

植物體의 Glucoalkaloids 에 관한 研究
第 1 報 高速液體 크로마토그래피에 의한
감자(*Solanum tuberosum* var. May Queen)의
皮層部 및 髓質部의 Glucoalkaloids 測定

黃 春 仙 · 李 盛 雨*

大邱教育大學 · *漢陽大學校 食品營養學科
(1982년 8월 10일 수리)

Studies on Glucoalkaloids in Plants
I. High Performance Liquid Chromatographic
Analysis of Glucoalkaloids in Periderm and
Cortex of Potato (*Solanum tuberosum* var.
May Queen)

Chun Sun Hwang and Sung Woo Lee*

Daegu Teachers College, Daegu., Department of Food and Nutrition,
Hanyang University, Seoul.
(Received August 10, 1982)

Abstract

By high performance liquid chromatography, separation and quantification of glucoalkaloids (α -chaconine and α -solanine) from potato (*Solanum tuberosum*, var. May Queen) was established using periderm and cortex. Nucleosil-NH₂ (10 μ m) was packed in two stainless steel columns (4.0 ID \times 15 cm and 4.0 ID \times 25 cm) which were connected in sequence and eluted with the mixture of tetrahydrofuran, phosphoric acid buffer and acetonitrile (50 : 25 : 25, v/v/v) at the flow rate of 1ml/min. and the absorbance were read at 208 nm. Retention time was 6.92 min. for α -chaconine and 10.96 min. for α -solanine with complete separation. This method took 12 min. per sample and seemed best. α -Chaconine and α -solanine were found much in periderm than in cortex.

序 論

植物體에 존재하는 glucoalkaloids 로서는 특히 감자 토마토 등에 있는 α -chaconine, α -solanine(Fig. 1) 과 그 異性體인 β, γ -chaconine, β, γ -solanine, tomatine 등이 유명하다. 이와 같은 化合物은 苦味를 지니며, 식품에서 대량으로 섭취하였을 때는 腹痛이 오며, 때로는 죽음에 까지 도달하는 경우가 있다. 따라서 植物體

속에 존재하는 glucoalkaloids 의 정확한 測定方法을 확립한다는 것은 대단히 중요한 일인데 종래부터 比色法²⁾ 가스 크로마토그래피법,³⁾ 液體 크로마토그래피법^{4,5)} 등이 이용되어 오고 있다. 그러나 比色法, 가스 크로마토그래피법은 조작 및 定量性에 아직 많은 문제가 내포되어 있다.

본 研究는 植物體에 존재하는 glucoalkaloids 의 研究의 일환으로 glucoalkaloids 함량이 높은 감자(May

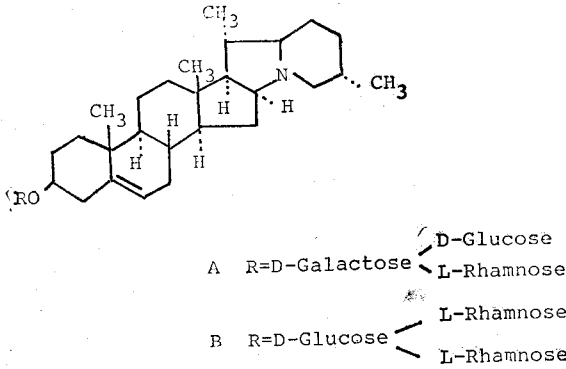


Fig. 1. Molecular structures of solanine (A) and chaconine (B).

Queen)를 선택하여 그 皮層層, 髓質部에 존재하는 glucoalkaloids 를 高速液體크로마토그래피법(HPLC)에 의하여 분리, 분석하는 방법을 시도하는 것과 동시에 그 함량을 측정하므로써 감자의 glucoalkaloids 의 기초적인 자료를 얻을 목적으로行하였다.

材料 및 方法

1. 材料

供試材料은 1982년 7월 1인 日本 神戸大學 農學部 부속농장에서 수확지후의 감자(Solanum tuberosum, var. May Queen)를 구입하여 즉시 실험에 제공되었다.

2. 方法

1) 部位의 分類法

사용한 감자는 6個體 평균중량이 111.5g 으로서 길이 8.2cm, 중심의 胴圍가 4.3cm 의 것을 兩端에서 2.5cm 절단한 중심부를 Fig. 2와 같이 周皮를 붙인 皮層部와 髓質部로 나누어 각각 50g 을 평량하여 glucoalkaloids 의 抽出試料로 하였다.

2) Glucoalkaloids 의 抽出法

각 試料 50g 에 chloroform:methanol (1:2, v/v) 용액 8)ml 를 blender 에 넣어 高速회전하여 1분간 磨碎한 후 東洋濾紙 No 2 를 두 장 겹친 buchner 여과기로 흡인여과하였다. 殘渣는 다시 同一溶媒로 磨碎하여 같은 방법으로 여과하였다. 이 조작으로 全溶媒量은 300ml 로 되었다. 이것을 30°C 下에서 10~20ml 로 濃縮까지 濃縮하여 0.2N HCl 15ml 를 가하여 5분간 sonication 하였다. 그리고 11,000 r.p.m. 으로 15분간 원심분리하여 不溶性 物質을 제거한 뒤 濃암모니아 3)ml 를 가하여 알칼리性으로 해서 70°C 로 20분, 다음에 냉장고 속에서 하루밤을 放置하였다. 다음에 원심분리(11,000 r.p.m. ×15분)에 의하여 침전부를 취한

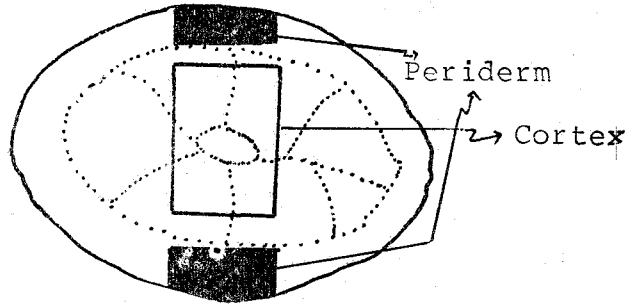


Fig. 2. Transverse section for glucoalkaloids extract of May Queen potato tubers.

후 다시 1% 암모니아수 30ml 를 가한 다음 洗滌하여 감자의 alkaloid 沈澱物을 취하였다.

3) 高速液體크로마토그래피

本 研究에 사용한 HPLC는 日立製 HPLC(Model 635)를, 檢出器는 波長可變流動計를 사용하였다. Injector 로서는 상압下에서 임의량의 試料을 注入하여 高壓流路에로 바꿀 수 있는 sampling valve(Rheodyne 社製, 20 μl loop 付)를 사용하였다. 管(column)은 stainless steel column 으로서 4.0 mm I.D×15 cm 와 4.0 mm I.D×25 cm 의 두 개에 Nucleosil-NH₂, 10 μm (Nagel 社製)를 充填한 것을 直列로 연결하여 사용하였다. HPLC에 사용한 溶媒는 모두 HPLC 用特級試藥으로 調製하여 사용하였다.

4) 高速液體크로마토그래피에 의한 glucoalkaloids 의 測定

감자에서 얻은 glucoalkaloids 의 沈澱物에 tetrahydrofuran : phosphate buffer(500 ml 의 증류수 중에 KH₂PO₄ 1.7 g 용해) : acetonitrile(50 : 25 : 25, v/v/v) 의 5ml 를 가하여 용해시켜 다시 원심분리(11,000 r.p.m×10분)한 후 그 上澄液에 對하여, 皮層部에 對해서는 그 20ml 를 직접 HPLC 로 분석하였다. 한편 髓質部에 對해서는 5ml 에서 3ml 를 시험관에 취하여 30°C 로 減壓乾燥한 뒤 上記의 溶媒 0.1ml 로 용해시켜 그 20ml 를 같은 방법으로 분석하였다.

結果 및 考察

1. 結果

1) α-Chaconine 및 α-solanine 의 檢量線

α-chaconine(2 mg, 純度 50%), α-solanine(2 mg, 純度 65%) 共に Sigma 社에서 구입하여 tetrahydrofuran : 磷酸 buffer : acetonitrile(50 : 25 : 25, v/v/v) 의 5ml 에 용해하였다. 먼저 α-chaconine 및 α-solanine 을 充填劑 Nucleosil-NH₂ 로, 溶離液은 tetrahydrofuran : phosphate buffer : acetonitrile(50 : 25 : 25, v/v/v)

로서 流量을 1 ml/min 로, 그리고 UV 208 nm 로 분석하면 α -chaconine 은 6.92 분후에, α -solanine 은 10.96 분후에 peak 가 되어 검출되었는데 兩物質은 이 방법에 의하여 완전히 분리된다는 것이 명백하여 졌다. 따라서 α -chaconine 및 α -solanine 의 檢量線을 圖示한 것이 Fig. 3이다. 횡축에 각각의 物質의 mg 을 取하고, 종축에 각각의 peak 높이(mm)를 plot 하였다. 이 Fig. 3에서도 분명하듯이 양호한 직선성을 얻을 수 있다는 것을 알 수가 있었다.

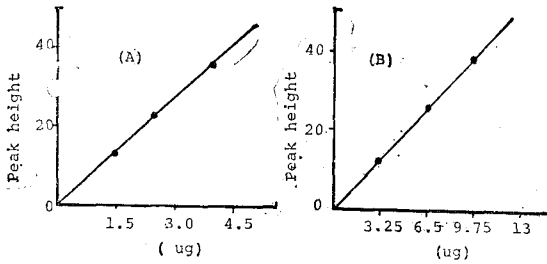


Fig. 3. Calibration curve of authentic α -chaconine (A) and α -solanine(B).

2) 감자의 皮層部 및 髓質部의 glucoalkaloids 의 HPLC 의 크로마토그램

감자의 皮層部 및 髓質部에서 glucoalkaloids 를 抽出하여 HPLC 로 분리한 것이 Fig. 4이다. 皮層部에서는 두 개의 큰 peak 가 검출되어 앞의 peak 의 保持時間은 6.92 분, 뒤의 peak 의 그것은 10.96 분으로서 既知의 α -chaconine 및 α -solanine 의 그것과 일치하는 것이어서 각각 α -chaconine, α -solanine 으로 同定하였다. 더우기 皮層部의 glucoalkaloids 의 대부분은 α -chaconine 과 α -solanine 이었다. 한편 髓質部의 glucoalkaloids 에 對해서는 Fig. 4에서도 분명한 것처럼 α -chaconine 및 α -solanine 이외에도 수개의 peak 가 검출되었으나 본 研究에서는 그것이 어떤 物質인가를 同定할 수가 없었다.

3) 감자의 皮層部 및 髓質部의 glucoalkaloids 의 定 量

감자의 皮層部 및 髓質部의 glucoalkaloids 의 測定을 각각 4 회 반복한 값에 對해서는 Table 1 에 표시하였다. 皮層部에 對해서는 100 g 중 α -chaconine 量은 6.400 mg, α -solanine 은 4.032 mg 이었으나 髓質部에서는 각각 0.008 mg 와 0.004 mg 이었다. 이 結果 어떤 部位에 있어서도 α -chaconine 量은 α -solanine 量보다는 많고, 兩物質 共히 皮層部에 많이 局所하여 있다는 것이 명백하여 졌다.

2. 考 察

植物體에 존재하는 glucoalkaloids 에 관해서는 종래

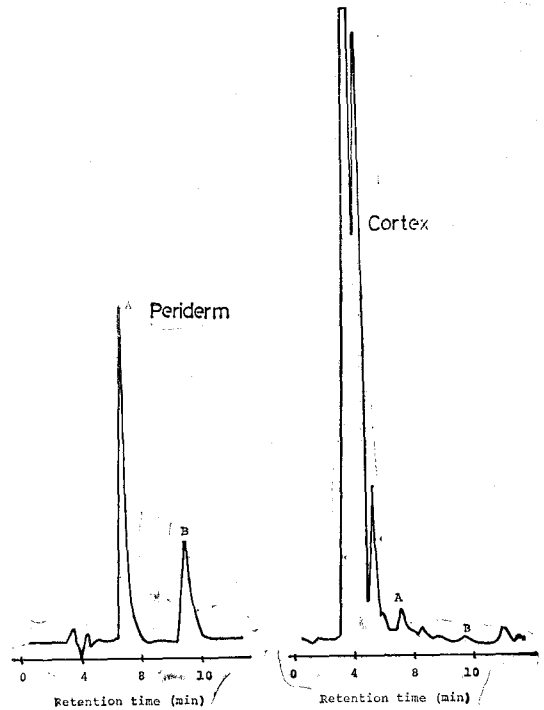


Fig. 4. Liquid chromatogram of a mixture of glucoalkaloids isolated from potato tubers.

Peak: A= α -chaconine; B= α -solanine. Operating conditions; Column; Nucleosil-NH₂ (10 μ m). Detector; UV at 208nm and 0.32 aufs for periderm and 0.16 aufs for cortex. Flow rate; 1 ml/min. Column temperature; ambient. Mobile phase; tetrahydrofuran-water containing 1.7g KH₂PO₄ per 500ml-aetonitrile (50/25/25, v/v/v).

Table 1. α -chaconine and α -solanine contents in periderm and cortex of May Queen potato tubers

	α -Chconine, mg/100g			β -Solanine, mg/100g		
	Mean	Std dev.	Coeff var.(%)	Mean	Std dev.	Coeff var.(%)
Periderm	6.400	0.038	0.5	4.032	0.067	1.6
Cortex	0.008	0.00034	4.3	0.004	0.000068	1.7

부터 감자,¹⁻⁵⁾ 토마토⁶⁾에서 研究가 되어왔다. 특히 감자에 관해서는 보고된 것이 많다. glucoalkaloids 를 구성하고 있는 α -solanine⁷⁾은 1826년에 감자에서 발견되었고, α -chaconine⁸⁾은 1954년에 발견되었다. 그러나 그 測定法에 관해서는 종래에는 滴定法²⁾ 가스 크로마토그래피법³⁾이 많이 알려져 있고 또한 많이 사용되어 왔으나 滴定法은 간편하기는 하나 총 glucoalkaloids 만 測定할 수 있고 개개의 glucoalkaloids 에 관해서는

測定이 불가능하였다. 가스 크로마토그래피법에서는 α -chaconine 및 α -solanine의 분자량이 커서 일반의 에스테르化劑를 사용할 수가 없고 특수한 permethylation을 하지 않으면 안되며, 조작도 복잡하여測定에 장시간을 요하는 결점이 있다.

따라서 본 研究에서는 조작법도 간단하고 더구나分離, 定量性이 뛰어난 HPLC를 사용하였다. Glucoalkaloids의 分離用 充填劑로서는 μ Bondapak C18, μ Bondapak NH₂, carbohydrate 分析用 column 등 수 종류가 알려져 있으나 이 管(column)은 packed column으로서 시판되고 있기는 하지만 高價이기 때문에 今回에는 Nucleosil NH₂(10 μ m)를 buffer 充填劑로, 溶離液으로는 tetrahydrofuran: phosphate: acetonitrile(50:25:25, v/v)로서 流速을 1ml/min, UV 208 nm로 분석(Fig. 4)한 결과 α -chaconine과 α -solanine이 명료하게 분석되고 더구나 12분 이내로 완료할 수 있는 것을 확인하였다. 이 방법을 사용함에 따라서 glucoalkaloids가 신속하면서 定量性에 뛰어난 분석이 가능하다는 것을 알 수 있었다. 더구나 감자의 部位別의 glucoalkaloids 含量은 감자의 品種, 熱度, 저장조건, 기타의 여러 조건에 의해 상당한 차이가 있는 것이 報告^{5,9)}되어 있고, 또 감자의 部位別에서는 싹에 많은데 髓에로 감에 따라 적어진다고 알려져 있다. 본 研究에 쓰여진 감자는 수확 직후의 材料로서 周皮를 포함한 皮質部와 髓質部로 나누어(Fig. 2) glucoalkaloids를 조사하여 본 바 α -chaconine과 α -solanine(Fig. 4)이 검출되어 共히 전체의 약 99% 이상이 皮層部에 존재하고 髓質部(Table 1)는 적게 포함되어 있는 것을 알 수 있었다.

今後は 他品種의 감자 및 다른 가지 科 植物에 함유되어 있는 glucoalkaloids의 檢索 나아가서는 그 生理的인 역할에 對해서 추후하여 나갈 예정이다.

要 約

本 研究는 植物體의 glucoalkaloids에 관한 研究의 일환으로서 먼저 감자(*solanum tuberosum* var. May Queen)의 glucoalkaloids(α -chaconine, α -solanine)를 高速液體 크로마토그래피에 의하여 분리, 정량법을 확립하는 것과 동시에 감자를 皮質部, 髓質部로 나누어

각각의 部位에 존재하는 glucoalkaloids 測定을 목적으로 한 것이다.

(1) 充填劑를 Nucleosil-NH₂(10 μ m)를 4.0 mm I.D \times 15 cm 와 4.0 mm I.D \times 25 cm 의 stainless steel 管에 充填하여 그것을 直列로 연결하였다. 溶離液으로는 tetrahydrofuran: phosphate buffer: acetonitrile(50:25:25, v/v/v)을 사용하였고 檢出波長을 208 nm, 流速을 1ml/min 로 하였다.

(2) 上記方法에 의하여 glucoalkaloids의 하나인 α -chaconine은 6.92 분, α -solanine은 10.96 분 후에 溶出하여 완전히 分離될 수 있었다. 그리고 檢체 하나를 분석하는 데 12분간으로 완료하여 본 方法이 glucoalkaloids를 분석하는 데는 가장 좋은 方法이라는 것을 알았다.

(3) 감자를 皮層部 및 髓質部로 나누어서 glucoalkaloids를 조사한 결과 兩部位 共히 α -chaconine과 α -solanine이 검출되었고, 皮層部가 髓質部보다 훨씬 그 含量이 많았다.

文 獻

1. Jadhav, S.J., Salunkhe, D.K., Wyse, R.E. and Dalvi, R.R.: *J. Food Sci.*, **38**, 453 (1973)
2. Liljemark, A. and Widoff, E.: *Am. Potato J.*, **37**, 379 (1960)
2. Herb, S.F., Fitzpatrick, T.J. and Osman, S.F.: *J. Agri. Food Chem.*, **23**, 5026 (1975)
4. Bushway, R.J., Barden, E.S., Bushway, A.W. and Bushway, A.A.: *J. Chromatogr.*, **178**, 533 (1979)
5. Bushway, R.J., Barden, E.S. and Bushway, A. A.: *J. Food Sci.*, **45**, 1088 (1980)
6. Simekova, E. and Horcin, V.: *J. Food Sci.*, **45**, 386 (1980)
7. Baup, S.: *Ann. Chem. (paris)*, **31**, 108 (1826)
8. Kuhn, R. and Löw, J.: *Angew. Chem.*, **66**, 639 (1954)
9. Fitzpatrick, T.J., Herb, S.F., Osman, S.F. and McDermott, J.A.: *Am. Potato J.*, **54**, 541 (1977)