

초임계추출의 천연물 시트러스계의 항산화효과와 향기성분 연구

임덕점 · 전병수* · 오대희†

†부경대학교 공업화학과, 식품공학과*
(2014년 6월 1일 접수; 2014년 6월 25일 수정; 2014년 6월 25일 채택)

On study antioxidant effect and aroma component of natural citrus by SC-CO₂ Extraction

Deok-Jum Lim · Byung-Soo Chun* · Dae-Hee OH†

†Dept. of Industrial Chemistry, *Food Science & Technology,
Pukyong National University, San 100 Young-dang, Nam-gu, Busan 608-737, Korea
(Received June 1, 2014; Revised June 25, 2014; Accepted June 25, 2014)

Abstract : Citrus essential oil were extracted from citron peel of cultivated in Gohong (CCP) using environmentally friendly supercritical carbon dioxide method. Antioxidant activity and aroma composition of the essential oils extracted by the SC-CO₂ method were evaluated by comparing with those extracted by organic solvent method. Fatty acid composition, DPPH scavenging, and antioxidant activity of the oils obtained by different extraction condition of SC-CO₂ method were investigated and their antioxidant activities were compared with commercially available lavender, eucalyptus and tea tree oils. As the results, linoleic acid was most abundantly found from CCP oil extracted by the SC-CO₂ method and cis-11,144-eicosadienoic acids was second abundantly found. Radical scavenging ability of DPPH was 98% when the concentration of CCP oil was 50 mg/mL. This scavenging ability increased with the increase of oil concentration. On the other hand, flavonoids content (84 mg/100g) of the CCP oil extracted by the SC-CO₂ method was slightly higher than that (75 mg/100g) by hexane extraction. The results, obtained from CCP oil by GC-MS, indicated that, among 66 components, the content of terpenes was 55.8% and limonene was 27.3%.

Keywords : Limonene, DPPH free radical scavenging, SC-CO₂ extraction, citrus, fatty acid composition

†Corresponding author
(E-mail: dhoh@pknu.ac.kr)

1. 서론

세포와 신체조직에서 스트레스에 의한 자유라디칼이 생성되어 과산화수소와 같은 활성산소가 증가하고 항산화효소가 감소하여 세포의 파괴 인체의 노화를 촉진하고 질병을 유도하고 있다. 노화의 원인으로는 시간적 흐름에 의한 자연노화, 즉 피부의 구조적 변화와 생리적 기능이 감소하여 나타나는 노화이고 자외선이나 외부의 자극 등 산화적 스트레스에 의한 광노화현상이 있다. 산화적 스트레스는 free radical의 일종인 활성산소(active oxygen)중에 의해 발생된다. 활성산소가 만들어지는 경로는 산소에서 슈퍼옥사이드가 만들어지고 이 슈퍼옥사이드에서 과산화수소가 생성되고 생성된 과산화수소로부터 하이드록시 라디칼과 싱글렛옥시젠이 만들어진다. 이들은 세포막의 불포화지방산에 작용해서 과산화반응을 통해 체내에 과산화지질을 축적하고 DNA 손상을 유도해서 노화와 성인병과 각종 암을 유발한다. 천연물에서 얻는 항산화성물질은 대부분 flavonoid계통과 phenol계 화합물로 밝혀지고 있다. Butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT)등과 같은 합성 항산화제의 개발도 되었지만 독성이 있다는 연구보고가 있어 천연 항산화제 개발이 요구되는 실정이다 [1]. 유자오일에 함유되어 있는 limonene, g-terpinene 및 myrcene 등과 같은 monoterpene hydrocarbon의 휘발성분에 대한 연구[2], 유자과 피오일의 독특한 방향성분이 6-methyl-5-hepten-2-ol 및 dimethyl trisulfide임을 확인한 연구가 있다[3]. 일본산 유자씨에 함유된 limonoid를 분석한 연구[4] 등이 진행되었다. 유자씨에는 bioflavonoid와 limonoid 등의 유효성분을 포함하고 있으며, bioflavonoid는 flavonoid에 속하는 flavanone으로서 hesperidin, naringin, neohesperidin, quercetin, eriocitrin, narirutin, nobiletin 및 tangeretin 등이 알려져 있다[5]. Bioflavonoid의 대표 성분인 hesperidin과 naringin은 항산화효과[6], 발암개시작용 억제효과[7,8] 혈압저하 및 이노효과[9], 항균효과[10] 등이 있는 것으로 알려져 있다. 추출 방법에 따라 함유성분물질들이 달라지고 수율도 달라진다. 현재 많은 연구들은 알코올용매추출법, 냉압착 추출법[11], 수증기증류추출 (steam distillation)법 [12], gas co-distillation [13], 초임계 이산화탄소추출법[14] 등을 이용하여 식품 첨가, 음료, 차,

향내기 등으로 이용되어 왔으며 한약제로 약간의 첨가가 되어오고 있는 실정이다. 수증기증류추출법은 뜨거운 물이나 수증기로 식물의 세포벽을 깨고 아로마에센셜오일을 대량 얻는 방법이나 고온과 열에 의하여 성분이 파괴되는 단점이 있다. 일반적인 아로마테라피의 목적으로 수증기증류법을 많이 이용하고 있다. 압착법은 식물의 과실, 특히 감귤계의 껍질을 직접 압착하여 얻는 방법이고 압착할 때 향기성분이 파괴되는 것을 막기 위하여 냉각압착법으로 하지만 쉽게 부패하는 단점이 있다. 용매추출법은 휘발성 혹은 비휘발성 용매를 사용하여 비교적 낮은 온도에서 아로마오일을 얻는 방법이나 용매의 잔류성이 문제가 된다. 액체인산화탄소법은 많이 이용하는 법으로 열에 약한 향기를 저온추출이 가능하며 향기를 파괴시키지 않고 그대로 추출가능 하며 잔류용매가 거의 남지 않고 비용은 조금 비싸나 성분파괴가 거의 일어나지 않기 때문에 고 순도의 아로마오일의 추출을 기대하며 초임계추출법으로 정유를 추출하여 휘발성이 강한 저분자 물질의 향기요법 자연치유 대체요법이 절실히 필요한 실정이다.

이 연구부분에서는 재래식추출법인 유기용매추출과 초임계 SC-CO₂ 추출법의 고품질의 육성재배 유자 과피 추출물로 항산화활성, 페놀과 플라보노이드 함량분석, 지방산 분석, 향기성분분석을 비교하고 시판 에센셜오일과의 효능을 비교하였다.

2. 실험

2.1. 재료 및 분석기기

고흥의 육성 재배유자 과피 (CCP), O사의 유칼립투스 E.O, 라벤더 E.O, 티트리 E.O, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH), 과 Vt-c, gallic acid, catechin, Mueller-Hinton 시약은 Sigma Chemical Company (St. Louis, MO, U.S.A). 다른 시약은 HPLC급 시약을 이용하였다. CO₂(99.99%) KOSEM (Yongsan, Republic Korea)를 사용하였다. 초임계추출기기 (laboratory-scale SFE process, JASCO), GC/MS, UV-분광기 (UVmini-1240, SHIMADZU CORPORATION, Japan), 30kg freeze dryer; 모델명 (PVTFD 30R), 제작사 (일산 랩), 향기분석은 Automatic thermal desorber (ATD): ATD400 (Perkin Elmer, UK)와 향기분

석의 GC-MS(Shimadzu, Japan)를 이용하였다.

2.2. 시료준비

고홍의 육성재배 유자를 부산 부전시장에서 2013년 11월에 구매하여 씨와 껍질을 분리하여 냉동보관 하였다. 모든 기기분석 시약은 알드리지의 HPLC급 시약을 사용하였다. 초임계 CO₂ 추출의 CO₂(99%)는 한국, KOSEM사의 제품을 사용하였다. 고홍 육성재배 유자 과피 (CCP, Citron peel of Cultivated in Gohong) 시료를 2013년 12월 23일 부터 2일 동안 30kg freeze dryer, 모델명(PVTFD 30R, 일산랩)으로 -20℃에서 freeze dryer 하여 710 μM mesh 입자로 분쇄하여 실험에 사용하였다[14].

2.3. 방법

가. SC-CO₂ extraction

SFE실험[14] 장치 (laboratory-scale SFE process, JASCO)의 압력 20 MPa 에서 작동되었다. 냉동 건조한 시료 100 g 을 500 mL 용량의 고압용 스테인레스틸안에 장착되었다. 얇은 cotton 층을 추출조 밑부분에 다른 cotton층으로 된 마개는 샘플의 윗부분에 사용하였다. 초임계유체 라인인 1/4, 1/8" 의 스테인레스 스틸 파이프 (316ss)를 사용하였다. 액체이산화탄소용매를 초임계상태로 변화시키는 고압펌프는 20 MPa의 용량을 가진 펌프는 추출조로 유입되는 이산화탄소의 유량을 정량적으로 펌핑하였고 보조용매인 에탄올 (99%)을 정량적으로 주입 할 수 있는 보조용매 펌프는 solvent delivery pump (Young-lim Scientific Co, model No. 930)을 사용하였다. 고압 상태로 추출기의 유입 초임계 이산화 탄소 온도 측정은 디지털온도 측정기 (Waveteck사, 모델 No; 461-112020) 장치 이용하여 초임계유체온

도 측정하였고 추출조의 압력을 초임계 유체가 추출조로 들어가는 하단은 디지털 압력 측정 (Valcom사, 모델No; VPRQ-A3-350K-4C)장치로 초임계유체가 추출조 통과하여 나오는 상단의 Cole Parmer gauge로 측정하였다. 시스템 내의 CO₂ 압력은 1개의 back pressure regulator valve(BPR)로 조절 하였고 추출조 탑의 미세압력은 metering valve 와 needle valve로 조절하였다. 냉동 건조된 CCP시료 100g을 온도 50℃, 압력 200 bar, 시간 2 hr, CO₂유량 흐름 23.25 g/min의 조건에서 최고의 수율을 얻을 수 있었다. 추출한 오일은 작은 유리병에 담아 0℃에서 보관하였다. Table 1에 추출조건을 나타내었다.

나. 유기용매 헥산 추출

헥산용액을 이용하여 냉동 건조된 CCP시료 5 g을 추출 thimble에 넣고 적정온도에서 추출장치의 콘텐서가 0℃가 될 때 까지 12 hr 동안 작동하여 soxhlet 장치에서 추출하였다[14].

다. Fatty acid methyl esters 조성 분석

SC-CO₂ 추출물 CCP오일의 지방산조성은 Table 2 GC-MS의 6890 Agilent Technologies (Wilmington, DE, USA), 칼럼은 (length, 100 m internal diameter, 필름 길이 25 mm, 0.2 μm Supelco, Bellefonte, PA, USA)장치로 분석 되었다. 지방산 메틸 에스테르는 AOCS Ce 2-66 (1998)의 Recommended Practices와 Official Method으로 준비하여 측정하였다. N₂ 가스유속 (1.0 mL/min), 130℃에서 3 min 유지 240℃까지 4 °C/min로 승온 하여 240℃까지 온도를 상승시키고 240℃에서 10분 유지하였다. Injector와 detector온도는 둘 다 250℃로 설정한다. Fatty acid methyl esters은 표준 지방산 메틸 에스테르 혼합물 (Supelco)과 retention time에 의해 비교

Table 1. Operating Conditions used in Experiments of SC-CO₂ Extraction

Parameter	Conditions
Sample	CCP (100g)
Solvent	Carbon dioxide
Temperatur	50℃
Pressure	200 bar
Operating time	2 hr
Flow rate of carbon dioxide	23.25 g/min

Table 2. GC Conditions for the Detection of Fatty Acids

Parameter	Conditions
Instrument	Agilent 6890N
Split	Splitless
Inject temperature	250°C
Detect Temperature	250°C
Carrier gas flow	He, 1 ml/min
Oven time	130°C(3 min)→4°C/min →240°C(10min)
Column	length,100m internal diameter, 25 mm length of film, 0.2 μm Supelco, Bellefonte, PA, USA

확인 하였다[14].

라. 시트러스 정유의 항산화능력 실험

(1) 총 폴리페놀 함량 실험(TPC)

시트러스 CCP오일 추출물의 총 폴리페놀 (Total phenolic content, TPC) 화합물 정량은 'Folin-Denis (Folin and Denis 1912)법, Chew et al. (2011)'에 따라 Fig. 1의 검량선을 그려 측정하였다. CCP오일 추출물의 농도를 일정하게 하고 Folin Ciocalteu's phenol 시약 (1:10)의 1 mL과 희석한 오일 (25 mg/mL ethanol) 1 mL을 섞어 5분간 실온에서 방치한 후 (7.5%w/v) sodium carbonate anhydrous 용액의 0.8 mL을 가하여 2시간 암실에서 반응 시킨 후 765 nm에서 흡광도 (UV mini-1240, SHIMADZU CORPORATION, Japan)를 측정 하였다. 각 추출물의 총 폴리페놀 함량은 Galic acid를 표준물질로 물에 용해시켜 사용하였다[15~17].

(2) 총 플라보노이드 함량 실험(TFC)

시트러스 CCP오일 추출물의 총 플라보노이드 (Total flavonoid content, TFC)실험은 'Ozsoy et al. (2007)'의 방법으로 Fig. 2를 도식화 하였고 농도 (25 mg/mL ethanol)에 무게 희석한 0.38 mL 오일에 5% sodium nitrite 110 μL과 1.875 mL의 물과 섞어 진탕을 한다. 인큐베이터에서 10% aluminium chloride 225 μL를 첨가하여 혼합하고 1 M sodium hydroxide 0.75 mL과 물과

희석한 0.41 mL을 섞은 후 510 nm에서 흡광도를 측정하여 Catechin은 표준물질로 하여 측정하였다[15~17].

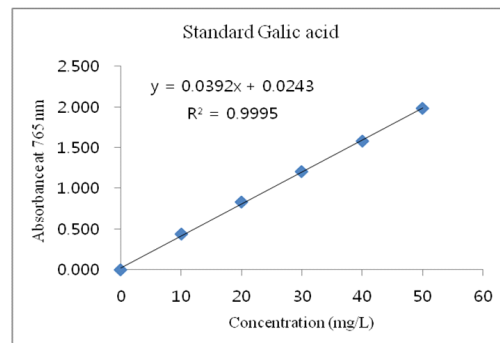


Fig. 1. Standard graph of Galic acid for TPC determination.

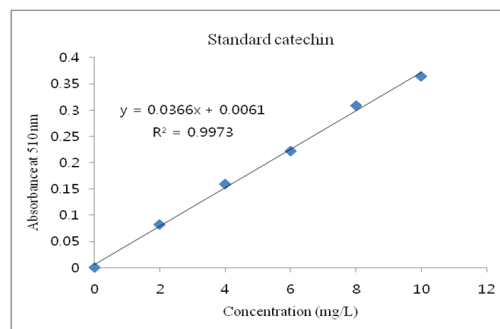


Fig. 2. Standard graph of Catechin for TFC determination.

(3) DPPH radical 소거능 측정

시료의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical 소거능은 'Yen과 Chen (1995)'의 방법을 변형하여 메탄올에 용해한 0.1 mM DPPH 용액을 517 nm에서 시료첨가구와 무 첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 나타내어 측정하였다.

CCP추출 오일은 0.1 mL (25 mg/mL, MeOH), 0.1 mM DPPH (MeOH) 용액, 표준물질 ascorbic acid는 0.25 mg/mL (MeOH), 0.5 mg/mL(MeOH) 조제하였다. 0.1 mM DPPH (MeOH) 용액의 5.95 mL을 취하여 CCP 추출 오일의 0.1 mL (25 mg/mL MeOH), 라벤더, 티트리와 유칼립투스 등은 0.1 mL 첨가 혼합하여 10초 동안 실온에서 vortexing 후 30분 동안 암반응 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능력(\%)} = [1 - (As/Ac)] \times 100\%$$

마. 시트러스의 SC-CO₂추출 정유의 성분 분석**(1) GC-MS를 이용한 휘발성 성분분석****(가) 전처리**

실험재료에서 서술한 방법으로 제조된 시트러스의 초임계추출 정유의 휘발성성분 분석을 위한 전처리 과정은 잘 세척된 250 mL의 갈색 병에 추출오일 시료를 2drop 하여 60°C 오븐에 10분간 가열 하여 향기를 주사기로 채취하여 GC에서 분석 하였다.

(나) 실험 방법

본 연구에서 이용된 시료를 채취 및 농축주입하기 위한 장치로는 Table 3와 같은 조건에서 자동 열 탈착 장치 (Automatic thermal desorber) 흡착-채취 열 탈착 시스템 (ATD400, Perkin Elmer, USA)을 이용하였으며, 물질을 분리 검출하기 위하여 휘발성 성분포집은 ADT법(Bae et al., 2010)법과 GC-MS를 이용하였다[18].

열 탈착 시스템은 크게 2-stage 농축시스템으로 구성되어 있으며, 1차 트랩은 상온흡착 그리고 2차 트랩은 저온흡착 할 수 있도록 되어있다.

Table 3. Operating Conditions of Automatic Thermal Desorber (ATD) and GC-MS

Parameters		Conditions
ATD400 (Perkin Elmer, UK)	Primary tube type	Tenax-TA
	Cold trap type	Tenax-TA 20 mg
	1st Desorption	350°C-4min
	2nd Cryo temp.	-30°C
	2nd Desorption	350°C-1min
	Desorb flow	50.2 mL/min
	Inlet split	No
Outlet split	11.5 mL/min	
GC-MS (Shimadzu, Japan)	Oven temp.	35°C-10min 8°C/min-120°C-10min 12°C/min- 80°C- 7min 15°C/min-230°C-10min
	Column	AT1-60m×0.32mm×1.0 μm
	Interface temp.	230°C
	Mass range	20~350 m/z
	Column pressure	15.9psi
	MS Det. temp.	250°C
	Carrier gas	He (99.9999%)
Mass filter type	Quadrupole	

Table 5. Fatty Acid Composition of Citrus Peel Oils

Fatty acid composition	Retention time	Fatty acid (%)
		CCP
Capric acid	15.74	2.44
Undecanoic acid	16.89	0.48
Lauric acid	18.32	0.35
Tridecanoic acid	19.83	1.31
Myristic acid	21.60	1.83
Palmitic acid	25.00	13.18
Palmitoleic acid	26.22	0.44
Stearic acid	28.20	3.03
Elaidic acid	29.26	2.91
Oleic acid	29.39	8.36
Linoleic acid	30.83	41.41
r-linolenic acid	31.15	1.88
cis-11,14-eicosadienoic acid	32.48	17.29
cis-11,14,17-eicosatrienoic acid	33.94	2.21
Arachidonic acid	35.09	0.78
cis-13,16-docosadienoic acid	36.73	1.46
EPA(Eicosapentaeoic acid)	37.53	0.64

다. DPPH 라디칼 소거능력

샘플의 DPPH 라디칼 소거능력 실험은 0.1 M 의 5.9 mL DPPH 용액에 샘플 과 스탠다드 농도는 12.5, 25 와 50 (mg/mL 메탄올)의 0.1 mL 샘플 용액을 첨가하였다. hexane을 이용한 soxhlet 추출과 SC-CO₂추출의 표준 샘플 ascorbic acid 은 0.1, 0.3 과 0.5 mg/mL 조제 사용하였다. Ascorbic acid 0.5 mg/mL에서 라디칼 소거능력이 100%였다. 0.1 mM DPPH 용액(메탄올) 5.9 mL은 hexane과 SC-CO₂추출, 라디칼 소거능력이 SC-CO₂ 추출 50 mg/ml 에서 63.93% hexane 추출 50 mg/mL 에서 40.21%. 농도 (mg/mL)가 증가 할수록 라디칼 소거능력은 더 증가함을 나타냈다. Fig. 4은 CCP 오일의 hexane 과 SC-CO₂ 추출의 DPPH 프리라디칼 소거능력 (%)를 나타낸 그림이다. 0.1 mM DPPH 용액 5.9 mL (메탄올)을 hexane 과 SC-CO₂추출 CCP 농도 12.5, 25 과 50 mg/mL (메탄올)의 0.1 mL을 혼합하여 측정하였다. CCP오일의 SC-CO₂ 추출 50 mg/mL에서 라디칼 소거능력 98%로 나타났다.

SC-CO₂ 추출이 hexane추출보다 DPPH 프리라디칼 소거능력 (%)더 높게 나타났다.

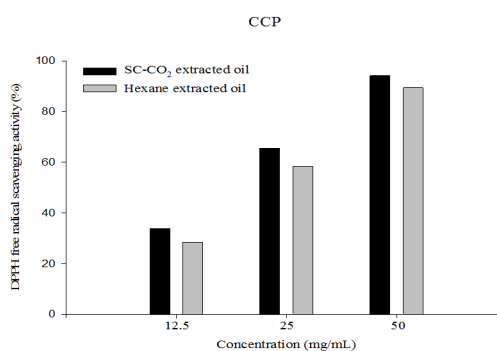


Fig. 4. DPPH activity of CCP oil by soxhlet apparatus using hexane and SC-CO₂ extraction.

Fig. 5은 아로마 샘플의 DPPH 프리라디칼 소거능력(%) 으로 tea tree, lavender와 eucalyptus

를 0.1 mM DPPH 용액(메탄올) 5.9, 5.8 와 5.7 mL와 아로마 sample 100 mg, 200 mg ,300 mg을 첨가하여 실험 하였다. 스탠다드 샘플은 ascorbic acid 0.1, 0.3 and 0.5 mg/mL을 사용 하였다. 농도 300 mg에서 tea tree 가 DPPH 프리라디칼 소거능력이 83%, lavender와 eucalyptus 는 78% 와 70%로 나타났다.

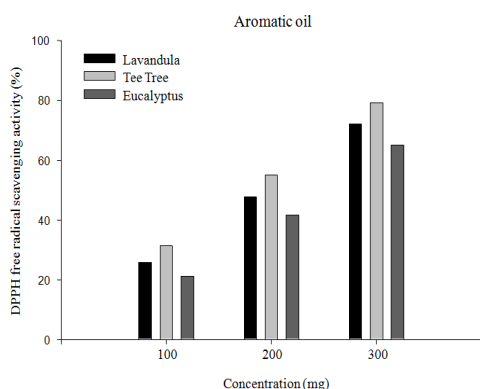


Fig. 5. DPPH free radical scavenging activity(%) of aromatic samples.

Table 6 에서는 DPPH 라디칼 소거능력 (50%)의 샘플오일들의 농도 (mg/mL) 표로서 CCP에서 SC-CO₂추출 19.08 mg/mL 농도, 헥산추출 21.44 mg/mL, trolox 0.36 mg/mL로 나타났다며 추출 샘플 오일에서는 초임계 추출 CCP가 가장 낮은 농도에서 50% 소거능력을 보였다. 시트러스계의 항산화효가가 높게 나타나는 이유는 시트러스의 껍질속에 bioflavonoid의 대표 성분인 hesperidin과 naringin은 항산화효과[9], 펜올성 물질이 많이 함유된 것으로 CCP의 항산화 효과가 가장 높게 나타났다. CCP의 진한노란색의 껍질이 플라보노이드 naringin함량이 높은 것으로 사료된다.

Table 6. IC₅₀ Value of Sample and Reference

Extraction	Activity	Sample/reference	IC ₅₀ (mg/mL)
SC-CO ₂	DPPH free radical scavenging	CCP	19.08
Hexane		CCP	21.44
		Trolox	0.36

3.4. SC-CO₂ 추출 시트러스의 휘발성 성분분석

가. CCP의 휘발성 성분분석

CCP의 분리/동정된 휘발성[18] 성분은 Table 7 과 Fig. 6에 나타내었다. 68종류 화합물의 동정 peak가 나왔으며, peak면적이 큰 순서로 terpenes가 55.8% 중 limonene 이 27.32%로 높게 나타났으며 alcohols가 15.83%이며 그중 대표적인 알코올인 linalool이 7.38%이며 alpha.-cadinol의 총 11종류로 나타났다. alkenes가 12.6%로 8종, alkanes가 9.66%로 8종, phenols의 cymol, 1.42%, ketones가 1.06%, esters의 triacetin 이 0.77%, 이고 aldehydes가 0.42%, nonanal, n-pentanal acids가 0.07%, 기타 2.59%로 동정되었다.

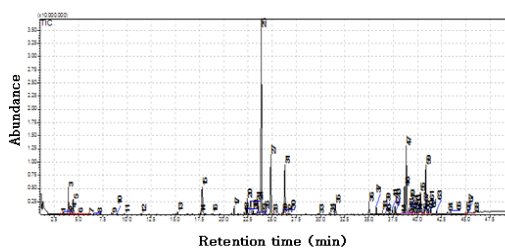


Fig. 6. Total ion chromatograms of volatile compounds identified from SC-CO₂ extraction of CCP oil.

4. 결론

고흥재배유자로부터 친환경공법인 초임계 추출법(SC-CO₂)을 이용하여 시트러스에센셜오일을 추출하였다. 또한 헥산 유기용매 추출법을 이용하여 얻은 오일의 항산화활성과 향기성분분석을 초임계추출 결과와 비교 검토하였다. 추출조건에 따

Table 7. The Volatile Compounds from SC-CO₂ Extraction of CCP Oil

No	Compounds	RT	Class	Area %
1	Unknown	3.132	-	0.16
2	2-Methylpropene	3.448	Alkenes	0.31
3	Ethylalcohol	3.925	Alcohols	3.17
4	Acetone	4.235	Ketones	0.79
5	IsopropylAlcohol	4.434	Alcohols	1.83
6	2-Propanol, 2-methyl	4.929	Alcohols	0.23
7	Trimethylsilanol	6.037	Alcohols	0.17
8	Unknown	6.551	-	0.17
9	1-Propanol, 2-methyl	8.41	Alcohols	0.33
10	Amylene Hydrate	8.926	Alcohols	0.18
11	Benzene(internal standard)	9.742	Aromatic	0.19
12	n-Pentanal	11.444	Aldehydes	0.18
13	Toluene	15.228	Alkenes	0.27
14	2,3,3-Trimethylhexane	17.566	Alkanes	0.12
15	Cyclotrisiloxane, hexamethyl	17.756	Alkanes	6.02
16	Octane,4-methyl	18.861	Alkanes	0.17
17	1R-.alpha.-Pinene	21.063	Terpenes	0.86
18	.beta.-Phellandrene	22.085	Terpenes	0.24
19	Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene	22.307	Alkenes	0.58
20	beta.-Myrcene	22.419	Terpenes	1.51
21	Cyclotetrasiloxane,octamethyl	22.753	Alkanes	3.02
22	1-Phellandrene	23.02	Terpenes	0.44
23	ALPHA.TERPINENE	23.401	Terpenes	0.12
24	Cymol	23.54	Phenols	1.42
25	dl-Limonene	23.869	Terpenes	27.3
26	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl	24.2	Alkenes	0.44
27	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)	24.84	Alkenes	7.50
28	Dodecane, 2,7,10-trimethyl	25.032	Alkanes	0.14
29	Nonanal	26.02	Aldehydes	0.24
30	4-Carene	26.15	Terpenes	0.62
31	Linalool	26.296	Alcohols	7.38
32	Nonane,5-(2-methylpropyl)	26.575	Alkanes	0.08
33	Dimethyl siloxane	29.8	Alkanes	0.22
34	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)	30.926	Alcohols	0.29
35	3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.4-trimethyl	31.519	Alkenes	1.83

No	Compounds	RT	Class	Area %
36	Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)	34.987	Alcohols	1.32
37	Triacetin	35.736	Esters	0.77
38	delta.-Elemene	36.376	Terpenes	0.41
39	alpha.-Cubebene	36.697	Terpenes	0.18
40	Hexanoic acid, hexyl ester	36.793	Acids	0.07
41	Copaene	37.428	Terpenes	0.70
42	Unknown	37.679	-	0.87
43	Unknown	37.783	-	0.27
44	Unknown	38.292	-	0.01
45	Unknown	38.45	-	0.04
46	trans-Caryophyllene	38.67	Terpenes	3.17
47	beta.-Farnesene	38.841	Terpenes	7.36
48	beta.-Sesquiphellandrene	39.104	Terpenes	0.49
49	Unknown	39.22	-	0.26
50	Unknown	39.42	-	0.00
51	alpha.-Humulene	39.606	Terpenes	0.81
52	GERMACRENE-D	39.726	Terpenes	0.01
53	Octadecane, 1-chloro	39.826	Alkanes	0.06
54	alpha.-Amorphene	40.025	Terpenes	0.09
55	GermacreneD	40.303	Terpenes	3.11
56	Unknown	40.538	-	0.09
57	Unknown	40.616	-	0.06
58	alpha.-Muurolene	40.729	Alkenes	0.38
59	bicyclogermacrene	40.866	Terpenes	7.36
60	beta.-Sesquiphellandrene	41.11	Terpenes	0.52
61	alpha.-Amorphene	41.206	Terpenes	0.09
62	delta.-Cadinene	41.376	Alkenes	0.75
63	11-Tridecyn-1-ol	41.983	Alcohols	0.54
64	Germacrene B	43.103	Terpenes	0.40
65	Unknown	43.399	-	0.45
66	2,5-Di-tert-amylquinone	44.988	Ketones	0.27
67	alpha.-Cadinol	45.219	Alcohols	0.33
68	Unknown	45.813	-	0.22

른 지방산 조성, DPPH 라디칼소거능, 항산화활성을 조사하였고, 초임계추출법에 의한 시트러스에센셜오일과 시판되고 있는 라벤더, 유칼립투스, 티트리 등의 항산화활성을 비교하였다. 그 결과 SC-CO₂를 이용하여 추출한 CCP오일에서 linoleic acid가 가장 높게 나타났고, 두 번째로 오

메가 3 인 cis-11,14-eicosadienoic acid가 나타났다. CCP오일의 농도가 50 mg/mL일 때 DPPH 라디칼 소거능력이 98%로 매우 우수하였다.

이러한 소거능력은 오일 농도에 비례하였다. CCP오일의 flavonoids 함량은 SC-CO₂ (84mg/100g)가 헥산추출 (75mg/100g) 보다 다

소 높았다. GC-MS에 의한 CCP오일의 향기분석 결과 terpenes (55.8%)과 limonene (27.3%)이 높게 나타났고 그 외에 66가지의 성분이 밝혀졌다.

References

1. J. H. Park, ect, Effect of Ethanol Extract from Peel of Citrus joun and Poncirus trifoliata on Antioxidant and Immune Activity, *J. of life science*, **18** (3), 403~408 (2008).
2. S. M, Njoroge, Ukeda H, Sawamura M.. Changes in the volatile composition of yuzu(Citrus junos Tanaka) cold pressed oil during storage. *J. Agric Food Chem*, **44**, 550-556 (1996).
3. H. S, Song Sawamura M, Ito T, Kawashimo K, Ukeda : Quantitative determination and characteristic flavour of Citrus junos (yuzu) peel oil. *Flavour Frag J*, **15**, 245-250 (2000).
4. Hashinaga F, Herman Z, Hashegawa S.. Limonoids in seeds of yuza (Citrus junos Sieb. ex Tanaka). *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* **37**, 380-382 (1990).
5. J. Y. Jeong, Optimization of extraction conditions for limonin and nomilin in citron seed. *MS Thesis*, Chungbuk National University, Cheongju, Korea. (2008).
6. Miyake Y, Yamamoto K, Tsujihara N, Osawa T. Protective effects of lemon flavonoids on oxidative stress in diabetic rats. *Lipids* **33**, 689-695 (1998).
7. Berkarda B, Koyuncu H, Soybir G, Baycut F. Inhibitory effect of hesperidin on tumour initiation and promotion in mouse skin. *Res Exp Med*.**198**, 93-99 (1998).
8. Calomme M, Pieters L, Vlietinck A, Vanden BD. Inhibition of bacterial mutagenesis by citrus flavonoids. *Planta Med*. **62** : 222-226 (1996).
9. E. M, Galati Trovato A, Kirjavainen S, Forestieri AM, Eossitto A, Monforte MT. Biological effects of hesperidin, A citrus flavonoid (note III):Antihypertensive and diuretic activity in rat. *Farmaco*, **51**: 219-221 (1996).
10. Basile A, Sorbo S, Giordano S, Ricciardi L, Ferrara S, Montesano D, Castaldo Cobianchi R, Vuotto ML, Ferrara L. Antibacterial and allelopathic activity of extract from Castanea sativa leaves. *Fitoterapia* **71**: S110-S116 (2000).
11. Mannheim, C. H. and Passy, N, Aroma recovery and retention in fruit juices. *Flavours*, **323** (1975).
12. Eric D. Lund and William L. Bryan, Composition of lemon oil distilled from commercial mill waste. *J. Food Sci.*, **41**, 1194 (1976).
13. C. H. Oh, Jung-Han Kim, Kyoung- Rae Kim and Hey-Joon (1989), Flavor Components of Poncirus trifoliata, Koren *J. Food Sci. technal*, **21**, 749~754.
14. J. h. Lee, Study on Antioxidant and Antimicrobial Activity of Oil Extracted from Brown Seaweed(Laminaria japonica) Added Wheat Germ using Supercritical Carbon Dioxide. *Ms. Thesis*, Pukyong National University. Korea, (2013).
15. Herrman, K (1989). Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **28**, 315-347
16. Yusof, S., G. H. Mohd and G. Sweeking.. Naringin content in local Citrus fruits. *Food chmistry*. **37**, 113-121 (1990).
17. J. H. Park, B. W. Kang, Ji Eun Kim, Min Jeong Seo, Young Choon Lee, Jai Heon Lee, Woo Hong Joo, Yung Hyun Choi, Hak Seob Lim, Yong Kee Jeong, Bok Kyu Lee, Effect of Ethanol Extract from Peel of Citrus junos and Poncirus trifoliata on Antioxidant and Immune Activity. *Journal of Life Science*. **18** (3): 403~408 (2008).
18. H. S. Yang Effect adding Extracts of Kalopanacis cortex on Quality Characterists of Chicken Feet Stock. *Ph. Thesis*. Pukyong National University (2014).