

수증기증류조건에 따른 꽃향유 추출물의 품질특성

윤광섭¹ · 홍주현² · 최용희

경북대학교 식품공학과, ¹대구가톨릭대학교 식품외식산업학부,
²대구신기술사업단 전통생물소재산업화센터

Characteristics of *Elsholtzia splendens* Extracts on Simultaneous Steam Distillation Extraction Conditions

Kwang-Sup Youn¹, Joo-Heon Hong² and Yong-Hee Choi

Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea
¹Department of Food Science and Technology, Catholic University of Daegu, Gyungsan 712-702, Korea
²DG-Traditional Bio-Materials Industry Center, Daegu 704-230, Korea

Abstract

This study was performed to develop extracts materials from *Elsholtzia splendens* by analyzing the functionality and aroma profile by the simultaneous steam distillation extraction. The qualities of extracts such as total yield, total phenolic compound and electron donation ability were affected by extraction temperature than time. The main flavor compounds were analyzed as estragole, thymol and beta-caryophyllene. The response variables had significant with extraction temperature than time. The established model was suitable to predict calculated value in experimental ranges. The optimum extraction conditions, which were limited of maximum value for dependent variables were 108°C and 2.1 hr in the simultaneous steam distillation extraction method

Key words : simultaneous steam distillation extraction, aroma, optimization, *Elsholtzia splendens*

서 론

향을 만들거나 향을 풍기는 물질을 향료라 하는데, 소재 및 제법에 따라 천연향료, 합성향료, 조합향료로 나눌 수 있다. 천연향료는 주로 식물로부터 얻어지며, 소나무과(Pinaceae), 녹나무과(Lauraceae), 운향과(Rutaceae), 정향과(Myrtaceae), 미나리과(Umbelliferae), 꿀풀과(Labiatae), 국화과(Compositae) 등 60여 속의 식물들에 함유되어 있다(1).

식물로부터 향기성분의 추출에는 압착법, 수증기 증류법(2), 용매추출법, 초임계유체 추출법(3) 등이 이용되고 있으며 향기성분의 분석에는 headspace에 있는 향기성분을 직접 분석기기에 도입하는 dynamic headspace sampling(DHS) 방법(4)과 solid-phase microextraction(SPME)을 이용한 headspace 포집법(5) 등이 효과적으로 활용되고 있다.

비교적 열에 안정한 시료인 경우에는 향기성분을 채취하기 위한 방법으로 연속수증기증류추출법(Simultaneous Steam Distillation Extraction, SDE)이 많이 이용되고 있는데, 식물의 휘발성 향기성분을 추출할 때 가열취가 발생하지만 현재 까지도 간편성이나 경제성이라는 측면에서 많이 이용되고 있으며, 다량의 향기물질을 추출하는데 용이하다는 장점이 있다(6).

꽃향유(*Elsholtzia splendens*)는 꿀풀과에 속하는 향유속 식물로 우리나라 남부와 중부 지방에 분포하고 있으며 꽃이나 식품 전체에서 향이 나는 방향성 식물로서 식용이나 관상용, 밀원용, 약용으로 사용되며 한방에서는 감기, 오한 발열, 두통, 복통, 구토, 설사, 전신부종, 각기, 종기 등을 치료하는 약으로 쓴다고 알려져 있다(7).

꽃향유의 휘발성 향기성분을 조사한 Lee 등(8)의 연구 보고에 의하면 꽃에서 29종, 잎에서 30종의 향기 성분을

†Corresponding author. E-mail : yhechoi@knu.ac.kr,
Phone : 82-53-950-5777, Fax : 82-53-950-6772

분석하였다고 보고하였으며, 추출방법에 따른 향기성분의 변화에 대한 연구로는 SPME에 의한 꽃향유의 향기성분을 분석한 보고(5)가 있으며 Woo 등(9)은 술 추출물의 휘발성분을 초임계 추출과 SDE에 따라 비교한 결과 관능적 특성이 초임계추출이 우수하다고 보고하였다.

최적화를 통하여 식물로부터 유용성분을 추출하고자 하는 연구로 Kim 등(10)의 에탄올을 이용한 양배추 추출공정의 최적화에 관한 연구, Choi 등(11)의 노루궁뎅이 버섯의 열수추출에 관한 최적화 연구 등이 보고되고 있다.

따라서 본 연구에서는 꽃향유 추출물을 얻기 위하여 수증기 증류법으로 꽃향유를 추출하는 동안 온도와 시간에 따른 추출물의 품질특성을 조사하여 기능성 성분과 향기성분을 최대한으로 추출할 수 있는 조건을 얻고자 하였다.

재료 및 방법

재료

꽃향유(*Elsholtzia splendens*)는 경북 경산 일대의 야산에서 채취하여 오염물을 분리제거하여 말린 후 꽃 부분을 분쇄기(J-NCM, JISICO, Korea)로 분쇄한 후 표준체 No. 60을 통과한 것을 -20℃ 이하의 암소에 보관하면서 추출용 시료로 사용하였다.

연속식 수증기 증류 추출(SDE, simultaneous steam distillation extraction)

Linkens and Nickerson type의 연속식 수증기 증류기를 개량한 방법을 사용하였다(6). 즉, 시료의 20배의 상당하는 증류수를 가한 후, 추출용매는 diethyl ether로 추출한 후 용매층만을 분리하여 무수황산나트륨으로 탈수 처리하고 N₂ gas로 용매를 제거하여 정유물로 추출하였다.

추출수율 측정

추출방법에 따른 추출수율은 추출물 일정량을 취하여 105℃에서 항량이 될 때까지 건조한 후 원료량에 대한 백분율로서 수율을 나타내었다.

총 페놀함량 측정

총 페놀성 화합물 함량은 Folin-Denis 변형법(12)에 따라 비색 정량하였다. 추출액을 일정하게 희석한 검액 2 mL에 Folin-Ciocalteu 시약 2 mL를 가하여 혼합하고 3분 후 10% Na₂CO₃ 2 mL를 넣어 진탕하고 1시간 실온에서 방치하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준물질로는 gallic acid를 5~50 µg/mL의 농도로 조제하여 검량곡선의 작성에 사용하였다.

전자공여작용 측정

추출물의 전자공여작용(electron donating ability)시험은 α, α-diphenyl-β-picrylhydrazyl (DPPH)를 사용한 방법(13)으로 측정하였다. 즉, DPPH 시약 12 mg을 absolute ethanol 100 mL에 용해한 후 증류수 100 mL를 가하고 50% ethanol 용액을 blank로 하여 517 nm에서 DPPH 용액의 흡광도를 약 1.0으로 조정한 후 이 용액 5 mL를 취하여 시료용액 0.5 mL와 혼합한 후 상온에서 30초간 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하여 다음과 같이 계산하였다.

$$EDA (\%) = \left(1 - \frac{\text{시료첨가시의 흡광도}}{\text{공시험의 흡광도}} \right) \times 100$$

휘발성 향기성분의 분석

추출물의 휘발성 향기성분을 분석하기 위하여 gas chromatography/Mass Spectrometry(Varian Star 3400, USA)에 의해 분리, 동정하였다. Column은 HP-5MS(30 m × 0.25 mm, film thickness : 0.25 µm, Hewlett-packard Co.)를 사용하였고, oven 온도는 50℃에서 5분간 유지 후 230℃까지 분당 3℃씩 승온시켜 230℃에서 30분간 유지시켰다. Helium gas를 carrier gas로 사용하였으며(1.0 mL/min), split ratio는 30:1로 하였다. 또한 injector 온도는 250℃, interface 온도는 280℃, MS ionization voltage 70 eV로 하였다. 분리된 각 peak는 mass spectral libraries NIST 98에 의해 동정하였다.

추출조건의 최적화

꽃향유의 수증기 증류 추출공정을 최적화하기 위하여 중심합성계획법(14)으로 실험계획을 수립한 후 설정된 실험조건을 바탕으로 추출실험을 실시하였다. 즉, 추출공정의 독립변수(X_i)인 추출온도와 시간은 각각 5단계(-2, -1, 0, 1, 2)로 부호화하고, 회귀분석에 의한 최적조건의 예측은 SAS (statistical analysis system) program을 이용하였다. 회귀분석 결과 임계점이 안장점일 경우에는 능선분석을 하여 최적점을 다시 구하였으며 추출특성의 모니터링과 최적조건범위 예측은 각 반응변수의 contour map을 이용하여 예측하였다.

결과 및 고찰

추출조건에 따른 품질변화 특성

추출온도와 시간에 따른 꽃향유 추출물의 품질특성인 yield, total phenolics, electron donating ability는 각각 0.3 ~ 5.3%, 0.05 ~ 1.02%, 41.9% ~ 80.2%로 나타났다. 추출물의 주요 향기성분으로 estragole과 thymol 그리고 beta-caryophyllene이 분리되었으며 그 함량은 각각 15% ~ 30%, 0 ~ 14%, 그리고 1 ~ 18%인 것으로 나타났다. 추출물

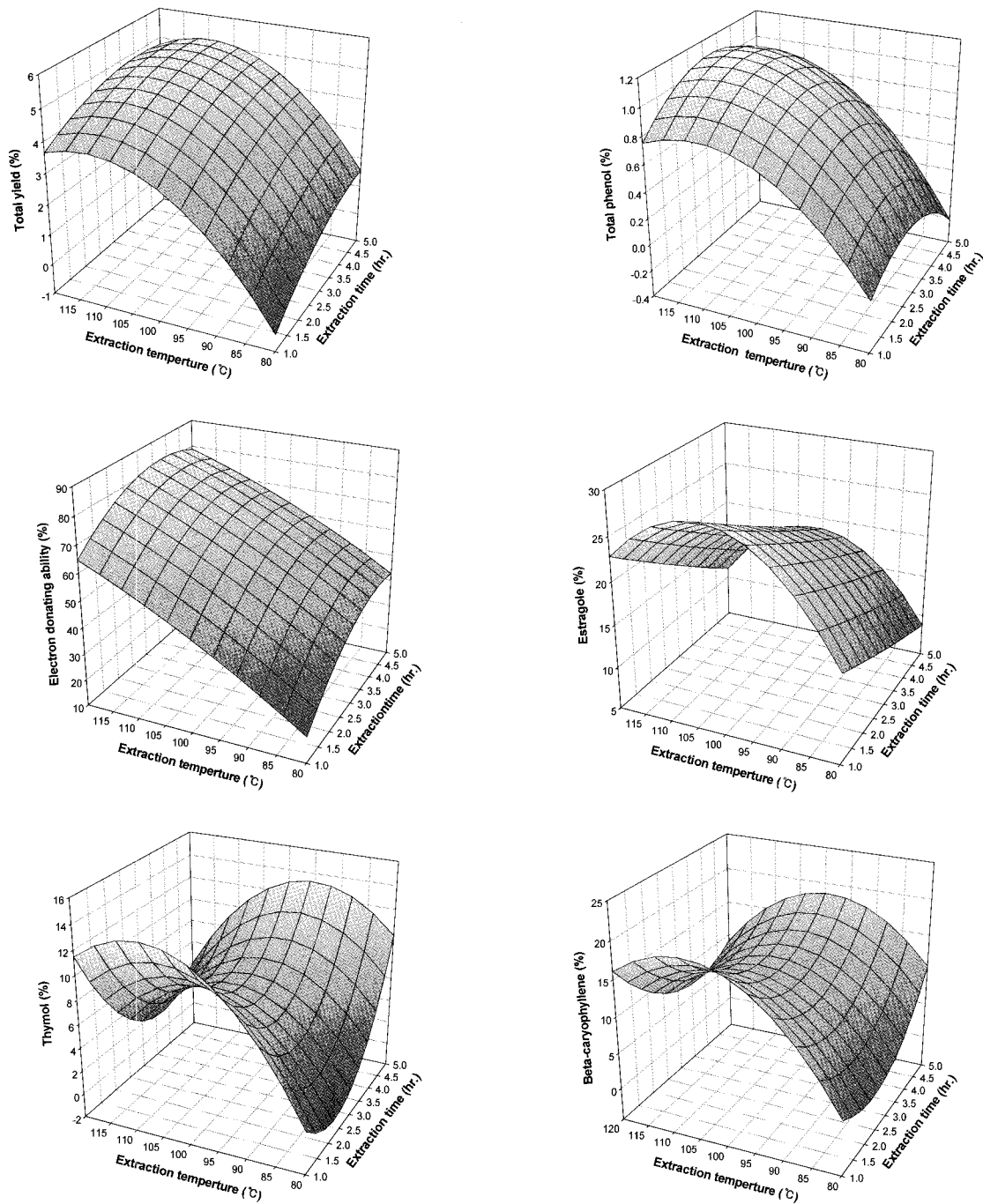


Fig. 1. Response surface of response variables for extraction temperature and time by simultaneous distillation and extraction of *Elsholtzia splendens*.

의 향기성분으로 총 42종의 화합물이 동정되어 Lee 등(8) 꽃향유 꽃에서 분리한 29종 보다 더 많아 추출방법이나 분리능에 따라 차이가 있는 것으로 나타났다. 화합물 그룹별로는 hydrocarbons류(11종)가 22.18%, alcohols류(11종)가 6.14%, ketones류(8종)가 5.20%, phenols(3종)류가 2.82%, ethers류(2종)가 1.89%, aldehydes류(4종)가 1.76%,

esters류(2종)가 0.18%, furfural과 유도체(1종)가 0.06%순으로 함량이 높았다.

추출온도와 시간에 따른 추출물의 품질변화 양상을 살펴보면, 먼저 수율은 시간과 온도의 증가에 따라 증가하는 경향이였으나 추출온도 100°C 이상에서는 증가를 보이지 않았으며, 총 페놀화합물의 함량도 추출시간에 따라서는

Table 1. Experimental data on total yield, total phenolics, electron donating ability of *Elsholtzia splendens* extracted by SDE under conditions based on central composite design for response surface analysis

Exp. No.	Extraction condition		Variables					
	Pressure (bar)	Temperature (°C)	Yield (%)	Total Phenolics (%)	Electron donating ability(%)	Estragole (%)	Thymol (%)	Beta-caryophyllene(%)
1	110(1)	4(1)	4.50	1.02	68.89	24.82	5.68	10.88
2	110(1)	2(-1)	4.14	0.90	65.30	25.02	7.94	12.94
3	90(-1)	4(1)	4.12	0.62	47.68	24.96	6.04	11.01
4	90(-1)	2(-1)	3.54	0.58	41.90	23.92	4.37	9.47
5	100(0)	3(0)	4.30	0.89	66.23	27.37	8.38	13.30
6	100(0)	3(0)	4.42	0.84	66.41	27.05	8.28	13.27
7	120(2)	3(0)	5.25	0.99	80.21	21.44	2.40	7.40
8	80(-2)	3(0)	0.31	0.05	42.90	15.01	0.01	1.01
9	100(0)	5(2)	4.88	0.55	67.10	30.08	13.64	18.61
10	100(0)	1(-2)	3.02	0.69	43.89	27.97	12.9	17.94

큰 변화를 보이지 않았으나 추출온도가 높아짐에 따라 증가하였으며, 그 정도는 수율보다 높은 경향으로 나타났다. 추출물의 전자공여능도 설정범위에서는 추출온도와 시간에 비례적으로 증가하였으며, 증가하는 정도는 온도의 영향이 더 큰 것으로 나타났는데 이는 Choi 등(11)이 노루궁뎅이 버섯으로부터 열수추출시 추출시간에 따라서는 큰 영향이 없었다는 보고와 유사하였다. 추출물의 향기성분인 estragole의 함량변화는 중심점인 100°C에서 최대값을 나타

냈으며 추출시간의 증가에 따라서는 차이가 거의 없는 것으로 나타났다. Woo 등(9)은 일부 고분자 화합물의 경우 휘발도가 낮아 수증기 증류추출시 손실이 많다고 보고함으로써 추출온도가 증가함에 따라 함량의 증가 크지 않은 본 연구의 결과와 유사한 결과를 나타내었다. Thymol의 함량변화는 정상점이 안장점으로 중심점을 기준으로 추출시간이 낮아지거나 높아짐에 따라 함량이 증가하였으며, 온도에 따라서는 높아지거나 낮아짐에 따라 함량이 감소하는 경향을 나타내었다. Beta-caryophyllene 함량 또한 thymol 함량의 변화와 같이 온도와 시간의 변화에 따라 유사한 경향을 나타내어 정상점이 안장점인 것으로 나타났다.

추출온도와 시간의 예측

추출조건에 따른 꽃향유 수증기 증류 추출물의 품질특성을 검토하고자 회귀분석을 통하여 각 독립변수에 따른 반응변수로 총 수율(Y_1), 총 페놀함량(Y_2), 전자공여능(Y_3), estragole(Y_4), thymol(Y_5), beta-caryophyllene(Y_6)에 대한 예측 회귀식을 Table 2에 나타내었다. 추출수율에 대하여는 결정계수가 0.84 정도의 낮은 값을 나타내었으나 총페놀화합물이나 전자공여능 그리고 주요 향기성분에 대한 회귀식은 0.90이상의 높은 결정계수와 유의 수준을 보여 수립된 예측식 모두 실험구간 내에서의 변화정도를 충분히 예측 가능한 것으로 나타났다.

또한 반응변수에 대한 최적점에서의 예측값과 이때의 추출조건을 예측한 결과를 Table 3에 나타내었는데 주어진 실험구간내에서 안장점이 정상점인 경우에는 최대값을 얻기 위하여 능선분석을 실시하여 예측하였다(15). 추출물의

Table 2. The second order polynomials for total yield, total phenolics, electron donating ability and major flavor component of *Elsholtzia splendens* extracted by SDE under different conditions of temperature and time

Dependent variable (Y_n)	The second order polynomial ¹⁾	R ²	Pro> F
Total Yield (Y_1)	$Y_1 = -49.4605 + 0.927X_1 + 1.6444X_2 - 0.0041X_1^2 - 0.0055X_1X_2 - 0.1177X_2^2$	0.8358	0.0992
Total phenolics (Y_2)	$Y_2 = -10.2988 + 0.1971X_1 + 0.1843X_2 - 0.0009X_1^2 + 0.0020X_1X_2 - 0.0657X_2^2$	0.9555	0.0083
Electron donating ability (Y_3)	$Y_3 = -160.1435 + 2.6146X_1 + 23.5845X_2 - 0.007X_1^2 - 0.0548X_1X_2 - 2.2434X_2^2$	0.9180	0.0270
Estragole (Y_4)	$Y_4 = -210.093 + 4.5953X_1 + 0.4831X_2 - 0.0219X_1^2 - 0.0310X_1X_2 + 0.5064X_2^2$	0.9584	0.0072
Thymol (Y_5)	$Y_5 = -182.2215 + 3.6701X_1 + 1.7279X_2 - 0.0165X_1^2 - 0.0983X_1X_2 + 1.3619X_2^2$	0.9532	0.0091
beta-caryophyllene (Y_6)	$Y_6 = -234.5589 + 4.7747X_1 + 1.0744X_2 - 0.0219X_1^2 - 0.0900X_1X_2 + 1.3323X_2^2$	0.9784	0.0020

¹⁾ X_1 : Temperature(°C) ; X_2 : Time(hr).

수율에 대해서는 정상점이 최대점으로 5.21%였으며 이때의 추출조건은 110°C와 4.4시간으로 예측되었고, 총 페놀화합물 역시 최대점이었으며 1.03%의 값을 가질 때의 조건은 112°C와 3.1시간이었다. 전자공여능은 안장점으로 나타나 능성분석을 통한 최대값은 80.37%로 이때의 조건은 각각 119°C와 3.5시간으로 예측되었으며, 주요 향기성분에 대하여 능성분석을 실시하여 얻은 최대값은 estragole이 29.7%로 101°C, 5시간이었으며, thymol과 beta-caryophyllene은 각각 13.17%, 18.49%로 최대값이 예측되었으며 이 때의 추출조건은 두 변 수 모두 104°C, 1.04시간으로 유사한 것으로 예측되었다.

Table 3. Predicted levels of extraction conditions for the maximum responses of total yield, total phenolics, electron donating ability and major flavor component of *Elsholtzia splendens* by the ridge analysis

Y_n	R^2	Prob>F	Temperature (°C)	Time (hr)	Max.	Morphology
Total Yield (Y_1)	0.8358	0.0992	110.08	4.41	5.21	max.
Total phenolics (Y_2)	0.9555	0.0083	112.06	3.11	1.03	max.
Electron donating ability (Y_3)	0.9180	0.0270	119.19	3.45	80.37	saddle point
Estragole (Y_4)	0.9584	0.0072	100.95	5.00	29.68	saddle point
Thymol (Y_5)	0.9532	0.0091	104.17	1.04	13.17	saddle point
Beta-caryophyllene (Y_6)	0.9784	0.0020	104.31	1.04	18.49	saddle point

추출 최적조건 선정

수증기 증류법으로 꽃향유의 기능성분과 향기성분을 최대로 추출하기 위한 최적 추출조건을 선정하기 위하여 각 반응변수의 contour map을 중첩하여 최적화를 시도하였다. 즉, 꽃향유 추출물의 총 수율(Y_1), 총 페놀함량(Y_2), 전자공여능(Y_3)과 estragole 함량(Y_4), thymol(Y_5), beta-caryophyllene(Y_6) 등의 contour map을 superimposing하여 최적 추출조건 범위를 예측한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 추출조건에 따라 추출수율과 총 페놀함량, 전자공여능은 추출온도와 시간이 증가함에 따라 증가하였으나, 추출물의 향기성분 함량은 중심점 근처보다는 실험구간의 양극단에서 높은 함량을 보여, 효율이나 에너지 측면에서 낮은 추출온도와 시간이 유리한 것으로 나타났다. 따라서 추출물의 품질 특성으로 수율은 4%이상, 총 페놀함량 0.8%이상, 전자공여능 60%이상, 그리고 estragole, thymol, beta-caryophyllene의 함량을

각각 24%, 8%, 14%이상으로 하는 조건으로 제한하여 얻은 추출조건은 Table 4에서 보는 것과 같이 102에서 114°C와 1.7에서 2.4시간이었으며 이 중 최적조건은 108°C, 2.1시간으로 할 수 있었다.

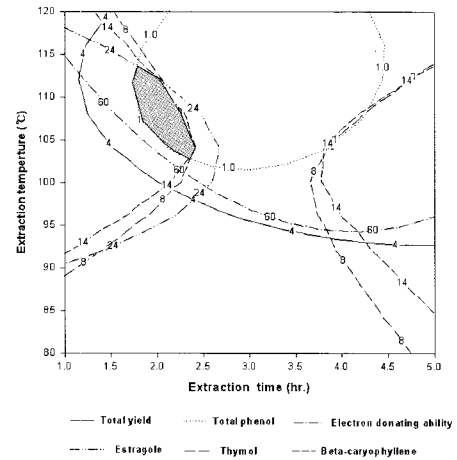


Fig. 2. Superimposed contour map of optimized conditions for total yield, total phenolics, electron donating ability, estragole, thymol and beta-caryophyllene of *Elsholtzia splendens* as functions of extraction temperature and extraction time by SDE..

Table 4. Optimum extraction conditions for maximum responses of total yield, total phenolics, electron donating ability and volatile compounds of *Elsholtzia splendens* by superimposing their contour maps

Extraction conditions	Optimum ranges	Optimum condition
Temperature (°C)	102 ~ 114	108
Time (hr)	1.7 ~ 2.4	2.1

요 약

꽃향유로부터 정유물을 추출하여 천연향료로 개발하기 위하여 수증기증류법으로 추출하고 추출공정의 최적 조건을 반응표면 분석법으로 얻고자 하였다. 수증기증류법의 추출조건에 따른 꽃향유 추출물의 품질특성으로 수율과 총페놀화합물, 전자공여능과 주요 향기성분으로 estragole과 thymol, beta-caryophyllene의 함량을 분석하였다. 추출온도가 추출시간보다 더 큰 영향을 주는 것으로 나타났으며, 각 품질 특성에 대하여 수립된 예측모델식이 모두 유의성이 높아 각 변수의 예측이 가능함을 보였다. 실험구간내에서 능성분석을 통하여 최대점과 추출조건을 예측하였으며 품질특성 값을 최대로 하는 제한 조건으로 얻어진 최적 추출

조건은 108℃와 2.1시간이었다.

감사의 글

본 연구는 농림기술개발사업의 일환으로 수행되었으며 지원에 감사드립니다.

참고문헌

1. Bauer, K., Garbe, D. and Surburg, H. (1990) Common fragrance and flavor materials, 2nd ed., Verlag Chemie, Weinheim. p. 44-98
2. Kawakam, M. and Kobayashi, A. (1991) Volatile constituents green mate and roastedmate. J. Agric. Food Chem., 39, 1275-1279
3. Schultz, W.C. and Randall, J.M. (1970) Liquid carbon dioxide for selective aroma extraction. Food Technol., 24, 94-98
4. Uraiwan, T. and Thomas, C.Y. (1991) Analysis of volatile flavor components insteamed rangia clam by dynamic headspace sampling and simultaneous distillation and extraction. J. Food Sci., 56, 327-331
5. Chung, M.S. and Lee, M.S. (2003) Analysis of volatile compounds in elsholtzia splendens by solid phase microextraction. Korean J. Soc. Food Cookery Sci., 19, 79-82
6. Kim, J.K. (2001) Flavors of processed food on heating. Food Industry and Nutrition, 6, 20-26
7. 장상문, 최정, 김종완, 박병윤, 박선동 (1996) 한약자원 식물학. 학문출판 대한민국. p. 404-406
8. Lee, S.Y., Chung, M.S., Kim, M.K., Baek, H.H. and Lee, M.S. (2005) Volatile compounds of *elsholtzia splendens*. Korean J. Food Sci. Technol, 37, 339-344
9. Woo, G.Y., Kim, K.H., Lee, M.J., Lee, Y.B. and Yoon, J. (1999) A comparison of volatile compounds in pine extracts obtained by supercritical fluid extraction with those by simultaneous steam distillation and solvent extraction. Korean J. Food Sci. Technol., 31, 1268-1274
10. Kim, H.K., Do, J.R., Hong, J.H. and Lee, G.D. (2005) Optimization of extraction conditions for cabbage. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 34, 1625-1632
11. Choi, M.A., Park, N.Y. and Jeong, Y.J. (2004) Optimization of hot water extraction conditions from *hericium erinaceus*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 33, 1068-1073
12. Lee, J.H. and Lee, S.R. (1994) Analysis of phenolic substances content in Korean plant foods. Korean J. Food Sci. Technol., 26, 310-316
13. Kang, Y.H., Park, Y.K. and Lee, G.D. (1996) The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. Korean J. Food Sci. Technol., 28, 232-239
14. Lee, G.D., Lee, J.E. and Kwon, J.H. (2000) Application of response surface methodology in food industry. Food Ind., 33, 33-45
15. Kim, S.J., Kim, Y.J. and Chang, K.S. (2005) Optimization of sesame oil extraction from sesame cake using supercritical fluid CO₂. Korean J. Food Sci. Technol., 37, 431-437

(접수 2006년 6월 22일, 채택 2006년 9월 28일)