패출리 에센셜 오일의 흡입에 따른 지방산 조성 및 휘발성 화합물의 변화

— 연구노트 —

홍성준 · 부창국 · 정향연 · 윤소정 · 조성민 · 신의철

경상국립대학교 식품과학부

Fatty Acid Profiles and Volatile Compounds in the White Adipose Tissue of Sprague Dawley Rats After Inhalation of Patchouli Essential Oil

Seong Jun Hong, Chang Guk Boo, Hyangyeon Jeong, Sojeong Yoon,
Seong Min Jo, and Eui-Cheol Shin

Department of Food Science, Gyeongsang National University

ABSTRACT This study identified the variations of fatty acid profiles and volatile compounds in the white adipose tissue (WAT) of high-fat diet-induced rats (HFD) after inhalation of patchouli essential oil (PEO). The HFD-fed groups exhibited a decreasing trend in the levels of palmitic acid compared to the normal diet-fed group (N), *n*-6 fatty acids also showed a decreasing trend compared to group N. On the other hand, oleic acid in HFD-fed groups exhibited an increasing trend compared to group N. The groups which inhaled PEO showed a relative increase in oleic and α -linolenic acids. Rats which inhaled PEO (H-LPI) showed a lower percentage of palmitic acid compared to group H (high-fat diet-induced group). However, linolenic acid was higher than in group H. The principal component analysis (PCA) showed that a total of 10 variables were identified. In group N C18:3 n -6 and C18:0 were identified as the main variables, and in group H, C20:3 n -3 was identified as the main variable. C18:1 n -9 was identified as the main variable in group H-LPI, and in group H-HPI, C20:0 was identified as the main variable. The electronic nose analysis results identified acetaldehyde and ethanol as the most abundant volatiles in all samples. The PCA result of volatiles represented about 83.16% of total variances in the dataset, with PC1 and PC2 representing 43.68% and 39.47%, respectively of the variance out of the total variance. The cluster analysis results were segregated into two groups, group H & HPI, and group N & H-LPI. Results of this study provide the basic data on the change of fatty acid composition and volatiles in white adipose tissue via inhalation of essential oils.

Key words: patchouli, fatty acid profiles, electronic nose, principal component analysis, cluster analysis

서 론

패출리(*Pogostemon cablin* Benth.)는 꿀풀과에 속하는 식물 중 하나로서 주로 남동아시아에서 많이 재배된다고 알려져 있다. 패출리는 향수의 제조와 활용에 관련된 다양한 향장 산업 및 아로마 테라피에서 사용되는 에센셜 오일로 활용되고 있으며, 특히 패출리 에센셜 오일(patchouli essential oil(PEO))은 항염증, 항산화, 그리고 항비만에 긍정적인 효과를 가진다고 보고되었고 최근 연구에서 PEO의 흡입을 통한 항비만 효과가 알려져 있다(Hong 등, 2020a).

일반적으로 과체중으로 알려진 비만은 식이 섭취 증가에

비해 에너지 소비의 감소로 발생한다고 알려져 왔으며, 고지방식이 및 고콜레스테롤식이 섭취와 같은 다양한 식이 섭취의 변화로 인해 발생하기도 한다(Hong 등, 2020a; Newberry 등, 2006). 이로 인해 low-density lipoprotein cholesterol(LDL-cholesterol), total cholesterol(TC), triglyceride(TG) 등의 증가로 인해 발생하는 심혈관계 질환 유병률의 증가와 high-density lipoprotein cholesterol(HDL-cholesterol)의 감소를 동시다발적으로 발생시키는 대사증후군 유병률을 증가시킬 수 있다. 그리고 비만이 발생하면 체지방이 증가하고, 인체 내 체지방의 분포가 변화한다. 이런 체지방의 분포 변화 중 하나는 내장지방이 증가하

Received 17 February 2021; Revised 6 August 2021; Accepted 18 August 2021

Corresponding author: Eui-Cheol Shin, Department of Food Science, Gyeongsang National University, 33, Dongjinro, Jinju-si, Gyeongnam 52725, Korea, E-mail: eshin@gnu.ac.kr

Author information: Seong Jun Hong (Graduate student), Chang Guk Boo (Graduate student), Hyangyeon Jeong (Student), Sojeong Yoon (Student), Seong Min Jo (Student), Eui-Cheol Shin (Professor)

Copyright © 2021 by The Korean Society of Food Science and Nutrition. All rights Reserved.

This is Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

고, 반면에 피하지방은 감소한다. 이러한 내장지방은 대부분 인체 내 장기에 붙어 있는 백색지방의 형태로 존재한다 (Hong 등, 2020a; Despres, 2006).

백색지방은 내장지방을 나타내는 지표 중 하나이다. 백색지방 축적은 주로 유전적 요인과 환경적 요인의 복합적 작용으로 인해 발생한다. 백색지방이 축적되면 당신생성과 very low-density lipoprotein cholesterol (VLDL-cholesterol)의 생산을 촉진시켜 인슐린 저항성을 발생시킬 수 있다(Despres, 2006). 많은 연구에서 고지방 식이를 통해 비만을 유도하였고, 비만이 유도된 동물모델에서 백색지방의 증가를 확인하였다(Hong 등, 2020a; Pakiet 등, 2019). 최근 Pakiet 등(2019)의 연구에서 서구화된 diet 섭취를 통한 백색지방 무게의 증가를 확인하였으며, 이와 동시에 서구화된 diet 섭취를 통한 백색지방의 지방산 조성이 변화하였다고 보고하였다. 지방산(fatty acids)은 우리의 생명을 유지하는데 있어 다양한 metabolic function에 역할을 하는데, 이들은 에너지원과 탄소원으로 작용하며 에너지 저장을 위한 요소로도 적절하게 디자인되어 있는 생체 물질이다. 지방산은 세포막의 semipermeable한 특성을 위한 structure와 hydrophobicity에 중요한 역할을 하며, elongation과 desaturation에 의해 다양한 형태로써 그 역할을 해내고 있다. 또한 잠재적인 생물학적 효능을 가진 물질을 생산하는 eicosanoids와 같은 signal molecules의 전구체의 역할도 한다(Watkins와 German, 2002).

최근 인체 내 각종 질병 및 대사 변화를 관찰하기 위한 비침습적 도구로서 인간의 호흡 속 휘발성 화합물의 분석에 관한 관심이 계속 증가하고 있다. 이와 동시에 실험동물의 날숨 속 휘발성 화합물을 확인하는 연구들이 발표되고 있다. 식이 섭취는 지방의 무게 및 지방산 조성을 변화시킬 뿐만 아니라 호흡 시 발생하는 인체 내 휘발성 화합물의 변화를 일으킬 수 있다(Baranska 등, 2013; Kistler 등, 2014; Hong 등, 2020a). 현재 글루텐 식이를 섭취한 실험동물의 날숨 속 휘발성 화합물을 분석하는 연구 및 고지방 식이를 통해 비만을 유도한 뒤 날숨 속 휘발성 화합물을 분석하는 연구가 발표되고 있다(Baranska 등, 2013; Kistler 등, 2014). 하지만 식이를 통해 비만을 유도한 실험동물의 백색지방의 휘발성 화합물 분석은 아직 보고되어 있지 않다. 이에 본 연구에서는 고지방 식이를 통해 비만을 유도한 뒤 농도별로 PEO를 흡입시켰고, 비만 유도 후 생성된 백색지방의 지방산 조성 및 휘발성 화합물의 변화를 관찰하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 연구에서 사용된 패출리 에센셜 오일(PEO)은 Aroma Care Solution(Helga Stolz GmbH Co., Grafenworth, Austria) 제품을 사용하였고, 본 연구에 사용된 모든 표준품과 시약은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서

analytical grade 등급으로 구입하였다.

동물실험

본 연구는 동물보호법에 근거하였으며 동물실험에 관한 승인사항은 경남과학기술대학교(현, 경상국립대학교) 동물실험 윤리위원회의 심의(GNTECH IACUC-#4)를 승인 후 연구를 진행하였다. 본 연구에서 사용된 실험동물은 4주령의 Sprague Dawley 계통 수컷 rats를 Koatech company (Pyeongtaek, Korea)에서 총 36마리를 구입하였다. 본 기관에 도착한 동물은 예비사육 1주 후 난수법에 의해 분류되었고, 본 사육 12주의 사육 기간을 거쳤다. PEO의 흡입 농도와 기간에 따라 무작위로 그룹을 나누었으며 normal diet fed group(N; $n=6$)은 normal diet를 섭취하고, distilled water(DW)를 매일 30분간 총 12주 흡입시켰다. High fat diet fed group(H; $n=6$)은 45% high fat diet를 섭취하고, DW를 매일 30분간 총 12주 흡입시켰다. 나머지 그룹 또한 high fat diet를 섭취하였으며, 0.3% PEO를 30분간 총 12주를 흡입하는 그룹(high fat diet fed with inhalation of low doses PEO during induced period(H-LPI; $n=6$)), 1% PEO를 30분간 총 12주를 흡입하는 그룹(high fat diet fed with inhalation of high doses PEO during induced period(H-HPI; $n=6$))으로 총 4개 그룹으로 나누었다. 실험동물을 해부 전 over-night 동안 절식시켰고, CO₂ 마취 후 ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA) 20 mg을 함유한 syringe를 이용하여 심장에서 혈액을 약 3 mL 가량 채취 후 척추 부근의 대동맥을 잘라 희생시켰다. 채취된 혈액은 상온에서 30분 방치 후 3,000 rpm에서 30분 동안 원심분리하여 상층의 혈청을 분리하였다. White adipose tissue(WAT)는 수술용 knife를 사용하여 절단을 통해 적출하였고, 적출된 모든 장기는 -80°C에서 실험 전까지 냉동 보관하였다.

지방산 조성

실험동물의 백색지방의 지방산 조성은 각 그룹의 샘플을 100 mg씩 이용하여 지방산을 메틸 에스터화(fatty acid methyl ester, FAME)로 유도체화 시킨 후 실험을 진행하였다. 개별 유리 지방산의 메틸 에스터화를 위해 촉매제인 boron trifluoride-methanol(BF₃-methanol) 용액을 이용하였고, 유도체화 시킨 지방산은 gas chromatography(GC)를 이용하여 개별 분석하였다. 백색지방과 갈색지방의 지방산 분석을 위해 사용된 GC는 Agilent Technologies 6890N (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)을 사용하였고, 분석에 사용된 column은 SP-2560 capillary column (100 m×0.25 mm i.d., 0.25 µm film thickness; Agilent Technologies)을 이용하였다. 지방산 분석 시 oven 조건은 130°C에서 5분간 진행하여 분당 4°C씩 승온시킨 후 240°C에서 15분간 유지하였다. 개별 지방산의 정성 및 정량에 사용된 표준물질은 지방산 표준물질(Supelco 37 FAME, Sig-

ma-Aldrich Co.)을 사용하였고, 표준물질 각각의 머무름 시간을 이용하여 개별 지방산을 확인하였다(Kim 등, 2019).

전자코 분석

실험동물의 백색지방의 휘발성 성분을 분석하기 위해 각 그룹의 백색지방과 갈색지방을 1 g씩 space vial(22.5 mm × 75 mm, PTFE/silicon septum, aluminum cap)에 넣고, 50°C에서 10분간 500 rpm의 속도로 교반하였고, 자동시료 채취기를 통해 2,000 µL의 휘발성 향기 성분을 headspace에서 포집했다. 이후 전자코 시스템(HERACLES Neo, Alpha MOS, Toulouse, France)을 이용하여 주입하였고, MXT-5 column이 장착된 flame ionization detector(FID)를 통해 분석하였다. Trap absorption temperature와 trap desorption temperature는 각각 40°C와 250°C로 설정하였고, acquisition time은 227초의 조건에서 휘발성 성분을 분석하였다. 80,000여 개 이상의 화합물 정보가 저장되어있는 Kovat's index library 기반의 AcroChemBase(Alpha MOS)를 이용하여 휘발성 성분을 정성하였다. 전자코 시스템 분석은 샘플 당 총 3회씩 실시하였고, 샘플 간 개별 휘발성 성분의 상대적인 함량 차이를 확인하였다(Hong 등, 2020b).

통계처리

본 연구에서 제시된 실험값은 평균값과 표준편차로 나타내었고, 실험군 간의 차이를 one-way analysis of var-

iance(ANOVA)로 분석한 다음 신뢰구간 $P < 0.05$ 에서 Tukey's multiple range test로 사후 검정하였다. 통계분석은 SAS version 9.2(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 프로그램을 사용하였다. 또한 다변량 분석(multivariate analysis)을 위해 주성분 분석(principal component analysis; PCA)과 계층적 군집 분석(cluster analysis; CA)을 사용하였고, 해당 지표에 대한 각 그룹 간의 유사도를 확인하였다. 다변량 분석에 이용된 프로그램은 XLSTAT software(version 2021.2, Addinsoft, New York, NY, USA)를 이용하여 각 샘플과 변수에 대한 패턴과 상관성을 확인하였다. 주성분 분석의 경우 높은 설명력(eigen value ≥ 1.0)을 가진 principal component(PC)를 통해 샘플과 변수인 지방산이 나타내는 interrelation을 제시하였다(Shin 등, 2010). 군집 분석의 경우 각 샘플 간의 차이도(dissimilarity)에 대한 비율을 각각의 각 샘플 간 거리(distance)에 따른 표현 방식을 통해 dendrogram으로 결과를 제시하였다(Shin 등, 2009).

결과 및 고찰

지방산 조성

PEO 흡입에 따른 실험동물의 백색지방 지방산 조성(%)의 변화는 Table 1과 Fig. 1에 나타내었다. 4종류의 백색지방에서 총 11가지의 지방산이 확인되었다. 모든 그룹에서 oleic acid($n-9$)가 가장 높은 비율을 나타내었으며, 그 뒤로

Table 1. Fatty acid profiles in white adipose tissue in Sprague Dawley rats

Fatty acid	N	H	H-LPI	H-HPI	P-value
Palmitic acid (C16:0)	28.46±2.77 ^{a1)}	22.48±1.96 ^{ab2)}	16.08±0.64 ^b	24.54±0.64 ^a	0.0093
Stearic acid (C18:0)	0.82±0.04 ^a	0.21±0.08 ^b	0.19±0.01 ^b	0.33±0.01 ^b	0.0004
Oleic acid (C18:1 $n-9$)	39.65±0.88 ^b	50.24±6.19 ^{ab}	55.76±0.57 ^a	55.14±1.13 ^a	0.0214
Linoleic acid (18:2 $n-6$)	33.20±3.85 ^a	18.86±0.83 ^b	25.25±2.77 ^{ab}	18.82±2.68 ^b	0.0174
α -Linolenic acid (C18:3 $n-3$)	0.31±0.02 ^a	0.20±0.04 ^a	0.34±0.20 ^a	0.22±0.02 ^a	<0.0001
γ -Linolenic acid (C18:3 $n-6$)	1.36±0.02 ^a	0.18±0.03 ^b	0.11±0.07 ^b	0.18±0.01 ^b	<0.0001
Arachidic acid (C20:0)	0.12±0.03 ^b	1.26±0.03 ^a	0.74±0.18 ^{ab}	1.33±0.41 ^a	0.0175
Eicosenoic acid (C20:1 $n-9$)	1.09±0.01 ^a	0.04±0.01 ^c	0.37±0.02 ^b	0.08±0.02 ^c	<0.0001
Eicosadienoic acid (C20:2 $n-6$)	0.07±0.01 ^a	0.05±0.01 ^{ab}	0.02±0.01 ^b	0.04±0.02 ^{ab}	<0.0001
Arachidonic acid (C20:3 $n-3$)	0.06±0.01 ^b	0.17±0.03 ^a	0.05±0.01 ^b	0.06±0.01 ^b	0.0346
Docosatetraenoic acid (C22:4 $n-6$)	0.12±0.01 ^a	0.04±0.02 ^a	0.10±0.08 ^a	0.17±0.01 ^a	0.0031

Data are expressed as mean±SD (%) values from experiments performed in triplicate.

N: normal diet fed group, H: high fat diet fed group, H-LPI: high fat diet fed and 0.3% PEO inhaled rats, H-HPI: high fat diet fed and 1% PEO inhaled rats.

¹⁾Mean values with different small letters (a,b) within the row are significantly different by Tukey's multiple test ($P < 0.05$).

Fig. 1. Fatty acid profiles between palmitic acid (A) and linolenic acid (B) in white adipose tissue in Sprague Dawley rats. N: normal diet fed group, H: high fat diet fed group, H-LPI: high fat diet fed and 0.3% PEO inhaled rats, H-HPI: high fat diet fed and 1% PEO inhaled rats. Mean values with different letters (a,b) within the row are significantly different by Tukey's multiple test ($P < 0.05$). * $P < 0.05$, significantly different among high fat diet-fed groups by Tukey's multiple test.

palmitic acid와 linoleic acid(*n*-6)가 높은 비율을 나타내었다. 포화지방산인 palmitic acid는 고지방 식이를 섭취한 그룹들에서 N 그룹에 비해 상대적으로 감소하는 경향을 나타내었고, 반면, oleic acid는 감소하였다($P<0.05$). Palmitic acid는 식물과 동물에서 모두 가장 기본적인 지방산 생합성 효소의 primary product로 알려져 있다. 대부분의 long chain fatty acids는 palmitic acid에서 desaturation에 의한 이중결합의 생성, 그리고 elongation을 통해서 2개의 탄소쌍의 합성이 일어난다(Watkins와 German, 2002). 그리고 불포화 지방산인 *n*-6 계열의 지방산들 또한 고지방 식이를 섭취한 그룹들에서 상대적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 이러한 부분은 oleic acid에서 desaturation에 의한 linoleic acid로의 전환이 늦어진 것으로 판단되며, 이러한 생합성에 관여하는 $\Delta 12$ -desaturase의 활성은 inhibition에 의한 영향으로 판단된다. *n*-3 계열의 지방산 중 하나인 α -linolenic acid는 H 그룹과 H-HPI 그룹에서 N 그룹에 비해 상대적으로 감소하였다. 앞선 결과들과는 반대로 oleic acid는 고지방 식이를 섭취한 그룹들에서 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었다($P<0.05$). 앞서 언급한 지방산들 중 0.3%의 PEO를 흡입한 그룹인 H-LPI 그룹에서 palmitic acid가 H 그룹에 비해 유의적으로 감소하였고($P<0.05$), linoleic acid는 H 그룹에 비해 유의적으로 증가하였다($P<0.05$). PEO를 흡입한 그룹들에서 oleic acid와 α -linolenic acid가 H 그룹에 비해 상대적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 이전 연구에서 0.3%를 흡입한 동물 그룹에서 H 그룹에 비해 백색지방이 감소하는 경향을 나타내었고, 1%를 흡입한 그룹에서 0.3%를 흡입한 그룹에 비해 증가하는 경향을 나타내었다(Hong 등, 2020a). 백색지방의 증가는 체내 lipid metabolism에 영향을 주고, 이로 인해 혈중 자유지방산(free fatty acid; FFA) 또는 체내 산화 물질인 $O_2^{\cdot-}$ 와 $OH^{\cdot}$ 등과 같은 자유라디칼을 생성하여 lipid peroxidation을 유도시킬 수 있다(Despres, 2006; Phanindra 등, 2015). 본 연구에서 1% PEO를 흡입한 그룹(H-HPI)은 0.3% PEO를 흡입한 그룹(H-LPI)에 비해 palmitic acid 증가 및 linolenic acid 감소하였고, 이는 백색지방 축적에 따른 lipid peroxidation과 관련된 metabolism이 이러한 결과에 대한 다양한 원인 중 하나라고 판단해 볼 수 있다. 본 결과를 토대로 향기 흡입의 경우 섭취량의 증가에 따른 효능의 linear 형태로 증가하는 일반적인 형태와는 다른 패턴을 보인다고 확인하였다. Snow 등(2017)의 연구에서 동물실험을 통한 acrolein의 흡입을 통해 serum metabolic marker의 유의적인 변화가 나타났다고 보고한 바 있는데, 유리 지방산, triglyceride, glucose intolerance branched chain amino acids의 변화를 흡입을 통한 변화가 확인되었다고 보고하였다. 이러한 결과를 토대로 섭취 없이 흡입 과정을 통해서도 향기 성분의 성상에 따라 긍정적인 효능이나 부정적인 효능이 유의적으로 나타날 수 있다는 것을 확인할 수 있었다.

섭취와 체내 지방산 관련 문헌을 보면 최근 Pakiet 등(2019)의 연구에서 식이 섭취의 변화에 따른 체내 구성 성분의 지방산 조성 변화를 보고하였고, 고지방 식이를 섭취한 그룹의 간에서 단일불포화 지방산인 oleic acid가 감소하였다. 그리고 You 등(2020)의 연구에서 *n*-3 계열의 지방산이 풍부한 식이와 *n*-6 계열의 지방산이 풍부한 식이를 섭취한 그룹에서 각각 다른 갈색지방의 지방산 조성이 발견되었다. 이를 통해 식이 섭취에 함유된 지방의 비율보다 지방산의 조성이 실험동물 속 장기의 지방산 조성의 변화를 유도한다고 판단된다(Pakiet 등, 2019; You 등, 2020). Linoleic acid는 대표적인 *n*-6 계열의 지방산 중 하나로서 체내 합성보다는 식이 섭취를 통해 형성된다. 이러한 linoleic acid는 항암, 항염증, 콜레스테롤 수치 개선과 같은 체내 중요한 생리 작용에 관여한다(Lee 등, 2019). 본 연구에서 고지방 식이 섭취에 의해 linoleic acid가 감소하는 경향을 나타내었지만 H-LPI 그룹에서 H 그룹에 비해 증가한 것으로 보아 0.3%의 PEO 흡입이 H-LPI 그룹에서 체내 대사 작용의 개선 효과에 영향을 줄 수 있다고 판단되며, 최근 Hong 등(2020a)의 연구에서 0.3% PEO를 흡입한 그룹에서 LDL-cholesterol 수치 저하 및 HDL-cholesterol 수치가 증가하여 체내 lipid metabolism이 개선되었다. Oleic acid는 체내 필수 지방산으로서 linoleic acid가 산패되었을 때 증가하는 특성이 있다(Kim 등, 2018). 본 연구에서 고지방 식이를 섭취한 그룹에서 나타난 높은 oleic acid의 비율은 linoleic acid의 이중결합이 지질의 산패에 의해 분해되어 oleic acid의 비율이 증가된 것으로 판단된다(Kim 등, 2018). 최근 Kim 등(2019)의 연구에서 지질 산패에 의해 지질 속 linoleic acid가 oleic acid로 전환되었다. Linolenic acid는 제2형 당뇨병과 심혈관 건강에 긍정적인 영향을 줄 수 있는 지방산으로 알려져 있다(Lee 등, 2019). 본 연구에서 γ -linolenic acid와 α -linolenic acid가 검출되었고, 고지방 식이를 섭취한 그룹에서 γ -linolenic acid가 감소하였다. 이는 고지방 식이의 섭취가 심혈관 건강에 부정적인 영향을 줄 수 있다고 판단되며, 앞선 연구에서 고지방 식이를 섭취한 그룹에서 수축기 혈압 및 맥박이 증가하는 경향을 나타내었다(Hong 등, 2020a). 높은 비율의 α -linolenic acid는 고혈압, 심근경색, 그리고 혈전성 질환 등을 저하시킬 수 있다.

다변량 분석을 통한 지방산 조성의 패턴 분석

다변량 분석법 중 하나인 주성분 분석(Fig. 2)과 군집 분석(Fig. 3)을 이용하여 각 샘플 간의 지방산 조성에 대한 패턴을 확인하였고, 이 중 principal component 1(PC1)과 PC2에 의한 유의적 상관성을 가지는 10종의 지방산에 대한 variable을 확인하였다. 주성분 분석을 통해 총 86.32%의 설명력을 나타내었고, PC1과 PC2에서 각각 61.99%와 24.33%의 설명력을 확인하였다. 식이 섭취 종류에 따른 차이는 PC1에서 상대적으로 높은 분리도를 나타내었고, 고지방 식이를 섭취한 그룹의 경우 PC1을 기준으로 음(-)의 방

Fig. 2. Interrelationship between each sample and fatty acid using PCA analysis. N: normal diet fed group, H: high fat diet fed group, H-LPI: high fat diet fed and 0.3% PEO inhaled rats, H-HPI: high fat diet fed and 1% PEO inhaled rats.

Fig. 3. Dendrogram of samples based on the fatty acid profiles using cluster analysis. N: normal diet fed group, H: high fat diet fed group, H-LPI: high fat diet fed and 0.3% PEO inhaled rats, H-HPI: high fat diet fed and 1% PEO inhaled rats.

향에 위치하였다. 그리고 고지방 식이를 섭취한 그룹 사이에는 PC1에 의한 뚜렷한 분리는 발생하지 않았으며, PC2에 의한 분리가 더 높은 영향을 보였다. 본 연구에서 나타난 식이 섭취 종류에 따른 분리는 C18:0(stearic acid), C18:2n-6(linoleic acid), C18:3n-6(γ -linolenic acid), 그리고 C20:1n-9(eicosenoic acid)의 조성의 변화에 큰 영향을 받았

다. 반면 고지방을 섭취한 그룹 사이에서 나타난 위치의 변화는 0.3%의 PEO를 흡입한 H-LPI에서 C18:1n-9(oleic acid)에 의해 나머지 고지방 식이를 섭취한 그룹에 비해 PC2를 기준으로 음(-)의 방향으로 이동하였다. 그리고 1%를 흡입한 H-HPI는 C20:0(arachidic acid)에 의해 H보다 음(-)의 방향에 위치하였고, H는 C20:3n-3(eicosatrienoic

acid)의 영향에 의해 나머지 그룹들에 비해 PC를 기준으로 양(+)의 방향에 위치하였다. C20:4n-6은 각 그룹 간의 차이를 보이지 않아 상대적으로 설명력이 낮은 변수로 확인되었다. 주성분 분석 결과에서 PC2에 의한 분리는 PEO의 흡입 농도에 따른 분리보다는 각 실험동물들의 백색지방 산패도 및 축적과 관련이 있는 것으로 판단된다.

백색지방 지방산 조성의 변화에 대한 군집 분석의 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 총 4개의 그룹 중 H와 H-HPI가 다른 그룹에 비해 상대적으로 유사도가 높은 것으로 확인되었고, 위의 두 그룹에 비해 H-LPI가 N에 비해 상대적으로 높은 유사도를 나타내었다.

전자코 분석

전자코 시스템을 이용한 백색지방의 휘발성 화합물의 결과는 Table 2에 나타내었다. 전자코 분석을 통해 총 31개의 휘발성 화합물이 확인되었고, 모든 그룹에서 acetaldehyde, ethanol, 그리고 dimethyl sulfide가 상대적으로 높은 peak area를 나타내었다. Acetaldehyde는 aldehydic, ethereal, 그리고 pungent의 odor description을 나타내며, N 그룹이 다른 그룹들에 비해 높은 peak area를 나타내었다. 그리고 H-LPI가 모든 그룹 중 가장 낮은 peak area를 나타내었다. Ethanol은 alcoholic과 pungent에 관한 odor description을 나타내며, H-HPI가 모든 그룹 중 가장 낮은 peak area를 나타내었다. Dimethyl sulfide는 cabbage, onion, 그리고 sulfurous의 odor description을 나타내며 모든 그룹 중 H-HPI가 가장 높은 peak area를 나타내었고, 나머지 세 가지 그룹들 사이에는 상대적으로 큰 차이가 발생하지 않았다.

휘발성 aldehyde류 화합물은 지질의 자동산화에 의해 생성되며, 지질의 종류에 따라 다양한 휘발성 aldehyde류 화합물이 생성된다(Song 등, 2018). 전자코를 통해 확인된 acetaldehyde는 개별 그룹의 지방 산패도의 차이에 따른 결과로 판단된다(Table 2). 휘발성 alcohol류 화합물의 생성은 주로 다가 불포화 지방산(polyunsaturated fatty acid; PUFA)의 큰 영향을 받는다. 본 연구에서도 PUFA의 조성(%)이 변화하였고, 이를 통해 각 그룹별 ethanol 함량의 차이에 영향을 미칠 수 있다고 판단된다(Song 등, 2018). Dimethyl sulfide는 대표적인 휘발성 향 화합물 중 하나이며, 농도에 따라 다양한 향 활성을 나타내는 특징을 가지고 있다(Boo 등, 2020b). Dimethyl sulfide는 낮은 threshold를 가지는 화합물이며, 높은 함량 및 비율을 가지는 샘플에서 짙은 냄새와 같은 악취를 나타내는 특징을 가지고 있다(Li 등, 2013) 휘발성 화합물을 확인하기 위해 사용된 전자코 시스템은 비파괴적인 분석 방법을 이용하여 샘플의 휘발성 화합물의 정보를 제공하며, 샘플 간의 향미 특성에 대한 유사도 확인 및 판별에 관해 많이 사용되고 있다(Hong 등, 2020b). 최근 전자코를 통해 향기 성분을 분석한 연구를 보면, Boo 등(2020a)이 국내 국류 및 탕류와 같은 실제 소비자들이 직접적으로 섭취하는 식품을 선정하여 전자코를 통한 향기

성분을 비교 분석하였다. 15가지 샘플에서 확인된 총 25가지 향기 성분을 확인하고 주된 함량을 보이는 향기 성분이 ethanol과 2-methylthiophene 등이라는 결과를 보고하였다. 전자코 분석을 통해 다양한 샘플의 휘발성 향기 성분의 분석뿐만 아니라 공통된 향기 성분의 profile을 통해 샘플 간의 연관성을 확인할 수 있다고 판단하였다.

다변량 분석을 통한 휘발성 화합물의 패턴 분석

전자코 시스템을 이용하여 확인된 각 그룹의 백색지방에 대한 휘발성 화합물의 차이는 다변량 분석법 중 하나인 주성분 분석(Fig. 4)과 군집 분석(Fig. 5)을 통해 확인하였다. 주성분 분석은 PC1과 PC2를 이용하여 백색지방의 휘발성 화합물의 특성을 확인하였고, 총 27개의 휘발성 화합물이 유의적 상관성을 나타내었다. 백색지방의 휘발성 화합물을 확인한 결과 PC1에서 43.69%의 설명력을 나타내었고, PC2에서 39.47%의 설명력을 나타내어 총 83.16%의 설명력을 나타내었다. 일반식이를 섭취한 N과 H-LPI가 나머지 그룹들에 비해 PC2 기준으로 양(+)의 방향에 위치하였고, PEO를 흡입한 그룹인 H-LPI와 H-HPI는 PC1 기준으로 음(-)의 방향에 위치하였다. 따라서 식이 섭취 종류에 따른 백색지방의 휘발성 화합물의 뚜렷한 차이는 발생하지 않았다고 판단되며, PEO의 흡입 여부에 의한 차이는 식이 섭취 종류보다 상대적으로 더 큰 영향을 미쳤다고 판단된다. N 그룹은 thiophene과 α -pinene에 의해 제 1사분면에 위치하였고, H-LPI는 propyl acetate와 α -terpinen-7-al에 의해 제 2사분면에 위치하였다. H-HPI는 hexadecanal의 영향에 의해 제 3사분면에 위치하였고, H 그룹은 2-butanamine의 영향에 의해 제 4사분면에 위치하였다.

휘발성 화합물의 정보에 따른 군집 분석의 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 군집 분석의 결과, 총 2개의 cluster로 분류되는 것을 확인할 수 있었고 cluster I은 H 그룹과 H-HPI 그룹으로 확인되었다. Cluster II는 H-LPI와 N 그룹으로 확인되었다. 각 그룹 간의 유사도는 식이 섭취의 종류 및 PEO 흡입 여부에 따른 영향보다는 실험동물의 백색지방 축적 정도(Hong 등, 2020a) 및 지방산 조성 변화에 따른 영향이 더 큰 variables로 작용했다고 판단된다. 최근 군집 분석과 주성분 분석을 이용하여 연구를 보면 앞서 언급한 Boo 등(2020a)의 연구에서 식품에 존재하는 향미 특성을 이용한 주성분 분석 및 군집 분석을 진행한 결과를 통해 샘플과 휘발성 성분 간의 interrelation을 제시하였고, clustering을 통한 샘플 간의 유사도를 확인하였다. 또한 월동무의 품종에 따른 휘발성 향기 성분을 동정하여 주성분 분석을 활용하여 월동무 샘플과 주요 향기 성분인 sulfur containing compounds의 패턴을 제시하였다(Boo 등, 2020b).

요 약

본 연구는 일반식이 및 고지방 식이를 섭취한 실험동물 중

Table 2. Volatile compounds in white adipose tissue in Sprague Dawley rats using electronic nose (Peak area $\times 10^3$)

Compounds	RT ⁽¹⁾ (R ²)	Sensory description	N	H	H-LPI	H-HPI
Acetaldehyde	16.13 (413)	Aldehydic, ethereal, pungent	67.78±21.84	53.15±4.62	50.50±4.07	61.40±10.86
Ethanol	17.81 (445)	Alcoholic, pungent	292.59±109.55	355.95±120.07	377.52±365.26	93.71±28.62
Dimethyl sulfide	19.82 (484)	Cabbage, onion, sulfurous	482.95±292.3	369.22±56.45	476.45±127.42	817.68±407.16
Butane-2,3-dione	23.67 (559)	Butter, creamy	1.65±0.21	0.47±0.82	0.80±0.70	0.83±0.14
2-Methylfuran	29.23 (631)	Acetone, burnt, metallic	0.16±0.10	0.18±0.08	0.33±0.05	0.22±0.13
2-Butanamine	31.74 (654)	Ammonia, fishy	0.72±0.23	1.96±2.38	0.56±0.14	0.55±0.14
Butanol	33.25 (666)	Alcoholic, fermented, fusel	0.87±0.53	0.82±0.24	1.21±0.10	0.98±0.56
Isoamyl acetate	34.20 (675)	Chemical, ethereal	0.38±0.35	0.20±0.12	0.65±0.05	0.55±0.39
Thiophene	35.53 (686)	Alliaceous, aromatic, sulfurous	1.68±0.68	0.70±0.53	0.82±0.43	0.57±0.34
2,3-Pentanedione	37.24 (701)	Almond, burnt, butter	2.82±1.46	1.94±1.24	2.68±1.13	1.92±1.08
Propyl acetate	41.33 (727)	Alkane, gasoline	1.31±1.18	0.65±0.31	1.73±0.29	1.50±0.92
Prophylenglycol	44.80 (750)	Alcoholic, caramelized	0.17±0.21	0.05±0.09	0.19±0.08	0.13±0.15
Ethyl isobutyrate	47.02 (765)	Alcoholic, fruity, fusel	0.98±1.05	0.27±0.12	1.12±0.16	0.89±0.68
2-Methylthiophene	48.12 (772)	Alliaceous, gasoline, onion	6.57±4.89	6.55±3.86	13.90±2.50	8.61±5.73
2,3-Butanediol	49.78 (783)	Creamy, fruity, onion	0.47±0.42	0.17±0.06	0.52±0.11	0.37±0.29
Hexan-2-one	51.62 (795)	Acetone, cinnamon, ethereal	0.29±0.33	0.07±0.07	0.09±0.15	0.19±0.26
Hexanal	52.74 (802)	Acorn, aldehydic, fatty	11.38±5.91	7.09±2.56	8.88±3.16	6.04±2.95
3-Methyl-2-butene-1-thiol	55.43 (818)	Amine, onion, skunky	0.26±0.11	0.18±0.03	0.28±0.08	0.17±0.04
1-Hydroxy-2-(methylthio)-ethane	59.03 (839)	Meaty, sulfurous	0.56±0.45	0.23±0.08	0.58±0.11	0.42±0.33
2-Hexenal	61.98 (857)	Aldehydic, almond, bitter	0.18±0.09	0.09±0.09	0.15±0.07	0.07±0.07
1-Hexanol	64.60 (872)	Alcoholic, fatty, floral	0.46±0.41	0.39±0.23	0.88±0.11	0.29±0.08
Heptan-2-ol	69.81 (901)	Acid, cheese, fatty	0.39±0.13	0.30±0.08	0.42±0.09	0.32±0.14
Sabinene	79.76 (961)	Citrus, fresh, pepper	0.34±0.10	0.26±0.16	0.20±0.09	0.14±0.07
α -Pinene	81.51 (971)	Fresh, herbaceous, pine	0.13±0.02	0.12±0.01	0.12±0.01	0.10±0.01
1-Octen-3-one	83.43 (983)	Dusty, earthy	0.18±0.06	0.16±0.08	0.11±0.05	0.11±0.05
Decane	85.87 (1,000)	Alkane, fruity, fusel	0.32±0.26	0.30±0.20	0.14±0.17	0.20±0.10
<i>p</i> -Cresol	99.53 (1,077)	Animal, medicinal, phenolic	0.13±0.01	0.12±0.01	0.10±0.02	0.10±0.01
Ethyl-3-(methylthio)propanoate	103.77 (1,104)	Fruity, metallic	0.56±0.17	0.45±0.03	0.40±0.03	0.35±0.01
α -terpinen-7-al	130.46 (1,278)	Fatty, spicy	0.12±0.01	0.12±0.01	0.13±0.03	0.12±0.01
Tridecane	133.68 (1,299)	Citrus, fruity, fusel	0.15±0.05	0.10±0.01	0.08±0.01	0.07±0.02
Hexadecanal	197.49 (1,811)	Cardboard	0.52±0.02	0.56±0.01	0.65±0.07	0.64±0.03

Data are expressed as mean±SD values from experiments performed in triplicate.

N: normal diet fed group, H: high fat diet fed group, H-LPI: high fat diet fed and 0.3% PEO inhaled rats, H-HPI: high fat diet fed and 1% PEO inhaled rats.

Fig. 4. Interrelationship between each sample and each volatile compound using PCA analysis. N: normal diet fed group, H: high fat diet fed group, H-LPI: high fat diet fed and 0.3% PEO inhaled rats, H-HPI: high fat diet fed and 1% PEO inhaled rats.

Fig. 5. Dendrogram of samples based on the volatile profiles using cluster analysis. N: normal diet fed group, H: high fat diet fed group, H-LPI: high fat diet fed and 0.3% PEO inhaled rats, H-HPI: high fat diet fed and 1% PEO inhaled rats.

DW와 PEO를 흡입 후 발생한 체내 변화에 대해 관찰하였다. 고지방 식이를 섭취한 그룹에서 일반식이를 섭취한 그룹에 비해 palmitic acid가 감소하는 경향을 보였고, oleic acid는

유의적으로 증가하는 경향을 보였다($P < 0.05$). 그리고 $n=6$ 계열의 지방산들 또한 감소하는 경향을 나타내었다. 0.3%의 PEO를 흡입한 그룹에서 palmitic acid가 H 그룹에 비해 감

소하였고($P < 0.05$), linolenic acid가 H 그룹에 비해 증가하는 결과를 나타내었다($P < 0.05$). 그리고 PEO를 흡입한 그룹 모두에서 H에 비해 oleic acid와 α -linolenic acid가 상대적으로 증가하였다. 지방산 결과에 대한 주성분 분석에서 총 10종의 variables를 확인하였다. N의 경우 C18:3n-6(linolenic acid)과 C18:0(stearic acid)이 variable로 확인되었고, H 그룹은 C20:3n-3(eicosatrienoic acid)가 variable로 확인되었고, H-LPI는 C18:1n-9(oleic acid)가 variable로 확인되었고, H-HPI는 C20:0(arachidic acid)가 variable로 확인되었다. 앞선 variables에 식이 섭취의 종류, 흡입 용액의 종류(DW와 PEO) 및 흡입 농도에 따라 PC1과 PC2에서 서로 다른 위치를 나타내었다. 군집 분석의 결과 H와 HPI가 H-HPI 보다 상대적으로 높은 유사성을 나타내었고, N 그룹과 H-LPI 그룹은 H-HPI 그룹보다 상대적으로 높은 그룹 간 유사성을 나타내었다. 전자코 분석 결과는 acetaldehyde, ethanol, dimethyl sulfide가 모든 샘플 중에서 가장 높은 peak area를 나타내었다. 전자코 시스템을 통해 얻은 휘발성 화합물의 결과를 주성분 분석하였고, 그 결과 N 그룹은 thiophene과 α -pinene에 의해 제1 사분면에 위치하였고, H-LPI 그룹은 propyl acetate와 α -terpinen-7-al에 의해 제 2사분면에 위치하였다. H-HPI 그룹은 hexadecanal의 영향에 의해 제 3사분면에 위치하였고, H 그룹은 2-butanamine의 영향에 의해 제 4사분면에 위치하였다. 군집 분석의 결과는 총 2개의 cluster로 분류되는 것을 확인할 수 있었고, cluster I은 H 그룹과 H-HPI 그룹으로 확인되었다. Cluster II는 H-LPI와 N 그룹으로 확인되었다. 본 연구의 PEO의 흡입에 따른 백색지방의 지방산 조성 및 휘발성 화합물에 대한 기초 자료로서 검토 및 활용이 가능할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 한국연구재단 이공학 개인기초연구지원사업(NRF-2018R1D1A1B07045431)의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Baranska A, Tigchelaar E, Smolinska A, Dallinga JW, Moonen EJC, Dekens JAM, et al. Profile of volatile organic compounds in exhaled breath changes as a result of gluten-free diet. *J Breath Res*. 2013. 7:037104. <https://doi.org/10.1088/1752-7155/7/3/037104>
- Boo CG, Hong SJ, Cho JJ, Shin EC. Electronic sensors and multivariate approaches for taste and odor in Korean soups and stews. *J Food Hyg Saf*. 2020a. 35:430-437.
- Boo CG, Hong SJ, Lee Y, Park SS, Shin EC. Quality characteristics of wintering radishes produced in Jeju island using e-nose, e-tongue, and GC-MSD approach. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2020b. 49:1407-1415.
- Despres JP. Is visceral obesity the cause of the metabolic syndrome?. *Ann Med*. 2006. 38:52-63.
- Hong SJ, Cho JJ, Boo CG, Youn MY, Pan JH, Kim JK, et al. Inhalation of patchouli (*Pogostemon Cablin* Benth.) essential oil improved metabolic parameters in obesity-induced Sprague dawley rats. *Nutrients*. 2020a. 12:2077. <https://doi.org/10.3390/nu12072077>
- Hong SJ, Cho JJ, Boo CK, Youn MY, Lee SM, Shin EC. Comparison of physicochemical and sensory properties of bean sprout and peanut sprout extracts, subsequent to roasting. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2020b. 49:356-369.
- Kim HS, Kim DS, Lee J, Hong SJ, Cho JJ, Woo S, et al. Characterization of edible oil containing wasabi during frying process. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2018. 47:1191-1199.
- Kim MS, Kim DS, Cho JJ, Hong SJ, Boo CG, Shin EC. Oxidative stability, physicochemical, and sensory characteristics of vegetable oils at their induction periods. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2019. 48:649-660.
- Kistler M, Szymczak W, Fedrigo M, Fiamoncini J, Höllriegel V, Hoeschen C, et al. Effects of diet-matrix on volatile organic compounds in breath in diet-induced obese mice. *J Breath Res*. 2014. 8:016004. <https://doi.org/10.1088/1752-7155/8/1/016004>
- Lee J, Hong SJ, Park JH, Cho JJ, Kim DS, Lee KT, et al. Nutritional components and oxidative stability of plant seed oils. *Emir J Food Agric*. 2019. 31:666-673.
- Li C, Wu J, Li Y, Dai Z. Identification of the aroma compounds in stinky mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) and comparison of volatiles during fermentation and storage. *Int J Food Sci Technol*. 2013. 48:2429-2437.
- Newberry EP, Xie Y, Kennedy SM, Luo J, Davidson NO. Protection against western diet-induced obesity and hepatic steatosis in liver fatty acid-binding protein knockout mice. *Hepatology*. 2006. 44(5):1191-1205.
- Pakiet A, Jakubiak A, Czumaj A, Sledzinski T, Mika A. The effect of western diet on mice brain lipid composition. *Nutr Metab*. 2019. 16:81. <https://doi.org/10.1186/s12986-019-0401-4>
- Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Ind J Clin Biochem*. 2015. 30:11-26.
- Shin EC, Craft BD, Pegg RB, Phillips RD, Eitenmiller RR. Chemometric approach to fatty acid profiles in Runner-type peanut cultivars by principal component analysis (PCA). *Food Chem*. 2010. 119:1262-1270.
- Shin EC, Huang YZ, Pegg RB, Phillips RD, Eitenmiller RR. Commercial runner peanut cultivars in the United States: tocopherol composition. *J Agric Food Chem*. 2009. 57:10289-10295.
- Snow SJ, McGee MA, Henriquez A, Richards JE, Schladweiler MC, Ledbetter AD, et al. Respiratory effects and systemic stress response following acute acrolein inhalation in rats. *Toxicol Sci*. 2017. 158:454-464.
- Song G, Dai Z, Shen Q, Peng X, Zhang M. Analysis of the changes in volatile compound and fatty acid profiles of fish oil in chemical refining process. *Eur J Lipid Sci Technol*. 2018. 120:1700219. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201700219>
- Watkins SM, German JB. Unsaturated fatty acids. In: Akoh CC, Min DB, editors. *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. 2nd ed. Marcel Dekker Inc., New York, NY, USA. 2002. p 559-588.
- You M, Fan R, Kim J, Shin SH, Chung S. Alpha-linolenic acid-enriched butter promotes fatty acid remodeling and thermogenic activation in the brown adipose tissue. *Nutrients*. 2020. 12:136. <https://doi.org/10.3390/nu12010136>