

## SPME법을 이용한 전통 향료 유전자원 산초 및 초피의 정유성분 분석

조민구\*·채영암\*·송지숙\*\*

\*서울대학교 식물생산과학부, \*\* (주)유니젠

### Volatile Components Analysis using SPME in Traditional Aromatic Plant Resources, *Zanthoxylum schinifolium* Siebold et Zucc. and *Z. piperitum* DC.

Min Gu Cho\* Young Am Chae\* and Ji Sook Song\*\*

\*School of Plant Science, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

\*\*UnigGen Company, Institute of Biotechnology

**ABSTRACT :** This study was carried out to select proper SPME fiber for volatile component analysis in *Zanthoxylum schinifolium* and *Z. piperitum*. PDMS, PDMS/DVB and CAR/PDMS were better for single standard absorption analysis. PDMS and PDMS/DVB showed similar results in comparison between direct injection and the mixture of 24 single standards as well as the mixture of 10 single standards. PDMS and PDMS/DVB were not different each other in absorption patterns between direct injection and headspace SPME regardless of split ratio of GC injection port. However PDMS/DVB rather than PDMS was effective in absorbing the sesquiterpenes within 30-40 minutes as using the SDE extracts from *Z. schinifolium* and *Z. piperitum*.

**Key word :** *Zanthoxylum schinifolium*, *Zanthoxylum piperitum*, Headspace SPME (Solid Phase Microextraction), SPME fibers, Absorption

## 서 언

최근 국내에서 이용하고 있는 SPME(Solid Phase Microextraction)법은 이미 국외에서는 식물기름에 있는 버터향(Yang & Peppard, 1994), 사과향(Adam et al., 1996), 과일음료의 향(Penton, 1996), 호프 정유성분(Field et al., 1996), 멘톨 향(Coleman &

Sheri, 1998) 등의 분석에 이용되어 왔다.

SPME법이 전처리없이 향기성분을 포집, 분석이 가능하다는 이점을 이용하여 국내에서 양파즙(Kee & Park, 1999), 등굴레차(Park et al., 2000), 감식초(Seo et al., 2001) 등의 향기성분 분석과 식품포장제의 잔류용제 분석(Seo et al., 1999), 홍삼원산지 판별(Lee, 2001)에 이용되었다. 그러나 국내에서 발표

† Corresponding author : yachae@plaza.snu.ac.kr  
Received May 28, 2001

된 논문은 분석시료에 적합한 극성, 비극성 SPME fiber의 선별을 무시한채 임의로 선별해 이용하고 있었다. 본 연구에서는 산초와 초피나무의 개체별 정유성분을 간편하고 효과적으로 분석할 수 있는 SPME fiber를 선별하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

Supelco사를 통해서 제공되고 있는 GC용 SPME fiber는 PDMS(Polydimethylsiloxane-film thickness 100  $\mu\text{m}$ ), Polyacrylate (85  $\mu\text{m}$ ) PDMS/DVB (Polydimethylsiloxane/Divinylbenzene-65  $\mu\text{m}$ ), CAR/PDMS (Carboxen/Polydimethylsiloxane-75  $\mu\text{m}$ ), CW/DVB (Carbowax/Divinylbenzene-65  $\mu\text{m}$ ) 가 있으며, SPME fiber의 흡착을 실험을 위해서 기존에 산초와 초피나무에서 검출된 정유성분에 해당되는 24종의 단일물질 표준품 및 조계산 산초, 초피나무 잎의 SDE (Simultaneous steam distillation & extraction) 추출물을 이용하였다.

### 2. 사용기기 및 조건

휘발성 정유성분 분석용 GC는 FID가 부착된 HP6890을 이용하였으며, 사용한 column은 HP-5MS(30m, 0.25mm, 0.25  $\mu\text{m}$ )이었다. 온도는 70 $^{\circ}\text{C}$ 에서 5분간 유지하고 분당 7분씩 250 $^{\circ}\text{C}$ 까지 승온시킨후 3분간 유지하였다. Injector와 detector온도는 각각 250 $^{\circ}\text{C}$ , 270 $^{\circ}\text{C}$ 이며, 운반기체는 He을 사용하였고, 유속은 1.0ml/min이었다. 정유성분 동정용 GC/MSD는 HP6890/HP5973이었으며, 사용한 column은 DB-5MS(60m, 0.25mm, 0.25  $\mu\text{m}$ ), 온도 및 Injector 온도는 GC와 동일하며, 유속은 0.8ml/min이었다. 시료의 이온화는 electron impact ionization (EI) mode이었으며, Wiley 275 및 NIST 75의 Library를 이용해 동정하였다.

### 3. SPME fiber 선별

화합물별 단일물질 표준품 1종씩을 22ml

Headspace vial병에 2 $\mu\text{l}$ 씩 담고 GC 주입구에서 약 5분간 활성화시킨 SPME fiber로 휘산되는 향기성분을 흡착시킨후 단일물질별 SPME fiber의 흡착량을 비교하였다. 한편 단일물질 10종을 혼합해서 22ml Headspace vial병에 2 $\mu\text{l}$ 씩 담고 GC 주입구에서 약 5분간 활성화시킨 SPME fiber로 휘산되는 향기성분을 흡착시킨 후 SPME fiber별로 혼합액의 흡착량을 비교하고 이것과 0.2 $\mu\text{l}$ 씩 단일물질 혼합액을 직접주입했을 때와 가장 유사한 SPME fiber를 선별하고자 하였다. 그리고 PDMS, PDMS/DVB를 이용해 24종의 혼합액 흡착시와 직접주입시를 비교 분석하였다.

### 4. GC 주입구의 split ratio와 흡착시간에 따른 비교

GC 주입구의 split ratio가 물질별 검출량에 영향을 주는지 알아보기 위하여 split ratio를 100 : 1, 200 : 1, 300 : 1로 하여 분석하였다. 그리고 흡착시간이 흡착량에 영향을 주는지 알아보기 위하여 흡착시간을 10분, 20분, 30분, 40분, 60분, 120분으로 하고 GC와 GC/MSD를 이용해 분석하였다.

### 5. SDE추출물을 이용한 분석

앞의 SPME fiber 선별 실험은 산초와 초피나무의 개체별 정유성분 분석을 위한 것이었으므로 SDE 추출물을 이용하여 정유성분 분석이 가능한지를 알아보기 위하여 최종 선별된 2종의 SPME fiber를 흡착시와 직접주입시를 비교하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. SPME fiber 선별

그림 1에서 보면 ketone류인 1, 8-cineole, 2-undecanone과 alcohol류인 isopulegol, cis-3-hexenol, (R) - (+) -  $\beta$ -citronellol, linalool에서는 PDMS/DVB fiber가, acetate류인 geranyl acetate에서는 CAR/PDMS fiber가 뛰어난 흡착율을 나타내었다. Hydrocarbon류와 aldehyde류를 포함한 단일 물질 표

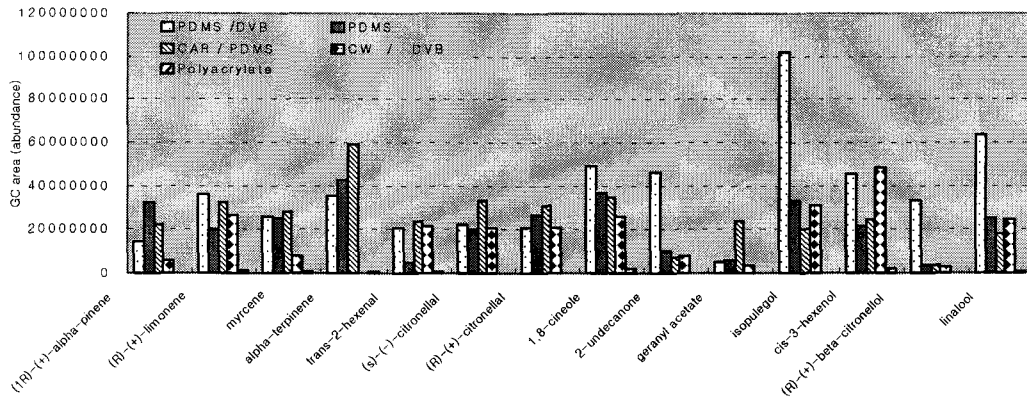
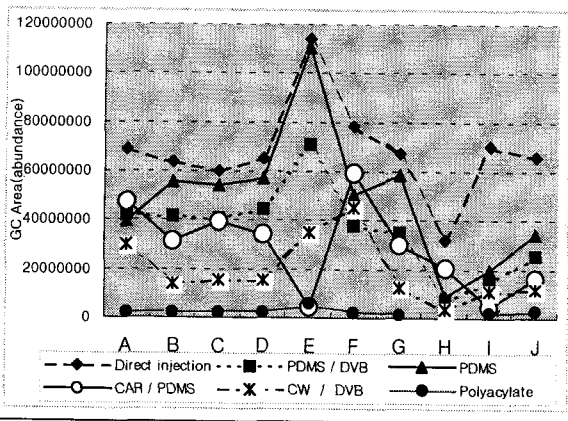


Fig. 1. Comparison of single standard compound absorption rate by the SPME fibers.

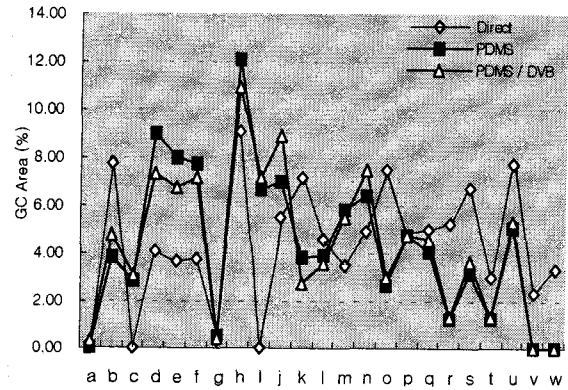
준품에서는 대체적으로 PDMS/DVB, PDMS, CAR/PDMS의 세가지 물질로 코팅된 fiber의 흡착율이 좋았다. 10종의 단일물질 표준품을 섞어서 SPME fiber별로 흡착율을 실험한 결과(그림 2), PDMS/DVB와 PDMS fiber는 직접주입시와 유사한 양상을 나타내었다. 특히 PDMS/DVB의 경우에는 (1S)-(-)- $\alpha$ -pinene, trans-2-hexenal에서 PDMS보다 더 유사한 흡착율을 보였다. 그러나 이 두 종류의 SPME fiber 중 어느 것이 더 흡착율이 뛰어난지 알아보기 위해서 산초, 초피 나무에서 그동안 향기성분으로

보고된 성분들 중 24종의 단일물질 표준품을 혼합하여 실험한 결과 두 SPME fiber간에는 차이가 없었다(그림 3). 그리고 직접주입시에는  $\beta$ -pinene, nonanal 성분이 검출되지 않았으나 SPME fiber로 분석했을 경우에는 이들 성분을 검출할 수 있었다.



A: (1S)-(-)- $\alpha$ -pinene B:  $\beta$ -pinene C: myrcene  
 D:  $\alpha$ -terpinene E: (+)-limonene F: (-)-limonene  
 G: trans-2-hexenal H: linalool I: geranyl acetate  
 J:  $\beta$ -caryophyllene

Fig. 2. Comparison of absorption between SPME and direct injection in the mixture of 10 standards.



a: cis-3-hexenol b:  $\alpha$ -pinene c:  $\beta$ -pinene d: myrcene  
 e: limonene f: 1,8-cineole g: linalool oxide h: methyl benzoate  
 i: nonanal j: citronellal k: menthone l: estragole m: (R)-(+)- $\beta$ -citronellol n: pulegone o: (+)-carvone p: citronellyl acetate  
 q: neryl acetate r: eugenol s: geranyl acetate t:  $\alpha$ -ionone  
 u: trans-caryophyllene v: cis-nerolidol w: trans-nerolidol

Fig. 3. Comparison of absorption between SPME and direct injection in the mixture of 24 standards.

GC 주입구의 split ratio와 흡착시간에 따른 비교

SPME fiber에 흡착된 성분이 GC 주입구의 split ratio에 따라 검출되는 양상이 달라지는를 알고자 split ratio별로 실험한 결과(그림 4-1, 4-2, 4-3) 특별

SPME법을 이용한 전통 향료 유전자원 산초 및 초피의 정유성분 분석

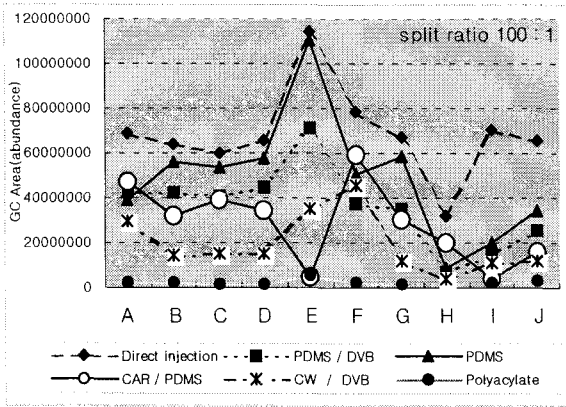


Fig. 4-1. Absorption pattern in split ratio of 100 : 1 at port of GC injector.

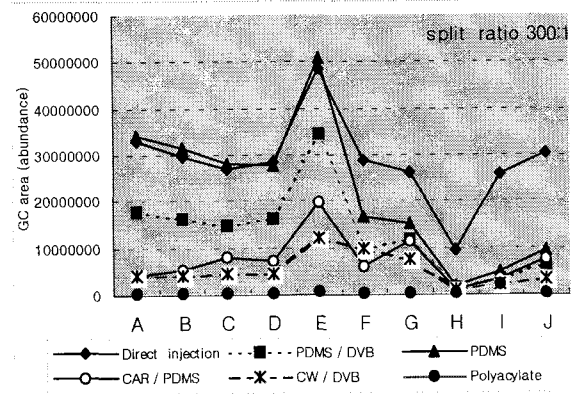


Fig. 4-3. Absorption pattern in split ratio of 300 : 1 at port of GC injector.

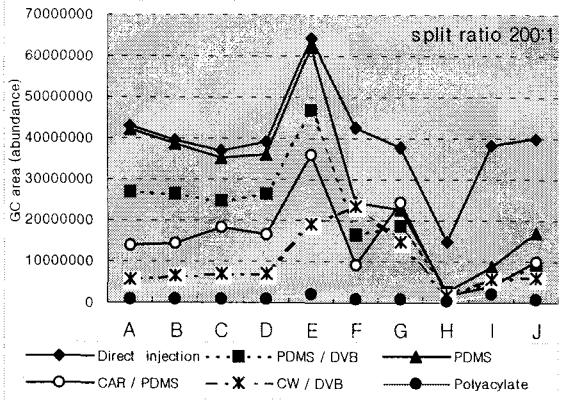


Fig. 4-2. Absorption pattern in split ratio of 200 : 1 at port of GC injector.

한 차이를 보이진 않았지만, split ratio를 200 : 1, 300 : 1로 높였을 경우 분자량이 큰 hydrocarbon류들의 검출이 어려웠다. 따라서 GC 주입구의 split ratio는 100 : 1 이하로 하는 것이 적절하다고 판단되었다.

SPME fiber가 nerolidol과 같이 분자량이 큰 성분까지 흡착할 수 있는 시간을 알아보기 위하여 흡착 시간별로 PDMS, PDMS/DVB SPME fiber를 비교한 결과(그림 5), PDMS와 PDMS/DVB는 모두 비슷한 양상을 나타내었다. 흡착시간이 길어질수록 분자량이 큰 성분의 흡착율이 좋아지는 경향을 보였지만, 전체적으로 보아 흡착시간은 30-40분이 두 fiber에 모두 적당한 것으로 생각되었다.

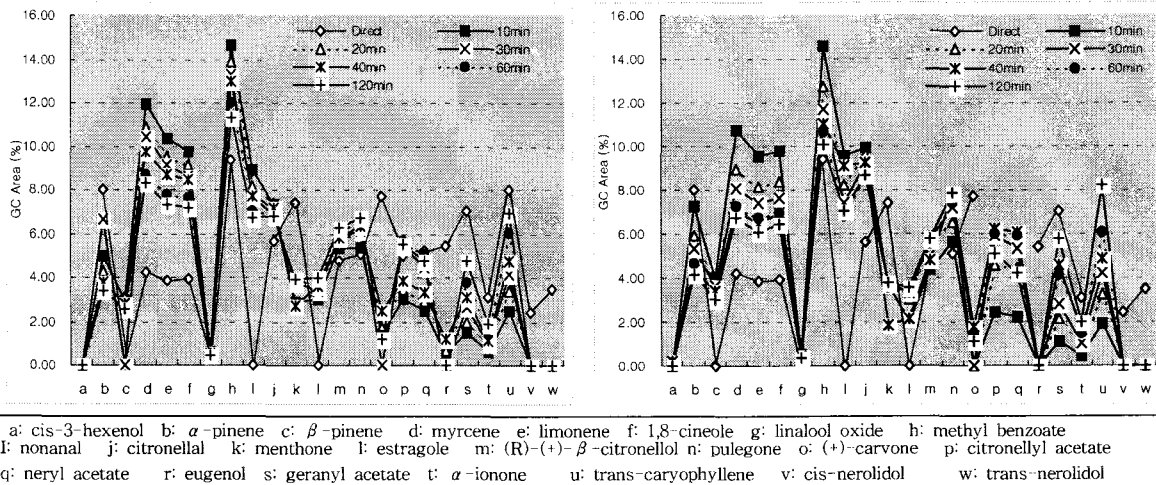


Fig. 5. Absorption patterns at different absorption times by PDMS(left) and PDMS/DVB(right).

3. SDE 추출물을 이용한 분석

조계산 산초 SDE 추출물을 이용한 분석에서 주요 성분인  $\alpha$ -pinene, limonene+ $\beta$ -phellandrene에서

는 PDMS와 PDMS/DVB가 비슷하였으나 citronellal의 흡착량에서는 많은 차이가 나타났다 (표 1). 그러므로 산초의 분석에는 PDMS보다

Table 1. Volatile components of SDE extracts by direct injection and SPME.

| Volatile Components        | <i>Z. schinifolium</i> |        |                  | <i>Z. piperitum</i> |        |                  |
|----------------------------|------------------------|--------|------------------|---------------------|--------|------------------|
|                            | Direct                 | PDMS   | DVB <sup>†</sup> | Direct              | PDMS   | DVB <sup>†</sup> |
| (E)-2-hexenal              | 6.410                  | 2.661  | 4.432            | 2.401               | 3.109  | 4.104            |
| $\alpha$ -pinene           | 34.494                 | 12.587 | 12.544           | 12.107              | 15.394 | 12.423           |
| camphene                   | 0.000                  | 0.212  | 0.000            | 0.199               | 0.372  | 0.247            |
| sabinene                   | 0.000                  | 0.604  | 0.508            | 1.165               | 3.634  | 2.323            |
| $\beta$ -pinene+myrcene    | 7.268                  | 8.841  | 9.011            | 9.060               | 14.342 | 11.174           |
| $\alpha$ -phellandrene     | 0.000                  | 0.590  | 0.924            | 0.213               | 0.908  | 1.247            |
| limonene+                  |                        |        |                  |                     |        |                  |
| $\beta$ -phellandrene      | 38.908                 | 20.766 | 21.743           | 25.239              | 0.000  | 27.116           |
| (E)- $\beta$ -ocimene      | 2.386                  | 5.242  | 5.887            | 2.159               | 5.550  | 4.400            |
| (Z)-sabinene hydrate       |                        |        |                  | 0.000               | 0.452  | 0.325            |
| terpinolene                | 0.000                  | 1.241  | 1.263            | 0.948               | 3.785  | 2.633            |
| linalool L                 | 0.000                  | 1.792  | 2.381            | 1.876               | 4.340  | 3.220            |
| stereoisomer,              |                        |        |                  |                     |        |                  |
| p-menth-2-en-1-ol          | 0.000                  | 0.518  | 0.528            |                     |        |                  |
| 1-terpineol                | 0.000                  | 0.529  | 0.582            | 0.000               | 0.632  | 0.422            |
| citronellal                | 9.001                  | 20.282 | 2.336            | 12.159              | 21.481 | 15.290           |
| isopulegol                 | 0.000                  | 0.234  | 0.230            | 0.000               | 0.294  | 0.000            |
| 1,8-menthadien-4-ol        | 0.000                  | 0.000  | 0.429            | 0.265               | 0.890  | 0.809            |
| terpinen-4-ol              | 0.000                  | 0.730  | 0.613            |                     |        |                  |
| cryptone                   | 0.000                  | 0.958  | 1.295            | 0.887               | 1.560  | 0.999            |
| azulene+                   |                        |        |                  |                     |        |                  |
| $\alpha$ -terpineol        | 0.000                  | 2.241  | 5.653            | 0.000               | 0.284  | 0.000            |
| citronellol                | 0.000                  | 0.113  | 0.165            | 0.000               | 0.241  | 0.111            |
| neral                      | 0.000                  | 0.900  | 1.317            | 0.331               | 0.881  | 0.565            |
| linalyl acetate            | 0.000                  | 0.089  | 0.164            | 0.497               | 1.159  | 0.755            |
| geranial                   | 0.000                  | 0.119  | 0.142            |                     |        |                  |
| 2-undecanone               | 0.000                  | 2.473  | 3.666            | 0.464               | 0.998  | 0.518            |
| citronellyl acetate        | 1.533                  | 8.217  | 11.968           | 3.494               | 5.297  | 2.827            |
| $\alpha$ -terpinyl acetate | 0.000                  | 0.676  | 1.403            | 4.967               | 5.314  | 3.031            |
| geranyl acetate            | 0.000                  | 6.007  | 7.934            | 3.415               | 6.060  | 3.484            |
| trans- $\beta$ -           |                        |        |                  |                     |        |                  |
| caryophyllene              | 0.000                  | 0.619  | 1.011            | 0.463               | 0.610  | 0.329            |
| $\alpha$ -humulene         | 0.000                  | 0.138  | 0.271            | 0.314               | 0.000  | 0.000            |
| germacrene-d               | 0.000                  | 0.219  | 0.450            | 1.990               | 0.226  | 0.000            |
| BHT                        |                        |        |                  | 0.872               | 0.000  | 0.000            |
| nerolidol                  |                        |        |                  | 5.390               | 0.000  | 0.127            |
| micellous components       | 0.000                  | 0.000  | 0.000            | 6.980               | 0.000  | 0.000            |
| unknown components         | 0.000                  | 0.401  | 1.153            | 2.147               | 2.188  | 1.521            |

<sup>†</sup>DVB=PDMS/DVB(Polydimethylsiloxane)

PDMS/DVB가 미소한 차이나마 분자량이 큰 sesquiterpene류까지 흡착하는데 유리하였으므로, 개체 정유성분 분석에는 PDMS/DVB SPME fiber가 적합할 것으로 생각된다. 초피 SDE 추출물 분석에서 PDMS가 주요성분인 limonene+beta-phellandrene를 흡착하지 못하는 경우가 있어 PDMS fiber는 초피의 개체 성분 분석에 적합하지 않다고 본다.

## 사 사

이 논문은 1999년도 학술진흥재단 연구비에 의하여 수행되었다(KRF-99-3024).

## 적 요

간편하고 효과적인 정유성분 분석을 위해 SPME fiber를 선별하고 산초와 초피의 개체 정유성분 분석에 적합한 SPME fiber를 찾고자 실험한 결과는 다음과 같다. 단일물질별 흡착율은 PDMS, PDMS/DVB, CAR/PDMS 가 우수했다. 10종의 단일물질 표준품 혼합액 흡착 실험에서 직접주입 했을때와 가장 유사한 결과를 보인 것은 PDMS, PDMS/DVB fiber 이었다. 최종 선발된 PDMS와 PDMS/DVB를 이용하여 24종의 단일물질 표준품 혼합액 흡착과 직접주입시를 비교한 결과 이들 간에 차이가 없었다. 또한 GC 주입구의 split ratio별 성분의 검출에서도 차이가 없었다. 흡착시간이 길어질수록 분자량이 큰 성분의 흡착율이 높아지는 경향을 보였지만, 직접주입시와 비교해 볼 때 적절한 흡착시간은 30-40분이었다. SDE 추출물을 이용한 산초와 초피나무 개체 정유성분 분석에는 산초와 초피 모두 PDMS/DVB가 흡착시간 30-40분에서 분자량이 큰 sesquiterpene류까지 흡착하는데 유리하였다.

## LITERATURE CITED

- Adam J. M., D. R. Daryl and H. B. Nigel. 1996. Solid Phase Microextraction for Quantitative Headspace Sampling of Apple Volatiles. Anal. Chem. 68 : 4114-4118
- Coleman W. M. III and N. L. Sheri. 1998. Solid-Phase Microextraction -Gas Chromatographic-Mass Selective Detection Analysis of Selected Sources of Menthol. J. Chromatographic Science. 36 : 401-405
- Field, J. A., G. Nickerson, D. D. James and C. Heider. 1996. Determination of essential oils in hops by headspace solid-phase microextraction. J. Agric. Food Chem. 44 : 1768-1772
- Kee, H. J. and Y. K. Park. 1999. Effect of seaweeds and adsorbents on volatile flavor components of onion juice. Korean J. Food Sci. Technol. 31(6) : 1477-1483
- Lee, S. K. 2001. Sensory and Chemical analyses of characteristics aromas of ginseng and development of an electronic nose method for the discrimination of red ginseng origin. Graduate School of Seoul National University, Department of Agricultural Chemistry
- Park, N. Y., J. H. Seo, Y. H. Kim and J. H. Kwon. 2000. Comparison of flavor compounds in steamed and nonsteamed-roasted *Polygonatum odoratum* roots by solid-phase microextraction. Korean J. Food Sci. Technol. 32(3) : 507-512
- Penton, Z. 1996. Flavor Volatiles in a fruit beverage with automated SPME. Food Test. Anal. June : 16-18
- Seo, J. H., N. Y. Park and Y. J. Jeong. 2001. Volatile components in persimmon vinegars by solid-phase microextraction. Korean J. Food Sci. Technol. 33(1) : 153-156
- Seo, T. K., S. H. Park, Y. S. Lee, J. H. Kim and I. B. Kwon. 1999. Analysis of residual solvents in food packaging materials using solid phase microextraction method. Korean J. Food Hygiene 14(1) : 76-83
- Yang, X. and T. Peppard. 1994. Microextraction for Flavor Analysis. J. Agric. Food Chem. 42 : 1925-1930