

## 쿠마린이 풍부한 일본 녹차의 동정과 전자코를 이용한 특정 향미 측정

김영언 · 심연정  
신소재연구단

### Identification of Coumarin-Enriched Japanese Green Teas and their Particular Flavor using Electronic Nose

Young-Eon Kim, Yeon-Jung Shim  
*Neo Food Resources Research Group*

#### 서 론

녹차는 특유의 향미로 인해 일본에서 가장 보편적인 음료가 되었다. 전통적으로 차 향미에 대한 평가는 gas chromatography mass spectrometry(GC-MS)와 사람에 의한 관능 평가에 의해 이루어져왔다. 식물이나 식품 추출물의 휘발성 화합물을 측정하는데 있어 GS-MS는 효과적인 기법이지만 시간이 오래 걸린다는 단점이 있다. 관능패널에 의한 관능검사는 외부적인 요소에 의해 영향을 받고 민감성과 정량적인 정보의 부족으로 부정확 할 때가 있다. 차의 휘발성 화합물 측정 시 aroma extract dilution analysis 기술은 유용하지만 GC분석과 GC olfactometry 기법 두 가지 모두를 사용하여야

한다는 단점이 있다.

최근 사람 코의 후각 기관을 모방하여 만든 전자코는 매우 민감하며 빠르고 신뢰성 있는 분석을 가능하게 하였으며 식음료 향미의 지속적인 실시간 모니터링을 위한 대표적인 장치가 되었다. 전자코는 특히 열대과일, 토마토, 커피와 같은 식품의 각 분야에 성공적으로 적용되고 있다. 전자코는 차의 등급 판정, 차 품질 예측과 홍차의 발효과정의 모니터링에도 사용된다. 하지만 차의 특정 향미 측정에 관한 전자코 적용에 대한 정보는 거의 없다. 선행 연구에서 몇몇 일본차에 대한 관능평가에서 sweet herbaceous향을 가진 것을 발견하였고, 더 나아가 GC-MS를 이용한 휘발성 분석에서 이러한 sweet herbaceous향을 가진 녹차는 비교적 높은

함량의 쿠마린을 함유하고 있으며, 일본 녹차의 단(sweet)향의 품질에 영향을 주는 것이 쿠마린이 풍부한 차에서 나타났다.

본 연구의 목적은 쿠마린의 함량이 다른 일본 녹차를 구별하는데 있어 전자코를 기반으로 하는 방법이 빠르고, 정확하게, 비파괴적으로 이용될 수 있는지를 조사하고, 쿠마린이 풍부한 녹차의 전체적인 향미에서 쿠마린의 역할을 측정하는 것이다.

## 연구 방법

### 1. 차 시료

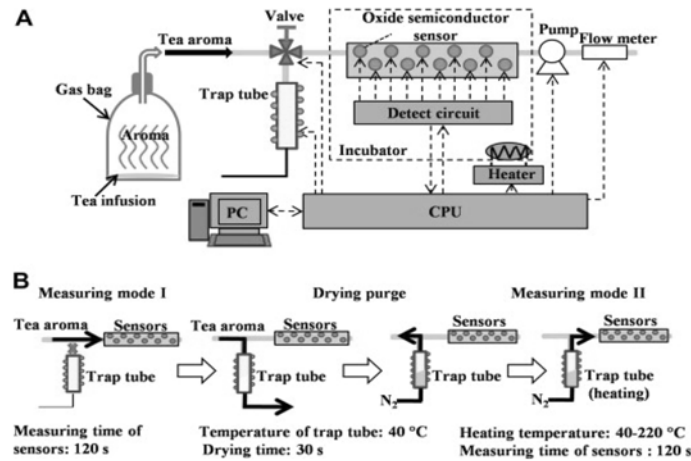
“Shizu-7132”, “Koushun”, “Kanayamidori”, “Yabukita”, “Macikuo”, “Okunosawa”와 “Okumidori” 7종의 녹차(2007년 첫 수확)를 일본 시장에서 구입하였다. GC-MS 분석에서 일반 녹차의 쿠마린의 농도는 대략 0.2 µg/g 이하인 반면 쿠마린이 풍부한 녹차인 Shizu-7132”와 “Koushun”은 각각 0.88 µg/g과 0.67 µg/g을 포함하고 있었다. 선행 연구 또한 쿠마린이 풍부한 “Shizu-7132”의 일본 녹차의 제조 과정 중 쿠마린 함량이 건조 온도에 따라 감소 한다는 것을 나타냈다. 차 시료의 각각 다른 제조과정에서 전자코의 구별하는 능력을 보기위해 각각 다른 건조온도(50°C, 60°C, 70°C, and 80°C)로 건조된 차를 샘플링 하여 전자코 분석을 하였다.

### 2. 전자코 분석을 위한 샘플 준비

차 시료는 바로 끓인 50 ml의 증류수에 1 g의 건조한 차를 3분간 우린 후 여과지로 여과하였다. 여과액은 즉시 25°C 수돗물로 식혔다. 향측정을 위해 우려낸 차 3 ml를 특수한 gas bag (2 L, FF-1, 2KF, Shimadzu, Japan)에 주입 후 질소를 충전하였다. Bag의 head space에 존재하는 차 향을 안정화 시키기 위해 우려낸 차와 질소가 혼합된 bag을 실온인 암소에서 2시간 방치한 후 전자코로 분석하였다. 쿠마린이 풍부한 녹차(Shizu-7132)의 특정한 향에 대한 최적의 우려내는 조건을 설정하기 위해 2개의 변수로 3단계(우리는 시간: 40초, 160초, 280초, 우리는 온도: 60°C, 75°C, 90°C)로 statistical analysis system(SAS) software(Ver. 8.0, SAS Inc.)를 기반으로 하여 분석하였다. 이렇게 하여 나온 9가지 시료와 모든 시료의 차를 혼합한 후 쿠마린 1 ppm을 섞은 것을 전자코로 분석하였다.

### 3. 전자코와 측정조건

전자코(FF-2A Fragrance & Flavor Analyzer, Shimadzu, Japan) 는 10개의 다른 Oxide semiconductor sensor와 Trap tube, CPU의 배열로 이루어져있다(Fig. 1A). 밀봉 용기의 head space에 존재하는 차 향은 165 ml/min의 유속으로 60초간 sensor chamber로 들어간 후 두 가지의 측정 mode에 의해 분석된다(Fig. 1B). 두 개의 측정 mode를 조합하여 사용하면 시료 향의 특



**Fig. 1.** The schematic diagram of electronic nose (FF-2A Fragrance & Flavor Analyzer, Shimadzu, Japan) (A), and its measuring conditions (B). The E-nose (FF2A) is equipped with 10 different oxide semiconductor sensors positioned in a chamber. FF2A system consists of a sampling apparatus, trap tube, a detector unit containing the array of sensors, and computer program (CPU and PC) for data recording and analysis. The headspace tea aroma was pumped into the sensor chamber and the response value of each sensor changed. The measurement procedure was controlled by the computer program. (B) The sampling tea aroma was pumped straightforwardly to the sensor chamber not *via* trap tube and analyzed by the sensors (measuring mode I). The sampling tea aroma was conducted to the trap tube for the removal of the humidity (drying purge), concentrated by the trap tube, and then analyzed by the sensors (measuring mode II)

징이 더 잘 반영된다. Trap tube를 사용하게 되면 측정의 민감성과 재현성, 명확성이 높아지는데 이는 시료 향의 농축과 습기 제거 때문이다. 주요인 분석(principal component analysis)과 집락분석(CA)을 포함하는 다변량분석은 차 시료를 구별하고, 우려내는 조건이 서로 다른 상황에서 쿠마린이 풍부한 차의 특징한(쿠마린과 같은)향미를 측정하기 위하여 사용되었다. 모든 결과는 statistical package for the social sciences (SPSS) software(Ver. 14.0, SPSS, Japan Inc.)를 사용하여 수행하였다. 비교적 최근에 개발된 ASmell2 software(Ver. 1.09, Shimadzu, Japan)를 사용하는 방법이 차의 향미를 품질에 따라

분류하고 수치로 나타내기 위해 채택되었다. Fig. 2에서 나타내는 바와 같이 백터는 향을 나타내며 백터의 방향이 향의 특징을 나타낸다. Standard향(알려져 있는 향)에 대한 유사한 정도를 시료 향의 품질에 따라 숫자로 나타낸다.

## 결과 및 고찰

### 1. 차 향에 대한 전자코의 반응과 분류 분석을 위한 feature extraction

Fig. 3에서와 같이 주어진 차 시료(Shizu-

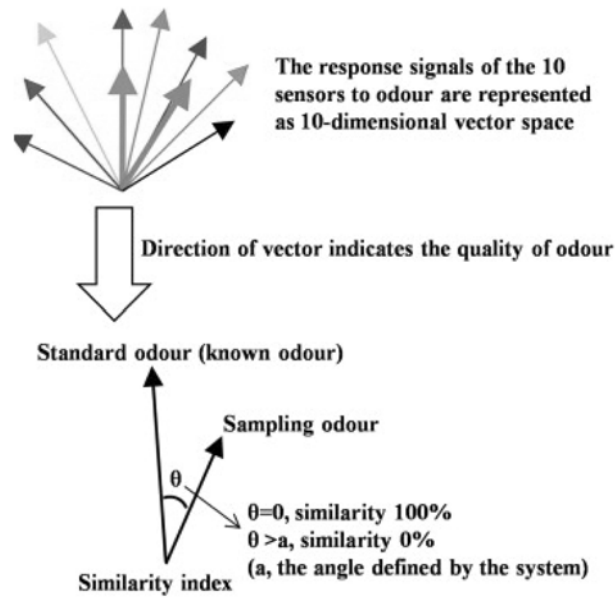


Fig. 2. Principle of absolute value expression (AVE) controlled by ASmell2 software (Ver. 1.09, Shimadzu, Japan). The standard odour and sampling odour are represented by vector. The similarity index between sampling odour and standard odour is expressed by the angle between their vectors

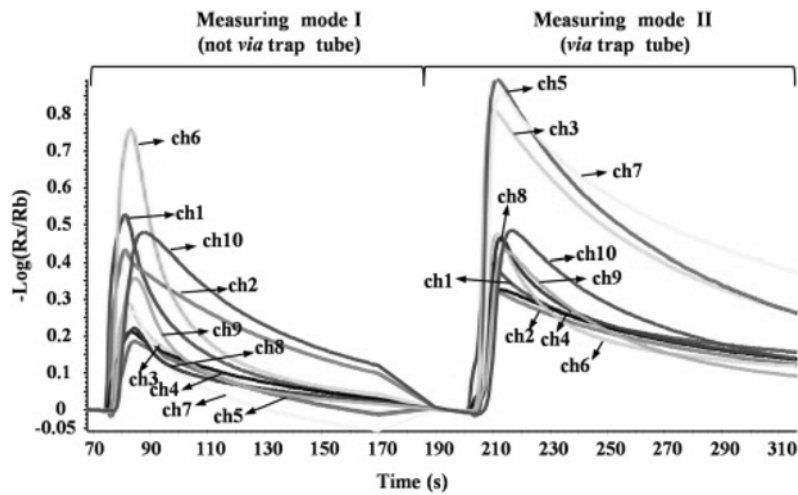


Fig. 3. Response curves of 10 sensors (ch1, ch2, ..., ch10) within two measuring modes to aroma of the green tea (Shizu-7132) infusion. The tea aroma in the headspace of gas bag was pumped into the E-nose for 60s, and analyzed by 10 sensors within two measuring modes. Measuring time of the sensors in each mode was 120s

7132)에 대한 sensor의 반응을 측정할 때 반응 값은  $R = -\log(R_x/R_b)$ 로 나타낸다. R이 반응,  $R_b$ 는 Sensor에 저항하는 기준선,  $R_x$ 는 시료 냄새를 포함한 sensor에 대한 저항을 측정된 것이다. 차 향에 대한 10개의 sensor 반응에서 두 개의 측정 모드는 다른 특징을 보여준다(Fig. 3). Trap tube는 차의 습기를 제거하고 향 시료를 농축시킨다. 결과적으로 Trap tube가 있는 측정모드의 sensor에서의 신호가 Trap tube가 없는 것보다 더 강한 것으로 나타났다. 이것은 향 시료의 습기가 sensor 측정에 영향을 미칠 수도 있다는 것을 의미한다. 하지만 차의 전자코의 장치를 적용한 sensor 분석에서 시료 습기에 의한 영향이 거의 없다는 것이 보고된바있다. 본 연구에서는 시료 차의 향을 특징화하기 위해 두가지 측정 모드에서 시료의 반응을 결합하였다. 시료 반응의 feature extraction이 매우 중요하는데 feature extraction은 이상적으로 대표 할 수 있는 정보를 포함하고 있으면서 시료 특징을

축약되게 나타낼 수 있는 형태로 되어야한다. 본 연구에서는 두 개의 측정 모드에서 각각의 sensor의 반응 최대값을 추후 분류 작업(PCA and CA)을 위해 추출하였다.

## 2. 차를 우려내는 여러 가지 조건 하에서 PCA와 CA를 활용한 쿠마린 이 풍부한 차의 동정과 쿠마린 유사향의 평가

각각의 시료는 전자코를 이용하여 2개의 측정 모드로 10개의 sensor를 통해 반응 최대 값 20개를 얻었다. 이 값들은 시료 특징을 대표한다. PCA는 기존 데이터셋에서 존재 할 수 있는 변수를 최대한 유지하기 위해 사용하였다. 전자코로 얻은 데이터셋의 수치(센서 반응의 최대값)는 첫번째 3가지 요소(PC1, PC2, PC3)를 통하여 삼차원으로 변형되었다. 7개 차 시료에 대한 PCA를 이용한 삼차원 분산 도면은 Fig. 4A에 나타나있다. PC1, PC2, PC3의 신뢰

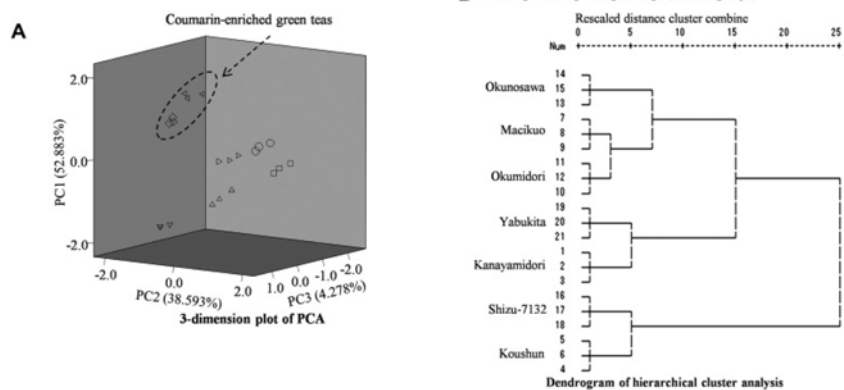


Fig. 4. PCA (A) and CA (B) for E-nose response to the aroma of Japanese green tea infusions. Seven Japanese green teas: Kanayamidori (○), Yabukita (▷), Koushun (◇), Macikuo (□), Okumidori (△), Okunosawa (▽), Shizu-7132 (◁)

성이 95.754%로 높아진 것으로 나타났으며 이는 차를 구별하는데 충분한 정보를 제공 할 수 있다. Fig. 4A는 7개의 차 시료가 잘 구분 되었음을 보여 주고 있다. 쿠마린이 풍부한 녹차(Shizu-7132, Koushun)가 쿠마린이 적은 녹차 그룹과 명백히 구분되었다. CA는 관능데이터(sensor 반응의 최대값)도 측정 할 수 있으며 다양한 차 그룹의 연관성도 측정 할 수 있다. 최근 연구에서 유사성의 측정은 Pearson correlation에 기초하고 있으며, 그룹간의 연계성은 Cluster method를 바탕으로 하였다. 수치상의 선의 위치는 어느 집단에 속해있는지 거리로 나타낸다. 측정된 거리는 SPSS software로 0~25의 범위로 변환된다(Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6B). Dendrogram으로 변환된 거리의 비율은 변환되기 전의 거리와 같은 비율이다. 일반적으로 전자코는 민감성이 뛰어나 다른 종의 차 시료를 구별하는 것이 가능한 것으로 인정 되고 있다. 여기서 보여지

는 결과는 전자코는 차 맛을 구별 할 수도 있다는 것을 암시한다.

Fig. 5에서 쿠마린이 풍부한 녹차(Shizu-7132) 제조 시 쿠마린 함량이 건조 온도에 의존적인 것을 볼 수 있는데, 이는 차의 제조과정 중 특정 향을 모니터링 하는 도구로 사용 될 수 있을 것이다. 차의 향미가 차의 우려내는 온도와 시간에 따라 달라지는 것은 매우 잘 알려져 있다. 서로 다른 우려내는 조건 하에서 쿠마린이 풍부한 차의 쿠마린 향미를 측정하기 위해 PCA와 CA를 사용하여 쿠마린(1 ppm)을 혼합한 차(9가지의 서로 다른 쿠마린(1 ppm)을 혼합한 차, 9개의 서로 다른 조건에서 우려냄)의 차향을 전자코의 반응으로 비교하였다. Fig. 6은 60°C 물에서 280초간 우려낸 차와 쿠마린을 혼합한 차가 전자코의 반응 신호를 통해 매우 유사한 것을 보여준다.

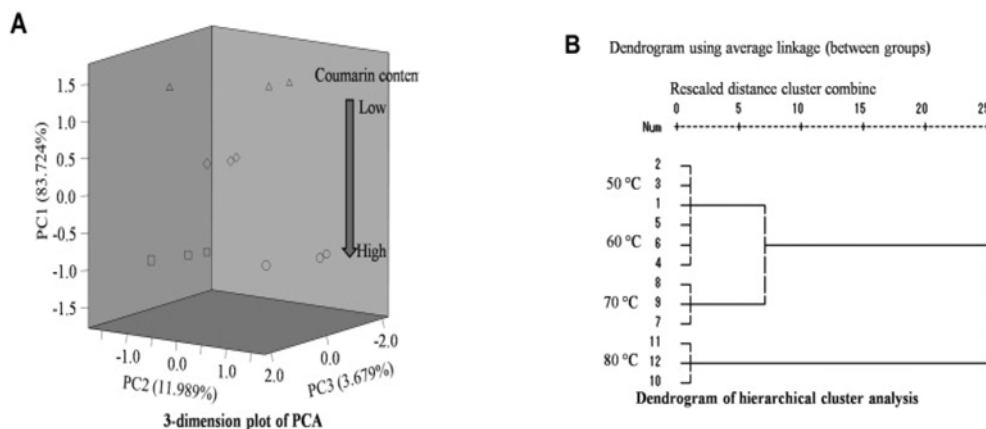
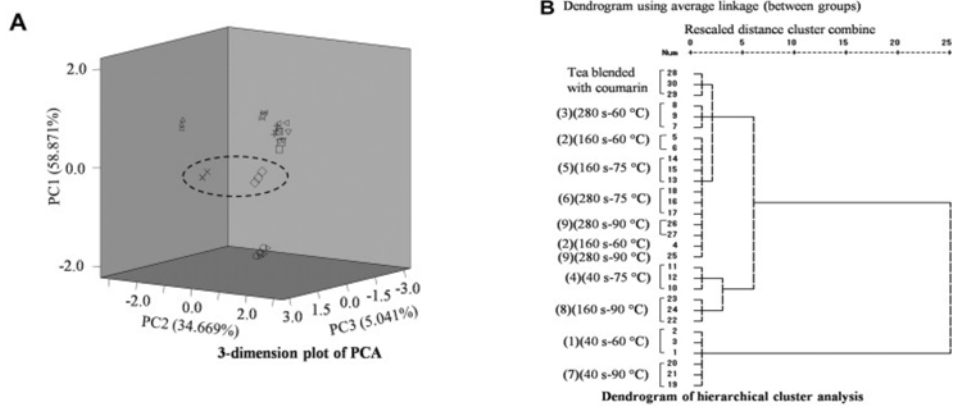
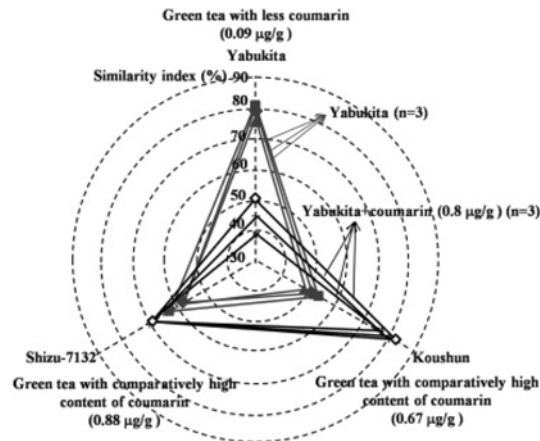


Fig. 5. PCA (A) and CA (B) for E-nose response to the aroma of sampling from different drying temperature during the manufacturing process of coumarin-enriched green tea(Shizu-7132). Different drying temperature during the manufacture of Shizu-7132: 50°C (○), 60°C (□), 70°C (◇), and 80°C (△)



**Fig. 6.** PCA (A) and CA (B) for E-nose response to the aroma of the coumarin-enriched green tea (Shizu-7132) under the different infusing conditions. Different tea infusion conditions (infusing time-infusing temperature): (1) 40s-60°C (○), (2) 160s-60°C (□), (3) 280s-60°C (◇), (4) 40s-75°C (△), (5) 160s-75°C (▽), (6) 280s-75°C (◁), (7) 40s-90°C (▷), (8) 160s-90°C (⊠), (9) 280s-90°C (+). Tea sample (Shizu-7132) blended with coumarin (1 ppm) (×)



**Fig. 7.** Comparison of similarity indices to standards (coumarin-rich or weak green teas) between the tea sample (Yabukita) and its treatment with coumarin

### 3. 쿠마린이 풍부한 녹차의 전체적인 향미에서 쿠마린의 역할 측정

본 연구에서 AVE 방법은 차 향의 품질을 수

적으로 나타내기 위해 사용 되었다(Fig. 2). 쿠마린이 풍부한 녹차(Shizu-7132, Koushun)와 쿠마린이 적은 녹차(Yabukita)를 standard향으로 정의하였다. Standard mode는 ASmell2 analysis

software(Ver. 1.09, Shimadzu, Japan)로 수행하였다.

Fig. 7에서와 같이 Shizu-7132와 Koushun에 쿠마린 함량이 동일하게 되도록 쿠마린 처리를 한 후에는 전체적인 향미의 유사 지표가 Yabukita만큼 증가하였다. 이것은 쿠마린이 풍부한 녹차에서 쿠마린의 전체적인 향미에 중요한 역할을 나타낸 것이다.

## 결 론

GC-MS는 차의 향미에까지 확대되어 적용되었지만 비휘발성 물질로부터 향을 분리하기 위해서는 유기용매의 추출과정이 더 필요하다. 최근의 연구들은 민감성과 정확성을 통해 전자코의 장점을 증명하고 있다. 즉, 유기용매는 사용하지 않으면서 간편, 신속한 시료 처리가 전자

코의 장점인 것이다.

본 연구에서 전자코를 기반으로 한 쿠마린 첨가 녹차의 동정은 성공적이었다(Fig. 4). 전자코는 또한 차 제조과정에서 향의 특징을 모니터링하고(Fig. 5), 서로 다른 우려내는 조건에서 특정 향미를 측정하기에도 적합하였다(Fig. 6). 향미의 수치적인 표현을 전자코를 통해 나타내었으며(Fig. 7), 이를 통해 차 향의 평가에 더욱 적용하기가 용이해졌다. 고도의 민감성과 신속성, 특별한 기술은 식품의 향미를 측정하는데 꼭 필요하며 식품의 품질관리를 효율적으로 증진시킬 수 있을 것이다.

## 자료 출처

Journal of Food Engineering, **92**(3), 312-316, 2009

김영언 이학박사

- 소속 한국식품연구원 신소재연구단
- 전문분야 식품가공 (농산가공)
- E-mail radog@kfri.re.kr
- TEL 031-780-9072