

솔 부위 및 추출 용매를 달리한 솔향의 분석

조지은 · 이미정 · 이양봉[†] · 윤정로*

부경대학교 식품생명공학부

*강릉대학교 식품과학과

Comparisons of Volatile Compounds of *Pinus densiflora* on Kinds of Extraction Solvent and Parts of Pinus

Ji-Eun Cho, Mi-Jeong Lee, Yang-Bong Lee[†] and Jungro Yoon*

Div. of Food Science & Bioeng., Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

*Dept. of Food Science, Kangnung University, Kangwon-do 210-702, Korea

Abstract

Volatile compounds from twigs, needles and sprouts in *Pinus densiflora* were extracted with n-hexane, diethyl ether or ethanol for 24 hours, and the extracted compounds were separated and identified by gas chromatography and mass selective detector. The kinds and amount of volatile compounds extracted from three parts of *Pinus densiflora* were different in solvent extraction and the extraction by the modified Likens-Nickerson apparatus. The contents of volatile compounds of twigs contained more than those of needles and sprouts, and the volatile compounds were extracted more in n-hexane than the others. In the extraction with hexane, the main volatile compounds of twigs were 18.5% β -pinene, 14.5% limonene, 12.7% α -pinene and 3.2% β -myrcene. Sprouts were 16.8% limonene, 4.4% β -pinene, 4.3% α -pinene and 1.7% β -myrcene. Needles contained 14.7% β -pinene, 5.4% α -pinene, 2.2% limonene and 0.8% β -myrcene. The highest yield for pine aroma was shown in the extraction from pine twigs with n-hexane, and in this extraction the amounts of α -pinene, β -pinene and limonene were 742 μ g, 1108 μ g and 922 μ g per gram sample, respectively.

Key words: volatile compounds, *Pinus densiflora*, twigs, needles, sprouts

서 론

솔은 현재까지 항균성과 항 산화성, 효소 활성을 억제시키는 천연 보존제로 연구되어 왔고, 혈청 콜레스테롤 농도를 저하시키는 건강식품으로 그 기호도 또한 높은 것으로 알려져 있다(1-3). 솔의 휘발성 성분으로는 terpenoid계가 주를 이루고 있는데, 이중 monoterpene, diterpene 등은 방향성을 가지고 있다(4-6).

향의 분리방법(7)에는 Likens-Nickerson 장치에 의한 동시 증류·추출법(simultaneous steam distillation and solvent extraction; SDE), 용매 추출법, 흡착방법 등이 대표적인데, 본 실험에서는 용매 추출법과 Likens-Nickerson 장치를 이용한 동시 증류·추출법을 사용하였다.

Phytoncides의 한 종류인 forest air의 휘발성 성분은 사람의 인체에 이로운 것으로 알려져 있다(8). 솔은 한국에 넓게 분포하고 있고(9), 솔향은 forest air 또는 green-air라 불리는 aroma의 한 종류이기도 하다. 현재 솔향이 나는 음료가 시판되고 있고, 캔디와 껌 등의 제품에 솔로

부터 추출한 향을 적용한 경우도 있다. 솔향의 품질은 몇 개의 중요한 성분들의 휘발성에 의존한다. 예를 들면, 솔향의 주요성분으로 알려진 α -pinene과 β -pinene은 솔향에 많이 관여하는 것으로 알려져 있다.

이 연구의 목적은 SDE 장치를 이용한 추출법과 용매 추출법을 통해 추출한 솔의 부위별 휘발성 성분의 조성을 알아보고, 솔향에서의 조성 성분의 비와 변화를 알아보고자 한다. 또한, 솔의 부위별 휘발성 성분의 조성 및 함량을 알아내어 조향산업과 신소재 개발에 도움이 되고자 한다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 재료는 *Pinus densiflora*(2엽송)의 솔잎, 새순, 솔가지, 송화가루로 구분되며, 각 20g씩을 1cm크기로 균일하게 잘라서 3회 반복 실험하였다. 솔가지에서 동정된 성분 중 12개의 순수 물질은 α -pinene, β -

[†]To whom all correspondence should be addressed

myrcene, α -terpinene, limonene, γ -terpinene, terpineol, β -caryophyllene, α -humulene은 Sigma사로부터 구입하였고, camphene, β -pinene, thujone은 Aldrich사에서, terpinolene은 Junsei사로부터 구입하여 정성분석에 사용하였다.

용매 추출

세 종류의 용매, ethanol, n-hexane, diethyl ether 100 ml에 세 부위의 시료 20g씩을 담가 두어 24시간 동안 상온에 방치하였다가 거름종이에 걸러내고 rotary vacuum evaporator로 농축시켜 5ml로 정량하였다. Ethanol은 80°C에서, n-hexane과 diethyl ether는 30°C에서 5분간 농축시켰다. 그리고 난 후, 10 μ l syringe를 이용하여 sandwich기법으로 정확히 1 μ l를 GC에 주입하였다.

Likens-Nickerson장치를 이용한 향 추출

일반적으로 널리 사용되는 Likens-Nickerson 장치(Simultaneous steam distillation and solvent extraction apparatus, Catalog No. 523010-0000, Kontes, USA)를 사용하였고, 방법은 전보(10)에 준하였다.

GC-FID/MSD에 의한 분석

농축시킨 용매추출액을 GC(HP-5890plus)-MSD(HP-5972)에 의해 분리·동정하였다.

GC오븐(HP-5890 plus)의 온도 조건은 초기온도 30°C에서 5분간 머무른 다음 3°C/min로 200°C까지 승온시켰다. Column은 HP-5(30m \times 0.32mm \times 0.25 μ m)를 사용하였다.

휘발성 성분의 동정은 mass selective detector(Hewlett Packard 5972, Avondale PA, USA)를 사용하였고 NBS 75K.L(NIST/EPA/MSDC)의 mass 기준 자료와 비교 분석하여 각각의 휘발성 성분을 알아내었다. MSD의 작동 조건은 ion source온도는 280°C, ionization voltage는 70 eV, mass scan의 범위(mass/charge)는 20~300a.m.u이고 scanning rate 1.0 scan/sec, electron multiplier voltage 1670V이었다.

결과 및 고찰

추출용매별 향 성분의 비교

추출용매인 n-hexane, diethyl ether와 ethanol의 용매별 각 부위에 따른 추출성분을 비교한 것은 Table 1에 나타내었다. 용매별 가치를 이용한 추출액을 서로 비교해 본 결과(Fig. 1), 색상에서부터 뚜렷한 차이를 나타냈는데, n-hexane의 경우에는 연한 노란색을 띠었고, diethyl ether는 연두색에 가까웠으며, ethanol은 짙은 녹색 계통이었다. 각각의 용매에 대한 가치의 솔향 조성을 살펴 본 결과, n-hexane에서 추출한 시료에서 휘발성 성분이 많이 검

Table 1. Concentration ratio of volatile compounds identified from samples of *Pinus densiflora* by solvent extraction

Peak no. ¹⁾	Compound	Twigs			Sprouts			Needles		
		Hexane	Ether	Ethanol	Hexane	Ether	Ethanol	Hexane	Ether	Ethanol
1	3-carene ²⁾	0.2	0.2	- ³⁾	0.1	0.1	-	-	0.1	-
2	α -pinene	12.7	8.4	-	4.3	3.6	-	5.4	4.0	-
3	camphene	0.8	0.8	-	0.5	0.4	-	0.2	0.3	-
4	β -pinene	18.5	11.0	0.1	4.4	2.4	0.5	14.7	12.5	0.8
5	β -myrcene	3.2	3.5	-	1.7	3.3	0.2	0.8	0.8	-
6	α -phellandrene ²⁾	0.1	0.1	-	0.1	0.1	0.8	-	-	0.6
7	α -terpinene	-	-	-	-	-	0.2	-	-	-
8	limonene	14.5	13.5	0.3	16.8	15.3	0.1	2.2	6.1	0.3
9	γ -terpinene	0.1	0.1	-	0.1	0.1	0.1	-	-	-
10	terpinolene	0.5	0.5	-	0.6	0.5	0.1	0.3	0.6	0.1
11	(-)-thujone	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-
12	1-methyl-4-(1-methylethyl)-2-									

를 차지하였고, 그 다음은 germacrene D가 1.0%, β -caryophyllene 0.6%를 차지하였다. 여기서 limonene은 0.3%밖에 차지하지 않았다. n-Hexane에서 휘발성 성분이 가장 높게 나타났고, 다음은 diethyl ether, 그리고 ethanol의 순이었으나 ethanol의 경우에는 휘발성 성분이 현저히 낮게 검출되었다. Hexane과 ether에서 추출한 경우와 ethanol에서 추출한 경우를 비교해 보면, ethanol이 hexane과 ether에서 추출했을 때보다 낮은 온도(100°C 이하)에서 휘발되는 성분들의 함량이 현저히 낮았다.

추출부위별 향 성분의 비교

용매에 따라 추출되는 정도를 비교한 결과, n-hexane에서의 휘발성 성분의 함량이 가장 높았으므로, 솔의 부위별 휘발성 성분의 조성을 살펴보았다. n-Hexane을 이용하여 추출한 경우의 부위별 휘발성 성분의 조성을 비교해 보면(Fig. 2), 가지에서는 β -pinene이 18.5%, limonene 14.5%, α -pinene 12.7%, β -myrcene 3.2%, bornyl acetate 2.3%, germacrene D 1.1%를 차지하였고, 새순은 limonene 16.8%, β -pinene 4.4%, α -pinene 4.3%, bornyl acetate 2.2

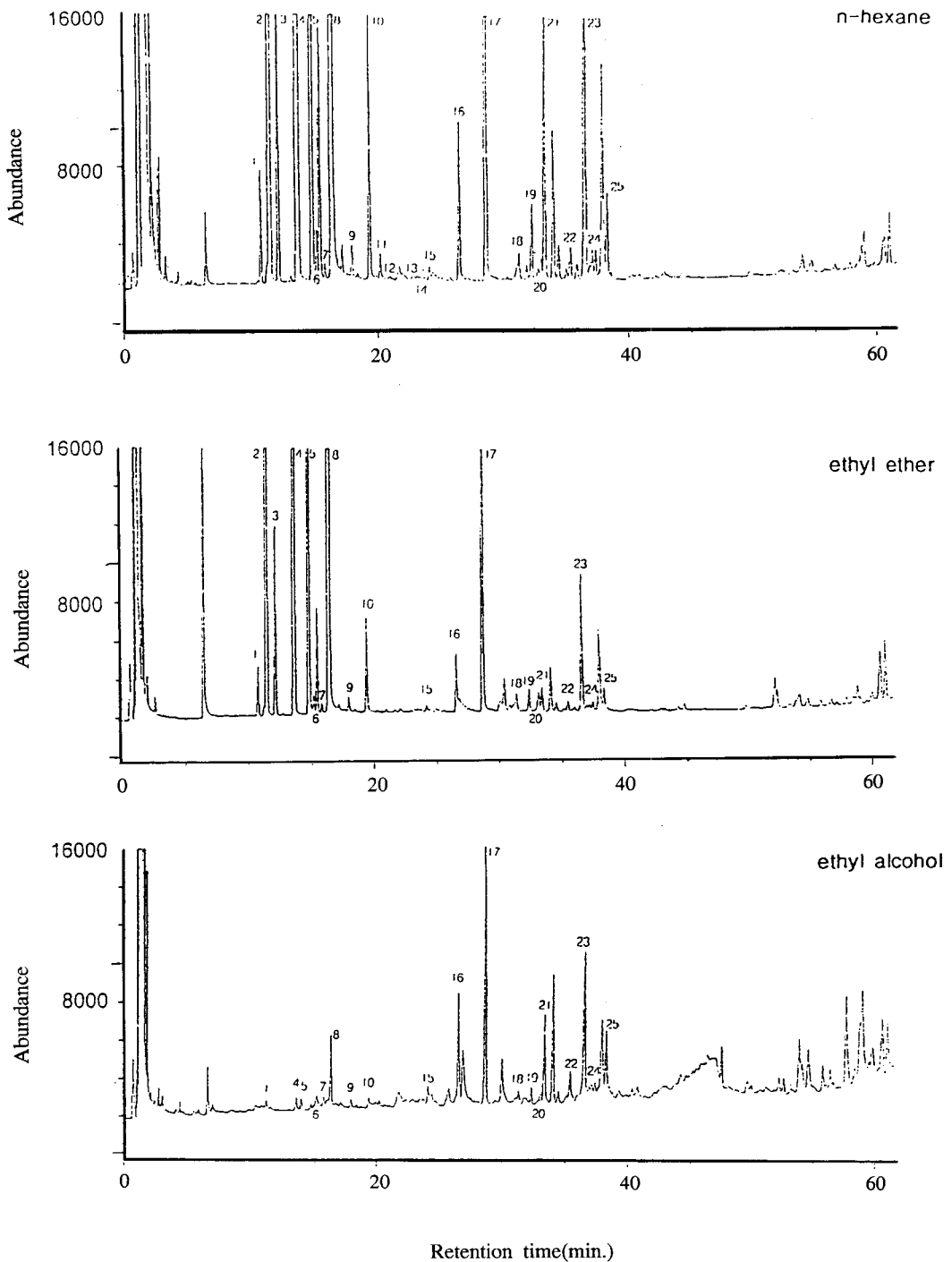


Fig. 1. Volatile compounds separated from twigs of *Pinus densiflora* with three kinds of solvent extraction.

출되었다. diethyl ether, ethanol의 순으로 그 함량이 감소하였다. Ethanol 추출액은 다른 두 용매의 추출액에 비해 저비점의 휘발성 성분들이 훨씬 적었다. 가지 부위의 세 가지 용매에 의한 추출성분의 조성을 비교해 보면, n-hexane 용매를 이용해서 추출한 경우, β -pinene이 18.5

%, limonene 14.5%, α -pinene 12.7%, β -myrcene 3.2%를 차지하였고, diethyl ether 용매를 이용해서 추출한 경우에는 limonene 13.5%, β -pinene 11.0%, α -pinene 8.4%, β -myrcene 3.5%를 차지하였고, ethanol 용매를 이용해서 추출한 경우는 bornyl acetate가 총 peak area의 1.3%

를 차지하였고, 그 다음은 germacrene D가 1.0%, β -caryophyllene 0.6%를 차지하였다. 여기서 limonene은 0.3%밖에 차지하지 않았다. n-Hexane에서 휘발성 성분이 가장 높게 나타났고, 다음은 diethyl ether, 그리고 ethanol의 순이었으나 ethanol의 경우에는 휘발성 성분이 현저히 낮게 검출되었다. Hexane과 ether에서 추출한 경우와 ethanol에서 추출한 경우를 비교해 보면, ethanol이 hexane과 ether에서 추출했을 때보다 낮은 온도(100°C 이하)에서 휘발되는 성분들의 함량이 현저히 낮았다.

추출부위별 향 성분의 비교

용매에 따라 추출되는 정도를 비교한 결과, n-hexane에서의 휘발성 성분의 함량이 가장 높았으므로, 솔의 부위별 휘발성 성분의 조성을 살펴보았다. n-Hexane을 이용하여 추출한 경우의 부위별 휘발성 성분의 조성을 비교해 보면(Fig. 2), 가지에서는 β -pinene이 18.5%, limonene 14.5%, α -pinene 12.7%, β -myrcene 3.2%, bornyl acetate 2.3%, germacrene D 1.1%를 차지하였고, 새순은 limonene 16.8%, β -pinene 4.4%, α -pinene 4.3%, bornyl acetate 2.2

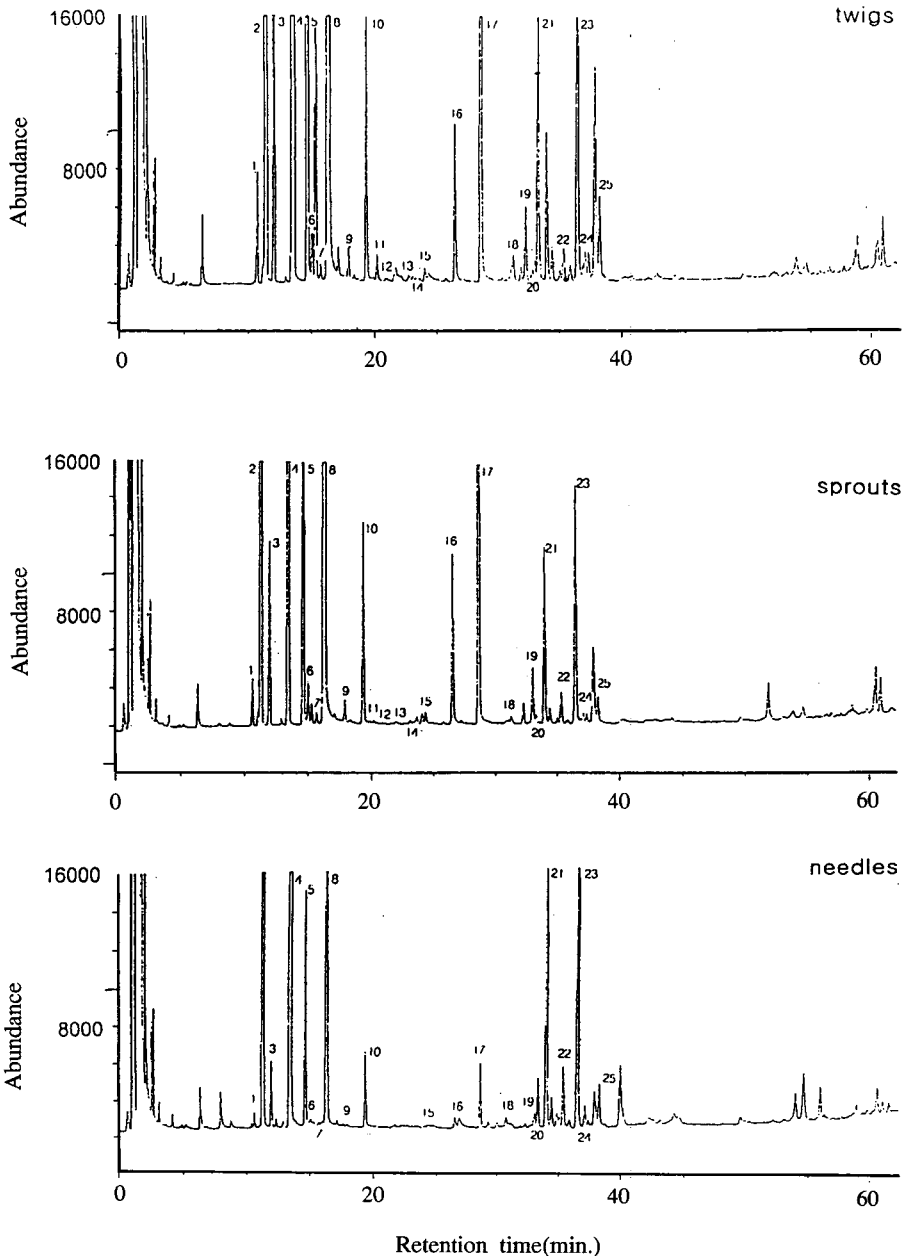


Fig. 2. Volatile compounds separated from three parts of *Pinus densiflora* with n-hexane extraction.

Table 2. Comparisons of concentration ratio in volatile compounds identified from parts of *Pinus densiflora* with Likens-Nickerson apparatus (unit : %)

Peak no. ¹⁾	Chemical names	Retention index	Twigs	Needles	Pollens
1	3-carene ²⁾	905	0.4	1.1	0.7
2	α -pinene	921	11.8	2.7	19.9
3	camphene	933	1.5	4.1	2.4
4	β -pinene	962	18.9	38.6	23.4
5	β -myrcene	982	12.0	3.7	8.3
6	α -phellandrene ²⁾	987	0.5	0.3	0.3
7	α -terpinene	997	0.3	0.3	0.2
8	limonene	1013	36.9	12.8	25.3
9	γ -terpinene	1045	0.3	0.4	0.4
10	terpinolene	1073	0.8	4.4	0.8
11	(-)-thujone	1090	-	0.1	0.3
12	1-methyl-4-(1-methylethyl)-2-cyclohexen-1-ol ²⁾	1106	0.4	0.3	0.4
13	borneol ³⁾	1154	1.6	- ³⁾	0.8
14	4-methyl-1-(1-methylethyl)-3-cyclohexen-1-ol ²⁾	1165	0.5	0.7	1.0
15	terpineol	1181	1.3	10.2	2.8
16	4-(1,1-dimethylethyl)-benzenemethanol ²⁾	1227	0.9	0.2	3.4
17	bornyl acetate ²⁾	1275	2.4	3.8	7.6
18	α -cubebene ²⁾	1336	0.2	0.2	0.2
19	copaene ²⁾	1361	0.9	0.2	0.2
20	longifolene ²⁾	1385	0.4	0.2	0.2
21	β -caryophyllene	1401	1.1	2.3	0.2
22	α -humulene	1436	0.3	0.5	0.1
23	germacrene D ²⁾	1466	2.7	9.1	0.3
24	a kind of naphthalene	1487	1.1	0.2	0.1
25	a kind of naphthalene	1510	1.1	2.6	0.6

¹⁾These numbers are the same numbers in Fig. 3.

²⁾This means the tentative identified compounds with GC-MSD.

³⁾- means that the peak area is less than 1.0×10^4 .

%, β -myrcene 1.7%, germacrene D 0.9%를 차지하였다. 마지막으로, 솔잎의 경우에는 β -pinene이 14.7%, α -pinene 5.4%, limonene 2.2%, germacrene D 2.1%, β -caryophyllene 1.6%, β -myrcene 0.8%를 차지하는 결과를 보였다. 이처럼 같은 용매를 사용했더라도 부위에 따라 추출되는 휘발성 성분이 차이가 났다. 새순을 시료로 이용한 경우에 가장 많은 종류의 휘발성 성분이 나타났고, 솔가지의 경우는 새순에 비해 종류는 3~4개 정도가 작았으나, 대체로 휘발성 성분의 함량이 더 높았다. Hexane을 이용한 솔가지로부터 추출된 몇가지 주요 성분의 정량분석을 전보(10)의 방법과 같이 계산하여 시료 1g당, β -pinene이 1108 μ g, limonene 922 μ g, α -pinene 742 μ g, β -myrcene 212 μ g인 것으로 나타났다.

또한, Simultaneous steam distillation and solvent extraction(SDE)에 의한 부위별 휘발성 성분의 조성도 살펴 보았다. 그 결과는 Fig. 3과 Table 2에 나타냈다. 솔잎, 가지 그리고 송화가루를 채취하여 Likens-Nickerson장치를 이용하여 추출한 휘발성 성분의 수는 각각 37, 48, 50이었다. SDE법에 의해 추출한 솔잎의 휘발성 성분의 조성 농도는 β -pinene 29.1%, limonene 9.7%, terpineol 7.7%, germacrene D 6.9%를 차지하였다. 가지의 경우는 limonene 34.7%, β -pinene 17.7%, β -myrcene 11.3%, α -pinene 11.1%이고, 송화가루의 경우는 limonene 19.0%,

β -pinene 17.6%, α -pinene 15.0%, β -myrcene 6.2%를 차지하였다. 송화가루와 가지의 구성성분은 비슷한 경향을 보였으나, 솔잎의 구성성분과는 많은 차이가 있었다.

상온에서 용매를 이용한 추출물과 열을 가하여 추출하는 SDE법에 의한 휘발성 성분은 그 추출된 양에 있어서 많은 차이를 보였는데, 열을 가하는 후자의 경우에서 휘발성 성분이 더 많이 분석된 것을 볼 수 있었다. 그리고, 150 $^{\circ}$ C이상의 비점을 가진 성분들이 상온에서 용매 추출한 경우에는 거의 볼 수 없었지만, SDE법을 이용한 추출물에서는 나타나는 것을 볼 수 있었다. 전체적으로, 열을 가해 줌으로써 각각의 성분들이 잘 휘발될 수 있어서 각각의 휘발성 성분의 양이 많은 것도 있겠지만, 가열에 의해 휘발성 성분 중 고분자 물질의 분리를 쉽게 하였을 것으로 추정된다.

요 약

*Pinus densiflora*의 세 부위, 가지(twigs), 솔잎(needles), 그리고 새순(sprouts)을 각각 세가지 용매, n-hexane, diethyl ether 그리고 ethanol에 24시간동안 담가두었다가 걸러내어 rotary evaporator를 이용하여 농축한 후, 가스 크로마토그래피와 질량 분석 검출기(mass selective detector)를 이용하여 분리·동정하였다.

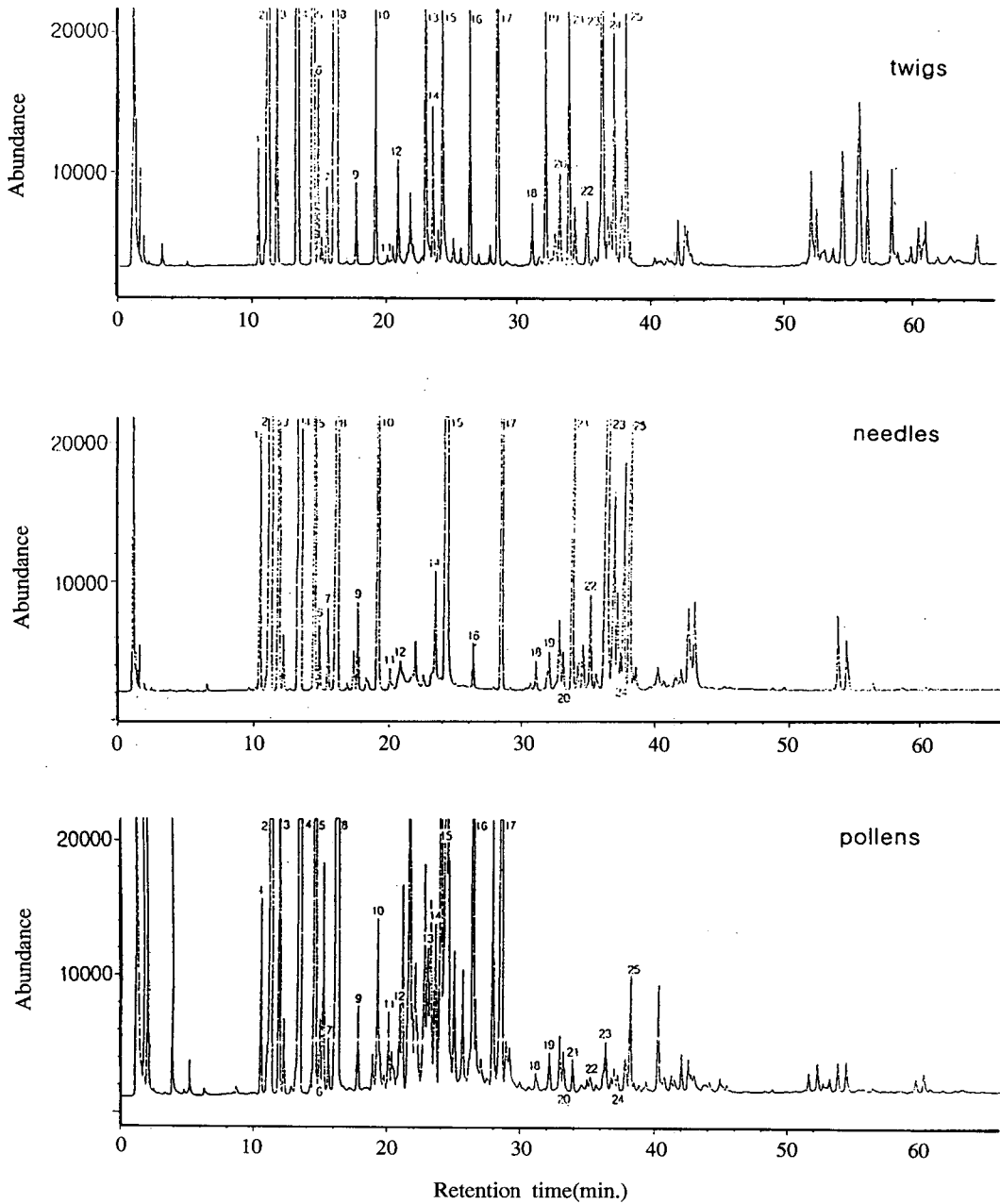


Fig. 3. Volatile compounds from samples of *Pinus densiflora* with Likens-Nickerson apparatus.

가지부분의 휘발성 성분의 함량은 새순부위와 솔잎부위보다 많았으며, ethanol과 ether 용매를 이용한 것보다 n-hexane에서 휘발성 성분이 잘 추출되었다. Hexane으로 추출시 가지부위의 주요 휘발성 성분은 β -pinene 18.5%, limonene 14.5%, α -pinene 12.7% and β -myrcene 3.2%를 차지하였으며, 새순 부위에서는 limonene 16.8%, β -pinene 4.4%, α -pinene 4.3% and β -myrcene 1.7%의 순이었으며, 솔잎부위는 β -pinene 14.7%, α -pinene 5.4%, limonene 2.2% and β -myrcene 0.8%를 각각 차지하였다.

Hexane을 이용한 솔가지로부터 추출된 몇가지 주요 성분의 양을 보면, 시료 g당 β -pinene 1108 μ g, limonene 922 μ g, α -pinene 742 μ g, β -myrcene 212 μ g인 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 1997년도 보건의료 기술연구 개발사업(HMP-97-F-3-0007)의 지원에 의하여 이루어진 결과의 일부이며, 이에 감사드립니다.

문헌

1. Kang, Y. H., Park, Y. K., Ha, T. Y. and Moon, K. D. : Effects of pine needle extracts on serum and liver lipid contents in rats fed high fat diet. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **25**, 367-373(1996)
2. Lee, Y. H., Choi, Y. S. and Lee, S. Y. : The cholesterol-lowering effects of the extract from *Pinus strobus* in chickens. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **25**, 188-192(1996)
3. Kang, Y. H., Park, Y. K., Oh, S. R. and Moon, K. D. : Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **27**, 978-984(1995)
4. Kim, Y. T. : Composition of the volatile needle oils of *Pinus* species. *M. S. thesis*, Yonsei University(1987)
5. Clark, B. C. Jr. and Chamblee, T. S. : Acid-catalyzed reactions of citrus oils and other terpene-containing flavors. In "*Off-flavors in foods and beverages*" Charalambous, G.(ed.), Elsevier science publishers B. V., pp.229-285 (1992)
6. Choi, C. I. B. : Terpenoid analysis of the normal, damaged needle and pinecone in *Pinus densiflora*. *M. S. thesis*, Kangweon National University(1992)
7. Maarse, H. : *Volatile compounds in foods and beverages*. Marcel Dekker, Inc., New York, pp.1-40(1991)
8. Yatagai, M. : Terpenes emitted from trees. *Mokuzai Gakkaishi*, **30**, 190-194(1984)
9. Kim, H. J. : A study on the constituents of the pollen of *Pinus densiflora* Siebol et Zuccarini and *Pinus rigida* Miller. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **21**, 201-206(1992)
10. Lee, M. J., Lee, Y. B., Yang, J. Y., Kwon, H. S. and Yoon, J. : Isolation and identification of volatile compounds extracted from twigs of *Pinus densiflora* with Likens-Nickerson apparatus. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 568-573(1998)

(1999년 6월 1일 접수)