

## 초피(*Zanthoxylum piperitum* DC)의 과피와 잎의 방향성분

김정한 · 이경석 · 오원택 · 김경례\*

연세대학교 공과대학 식품공학과, \*성균관대학교 약학대학 제약학과

### Flavor Components of the Fruit Peel and Leaf Oil from *Zanthoxylum piperitum* DC

Jung-Han Kim, Kyung-Seok Lee, Won-Taek Oh and Kyoung-Rae Kim\*

Department of Food Engineering, Yonsei University, Seoul

\*College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon

#### Abstract

The essential oils from ripe fruit peel and leaf of *Zanthoxylum piperitum* DC were extracted by gas co-distillation method and analyzed by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) and retention index matching. The experimental results revealed the presence of over 100 volatile components. Major components were 1,8-cineol (25.47%), limonene (11.91%), geranyl acetate (9.01%), myrcene (6.15%) in fruit peel and citronellal (23.11%), 1,8-cineol (18.38%), citronellol (6.04%) in leaf. Among the components identified were the following; in fruit peel,  $\alpha$ -pinene and 13 hydrocarbons, linalool and 8 alcohols, citronellal and 3 aldehydes, carvone and 2 ketones, methyl salicylate and 7 esters, and 1,8-cineol and 3 oxides, and in leaf,  $\alpha$ -pinene and 7 hydrocarbons, linalool and 7 alcohols, citronellyl acetate and 5 esters, citronellal and 1 aldehyde, carvone, and 1,8-cineol and 1 oxide.

Key words: *Zanthoxylum piperitum* DC, essential oil, gas co-distillation, gas chromatography/mass spectrometry, retention index

#### 서 론

향기성분을 많이 함유하고 있는 초피(*Zanthoxylum piperitum* De Candolle)는 Citrus 속 운향과(Rutaceae family)에 속하여 다른 *Zanthoxylum* 종들과 혼용되어 왔다. 특히 산초(*Zanthoxylum schinifolium*)와는 그 형태가 비슷하여 학명에서조차 혼동되어 왔으나 그 방향성분은 특이하여 뚜렷이 구분할 수 있으며 Citrus 계 방향성분을 많이 함유한 것으로 알려졌다<sup>(1)</sup>. 초피는 옛부터 중국, 일본에서 Chinese pepper, Japanese pepper 로 불리면서 향신료로 사용되어왔고, 특히 일본에서는 근래에 아사쿠라 산초(*Zanthoxylum piperitum* var. *inermis* Makino)라는 결실량이 많고 정유의 함량이 높은 우량품종을 재배육성할 정도로 인기있는 향신료로 널리 사용되고 있다<sup>(2)</sup>. 우리나라에서는 조선시대 초부터 김치에 고추 대신 초피를 사용

하였다는 기록이 있으며 현재에는 중부 이남의 민간에서 김치에 넣거나, 민물고기국 등에 넣어 사용하고 있으며 전국적으로는 한약재, 추어탕 등에 넣어 널리 사용하고 있다<sup>(3,4)</sup>. 특히 과피는 citrus 특유의 자극적인 향기성분을 갖고 있어 생선류의 비린냄새를 억제하는데 효과적이다.

이러한 초피의 향기성분에 대한 연구는 Guenther<sup>(5)</sup>와 Katayama<sup>(6)</sup>가 TLC에 의한 Rf 값으로 몇 가지 terpene 들을 확인 보고한 것을 시작으로 Sakai<sup>(7)</sup>가 아사쿠라 산초의 열매에서 56개의 향기성분을 보고하였으며, Kusumoto<sup>(8)</sup>는 아사쿠라 산초의 잎에서 43개의 향기성분을 확인하였다.

한국산 초피의 향기성분은 정<sup>(9)</sup>이 packed column gas chromatography에 의해서 수피와 과피로부터 9 가지 성분을 확인하였다

식물에서 방향성분을 추출하는 방법으로 steam distillation<sup>(10)</sup>, simultaneous distillation-extraction(SDE)<sup>(11)</sup>, vacuum distillation<sup>(12)</sup>, solvent extraction<sup>(13)</sup>, headspace sampling<sup>(14)</sup>, solid phase

Corresponding author: Jung-Han Kim, Department of Food Engineering, Yonsei University, Shinchon-dong 134, Seodaemun-gu, Seoul, 120-749

extraction (SPE)<sup>(15)</sup>, 초임계유체 추출 (SFE)<sup>(16)</sup>, gas co-distillation (GCD)<sup>(17)</sup> 등이 있는데, 아사쿠라산초 oil의 추출에는 solvent extraction과 vacuum steam distillation이 사용되었다.

방향물질의 분리, 동정방법으로 GC/MS가 널리 사용되나<sup>(18)</sup>, 최근 retention indices에 의한 동정이 연구 보고되고 있다<sup>(19)</sup>.

본 연구에서는 distillation 중의 변성을 감안하여 gas co-distillation 방법으로 추출하고 GC/MS와 GC-FID-Retention Index Computer Matching 방법을 병행하여 초피의 복합적 향기성분의 조성을 규명하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 초피(*Zanthoxylum piperitum* DC)의 과피와 잎은 경상북도 포항시 근교에서 1988년 9월경에 채취한 것으로 그늘에서 충분히 건조시킨 후, mortar로 분쇄하여 사용하였다.

### 방법

건조된 과피 혹은 잎 25g을 Fig.1의 둥근 flask에 넣고 증류수 250 ml를 첨가하여 15 ml/min의 질소와 함께 1시간 동안 증류하여 얻은 약 50 ml의 증류액을 dichloromethane (20 ml×3)으로 추출하고 무수 magnesium sulfate로 건조시킨 후 농축하여 GC 주입 전까지 -18°C에 보관하였다.

GC/retention index (RI)값에 의한 정성분석에는 FID가 부착된 gas chromatograph (HP 5890A, Hewlett Packard, U.S.A.)와 RI 탐색이 이뤄지는 HP 5895A WorkStation이 사용되고, column은 비극성인 HP-1(dimethyl polysiloxane gum, 25 m×0.

2 mm I.D.×0.11 μm, Hewlett-Packard Co., U.S.A.), 극성인 HP-FFAP(polyethylene glycol, 25 m×0.2 mm I.D.×0.33 μm, Hewlett-Packard Co., U.S.A.)이 사용되었다. GC/MS는 HP-5890A gas chromatograph와 HP-5970A MSD를 사용하였으며 column은 비극성인 SE-30 capillary column(16 m×0.2 mm I.D.×0.33 μm, Supelco Co., U.S.A.)을 사용하였다. Column 온도는 HP-1 column은 50°C에 2분간 둔 후 150°C까지 2°C/min로, 280°C까지는 10°C/min로 상승시키고, FFAP column은 50°C에 2분간 둔 후 180°C까지 2°C/min로 상승시키고, 그리고 SE-30 column은 60°C에서 5분간 둔 후 150°C까지 2°C/min로 상승시키고, 280°C까지는 10°C/min로 상승시켰다. Split ratio는 1:30으로 했다.

주요 성분들의 함량을 비교할 목적으로 peak area normalization법에 의해서 정량분석하였다.

미지의 향기성분들을 대조 확인해줄 RI library 체계를 만들기 위해 구입가능한 300여개의 단향들의 RI값을 WorkStation에 내장된 database program에 입력시켰다.

## 결과 및 고찰

### 식물체 내의 향기성분 분석

GC/FTIR, GC/GC/MS, GC/GC/organoleptic evaluation 등과 함께 GC/MS는 신속한 분리와 확인에 널리 사용되어 왔으나<sup>(20)</sup>, 천연의 복합향기조성을 분석하고자 할 때 첫째로 isomeric compound들을 적절히 구별하지 못하고 둘째로 충분한 resolution이 되지 않아 overlap된 GC peak의 mixture mass spectra를 해석하기 어려웠다<sup>(21)</sup>. 이를 해결하기 위해 Cartoni<sup>(22)</sup>는 극성이 다른 Carbowax 20 M과 SE-54 column을 연결하여 2배 이상의 분리능을 보고하였고, Bicci<sup>(23)</sup>는 on-column injector에서 silica gel로 채워진 cartridge에 연결된 sample needle에서 선택적인 용출제로 prefractionation 하였으며, OV-101과 Carbowax 20 M column을 사용한 RI값에 의한 index library searching과 OV-1, SE-30이란 두 column으로 authentic sample과 분석 sample을 대조 확인하는 등<sup>(24)</sup>, retention indices와 mass spectra를 서로 비교 확인하는 문헌들이 알려져 왔다<sup>(25)</sup>. 본 실험에서 사용된 비극성 HP-1 column은 비극성의 정유성분들의 분리에 좋고, 극성 FFAP column은 극성의

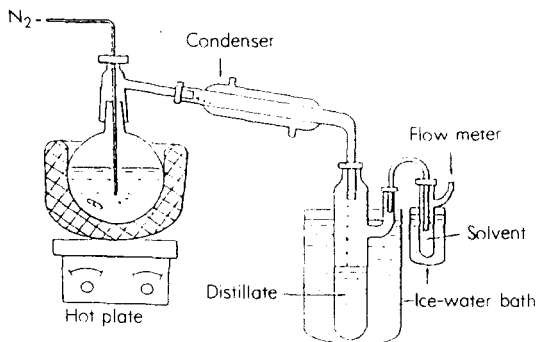


Fig. 1. Gas co-distillation apparatus.

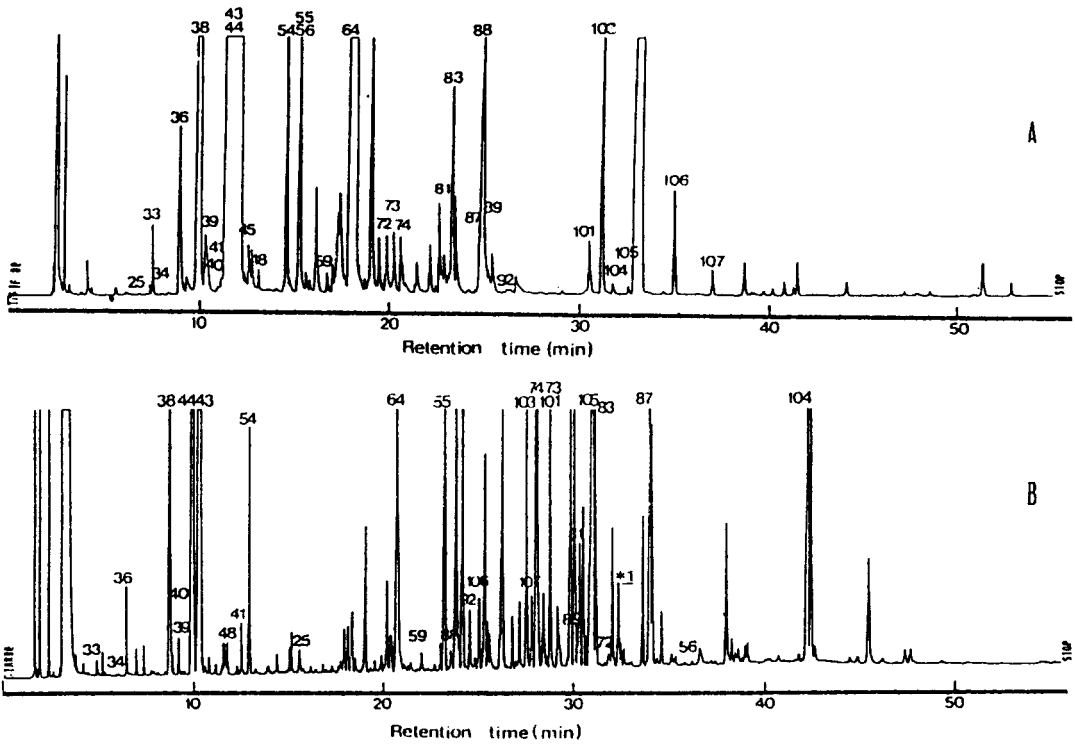


Fig. 2. GC chromatograms of essential oil from fruit peel of *Z. piperitum* DC by A) HP-1 column and B) FFAP column.

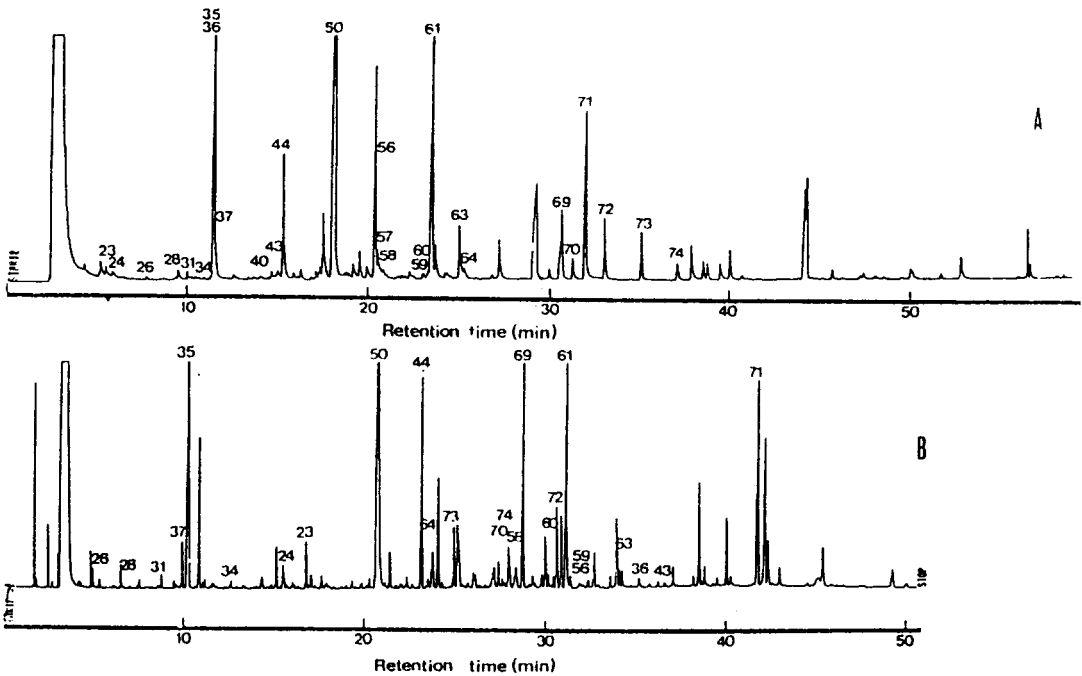


Fig. 3. GC chromatograms of essential oil from leaf of *Z. piperitum* DC by A) HP-1 column and B) FFAP column.

oxygenated 정유성분 분리에 뛰어난 분리능이 있으나 비극성인 HP-column이 retention index (RI) 값의 오차가 1 unit 이내로 재현성이 높았다<sup>(26)</sup>.

#### 초피의 향기성분

과피의 chromatogram (Fig. 2)에서 100개 이상의 peak들과 잎의 chromatogram (Fig. 3)에서 80개 이상의 peak가 감지되었으며 그 중 과피에서 42개의 성분을, 잎에서 27개의 성분을 확인하였는데 과피에서 RI 값만으로 확인한 것은 18개 그리고 mass spectrum만으로 확인한 것은 8개였다. 그 결과는 Table 1, 2와 같다.

Fig. 2에서의 1,8-cineol과 limonene은 overlap되었으나 FFAP에서 분리된 peak로 확인할 수 있었고 HP-1의 linalool과  $\beta$ -phenyl ethyl alcohol의 overlapped peak 또한 FFAP에서 분리됨을 확인하였다. HP-1의 64 peak 또한 overlap된 것으로 보이는데, citronellal의 다른 compound를 확인하지 못했다. Fig. 3에서 HP-1의 35, 36 peak 또한 FFAP에서 분리된 peak로 확인할 수 있었다. 아사쿠라 산초의 열매 전체에서 확인된 56개 성분들 중에서 sabinene, p-cymene, isobutyl caproate, trans, cis-limonen-1, 2-oxide, terpinolen-4,8-oxide, dihydrocarvone,  $\alpha$ -copaene, cryptone, phellandral, perillaldehyde, 1 (7),8-p-menthadien-trans-2-ol, piperitenone, calamenene,  $\alpha$ -calacorene, cuminalcohol,  $\beta$ -caryophyllene alcohol, nerolidol, cadinene의 19개 성분들은 한국산 초피에서 확인된 성분들 중에는 없었다. 한국산 초피에서 3-thujene, hexanol,  $\alpha$ -terpinene, trans ocimene, camphor, linalool oxide, geranial, bornyl acetate, hydroxy citronellal의 9개의 성분이 더 밝혀졌다. 아사쿠라 산초의 어린 잎에서 확인된 43개 성분들 중에서는, camphene, sabinene,  $\beta$ -phellandrene,  $\alpha$ -copaene,  $\alpha$ -muurolene,  $\gamma$ -cadinene, trans, cis-sabinene hydrate, cis-linalool oxide, isopulegol, neoisopulegol, terpinen-4-ol,  $\gamma$ -terpineol, limonen-4-ol, nerolidol, 2-hexenal, cryptone, isobutyl caproate와 같은 19개의 성분들이 초피에서 확인된 성분들 중에 없는 반면, 한국산 초피의 성숙한 잎에서는 carvone, citronellol, geraniol, cuminaldehyde 등의 4개 성분이 더 확인되었다. 초피의 과피와 잎에서 발견되는 대부분의 hydrocarbon들은 일반적으로 같은 과(*Rutaceae* family)에 속하는 citrus oil들인 orange, lemon과 natsudaidai oil 등에서도

Table 1. The identified components in the essential oil of fruit peel of *Z. piperitum* DC by GC/RI matching and by GC/MS

Peak No <sup>a)</sup>	Name	RI		MS <sup>b)</sup>
		HP-1	FFAP	
25	hexanol	853.58	1357.34	
33	$\alpha$ -pinene	923.99	1022.83	
34	camphene	936.59	1067.92	
36	$\beta$ -pinene	959.91	1110.33	
38	myrcene	980.73	1165.03	+
*1	3-thujene			+
39	isobutyl isovalerate	993.08	1197.27	
40	$\alpha$ -phellandrene	1008.15	1169.41	+
41	$\alpha$ -terpinene	1010.06	1275.22	+
*2	$\beta$ -phellandrene			+
43	1,8-cineol	1013.16	1212.78	
44	limonene	1017.24	1202.15	+
45	trans-ocimene	1035.46		+
48	$\gamma$ -terpinene	1045.09	1250.71	+
*3	linalool oxide			+
54	terpinolene	1076.36	1287.22	+
55	linalool	1084.85	1553.43	+
56	$\beta$ -phenyl ethyl alcohol	1088.78	1925.72	
59	camphor	1113.04	1522.13	
*4	isopulegol			
64	citronellal	1132.15	1488.43	+
*5	terpinen-4-ol			+
72	methyl salicylate	1166.60	1790.89	
73	$\alpha$ -terpineol	1168.96	1704.98	+
74	methyl chavicol	1175.52	1684.55	
*6	trans-carveol			+
*1	cumin aldehyde		1795.88	+
81	carvone	1209.36	1747.22	+
*7	piperitone			+
*8	$\beta$ -terpinene-3,4-oxide			+
83	citronellol	1217.23	1772.21	
87	geraniol	1239.92	1855.54	+
88	linalyl acetate	1242.55	1562.53	
89	geranial	1245.82	1744.94	
90	hydroxy citronellal	1259.46	1980.22	
92	bornyl acetate	1262.10	1587.57	
101	terpinyl acetate	1327.71	1704.25	
103	citronellyl acetate	1337.72	1669.34	+
104	methyl cinnamate	1345.70	2098.93	
105	geranyl acetate	1365.72	1767.34	
106	$\beta$ -caryophyllene	1398.67	1598.74	+
107	humulene	1430.42	1675.34	

a; peak numbers correspond to the numbers in HP-1 chromatogram

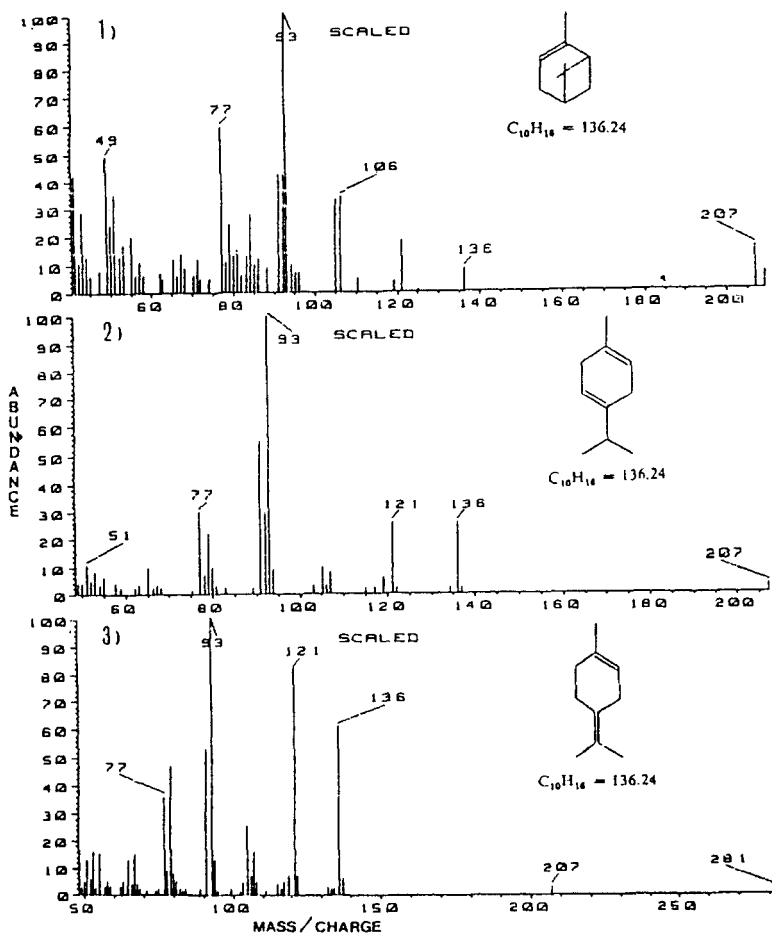
b; + indicates the tentative identification by GC/MS

Table 2. The identified components in the leaf of *Z. piperitum* DC by GC/RI matching and by GC/MS

Peak No <sup>a)</sup>	Name	RI		MS <sup>b)</sup>
		HP-1	FFAP	
23	cis-3-hexen-1-ol	840.32	1388.36	+
24	hexanol	384.01	1360.37	
26	$\alpha$ -pinene	923.38	1022.51	+
28	$\beta$ -pinene	961.73	1111.55	
31	myrcene	981.99	1164.53	
34	p-cymene	1009.47	1277.50	
35	1,8-cineol	1010.80	1210.92	+
36	benzyl alcohol	1014.31	1890.04	
37	limonene	1016.45	1203.80	+
40	terpinolene	1073.73	1289.22	
43	$\beta$ -phenylethyl alcohol	1983.84	1922.48	+
44	linalool	1085.14	1552.02	+
50	citronellal	1132.01	1490.31	+
56	methyl salicylate		1166.71	1790.28
57	$\alpha$ -terpineol		1168.30	+
58	methyl chavicol		1174.40	1681.10
59	cumin aldehyde		1208.19	1793.15
60	carvone		1213.28	1749.65
61	citronellol		1219.07	1770.15
63	geraniol		1240.05	1857.16
64	linalyl acetate		1244.31	1564.08
69	terpinyl acetate		1326.87	1704.28
70	citronellyl acetate		1336.69	1670.68
71	methyl cinnamate		1346.09	2084.70
72	geranyl acetate		1365.72	1762.10
73	$\beta$ -caryophyllene		1397.96	1598.74
74	$\alpha$ -hemulene		1428.92	1569.14

a: peak numbers correspond to the numbers in HP-1 chromatogram

b: + indicates the tentative identification by GC/MS

Fig. 4. Mass spectra of homologous compounds such as 1)  $\alpha$ -pinene, 2)  $\gamma$ -terpinene and 3) terpinolene.

발견된다<sup>(27)</sup>. 과피에서 확인된 성분들 중에는 분자식이  $C_{10}H_{16}$ 인 terpene 계 화합물들이 12개로 가장 많았으며 Fig. 4와 같이 mass fragment pattern이 유사하여 mass spectrum만으로 정성하기 어려웠다. 그외는 대부분이 oxygenated 화합물들이었다. 그 oxygenated 성분들 가운데 1,8-cineol, geranyl acetate, citronellal, limonene 등이 많은 양이었으며, isobutyl ester는 초피의 맛성분인 sanshool에 관련된 것으로 보인다<sup>(28)</sup>.

아사쿠라 산초에서의 주된 향기성분은 limonene,  $\beta$ -phellandrene이며 oxygenated compound들 중의 주요성분은 1,8-cineol, citronellal, linalool, methyl cinnamate로 알려졌다. 초피의 과피에서는 1,8-cineol(25.47%), limonene(11.91%), geranyl acetate(9.01%), myrcene(6.15%)이, 잎에서는 citronellal(23.11%), 1,8-cineol(18.38%), citronellol(6.04%), methyl cinnamate(4.0%)가 주성분이었다.

## 요 약

9월 중에 채취한 성숙한 초피(*Zanthoxylum piperitum* DC)의 과피와 잎성분의 변성을 고려한 방법인 gas co-distillation으로 추출하고, GC/MS와 함께 WorkStation BASIC program들을 사용하여 극성이 다른 두 column(FFAP, HP-1)에 대한 authentic standard들의 retention index(RI)값들을 구하여 HP-1 및 FFAP, RI reference library를 만든 후 초피의 정유성분들의 두 column library 탐색을 병행하여 분석함으로써, 과피에서 myrcene 외 14 hydrocarbon들, linalool 외 8 alcohol들, citronellal 외 3 aldehyde들, carvone 외 2 ketone들, methyl salicylate 외 7 ester들 그리고 1,8-cineol 외 3 oxide를 확인하였고, 잎에서 limonene 외 7 hydrocarbon들, citronellol 외 7 alcohol들, cuminaldehyde 외 1 aldehyde, carvone, 그리고 estragole 외 1 oxide를 확인하였다. 과피에서는 1,8-cineol(25.47%), limonene(11.9%), geranyl acetate(9.01%), myrcene(6.15%), geraniol(2.88%), citronellal(2.25%) 등이 주성분이었다고, 잎에서는 citronellal(23.11%), 1,8-cineol(18.38%), citronellol(6.04%), methyl cinnamate(4.08%) 등이 주성분이었다.

## 문 헌

1. 송주택, 박만규, 김용철: 한국자원식물 총감, 유용식물편, 국동문화사, 서울, p.396(1974).
2. 윤한교, 김지문: 민산초나무 종실의 유지 및 단백질 조성에 관한 연구, 충남대 농업기술연보, 3(2), p.170(1976).
3. 윤서석: 역사와 조리, 한국음식, 수학사, 서울, p.59(1980).
4. 이성우: 고려이전의 식생활사, 향문사, 서울, p.523(1978).
5. Guenther, E.: *The Essential Oils*, Academic press, New York, Vol. 3, p. 1376 (1949)
6. Katayama, T.: On the volatile components of *Zanthoxylum piperitum* DC. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fisheries*, **24**, 511 (1958)
7. Sakai, T., Yoshihara, K. and Hirose, Y.: Constituents of Fruit Oil from Japanese Pepper. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **41**, 1945 (1968)
8. Kusumoto, S., Ohsaka, A. and Kodake, S.: Constituents of Leaf Oil from Japanese Pepper. *Pharm. Soc. Jpn.*, **41**, 196 (1968)
9. 정현숙: Studies on the *Zanthoxylum piperitum* De Candolle. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **16**(2), 123 (1987)
10. Peters, T.L.: Steam distillation apparatus for concentration of trace water soluble organics. *Anal. Chem.*, **52**, 211 (1980)
11. Godefroot, M., Sandra, P. and Verzele, M.: New method for quantitative essential oil analysis. *J. Chromatogr.*, **203**, 325 (1981)
12. Moshonas, M.G. and Shaw, P.E.: Quantitative Analysis of Orange Juice Flavor Volatiles by Direct-Injection Gas Chromatography. *Agric. Food Chem.*, **35**, 161 (1973)
13. Pearl, I.A. and Darlig, S.F.: Hot water extractives of the leaves of *Populus heterophylla* L., *J. Agric. Food Chem.*, **25**(4), 730 (1977)
14. Dimson, P., Brocato, S. and Majors, R.E.: Automating solid phase extraction for HPLC sample preparation. *American Laboratory*, **10**, 82 (1986)
15. Nunez, A.J. and Gonzalez, L.F.: Preconcentration of headspace volatiles for trace organic analysis by

- gas chromatography. *J. Chromatogr.*, **300**, 127 (1984)
16. Davies, I.L., Raynor, M.W. and Bartle, K.D.: Supercritical fluid chromatography. *Anal. Chem.*, **60**(11), 683A (1988)
  17. Kim, K.R., Zlatkis, A., Park, J.W. and Lee, U.C.: Isolation of Essential Oils from Tobacco by Gas Co-Distillation/Solvent extraction. *Chromatographia*, **15**(9), 559 (1982)
  18. Edmond, T.L., Lavoie, E.J., Tacciarone, P. and Hoffmana, D.: Analysis of Steam Distillates and Aqueous Extracts of Smokeless Tobacco. *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 154 (1989)
  19. Sprouse, J.F. and Varano, A.: Development of a GC retention index library. *Int. Lab.*, november, 54 (1984)
  20. Michael, M.: Techniques of Essential Oil identification via gas chromatography with capillary columns. *J. Chromatogr. Sci.*, **25**(2), 56 (1987)
  21. Rasmussen, P.: Identification of Volatile Components of Jackfruit by Gas Chromatography/Mass Spectrometry with two different columns. *Anal. Chem.*, **55**, 1331 (1983)
  22. Cartoni, G.P., Goretti, G. and Russo, M.V.: Capillary columns in series for the gas chromatographic analysis of essential oils. *Chromatographia*, **23**(11), 790 (1987)
  23. Bicchi, C., Amato, A.D. and Frattin, C.: Selective sampling and Capillary Gas Chromatography in the Analysis of Essential Oils. *Chromatographia*, **23**(11), 818 (1987)
  24. Jennigs, W. and Shibamoto, T.: *Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatile by Glass Capillary Gas Chromatography*, Academic Press, New York, London, Sydney, Toronto and San Francisco, 1 (1980)
  25. Gaydou, E.M., Randriamiharisoa, R.P., Bianchini, J.P. and Llinas, J.R.: Multidimensional Data analysis of Essential Oils. *J. Agric. Food Chem.*, **36**, 574 (1988)
  26. 최경숙: GC/Computer system 을 이용한 향료분석에 관한 연구, 연세대학교 박사학위논문(1988).
  27. Kusumoto, S., Ohsuka, A. and Kodake, M.: Constituents of Leaf Oil from Japanese Pepper. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **41**, 1950 (1968), [*Food Research*, **25**, 3989 (1960), *Agr. Biol. Chem.*, **31**, 373 (1967), and *Agr. Biol. Chem.*, 1196 (1960)].
  28. Aihara, T.: The Isolation of Sanshools and the Structure of Sanshool-I. *J. Pharm. Soc. Jpn.*, **70**, 405 (1950)
- 
- (1989년 6월 23일 접수)