

## 국내 생강 에센셜오일이 만성 스트레스로 교감신경이 향진된 동물 모델에 미치는 영향

지중구<sup>†</sup>

중부대학교 바이오융합학부  
(2019년 12월 3일 접수: 2019년 12월 24일 수정: 2019년 12월 26일 채택)

### The Effects of Korea Ginger Essential oil on Chronic Mild Stress-induced Rats Model of Sympathetic Hyperactivity

Joong-Gu Ji<sup>†</sup>

*Division of Integrated Biotechnology, Joongbu University*  
(Received December 3, 2019; Revised December 24, 2019; Accepted December 26, 2019)

**요약** : 스트레스는 인체의 다양한 기관과 정신적 상태에 영향을 미치는 교감신경 향진을 야기시킨다. 본 연구의 목적은 만성 스트레스로 교감신경을 향진시킨 동물 모델에서 국내산 생강 에센셜오일이 스트레스 호르몬 및 뇌 조직 반응에 미치는 효과를 평가하였다. 평가 방법은 세포독성 평가 및 성분 분석을 수행하였으며, 혈청 바이오 마커와 뇌 조직의 병리학적 분석이 기초한 효과를 관찰하였다. 동물 실험에서 국산 생강 에센셜오일의 처리는 만성 스트레스로 교감신경을 향진시킨 동물 모델 제작 후 2주간 100 nl/ml로 처리하였다. 그 결과, 국산 생강 에센셜오일은 100 nl/ml 농도 이하에서 독성이 없었으며, 6-진저롤 함량이 345 ppm으로 확인되었다. 국산 생강 에센셜오일의 처리는 대조군과 비교하여 혈청에서 부신피질호르몬, 코르티코스테론, 멜라토닌과 같은 스트레스 호르몬의 농도를 크게 줄였으며, 복측 피개부(VTA) 및 흑색질 치밀부(SNpc) 부분에서 TH-면역 반응이 때때로 중단되는 것을 효과적으로 보존하였다. 이와 같은 결과는 국산 생강 에센셜오일이 교감신경 향진을 개선했음을 나타내고 있다. 따라서 국산 생강은 교감신경 향진에 대한 아로마오일의 새로운 원료로 활용될 수 있다.

**주제어** : 교감신경 향진, 국산 생강, 뇌 조직, 만성 스트레스, 스트레스 관련 호르몬

**Abstract** : Exposure to stress can lead to sympathetic hyperactivity, which include a systemic disease with lesions in a broad spectrum of organs and a psychiatric condition. The purpose aimed to evaluate the effect of the korea ginger essential oil on stress hormone and brain tissue response in chronic mild stress-induced rats model of sympathetic hyperactivity. Evaluation method carried out cytotoxicity assessment and component analysis, what observe the effects based on serum biomarker and histopathological analysis of brain tissue. As this time, the korea ginger essential oil

---

<sup>†</sup>Corresponding author  
(E-mail: jjg1970@joongbu.ac.kr)

was treatment at doses of 100 nl/ml for 2 weeks after make a chronic mild stress-induced rats model of sympathetic hyperactivity. As a result, the korea ginger essential oil was not toxic at less than 100 nl/ml, contents of 6-gingerol was 345 ppm. Compared to the control rats, the korea ginger essential oil treatments significantly reduced the serum concentrations of stress hormone (i.e., ACTH, corticosterone, melatonin). Furthermore, The korea ginger essential oil treatments effectively preserved the TH-immune response was occasionally interrupted in the ventral tegmental area (VTA) and the substantia nigra pars compacta (SNpc). The results indicate that the korea ginger essential oil improved sympathetic hyperactivity. Thus, the korea ginger may be a novel material of aroma oils for the management of sympathetic hyperactivity.

*Keywords* : Brain tissue, Chronic mild stress, Korea ginger, Stress hormone, Sympathetic hyperactivity

## 1. 서론

현대사회는 급격한 사회변화로 육체, 환경, 사회적인 다양한 스트레스에 노출되어 있어 정신 건강 악화를 호소하는 인구가 늘어나고 있다[1]. 정신 건강의 악화는 두통, 탈모, 염증과 같은 육체적 질병과 더불어 우울감, 무기력증 등 다양한 건강문제를 나타내는데, 이는 자율신경계 중 교감신경계의 항진에 의한 것으로서 긴장과 혈압상승의 증상이 동반되어 호르몬의 불균형, 면역력 저하로 이어져 삶의 질을 떨어트리게 된다[1,2].

이와 같은 교감신경계의 안정화를 위해 현대인들은 정신의학과 진료를 통해 haloperidol과 clozapine, risperidone 등과 같은 항정신 약물의 도움을 받는 경우가 많은데, 지연성 운동장애 및 심혈관계 이상, 체중 증가 등과 같은 부작용으로 인해 직접적 치료를 꺼리는 경우가 많아지고 있다[3]. 이로 인해 식사 및 식물, 한방요법 등과 함께 아로마테라피에 대한 관심이 고조되어 전 세계적으로 아로마 시장은 2015년부터 2022년까지 연평균 8.6%의 성장이 예측되고 있으며[4], 시장의 확대에 따라 아로마오일에 관한 연구도 활발히 진행되어 교감신경 활성화도 감소[5], 부교감 신경의 활성화[6], 항아토피 및 항통증, 항스트레스 효과[7] 등과 같은 연구결과가 보고되었다. 이처럼 아로마 오일은 원료에 따라 면역계, 혈관계, 항스트레스, 정신장애 등에 효과가 있는 것으로 알려졌지만, 대부분 원료에 대한 문헌/실험적 효능이 제시되었거나 다양한 아로마 오일 종류에 비해 객관적인 결과를 제시할 근거가 부족한 실정이다.

현재까지 밝혀진 아로마테라피의 기전은 코로 흡인된 향기 입자가 섬모에 감지되어 변연계의 신경전달물질에 신속히 작용하여 두뇌에 영향을 주거나, 폐포와 피부를 통해 흡수된 입자는 혈류를 타고 전신에 퍼져 스트레스가 인체에 전달되는 자율신경계, 내분비계, 면역계에 긍정적 효과가 발생하는 것으로 알려져 있다[8,9].

본 연구에서 아로마오일 제작에 사용된 원료인 생강(*Zingiber officinale* Rosc.)은 생강과(Zingiberaceae)에 속하는 다년생 식물로서 근경을 주로 사용하는 특유의 매운맛과 향기를 지닌 향신료로서 대한민국을 비롯하여 전 세계적으로 식용, 약용, 기능성 식품, 화장품용으로도 활용되고 있다[10, 11]. 재배되는 국가에 따라 성분의 차이는 나타나지만, 대표적인 공통 성분은 zingiberol, zingiberene, 6-gingerol, 6-shogaol, ginerone 등이 있으며, 이는 진정, 진통, 해열, 항경련, 소염, 순환계, 호흡계, 소화계통, 항균 등의 약리작용을 바탕으로 이미 시중에서는 인도, 스리랑카, 중국, 나이지리아산 생강을 원료로 하여 증기 증류 방식으로 추출한 휘발성 오일이 진저 오일로 시판되어 사용되고 있으나 국내에서 생산된 생강과의 비교 연구는 진행된 바가 없다[12,13]. 따라서 본 연구에서는 국내산 생강으로 제작한 에센셜오일의 안전성 평가와 함량 분석을 진행하고 만성 스트레스로 교감신경을 항진시킨 동물에 시판 중인 진저 오일과의 처리 후 혈액 및 조직학적 효능 비교를 통해 아로마 오일에 활용될 수 있는 국내산 원료로서의 가능성을 검토하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 시료 제조

국산 생강 에센셜오일(이하, 생강 오일)은 충남 서산지역에서 생산된 토종 생강을 구매하여 박미혜[14]의 연구에서 제시한 에센셜 오일의 최적화 공법을 통해 제작하였으며, 이를 요약하면 다음과 같다. 생강 5 kg을 세척 후 열풍건조기 70°C에서 12시간 건조하고 20 mesh 이하로 분쇄하고 환류 추출기에 에탄올 10L를 넣고 12시간 동안 추출하였다. 추출 후 진공 회전 증발기로 농축하여 획득한 시료에 증류수와 acetonitrile을 혼합하여 50 ml로 제조하였다.

### 2.2. 시약 및 기기

시약은 Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (D-PBS : Welgene Co., Korea), RPMI 1640 Media (Gibco BRL Co., U.S.A.), 우태아혈청 (fetal bovine serum: FBS, Invitrogen Co., U.S.A.), 열비활성화혈청 (heat-inactivated horse serum, Thermofisher, U.S.A.), penicillin (Hyclone Co., U.S.A.), streptomycin (Hyclone Co., U.S.A.), trypan blue (Sigma Co., U.S.A.), 7S nerve growth factor (Millipore Co., U.S.A.), CCK-8 (Dojindo, U.S.A), Rat stress hormone magnetic bead kit (Millipore Co., U.S.A.) 등을 사용하였다. 또한, 기기는 CO<sub>2</sub> incubator (Forma scientific Co., U.S.A.), clean bench (Vision scientific Co., Korea), 열풍건조기 (Hanbaeksci, Korea), 환류 추출기 (Sunil Co., Korea), 진공 회전 증발기 (Heldolph, Germany), HPLC (Shimadzu Co., Japan), gas

chromatography (Shimadzu Co., Japan), LC (Shimadzu Co., Japan), GC/MS (Shimadzu Co., Japan), ELISA reader (Molecular Devices Co., U.S.A.), Luminex (Millipore Co., U.S.A.), 조직현미경 (Carl zeiss, Germany) 등을 사용하였다.

### 2.3. 성분 분석

생강의 대표적 성분인 6-gingerol 분석은 HPLC를 이용하여 진행하였다. 20 mg의 6-gingerol 표준제품 (WAKO, Japan)을 25 ml로 standard의 조건으로 하여 실험을 진행하였고 Fig. 1과 같이 6-gingerol은 20.77분에서 확인되었으며, HPLC 분석 조건은 Table 1과 같다. 이후 gas chromatography 및 LC를 이용하여 분리 정제하고, GC/MS를 이용하여 성분을 확인하였다.

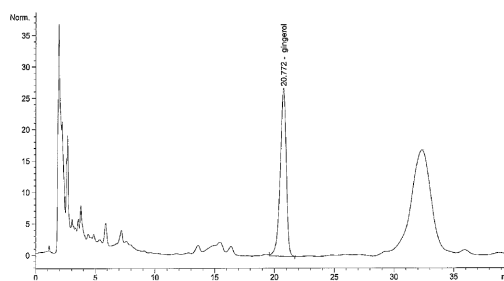


Fig. 1. Qualification of 6-gingerol with HPLC result.

### 2.4. 세포 배양

한국세포주은행 (Korea)에서 구매한 PC-12 세포를 10% 열비활성화혈청 (heat-inactivated

Table 1. HPLC analysis conditions of 6-gingerol measurements

Item	Condition
Instrument	SHIMADZU LC20A series
Column	Agilent eclipse plus C18 (250×4.6) mm with Guard column
Eluent	A (DW), B(Acetonitrile) gradient 5%B(0~15 min), 5%B~10%B(15~100 min)
Wave length	UV 215 nm
Column Temp.	40°C
Injection	20 $\mu$ l

horse serum), 5% fetal bovine serum (FBS), 100 units/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin 이 함유된 RPMI 배지에서 배양하였다. PC12 세포에 100 ng/ml의 7S nerve growth factor를 9 일 동안 처리하여 세포를 분화시켰다. 실험 하루 전에 세포를 1% FBS가 포함된 RPMI 배지로 옮겨 배양하고 실험을 진행하였다.

### 2.5. 세포독성 측정

PC12 세포를 96 well plate에  $1.5 \times 10^5$  cells/well로 분주하여 세포 배양기에서 24시간 처리하였다. 실험 시작 전에 새로운 배양액으로 교체하였고, 생강 오일을 각각 0.1, 1, 10, 100, 1000 nl/ml의 농도로 처리하여 다시 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 10 µl의 CCK-8 용액을 첨가하여 30분간 반응시켰다. 반응 후 10분간 원심 분리하고, PBS로 세척하였다. 배지를 제거한 다음 100 µl dimethyl sulfoxide (DMSO)를 넣어 formazan 결정체를 용해시킨 후 450 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 대조군에 대한 세포 생존율을 백분율로 표시 하였다.

### 2.6. 실험동물

수컷 6주령의 SD-Rat (170-200 g)을 (주라온 바이오 (Korea)사에서 공급받았고, 동물은 실험 당일까지 일반 고형사료 (Harlan 2018s Rodent diet)를 충분히 공급하고, 온도  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , 습도  $55 \pm 15\%$ , 12시간 (light-dark cycle)의 환경에서

2주간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 본 실험은 대전대 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 동물윤리준칙에 의거하여 실험하였다(DJUARB 2017-031).

### 2.7. 스트레스 유발에 의한 교감신경 항진

교감신경을 항진시키고자 스트레스를 유발하지 않은 정상군을 제외한 모든 SD-Rat에게 15일간 주야 주기 역전(불끄기, light on at night, LOF), 물 박탈 후 빈 물병 제시(water deprivation, WD), 소음(noise bursts, NB), 강제 수영(forced swimming, FS), 고밀도 사육(tight husbandary, TH), 케이지 기울이기(tilt), 케이지 흔들기(shaking), 빛 깜빡(stroboscopic light, SS) 등 매일 스트레스 유발표에 의하여 노출시켰다. 이때 물 박탈 이외에는 물과 사료를 자유롭게 공급하며 일반적인 사육 환경을 유지하였으며, 스트레스 유발 조건을 요약하면 Table 2와 같다.

### 2.8. 생강 및 진저 오일의 처리, 실험군 배분

생강 오일과 진저 오일의 효능을 확인하고자 교감신경을 항진시킨 동물에게 세포독성 결과를 통해 선정된 농도인 100 nl/ml 농도를 매일 오후 5시에 고밀도 사육 전 머리와 다리가 닿지 않는 등 부위에 2 ml씩 도포하였다.

실험군 배분은 교감신경 항진과 처치를 진행하지 않는 정상군(Normal), 교감신경만을 항진시키는 대조군(Control), 교감신경 항진 후 기존 시판

Table 2. Time table for induced by chronic stress model in rat

Time	Mon	Tue	Wed	Thu	Fri
08:30 ~ 11:00					SS
11:00 ~ 12:00	LOF & WD	TH & Tilt	LOF & WD	LOF & WD	NB
12:00 ~ 13:00					
13:00 ~ 14:00	NB	NB	FS	Shaking	FS
14:00 ~ 15:00					
15:00 ~ 16:00	FS	Shaking	SS	TH & Tilt	TH & Tilt
16:00 ~ 17:00					
17:00 ~	TH	TH	TH	TH	TH

FD : Water deprivation, EB : Empty bottles, FT : Forced Treadmill, NB : Noise bursts, LON : Lights on at night, FS : Force Swimming, FL : The Flashing light, LOF : Lights off at day, Tilt, Shaking, TH : Tight Husbandry, WD : Water deprivation, SC : Straw litter clammy

되는 진저 오일을 처치하는 양성대조군(P.Con), 교감신경 항진 후 제조된 생강 오일을 처치하는 실험군(G.Oil) 등 총 4개 그룹으로 나누어 그룹 당 6마리로 나누어 2주간 실험을 진행하였다.

## 2.9. 혈액 내 교감신경 관련 호르몬 측정

동물 실험 종료 후 채혈한 혈액을 3,000 rpm, 15분의 조건에서 원심 분리하여 획득한 혈청을 4 배 희석하여 Rat stress hormone magnetic bead panel kit을 통해 부신피질자극호르몬(ACTH), 코르티코스테론(Corticosterone), 멜라토닌(Melatonin) 등의 함량을 측정하였다. 96 well plate에 standard와 control, 혈청을 각각 25  $\mu$ l씩 넣고 standard와 control을 넣은 well에는 추가로 serum matrix 용액을, 혈청을 넣은 well에는 추가로 assay buffer를 넣어 각 well 당 50  $\mu$ l의 volume을 맞추었다. 이후, primary antibody와 bead를 각각 25  $\mu$ l씩 넣고 4°C에서 18시간 동안 plate shaker를 이용하여 반응시켰다. 반응 후 wash buffer를 200  $\mu$ l씩 넣고 세척하고 detection antibody 50  $\mu$ l를 넣고 1시간 동안 암소하여 반응시켜 50  $\mu$ l의 streptavidin phycoerythrin 용액을 넣어 다시 30분간 암소하여 반응시켰다. 세척작업 후 sheath fluid 용액 100  $\mu$ l를 첨가하여 Luminex 기기를 통해 측정을 진행하였다.

## 2.10. 뇌 조직 TH-면역 염색

동물 실험 종료 후 뇌 조직을 각 그룹 별로 적출한 조직을 10% 중성 포르말린에 48시간 고정하여 고정이 완료된 조직들을 흐르는 수돗물에서 12시간 수세한 뒤 조직 내의 고정액을 제거하였다. 조직의 탈수를 위해 60%에서부터 100% 알코올에 이르기까지 농도 상승 순으로 탈수하고, xylene에 투과 과정을 거친 다음 파라핀 블럭을 제작하였다. 제작된 블럭은 박편절단기(microtome)를 이용해 3~4  $\mu$ m 두께로 절편을 만들어 탈 파라핀 및 함수과정을 거친 다음 TH 면역 염색을 진행하여 조직현미경에서 관찰 후 사진 촬영하였다.

## 2.11. 통계처리

모든 실험결과는 평균값 $\pm$ 표준편차(mean $\pm$ S.D)로 표시하였다. 대조군 대비 실험군의 비교는 one-way analysis of variance (ANOVA) 방법을 이용하였고, Student's t-test를 사용하여 통계

적 유의성을 검정하였다(\*\* $p$ <0.001, \*\* $p$ <0.01, \* $p$ <0.05).

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 성분 분석

생강 오일의 성분을 확인한 결과, 진정작용, 관절염, 항암 효능을 가진[12,15] 6-gingerol이 345 ppm으로 확인되었다. 이는 Park[14]의 보고에 의하면 생강의 건조, 생강오일 추출 및 항산화 물질의 활용에 관한 연구에서 환류 추출 진행 시 유기용매별로 진행한 결과에서 n-hexane(126 ppm), diethyl Ether(122 ppm), chloroform(255 ppm), ethanol(335 ppm)으로 나타나 용매의 극성 증가 시 추출이 효율적이라는 결과를 바탕으로 본 연구에서는 추출 및 농축, 분석 기기의 차이를 두고 추출방법과 용매를 ethanol, 환류 추출로 진행한 생강의 6-gingerol 함량이 차이를 보이지 않았기에 추출방법과 용매가 같을 경우, 유사한 성분 함량이 나타나는 추출 조건임을 확인하였다. 또한, 추가로 진행한 주요성분 분석을 진행한 결과, zingiberene(49.0%), sabinene(13.8%),  $\beta$ -sesquiphellandrene(9.4%), camphene (7.4%),  $\beta$ -bisaborene(7.0%),  $\alpha$ -farnesene(6.0%),  $\alpha$ -pinene(2.8%),  $\alpha$ -amorphene(2.6%), curcumene (2.4%) 등으로 나타나 생강 특유의 향을 나타내는 zingiberene의 함량이 대다수인 것으로 확인되었다.

### 3.2. 세포독성

신경세포 분화와 신경 분비가 용이한 것으로 알려진 PC-12 세포에 생강 오일을 처리하여 세포독성을 확인한 결과[16], 1,000 nl/ml 농도에서 생강 에센셜 오일을 처리하지 않은 대조군에 비해 10% 이상의 독성이 나타나, 적절한 사용 농도는 100 nl/ml 이하의 농도가 적정한 것으로 나타났다(Fig. 2). 이와 같은 결과는 생강이 본초학과 다양한 연구자료를 통해 독이 없으며, 국부에 대한 자극성이 없고 용혈시험에서도 음성을 나타내는 점과 더불어 식자재로 많이 활용되고 있는 재료임을 감안할 때 정유 성분이라는 오일류의 특성에 의해 세포실험에 영향을 미친 것으로 해석되지만, 이후의 동물 실험은 안전성 검사로 진행된 본 결과를 바탕으로 100 nl/ml 농도로 처리하였다[17].

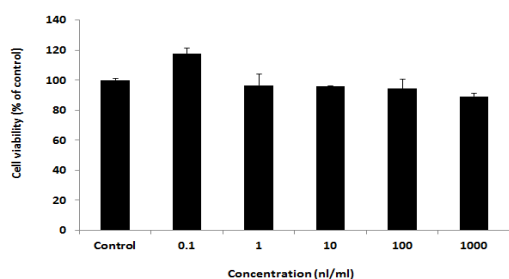


Fig. 2. Effects of *Zingiber officinale* Rosc. oil on cell viability in RAW 264.7 cells. RAW 264.7 cell was treated with 0.1, 1, 10, 100, 1000 (nl/ml) of *Zingiber officinale* Rosc. oil. The cell viability in RAW 264.7 cells were measured using ELISA. The results were expressed as mean  $\pm$  S.D. from three independent experiments.

### 3.3. ACTH (adrenocorticotrophic hormone) 생성량

ACTH는 부신피질자극호르몬 혹은 코티코트로핀(corticotropin)이라고도 불리는 뇌하수체 전엽(선하수체)의 호염기성 세포에 의해 분비되는 peptide hormone으로서 39개의 아미노산으로 구성되어 있으며, 시상하부에서 분비되는 CRH에 의해 분비 조절된다[19]. 신체적·정신적·화학적 스트레스 등 다양한 스트레스에 의해 CRH 분비가 증가하면 ACTH 분비도 증가한다. 이러한 ACTH의 분비 기전은 정신적, 신체적 스트레스와 glucose의 변화가 시상하부를 자극하여 ACTH 분비 인자 물질이 생성되고, 뇌하수체 전엽을 자극함으로써 ACTH가 분비된다[20].

ACTH의 주요 기능은 부신피질을 자극하여 glucocorticoids의 분비를 통해 cortisol 생성을 높게 된다. ACTH에 의해 생성된 cortisol은 스트레스에 적절히 대응할 수 있는 에너지 대사와 유지에 주된 역할을 하는 호르몬으로 알려져 있다[18]. 또한, ACTH는 부신피질에서 전해질 대사와 관련된 알도스테론(aldosterone)을 통해 혈압이 상승하거나 남성호르몬인 안드로겐(androgen)의 과도한 분비로 탈모가 발생하는 호르몬 생성에 기인한다[20]. 따라서 ACTH 생성 감소는 과도한 스트레스에 의해 발생하는 혈압, 탈모 등과 같은 육체적 증상과 cortisol의 안정화

로 정신적 증상을 개선할 수 있는 요소라 할 수 있다.

본 연구에서 생강 오일에 대한 ACTH 생성량을 확인한 결과, 생강 오일 실험군은 대조군 대비 약 15%, 유의성 있는 감소가 나타났다(Fig. 3). 이와 같은 결과는 시판 중인 진저 오일 역시 약 19% 정도의 유의성 있는 감소결과와 큰 차이가 나타나지 않아 생강을 원료로 한 오일은 스트레스로 인해 항진된 ACTH 생성을 효과적으로 억제함으로써 과생성된 ACTH로 인해 발생하는 다양한 증상 개선에 도움을 줄 수 있음을 보여주고 있다.

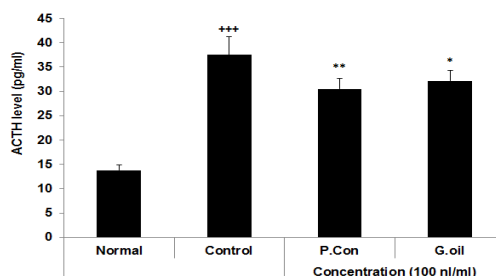


Fig. 3. Effect of *Zingiber officinale* Rosc oil treatment on the ACTH level in chronic mild stress-induced rats. The ACTH level in serum was measured using luminex assay. The results were expressed as mean  $\pm$  S.D. Significance of results, \*\*\* $p$ <0.001 compare to normal group, \*\* $p$ <0.01, \* $p$ <0.05 compare to control groups.

### 3.4. Corticosterone 생성량

방출된 부신피질자극호르몬은 부신피질을 자극하여 대표적인 스트레스 지표 물질인 corticosterone을 방출하게 되는데, 방출된 corticosterone은 몸의 기관을 비롯하여 중추신경계, 자율신경계통, 면역계통, 내분비계통 등에 영향을 미치게 되고 신체의 조절 기능을 약화시켜 복합적인 신체 증상을 유발하게 된다[21]. 이로 인해 두통 및 피로, 면역력 저하, 신경 질환 등을 발생시키고 당뇨, 고혈압, 심장질환, 암 등의 난치성 질환의 원인으로 작용한다[22].

본 연구에서 생강 오일에 대한 corticosterone 생성량을 확인한 결과, 생강 오일 실험군은 대조군 대비 약 22%, 유의성 있는 감소가 나타났다

(Fig. 4). 이와 같은 결과는 생강 오일이 corticosterone 생성을 효과적으로 억제하는 것을 앞선 cortisol 생성과 관련된 ACTH 생성량 감소 결과와 부합되는 결과로 보여주고 있으며, 많은 아로마오일의 연구가 흡입 또는 피부 도포 등의 방법이 cortisol 생성 감소에 도움을 준다는 결과 [23-25]를 미루어 볼 때 국내산 생강 오일 역시 아로마 요법으로 충분히 활용이 가능한 소재임을 나타내고 있다. 다만, 시판 중인 진저 오일의 결과인 약 37% 정도의 유의성 있는 감소결과와 차이를 보이기는 하지만 이는 진저 오일의 경우 해외의 생강을 사용하는 만큼 원료의 성분 차이로 인한 것인지, 공정의 차이에서 비롯된 점인지는 추후 보완 연구를 통해 밝혀내야 할 문제점으로 남아있다.

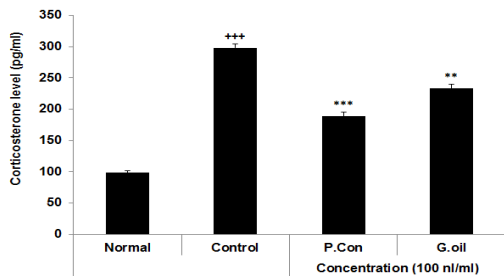


Fig. 4. Effect of *Zingiber officinale* Rosc oil treatment on the corticosterone level in chronic mild stress-induced rats. The corticosterone level in serum was measured using luminex assay. The results were expressed as mean±S.D. Significance of results,  $^{+++}p<0.001$  compare to normal group,  $^{***}p<0.001$ ,  $^{**}p<0.01$  compare to control groups.

### 3.5. Melatonin 생성량

Melatonin은 거의 모든 생명체에 존재하고 뇌의 시상하부 송과선에서 tryptophan이라는 아미노산으로 만들어진다. 수면 및 수많은 생리 기능에 작용하는 호르몬 중 하나로 발작과 흥분성 손상을 일으키는 원인이 되며, 과도한 생성은 흥분 위축, 면역력 저하, 뇌 신경 손상 등을 일으키는 호르몬으로 알려져 있다[26,27].

본 연구에서 생강 오일에 대한 melatonin 생성량을 확인한 결과, 생강 오일 실험군은 대조군 대비 약 12%, 유의성 있는 감소가 나타났다(Fig.

5). 이와 같은 결과는 생강 오일이 진저 오일과 유사한 결과가 확인되어 스트레스로 인해 과도하게 생성된 melatonin을 효과적으로 억제하여 아로마 오일의 효능 중 항진된 교감신경을 억제할 수 있음을 보여주고 있으며, 나아가 melatonin 생성뿐만 아니라 전구체인 serotonin에도 영향을 미쳐 우울, 불안, 불면 등에도 효과가 있을 것으로 사료되지만 이 같은 가설은 보완해야 할 과제로 남아있다.

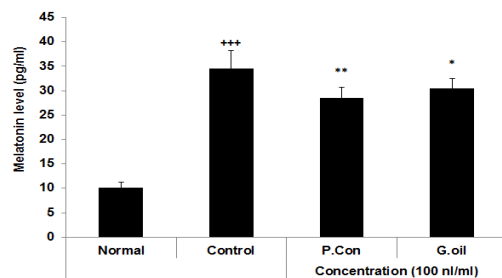


Fig. 5. Effect of *Zingiber officinale* Rosc oil treatment on the melatonin level in chronic mild stress-induced rats. The melatonin level in serum was measured using luminex assay. The results were expressed as mean±S.D. Significance of results,  $^{+++}p<0.001$  compare to normal group,  $^{**}p<0.01$ ,  $^{*}p<0.05$  compare to control groups.

### 3.6. 조직학적 평가

교감신경의 항진된 기간이 길어질수록 신경계 변성에 따른 미세아교세포의 감소로 인해 파킨슨 질환과 유사한 변화가 뇌에서 관찰된다는 연구결과[28]를 바탕으로 실험 종료 후 뇌 조직을 통해 조직학적 평가를 진행하였다. 그 결과, 스트레스만을 유발한 대조군은 스트레스를 유발하지 않은 정상군 대비 복측 피개부 (VTA) 및 흑색질 치밀부 (SNpc) 부분에서 TH-면역 반응이 간혹 끊어져 있는 것이 확인되었다. 반면 대조군과 실험군의 비교를 살펴보면 양성대조군으로 사용된 시중에서 판매되는 진저오일과 본 연구를 통해 제작된 국내산 생강 오일 실험군 모두 대조군 대비 TH-면역반응의 억제가 적게 나타난 것을 확인하였다(Fig. 6). 이에 따라 본 연구에서 활용된 생강 오일은 신경 안정 효능이 있는 것이 검증되어 아로마 시장에서 활용될 수 있는 국내산 생강 소

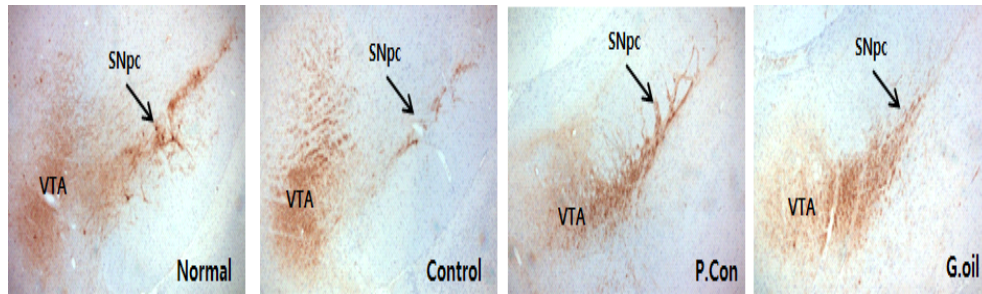


Fig. 6. Histopathological effects of *Zingiber officinale* Rosc oil treatment on brain tissue in chronic mild stress-induced rats. Representative histological images of brain tissues were stained using Tyrosine hydroxylase (magnification, 200 $\times$ ).

재료로서의 가능성을 나타내고 있다.

의성 있는 감소가 확인되었다.

#### 4. 결론

본 연구는 국내 서산지역에서 재배한 생강으로 제작한 에센셜오일(이하, 생강 오일)의 성분 분석 및 세포독성 평가와 스트레스로 교감신경을 항진시킨 동물에 처리하여 관련 매개체 변화를 확인함으로써 아로마 시장에서 국내산 생강에 대한 활용도를 제고하고자 세포 및 동물 실험을 진행한 결과 다음과 같은 결론을 도출하였다.

1. 생강 오일의 함량 및 성분 분석을 진행한 결과, 6-gingerol의 함량은 345 ppm으로 확인되었으며, 주요성분으로는 zingiberene (49.0%), sabinene(13.8%),  $\beta$ -sesquiphellandrene(9.4%), camphene(7.4%),  $\beta$ -bisaborene(7.0%),  $\alpha$ -farnesene(6.0%),  $\alpha$ -pinene(2.8%),  $\alpha$ -amorphene(2.6%), curcumene(2.4%) 등으로 나타나 생강 특유의 향을 나타내는 zingiberene의 함량이 대다수인 것으로 확인되었다.
2. 생강 오일은 PC-12 세포에서 독성평가를 진행한 결과, 100 nl/ml 농도 이하에서는 독성이 확인되지 않았다.
3. 생강 오일은 교감신경을 항진시킨 동물의 혈액학적 평가를 진행한 결과, ACTH 및 corticosterone, melatonin 등의 생성을 각각 대조군 대비 약 15%, 22%, 12%의 유

4. 생강 오일은 뇌 조직의 TH-면역 염색을 통한 조직학적 평가를 진행한 결과, 대조군 대비 복측 피개부 및 흑색질 치밀부에서 TH-면역 반응의 억제이 적게 나타난 것이 확인되었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 생강 오일의 처치는 스트레스로 교감신경을 항진시킨 동물의 혈액 및 조직학적 평가에서 기존에 활용되는 진저오일과 유사한 연구결과가 도출되었다. 이와 같은 결과는 본 연구에서 확보된 안전성 및 성분 분석 결과와 더불어 추후 기초적 자료로 활용되어 현재 시판되는 에센셜오일의 공정법으로 제작된 비교 연구결과로 보완된다면, 국내산 생강이 기존 진저오일의 원료인 외국계 생강과의 경쟁력이 있는 신규 진저 오일로서의 활용성이 클 것으로 판단된다. 이는 곧 국내 생강 농가의 수익 증대와 더불어 스트레스로 인한 현대인들의 교감신경계 관련 질환에 대한 사회적 비용 절감 효과를 나타낼 수 있을 것으로 기대된다.

#### References

1. D. H. Kim, "Effect of Aromatherapy on the autonomic nervous system", *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society*, Vol.20, No.6, pp. 261-271, (2019).
2. S. W Lee, "A Study on the Effects of the



- hospitalization stress on the sleep pattern”, *Journal of Korean Academy of Nursing*, Vol.16, No.2, pp.36-43, (1986).
3. S. H. Park, Y. J. Lee, “Analysis of antipsychotic induced concomitant prescribing of antiparkinson agents in Korea”, *Korean Journal of Clinical Pharmacy*, Vol.22, No.2, pp. 137-142, (2012).
  4. Grand view research, *Essential oils market size, share & trends analysis report by application (cleaning & home, medical, food & beverages, spa & relaxation), by product, by sales channel, and segment forecasts, 2019-2025*. p.3. Market research report, (2019).
  5. I. R. Bae, J. A. Song, M. Lee, M. Hur, “Effects of aromatherapy essential oil inhalation on the stress response after exposure to noise and arithmetic subtraction stressor: randomized controlled trial”, *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, Vol.11, No.1, pp. 275-284. (2018).
  6. S. J. Ryu, M. S. Lee, “Effect of applying the negative-positive essential oil back massage on the autonomic nervous system : for 30-year old housewives”, *Journal of the Korean Society of Cosmetology*, Vol.23, No.5, pp. 903-909, (2017).
  7. J. Y. Kwak, H. J. Choi, J. M. Park, J. H. Park, Y. M. Kho, T. S. Jang, T. Ahn, “Anti-atopic effect of Zizyphus jujuba var. spinosa composite oil (ZjJ-C\_oil) and Aralia cordata var. continentalis composite oil (ARC-C\_oil) in DNCB-induced atopic dermatitis-like skin lesions NC/Nga Mice”, *Journal of Sasang Constitutional Medicine*, Vol.29, No.4, pp. 347-368, (2017).
  8. S. H. Han, Y. J. Ro, M. H. Hur, “Effects of aromatherapy on menstrual cramps and dysmenorrhea in college student woman : a blind randomized clinical trial”, *Korean Journal of Adult Nursing*, Vol.13, No.3, pp. 420-430, (2001).
  9. S. Battaglia, *The complete guide to aromatherapy*, pp. 303-308, The International Centre of Holistic Aromatherapy, (2003).
  10. T. S. Lim, O. J. Kwon, J. H. Kwon, H. K. Kim, “Monitoring of extraction yields and functional properties of ginger (*Zingiber officinale*) extracts using response surface methodology”, *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.36, No.3, pp. 348-354, (2007).
  11. M. H. Jo, I. K. Ham, G. H. Lee, J. K. Lee, G. S. Lee, S. K. Park, T. I. Kim, E. M. Lee, “Comparison of active ingredients between field grown and in vitro cultured rhizome of Korean native ginger (*Zingiber officinale* Roscoe)”, *Korean Journal of Plant Resources*, Vol.24, No.4, pp. 404-412. (2011).
  12. J. P. Bartley, A. L. Jacobs, “Effects of drying flavour compounds in Australian-growth ginger (*Zingiber officinale*)”, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol.80, No.2, pp. 209-215, (2000).
  13. T. A. V. Beek, G. P. Lelyveld, “Isolation and identification of the five major sesquiterpene hydrocarbons of ginger”, *Phytochemical Analysis*, Vol.2, No.1, pp. 26-34, (1991).
  14. M. H. Park. “Study on the drying processes and extraction methods of ginger and the application of anti-oxidative substance”, *Sungshin women’s University*, (2014).
  15. C. K. Park, B. S. Jeon, J. W. Yang, “The chemical compounds of Korean ginseng”, *Food Industry and Nutrition*, Vol.8, No.2, pp. 10-23, (2003).
  16. S. H. Choi, O. T. Seung, M. S. Lee, “Improving effect to cognitive ability of Cordyceps militaris extract in PC12 and BV2 cells”, *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, Vol.36, No.2, pp. 468-478, (2019).

17. H. C. Kim, *Chinese Pharmacology*, pp. 86-88, Jipmoon, (2001).
18. H. J. Kim, "The effects of different types of exercise on ACTH, cortisol and catecholamine : with focus on the male elders", Hanyang University, (1998).
19. N. E. Bae, "The effects of the sound pressure in background music on the fatigue factors secretion during aerobic exercise", *Journal of Korean Physical Education Association for Girls and Women*, Vol.22. No.5. pp. 27-36, (2008).
20. G. C. An, "The effect of aroma-fragrance necklace on stress, anxiety and physiological response in hemodialysis patients", Gongju University. (2012).
21. W. K. Choi, K. S. Lee, H. Y. Joung, Y. C. Lee, J. H. Sohn, B. H. Lee, K. H. Pyun, I. S. Shim, "Low frequency noise induces stress responses in the rat", *Korean Journal of the science of Emotion and sensibility*, Vol.10, No.3, pp. 411-418, (2007).
22. S. Y. Lee, J. H. Choi, H. S. Jeong, Y. G. Kim, S. I. Cho, "Piperis Nigri Fructus Extract Ameliorates Psychological Stress in Mice", *Journal of Haehwa Medicine*, Vol.21, No.2, pp. 95-104, (2013).
23. Y. J. Ko, M. S. Jung, K. S. Park, "Effects of aroma inhalation method on test anxiety, stress response and serum cortisol in nursing students", *Journal of Korean Academy of Fundamentals of Nursing*, Vol.20, No.4, pp. 410-418, (2013).
24. S. J. Hong, E. H. Kim, "Effects of aroma head and neck massage on sleep disturbance and problematic behaviors, depression, blood serotonin, blood cortisol, and the vital signs on elders with dementia", *Crisisonomy*, Vol.10, No.9, pp. 75-92, (2014).
25. I. S. Kim, S. J. Kang, J. O. Kim, "Effects of the aroma inhalation method with a roll-on on life stress, salivary cortisol and fatigue in nursing student", *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society*, Vol.15.No.12, pp. 7214-7223, (2014).
26. G. F. KOOB, "Corticotropin-releasing factor, norepinephrine, and stress", *Biological psychiatry*, Vol.46. No.9, pp. 1167-1180, (1999).
27. A. G. LEVENTHAL, Y. Wang, M. Pu, Y. Zhou, Y. Ma, "GABA and its agonists improved visual cortical function in senescent monkeys". *Science*, Vol.300, No.5620, pp. 812-815, (2003).
28. J. S. Lee, J. Y. Lee, W. G. Cho, Y. C. Yang, B. P. Cho, "Relationship between Microglial Activation and Dopaminergic Neuronal Loss in 6-OHDA-induced Parkinsonian Animal Model". *Korean Journal of Physical Anthropology*, Vol.26, No.1, pp. 13-23, (2013).