



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

공 학 박 사 학 위 논 문

천연물 시트러스계의 초임계 이산화탄소에
의한 추출과 아로마테라피의 약리효과



2014년 8월

부 경 대 학 교 대 학 원

공 업 화 학 과

임 덕 점

공 학 박 사 학 위 논 문

천연물 시트러스계의 초임계 이산화탄소에
의한 추출과 아로마테라피의 약리효과

지도교수 오 대 희

이 논문을 공학박사 학위논문으로 제출함.

2014년 8월

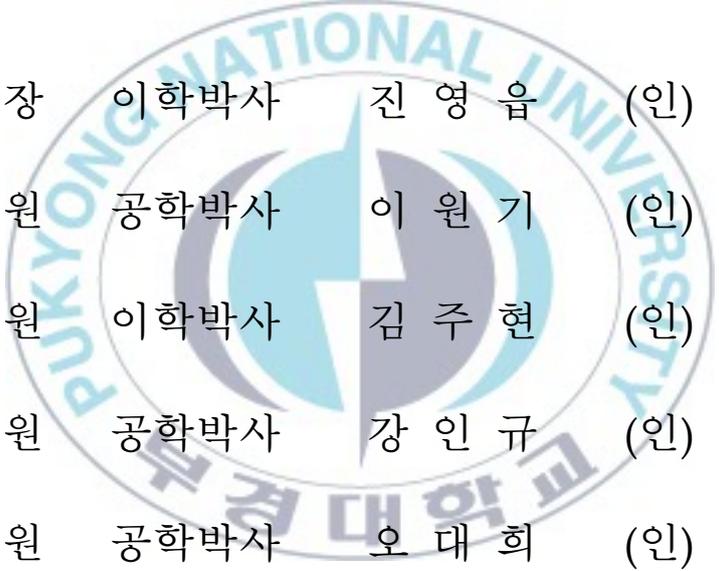
부 경 대 학 교 대 학 원

공 업 화 학 과

임 덕 점

임덕점의 공학박사 학위논문을 인준함

2014년 8월 22일



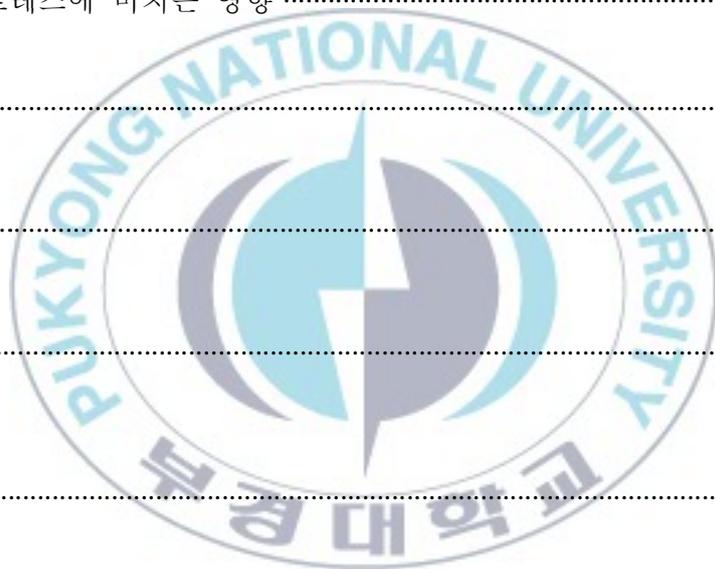
위원장	이학박사	진영읍	(인)
위원	공학박사	이원기	(인)
위원	이학박사	김주현	(인)
위원	공학박사	강인규	(인)
위원	공학박사	오대희	(인)

목 차

Caption of Schemes	iv
Caption of Tables	v
Caption of Figures	vii
Abstract	x
I. 서론	1
II. 연구 배경	4
1. 감귤류 (Citrus.)	4
2. 허브 (Herb)와 아로마테라피 (Aromatherapy)	6
3. 허브와 아로마테라피의 역사	9
4. 아로마 에센셜오일의 추출방법	11
4.1. 증류법 (Distillation)	11
4.2. 냉각 압착법 (Cold pressing)	12
4.3. 용매 추출법 (Solvent extraction)	12
4.4. 냉침법 (Enfleurage)	12
4.5. SC-CO ₂ Extraction	13
5. 아로마 에센셜오일의 성분과 작용	18
5.1. Aldehyde	18
5.2. Terpenes	19
5.3. Alcohols	19
5.4. Oxides	19
5.5. Acides	19
5.6. Esters	20
5.7. Phenols	20

5.8. Ketones	20
6. 아로마 에센셜오일의 인체의 흡수경로	20
7. 라벤더 (Lavender), 티트리 (Tea tree)와 유칼립투스 (Eucalyptus) 주요 효능	23
8. 효과적인 아로마테라피 오일 블렌딩 방법	24
9. 아로마 에센셜오일의 인체에 미치는 영향	25
9.1. 활성산소 (Oxygen free radical)	25
9.2. 항산화제 (Antioxidants)	28
10. 향기흡입과 스트레스에 미치는 영향	30
Ⅲ. 실험	31
1. 재료	31
2. 시료 전처리	31
3. 방법	32
3.1. 추출	32
3.1.1. SC-CO ₂ 추출	32
3.1.2. 유기용매 헥산 soxhlet 추출	34
3.2. Fatty acid methyl esters 조성 분석	34
3.3. 시트러스 추출 오일의 항산화력 시험	36
3.3.1. 총 폴리페놀 함량 시험	36
3.3.2. 총 플라보노이드 함량 시험	37
3.3.3. DPPH 라디칼 소거능 측정	38
3.4. 시트러스의 SC-CO ₂ 추출 오일의 휘발성 성분 분석, 항박테리아 활성과 아로마테라피	38
3.4.1. GC/MS를 이용한 휘발성 성분 분석	38
3.4.2. 항박테리아 활성 측정	41
3.4.3. 향기흡입과 스트레스에 미치는 영향	41

IV. 결과 및 고찰	44
1. SC-CO ₂ 와 헥산추출에 의한 수율비교	44
2. Fatty acid methyl esters 조성 분석	47
3. 시트러스 추출 오일의 항산화력	51
3.1. 총 폴리페놀 함량 시험	51
3.2. 총 플라보노이드 함량 시험	52
3.3. DPPH 라디칼 소거능력	55
4. 시트러스의 SC-CO ₂ 추출 오일의 휘발성 성분 분석, 항박테리아 활성과 아로마테라피	61
4.1. SC-CO ₂ 추출 시트러스 오일의 휘발성 성분분석	61
4.2. 항박테리아 활성 측정	82
4.3. 향기흡입이 스트레스에 미치는 영향	86
V. 결론	91
참고문헌	93
Published Papers	99
감사의 글	100



Caption of Schemes

Scheme 1. Chemical structures of citrus	5
Scheme 2. DPPH scavenging action of antioxidants	27
Scheme 3. Propose mechanism for phenol /DPPH [•] reaction	27
Scheme 4. Propose mechanism for flavonoids/DPPH [•] reaction	28
Scheme 5. Antioxidants mechanism	29



Caption of Tables

Table 1. Comparison of organic solvent and SC-CO ₂ extraction	17
Table 2. Operating conditions used in experiment of SC-CO ₂ extraction	33
Table 3. GC conditions for the detection of fatty acids	35
Table 4. Operating conditions of automatic thermal desorber and GC-MS	40
Table 5. Specification of NEO DINAMIKA-P	43
Table 6. Oils percentage of citrus peel	45
Table 7. Contents of mixture sample oils	45
Table 8. Fatty acid composition of citrus peel oils	48
Table 9. IC ₅₀ value of sample and reference	60
Table 10. The volatile compounds from SC-CO ₂ extraction of CCP oil	63
Table 11. The volatile compounds from SC-CO ₂ extraction of NCP oil	67
Table 12. The volatile compounds from extraction SC-CO ₂ of PTP oil	71

Table 13. The volatile compounds from SC-CO₂ extraction of M CCP oil 75

Table 14. The volatile compounds from SC-CO₂ extraction of MNCP oil 78

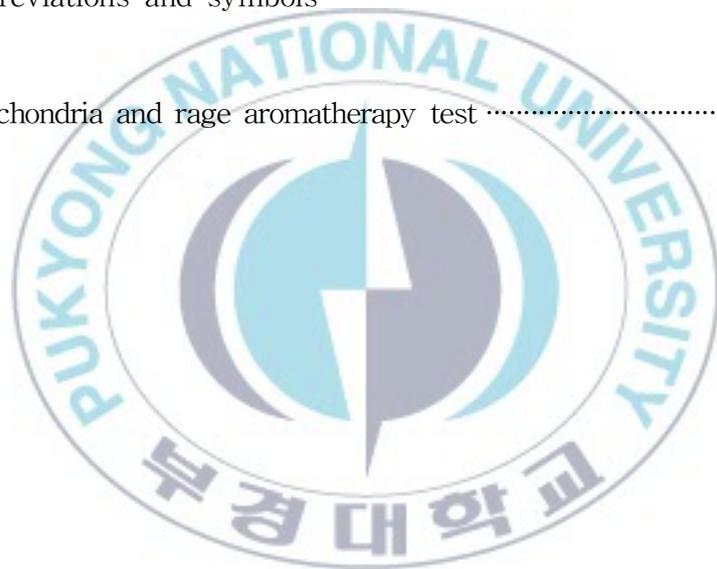
Table 15. The volatile compounds from SC-CO₂ extraction of MPTP oil 81

Table 16. Clear zone of extracted oils in different condition 84

Table 17. Comparative analysis of the antibacterial activities 85

Table 18. List of abbreviations and symbols 89

Table 19. Stress, hypochondria and rage aromatherapy test 90



Caption of Figures

Fig. 1. The phase diagram illustrating the supercritical region above the pressure and temperature	14
Fig. 2. The phase diagram illustrating the supercritical region above the pressure and temperature	14
Fig. 3. Schematic diagram and photograph of SC-CO ₂ extraction process	15
Fig. 4. Comparison of solvent extraction and SC-CO ₂ extraction	18
Fig. 5. Inhalation road of aroma oils	22
Fig. 6. Standard graph of Galic acid for TPC determination	36
Fig. 7. Standard graph of Catechin for TFC determination	37
Fig. 8. Oil contents of citrus peel	46
Fig. 9. Oil contents of mixture citrus peel	46
Fig. 10. Fatty acid composition of CCP oil by SC-CO ₂ extraction and GC analysis	49

Fig. 11. Fatty acid composition of NCP oil by SC-CO ₂ extraction and GC analysis	49
Fig. 12. Fatty acid composition of PTP oil by SC-CO ₂ extraction and GC analysis	50
Fig. 13. Distribution of fatty acid composition of citrus oil by SC-CO ₂ extraction and GC analysis	50
Fig. 14. Total phenolic content of citrus peel oils	52
Fig. 15. Total flavonoid content of citrus peel oils	54
Fig. 16. Total phenolic and total flavonoid content of mixture citrus peel oils	54
Fig. 17. DPPH free radical scavenging activity of NCP by soxhlet apparatus using hexane and SC-CO ₂ extraction	57
Fig. 18. DPPH free radical scavenging activity of CCP oil by soxhlet apparatus using hexane and SC-CO ₂ extraction	57
Fig. 19. DPPH free radical scavenging activity of PTP oil by soxhlet apparatus using hexane and SC-CO ₂ extraction	58

Fig. 20. DPPH free radical scavenging activity of mixture oils by SC-CO ₂ extraction	58
Fig. 21. DPPH free radical scavenging activity of aromatic samples	59
Fig. 22. Total ion chromatograms of volatile compounds identified from SC-CO ₂ extraction of CCP oil	62
Fig. 23. Distribution of volatile compounds from extraction SC-CO ₂ of NCP oil ..	66
Fig. 24. The volatile compounds from extraction SC-CO ₂ of PTP oil	70
Fig. 25. The volatile compounds from SC-CO ₂ extraction of MCCP oil	74
Fig. 26. The volatile compounds from SC-CO ₂ extraction of MNCP oil	77
Fig. 27. The volatile compounds from SC-CO ₂ extraction of MPTP oil	80
Fig. 28. Date color of stress, hypochondria and ragein DINAMIKA	88

Extraction of natural citrus by SC-CO₂ and their
pharmacological effect on aromatherapy*

Deok Jum Lim

Department of Industrial Chemistry, The Graduate School,
Pukyong National University

Abstract

This thesis describes the effect of aromatherapy on the people under stress and the reduction of stress. Natural citrus used are citron peels cultivated (CCP) in Gohong, Natural citron peel in Gohong (NCP) and poncirus trifoliata peel (PTP) were environmentally friendly extracted at 200 bars and 50°C by supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) extraction and hexane extraction. The extracts were evaluated in terms of antioxidant activity, antibacterial activity and anti-stress activity. Fatty acid composition of 3 citrus peel oils was found to have the highest percentage of linoleic acid, cis-11,14-eicosadienoic acid, palmitic acid and oleic acid. CCP oil obtained by SC-CO₂ extraction was about determined by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity were 98%. Aromatic oil contents of tea tree, lavender and eucalyptus determined by DPPH free radical scavenging activity were 83, 78 and 70%, respectively. Total phenolic contents (TPC) obtained from CCP oil by SC-CO₂ and hexane extraction were 560 (mg/100 g) and 520 (mg/100 g), respectively. Total flavonoid contents (TFC) obtained from SC-CO₂ and hexane extraction of CCP oil was 84 (mg/100 g) and 75 (mg/100 g), respectively. Amounts of TPC extracted was larger than that of TFC. Amount of TPC and TFC extracted from the mixture of CCP (MCCP) oil were 300 mg/100 g and 50 mg/100 g, respectively. Mixture of PTP (MPTP), MCCP and mixture of NCP (MNCP) oils showed excellent inhibition activity against bacteria *Staphylococcus aureus* (+).

The Zone of inhibition was in the range of 12 to 16 mm. In addition, MNCP oil showed high inhibition activity against bacteria *Pseudomonas aeruginosa* (-). The number of volatile compound obtained from CCP oils was 68. The major compounds were terpenes (55.8%),

limonene (27.3%), alcohols (15.8%) and linalool (7.3%). MCCP, lavender and eucalyptus blending oil were found to give healing effect of chronic stress, state of tension, depress state, rage and hypochorondria.

As a result, antioxidant activity of CCP oil obtained by SC-CO₂ extraction was most excellent. In addition, MNCP oil obtained by SC-CO₂ extraction showed most good antibacterial activity. MCCP blending oil has a potential to be used for healing of chronic stress, state of tension, depress state, rage and hypochondria. On the other hand, MNCP and tea tree blending oils are expected for use in the area of pimple cosmetics.



* A thesis submitted to the Committee of the Graduate School of Pukyong National University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Engineering in Aug, 2014.

I. 서론

세포와 신체조직에서 주위환경 요소인 온도, 바람과 자외선의 피부조사에 의해 자유라디칼이 생성되어 과산화수소와 같은 활성산소가 증가하고 항산화효소가 감소하여 세포의 파괴, 주름형성, 아토피, 피부염, 피부암 및 여드름 등 인체의 노화를 촉진하고 질병을 유도하고 있다. 노화의 원인으로서는 시간적 흐름에 의한 자연노화 즉 피부의 구조적변화와 생리적 기능이 감소하여 나타나는 노화이고, 자외선이나 외부의 자극 등 산화적 스트레스에 의한 광노화현상으로 콜라겐 및 엘라스틴을 파괴함으로써 주름을 생성하고 멜라닌 생성에 참여하여 피부의 노화를 가속화시킨다.¹⁾ 자외선 (UV), 건조 (drying), 산화 (oxidation)를 피부의 3대 유해요인이라 한다. 스트레스는 superoxide (O_2^-), hydrogen peroxide (H_2O_2), hydroxyl radical (OH)과 singlet oxygen (O_2)등과 같은 프리라디칼의 일종인 활성산소 (active oxygen) 중에 의해 발생된다. 이들을 유해산소라고도 불리며 인체에 손상을 미치는 활성산소이다. 활성산소가 만들어 지는 경로는 산소에서 슈퍼옥사이드가 만들어지고 이 슈퍼옥사이드에서 과산화수소가 생성되고 생성된 과산화수소로부터 하이드록시 라디칼과 싱글렛옥시젠이 만들어진다. 이들은 세포막의 불포화지방산에 작용해서 과산화반응을 통해 체내에 과산화지질을 축적하고 DNA 손상을 유도해서 노화와 성인병과 각종 암을 유발한다.

최근에 기능성 식품과 기능성 화장품분야에서 천연한약재 추출물 중 피부노화와 관련된 연구가 활발히 진행 중에 있다. 천연물에서 얻는 항산화성물질은 대부분 플라보노이드계와 페놀계 화합물로 밝혀지고 있다. Butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT)등과 같은 합성 항산화제의 개발도 되었지만 독성이 있다는 연구 보고가 있어 천연 항산화제 개발이 요구되는 실정이다.¹⁾

플라보노이드계와 페놀계 화합물을 포함하는 천연식물 중 운향과 감귤류에 속하 유자와 탕자가 항산화효과가 크고 항염증효과와 전립선 암세포를 사멸시킨다는 보고

가 있다.²⁻⁵⁾ 유자의 플라보노이드 glycoside의 성분이 항염증 항과민증 멜라닌 생성억제 등의 기능이 확인되었다.⁶⁾ 유자씨 중의 apigenin, naringenin, hesperidin 및 nobiletin 등과 같은 플라보노이드는 대장암 치료 효과가 있다고 보고되었고⁷⁾, 유자오일에 함유되어 있는 limonene, g-terpinene 및 myrcene 등과 같은 monoterpene hydrocarbon의 휘발성분에 대한 연구⁸⁾, 유자 과피 오일의 독특한 방향성분이 6-methyl-5-hepten-2-ol 및 dimethyl trisulfide임을 확인한 연구⁹⁾와 일본산 유자씨에 함유된 limonoid를 분석한 연구¹⁰⁾ 등이 있다. 유자씨에는 bioflavonoid와 limonoid 등의 유효성분을 포함하고 있으며, bioflavonoid는 플라보노이드에 속하는 플라브논으로서 hesperidin, naringin, neohesperidin, quercetin, eriocitrin, narirutin, nobiletin 및 tangeretin 등이 알려져 있다¹¹⁾. Bioflavonoid의 대표 성분인 hesperidin과 naringin은 항산화효과¹²⁾, 발암개시작용 억제효과^{13,14)}, 혈압저하 및 이뇨효과¹⁵⁾, 항균효과¹⁶⁾ 등이 있는 것으로 알려져 있다.

추출 방법에 따라 함유 성분 물질들이 달라지고 수율도 달라진다. 현재 많은 연구들은 유기용매 추출법 (organic solvent extraction), 냉압착 (cold pressing) 추출법¹⁷⁾, 수증기증류(steam distillation) 추출법¹⁸⁾, gas co-distillation¹⁹⁾과 초임계 이산화탄소 (supercritical carbon dioxide) 추출법²⁰⁾ 등을 이용하여 향유성분을 추출하고 식품첨가, 음료, 차, 향내기 등으로 응용 연구하여 왔으며 부분적으로는 한약제로서 사용되기도 한다. 친환경적인 초임계추출법으로 정유를 추출하여 휘발성이 강한 저분자 물질의 향기요법 자연치유 대체요법이 절실히 필요한 실정이다.

아로마테라피란 식물의 에센셜오일을 이용하여 치유와 신체적, 정신적인 웰빙을 향상시키는 전인적인 관리를 의미한다. 스트레스를 받았거나 피로, 만성질환이 있을 때 또는 수술직후 아로마테라피를 적용하면 심신의 건강과 활력 뿐 아니라 미용효과도 향상시킬 수 있다고 알려져 있다. 사람의 감정이나 정서에 좋은 영향을 부여해 줄 뿐만 아니라 신경계 내분비계 및 면역력에 영향을 미쳐 항상성을 유지해주며 현대인들의 스트레스 등 장기간에 걸친 불규칙한 생활 습관에서 비롯되는 보이지 않는 질병의 예방과 치유효과가 뛰어난 대체요법의 하나로서 중요성이 확대되고 있다. 테라피스트들

은 아로마테라피에 사용되는 오일들의 본질과 특성을 제대로 이해하는 것이 매우 중요하다. 아로마 에센셜오일을 이용할 때 적당 배율의 배합은 치료효과의 직접적인 관련이 있을 만큼 매우 중요하다. 또한 치료적 효능을 지니고 있는 물질, 독특한 향기물질을 얻어내어 마음을 편안하게 하고 정신과 신체의 질병을 관리 또는 치료하여 육체적 정신적으로 동일하고 안정적인 상태를 유지하도록 도와주는 것을 말한다. 시너지는 물질들이 화합하는 효과로 치료적 효능이 증가되는 것으로, 에센셜오일이 블렌딩이 잘 된다면 시너지효과에 의해서 고유의 특성들이 더 강화된다.²¹⁾ 에센셜오일은 치유적 특성과 향의 특성을 결정하는 여러 가지 화학적성분의 복합체이며, 대개 알코올, 알데히드, 에스테르, 에테르, 케톤, 페놀과 산화물 등에서 유도된 탄화수소와 산소화합물로 이루어져 있다.²²⁾ 에센셜오일은 화학적으로 많은 화학성분으로 이루어진 화합물이다. 각 에센셜오일의 화학성분은 재배되는 토양, 기후와 환경에 따라 다르게 나타난다. 따라서 같은 식물의 분류에 속하여도 다양한 화학성분을 가진 에센셜오일을 생산하게 되는데, 이를 케모타입 (chemotype)이라 한다. 이러한 케모타입은 각 에센셜오일의 향과 효능을 결정짓는 중요한 자료이다.²³⁾ 에센셜오일의 화학적 구성 성분을 먼저 잘 파악하여야 이에 따른 특성과 효과를 이해할 수 있다. 또한 대부분의 경우에 고객들은 한 가지 이상의 질병증상들을 지니고 있다. 예를 들어 습진, 생리 전 증후군, 스트레스 등의 증상을 가지고 있다면, 이러한 증상에 모두 적합한 에센셜오일을 선택해야 할 것이다. 이러한 이유에서 에센셜오일의 블렌딩은 테라피스트의 직감이 큰 영향을 끼치는 것이 사실이며 구성성분 파악, 특성과 효과를 이해하는 것이 매우 중요하다.

본 연구에서는 재래식추출법인 유기용매 추출법과 친환경초임계 SC-CO₂ 추출법을 이용하여 천연유자, 육성재배유자와 천연탱자의 과피 추출물의 항산화활성, 항균활성, 페놀과 플라보노이드 함량분석, 지방산 분석, 향기성분 분석을 하였다.

효과적인 추출을 위해서 시트러스의 과피, 씨앗과 해바라기씨앗을 혼합 추출하여 향기성분의 휘발을 방지하고 향기포집효과를 높였다. 시트러스계 오일의 재배 환경에 따른 케모타입 효과로서의 화학적 특성과 티트리, 라벤더, 유칼립투스오일과의 블렌딩으로 스트레스, 화병, 지나친 걱정, 우울증과 무기력증의 아로마테라피 효과를 검토하였다.

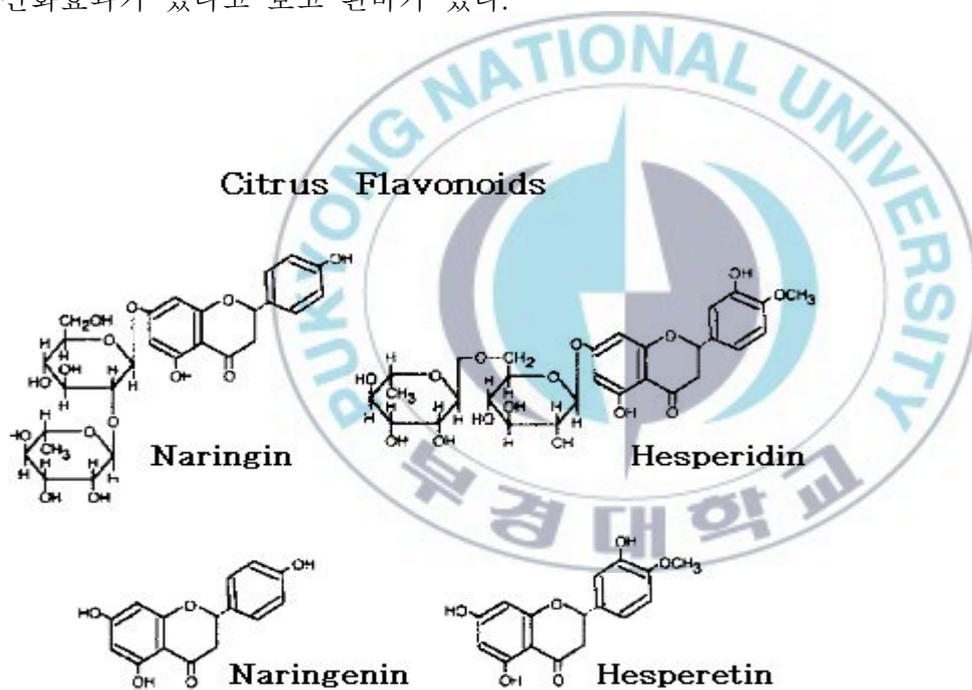
II. 연구 배경

1. 감귤류 (Citrus)

운향과 감귤류 속에 속하는 유자 (citron, citrus junos)는 상록관목으로서 양쯔강 상류가 원산지로서 한국 중국 및 일본등지에서 재배되고 있으며 우리나라에 전해진 시기는 확실치 않다. 유자나무는 일반감귤에 비해 내한성 및 내건성이 강하여 겨울철 온난한 남부지역인 제주도, 남해, 고흥, 장흥, 통영, 거제 등 남해안 일대에서 재배되고 있다. 국내 유자 생산량이 증가되나 수확기간이 짧고 저장성이 낮아서 소비가 생산량 증가에 미치지 못하고 있는 실정이다. 1970년대부터 1980년대까지는 일반적인 성분분석의 연구들이 되어졌고 1990년 이후는 유자 착즙액의 제조과정에 따른 품질변화와 가공방법에 관한 연구보고가 많았고 2000년대에서 부터는 감귤류의 기능성 생리활성에 관한 연구가 보고되었으나 국내에서는 유일한 Yoo 와 Hwang 의 연구가 있었다.²⁴⁾ 최근에 연구들은 항노화 항암발생억제 관련한 superoxide anion radical의 소거작용, nitrosamin 생성의 전구물질인 아질산염 분해 작용에 효능이 있는 물질의 탐색에 관하여 주로 이루어졌으며 향장효과에는 많은 연구결과가 없는 실정이다.²⁵⁾

우리나라 남해안인 제주도 남해 고흥 완도 거제 통영 등을 중심으로 생산되는 유자 (Citrus junos)는 특유의 향과 비타민 C 카로티노이드 무기질 구연산등의 함량이 높고 향이 강하여 다류 소재로 주로이용 되어왔다. 과육과 과피를 이용할 수 있는 장점을 가진 과실로 감귤류에 60여종의 생리활성 물질 중 가장 함량이 높은 것은 미숙과 꽃 외피 등에 다량 함유되어있는 플라보노이드 화합물이다. 한방약과 생약의 원료로 이용되고 있는 감귤류의 60여종의 플라보노이드가 분리된바 있으며 감귤류 특유의 플라브논을 함유하여 이들의 기능성에 대한 평가도 여러 가지 있으며

감귤 특유의 구성 성분 중 생리적 기능성물질인 플라브논 유도체인 hesperidin과 naringin, aglycone 플라보노이드인 hesperetin과 naringenin 있다. flavanone 유도체 중에서 hesperidin과 naringin은 체내에서 장내 당가수분해로 aglycone 형태인 hesperetin과 naringenin으로 전환 흡수되어 생리활성 되며 기능성 연구에서 항산화 작용 고지혈증 억제작용 지방간 억제 등이 보고되고 있다.²⁶⁾ 과채류에 다량 존재하는 천연물질인 플라보노이드 등은 프리라디칼 소거능력이 많으며, 항알러지, 항암성, 항바이러스성, 항염증성 등 다양한 생리기능을 가지고 있는 것으로 관심도가 높으며, 플라보노이드 등의 구조에 따라 항균성 항산화성 물질을 갖고 있는 것으로 보고되고 있다. 특히 감귤 과피의 naringin이 항균작용이 있다는 보고가 있으며, 감귤류 플라보노이드 중에서 aglycone 플라보노이드인 hesperetin에서 가장 강한 항산화효과가 있다고 보고 된바가 있다.^{1,16)}



Scheme 1. Chemical structures of citrus flavonoids.

감귤류의 향기성분에 관한 연구는 1958년 Bernhard²⁷⁾가 lemon oil로 부터 gas partition chromatography를 이용하여 5개 향기물질들을 밝혀낸 것을 시작으로 1979년 Philip E. Shaw²⁸⁾가 감귤류 정유성분에 관한 정량적 고찰이라는 연구에 이르기까지 수많은 연구가 이루어 졌으나 탕자 (Trifoliate orange)에 관한 연구는 1966년 Scora²⁹⁾등이 식물학적 분류를 위해 탕자정유 성분을 연구하였고 탕자의 학명은 Poncirus trifoliata로서 국내에서는 경기 이남에 널리 분포하고 있으며 감귤류는 수성과 내성이 강하다는 보고가 있다.³⁰⁾ 1989년 gas co-distillation 추출법으로 향기추출 후 GC/Retention Index (RI), GC/MS 분석으로 향기를 분석한 결과보고가 있다. 탕자는 주로 한약재로 쓰이며 특히 향기가 좋아 옛 부터 유자와 함께 거실의 공기를 향기롭게 하는데 사용하였다는 연구가 있다.¹⁹⁾

유자 정유의 향기가 심리적으로 편안함과 이완의 효과를 주어 스트레스완화 효과가 큰 것으로 나타났다. 특히 뇌파에서 편안상태에서 집중을 할 수 있는 Upper Alpha 값이 크게 증가를 하고 자율신경계 (HRV)에서 각성 및 스트레스를 증가시키는 LF값과 MHR 값이 현저히 감소한 것은 유자 정유가 향 심리 효능 면에서 편안상태에서 집중과 학습능률 또는 업무상의 효율을 증진시킴과 동시에 진정작용과 스트레스 완화 효과가 있는 것으로 평가되었다.³¹⁾

2. 허브 (Herb)와 아로마테라피 (Aromatherapy)

허브는³²⁾ 푸른 풀을 의미하는 라틴어 “허바 (herba)”에 어원을 두고 있으며 일반적으로 줄기가 연하고 목질이 없는 식물로서 향기를 내는 소위 ”향기 나는 풀“을 의미한다. 따라서 허브란 향기 식물 중에서 일년초 이년초 다년초 같은 초본식물을 지칭한다. 허브는 수 천 년 동안 인간생활과 밀접한 관계를 유지해왔는데, 일상생활 속에서 향신료 또는 방향제, 질병치료제를 위한 약용 등으로 매우 다양하게 사용되어왔다. 허브 중 일부는 목욕할 때 또는 미용의 목적으로도 널리 사용되고 있다. 허브의 주성분은 탄수화물, 무기염류, 지방산, 글리세롤, 사포닌, 탄닌, 비타민, 알칼로

이드 등이 주성분이다. 아로마테라피 (aromatherapy)는³³⁾ 향 즉 나무, 꽃, 잎 자연의 힘을 이용해 몸과 마음에 긍정적 효과를 얻어내는 자연 치유력을 이용한 치료법이다. 아로마테라피의 '아로마 (aroma)'는 그리스어 '향신료 (spice)'에서 파생된 말로 일반적으로 향을 의미하고, '테라피 (therapy)'는 '치료(theatment)'의 의미를 가진다. 여기서 치료는 전인적인요법을 의미하며 전통적인 의료의 관점에서 벗어나 대체요법의 향기요법으로 자연치료법이다. Price & Price (1995)는 '식물에서 추출한 에센셜오일을 증상이나 질병을 완화시키거나 치유하기 위해 제공하는 처치이다'라고 하였고³⁴⁾, Worwood (1991)은 '향기 나는 식물이나 나무들의 정유들을 이용하여 신체의 건강과 마음의 평정을 돕는 다방면의 치유예술(multif aceted healing) 이다'라고 하였다.³⁵⁾ 아로마테라피 방법은 투여방법에 따라 흡입법, 마사지법, 피부 도포법, 목욕법, 습포법, 복용법 등 여러 가지 종류가 있다. 이 중 마사지법은 임상에서 비교적 짧은 시간 내에 효과적이면서도 간단하게 사용할 수 있는 방법으로 피부마사지는 아로마오일을 사용하여 마사지함으로써 근육을 자극하고 이완시키며 혈액과 림프액의 순환을 증진시킨다. 제대로 된 마사지는 몸을 이완시키고 피로를 풀어주며 정신을 맑게 하는데 효과적이다. 향균, 진통 및 피부를 따뜻하게 해주며 살균작용을 하는 탄화수소와 향균, 항염, 면역강화를 하는 알코올, 진정효과, 혈압강화, 해열작용이 있는 알데히드, 거담효과를 주는 케톤, 에스테르, 옥사이드 등의 비교적 분자량이 작은 간단한 물질들로 이루어져 있어 휘발성이 높을 뿐만 아니라 체내에 흡수되는 속도가 매우 빠르다. 향기요법은 휘발성이면서 독특한 향을 발산하는 에센셜오일 성분을 후각이나 피부를 통해 인체에 흡수시켜 신체와 정신의 향상성을 유지, 촉진하며 신체와 정신의 부조화를 개선하여 건강을 유지하고 증진시키기 위한 자연요법이다.³⁴⁾ 향기요법은 부교감신경을 활성화시키고 교감신경의 활성화를 억제하면서 동시에 자율신경계의 균형을 유지하는 효과가 있어 자율신경계 불균형 관련 증상을 완화시키는 효능³⁶⁾과 에센셜오일을 인체에 흡수시켜 인간의 대뇌 기능과 호르몬 대사에 작용하여 면역기능을 향상시키고 스트레스 질환, 내부 장기 기능의 이상을 바로잡는 등 신체기능을 정상화하고³⁷⁾ 에센셜오일의 특성은 에스테르, 옥사이드 등의 비교적 분

자량이 작고 휘발성이 높으며 체내에 흡수속도가 매우 빨라, 에센셜오일의 흡수시간과 효과가 최대로 나타나는 시간은 사용한 에센셜오일에 따라 다르지만 일반적으로 3분 이내에 혈액 내에서 측정된다.³⁸⁾ 에센셜오일은 적절히 이용되었을 때 피부에 대한 알레르기 반응이 없고 몸에 축적되지 않으며 간에서 대사되어 대부분 소변으로 배설되고, 일부는 호흡, 땀, 땀구멍을 통해서 몸 밖으로 배출되는 장점이 있어 흡수된 후 정상인인 경우 평균 3-6시간, 비만이거나 환자인 경우에도 14시간 정도면 모두 배출되고, 이뇨작용, 젖산의 축적과 노폐물의 축적 제거, 호르몬의 작용을 원활하게 해준다.

따라서 블렌딩은 아로마테라피의 창의적인 영역이며, 아로마테라피스트의 많은 임상에 의한 경험과 직관이 조화를 이루어야 좋은 결과를 낸다. 아로마테라피의 영역에서 에센셜 오일의 블렌딩에 대한 엄격한 규칙은 없다. 그러나 에센셜오일을 블렌딩 할 때에는 항상 오일의 향을 염두에 두어야 하는데, 이는 고객이 선호하는 향긋한 향을 이용하는 것이 더욱 효과적이기 때문이다. 또한 블렌딩에 선택된 오일은 고객의 상태에 적합한 오일이어야 한다. 테라피스트는 고객의 신체적, 정서적 상태를 정확하게 파악하는 것이 무엇보다 중요하며, 이를 통해 고객에게 효과적인 블렌딩을 창조하여야 한다. 아로마오일은 각각이 가지고 있는 특유의 성질로 인하여 한 종류의 오일만 사용했을 때에 비해 오일을 블렌딩하여 사용했을 때에 시너지 효과가 월등하다.

정유된 다양한 오일 종류만도 100 종에 이르고 효능 및 효과는 인체에 흡입된 정유의 분자는 세포 외액, 혈액, 림프, 임파액 등의 체액을 타고 전신을 돌면서 비정상적인 세포들을 정상화시키고는 체외로 배설된다. 이와 같이 식물에서 추출한 정유 (Essential oil) 속에는 “생명력과 치유력”이 있다는 사실이 오랜 임상경험을 통하여 확인되고 치유기전에 대한 설명이 널리 알려지고 있다.

3. 허브와 아로마테라피의 역사

아로마테라피 역사²²⁾를 보면 석기시대나 청동기시대와 같은 선사시대이전부터 벽화유물 등에서 추정가능 하다. 고대 사람들이 질병에 걸렸을 때 병을 마귀가 가져다준다고 생각하여 병마라고 불렀고 이 병마는 신기한 향기를 두려워한다고 믿어 질병을 치료하기 위해 또는 전염병이 유행하는 지역에 마귀를 쫓아내기 위해 주술적인 용도로 향기식물을 채집하여 뿌리기도 했다. 동서양을 막론하고 고대 사람들은 천재지변인 홍수 및 가뭄의 기상변화가 신의 노여움 때문이라고 생각하고 그 노여움을 풀어주기 위해 신에게 제사를 지내는 주술사나 제사장들이 향기식물을 태워 향기가 하늘로 올라가게 하고 향기 즙을 짜서 제사장의 몸에도 발라 자신의 육체와 정신을 청결히 하고 신에 대한 경건한 자세를 갖추었다고 한다. 그 당시의 향기는 영혼뿐만 아니라 몸과 마음을 조절해 주는 작용을 하는 것으로 생각하였다.

아로마의 최초의 기록은 고대인도 페르시아 이집트의 문헌에서 볼 수 있다. 기원전 3950년 이집트에서 올리브의 열매를 압착하여 얻은 식물유가 개발되었다. 고대 인도에서는 백단향 (sandalwood), 몰약 (myrrh), 계피 (cinnamon), 생강 (ginger)등이 질병치유와 종교의식에 쓰였다. 몰약은 성경에 예수님이 탄생할 때 질병예방을 위하여 동방박사들이 선물로 준 것과 예수님이 십자가에 죽고 무덤에 묻힐 때 니고데모가 향유를 함께 묻었다는 기록이 있다. 기원전 4세기에는 고대 그리스의 의학자 히포크라테스 (BC 460~370)에 이르러 사람을 4가지 기질로 분류하였고 체계적인 기질이 마련되었다. 이때 많은 질병치유의 식물들을 체계적으로 기술하였다. 서기 261년 고대 로마 네로황제는 펜넬, 세이지, 로즈마리, 백리향과 같은 향기식물의 종자수집기록과 또 이시기에 1600명을 수용할 목욕탕에서 아로마오일을 즐겼다는 기록이 있다. 고대 그리스 로마의 몰락으로 중세 암흑기시대 이후 르네상스 시작이후 12세기에 이슬람교도를 정벌하고 돌아온 십자군이 동양의 진귀한 향기물질, 즉 향료를 함께 가져왔고 순수한 아로마오일을 추출해 낼 수 있는 증류법도 유럽에 소

개되었다. 아랍인들이 냉각장치를 연구하여 이것이 현대적 개념의 증류법 도입이다. 이슬람문화의 발전으로 알코올 및 증기기술 발전으로 에틸알코올이 아로마오일을 녹이는 획기적인 방법으로 쓰이게 되었다. 1370년 최초의 향수 “헝가리워터”는 로즈마리오일을 에틸알코올에 녹여 만든 것으로 헝가리의 어떤 수도사가 엘리자베스 여왕께 바치기 위해 만든 향수로 유명하다. 당시 엘리자베스가 신경통으로 고생을 했는데 이 향수로 인해 건강을 찾고 아름다움을 유지하여 72세 나이에 폴란드 국왕으로부터 칭혼을 받았다는 기록이 있다. 1560년경부터 프랑스남부에 “그라스(Grasse)” 지방에서 향기식물이 본격적으로 재배되기 시작하였다. 18세기에 들어서 아로마오일에 주목하게 된 프랑스는 현재 세계 제1의 향수문화에 직결되는 아로마오일 연구에서 시작되었다. 19세기 무렵 아로마오일은 과학적으로 화학성분을 분석하게 되었고 질병치료에 향기물질의 인체에 미치는 작용이 일부 과학적으로 증명되기 시작하였다. 1800년 말~1900년대 초에 화학이 발달하면서 화학자들이 아로마오일의 화학적 특성을 밝혀내게 되었으나 19세기말에 과학의 발달로 현대과학과 합성과학의 발달로 저렴한 가격으로 의약품이 대량생산되면서 아로마테라피에 대한 관심이 서서히 막을 내리게 되었다. 그러나 20세기에 들어오면서 식물의 특성성분을 모방한 화학 합성물질이 부작용이 많다는 사실로 다시 아로마테라피에 대한 인식이 부각되기 시작하였다. 1973년 프랑스의 화장품 화학자 “르네모리스 가테포스(Rene-Maurice Gattefosse)”가 아로마테라피에 대한 책을 저술하면서 아로마테라피에 대한 관심이 새롭게 떠오르게 되었다. 현재 통용되는 아로마테라피라는 용어는 이때 만들어진 것이다. 당시 가테포스는 실험실에서 연구도중 화상을 입었는데 급히 치료제를 찾던 중 라벤더오일 통이 있어 그 통에 손을 집어넣어 통증이 완화되고 화상이 빨리 치유되었다고 알려져 있다. 아로마오일은 단일성분보다 두 개 이상의 섞여진 혼합물이 더 우수한 치료효과를 나타내는 것으로 알려져 있다. 그 뒤 프랑스의 장 발레 (Jean Valet)라는 의사가 제2차 세계대전 때 부상당한 병사들을 클로브 (Clove), 백리향 (thyme), 카모마일 (chamolole)등의 아로마오일로 치료하여 효과를 봄으로써 그 효능이 임상적으로 입증되기 시작하였다. 향기가 정신질환

증상을 완화시킨다는 사실도 입증되었다. 그 뒤 장발레의 연구가 미용을 연구하던 여사에 의해 이어졌는데 이 연구를 통하여 개인의 특성과 피부상태에 적합한 아로마오일을 처방하여 미용마사지를 실시하여 그 결과 피부미용에 탁월하다는 결과를 얻었다. 1950년대에 최초로 영국에서 아로마테라피를 이용한 피부미용법이 소개되었다. 1960년대에 다원화사회로 과도한 정신적인 스트레스로 신체기능을 저하시키고 각종질병의 주요원인으로 아로마테라피는 피부미용 뿐만 아니라 신경정신과 등과 의학적인 분야에 이르기까지 대체요법의 한분야로 행하여지게 되었다.

4. 아로마 에센셜오일의 추출방법

식물의 향기를 즐기는 가장 손쉬운 방법은 살아있는 식물의 특정부위에 코를 직접 맡는 것이다. 그러나 향기식물을 계절별로 또는 지역별로 자라는 시기가 다르고 그대로 사용하기에 불편하므로 인류는 식물에서 향기성분을 추출하는 방법을 찾게 되었다. 식물의 향기성분은 대개 식물의 뿌리, 꽃, 잎, 줄기, 껍질, 종자, 과실 등의 세포중에 있는 작은 오일 주머니에 미량의 오일이 존재한다. 아로마오일을 추출할 때 어떤 부분을 사용 할 것인가가 중요하다. 아로마오일에 쓰이는 향기식물은 유기농법이거나 야생인 것이 좋다.³²⁾

4.1. 증류법 (Distillation)

뜨거운 물이나 수증기를 이용하여 식물의 세포벽을 깨고 아로마오일을 추출하는 방법으로 일정온도 이상이 되면 식물의 세포벽이 깨어져 향기물질이 증발하는데 이 증발된 향기물질을 다시 냉각시키면 액체상태의 아로마오일을 얻을 수 있다. 수증기증류법은 대량으로 아로마오일을 얻어낼 수 있는 장점이 있으나 고온에서 일부 열에 의해 불안정한 성분이 파괴되는 단점이 있다. 일반적으로 이로마테라피의 목적으로 수증기증류법에 의해 얻어진 것이 대부분이다.

4.2. 냉각압착법 (Cold Pressing)

식물의 과실류 특히 감귤류의 껍질 등을 직접 압착하여 아로마오일을 얻어내는 방법으로 레몬, 오렌지, 라임, 그레이프프룻과 같은 감귤류의 향기성분을 얻는데 이용된다. 압착할 때 향기성분의 파괴를 막기 위해 감귤류의 껍질을 냉각 후 압착하므로 “냉각 압착법”이라고 한다.

4.3. 용매추출법 (Solvent Extraction)

휘발성 용매 추출법으로 헥산이나 석유에테르 같은 휘발성용매에 식물의 꽃을 일정기간 냉암소에 침적하여 향기성분을 녹여내는 방법으로 솔벤트법이라고도 한다. 향기성분을 우려낸 후 농축하면 보통왁스 성분의 고형물이 얻어지는데 이것을 콘크리트라고 하며 이 콘크리트에 에틸알코올을 가하면 왁스는 녹지 않고 아로마 오일만 녹여 나온다. 여과하여 농축하면 에틸알코올에 용해된 아로마오일만 남게 되는데 이를 앵솔루트 (absolute)라고 한다. 대개 자스민, 장미와 같이 아로마오일의 함량이 매우 적은 식물 또는 수지 등에서 아로마오일을 효율적으로 추출 할 수 있다. 그러나 최종으로 얻어진 앵솔루트에 소량의 유기용매가 잔존 할 수 있다는 단점을 가지고 있다.

4.4. 냉침법 (Enfleurage)

과거로부터 고대 이집트 시대에 많이 사용되어져온 전통적인 방법으로 오늘날은 그다지 이용되지 않고 있는 방법으로 손쉽게 시도해볼 수 있는 방법이기도하다. 먼저 동물이나 식물의 지방유를 유리판위에 바른 후 그 위에 꽃잎을 올려 배열하고 24시간 마다 꽃을 제거하여 바꾸며 몇 주간 시행하고 나서 지방유에 향기물질이 포화될 정도로 얻어지는데 이렇게 얻어진 물질을 포마드 (pomade)라고 부른다.

Pomade No 36 이라면 36회 흡수조작을 반복하여 얻어진 고농도의 포마드이다. 보통 자스민의 경우 8~10주간 필요하며 보통 향수나 정발제 두발화장품에 쓰여지고 아로마오일을 순수하게 추출하기도 한다. 이때 추출 용매 역시 에틸알코올이 사용되며 이를 증발시키면 앵솔루트가 된다.

4.5. SC-O₂추출법 (Supercritical carbon dioxide)

미국, 일본 및 독일 등 선진외국의 화학 산업 분야에서 새로운 관심을 모우고 있는 신 분리 기술로 초임계상태란 유체고유의 임계점이상에서 압력과 온도에서 기체상과 유사한 확산계수 점도 등의 전달 물성을 갖고 액체상과 비슷한 밀도를 갖도록 조절시켜 놓은 양면성상태의 유체를 말한다.^{20,39,40)} Fig. 1 (17)에서와 같이 이산화탄소에 대한 압력 및 온도변화에 따른 유체의 상거동을 이산화탄소에 대한 임계점 ($T_c=31^\circ\text{C}$, $P_c=7.38\text{ MPa}$)보다 높은 영역에서 초임계 이산화탄소에 의한 추출이 이루어진다. 이 영역에서는 온도와 압력의 변화에 따라 유체의 밀도가 크게 변화는 영역이므로 추출조건에 따라 용질의 용매에 대한 용매력이 크게 달라진다. 임계점에서는 액체와 기체간의 경계가 없어지고 임계점 이상의 온도와 압력에서는 기체와 액체를 구분할 수 없어 초임계 유체라고 칭하며 Fig. 2와²⁰⁾ 같이 초임계유체는 온도가 상승함에 따라 기체에 가까워지고, 압력이 증가함에 따라 밀도가 상승하여 액체에 가까운 성질을 갖는다. 일반적으로 초임계유체를 이용한 추출은 임계온도보다 약간 높은 온도에서 고압으로 수행함으로써 선택적인 용매효과를 크게 얻을 수 있지만 압력의 상한선은 적용하는 물질에 따라 제한을 받는다.^{20,39,40)}

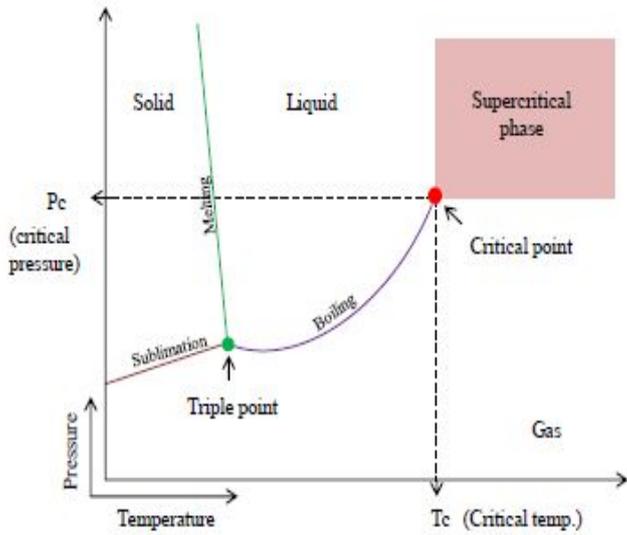


Fig. 1. The phase diagram illustrating the supercritical region above the pressure and temperature.

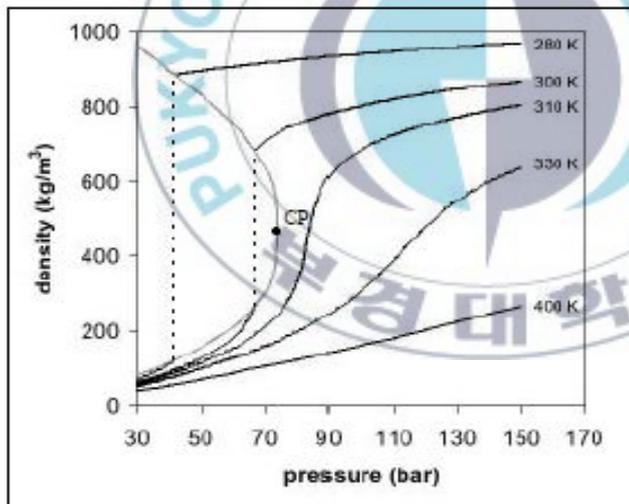


Fig. 2. The phase diagram illustrating the supercritical region above the pressure and temperature.

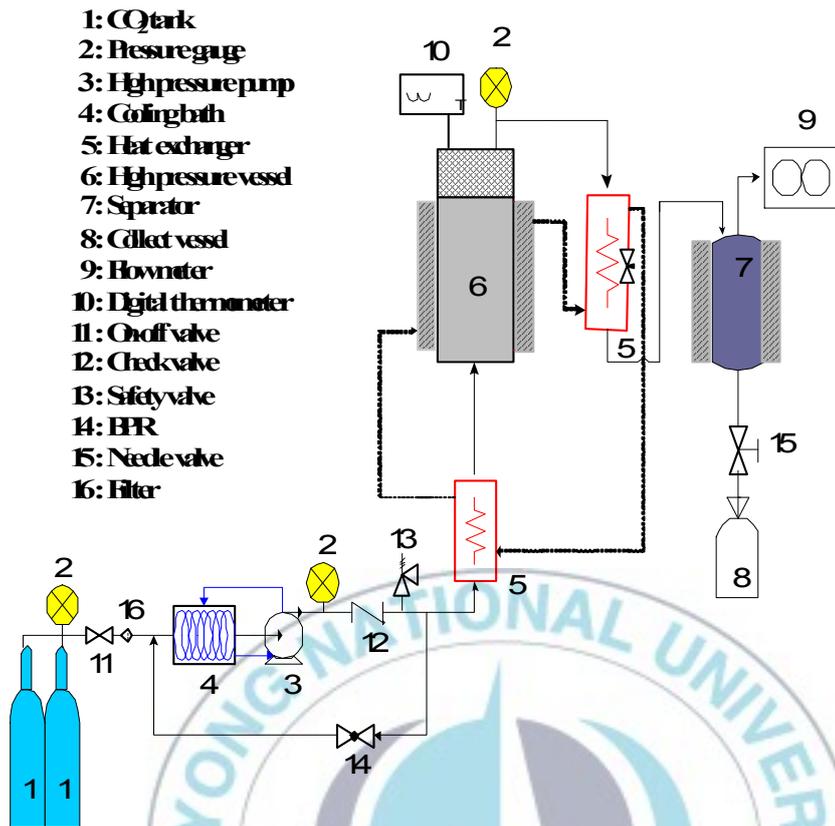


Fig. 3. Schematic diagram and photograph of SC-CO₂ extraction process.

초임계유체 (supercritical fluids)를 이용한 분리공정을 Fig. 3에 나타내었고²⁰⁾ 재래식 분리공정에서 야기되는 문제들 (공정의 복잡성, 용매회수의 어려움, 불순물 혼입에 의한 제품 품질저하, 유기용매에 의한 환경오염 등)을 해결할 수 있을 뿐만 아니라 유용물질의 기능성물질의 고유물성을 유지시켜 기존의 재래식공정에서 발생하는 기능성물질의 변성에 대한 문제점을 해소할 수 있다. 특히 초임계유체에 대한 비휘발성 성분의 용해도는 유체의 밀도에 비례하므로 혼합물질에 존재하는 비휘발성 성분을 추출하는 공정에 초임계추출법이 적용될 경우 천연물질로부터 기능성물질을 분리하는데 유용하다.²⁰⁾ 초임계유체추출법은 기존 분리기술방법들 (증류, 흡수, 흡착, 침출, 막 분리 등)에 비해 에너지비용이 경제적이고 또한 분리효율이 우수하며 선진국들의 초임계유체추출에 대한 수준 높은 공업적 응용기술은 위에 제시된 응용분야의 결정적 기여를 했다. 임계조건하에서 추출되는 공정이 식품산업 및 의약품산업에 적용될 때 추출되는 성분의 초임계유체에 대한 용해도에 관한 연구가 발표되었으나 적용범위가 매우 좁으며, 추출속도에 영향을 주는 인자에 대한 연구 및 유체의 물성에 대한 이론적해석이 부족한 실정이다. 특히 고압하에 존재하는 기체는 온도와 압력변화에 따라 물리적 성질인 밀도, 점도, 확산계수 등이 크게 달라지므로 온도와 압력을 주요 실험변수로 하여 추출할 경우 천연물질로부터 기능성물질의 회수효율은 크게 달라질 것으로 예상된다. Table 1과 Fig. 4와 같이 초임계이산화탄소는 무독성, 무반응, 용매의 완전회수, 단순공정에 의한 경제성 등의 장점을 가지고 있다.

Table 1. Comparison of solvent extraction and SC-CO₂ extraction

	유기용매, 가열 기술	초임계 유체 기술
단점	- 공정의 복잡성, 조업시간 장시간 소요	
	- 고유 물성 파괴: 제품 품질 저하	- 초기 설비비용
	- 잔존 용매 및 용매 회수 어려움	- 공정의 제한적 응용
	- 과다 에너지 비용 - 환경문제 유발	
장점		- 단순공정, 조업시간 단축
		- 기능성 물질 추출 수율 향상
	- 풍부한 공정 설계 자료 - 단순 노동 인력 확보 용이	- 비열처리에 의한 고품질 제품 생산
		- 용매 회수 및 재사용 - 환경 친화적





Fig. 4. Comparison of solvent extraction and SC-CO₂ extraction.

5. 아로마 에센셜오일의 성분과 작용

식물이 가지는 향기성분은 탄화수소와 산소가 포함되어 있는 화합물로 아로마오일에는 수백가지의 구성성분들로 이루어져 있으며 살아있는 식물체에서 그대로 뽑은 것만이 가질 수 있는 것으로 현대과학으로 이런 복잡한 향을 만들 수 없으며 천연향이 주는 생동감이나 작용 및 효과 면에서 비교할 수 없다. 아로마오일의 구성성분의 대표적인 물질은 다음과 같다.³²⁾

5.1. Aldehyde

항염증, 진정효과, 혈압강하, 해열작용, 피부염증, 혈관수축, 동맥압 낮추고 제라니알 (geranil), 시트로네랄 (citronellal), 신남알데히드 (cinnamaldehyde), 벤즈알데히드 (benzaldehyde), 노난알 (nonanal) 등이 대표적이다.

5.2. Terpenes

향균, 진통, 피부를 따뜻하게 해주며 박테리아 곰팡이 퇴치와 바이러스 살균작용을 한다, 장기간 사용 시 피부 자극을 일으키는 단점이 있다. 베르가못, 그레이프프룻, 레몬, 네놀리, 펜넬 등에 함유된 리모넨 (limonene)이 대표적이다. 카모마일오일의 카마줄렌 (Chamazulene)은 이중결합이 5개인 불포화 탄화수소계 물질로 2개의 고리를 형성하고 있다.

5.3. Alcohols

항염, 향균, 면역, 이노강화 작용을 나타낸다. 라벤더, 네놀리, 일랑일랑, 로즈우드 오일의 리나놀 (linalool), 네놀리의 네롤 (nerol), 로즈의 제라니올 (geraniol), 제라늄의 시트로넬롤 (citronellol)이 대표적이다. 네롤과 제라니올은 화학식은 동일하나 구조식이 다른 이성질체이다.

5.4. Oxides

거담작용, 점액질 묽게 희석시켜 폐와 기관지를 깨끗이 한다. 유칼립투스, 티트리, 로즈마리에 함유된 시네올 (cineole)을 들 수 있다. 시네올은 박하 비슷한 냄새의 무색액체로 특히 유칼립투스에 많이 함유되어 있는 유칼립톨이라고 한다.

5.5. Acides

유기산계로서 항염증, 염증완화, 진통작용이 우수하여 발열을 내리는 효과가 있으며, 네놀리의 페닐 아세트산 (phenylacetic acid), 벤조인, 일랑일랑의 벤조산 (benzoic acid)등이 대표적이다. 안식향에서 얻었다고 하여 “안식향산”이라고도 한다.

5.6. Esters

피부의 부작용이 적으며 과일 향취를 내며 자스민, 일랑일랑 오일에 함유된 벤질아세테이트, 라벤더, 유칼립투스, 마조람의 제라닐아세테이트, 베르가못, 클라리세이지, 라벤더, 자스민, 네놀리의 리나릴아세테이트 등이 대표적이다.

5.7. Phenols

강력한 살균작용으로 박테리아 곰팡이 제거와 면역력 강화작용에 우수하다. 타임의 티몰(thymol), 신나몬에 함유된 유게놀(eugenol)이 대표적이다. 알코올계와 마찬가지로 수산기를 갖는 물질이므로 페놀계의 물질도 화학명에 “-ol”이 붙는다.

5.8. Ketones

항응고, 진정, 점액질 제거에 효과를 내지만 잠재적 독성이 강하다. 즉 중추신경마비, 낙태, 간질 등을 유발 할 수 있다. 측백엽의 투존(thujone)은 케톤화합물에서 가장 위험한 것으로 낙태, 신경변, 경련 등을 유발한다. 페니로얄(pennyroyal)이라는 아로마오일에 함유된 풀레곤(Pulegone)은 임신 부에게 유산의 원인이 되는 것으로 알려져 있다.³²⁾

6. 아로마 에센셜오일의 인체의 흡수경로

아로마오일은 피부관리에 광범위하게 쓰이는 것은 물론 화상, 여드름, 염증 등의 치유에도 쓰이고 있다. 우리는 스트레스를 받았거나 피곤할 때 또는 피부가 거칠어졌을 때 아로마오일을 사용하여 심신의 건강과 활력뿐만 아니라 미용효과도 높일 수 있다. Fig. 5와 같이 아로마오일은 대개 피부를 통하거나 호흡기를 거쳐 폐를 통해 체내로 흡수되는데, 이때 흡수

된 아로마오일의 분자들은 혈관으로 들어가 온몸으로 퍼져 비정상적인 세포들을 정상화시키고 최종적으로 체외로 배설되는 경로를 거치게 된다. 또한 코의 후각신경을 통해 대뇌신경계에 향기에 대한 정보가 전해진다. 대뇌신경계는 감정을 조절하고 자율신경이나 호르몬의 중추가 있는 부분이므로 후각 신경을 통해 전해진 향기 신호의 영향으로 몸과 마음의 질병이 치유되는 것이다.³²⁾



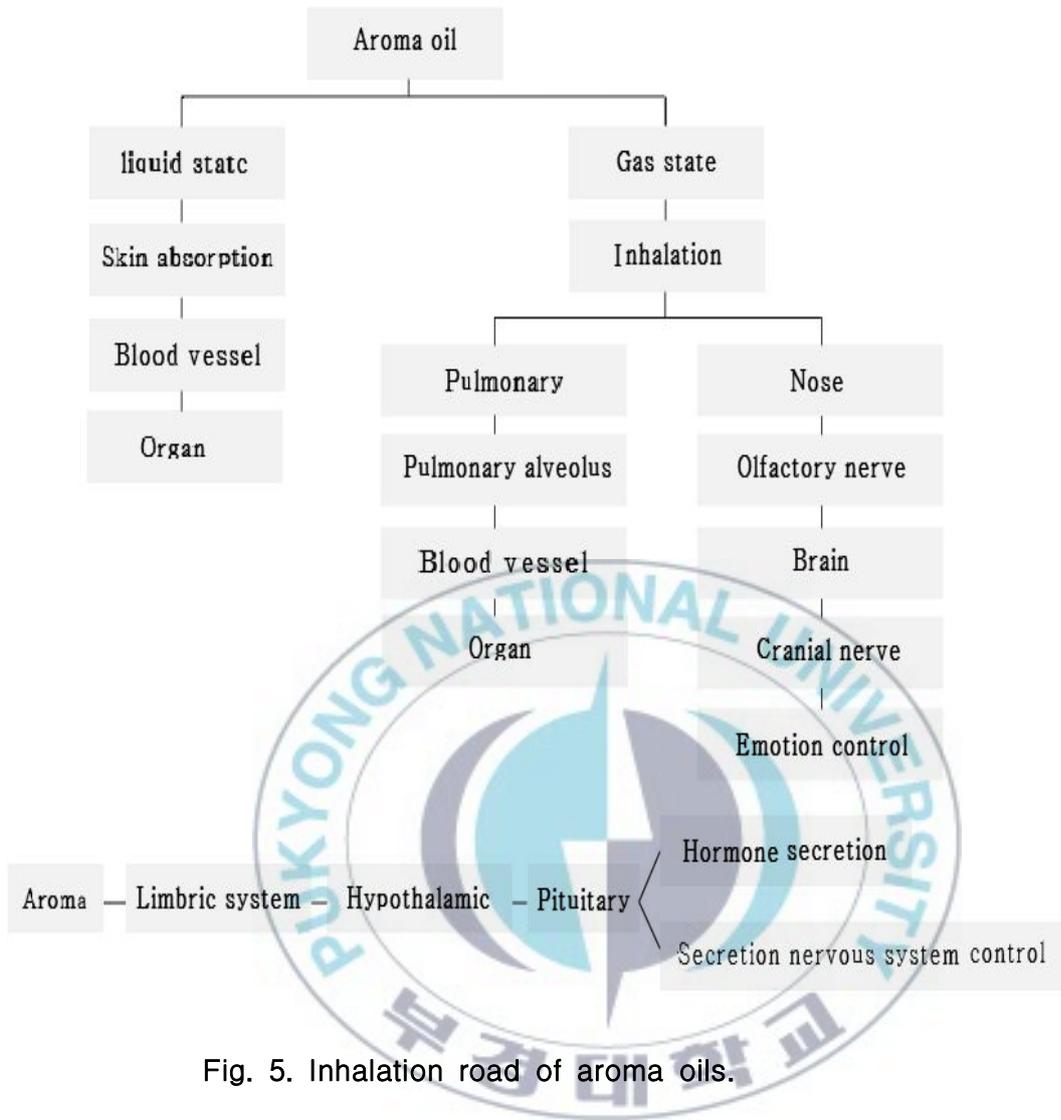


Fig. 5. Inhalation road of aroma oils.

7. 라벤더 (Lavender), 티트리 (Tea tree)와 유칼립투스 (Eucalyptus) 주요 효능

유칼립투스는 강력한 거담작용이 있어 천식 환자에게 효과적이며 흡입법과 복부 마사지로 폐활량 증가에 대한 연구보고도 있다. 강력한 살균효과도 있어서 벌레퇴치, 감기환자나 관절염 등에 사용되어진다. 흔히 향기요법에 사용되는 종으로는 유칼립투스 글로부루스 (eucalyptus globulus)가 있다. 오스트레일리아가 원산지로 잎에서 아로마 에센셜오일을 추출한다. 강력한 천연 방부작용을 하여 흡입법, 램프확산법, 목욕법, 마사지법 등에 이용한다. 감정을 고조시키고 에너지를 증가시키는 정신기능 자극효과가 있어 알 수 없는 이유로 기분이 처지는 현상을 없애주고 항상 생기 있는 기분을 유지시켜 준다. 열, 감기, 목감기, 인후염, 부비강염, 천식 등 각종 호흡기 장애를 막아주는 효과가 있어 가글링이나 흡입법, 램프확산법, 목욕법, 도포법 등으로 응용한다. 종기나 여드름, 지성 피부에 효과적으로 작용하고, 항염증 작용이 있어 부어오르거나 통증이 뒤따르는 근육통, 류머티즘, 관절염 등에 좋다. 단, 고농도로 사용할 경우 혈관으로 스며들면 신장을 자극 할 수도 있으므로 반드시 희석하여 사용하는 것을 원칙으로 한다. 고혈압이나 간질 환자에게는 사용을 금해야 한다. 광범위한 박테리아, 바이러스 감염 치료제, 해열제, 해충제로 사용되는 특징이 있다.³²⁾

라벤더는 향기요법에 사용되는 종으로는 라반둘라 오피시널리스 (lavandula officinalis) 또는 라반둘라 안구이스티폴리아 (lavandula anguistifolia)가 있다. 허브의 여왕이라 말할 수 있는 라벤더는 꽃을 주로 이용하고 잎, 줄기, 식물 전체가 향기를 지니고 있다. 마른 꽃은 향이 더욱 진하고 오래 가는 것이 특징이다. 심신을 진정시키며 몸 전체의 신진대사를 향상시켜 현대인이 앓고 있는 스트레스, 두통, 불안, 불면증을 가라앉힐 뿐 아니라 방충 효과 및 살균, 소독, 방부, 항염 작용이 뛰어나다. 이탈리아의 주부들은 라벤더 수풀위에 빨래를 널어 말려 그 향기가 옷에 스며들게 한다고 한다. 라벤더의 잎, 꽃, 줄기에서 추출하며 전문적인 향기요법 외에 화장품이나 비누에

향기를 첨가하는 재료로 사용된다. 라벤더는 주로 유럽의 병실에서 공기를 깨끗이 하고 살균 작용을 하는 용도로 사용되어 왔으며, 특히 프랑스의 프로방스 지방은 라벤더의 주요 생산지로 유명하다. 목욕물에 몇 방울의 라벤더 오일을 떨어뜨려 사용하면 스트레스와 긴장을 완화시켜 주며, 은은한 라벤더 향은 숙면을 도와준다.³²⁾

티트리 오일은 멜라루카라고도 하며 무자극 무독성이며 살균제로서 페놀보다 11~13배 강하다. 교통사고 등 오염된 상처에 오염물을 흐트러지게 하며 상처조직은 신선해지고 본래 색을 가지게 된다. 향미생물, 항진균, 방부, 살균, 살충등 원액을 피부에 바를 수 있으며 살균, 소독 작용이 강하며, 여드름 치유에 효과적이다. 흔히 향기요법에 사용되는 종으로는 멜라루카 알터니폴리아 (*melaleuca alternifolia*)가 있다. 오스트레일리아가 원산지로 유칼립투스과와 비슷하지만 그보다 더 부드러운 향이 특징이며, 의외로 방부 효과만큼은 강력하다. 박테리아, 바이러스, 곰팡이 제거 등에 효과적이어서 방충제 역할도 하며, 독성이 없고 알레르기 등 부작용을 일으키지 않는다. 종기, 발진해소, 햇빛에 그을린 피부를 진정시키는 기능, 화상, 사마귀, 비듬 등 모든 피부과 영역에서 고르게 사용된다. 특히 독성이 없어 기저귀 발진 등에 사용할 수 있다. 입 안에 궤양이 생기거나 설사, 위염 치료를 필요로 할 때 간단한 가글링이나 스팀법, 마사지법 등으로 효과를 볼 수 있다. 좀 더 구체적인 기능을 살펴보면 백혈구의 활동을 증가시켜 독소를 몸 밖으로 배출하며, 독감, 열, 치주염을 제거해 주고 재발되는 바이러스, 곰팡이 균 제거에 효과적이다.³²⁾

8. 효과적인 아로마테라피 오일 블렌딩 방법

먼저 대상자와의 상담 및 평가를 통해 대상의 상태를 파악한다. 둘째, 대상자의 상태에 따라 에센셜오일을 선정할 때 에센셜오일의 화학적 성분, 휘발성, 향과 캐리어오일을 고려하여야 한다. 셋째, 아로마테라피의 다양한 적용방법 중 대상에게 가장 효율적인 방법을 선택하고 홈 케어방법을 동시에 제공한다. 넷째, 에센셜오일의 비율은 3%를 넘지 않게 블렌딩하는 것이 안전하고, 주의가 요구되는 에센셜오일을 고려한다. 에센

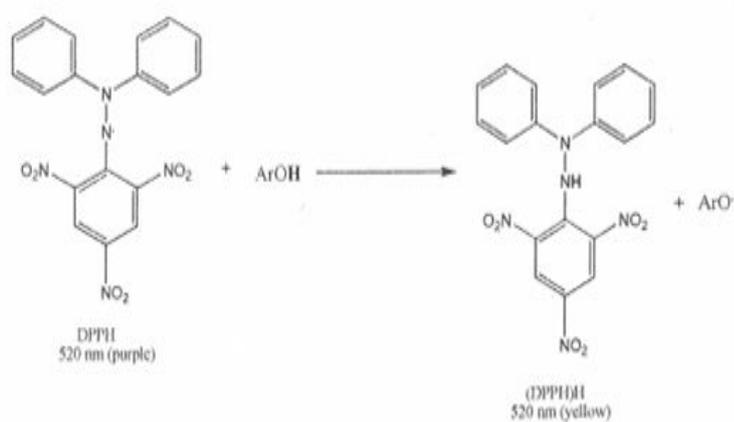
설오일이 인체 내에서 약리학적 효과를 지닌다는 것을 고려할 때, 과도한 용량은 부작용을 초래할 수 있다. 마지막으로 아로마테라피는 향기로운 향을 통한 관리방법이다. 따라서 블렌딩을 할 때에는 먼저, 선정된 싱글 오일들을 대상에게 향 테스트를 하여야 하고, 블렌딩 한 오일도 적용 전에 반드시 향 테스트를 해야 한다. 대상이 선호하지 않는 향은 아로마테라피의 효과를 감소시킨다. 이런 경우에는 블렌딩의 향을 교정하여야 한다.³³⁾ 아로마테라피 마사지를 적용할 때 천연 식물성 오일인 캐리어오일을 사용한다. 이 때 블렌딩 비율은 캐리어오일 총 양에서 2~3%의 에센셜오일을 혼합하고, 대상자가 노약자이거나 매우 민감한 피부를 지녔을 때에는 1%로 사용하는 것이 일반적이다. 캐리어오일로 미네랄오일을 사용하는 것은 부적합하며, 순도가 높은 식물성오일을 사용해야한다. 아로마테라피에 사용되는 캐리어오일에는 스위트아몬드오일 (sweet almond oil), 그레이프씨드오일 (grapeseed oil), 호호바오일 (jojoba oil), 홋점오일 (wheatgerm oil) 등 그 종류가 다양하며, 불포화지방산과 비타민 등을 다량 함유하고 있어서 피부에 효과적이다. 따라서 캐리어오일 자체가 피부에 개선효과를 갖는것을 선택하는 것이 좋으며, 냄새나 질감, 가격을 고려하여 블렌딩에 사용할 캐리어오일을 선택한다. 또한 캐리어오일의 종류에 따라 점도에도 많은 차이가 있어서 피부 타입에 적당한 종류를 선택한다. 오일의 점도나 가격을 고려할 때 일반적으로 그레이프씨드오일과 스위트아몬드오일을 주로 사용하고, 그 외의 캐리어오일은 점도가 높아서 소량을 위의 오일에 혼합하여 블렌딩 한다.⁴²⁾

9. 아로마 에센셜오일의 인체에 미치는 영향

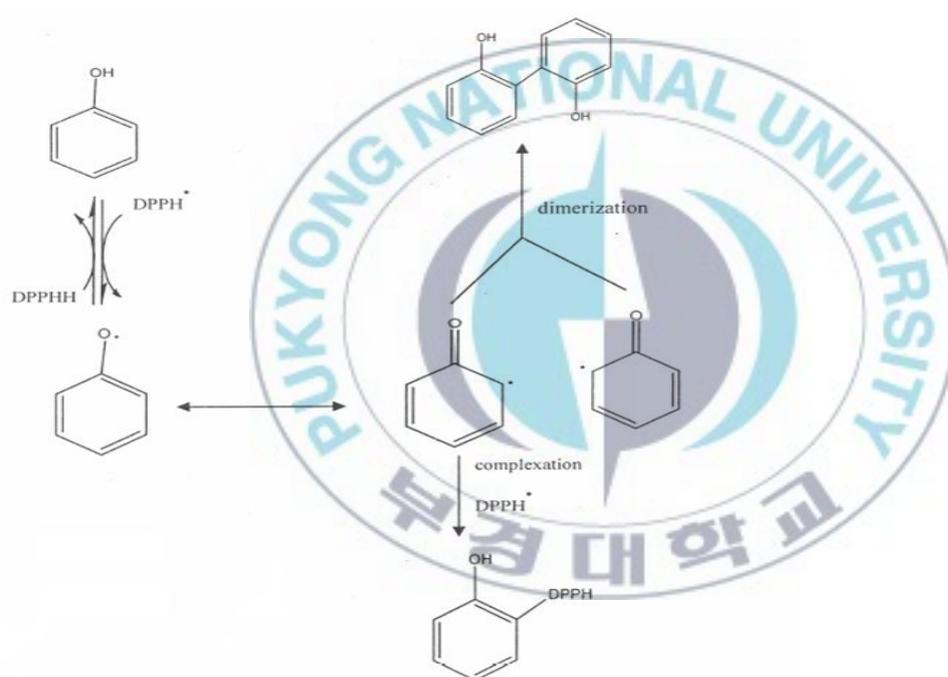
9.1. 활성산소 (Oxygen free radical)

활성산소의 정의는 유해산소라고도 한다. 우리가 호흡하는 산소와는 완전히 다르게 불안정한 상태에 있는 산소이다. 환경오염과 화학물질, 자외선, 혈액순환장애, 스트레스 등으로 산소가 과잉생산된 것이다. 이렇게 과잉 생산된 활성산소는 사람 몸속에서 산화작용을 일으킨다. 이렇게 되면 세

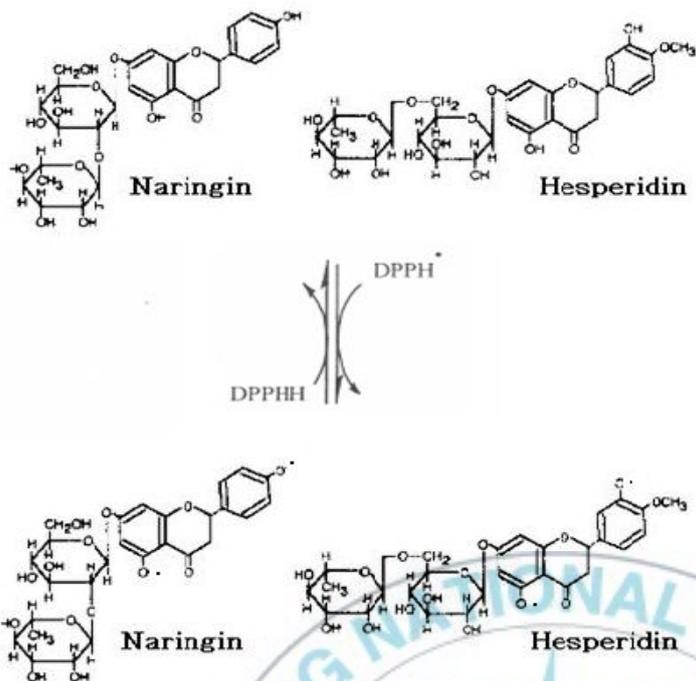
포막, DNA, 그 외의 모든 세포 구조가 손상당하고 손상의 범위에 따라 세포가 기능을 잃거나 변질된다. 이와 함께 몸속의 여러 아미노산을 산화시켜 단백질의 기능 저하도 가져온다. 그리고 핵산을 손상시켜 핵산 염기의 변형과 유리, 결합의 절단, 당의 산화분해 등을 일으켜 돌연변이나 암의 원인이 되기도 한다. 또한 생리적 기능이 저하되어 각종 질병과 노화의 원인이 되기도 한다. 그러나 활성산소가 나쁜 영향을 주는 것만은 아니다. 병원체나 이물질을 제거하기 위한 생체 방어 과정에서 산소, 과산화수소와 같은 활성산소가 많이 발생하는데, 이들의 강한 살균작용으로 병원체로부터 인체를 보호하기도 한다. 현대인의 질병 중 약 90%가 활성산소와 관련이 있다고 알려져 있는데, 구체적으로 그러한 질병에는 암, 동맥경화증, 당뇨병, 뇌졸중, 심근경색증, 간염, 신장염, 아토피, 파킨슨병, 자외선과 방사선에 의한 질병 등이 있다. 따라서 이러한 질병에 걸리지 않으려면 몸속의 활성산소를 제거하면 효과적일 수 있다. 활성산소를 없애주는 물질인 항산화물에는 비타민E, 비타민C, 요산, 빌리루빈, 글루타티온, 카로틴 등이 있으며 자연적인 방법으로 섭취하면 큰 효과가 있다. 자외선이 피부에 조사되면 과산화수소와 같은 활성산소가 증가하고 항산화 효소가 감소하여 1차적으로 superoxide anion이 만들어지고 superoxide dismutase에 의해 hydroxy peroxide로 전환된다. 형성된 과산화수소는 철 구리 등의 금속이 있을 때 반응성이 높은 hydroxyl 라디칼로 전환된다. 만들어진 hydroxy 라디칼은 Raf, protein tyrosine phosphatase (PTPs), MEKKI 등을 통한 tyrosine kinase 신호전달 과정을 활성화 시킨다.⁴³⁾ 자외선에 의해 생성된 활성산소종이 피부에 효소적 비효소적 항산화 방어체계 불균형으로 피부의 산화상태 쪽으로 기울어지면 세포 성분이 손상되어 주름을 생성시키는 원인물질로 알려져 있다. 피부 조직에서 발생한 라디칼을 효과적으로 제거 해준다면 피부노화를 예방을 할 수 있다. 인체에 직접 라디칼 제거 실험을 할 수 없으므로 라디칼 소거능 측정방법으로 DPPH를 이용하여 실험한다. 그 라디칼 반응의 메카니즘을 scheme 2에 나타내었고, 폭넓게 사용되고 있다.⁴³⁾ 추출물의 DPPH 라디칼 소거능 측정은 추출물의 항산화 효능을 간단히 확인하거나, 식물추출물 중 페놀이나 플라보노이드는 항산화성 물질과 인체나 유지류의 라디칼 소거능의 항산화 원료들을 비교하기에 적합한 실험방법으로 비교적 짧은 시간에 결과를 알 수 있고 간단한 실험법이다.⁴⁴⁾ Scheme 3과 scheme 4는 시트르스계의 유자의 페놀과 플라보노이드의 항산화 능력 메카니즘을 나타낸 것이다.



Scheme 2. DPPH scavenging action of antioxidants (ArOH).



Scheme 3. Proposed mechanism for phenol / DPPH reaction.

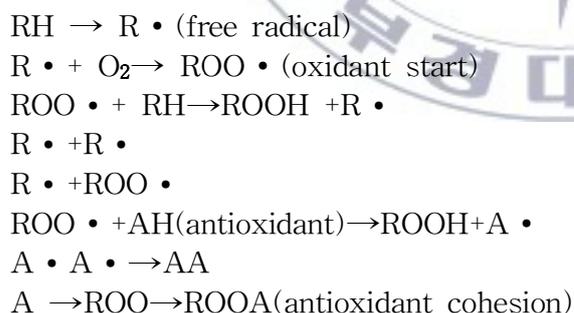


Scheme 4. Propose mechanism for flavonoids/*DPPH*[·] reaction.

9.2. 항산화제 (Antioxidants)

Scheme 5는 화장품에 사용되는 기름이나 왁스등의 물질이 공기중의 분자상 산소를 흡수하여 자동 산화를 일으키게 되는데 이것을 방지하는 물질을 산화방지제라고 하며 그 메카니즘을 Scheme 5 나타내었다. 화장품은 유지나 왁스류를 비롯해 계면활성제나 향료 등으로 이루어지고 이 가운데 불포화 결합을 갖고 있는 화합물, 특히 불포화 결합을 2개 이상 갖고 있는 유지류는 산화되기 쉽다. 이런 산화반응은 화장품이나 품질을 저해하기 때문에 산화 방지제를 첨가할 필요가 있다. 산화반응의 종류에는 대기 중

의 산소에 의해 라디칼 기구로 진행되는 자동 산화반응과 오존, 단일 항 산소 (singlet oxygen) 등에 의한 비 라디칼적 산화반응으로 진행되는 것으로 분류된다. 산화를 방지하기 위해서는 공기와 접촉을 피해주고, 중금속이 들어가지 않도록 해야 하며 빛이 들어가지 않도록 포장에 주의해야 하며, 저장온도를 낮게, 산화방지제 첨가 등이 있다. 항산화제는 활성산소를 제거시키는 역할을 하고 있는 물질로서 예방적 항산화제인 superoxide dismutase, 천연항산화제인 페놀성 화합물, 플라보논 유도체 등이 있으며, 합성 항산화제로서는 BHT, BHA 등 많은 항산화제가 개발되어 있다. 그러나 이런 합성 항산화제들은 열안정성이 떨어지고 발암의 위험성이 제기되고 있으며, 토코페롤과 같은 천연물은 단독으로는 산화 연쇄 저지 능력이 낮고, 가격이 비싼 단점으로 최근에는 생약 추출물 등에서 보다 안정하고 항산화효과가 뛰어난 천연 항산화제를 개발하기 위한 많은 연구가 활발히 이루어지고 있다.⁴⁵⁾ 산화방지제의 종류 중 유지에 함유되어 있는 산화방지제는 토코페롤로서 α , β , γ , δ 체 등으로 식물의 종자와 과실에 존재하며, 참기름에 함유된 세시몰 (sesamol), 면실류의 고시폴 (gossypol)은 독성이 있어서 화장품에는 사용되지 않고, 인지질 (phospholipid)은 산화방지 효과 상승작용이 있다고 알려져 있다. 주요 산화방지제 중 페놀계 화합물인 B.H.T와 B.H.A가 있다. 퀴논계의 하이드로퀴논, 토코페롤이 있으며, 아민계의 솔비톨, 글리세린 등이 있다. 유기산, 무기산의 인산이 있으며, 황화합물 등이 주요 산화방지제로 있다.



Scheme 5. Antioxidants mechanism.

10. 향기흡입과 스트레스에 미치는 영향

향 입자가 코 점막의 실리아 (cilia)에 접촉되어 후각신경을 거쳐 대뇌변연계로 이어지는 후각신경-변연계측은 정신기능을 강화시켜주거나 또는 진정, 이완상태 등을 만들어주어 스트레스에 대처하게 해준다. 따라서 300종 이상에 달하는 아로마 에센셜오일중에 정신기능과 피부상태를 가장 효과적으로 발현시킬 수 있는 종류를 선택하여 사용하게 되는데, 이때 한가지 오일 보다는 2~3가지 이상의 오일을 혼합해서 사용하는 블렌딩 향오일의 형태가 치료효과를 가장 극대화 시킨다. 즉 0.1초 만에 뇌를 자극하며 중추신경계에 직접 작용해 정신적인 문제를 해결하는 가장 간단하고 빠른 방법으로 상태불안과 두통을 감소시키고 우울, 피로를 감소시킨다. 또한 스트레스로 인해 증가된 혈압, 맥박 및 타액 코티졸 분비를 감소시키며, 혈액 코티졸의 분비 또한 감소시킨다. 이와 같은 과정을 통해 혈액 내에 화학적정보로 전환된 향기는 호르몬과 신경 전달 물질의 분비를 촉진하여 대뇌의 정신기능을 강화하고 스트레스 반응을 감소시킨다.^{38,46,47)}

최근의 흡입을 통하여 아로마 물질이 마음과 몸에 미치는 영향에 대한 연구는 4가지 단계의 뇌파의 활동과 관련해서 이루어진 연구를 살펴보면 몇몇 에센셜오일과 애플루트가 다양한 뇌의 수준에 영향을 미친다는 것을 발견하였으며. 바질, 로즈마리, 블랙페퍼, 카다몬은 베타파가 지배하는 패턴을 나타내어 주의, 집중력을 강화하는 특성을 나타내었다. 오렌지 블라섬, 자스민과 로즈는 뇌파의 활동을 낮추는 역할을 하여 알파파가 유도되었으며 마음의 환상을 불러일으키는 세타파와 델타파가 유도되었다.⁴⁸⁾

Ⅲ. 실험

1. 재료

고홍의 자연산 유자 (NCP, citron peel of natural in Gohong), 육성재배유자 (CCP, citron peel of cultivated in Gohong), 자연산 탱자 (PTP, poncirus trifoliata peel), 유자와 탱자 씨앗 (CS, citron seed, PS, poncirus trifoliata seed), 붉은 해바라기 씨앗(SS, sunflower seed) 등은 부산의 부전시장에서 구매하였고, O 회사의 유칼립투스 에센셜오일, 라벤더 에센셜오일, 티트리 에센셜오일과 2,2-Diphenyl-1-piclylhydrazyl radical (DPPH), Vt-c, gallic acid, catechin과 Mueller-Hinton 시약은 Sigma Chemical Company (St. Louis, MO, U.S.A). 다른 시약은 HPLC급 시약을 이용하였다. CO₂ (99.99%) KOSEM (Yongsan, Republic Korea)를 사용하였다.

초임계추출기기 (laboratory-scale SFE process, JASCO), GC/MS, UV-분광기 (UVmini-1240, SHIMADZU CORPORATION, Japan), 30 kg (freeze dryer, 모델명: PVTFD 30R), 제작사 (일산랩), 향기분석은 automatic thermal desorber (ATD): ATD 400 (Perkin Elmer, UK)와 향기분석의 GC-MS (Shimadzu, Japan), 주사전자현미경, 박테리아실험은 Mueller-Hinton broth, Mueller-Hinton, 배양기는 culture media, DMSO는 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, U.S.A.)를 이용하였다.

2. 시료 전처리

시중에서 2013년 10중순에 NCP와 PTP를 구매하였고 고홍산 유자 CCP는 11월에 구매하여 씨와 껍질을 분리하여 냉동보관 하였다. 붉은 해바라기씨앗도 부전시장에서 구매하였고, 모든 기기분석 시약은 알드리지의 HPLC급 시약을 사용하였다. 초임계

CO₂ 추출의 CO₂ (99%)는 한국, KOSEM사의 제품을 사용하였다. NCP, CCP, PTP, 유자씨 (CS), 탕자씨 (PS)시료들을 2013년 12월 23일 부터 2일 동안 30 kg freeze dryer (PVTFD 30R, 일산랩)의 -20℃에서 freeze dryer 하여 710 μM mesh 입자로 분쇄 하였고 붉은 해바라기 씨앗 (SS)도 부전시장에서 구입하여 710 μM mesh 입자로 분쇄하여 실험에 사용하였다.²⁰⁾

3. 방법

3.1. 추출

3.1.1. SC-CO₂ 추출

SFE실험²⁰⁾ 장치 (laboratory-scale SFE process, JASCO)는 Fig. 4와 같고 압력 20 MPa 에서 작동되었다. 냉동 건조한 시료 100 g을 500 ml 용량의 고압용 스테인레스 스틸 안에 장착되었다. 얇은 cotton 층을 추출조 밑 부분에 다른 cotton층으로 된 마개는 샘플의 윗부분에 사용하였다. 초임계유체 라인은 1/4, 1/8" 의 스테인레스 스틸 파이프 (316ss)를 사용하였다. 액체 이산화탄소 용매를 초임계 상태로 변화시키는 고압펌프는 20 MPa의 용량을 가진 펌프는 추출조로 유입되는 이산화탄소의 용량을 정량적으로 펌핑 하였고 보조용매인 에탄올 (99%)을 정량적으로 주입 할 수 있는 보조용매 펌프는 solvent delivery pump (Young-lim Scientific Co, model No. 930)를 사용하였다. 고압 상태로 추출기의 유입 초임계 이산화 탄소온도 측정은 디지털온도 측정기 (Wavetech 사, 모델 No; 461-112020) 장치 이용하여 초임계 유체온도 측정 하였고 추출조의 압력을 초임계 유체가 추출조로 들어가는 하단은 디지털 압력 측정 (Valcom 사, 모델 No; VPRQ-A3-350K-4C) 장치로 초임계유체가 추출조를 통과하여 나오는 상단은 cole parmer gauge로 측정하였다. 시스템 내의 CO₂ 압력은 1개의 back

pressure regulator valve (BPR)로 조절 하였고 추출조 탑의 미세압력은 metering valve 와 needle valve로 조절하였다.

Citrus 샘플 오일들의 추출조건은 온도 50 °C, 압력 200 bar, 시간 2 hr, CO₂유량 흐름 23.25 g/min의 조건에서 최고의 수율을 얻을 수 있었다. CCP 100 g, NCP 100 g, PTP 100 g, MCCP (CCP 100 g + CCS 25 g + SS 25 g), MNCP (NCP 100 g + CCS 25 g + SS 25 g), MPTP (PTP 100 g + PTS 25 g + SS 25 g) 시료들을 추출실험을 하였다. 추출한 오일은 작은 유리병에 담아 0°C에서 보관하였다. Table 2 에 추출조건을 나타내었다.

Table 2. Operating conditions used in experiments of SC-CO₂ extraction

Parameter	Conditions
Sample	CCP (100 g), NCP (100 g), PTP (100 g), MCCP (150 g), MNCP (150 g), MPTP (150 g)
Solvent	Carbon dioxide
Temperature	50°C
Pressure	200 bar
Operating time	2 hr
Flow rate of carbon dioxide	23.25 g/min

3.1.2. 유기용매 헥산 soxhlet 추출

헥산용액을 이용하여 냉동 건조된 NCP, CCP, PTP시료 5 g을 추출 thimble에 넣고 적정온도에서 추출장치의 콘덴서가 0°C가 될 때 까지 12hr 동안 작동하여 soxhlet 장치에서 추출하였다.²⁰⁾

3.2. Fatty acid methyl esters (FAMES) 조성 분석

SC-CO₂ 추출물 CCP, NCP, PTP오일의 지방산조성은 GC/MS의 6890 Agilent Technologies (Wilmington, DE, USA), 칼럼은 (length, 100 m internal diameter, 필름길이 25 mm, 0.2 μ m Supelco, Bellefonte, PA, USA) 장치로 분석 되었다. 지방산 메틸 에스테르는 AOCS Ce 2-66 (1998)의 recommended practices와 official method으로 준비하여 측정하였다. N₂ 가스유속 (1.0 mL/min), 130°C에서 3 min 유지 240°C까지 4°C/min 로 승온하여 240°C 까지 온도를 상승시키고 240°C에서 10분 유지하였다. Injector와 detector온도는 둘 다 250°C로 설정한다. Fatty acid methyl esters은 표준 지방산 메틸 에스테르 혼합물 (supelco) 과 retention time에 의해 비교 확인 하였다.

Table 3. GC conditions for the detection of fatty acids

Parameter	Conditions
Instrument	Agilent 6890N
Split	Splitless
Inject temperature	250°C
Detect Temperature	250°C
Carrier gas flow	He, 1 ml/min
Oven time	130°C (3 min)→4°C/min →240°C (10min)
Column	length, 100m internal diameter, 25 mm length of film, 0.2 μm Supelco, Bellefonte, PA, USA

3.3. 시트러스 추출 오일의 항산화력 시험

3.3.1. 총 폴리페놀 함량 실험 (TPC)

시트러스 추출물의 총 폴리페놀 (TPC, Total phenolic content)화합물 정량은 Chew et al. (2011)에 따라 검량선을 Fig. 6과 같이 도식화하여 측정하였다(49). 시트러스 추출물의 농도를 일정하게 하고 Folin Ciocalteu's phenol 시약 (1:10)의 1 mL과 희석한 오일 (25 mg/mL 에탄올) 1 mL를 섞어 5분간 실온에서 방치한 후 (7.5%w/v) sodium carbonate anhydrous 용액의 0.8 mL를 가하여 2시간 암실에서 반응 시킨 후 765 nm에서 흡광도 (UV mini-1240, shimadzu corporation, Japan)를 측정 하였다. 각 추출물의 총 폴리페놀 함량은 Galic acid를 표준물질로 물에 용해시켜 사용하였다.

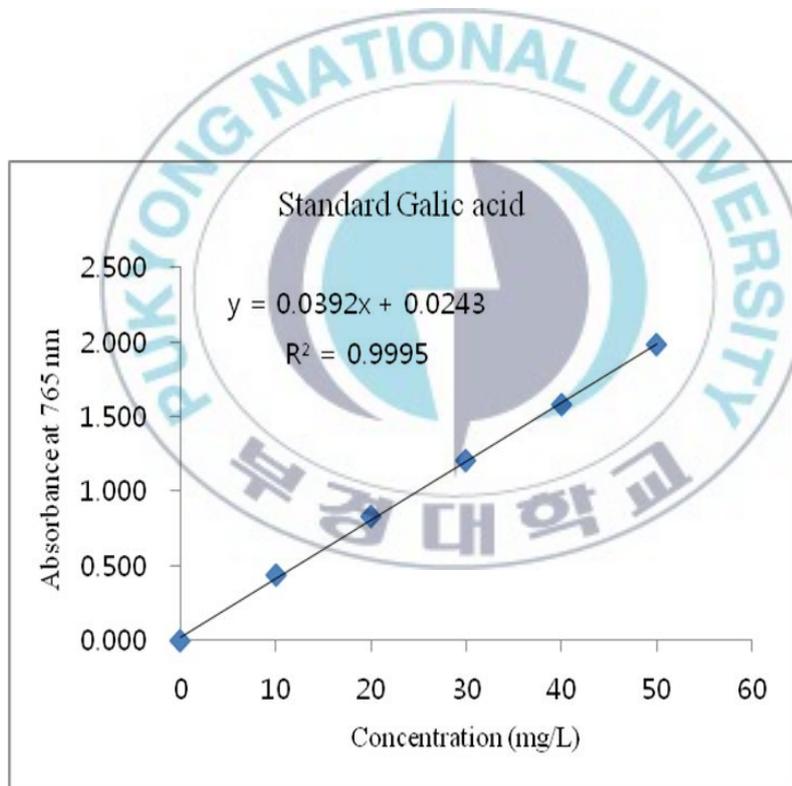


Fig. 6. Standard graph of galic acid for TPC determination.

3.3.2. 총 플라보노이드 함량 시험 (TFC)

시트러스 추출물의 총 플라보노이드 (TFC) 실험은 'Ozsoy et al. (2007)'의 방법으로 Fig. 7에 도식화 하여 나타내었다(50). 농도 (25 mg/mL 에탄올)에 물계 희석한 0.38 mL 오일에 5% sodium nitrite 110 μ L과 1.875 mL의 물과 섞어 진탕을 한다. 인큐베이터에서 10% aluminium chloride 225 μ L을 첨가하여 혼합하고 1 M sodium hydroxide 0.75 mL과 물과 희석한 0.41 mL을 섞은 후 510 nm에서 흡광도를 측정하여 catechin은 표준물질로 하여 측정하였다.

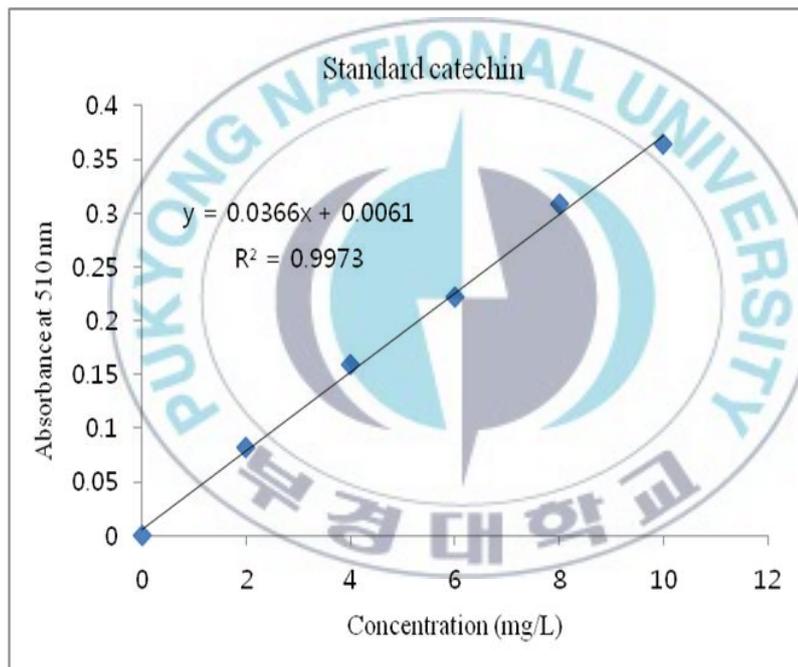


Fig. 7. Standard graph of catechin for TFC determination.

3.3.3. DPPH 라디칼 소거능 측정

시료의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거능은 'Yen과 Chen (1995)'의 방법을 변형하여 메탄올에 용해한 0.1 mM DPPH 용액을 517 nm에서 시료첨가구와 무 첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 나타내어 측정하였다.⁵¹⁾

각 시트러스 추출 오일은 0.1 mL (25 mg/mL, 메탄올), 0.1 mM DPPH (메탄올) 용액, 표준 물질 ascorbic acid 는 0.25 mg/mL (메탄올)는 0.5 mg/mL (메탄올) 이다. 0.1 mM DPPH 용액의 5.95 mL을 취하여 각 시트러스 추출 오일의 0.1 mL (25 mg/mL), 라벤더, 티트리와 유칼립투스 등은 0.1 mL 첨가 혼합하여 10초 동안 실온에서 vortexing 후 30분 동안 암 반응 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능력(\%)} = [1 - (\text{As}/\text{Ac})] \times 100\%$$

3.4. 시트러스의 SC-CO₂추출 오일의 성분분석, 항박테리아 활성과 아로마 테라피

3.4.1. GC/MS를 이용한 휘발성 성분분석

3.4.1.1. 전처리

실험재료에서 서술한 방법으로 제조된 시트러스의 초임계추출 정유의 휘발성성분 분석을 위한 전처리 과정은 잘 세척된 250 mL의 갈색 병에 추출오일 시료를 2 drop 하여 60 °C 오븐에 10분간 가열 후 향기를 주사기로 채취하여 GC에서 분석 하였다.

3.4.1.2. 실험 방법

본 연구에서 이용된 시료를 채취 및 농축주입하기 위한 장치로는 자동 열 탈착 장치 (Automatic thermal desorber) 흡착-채취 열 탈착 시스템 (ATD 400, Perkin Elmer, USA)을 이용하였으며, 물질을 분리 검출하기 위하여 휘발성 성분포집은 ADT

법과 GC-MS를 이용하였다.⁵²⁾

열 탈착 시스템은 크게 2-stage 농축시스템으로 구성되어 있으며, 1차 트랩은 상온흡착 그리고 2차 트랩은 저온흡착 할 수 있도록 되어있다. 먼저 분석대상 가스상 물질은 현장이나 혹은 실험실에서 상온의 조건하에서 흡착한 다음 자동 열 탈착 장비에 장착한다. 그리고 열과 운반가스에 의하여 수분동안 열 탈착 (heating rate 30°C/sec)을 통하여 2차 트랩 (-30°C)으로 이동과 동시에 농축된다. 2차 트랩은 다시 열탈착과 운반가스에 의하여 GC 컬럼으로 도입된다. 1차 트랩의 탈착온도와 시간은 350°C에서 4분으로 하였으며, 2차 트랩의 농축온도는 -30°C, 2차 튜브의 탈착온도 및 시간은 350°C에서 1분으로 하여 분석을 수행하였다.



Table 4. Operating conditions of automatic thermal desorber (ATD) and GC-MS

Parameters		Conditions
ATD 400 (Perkin Elmer, UK)	Primary tube type	Tenax-TA
	Cold trap type	Tenax-TA 20 mg
	1st Desorption	350°C-4 min
	2nd Cryo temp.	-30°C
	2nd Desorption	350°C-1 min
	Desorb flow	50.2 mL/min
	Inlet split	No
	Outlet split	11.5 mL/min
GC-MS (Shimadzu, Japan)	Oven temp.	35°C-10 min 8°C/min-120°C-10 min 12°C/min-80°C-7 min 15°C/min-230°C-10 min
	Column	AT1-60 m×0.32 mm×1.0 μm
	Interface temp.	230°C
	Mass range	20~350 m/z
	Column pressure	15.9 psi
	MS Det. temp.	250°C
	Carrier gas	He (99.9999%)
	Mass filter type	Quadrupole

3.4.2. 항박테리아 활성 측정

4개의 food-borne pathogens 박테리아는 Korea Microorganism, 3 Gram-negative (Escherichia coli ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027), 3 Gram-positive 박테리아 (Staphylococcus aureus ATCC 6538 p, Bacillus cereus ATCC 13061)를 이용하였다. 향균 종류들의 항 박테리아 활성은 agar diffusion (Hun et al. 1994) 방법을 변형하여 확인 하였다.⁵³⁻⁵⁵⁾ McFarland standard No. 0.5는 미리 준비한 미생물에 의해 사용되었다. 혼탁한 박테리아물질들은 McFarland 표준에 따라 조절되었다. 정밀하게 혼탁한 박테리아 물질들은 spectrophotometry의 625 nm에서 확인하였다. Mueller-Hinton agar (Sigma Aldrich, USA)는 121°C에서 15분 동안 소독하였고 각 박테리아의 셀의 직경의 크기가 107 CFU mL⁻¹에 가까운 중간크기로 자란 것을 사용하였다. 배양액은 소독된 유리페트리접시에 놓고 박테리아물질을 배양기표면위에 뿌려 실험하였다. Plates은 37°C의 인큐베이트 상태에서 밤새도록 유지시켰다. 항박테리아 활성능력은 clear zone의 직경의 크기를 측정하여 확인하였다.

3.4.3. 향기흡입과 스트레스에 미치는 영향

3.4.3.1. 연구대상, 기간, 측정기기

본 연구는 2014년 5월 5~6일 H시 소재 주민 10명을 대상으로 하여 우울증, 무기력증, 화병, 지나친 걱정과 스트레스측정을 하여 비교분석하였다. 진단 측정기기는 (주)MR: NEO DINAMIKA-P로 하였으며 DINAMIKA는 hypochondria, arrhythmia, delta, alpha, vegetative, tension을 측정하는 기기로서 한의원 병원 의료기기로서 의료보험 적용되는 기기이다. 기기 사양은 Table 5와 같고 연구진행절차는 다음과 같다.

3.4.3.2. 연구자 훈련

연구자는 한국 아로마테라피 인증학회의 아로마테라피 강사자격을 갖추고 있으며, 향기흡입에 대한 충분한 문헌고찰과 실무 경험을 갖춘 자이다.

3.4.3.3. 연구 보조자

연구 보조자는 치유상담사 자격, 명상호흡지도 자격, 국선도, 단전호흡 지도자격을 갖춘자 1명으로 부정맥과 스트레스 측정의 디나미카 기기 측정을 담당하였다.

3.4.3.4. 실험처치

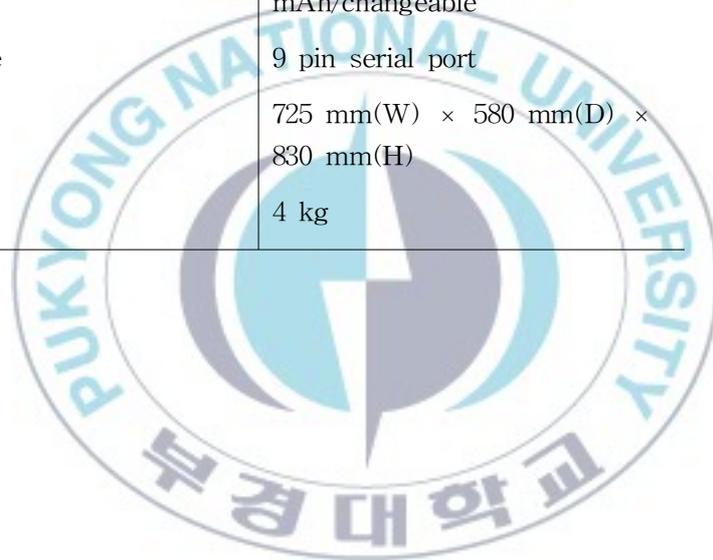
실험군에 실시한 향기흡입의 방법은 다음과 같다. 본 연구자가 추출한 MCCP, 라벤더, 유칼립투스 아로마 오일을 2:1:1의 비율로 하였고 캐리어오일은 포도씨유로 하였고 테라피 인증규격 2%로 블렌딩 하였고 갈색 차광병에 담은 뒤 실험에 사용하였다.

진행 순서는 먼저 실험군을 안정을 취하도록 쉬게 한 뒤 향기흡입전의 스트레스측정을 하고 향기흡입후의 스트레스를 측정 하여 실험을 하였다. 진행순서는 다음과 같다.

- 디나미카 기기의 스트레스를 측정하였다.
- 대상자는 의자에 편하게 앉게 하였다.
- 거즈에 블렌딩한 오일을 떨어뜨려 대상자의 코로부터 5 cm에서 10 cm 떨어진 거리에서 5분간 향기를 흡입과 어깨 마사지를 하였다. 비교군으로 향기를 흡입하지 않은 대상자에게도 동일한 순서로 진행하였다.
- 사후조사를 위해 따로 마련된 방에서 20분간 안정을 취할 때에도 거즈를 소지하게 하였다.
- 디나미카 기기의 스트레스측정을 하였다.

Table 5. Specification of NEO DINAMIKA-P

Parameters	Conditions
Power requirement	AC 220, 60 Hz
Power consumption	100 mA
Input power range	0.03-10 mV
Bandwidth	0.003~500 Hz
Reconding rate	1000 sample over 1 physical channel
Batters (control Box)	4 × NiCd 1.2v 1200 mAh/changeable
PC Interface	9 pin serial port
Dimension	725 mm(W) × 580 mm(D) × 830 mm(H)
Weight	4 kg



IV. 결과 및 고찰

1. SC-CO₂와 헥산추출에 의한 수율비교

헥산용액, 에탄올용액을 이용하여 냉동 건조된 NCP, CCP, PTP시료 5 g을 추출 thimble에 넣고 적정온도에서 추출장치의 콘덴서가 0°C가 될 때 까지 12 hr 동안 작동하여 soxhlet 장치에서 추출하였다. 헥산 soxhlet 추출의 NCP오일 수율은 1.23% 와 CCP오일 수율은 1.08%, PTP수율은 2.60%로 나타났으며, 에탄올 soxhlet 추출 NCP오일 수율은 1.15%와 CCP오일 수율은 0.95%, PTP오일 수율은 2.30%로 나타났다. SC-CO₂추출에 의한 citrus 샘플 오일들의 추출조건은 온도 50°C, 압력 20 bar, 시간 2 hr, CO₂ 유량 흐름 23.25 g/min의 조건에서 최고의 수율을 얻을 수 있었다. 추출 오일들은 작은 약병에 넣고 0°C에서 보관하였다. NCP오일 추출수율 (1.06%), CCP오일 추출수율 (0.80%)로 나타났다.³⁰⁾

SC-CO₂(30)의 추출에서 CCP오일 0.80%, NCP오일 1.06%, PTP오일 2.20%의 수율이 나타났다. MCCP (CCP 100g + CCS25 g + SFP 25 g)오일의 SC-CO₂ 수율은 4.70%, MNCP (NCP 100 g + CCS 25 g + SFP 25 g)오일의 SC-CO₂ 수율은 5.20%, MPTP (PTP 100 g + PTS 25 g + SFP 25 g)오일의 SC-CO₂ 수율은 2.20%로 나타났다. 이처럼 수율이 다른 이유는 기기작동조건, 샘플 크기, 샘플속의 액체 프센트가 다르기 때문이다.²⁰⁾

Table 6. Oils percentage of citrus peel

Sample name	Extraction	Solvent	Oil (%)
CCP	Soxhlet	Hexane	1.08
		Ethanol	0.95
	SC-CO ₂ (50°C and 20 MPa)	SC-CO ₂	0.80
NCP	Soxhlet	Hexane	1.23
		Ethanol	1.15
	SC-CO ₂ (50°C and 20 MPa)	SC-CO ₂	1.06
PTP	Soxhlet	Hexane	2.60
		Ethanol	2.30
	SC-CO ₂ (50°C and 20 MPa)	SC-CO ₂	2.20

Table 7. Contents of mixture sample oils

Sample name	Extraction	Solvent	Oil content (g/150 g)
MCCP	SC-CO ₂ (50°C and 200 MPa)	CO ₂	4.70
MNCP			5.20
MPTP			7.25

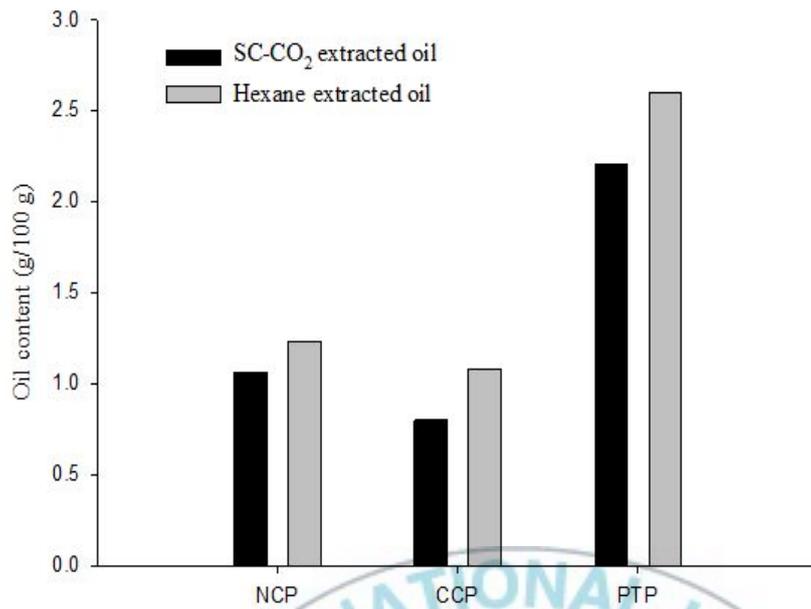


Fig. 8. Oils contents of citrus peel.

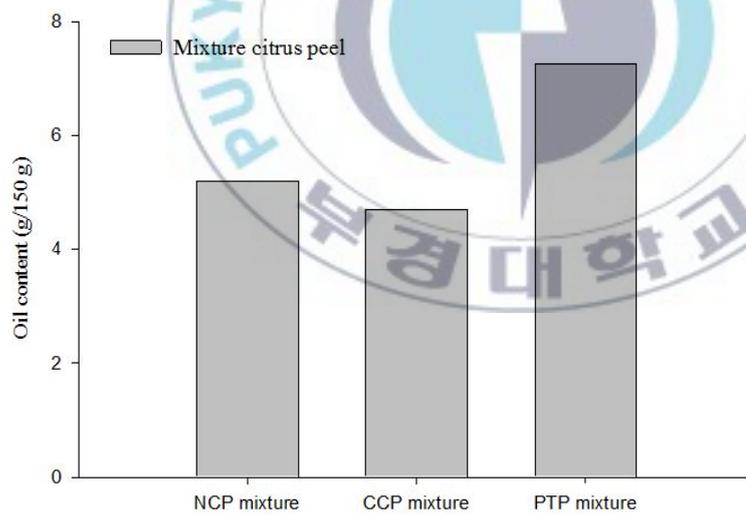


Fig. 9. Oil contents of mixture citrus peel.

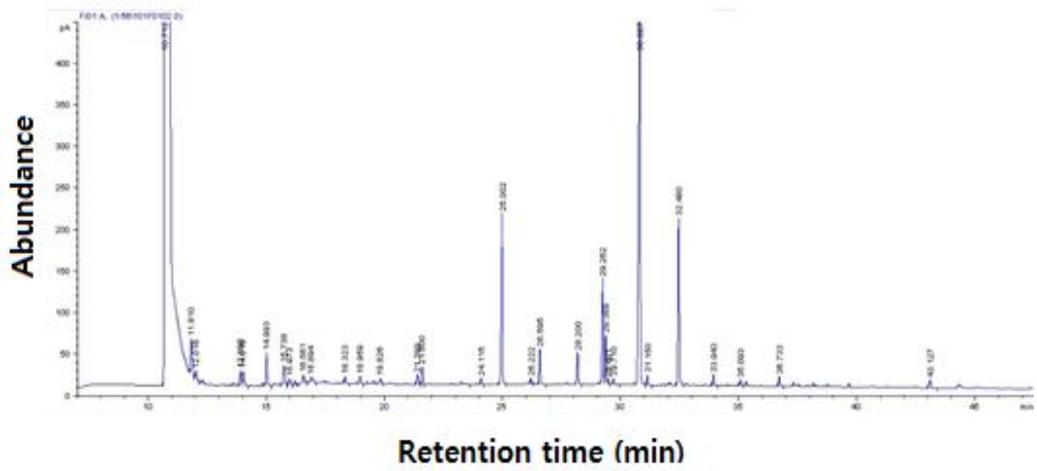
2. Fatty acid methyl esters (FAMES) 조성 분석

Fig. 10~Fig. 12의 세로축은 지방산의 % 함량이며 가로축은 시간을 나타낸다. Retention time에 의해 비교 확인 하였다. 지방산을 컴퓨터 라이브러리 서치로 찾아서 성분분석을 나타냈다. GC에 의해 분석된 지방산조성은 retention time 별로 분석된 함량 성분 Table 8과 같다. Linoleic acid가 모든 추출물에서 35%~45%로 특히 자연산유자, 육성재배유자에 더 많이 나타났다. 불포화 지방산이 많으므로 산화가 빨리 일어나는 특성이 있다. cis-11,14-eicosadienoic acid 가 육성 재배유자에서 제일 함량이 높게 나타났다. 3가지 추출물에서 공통적으로 palmitic acid, oleic acid, linoleic acid, cis-11,14-eicosadienoic acid 같은 4가지 성분이 대부분을 이루고 있었다. 혈중 콜레스테롤을 분해시키는 오메가 3 함량은 육성재배유자에 더 많았고 3 가지 추출물에서 13~17%을 차지함을 볼 수 있다.



Table 8. Fatty acid composition of citrus peel oils

Fatty acid composition	Retention time	Fatty acid (%)		
		NCP	CCP	PTP
Capric acid	15.74	2.82	2.44	2.19
Undecanoic acid	16.89	2.03	0.48	1.29
Lauric acid	18.32	0.95	0.35	2.02
Tridecanoic acid	19.83	0.83	1.31	1.30
Myristic acid	21.60	1.37	1.83	4.75
Palmitic acid	25.00	15.95	13.18	12.01
Palmitoleic acid	26.22	0.53	0.44	0.82
Stearic acid	28.20	2.95	3.03	5.34
Elaidic acid	29.26	4.10	2.91	3.42
Oleic acid	29.39	9.52	8.36	6.59
Linoleic acid	30.83	42.33	41.41	35.29
r-linolenic acid	31.15	0.83	1.88	4.37
cis-11,14-eicosadienoic acid	32.48	13.70	17.29	13.75
cis-11,14,17-eicosatrienoic acid	33.94	0.82	2.21	3.45
Arachidonic acid	35.09	0.48	0.78	1.15
cis-13,16-docosadienoic acid	36.73	0.80	1.46	2.26



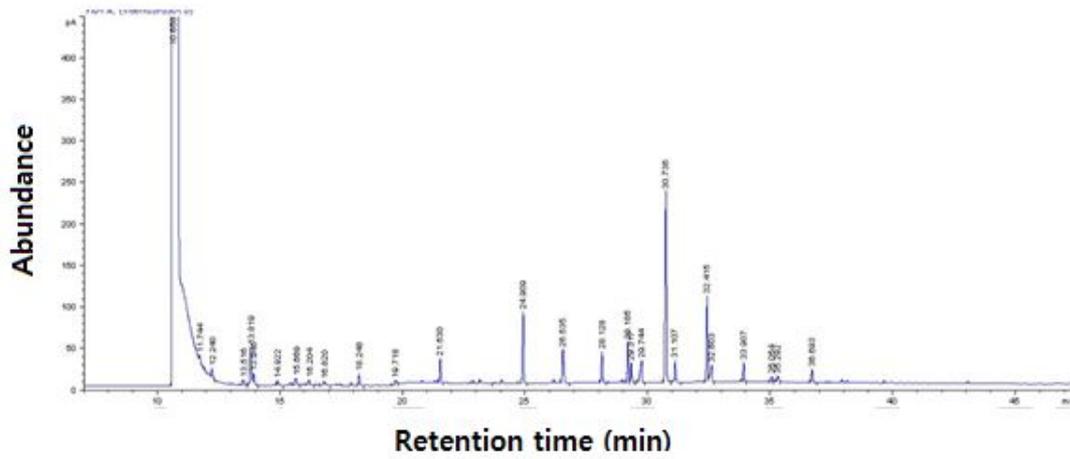


Fig. 12. Fatty acid composition of PTP oil by SC-CO₂ extraction and GC analysis.

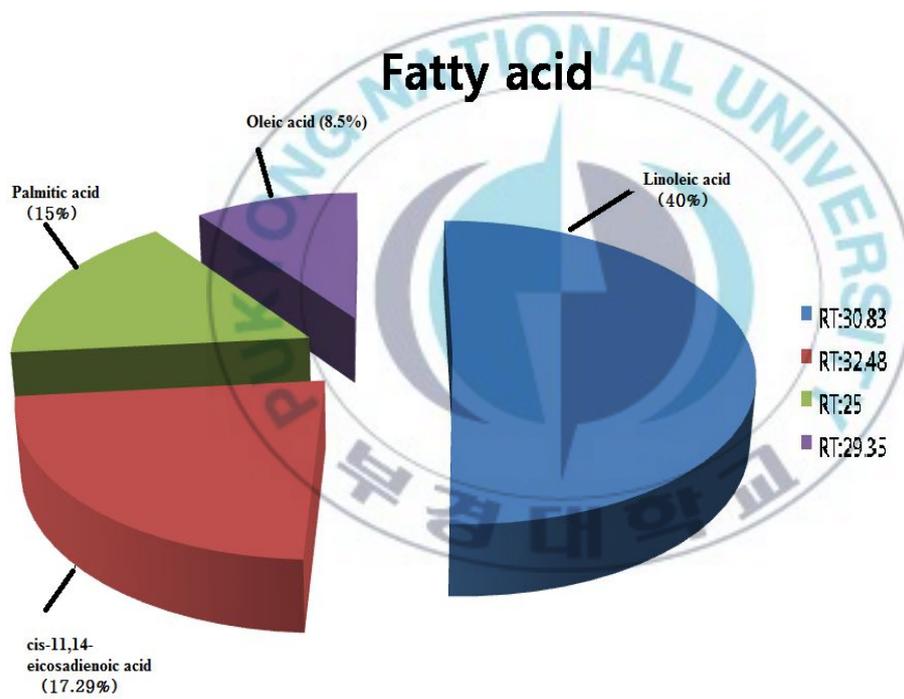


Fig. 13. Distribution of fatty acid composition of citrus oil by SC-CO₂ extraction and GC analysis.

3. 시트러스 추출 오일의 항산화력

3.1. 총 폴리페놀 함량 시험 (TPC)

페놀성 물질은 식물계에 널리 분포하는 2차 대사산물로서 수산기를 가지는 방향성 화합물을 총칭하는 것으로, hydroxy cinnamic acid를 비롯한 대부분의 페놀 화합물은 세포벽 다당류 리그닌 등과 ester 결합되어 있거나 중합체로 존재하며, 수산기를 통한 수소공여와 페놀 고리 구조의 공명 안정화에 의해 항산화 능력을 나타낸다(56,57). 80% 에탄올추출 CCP오일에서 총 페놀 함량은 검정곡선 ($r=0.9994$)에 준하여 75 ± 1.13 mg/100 g, PTP오일에서는 60.75 ± 1.15 mg/100 g 함량을 보여 CCP오일이 PTP오일 보다 약 15%정도 더 페놀 함량이 많았다는 연구결과가 있다.⁵⁸⁾

본 연구에서의 헥산추출과 SC-CO₂ 추출에서 총 페놀 함량은 검정곡선 ($r=0.9995$)에 준하여 Fig. 14의 그림의 결과를 얻었다. CCP오일의 헥산추출은 520 ± 1.05 (mg/100 g), SC-CO₂ 추출 560 ± 1.12 (mg/100 g), NCP오일의 헥산추출은 410 ± 10.1 (mg/100 g), SC-CO₂ 추출 450 ± 1.12 (mg/100 g), PTP오일의 헥산추출은 210 ± 1.1 (mg/100 g), SC-CO₂추출 250 ± 1.12 (mg/100 g)의 함량을 보였으며, CCP오일의 SC-CO₂ 추출에서 560 ± 1.12 (mg/100 g)으로 에탄올 80%에서 75 ± 1.13 (mg/100 g)보다 훨씬 높은 결과를 얻었으며 헥산추출 보다 520 ± 1.05 (mg/100 g) 높은 결과를 얻었다. CCP오일이 NCP오일 이나 PTP오일에 비해 총 페놀 함량이 높은 결과를 얻었다.

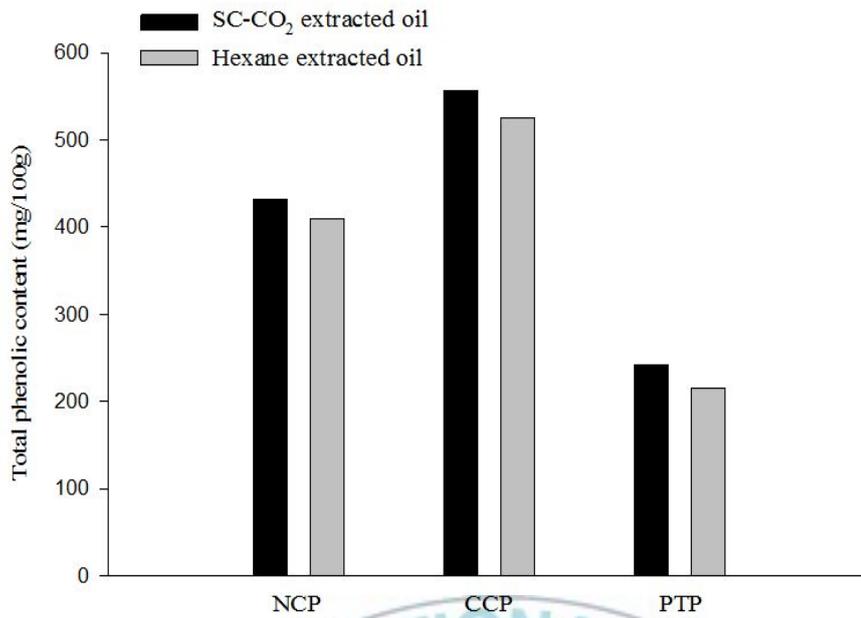


Fig. 14. Total phenolic content of citrus peel oils.

3.2. 총 플라보노이드 함량 시험 (TFC)

80% 에탄올 CCP오일과 PTP오일에서의 총 플라보노이드 함량은 표준곡선 ($r=0.9999$)에 의해 CCP오일은 42.05 ± 0.21 mg/100 g을, PTP오일은 33.75 ± 0.19 mg/100 g의 함량을 보였다.⁵⁸⁾

본 연구에서는 헥산추출과 SC-CO₂ 추출에서 총 플라보노이드 함량은 검정곡선 ($r=0.9973$)에 준하여 Fig. 15의 결과를 얻었다. CCP오일의 헥산추출은 75 ± 1.3 (mg/100 g), SC-CO₂ 추출 84 ± 1.2 (mg/100 g), NCP오일의 헥산추출은 73 ± 1.1 (mg/100 g), SC-CO₂ 추출 75 ± 2.1 (mg/100 g), PTP오일의 헥산추출은 631 ± 1 (mg/100 g), SC-CO₂ 추출 65 ± 1.1 (mg/100 g)의 플라보노이드 함량을 보였으며, 육성재배 유자의 SC-CO₂ 추출에서 84 ± 1.2 (mg/100 g)로 에탄올 80%에서 75 ± 1.13 (mg/100 g) 보다 훨씬 높은 결과를 얻었으며 헥산

추출 75 ± 1.3 (mg/100 g) 보다 높은 결과를 얻었다. 육성재배유자가 자연산유자나 탕자에 비해 총 플라보노이드 함량이 높은 결과를 얻었다.

에탄올추출 연구 결과에서는 CCP오일이 PTP오일 보다 총 페놀 함량뿐만 아니라 총 플라보노이드 함량에 있어서도 더 많은 것으로 나타났으나, CCP오일의 총 페놀 함량에 대한 총 플라보노이드가 차지하는 비율은 약 56%, PTP오일에서는 약 55%를 나타내어, 각 시료들의 총 페놀에 대한 총 플라보노이드 함량은 거의 비슷하게 나타났다고 연구결과가 있으나 본 연구에서는 Fig. 16과 같이 SC-CO₂ 추출의 MCCP, MNCP, MPTP오일 추출물로 총 페놀 함량과 총 플라보노이드 함량의 연구결과 MCCP오일의 총 페놀 함량은 300 mg/100 g, 총 플라보노이드 함량은 50 mg/100 g으로 MNCP, MPTP오일에서도 마찬가지로 총 페놀함량에 비해 총 플라보노이드 함량은 16.6%로 나타났다.



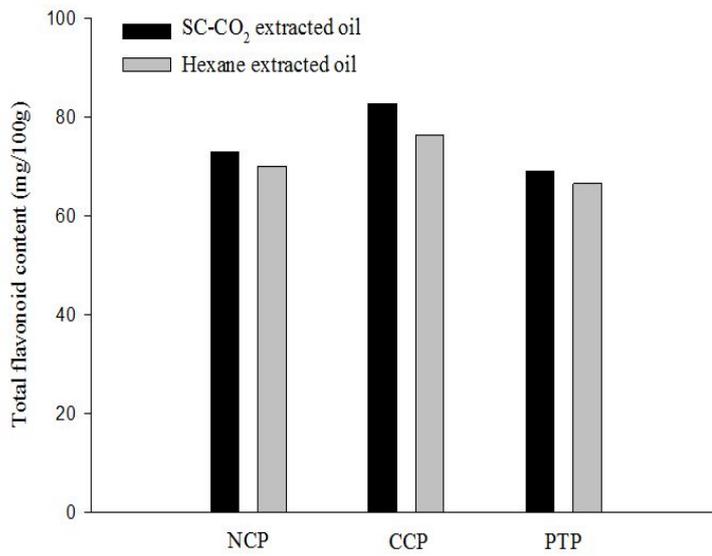


Fig. 15. Total flavonoid content of citrus peel oils.

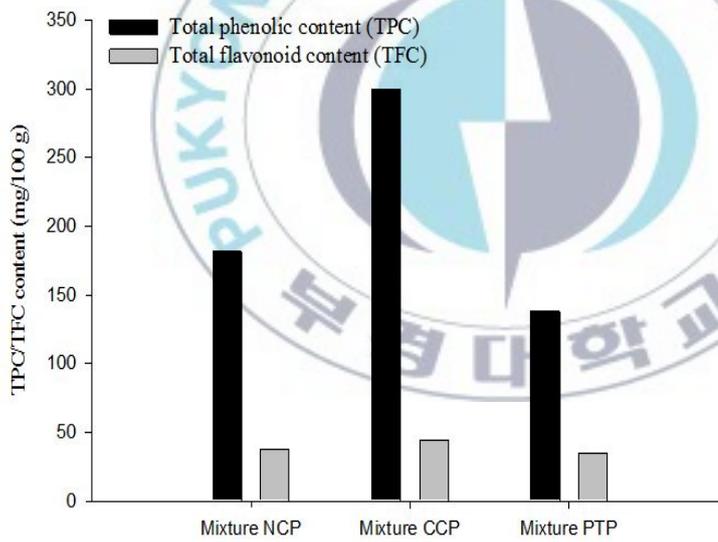


Fig. 16. Total phenolic and total flavonoid content of mixture citrus peel oils.

3.3. DPPH 라디칼 소거능력

모든 샘플의 DPPH 라디칼 소거능력 실험은 0.1 M의 5.9 mL DPPH 용액에 샘플과 스탠다드 농도는 12.5, 25 와 50 (mg/mL MeOH)의 0.1 mL 샘플 용액을 첨가하였다. Fig. 17은 헥산을 이용한 soxhlet 추출과 SC-CO₂추출의 NCP오일의 DPPH 라디칼 소거능이다. 표준 샘플 ascorbic acid 은 0.1, 0.3 과 0.5 mg/mL 조제 사용하였다. Ascorbic acid 0.5 mg/mL에서 라디칼 소거능력이 100%였다. 0.1 mM DPPH 용액 5.9 mL은 헥산과 SC-CO₂추출 NCP오일 0.1 mL (12.5, 25, 50 mg/mL (메탄올)첨가하여 실험하였다. SC-CO₂ 추출과 헥산 추출오일 12.5 mg/mL 과 ascorbic acid 0.1 mg/mL 에서 약 20% 라디칼 소거능이 나타났다. 라디칼 소거능력이 SC-CO₂ 추출 50 mg/mL (메탄올) 에서 63.93% 헥산추출 50 mg/mL에서 40.21%. 농도 (mg/mL)가 증가 할수록 라디칼 소거능력은 더 증가함을 나타냈다. Fig. 18은 CCP오일의 헥산과 SC-CO₂ 추출의 DPPH 라디칼 소거능력을 나타낸 그림이다. 0.1 mM DPPH 용액 5.9 mL (메탄올)을 헥산과 SC-CO₂ 추출 CCP오일 농도 12.5, 25 과 50 mg/mL (메탄올)의 0.1 mL을 혼합하여 측정하였다. CCP오일의 SC-CO₂추출 50 mg/mL에서 라디칼 소거능력 100%로 나타났다. SC-CO₂ 추출이 헥산추출보다 DPPH 라디칼 소거능력이 더 높게 나타났다.

Fig. 19는 PTP의 헥산과 SC-CO₂추출의 DPPH 라디칼 소거능력을 나타낸 그래프이다. MeOH에 용해시킨 0.1 mM DPPH 용액 5.9 mL은 헥산과 SC-CO₂ 추출의 PTP오일 용액의 농도는 MeOH에서 12.5, 25 와 50 mg/mL로 하여 0.1 mL을 취하여 튜브에 첨가하여 실험결과 50 mg/mL의 농도, SC-CO₂ 추출에서 라디칼 소거능력이 31%, 헥산에서 라디칼 소거능력이 17%로 나타났고 SC-CO₂ 추출에서 헥산추출보다 54.8% 높게 나타났다.

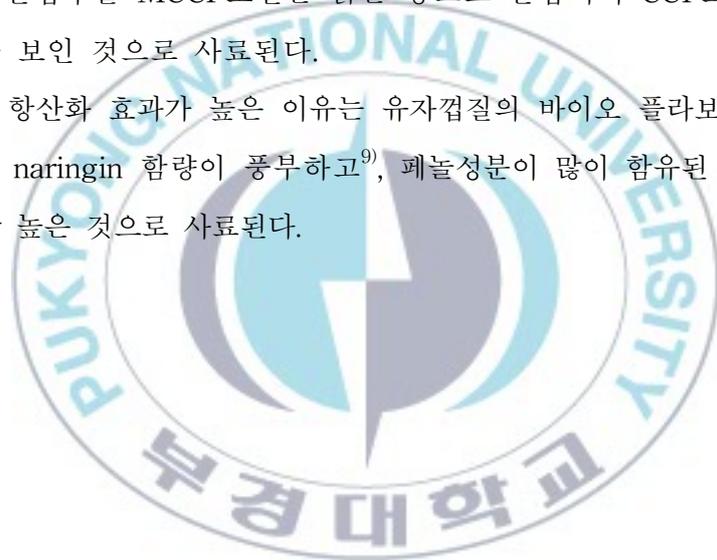
Fig. 20은 MCCP, MNCP, MPTP오일의 DPPH 라디칼 소거능력 실험이다. 메탄올에 용해시킨 0.1 mM DPPH용액 5.9 mL 과 SC-CO₂ 추출의 MCCP, MNCP, MPTP오일 용액의 농도는 메탄올에서 12.5, 25 및 50 mg/mL로 하여 0.1 mL을 취하여 튜브에 첨가하여 실험결과 50 mg/mL 농도에서 MCCP (47%), MNCP (17%), MPTP (12%)의

라디칼 소거능력을 나타냈으며 모든 농도에서 MCCP오일의 라디칼 소거능력이 MPTP오일에 비하여 25.5% 높게 나타났다.

Fig. 21은 아로마오일 샘플의 DPPH 라디칼 소거능력으로 티트리, 라벤더와 유칼립투스 0.1 mM DPPH 용액 5.9, 5.8 와 5.7 mL와 아로마오일 샘플 100 mg, 200 mg, 300 mg을 첨가하여 실험하였다. 스탠다드 샘플은 ascorbic acid 0.1, 0.3 and 0.5 mg/mL을 사용하였다. 농도 300 mg에서 DPPH 라디칼 소거능력이 티트리 (83%), 라벤더 (78%) 그리고 유칼립투스 (70%)로 확인되었다.

Table 9 에서는 DPPH 라디칼 50% 소거능력의 샘플 오일들의 농도 (mg/mL)이며, CCP오일에서 SC-CO₂추출 19.08 mg/mL, 헥산추출 21.44 mg/mL, MCCP오일의 SC-CO₂추출 52.86 mg/mL과 trolox 0.36 mg/mL로 나타났으며 초임계추출 CCP오일이 가장 낮은 농도에서 이뤄졌으며 혼합추출 MCCP오일은 묽은 농도로 혼합되어 CCP오일 보다 높은 농도에서 소거능을 보인 것으로 사료된다.

시트러스 CCP오일의 항산화 효과가 높은 이유는 유자껍질의 바이오 플라보노이드의 대표성분인 hesperidin과 naringin 함량이 풍부하고⁹⁾, 페놀성분이 많이 함유된 것으로 CCP의 항산화 효과가 가장 높은 것으로 사료된다.



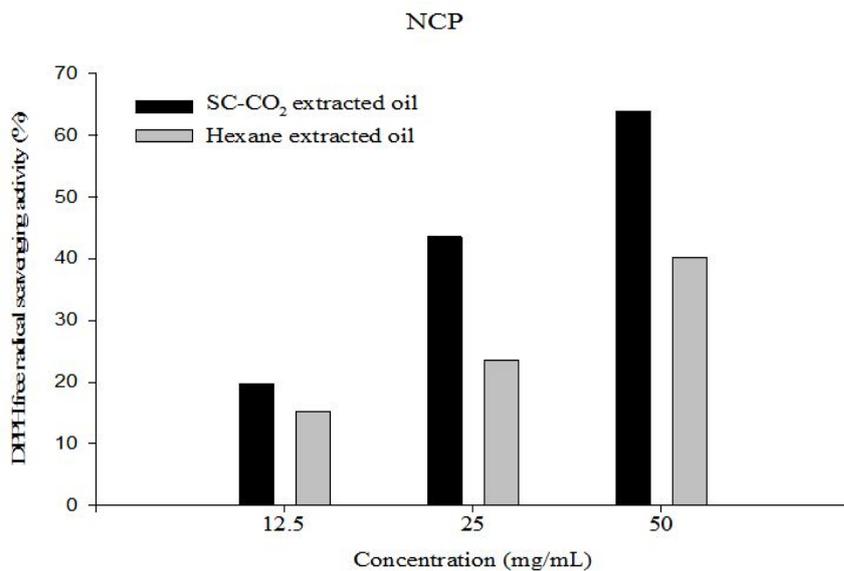


Fig. 17. DPPH free radical scavenging activity of NCP oils by soxhlet apparatus using hexane and SC-CO₂ extraction.

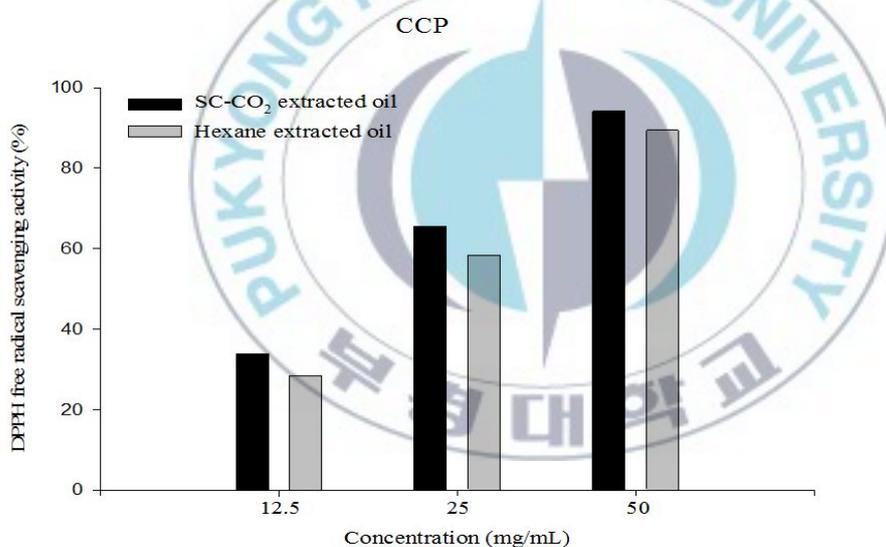


Fig. 18. DPPH free radical scavenging activity of CCP oils by soxhlet apparatus using hexane and SC-CO₂ extraction.

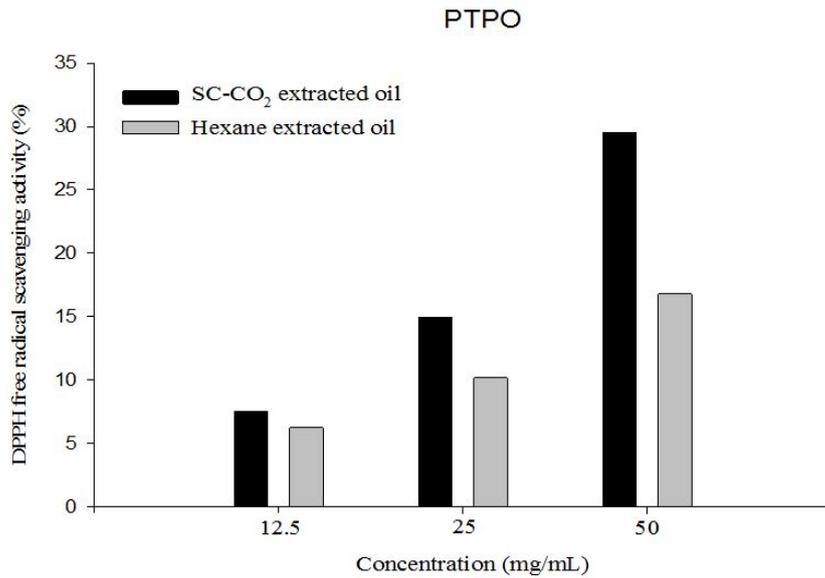


Fig. 19. DPPH free radical scavenging activity of PTP oils by soxhlet apparatus using hexane and SC-CO₂ extraction.

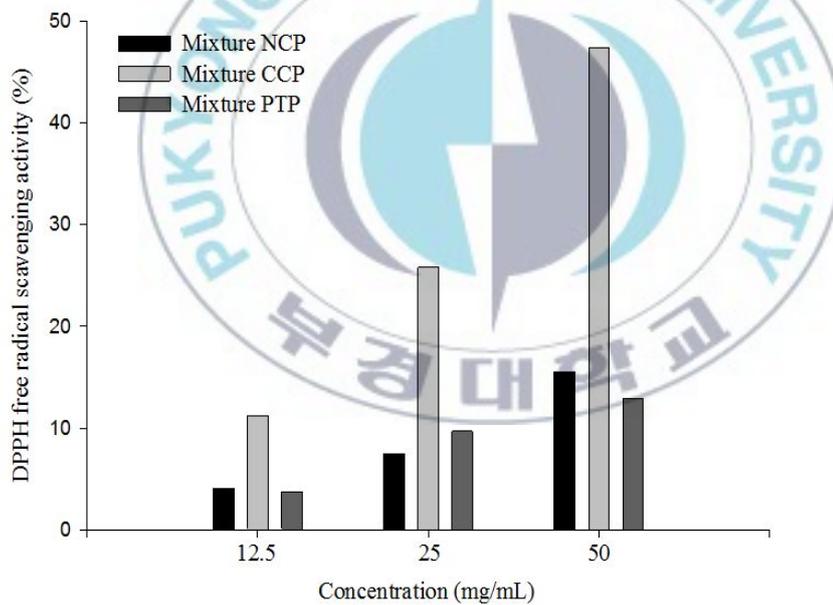


Fig. 20. DPPH free radical scavenging activity of mixture oils by SC-CO₂ extraction.

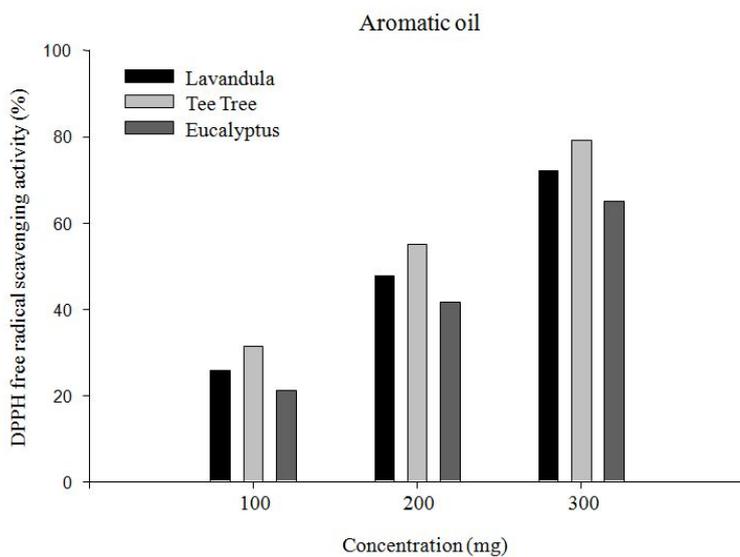


Fig. 21. DPPH free radical scavenging activity of aromatic samples.



Table 9. IC₅₀ value of sample and reference

Extraction	Activity	Sample/reference	IC ₅₀ (mg/mL)
SC-CO ₂		NCP	28.73
		CCP	19.08
		PTP	84.69
Hexane	DPPH f r e e radical scavengi ng	NCP	52.97
		CCP	21.44
		PTP	148.81
SC-CO ₂		Mixture NCP	161.19
		Mixture CCP	52.86
		Mixture PTP	193.8
		Trolox	0.36

4. 시트러스의 SC-CO₂추출 오일의 휘발성 성분분석, 항박테리아 활성과 아로마테라피

4.1. SC-CO₂추출 시트러스오일의 휘발성 성분분석

4.1.1. CCP오일의 휘발성 성분분석

CCP오일의 분리/동정된 휘발성⁵²⁾ 성분은 Table 10 과 Fig. 22에 나타내었다. 68 종류 화합물의 동정 peak가 나타났으며, peak 면적이 큰 순서로 terpenes가 55.8% 중 limonene이 27.32%로 높게 나타났으며 종류는 총 4-carene, delta-elemene, copaene, alpha-cubebene, alpha-pinene, beta-phellandrene, beta-myrcene, alpha-terpinene, 1-phellandrene, beta-farnesene, alpha-humulene, alpha-amorphene, germacrene-D, trans-caryophyllene, beta-sesquiphellandrene, bicyclogemacrenehc, germacrene-B 등 18 종류로 나타났다.

Alcohols가 15.83%이며 그 중 대표적인 알코올류인 linalool이 7.38%이며 alpha-cadinol 외 총 11종류로 나타났다. alkenes가 12.6%로 8종, alkanes가 9.66%로 8종, phenols의 cymol이 1.42%, ketones가 1.06%, esters가 triacetin이 0.77%이고 aldehydes가 0.42%, nonanal, n-pentanal acids 가 0.07%, 기타 2.59%로 동정되었고 침엽수의 대표성분인 pinene등이 나타났다.

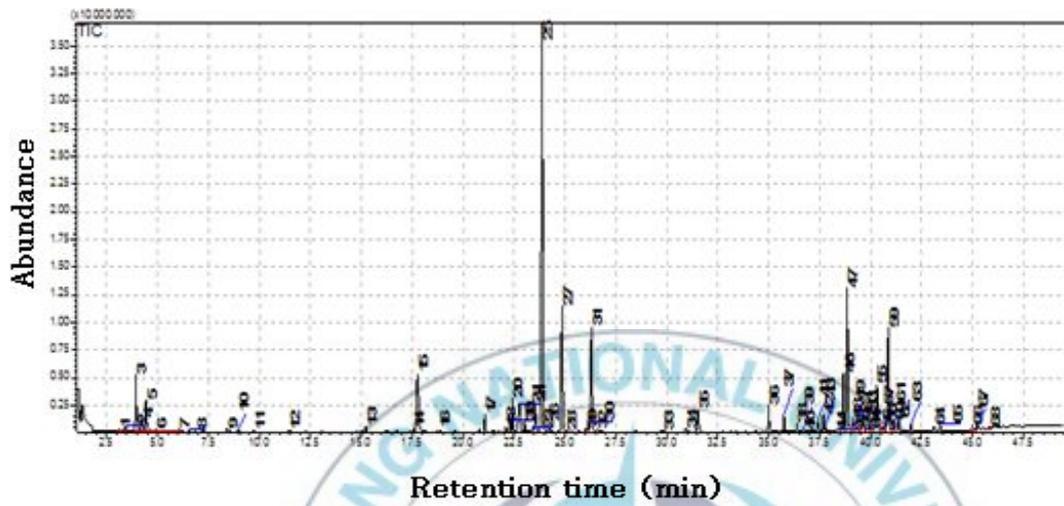


Fig. 22. Total ion chromatograms of volatile compounds identified from SC-CO₂ extraction of CCP oil.

Table 10. The volatile compounds from SC-CO₂ extraction of CCP oil

No	Compounds	RT	Class	Area %
1	Unknown	3.132	-	0.16
2	2-Methylpropene	3.448	Alkenes	0.31
3	Ethylalcohol	3.925	Alcohols	3.17
4	Acetone	4.235	Ketones	0.79
5	IsopropylAlcohol	4.434	Alcohols	1.83
6	2-Propanol, 2-methyl	4.929	Alcohols	0.23
7	Trimethylsilanol	6.037	Alcohols	0.17
8	Unknown	6.551	-	0.17
9	1-Propanol, 2-methyl	8.41	Alcohols	0.33
10	Amylene Hydrate	8.926	Alcohols	0.18
11	Benzene(internal standard)	9.742	Aromatic	0.19
12	n-Pentanal	11.444	Aldehydes	0.18
13	Toluene	15.228	Alkenes	0.27
14	2,3,3-Trimethylhexane	17.566	Alkanes	0.12
15	Cyclotrisiloxane, hexamethyl	17.756	Alkanes	6.02
16	Octane,4-methyl	18.861	Alkanes	0.17
17	1R-alpha-Pinene	21.063	Terpenes	0.86
18	beta.-Phellandrene	22.085	Terpenes	0.24
19	Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene	22.307	Alkenes	0.58
20	beta.-Myrcene	22.419	Terpenes	1.51
21	Cyclotetrasiloxane,octamethyl	22.753	Alkanes	3.02
22	1-Phellandrene	23.02	Terpenes	0.44
23	ALPHA.TERPINENE	23.401	Terpenes	0.12
24	Cymol	23.54	Phenols	1.42
25	dl-Limonene	23.869	Terpenes	27.3
26	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl	24.2	Alkenes	0.44
27	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)	24.84	Alkenes	7.50

Table 10. Continued

No	Compounds	RT	Class	Area %
28	Dodecane, 2,7,10-trimethy	25.032	Alkanes	0.14
29	Nonanal	26.02	Aldehydes	0.24
30	4-Carene	26.15	Terpenes	0.62
31	Linalool	26.296	Alcohols	7.38
32	Nonane,5-(2-methylpropyl)	26.575	Alkanes	0.08
33	Dimethyl siloxane	29.8	Alkanes	0.22
34	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)	30.926	Alcohols	0.29
35	3-Cyclohexene-1-methanol, alpha, alpha.4-trimethyl	31.519	Alkenes	1.83
36	2-methyl-5-(1-methylethyl)	34.987	Alcohols	1.32
37	Triacetin	35.736	Esters	0.77
38	delta-Elemene	36.376	Terpenes	0.41
39	alpha-Cubebene	36.697	Terpenes	0.18
40	Hexanoic acid, hexyl ester	36.793	Acids	0.07
41	Copaene	37.428	Terpenes	0.70
42	Unknown	37.679	-	0.87
43	Unknown	37.783	-	0.27
44	Unknown	38.292	-	0.01
45	Unknown	38.45	-	0.04
46	trans-Caryophyllene	38.67	Terpenes	3.17
47	beta-Farnesene	38.841	Terpenes	7.36
48	beta-Sesquiphellandrene	39.104	Terpenes	0.49
49	Unknown	39.22	-	0.26
50	Unknown	39.42	-	0.00
51	alpha-Humulene	39.606	Terpenes	0.81
52	GERMACRENE-D	39.726	Terpenes	0.01
53	Octadecane, 1-chloro	39.826	Alkanes	0.06
54	alpha-Amorphene	40.025	Terpenes	0.09
55	GermacreneD	40.303	Terpenes	3.11
56	Unknown	40.538	-	0.09
57	Unknown	40.616	-	0.06

Table 10. Continued

No	Compounds	RT	Class	Area %
58	alpha-Murolene	40.729	Alkenes	0.38
59	bicyclogermacrene	40.866	Terpenes	7.36
60	beta-Sesquiphellandrene	41.11	Terpenes	0.52
61	alpha-Amorphene	41.206	Terpenes	0.09
62	delta-Cadinene	41.376	Alkenes	0.75
63	11-Tridecyn-1-ol	41.983	Alcohols	0.54
64	Germacrene B	43.103	Terpenes	0.40
65	Unknown	43.399	-	0.45
66	2,5-Di-tert-amylquinone	44.988	Ketones	0.27
67	alpha-Cadinol	45.219	Alcohols	0.33
68	Unknown	45.813	-	0.22

4.1.2. NCP오일의 휘발성 성분분석

NCP오일의 분리/동정된 휘발성 성분은 Table 11과 Fig. 23에 나타내었다. CCP오일과 NCP오일의 분리 동정을 파악하여 아로마테라피 오일로서는 유기농이나 자연산 원료가 인체에 유익하고 또 재배 방법적 측면과 환경기후의 영향을 받는 아로마오일 중 캐모타입의 가치를 평가하기 적합하다고 판단되어진다. 68 종류 화합물의 동정 peak가 나왔으며, peak 면적이 큰 순서로 terpenes(59.55%) 중에서 limonene(34.9%)로 높게 나타났으며 copaene, delta-elemene, delta-cadinene, alpha-cubebene, beta-Pinene 1R-alpha-pinene, beta-myrcene, beta-phellandrene, 1-phellandrene, alpha-terpinene, beta-amorphene, zingiberene, trans-caryophyllene, alpha-amorphene, beta-selinene, 2-carene, alpha-murolene, beta-farnesene, beta-sesquiphellandrene, alpha-humulene, bicyclogermacrene, germacrene-B, germacrene-D 종류로는 24 종류가 동정되었고 alcohols가 17.52% 이며 그 중 linalool (9.06%)로 가장 높게 나타났다. alpha-cadinol 등 총 9종류가 나타났다. alkenes가 15.4% 이고 총 7종류로 나타났으며 alkanes가 4.92% 이고 총 5종류가 나타났다. Phenols가 thymol 0.38% 이고, ketones가 0.63% 이고 2 종류가 나타났으며, esters가 0.27%, triacetin, aldehydes가 4 종류로

0.32% 이며 acetaldehyd 1,2,3-trimethyl - cyclopent-2-ene-carbox aldehyde, ndecanal n-pentanal, n-Hexanal이 나타났고 acids 가 0.03%, 기타 0.43%로 동정되었고 CCP오일 보다는 terpenes와 alcohols가 높게 나타났고 terpenes에서 CCP오일에 동정되지 않은 zingiberene, beta-selinene 성분이 나타났다.

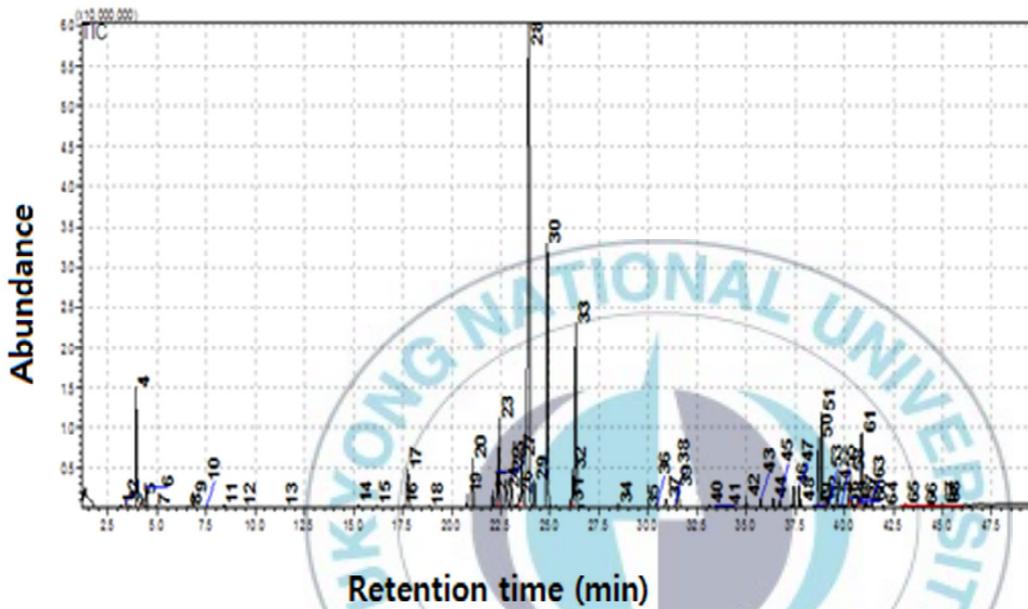


Fig. 23. Distribution of volatile compounds from extraction SC-CO₂ of NCP oil.

Table 11. The volatile compounds from SC-CO₂ extraction of NCP oil

No	Compounds	RT	Class	Area %
1	Unknown Unknown	3.141	-	0.14
2	Acetaldehyde	3.376	Aldehydes	0.11
3	2-Methylpropene	3.45	Alkenes	0.20
4	Ethylalcohol	3.913	Alcohols	4.75
5	Acetone	4.23	Ketones	0.58
6	IsopropylAlcohol	4.437	Alcohols	0.78
7	2-Propanol, 2-methyl	4.946	Alcohols	0.07
8	Furan, 2,3-dihydro	6.552	-	0.08
9	Hexane	6.831	Alkanes	0.75
10	Aceticacid	7.5	Acids	0.03
11	1-Propanol, 2-methyl	8.414	Alcohols	0.16
12	AmyleneHydrate	8.934	Alcohols	0.06
13	n-Pentanal	11.441	Aldehydes	0.10
14	Toluene	15.232	Alkenes	0.13
15	n-Hexanal	16.203	Aldehydes	0.10
16	3,4,5-TRIMETHYL-HEPTANE	17.571	Alkanes	0.07
17	Cyclotrisiloxane, hexamethyl	17.759	Alkanes	2.68
18	2,4-Dimethylheptane	18.862	Alkanes	0.09
19	alpha-Thujene	20.803	Alkenes	0.37
20	alpha-Pinene	21.066	Terpenes	1.75
21	Sabinene	22.09	Alkenes	0.53
22	beta-Pinene	22.311	Terpenes	1.40
23	beta-Myrcene	22.424	Terpenes	2.87
24	Cyclotetrasiloxane, octamethyl	22.768	Alkanes	1.30
25	1-Phellandrene	23.027	Terpenes	1.00
26	ALPHA.TERPINENE	23.411	Terpenes	0.37
27	Cymol	23.555	Alcohols	1.86
28	dl-Limonene	23.921	Terpenes	34.9
29	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl	24.211	Alkenes	0.88
30	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)	24.863	Alkenes	12.21

Table 11. Continued

No	Compounds	RT	Class	Area %
31	(2-Methylpropenyl)benzene	26.018	Aromatic	0.24
32	2-CAREN	26.157	Terpenes	1.64
33	Linalool	26.318	Alcohols	9.06
34	Limonene oxide, trans	28.45	Terpenes	0.21
35	Benzoic acid, 2-[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester	29.25	Esters	0.00
36	1,2,3-Trimethyl-cyclopent-2-enecarboxaldehyde	30.708	Aldehydes	0.01
37	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)	30.927	Alcohols	0.56
38	n-Decanal	31.411	Aldehydes	0.18
39	3-Cyclohexene-1-methanol, alpha, alpha 4-trimethyl	31.523	Alkenes	1.09
40	THYMYLMETHYLETHER	33.117	Ethers	0.13
41	2-Methyl-5-isopropenyl-2-cyclohexenone	33.391	Ketones	0.05
42	Thymol	34.992	Phenols	0.38
43	Triacetin	35.74	Esters	0.27
44	delta-Elementene	36.379	Terpenes	0.32
45	alpha-Cubebene	36.698	Terpenes	0.21
46	Copaene	37.433	Terpenes	0.70
47	alpha-Amorphene	37.685	Terpenes	0.73
48	Zingiberene	37.787	Terpenes	0.18
49	Unknown	38.45	-	0.02
50	trans-Caryophyllene	38.677	Terpenes	2.75
51	beta-Farnesene	38.848	Terpenes	3.34
52	beta-Sesquiphellandrene	39.11	Terpenes	0.25
53	beta-Humulene	39.225	Terpenes	0.15
54	alpha-Humulene	39.611	Terpenes	0.54
55	Octadecane	39.835	Alkanes	0.03
56	beta-Amorphene	40.029	Terpenes	0.04
57	Farnesene	40.22	Terpenes	0.29
58	Germacrene D	40.31	Terpenes	1.52

Table 11. Continued

No	Compounds	RT	Class	Area %
59	beta-Selinene	40.542	Terpenes	0.05
60	alpha-Muurolene	40.735	Terpenes	0.16
61	bicyclogermacrene	40.874	Terpenes	3.59
62	beta-Sesquiphellandrene	41.116	Terpenes	0.16
63	delta-Cadinene	41.383	Terpenes	0.24
64	E-11(12-Cyclopropyl)dodecen-1-ol	41.991	Alcohols	0.09
65	Germacrene B	43.109	Terpenes	0.21
66	Unknown	43.405	-	0.08
67	Unknown	44.992	-	0.11
68	alpha-Cadinol	45.221	Alcohols	0.13

4.1.3. PTP오일의 휘발성 성분분석

PTP오일의 분리/동정된 휘발성 성분은 Table 12와 Fig. 24 에 나타내었다. 총 분리 화합물은 36종류이고 terpenes가 40.38% 이며 14종으로 trans-caryophyllene 14.66%, D-limonene 11.95% 로 높게 나타났으며 그 외 a-pinene, b-pinene, b-myrcene, copaene, a-phellandrene, germacrene-D, b-farnesene 4-carene, a-humulene, delta-cadinene, bicyclogermacrene 14 종류로 나타났으며, alcohols는 33.31%이며 에탄올이 26.98%로 높게 나타났으며 Isopropyl alcohol, 1-propanol, 2-methyl, linalool, alpha-terpineol, alpha-cadinol 총 6종이 동정되었고 alkenes는 총 3종으로 3.16% 로 나타났으며 1-propene, 2-methyl,1,3,6-octatriene, 3,7-dimethyl,1,4-cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl), ketones 3.65%로 2 종류이며, alkanes는 총 4 종류의 화합물로 16.46% 이고 cyclotrisiloxane, hexamethyl, cyclotetrasiloxane, octamethyl, butane,1,1,3,4 - tetrachloro-1,2,2,3,4,4 - hexafluoro, butane, 1,2,4-trichlor, butane, 1,2,4-trichloro-heptafluoro, phenols은 0.62% 이고 2 종 cymol, thymol 이다. Esters는 1.53% 2종이고 benzoicacid, 2-[(trimethylsilyl)oxy]-trimethylsilylester, triacetin 으로 동정되었다. Alcohols 농도가 CCP 오일에서 15.83 %, NCP 오일에서 17.52 %보다 PTP 오일에서 33.31%로 2배 높게 나타났으며 유자의 linalool에 비하여 탱자에서는 에탄올이 26.98%로 아주 높게 나타났다.

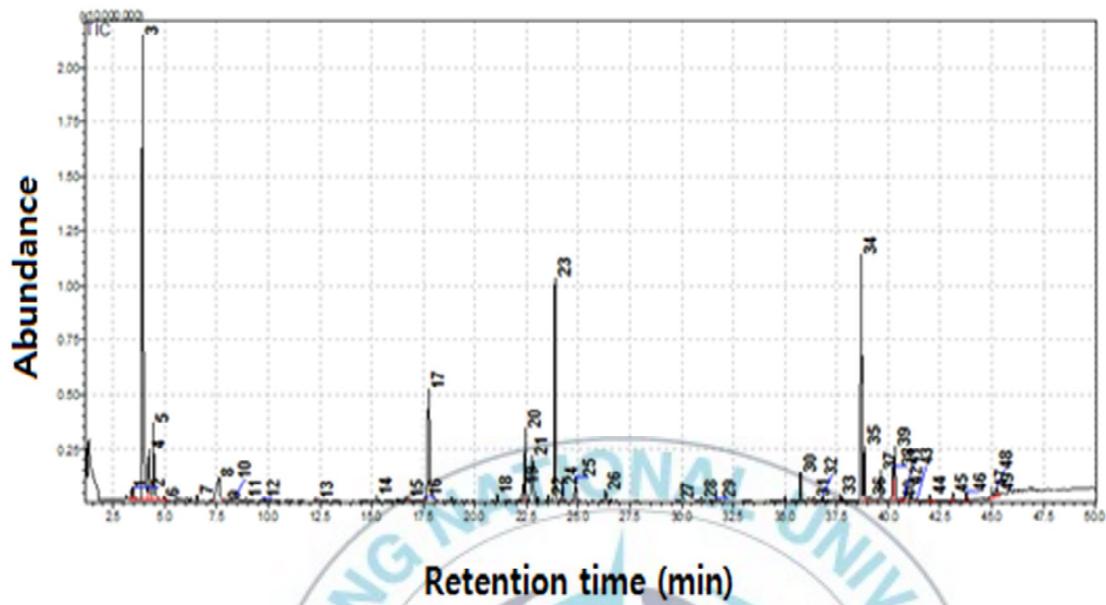


Fig. 24. The volatile compounds from extraction SC-CO₂ of PTP oil.

Table 12. The volatile compounds from extraction SC-CO₂ of PTP oil

No	Compounds	RT	Class	Area %
1	1-Propene, 2-methyl	3.452	Alkenes	0.71
2	Ethylalcohol	3.913	Alcohols	26.98
3	Acetone	4.23	Ketones	3.08
4	Isopropyl Alcohol	4.437	Alcohols	4.28
5	Thiourea	4.947	-	0.37
6	Furan, 2,3-dihydro	6.553	-	0.32
7	1-Propanol, 2-methyl	8.428	Alcohols	0.51
8	Benzene(internal standard)	9.753	-	0.21
9	Cyclotrisiloxane,hexamethyl	17.762	Alkanes	11.08
10	alpha-Pinene	21.069	Terpens	0.36
11	beta-Pinene	22.314	Terpens	0.86
12	beta-Myrcene	22.426	Terpens	3.08
13	Cyclotetrasiloxane, octamethyl	22.763	Alkanes	4.75
14	alpha-Phellandrene	23.029	Terpens	0.20
15	Cymol	23.549	Phenols	0.37
16	D-Limonene	23.868	Terpens	11.5
17	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl	24.209	Alkenes	0.87
18	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)	24.849	Alkenes	1.58
19	4-Carene	26.165	Terpens	0.08
20	Linalool	26.31	Alcohols	0.81
21	Benzoicacid,2-[(trimethylsilyl)oxy]-,trimethylsilylester	29.802	Esters	0.30
22	alpha-Terpineol	31.542	Alcohols	0.06
23	Thymol	34.995	Phenols	0.25
24	Triacetin	35.743	Esters	1.23
25	Copaene	37.347	Terpens	0.23
26	Germacrene D	37.68	Terpens	0.34
27	trans-Caryophyllene	38.682	Terpens	14.6
28	beta-Farnesene	38.849	Terpens	2.62
29	alpha-Humulene	39.615	Terpens	1.72

Table 12. Continued

No	Compounds	RT	Class	Area %
30	GermacreneD	40.313	Terpens	3.19
31	bicyclogermacrene	40.873	Terpens	0.97
32	delta-Cadinene	41.385	Terpens	0.12
33	p-Benzoquinone,2,5-di-tert-pentyl	44.996	Ketones	0.57
34	alpha-Cadinol	45.226	Alcohols	0.67
35	Butane,1,2,4-trichloro-heptafluoro	45.342	Alkanes	0.37
36	Butane,1,1,3,4-tetrachloro-1,2,2,3,4,4-hexauro	45.542	Alkanes	0.26



4.1.4. MCCP오일의 휘발성 성분분석

MCCP오일의 분리/동정된 휘발성 성분은 Table 13과 Fig. 25에 나타내었으며 화합물은 총 36종으로 분리되었으며 terpenes 48.13% 15종으로 d-limonene이 31.30%로 가장 많은 함유량이 a-pinene, copaene, bicyclogermacrene, b-farnesene, b-pinene, b-myrcene, 4-carene, a-phellandrene, germacrene-D, trans-caryophyllene, beta-farnesene, a-humulene, bicyclogermacrene, delta-cadinene이며 알코올은 17.38% 6종으로 linalool이 8.5%이며 가장 높게 나타났으며 IsopropylAlcohol, 1-propanol, alpha-terpineol, a-cadinol, alkenes 8.5%이며 1-propene, 1,3,6-octatriene, 3,7-dimethyl, 1,4-cyclohexadiene이고 alkane 19.98% butane, cyclotrisiloxane, 1,2,4-trichloro-heptafluoro, butane, 1,1,3,4-tetrachloro-1,2,2,3,4,4-hexafluoro, ketones 2.07%이고 2종 acetone, p-benzoquinone이다, phenols 1.46%이며 2종 cymol, thymol이며 ester는 1.29%이고 2종으로 triacetin, benzoic acid, 2-[(trimethylsilyl)oxy]-trimethylsilyl ester로 동정되었다.



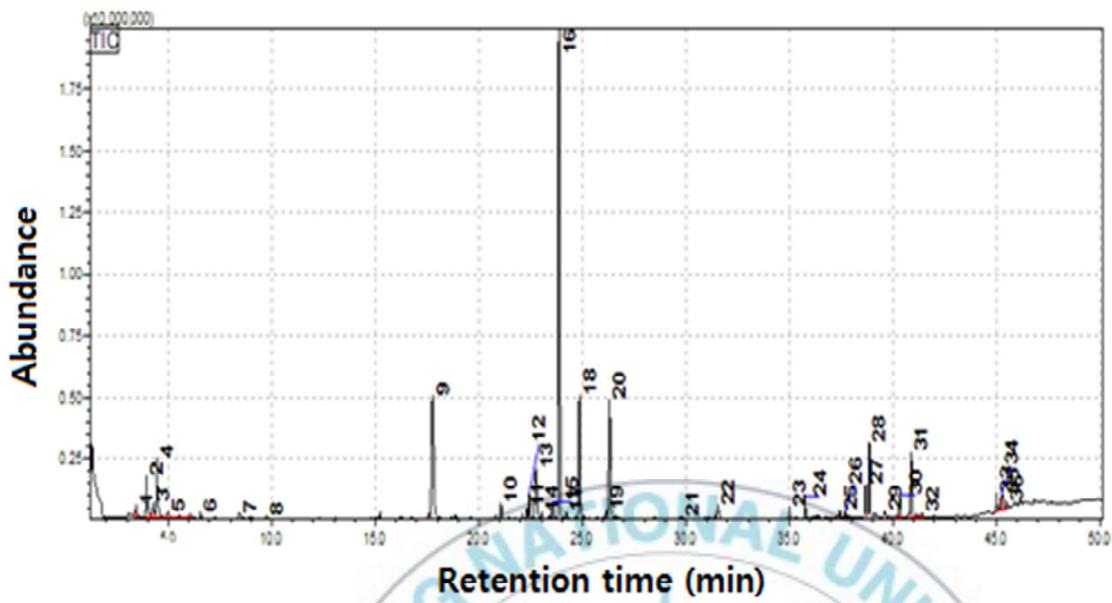


Fig. 25. The volatile compounds from SC-CO₂ extraction of MCCP oil.

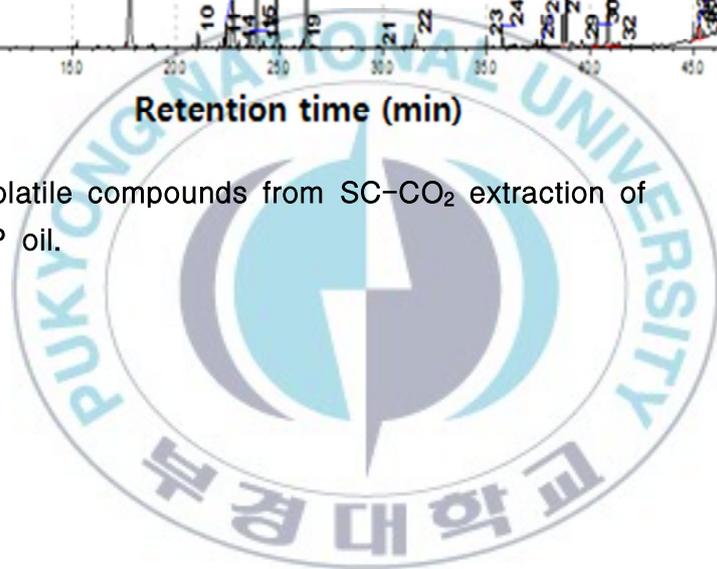


Table 13. The volatile compounds from SC-CO₂ extraction of MCCP oil

No	Compounds	RT	Class	Area %
1	1-Propene, 2-methyl	3.449	Alkenes	0.69
2	Ethylalcohol	3.941	Alcohols	2.47
3	Acetone	4.245	Ketones	0.96
4	IsopropylAlcohol	4.439	Alcohols	3.65
5	Thiourea	4.989	-	0.48
6	Furan, 2,3-dihydro	6.554	-	0.36
7	1-Propanol, 2-methyl	8.427	Alcohols	0.56
8	Benzene(internal standard)	9.749	-	0.37
9	Cyclotrisiloxane, hexamethyl	17.759	Alkanes	13.15
10	alpha-Pinene	21.068	Terpenes	0.80
11	beta-Pinene	22.313	Terpenes	0.61
12	beta-Myrcene	22.426	Terpenes	1.15
13	Cyclotetrasiloxane, octamethyl	22.762	Alkanes	5.38
14	alpha-Phellandrene	23.028	Terpenes	0.33
15	Cymol	23.547	Phenols	0.83
16	D-Limonene	23.87	Terpenes	31.30
17	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl	24.208	Alkenes	0.28
18	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)	24.849	Alkenes	7.53
19	4-Carene	26.16	Terpenes	0.48
20	Linalool	26.306	Alcohols	8.57
21	Benzoicacid,	29.804	Esters	0.25
22	alpha-Terpineol	31.541	Alcohols	1.21
23	Thymol	35	Phenols	0.63
24	Triacetin	35.745	Esters	1.04
25	Copaene	37.437	Terpenes	0.49
26	Germacrene D	37.689	Terpenes	0.42
27	trans-Caryophyllene	38.682	Terpenes	1.91
28	beta-Farnesene	38.851	Terpenes	3.84
29	alpha-Humulene	39.616	Terpenes	0.34
30	GermacreneD	40.316	Terpenes	1.51
31	bicyclogermacrene	40.877	Terpenes	4.57
32	delta-Cadinene	41.39	Terpenes	0.39
33	p-Benzoquinone, 2,5-di-tert-pentyl	44.999	Ketones	1.11
34	alpha-Cadinol	45.231	Alcohols	0.92
35	Butane,1,2,4-trichloro-heptafluoro	45.299	Alkanes	1.07
36	Butane,1,1,3,4-tetrachloro-1,2,2,3, 4,4-hexafluoro	45.496	Alkanes	0.38

4.1.5. MNCP오일의 휘발성 성분분석

MNCP오일의 분리/동정된 휘발성 성분은 Table 14 와 Fig. 26에 나타내었다. 총 분리된 화합물은 33종이며 alcohols 46.33% 6종으로 가장 많은 화합물이 분리되었고, ethanol, 1-(2-butoxyethoxy)이 27.66%로 가장 높게 나타났으며 그 외, Isopropyl alcohol, ethanol, 2-butoxy-, ethanol, linalool, 2-(2-butoxyethoxy)-acetate이며 terpenes 19.97% 5종 d-limonene, caryophyllene germacrene-D, gamma-terpinene bicyclogermacrene과 Ketones 4.84%이며 2종의 acetone, p-benzoquinone가 분리되었으며 alkanes 10.9% 3종 hexamethyl, cyclotrisiloxane, cyclotetrasiloxane, octamethyl, butane, 1,1,3,4 tetrachloro-1,2,2,3,4,4-hexafluoro, phenols 0.45% 1종 2,4-di-tert-butylphenol, esters 0.17% 2종 3-Hydroxy- 2-methyl-octa-4,6-dienoic acid, methyl ester, Indole-3-acetic acid, 1-[(4-methoxyphenyl)sulfonyl]-methyl ester로 동정되었다. 자연산 원료에서는 에탄올이 많이 동정되었다.



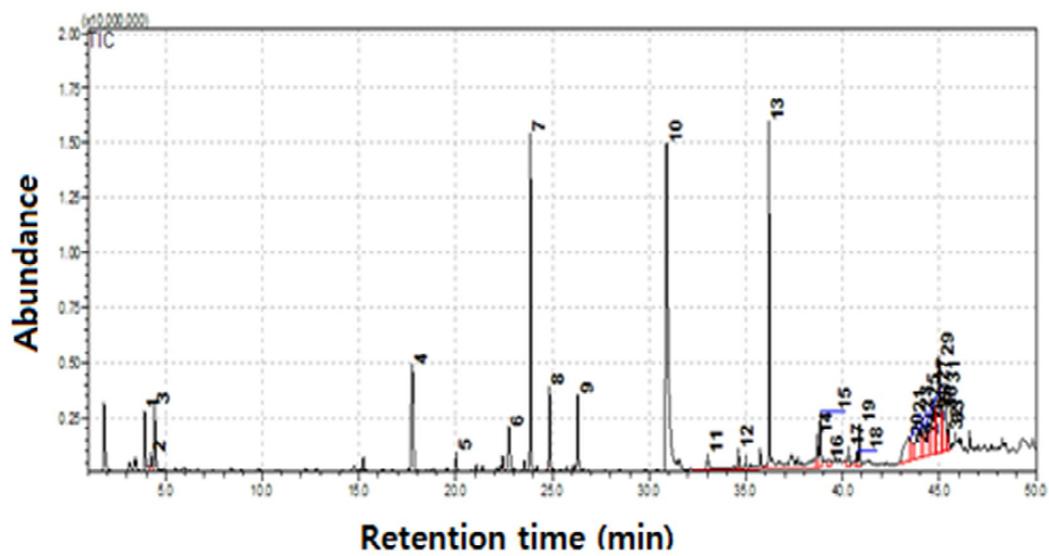


Fig. 26. The volatile compounds from SC-CO₂ extraction of MNCP oil.



Table 14. The volatile compounds from SC-CO₂ extraction of MNCP oil

No	Compounds	RT	Class	Area %
1	Ethylalcohol	3.926	Alcohols	2.21
2	Acetone	4.234	Ketones	0.82
3	Isopropyl Alcohol	4.43	Alcohols	2.70
4	Cyclotrisiloxane, hexamethyl	17.75	Alkanes	7.35
5	Ethanol	20.017	Alcohols	0.70
6	Cyclotetrasiloxane, octamethyl	22.754	Alkanes	3.11
7	D-Limonene	23.865	Terpenes	13.03
8	gamma.-Terpinene	24.845	Terpenes	3.49
9	Linalool	26.302	Alcohols	3.54
10	Ethanol, 1-(2-butoxyethoxy)	30.897	Alcohols	27.66
11	Benzothiazole	33.029	-	1.01
12	3-Hydroxy-2-methyl-octa-4,6-dienoic acid, methyl ester	34.606	Esters	0.64
13	Ethanol,2-(2-butoxyethoxy)-acetate	36.193	Alcohols	9.95
14	Caryophyllene	38.68	Terpenes	1.03
15	1,6,10-Dodecatriene, 7,11-dimethyl-3-methylene	38.848	Alkenes	1.76
16	Indole-3-aceticacid,1-[(4-methoxyphenyl)sulfonyl]-,methyl ester	39.261	Esters	0.17
17	GermacreneD	40.312	Terpenes	0.67
18	2,4-Di-tert-butylphenol	40.734	Phenols	0.45
19	bicyclogermacrene	40.875	Terpenes	1.75
20	2,5-Cyclohexadiene-1,4-dione, 2,5-bis(1,1-dimethylpropyl)	43.409	Alkenes	2.37
21	Unknown	43.509	-	0.43
22	Unknown	43.65	-	0.08
23	Unknown	43.878	-	0.65
24	Unknown	44.167	-	0.18

Table 14. Continued

No	Compounds	RT	Class	Area %
25	Unknown	44.261	-	0.59
26	Unknown	44.534	-	0.26
27	Unknown	44.674	-	1.51
28	Unknown	44.842	-	0.95
29	p-Benzoquinone, 2,5-di-tert-pentyl	44.995	Ketones	4.02
30	Unknown	45.293	-	4.02
31	Unknown	45.293	-	2.11
32	Unknown	45.82	-	0.35
33	Butane,1,1,3,4-tetrachloro-1,2, 2,3,4,4-hexafluoro	45.49	Alkanes	0.44

4.1.6. MPTP오일의 휘발성 성분분석

MPTP오일의 휘발 성분 분리/동정된 성분은 Table 15 과 Fig. 27에 나타내었다. terpenes가 37.7%로 가장 많은 9종이 분리 되었고 d-limonene이 16.73%, 그 외 alpha-Pinene, b-pinene, b-myrcene, farnesene, caryophyllene, a-humulene, germacrene-D, bicyclogermacren이 나타났으며, alcohols 16.22% 5종이 분리되어 ethylalcohol, isopropyl alcohol, tert-butylalcohol, 1-propanol, 2-methyl, a-cadinol이 분리 되었고, ketones 2.25% 1종 acetone이 분리 되었고, alkenes 7.55%, 5종 분리되었 고, alkanes은 8.65% 2종이 분리되었다.

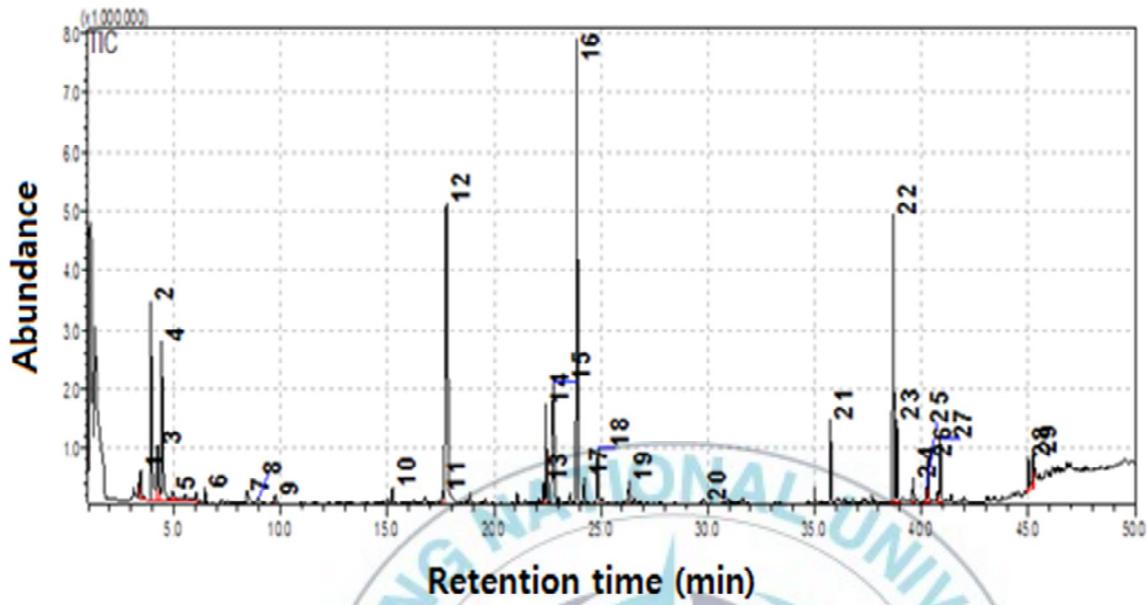


Fig. 27. The volatile compounds from SC-CO₂ extraction of MPTP oil.

Table 15. The volatile compounds from SC-CO₂ extraction of MPTP oil

No	Compounds	RT	Class	Area %
1	2-Methylpropene	3.451	Alkenes	1.24
2	Ethylalcohol	3.934	Alcohols	7.27
3	Acetone	4.244	Ketones	2.25
4	IsopropylAlcohol	4.442	Alcohols	6.04
5	tert-Butylalcohol	4.94	Alcohols	0.57
6	Furan, 2,3-dihydro	6.465	-	0.51
7	1-Propanol, 2-methyl	8.431	Alcohols	0.94
8	AmyleneHydrate	8.953	-	0.48
9	Benzene (internal standard)	9.755	-	0.52
10	Toluene	15.24	Alkenes	0.55
11	Heptane,2,4-dimethyl	17.576	Alkanes	0.42
12	Cyclotrisiloxane, hexamethyl(column bleeding material)	17.765	-	20.42
13	alpha-Pinene	21.074	Terpenes	0.39
14	beta-Pinene	22.319	Terpenes	0.71
15	beta-Myrcene	22.432	Terpenes	2.80
16	Cyclotetrasiloxane, octamethyl	22.768	Alkanes	8.23
17	D-Limonene	23.875	Terpenes	16.73
18	1,3,6-Octatriene,3,7-dimethyl	24.217	Alkenes	1.04
19	1,4-Cyclohexadiene,1-methyl-4-(1-methylethyl)	24.857	Alkenes	2.45
20	1,6-Octadien-3-ol,3,7-dimethyl	26.319	-	1.09
21	Benzoicacid,2-[(trimethylsilyl)oxy]-trimethylsilylester	29.818	Esters	0.51
22	Triacetin	35.748	Esters	2.39
23	Caryophyllene	38.687	Terpenes	11.12

Table 15. Continued

No	Compounds	RT	Class	Area %
24	1,6,10-Dodecatriene,7,11-dimethyl-3-methylene	38.856	Alkenes	2.71
25	alpha-Humulene	39.622	Terpenes	0.88
26	Farnesene	40.235	Terpenes	0.53
27	GERMACRENE-D	40.32	Terpenes	1.86
28	bicyclogermacrene	40.881	Terpenes	2.68
29	2,5-Di-tert-amylquinone	45.002	-	1.27
30	alpha-Cadinol	45.232	Alcohols	1.40

4.2. 항박테리아 활성측정

아로마테라피에 사용되는 각각의 에센셜오일은 인체의 화학작용과 함께 상호작용하는 개개의 구성성분이 결합되어 있는 구조이다. 에센셜오일은 가지고 있는 화학적 구성성분이 각각 우리 신체의 약리적 효능을 가지게 된다. Kurt Schnaubelt (Kurt Schnaubelt, advanced aromatherapy, 1995)는 에센셜오일의 주성분을 그것의 화학적 특성 및 약물학적 효과에 따라 분류한 것을 볼 수 있다.⁴⁶⁾

우리가 심한 스트레스나 우울 그리고 절망적인 감정들 (예를 들면 우울, 고립, 깊은 슬픔, 상실, 걱정)로 고통 받고 있다면 이러한 같은 상호교신은 박테리아를 파괴하는 우리의 면역시스템의 능력을 억제하여 결국은 질병에 걸리게 되는 것이다. 이러한 질병들의 심각성은 우리의 마음과 정서적인 상태가 얼마나 우리의 삶에 있어서 오랜 기간 어떠한 형태로 차지하는지 그 강도에 따라서 좌우되는 것이다. 박테리아의 성장을 방해하거나 박테리아를 바로 죽이며 따뜻한 속성을 가지며 이러한 속성을 가지는 화합물들은 테르펜, 알코올, 페놀류 등이 있다. 대표적인 안티스트레스 오일의 감귤

류 오일 (베르가못을 제외하고)의 성분은 90%이상이 모노테르펜 탄화수소이다. 모노테르펜 성분이 주를 이루는 시트러스계열의 에센셜오일의 화학적 유형의 특성인 자극적이며 따스한 속성이 심리적으로도 정신을 맑고 경쾌하게 작용한다는 연구들과 관련됨을 알 수 있다.⁴⁶⁾ 대표적인 안티스트레스의 관리에 사용되고 있다. 일반적으로 가장 많이 활용되고 있는 라벤더오일들의 화학성분 구조를 살펴보면 강장성분인 알코올 리나올 (linalool)과 진정성분의 에스테르인 리나일 아스테이트 (linalyl acetate) 함유량의 비율이 균형을 가지면서 나타난다는 것을 볼 수 있다. 그러므로 블렌딩에 있어서 가장 보편적으로 많이 사용될 수 있는 것이다. 우리의 일반적인 인체는 62-68 MHz인데 이러한 상태가 55 MHz이하로 떨어지게 되면 면역력이 감소되고 질병에 노출되기 쉬운 상태가 되는 것이다.⁴⁶⁾

이 연구에서의 시트러스계 NCP, CCP, PTP, MNCP, MCCP와 MPTP의 6개 오일과 라벤더, 유칼립투스, 티트리와 총 9개의 오일을 vitro 에서 디스크, well 확산법으로 4개의 박테리아를 배양하여 실험하였다. Table 16과 17에 요약한 것 같이 9개의 샘플에서 높은 박테리아 성장 억제능력을 가지고 있다. 시트러스오일 샘플 6개는 농도 40 ul/mL, 라벤더, 티트리, 유칼립투스오일은 40 ul/mL에서는 박테리아 억제능력이 나타나지 않았고 100 ul/mL 농도에서 활성 억제능력을 실험하게 되었다. MNCP오일은 4개 박테리아에서 12~16 mm의 억제능력을 나타냈다. 모든 샘플들이 적당한 억제능력을 가지고 있다. NCP오일은 다른 오일들에 비해 약한 억제능력을 가지고 있고, MCCP, MNCP 그리고 MPTP 오일들은 *Staphylococcus aureus* 박테리아에서 양호한 활성 억제능력을 나타내었다. *Bacillus cereus*와 *Staphylococcus aureus* 에서 활성능력을 가지고 있다.^{53~55)}

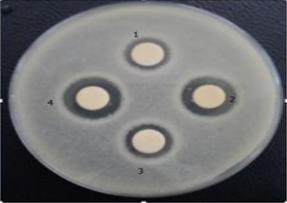
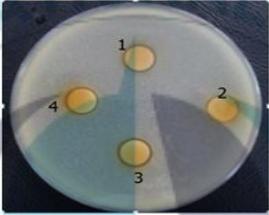
Table 16. Clear zone of extracted oils in different condition

Microorganisms	Clear zone of the Sample								
	40ul/ml						100ul/ml		
	N CP	C CP	PT P	Mixture NCP	Mixture CCP	Mixture PTP	Laben da	Teetr ee	Eucali pus
<i>Bacillus cereus</i> (+)	±	+	±	±	±	±	+	+	±
<i>Staphylococcus aureus</i> (+)	±	+	±	++	++	++	±	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (-)	-	+	±	±	-	++	±	+	±
<i>Escherichia.coli</i> (-)	-	±	-	±	-	±	-	±	±

- No inhibition (10 mm)
± Very slight inhibition (10~11mm)
+ Slight inhibition (11~12mm)
++ Moderate inhibition (12~16mm)



Table 17. Comparative analysis of the antibacterial activities

	
<i>Bacillus cereus</i> (+)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (-)
1. MNCP	1. MNCP
2. CCP	2. NCP
3. PTP	3. CCP
4. Tea Tree	4. Tea tree
	5. MPTP
	
<i>Staphylococcus aureus</i> (+)	<i>Escherichia coli</i> (-)
1. MNCP	1. CCP
2. M CCP	2. MNCP
3. MPTP	3. MPTP
4. Tea tree	4. Tea tree

4.3. 향기흡입과 스트레스에 미치는 영향

18가지 에센셜오일을 사용한 두 가지 블렌딩오일로 병원근무 직원 남녀 20명을 대상으로 5분간 흡입시켜 뇌파의 변화는 없었으나 심리적 불안도와 혈중 카테콜라민 농도가 유의하게 감소하여 항스트레스 효과가 있음이 보고되었고⁵⁹⁾, 고등학교 배구선수 12명을 대상으로 향기흡입 적용한 후 혈압과 맥박은 유의하게 변화하였으나 타액 코티졸 농도는 유의한 변화가 나타나지 않았음이 보고되었고⁶⁰⁾, 여대생을 대상으로 향기흡입과 마사지를 시행한 연구에서 타액 IgA 농도가 증가되었음이 보고되었다.⁶¹⁾ 정상성인을 대상으로 한 연구에서 오렌지 향을 흡입한 군에서 맥박수가 명확히 감소되었음이 보고되었다.⁶²⁾

아로마 에센셜오일 블렌딩으로 현대인의 스트레스, 긴장감, 강박증, 우울증, 무기력증, 이런 현대인의 기능성 질병으로 신체의 노화 산화현상이 늘어나고 면역력 감소와 박테리아 활성화로 각종 질병에 걸리게 된다. 대표적인 안티스트레스 오일의 모든 감귤류 오일 (베르가못을 제외하고)의 성분은 90% 이상이 모노테르펜 탄화수소이다. 모노테르펜 성분이 주를 이루는 시트러스계의 에센셜오일의 화학적 유형의 특성인 자극적이며 파스한 속성이 심리적으로도 정신을 맑고 경쾌하게 작용한다는 연구들과 관련됨을 알 수 있다.⁴⁶⁾

이 연구에서는 시트러스 육성재배 유자껍질, 유자씨앗, 해바라기씨앗을 혼합하여 초임계추출공법의 에센스오일과 캐리어오일 포도씨유, 라벤더, 유칼립투스를 2 : 1 : 1로 블렌딩하여 5분간의 향기흡입과 어깨 마사지 후의 스트레스, 화병, 우울증과 무기력증을 측정된 결과이다. Fig. 32는 디나미카 측정기기의 색깔과 모양을 통한 스트레스 측정 데이터 해석방법이며 영혼과 마음상태, 두뇌활성도, 신체활성도 등을 해석하기 위한 그림이다. Table 17은 데이터 해석과 결론을 위한 약자표를 나타내었다. Table 18은 실험군 10명의 향기흡입전과 후의 디나미카 기기측정 결과차트를 Fig. 32와 Table 17의 약어를 기준으로 나타낸 결과표이다. 나이가 많은 노화 환자에게 강한 스트레스가 완화되었으며, 특히 직업을 가진 운전자에게는 심각한 스트레스 화병이 흡입 전에

나타났으나 흡입 후 정상으로 치유된 증거가 나타났고 신체 활성화도에서도 50대 나이가 향기흡입 전 70대 나이였으나 향기흡입 후 50대 나이로 회복한 결과를 얻었다. 40대 암환자는 향기흡입 전의 심각한 우울증 무기력의 증세가 향기흡입 후 약간 정상적으로 회복되었고, 40대 비즈니스 여성은 우울증 무기력증 증세에서 정상적으로 완전히 회복되었다. 10대 중학생의 우울, 무기력증은 향기흡입 후 조금 완화되었다.

향기흡입이 스트레스 완화에 효과적이었다는 많은 선행 연구자들의 선행연구와 일치하는 결과로 아로마오일이 변연계에 전달되어 정서적, 생리적 이완을 가져와 실험군들이 지각하는 일상적인 심리적 스트레스 정도를 완화시킨 것으로 생각된다. 얼마나 지속되는지, 향기흡입의 적용방법에 따라 효과가 차이 나는지, 그리고 효과를 위해 최소한 얼마동안 적용해야 하는지에 대한 반복 연구가 필요하다.



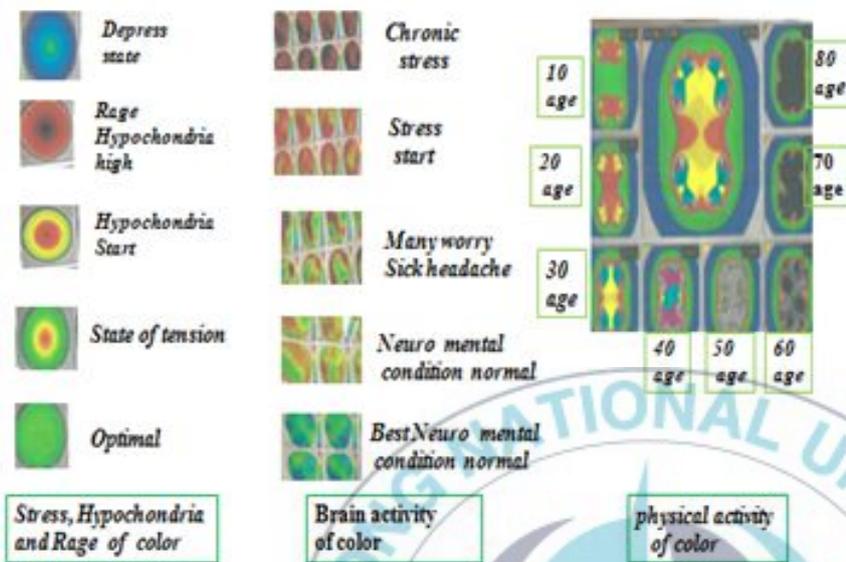


Fig. 28. Date color of stress, hypochondria and rage in DINAMIKA.

Table 18. List of abbreviations and symbols

Symbols	The meaning of abbreviations
S	Stress
H	Hypochondria
R	Rage
D	Depress state
SHRD	Stress, Hypochondria, Rage and Depress state
Ba	Brain activity
Pa	Physical activity(Physical age)
h	high
T	Tension
Sot	State of tension
O	Optimal
Cs	Chronic stress
Ss	Stress start
Mwsh	Many worry sick headache
Nmcn	Neuro mental condition normal
Bnmcn	Best neuro mental condition normal



Table 19. Stress, hypochondria and rage aromatherapy test

Tester	Age	Worker	Before aroma oil inhalation			After aroma oil inhalation		
			SHD	Ba	Pa	SHRD	Ba	Pa
1	67	no	SHR	Ss	70	Hs	Ss	70
2	65	no	SHR	Cs	70	Hs	Ss	50
3	57	driver	RHh	Cs	70	Sot	Nmcn	50
4	50	business	O	Nmcn	50	Sot	Nmcn	50
5	48	business	RHh	Cs	70	Hs	Mwsh	70
6	46	no	Hs	Ss	50	Hs	Ss	50
7	45	cancer patient	D	Bnmcn	10	OD	Bnmcn	10
8	44	business	D	Nmcn	10	O	Nmcn	30
9	37	no	Hs	Ss	70	O	Nmcn	30
10	12	student	D	Bnmcn	10	OD	Bnmcn	10

V. 결 론

본 연구는 스트레스를 경험하는 사람들의 스트레스 감소를 위한 아로마테라피 연구로서 천연물 시트러스는 고흡산 재배유자 (CCP), 자연산 유자 (NCP) 그리고 자연산 탕자 (PTP)로부터 친환경적으로 200 bar, 50°C에서 SC-CO₂ 추출과 헥산을 이용한 유기용매 추출법으로 오일을 추출하여 지방산 조성, 항산화 활성, 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, 항박테리아 활성, 향기성분 그리고 향스트레스 효과를 조사하여 아래와 같은 결과를 얻었다.

1. 시트러스 추출 오일의 지방산함량은 linoleic acid, cis-11,14-eicosadienoic acid, palmitic acid, oleic acid가 높은 함량이 나타났다. SC-CO₂를 이용하여 추출한 CCP에서 오메가 3인 cis-11,14-eicosadienoic acid 가 가장 높게 나타났고, Linoleic acid 는 NCP에서 높게 나타났다.
2. SC-CO₂ 추출법의 CCP 에센셜오일의 농도 50mg/ml에서 DPPH 라디칼 소거능력이 98%로 가장 높게 나타났으며 농도가 높을수록 소거능력이 높아졌고, 시판 라벤더, 티트리, 유칼립투스 에센셜오일에서는 아주 약한 항산화 활성이 관찰되었고 시판 아로마오일 (300 mg)의 라디칼 소거능력이 티트리 (83%), 라벤더 (78%) 그리고 유칼립투스 (70%) 순으로 높게 나타났다.
3. 총 페놀 함량에서 CCP오일의 헥산 추출은 520±1.05 (mg/100 g), SC-CO₂ 추출은 560±1.12 (mg/100 g)이며 SC-CO₂ 추출법이 높게 나타났다. 총 플라보노이드 함량은 CCP오일의 헥산추출에서 75±1.3 (mg/100 g)로 나타났고, SC-CO₂ 추출에서는 84±1.2 (mg/100 g)으로 높게 나타났다. SC-CO₂ 추출의 MCCP오일의 총 페놀 함량은 300 mg/100 g 총 플라보노이드 함량은 50 mg/100 g으로 SC-CO₂ 추출의 MCCP오일이 높게 나타났다. 총 페놀 함량과 총 플라보노이드 함량측정에서 SC-CO₂ 추출법의 CCP에센셜오일의 함량이 높게 나타났다. 혼합오일 추출에서 MCCP 오일이 훨씬 높게 나타났다.

4. 디스크 확산법의 박테리아 소거 효과는 4종의 박테리아 중에서 *Staphylococcus aureus* (+)가 MPTP, MCCP와 MNCP오일에서 12~16 mm의 박테리아 활성이 소거되었고 *Pseudomonas aeruginosa* (-)는 MNCP오일에서 활성소거능력이 크게 나타났다.
5. SC-CO₂ 추출법의 CCP오일의 향기성분은 68가지가 발견되었으며, Limonene 27.32%, Linalool 7.37%, bicyclogermacrene 7.36%로 나타났으며, Nonanal 0.24%는 CCP오일에서만 확인되었다. NCP, PTP에서는 편백나무에 있는 산속의 피톤치 성분이 높게 나타났다.
6. SC-CO₂ 추출법의 MCCP오일, 라벤더오일, 유칼립투스오일과의 블렌딩 향기흡입으로 스트레스, 우울증, 화병, 강박증, 무기력증 치유의 효과가 나타났다.
7. SC-CO₂ 추출의 MCCP오일 블렌딩으로 심각한 화병, 강박증, 긴장감, 우울증, 무기력증 치유, MNCP오일과 티트리의 블렌딩으로 여드름 향균 화장품 원료로서의 효과가 있을 것으로 기대된다.



참고 문헌

- (1) J. H. Park et al, Effect of ethanol extract from peel of citrus joun and poncirus trifoliata on antioxidant and immune Activity, *J. of life science*, **18**(3), 403(2008).
- (2) G. L. Plaa and H. Witschi, Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Annu. Rev. Phanmacol. Toxicol.* **16**, 125(1976).
- (3) H. S. Chung, J. B. Lee, J. H. Seong and J. U. Choi, Chemical components in peel and flesh of trifoliata oranges (poncirus trifoliata). *Kor. J. Food Pre.* **11**, 342(2004).
- (4) Y. G. Lee and I. H. Cha, Antibacterial activity of poncirus trifoliata juice against pathogenic bacteria. *Kor. J. of Life Sci.* **11**, 554(2001).
- (5) J. M Yi, M. S. Kim, H. N. Koo, B. K. Song, H. Y. Yoo and H. M. Kim, Poncirus trifoliata fruit induces apoptosis in human promyelocytic leukemia cells. *Clinica Chimica Acta.* **34**, 179(2004).
- (6) S. F. Wong, B. Holliwell, R. ichimond and W. R. Skowroneck, The role of superoxide and hydroxyl radical in the degradation of hyaluronic acid by metal ions and by ascorbil acid. *J. of inorganic. Biochen.* **14**, 127(1981).
- (7) A. Bocco, A. Cuvelier, H. Richard and C. Berset. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. *J. of Agric Food Chem*, **46**, 2123(1998).
- (8) S. M. Njoroge, H. Ukeda and M. Sawamura, Changes in the volatile composition of yuzu (citrus junos Tanaka) cold pressed oil during storage. *J. of Agric Food Chem*, **44**, 550(1996).
- (9) H. S. Song, M. I. Sawamura, T. Kawashimo and K. Ukeda, Quantitative determination and characteristic flavour of citrus junos (yuzu) peel oil. *J. of Flavour Frag*, **15**, 245(2000).

- (10) F. Hashinaga, Z. Herman and S. Hashegawa, Limonoids in seeds of yuza (citrus junos sieb. Tanaka). *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **37**, 380(1990).
- (11) J. Y. Jeong, Optimization of extraction conditions for limonin and nomilin in citron seed. MS Thesis. Chungbuk National University, Cheongju, Korea, 2008.
- (12) Y. Miyake, K. Yamamoto and N. Tsujihara, Osawa. Protective effects of lemon flavonoids on oxidative stress in diabetic rats. *Lipids*, **33**, 689(1998).
- (13) B. Berkarda, H. Koyuncu, G. Soybir and F. Baycut. Inhibitory effect of hesperidin on tumour initiation and promotion in mouse skin. *Res Exp Med*, **198**, 93(1998).
- (14) M. Calomme, L. Pieters, A. Vlietinck and B. D. Vanden, Inhibition of bacterial mutagenesis by citrus flavonoids. *Planta Med*, **62**, 222(1996).
- (15) E. M. Galati, A. Trovato, S. Kirjavainen, M. Forestieri, A. Eossitto and M. T. Monforte, Biological effects of hesperidin, A citrus flavonoid (note III): Antihypertensive and diuretic activity in rat. *Farmaco*, **51**, 219(1996).
- (16) A. Basile, S. Sorbo, S. Giordano, L. Ricciardi, S. Ferrara, D. Montesano, R. Castaldo, M. L. Cobianchi and L. F. Vuott, Antibacterial and allelopathic activity of extract from castaneasativa leaves. *Fitoterapia*, **71**, S110, 2000.
- (17) C. H. Mannheim and N. Passy, Aroma recovery and retention in fruit juices. *Flavours*, 323(1975).
- (18) D. Eric Lund and L. William Bryan, Composition of lemon oil distilled from commercial mill waste, *J. of Food Sci.*, **41**, 1194(1976).
- (19) C. H. Oh, J. H. Kim, K. R. Kim and H. Joon, Flavor components of poncirus trifoliata, Koren, *J. of Food Sci. technal*, **21**, 749(1989).
- (20) J. H. Lee, Study on Antioxidant and antimicrobial activity of oil extracted from brown seaweed (laminaria japonica) added wheat germ

using supercritical carbon dioxide, MS. Thesis, Pukyong National University. Korea, 2013.

- (21) 고희정 외역, 홀리스틱 테라피스트를 위한 아로마테라피, 군자출판사, p.41, 2005.
- (22) Salvatore Battaglia, The complete guide to aromatherapy, The Perfect Potion Pty Ltd(1995).
- (23) 김명숙, 림프 & 아로마관리학, 훈민사, p.154, 2006.
- (24) K. M. Yoo, K. W. Lee, J. B. Park. H. J, Lee and I. K. Hwang, Variati activity of citron (*Citrus junos* Sieb Tanaka) during maturation and between cultivars. *J. Agr. Food Chem.* **52**, 5907(2004).
- (25) J. H. Shin, J. Y. Lee, J. C. Ju, S. J. Lee, H. S. Cho and N. J. Sung, Chemical properties and nitrite scavenging ability of citron (*Citrus junos*), *J. of Korean Soc Food Sci Nutr.* **34**(4), 496(2005).
- (26) J. Y. Cha and Y. S. Cho, Biofunctional activities of citrus flavonoids, *J. of Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **44**(2), 122(2001).
- (27) R. A. Bernhard, Examination of lemon oil by gas chromatography, *Food Res.* **23**. 213(1958).
- (28) E. Philip Shaw, Review of quantitative analyses of citrus essential oils. *J. of Agric. Food Chem.*, **27**(2), 246(1979).
- (29) R. Scora, A. B. England and W. P. Bitters, The essential oils of *Poncirus trifoliata* (L) Raf. and its selections in relation to classification. *Phytochemistry*, **5**, 1139(1966).
- (30) 문교부 (편), 한국 동식물 도감 식물편 (화훼류 II), **6**, 493(1966).
- (31) Gyeong Suk Jo,, Gwang Yeong Gi, Bong Gi Yun and Jeung Keun Suh, (The Effect of natural essential oil of yuzu (*Citrus junos siebold ex tanaka*) on EEG and autonomic responses, Dankook University, Korea.

- (32) 하병조, 아로마테라피, 수문사, p.52, 2006.
- (33) J. S. Lee and C. J. Han, Effects of (eucalyptus) aroma therapy on lung capacity, *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.*, **7**(3), 187(2009).
- (34) 김명숙, 피부 관리학. 현문사, 서울, 2001.
- (35) V. A. Worwood, The complete book of essential oils and aromatherapy. San Rafael, C A, New World Library, 1991.
- (36) 신유선, 조영숙, 정유진, 아로마요법이 뇌졸중 환자의 자율신경계와 스트레스에 대한 신체 저항도에, 미치는 효과. 대한기초간호자연과학회, **6**(2), 15(2004).
- (37) V. Williamson, bach Remedies and other flower essences. Loren Book. 12(2000).
- (38) 오홍근, 오홍근 박사의 향기요법. 양문사, 2000.
- (39) L. T. Taylor, Supercritical fluid extraction. John Wiley & Sons. Inc., Toronto(1996).
- (40) Q. Lang and C. M. Wai, Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies-A practical review. *Talanta*, **53**, 771(2001).
- (41) Lyn Goldberg, Massage and aromatherapy, Stanley Thornes, p.205, 2001.
- (42) E. J. Roh, Anti-aging effect of ligularia stenocephala on the skin, Doctor's thesis, Hanyang University, 2009.
- (43) G. S. Sim, J. H. kim, N. Young, D. H. Lee, B. C. Lee and H. B. Phoi, Anti-oxidative and inhibitory effect of saussurea involucrata on NMP-1 in UVA-irradiated human dermal fibroblast, *J. of Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **31**(4), 330(2005).
- (44) S .Y. Kim, M. H. Lee and S. N. Park, *J. of Korean Oil Chemists' Soc.*, **27**(4), 559(2010).
- (45) 박성호, 김영길, 최성출, 화장품 성분학, 훈민사, 2005.

- (46) H. J. Koh, Review on the emotional effect of aromatherapy, *Kor. J. Aesthet. Cosmetol*, **4**(2), 129(2006).
- (47) M. J. Nam, M. S. Nam, H. H. Song, M. Y. Yun, C. H. Chin and J. K. Cheong, The effects of aroma inhalation on the stress responses of woman college students, *Kor. J. Aesthet. Cosmetol*, **7**(4), 157(2009).
- (48) Shirly Price, Aromatherapy workbook, London, Thorsons, 1993.
- (49) K. K. Chew, S. Y. Ng, Y. Y. Thoo, M. Z. Khoo, W. M. Wan Aida and C. W. Ho, Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of centella asiatica extracts. *International Food Research Journal*, **18**, 571(2011).
- (50) S. Sakanaka, Y. Tachibana and Y. Okada, Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha), *Food Chemistry*, **89**, 569(2005).
- (51) G. C. Yen and H. Y. Chen, Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. of Agricultural and Food Chemistry*, **43**, 27(1995).
- (52) H. S. Yang, Effect adding Extracts of kalopanax cortex on quality characteristics of chicken feet stock. *Ph. D Thesis*. Pukyong National University, 2014.
- (53) T. Takahashi, R. Kokubo and M. Sakaino, Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from eucalyptus maculata. *Lett Appl Microbiol*. **39**(1), 60(2004).
- (54) S. Mulyaningsih, F. Sporer, J. Reichling and M. Wink, Antibacterial activity of essential oils from eucalyptus and of selected components against multidrug-resistant bacterial pathogens. *Pharm Biol.*, **49**(9), 893(2011).

- (55) S. Messenger, K. A. Hammer, C. F. Carson and T. V. Riley, Assessment of the antibacterial activity of tea tree oil using the European E N 1276 and E N 12054 standard suspension tests. *Journal of Hospital Infection*. **59**(2), 113(2005).
- (56) K. Herrman, Occurrence content of hydroxy cinnamic and hydroxy benzoic acid compounds in foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **28**, 315(1989).
- (57) S. G. Yusof, H. Mohd and G. Sweeking, Naringin content in local citrus fruits. *Food chemistry*, **37**, 113(1990).
- (58) J. H. Park, B. W. Kang, J. E. Kim, M. J. Seo, Y. C. Lee, J. H. Lee, W. H. Joo, Y. H. Choi, H. S. Lim, Y. K. Jeong and B. K. Lee, Effect of ethanol extract from peel of citrus junos and poncirus trifoliata on antioxidant and immune activity. *J. of Life Science*, **18**(3), 403(2008).
- (59) 오홍근, 최진영, 전결구, 이준석, 박동기, 최성돈, 전태일, 김미경, 김석범, 블렌딩 아로마 에센셜오일의 항스트레스 효과에 대한 실험연구. 한국정신과학 학술 대회 논문집, **14**. 33(2001).
- (60) 주금예, 향기요법이 최대운동부하 후 심리적 스트레스와 혈중 스트레스 호르몬에 미치는 영향, 석사학위논문. 서울, 국민대학교, 2002.
- (61) 이성희, 라벤더 정유를 이용한 등 마사지가 중환자실 간호사의 스트레스 반응에 미치는 효과, 대한간호학회지, **31**(5), 770(2001).
- (62) 백은주, 이윤영, 이배환, 문창현, 이수환, 한희철, 뇌파의 자율신경계 반응에 나타난 오렌지향과 valeric acid 에 의한 후각 감성, 한국감성과학회, **1**(1), 105(1998).

Published Papers

- (1) Deok-Jum Lim, Sung-Mo Lee, Hong-Duk Kim and Dae-Hee Oh, Curing characteristics of two-component acrylic urethane coating(I): catalytic effect, *J. of Korean Society for Imaging Science & Technology*, **14**(2), 133(2008).
- (2) Dae-Hee OH, Min-Ha Park, Deok-Jum Lim, Gyoung Kim, Se-Young Kim, Hong-Duk, Kim Se-Mo Son, Chil-Hoon Do, Dong Hee Han and Sung-In Moon, Synthesis and polymerization kinetics of photoluminescence polyimide, *J. of Korean Society for Imaging Science & Technology*, **14**(3), 165(2008).
- (3) Deok-Jum Lim and Dae-Hee Oh, Synthesis of 3-(1,8-naphthalimido) propyl methacrylate-GMA copolymers and their physical properties, *J. of Korean Oil Chemists' Soc.*, **30**(4), 592(2013).
- (4) Jung-Eun Lee, Young-Hee Park, Seung-Min Oh, Deok-Jum Lim, Dae-Hee Oh, Electrical properties of conductive copper filler/epoxy resin composites, *J. of Korean Oil Chemists' Soc.*, **30**(3), 472(2013).
- (5) Jung-Eun Lee, Young-Hee Park, Seung-Min Oh, Deok-Jum Lim and Dae-Hee Oh, Electrical properties of conductive nickel powder/epoxy resin composites, *J. of Korean Oil Chemists' Soc.*, **31**(2), 329(2014).
- (6) Deok-Jum Lim, Byung-Soo Chun and Dae-Hee OH, On study antioxidant effect and aroma component of natural citrus by SC-CO₂ extraction, *J. of Korean Oil Chemists' Soc.*, **31**(2), 285(2014).
- (7) Deok Jum Lim and Dae Hee OH, Synthesis of naphthalimidopropyl acrylate and GMA copolymers and their physical properties, *Polymer(Korea)*, **38**(4), 533(2014).

감사의 글

박사 논문이 완성되기까지 인도하신 하나님께 감사드립니다. 나이 많고 가진 것 없고 아무도 알아주지 않았기 때문에 오직 여호와 하나님만 바라보고 오직 기도 밖에 할 것이 없었습니다. 빌4:13, 19, 20, 마7:7 말씀과 강단말씀이 날마다 살아서 역사하셨습니다.

앞이 캄캄하고 절대로 불가능하다고 생각하고 있는 저에게 백운규 목사님께서 대학으로 가지 않고 여기서 뛰하고 있냐고 말씀 하셨을 때 전 하나님께 질문을 했습니다. ‘왜 제가 대학으로 가야 합니까? 하나님’ 하고 불러 봤습니다. 그때 카이스터 대학교수와 대학생 자살 사건이 있었습니다. 하나님은 저에게 응답을 주셨습니다. 학벌과 학위와 명예가 중요한 것이 아니라 지식 우상에서 고통 가운데 있는 대학을 살리라고 하셨고 많은 다민족 제3국 유학생들 현장을 살리는 것이 전 세계현장을 살리는 길이라고 하셨습니다. 백운규 목사님 감사합니다.

기도와 말씀으로 성령의 인도 속에서 많은 위기 때 마다 도와주신 신종백 목사님 너무나 감사드립니다. 대학으로 다시 복귀하는 날 신종백 목사님으로부터 “그리스도 깃발을 쫓는 개선 여장군”이라고 문자를 받았습니다. 항상 감사합니다. 그리고 대학에서 항상 힘주시고 기도 해주신 김경훈 목사님 감사드립니다. 기도팀이 되어주신 반복선 사모님, 서정자 사모님, 한성기 전도사님, 최경님 장로님, 이호원 권사님, 이순남 권사님, 우동식구들께 감사드립니다.

부족한 저를 포기하지 않으시고 논문 투고와 마지막까지 학문의 길로 인도해주신 오대희 지도교수님 감사드립니다. 그리고 새로운 창업 이 논문이 쓰여 지도록 많은 도움을 주신 식품공학과 전병수 교수님께 감사드립니다. 함께 수고해 주신 Asad zzaman 박사님과 중국유학생 윤세봉 석사과정 학생에게도 감사드립니다. 바쁘신 와중에 저의 논문심사를 맡아주신 진영읍 교수님, 이원기 교수님, 김주현 교수님 진심으로 감사드립니다. 그리고 먼 곳 대구 경북대학에서 직접 오셔서 논문 심사를 맡아주신 강인규 교수님께 진심으로 감사드립니다. 공업화학과 모든 교수님께서 바쁘신 시간 내셔서 논문 발표 할 수 있게 도와주시고 힘주시고 학과 모든 교수님께 감사드립니다. 학과 사무실 조교 선생님께도 감사드립니다. 디나미카 기기

를 제공해 주시고 함께 임상실험 도와주신 치유사역원장 조준영 원장님 감사드립니다. 스트레스측정 실험 때 제일 힘들어 하신 김규율 집사님 감사합니다. 너무나 많은 분들의 도움이 있었습니다. 모든 분들께 감사드립니다.

대학에서 함께 기도 팀이 되어주신 김종태 장로님 장기영 장로님 다민족 박사과정 램넌트들과 부경대학 램넌트들 감사합니다.

그리고 기도의 어머니 배점선 권사님께 감사드립니다. 하나님을 만나도록 길을 안내해 주시고 대학원 박사과정으로 인도해주신 박옥녀 권사님께도 감사합니다. 아들 수환이 함께하지 못했지만 어려움에서 잘 자라준 것이 너무 감사하고 미안하고 모든 친지 가족 형제들과 많은 도움 주신 분들과 함께 은혜와 축복을 나누고 싶습니다.

이제는 많은 후대, 시대와 세계를 살리는 Holy Spirit의 전문인이 되도록 노력하겠습니다.

