방사선 기술을 이용한 옻나무 수액의 피부 알러지 저감화 효과

정일윤* · 박용대 · 진창현 · 최대성 · 변명우[1]
류형원 · 김동용 · 백지영

한국원자력연구원 정읍방사선과학연구소, [1]우송대학교 외식조리영양학부

Reduction of Skin Allergy of *Rhus verniciflua* Sap Utilizing Radiation Technology

Il Yun Jeong*, Yong Dae Park, Chang Hyun Jin, Dae Seong Choi, Myung-Woo Byun[1], Hyung Won Ryu, Dong Yong Kim and Ji Yeong Baek

Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongeup 580-185, Korea
[1]*Department of Culinary Nutrition, Woosong University, Daejeon 300-718, Korea*

Abstract - Skin contact allergy (SCA) is not life-threatening, but a large number of people have been suffered from the reactions caused by various kinds of chemicals and products. Thus, in this study, radiation technology was employed to improve the traditional herb addition method on the SCA reduction of *Rhus verniciflua* sap (RVS). *Rhus verniciflua* has traditionally been used as an herbal medicine plant, but its urushiol derivatives are known as a major allergen for the SCA. The present study was commenced to assess the allergenicity of both gamma-irradiated and non-irradiated RVS by using guinea-pig maximization test (GPMT) in order to probe the mechanism of an SCA. In the acute dermal irritation assays, non-irradiated RVS caused erythema, but the irradiated RVS did not provoke any erythema on the abdominal skin of the guinea pigs. From the result of the GPMT, urushiols, the main chemical components of RVS, were identified as an extreme skin sensitizer, and the removal of urushiols by irradiation extremely reduced the erythema. These results suggest that radiation technology is a novel method to reduce SCA through the removal of urushiols of RVS.

Key words : *Rhus verniciflua* sap, Urushiol, Gamma irradiation, Skin contact allergy, Guinea pig maximization test

서 론

약 200여 종이 존재하는 것으로 알려져 있는 옻나무(*Rhus verniciflua*)는 대부분 온대지방에 분포하고 있지만 일부는 아열대와 열대지방에서도 서식하는 것으로 알려져 있다(Fernald 1950). 대표적인 자생 옻나무는 한국, 일본, 중국의 옻나무(*Rhus verniciflua* Stokes), 베트남과 대만의 검양옻나무(*Rhus succedanea*), 미얀마 등지의 버마옻나무(*Melanorrhoea usitate*) 등이 알려져 있고(Na *et al*. 1998), 특히, 국내에 서식하는 옻나무속 식물로는 옻나무(*Rhus verniciflua*), 개옻나무(*Rhus trichocarpa*), 붉나무(*Rhus chinensis*), 검양옻나무(*Rhus succedanea*), 산검양옻나무(*Rhus sylvestris*) 등이 있다(김 등 1995).

국내 옻나무(*Rhus verniciflua* Stokes)는 약용 또는 식

* Corresponding author: Il Yun Jeong, Tel. +82-63-570-3150, Fax. +82-63-570-3159, E-mail. iyjeong@kaeri.re.kr

용으로 이용되어 여성의 생리기 이상, 위장약, 구충제, 혈액순환 및 노화방지 등에 사용되어 왔으며(Hota *et al*. 1989), 민간에서는 옻순주를 담아 먹기도 하고 옻닭에도 이용되는 반면, 옻 껍질이나 즙은 위장병과 숙취해소를 위해서도 사용되고 있다(Kim *et al*. 1998). 최근의 연구들은 옻나무의 항암 효과, 항산화 효능 및 면역기능 작용에 대한 다양한 생리 활성에 대해 보고하고 있지만 옻의 주요 성분인 우루시올(urushiol)이 피부 알러지를 유발시키기 때문에 실질적인 식품화 및 약제화하는 데에 어려움이 제시되고 있는 실정이다. 따라서, 최근에 옻나무의 알러지원인 우루시올을 제거(중화)하기 위해 다양한 연구가 진행되고 있는데 실예로 옻나무를 고온에서 볶거나 밀폐된 가마에서 200℃ 이상의 고온으로 탄화하는 법제 과정 사용방법은 우루시올을 증발시켜 알러지의 저감화는 가져 올 수 있지만 옻나무 고유의 약리 활성은 낮아지는 것으로 알려져 있다. 또한, 민간에서 사용하는 옻닭이나 옻 요리 등에 의한 알러지 중화방법은 최근의 역학조사 결과 옻닭을 먹은 3명 가운데 1명꼴로 피부염을 비롯한 각종 부작용이 나타나는 것으로 밝혀져 옻 요리에 의해 완벽한 알러지 저감화가 이루어지지 않음이 확인되었다. 이와 같이 다양한 효능을 가진 옻나무의 활용도를 높이고 식 · 의약소재로서 산업적 응용분야에 적용시키기 위해서는 알러지원인 우루시올을 제거할 수 있는 방안이 필요한 실정이다.

방사선 기술은 식품의 살균 · 살충을 통한 위생화의 목적으로 사용될 뿐만 아니라 다양한 분야에도 응용되고 있는 기술로서 최근에는 새로운 응용분야인 위해성분의 저감, 항알레르기 식품 및 기능성 신소재 개발 등의 산업에도 활용되고 있다(이 2005). 이 방법은 방사선에 의해 분자구조가 변화는 것을 이용한 기술로서 특히, 단백질이 방사선에 노출되면 자체 분자구조가 변함으로서 효소활성과 면역학적 성질이 변화되는데(Yook *et al*. 1997), 대표적인 예로 식품 알러지성 단백질인 계란 중에 함유된 ovomucoid에 감마선을 조사하면 항원성이 변하고 효소 저해능이 저하됨에 따라 알러지성이 감소된다.

본 연구에서는 기존의 연구 결과를 근거로 하여 옻나무의 알러지 저감화를 위해 방사선을 이용하여 주 알러지원인 우루시올을 제거하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

1) 재료

본 실험에 사용된 옻나무(*Rhus verniciflua* Stokes)의 수액은 2006년 10월에 경남 함양산(産)으로 서울 덕현당에서 구입하여 실험에 사용하였다.

2) 조우루시올 분리

옻나무 수액으로부터 조우루시올을 분리하기 위해서 수액에 3배 (kg l^{-1})의 아세톤을 첨가하고 1시간 동안 방치한 후 4,000 rpm으로 15분간 원심분리하여 상층액인 아세톤 추출물을 얻었다. 아세톤 추출물은 회전 진공감압기 (Rotary Vacuum Evaporator N-11, Rikakikai Co., Ltd., Tokyo, Japan)로 농축하고 밀봉한 후 4℃ 암소에 냉장 보관하면서 사용하였다. 우루시올은 수액성분 중에 존재하는 산화효소인 laccase에 의해 중합이 이루어지기 때문에 모노모의 우루시올을 얻기 위해서는 분리 · 정제 과정이 필요하다. 조우루시올에 헥산 용매를 첨가하면 가용성 층과 불용성 층으로 분리되며, 이 중 상층액을 4,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 여과지로 여과한 후 회전 진공감압기로 농축시킨다. 이 농축액에 다시 아세토니트릴 용매를 첨가하면 가용성 층과 불용성 층으로 분리되며, 이 중 상층액을 4,000 rpm에서 15분간 이차 원심분리하여 여과지로 여과한 후 회전 진공감압기로 농축시킨 후 실험에 사용하였다.

3) 조우루시올의 감마선 조사

시료의 감마선 조사는 한국원자력연구원 정읍방사선과학연구소내 선원 10만 Ci의 Cobalt-60 감마선 조사 시설(Point source AECL, IR-79, MDS Nordion International Co. Ltd., Ottawa, ON, Canada)을 이용하여 실온(14℃)에서 시간당 10 kGy의 선량율로 0, 10, 20 및 30 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였다. 흡수선량 확인은 alanine dosimeter (5 mm, Bruker Intruments, Rheinstetten, Germany)를 사용하였다. Dosimetry 시스템은 국제원자력기구(IAEA)의 규격에 준용하여 표준화한 후 사용하였으며, 총 흡수선량의 오차는 2% 이내였다. 비조사구인 0 kGy는 동일한 온도효과를 얻기 위하여 감마선 조사시설 외부에 둔 후 조사 직후 처리구와 함께 4℃ 냉장고에 저장하였다. 이후 감압농축 및 동결 건조하여 실험에 사용하였다.

2. 조우루시올의 정제 및 구조 동정

1) 정제

옻나무 수액에서 분액한 조우루시올(crude urushiol)로부터 단일 우루시올을 분리하기 위해 분취용 HPLC (1200 series, Agilent Co., Palp Alto, CA, USA)를 이용하여 컬럼은 YMC-Pack ODS-A 10 × 250 mm를 사용하였고, 유속은 3 ml min^{-1}, 파장은 254 nm, 이동상은 물과 아세토니트릴을 적절하게 조절하여 G1316A PDA 검출기(Agilent사)로 분석하였다.

2) 구조 동정

분자량은 GC-MS (Agilent 6890V gas chromatography/5975 inent mass selective detector, Agilent Co., Palp Alto, CA, USA)로 측정하였고 구조 분석은 JEOL사의 500 M Hz NMR기기를 이용하여 ^{1}H와 ^{13}C을 측정하였으며 분석용매는 $CDCl_3$를 사용하였다.

3. 감마선 조사한 조우루시올의 성분 분석

1) 고성능 액체크로마토그래프 분석
(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)

조우루시올은 acetonitrile로 0.1% 농도로 희석하여 membrane filter (0.45 μm)로 여과한 후 HPLC 분석에 이용하였으며, 조사한 시료 또한 같은 방법으로 준비하였다.

조우루시올 분석을 위한 HPLC 시스템은 Separations module (2690, Waters., Milford, MA, USA), Photodiode array detector (996, Waters), Millennium 32 chromatography manager (System Software, Workstation version 3.0, Waters), Hypersil GOLD® C_{18}, 4.6 × 250 mm, particle size; 4 μm column (Waters)을 사용하였으며, 이동상으로 0.1% Formic acid : Acetonitrile (65 : 35)을 1 ml min^{-1}의 유속으로 사용하였으며, injection volume은 10 μl, column 온도는 40°C로 고정하여 254 nm에서 분석하였다.

2) 가스크로마토그래프-질량분광분석
(Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)

조우루시올 추출물은 아세토니트릴 용액으로 용해하여 membrane filter (0.45 μm)로 여과한 후 GC 분석용 시료로 사용하였으며 조사한 시료도 위와 같은 방법으로 준비하였다.

조우루시올에 함유된 성분들은 GC-MS (Agilent 6890V gas chromatography/5975 inent mass selective detector, Agilent Co., Palp Alto, CA, USA)로 분석하였다. Microsyringe를 이용하여 추출물 1 μl를 HP-5MS column (30 m length × 0.25 mm i.d. × 0.25 μm film thickness, Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)에 주입하였으며, 운반 기체는 He (0.7 ml min^{-1})을 사용하였고 split mode는 split ratio= 20 : 1로 하였다. Oven 온도는 50°C에서 5분간 유지한 후 10°C min^{-1}으로 승온하여 250°C에서 15분간 유지하였다. Injector와 detector 온도는 각각 200°C 및 225°C로 하였다. Mass selective detector의 이온화 에너지는 70 eV, scanning mass range로 하였다.

성분확인은 GC-MS를 사용하여 각 성분의 mass spectrum을 얻은 후 NIST & Wiley library search data system (Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)에 의한 검색 및 문헌상의 mass spectral data와 비교하여 우루시올 성분확인 및 변화를 분석하였다.

4. 감마선 조사한 조우루시올의 피부 감작성 실험

1) 시험동물 및 사육조건

피부 감작성 실험은 Hartley계 기니픽 수컷을 사용하였으며, 입하 시 220 g의 체중으로 1주간 순화시킨 후 체중이 270～310 g 사이의 개체를 사용하였으며 시험군은 조사물질 처치군 (I), 비조사물질 처치군 (II), 부형제 처치군 (III), 양성대조군 (IV) 및 양성물질의 부형제 처치군 (V)의 5군으로 설정하였다. 사육은 알루미늄 또는 스테인레스제 사육상자에 5마리씩 사육하고 온도 20～26°C, 습도 30～70%, 인공조명 12시간 (오전 8시～오후 8시)으로 설정된 사육실에서 사육하였다. 사료는 기니픽용 고형사료를 급여하였으며, 물은 자유 급여하였다.

2) 투여용량의 설정

감작 I (피내투여) – 최대농도 원액을 시험농도로 결정하였다.

감작 II (국소적용) – 원액을 사용하였다.

양성대조 – 2, 4-dinitrochlorobenzene (DNCB)를 사용하여 감작에 있어서 국소적용 농도는 1.0%, 유발 시 국소적용 농도는 0.1%로 적용하였다.

3) 시험물질의 조제

시험물질 피내 단독투여에서는 시험물질 원액을 사용하였고 양성대조물질인 DNCB는 40% 에탄올 용액에 용해하여 사용하였다. Freund's complete adjuvant (FCA)와 등량 유제는 시험물질 원액을 동량의 FCA에 현액하였고, 유화의 확인은 물을 넣은 비이커에 유화액을 1방울 떨어뜨려서 보면 혼합액이 수면에 확산되지 않고 떨어뜨렸을 때의 상태를 유지하면서 부유해 있으면서 유화가 형성된 것으로 확인하였다.

경피적용은 시험물질 원액을 그대로 적용하였고 DNCB 0.1%의 경우는 40% (v/v) 에탄올에 용해하고 DNCB 1% (감작 II)의 경우는 백색 바세린에 혼합하여 사용하였다.

4) 시험물질 투여

시험은 감작 I (피내투여), Sodium lauryl sulfate (SLS) 전처리, 감작 II (국소적용) 그리고 유발의 4단계로 나누어 실시하였다 (Fig. 1).

감작 I (피내투여) – 기니픽의 상배부를 4 × 6 cm (가로 × 세로)의 크기로 제모하여 아래에 표시한 방법으로 I 부위에 대해 0.1 ml (0.05 ml씩 좌우 2개소)씩 피내투여하였다 (Fig. 1A).

SLS 전처리 – SLS 전처리는 (B)와 같이 감작 I의 6일 후 I군 및 II군의 동물을 대상으로 시험물질에 의한 감작을 증강하기 위해 동물의 상배부를 4×6 cm의 크기로 제모하고 이 부위에 10% (w/v) SLS 함유 백색 바세린 0.5 g을 도포한 다음 24시간 후 SLS를 씻어내고 감작 II를 실시하였다 (Fig. 1B).

감작 II (국소적용) – 감작 I로부터 7일 후 미리 전날에 4×6 cm의 크기로 제모한 상배부에, I군은 조사한 조우루시올, II군은 조우루시올, IV군은 양성대조물질, III 및 V군은 각각의 부형제를 모두 0.5 ml 또는 0.5 g 흡착시킨 2×4 cm (가로×세로)의 여과지를 48시간 폐쇄 첨부하였다 (Fig. 1C).

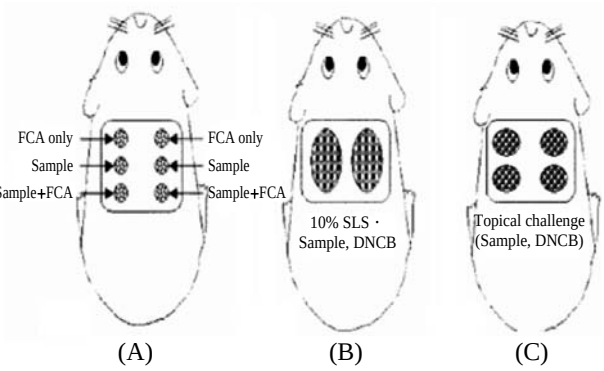

Fig. 1. Guinea-pig maximization test (GPMT).

유발 – 감작 II 실시 2주 후 동물의 우측 복부를 5×5 cm (가로×세로)의 크기로 제모하고 I, II 및 III군은 시험물질을 IV 및 V군은 양성대조물질인 DNCB를 각각 0.5 ml을 흡착시킨 2×2 cm (가로×세로)의 린트포로 24시간 폐쇄 첨부하고, 좌측 측부에는 각각의 부형제 0.5 ml을 동일한 방법으로 처치하였다.

5) 피부의 관찰 및 평가방법

유발을 위한 폐쇄첨무제거 24, 48 및 72시간 후에 모든 동물에 관해서 피부 소견을 평가하였다. 각 군에서 반응을 보이는 개체에 대한 양성반응의 비율(%)은 [양성동물수/전체동물수×100]으로 나타내었다. I, II 및 IV군의 동물에 대해서는 반응이 나타난 동물에 대해서는 실험에 사용한 동물수에 대한 감작된 동물수의 감작율(%) [양성동물수/전체동물수×100]을 구하고 피부 감작성의 정도를 평가하였다.

5. 통계분석

모든 실험은 3회 이상 반복 실시하였으며, 얻어진 결과들은 SPSS software (SPSS 10.0.5, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)에서 분산분석하고, 유의성이 있는 경우 least square 평균값을 Duncan의 multiple range test를 통하여

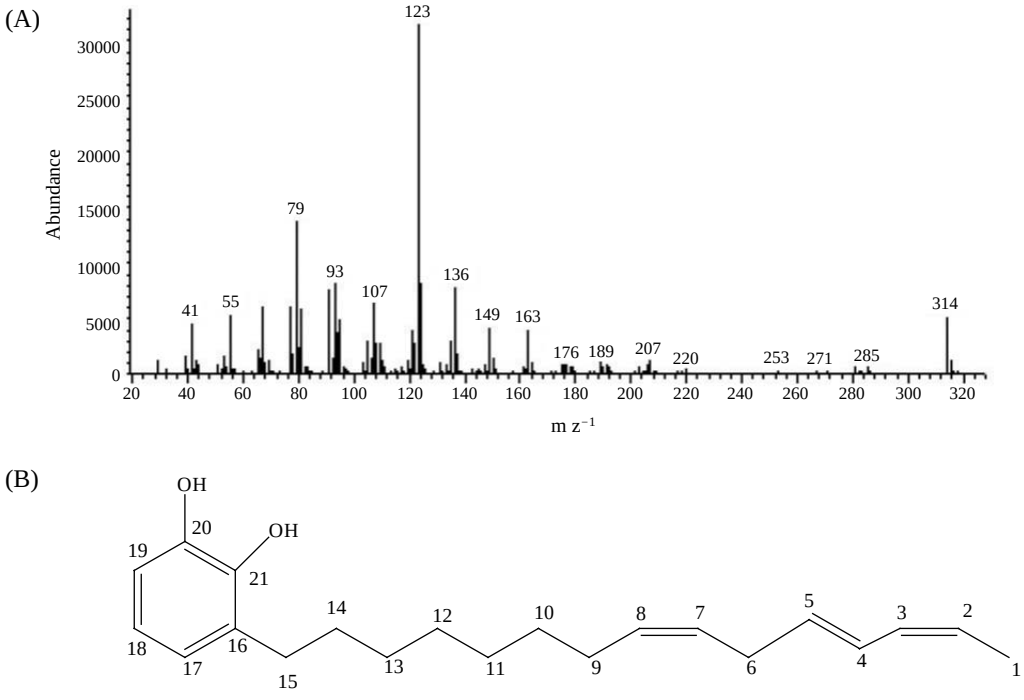

Fig. 2. GC-MS chromatogram and structure of urushiol [(3-8′Z, 11′E, 13′Z-pentadecatrienyl)catechol] purified from crude urushiol of *Rhus verniciflua* sap.

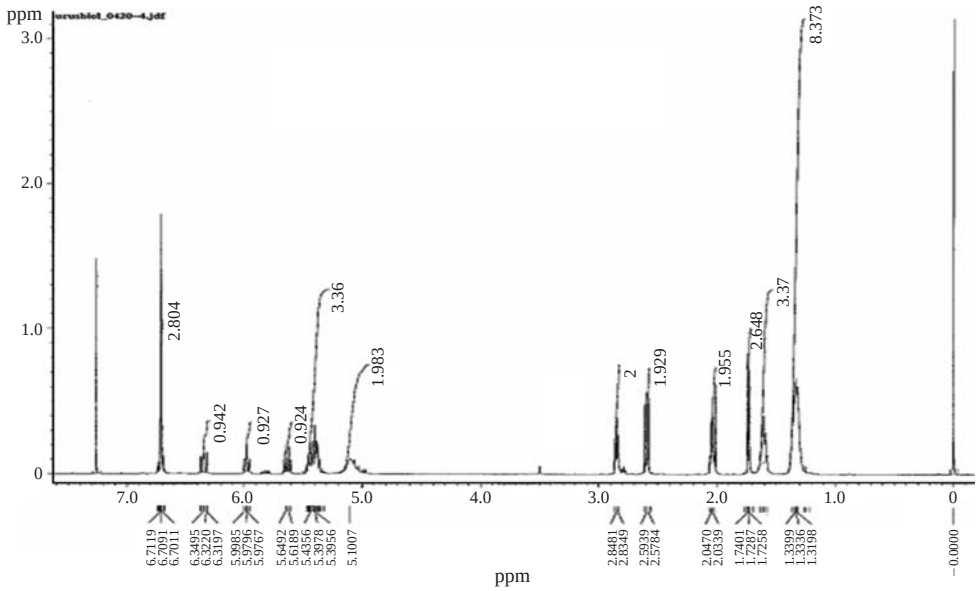

Fig. 3. [1]H NMR of urushiol [(3-8′Z, 11′E, 13′Z-pentadecatrienyl)catechol] purified from crude urushiol of *Rhus verniciflua* sap.

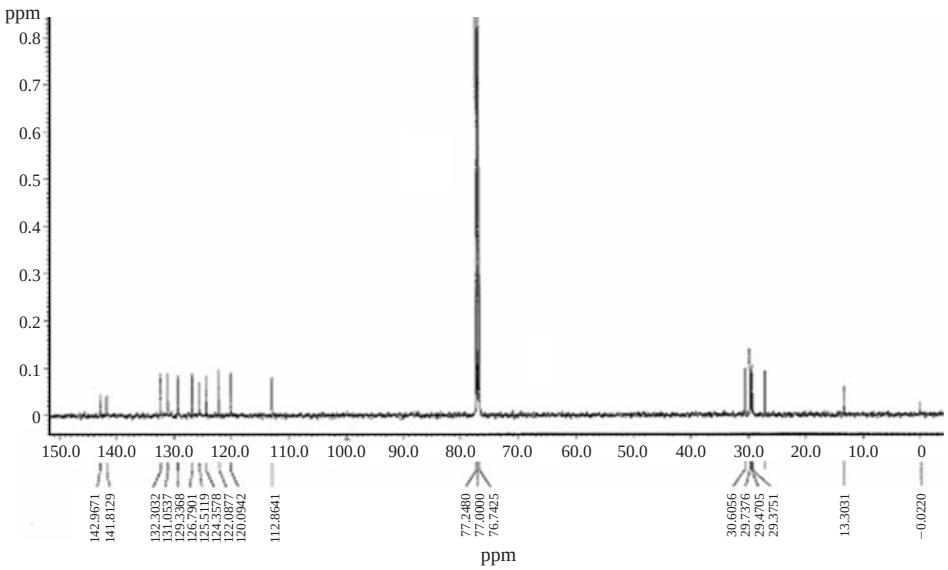

Fig. 4. [13]C NMR of urushiol [(3-8′Z, 11′E, 13′Z-pentadecatrienyl)catechol] purified from crude urushiol of *Rhus verniciflua* sap.

평균 간의 유의차를 확인하였다($p < 0.05$).

결과 및 논의

1. 조우루시올의 정제 및 구조 동정

1) GC-MS 분석법에 의한 분자량 측정

GC-MS 스펙트럼 분석 결과, 조우루시올에서 정제된 우루시올의 주 피크의 분자량이 314로 측정되었다(Fig. 2A), 이는 Du and Oshima (1984) 연구에서 중국 후페이산 옻 수액의 우루시올[(3-8′Z, 11′E, 13′Z-pentadecatrienyl) catechol] 주 피크의 분자량이 314인 것과 일치하였다. 따라서 우리나라 함양산 옻 수액 중 우루시올의 주성분도 중국산이나 일본산 옻 수액의 우루시올의 주성분과 동일하다는 것을 뒷받침해 주고 있다. 우루시올 유도체 중 분자량이 314이며, 측쇄에 15개의 탄소와 3개의 이중결합을 가지는 구조로서 분자량이 가장 작은 우루시올은 옻 알레르기의 유발에 가장 큰 영향을 미치는 것으

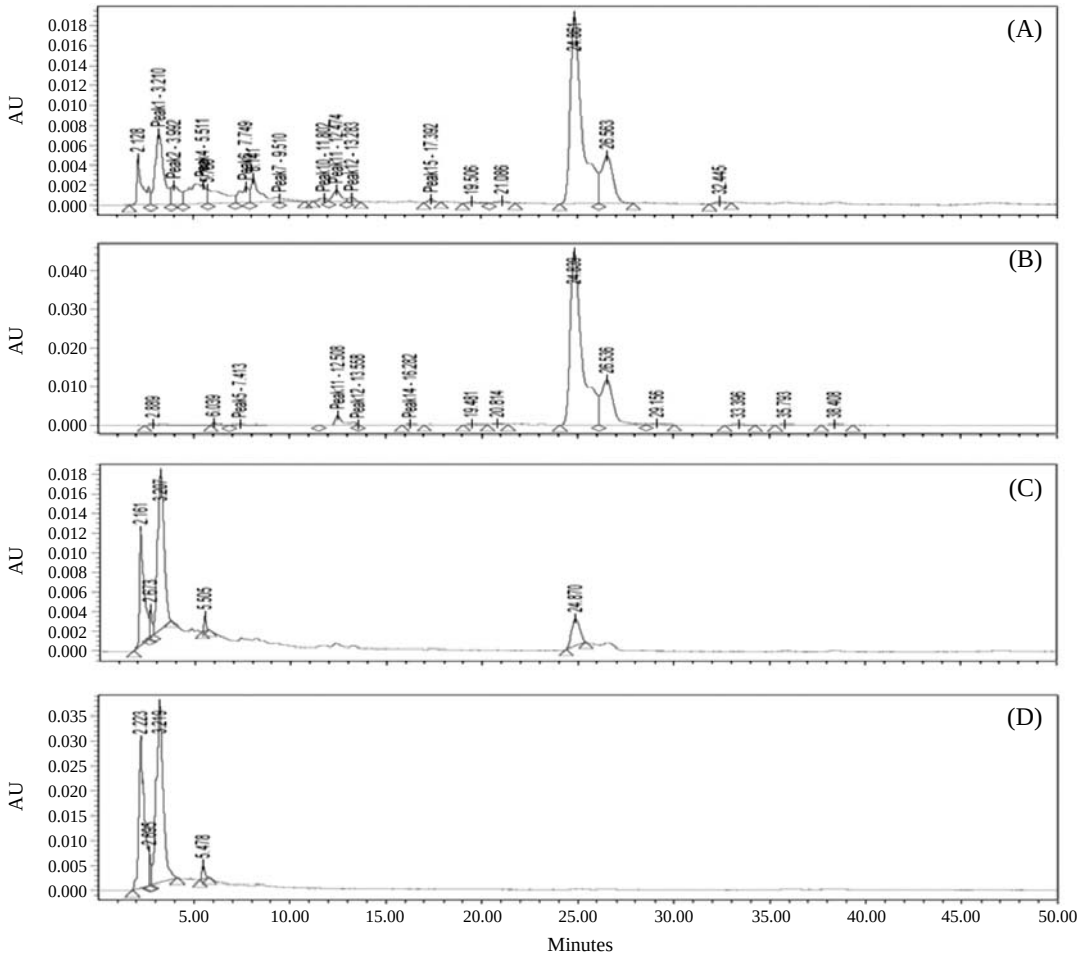

Fig. 5. HPLC Chromatogram of non-irradiated and gamma-irrdiated crude urushiol with the different absorbed doses. A: 0 kGy, B: 10 kGy, C: 20 kGy, D: 30 kGy.

로 판단되며 이 물질은 탄화수소의 C_{15}번과 C_{17}에 catechol ring으로 치환되어 있으며, 3번 혹은 4번 위치에 포화결합 혹은 1개에서 3개의 불포화결합을 가지고 있다 (Fig. 2B). 우루시올의 catechol 링과 aliphatic 사슬은 알러지성을 유발시키는 데 결정적인 역할을 하는 것으로 입증되었고, 우루시올의 이중 및 삼중 불포화물질이 포화물질보다 더욱 높은 접촉성 알러지를 유발한다는 것이 보고되고 있다 (Shonet *et al*. 2006).

2) NMR 분석법에 의한 구조 동정

정제된 우루시올의 구조를 분석하기 위하여 ^{1}H 및 ^{13}C-NMR을 분석을 실시하였다 (Figs. 3, 4). ^{1}H-NMR 분석 결과, 6.72～6.69 ppm 영역에서 전형적인 aromatic 3H (H-17, 18, 19)가 확인되었고 이중 결합을 함유하고 있는 불포화탄소는 6.39～6.28 ppm 영역에서 1H (H-4), 6.01～5.94 ppm에서 1H(H-3), 5.67～5.58에서 1H (H-5), 5.51～5.27에서 3H (H-2, 7, 8)가 각각 확인되었다. ^{13}C-NMR 분석에서는 112.86 ppm에서 aromatic 3차 탄소 (C-17, 18, 19, -Ph)가 관찰되었고 이중 결합을 함유하고 있는 불포화탄소는 132.30 ppm에서 C-5의 3차 탄소, 131.05 ppm에서 C-2의 3차 탄소, 129.33 ppm에서 C-3의 3차 탄소, 126.79 ppm에서 C-7의 3차 탄소, 125.51에서 C-4의 3차 탄소, 124.35 ppm에서 C-8의 3차 탄소가 각각 분석되었다.

2. 감마선 조사 조우루시올의 성분 분석

1) HPLC 분석법에 의한 정성 분석

감마선 조사에 의한 조우루시올의 성분 변화를 확인하기 위해 농도를 0.1 mg ml^{-1}로 희석하여 0, 10, 20 및 30 kGy로 조사한 후 syringe filtering (pore width: 0.2 μm) 하여 HPLC분석용 칼럼으로 분석한 결과를 Fig. 5에 나타내었다.

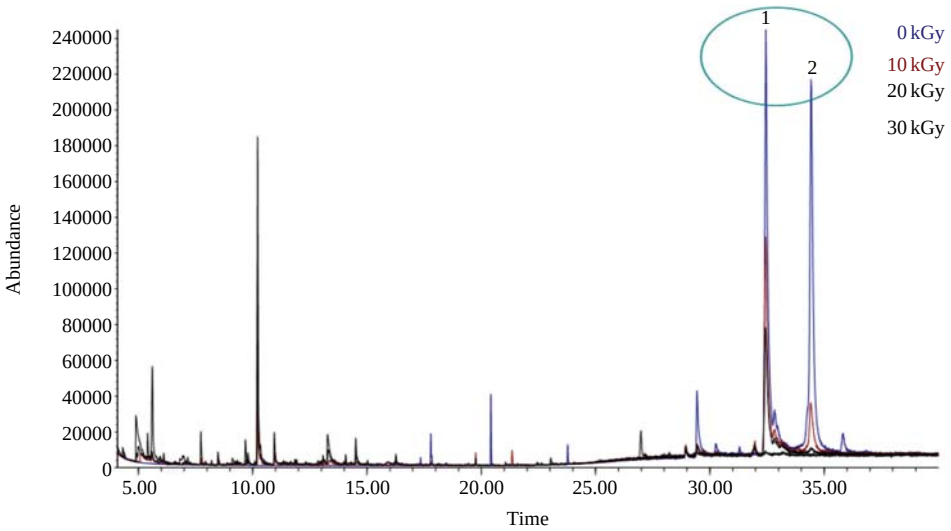

Fig. 6. Overap gas chromatogram of non-irradiated and gamma-irrdiated crude urushiol with the different absorbed doses. A: 0 kGy, B: 10 kGy, C: 20 kGy, D: 30 kGy.

비 조사 시료에서 retention time이 24.691분인 물질이 옻 수액의 주성분인 우루시올((3-8′Z, 11′E, 13′Z-penta-decatrienyl)catechol)임을 확인하였고, 조사선량이 증가함에 따라 유의적으로 우루시올 함량이 줄어드는 것을 알 수 있었다. 이 결과 30 kGy에서 우루시올이 완전히 제거되는 것을 확인하였기 때문에 최적선량을 30 kGy로 선정하였으며 이후 조사 전과 후의 피부 알러지 감작성 시험과 유전 독성학적 안전성 평가를 하기 위한 실험에서는 대조구 0 kGy와 30 kGy 감마선이 조사된 우루시올 추출물 두 가지 시험구만 비교 평가하였다.

2) GC-MS 분석법에 의한 분자량 분석

조사 선량에 따른 조우루시올의 성분 및 함량 변화를 GC-MS로 분석한 결과를 Fig. 6과 Table 1에 나타내었다. 조우루시올(0 kGy)에서 retention time (RT)이 32.453인 성분은 분자량이 314이었고, 이는 $C_{20}H_{30}O_2$물질로서 3-(8′Z, 11′E, 13′Z-penta-decatrienyl) catechol이며 함량은 46.8%였다. RT이 34.439인 물질 또한 분자량이 314로서, 조우루시올의 주 피크와 유사한 질량 스펙트럼을 보임으로서 우루시올 유도체임을 알 수 있었고 함량은 45.6%였다. Kim and Hyun (1997)은 옻나무 칠액 중 우루시올 성분을 HPLC로 분석한 결과 산지와 수종 간에 약간의 차이는 있으나 3-(8′Z, 11′E, 13′Z-penta-decatrienyl) catechol (3-C_{15} trience)의 함량은 66.96～77.92%로 전체 옻 산 구성성분의 약 70%를 차지하며, 3-C_{15} diene의 경우는 1.87～20.3%, 3-C_{15} monoene은 2.24～16.54%를 보인다고 보고한 바 있다. 따라서, 경남 함양에서 수확된 옻 수액의 우루시올의 함량은 92.3%였으며 조사선량에 따라 함량이 유의적으로 감소하는 경향을 보였다. 또한, 30 kGy 조사한 경우에는 조우루시올이 완전히 제거됨을 확인하였다. 버섯균 처리에 의한 옻피 중의 우루시올성분의 제거율이 1.5～93.0%인 것과 비교해 보았을 때 감마선 조사에 의한 옻 수액의 독성 물질인 우루시올 성분의 제거는 비교적 효율적이라 할 수 있다.

Table 1. Change of contents (%) of non-irradiated and gamma-irrdiated crude urushiol with the different absorbed doses by GC-MS. A: 0 kGy, B: 10 kGy, C: 20 kGy, D: 30 kGy

Crude urushiol	Irradiation doses (kGy)			
	0	10	20	30
Peak 1+Peak 2 (%)	92.332	82.56	58.475	0

3. 감마선 조사 우루시올의 피부 감작성 시험

감마선이 조사된 조우루시올의 접촉성 알러지 자극성 평가를 위한 GPMT 실험의 결과를 Table 2와 3에 나타내었다. Saline과 40% ethanol 용액을 도포한 대조군에서는 실험기간 동안 guinea pig의 복부에 발적, 홍반, 부종 등이 관찰되지 않았으나, 조우루시올 처리군, 30 kGy로 조사한 조우루시올 처리군 및 DNCB 처리군은 정도의 차이는 있었으나 대조군에서 보이지 않았던 피부 감작성이 나타났다. 조우루시올 처리군은 그룹 II에서 처리 후 24시간째부터 72시간째까지 강한 부종과 홍반 등의 증상이 계속 관찰되었으나 30 kGy로 조사한 조우루시올 처리군에서는 그룹 I을 처리한 후 24시간째에서 10마리 중 4마리에 약한 홍반과 부종을 나타내었으며 72시간

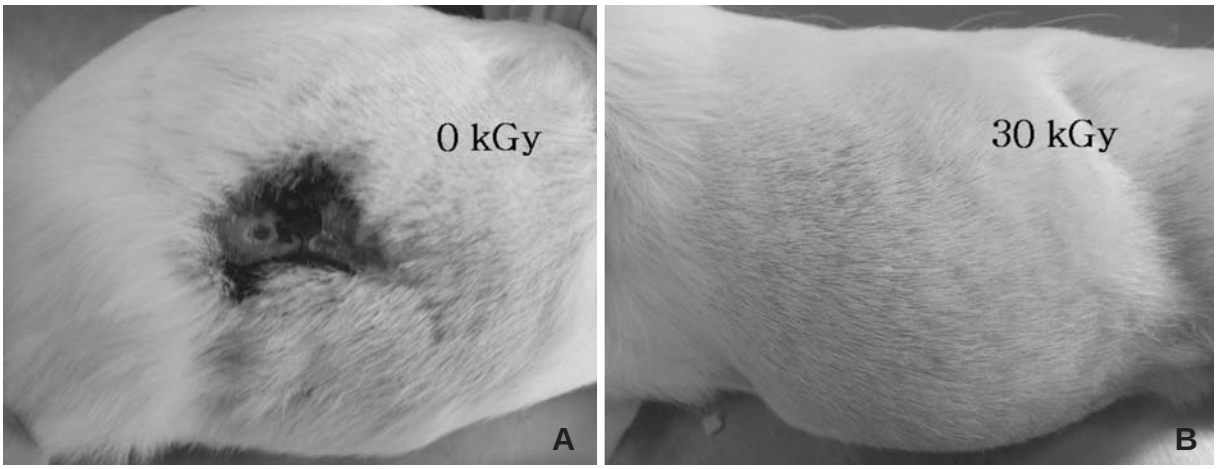

Fig. 7. Allergenicity rating of non-irradiated (A) and gamma-irradiated crude urushiol (B) from *Rhus verniciflua* sap.

Table 2. Contact allergenicity test of non-irradiated and gamma-irradiated crude urushiol from *Rhus verniciflua* sap with maximization test[1)]

Group	Induction	Challenge	No. of animal	Time[2)]	Score				FR[3)]
					0	1	2	3	
I	30 kGy urushiol	30 kGy urushiol	10	24	6	2	2	0	4/10
				48	6	3	1	0	4/10
				72	7	1	1	0	2/10
II	0 kGy urushiol	0 kGy urushiol	10	24	0	0	0	10	10/10
				48	0	0	0	10	10/10
				72	0	0	0	10	10/10
III	Saline	0 kGy urushiol	10	24	8	2	0	0	2/10
				48	10	0	0	0	0/10
				72	10	0	0	0	0/10
IV	DNCB	DNCB	10	24	0	3	3	4	10/10
				48	2	3	2	3	8/10
				72	1	2	5	2	9/10
V	40% ethanol	40% ethanol	10	24	10	0	0	0	0/10
				48	10	0	0	0	0/10
				72	10	0	0	0	0/10

[1)]Experimental procedure according to the GPMT originally reported by Magnusson and Kligman
[2)]Reading time after the removal of closed patches
[3)]Fraction response=Number of animals which showed a positive reaction/Number of animals tested

Table 3. Allergenicity rating of non-irradiated and gamma-irradiated crude urushiol from *Rhus verniciflua* sap

Materials	Sensitization rate	Grade[1)]	Classfication[1)]
0 kGy	100%	V	Extreme
30 kGy	20%	II	Mild

[1)]Experimental procedure according to the GPMT originally reported by Magnusson and Kligman

후에 서서히 피부 반응이 줄어 10마리 중 2마리에서 조우루시올 처리군보다 약한 피부 감작성을 보였다.

위의 결과에 대한 피부반응의 강도를 Magnusson과 Kligman의 기준에 준하여 판정한 결과를 Table 3에 나타내었다. 조우루시올 처리군은 grade V인 extreme으로 분류되어 매우 강한 감작율을 보였으나 30 kGy 조우루시올 처리군은 grade II인 mild로서 비조사군보다 약 20%로 낮은 감작율을 나타내었다.

결과적으로, 앞선 HPLC와 GC-MS의 분석에서 제시된 것처럼 옻의 알러지를 유발시키는 우루시올 성분이 감마선 조사에 의해 제거됨으로서 guinea pig의 피부 알러지 유발이 저감화된다는 것이 감작성 실험으로 규명되었다.

결 론

과거 오래전부터 민간요법과 다양한 식품소재로서 활용되어온 옻나무는 알러지를 유발시키는 화학적 성분인 우루시올로 인하여 산업적 적용성에 있어서 많은 한계점을 내포하고 있어서 우루시올을 제거하기 위한 다양한 방법들이 국내에서 개발되었지만 효과적이고 실질적인 대안은 제시를 못하고 있는 실정이다. 본 연구에서는 옻수액에 주성분이며 피부 알러지원인 우루시올을 제거하기 위해 HPLC와 GC-MS 분석법을 이용하여 정성 및 정량분석하고 NMR 분석을 통하여 정확한 구조를 확인한 결과 분자량이 314인 (3-8′Z, 11′E, 13′Z-pentadecatrienyl) catechol이라는 것을 확인하였다. 감마선 조사에 의한 우루시올의 함량 변화를 관찰하기 위해 분리한 우루시올을 0.1 mg ml^{-1}의 농도로 희석하여 감마선으로 0, 10, 20 및 30 kGy로 각각 조사한 다음 HPLC 분석 및 GC-MS로 분석하였다. HPLC 분석 결과, 우루시올의 주 피크의 retention time이 24분과 26분에 용출되었으며 조사선량이 증가함에 따라 우루시올 성분이 유의적으로 감소하였고 비극성물질에서 극성물질로 바뀌는 것을 확인하였다. GC-MS 분석 결과, 우루시올 성분은 분자량이 314이며 $C_{20}H_{30}O_2$물질이 90% 함유되어 있는 것을 알 수 있었고 조사선량이 증가함에 따라 우루시올 성분이 제거됨과 동시에 분자량이 작고 휘발성이 강한 물질로 변화하는 경향을 보였다. 또한, 30 kGy에서 우루시올 성분이 완전히 제거되었다. 따라서 우루시올이 완전히 제거되는 최적선량은 30 kGy임을 확인하였다.

접촉성 알러지 유발물질로 알려진 우루시올을 감마선으로 조사하였을 때 접촉성 알러지 자극성 평가를 GPMT 법에 의해 실험한 결과 우루시올 처리군에서는 그룹 II에서 처리 후 24시간째부터 72시간째까지 강한 부종과 홍반 등의 증상이 계속 관찰되었으나 30 kGy 조사한 우루시올 처리군에서는 그룹 I을 처리한 후 24시간째에 10마리 중 4마리에 약한 홍반과 부종을 나타내었으며 72시간 후에 서서히 피부 반응이 줄어 10마리 중 2마리에서 우루시올 처리군보다 상당히 약한 피부 감작성을 보였다. 결론적으로 우루시올 처리군은 grade V로 extreme으로 분류되어 매우 강한 감작율을 보였고 감마선으로 30 kGy 조사한 우루시올 처리군은 grade II로 mild로 비조사군보다 20%로 낮은 감작율을 나타내었다.

결론적으로 옻수액이 알러지를 유발시키는 주 원인은 우루시올 (3-8′Z, 11′E, 13′Z-pentadecatrienyl) catechol에 의한 것이라는 것이 밝혀졌으며 본 연구에서 우루시올을 제거하는 데 적용된 방사선기술은 유효한 방법의 하나라고 판단된다. 끝으로, 본 기술의 산업적 적용성에 있어서는 보다 세밀한 연구가 진행될 필요가 있을 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 농림수산식품부에서 시행하는 농림기술개발사업의 지원으로 수행되었습니다. 이에 감사 드립니다.

참 고 문 헌

김삼식, 정재민. 1995. 한국산 옻나무고의 분류학적 연구. 한국임학회지. **84**:151-165.

이주운. 2005. 방사선 기술의 식품산업에의 이용 및 안정성 관리. 식품과 기계.

Du Y and Oshima R. 1984. Reversed-phase liquid chromatographic separation and identification of constituents of urushiol in the sap of the lac tree, *Rhus vernifera. J. Chromatogr.* **195**:179-186.

Fernald MI. 1950. Gray's manual of botany 8th ed., American book Company, New York. pp. 976-979.

Hota M. 1989. 세계유용식물사전. 평범사. pp. 910-912.

Kim JW and Hyun JO. 1997. Genetic variation in urushiol components of *Rhus verniciflua* Stokes. *Kor. J. Breed.* **29**(1): 115-123.

Kim MJ, Choi YH and Kwak SS. 1998. Comparison of urushiol and biological activity between fresh sap and fire distilled sap of lacquer tree. *J. Kor. Plant. Res.* **111**(1):40-46.

Magnusson B and Kligman AM. 1969. The identification of contact allergens by animal assay. The guinea pig maximization test. *J. Invest. Dermatol.* **52**:268-276.

Na CS, Jung NC and Oh KI. 1998. In vitro cytotoxic activity of urushiol in the sap of *Rhus verniciflua* Stokes. *J. Kor. For. Soc.* **87**(2):260-269.

Shon MY, Nam SH and Park SK. 2006. Effect of theaflavin and thearubigin from fermented teas on urushiol allergic contact dermatitis. *Food Industry and Nutrition*. **11**(3):44-48.

Yook HS, Lee HJ, Im SI, Kim S and Byun MW. 1997. Changes of proteolytic enzyme property by gamma irradiation. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutri.* **26**:1116-1121.

Manuscript Received: February 17, 2011
Revision Accepted: February 22, 2011