

어젠다코드	3 - 13 - 44		구 분	세부완결	
기술분야코드	V1	기술유형코드	H03	작목구분코드	FR-03-FR36
과제종류	공동연구		세세부사업	-	
연구과제 및 세부과제			수행기간	과제책임자 및 세부책임자	
문관나무 종실의 식·미용 소재화 연구			'11~'13	강원대학교	이재선
2) 식·미용 소재개발을 위한 문관나무 종실의 성분 분석			'11~'13	농식품연구소	김희연
색인용어	문관나무, 종자유, 기능성				

## ABSTRACT

This study investigated physiochemical characteristics, oxidative stability, functional activities of *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil (XSSO). The heat-pressed (160°C) extraction showed 53.5±2.5% higher oils yield compared with other extraction. The possibility of XSSO for use as food resources of fats was tested by analyzing the composition of oxidative stability. Stability of XSSO stored in air at 50°C up to 28 days was assessed by chromaticity, browning color intensity, acid value (AV), peroxide value (POV) and tocopherols. We investigated the anti-inflammatory effects of *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil on RAW264.7 macrophages and TPA(12-O-tetra decanoylphorbol-acetate)-induced ear edema mice. It was found out that *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil could significantly reduce the ear swelling, compared to the control. To evaluate whether XSSO has potential in ameliorating allergic symptoms in mice, we tested the anti-allergic activities with a DNCB (dinitrochlorobenzene)-induced allergic mouse model (NC/Nga). The levels of IgE and IL-13 in XSSO had a statistically significantly lower than that of the control group. We investigated the anti-obesity activity of XSSO on the high fat- high cholesterol diet supplied rat. XSSO decreased 43% and 48% contents of triglyceride and total cholesterol than that for control group. We investigated the effects of skin hydration and anti-irritation of XSSO. The moisturizing effects and trans-epidermal water loss (TEWL) of XSSO in cosmetic products were clinically studied. XSSO showed good skin hydration effects when compared with sodium hyaluronate which is commonly using moisturizer. The skin protective effects of XSSO against sodium dodecyl sulfate (SDS) were also found.

## 1. 연구목표

문관과(文冠果, *Xanthoceras sorbifolia*)는 중국수종으로 종자유에 높은 불포화 지방산 함유, 심장 혈관 질환, 동맥경화, 고혈압, 류머티즘성 관절염 등에 대한 기능성 등이 알려져 있으나, 국내 연구는 전무한 실정이다. 국내 식·미용의 다양한 소재로 활용되기 위해 *In vitro*와 *In vivo* 기능성 검정 및 제품 가공적성 등의 개발이 필요하다.

## 2. 재료 및 방법

<제2세부과제 : 식·미용 소재개발을 위한 문관나무 종실의 성분 분석>

(시험 1) 추출방법별 문관나무 종자유의 이화학적 특성 분석

### 가. 실험재료

본 실험에 사용된 문관나무 종자는 2010년에 생산된 종자로 2011년 중국 내몽고 자치구(內蒙古自治區, Inner-mongolia)에서 구입하여 사용하였다.

### 나. 종자유 추출 방법

(1) 초임계추출법(Supercritical fluid extraction system; SFE)

초임계 지방 추출 장치(SC-CO<sub>2</sub> Extraction System, ilsin)를 이용하여 추출하였다. 시료 추출기에 문관나무 종자 분쇄 시료 50 g을 넣고, 압력 320 atm, 420 atm, 추출온도 35℃, 45℃, 50℃에서 5시간 동안 추출하였다. 한 시간마다 separator/collector의 밸브를 열어 축적된 추출물을 vial에 담아 무게를 측정하여 수율을 구하였다.

(2) 헥산 추출법

문관나무 종자를 분쇄하여 분말 시료 100 g에 헥산 2 L를 첨가하여 60℃에서 6시간 동안 진탕기를 이용하여 2회 추출하였다. 추출물은 여과지(No. 2, Whatman, Maidstone, England)가 깔려있는 buchner funnel을 통과시켜 잔재물을 제거한 후 감압 여과하여 rotary vacuum evaporator(N-21NS, EYELA, Tokyo, Japan)로 완전히 농축하였다.

(3) 가열압착법

문관나무 종자를 대상으로 가열압출 방식의 착유기(oil love)를 사용해 종자유를 제조하여 원심분리 후 사용하였다.

### 다. 일반성분 분석

조추출물의 일반 성분 분석은 AOAC 표준분석법(1990)에 준하여 수분은 수분건조기(MA 40, Sartorius, Gottingen, Germany)를 이용하여 처음 시료의 양과 건조된 후의 중량차이로 수분 함을 산출하였다. 조회분은 600℃ 회화로에서 직접 회화시켜 중량법으로 정량하였다. 조단백질은 Kjeldahl법에 의해 Kjeltec 장치(Kjeltec auto sampler system 1035 Analyzer, FOSS TECATOR)로 측정하였고, 조지방은 지방 자동추출장치인 Soxtec(2050 SOXTEC, FOSS, Hoganas, Sweden)을 이용하여 측정하였다.

### 라. 산가

문관나무 종자유의 산가는 AOAC 표준분석법(1990)으로 수행하였다. 각 시료 3 g을 취하여 ethanol-ether혼합액(1:2, v/v) 100 mL에 녹인 후 phenolphthalein을 지시약으로 하여 0.1N KOH/ethanol 용액으로 적정하였다.

#### 마. 과산화물가

과산화 물가는 AOAC 표준분석법(1990)으로 수행하였다. 각 시료 5 g을 취하여 chloroform /acetic acid(2:3, v/v) 용액 30 mL를 가하고, 1 mL 포화 KI 용액을 흔들어서 섞은 다음 암소에서 10분간 방치 후 증류수 50 mL를 가한 다음 1% starch 용액을 지시약으로 하여 0.01 N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  용액으로 적정하였다.

#### 바. 색도

색도는 Chromameter CT-310(Minolta Camera Co. Ltd, Japan)을 이용하여 각 시료의 L(명도), a(적색도), b(황색도) 값을 측정하였다.

#### 사. 갈색도

갈색도는 문관나무 종자유에 25 mL의 메탄올을 가한 뒤 1시간 동안 추출한 다음 여과하여 이 여액을 420 nm에서 흡광도를 측정하여 갈색도를 나타내었다.

#### 아. 지방산 분석

지방산 표준물질 0.01 g을 이소옥탄에 녹여 1,000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 가 되게 하였다. 내부표준물질 triundecanoic acid methyl ester 0.01 g을 이소옥탄에 녹여 1,000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  조제 한 후 이를 각각 혼합하여(1:1) 각각 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 표준용액을 조제하였다. 검체 약 25 mg을 유리 튜브에 취하고 내부표준용액 1 mL를 첨가한 후, 0.5N NaOH/methanol 용액 1.5 mL를 가하고 질소를 불어넣은 후 즉시 뚜껑을 덮고 혼합하였다. 이 혼합액을 100°C heating block에서 약 5분간 가온 후 냉각하여 14% 트리플루오르보란메탄올용액 2 mL를 가하고 100°C에서 30분간 가온하였다. 가온된 혼합액을 30~40°C로 냉각하여 이소옥탄용액 1 mL를 가하여 질소를 불어넣은 후 뚜껑을 덮고 30초간 진탕하였다. 여기에 포화 염화나트륨용액 5 mL를 가하고 질소를 불어넣은 후 뚜껑을 덮고 진탕하였다. 상온으로 냉각한 후 수층으로부터 분리된 이소옥탄층을 새 유리 튜브에 옮기고 질소를 불어넣은 후 즉시 뚜껑을 덮어 보관하였다. 남은 수층에 이소옥탄 1 mL를 추가로 넣고 위와 같은 방법으로 반복 추출하였다. 수층으로부터 분리된 이소옥탄층을 무수황산나트륨으로 탈수하고 질소를 불어넣은 후 분석 전까지 밀봉하여 사용하였다. GC/FID(Hewlett-packard 6890 series, Avondale, PA, USA)를 이용하여 분석하였으며, 컬럼은 Varian wax(30 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$ ), 주입부온도 250°C, 컬럼온도 200°C, 검출기온도 : 260°C, 유량 : 1.0 mL/min, split ratio(10 : 1)로 분석하였다.

#### 자. Phytosterol의 정량 분석

문관과 종자유 25 mg에 internal standard 5 $\alpha$ -cholestane(1 mg/mL in hexane) 50  $\mu\text{L}$ 와 2 N KOH ethanol 용액 2 mL를 가한 후, 90°C의 항온수조에서 15분 동안 비누화 반응을 하였다. 비누화 반응이 끝난 후 hexane 및 증류수를 각각 1 mL씩 넣고 진탕한 뒤 상층액(hexane)을 취하였다. 위의 과정을 3번 반복하여 추출한 후 sodium sulfate anhydrous를 이용하여 수분을 제거하였고, 질소를 이용하여 용매를 완전히 제거한 후 분석용 시료로 사용

하였다. GC/FID(Hewlett-packard 6890 series, Avondale, PA, USA)를 이용하여 분석하였으며, 컬럼은 VF-5ms(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm), 주입부온도 250℃, 검출기온도 : 300℃, 유량 : 1.0 mL/min, split ratio(5 : 1), 컬럼 온도는 285℃에서 30분간 유지하며 phytosterol을 분석하였다.

#### 차. 통계처리

실험 결과는 평균값과 표준편차로 나타내었으며, 통계처리는 SPSS(statistical package for social sciences, version 12.0, SPSS Inc., Chicago, USA)를 이용하여 one-way ANOVA 분석을 실시한 후 Duncan's multiple range test로 유의성을  $p < 0.05$  수준에서 검증 하였다.

### (시험 2) 문관나무 종자유 의 산화안정성 연구

#### 가. 실험재료

1.가.와 동일한 실험재료를 사용하였다.

#### 나. 종자유 추출

문관나무 종자의 불순물을 제거하고 40℃ dry oven에 4시간 건조한 후, 가열압출 방식의 착유기를 사용하여 180℃에서 종자유를 제조하여 원심분리 후 사용하였다.

#### 다. 문관과 종자유 의 정제

문관나무 종자유를 60℃로 가온하고, 60℃의 온수 2%(v/v)를 첨가하여 교반 후 침전물을 제거한 다음 85% 인산용액 0.2%(v/v)를 첨가하여 교반 후 침전물을 제거하였다. 침전물이 제거된 종자유를 4,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 탈검유를 얻었다. 탈검유에 20% NaOH용액 4%(v/v)를 첨가하여 30분간 상온교반 후 4,000 rpm으로 10분간 원심 분리하여 탈산유를 얻었다(Kim and Lee 2005).

#### 라. 산화안정성

문관나무 종자유 의 정제 및 비정제, 아르간, 마카다미아, 포도씨, 올리브오일을 각각 25 g 씩 암갈색 vial에 넣어 완전히 밀폐시켜 50℃ 항온기에 28일간 저장하면서 7일마다 시료를 채취하여 산화안정성 실험을 하였다.

##### (가) 산가, 과산화물가, 색도, 갈색도

1.라. 마, 바, 사의 실험방법으로 수행하였다.

##### (나) 토코페롤 분석

$\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -tocopherol을 분석하기 위하여 표준품을 hexane에 100, 250, 500, 1,000 μg/mL 의 농도로 희석하여 사용하고, 각 시료 10 g을 취하여 산화방지를 위해 6% pyrogallol 5 mL와 60% KOH 1.25 mL를 가하여 충분히 균질화하였다. 시료의 산화방지를 위하여 질소 충전 후 완전히 밀봉하여 70℃ 항온기에서 30분간 반응하였다. 반응이 끝난 후 신속히 ice bath에 시

료를 냉각시키고, 2% NaCl 용액 5 mL를 넣은 후 충분히 균질화 하였다. Hexane : ethylacetate = 85 : 15(containing 0.05% BHT)를 2.5 mL 넣고 3번 반복 추출 후 질소 가스를 이용하여 용매를 완전히 제거하고, hexane 6 mL로 정용한 후 syringe filter(13mm, 0.45  $\mu$ m)로 여과하여 HPLC(Waters, USA)로 분석하였다(Kim 등 2010)(Table 1).

표 1. HPLC condition (v/v, %) for separating tocopherols

Parameter	Conditions
Instruments	Waters alliance system 2690
Detector	Photodiode array (PDA) 210 nm
Column	UK silica 4.6 × 150 mm, 3 $\mu$ m
Mobile phase	Hexane : ethylacetate : acetic acid = 97 : 3 : 0.1(v/v)
Injection volume	10 $\mu$ L
Flow rate	2 mL/min

### (시험 3) 문관나무 종자유의 기능성 탐색

#### 가. 실험재료 및 전처리

##### (1) 실험재료

본 실험에 사용된 문관과 종자는 2012년에 생산된 종자로 2012년 중국 내몽고 자치구(內蒙古自治區, Inner-mongolia)에서 구입하여 사용하였다.

##### (2) 종자유 추출 및 정제

2. 나와 다의 실험방법으로 수행하였다.

#### 나. 문관나무 종자유 추출물의 제조

문관나무 종자 정제유 30g에 hexane 30 mL와 80% methanol 6 mL를 가하여 1시간 동안 진탕하고 separate funnel에 1시간 방치하였다. 하층의 80% methanol 층을 분리하고, 남은 상층에 80% methanol 60 mL를 가하여 반복 추출하였다. 분리된 hexane 층과 80% methanol 층을 감압농축(Rotary evaporator N-1000, Tokyo, Japan)하여 용매를 완전히 제거한 후, hexane 층과 80% methanol 층의 농축물을 각각 10% DMSO와 10% ethanol에 녹여 nitric oxide(NO) 측정시료로 사용하였다(Kim 2000).

#### 다. 세포독성 측정

RAW264.7 세포주를 1×10<sup>5</sup>cells/well로 96well plate에 분주하여 배양한 다음, 문관나무 종자유를 최종 농도가 1 mg/mL, 5 mg/mL이 되도록 처리하여 37°C에서 24시간 배양하였다. 24시간 후 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide(MTT)용액을 첨가하여 동일한 배양조건에서 4시간 동안 배양한 다음, 생성된 formazan 결정을 DMSO에서 녹여

microplate reader(UMV-340, Microplate reader with digiread and scanplus, UAS)를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 라. Nitric oxide 생성량 측정

Nitric oxide(NO) 생성량은 한국세포주은행에서 분양받은 RAW264.7 세포주(mouse macrophage cell line)를 이용하여 측정하였다. NO 생성량 측정을 위해 RAW264.7 세포주를 96 well plate에  $1 \times 10^5$  cells/well의 농도로 분주하여 24시간 동안 배양한 다음 문관나무 종자유를 최종 1 mg/mL, 5 mg/mL의 농도가 되도록 처리하여 24시간 동안 배양 후 NO 생성량을 확인하였다. NO의 정량은 상등액 100  $\mu$ L를 회수하여 griess reagent(Fluka chmie AG, Buchs, Switzerland)를 첨가하여 상온에서 15분간 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 대조구는 0.1  $\mu$ g/mL 농도의 Lipopolysaccharide(LPS)를 사용하였다. 세포의 생존율은 시료를 처리하지 않은 대조군에 대비한 시료 처리군의 흡광도로 표시하였다(Lee 등 2011).

세포 생존율(%) = 시료처리군의 흡광도 / 대조군의 흡광도  $\times$  100

#### 마. 항산화 활성 검정

##### (1) 시료조제

문관나무 종자유를 80% 메탄올을 사용하여 Fig. 1과 같은 방법으로 수행하였다. 문관나무 종자유를 각각 50g 씩 삼각플라스크에 분취한 후, n-hexane 50 ml와 80% methanol 200 ml를 넣고 1시간 동안 진탕한 후 분액 깔대기로 옮겨 1시간 방치한 후, 분리된 두 층을 각각 삼각 플라스크에 옮겼다. 40 $^{\circ}$ C에서 rotary vacuum evaporator(N-21NS, EYELA, Tokyo, Japan)로 용매를 완전히 제거한 후, 5 ml 80% methanol로 정용하여 실험에 사용하였다.

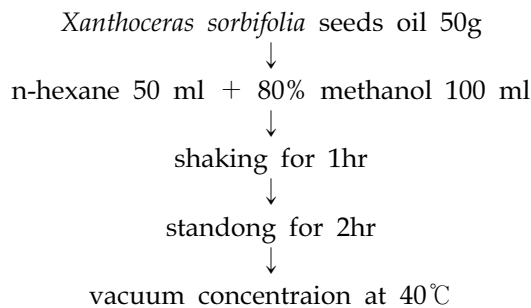


Fig 1. Extract method of *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil

##### (2) DPPH radical에 대한 소거활성

DPPH radical에 대한 소거활성은 Biois의 방법(26)을 변형하여 측정하였다. 각 농도별로 조제한 시료 0.2 mL에 0.2 mM의 DPPH 용액 0.8 mL를 가하여 혼합한 뒤 상온에서 30분간 반응시킨 후 UV-visible spectrophotometer(DU 730, Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA)

를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정 하였고, 각 시료를 3회 반복 실시하여 평균하였다. DPPH radical 소거능은 시료 용액의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도의 차이를 아래와 같이 백분율로 나타내었으며, DPPH radicals scavenging activity의 값이 50%가 되는 시료의 농도를 IC50값으로 구하였다. 대조약제로는 기존의 항산화제인 ascorbic acid(Sigma, St. Louis, MO, USA)를 사용하여 비교하였다.

### (3) 총 폴리페놀 함량의 측정

총 폴리페놀 함량의 측정은 페놀성 물질인 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 나타내는 원리를 이용한 Folin Denis 방법(Gutfinger 1981)을 응용하여 측정하였다. 시료를 0.2 mL를 시험관에 취하고 증류수 1.8 mL를 가하여 2 mL로 만든 후, 0.2 mL의 Folin- Ciocalteu's phenol reagent(Sigma)를 첨가하여 3분간 실온에 방치하였다. 70°C에서 녹인 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 포화 용액 0.4 mL를 가하여 혼합하고 증류수 1.4 mL를 첨가한 후 실온에서 1시간 경과 후 UV/VIS spectrophotometer로 725 nm에서 흡광도를 측정하고 tannic acid로 표준곡선을 구해 정량하였다.

### (4) 총 플라보노이드 함량 측정

시료 0.1 mL를 취하여 튜브에 넣고, 증류수를 0.4 mL와 5% NaNO<sub>2</sub> 0.03 mL를 첨가하여 잘 혼합한 후 5분간 실온에 방치하였다. 10% AlCl<sub>3</sub> 0.03 mL를 첨가하여 혼합하고 실온에 5분간 방치한 후, 1 M NaOH 용액을 0.2 mL 첨가하였다. 1분간 상온에서 반응시킨 후 증류수를 3.24 mL를 첨가한 후 잘 혼합하여 UV/VIS spectrophotometer로 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 rutin을 이용하여 표준곡선을 구해 정량하였다(Jia 등 1999).

## (시험 4) 문관나무 종자유의 효능 평가(동물실험)

### 가. 급성염증유발 동물모델에서 문관나무 종자유의 염증억제 효과

#### (1) 실험재료

3. 가의 실험방법으로 수행하였다.

#### (2) 실험동물 및 사육 환경

Balb/c mouse 4주령 32마리를 (주)오리엔트바이오에서 구입하여 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험동물은 일정한 습도(50% ± 5%), 온도(22°C ± 2°C)가 자동 유지되는 동물실에서 사육되었고 물과 사료는 자유롭게 공급되었으며, 일주일간의 적응기간을 거친 후 본 실험에 사용되었다. 본 동물실험은 강원도 농업기술원 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호: GWARES-AEC-12-04)을 거쳐 진행하였다.

### (3) 염증 유발 및 문관나무 종자유 처리

염증 유발 전 두께측정기(ID-C112B, Mitutoyo Co., Kawasaki, Japan)를 이용하여 mouse 왼쪽 귀의 두께를 측정한 후, TPA(12-O-tetradecanoylphorbol-acetate)로 염증을 유발하였다. TPA(Sigma-Aldrich Co., USA)는 2.5  $\mu\text{g}$ 을 정량하여 20  $\mu\text{L}$ 의 아세톤에 녹여 사용하였고 왼쪽 귀의 양면에 10  $\mu\text{L}$ 씩 처리하였다. TPA를 24시간 간격으로 2회 도포하였으며 도포 완료 후 100 mg/mL와 500 mg/mL의 농도로 조제된 문관나무 종자유와 양성대조군인 Indomethacin (Sigma St. Louis, MO, USA)을 25 mg/mL의 농도로 조제하여 왼쪽 귀의 양면에 10  $\mu\text{L}$ 씩 도포하였다(29). 실험군은 정상군, 대조군, 문관나무 종자유를 100 mg/mL의 농도로 사용한 실험군(T1), 500 mg/mL의 농도로 사용한 실험군(T2), 양성대조군(INDO)으로 총 5개의 군으로 나누었다.

### (4) 귀 부종 측정

염증유발 및 문관나무 종자유 처리 24시간 경과 후 직경 5mm 펀칭을 이용하여 왼쪽 귀 조직을 얻어 귀의 무게와 두께(ID-C112B, Mitutoyo Co., Kawasaki, Japan)를 측정하였다 (Hahm 등 2008).

$$\text{Percent inhibition (\%)} = \frac{(T24-T0)\text{control} - (T24-T0)\text{treated group}}{(T24-T0)\text{control}} \times 100$$

T0: 염증 유발 및 문관나무 종자유 처리 전 귀의 두께

T24: 염증 유발 및 문관나무 종자유 처리 24시간 경과 후 귀의 두께

## 나. 고지방-고콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향

### (1) 실험재료

3. 가의 실험방법으로 수행하였다.

### (2) 실험동물 및 사육 환경

실험동물은 Sprague Dawley(SD)계 5주령 웅성 흰쥐 40마리를 (주)오리엔트바이오(Seongnam, Korea)에서 구입하여 1주일간 rat용 일반사료(5L79 PMI Inc., St. Louis, MO, USA)로 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험기간 동안 실험동물은 습도50%±5%, 온도 24±2°C 유지되는 동물 실험실에서 사육하였으며, 물과 사료는 자유로이 섭취할 수 있도록 공급하였다. 본 동물실험은 강원도 농업기술원 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호: GWARES-AEC-13-03)을 거쳐 진행하였다.

### (3) 실험군 분리 및 식이

1주일간 실험실에서 적응된 실험동물을 난피법(randomized block design)에 따라 각 처리 군당 8마리씩 총 5군으로 나누어 5주간 사육하였다. 실험군(Table 2)은 정상식이군(N), 고지방-고콜레스테롤 식이군(대조군, HFC), 고지방-고콜레스테롤 식이와 0.5% 문관나무 종자유 첨가군(HFC-XSL) 및 고지방-고콜레스테롤 식이와 1% 문관나무 종자유 첨가군(HFC-XSH)로 나누었으며, 실험동물의 식이는 AIN 93 정제 식이를 변형하여 조제 후 공급하였다(Table 3).

표 2. Experimental design.

Groups	Diet composition
N	Normal diet
HFC	High-fat/High-cholesterol diet
HFC-XSL	High-fat/High-cholesterol diet + XSL
HFC-XSH	High-fat/High-cholesterol diet + XSH

표 3. Composition of experimental diet. (g/kg)

Diet composition	N	HFC	HFC-XSL	HFC-XSH
Casein	200	233	233	233
Sucrose	100	201	201	201
Dextrose	132	117	117	117
Corn Starch	398	85	85	85
Cellulose	50	58	58	58
Soybean Oil	70	29	29	29
Lard	0	207	207	207
Mineral Mix <sup>1)</sup>	35	52	52	52
Vitamin mix <sup>2)</sup>	10	12	12	12
L-Cystine	3	3	3	3
TBHQ <sup>3)</sup>	0	0	0	0
Choline Bitartrate	3	2	2	2
Cholesterol		10	10	10
<i>Xanthoceras sorbifolia</i> seed oil			5	10

1), 2)AIN 93 diet composition, 3)tert-Butylhydroquinone

(4) 체중 및 식이섭취량의 변화

체중, 음수섭취량 및 사료섭취량은 시험 개시일과 개시 후 2일에 한번씩 측정하였다.

(5) 혈액 채취 및 혈액생화학적 검사

혈액 채취는 시험 종료일에 Zoletil : Rumpun(4:1)으로 마취(복강주사 50 µL/100g body weight) 후 복대정맥에서 1 mL 채혈하여 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리하였다. 그 다음 상등액을 취하여 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청 중 total cholesterol, triglyceride, HDL(high density lipoprotein)-cholesterol, LDL(low density lipoprotein)-cholesterol를 자동혈청분석기 (BT1000, Biotechnical Instrument, Rome, Italy)를 이용하여 분석하였다.

(6) 장기중량 및 지방조직 무게 측정

시험 종료일 복대정맥 채혈 후 방혈을 실시하였으며 간 중량, 부고환 지방의 중량을 측정하기 위해 간과 부고환 지방을 적출하였으며 흡수지에 체액 및 혈액을 제거 후 각각의 중량을 측정하였다.

### (7) 간 지질 분석

간 조직 내의 지질 함량 분석을 위하여 Folch와 Less(1957)의 방법을 응용하여 1 g의 간 조직을 3 mL CM solution(chloroform-methanol(3:1, v/v))을 첨가 후 균질화하였다. 균질화된 용액을 37°C shaking incubator에서 30분간 방치한 후 3000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 chloroform 층을 수거하고, 다시 3 mL CM solution을 첨가하여 균질화 하고 chloroform 을 수거하는 작업을 2회 반복하였다. 최종적으로 chloroform 층은 감압건조 과정을 거쳐 효소법을 이용한 kit(TG-kit AM157S-K, total cholesterol AM202-K, Asan pharm, Seoul, Korea) 을 사용하여 총 콜레스테롤 함량, 중성지방 함량을 측정하였다.

## 다. DNCB로 유도된 NC/Nga 마우스의 아토피 피부염에 대한 효과

### (1) 실험재료

3. 가의 실험방법으로 수행하였다.

### (2) 실험동물 및 사육 환경

웅성 5주령의 NC/Nga atopic mice를 (주)오리엔트바이오에서 공급받았다. 실험동물은 습도 (50% ± 5%), 온도(24°C ± 2°C)가 자동 유지되는 동물실험실에서 사육되었고 물과 사료는 자유롭게 공급되었으며 1주간의 적응기간을 거친 후 실험에 사용되었다. 본 동물실험은 강원도 농업기술원 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호: GWARES-AEC-13-01)을 거쳐 진행하였다.

### (3) 아토피 피부염 유발 및 시료처리

6주령이 된 NC/Nga mice의 등 부위를 깨끗하게 제모한 후 제모가 끝나면 피부의 미세 상처가 치유되도록 24시간 방치하였다. 1% DNCB 용액(아세톤 : 올리브오일 = 3 : 1) 200µL 를 등 부위에 도포하고 4일 후 0.4% DNCB 용액 150 µL를 다시 도포하였으며, 2일 후부터는 1주일에 3번씩 0.4% DNCB 용액 150 µL를 6주간 등 부위에 도포하였다. 실험은 정상군(N), 대조군(C), 양성대조군1(Tacro, PC1), 양성대조군2(달맞이꽃 종자유 100 mg/mL, PC2), 실험군1(문관나무 종자유 100 mg/mL, T1), 실험군2(문관나무 종자유 300 mg/mL, T2), 실험군3(문관나무 종자유 500 mg/mL, T3)으로 나누었으며 정상군은 제모 후 방치하였고, 대조군(C)은 제모 후 DNCB 용액을 도포하여 피부염을 유도하였으며, 양성대조군과 실험군은 제모와 피부염 유도 후에 양성대조군1인 Tacrolimus(이하, Tacro) 도포군은 0.66 mg/mL농도로 4주간 2일에 1회 (150 µL), 양성대조군2와 실험군인 문관나무 종자유 도포군 또한 4주간 2일에 1회 도포하였다. 자연치유에 의한 오차를 막기 위해 시료처리 기간에도 DNCB를 주3회씩 4주간 등 부위에 도포하였다.(Choi 등 2010, Lee 등 2012)

### (4) 관능 평가

NC/Nga mice의 피부염은 아토피성 피부염에서 일반적으로 사용되는 임상적 육안 평가법을 이용하였다. 육안평가 결과는 다음의 5가지 항목을 각각 평가한 점수의 총 합으로 나타

내었으며 평가 항목은 홍반(Erythema), 가려움과 피부건조(Pruritus & Dry Skin), 부종과 혈종(Edema & Excoriation), 짓무름(Erosion), 그리고 태선화(Lichenification)로 나누어졌다. 이 각각 항목은 없음(0), 약함(1), 중증도(2), 심함(3)으로 나누어서 채점하였다.

#### (5) 혈액 및 조직 채취

채혈은 희생일 전에 mice를 12시간 절식시킨 다음 줄레틴, 럼폰의 과다투여로 마취시키고 개봉하여 주사기를 이용해 심장으로로부터 1mL의 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 4°C에서 3000rpm으로 10분간 원심분리하여 혈장만 분리해 -20°C에 보관하였다. 등 부위의 피부조직을 1×1cm<sup>2</sup> 크기로 잘라서 피부조직을 채취하였다.

#### (6) 혈청 중 IgE 및 IL-4, IL-13 변화 측정

각 실험군별 혈청 중의 IgE 및 IL-4, IL-13 변화 측정은 실험동물 희생일에 심장 천자를 통해 얻은 혈액으로부터 분리한 혈청을 이용하여 측정하였다. IgE 변화 측정은 mouse IgE ELISA kit(eBioscience, Inc. Austria)를 이용하여 측정하였으며 IL-4, IL-13 변화 측정은 mouse ELISA kit(R&D Systems, Inc. USA)를 이용하여 측정하였다.(Choi 등 2010)

#### (7) 조직병리학적 분석

실험 종료 후 등 부위의 피부를 적출하여 10% paraformaldehyde에서 24시간 동안 포르말린에 고정하였다. 그 조직을 파라핀 포매(paraffin embedding)하여 5 $\mu$ m 두께로 block을 만들었으며, neutrophils, eosinophils을 식별하는 H&E(haematoxylin-eosin) 염색법을 이용하여 조직을 염색하였고 광학현미경을 이용하여 조직의 전반적인 상태를 관찰하였다.

### 라. 임상시험

#### (1) 실험재료

3. 가의 실험방법으로 수행하였다.

#### (2) 피부 자극 유발 평가

문관나무 종자유의 피부 자극 유발 여부를 평가하기 위하여 인체 첩포 시험(Human patch test)을 통하여 인체에 대한 1차 자극 시험을 수행하였다. 건강한 성인 남녀 20명을 대상으로 CTFA 가이드라인(The Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association, Inc. Washington, D.C., 20036, 1991)에 따라 실시하였다. 문관나무 종자유는 100% 원액을 사용하였으며, 음성 대조군으로는 증류수를 사용하였다. 피시험자의 팔 안쪽에 각 시료를 filter paper disc에 50  $\mu$ L씩 흡수시켜 직경 8mm Finn chamber로 덮고, 시료가 살짝 마르면 scanpor tape로 고정시킨다. 첩포 30분 후, 각 filter paper discs를 제거한다. 피시험자는 filter paper disc 제거 후 4시간, 24시간 동안의 피부 자극 유발 여부를 육안으로 관찰하여 자극여부를 판단하였다.

### (3) 피부 자극 완화 효과 평가

1% SDS, 40  $\mu$ L씩 피부에 24시간 첩포하여 자극을 유발한 후, 피부자극완화 효과가 있다고 알려진 마치현추출물과 아르간오일을 이용하여, 이를 SDS로 인하여 자극이 유발된 피시험자의 팔 안쪽에 하루에 2회, 3일 동안 도포하고 아래와 같이 피부홍반 및 장벽회복 효과를 측정하였다. 마치현 추출물은 1.0% 농도로 희석하여 사용하였으며, 아르간오일과 실험시료인 문관나무 종자유는 100% 원액을 사용하여 실험하였다. 0.1% SDS 인체첩포(human patch test)는 피검자의 팔 안쪽에 filter paper disc에 40  $\mu$ L 씩 흡수시켜 직경 8 mm Finn chamber로 덮고, 시료가 살짝 마르면 scanpor tape 로 고정시킨 뒤 24시간 첩포 후 제거하였다. 첩포를 제거한 뒤 24시간 후 마치현추출물과 아르간오일, 문관나무 종자유와 음성대조군은 증류수를 각각 10  $\mu$ L씩 하루 2회 시료를 3일 동안 도포하였다. 도포 후, 도포 2일 경과 후, 도포 4일 경과 후의 실험부위의 피부반응 정도를 평가하였다. 실험부위의 측정은 물질을 도포하기 전인 오전에 측정하였다, 피부 자극 완화 효과는 Mexameter를 이용하여 홍반지수(ery-thema index, EI)의 값을 측정하였으며, 측정한 시간대별 홍반지수의 평균값을 구하고, 도포 전과 비교하여 홍반지수의 변화 정도를 확인하였다. 경피수분손실량 측정은 실내온도 22~23 $^{\circ}$ C, 상대습도 45~50% 항온항습 조건에서 경피수분손실량 측정기(TEWAMETER $\text{\textcircled{R}}$ TM300)를 이용하여 측정하였다. 도포 전 및 대조군과 비교하여 경피수분손실량을 측정하여 피부장벽기능 회복 정도를 비교하였다.

### (4) 피부 보습효과 평가

피부의 수분함량은 피부표면의 수분함량을 가진 정전부하용량 측정법(SKIN capacitance measurement)으로 측정하는 장비인 피부수분량 측정기(CORNEOMETER $\text{\textcircled{R}}$ CM825)와 경피수분손실량을 측정하는 경피수분손실량 측정기(TEWAMETER $\text{\textcircled{R}}$ TM300)를 이용하여 측정하였다. 온도와 습도가 일정한 실험실 내에서 적정온도 24 $^{\circ}$ C~27 $^{\circ}$ C, 상대습도 45%~50%의 환경하에서 10분간 이상 안정을 취한 후, 수행하였다. 피시험자의 팔 안쪽에 각 시료를 filter paper disc에 50  $\mu$ L씩 흡수시켜 직경 8mm Finn chamber로 덮고, 시료가 살짝 마르면 scanpor tape로 고정시켰다. 첩포 30분 후, 각 filter paper disc를 제거한 후, 시료도포 전, 시료도포 후 30분, 60분, 90분, 120분 경과 후의 수분함유량과 경피수분증발량을 측정하였다, 측정된 capacitance units(A.U.)로 전환하였으며, 측정된 TEWL은 g/h/m<sup>2</sup>로 표기하였다.

### (5) 피부 미백효과 평가

문관나무 종자유의 인체에 대한 피부 미백 효과를 측정하기 위하여, 미백효능이 있다고 알려진 미백기능성 성분인 알부틴과 아르간오일을 이용하여, 피부내의 멜라닌 함량을 측정하는 장비인 Mexamete(MEXAMETER MX18)로 측정하였다. 양성대조군인 알부틴은 1.0% 농도로 희석하여 사용하였으며, 아르간오일과 실험시료인 문관나무 종자유는 100% 원액을 사용하였으며 음성대조군으로는 증류수를 사용하였다. 온도와 습도가 일정한 실험실 내에서 적정온도 24 $^{\circ}$ C ~ 27 $^{\circ}$ C, 상대습도 45% ~ 50%의 환경하에서 10분간 이상 안정을 취한 후, 수행하였다. 피시험자의 팔 안쪽에 각 시료를 filter paper disc에 10  $\mu$ L씩 흡수시켜 직경 8 mm

Finn chamber로 덮고, 시료가 살짝 마르면 scanpor tape로 고정시켰다. 피검자의 팔 안쪽에 각 시료 10 µL씩 하루 2회 시료를 도포하고 시료 처리 전, 시료 처리 2주, 시료 처리 4주 후 아래와 같이 피부미백 효과를 측정하였다. 측정된 시간대별 멜라닌지수의 평균값을 구하고, 도포 전과 비교하여 멜라닌 지수의 변화율을 확인하였다.

#### (시험 5) 문관나무 종자유 활용 가공적성 탐색

##### 가. 문관나무 종자의 전처리 및 성분 분석

##### (1) 문관나무 종자의 볶음처리 및 착유 방법

100, 150, 200°C에서 1시간 동안 문관나무 종자를 볶은 후, 4. 다. (2)의 방법으로 착유한 후 사용하였다.

##### (2) 휘발성 성분 분석

처리별 문관나무 종자유 200 µL를 20 mL vial에 넣은 후 실리콘 septum으로 밀봉하고 polydimethylsiloxane(PDMS) fiber가 장착된 solid phase microextraction auto sampler (Varians Combi PAL SPME Holder)를 사용하여 60°C에서 30분간 흡착시킨 후 분석하였다. 분석된 처리별 문관나무 종자유 휘발성 화합물은 GC-MS의 Wiley 275과 NIST library를 이용하여 비교·동정하였다(Kim 등 2008).

표 4. Analytical conditions of GC-MS for volatile composition in *Xanthoceras sorbifolia* seed oil

GC-MS	Condition
GC	Varian CP-3800
Column	HP-5MS(30×0.25 mm, 0.25 µm)
Column flow	1 mL/min, He
Injection volume	1 µL
Injection mode	Splitless
Inlet temperature	250°C
Oven	50°C(5min)→250°C(10min), 4°C/min
MS	Varian 1200L
Ion source	EI, 70 eV
Ion source temperature	280°C
Scan range	30 ~ 550 m/z

##### (3) 처리별 문관나무 종자유의 이화학적 성분 분석

위 방법으로 제조된 볶음처리별 문관나무 종자유의 산가, 과산화물가, 색도, 갈색도는 1. 라, 마, 바, 사의 방법으로 수행하였다.

## 나. 크림제조 및 피부 보습 및 자극완화 효과

### (1) 크림 제조 방법

문관나무 종자유 30 g과 tween 40 6 g을 약 40℃에서 가온 용해한 phase 1을 glycerin 4 g, 1, 3-butylene glycol 3 g, carbopol 940 0.4 g, water 52.9 g을 약 40℃~50℃에서 가온 용해한 phase 2에 magnetic stirrer를 이용하여 교반하면서 조금씩 첨가하였다. 흰색의 액상이 만들어지면, triethanolamine 0.4 g과 water 3.3 g을 넣고 실온에서 용해한 phase 3을 넣고 homo mixer를 이용하여 5,000 rpm에서 10분간 교반한 후 실온으로 냉각하여 크림을 제조하였다.

### (2) 피부 자극완화 및 보습 효과 검증

위 방법으로 조제된 문관나무 종자유 크림의 피부 자극완화 및 보습효과를 4. 라. (2)와 (3)의 방법으로 수행하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### <제2세부과제 : 식·미용 소재개발을 위한 문관나무 종실의 성분 분석>

#### (시험 1) 추출방법별 문관나무 종자유의 이화학적 특성 분석

##### 가. 종자유 추출 수율

초임계 추출의 경우 압력(320 atm, 420 atm)과 온도(35℃, 45℃, 50℃)를 달리 하여 추출을 하였고, 추출 결과 압력 420 atm과 온도 50℃의 조건에서 최대의 수율을 나타냈다. 추출 방법별 수율은 헥산 추출법이 53.5%로 가장 높았으며, 160℃ 가열압착 추출법이 48.3%, 180℃ 가열압착 추출법과 초임계 추출법은 각각 44.7%, 44.7%으로 나타났다.

##### 나. 일반성분 분석

문관나무를 초임계, 헥산, 가열 압착 추출 방법으로 얻은 종자유에 대해서 일반성분을 측정 한 결과는 Table 5와 같다. 조지방 측정에서는 초임계 추출 종자유와 헥산 추출 종자유가 각각 88.05%, 85.35%로 가열 압착 추출 종자유 보다 유의적으로 높았다. 회분 함량 역시 초임계 추출 종자유가 다른 추출 종자유에 비해 다소 높았다. 조단백질 함량과 수분함량은 추출 방법 간 유의적인 차이가 없었다.

표 5. General components from Xanthoceras sorbifolia seed oil (unit : %)

Sample	Crude fat	Ash	Crude protein	Moisture
Supercritical fluid extraction	88.05±1.28 <sup>b</sup>	0.24±0.02	0.08±0.03	3.28±1.28
Hexane extraction	85.35±2.35 <sup>b</sup>	0.20±0.01	0.07±0.02	2.90±1.57
Heat-pressed(160℃)	62.31±7.21 <sup>a</sup>	0.23±0.01	0.08±0.01	3.99±0.36
Heat-pressed(180℃)	68.97±7.15 <sup>a</sup>	0.18±0.04	0.05±0.01	2.53±0.82

#### 다. 색도, 갈색도, 산가 및 과산화물가

명도와 황색도는 추출 방법 간의 유의적인 차이가 없었으며, 적색도는 가열 압착 추출 종자유(180℃)가 다른 종자유에 비해 유의적으로 높았다. 갈색도는 0.09~0.12 정도로 대체로 낮게 나타났으며, 갈변화 요인이 낮을 것으로 판단된다. 과산화물가는 유지 중에 존재하는 과산화물의 함량을 측정하여 유지의 산패정도를 나타내는 것으로 과산화물가가 클수록 산화 진행정도가 빠름을 의미한다. 문관나무 종자유(180℃)의 과산화물가를 측정한 결과 가열 압착 추출 종자유(160℃)가 3.10 meq/kg으로 가장 높았으며 가열 압착 추출 종자유(180℃)가 2.36 meq/kg, 헥산 추출 종자유와 초임계 추출 종자유가 각각 1.59 meq/kg, 1.13 meq/kg 순으로 나타났다.

표 6. Physicochemical properties of Xanthoceras sorbifolia seed oil

Sample	Color <sup>1)</sup>			BCI <sup>2)</sup>	Acid value (mg/g)	Peroxide value (meq/kg)
	L	a	b			
Supercritical fluid extraction	65.87±0.65	0.34±0.25	36.17±0.94	0.093±0.01	3.44±0.15	1.13±0.17
Hexane extraction	63.97±1.13	1.13±0.49	34.54±4.49	0.102±0.01	2.55±0.09	1.59±0.13
Heat-pressed (160℃)	65.74±0.85	2.42±1.65	39.78±0.37	0.119±0.01	1.34±0.13	3.10±0.17
Heat-pressed (180℃)	63.95±1.12	3.31±0.11	38.05±1.77	0.112±0.01	1.31±0.13	2.36±0.15

1) L: lightness, a: redness, b: yellowness, 2) BCI: Browning color intensity

#### 라. 지방산 성분 분석

초임계 추출종자유(180℃)의 주요 지방산은 oleic acid(C18:1)와 linoleic acid(C18:2)가 각각 26.85%와 38.63%를 차지하였고, 총 불포화지방산과 총 포화지방산의 비율은 각각 68.29%와 31.71%를 나타내었다. 헥산 추출 종자유(180℃)의 주요 지방산은 oleic acid(C18:1)와 linoleic acid (C18:2)가 각각 26.58%와 39.07%를 차지하였고, 총 불포화지방산과 총 포화지방산의 비율은 각각 68.53%와 31.47%를 나타내었다. 또한 가열 압착 추출 종자유(160℃)의 주요 지방산은 oleic acid(C18:1)와 linoleic acid(C18:2)가 각각 26.29%와 39.45%를 차지하였고, 총 불포화지방산과 총 포화지방산의 비율은 각각 69.07%와 30.93%를 나타내었으며, 가열 압착 추출 종자유(180℃)의 oleic acid(C18:1)와 linoleic acid(C18:2) 함량은 각각 26.67%와 41.13%를 차지하였고, 총 불포화지방산과 총 포화지방산의 비율은 각각 70.93%와 29.07%를 나타내었다. 지방산 조성 중 포화 지방산 함량에 대한 불포화 지방산 함량의 비율은 가열압착 종자유(180℃)가 초임계 추출, 헥산 추출, 가열압착(160℃) 추출 종자유보다 다소 높았으며, 영양성과 기능성 면에서 다른 방법으로 추출한 종자유에 비해 상대적으로 품질이 우수한 것으로 나타났다. 불포화 지방산 중에 linoleic acid, α-linolenic acid는 비타민 F 또는 필수 지방산(essential fatty acid)으로 알려져 있으며, 이런 필수지방산들은 체내에서 합성하지 못하기 때문에 정상적인 생활을 영위하기 위해서는 외부로부터 공급을 받아야 한다(New food chemistry 2007). 이번 실험 결과 문관 나무 종자유(180℃)의 필수 지방산 함량은 대략 38~41% 정도를 나타내었으며, kim(2010) 등이 보고한

미강유(linoleic acid:45.8%)와 kim(2008)등이 보고한 볶음 가열 압착 참기름(linoleic acid:40.35%)과 유사한 결과를 보였다. 식용유지 중에서 식물성 유지는 주로 oleic acid, linoleic acid로 구성되어 있으며, 약간의 palmitic acid, stearic acid로 구성되어 있다. 문관나무 종자유의 추출 방법별 지방산 조성 역시 이와 크게 다르지 않음을 알 수 있었다.

표 7. Comparison of fatty acid composition of *Xanthoceras sorbifolia* seed oil

fatty acid	Fatty acid composition (% , g FA/100 g oil)			
	Supercritical fluid extraction	Hexane extraction	Heat-pressed (160℃)	Heat-pressed (180℃)
palmitic acid (C16:0)	17.78±0.03	17.87±0.04	17.83±0.50	18.16±0.56
stearic acid(C18:0)	11.59±0.17	11.32±0.05	10.93±2.28	8.69±3.08
oleic acid(C18:1)	26.85±0.07	26.58±0.17	26.29±0.49	26.67±1.05
linoleic acid(C18:2)	38.63±0.20	39.07±0.06	39.45±1.11	41.13±1.29
linolenic acid(C18:3)	2.81±0.02	2.88±0.01	3.33±0.10	3.13±0.08
arachidic acid(C20:0)	1.05±0.02	1.09±0.02	1.05±0.02	1.06±0.07
behenic acid(C22:0)	1.19±0.01	1.19±0.02	1.12±0.05	1.16±0.02

#### 마. Total phytosterol 성분 분석

문관나무 종자유의 총 phytosterol을 살펴보면 가열압착 추출 종자유(160℃)의 함량이 65.91mg/100 g 으로 가장 높았으며, 그 외의 추출 방법별 종자유의 함유량도 이와 큰 차이는 보이지 않았다. 문관과 종자유는 전체적으로 β-sitosterol의 함량이 높았으며, campesterol은 확인 할 수 없었다. Kim(Jia 등 1999) 등은 달맞이꽃 종자유의 phytosterol 함량이 744.49 mg/100 g 으로 보고 하였으며, Kim과 Lee(2004) 등은 콩기름에서 205~287 mg/100g, 곡류 중에서는 호밀에서 69 mg/100 g 임을 보고 하였다. 이는 유지 자원 중에서는 문관과 종자유의 phytosterol의 총 함량이 상대적으로 낮음을 의미한다.

표 8. Phytosterol contents of *Xanthoceras sorbifolia* seed oil

Sample	Phytosterol(mg/100 g)			
	Campesterol	Stigmasterol	β-Sitosterol	Total
Supercritical fluid extraction	ND	6.24±0.73	58.73±0.06	64.97±0.48
Hexane extraction	ND	6.01±0.08	58.78±1.13	64.79±0.75
Heat-pressed(160℃)	ND	6.07±0.16	59.85±1.04	65.91±0.62
Heat-pressed(180℃)	ND	6.49±0.21	58.19±0.81	64.69±0.42

본 연구에서 문관나무 종자유의 추출방법별 이화학적 특성을 분석한 결과 종자유는 평균 50% 정도로 다량 함유하고 있었으며, 색도는 탁하지 않은 연한 노란색을 띄었고 산가 역시 현행 참기름의 규격과 비슷한 수치를 보였다. 추출방법별 지방산을 측정된 결과 필수 지방산 함량이 참기름과 미강유와 유사하였으며, phytosterol도 확인 할 수 있었다. 본 실험에서 가열 압착추출 종자유의 산가가 핵산추출과 초임계추출 종자유의 산가보다 낮은 결과로 보아 가열 압착 추출 종자유의 초기 산화가능성이 낮을 것으로 추론된다. 산화안정성과 용매안전성 및 경제성을 고려할 때 문관나무 종자유의 추출은 가열압착법이 가장 적합하다고 판단된다.

(시험 2) 문관나무 종자유의 산화안정성 연구

가. 저장 중 문관나무 종자유의 색도와 갈색도 변화

표 9. Chromaticity of the different oils during storage at 50°C

Storage days	seed oils of <i>Xanthoceras sorbifolia</i>		Argan oil	Macadamia oil	Grape seed oil	Olive oil	
	refined	unrefined					
0	L	65.81 ± 2.86	64.25 ± 2.79	73.16 ± 0.87	77.42 ± 0.51	67.79 ± 0.69	68.41 ± 0.61
	a	1.37 ± 1.04	4.39 ± 0.06	-0.69 ± 0.69	-1.21 ± 0.19	-4.56 ± 0.40	7.26 ± 0.31
	b	55.77 ± 2.30	65.79 ± 3.97	39.42 ± 0.16	13.42 ± 0.09	44.32 ± 0.33	76.24 ± 1.05
7	L	56.88 ± 1.17	60.37 ± 0.37	72.46 ± 0.43	76.47 ± 0.64	66.41 ± 0.40	63.92 ± 1.01
	a	2.26 ± 0.52	5.06 ± 0.36	-0.95 ± 0.33	-1.34 ± 0.12	-3.90 ± 0.33	6.81 ± 0.21
	b	46.11 ± 1.57	60.82 ± 0.66	38.29 ± 0.15	13.90 ± 0.10	43.57 ± 0.28	68.68 ± 1.74
14	L	56.55 ± 1.41	55.10 ± 0.58	72.04 ± 0.66	75.50 ± 0.63	65.67 ± 1.40	63.12 ± 0.49
	a	2.09 ± 0.20	5.15 ± 0.58	-1.19 ± 0.47	-0.99 ± 0.21	-2.43 ± 0.26	7.48 ± 0.76
	b	45.38 ± 1.62	52.42 ± 0.64	37.65 ± 1.19	13.82 ± 0.44	48.95 ± 1.08	67.35 ± 0.77
21	L	55.17 ± 0.56	54.71 ± 1.34	71.10 ± 0.60	75.05 ± 0.65	64.07 ± 0.38	62.32 ± 0.66
	a	1.70 ± 0.15	5.02 ± 0.32	-1.06 ± 1.08	-1.24 ± 0.14	-2.74 ± 0.16	6.61 ± 0.45
	b	43.98 ± 0.62	51.74 ± 2.05	35.83 ± 0.20	14.00 ± 0.11	47.00 ± 0.33	65.46 ± 1.02
28	L	55.35 ± 0.45	53.82 ± 0.21	70.50 ± 0.53	74.50 ± 1.32	63.61 ± 0.56	61.21 ± 0.51
	a	1.70 ± 0.50	4.90 ± 0.11	-2.09 ± 3.06	-1.42 ± 0.55	-2.90 ± 0.28	6.14 ± 0.17
	b	44.31 ± 0.50	50.75 ± 0.35	34.76 ± 0.86	13.79 ± 0.19	45.61 ± 0.43	63.53 ± 0.85

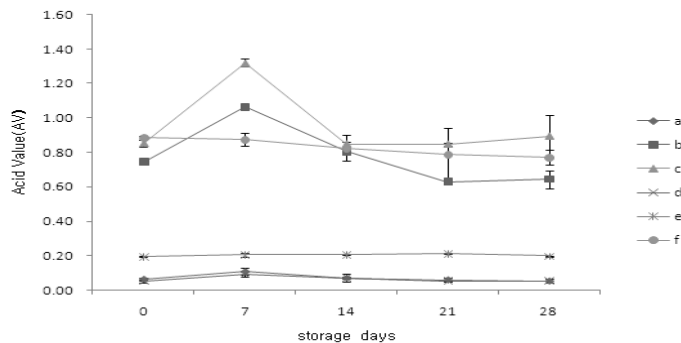


Fig. 2. Acid value of the different oils during storage at 50°C.

a: refined, b: unrefined, c: argan oil, d: macadamia oil, e: grape seed oil, f: olive oil.

저장 0일차 문관나무 종자유의 정제 유무별 명도(L)의 차이는 없었으나 적색도(a)에서 비정제유가 4.39 ± 0.06으로 정제유보다 상대적으로 높았으며, 황색도(b)에서는 65.79 ± 3.97로 비정제유가 상대적으로 높았다. 50°C에서 저장일수가 증가할수록 문관나무 종자유의 명도와 황색도는 감소하고 적색도는 변화가 없었는데, 정제유의 명도와 황색도는 저장 7일차에 각각 56.88, 46.11로 감소하면서 저장 28일차까지 유지되었으며, 비정제유의 명도와 적색도는 각각 14일차에 55.10, 52.42로 감소되면서 저장 28일차까지 유지되었다. 대조군인 아르간오일, 마카다미아오일, 포도씨유, 올리브오일의 색도는 차이가 없었다.

문관나무 종자유와 대조군을 50℃에서 4주간 저장하면서 7일마다 갈색도를 측정한 결과는 Table 10과 같다. 문관나무 종자 정제유와 비정제유 모두 저장 초기에서 14일까지 점차 증가하다가 21일부터 감소하는 경향을 보였다. 문관나무 종자 정제유는 비정제유의 갈색도보다 2.7배 낮았는데, 이는 종자유의 정제과정에서 비정제유에 함유되어 있던 인지질과 검질 등이 제거(Kim 등 2003)되어 갈색도에 영향을 준 것이라고 판단된다. 대조군 중에서 포도씨오일은 저장기간 동안 갈색도가 약간 증가하였으며, 아르간오일은 저장 14일차, 마카다미아오일과 올리브오일은 28일차에 감소하기 시작하였다. 이러한 결과는 문관나무 종자유에 잔존하는 색소물질이 함유되어 있어 저장기간 동안 색도변화가 생긴 것으로 판단되며, 문관나무 정제 시 탈색공정처리가 필요함을 시사한다.

표10. Browning color intensity of the different oils during storage at 50℃

Storage days	seed oils of <i>Xanthoceras sorbifolia</i>		Argan oil	Macadamia oil	Grape seed oil	Olive oil
	refined	unrefined				
	0	0.204 ± 0.01				
7	0.226 ± 0.01	0.596 ± 0.01	0.090 ± 0.01	0.009 ± 0.01	0.060 ± 0.01	0.838 ± 0.01
14	0.214 ± 0.01	0.688 ± 0.01	0.070 ± 0.01	0.010 ± 0.01	0.064 ± 0.01	0.883 ± 0.01
21	0.190 ± 0.01	0.523 ± 0.01	0.068 ± 0.01	0.012 ± 0.01	0.064 ± 0.01	0.785 ± 0.01
28	0.156 ± 0.01	0.505 ± 0.01	0.062 ± 0.01	0.009 ± 0.01	0.064 ± 0.01	0.718 ± 0.01

#### 나. 저장 중 문관나무 종자유의 산가(Acid Value, AV) 변화

저장기간 동안 문관나무 종자유와 대조군의 산가(AV)의 변화는 Fig. 3과 같다. 0일차 문관나무 종자 비정제유의 AV는 0.75로 문관나무 종자 정제유의 AV보다 약 12배 높게 측정되었다. 0일부터 7일까지 정제유의 AV는 0.06에서 0.11로 증가하였고, 비정제유의 AV는 0.75에서 1.07로 증가하였다. 문관나무 종자 정제유의 AV는 마카다미아를 제외한 대조군 오일들의 AV보다 현저히 낮았으며 저장기간 동안 AV의 변화가 비교적 크지 않았다.

AV는 유지분자의 가수분해에 의해 형성된 유리지방산의 함량을 측정하는 것으로 유지의 저장과정에서 일어나는 산패 정도를 추정할 수 있다(Son 2011a). 유지의 지방산 종류는 유지 산패에 영향을 주는 요인으로 불포화 지방산의 함량이 높은 유지는 유리지방산으로 분해되는 속도가 빨라 산화안정성이 떨어진다(Son 2011b). 실험결과에 따라 문관나무 종자 정제유는 비정제유보다 산화안정성이 높다는 것을 알 수 있는데 이는 유지의 정제과정을 통한 문관나무 종자유의 지방산 조성 및 함량의 변화(Han과 Ahn 1993)와 관계가 있을 것으로 추론된다.

#### 다. 저장 중 문관나무 종자유의 과산화물가(Peroxide Value, POV) 변화

저장 0일차 문관나무 종자 정제·비정제유의 POV는 각각 1.13, 2.43 meq/kg oil이었으며, 저장 7일차 문관나무 종자 정제유와 비정제유의 POV는 각각 11.46, 10.99 meq/kg oil로 각각 10.1

배, 4.5배로 급격히 증가하였고, 저장 14일 이후부터는 점차 증가하는 경향을 보였다. 저장 전 문관나무 종자 정제유의 POV가 비정제유의 POV보다 낮았으나 7일에 비정제유와 같은 수준으로 급격히 증가한 것으로 보아 문관나무 종자 정제유의 저장초기 과산화물 생성 속도가 빠르다는 것을 알 수 있었다. 문관나무 종자 정제 및 비정제유의 저장 전 POV는 대조군 오일의 저장 전 POV와 비교하여 낮았으나 저장 28일에는 각각 51.66 meq/kg oil, 52.12 meq/kg oil로 대조군인 아르간, 마카다미아, 올리브 오일의 26.32 meq/kg oil, 13.35 meq/kg oil, 22.62 meq/kg oil 보다 높았고, 포도씨 오일의 69.09 meq/kg oil보다는 낮았다.

#### 라. 저장 중 문관나무 종자유의 토코페롤의 함량 변화

저장시험 전 문관나무 종자 정제유와 대조군의 토코페롤 함량을 비교해보면, 문관나무 종자 정제유에 함유된 토코페롤은  $\alpha$ -토코페롤과  $\gamma$ -토코페롤로 함량 수준은 각각 23.63 mg/kg, 94.62 mg/kg로  $\alpha$ -토코페롤의 함량은 아르간오일보다 2배 높고, 포도씨오일과 올리브오일보다 각각 1/4, 1/3 수준이었고,  $\gamma$ -토코페롤은 아르간오일과 비슷한 수준이었다. 문관나무 종자유의 정제 유무별 토코페롤 함량은 비정제유의  $\alpha$ -토코페롤의 함량이 30.46 mg/kg로 정제유보다 약간 높았으나,  $\gamma$ -토코페롤의 함량은 147.48 mg/kg로 정제유보다 1.5배 높았다. 저장 기간 동안  $\alpha$ -토코페롤 함량변화를 살펴보면, 문관나무 종자 비정제유와 아르간오일은 변화가 없었던 반면, 문관나무 종자 정제유, 포도씨오일, 올리브오일은 각각 28일차, 14일차, 7일차에 감소하기 시작하였다.  $\gamma$ -토코페롤 함량변화는 아르간오일은 변화가 없었으며, 문관나무 종자 비정제유, 정제유는 각각 21일차와 14일차에 감소하기 시작하였다. 저장 기간 중 문관나무 종자유의 토코페롤 이성체별 분해속도는  $\gamma$ -토코페롤이  $\alpha$ -토코페롤보다 빨랐는데, 이러한 결과는 참기름 저장 중 분석된 토코페롤 함량 결과와 일치(Lee 등 2008)하며,  $\gamma$ -토코페롤의 빠른 감소는  $\gamma$ -토코페롤이  $\alpha$ -토코페롤에 비해 유지의 자동산화 방지기능이 높은 것과 관련이 있음을 시사한다(Kamal-Eldin 2006, Jung과 Min 1990).

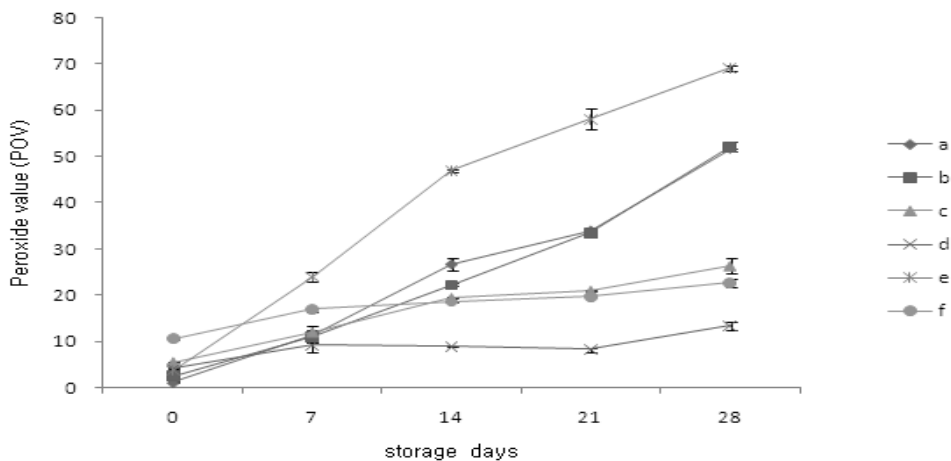


Fig. 3. Peroxide value of the different oils during storage at 50°C. a: refined, b: unrefined, c: argan oil, d: macadamia oil, e: grape seed oil, f: olive oil.

표 11. Tocopherol contents of the different oils during storage at 50°C (mg/kg)

Tocopherol	Storage days	seed oils of <i>Xanthoceras sorbifolia</i>		Argan oil	Macadamia oil	Grape seed oil	Olive oil
		refined	unrefined				
α-	0	23.63 ± 1.52	30.46 ± 1.50	11.76 ± 0.67	n.d. <sup>†</sup>	87.54 ± 8.95	72.44 ± 7.50
	7	24.35 ± 2.96	30.86 ± 3.59	10.89 ± 0.20	n.d.	74.04 ± 9.10	48.39 ± 1.47
	14	25.29 ± 1.29	26.33 ± 3.21	15.67 ± 3.06	n.d.	53.28 ± 8.30	50.97 ± 6.84
	21	23.09 ± 5.36	25.25 ± 4.63	12.67 ± 4.62	n.d.	57.25 ± 8.75	43.46 ± 0.62
	28	13.43 ± 0.38	28.76 ± 2.97	12.35 ± 4.07	n.d.	50.28 ± 6.79	30.46 ± 5.12
β-	0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	14	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	21	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	28	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
γ-	0	94.62 ± 5.59	147.48 ± 8.98	104.23 ± 7.32	n.d.	n.d.	n.d.
	7	103.66 ± 5.85	135.40 ± 5.73	103.42 ± 4.68	n.d.	n.d.	n.d.
	14	109.37 ± 4.66	123.33 ± 5.77	125.65 ± 3.89	n.d.	n.d.	n.d.
	21	82.91 ± 5.83	120.01 ± 8.69	98.29 ± 9.47	n.d.	n.d.	n.d.
	28	70.62 ± 2.48	125.83 ± 7.22	93.96 ± 2.41	n.d.	n.d.	n.d.
δ-	0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	14	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	21	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	28	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

† n.d. : not detected.

### (시험 3) 문관나무 종자유의 기능성 탐색

#### 가. 세포독성 및 Nitric oxide 생성 저해 효과

문관나무 종자유 hexane 분획물과 80% methanol 분획물이 RAW264.7 세포주에 미치는 영향을 실험한 결과, hexane 분획물과 80% methanol 분획물 모두 RAW264.7 세포의 생존율에 영향을 미치지 않았다(Fig. 4).

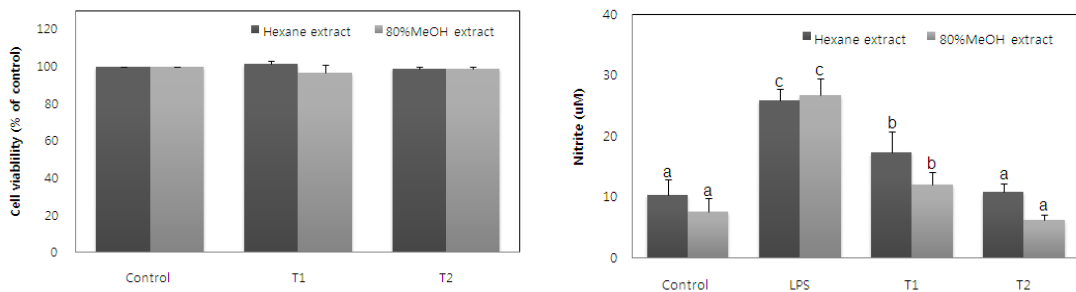


Fig. 4. Effect of *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil on cell viability in RAW264.7 cell line. Effect of *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil on NO production in RAW264.7 cell line.

문관나무 종자유의 분획별 NO 생성량(Fig. 4)을 측정한 결과, LPS만을 처리한 대조구에 생성된 NO의 양이 25.9M이었으며, hexane 분획물 1 mg/mL 농도와 5 mg/mL의 농도에서는 17.4M, 10.8M로 NO 생성억제능은 각각 32.8%, 58.3%로 나타났다. 80% methanol 분획물의 NO 생성능을 측정한 결과, LPS만을 처리한 대조구의 NO 생성량은 26.7M이었고, 1 mg/mL과 5 mg/mL의 농도에서는 12.1M, 6.1M로 NO 생성억제능은 각각 54.7%, 77.1%로 나타났다. 문관나무 종자유 hexane 분획물과 80% methanol 분획물의 농도가 높을수록 NO 생성량은 낮게 측정되어 NO 생성 억제능은 증가됨을 확인하였다.

#### 나. 문관나무 종자유 분획층별 항산화 활성

자유 라디칼은 산화에 의해 형성된 화학적 물질로서 항산화제는 이러한 자유 라디칼을 소거하는 능력을 가지고 있다. DPPH는 513 nm에서 흡광도를 보이는 보라색의 화합물로 항산화 활성의 측정에 사용된다. 실험에 사용된 문관나무 종자유는 항산화 활성은 DPPH free radical을 소거능을 나타내었으며, 천연항산화제로 사용되고 있는 비타민C를 대조군으로 사용하였다. 추출방법별 문관나무 종자유의 DPPH free radical을 소거능은 대조군에 비해 낮은 수준이었으며, 추출방법별로는 가열압착 160°C에서 추출한 종자유가 32%로 가장 높았다. 문관나무 종자유는 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 측정하였으나, 폴리페놀은 321~503 ppm 수준이었으며, 초임계추출과 가열압착 160°C에서 추출한 종자유는 함량이 다소 높았다.

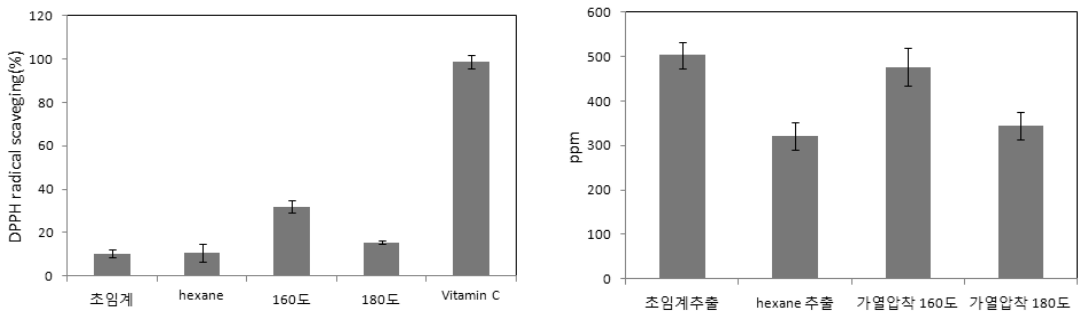


Fig. 5. IC<sub>50</sub> of DPPH radical scavenging and Total polyphenol contents in *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil

### (시험 4) 문관나무 종자유의 효능 연구(동물실험)

#### 가. 마우스 귀 부종 염증 억제 효과

마우스 귀에 TPA로 염증 유발 후 문관나무 종자유를 직접 처리하여 대조군인 indomethacin (INDO)을 처리한 군과 비교함으로써 염증억제효과를 알아보았다. 귀 두께를 측정한 결과, 정상군의 귀의 두께는 197.9 μm이고 유발 후 비처리군인 대조군은 420.5 μm으로 정상군에 비해 현저히 증가함을 확인하였다. 실험군 T1, T2의 경우 302.5 μm, 271.8 μm 정도의 증가량을 보임으로써 대조군에 비해 귀 두께의 증가폭이 작았다. 또한 실험군 T2의 경우 양성대조군(INDO)보다 귀 두께의 증가폭이 작게 나타남을 알 수 있었다. 귀 무게를 측정한 결과, 양성대조군의 귀 무게는 12.3 mg, 문관나무 종자유 100, 500 mg/mL 처리군은 각각 13.1, 11.3 mg으로 대조군의 귀 무게인 14.4 mg에 비교해 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

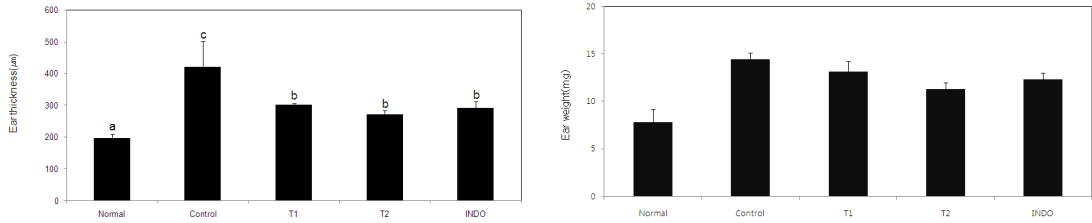


Fig. 6. Comparison of ear thickness and ear weight after the treatment of *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil and indomethacin on TPA-induced ear edema in mice. Ear swelling is expressed as mean thickness increase of ears. Ear edema was were measured at 24 hours after TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-acetate) treatment. INDO(Indomethacin) was used as a positive control.

대조군을 기준으로 각 군의 염증억제 능력을 나타내었을 때 양성대조군(INDO)은 30.4%의 억제능력을 보였고, 실험군 T1은 28.1%, T2는 35.4%의 억제능력을 보였다. 각 실험군의 염증억제 능력이 양성대조군과 유사하게 나타나는 것으로 보아 문관나무 종자유가 TPA로 유발한 마우스 염증모델에서 염증억제 효과를 가진다는 것을 알 수 있었다. 특히 문관나무 종자유 처리 농도가 높을수록 염증억제 효과가 뛰어난 것을 확인할 수 있었다(Fig 7).

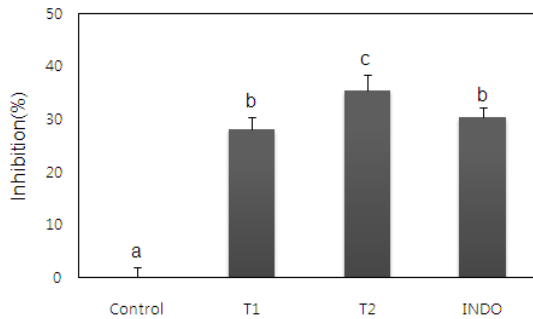


Fig. 7. Inhibitory effect of *Xanthoceras sorbifolia* of seeds oil on TPA-induced ear edema in mouse. Ear swelling is expressed as mean thickness increase of ears. Ear edema was were measured at 24 hours after TPA(12-O-tetradecanoylphorbol-acetate) treatment. INDO(Intromethacin) was used as a positive control.

이상의 실험 결과는 문관나무 종자유가 피부나 그 외의 염증 치료에 의학적 외용제로 이용할 수 있는 가능성을 시사하며 앞으로 주요인자의 추가적인 분석과 다양한 동물 모델 및 임상실험을 통해 염증억제 효능을 재검증하고 기능성소재로 개발하기 위한 연구가 지속되어야 할 것으로 판단된다.

#### 나. 고지방-고콜레스테롤식이를 급여한 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향

##### (1) 체중증가량, 식이섭취량, 식이효율 변화

고지방-고콜레스테롤 식이와 문관나무 종자유의 처리 수준을 달리하여 4주간 급여한 흰쥐의 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율을 비교한 결과는 Table 12와 같다. 식이섭취량은 실

험군들간에 유의한 차이가 없었으나, 체중증가량은 고지방-고콜레스테롤 식이와 문관나무 종자유를 동시에 급여한 처리군 모두 유의적으로 정상군보다는 높고 대조군보다는 감소하였다. 식이효율은 0.5% 문관나무 종자유 첨가군(HFC-XSL)은 대조군과 같은 수준이었으나, 1% 문관나무 종자유 첨가군(HFC-XSH)은 유의적으로 증가하였다.

표 12. Changes in body weight gain, food intake and food efficiency ratio of rat fed a high fat/high cholesterol diet containing the Xanthoceras sorbifolia seed oil for 5 weeks.

Groups	Initial body weight gain (g)	Final body weight gain (g)	Body weight gain (g)	Food intake (g/day)	FER <sup>1)</sup>
N <sup>1)</sup>	217.83 ± 2.86	469.33 ± 22.62 <sup>a</sup>	251.50 ± 21.78 <sup>a</sup>	23.79 ± 1.06	0.28 ± 0.03 <sup>a</sup>
HFC <sup>2)</sup>	222.40 ± 5.55	575.20 ± 25.86 <sup>c</sup>	352.80 ± 24.32 <sup>c</sup>	26.98 ± 3.54	0.35 ± 0.04 <sup>ab</sup>
HFC-XSL <sup>3)</sup>	216.17 ± 7.17	518.83 ± 26.71 <sup>b</sup>	302.67 ± 25.12 <sup>b</sup>	24.90 ± 3.40	0.33 ± 0.06 <sup>ab</sup>
HFC-XSH <sup>4)</sup>	218.00 ± 10.75	539.17 ± 26.34 <sup>b</sup>	321.17 ± 19.47 <sup>b</sup>	24.21 ± 3.76	0.35 ± 0.04 <sup>b</sup>

1) FER: weight gain (g/day)/ food intake (g/day)

(2) 혈중 중성지방, 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤의 함량 변화

혈청 중성지방, 총콜레스테롤의 함량은 0.5% 문관나무 종자유 첨가군(HFC-XSL)과 1% 문관나무 종자유 첨가군(HFC-XSH) 모두 유의적으로 정상군과 비슷하고 대조군보다 낮은 수치를 나타내었다. HDL-콜레스테롤은 대조군 대비 유의적으로 증가하여 정상군과 유사한 수치를 나타내었다. 반면 LDL-콜레스테롤은 문관나무 종자유 첨가군 모두 유의적으로 정상군보다는 높고, 대조군보다는 낮은 수치를 나타내었으며, 0.5% 문관나무 종자유 처리군의 LDL-콜레스테롤 함량은 40.7%로 1% 문관나무 종자유처리군의 LDL-콜레스테롤 함량인 50.8%보다 낮은 수치를 나타내었다.

표 13. Contents of total cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol and LDL-cholesterol in serum of rats fed a high fat/high cholesterol diet containing the Xanthoceras sorbifolia seed oil for 5 weeks.

Experimental group	Serum lipid profiles (mg/dL)			
	Triglyceride	Total cholesterol	HDL-cholesterol	LDL-cholesterol
N	47.2 ± 9.7 <sup>a</sup>	80.7 ± 6.5 <sup>a</sup>	46.9 ± 4.7 <sup>b</sup>	15.0 ± 2.7 <sup>a</sup>
HFC	97.7 ± 12.7 <sup>b</sup>	146.6 ± 14.1 <sup>b</sup>	35.7 ± 4.3 <sup>a</sup>	91.7 ± 11.6 <sup>d</sup>
HFC-XSL	55.4 ± 14.5 <sup>a</sup>	75.6 ± 11.7 <sup>a</sup>	45.1 ± 8.2 <sup>b</sup>	40.7 ± 3.1 <sup>b</sup>
HFC-XSH	51.2 ± 12.9 <sup>a</sup>	84.0 ± 16.5 <sup>a</sup>	46.8 ± 7.0 <sup>b</sup>	50.8 ± 7.6 <sup>c</sup>

(3) 동맥경화지수와 심혈관위험지수 변화

동맥경화지수는 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)이 정상식이군(N)에 비하여 약 4.33배 유의적으로 증가하였고, 고지방-고콜레스테롤 식이와 동시에 급여한 0.5% 문관나무 종자유처리

군과 1% 문관나무 종자유처리군은 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비하여 각각 26.58%와 30.70% 유의하게 감소하였다. 심혈관위험지수는 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)이 정상식이군(N)에 비하여 약 2.40배 유의적으로 증가하였고, 고지방-고콜레스테롤 식이와 동시에 급여한 0.5% 문관나무 종자유처리군과 1% 문관나무 종자유처리군은 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비하여 각각 20.19%와 23.32% 유의하게 감소하였다.

표 14. Contents of atherogenic index (AI) and cardiac risk factor(CRF) in serum of rat fed a high fat/high cholesterol diet containing the Xanthoceras sorbifolia seed oil for 5 weeks.

Experimental group	AI	CRF
N	0.73 ± 0.17 <sup>a</sup>	1.73 ± 0.17 <sup>a</sup>
HFC	3.16 ± 0.51 <sup>c</sup>	4.16 ± 0.51 <sup>c</sup>
HFC-XSL	2.32 ± 0.52 <sup>b</sup>	3.32 ± 0.52 <sup>b</sup>
HFC-XSH	2.19 ± 0.43 <sup>b</sup>	3.19 ± 0.43 <sup>b</sup>

#### (4) 간 조직과 부고환지방의 무게 변화

체중 당 간조직의 무게는 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)이 정상식이군(N)에 비하여 2.67배 유의적으로 증가하였다. 이러한 결과는 고지방식이의 급여는 간 내 지방축적을 유도하고 간의 중량이 증가하며(Tietze 1969), 고콜레스테롤을 장기간 급여할 때 간 비대증을 유발한다는 보고(Buege와 Aust 1978)와 일치한다. 고지방-고콜레스테롤 식이와 동시에 급여한 0.5% 문관나무 종자유처리군과 1% 문관나무 종자유처리군은 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비하여 각각 7.80%와 15.76% 유의하게 감소하였다. 부고환지방조직의 무게는 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)이 정상식이군(N)에 비하여 1.65배 유의적으로 증가하였으며, 고지방-고콜레스테롤 식이와 동시에 급여한 0.5% 문관나무 종자유처리군과 1% 문관나무 종자유처리군은 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)에 비하여 각각 32.16%와 22.83% 유의하게 감소하였다.

표 15. Changes in liver and adipose tissues weights of rats fed a high fat/high cholesterol diet containing the Xanthoceras sorbifolia seed oil for 5 weeks.

(g/100 g body wt.)

Experimental group	Liver (g)	Epididymal adipose tissue (g)
N	11.97 ± 1.74 <sup>a</sup>	10.20 ± 1.82 <sup>a</sup>
HFC	31.92 ± 3.25 <sup>c</sup>	16.82 ± 1.99 <sup>c</sup>
HFC-XSL	29.43 ± 2.91 <sup>bc</sup>	11.41 ± 1.69 <sup>ab</sup>
HFC-XSH	26.89 ± 2.25 <sup>b</sup>	12.98 ± 1.57 <sup>b</sup>

#### (5) 간조직내 총콜레스테롤과 중성지방의 함량 변화

간조직 총콜레스테롤 및 중성지방의 함량은 고지방-고콜레스테롤 식이군(HFC)이 정상식이군(N)에 비하여 각각 3.05배, 2.22배 유의하게 증가하였는데, 이는 콜레스테롤 함량이 증가하

면 간의 총콜레스테롤과 중성지방의 함량도 증가한다는 연구결과(Kang과 Kang 1997)와 일치하였다.

표 16. Contents of triglyceride and total cholesterol in liver of rat fed a high fat/high cholesterol diet containing the *Xanthoceras sorbifolia* seed oil for 5 weeks.

(mg/g)

Experimental group	Total cholesterol	Triglyceride
N	12.70 ± 0.56 <sup>a</sup>	21.35 ± 0.92 <sup>a</sup>
HFC	38.72 ± 2.73 <sup>d</sup>	47.30 ± 4.50 <sup>c</sup>
HFC-XSL	27.28 ± 3.24 <sup>c</sup>	35.49 ± 4.04 <sup>b</sup>
HFC-XSH	19.99 ± 3.25 <sup>b</sup>	34.82 ± 3.90 <sup>b</sup>

본 연구 결과 고지방-고콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐에게 문관나무 종자유의 동시 급여는 체중증가량의 감소, 혈중 중성지방, 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 감소, HDL-콜레스테롤 증가, 동맥경화지수와 심혈관위험지수 감소, 지방조직량의 감소, 간 내 총콜레스테롤과 중성지방의 감소를 나타냈다. 이상의 실험 결과 문관나무 종자유는 고지방-고콜레스테롤 식이를 급여한 흰쥐의 혈청, 간 및 지방조직의 지질대사 개선에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 나타나 체내 지질대사 개선과 심혈관계 질환 예방효과가 클 것으로 기대된다.

#### 다. DNCB로 유도된 NC/Nga 마우스의 아토피 피부염에 대한 효과

##### (1) 체중 및 식이섭취량의 변화

아토피 피부염 유발 후 7주부터 10주까지 4주간의 시료처치에 대하여 mice의 체중과 식이섭취량의 변화를 측정하였다. 7주부터 10주까지의 각 실험군별 체중과 식이섭취량의 변화 측정 결과, 증감에 유의적 차이가 관찰되지 않았다.

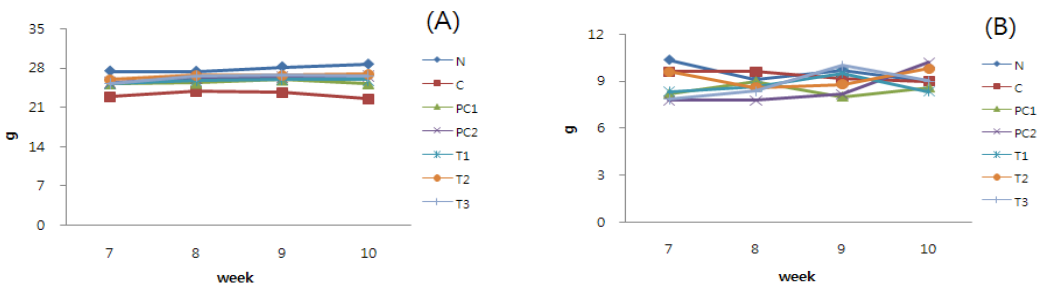


Fig. 8. Body weight (A) and food intake (B) of experimental groups. N: Normal, C: 0.4% DNCB, PC1: 0.4% DNCB and Tacrolimus(Tarco) 0.66 mg/mL, PC2: 0.4% DNCB and *Oenothera biennis* L. seeds oil 100 mg/mL, T1: 0.4% DNCB and *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil 100 mg/mL, T2: 0.4% DNCB and *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil 300 mg/mL, T3: 0.4% DNCB and *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil 500 mg/mL

(2) NC/Nga mice의 피부염 지수에 미치는 영향

6주령의 NC/Nga mice를 제모한 후 DNCB를 6주간 도포하여 피부염을 유발시키면서 아토피 피부염 유발 7주부터 실험시료를 4주간 도포하였다. Fig. 9은 10주의 피부염 유발정도와 개선 정도를 나타내주는 사진으로 대조군(C)에서 홍반, 짓무름, 태선화, 가피 등의 증상이 확인되었고, 문관나무 종자유(T1, T2, T3) 도포군이 대조군에(C) 비하여 홍반, 짓무름, 태선화, 가피 등의 증상이 현저하게 떨어졌음을 확인할 수 있었다. 피부염 지수는 아토피 피부염을 유발한 후 최종 4주 후에 피부염의 심화 정도를 관능적 방법에 의하여 측정된 결과로, 대조군(C)은 11.2, 양성대조군1(PC1)은 5.2, 양성대조군2(PC2)는 6.0, 실험군1(T1)은 7.5, 실험군2(T2)는 6.7, 실험군3(T3)은 6.4로 대조군(C)에 비해 모든 실험군에서 유의적인 감소를 나타내었다(Fig. 9).

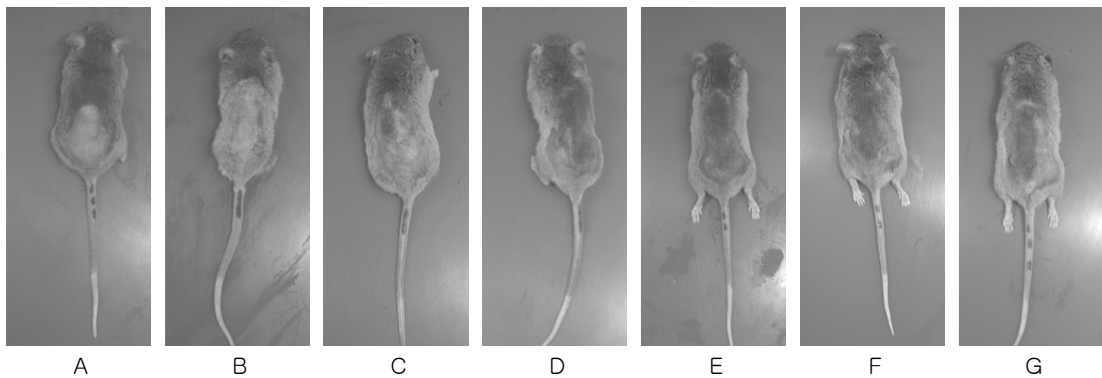


Fig. 9. Clinical skin features and severity of DNCB-induced atopic dermatitis in NC/Nga mice. Normal group(A), Control group(B), PC1 group(C), PC2 group(D) and T1 group(E), T2 group(F), T3 group(G) mice skin features. N: Normal, C: 0.4% DNCB, PC1: 0.4% DNCB and Tacrolimus(Tarco) 0.66 mg/ml, PC2: 0.4% DNCB and *Oenothera biennis* L. seeds oil 100 mg/mL, T1: 0.4% DNCB and *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil 100mg/mL, T2: 0.4% DNCB and *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil 300 mg/mL, T3: 0.4% DNCB and *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil 500 mg/mL.

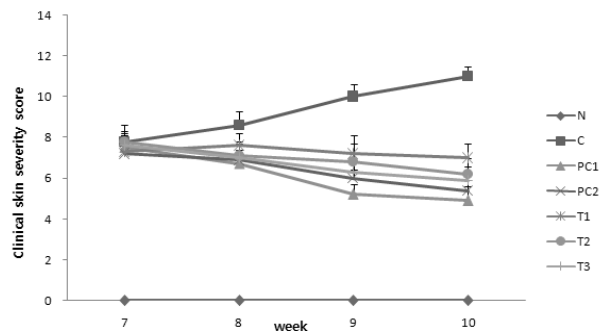


Fig. 10. Clinical skin severity of dermatitis in NC/Nga atopic mice. N: Normal, C: 0.4% DNCB, PC1: 0.4% DNCB and Tacrolimus(Tarco) 0.66 mg/ml, PC2: 0.4% DNCB and *Oenothera biennis* L. seeds oil 100 mg/mL, T1: 0.4% DNCB and *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil 100 mg/mL, T2: 0.4% DNCB and *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil 300 mg/mL, T3: 0.4% DNCB and *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil 500 mg/mL

### (3) 혈청 중 IgE 함량 변화에 미치는 영향

혈청 면역글로블린은 IgG, IgA, IgD, IgM, IgE의 5종류가 존재하여 면역과 관련하여 역할을 하고 있다. 5종류 중 아토피 피부염 발생 시 알레르기 유발 물질을 가장 먼저 인지하는 것은 피부에 존재하는 IgE이다(Jung 2009). 혈청에서 IgE 수준의 상승은 아토피성 피부염의 면역학적 지표(Lee 등 2006)로 알려져 있는데 본 연구에서도 각 실험시료의 아토피 저감화를 평가하기 위해 혈청 중의 IgE 함량을 측정된 결과, 정상군(N)에서 629.33 ng/mL, 대조군(C)에서 2532.00 ng/mL 양성대조군1, 2(PC1, PC2)에서 2162.50 ng/mL, 1645.00 ng/mL, 실험군1, 2, 3(T1, T2, T3)에서는 1477.60 ng/mL, 2251.33 ng/mL, 1705.00 ng/mL로 대조군에 비해 모든 실험군에서 IgE의 생성량이 감소되었다(Fig. 12). IgE는 아토피 피부염환자에게 임상적 중증도와 비례하는 것으로 알려져 있다(Kim과 Park 2006). 또한 IgE 수치 감소는 아토피 피부염의 치료 효과를 확인하는데 있어서 중요한 마커가 된다고 할 수 있다. 따라서 비록 유의적 차이는 관찰되지 않지만 아토피 질환 동물모델에서 문관나무 종자유가 아토피 치료에 긍정적 영향을 미칠 수 있을 것으로 판단된다.

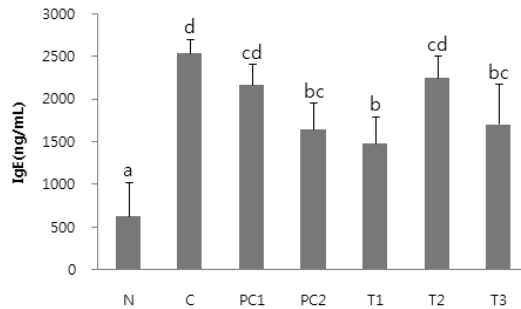


Fig. 11. Total serum IgE levels in NC/Nga atopic mice. N: Normal, C: 0.4% DNCB, PC1: 0.4% DNCB and Tacrolimus(Tarco) 0.66 mg/mL, PC2: 0.4% DNCB and *Oenothera biennis* L. seeds oil 100mg/mL, T1: 0.4% DNCB and *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil 100mg/mL, T2: 0.4% DNCB and *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil 300 mg/mL, T3: 0.4% DNCB and *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil 500 mg/mL.

### (4) 혈청 중 IL-4, IL-13 함량 변화에 미치는 영향

혈청에서 IL-4의 함량 변화는 정상군(N)에서 38.33 pg/mL, 대조군에서(C)에서 53.57pg/mL로 나타났으며, 양성대조군(PC)에서는 49.15 pg/mL, 실험군1, 2, 3(T1, T2, T3)에서는 48.30 pg/mL, 47.74 pg/mL, 49.07 pg/mL로 대조군에 비하여 유의적으로 감소함을 확인하였다(Fig. 12). 혈청에서 IL-13의 함량변화는 정상군(N)에서 84.94 pg/mL, 대조군(C)에서 144.93 pg/mL로 정상군에 비하여 큰 폭으로 증가하였고, 양성대조군(PC)에서는 118.38 pg/mL로 나타났으며, 실험군1, 2, 3(T1, T2, T3)에서는 114.46 pg/mL, 109.27 pg/mL, 115.19 pg/mL로 모든 실험군의 IL-13의 함량이 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다(Fig. 12). 아토피는 Th2의 활성화에 기초를 둔 면역 시스템 이상반응으로 특징지어진다. 미분화된 Th cell이 Th2로의 분화가 과다 촉진되면서 발생되기 시작한다고 알려져 있고, 이때 Th2 cell은 IL-4, IL-5, IL-13, IL-9와 IL-10 등과 같은 사이토카인을 생산하게 된다(Ferrick 등 1995). 이중 IL-4와 IL-13은 마우스에서 IgE와 IgG1의 합성을 촉진하는 것으로 알려져 있다(Aversa 등 1993),

그러므로 본 연구에서 문관나무 종자유는 이러한 면역글로불린의 분비를 대조군보다 현저하게 감소시킨 것으로 보아 아토피 피부염의 저감 효과를 기대 할 수 있을 것으로 판단된다.

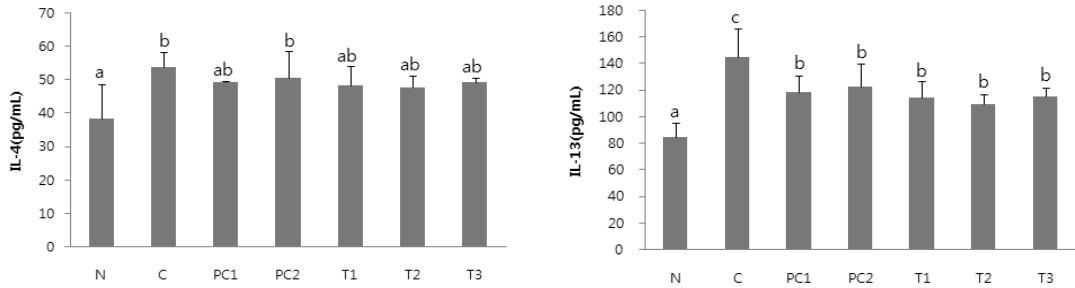


Fig. 12. Total serum IL-4 and IL-13 levels in NC/Nga atopic mice. N: Normal, C: 0.4% DNCB, PC1: 0.4% DNCB and Tacrolimus(Tarco) 0.66 mg/ml, PC2: 0.4% DNCB and *Oenothera biennis* L. seeds oil 100 mg/mL, T1: 0.4% DNCB and *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil 100mg/mL, T2: 0.4% DNCB and *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil 300mg/mL, T3: 0.4% DNCB and *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil 500 mg/mL.

#### (5) 조직병리학적 평가

피부 조직의 기능을 증진시킬 수 있는가를 조사하고자 실험 종료 후 각 군의 개체에서 등쪽 피부를 박리 한 후 H&E 염색법을 이용하여 피부 조직을 분석한 결과, 정상군(N)에서는 표피, 진피가 뚜렷이 관찰되며 짓무름, 혈종, 각화 등의 어떤 현상도 나타나지 않았다. 대조군(C)에서는 표피의 각질화가 뚜렷하게 나타났으며, 표피와 진피의 발진과 부종이 많이 진행된 것을 확인할 수 있었다. 반면에 양성대조군(PC), 실험군1, 2, 3(T1, T2, T3)에서는 대조군에 비해 표피의 각질화와 진피의 부종을 감소시켜 아토피 질환 개선에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다(Fig. 13).

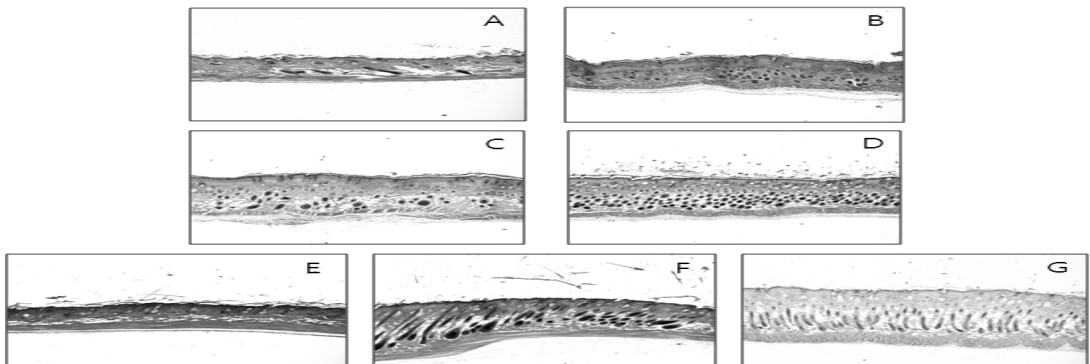


Fig. 13. Histologic features of skin lesion in NC/Nga atopic mice.

A: skin tissues from NC/Nga mouse. B: skin tissues from NC/Nga mouse with DNCB treatment. C: skin tissues from NC/Nga mouse with DNCB and Tarco treatment. D: skin tissues from NC/Nga mouse with DNCB and *Oenothera biennis* L. seeds oil treatment. E: skin tissues from NC/Nga mouse with DNCB and *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil 100 mg/mL. F: skin tissues from NC/Nga mouse with DNCB and *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil 300 mg/mL. G: skin tissues from NC/Nga mouse with DNCB and *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil 300 mg/mL

## 라. 임상시험

### (1) 피부 자극 유발 평가

피부 질환 및 기타 질환을 나타내지 않은 건강한 성인 남녀 20명을 대상으로 인체에 대한 피부 자극 시험을 평가한 결과, patch를 첩포하지 않은 부위와 비교하여 문관나무 종자유를 처리한 부위에 자극이 유발되지 않았으며 피부에 적용하기에 안전한 소재임을 확인할 수 있었다. 이는 문관나무 종자유가 직접적으로 첩포하는 화장품 소재로 적용하기에 안전한 소재일 것으로 판단된다.

### (2) 피부보습효과

문관나무 종자유의 보습효능을 확인하고자, 양성대조군으로는 증류수를 사용하였으며, 양성대조군으로는 대표적인 보습효능성분인 히아루론산과 아르간오일을 피부에 직접 도포하여 TEWL 변화를 측정하여 피부 표면의 수분 증발량 감소 효과를 확인하였다. 문관나무 종자유 의 경우, 양성대조군인 히아루론산에 비해 상대적으로 낮은 피부 수분 손실량을 가지는 것으로 나타나, 문관나무 종자유가 매우 우수한 피부 수분 보호막을 형성하는 것을 확인하였다.

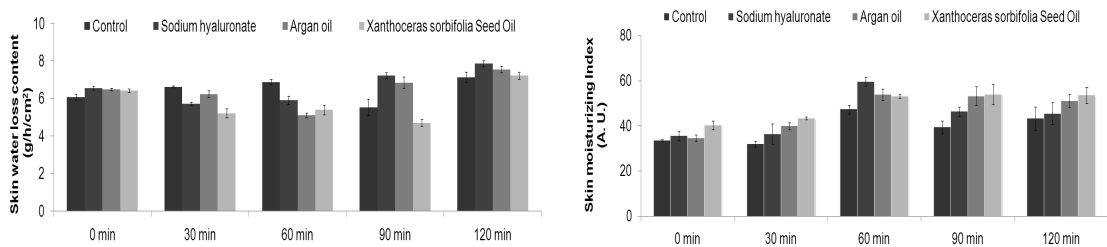


Fig. 14. Comparison of the skin moisturizing index and trans-epidermal water loss (TEWL) after the treatment of *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil, Sodium hyaluronate (1%) and argan oil are positive controls.

### (3) SDS 첩포로 유발된 자극성 피부염에 대한 항염증효과

SDS의 첩포로 유발된 자극성 피부염의 항염증 효능 평가 시 SDS에 의한 자극 유발 정도는 20명의 피시험자의 피부상태에 따라 차이가 있었으나, 자극이 유발되는 것을 확인할 수 있었다. Mexameter는 피부에 침착된 피부 홍반의 정도를 수치로 표시하여 측정하는 기기로 SDS에 의해홍반을 유발시킨 후 실험물질의 자극 완화 효과를 측정한 결과, 시료처리 후 4일 경과 후에도 시료처리 전 수준으로 완화되는 않은 반면, 문관나무 종자유의 경우 양성대조군으로 사용한 마치현 추출물과 아르간오일과 비교 시, 유사한 피부 홍반지수를 확인할 수 있었다.

경피수분 증발량은 Tewameter를 이용하여 확인하였으며, 그 결과 문관나무 종자유의 경우, 시료처리 4일 후에는 양성대조군으로 사용한 마치현추출물과 아르간오일과 유사한 수분증발량을 확인하였으며 우수한 피부 장벽 회복 효과가 있는 것으로 나타났다.

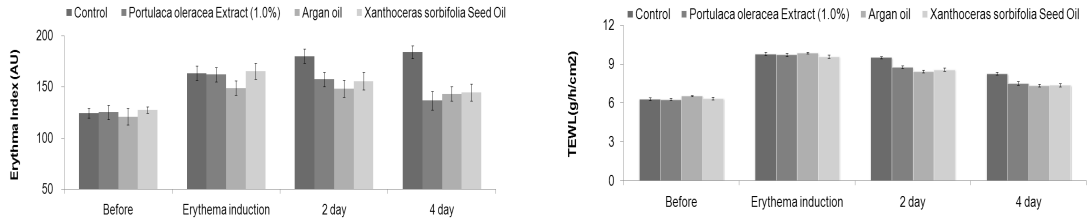


Fig. 15. Comparison of the erythma index and Representation of TEWL before and after the treatment of *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil, *Portulaca oleracea* extract (1.0%) and argan oil are positive controls.

#### (4) 피부미백효능

피부 질환 및 기타 질환을 나타내지 않은 건강한 성인 남녀 20명을 대상으로 문관나무 종자유미백효능을 확인하고자 Mexameter를 이용하여 피부 미백 효능을 확인한 결과, 치료 처리 후 4주 후, 양성대조군으로 사용한 알부틴(1%)과 유사한 멜라닌 수치를 확인할 수 있었다. 이는 문관나무 종자유가 피부미백 효과가 있는 소재일 것으로 판단된다.

표 17. Change of average melanin index

Time	Melanin Index			
	d-water	1% arbutin	argan oil	<i>Xanthoceras sorbifolia</i> seeds oil
before	164.7 ± 8.2	159.6 ± 8.4	162.3 ± 14.3	158.1 ± 14.6
after 2 weeks	172.3 ± 15.1	159.3 ± 14.0	172.7 ± 13.4	166.3 ± 19.0
after 4 weeks	161.2 ± 15.7	152.3 ± 109	163.6 ± 15.3	152.8 ± 16.4

#### (시험 5) 문관나무 종자유 활용 가공적성 탐색

##### 가. 볶음처리별 종자유의 성분 변화

100, 150, 200℃에서 1시간 동안 문관나무 종자를 볶은 후, 착유하여 이화학적 특성을 분석한 결과, 처리 온도가 높을수록 색도의 L값 감소, a, b값과 갈색도가 증가하였고, 산가와 과산화물가도 증가하였다(Table 18). 각 온도별로 볶음처리된 문관나무 종자유의 향기성분 분석결과, 특별한 이취는 검출되지 않았다.

표 18. Physicochemical properties of *Xanthoceras sorbifolia* seed oil under different roasting conditions.

Treatment		100 °C	150 °C	200 °C
Color <sup>1)</sup>	L	89.48	88.45	75.28
	a	-2.69	-2.14	13.68
	b	59.61	74.63	103.74
BCI <sup>2)</sup>		0.07	0.09	0.23
Acid value (mg/g)		0.21	0.24	0.38
Peroxide value (meq/kg)		1.92	1.58	15.79

1) L : lightness, a : redness, b : yellowness, 2) BCI : Browning color intensity

#### 나. 크림제조 및 자극완화와 보습효과 임상평가

크림을 조제 후, 자극완화와 보습효과를 검정한 결과, SDS로 염증 처리 4일 후, 염증지수가 완화되는 것을 확인하였으며, 제조 크림 처리 2일 후 보습력이 증가하는 것을 확인하였다.

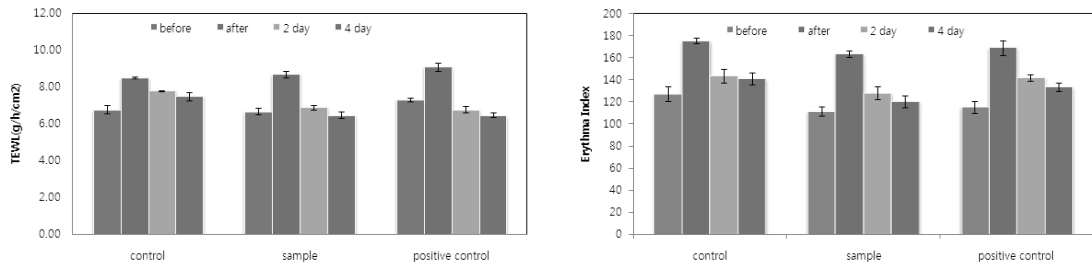


Fig 16. Representation of trans-epidermal water loss and erythma index (TEWL) by Tewameter (TM 300) measurement.

## 4. 적 요

### <제2세부과제 : 식·미용 소재개발을 위한 문관나무 종실의 성분 분석>

- 가. 문관나무 종자유의 추출방법별 일반성분, 지방산을 분석해본 결과, 가열압착 방법을 선발하였으며, 유지로서의 활용 가능성을 탐색하기 위해 산화안정성을 연구한 결과 탈검과 탈산 정제 공정을 거친 문관나무 종자유의 산화안정성은 시판 유지 제품과 유사한 산화안정성을 나타내었음
- 나. 문관나무 종자유의 기능성을 탐색한 결과, RAW264.7 대식세포에서 NO 생성억제능을 확인하였고, 마우스를 이용한 귀 부종실험에서 염증억제효과 35%를 확인하였음
- 다. 아토피피부염 유발 동물모델에서 피부 염증개선과 혈중 염증사이토카인 IgE 42%, IL-13 25% 감소(대조군대비)를 확인하였으며, 고지방-고콜레스테롤 지방식이와 동시에 문관나무 종자유를 급여한 흰쥐에서 체중량 10%, 중성지방 43%, 총콜레스테롤 48%, 지방조직 32% 감소(대조군대비)를 확인하였음
- 라. 피부임상시험에서 보습과 자극완화효과를 입증하였다. 식·미용 소재로서의 가능성을 탐색하기 위해 온도별 볶음처리를 통한 이화학적 특성분석과 크림제조 후 자극완화 및 보습효과를 평가하였음

## 5. 인용문헌

AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis. 15th ed.* Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.

- Aversa G, Punnonen J, Cocks BG, de Waal Malefyt R, Vega F Jr, Zurawski SM, Zurawski G, de vries JE. 1993. An interleukin 4(IL-4) mutant protein inhibits both IL-4 or IL-3-induced human immunoglobulin G4(IgG4) and IgE synthesis and B cell proliferation. *J Exp Med* 178: 2213-2218.
- Biois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*. 26:1198-1201.
- Buege JA, Aust SD. 1978. The thiobarbituric acid assay. *Methods in Enzymol* 5: 306-307.
- Choi MJ, Jung HK, Jeong YS, Park SC, Hong JH. 2010. Anti-allergic activities of fermented *Eriobotrya japonica* and *Saurus chinensis* extracts in 2,4-Dinitrochlorobezene-induced BALB/c mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1611-1618
- Ferrick DA, Schrenzel MD, Mulvania T, Hsieh B, Ferlin WG, Lepper H. 1995. Differential production of interferon-gamma and interleukin-4 in response to Th1-and Th2-stimulating pathogens by gamma delta T cells in vivo nature. *J immunol* 373:255-7.
- Folch J, Less M. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-509.
- Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oils. *J Am Oil Chem Soc* 58:996-968.
- Han JS, Ahn SY. 1993. Effects of oil refining processes on oil characteristics and oxidation stability of sesame oil. *J Korean Agric Chem Soc* 36:284-289
- Jia Z, Tang M, Wu J. 1999. The determination of flavonoid content in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 64:555-559.
- Jung MA. 2009. Effect of *Houttuynia cordata*, *Saururus*, *Chinensis*, *Lithospermum erythrorhizon* complexes on atopic dermatitis in NC/Nga mice. *Mokpo National University*
- Jung MY, Min DB. 1990. Effects of  $\alpha$ -,  $\gamma$ -, and  $\delta$ -tocopherols on oxidative stability of soybean oil. *J Food Sci* 55:1464-1465.
- Kamal-Eldin. 2006. Effect of fatty acids and tocopherols on the oxidative stability of vegetable oils. *Eur J Lipid Sci Tech*. 108:1051-1061.
- Kang JA, Kang JS. 1997. Effect of garlic and onion on plasma and liver cholesterol and triglyceride and platelet aggregation in rats fed basal or cholesterol supplemented diets. *Korean J Nutr* 30:132-138.
- Kim HW. 2000. Studies on the antioxidative compounds of sesame oils with roasting temperature. *Kor J Food Sci Technol* 32:246-251.
- Kim SL, Park KY, Lee YH, Ryu YH. 2003. Biological activities of phytosterols and their variations in crops. *Korean J Crop Sci* 48:24-30.
- Kim DS, Lee KB. 2005. Effect of deodorizing on color in soybean oil. *Korean J Food Culture* 20: 627-631.

- Kim YH, Park YS. 2006. Effect of *Acanthopanax cortex* water extract on antioxidative activity, lipid profile and epidermal thickness in DNCB-induced allergic contact dermatitis animal model. *Korean J Food Sic Technol* 38: 668-673.
- Kim BK, Lim JH, Cho YS, Park KJ, Kim JC, Jeong JW, Jeong SW. 2008. Study on characteristics of cold-pressed sesame oil and virgin sesame oil. *J East Asian Soc Dietary Life* 18:812-821.
- Kim HJ, Lee KS, Lee KT. 2010. Synthesis and characterization of structured lipids from evening primrose seeds oil and rice bran oil. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39:1156-1164.
- Kim HJ, Lee KS, Lee KT. 2010. Synthesis and characterization of structured lipids from evening primrose seeds oil and rice bran oil. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39:1156-1164.
- Lee KB, Yang JB, Go MS. 2006. Easy methods of food analysis. Yuhan publishing co. p. 290.
- Lee SH, Baek SJ, Kim HA, Heo Y. 2006. 2,4-Dinitrochlorobezene-induced atopie dermatitis like immune alteration in mice. *J Toxicol Pub Health* 22:357-364.
- Lee JY, Lim MJ, Choe EO. 2008. Study on the changes of tocopherols and lignans and the oxidative properties of roasted sesame .oil during manufacturing and storage. *Korean J Food Sci Technol* 40:15-20
- Lee KJ, Park MH, Kim HY. 2011. Antioxidant activity and Nitric oxide production of ethanol extracts from *Astragali membranaceus Bunge* and *A. membranaceus Bunge var mongholicus* Hisiao. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 40:1793-1796.
- Lee YJ, Gim SB, Choi HJ, Lee KM, Kim DH. 2012. Study on the modulation of immune system of CPS in atopie dermatitis induced animal models. *Daejeon University*
- Park Y, Kim SM. 2008. Composition and Cytotoxicity of Essential Oil from Korean rhododendron (*Rhododendron mucronulatum* Turcz. var. *ciliatum* Nakai). *The Korean Society for Applied Biological Chemistry*. 51:233-237.
- New food chemistry. 2007. Hyungseul. Seoul, Korea. p 106.
- Son JY. 2011a. Edible fats and oils. Jinro publishing co. p.79.
- Son JY. 2011b. Edible fats and oils. Jinro publishing co. p.155-156.

## 6. 연구결과 활용

연도(연차)	활용구분	제 목
2012(2년)	논 문	문관나무 종자유의 산화안정성
	논 문	문관나무 종자유의 이화학적 특성 분석
	영농활용	문관나무 종자유의 보습 및 자극완화효과
	산업재산권 출원	문관나무 종자유를 함유하는 화장료 조성물
	기능성물질/소재 개발	문관나무 종자유의 보습과 자극완화 효과
	국외 기술협력협정	과학기술교류 협력 협정서
	국외 기술협력협정	한중 식약 공용 천연물 공동연구 협정서
2013(3년)	논 문	RAW264.7 대식세포와 급성염증유발 동물모델에서 문관나무 종자유의 염증억제 효과
	영농활용	문관나무 종자유의 기능성
	기능성물질/소재 개발	문관나무 종자유의 심혈관 개선효과

## 7. 연구원 편성

구분	소속	직급	성명	수행업무	참여년도		
					'11	'12	'13
과제책임자	강원대	교 수	이재신	과제 총괄	○	○	○
2세부책임자	농식품연구소	농업연구사	김희연	과제 수행	○	○	○
공동연구자	"	농업연구관	임상현	시험연구설계	○	-	-
"	"	농업연구사	김시창	"	-	○	○
"	"	"	김경대	물질분석	○	○	-
"	"	"	이광재	생리활성시험	○	○	-
"	"	"	권혜정	"	-	-	○
"	"	전기직	김학성	연구보조	○	-	-
"	"	"	이기성	"	-	○	○
"	보건환경연구원	보건연구관	홍무기	시험연구자문	-	-	○
"	농식품연구소	연구원	박유화	물질분석	○	○	-
"	"	"	이기연	"	○	○	○
"	"	"	홍수영	동물실험수행	○	○	○
"	"	"	정혜정	"	-	○	○
"	"	"	정은경	생리활성시험	-	-	○
"	"	"	권창주	동물실험수행	○	-	-
"	"	"	한설지	생리활성시험	○	○	○