

Solid-Phase Microextraction (SPME)에 의한 꿀풀과 약초의 향기성분과 그 특성

송영은^{1)†} · 구창섭²⁾ · 문성필³⁾ · 류지성¹⁾ · 김대항¹⁾ · 최정식⁴⁾ · 최영근⁴⁾

1) 전안숙근약초시험장, 2) 전북대학교 유기신물질공학과,
3) 전북대학교 농업과학 기술연구소 농과대학 산림과학부, 4) 전북농업기술원

Volatile Aroma Compounds and Their Characteristics of Labiateae by Solid-Phase Microextraction (SPME)

Yong Eun Song^{1)†}, Chang Sub Ku²⁾, Sung Phil Mun³⁾, Ji Sung Ryu¹⁾, Dae Hyang Kim¹⁾,
Joung Sik Choi⁴⁾ and Yeong Geun Choi⁴⁾

1) Jinan Medicinal Herbs Experiment Station, Jinan, 567-800, Korea

2) Dept. of Advanced Organic Materials Engineering, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea

3) The Institute of Agricultural Science & Technology Division of Forest Science, College of Agriculture,
Chonbuk National University, Jeonbuk, 561-756, Korea

4) Chonbuk Provincial ARES, Iksan, 570-140, Korea

ABSTRACT : This study was carried out to find the possibility of use of Solid Phase Microextraction (SPME) for extracting the volatile aroma compounds in the five aromatic plants (*Agastache rugosa* O. Kuntze, *Mentha arvensis* Linne, *Thymus quinquecostatus* Celakovsky, *Elsholtzia splendens* Nakai, *Schizonepta tenuifolia* Briquet) belongs to the Labiateae. In the result of the analysis, the volatile aroma compounds were mainly composed monoterpene alcohol (linanol, menthol, α -terpineol, borneol), monoterpene ketone (limonene, menthone) and sesquiterpene (*trans*-caryophyllene, δ -cadinene). The volatile aroma compounds of *Agastache rugosa* O. Kuntze and *Mentha arvensis* Linne were extracted by SPME more identified than the SDE. However, *Schizonepta tenuifolia* Briquet more identified by the SDE and in *Elsholtzia splendens* Nakai similar to the SDE. Especially, the SPME showed the sesquiterpene contents was more than the SDE. The major volatile aroma compounds were difference but the composition of those between the SPME and the SDE showed no difference. Within the results, the SPME showed the most convenient and a rapid extraction method to analysis of the volatile aroma compounds.

Key words : Labiateae, volatile aroma compounds, SPME, SDE

서 언

꿀풀과 (Labiatae) 식물은 지중해 지방과 서아시아에 주로 자라며 세계적으로 200속 3,200여 종이 분포된 것

으로 알려져 있다. 국내에는 초본류인 들깨풀, 박하, 석 잡풀, 향유, 배초향 등 25속 55여종이 분포되어 있으며 식물전체에 독특한 향기를 내는 선모(腺毛)로 덮여 있다. 꿀풀과 식물들은 아름다운 꽃과 향기 함유하고 있어

† Corresponding author (Phone) : Yong Eun Song, 063-433-7452, E-mail :
Received April 18 2002 / Accepted May 31 2002

많은 종류들이 관상용으로 재배되거나 기호식품 및 향료의 원료로 쓰이기도 한다 (이, 1996). 꿀풀과에 많이 포함되어 있는 천연 정유는 면역성증강, 항암 및 노화억제 등 약리적인 효과와 항균, 항산화 활성 등을 가지고 있어 의약, 식품 및 화장품업계에서 이를 이용하려는 연구들이 활발하게 이루어지고 있다(Lee et al., 2000). 본 연구는 그 중 정유성분이 풍부하여 향료작물로 사용이 가능할 것으로 판단되는 배초향, 박하, 백리향, 꽃향유, 형개를 이용하였다. 배초향은 건위, 구풍, 소화, 열내림약, 감기, 두통, 구토, 설사치료약 등의 한약재로, 생채잎은 식용으로 이용되고 있다. 박하의 주 성분인 멘톨은 도포제, 진통제, 흥분제, 전위제, 구충제 등의 약용과 치약, 잼, 사탕, 회장품, 담배 등의 청량제나 향료로 쓰이고 있다. 그러나 현재 국내에서 사용되는 박하향은 대부분이 수입에 의존하고 있는 실정이다. 백리향은 유럽등지에서는 오래 전부터 민간에서 진해, 구충, 구풍, 소화불량, 위장염 등 약용으로 사용하였으며, 독특한 향기 때문에 식품 및 향료자원으로 널리 이용되고 있으나 국내의 경우 일부만이 관상용으로 재배되고 있을 뿐 약용이나 식품용으로서 그다지 이용되고 있지 않으며 이에 대한 국내 연구보고도 부족한 실정이다. 꽃향유는 약용이나 밀원용으로 이용되는 방향성 식물로 발한, 행열, 이뇨 등의 민간약으로 쓰인다. 형개는 꿀풀과에 속하는 일년생 초본으로 한방에서는 지상부를 감기의 발열, 인후종통, 마진, 산후의 중풍 및 대하증 등의 치료제로 사용하였으며 *d*-menthone, *l*-pulegone이 주 성분으로 알려져 있다 (Shin et al., 1994).

근래에 개발된 고상미량추출법 (Solid Phase Microextraction : SPME)은 등굴레차의 향기성분 (Park et al., 2000), 감식초의 휘발성 (Seo et al., 2001)과 산초와 초피의 정유분석 (Cho et al., 2001) 등에 사용된 것으로 향기성분을 흡착 할 수 있는 fiber를 이용하여 소량의 시료로 신속하게 분석할 수 있는 장점이 있는 것으로 알려져 있다. 이를 비교하기 위하여 기존에 사용하여 왔으나 고온 등에 의해 열변성이 일어날 수 있는 동시증류추출법(Simultaneous Distillation and Extraction : SDE)과 동시에 향기성분을 분석하였다.

재료 및 방법

1. 시험재료

꽃향유(*Elsholtzia splendens* Nakai)는 농촌진흥청 작물시험장에서 종자를 분양받아 2001년 4월 초순에 파종하여 5월 중순에 이식한 것을 10월 중순에 채취하였으며 백리향(*Thymus quinquecostatus* Celakovsky)은 충북 청

원허브랜드에서 묘로 구입한 것을 2001년 5월초에 이식하여 그 해 6월 초순에 채취하였다. 배초향(*Agastache rugosa* O. Kuntze), 박하(*Mentha arvensis* Linne)는 전북 진안 약초 시험장에 재배하여 8월 중순 개화기에 채취하였으며 형개(*Schizonepta tenuifolia* Briquet)는 전북 장수 지역 소재 장수제약에서 국산을 구입하였다. 시료로 사용한 식물체는 지상부를 절개하여 40°C에서 건조시킨 후 Micro mill (IKA-LABORATECHNIK)로 분쇄하여 2mm mesh를 통과시킨 것을 시험재료로 사용하였다.

2. 분석방법

가. Solid Phase Microextraction (SPME)

50ml 용량의 바이알병(vial)에 각각의 시료를 건중량 1g을 기준으로 취하였다. 시료가 담긴 vial을 Dry bath (BARNSTEAD/THERMOLYNE, DB28125) 50±2°C로 유지한 후 SPME를 수직으로 세운 다음 30분 동안 약재 내의 휘발성 성분을 fiber(Supelco, 100μm polymethylsiloxane coating)에 흡착시켰다. fiber에 흡착된 향기성분을 250°C로 설정된 GC 주입구에서 2분 동안 탈착시켜 분석하였다.

나. Simultaneous Distillation and Extraction (SDE)

정유는 Linkens and Nickerson type의 연속수증기 증류기를 개량한 Schultz 등(1977)의 방법으로 추출하였고 추출시 증류수는 시료의 1.4 배 추출용매는 diethylether와 pentane을 1:1로 혼합하고 2시간동안 추출한 후 용매충만을 분리하여 황산나트륨(무수)으로 탈수처리한 다음 여과하고 40°C에서 감압 농축하여 GC와 GC-MS로 분석하였다.

3. GC와 GC-MS의 분석조건

SPME법에 의하여 fiber에 흡착된 휘발성 성분은 다음과 같은 조건에서 분석하였다. 즉, 주입구는 250°C, 검출기는 230°C, 헬륨유속은 2ml/min, split ratio를 10으로 하였으며, 오븐은 50°C에서 5분간 유지시킨 후 분당 3°C씩 승온시켜 220°C에서 20분간 유지하였다. SDE법으로 추출한 휘발성 성분은 0.2μl 주입하였고 split ratio는 150으로 하였다. GC 분석은 Shimadzu GC-17A, 칼럼은 CBP 20 capillary (0.22mm×50m×0.25μm)를 사용하였고 GC-MS 분석은 Shimadzu QP5050을 사용하였으며 대부분의 화합물 동정 및 추정에는 시판품 및 MS library data를 이용하였다.

결과 및 고찰

기존에 향기성분 분석에 많이 사용하여 온 SDE법과

최근에 많은 연구가 이루어지고 있는 SPME법으로 꿀풀과 5종에 대해 향기성분을 비교 분석하여 Fig. 1~5에 나타내었다. 또한 각각의 GC 크로마토그램에 해당되는 피크 성분들 중 면적률이 총 면적의 1% 이상인 향기성분을 Table 1~5에 나타내었다.

1. 배초향의 향기성분

배초향의 향기 향기성분은 Fig. 1에서와 같이 총 23종이 검출되었고 SPME법에서 16종, SDE법에서는 13종이 확인되었다. 주 성분으로 알려진 *p*-allylanisole (estragole)과 isopulegone의 함량이 50% 이상을 차지하였고 그 외 monoterpenes인 limonene과 sesquiterpene *trans*-caryophyllene, pulegone 등이 검출되었다. SPME법에서는 sesquiterpene류인 *trans*-caryophyllene, δ -cadinene의 함량이 SDE법 보다 높았으며 SPME법에서 확인된 머무

름시간이 47분과 49분대의 분자량이 큰 화합물이 검출되지 않았다. 이는 SDE법의 추출과 농축과정에서 열에 의해 다른 물질로 변형되거나 손실된 것으로 생각되어진다. 배초향에 관한 연구는 Lee et al. (1994)가 잎과 꽃에서의 향기성분을 분석하여 주 성분이 methylchavicol (estragol)임을 확인하였고 그 외 limonene, *trans*-caryophyllene, *trans*-2-hexanal 등을 포함하는 것으로 발표하였다. Ok et al. (1999)의 연구에서는 estragol 함량이 잎에서 80% 이상을 포함되었으며 그 외 성분으로는 limonene, *trans*-caryophyllene을 포함하고 있으며 Lee et al. (2000) 또한 이와 유사한 결과를 나타내었다.

2. 박하의 향기성분

박하의 향기 성분을 SPME법과 SDE법으로 분석한 결과는 Fig. 2와 같다. 총 37종의 화합물이 혼합체로서 존재하였으며 그 중 SPME법에서는 29종이 SDE법에서는 18종이 확인되었다. 이들 중 주성분인 (-)-menthol는 72 ~ 57%, (-)-menthone는 약 14 ~ 21%로 80% 이상을 차지하고 있었으며 그밖에 limonene, methyl acetate, isomenthone, 1-dodecene, *trans*-caryophyllene, 1-acethoxy-*p*-menth-3-one 등을 함유하고 있었다. SDE법으로 추출한 박하의 향기성분의 경우 (-)-menthol과 (-)-menthone이 약 87% 검출되었으며, 그밖에 위에서 언급한 SPME법과 같은 성분들을 포함하고 있었다. SDE법으로 추출한 박하의 정유 성분 중 menthol의 함량이 SPME법을 사용한 경우 보다 높고 menthone과 isomenthone의 함량이 상대적으로 낮은 것은 추출방법의 차이라 생각되었다. 즉, 박하의 향기성분을 SDE법으로

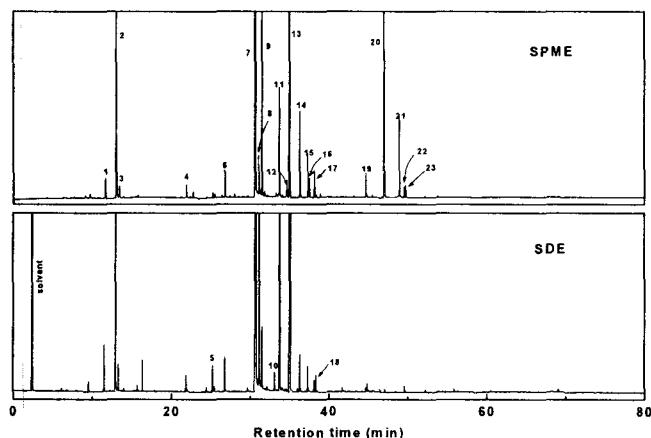


Fig. 1. GC Chromatogram of volatile aroma compounds by SPME and SDE in *Agastache rugosa* O. Kuntze.

Table 1. The major volatile aroma compounds by SPME and SDE in *Agastache rugosa* O. Kuntze. (unit : %)

Peak No.	Compounds ^b	SPME	SDE
2	limonene	8.19	6.98
7	isopulegone	33.39	35.74
9	<i>trans</i> -caryophyllene	8.32	1.06
11	pulegone	3.43	8.97
13	<i>p</i> -allylanisole	21.80	38.30
20	methyl decalones	10.79	-

^b : above 1% of total area

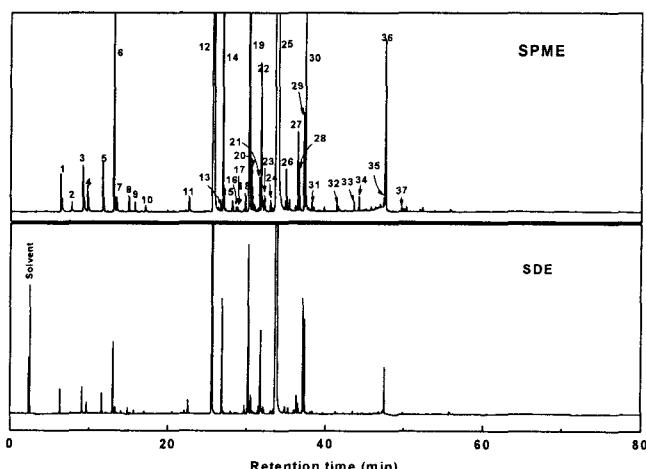


Fig. 2. GC Chromatogram of volatile aroma compounds by SPME and SDE in *Mentha arvensis* Linne.

Table 2. The major volatile aroma compounds by SPME and SDE in *Mentha arvensis* Linne.
(unit : %)

Peak No.	Compounds	SPME	SDE
6	limonene	2.07	1.02
12	(-)menthone	20.60	13.83
14	isomenthone	2.78	1.78
19	methyl acetate	4.67	2.81
22	trans-caryophyllene	1.47	1.46
25	(-)menthol	57.39	72.94
30	1-dodecene	2.47	1.47

용매추출과정이나 빛에 의해 menthone이 환원되어 menthol로 변성한 것으로 생각되었다. SPME법의 경우 추출과정을 거치지 않고 단지 향기성분을 흡착 후 탈착, 분석하기 때문에 이들 성분의 변성이 적을 것으로 생각되었다. 품질이 좋은 박하의 정유는 유리 menthol의 함량이 45%정도이고, menthofuran의 함량이 적으며, 다른 조성분의 비율이 균형을 이루어야 한다고 알려져 있다(Shin & Park, 1994). 이러한 이유는 menthofuran의 특이한 냄새 때문에 박하유의 품질이 저하되기 때문이다.

3. 백리향의 향기성분

백리향의 향기성분을 SPME법과 SDE법으로 분석한 결과는 Fig. 3과 같다. 백리향의 분석에서 미확인 성분을 포함 총 32종이 검출되었으며 SPME법에서는 30종이, SDE법의 경우 29종의 향기성분이 확인되었다. 백리향의 향기성분 중에는 *trans*-geraniol, citral, 3-octanone, geranyl acetate, β -bisabolene, borneol, 1,8-cineole, nerol, β -bourbonene 등 monoterpane, monoterpane ketone, monoterpane alcohol 및 sesquiterpene 화합물이 존재하였으며 이들은 백리향 향기성분 중 약 90%를 차지하였다. 이들 정유 성분 중 주 성분은 monoterpane alcohol류인 geraniol과 monoterpane aldehyde류에 속하는 citral이었다. 그러나 Kim et al. (1994)은 섬백리향과 백리향 비교에 있어 이들 중에 공통적으로 myrcene, α -terpinene, γ -terpinene, ρ -cymene, 1-octen-3-ol, sabinene hydrate, bornyl acetate, α -terpineol+borneol, β -bisabolene, thymol 및 carvacrol 등이 함유되어 있다고 보고한 바 있다. 또한 이들 백리향의 주성분은 shikimic acid 경로로부터 생성되는 phenylpropene 계 화합물인 thymol과 carvacrol으로 알려져 있다(Von et al. 1987). 그러나 본 연구에 사용한 백리향은 주성분이 geraniol과

citral로 이들과 상이한 결과를 나타내었다. 이 부분에 있어 백리향의 향기성분 조성은 종이나 재배지역의 기후적 조건, 채취시기 등에 따라 크게 달라지는 것으로 알려져 있으므로 이에 기인하는 것일 수 있으나 앞으로 재검토할 필요가 있다고 생각되었다.

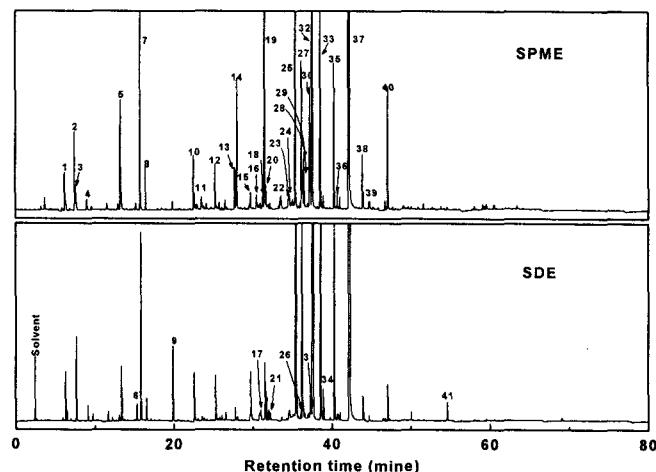


Fig. 3. GC Chromatogram of volatile aroma compounds by SPME and SDE in *Thymus quinquecostatus* Celakovsky.

Table 3. The major volatile aroma compounds by SPME and SDE in *Thymus quinquecostatus* Celakovsky.
(unit : %)

Peak No.	Compounds	SPME	SDE
7	3-octanone	3.70	2.49
25	(cis, trans) citral	9.26	13.63
27	borneol	2.48	3.22
32	(cis, trans) citral	15.64	20.04
33	geranyl acetate	3.43	6.00
35	nerol	2.25	3.21
37	<i>trans</i> -geraniol	36.85	39.75

4. 꽃향유의 향기성분

꽃향유의 향기성분은 총 42종이 검출되었으며 확인된 성분은 SPME법에서 33종, SDE법에서는 31종이었으며 그 중 주 성분은 elsholtziaketone 14~12%, naginataketone 40~58%로 두 성분이 50%이상을 차지하였다. 그 외에 향유의 주 성분 화학형 중 하나로 알려진 rosefuran(Sohn et al. 1998)이나 α -humulene,

citral, geranyl acetate도 확인되었다. Sohn *et al.*(1999)의 연구에서 꽃향유의 향기성분을 분석한 결과 48개의 peak가 분리되어 이중 40종의 성분을 확인하였으며 elsholtziaketone(52.48%), naginataketone(30.37%)이 주 성분으로 분석되었다. elsholtziaketone은 들깨잎에서도 생합성되어지는 성분으로 mevalonic acid 경로로 geranyl pyrophosphate → (Z)-cital → naginataketone을 거쳐 생성되는 것으로 알려져 있다(Nishizawa *et al.* 1989). 향유의 향기성분을 분석한 연구(Lee *et al.* 2000)에서는 주 성분을 rosefurane type, limoene type, citral type으로 구분하였다. 본 실험결과 이들 성분도 존재하여 있었으나 elsholtziaketone, naginataketone등이 50% 이상 함유되어 꽃향유와 향유는 서로 다른 성분을 포함하고 있음을 알 수 있었다.

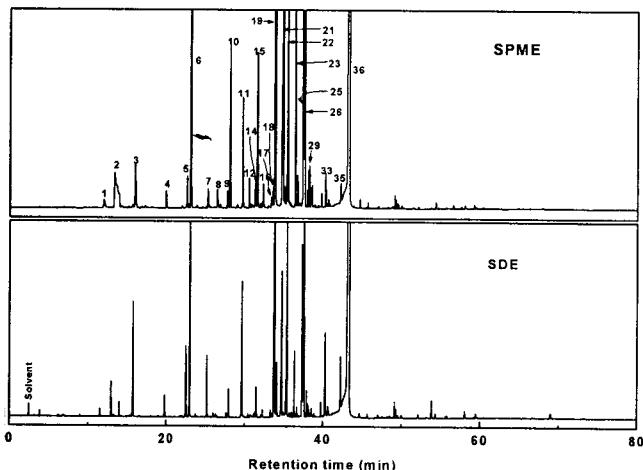


Fig. 4. GC Chromatogram of volatile aroma compounds by SPME and SDE in *Elsholtzia splendens* Nakai.

Table 4. The major volatile aroma compounds by SPME and SDE in *Elsholtzia splendens* Nakai. (unit : %)

Peak No.	Compounds	SPME	SDE
6	rosefuran	5.18	5.21
19	elsholtziaketone	14.44	12.31
21	α-humulene	8.41	1.94
22	citral	5.43	4.69
26	geranyl acetate	7.54	6.46
36	naginataketone	40.16	58.16

5. 혼개의 향기성분

혼개의 향기성분은 총 19종이 검출되었으며 그 중 SPME법으로는 4종이 SDE법은 13종의 성분이 확인되었다. (-)-menthone, pulegone, limonene, isomenthone, isopulegone 등의 monoterpene alcohol, monoterpene keton과 trans-caryophyllene, δ-cadinene 등의 sesquiterpene 을 포함하고 있었다. 그 중 SDE법에서는 (-)-menthone (39%), pulegone(46%)등으로 monoterpene의 함량이 85% 이상을 차지하였고, SPME법에서는 trans-caryophyllene(42%) 등 sesquiterpene의 함량은 60% 이상을 차지하였다.

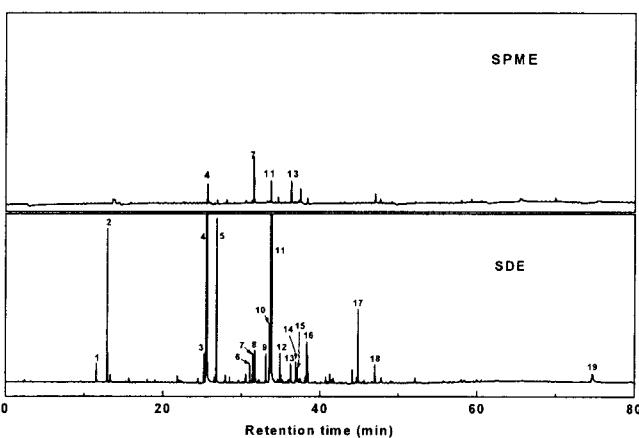


Fig. 5. GC Chromatogram of volatile aroma compounds by SPME and SDE in *Schizonepta tenuifolia* Briquet.

Table 5. The major volatile aroma compounds of SPME and SDE in *Schizonepta tenuifolia* Briquet. (unit : %)

Peak No.	Compounds	SPME	SDE
2	limonene	-	2.54
4	(-)-menthone	21.11	39.19
5	isomenthone	-	3.05
7	trans-caryophyllene	41.51	0.60
11	pulegone	17.89	46.41
13	δ-cadinene	19.50	0.43
17	cis-carvyl acetate	-	1.40

적 요

본 연구는 향기성분을 많이 포함하고 있는 꿀풀과의

대표적인 5종류를 선정하여 이들을 대상으로 소량의 시료만으로도 신속하게 분석할 수 있는 고상 미량 추출법(Solid Phase Microextraction: SPME)과 동시증류추출법(Simultaneous Distillation and Extraction: SDE)으로 향기성분을 분석하였다. 분석결과 5종류의 꿀풀과 약초의 향기성분 구성은 linanol, limonene, citral, *trans*-geraniol 등의 monoterpene alcohol, monoterpene aldehyde 및 ketone 과 *trans*-caryophyllene, δ -cadinene 등의 sesquiterpene 성분들이 주로 검출되었다. 분석결과 기존의 향기성분 연구에 많이 사용되는 동시증류추출법(SDE)과 주성분에서 대부분 유사하였으나 형개의 향기성분처럼 SPME법에서 많은 성분이 검출되지 않는 경우도 있었고 배초향, 박하의 성분처럼 SDE법에서 검출되지 않은 일부 성분도 SPME법에서 검출되기도 하였다. 이러한 결과는 SPME법은 낮은 온도에서 흡착만으로 성분의 포집이 이루어지므로 추출, 농축 등의 조작에 의한 SDE법보다 이차적인 변질이 적었기 때문으로 생각되었다. 따라서 SPME법은 열변성이 적고 소량으로 다수의 시료를 분석할 수 있어 향신약초의 품종육종 등에 사용할 수 있는 간편하고 신속한 방법이 될 것으로 생각된다.

LITERATURE CITED

- Cho MG, Chae YA, Song JS (2001) Volatile aroma compounds Analysis using SPME in Traditional Aromatic Plant Resources, *Zanthoxylum schinifolium* Siebold et Zucc. and *Z. piperitum* DC. Korean J Medicinal Crop Sci 9 : 192~197.
- Kim YH, Lee TC, Choi YH (1994) Essential Oils of *Thymus quinquecostatus* Celakov. and *Thymus magnus* Nakai. Korean J Medicinal Crop Sci 2 : 234~240.
- Lee BK, Bang JK, Kim JK, Park CB, Kim KS, Song JS, Lee BH (2000) Chemotaxonomy Based on Essential Oil Composition in *Elsholtzia ciliata* and *Agastache rugosa* by SDE and Headspace. Treat of Crop Res 1 : 425~430.
- Lee JC, Choi YH, Kim YH (1994) Essential Oils in Aerial Parts of *Agastache rugosa* O. Kuntze. Korean J Medicinal Crop Sci 2(2) : 168~173.
- Ok HC, Song JS, Chae YA (1999) Analysis of Essential oil and Variation of Estragol content in Different Growth Stages of *Agastache rugosa* Kuntze. Korean J Medicinal Crop Sci 7 : 115~120.
- Park NY, Seo JH, Kim YH, Kwon JH (2000) Comparison of Flavor Compounds in Steamed and Nonsteamed-Roasted *Polygonatum odoratum* Roots by Solid Phase Microextraction. Korean J Food Sci Technol 32 : 507~512.
- Seo JH, Park NY, Jeong YJ (2001) volatile aroma compounds in persimmon vinegars by solid phase microextraction. Korean J Food Sci Technol 33 : 153~156.
- Shin KE, Park HK (1994) Changes of Essential Oils from *Mentha piperita* L. Influenced by Various Cultivation Conditions and Harvesting Time. Korean J Food Sci Technol 26 : 512~519.
- Shin SW, Kim GS, Chi HJ (1994) Production of Essential Oils by Tissue Culture of *Schizonepta tenuifolia*. Kor J Pharmacogn 25 : 31~34.
- Schultz TH, Flath RA, Mon TR, Teranishi R (1977) Isolation of Volatile Components from a Model System. J Agric Food Chem 25 : 46.
- Song JS, Ryu SN, Kim KS, Bang JK, Lee BH, Chae YA (2000) Analytical Technique and Agricultural Application of Essential Oil in Plant. Kor J Intl Agri 11 : 107~125.
- Sohn KH, Song JS, Chae YA, Kim KS (1998) The Growth and Analysis Essential Oil of *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hylander. J Kor Soc Hort Sci 39 : 809~813.
- Sohn KH, Song JS, Chae YA, Kim KS (1999) The Growth and Analysis Essential Oil of *Elsholtzia splendens* Nakai. J Kor Soc Hort Sci 40 : 271~275.
- Von Schantz M, Holm Y, Hiltunen R, Galambosi B (1987) Arnei- und zpflanzen versuche zum anbau in Finnland. Deut Apoth Ztg 127 : 2543~2548.
- 이영로 (1996) 원색한국식물도감. 교학사.