを得た。図の色素画分1, 2, 3および4はTLC分析(太田ら, 1978f)の結果、各々Mv-3,5 DG, Pn-3,5 DG, Mv-3 MGおよびPn-3 MGと一致した。しかしながら各色素画分はなお重複が認められた。

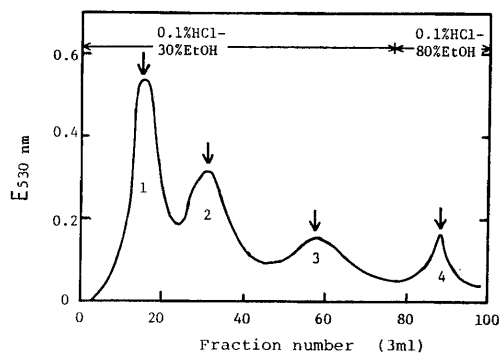


Fig. 5. PVP-column chromatogram of anthocyanins from Bailey Alicante A grapes. For conditions see Fig. 4. PVP, polyvinylpyrrolidone.

### 3. ポリアミド (PA) カラムクロマトグラフィーの検討

PVP-カラムクロマトグラフィーに続いて、PA-カラムクロマトグラフィーの検討を行なった。その結果をTable 2に要約した。表に見られるように単一溶媒系では最高3個の分離ピークしか得られずPVPのような最適条件は見出せなかつた。しかしながら、0.1%塩酸-20%エタノール液で3個のピークを与えることからPVPの場合と比較して、より低いアルコール濃度かつ狭い濃度範囲に分離の最適条件があると推定された。そこで0.1%塩酸液、0.1%塩酸-20%エタノール液を用いてステップワイズ方式による改良を試みた。その結果を分離した色素画分のTLC分析

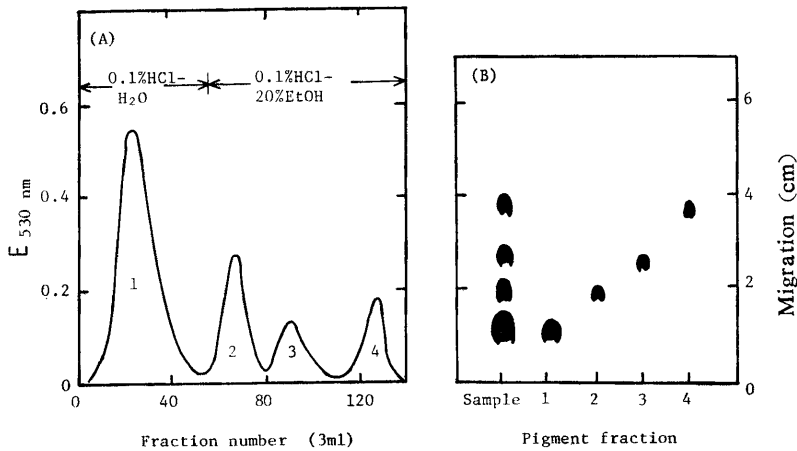


Fig. 6. PA-column chromatogram of anthocyanins from Bailey Alicante A grapes (A) and thin-layer chromatogram of four pigment fractions with BHW (B). For conditions see Fig. 4. PA, polyamide C-200; BHW, *n*-butanol-hydrochloric acid-water, 7: 2: 5 (v/v).

と併せて Fig. 6 に示した。図から明瞭のように、原色素液は4つの画分に分離された。また TLC の結果は各色素が良好に単離されていることを示した。TLC 分析の結果から色素画分1, 2, 3および4は各々 Mv-3, 5 DG, Pn-3, 5 DG, MG および Pn-3 MG に一致した。

4. ブドウ果汁への適用

前項までの基礎的条件の検討結果に基づいて、工業的規模における色素の単離に歩を進めるべく、カラム管を拡大し、ブドウ果汁そのままからの色素の単離を試みた。

4.1. PVP-カラムクロマトグラフィーの適用

PVP をカラム管 (5×100 cm) に充填し、ブドウ果汁 500 ml をカラム頂に注加した。一旦、溶出液にブドウの香りがなくなるまで脱イオン水 (約 3 l) で洗浄した。先ず 0.1% 塩酸-30% エタノール液 (約 2.5 l) で色素を溶出し、最初の2つの色素画分を分取した (第1および第2色素画分)。さらに 0.1% 塩酸-60% エタノール液 (約 2 l) で展開し、残りの2色素画分を分取した (第3および第4色素画分)。

TLC 分析の結果、第1色素画分は Mv-3,5 DG の単一スポットを、第2色素画分は Pn-3, 5 DG の単一スポットを与えた。両色素画分からの色素の回収は濃縮後、少量の 0.1% 塩酸-メタノール液に溶解、過剰のエチルエーテルを加え色素を析出することによって行なつた。収量: Mv-3, 5 DG (塩化物), 235

Table 2. Effect of solvent systems on the separation by PA-column chromatography of anthocyanins from Bailey Alicante A grapes.

Elution solvent (containing 0.1% HCl)	Development time (hr)	Separation (pigment fraction)
100% H <sub>2</sub> O	8.4	1
20% EtOH	8.0	3
30% EtOH	8.5	2
40% EtOH	2.4	1
60% EtOH	3.5	1
20% MeOH	—	2
40% MeOH	—	1
60% MeOH	4.8	2

For conditions see Table 1. PA, polyamide C-200.

mg; Pn-3,5 DG (塩化物), 184 mg. また第3および第4色素画分は各々 Mv-3 MG および Pn-3 MG であつたが、各色素の混在が認められさらに分離・精製を必要とした。

4.2. PA-カラムクロマトグラフィーの適用

PVP と同様な操作によつて色素を吸着させた。吸着後、脱イオン水の洗浄によつて色素が溶出した (第1色素画分)。溶出液にブドウの香りがなくなつた後、0.1% 塩酸液 (1 l) で展開し1つの色素画分を得た。引き続き 0.1% 塩酸-20% エタノール液 (2 l) で展開、2つの色素画分 (第3および第4色素画分) を分取した。

TLC 分析の結果、第1および第2色素画分には Mv-3,5 DG と Pn-3,5 DG の混在が、また第3およ

び第4色素画分には **Mv-3 MG** と **Pn-3 MG** の混在が認められた。本結果は一見不都合に思えたが、結合糖の数によつて色素が分離されており分離分析上有用と見なされる。この点に着目し、1977年秋に収穫されたベリー・アリカントAブドウから調製した果汁(300 ml)を **PA**-カラム(5×80 cm)の頂に注加し、水洗浄後0.1%塩酸液(2.5 l)~0.1%塩酸-エタノール液(2.5 l)のグラジェント方式によつて色素を溶出させた結果、第1色素画分(3, 5 DG 色素群)、第2色素画分(3 MG 色素群)、第3色素画分(*p*-クマル酸のアシル化 3, 5 DG 色素)および第4色素画分(アシル化 3 MG 色素)の計4個の色素グループに分離させ得ることを認めた。

**PVP** および **PA** 両カラムクロマトグラフィーによる果汁からの色素分離を比較すると、**PVP**-カラムクロマトグラフィーの方が色素をより強く吸着するため水洗浄中の色素流出は起こらず除糖操作は容易であつた。また主要色素の単離に関しても従来のマスパーパークロマトグラフィーによる色素の回収量が最高数 mg オーダーであるのに対して(中林ら, 1972), **PVP**-カラムクロマトグラフィーでは一回の操作で 200~300 mg の回収量を示し化学的研究にはほぼ満足すべきものであつた。今後カラム管の拡大などを考慮すれば純粋色素のより高い回収量が期待される。他方、**PA**-カラムクロマトグラフィーは **PVP** よりも色素に対する親和力は小さいが、色素を結合糖数、アシル基の有無で異なる4グループに分離し得る利点を有している。したがつて **PA** および **PVP** の両カラムクロマトグラフィーの併用によつて多種類のアントシアニン色素を分離する可能性は大きく、現在両カラムクロマトグラフィーを用いてブドウ果汁中の多種類色素の一括分離を果汁 pH による影響と合せて検討中である。

なお、**PVP** および **PA**-カラムクロマトグラフィーともに色素を展開・溶出した後、カラム頂に分解・重合した色素は強く吸着されたままであり、100%エタノール濃度でも全く溶出できなかつた。いずれにしても本研究結果は工業的規模における色素の単離・調製に対して基礎的知見を与えるものである。

## 要 約

化学的研究に必要なかつ充分量の純粋なアントシアニン色素を単離することを目的として不溶性ポリビニルピロリドン(**PVP**) およびポリアミド **C-200** (**PA**) カラムクロマトグラフ法によるベリー・アリカントA

ブドウ中の主要色素の分離を試みた。

1. 色素の吸着量は pH の上昇 ( $\text{pH} \leq 7.0$ ) に伴い増加した。色素の回収率は **PVP** から 50%, **PA** から 80% とほぼ一定値を示した。

2. **PVP**-カラムクロマトグラフィーでは 0.1% 塩酸-30% エタノール液および 0.1% 塩酸-80% エタノール液のステップワイズ方式で、また **PA**-カラムクロマトグラフィーでは 0.1% 塩酸液および 0.1% 塩酸-20% エタノール液のステップワイズ方式で色素は各々4つの画分に分離した。

3. ブドウ果汁からの色素分離は **PVP**-カラムクロマトグラフィーの方が **PA**-カラムクロマトグラフィーよりも良好であつた。しかしながら、グラジェント方式を用いる **PA**-カラムクロマトグラフィーで、ベリー・アリカントAブドウ果汁のアントシアニン結合糖およびアシル基(*p*-クマル酸)の数によつて4グループに分離した。

4. 上述の結果に基づき **PVP** および **PA**-カラムクロマトグラフィーの併用による多種類色素の一括分離の可能性を論議した。

## 文 献

- 芥田三郎・松富直利 1976 a 本邦産果実のアントシアニン色素に関する研究(第1報)交配紫色ブドウ品種、巨峯のアントシアニン色素について。食品工誌, 23: 101-107
- 芥田三郎・松富直利 1976 b 本邦産果実のアントシアニン色素に関する研究(第2報)赤色種 **Delaware** ブドウのアントシアニン色素について。食品工誌, 23: 108-112
- 芥田三郎・太田英明・箴島 豊 1977 a 巨峯ブドウ果皮中の少量アントシアニン色素について。食品工誌, 24: 346-349
- 芥田三郎・太田英明・箴島 豊・松富直利・小林邦彦 1977 b 欧州系ブドウ甲州およびグロー・コールマンのアントシアニン色素について。食品工誌, 24: 521-523
- Akuta S., H. Ohta, Y. Sakane and Y. Osajima 1977 c Anthocyanin pigments of wild and Seibel No. 13053 grapes harvested in Tokachi. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 24: 631-636
- Hrazdina G. 1970 Column chromatographic isolation of the anthocyanidin-3, 5-diglucosides from grapes. *J. Agric. Food Chem.*, 18: 243-246
- 剣持久仁子・片山 脩 1975 植物性色素の利用に関する研究(第1報)赤ニンニク (*Allium sativum* L.) および赤タマネギ (*Allium cepa* L.) のアントシアニン。食品工誌, 22: 598-605

- 松富直利・山村益士・小林那彦・太田英明・芥田三郎  
1977 a 本邦産果実のアントシアニン色素に関する研究(第3報) キャンベル・アーリーとマスカット・ベリーAのアントシアニン色素. 食品工誌, 24: 279-285
- 松富直利・山村益士・太田英明・箧島 豊・芥田三郎  
1977 b 着色用ブドウ, ベーリー・アリカントAの果皮アントシアニン色素について. 食品工誌, 24: 342-345
- 中林敏郎 1972 果実および野菜類のタンニン成分(第10報) 不溶性ポリビニールピロリドン(ポリクラールAT)によるポリフェノールの吸着. 食品工誌, 19: 84-90
- 中林敏郎・木村 進・加藤博通 1972 食品の変色とその化学. 再版, 光琳書院, 東京, 34-63頁
- 太田英明・芥田三郎・箧島 豊 1978 f セルロース薄層クロマトグラフィー-デンシトメトリーによるブドウアントシアニン色素の簡易分析法. 食品工誌, 投稿中
- 太田英明・芥田三郎・白石真一・箧島 豊 1978 d *Vitis vinifera* 品種でバッククロスされたY系ブドウ3系統のアントシアニン色素. 食品工誌, 25: 421-425
- 太田英明・箧島 豊 1978 a ブドウ果汁(キャンベル・アーリー)色素に及ぼす無機塩の影響. 食品工誌, 25: 73-77
- 太田英明・箧島 豊 1978 b ブドウ果汁(キャンベル・アーリー)色素に及ぼす有機酸の影響. 食品工誌, 25: 78-82
- 太田英明・箧島 豊・沢村正義・中村 浩・芥田三郎  
1976 ブドウ果汁の品質に関する研究(第1報) 貯蔵中における濃縮ブドウ果汁(キャンベル・アーリー)の色調とアントシアニンの変化. 食品工誌, 23: 345-350
- 太田英明・渡部博和・箧島 豊 1978 c ブドウ果汁(キャンベル・アーリー)色素に及ぼす糖の影響. 食品工誌, 印刷中
- 太田英明・渡部博和・山口良一・箧島 豊 1978 e フラビリウム塩-カルコン平衡に及ぼす無機塩の効果. 食品工誌, 印刷中
- Wrolstad R. E. and T. B. Putman 1969 Isolation of strawberry anthocyanin pigments by adsorption on insoluble polyvinylpyrrolidone. *J. Food Sci.*, 34: 154-155

### Summary

The major anthocyanin pigments from Bailey Alicante A grapes have been separated using column chromatography on insoluble polyvinylpyrrolidone (PVP) and polyamide C-200 (PA) to obtain the pure pigments in quantities large enough for chemical research.

1. The adsorption of pigment to adsorbents increased with increasing pH (pH  $\leq$  7.0). The recovery of pigment from pigment-PVP and pigment-PA adsorbates was 50% and 80%, respectively.

2. A stepwise elution of the prepared pigments on PA-column (0.1% HCl-H<sub>2</sub>O and 0.1% HCl-20% EtOH) and PVP-column (0.1% HCl-30% EtOH and 0.1% HCl-80% EtOH) gave four pigment fractions, respectively.

3. An elution of the anthocyanin pigments in grape juice on PA-column resulted in poorer resolution than that on PVP-column. Using a gradient elution on PA-column, the anthocyanins of Bailey Alicante A grape juice were fractionated four groups according to their degree of glycosylation and acylation with *p*-coumaric acid.

4. From these results, the separation of individual pigments using column chromatography on PA and PVP was discussed.