

온주 밀감의 껍질로부터 정유의 분리 및 분석

김유경 · 현승원 · 고영환*

제주도농업기술원 농업환경과, *제주대학교 식품공학과 · 생명과학연구소

Analysis of Essential Oils from the Peel of Mandarin (*Citrus unshiu* Marc. Var. Okitsu)

Yu-Kyoung Kim, Seung-Won Hyun and Young Hwan Ko*

Agricultural Environment Research Division, Cheju-do Agricultural Research and Extension Services

*Department of Food Science and Engineering, Institute of Life Science, Cheju National University

Abstract

Essential oils were isolated from the peel of mandarin (*Citrus unshiu* Marc. Var. Okitsu) cultivated in Cheju Island. Among three different isolation methods investigated, simultaneous distillation gave higher yield 1.14%(w/w) than solvent extraction or cold pressing. The densities of essential oils were between 0.8409 and 0.8530, which showed no significant effect of the isolation methods. Some variations in the number of constituents detected and the content of d-limonene in the peel oils were observed depending upon the isolation methods. The citrus fruit was collected seasonally from the field and used as a sample for analysis. The peel thickness and the peel content of citrus fruit were around 2 mm and about 17% on wet weight basis, respectively, in harvest season. The maximum yield of essential oils was obtained in September from citrus peels just prior to ripeness and thereafter the yield had a tendency of decrease but remained over 1%(w/w). The relative content of d-limonene, the major constituent of citrus peel oils, increased gradually with ripening up to 68.69%(relative peak area, RPA). The other minor constituents were γ -terpinene, β -elemene, farnesene, hexadecanoic acid, α -pinene, β -myrcene and linalool in the decreasing order of their own contents of 7.75, 2.96, 2.29, 1.76, 1.63, 1.56 and 1.46%(RPA).

Key words : essential oils, citrus peel, d-limonene, analysis

서 론

감귤 껍질 속에는 pectin, hesperidin, naringin, 색소, 정유(essential oils) 등 유효성분이 포함되어 있다. 국내에서 이들 물질의 추출과 분석 등에 관한 연구⁽¹⁻⁴⁾는 일부 이루어져 있으나, 정유 성분에 관한 연구는 거의 보고된 바 없다.

감귤 정유는 감귤 껍질 flavedo층의 유선(oil glands) 중에 함유되어 있는 방향성분으로, 동일 감귤 종(species) 내에서도, 기후, 풍토, 과실의 속도, 저장기간 등에 따라 성분의 변화가 있다⁽⁵⁾고 하였으며, 살균⁽⁶⁾, 살충^(7,8) 효과 같은 다양한 생물활성을 가지고 있을 뿐만 아니라, 세정제, 식품향료, 의약품 등에 첨가제⁽⁹⁾로 이용되고 있다. 정유의 주요 구성분인 d-limonene이 *Asper-*

*gillus parasiticus*의 생장과 aflatoxin 생성을 억제한다는 보고⁽¹⁰⁾와 citrus oil이 식물 병원균인 *Colltotrichum falcatum*, *Fusarium moniliforme*, *Ceratocystis paradoxa* 등에 항균성을 나타낸다는 보고⁽¹¹⁾가 있었다.

한편, 제주도에서 1980년부터 1996년까지의 감귤가공물량을 기준으로 했을 때, 생과의 약 35%에 해당하는 과피가 발생하였다⁽¹²⁾. 또한, 감귤의 생산량은 최대 1989년에 75만 톤과 1992년에 72만 톤, 그리고 최저 1990년에 49만 톤과 1996년에 48만 톤으로 변화 폭이 커서, 적정생산과 감귤가공의 필요성이 대두되었고, 이에 따라 약 190억 원의 자금을 투자하여 생과 기준 2~3만 톤 규모의 착즙가공시설을 추진하는 것으로 알려져 있다⁽¹³⁾. 이렇듯 경우 약 7,000톤-10,000톤의 감귤 껍질이 배출될 것으로 예측된다. 현재 국내에서는 감귤 껍질을 일부 한약 및 사료로 이용하고 있는 정도이다. 이러한 감귤껍질을 그대로 폐기한다면 환경오염 요인이 될 수 있으므로, 공해문제의 해결이라는 점과

Corresponding author : Young Hwan Ko, Department of Food Science and Engineering, Cheju National University, Cheju, Cheju-do 690-756, Korea

폐자원을 활용한다는 면에서 껍질활용은 의미가 있다.

따라서, 신선과일로부터 주스(juice)를 생산할 때 발생하는 부산물인 과피의 효율적인 이용 방안이 필요하다. 본 연구에서는 제주도산 감귤 껍질 중에 함유된 정유의 활용을 위한 기초조사로, 온주 밀감의 생육시기와 분리방법에 따른 정유의 수율 및 성분을 분석하였다.

재료 및 방법

재료

정유성분 추출용 재료로는 제주도 농업기술원 산하 상귀기술개발포장에 식재된 15년생 홍진조생(*Citrus unshiu* Marc. Var. Okitsu) 온주밀감을 사용하였다. 감귤이 착과된 후 10~20일 간격으로 열매를 채취하여 분석에 사용하였다.

방법

채취된 과실 껍질(과피)의 두께를 microcaliper로 측정하고, 껍질이 전체 과일 중 차지하는 습윤 중량 백분율(wet weight percent, 과피율)을 조사하였다. 과피로부터 정유를 분리하기 위해서 증류법(Fig. 1 참조), 저온압착법⁽¹⁴⁾ 그리고 용매추출법⁽¹⁵⁾을 이용하였으며, 그에 따른 세부과정은 Fig. 2에 제시한 바와 같다. 추출에 따른 수율은 습윤 중량 백분율로 계산하였고, 추출된 정유는 냉동고(-20°C)에 보관하면서 필요에 따라 사용하였다. 정유의 비중은 시료 10 mL를 메스플라스크에 넣고 20°C로 향한 시킨 후 분석용 저울로 중량을 측정하여, 대기압 하에서 20°C의 물 중량에 대한 비로

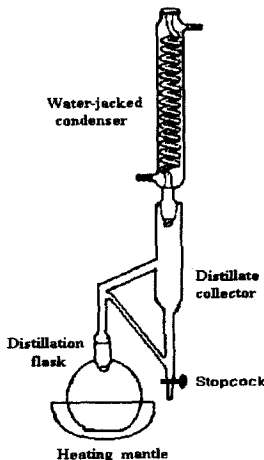
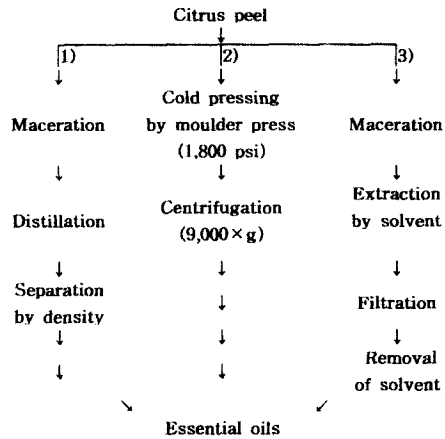


Fig. 1. Distillation apparatus for recovery of essential oils.



- 1) Distillation method: Refer to Fig. 1. Distillation apparatus.
- 2) Cold pressing method: Refer to reference 14. Staroscik, J.A. and Wilson, A.A. (1982) *J. Agric. Food Chem.* 30: 835-837.
- 3) Solvent extraction method: Hexane, methylene chloride and ethyl ether were used as solvents. Refer to reference 15. Kawakami, M. (1990) *J. Agric. Food Chem.* 38: 1657-1661.

Fig. 2. Methods for isolation of citrus peel oils.

써 계산하였다.

정유 구성 성분의 분석에는 Hewlett Packard(HP) 5890 GC/MS (USA)를 사용하였다. 분리된 정유를 0.2 μL씩 주입하였고, 칼럼은 0.25 mm(직경)×15 m(길이) 규격의 HP-1, carrier gas는 He, 오븐 온도는 60°C~200°C(2°C/min), 주입구 온도 230°C, 검출기 온도 250°C의 조건하에서 Flame Ionization Detector로 검출했으며, 이온화는 70eV에서 행하였다. 정유의 구성분은 GC/MS로부터 시료의 total ion chromatogram을 얻은 후, 표준품과 비교, WILEY138 library의 자료(Hewlett Packard) 또는 문헌상의 자료^(16,17)와 비교하여 확인하였다.

결과 및 고찰

분리방법의 비교

감귤 과피로부터 증류법, 저온압착법 그리고 용매추출법으로 정유를 분리·회수하였을 때의 수율은 Table 1에 나타난 바와 같다. 증류법으로 분리하였을 때의 수율이 1.14%(w/w)로 가장 높았으며, 저온압착법으로 분리하였을 때의 수율은 0.21%(w/w)로 가장 낮았다. 용매로 추출하였을 때의 수율은 사용한 용매의 종류에 따라 다르게 나타났으며, hexan, 메틸렌클로라이드, 에틸에테르 각각 1.02, 0.90, 0.53%(w/w)의 수율을 보였다. 이는 용매의 dielectric constant가 작을수록 추출

Table 1. Yield of essential oils from citrus peel by several isolation methods

Isolation method	Yield(w/w,%)
Distillation	1.14
Cold pressing	0.21
Solvent extraction	
Hexane	1.02
Methylene chloride	0.90
Ethyl ether	0.53

Table 2. Density, constituent and limonene content of essential oils from citrus peel by isolation method

Isolation method	Number of constituent	<i>d</i> -Limonene content (area%) ¹⁾	Density
Distillation	51	68.6	0.8409
Cold pressing	55	53.7	0.8472
Extraction by hexane	107	47.6	0.8530

¹⁾Area% was obtained from GC/MS.

수율이 높음을 의미한다. 분리 방법별로 얻어진 각 정유의 구성분 종류 수, *d*-limonene 함량 그리고 비중을 조사하여 Table 2에 정리하였다. 증류법으로 분리된 정유에는 51종, 저온압착법으로 분리된 정유에는 55종, 그리고 핵산으로 추출된 정유에는 107종의 성분이 각각 검출되었다. 감귤 정유의 주성분인 *d*-limonene의 상대적 함량(relative peak area, RPA %)은 분리방법에 따라 다르게 나타났으며, 구성분의 종류수가 적을수록 높았다. 증류법으로 얻어진 정유의 68.6%(RPA)가 *d*-limonene으로 가장 높았고, 추출 수율이 가장 높은 핵산을 추출용매로 사용하여 얻어진 정유의 47.6%(RPA)가 *d*-limonene으로 가장 낮은 수치를 보였다. 그러나, 정유의 비중은 0.8409~0.8530으로, 추출방법에 따른 차이가 별로 없었다.

증류시간의 영향

정유의 추출 수율이 가장 높은 증류법을 사용했을 때의 증류시간에 따른 수율의 변화를 검토한 결과(Fig. 3), 60분 경과시 약 1.10%(w/w) 정도의 수율을 얻었으며, 이후 90분까지 지속적으로 증가하여 최대치 1.25%(w/w)에 도달하였고, 그 이후에는 다소 감소하는 경향이었는데, 이는 증류장치의 구조상(Fig. 1 참조) 가열부(heating mantle)와 회수부(distillate collector)의 근접으로 인해 파생된 가열효과 때문이라고 생각된다. 증류시간에 따라서 검출된 성분은 50, 60, 90, 120 및 150분 경과시 각각 54, 52, 77, 96 및 79개로, 120분 경과시 가장 많은 성분이 검출되었다(Fig. 3). 그리고

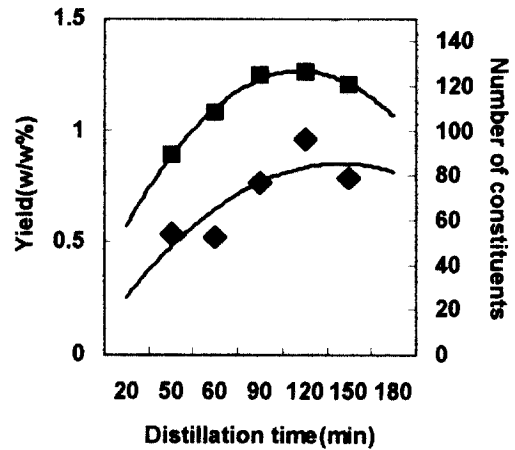


Fig. 3. Effect of distillation time on yield and number of constituents in essential oils from citrus peel. ■: Yield, ◆: Number of constituents.

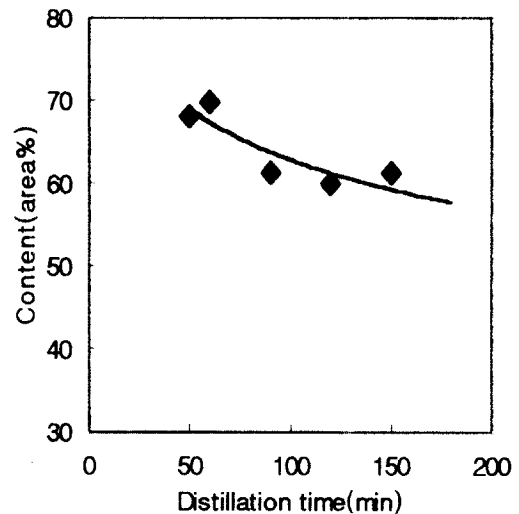


Fig. 4. Effect of distillation time on *d*-limonene content in essential oils from citrus peel. Area % was obtained from GC/MS.

증류시간별 *d*-limonene 성분의 함량은 각각 59.95~69.90%(RPA)로 초기에는 비교적 함량이 높았고 후기에는 점차 감소하는 경향이 있었다(Fig. 4).

생육시기별 변화

감귤의 생육시기별 껍질 두께와 함량의 변화를 Fig. 5에 나타내었다. 과피는 생육초기인 7월 상순에 4.67 mm로 가장 두꺼웠고, 그 이후 점진적으로 감소하였으나, 9월 상순경에 일시적으로 더 두꺼워져 제2의 극대치를 보였다. 9월 중순경에 제2의 극대치를 나타낸 것은 8, 9월 고온기에 세포분열에 의해 과피 두께가 다

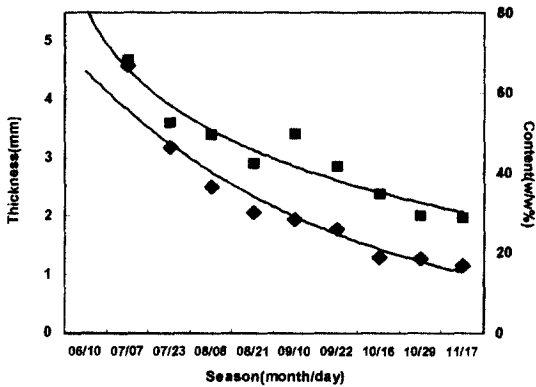


Fig. 5. Seasonal changes in peel thickness and peel content of citrus fruits. ■ ; Thickness, ◆ ; Content.

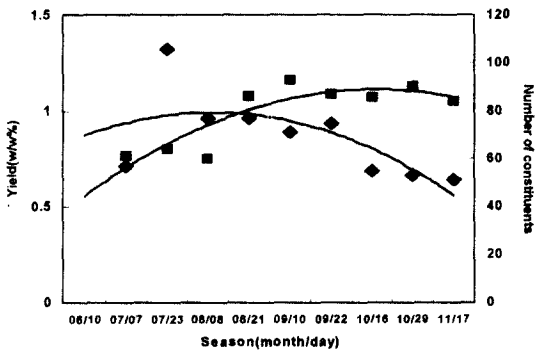


Fig. 6. Seasonal changes in yield and constituent number of essential oils from citrus peel by distillation method. ■ ; Yield, ◆ ; Number of constituents.

시 증가한 것으로 사료되며, 온주밀감 수확기인 10월 하순 이후의 과피 두께는 2.0 mm에 가까웠다. 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. 생육시기별로 증류법에 의한 껍질로부터 정유의 수율을 조사한 결과(Fig. 6), 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 보였으나, 1%(w/w) 이상의 수율을 유지하였다. 이는 감귤 껍질 중의 정유 함유량은 완숙되기 직전에 가장 많으며, 적어도 1%(w/w) 이상의 정유가 함유되어 있다는 의미로 해석된다. 따라서, 과피율 17%(w/w)(Fig. 5의 content 참조)와 과피 중의 정유 함유량 1.00~1.16%(w/w) (Fig.

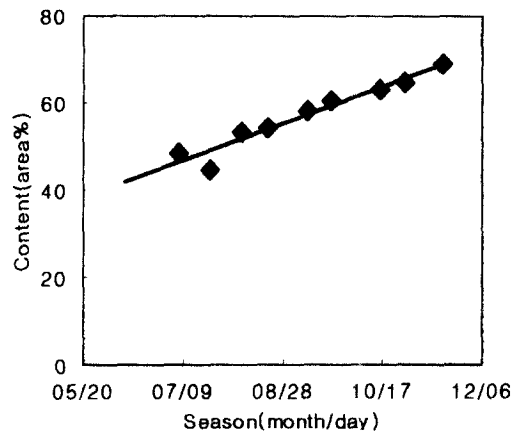


Fig. 7. Seasonal changes in d-limonene content of essential oils from citrus peel by distillation method. Area% was obtained from GC/MS.

6의 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. 6). 그와 반면에 생육시기별 정유 성분 중의 상대적인 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%(RPA)로, 과실이 성숙함에 따라 점차 증가하는 것으로 나타났다(Fig. 7). Dugo 등⁽¹⁸⁾도 과실의 성숙과 함께 d-limonene이나 ester류는 증가를 나타낸다고 보고하였다.

감귤정유의 성분 분석

완숙기에 수확된 감귤 과피로부터 증류법으로 정유를 분리하여 그 구성분을 분석하였고, 그 중 32개 성분이 확인되었다(Fig. 8과 Table 3 참조). Fig. 8의 GC/MS에 의한 분석 결과로부터 Table 3의 자료를 얻었다. 감귤 정유의 주요 구성분은 d-limonene, γ -terpinene, β -elemene, farnesene, hexadecanoic acid, α -pinene, β -myrcene, linalool, β -pinene 그리고 α -terpinolene으로 각각의 구성비는 68.69, 7.75, 2.96, 2.29, 1.76, 1.63, 1.56, 1.46, 0.87 그리고 0.83% (RPA)를 나타내었다. 시료로 사용된 제주도산 홍진 조생 밀감의 정유 중에 d-limonene이 68.69% (RPA) 정도 함유되어있다는 것은, 외국에서 생산된 감귤의 정유 주성분 d-limonene을 분석한 결과^(17,20)와 큰 차이가 없었다. 기타 비교적 미량 성분으로 trans-ocimene, decanal, p-mentha-dien-ol 등이 확인되었는데, p-mentha-dien-ol은 온주 밀감 특유의 향기 성분이다.

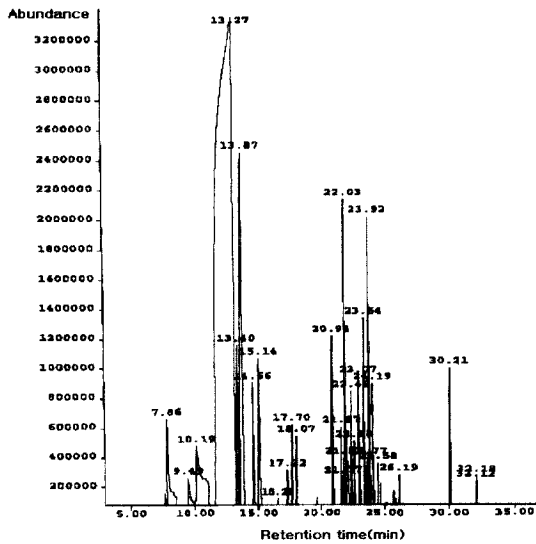


Fig. 8. Total ion chromatogram of essential oils from citrus peel by GC/MS.

요 약

제주도산 홍진조생 은주 밀감의 껍질 중에 함유된 정유의 분리 수율 및 성분을 조사하였다. 증류법, 저온압착법 그리고 용매추출법으로 은주 밀감의 껍질로부터 정유를 분리하여, 각 방법에 따른 수율을 조사 비교한 결과, 증류법을 이용했을 때에 1.14%(w/w)로 가장 높았으며, 정유의 비중은 0.8409~0.8530이었다. 정유 중에서 검출된 성분 수는 51~107개, 그리고 주요 성분인 *d*-limonene 함량은 47.6~68.6% (relative peak area, RPA)로 분리 방법에 따라 다소 차이가 있었다. 감귤의 성숙단계별로 시료를 채취하여 분석한 결과, 완숙기에 이르렀을 때 과피의 두께는 2 mm 내외, 과피율은 약 17%(w/w)에 상당하였다. 정유의 수율은 감귤이 완숙되기 직전인 9월에 최대치를 나타내었고, 그 이후 약간 감소하는 경향을 보였으나, 습윤 과피 중량 기준으로 1%(w/w) 이상의 수준을 유지하였다. 이는 정유 함유량이 완숙되기 직전에 가장 많으며, 껍질 중에는 적어도 1%(w/w) 이상의 정유가 함유되어 있음을 나타낸다. 정유의 주요 구성분인 *d*-limonene 함량은 과실이 성숙함에 따라 점차 증가하여 최고 68.69%(RPA)에 도달하였다. 그이외에 γ -terpinene, β -elemene, farnesene, hexadecanoic acid, α -pinene, β -myrcene 그리고 linalool이 각각 7.75, 2.96, 2.29, 1.76, 1.63, 1.56, 1.46%(RPA)씩 차지하고 있는 것으로 나타났다.

Table 3. Analysis of essential oil constituents from citrus peel by GC/MS

Constituent	Retention time (min)	Peak area (%) ¹⁾
α -Thujene	7.61	0.21
α -Pinene	7.86	1.63
β -Pinene	9.49	0.87
β -Myrcene	10.19	1.56
<i>d</i> -Limonene	13.27	68.69
<i>trans</i> -Ocimene	13.40	0.73
γ -Terpinene	13.87	7.75
α -Terpinolene	14.66	0.83
Linalool	15.14	1.46
<i>p</i> -Mentha-dien-ol	16.21	0.11
3-Cyclohexen-1-ol	17.32	0.19
α -Terpineol	17.70	0.41
Decanal	18.07	0.35
Cyclohexene-carboxaldehyde	19.64	0.13
δ -Elemene	20.94	0.91
α -Copaene	21.67	0.34
Geranylacetate	21.77	0.29
β -Elemene	22.03	2.96
<i>trans</i> -Caryophyllene	22.49	0.60
γ -Elemene	22.68	0.35
α -Humulene	23.07	0.64
1-epi-Bicyclosesquiphellandrene	23.54	1.01
α -Selinene	23.77	0.36
Farnesene	23.92	2.29
δ -Cadinene	24.19	0.65
Elemol	24.58	0.22
Germacrere B	24.75	0.12
γ -Cadinene	25.98	0.09
δ -Guaiene	26.19	0.24
Hexadecanoic acid	30.21	1.76
Octadecadienoic acid	32.12	0.20
Octadecadienal	32.18	0.48

¹⁾Obtained from GC/MS in Fig. 8.

감사의 글

본 연구의 수행에 많은 도움을 주신 김창신 선생님께서 감사드립니다.

문 헌

1. Eun, J.B., Jung, Y.M. and Woo, G.J. Identification and determination of dietary fibers and flavonoids in pulp and peel of Korean tangerine (*Citrus aurantium var.*). Korean J. Food Sci. Technol. 28: 371-377 (1996)
2. Hwang, J.K. Rheological properties of citrus pectin solutions. Korean J. Food Sci. Technol. 27: 799-806 (1995)
3. Song, E.Y., Choi, Y.H., Kang, K.H. and Koh, J.S. Free sugar, organic acid, hesperidin, naringin and inorganic elements changes of Cheju citrus fruits according to

- harvest date. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 306-312 (1998)
4. Woo, G.J., Nam, J. and Eun, J.B. Optimization of membrane separation process for the production of dietary fibers from tangerine peels. Korean J. Food Sci. Technol. 28: 378-383 (1996)
 5. Kimball, D.A. Citrus oils, aromas, and essences, pp. 73-101. In: Citrus Processing : quality control and technology. Van Nostrand Reinhold, New York, USA (1991)
 6. Dabbah, R. and Edward, V.M. Antimicrobial action of some citrus fruit oils on selected foodborne bacteria. Appl. Microbiol. 19: 27-31 (1970)
 7. Donpedro, K.N. Fumigant toxicity of citrus peel oils against adult and immature stages of storage insect pests. Pesticide Sci. 47: 213-223 (1996)
 8. Donpedro, K.N. Fumigant toxicity is the major route of insecticidal activity of citrus peel essential oils. Pesticide Sci. 46: 71-78 (1996)
 9. Shaw, P.E. Essential oils, Vol. 1, pp. 430-435. In: Citrus Science and Technology. Nagy, S., Shaw, P. and Veldhuis, M. (Eds.). The AVI Publishing company, Inc., Westport, USA (1977)
 10. Alderman, G.G. and Marth, E.H. Inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* by citrus oils. Z. Lebensm-Unters-Forsch. 160: 353-358 (1976)
 11. Singh, G. Chemical and fungitoxic investigation on the essential oil of *Citrus sinensis*. Z. Pflanzenkr Pflanzenschutz 100: 69-74 (1993)
 12. Kang, K.H. The present situation and problems of citrus processing in Cheju, pp. 7-22. In: Symposium for Promotion of Citrus Processing Industry. Cheju Citrus Research Institute of Rural Administration Office, Korea (1997)
 13. Kang, Y.J., Koh, J.S., Hyun, K.N. and Yu, Y.B. An propriety investigation about constructing compound facilities for citrus processing, pp. 133-136. Cheju National University, Korea (1999)
 14. Staroscik, J.A. and Wilson, A.A. Seasonal and regional variation in the quantitative composition of cold-pressed lemon oil from California and Arizona. J. Agric. Food Chem. 30: 835-837 (1982)
 15. Kawakami, M. Volatile constituents of essential oils obtained from newly developed tea tree (*Melaleuca alternifolia*) clones. J. Agric. Food Chem. 38: 1657-1661 (1990)
 16. Show, P.E. Review of quantitative analysis of citrus essential oils. J. Agric. Food Chem. 27: 246-257 (1979)
 17. Chamblee, T.S. and Clark, Jr., B.C. Quantitative analysis of the volatile constituents of lemon peel oil. J. Agric. Food Chem. 39: 162-169 (1991)
 18. Cotroneo, A. and Dugo, G. Variation in essential oils of mandarine related to processing and ripening. J. Chemometrics 4: 379-385 (1990)
 19. Kesterson, J.W. and Braddock, R.J. Total peel oil content of the major Florida citrus cultivars. J. Food Sci. 40: 931-933 (1975)
 20. Kekelidze, N.A. and Lomidze, E.P. Analysis of terpene variation in leaves and fruits of *Citrus unshiu* Marc. during ontogenesis. Flavour and Fragrance J. 4: 37-41 (1989)

(1999년 8월 3일 접수)