

Solid Phase Microextraction을 이용한 계피의 향기성분 분석

†이창국 · 이재곤 · 장희진 · 곽재진
KT&G 중앙연구원

Analysis of Aroma Compounds of Cinnamon by Solid Phase Microextraction

†Chang-Gook Lee, Jae-Gon Lee, Hee-Jin Jang and Jae-Jin Kwag
KT&G Central Research Institute

Abstract

The volatile components of cinnamon bark were extracted by using different isolation methods, simultaneous distillation extraction (SDE) and solid phase microextraction (SPME). Then the volatile components were analyzed by gas chromatography(GC) and mass selective detector(MSD). 30 compounds were identified in cinnamon bark. In SPME technique, several factors influencing the equilibrium of the aroma compounds between sample and SPME fiber was taken into account, including the kind of SPME fiber, extraction temperature and extraction time. Four different SPME fibers were tested, namely polydimethylsiloxane (PDMS), poly acrylate(PA), divinylbenzene-carboxen-polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) and carbowax/divinylbenzene(CW/DVB). Among these SPME fiber, PDMS coating fiber showed the best results. The profile of volatile compounds of cinnamon bark at different extraction temperature and extraction time were investigated by 100 μ m PDMS fiber.

Key words : extraction methods, cinnamon, cassia bark, aroma compounds.

서 론

계피(Cinnamon)는 오랜 전부터 가장 귀중한 향신료로서 후추, 고추와 함께 세계 3대 향신료의 하나로 사용되어져 왔다. 계피(Cinnamon)는 녹나무과(*Cinnamomum*)에 속하는 계피나무의 껍질을 말하며¹⁾ 재배지역과 품종에 따라 종류가 다양한데 스리랑카 산 *Cinnamomum zeylanicum* nees 껍질을 "true-cinnamon", 그 밖의 인도네시아, 일본 등에서 나는 여러 품종의 껍질을 "Cassia-cinnamon" 이라 하여 크게 두 가지로 구분된다.²⁾ 품종에 따라 성분 및 품질상의 차이가 있으나 주요성분인 cinnamaldehyde, cinnamic acid, eugenol 등은 강한 향기와 독특한 맛을 내며 진정작용, 말초혈관확

장, 해열, 건위, 항산화 작용, 미생물 생육억제 등의 약리 효능을 발휘하는 것으로 알려져 있어서 오래 전부터 향신료, 가향제, 장내 가스 제거제, 방부제뿐만 아니라 한방에서도 중요한 약재로 사용되어 왔다.³⁾ 우리나라의 경우 계피는 태국, 인도네시아, 베트남, 중국 등지에서 수입하고 있다. 계피는 steam distillation하여 정유를 추출해서 향료, 조미료, 제약산업 등에 이용하고 있으며 추출되는 부위에 따라 다양한 종류의 정유성분을 구성하는데 잎 부위는 eugenol이 풍부하고 나무껍질에서는 cinnamaldehyde가 많고 뿌리 부분은 camphor가 주성분인 것으로 보고된 바 있다.⁴⁾ SPME 분석법은 휘발성분을 흡착제에 흡착시킨 후 추출 및 농축단계를 거치지 않고 바로 GC에 투입하므로 비점

† Corresponding author : Chang-Gook Lee, KT&G Central Research Institute, Shinseong-Dong, Yuseong-Gu, Daejeon, 305-805, Korea.

Tel : 042-866-5597, Fax : 042-866-5426, E-mail : cglee@ktng.com

이 낮은 휘발성 성분 분석시 용이하^{5,6)} SDE법은 소량의 용매로 추출하면서 비교적 향기의 손실이 적은 장점이 있으나^{7,8)} 시료를 추출하는 동안 고온을 유지하므로 주요 성분이 분해되어질 수도 있다. 지금까지 계피에 대한 많은 연구가 수행되어 왔으나 계피의 향기성분 및 추출조건에 따른 향기성분의 조성 차이에 대한 연구는 발표된 바 없다. 저자들은 계피의 향기성분을 확인하고 또한 최근 향기성분 분석에 많이 사용되는 SPME의 최적조건을 분석하였기에⁹⁻¹²⁾ 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 재 료

본 실험에 사용한 계피는 원산지가 베트남이며 대전시내 약재상에서 구입한 것으로 구입 즉시 향기성분이 휘발되지 않도록 밀봉하여 저온에서 보관하면서 분석시료로 사용하였다.

2. 휘발성 성분의 추출

1) SDE 법

계피 200g을 분쇄기로 갈아 3l flask에 넣고 증류수 1.3l를 가하여 Schultz등¹³⁾의 방법에 따라 개량된 SDE 장치(Linkens & Nickerson type simultaneous steam distillation and extraction apparatus)로 휘발성 성분을 2시간 동안 추출하였다. 추출용매로서 n-pentane:diethyl ether (20ml : 40ml)를 사용하였으며, 추출완료 후 무수 황산나트륨으로 탈수시키고 상온에서 감압 농축하여 분석용 시료로 사용하였다.

2) SPME 법

분쇄기로 갈아 만든 계피 가루 1.0g을 20ml SPME vial(Supelco)에 넣고 마개로 밀봉하였다. Vial내의 시료 matrix와 headspace간의 향기성분이 평형을 이루도록 상온에서 1시간 동안 방치한 후, SPME fiber를 꽂아 시료에 화이버가 접촉하지 않도록 일정한 높이로 조정된 후 홀더의 플런저를 눌러 화이버가 시료의 headspace에 노출되도록 한 다음 향기성분이 fiber에 흡착하도록 50℃에서 30분 동안 추출하였다. 이때 사용한 SPME fiber로는 100 μ m polydimethylsiloxane (PDMS), 85 μ m polyacrylate (PA), 50/30 μ m divinylbenzene-carboxen-polydimethylsiloxane (DVB/CAR/ PDMS) 그리고 65 μ m carbowax/divinylbenzene (CW/DVB)이다. 그 중 가장 효율이 좋은 100 μ m PDMS fiber를 위와 같은 조건

에서 추출온도만 30, 40, 50, 60℃로 다르게 조절하여 향기성분을 추출하였다. 또한 100 μ m PDMS fiber를 이용하여 추출온도는 50℃로 동일하게 하고 추출시간을 2.5, 5, 10, 15, 30분으로 달리하여 향기성분을 추출하고 GC로 분석하였다.

3) 휘발성 성분의 분석

SDE 및 SPME에 의해서 얻어진 농축물의 휘발성 향기성분은 GC(HP5890 plus, Hewlett Packard Co., USA)에 의해 분석하였다. Column은 DB-Wax fused silica capillary (60m \times 0.32mm \times 0.25 μ m film thickness)를 사용하였고, column 온도는 50℃에서 3분간 유지한 후 230℃까지 3℃/min으로 승온하고 30분간 유지하였다. Injector 및 detector 온도는 250℃, 질소 유량은 1ml/min이었으며, 시료 주입량은 1.0 μ l를 split mode (split ratio=100:1)로 하였다. SPME로 얻은 휘발성 성분을 GC에 주입할 때는 splitless mode에서 2분 동안 열탈착시켰다. GC에 의해 분리된 성분들을 동정하기 위해 GC/MSD(HP6890/5937MSD, USA)를 사용하였다. 이때 운반기체는 He를 사용하였고 이온화 전압은 70eV로 하였으며 그 외 분석 조건은 GC에서와 동등하게 하였다. GC/MSD에 의해 얻어진 total ion chromatogram에서 각 성분의 mass spectrum을 표준 mass spectrum과 비교하고, GC 머무름 시간을 비교하여 확인하였다.

결과 및 고찰

SDE 및 SPME를 이용하여 계피로부터 추출한 휘발성 향기성분의 gas chromatograms은 Fig. 1과 같으며 분리된 각 성분을 GC/MSD에 의해 확인한 결과는 Table 1과 같다. 또한 분석 방법에 따라 추출되는 성분을 관능기별로 비교 분석한 graph는 Fig. 2와 같다. SDE법으로 계피의 향기 성분을 분석했을 때 30개의 휘발성 성분이 분석되었는데 terpene류가 20종, alcohol이 3종, carbonyl류가 5종 그리고 ester가 2종류 차지했다. 이들 중 효능이 있는 성분으로 알려진 trans-cinnamaldehyde (86.4%), cis-cinnamaldehyde(0.9%), hydrocinnamaldehyde (0.1%), p-methoxy cinnamaldehyde(0.8%) 등³⁾의 carbonyl 화합물이 peak area% 기준으로 약 88.2%로 계피의 향기성분 중 대부분을 차지하는 것으로 나타났다. 그 외 주요성분으로 α -copaene(2.0%), α -muurolene(1.1%), δ -cadinene(1.8%) 등이 확인되었다. Wijesekera 등¹⁴⁻¹⁷⁾이 계피나무 껍질(cinnamon bark)로부터 steam distillation으로 추출한 정유성분에서 α -pinene(0.2%), p-cymene (0.6%), caryophyllene(1.4%), α -terpineol(0.4%), cinnamal-

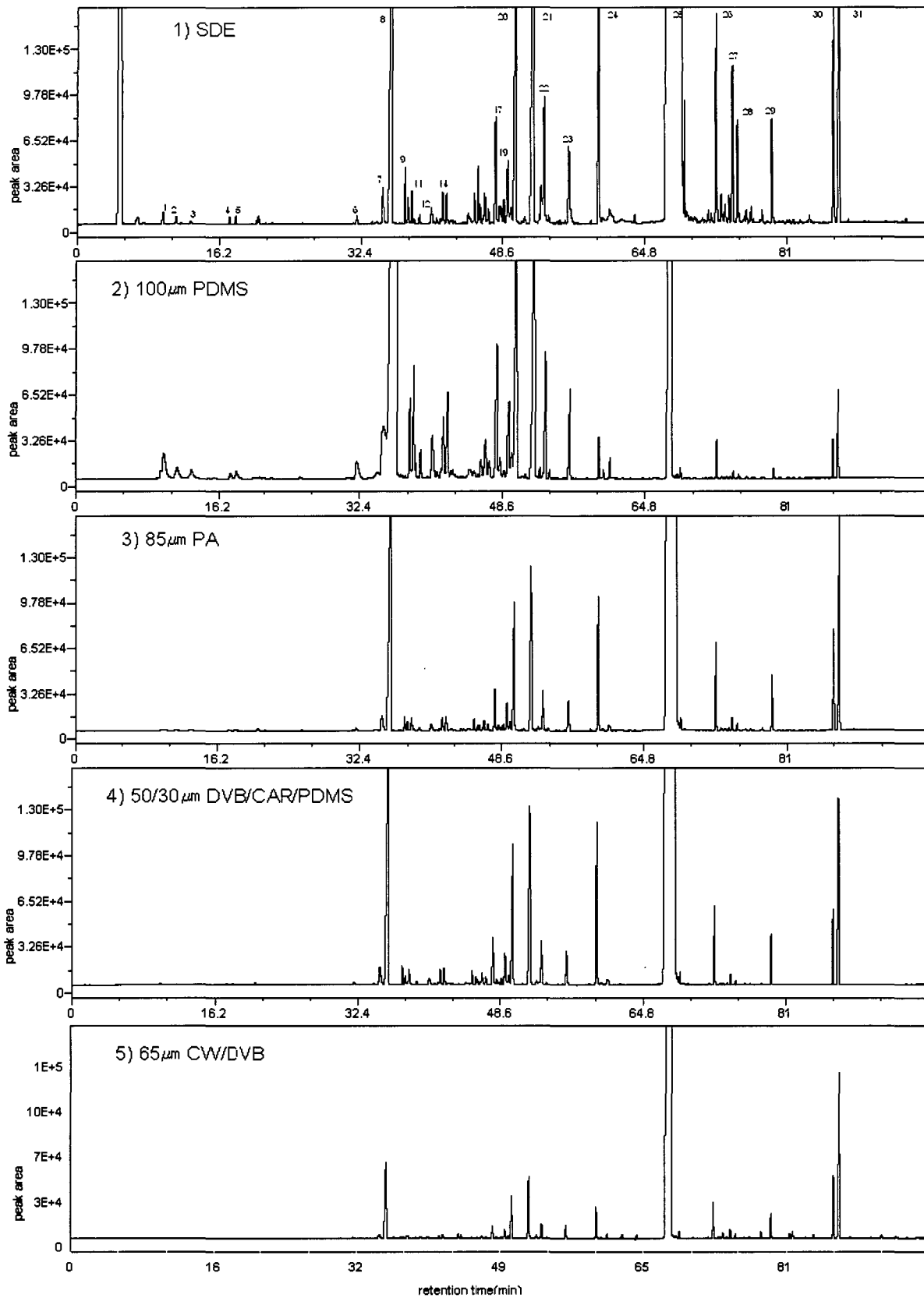


Fig. 1 Chromatograms of cinnamon sample extracted by SDE and SPME.

Table 1. Volatile components identified from the different extraction methods of cinnamon

Peak No.	t_R (min)	Compound name	Peak area(%)				
			SDE	SPME			
				PDMS	DVB/CAR PDMS	PA	CW/DVB
1	9.76	α -Pinene	0.05	0.21	- ¹⁾	-	-
2	11.28	Camphene	0.03	0.10	-	-	-
3	12.95	β -Pinene	0.01	0.07	-	-	-
4	17.39	dl-Limonene	0.02	0.06	-	-	-
5	18.05	1,8-Cineole	0.02	0.10	-	-	-
6	31.90	α -Ylangene	0.02	0.50	0.03	0.02	-
7	34.86	Cyclosativene	0.14	0.89	0.22	0.20	0.18
8	35.90	α -Copaene	2.00	47.85	3.56	3.24	2.70
9	37.75	Benzaldehyde	0.06	1.42	0.06	0.06	0.04
10	38.43	Sinularene	0.01	0.18	-	-	-
11	40.42	Isosativene	0.06	0.96	0.09	0.08	-
12	40.99	(E)- α -Bergamotene	0.02	0.11	-	-	-
13	42.14	Caryophyllene	0.08	1.49	0.13	0.12	0.11
14	46.01	α -Humulene	0.05	1.17	0.04	0.04	-
15	46.95	γ -Selinene	0.04	0.32	0.05	0.05	-
16	47.84	α -Amorphene	0.06	2.87	0.03	0.31	0.29
17	48.74	Terpineol	0.06	0.34	0.04	0.04	-
18	49.19	Epizonaren	0.22	2.05	0.22	0.21	0.19
19	50.07	α -Muurolene	1.13	7.89	1.07	0.10	0.97
20	52.11	δ -Cadinene	1.76	9.54	1.55	1.45	1.42
21	53.37	Cardina-1,4-diene	0.41	1.82	0.32	0.30	0.33
22	56.17	Hydrocinnamaldehyde	0.06	1.24	0.28	0.26	0.32
23	59.58	(Z)-Cinnamaldehyde	0.89	0.18	0.98	0.84	0.59
24	67.03	(E)-Cinnamaldehyde	86.38	13.53	87.56	87.55	84.93
25	72.99	(E)-Cinnamacetate	0.55	0.19	0.40	0.49	0.64
26	74.86	α -Cardinol	0.43	0.07	0.06	0.08	0.18
27	75.41	α -Cubebene	0.25	0.03	0.03	0.04	0.08
28	79.32	Cinnamyl alcohol	0.23	0.04	0.25	0.28	0.41
29	86.41	<i>p</i> -Methoxy cinnamaldehyde	0.75	0.18	0.38	0.56	1.12
30	87.02	Dihydrocoumarin	0.96	0.32	1.24	1.74	3.70

¹⁾ Not detected or not integrated(trace amount).

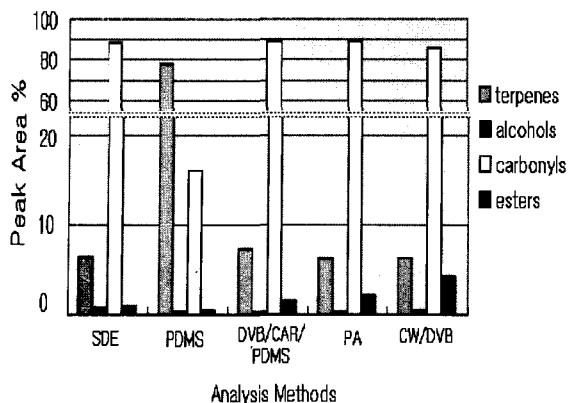


Fig. 2 Comparison on functional group of volatile compounds obtained from different analysis methods.

-dehyde(74.0%), eugenol(8.8%), 1,8-cineol(1.6%), linalool (2.3%), α -humulene(0.2%), cuminaldehyde(0.3%), cinnamyl acetate (5.1%), benzyl benzoate(1.0%) 등이 주요 성분들 이라고 보고한 바 있다. 이는 본 실험에서 SDE로 분석한 결과와 비교했을 때 유사한 경향을 나타내고 있으나 spicy-balsamic한 향 특성을 가진 eugenol과 floral-woody한 향 특성을 가진 linalool은 본 실험에서 확인되지 않았는데 이것은 시료 추출 방법과 시료 자체의 차이에 기인된 것으로 사료된다. Table 1에서 보면, SDE법에서 확인된 휘발성 성분들은 SPME법의 PDMS fiber에서도 모두 확인되었으나 DVB/CAR/PDMS, PA, CW/DVB fiber에서는 확인되지 않은 성분들이 있었다. 또한 SDE에서 추출된 성분과 SPME에서 확인된 성분의 조성을 peak area %값으로 비교해 보면 SDE에서 확인된 성분의 조성비는 SPME의 DVB/CAR/PDMS, PA, CW/DVB fiber에서 추출한 것과 유사하나 PDMS fiber에서 추출된 성분의 조성비와는 상당한 차이가 있는 것으로 나타났다. 즉, 주요 성분인 trans-cinnamaldehyde의 함량은 SDE에서 86.4%, SPME의 극성 fiber(DVB/CAR/PDMS, PA, CW/DVB)에서는 약 87.5%인데 반해 비극성 fiber인 PDMS의 경우 13.5%의 낮은 함량을 나타내었고 α -copaene의 경우 PDMS fiber에서는 47.9%인데 반해 극성 fiber와 SDE에서는 2.0~3.5% 수준을 나타냈다. SPME방법에서 4가지 종류의 fiber를 이용하여 휘발성 향기성분의 흡착능력을 비교 분석한 결과 PDMS fiber에서 확인된 성분은 30개로 가장 많은 성분이 추출되었으며, CW/DVB fiber에서 추출된 성분은 18개로 가장 적은 것으로 나타났다. 또한 PDMS fiber에서 추출된 주요 성분은 α -copaene (47.9%), α -muurolene(7.8%), δ -cadinene(9.5%), trans-cinnamaldehyde(13.5%)로 terpene류 화합물이 주로 추

출되는 반면에 DVB/CAR/PDMS, PA, CW/DVB fiber에서는 α -copaene(2.7~3.5%), α -muurolene(0.1~1.1%), δ -cadinene (1.4~1.5%), trans-cinnamaldehyde (84.9~85.6%)로 carbonyl 화합물이 가장 많이 추출되는 것으로 나타났다. 이러한 결과로 보아 SPME법으로 carbonyl, alcohol, ester류의 휘발성 성분을 분석하고자 할 때는 DVB/ CAR/PDMS fiber 또는 PA fiber를 사용하고, terpene류의 비극성 물질을 분석할 때는 PDMS fiber를 사용하는 것이 추출 효율을 높이는데 좋을 것으로 판단된다. 4종류의 SPME fiber 중에서 가장 많은 휘발성 성분을 추출한 PDMS fiber를 이용하여 추출온도와 추출시간의 최적조건을 설정하기 위해 분석한 결과를 Fig. 3과 Fig. 4에 각각 나타내었다. 추출시간을 동일하게 하고 추출온도를 30, 40, 50 그리고 60°C에서 추출했을 때 copaene, muurolene, cadinene, cis-cinnamal-

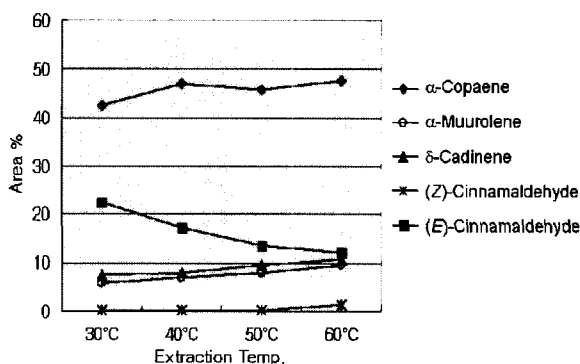


Fig. 3 Influence of extraction temperature of SPME with 100 μ m PDMS fiber. sample amount: 1.0g, equilibration time: 1hrs, extraction time: 30min, extraction temperature: 30, 40, 50 and 60°C respectively.

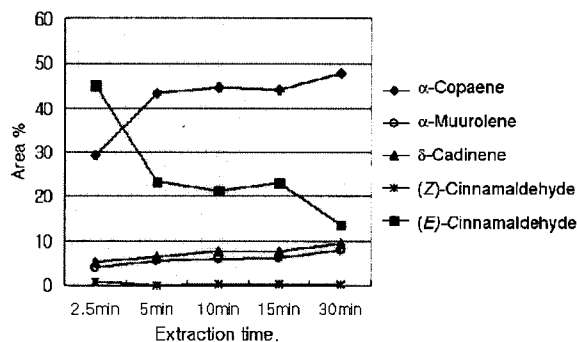


Fig. 4 Influence of extraction time of SPME with 100 μ m PDMS fiber. sample amount: 1.0g, equilibration time: 1hrs, extraction temperature: 50°C, extraction time: dehyde 2.5, 5, 10, 15 and 30min respectively.

등의 area% 값은 증가한 반면에 *trans*-cinnamaldehyde area % 값은 감소하였다. *trans*-cinnamaldehyde의 비율이 감소하는 반면 *cis*-cinnamaldehyde의 비율이 증가하는 이유는 추출 온도가 증가할수록 cinnamaldehyde 성분이 에너지를 공급받아서 안정한 *trans* form과 덜 안정한 *cis* form간의 평형이 *cis*쪽으로 이동되었기 때문이라 판단된다. 또한 추출온도를 동일하게 하고 추출시간을 2.5분, 5분, 10분, 15분, 30분에서 추출했을 때 추출시간이 길어질수록 *trans*-cinnamaldehyde area % 값은 감소하고 copaene, muurolene, cadinene, *cis*-cinnamaldehyde 등의 area% 값은 증가하는 것으로 나타났다. 이와 같이 SPME법에서 흡착되는 향기 성분의 화학적 성질(화학구조), 사용되는 fiber coating의 성질(종류), 추출시간, 추출온도에 따라 흡착되는 휘발성 성분들의 조성이 달라지게 된다. 극성인 PA fiber에서는 저비점이 낮은 비극성의 monoterpen류 화합물들은 거의 검출되지 않았지만 계피의 향을 대표하는 *trans*-cinnamaldehyde는 PDMA fiber에 비해 약 6배 정도의 많은 양이 검출되었다. 시료의 향기성분 분석시 관심이 있는 특정 향기성분을 관찰하기 위해서는 우선 적절한 SPME fiber를 선택해야 할 뿐만 아니라 때로는 추출시간과 추출온도를 최적화 하는 것이 높은 sensitivity를 가지는 결과를 얻을 수 있음을 알 수 있었다.

요 약

SDE 및 SPME를 이용하여 계피로부터 추출한 휘발성 향기성분을 GC/MSD 분석한 결과 terpenes 20종, alcohol 3종, carbonyl 5종, esters 2종으로 총 30개의 휘발성 성분을 확인하였다. 이들 중 *trans*-cinnamaldehyde (86.4%), *cis*-cinnamaldehyde(0.9%), hydrocinnamaldehyde (0.1%) 등의 carbonyl 화합물이 peak area% 기준으로 약 88.2%로 계피 중 대부분을 차지하는 것으로 나타났다. 또한 식물체의 향기성분 분석에 많이 이용되는 SPME fiber 4종류를 비교 분석한 결과 terpen류 화합물들은 PDMS fiber에서 추출효율이 가장 좋았으며, cinnamyl alcohol과 같은 다소 극성인 화합물의 경우 DVB/CAR/PDMS fiber와 PA fiber에서 추출 효율이 가장 좋은 것으로 나타났다. SPME법에서 최적 조건을 설정하기 위해 추출온도와 추출시간을 달리하면서 비교 분석한 결과 copaene, muurolene, cadinene, *cis*-cinnamaldehyde 등의 area% 값은 온도와 시간이 커질수록 증가한 반면에 *trans*-cinnamaldehyde의 area% 값은 감소하였다.

참고문헌

1. Senanayake, U.M., Wijesekera, R.O.B. : 11th International Congress of Essential Oils, Fragrances and Flavours, New Delhi, India, eds. Bhattacharya, S.C., Sen, N., and Sethi, K. L. 1987(103)
2. Renineccius, G. : Source Book of Flavors, Chapman & Hall, 2nd edition, 280-284(1992)
3. Lin, C.C., Wu, S.J., Chang, C.H., Ng, L.T. : Antioxidant activity of *Cinnanomum cassia*, *Phytotherapy Res.*, **17**, 726~730(2003)
4. Kaul, P.N., Bhattacharya, A.K., Rao, B.R., Syamasundar, K.V. and Ramesh, S. : Volatile constituents of essential oils isolated from different parts of cinnamon (*Cinnanomum zwaylanicum* Blume), *J. Sci. Food Agric.*, **83**, 53~55(2003)
5. Kataoka, H., Lord, H. and Pawliszyn, J. : Applications of solid-phase microextraction, food analysis, *J. Chroma. A.*, **880**, 35~62(2000)
6. Miller, M.E. and Stuart, J.D. : Comparison of gas-sampled and SPME-sampled static headspace for the determination of volatile flavor components, *Anal. Chem.*, **71**, 23~27(1999)
7. Godefroot, M., Sandra, P. and Verzere, M. : New method for quantitative essential oil analysis, *J. Chromatogr.*, **203**, 325~335(1981)
8. Nicherson, G.B. and Likens, S.T. : Gas chromatographic evidence for the occurrence of hop oil components in beer, *J. Chromatogr.*, **21**, 1~5(1996)
9. Demyttenaere, J.C.R., Dagher, C., Sandra, P., Kallithraka, S., Verhe, R. and Kimpe, N.D. : Flavor analysis of greek white wine by solid-phase microextraction-capillary gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A.*, **983**, 233~246(2003)
10. Kolb, B. : Headspace sampling with capillary columns, *J. Chromatogr. A.*, **842**, 163~205(1999)
11. Yang, S.S., Huang, C.B. and Smetena, I. : Optimization of headspace sampling using solid-phase microextraction for volatile components in tobacco, *J. Chromatogr. A.*, **942**, 33~39(2002)
12. Cai, J., Liu, B. and Su, Qingde. : Comparison of simultaneous distillation extraction and solid-phase microextraction of volatile flavor components, *J. Chromatogr. A.*, **930**, 1~7(2002)
13. Schultz, T.H., Flath, R.A., Mon, T.R., Teranishi, R. : Isolation of volatile components from a model system, *J. Agric. Food Chem.*, **25**, 446~449(1977)
14. Wijesekera, R.O.B., Jeyawardene, A.I. and Rajapakse, L. : Volatile constituents of leaf, stem and root oils of cinnamon, *Cinnanomum zwaylanicum*, *J. Sci. Food Agric.*, **25**, 1211~1220(1974)

15. Wijesekera, R.O.B. : The chemistry and technology of cinnamon. *C.R.C. Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **10**, 1~30(1978)
16. Way, R.M. : Volatile oil analysis of cassia bark (cinnamon): Investigation of systematic errors, *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, **68**, 622~625(1985)
17. Heide, R. : Qualitative analysis of the essential oil of cassia (*Cinnamomum cassia* Blume), *J. Agr. Food Chem.*, **20**, 747~751(1972)
-

(2003년 11월 17일 접수)