

## 천년초선인장으로부터 분리한 페놀성 화합물의 생리활성 효과

이경석 · 이기영<sup>†</sup>

호서대학교 식품생물공학과

### Biological Activity of Phenol Compound from a Cactus Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) in Korea

Kyung-Seok Lee and Ki-Young Lee<sup>†</sup>

Dept. of Food & Biotechnology, Hoseo University, Chungnam 336-795, Korea

#### Abstract

After Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) was extracted by 70% ethanol and partitioned with hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol, and water in order, ethyl acetate fraction with excellent antioxidant activities was acquired. Ethyl acetate fraction was conducted by TLC, and the third spot of 10 spots was selected due to its best antioxidant activities. When the third fraction further isolated on silica gel chromatography, the fourth fraction of 10 fractions had the best antioxidant activities and purified by HPLC. The molecular weight on EI-MS, and <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR spectrum showed that the purified compound was taxifolin. In addition, antioxidant activities were analyzed, and the purified compound from Cheonnyuncho was found to be effective as much as  $\alpha$ -tocopherol, BHA. According to the analysis on antibacterial activities, the purified compound also showed more activity than benzoic acid against all pathogenic bacteria.

**Key words:** cactus Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*), antioxidative activity, antimicrobial activity, taxifolin

#### 서 론

지구상에는 4,000여종의 선인장이 있는데 그중 열매가 달린 선인장은 손바닥선인장으로 불리며 예로부터 식용이나 식품 대용으로 사용되어 왔다. 식물도감(1)에 의하면 손바닥 선인장은 기관지, 천식, 기침, 폐질환, 위염, 변비, 장염, 신장염, 고혈압, 당뇨, 심장병, 신경통, 관절염 등에 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 이들 손바닥선인장 즙을 마시면 이뇨효과, 장운동의 활성화 및 식욕증진 효능이 있고, 민간요법으로 피부질환, 류마치스 및 화상치료에 사용되어 왔다. 한편, 제주산 손바닥 선인장의 효능과 성분에 대한 다양한 연구결과들이 보고되고 있는데, 흰쥐를 대상으로 한 면역계 세포의 활성화에 대한 연구(2), *Escherichia coli* 등 식중독 미생물 6종에 대한 항균 효과와 항산화 효과(3) 등이 발표된 바 있다. 그러나 한국 토종의 내한성 손바닥 선인장인 천년초선인장에 대한 연구는 미미하여 생리활성에 관한 연구는 추출물에 대한 항산화 효과(4), 항균 효과(5)만이 있으며 그 외 식빵, 젤리, 절편 등(6-8)의 제조 시 첨가할 경우 품질변화에 관한 연구만이 이루어지고 있다. 천년초선인장은 일반적으로 손바닥선인장으로 널리 알려진 제주산 백년초와는 달리 영하 20°C의 혹한에서도 생존이 가능해 수년에서 수십 년

생의 경작이 가능한 다년생 식물이다. 본 연구에서는 천년초 선인장에 대한 다양한 연구의 일환으로 이의 생리활성 물질을 찾아내고자 하였고 이의 효과를 규명하고자 하였다.

#### 재료 및 방법

##### 재료

천년초선인장은 충남 아산시 소재 (주)여러분의 천년초에서 재배해 동결 건조한 것을 공급받아 분쇄해 사용하였다. 추출 및 분획용 용매로 ethanol, hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol 등은 1급으로, high performance liquid chromatography(HPLC)용 acetonitrile과 formic acid는 특급으로 Duksan Pure Chemical Co.(Seoul, Korea)의 것을 사용하였으며, column chromatography용 충전제로는 silica gel 60을, thin layer chromatography(TLC) plate는 silica gel 60 F<sub>254</sub>를 Merck Co.(Darmstadt, Germany)의 것으로 사용하였다. 항산화 효과를 측정하기 위해 사용한 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), thiobarbituric acid(TBA), trichloroacetic acid(TCA), linoleic acid, butylated hydroxyanisole(BHA),  $\alpha$ -tocopherol 등은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)의 것을 사용하였고 DMSO-d<sub>6</sub>용매는

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: kylee@office.hoseo.ac.kr  
Phone: 82-41-540-5641, Fax: 82-41-532-5640

Table 1. List of microbial strains used for antimicrobial test

	Strain	ATCC No.	Media	Temp.
Gram positive bacteria	<i>Bacillus subtilis</i>	6633	NB <sup>1)</sup>	30°C
	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	25923	NB	30°C
Gram negative bacteria	<i>Escherichia coli</i>	23736	NB	30°C
	<i>Salmonella</i> Typhimurium	10708	NB	30°C
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	21541	NB	30°C
Yeast	<i>Candida albicans</i>	18804	YM <sup>2)</sup>	30°C

<sup>1)</sup>Nutrient broth (Difco). <sup>2)</sup>YM broth (Difco).

Aldrich Chemical Co.(Milwaukee, WI, USA)의 것을 사용하였다. 항균실험에 사용한 균주 및 배지는 Table 1과 같으며 배지는 Difco(Detroit, MI, USA)의 것을 사용하였다.

### 생리활성 물질의 추출 및 분리

추출물은 건조시료 100 g당 10배의 70% 에탄올을 첨가해 환류냉각관을 부착한 80°C의 heating mantle에서 3시간 추출시켜 여과(Whatman No.2)하여 얻었다. 이를 hexan, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 층으로 순차 분획하여 DPPH법을 활용하여 전자공여능을 측정한 결과 가장 우수한 획분을 선택하였다. 이 획분을 TLC를 실시하여 10개의 fraction으로 분리하였고 이중 항산화 활성이 가장 우수하게 나온 fraction을 취하였다. 이를 silica gel chromatography(3 cm×35 cm, 60 mesh)를 사용하여 정제하였다. 이때 용매는 클로로포름-메탄올 혼합용매를 사용하였으며 메탄올의 농도를 0~100%까지 순차적으로 높여 나갔다. 총 10개의 분획을 채취한 후 DPPH법을 활용하여 항산화 활성을 검증한 결과 가장 활성이 우수한 분획을 채취하여 HPLC를 사용하여 정제하였다. HPLC는 Preparative Liquid Chromatography (M930, Young-Lin, Anyang, Korea)와 Develosil ODS-5 column(Waters, Milford, MA, USA)을 사용하였다. 이동상으로 0.5% formic acid와 acetonitrile을 사용하였고 유속은 1.0 mL/min이고 UV detector는 280 nm로 하였다. HPLC로 측정 결과 가장 큰 면적을 보여준 18 min 구간의 물질을 정제하였다. 정제물은 Electron Impact Mass Spectrometer (EI-MS, MS Engine 5989A, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA)를 사용하여 분자량을 측정하였다. <sup>1</sup>H-Nuclear magnetic resonance(NMR) spectrum은 Varian Unity Inova 300 MHz(Varian Inc., Palo Alto, CA, USA)로 측정하였으며, DMSO-*d*<sub>6</sub>용매를 사용하였고 ppm 단위로 나타내었다. <sup>13</sup>C-NMR spectrum은 Varian Unity Inova 75 MHz (Varian Inc.)로 측정하였으며, DMSO-*d*<sub>6</sub>용매를 사용하였고 ppm 단위로 나타내었다.

### 분리 정제된 물질의 항산화 활성

항산화 활성은 DPPH법에 의하여 전자공여능과 TBA법에 의하여 지질과산화 억제력을 측정하였다. DPPH법에 의한 전자공여능은 여러 농도의 시료를 4 mL의 methanol에 녹여 1.5×10<sup>-4</sup> M DPPH methanol 용액 1 mL를 첨가한 후, 30분간 실온에 방치하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도를 1/2로 감소시키는데 필요한 시료의 양(μg/mL)을 RC<sub>50</sub>으로 나타냈으며, 기존 항산화제인 α-tocopherol 및 BHA와 비교하였다(9). TBA법에 의한 지질과산화 억제력을 측정하기 위한 기질 용액은 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0)와 ethanol을 4:1로 혼합한 용매에 linoleic acid를 0.03 M이 되도록 첨가하여 제조하였다. 이 기질 용액 20 mL에 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0) 19.2 mL, 시료를 500 ppm되게 0.8 mL 첨가한 후 시료액 2.0 mL를 취하여 분석하였다. 위 시료액 2 mL에 35% trichloroacetic acid 1 mL와 0.75% TBA시약 2 mL를 가한 다음 30초 동안 진탕시킨 후 95°C 수욕 상에서 40분 동안 반응시켰다. 이 반응액을 실온까지 냉각시켜 acetic acid 1 mL, chloroform 2 mL를 가하여 진탕시킨 후, 3,000 rpm에서 5분 동안 원심분리 하여 상정액의 흡광도를 532 nm에서 측정하여 TBA값을 산출하여 지질과산화 억제력을 측정하였다(10).

### 분리 정제된 물질의 항균 활성

항균 활성은 paper disk diffusion(11)과 liquid culture에서 생육저해 효과(12)를 측정하였다. Paper disk diffusion은 8 log cfu/mL로 전배양한 각 시험균주의 배양액 0.1 mL씩을 petri dish에 접종한 후 미생물의 종류에 따라 적정 한천배지 10 mL를 pouring하여 배지를 조성하였다. 여기에 정제물을 methanol에 녹인 후 고형분 시료 함량이 4 mg 또는 8 mg이 되게 흡착시킨 멸균 paper disk(8 mm, Advantec, Toyo Roshi Co., Tokyo, Japan)를 접촉시키고 30°C에서 24시간 동안 배양한 후 형성된 저해 부위의 크기(mm)를 측정하였다. 대조군으로 benzoic acid를 동일한 방법으로 측정하였으며 용매에 의한 항균 활성이 일어날 수 있어 고형분 시료를 녹인 양의 methanol만으로 공시험을 하였다. Liquid culture에서 생육저해 효과는 천연초 분리 정제물(Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) compound(C.C)]의 몰농도를 달리한 liquid culture에 균주를 접종시킨 후 24시간 후 균의 생육정도를 UV/visible Spectrophotometer(Lambda 15, Perkin-Elmer, Norwalk, CT, USA)를 이용하여 생육 저해 효과를 알아보았다. 대조군으로 C.C와 몰농도를 동일하게 조정된 benzoic acid를 사용하였다.

### 통계처리

본 연구의 결과는 3회 반복하여 평균으로 나타내었고, 각

Table 2.  $^1\text{H}$ - and  $^{13}\text{C}$ -NMR data of the purified compound from Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) (H-NMR measured on 300 MHz, C-NMR measured on 75 MHz)

No.	C.C <sup>1)</sup>	
	Proton	Carbon
2	4.50 (d. 11.4) <sup>2)</sup>	85.1 (d)
3	4.40 (d. 11.4)	73.7 (d)
4		198.4 (s)
5		165.3 (s)
6	5.78 (d. 1.8)	97.3 (d)
7		168.3 (s)
8	5.82 (d. 2.1)	96.4 (d)
9		164.5 (s)
10		101.8 (s)
1'		129.9 (s)
2'	6.87 (d. 1.5)	116.1 (d)
3'		146.3 (s)
4'		147.1 (s)
5'	6.70 (d. 8.1)	115.9 (d)
6'	6.75 (d. 7.8)	120.9 (d)

<sup>1)</sup>Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) compound.

<sup>2)</sup>Proton resonance multiplicity and coupling constants (Hz) are given in parenthesis.

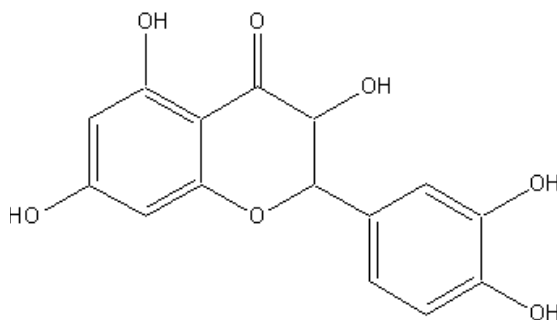


Fig. 1. Chemical structure (taxifolin) of the purified compound from a cactus Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*).

실험군 간의 비교분석은 SAS system을 이용하여 ANOVA 분석 후  $\alpha=0.05$ 에서 Duncan's multiple range test를 사용하여 유의성을 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 구조분석

천년초선인장에서 분리된 화합물은 백색 분말이며 구조를 분석한 결과 EI-MS에 의하여  $[\text{M}^+]$   $mz=304$ ,  $\text{UV}\lambda_{\text{max}}$  nm(log $\epsilon$ ) 291(4.29), 335(3.66)로 나타났다.  $^1\text{H}$ -NMR에서  $\delta$  4.40 ppm(1H, d,  $J=11.4$  Hz, H-3) 및  $\epsilon$  4.50 ppm(1H, d,  $J=11.4$  Hz, H-2)의 signal로 미루어 이 화합물이 flavanol의 일종인 것으로 생각되었다. 또한 aromatic region의 H-H coupling과 이들의 chemical shift치,  $^{13}\text{C}$ -NMR에서의 chemical shift치 등에 의하여 이 화합물은 taxifolin으로 동정하였다(Table 2, Fig. 1). Taxifolin은 유칼리나무, 느릅나무, 산벚나무 등의 생리활성 물질로 분리된 바 있다(13-15).

Table 3. Comparison of DPPH free radical scavenging activities between the purified compound from Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) and commercial antioxidant

Compound	RC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
C.C <sup>1)</sup>	1.19 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>
BHA	1.50 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>
$\alpha$ -Tocopherol	1.29 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) compound.

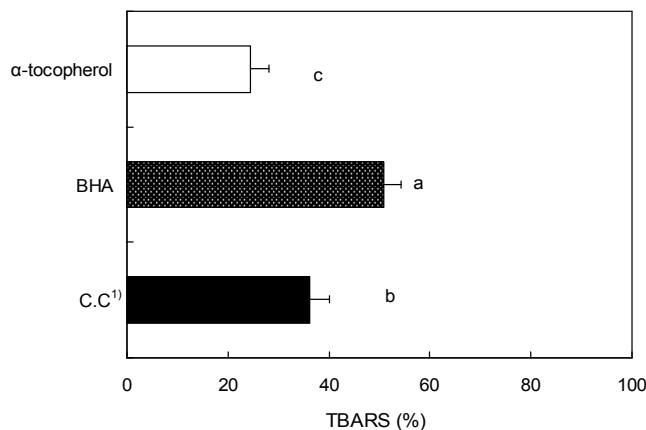


Fig. 2. Comparison of lipid peroxidation inhibition as TBA value between the purified compound from Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) and commercial antioxidant. <sup>1)</sup>Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) compound.

### 분리 정제된 물질의 항산화 활성

DPPH법에 의하여 항산화 활성을 실험한 결과는 Table 3과 같다. 천년초에서 분리된 물질이 1.19  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 가장 적은 양으로 50%의 free radical 소거능을 보여주었고  $\alpha$ -tocopherol, BHA 순으로 좋은 활성을 보여주었다. TBA법에 의하여 항산화 활성을 실험한 결과는 Fig. 2와 같다. 전자공여능 측정결과와 달리 BHA가 가장 우수한 활성을 보여주고  $\alpha$ -tocopherol이 가장 낮은 활성을 보여주었다. 이는 Lee 등 (4)의 연구에서도 비슷한 결과가 나타났는데  $\alpha$ -tocopherol이 TBA가에서 가장 낮은 활성을 보여주는 이유는  $\alpha$ -tocopherol이 매우 효과적인 산소 소거제(singlet oxygen quencher)로 작용함으로써 free radical의 소거능은 우수하나 linoleic acid의 자동산화에 있어서는 일정 농도 이상에서 오히려 산화 촉진제로서 작용할 수 있기 때문이라고 생각되어진다(16,17). 본 항산화 실험결과 천년초 정제물의 항산화 활성은  $\alpha$ -tocopherol과 비슷한 정도의 활성을 나타내었고 BHA에 비하여 전자공여능은 우수하나 지질과산화 억제력은 다소 못 미치는 결과를 보여주었다. 하지만 천년초에서 정제된 물질이 taxifolin임을 감안하면 taxifolin의 분자량이 304, BHA의 분자량이 180이고  $\alpha$ -tocopherol의 분자량이 431이므로 RC<sub>50</sub>을 mole 농도로 측정하였을 경우에는 taxifolin은  $\alpha$ -tocopherol과 비슷한 정도이면서 BHA보다는 우수한 free radical 소거능과 지질과산화 억제력을 보여줄 것으로 예상되어진다.

분리 정제된 물질의 항균 활성

Paper disk diffusion에 의하여 clear zone의 직경을 측정 한 항균 활성 결과는 Table 4와 같다. 천년초에서 정제된 물질은 2배량의 benzoic acid보다도 우수한 항균 활성을 보여주었다. Gram positive, gram negative 균주에 대해 모두 우수한 항균 효과를 보여주었다. 또한 Table 4에 기재하진 않았으나 2배량인 8 mg의 C.C를 paper disk에 흡수시켰을 경우 yeast에서도 비슷한 크기의 clear zone을 관찰할 수 있었다. Benzoic acid의 경우 8 mg을 흡수시켰을 경우에도 항진균 효과를 보여주지 못하고 있음에 비교하여 볼 때 본 정제물의 우수한 항진균 효과도 알 수 있었다. C.C의 liquid culture에서의 생육저해 효과를 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. 그람 양성세균 및 음성세균 모든 균주의 liquid culture에 대하여 C.C의 몰농도가  $15 \times 10^{-4}$  M일 경우 생장이 절반가량 억제되었으며  $20 \times 10^{-4}$  M일 경우 생장이 대부분 억제되었

Table 4. Comparison of antimicrobial activities between the purified compound from Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) and benzoic acid at various concentrations

		Inhibition zone <sup>1)</sup> (mm)			
		Cont. <sup>2)</sup>	C.C <sup>3)</sup> (4 mg)	B.A <sup>4)</sup> (4 mg)	B.A (8 mg)
Gram positive bacteria	<i>B. subtilis</i>	— <sup>5)</sup>	18	10	12
	<i>S. aureus</i>	—	20	10	12
Gram negative bacteria	<i>E. coli</i>	—	20	—	16
	<i>S. Typhimurium</i>	—	18	—	14
	<i>P. fluorescens</i>	—	17	—	13
Yeast	<i>C. albicans</i>	—	—	—	—

<sup>1)</sup>4 mg of Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) compound was absorbed into paper disk (Ø8 mm) and the diameter (mm) of clear zone was measured.

<sup>2)</sup>50 µL of methanol was loaded.

<sup>3)</sup>Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) compound.

<sup>4)</sup>Benzoic acid.

<sup>5)</sup>No inhibitory zone was formed.

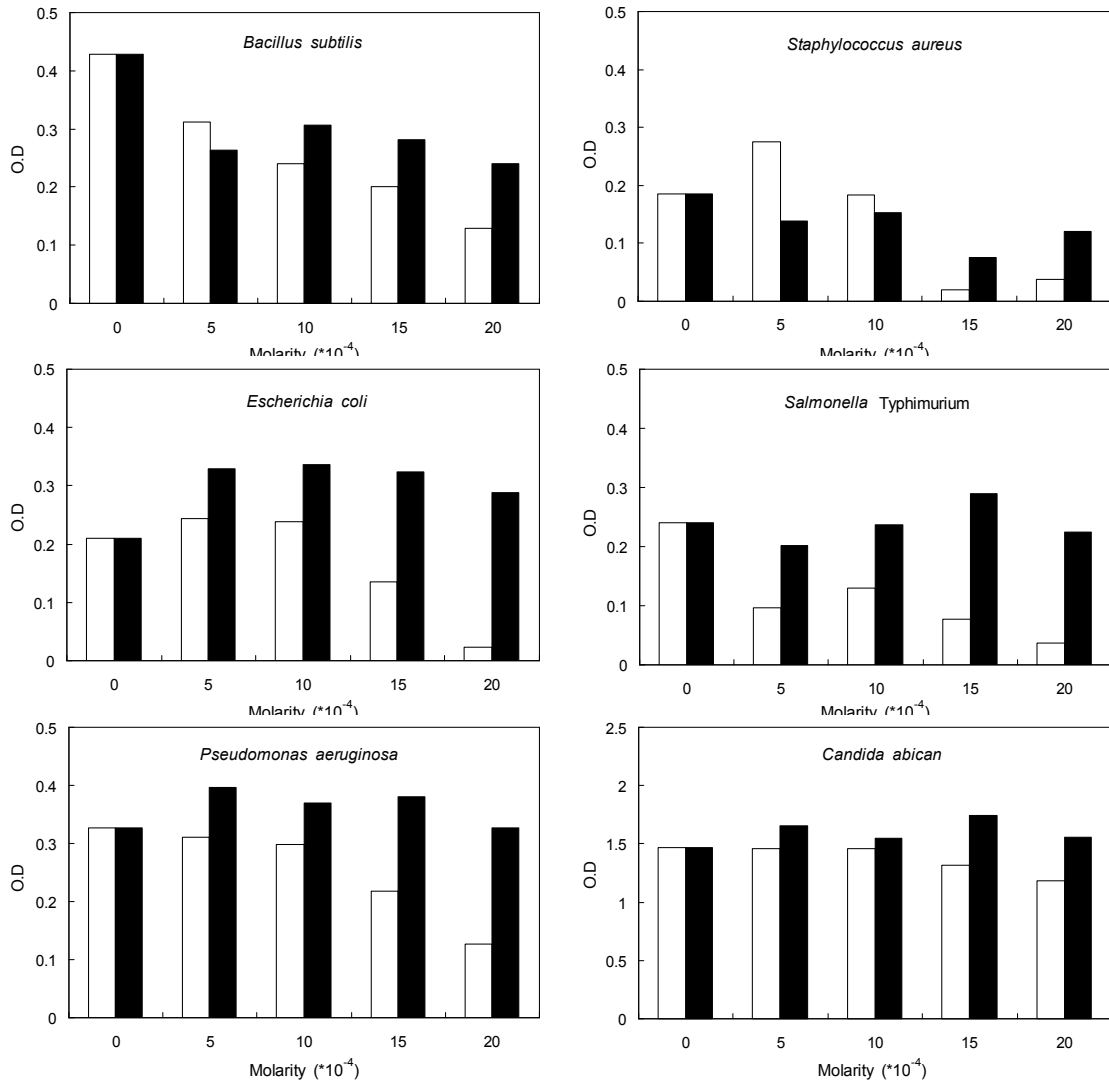


Fig. 3. Comparison of antimicrobial activities between the purified compound from Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) and benzoic acid at various concentrations against various microorganisms. □ C.C (Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) compound, ■ benzoic acid.

다. *C. abicans*의 경우 paper disk diffusion에서 보여준 결과와 마찬가지로 세균에 비해 활성도가 크지 않았다. C.C와 달리 동량의 benzoic acid는 생육저해 효과에서 유의적인 차이가 없었다. 천년초 추출물의 항균 효과를 실험한 Lee 등(5) 또한 천년초 추출물이 gram positive, gram negative에 항균 효과가 있음을 발표하여 본 연구결과와 일치함을 알 수 있었으며 본 정제물이 천년초의 항균 효과에 영향을 주는 주요 물질임을 확인할 수 있었다.

## 요 약

천년초는 한국에서 자생하는 손바닥선인장으로 예전부터 민간에서 약재로 사용되어져 왔다. 천년초를 70% 에탄올로 추출한 후 이를 핵산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 층으로 순차 분획하여 항산화 활성이 우수한 에틸아세테이트 획분을 얻었다. 에틸아세테이트 획분을 가지고 TLC를 실시하여 10개의 fraction으로 분리하였고 이중 항산화 활성이 가장 우수하게 나온 3번째 fraction을 취한 후 silica gel chromatography를 사용하여 정제하였다. 총 10개의 분획을 채취한 후 항산화 활성이 우수한 4번째 분획을 채취하여 HPLC를 사용하여 정제하였다. 정제물은 EI-MS를 사용하여 분자량을 측정하였고  $^1\text{H-NMR}$ 과  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum을 측정하여 검증한 결과 taxifolin으로 확인되었다. 이를 가지고 항산화 활성을 검증한 결과  $\alpha$ -tocopherol, BHA와 비교하여 뒤지지 않는 효과를 보여주었고 항균 활성을 검증한 결과 그람 양성, 음성의 식중독균에 모두 benzoic acid보다 우수한 활성을 보여주었다.

## 감사의 글

본 연구는 2006년도 호서대학교 학술연구조성비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 문 헌

- Kim TJ. 1996. *Illustrated guide to Korean flora*. Seoul National University Press, Seoul, Korea. p 140-141.
- Shin TK, Lee SJ, Kim SJ. 1998. Effects of *Opuntia ficus-indica* extract on the activation of immune cells with special reference to autoimmune disease models. *Korean J Vet Pathol* 2: 31-35.
- Seo KL, Yang KH, Shim KH. 1999. Antimicrobial and antioxidative activities of *Opuntia ficus-indica* var. saboten extracts. *Korean J Postharvest Sci Technol* 6: 355-359.
- Lee KS, Oh CS, Lee KY. 2004. Antioxidative effect of the fractions extracted from a cactus Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*). *Korean J Food Sci Technol* 37: 474-478.
- Lee KS, Kim MK, Lee KY. 2004. Antimicrobial effect of the extracts of cactus Chounnyouncho (*Opuntia humifusa*) against food borne pathogens. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1268-1272.
- Kim KT, Choi AR, Lee KS, Joung YM, Lee KY. 2007. Quality characteristics of bread made from domestic Korean wheat flour containing cactus *Chounnyuncho* (*Opuntia humifusa*) powder. *Korean J Food Cookery Sci* 23: 461-468.
- Cho Y, Choi MY. 2009. Quality characteristics of jelly containing added pomegranate powder and *Opuntia humifusa* powder. *Korean J Food Cookery Sci* 25: 134-142.
- Kim MH, Hong GJ. 2009. Quality properties of Jeolpyun supplemented with Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*). *Korean J Food Cookery Sci* 25: 415-420.
- Naik GH, Priyadarsini KI, Naik DB, Gangabhagirathi R, Mohan H. 2004. Studies on the aqueous extract of *Terminalia chebula* as a potent antioxidant and a probable radioprotector. *Phytomedicine* 20: 530-538.
- Wong SF, Holliwel B, Richmond R, Skoweroneck WR. 1981. The role of superoxide and hydroxyl radicals in the degradation of hyaluronic acid induced by metal ions and ascorbic acid. *J Inorganic Biochem* 14: 127-134.
- Konar V, Yilmaz O, Ozturk AI, Kirbag S, Arslan M. 2000. Antimicrobial and biological effects of bomphos and phomphos on bacterial and yeast cells. *Bioorg Chem* 28: 214-225.
- Park JS, Shim CJ, Jung JH, Lee GH, Sung CK, Oh MJ. 1999. Antimicrobial activity of ulmi cortex extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 1022-1028.
- Lee IK, Yun BS, Kim JP, Chung SH, Shim GS, Yoo ID. 1998. Antioxidative compounds isolated from the stem bark of eucalyptus globulus. *Kor J Pharmacogn* 29: 163-168.
- Kwon YM, Lee JH, Lee MW. 2002. Phenolic compounds from barks of *Ulmus macrocarpa* and its antioxidative activities. *Kor J Pharmacogn* 33: 404-410.
- Park JM, Lee JY, Park TS, Park GH, Park KS, Kim TH, Cho YJ, Kwon OJ, Choi KI, An BJ. 2008. Biological activity investigation, and phenol compounds isolation from barks of *Prunus sargentii* R. *Korean J Medicinal Crop Sci* 16: 173-182.
- Cillard J, Cillard P, Cormier M, Girre E. 1980.  $\alpha$ -Tocopherol peroxidant effect in aqueous media: increased autoxidation rate of linoleic acid. *J Am Oil Chem Soc* 57: 252-254.
- Cillard J, Cillard P, Cormier M. 1980. Effect of experimental factors on the prooxidant behavior of  $\alpha$ -tocopherol. *J Am Oil Chem Soc* 57: 255-258.

(2010년 5월 6일 접수; 2010년 6월 22일 채택)