

碩士學位論文

온주밀감 과피로부터 정유의  
추출·분석 및 향균 활성



濟州大學校 大學院

제주대학교 중앙도서관  
食品工學科  
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

金 柔 京

1999年 12月

# 온주밀감 과피로부터 정유의 추출 · 분석 및 항균 활성

指導教授 高榮煥

金柔京

이 論文을 工學 碩士學位 論文으로 提出함



金柔京의 工學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 姜 永 周

委 員 任 尙 彬

委 員 高 榮 煥



濟州大學校 大學院

1999年 12月

Extraction, Analysis and Antimicrobial Activity  
of Essential Oils from the Peel of Satsuma  
Mandarine, *Citrus unshiu* Marc.

Yu-Kyoung Kim

(Supervised by professor Young-Hwan Ko)

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF MASTER OF  
ENGINEERING

DEPARTMENT OF FOOD SCIENCE AND ENGINEERING  
GRADUATE SCHOOL  
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

1999. 12.

# 목 차

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| Summary .....                   | 1  |
| I. 서 론 .....                    | 3  |
| II. 재료 및 방법 .....               | 11 |
| 1. 재 료 .....                    | 11 |
| 2. 실험방법 .....                   | 11 |
| 1) 감귤의 생육시기별 특성조사 .....         | 11 |
| 2) 감귤정유성분의 추출 .....             | 12 |
| (1) 추출방법에 따른 정유성분의 추출 .....     | 12 |
| ① 연속증류추출법 .....                 | 12 |
| ② 저온압착법 .....                   | 15 |
| ③ 용매추출법 .....                   | 15 |
| (2) 연속증류 추출조건에 따른 정유성분 추출 ..... | 15 |
| ① 시료량의 영향 .....                 | 15 |
| ② 증류시간의 영향 .....                | 15 |
| (3) 전처리조건에 따른 정유성분 추출 .....     | 15 |
| (4) 감귤의 생육시기별 정유성분 추출 .....     | 16 |
| 3) 감귤정유성분의 특성 및 성분분석 .....      | 16 |
| 4) 감귤정유성분의 항세균성 검정 .....        | 18 |
| 5) 감귤정유성분의 항진균성 검정 .....        | 19 |

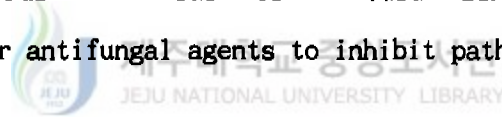
|                                |    |
|--------------------------------|----|
| III. 결과 및 고찰 .....             | 22 |
| 1. 감귤의 생육시기별 특성변화 .....        | 22 |
| 1) 생육시기별 과실특성 변화 .....         | 22 |
| 2) 감귤과피의 무기성분 함량 .....         | 26 |
| 2. 감귤정유성분의 추출 및 분석 .....       | 27 |
| 1) 추출방법에 따른 정유성분 비교 .....      | 27 |
| 2) 연속증류 추출조건에 따른 정유성분 변화 ..... | 29 |
| 3) 전처리조건에 따른 정유성분 변화 .....     | 35 |
| 4) 생육시기에 따른 정유성분 변화 .....      | 39 |
| 3. 감귤정유성분의 UV 흡수특성 .....       | 48 |
| 4. 감귤정유성분의 항세균 활성 .....        | 48 |
| 5. 감귤정유성분의 항진균 활성 .....        | 54 |
| IV. 요 약 .....                  | 67 |
| 참고문헌 .....                     | 69 |



## SUMMARY

Essential oils were extracted from the peel of Satsuma mandarine (*Citrus unshiu* Marc. Var. Okitsu and *C. unshiu* Marc. var. miyakawa) cultivated in Cheju Island by three different extraction methods : simultaneous distillation and extraction, cold expression and solvent extraction. The oil extracts were analysed by GC-MS. The citrus fruit was harvested seasonally from the field starting in July and ending in November, and used as a sample for analysis. The peel thickness of citrus fruit reached the maximum 4.67mm in July and then decreased to around 2mm in harvest season. At that time, the peel content was about 17% on fresh weight basis. Among three methods investigated, simultaneous distillation and extraction gave higher yield 1.14%(w/w) than solvent extraction or cold expression. The densities of essential oils were between 0.8409 and 0.8530, which showed no significant effect of the extraction methods. Some variations in the number of components detected and the content of d-limonene in the peel oils was observed according to the extraction methods: the former was 51~107 and the latter was 47.6~68.6%. The maximum yield of essential oils was obtained in September from citrus peels just prior to ripeness and the yield had a decreasing tendency but remained over 1%(w/w), which revealed that the peel of Satsuma mandarine contained at least 1%(w/w) of essential oils. GC-MS analysis showed the presence of 53 components which were identified. The main components were limonene(68.69%),  $\gamma$ -terpinene

(7.75%),  $\beta$ -elemene(2.96%), farnesene(2.29%), hexadecanoic acid(1.76%),  $\alpha$ -pinene(1.63%),  $\beta$ -myrcene(1.56%) and linalool(1.46%). The content of d-limonene, the major component of citrus peel oils, increased gradually with ripening up to 68.69%. The growth-inhibitory effect of the citrus oils against two bacteria, *Escherichia coli* 8749 and *Staphylococcus aureus* 6538, and eight fungi, *Alternaria citri*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium sp.*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium sp.*, *Penicillium italicum*, *Phomopsis citri*, *Rhizopus sp.*, was investigated using paper disc, liquid and solid culture methods. The essential oils showed antimicrobial activity against all strains tested. Bacterial and fungal growth was inhibited at final 1%(v/v) and 1~4%(v/v) levels of citrus oils, respectively. Therefore, citrus essential oils could serve as potential antibacterial or antifungal agents to inhibit pathogen growth.



# I. 서 론

제주도는 기상적, 지리적으로 세계의 감귤재배지 중 최북단에 위치하고 있고 내한성이 강한 만다린계의 온주밀감(*Citrus unshiu*)이 전체 감귤재배 면적의 98%로 주종을 이루고 있으며, 그 중에서도 조생온주 계통인 홍진조생(*C.unshiu* Marc. Var. Okitsu), 궁천조생(*C.unshiu* Marc. Var. Miyakawa) 등이 78% 정도를 차지하고 있다(제주도, 1999).

제주도의 감귤재배 면적은 25,860ha('99년)이고 생산량은 최대 75만톤('89년)과 72만톤('92년), 그리고 최저 49만톤('90년)과 48만톤('96년)으로 변화 폭이 크다. 또한 1990년대까지는 감귤 생산량이 많을수록 조수익이 증가하였으나, 1991년 이후부터는 생산량이 적을수록 조수익이 증가하였다(제주도, 1998). 따라서 감귤의 적정생산과 감귤가공의 필요성이 대두되고 있고 또한, 감귤생산량 조절을 위한 열매숙기, 수상선과 등의 요인에 의해 발생하는 미숙과의 이용방안에 대한 연구가 필요한 실정이다. 제주도에서 1980년에서 1996년까지의 감귤 가공물량을 기준으로 했을 때, 생과의 약 35%에 해당하는 과피가 발생하였는데(강, 1997), 생과 2~3만톤 가공처리시 약 7,000톤~10,000톤의 감귤 과피가 발생할 것으로 예측되고 있다. 그러나 현재 국내에서는 과피를 일부 한약 및 사료로 이용하고 있는 정도이다. 이러한 감귤 과피를 그대로 폐기한다면 환경오염 요인이 될 수 있으므로, 공해문제의 해결이라는 점과 폐자원을 활용한다는 면에서 과피활용은 의미가 있다. 이에 따라 감귤 과피의 효율적인 이용방안에 대한 연구가 필요하다.

감귤 과피에는 pectin, hesperidin, naringin, 색소, 정유(essential oils) 등 유효성분이 포함되어 있다. 국내에서 이들 물질의 추출과 분석



등에 관한 연구는 일부 이루어져 있으나(Eun 등, 1996 ; Hwang, 1995 ; Song 등, 1998 ; Woo 등, 1996), 정유 성분에 관한 연구는 미비한 실정이다.

정유란 '식물체가 가지고 있는 방향성 기름성분'으로 주로 식물의 내분비선에서 분비되는 이차대사산물이며, 꽃, 잎, 열매, 목질부 및 수피 등에 이르기까지 거의 모든 부위에 존재하는 휘발성 물질이다. 식물종이나 부위에 따라 독특한 향기와 향미를 나타내며 식품의 방향제 및 미각제의 원료로서 매우 중요하다(신 등, 1995). 정유의 향성분은 terpene화합물, 지방족화합물, 방향족화합물 등으로 구성되어 있으며, 그 중에서도 terpene화합물을 가장 많이 함유하고 있다. Terpene화합물은 화학적으로 이소프렌[(C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>n</sub>]의 분자식을 갖는 직쇄상 및 환상의 탄화수소를 말하며, 이소프렌 단위의 수에 따라 hemiterpene(1개), monoterpene(2개), sesquiterpene(3개), diterpene(4개) 등으로 구분하고 있다(강 등, 1997).

그리고 정유에 들어있는 주요 terpene은 monoterpene(b.p., 140-180℃)과 sesquiterpene(b.p.>200℃)이다. Monoterpene은 acyclic(geraniol), monocyclic(limonene) 및 bicyclic( $\alpha$  및  $\beta$ -pinene)인가에 따라 3군으로 나눌 수 있으며, 단순 불포화 탄화수소(예 : limonene) 일 수도 있고 alcohol(예 : menthol), aldehyde 또는 ketone(예 : citral, menthone) 같은 관능기를 가지고 있는 것도 있다. Monoterpene은 흥분, 진정, 혈압강하, 구충, 살충 등 생리작용이 강한 것이 있으며, 곤충 pheromone 작용이 있는 것도 있다.  $\alpha$ -Pinene,  $\beta$ -Pinene 같은 것은 개미의 경보 pheromone으로 알려져 있다.

또한 정유성분은 주로 인간의 감각을 자극하여 각종 작용을 유발하고 있는데, 이러한 작용을 이용하여 질병을 치료하는 경우도 있다. 이것을

방향요법(aromatherapy)이라하며, 냄새를 맡으므로 하여 자율신경계가 완화되어 전신의 생리기능을 촉진시키고자 하는 치료법이다. 정유 전체로 볼 때 오렌지 정유 및 citronelal 등은 우울증에 효과적이라고 한다(강 등, 1998).

감귤과피는 엽록소와 카로티노이드 색소를 함유하고 있는 외층인 flavedo층과 그 안쪽인 albedo층으로 구분되는데, 감귤 정유는 flavedo층 내의 유포(oil glands)층에 함유되어 있는 방향성분으로, 유포 층은 과피의 표층 가까이에 1열로 나란하게 배열되어 있고 유포 수는  $1\text{cm}^2$ 당 30~150개정도 분포하고 있으나 과실부위에 따라 밀도는 다르다(Fig. 1). 그리고 정유성분은 동일 감귤 종(species) 내에서도 기후, 풍토, 과실의 속도, 저장기간 등에 따라 성분의 변화가 있고(Kimball, 1991), 그 함량( $\text{ml}/\text{신선과피 } 100\text{g}$ )은 온주밀감 0.48~1.77, 오렌지류 0.96~1.95라고 하였다(小畠, 1984).

감귤 정유성분의 추출·분석에 관한 연구로 김 등(1998)은 과피를 제거하지 않은 국내산 조생에서 분리 동정된 향기성분은 63.92%로 가장 높은 함유율을 보이는 d-limonene을 포함하여 29종의 terpene류가 93.17%를 차지하고, 그외 18종의 alcohol류, 13종의 ester류, 10종의 aldehyde류, 8종의 ketone류, 1종의 acid류, 1종의 ether, 기타 8종의 화합물이 각각 0.93%, 0.75%, 0.39%, 0.17%, 0.01%, 0.01%, 2.0%를 나타낸다고 하였다.

Shaw 등(1979)은 Sicilian mandarine, Clementine의 오일성분을 분석하였는데, d-limonene이 65~79% 함유되어 있고  $\gamma$ -terpinene 성분 함량이 상대적으로 높게 나타났다고 보고하였다. Aldehyde류 중에서는 octanal(0.04~0.3%), decanal(0.04~0.9%)이 가장 많이 함유되어 있고, 18개의 alcohol 성분이 검출되었다고 하였다. Alcohol류 중 linalool이

주성분으로 성숙함에 따라 감소하는 경향을 나타내며, 주요 ester류는 geranyl acetate, neryl acetate이었으며, 약 0.1%의 함량을 나타내고 nootkatone과 같은 ketone류 성분은 대략 0.01% 정도 함유되어 있다고 하였다. 그리고 acid류 중에서는 octanoic, decanoic 성분이 많이 함유되어 있고, 만다린 오일 중에는 비휘발성 성분이 약 3.5~4.7%정도 함유되어 있다고 보고하였다.

Egyptian mandarine peel oil에 관한 연구에서 mandarin peel은 약 1.8% 정도의 crude oil을 함유하고 있으며, limonene(37.4%),  $\gamma$ -terpinolene (20%),  $\beta$ -myrcene(15.2%) 그리고  $\delta$ -carene(9.5%)이 주성분이라고 보고하였다(Zeitoun 등, 1994).

콜롬비아산 mandarine(*C. reticulata*), lemon(*Citrus volkameriana*), orange(*C. sinensis*)의 과피와 잎의 citrus oil을 연구한 보고서에서 오일은 감귤의 중간착색기인 greenish yellow 단계(45-75% green)에서 가장 함량이 높았다고 하였다.(Blanco 등, 1995).

수확시기가 lemon(*C. limon* (L.) Burm. f.) peel essential oil의 수율에 미치는 영향에 관한 연구에서 오일 수율은 summer fruit(verdelli)에서 가장 높고, spring fruit에서 가장 낮은 수율을 보였다(Crescimanno 등, 1988). Njoroge 등(1996)은 저장 중 yuzu (*Citrus junos* Sieb. ex Tanaka) cold-pressed oil 성분의 변화를 조사하였는데, 그 결과 total monoterpene hydrocarbon 성분이 93.3%에서 37.7%로 큰 감소 폭을 보였으며, 특히 limonene,  $\gamma$ -terpinene, myrcene 및  $\alpha$ -pinene 성분의 감소가 크며, 반면에 p-cymene 성분은 두드러지게 증가하는 경향을 나타낸다고 보고하였다.

또한 정유는 향기의 성질에 따라 살균(Dabbah 등, 1970), 살충(Donpedro 등, 1996) 효과 같은 다양한 생물활성을 가지고 있을 뿐만 아

니라, 세정제, 식품향료, 천연보존제 및 의약품 등의 첨가제(Shaw, 1977)로 널리 이용되고 있으며, 최근 비누나 세제 등과 같은 일상용 기능성 제품으로도 사용되고 있다. 또한 정유의 특수한 용도로서 전자부품, 전자기기용 세제로도 이용되고 있는데, 이것은 감귤류(오렌지 등)의 주성분인 d-limonene에 비이온계의 계면활성제를 첨가하여 제조한 것으로서, 각종 기름성분을 물로 씻을 수 있도록 한 것이 특징이라고 한다.

특히 감귤정유의 항균성에 대한 연구가 많이 이루어지고 있는데, Sawhney 등(1984)은 d-limonene이 *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* 균에 대하여 항세균 활성을 나타낸다고 하였다.

또한 정유의 주요 구성분인 d-limonene이 *Aspergillus parasiticus*의 성장과 aflatoxin 생성을 억제하며(Alderman 등, 1976), citrus oil이 식물 병원균인 *Colletotrichum falcatum*, *Fusarium moniliforme*, *Ceratocystis paradoxa* 등에 항균성을 나타낸다고 하였다(Singh 등, 1993). Akgul 등(1989)은 감귤정유의 식품부패곰팡이, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger*, *Mucor sp.* 및 *Rhizopus sp.*에 대한 항균성을 확인하고 식품첨가제로서의 가능성을 제시하였다. Donovan 등(1993)은 essential oil 구성성분이 leaf spot disease의 원인균인 *Septoria apiicola*의 성장에 미치는 영향을 조사한 결과  $\beta$ -pinene 성분이 균사생장에 가장 억제능이 높았다고 보고하였다. Essential oil 구성성분의 저장중 부패 곰팡이, *Botrytis cinerea Pers.*, *Monilinia laxa* (Aderh., et Ruhl.) Honey, *Mucor piriformis Fischer*, *Penicillium digitatum* (Pers.) Sacc., *P. italicum Wehm.*, *P. expansum* Lk. 그리고 *Rhizopus stolonifer* (Eheremb.) Lind에 대한 항균효과를 조사한 결과, carvacrol 성분의 항균효과가 가장 높게 나타났으며, 125ppm에서

*Monilinia laxa*, *Mucor piriformis*, *Rhizopus stolonifer*균의 포자 발아를 완전히 억제한다고 하였다(Caccioni 등, 1994). Gundidza 등(1993)은 라벤다 나무에서 연속증류추출법으로 추출한 정유성분의 25종의 bacteria와 4종의 곰팡이에 대한 항균 활성을 조사한 실험에서 대부분의 균에 대하여 항균활성을 나타내며 성분분석 결과 essential oil은 1,8-cineol, limonene,  $\beta$ -myrcene,  $\alpha$ -phellandrene 및  $\alpha$ -pinene성분을 함유하고 있다고 하였다. 몇가지 essential oil 성분의 5종의 식품 부패균, *E.coli* 0157:H7, *E.coli*(ATCC 27562), *Salmonella typhimurium* [ATCC 6539], *Listeria monocytogenes* [Scott A] 그리고 *Vibrio vulnificus*에 대한 항균 활성을 조사한 결과, *Vibrio vulnificus*균이 오일에 가장 민감하게 반응하며, 특히 citral, geraniol 그리고 perillaldehyde 성분은 500 $\mu$ g/ml 농도에서 *E.coli* 0157:H7, *E.coli*(ATCC 27562), *Salmonella typhimurium* [ATCC 6539]균에 대한 완전한 억제효과를 나타내며, citronellal 성분은 250 $\mu$ g/ml 농도에서 *Vibrio vulnificus*균의 생육을 완전히 억제하여 식품의 antibacterial agents로서의 가능성을 제시하였다(Jeongmok 등, 1995). Kurita 등(1981)은 essential oil 구성성분의 항진균 활성을 조사하였는데, 몇종류의 지방족 aldehyde 성분중 cinnamaldehyde 성분이 가장 높은 항균활성을 나타내며 또한 aldehyde 성분들 중에서 carbonyl기를 가지고 있는 화합물이 그렇지 않은 성분에 비해 높은 항균활성을 나타낸다고 하였다. 그리고 alcohol 성분은 aldehyde 성분들 보다 높은 항균활성, 즉 hydroxyl group이 carbonyl group 보다 높은 항균활성을 나타내는데 그 이유는 아직 밝혀지지 않았다고 보고하였다.

Hink와 Fee(1986)는 d-limonene 성분이 cat flea, *Ctenocephalide felis*(Siphonaptera: Pulicidae)의 전생육단계에 toxic하게 작용하고,

이는 d-limonene 성분이 flea의 신경계에 작용하는 것으로 제안했다. Don-Pedro-KN(1996)과 Onu 등(1997)은 citrus peel oil 성분이 storage insect pests인 *Callosobruchus maculatus*, *Sitophilus zeamais* 그리고 *Dermestes maculatus*에 대하여 fumigant toxicity를 나타낸다고 보고하였다. 또한 citrus peel oil 각 성분의 *Callosobruchus maculatus*에 대한 살충 작용을 조사한 결과, limonene을 포함한 대부분의 성분이 insecticidal activity를 나타내며 이 성분들을 인위적으로 혼합한 것이 개개의 성분들이 가지고 있는 fumigant action의 효력을 보다 증진시키는 것으로 보고하였다(Don-Pedro-KN, 1996). Giga 등(1990)은 citrus oil의 *Callosobruchus rhodesianus* (Pic.)에 대한 cowpeas 의 protectant로서의 가능성을 검토하였고, Anaso 등(1990)은 orange oil의 mosquito fumigant로서의 가능성을 조사하여 효과가 있음을 확인하였다.

따라서 본 연구에서는 제주도산 감귤과피에 함유된 정유의 활용을 위한 기초연구로, 은주밀감의 생육시기와 추출방법에 따른 정유의 수율 및 성분을 분석하였고, 감귤저장 중 발생하는 부패 곰팡이 및 일반 병원성 세균에 대한 감귤정유의 항균활성을 측정하였다.

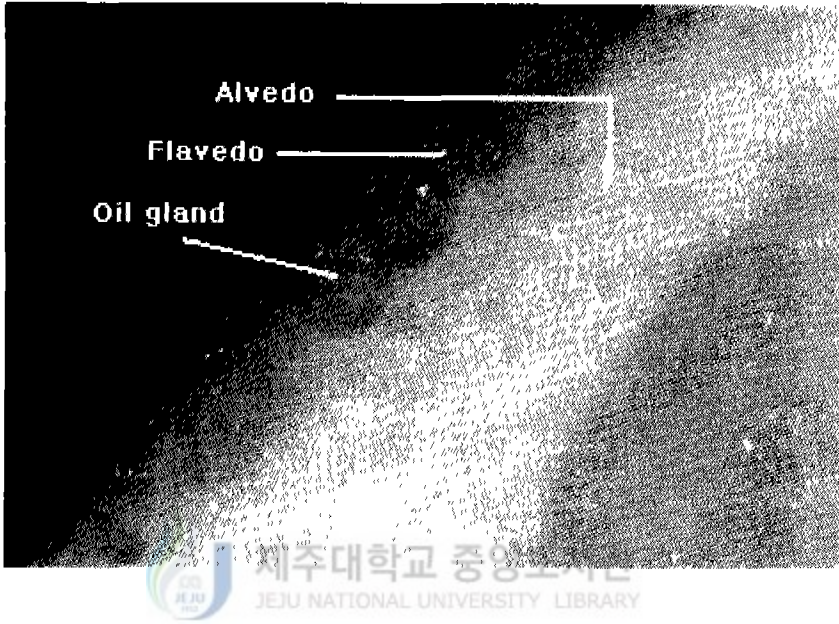


Fig. 1. Horizontal section of Satsuma mandarine fruit, *Citrus unshiu* Marc. Var. Okitsu( $\times 32$ )

## II. 재료 및 방법

### 1. 재 료

감귤정유성분 추출용 재료로는 제주도 농업기술원 상귀기술개발포장에 식재된 15년생 홍진조생(*Citrus unshiu* Marc. Var. Okitsu)과 궁천조생(*Citrus unshiu* Marc. Var. Miyakawa) 은주밀감을 사용하였다.

### 2. 실험방법

#### 1) 감귤의 생육시기별 특성조사

##### (1) 생육시기별 과실특성 조사

감귤이 착과된 후 10~20일 간격으로 수확하여 과실특성조사 및 분석에 사용하였다. 채취된 과실 중 크기가 비슷한 과실 20개의 횡경, 종경, 과피 두께를 vernier caliper로 측정하고, 과중, 과피중 및 과피율(fresh weight, %)을 측정하였다.

##### (2) 감귤과피의 무기성분 분석

감귤과피의 무기성분은 시료를 60℃에서 충분히 건조한 후 분쇄하고 40 mesh 체를 통과시킨 것을 1g 취하여 황산습식 분해하였다(농진청, 1988). 그리고 분해액을 질소는 켈달법으로 그외 칼리, 칼슘 등 무기성분은 0.45



$\mu\text{m}$  membrane filter로 여과한 후 ICP-AES ( Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry, JY70C, 프랑스)를 이용하여 분석하였다. 또한 정유추출 후 과피 중의 무기성분 변화를 알아보기 위해 정유를 추출한 후 남은 시료를 건조하여 무기성분 분석에 이용하였다.

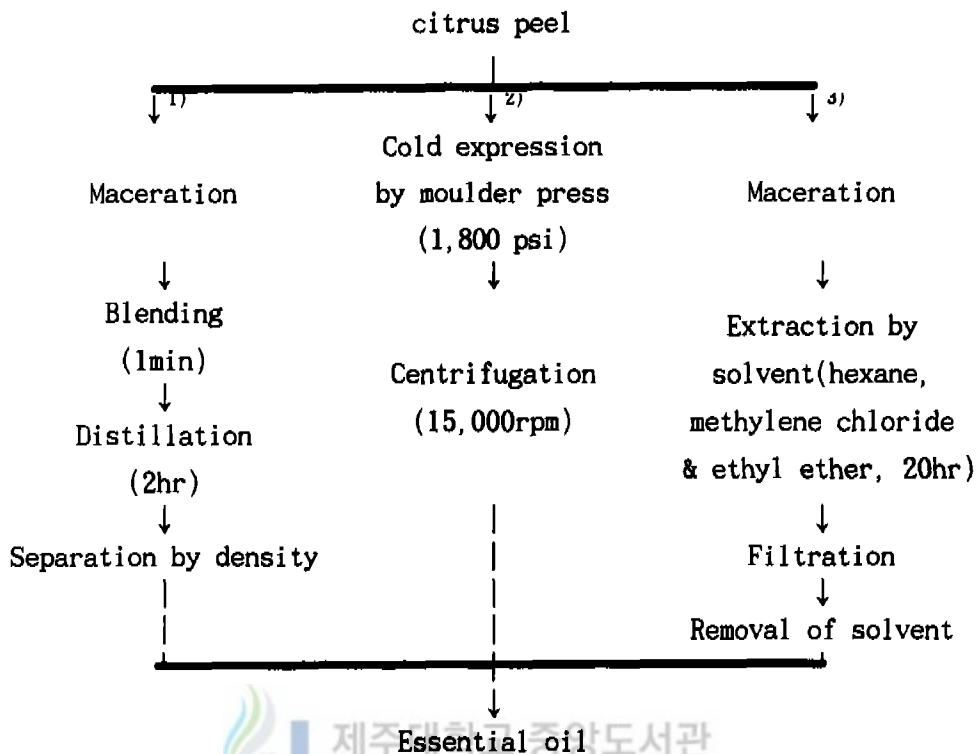
## 2) 감귤정유성분의 추출

### (1) 추출방법에 따른 정유성분의 추출

과피로부터 정유를 분리하기 위해서 증류법(Tatsuka 등, 1990), 저온압착법(Staroscik 등, 1982) 그리고 용매추출법(Kawakami, 1990)을 이용하였으며, 그 세부과정은 Fig. 2와 같다. 추출수율은 습윤 중량 백분율로 나타내었다.

#### ① 연속증류추출법(Simultaneous distillation and extraction, SDE)

감귤과피 400g을 잘게 자른 후 증류수 2ℓ를 혼합하여 laboratory blender(WARING Co., USA)로 1분간 마쇄한 후 추출용 시료로 사용하였다. 추출은 SDE 장치(Fig. 3)로 상압에서 냉각수 순환장치(Fisher Sci.)를 이용하여 3℃의 냉각수를 순환시키고 Heating mantle(MISUNG Sci. co.)로 열을 가하여 2시간 동안 추출하였다. 추출한 후 포집관의 오일이 물층과 완전히 분리될 때까지 약 10분간 방치하여 오일층만을 회수하였다.



1) Simultaneous distillation & extraction method : Refer to Fig. 3. Distillation apparatus

2) Cold expression Method : Refer to reference ; Staroscik, J.A. and Wilson, A.A., 1982. *J. Agric. Food Chem.*, 30, pp. 835-837

3) Solvent extraction method : Refer to reference ; Kawakami, M., 1990. *J. Agric. Food Chem.*, 38, pp. 1657-1661

Fig. 2. Extraction methods of citrus peel oil

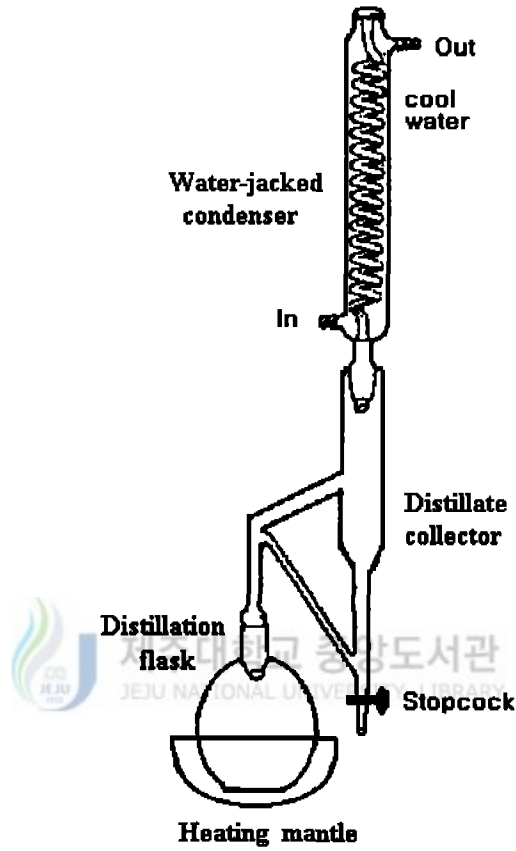


Fig. 3. Distillation apparatus for recovery of essential oils

## ② 저온압착법(Cold expression)

시료 400g을 30~40℃의 온수에 30분간 침지한 후 물더압착기(국산)로 추출하였는데 이때 프레스압력은 1000-1800 psi였으며 추출한 후 원심분리(Eppendorf 5415C, Germany, 15,000rpm)하여 정유를 얻었다.

## ③ 용매추출법(Solvent extraction)

추출용매로 hexan(HPLC grade), 메틸렌클로라이드(HPLC grade), 디에틸 에테르(HPLC grade)를 사용하였다. 시료 200g을 laboratory blender로 약 1분동안 마쇄한 후, 플라스크에 넣고 각각의 용매를 2ℓ씩 첨가하여 SDE 장치로 20시간 추출하였다.

## (2) 연속증류 추출조건에 따른 정유성분 추출

### ① 시료량의 영향

플라스크(5ℓ, pyrex) 용기에 시료를 각각 100, 200, 300 그리고 400g씩 넣고 증류수 2ℓ를 첨가하여 시료량에 따른 추출수율을 검토하였다.

### ② 증류시간의 영향

증류추출시간은 50, 60, 90, 120, 150분으로 약 30분 간격으로 달리하여 추출시간에 따른 정유수율을 검토하였다.

## (3) 전처리조건에 따른 정유성분 추출

### ① 열처리

감귤과피 400g을 끓는 물에 10, 30, 60초 각각 침지한 후 마쇄하여 연

속증류추출하였다.

## ② 건조처리

감귤과피를 60℃에서 24시간 열풍건조한 후 분쇄기(IKA-universalmuhle M20)로 30초 동안 분쇄한 후 분쇄 시료 100g과 증류수 2ℓ를 혼합하여 연속 증류추출하였다.

## (4) 감귤의 생육시기별 정유성분 추출

감귤이 착과된 후 10~20일 간격으로 열매를 채취하여 즉시 감귤과피를 분리하고 냉장보관(-4℃) 하면서 연속증류추출법으로 정유를 추출하였다.

## 3) 감귤정유성분의 특성 및 성분분석

### (1) 비중

정유의 비중은 시료 10ml 메스플라스크에 넣고 20℃로 항온 시킨 후 증량을 측정하여, 20℃의 물 증량에 대한 비로 계산하였다.

### (2) UV-spectrum

추출된 감귤정유의 UV-spectrum은 spectrophotometer(Hewlett Packard Vectra)를 이용하여 파장 190~820nm 범위에서 scanning하였다.

### (3) 성분분석

추출된 정유는 무수황산나트륨으로 탈수한 다음 냉동고(-20℃)에 보관하면서 분석에 사용하였는데, 정유의 분석에는 gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS, Hewlett Packard (HP) 5890(USA))를 이용하였다. 칼럼은 HP-1 (0.25 mm(i.d.)×25 m(length), carrier gas는 He을 사용하

여 유속은 1.0 ml/min으로 하고, 오븐 온도 60℃~200℃(2℃/min), 주입구 온도 230℃, 검출기 온도 250℃의 조건하에서 시료를 0.2 $\mu$ l씩 주입하여 flame ionization detector로 검출하였으며, 이온화는 70eV에서 행하였다(Table 1). 정유 구성분의 동정은 GC-MS로부터 시료의 total ion chromatogram을 얻은 후 표준품(Sigma co.), mass spectrum library (WILEY138) 그리고 문헌상의 자료(Show, 1979 ; Cotroneo 등, 1990)와 비교하여 확인하였다.

Table 1. GC-MS conditions for identification of citrus oil components

|                    |                                       |
|--------------------|---------------------------------------|
| GC-MS manufacturer | Hewlett Packard(HP) 5890 (USA)        |
| Column             | HP-1 (0.25 mm(diameter)×25 m(length)) |
| Carrier gas        | Helium(1.0ml/min)                     |
| Temp. program      | 60℃(5min)~(2℃/min)-200℃(10min)        |
| Injector           | 230℃                                  |
| Detector           | 250℃                                  |
| Ionization voltage | 70eV                                  |
| Mass range(m/z)    | 70-700                                |
| Injection volume   | 0.2 $\mu$ l                           |

#### 4) 감귤정유성분의 항세균성 검정

##### (1) 검정균

감귤정유성분의 항세균성 검정에 사용된 시험균주는 Table 2와 같다.

Table 2. Microorganisms for the test of antibacterial activity of citrus essential oils

| Bacteria tested                   | Source of strains                |
|-----------------------------------|----------------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> 8749      | American type culture collection |
| <i>Staphylococcus aureus</i> 6538 | American type culture collection |

##### (2) 항세균성 검정

###### 가. 검정균의 배양

*E. coli* 8749와 *S. aureus* 6538는 nutrient broth(NB, Difco)를 사용하여 30℃에서 24시간 진탕배양하였다.

###### 나. 항균활성 측정

항균활성은 paper disc법(Kim 등, 1995), 시험관 희석배양법(Conner 등, 1984)으로 측정하였다.

###### ① Paper disc법

미리 배양한 검정균 배양액 100 $\mu$ l를 도말해 놓은 nutrient agar(NA, Difco)배지에 시료 40 $\mu$ l를 함유한 직경 5mm의 paper disc(Toyo)를 올려 놓고, 1일간 배양하여 검정균의 생육 저지환 크기를 측정하였다.

## ② 시험관 희석배양법

검정균 배양용 nutrient broth배지 5ml에 검정균 100 $\mu$ l를 주입하고 여기에 0, 50, 100, 200, 300 $\mu$ l의 감귤정유시료를 첨가하여 잘 혼합하고 1일 배양 후의 검정균 생육정도를 540nm에서의 흡광도로 측정하였다.

### 5) 감귤정유성분의 항진균성 검정

#### (1) 검정균

정유성분의 항진균성 검정에 사용한 시험균주는 제주도 농업기술원에서 분리하여 보존 중인 감귤저장병의 주요 원인균으로 알려진 8종의 균에 대하여 실시하였다(Table 3).

Table 3. Microorganisms for the test of antifungal activity of citrus essential oils

| Fungi tested                          | Disease symptoms on citrus fruit |
|---------------------------------------|----------------------------------|
| <i>Alternaria citri</i>               | Black rot                        |
| <i>Botrytis cinerea</i>               | Gray mold                        |
| <i>Cladosporium sp.</i>               | -                                |
| <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | Anthracnose rot, White tip       |
| <i>Fusarium sp.</i>                   | -                                |
| <i>Penicillium italicum</i>           | Blue mold                        |
| <i>Phomopsis citri</i>                | Melanose                         |
| <i>Rhizopus sp.</i>                   | -                                |



## (2) 항진균성 검정

### 가. 검정균의 배양

검정균은 potato dextrose agar (PDA) 사면배지에 접종하여 30℃에서 7~14일간 배양한 후, 멸균증류수 5ml를 첨가하여 포자현탁액을 만들어 공시 접종균으로 사용하거나 또는 균사체를 일정량 취한 후 균질화하여 얻은 현탁액을 접종원으로 사용하였다.

### 나. 항균활성 측정

항균활성은 paper disc법(Kim 등, 1995), 액체배양법(Conner 등, 1984), 고체배양법(Kang 등, 1994)을 이용하여 측정하였다.

#### ① Paper disc법

PDA 배지 15ml를 petridish에 넣고 굳힌 hard agar 배지(2.0% agar)를 제조한 다음, 포자용액이나 검정균 현탁액 200 $\mu$ l를 soft agar 배지(0.65% agar) 5ml와 섞어서 hard agar배지에 증충하여 검정 plate를 제작하였다. 그 다음 측정하고자 하는 시료액 40 $\mu$ l를 paper disc( $\phi$  5mm)에 흡수시키고 검정 plate에 올려 놓은 다음, 28℃에서 각 검정균에 따라 일정기간동안 배양하여 형성된 생육 저지환의 직경을 측정하였다.

#### ② 액체배양법

Potato dextrose broth (PDB) 배지 5ml에 정유시료를 0~300 $\mu$ l씩 첨가한 후, 포자용액이나 검정균 현탁액 100 $\mu$ l를 잘 혼합하고 28℃에서 20일간 배양한 후 포자 및 균사생육정도를 육안으로 관찰하였다.

### ③ 고체배양법

배양시간에 따른 감귤정유의 균생육 억제 정도를 알아보기 위하여 PDA 배지 20ml를 petridish에 넣어 응고시킨 후, 감귤정유 100 $\mu$ l를 첨가하여 도말한 후  $\phi$  5mm의 검정균을 배지중앙에 접종하고, 28 $^{\circ}$ C의 항온기에서 수일간 배양하면서 공기균의 생육정도를 경시적으로 관찰하여 군사 생육 정도를 측정하였다.

그리고 감귤정유 첨가농도에 따른 항균활성을 측정하기 위해 PDA 배지 15ml를 petridish에 넣고 굳힌 hard agar 배지(2.0% agar)를 제조한 다음, soft agar 배지(0.65% agar) 5ml에 100 $\mu$ l의 포자용액이나 검정균 현탁액과 0, 25, 50, 100 $\mu$ l의 정유시료를 각각 첨가하고 잘 혼합하여 hard agar배지에 증충하였다. 그리고 28 $^{\circ}$ C에서 대조구의 균생육정도가 petridish상 전면에 이를 때까지 배양한 후 균의 생육정도를 측정하였다.



### Ⅲ. 결과 및 고찰

#### 1. 감귤의 생육시기별 특성변화

##### 1) 생육시기별 과실특성변화

감귤의 생육시기별 횡경, 종경, 과피중 및 과중의 변화를 측정된 결과는 Fig. 4와 같았다. 과실의 횡경(29.9~63mm)과 종경(29.7~52.3mm)은 6월 상·중순부터 9월 중·하순까지 급속적으로 성장하고, 그이후부터는 매우 완만하게 발육하였는데, 8월 하순~9월이 되면 횡경의 증가 속도가 종경보다 빨라지고 11월까지 진행되었다. 과실의 무게는 13.6~108g으로 8월 상순경부터 급격히 증가하기 시작하였고 10월 중순경 완만하여지면서 10월 하순 이후는 큰 변화가 없었다. 과피무게는 9월 중순경 최대치를 보이고 수확기 때 약간 감소하는 경향을 나타냈다.

감귤의 생육시기별 과피두께와 함량의 변화를 Fig. 5에 나타내었다. 과피는 생육초기인 7월 상순에 4.67mm로 가장 두꺼웠고, 그 이후 점진적으로 감소하였으나, 9월 중순경에 일시적으로 두꺼워져 제2의 극대치를 보였다. 9월 중순경에 제2의 극대치를 나타낸 것은 8, 9월 고온기에 세포분열에 의해 과피 두께가 다시 증가한 것으로 생각되며(백 등, 1984), 온주밀감 수확기인 10월 하순 이후의 과피 두께는 2.0mm에 가까웠다. 과피의 발육에 대하여 兪上(1982)은 온주밀감의 과육조직을 구성하는 세포는 대부분 6월 중순경까지는 분열이 정지되는 것에 비하여 과피의 외층에 가까운 조직은 9월 중순경까지 세포분열을 계속하고, 3개월 남짓 분열정지가 늦어지는데, 이와같은 차는 과즙이 전류되는 양에 따라 과피조직이 그에 알맞는 크기를 만들어 가기 위한 것이라고 하였다.

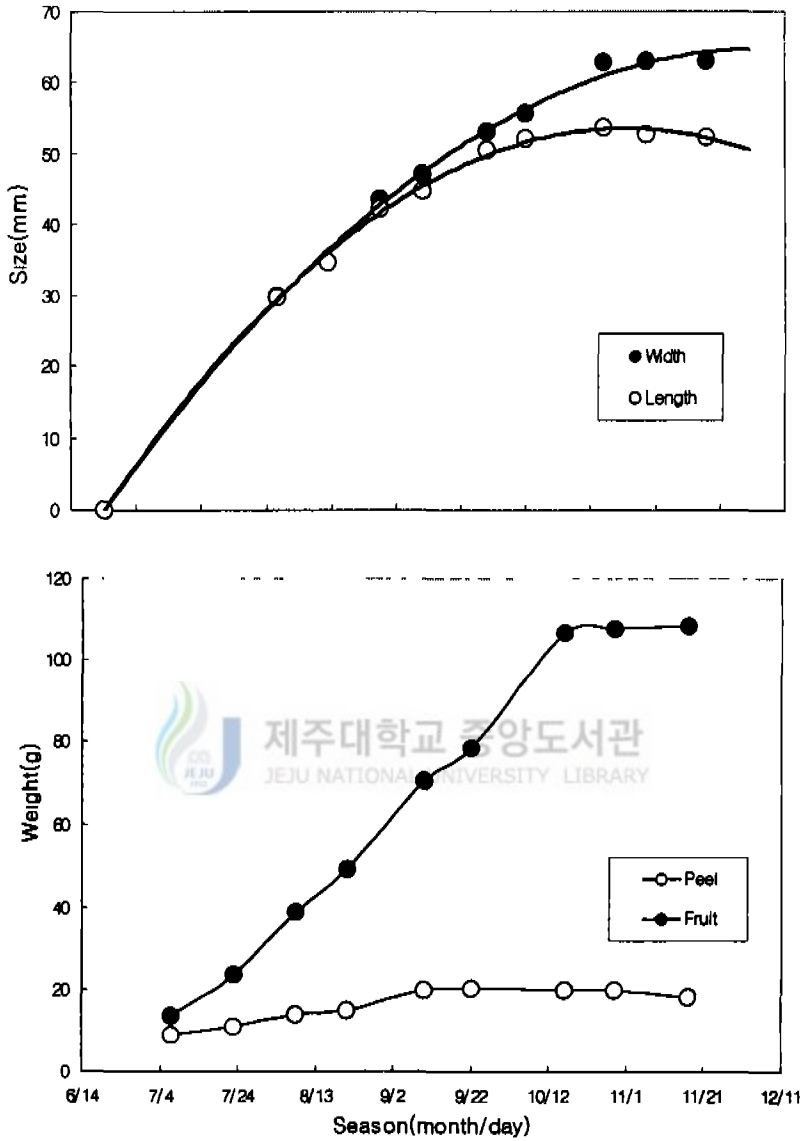


Fig. 4. Seasonal changes in size and weight of citrus fruits

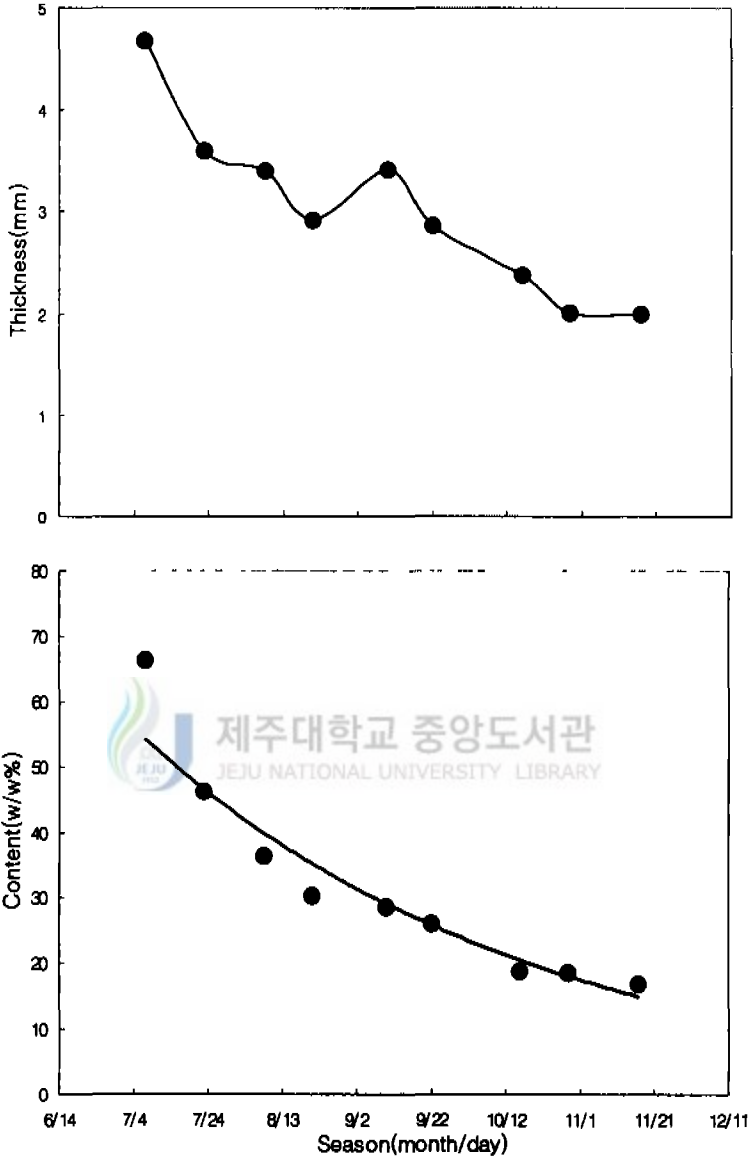


Fig. 5. Seasonal changes in peel thickness and peel content of citrus fruits.

생육시기별 감귤의 과피율은 과일 생육초기인 7월 상순경 66.5%(w/w)에서 완숙된 수확시기엔 약 17%(w/w)로 과실이 커짐에 따라 점차 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 5). 이는 과육 부분이 증가하는 반면에 과피는 얇아지는 경향과 일치하였다.

감귤과피의 수분함량은 71~75%로 시기별로 큰 차이가 없었으며(Fig. 6), 과피의 평균 수분함량은 약 72~73%인 것으로 나타났다. 허 등(1977)은 온주밀감의 과피율은  $20 \pm 5\%$ 이고 과피의 수분함량은 70-73%라고 보고하였는데, 본 연구결과와 일치하는 경향을 보였다.

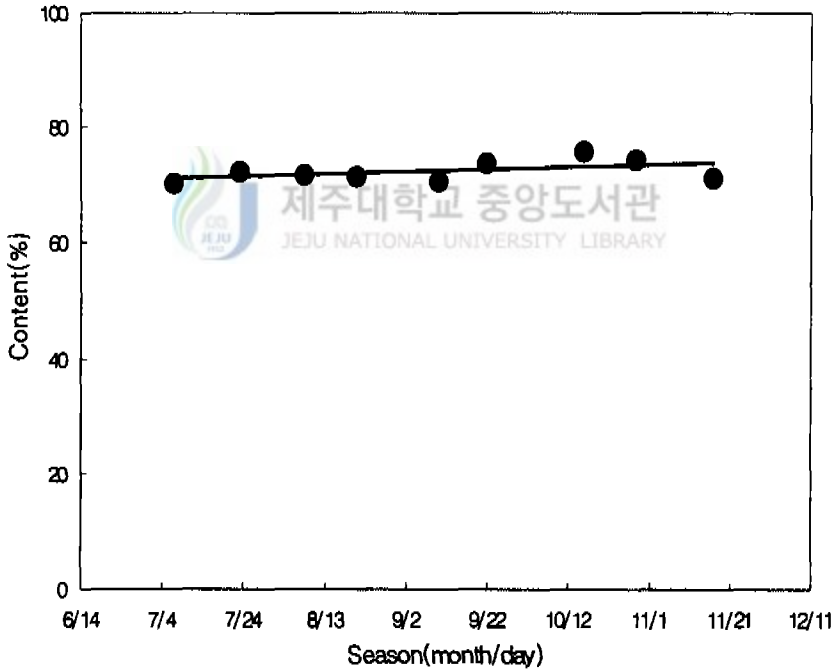


Fig. 6. Seasonal changes in moisture content of citrus peel

## 2) 감귤과피의 무기성분 함량

감귤과피로부터 정유를 추출한 후 부산물의 이용 가능성을 알아보기 위하여 생과피와 정유추출 후 잔존 과피의 무기성분 함량을 측정하였다 (Table 4). 정유 추출전 과피의 무기성분 함량은 질소, 칼리, 칼슘, 마그네슘이 각각 0.27%, 0.47%, 0.41%, 885ppm이었으며, 추출후 무기성분함량은 0.23%, 0.74%, 0.26%, 847ppm이었다. 또한 철, 붕소, 아연 등 다양한 무기성분이 검출되었으며, 특히 대부분의 무기성분은 추출전후 큰 차이를 보이지 않아 정유추출후 부산물은 다양한 무기성분의 공급원으로도 이용이 가능한 것으로 기대된다.

Table 4. Mineral components of citrus peel before and after SDE<sup>1)</sup>

| Components | N<br>(%) | K<br>(%) | Ca<br>(%) | Mg<br>(%) | P<br>(%) | Na<br>(%) | Fe<br>(ppm) | B<br>(ppm) | Zn<br>(ppm) | Mn<br>(ppm) | Cu<br>(ppm) |
|------------|----------|----------|-----------|-----------|----------|-----------|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|
| Before     | 0.27     | 0.47     | 0.41      | 885       | 288      | 66.2      | 40.8        | 22.8       | 12.4        | 9           | 4           |
| After      | 0.23     | 0.74     | 0.26      | 847       | 324      | 79.3      | 47.4        | 22.9       | 10.2        | 9.4         | 3.5         |

1) SDE : Simultaneous distillation and extraction

## 2. 감귤정유성분의 추출 및 분석

### 1) 추출방법에 따른 정유성분 비교

감귤 과피로부터 증류법, 저온압착법 그리고 용매추출법으로 정유를 추출·회수하였을 때의 수율은 Table 5와 같았다. 증류법으로 추출하였을 때의 수율이 1.14%(w/w)로 가장 높았으며, 저온압착법으로 추출하였을 때의 수율은 0.21%(w/w)로 가장 낮았다. 용매로 추출하였을 때의 수율은 사용한 용매의 종류에 따라 다르게 나타났으며, 헥산(D.C., 1.9), 메틸렌클로라이드, 에틸에테르(D.C., 4.3) 각각 1.02, 0.90, 0.53%(w/w)의 수율을 보였다. 이는 용매의 dielectric constant(D.C.)가 작을수록 수율이 높음을 의미한다. 추출방법별로 얻어진 각 정유의 구성성분 종류 수, d-limonene 함량 그리고 비중을 측정한 결과(Table 6), 검출된 구성성분의 종류수는 증류법, 저온압착법 그리고 헥산에 의한 용매추출법의 경우 각각 51종, 55종, 107종이었다. 그리고 정유의 주성분인 d-limonene 함량(peak area %)은 추출방법에 따라 다르게 나타났으며, 구성성분의 종류가 적을수록 높았다. 증류법으로 얻어진 정유의 68.6%가 d-limonene으로 가장 높았고, 용매추출법 중 추출수율이 가장 높은 헥산을 추출용매로 사용하여 얻어진 정유의 47.6%가 d-limonene으로 가장 낮은 수치를 보였다. 그러나 정유의 비중은 0.8409~0.8530으로 추출방법에 따라 차이가 별로 없었다.



Table 5. Yield of essential oil from citrus peel by several extraction methods

| Extraction method                      | Yield(%, w/w) |
|--|---------------|
| Simultaneous distillation & extraction | 1.14          |
| Cold expression                        | 0.21          |
| Solvent extraction                     |               |
| Hexane                                 | 1.02          |
| Methylene chloride                     | 0.90          |
| Ethyl ether                            | 0.53          |

Table 6. Number of components, limonene content and density of essential oil from citrus peel by extraction methods

| Extraction method                      | Number of components | d-Limonene content <sup>1)</sup> | Density |
|--|----------------------|----------------------------------|---------|
| Simultaneous distillation & extraction | 51                   | 68.6                             | 0.8409  |
| Cold expression                        | 55                   | 53.7                             | 0.8472  |
| Extraction by hexane                   | 107                  | 47.6                             | 0.8530  |

1) Area% was obtained from GC-MS chromatogram.

## 2) 연속증류 추출조건에 따른 정유성분 변화

### (1) 시료량의 영향

연속증류추출(SDE) 장치를 이용한 감귤정유 추출시 시료량에 따른 정유 분리량을 측정한 결과(Fig. 7), 추출시료가 100, 200, 300, 400g일 때 회수된 정유는 각각 1.1, 2.6, 3.8, 5g으로 시료량에 따른 정유량은 높은 정의 상관관계를 나타냈다.

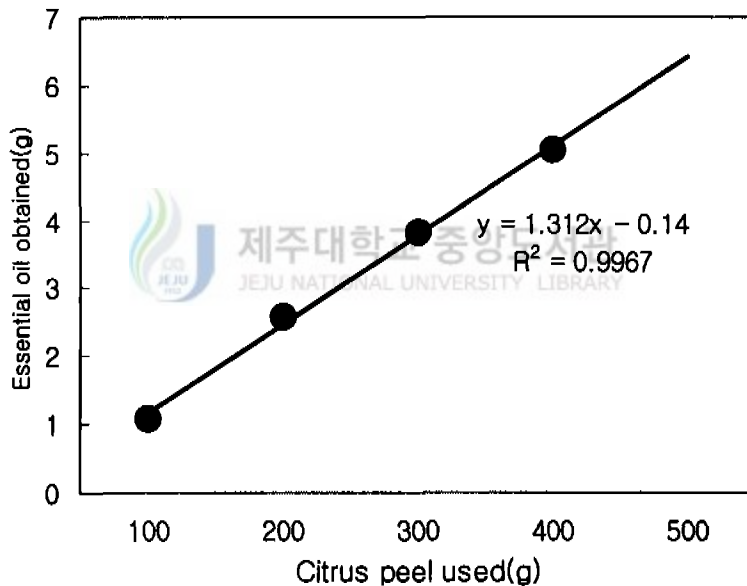


Fig. 7. Effect of the amount of citrus peel on extraction of essential oils by simultaneous distillation and extraction method

## (2) 증류시간의 영향

정유의 추출 수율이 가장 높은 SDE법을 사용했을 때의 증류시간에 따른 수율의 변화를 측정한 결과(Fig. 8), 60분 경과시 약 1.10%(w/w)의 수율을 얻었으며, 이후 90분까지 계속 증가하여 최대치 1.25%(w/w)에 도달하였고, 그 이후에는 다소 감소하는 경향이었는데, 이는 증류장치의 구조상(Fig. 3) 가열부(heating mantle)와 회수부(distillate collector)의 근접으로 인한 가열로 정유성분이 일부 손실된 것으로 생각된다. 증류시간에 따라서 검출된 성분은 50, 60, 90, 120 및 150분 경과시 각각 54, 52, 77, 96, 79개로, 120분 경과시 가장 많은 성분이 검출되었다.

그리고 증류시간별로 감귤정유의 구성분 함량을 조사한 결과(Fig. 9), 성분에 따라 차이를 보였는데 d-limonene(59.95~69.90%) 등의 hydrocarboney류(83.76~92.93%)는 증류시간이 경과함에 따라 점차 감소하는 경향을 보였으며, alcohol류(3.5~4.3%)는 90분 경과시 최대함량을 보이고 이후 약간 감소하는 경향이나 큰 차이는 없었다. 특히 alcohol류의 주요 성분인 linalool(1.83~2.58%)은 점차 감소하였다. 그리고 Aldehyde류(0.48~0.96%)와 pentadecanoic acid, octadecadienoic acid 등과 같은 acid류(0.35~3.77%) 성분은 증류시간이 경과함에 따라 증가하는 경향으로 120분 경과시 최대 함량을 나타냈다.

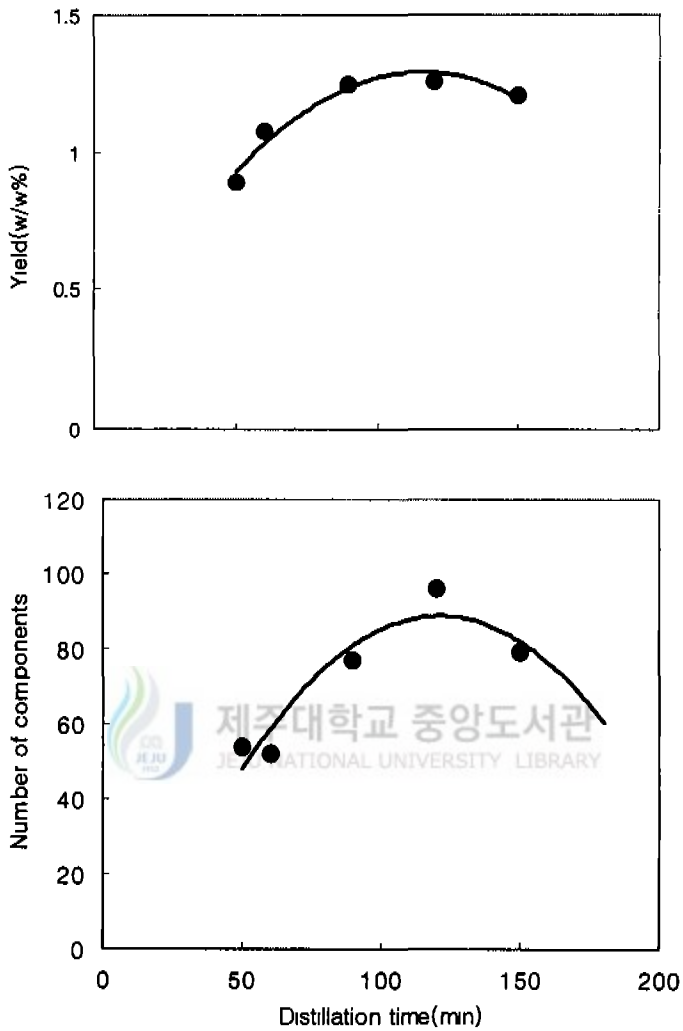


Fig. 8. Effect of distillation time on yield and number of components in essential oils from citrus peel.

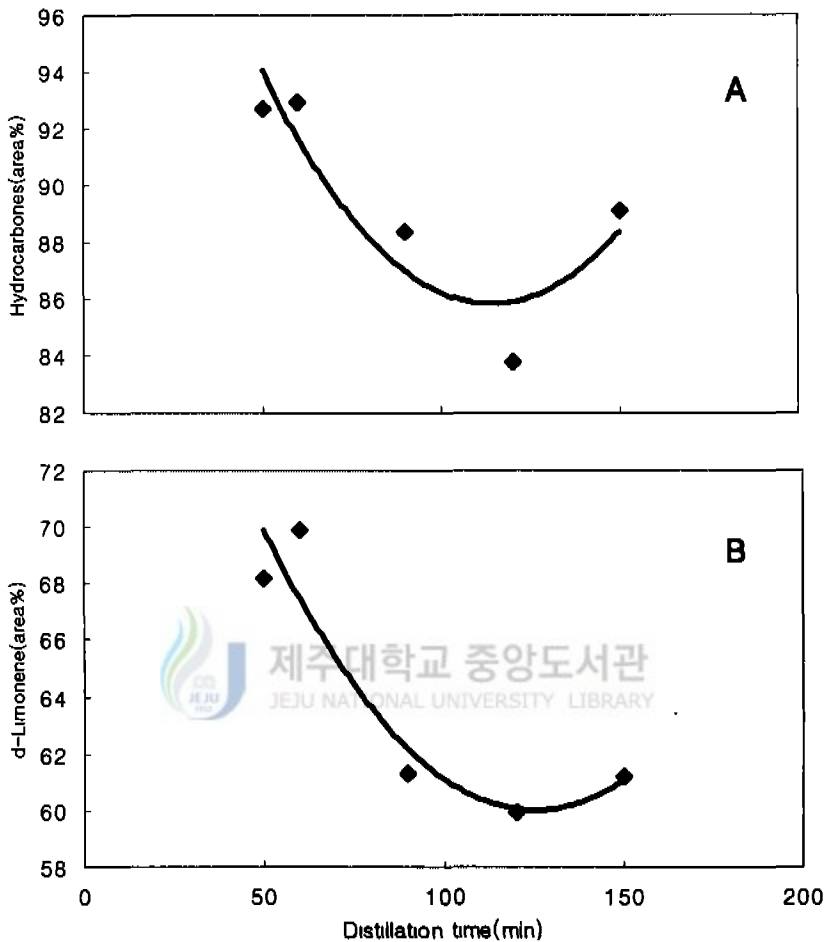


Fig. 9. Effect of distillation time on the component content in essential oils from citrus peel. Area % was obtained from GC-MS chromatogram. A: Hydrocarbones, B: d-Limonene, C: Alcohols, D: Linalool, E: Aldehydes, F: Acids

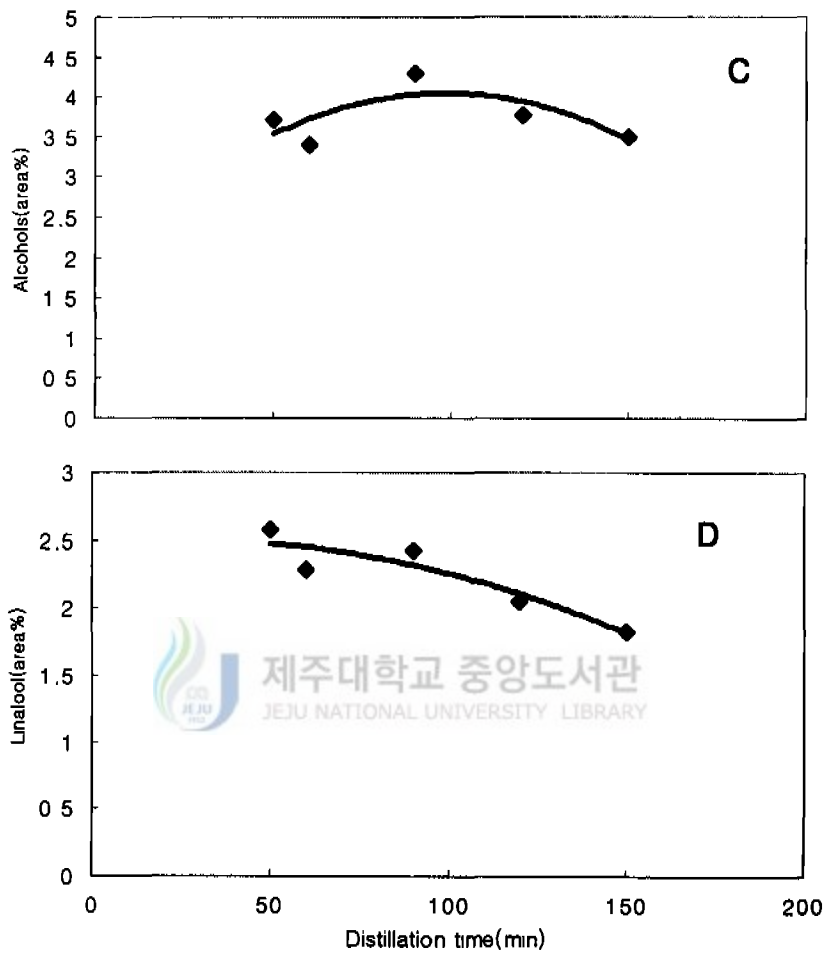


Fig. 9. continued

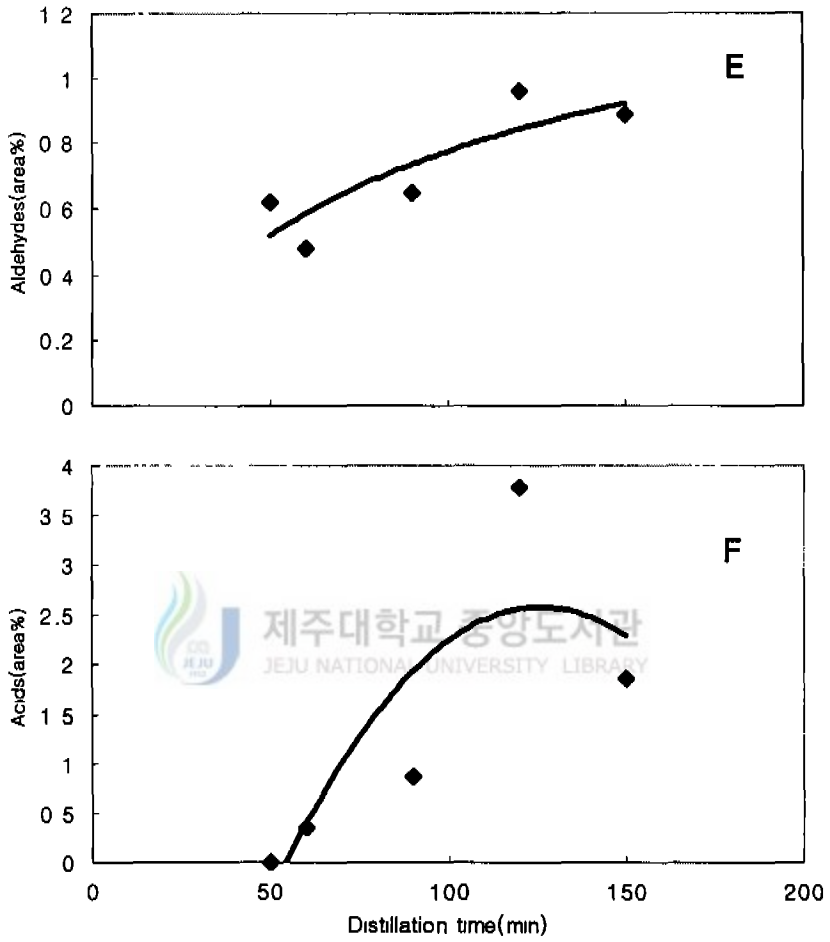


Fig. 9. continued

### 3) 전처리조건에 따른 정유성분 변화

감귤 가공처리 과정에서 생길 수 있는 가열 및 건조 등의 처리조건이 감귤정유 수율 및 성분함량에 미치는 영향을 검토하였다(Fig. 10). 과피를 끓는 물에서 10초, 30초, 60초 동안 열처리하였을 때, 처리하지 않은 것에 대한 상대적인 수율은 각각 81, 76, 73%로, 약 20~30%정도 수율이 감소되었다. 또한 60℃에서 24시간 건조처리시 수율은 건조처리하지 않은 것의 26%로 약 74%정도의 수율이 감소되는 것으로 나타났다. 시료 전처리 조건에 따라 검출된 성분수는 무처리, 가열 10초, 30초, 60초 그리고 건조 각각 89, 108, 95, 66, 61개로 10초, 30초 가열처리시 성분수가 많이 검출된 것은 고유의 정유성분 이외 이취가 발생한 것으로 보이며, 건조처리시 가장 적은 성분이 검출되었다.

시료 전처리 조건에 따른 감귤정유 구성분 함량의 변화는 Table 7에 나타내었다. d-Limonene 등의 hydrocarboney류 함량은 대조구, 건조, 열처리 10초, 30초, 60초 처리구에서 각각 82.47, 89.21, 84.61, 85.47, 90.05%, linalool 등의 alcohol류는 3.39, 1.29, 2.82, 3.91, 3.26%, nonanal 등의 aldehyde류는 1.38, 1.36, 1.47, 1.29, 1.09%, octadecadienoic acid 등의 acid류는 각각 3.24, 2.04, 3.02, 3.16, 2.89% 그리고 ester류는 0.93, 0.09, 0.14, 0.13 및 0.14%로 건조 및 열처리에 의해 alcohol류, acid류 및 aldehyde류 함량이 상대적으로 낮게 나타났다.



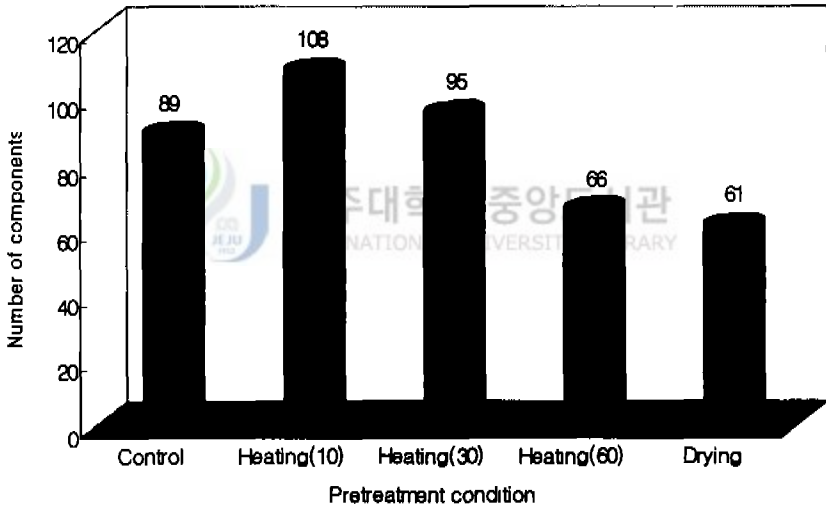
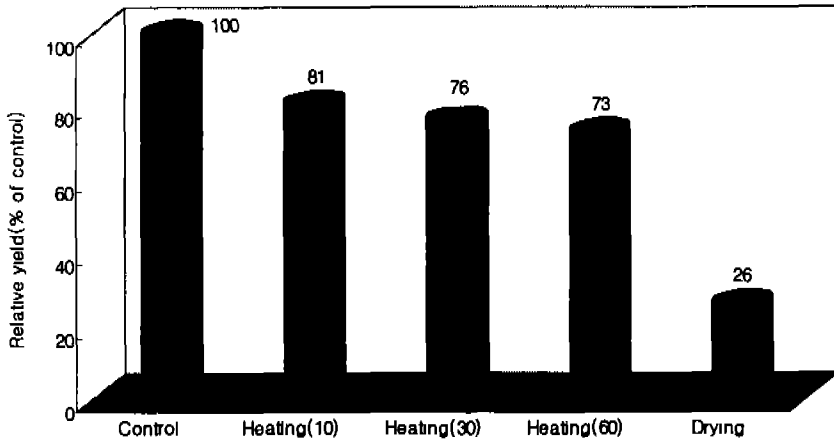


Fig. 10. Effect of pretreatment on yield and number of components in essential oils by SDE method. Citrus peel was dipped in boiling water for 10 seconds(Heating(10)), 30 seconds(Heating(30)), 60 seconds(Heating(60)), or dried at 60°C for 24hrs(drying).

Table 7. Effect of citrus peel pretreatment on the content of components in essential oils.

| No. | Components                   | Pretreatment condition |                  |                  |                  |                  |
|-----|------------------------------|------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|     |                              | Control                | Drying<br>(60°C) | Heating<br>10sec | Heating<br>30sec | Heating<br>60sec |
| 1   | $\alpha$ -Thujene            | 0.11 <sup>1)</sup>     | 0.16             | 0.13             | 0.13             | 0.19             |
| 2   | $\alpha$ -Pinene             | 0.84                   | 1.15             | 0.73             | 0.95             | 0.68             |
| 3   | $\beta$ -Pinene              | 0.01                   | 0.78             | 0.59             | 0.51             | 0.72             |
| 4   | $\beta$ -Myrcene             | 0.82                   | 1.21             | 1.67             | 1.57             | 1.14             |
| 5   | d-Limonene                   | 56.47                  | 62.66            | 59.37            | 61.07            | 58.67            |
| 6   | Octatriene                   | 0.64                   | 0.66             | 0.52             | 0.49             | 0.65             |
| 7   | $\gamma$ -Terpinene          | 6.37                   | 7.24             | 6.01             | 5.15             | 6.69             |
| 8   | $\alpha$ -Terpinolene        | 0.82                   | 0.79             | 0.76             | 0.83             | 0.85             |
| 9   | Linalool                     | 1.86                   | 0.68             | 1.55             | 1.87             | 1.8              |
| 10  | p-Mentha-trans-2,8-dien-1-ol | 0.05                   | - <sup>2)</sup>  | 0.07             | 0.13             | -                |
| 11  | Citronella                   | 0.09                   | -                | 0.11             | 0.15             | 0.15             |
| 12  | Nonanol                      | 0.06                   | -                | 0.05             | -                | -                |
| 13  | 3-Cyclohexen-1-ol            | 0.27                   | 0.14             | 0.23             | 0.26             | 0.22             |
| 14  | $\alpha$ -Terpineol          | 0.51                   | 0.17             | -                | 0.48             | 0.47             |
| 15  | Decanal                      | 0.49                   | 0.34             | 0.51             | 0.64             | 0.58             |
| 16  | trans-Carveol                | 0.14                   | -                | 0.17             | 0.3              | 0.08             |
| 17  | Nerol                        | 0.11                   | -                | 0.07             | -                | 0.09             |
| 18  | cis-Carveol                  | 0.07                   | -                | 0.09             | 0.24             | -                |
| 19  | Cyclohexene-1-one            | 0.13                   | -                | 0.19             | 0.4              | 0.06             |
| 20  | e-Citral                     | -                      | -                | 0.04             | -                | -                |
| 21  | Cyclohexene-carboxaldehyde   | 0.17                   | -                | 0.22             | 0.32             | 0.22             |
| 22  | $\delta$ -elemene            | 0.83                   | 1.04             | 0.59             | 0.42             | 1.41             |
| 23  | $\alpha$ -Cubebene           | 0.12                   | 0.1              | 0.06             | -                | 0.15             |
| 24  | Neryl acetate                | 0.12                   | 0.09             | 0.14             | 0.13             | 0.14             |
| 25  | $\alpha$ -Copaene            | 0.54                   | 0.44             | 0.52             | 0.58             | 0.7              |

1) Determined as GC-MS area percent, 2) Trace or Not detected.

Table 7. continued

| No. | Components                        | Pretreatment condition |                  |                  |                  |                  |
|-----|-----------------------------------|------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|     |                                   | Control                | Drying<br>(60°C) | Heating<br>10sec | Heating<br>30sec | Heating<br>60sec |
| 26  | Geranyl acetate                   | 0.81 <sup>1)</sup>     | - <sup>2)</sup>  | -                | -                | -                |
| 27  | $\beta$ -Elemene                  | 4.92                   | 4.58             | 4.26             | 4.58             | 5.7              |
| 28  | trans-Caryophyllene               | 0.9                    | 0.77             | 0.79             | 0.81             | 1.08             |
| 29  | $\gamma$ -Elemene                 | 0.52                   | -                | 0.39             | 0.45             | 0.7              |
| 30  | $\alpha$ -Guaiene                 | 0.09                   | 0.05             | 0.09             | 0.09             | 0.12             |
| 31  | $\alpha$ -Humulene                | 1.12                   | 0.96             | 0.97             | 1.04             | 1.27             |
| 32  | epi-Bicyclosesqui<br>phellandrene | 1.19                   | 1.16             | 1.12             | 1.01             | 1.57             |
| 33  | Aromadendrene                     | 0.25                   | 0.18             | 0.22             | 0.19             | 0.23             |
| 34  | $\gamma$ -Elemene                 | 0.74                   | 0.63             | 0.61             | 0.39             | 0.93             |
| 35  | Farnesene                         | 3.83                   | 3.46             | 3.5              | 3.41             | 4.94             |
| 36  | $\delta$ -Cadinene                | 1.04                   | 0.89             | 1.02             | 0.98             | 1.27             |
| 37  | Elemol                            | 0.38                   | 0.26             | 0.36             | 0.34             | 0.54             |
| 38  | Germacrene B                      | 0.26                   | 0.24             | 0.26             | 0.23             | 0.26             |
| 90  | Spathulenol                       | 0.23                   | 0.23             | 0.23             | 0.29             | -                |
| 40  | $\gamma$ -Gurjunene               | 0.07                   | 0.06             | 0.08             | -                | -                |
| 41  | $\delta$ -Guaiene                 | 0.11                   | -                | 0.16             | 0.19             | 0.07             |
| 42  | Tetradecanoic acid                | 0.13                   | 0.29             | 0.15             | -                | -                |
| 43  | Nootkatone                        | 0.07                   | 0.05             | 0.1              | 0.1              | 0.07             |
| 44  | Hexadecanoic acid                 | 2.75                   | 3.11             | 1.08             | 0.33             | 0.19             |
| 45  | Hexadecen-1-ol                    | -                      | 0.04             | 0.05             | -                | 0.06             |
| 46  | Octadecadienoic acid              | 0.48                   | 1.54             | 0.46             | -                | -                |
| 47  | Octadecadienal                    | 0.51                   | 0.95             | 0.46             | -                | -                |

1) Determined as GC-MS area percent. 2) Trace or Not detected.

#### 4) 생육시기에 따른 정유성분 변화

생육시기별로 증류법에 의한 과피로부터의 정유수율을 측정한 결과, 7월 상순에 0.77%(w/w), 9월 상순에 1.16%(w/w) 그리고 11월 중순에 1.05%(w/w)로, 수율은 8월 중순이후 급증하여 감귤이 완숙되기 직전인 9월에 최대치를 보였으며, 그 이후 약간 감소하는 경향을 보이거나 중간착색기인 10월 하순경 다시 증가하였는데, 이는 Blanco 등(1995)이 콜롬비아산 mandarine(*C. reticulata*)의 과피와 잎의 citrus oil을 연구한 보고서에서 오일은 감귤의 중간착색단계인 greenish yellow coloration(45-75% green)시기에 가장 함량이 높다고 한 것과 비슷한 경향을 나타내었다. 따라서 감귤 과피중의 정유 함유량은 완숙되기 직전에 많으며, 적어도 1%(w/w) 이상의 정유가 함유되어 있다는 의미로 해석된다. 또한, 과피올 17%(w/w) (Fig. 5)와 과피 중의 정유 함유량 1.00~1.16%(w/w) (Fig. 11의 yield 참조)를 기준으로 했을 때, 신선 과실의 약 0.17~0.20%(w/w)에 해당하는 정유를 얻을 수 있다. 그리고 검출된 구성분의 종류 수는 과실이 성숙함에 따라 점차 감소하는 경향을 나타냈다(Fig. 11).

생육시기별 정유 구성분의 함량과 이들을 유사한 화합물끼리 분류한 함량변화를 Table 8과 Fig. 12에 나타내었다. Hydrocarboney류(75.48~92.84%)는 과실이 성숙함에 따라 증가하였으며, 특히 d-limonene 함량은 7월 23일, 8월 21일, 9월 22일, 10월 29일 및 11월 17일에 각각 44.49, 54.19, 60.4, 64.51 및 68.69%(area)로 점차 증가하는 것으로 나타났다. Alcohol류(2.4~5.33%) 함량은 점차 감소하였는데 linalool(1.46~2.66%)도 같은 경향을 나타냈으며, acid류(1.49~7.31%)는 7월경 최대 함량을 보이며 과실이 성숙함에 따라 감소하였다. Ester류와 aldehyde류는 9월 상·중순경 최대 함량을 보이고 이후 약간 감소하는 경향을 나타냈다.

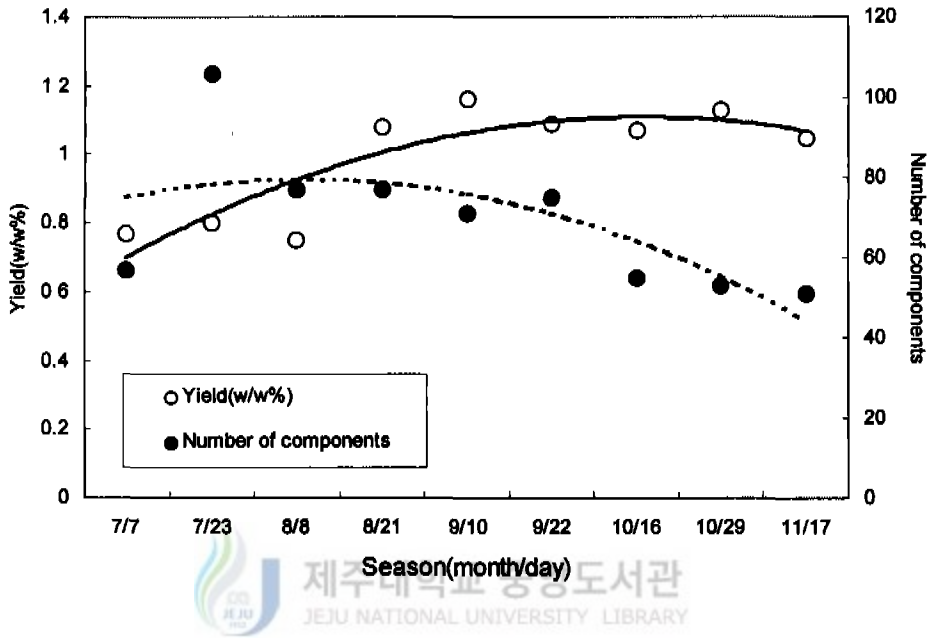


Fig. 11. Seasonal changes in yield and component number of essential oils from citrus peel by SDE method

Table 8. Seasonal changes in the component contents of essential oils from citrus peel by SDE method. Area% was obtained from GC-MS chromatogram.

| No. | Component                    | R/T   | Season(month/day)  |      |      |      |      |      |                 |       |       |
|-----|------------------------------|-------|--------------------|------|------|------|------|------|-----------------|-------|-------|
|     |                              |       | 7/7                | 7/23 | 8/8  | 8/21 | 9/10 | 9/22 | 10/16           | 10/29 | 11/17 |
| 1   | $\alpha$ -Thujene            | 7.61  | 0.71 <sup>1)</sup> | 0.27 | 0.26 | 0.26 | 0.2  | 0.11 | 0.14            | 0.11  | 0.21  |
| 2   | $\alpha$ -Pinene             | 7.86  | 2.39               | 1.89 | 0.88 | 2.57 | 2.44 | 0.72 | 0.89            | 0.75  | 1.36  |
| 3   | $\beta$ -Pinene              | 9.49  | 2.02               | 1.06 | 1.04 | 0.85 | 0.65 | 0.51 | 0.58            | 0.38  | 0.87  |
| 4   | $\beta$ -Myrcene             | 10.19 | 2.17               | 1.03 | 1.07 | 1.11 | 1.12 | 1.51 | 1.06            | 0.92  | 1.45  |
| 5   | d-Limonene                   | 13.27 | 54.7               | 44.5 | 53.1 | 54.2 | 58.0 | 60.4 | 62.9            | 64.5  | 68.7  |
| 6   | 1,3,7-Octatriene             | 13.4  | 0.68               | 0.5  | 0.45 | 0.43 | 0.39 | 0.32 | 0.67            | 0.74  | 0.73  |
| 7   | $\gamma$ -Terpinene          | 13.87 | 12                 | 6.77 | 7.12 | 7.82 | 6.78 | 6.13 | 7.34            | 7.12  | 7.75  |
| 8   | $\alpha$ -Terpinolene        | 14.66 | 1.24               | 1.04 | 1.09 | 0.97 | 0.89 | 0.89 | 0.88            | 1     | 0.83  |
| 9   | Linalool                     | 15.14 | 2.66               | 2.65 | 2.49 | 2.28 | 1.94 | 1.81 | 1.71            | 2.21  | 1.46  |
| 10  | p-Mentha-trans-2,8-dien-1-ol | 16.25 | 0.12               | 0.09 | 0.05 | 0.04 | 0.04 | 0.08 | - <sup>2)</sup> | -     | -     |
| 11  | Citronella                   | 16.68 | -                  | 0.04 | 0.05 | 0.04 | 0.06 | 0.09 | 0.07            | 0.11  | 0.07  |
| 12  | 3-Cyclohexen-1-ol            | 17.32 | 0.38               | 0.44 | 0.35 | 0.32 | 0.35 | 0.37 | 0.25            | 0.3   | 0.19  |
| 13  | $\alpha$ -Terpineol          | 17.7  | 0.48               | 0.66 | 0.61 | 0.69 | 0.74 | 0.81 | 0.57            | 0.66  | 0.41  |
| 14  | Decanal                      | 18.07 | 0.16               | 0.36 | 0.33 | 0.36 | 0.44 | 0.5  | 0.49            | 0.64  | 0.35  |
| 15  | trans-Carveol                | 18.47 | 0.08               | 0.26 | 0.18 | 0.11 | 0.13 | 0.22 | 0.07            | 0.08  | -     |
| 16  | Nerol                        | 18.61 | -                  | 0.04 | 0.06 | 0.04 | 0.07 | 0.1  | 0.08            | 0.11  | 0.07  |
| 17  | cis-Carveol                  | 18.73 | -                  | 0.13 | 0.07 | -    | -    | 0.09 | -               | -     | -     |
| 18  | z-Citral                     | 18.97 | -                  | -    | -    | -    | 0.04 | 0.04 | -               | -     | -     |
| 19  | Cyclohexene-1-one            | 19.02 | 0.07               | 0.25 | 0.13 | 0.08 | 0.1  | 0.18 | 0.05            | 0.05  | 0     |
| 20  | e-Citral                     | 19.6  | -                  | 0.09 | 0.05 | -    | 0.06 | 0.07 | -               | -     | -     |
| 21  | Cyclohexene-1-carboxaldehyde | 19.64 | 0.06               | 0.15 | 0.12 | 0.2  | 0.24 | 0.26 | 0.2             | 0.2   | 0.13  |
| 22  | $\delta$ -Elemene            | 20.94 | 0.54               | 0.4  | 0.79 | 1.29 | 1.27 | 0.84 | 1.25            | 1.21  | 0.91  |
| 23  | $\alpha$ -Cubebene           | 21.15 | -                  | 0.09 | 0.04 | 0.09 | 0.08 | 0.07 | 0.09            | 0.1   | 0.07  |
| 24  | Neryl acetate                | 21.41 | -                  | -    | 0.06 | 0.08 | 0.11 | 0.13 | 0.09            | 0.09  | 0.07  |
| 25  | $\alpha$ -Copaene            | 21.67 | 0.23               | 0.52 | 0.46 | 0.53 | 0.56 | 0.58 | 0.45            | 0.44  | 0.34  |
| 26  | Geranyl acetate              | 21.77 | 0.38               | 0.64 | 0.65 | 0.77 | 0.79 | 0.71 | 0.65            | 0.69  | 0.13  |

1) Determined as GC-MS area percent. 2) Trace or not detected.

Table 8. continued

| No. | Component                         | R/T   | Season(month/day)  |      |      |      |      |      |                 |       |       |
|-----|-----------------------------------|-------|--------------------|------|------|------|------|------|-----------------|-------|-------|
|     |                                   |       | 7/7                | 7/23 | 8/8  | 8/21 | 9/10 | 9/22 | 10/16           | 10/29 | 11/17 |
| 27  | $\beta$ -Elemene                  | 21.83 | 3.26 <sup>1)</sup> | 4.59 | 4.25 | 4.78 | 4.42 | 3.92 | 4.19            | 4.29  | 2.96  |
| 28  | trans-Caryophyllene               | 22.49 | 0.52               | 0.94 | 0.81 | 0.86 | 0.81 | 0.72 | 0.76            | 0.77  | 0.6   |
| 29  | $\gamma$ -Elemene                 | 22.68 | 0.29               | 0.57 | 0.58 | 0.71 | 0.7  | 0.6  | 0.54            | 0.54  | 0.35  |
| 30  | $\alpha$ -Guaiene                 | 22.76 | 0.05               | 0.09 | 0.08 | 0.09 | 0.1  | 0.09 | 0.06            | 0.08  | 0.06  |
| 31  | $\alpha$ -Humulene                | 23.08 | 0.75               | 1.15 | 0.97 | 1.07 | 1.03 | 0.93 | 0.86            | 0.94  | 0.64  |
| 32  | $\beta$ -Selinene                 | 23.42 | 0.23               | 0.33 | 0.2  | 0.23 | 0.23 | 0.17 | 0.14            | 0.19  | 0.13  |
| 33  | epi-Bicyclosesquiph<br>ellandrene | 23.54 | 1.05               | 1.12 | 1.28 | 1.53 | 1.52 | 1.33 | 1.24            | 1.2   | 1.01  |
| 34  | Aromadendrene                     | 23.62 | 0.26               | 0.33 | 0.25 | 0.29 | 0.27 | 0.21 | 0.17            | 0.23  | 0.13  |
| 35  | $\gamma$ -Elemene                 | 23.71 | 0.45               | 0.41 | 0.64 | 0.74 | 0.71 | 0.51 | 0.58            | 0.65  | 0.36  |
| 36  | Farnesene                         | 23.92 | 2.6                | 3.74 | 3.21 | 3.84 | 3.86 | 3.39 | 3.52            | 3.5   | 2.29  |
| 37  | $\delta$ -Cadinene                | 24.2  | 0.52               | 1.06 | 0.93 | 1.06 | 1.1  | 1.04 | 0.84            | 0.85  | 0.65  |
| 38  | Elemol                            | 24.58 | 0.09               | 0.33 | 0.35 | 0.39 | 0.35 | 0.33 | 0.26            | 0.26  | 0.22  |
| 39  | Germacrene B                      | 24.75 | 0.19               | 0.11 | 0.26 | 0.28 | 0.21 | 0.23 | 0.15            | 0.16  | 0.12  |
| 40  | Spathulenol                       | 25.13 | 0.07               | 0.54 | 0.16 | 0.12 | 0.08 | 0.13 | 0.05            | 0.07  | 0.05  |
| 41  | $\gamma$ -Gurjunene               | 25.34 | 0.1                | 0.25 | 0.12 | 0.11 | 0.12 | 0.13 | - <sup>2)</sup> | -     | -     |
| 42  | $\alpha$ -Patchoulene             | 25.58 | 0.15               | -    | 0.07 | 0.14 | 0.1  | 0.12 | -               | -     | -     |
| 43  | Valencene                         | 25.67 | 0.09               | -    | -    | 0.11 | 0.09 | 0.09 | 0.05            | 0.05  | -     |
| 44  | $\gamma$ -Cadinene                | 26.05 | 0.14               | 0.42 | 0.21 | 0.07 | 0.24 | 0.19 | 0.12            | 0.12  | 0.09  |
| 45  | $\delta$ -Guaiene                 | 26.22 | 0.84               | 1.92 | 0.67 | 0.9  | 0.6  | 0.55 | 0.38            | 0.37  | 0.24  |
| 46  | Tetradecanoic acid                | 27.58 | -                  | 0.27 | -    | 0.06 | -    | -    | 0.09            | -     | -     |
| 47  | Neophytadiene                     | 28.52 | -                  | 0.14 | 0.08 | 0.09 | 0.07 | 0.03 | -               | -     | -     |
| 48  | Pentadecanoic acid                | 28.84 | -                  | 0.32 | 0.22 | 0.19 | 0.15 | 0.15 | 0.1             | -     | -     |
| 49  | Hexadecanoic acid                 | 30.22 | 2.78               | 6.06 | 4.71 | 2.84 | 2.72 | 2.33 | 2.64            | 1.32  | 1.76  |
| 50  | Heptadecanoic acid                | 31.34 | -                  | 0.11 | 0.1  | 0.05 | -    | -    | -               | -     | -     |
| 51  | Hexadecen-1-ol                    | 31.89 | 0.13               | 0.32 | 0.29 | 0.3  | 0.19 | 0.1  | 0.06            | -     | -     |
| 52  | Octadecadienoic<br>acid           | 32.12 | 0.28               | 0.55 | 1.62 | 0.51 | 0.38 | 0.46 | 0.54            | 0.17  | 0.2   |
| 53  | Octadecadienal                    | 32.18 | -                  | 0.49 | 0.79 | 0.51 | 0.36 | 0.39 | 0.46            | 0.32  | 0.48  |

1) Determined as GC-MS area percent. 2) Trace or not detected.

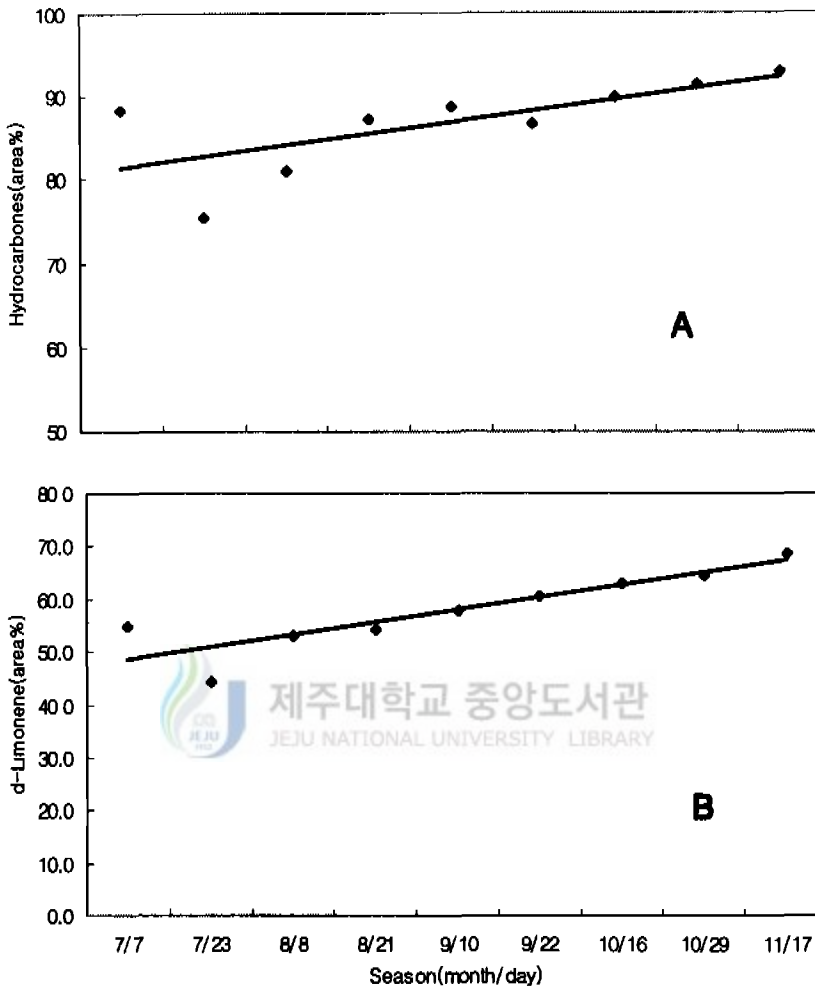


Fig. 12. Seasonal changes in the component contents of essential oils from citrus peel. Area % was obtained from GC-MS chromatogram. A: Hydrocarbones, B: d-Limonene, C: Alcohols, D: Linalool, E: Acids, F: Aldehydes, G: Esters



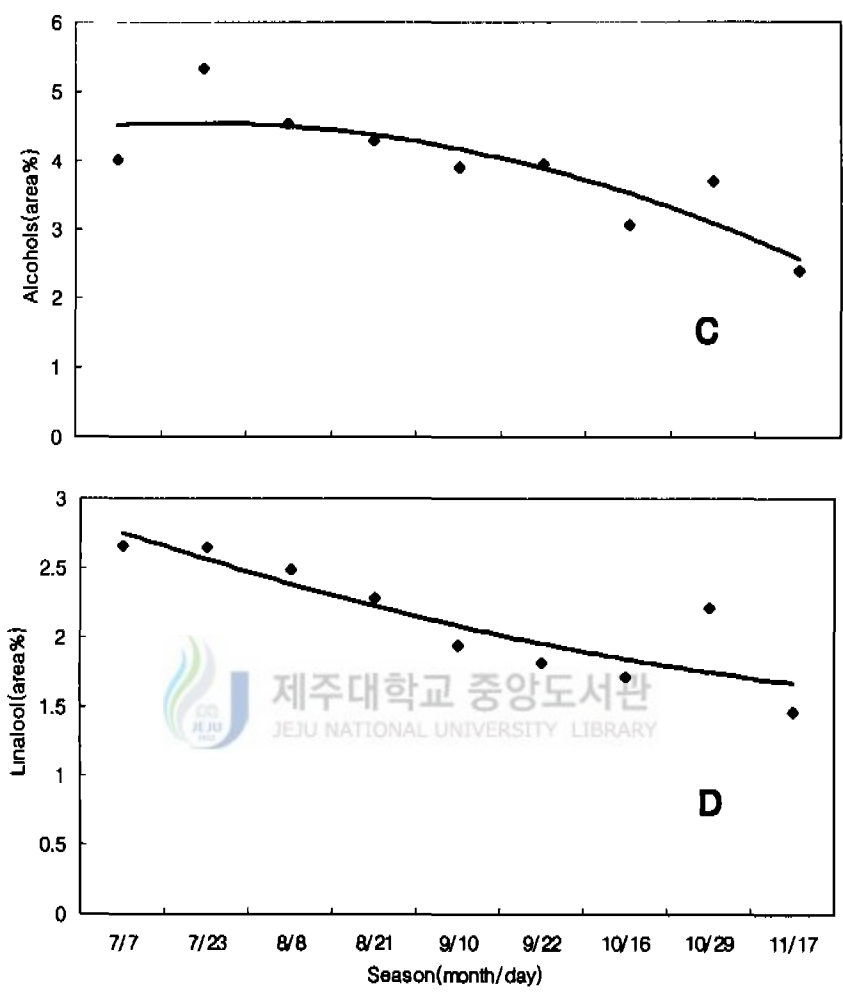


Fig.12. continued

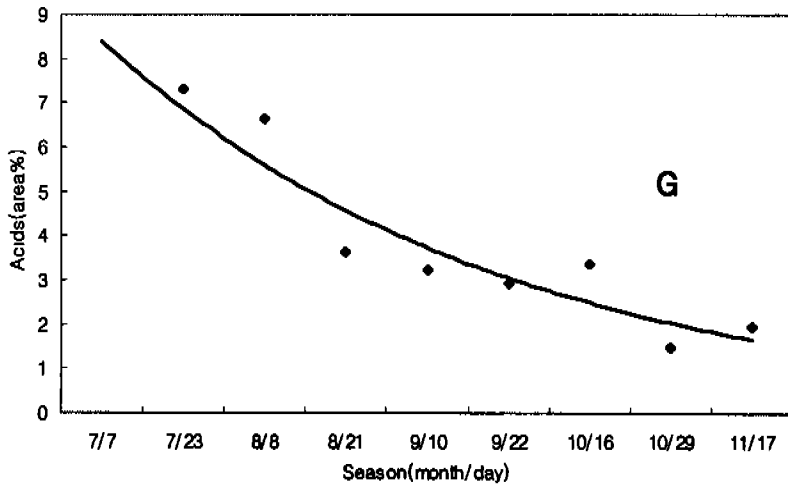
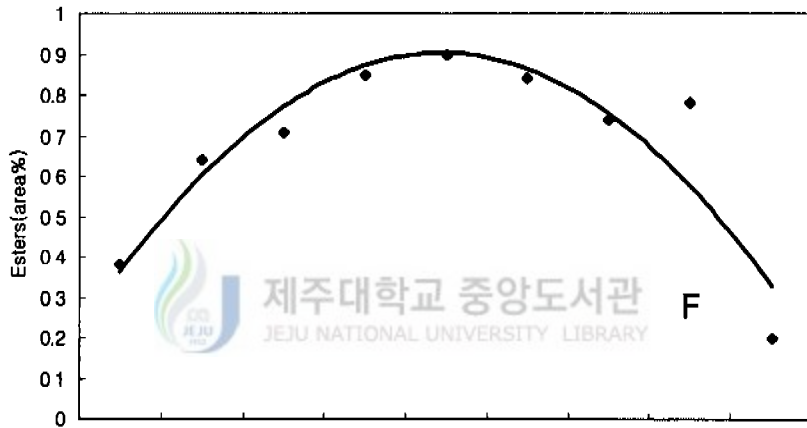
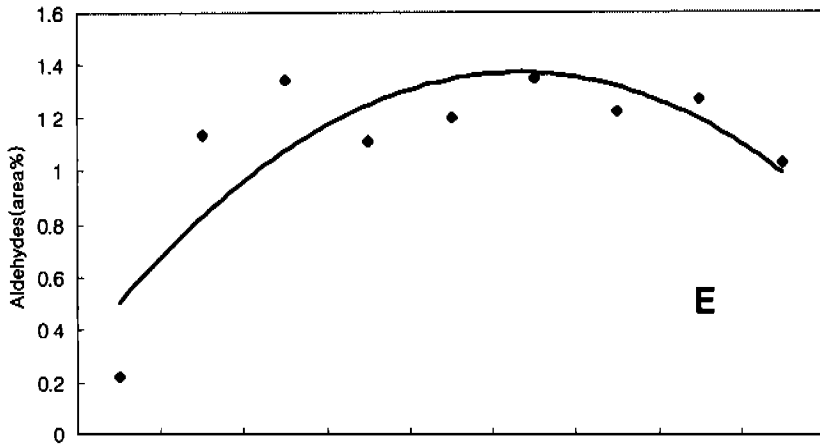


Fig.12. continued

Dugo 등(1990)은 과실의 성숙과 함께 d-limonene이나 ester류의 함량이 증가한다고 보고하였고, Kekelidz 등(1989)은 온주밀감의 ontogenesis 기간 동안 잎과 과실에서 진행되는 terpene 성분의 변화를 조사한 결과, limonene, linalool, p-cymene 그리고  $\beta$ -elemene 성분은 완숙 바로 전 단계에 가장 많이 만들어지며, 특히 limonene 성분은 이 시기부터 과실의 물리적 성숙기까지 증가하며 반면에 linalool,  $\beta$ -caryophyllene,  $\alpha$ -terpineol 성분은 감소하는 것으로 보고하였다. 특히 linalool 성분은 monoterpene의 합성에 중간체의 역할을 하는 것으로 여겨지고 있어서 성숙과 함께 감소하는 반면, d-limonene 이나 ester류는 증가한다고 하였다.

그리고 착색 전후 bitter orange (*Citrus aurantium* L. ssp. *amardeda* Eng.) peel oil의 화학적 변화를 연구한 결과에 의하면, 착색 후 orange peel에서 aliphatic aldehyde 성분과 산소가 결합된 monoterpene, sesquiterpene성분의 농도가 착색전보다 더 높아진다고 하였으며, linalool와 linalyl acetate(합계 0.3~3.2%) 그리고 limonene(92~95%) 성분은 착색전후에 변화가 있었다고 하였다(Boelens과 Jimenez, 1989). 그리고 Fig. 13은 GC-MS에 의한 감귤정유의 total ion chromatogram이다.

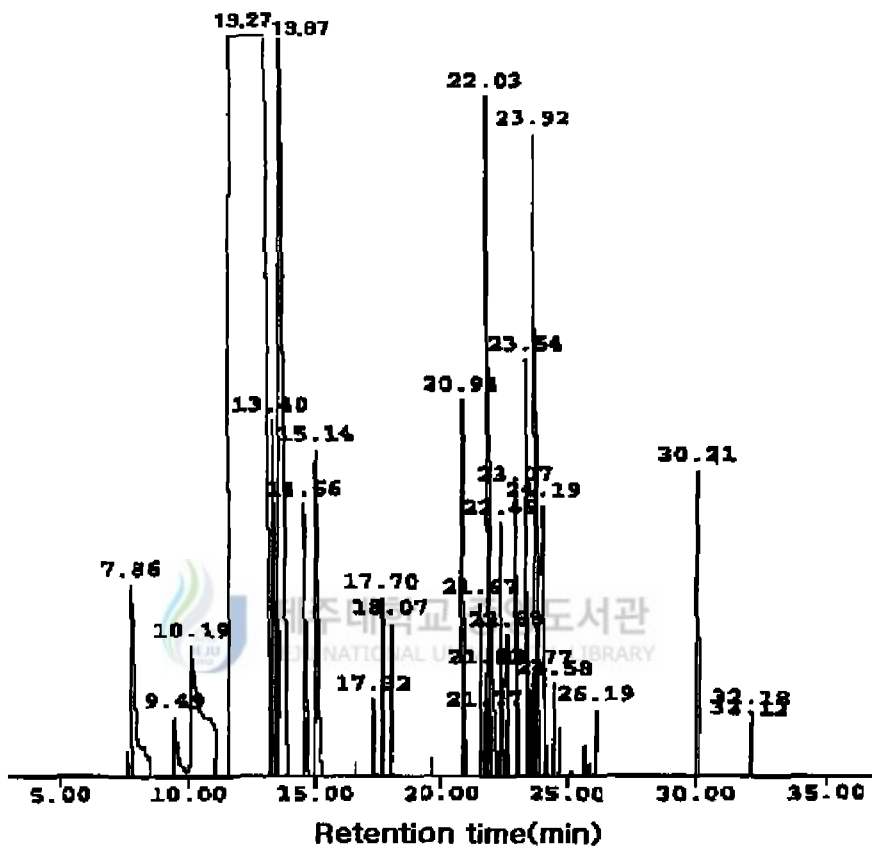


Fig. 13. Total ion chromatogram of essential oils from citrus peel by GC-MS

### 3. 감귤정유성분의 UV 흡수특성

정유성분과 d-limonene의 UV 흡수특성을 알아보기 위해 파장 190-820nm 범위에서 scanning하였다. 정유의 최대흡수 파장은 322nm(Fig. 14), d-limonene은 306nm(Fig. 15)이었으며, 300nm 부근에서 탄소화합물이 흡광한다는 Willard(1981)의 보고와 비교해 볼 때 감귤정유는 주로 탄화수소 화합물로 이루어진 정제된 물질임을 알 수 있다.

### 4. 감귤정유성분의 항세균 활성

감귤정유의 항세균 활성은 그람음성인 *Escherichia coli* 8749와 그람 양성인 *Staphylococcus aureus* 6538균에 대해서 paper disc법으로 측정하였다. Fig. 16은 paper disc법에 의한 감귤정유의 균생육 억제정도를 나타낸 것인데, 정유처리 paper disc(b) 주위에 뚜렷한 생육저지환이 나타났다. 그리고 감귤정유는 증류법에 의해서 추출된 시료를 사용하였는데 증류시간별 추출시료에 대한 항균활성을 측정한 결과, 모두 활성을 나타냈고 120분 추출시료의 항균활성이 가장 높았으며, *E. coli*에 보다 효과적이었다(Fig. 17). 또한 생육시기별 감귤정유의 항균활성을 알아보기 위하여 8, 9, 10월에 수확하여 추출한 감귤정유 시료의 항균활성을 측정하였는데 시기별로 큰 차이를 보이지 않았다(Fig. 18).

감귤정유의 항세균성 유무를 재확인하고 보다 정확하게 항균활성을 검정하기 위하여 시험관 희석배양법을 사용하였다. *E. coli*와 *S. aureus* 모두 1%만 첨가해도 거의 생육이 억제되었다(Fig. 19와 Fig. 20).

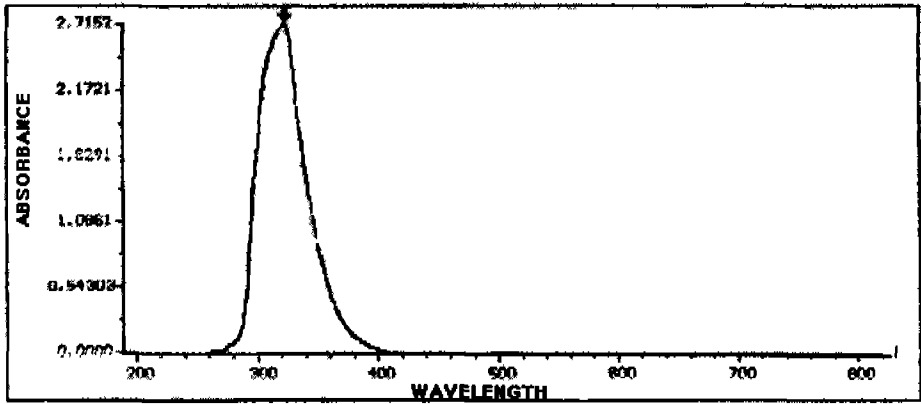


Fig. 14. UV absorption spectrum of essential oils from citrus peel

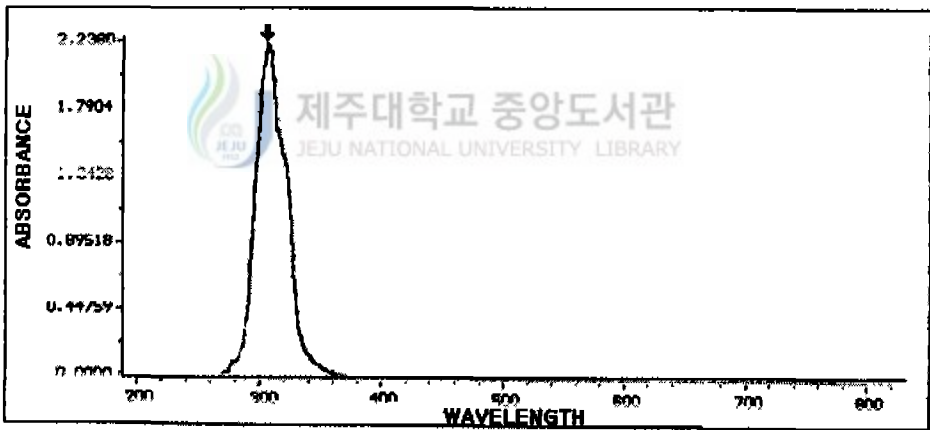
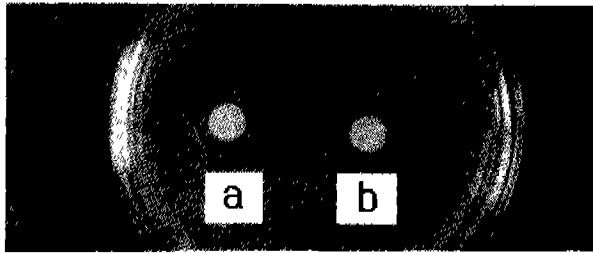
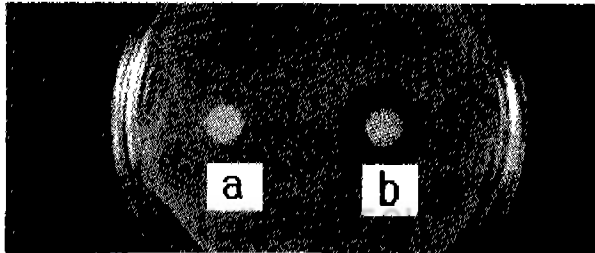


Fig. 15. UV absorption spectrum of d-limonene from citrus peel



*Escherichia coli* 8749



*Staphylococcus aureus* 6538

Fig. 16. Growth inhibition of citrus essential oils against *Escherichia coli* 8749 and *Staphylococcus aureus* 6538, a: distillation water, b: oil

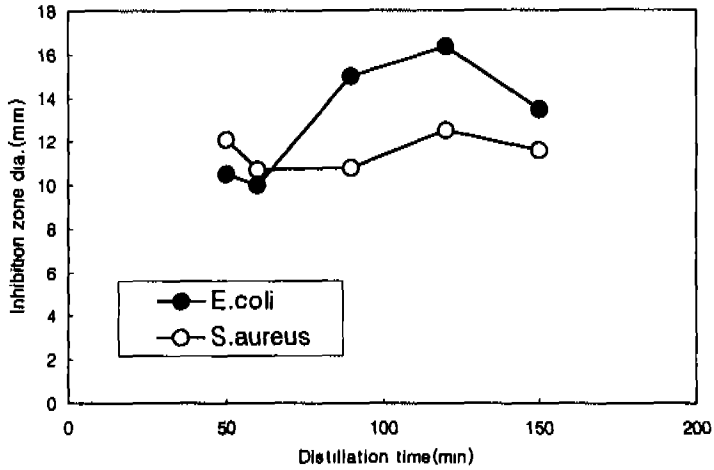


Fig. 17. Effect of distillation time on antibacterial activity of essential oils from citrus peel.

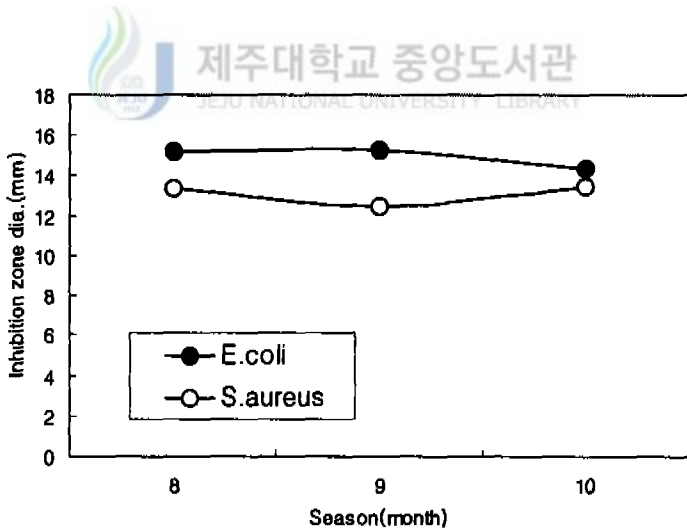


Fig. 18. Antibacterial activity of essential oils from citrus peel according to harvest season.



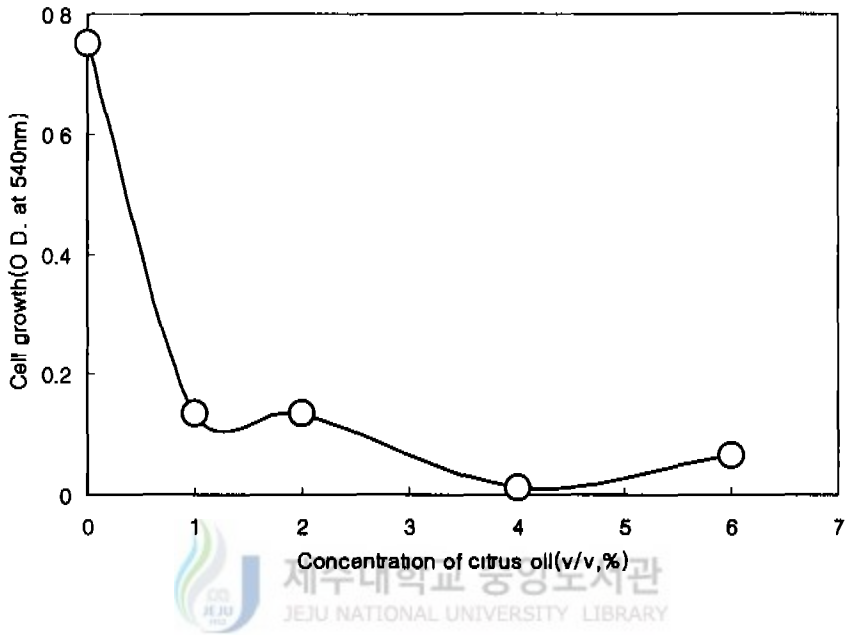


Fig. 19. Antibacterial activity of citrus peel oils against *Escherichia coli* 8749

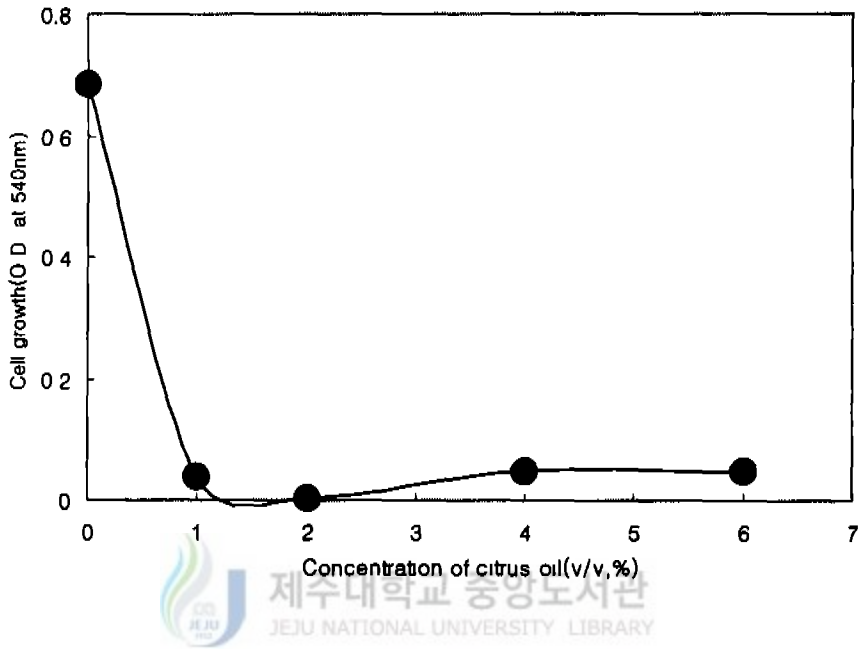


Fig. 20. Antibacterial activity of citrus peel oils against *Staphylococcus aureus* 6538

## 5. 감귤정유성분의 항진균 활성

감귤 저장중 부패의 주요 원인균인 8종에 대해서 감귤정유성분의 항진균 활성을 측정하였는데, 감귤정유는 모든 균에 대해서 생육저해효과를 나타냈다. 특히 *Colletotrichum sp.*, *Cladosporum sp.* 그리고 *Fusarium sp.* 균에 대해서는 항균활성이 높았으며, *Rhizopus sp.* 균에 대해서는 가장 활성이 낮았다(Table 9와 Fig. 21). Akgul과 Kivanc(1989)는 감귤정유 등 여러종류의 essential oils의 항균효과를 조사한 결과 *Rhizopus sp.* 균은 오일에 가장 내성이 강하였으며 배양함에 따라 오일의 항균활성이 감소하였다고 보고하였다.

그리고 감귤정유의 균생육 억제정도를 보다 정확히 조사하기 위해 액체 배양법(Table 10)과 고체배양법(Fig. 22~29)을 이용하였는데, 액체배양법에서 감귤정유를 농도별로 처리하였을 때, *Alternaria citri*, *Colletotrichum sp.*, *Fusarium sp.*, *Phomopsis citri*균은 1% 첨가구에서, *Botrytis cinerea*, *Cladosporum sp.*, *Rhizopus sp.*균은 2% 첨가구에서, *Penicillium italicum* 균은 4% 첨가구에서 각각 생육이 완전히 억제되었다. *P. italicum*에 대한 감귤정유의 억제효과는 다른 균에 비하여 다소 낮은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 paper disc법에 의한 정유의 억제도와 비슷한 경향이였다.

또한 고체배양했을 때 감귤정유는 모든 균에 대하여 항균활성을 나타내었으며, 억제효과는 균의 생육초기에 두드러지게 나타났다. 정유성분의 처리에도 불구하고 모든 종류의 균주가 생육하며, 배양기간의 경과에 따라 균총의 크기가 증가한 것은 정유성분 특유의 휘발성으로 인하여, 배양중에 소실되었기 때문이라고 생각된다.

Bullerman 등(1977)에 의하면 clove oils은 *Aspergillus parasiticus* 균에 대한 생육억제 효과를 나타내는데 첨가 오일농도간에 차이는 있지만, 배양시간이 4-6주 경과함에 따라 균의 생육이 시작되어 결국은 대조구와 오일첨가구 간에 균생육 정도의 차이가 없게 된다고 보고하였다.

그리고 고체배양시 정유 첨가농도에 따른 균생육 억제정도를 Fig. 30에 나타내었는데 농도가 높아짐에 따라 균생육이 현저히 억제됨을 알 수 있다.

Table 9. Inhibition of fungal growth by citrus essential oils

| Test microorganism          | Diameter (mm) of growth inhibition zone |
|-----------------------------|---|
| <i>Alternaria citri</i>     | 20.1 <sup>1)</sup>                      |
| <i>Botrytis cinerea</i>     | 16.0                                    |
| <i>Cladosporum sp.</i>      | 21.3                                    |
| <i>Colletotrichum sp.</i>   | 25.2                                    |
| <i>Fusarium sp.</i>         | 24.4                                    |
| <i>Penicillium italicum</i> | 17.9                                    |
| <i>Phomopsis citri</i>      | 18.1                                    |
| <i>Rhizopus sp.</i>         | 11.0                                    |

1) Diameter of zones showing no growth surrounding 5 mm discs saturated with citrus essential oils

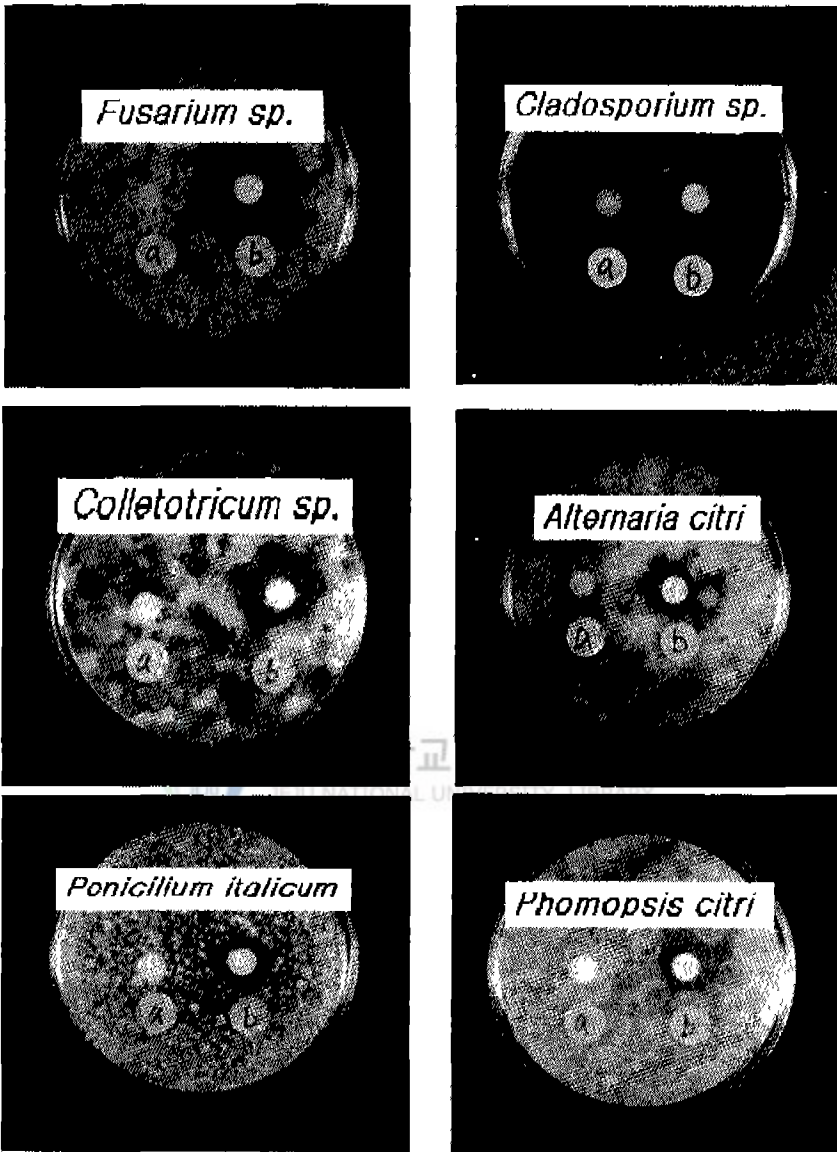


Fig. 21. Inhibition of fungal growth by citrus essential oils. a: distillation water, b: oil

Table 10. Effects of various concentrations of citrus essential oils on growth of fungi in liquid culture

| Test microorganism          | Concentration of essential oil(v/v,%) |     |     |     |     |
|-----------------------------|---------------------------------------|-----|-----|-----|-----|
|                             | 0                                     | 1.0 | 2.0 | 4.0 | 6.0 |
| <i>Alternaria citri</i>     | +++                                   | -   | -   | -   | -   |
| <i>Botrytis cinerea</i>     | +++                                   | +   | -   | -   | -   |
| <i>Cladosporium sp.</i>     | +++                                   | +   | -   | -   | -   |
| <i>Colletotrichum sp.</i>   | +++                                   | -   | -   | -   | -   |
| <i>Fusarium sp.</i>         | +++                                   | -   | -   | -   | -   |
| <i>Penicillium italicum</i> | +++                                   | ++  | +   | -   | -   |
| <i>Phomopsis citri</i>      | +++                                   | -   | -   | -   | -   |
| <i>Rhizopus sp.</i>         | +++                                   | +   | -   | -   | -   |

\* +++ : good growth, ++ : moderate growth, + : weak growth,  
 - : no growth

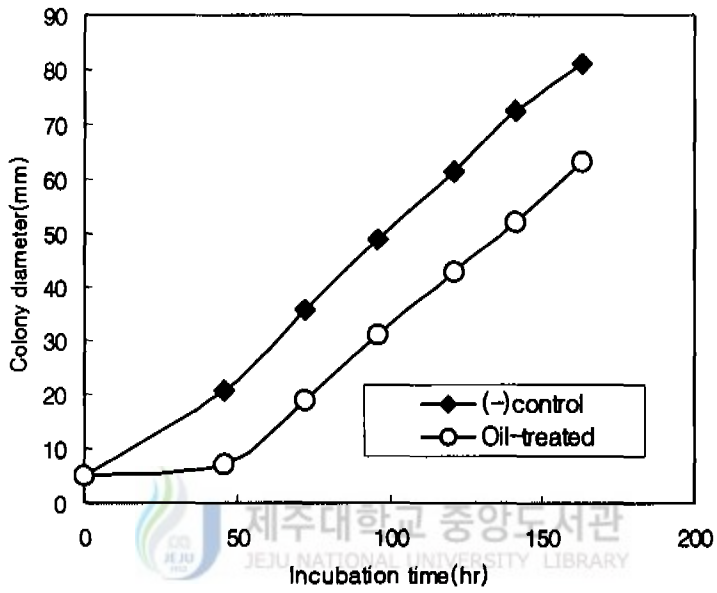


Fig. 22. Antifungal activity of citrus essential oils against *Alternaria citri*

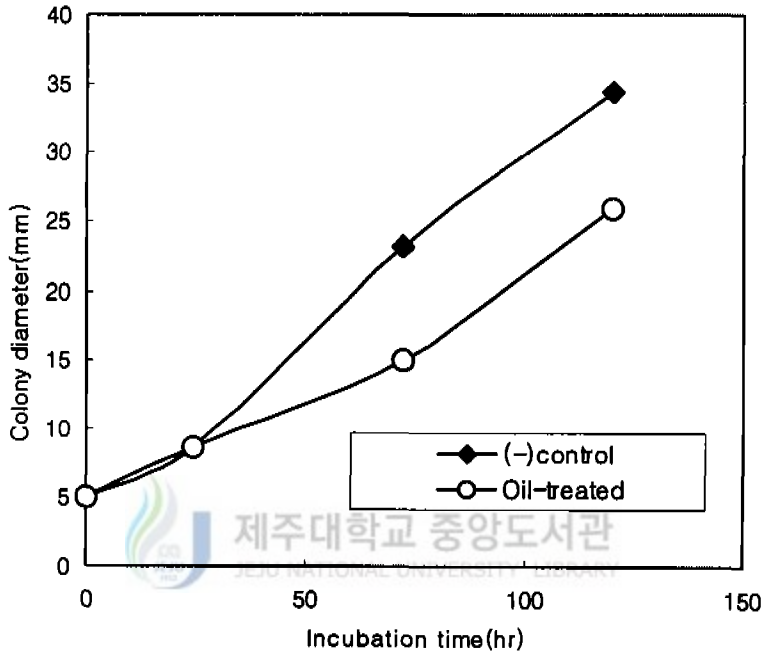


Fig. 23. Antifungal activity of citrus essential oils against *Botrytis cinerea*



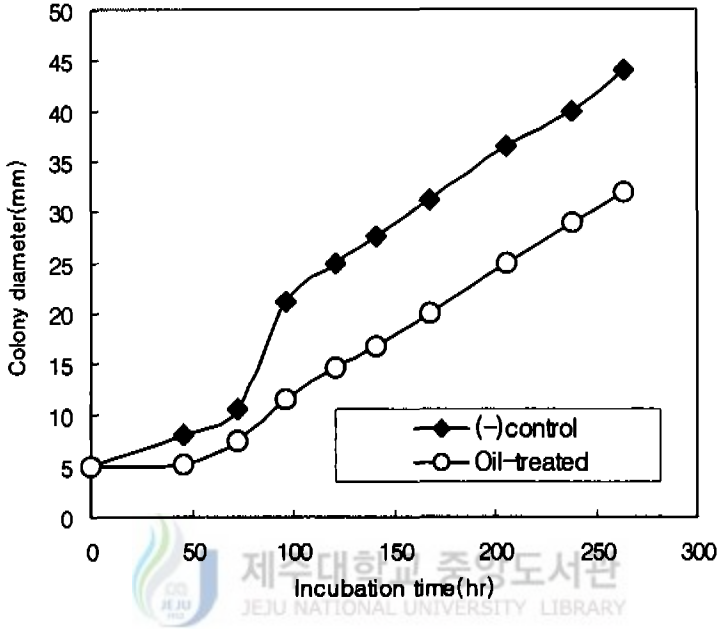


Fig. 24. Antifungal activity of citrus essential oils against *Cladosporum* sp.

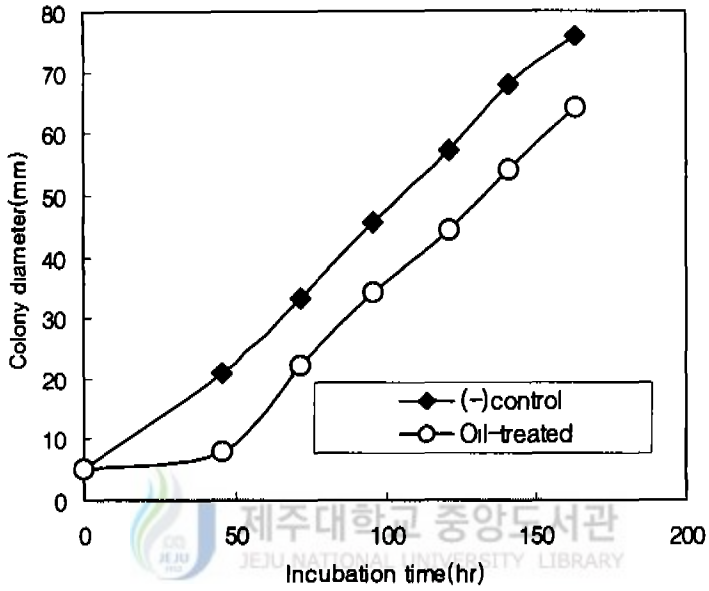


Fig. 25. Antifungal activity of citrus essential oils against *Colletotrichum sp.*

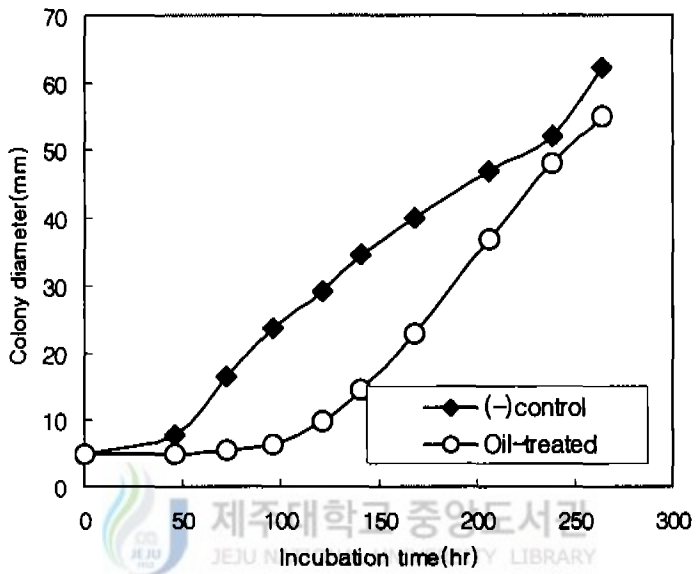


Fig. 26. Antifungal activity of citrus essential oils against *Fusarium sp.*

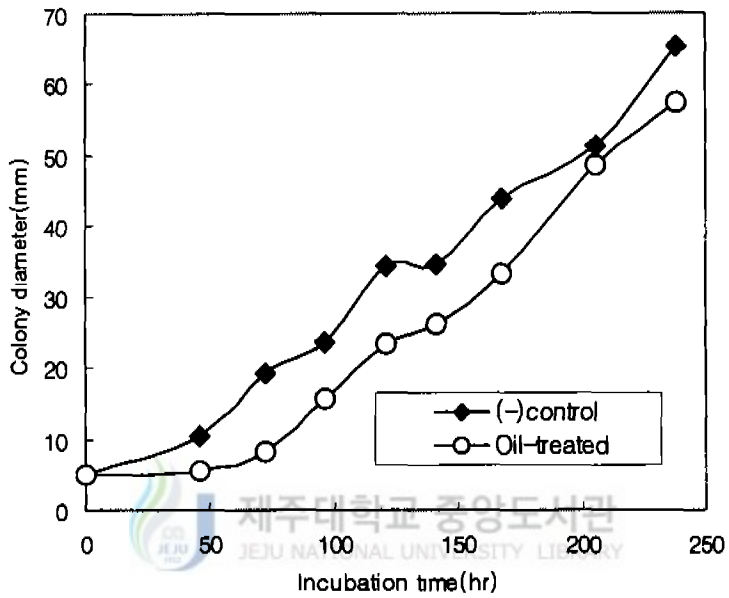


Fig. 27. Antifungal activity of citrus essential oils against *Penicillium italicum*

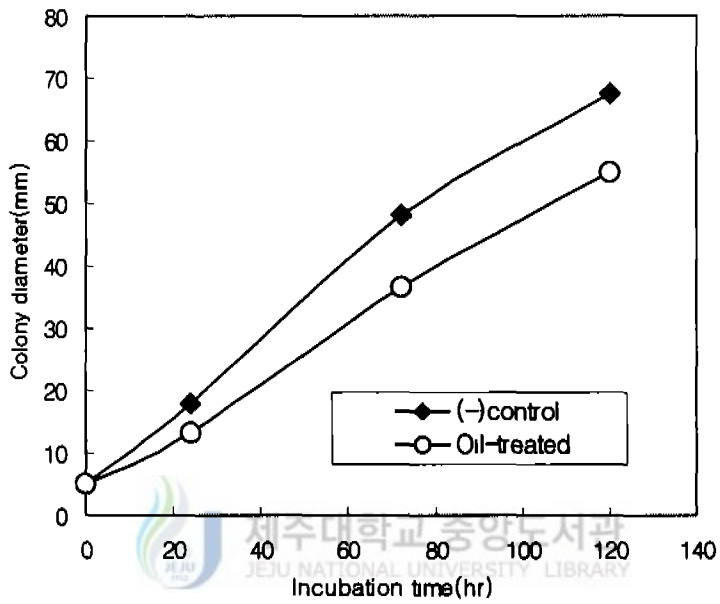


Fig. 28. Antifungal activity of citrus essential oils against *Phomopsis citri*

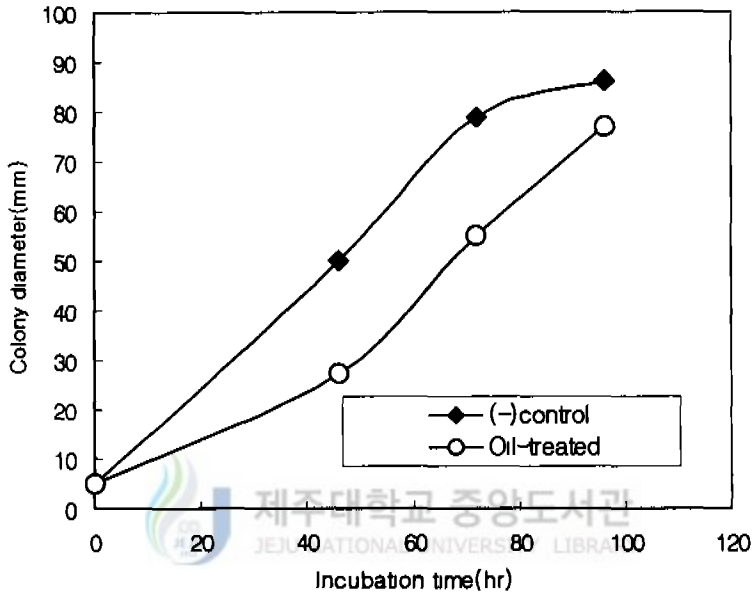


Fig. 29. Antifungal activity of citrus essential oils against *Rhizopus sp.*

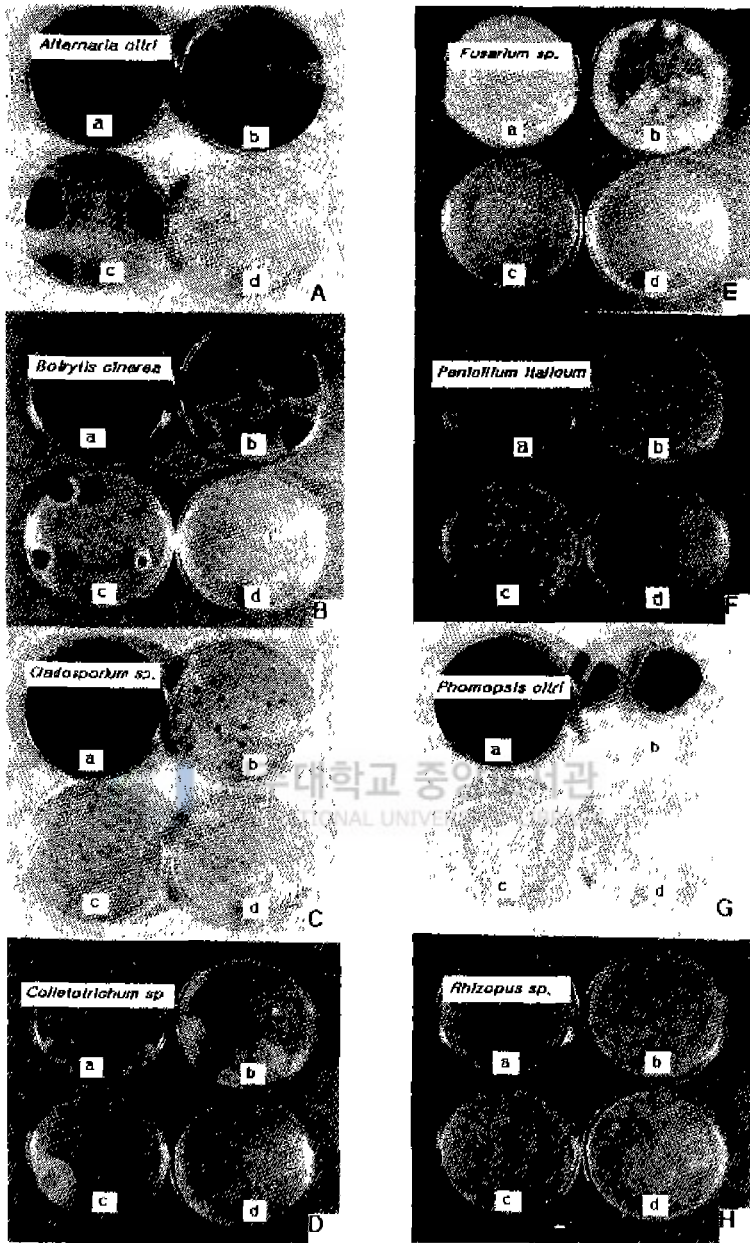


Fig. 30. Concentration-dependent antimicrobial activity of citrus oils against fungi. a: control, b:  $25\mu\text{l}$ , c:  $50\mu\text{l}$ , d:  $100\mu\text{l}/5\text{ml}$  medium, A: *Alternaria citri*, B: *Botrytis cinerea*, C: *Cladosporium sp.*, D: *Colletotrichum sp.*, E: *Fusarium sp.*, F: *Penicillium italicum*, G: *Phomopsis citri*, H: *Rhizopus sp.*

## IV. 요약

제주도산 온주밀감의 생육시기별 과실특성 변화와 과피중에 함유되어 있는 정유의 수율 및 성분조성을 측정하였다.

감귤의 생육시기별 과피 두께는 7월에 4.67mm로 최대치를 보이고 이후 점차 감소하여 완숙기의 두께는 2mm 내외였고, 과피율은 약 17%(w/w)이었다.

증류법, 저온압착법 그리고 용매추출법을 이용하여 온주밀감의 과피로부터 정유를 추출하고, 각 방법에 따른 수율을 측정한 결과, 증류법을 이용했을 때에 1.14%(w/w)로 가장 높았으며, 정유의 비중은 0.8409~0.8530이었다. 그리고 정유성분을 분석한 결과 검출된 성분 수는 51~107개였으며 총 53종의 성분이 동정되었다. 그리고 주요 성분인 d-limonene 함량은 47.6~68.6%(area)로 분리 방법에 따라 다소 차이가 있었으나 가장 함량이 높게 나타났다.

감귤의 생육시기에 따른 정유의 수율은 9월에 가장 높았고, 이후 약간 감소하는 경향을 보였으나, 습윤 과피 중량 기준으로 1%(w/w) 이상의 수준을 유지하였다. 동정된 정유의 성분조성은 d-limonene(44.5~68.7%)을 포함한 31종의 hydrocarboney류가 75.48~92.84%를 차지하고, 9종의 alcohol류, 6종의 aldehyde류, 2종의 ester류, 5종의 acid류 화합물이 각각 2.4~5.33%, 0.22~1.35%, 0.38~0.9%, 1.49~7.31%를 차지하였다. 그리고 주요 정유성분으로는 d-limonene 이외에  $\gamma$ -terpinene,  $\beta$ -elemene, farnesene, hexadecanoic acid,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -myrcene 그리고 linalool이 각각 7.75, 2.96, 2.29, 1.76, 1.63, 1.56, 1.46%씩 함유되어 있었다. 또한 이들 정유성분 함량은 과실이 성숙함에 따라 점차 증가하거나 감소하는 등 생육시기별로 차이가 있었다.



감귤정유의 항균활성을 2종의 세균, *Escherichia coli* 8749과 *Staphylococcus aureus* 6538 그리고 8종의 사상균, *Alternaria citri*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium sp.*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium sp.*, *Penicillium italicum*, *Phomopsis citri* 그리고 *Rhizopus sp.*에 대하여 조사하였다. 감귤정유의 항균활성을 액체배양법과 고체배양법으로 검정한 결과, 세균은 1%(v/v) 수준, 사상균은 1~4%(v/v) 수준에서 생육이 거의 억제되었다. 감귤정유는 모든 공시균주의 생육을 억제함에 따라 유용한 천연항균제로서의 가능성이 기대된다.



## 참고문헌

Akgul, A. and Kivanc, M., 1989. Sensitivity of four foodborne moulds to essential oils from Turkish spices, herbs and citrus peel. *J. the Science of Food and Agriculture*, 47(1), pp. 129-132.

Alderman, G.G. and Marth, E.H., 1976. Inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* by citrus oils. *Z. Lebensm-Unters-Forsch*, 160, pp. 353-358.

Anaso, H.U., Ilouno, L.W., Onuorah, D., Umerie, S.C., 1990. Potency of orange peel as a mosquito fumigant. *Biological Wastes*, 34(1), pp. 83-89.



백자훈, 1994. 과실생리학(감귤). 光文堂, pp. 79-84.

Blanco Tirado C., Stashenko E.E., Combariza M.Y., Martinez J.R., 1995. Comparative study of Colombian citrus oils by high-resolution gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. *J. of Chromatography*, 697(1-2), pp. 501-513.

Boelens M.H. and Jimenez R., 1989. The chemical composition of the peel oils from unripe and ripe fruits of bitter orange, *Citrus aurantium* L. ssp. *amara* Eng. *Flavour and Fragrance J.*, 4(3), pp. 139-142.

Bullerman, L.B., F.Y. Lieu and Sally A. Seier, 1977. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol. *J. Food Science*, 42(4), pp. 1107-1107.

Caccioni, DRL., Guizzardi, M., 1994. Inhibition of germination and growth of fruit and vegetable postharvest pathogenic fungi by essential oil components. *J. Essential oil Research*, 6(2), pp. 173-179.

Chamblee, T.S. and Clark, Jr., B.C., 1991. Quantitative analysis of the volatile constituents of lemon peel oil. *J. Agric. Food Chem.*, 39, pp. 162-169.

Combariza, MY, Tirado, CB, Stashenko, E, Shibamoto, T., 1994. Limonene concentration in lemon(*Citrus volkameriana*) peel oil as a function of ripeness. *J. High Resolution Chromatography*, 17(9), pp. 643-646.

Cotroneo, A. and Dugo, G., 1990. Variation in essential oils of mandarine related to processing and ripening. *J. of Chemometrics*, 4(5), pp. 379-385.

Crescimanno, F.G., Pasquale, F. de., Germana, M.A., Bazan, E., Palazzolo, E. and De. Pasquale, F., 1988. Influence of the

harvesting period on the yield of essential oil from the peel of four lemon cultivars [*C. limon* (L.) Burm. f.]. *Citriculture*, Vol. 1, pp. 589-595.

Dabbah, R. and Edward, V. M., 1970. Antimicrobial action of some citrus fruit oils on selected foodborne bacteria. *Appl. Microbiol.*, 19, pp. 27-31.

Donovan, A., Isaac, S. and Collin, H.A., 1993. Inhibitory effects of essential oil components extracted from celery(*Apium graveolens*) on the growth of *Septoria apiicola*, casual agent of leaf spot disease. *Plant Pathology*, 42(5), pp. 691-700.

Don-Pedro-KN, 1996. Fumigant toxicity of citrus peel oils against adult and immature stages of storage insect pests. *Pesticide Sci.*, 47(3), pp. 213-223.

Don-Pedro-KN, 1996. Investigation of single and joint fumigant insecticidal action of citrus peel oil components. *Pesticide Sci.*, 46(1), pp. 79-84.

Eun, J.B., Jung, Y.M. and Woo, G.J., 1996. Identification and determination of dietary fibers and flavonoids in pulp and peel of Korean tangerine (*Citrus aurantium* var.)(in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, 28(2), pp. 371-377.

Giga, D.P., Munetsi, M.M., 1990. The effectiveness of vegetable and citrus oils as protectants of cowpeas against infestations by *Callosobruchus rhodesianus* (Pic.). *Plant Protection Quarterly*, 5(4), pp. 148-151.

Gundidza, M., Deans, S.G., Kennedy, A.I., Mavi, S., Waterman-P.G., Gray, A.I., 1993. The essential oil from *Heteropyxis natalensis* Harv : its antimicrobial activities and phytoconstituents. *J. the Science of Food and Agriculture*, 63(3), pp. 361-364.

Hink, WF. and Fee, B.J., 1986. Toxicity of D-limonene, the major component of citrus peel oil, to all life stages of the cat flea, *Ctenocephalide felis*(Siphonaptera: Pulicidae). *J. Medical Entomology*, 23(4), pp. 400-404.

Ho-Nam Chang, Kyung-Eun Nam, and Jong-Wha Hur, 1977. Studies on the Utilization of Korean Citrus Peel Waste. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 9(4), pp. 251-254.

Hwang, J.K., 1995. Rheological properties of citrus pectin solutions(in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, 27(5), pp. 799-806.

Jeongmok, Kim, Marshall, M.R. and Cheng, I. wei., 1995. Antibacterial activity of some essential oil components against

five foodborne pathogens. *J. Agricultural and Food Chemistry*, 43(11), pp. 2839-2845.

Kang, K.H., 1997. The present situation and problems of citrus processing in Cheju(in Korean). In *Symposium for Promotion of Citrus Processing Industry*, Cheju Citrus Research Institute of Rural Administration Office, pp. 7-22.

강영주, 고정삼, 현공남, 유영봉, 박종원, 1995. 감귤복합처리시설 설치 타당성 조사연구. 제주대학교, pp. 133-136.

Kawakami, M., 1990. Volatile constituents of essential oils obtained from newly developed tea tree (*Melaleuca alternifolia*) clones. *J. Agric. Food Chem.*, 38, pp. 1657-1661.

Kekelidz, N.A., Lomidze, E.P. and Janikashvili, M.I., 1989. Analysis of terpene variation in leaves and fruits of Citrus unshiu Marc. during ontogenesis. *Flavour and Fragrance J.*, 4(1), pp. 37-41.

Kesterson, J.W. and Braddock, R.J., 1975. Total peel oil content of the major Florida citrus cultivars. *J. Food Sci.*, 40, pp. 931-933.

Kimball, D. A., 1991. Citrus oils, aromas, and essences. In *Citrus Processing : Quality control and technology*, Van Nostrand Reinhold, New York, pp. 73-101.

Kiyoaki Tatsuka, Sachiko Suekane, Yasue Sakai and Hidenobu Sumitani, 1990. Volatile Constituents of Kiwi fruit flowers : Simultaneous Distillation and Extraction versus Headspace Sampling. *J. Agric. Food Chem.*, 38, pp. 2176-2180.

共上, 1989. 園學雜, 58(3).

Matthews, R.F. and Braddock, R.J., 1987. Recovery and Applications of Essential Oils from Oranges. *Food technology*, pp. 57-61.

Njoroge, S.M., Ukeda, H., Sawamura, M., 1996. Changes in the volatile composition of yuzu (*Citrus junos* Tanaka) cold-pressed oil during storage. *J. Agricultural and Food Chemistry*, 44(2), pp. 550-556.



Nobuyuki Kurita, Makoto Miyaji, Ryuichiro Kurane and Yoshimasa Takahara, 1981. Antifungal Activity of Components of Essential Oils. *Agric. Biol. Chem.*, 45(4), pp. 945-952.

Onu, I. and Sulyman, A., 1997. Effect of powdered peels of citrus fruits on damage by *Callosobruchus maculatus* (F.) to cowpea seeds. *J. Sustainable Agriculture*, 9(4), pp. 85-92.

Sawhney, S.S. et.al., 1984. High performance liquid chromatography and antimicrobial efficacy of oils of *Bothriochloa Bladhii*. *Indian*

*J. Phys. Nat. Sci.*, 4, pp. 22-24.

Shaw, P.E., 1977. Essential oils. In *Citrus Science and Technology*, Nagy, S., Shaw, P. and Veldhuis, M. (Ed.), The AVI Publishing company, Inc., Westport, 1(1), pp. 430-435.

신국현, 지형준, 서영배, 양해주 등, 1995. 전통천연향료개발에 관한 연구. 서울대학교 천연물과학연구소. pp. 10-20.

Show, P.E., 1979. Review of quantitative analysis of citrus essential oils. *J. Agric. Food Chem.*, 27, pp. 246-257.

Singh, G., 1993. Chemical and fungi toxic investigation on the essential oil of *Citrus sinensis*. *Z Pflanzenkr Pflanzenschutz*, 100, pp. 69-74.

Song, E.Y., Choi, Y.H., Kang, K.H. and Koh, J.S., 1998. Free sugar, organic acid, hesperidin, naringin and inorganic elements changes of Cheju citrus fruits according to harvest date(in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, 30(2), pp. 306-312.

Staroscik, J.A. and Wilson, A.A., 1982. Seasonal and regional variation in the quantitative composition of cold-pressed lemon oil from California and Arizona. *J. Agric. Food Chem.*, 30, pp. 835-837.



Woo, G.J., Nam, J. and Eun, J.B., 1996. Optimization of membrane separation process for the production of dietary fibers from tangerine peels(in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, 28(2), pp. 378-383.

Zeitoun, MAM., Neff, W.E., Holloway, R.K., Tabekha, M.M. and Rabie, M., 1994. Volatile, fatty acid and triacy. *Revue-Francaise-des-Corps-Gras*, 41(1/2), pp. 21-22.

제주도감귤출하연합회, 1997. '98년산 감귤유통처리분석. 76 pp.



## 감사의 글

어느덧 3년의 과정을 마치고 또마한 결실을 맺게 되었습니다.

본 논문이 완성되기까지 세심한 조언과 지도로 이끌어주신 고영환 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 그리고 바쁘신 가운데에도 논문을 심사하고 교정하여 주신 강영주 교수님, 임상빈 교수님, 항상 따뜻한 말씀으로 많은 가르침을 주신 김재하 교수님, 송대진 교수님, 김수현 교수님, 하진한 교수님께도 감사 드립니다.

본 연구를 수행할 수 있도록 여건을 마련하여 주신 제주도 농업기술원 김영희 원장님을 비롯한 한동후 전원장님, 김광호 국장님, 현승원 과장님, 이인찬 계장님과 항상 옆에서 격려해준 황재홍 선생님, 강호진 선생님을 포함한 모든 직원여러분께도 감사를 드립니다. 특히 실험에 많은 도움을 주신 홍은영 선생님, 진석현 선생님, 박영철 선생님 그리고 김창신 선생님 고맙습니다.

그리고 대학원 생활동안 많은 도움을 주신 정완석 선생님, 허은희 선생님과 허승만 후배님을 비롯한 대학원 선배님께 감사를 드리며, 이해와 관심으로 힘이 되어준 친구 온경, 미랑, 지연, 순진에게 고마움을 전합니다.

끝으로 사랑과 믿음으로 지켜보주시는 가족에게 이 글을 바칩니다.