KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. Vol. 41, No. 6, pp. 615~621 (2009)

KOREAN JOURNAL OF
한국식품과학회지
FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY
©The Korean Society of Food Science and Technology

딸기의 휘발성 향기성분의 초임계 유체 추출

이해창 · 서혜영 · 신동빈 · 박용곤 · 김윤숙 · 지중룡[1] · 최희돈*
한국식품연구원, [1]백광 CNS

Supercritical Fluid Extraction of Volatile Components from Strawberry

Hae-Chang Lee, Hye-Young Seo, Dong-Bin Shin, Yong-Kon Park, Yoon-Sook Kim, Joong-Ryong Ji[1], and Hee-Don Choi*
Korea Food Research Institute
[1]*Paek Kwang CNS Co.*

Absract In order to optimize the supercritical fluid extraction (SFE) conditions of volatile components from the strawberry, we conducted an evaluation of the sample preparation and SFE operating conditions. The analysis of the volatile components extracted by a variety of sample preparation protocols led to the identification of 30, 26, 30, and 34 volatile components in fresh, freeze-dried, 30% celite and 70% celite treatments, respectively. The 70% celite treatment was the most effective in extracting the volatile components from strawberry via SFE. Analysis of the volatile components extracted by a variety of SFE operating conditions yielded identifications of 34, 35, 34, and 35 volatile components at 3,000 psi (40, 50°C) and 6,000 psi (40, 50°C), respectively. The extraction yield of alcohols and acids, and the total volatile component contents, were highest under conditions of 3,000 psi and 55°C. Volatile components from the strawberry were extracted via SFE, simultaneous steam distillation and extraction (SDE), and solvent extraction (SE). The analysis of the volatile components extracted via different extraction methods resulted in the identification of 56, 34, and 32 volatile components in the SDE, SFE, and SE extracts, respectively. The total volatile component contents identified in the SDE, SFE, and SE extracts were 20.268±1.144, 21.627±1.215 and 2.476±0.177 mg/kg, respectively. The SFE extract evidenced higher contents of sweet flavors such as 2-methylbutanoic acid, 2-methylpropanoic acid, and hexanoic acid than the SDE and SE extracts. SFE proved to be the most appropriate method for the extraction of fresh volatile components from the strawberry.

Key words: supercritical fluid extraction, strawberry, volatile components, simultaneous steam distillation and extraction, solvent extraction

서 론

향기는 다른 성분에 비하여 미량으로 존재하지만 기호도 및 제품의 품질 평가에 중요한 영향을 미치며 과실의 육종 선택에 있어서도 중요한 역할을 한다. 과실 등의 식품으로부터 휘발성 향기성분을 분리하는 방법으로는 연속수증기증류법(simultaneous steam distillation extraction, SDE), 용매추출법(solvent extraction, SE)법, headspace법, 고체상 미세추출법(solid-phase microextraction, SPME) 등(1)이 있는데, 비교적 열에 안정한 시료인 경우에는 SDE법이 많이 이용되고 있고, SPME법은 유기용매를 사용하지 않고 적은 양의 시료를 간단하게 전처리할 수 있어 최근에 많이 사용되고 있다(2-5).

특정의 유용 성분을 분리하기 위해 일반적으로 높은 온도에서 추출용매를 이용한 추출법이 주류를 이루고 있지만 이는 높은 온도를 장시간 사용해야 함으로써 발생하는 유용성분의 변성 및 파괴 등이 야기되고 또한 사용된 용매의 일부가 유용성분에 잔존할 가능성이 있기 때문에 효과적인 추출법이라고 할 수 없다(6). 초임계 유체 추출법(supercritical fluid extraction, SFE)은 이와 같은 단점을 보완하고 기존의 추출방법을 대체할 수 있는 신기술로서 식품, 의약품 및 향료공업에서 특정 성분을 추출분리하기 위하여 많이 이용되고 있으며, 석유공업에서 잔류유 추출, 토양과 수질에 존재하는 유해 유기물의 제거 및 초임계 유체의 빠른 팽창에 의한 초미립자 생성 등에 적용되고 있다. 가장 많이 사용되는 유체는 이산화탄소로서 불연성 및 무독성이며 임계온도(31°C)와 임계압력(73.8 bar)이 낮아 초임계 상태를 만들기 쉽기 때문에 최근 식품, 의약, 화장품 등에 널리 사용되고 있다. 초임계유체를 이용한 커피의 카페인과 담배의 니코틴 제거, 호프 엑기스의 추출 등은 이미 산업화되어 있고, 화장품과 식품업계에서는 향료소재 추출에 사용하고 있다(7-9).

딸기(*Fragaria ananassa* Duch.)는 비타민 C가 풍부하며, 신맛과 단맛이 잘 조화되어 있으며, 독특한 향기를 갖는 과채류(10)로서, 국내의 딸기 향기성분 관련 연구는 대부분 SDE법 또는 headspace법으로 향기성분을 분리한 것으로 SFE법를 이용한 연구는 수행되지 않았으며, 특히 SFE법은 SDE법에 비해 열에 의한 향기성분 변화를 최소화할 수 있는 장점이 있는 것으로 알려져 있다. 이에 본 연구에서는 SFE법을 이용하여 딸기의 휘발성 향기성분을 추출하기 위해 시료의 전처리 및 SFE 작동 조건에 따른 휘발성 향기성분의 조성을 비교 · 분석하고 추출방법에 따른 향기성분의 조성을 비교하였다.

*Corresponding author: Hee-Don Choi, Korea Food Research Institute, Seongnam, Gyeonggi 463-746, Korea
Tel: 82-31-780-9068
Fax: 82-31-709-9876
E-mail: chdon@kfri.re.kr
Received July 24, 2009; revised Srptember 4, 2009;
accepted September 5, 2009

Table 1. Sample preparation and extraction condition of supercritical fluid extraction

	Extraction time (min)	Sample	Pressure (psi)	Temperature (℃)
Preparation condition	90	Fresh Freeze dried Celite 30% Celite 70%	3,000	40
Extraction condition	90	Celite 70%	3,000	40 55
			6,000	40 55

재료 및 방법

재료

본 연구에 사용된 딸기는 전남 담양에서 2008년 3-4월에 생산된 육보를 사용하였으며, 꼭지를 제거하고 물로 세척한 후 물기를 제거하여 믹서기로 균질화시킨 다음 레토르트 파우치에 100 g씩 밀봉하여 –70°C에 보관하면서 사용하였다.

SFE법에 의한 휘발성 향기성분의 추출

시료 전처리에 따른 딸기의 휘발성 향기성분의 추출 효율과 SFE 작동조건에 따른 휘발성 향기성분의 추출 효율을 조사하기 위해 초임계 유체 추출장치(SFT-100XW, Supercritical fluid technologies, Inc., Newark, DE, USA)를 사용하여 Table 1의 조건에서 휘발성 향기성분을 추출하였다(11). 생시료는 냉동 보관된 시료를 해동하여 그대로 추출용기에 넣어 사용하였으며, 동결건조된 시료는 생시료를 동결건조한 건조물을 사용하였다. Celite(Celite 545, Samchun Pure Chemical Co., Pyeongtaek, Korea)가 포함된 시료는 생시료에 대해 각각 일정 비율(30, 70%)로 celite를 섞어 뭉치는 부분이 없도록 골고루 혼합한 후 추출용기에 넣어 사용하였다. 또한 celite 70% 첨가 시료를 기준으로 압력(3,000, 6,000 psi)과 온도(40, 55°C)를 달리한 여러 가지 SFE 조건에서 딸기의 휘발성 향기성분을 추출하였다. 추출용기는 500 mL vessel을 사용하였고 시료는 모두 생시료 100 g에 해당하는 양을 사용하였다(딸기의 수분함량 90.8%). 정량분석을 위해 시료에 내부표준물질로 *n*-butylbenzene 1 μL(851.4 μg, Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 첨가한 후 2 mL/min의 CO_2 유속으로 dynamic mode에서 추출하였으며, 휘발성 향기성분의 포집은 흡착제(Tenax TA 60/80, Supelco, Inc., Bellefonte, PA, USA)가 충진된 column(300×10 mm i.d.)을 사용하여 수행하였다. 포집된 향기성분을 탈착시키기 위하여 250 mL 플라스크에 흡착제를 넣고 재증류한 *n*-pentane과 diethyl ether 혼합용매(1:1, v/v) 100 mL를 혼합하여 10분간 shaking하면서 탈착시킨 후 유기용매층은 Vigreux column을 사용하여 약 0.5 mL까지 농축 후 GC/MS 분석시료로 사용하였다.

SDE법에 의한 휘발성 향기성분의 추출

마쇄한 시료 100 g에 3차 증류수 1 L를 혼합하고 *n*-butylbenzene 1 μL를 첨가하여 Schultz 등(12)의 방법에 따라 개량된 연속수증기증류추출장치(Likens-Nickerson type simultaneous steam distillation and extraction apparatus, SDE)에서 재증류한 *n*-pentane과 diethyl ether 혼합용매(1:1, v/v) 100 mL를 사용하여 상압 하에서 2시간 동안 향기성분을 추출하였다. 이 추출액에 무수 Na_2SO_4를 가하여 –4°C에서 하룻밤 방치시켜 탈수시키고 유기용매층은 Vigreux column을 사용하여 약 0.5 mL까지 농축 후 GC/MS 분석시료로 사용하였다.

SE법에 의한 휘발성 향기성분의 추출

마쇄된 시료 100 g에 *n*-butylbenzene 1 μL를 첨가하고 재증류한 *n*-pentane과 diethyl ether 혼합용매(1:1, v/v) 100 mL를 사용하여 상온에서 추출하였으며, 추출은 3회 반복하여 수행하였다. 이 추출액에 무수 Na_2SO_4를 가하여 –4°C에서 하룻밤 방치시켜 탈수시키고, –20°C로 냉각하여 침전물을 제거하였다. 유기용매층은 Vigreux column을 사용하여 약 0.5 mL까지 농축 후 GC/MS 분석시료로 사용하였다(13).

휘발성 향기성분의 분석

휘발성 향기성분의 정량분석을 위해 GC/MS는 HP 5973 Mass selective detector(Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA)가 연결된 HP 6890 gas chromatograph를 사용하였다. 휘발성 향기성분의 분리를 위해 column은 DB-WAX(60 m×0.25 mm i.d., 0.25 μm film thickness, J&W Scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였고, oven의 온도는 40°C에서 3분간 유지한 다음 2°C/min의 속도로 200°C까지 상승시켰으며, carrier gas(He)의 유속은 1 mL/min로 유지하였다. 분리된 화합물의 이온화는 electron impact ionization(EI) 방법으로 행하였으며 ionization voltage와 ion source의 온도는 각각 70 eV와 230°C로 설정하였고, 분석할 분자량의 범위는 40-350(m/z)로 설정하였다. GC injector의 온도는 250 °C로 설정하여 시료 1 μL를 split ratio 1:10으로 주입하였다.

휘발성 향기성분의 동정 및 정량

GC/MS에 의해 total ionization chromatogram(TIC)에 분리된 각 peak의 성분 분석은 mass spectrum library(Wiley 275&7N, NBS 75K)와 mass spectral data의 spectrum과의 일치, 문헌상의 retention index와의 일치 및 표준물질의 분석 data를 비교, 확인하였다. 확인된 휘발성 향기성분의 정량은 내부표준물질로 첨가된 *n*-butylbenzene과 동정된 향기성분의 peak area를 이용하여 시료 1 kg에 함유된 휘발성 향기성분을 상대적으로 정량하였으며, 정량을 위해 사용한 내부표준물질과 동정된 각 화합물의 검출기 내에서의 response factor 등은 고려하지 않았다.

결과 및 고찰

시료 전처리 조건별 SFE에 의한 휘발성 향기성분의 추출

시료 전처리 조건별 SFE에 의한 딸기의 휘발성 향기성분을 GC/MS로 분석한 결과, 생시료에서는 총 30종의 향기성분이 확인되었으며, 동결건조 시료에서 26종, celite 30% 및 70% 첨가구에서 각각 30 및 34종이 확인되었다. 시료 전처리에 따른 휘발성 향기성분의 총 함량은 생시료, 동결건조시료, celite 30% 및 celite 70% 첨가구가 각각 2.224±0.039, 3.179±0.643, 2.486±0.199 및 10.069±0.062 mg/kg으로 celite 70% 첨가구에서 월등히 높은 함량을 나타내었다(Table 2).

딸기의 신선한 향과 과일향을 나타내는 ester류는 딸기향에서 매우 중요한 역할을 한다고 보고되어 있으며(14,15), 본 연구에서는 ethyl butanoate, methyl hexanoate와 hexyl acetate 등이 검출되었다. Ethyl butanoate의 경우 celite 70% 첨가구에서는 검출되지 않았지만 celite 30% 첨가구에서 가장 높은 함량을 나타내었으며, methyl hexanoate는 동결건조 처리구에서 검출되지 않은 반

Table 2. Comparison of volatile flavor compounds identified in strawberries by the sample preparation conditions for supercritical fluid extraction (mg/kg)

RI[1)]	Compound name	MF[2)]	MW[3)]	A[4)]	B	C	D
794	Ethyl formate	$C_3H_6H_2$	74	0.027±0.007[5)]	0.020±0.006	0.028±0.001	0.100±0.009
880	Ethyl acetate	$C_4H_8O_2$	88	0.160±0.061	0.164±0.024	0.169±0.012	0.470±0.120
889	Diethylacetal	$C_6H_{14}O_2$	118	0.055±0.001	0.059±0.017	0.064±0.005	0.061±0.010
938	Ethanol	C_2H_6O	46	1.074±0.026	1.265±0.126	1.148±0.032	3.174±0.298
974	2,3-Butanedione	$C_4H_6O_2$	86	0.014±0.001	0.013±0.001	0.014±0.002	0.037±0.004
983	Methyl butanoate	$C_5H_{10}O_2$	102	0.054±0.019	0.003±0.001	0.044±0.001	0.191±0.071
1005	4-Methyl-2-pentanone	$C_6H_{12}O$	100	-	-	-	0.003±0.001
1008	Methyl 2-methylbutanoate	$C_6H_{12}O_2$	116	-	-	-	0.003±0.001
1035	Ethyl butanoate	$C_6H_{12}O_2$	116	0.015±0.002	0.012±0.002	0.084±0.005	-
1079	Hexanal	$C_6H_{12}O$	100	0.004±0.000	0.008±0.002	0.005±0.000	0.040±0.027
1122	3-Penten-2-one	C_5H_8O	84	0.005±0.004	0.001±0.000	0.028±0.000	0.062±0.013
1124	2-Pentanol	$C_5H_{12}O$	88	0.008±0.000	0.006±0.002	0.010±0.001	0.093±0.147
1180	Heptanone 2-	$C_7H_{14}O$	114	-	-	-	0.024±0.004
1185	Methyl hexanoate	$C_7H_{14}O_2$	130	0.015±0.001	-	0.013±0.000	0.011±0.006
1212	(*E*)-2-Hexenal	$C_6H_{10}O$	98	0.009±0.004	0.016±0.012	0.006±0.001	0.064±0.033
1234	Ethyl hexanoate	$C_8H_{16}O_2$	144	0.011±0.006	0.010±0.001	0.009±0.001	0.275±0.033
1272	Hexyl acetate	$C_8H_{16}O_2$	144	0.003±0.002	0.004±0.000	0.007±0.001	0.018±0.003
1279	Hydroxy-2-butanone 3-	$C_4H_8O_2$	144	0.008±0.001	0.129±0.075	0.011±0.001	0.030±0.014
1305	Butylbenzene	$C_{10}H_{14}$	134	-	-	-	-
1333	(*E*)-2-Hexenyl acetate	$C_8H_{14}O_2$	142	0.010±0.006	0.011±0.001	0.017±0.001	-
1357	Hexanol	$C_6H_{14}O$	102	0.021±0.002	-	0.023±0.001	0.115±0.038
1385	(Z)-3-Hexen-1-ol	$C_6H_{12}O$	100	-	-	-	0.144±0.016
1407	(*E*)-2-Hexen-1-ol	$C_6H_{12}O$	100	0.046±0.001	-	0.049±0.004	0.027±0.005
1450	Acetic acid	$C_2H_4O_2$	60	0.077±0.028	0.082±0.023	0.096±0.036	0.335±0.044
1479	Methyl 3-hydroxybutanoate	$C_5H_{10}O_3$	118	0.012±0.000	0.006±0.003	0.014±0.002	0.339±0.051
1493	2-Ethyl hexanol	$C_8H_{18}O$	130	0.029±0.015	0.016±0.004	0.038±0.010	0.097±0.017
1511	Benzaldehyde	C_7H_6O	106	0.005±0.001	-	0.005±0.000	0.070±0.030
1550	Linalool	$C_{10}H_{18}O$	154	0.033±0.006	0.015±0.001	0.029±0.001	0.034±0.034
1569	2-Methylpropanoic acid	$C_4H_8O_2$	88	0.011±0.001	0.008±0.004	0.011±0.016	0.227±0.020
1670	2-Methylbutanoic acid	$C_5H_{10}O_2$	102	0.083±0.011	0.020±0.013	0.101±0.021	0.133±0.017
1766	Methyl nicotinate	$C_7H_7NO_2$	137	0.023±0.009	0.041±0.025	0.024±0.002	0.884±0.153
1844	Hexanoic acid	$C_6H_{12}O_2$	116	0.170±0.021	0.057±0.022	0.101±0.007	0.234±0.011
2029	Furaneol	$C_6H_8O_3$	128	0.022±0.008	0.312±0.264	0.033±0.013	1.134±0.154
2037	(*Z*)-Nerolidol	$C_{15}H_{26}O$	222	0.141±0.120	0.729±0.008	0.223±0.069	0.093±0.091
2357	γ-Dodecalactone	$C_{12}H_{22}O_2$	198	0.082±0.038	0.172±0.012	0.086±0.024	1.207±0.242
	Total			2.224±0.039	3.179±0.643	2.486±0.199	10.069±0.062

[1)]Retention index, [2)]Molecular formula, [3)]Molecular weight, [4)]A, fresh; B, freeze dried; C, added Celite 30%(w/w); D, added Celite 70%(w/w), [5)]Mean±SD (n=3)

면 나머지 처리구에서는 비슷한 함량을 나타내었다. Hexyl acetate는 celite 70% 첨가구에서 0.018±0.003 mg/kg으로 나머지 처리구에 비해 상당히 높은 함량을 나타내었다. Alcohol류 중에 딸기의 신선한 향으로 대표되는 furaneol(4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone)과 (*Z*)-nerolidol의 경우 시료 전처리 조건에 따라 수율의 차이가 큰 것으로 나타났으며, furaneol은 celite 70% 첨가구(1.134±0.154 mg/kg)에서, (*Z*)-nerolidol은 동결건조 처리구(0.729±0.008 mg/kg)에서 가장 높은 함량을 나타내었다. (*Z*)-Nerolidol의 경우 생딸기에서 보다 동결된 딸기에서 더 많은 양이 검출되는 유일한 화합물이라고 보고한 Schreier의 결과(15)와 일치하였다. 딸기 향기성분 중에 linalool, furaneol과 nerolidol은 꽃향기와 같은 향기를 내는 화합물로서 딸기 향기특성에 중요한 역할을 하며 특히 furaneol의 농도는 딸기의 등급을 결정하는 향기의 강도에 많은 영향을 미치는 것으로 보고되어 있다(16). Acid류 중에 2-methylpropanoic acid, butanoic acid, hexanoic acid 등이 딸기 향기성분 중에 우세하다고 보고(14,17)되어 있으며 본 연구에서는 2-methylpropanoic acid와 2-methylbutanoic acid, hexanoic acid 등이 검출되었다. 일반적으로 acid류는 ester류, alcohol류 및 aldehyde류 등을 형성하는 전구체로서 중요한 역할을 하는 물질이며 특히 2-methylpropanoic acid가 딸기 향기에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 보고되어 있다(16). 2-Methylpropanoic acid은 celite 70% 첨가구에서 0.227±0.020 mg/kg으로 가장 높은 함량을 나타내었다. Lactone류 또한 딸기의 향기성분 중에 중요한 역할을 하며 특히 γ-dodecalactone이 많은 부분을 차지한다(16). Lactone류의 특징적인 향기는 복숭아 또는 신선한 코코넛 향기와 관련이 있는 것으로 알려져 있다(18). 본 연구에서는 γ-dodecalactone이 celite 70% 첨가구에서 1.207±0.242 mg/kg으로 다른 처리구 보다 월등히 높은 함량을 나타내었다.

Table 3. Comparison of volatile flavor compounds identified in strawberries by operating conditions for supercritical fluid extraction

(mg/kg)

RI[1)]	Compound name	MF[2)]	MW[3)]	3,000 psi		6,000 psi	
				40°C	55°C	40°C	55°C
794	Ethyl formate	$C_3H_6H_2$	74	0.100±0.009[4)]	0.194±0.061	0.045±0.003	0.038±0.001
860	Ethyl acetate	$C_4H_8O_2$	88	0.470±0.120	0.817±0.218	0.236±0.005	0.208±0.009
867	Diethylacetal	$C_6H_{14}O_2$	118	0.061±0.010	0.144±0.008	0.071±0.008	0.075±0.006
928	Ethanol	C_2H_6O	46	3.174±0.298	4.183±1.470	1.249±0.431	0.876±0.022
969	2,3-Butanedione	$C_4H_6O_2$	86	0.037±0.004	0.075±0.007	0.027±0.006	0.022±0.005
980	Methyl butanoate	$C_5H_{10}O_2$	102	0.191±0.071	0.640±0.033	0.234±0.049	0.124±0.090
1005	4-Methyl-2-pentanone	$C_6H_{12}O$	100	0.003±0.001	0.008±0.002	0.004±0.001	0.003±0.000
1008	Methyl 2-methylbutanoate	$C_6H_{12}O_2$	116	0.003±0.001	0.006±0.001	0.003±0.000	0.002±0.000
1013	3-Methyl-2-pentanone	$C_6H_{12}O$	100	-	0.008±0.008	0.001±0.000	0.001±0.000
1036	Ethyl butanoate	$C_6H_{12}O_2$	116	0.040±0.027	0.070±0.007	0.037±0.010	0.030±0.003
1079	Hexanal	$C_6H_{12}O$	100	0.062±0.013	0.191±0.008	0.057±0.042	0.046±0.007
1122	3-Penten-2-one	C_5H_8O	84	0.093±0.147	0.027±0.001	0.008±0.002	0.007±0.001
1124	2-Pentanol	$C_5H_{12}O$	88	0.024±0.004	0.054±0.014	0.017±0.003	0.014±0.001
1180	2-Heptanone	$C_7H_{14}O$	114	0.011±0.006	0.026±0.001	0.010±0.001	0.007±0.001
1186	Methyl hexanoate	$C_7H_{14}O_2$	130	0.064±0.033	0.235±0.017	0.082±0.016	0.066±0.006
1213	(*E*)-2-Hexenal	$C_6H_{10}O$	98	0.275±0.033	0.669±0.027	0.178±0.187	0.179±0.029
1234	Ethyl hexanoate	$C_8H_{16}O_2$	144	0.018±0.003	0.071±0.003	0.022±0.005	0.020±0.000
1273	Hexyl acetate	$C_8H_{16}O_2$	144	0.030±0.014	0.140±0.002	0.047±0.009	0.035±0.004
1279	3-Hydroxy-2-butanone	$C_4H_8O_2$	144	0.044±0.006	0.122±0.003	0.054±0.012	0.034±0.008
1307	Butylbenzene	$\boldsymbol{C_{10}H_{14}}$	134	-	-	-	-
1334	(*E*)-2-Hexenyl acetate	$C_8H_{14}O_2$	142	0.115±0.038	0.457±0.010	0.165±0.051	0.129±0.014
1358	Hexanol	$C_6H_{14}O$	102	0.144±0.016	0.356±0.008	0.158±0.033	0.096±0.008
1385	(*Z*)-3-Hexen-1-ol	$C_6H_{12}O$	100	0.027±0.005	0.044±0.005	0.019±0.003	0.011±0.002
1408	(*E*)-2-Hexen-1-ol	$C_6H_{12}O$	100	0.335±0.044	0.854±0.036	0.422±0.074	0.255±0.036
1448	Acetic acid	$C_2H_4O_2$	60	0.339±0.051	0.673±0.233	0.165±0.025	0.133±0.009
1480	Methyl 3-hydroxy butanoate	$C_5H_{10}O_3$	118	0.097±0.017	0.224±0.003	0.110±0.030	0.068±0.011
1496	2-Ethyl hexanol	$C_8H_{18}O$	130	0.070±0.030	0.167±0.059	-	-
1511	Benzaldehyde	C_7H_6O	106	0.034±0.034	0.064±0.011	0.020±0.004	0.013±0.001
1551	Linalool	$C_{10}H_{18}O$	154	0.227±0.020	0.628±0.019	0.295±0.060	0.178±0.034
1567	2-Methylpropanoic acid	$C_4H_8O_2$	88	0.133±0.017	0.321±0.025	0.190±0.074	0.104±0.019
1668	2-Methylbutanoic acid	$C_5H_{10}O_2$	102	0.884±0.153	2.264±0.108	1.178±0.322	0.658±0.105
1766	Methyl nicotinate	$C_7H_7NO_2$	137	0.234±0.011	0.421±0.020	0.182±0.021	0.116±0.024
1843	Hexanoic acid	$C_6H_{12}O_2$	116	1.134±0.154	2.767±0.199	1.492±0.389	0.839±0.160
2029	Furaneol	$C_6H_8O_3$	128	0.093±0.091	0.044±0.019	0.032±0.005	0.054±0.028
2038	(*Z*)-Nerolidol	$C_{15}H_{26}O$	222	1.207±0.242	3.770±0.537	1.819±0.166	1.145±0.137
2358	γ-Dodecalactone	$C_{12}H_{22}O_2$	198	0.297±0.062	0.893±0.070	0.348±0.024	0.270±0.031
	Total			10.069±0.805	21.627±1.215	8.976±1.142	5.857±0.586

[1)]Retention index, [2)]Molecular Formula, [3)]Molecular Weight, [4)]Mean±SD (n=3)

SFE법에 의한 시료 추출시 시료내의 수분은 극성물질의 추출 및 유효물질로의 유체의 접근을 용이하게 하는 역할을 하지만 시료에 과도한 수분이 함유된 경우에는 유효물질의 추출후 다시 수분상태로 분배가 일어나 추출수율이 크게 낮아지게 된다(19). 일반적으로 시료 내의 수분을 조절하고 시료를 균일하게 현탁시키기 위하여 Celite 545와 같은 규조토를 시료에 처리한 후 SFE를 실시한다(20). SFE법을 이용하여 딸기의 주요 휘발성 향기성분을 추출하기 위한 시료 전처리 방법으로는 시료에 celite를 70% 첨가하는 방법이 가장 효과적인 것으로 나타났다. Celite 70% 첨가구는 휘발성 향기성분의 총 수율에서도 기타 처리구와 큰 차이가 있었으며 ester류(hexyl acetate), alcohol류(furaneol), acid류(2-methyl-propanoic acid), lactone류(γ-dodecalactone) 등에서도 월등히 높은 함량을 나타내었다. 이는 celite의 첨가가 생시료에 비해 시료의 표면적을 증가시켜 추출 효율을 높여 주었기 때문으로 생각된다.

SFE 조건에 따른 휘발성 향기성분의 추출

SFE 작동조건에 따라 추출된 딸기의 휘발성 향기성분을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 압력을 3,000 psi로 고정하고 40 및 55°C에서 추출한 시료로부터 각각 총 34 및 35종의 화합물이 확인되었으며, 6,000 psi에서 40 및 55°C에서 추출한 시료에서는 각각 34종의 향기성분이 동정되었다. 온도가 증가함에 따라 3,000 psi에서는 향기성분의 추출 효율이 증가한 반면 6,000 psi에서는 감소하는 것으로 나타나 3,000 psi, 55°C 조건에서 딸기의 휘발성 향기성분의 추출효율이 21.627±1.215 mg/kg으로 가장 높고 6,000 psi, 55°C

Table 4. Volatile compounds identified in strawberries by different extraction methods (Unit: mg/kg)

RI[1)]	Compound name	MF[2)]	MW[3)]	SDE	SFE	SE
794	Ethyl formate	$C_3H_6H_2$	74	0.215±0.074[4)]	0.194±0.061	0.005±0.001
847	Butanal	C_4H_8O	72	0.012±0.003	-	
860	Ethyl acetate	$C_4H_8O_2$	88	0.687±0.220	0.817±0.218	0.671±0.068
866	Diethylacetal	$C_6H_{14}O_2$	118	0.155±0.026	0.144±0.008	0.051±0.002
882	Methyl propanoate	$C_4H_8O_2$	88	0.008±0.001	-	-
896	3-Methyl butanal	$C_5H_{10}O$	86	0.017±0.001	-	-
926	Ethanol	C_2H_6O	46	1.592±0.551	4.183±1.470	0.423±0.075
968	2,3-Butanedione	$C_4H_6O_2$	86	0.230±0.004	0.075±0.007	0.020±0.004
980	Methyl butanoate	$C_5H_{10}O_2$	102	1.132±0.069	0.640±0.033	0.221±0.014
1004	4-Methyl-2-pentanone	$C_6H_{12}O$	100	0.013±0.001	0.008±0.002	0.002±0.001
1007	Methyl 2-methylbutanoate	$C_6H_{12}O_2$	116	0.013±0.002	0.006±0.001	0.002±0.000
1013	3-Methyl-2-pentanone	$C_6H_{12}O$	100	0.005±0.001	0.008±0.008	-
1035	Ethyl butanoate	$C_6H_{12}O_2$	116	0.058±0.012	0.070±0.007	0.009±0.000
1040	Isopropyl butanoate	$C_7H_{14}O_2$	130	0.010±0.001	-	-
1057	2,3-Pentanedione	$C_5H_8O_2$	100	0.012±0.002	-	-
1079	Hexanal	$C_6H_{12}O$	100	0.334±0.018	0.191±0.008	0.007±0.002
1122	3-Penten-2-one	C_5H_8O	84	0.093±0.021	0.027±0.001	0.003±0.000
1124	2-Pentanol	$C_5H_{12}O$	88	0.073±0.012	0.054±0.014	0.004±0.002
1180	2-Heptanone	$C_7H_{14}O$	114	0.051±0.007	0.026±0.001	-
1185	Methyl hexanoate	$C_7H_{14}O_2$	130	0.360±0.017	0.235±0.017	0.026±0.005
1213	(*E*)-2-Hexenal	$C_6H_{10}O$	98	1.732±0.102	0.669±0.027	0.008±0.002
1234	Ethyl hexanoate	$C_8H_{16}O_2$	144	0.061±0.016	0.071±0.003	0.005±0.002
1255	Pentanol	$C_5H_{12}O$	88	0.028±0.006	-	-
1273	Hexyl acetate	$C_8H_{16}O_2$	144	0.160±0.021	0.140±0.002	0.010±0.004
1279	3-Hydroxy-2-butanone	$C_4H_8O_2$	144	0.030±0.005	0.122±0.003	0.006±0.001
1308	Butylbenzene	$C_{10}H_{14}$	134	-	-	-
1322	(*Z*)-2-Penten-1-ol	$C_5H_{10}O$	86	0.029±0.002	-	-
1334	(*E*)-2-Hexenyl acetate	$C_8H_{14}O_2$	142	0.516±0.066	0.457±0.010	0.032±0.009
1359	Hexanol	$C_6H_{14}O$	102	0.422±0.018	0.356±0.008	0.026±0.006
1386	(*Z*)-3-Hexen-1-ol	$C_6H_{12}O$	100	0.048±0.009	0.044±0.005	-
1408	(*E*)-2-Hexen-1-ol	$C_6H_{12}O$	100	0.946±0.080	0.854±0.036	0.063±0.013
1445	(Z)-Linalool oxide	$C_{10}H_{18}O_2$	170	0.032±0.011	-	-
1446	Acetic acid	$C_2H_4O_2$	60	0.596±0.175	0.673±0.233	0.083±0.008
1457	Furfural	$C_5H_4O_2$	96	0.194±0.039	-	-
1474	(*E*)-Linalool oxide	$C_{10}H_{18}O_2$	170	0.045±0.017	-	-
1478	2-Hexenyl butanoate	$C_{10}H_{18}O_2$	170	0.045±0.013	-	-
1481	Methyl 3-hydroxybutanoate	$C_5H_{10}O_3$	118	-	0.224±0.003	0.007±0.001
1497	2-Ethyl hexanol	$C_8H_{18}O$	130	-	0.167±0.059	-
1511	Benzaldehyde	C_7H_6O	106	0.049±0.020	0.064±0.011	0.004±0.000
1551	Linalool	$C_{10}H_{18}O$	154	0.788±0.076	0.628±0.019	0.038±0.012
1567	2-Methylpropanoic acid	$C_4H_8O_2$	88	0.126±0.061	0.321±0.025	0.045±0.009
1575	Dimethyl sulfoxide	C_2H_6OS	78	0.059±0.032	-	-
1579	2,3-Butandiol	$C_4H_{10}O_2$	90	0.021±0.008	-	-
1607	Hexyl hexanoate	$C_{12}H_{24}O_2$	200	0.097±0.017	-	-
1629	Butanoic acid	$C_4H_8O_2$	88	-	-	0.015±0.002
1667	2-Methylbutanoic acid	$C_5H_{10}O_2$	102	1.442±0.411	2.264±0.108	0.184±0.061
1693	α-Terpineol	$C_{10}H_{18}O$	154	0.120±0.049	-	-
1766	Methyl nicotinate	$C_7H_7NO_2$	137	0.098±0.016	0.421±0.020	0.023±0.008
1810	(*E*)-β-damascone	$C_{13}H_{18}O$	190	0.015±0.001	-	-
1842	Hexanoic acid	$C_6H_{12}O_2$	116	1.684±0.412	2.767±0.199	0.173±0.072
1847	Geraniol	$C_{10}H_{18}O$	154	0.164±0.041	-	-
1885	Dimethyl sulfone	$C_2H_6O_2S$	94	0.015±0.006	-	-
2029	Furaneol	$C_6H_8O_3$	128	-	0.044±0.019	0.027±0.011
2039	(*Z*)-Nerolidol	$C_{15}H_{26}O$	222	4.162±0.800	3.770±0.537	0.225±0.102

Table 4. Continued (Unit: mg/kg)

RI[1)]	Compound name	MF[2)]	MW[3)]	SDE	SFE	SE
2059	Octanoic acid	$C_8H_{16}O_2$	144	0.035±0.010[4)]	-	-
2210	α-Bisabolol	$C_{15}H_{26}O$	222	0.059±0.009	-	-
2213	Methyl hexadecanoate	$C_{17}H_{34}O_2$	270	0.064±0.018	-	-
2311	(*Z,Z*)-Farnesol	$C_{15}H_{26}O$	222	0.045±0.012	-	-
2351	(*E,E*)-Farnesol	$C_{15}H_{26}O$	222	0.119±0.048	-	-
2358	γ-Dodecalactone	$C_{12}H_{22}O_2$	198	1.043±0.033	0.893±0.070	0.059±0.022
2606	Phytol	$C_{20}H_{40}O$	296	0.110±0.041	-	-
	Total			20.268±1.144	21.627±1.215	2.476±0.177

[1)]Retention index, [2)]Molecular Formula, [3)]Molecular Weight, [4)]Mean±SD (n=3)

조건에서는 5.857±0.586 mg/kg으로 가장 낮은 것으로 확인되었다. 일반적으로 초임계 상태에서의 용질의 용해도는 유체의 밀도와 용질의 증기압의 경쟁에 의해 결정된다. 유체의 밀도는 압력과 온도에 영향받는 것으로 같은 압력조건에서 온도가 상승하면 밀도가 감소하게 되고 추출상의 용질분자와 유체분자 간에 작용할 확률이 감소되어 용해도가 감소하게 된다. 용질의 증기압은 온도에 의해 영향받는 것으로 온도가 증가할수록 증기압이 증가하여 용해도가 증가하게 된다(21). 상대적으로 유체의 밀도가 높은 6,000 psi의 조건(40°C: 21.841 mol/L, 55°C: 20.735 mol/L)에서는 추출 온도 증가시 증기압의 증가보다는 밀도의 감소가 용질의 용해도에 크게 영향을 미쳐 휘발성 향기성분의 추출 수율이 8.976±1.142 mg/kg에서 5.857±0.586 mg/kg으로 감소하는 것으로 판단된다. 한편 상대적으로 유체의 밀도가 낮은 3,000 psi의 조건(40°C: 19.183 mol/L, 55°C: 17.295 mol/L)에서는 추출 온도 증가시 밀도의 감소보다는 증기압의 증가가 용질의 용해도에 크게 영향을 미쳐 휘발성 향기성분의 추출 수율이 10.069±0.805 mg/kg에서 21.627±1.215 mg/kg으

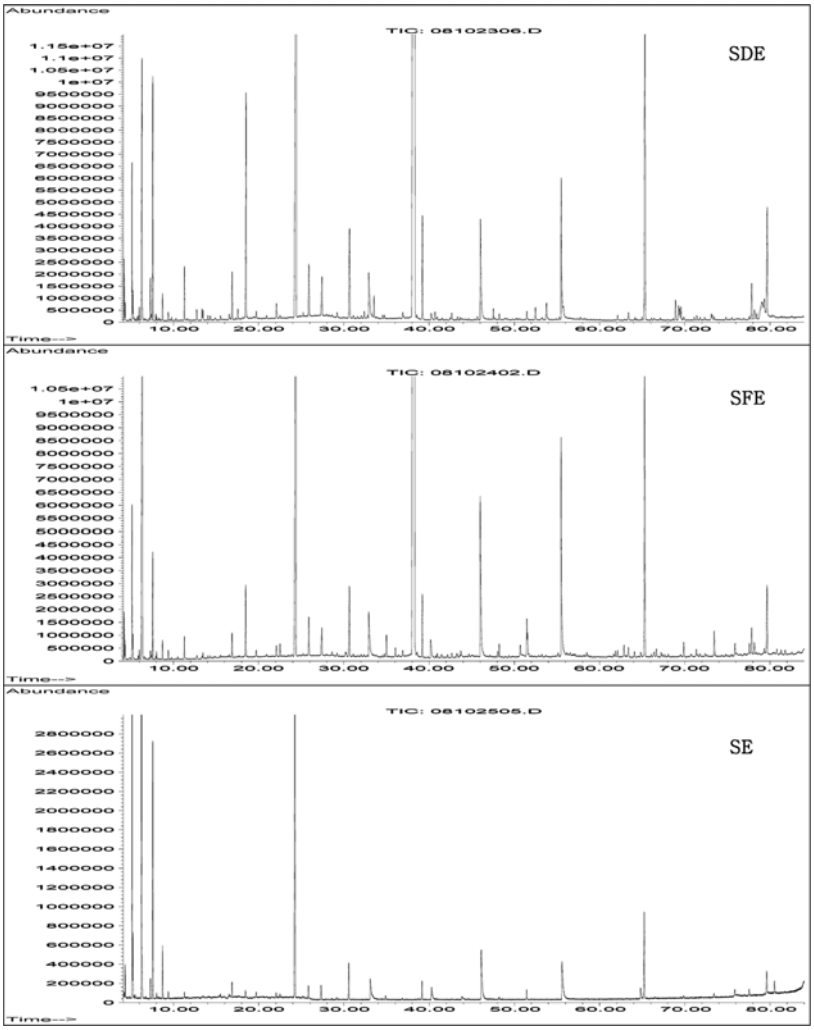

Fig. 1. GC/MS chromatograms of volatile flavor components in strawberries by different extraction methods.

로 크게 증가한 것으로 판단된다. 이와 같은 경향은 Campos 등(22)이 연구한 초임계를 이용한 금잔화로부터 올레오레진을 추출한 실험에서도 확인할 수 있었다.

3,000 psi, 55°C의 조건에서 ethanol, (*E*)-2-hexen-1-ol, nerolidol 등의 alcohol류와 2-methyl butanoic acid, hexanoic acid 등 acid류의 추출 효율이 증가하는 것으로 나타났으며, 딸기향인 furaneol은 기타 처리구와 비슷한 수준으로, 그리고 γ-dodecalactone의 함량은 3배 정도 높은 수준으로 나타났다. 결과적으로 SFE 조건에 따른 추출물의 휘발성 향기성분의 조성과 수율이 다르게 나타나 SFE 조건이 추출된 딸기 향기의 품질에 크게 영향을 미침을 확인할 수 있었다.

추출방법별 딸기의 휘발성 향기성분 특성

딸기로부터 SDE법, SFE법 및 SE법으로 추출한 휘발성 향기성분을 분석한 결과(Table 4, Fig. 1), 각각 56, 34 및 32종의 향기성분이 동정되어 SDE법에 의해 가장 많은 휘발성 향기성분이 확인되었고, 휘발성 향기성분의 총 함량은 각각 20.268±1.144, 21.627±1.215, 및 2.476±0.177 mg/kg으로 SFE에 의한 추출물의 휘발성 향기성분 함량이 가장 높은 것으로 나타났다. SDE와 SFE법에서는 alcohol류가 휘발성 향기성분의 대부분을 차지하였고, 그 다음으로 acid류와 ester류가, 용매추출법에서는 ester류가 대부분이고 그 다음 alcohol류와 acid류 순으로 구성되었다. 각 추출물에서 확인된 주요 휘발성 향기성분은 (Z)-nerolidol, hexanoic acid, 2-methylbutanoic acid, methyl butanoate, γ-dodecalactone, (*E*)-2-hexenal, ethanol 등 이었으며, SDE법에 의한 추출물에서는 딸기의 특징적인 향기성분인 furaneol이 확인되지 않았으나, SFE 및 SE법에 의한 추출물에서는 미량이지만 각각 0.044±0.019, 0.027±0.011 mg/kg이 함유된 것으로 확인되었다. 또한, SDE법에 의한 추출물에서 furfural과 같은 가열분해산물들이 확인되어 SDE 처리에 의해 딸기의 휘발성 향기성분이 소실되기도 하고 열변성이 일어남을 확인할 수 있었다. 딸기의 휘발성 향기성분 중 2-methylbutanoic acid, 2-methylpropanoic acid, hexanoic acid 등 달콤한 향으로 특징지어지는 향기성분이 SDE법에 의한 추출물에 비해 SFE에 의한 추출물에서 월등히 많은 것으로 확인되었다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 SFE법은 SDE법에 비해 추출한 휘발성 향기성분의 종류는 적지만 추출량이 비슷하면서 열분해 및 열변성이 발생하지 않아 딸기 고유의 향기에 가까운 향기패턴을 나타낼 뿐만 아니라 기호적으로 우수한 acid류가 다량 함유된 향기성분을 추출하기에 적합한 것으로 판단되었다.

요 약

SFE법을 이용하여 딸기의 휘발성 향기성분을 추출하기 위한 시료의 적정 전처리 및 SFE 작동조건을 검토하였으며, SDE법 및 SE법 등의 추출방법과 휘발성 향기성분 조성을 비교하였다. 딸기 생시료, 동결건조시료, 그리고 생시료에 celite를 30, 70%를 혼합하여 제조한 시료를 이용하여 SFE 처리후 향기성분을 분석한 결과, 생시료에 celite를 70% 첨가하는 방법이 향기성분을 추출하는데 가장 효과적인 것으로 나타났다. 온도(40, 55°C)와 압력(3,000, 6,000 psi)을 달리하여 SFE 처리한 결과, 3000 psi, 55°C 조건에서 alcohol류와 acid류의 추출효율이 증가하였으며, γ-dodecalactone의 함량도 3배 정도 높은 수준으로 나타났다. SDE법, SFE법 및 SE법 등의 추출방법별 딸기의 휘발성 향기성분을 분석한 결과, SFE법은 SDE법에 비해 추출한 휘발성 향기성분의 종류는 적지만 추출량이 비슷하면서 열분해 및 열변성이 발생하지 않아 딸기 고유의 향기에 가까운 향기패턴을 나타내었으며, 기호적으로 우수한 acid류가 다량 함유된 향기성분을 추출하기에 적합한 것으로 나타났다.

문 헌

1. Reineccius GA. Flavour-isolation techniques. pp. 409-414. In: Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing, and Sustainability. Berger RG (ed). Springer-Verlag, Berlin, Germany (2007)
2. Yun KS, Hong JH, Choi YH. Characteristics of *Elsholtzia splendens* extracts on simultaneous steam distillation extraction conditions. Korean J. Food Preserv. 13: 623-628 (2006)
3. Lee JG, Jang HJ, Kwag JJ, Lee DW. Comparison of the volatile components of Korean ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) by different extraction methods. Korean J. Food Nutr. 13: 66-70 (2000)
4. Arthur CL, Killam LM, Buchholz KD, Pawliszyn J, Berg JR. Automation and optimization of solid-phase microextraction. Anal. Chem. 64: 1960-1966 (1992)
5. Louch D, Motlagh S, Pawliszyn J. Liquid-coated fused silica fibers. Anal. Chem. 64: 1187-1199 (1992)
6. Choi YH, Kim J, Yoo KP. Selective extraction of ephedrine from *Ephedra sinica* using mixture of CO_2 diethylamine and methanol. Chromatographia 50: 673-679 (1999)
7. Choi YH, Ryu JH, Yoo KP, Chang YS, Kim J. Supercritical carbon dioxide extraction of podophyllotoxin from *Dysosma pleinatha* roots. Planta Med. 64: 482-483 (1998)
8. Lucien FP, Foster NR. Solubilities of solid mixtures in supercritical carbon dioxide: A review. J. Supercrit. Fluid. 17: 111-134 (2000)
9. Hubert P, Vitzthum OG. Fluid extraction of hop, spices, and tobacco with supercritical gases. Angew. Chem. Int. Edit. 17: 710-715 (1978)
10. Lee JM, Kim SK, Lee GD. Monitoring on alcohol fermentation characteristics of strawberry. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 32: 679-683 (2003)
11. Bartley J, Foley P. Supercritical fluid extraction of Australian-grown ginger (*Zingiber officinale*). J. Sci. Food. Agr. 66: 365-371 (1994)
12. Schultz TH, Flath RA, Mon TR, Eggling SB, Teranishi R. Isolation of volatile components from a model system. J. Agr. Food Chem. 25: 446-449 (1977)
13. Shashirekha MN, Baskaran R, Rao LJ, Vijayalakshmi MR, Rajarathnam S. Influence of processing conditions on flavour compounds of custard apple (*Annona squamosa* L.). LWT. -Food Sci. Technol. 41: 236-243 (2008)
14. Pyysalo T, Suihko M, Honaknen E. Odour thresholds of the major volatiles identified in cloudberry (*Rubus chamaemous* L.) and arctic bramble (*Rubus articus* L.). LWT. -Food Sci. Technol. 10: 36-40 (1977)
15. Schreier P. Quantitative composition of volatile constituents in cultivated strawberries *Fragaria auanana* CV., *Senga sengana, Senga litessa*, and *Senga gourmella*. J. Sci. Food Agr. 31: 487-492 (1980)
16. Drinck P, De Pooter HL, Willaert GA, Schamp NM. Flavor quality of cultivated strawberries: The role of the sulfur compounds. J. Agr. Food Chem. 29: 316-321 (1981)
17. Hirivi T. Mass fragmentographic and sensory analyses in the evaluation of the aroma of some strawberry varieties. LWT. -Food Sci. Technol. 16: 157-164 (1983)
18. Ho CT, Sheen LY, Wu P, Kuo MC, Hartman TG, Rosen RT. Glycosidically bound aroma compounds in pineapple and peach. pp. 77-80. In: Flavour Science and Technology. Bessiere Y, Thomas AF (eds). Wiley, Chichester, UK (1990)
19. Lehotay SJ. Supercritical fluid extraction of pesticides in foods. J. Chromatogr. A 785: 289-312 (1997)
20. Lehotay SJ, Lee CH. Evaluation of a fibrous cellulose drying agent in supercritical fluid extraction and pressurized liquid extraction of diverse pesticides. J. Chromatogr. A 785: 313-327 (1997)
21. Lee BC, Kim JD, Hwang KY, Lee YY. Extraction characteristics of evening primrose oil with supercritical carbon dioxide. J. Korean Inst. Chem. Eng. 27: 522-530 (1989)
22. Campos LMAS, Michielin EMZ, Danielski L, Ferreira SRS. Experimental data and modeling the supercritical fluid extraction of marigold (*Calendula officinalis*) oleoresin. J. Supercrit. Fluid. 34: 163-170 (2005)