

방사선 조사된 참깨에서 hydrocarbon류 검지를 위한 초임계 유체 추출 공정의 이용

조성길 · 서상철 · 이보경 · 홍주헌 · 최용희
경북대학교 식품공학과

Efficient Extraction Process for the Detection of Hydrocarbon in Irradiated Sesame by Supercritical Fluid Extraction

Sung-Gill Cho, Sang-chul Suh, Bo-Kyung Lee, Joo-Heon Hong and Yong-Hee Choi

Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University

Abstract

Radiation-induced hydrocarbons from the irradiated sesame were investigated in this study to compare the chemical properties of irradiated and non-irradiated foodstuff. The detective volatile hydrocarbons for the irradiated sesame were n-tetradecane (C14:0), 1-tetradecene (C14:1), n-pentadecane (C15:0), n-hexadecane (C16:0), 1-hexadecene (C16:1), n-heptadecane (C17:0), 8-heptadecene (C17:1), 1,7-hexadecadiene (C16:2) 1,7, 10-hexadecatriene (C16:3) 6,9-heptadecadiene (C17:2). The characteristic of extracts was also investigated at the change of pressure and temperature. And then it was found that the increase of the pressure and the decrease of the temperature in supercritical fluid extraction have made possible much more rapid extraction of volatile hydrocarbons. The amounts of volatile hydrocarbons for irradiated and non-irradiated foodstuff were definitely differentiate. It could be concluded that the supercritical fluid extraction was possible for the detective extraction method of irradiated foods.

Key words: irradiated sesame, hydrocarbon, SFE, co-solvent

서 론

최근 방사선을 이용한 살균, 살충기술은 잔류성이 없고 환경 친화적인 기술로 인정되면서 수출입 식품의 위생적 품질 보증 및 검역처리로써 활용 가능성이 확인되고 있으며 우리나라를 포함한 세계 52개국에서 사용이 허가 되어 있다. 방사선 조사식품은 그 안정성이 관련 국제 기구(FAO, WHO, IAEA)에 의해 인정되었고, 조사식품에 대한 Codex 일반 규격이 채택되면서 식품의 방사선 조사는 증가 추세에 있다(Kwon 등, 2000; FDA, 1986; Codex, 1984).

국내에서의 식품에 대한 방사선 조사 여부 및 규

정 준수 여부를 확인 가능하나, 수입 농산물의 경우 수출 당사자가 이를 밝히지 않는 한 조사 여부 확인 및 규정 적용이 어려운 실정이다. 특히 방사선 조사는 근래에 들어 살충 및 살균 화학 물질의 사용이 억제되고 있는 데 따른 가장 유망한 대체 방법으로 대두되고 있기 때문에 이를 사용하면서도 소비자들의 반응을 염려하거나 방사선 조사 식품의 판별이 어렵다는 점 때문에 표시 없이 수출할 가능성이 크다. 이러한 시점에서 국내에서 생산되는 방사선 식품의 유통관리와 수입농산물의 방사선 조사 여부 판별 기술이 필요한 실정이다(Hwang 등, 1998).

방사선 조사에 의해 야기되는 변화로는 대개 free radical의 생성, 혼입된 미네랄의 열발광 특성, 점도 저하, hydrocarbon류 생성, DNA 이중쇄 염기의 변화, 미생물수의 감소, 발아력 저하 등이 알려지고 있으며(IAEA, 1991), 이를 토대로 한 thermoluminescence (TL)(Hwang 등, 1998b), electron spin resonance(ESR)

Corresponding author: Yong-Hee Choi, Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University, 1370 Sankyukdong, Pukgu, Taegu 702-701, Korea
Phone: +82-53-950-5777 Fax: +82-53-950-6772
E-mail: yhechoi@knu.ac.kr

(Desrosiers와 Eclaughlin, 1998), GC 또는 GC-MS를 이용한 hydrocarbon 및 alkylcyclobutanone 분석(Horvatovich, 2000) 등이 활발히 연구 개발되어 지고 있다.(Lee 등, 2001)

Hydrocarbon류의 검출 방법은 대부분 동물성 식품을 대상으로 연구가 진행되어 왔으며 지방이 함유된 대두, 참깨, 잣, 땅콩 등과 같은 식물성 식품의 경우 제한적으로 연구가 수행되어 지고 있다(Hwang 등, 1998a). 하지만 지방 추출 과정에 있어서 흔히 사용되고 있는 용매 추출법은 적절한 용매의 선택, 유기용매의 잔존, 용매의 제거 및 낮은 분리 효과 등의 어려움이 있다(Shin 등, 2002). 무엇보다도 추출 시간이 오래 걸리고 유기 용매의 사용이 많은 점에서 비경제적이다

따라서 본 연구에서는 수입량이 증가하고 있는 참깨를 이용하여 분석의 전처리 기술로 환경친화적이고 유기 용매의 잔류 위험이 적으며 선택적 추출이 가능하며 추출 시간을 단축시킬 수 있는 초임계 유체 추출 공정(supercritical fluid extraction, SFE)을 이용하여 양질의 불포화 지방산이 다량 함유되어 있는 참깨에 방사선을 조사한 후 조사에 의해 유래된 hydrocarbon류를 분석하여 초임계 유체 추출 공정을 방사선 조사 여부 판별을 위한 전처리 기술로의 활용 가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

참깨는 경북 상주시의 농가에서 구입하였다. 시료의 방사선 조사는 ^{60}Co 감마선 조사시설(한국원자력연구소, KAERI)을 이용하여 실온에서 시간당 일정한 선량률로 2 kGy로 조사하였다. 조사된 참깨와 비조사된 참깨는 분쇄 후 실험에 사용되기 전까지 -20°C 에서 저장하였다.

시약

Hydrocarbon standard 및 Internal standard는 Sigma Chemical(St. Louis, MO)에서 구입을 하였으며, n-hexane과 Florisil(60-100 mesh)은 Baker Inc.와 Fisher Sci. Com. 제품을 각각 사용하였다.

용매 추출

지방 추출은 Choi와 Hwang(1997) 등의 방법에 준하여 실시하였다. 시료 30 g에 Na_2SO_4 와 n-hexane을

사용하여 추출 하였다. Mixer를 사용하여 시료와 Na_2SO_4 를 혼합하여 분쇄하여 n-hexane를 가하여 혼합한 후 60 min 동안 방치한 다음 Teflon 원심분리 튜브에 넣어 원심분리(3400 rpm, 4°C , 20 min)하여 상등액을 취해 rotary vacuum evaporator를 사용하여 40°C 이하에서 용매를 휘발시켜 지방을 얻었다.

초임계 유체를 이용한 추출

실험에 사용된 초임계 유체 추출 장치는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 cooling head가 장착된 HPLC pump(pu-980, JASCO Co., Japan)와 보조용매를 공급하는 또 다른 HPLC pump, extraction vessel이 설치되어 있는 air-driven oven(CO-965 column oven, JASCO Co., Japan), 수집용기에 effluent가 포집될 수 있는 전자식 back-pressure regulator(880-01, JASCO Co., Japan)로 나누어져 있다. 한편 각 추출 공정의 변수인 압력과 온도는 back-pressure regulator와 air-driven oven에 의해 각각 조절할 수 있도록 제조되어 있다.

시료 30 g을 추출용 vessel에 충전하여 각각의 압력(150bar, 200bar, 250bar), 온도(40°C , 50°C , 60°C)에서 CO_2 유속 mL/min으로 60분간 추출하여 지방 수율에 따른 가장 추출 효율이 좋은 조건 하에서 보조 용매 ethanol, methanol, acetone, chloroform, pentane을 첨가하여 추출 하였다.

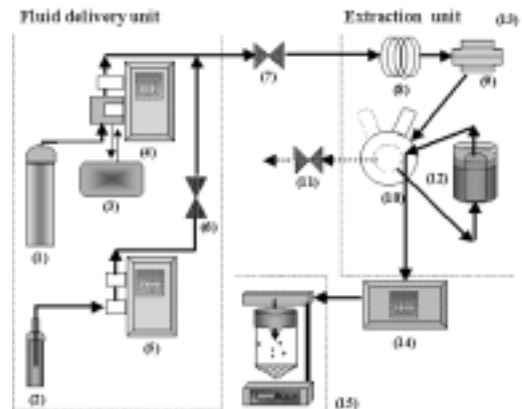


Fig. 1. Flow diagram of supercritical extraction system: (1) Liquid carbon dioxide cylinder, (2) Modifier, (3) Cooling circulator, (4) CO_2 pump with cooling jacket, (5) Modifier pump, (6) (7) Stop valve, (8) Pre-heating coil, (9) Mixer, (10) Line switching valve, (11) Stop valve, (12) Extraction vessel, (13) Oven, (14) UV-Detector, (15) Back pressure regulator

Hydrocarbon의 분리

Hydrocarbon 분리에 사용된 chromatography용 florisil (Fisher Scientific, USA, 60-100 mesh)은 휘발성 유기오염물질을 제거하기 위하여 550°C 에서 하루 밤 태워 상온으로 식힌 후 3%의 증류수를 가하여 불활성화 시켜 충전제로 사용하였다. Teflon stopcock가 부착된 유리 column(2.3×20 cm)을 n-hexane으로 씻은 후 25 g의 불활성화 시킨 florisil을 충전하였다. 정량분석을 위해 추출된 지방 1 g에 internal standard n-eicosane(4 µg/ml hexane)를 첨가하고 florisil column에 가한 후 1.5 ml/min 속도로 60 ml을 받아 내용물이 5 ml 될 때까지 rotary evaporator (40°C, 355 mbar)로 농축한 후 0.5 ml 까지 N₂ gas로 농축하여 GC-MC 분석용 시료로 사용하였다(Lee 등, 2001; EN 1784, 1996).

GC-MS 분석

분리한 hydrocarbon류는 Hewlett-Packard 6890을 사용하였으며, 시료의 이온화는 electron impact ionization(EI) 방법으로 행하였다. 분석조건은 ionization voltage 70 eV, ion source temperature 230°C로 각각 하였다. 사용된 column은 DB-5(JW, 30 m×0.32 mm I.d, 0.25 m film thickness: JW Scientific, Folsom, CA)를 사용하였고, carrier gas는 helium을 1.0 ml/min 조건으로 사용하여 실험하였다. Injector와 detector의 온도는 각각 250°C로 하였다. Oven 온도는 60°C에서 170°C까지 25°C/min 속도로, 205°C까지는 2°C/min 속도로 승온하였고, 다시 10°C/min 속도로 270°C까지 승온시켰다. 분석 시료는 2 µl을 주입하였으며 초기에는 splitless, 2분 후에는 split(1:20)로 하였다. 분리된 성분의 확인은 준비된 표준품과의 retention time와 mass spectrum 대조로서 실시하였다. Internal standard를 사용하여 hydrocarbon류의 생성량을 정량하였다(Lee 등, 2001).

결과 및 고찰

Hydrocarbon 생성

Horvatovich 등(2000)와 Tewfik 등(1998)에 보고에 의하면 식품에 함유되어 있는 지방은 고에너지의 방사선에 의해 지방 분자 내의 탄소 사이의 결합이 끊어짐과 동시에 rearrangement와 같은 반응을 수반하여 여러 종류의 방사선 산물이 생성된다. 그 중에서 일부 radiolytic hydrocarbon은 지방산의 조성

에 의존하여 생성됨이 확인되었다. 중성지방의 carbonyl group의 α탄소와 β탄소 위치에서 결합이 끊어져 원래의 지방산보다 탄소수가 1개(Cn-1) 적거나, 2개(Cn-2) 적으면서 첫번째 탄소위치에 새로운 이중결합을 가진 hydrocarbon류가 생성된다. 이때 생성되는 주요hydrocarbon류로는 linoleic acid로부터 생성되는 6,9-heptadecadiene(17:2)와 1,7,10-hexadecatriene(16:3), oleic acid로부터 8-heptadecene(17:1)과 1,7-hexadecadiene(16:2), 그리고 palmitic acid에서 생성되는 pentadecane(15:0)과 1-tetradecene(14:1) 등이 있다(EN 1784, 1996).

식품의 함유되어 있는 지방산 조성을 알고 있다면 방사선 조사에 의해 생성되는 hydrocarbon류를 예측할 수 있다. Kwon 등(1999)에 의하면 참깨의 경우 linoleic acid 43.7%와 oleic acid 41%가 포함되어 있고 약 9% palmitic acid와 5% 정도의 stearic acid로 구성되어 있다.

따라서 본 실험에 사용된 방사선 조사된 참깨속의 linoleic acid로부터 6,9-heptadecadiene(17:2)와 1,7,10-hexadecatriene(16:3)를, oleic acid로부터 8-heptadecene(17:1)와 1,7-hexadecadiene(16:2)를, palmitic acid로부터 1-tetradecene(14:1), pentadecane(15:0) 등의 hydrocarbon류의 검출을 기대할 수 있으며, Table 1에서 그 검출 여부를 확인 할 수 있었다.

추출방법에 따른 주요 hydrocarbon류

Table 1은 추출 방법에 따른 검출된 주요 hydrocarbon류를 간략하게 나타내고 있다. 참깨로부터 분리한 주요 hydrocarbon류의 GC-MS 분석에 의하면 용매 추출의 경우 비조사 시료에서 14:1과 15:0을 제외하고 방사선 조사에 의해 생성되는 주요 hydrocarbon류는 검출되지 않았고, 조사 시료에서는 기대한 hydrocarbon류가 모두 검출되었다. 초임계 유체 추출 경우 비조사 시료에서는 15:0 만이 검출되었으며 용매 추출과 동일하게 조사시료에서도 기대한 모든 hydrocarbon류가 검출되었다. 두 방법 모두는 참깨에서 검출된 hydrocarbon류에 대하여 조사 시료와 비조사 시료간의 명확한 차이를 나타냈다.

비조사 시료에서 검출되는 15:0을 포함한 포화 hydrocarbon류는 시료 자체에서 유래되었다고 볼 수 없고 hexane에 함유되어 있던 미량의 이들 포화 hydrocarbon이 지방 추출 및 Florisil column 과정 중 농축되어 검출되는 것으로 포화 hydrocarbon은 방사선 조사 여부 검지를 위한 marker로 사용하기

Table 1. Summary of results showing the presence of hydrocarbons in irradiated sesame extracted using the solvent and supercritical fluid extraction(SFE) methods. (SFE conditions : pressure 200 bar, temperature 50°C, CO₂ flow rate 2 ml/min, extraction time 60 min)

Method	Hydrocarbons									
	14:1	14:0	15:0	16:3	16:2	16:1	16:0	17:2	17:1	17:0
Solvent extraction										
non-irradiated sesame	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+
irradiated sesame	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SFE										
non-irradiated sesame	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+
irradiated sesame	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

는 곤란하다고 본다. 14:1과 16:1도 비조사 시료에서 가끔씩 검출되기도 하며 고선량 시료에서도 소량 검출되기 때문에 marker로 활용하는 데에는 문제가 있다고 여겨진다(Hwang 등, 1998a).

Table 2는 용매 추출 공정과 초임계 유체 추출 공정의 marker로 활용 가능한 hydrocarbon류의 검출량을 비교하였다. Choi와 Hwang(1997)에 준한 용매 추출 공정에 비해 초임계 추출 공정에 의해 검출된 hydrocarbon류의 검출량이 더 많았다. 참깨의 지방에는 linoleic acid가 가장 많이 함유되어 있어 16:3과 17:2가 많이 검출된다는 기대와는 달리 16:3, 16:2, 17:2, 17:1의 순서로 많이 검출되었다. 이는 Lee 등(1981) 보고에 따른 참깨 품종간 지방산 조성 차이에 기인한 것이라 생각된다.

초임계 유체 추출 공정

Hydrocarbon 분리에 필요한 지방을 추출하는 초임계 유체 추출 공정의 가장 좋은 최적 조건을 선정하고자 하였다. 분쇄된 참깨를 초임계 유체로 각각의 다른 온도, 압력에 따라 추출하여 초임계 유체 추출 공정에 대한 지방 추출량을 측정하였다. Fig. 2는 추출 압력과 여러 온도에서 얻어진 지방의 추출량을 나타내었다. 압력과 온도가 상승 할수록 지방 추출량은 증가하는 경향을 나타내고 있지만

Table 2. Quantity of hydrocarbons detected from a irradiated sesame by solvent and supercritical fluid extraction(SFE). (SFE conditions:pressure 200 bar, temperature 50°C, CO₂ flow rate 2 ml/min, extraction time 60 min)

Method	Hydrocarbon(µg/g)			
	16:3	16:2	17:2	17:1
Solvent extraction	1.36	0.90	1.12	0.29
SFE	2.19	1.91	1.61	1.12

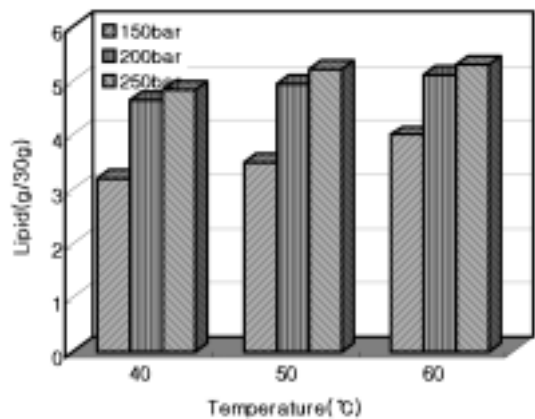


Fig. 2. Quantity of lipid from same as a function of extraction temperature at various pressures in SFE (CO₂ flow rate 2.0 ml/min, extraction time 60 min).

200 bar와 250 bar의 압력에서는 온도 변화에 따른 지방의 추출량의 뚜렷한 차이가 나타나지 않는 것으로 보아 고압에서는 온도의 영향을 거의 받지 않거나 혹은 지방의 추출량을 감소시킬 것이라 생각된다(Horvatovich 등, 2000).

따라서 경제성에 있어서 가장 효율적인 조건은 압력 200 bar, 온도 50°C라 사료된다. Fig. 3은 초임계 유체 추출 공정에 의해 검출된 hydrocarbon류의 GC-MS Chromatogram이다. 이 결과는 본 실험에 사용된 용매 추출의 결과와 Choi와 Hwang(1997)의 보고된 결과와 일치하였다.

보조 용매에 따른 주요 hydrocarbon류의 검출 특성의 추출 조건에서 각각의 보조용매를 사용하여 marker로 활용 가능한 hydrocarbon류를 정량 비교하고자 하였다. 압력 150 bar, 온도 50°C, CO₂ 유속 2 ml/min에 보조용매로서 극성이 다른 ethanol,

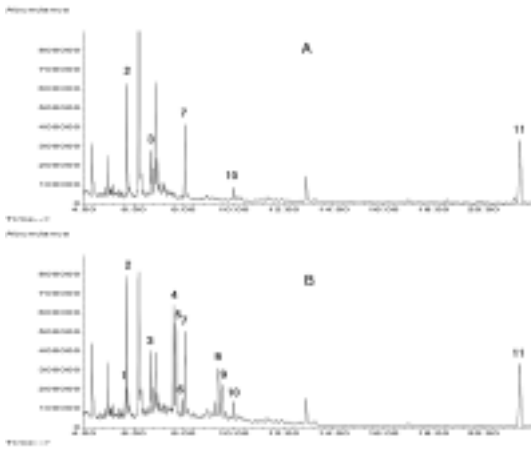


Fig. 3. GC-MS chromatograms of hydrocarbons detected in irradiated sesame by SFE. (A) unirradiated, (B) irradiated(2 kGy); (1)14:1, (2)14:0, (3)15:0, (4)16:3, (5) 16:2, (6)16:1, (7)16:0, (8)17:2, (9)17:1, (10)17:0, (11) 20:0(internal standard)

methanol, acetone, chloroform, pentane을 유속 0.2 ml/min로 60분간 추출한 결과를(Lee 등, 1999; Shin 등, 2002) Fig. 4와 Fig. 5에 나타내었다. Fig. 5은 보조용매에 따른 추출되는 지방량을 비교한 것으로 pentane을 제외한 나머지 보조용매 모두에서 지방 추출량이 증가하였다. Fig. 5은 marker로 사용될 수 있는 hydrocarbon류를 GC-MS로 분석한 결과를 나타낸 것이다. Acetone의 경우 약 2-3배 정도 높게 검출되었으며 지방 추출량이 낮게 나타난 pentane의 경우 CO₂만 사용한초임계 유체 추출과 유사하

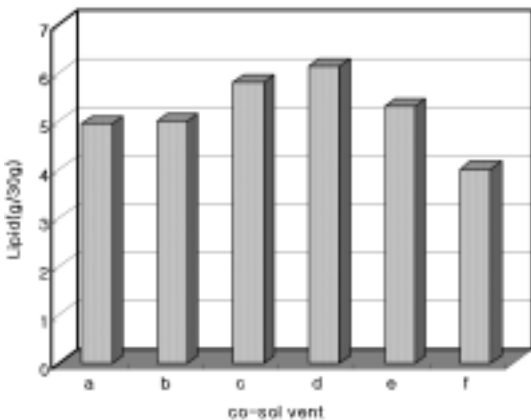


Fig. 4. Quantity of lipid extracted from irradiated sesame at various co-solvent in SFE. (a)CO₂ (b)CO₂+Methanol, (c)CO₂+Ethanol, (d)CO₂+Acetone, (e)CO₂+Chloroform, (f)CO₂+Pentane

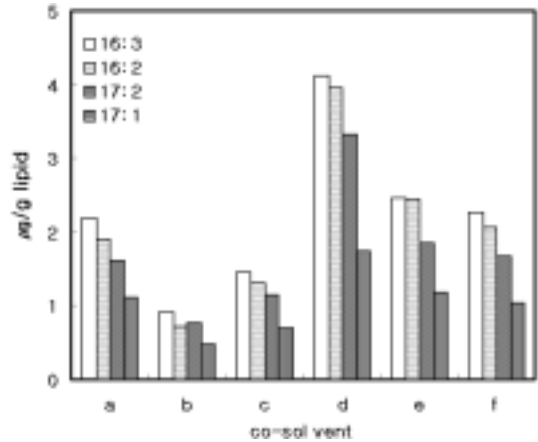


Fig. 5. Quantity of hydrocarbons detected from irradiated sesame at various co-solvent in SFE. (a)CO₂ (b)CO₂+ Methanol, (c)CO₂+Ethanol, (d)CO₂+Acetone, (e)CO₂+ Chloroform, (f)CO₂+Pentane

게 hydrocarbon류가 검출되었다. 하지만 methanol과 ethanol은 지방 추출량은 높게 나타났지만 hydrocarbon류는 낮게 검출되었다.

이와 같이 보조용매 첨가에 따른 검출량의 차이는 hydrocarbon, 보조용매, 그리고 CO₂ 간의 복잡한 상호작용 때문이다. 이는 Shin 등(2002)이 보고한 바와 같이 초임계 유체에서의 용해도는 주로 dipole 와 inductive forces 및 산도, 염기도에 기인되는 것으로 여겨진다.

요 약

초임계 유체 추출 공정을 이용하여 참깨에서 hydrocarbon류를 검출하여 참깨의 방사선 조사 여부 검지 전처리 기술에 활용하고자 하였다. 참깨를 2 kGy의 감마선을 조사하여 hexane으로 지방을 추출한 용매 추출과 초임계 유체 추출을 이용하여 추출한 지방을 Florisil column으로 분리한 후 hydrocarbon류를 GC-MS로 분석하였다. 용매 추출에서와 같이 초임계 유체 추출 공정을 이용하여 검출된 hydrocarbon류는 동일하게 검지되었으며 그 marker로써 활용 가능한 hydrocarbon류인 16:3, 17:2, 16:2, 17:1은 비조사 참깨에서는 검출되지 않았다.

보조 용매를 사용한 초임계 추출 공정에서 각 보조용매에서 추출된 지방량은 용매 추출보다 많았으며 보조용매를 사용하여 검출된 hydrocarbon류의 검출량은 methanol을 제외하고 전반적으로 많이 검출

되었다. 특히 acetone의 경우 marker로 사용가능한 hydrocarbon류는 용매 추출에서보다 3-4배 정도, CO₂만을 사용한 초임계 유체 추출 공정에서 보다 거의 2배의 검출 특성을 보여주었다.

이러한 결과는 초임계 유체 추출 공정이 방사선 조사 여부 검지 기술에 있어서 기존의 용매 추출에 비해 지방 추출시 용매 소모량의 감소, hydrocarbon류의 검출량 증가 등의 이유로 hydrocarbon류의 검지 기술에 있어 전처리 기술로 활용 가능하리라 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2002년도 경북대학교의 연구비 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

문헌

- Ser, J.H., J.L. Kim., G.D. Lee., and J.H. Kwon. 1996. Comparison of major component of sesame oil extracted from korean and chinese sesame. *J. Food Hyg. Safety.* **11**(3): 215-220
- Lee, E.Y., M.O. Kim., H.J. Lee., K.S. Kim., and J.H. Kwon. 2001. Detection characteristics of hydrocarbons from irradiated legumes of korean and chinese origins. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **30**(5): 770-776
- European Committee for standard. 1996. Foodstuffs - Detection of irradiated food containing fat - Gas chromatographic/mass spectro-metric analysis of hydrocarbons. *EN 1784*
- Choi, C.R. and K.T. Hwang. 1997. Detection of hydrocarbons in irradiated and roasted sesame seeds. *JAOSCS.* **74**: 469-472
- Codex Alimentarius Commission. 1984. Codex General Standard for Irradiated Foods and Recommended International Code of Practice for the Operation of Radiation Facilities Used for the Treatment of Foods. CAC/VOL.XV. FAO. Rome
- Desrosiers, M.F and W.L. Eclaughlin. 1989. Examination of gamma-irradiated fruits and vegetable by electron spin resonance spectroscopy. *Radiat. Phys. Chem.* **34**: 895-898
- FDA. 1986. Irradiated in the production, processing, an handling of food. *Federal Register.* **51**: 13376
- Horvatovich, P., M. Hasselmann, C. Miesch and E. Marchioni. 2000. Supercritical fluid extraction of hydrocarbons and 2-alkylcyclobutanones for the detection of irradiated foodstuffs. *J. Chromatography A.* **897**: 259-268
- Horvatovich, P., M. Hasselmann, C. Miesch and E. Marchioni. 2002. Supercritical fluid extraction for the detection of 2-dodecylcyclobutanone in low dose irradiated plants foods. *J. Chromatography A.* **968**: 251-255
- Hwang, K.T., J.Y. Park and Y.J. Kwon. 1998a. Hydrocarbons Detected in Irradiated soybeans. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**(3): 517-522
- Hwang, K.T., T.B. Uhm, U. Wagner and G.A. Schreiber. 1998b. Application of thermoluminescence to detecting post-irradiated of onion and garlic (in korea). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **27**(1): 63-68
- IAEA. 1991. Analytical detection methods for irradiated foods. A review of current literature. IAEA-tecdoc. **587**: 172
- ICGFI. 1991. Facts about Food Irradiation, International Con-sultative Group on Food Irradiation. Vienna. Austria
- Kwon, Y.J., J.L. Lee and Kai-Yeand. Deng, C.G. Sung and M.T. Oh. 1999. The Comparison of Chemical Compounds in Korean and Chinese sesame seeds. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.* **6**(2):194-199
- Kwon, J.H., H.W. Chung and Y.J. Kwon. 2000. Infrastructure of quarantine procedures for promoting the trade of irradiated foods. Paper presented at symposium of the Korean Society of Postharvest Science and Technology for the safety of Food and Public Health Industries and Quality. Assurance, Daejon, 13 October: 209-254
- Lee, S.B., K.A. Park and I.K. Hong. 1999. Isolation of function Fatty acid in cosolvent induced SFE process. *J. Korean Ind. Eng. Chem.* **10**(3): 438-444
- Shin, M.K., J.H. Hong, S.S. Hur and Y.H. Cho. 2002. Extraction of β -carotene in co-solvent induced SFE process. *Food. Engineering progress.* **6**(4): 301-307
- Tewfik, I.H., H.M. Ismail and S. Sumar. 1998. A rapid Supercritical Fluid Extraction Method for the Detection of 2-alkylcyclobutanones in Gamma-irradiated Beef and Chicken. *Lebensm.-Wiss. U. Technol.* **31**: 366-370