

로즈마리 향기성분의 기-액 평형과 무차원 헨리의 상수

윤향식* · 정헌상¹ · 민용규²

충북농업기술원, ¹충북과학대학 식품생명과학과, ²충북대학교 식품공학과

Dimensionless Henry's Constant and Liquid-Vapour Equilibrium of Rosemary Aroma Compounds

Hyang-Sik Yoon*, Heon-Sang Jeong¹ and Young-Kyoo Min²

Chungcheongbuk-do Agricultural Research and Extension Services

¹Department of Food Science and Biotechnology, Chungbuk Provincial University

²Department of Food Science and Technology, Chungbuk National University

In order to estimate the mass transfer characteristics of absorption into alcohol solution of aroma compounds such as cineol, myrcene and pinene which are major aroma compounds of rosemary, dimensionless Henry's constant in 70% ethyl alcohol concentration and aroma concentration with different ethyl alcohol concentration were analyzed. From the results of measurement of vapor phase concentration of aroma compounds with different ethyl alcohol concentration, headspace concentrations of all of three aroma compounds were decreased as ethyl alcohol concentration increased. But those patterns were slightly different. Dimensionless Henry's constant equation (H_i) of cineol compound with ethyl alcohol concentration (x) was as follows: $H_i = (-5.75 + x) / (-7017.6 + 257.3 \times x)$. Dimensionless Henry's constants of cineol, myrcene and pinene in 1 atm, 25°C and 70% ethyl alcohol concentration were 0.0058, 0.0182 and 0.0365, respectively.

Key words: mass transfer, aroma compounds, dimensionless Henry's constant, ethyl alcohol, headspace

서 론

식품에서의 물질전달은 물질의 농도, 증기압, 휘발도, 분자 구조 및 용해도 등과 같은 여러 가지 물리적인 특성에 의해 좌우된다. 특히, 향기흡수공정에서 식품의 향기성분은 식품과 공기 중에서의 분배계수나 용해도 등의 영향을 받는다. 따라서 향기흡수공정을 이해하고 해석하기 위해서는 이에 관한 연구가 선행되어야 한다.

향기성분의 기-액 분포는 알코올음료 등의 제조에 매우 큰 영향을 미치므로 이에 관한 연구가 많이 진행되어 왔다. Conner 등⁽¹⁾은 알코올음료의 향기성분 중 에스테르의 분배계수가 에탄올농도에 따라 변화하는 것을 관찰하였고 모델 주정용액에서 ethyl ester와 향기화합물 사이의 상호작용에 관하여 조사하였다⁽²⁾. 또한 Nielsen 등⁽³⁾과 Mohny 등⁽⁴⁾은 포장재에 흡수된 향기성분을 분석하였으며, Nielsen 등⁽⁵⁾은 향기성분의 이동에 영향을 주는 인자가 향기성분의 농도, 저장온

도, pH, 다른 식품성분의 상호효과임을 연구하였다. 또한 Buttery 등⁽⁷⁾은 희석된 수용액상에서 알데히드, 케톤, 에스테르의 용해도를 헨리의 법칙과 휘발성분의 공기-물 분배계수를 이용하여 측정하는 연구를 수행하였으며, 최근에는 이와 같은 기-액 평형을 측정하는 방법으로서 static headspace 장치를 이용한 연구⁽⁸⁻¹⁰⁾가 진행되었다.

본 논문에서는 로즈마리의 주요 향기성분인 pinene, myrcene 및 cineol 등이 에탄올 용액에 흡수되는 공정을 이해하고 해석하기 위한 기초연구로 에탄올 농도에 따른 기-액 평형과 무차원 헨리상수를 구하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서는 3가지 향기 화합물을 모델 액으로 사용하였으며, α -pinene은 순도 99% 이상(Fluka사), myrcene과 cineol은 순도 90% 이상(Sigma사)인 것을 구입하여 사용하였다. 이들 화합물은 허브의 일종인 로즈마리를 민 등⁽¹¹⁾의 방법으로 headspace 추출하여 분석하였으며, 그 결과 cineol이 25.76%, myrcene이 39.89%, pinene이 7.4%를 함유하고 있어 이들 3가지 화합물을 모델 액으로 사용하였다.

*Corresponding author: Hyang-Sik Yoon, Chungcheongbuk-do Agricultural Research and Extension Services, 383 Koejung-Li, Ochang-myeon, Cheongwon-Gun, Chungbuk 363-883, Korea
 Tel: 82-43-219-2676
 Fax: 82-43- 219-2519
 E-mail: aroma67@hanmail.net

Table 1. Static headspace autosampler conditions for volatile analysis

Plate temperature	25°C, 50°C
Sample equilibrium time	40 min
Mixing time	1 min
Mixing power	3
Loop size	1 mL
Loop equilibrium time	0.1 min
Injection time	0.5 min
Sample loop temperature	110°C
Line temperature	110°C
Transfer line back pressure	25 psi

에탄올 농도에 따른 로즈마리 향기성분의 가스상 농도

에탄올 농도에 따른 향기성분의 기-액 평형을 연구하기 위하여 에탄올 용액을 0에서 100% 까지 10% 간격으로 제조한 후 pinene, myrcene 및 cineol의 농도가 각각 600 mg/kg 이 되도록 조제하였다. 이 액을 headspace vial 22 mL에 10 mL씩 채워 Table 1과 같은 조건에서 분석하였다. Gas chromatograph(GC)는 Varian star 3400 CX를 사용하였으며, 컬럼은 EC-5(30 m×0.25 mm×0.25 μm, Alltech)를 사용하였고, 오븐 온도는 40°C에서 2분간 유지한 후 분당 10°C로 250°C까지 상승시켜 이 온도에서 5분간 유지하였다. 검출기는 flame ionization detector를 사용하였고 주입구의 온도는 230°C, 검출기의 온도는 250°C로 하였다.

무차원 헨리상수

무차원 헨리상수는 static headspace를 이용한 Robbins 등⁽⁸⁾의 방법을 사용하였다. 향기성분을 70% 에탄올 용액에 일정한 농도(10 mg/kg~1000 mg/kg)로 만든 후 22 mL headspace vial에 액체의 부피를 2, 2.7, 5 및 6 mL로 채워 액상과 가스상의 비가 10, 7.15, 3.4 및 0.38이 되도록 하였다. Table 1과 같이 25°C에서 40분간 평형화시킨 후 위와 같은 GC 분석조건으로 headspace상의 농도를 분석하였다. 무차원 헨리상수를 구하는데는 식 (1)을 사용하였다.

$$\frac{1}{PA} = \left[\left(\frac{1}{RC_{iwo}} \right) \left(\frac{1}{Hi} \right) \right] + \left[\left(\frac{1}{RC_{iwo}} \right) \left(\frac{V_{hs}}{V_w} \right) \right] \quad (1)$$

여기서 PA는 GC peak area, R은 GC반응인자, C_{iwo}는 액상의 향기성분의 초기농도, Hi는 무차원 헨리상수, V_{hs}는 headspace상의 부피, V_w는 액상의 부피이다. 식 (1)에서와 같이 Y축엔 GC area의 역수점(1/PA), X축엔 액상과 가스 상 비(V_{hs}/V_w)로 직선을 그린 다음 초기농도 C_{iwo}는 직선의 기울기로부터 구하였으며, 무차원 헨리상수는 기울기를 y 절편으로 나누어 구하였다.

결과 및 고찰

기-액 평형이란 기체상과 액체 상의 계면에서 향기성분의 평형상태를 말하며 헨리상수는 식 (2)와 같은 관계를 나타낸다.

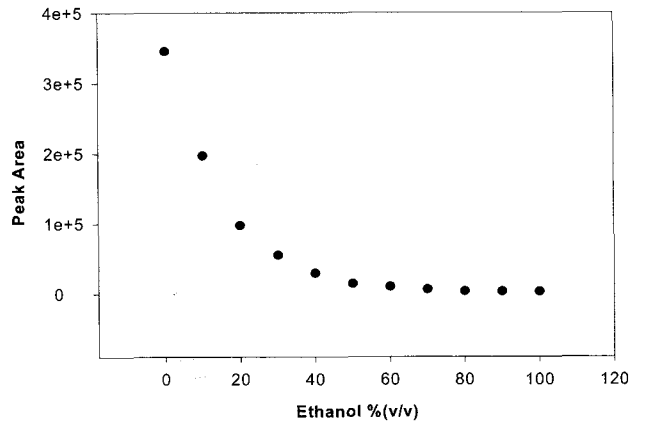


Fig. 1. Headspace peak area of cineol at different ethanol concentration.

$$H = \frac{c_{gi}}{c_{li}} = \frac{H_p}{kRT} = \frac{H}{RT} \quad (2)$$

여기서 Hi는 분배계수이며 무차원 헨리의 상수이고, k는 물 1L에 대한 몰농도로의 전환인자, H_p는 헨리상수를 압력(atm)으로 표현할 때이며, H는 헨리상수로서 단위는 atm m³/mol이고 T는 절대온도(K)이고 R은 이상기체상수로 0.08205 atm L/mol K이다⁽⁸⁾. 또한 헨리상수의 역수를 용해도라 하며 기-액 평형을 이루는 향기성분의 농도가 기체상에서 높을수록 용해도는 낮아지게 된다.

에탄올 농도에 따른 로즈마리 향기성분의 가스상 농도

에탄올 용액의 농도는 용액의 극성에 영향을 주고 이는 곧 향기성분의 흡수에 영향을 미치게 된다. 그러므로 향기흡수 실험에 이용할 에탄올 농도를 결정하기 위해 일정한 양의 향기성분을 에탄올농도가 다른 용액에 용해시킨 후 static headspace-GC 방법을 이용하여 headspace 상의 향기성분의 농도를 측정하였다. Cineol의 headspace 상의 농도를 분석한 결과는 Fig. 1과 같다. 에탄올농도가 증가함에 따라 cineol의 headspace상의 농도는 감소하는 경향을 나타내었으며, 알코올 농도 0에서 20%까지는 급격히 감소하였고 50% 이상에서는 완만한 감소를 나타내었다. Myrcene과 pinene의 headspace상의 농도는 에탄올농도 0~30%까지는 거의 변화가 없었으며 40%에서 60%까지는 급격하게 감소한 후 70% 이후에서는 완만한 감소를 나타내었다(Fig. 2, 3). 이와 같이 myrcene과 pinene은 에탄올 농도에 따른 headspace상의 농도 변화가 유사한 형태를 나타내었으며 이러한 결과는 Conner 등⁽¹⁾이 에탄올 농도를 달리하여 알코올음료의 중요한 향기성분인 에스테르의 headspace상 농도를 분석한 결과와 유사하였다. 낮은 에탄올 농도에서 cineol이 myrcene과 pinene에 비해 잘 용해되는 현상은 비극성 분자보다 극성분자가 더 잘 용해된다는 보고와도 일치하였다⁽¹²⁾. Williams와 Rosser⁽¹³⁾는 과일주의 headspace 성분을 분석한 결과 에탄올 농도가 분배계수에 영향을 준다고 보고하였으며 이와 같은 현상에 관하여 Elmore 등⁽¹⁴⁾은 분배계수는 화합물의 극성과 끓는점의 복합적인 작용 때문이라고 하였다. 또한 Conner⁽²⁾는 알코올을

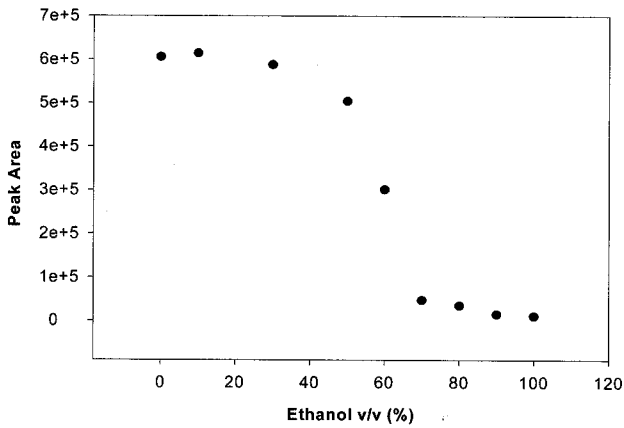


Fig. 2. Headspace peak area of myrcene at different ethanol concentration.

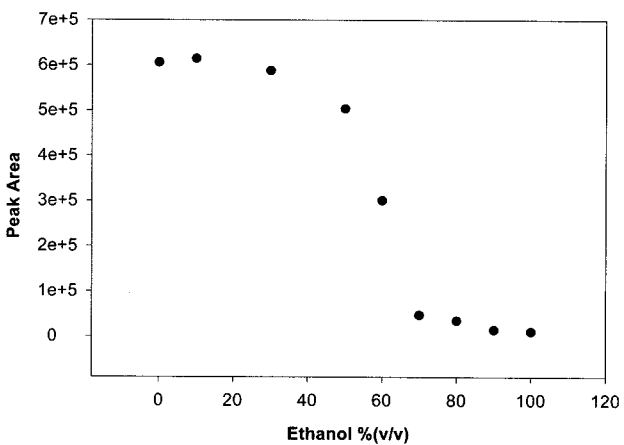


Fig. 3. Headspace peak area of pinene at different ethanol concentration.

료에서 headspace 상에 있는 소수성 향기 화합물의 농도가 함께 존재하는 다른 향기화합물의 농도와 성질에 의해 영향을 받는다고 보고하였다. 그러므로 본 실험에 사용된 3가지 향기 화합물은 서로 간의 분배계수에 영향을 미칠 것으로 생각된다.

무차원 헨리상수

향기흡수에서 물질전달속도는 물질전달계수와 계면과 벌크 상의 향기성분의 농도차로 표현되는데 향기성분이 기상과 액 상의 계면에서 평형을 이룰 때의 농도비가 무차원 헨리상수 이므로 이는 물질전달에 중요한 함수이다. 본 실험에서는 에 탄올 농도에 따른 기-액 평형을 살펴본 결과 70% 에탄올 용 액에서 3가지 화합물의 용해가 잘 이루어지는 것으로 판단 되어 이 농도에서 무차원 헨리상수를 구하였다.

Cineol

Robbins 등⁽⁸⁾은 headspace vial내 액상의 농도를 일정하게 하고 액상의 부피 비를 증가시키면 기상에서의 농도가 증가 한다고 하였다. 그러나 70% 에탄올 용액에서는 액상의 부피 비를 증가시키기에 따라 headspace 농도가 감소하였다. 이는 70% 에탄올 용액에 대한 cineol의 용해도가 매우 높아 Rob-

Table 2. Results¹⁾ of Henry's constant of cineol in different ethanol concentration

Ethanol % (v/v)	b(0)	b(1)	R ²	Hi
30	5.9341e-7	2.0387e-8	0.9998	0.0344
40	1.3135e-6	1.7561e-8	0.9998	0.0133
50	1.4567e-7	9.5447e-10	0.9981	0.0066

¹⁾Hi: Dimensionless Henry's constants.
R²: Determination coefficient.
b(0): Y-intercept.
b(1): Slope.

Table 3. Parameter¹⁾ estimation by non-linear regression of Henry's constant of cineol with ethanol concentration (R²: 0.9820)

	Coefficient	Standard error	t
a	-5.7535	-7.0206	<0.0001
b	-7017.6056	-11.8812	<0.0001
c	257.2705	12.9650	<0.0001

¹⁾a, b, c: Constant.

bins 등⁽⁸⁾이 제안한 식 (1)에서의 액상의 부피 비를 증가시킬 때 기상에서의 향기성분의 농도가 증가한다는 수식을 만족 시키지 못한 것으로 생각되며 이와 같은 사실은 Robbins 등⁽⁸⁾의 방법이 용매에 대한 용해도가 높은 향기성분의 무차원 헨리의 상수를 구하는 데는 적합하지 못한 것으로 생각 된다. 실험적으로 cineol의 무차원 헨리상수를 구할 수 없어 에탄올 농도가 더 낮은 30~50%에서 Robbin 등⁽⁸⁾의 방법을 적용하여 무차원 헨리상수를 구한 후 통계 분석하여 70%에 탄올 용액에서 무차원 헨리의 상수를 구하였다. 즉 세로축은 GC로 부터 얻은 peak area의 역수, 가로축은 기체상과 액 상의 부피비(V_{hsc}/V_w)를 취하여 그래프를 그려서 직선을 얻었 으며, 이 그래프를 요약하여 Table 2에 나타내었다. 에탄올 농도가 낮을수록 Hi가 증가하였으며 Table 2의 값 중 세로 축을 Hi라 하고 가로축을 에탄올 농도로 하여 얻은 그래프 로부터 식 (3)과 같은 비선형 회귀 식을 얻었다.

$$Hi = \frac{(a + x)}{(b + c \times x)} \tag{3}$$

즉, 무차원 헨리상수는 알코올 농도 (x)의 영향을 받고 상 수 a, b, c로 표현되었다. 이 결과를 요약하여 Table 3에 나 타내었다. 식 (3)은 실험결과를 잘 표현해주고 있으며 a, b는 음수인 반면 c는 양수를 나타내었다.

Myrcene과 pinene

Myrcene과 pinene은 알코올에 대한 용해도가 cineol에 비 해 낮아서 Robbin 등⁽⁸⁾의 방법으로 직접 무차원 헨리상수를 구하였다. 즉 세로축은 GC peak area의 역수, 가로축은 기상 과 액상의 부피 비로하여 Fig. 4 및 5를 얻었다. 그림은 모 두 직선을 나타내었으며 직선의 결정계수도 모두 0.99 이상 이었다. 무차원 헨리상수는 기울기를 y 절편으로 나눈 값이 다. Fig 4, 5 및 식 (3)으로부터 구한 무차원 헨리상수는 Table 4와 같다. Pinene의 무차원 헨리상수는 0.0365로 3가지

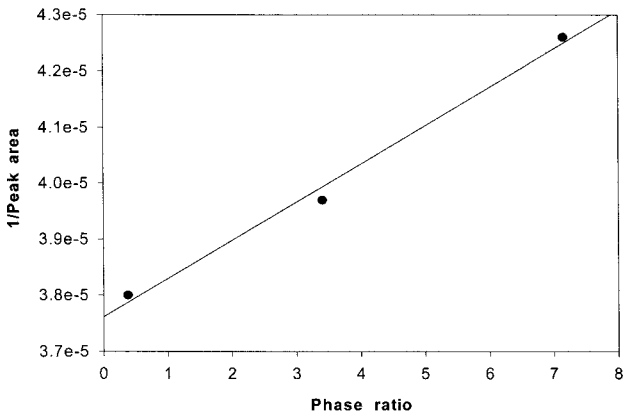


Fig. 4. Representative plots showing the method of obtaining dimensionless Henry's constants of myrcene ($R^2=0.9923$).

$$H_i = \frac{b(1)}{b(0)} = 0.0181$$

$b(0)$: y-intercept= 3.7614×10^{-5}

$b(1)$: slope= 1.2701×10^{-7}

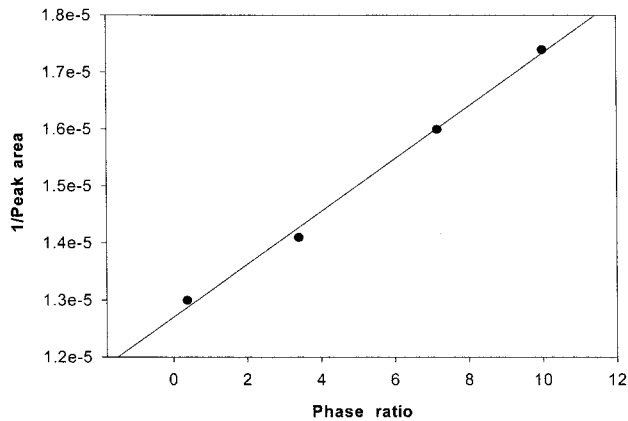


Fig. 5. Representative plots showing the method of obtaining dimensionless Henry's constants of pinene ($R^2=0.9955$).

$$H_i = \frac{b(1)}{b(0)} = 0.0181$$

$b(0)$: y-intercept= 1.2701×10^{-5}

$b(1)$: slope= 4.6336×10^{-7}

화합물 중 가장 높은 값을 나타내었으며 myrcene의 무차원 헨리상수는 0.0182를 나타내었다. 30%와 50% 에탄올 용액에서 무차원 헨리상수를 구한 결과 pinene은 각각 0.6279와 0.4239이었으며, myrcene은 0.4994와 0.113을 나타내었다. 이는 에탄올 농도에 따른 myrcene과 pinene의 기-액 평형은 유사하지만 에탄올 용액에 용해되는 정도는 다르다는 것을 알 수 있다. Log P는 물과 에탄올 사이의 분배계수로서 표준 hydrophobicity parameter로 폭넓게 사용된다. Pinene의 log P는 3.75이며 cineol의 log P는 1.34로서 pinene이 더 비극성 화합물로 나타났다⁽¹⁶⁾. 본 실험결과 향기흡수에 사용되는 용매의 극성에 따라 화합물의 용해도가 다르게 나타났는데 이러한 결과는 같은 알켄류이지만 그 화학구조에 의한 차이라고 생각된다. 70% 에탄올에 대한 무차원 헨리상수는 cineol, myrcene, pinene 순으로 높게 나타났으며 이에 따른 용해도

Table 4. Results of Henry's constant by static headspace method at 25°C

Compound	Replication	$H_i^{(1)}$	Standard deviation	RSD ⁽²⁾ (%)
Cineol		0.0058		
Myrcene	3	0.0182	0.000173	0.95
α -Pinene	3	0.0365	0.003959	10.9

¹⁾ H_i : Dimensionless Henry's constants.

²⁾RSD: Relative standard deviation.

는 역순으로 나타날 것이다. 또한 에탄올 농도가 낮아질수록 3가지 화합물의 헨리상수와 용해도의 차이는 크게 나타났다. 따라서 향기흡수에 사용되는 용매의 종류에 따라 흡수시키는 향기 화합물의 선택성이 증가할 것으로 생각된다.

요 약

로즈마리의 주요 향기 성분인 pinene, myrcene, cineol이 에탄올 용액에 흡수되는 물질전달 현상을 이해하기 위해 에탄올 농도에 따른 가스상 향기성분의 농도와 70% 에탄올 농도에서의 무차원 헨리상수를 구하였다. 에탄올 농도에 따른 가스상의 농도를 측정된 결과 3가지 화합물 모두 에탄올 농도가 증가함에 따라 headspace 농도가 감소하는 경향을 나타내었으나 화합물의 종류에 따라 다른 유형을 나타내었다. Cineol의 에탄올 농도(x)에 따른 무차원 헨리상수식은 $H_i = (-5.75 + x)/(-7017.6 + 257.3 \times x)$ 이며 1 atm, 25°C, 70% 에탄올 용액에서 무차원 헨리상수는 cineol은 0.0058, myrcene은 0.0182, pinene은 0.0365 이었다.

문 헌

1. Conner, J.M., Birkmyre, L., Paterson, A. and Piggott, J.R. Headspace concentrations of ethyl esters at different alcoholic strengths. *J. Sci. Food Agric.* 77: 121-126 (1998)
2. Conner, J.M., Paterson, A. and Piggott, J.R. Agglomeration of ethyl esters in model spirit solutions and malt whiskies. *J. Sci. Food Agric.* 66: 121-126 (1994)
3. Nielsen, T.J., Jagerstad, I.M., Oste, R.E. and Sivik, B.T.G. Supercritical fluid extraction coupled with gas chromatography for the analysis of aroma compounds absorbed by low-density polyethylene. *J. Agric. Food Chem.* 39: 1234-1237 (1991)
4. Mohny, S.M., Hernandez, R.J., Giacini, J.R., Harte, B.R. and Miltz, J. Permeability and solubility of *d*-limonene vapor in cereal package liners. *J. Food Sci.* 53: 253-257 (1998)
5. Nielsen, T.J., Jagerstad, I.M. and Oste, R.E. Study of factors affecting the absorption of aroma compounds into low-density polyethylene. *J. Sci. Food Agric.* 60: 377-381 (1992)
6. Landy, P., Courthaudon, J.L., Dubois, C. and Voilley, A. Effect of interface in model food emulsions on the volatility of aroma compounds. *J. Agric. Food Chem.* 44: 526-530 (1996)
7. Buttery, R.G., Ling, L.C. and Guadagni, D.G. Food volatiles, volatilities of aldehydes, ketones, and esters in dilute water solution. *J. Agric. Food Chem.* 17: 85-89 (1969)
8. Robbins, G.A., Wang, S. and Stuart, J.D. Using the static headspace method to determine Henry's law constants. *Anal. Chem.* 65: 3113-3118 (1993)
9. Gossett, J.M. Measurement of Henry's law constants for C1 and C2 chlorinated hydrocarbons. *Environ. Sci. Technol.* 21: 202-

- 208(1987)
10. Poddar, T.K. Analysis of static headspace technique for partially volatile matrices. *J. Chromatogr. Sci.* 35: 565-568 (1997)
 11. Min, Y.K., Yoon, H.S., Kim, J.Y. and Jeong, H.S. Aroma characteristics of applement (*Mentha rotundifolia* (L.) Huds) with different extraction methods. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 1465-1470 (1999)
 12. Ferreira, V., Ardanuy, M., Lopez, R. and Cacho, J.F. Relationship between flavor dilution values and odor unit values in hydroalcoholic solutions: Role of volatility and practical rule for its estimation. *J. Agric. Food Chem.* 46: 4341-4346 (1998)
 13. Williams, A.A. and Rosser, P.R. Aroma enhancing effects of ethanol. *Chem. Senses* 6: 149-153 (1981)
 14. Elmore, J.S. and Langley, K.R. Novel vessel for the measurement of dynamic flavour release in real time from liquid foods. *J. Agric. Food Chem.* 44: 3560-3563 (1996)
 15. Weast, R.C., Astle, M.J. and Beyer, W.H. *Handbook of Chemistry and Physics*. 67th. ed. CRC Press, Cleveland, USA (1986)
 16. Roberts, D.D. and Acree, T.E. Simulation of retronasal aroma using a modified headspace technique: Investigating the effects of saliva, temperature, shearing and oil on flavor release. *J. Agric. Food Chem.* 43: 2179-2186 (1995)
-

(2002년 12월 12일 접수; 2003년 7월 1일 채택)