

SPME에 의한 소엽의 향기성분 분석

이미순 · 정미숙*

덕성여자대학교 식품영양학과, 덕성여자대학교 교양학부*
(2003년 1월 2일 접수)

Analysis of Volatile Compounds in *Perilla frutescens* var. *acuta* by Solid Phase Microextraction

Mie-Soon Lee and Mi-Sook Chung*

Department of Food and Nutrition, Duksung Women's University
Department of General Education, Duksung Women's University*

(Received January 2, 2003)

Abstract

This study was conducted to find the appropriate fiber for extraction of volatile compounds from *Perilla frutescens* var. *acuta*. by solid phase microextraction (SPME). Two SPME fiber, carboxen/polydimethylsiloxane (CAR/PDMS) and polydimethylsiloxane (PDMS) were used to determine the selectivity of the fibers to the different flavor compounds present in the *Perilla frutescens* var. *acuta*. Thirty-nine compounds were identified in the volatile compounds extracted by CAR/PDMS fiber, including 6 aldehyde, 1 alcohol, 10 hydrocarbons, 17 terpene hydrocarbons, 2 ketones and 3 benzenes. In PDMS fiber, 3 aldehydes, 2 alcohols, 13 terpene hydrocarbons and 2 miscellaneous were identified. Perillaldehyde was found to be major volatile flavor component of fresh *Perilla frutescens* var. *acuta*. Perillaldehyde and terpene hydrocarbons were more identified in PDMS fiber. These results suggested that the selectivity of PDMS fiber was better than that of CAR/PDMS fiber in *Perilla frutescens* var. *acuta*.

Key Words : *Perilla frutescens* var. *acuta*, volatile compound, SPME

I. 서론

꿀풀과에 속하는 일년생 초본인 소엽(*Perilla frutescens* var. *acuta*)은 방향성 식용 식물이다. 소엽의 잎은 소엽(蘇葉), 차조기 또는 차즈기라고도 부르며, 종자는 소자(蘇子)라고 하며 약재로 사용된다. 한방에서는 소엽을 자소(紫蘇), 계임(桂荇), 수소(水蘇), 향소(香蘇) 및 적소(赤蘇)로도 부르며, 잎과 종자를 발한, 지혈, 해열, 유방염, 진통, 진정, 계의 증독 및 치질 등의 약재로 사용하고 있다¹⁻⁴⁾.

또한 소엽은 식품으로서의 유용한 작용을 가지고 있는 우수한 방향성 식용식물이다. 일반적으로 방향성 식용 식물은 식품에 좋은 향기를 내기 위하여 첨가하거나, 식품의 좋지 못한 냄새를 제거할 목적으로 뿐만 아니라 식품의 착색을 위하여 첨가하고 있다⁵⁾. 우리나라의 고유식물인 소엽은 독특한 향기를 지니고 있어 고기 및 생선요리의 향신료로 이용되어 왔으며, 튀김, 장아찌, 술 및 식품의 천연착색제로도 사용되고 있다.

소엽의 향기 성분에 관련된 연구는 다음과 같다. 소엽의 정유를 SDE방법으로 추출하였을 때, 자색 소엽

에서 2,3,5,6-tetramethyl-*p*-benzoinone, 4-(1-methyl-ethyl)-benzaldehyde, 7-octen-4-ol, β -caryophyllene 및 linalool이 주요 향기성분으로 확인되었으며, 녹색 소엽에서는 perillaldehyde, limonene, β -caryophyllene 및 linalool이 확인되었다⁶⁾. 이⁷⁾는 신선한 소엽에서 dicarbododecaborane이 가장 많이 확인되었으나 건조한 소엽에는 octahydro-di-methyl azulene의 함량이 가장 높다고 보고하였다. 또한 소엽 정유의 주요 성분인 perillaldehyde의 산화적 분해를 효과적으로 억제하는 항산화제인 trans-*p*-menth-8-en-7-yl caffeate가 소엽에서 분리하였다⁸⁾.

최근 향미 연구에 향기성분 추출에 용매가 사용되지 않고, 추출과정에서 artifact가 생기지 않는 장점을 지닌 solid phase microextraction(SPME)법이 이용되고 있는데, fiber의 stationary phase coating 두께에 의하여 향기성분의 흡착 정도가 달라진다^{9, 10)}. 따라서 SPME fiber의 종류가 향기분석에서 중요하다.

본 연구에서는 신선한 소엽의 향기성분 추출에 적합한 SPME fiber를 선정하기 위하여 carboxen/polydimethylsiloxane(CAR/PDMS)과 polydimethylsiloxane(PDMS)의 2종류 fiber의 향기성분 추출 효율을 비교하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

경기도 광릉 국립수목원에서 자생하고 있는 소엽을 2002년 7월에 채취하여 본 실험의 실험재료로 사용하였다. 소엽을 흐르는 물에서 씻은 후 deodorized distilled water로 헹군 다음, 물기를 제거하여 향기성분 추출에 이용하였다.

2. Solid Phase Microextraction에 의한 휘발성 향기 성분 추출

신선한 소엽 40 g에 deodorized distilled water 20 mL를 넣고 마쇄한 후 slurry 10 g을 취하여 headspace glass vial에 넣고 실리콘/테프론 septum(Supelco)으로 밀봉하였다. Headspace glass vial은 50°C에서 40분간 방치하여 평형상태에 도달시켰으며 dodecanol(Sigma) 2 μ L를 내부 표준물질로 이용하였다. 시료 vial이 평형상태에 도달한 후 SPME fiber를 1cm 노출시켜 40분 동안 휘발성 향기를 추출하였다. Headspace volatiles을 추출하기 위하여 사용된 SPME의 fiber는 100 μ m polydimethylsiloxane

<Table 1> Conditions of GC/MSD for volatile flavor compounds

GC : Agilent 6890I
Column : HP-5MS (30m \times 0.25mm \times 0.25 μ m)
Splitless
Oven temp : 50°C $\xrightarrow{3^\circ\text{C}/\text{min}}$ 280°C
Injector temp : 250°C
MSD : Agilent 5973N
Interface temp : 250°C
Ionization voltage : 70eV
Carrier gas : He (Flow rate : 0.8ml/min)

(PDMS) (Supelco)과 85 μ m carboxen/polydimethylsiloxane (CAR/PDMS) (Supelco)의 2종류이었으며, GC/MS 주입을 위하여 fiber를 200°C injection port에 노출시켜 1분간 탈착 하였다.

3. 향기성분의 GC/MS 분석 및 확인

HP6890 series gas chromatograph/5973 mass selective detector(MSD) (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)를 이용하여 신선한 소엽의 향기성분을 분석하였으며, GC/MS의 분석조건은 <Table 1>과 같다. 향기성분의 확인은 각 성분의 mass spectra와 Wiley 275L mass spectral database(Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)의 mass spectra 비교 및 manual interpretation을 통하여 확인하였다. C₇~C₂₂의 알칸(Aldrich, Milwaukee, USA)을 사용하여 linear retention indices(RI)를 구하였으며, 문헌의 자료¹¹⁾를 통하여 이를 비교하였다. 시료의 각 향기성분의 peak area는 전체 peak area에서 internal standard의 면적을 제외한 향기성분의 면적을 백분율로 환산하여 percentile(%)로 표시하였다.

III. 결과 및 고찰

소엽의 휘발성 향기성분 분석에 적합한 SPME fiber를 선정하기 위하여 CAR/PDMS과 PDMS의 2종류 fiber를 이용하여 향을 추출한 후 GC/MS로 분석하였다(Table 2, 3). CAR/PDMS fiber에 소엽의 향을 흡착시켜 분석한 결과, aldehydes 6종, alcohol 1종, hydrocarbons 10종, terpene hydrocarbons 17종, ketones 2종 및 benzenes 3종의 총 39성분이 확인되었다. 또한 PDMS fiber를 이용하였을 때는 aldehydes 3종, alcohols 2종, terpene hydrocarbons 13종 및 miscellaneous 2종의 전체 20가지의 향기성분이 확인되었다.

<Table 2> Volatile flavor compounds in fresh *Perilla frutescens* var. *acuta* extracted by SPME

Compounds	RI ^{a)}	Peak area (%)		ID ^{d)}
		CAR/PDMS ^{b)}	PDMS ^{c)}	
Aldehydes				
trans-2-hexenal	832	0.75	0.06	MS, RI
trans-,trans-2,4-hexadienal	891	0.43	-	MS, RI
benzaldehyde	938	11.19	0.40	MS, RI
4-(1-methyl-ethyl)-benzaldehyde	1242	0.32	-	MS
perillaldehyde	1275	31.08	40.50	MS
4-isopropenyl-benzaldehyde	1294	0.76	-	MS
Alcohols				
linalool	1086	-	0.15	MS, RI
1-dodecanol	1470	I.S ^{e)}	I.S.	MS, RI
nerolidol	1549	-	0.11	MS, RI
hexestrol	1598	0.87	-	MS
Hydrocarbons				
nonane	900	1.52	-	MS
propyl-cyclohexane	930	0.09	-	MS
cyclohexane	981	0.10	-	MS
n-decane	1000	3.59	-	MS
2-methyl-decane	1061	0.39	-	MS
undecane	1100	3.77	-	MS
dodecane	1200	1.10	-	MS
2,6-dimethyl-heptadecane	1216	0.11	-	MS
n-tetradecane	1400	0.11	-	MS
heptadecane	1699	0.03	-	MS
Terpene hydrocarbons				
α -pinene	942	0.43	1.36	MS, RI
camphene	953	-	0.04	MS, RI
sabinene	975	0.54	0.25	MS, RI
β -pinene	979	-	1.23	MS, RI
myrcene	987	-	0.32	MS, RI
p-cymene	1023	0.11	-	MS, RI
limonene	1032	9.96	27.32	MS, RI
cis-ocimene	1043	0.23	-	MS, RI
terpinolene	1078	0.19	0.10	MS, RI
α -cubebene	1362	0.01	-	MS, RI
α -copaene	1374	0.12	0.19	MS, RI
β -bourbonene	1383	0.07	-	MS, RI
β -cubebene	1388	0.03	-	MS, RI
β -elemene	1390	0.14	0.16	MS, RI
β -caryophyllene	1419	3.95	8.02	MS, RI
alloaromadendrene	1450	0.07	-	MS, RI
germacrene D	1470	0.06	-	MS, RI
α -humulene	1490	0.38	0.57	MS, RI
E,E- α -farnesene	1496	1.76	10.22	MS, RI
δ -cadinene	1520	0.25	0.11	MS, RI

<Table 2> Continued

Compounds	RI ^{a)}	Peak area (%)		ID ^{d)}
		CAR/PDMS ^{b)}	PDMS ^{c)}	
Ketones				
pulegone	1198	0.08	-	MS
geranyl acetone	1432	0.11	-	MS, RI
Benzenes				
n-propyl-benzene	951	0.21	-	MS
1-ethyl-4-methyl-benzene	976	0.13	-	MS
1,2,3-trimethyl-benzene	991	0.92	-	MS
Miscellaneous				
cis-3-hexenyl benzoate	1567	-	0.17	MS
caryophyllene oxide	1575	-	0.20	MS

a) Retention indices were determined using n-alkanes (C7~C22) as external references

b) 85 μ m carboxen/polydimethylsiloxane (CAR/PDMS) fiber

c) 100 μ m polydimethylsiloxane (PDMS) fiber

d) Tentative identification was performed as follows: MS/RI, mass spectrum was identical with that of Wiley mass spectral database (2001) (Hewlett Packard Co., Palo Alto, USA), and retention index was consistent with that of the literatures(17-18); MS, mass spectrum was consistent with that of Wiley mass spectrum database.

e) Internal standard.

<Table 3> Relative constitution by functional group in fresh *Perilla frutescens* var. *acuta*

Functional group	No. of peak		% of Peak area	
	CAR/PDMS	PDMS	CAR/PDMS	PDMS
aldehydes	6	3	44.53	40.96
alcohols	1	2	0.87	0.26
hydrocarbons	10	0	10.81	0
terpene hydrocarbons	17	13	18.30	49.89
ketones	2	0	0.19	0
benzenes	3	0	1.26	0
miscellaneous	0	2	0	0.37
total	39	20	75.95	91.48

Leaf aldehyde로 알려진 trans-2-hexenal과 달콤한 향기를 내는 benzaldehyde¹²⁾는 두 가지 fiber에서 모두 확인되었으며 특히 benzaldehyde는 CAR/PDMS fiber에서 전체 peak 면적의 11.19%를 차지하였다. 또한 trans-,trans-2,4-hexadienal, 4-(1-methyl-ethyl)-benzaldehyde 및 4-isopropyl-benzaldehyde는 CAR/PDMS fiber에서만 확인되었다. 자색 소엽의 정유를 SDE방법으로 추출한 후 GC/MS로 분석하였을 때 주요 휘발성 향미성분의 하나로 4-(1-methyl-ethyl)-benzaldehyde가 보고된 바 있다⁶⁾. Benzaldehyde는 trimethylamine의 억제효과가 인정된 물질⁵⁾이므로 소엽을 어류의 향신료로 활용할 수

있는 근거가 된다. 또한 aldehyde는 저 분자량일 때 불쾌한 냄새를 내며 코를 자극하지만, 분자량이 증가할수록 좋은 과일 향을 낸다¹³⁾고 알려져 있으므로 benzaldehyde는 소엽의 좋은 향에 기여할 것으로 여겨진다. CAR/PDMS fiber에서 31.08%, PDMS fiber에서는 40.50%를 차지한 성분은 perillaldehyde이며, 이 물질은 소엽의 주요 향기 성분으로 보고되어 있다^{6, 14)}. 이기는 신선한 소엽에서 dicarbododecaborane이 가장 많이 확인되었으나 건조된 소엽에는 octahydro-di-methyl azulene의 함량이 가장 높았다고 하였다. 이와 같이 소엽의 주요 향기성분이 다르게 보고된 이유는 식물 재배지의

기후, 토양 뿐만 아니라 정유의 추출방법 등에 따라 식물의 휘발성 향기성분이 변하기 때문에 여겨진다.

Alcohols로는 PDMS fiber에서 사과와 백합에서 나는 꽃내를 내는 nerolidol과 cadamon 및 sage에서 쓴맛을 내고 감귤유의 향에 관여하는 linalool¹²⁾이 확인되었다. Linalool은 건조한 소엽 정유의 SDE 추출법에서도 확인된 바 있다⁶⁾.

CAR/PDMS fiber에서만 nonane 등 10종의 hydrocarbons이 확인되었는데 일반적으로 지방족 탄화수소류는 향기에 기여하지 않으므로, 확인된 성분은 소엽의 향기에 많은 영향을 주지 않을 것으로 판단된다.

식물의 향기에 주로 관여하는 terpene hydrocarbons은 CAR/PDMS fiber에서 전체 peak 면적의 18.30%를 차지하였으나, PDMS fiber에서는 이 보다 높은 함량인 49.89%를 나타내었다. 특히 limonene, E,E- α -farnesene 및 β -caryophyllene이 많이 함유되었다. 정 등⁶⁾도 녹색 소엽 정유를 SDE로 추출하였을 때 향기성분의 함량이 perillaldehyde, limonene 및 β -caryophyllene 순서로 많았다고 보고하였다. β -Caryophyllene은 sesquiterpene으로 향신료 가운데 allspice, 계피 및 후추에 함유된 성분¹²⁾이다. Monoterpenes인 limonene은 감귤류에 함유된 대표적인 물질¹⁵⁾이며, 강한 향기를 지니면서 쉽게 휘발되는 특성을 지니고 있어 perfume 및 essence의 주요한 성분으로 이용된다⁵⁾.

허브-민트 향을 내는 pulegone과 신선한 꽃내음과 달콤한 장미향에 관여하는 geranyl acetone과 3종의 benzenes는 CAR/PDMS fiber에서만 확인되었다. Geranyl acetone은 carotenoid에서 유도된 물질로 담배 및 고추¹⁶⁾에 함유된 물질이다. PDMS fiber에서는 cis-3-hexenyl benzoate와 caryophyllene oxide가 확인되었는데 cis-3-hexenyl benzoate는 green-herbaceous 향에 관여하는 물질¹²⁾이다.

이상과 같은 결과를 통하여 살펴보면, 소엽의 향기를 PDMS fiber에 흡착시켰을 때는 총 peak area의 91.48%를 차지하는 20종의 성분이 확인되었고, CAR/PDMS fiber를 사용한 경우 75.95%를 나타낸 39종의 성분이 확인되었다(Table 2). 특히 PDMS fiber를 사용하였을 때 소엽의 주요 향기성분인 perillaldehyde(40.50%), limonene(27.32%), E,E- α -farnesene(10.22%) 및 β -caryophyllene(8.02%)이 확인되었는데, 이는 정 등⁶⁾이 녹색 소엽의 주요 향기성분으로 보고한 perillaldehyde(43.28%), limonene(21.02%) 및 β -caryophyllene(8.43%)과 거의 일치한다. 따라서 소엽의 향기성분을 PDMS fiber가 선택적으로 잘 흡착하였다고 볼 수 있다. 그러므로 우리나라의 방향성 식용식물인 소엽의 향기를 SPME법으로 추출하는 데는 PDMS fiber가 적합하다고 판단된다.

IV. 요약

우리나라의 고유한 향신료로 활용되고 있는 소엽의 휘발성 향기성분 분석에 적합한 solid phase microextraction(SPME) fiber를 선정하기 위하여 carboxen/polydimethylsiloxane(CAR/PDMS)과 polydimethylsiloxane(PDMS)의 2종류 fiber를 이용하여 향을 추출한 후 GC/MS로 분석하였다. CAR/PDMS fiber에 소엽의 향을 흡착시켜 분석한 결과, 39종의 성분이 확인되었으며, PDMS fiber를 이용하였을 때는 20가지의 향기성분이 확인되었다. 특히 PDMS fiber를 사용하였을 때 CAR/PDMS fiber를 이용하였을 때 보다 perillaldehyde(40.50%), limonene(27.32%), E,E- α -farnesene(10.22%) 및 β -caryophyllene(8.02%)의 소엽의 주요 향기성분이 선택적으로 많이 확인되었다. 따라서 방향성 식용식물인 소엽의 향기를 SPME법으로 추출할 때는 PDMS fiber가 적합하다고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2002년도 덕성여자대학교 자연과학연구소 연구비 지원에 의하여 수행된 것이며 이에 감사를 드립니다.

■ 참고문헌

- 1) Kim TJ. Korean resources plants IV. Seoul National Univ. Publishing, pp 67, 1998.
- 2) Lee CB. Korean dictionary of plant, Hyangmunsa, Seoul, Korea, pp 659, 1999.
- 3) Choi KJ. Pharmacy, Dongmyongsa, Seoul, Korea, 1994.
- 4) Heo J. Dongjibokam, Namsandang, Seoul, Korea, 1986.
- 5) Hisara K. Takemasa M. Spice Science and Technology. Marcel Dekker, Inc., pp 5, 70, 80, 1998.
- 6) Choung MG. Kwon YC. Chung CS. Kwak YH. Kang KH. Identification of volatile flavor compounds in Perilla and Shiso leaves. Korean J. of Crop Sci., 43(1): 69-70, 1998.
- 7) Lee MS. Investigation on the value of Korean wild plants as resources for herbs and spices and collection of their germplasms. Rural Development Administration, pp 44, 1998.
- 8) Tada M. Matsumoto R. Yamaguchi H. Chiba K. Novel antioxidants isolated from *Perilla frutescens* Britton var. *crispa*(Thunb.). Biosci. Biotech. Biochem., 60(7): 1093,

- 1996.
- 9) Pawilczyn J. Solid-phase microextraction, Theory and practice. Wiley-VCH, Inc., New York, 1997.
 - 10) Hiroyuki K. Heather LL. Janusz P. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. J. Chromatogr. A., 880:35-62, 2000.
 - 11) Kondjoyan N. Berdague JL. A compilation of relative retention indices for the analysis of aromatic compounds, 1996.
 - 12) Steffen A. Perfume and flavor chemicals. Montclair. New Jersey. USA, 1969.
 - 13) Heath HB. Flavor Technology. The AVI publishing Co. Inc., Connecticut, USA, 1978.
 - 14) Chung MS. Lee MS. Analysis of volatile flavor components from *Perilla frutescens* var. *acuta* and sensory evaluation as natural spice. Korean J. Soc. Food Sci., 16(3): 221-225, 2000.
 - 15) Song HS. Sawamura M. Kawashimo TIK. Ukeda H. Quantitative determination and characteristic flavor of citrus junos (yuzu) peel oil. Flavor Fragrance J. 15:245-250, 2000.
 - 16) Jun HR. Kim YS. Comparison of volatile compounds in red pepper (*Capsicum annuum* L.) powders from different origins. Food Sci. Biotechnol. 11(3):293-302, 2002.
 - 17) Acree TE. Arn H. Flavornet. <http://www.nysaes.cornell.edu/flavornet/>. Cornell University, Geneva, USA, 1997.
 - 18) Kondjoyan N. Berdague JL. A compilation of relative retention indices for the analysis of aromatic compounds. Laboratoire flaveur, Station de recherches sur la Viande. Clermont-Ferrand, France, 1996.