

β-Cyclodextrin에 캡슐화된 유자 모델 향의 조절 방출 특성 및 안정성

서현주 · 김공환

아주대학교 생명·분자 공학부

Controllable Release Characteristics and Stability of Citron Model Flavor Encapsulated in β-Cyclodextrin

Hyeonju Seo and Kong-Hwan Kim

Division of Biotechnology & Nonotechnology, Ajou University

Abstract

While powders encapsulated by β-cyclodextrin and citron model flavor oils were stored at different temperatures of 25°C and 60°C for 36 days, the release characteristics of flavoring materials were evaluated. The stabilities were predicted by the quantitative analysis of limonene oxides formed the highest percentage of citron oil. The release rates of flavor oils were considerably faster than those of encapsulated flavors. The release rates of five monoterpenes in citron model flavor were markedly varied depend on the degree of diffusion, which led to progressive change in ratios of components. On the other hand, the release rates of encapsulated flavors were fitted well to the Avrami equation representing the release characteristics. The release rates of total oil and each components were rather slow and had a similar tendency. For storage stability of citron model flavor, flavor oil stored at 60°C was found to be oxidized most rapidly; oxidized products of d-limonene, i.e., limonene-1,2-epoxide of 1.12 mg/g oil and carvone of 0.33 mg oil were produced a day. Although flavor oil stored at 25°C was oxidized slowly, the value as a flavor was lost because of the ratio changed. The encapsulated flavor was not oxidized as β-cyclodextrin is heat stable and not hygroscopic. All constituents of citron model flavor are inclusioned structurally into β-cyclodextrin's cavity as demonstrated by the fact that the ratios of five monoterpenes were also maintained well.

Key words: encapsulation, β-cyclodextrin, citron model flavor, release characteristics, stability

서 론

여러 가지 flavor encapsulation 방법 중에서, molecular encapsulation은 β-cyclodextrin 분자 안에 향기 성분을 화학적으로 캡슐화하는 가장 효율적인 방법 중의 하나이다(Hedges *et al.*, 1995; Szente와 Szejtli, 1988). Cyclodextrin은 소수성을 띤 공동(cavity) 내에 여러 가지 휘발 성분이나 불안정한 물질들을 포집하여 복합체(complex)를 형성한다. Cyclodextrin 안에 이러한 물질들을 캡슐화하게 되면 flavor를 보호할 뿐

만 아니라 산소, 열, 빛에 대한 안정성을 강화시키게 된다(Hirokazu *et al.*, 2001). Molecular encapsulation을 수행하는 방법은 3가지의 다른 방법이 있다(Pagington, 1985; Furuta *et al.*, 1994). 첫째, β-cyclodextrin과 향기성분을 수용액에 용해시킨다. 때때로, 에탄올 같은 용매를 사용하기도 한다. 둘째, β-cyclodextrin 용액에 수증기 상태의 향기성분을 통과시킨다. 셋째, 10~40%의 수분을 포함하는 반죽 상태의 β-cyclodextrin과 향기성분을 혼합하는 방법이 있다. 이 방법은 주로 용매를 많이 사용하며, 물의 양이 초과되는 것을 피할 수 있다. 따라서, 탈수하는 데 필요한 에너지가 절약된다(Bhandari *et al.*, 1999).

이러한 방법으로 캡슐화된 flavoring material은 β-cyclodextrin과 complex를 형성할 때 개별 향기물질

Corresponding author: Kong-Hwan Kim, Professor, Division of Biotechnology and Nonotechnology, Ajou University, San 5, Wonchun-dong, Youngtong-gu, Suwon 443-749, Korea.
Phone: 82-31-219-2450, Fax: 82-31-219-2394
E-mail: konghkim@ajou.ac.kr

모두를 잘 보유할 뿐만 아니라 그 비율 또한 잘 유지해야 향료로서의 가치를 상실하지 않게 된다. 하지만, 캡슐화된 향료는 시간이 지남에 따라 여러 가지 조건에 의해 유리(liberation)가 일어나게 된다. 유리는 용매와 용해 정도와도 관련이 있지만, 캡슐의 파손 또는 조절 확산이 크게 영향을 미친다. 이들의 영향은 농도 변화와 분자 사이의 인력, 핵물질의 용해도와 피복물질을 통한 이동성에 의해 조절되는 침투에 의해 조절된다(Bertolini *et al.*, 2001).

따라서, 본 연구에서는 molecular encapsulation 방법 중 첫 번째 방법인 precipitation 방법(Reineccius *et al.*, 1988)을 이용하여 유자 천연향을 모델로 한 주요 구성성분 5가지 monoterpene 성분을 캡슐화하였다. 캡슐화된 분말을 캡슐화되지 않은 향유와 함께 36일 동안 저장하면서 시간이 지남에 따라 피복물질인 β -cyclodextrin에서 다섯가지 monoterpene 성분의 유리되는 정도와 비율 유지 정도를 측정하고, Avrami equation을 통해 방출 속도를 분석해 보았으며, 가장 많은 구성성분을 차지하고 있는 d-limonene의 산화물의 GC 정량 분석을 통해 안정성도 예측해 보았다. 이를 통해 향유의 방출 속도 조절 정도와 저장 수명, β -cyclodextrin과의 구조적 적합성과 안정성을 예측해 보았다.

재료 및 방법

실험 재료

핵물질인 유자 모델 향(citron model flavor)의 구성 성분인 α -pinene, β -myrcene, limonene, γ -terpinene, linalool의 시약 모두 Aldrich(U.S.A)사의 제품을 사용하였다. β -cyclodextrin(Wako Pure Chemical Industrials, Ltd.)을 피복물질로 이용하였다. GC에 의한 휘발 성분 분석에 사용된 내부 표준물질은 n-tetradecane(Sigma Chemical Co.)을 사용하였으며, 유자 모델 향의 총향유와 표면흡착 향유의 추출을 위한 hexane은 HPLC grade(Fisher Scientific.)를 사용하였다. 향유의 저장동안 2차 산물 측정을 위한 지표물질은 d-limonene의 산화물인 limonene-1,2-epoxide와 carvone(Fluka Chemie CmbH CH-9471 Buchs)을 사용하였다.

유자향의 molecular encapsulation

유자 천연 향을 모델로 하여 유자 향의 주요 구성성분을 차지하는 5가지 monoterpene인 d-limonene,

γ -terpinene, linalool, α -pinene, β -myrcene를 각각 송 등(1999)이 보고한 한국과 일본 유자의 평균질량비에 따라 82.16, 10.8, 3.13, 2.22, 2.2%의 질량비에 해당하는 양을 에탄올에 용해시켜 10%(w/v) 에탄올 용액을 만들어 조합 향료를 제조하였으며, 이를 캡슐화 공정에서 핵물질로 이용하였다.

Precipitation 방법(Reineccius *et al.*, 1988)을 이용하여 flavor 농도 15%(w/w), 에탄올 농도 30%(w/w), 교반시간 4시간의 조건에서 캡슐화된 유자 모델 향의 complex powder를 준비하였다. 55°C incubator에서 20 g의 β -cyclodextrin을 정해진 에탄올 희석 용액 200 mL에 완전히 용해시킨다. 정해진 양의 모델 향은 에탄올(10% w/v)에 용해시킨다. 55°C로 따뜻하게 유지된 β -cyclodextrin 용액에 에탄올에 용해된 모델 향을 천천히 투입하며, 이때, β -cyclodextrin 용액은 계속 교반해 주었다. 모델 향을 투입한 후에 가열을 중단하고 정해진 시간동안 교반한 다음 최종 용액을 식힌 후, 4°C 냉장고에서 하루 밤 동안 보관하였다. 침전된 β -cyclodextrin-flavor complex를 진공 여과에 의해 회수하였다. 침전물을 55°C convection oven에서 24시간 동안 건조시켰다(Bhandari *et al.*, 1999).

캡슐화 유자 모델 향의 방출특성 분석

25°C incubator와 60°C oven에서 캡슐화되지 않은 향유와 캡슐화된 분말을 각각 저장하여 36일 동안 유자 향유와 캡슐화 분말에서의 향의 유지정도를 측정하였다. 예비실험으로 실시한 25°C에서는 향의 유지 변화량이 작은 반면에 60°C는 비교적 높은 온도이므로 휘발성 향기성분이 빨리 휘발되어 손실되므로 유지되는 변화량이 컸다. 따라서, 25°C에서는 3일마다, 60°C에서는 매일 100 μ L의 향유와 0.2 g의 분말을 각각 채취하여 36일 동안 저장일수에 따른 향의 유지 변화를 측정하였다. 채취한 분말을 넣은 시험관(16 × 125 mm)에 증류수와 hexane을 1:2로 넣고 85°C에서 일정한 간격으로 흔들어서 주면서 20분 동안 총향유를 추출하였다. 추출 후, 상층의 유기층만을 분리하였다. 이 추출과정을 세 번 반복 수행하여 얻어진 유기층을 모두 합하여 내부 표준물질인 n-tetradecane을 일정량 넣은 후, nitrogen stream을 이용하여 1 mL로 농축하여 GC로 분석하였다(Bhandari *et al.*, 1998). 100 μ L씩 채취한 향유는 900 μ L의 hexane을 넣고 혼합하여 녹인 후 GC로 분석하였다. 향유와 캡슐화된 분말에서 향의 유지

정도는 초기 향의 함량에 대한 비율(Shiga et al., 2001)로 나타내었다.

향유의 분석

향유중 향기성분은 gas chromatograph(DS6200, Donam Instrument Inc.)에 FID detector를 사용하여 분석하였다. 사용된 컬럼은 fused silica capillary column(0.25 mm id×50 m length×0.22 μm film coated with polyethylene glycol; BP 20, SGE Ltd., Melbourne, Australia)이며, split injection system(split ratio; 1:20)에 의하여 30 mL/min의 유속으로 향유 농축물은 1.5 μL씩 주입하였다. Column oven의 온도는 처음 50°C(1 min initial hold)에서 200°C까지 3°C/min의 속도로 승온시켰으며, injector 온도는 250°C, detector 온도는 260°C로 유지하였다. 농축된 추출물은 각 1.5 μL씩 주입하여 분석하였다.

유자 모델 향중 휘발성분의 정량 분석

α-pinene, β-myrcene, limonene, γ-terpinene, linalool의 표준물질을 이용하여 내부 표준화법(internal standard method)(Fowles, 1995)을 이용하였다. 각 표준물질을 주입하여 automatic integrator에 의해 적분된 peak area를 분석하여 표준곡선을 작성하고 추정된 식에 의해 정량 분석하였다.

Avrami equation에 의한 모델 향의 방출특성 분석

방출 속도 상수(release rate constant)를 구하기 위해 식(1)과 같이 Avrami equation(Avrami, 1939, 1940, 1941)을 사용하였다.

$$R = \exp[-(kt)^n] \quad (1)$$

R : the retention of flavors during release = $\frac{\text{the flavor content of samples}}{\text{the initial flavor content}}$

t : time

n : a parameter representing the release mechanism

k : the release rate constant

식 (1)은 고분자의 결정형성 정도를 측정하기 위하여 Avrami가 고안한 이론으로서 핵이 형성되거나 성장하는 고분자의 결정화 초기단계에 있어 결정화 정도를 비교적 정확하게 측정할 수 있으며, 고체-기체상 또는 고체-액체상 반응기작을 설명하기 위해

사용되기도 한다. 또한 무정형의 당류 격자에 있어 시간에 의존하지 않는 단백질의 변형기작을 설명하는데 응용되었다(Sun과 Daridson, 1988). 최근에는 d-limonene과 n-hexanoate을 포함한 분무건조한 분말의 방출특성을 분석하기 위해 사용되기도 하였다(Shiga et al., 2001). 식 (1)에서 n=1은 1차반응을 나타내고, n=0.54는 확산 제한 반응(the diffusion-limiting reaction kinetics)을 나타낸다(Hancock과 Sharp, 1972). 식 (1)의 양변에 로그를 두 번 취하면, 다음 식 (2)와 같은 결과를 얻을 수 있다.

$$\ln(-\ln R) = n \ln k + n \ln t \quad (3)$$

식 (2)와 같이 ln(-ln R) vs. ln t를 도식하면, 기울기에서 n을 알 수 있고, y 절편으로부터 방출 속도 상수인 k를 구할 수 있다(Shiga et al., 2001).

유자 모델향 분해산물의 분석

유자 모델 향의 저장 동안의 안정성을 측정하기 위해 향을 구성하는 성분 중 약 82%로 가장 큰 비율을 차지하는 d-limonene의 분해 산물을 방출특성 측정과 같은 방법으로 저장 기간에 따라 시료를 채취하고 hexane으로 추출하여 GC에 의해 정량분석을 하였다. d-limonene의 산화에 의한 분해산물인 limonene-1,2-epoxide와 carvone의 형성되는 양의 측정을 통해 각 온도에서의 향유와 캡슐화된 분말의 안정성을 예측하였다(Reineccius et al., 1986; Anandaraman et al., 1987).

결과 및 고찰

캡슐화 유자 모델 향의 방출특성

캡슐화된 분말로부터 유자 모델 향의 방출특성은 β-cyclodextrin의 뛰어난 캡슐화 능력 때문에 방출속도를 가속시키기 위하여 60°C에서 저장하면서 측정하였으며, 대조구로 향유만을 그대로 방치한 시료도 함께 저장하여 비교하였다. 또한, 온도에 따른 특성변화를 분석하기 위하여 25°C에도 캡슐화된 분말과 향유를 각각 저장하여 비교측정하였다. 저장 시간에 따른 각 시료의 향성분의 방출형태는 Fig. 1과 같다. 전반적으로 캡슐화된 분말로부터의 향성분의 방출속도가 향유를 그대로 방치한 것보다 훨씬 느림을 알 수 있었다. 캡슐화된 분말의 방출속도는 비교적 서서히 감소하는 경향을 보인 반면, 향

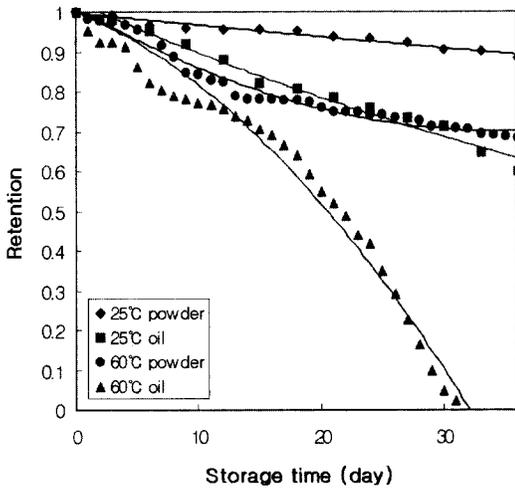
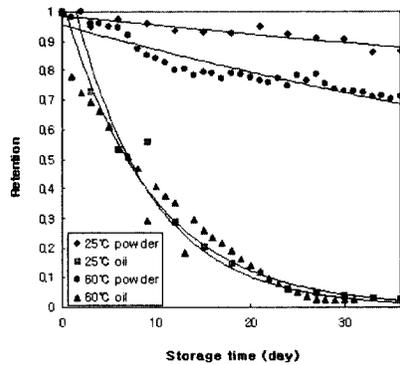


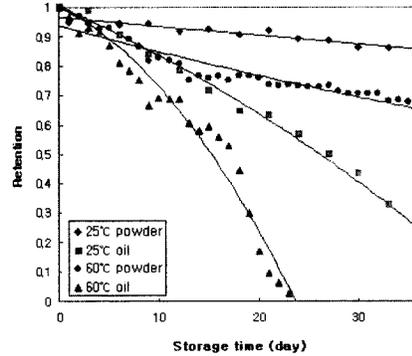
Fig. 1. Time courses of total oil retention in β -cyclodextrin encapsulated flavor oil and untreated flavor oil during storage at 25°C and 60°C.

유의 방출속도는 초기 저장 10일 후부터 감소하기 시작하여 저장기간이 경과함에 따라서 급격히 감소하여 60°C에 저장한 향유의 경우에는 저장 31일째 대기중으로 거의 모두 방출되어 잔류량이 존재하지 않았다. 25°C에 저장한 향유는 저장 초기에는 60°C에서 저장한 캡슐화된 분말보다 전체 향유의 함량에서 볼 때 향의 방출속도가 비교적 완만하였고, 저장기간 30일까지도 완만하게 감소되었다. 이러한 결과는 총향유 함량을 기준으로 향유의 방출속도분포를 분석한 것으로서 유자향의 82% 이상을 차지하는 d-limonene의 방출속도분포 분석결과와 비교할 때 잘 일치함을 알 수 있다.

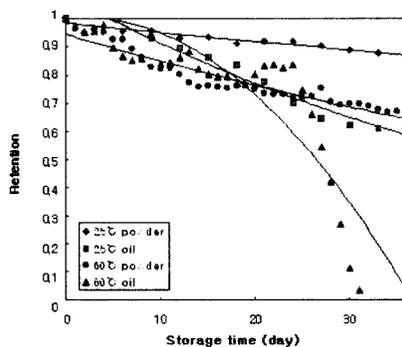
유자 모델 향을 구성하는 d-limonene을 제외한 나머지 monoterpene계 향미유의 방출속도 분포를 살펴보면 Fig. 2와 같다. Fig. 2의 (a)에서 보는 것과 같이 α -pinene은 캡슐화된 분말과 향유의 방출특성이 현저히 차이가 나는 것을 알 수 있다. α -pinene은 다른 구성 성분에 비해 끓는점이 비교적 낮아



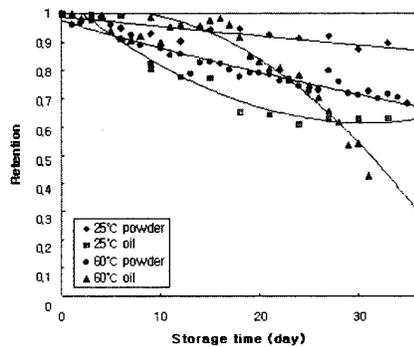
(a) α -pinene



(b) β -myrcene



(c) γ -terpinene



(d) linalool

Fig. 2. Time courses of (a) α -pinene, (b) β -myrcene, (c) γ -terpinene, (d) linalool in β -cyclodextrin encapsulated flavor oil and untreated flavor oil during storage at 25°C and 60°C.

(156°C) 낮아 25°C와 60°C 저장조건에서 대기중으로 확산이 잘 일어나 빠른 속도로 방출이 일어났다. 반면에, α-pinene은 β-cyclodextrin에 의해 캡슐화된 분말에서의 방출속도가 매우 느림을 알 수 있는데, 이것은 β-cyclodextrin 분자 안에서 저장 동안의 안정성을 보여줌과 동시에 조절방출특성이 양호함을 알 수 있는 결과이다. Fig. 2의 (b)는 β-myrcene의 방출속도를 나타내고 있는데 α-pinene과 마찬가지로 β-myrcene도 향유를 그대로 방치한 조건에서의 방출속도가 매우 빠른 결과를 보였으며, 60°C에 저장한 향유의 경우는 저장 23일째 GC 분석결과 휘발성 성분이 검출되지 않아 대기 중으로 거의 방출되었음을 알 수 있었다. Fig. 2의 (c)와 (d)는 각각 γ-terpinene과 linalool의 방출속도분포를 나타낸 것인데 서로 비슷한 경향을 보였다. 캡슐화된 분말에서는 25°C와 60°C에서 방출 속도가 서서히 감소되었으나, 그대로 방치한 향유의 경우 초기에는 오히려 캡슐화된 분말에서 보다 높은 향유가 보유된 결과를 보이고 있다. 이것은 초기에 α-pinene, β-myrcene, d-limonene이 빠른 속도로 방출되어 상대적으로 linalool의 보유정도가 높아져 일시적으로 증가된 결과로 생각된다. 하지만, 이것은 곧 전체적인 향유함량의 감소를 초래하여 저장시간이 흐름에 따라 γ-terpinene과 linalool의 방출속도가 급격히 증가하는 것을 볼 수 있다. 이러한 일시적 증가 현상이 (d)의 linalool에서 더 오래 지속 되는 것은 γ-terpinene보다 끓는점이 더 높기 때문에 방출속도가 지연되는 것으로 판단된다.

Fig. 1, 2에서 총향유의 함량과 이를 구성하는 개별 향유성분 측면에서 유자 모델 향의 방출 특성을 살펴보면 향유를 그대로 방치하여 저장한 경우에는 전체적으로 방출 속도가 매우 빨랐다. 뿐만 아니라

개별 성분의 특징에 따라 확산정도가 다르기 때문에 이들의 방출 속도가 현저히 달라 성분비율 유지에 변화를 가져왔다. 하지만, 이러한 유자 모델 향을 β-cyclodextrin 분자 안에 캡슐화한 경우에는 개별 성분과 총향유 함량의 방출속도가 모두 크게 감소되었으며, 4개의 향성분이 거의 비슷한 경향을 보였다. 이는 β-cyclodextrin은 유자 모델 향을 캡슐화하는 능력이 뛰어나기 때문에 모든 성분을 골고루 잘 포접하고 있으며, 방출속도도 일정하게 조절할 수 있음을 알 수 있었다. 이러한 사실은 β-cyclodextrin 분자 안에 포접된 유자 모델 향이 저장 안정성이 있으며, 양호한 방출특성을 갖는 것으로 설명할 수 있다(Shiga *et al.*, 2001).

Avrami equation에 의한 모델 향의 방출 특성 분석

전체적으로 향유를 그대로 방치한 경우에는 방출 속도가 일정한 분포를 따르지 않고, 다양한 분포를 보였다. 25°C에 저장한 향유는 비교적 일정한 방출 곡선 형태를 보였으나, 60°C에 저장한 향유는 방출 곡선이 각 성분별로 크게 차이가 났다. 반면에, β-cyclodextrin 분자 안에 유자 모델 향을 캡슐화한 분말로부터의 방출 속도는 일정한 분포를 가지며 감소하였다. Fig. 1, 2에서도 볼 수 있듯이 캡슐화된 분말의 방출 시간 과정은 식 (1)의 Avrami equation을 잘 따르고 있음을 확인할 수 있다. 25°C와 60°C에 저장한 캡슐화된 분말의 방출 시간 과정을 $\ln(-\ln R)$ 에 대하여 $\ln(-\ln R)$ 을 도식하여 식 (2)에 의하여 분석하여 방출속도상수(k)와 방출 메커니즘 변수(n)를 Table 1에 나타내었다. 전체적으로 볼 때 25°C에 저장한 시료보다 60°C에 저장한 시료의 k값과 n값이 모두 더 큰 값을 보였다. 이것은 낮은 온도에 저장한 β-cyclodextrin에 의해 캡슐화된 flavor가 더 안정

Table 1. Values of release rate constant and n on release of volatile flavor compounds in flavor oil and complex powder during storage

Flavor volatile compounds	k (s ⁻¹)			n (-)		
	Flavor oil	25°C Powder	60°C Powder	Flavor oil	25°C Powder	60°C Powder
α-Pinene(0.96 ^a)	9.928 × 10 ⁻²	0.4022 × 10 ⁻³	1.340 × 10 ⁻²	1.050	0.525	1.105
β-Myrcene(0.97 ^a)	3.068 × 10 ⁻²	0.8784 × 10 ⁻³	0.879 × 10 ⁻²	1.404	0.563	0.743
d-Limonene(0.91 ^a)	1.793 × 10 ⁻²	1.314 × 10 ⁻³	1.376 × 10 ⁻²	1.439	0.7731	1.076
γ-Terpinene(0.98 ^a)	1.944 × 10 ⁻²	0.7784 × 10 ⁻³	0.974 × 10 ⁻²	1.519	0.579	0.779
Linalool(0.82 ^a)	1.024 × 10 ⁻²	0.1653 × 10 ⁻³	0.989 × 10 ⁻²	0.624	0.423	0.901
Total flavor(0.95 ^a)	1.834 × 10 ⁻²	1.212 × 10 ⁻³	1.278 × 10 ⁻²	1.371	0.732	1.005

^aR-square

할 뿐만 아니라 쉽게 방출되지 않음을 의미한다. 같은 온도 내에서 유사 모델 향을 구성하는 개별 성분별로 k 값과 n 값을 비교할 경우 25°C에서는 d-limonene, β -myrcene, γ -terpinene, α -pinene, linalool의 순서로 방출이 일어났으며, d-limonene을 제외하고는 모두 0.54에 가까운 n 값을 가지는 것으로 보아 이 조건에서는 확산 제한 반응이 일어나므로 쉽게 방출이 일어나지 않음을 알 수 있다(Shiga *et al.*, 2001). 60°C에서는 d-limonene, α -pinene, linalool, γ -terpinene, β -myrcene의 순서로 방출되며, β -myrcene와 γ -terpinene이 비교적 작은 n 값을 가지는 하지만 대부분 1에 가까운 값을 가져 1차 반응이 일어나므로 25°C에서보다 훨씬 방출이 활발히 일어난다고 할 수 있겠다. 한편, 25°C에서 60°C로 저장 온도가 높아짐에 따라 방출 속도가 α -pinene, β -myrcene, d-limonene, γ -terpinene, linalool 순서대로 33, 10, 10, 13, 60배씩 각각 증가된 결과를 보여 저장 온도가 방출 속도에 큰 영향을 주는 것을 의미하며, linalool, α -pinene, γ -terpinene, d-limonene, β -myrcene의 순으로 온도가 증가함에 따라 방출이 잘 일어난다고 볼 수 있다.

그대로 방치한 향유와 β -cyclodextrin에 의해 캡슐화한 경우의 방출 속도 조절 정도를 알아보기 위해 25°C의 향유의 k값과 n값을 구하여 비교해 보았다. 25°C에 저장한 향유의 경우는 비교적 낮은 온도에서 저장하였기 때문에 방출속도가 완만하여 Avrami equation에 의한 방출곡선에 비교적 잘 따른다고 볼 수 있다. Table 1에서 보는 것과 같이 β -cyclodextrin에 의해 향유를 캡슐화하였을 경우 총향유 함량면에서는 15배 정도 방출속도가 느려졌지만, 개별 성분에 따라 방출 속도가 다르게 조절되었음을 확인할 수 있다. α -pinene, β -myrcene, d-limonene, γ -terpinene, linalool의 순서대로 247, 35, 14, 25, 62배 만큼 각각 방출속도가 낮은 결과를 보였으며, 방출속도조절의 정도는 α -pinene > linalool > β -myrcene > γ -terpinene > d-limonene 순이었다.

캡슐화된 유사 모델 향의 안정성 예측

β -cyclodextrin 분자 안에 캡슐화된 flavor 물질은 이를 구성하는 각 monoterpenes의 휘발성과 확산에 의해 β -cyclodextrin의 벽을 통해 방출된다. 또한 온도와 산소의 작용은 초기에 캡슐화된 향화합물의 함유량을 감소시키고, 유도체의 생성을 주도하는 반응에 촉매 작용을 한다. 이러한 함유량의 감소는 산

화반응과 탈수작용을 포함한 분해 과정에의 핵물질의 반응에 대한 민감성에 크게 의존한다(Bertolini *et al.*, 2001).

Fig. 3은 25°C와 60°C에서 저장한 향유와 캡슐화된 분말을 각각 36일 동안 저장한 후, 최종적으로 남아있는 향의 보유정도를 측정된 결과를 나타내었다. 캡슐화된 분말이 그대로 방치한 향유보다 향의 보유력이 훨씬 뛰어남을 확인할 수 있었다. 특히, β -myrcene과 α -pinene은 60°C에서 향유를 그대로 방치했을 경우 각각 저장 23일과 27일부터 GC 분석시 향성분이 검출되지 되지 않았다. 이는 향을 구성하는 성분이 끊는점이 비교적 낮기 때문에 가장 먼저 대기 중으로 휘발되어 방출되었기 때문인 것으로 판단된다. 25°C에서 보관한 향유도 마찬가지로 β -myrcene과 α -pinene이 가장 적은 함유량을 가졌으며 β -myrcene은 저장 36일부터는 GC 분석시 검출되지 않았다. 비교적 낮은 온도이기 때문에 방출 속도가 약간 느릴 뿐, 향의 확산은 같은 온도에서 캡슐화된 분말에 비하여 훨씬 빨리 진행되었다. 반면에, 캡슐화된 분말의 경우는 총향유 함량과 개별 monoterpenes측면에서 모두 높은 보유능력을 보여주었다.

25°C와 60°C에 저장한 캡슐화된 분말 모두 전체적으로 비슷한 향기성분의 유지력을 보여주긴 하였지만, 특히, α -pinene과 d-limonene이 비교적 높은 유지력을 보여 주었다. 25°C 저장인 경우 캡슐화된 분말의 경우 d-limonene의 향성분 보유정도가 가장 높았으나, 다른 성분들과 비교시 큰 차이를 보이지 않았다. 특히, α -pinene과 β -myrcene의 경우에는 향

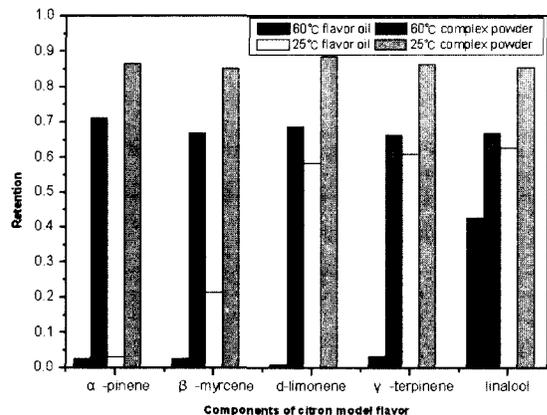


Fig. 3. Retention in each components of citron model flavor stored during 36 days at constant temperature.

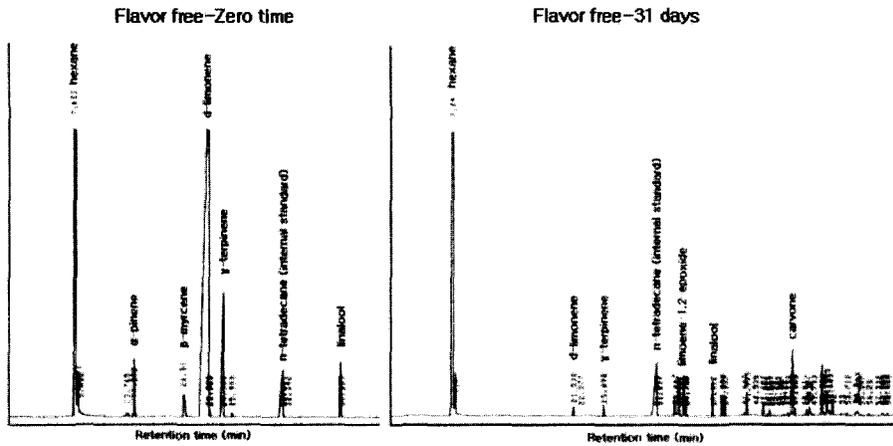


Fig. 7. Chromatographic profile of citron model flavor at zero time and after being stored 31 days at 60°C.

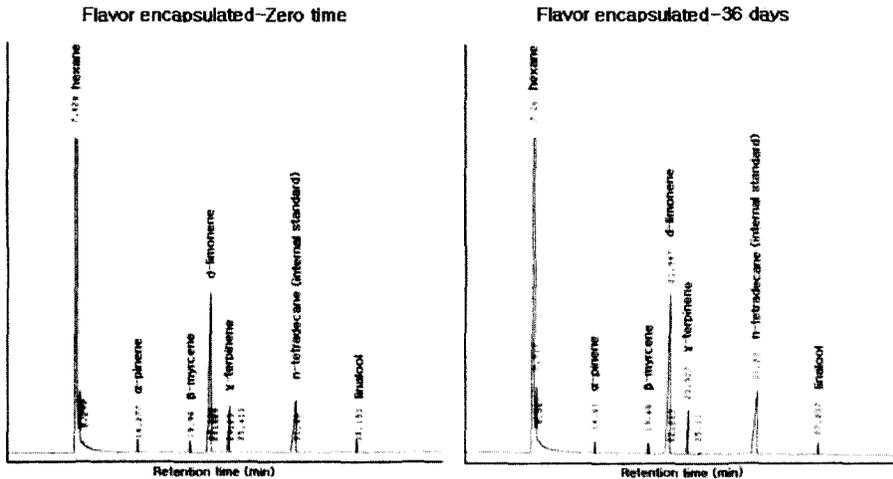


Fig. 8. Chromatographic profile of citron model flavor encapsulated with β -cyclodextrin at zero time and after being stored 36 days at 60°C.

간이 경과함에 따라 분해 산물의 종류가 점점 많아지고, 그 양도 늘었다. 다른 monoterpene에 대한 분해산물은 양이 너무 적을 뿐 아니라, 종류도 확인하기 힘들었기 때문에 d-limonene의 분해 산물만을 정량 분석하였다. 저장 시간에 따른 향유의 peak가 어떻게 달라지는지는 Fig. 7~10에서 확인할 수 있다. 산화에 따른 분해 산물의 측정은 limonene-1,2-epoxide와 carvone에 대해 각각 정량 분석하였으며, 이 두 화합물의 합을 total limonene oxide로 정의하여 나타내 보였다. 저장기간 13일까지는 산화가 일어나지 않았거나, 미미한 양의 향물질 형성되어 GC에 의한 분석에서는 검출되지 않았다. 그러나 저장 14일부터 carvone이 먼저 감지되기 시작하여, 15일

부터는 limonene-1,2-epoxide와 carvone 모두 감지되었으며, 일정한 속도로 생성되었다. Limonene-1,2-epoxide는 26일까지는 일정한 생성 속도로 그 양이 점점 증가하다가 27일부터는 감소하기 시작한다. Carvone은 30일까지 그 양이 계속 증가하다가 그 이후로는 일정한 경향을 보였다. 이러한 현상은 이 두 화합물의 양이 절대적으로 감소한다고는 볼 수 없다. 왜냐하면, 산화가 점점 빠르게 진행되면서 limonene oxide의 생성량도 계속 증가해야 하기 때문이다. 이와 같은 향성분의 감소현상은 저장 23일부터 향유의 심한 산화로 인하여 점도가 높은 oil로 변화함에 따라 hexane에 완전히 녹일 수 없었으며, 시료채취가 불가능하여 정량분석을 수행할 수 없었

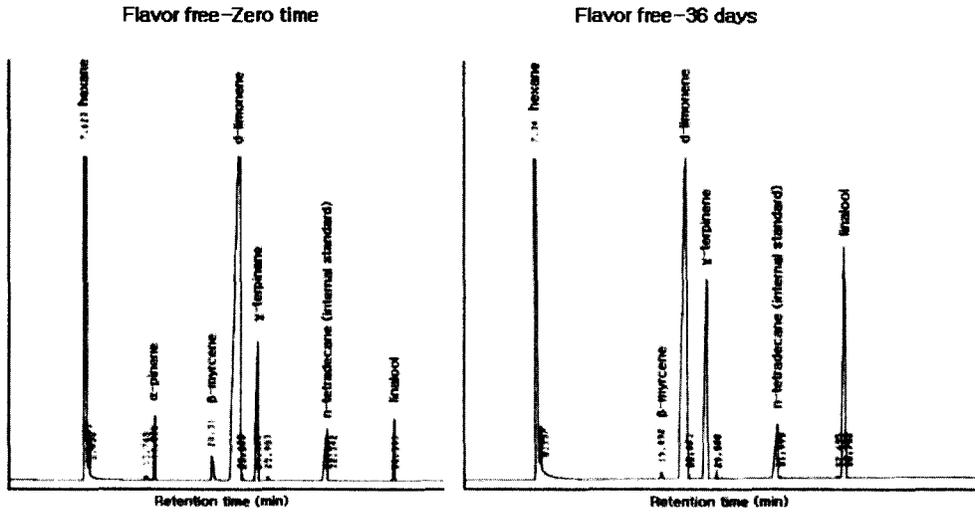


Fig. 9. Chromatographic profile of citron model flavor at zero time and after being stored 36 days at 25°C.

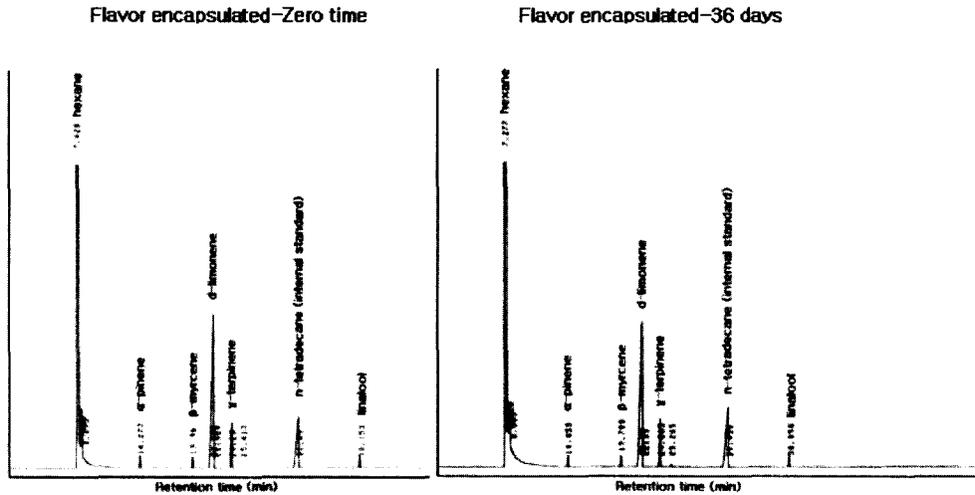


Fig. 10. Chromatographic profile of citron model flavor encapsulated with β-cyclodextrin at zero time and after being stored 36 days at 25°C.

던 것에 원인을 들 수 있다. 이러한 이유로 인해 저장 24일까지만 생성되는 양을 통해 생성 속도를 추정해 보았다. Table 2에서 볼 수 있는 것과 같이 limonene-1,2-epoxide와 carvone은 향유 1g 당 약 1.12 mg/day 및 0.33 mg/day씩 각각 생성되며, 생성된 전체 limonene oxide는 약 1.45 mg/day씩 생성된다고 추정할 수 있다. 비교적 높은 온도에서 공기 중에 향유를 그대로 방치한 경우이므로 매우 빠른 속도로 산화가 진행됨을 알 수 있었다. 나머지 25°C에 저장한 향유와 25°C와 60°C에 각각 저장한 캡

Table 2. Linear fit equation for limonene oxide concentration as a function of storage time in flavor oil stored at 60°C

Compounds	Linear fit equation
Limonene-1,2-epoxide	$y = *1.1181x - 19.8093(0.9985^a)$
Carvone	$y = *0.3319x - 5.8694(0.9936^a)$
Total limonene oxide	$y = *1.4450x - 25.6788(0.9981^a)$

*Formation rate (mg/g flavor oil/day)

^aR-square

술화된 분말에서는 36일 동안 저장하는 동안에는 아무런 변화가 없었으므로 이 기간 내에는 전혀 산화가 진행되지 않았으며, 25°C에 저장한 향유의 경우에는 산화에 의해 생성된 양이 미미하여 GC 분석시 검출되지 않은 것으로 추측된다. 캡슐화된 분말의 경우에는 산화가 전혀 진행되지 않은 것으로 추정되며, β -cyclodextrin이 열에 안정하며 공기 중의 수분도 잘 흡수하지 않은 성질(Hedges *et al.*, 1995) 때문에 이것으로 싸여진 향유는 매우 안정할 것으로 생각된다.

요 약

β -cyclodextrin으로 캡슐화한 분말과 캡슐화하지 않은 유자향유를 저장온도를 25°C와 60°C로 각각 달리하여 36일 동안 저장하면서 향물질의 방출특성을 측정하였다. 유자향유중 가장 많은 성분을 차지하고 있는 d-limonene의 산화물의 GC 정량분석을 통해 안정성을 예측하였다. 향유를 캡슐화하지 않고 그대로 저장한 경우 전체적으로 방출속도가 매우 빨랐으며, 개별 향성분의 각기 다른 확산도와 비슷한 경향의 방출속도를 나타내었고, 향성분의 비율 유지에 큰 영향을 주었다. 반면에, 유자향유를 β -cyclodextrin에 캡슐화한 경우에는 Avrami equation의 방출곡선에 비교적 잘 따르는 결과를 보였고, 개별 성분과 총향유의 방출속도가 모두 크게 감소되었으며 거의 비슷한 경향을 보였다. 향성분의 안정성 실험결과 60°C에서 향유를 그대로 방치한 경우, 향유의 산화가 매우 빠르게 진행되었으며, d-limonene의 산화물인 limonene-1,2-epoxide와 carvone이 향유 1g 당 약 1.12 mg/day, 0.33 mg/day씩 각각 생성되었다. 25°C에 저장한 향유는 산화가 비교적 느리게 진행되긴 했지만 초기 비율과 크게 달라져 향료로서의 가치를 상실하였다. 캡슐화된 분말의 경우에는 산화가 전혀 진행되지 않은 것으로 추측되며, 이것은 β -cyclodextrin이 열에 안정하며 공기 중의 수분도 잘 흡수하지 않은 특징으로 인하여 캡슐화된 유자 모델 향은 매우 안정한 것으로 판단된다. 또한, 저장 동안 5가지 개별 monoterpene의 성분 비율이 초기 비율과 거의 유사한 수준을 보여 5가지 성분 모두 β -cyclodextrin과의 구조적 적합성이 뛰어나 이에 의해 모두 안정하게 보호되고 있음을 알 수 있었다.

문 헌

- Anandaraman, S. and G.A. Reineccius. 1986. Stability of encapsulated orange peel oil. *Food Technology* November: 88-93
- Anandaraman, S. and G.A. Reineccius. 1987. Analysis of encapsulated orange peel oil. *Perfumer & Flavorist* **12**: 33-39
- Avrami, M. 1939. Kinetics of phase change I. *J. Chem. Phys.* **7**: 1103
- Avrami, M. 1940. Kinetics of phase change II. *J. Chem. Phys.* **8**: 212
- Avrami, M. 1941. Kinetics of phase change III. *J. Chem. Phys.* **9**: 177
- Bertolini, A.C., A.C. Siani and C.R.F. Grosso. 2001. Stability of monoterpenes encapsulated in gum arabic by spray-drying. *J. Agric. Food Chem.* **49**: 780-785
- Bhandari, B.R., B.R. D'Arcy and I. Padukka. 1999. Encapsulation of lemon oil by paste method using β -cyclodextrin: Encapsulation efficiency and profile of oil volatiles. *J. Agric. Food Chem.* **47**: 5194-5197
- Bhandari, B.R., B.R. D'Arcy and LT Bich. 1998. Lemon oil to β -cyclodextrin ratio effect on the inclusion efficiency of β -cyclodextrin and the retention of oil volatile in the complex. *J. Agric. Food Chem.* **46**: 1494-1499
- Fowles, I.A. 1995. *Gas Chromatography: Analytical chemistry by open learning.* John Wiley & Sons. England
- Furuta, T., H. Yoshii, T. Kobayashi, T. Nishitarumi and A. Yasunishi. 1994. Powdery encapsulation of d-limonene by kneading time with mixed powders of β -cyclodextrin at low water content. *Biosci., Biotechnol., Biochem.* **58**: 847-850
- Hancock, J.D. and J.H. Sharp. 1972. Method of comparing solid-state kinetic data and its application to the decomposition of kaolinite, brucite and barium carbonate. *J. Amer. Ceram. Soc.* **55**(2): 74-77
- Hedges, A.R., W.J. Shieh and C.T. Sikorski. 1995. Use of cyclodextrins for encapsulation in the use and treatment of food products. In *Encapsulation and controlled release of food ingredients.* ACS symposium series No 590. Risch, S.J., Reineccius, G.A., Eds.; American Chemical Society. Washington D.C.: 61-71
- Pasington, J.S. 1985. Molecular encapsulation with β -cyclodextrin. *British Society of Flavorist, Food Flavoring Ingredients Package Process* **7**: 51-55
- Shiga, H., H. Yoshii, T. Nishiyama, T. Furuta, P. Forssele, K. Poutaneu and P. Linko. 2001. Flavor encapsulation and release characteristics of spray-dried powder by the blended encapsulant of cyclodextrin and gum arabic. *Drying Technology* **19**(7): 1385-1395
- Song, H.S., M. Sawamura, T. Ito and H. Ukeda. 1999. Chemical compositions of the volatile part of yuzu(*Citrus*

- Junos Tanaka*) peel cold pressed oils from Japan and Korea. Flavor and Fragrance journal **14**: 383-389
- Sun, W.D. and P. Davidson. 1998. Protein inactivation in amorphous sucrose and trehalose matrices: effect of phase separation and crystalization. Biochem. Biophys. Acta. **1425**: 235-244
- Szente, L. and J. Szejtli. 1986. Molecular encapsulation of natural and synthetic coffee flavor with β-cyclodextrin. J. Food Sci. **51**: 1024-1027
- Westing, L.L., G.A. Reineccius and F. Caporaso. 1988. Shelf life of orange oil, In Flavor encapsulation, ACS Symposium Series 370; Risch, S.J., Reineccius, G.A., Eds.; American Chemical Society: Washington, D.C.: 110-121