

## 초임계 추출 공정을 이용한 유자 씨에 함유된 Nomilin 추출조건의 최적화

조성길 · 홍주현 · 서상철 · 이보경 · 최용희  
경북대학교 식품공학과

### Optimization of Nomilin Extraction Condition from Citron (*Citrus junos sieb.*) Seed by Supercritical Fluid Extraction

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

Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University

#### Abstract

Supercritical fluid extraction (SFE) has been used to extract the nomilin from citron seeds. The extraction pressure was increased 100 to 300 bar at the interval of 100 bar, at the temperature 40, 60, 80°C and the extracted time 30, 90, 150 min at CO<sub>2</sub> flow rate 2 mL/min. Overall experiments were planned by central composition design and the results were analyzed by response surface methodology to find out the effects of three independent variables such as pressure (X<sub>1</sub>), temperature (X<sub>2</sub>) and time (X<sub>3</sub>) on the yield of nomilin extract (Y). Extraction yields of nomilin were affected by pressure, time and temperature in the decreased order, and the Taylor second order equation was obtained as  $Y = -650.683283 + 11.337258X_1 - 9.569495X_2 + 3.874388X_3 - 0.023381X_1^2 + 0.039897X_2^2 - 0.021832X_3^2 + 0.006699X_2X_1 + 0.007193X_3X_1 + 0.004717X_3X_2$ . The optimum condition for the extraction process was obtained as the extraction pressure of 255 bar, and the time of 117 min at the fixed temperature of 46°C.

**Key words:** citron seed, nomilin, supercritical fluid extraction, optimization

#### 서 론

유자(*Citrus Junos Sieb.*)는 분류학상으로 운향과, 감귤속, 후생감귤아속으로 원산지는 중국의 양자강 상류로서 사천성, 호북성, 운남성 및 티베트 등지에 야생하고 있고 우리나라에서는 제주도를 포함하여 고흥, 완도, 장흥 등 남해안 일대에서 재배되고 있다(Kim과 Kim, 2004). 유자의 국내 생산량은 연간 18,000 M/T에 이르고 있으며 최근 들어 소목의 성장에 따라 그 생산량이 증가하고 있다. 이런 유자는 동의보감 탕액편에 따르면 한방적 가치를 인정받아 위장 장애, 천식, 가래, 식욕 부진 및 동맥경화 등에 효과가 있는 것으로 알려져 이용이 많았었고 민간용법으로도 감기예방을 위한 공급원으로 널

리 알려져 있다(김, 2003). 또한 유자는 비타민 C와 A의 함량이 풍부할 뿐만 아니라 유자의 주요 향기 성분이며 혈압강화 및 항산화 작용을 지닌 limonene (Park *et al.*, 2001), 유자의 주요 쓴맛 성분이지만 발암 억제 작용을 가진 limonoids 화합물(Lam *et al.*, 1994), 항동맥경화, 뇌졸중 예방에 효과가 있는 비타민 P의 활성물질인 hesperidin, carotenoids(Kon and Shimba, 1987) 등 많은 기능성 성분을 함유하고 있다. 그러나 국내 유자에 대한 연구로는 주로 일반 성분(Jung, 1972, 1974), 향기성분(Lee *et al.*, 1987; Kim *et al.*, 1996) 그리고 유자 주스 착즙 방법(Jeong *et al.*, 1994a, 1994b) 등에 대한 연구가 주로 이루어져 왔다.

특히 다량의 씨는 limonoids 화합물 등 많은 기능성 성분이 있을 것으로 기대되나 현재 국내에서 이에 대한 연구는 아직 까지 미비한 실정이다. 감귤류의 씨에 많이 함유되어 있는 limonoids는 운향과와 멀구슬나무과에 존재하는 Triterpene 유도체로

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

서 감귤류에 있어서 쓴맛의 주요 성분으로 가공 시장에 요인이 되긴 하지만 발암 억제 작용을 가진 물질이다. 피부암(Miller *et al.*, 1989), 대장암(Tanaka *et al.*, 2000), 위암(Lam and Hasegawa, 1989) 등 암의 생성 및 성장 억제에 대한 많은 연구가 보고되고 있다. 지금까지 감귤류에서 37종의 limonoids가 분리되어 보고되고 있으며, nomilin은 감귤류의 가장 일반적인 limonoids로 알려져 있다(Kelly *et al.*, 2003).

초임계 유체 추출법은 기체의 임계점보다 높은 온도와 압력 하에 주어진 물질로부터 용질을 추출하는 방법으로 비교적 낮은 온도 범위(40~70°C)에서 수행되므로 끓는점을 이용하여 물질을 분리하는 증류법에 비해 천연물이나  $\beta$ -carotene 같은 열에 불안정한 물질의 추출에 효과적이다. 또한 초임계 유체는 기체와 액체의 물성을 절충한 특수한 물성을 나타내는데, 밀도는 액체의 밀도에 가깝고, 점도는 기체의 점도에 가까우며, 확산계수는 액체의 확산계수보다 약 100배 정도 크게 나타난다. 따라서 용해력과 침투력이 커서 추출 효율이 높고 추출 속도가 빠른 장점을 가지고 있다. 그리고 간단히 온도와 압력을 변화시켜 용해력을 조절할 수 있으므로 목적물을 선택적으로 추출할 수 있으며 용매 추출법보다 사용 용매의 범위가 넓을 뿐만 아니라 사용되는 용매는 미량이므로 잔존 위험이 적고, 제품으로부터 쉽게 분리될 수 있다(Rizvi *et al.*, 1986).

본 연구에서는 건강식품으로 개발 가능성이 있는 유자 씨의 분말로부터 이산화탄소에 의한 초임계 유체 추출 공정을 이용하여 추출 압력, 온도 및 시간이 유자 씨의 주요성분인 limonoids 중 nomilin의 추출에 미치는 영향을 알아보고, 반응 표면 분석에 의한 통계적 분석에 따라 추출 공정의 최적조건을 도출함으로써 이를 산업적으로 활용할 수 있는 기초 자료로 제공하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용된 유자 씨는 2003년 11월에 수확한 것으로 농촌진흥청 원예연구소 남해출장소에서 제공받아 60°C에서 3일간 열풍 건조하여 miller로 분쇄하고 표준망체(40 mesh)를 통과한 분말을 -10°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

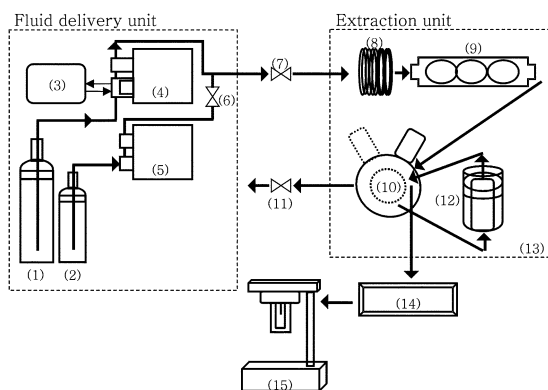
### 용매 추출 공정에 의한 nomilin 추출

초임계 유체 추출 공정과 기존의 용매 추출 공정에 의한 nomilin 추출량을 비교하기 위해 5종류의 용매(methanol, ethanol, acetone, chloroform, pentane)를 온도 40°C에서 용매비 1:10의 동일한 조건에서 환류냉각장치를 이용하여 90분간 추출한 후 시료 무게에 대한 nomilin 함량을 비교하였다.

### 초임계 유체 추출 공정에 의한 nomilin 추출

실험에 사용된 초임계 유체 추출 장치의 모식도는 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-dry 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. 또한 각 추출 조건의 변수인 압력과 온도는 back pressure regulator와 oven에 의해 조절할 수 있도록 제작되어 있다.

Fig. 2는 각각의 추출 조건에 따른 초임계 유체 추출 실험 단계를 나타낸 것이다. 즉, 열풍 건조된 유자 씨 분말 1.0 g을 추출용 vessel에 충전하고 각각의 추출 조건에서 추출하였다. 포집기에 모인 추출물은 사용된 유기 용매를 감압 농축한 후 dichloromethane과 water(1:1) 6 mL로 용해하고 dichloromethane 분액 물을 취하여 완전히 감압 농축시킨 후 2 mL methanol



**Fig. 1. Flow diagram of supercritical extraction system.** (1) Liquid carbon dioxide cylinder, (2) Modifier, (3) Cooling circulator, (4) CO<sub>2</sub> Pump, (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

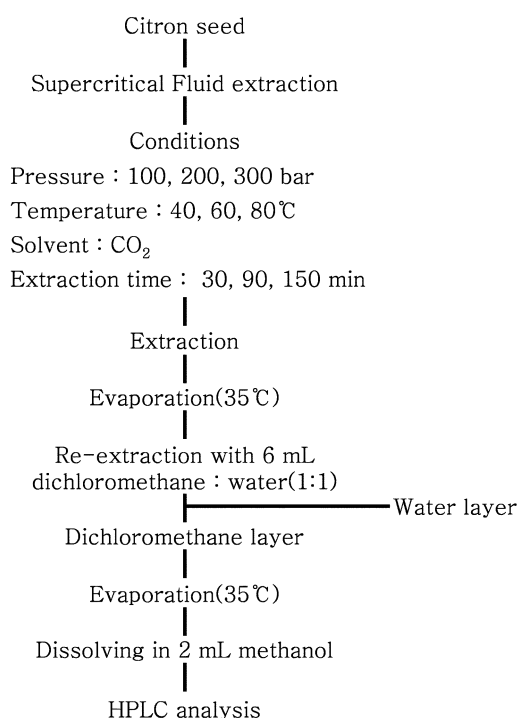


Fig. 2. Flow chart of extraction of nomilin from citron seed by SFE.

에 녹여 0.45 μm membrane filter를 통과 시켜 HPLC로 분석하였다. 이때 HPLC 조건은 Table 1과 같다.

통계적 실험 설계

초임계 유체 추출의 최적 추출 조건을 얻고자 추출조건에 대한 실험 계획을 fractional factorial design을 사용하여 추출 온도, 압력, 시간을 주요 독립변수로 선정하고 실험규모를 3수준으로 부호화하였다(Kang et al., 1992). 이 때 추출 압력 범위는 100, 200, 300 bar, 추출 온도는 40, 60, 80°C, 추출 시간은 30, 90, 150 min으로 하였다. 이와 같이 3변수를 3수준의 일부요인 실험법(fraction factorial experiment)에 의하여 실험 계획을 Table 2와 같이

조합하였다.

다중 회귀 및 반응표면 분석

초임계 유체 추출 공정을 최적화하기 위해 독립(요인) 변수(X<sub>i</sub>)로서 추출 압력(X<sub>1</sub>), 온도(X<sub>2</sub>), 시간(X<sub>3</sub>)을 선정하였으며 종속(반응) 변수(Y)는 nomilin 함량을 선정하였을 때 세 개의 독립변수와 종속변수에 대한 2차 회귀 모형식은 다음과 같다.

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2$$

여기서 b<sub>0</sub>는 절편, b<sub>n</sub>은 회귀계수이다. 회귀분석에 의한 모델식의 예측은 SAS(statistical analysis system) program을 이용하였으며 회귀분석 결과 임계점이 최대점이거나 최소점이 아니고 안장점일 경우에는 능선분석을 하여 최적점을 구하였다.

결과 및 고찰

용매 추출 공정과 초임계 유체 추출 공정의 nomilin 함량 비교

기존의 용매추출 공정과 초임계 유체추출 공정에 의한 nomilin의 추출 효과를 비교한 결과를 Table 3에 나타내었다. 용매 추출에 있어서 methanol, acetone, chloroform을 추출 용매로 사용한 결과 각각 301.56 mg/100 g, 529.11 mg/100 g, 429.99 mg/100 g으로 나타나 비극성도가 높은 chloroform을 사용한 경우가 극성도가 높은 methanol을 사용한 경우보다 그 함량이 높았으며, 양극성 용매인 acetone으로 추출한 실험구가 가장 높게 나타났다. 이러한 기존의 용매 추출과 초임계 유체 추출을 비교하였을 경우 nomilin 함량이 2~3배 정도 더 많이 추출된 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 추출 압력과 온도의 상호작용에 의해 초임계 유체 밀도의 증가에 따른 용해력과 침투력이 커져 추출 효율이 증가한 결과라고 생

Table 1. HPLC conditions for nomilin analysis

	Operating Conditions
Instrument	HPLC(Model 600E, Waters Co. New York. U.S.A)
Column	XTerraTMRP18 5 μm 4.6×250 mm (Waters)
Detector	UV Detector
Absorbance	210 nm
Flow Rate	1.0 mL/min
Mobile phase	water: acetonitril: methanol(49:10:41)
Column temperatruce	35°C
Injection volume	20 μl

**Table 2. Experimental combinations<sup>1)</sup> and data at various extraction pressures, temperatures and times**

Treatments	Pressure(bar)	Temperature(°C)	Time(min)	Actual parameters		
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Presssure(bar)	Temperature(°C)	Time(min)
1	-1	-1	0	100	40	90
2	-1	0	-1	100	60	30
3	-1	0	1	100	60	150
4	-1	1	0	100	80	90
5	0	-1	-1	200	40	30
6	0	-1	1	200	40	150
7	0	1	-1	200	80	30
8	0	1	1	200	80	150
9	1	-1	0	300	40	90
10	1	0	-1	300	60	30
11	1	0	1	300	60	150
12	1	1	0	300	80	90
13	0	0	0	200	60	90
14	0	0	0	200	60	90
15	0	0	0	200	60	90

<sup>1)</sup>Experiments were performed in random order

**Table 3. Comparison of nomilin yield from citron seed by various extraction methods**

Extraction methods	Nomilin content (mg/100 g)
methanol	301.56
Solvent extraction	
ethanol	289.23
acetone	529.11
chloroform	429.99
Supercritical fluid extraction	670.42 <sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Extraction pressure, temperature and time=200 bar/60°C/90 min

각된다.

#### 반응표면 분석

Table 4는 초임계 유체 추출 공정을 이용한 유자 씨에 함유된 nomilin의 최적 추출조건을 알아보기 위해 압력, 온도, 시간의 3개의 독립(요인)변수와 3 수준의 fractional factorial design에 의한 15개의 조건으로 설정된 실험계획과 종속(반응)변수인 nomilin 함량(Y)의 결과를 나타낸 것이다. 대체적으로 압력

**Table 4. Experimental data on nomilin content from supercritical fluid extracts under different conditions based on central composite design for response surface analysis**

Treatment number	Pressure(bar)	Temperature(°C)	Time(min)	Nomilin content(mg/100 g)
1	100	40	90	208.13
2	100	60	30	37.22
3	100	60	150	67.92
4	100	80	90	45.24
5	200	40	30	512.43
6	200	40	150	783.96
7	200	80	30	395.80
8	200	80	150	689.98
9	300	40	90	808.63
10	300	60	30	537.32
11	300	60	150	740.65
12	300	80	90	699.33
13	200	60	90	647.23
14	200	60	90	670.42
15	200	60	90	656.90

**Table 5. Taylor second equations calculated by RSM program for nomilin content**

Responses	Taylor second equations	R <sup>2</sup>	Significance
Nomilin contents	$Y = -650.683283 + 11.337258X_1 - 9.569495X_2 + 3.874388X_3 - 0.023381X_1^2 + 0.039897X_2^2 - 0.021832X_3^2 + 0.006699X_2X_1 + 0.007193X_3X_1 + 0.004717X_3X_2$	0.9859	0.0004

**Table 6. Analysis of variance showing significant effect of processing variables on nomilin contents**

Process variables	DF	Sum of squares	
		Nomilin contents	Pr>F
Pressure (bar)	4	946555	0.0001**
Temperature (°C)	4	30924	0.1690
Time (min)	4	110335	0.0166

\*\*Significant at 1%

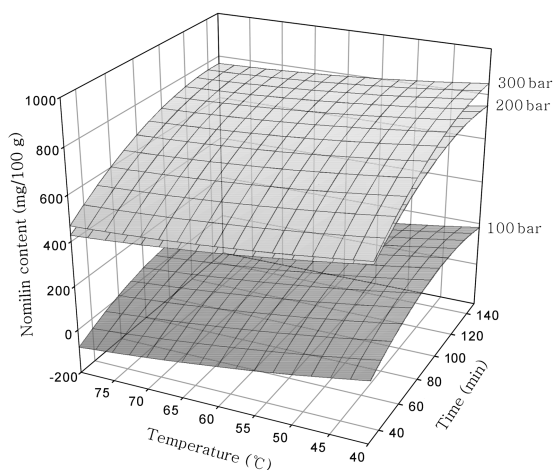
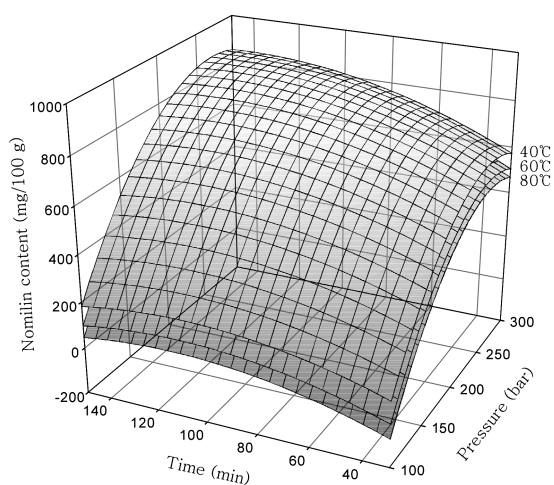
\*Significant at 5%

은 증가할수록 온도는 낮을수록 시간은 길수록 nomilin 함량이 증가하였다. HPLC로 분석한 실측치를 SAS 통계프로그램에 적용하여 회귀분석을 하였으며, 그 결과를 Table 5에 나타내었다. 이때 R<sup>2</sup> 값은 0.9859 였고, 유의성을 나타내는 significance는 0.0004 로 1% 이내의 유의 수준을 나타내어 처리구에 대하여 높은 유의성이 인정되었다. 이들 회귀계수를 이용하여 각 반응변수의 예측과 반응표면을 형성할 수 있었다.

반응변수에 미치는 독립변수의 영향은 Table 6에 나타내었으며, nomilin 함량은 추출 압력( $P < 0.01$ )과 시간( $P < 0.05$ )에 대해서는 유의성이 인정되었으나 추출 온도에 대해서는 유의성이 나타나지 않았다.

다중회귀분석 결과 일차항은  $P < 0.01$ 에서 유의성이 인정되었으나 이차항 및 변수 상호간에는 유의성이 없는 것으로 나타났다. 그러나 도출된 이차회귀식에 의한 반응표면 분석결과 R<sup>2</sup>는 높은 편이었다. 그러나 nomilin 함량은 안장점을 나타내고 있어 최적점이라 할 수 없다. 따라서 능선분석에 의해 coded radius가 중심점인 0에서 1의 범위 내에서 nomilin 함량이 최대가 되는 값의 예측치는 추출 압력 254.90 bar, 추출 온도 46.02°C, 추출 시간 117.50 min 일 때로 나타났으며, 이때의 추출량은 837.49 mg/100 g인 것으로 나타났다.

초임계 유체 추출 조건에 따른 nomilin 함량의 변화 추출 압력, 온도, 시간의 상호작용에 따른 nomilin 함량 변화정도를 Fig. 3, 4와 5에 나타내었다. Fig. 3에서와 같이 각각의 추출 시간과 온도에서 nomilin 함량은 압력이 증가할 수록 전반적으로 증가하였다. 하지만 200 bar보다 300 bar에서의 압력 증가에 따

**Fig. 3. Response surface plot for nomilin contents as affected by extraction time and temperature in SFE.****Fig. 4. Response surface plot for nomilin contents as affected by extraction pressure and time in SFE.**

른 함량 증가 비율이 현저히 감소하는 것을 확인할 수 있는데 이는 Liu *et al.*(2001)이 보고한 cross-over point 현상에 기인된 것으로 생각된다. 즉, nomilin 외의 다른 성분도 시료에 같이 존재하고 있기 때문에 압력이 증가할수록 다른 복합적인 matrix의 추출 능력과 관계되어 시료에 함유되어 있는 각 성분들의 경쟁적 추출이 일어나기 때문이다. 또한 Gopalan *et al.*(2000)이 일정 온도에서 압력의 증가

로 인한 추출 수율은 지속적으로 증가되지 않고 일정 압력 이상에서는 추출 수율이 감소한다고 보고한 결과와도 유사하였다.

온도 변화에 따른 각각의 추출시간과 압력에서의 nomilin 함량 변화는 온도가 낮을수록 증가되었으나 그 차이는 미미하였다(Fig. 4). 이는 Shin *et al.* (2002) 이 피망에서  $\beta$ -carotene을 추출 시  $\beta$ -carotene의 초임계 이산화탄소에 대한 용해도가 낮아 온도의 증가에 따른 초임계 이산화탄소의 용해도 감소가 더 큰 영향을 받기 때문에 온도가 증가함에 따라 추출량은 감소하는 경향을 나타냈다는 보고와 일치하였다. 일반적으로 초임계 유체 추출 시 온도의 상승은 용질의 열전달 및 증기압을 상승시켜 용질의 용해도를 증가시키는 작용을 한다. 하지만 온도의 상승에 따른 초임계 이산화탄소의 밀도는 급격하게 감소됨으로 초임계 이산화탄소의 용해도를 감소시키는 작용을 초래한다고 알려져 있다(정, 1999). 각각의 추출 압력과 온도에서 추출 시간의 증가에 따른 nomilin 함량의 변화는 150 min에서 최대값을 나타내곤 있지만 90분과의 뚜렷한 함량 차이가 발견되지 않았다(Fig. 5). 이는 초임계 이산화탄소와 접촉하는 면적이 커지는 추출 초기에는 추출량이 증가하지만 일정량이 추출된 후에는 입자내부에서 확산에 의해 추출이 이루어짐으로 추출량의 증가폭이 둔화되는 것으로 생각된다. 이러한 결과는 Favati *et al.*(1988)의 초임계 이산화탄소를 이용하여 evening primrose oil을 추출 한 결과와 유사한 패턴이었다. 실험에서 행한 반응변수들의 기울기 경향은 추출

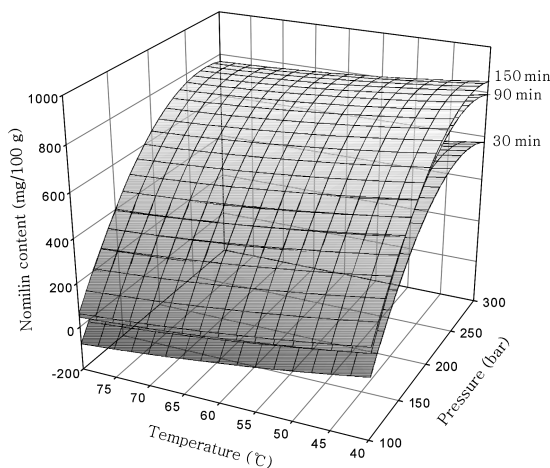


Fig. 5. Response surface plot for nomilin contents as affected by extraction pressure and temperature in SFE.

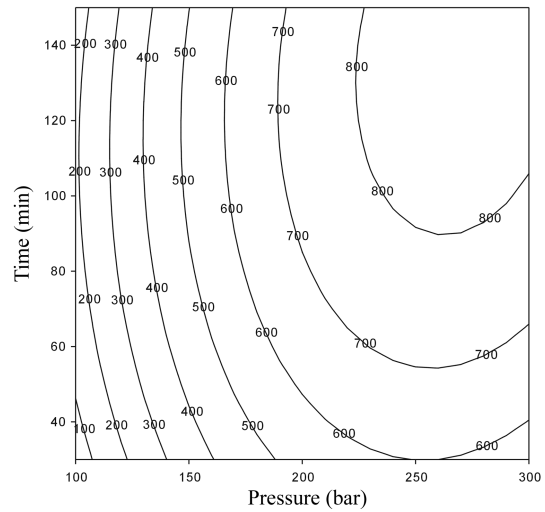


Fig. 6. Contour plot of response for nomilin contents (mg/100 g) under the constant temperature (46.02°C).

압력, 추출 시간이 추출 온도보다 더 큰 영향을 주는 인자임을 알 수 있었다.

#### 최적 조건의 선정

Table 6에서 세 가지 실험변수 중 가장 영향이 적은 것으로 나타난 추출 온도를 중심점으로 고정하고 추출 압력과 시간의 최적 조건을 구하고자 하였다. 중심점에서의 온도를 46°C로 정한 후 추출 압력과 추출 시간만을 변수로 하여 분석을 행한 결과를 Fig. 6에 나타내었다. 추출 시간은 120 min, 추출 압력은 260 bar 부근에서 가장 높은 추출 수율을 나타내었다. 따라서 nomilin 추출 최적조건은 추출 압력 254.90 bar, 온도 46.02°C, 시간 117.50 min으로 결정하였다.

#### 요 약

초임계 유체 추출 공정을 이용하여 유자 씨에서 쓴 맛 성분으로 가공시 장애가 되긴 하지만 생리활성 및 항암 작용에 대한 많은 연구가 보고 되고 있는 nomilin의 최적 추출조건을 구하기 위하여 중심합성계획에 의한 반응표면분석법을 행하였다. 시료에 대한 추출 압력( $X_1$ , 100~300 bar), 온도( $X_2$ , 40~80°C) 및 시간( $X_3$ , 30~150 min)을 요인 변수로 하고 nomilin 함량( $Y$ )을 종속변수로 하여 실시하였다. 조건별 실험결과를 회귀분석을 통하여 3차원 반응표면으로

나타내었다. 반응표면 분석결과  $Y = -650.683283 + 11.337258X_1 - 9.569495X_2 + 3.874388X_3 - 0.023381X_1^2 + 0.039897X_2^2 - 0.021832X_3^2 + 0.006699X_2X_1 + 0.007193X_3X_1 + 0.004717X_3X_2$ 와 같은 회귀식이 도출되었으며 이때  $R^2$ 은 0.9859, 유의성은 0.0004로 높은 유의 수준을 나타내었다. 또한 추출 압력이 가장 큰 영향을 미치는 변수로 나타났다. 요인 변수 중 nomilin 함량에 가장 영향이 적은 온도를 중심점의 조건으로 고정하고 추출 압력과 추출 시간만을 변수로 하였을 경우 추출최적조건은 추출 압력과 추출 시간을 각각 254.90 bar, 117.50 min으로 결정하였다.

## 문 헌

- Favati, F., J.W. King, J.P. Friedrich and K. Eskins. 1988. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of carotene and lutein from leaf protein concentrates. *J. Food Sci.* **53**: 1532-1536
- Gopalan, B., M. Goto, A. Kodama and T. Hirose. 2000. Supercritical carbon dioxide extraction of turmeric (*Curcuma longa*). *J. Agri. Food Chem.* **48**: 2189-2192
- Jeong, J.W., D.J. Kwon, J.B. Hwang and Y.J. Jo. 1994a. Influence of the Extraction Method on Quality of Citron Juice. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**(6): 704-708
- Jeong, J.W., Y.C. Lee, S.W. Jung and K.M. Lee. 1994b. Flavour components of Citron Juice as Affected by the Extraction Method. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**(6): 770-712
- Jung, J.H. 1972. Studies on contents of amino acids in citrus junos sieb. *J. Korean agri. chem. soci.* **15**(2): 170-175
- Jung, J.H. 1974. Studies on the chemical compositions of citrus junos in Korea. *J. Korean agri. chem. soci.* **17**(1): 63-80
- Kang, K.C., J.H. Park, S.B. Baek, H.S. Jhin and K.S. Rhee. 1992. Optimization of beverage preparation from *Schizandra chinensis* bailon by response surface methodology(in Korea). *Korean J. Food Sci. Technol.* **24**: 74-81
- Kelly, C., C. Jewell and N.M. O'Brien. 2003. The effect of dietary supplementation with the citrus limonoids, limonin and nomilin on xenobiotic-metabolizing enzymes in the liver and small intestine of th rat. *Nutrition Research* **23**: 681-690
- Kim, Y.D. and K.J. Kim. 2004. Physicochemical and Sensory Properties of Yuzu(*Citrus junos*) Treated with Enzyme Complex for Removing Bitter Substance. *Korean J. Food Preservation* **11**(1): 38-41
- Kim, Y.E., I.H. Kim, H.M. Kim and Y.C. Lee. 1996. Volatile compounds in Citron (*Citrus junos*) peel extracted by Supercritical Carbon Dioxide. *Korean J. Food Nutrition* **9**(4): 500-503
- Kon, M. and R. Shimba. 1987. Seasonal change in color and carotenid composition of citron and lisbon lemon peel. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* **34**: 28-31
- Lam, L.K.T. and S. Hasegawa. 1989. Inhibition of benzo[ $\alpha$ ]pyrene-induced forestomach neoplasia in mice by citrus limonoids. *Nutr. Cancer* **12**: 43-47
- Lam, L.K.T., J. Zhang and S. Hasegawa. 1994. Citrus limonoid reduction of chemically induced tumorigenesis. *Food Technol.* **11**: 104-119
- Lee, H.Y., Y.M. Kim, D.H. Shin and B.K. Sun. 1987. Aroma components in Korea citron. *Korean J. Food Sci. Technol.* **19**(4): 361-365
- Liu, J., W. Wang and Li, G. 2001. A new strategy for supercritical fluid extraction of copper ions. *Talanta* **53**: 1149-1154
- Miller, E.M., R. Fanous, F. Rivera-Hidalgo, W.H. Binnie, S. Hasegawa and K.T.M. Lam. 1989. The effect of citrus limonoids on hamster buccal pouch carcinogenesis. *carcinogenesis* **10**(8): 1535-1537
- Park, S.M., H.H. Lee, H.C. Chang and I.C. Kim. 2001. Extraction and Physicochemical Properties of the Pectin in Citron Peel. *J. Korean Soci. Food Sci. Nutr.* **30**(4): 569-573
- Rizvi, S.S.H., J.A. Daniels, A.L. Benado and J.A. Zolloweg. 1986. Supercritical Fluid Extraction: Operating principles and Food applications. *Food Technol.* **40**(7): 57-64
- Shin, M.K., J.H. Hong, S.S Hur and Y.H. Choi. 2002. Extraction characteristics of supercritical fluid extraction of  $\beta$ -carotene from red paprika using CO<sub>2</sub> and Co-solvent. *Food Engineering Progress* **6**(4): 301-307
- Tanaka, T., M. Maeda, H. Kohno, M. Murakami, S. Kagami, M. Miyake and K. Wada. 2000. Inhibition of azoxymethane-induced colon carcinogenesis in male F344 rats by the citrus limonoids obacunone and limonin. *carcinogenesis* **22**(1): 193-198
- 김승화. 2003. 유자의 기능성 물질을 이용한 가공적성 향상 방안. 제주농업시험장
- 정재용. 1999. 포도씨의 초임계유체 추출시 추출조건의 변화에 따른 성분변화. 경북대학교 석사 학위 논문