J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.
29(5), 747~751(2000)

LC/MS에 의한 원료생강 및 생강 페이스트 중의 Gingerol 화합물 분석

조 길 석
국립 원주대학 식품과학과

Analysis of Gingerol Compounds of Raw Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and Its Paste by High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC/MS)

Kil-Suk Jo

Dept. of Food Science, Wonju National College, Wonju 220-711, Korea

Abstract

This study was carried out to improve the analysis method of gingerol compounds from ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). Pungent components of ginger were extracted by acetone and isolated by thin layer chromatography (TLC) and high performance liquid chromatography (HPLC) with LiChrosorb RP-18 column. Three homologues of gingerols were identified by HPLC-mass spectrometry (LC/MS) and nuclear magnetic resonance (NMR). The contents of [6]-, [8]- and [10]-gingerols in three homologues identified were 635.3 mg%, 206.6 mg% and 145.7 mg% in raw ginger, and were 418.2 mg%, 142.6 mg% and 103.3 mg% in ginger paste, respectively.

Key words: ginger, analysis method, gingerol compound, LC/MS

서 론

생강은 열대 및 아열대 지역에서 유사 이전부터 재배되어 온 생강과에 속하는 다년생 초본식물의 근경으로 특유한 향기와 매운맛을 지니고 있어 전 세계적으로 많이 애용되고 있는 향신료 중의 하나이다(1). 생강의 세계 총 생산량은 최근 50만 톤에 달하고(2), 이중 국내 생강 총 생산량은 1998년도에 약 4만 8천 톤으로서 충청남도와 전라북도 지방에서 전국 생산량의 96.5%를 차지하고 있다(3). 생강은 김치, 젓갈, 과자류, 드링크, 다류 등에 이용되는 것 이외에 약리적 효능이 인정되어 한방의학에서 건위제, 구토, 복통, 요통, 설사 등의 치료제 및 살균제로서 이용되고 있다(4-6). 이와 같이 생강이 향신료로서 뿐만 아니라 약용으로 사용되는 것은 생강 중의 매운맛 성분인 gingerol, shogaol 및 zingerone 성분과 방향성분인 monoterpene, sesquiterpene, sesquiterpene alcohol 등이 함유되어 있기 때문이다(1,7). 이중 gingerol 동족체는 생강의 가장 강력한 매운맛 성분일 뿐만 아니라 다른 성분에 비하여 그 함량도 많기 때문에 생강의 저장, 유통 중의 품질지표물질로 많이 사용되고 있는 성분이다(8).

Gingerol 동족체는 Thresh(9)가 1879년 생강 oleoresin으로부터 gingerine이라고 하는 매운맛 성분을 지닌 crude gingerol을 추출한 이후 Nomura(10), Connell 등(11), Chen 등(12,13), Clark 등(14)이 얇은막 크로마토그라피(TLC), 액체 크로마토그라피(HPLC), 가스 크로마토그라피(GC), GC/MS 등의 단독 또는 병용방법을 사용하여 생강의 주요 매운맛 성분인 gingerol, shogaol, zingerone을 분리, 동정하고, 이들 성분 중 gingerol 성분이 매운맛의 주요성분이라 하였다. 또한 gingerol은 [6]-, [8]- 및 [10]-gingerol 등 3가지 동족체 화합물로 구성되어 있음이 밝혀졌다(11). Gingerol 화합물은 고온이나 산, 알카리 조건에서 쉽게 열분해를 받아 shogaol 및 zingerone로 변화되는 특성(1,15)이 있기 때문에 분석시 고열을 수반하는 GC 또는 GC/MS를 사용하는 방법은 gingerol 함량 분석의 정확성을 기하기 어렵지만 최근까지도 GC/MS 방법이 사용되고 있다(1,16). 본 연구에서는 생강의 매운맛의 주요성분인 gingerol 화합물의 분석방법을 개선할 목적으로 TLC, HPLC, LC/MS 및 NMR을 병용하여 새로운 분석방법을 정립하고, 원료로서 시중에서 구입한 원료생강과 생강 페이스트 제품의 gingerol 화합물 함량분석을 하였다

재료 및 방법

재료

본 연구에 사용된 생강(*Zingiber officinale* Roscoe)은 충남 당진산으로 서울 가락동 농수산물 시장에서 구입하

여 생강 페이스트 제조 및 gingerol 화합물의 분석용 시료로 사용하였다. 이때 원료 생강의 수분 함량은 89.2%, 조지방 함량은 0.8%이었다.

생강 페이스트 제조

수세한 원료 생강을 압착기로 착즙한 후 그 액을 90°C에서 10분간 가열하여 효소를 불활성화 하였다(17). 이 착즙액을 45°C에서 농축하여 그 농도를 10±0.5 Brix로 조절한 후 xanthan gum 0.1%를 가하여 waring blender로 13,000 rpm에서 5분간 균질화한 것을 생강 페이스트로 하였다. 이때 생강 페이스트의 수분 함량은 89.2%, 조지방 함량은 0.7%이었다.

Gingerol의 분리 방법

먼저 gingerol 정량용 표준물질 제조는 Connell의 방법(18)에 따라 생강 분말로부터 crude gingerol을 추출하였고, 순수분리는 Chen 등(19)의 방법에 따라 crude gingerol을 아세톤에 녹여 TLC plate(silica gel 60 F-254, 두께 0.2 mm, E. Merck)에 점적하고 건조하여 n-hexane/ethyl ether(3 : 7, v/v) 용매로 전개하였다. 전개가 끝난 TLC 판은 UV lamp(254 nm, Vilber Lourmat, France)로 검색하면서 각 반점을 긁어모았다. 이 반점들을 각각 메틸알코올에 녹인 후 Sep-Pak catridge(C-18, Waters Associates, USA)로 여과하여 HPLC로 분리하고 각 반점의 주요 봉우리를 분취하였다. HPLC(Waters Associates, USA) 분석조건은 LiChrosorb RP-18 column(E. Merck, Germany)을 사용하여 메틸알코올/HPLC용 증류수의 비가 8 : 2(v/v)인 이동상과, 유속이 2.5 mL/min 상태에서 UV(282 nm)로 검출하였다.

Gingerol의 동정 방법

HPLC로 분취한 각 획분의 동정을 위해 각 획분을 LC/MS, NMR로 분석한 후 기존 문헌상의 gingerol 분자량과 구조(12)를 비교하여 확인한 후 원료 생강 및 생강 페이스트의 정량용 표준물질([6]-, [8]- 및 [10]-gingerol)로 사용하였다. LC/MS 분석조건은 HPLC HP1090A, thermospray HP 5955-7598(Hewlett Packard, USA)와 HP 9000/300 computer를 사용하였고 MS 조건은 mass range 200~600 m/e, source temp. 276°C, scan threshold 100이며, HPLC 조건은 유속 0.8 mL/min, ionization solution 0.1 M CH_3COONH_4(75%)와 CH_3OH(25%)의 혼합용액을 사용하였다. 또한 ^{1}H-NMR 측정에 사용한 기기는 Bruker사의 FT 300MHz인 Bruker AM 300 ^{1}H-NMR spectrometer이었고, 사용한 용매와 내부표준물질은 $CDCl_3$(deuterochloroform)와 TMS(tetramethylsilane)이었다.

Gingerol의 정량 방법

원료 생강 및 생강 페이스트 중의 gingerol 정량을 위한 시료 전처리 방법은 Chen 등의 방법(13)에 준하여 하였다. 즉, 마쇄한 시료 70 g을 동결 건조한 후 재증류한 아세톤을 사용하여 Soxhlet 법으로 추출하고 농축하여 메틸알코올 25 mL로 정용, 여과(Sep-Pak catridge, C-18, Waters Associates)하였다. 이 여과액을 HPLC를 이용하여 위에서 제조한 gingerol 표준물질과 비교하여 시료 중의 gingerol 함량을 정량하였다.

결과 및 고찰

Gingerol 화합물의 분리

생강 중의 gingerol을 분리, 동정하기 위해 분석용 생강 페이스트를 동결건조하고 Soxhlet법으로 추출하여 얻은 아세톤 추출물(III) 및 원료 생강에서 추출한 crude gingerol 화합물(I)과 Likens-Nickerson 장치에서 n-pentane/diethyl ether(2 : 1, v/v) 혼합용매로 추출, 농축하여 얻은 생강 휘발성성분(II)을 TLC 전개하여 그 결과를 Fig. 1에 나타내었고, 생강 시료 (I)과 (III)의 HPLC chromatogram은 Fig. 2에 나타내었다. 즉, Fig. 1에서 점적한 시료 (I), (II) 및 (III)을 비교할 때 반점 A군은 색소 등의 고분자물질로, 그리고 반점 D군은 생강의 휘발성 물질로 추정되며, 반점 B 및 C군은 Chen 등(13)의 연구결과와 비교할 때 gingerol이 함유된 화합물로 생각되었다.

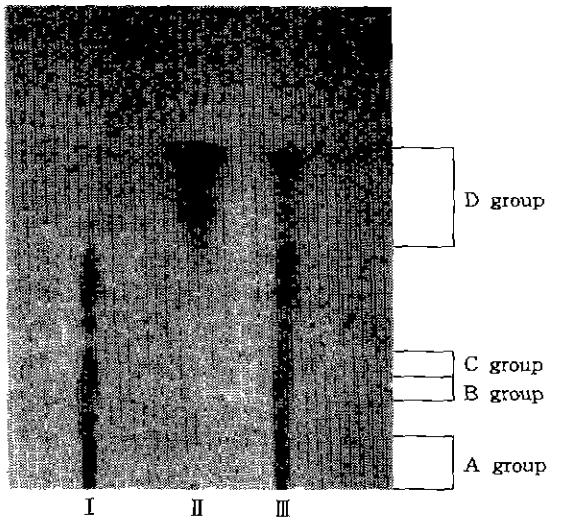

Fig 1. Thin layer chromatogram of crude gingerol (I), ginger essential oil (II) and ginger paste (III). Adsorbent, silica gel 60 F-254 (0.2 mm); solvent system, n-hexane/ethyl ether (3 : 7), visualization, detection under uv lamp. The spot groups could be forcasted as followed : A group, color compound; B and C group, gingerol compound and D group, flavor compound

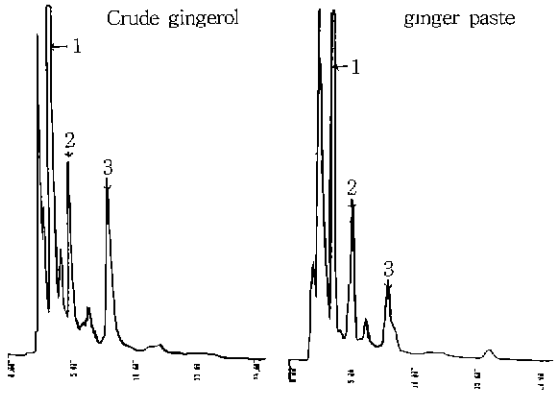

Fig. 2. HPLC chromatogram of crude gingerol and ginger paste.
No.1, 2 and 3 could be forecasted as gingerol compounds

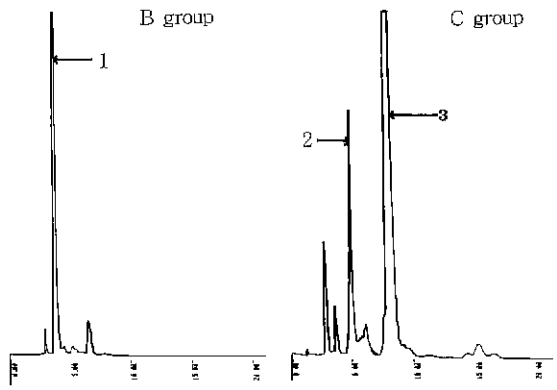

Fig. 3. HPLC chromatogram of B and C groups in Fig. 1.
No.1, 2 and 3 Refer to Fig. 2.

따라서, 반점 B 및 C군을 각각 긁어내어 아세톤에 녹여 농축한 후 HPLC로 분석한 결과는 Fig. 3과 같다. 즉, 반점 B군에서 추출하여 HPLC로 분석한 주요 봉우리는 (I) 및 (III)을 HPLC 분석한 Fig. 2 봉우리 상의 No. 1과 머무름 시간이 같았고, 반점 C군의 주요 봉우리는 Fig. 2 봉우리 상의 No. 2 및 3과 같았다. 그러므로, gingerol 화합물로 추정되는 Fig. 1의 반점 B, C군에서 Fig. 2의 No. 1, 2 및 3을 확인하였기 때문에 HPLC로 봉우리 No. 1, 2 및 3을 분취하고 농축하여 단일 봉우리를 가지는 3가지 물질로 분리하였다.

Gingerol 화합물의 동정

분리한 3가지 물질의 분자량 확인을 위하여 LC/MS로 측정한 결과는 Fig 4와 같다. 즉, Fig 4에서 측정한 M $+NH_4^+$의 총 분자량이 각각 312, 340 및 368이므로 gingerol M의 분자량은 각각 294, 322 및 350으로서 기존

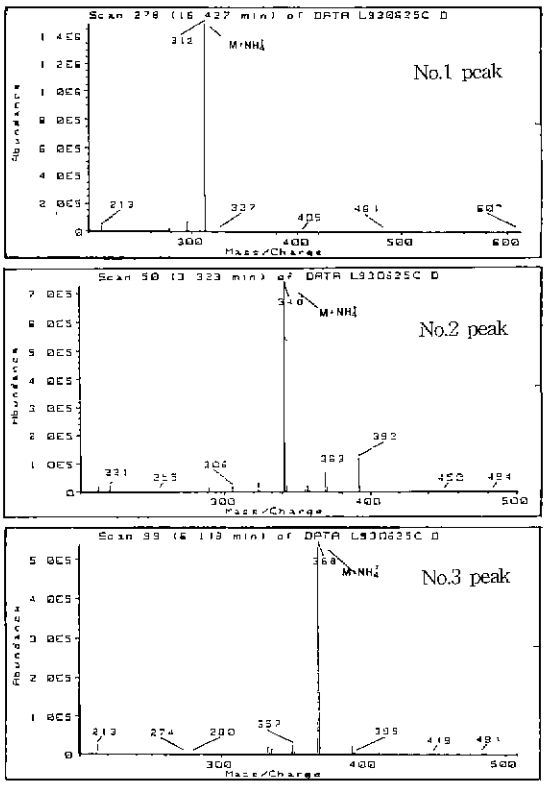

Fig. 4. Liquid chromatogram/mass spectra of No.1, 2 and 3 peaks in Fig. 2.

문헌상에 나타난 gingerol의 분자량(12,18)과 비교하여 볼 때 봉우리 No. 1, 2 및 3은 각각 [6]-gingerol, [8]-gingerol 및 [10]-gingerol로 잠정 추정할 수 있었다.

또한 분리한 3가지 물질의 구조확인을 위하여 proton NMR로 측정한 결과는 Fig. 5와 같다. 즉, 0.87~0.88 ppm에서 $-CH_3$기, 1.26~1.33 ppm에서 $-(CH_2)_n-$기, 2.54~2.55 ppm에서 $-CH_2-$기, 2.77~2.78 ppm에서 $-CH_2COCH_2$ 기, 3.46~3.47 ppm 에서 -CHOH-기, 3.86 ppm에서 $-OCH_3$기와 6.59~7.20 ppm에서의 페놀기를 가지는 gingerol이 각각 검출되었다. Gingerol 중에서도 3가지 gingerol의 구분이 되는 1.26~1.33 ppm에서의 methylene기의 수소원자수를 측정하는 것이 중요한데, 0.87~0.88 ppm의 $-CH_3$기를 기준으로 수소 수를 측정하면, No. 1에서 methylene기의 수소 수는 8개이므로 n값은 4가 되어 [6]-gingerol이 되고, No. 2 및 No. 3의 n값은 각각 12개, 16개가 되어 [8]-gingerol 및 [10]-gingerol로 추정할 수 있었다.

따라서, LC/MS 및 proton NMR 스펙트럼 분석의 결과로 볼 때, Fig. 2 봉우리 상에 나타낸 No. 1, 2 및 3의 물질은 [6]-gingerol, [8]-gingerol 및 [10]-gingerol로 확인되었다. 기존의 GC/MS 및 proton NMR 스펙트럼으로 분석한 경우는 명확한 단일 봉우리들을 얻을 수 없는

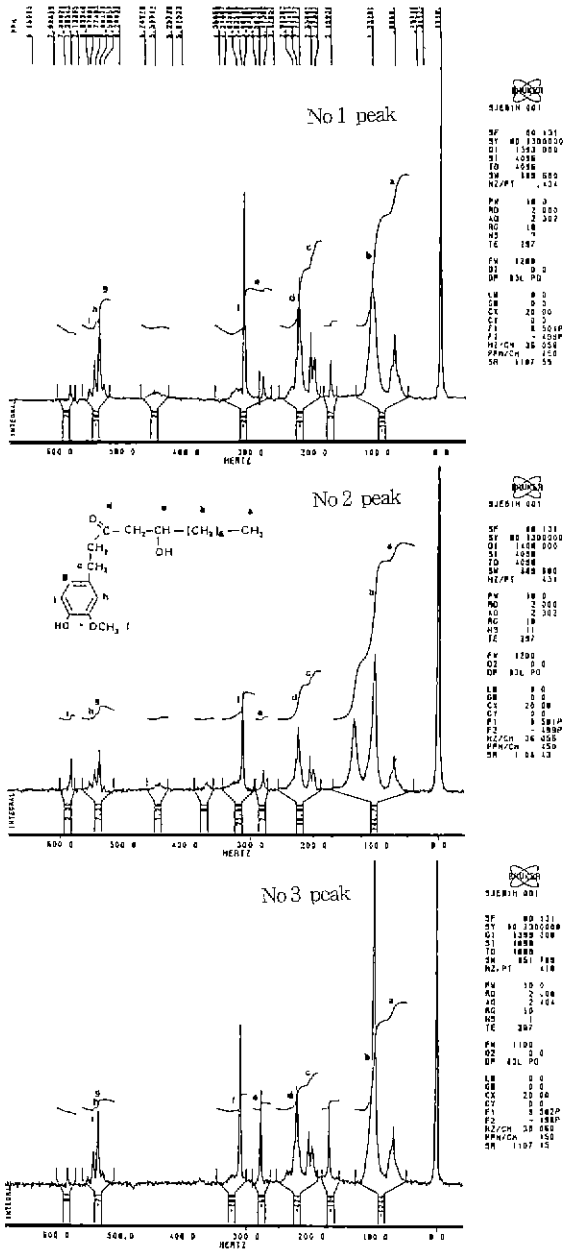

Fig. 5. ^{1}H NMR spectra of No.1, 2 and 3 peaks in Fig. 2. a, 0.88 ppm (t,3H); b, 1.33 ppm (s, 8H in No.1, 11 in No 2 and 16H in No 3); c, 2.55 ppm (t,2h); d, 2.77 ppm (m.4H); e, 3.47 ppm (bs,1H), f, 3.86 ppm (s,3H), g, 6.68 ppm (d.1H); h, 6.77 ppm (s.1H); i, 6.93 ppm (d,1H). Abbreviations : s, singlet; d, doublet, t, triplet, m, multiplet; bs, broad singlet

것으로 보고되었으나(11,12), 본 LC/MS에 의한 방법은 gingerol 3가지 동족체만을 명확하게 얻을 수 있었다 이와 같은 결과는 LC/MS 방법은 GC/MS 방법에 비하여 고열을 적게 받았기 때문이라 추정되었다

Table 1. Gingerol contents in raw ginger and its paste
(Unit : mg%/dry basis)

Gingerol content	Gingerol product	
	Raw ginger	Ginger paste
[6]-gingerol	635.3	418.2
[8]-gingerol	206.6	142.6
[10]-gingerol	145.7	103.3
Total gingerol	987.6	663.7

Gingerol 함량

위에서 분리 동정한 3가지 gingerol을 표준물질로 하여 원료 생강 및 생강 페이스트 중의 gingerol 함량을 시료 건물 당 함량으로 환산하여 나타낸 결과는 Table 1과 같다. 즉, 원료 생강 및 생강 페이스트 중의 총 gingerol 함량은 각각 987.6 mg% 및 663.7 mg%로서, 착즙, 농축하여 가공한 생강 페이스트 중의 gingerol 함량은 원료 생강의 67% 수준에 달하였다 또한 원료 생강 및 생강 페이스트 중의 구성 gingerol인 [6]-, [8]- 및 [10]-gingerol의 함량은 각각 635.3 mg%, 206.6 mg%, 145.7 mg%와 418.2 mg%, 142.6 mg%, 103.3 mg%였고, 그 함량 비는 각각 4.4 : 1.4 : 1.0과 4.1 : 1.4 : 1.0이었다.

Chen 등(13)은 GC/MS를 사용한 대만산 생강에서 총 gingerol 함량은 건물 기준으로 1,100~1,560 mg%이였고, [6]-, [8]- 및 [10]-gingerol 함량 비는 5.3 : 0.7 : 1.0이라고 보고한 바가 있는데 이는 본 연구 결과와는 다소 상이한 경향을 보였다. 국내에서는 Lee와 Ahn(20)이 UV, IR 및 NMR을 사용한 생강의 항산화연구에서 [6]- 및 [10]-gingerol을 분리, 동정하여 국내산 생강에는 2종류의 gingerol 성분이 존재한다고 보고한 바 있다.

이와 같은 결과의 차이는 원료 생강의 품종, 재배지역(15,20,21), 분석방법(11,13,20,21)의 차이에 기인한다고 생각된다. 뿐만 아니라 본 연구에서는 생강 착즙액으로부터 gingerol을 추출하였기에 원료 생강에서 gingerol이 완전히 추출되지 않았기 때문이라 생각되었다.

요 약

본 연구에서는 생강의 매운맛의 주요성분인 gingerol 화합물의 분석방법을 개선할 목적으로, 원료 생강을 아세톤으로 추출한 후, 그 추출물을 TLC 및 LiChrosorb RP-18 column으로 장착된 HPLC를 사용하여 3가지 gingerol 동족체 화합물을 분리하였고, LC/MS 및 NMR로 확인한 결과 생강의 동족체 화합물은 [6]-, [8]-, [10]-gingerol로 확인되었다 본 방법으로 추출한 gingerol 표준품을 사용하여 시판 원료생강 및 생강 페이스트 중의 gingerol 함량을 측정한 결과, 전자의 경우 [6]-, [8]-, [10]-gingerol 함량은 635.3 mg%, 206.6 mg%, 145.7 mg%

이었고, 후자의 경우는 418.2 mg%, 142.6 mg%, 103.3 mg%로 각각 구성되어 있었다.

문 헌

1. Connell, D W The pungent principles of ginger and their importance in certain ginger products. *Food Technol. Austral.*, **21**, 570-579 (1969)
2. Lewis, Y.S., Mathew, A.G., Nambudiri, E.S and Krishnamurthy, N : Oleoresin ginger. *Flavour Ind.*, **3**, 78-81 (1972)
3. 농림수산부 · 농림통계년보. p.105 (1999)
4. 武政三男 : スパイス百科事典 三琇書房, 東京, p.183 (1981)
5. Anon ' Flavour and colours for confectionery, biscuits and ice cream *Confectionery Production*, **52**, 361-376 (1986)
6. 東醫寶鑑國譯委員會 : 增補國譯 東醫寶鑑 南山堂. p.1166 (1988)
7. Mathew, A G., Krishnamurthy, N., Nambudiri, E.S. and Lewis, Y S Oil of ginger. *Flavour Ind.*, **4**, 226-232 (1973)
8. Lee, Y B., Kim, Y S. and Ashmore, C R Antioxidant property in ginger rhizome and its application to meat products. *J. Food Sci.*, **51**, 20-27 (1986)
9. Thresh, J C. · Proximate analysis of the rhizome (dried and decorticated) of *Zingiber officinale*, and comparative examination of typical specimens of commercial gingers. Part I ' Proximate analysis of rhizome of *Z. officinale*. *Pharm. J.*, **10**, 171-175 (1879)
10. Nomura, H ' The pungent principles of ginger Part II. A new pungent principle, shogaol, occurring in ginger *Sci. Rep. Tohaku Imp Univ.*, **7**, 67-76 (1918)
11. Connell, D.W and Sutherland, M D : A re-examination of gingerol, shogaol, and zingerone, the pungent principles of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Austral. J Chem.*, **22**, 1033-1043 (1969)
12. Chen, C C. and Ho, C T. ' Chromatographic analyses of isomeric shogaol compounds derived from isolated gingerol compounds of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *J Chromatogr*, **360**, 175-184 (1986)
13. Chen, C C , Kuo, M C. and Ho, C.T : High performance liquid chromatographic determination of pungent gingerol compounds of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *J. Food Sci.*, **51**, 1364-1365 (1986)
14. Clark, J., Dewan, R , Locksley, H D. and Maynard, R : Pungent compounds. II. Detection and identification of paradols (alkyl 4-hydroxy-3-methoxyphen-ylketones) by combined gas chromatography-mass specrometry. *J. Chromatography*, **134**, 315-321 (1977)
15. Connell, D.W ' The chemistry of the essential oil and oleoresin of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) *Flavour Ind.*, 1, 677-680 (1970)
16. Baranowski, J.D. : High performance liquid chromatographic separation of pungency components of ginger. *J. Chromatography*, **319**, 471-474 (1985)
17. Thompson, E.H., Wolf, I.D and Allen, C.E. : Ginger rhizome - A new source of proteolytic enzyme. *J. Food Sci.*, **38**, 652-655 (1973)
18. Connell, D.W. · Natural pungent compounds. III. The paradols and associated compounds. *Aust J Chem.*, **23**, 369-376 (1970)
19. Chen, C.C., Kuo, M.C., Wu, C.N and Ho, C.T. ' Pungent compounds of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extracted by liquid carbon dioxide. *J. Agric. Food Chem.*, **34**, 477-480 (1986)
20. Lee, I.K. and Ahn, S.Y · The antioxidant activity of gingerol *Korean J Food Sci. Technol.*, **17**, 55-58 (1985)
21. Baranowski, J.D. ' Storage stability of a processed ginger paste. *J. Food Sci.*, **50**, 932-933 (1985)

(2000년 1월 24일 접수)