pISSN 1229-1153 *J. Fd Hyg. Safety*
Vol. 27, No. 2, pp. 188~193 (2012)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

국화로부터 추출한 천연염료에 대한 급성경구독성 및 피부자극성 시험에 대한 연구

권중기 · 안인정 · 이진석 · 김혜리 · 박하승[1] · 김동찬[1] · 최병준[1] · 이규민[2] · 박용진[3] · 정지윤*
공주대학교 특수동물학과, [1]예산국화시험장, [2]상명대학교 식물산업공학과, [3]공주대학교 식물자원학과

Acute Oral Toxicity and Skin Irritation Studies on Natural Dyes Extracted from *Chrysanthemum*

Jung-Ki Kwon, In-Jung An, Jin-Seok Lee, Hae-Ri Kim, Ha-Seung Park[1], Dong-Chan Kim[1], Byung-Jun Choi[1], Kyu-Min Lee[2], Yong-Jin Park[3], and Ji-Youn Jung*
Department of Companion and Laboratory Animal Science, Kongju National University, Yesan 340-702, Korea
[1]Yesan Chrysanthemum Experiment Station, Yesan 340-910, Korea
[2]Department of Plant Science and Technology, Sangmyung University, Cheonan 330-720, Korea
[3]Department of Plant Resources, Kongju National University, Yesan 340-702, Korea
(Received May 31, 2012/Revised June 13, 2012/Accepted June 18, 2012)

ABSTRACT - This study was designed to evaluate to acute oral toxicity and skin irritation of *Chrysanthemum* dye in Sprague-Dawley (SD) rats. SD rats were orally treated with *Chrysanthemum* dye at a dose of 0, 1 and 2 ml/kg body weight. After oral administration, the rats were observed for 14days. In primary skin irritation test, SD rats were dermally treated with *Chrysanthemum* dye and observed for 3 days. To ensure the safety of *Chrysanthemum* dye such as the following were observed and tested. We examined the body weight, the feed intake, the clinical signs, the ophthalmological test, the histopathological test, the mortality and skin irritation. As a result, no significant differences were found in body weight, feed intake and histopathological test between control and *Chrysanthemum* dye treated group. In the result of skin irritation test, *Chrysanthemum* dye did not induce erythema and edema after topical application. Primary irritation index was "0" in the test. Therefore, it is suggested that *Chrysanthemum* dye has no effect on acute toxicity and side effect in SD rats and is non-irritant material based on the score "0" of primary irritation index.

Key words: *Chrysanthemum*, natural dye, acute oral toxicity, skin irritation

서 론

색의 기초라 할 수 있는 염료는 크게 유기합성으로 제조한 합성염료와, 자연에 존재하는 동물, 식물, 광물로부터 유래된 천연염료로 나눌 수 있다. 합성염료는 1856년 영국의 화학자 퍼킨이 콜타르에서 처음 발견한 이후 꾸준히 개발되어 그의 다양함과 화려함, 염색공정의 간편함에 따른 대량생산이 가능하게 되었다. 그러나 합성염료의 무분별한 개발 및 생산으로 인해 환경오염을 일으키게 되었으며, 인체에 노출 시 독성을 유발할 가능성이 매우 큰 것으로 알려져 있다[1]. 천연염료는 자연에 존재하는 물질에서 그대로 또는 약간의 가공을 통해 염료로 쓸 수 있는 것을 말한다. 천연염료는 광물성, 동물성, 식물성 염료로 나뉘며, 그중에서도 식물성 염료가 가장 많으며 동물성 염료도 조금 존재하는 것으로 보고되고 있다[2]. 하지만 천연염료는 추출이 어렵고, 소재와 용도의 제한성이 있다[3]. 그러나 최근에 몇 가지 이유로 인하여 천연염색에 대한 관심이 높아져 천연염료의 개발에 많은 연구가 이루어지고 있다. 첫째, 천연염료의 색은 합성염료로 만들어진 색에서 느낄 수 없는 특유의 깊이 있고 은은하며 안정된 색채의 세계를 보여주며 둘째, 천연염료 중 많은 종류가 한약재로 사용되고 있는 등 약리작용과 해충으로 인한 인체의 피해를 막아준다. 셋째, 환경보호운동이 활발해짐에 따라 제조공정에서 공해가 적은 염색법에 관심이 높아지고 있으며 넷째, 한국고유의 것을 발굴하여 계승 발전시키는 것

*Correspondence to: Ji-Youn Jung, Department of Companion and Laboratory Animal Science, Kongju National University, Yesan Chungnam 340-702, Korea
Tel: 82-41-330-1526, Fax: 82-41-330-1529
E-mail: wangza@Kongju.ac.kr

이 중요해지고 있는 시점에서 우리나라의 색을 재현, 발전시키는데 천연염색이 기초가 되기 때문이다[4].

쌍자엽 식물 중 가장 진화된 식물분류군인 국화과 *Chrysanthemum*속 식물들은 약 23,000 여종 중에 약 30 여종이 있으며, 동양에서 재배하는 관상식물로서 가치가 높고 뛰어난 약리 효과로 동서양에서 식・약용식물로 두루 사용되어 왔다[5,6]. 국화과 *Chrysanthemum*속 식물의 대표적인 약리효과로는 항에이즈, 항균, 항진균 효과 등이 있다[7-10].

최근 천연 염료의 대량생산과 색의 재현성 및 표준화 등 단점을 보완하여 약리 작용이 우수한 국화에서 천연염료를 생산하여 실용화에 성공한다면 경제적 및 환경적 측면에서 매우 의미 있는 일이라고 생각된다. 이에 본 연구에서는 백색 국화, 백색 국화의 잎과 줄기, 황색 국화의 추출물을 이용하여 제조된 천연염료의 안전성을 확인하기 위해 랫드를 이용한 피부자극 시험 및 단회경구투여 독성시험을 실시하였다.

재료 및 방법

시험물질

본 실험에 사용된 시험 물질은 블루밍(대구, 대한민국)에서 제공한 국화 염료를 사용하였다. 백색 국화 추출물은 건조된 백색 국화 꽃잎 17.2 kg에 증류수 85 *l*를 가하여 75ºC에서 진공으로 추출하였으며, 백색 국화의 잎과 줄기 추출물은 건조된 백색 국화 잎과 줄기 28 kg에 증류수 140 *l*를 가하여 60ºC에서 진공 추출하였다. 또한 황색 국화의 추출물은 건조된 황색 국화 꽃잎 9.8 kg에 증류수 50 *l*를 가하여 82ºC에서 진공추출 하였다. 물질은 사용기간 동안 냉장 보관하였고, 투여 시 멸균증류수를 사용하여 조제하였다.

실험동물 및 사육환경

실험동물로는 8주령의 Sprague Dawley계통의 수컷 랫드를 ㈜오리엔트바이오(성남)에서 구입하여 공주대학교 특수동물학과 실험 동물실에서 약 1주간 순화시키면서 일반증상을 관찰하여 건강한 동물 21마리를 실험에 사용하였다. 순화 및 실험기간 중 사육실 환경조건은 실내온도 25 ± 2ºC, 상대습도 50 ± 10%, 환기횟수 10~12회/h, 조명시간 12시간(08:00 점등, 20:00 소등), 조도는 150~200 Lux로 유지하였다. 랫드는 폴리카보네이트 케이지에서 케이지 당 5두씩 사육하였다. 동물의 개체식별은 꼬리표시법을 사용하였으며, tag 표시법에 의해서 사육 상자를 구분하였다. 사육 상자는 시험기간, 시험명, 시험책임자명을 기재한 label을 첨부하였다. 모든 실험동물은 실험동물용 고형사료(샘타코, 오산)와 음수를 자유 급여하였다. 동물실험은 공주대학교 동물실험윤리위원회의 사전 심의를 받아 동물실험윤리위원회규정에 따라 수행하였다.

시험군의 구성, 투여용량, 조제 및 투여

순화 기간 중 건강하다고 판정된 동물에 대하여 체중을 측정하고 체중 범위에 따른 무작위법으로 군 분리를 실시하였다. 시험 군의 구성은 대조군(증류수), 국화 추출 염료의 저용량군(1 ml/kg) 그리고 고용량군(2 ml/kg)으로 분류하였다. 시험물질의 조제는 대조군은 용매제인 증류수를 사용하였고, 저용량군은 1 ml/kg, 고용량군은 2 ml/kg의 국화 추출 염료를 투여하였다. 시험물질은 블루밍에서 추출한 백색 국화 추출물, 백색 국화의 잎과 줄기 추출물, 황색 국화 추출물을 사용하였다. 시험물질의 조제는 항상 투여 직전 증류수에 균일하게 희석하여 항상 새롭게 조제하였다. 투여는 1회로 투여 전 체중을 측정한 후 그에 따른 액량을 10 ml/kg으로 계산하여 존데(Sondae)를 이용하여 위내에 직접 투여하였다.

급성경구독성시험

실험물질은 경구투여용 존데를 이용하여 랫드에 강제 급여하였다. 실험 물질 투여 직후 6시간 동안 매 시간 일반증상을 관찰하였으며, 그 후 14일간 임상증상, 체중 측정, 사료섭취량 및 음수량, 안과학적 검사, 사망률 등을 관찰하였다. 실험 물질 투여 후, 익일부터 14일까지는 모든 실험동물에 대하여 일반 임상증상 관찰을 시험기간 중 1일 1회 이상씩 실시하였고, 임상증상 항목으로서 weakening, locomotor activity, salivation, solied perineal region, contused wound의 정도를 기록하였다. 또한 사망동물의 유무를 관찰하였다. 실험동물의 체중은 모든 동물에 대하여 시험 개시일로부터 시험 종료일 까지 주 3회 측정하였다. 사료섭취량 및 음수량은 사육 상자별로 당일 급여 및 급수총량과 익일 잔량의 차를 시험개시 후 매일 측정하여 일일 사료섭취량 및 음수섭취량으로 하였다. 또한 안과학적 검사로 랫드에 투여 후 각 군당 3마리씩의 동물에 대하여 육안 및 검안경을 이용한 안과학적 검사를 실시하였다.

피부자극성평가

시험물질의 적용 24시간 전에 랫드의 등을 상처가 생기지 않도록 면도기를 이용하여 털을 제거하였다. 시험 당일 제모한 랫드의 등에 척추의 좌우 약 2 cm 떨어진 부위에 2.5 cm × 2.5 cm의 사각형을 그려 표시해 두었다. 한 마리의 랫드 등을 네 부위로 나누어 찰과부의 처치부와 대조부, 비찰과부의 처치부와 대조부로 나누었다. 랫드의 대조부에는 증류수를, 처치부에는 국화 추출 염료 0.5 ml을 피부에 골고루 도포하고, 시험부위 전체를 거즈(2.5 cm × 2.5 cm)로 덮고, 탄력붕대로 감싼 다음 종이테이프로 가장자리를 잘 고정하였다.

실험물질 도포 24시간 후 거즈를 제거하고 피부에 영향을 미치지 않도록 잔류 실험물질을 증류수로 씻어내었다. 실험물질 도포 부위를 세정 한 후 24, 48, 72시간 후에 피

Table 1. Clinical signs of male rats orally administered with *Chrysanthemum* extract

Signs observed	Groups						
	Control	White *Chrysanthemum*		White *Chrysanthemum* (leaf, stem)		Yellow *Chrysanthemum*	
	2 ml/kg	1 ml/kg	2 ml/kg	1 ml/kg	2 ml/kg	1 ml/kg	2 mlkg
Male							
Appears normal	3/3[a)]	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
Weakening	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Increase of locomotor activity	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Decrease of locomotor activity	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Salivation	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Solied perineal region	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Contused wound	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3

[a)]Number of rats with the clinical signs/total number of animals

Table 2. Mortality of male rats orally administered with *Chrysanthemum* extract

Sex	Group	Dose (mg/kg)	Hours after administration						Days after administration														Final mortality (%)
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Male	Control	2 ml/kg	0[a)]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	White *Chrysanthemum*	1 ml/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		2 ml/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	White *Chrysanthemum* (leaf, stem)	1 ml/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		2 ml/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Yellow *Chrysanthemum*	1 ml/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		2 ml/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

[a)]Number of dead animals

부 반응을 "동물용의약품 등의 독성시험기준" 상의 "피부자극반응 평가표"(Table 3)를 참고해 평가하여[12], 국화 추출 염료에 의한 피부 자극성을 피부자극지수(primary irritation index, P.I.I.)로 산출하여 판정하였다(Table 4)[11,12]. 또한 랫드를 diethyl ether를 이용하여 안락사 시킨 다음, 복대동맥으로부터 충분한 방혈을 시켰다. 대조부와 처치부의 피부를 절개하여 10% 중성 포르말린액에 고정시켰고 2주간 충분한 고정을 거친 모든 피부조직은 파라핀 포맷기(Shandon Inc, USA)에 포맷하여 마이크로톰(Shadon Inc, USA)으로 5 μm절편을 만들어 hematoxylin & Eosin (H&E) 염색을 하여 광학현미경(× 200)으로 관찰하였다.

Table 3. Grading scale of skin irritation

Description	Score
Erythema and eschar formation	
No erythema	0
Very slight erythema	1
Well-defined erythema	2
Moderate to severe erythema	3
Severe erythema (beet redness) to slight eschar Formation (injuries in depth)	4
Edema	
No edema	0
Very slight Edema (barely perceptible)	1
Slight Edema (edge of area well defined by definite raising)	2
Moderate edema (raise approximately 1 mm)	3
Severe edema (raised more than 1 mm and extending beyond the area of exposure)	4

통계학적 분석

결과에 대한 통계학적 분석은 SAS (Statistical Analysis System)를 이용하여 등분산 검정 후 one-way ANOVA에서 유의한 F값이 관찰되는 항목에 대하여 대조군과 각 투여군 사이에 유의수준 $p < 0.05$로 Dunnett's t-test를 이용하여 비교하였다. 또한, 병리조직학적으로 관찰된 병변의 발생빈도는 χ^2(Chi-square)검정을 실시하였다.

Table 4. Response categories of irritation index in rat

Category	P.I.I.[a)]
Negligible	0-0.4
Slight irritation	0.5-1.9
Moderate irritation	2.0-4.9
Severe irritation	5.0-8.0

[a)]P.I.I., primary irritation index.

결과 및 고찰

급성경구독성

Table 1은 국화 추출 염료를 경구투여한 후, 관찰한 임상증상들을 나타낸 것이다. 시험 물질 투여군에서 별다른 특이한 임상증상은 관찰되지 않았으며 실험도중 폐사한 개체도 없었다(Table 2). 따라서 국화 추출 염료의 개략의 치사량(minimal lethal dose)은 2 ml/kg 이상인 것으로 사료

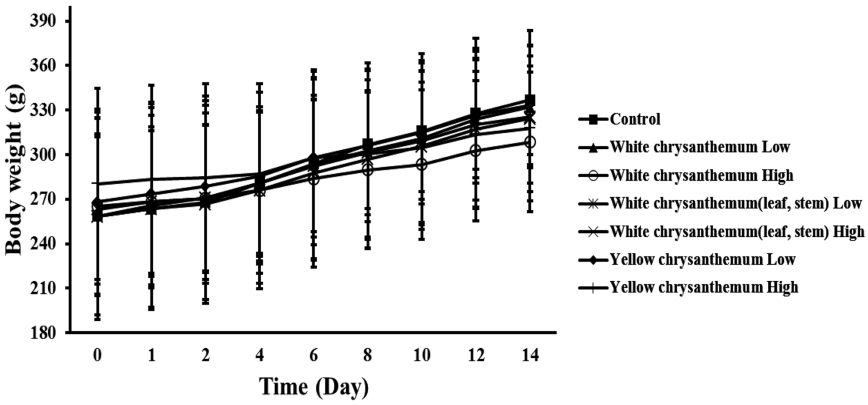

Fig. 1. Change of body weight in male rats orally administered with *Chrysanthemum* extract.

Table 5. The evaluation on skin irritation of *Chrysanthemum* extract

Sites				Control sites												Treated sited											
Shange				Erythema&eschar						Edema						Erythema&eschar						Edema					
Phase (hrs)				Intact			Abraded			Intact			Abraded			Intact			Abraded			Intact			Abraded		
				24[a]	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
Animal	D·W	2 ml/kg	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	White *Chrysanthemum*	1 ml/kg	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		2 ml/kg	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	White *Chrysanthemum* (leaf, stem)	1 ml/kg	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		2 ml/kg	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Yellow *Chrysanthemum*	1 ml/kg	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		2 ml/kg	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total score				0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mean score				0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total of mean				0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P.I.I.[b]				0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

[a]Time after topical application
[b]P.I.I. primary irritation index

된다. 실험동물의 체중은 2주간의 시험기간 동안 대조군을 포함한 모든 투여군에서 증가하였으며(Fig. 1), 시험 전체 기간 동안 아무런 임상증상도 관찰되지 않았다. 사료 및 음수섭취량에서 동물 당 일일 음수 섭취량은 대조군 및 시험물질 투여군에서 유의적인 차이를 보이지 않았지만(data not show), 사료섭취량에서는 대조군과 모든 시험물질 투여군에서 유의적인 차이를 나타내었다. 하지만 대조군 및 시험물질 투여군에서 체중이 증가하였으며, 시험물질 투여군들의 일일 사료 섭취량이 전체 평균섭취량과 유사하여 시험물질에 의한 영향은 아닌 것으로 사료된다. 시험기간 중 대조군, 백색국화 저용량군과 고용량군, 백색국화 잎과 줄기 저용량군과 고용량군, 황색국화 저용량군과 고용량군의 동물 당 평균 일일 사료 섭취량은 25.38 ± 0.76, 23.29 ± 0.55, 20.48 ± 0.53, 22.69 ± 0.52, 23.64 ± 0.74, 22.69 ± 0.57, 20.19 ± 0.34 g이었다(data not shown). 안과학적 검사소견 결과 랫드의 대조군 및 투여군 모두에서 유의할만한 이상증상은 나타내지 않았다(data not shown).

Ma 등[13]은 황토국화 열수추출물을 ICR 마우스에 2,000 mg/kg까지 투여한 결과, 이상증상 및 폐사 동물은 없었으며, 투여군의 경우, 대조군과 비교하여 체중변화, 사료섭취량, 그리고 부검소견 등에서 독성증상이 나타나지 않아, 황토국화 열수추출물의 LD_{50}는 2,000 mg/kg 이상인 것으로 보고하였다.

본 연구에서도 시험 물질 투여 후 체중 변화, 사료 섭취량, 사망률, 그리고 임상증상 등에서 대조군과 차이를 보이지 않아, Ma 등[13]의 연구결과와 같이, 국화로부터 추출한 염료는 독성이 없는 것으로 사료된다.

피부자극성

국화로부터 추출한 천연염료 3종류를 랫드의 피부에 도포하여 홍반-가피 형성에 미치는 영향을 관찰하였다. 3종류의 시험물질을 도포 한 후 거즈를 제거하고 피부에 영향을 미치지 않도록 잔류 시험물을 미온수로 씻어낸 다음, 3일간의 관찰기간 동안 비찰과 부위와 찰과 부위 모두에서 시험물질로 인한 특이한 일반증상 및 사망 예는 관찰되지 않았다. 또한 대조물질을 투여한 전 시험군의 비찰과 부위와 찰과 부위에서도 홍반-가피 현상이 관찰되지 않았다(Table 5). 시험물질 국화에서 추출한 천연염료에 대한 피부자극성을 평가한 결과, 시험물질에 기인한 일반 임상증상은 관찰 할 수 없었으며 피부 1차 자극지수는 “0”으로 국화에서 추출한 천연염료는 상기 시험 용량에서 비자극성 물질로 평가되었다. 또한 실험 종료 후 실험동물을 diethyl ether로 안락사 시켜 피부 조직을 얻어낸 후 H&E 염색을 하여 광학 현미경으로 관찰한 결과 특이한

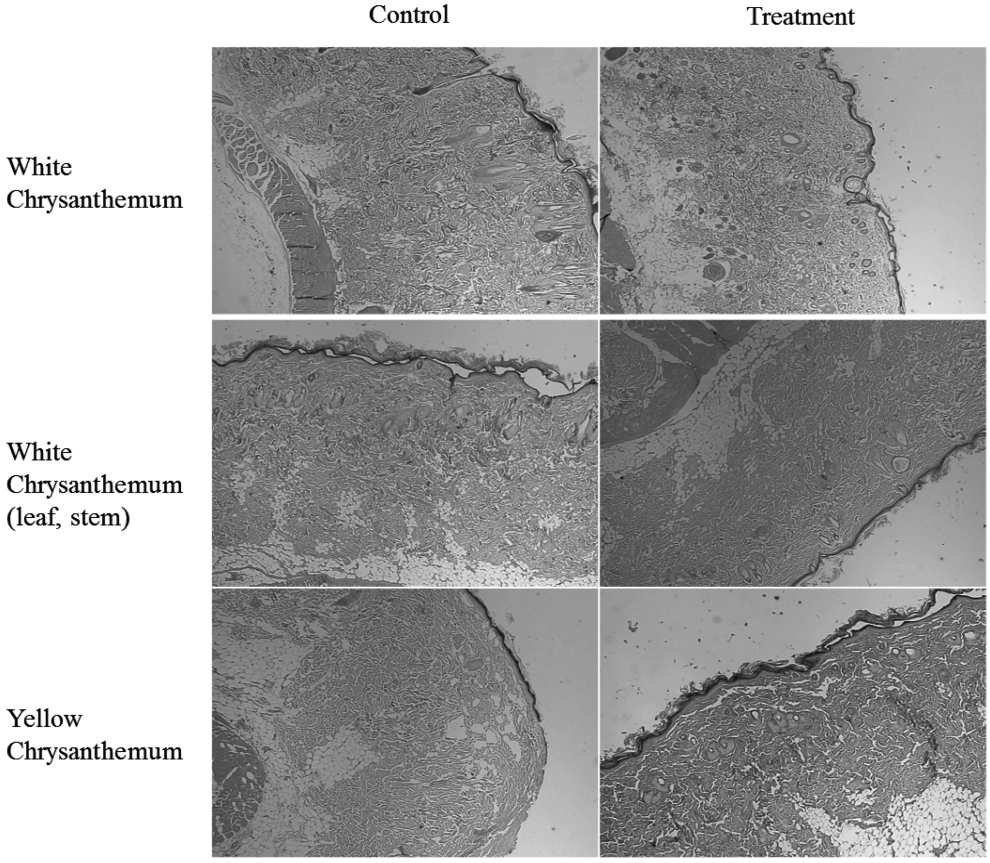

Fig. 2. Histological observation of rats treated orally with *Chrysanthemum* extract on skin tissue.

사항이 관찰되지 않았다(Fig. 2). Ma 등[14]은 황토국화를 ethyl acetat로 추출하여 ethyl acetate를 모두 증발시키고 잔사에 증류수를 가하여 50% 농도로 하여 토끼를 이용한 피부자극성 시험을 수행할 결과, 피부자극지수가 0을 나타내어 황토국화 ethyl acetate 추출물이 피부자극성이 없는 것으로 보고하였다. 본 연구 결과에서 국화추출염료가 랫드의 피부자극시험에서 홍반-가피현상, 피부자극지수, 피부 조직 관찰 등을 통해 특이한 사항이 관찰되지 않았던 것은 Ma 등[14]의 연구결과와 일치하는 결과로 사료된다.

이상의 연구 결과들로 보아, 국화로부터 추출한 염료는 개략의 치사량이 2 ml/kg 이상이며, 피부자극지수가 0으로 급성독성 및 피부자극에 의한 부작용을 유발하지 않는 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청의 연구비 지원으로 수행된 연구결과의 일부이며(Project NO. PJ007884), 이에 감사드립니다.

요 약

본 연구는 SD 계통의 랫드에서 국화 염료인 백색국화, 백색국화 잎과 줄기, 황색국화의 급성경구독성 및 피부자극성을 평가하기 위해서 시행하였다. 수컷 랫드에 처치한 물질은 백색국화, 백색국화 잎과 줄기, 황색국화를 각각 1 ml/kg, 2 ml/kg를 D.W에 용해시켜 단회 경구 투여하였으며, 수컷 SD rats에 투여 후 14일 동안 관찰하였으며, 피부자극성 시험은 피부의 찰과 및 비찰과부의 대조부, 처치부에 국화 염료를 처치하여 3일 동안 관찰하였다. 단회 경구 투여 및 피부 자극성 시험 후 국화 염료의 안전성을 확인하기 위해 체중과 사료 섭취량, 임상증상, 안과학적 검사, 사망률, 피부자극성을 관찰하고, 랫드 피부에서의 병리조직학적 변화를 관찰하였다. 체중, 사료섭취량, 병리조직학적 변화가 대조군과 비교시 유의적인 변화가 나타나지 않았다. 또한 피부자극성을 확인 한 결과 1차 자극 지수가 0으로 비자극성 물질로 분류되었다.

따라서 본 연구를 통하여 국화에서 추출한 염료가 급성 경구독성 시 안전한 물질이며, 피부 자극성을 야기 하지 않는 물질로 평가된다.

참고문헌

1. Bae, S.E., Oh, T.K. and Park, S.C.: Skin Irritation of natural dyes extracted from onion(Allium cepa). *Korean. J. Toxicol,* **13**, 161-165 (1997).
2. 이종남: 우리가 정말 알아야 할 천연염색. 현암사, 서울, pp. 16 (2004).
3. Shin, H.J.: A trend in research and development of natural gardenia pigments. *Korean J. Biotechnol. Bioeng*. **22**, 271-277 (2007)
4. Jeong, Y.O.: The dyeability of natural dye extracted from chesnut shell. *The Korean Journal Of Community Living Science,* **8**, 83-91 (1997).
5. Woo, J.H., Shin, S.L., Jeong, H.S. and Lee, C.H.: Antioxidant effect of extracts obtained from three *chrysanthemum* species. *J. Korean. Soc. Food. Sci. Nutr,* **39**, 631-636 (2010).
6. Lee, H.J., Hwang, Y.I., Park, E.J. and Choi, S.U.: Antihepatotoxic and antigenotoxic effects of herb tea composed of *chrysanthemum* morifolium ramat. *J Korean Soc Food. Sci. Nutr,* **40**, 78-83 (2011).
7. Collins, R.A., Ng, T.B., Fong, W.P., Wan, C.C. and Yeung, H.W.: A comparison of human immunodeficiency virus type 1 inhibition by partially purified aqueous extracts of Chinese medicinal herbs. *Life. Sci,* **60**, 345-351 (1997).
8. Hu, C.Q., Chen, K., Shi, Q., Kilkuskie, R.E., Cheng, Y.C. and Lee, K.H.: Anti-AIDS agents, 10. Acacetin-7-O-beta-D-galactopyranoside, an anti-HIV principle from *Chrysanthemum* morifolium and a structure-activity correlation with some related flavonoids. *J. Nat. Prod,* **57**, 42-51 (1994).
9. Sassi, A.B., Harzallah-Skhiri, F., Bourgougnon, N. and Aouni, M.: Antimicrobial activities of four tunisian *chrysanthemum* species. *Ind. J. Med. Res,* **127**, 183-192 (2008).
10. Marongiu, B., Piras, A., Porcedda, S., Tuveri, E., Laconi, S., Deidda, D. and Maxia, A.: Chemical and biological comparisons on supercritical extracts of tanacetum cinerariifolium (Trevir) Sch. Bip. with three related species of *chrysanthemum*s of sardinia (Italy). *Nat. Prod. Res,* **23**, 190-199 (2009).
11. 국립수의과학검역원: 동물용의약품 등 독성시험지침, 고시 제2009-18호, 국립수의과학검역원, 안양 (2006).
12. Rush, R.E., Bonnette, K.L., Douds, D.A. and Merriman, T.N.: Dermal irritation and sensitization. I*n* CRC *Handbook of toxicology*, 2nd Ed. (Derelanko, M.J. and Hollinger, M.A.eds.) CRC Press, Boca Raton, pp. 105-162 (1995).
13. Ma, J.Y., Park, H.Y., Choi, H., Zee, O.P. and Lee, J.H.: Acute toxicity study on Mud Chrysanthemum indicum in mice. Kor. J. Herbology, **23**, 81-85 (2008).
14. Ma, H.J., Shin, H.K., Yu, Y.B., Park, H.Y. and Ma, J.Y.: Dermal irritation study of Mud Chrysanthemum extract in rabbits. *Mol. Cell Toxicol*, **3**, 125-129 (2007).