

추출방법에 따른 생강의 휘발성 성분 조성 비교

이재곤 · 장희진 · 곽재진 · 이동욱
한국인삼연초연구원 화학부

Comparison of the Volatile Components of Korean Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) by Different Extraction Methods

Jae-Gon Lee, Hee-Jin Jang, Jae-Jin Kwag and Dong-Wook Lee

Division of Chemistry, Korea Ginseng & Tobacco Research Institute,
Taejeon 305-345, Korea

Abstract

The volatile components of Korean ginger were compared by using different isolation methods, head-space sampling procedure(HSSP), simultaneous distillation extraction(SDE) and solid phase micro-extraction(SPME). Sixty-one components were identified by GC-MSD in the extracts obtained from each extraction methods. However, the components identified showed a difference in their composition with the extraction methods. In the extract by HSSP, fifty-five components including a high volatile compound such as acetaldehyde, ethylacetate, 2,3-butandione were detected, and thirty-one components were identified in the extract by SPME. While, the low volatile components such as elemol, zingiberenol and β -eudesmol were detected only in the extract by SDE method. The results suggest that SDE method is the best for the analysis of low volatile components, whereas HSSP is a proper method for the analysis of high volatile components from natural resources.

Key words: extraction methods, ginger, volatile components.

서론

식물체의 향 특성을 규명하기 위해서는 휘발성 성분의 조성을 분석하는 분석기술적인 면이 중요하다. 식물체의 향 특성을 가장 잘 발현할 수 있는 휘발성 성분을 분리하기 위해 많은 분리방법이 개발되어 왔는데 그 중 headspace법¹⁻³⁾, solid phase micro extraction(SPME)법^{4,5)}, simultaneous distillation extraction(SDE)⁶⁾법 등이 비교적 자주 사용되는 방법이다. 이들 방법은 각기 다른 장단점을 갖고 있는데 headspace 분석법은 휘발성 성분을 흡착제에 흡착시킨 후 추출 및 농축단계를 거치지 않고 바로 GC에 투입하므로써 비점이 낮은 휘발성 성분 분석시 용이하나 전처리 시간 및 비용이 많이 소요되는 단점이 있으며⁷⁾, SPME법은 유기용매를 사용하지 않고 적은 양

의 시료로도 간단하게 전처리 할 수 있어 최근에 headspace법을 대신하여 많이 사용되고 있으나 headspace법에 비해 분리능이 떨어지는 것으로 알려져 있다⁸⁾. SDE법은 소량의 용매로 추출하면서 비교적 향기의 손실이 적은 장점이 있으나 시료를 추출하는 동안 고온을 유지해야 하므로 주요 성분들이 열에 의해 변화될 수 있는 단점이 있다^{9,10)}. 이들 각각의 방법들에 의한 차이를 검토하기 위해 생강을 시료로 하여 휘발성 성분의 분리효율을 비교하였다. 시료로 사용한 생강(*Zingiber officinale* R.)은 다년생 초본식물로 열대 아시아 지역이 원산지이며 국내에서는 주로 남부지방 각처에서 재배되고 있다¹¹⁾. 생강의 근경은 특유의 맛과 향기를 지니고 있어 세계적으로 널리 애용되고 있는 기호성이 좋은 향신료의 하나로 생생강, 건생강, absolute, oleoresin, essential oil 등의 형태로

* Corresponding author : Jae-Gon Lee

유통되고 있고 식용, 약용 또는 화장품용으로 사용되고 있다^{12,13}. 생강의 약리효능에 관한 연구로는 안 등¹⁴이 생강의 추출물은 DNA 손상의 억제작용이 있다고 보고한 바 있으며, Katiyar 등¹⁵은 쥐의 피부에 생강추출물을 도포했을 때 종양의 성장이 억제되고 소염 효과가 있다고 보고하였다. 또한, 최근 한방병원 등에서 생강의 essential oil을 이용한 향기 요법으로 감기, 두통, 관절염 및 정신적 피로 등을 치료하고 있는 것으로 보고된 바 있다¹⁶. 생강의 휘발성 성분에 관한 연구로는 김 등¹⁷이 재배산지에 따른 휘발성 성분의 차이를 SDE방법으로 비교 검토하였고, Smith 등¹⁸은 저장온도에 따른 휘발성 성분의 조성차이를 SDE방법으로 비교한 바 있다. 특히 생강에 함유되어 있는 essential oil의 조성은 생강 제품의 품질 평가에 중요한 지표가 되고 있는데, Lawrence¹⁹는 인도네시아 등 11개 나라에서 재배된 생강을 SDE장치로 분리한 후 essential oil의 조성을 비교 분석한 바 있다. 그 외에도 생강의 휘발성 성분^{20,21}에 관해 많은 연구가 수행되어져 왔으며 이들 연구에 사용된 휘발성 성분 추출방법은 대부분 SDE방법이며, headspace법이나 SPME법에 의한 결과는 아직까지 보고된 바 없다. 국내에서는 추출방법에 따른 휘발성 성분의 조성차이에 관한 연구가 극히 미비한 실정으로 저자들은 생강의 휘발성 성분에 대한 연구의 일환으로 추출방법에 따른 휘발성 성분의 조성 차이를 비교 분석하였기에 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 재 료

본 실험에 사용한 생강은 1999년도에 충남 서산에서 재배하여 수확한 생강의 근경을 향기성분이 휘발되지 않도록 밀봉하여 저온에서 보관하면서 분석시료로 사용하였다.

2. 휘발성 성분의 추출

1) Headspace(purge & trap)법

생생강 50g을 절각하여 온도가 50°C로 일정하게 유지되는 purging column에 넣고 질소기체를 분당 50ml의 유속으로 20시간 동안 불어넣어 휘발되는 성분을 Tenax GR에 흡착시켜 휘발성 성분 분석시료로 하였다. 이때 질소기체의 수분이 시료로 유입되는 것을 방지하기 위해 환류냉각기를 부착하여 Tenax trap에 수분이 흡착되는 것을 방지하였다²².

2) Solid Phase Micro Extraction(SPME)법

생생강 2g을 절각하여 20ml병에 넣고 마개로 막은 후 SPME장치²³를 시료병에 꽂아 화이버가 접촉하지 않도록 일정한 높이로 조정후 홀더의 플린저를 눌러 화이버가 밖으로 나오게 하여 50°C로 유지되는 물 증탕에서 30분간 추출하였다. 이때 Supelco사 65 μ m polydimethylsiloxane/divinylbenzene 화이버를 SPME 장치에 연결하여 사용하였다.

3) Simultaneous Distillation Extraction(SDE)법

생생강 50g을 절각하여 2 l 플라스크에 넣고 증류수 1 l를 가하여 Schultz 등²⁴의 방법에 따라 개량된 SDE장치를 사용하여 휘발성 성분을 2시간 추출하였다. 추출용매로서는 *n*-pentane : diethylether 혼합액 (1:1, v/v) 50ml를 사용하였으며 이때 냉각수의 온도는 5°C로 유지하였다. 추출완료 후 무수황산나트륨으로 탈수시키고 30°C에서 감압농축하여 분석용 시료로 사용하였다.

3. 휘발성 성분의 분석

분리된 휘발성 성분은 미국 Hewlett Packard사 모델 HP5890/5970 GC/MSD를 사용하여 분석하였다. Headspace법으로 분리된 휘발성 성분의 분석시 column은 Innowax(50m \times 0.2mm i.d) fused silica capillary를 사용하였고 온도는 30°C에서 3분간 유지한 후 50°C까지 분당 5°C로 승온시키고 50°C에서 3분간 유지한 후 220°C까지 2°C/min의 속도로 승온하고 220°C에서 20분간 유지하였다. Injector 및 interface의 온도는 250°C, ionizing voltage는 70eV로 하였고 운반 기체인 helium 유량은 0.5ml/min으로 하였다. 흡착된 휘발성 성분을 탈착시켜 GC/MSD에 주입시키는 장치로는 일본 Japan Analytical Industry사가 제작한 JHS-100A 모델을 사용하였으며 탈착온도는 358°C, 탈착 및 GC에 주입되는 시간은 10초로 하였다. SPME법 및 SDE법에 의해 얻어진 휘발성 성분의 분석시 column 온도는 50°C에서 3분간 유지한 후 220°C까지 2°C/min의 속도로 승온하고 220°C에서 30분간 유지하였다. 시료 주입시 SPME 시료를 splitless 상태에서 2분간 열탈착시키고, SDE 시료 0.5 μ l를 split mode(split ratio = 80 : 1)로 하였으며 그 외 분석조건은 위와 동일하게 하였다. GC/MSD에 의해 얻어진 total ion chromatogram에서 각 성분의 mass spectrum을 표준 mass spectrum과 비교하고 표준품과 GC 머무름 시간을 비교하여 확인하였다.

결과 및 고찰

생강의 휘발성 성분을 비교하고자 저비점 성분 분석시 용이한 headspace법, 적은양의 시료로도 간단하게 휘발성 성분을 분리할 수 있는 SPME법 그리고 소량의 용매로 추출하면서 비교적 향기의 손실이 적은 장점이 있는 SDE법을 이용하여 분리된 성분들을 GC 머무름 시간과 GC/MSD의 mass spectrum으로 확인한 결과를 Table 1에 나타내었다. 3가지 추출방법으로 분리한 휘발성 성분을 GC/MSD로 분석한 결과 총 61종의 성분을 확인하였다. 확인된 성분을 기능기 별로 분류하면 alcohol 성분들이 19종, carbonyl 화합물이 15종, terpene 관련 화합물이 23종, ester 화합물이 4종으로 나타났다. Headspace 분석법은 전처리 방법에 따라 dynamic headspace, vacuum headspace, purge & trap 분석법으로 분류되며²⁵⁾, 본 실험에서는 이중 최근에 가장 많이 사용되고 있는 purge & trap 분석법을 이용하여 SDE법에서 분리하기 어려운 휘발성이 강한 acetaldehyde, ethyl acetate, 2,3-butandione 등과 같은 저비점 휘발성 성분들을 확인할 수 있었다. 전처리 단계가 비교적 간단하고 경제적이어서 최근에 headspace법을 대신하여 많이 사용되고 있는 SPME법에서는 총 31종의 휘발성 성분이 확인되었는데 이는 총 55종의 성분이 확인된 headspace법에 비해 분리능이 떨어지는 것으로 판단된다. SDE법에서는 총 47개의 성분을 확인하였으며, headspace법과 SPME법에서 확인되지 않은 고비점 성분들인 elemol, zingiberenol, β -eudesmol, β -sesquiphellandrol 등과 같은 sesquiterpenoids 성분들이 확인되었다. 이러한 sesquiterpenoids 물질들이 headspace법과 SPME법에서 확인이 안된 것은 비점이 높아 50°C 추출조건에서 분리가 어렵기 때문으로 판단되며 이들 sesquiterpenoids 성분들은 향 강도가 약해 생강의 향 특성에 크게 영향을 미치지 않는 것으로 알려져 있다. 이 등²⁶⁾은 산초를 SPME법과 SDE법으로 추출했을 때 두 방법간 확인된 성분들은 유사하고 조성비에 다소 차이가 있는 것으로 보고하였다. 그러나 본 실험에서는 SPME법과 SDE법간 확인된 성분들이 큰 차이가 나타나는데 이는 SPME법이 시료의 휘발성 성분들의 조성에 따라 차이가 생기기 때문이다⁴⁾. Peak의 면적비(%)에 의한 방법간의 양적인 면을 비교하여 보면 headspace법에서는 β -phellandrene(17.3%), zingiberene(9.4%), β -sesquiphellandrene(3.4%) 등이 주요 성분들로 확인되었으며 SPME법에서는 headspace법에

서 주성분으로 확인된 β -phellandrene(1.8%)은 적은 반면에 β -bisabolene(9.4%), zingiberene(41.5%), β -sesquiphellandrene(13.2%) 등이 주요 성분들로 확인되었다. Headspace법과 SPME법에서는 감귤류의 주요 향기성분인 citral의 이성질체들인 neral(1.8%, 0.9%)과 geranial(0.3%, 2.0%)이 적은 반면에 SDE법에서는 neral(7.7%), geranial(10.7%)의 양이 상대적으로 높게 나타났다. 또한 camphoraceous, woody, minty한 향 특성을 가지면서 화장품의 원료향으로 많이 사용되는 것으로 알려진 borneol²⁷⁾은 SDE법에서 4.0%, headspace법에서 1.7%인 반면에 SPME법에서는 확인되지 않았다. 이와같이 추출방법에 따라서 휘발성 성분들의 조성에 차이가 나타나는데 이는 headspace법⁷⁾에서는 purging column으로부터 분리된 휘발성 성분들의 대부분이 Tenax GR에 흡착되는 반면에 SPME법에서 분리된 휘발성 성분들은 흡착제로 사용한 화이버, 시료와 headspace공간의 3개 상에서 평형에 도달했을 때 headspace 부분에 있는 성분들만 화이버에 흡착되어지며⁴⁾, SDE법에서는 고비점 휘발성 성분들이 추출시간을 길게하면 대부분 용매층으로 추출되지만 저비점 성분들은 휘발성이 강해 용매층으로 추출이 잘되지 않기 때문인 것으로 생각된다²⁴⁾. Sakamura 등²⁸⁾은 일본에서 재배된 몇가지 생강을 steam distillation법으로 추출했을 때 zingiberene의 함량은 1.8~13.7%로 보고한 바 있는데 이는 국내산 생강을 SDE법으로 추출했을 때와 비슷한 경향을 보이는 것으로 나타났다. 생강에 특징적인 향기를 부여하는데 중요한 성분들로 neral, geranial, bornyl acetate, zingiberene, β -eudesmol, β -sesquiphellandrol 등이 알려져 있다. 이들 성분중에서 특히 neral과 geranial은 생강 냄새에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있는데²¹⁾ 국내산 생강의 neral, geranial 피크면적(%)은 SDE법에서 7.7~10.7%로 가장 많이 나타났다. 특히 일본산의 경우²⁷⁾는 neral과 geranial 함유율이 전체 향기성분의 8.0~35%로 가장 높게 나타나 일본산 생강의 향은 생강 특유의 자극적인 향신료 냄새라기 보다는 오히려 레몬향에 가까울 것으로 여겨진다. 이와같은 결과로 미루어 볼 때 천연물로부터 휘발성 성분을 확인하고자 할 때 고비점 성분의 분석에는 SDE법이 좋을 것으로 판단되며 저비점 휘발성 성분의 분석에는 headspace법이 가장 양호한 것으로 판단된다. 반면에 SPME법은 식물체의 향 특성을 휘발성 성분의 분석을 통해 재현하기에는 어려우나 품질관리 등과 같이 빠른시간의 분석을 필요로 하는 데는 분리시간이 짧고 방법이 간단하여 적합한 것으로 여겨진다.

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

Peak No.	Compounds	Peak area (%)			Peak No.	Compounds	Headspace		
		Headspace	SPME	SDE			Headspace	SPME	SDE
1	Acetaldehyde	0.10	- ^{a)}	-	32	Linalool	2.33	-	1.59
2	Ethyl acetate	1.69	-	-	33	α -Bergamotene	0.10	0.55	-
3	2,3-Butandione	0.10	-	-	34	1-Octanol	0.92	-	0.13
4	α -Pinene	1.34	0.26	-	35	Bornyl acetate	1.40	-	0.77
5	Camphene	2.38	0.82	-	36	β -Elemene	0.28	1.20	0.31
6	2-Methyl-1-propanol	0.34	-	-	37	2-Undecanone	0.42	0.72	0.66
7	β -Pinene	0.11	-	0.32	38	Terpinene-4-ol	0.29	0.10	0.40
8	Sabinene	0.34	0.58	0.18	39	γ -Elemene	0.10	0.55	-
9	δ -3-Carene	0.20	-	0.09	40	Citronellyl propionate	0.44	0.47	1.34
10	Butanol	1.71	-	-	41	Neral	1.80	0.85	7.66
11	β -Myrcene	1.40	0.10	1.90	42	α -Terpineol	0.90	0.98	1.77
12	α -Phellandrene	1.43	-	-	43	Borneol	1.72	-	3.99
13	2-Heptanone	2.26	-	0.15	44	Zingiberene	9.40	41.53	8.29
14	Limonene	0.64	0.33	1.96	45	β -Bisabolene	1.26	9.42	2.81
15	1,8-Cineole	2.84	0.58	5.98	46	Geranial	0.26	1.98	10.69
16	β -Phellandrene	17.30	1.75	5.39	47	Farnesene	0.70	8.63	1.83
17	α -Terpinolene	0.65	-	0.36	48	Geranyl acetate	-	-	2.72
18	Octanal	0.29	-	0.48	49	β -Citronellol	2.21	0.87	2.01
19	2-Heptanol	1.65	0.59	0.68	50	β -Sesquiphellandrene	3.40	13.22	2.91
20	6-Methyl-5-hepten-2-one	3.56	0.10	1.08	51	ar-Curcumene	0.66	4.06	1.61
21	3-Hexenol	0.15	-	-	52	Myrtenol	0.14	-	0.28
22	2-Nonanone	0.51	0.10	0.24	53	Nerol	1.45	-	0.15
23	trans-2-Octenal	0.16	-	0.22	54	cis-Geraniol	0.10	-	-
24	6-Methyl-5-hepten-2-ol	2.40	-	-	55	Germacrene B	0.10	0.55	0.19
25	Citronellal	0.41	0.32	0.61	56	trans-Geraniol	2.00	0.32	4.68
26	δ -Elemene	0.10	0.32	-	57	Farnesol	-	-	0.66
27	α -Muurolene	0.10	0.57	-	58	Elemol	-	-	1.49
28	α -Cubebene	0.36	0.76	0.12	59	Zingiberenol	-	-	1.23
29	α -Copaene	0.39	-	0.14	60	β -Eudesmol	-	-	0.17
30	2-Nonanal	0.24	-	0.15	61	β -Sesquiphellandrol	-	-	0.71
31	Camphor	0.50	-	0.32					

^{a)} : Not detected

요약

식물체의 향기성분을 분리하는데 주로 사용되는 headspace법, SPME법 및 SDE법으로 생강(*Zingiber officinale* R.)으로부터 총 61종의 휘발성 성분을 확인하였다. 확인된 성분은 alcohol류가 19종, carbonyl 화합물이 15종, terpene 관련 화합물이 23종, ester 화합물이 4종으로 나타났다. Headspace법에서는 SDE법에서 분리하기 어려운 휘발성이 강한 acetaldehyde, ethyl acetate, 2,3-butandione 등과 같

은 저비점 휘발성 성분들이 확인되었고, SPME법에서는 총 31종의 휘발성 성분이 확인되었다. SDE법에서는 총 47개의 성분을 확인하였으며 headspace법과 SPME법에서 확인되지 않은 고비점 성분들인 elemol, zingiberenol, β -eudesmol, β -sesquiphellandrol 등과 같은 sesquiterpenoids 성분들이 확인되었다. Peak의 면적비(%)에 의한 방법간의 양적인 면을 비교하여 보면 생강의 주성분인 zingiberene의 함량은 SPME법에서 41.5%로 가장 많았으며, headspace법 9.4%, SDE법 8.3%로 나타났다. 생강 냄새에 가장 중요한 역

할을 하는 것으로 알려진 neral과 geranial의 피크면적(%)은 SDE법에서 7.7~10.7%로 가장 많았으며, headspace법 0.3~1.8%, SPME법 0.9~2.0%로 나타났다. 3가지 추출방법으로부터 확인된 성분과 그들의 조성은 차이가 있는데 이는 전처리시 추출조건 및 흡착물질이 다르기 때문인 것으로 생각된다. 따라서 천연물로부터 휘발성 성분을 확인하고자 할 때 essential oil 중에 함유된 휘발성분 분석에는 SDE법이 좋을 것으로 판단되며, 저비점 휘발성분 분석에는 headspace 법이 양호한 것으로 판단된다.

참고문헌

1. Takeoka, G. R., Flath, R. A., Guntert, M. and Jennings, W. : Vacuum steam distillation versus headspace sampling, *J. Agric. Food Chem.*, 36, 553~560 (1988).
2. Nunez, A. J. and Maarse, H. : Headspace methods for volatile components of grapefruit, *J. Chromatogr.*, 21, 44~48 (1986).
3. Dov, Z. and James, N. S. : An analytical method for trifluoroacetic acid in water and air samples using headspace gas chromatographic determination of the methyl ester, *Anal. Chem.*, 68, 3450~3459 (1996).
4. Zhang, Z. and Pawliszyn, J. : Headspace solid microextraction, *Anal. Chem.*, 65, 1843~1852 (1993).
5. Zhang, Z. Y. and Pawliszyn, J. : Solid phase microextraction, *Anal. Chem.*, 66, 844~853 (1994).
6. Godefrot, M., Sandra, P. and Verzere, M. : New method for quantitative essential oil analysis, *J. Chromatogr.*, 203, 325~335 (1981).
7. Charalambous, G. : Analysis of foods and beverages, Headspace Technique, Academic press, New York, USA, p.1~390 (1978).
8. Steffen, A. and Pawliszyn, J. : Analysis of flavor volatiles using headspace solid phase microextraction, *J. Agric. Food Chem.*, 44, 2187~2193 (1996).
9. Nunez, A. J., Bemelmans, M. H. and Maarse, H. : Isolation methods for the volatile components of grapefruit juice, *Chromatographia*, 18, 153~158 (1984).
10. Frutos, M., Sanz, J. and Martinez, I. : Simultaneous distillation extraction method in the qualitative and quantitative GC analysis of cheese volatile components, *Chromatographia*, 25, 861~864 (1988).
11. 이창복 : 대한식물도감, 향문사, p.231 (1979).
12. Leung, A. Y. : Encyclopendia of common natural ingredients, John Wiley & Sons, Inc., p.270~274 (1980).
13. Arctander, S. : Perfume and Flavor Materials of Natural Origin, Elizabeth, N. J., USA, p.274~280 (1960).
14. 안방원, 이동호, 변한석, 김선봉, 박영호 : 마늘 및 생강 추출물의 DNA 손상억제작용, *한국식품과학회지*, 20, 287~292 (1988).
15. Katiyar, S. K. : Inhibition of tumor promotion in SENCAR mouse skin by *Zingiber officinale* Rhizome, *Planta Medica*, 56, 1023~1030 (1996).
16. Cooksley, V. G. : Aromatherapy, Englewood Cliffs, N. J., p.349~350 (1996).
17. 김정숙, 고무석, 김영희, 김명곤, 홍재식 : 한국산 생강의 휘발성 성분, *한국식품과학회지*, 23, 141~149 (1991).
18. Smith, R. M., and Robinson, J. M. : The essential oil of ginger from Fiji, *Phytochem.*, 20, 203~206 (1981).
19. Lawrence, M. : Progress in essential oils, Allured Publishing Corporation, Illinois, USA, p.45~49 (1982).
20. Chen, C. C., Kuo, M. C., Wu, C. M. and Ho, C. T. : Pungent compounds of ginger extracted by liquid carbon dioxide, *J. Agric. Food Chem.*, 34, 4477~4481 (1981).
21. Chen, C. C. and Ho, C. T. : Gas chromatographic analysis of volatile components of ginger oil extracted with liquid carbon dioxide, *J. Agric. Food Chem.*, 36, 322~327 (1988).
22. 이재곤, 권영주, 장희진, 박재진, 김옥찬, 최영현 : Purge 와 Trap Headspace Sampler를 이용한 녹차의 휘발성 성분, *한국식품영양학회지*, 10, 25~30 (1977).
23. Nhang, Z. Y. and Pawliszyn, J. : Solid phase microextraction, *Anal. Chem.*, 66, 844~853 (1994).
24. Schultz, T. H., Flath, R. A., Mon, T. R., Eggling, S. B. and Teranishi, R. : Isolation of volatile components from a model system, *J. Agric. Food Chem.*, 25, 446~449 (1977).
25. Nunez, A. J., Gonzalez, L. F. and Janak, J. : Pre-concentration of headspace volatiles for trace organic analysis by gas chromatography, *J. Chromatogram*, 300, 127~162 (1984).
26. 이재곤, 장희진, 박재진, 김옥찬, 이재호 : Solid Phase Micro Extraction을 이용한 산초의 휘발성 성분 분석, *한국식품영양학회지*, 12, 119~123 (1999).
27. Arctander, S. : Perfume and flavor chemicals, Montclair, N.J., USA, p.350~352 (1969).
28. Sakamura, F. and Hayashi, S. : Constituents of essential oil from *Zingiber officinale* R., *J. Agric. Chem. Soc. Japan*, 52, 207~211 (1978).

(2000년 2월 18일 접수)