

## 호두 기름의 성분조성과 항알레르기 효과

서영호 · 김옥희 · 김경만\* · 황태영\*\* · 손현숙\*\*\*†

서울시 보건환경연구원 · 전남대학교 약학대학\*

· 경북대학교 식품공학과\*\* · 영남이공대학 생활과학과\*\*\*

### Physico-chemical Composition and Anti-Allergic Effects of Walnut Oil

Young-Ho Seo, Uk-Hee Kim, Kyeong-Man Kim\*, Tae-Young Hwang\*\* and Hyun-Sook Son\*\*\*

*Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment, Seoul*

*College of Pharmacy, Chonnam National University, Kwangju\**

*Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Taegu\*\**

*Department of Human Ecology, Yeungnam College of Science and Technology, Taegu\*\*\**

#### Abstract

This study was conducted to investigate physicochemical properties and anti-allergic properties of walnut oil. pH, acid value and iodine value of walnut oil were respectively 4.9, 0.8 and 117. Most of general composition of walnut oil was crude fat(99.9%). Vitamin A and E were 0.06 and 10.25mg/100g and the major fatty acids of walnut oil was linoleic acid(62.8%). Total phenolics and antiallergic effects of walnut oil were estimated 27mg% and 62.82% at the concentration of 0.5% ethanol walnut oil. These results suggest that the walnut oil can provide one of the valuable resource for the functional foods.

Key words: walnut oil, anti-allergic effects, physico-chemical components.

#### I. 서론

호두는 오랑캐 나라(胡)에서 가져온 이름 모를 과실이 복숭아(桃)를 닮았다고 해서 붙여진 이름으로 추자(楸子) 또는 당추자(唐楸子)라고도 하며 정월 대보름날 부럼으로 잘 알려져 있다. 호두의 단단한 껍질을 깨면 여러 칸으로 나뉘어져 있는데, 그 속에 회고 살이 썬 지방 덩어리 종인이 들어 있다. 종인은 호도인이라 하여 생으로 먹거나 요리, 약용에도 널리

쓰인다<sup>1)</sup>. 호도에는 지방 59.4%, 단백질 18.6%, 당질 14.5%, 수분 4.5%, 회분 1.8%, 섬유 1.2%, 기타 칼슘, 인, 철분, 비타민 등이 들어 있다<sup>2)</sup>. 이처럼 호두는 양질의 단백질과 소화 흡수가 잘 되는 지방 성분을 다량 함유하여 영양학적으로 대단히 중요한 알칼리성 식품이다. 특히 한방에서는 호도를 폐의 기능을 개선시키면서 치료하는 식품으로, 기름으로 짜서 복용하면 어린이 천식이나 폐렴에 좋다고 하여 민간에서는 호도기름을 소아 천식에 이용하여 왔다. 호도기름에 대한 연구로는 호도기름의 트리글리세라이드 조성

및 저장성에 대한 연구<sup>34)</sup>가 보고되어 있으나 일반적인 착유 방법을 통한 호두기름에 대한 연구이며 이외에는 연구보고가 거의 이루어져 있지 않은 실정이다. 또한 삼법제로 알려진 즉, 쌀밥에 세 번 찌고 착유하는 방식을 이용하여 제조한 호두기름이 상품화, 판매되고 있으나 이에 대한 연구는 전무한 상황이다.

한편 천식은 일종의 알레르기성 질환으로 현대 사회의 산업화에 따른 환경오염 등으로 인해 계속 증가하고 있으며 국내외에서 심각한 문제로 대두되고 있다. 이러한 알레르기성 질환은 천식 외에도 고초염, 담마진, 알레르기성 비염, 아토피성 피부염, 알레르기성 결막염 등이 있는데 우리 나라에서도 인구의 약 12~20% 정도가 알레르기성 질환에 반응을 보이고 있는 것으로 보고되고 있다<sup>5,6)</sup>. 이러한 알레르기성 질환의 치료약으로 각종 화학물질들이 이용되어 왔으나 최근 들어 식물 유래의 민간약 및 천연물을 이용한 항알레르기 물질에 대한 탐색이 활발해지고 있다.

따라서 본 연구에서는 호두의 유효성분 이용을 위한 가공식품인 호두기름의 성분조성을 조사하고 항알레르기 효과에 대하여 조사하여 유효식품으로써 호두기름을 평가하고자 한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재 료

본 실험에 이용된 호두기름은 경남 함양 소재 삼정식품에서 제조한 "호도진액"으로 호두를 내피제로 쌀밥 위에 찌고 말리는 과정을 3회 반복한 후 착유하는 삼법제 과정을 통하여 제조한 것이며, 실험 직전 제품을 제조하여 냉장보관 하면서 실험에 사용하였다.

### 2. 호두기름의 이화학적 특성

#### 1) 일반성분

수분, 총지질 및 조단백질과 회분은 AOAC<sup>12)</sup>법에 따라 정량하였다.

#### 2) 이화학적 성상

식물성 유지의 이화학적 성상은 식품공전<sup>7,8)</sup>에 준하여 조사하였는데 pH, 비중, 굴절률, 산가, 요오드가

를 측정하였다. 즉, 산가는 시료 5~10g을 정밀히 달아 마개 달린 삼각플라스크에 넣고 증성 에탄올·에테르 혼액(1:2) 100ml에 녹인 다음 페놀프탈레인 시액을 지시약으로 하여 엷은 홍색이 30초 동안 지속될 때까지 0.1N 에탄올성 수산화칼륨 용액으로 적정하고 다음과 같이 계산하였다<sup>7)</sup>.

$$\text{산가} = \frac{5.611 \times a \times f}{\text{검체채취량(g)}}$$

a : 0.1N 에탄올성 수산화칼륨 용액 소비량(ml)

f : 0.1N 에탄올성 수산화칼륨 용액의 역가

### 3) 비타민 A와 E 분석

비타민 A는 다음과 같이 분석하였다<sup>8)</sup>. 즉, 검화는 시료에 에탄올 30ml, 10% 피로갈롤에탄올용액 1ml, 수산화칼륨용액 3ml를 넣고 비등 수욕 상에서 30분간 실시하였고 석유에테르 30ml로 3회 추출한 후 석유에테르층을 합하여 알칼리성이 없어질 때까지 물로 세정한 다음 석유에테르층은 무수황산나트륨으로 여과시켜 탈수하였고 석유에테르를 제거한 후 이소프로판올로 녹인 것을 시험용액으로 하여 HPLC 분석을 하였다. 분석기기는 Spectra YSTEM FL3000을 사용하였으며, column은 reversed phase column ( $\mu$ -Bondapak C18, 3.9×300 mm), detector는 fluorescence detector(340 nm, 460 nm), mobile phase는 MeOH:H<sub>2</sub>O(95:5,v/v), flow rate는 1.0 ml/min이었다. 비타민 A 표준용액은 retinol acetate로 검화단계부터 시료와 같이 처리하였다. 비타민 E 분석을 위한 시료의 전처리에는 비타민 A와 같았으며<sup>8)</sup>, 분석기기는 HPLC(younglin M720)를 사용하였고 column이 reversed phase column( $\mu$ -Bondapak C18, 3.9×300mm), detector는 UV detector(280nm), mobile phase는 MeOH:H<sub>2</sub>O(90:10,v/v), flow rate는 1.0ml/min이었다<sup>9)</sup>.

### 4) 지방산 분석

지방산 분석을 위한 시료의 전처리에는 시료 약 350 mg을 100ml 환저플라스크에 정밀히 취한 뒤 0.5N MeOH성 NaOH 약 4ml를 가하였다. 이 때 플라스크

**Table 1.** Instruments and operating conditions for fatty acids analysis by gas chromatography

Column	HP-1
Detector	FID
Injection temperature	220°C
Detect temperature	250°C
Oven temperature	210°C
Injection volume	1 µl
Carrier gas	N <sub>2</sub> 40ml/min

위에 환류 냉각기를 설치하였으며 10분간 균질하게 되도록 가열한 후 14% BF<sub>3</sub> 약 5ml를 가한후 2분간 다시 가열하였으며 마지막으로 n-heptane 5ml를 가하여 1분간 재가열하였다. 여기에 약 20~50ml의 염화나트륨 포화용액을 가한 후 상층에서 약 1ml의 heptane을 취한 후 이에 소량의 무수황산나트륨의 가해 탈수시킨 것을 검체로 하여 가스크로마토그래피로 지방산 분석을 하였다<sup>10)</sup>. 지방산 표준물질은 모두 Sigma 제품을 사용하였으며 시료와 동일한 조건에서 조제하였다. Gas chromatography는 HP 6890이였으며, 분석조건은 Table 1과 같았다.

### 3. 호두기름의 기능적 특성

#### 1) 총페놀의 함량 분석

호두기름의 총페놀의 함량 분석은 Folin-Denis법<sup>12)</sup>을 이용하였다. 즉, 100ml 메스플라스크에 75ml의 증류수와 호두기름의 70% 에탄올 추출물 1ml를 넣고 잘 혼합한 후 Folin-Denis 시약 5ml와 탄산나트륨 포화용액 10ml를 차례로 넣은 다음 증류수로 100ml 용량으로 채웠다. 이를 잘 혼합하여 실온에서 30분간 방치 후 분광광도계 (UV/VIS Spectrophotometer, Jasco, Japan)로 760nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 tannic acid를 이용하여 작성한 표준 곡선으로부터 % tannic acid 당량으로 환산하였다.

#### 2) 항알레르기성 실험

항알레르기 효과를 실험하기 위해 호두기름을 6배의 에탄올로 희석하여 실험재료로 사용하였다. 항알레르기 효과의 검정은 Choi 등<sup>11)</sup>의 enzyme assay 방법을 이용하여 RBL-2H3 세포로부터 hexosami-

dase의 방출 억제 효과를 측정하였다. 시험물질의 항알레르기 효과를 측정하기 위한 방법으로 한때는 IgE로부터 감작된 비만세포에서 유리된 히스타민의 양을 측정하였으나 이 방법은 비만세포에서 히스타민 농도가 매우 낮고 또한 복잡한 여러 단계를 거쳐야 하기 때문에 큰 편차를 나타내기가 쉽다. 따라서 새로운 측정방법이 요구되어 현재는 hexosaminidase assay가 널리 이용되고 있다. Hexosaminidase는 높은 농도로 cell내에 존재할 뿐 아니라 다른 화학적 매개체들이 탈과립 되어 방출될 때 함께 배출되므로 hexosaminidase활성 측정은 탈과립의 지표로 이용될 수 있으며 또한 이 효소의 반응으로 생성된 생성물은 자외선 영역에서 용이하게 측정될 수 있기 때문에 유리된 히스타민의 양을 측정하는 방법을 대체할 수 있는 assay법으로 이용될 수 있다<sup>11)</sup>. 즉, 미국 국립보건원에서 분양받은 RBL-2H3 세포를 3% fetal bovine serum(FBS)를 포함한 Eagle's minimum essential medium(EMEM)에 현탁시킨 수 24 -well plate에 각 well 당  $2 \times 10^5$ 개의 세포가 들어가도록 처리한 다음 각 well 당 50 µg/EMEM 1 mL의 IgE로 감작시킨 후 5%의 CO<sub>2</sub> incubator에서 하룻밤 배양하였다. 8시간 후 각 well의 세포들을 Siraganian buffer(119mM NaCl, 5mM KCl, 5.6mM glucose, 0.4mM MgCl<sub>2</sub>, 25mM PIPES, 40mM MaOH, 1mM CaCl<sub>2</sub>, 0.1% BSA, pH 7.2)로 세척한 다음 37°C에서 10분간 각 well당 Siraganian buffer 160 µl로 전반응시키고, 시험물질을 첨가 후 10분간 다시 반응시켰다. 이후 세포를 37 µl에서 30분간 antigen(chicken egg albumin, 20 µl, 10 µg/mL)를 처리하여 탈과립 상태로 만든 후 반응을 ice bath에서 종결시키고 상정액 100 µl를 취해 12,000 rpm에서 90초 동안 원심 분리한 뒤 다시 상정액 20 µl를 96-well plate에 옮겼다. 기질(20 µl, 1mM p-nitrophenyl-N-acetyl-D-glucosaminide)을 넣고 37°C에서 1시간 동안 배양시킨 다음 각 well당 stop solution(0.1M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/NaHCO<sub>3</sub>) 200 µl를 넣은 후 ELISA(enzyme linked immunosorbent assay)로 405nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\% \text{ of release} =$$

$$(\text{Treated-Blank})/(\text{Control-Blank}) \times 100$$

Control : normal allergen-IgE response was evoked with test material not added.

Treated : normal allergen-IgE response was evoked with test material added.

Blank : only test material and substrate were added into ELISA plate.

Spontaneous(control) : allergen-IgE response was not evoked with test material not added.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 호두기름의 이화학적 특성

호두기름의 일반성분 및 이화학적 특성을 나타내는 결과는 각각 Table 2와 3에 나타나 있다. 호두기름은 조지방의 함량이 99.9%이었으며, 일반적인 지질의 품질 특성을 나타내는 산가는 0.8, 유지의 불포화도를 나타내는 요오드가는 117을 나타내었다. 유지의 산가가 높다는 것은 그 유지가 변질되었음을 나타내며 식용유지의 산가는 대체로 1.0이하이다<sup>13)</sup>.

또한 비중은 일반적인 유지의 비중 범위인 0.922를 나타내었고 불포화도가 큰 유지에 수소첨가를 할 때 불포화도의 감소를 알아내는데 이용하는 굴절률도 1.477로 일반적인 유지의 굴절률을 보이고 있다<sup>13)</sup>.

**Table 2.** General compositions of walnut oil (%)

Moisture	Crude protein	Crude fat	Crude fiber	Ash
0.1	-	99.9	-	-

**Table 3.** Physicochemical properties of walnut oil

pH	Specific gravity	Refractive index	Acid value	Iodine value
4.9	0.922	1.477	0.8	117

**Table 4.** Vitamin A and E of walnut oil

Vitamin A	Vitamin E			
	Total vitamin E	$\alpha$ -Tocopherol	$\beta$ -Tocopherol	$\gamma$ -Tocopherol
0.06	10.25	1.42	1.32	7.51

**Table 5.** Composition of fatty acids in walnut oil

	(%)
Palmitic acid	5.2
Stearic acid	2.8
Oleic acid	20.3
Linoleic acid	62.8
Linolenic acid	8.9
Arachidonic acid	-

또한 비타민 A의 함량은 0.06 mg/100g이었으며 비타민 E의 경우 총합량 10.25 mg/100g이었고 그 중  $\gamma$ -tocopherol가 7.51 mg/100g으로 가장 높았다. 특히 비타민 E의 경우 천연항산화제로써 천식 예방과 관련성이 있을 것으로 사료되는바 차후 비타민 E의 함량과 천식과의 관련성에 대한 연구가 요구된다. 지방산 조성 분석 결과는 Table 5와 같다. 즉, oleic acid, linoleic acid, linolenic acid, palmitic acid가 주요 지방산으로 존재하고 있으며 이중 고급불포화 지방산인 linoleic acid의 함량이 60% 이상을 차지하고 있다.

#### 2. 호두기름의 기능적 특성

호두기름의 총페놀 함량은 27mg/100g으로 나타났으며 페놀화합물의 경우 각종 기능성을 나타내는 것으로 연구보고되고 있는 상황<sup>14,15)</sup>이므로 각종 기능성

**Table 6.** Total phenolic components and allergy inhibition effect of walnut oil

Total phenol (mg%)	Inhibition rate(%)			
	Quercetin	Walnut oil		
27	50 $\mu$ M	86.70	100%	4.10
	30 $\mu$ M	72.05	50.1%	35.03
	10 $\mu$ M	55.31	0.5%	62.82
	3 $\mu$ M	14.65	0.25%	28.34

에 대한 가능성을 시사해 준다. 또한 항알레르기 효과는 Table 6에 inhibition rate로 나타내었다. 즉, 호두기름 원액(에탄올 6배 희석)의 저해 효과가 4.1%로 가장 낮았고 0.5%에서 가장 높은 저해 효과인 62.82%를 나타내었다. 한편 대조구로 사용한 quercetin은 50  $\mu$ M에서 86.7%의 저해 효과를 나타냈다. 이는 호두기름이 조추출물 상태인 것을 감안한다면 호두기름은 상당한 항알레르기 효과가 있는 것으로 생각된다.

#### IV. 요약

본 연구는 호두기름의 유효성을 식품학적으로 응용하고자 호두기름의 이화학적 성분 분석 및 총페놀 함량과 항알레르기 효과 시험을 통해 호두기름의 기능적 특성을 조사하였다. 호두기름의 pH, 산가, 요오드가는 일반적인 유지의 범위 내로 측정되어 각각 4.9, 0.8, 117로 나타났으며 일반성분은 99% 이상이 조지방으로 나타났다. 또한 비타민 A와 E의 함량이 각각 0.06, 10.25mg/100g이었으며, 비타민 E의 총합량중  $\gamma$ -tocopherol의 비율이 가장 높았다. 지방산의 경우 불포화지방산인 linoleic acid의 함량이 전체의 60% 이상을 차지하였고 총페놀은 27mg/100g 함유되어 있었다. 호두기름 농도 0.5%에서 62.82%의 항알레르기 효과를 나타내어 조추출물인 상태에서 상당한 알레르기 저해 효과가 있었다.

#### V. 참고문헌

1. Food's food, KDR, Seoul, 286-287, 1998.
2. Food composition table, Rural development administration, Rural nutrition institute, 28, 1986.
3. Chun, S. J. and Park, Y. H.: Molecular Species of Triglycerides in Walnut Oil, Korean J. Food Sci. Technol., 19(2):134, 1987.
4. Kim, Y. H., Cha, W. S., Kim, J. S. and Ryu, S. R.: On the composition of Triglyceride in the Oil of Walnut and Pine nuts, Korean J. Biotechnology and Bioengineering, 5(4):341, 1990.
5. Choi, O. B., Kim, K. M., Yoo, G. S. and Park, K. H.: Anti-allergic effects of *Castanea crenata* leaf tea, Korean J. Food Sci. Technol., 30(2): 468-471, 1998.
6. Kim, Y. R.: Anti-allergic action of some crude drugs, Ph. D. Thesis, Chonnam National Univ., Seoul, Korea, 1992.
7. Food code, Korea food and drug administration, 558, 2000.
8. Food code, Korea food and drug administration, 817~818, 2000.
9. Leo, M. L. N.: Food Analysis by HPLC, Marcel Dekker, Inc., New York · Basel · Hong Kong, 322~327, 2000.
10. Food code, Korea food and drug administration, 2000.
11. Choi, O. H., Kim, J. H. and Kinet, J. H.: Calcium mobilization via sphingosine kinase in signaling by the FceR1 antigen receptor, Nature, 380(6575):634-656, 1996.
12. A.O.A.C. Official Methods of analysis, 13th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., 1980.
13. Kim, D. Y., Kwon, Y. J., Yang, H. C. and Yoon, H. S.: Food chemistry, Younggi, Seoul, 1991.
14. Kang, Y. H., Park, Y. K. and Lee, G. D.: The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds, Korean J. Food Sci. Technol., 28(2):232-239, 1996.
15. Azuma, K., Nakayama, M., Koshioka, M., Ippoushi, K., Yamaguchi, Y., Kohata, K., Yamauchi, Y., Ito, H. and Higashio, H.: Phenolic antioxidants from the leaves of *corchorus olitorius* L. J. Agric. Food Chem. 47:3963-3966, 1999.