J. Fd Hyg. Safety 10(3), 169-174(1995)

후추중의 Piperine 정량법에 관한 연구

고종명
인천광역시보건환경연구원

A Study on Quantitative Method of Piperine in Pure Ground Black Pepper

Jong-Myeoung Ko
Institute of Inchon public Health and Environment

ABSTRACT—Piperine, component of pure ground black pepper, has strong stimulative and hot. Analytical method for piperine was developed by high performance liquid chromatography. Analytical conditions are as follows; mobile phase is 70% methanol, detector UV 343 nm (0.05 AuFs), column is Novapak 5 C_{18} (15 cm×4.6 mm), flow rate is 1.0 ml/min, chart speed is 0.25 cm/min and injection volume is 20 μl. Analytical results are as follows that relative standard deviation is 1.15%, calibration curve is y=170473.1x−7848.5 (R^2=0.999) that shows good linearity. Standard solution of piperine is stable up to 10 hr and content of piperine in pure ground black pepper is 4.97±0.86%. Retention time of piperine in HPLC method is about 7 min. Therefore, the developed HPLC method including simple pretreatment of sample will be contribute to quality management.

Key words □ Piperine, HPLC, Quality management

후추의 기원은 Piper Nigrum L.의 채 익기전의 열매이며 열대성 관목으로 줄기는 지름 2 cm 가량의 원주형으로 약간 만성이고 잎은 호생하며 끝이 뾰족한 둥근 달걀꼴이다. 5~6월에 흰갈색의 화수가 잎에 대생하여 자웅이주로 피고 장과는 지름 3.5~6 mm의 구형으로 바깥면은 외과피가 얇고 흑갈색이며 거친 그물같은 주름이 있고 속에는 과벽에 붙은 1개의 씨를 가지고 있으며 과실 미성숙시 홍색으로 변하기 직전에 채취하여 건조한 것이 Piper Nigrum, black pepper이고 완숙과실의 외피를 제거한 것이 Pepper Album, white peper라 하며 맵고 향기로운 특이한 풍미가 있다.

후추의 산지는 Malay, Borneo, 동남아시아, 브라질등에서 많이 재배되고 덩굴성좀나무로 맛이 강열하여 방향성이며 신미성분은 piperine, chavicine, phellandrin, piperyline, piperoleine A · B등이 있고 당질이 주체로서 단백질 약 10%~20%, 지질 6%, Fe 20 mg%, chavicine 1~3%, piperine 4~6.2%, 정유 1%가 함유되어 있다.[1-4]

정유중에는 (−)α-phellandrene, α-β-pinene,[11] linalo 등이 있고 기타 (−) cubebin, 지방유 등이 있으며 후추는 조미료 및 향신료, 살균, 구풍제, 건위제, 구토, 하리, 탈취성, 교취성, 소량에서 식욕증진에 이용되고 육류의 냄새를 없애고

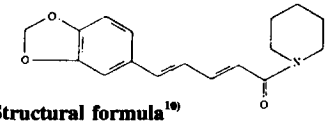

Fig. 1. Structural formula[10]

방부효과가 있으며 향기나 맛을 내고 Vitamin C의 산화를 방지하는 역할과 소스, 마요네즈, 스프, 가공육류, 피클스등 여러가지 식품에 사용된다.[7]

향기성분은 주로 terpene류, alcohol류, aldehyde류, ketone류에 속하는 것이 많고 후추 특유의 맛은 piperine ($C_{17}H_{19}NO_3$)이라는 비휘발성 염기성물질로[12] (Fig. 1) 이에 대한 분석방법은 습식화학법등이 있으나 고속액체크로마토그라피법은 거의 없는 실정이다.[8,9]

Pure ground black pepper중의 piperine함량을 고속액체크로마토그라피를 이용하여 간편하고 신속, 정확하게 분리정량하여 양호한 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시험재료

본 연구에 사용된 검체는 시판중인 후추가루를 대상으로

Table 1. HPLC condition for determination of piperine

Column	Novapak 5 C_{18} (15 cm×4.6 mm)
Detector	343 nm UV, 0.05 AuFs
Mobile phase	Methanol: water=70:30 (v/v)
Chart speed	0.25 cm/min
Injection volume	20 μl

국내에서 제조된 제품과 수입된 제품을 택하여 실험하였다.

시약

Piperine 표준품은 Sigma(Lot 121 H 2518), HPLC용 Methanol, Water는 Merck제, Millipore fliter Paper(0.45 μm, PTFE type, 13 mm)는 Millipore사 제품을 사용하였다.

장비

실험에 사용된 장비는 UV/Visible Spectrophotometer 260(shimatzu), High performance liquid chromatography (ICI Co)등을 사용하였다.

HPLC 실험조건은 Table 1과 같다.

정량법

표준액의 조제—Piperine 표준품 약 10 mg을 정밀하게 취하여 100 m*l* 메스플라스크에 넣어 methanol 50 m*l*를 가하여 녹인후 methanol로 표선까지 채워 혼합한 다음 이액 0.7 m*l*를 정확히 25 m*l* 메스플라스크에 넣어 methanol을 가하여 표선까지 채우고 혼합한 다음 밀리포아 여과지로 여과하여 여액을 표준액으로 한다.

검액의 조제

시료 약 0.5 g을 정밀하게 달아 100 m*l* 메스플라스크에 넣고 methanol 50 m*l*를 가하여 초음파 진탕기에서 20분간 추출한 다음 methanol로 표선까지 채우고 혼합한 다음 여과하여 이액 1.0 m*l*를 정확히 취하여 100 m*l* 메스플라스크에 넣어 methanol을 가하여 표선까지 채우고 혼합한 다음 밀리포아 여과지로 여과하여 검액으로 한다.

정량조작

표준액 및 검액을 각각 20 μ*l*씩 취하여 Table 1의 실험조건으로 고속액체크로마토그라피를 행한 다음 표준액 및 검액의 piperine 피이크 면적의 비 Rs 및 Rt를 각각 구하여 다음 식에 의하여 piperine 성분의 함량을 계산한다.

$$\text{piperine } (C_{17}H_{19}NO_3)\text{의 양(mg)} = \text{표준품의 양(mg)} \times \frac{Rt}{Rs}$$

결과 및 고찰

실험조건검토

파장검토—Piperine표준품 11.3 mg을 정확히 취하여 100 m*l* 메스플라스크에 methanol을 가하여 녹이고 표선까지 채우고 혼합한 다음 이액 3.0 m*l*를 정확히 취하여 50 m*l* 메스 플라스크에 methanol을 가하여 혼합한 후 표선까지 채운다. methanol을 대조액으로하여 UV/Vis-Spectrophotometer에서

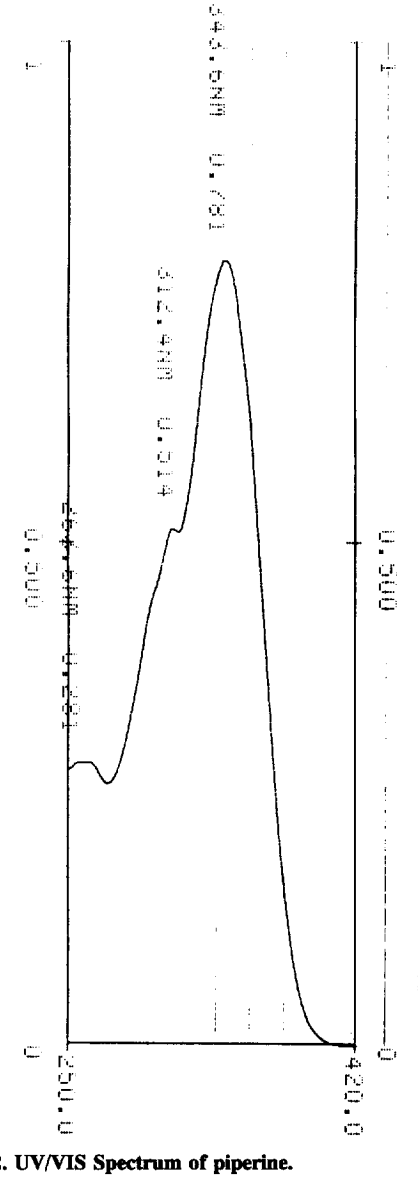

Fig. 2. UV/VIS Spectrum of piperine.

UV 250~420 nm까지 파장을 검토한 결과는 Fig. 2와 같으며 343 nm에서 piperine의 최대 피이크를 Detector 조건으로 택하였다.

이동상검토

methanol을 60%, 65%, 70%, 75%의 이동상으로 검토하였다. Sample 약 1.0 g을 취하여 100 ml 메스플라스크에 methanol 50 ml를 가하여 초음파진탕기에서 20분간 추출한 다음 methanol을 가하여 표선까지 채우고 혼합한 후 여과하여 이 액 1.0 ml를 취하여 100 ml 메스플라스크에 methanol을 가하여 표선까지 채우고 혼합한 다음 밀리포아여과지로 여과하여 사용하였다.

60% methanol 이동상에서는 piperine의 유지시간이 26분, 65% methanol 13분, 70% methanol 7분, 75% methanol은 5분대의 유지시간을 보였으며 piperine의 주피이크와 기타물질이 겹쳐지지 않는 70% methanol을 이동상으로 택하였다(Fig. 3).

유속검토

이동상검토에서 조제한 검액을 가지고 0.8 ml/min, 1.0 ml/min, 1.2 ml/min, 1.5 ml/min로 검토한 결과는 Fig. 4와 같으며 분리도가 양호한 1.0 ml/min로 택하였다.

표준액 및 검액의 Chromatogram

표준액 및 검액을 Table 1의 HPLC조건으로 각 20 μl씩 주입하여 얻은 chromatogram은 Fig. 5와 같으며 piperine의 유지시간은 약 7분대로 나타났다.

재현성검토

piperine표준품을 2.2 μg/ml로 만들어 Table 1의 HPLC조건으로 20 μl씩 5회 주입하여 얻은 Chromatogram에서 piperine의 면적은 Table 2와 같으며 상대표준편차는 1.15%로 재현성이 양호하였다.

검량선검토

Piperine표준품 10.6 mg을 정확히 취하여 100 ml 메스플라스크에 넣어 methanol을 가하여 녹인후 표선까지 채워 섞는

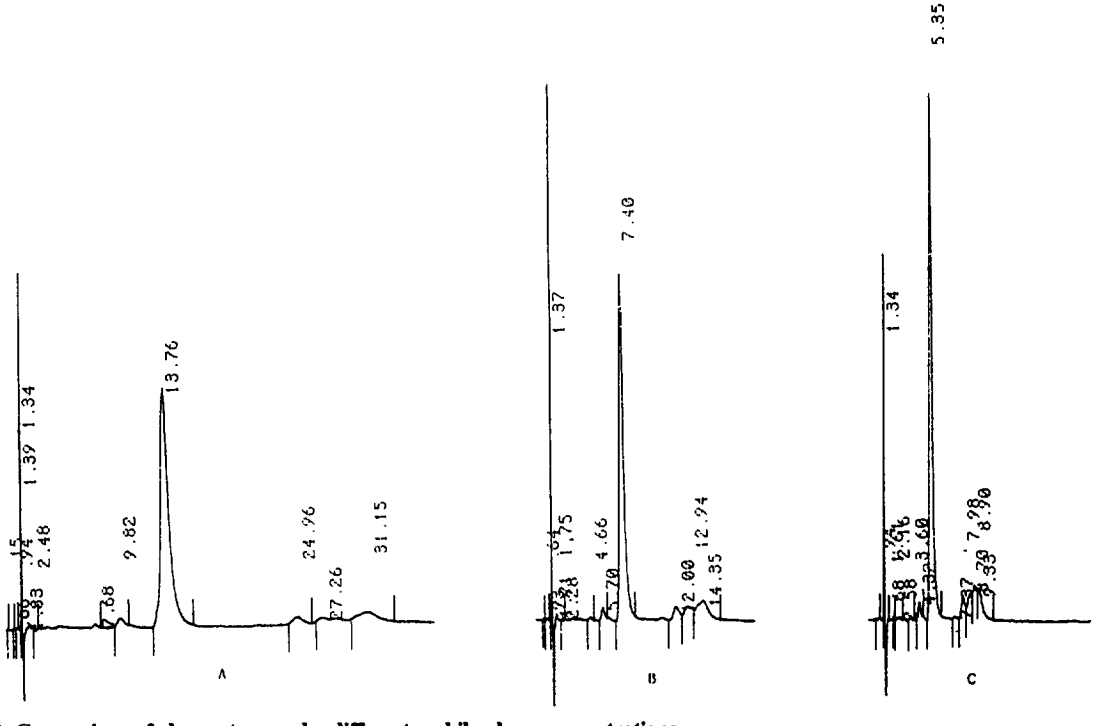

Fig. 3. Comparison of chromatogram by different mobile phase concentrations.

Column: Novapak 5 C_{18}(15 cm×4.6 mm), Detector: UV 343 mm, 0.05 AuFs, Injection volume: 10 μl, Flow rate: 1.0 ml/min, Chart speed: 0.25 cm/min.

A: 65% methanol, B: 70% methanol, C: 75% methanol.

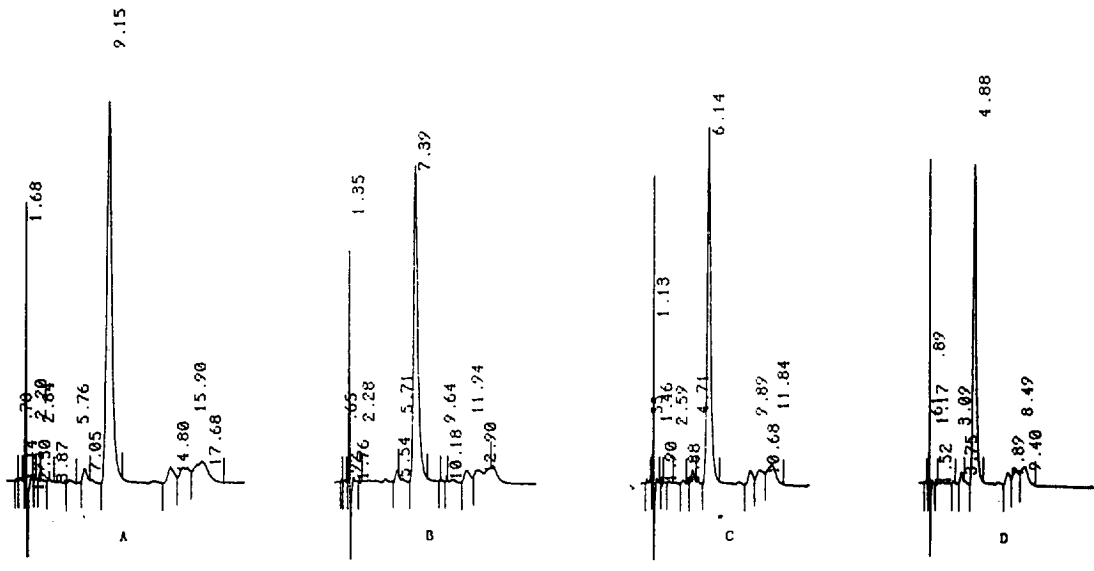

Fig. 4. Chromatogram of various flow rate.

Column: Novapak 5 C_{18}(15 cm×4.6 mm), Detector: UV 343 mm, 0.05 AuFs, Injection volume: 10 μl, Chart speed: 0.25 cm/min, Mobile phase: 70% Methanol.

A: 0.8 ml/min, B: 1.0 ml/min, C: 1.2 ml/min, D: 1.5 ml/min.

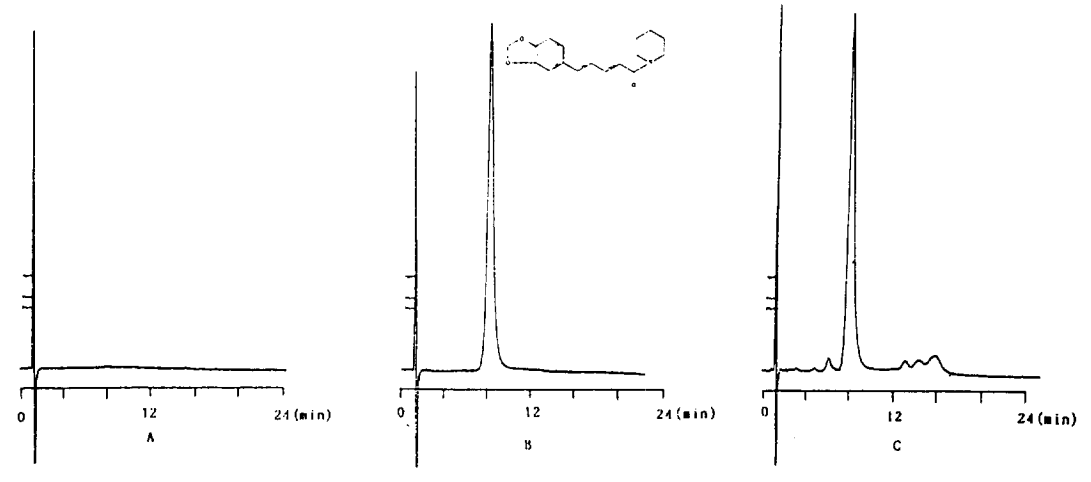

Fig. 5. Typical chromatogram of piperine

Column: Novapak 5 C_{18}(15 cm×4.6 mm), Detector: UV 343 nm, 0.05 AuFs, Injection Volume: 20 μl, Chart speed: 0.25 cm/min, Flow rate: 1.0 ml/min, Mobile phase: 70% Methanol

A: Blank solution, B: Piperine standard solution, C: Ground black pepper solution.

다. 이 액을 각각 0.1 ml, 0.3 ml, 0.5 ml, 0.7 ml 및 0.9 ml를 정확히 취하여 25 ml 메스플라스크 5개에 취하여 methanol로 표선까지 채워 혼합한 다음 이를 표준액 계열로 하였다. 이액을 Table 1의 HPLC 조건으로 20 μl씩 취하여 5회 주입하여 얻은 결과는 Fig.6.과 같으며 y=170473.1x − 7848.5 (R^2= 0.999)로 일직선을 나타냈으며 0.4~4.0 μg/ml의 범위에서 정

Table 2. Reproducibility of HPLC (n=5)

	RUN (Area)					Mean	RSD (%)
	1	2	3	4	5		
Piperine	449642	452338	450310	439969	443712	447194.2	1.15

Table 3. The contents piperine in ground black pepper

Sample	Piperine content (%)
1	5.09
2	5.46
3	5.71
4	4.11
5	5.38
6	5.43
7	5.91
8	4.21
9	6.65
10	4.01
11	5.50
12	3.76
13	5.04
14	4.02
15	4.23
Mean±SD	4.97±0.86

량성을 보였다.

경시변화검토

표준액을 가지고 Table 1의 HPCL조건으로 실온에서 보관하여 2, 4, 6, 8, 10시간 동안 검토한 결과 piperine 피이크 면적의 변화는 없었다.

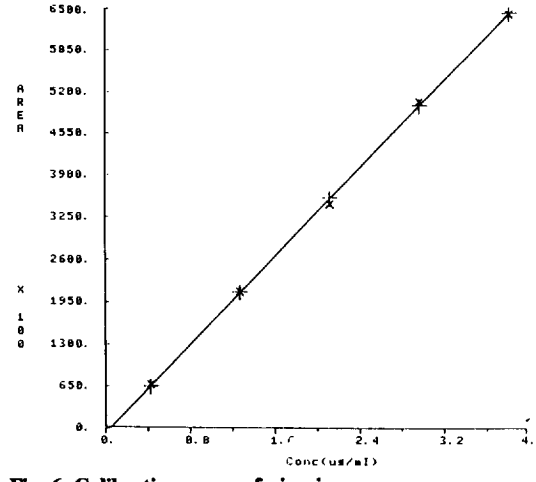

Fig. 6. Calibration curve of piperine.

시판제품의 정량

시중에 유통되는 후추가루중 piperine 함량은 확립된 정량법에 따라 시판품 15종에 대하여 실험하였다.

후추가루중의 강한 자극과 매운맛을 내는 piperine함량은 Table 3와 같으며 3.76~6.65%의 분포를 보였으며 평균 4.97±0.86%를 나타냈다.

고속액체크로마토그라피를 이용하여 후추가루중의 piperine정량시험에 신속하고 정확한 분리정량이 가능하여 품질관리에 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

국문요약

시판되는 후추가루 중의 강한 자극과 매운맛을 내는 piperine 성분을 고속액체크로마토그라피를 이용하여 분리정량하였다. 이동상의 70% methanol, 파장 343 nm UV, 0.05 AuFs, Novapak 5 C_{18}(15 cm×4.6 mm)컬럼, 유속 1.0 ml/min, 기록지속도 0.25 cm/min, 주입량 20 μl로 양호한 정량성을 보였으며 piperine의 재현성은 상대표준편차 1.15%, 검량선은 y=170473.1x − 7848.5(R^2=0.999)로 선형을 나타냈으며 piperine의 표준액은 10시간 동안 경시변화는 없었으며 piperine 평균함량은 4.97±0.86%를 보였다. 후추가루 중의 piperine 성분의 유지시간은 약 7분대로 정량시험에서 신속하고 정확한 분리정량이 가능하며 간단한 전처리 조작으로 품질관리에 기여할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. 박원기: 한국식품사전, 신광출판사, 481-482 (1991).
2. 한대석: 생약학, 동명사, 300-303 (1993).
3. 임기홍: 약용식물학(각론), 동명사, 82-83 (1985).
4. 김재길: 천연약물대사전, 남산당, 173 (1984).
5. 이갑상, 홍재식, 조재민: 식품저장가공학, 지구문화사, 163-165 (1988).
6. 유태종, 이상건, 김수현, 이병호: 식품가공학, 문운당, 256-257 (1980).
7. 유태종: 식품과학편람, 대광서림, 19 (1990).
8. 보건사회부: 대한약전, 1064-1065 (1992).
9. 보건사회부: 식품공전, 495-496 (1994).
10. Martha Windholz: The Merck Index, 10 th ed (1983).
11. 한덕룡: 현대생약학, 학창사, 95-98 (1987).
12. 김일혁: 약품식물학각론, 한국학습교재사, 122-124 (1984).