

최 종  
연구보고서

GA 0564-05071

천마의 순환기계와 신경계질환 효능 평가  
및 기능성 식품 개발

The Effects of *Gastrodiae rhizoma* on Circulatory  
and Nervous System and Development  
of Functional Food Products

연구기관  
한국식품연구원

농 립 부



# 요 약 문

## I. 제목

천마의 순환기계와 신경계 효능평가 및 기능성 식품 개발

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

천마(天麻, *Gastrodiae rhizoma*)는 뽕나무버섯과 편리 공생하는 난초과 (*Orchidaceae*)식물에 속하는 식물 천마(*Gastrodia elata* BLUME)의 구근이다. 원명은 적전(赤箭)이며 우리나라와 중국 및 일본에서 널리 쓰이는 상용약재 중의 하나로 알려져 있다. 신농본초경(神農本草經)에는 천마가 중품(中品)으로 분류되어 있으며, 약성이 평무독(平無毒)한 약재로 알려져 있다. 주로 고혈압, 두통, 마비, 신경성질환 등의 성인병에 효능이 뛰어나다고 알려져 있으며, 최근에는 콜레스테롤 저감 효과도 보고된 바 있다. 민가에서도 일찍부터 천마를 두통과 현기증, 수족마비, 중풍, 전간(발작, 지랄병)등을 치료하는데 이용하여 왔다. 그러나 천마는 그동안 식품의약품안전청의 식품원료로 사용할 수 없는 품목규제에 묶여서 기능성식품으로 개발할 수가 없었으나, 2000년 9월1일부로 규제가 풀려서 식품의 주원료로 사용할 수 있는 품목으로 등재되어 고 기능성의 천마가공 기능성식품의 개발이 가능해졌다.

본 연구는 동의보감 및 전통한의학 등의 문헌과 예비시험을 통하여 집중적으로 살펴보기로 결정한 천마의 혈압강하효능, 콜레스테롤저감 효능, 신경계 질환 효능을 과학적으로 평가하고, 이를 이용한 기능성식품을 개발하여 국민들의 성인병 예방 및 치료 등의 보건향상 및 천마 재배농가의 소득증대에 크게 기여하는데 최종목표를 두고 있다.

### Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

#### 1. 천마의 식품학적 성분 분석

천마의 식품학적 특성을 구명하기 위하여 수확시기별로 단백질, 지방, 회분, 등의 일반 성분 및 식이섬유, 아미노산, 지방산, 무기질 등의 영양성분 그리고 주요 생리활성 물질로 알려져 있는 산성다당체 및 페놀화합물 함량을 분석하였다.

#### 2. 콜레스테롤저감 효능 평가를 위한 고지혈증 개선 시험

천마로부터 물과 에탄올 추출물, 그리고 저분자, 다당체 및 단백질 분획 등을 조제하고 천마 추출물 및 성분 분획물들의 고지방식이를 섭취한 흰쥐에서 혈청 콜레스테롤 저감효과를 살펴보았다.

#### 3. 혈압 강하 효능 평가

천마로부터 물과 에탄올 추출물, 그리고 저분자, 다당체 및 단백질 분획 등을 조제하고 천마 추출물 및 성분 분획물들의 고지방식이를 섭취한 본태성 고혈압쥐(SHR)에서 혈압강하 효과를 살펴보았다.

#### 4. 신경계 질환 효능 평가

천마로부터 물과 에탄올 추출물, 그리고 저분자, 다당체 및 단백질 분획 등을 조제하고 acetylcholinesterase 저해 효과, glutamate 또는  $\beta$ -amyloid protein 유도 독성에 대한 보호효과 등의 *In vitro* assay 및 전뇌허혈 모델(global ischemic model)에서의 보호효과와 같은 *In vivo* assay를 실시하여 천마 추출물 및 천마 성분 분획물들의 신경계 질환 효능평가를 수행하였다.

## 5. 유효 활성 물질의 분리, 정제 및 동정

천마로부터 순환기계 및 신경계 질환에 효능을 나타내는 주요 물질을 구명해보고자 천마 추출물을 한외여과, 단백질 분해효소 처리, 다당체 산화 물질 처리하여 저분자, 다당체, 단백질 분획물을 조제하여 주요효능 및 기타활성 평가를 위한 시료로 사용하였다. 아울러 활성을 나타낸 추출물 또는 분획을 대상으로 이온교환수지, gel filtration, 흡착크로마토그래피 등을 통하여 주요 활성물질을 순수 분리, 정제한 후 그 특성 및 효능을 구명하였다.

## 6. 기타 생리활성 평가

천마의 다양한 효능을 구명하기 위하여 천마 추출물과 천마 성분 분획물 등을 대상으로 면역대식세포(macrophage) 활성화능 평가, 장관면역 활성 촉진능 평가, 비장세포 증식능 등의 면역활성과 ACE 저해활성, 항산화활성 등 다양한 생리활성에 대한 기초연구를 수행하였다.

## 7. 천마의 기능성 식품 소재화 가공 공정 확립

천마를 이용한 기능성 식품개발을 위한 중간소재로 엑기스와 다양한 형태의 분말 제품의 제조공정을 확립하였다. 적정 전처리조건, 추출조건 등을 구명하여 기호성이 높은 엑기스 제품의 제조공정을 확립하였으며 분말의 경우 미분쇄, 분급 및 열풍건조, 동결건조, 분무건조, 드럼건조 등의 다양한 건조방법별로 천마 분말을 제조하고 이들의 관능적 특성 및 이화학적 특성을 구명하였다.

## 8. 유효활성이 뛰어난 다양한 형태의 기능성 식품 개발

천마엑기스를 이용하여 기호성을 높힌 음료제품 및 액상차 제품을 개발하였으며 다양한 천마 분말 소재를 활용하여 천마 과립차를 개발하였으며 이들의 제

조공정을 확립하였다.

## IV. 연구개발 결과 및 활용에 관한 건의

### 1. 천마의 식품학적 성분 분석

천마의 수확시기별 이화학적 성분 조성을 살펴봄으로서 식품가공 시 활용될 수 있는 자료를 제공하고자 수확시기별로 동결건조한 천마분말의 일반성분, 식이섬유, 아미노산, 무기질 등의 영양성분 및 산성다당체, 페놀 성분 등 생리활성물질의 함량을 비교 검토하였다. 봄과 가을천마의 조단백질 함량은 각각 3.6%와 4.5%, 조지방은 0.4%와 0.7%, 조회분은 3.1%와 2.4%이었다. 총식이섬유 함량은 봄천마가 5.0%로 가을천마의 4.1%보다 다소 높았다. 무기질 조성은 봄과 가을 천마 모두 칼륨의 함량이 10.0 mg/g과 7.7 mg/g으로 가장 높게 나타났으며 그 밖의 무기질 조성은 유사하였다. 아미노산 역시 봄과 가을 천마 모두 아스파르트산과 글루탐산의 함량이 가장 높았으며 그 다음으로 글리신, 세린의 함량이 비교적 높게 나타났다. 그 밖에 아미노산 조성은 큰 차이를 나타내지 않았다. 봄과 가을천마의 수용성 총당 함량은 각각 59.2%와 43.8%이었으며 이중 환원당은 20.8%와 15.2%의 함량을 나타내어 봄천마의 당류 함량이 다소 높게 나타났다. 또한 산성다당체의 함량도 봄천마가 7.3%로 가을천마의 5.3%에 비해 다소 높게 나타났다. 반면 총페놀 함량은 각각 2.6%와 4.2%로 나타나 가을천마의 총페놀 함량이 높은 것으로 나타났으며 페놀성분의 조성을 보면 4-hydroxybenzyl alcohol이 주요성분이었으며 4-hydroxybenzaldehyde, vanillin 등이 일부 검출되었다.

## 2. 콜레스테롤저감 효능 평가를 위한 고지혈증 개선 시험

고지방 식이를 급여한 흰쥐에서 천마의 분말, 50% 에탄올 및 열수추출물, 천마성분 분획물 등이 혈중 콜레스테롤 함량에 미치는 영향을 체중증가율, 장기무게, 혈청지질과 테스토스테론농도, 혈당치 및 정소상체지방패드(EFP) 등을 조사하여 구명하였다. 천마 분말과 추출물을 이용한 실험에서 체중증가율은 식이군간 통계적인 차이는 없었지만 대조군과 열수추출물군이 높았고, 그 외 천마식이군은 비슷하였다. 혈청지질 중 TC와 TG농도는 두 대조군에서 높게 나타났으며 열수 추출물군이 유의하게 낮았다. HDL-콜레스테롤 농도는 천마식이군중 50% 에탄올 추출물군이 가장 높았고 대조군이 가장 낮았다. LDL+ VLDL-콜레스테롤 농도는 대조군이 가장 높았고 천마 식이군 중에서는 50% 에탄올추출물군과 열수추출물군이 유의하게 낮았다. 테스토스테론농도는 식이군 간에 통계적인 차이는 없었으며 혈당치는 열수추출물군이 통계적으로 가장 낮았다. 체지방의 축적정도를 나타내는 EFP무게는 두 대조군이 천마식이군 보다 유의하게 높았고 천마분말군과 열수추출물군이 유의하게 낮았다. 천마추출물로부터 저분자, 단백질 및 다당체 분획을 조제하고 천마 분획물들이 혈청 지질함량과 동맥경화유발지수 등에 미치는 영향을 조사하였다. 시험 종료체중은 고지방대조군이 천마분획물군들 보다 평균 44 g 정도 높았지만 통계적인 차이는 없었으며 증체량, 식이섭취량 및 식이효율 역시 유의적인 차이가 없었다. 실험종료시 측정된 혈청 지질 중 TC와 TG농도는 다당체 분획을 투여한 경우에 고지방대조군에 비해 각각 21.5와 39.6% 낮았으며 HDL-콜레스테롤은 단백질분획에서 가장 높았고 LDL-콜레스테롤은 천마분획물 투여군에서 고지방대조군보다 유의하게 낮았다. 동맥경화위험지수는 단백질분획이 1.45로 다른 천마성분 분획의 1.94~2.05, 대조군의 2.12에 비해 가장 낮았다. 이상의 결과로 볼 때 천마로부터 조제한 50% 에탄올추출물과 열수추출물군은 고지방식이를 급여함에도 혈청지질과 체지방의 축적을 감소시

키는 효과가 있음을 확인하였으며 특히 천마 다당체 또는 단백질분획 같은 수용성 고분자분획의 경우 혈중 지질함량 및 조성을 개선시키는 효과가 높게 나타났다.

### 3. 혈압 강하 효능 평가

천마가 혈압에 미치는 영향을 평가하기 위하여 본태성고혈압쥐(SHR/NCrj)를 공시하여 고지방식이(lard, 10%)를 급여하면서 천마 분말, 에탄올과 열수추출물, 천마 분획물들이 수축기혈압에 미치는 영향을 조사하였다. 실험은 4주간 고지방식이 투여하는 1기와 고지방식이와 천마식이를 4주간 동시에 투여한 2기로 나누어 수행하였다. 천마 분말과 추출물의 효과를 살펴본 결과, 종료체중은 대조군이 통계적으로 가장 높았고, 천마분말 1% 투여군이 가장 낮았다. 평균 성장률은 식이군간 큰 차이가 없었으나 대조군이 천마식이군에 비해 다소 높았다. 식이섭취량은 천마분말 10%군과 열수추출물 2 °Bx군이 가장 많았고 천마분말 5%군과 열수추출물 10 °Bx군이 유의하게 낮았다. 장기 중 간장과 신장무게는 열수추출물군이 유의하게 작았고, 비장무게는 차이가 없었다. 정소무게는 천마분말군이 유의하게 높았고, 열수추출물군이 가장 낮았다. 혈청지질중 TC함량은 대조군이 가장 높았고, 천마식이군이 유의하게 낮았다. TG함량은 식이군간 통계적인 차이가 없었다. HDL-콜레스테롤 함량은 대조군과 천마분말 5%군을 제외한 천마식이군이 유의하게 높은 반면, LDL-콜레스테롤 함량은 대조군이 가장 높았고, 열수추출물군이 유의하게 낮았다. 천마식이를 급여하기 SHR의 기준혈압은 176.7~195.1 mmHg 범위이었으며, 전체 평균혈압은  $185.7 \pm 5.8$  mmHg이었다. 천마식이 급여한 후 14일이 경과시 50% 에탄올추출물군과 열수추출물군에서 혈압이 각각 9.5~19.0 mmHg 감소하였고, 특히 28일에는 50% 에탄올추출물군들에서 10.5~13.1 mmHg로 유의하게 감소하였다. 천마식이 급여 전 기준혈압 대비 50% 에탄올과 열수추출



물군들에서 11.7~20.2 mmHg 정도도 혈압이 감소하였다. 이상의 결과에서 고지방식이를 급여한 SHR 실험쥐의 혈압강하에 천마의 50% 에탄올추출물이 천마의 분말식이 및 열수추출물에 비해 수축기혈압을 유의하게 감소시킨 것으로 나타났다. 천마분획물이 본태성고혈압쥐(SHR/NCrj)의 혈압과 혈청 지질농도에 미치는 영향을 평가한 결과, 시험종료 체중은 대조군이 천마분획물군보다 통계적으로 높았으며, 식이섭취량은 대조군이 천마분획물군보다 많았다. 혈청 지질중 TC농도는 천마분획물군에서는 비슷하였고, 대조군이 유의하게 높았다. TG농도는 천마 저분자 분획과 다당체 분획에서 대조군에 비해 각각 16와 19% 낮았다. HDL-콜레스테롤 농도는 다당체분획이 대조군에 비해서 각각 21% 높았으며, LDL-콜레스테롤 농도는 약 25% 정도 낮았다. AI는 천마분획물이 유의하게 낮았고 특히 다당체분획은 고지방대조군에 비해 42% 정도 낮은 값을 나타내었다. 기준혈압 대비 5주후 혈압은 천마분획물에서 1.7~5.5% 감소하였고 대조군은 2.6% 증가하였다. 시험 5주의 고지방대조군 대비 천마 다당체분획의 혈압은 약 22 mmHg 정도 낮았다. 이상의 결과에서 고지방식이를 급여한 SHR 실험쥐의 혈압강하에 천마의 50% 에탄올추출물이 천마의 분말식이 및 열수추출물에 비해 수축기혈압을 유의하게 감소시킨 것으로 판단되었으나 분획물을 이용한 실험결과에서는 천마성분중 특히 다당체분획의 경우 TG와 LDL-콜레스테롤은 감소시키고, HDL-콜레스테롤은 증가시켜 AI를 저하시키는 효과가 있었으며 혈압감소에도 유의한 영향을 미침을 확인하였다.

#### 4. 허혈성 신경세포 손상에 대한 천마의 보호효과

시험관내 모델과 생체 내 모델에서 천마 추출물 및 분획물의 신경세포 손상에 대한 보호효과를 살펴보았다. SK-N-SH 및 PC12 세포에서 산소-포도당 결핍 유발 또는 glutamate 유발 신경세포 독성에 미치는 천마 추출물의

영향을 살펴본 결과, 1~100  $\mu\text{g/ml}$  범위의 천마 물 및 에탄올 추출물은 일부 농도에서는 산소-포도당 결핍 유발 신경세포손상에 대해 나타내는 효과를 나타내었으나 그 활성의 정도는 낮았다. 천마 추출물의 용매 분획 및 컬럼 크로마토그래피 분획이 시험관내 허혈 유발 신경세포손상에 미치는 영향을 살펴본 결과에서는 알코올 추출물과 에틸아세테이트 분획으로부터 컬럼 크로마토그래피를 통해 얻은 3, 5 분획에서 활성이 비교적 높았다. 전뇌 허혈 모델에서 물과 에탄올 추출물을 경구 또는 복강으로 투여한 결과, 천마 투여군의 hippocampus CA1 부위의 1 mm 절편당 살아있는 pyramidal neuron의 수는 허혈유발 대조군과 비교할 때 유의적인 차이가 없었다. 국소 대뇌 허혈 모델에서 천마 추출물이 뇌경색 면적에 미치는 영향을 살펴본 결과, 100 mg/kg 및 300 mg/kg 천마 투여군의 경색면적은 각각  $23.2 \pm 3.14$  및  $20.7 \pm 2.9$  로 MCAO 대조군의 경색면적( $22.7 \pm 2.62$ )과 유의적인 차이가 없었다.

## 5. 유효 활성 물질의 분리, 정제 및 동정

콜레스테롤저감 효과 및 혈압강하 효과 등이 있었던 에탄올 가용성저분자 분획과 수용성 다당체 분획으로부터 유효성분을 분리, 정제하고 그 특성 살펴 보았다. 에탄올 가용성 저분자 분획의 경우 4.63%로 가장 높은 총 페놀함량을 나타내었으며 TLC와 HPLC를 이용하여 천마의 주요 페놀성분인 4-hydroxybenzyl alcohol과 4-hydroxybenzaldehyde이 각각 0.99와 0.16% 존재함 확인하였다. 천마 에탄올 추출물을 용매분획하고 에틸아세테이트 희분을 silica gel column chromatography하여 5개의 희분을 조제하였다. 이를 신경계 효능평가용 시료로 사용하였다. 천마물추출물로 부터 제조한 조다당체 분획으로부터 DEAE-Sephacryl CL-6B anion exchange chromatography와 Sephacryl S-300-HR gel filtration을 이용하여 한 개의 산성다당체 분획을

조제하였으며 수율은 15.8% 정도이었다. 천마로 부터 분리, 정제한 산성다당체의 구성 단당류 조성을 TLC로 확인한 결과에서는 xylose, glucose 등의 중성당과 산성당인 galacturonic acid 등을 확인할 수 있었다.

## 6. 기타 주요 생리활성에 대한 천마분획들의 효능 평가

천마 추출물 및 천마 분획물들이 angiotensin converting enzyme (ACE) 저해활성, 혈액 항응고 활성, 장관면역활성, tyrosinase 저해활성, 항산화 활성 등에 미치는 영향을 조사하였다. ACE 저해 활성의 경우 단백질 분획에서만 높지는 않았으나 약 68.2%의 저해활성을 나타내었다. 항혈액응고 활성의 경우 시험한 모든 천마 추출, 분획물들에서 활성이 나타나지 않았다. 면역활성을 살펴본 결과에서는 천마 열수추출물에서 비교적 높은 macrophage 세포의 활성도가 나타났으나 장관면역계 및 비장세포의 활성에는 시험한 모든 천마균이 큰 영향을 나타내지 못하였다. 천마추출물과 천마 주요페놀성분의 tyrosinase 저해활성을 살펴본 결과에서는 유효성분인 4-hydroxybenzyl alcohol과 4-hydroxybenzaldehyde은 tyrosinase 활성을 저해한 반면 천마 분획물들은 오히려 활성을 다소 증대시키는 것으로 나타났다. ABTS 자유기 소거능을 조사한 결과에서는 에탄올 가용성 저분자 분획에서만 20% 이상의 ABTS 소거활성을 나타내었고 DPPH 라디칼 소거능 역시 에탄올 가용성 획분에서 40~55%의 라디칼 소거능을 나타내었다.

## 7. 천마의 기능성 식품 소재화 및 가공제품 개발

동결건조, 열풍건조, 드럼건조, 분무건조 등 건조방법을 달리하여 천마 분말을 제조하고 그 특성을 살펴보았다. 수분 함량의 경우 분무건조한 분말이 가장 높았고 갈변도 역시 가장 높았다. 용해도는 드럼건조한 경우에 78.4%로 가장

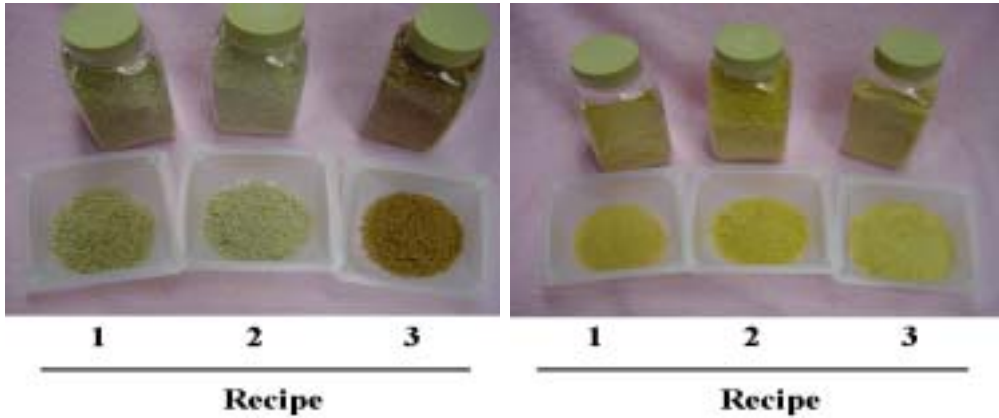
높게 나타났다. 다만 분무 건조한 천마의 경우 분무건조 시 유화제 등 부재료를 첨가함으로써 용해도를 더 증대시킬 수 있을 것으로 판단되었다. 산성당과 페놀화합물함량은 분무건조한 분말이 가장 높았다. 천마를 초미분쇄한 공기분급한 결과 천마 구성성분의 농축이 어느 정도 일어남을 확인 할 수 있었으며 10,000rpm 미분의 경우 좁은 입도분포, 높은 수율, 조단백질, 총당류 및 산성 다당체 함량을 나타내었다. 천마 엑시스 제조를 위한 전처리 조건을 살펴본 결과 200℃에서 20분 정도 볶음처리할 경우 천마 추출물의 관능적 품질개선, 추출물의 수율 향상, 유용성분의 함량 증대 등을 기대할 수 있었다. 추출조건으로는 증류수만을 이용하여 열수로 3시간 정도, 2회 추출하는 것이 가장 바람직하였다. 천마엑상차(40°Bx)의 적정 천마 첨가농도는 16%(60°Bx concentrate) 정도 이었으며 천마 음료의 경우에는 약 1~2% 정도 이었다. 천마 엑상차와 음료의 최종 배합비와 제품의 형태는 아래와 같다.

	Liquid type tea	Drink
<i>G.R.</i> Concentrate(60 °Bx)	16 g	100 ml
Pure water	46.8 ml	1 g
Concentrate A(65 °Bx)	2.9 g	1 g
Concentrate B(68 °Bx)	1.2 g	13 g
High fructose syrup(75 °Bx)	26 g	3 g
Oligo-sugar(commercial)	6.2 g	0.2 g
Vitamin	5.0 mg	0.05 g
Citric acid	4.0 mg	0.05 g



천마 미분쇄 분말과 분무건조 분말에 함수결정 포도당 및 기타 원부재료를 혼합하고 과립성형기를 이용하여 그냥 섭취하는 형태와(Type 1)와 음료에 타서 음용하는 형태(Type 2)로 하여 제품을 개발하였다. 본 연구에서 결정한 각 제품의 최종 배합비와 제품 형태는 아래와 같다.

	Type	
	1	2
<i>G. R. powder</i>	30 g	30 g
Glucose	70 g	67 g
Concentrate A		10 g
Concentrate B	10 g	
Vitamin	0.2 g	3.01 g
Flavor		1 g



## 8. 연구개발 활용에 관한 건의

천마의 수확시기별 천마 성분 비교 결과, 봄과 가을에 수확한 천마의 경우 주요 생리활성 성분인 산성다당체와 페놀함량에서 상반된 차이를 나타내었다. 따라서 이러한 연구결과는 향후 지속적인 연구가 뒤따라야 하겠지만 천마의 효능별 제품개발을 위한 자료로 활용 가능할 것으로 판단되었다.

본 연구에서 중점적으로 살펴본 콜레스테롤저감 효과 및 혈압강하 효과에 있어 천마의 효능이 입증되었으며 이러한 효능을 나타내는 주요 성분으로 기존에 잘 알려져 있는 페놀류 이외에 수용성 고분자 물질인 산성다당체가 주요한 역할을 하는 것으로 나타났으며 천마 산성다당체를 분리, 정제하여 그 특성을 일부 구명하였다. 따라서 천마의 순환기계 질환에 대한 효능에 대한 꾸준한 연구발표를 통해 천마의 우수성을 널리 홍보하고 이를 이용한 다양한 가공제품의 개발한다면 천마의 부가가치 증대 및 농가의 소득증대에 기여할 있을 것으로 생각된다. 또한 분리된 산성다당체의 특성 연구 및 이를 이용한 다양한 효능연구도 필요할 것으로 생각되었다.

천마의 경우 오래전부터 중풍이나 두통, 마비 등의 신경성 질환을 치료하는 약재로 널리 이용되어져 왔으나 본 연구에서 조사한 허혈성 신경세포손상 모델에서는 큰 효과가 없는 것으로 나타났다. 이후 천마의 신경성 질환에 대한 효

능을 구명하기 위한 새로운 실험모델에서의 연구가 필요할 것으로 판단되었다.

천마의 다양한 효능을 평가하기 위한 연구에서 ACE 저해 활성은 단백질 분획에서, macrophage 세포의 활성화도 열수추출물에서 활성을 나타내었다. 또한 천마의 주요페놀성분인 4-hydroxybenzyl alcohol과 4-hydroxybenzaldehyde 등은 미백과 관련이 큰 tyrosinase 저해활성을, 알코올가용성 저분자 분획에서는 항산화 활성을 나타내었다. 따라서 이와 같은 다양한 활성에 대한 보다 체계적인 연구가 필요할 것으로 판단되었다.

이상의 성분분석이나 효능에 관한 연구결과 10여 편의 학술논문 발표 및 학술지 투고를 통해 발표하였다.

천마를 이용한 다양한 소재 및 제품개발 연구에서 용해도와 기호성이 우수한 천마 분말과 엑기스를 제조하였으며 이를 이용하여 최근 많이 판매되고 있는 액상차, 음료 및 과립차 형태의 제품을 개발하였다. 특히 과립차의 경우 기존 엑기스를 이용한 과립차와 달리 천마 분말을 그대로 이용한 장점이 있어 상품화 가능성이 높다고 판단되어졌다. 현재 천마 주요 생산지에 있는 업체와 제품의 상품화를 위한 협의를 진행 중에 있으며 향후 천마 제품의 단점인 기호도를 개선하기 위한 노력을 지속하면서 다양한 제품의 상품화를 추진하고자 한다.

## SUMMARY

### 1. Chemical Composition of *Gastrodiae rhizoma* according to harvest time

The crude protein, crude fat, crude ash contents of *Gastrodiae rhizoma* were 3.58%, 4.50%, 0.36% of spring and 0.89%, 3.06%, 2.43% of fall respectively. The total dietary fiber of spring was 5.00%, higher than 4.12% of fall. The potassium was the highest mineral found in 9.96mg/g of spring and 4.33mg/g of fall. Glutamic acid and aspartic acid were major amino acids in all *Gastrodiae rhizoma*. Total water soluble sugar and acidic polysaccharide contents of spring were 59.16% and 7.27%, higher than 43.80% and 5.29% of fall. Total phenolic compound content, however, was 4.20% of fall, higher than 2.59% of spring. The major phenolic compounds were 4-hydroxybenzyl alcohol in all *Gastrodiae rhizoma* and also 4-hydroxybenzaldehyde and vanillin were detected.

### 2. Effect of *Gastrodiae rhizoma* on serum lipid concentrations in rats fed with high fat diet

This study was carried out to investigate the effect of *Gastrodiae rhizoma* on serum lipids and body fat in rats(Sprague–Dawley) fed high–fat diet. As the result of investigation on the effects of *Gastrodiae rhizoma*(G.R.) powder and extract, body weight gain did not differ significantly among dietary groups, but a little higher in groups of two control and water ext. group. Organ weights of liver, spleen, kidney and testes were statistically significant among dietary groups. Serum total



cholesterol and triglyceride concentrations were markedly higher in two control groups than 10°Bx water ext. group. Serum HDL-cholesterol concentration was significantly higher in 2°Bx ethanol ext. group and lower in control. Serum LDL+VLDL-cholesterol concentration was significantly lower in 2°Bx ethanol ext and water ext. group. There are no significant differences in serum testosterone level, but higher in groups of 2°Bx ethanol ext., 5% powder and 10°Bx water ext. groups. Blood glucose level was significantly higher in group positive control and 10°Bx water ext., whereas 10°Bx water ext. group was lower. Epididymal fat pad(EFP) was markedly higher in control groups than groups fed *G.R.* dietary groups.

As the result of investigation on the effect of *G.R.* fractions on serum lipid profiles and atherogenic index (AI) in male S.D. rats fed high fat diet body weight gain, diet intake and feed efficiency ratio did not differ significantly among groups during the experimental period, but final body weight was on the average 44 g higher in control compared with three *G.R.* Fr. of *G.R.*. TC and TG levels of low molecular Fr. in compared with control were decreased by on the average 21.5% and 39.6%, respectively. HDL-cholesterol level was markedly higher in protein Fr. than polysaccharide and protein Fr. of *G.R.*. LDL-cholesterol levels of *G.R.* Fr. groups were significantly lower than control. AI was significantly lower in polysaccharide Fr. of 1.45 than other two *G.R.* of 1.94~2.05 and control of 2.12. The results indicated that ethanol and water extracts of *G.R.* were shown to decrease serum lipids(TC, TG, LDL+VLDL) and body fat, but to increase serum HDL and testosterone

levels in rats. Especially, it was suggested that water soluble and high molecular weight components of *G.R.* like polysacchride and protein were considered as functional components for improving hyper lipidemia.

### **3. Effect of *Gastrodiae rhizoma* components on systolic blood pressure and serum lipid concentrations in spontaneously hypertensive rats fed high fat diet**

This study was carried out to investigate the effect of *Gastrodiae rhizoma*(*G.R.*) on blood pressure-lowering in spontaneously hypertensive rats(SHR) fed high-fat diet. For investigation on effects of *G.R.* powder and extract, forty of male SHR weighing approximately 100 g were randomly divided into eight groups; A: negative control (lard 10%), B: positive control(lard 10% + basal diet + 5 brix water extract), C: lard 10% + 1% *G.R.* powder, D: lard 10% + 5% *G.R.* powder, E: lard 10% + 2 brix 50% ethanol extract, F: lard 10% + 10 brix 50% ethanol extract, G: lard 10% + 2 brix water extract, H: lard 10 % + 10 brix water extract. A gain in weight did not differ significantly among dietary groups, but a little higher in control groups than in *G.R.* dietary groups. Except for spleen, weights of liver, kidney and testes are statistically significant among dietary groups. Serum total cholesterol concentration was markedly higher in control groups than in *G.R.* groups, however, there was no significant difference in serum triglyceride. Except for group A and group D, serum HDL concentration was significantly higher in *G.R.* groups. On the other hand, serum LDL concentration was significantly higher in two control groups and markedly lower in hot

water extract groups of *G.R.*. Reference systolic blood pressure(BP) showed average  $185.7 \pm 5.8$  mmHg for 4 weeks after feeding high-fat diet, and the pressure was measured on every 7 days intervals after feeding of *G.R.* diet. Comparing with reference BP before feeding of *G.R.* diet, the groups of 50% ethanol(E, F) and water(G) extracts on BP level after 28 days were shown to be reduced at 16.8, 20.2 and 11.7 mmHg, respectively. When the pressure(187 mmHg) of group A was considered as 100%, the reduction rate of BP in group F was 11%(20.5 mmHg). As result of investigations on the effect of *G. R.* fractions on blood pressure and serum lipid profiles, the final weight of control group was higher than in three *G. R.* fractions groups. Serum TC level was markedly higher in control groups than in *G. R.* fractions groups and serum TG level of low molecular Fr. and polysaccharide Fr. group were lower by 16 and 11% respectively than control group. HDL level was significantly higher in polysaccharide Fr.. Whereas, LDL level was significantly higher in control group by 25% compared to polysaccharide Fr. group. In terms of atherogenic index(AI), *G. R.* fractions groups were significantly lower than in control. Reference blood pressure(RBP) showed average 180~190 mmHg at 8 weeks old after feeding of high fat diet for 3 weeks. Compared with RBP, final blood pressure of *G. R.* Fr. group after 35 days were shown to be decreased by 1.7, 5.5 and 3.6%, respectively but high fat diet group(control) was shown increase of 2.6%. Especially, final blood pressure of *G. R.* polysaccharide groups was lower by 22 mmHg than control group. These results indicated that the groups treated with *G. R.* extracts showed to have lower blood pressure level. Especially

polysacchride fractions of *G.R.* may desirably influenced blood serum lipid profiles and was considered as effective lowering of blood pressure.

#### **4. Neuroprotective effects of *Gastrodiae rhizoma* against ischemic brain injury**

*Gastrodiae rhizoma* has been used traditionally for the treatment of various neulologic symptoms. As well, it has been reported to show antioxidant, glutamate antagonistic and GABA agonistic effects. Therefore we hypothesized that *Gastrodiae rhizoma* has the neuroprotective effect against ischemic brain injury in the *in vitro* and *in vivo* experimental models. In order to test this hypothesis, extracts and fractionates from *Gastrodiae rhizoma* were obtained and then the neuroprotective effects of them were examined using two *in vitro* models and two *in vivo* global/focal ischemia models. The human neuroblastoma cells, SK-N-SH, and rat phcochrocytoma cells, PC12 were incubated with or without extracts for 48 h and then exposed to oxygen-glucose deprivation or glutamate. To produce *in vivo* transient global ischemia, both common carotid arteries of the gerbils were occluded for 5 min with microaneurysmal clips. The gerbils were treated with extract intraperitoneally or orally at dose of 100~500 mg/kg at 3 different times (30 min before ischemia, immediately after reperfusion, and 2 h after reperfusion), and the neuronal cell damage in the hippocampal CA1 region was evaluated quantitatively 7 days after brain ischemia. In addition, focal cerebral ischemia in SD rats was produced by right-sided endovascular

middle cerebral artery occlusion (MCAO) and the total volume of infarction was determined by 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride staining. As a result, the cell death of SK-N-SH and PC12 following oxygen-glucose deprivation or glutamate was not affected by the treatments of 1–100 µg/ml extracts from *Gastrodiae rhizoma*. Among different solvent fractions, ethanol fraction exhibited the highest activity. Further activity-guided fractionation of ethanol fraction showed that the neuroprotective activities of fraction 3 and 5 were higher than those of any other fractions. Administration of extracts (p.o., i.p.) obtained from *Gastrodiae rhizoma* did not increase the number of surviving cells/mm of the CA1 region in transient global ischemia model. Additionally, alcohol extracts from *Gastrodiae rhizoma* (100 and 300 mg/kg, i.p.) was not effective to reduce the size of infarction after ischemic insults in focal ischemia model. Taken together, it is likely that *Gastrodiae rhizoma* might have no or inappreciable neuroprotective potential against cerebral ischemic damage in our experimental condition.

## **5. Purification, identification and physicochemical properties of active compounds in *Gastrodiae rhizoma***

The active compounds with lowering activities of systolic blood pressure and serum lipid concentrations were purified and isolated from *Gastrodiae rhizoma* extracts and their physicochemical properties were investigated. The highest content of total phenolic compounds was found in ethanol soluble low molecular fraction. The two major phenolic compound, 4-hydroxybenzyl alcohol of 0.99% and 4-hydroxybenzaldehyde

of 0.16% in ethanol soluble low molecular fraction were detected by TLC and HPLC. One fraction of acidic polysaccharide was isolated and purified by DEAE–Sephacryl CL–6B anion exchange chromatography and Sephacryl S–300–HR gel filtration. The content of acidic polysaccharide in water extract of *Gastrodiae rhizoma* was 15.8%. Xylose, glucose and galacturonic acid as component sugars were detected in acidic polysaccharide purified from *Gastrodiae rhizoma*.

## **6. Other functionalities in *Gastrodiae rhizoma***

The various functionalities like angiotensin converting enzyme(ACE) inhibiting activity, anticoagulant activity, immune system modulating activities, tyrosinase inhibiting activity, antioxidative activity in extracts or component fractions of *Gastrodiae rhizoma* were investigated. Protein fraction and water extracts fraction were shown 68.2% of ACE inhibiting activity and relatively high macrophage lysosomal enzyme activity respectively. But all tested sample were not effective on anticoagulant activity and other immune system modulating activities. Two major phenolic compounds, 4–hydroxybenzyl alcohol and 4–hydroxybenz aldehyde, inhibited tyrosinase and ethanol soluble fraction was revealed ABTS radical scavenging activity of above 20% and DPPH scavenging activity of 40~55%.

## **7. Development of functional food products**

In investigation on physicochemical properties of powder products produced by different drying methods using *Gastrodiae rhizoma*, it was

confirmed that high water contents, browning index value, high acidic polysaccharide and phenolic compounds contents in spray drying powder. But solubility of drum drying powder was shown highest values of 78.4%. Powder product of fine fractions at 10,000rpm produced by jet milling and air classifying process was shown high yield of above 80%, narrow particle size distribution, high contents of crude protein, sugars and acidic polysaccharide. It was proper to roast for 20min at 200°C for flavor improvement, maximum extraction yield and high contents of active compounds. Extraction twice with only water was proper to produce concentrate product with high yield and active compound contents. One liquid type tea (approx. 40°Bx) and drink products were developed using concentrate. Two type granule tea were also developed using jet-milling and spray drying powders.

# CONTENTS

Summary .....	16
Contents .....	24
Chap. 1. Outline on research project .....	31
1. Objective .....	31
2. Significance .....	31
Chap. 2. Present state .....	36
1. Present state of <i>Gastrodiae rhizoma</i> production .....	36
2. Domestic and foreign studies on <i>Gastrodiae rhizoma</i> .....	36
Chap. 3. Scopes and results of project .....	41
1. Chemical Composition of <i>Gastrodiae rhizoma</i> according to harvest time .....	41
1) Introduction .....	41
2) Material and methods .....	41
3) Results and discussion .....	45
4) Reference .....	51
2. Effect of <i>Gastrodiae rhizoma</i> on serum lipid concentrations in rats fed with high fat diet .....	54
1) Introduction .....	54
2) Material and methods .....	55
3) Results and discussion .....	59
4) Reference .....	75
3. Effect of <i>Gastrodiae rhizoma</i> on systolic blood pressure and serum lipid concentrations in spontaneously hypertensive rats .....	78
1) Introduction .....	78
2) Material and methods .....	79
3) Results and discussion .....	81



4) Reference .....	96
4. Neuroprotective effects of <i>Gastrodiae rhizoma</i> against ischemic brain injury .....	101
1) Introduction .....	101
2) Material and methods .....	102
3) Results and discussion .....	108
4) Reference .....	123
5. Purification, identification and physicochemical properties of active compounds in <i>Gastrodiae rhizoma</i> .....	126
1) Introduction .....	126
2) Material and methods .....	127
3) Results and discussion .....	129
4) Reference .....	137
6. Other functionalities in <i>Gastrodiae rhizoma</i> .....	139
1) Introduction .....	139
2) Material and methods .....	139
3) Results and discussion .....	143
4) Reference .....	153
7. Development of functional food products .....	156
1) Introduction .....	156
2) Material and methods .....	157
3) Results and discussion .....	161
4) Reference .....	195
Chap. 4. Attainment and contribution .....	198
Chap. 5. Proposal for application .....	201

# 목 차

요약문 .....	3
Summary .....	16
Contents .....	24
목차 .....	26
제 1 장 연구개발과제의 개요 .....	31
제 1 절 연구개발 목적 .....	31
제 2 절 연구개발의 필요성 .....	31
제 2 장 국내외 기술현황 .....	36
제 1 절 천마의 국내 생산현황 .....	36
제 2 절 국내외 기술개발 현황 .....	39
제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과 .....	41
제 1 절 천마의 식품학적 분석 .....	41
1. 서론 .....	41
2. 재료 및 방법 .....	41
가. 재료 .....	41
나. 일반성분 분석 .....	42
다. 식이섬유 함량 .....	42
라. 아미노산 분석 .....	42
마. 무기질 분석 .....	43
바. 총당 및 산성당 분석 .....	43
사. 환원당 분석 .....	44
아. 유리당 조성 .....	44
자. 총 페놀함량 및 페놀조성 분석 .....	44
3. 결과 및 고찰 .....	45
가. 일반성분 .....	45

나. 총식이섭유 .....	46
다. 아미노산 조성 .....	46
라. 무기질 조성 .....	46
마. 총당 및 산성다당체 함량 .....	48
바. 유리당 조성 .....	49
사. 총페놀함량 및 페놀성분 분석 .....	50
4. 참고문헌 .....	51
제 2 절 콜레스테롤 저감 효능 평가를 위한 고지혈증개선 시험 ..	54
1. 서론 .....	54
2. 재료 및 방법 .....	55
가. 재료 .....	55
나. 천마추출물 조제 .....	55
다. 천마성분 분획물 .....	56
라. 실험식이 .....	57
마. 실험동물 .....	58
바. 조사항목과 분석방법 .....	58
사. 통계분석 .....	59
3. 결과 및 고찰 .....	59
가. 천마분말 및 추출물이 혈청지질의 함량에 미치는 영향 .....	59
나. 천마분획물이 고지방식을 급여한 흰쥐의 혈청지질에 미치는 영향 .....	68
4. 참고문헌 .....	75
제 3 절 혈압 강하 효능 평가 .....	78
1. 서론 .....	78
2. 재료 및 방법 .....	79
가. 천마시료 조제 .....	79
나. 실험식이 .....	79
다. 실험동물 .....	80

라. 혈압측정 .....	80
마. 조사항목과 분석방법 .....	80
3. 결과 및 고찰 .....	81
가. 천마분말, 에탄올 및 열수추출물의 효과 .....	81
나. 천마 분획물의 영향 .....	89
4. 참고문헌 .....	96
제 4 절 허혈성 신경세포손상에 대한 천마의 보호효과 .....	101
1. 서론 .....	101
2. 재료 및 방법 .....	102
가. 재료 및 시약 .....	102
나. 시료의 제조 .....	103
다. 세포모델에서의 신경세포 손상에 대한 천마의 보호효과 .....	103
라. 동물모델에서의 신경세포 손상에 대한 천마의 보호효과 .....	106
3. 결과 및 고찰 .....	108
가. 세포모델에서의 신경세포 손상에 대한 천마의 보호효과 .....	108
나. 동물모델에서의 신경세포 손상에 대한 천마의 보호효과 .....	116
4. 참고문헌 .....	123
제 5 절 유효활성물질의 분리, 정제 및 동정 .....	126
1. 서론 .....	126
2. 재료 및 방법 .....	127
가. 시료 .....	127
나. TLC에 의한 페놀물질 확인 .....	127
다. HPLC에 의한 페놀조성 분석 .....	128
라. 산성다당체의 분리, 정제 .....	128
마. 산성다당체의 구성당 분석 .....	128

3. 결과 및 고찰	129
가. 열수추출물을 이용한 분획물 조제	129
나. 저분자 분획으로부터 유효물질의 분리정제	129
다. 조다당체 분획으로부터 산성다당체 분리, 정제	130
라. 페놀 성분	133
마. 산성다당체의 구성당 분석	136
4. 참고문헌	137
제 6 절 기타주요 생리활성에 관한 천마분획물들의 효능평가 ..	139
1. 서론	139
2. 재료 및 방법	139
가. 천마 추출물 및 분획물 조제	139
나. Angiotensin converting enzyme(ACE) 저해활성	140
다. 혈액 항응고 활성	140
라. 면역활성	140
마. Tyrosinase 저해활성	142
바. 항산화 활성	143
3. 결과 및 고찰	143
가. Angiotensin converting enzyme(ACE) 저해활성	143
나. 혈액 항응고 활성	144
다. 면역활성	145
라. Tyrosinase 저해활성	148
마. 항산화 활성	150
4. 참고문헌	153
제 7 절 천마의 식품소재화 및 기능성 식품 개발	156
1. 서론	157
2. 재료 및 방법	157

가. 재료	157
나. 미분쇄 및 공기분급	157
다. 볶음처리 및 추출	158
라. 건조분말 제조	158
마. 이화학적 분석	159
3. 결과 및 고찰	161
가. 건조방법별 천마분말의 이화학적 특성	161
나. 미분쇄 및 분급에 의한 유효물질이 농축된 분말 소재화	165
다. 볶음처리	170
라. 적정 추출조건	174
마. 천마농축물을 이용한 액상차 개발	179
바. 천마 음료 개발	186
사. 천마 과립차 개발	192
4. 참고문헌	195
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	198
제 5 장 연구개발결과의 활용계획	201

## 제 1 장. 연구개발과제의 개요

### 제 1 절 연구개발 목적

본 연구는 동의보감 및 전통한의서 등의 문헌과 예비시험을 통하여 집중적으로 살펴보기로 결정한 천마의 혈압강하효능, 콜레스테롤저감 효능, 신경계 질환 효능을 과학적으로 평가하고 이를 이용한 다양한 기능성식품을 개발함으로써 국민들의 성인병 예방 및 치료 등의 보건향상 및 천마 재배농가의 소득 증대에 크게 기여하는데 최종목표를 두고 있다.

### 제 2 절 연구개발의 필요성

천마(天麻, *Gastrodiae rhizoma*)는 뽕나무버섯과 편리 공생하는 난초과 (*Orchidaceae*) 식물에 속하는 천마(*Gastrodia elata* BLUME)의 구근을 말한다. 원명은 적전(赤箭)이며 우리나라와 중국 및 일본에서 널리 쓰이는 상용약재 중의 하나로 주로 알려져 있다. 신농본초경(神農本草經)에는 천마가 중품(中品)으로 분류되어 있으며, 약성이 평무독(平無毒)한 약재로 알려져 있다. 주로 고혈압, 두통, 마비, 신경성질환 등의 성인병에 효능이 뛰어나다고 알려져 있으며, 최근에는 콜레스테롤 저감 효과도 보고된 바 있다. 민가에서도 일찍부터 천마를 두통과 현기증, 수족마비, 중풍, 전간(발작, 지랄병)등을 치료하는데 이용하여 왔다. 그러나 천마는 그동안 식품의약품안전청의 식품원료로 사용할 수 없는 품목규제에 묶여서 약재로 주로 사용되었을 뿐 일반식품이나 기능성식품의 주원료로 사용이 불가능하였다. 2000년 9월1일부로 규제가 풀려서 식품의 주원료로 사용할 수 있는 품목으로 등재되었고 이후 기능성이 우

수한 천마를 이용한 일반식품이나 기능성식품의 개발이 가능해졌다.

본 연구에서 살펴보려고 하는 순환기계 질환을 대표하는 심혈관질환과 뇌혈관질환은 질병에 의한 성인의 사망원인 중 가장 많은 비율을 차지하고 있으며 특히 고혈압은 이 두 질환의 원인이자 악화인자로 현대성인의 건강에 매우 중요한 문제이다. 대부분(95%)의 고혈압은 뚜렷한 원인이 밝혀지지 않은 1차성(본태성, 원발성) 고혈압이고 일부(5%)는 어떤 명백한 원인이 있는 2차성 고혈압이며 신장질환(만성신부전, 신혈관성고혈압 등)이 주요 요인으로 작용하는 것으로 알려져 있다.

콜레스테롤은 인체의 기능을 정상으로 유지하는데 필수적으로 필요한 지방질의 하나이며 여러 가지 호르몬의 재료가 된다. 그러나 혈액내 콜레스테롤 농도가 높으면 관상동맥에 동맥경화가 오게 되어 결국 미국이나 유럽에서 사망 원인의 1위를 차지하고 있는 협심증이나 심근경색증(허혈성 심장병) 등을 일으키는 원인물질이 된다. 콜레스테롤의 정상치는 나라마다 사람마다 조금씩 차이가 있지만 200 mg/dl 이하면 이상적이고 220 mg/dl 이상이 되면 경계를 해야 한다. *In vivo* assay를 통한 콜레스테롤 연구에서는 total cholesterol(TC), triglyceride(TG), HDL-cholesterol, LDL-cholesterol 등의 혈청지질 농도를 측정하게 되며 이중 HDL-cholesterol은 높을수록, total cholesterol(TC), triglyceride(TG), LDL-cholesterol은 낮을수록 건강에 대한 위험도가 낮아지는 경향을 나타낸다.

신경계 질환의 일종인 치매에는 두 가지 종류가 있는데 흔히 알고 있는 알츠하이머 병(Alzheimer's disease ; 노인성 치매)은 신경자체의 손상으로 생긴 치매인 반면 혈관성치매는 뇌졸중이나 동맥경화가 원인이 된다. 노인성 치매는 진행성 치매의 일종으로 신경전달물질을 통한 신경세포간의 정보교환 과정이 파괴됨에 따라 신경세포의 기능이 정지되고 신경세포간의 연결이 끊어짐으로써 결과적으로 신경세포가 죽게 되어 발병한다. 주증상으로는 비가역적



행동과 인성의 변화, 사고능력의 저하가 나타나지만 현재 정확한 원인과 치료법은 밝혀지지 않았다. 연구방법은 뇌에서 신호전달을 원활하게 해주는 신경전달 물질인 acetylcholine을 보호하는 기능을 갖는 cholinesterase inhibitors (ChEIs)나 직접적으로 acetylcholine의 생성을 활성화시켜 주는 인자인 cholineacetyltransferase(ChAT) 등과 같은 효소와 NGF-like factor에 대한 연구가 주종을 이루고 있으나 ChAT activator로 보고된 FDA 승인 약품은 아직 없다.

최근 들어서 소득이 높아지고 식생활의 서구화로 고혈압이나 혈액 내 콜레스테롤 수치가 높아서 발생하는 뇌출혈, 고지혈증, 신경계질환(치매) 등의 여러 가지 성인병들에 대한 문제가 크게 대두되고 있다. 사망원인 또한 감염형 질환의 비율이 감소하면서 대표적인 성인병인 순환기계 질환과 암에 의한 사망비율이 전체의 절반에 가까워지고 있다. 이에 따라 국민들도 건강하게 장수하고자 하는 욕구가 커지면서 성인병은 현대의 의료기술로 완치할 수 없다는 불안감을 갖게 됨과 동시에 일상생활을 통한 예방 및 치료에 관심이 높아지고 있다. 고지혈증은 혈청중의 지질성분이 증가된 상태로서 고콜레스테롤혈증과 고중성지방혈증이 주요원인이고, 당뇨병, 내분비질환, 유전적인 요인, 간질환 및 신장질환 등으로 인한 2차적 요인과 운동부족, 식이, 노화 및 환경인자 등의 부수적 요인들에 의해서도 발병한다. 심근경색, 혈전, 동맥경화 등의 심장순환기계질환(CHD, Coronary Heart Disease)의 유발인자로는 여러 가지 복합적인 인자가 있으나 혈중콜레스테롤 농도가 가장 많이 영향을 미치는 인자로 알려져 있다. 국가 및 인종별의 차이가 있으나, 우리나라에서는 혈중콜레스테롤 농도가 200 mg/100mL 이상일 경우 적극적인 식이요법과 약물치료가 필요하다고 하며, 최근 연구보고에 의하면 전체 성인의 30%정도가 이에 해당한다고 추정되고 있다. 고혈압은 많은 질병의 근원이 되는 질환으로서 40대 이후의 중장년층부터 다발하는 것으로 알려져 있으며 유병율(有病率)은 우리

나라 성인의 15-20% 정도로 보고되고 있으며, 뇌출혈, 신장병 등과 함께 합병증으로 나타날 경우 치사율이 가장 높아서 암, 심장병과 3대 사망원인으로 알려져 있다. 국내 치매 환자 4명 중 1명은 혈관성치매로서 혈압 조절과 콜레스테롤 치료 등을 통해 예방과 치료가 가능하며, 알츠하이머병은 뇌에서 신호 전달을 원활하게 해주는 신경전달 물질인 acetylcholine을 보호하는 기능을 갖는 cholinesterase inhibitors (ChEIs)나 직접적으로 acetylcholine의 생성을 활성화시켜주는 인자인 cholineacetyltransferase (ChAT) 등과 같은 약물의 투여에 의하여 치료가 가능하다. 구미 선진국의 통계에 따르면 대표적인 노인성 치매질환인 알츠하이머병은 65세 이상의 인구의 약 4%에서 발견되고 매년 1%씩 증가하여 80세에 이르면 발생 위험율이 약 20% 가량 된다고 한다. 80세 가량 된 노인 4~5 명중 1명이 치매에 걸리는 것이다.

본 연구팀의 예비 실험 결과 천마가 혈압강하와 콜레스테롤 저감에 대한 효능이 있는 것으로 판단할 때 천마는 혈관성치매에도 어느 정도 효과가 있을 것으로 판단되며, 뇌의 신경전달 물질에 관련된 효소 assay계를 이용하여 치매치료 효능을 평가해 보는 것은 고령화에 따라 증가추세에 있는 노인성 치매에 대한 치료비용과 복지비용을 포함한 경제적·사회적 손실에 대한 국민의료보전문제의 관점에서 큰 의미가 있다. 또한 뇌 및 심혈관계 관련 질환의 효능 평가의 결과와 기능성식품의 생산가능성은 해마다 증가되는 정부의 국민의료비 부담을 경감시키고 활동력을 갖는 고령화 노동인력을 확보하는데 의미가 있음을 주목할 필요가 있다.

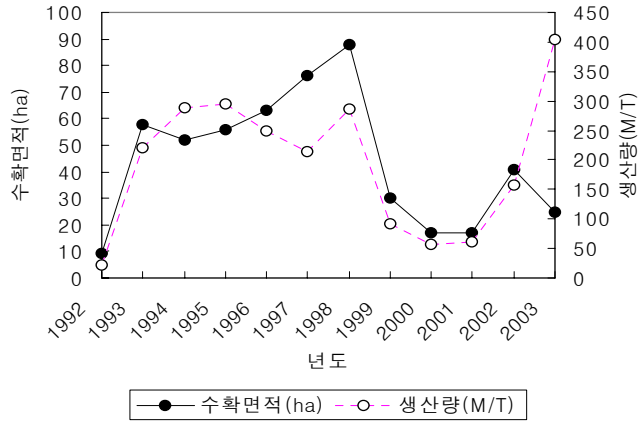
따라서 천마의 혈압강하 효능, 콜레스테롤저감 효능, 신경계질환 효능 등을 과학적으로 평가하고, 이를 이용한 기능성식품을 개발한다면 국민들의 성인병 예방 및 치료와 보건향상에 크게 기여할 것으로 판단된다. 또한 과학적으로 조명된 위와 같은 효능을 기반으로 편의성과 기능성이 부여된 고품질의 천마 기능성식품을 개발한다면 국민보건향상 뿐 아니라, 천마의 수요가 확대

되어 천마의 가격안정화 및 재배농가의 소득증대에도 크게 기여할 것으로 판단되어진다.

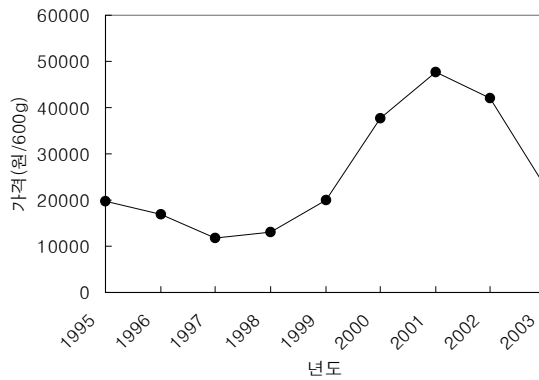
## 제 2 장 국내외 기술 현황

### 제 1 절 천마의 국내 생산현황

천마는 백합목 난초과(*Gastrodia elata*)에 속하는 고등식물로서 예로부터 한약재로만 귀하게 이용되었을 뿐으로 인삼과 같이 대중화되지 못하였다. 예로부터 정풍초(定風草)라는 이름으로 불리기도 하는데, 이것은 중풍을 치료하는 약초란 뜻이며, 산삼에 버금가는 약초로 알려져 왔다. 이와 같이 주로 한약재로 사용되어 오던 천마의 경우 1970년 대 초에는 재배면적이 1,534 ha, 생산량이 2,223 M/T로 국내에서 상당히 많은 양이 생산되는 주요한 생약재였던 것으로 판단되어지나 1980년도에는 재배면적이 238 ha 량이 299.2 M/T 급감하고 이후 1991년까지는 통계자료도 없을 정도로 거의 생산이 미미한 천연 자원식물이었다. 1990대 중반에 천마의 인공재배기술이 개발되고, 고소득 작목으로 각광을 받아 98년도 생산량이 286톤까지 증가하였다. 그러나 생약재로서의 소비량이 한계에 이르고, 식약청에 의해 식품원료로의 활용이 제한되어 2000년도에는 불과 57톤만이 생산되었으나 식약청에서 식품원료로서의 사용이 허용된 2000년도를 기점으로 2001년도부터 급격하게 생산량이 증가하는 추세를 나타내어 2004년도의 생산량이 404 M/T으로 이제는 과잉생산을 염려해야 할 시기이다.



천마의 년도별 수확면적 및 생산량



천마의 년도별 가격동향

천마의 근당(600 g) 가격은 재배량이 급격하게 늘어나면서 1994년도를 정점으로 크게 하락하였다. 이것은 공급과잉이라기 보다는 식품으로의 활용도 제한 때문에 새로운 수요가 발생하지 못한 측면이 주된 이유라고 판단된다. 1999년도부터는 재배생산량이 크게 줄면서 생약재로의 수요도 충족시키지 못하고 식용으로서의 수요도 증가하여 값이 크게 상승하였다. 천마가격 동향을

보면 1999년 600g당 20,000원이던 것이 2002년에는 42,000원대까지 상승하였고 이러한 천마가격상승은 천마의 재배면적 및 생산량을 증가시킨 주요 요인이 된 것으로 판단된다. 그러나 2003년 들어 가격이 다시 크게 하락하게 되었는데 이는 생산량 증가도 원인이 될 수 있지만 중국산 천마의 수입도 중요한 가격하락의 요인이 되고 있는 것으로 나타나고 있다. 2000년 9월 1일부로 식품의 주원료로 사용할 수 있도록 허가된 이후, 공식적인 통계수치로서 2001년도 서울경동시장 도매가격도 47,700원/600 g 으로 상승하여 다른 농작물의 대체 소득 작목으로 각광을 받고 있으나, 3~5년 내에 재배면적의 증가로 생산과잉과 가격 하락이 예견되는 상황이었으며 실제 2003년도 통계수치는 이와 유사한 경향을 나타내고 있다. 현재 시중에 유통되고 있는 천마제품의 형태를 보면 생천마, 건천마, 천마분말이 주를 이루고 있으며 무주안성농협, 맹동산 천마농장 등 일부 단체와 업체에서 천마청, 천마환, 천마와 생약재를 이용한 당류제품 등을 생산판매하고 있으나 향후 소득대체 작목으로서 천마공급이 증가하는 추세임을 감안해 볼 때 보다 다양한 형태의 천마 가공제품 개발 및 천마제품의 품질 고급화를 위한 연구가 더욱더 절실히 요구되고 있다고 생각된다. 이와 같은 천마의 가공제품 개발과 더불어 1차 상품인 천마를 기능성식품이나 의약용의 소재로 소재화 함으로서 부가가치를 높이는 것 역시 매우 필요한 일로 생각되며 특히 2003년 8월 27일부로 시행되는 새로운 건강기능식품법에 따라 건강기능식품으로 제품화하는 것을 고려한다면 본 연구에서와 같은 천마의 생리활성에 대한 과학적 고찰이 더욱 많이 연구되어야 할 것으로 판단되어진다. 따라서 천마의 유효한 생리활성 효능을 과학적으로 평가하고, 이 효능을 활용한 고품질의 기능성식품을 개발하여 천마의 수요 및 활용도를 제고시킨다면, 국민보건향상 뿐만 아니라 천마의 가격안정화 및 재배농가의 소득증대에 크게 기여 할 것으로 판단된다. 또한 식품용으로 사용해진 다른 생약재의 생리·약리 효능 평가와 기능성식품 소재화 및 기능성식품의

개발은 기술의존도가 높은 무공해, 고부가가치 산업으로서 식품 및 제약산업체의 경쟁력을 갖추게 하여 국내 식·의약산업 활성화에도 큰 몫을 할 것으로 판단되어진다.

## 제 2 절 국내의 기술개발 현황

국내의 천마에 대한 연구 현황을 살펴보면 주로 천마 재배, 일반적인 성분 분석에 관한 내용이 주를 이루며 약으로서 혈소판응집, 항불안, 항경련 등의 천마 효능에 관한 연구가 일부 보고되어 있으나 다른 작물에 비해 그리 많지는 않았다. 2000년대에 이르러 천마의 재배 면적이 증가하고 천마의 식품으로서 이용이 가능해진 이후에는 최덕경 등의 천마의 성분 특성 및 기능성 음료제조, 천마의 활성성분과 유도체들의 GABA 성 신경전달 조절작용, 천마 추출물이 국소적 관상순환기능에 미치는 영향, 천마로부터 분리된 페놀성 물질의 멜라닌 생성억제 작용, 헛개나무와 천마 혼합물의 에탄올 섭취에 의한 숙취해거 작용, 학습과 기경에 미치는 영향 등 다양한 분야의 효능에 관한 연구가 보고되고 있다. 특히 본 연구와 관련이 있는 혈압이나 혈청지질에 미치는 영향에 관한 연구도 2~3편 정도 보고되었으나 대부분이 천마 분말이나 엑기스를 이용한 연구결과로 본 연구에서와 같이 분획물 또는 정제물을 이용한 연구는 거의 없는 실정이다. 최근 들어 천마 자체 또는 가공공정중의 성분 에 관한 연구도 새롭게 시작되고 있으며 천마를 첨가한 두부의 품질 특성에 관한 연구, 음료의 기호성 향상에 관한 연구, 발효주 개발에 관한 연구, 천마 첨가 식빵 제조에 관한 연구 등 가공 제품에 관한 연구도 일부 보고 되고 있다. 본 연구팀에도 이미 천마의 건조방법별 성분이나 향기패턴 변화에 관한 연구 및 천마 추출물의 레올로지에 관한 연구 등 천마 가공제품 개발을 위한 몇가지 연구를 수행하여 보고한 바 있다. 그러나 아직까지 전반적으로 천마에

관한 연구는 초기 단계로 생각되며 동의보감 등의 한의학 문헌들에 보고되는 혈압강하 효능, 콜레스테롤 저감 효능, 신경계질환 효능에 대한 과학적인 효능 평가와 기타 성인병에 효과가 있는 활성성분의 검색 및 이 활성을 이용하여 개발된 기능성 식품은 그리 많지 않은 것으로 생각된다.

해외의 연구동향을 보면 세계적으로 비교적 많은 연구를 수행하고 있는 중국의 경우 오래 전부터 천마를 천마차, 천마음료 등의 식품으로는 활용하여 왔지만 기능성, 의약품의 소재로 활용하는 연구는 이제 막 시작하는 단계이다. 중국 및 동남아 지역의 연구사례를 살펴보면, 천마의 유효성분의 하나로서 천마소( $p$ -hydroxymethyl phenyl- $\beta$ -D-glucopyranose)를 분리, 확인하고, 유기합성하여 동물시험을 실시하여 두통, 발작 등의 질병에 대한 주사약제 개발을 시작한 연구가 보고되고 있으며 구체적인 약리효과의 연구로는 베이징의 약용식물연구소의 Gao 등이 연구한 늙은 쥐의 학습과 기억력의 증진효과, Yang 등이 연구한 귀울림 현상에 대한 천마의 임상효과, 대만 약학연구소의 Wu 등이 연구한 흰쥐의 건망증에 대한 천마의 효과, 그리고 천마추출물인 vanillin의 발작 저해 효과 등, 몇 편의 연구보고 등이 있다.

이상의 국내외 연구현황을 간단히 정리해 볼 때 아직 천마에 관한 연구는 시작 단계로 생각되며 더욱이 약품이 아닌 기능성 식품 소재로서의 체계적인 연구는 그리 많지 않은 것으로 생각된다. 따라서 천마의 수확시기별 성분을 조사 및 가공 공정별 주요 유효성분 및 기호성 변화에 관한 기초 연구, 다양한 가공제품 개발을 위한 중간소재 개발연구, 이를 이용한 가공제품 개발과 더불어 고지혈증 및 고혈압, 신경계 질환 등 천마의 주요 효능으로 알려진 몇 가지 효능에 대한 체계적인 연구는 천마의 효능을 널리 알리고 천마의 부가가치 및 수요를 증진 시키는데 매우 필요한 일이라 생각되어진다.



## 제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과

### 제 1 절 천마의 식품학적 분석

#### 1. 서론

천마의 여러 가지 효능에 대한 연구는 일부 보고되고 있으나 실제 천마의 성분분석이나 식품학적 특성에 관한 연구는 그리 많지 않다. 1990년대 초(?) 천마 또는 천마 추출물의 성분분석에 관한 연구나 건조방법 등 가공공정 중의 성분 변화에 관한 보고는 최근까지도 2~3 편 정도에 머물러 있다. 천마의 경우 주로 가을에 수확하는 것이 대부분이지만 봄철에도 일부가 수확되고 있다. 그러나 이러한 천마의 수확시기별 성분 차이에 관한 연구는 거의 없다. 따라서 본 연구에서는 천마 주요 수확시기인 봄과 가을에 수집한 천마를 대상으로 일반성분, 식이섬유, 무기질함량 등의 일반성분과 비타민, 아미노산, 무기질 등의 영양성분 및 기능성 성분으로 알려져 있는 당류와 페놀성분의 함량을 비교해 봄으로서 천마의 식품가공 시 활용될 수 있는 자료를 제공하고자 한다.

#### 2. 재료 및 방법

##### 가. 재료

본 실험에서 사용한 천마는 전북 무주에서 2004년 봄과 가을에 수확한 것을 무주안성농협으로부터 제공받아 시료로 사용하였다. 천마는 물로 잘 씻어 흙이나 먼지 등의 이물질을 제거한 후 박피한 다음 3~4 mm 두께로 절편하여 동결건조하고 조분쇄하여 분석용 시료로 사용하였다.

#### 나. 일반성분 분석

AOAC법에 따라 수분은 105°C 상압건조법, 조지방은 soxhlex 추출법, 조단백은 semi micro kjeldahl법, 조회분은 550°C 회화법으로 정량하였다.

#### 다. 식이섬유 함량

천마증의 섬유함량은 AOAC 방법에 따라 수용성 식이섬유(SDF, soluble dietary fiber)와 불용성 식이섬유(IDF, insoluble dietary fiber) 함량을 구하여 나타냈으며 이들의 합으로 총 식이섬유(TDF, total dietary fiber) 함량을 나타내었다.

#### 라. 아미노산 분석

시료 약 0.2g을 정확히 취하여 50 ml 앰플에 넣고 6 N HCl 15 ml를 가한 다음 N<sub>2</sub>로 치환하여 신속하게 밀봉하였다. 이를 110°C에서 24시간 가수분해시킨 뒤 방냉하여 50 ml 정용플라스크에 옮기고 탈이온수로 정용한 후 0.2 µm 막필터로 여과하였다. AccQ . Fluor Reagent Kit를 사용하여 AccQ . Tag12) 방법으로 유도체화시켜 천마의 구성 아미노산을 분석하였다. 즉, 여과된 유리 아미노산 시료 10 ml를 취하여 시험관에 옮기고 여기에 AccQ . Fluor Reagent Kit의 용액1 70 ml를 넣어 혼합하였다. 여기에 미리 55°C에서 반응시킨 용액2A 2 ml를 넣어 재혼합하였고 이를 실온에서 1분간 방치한 후 55°C에서 10분간 유도체화시킨 다음 HPLC(JASCO, Japan)로 유리 아미노산의 함량과 조성을 분석하였다. 분석에 사용한 아미노산 표준물질은 amino acid standard H(Pierce, USA)이고, 칼럼은 AccQ·Tag column(3.9 x 150mm, Waters, USA)이었다. Sodium acetate trihydrate 0.14M과 0.05% triethylamine을 각각 함유한 HPLC용 증류수의 pH를 인산을 사용하여 5.0으로 조정된 이동상 A용액과 60% acetonitrile의 이동상 B용액을 gradient로 공급

하면서 용출시켰다. 검출기는 fluorescence detector(Ex. 250nm, Em. 395nm, Jasco, Japan), 시료 주입량은  $5\mu\text{l}$ , column의 분석온도는  $37^{\circ}\text{C}$ 이었다.

#### 마. 무기질 분석

무기질 전처리는 건식법으로 하였다. 즉, 각 시료 약 2 g을 도가니에 넣고 예비 가열 시킨 후  $550^{\circ}\text{C}$  전기회화로에서 2시간 회화한 다음 방냉하였다. 여기에 탈이온수 10방울을 가하고 묽은 질산(1:1  $\text{HNO}_3$ ) 4 ml를 넣은 다음 다시 전열기( $120^{\circ}\text{C}$ )에서 수분을 제거시키고  $550^{\circ}\text{C}$  전기회화로에서 1시간 회화, 방냉하였다. 여기에 묽은 염산(1:1  $\text{HCl}$ ) 10 ml을 첨가한 다음 이를 50 ml 정용플라스크로 옮겨 탈이온수로 정용, 여과하여 유도결합프라즈마원자방출분광법(ICP-AES, Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrophotometer, Jobin Yvon JY138 Ultrace, France)으로 분석하였다. 각 원소의 표준용액은 무기질 종류에 따라 0~100 ppm 범위에서 4 수준의 농도로 조제하여 표준검량곡선을 작성하였다. 이 때 ICP-AES의 작동조건은 RF power : 1.35 kW nebulizer flow 0.6  $\ell/\text{min}$ , auxiliary gas flow: 0.5  $\ell/\text{min}$ 이었다. 각 무기질의 검출 파장은 Ca: 317.933, Mg: 279.553, Mn: 257.610, Na: 588.995, K:766.491, Fe:238.204, P: 177.499 nm 이었다.

#### 바. 총당 및 산성다당체 분석

분말 시료 2 g에 증류수 50 ml을 가하고  $80^{\circ}\text{C}$ 에서 환류냉각장치를 이용하여 3시간 동안 추출한 후 추출액을 100 ml로 정용하고  $4^{\circ}\text{C}$ , 10,000  $\times\text{g}$ 에서 20분간 원심분리하여 상정액을 얻었다. 상정액을 0.45  $\mu\text{m}$  막필터로 여과하여 여액을 총당 측정용 시료로 사용하였다. 앞서 원심분리하여 얻은 추출액에 cold 에탄올을 5배 첨가한 후 침전을 형성시키고  $4^{\circ}\text{C}$ , 10,000  $\times\text{g}$ 에서 20

분간 원심분리하여 침전물을 얻었다. 침전물을 증류수로 녹인 후 0.45 $\mu$ m 막 필터로 여과한 여액을 산성다당체 측정용 시료로 사용하였다. 총당은 phenol 황산법을 이용하여, 산성다당체는 carbazole-황산법을 이용하여 측정하였다. 이 때 표준물질로는 glucose와 galacturonic acid를 사용하였다.

#### 사. 환원당 분석

시료 분말 5 g에 80% 에탄올 100 ml을 가한 후 환류냉각장치를 이용하여 80 $^{\circ}$ C에서 3시간 동안 2회 반복 추출한 후 glass filter(2G3) 상에서 여과하였다. 여과한 여액은 감압농축시켜 알코올 성분을 제거하였고 증류수를 사용하여 정용한 후 여과하고 환원당 측정을 위한 시료로 사용하였다. 시료용액 중의 환원당 함량은 Somogyi-Nelson법에 따라 환원당 함량을 측정하였다.

#### 아. 유리당 조성

환원당 측정을 위해 조제한 시료용액을 0.45 $\mu$ m 막필터로 여과한 후 HPLC(JASCO AS-950-10, Jasco, Japan)로 분석하였다. 사용한 칼럼은 carbohydrate analysis coloume(300x3.9mm, Waters, USA), 용매는 80% acetonitrile, 이동속도는 1.5 ml/min, 검출기는 RI detector, 온도는 20 $^{\circ}$ C, 시료주입량은 10  $\mu$ l이었다.

#### 자. 총 페놀함량 및 페놀성분 조성

시료 분말 2g에 80% 메탄올 50 ml을 가한 후 분쇄하고 열탕 중에서 환류냉각장치를 부착시켜 가용성 성분들을 추출하였다. 추출물은 여과한 후 감압농축시키고 증류수 30ml로 녹였다. 추출액을 분액여두에 옮기고, 30 ml 에틸에테르로 2회 반복 추출한 다음 감압농축하였다. 이후 메탄올 5 ml로 녹인 다음 0.45  $\mu$ m 막필터로 여과하고 총 phenol 함량분석용 시료로 사용하였다.

총 phenol 함량은 Folin-ciocalteu 법에 따라 측정하였으며 이때 표준물질로는 chlorogenic acid를 사용하였다. 천마중의 phenol 조성은 HPLC(JASCO AS-950-10, Jasco, Japan)로 분석하였으며 컬럼은 u-BondapakTM(3.9×30 cm), 용출은 2% 초산을 함유한 증류수와 0.5% 초산을 함유한 아세트니트릴 용액을 이용한 gradient system으로, 이동속도는 0.8 ml/min, 검출기는 UV detector(280nm), 온도는 20℃, 시료주입량은 10  $\mu$ l이었다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 가. 일반성분

봄과 가을천마의 일반성분을 비교해 본 결과는 Table 1과 같다. 봄과 가을 천마의 조단백질은 각각 3.58%와 4.50%, 조지방은 각각 0.66%, 0.89%로 가을 천마가 다소 높게 나타났으며 조회분은 각각 3.06%와 2.43%로 봄 천마가 다소 높게 나타났다. 한편 Chung 등은 천마의 조단백질은 7.60%, 조지방은 0.50%, 조회분은 3.20%로 보고한 바 있으며 Shin 등은 조단백질 5.47%, 조지방 1.51%, 조회분 3.05%로 보고한 바 있다. 이들 연구결과와 비교할 때 본 연구 결과에서는 전반적으로 다소 낮은 조단백질 함량을 나타내었다.

Table 1. Approximate composition of *Gastrodiae rhizoma*

(%, dry basis)

Harvest time	Crude protein	Crude fat	Crude ash
Spring	3.58±0.12	0.66±0.04	3.06±0.05
Fall	4.50±0.10	0.89±0.01	2.43±0.13

#### 나. 총식이섬유

봄, 가을천마의 총식이섬유 함량은 Table 2와 같다. 수용성식이섬유 함량은 봄과 가을천마가 각각 1.74%와 1.71%로 거의 유사하였으며 불용성식이섬유 함량은 각각 3.27%와 2.41%로 봄 천마가 다소 높은 함량을 나타내었다. 따라서 총식이섬유 함량 역시 봄천마가 5.00%로 가을천마의 4.12% 보다 약간 더 높은 것으로 나타났다.

Table 2. Dietary fiber contents of *Gastrodiae rhizoma*

(%, dry basis)

Harvest time	SDF <sup>1)</sup>	IDF <sup>2)</sup>	TDF <sup>3)</sup>
Spring	1.74±0.14	3.27±0.00	5.00
Fall	1.71±0.09	2.41±0.08	4.12

1) SDF : Soluble dietary fiber

2) IDF : Insoluble dietary fiber

3) TDF : Total dietary fiber : SDF + IDF

#### 다. 아미노산 조성

봄과 가을천마의 아미노산 조성을 분석한 결과는 Table 3과 같다. 봄과 가을 천마 모두 aspartic acid과 glutamic acid의 함량이 가장 높게 나타났으며 그 다음으로 glycine, serine의 함량이 비교적 높게 나타났다. 그 밖에 leucine, isoleucine, lysine, alanine 등의 함량이 비교적 높은 것으로 나타났으며 봄천마는 methionine이 0.15 mg/g, 가을천마는 proline이 0.19 mg/g으로 가장 적은 함량을 나타내었다. 이 등의 연구결과와 비교해 볼 때 전체 아미노산 함량은 다소 낮았지만 조성상에서는 큰 차이를 나타내지 않았다.

Table 3. Amino acid composition of *Gastrodiae rhizoma*

(mg/g, dry basis)

Amino acids	Harvest time	
	Spring	Fall
Asp	5.67±0.04	4.59±0.02
Ser	1.92±0.10	2.13±0.02
Glu	5.57±0.41	4.33±0.00
Gly	2.11±0.02	2.82±0.03
His	0.75±0.07	0.66±0.06
Thr	0.93±0.11	1.00±0.00
Arg	0.95±0.02	0.92±0.02
Ala	1.64±0.11	1.88±0.01
Pro	0.31±0.06	0.19±0.01
Cys	0.56±0.01	0.49±0.03
Tyr	0.45±0.04	0.59±0.01
Val	1.16±0.09	1.15±0.01
Met	0.15±0.04	0.23±0.01
Lys	1.78±0.09	1.91±0.02
Ile	1.81±0.06	1.61±0.26
Leu	0.85±0.06	0.85±0.01
Phe	1.01±0.10	1.19±0.01
Total	27.62	26.54

#### 라. 무기질 조성

동결건조한 봄과 가을 천마의 무기질 함량은 Table 4와 같다. 봄과 가을 천마 모두 K가 9.96 mgg/g, 7.65mg/g으로 가장 높은 함량을 나타내었으며 그 밖에 봄천마는 Ca, P, Mg, Na, Mn, Fe 순으로, 가을천마의 경우 Ca, P, Mg, Na, Fe, Mn 순으로 높은 함량을 나타내어 무기질 조성에 있어서는 큰 차이가 없는 것으로 나타났다. Chung 등은 증자건조한 천마에서 K, P, Ca, Na, Mg 순으로 무기질이 높게 함유되어 있다고 보고하였고, Kim 등도 K, P, Ca, Mg, Na 순으로 함량이 높다고 보고하여 본 실험 결과의 거의 일치하였다.

Table 4. Mineral contents of *Gastrodiae rhizoma*

Mineral	Harvest Time	
	Spring	Fall
Na	0.08±0.01	0.14±0.01
K	9.96±0.43	7.65±0.04
Ca	1.10±0.00	1.12±0.01
Mg	0.60±0.01	0.63±0.01
Mn	0.01±0.00	0.01±0.00
P	1.03±0.03	1.11±0.02
Fe	0.01±0.00	0.02±0.00

#### 마. 총당, 환원당 및 산성다당체 함량

봄과 가을천마의 총당, 환원당 및 산성다당체 함량을 살펴본 결과는



Table 5과 같다. 봄과 가을천마의 수용성 총당 함량은 각각 59.16%와 43.80%이었으며 이중 환원당은 20.8%와 15.2%의 함량을 나타내어 봄천마의 당류 함량이 다소 높게 나타났다. 또한 산성다당체의 함량도 봄천마가 7.3%로 가을천마의 5.3%에 비해 다소 높게 나타났다.

Table 5. Total water soluble sugar, reducing sugar and acidic polysaccharides, contents of *Gastrodiae rhizoma*

(% , dry basis)

Harvest Time	Total sugar	Reducing sugar	Acidic polysaccharides
Spring	59.16±5.37	20.82±0.59	7.27±0.19
Fall	43.80±4.66	15.17±0.20	5.29±0.82

#### 바. 유리당 조성

동결건조한 봄, 가을천마의 유리당 분석결과는 Table 6과 같다. 총 유리당 함량은 봄천마가 22.95%로 가을천마의 18.91%에 비해 높은 유리당 함량을 나타내었다. 유리당 조성을 살펴보면 봄천마의 경우 glucose와 fructose 같은 단당류의 함량이 sucrose보다 다소 높게 나타난 반면 가을천마의 경우에는 sucrose가 glucose와 fructose 같은 단당류에 비해 다소 높은 함량을 나타내었다. 반면 본 연구에서는 이 등의 연구결과와 달리 maltose는 거의 검출되지 않았다.

Table 6. Free sugar composition of *Gastrodiae rhizoma*

(%, dry basis)

Harvest Time	Fructose	Glucose	Sucrose	Maltose	Total
Spring	8.06±0.51	8.72±0.43	6.17±0.40	-	22.95
Fall	5.77±0.26	5.93±0.28	7.21±0.33	-	18.91

#### 사. 총페놀함량 및 페놀성분 조성

동결건조한 천마의 총페놀함량과 조성은 Table 7에 나타내었다. 가을천마의 총 페놀함량은 4200mg%로 봄천마의 2590mg%에 비해 높게 나타나 앞서 살펴본 당류함량과는 반대되는 양상을 나타내었다. 동결건조한 봄과 가을 천마의 페놀 조성을 살펴보면 봄과 가을 천마 모두 4-hydroxybenzyl alcohol이 주요 페놀성분이었으며 각각 120.7mg%와 438.9mg%의 함량을 나타내었다. 그 밖에 4-hydroxybenzyl aldehyde은 각각 0.3mg%와 4.6 mg%, vanillin은 28.3 mg%와 7.9 mg%이었다. 또한 vanilly alcohol는 가을천마에서 미량 검출되었으나 봄천마에서는 거의 검출되지 않았다.

Table 7. Total phenolics content and the composition of *Gastrodiae rhizoma*

(% , dry basis)

Harvest time	Spring	Fall
Total phenolics content	2590.0± 0.2	4200.0± 0.1
Composition	4-hydroxybenzyl alcohol	120.7±11.4
	4-hydrozybenzyl aldehyde	0.3± 0.0
	vanilly alcohol	trace
	vanillin	28.3± 4.7

#### 4. 참고문헌

- AOAC(1990) Official Methods of Analysis.(15th ed.) Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC., USA
- AOAC(1995) Official Methods of Analysis. (16th ed.) The Scientific Association Dedicated to Analytical Excellence. pp 71-73. Washinton, DC, USA
- AOAC(1995) Official Methods of Analysis.(18th ed.) Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC., USA
- Blumenktranz, N. and Abboe-Hanson, G. (1973) New method for quantitative determination of uronic acids. *Anal. Biochem.* **54**, 484-489.
- Chung, H. S. and Ji, G. E.(1994) Composition and functionality of chonma. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**, 213-220(1994)

- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Robers, P. A. and Smith F. (1956) Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.* **28**, 350-356.
- Huang, J. H. (1989) Comparison studies on pharmacological properties of injection *Gastrodia elata*, gastrodin-free fraction and gastrodin. *Chung-Kuo-Hsueh-Ko-Hsueh-Yuan-Hsueh-Pao.* **11**, 147-152
- Huang, Z. L. (1985) Recent developments in pharmacological study and clinical application of *Gastrodia elata* in China. *Chung-Hsi-I-Chieh-Ho-Tsa-Chih.* **5**, 251-258.
- Kim, E. J., Ji, G. E. and Kang, Y. H. (1994) Effects of *Gastrodia Rhizoma* extracts on global coronary circulation in rats. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**, 213-220.
- Ku, B. H. (1991) Experimental studies on the pharmaceutical effects of *Gastrodia elata*. M.S. thesis, Kyung-Hee Univ., Seoul, Korea.
- Lee, B. Y., Choi, H. S. and Hwang, J. B. (2002) Analysis of food components of *Gastrodiae Rhizoma* and changes in several characteristics at the various drying conditions. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**, 37-42.
- Paik, Y. S., Song, J. K., Yoon, C. H., Chung, K. S. and Yun-Choi, H. S. (1995) Anti-platelet and anti-thrombotic effects of *Gastrodia elata*. *Korean J. Phamacogn.* **26**, 385-389.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. Jr. (1965) Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagent. *American J. of Enology and Viticulture.* **16**, 144-158.
- Society of Oriental Medicine. (1993) *In The Modern Oriental Medicine.*

Hakchang-Sa, Seoul, pp. 446-447.

Somogi, M. (1952) Notes on sugar determination. *J. Anal. Chem.*, **195**, 19-23.

Waters(1993) AccQ. Tag Amino acid Analysis System. Operator's Manual

Wu, H. Q., Xie, L., Jin, X. N., Ge, Q., Jin, H. and Liu, G. Q. (1989) The effect of vanillin on the fully amygdala-kindled seizures in the rat. *Yao-Hsueh-Hsueh-Pao*. **24**, 482-489.

## 제 2 절 콜레스테롤저감 효능 평가를 위한 고지혈증 개선시험

### 1. 서론

천마(天麻, *Gastrodiae rhizoma*)는 난초과에 속하는 다년생 초본인 수자해쫚(천마, *Gastrodia elata* Blume)의 뿌리를 지칭하는 것으로서 적근(赤根), 귀독우(鬼督郵), 난모(難母), 신초(神草), 정풍초(定風草) 등의 다른 명칭으로 부르기도 한다. 신농본초경(神農本草經)에는 천마가 중품(中品)으로 분류되어 있으며, 약성이 평무독(平無毒)한 약재로 알려져 있다. 천마의 임상적 효능은 본초강목, 동의보감 등의 여러 본초문헌들에서 찾아 볼 수 있는데 주로 고혈압, 두통, 마비, 신경성 질환, 당뇨병 등의 성인병과 스트레스, 피로 등의 증상에 효능이 있는 것으로 알려져 있다.

현재까지 밝혀진 천마성분에 대한 중국의 연구보고들을 보면 천마에는 vanilly alcohol, vanillin, benzaldehydes, 배당체 등이 있다고 알려져 있으며, 천마소(acetyl-gastrodin), 천마대원(*p*-hydroxybenzyl alcohol) 등 성분은 주사약제로도 개발되고 있다. 국내의 연구로는 천마의 여러 가지 효능에 대한 실험적 연구, 천마의 항 혈소판 및 항 혈전활성에 대한 연구, 천마추출물이 관상순환기에 미치는 영향, 일반성분에 대한 보고 정도가 있을 뿐이다.

고지혈증(hyperlipedemia)은 혈액중의 콜레스테롤, 중성지방, 인지질 및 유리지방산 등의 농도가 비정상적으로 증가한 상태로서 가장 직접적으로 영향을 미치는 인자는 혈중 콜레스테롤(TC)과 저밀도지단백(LDL)콜레스테롤을 들 수 있으며 특히 고콜레스테롤혈증(hypercholesterolemia)은 죽상동맥경화증(atherosclerosis)을 유발하는 것으로 알려져 있다. 심장마비의 주범인 “콜레스테롤 불균형”은 심장병의 예방효과가 있는 고밀도지단백(HDL) 콜레스테롤치는 낮은 반면 심장병의 원인이 되는 저밀도지단백(LDL) 콜레스테롤치는 높은 상태를 의미한다. 혈액내 LDL 콜레스테롤이 과다해지면 동맥혈관벽내에

쌓여서 끈적끈적한 죽종(atheroma)을 생성해서 동맥경화를 일으키거나 혈관벽을 따라 지질이 두껍게 쌓여 혈류를 감소시키므로 허혈성심장질환과 협심증, 심근경색의 원인이 되므로 임상적으로 중요한 문제가 되는 반면 HDL콜레스테롤은 죽종을 감소시키는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 2004년 7월 발표된 미국심장협회(AHA)와 국립콜레스테롤교육프로그램(NCEP)의 콜레스테롤기준치는 특히 LDL콜레스테롤의 최저치를 100 mg/dl이하로 낮추었으며, 고혈압과 흡연등 심장병요인을 다수 갖고 있는 고위험그룹에서는 LDL 수치를 약물로 70 mg/dl이하까지 낮출 것을 권고하고 있다.

전통적으로 한방에서 약재로 중요하게 이용되어 온 천마가 최근 식품소재로 새롭게 주목받으면서 천마의 생리활성성분과 관련한 실험보고가 일부 제시되고 있지만 현재까지 천마의 유효성분을 분획하고 이들의 생리활성을 비교 검토한 연구결과는 매우 드문 실정이다. 따라서 본 연구에서는 기능성 건강식품소재로서 천마의 효능과 그 활용방안을 모색하고자 고지방식을 급여한 흰쥐에게 천마 성분분획들(저분자, 다당체 및 단백질분획)이 성장률, 배변량과 체지방량, 혈청 지질분획 등에 미치는 영향을 조사하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 재료

본 실험에 사용한 천마는 전북 무주에서 구입하였다. 생천마는 물로 잘 씻어 흙과 먼지 등의 이물질을 제거하고 수세미로 겉껍질을 벗겨낸 다음 3~4 mm두께로 절편하여 40℃에서 열풍건조시킨 후 분쇄하여 시료로 사용하였다.

#### 나. 천마 추출물 조제

천마 열수 추출물과 50% 에탄올 추출물은 건조 후 조분쇄된 시료에 10 배량의 용매를 가하여 4시간 동안 가열환류추출하고 50°C 이하에서 감압농축하여 농도를 조절한 후 사용하였다.

#### 다. 천마성분 분획물

천마의 성분 분획물은 다음과 같이 조제하였다. 열풍건조 천마 100 g에 80% 에탄올 1 l 를 가하여 60°C에서 3시간 동안 가온 추출한 후 여과하여 80% ethanol 가용성 성분분획과 여과 잔사물을 얻었다. 잔사물은 다시 80% 에탄올을 가하여 재추출하고 앞서 얻은 80% 에탄올 가용성 분획과 함께 MWCO가 1,000인 막필터로 한외여과 처리하여 분자량이 1,000 미만인 저분자분획(GR-1)을 얻었다. 앞서 추출하고 남은 잔사물은 2 l의 증류수를 가하여 100°C에서 3시간 동안 열수추출하였고, 추출물은 원심분리와 여과처리하여 수용성 분획을 얻었다. 수용성분획물 1 g에 10 mM CaCl<sub>2</sub>가 함유된 Tris-HCl buffer (pH 7.5) 1 l을 첨가하여 용해시킨 후, pronase를 가하여 37°C에서 6일 동안 반응시켰다. 이 반응액을 5분간 끓여 반응을 정지시킨 후, 원심분리하여 얻은 상등액을 투석하고, 비투석획분(MW>10K)을 동결 건조하여 다당체분획(GR-2)을 조제하였다. 앞서 제조한 수용성분획물 1 g을 50 mM acetate buffer (pH 4.5) 600 ml에 용해시킨 후, 50 mM NaIO<sub>4</sub> 200 ml을 가하여 4°C의 암실에서 72시간 동안 산화시켰다. 과량의 NaIO<sub>4</sub>를 제거하기 위하여 반응액에 ethylene glycol을 100 ml 가해 1시간 동안 실온에 방치한 후, 수일간 투석한 다음 비투석 획분(MW>10K)을 400 ml로 농축시켰다. 이 농축액에 NaBH<sub>4</sub> 400 mg을 가하여 실온에서 1시간 교반시키고 0.1 M acetic acid로 중화, 투석한 후 동결 건조하여 periodate 산화물인 단백질분획(GR-3)을 조제하였다(Fig. 1).



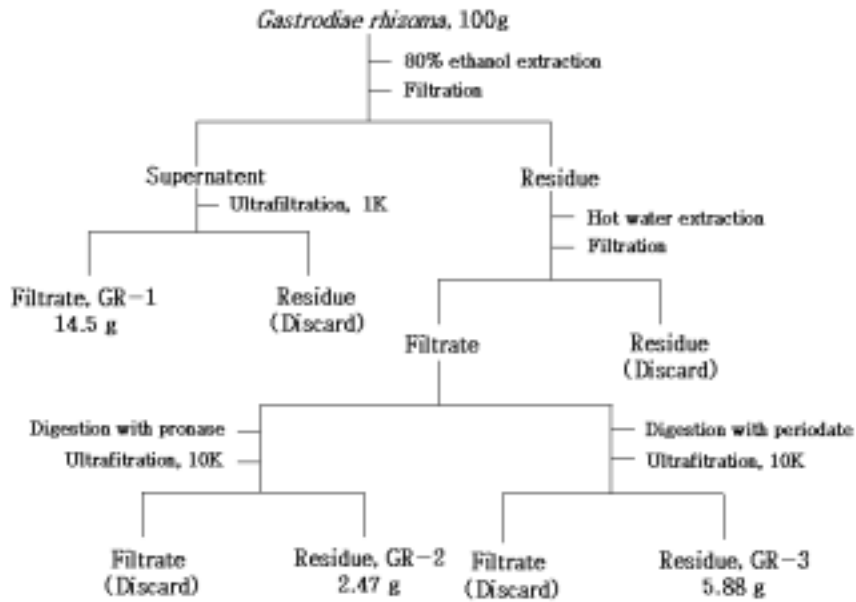


Fig. 1. Preparation of *Gastrodiae rhizoma* fractions.

#### 라. 실험식이

천마로부터 조제한 분말, 추출물 및 분획물들의 생리효능을 평가하기 위하여 흰쥐에 고지방食이를 급여하여 고지혈증(hyperlipidemia)을 유발시켰다. 이때 사용한 기본食이는 AIN-93 diet에 준하여 조제하였으며 단백질급원은 casein, 탄수화물급원은 corn starch, 지방급원은 soybean oil을 사용하였다. 흰쥐용 기본 가루 식이에 유지(lard : corn oil : cholesterol 10:2:1, w/w)를 첨가하여 고지방食이(HFCD, high fat and cholesterol diet)를 제조하여 사용하였다. 기본食이의 조성은 Table 1와 같으며 천마 분말 및 추출물의 경우 식이 일정비율 혼합하여 제조한 사료를 섭취시켰으며 천마 분획물의 경우 일정량을 생수에 현탁하여 경구투여하였다.

Table 1. Formula of basal diet

Ingredients	Content(%)
Casein (feed grade CP 85%)	20.00
Corn starch	39.75
Dextrinized corn starch	13.20
Sucrose	10.00
Soybean oil	7.00
Cellulose (fiber)	5.00
Mineral mixture <sup>1)</sup>	3.50
Vitamin mixture <sup>2)</sup>	1.00
L-Cystine	0.30
Choline bitartrate	0.25

<sup>1)</sup> Contained per kg mixture ; CaHPO<sub>4</sub> 500 g, NaCl 74 g, K<sub>3</sub>C<sub>6</sub>O<sub>7</sub>·H<sub>2</sub>O 220 g, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 52 g, MgO 24 g, 48% Mn 3.5 g, 17% Fe 6.0 g, 70% Zn 1.6 g, 53% Cu 0.3 g, KIO<sub>3</sub> 0.01 g, CrK(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·12H<sub>2</sub>O 0.55 g and sucrose.

<sup>2)</sup> Contained per kg mixture ; thiamin-HCl 600 mg, riboflavin 600 mg, pyridoxine-HCl 700 mg, nicotinic acid 3 g, Vit. A 400,000 IU (retinyl acetate), Vit. E (dL- $\alpha$ -tocopheryl acetate) 5,000 IU, Vit. D<sub>3</sub> 2.5 mg, Vit. K 5.0 mg and sucrose.

#### 마. 실험동물

실험동물은 생후 3~4 주령된 Sprague-Dawley계의 수컷 흰쥐를 공시하여 1주일간 기본식으로 적응 후 초기체중을 측정하고 난괴법(randomized complete block design)으로 시험군당 10~12마리씩 배치하였다. 사육실 온도는 18±2°C, 조명주기는 12 시간, 물과 식이는 자유급이(*ad libitum*)하였다.

#### 바. 조사항목과 분석방법

체중변화, 식이섭취량, 장기와 정소상체지방패드(EFP)의 무게, 혈청지질과

테스토스테론농도를 측정하였다. 장기와 EFP는 채취하여 생리 식염수로 세척하고 여과지로 물기를 제거하고 중량을 측정하였으며 EFP는 정소를 둘러싸고 있는 지방조직을 정교하게 절개해내었다. 혈청지질과 혈당치는 enzyme kit으로 비색정량하였고, 테스토스테론은 Diagnostic Products Corporation의 방사성동위원소  $I^{125}$  tracer를 이용한 RIA방법으로 Gamma count cobra II (Packard, USA)로 분석하였다. Lipoprotein cholesterols은 Friedewald식에 의해 계산하였다.

#### 사. 통계분석

실험결과는 평균과 표준편차 값으로 나타내었으며 통계분석은 SAS 프로그램을 이용하여 분석하였고, 실험군간 차이는 Duncan의 다중검정법( $\alpha=0.05$ )으로 유의성을 검증하였으며 실험 1기와 실험 2기의 유의성은 t-test로 검증하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 가. 천마 분말 및 추출물의 혈청지질의 함량에 미치는 영향

##### (1) 실험설계

천마 분말과 추출물이 흰쥐의 혈청지질에 미치는 영향을 구명하기 위하여 Table 2와 같이 실험설계하여 실험을 수행하였다.

처음 7주간은 모든 실험군에 10% lard 첨가식을 급여하였고, 이후 4주간은 천마분말 식이군(C~D)과 천마추출물 투여군(E~H)으로 나누어 급여하였다. 실험군중 A군은 음성대조군으로 초기7주와 후기7주간을 모두 10% lard를 급여하고, B군은 양성대조군(positive control)으로 처음 7주간만 lard 10% 첨

가식이를 급여하고 이후 4주 동안은 일반식이와 천마의 열수추출물(5 brix)을 급여하였다(Table 2). 예비실험에서 혈청지질 및 체지방에 효과가 있었던 천마 5 brix와 더불어 일반사료가 양성대조군으로 사용되었다. 천마의 분말을 첨가한 실험식이와 천마의 50% 에탄올 및 열수추출물 시료의 일반성분은 Table 3과 같다.

Table 2. Design of experimental diets

Group	Experimental diets
A	diet of 10% lard for 11wks (negative control)
B	diet of 10% lard for 7wks + rat chow & hot water extract (5 brix) of <i>G. rhizoma</i> for 4wks (positive control)
C <sup>1)</sup>	diet of 10% lard for 7wks + 1% <i>G. rhizoma</i> powder for 4wks
D <sup>1)</sup>	diet of 10% lard for 7wks + 5% <i>G. rhizoma</i> powder for 4wks
E <sup>2)</sup>	diet of 10% lard for 7wks + 50% EtOH extract(2 brix) of <i>G. rhizoma</i> for 4wks
F <sup>2)</sup>	diet of 10% lard for 7wks + 50% EtOH extract(10 brix) of <i>G. rhizoma</i> for 4wks
G <sup>2)</sup>	diet of 10% lard for 7wks + water extract(2 brix) of <i>G. rhizoma</i> for 4wks
H <sup>2)</sup>	diet of 10% lard for 7wks + water extract(10 brix) of <i>G. rhizoma</i> for 4wks

<sup>1)</sup> *Gastrodiae rhizoma* powder(group C and D) were supplemented 1% and 5%(w/w) in a diet based AIN-93, respectively.

<sup>2)</sup> 50% ethanol and hot water(group E~H) extracts of *G. rhizoma* were orally administered once a day for 4 weeks.

Table 3. Composition of experimental diets and *G. rhizoma* extract

Group	Moisture (%)	Ash (%)	Protein (%)	Lipid (%)	Carbohydrate (%)	Ca (mg%)	P (mg%)
A <sup>2)</sup>	10.5	6.38	20.2	18.5	44.6	0.55	0.64
B	9.3	8.02	22.1	3.5	66.4	0.62	0.43
C	10.1	6.32	19.7	16.6	47.7	0.57	0.63
D	9.9	6.03	19.2	16.5	48.4	0.38	0.41
1	95.0	0.35	- <sup>1)</sup>	-	-	0.03	0.06
2	90.0	0.64	-	-	-	0.06	0.10
3	90.0	1.83	-	-	-	0.01	0.04

<sup>1)</sup> not analysis

<sup>2)</sup> A : 10% lard diet

B : Basal diet

C : 10% lard diet + 1% *G. rhizoma* powder

D : 10% lard diet + 5% *G. rhizoma* powder

1 : Hot water extract(5 brix) of *G. rhizoma*

2 : Hot water extract(10 brix) of *G. rhizoma*

3 : 50% ethanol extract(10 brix) of *G. rhizoma*

## (2) 성장률 및 식이섭취량

고지방식이(lard 10%)를 급여한 흰쥐의 체중변화와 식이섭취량은 Table 4와 같다.

Table 4. Effect of powder, and ethanol and hot water extracts of *G. rhizoma* on daily weight gain and diet intake in S.D. rats

Group	Initial body wt.(g)	Final body wt. (g)	Weight gain (g/day)	Diet intake (g/day)
A	131.5±12.7	450.3±39.0 <sup>abc</sup>	4.15±2.53	22.14±2.13 <sup>a</sup>
B	141.6± 7.0	482.1±78.3 <sup>a</sup>	4.22±2.48	22.15±1.76 <sup>a</sup>
C	136.7±13.5	427.4±35.4 <sup>bdc</sup>	3.65±2.32	21.51±2.23 <sup>ab</sup>
D	127.4±15.9	377.7±61.4 <sup>d</sup>	3.16±2.91	20.30±2.00 <sup>ab</sup>
E	130.1±14.1	402.1±52.8 <sup>dc</sup>	3.19±2.81	19.49±2.73 <sup>b</sup>
F	135.8±13.2	390.1±45.0 <sup>d</sup>	3.28±3.31	21.32±2.16 <sup>ab</sup>
G	133.8± 8.4	468.9±38.7 <sup>ab</sup>	4.20±2.57	21.67±2.13 <sup>a</sup>
H	132.0±10.5	414.4±42.1 <sup>dc</sup>	3.58±2.75	20.41±2.19 <sup>ab</sup>

Values are mean±S.D.(n=12). Means in the same column not sharing a common letter are significantly different(p<0.05).

The average of initial body weight is 133.6 g.

Experimental periods are 11 weeks.

시험개시 체중은 평균 133.6±4.4 g으로 실험군간 차이가 없었다. 고지방 식이를 7주 동안 급여하고 천마 분말과 50% 에탄올 및 열수추출물을 4주 동안 급여 후의 시험종료 체중은 390.1~482.1 g으로 양성대조군(B)이 가장 높았고, 천마분말 5%군(D)이 가장 낮았다(p<0.05). 실험 전기간(11주) 동안 고지방식이를 급여한 음성대조군(A)은 450.3 g으로 천마 열수추출물군(G)의 468.9 g 보다 통계적으로 낮았지만 G군을 제외한 천마식이군에 비해서 통계적으로 유의하게 높았다. 천마식이군별로는 분말군에서는 1% 보다 5%가, 50% 에탄올과 열수추출물군에서는 2 brix 보다 10 brix가 유의한 체중 감소

를 나타냈다. 시험기간 중 평균 성장률은 식이군간 통계적인 차이는 없었지만 두 대조군(A, B)이 각각 4.15, 4.22 g/day, 열수추출물군(G)이 4.20 g/day으로 높았고, 천마식이군은 3.16~3.65 g/day으로 비슷하였다. 식이섭취량은 증체량이 많았던 두 대조군과 G군이 가장 높았고, E군이 식이군 중 유의하게 낮았다( $p < 0.05$ ).

### (3) 장기무게

일반적으로 체액성면역 보다 세포매개성 면역에 관여하여 특정질환의 발생율을 높이고 면역기능을 감소시키는 것으로 알려진 고지방식이(lard 10%)를 급여한 흰쥐를 시험종료 전 12시간 동안 절식시킨 후 측정된 장기무게는 Table 5와 같이 식이군 간에 통계적인 차이가 있었다( $p < 0.05$ ).

간장무게는 열수추출물군(H)이 통계적으로 유의하게 낮았고 H군을 제외한 다른 식이군에서는 유의한 차이는 없었으나 50% 에탄올과 열수추출물군(E, F, G)이 다소 낮았고 분말식이군(C)이 가장 높았다. 비장무게는 분말식이군(D)과 50% 에탄올추출물군(F)이 유의하게 높았고, 그 외 다른 식이군은 차이가 없었다. 신장무게는 분말식이군(D)과 50% 에탄올추출물군(F)이 유의하게 높았고, 대조군(B)이 유의하게 낮았으며 그 외 다른 식이군은 차이가 없었다. 정소무게는 분말식이군(D)이 가장 높았고 두 대조군(A, B)이 가장 낮았으며 그 외 다른 식이군 간에도 통계적인 차이가 나타났다.

또한 생체 내 면역기능 측정기준인 간 무게와 비장계수 및 갑상선계수는 식이 내 지방농도와 포화도에 의한 체내 lymphocyte 생성능과 특정질환 감염시의 면역반응에 큰 영향을 주는데 비장무게가 특히 높았던 천마분말식이군 D와 50% 에탄올추출물군 F가 체내 면역계 활성화에 영향을 미치는 것으로 추측할 수 있다.

Table 5. Effect of powder, and ethanol and hot water extracts of *Gastrodiae rhizoma* on organ weight in S.D. rats

Group	Organs(g/100g body weight)			
	Liver	Spleen	Kidney	Testis
A	2.91±0.23 <sup>a</sup>	0.17±0.05 <sup>b</sup>	0.28±0.03 <sup>ab</sup>	0.51±0.05 <sup>d</sup>
B	2.87±0.17 <sup>a</sup>	0.17±0.04 <sup>b</sup>	0.25±0.02 <sup>b</sup>	0.52±0.07 <sup>dc</sup>
C	3.07±0.22 <sup>a</sup>	0.17±0.03 <sup>b</sup>	0.29±0.03 <sup>ab</sup>	0.58±0.05 <sup>abc</sup>
D	2.97±0.31 <sup>a</sup>	0.29±0.22 <sup>a</sup>	0.30±0.06 <sup>a</sup>	0.64±0.09 <sup>a</sup>
E	2.82±0.28 <sup>a</sup>	0.17±0.04 <sup>b</sup>	0.28±0.03 <sup>ab</sup>	0.58±0.07 <sup>ab</sup>
F	2.86±0.36 <sup>a</sup>	0.30±0.21 <sup>a</sup>	0.30±0.05 <sup>a</sup>	0.58±0.05 <sup>ab</sup>
G	2.84±0.25 <sup>a</sup>	0.16±0.03 <sup>b</sup>	0.27±0.03 <sup>ab</sup>	0.55±0.04 <sup>bdc</sup>
H	2.46±0.19 <sup>b</sup>	0.18±0.05 <sup>b</sup>	0.28±0.02 <sup>ab</sup>	0.60±0.07 <sup>ab</sup>

Values are mean±S.D.(n=12).

Means in the same column not sharing a common letter are significantly different(p<0.05).

#### (4) 혈청 지질함량

고지혈증은 혈액 중 콜레스테롤이나 중성지방이 증가된 상태로 그 유발요인으로는 인종, 성별 등의 유전적 요인과 환경적인 요인 등이 작용하는 것으로 보고된 바 있다. 본 실험에서는 고지혈증 유발을 위하여 고지방식이(lard 10%)를 급여한 흰쥐에게 천마분말과 50% 에탄올 및 열수추출물이 혈청지질에 미치는 영향을 보았다.



Table 6. Effect of powder, and ethanol and hot water extracts of *Gastrodiae rhizoma* on serum lipid concentrations in S.D. rats

Group	Serum lipids(mg/dl)			
	TC <sup>1)</sup>	TG <sup>2)</sup>	HDL <sup>3)</sup>	LDL+VLDL <sup>4)</sup>
A	110.6±16.3 <sup>a</sup>	126.9±28.3 <sup>ab</sup>	34.3±9.0 <sup>b</sup>	34.6±17.0 <sup>a</sup>
B	94.0± 9.1 <sup>a</sup>	146.5±27.9 <sup>a</sup>	37.2±7.7 <sup>ab</sup>	27.5±13.7 <sup>ab</sup>
C	80.2±13.8 <sup>ab</sup>	89.4±17.6 <sup>bc</sup>	40.6±6.7 <sup>ab</sup>	21.7±19.3 <sup>ab</sup>
D	80.9± 8.7 <sup>ab</sup>	99.7±30.2 <sup>bc</sup>	36.8±6.2 <sup>ab</sup>	24.2±17.4 <sup>ab</sup>
E	78.8± 8.8 <sup>ab</sup>	99.0±36.5 <sup>bc</sup>	44.3±6.7 <sup>a</sup>	14.7±17.1 <sup>bc</sup>
F	78.8±10.6 <sup>ab</sup>	89.8±33.3 <sup>bc</sup>	39.7±6.4 <sup>ab</sup>	21.1±17.1 <sup>ab</sup>
G	76.9± 9.9 <sup>ab</sup>	104.4±25.3 <sup>bc</sup>	43.5±6.7 <sup>ab</sup>	12.5±15.0 <sup>c</sup>
H	72.1± 9.2 <sup>c</sup>	81.7±15.1 <sup>c</sup>	40.5±5.6 <sup>ab</sup>	15.3±14.6 <sup>bc</sup>

Values are mean±S.D.(n=12).

Means in the same column not sharing a common letter are significantly different(p<0.05).

1) Total-cholesterol

2) Triglyceride

3) High-density lipoprotein cholesterol

4) Low-density and very low-density lipoprotein cholesterols

Table 6의 결과에서 총 콜레스테롤(TC)함량은 시험 전 기간 lard 10%식을 급여한 대조군(A)과 처음 7주간 lard 10%식을 급여하고 이후 4주간 일반식과 열수추출물(5 brix)을 급여한 대조군(B)이 각각 110.6, 94.0 mg/dl 으로 천마식이군에 비해 유의하게 높았고, 열수추출물군(H)이 72.1 mg/dl 으로 식이군 중 가장 낮았다(p<0.05). 총 콜레스테롤은 대조군(A, B) 보다 천

마식이군에서 유의하게 감소되었는데 이러한 결과는 혈액개선효과를 실험적으로 평가하기 위하여 고콜레스테롤혈증을 유발시킨 흰쥐에게 천마 천연차를 경구투여했을 때 스타틴계열의 약물투여군과 유사하게 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 TC의 농도를 감소시켰다는 보고와 유사하다.

중성지방(TG)함량은 대조군인 A와 B군이 각각 126.9, 146.5 mg/dl 으로 천마식이군에 비해 통계적으로 높았고, 천마식이군에서는 열수추출물군(H)이 81.7 mg/dl 으로 유의하게 낮았으며( $p < 0.05$ ) H군을 제외한 식이군은 89.4~104.4 mg/dl 으로 통계적인 차이는 없었다. HDL함량은 천마식이군 중 50% 에탄올추출물군(E)이 44.3 mg/dl로 가장 높았고 시험 전 기간 lard 10%식을 급여한 대조군(A)이 34.3 mg/dl 으로 가장 낮았으며 다른 식이군은 36.8~43.5 mg/dl 으로 차이가 없었다. 이는 중성지방(TG)의 증가가 HDL의 농도를 낮추고, chylomicron remnant의 함량을 증가시킨다는 결과와 일치하며 중성지방량이 높았던 열수추출물(H)과 HDL함량이 높았던 50%에탄올추출물(E)은 관상동맥심질환의 위험을 줄일 가능성이 있다고 본다.

LDL+VLDL함량은 대조군(A)이 34.6 mg/dl 으로 가장 높았고, 시험기간중 처음 7주간 lard 10%식을 급여하고 이후 4주간 일반식이와 열수추출물(5 brix)을 급여한 대조군(B)이 27.5 mg/dl 으로 높았으며 천마군에서는 50% 에탄올추출물군(E)이 14.7 mg/dl, 열수추출물군(G, H)이 12.5, 15.3 mg/dl 으로 유의하게 낮았다( $p < 0.05$ ).

#### (5) 테스토스테론농도와 혈당치 및 EFP무게

고지방식이(lard 10%)를 급여한 흰쥐에게 천마분말, 50% 에탄올 및 열수추출물이 혈청 테스토스테론농도와 혈당치 및 정소상체지방페드(EFP)무게에 미치는 영향은 Table 7과 같다.

Table 7. Effect of powder, and ethanol and hot water extracts of *Gastrodiae rhizoma* on serum testosterone, glucose and EFP in S.D. rats

Group	Items		
	Testosterone (ng/ml)	Glucose (mg/dl)	EFP <sup>1)</sup> (g)
A	0.87±0.32	130.0±14.1 <sup>ab</sup>	0.56±0.07 <sup>ab</sup>
B	0.77±0.85	163.7±21.6 <sup>a</sup>	0.64±0.10 <sup>a</sup>
C	0.62±0.31	100.6±12.6 <sup>bc</sup>	0.43±0.10 <sup>c</sup>
D	1.33±0.37	99.7±13.4 <sup>bc</sup>	0.43±0.05 <sup>c</sup>
E	2.03±1.14	84.7±12.9 <sup>bc</sup>	0.45±0.16 <sup>bc</sup>
F	0.60±0.26	95.7±14.3 <sup>bc</sup>	0.51±0.19 <sup>bc</sup>
G	0.62±0.30	151.3±19.6 <sup>a</sup>	0.49±0.08 <sup>bc</sup>
H	1.23±0.52	81.6±17.9 <sup>c</sup>	0.41±0.10 <sup>c</sup>

Values are mean±S.D.(n=12).

Means in the same column not sharing a common letter are significantly different(p<0.05).

<sup>1)</sup> Epididymal fat pad(g/body weight 100 g)

웅성호르몬(안드로젠)중에서 생리적 활성이 가장 큰 테스토스테론은 주로 정소의 Leydig's cell에서 합성되어 정자형성과정(spermatogenesis)의 후반부를 지배하는 호르몬으로 알려져 있는데 본 연구에서 testosterone농도는 식이군간에 통계적인 차이는 나타나지 않았지만 천마식이군중에서는 50% 에탄올 추출물군(E)이 2.03 ng /ml으로 가장 높았고 분말군(D)이 1.33 ng/ml, 열수 추출물군(H)이 1.23 ng/ml으로 높았다. 그 외 대조군을 포함한 천마군은

0.60~0.87 ng/ml으로 비슷하였다. 혈당치는 시험기간 중 처음 7주간 lard 10%식이를 급여하고 이후 4주간 일반식이와 열수추출물(5 brix)을 급여한 대조군(B)이 163.7 mg/dl, 열수추출물 2 brix군(G)이 151.3 mg/dl으로 식이군 중 통계적으로 가장 높은 반면 열수추출물 10 brix군(H)은 81.6 mg/dl으로 통계적으로 가장 낮았다( $p < 0.05$ ). 시험 전 기간 lard 10%식이를 급여한 대조군(A)은 130.0 mg/dl으로 다른 식이군 보다 통계적으로 높았으며 분말군(C, D) 과 50% 에탄올추출물군(E, F)은 84.7~100.6 mg/dl 으로 정상농도를 나타냈다. 체지방 축적정도를 대표하는 정소상체지방패드(EFP)의 무게는 대조군(A, B)이 각각 0.56 g, 0.64 g으로 다른 천마식이군 보다 통계적으로 유의하게 높게 나타난 반면 분말군(C, D)은 0.43 g, 열수추출물군(H)은 0.41 g으로 통계적으로 유의하게 낮았다( $p < 0.05$ ). 이들 통계치를 비만마우스(ob/ob mouse) 모델을 이용하여 근육조직중의 산화적대사에 triiodo-thyronine( $T_3$ )이 미치는 영향 실험에서 대조군(saline-treated)에 비해 실험군( $T_3$ -treated)이 체중, 간장무게 및 지방세포수가 감소하고 EFP 무게가 훨씬 낮았다는 결과와 비교할 때 EFP무게가 가장 적었던 분말군인 C와 D 그리고 열수추출물군인 H가 체지방의 축적을 막고 조직의 산화적 대사에 영향을 끼칠 것으로 기대된다.

#### 나. 천마 분획물이 고지방식을 급여한 흰쥐의 혈청지질에 미치는 영향

##### (1) 실험설계

천마로부터 조제한 각 분획물들의 생리효능을 평가하기 위하여 흰쥐에게 고지방식이를 급여하여 고지혈증(hyperlipidemia)을 유발시킨 후 천마로부터 조제한 저분자분획, 다당체분획 및 단백질분획이 성장률과 혈청지질 패턴에 미치는 영향을 조사하기 위한 실험은 Table 1과 같이 실험 1기와 2기로 나누

어 수행하였다. 실험 1기는 처음 6주 동안 흰쥐용 가루사료에 유지(lard : corn oil : cholesterol 10:2:1, w/w)를 첨가한 고지방식이(HFCD, high fat and cholesterol diet)를 급여하였고, 실험 2기는 6주 동안 천마 성분 분획물 들 즉, 저분자분획(GR-1), 다당체분획(GR-2), 단백질분획(GR-3)을 투여하였다(Table 1). 천마분획물의 투여량은 선행연구의 물과 에탄올 추출물의 추출수율 및 투여량 등과 천마 분획물 조제시의 수율 등을 고려하여 GR-1, 2, 3 분획물을 생수에 현탁하여 실험동물(250g) 당 매일 건물 기준으로 14.7, 3.60, 6.17 mg씩 투여하였다.

Table 1. Experimental design

Group (n=12)	1st phase (6 wks)		2nd phase (6 wks)	
	Initial wt. (g)	Treatment	Initial wt. (g)	Treatment <sup>3)</sup>
A	74.3±3.5	HFCD <sup>2)</sup>	436±20.9	GR-1+HFCD
B	75.5±3.7	"	433±31.7	GR-2+HFCD
C	74.9±2.6	"	450±23.1	GR-3+HFCD
D <sup>1)</sup>	73.3±3.5	"	437±30.7	HFCD

<sup>1)</sup> HFCD (high fat and cholesterol diet) control group.

<sup>2)</sup> AIN-diet based commercial rat chow containing 10% of lard, 2% of corn oil and 1% of cholesterol (w/w).

<sup>3)</sup> Components fractions of *Gastrodiae rhizoma* : GR-1 (low molecule), GR-2 (polysaccharide), GR-3 (protein).

## (2) 성장율

고지방식이를 급여한 실험 1기의 개시체중은 평균  $74.3 \pm 0.9$  g, 종료체중은 433~450 g 으로 처리군 간에 큰 차이가 없었다(Table 1). 한편, 고지방식이 급여 후 천마 분획물을 급여한 실험 2기의 종료체중, 증체량, 식이섭취량 및 식이효율을 살펴본 결과는 Table 2 같다. 시험 종료체중은 고지방대조군(D)의 평균 체중이 598 g 으로 천마분획물군(A, B, C) 보다 평균 44 g 높았지만 통계적인 유의성은 없었다. 그 밖에 일당 증체량 역시 3.83 g/day로 천마 성분 투여군의 2.64~2.84 g/day에 비해 다소 높았으나 통계적 유의성은 없었고 식이섭취량은 개체간에 뚜렷한 차이가 없는 것으로 판단되었다. 식이효율(FER)은 고지방대조군이 0.14로 가장 높았고 천마성분 투여군 간에는 0.09~0.10으로 큰 차이가 없었다.

Table 2. Effect of *Gastrodiae rhizoma* fractions on growth rate, diet intake and FER in rats fed high fat diet during the 2nd phase

Group	Initial wt. (g)	Final wt. (g)	Daily gain (g/day)	Diet intake (g/day)	FER <sup>1)</sup>
A	$436 \pm 20.9^{2)}$	$555 \pm 37.6$	$2.84 \pm 2.54$	$28.05 \pm 3.41$	$0.09 \pm 0.09$
B	$433 \pm 31.7$	$546 \pm 43.6$	$2.69 \pm 1.44$	$27.81 \pm 2.98$	$0.09 \pm 0.05$
C	$450 \pm 23.1$	$561 \pm 31.4$	$2.64 \pm 1.32$	$26.36 \pm 1.98$	$0.10 \pm 0.05$
D	$437 \pm 30.7$	$598 \pm 48.5$	$3.83 \pm 1.68$	$26.79 \pm 0.99$	$0.14 \pm 0.06$

<sup>1)</sup> FER (feed efficiency rate): weight gain/diet intake.

<sup>2)</sup> Values are mean $\pm$ SD (n=12).

### (3) 혈청 지질함량

고지혈증은 혈액 중 콜레스테롤이나 중성지방이 증가된 상태로 그 유발요인으로는 인종, 성별 등 유전적 요인과 환경적인 요인 등이 작용하는 것으로 보고된 바 있다. 본 실험에서는 고지방식을 급여한 흰쥐에게 천마분획물의 투여가 혈청 지질농도에 미치는 영향을 조사하여 천마 중 어떤 성분이 지질분획을 개선시키는 효과를 나타내는지 살펴보고자 하였다.

흰쥐용 기본사료(AIN-diet)에 유지를 첨가한 고지방식을 6주 동안 급여한 실험 1기의 혈청 지질 함량과 동맥경화위험지수(AI)의 평균치를 살펴본 결과 총 콜레스테롤(TC) 함량은 평균  $90.1 \pm 4.9$  mg/dl, 중성지방(TG) 함량은  $190.2 \pm 13.3$  mg/dl, HDL과 LDL-콜레스테롤 함량은 각각  $31.7 \pm 1.73$ 과  $22.3 \pm 1.96$  mg/d이었으며 동맥경화위험지수는  $1.84 \pm 0.09$  이었다. 실험 1기 동안에는 4 처리군 모두 동일한 시료를 투여했으므로 처리군 간에 통계적 유의성은 없었다.

고지방식과 함께 천마성분 분획물을 6주 동안 급여한 실험 2기의 혈청 지질농도와 AI는 Table 3와 같으며 각 처리군에서 1기와 2기의 차이를 살펴본 결과는 Fig. 2와 3과 같다. TC 함량의 경우 고지방식만을 투여한 대조군(D)의 경우 89.2 mg/d인 반면 천마성분 분획물을 함께 투여한 처리군(A~C)은 70.0~73.2 mg/d의 값을 나타내었으나 통계적인 유의성은 없었다. TG 함량은 고지방 대조군(D)이 183.5 mg/d로 가장 높았고, 천마성분 중 다당체분획을 투여한 군(B)이 110.8 mg/d로 다른 분획에 비해 평균 35% 정도 낮은 TG 함량을 나타내었다( $P < 0.05$ ). HDL-콜레스테롤은 단백질분획을 투여한 군(C)과 고지방대조군(D)이 28.6~29.6 mg/d로 저분자분획을 투여한 군(A)의 24.0 mg/d와 다당체분획을 투여한 군(B)의 23.8 mg/d에 비해 다소 높은 함량을 나타내었다( $P < 0.05$ ). LDL-콜레스테롤함량은 고지방 식이를 투여한 군(D)이 31.4 mg/d으로 천마성분 분획물을 투여한 군(A~C)의 17.1~

22.7 mg/d에 비해 유의적으로 높게 나타났다. 동맥경화위험지수(AI)는 단백질분획 투여군이(C)이 1.45로 실험군 중 통계적으로 가장 낮았다( $P<0.05$ ).

각 처리군에서 실험 1기와 실험 2기간의 혈청 지질분획의 변화를 비교해 본 결과는 Fig. 2와 같다. TC 함량은 고지방대조군(D)에서 약간 증가하였고, 천마분획물은 A, B, C군에서 각각 18.8, 22.3, 19.6% 감소하였다( $P<0.05$ ). TG 함량은 고지방대조군은 변화가 없었던 반면, 천마성분 중 다당체분획과 단백질분획을 투여한 경우에 각각 41.7, 16.8% 감소한 것으로 나타났다( $P<0.05$ ). 이와 같은 천마성분의 혈중 TG 함량 감소효과는 혈액지질의 개선 효과를 실험적으로 평가하기 위하여 고콜레스테롤혈증을 유발시킨 흰쥐에게 천마차를 경구투여 했을 때 스타틴계열의 약물투여군과 유사하게 대조군 보다 TG 농도를 유의하게 감소시켰다는 보고와 비슷한 것으로 사료된다. HDL농도는 천마분획물과 고지방대조군에서 모두 감소한 것으로 나타났지만 천마분획 중 C군은 6.6% 감소로 차이가 거의 없었다. LDL농도는 천마분획물 중 A군과 C군에서 각각 23.3, 18.4% 감소한 반면, D군은 40.8%로 유의하게 증가한 것으로 나타났다( $P<0.05$ ). 실험 1기와 실험 2기의 동맥경화위험지수(AI)는 천마분획 중 특히 단백질군(C)이 21.2% 감소한 반면( $P<0.05$ ), A군과 B군은 각각 11.4, 5.4% 증가하였고, D군은 15.2% 증가하였다. 이상의 결과로 볼 때 천마성분 중 다당체분획(B)은 혈청 중 TC와 TG 농도의 감소에 유효한 반면, HDL과 LDL-콜레스테롤함량 및 AI는 단백질분획(C)이 유의하게 영향을 미친 것으로 나타났다. 따라서 천마성분 중 다당체 또는 단백질분획 같은 수용성 고분자분획이 고지혈증을 개선시키는 효과가 있음을 시사하는 결과로 판단되며 새로운 기능성 식품소재로 활용될 수 있을 것으로 판단되었다.



Table 3. Effect of *Gastrodiae rhizoma* fractions on serum lipid levels and AI in rats during the 2nd phase

Group	Lipid fractions(mg/d/)				
	TC <sup>1)</sup>	TG <sup>2)</sup>	HDL <sup>3)</sup>	LDL <sup>4)</sup>	AI <sup>5)</sup>
A	73.2± 8.3 <sup>6)</sup>	177.0±51.2 <sup>a</sup>	24.0±2.2 <sup>b7)</sup>	17.1±3.6 <sup>b</sup>	2.05±0.51 <sup>a</sup>
B	70.0±12.1	110.8±42.8 <sup>b</sup>	23.8±4.8 <sup>b</sup>	22.7±7.3 <sup>b</sup>	1.94±0.65 <sup>a</sup>
C	72.4± 8.8	162.8±68.5 <sup>a</sup>	29.6±2.4 <sup>a</sup>	18.2±6.7 <sup>b</sup>	1.45±0.30 <sup>b</sup>
D	89.2±14.8	183.5±35.3 <sup>a</sup>	28.6±5.4 <sup>a</sup>	31.4±9.1 <sup>a</sup>	2.12±0.48 <sup>a</sup>

1) Total-cholesterol.

2) Triglyceride.

3) High-density lipoprotein cholesterol.

4) Low-density lipoprotein cholesterol.

5) Atherogenic index: TC-HDL/HDL.

6) Values are mean±SD (n=12).

7) Means in the same column with different superscript letters are significantly different (P<0.05).

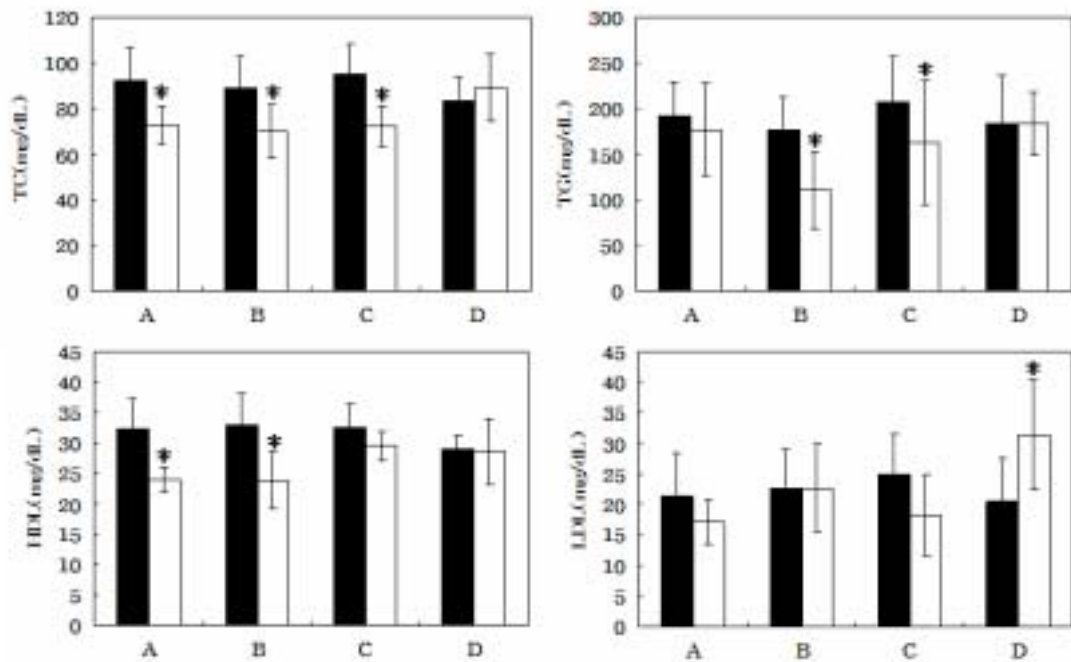


Fig. 2. Comparison of serum lipid levels between 1st phase (high fat diet, ■) and 2nd phase (high fat diet + *Gastrodiae rhizoma* fractions, □).

A~D : See the treatment of Table 1.

\* significantly different at t-test between 1st phase and 2nd phase at  $p < 0.05$ .

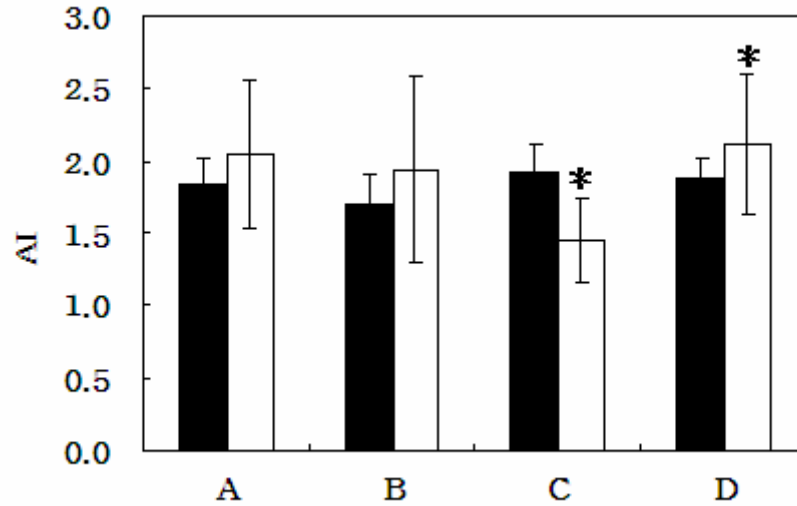


Fig. 3. Comparison of atherogenic index between 1st phase (high fat diet, ■) and 2nd phase (high fat diet + *Gastrodiae rhizoma* fractions, □). A~D : See the treatment of Table 1.

\* significantly different at t-test between 1st phase and 2nd phase at  $p < 0.05$ .

#### 4. 참고문헌

- Bae, J. C. (2002) Development of functional foods using chunma. *Food Industry and Nutrition* **7**, 50-54.
- Chung, H. S. and Ji, G. E. (1994) Composition and functionality of Chonma. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**, 213-220 (1994)
- Green, M. S., Heiss, G., Rifkind, B. M., Cooper, G. R., Williams, O. D. and Tayroler, H. A. (1985) The ratio plasma high density lipoprotein cholesterol to total and low density lipoprotein cholesterol—age related changes and race and sex differences in selected North American

- populations. *Circulation* **72**, 93–104.
- Huang, J. H. (1989) Comparison studies on pharmacological properties of injection *Gastrodia elata*, gastrodin-free fraction and gastrodin. *Chung-Kuo-Hsueh-Ko-Hsueh-Yuan-Hsueh-Pao* **11**, 147–152.
- Huang, Z. L. (1985) Recent developments in pharmacological study and clinical application of *Gastrodia elata* in China. *Chung-Hsi-I-Chieh-Ho-Tsa-Chih* **5**, 251–258.
- Kim, E. J., Ji, G. E. and Kang, Y. H. (1994) Effects of *Gastrodia Rhizoma* extracts on global coronary circulation in rats. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**, 213–220.
- Kim, K. I., Han, C. K., Seong, K. S., Lee, O. H., Park, J. M. and Lee, B. Y. (2003) Effects of whole powder and extracts of *Gastrodiae rhizoma* on serum lipids and body fat in rats fed high-fat diet. *Korean J. Food Sci. Technol.* **35**, 720–725.
- Kim, K. S., Ezaki, O., Ikemoto, S. and Itakura, H. (1995) Effects of platycodon grandiflorum feeding on serum and liver lipid concentrations in rats with diet-induced hyperlipidemia. *J. Nutri. Sci. Vitaminol.* **41**, 485~491.
- Ku, B. H. (1991) Experimental studies on the pharmaceutical effects of *Gastrodiae elata*. M.S. thesis, Kyung-Hee Univ., Seoul.
- Lusis, A. J.(1988) Genetic factors affecting blood lipoprotein. *J. Lipid Res.* **29**, 397–429.
- Paik, Y. S., Song, J. K., Yoon, C. H., Chung, K. S. and Yun-Choi, H. S. (1995) Anti-platelet and anti-thrombotic effects of *Gastrodia elata*. *Korean J. Pharmacogn.* **26**, 385–389.

- Snedecor, G. W. and Cochran, W. G. (1967) In *Statistical Methods*. 6th ed. Iowa State University Press, Iowa.
- Society of Oriental Medicine(1993) In *The Modern Oriental Medicine* Hakchang-Sa, Seoul, pp. 446-447.
- Wu, H. Q., Xie, L., Jin, X. N., Ge, Q., Jin, H. and Liu, G. Q. (1989) The effect of vanillin on the fully amygdala-kindled seizures in the rat. *Yao-Hsueh -Hsueh-Pao* **24**, 482-489.
- Yamada, H., Kiyohara, H., Cyong, J. C., Takemoto, N., Komatsu, Y., Kawamura, H., Aburada, M. and Hosoya, E. (1990) Fractionation and characterization of mitogenic and anti-complementary active fraction from Kampo (Japanese herbal) medicine 'Juzen-Taiho-To'. *Planta Med.* **56**, 386-391.
- Yu, K. H. and Shin, K. S. (2001) Bone marrow cell proliferation activity through intestinal immune system by the components of *Atractylodes lancea* DC. *Korean J. Food Sci. Technol.* **33**, 135-141.

## 제 3 절 혈압 강하 효능 평가

### 1. 서론

천마(天麻, *Gastrodiae rhizoma*)의 임상적 효능은 본초강목, 동의보감 등 여러 본초문헌에서 찾아 볼 수 있는데 주로 고혈압, 두통, 마비, 신경성 질환, 당뇨병 등의 성인병과 스트레스, 피로 등의 증상에 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 우리나라 민간에서도 일찍부터 천마를 두통과 현기증, 수족마비, 중풍, 전간(발작)등을 치료하는데 이용하여 왔다. 천마성분에 대한 중국의 연구 보고에서는 vanilly alcohol, vanillin, benzaldehydes, 배당체 등이 알려져 있고, 천마소(acetylgastrodin), 천마대원(*p*-hydroxybenzyl alcohol) 등의 성분은 주사제로도 개발되고 있다. 국내의 연구사례로는 천마 효능에 대한 실험적 연구, 항혈소판 및 항혈전 활성 연구, 천마추출물이 관상순환기에 미치는 영향 및 일반성분에 대한 보고가 있다.

고혈압은 순환기계 질병의 근원이 되는 만성퇴행성 질환(chronic degenerative diseases)으로 고령화 사회로 진입할수록 발병률이 증가하고 있다. 40대 이후의 중노년층에서 다발하는 고혈압 유병율은 성인에서 15~20%로 추정되며 특히 뇌출혈, 심장병, 신장병등과 합병증으로 나타날 경우 치사률이 높아 암, 심장병과 함께 3대 사망원인 중의 하나이다.

대부분의 고혈압은 원인불명으로 알려져 있고 이를 원발성 또는 본태성 고혈압(primary or spontaneous hypertension)이라고 하며 고혈압의 약 80%는 이에 속하고 약물치료가 요구된다. 반면 원인질병에 의한 것을 속발성 고혈압(secondary hypertension)이라고 한다. 본태성 고혈압의 발병은 체질설, 유전설, 스트레스설, 비만설, 식염과다 섭취설, 신경설, 환경설 등 여러 학설로 설명되고 있지만 발병원인은 확실히 밝혀져 있지 않다. 본태성고혈압쥐(spontaneously hypertensive rat, SHR)는 유전적으로 정상쥐보다 혈압이 높

은 실험적인 질환모델 동물로서 Okamoto와 Aoki에 의해 Wistar-Kyoto(WKY) rat 중에서 연속적인 형매 간 근친교배방법 (brother-to-sister inbreeding)으로 개발된 품종으로 유전적 요인에 의해 자 연발생 고혈압증이 후대에 발현되지만 후천적 및 환경적 요인에 의해 고혈압 의 진행과정이 영향을 받는 것으로 알려져 있다.

사람에서는 식이 중 염분섭취량, 육체적인 작업, 비만과 스트레스 등의 환 경적인 요인뿐 만 아니라 사회, 문화적, 행동적인 요인이 본태성고혈압 발현에 중요한 역할을 한다. 생약재와 식품소재를 이용한 국내의 고혈압 관련 연구는 인삼, 두충, 황련, 택사, 오가피, 메밀, 식이섬유와 메밀, 그 외 식이지방 등이 있다.

따라서 본 연구에서는 기능성 건강식품소재로서의 천마의 효능과 그 활 용방안을 모색하고자 천마분말 및 추출물, 저분자, 다당체 및 단백질과 같은 성분 분획물 들이 고지방식이를 급여한 본태성고혈압쥐(SHR)의 혈청 지질농 도와 수축기혈압(systolic blood pressure)에 미치는 영향을 조사하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 천마시료 조제

본 실험에 사용한 천마분말, 천마추출물 및 천마성분 분획물의 제조방법 은 “제 2 절 콜레스테롤저감 효능 평가를 위한 고지혈증 개선 시험”과 동일 한 재료 및 시료를 사용하였다.

### 나. 실험식이

동물실험에 사용된 기본식이 및 고지방식이, 천마 시료의 투여방법 등은 “제 2 절 콜레스테롤저감 효능 평가를 위한 고지혈증 개선 시험”과 동일한

방법을 사용하였다.

#### 다. 실험동물

본태성고혈압쥐는 일본의 찰스리버사로 부터 생후 4주령된 수컷쥐(male SHR/NCrj)를 공급받아 기본식으로 적응시킨 후 평균 체중이 160g 정도 되었을 때 난괴법(randomized complete block design)으로 6마리 정도씩 배치하였다. 실험기간 중 사육실 온도는  $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ , 조명주기는 12hr으로 하였고, 물과 식이는 자유급이(ad libitum)시켰다.

#### 라. 혈압측정

SHR쥐의 혈압측정을 위한 적응훈련은 실험식이 급여 후 약 2주일이 지났을 때 측정 홀더에서 2주 동안 매일 30분간 실시한 다음 이후 1주 간격으로 수축기혈압을 측정하였다. 혈압은 홀더에 SHR쥐를 넣은 다음 쥐의 미정맥에 측정센서가 달린 가압대를 장착하고  $29\pm 1^{\circ}\text{C}$  조절된 항온상자에서 10분정도 안정시킨 후 비관혈혈압측정기(IITC Inc., Woodland Hills, CA, USA)로 3회 반복 측정하였다. 혈압변화는 임상실험에서 사용하는 판단기준을 적용하였다.

#### 마. 조사항목과 분석방법

성장률, 식이섭취량, 식이효율, 수축기혈압, 혈청 지질분획(TC, TG, HDL, LDL) 및 동맥경화위험지수(AI)를 조사하였다. 실험결과의 통계분석은 SAS 프로그램을 이용하여 분석하였고, 실험군간 차이는 Duncan의 다중검정법( $\alpha=0.05$ )으로 유의성을 검증하였다.



### 3. 결과 및 고찰

#### 가. 천마 분말, 에탄올 및 열수추출물의 효과

천마에 대한 기능성 식품소재로서의 효능과 그 활용방안을 모색하고자 고지방식을 급여한 본태성고혈압쥐(SHR)를 대상으로 천마 분말, 에탄올 및 열수추출물이 혈청지질과 수축기혈압(systolic blood pressure)에 미치는 영향을 조사하였다.

#### (1) 실험설계

처음 4주간은 모든 실험군에 lard 10% 첨가식을 급여하였고, 이후 4주간은 천마분말 식이군(C~D)과 천마추출물 투여군(E~H)으로 나누어 급여하였다(Table 1). A군은 음성대조군으로 8주간 10% lard 첨가식을 급여하였으며, B군은 양성대조군(positive control)으로 처음 4주간만 lard 10% 첨가식을 급여하고 이후 4주 동안은 일반식이((주)삼양유지사료)로 대체하여 동시에 천마의 열수추출물(5 brix)을 경구투여하였다. 천마분말 식이군(C, D)은 일반식이에 천마분말을 각각 1%와 5%씩 첨가한 제조식을 급여하였고, 천마추출물 투여군(E~H)은 고지방식을 계속 급여하면서 1일 1회 2.5 mL 씩 경구투여하였다. 천마 분말 첨가식사와 천마 50% 에탄올 및 열수 추출물 시료의 일반성분은 “제 2 절 콜레스테롤저감 효능 평가를 위한 고지혈증 개선 시험”과 동일하였다.

#### (2) 체중변화와 식이섭취량

고지방식이(lard 10%)를 급여한 SHR의 체중변화와 식이섭취량은 Table 1와 같다.

Table 1. Effect of powder, 50% ethanol and hot water extracts of *Gstrodiae rhizoma* on weight gain and diet intake in SHR

Group	Initial body wt.(g)	Final body wt. (g)	Weight gain (g/day)	Diet intake (g/day)
A	101.4±2.3	313.6±11.8 <sup>a</sup>	3.86±0.61	19.20±2.10 <sup>ab</sup>
B	100.7±0.7	299.7±10.2 <sup>b</sup>	3.62±0.57	20.33±3.59 <sup>ab</sup>
C	97.0±5.3	272.8±11.7 <sup>b</sup>	3.20±0.67	18.28±2.80 <sup>b</sup>
D	104.6±2.2	286.7±15.1 <sup>b</sup>	3.31±1.23	28.33±7.64 <sup>a</sup>
E	98.0±1.3	295.6±18.3 <sup>b</sup>	3.59±1.34	19.81±3.15 <sup>ab</sup>
F	95.4±5.4	281.1±14.1 <sup>b</sup>	3.38±1.27	20.43±3.36 <sup>ab</sup>
G	100.4±2.0	297.3±14.8 <sup>b</sup>	3.58±1.07	27.01±6.33 <sup>a</sup>
H	101.4±3.3	296.0±21.2 <sup>b</sup>	3.54±0.99	18.74±1.32 <sup>b</sup>

Values are mean±S.D.(n=5).

Means in the same column not sharing a common letter are significantly different( $p<0.05$ ).

Experimental periods are 8 weeks.

시험개시 체중은 평균  $99.9\pm 2.9$  g 으로 실험군간 차이가 없었다. 고지방 식이를 4주 동안 급여하고 천마 분말과 50% 에탄올 및 열수 추출물을 4주 동안 급여 후 시험종료 체중은 실험 전 기간(8주) 고지방식이를 급여한 음성 대조군(A)이 313.6 g 으로 통계적으로 가장 높았다( $p<0.05$ ). 양성대조군(B)를 포함한 다른 천마식이군의 체중은 차이가 없는 것으로 나타났지만 천마분말 1%군(C)이 272.8 g 으로 가장 낮았다. 시험기간 중 평균 성장률은 시험

군간 차이가 없었고, 대조군(A, B)이 각각 3.86, 3.62 g/day 으로 천마식이군보다 다소 높은 반면 식이섭취량은 천마분말 5%군(D)과 열수추출물 2 brix군(G)이 각각 28.33, 27.01 g/day으로 가장 많았고 천마분말 1%군(C)과 열수추출물 10 brix군(H)이 각각 18.28, 18.74 g/day으로 유의하게 낮았다 ( $p<0.05$ ).

본 연구에서 천마군의 식이섭취량을 보면 천마분말군에서는 1%(C) 보다 5%(D)군이 유의하게 높았고, 열수추출물군에서는 10 brix(H)보다 2 brix(G)군이 유의하게 높았던 반면 50% 에탄올추출물군(E, F)에서는 대조군(A, B)과 식이섭취량이 비슷한 것으로 나타났다.

### (3) 장기무게

고지방식이(lard 10%)를 급여한 SHR을 시험종료 전 12시간 동안 절식시킨 후 측정된 장기무게는 Table 2와 같다.

간장무게는 대조군(A) 3.64 g, 천마분말 1%군(C) 3.71 g, 50%에탄올 10 brix군(F) 3.64 g으로 유의하게 무거웠고, 열수추출물 10 brix군(H)은 3.34 g 으로 통계적으로 가벼웠다( $p<0.05$ ). 비장무게는 0.19~0.22 g 으로 식이군간 차이가 없었지만 H군이 가장 가벼웠고, 신장무게는 50% 에탄올추출물군(F) 0.31 g과 열수추출물군(H) 0.30 g을 제외한 다른 시험군이 유의하게 무거웠다( $p<0.05$ ). 정소무게는 천마분말군(C, D)이 0.67, 0.62 g으로 대조군(A, B)을 포함한 천마추출물식이군 보다 유의하게 무거웠고, 열수추출물군(G, H)이 0.42, 0.51 g 으로 가장 가벼웠다( $p<0.05$ ). 본 연구에서 체중 100 g 으로 환산한 장기무게는 실험군 간에 비장무게를 제외하고 유의적인 차이가 보였는데 이는 실험군간 식이섭취량의 차이가 영향을 미친 것으로 사료된다.

Table 2. Effect of powder, 50% ethanol and hot water extracts of *Gastrodiae rhizoma* on organ weight in SHR

Group	Organs(g/100 g body weight)			
	Liver	Spleen	Kidney	Testis
A	3.64±0.33 <sup>a</sup>	0.21±0.02	0.34±0.03 <sup>a</sup>	0.54±0.06 <sup>b</sup>
B	3.45±0.24 <sup>ab</sup>	0.19±0.03	0.34±0.04 <sup>a</sup>	0.50±0.06 <sup>bc</sup>
C	3.71±0.46 <sup>a</sup>	0.20±0.03	0.34±0.05 <sup>a</sup>	0.67±0.13 <sup>a</sup>
D	3.42±0.32 <sup>ab</sup>	0.22±0.03	0.33±0.03 <sup>a</sup>	0.62±0.09 <sup>a</sup>
E	3.41±0.30 <sup>ab</sup>	0.20±0.01	0.33±0.01 <sup>a</sup>	0.51±0.05 <sup>bc</sup>
F	3.64±0.29 <sup>a</sup>	0.20±0.03	0.31±0.02 <sup>ab</sup>	0.48±0.08 <sup>c</sup>
G	3.41±0.49 <sup>ab</sup>	0.22±0.04	0.34±0.03 <sup>a</sup>	0.42±0.19 <sup>c</sup>
H	3.34±0.27 <sup>b</sup>	0.19±0.03	0.30±0.03 <sup>b</sup>	0.51±0.02 <sup>bc</sup>

Values are mean±S.D.(n=5).

Means in the same column not sharing a common letter are significantly different(p<0.05).

#### (4) 혈청 지질함량

고지혈증은 혈액 중 콜레스테롤이나 중성지방이 증가된 상태로 그 유발요인으로는 인종, 성별 등의 유전적 요인과 환경적인 요인 등이 작용하는 것으로 보고된 바 있다. 본 실험에서 고지방식이(lard 10%)를 급여한 SHR에게 천마분말과 50% 에탄올 및 열수추출물이 혈청지질에 미치는 영향은 Table 3과 같이 중성지방(TG)을 제외하고 식이군 간에 통계적인 차이가 있었다(p<0.05).

Table 3. Effect of powder, 50% ethanol and hot water extracts of *Gastrodiae rhizoma* on serum lipid concentration in SHR

Group	Serum lipids(mg/dl)			
	TC <sup>1)</sup>	TG <sup>2)</sup>	HDL <sup>3)</sup>	LDL <sup>4)</sup>
A	114.8±16.3 <sup>a</sup>	176.3±21.8	36.4±5.3 <sup>b</sup>	49.4±16.7 <sup>a</sup>
B	104.4± 9.1 <sup>a</sup>	178.3±18.5	39.6±6.3 <sup>a</sup>	35.7±13.7 <sup>ab</sup>
C	94.8±13.8 <sup>ab</sup>	149.6±23.3	39.9±4.2 <sup>a</sup>	25.0±19.3 <sup>b</sup>
D	99.3± 8.7 <sup>ab</sup>	154.3±26.0	38.5±4.5 <sup>ab</sup>	25.9±17.4 <sup>b</sup>
E	88.8± 8.8 <sup>b</sup>	143.5±38.1	39.0±7.8 <sup>a</sup>	21.1±17.1 <sup>bc</sup>
F	87.6±10.6 <sup>b</sup>	147.5±33.3	41.7±4.5 <sup>a</sup>	16.4±17.1 <sup>c</sup>
G	89.6± 9.9 <sup>b</sup>	161.5±26.6	40.0±6.2 <sup>a</sup>	17.3±15.0 <sup>c</sup>
H	85.4± 9.2 <sup>b</sup>	141.2±31.7	41.9±9.2 <sup>a</sup>	15.3±14.6 <sup>c</sup>

Values are mean±S.D.(n=5).

Means in the same column not sharing a common letter are significantly different(p<0.05).

<sup>1)</sup>TC: Total-cholesterol.

<sup>2)</sup>TG: Triglyceride.

<sup>3)</sup>HDL: High-density lipoprotein cholesterol.

<sup>4)</sup>LDL: Low-density lipoprotein cholesterol.

총 콜레스테롤(TC)함량은 시험 전 기간 고지방식이를 급여한 음성대조군(A)과 처음 4주간 고지방식이를 급여하고 이후 4주간 일반식이와 열수추출물을 급여한 양성대조군(B)이 각각 114.8, 104.4 mg/dl으로 천마식이군 보다 유의하게 높았고, 50% 에탄올추출물군(E, F)과 열수추출물군(G, H)은 85.

4~89.6 mg/dl으로 유의하게 낮았다( $p<0.05$ ). 천마분말군(C, D)은 각각 94.8, 99.3 mg/dl으로 나타났다. 본 연구에서 측정한 대조군의 TC농도는 114.8 mg/dl으로 고지혈증을 유발하기 위하여 corn oil, beef tallow, cholesterol을 10% 첨가한 식이를 4주간 흰쥐에게 급여 후 측정한 TC농도 180.63 mg/dl에 비해서는 훨씬 낮았지만, 정상식이 급여군의 59~92 mg/dl에 비해서는 높은 수준이었다. 중성지방(TG)함량은 시험군간 통계적인 차이가 없음에도 대조군(A, B)이 각각 176.3, 178.3 mg/dl으로 천마식이군에 비해 높았고, 천마군에서는 열수추출물군(G)의 161.5 mg/dl을 제외한 나머지 식이군에서 141.2~154.3 mg/dl이었다. 혈중 TG농도는 간에서의 합성과 분비, 지방조직에서의 합성과 분해, 내장의 지방대사 및 인슐린 저항성등과 연관이 있으며 한국인과 같이 주로 고당질 식사를 해온 민족은 고콜레스테롤혈증 못지 않게 고중성지방혈증도 중요하게 다루어 져야 할 문제로서 본 실험에서 나타난 천마식이 중 G군을 제외한 나머지 식이군의 TG농도가 대조군(A, B)에 비해 통계적인 차이는 없었지만 대략 30mg/dl 정도 낮아 천마식이가 TG농도의 감소에 일정한 영향을 미친 것으로 사료된다. HDL함량은 양성대조군(A) 36.4 mg/dl 과 천마분말군(D) 38.5 mg/dl 을 제외하고 음성대조군(B)을 포함한 천마식이군이 38.5~41.9 mg/dl으로 통계적으로 높았다( $p<0.05$ ). LDL+VLDL함량은 대조군(A)이 49.4 mg/dl으로 식이군중 통계적으로 가장 높았고, 천마식이군중 50% 에탄올추출물 10brix군(F)이 16.4 mg/dl, 열수 추출물군(E, G)이 각각 17.3, 15.3 mg/dl으로 유의하게 낮았다( $p<0.05$ ).

따라서 본 실험에서는 고지방식이(lard 10%)를 급여했을 때 LDL-콜레스테롤농도는 대조군(A)에 비해 천마식이군이 유의하게 감소한 반면 HDL-콜레스테롤농도는 대조군(A)에 비해 천마식이군이 유의하게 증가하였다. 이는 수용성섬유소는 콜레스테롤저하작용이 우수하므로 주로 LDL를 낮추고, HDL 농도에는 현저한 영향을 미치지 않는다는 보고와 유사한 경향을 보였다.

(5) 혈압변화

고지방식이(lard 10%)를 급여한 SHR에게 천마분말과 50%에탄올 및 열수추출물이 혈압에 미치는 영향은 Fig. 1과 같다.

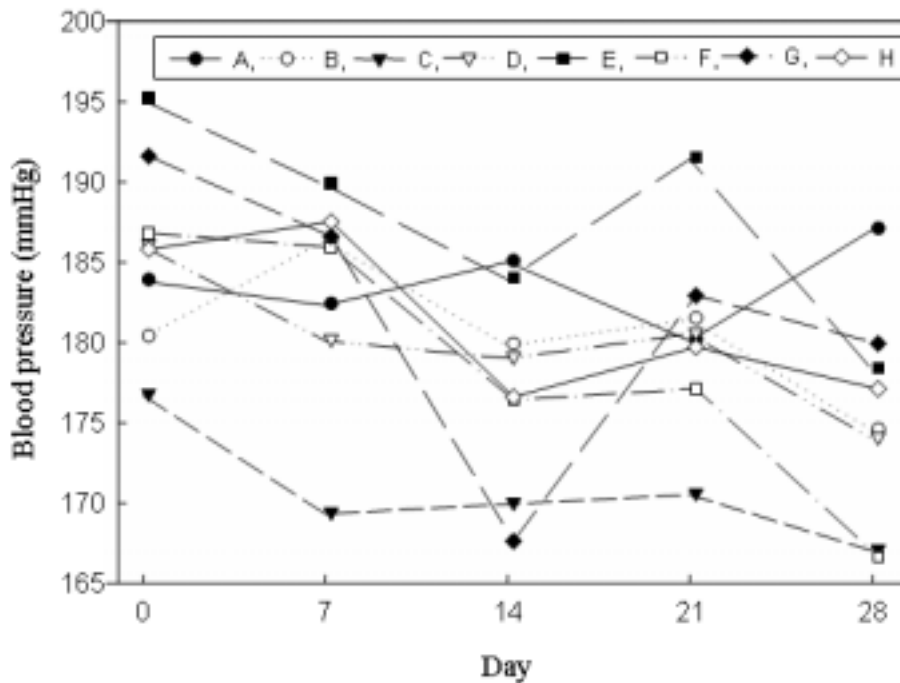


Fig. 1. Effects of powder, 50% ethanol and hot water extracts of *G. rhizoma* on systolic blood pressure in SHR.

A~H : See the treatment Table.

시험개시 후 고지방식이를 4주간 급여하고 생후 약 8주령이 되었을 때 모든 공시동물의 기준혈압은 176.7~195.1 mmHg으로, 평균혈압은

185.7±5.8 mmHg이었다. 식이군중 천마분말군(C)이 176.7 mmHg으로 가장 낮았고, 50% 에탄올추출물군(E)이 195.1 mmHg으로 가장 높았으며 대조군(A, B)은 각각 183.8, 180.3 mmHg이었다. 그 외 식이군은 185.7~191.5 mmHg으로 비슷하였다. 일반적으로 본태성고혈압쥐의 고혈압 발생전기는 생후 6주령 전, 발생기는 6주령~10주령 사이, 발생후기는 10주령 이후로 분류하고 있다. 본 연구에서 고지방식이와 천마의 분말과 50% 에탄올 및 열수추출물을 급여한 후 7일에 측정된 혈압은 대조군(B)과 열수추출물 10 brix군(H)을 제외한 모든 식이군에서 0.9~7.4 mmHg 감소하였고, 14일이 경과되었을 때(생후 약 10주령) 대조군(A)과 천마분말군(C)을 제외하고 감소한 것으로 나타났는데 특히 50% 에탄올(F)과 열수추출물군(G, H)에서 각각 9.5, 19.0, 10.9 mmHg씩 감소하였다. 반면 천마식이 급여 후 21일의 혈압은 대조군(A)을 제외한 모든 식이군에서 상승하였으며 특히 G군의 경우 15.3 mmHg가 상승한 것으로 나타났다. 천마식이 급여 후 28일(생후 약 12주령)에 측정된 혈압측정치는 21일과 비교할 때 대조군(A)를 제외한 모든 식이군에서 감소하였는데 특히 50%에탄올추출물군(E, F)에서 각각 13.1, 10.5 mmHg으로 유의하게 감소하였다. 천마식이 급여 전 기준혈압 대비 감소율은 50% 에탄올(E, F)과 열수추출물군(G)에서 각각 16.8, 20.2, 11.7 mmHg으로서 임상실험에서 일반적으로 사용하는 판단기준(20)을 적용했을 때 유의한 혈압변화로 사료되었다. 한편, 식이급여 전 대조군(A)의 기준혈압 183.8 mmHg과 50% 에탄올추출물 10 brix군(F)의 기준혈압 186.7 mmHg은 비슷한 수준으로서 시험종료시(Day 28) A군의 측정치 187.0 mmHg를 100으로 했을 때 F군은 약 11% (20.5 mmHg)가 감소한 것으로 나타났다. 일반 흰쥐와 SHR을 이용한 천마의 물 또는 에탄올 추출물이 심장 및 관상순환기능에 미치는 연구에서 물 또는 50% 에탄올추출물이 흰쥐에서는 관상혈관저항을 저하시켜 혈관확장을 가져온 반면 SHR 실험쥐에서는 50% 에탄올추출물이 오히려 관상혈관을



수축시키는 상반된 결과가 보고된 바 있다. 한편, 천마의 물추출물이 가토의 혈압에 미치는 실험적 연구에서 천마 농축액을 귀정맥과 양측 미주신경절단 (bilateral vagotomy)에 주사했을 때 강한 혈압강하작용을 보고한 바 있다. 이상과 같은 연구결과로 볼 때 본 실험에서 천마분말 및 천마추출물 시료가 혈중 지질농도와 혈압 감소에 유효한 영향을 미친 것으로 사료되지만 현재까지 천마추출물에 대한 유효성분의 분석이 정밀하게 이루어지지 못했기 때문에 천마의 water-extracts나 ethanol-extracts가 혈관확장과 혈액순환기능에 갖는 약리학적 또는 식품영양, 생리학적 효능에 대한 체계적인 연구를 통하여 식이성 천마의 기능성 식품소재로서의 효능과 그 활용방안의 적극적인 모색이 필요한 것으로 사료된다.

## 나. 천마 성분 분획물의 영향

### (1) 실험설계

천마로부터 조제한 각 분획물들의 생리효능을 평가하기 위하여 본태성고혈압쥐(SHR)에게 흰쥐용 가루사료(AIN-diet basis)에 유지(lard, corn oil, cholesterol/10:2:1%, w/w)를 첨가한 고지방식이(실험 1기)를 급여한 후 천마분획물(실험 2기)로서 저분자분획(GR-1), 다당체분획(GR-2), 단백분획(GR-3)이 수축기혈압과 혈청 지질분획에 미치는 영향을 평가하였다(Table 1). 천마분획물의 투여량은 앞서의 분말 및 추출물 투여실험시 물과 에탄올추출물의 추출수율과 투여량 및 천마분획물 조제 시 수율 등을 고려하여 GR-1, 2, 3 분획물을 각각 건물기준으로 14.7, 3.60, 6.17 mg/ml 농도로 생수에 현탁하여 SHR쥐(250g) 한 마리 당 매일 1 ml씩 투여하였다. 실험식이의 조성은 “제 2 절 콜레스테롤저감 효능 평가를 위한 고지혈증 개선 시험”과

동일하였다.

Table 1. Experimental design

Group (n=6)	1st Phase(3wks)		2nd Phase(5wks)	
	Initial wt.(g)	Treatment <sup>2)</sup>	Initial wt.(g)	Treatment <sup>3)</sup>
A	167.0±12.6	HFCD	249.6±12.3	GR-1+HFCD
B	168.6±10.9	"	247.6±11.5	GR-2+HFCD
C	169.8±11.7	"	242.9±12.5	GR-3+HFCD
D <sup>1)</sup>	156.7±10.3	"	270.6±15.1	HFCD

<sup>1)</sup> HFCD(high fat and cholesterol diet), control group.

<sup>2)</sup> AIN-diet based commercial rat chow containing 10% of lard, 2% of corn oil, 1% of cholesterol(w/w).

<sup>3)</sup> Components fractions of *Gastrodiae rhizoma* : GR-1(low molecule), GR-2(polysaccharide), GR-3(protein).

## (2) 성장률

실험기간동안 고지방식이와 천마분획물을 급여한 본태성고혈압쥐(SHR)의 성장률은 Table 2과 같다. SHR쥐의 시험개시 체중은 162.3±8.9 g으로 고지방대조군(D)이 다소 낮았지만 차이는 없었다. 8주 후 시험종료 체중은 D군이 388 g으로 천마분획물군(A, B, C)의 309.1~324.1 g 보다 유의하게 높았으며(P<0.05) 시험기간 중 일당 증체률도 역시 D군이 4.13 g/day로 천마성분을 투여한 군들의 2.49~2.81 g/day 보다 높았지만 통계적인 유의차는 없었다. 식이섭취량은 고지방대조군이 천마분획물군 보다 통계적으로 많았다(P<0.05). 식이효율(FER)은 0.16~0.19로 실험군간 차이가 없었다.

Table 2. Effect of *Gastrodiae rhizoma* fractions on growth rate, diet intake and FER in spontaneously hypertensive rats

Group	Initial wt. (g)	Final wt. (g)	Daily gain (g/day)	Diet intake (g/day)	FER <sup>1)</sup>
A	167.0±12.6 <sup>2)</sup>	324.1±18.5 <sup>b</sup>	2.81±1.51	16.44±2.27 <sup>b3)</sup>	0.17±0.02
B	168.6±10.9	309.8±17.2 <sup>b</sup>	2.52±1.74	16.19±2.38 <sup>b</sup>	0.16±0.05
C	169.8±11.7	309.1±9.67 <sup>b</sup>	2.49±1.27	16.02±2.79 <sup>b</sup>	0.16±0.04
D	156.7±10.3	388.0±16.3 <sup>a</sup>	4.13±1.74	21.34±4.63 <sup>a</sup>	0.19±0.05

1) FER(feed efficiency rate): weight gain/diet intake.

2) Values are mean±SD(n=6).

3) Means in the same column with different superscript letters are significantly different(P<0.05).

### (3) 혈청 지질농도

고지방식이를 급여한 SHR쥐에게 천마분획물이 혈청 지질농도와 동맥경화 위험지수(AI)에 미치는 영향은 Table 3와 같다. 총 콜레스테롤(TC)농도는 천마성분 분획물을 투여한 군(A, B, C)은 72.0~78.2 mg/dL으로 비슷하였고, 고지방대조군(D)은 104.0 mg/dL으로 유의하게 높았다(P<0.05). 중성지방(TG)농도는 실험군간 유의적인 차이가 없었으나 천마성분 분획물을 투여한 군(A, B, C)이 고지방대조군에 비해 각각 16, 19, 6% 낮은 함량을 나타내었다. 혈중 TG농도는 간장과 지방조직에서 합성과 분비 또는 분해되고, 내장의 지방대사 및 인슐린 저항성등과 연관이 있다. 한국인과 같이 주로 고당질 식사를 해온 민족은 고콜레스테롤혈증 못지않게 고중성지방혈증(hypertriglyceridemia)에 대해서도 관심 있게 대처해야 하는데 본 실험에서 특히 천마 다당체분획(B)은 D군과 비교 시 통계적인 차이는 없었지만 TG농도의 감소에

일정한 영향을 미친 것으로 사료되었다. HDL 콜레스테롤 농도는 다당체분획 (B)이 고지방대조군에 비해서 각각 21% 높았으나( $P < 0.05$ ), LDL 콜레스테롤 농도는 약 25% 정도 낮은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 수용성 섬유소는 콜레스테롤 저하작용이 우수하므로 주로 LDL를 낮춘다는 보고와 비슷한 경향으로 사료되지만 HDL농도에는 현저한 영향을 미치지 않는다는 보고와 비교할 때 본 실험의 천마 다당체분획에서 나타난 HDL농도 결과와는 다소 차이가 있는 것으로 생각된다. AI는 고지방대조군의 2.08에 비해 천마분획물들을 투여한 경우 1.47~1.55로 유의하게 낮은 값을 나타내었다( $P < 0.05$ ). 특히 다당체분획을 투여한 경우(B group)은 고지방대조군에 비해 약 42% 정도 낮은 AI 값을 나타내었다. 따라서 이러한 연구결과는 앞서 지방식이를 급여한 흰쥐의 혈청 지질농도에 미치는 영향에 관한 연구결과에서 다당체분획은 혈청 중 TC와 TG 농도의 감소에 유효한 반면, 단백질분획은 HDL과 LDL콜레스테롤 및 AI에 유의하게 영향을 미친 것으로 나타난 결과와 함께 천마성분 중 특히 수용성 고분자 성분이 고지혈증을 개선하여 관상동맥심질환의 위험을 감소시킬 수 있는 새로운 기능성 식품소재로 활용될 수 있음을 나타내는 결과인 것으로 판단되었다.

Table 3. Effect of *Gastrodiae rhizoma* fractions on serum lipid profiles and AI in SHR fed high fat diet

Group	Lipids(mg/dL) & AI				
	TC <sup>1)</sup>	TG <sup>2)</sup>	HDL <sup>3)</sup>	LDL <sup>4)</sup>	AI <sup>5)</sup>
A	74.6± 5.3 <sup>b</sup>	150.1±42.2 <sup>6)</sup>	29.4±4.9 <sup>ab</sup>	23.0±4.9	1.55±0.18 <sup>b7)</sup>
B	78.2± 7.8 <sup>b</sup>	144.4±26.4	31.8±2.8 <sup>a</sup>	21.6±4.3	1.47±0.17 <sup>b</sup>
C	72.0± 1.9 <sup>b</sup>	167.9±34.9	28.8±2.2 <sup>ab</sup>	25.4±3.8	1.51±0.21 <sup>b</sup>
D	104.0±16.8 <sup>a</sup>	177.5±32.3	26.4±3.4 <sup>b</sup>	28.6±10.1	2.08±0.33 <sup>a</sup>

1) Total-cholesterol.

2) Triglyceride.

3) High-density lipoprotein cholesterol.

4) Low-density lipoprotein cholesterol.

5) Atherogenic index : (TC-HDL)/HDL.

6) Values are mean±SD(n=6).

7) Means in the same column with different superscript letters are significantly different(P<0.05).

#### (4) 혈압변화

고지방식이를 급여한 SHR쥐에게 천마분획물이 수축기혈압에 미치는 영향은 Table 4와 같다. 시험개시 후 고지방식이를 3주간 급여하고 생후 약 8주령이 되었을 때 측정된 SHR쥐의 기준혈압(RBP)은 180.0~190.0 mmHg이었다. 기준혈압은 실험군중 고지방대조군이 다소 높았다. SHR쥐의 고혈압 발생전기는 생후 6주령 전, 발생기는 6~10주령 사이, 발생후기는 10주령 이후로 분류하고 있다. 본 연구에서 천마분획물 투여 후 1주의 수축기혈압은 186.8~201.4 mmHg으로 모든 실험군에서 약간 증가한 것으로 나타났다. 시

험 2주는 단백질분획(C)을 투여한 경우 약 10 mmHg 정도 혈압이 감소한 것을 제외하고 다른 실험군에서는 큰 변화가 없었다. 시험 4주는 3주에 측정된 혈압에 비해 천마분획물을 투여한 경우 10~16 mmHg 정도 혈압이 감소하였다. 천마분획물 투여한 후 5주에 최종혈압을 측정한 결과에서는 천마분획물(A, B, C)을 투여한 경우 기준혈압에 비해 각각 1.7, 5.5, 3.6% 감소한 반면 고지방대조군(D)은 약 2.6% 정도 혈압이 증가하였다. 특히 시험 5주에서 고지방대조군과 천마 다당체분획을 투여한 군과의 최종혈압을 비교해 본 결과에서는 약 22mmHg (11%) 감소한 것으로 나타났는데 이러한 결과는 임상실험에서 사용하는 판단기준을 적용했을 때 의미있는 혈압변화로 사료되었다. 천마 물추출물이 가토의 혈압에 미치는 실험적 연구보고에서는 천마의 농축액을 귀정맥과 양측 미주신경절단(bilateral vagotomy)에 주사했을 때 강력한 혈압강화작용을 나타낸 것으로 보고된 바 있다. 이상의 연구결과를 검토해 볼 때 본 실험에서 천마성분 중 특히 다당체분획은 본태성고혈압쥐에서 TG를 감소시키고, HDL분획은 증가시키며 LDL분획은 감소시킴으로서 전체적으로 혈중 지질분획의 구성을 바람직하게 변화시키고 덧붙여 AI 저하효과 등으로 인해 혈압감소에 유의한 영향을 미친 것으로 사료되었다.

Table 4. Effect of *Gastrodiae rhizoma* fraction on systolic blood pressure in SHR fed high fat diet

Group	Blood pressure(mmHg)						Remark (%) <sup>2)</sup>
	0 <sup>1)</sup>	1	2	3	4	5	
A	180.0± 9.3 <sup>3)</sup>	187.9± 6.9	186.4± 5.2	191.2± 13.4	180.8± 4.9	177.3± 17.2	-1.7(9.2) <sup>4)</sup>
B	183.3± 2.5	186.8± 16.2	185.1± 16.4	195.8± 20.3	180.2± 27.5	173.5± 10.3	-5.5(11.0)
C	188.4± 18.5	201.4± 29.2	191.3± 14.3	190.4± 18.7	180.0± 20.0	181.7± 15.6	-3.6(6.8)
D	190.0± 13.0	195.9± 14.9	195.3± 14.1	200.7± 19.1	200.3± 8.2	195.0± 19.7	+2.6(0)

<sup>1)</sup> Reference blood pressure(RBP, 8wks of age after birth).

<sup>2)</sup> Increasing and decreasing rate of blood pressure at 5weeks after feeding of *Gastrodiae rhizoma* fractions against RBP.

<sup>3)</sup> Values are mean±SD(n=6).

<sup>4)</sup> Comparison of blood pressure at 5 weeks between *Gastrodiae rhizoma* fractions and high fat diet as control.

#### 4. 참고문헌

- Bae KH, Kim HJ. (1997) Effect of dietary chitin, chitosan and NOCC on cadmium toxicity and lipid metabolism in rats, *Korean J. Nutr.* 30: 622-633.
- Baek IS. (1991) Experimental study on the effects of Gastrodia. *M.S. thesis*. Kyung-Hee University.
- Brown L, Rosner B, Willet WW, Sacks FM. (1999) Cholesterol-lowering effects of dietary fiber; a analysis. *Am. J. Clin. Nutr.* 69: 30-42.
- Cheong HS, Kim SH, Kim HS, Choi WJ, Kim HS, Chung SY. (1991) Effects of fish oil and some seed oils on fatty acid compositions of liver and brain tissue in rats. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 20(4): 312-319.
- Cho BH, Lee SB, Lee DH, Park CH. (1972) A study on effect of ginseng and mechanism of action on experimental hypertension. *Korean J. Pharmacol.* 8: 49-57.
- Cho SH, Shin EN, Sah MY, Lee WJ. (1991) Modulation of lipid metabolism in serum and liver by dietary fat in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Korean J. Lipidology* 1: 45-56.
- Choe M, Kim JD, Ju JS. (1992) Effect of polydextrose and hydrolysed guar gum on lipid metabolism of normal rats with different level of dietary fat. *Korean J. Nutr.* 23: 211-220.
- Choe M, Tae WC, Kim JD. (1991) Effect of dietary fibers on changes of blood pressure and Na balance in spontaneous Hypertensive Rats. *Korean J. Nutr.* 24: 40-47.



- Choi HJ, Whang YH, Pek UH, Shin HS. (1990) Effect of dietary grapeseed oil on serum lipids in spontaneously hypertensive rats. *Korean J. Nutr.* **23**: 467–476.
- Chung HS, Ji GE. (1994) Composition and functionality of *Chonma*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**: 213–220.
- Chung MH, Park CW. (1975) Studies on the development of antihypertensive agents from korean crude drugs(III). Influence of *Eucommial Cortex* of Korea on the blood pressure responses of rabbits. *Korean J. Pharmacogn.* **6**: 39–42.
- Green MS, Heiss G, Rifkind BM, Cooper GR, Williams OD, Tayroler HA. (1985) The ratio plasma high density lipoprotein cholesterol to total and low density lipoprotein cholesterol–age related changes and race and sex differences in selected North American populations. *Circulation.* **72**: 93–104.
- Han CK, Lee BH, Song KS, Lee NH, Yoon CS. (1996) Effects of antihypertensive diets mainly consisting of buckwheat, potato, and perilla seed on blood pressures and plasma lipids in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Korean J. Nutr.* **29**: 1087–1095.
- Huang JH. (1989) Comparison studies on pharmacological properties of injection *Gastrodia elata*, gastrodin–free fraction and gastrodin. *Chung–Kuo–Hsueh–Ko–Hsueh–Yuan–Hsueh–Pao* **11**: 147–152.
- Huang ZL. (1985) Recent developments in pharmacological study and clinical application of *Gastrodia elata* in China. *Chung–Hsi–I–Chieh–Ho–Tsa–Chih* **5**: 251–258.
- Kang HJ, Song YS. (1997) Dietary fiber and cholesterol metabolism. *J*

- Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **26**: 358–369.
- Kannel WB, Dawber TR, Sorlic P. (1976) Components of blood pressure and risk of athrothrombotic brain infarction. *Stroke* **7**: 327.
- Kim EJ, Ji GE, Kang YH. (1994) Effects of Gastrodia Rhizoma extracts on global coronary circulation in rats. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**: 213–220.
- Kirkendall WM, Nottebohm GA. (1977) *Essential hypertension. In hypertension physiopathology and treatment.* McGraw–Hill, New York. p 674–692.
- Ku BH. (1991) Experimental studies on the pharmaceutical effects of *Gastrodiae elata*. *M.S. thesis.* Kyung–Hee University.
- Kwak IS, Lee SB, Cho BH, Cho KC. (1976) Hypotensive action of Coptis Rhizoma in rabbit. *Korean J. Pharmaco.* **12**: 143–165.
- Lee KH, Yoon SY, Kim HK. (2000) Effect of crab shell powder on lipid metabolism in diet–induced hyperlipidemic rats. *J Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29(3)**: 453–459.
- Lusis AJ. (1988) Genetic factors affecting blood lipoprotein. *J. Lipid Res.* **29**: 397–429.
- Nam SK, Lee DS, Kim NJ, Lee KS, Hong ND. (1986) Studies on the efficacy of combined preparation of crude drugs(XXXI). The effect of taeksa–tang on diuresis, serum lipid, isolated ileum, heart, blood vessel, blood pressure and respiration. *Korean J. Pharmacogn.* **17**: 263–271.
- National Rural Living Science Institute, (1996) *Food Composition Table(5th edition).* Sangrook Publishing Co, Suwon. p 582–595.
- Okamoto K, Aoki K. (1963) Development of a strain of spontaneously

- hypertensive rats. *Japanese Circ. J.* **27**: 282–293.
- Okamoto K, Tabei R, Fukushima M, Mosaka S, Yamori Y, Ichijima K, Haebara H, Matsumoto M, Maruyama T, Suzuki Y, Tamegai M. (1966) Further observations of the development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Japanese Circ. J.* **30**: 703–716.
- Paik YS, Song JK, Yoon CH, Chung KS, Yun-Choi HS. (1995) Anti-platelet and anti-thrombotic effects of *Gastrodia elata*. *Korean J. Pharmacogn.* **26**: 385–389.
- Pak YB, Hong YG, Yang MS. (1999) Effect of cumambrin A treatment on blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Korean J. of Pharmacogn.* **30**: 226–230.
- Park JR, Moon IS, Choi SH, Shon MY. (1999) Effect of dietary chitin and chitosan on lipid metabolism in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**: 477–483.
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. (1993) AIN-93 purified diets for laboratory rodents. *J. Nutr.* **123**: 1939–1951.
- Rhyu MR, Kim EY. (2002) The relations between antihypertensive effect and  $\gamma$ -aminobutyric acid, mycelial weight and pigment of *Monascus*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**: 737–740.
- SAS: SAS User's Guide (1988) Statistics. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Society of Oriental Medicine. 1993. *The Modern Oriental Medicine*. Hakchang-Sa, Seoul, Korea. p 446–447.
- Vahouny FL, Ink SL, Marlett JA. (1990) Dose response to a dietary oat bran fraction in cholesterol-fed rats. *J. Nutr.* **120**: 561–568.
- Wu HQ, Xie L, Jin XN, Ge Q, Jin H, Liu GQ. (1989) The effect of

vanillin on the fully amygdala-kindled seizures in the rat.  
*Yao-Hsueh-Hsueh-Pao* 24: 482-489.

Yukio Y, Yasuo N, Motoki T, Masayuki M, Masahiro K, Keigo F, Ryoichi H, Kohtaro K. (1984) Common cellular deposition to hypertension and atherosclerosis. *J. Hypertension* 2: 213-215.

## 제 4 절 허혈성 신경세포 손상에 대한 천마의 보호효과

### 1. 서론

천마(천마, *Gastrodia elata Blume*)는 잎이 없고 근경은 갈색을 띠고 있는 난초과(Orchidaceae)에 속하는 다년생 초본이다. 특히 천마는 광합성이 이루어지지 않아 자신에 기생하는 곰팡이(*Armillaria Mellea*)가 생산하는 영양소로부터 에너지를 공급받는 특이한 식물이다. 이러한 천마의 지하부를 건조한 것을 천마(*Gastrodiae rhizoma*)라고 하며, 이를 예로부터 우리나라와 중국 및 일본에서는 약재로 이용하여 왔다. 그러나 식품의 주원료로 천마를 사용 가능하게 된 것은 2001년 9월 1일부터이다.

고전 문헌에 의하면 천마는 평간잠양(平肝潛陽)의 효능으로 진전(振顛), 두통(頭痛), 현훈(眩暈), 불면(不眠), 심번(心煩), 지체마목(肢體麻木) 및 풍습비통(風濕痺痛) 등의 질환에 사용되어 왔으며, 특히 일체의 “떠는 증상(振顛)”에는 반드시 천마를 사용해야 한다고 기록되어 있다. 천마에 대한 약리학적인 연구로는 천마추출물과 p-hydroxybenzyl alcohol 및 vanillin의 항산화 작용, p-hydroxybenzyl alcohol의 serotonergic receptor antagonist 작용, 천마추출물과 gastrodin의 진정작용, gastrodin과 p-hydroxybenzyl alcohol의 GABA agonist 작용, glutamate receptor에 대한 천마추출물의 kainic acid 결합 저해 작용 등이 보고되어 있다. 이러한 선행 연구 결과와 고문헌들은 천마의 난치성 신경질환에 대한 생리활성작용을 강하게 시사하고 있다. 그러나 식품의 원료로 천마를 이용하는 것과 관련하여 추출 조건의 확립, 추출물의 생리활성 확인 및 유효성분의 동정 등에 관해 체계적으로 연구된 바는 없다.

허혈(ischemia)은 혈관이 협착되거나 수축 또는 수술시 혈관을 결찰하거나 혈전 및 색전 등에 의하여 일어나는 부분적 혈액 부족 증상을 말한다. 특히 뇌는 신체 중 가장 많은 산소를 소비하는 기관으로서 뇌로 유입되는 혈액의

순환장애가 일어날 경우 뇌에 필요한 산소와 포도당을 공급받지 못해 기능 장애뿐만 아니라 뇌조직이 죽게 된다. 특히 뇌는 약 2조개 정도의 신경세포가 있어 허혈 발생 후 단기간 내에 신경세포의 손상이 비가역적으로 발생되어 뇌졸중이나 치매로 진행하게 된다. 이에 허혈에 의한 신경세포의 손상을 예방하거나 경감시킬 수 있는 적극적인 방법론의 모색이 요구되고 있다.

따라서 본 연구에서는 식품원료 제조 시 사용가능한 물 또는 에탄올을 이용하여 천마 추출물을 제조한 다음 세포 및 동물 모델을 통해 허혈성 신경세포 손상에 대한 천마 추출물의 보호효과를 살펴보고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 재료 및 시약

본 연구에서 사용한 천마는 본 실험에 사용한 천마는 전북 무주에서 구입하였다. 생천마는 물로 잘 씻어 흙과 먼지 등의 이물질을 제거하고 수세미로 겉껍질을 벗겨낸 다음 3~4 mm 두께로 절편하여 40℃에서 열풍건조시킨 후 분쇄하여 시료로 사용하였다. Dimethyl sulfoxide(DMSO), poly-L-lysine, EDTA, cresyl violet, adenine, [3-4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), glycerol, 2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride (TTC), Tween-20, paraformaldehyde, peroxydase-conjugated streptavidin은 Sigma Chemical Co.로부터 구입하였다.

실험에 사용한 SK-N-SH(human neuroblastoma cells)과 PC12(rat pheochromocytoma cells)은 미국 세포주 은행(ATCC)으로부터 분양받았다. 세포배양을 위한 혈청(fetal bovine serum), RPMI 1640배지(with or without glucose), MEM(minimum essential medium), Dulbecco-Vogt Eagle's 및 Ham's F-12(Gibco), streptomycin-penicilline 용액, trypsin-EDTA 용액은

Gibco-BRL로부터 구입하여 사용하였다. 단백질 정량을 위한 kit는 Pierce Chemical Co.(USA)로부터 구입하였다. 그 외 시료 추출 및 염색과정에 사용되는 모든 용매는 적어도 특급이상을 사용하였다.

#### 나. 시료의 제조

본 연구에서 사용한 천마 열수추출물, 천마 에탄올 추출물 및 천마 성분 분획물 등은 “제 2 절 콜레스테롤저감 효능 평가를 위한 고지혈증 개선 시험” 과 동일한 시료를 제공받아 사용하였다.

#### 다. 세포모델에서 신경세포 손상에 대한 천마의 보호효과

##### (1) 세포배양

세포 배양 시 사용된 배지는 RPMI 1640, MEM(mimimum essential medium), Dulbecco-Vogt Eagle's 및 Ham's F-12(Gibco)를 사용하였다. 배양 플라스크, 피펫, microplate(96-well) 등은 멸균된 제품들을 이용하였으며, 배양병 등 초자기구들은 autoclave에서 121℃, 15 lb에서 15분간 가압 멸균한 후 사용하였다. 배지는 3차 증류수로 용해한 후 sterilized filter(0.22  $\mu$ m pore size)로 여과하여 멸균한 다음 10% fetal bovine serum과 1% streptomycin-penicilline을 첨가하여 이용하였으며, 세포 세척 및 계대 배양 시 37℃를 유지하면서 사용하였다.

세포는 배양 플라스크 바닥에 confluent하게 자랐을 때 부착된 세포를 분리하여 이용하였다. 배지가 담긴 배양 플라스크에 세포를 37℃, 5% CO<sub>2</sub>를 유지하면서 CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 그런 다음 배지를 제거하고 trypsin-EDTA(0.05% trypsin, 0.53 mM EDTA·4Na)를 37℃에서 5분간 처리하였다. 이들 세포를 분리한 후, 1000 rpm에서 5분간 원심분리한 다음 상

징액을 제거하고 다시 배지를 넣어 원심분리하는 과정을 3번 반복하였다. 이렇게 얻어진 세포를 배지에 분산시킨 후 일정한 세포수로 맞추어 사용하였다. 세포는 freezing용 배지를 첨가하여  $-70^{\circ}\text{C}$  liquid nitrogen tank에 보관 후 사용직전에 해동하여 배양하였다.

## (2) 허혈 및 재관류 조건

Human brain neuroblastoma cell 또는 PC12 cell은  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , RPMI 1640배지에서 배양한 다음, 24-well plate에 적정농도로 접종한 후 각 시료당 네 수준의 농도로 첨가하여 48시간 동안 배양하였다. 그런 다음 glucose-free 배지로 교환하고  $\text{N}_2 : \text{CO}_2 : \text{H}_2 = 90 : 5 : 5$ 로 유지되는 ischemic chamber(Coy Laboratory Product, USA)에서 세포를 일정시간 노출시킨 후 다시  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , RPMI 1640배지로 교환하여 일정시간 배양하여 허혈 및 재관류 조건을 조사하였다. 그런 다음 적정 조건의 시험관내 유사 허혈 모델(*in vitro* simulated ischemia)을 이용하여 시료에 의한 보호효과를 살펴보았다. 이때 chamber안의 산소량은  $\text{O}_2$  meter와 indicator를 이용하여 측정하였다. 세포의 생존율은 MTT assay를 실시한 후 대조군의 생존율에 대한 백분율(%)로 나타내었으며, 모든 실험은 매 측정시 3반복 실험하면서 적어도 3~4번의 독립된 반복을 실시하였다.

모든 실험에서 시료의 농도는 최소  $0.1 \mu\text{g/ml}$ 에서 10배 공비농도로 하여 시료 처리에 따른 차이를 뚜렷하게 관찰하기 위해 과장된 농도조건인  $1,000 \mu\text{g/ml}$  범위까지 사용하였다. 시료의 활성은 1차적으로 세포주를 이용한 유사 허혈 모델을 이용하여 측정하고, 2차적으로 초대배양 세포를 이용한 유사 허혈 모델에서 활성을 확인하였으며, 최종 전뇌 허혈 동물 모델에서 활성을 재검증하는 순서로 조사하였다.



### (3) 초대세포배양

임신 14~15일의 SD 랫드를 CO<sub>2</sub> 가스로 마취시켜 무균 조작하에 태아를 분리하였다. 현미경하에서 태아의 뇌를 적출한 다음 뇌막을 제거하고 복측 중 뇌를 절제함에 의해 뇌조직을 얻었다. 그런 다음 소구경 파스텍 피펫을 사용하여 단리 뇌세포를 채취하였다. DMEM/F12(1:1) 배지에 세포를 부유시켜 수를 계측한 다음 poly-L-lysine으로 코팅한 배양용기에서 4~5일 배양하였다. 그런 다음, 각 시료를 처리한 후 인간 유래 세포주를 이용한 유사허혈 모델시와 동일하거나 마일드한 조건으로 허혈을 유발하고 각 시료에 의한 보호 효과를 살펴보았다. 이때 세포 생존율은 MTT assay를 실시한 후 대조군의 생존율에 대한 백분율(%)로 나타내었다.

### (4) Assay

시험관내 유사 허혈 모델에서 각 세포의 생존율은 MTT[(3-4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] assay 에 의해 조사하였다. 즉, 시료와 세포배양에서 얻은 trypsin 처리한 single cell suspension( $5 \times 10^5$  cells/ml)을 24-well에 함께 넣어 37°C를 유지하면서 CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 배양이 끝난 다음 MTT 시약 150  $\mu$ l를 넣고 다시 4시간 동안 반응시켰다. 이것을 1,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상정액을 제거하고, DMSO 150  $\mu$ l를 첨가하여 용해시킨 후, 540 nm에서의 흡광도를 ELISA reader로 측정하였다.

한편, 뇌신경세포에서 흥분성 신경전달 물질의 하나로 신경세포사의 유도를 촉진하는 물질인 glutamate 유발 세포독성에 대한 보호효과를 측정하기 위해서 Human brain neuroblastoma cell과 PC-12 cell을 24시간 동안 배양한 다음 천마 추출물 시료를 첨가하고 L-glutamate 20 mM(두 가지 세포에 대한 EC<sub>50</sub>)을 처리하고 48시간 추가적으로 배양하였다. 그런 다음 전술한 MTT

assay에 의해 세포 생존율을 측정하였다.

## 라. 동물모델에서 신경세포 손상에 대한 천마의 보호효과

### (1) 전뇌허혈모델

Global ischemia model에 이용되는 Mongolian 저빌(70-80g)을 식품의약품안전청 독성연구소로부터 분양받아 사용하였다. 실험기간 동안 물과 식이는 자유로이 섭취하게 하였다. Global ischemia model의 제작은 각 실험동물을 24시간 절식시킨 후, 질소와 산소가 7:3으로 혼합된 gas에 2.5% isoflurane으로 마취한 상태에서 목 부분에서 양쪽 온목동맥(common carotid artery)을 5분 동안 결찰하여 허혈을 유발하였다. 이때 수술은 실험동물의 체온이 유지되도록  $37\pm 5^{\circ}\text{C}$ 가 강제적으로 유지되는 pad 위에서 실시하였다.

실험군은 각 군당 7-8마리씩 Sham 대조군, 허혈 대조군, 천마추출물 100 mg/kg 투여군, 천마 추출물 300 mg/kg 투여군의 4군으로 하였다. 천마추출물의 투여는 단기간 투여한 추출물이 허혈에 의한 뇌손상 억제에 미치는 영향을 우선적으로 알아보기 위하여 global ischemia model에 추출물을 허혈 유발 30분 전, 30분 후, 2시간 후에 총 3번 투여를 기본으로 경구 또는 복강으로 투여하였다.

수술 7일 후, 저빌은 chloral hydrate로 마취한 후 4% paraformaldehyde로 심장 관류시킨 후, 뇌를 적출하여 2일 동안 30% sucrose 용액에 넣어 두었다. 그런 다음  $30\mu\text{m}$  두께의 transverse section을 얻은 후 cresyl violet 염색을 실시하였다. 염색된 표본을 광학현미경하에서 관찰하고 CA1 중심부의 0.5 mm 당 살아있는 신경세포의 수를 계수하여 hippocampal CA1 region의 신경세포 손상 정도를 평가하였다.

## (2) 국소허혈모델

국소허혈 모델의 경우, SD랫드를 24 시간 절식시킨 후, 질소와 산소가 7:3으로 혼합된 gas에 2.5% isoflurane으로 마취 상태에서 온목동맥과 바깥목동맥은 결찰하고, 속목동맥의 분지점으로부터 17 mm의 probe를 삽입하여 중간대뇌동맥의 바닥부위를 폐쇄하여 허혈을 유발하였다. 허혈을 유발시키는 동안 직장 내 체온계를 삽입하여 체온을 측정하고 정상체온인  $37\pm 0.3$  °C로 일정하게 유지하였다. 일정시간 동안 중간대뇌동맥을 폐쇄한 후 속목동맥에 삽입된 probe를 밖으로 뽑아내어 재관류를 수행하였다.

## (3) 뇌허혈 유발에 따른 손상도 조사

### (가) 신경행동학적 검사

뇌허혈 유발 후 일정시간(약 30분)이 경과 했을 때 수술한 SD 랫드의 신경행동학적 결손을 관찰하였다. 신경행동학적 검사는 공중에서 랫드의 꼬리를 완전히 들었을 때 왼쪽의 국부마비(hemiparesis)가 일어나는 정도와 꼬리를 위로 들었을 때나 또는 자발적으로 왼쪽으로의 circling이 일어나는 지를 관찰하여 확인하였다.

### (나) 2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride(TTC) 염색

일시적(transient) 뇌허혈에 의해 유발되는 뇌조직 손상을 일차적으로 관찰하기 위하여 TTC 염색을 시행하였다. 실험군의 뇌를 적출하여 brain matrix를 이용하여 2 mm 두께의 절편을 만들고, 2% TTC 용액으로 37 °C에서 60 분간 반응시켰다. TTC 용액으로 염색된 뇌 slices를 10% neutral buffered formalin 용액에 고정시킨 후 경색용적(infarct volume)을 image processing software package를 사용하여 측정하였다. 또한, 허혈이 유발된

대뇌반구의 부종율(% edema)을 아래와 같이 산출하였다.

$$\text{부종율 (\%)} = (A-B) / B \times 100$$

A: 각 coronal slice에서 허혈이 유발된 대뇌반구의 용적 (mm<sup>3</sup>)

B: 각 coronal slice에서 정상 대뇌반구의 용적 (mm<sup>3</sup>)

#### (다) 조직화학적 염색

정상군과 각 실험군은 허혈 후 정해진 시간에 chloral hydrate를 복강내 주사하여 전신마취 시킨 후 실험동물의 흉곽을 열고 좌심실을 통해 cannula를 오름대동맥(ascending aorta)에 삽입한 다음, 우심방을 통하여 방혈시킴과 동시에 주입기를 이용하여 생리식염수로 분당 10 ml의 속도로 관류 세척하였다. 이어서 4% paraformaldehyde 용액으로 전신을 관류 고정된 후 골절단기를 이용하여 머리뼈를 절개하여 뇌를 적출하였다. 고정된 뇌 조직을 통상적인 조직처리 과정을 거쳐서 파라핀 포매를 한 다음 박절기를 이용하여 5 μm 두께의 파라핀 연속절편을 작성하였다. Xylene으로 파라핀을 제거하고 순차적인 에탄올을 거쳐 정상 세포의 분포 및 변성 여부를 확인하기 위하여 cresyl violet과 acid fuchsin 염색을 시행한 다음 통상적인 탈수 및 투명과정을 거쳐 permount로 봉입하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 가. 세포 모델에서 신경세포 손상에 대한 천마의 보호효과

##### (1) 산소-포도당 결핍 유발 손상에 대한 보호효과

천마는 난초과에 속하는 다년생 초본식물로 엽록소가 없어서 탄소동화작

용을 이용한 영양물질의 광합성이 불가능하고, 뿌리도 없으므로 기생하는 곰팡이(*Armillaria Mellea*)로부터 영양을 공급받아 성장한다. 천마에 대한 약리학적인 연구로는 천마추출물과 p-hydroxybenzyl alcohol 및 vanillin의 항산화작용, p-hydroxybenzyl alcohol의 serotonergic receptor antagonist 작용, 천마 추출물과 gastrodin의 진정작용, gastrodin과 p-hydroxybenzyl alcohol의 기억력 증강작용, vanillin의 항경련작용, gastrodin과 p-hydroxybenzyl alcohol의 GABA agonist작용 및 glutamate 저해 작용 등이 보고되어 있다. 이러한 연구들과 천마의 고전적인 문헌은 천마의 신경세포에 대한 효과를 강하게 시사한다. 그러나 성분에 관한 연구도 gastrodin과 일부 페놀성 화합물 및  $\beta$ -sitosterol 등에 그치고 있으며, 활성에 관해서도 일부 활성에 대해 단편적으로 이루어졌으며 어떤 작용기전을 통해 효과를 나타내는지 충분히 설명하지 못하고 있다.

본 연구에서는 human brain neuroblastoma cell에서 혈관이 폐쇄되어 뇌에 충분한 혈액공급이 차단됨으로써 신경세포가 손상되는 환경을 시뮬레이션 하는 실험 모델을 이용하여 천마의 효과를 살펴보았다. 그 결과 Fig. 1(A)과 같이 천마 물추출물을 0, 1, 10, 50  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 뇌신경세포에 처리하고 산소와 포도당 결핍 환경에 노출하였을 때 10  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서만 대조구와 유의한 보호효과를 나타내었다( $P < 0.05$ ). 천마 에탄올 추출물의 경우(Fig. 1, B), 1, 10  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 대조구와 유의한 차이를 나타내었으나( $P < 0.05$ ) 뚜렷한 농도-의존성을 보이지는 않았다. 한편 천마 물 또는 에탄올 추출물을 100  $\mu\text{g/ml}$  농도 이상으로 뇌신경 세포에 처리했을 때는 추출물 자체의 독성이 관찰되었다(데이터 미제시). 이러한 결과로부터 천마의 물 및 에탄올 추출물은 산소-포도당 결핍 유발 신경세포손상에 대해 나타내는 효과를 나타내나 그 활성의 정도는 낮은 것으로 보인다. 그러나 천마 물 및 에탄올 추출물은 활성에 영향을 주는 여러 가지 성분이 혼재되어 있기 때문에 활성을 나타내는

구성성분의 함량을 높이거나 활성성분을 추적하고자 분획을 실시하였다.

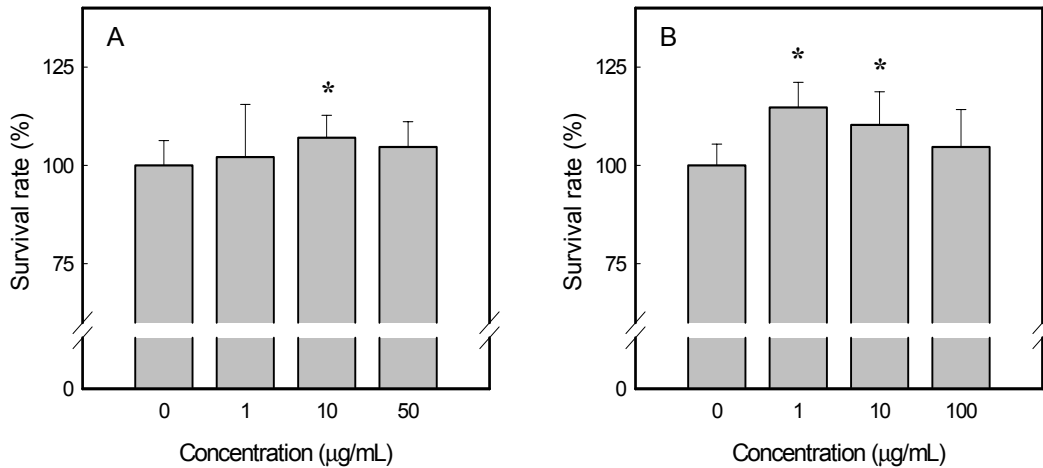


Fig. 1. Neuroprotective effect of hot water and ethanol extracts of *Gastrodiae rhizoma* against *in vitro* ischemic insult in human brain neuroblastoma culture.

Confluent neuroblastoma cells( $2 \times 10^5$ ) were exposed to the indicated period of simulated *in vitro* ischemia. Cell viability was determined by the conversion capacity of the viable cells from MTT to its formazan, and then was expressed as survival ratio(%). Asterisks indicate significant difference ( $p < 0.05$ ) compared to control. This assay was done at least 3~4 independent experiments. A: Hot water extract of *Gastrodiae Rhizoma*, B: 80% Ethanol extract of *Gastrodiae rhizoma*.

Fig. 2는 80% 에탄올 추출물(B), 천마 에탄올 추출물을 열수로 재추출한

분획(B-I), B-I을 periodate로 산화한 단백질 분획(B-I-I), B-I을 pronase로 처리한 다당 분획(B-I-II)에 대해 시험관내 유사허혈 모델에서의 보호효과를 비교한 결과이다. 각 분획물을 0, 1, 10  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 뇌신경세포에 처리하고 산소와 포도당 결핍 환경에 노출하였을 때 1  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서는 차이를 발견할 수 없었으나(결과 미제시) 10  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서는 분획물에 따라 차이를 보였다. 즉, 대조구와 비교할 때 80% 에탄올 분획이 유의적인 보호활성을 나타내었고( $P < 0.05$ ), 이를 제외한 나머지 분획에서는 보호활성이 없을 뿐만 아니라 뇌신경세포에 대해 독성을 나타내었다. 이와 같은 결과로부터 천마의 신경세포 보호활성 특히 허혈환경에 대한 뇌신경 세포의 보호활성은 단백질이나 다당 성분이 아닌 80% 에탄올에 추출되는 비교적 저분자 물질일 가능성이 높다고 추측된다.

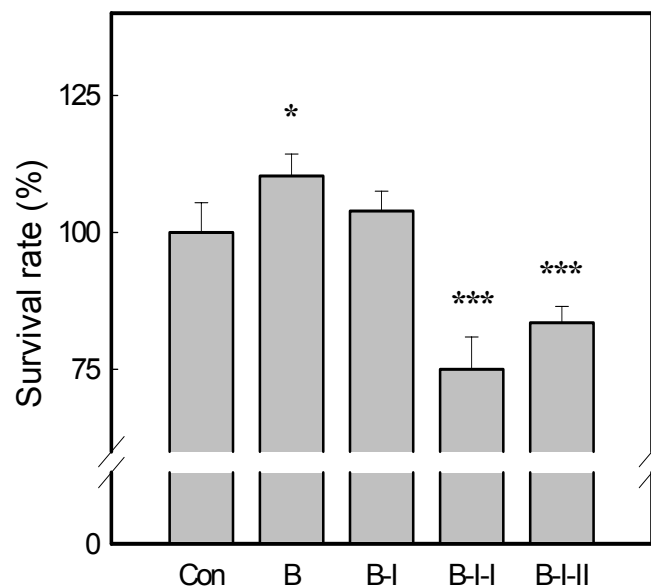


Fig. 2. Comparative neuroprotective effect of periodate-treated and pronase-treated ethanol extracts of *Gastrodiae rhizoma* against *in vitro* ischemic insult in human brain neuroblastoma culture.

Confluent neuroblastoma cells ( $2 \times 10^5$ ) were exposed to the indicated period of simulated *in vitro* ischemia. Cell viability was determined by the conversion capacity of the viable cells from MTT to its formazan, and then was expressed as survival ratio(%). Asterisks indicate significant difference ( $p < 0.05$ ) compared to control. This assay was done at least 3~4 independent experiments. A: Hot water extract of *Gastrodiae rhizoma*, Con: No ischemic insult, B: 80% Ethanol extract of *Gastrodiae rhizoma*, B-I: Hot water extract of B, B-I-I: B-I treated with periodate, B-I-II: B-I treated with pronase.



(2) Glutamate 유발 세포독성에 대한 보호효과

알츠하이머병, 파킨슨병 등 퇴행성 신경질환은 신경세포의 손상이 그 원인이 되고 있다. 흥분성 신경전달 물질의 하나로 신경세포사의 유도를 촉진하는 물질인 glutamate 유도 독성에 대하여 천마 추출물이 보호효과를 나타내는지 살펴보았다. 그 결과, 두 가지 신경세포에서 흥분성 신경전달 물질의 하나로 신경세포사의 유도를 촉진하는 물질인 glutamate 유도 독성에 대하여 물 및 에탄올 추출물 1, 10  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 3~10% 정도의 세포 생존율을 증가시키는 효과를 나타내었으나 통계적으로 유의하지는 않았다(Table 1).

Table 1. Effects of ethanol and water extracts of *Gastrodiae rhizoma* against glutamate-induced cytotoxicity in both SK-N-SH and PC12 cells

Extract	Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	Survival rate(%)	
		SK-N-SH	PC-12
Ethanol extract	0	100 $\pm$ 8.7 <sup>NS</sup>	100 $\pm$ 9.2 <sup>NS</sup>
	1	110 $\pm$ 10.3	103 $\pm$ 7.0
	10	106 $\pm$ 10.0	109 $\pm$ 9.9
Water extract	0	100 $\pm$ 9.3	100 $\pm$ 4.6
	1	100 $\pm$ 8.1	104 $\pm$ 8.9
	10	103 $\pm$ 6.9	103 $\pm$ 9.3

NS : Not significant

### (3) 용매 분획 및 컬럼 크로마토그래피 분획에 의한 신경세포 보호효과 측정

천마 물 및 에탄올 추출물은 활성에 영향을 주는 여러 가지 성분이 혼재되어 있기 때문에 의음성 결과를 초래할 가능성이 높아 천마 추출물의 용매 분획 및 컬럼 크로마토그래피 분획이 *in vitro* 허혈 환경 유발 신경세포손상에 미치는 영향을 살펴보았다. 먼저 천마 추출물의 순차적 용매 분획에 의한 신경세포 보호효과를 살펴본 것은 Table 2와 같다.

극성이 다른 5종 용매 분획물은 0.1~100  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 허혈 유발 신경세포의 손상에 대해 보호 효과가 없거나 미미한 정도였다(Table 2). 5종 용매 분획물중에서는 ethanol 분획물이 용량-반응성을 보이면서 100  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 7%의 신경세포 생존율을 나타내었다. 그러나 다른 용매 분획물은 허혈 유발 신경세포의 손상에 대해 보호효과를 거의 나타내지 않았다.

한편, 컬럼 크로마토그래피에 의해 천마 에탄올 추출물을 5종의 분획물로 분획한 다음 허혈 유발 신경세포의 손상에 대한 보호효과를 살펴본 것은 Fig. 3과 같다. 5종의 분획물 중에서 분획 2를 제외한 나머지 분획들은 약간의 보호 효과를 나타내었고 이때의 cell viability 범위는 106.3~122.8%이었다. 분획물 3은 시료의 농도가 10  $\mu\text{g/ml}$ 까지, 분획물 4는 1  $\mu\text{g/ml}$ 까지, 그리고 분획물 5는 100  $\mu\text{g/ml}$ 까지 cell viability가 증가하는 용량-반응 관계를 보였다.

Table 2. Effect of different solvent fractions from *Gastrodiae Rhizoma* against ischemic insult in human neuroblastoma ceculture

Fractionate	Sample concn ( $\mu\text{g/ml}$ )	Cell Viability(%)
Butanol	0	100.0 $\pm$ 7.3
	0.1	92.8 $\pm$ 6.0
	1	97.4 $\pm$ 6.2
	10	99.8 $\pm$ 4.1
	100	94.4 $\pm$ 8.2
Water	0	100.0 $\pm$ 1.9
	0.1	106.9 $\pm$ 3.1
	1	100.0 $\pm$ 6.2
	10	96.4 $\pm$ 3.1
	100	100.5 $\pm$ 5.7
Hexane	0	100.0 $\pm$ 5.0
	0.1	104.4 $\pm$ 4.2
	1	98.6 $\pm$ 6.9
	10	92.1 $\pm$ 10.0
	100	103.6 $\pm$ 7.2
Ethyl acetate	0	100.0 $\pm$ 12.1
	0.1	106.6 $\pm$ 5.6
	1	95.5 $\pm$ 9.5
	10	93.9 $\pm$ 9.8
	100	23.0 $\pm$ 1.1
Ethanol	0	100.0 $\pm$ 3.5
	0.1	100.0 $\pm$ 2.6
	1	103.6 $\pm$ 12.9
	10	105.8 $\pm$ 1.8
	100	107.3 $\pm$ 2.4

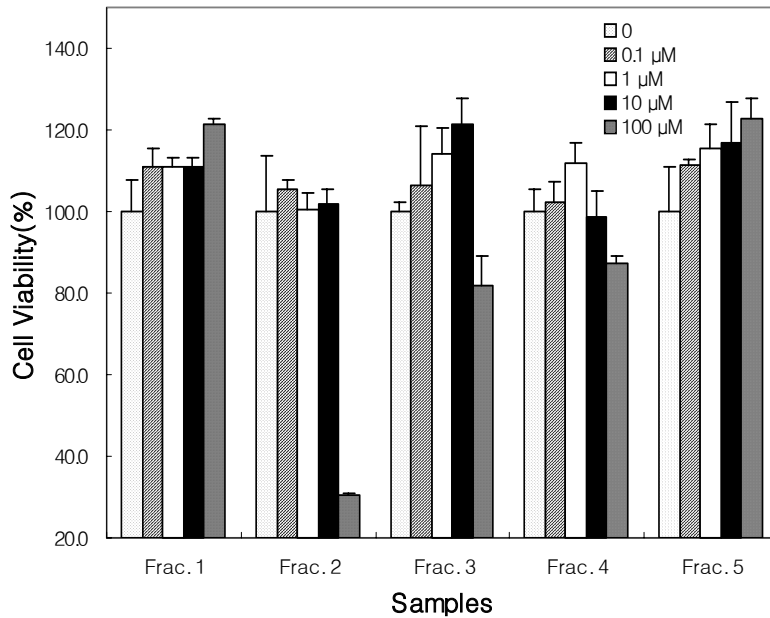


Fig. 3. Effect of five fractionates obtained by column chromatography on ischemic insult in human neuroblastoma culture.

Near confluent neuroblastoma cells( $2 \times 10^5$ ) were exposed to the indicated period of simulated *in vitro* ischemia. Cell viability was determined by the conversion capacity of the viable cells from MTT to its formazan, and then was expressed as survival ratio(%). This assay was done three independent experiments with triplicate.

#### 나. 동물모델에서 신경세포 손상에 대한 천마의 보호효과

##### (1) 전뇌허혈 동물모델에서 천마의 효과 조사

뇌허혈 동물 모델에서 천마 물추출물 및 에탄올 추출물을 경구로 500 mg/kg의 용량으로 투여한 다음 보호효과를 나타내는지 살펴보았다. 먼저, global ischemic model에서 해마(hippocampus) CA1부위의 신경세포 손상을

cresyl violet으로 염색하여 관찰한 결과, 허혈 유발 후 2일까지 손상 받은 신경세포가 관찰되지 않았으나, 4일에서 신경세포의 위축(shrinkage) 및 핵응축(pyknosis)이 보였고, 일부 세포는 소실되었다. 이러한 신경세포의 소실은 7일에 더욱 증가하여 정상군과 비교하여 약 25% 만이 존재하여, 이 때 실험군 별로 뇌조직 절편을 얻어 뇌 hippocampus CA1 부위의 1 mm 절편당 살아있는 pyramidal neuron의 수를 비교분석 하였다. 그 결과는 Table 3과 Fig. 4와 같다. 즉, 뇌 hippocampus CA1 부위의 1 mm 절편당 살아있는 pyramidal neuron의 수는 Sham 대조군  $241 \pm 10.44/\text{mm}^2$ , 대조군  $27.7 \pm 4.0/\text{mm}^2$ , 천마 물추출물  $30 \pm 7.1/\text{mm}^2$ , 천마 에탄올 추출물  $30 \pm 8.2/\text{mm}^2$ 로 천마 물 및 에탄올 추출물 투여군의 살아있는 pyramidal neuron의 수는 허혈유발 대조군과 유의적인 차이가 없었다( $P > 0.05$ , Table 3). 또한 형태학적인 관찰에 있어서도 Sham 대조군은 pyramidal neuronal cell이 cresyl violet으로 선명하게 염색되었으나 허혈 유발 대조군, 천마 물추출물 및 에탄올 추출물을 투여군은 위축(shrinkage) 및 핵응축(pyknosis)을 보이는 신경세포가 보였고, 상당한 세포의 소실이 관찰되었다(Fig. 4). 이와 같은 결과는 전뇌 허혈 모델에서 천마 추출물의 투여가 허혈에 의한 뇌신경세포 손상 억제에 미치는 영향이 거의 없음을 시사해준다. 그러나 이는 단기 투여에 의한 효과를 알아본 것으로 향후 식품으로서의 활용도 측면을 고려하여 장기 섭취에 의한 효과가 연구되어야 할 것이다.

Table 3. Effect of Neuroprotective effect of hot water and ethanol extracts of *Gastrodiae rhizoma* on the surviving neuronal cells in the *in vivo* global ischemia model

Treatment <sup>a</sup>	Dose (mg kg <sup>-1</sup> )	Treatment route <sup>b</sup>	Number of surviving neuronal cell <sup>c</sup>
Sham	–	–	241.8 ± 10.4 <sup>d</sup>
Control(vehicle)	–	p.o.	27.7 ± 4.0
GRW	500	p.o.	30 ± 7.1
GRE	500	p.o.	30 ± 8.2

<sup>a</sup>Sham; sham-operated, Control; vehicle-treated, GRW; hot water extract of *Gastrodiae rhizoma*, GRE; ethanol extracts of *Gastrodiae rhizoma*.

<sup>b</sup>p.o.; oral.

<sup>c</sup>The number of surviving cell per mm<sup>2</sup> length in the middle of CA1 region was counted by an image analyzer.

<sup>d</sup>Values are mean ± SEM. These data were analyzed by Wilcoxon rank sum test.

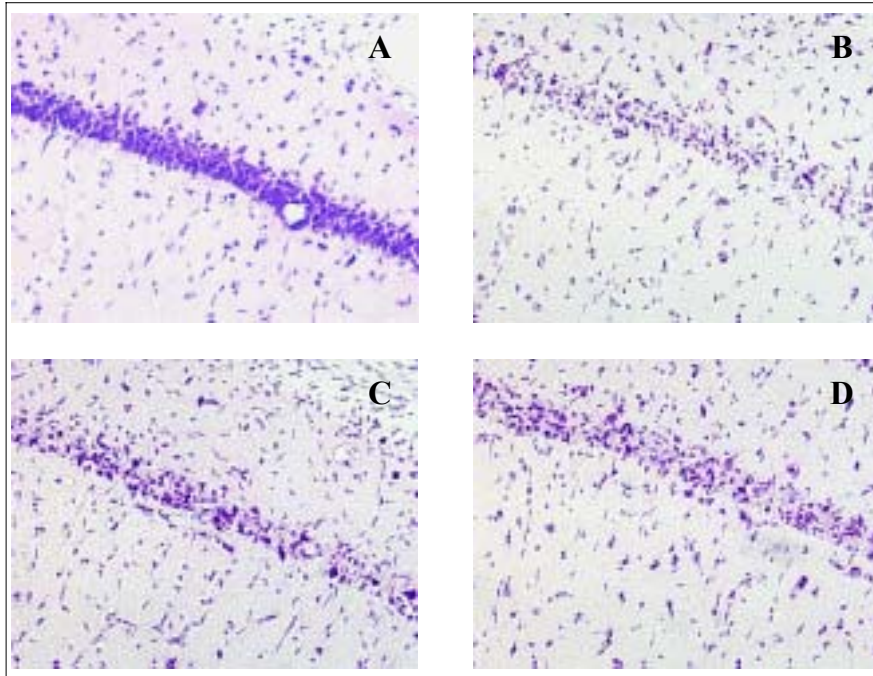


Fig. 4. Representative photomicrograph of the hippocampal CA1 region in the gerbil 7 days after global ischemia by cresyl violet staining.

A; sham-operated, B; vehicle-treated, C; hot water extract of *Gastrodiae rhizoma*, D; 80% ethanol extract of *Gastrodiae rhizoma*, The CA1 pyramidal cells are well preserved in sham-operated. After ischemic insult, only a few normal cells are seen with round cell bodies in control(B) or *Gastrodiae rhizoma*-treated(C, D). Damaged cells are shrunken and distorted, with small dense nuclear remnants. Magnification of A, B, C, D  $\times 40$ .

다음으로 진뇌 허혈 동물 모델을 이용하여 투여경로 차이에 따른 천마 추출물의 신경세포 보호효과 유무를 재확인하고 용량-반응관계를 살펴보고자 하였다. 복강으로 천마 에탄올 추출물을 100 mg/kg과 300 mg/kg의 용량으로 투여한 다음 해마(hippocampus) CA1부위의 신경세포 손상을 cresyl violet으

로 염색하여 관찰한 결과는 Fig. 5 및 6과 같다. 즉, 뇌 hippocampus CA1 부위의 0.5 mm 절편당 살아있는 pyramidal neuron의 수는 Normal 대조군  $136 \pm 10.1$ , Ischemia 대조군  $35.0 \pm 8.0/\text{mm}^2$ , GR-1-I(천마 에탄올 추출물 100 mg/kg 투여군)  $38 \pm 10.0$ , GR-1-II(천마 에탄올 추출물 300 mg/kg 투여군)  $40 \pm 12.0$ 으로 천마 추출물 투여군의 살아있는 pyramidal neuron의 수는 허혈유발 대조군과 유의적인 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 이와 같은 결과를 살펴볼 때 전뇌 허혈 모델에서 천마 추출물의 복강 투여는 허혈에 의해 유발된 신경세포의 손상에 영향을 미치지 않은 것으로 보인다. 이는 전뇌 허혈 모델에서 천마 물 및 메탄올 추출물의 경구 투여가 뇌신경세포 손상 억제에 영향을 보이지 않았던 1차 연구 결과와도 일치한다. 그러나 본 실험에 사용한 추출물은 여러 성분이 혼재해 있을 뿐만 아니라 활성을 나타내는 물질들의 농도가 낮아 효과가 나타나지 않은 점 또한 완전히 배제할 수는 없다고 본다.



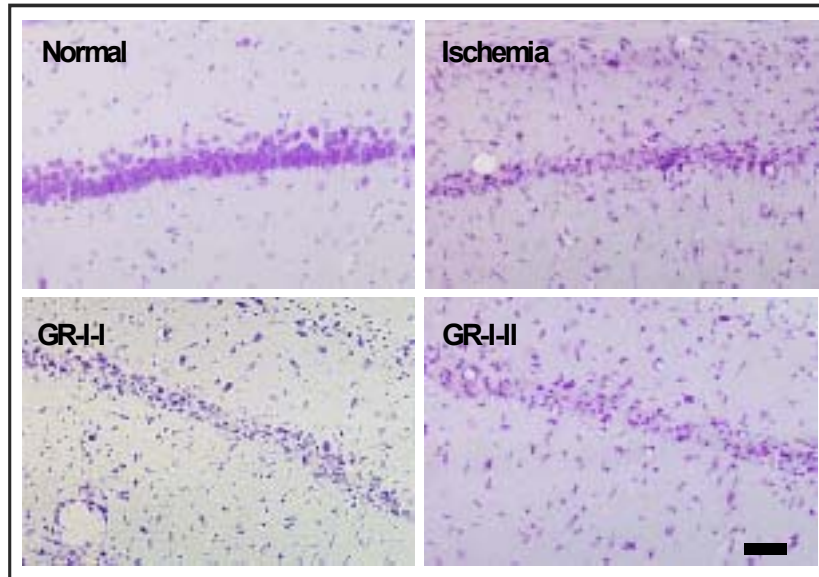


Fig. 5. Representative photomicrograph of the hippocampal CA1 region in the gerbil 7 days after global ischemia by cresyl violet staining.

Normal; sham-operated, Ischemia; ischemic control, GR-1-I; 100 mg/kg, GR-1-II; 300 mg/kg The CA1 pyramidal cells are well preserved in sham-operated. After ischemic insult, only a few normal cells are seen with round cell bodies in ischemic control, GR-1-I and GR-1-II. Damaged cells are shrunken and distorted, with small dense nuclear remnants. Magnification;  $\times 40$ . Bar= 100  $\mu\text{m}$ .

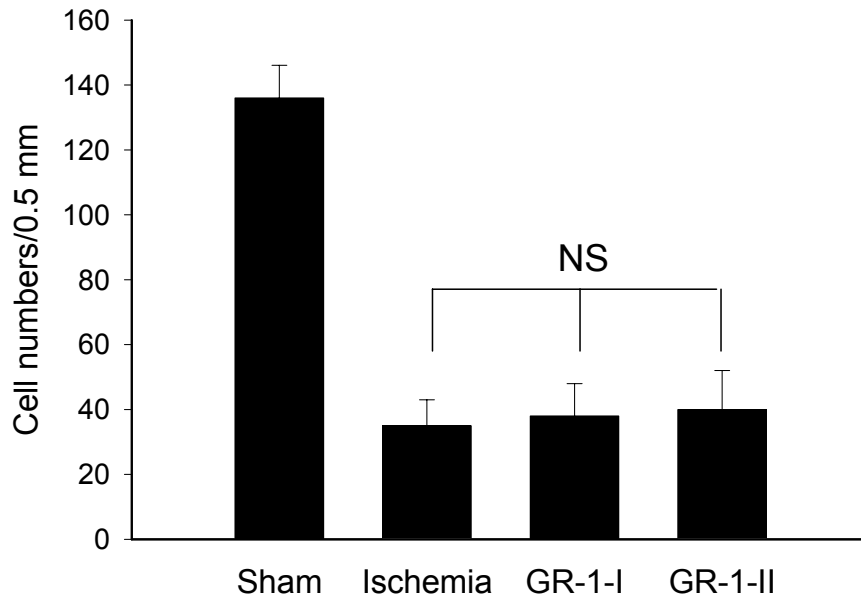


Fig. 6. Effect of extract from *Gastrodiae rhizoma* on the number of surviving neurons in the middle of the CA1 region.

The extent of neuronal damage in the hippocampal CA1 region was evaluated with a light microscope and a count was made of the number of surviving neurons per 0.5 mm length in the middle of the CA1 region.

## (2) 국소 허혈 동물모델에서 천마의 효과 조사

사람의 뇌혈관 질환과 병리학적, 생리학적인 측면에서 더 유사하다고 보고된 국소 대뇌 허혈 모델에서 천마 추출물이 뇌손상에 대해 보호효과를 보이는지 살펴본 결과는 Fig. 7과 같다. 국소 대뇌 허혈 모델에서 MCA occlusion에 의한 뇌세포손상을 TTC 염색에 의해 뇌경색 면적으로 나타내었을 때 MCAO 대조군  $22.7 \pm 2.62$ , GR-1-I(천마 추출물 100 mg/kg 투여군)  $23.2 \pm$

3.14, GR-1-II(천마 추출물 300 mg/kg 투여군) 20.7 ± 2.9으로 나타나 천마 추출물은 경색 면적을 억제하지 않은 것으로 관찰되었다(P>0.05).

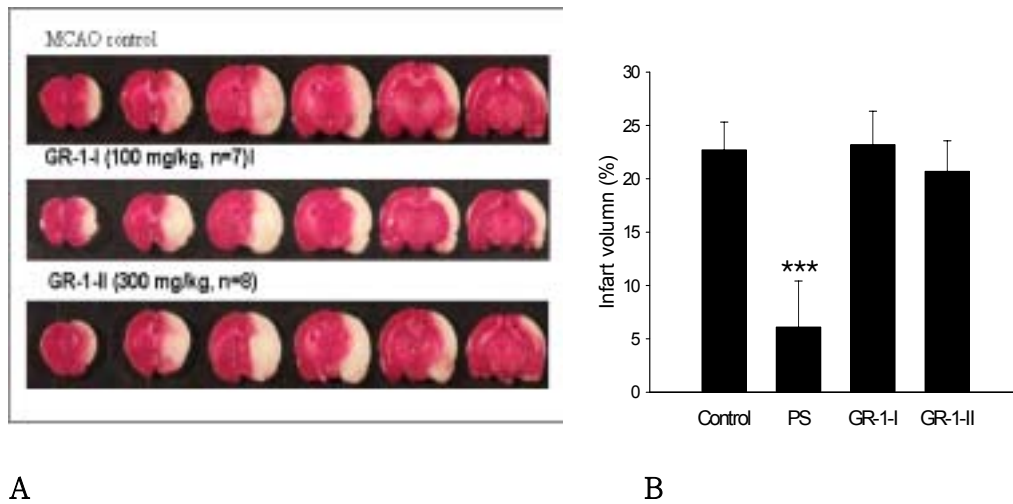


Fig. 7. Effects of pre-treatment with extract from *Gastrodiae rhizoma* on infarct volumes by MCAO.

A. Representative TTC-stained coronal brain sections with six slices (2 mm-thick) each between 4 and 16 mm from the frontal pole from each studied group. Significant increase of infarct volume was noted at saline-injected rat. PS means positive control.

B. The percentage infarct volumes are measured with TTC stained brain sections.

#### 4. 참고문헌

Andersson M, Bergendorff O, Nielsen M, Sterner O, Witt R, Ai J, Lu A, Wang AM (1995) Inhibition of kainic acid binding to glutamate receptors by extracts of *Gastrodia*. *Phytochemistry* 38 : 835-836.

Hsieh MT, Wu CR and Hsieh CC (1998) Ameliorating effect of

- p-hydroxybenzyl alcohol on cycloheximide-induced impairment of passive avoidance response in rats: interactions with compounds acting at 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2</sub> receptors. *Pharmacol Biochem Behav* **60** : 337-343.
- Hsieh MT, Wu CR, Chen CF (1997) Gastrodin and p-hydroxybenzyl alcohol facilitate memory consolidation and retrieval, but not acquisition, on the passive avoidance task in rats. *J Ethnopharmacol* **56** : 45-54.
- Huang JH (1989) Comparison studies on pharmacological properties of injectio gastrodia elata, gastrodin-free fraction and gastrodin. *Chung Kuo I Hsueh Ko Hsueh Yuan Hsueh Pao* **11** : 147-150.
- Liu J and Mori A (1992) Antioxidant and free scavenging activities of *Gastrodia elata* Bl. and *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Jacks. *Neuropharmacology* **31** : 1287-1298.
- Liu J and Mori A (1993) Antioxidant and pro-oxidant of p-hydroxybenzyl alcohol and vanillin : effects on free radicals, brain peroxidation and degradation of benzoate, deoxyribose, amino acids and DNA. *Neuropharmacology* **32** : 659-669.
- Luo H, Wang L, Chen H and Xue Z (1992) Effects of tian-ma injection on myocardial ischemia and lipid peroxidation in rabbits. *Hua Hsi I Ko Ta Hwueh Pao* **23** : 53-56.
- Taguchi H, Yoshioka I, Yamasak, IK, Kim IH (1981) Studies on the constituents of *Gastrodia elata* Blume. *Chem. Pharm. Bull.* **29** : 55-62.
- Wu CR, Hsieh MT, Huang SC, Peng WH, Chang YS, Chen CF (1996) Effect of *Gastrodia elata* and its active constituents on scopolamine-induced amnesia in rats. *Plata Med* **62** : 317-321.

- Wu CR, Hsieh MT, Liao J (1996) p-Hydroxybenzyl alcohol attenuates learning deficits in the inhibitory avoidance task: involvement of serotonergic and dopaminergic systems. *Chin J Physiol* **39** : 265–273.
- Wu HQ, Xie L, Jin XN, Ge Q, Jin H, Liu GQ (1989) The effect of vanillin on the fully amygdala-kindled seizures in the rat. *Yao Hsueh Hsueh Pao* **24** : 482–486.

## 제 5 절 유효 활성 물질의 분리, 정제 및 동정

### 1. 서론

천마는 난초과에 속하는 다년생 식물로써 그 덩이줄기를 건조하여 약재로 사용하였으며, 주로 진정작용, 항경련작용, 진통작용, 소염작용 등을 나타내어 예로부터 신경쇠약, 두통, 과상풍 등의 완화에 쓰여 왔다.

천마의 주성분으로는 P-hydroxybenzyl alcohol 과 이의 배당체인 gastrodin을 들 수 있고, 그밖에 vanillyl alcohol, vanilline, 4-hydroxybenzaldehyde등이 함유되어 있는 것으로 보고된 바 있다(Fig. 1). 이중에서 4-hydroxy -benzyl alcohol의 경우 항산화효과와 기억력 증진 효과 등이 보고 되어져 있고, 4-hydroxybenzaldehyde는 GABA와 관련된 항경련 효과, 간질에 대한 방어효과 등이 보고되어 있다. 최근 들어서는 이와 같은 페놀화합물 이외에 천마 중에 함유되어 있는 다당체, 그중에서도 산성다당체의 효능에 관한 연구가 많이 진행되어 있으며 본 연구에서도 천마 산성다당체가 고지혈증 개선이나 혈압강하에 효과가 있는 것으로 나타났다. 따라서 본 연구에서는 천마 에탄올 추출물을 한외여과하여 얻은 분자량 10K 이하의 저분자 분획 및 수용성 고분자 물질로부터 페놀화합물 및 산성다당체 등을 분리 정제하여 활성을 평가하거나 그 특성을 간단히 살펴보고자 하였다.

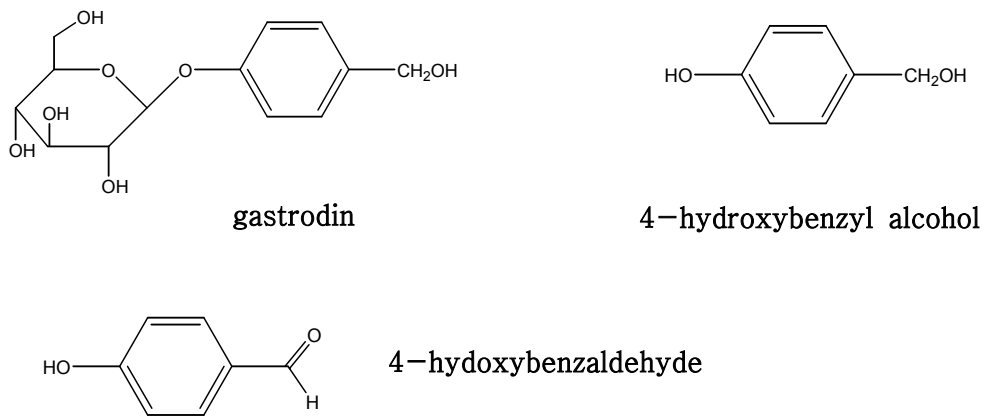


Fig. 1. Chemical structures of several *Gastrodia rhizoma* components.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 시료

본 연구에서 사용한 천마는 전북 무주에서 구입하였다. 생천마는 물로 잘 씻어 흙과 먼지 등의 이물질을 제거하고 수세미로 겉껍질을 벗겨낸 다음 3~4 mm 두께로 절편하여 40℃에서 열풍건조시킨 후 분쇄하여 시료로 사용하였다.

### 나. TLC에 의한 페놀물질 확인

저분자 분획 또는 에탄올 추출물로부터 분리한 페놀분획의 구성을 살펴보기 위하여 Silica gel 60F<sub>254</sub> TLC plate(Merck, Germany)에 시료를 일정량 점적하고 Ethyl acetate : Hexane(2 : 1)의 용매 시스템을 이용하여 전개하였다. 이후 TLC plate를 건조하고 UV light를 이용하여 spot 위치를 확인하였다.

#### 다. HPLC에 의한 페놀조성 분석

페놀추출 분획으로부터 페놀화합물의 조성을 확인하기 위한 HPLC분석조건은 다음과 같다. 컬럼은 Lichrosorb RP-18(10  $\mu$ m)을 사용하였으며 용매는 CH<sub>3</sub>CN : 0.1% HPO<sub>3</sub> (10 : 90) 용매 1과 CH<sub>3</sub>CN : 0.1% HPO<sub>3</sub> (25 : 75) 용매 2 를 이용한 gradient system(용매 1 100%, 0min) → 용매 1 0%, 30min) 을 사용하여 용출시켰으며 유속은 0.8 ml/min, 검출기는 UV 검출기 (280nm)를 사용하였다.

#### 라. 천마 산성다당체의 분리, 정제

열수추출과 pronase 처리를 통하여 조다당체 분획인 GR-2 를 조제하고 (제 2 절, 천마성분 분획 참조) DEAE-Sephacryl CL-6B ion exchange Chr.와 Sephacryl S-300 gel filtration법을 순차적으로 사용하여 산성다당체를 분리정제하였다.

#### 마. 산성다당체의 구성당 분석

천마의 구성 단당류는 Jones 등의 방법을 변형하여 분석하였다. 조다당체 분획인 GR-2로부터 DEAE-Sephacryl CL-6B, Sephacryl S-300에 의해 정제된 다당체 분획을 동결건조한 후, 시료(3~4mg)를 취해 2N HCl로 100℃에서 2~6 시간 동안 가수분해하였다. 가수분해물 1  $\mu$ l를 취하여 Silica gel 60F<sub>254</sub> TLC plate (Merck)에 점적하고 acetonitrile : water(85:15, v/v) 용매시스템을 사용하여 2회 전개한 후, 분리된 당을 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 을 함유한 0.5%  $\alpha$ -naphthol(w/v) 발색시약을 분무한 후 110℃에서 10분간 반응시켜 발색시켰다.



### 3. 결과 및 고찰

#### 가. 열수추출물을 이용한 분획물 조제

앞서 제 2 절에서 설명한 방법에 따라 천마를 80% 에탄올로 추출한 후 한외여과법으로 분자량 1K이하만을 얻은 저분자 분획(GR-1), 천마를 80% 에탄올로 추출 후 잔사를 열수로 재추출하여 얻은 열수추출물을 periodate 처리한 분획(GR-3), pronase로 처리한 분획(GR-2) 등으로 나누어 조제한 후 활성평가 및 유효성분 정제를 위한 시료로 사용하였다.

#### 나. 저분자 분획으로부터 유효물질의 분리정제

천마 에탄올 추출물(GR-1)을 10% 메탄올 수용액에 현탁한 후 극성에 따라 헥산, 에틸아세테이트, *n*-부탄올 순으로 용매 분획하였다. 각 용매 획분과 물층의 건물함량을 상압건조법으로 함량을 측정하여 수율을 조사한 결과 (Fig. 2) 에탄올 조추출물 16.4%, 헥산 0.5%, 에틸아세테이트 1.3%, 부탄올 3.8%, 그리고 물층이 7.8%이었다. 기존의 연구보고에 따라 천마소, 천마대원 같은 유효물질이 함유되어 있는 것으로 추정되는 에틸아세테이트 획분에 대하여 silica gel column chromatography를 행하였다. 용출은 클로로포름과 메탄올을 사용하여 극성을 증가시키면서 순차적으로 분취하여 5개의 획분(Fr. I~Fr. V)을 얻었다. 5개 획분의 수율은 각각 Fr. I, 3.8 g, Fr. II, 12.9 g, Fr. III 2.3 g, Fr. IV, 0.9 g, Fr. V, 2.4 g이었다. 앞서 이미 분리한 용매 분획과 이들 획분은 신경계 질환에 대한 효능평가를 위한 시료로 사용하였다.

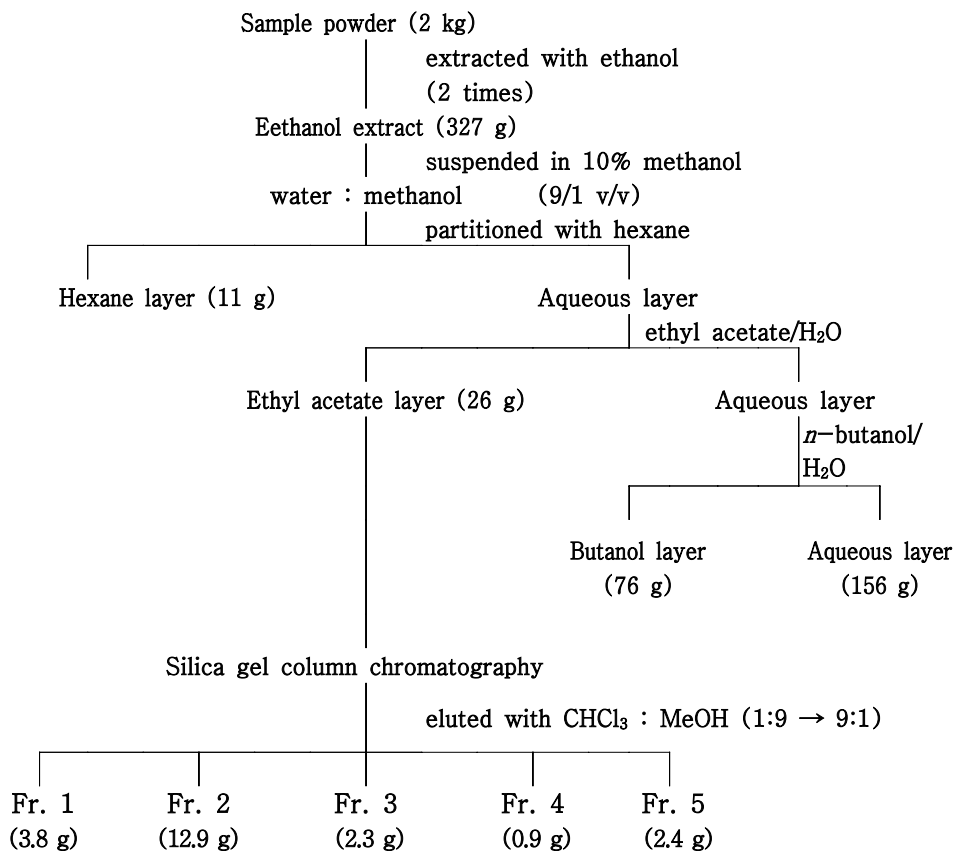


Fig. 2. Preparation phenolic compound fraction from *Gastrodiae rhizoma*.

#### 다. 조다당체 분획으로부터 산성 다당체 분리, 정제

천마 조다당체 분획(GR-2)으로부터 다당체를 분리, 정제하기 위하여 DEAE-Sepharose CL-6B를 이용한 anion exchange chromatography와 Sephacryl S-300-HR을 이용한 gel filtration을 순차적으로 수행하였으며 정제된 다당체분획의 구성당 조성 등의 특성을 구명해보고자 하였다.

우선 천마 pronase처리 분획(GR-2)을 DEAE-Sephrose CL-6B 수지를 이용한 anion exchange chromatography로 분리, 정제한 결과는 Fig. 3과 같다.

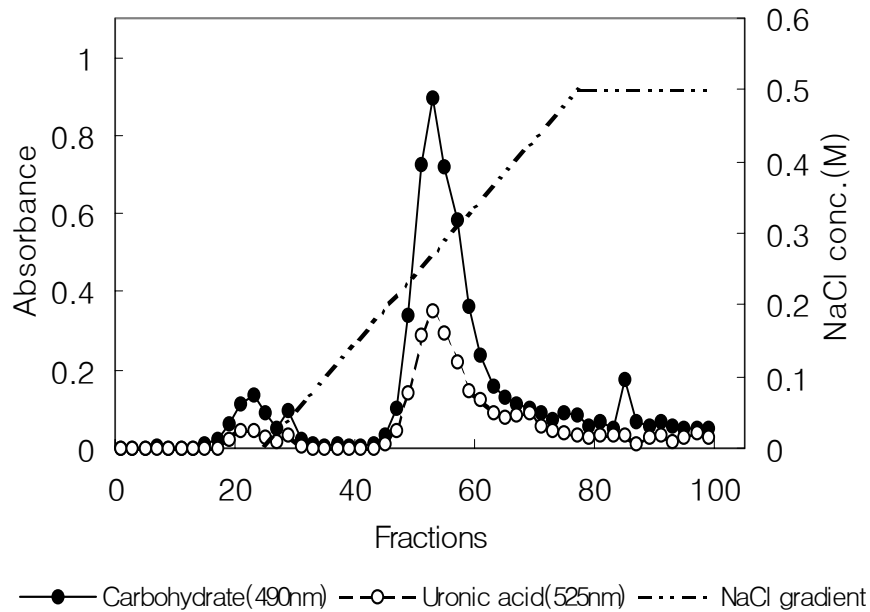


Fig. 3. Ion exchange chromatography patterns on DEAE-Sephrose CL 6B of pronase-digested *Gastrodiae rhizoma* hot-water extracts.

그 결과, NaCl 농도 0.2~0.3 M 부분에서 용출된 major peak와 초기 수지에 결합되지 않은 물질이 용출된 부분과 0.5 M NaCl로 용출시킨 부분에 minor peak가 두 개 용출되었다. 그러나 이들 minor peak의 경우 이후 반복된 실험에서 초기시료 첨가량이 감소함에 따라 거의 나타나지 않았으며 구성당 분석에서도 major peak와 거의 유사한 양상을 나타냄에 따라 수지의 흡착 용량을 초과에 따라 용출된 peak로 major peak와 거의 유사한 물질인 것으로

추정할 수 있었다. 따라서 본 연구에서는 major peak(DE fr.) 부분만을 취하여 수율 측정 및 이후 정제과정에 사용하였다.

DEAE-Sepharose CL 6B를 이용한 정제실험에서 얻은 DE Fr.을 보다 더 정제해 보기 위하여 Sephacryl S-300-HR을 이용한 gel filtration을 수행하였으며 그 결과는 Fig. 4와 같다.

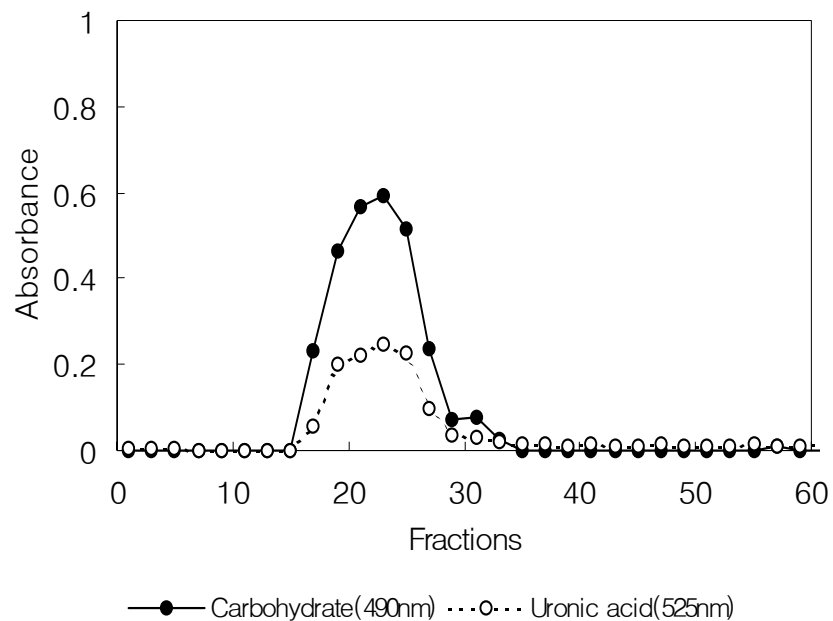


Fig. 4. Gel filtration patterns on Sephacryl S-300-HR of purified acid polysaccharide fraction(DE fr.) from *Gastrodiae rhizoma* hot-water extracts.

천마로부터 정제한 산성다당체 분획(DE Fr.)의 경우 gel filtration에서도 한 개의 major peak(GE Fr.)를 나타내었으며 동결건조한 정제물의 수율은

DE Fr.을 기준으로 약 58% 수준이었다. 전체적인 산성다당체의 정제과정을 정리한 결과는 Table 1과 같다.

이상의 결과로 천마의 경우 한 종류 또는 구성당이나 분자량 등이 매우 유사한 종류의 산성다당체들로 구성되어 있음을 추정할 수 있었다.

Table 1. Purification of acidic polysaccharide from crude polysaccharide fraction of *Gastrodiae rhizoma*

	Yield	Total protein (g)	Total sugar (g)	Acidic polysaccharide (g)
Crude polysacchride (GR-2)	100g (100%)	1.19 (100%)	85.9 (100%)	11 (100%)
DEAE-Sepharose CL-6B(DE Fr.)	24.54g (24.5%)	0.32 (26.9%)	20.0 (22.3%)	2.5 (22.7%)
Sephacryl S-300(purified AP)	15.75g (15.8%)	0.16 (13.4%)	14.2 (15.9%)	1.67 (15.2)

#### 라. 페놀성분

천마의 추출용매 및 분획에 따른 각 시료의 총페놀 함량을 Folin-Ciocalteu법을 이용하여 측정하였으며 그 결과는 Table 2와 같다. 고형물 100 g당 총페놀함량은 GR-1이 4.63 g, GR-2가 0.68 g, GR-3가 0.01 g으로 예상했던 바와 같이 저분자 화합물 분획인 GR-1이 가장 높은 함량을 나타내었다. 추출용매에 따른 총 페놀함량을 살펴보면 50% 에탄올 추출물이 3.42 g으로 2.05 g을 보인 열수추출물에 비해 1.6배 가량 높은 총페놀 함량을 보였다.

Table 2. Content of total phenolic compounds of each fraction prepared from *Gastrodiae rhizoma*

Fraction	GR-1	GR-2	GR-3	(g/ 100 g)	
				50% EtOH ext.	Hot water ext.
Total phenolics	4.63	0.68	0.01	3.42	2.05

천마의 페놀화합물 중에서 주성분으로는 알려진 성분은 p-hydroxybenzyl alcohol과 그 배당체인 gastrodin을 들 수 있고, 그 밖에 vanillyl alcohol, vanillin, 4-hydroxybenzaldehyde 등이 함유되어 있는 것으로 알려져 있으며 이들 물질의 생리활성에 관한 연구결과가 비교적 많이 보고되어 있다. 따라서 본 연구에서 조제한 저분자 분획(GR-1)역시 앞서 언급한 유효물질들을 많이 함유하고 있을 것으로 판단하여 이들 물질의 정성, 정량 분석을 시도하였다.

우선 저분자 에탄올 추출 분획인 GR-1을 silica gel plate 상에서 TLC한 결과(Fig. 5), 앞서 이미 언급한 바와 같이 GR-1 분획에는 천마의 유효성분으로 알려진 4-hydroxybenzyl alcohol과 4-hydroxy benzaldehyde가 다량 함유되어 있는 것으로 나타났다. 그러나 4-hydroxybenzyl alcohol 아래에 위치한 spot의 경우 극성으로 판단할 때 배당체인 gastrodin 인 것으로 추정되었다. 페놀 화합물들의 함량을 정량 분석해 보기 위하여 HPLC를 수행하였다. 그 결과(Fig. 6) 알코올 가용성 저분자 분획인 GR-1에는 4-hydroxybenzyl alcohol(RT=6.2 min)이 0.99%, 4-hydroxy benzaldehyde (RT=15.2min)가 0.16% 정도 함유되어 있는 것으로 나타났다.

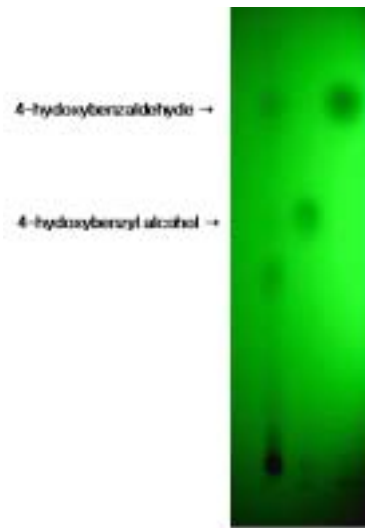


Fig. 5. Thin layer chromatogram of phenolic compounds extracted from *Gastrodiae rhizoma*.

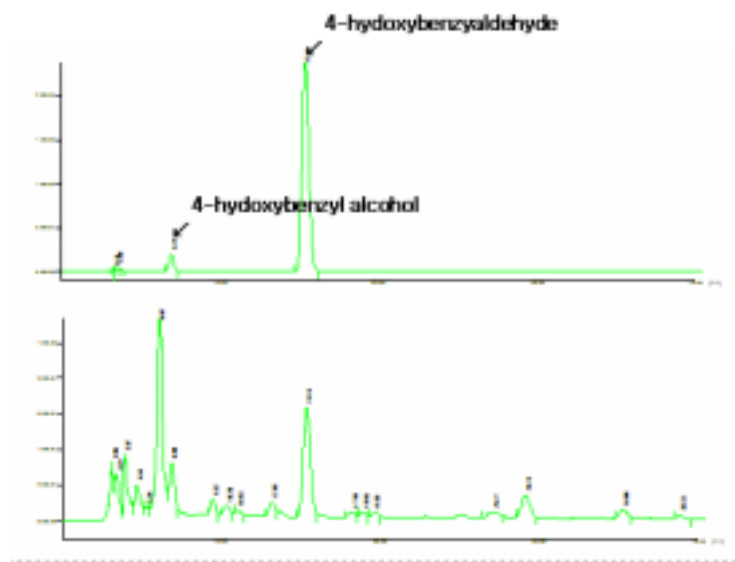


Fig. 6. HPLC chromatogram of phenolic compounds extracted from *Gastrodiae rhizoma*.

#### 마. 천마 산성 다당체의 구성당 분석

천마로부터 분리, 정제한 산성다당체의 구성 단당류 조성을 TLC로 확인한 결과(Fig. 7), 중성당으로 xylose, glucose 등이 존재하는 것으로 판단되었으며 산성당으로 galacturonic acid가 검출되었다.

그 밖에 산성당으로 추정되는 하나의 spot을 확인하였으나 정확히 알 수 없었다. 일반적으로, 산성다당체는 다당류에 galacturonic acid, glucuronic acid 및 mannuronic acid가 결합된 다당체로서 산성다당체의 약리활성으로는 혈당강하, 면역기능 증진, 항암제 면역독성 억제효과 등의 효능이 있는 것으로 보고되어 있다. 여러 식물다당체의 구성당 조성을 분석한 결과, 표고버섯 균사체로부터 항암 단백질다당체의 구성 단당류의 조성은 glucose, galactose, xylose, mannose로 주로 5, 6탄 당으로 이루어졌으며, 감잎의 보체계 활성화 다당류의 구성당은 glucose, arabinose, galactose, mannose, xylose, fructose, rhamnose로, 참도박의 보체계 활성화 다당류의 구성당 조성은 galactose, 3,6-anhydrogalactose, glucose, fructose, xylose 및 rhamnose 등으로 구성되어 있음이 보고된 바 있다. 본 연구의 천마와 비교할 때, glucose와 xylose가 공통적으로 존재하고 있으나, 정제 다당류의 조성과 구성형태에 관한 연구는 향후 더 진행되어야 할 것으로 생각되었다.





Fig. 7. TLC patterns of acid hydrolyzate of *Gastrodiae rhizoma* acidic polysaccharide fraction.

1 : Xylose, 2 : Glucose, 3 : Galacturonic acid, 4 : Glucuronic acid. GR : Acid hydrolyzate of *Gastrodiae rhizoma* acidic polysaccharide

#### 4. 참고문헌

Kim, D. and Robyt, J. F. (1995) Dextranucrase constitutive mutants of *Leuconostoc mesenteroides* B-1299. *Enzyme Micro. Technol.* 17 : 1050-056

Kim, Y. S., Kang, K. S. and Kim, S. I. (1991) *Korean J. Ginseng Sci.*, 15 : 13-20

- Konno, C., Murakami, M and Hikino, H., (1985) *J. Ethnopharmacology* 14 : 69-74
- Thomas M. Jones and Albershem P.(1972) A gas chromatographic method for the determination of aldose and uronic acid constituents of plant cell wall polysaccharides. *Plant Physiol.* 49 : 926-936
- Wang, B.X., Ciu, J.L. and Liu. A.J., (1985) Advances in Chinese *Medicinal Materials Res* : 519-527
- 박기문, 이병우 (1998) 표고버섯 균사체로부터 항암 단백다당체의 추출 및 정제. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30 : 1236-1242
- 이선희, 전우진, 유광원, 전혁, 신동훈, 홍범식, 조흥연, 양한철 (2000) *Pachymeniopsis elliptica*의 열수 추출물로부터 분리한 함황 다당류의 정제 및 특성. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32 : 1191-1197
- 정영주, 전혁, 김경임, 안정희, 신동훈, 홍범식, 조흥연, 양한철 (2002) 감잎 (*Diospyos kaki* L.)으로부터 정제한 보체계 활성화 다당류. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34 : 879-884

## 제 6 절. 기타 주요 생리활성에 대한 천마분획들의 효능평가

### 1. 서론

천마(天麻, *Gastrodiae rhizoma*)는 오래전부터 적근(赤根), 귀독우(鬼督郵), 난모(難母), 신초(神草), 정풍초(定風草) 등의 명칭으로 불리며 약성이 평무독(平無毒)한 약재로 널리 이용되어 왔다. 천마의 임상적 효능은 본초강목, 동의보감 등의 여러 본초문헌들에서 찾아 볼 수 있는데 주로 고혈압, 두통, 마비, 신경성 질환, 당뇨병 등의 성인병과 스트레스, 피로 등의 증상에 효능이 있는 것으로 알려져 있으며 주성분으로는 vanilly alcohol, vanillin, benzaldehydes, 배당체 등이 있다고 알려져 있다. 국내에서도 많은 양은 아니지만 천마의 다양한 효능에 대한 실험적 연구, 천마의 항 혈소판 및 항 혈전 활성화에 대한 연구, 천마추출물이 관상순환기에 미치는 영향 등에 관한 연구결과가 보고된 바 있으며 본 연구팀에서도 앞서 순환기계와 신경계 질병에 관한 효능연구를 수행한 바 있다.

따라서 본 연구에서는 최근 식품으로서 이용가치에 관한 관심이 커지고 있는 천마에 대해 단편적이거나 다양한 생리활성을 검토해 봄으로서 천마의 이용성을 높이는 기초자료로 활용하고자 하였다.

### 2. 재료 및 방법

#### 가. 천마 추출물 및 분획물 조제

천마 열수추출물, 천마 에탄올 추출물 및 천마 성분 분획물 등은 “제 2 절 콜레스테롤 저감 효능 평가를 위한 고지혈증 개선 시험” 과 동일한 시료를 제공받아 사용하였다.

#### 나. Angiotensin converting enzyme (ACE) 저해활성

ACE 저해활성은 Cheung과 Cushman의 방법에 따라 측정하였다. 기질 (Hip-His-Leu) 0.1 ml과 천마시료 용액 0.5 ml의 혼합액을 37°C에서 5분간 incubation 시킨 후 ACE 효소액 0.15 ml을 첨가하여 1시간 동안 반응시켰다. 반응액에 0.5N HCl 250  $\mu$ l을 첨가하여 반응을 정지시키고 에틸아세테이트 1.5 ml을 가한 후 2,800 rpm에서 10분간 원심 분리시켜 상등액 0.5 ml을 취하였다. 이 상등액을 140°C에서 15분간 건조시킨 후 건조물은 1M NaCl 3 ml로 용해시켰으며 이를 흡광도를 228 nm에서 측정한 후 공시험과의 비교하여 저해율을 나타내었다.

#### 다. 혈액 항응고 활성

항응고의 활성은 APTT법으로 측정하였다. 즉 천마시료를 혈장(platalet poor plasma)에 일정한 농도로 용해한 후 약 100  $\mu$ l를 취해 APTT 진단시약 100  $\mu$ l와 혼합하고 37°C에서 정확히 3분간 incubation 시킨 후 37°C에서 예열시킨 20 mM CaCl<sub>2</sub> 용액 100  $\mu$ l를 가해 혈액이 응고가 될 때까지의 시간으로 측정하였다. 대조군은 시료를 포함하지 않은 순수한 혈장 100  $\mu$ l를 사용하여 앞과 동일한 방법으로 측정하였다. Blood coagulator(Clot 1A, HOSPITEX Diagnostics, Italy)에 의하여 3회 반복 실시하여 측정된 평균 응고시간을 항응고 활성으로 나타내었다.

#### 라. 면역활성

웅성 ICR Mouse(5~8주령)의 복강 내에 1 mL의 thioglycollate medium을 주입한 뒤 48-72시간 내에 Hapes, Penicillin/Streptomycin, Amphotericin B을 함유한 RPMI-1640 medium으로 세척하여 macrophage를 mouse의 복강 내에서 회수하였다. 회수된 macrophage를 RPMI-1640 medium으로 두 번 세

척하고 세포수가  $1 \times 10^6$ 개/mL이 되도록 RPMI-1640 medium에 재분산시켰다. 이 분산액을 96 well plate의 각 well에  $180 \mu\text{l}$ 씩 분주한 후  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ 에서 2시간 동안 배양하여 macrophage cell이 각 well에 monolayer을 형성하면 non-adherent cell은 세척하여 제거한 다음 10% FBS(fetal bovine serum)을 함유한 RPMI-1640 medium을 각 well에  $180 \mu\text{l}$ 씩 분주하고 시료  $20 \mu\text{l}$ 를 가하여  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ 에서 24시간 배양하여 macrophage를 활성화시켰다. 활성화된 macrophage의 monolayer 에 0.1% triton X-100 ( $25 \mu\text{l}$ )을 가하여 macrophage의 세포막을 용해시키고 이때 분비되는 lysosome의 phosphatase의 기질로서 10 mM p-nitrophenyl phosphate ( $150 \mu\text{l}$ )를 0.1 M citrate buffer ( $50 \mu\text{l}$ )와 같이 넣어주어 1시간 동안 산성상태에서 반응시키고 0.2 M borate buffer를 가하여 반응을 정지시킨 후 ELISA reader로 405nm에서 흡광도를 측정하였다.

B 임파구 활성화에 미치는 영향을 측정하기 위해서 Ohno 등의 방법에 따라 분화된 B 임파구의 표면에 발현되는 alkaline phosphatase를 측정하였다. ICR 마우스(male, 20~25 g)를 경추탈구법으로 치사시키고 무균적으로 비장을 적출하여 100 mesh 망 위에서 분쇄한 후 얻은 세포 부유액을 원심분리하여 단핵세포층만 조심스럽게 취하여 세척한 후 96 well plate에  $5 \times 10^6$  cells/mL로 하여 well당  $90 \mu\text{l}$ 씩 분주하고 농도별로 제조한 시료 및 LPS를  $10 \mu\text{l}$  농도로 가하여 최종부피가  $100 \mu\text{l}$ 가 되도록 하였다.  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  배양기에서 3일간 배양한 후 상등액을 제거하고  $25 \mu\text{l}$ 의 Triton X-100을 첨가한 다음 p-nitrophenyl phosphate solution (solubilized in 10% diethanolamine buffer, pH 9.0-10.0)  $150 \mu\text{l}$ 를 넣어 반응시킨 후  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  배양기에서 30분간 배양한다. 3N NaOH  $50 \mu\text{l}$ 를 가하여 반응을 종결시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

장관면역활성은 Hong 등의 방법에 의거하여 측정하였다. C3H/HeN

mouse의 소장 벽상에 부착되어 있는 Peyer's patch를 잘라 Hank's balanced salt solution(HBSS)이 담겨진 petridish에 옮기고 금속체(mesh #100)를 patch위에 위치시킨 다음 주사기 고무마개로 누르면서 patch로부터 세포를 방출시킨다. 이 액을 금속체(mesh #200)를 사용하여 여과하고 HBSS로 세정한 후 세포농도를  $2 \times 10^6$  cells/ml RPMI-1640으로 조정하고 200 $\mu$ l씩을 96well plate에 분주한 다음 측정하고자 하는 시료를 적당히 희석한 20 $\mu$ l와 함께 37 $^{\circ}$ C, CO $^2$  incubator에서 5일간 배양하여 얻은 상등액을 골수세포 증식활성 측정용 세포현탁액으로 사용한다.

동일종 mouse의 대퇴부 뼈로부터 주사기로 HBSS를 빠르게 주입하면서 골수세포를 시험관에 받은 후 상기와 같이 여과, 세정한 후  $2.5 \times 10^5$  cells/ml RPMI-1640으로 조정하고 Peter's patch cells 와 시료와의 반응상등액, bone marrow cells, RPMI-1640을 각각 50 $\mu$ l, 100 $\mu$ l, 500 $\mu$ l 씩 96 well plate 에 분주한 다음, 37 $^{\circ}$ C, CO $^2$  incubator에서 6일간 배양한다. Bone marrow cell의 증식도 측정은 Alamar Blue<sup>TM</sup> reduction assay를 사용한다. 배양 종료 12시간전에 Alamar Blue<sup>TM</sup>용액 20 $\mu$ l를 첨가한 다음 형광세기를 excitation 544nm 와 emission 590nm에서 측정, Spectrafluor plus(Tecan, Austria)로 data화한다. 대조구와의 차이로부터 골수세포의 증식도를 비교하여 정량함으로써 장관면역 활성화도를 측정한다.

#### 마. Tyrosinase 저해활성

천마 추출물 및 분획물을 메탄올을 이용하여 일정범위로 희석한 후 96-well microplate에 40  $\mu$ l 씩 옮긴 후 25 mM L-dopa 40  $\mu$ l, 67 mM phosphate buffer (PH 6.8) 80  $\mu$ l와 mushroom tyrosinase (125 U/ml) 40  $\mu$ l를 가하였다. 이후 37 $^{\circ}$ C에서 20분간 incubation한 후 생성된 dopa chrome의 양을 Elisa Reader를 사용하여 492 nm에서의 흡수도를 측정한 후 시료용

액대신 메탄올을 40 $\mu$ l 첨가한 대조군과 비교하여 tyrosinase의 저해 비율을 계산하였다.

#### 바. 항산화 활성

DPPH 라디칼에 대한 소거활성은 Blois의 방법으로 측정하였다. 에탄올 적정량에 시료 0.2 mL와  $4 \times 10^{-4}$  M DPPH 용액 0.8 mL을 가하여 10초간 혼합하고 10분간 방치 후 525 nm에서 흡광도를 측정하여 대조군과 비교하였다.

ABTS 소거활성은 Van den Berg 등의 방법을 변형하여 측정하였다. 1.0 mM의 2,2'-azobis(2-amodino-propane)deihydrochloride (AAPH)은 100 mM PBS buffer에 녹인 2.5 mM의 ABTS (2,2'-azino-bis 3-ethylbenzenothiazolin-6-sulfonic acid)와 혼합한 후 68 $^{\circ}$ C의 항온조에서 12분 동안 반응시켰다. ABTS 용액의 농도는 734 nm에서  $0.650 \pm 10.2$ 가 되도록 조정하였다. 여러 가지 농도의 시료 20  $\mu$ l와 980  $\mu$ l ABTS 용액을 37 $^{\circ}$ C water bath에서 10분간 반응시키면서 734 nm에서 감소하는 흡광도 정도를 측정하였다. 이때 대조군은 50% 메탄올을 사용하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 가. Angiotensin converting enzyme (ACE) 저해 활성

천마추출물과 천마로부터 분리 정제한 분획들의 ACE 저해활성을 살펴보았다.

천마 추출물 및 분획물들의 농도를 1,000  $\mu$ g/ml의 농도로 하여 ACE 저해

활성을 검토해 본 결과 저해활성이 나타나지 않았다. 따라서 Table 1에서 보는 바와 같이 농도를 50,000  $\mu\text{g/ml}$  까지 높여 ACE 저해활성을 살펴보았으나 80%이상의 저해활성을 보인 group이 없었다. 그러나 periodate 처리를 하여 다당체 성분을 제거한 C group(GR-3)이 68.19% 의 활성을 나타낸 것으로 보아 ACE 저해 활성 물질이 주로 peptide계라는 기존의 다른 연구결과와 어느 정도는 일치하는 결과로 생각된다.

Table 1. ACE inhibitory activity of extracts obtained from *Gastrodiae rhizoma*

Sample(50,000 $\mu\text{g/ml}$ )	A	B	C	D	E
ACE inhibitory activity(%)	- 1.75	31.54	68.19	1.99	30.95

A : Hot water extract after ethanol extract (GR-0)

B : Ultrafiltration after 80% ethanol extract (M.W.<1K)

C : Periodate treatment fraction (GR-3)

D : Pronase treatment fraction (GR-2)

E : Hot water extract (10brix)

#### 나. 혈액 항응고 활성

천마로부터 얻어진 추출물과 분획에 대해 APTT법과 PT법을 이용하여 항응고활성을 살펴본 결과(Table 2), 1차 시험에서는 대조군  $25.10 \pm 0.00$ 초와 비교 시 4가지 군 모두 유의적인 활성이 나타나지 않았으며 2차 시험에서도 Table 2에서 보는 바와 같이 대조군의  $25.24 \pm 0.25$ 초와 비교 시 5가지군 모두에서 항응고 활성이 나타나지 않았다.



Table 2. Anticoagulant activity of extracts from *Gastrodiae rhizoma*

Sample	Anticoagulant activity (sec, mean±S.D.)	
	APTT Test	PT Test
A	25.47±0.09	9.35±0.65
B	24.95±0.04	9.26±0.05
C	26.12±0.06	9.97±0.04
D	25.21±0.13	9.85±0.15
E	25.91±0.24	9.57±0.09
Control	25.24±0.25	9.24±0.06

A : Hot water extract after ethanol extract (GR-0)

B : Ultrafiltration after 80% ethanol extract (M.W.<1K)

C : Periodate treatment fraction (GR-3)

D : Pronase treatment fraction (GR-2)

E : Hot water extract (10brix)

#### 다. 면역활성

##### (1) Macrophage lysosomal enzyme activity

체내 면역계에서 중요한 역할을 담당하고 있는 macrophage 세포에 대한 활성도를 알아보기 위하여 phosphatase activity 법으로 실험한 결과, Fig. 1

에 나타낸 바와 같이 물추출물 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 positive control인 LPS(lipopolysaccharide)보다 높은 흡광도를 보였다. 반면 50% ethanol 추출물에서는 낮은 흡광도를 보였다. 결과적으로 열수추출물에서 관찰된 흡광도는 macrophage 세포의 활성화에 천마가 관여함을 나타내는 것이고 추후 다른 fraction들과의 병행실험에 대한 필요성이 있는 것으로 판단되었다.

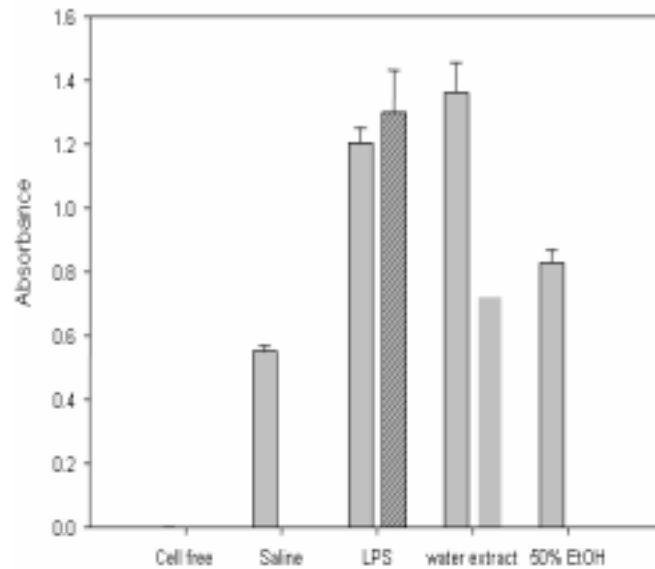


Fig. 1. Macrophage lysosomal enzyme activity of extracts from *Gastrodiae rhizoma*.

## (2) Intestinal immune system modulating activity

천마추출물로부터 장관면역계의 중추적 기능을 담당하고 있는 Peyer's patch 세포의 기능 중에서 골수세포 증식인자 생산 촉진 활성화에 대한 탐색 결과는 Fig. 2와 같다. 물추출물과 50% ethanol 추출물 모두 음성대조군인 saline과 양성대조군인 LPS보다 현저히 낮은 활성을 나타낸 것으로 보아 천마

추출물들이 장관면역계의 활성화에 대한 영향은 거의 없는 것으로 추측된다.

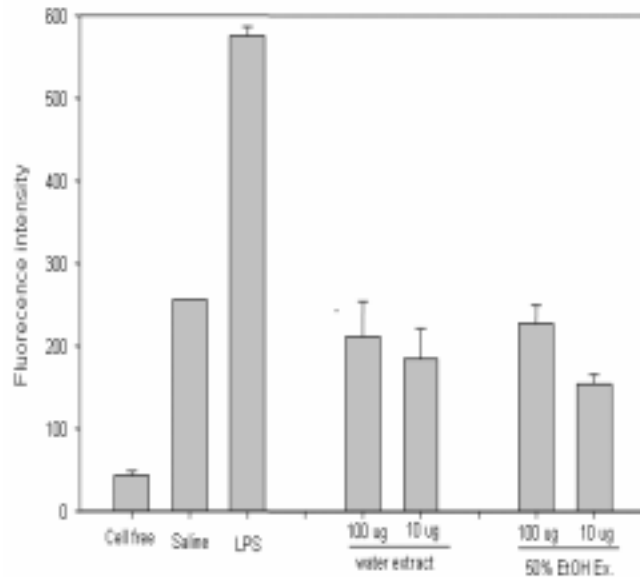


Fig. 2. Intestinal immune system modulating activity of extracts from *Gastrodiae rhizoma*.

### (3) Splenocyte proliferation activity

면역계에서 면역 세포 생산에 중요한 역할을 담당하고 있는 비장세포의 증식도를 조사함으로써 천마추출물 중의 특정성분이 체내 면역계에 미치는 영향을 알아보고자 비장세포와 MTT법을 이용하여 실험한 결과(Fig. 3), 음성대조군인 saline 보다는 다소 높은 활성을 보였으나 양성대조군인 Con A와 LPS에는 크게 미치지 못하는 활성을 보였다. 따라서 천마가 비장세포의 활성화에 미치는 영향은 크지 않은 것으로 보인다.

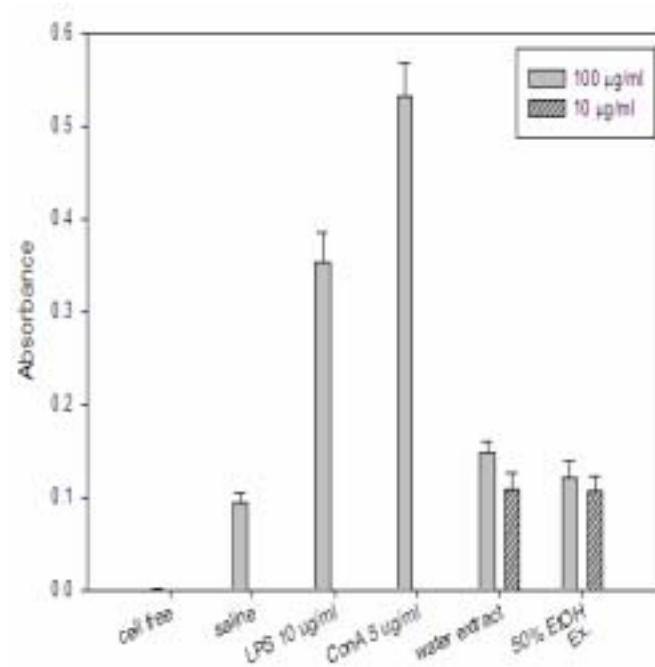


Fig. 3. Splenocyte proliferation activity of extracts from *Gastrodiae rhizoma*.

#### 라. Tyrosinase 저해활성

Tyrosinase는 멜라닌 생합성에 관여하는 주요 효소로써 알려져 있으며 최근 피부미용에 관한 관심이 높아지면서 이 효소의 작용을 저해, 증가시켜 피부의 명암을 조절하는 것에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 본 실험에서는 천마 각각의 분획물 (GR 1~5) 및 유효성분인 4-hydroxybenzyl alcohol (4-HBAC), 4-hydroxy benzaldehyde (4-HBAD)을 2 mg/ml, 0.2 mg/ml, 0.02 mg/ml의 농도로 첨가한 후 tyrosinase 활성변화를 측정 한 결과는 Fig. 4와 같다.

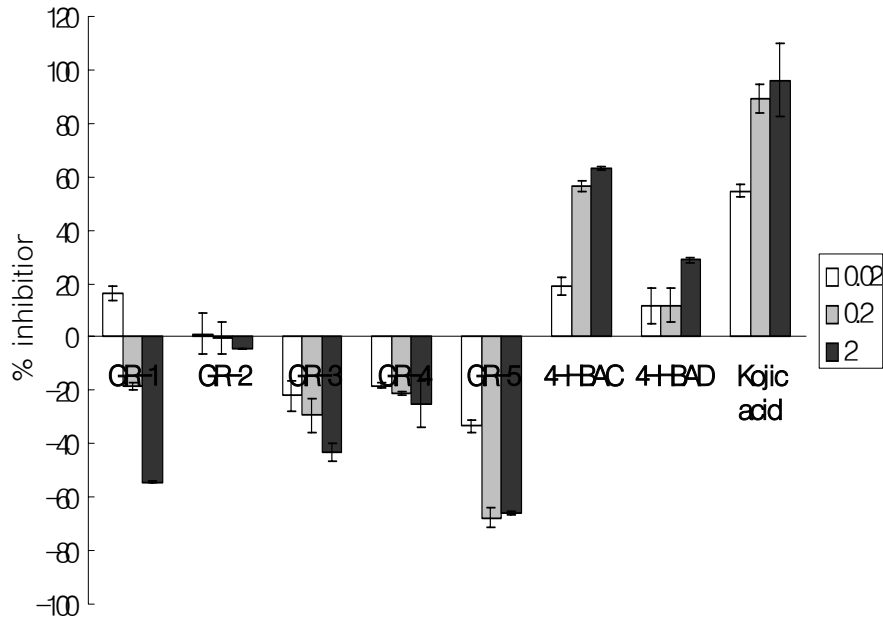


Fig. 4. The Effects on tyrosinase activity of *Gastrodiae rhizoma* fractions.

천마의 알려진 유효성분인 4-hydroxybenzyl alcohol과 4-hydroxy benzaldehyde의 경우 2 mg/ml의 농도에서 각각 63.4% 와 28.9%의 tyrosinase 저해활성을 나타내는데 비해 분획물인 GR-1, GR-3, GR-4, GR-5는 그 반대로 tyrosinase활성을 증대 시켰다. 이는 또다른 강력한 tyrosinase 촉매성분이 천마에 함유되어 있음을 나타내는 결과로 추정되며 GR-5는 0.2 mg/ml 농도에서 67.7%의 증대활성을 보여 향후 백반증 등에 응용될 수 있는 가능성 검토에 관한 연구가 필요하다고 사료된다.

#### 마. 항산화 활성

##### (1) ABTS 자유기 소거 활성

천마 열수 및 50% 에탄올 추출물과 분획물들을 에탄올과 물로 각각 용해시킨 후 Van den Berg 등의 방법을 변형하여 ABTS 자유기 소거능을 조사한 결과는 Fig. 5 및 6과 같다. 용매로 물을 사용하였을 경우 모든 시료에서 10% 미만의 낮은 ABTS 소거활성을 나타내었다. 반면 에탄올을 용매로 사용하였을 경우 에탄올 가용성 저분자 분획인 GR-1에서만 20% 이상의 ABTS 소거활성을 나타내었고 다른 시료에서는 물을 용매로 사용했을 경우와 유사하게 5% 미만의 낮은 활성을 나타내었다. 또한 각 시료에 있어서 농도별 활성 차이는 없는 것으로 나타났다.

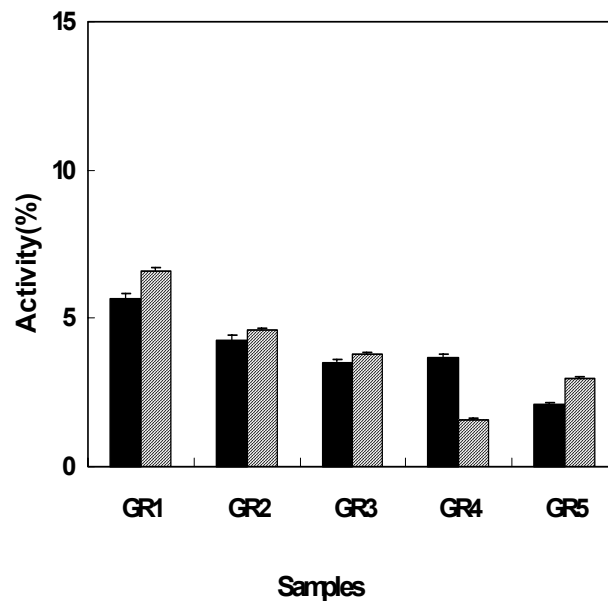


Fig. 5. ABTS radical scavenging activity of water soluble parts.

■ : 20 µg/ml    ▨ : 200 µg/ml

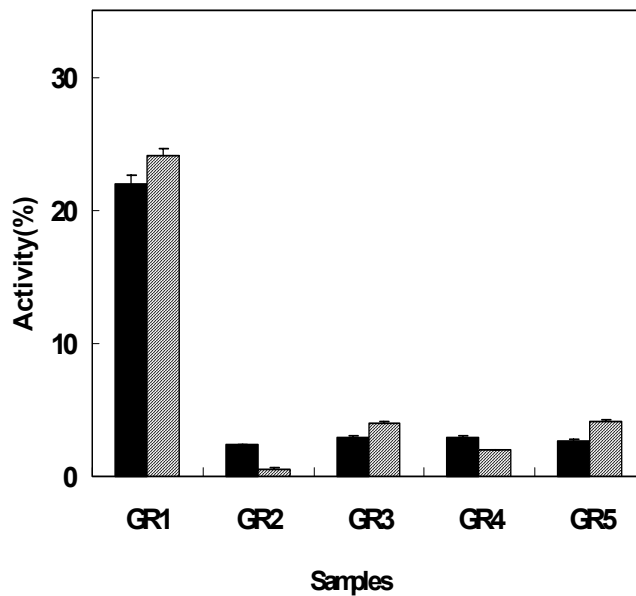


Fig. 6. ABTS radical scavenging activity of ethanol soluble parts.

■ : 20 µg/ml    ▨ : 200 µg/ml

## (2) DPPH 라디칼 소거 활성

천마 열수 및 50% 에탄올 추출물과 분획물들을 에탄올과 물로 각각 용해시킨 후 Blois 등의 방법에 따라 DPPH 라디칼 소거능을 조사한 결과는 Fig. 7 및 8과 같다. 에탄올 가용성 획분의 경우 40~55%의 DPPH 라디칼 소거능을 보였다. 알코올가용성 저분자 분획인 GR-1의 경우 1 mg/ml에서 47%, 10 mg/ml에서 55%의 소거능을 나타내었으며 농도가 증가할수록 DPPH 라디칼 소거 활성도 역시 증가하는 경향이였다. 용매로 물을 사용했을 경우 GR-1이 25%, GR-4가 20% 정도의 활성을 나타낸 반면 나머지 시료에서는 10% 미만의 낮은 활성을 보였다. 단백질 획분인 GR-3의 경우 활성이 전혀 나타나지 않았다.

이상의 결과를 종합하면 에탄올을 용매로 사용한 경우가 물을 사용한 경우보다 약 2배 가량의 DPPH 라디칼 소거능을 보였으며, GR-1과 GR-4가 다른 시료에 비해 비교적 높은 활성을 보였는데 이는 GR-1과 GR-4의 총페놀 함량이 4.6% 3.4%로 다른 시료에 비해 높게 나타난 점과 관련이 있는 결과로 페놀 화합물의 함량차이에 따라 DPPH 라디칼 소거활성의 차이를 보인 것으로 생각된다.

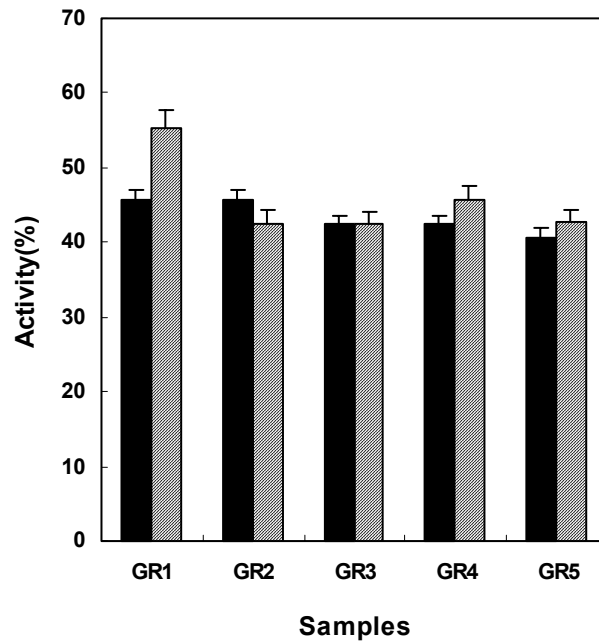


Fig. 7. DPPH radical scavenging activity of water soluble parts.

■ : 1mg/ml    ▨ : 10mg/ml



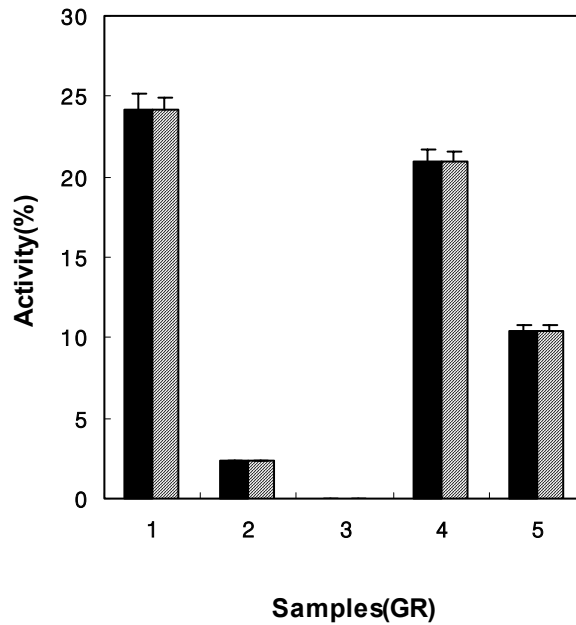


Fig. 8. DPPH radical scavenging activity of ethanol soluble parts.

■ : 1mg/ml    ▨ : 10mg/ml

#### 4. 참고문헌

Blois, M.S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181 : 1199-1201

Casu, B, Oreste, P., Torri, G., Zoppelti, G., Choay, J., Lormeau, J.C., Petitou, M. and Smay. P (1981) The structure of heparin oligosaccharide fragments with high anti-(factor Xa) activity containing the minimal antithrombin III-binding sequence. Chemical and <sup>13</sup>C nuclear-magnetic-resonance. *Biochem. J.*, 197 : 599-609

- Cheung, H.S. and Chshman, D.W. (1971) Spectrometric assay and properties of angiotensin converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Phamacol.*, **20** : 1637–1648
- Cho, S. H., Yang, K. M., Bae, B.S., Im, S. N., Yu, R.N. (1998) Effect of sea tangle intake on proliferation of splenocytes from normal and diabetic mice. *Korean Nutrition Society* **31** : 973–980
- Hong, T., Matsumoto, T., Kiyohara, H. and Yamada, H. (1998) Enhanced production of hematopoietic growth factors through T cell activation in Peyer's patches by oral administration of Kampo(Japanese herbal) medicine, "Juzen-Taiho-To". *Phytomedicine*, **5**, 353–360
- Kwak, J.E., Kim, K.I., Jeon, H.U., Hong, B.S., Cho, H.Y. and Yang, H.C. (2002) Study of macrophage stimulating activity of the polysaccharide isolated from leaves of *Carthamus tinctorius* L. *J. Korean soc. Food Sci. Nutr.* **31** : 527–533
- Mishell, B.B., Shigi, S.M. (1980) Selected methods in cellular immunology. 1st ed. San Francisco. *WH Freeman and Co.* **4**.
- Ohno, N., Arai, Y., Suzuki, I. and Yadomae, T. (1986) Induction of alkaline phosphatase activity in murine spleen cells reacted with various mitogens. *J. Pharmacobio-Dyn.* **9** : 593–599
- Robin van den Berg, Guido R. M. M. Haenen, Henk van den Berg, Wim van der Vijgh and Aalt Bast (2000) The predictive value of the antioxidant capacity of structurally related flavonoids using the Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay. *Food Chem.* **70** : 391–395
- Shin, N. H., Ryu, S. Y., Choi, E. J., Kang, S. H., Chang, I. M., Min, K.

- R., Kim, Y. S. (1998) Oxyresveratrol as Potent Inhibitor on Dopa Oxidase Activity of Mushroom Tyrosinase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **243**: 801–803
- Suzuki, I., Tanaka, H., Kinoshita, A., Oikawa, S., Osawa, M. and Yadomae, T. (1990) Effect of orally administered  $\beta$ -glucan on macrophage function in mice. *Int. Soc. Immunopharmac.* **12** : 675
- Suzuki, I., Tanaka, H., Kinoshita, A., Oikawa, S., Osawa, M., Yadomae, T. (1990) Effect of orally administered  $\beta$ -glucan on macrophage function in mice. *Int. J. Immunopharmac.* **12** : 675–684
- Yoon, J.A., Yu, K.W., Jun, W. J., and Cho, H.Y. (2000) Screening of anticoagulant activity in the extracts of edible seaweeds and optimization of extracts condition. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29** : 1098–1106

## 제 7 절 천마의 식품소재화 및 기능성 식품 개발

### 1. 서론

천마를 이용한 다양한 가공제품 개발을 위하여 천마의 이미, 이취를 최소화할 수 있는 적정 전처리 조건 즉 적정 볶음처리 조건을 검토하였으며 볶음처리된 천마의 적정 추출조건을 검토하였다. 열풍건조된 천마를 시료로 하여 최적 추출공정으로 추출물을 조제하고 이를 농축하여 액상차 및 음료제품 개발을 위한 중간소재로 사용하였다.

액상차의 경우 식품공전의 식품분류상 '식물성 물질을 주원료로 하여 그대로 착즙하거나 추출한 것을 가공한 것 또는 이에 다른 식품이나 식품첨가물을 가하여 고형 또는 액상 등으로 가공한 기호성식품인 추출차중에서 액상 추출차를 말하는 것으로 기존의 단순 농축액에 비해 전처리 및 다양한 소재들의 첨가로 기호성이 우수하고 음용이 편리한 제품형태가 될 것으로 판단되었다. 음료제품의 경우 천마자체의 관능적 기호성은 그리 높지 못한 반면 기능성이 우수한 식품소재인 점을 고려하여 일반 음료형태보다는 기능성을 강조한 드링크류 제품 형태가 바람직한 것으로 판단되었다. 본 연구에서 개발한 음료제품의 경우 '먹는 물에 식품 또는 식품첨가물 등을 가하여 제조하거나 또는 동·식물성원료를 이용하여 음용할 수 있는 액상의 물질로 가공한 것으로 다른 식품유형이 정하여지지 아니한 음료', 즉 기타음료 형태 중에서 추출음료 형태로 제품개발을 시도하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 재료

본 실험에 사용한 천마는 전북 무주에서, 2004년 10월에 수확하여 수세한 후 3~4 mm두께로 절편하여 열풍건조한 것으로 무주안성농협으로부터 구입하여 사용하였다. 당류의 경우 고과당은 주식회사 미원(한국)것을, 올리고당은 주식회사 대상(한국)것을, 벌꿀은 동서식품(한국)을 시중에서 구입하여 사용하였으며 사과, 배, 포도, 복숭아, 대추, 매실 등의 다양한 농축품류는 한국상사(한국)로부터 55~68 °Bx의 것을 제공받아 사용하였다. 구연산, 비타민류는 식품첨가물급을 사용하였다.

### 나. 미분쇄 및 공기분급

초미세분쇄 및 공기분급에 사용된 천마 시료는 2004년 가을 무주에서 생산된 것으로 세척 후 절편하여 열풍건조한 것을 제공받아 핀밀로 조분쇄하여 약 60~80 mesh의 입자경을 갖도록 하여 초미분쇄용 시료로 사용하였다.

초미분쇄는 제트밀(Fluidized bed opposed jet mill, 100 AFG , Alpine Aktiengesellschaft Augsburg, Germany)을 사용하여 분급휠속도(ACWS, air-classifying wheel speed) 8,000 rpm에서 미분쇄한 분말을 분급을 위한 시료로 사용하였다. 공기분급은 분급기(50 ATP, Alpine Aktiengesellschaft Augsburg, Germany)를 이용하여 분급휠 속도(ACWS, air-classifying wheel speed)를 10,000rpm, 8,000rpm, 6,000rpm으로 달리하며 각 처리구를 미분획(F, fine fraction)과 조분획(C, coarse fraction)으로 회수한 후 시료로 사용하였다.



Fig. 1. Jet mill and air-classifying system

#### 다. 볶음처리 및 추출

무주 안성 농협에서 제공받은 가을 천마(2004년산 열풍건조 천마) 500 g을 실험실용 회전식 볶음기(태환산업, 한국)에 넣고 볶음처리시간을 달리하여 약 200℃ 전후에서 볶음처리 하였다. 볶음처리 후 분쇄한 천마분말 약 5 g을 100 ml의 증류수로 1시간 정도 열수 추출한 후 원심분리하고 여과하여 그 여과액을 증류수로 100 ml로 정용하였으며 이를 추출물 특성 검토를 위한 시료로 사용하였다.

#### 라. 천마 건조분말 제조

전북 무주에서 2004년 가을에 수확한 천마를 각각 동결건조, 60℃, 40℃ 열풍건조, 드럼건조, 분무건조한 후 조분쇄한 후 분석용 시료로 사용하였다. 대조군으로 사용한 동결건조와 열풍건조의 경우 세척한 시료를 적당한 두께로 절단한 후 동결건조기와 열풍건조기를 사용하여 각각 동결 건조 및 40℃와

60℃에서 열풍건조하였다. 드럼건조는 생천마를 실험실용 균질기로 마쇄한 후 드럼건조기(Kansorn dryer, Japan)로 사용하여 수행하였으며 이때 스팀 압력 4~5 kg/m<sup>2</sup>, 드럼간극은 0.1 mm이었다. 분무건조의 경우 생천마에 일정량의 물을 첨가한 후 미분쇄한 후 disk-type spray dryer(동선, 한국)를 사용하였고 inlet 온도는 140℃, outlet 온도 80℃, 였으며 atomizer 속도는 805 Hz, flow rate는 0.5 ml/min의 조건으로 분말화 하였다. 분무건조시 건조분말의 용해성과 기호도를 개선하기 위하여 다당류와 유화제를 일부 첨가하였다. 건조천마는 실험실용 분쇄기로 분말화하여 실험에 사용하였다.

## 라. 이화학적 분석

### (1) 일반분석

천마시료의 일반성분은 AOAC법에 따라 수분은 105℃ 상압건조법, 조단백은 semi micro kjeldahl법, 조회분은 550℃ 회화법으로 정량하였다.

### (2) 표면색도

천마 시료의 표면색도는 색차계(Model 600-UC-IV, Yasuda, Japan)를 이용하여 측정하였으며 Hunter color scale에 의해 L, a, b값으로 나타내었으며 이때 사용한 표준판의 L, a, b값은 각각 89.2, 0.921 및 0.78이었다.

### (3) 당도

추출물의 당도는 당도계(ATAGO, 미국)를 이용하여 상온에서 측정하였다.

### (4) 고형물량

추출물 5 ml를 무게 측정할 시계접시에 옮기고 증탕으로 충분히 증발시킨

후 105℃ 건조기에 옮겨 1시간 정도 건조한 다음 무게를 측정하여 잔사무게를 구하여 고형물량으로 나타내었다.

#### (5) 총당 및 산성다당체

천마시료 2 g에 증류수 50 ml을 가하고 80℃에서 환류냉각장치를 이용하여 3시간 동안 추출한 후 추출액을 100ml로 정용하고 일부를 취해 4℃, 10,000 xg에서 원심분리하여 상정액을 얻었다. 상정액의 일부를 0.45 μm 막필터로 여과하여 여액을 총당 측정용 시료로 사용하였다. 앞서 원리분리하여 얻은 추출액 4 ml를 50 ml 원심분리관에 옮기고 cold 에탄올 20 ml를 첨가하여 침전을 형성시킨 후 4℃, 10,000 xg에서 원심분리하였다. 침전물을 4 ml 증류수로 다시 녹인 후 0.45 μm 막필터로 여과하여 여액을 산성다당체 측정용 시료로 사용하였다. 총당은 phenol 황산법을 이용하여, 산성다당체는 carbazole-황산법을 이용하여 측정하였으며 이때 표준물질로는 glucose와 galacturonic acid를 사용하였다.

#### (6) 총페놀 함량

천마시료를 열수로 추출하거나 80% 메탄올로 가온 추출한 뒤 냉각시킨 후 여과하였다. 여과한 여액은 감압농축시킨 후 일정량의 증류수로 다시 녹이고 이를 250 ml 분액여두에 옮긴 후 에틸에테르를 첨가하여 2회 반복 추출하였다. 추출된 에테르층은 함께 감압농축한 감압농축 건고물에 메탄올을 넣어 다시 녹이고 녹였다. 0.45μm 막필터로 총페놀함량 측정을 위한 시료로 사용하였다. 총 페놀 함량은 Folin-Ciocalteu법을 사용하여 측정하였다.



### (7) 갈변도

갈변도는 10% 시료 용액을 제조한 후 이를 7,000 x g에서 20분간 원심 분리하고 여과액의 흡광도를 420nm에서 측정하여 나타내었다.

### (8) 용해도

천마 시료 약 0.5 g을 증류수 40 ml로 분산시킨 후 원심분리하여 상정액을 얻은 후 상정액의 총당 함량을 phenol-황산법으로 측정하여 용해도를 구하였다.

### (9) 입도 분석

미분쇄 천마 분말과 분급된 천마 분말의 입도분석은 입자크기 분석장치 (Particle size analyzerUPA-150, Microtrac, USA)를 사용하여 분석하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 가. 건조방법별 천마분말의 이화학적 특성

천마를 동결건조, 60°C, 40°C 열풍건조, 드럼건조, 분무건조한 후 분쇄하여 각 건조방법별 천마 분말을 조제하고 일반성분, 산성다당체 및 페놀류 등 유효성분 함량 및 이화학적 특성을 살펴봄으로서 천마를 이용한 가공제품 개발 시 사용될 수 있는 중간소재로서의 활용가능성을 살펴보았다. 건조분말의 형태는 Fig. 2와 같다.



Fig. 2. Powder products prepared by different drying process using *Gastrodiae rhizoma*.

A : Freezing drying B : Hot-air drying, C: Drum drying, D: spray drying.

(1) 수분

건조방법별 천마 분말의 수분함량을 살펴본 결과는 Table 1 와 같다.

Table 1. Moisture contents of *Gastrodiae rhizoma* powder according to drying method

Drying method	Moisture contents(%)
Freeze drying	4.2
60℃ Hot air drying	5.4
40℃ Hot air drying	3.4
Drum drying	1.6
Spray drying	7.7

수분 함량의 경우 분무건조한 분말이 7.7%로 가장 높았으며 드럼건조한 분말이 1.6%로 가장 낮은 값을 나타내었다.

## (2) 표면색도 및 갈변도

건조방법별 천마 분말의 표면색도 및 갈변도를 살펴본 결과는 Table 2와 같다.

표면색도의 경우 동결건조한 분말에 비해 열풍건조, 분무건조, 드럼건조한 분말 모두가 밝기는 감소하고 적색도와 황색도는 증가하는 경향을 나타내었다. 갈변도 역시 동결건조한 분말의 0.044에 비해 열풍건조 시에는 0.084~0.252, 드럼건조 시에 0.431, 분무건조 시에 0.771의 값을 나타내어 건조과정 중에 갈변이 상당히 진행된 것으로 나타났으며 특히 분무건조한 시료의 갈변도가 가장 심한 것으로 나타났다.

Table 2. Surface color and browning index of *Gastrodiae rhizoma* powder according to drying method

Drying method	L	a	b	Browning index
Freeze drying	93.02	-0.78	5.78	0.044
60°C Hot air drying	85.23	0.98	11.57	0.252
40°C Hot air drying	87.01	0.40	10.36	0.084
Drum drying	86.88	0.02	12.05	0.431
Spray drying	81.10	0.76	11.73	0.771

### (3) 용해도

건조방법별 천마 분말의 용해도를 살펴본 결과는 Table 3과 같다.

Table 3. Solubility of *Gastrodiae rhizoma* powder according to drying method

Drying method	Solubility(%)
Freeze drying	27.84±0.01
60°C Hot air drying	25.68±0.01
40°C Hot air drying	33.60±0.01
Drum drying	78.36±0.01
Spray drying	41.28±0.00

용해도는 분말자체를 활용할 경우 중요한 요소가 될 수 있다. 본 연구에서 건조방법별로 천마 분말의 용해도를 살펴본 결과, 동결건조한 시료에 비해 60°C 열풍건조 분말을 제외하고 다른 건조분말의 용해도는 다소 증가한 것으로 나타났으며 특히 드럼건조와 분무건조의 경우 78.4와 41.3%로 동결건조한 분말이나 열풍 건조한 분말에 비해 높은 용해도를 나타내었다. 다만 분무 건조한 천마의 경우 분무건조 시 유화제 등 부재료를 첨가함으로써 용해도를 더 증대시킬 수 있을 것으로 판단되었다.

### (4) 총당, 산성다당체 및 총페놀 함량

건조방법을 달리하여 제조한 천마 분말 중의 총당, 산성다당체 및 페놀화합물 등의 유용성분 함량을 비교해 본 결과는 Table 4와 같다.

Table 4. Sugar contents of *Gastrodiae rhizoma* powder according to drying method

(% , dry basis)

Drying method	Total water soluble sugar	Acidic polysaccharides	Phenolic compound
Freeze drying	24.1±0.4	1.3±0.0	0.60±0.04
60℃ Hot air drying	41.2±0.4	2.3±0.0	1.30±0.03
40℃ Hot air drying	36.0±0.6	2.1±0.0	1.14±0.01
Drum drying	61.3±0.5	3.2±0.0	1.38±0.06
Spray drying	69.5±1.6	6.4±0.1	1.59±0.12

총당의 경우 동결건조한 분말의 24.1%에 비해 가열공정이 포함된 건조방법으로 제조한 분말이 36.0~69.5%로 높은 함량을 나타내었으며 산성다당체 역시 이와 유사한 경향을 나타내어 동결건조한 분말의 1.3%에 비해 2.1~6.4%의 높은 함량을 나타내었다. 페놀함량도 마찬가지로 동결건조한 분말의 0.6%에 비해 다른 건조방법으로 제조한 분말은 1.14~1.59%로 2배 이상의 총페놀 함량을 나타내었다. 특히 분무건조한 분말의 경우 높은 당류함량과 페놀함량을 나타냄으로서 천마의 기호도와 기능성이 향상된 분말소재로서의 활용가능성이 높은 것으로 판단되었으며 따라서 본 연구에서는 천마 미분쇄 분말과 함께 천마과립차 제조용 소재로 활용하였다.

#### 나. 미분쇄 및 분급에 의한 유효물질이 농축된 분말 소재화

초미세분쇄 기법은 재료 및 식품공학 분야에서 최근 많이 이용되고 있는 첨단 가공기술로서 공기분급과 병용하여 사용하면 초미세분쇄된 시료의 입자

크기 및 밀도 차이를 이용하여 단백질, 전분, 무기질, 식이섬유와 각종 유효성분 등을 농축하여 회수하는 것이 가능하므로 이 기법은 많은 식품 재료 및 원료의 가공 처리에 이용되고 있다. 실제 이 등의 초미세분쇄/공기분급을 이용한 마의 점질물 분리, 구 등의 초미세분쇄/공기분급을 이용한 대두피 분획물의 특성과 응용, 동부전분의 추출, 박 등의 초미세분쇄/공기분급을 이용한 탈지미강 분획의 특성과 응용, 유과제조공정 개선 및 탈지대두박 분획물의 특성과 응용 등의 방법을 이용한 바 있다.

따라서 천마를 이용한 새로운 소재를 개발하기 위하여 초미세분쇄 및 공기분급기법을 이용하여 페놀성분 및 다당체 성분 등의 유효성분을 분리, 농축할 수 있다면 추출공정을 거치지 않는 가공공정의 개선과 건식으로 유효성분을 농축함으로써 발생하는 비용절감이 가능할 것으로 판단된다. 따라서 본 연구에서는 천마로부터 페놀성분, 다당체와 같은 유효성분의 효율적, 경제적인 대량 농축 공정을 개발, 확립하고 개발된 공정에 따라 특정 유효성분이 농축, 강화되어 기능성이 보장된 기능성 천마소재를 개발해 보고자 하였다.

### (1) 입도 분석

Jet mill을 이용하여 초미분쇄한 후 분급휠의 회전수를 달리하여 분급한 각 분획들의 입도를 분석한 결과는 Table 5와 같다.

제트밀로 미세분쇄한 천마분말을 공기분급으로 미분(F)과 조분(C)으로 분급한 후 각 분획들의 입도, 일반성분, 유효성분 함량 및 이화학적 특성을 비교 검토하였다. 초기 제트밀로 미분쇄한 천마분말의 평균입도는 22.4  $\mu\text{m}$ 이었으며 2.7~ 43.8  $\mu\text{m}$ 의 입도분포를 가지고 있었다. 공급 분급한 분획의 경우 분급 휠의 속도가 6,000에서 10,000 rpm으로 높을수록 조분은 96.9에서 39.1  $\mu\text{m}$ 의, 미분은 16.3에서 13.3  $\mu\text{m}$ 의 평균입도를 나타내어 분급휠의 회전수가 높을수록, 조분보다는 미분에서 평균입도가 낮아지는 경향을 나타내

었다. 입도 분포 역시 유사한 경향을 나타내어 6,000 rpm의 조분은 3.5~322.8  $\mu\text{m}$ 의 입도 분포를 나타낸 반면 10,000 rpm의 미분에서는 3.1~19.4  $\mu\text{m}$ 의 입도 분포를 나타내어 입도 분포가 좁아지는 경향을 나타내었다. 수율의 경우에도 6,000rpm에서는 조분과 미분의 비율이 40 : 60 이었으나 10,000 rpm 에서는 조분과 미분 비율이 18 : 82로 미분의 함량이 더 증가함을 알 수 있었다.

Table 5. Particle size and yields of air-classified *Gastrodiae rhizoma* powder

ACWS	Particle size( $\mu\text{m}$ )				Yields (%)
	Mean	D(v, 0.1)	D(v, 0.5)	D(v, 0.9)	
Raw <sup>1)</sup>	22.4	2.7	12.0	43.8	100
6000 C	96.9	3.5	31.0	322.8	40
8000 C	51.1	4.7	24.0	157.3	32
10000 C	39.1	5.9	19.9	102.7	18
6000 F	16.3	4.0	13.0	27.2	60
8000 F	15.0	3.7	11.0	23.6	68
10000 F	13.3	3.1	8.5	19.4	82

<sup>1)</sup> Jet milling at 8,000rpm

## (2) 일반성분

Jet mill을 이용하여 초미분쇄한 후 분급휠의 회전수를 달리하여 분급한 각 분획들의 조단백, 조지방 및 회분 등의 일반 성분을 분석한 결과는 Table

6과 같다.

일반성분 분석결과에서 조단백질의 경우 조분의 경우 분급휠 속도와 무관하게 4.9%로 같은 값을 나타낸 반면 미분의 경우 5.7~6.5%의 값을 나타내었으며 분급휠 속도 6000 rpm에서 가장 높은 값인 6.5%를 나타내었다. 조지방의 경우 조분은 7.5~9.4%, 미분은 7.6~9.2%의 값을 나타내어 큰 차이가 없었으며 회분은 조분에서 2.6~2.9%, 미분에서 2.9~3.1%의 함량을 나타내어 미분에서 다소 높은 값을 나타내었다.

Table 6. Approximate compositions of air-classified *Gastrodiae rhizoma* powder

	(% , dry basis)		
ACWS	Crude protein	Crude fat	Crude ash
Raw <sup>1)</sup>	5.5±0.0	5.7±0.0	2.5±0.6
6000 C	4.9±0.1	7.8±0.3	2.9±0.0
8000 C	4.9±0.0	7.5±0.9	2.6±0.2
10000 C	4.9±0.1	9.4±0.2	2.8±0.3
6000 F	6.5±0.1	7.6±0.7	2.9±0.1
8000 F	5.7±0.0	9.2±0.2	2.9±0.2
10000 F	6.0±0.0	8.5±0.6	3.1±0.3

<sup>1)</sup> Jet milling at 8000rpm



### (3) 당류 및 폐놀화합물

Jet mill을 이용하여 초미분쇄한 후 분급휠의 회전수를 달리하여 분급한 각 분획들의 총당과 유용성분인 산성다당체, 총폐놀함량 등을 분석한 결과는 Table 7과 같다.

총당의 경우 대체로 조분보다는 미분에서 높은 함량을 나타내었으며 유용성분 중에 하나인 산성다당체 역시 조분의 2.2~2.9% 에 비해 미분에서 2.6~4.2% 로 높은 함량을 나타내었다. 특히 산성 다당체의 경우 분급휠 속도가 높을수록 높은 함량을 나타내어 1,000 rpm 미분의 경우 4.2%로 초기 시료에 비해 약 2배 정도 높은 산성 다당체 함량을 나타내었다. 반면 총 폐놀함량의 경우 산성다당체와 마찬가지로 조분에 비해 미분에서 높은 총폐놀 함량을 나타내었으나 분급휠 속도의 경우 6,000 rpm에서 10,000 rpm에 비해 더 높은 폐놀함량을 나타내었다.

이상의 결과에서 천마를 미분쇄한 후 분급할 경우 천마 구성성분의 분급이 일정부분 일어남을 확인 할 수 있었으며 특히 10,000 rpm에서 얻어진 미분의 경우 수율도 82%러 높고 입도 분포가 비교적 좁으며 조단백질, 총당류, 산성다당체가 농축된 획분임을 할 수 있었으며 향후 이를 이용한 다양한 건강식품 개발을 위한 소재로 활용 가능할 것으로 판단되었다.

Table 7. Sugar and phenolic compound contents of air-classified *Gastrodiae rhizoma* powder

(%, dry basis)

ACWS	Total water soluble sugar	Acidic polysaccharides	Phenolic compound
Raw *	41.1±0.5	2.6±0.3	1.14±0.1
6000 C	36.1±1.1	2.2±0.1	1.12±0.1
8000 C	36.0±0.8	2.6±0.2	1.13±0.2
10000 C	35.6±0.8	2.9±0.2	1.07±0.2
6000 F	36.0±0.8	2.6±0.1	1.34±0.2
8000 F	36.9±0.6	3.0±0.2	1.29±0.2
10000 F	47.3±0.8	4.2±0.2	1.15±0.1

<sup>1)</sup> Jet milling at 8000rpm

#### 다. 볶음처리

천마의 추출시 수율향상과 천마의 관능적 기호도를 증가시키기 위하여 열풍 건조된 천마절편을 실험실용 회전식 볶음기(태완산업, 한국)에 500 g씩 옮기고 200℃에서 10분, 20분, 30분간 볶음처리한 후 관능적인 평가 및 색도, 당도, 고형물량 및 주요성분의 함량을 조사하여 적정 볶음처리조건을 결정하였다.

##### (1) 색도

볶음조건을 달리한 천마 열수추출물의 색도를 측정한 결과는 Table 8과 같다.

Table 8. Color of *Gastrodiae rhizoma* hot water extracts by roasting time

Roasting time	Color		
	L	a	b
Raw	77.83	-1.74	10.67
10min	68.90	-0.99	15.88
20min	19.00	1.72	10.96
30min	14.74	2.92	9.05

볶음처리한 천마 열수추출물의 색은 전반적으로 볶음처리 시간이 길어질수록 밝기는 크게 감소하고 적색도는 증가하는 것으로 나타났다. 그러나 황색도의 경우 일정한 경향을 나타내지 않았다. 특히 10분과 20분 사이에서 크게 변화되는 것으로 나타나 20분 이후부터는 약간 시료가 과다하게 볶음처리 경향을 나타내었다.

## (2) 당도(°Bx) 및 고형물량

볶음조건을 달리한 천마 열수추출물의 당도를 측정한 결과는 Table 9와 같다.

Table 9. Color of *Gastrodiae rhizoma* hot water extracts by roasting time

Roasting conditions	Brix(°Bx)
raw	0.4
10min	0.6
20min	1.1
30min	1.3

천마 추출물의 당도는 초기 0.4 °Bx이었으나 10분과 20분 추출 시 0.6, 1.1 °Bx로 증가한 후 30분 이후부터는 큰 당도 증가가 나타나지 않았다.

볶음처리 시간에 따른 열수추출물의 고형물량을 살펴본 결과는 Table 10과 같다.

Table 10. Solid contents of *Gastrodiae Rhizoma* hot water extracts by roasting time

Roasting time	Solid contents(mg/ml)
raw	9.9±0.5
10min	9.2±0.0
20min	10.5±0.1
30min	10.4±0.3

고형물량의 경우 초기 약 9.9 mg/ml에서 20분 볶음처리 시 10.5 mg/ml로 증가한 후 30분 볶음처리 시 10.4 mg/ml의 고형물량을 나타내었다.

따라서 볶음처리의 경우 천마를 열수 추출할 때 추출되는 가용성 고형물량을 증가시켜주는 효과가 있는 것으로 판단되었으며 전체 고형물량도 다소 증가시켜주는 것으로 판단되었다. 이러한 결과로 미루어 볼 때 20분 정도의 볶음처리가 적당한 것으로 판단되었다.

#### (4) 총당 (Water soluble sugar) 및 산성다당체

볶음조건을 달리한 천마 열수추출물의 총당과 산성다당체 함량을 비교해 본 결과는 Table 11과 같다.

Table 11. Total sugar, acidic polysaccharide and total phenolic compounds contents of *Gastrodiae rhizoma* hot water extracts by roasting time

Roasting time	Contents(mg/ml)		
	Total sugar	Acidic polysaccharide	Phenolic compound
Raw	6.23±0.16	0.20±0.00	0.25±0.03
10min	5.67±0.00	0.21±0.00	0.28±0.00
20min	6.58±0.49	0.20±0.04	0.34±0.04
30min	5.08±0.04	0.18±0.01	0.33±0.00

볶음처리 시간별 천마 열수 추출물 중의 총당과 최근 주요 활성물질로 알려져 있는 산성다당체, 페놀화합물의 함량을 비교해 본 결과, 총당의 경우 볶음처리시간의 증가에 따른 큰 증가경향을 나타내지 않았으며 오히려 30분 볶음처리 시에는 다소 감소하는 경향을 나타내었으며 이러한 총당 함량의 감소는 과도한 볶음처리에 의한 분해 및 갈변물질 생성 증가에 따른 것으로 추

정되었다. 산성다당체의 경우 20분 볶음처리 시까지는 큰 차이를 나타내지 않았으나 30분부터는 총당과 마찬가지로 다소 감소하는 경향을 나타내었다. 반면 총 페놀화합물 함량은 볶음처리시간이 증가됨에 따라 다소 증가하는 경향을 나타내어 초기 0.25 mg/ml이던 것이 20분과 20분 볶음처리 시 0.34와 0.33 mg/ml로 증가하였다.

이상의 모든 결과로 미루어 볼 때 천마 추출물의 관능적 품질개선과 추출물의 수율 향상, 유용성분의 함량 등을 고려하여 약 200℃에서 20분 정도 볶음처리하는 것이 가장 적절한 것으로 판단되었다.

#### **라. 적정 추출조건**

볶음처리된 천마분말의 적정 추출조건을 검토해 보기 위하여 추출시간, 추출용매, 추출횟수에 따른 천마 추출물의 색도, 당도, 고형물량 및 주요성분의 함량을 조사하여 최적 추출조건을 확립하였다.

##### **(1) 당도(°Bx) 및 고형물량**

천마시료 100 g을 추출수기에 옮기고 증류수 2 L을 첨가한 후 열수로 추출하면서 추출시간에 따른 추출물의 당도 및 고형물량을 측정해 본 결과는 Fig. 3.와 같다.

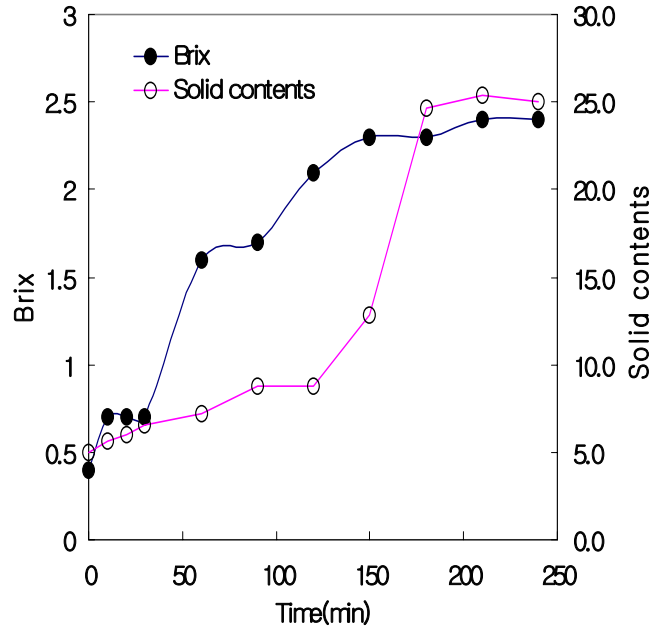


Fig. 3. Brix and solid contents of *Gastrodiae rhizoma* hot water extracts by extraction time.

천마 열수추출물의 당도와 고형물량의 경우 증가하는 양상은 다소 차이가 있었으나 당도는 150분, 고형물량은 180분 추출 시까지 지속적으로 증가하다가 이후 큰 차이를 나타내지 않았다. 천마 추출물의 당도와 고형물량은 이를 이용한 농축액 제조시의 수율에 직접적인 영향을 미치는 요인이지만 추출시간의 증가는 추출 시 경비와 공정이 늘어나는 문제점을 야기할 수 있다. 따라서 본 연구에서 볶음처리한 천마의 적정 추출시간은 약 3시간 정도가 적당한 것으로 판단되었으며 이는 일반적으로 생약재 추출 시나 성분분석을 위해 사용하는 추출 시간과 거의 유사하였다.

## (2) 추출용매 조성 및 횟수

볶음처리한 천마시료의 추출용매 및 회수를 증류수를 이용하여 3회 추출하는 방법과 추출용매로 증류수, 40% EtOH, 80% EtOH을 순차적으로 이용하여 3회 추출하는 방법으로 나누어 천마 추출물을 각각 제조하고 당도, 고형물량 및 주요성분의 함량을 조사하여 적정 추출조건을 확립하였다.

### (가) 당도(°Bx)와 고형물량

볶음천마의 추출물 제조를 위해 추출용매조성과 횟수를 달리하여 추출물을 조제하고 추출물의 수율을 당도와 고형물량을 측정하여 살펴본 결과는 Table 12와 같다.

증류수만을 사용한 추출 시에 1회 추출 시에는 1.2 °Bx의 고형물량을 나타내었으며 2, 3회 연속 추출 시에는 0.5, 0.4 °Bx의 당도를 나타내었다. 반면 고형물량은 초기 추출 시에 비해 2회 추출 시에는 절반정도의 고형물량을 나타내고 3회 추출 시에는 약 1/10 정도의 고형물량을 내었다. 반면 증류수와 에탄올을 이용한 추출방법에서도 증류수만을 사용한 경우와 거의 유사한 경향을 나타내었으나 2회와 3회 에탄올 추출 시 당도와 고형물량의 감소폭이 더 컸다. 따라서 추출수율 및 공정의 최소화 등을 함께 고려해 볼 때 용매조성과 무관하게 2회 정도 추출하는 것이 바람직하였으며 수율만을 고려했을 때는 증류수만을 이용한 추출방법이 더 적절한 것으로 나타났다.



Table 12. Brix and solid contents of *Gastrodiae rhizoma* hot water extracts by different solvent systems and extraction times.

Solvents system	Extraction times	°Bx	Solid contents (mg/ml)
Water only	1	1.2	9.9
	2	0.5	4.2
	3	0.4	0.9
Water + 40% ethanol + 80% ethanol	1	1.1	9.8
	2	0.5	2.6
	3	0.2	0.2

#### (나) 산성다당체와 총페놀 함량

볶음천마의 추출물 제조를 위해 추출용매조성과 횃수를 달리하여 추출물을 조제하고 추출물의 산성다당체 및 총페놀 함량을 살펴본 결과는 Table 13과 같다.

증류수만을 사용한 추출방법에서 산성다당체 함량은 초기 추출시 0.61 mg/ml 이었으며 2회와 3회 추출 시에는 0.29, 0.17 mg/ml로 나타나 산성다당체의 경우 3회 추출 시까지도 상당량이 추출되었다. 반면 총 페놀화합물의 경우 1회 추출 시에는 0.21 mg/ml 이었던 것이 두 번째 추출 시에는 0.11로 1/2 정도로 감소하고 최종 3차 추출에서는 거의 검출되지 않았다. 증류수와 에탄올을 이용한 추출방법에서는 산성다당체의 경우 증류수만을 사용하여 1회 추출한 경우만 0.68 mg/ml가 추출되었을 뿐 에탄올 사용한 추출에서는 거의 검출되지 않았다. 이는 산성다당체가 분자량이 비교적 큰 당류로 에탄올 함량이 증가함에 따라 침전을 형성하여 불용화되기 때문인 것으로 판단되었다.

페놀함량의 경우 초기 증류수 추출 시 0.21 mg/ml 정도 추출된 후 2회 추출 시에는 약 50% 수준 정도가 경추출되었으며 마지막 3차 80% 에탄올 추출에서는 거의 검출되지 않았다.

추출수율 및 공정의 최소화 등을 함께 고려해 볼 때 용매 조성과 무관하게 2회 정도 추출하는 것이 바람직하였지만 추출되는 유용성분의 함량을 함께 고려해 볼 때에는 증류수만을 사용하여 2회 정도 반복 추출하는 것이 가장 바람직하였다.

Table 13. Brix and solid contents of *Gastrodiae rhizoma* hot water extracts by different solvent systems and extraction times.

Solvents system	Extraction times	Acidic polysaccharide(mg/ml)	Total phenolic compound(mg/ml)
Water only	1	0.61	0.21
	2	0.29	0.11
	3	0.17	0.01
Water + 40% ethanol + 80% ethanol	1	0.68	0.21
	2	0.07	0.11
	3	—	0.02

이상의 결과를 종합하여 천마를 200℃에서 약 20분 정도 볶음처리한 후 증류수로 2회 추출하고 50℃이하에서 감압농축하여 60°Bx 전후의 천마 농축액을 조제하였으며 이를 천마 액상차 및 음료제품 개발을 위한 소재로 활용하였다.

#### 마. 천마 농축물을 이용한 액상차 개발

앞서 제조한 천마 농축액을 이용하여 천마 고유의 이미, 이취 최소화 등 관능적 품질을 개선하고 편의성을 증대시킨 액상차 제품을 개발해 보고자 하였다.

##### (1) 천마 농축액이 적정 첨가량

천마추출물의 경우 저장과 유통의 편의성 때문에 60°Bx 이상으로 농축하여 저장하면서 이용하는 것이 일반적이다. 그러나 농축액 제조 시 사용하는 원료와 농축조건에 따라 최종 천마 농축액의 고형물 함량이 다소 차이를 나타내며 이는 최종제품 제조 시 품질에 다소 차이를 나타낼 수 있다. 따라서 본 시험에서는 천마추출물을 60°Bx 전후로 감압농축시킨 후 냉동 보관하면서 가용성 고형물량을 12°Bx가 되도록 물로 다시 조정한 후 천마 액상차 제조를 위한 시료로 사용하였다.

천마 추출물(12°Bx)을 각각 2, 5, 10 배씩 물로 다시 희석한 후 관능적인 품질 특성을 비교해 본 결과를 정리해 보면 아래와 같다.

희석비율	관능적 품질 특성
5 : 5 (5 °Bx)	천마의 쓴맛과 향이 너무 강함.
2 : 8 (2 °Bx)	천마의 쓴맛과 향에 대한 거부감이 덜 느껴지고 천마 특유의 특징이 남아 있어 희석액으로 가장 적당함.
1 : 9 (1°Bx)	천마의 맛과 향에서 천마의 특징이 너무 희석됨

이상의 결과로 볼 때 천마 농축액의 최종 희석농도는 가용성 고형물의 최

중 함량은 2.0 °Bx 정도로 조정하는 것이 바람직한 것으로 판단되었다.

## (2) 첨가재의 종류 및 적정 첨가량 검토

앞서 검토한 바와 같이 천마 고형물 함량을 일정수준 희석하고 일부 남아 있는 천마의 쓴맛과 거부감이 느껴지는 냄새의 단점을 보완하기 위하여 다양한 생리활성을 가진 생약재와 과실 농축액의 선정하여 첨가한 후 관능적 품질 변화를 살펴보았으며 그 중 5종을 선정하여 관능적 품질을 비교해 본 결과는 아래와 같다.

농축액	관능적 특성
A+B	대체로 pH 가 저하효과가 커서 상업적 살균이 용의하였으나 천마 고유의 맛보다 신맛이 너무 강하게 느껴짐.
C	첨가유무에 따른 관능적인 특성 차이는 크지 않았으나 천마의 고유의 쓴맛을 다소 감소시키는 효과는 있었음.
D	농축액 자체의 상큼한 맛과 향이 천마의 관능적 기호도를 개선시키는 효과가 있었음.
E	첨가유무에 따른 관능적인 특성에는 큰 변화가 없었음.

따라서 최종적으로 생약재와 과실농축액 B, C, D를 선정한 후 천마액상 차중의 최종농도가 약 2.5% 되게 조합하여 첨가한 후 관능적 품질 변화를 검토하였다.

그 결과, 농축액 C와 D을 혼합했을 경우 생약재 자체의 진한 맛과 상큼한 맛이 천마의 쓴맛과 강한 냄새를 감소시켜 첨가재를 첨가하지 않은 대조군보다 관능적인 품질 특성을 개선해 주는 효과가 있는 것으로 나타났으나 B와 C를 혼합하여 첨가한 경우에는 신맛이 너무 강해지고 천마의 이미, 이취를

감소시키는데 적절하지 못한 것으로 판단되었다. 따라서 본 연구에서는 최종적으로 농축액 C와 D를 혼합하여 사용하기로 하였다.

관능적 품질 개선을 위한 당류와 산미료의 적정 첨가조건을 검토하였다. 우선 천마추출물과 생약재, 과실농축액이 첨가된 음료에 당류로서 올리고당, 꿀, 고과당 등을 선정한 후 각각 최종농도가 11 °Bx 되게 첨가한 후 관능적 품질 특성을 비교해 본 결과는 올리고당의 경우 단맛이 부드럽게 느껴지고 꿀은 영양적인 가치가 높다는 장점이 있지만 가격이 비교적 높다는 단점이 있었으며 일반적으로 음료에 많이 이용되는 고과당을 첨가한 경우보다도 관능적인 크게 우수하지는 않은 것으로 판단되었다. 따라서 본 액상차 제조 시에는 고과당을 단맛증가를 위한 당류로 사용하기로 하였으며 여기에 기능성을 다소 보장하기 위하여 올리고당을 일부 첨가하기로 하였다.

액상차의 신맛과 청량감을 부가하고 살균을 용의하게 하기 위하여 구연산을 0.1% 농도로 첨가한 결과 다소 신맛이 증가하였으며 최종 pH가 상업적 살균이 가능한 3.4~3.5 범위가 되었다.

그 밖에 천마 액상차의 영양성을 강화시키고 관능적인 품질 특성을 개선해 보고자 비타민 C, B<sub>1</sub> 및 B<sub>2</sub>를 각각 일정량 첨가한 후 관능적 품질 변화를 검토하여 비타민 C는 2.0 mg%, 비타민 B<sub>1</sub>과 B<sub>2</sub>의 경우에는 최소량만 첨가하는 것이 적당하였다.

### (3) 천마 액상차 제조공정 확립

우선 천마의 최종 배합비를 결정하기 위하여 앞서 실험한 결과를 토대로 3개 정도의 배합비를 결정하고 이들 배합비에 따라 제조한 천마액의 관능적 품질을 평가하였으며 쓴맛, 단맛, 신맛 등은 강도 측정법으로 이미, 이취 등을 고려한 종합적 기호도는 순위법을 이용하였다. 천마 액상차 조성물의 관능 평가 결과는 Table 14와 같다.

Table 14. Sensory properties with different recipe

Recipes	A	B	C
<b>A. Taste intensity</b>			
bitterness	6.93 <sup>a1)</sup>	8.61 <sup>b</sup>	10.06 <sup>c</sup>
Sweetness	8.50 <sup>a</sup>	8.59 <sup>a</sup>	7.83 <sup>a</sup>
Sour taste	9.13 <sup>a</sup>	7.01 <sup>a</sup>	7.16 <sup>a</sup>
<b>B. Ranking test</b>			
Sour taste	12 <sup>a</sup>	15 <sup>a</sup>	20 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> Mean values, mean in the same raw not sharing a common letter are significantly different(P<0.05).

그 결과 쓴맛은 A시료가 가장 낮았고 어떠한 과실 또는 생약재 농축액도 첨가하지 않은 배합비 C가 예상했던바와 같이 가장 강한 쓴맛을 나타내었다. 단맛의 경우는 세 시료가 거의 비슷한 강도를 보이는 것으로 나타내었고 신맛은 신맛이 강한 생약재 농축액을 첨가한 배합비 A가 가장 강한 것으로 나타났다. 이상의 모든 특성을 종합하여 평가한 결과 배합비 A가 천마 고유의 쓴맛이 가장 적게 느껴짐으로서 가장 좋은 기호도를 나타내었으나 신맛이 다소 강하고 천마고유의 맛과 특성을 일부 나타내기 위해 배합비 B를 기준으로 액상차로 제조하기로 하였다.

#### (4) 천마 액상차의 최종 배합비 및 제조공정

본 연구에서 제조한 액상차의 경우 약 40°Bx 전후의 제품으로 실제 음용 시에는 소량 그대로 섭취하거나 일정비율(3배 정도가 가장 우수함)로 음용수에 희석하여 섭취하는 제품을 개발하고자 하였다. 따라서 앞서 정한 적정

배합비를 3배 정도 농축시켜 최종 배합비를 결정하였으며 그 결과는 아래 Table 15와 같으며 최종배합비에 따라 제조한 시제품은 Fig. 4와 같다. 제조 공정은 일반적인 공정인 배합, 상업적 살균(95℃, 30초정도), 병입의 공정을 거쳐 제조하였다.

최종 배합비에 따라 제조한 액상차의 경우 최종 가용성 고형물량은 39 °Bx 이었으며 pH는 4.01 정도였으며 관능적 평가에서는 보통이상의 기호도를 나타내었다. 이와 같이 천마 액상차의 관능적 품질 특성이 다소 떨어지는 것은 본 제품의 경우 일반 음료와 같이 기호성을 최우선하기보다 기호성도 높이면서 기능성 역시 강조하기 위해 천마 추출액의 가용성고형물량을 다소 높인 것이 원인으로 생각되어졌다.

Table 15. Final recipe of liquid type tea using *Gastrodiae rhizoma* concentrate.

	contents
<i>Gastrodiae rhizoma</i> concentrate(60 °Bx)	16g
Pure water	46.8 ml
Concentrate A(65 °Bx)	2.9 g
Concentrate B(68 °Bx)	1.2 g
High fructose syrup(75 °Bx)	26 g
Oligo-sugar(commercial)	6.2 g
Vitamin	5.0 mg
Citric acid	4.0 mg



Fig. 4. Liquid type tea products using *Gastrodiae rhizoma* concentrate.



### (5) 저장 중 품질 변화

천마 액상차를 제조한 후 저장 중 품질변화를 가난히 살펴보기 위하여 35℃에서 4주간 저장 한 후 pH, 당도, 색 등의 이화학적 특성 및 미생물 변화를 살펴본 결과는 Table 16과 같다.

Table 16. Changes on physicochemical properties and viable counts of microorganism on liquid-type tea during storage at 37℃

Properties	Storage(weeks)	
	initial	4 weeks
pH	3.74	3.77
Brix(°Bx)	38.8	38.7
Color	L	1.78
	a	4.87
	b	1.19
Aerobic bacteria (CFU/ml)	<10 <sup>2</sup> <sup>1)</sup>	<10 <sup>2</sup>
<i>E. coli</i> (CFU/ml)	<10 <sup>2</sup>	<10 <sup>2</sup>

<sup>1)</sup> <10<sup>2</sup> : Not detected at 10<sup>2</sup> dilution level.

당도와 pH는 초기와 비교하여 35℃에서 4주간 저장한 경우에도 큰 차이를 나타내지 않아 당도와 pH는 저장기간과 저장온도에 큰 영향을 받지 않는 것으로 판단되었다. 그러나 색의 경우 초기에 비해 4주 저장 시에는 밝기(L), 적색도(a)와 황색도(b)가 모두 일정비율 증가한 것으로 나타났다. 그러나 원래 액상차 자체의 색이 짙기 때문에 육안으로는 큰 차이가 없어 보였으

며 특히 실제 20℃ 전후의 상온 저장 시에는 큰 문제가 없을 것으로 판단되었다. 미생물의 경우 초기치와 저장한 시료 모두에서 호기성 일반세균과 대장균류는 전혀 검출되지 않아 초기 충분한 살균이 이루어진 것으로 판단되었다.

#### 바. 천마 음료 개발

본 연구에서는 앞서 이미 설정한 천마 액상차의 최종배합비를 토대로 하여 천마 추출액의 최종 농도를 더 낮추고 기호성을 강화시켜 일반 음료 형태의 제품을 개발해 보았다.

##### (1) 천마 추출액의 최종 농도 결정

천마 농축액을 액상차의 경우보다 더 희석하여 최종 가용성 고형물량이 0.5°Bx와 1°Bx 가 되게 조제한 후 관능적 특성을 살펴본 결과는 아래와 같다.

천마 추출액의 최종농도(°Bx)	관능적 품질 특성
0.5	천마의 특징이 없고 맛이 다소 가볍게 느껴짐.
1.0	천마의 쓴맛이 다소 느껴지지만 다른 부재료 첨가를 전제로 천마 음료의 원료로 사용하는 데에 큰 문제가 없을 것 같음.

따라서 존 연구에서 천마음료 제조 시 천마 가용성고형물량은 1°Bx가 더 적절하였으나 제품의 가격이나 기호도를 고려하여 그 농도를 다소 낮추는 것도 고려해 볼 수 있을 것으로 판단되었다.

## (2) 과실농축액의 적정 첨가량

천마 농축 희석액에 다양한 과실 농축액을 일정비율 첨가한 후 관능적인 특성이 가장 좋은 것으로 판단되는 농축액 A에 B와 C를 각각 1:1의 비율로 혼합한 후 관능적 품질 특성을 살펴본 결과는 아래와 같다.

과실농축액	관능적 품질 특성
A + B	과실농축액 A 특유의 깊은 맛과 B 특유의 향이 천마의 단점을 감소시켰으나 단맛이 다소 강하고 과실향이 강하게 느껴지는 문제점이 있었음.
A + C	농축액 C의 익숙한 맛과 순한맛 때문에 관능적인 측면에서 가장 좋았고 음용시 식감이 부드러웠음.

## (3) 최종배합비 및 제조공정 확립

앞서 검토한 두 종류의 배합비 모두 장단점이 있었으므로 이들 두 배합비를 기본으로 하고 산미료, 비타민 등을 첨가한 3 종류의 배합비를 결정하고 이에 따라 제조한 음료 제품의 관능적 품질 평가한 수행하였다. 관능평가 방법은 액상차와 동일한 방법을 사용하였으며 그 결과는 Table 17과 같다.

Table 17. Sensory properties of drink products with different recipe

Recipes	A	B	C
<b>A. Taste intensity</b>			
bitterness	6.33 <sup>a1)</sup>	7.49 <sup>a</sup>	7.48 <sup>a</sup>
Sweetness	9.05 <sup>a</sup>	8.50 <sup>a</sup>	9.66 <sup>a</sup>
Sour taste	6.41 <sup>b</sup>	7.99 <sup>a</sup>	7.34 <sup>ab</sup>
<b>B. Ranking test</b>			
Sour taste	14 <sup>a</sup>	12 <sup>a</sup>	21 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> Mean values, mean in the same raw not sharing a common letter are significantly different(P<0.05).

그 결과 쓴맛과 신맛은 배합비 A가 가장 약하게 느껴졌으며 단맛은 다소 높게 강한 것으로 평가되었다. 배합비 C의 경우 단맛이 가장 강하게 느껴졌으며 소량 첨가된 비타민 B 때문에 음료 색이 옅은 노란색을 나타내고 기호도도 가장 낮게 평가되었다. 이는 천마의 특성이 전혀 없고 기존 드링크류에 대한 거부감에 기인한 것으로 판단되었다. 본 실험에서는 통계적인 유의성은 없었지만 종합적 기호도가 가장 높았던 배합비 B에 청량감과 상큼한 특성을 부여하기 위해 구연산과 구연산염, 비타민 등을 일부 첨가한 최종배합비를 Table 18과 같이 결정하였으며 최종배합비에 따라 제조한 음료의 형태는 Fig. 5와 같다.

Table 18. Final recipe of drink products using *Gastrodiae rhizoma* concentrate.

	Contents
<i>Gastrodiae rhizoma extract</i> (0.5~1 °Bx)	100 ml
Concentrate A(65 °Bx)	1 g
Concentrate B(68 °Bx)	1 g
High fructose syrup(75 °Bx)	13 g
Oligo-sugar(commercial)	3 g
Vitamin	0.2 g
Citric acid salt	0.05 g
Citric acid	0.05 g



Fig. 5. Drink product using *Gastrodiae rhizoma* concentrate.

제조공정은 천마 희석액에 과실농축액, 기타 부재료를 배합한 후 20과 0.65 $\mu$ m 카트리지 필터를 이용하여 순차적으로 여과한 후 95 $^{\circ}$ C에서 가열살균한 후 병입하는 일반적인 음료 제조공정을 따랐다.

#### (4) 천마 음료제품의 저장 중 품질변화

천마 음료를 제조한 후 35 $^{\circ}$ C에서 4주간 저장하면서 pH, 당도, 색 등의 이화학적 특성 및 미생물 변화를 살펴본 결과는 Table 19와 같다.

Table 19. Changes on physicochemical properties and viable microorganism counts of liquid-type tea during storage at 37 $^{\circ}$ C

Properties	Storage(weeks)		
	initial	4 weeks	
pH	3.83	3.82	
Brix( $^{\circ}$ Bx)	13.2	12.9	
Color	L	41.01	39.63
	a	-3.48	-4.60
	b	23.41	22.43
Aerobic bacteria (CFU/ml)	<10 <sup>2</sup> <sup>1)</sup>	<10 <sup>2</sup>	
<i>E. coli</i> (CFU/ml)	<10 <sup>2</sup>	<10 <sup>2</sup>	

<sup>1)</sup> <10<sup>2</sup> : Not detected at 10<sup>2</sup> dilution level.

천마 음료의 경우에도 액상차와 마찬가지로 저장 중 pH는 큰 차이가 없

었으며 당도는 약간 감소한 경향을 나타내었다. 또한 색에 있어 밝기(L), 적색도(a), 황색도(b)도 약간 감소하였다. 그러나 이러한 색의 변화는 액상차와 마찬가지로 고온저장에 의한 것으로 생각되었으며 관능적으로는 큰 차이가 없는 것으로 판단되었다. 미생물의 경우 호기성일반세균, 대장균군 모두 검출되지 않았다.

### 사. 천마 과립차 개발

앞서 이미 제조한 천마 미분쇄 분말 및 용해성 및 기호성을 향상시킨 분무건조 분말에 적정 비율의 함수결정 포도당 및 기타 원부재료를 혼합하고 과립성형기를 이용하여 15~20mesh 크기로 과립을 제조하였다. 제조된 과립은 55℃ 이하에서 수분함량 8% 이하로 열풍건조 시켰다.

본 연구에서는 기존의 농축액을 이용한 과립차가 아닌 천마 생분말을 그대로 이용한 과립차를 개발해 보고하였으며 제품의 형태는 그냥 섭취하는 형태(Type 1)와 음료에 타서 음용하는 형태(Type 2)로 하여 제품을 개발하였다. 우선 천마분말의 첨가량은 두 형태 모두 30~50 % 정도로 하였으며 기타 부재료 등을 혼합하여 과립생성 정도 및 과립차 관능적 기호도를 고려하여 최종적으로 각 제품 형태별로 3종류의 배합비를 결정하였으며(Table 20, 21) 각 배합비로 제조한 과립차의 과립성, 관능적 품질 등을 비교하였다.

전반적으로 과립형성은 3 제품 모두 잘 이루어졌으며 전반적으로 천마의 이미, 이취도 크게 느껴지지 않았다. 배합비 1의 경우 다소 씹힘성이 약하고 신맛이 다소 강하였다. 따라서 농축액 A 대신 다소 부드러운 신맛을 주는 농축액 B를 첨가한 배합비 2의 경우에 과립형성도 우수했으며 씹힘성도 좋고 관능적 품질도 우수하였다. 천마 분말에 곡분과 칼슘제제 등을 첨가하고 천연 소재를 이용하여 색을 낸 배합비 3의 경우 과립성형은 비교적 우수하였으나 관능적 품질은 배합비 2에 비해 다소 떨어졌다. 따라서 본 연구에서는 배합비 2를 가장 우수한 형태의 씹어 먹는 과립차 배합비로 판단하였다. 씹어 먹는 과립차(Type 1)의 제품 형태는 Fig. 6과 같다.



Table 20. Final recipe of granule type tea products(type 1) using *Gastrodiae rhizoma* Jet milling powder.

	Recipe		
	1	2	3
<i>Gastrodiae rhizoma</i> powder <sup>1)</sup>	30 g	30 g	50 g
Glucose	70 g	70 g	50 g
Concentrate A	10 g		
Concentrate B		10 g	
Cereal powder			50 g
Vitamin	0.2 g	0.2 g	5.01 g
Ca product			10 g

<sup>1)</sup> Jet milling powder

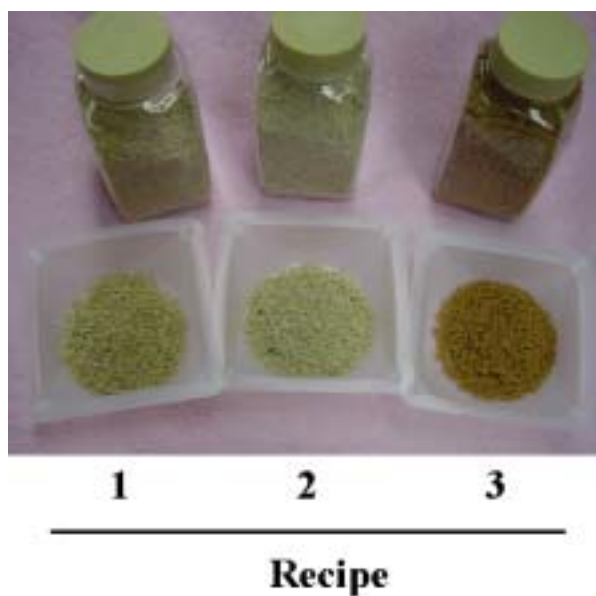


Fig. 6. Granule type tea product (Type 1) using *Gastrodiae rhizoma* powder prepared by jet milling.

용해성과 관능적 품질을 개선시킨 천마 분말을 활용한 음료용 과립차 (Type 2)의 경우 배합비 1은 천마와 함수결정 포도당의 비율을 1:1로 배합하고 과실농축액 A와 바터만 류 등을 첨가하여 과립화시킨 것으로서 비교적 과립성형도 잘 되었으며 용해성도 우수하였다. 그러나 관능적으로 천마의 이미가 강하고 맛이 다소 밋밋한 느낌을 주는 문제점이 있었다. 이러한 점을 개선하기 위하여 배합비 1에서 천마 함량을 다소 낮추고 과실향을 일부 첨가한 배합비 2의 경우에 성형성이 아주 우수하였으며 용해성도 좋고 관능적으로인 품질도 비교적 우수하였다. 그러나 과실향이 다소 강한 것이 단점으로 지적되었다. 따라서 배합비 3은 배합비 2에서 과실향만을 제외한 것으로 대부분의 특성은 배합비 2와 유사하였다. 따라서 본 연구에서는 배합비 2와 3을 최종 배합비로 선정하였으며 특히 배합비 2의 경우 다양한 향의 첨가로 젊은층의 선호도를 높힐 수 있는 제품인 것으로 판단되었다. 음수에 타서 먹는 과립차 (Type 2)의 제품 형태는 Fig. 7과 같다.

Table 21. Final recipe of granule type tea products(type 2) using *Gastrodiae rhizoma* powder with good solubility and sensory properties.

	Recipe		
	1	2	3
<i>Gastrodiae rhizoma</i> powder <sup>1)</sup>	50 g	30 g	30 g
Glucose	50 g	67 g	67 g
Concentrate A	10 g	10g	10g
Vitamin	3.05 g	3.01 g	3.01 g
Flavor		1 g	

<sup>1)</sup> Spray drying powder



Fig. 7. Granule type tea product (Type 2) using *Gastrodiae rhizoma* powder prepared by spray drying.

#### 4. 참고문헌

- Cho, S. J., Hong, Y. H., (1995) Physicochemical and Funtional Properties of Commercial Whey Powders. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27 : 151-155
- Chung, S. K., Choi, J. U., (1990) The Effects of Drying Methods on the Quality of the Garlic Powder. *Korean J. Food Sci. Technol.* 22 : 44-49
- Han, O., Kim, J. S., Lee, H. Y., Kim, Y. M., Shin, D. H., (1988) Physicochemical Chacteristics of Rice Flour Gelatinized by Drum-Drying. *Korean J. Food Sci. Technol.* 20 : 392-398
- Jeong, M. C., Jeong, S. W., (1999) Quality of Ginger Powder as

- Affected by Concentration and Dehydration Methods of Ginger Extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31 : 1589–1595
- Kim, J. M., Lee, Y. C., Kim, K. Y., (2003) Effects of Convection Oven Dehydration Condition on the Physicochemical and Sensory Properties of Ginkgo Nut Powder. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35 : 393–398
- Kim, K. H., Warcharin Piyarat., (1986) Drying Characteristics of Minced Fish on Drum Dryers. *Korean J. Food Sci. Technol.* 18
- Ku, K. H., Park, D. J., (1998) Cowpea Starch Extraction Process using Microparticulation/Air Classification. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30 : 118–124
- Ku, K. H., Park, D. J., Kim, S. H., (1996) Characteristics and Application of Soybean Hull Fractions Obtained by Microparticulation/Air Classification. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28 : 506–513
- Lee, B. Y., Park, D. J., Ku, K. H., Kim, H. K., Mok, C. K., (1994) Mucilage Separation of Korean Yam Using Microparticulation/Air Classification Process. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26 : 596–602
- Park, D. J., Ku, K. H., Kim, S. H., (1996) Characteristics and Application of Defatted Soybean Meal Fractions Obtained by Microparticulation/Air Classification. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28 : 497–505
- Park, D. J., Ku, K. H., Mok, C. K., (1993) Microparticulation/Air Classification of Rice Bran: Characteristics and Application. *Korean J. Food Sci. Technol.* 25 : 769–774

- Park, D. J., Ku, K. H., Mok, C. K., (1995) Characteristics of Glutinous Rice Fractions and Improvement of Yoogwa Processing by Microparticulation/Air Classification. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27 : 1008-1012
- Shin, C. S., Park, C. K., Lee, J. W., Lee, J. G., Jang, J. K., Kim, Y. K., (1999) Analysis of the Components with Freeze Drying and Steam Drying of *Gastrodia Blume*. *Korean J. Food Sci. Nutr.* 28(5) : 1057-1063

## 제 4 장 목표 달성도 및 관련분야에의 기여도

### ○ 천마의 식품학적 성분분석 분야

천마의 일반성분, 영양성분 및 기능성 성분인 페놀과 산성다당체 함량 등을 조사하였으며 아울러 수확시기별 주요성분 함량 차이를 비교하였다. 기존에 천마에 관한 성분 연구를 주로 일반성분에 관한 것이 주를 이루고 있으며 식품으로보다 약재로서의 관점에서 연구가 주로 이루어져 왔다. 따라서 본 연구에서는 천마의 식품으로서 이용가치에 대한 전반적인 성분분석을 수행하였으며 비록 한 해에 거쳐 그 유의성을 검증하기는 어려웠고 이후 지속적인 모니터링이 있어야 하겠지만 천마의 주요 수확시기별 성분 차이를 구명함으로써 천마의 식품 또는 기능성 식품 소재로서의 이용성에 좋은 기초자료를 제공했다고 판단되어진다.

### ○ 순환기계 질환관련 효능 평가 분야

천마로부터 조제한 추출물과 분말의 혈청지질과 체지방의 감소효과를 검토하였으며 아울러 천마의 주요성분을 분획하여 그 효과를 검토한 것은 의의를 가진다고 판단된다. 본 연구결과, 천마 다당체 또는 단백질분획 같은 수용성 고분자분획의 경우 혈중 지질함량 및 조성을 개선시키는 효과가 높게 나타나 기존에 저분자 페놀화합물 위주의 연구범위를 다소 확대시켰다고 판단되며 특히 다른 소재에서 최근 면역활성 성분으로 많은 관심의 대상이 되고 있는 산성다당체를 순수분리하고 그 특성 및 효능을 조사한 것은 의미 있는 연구결과로 판단되어진다. 고지혈증 개선과 더불어 고혈압에 관한 효능 연구에서도 천마성분중 특히 다당체분획이 TG와 LDL-콜레스테롤은 감소시키고, HDL-콜레스테롤은 증가시켜 동맥경화유발지수를 저하시키는 효과가 있었으며 혈압감소에도 유의한 영향을 미침을 확인하였다. 이상과 같은 연구결과는

천마의 대중적 소비증대와 천마 재배 농민의 소득증대에 좋은 영향을 미칠 수 있을 것으로 판단된다.

#### ○ 신경계질환 효능평가 분야

허혈성 신경세포 손상에 대한 천마의 보호효과를 검토한 결과, 추출물을 세포모델을 이용한 실험에서는 다소 활성이 나타났으나 전뇌 허혈 모델 및 국소허혈모델과 같은 동물모델을 이용한 실험에서는 유의적인 효과는 얻지 못하였다.

그러나 천마의 경우 예로부터 주로 신경계 질환 치료를 위한 약재로 이용되어 왔고 최근까지 신경계에 대한 연구결과가 보고되고 있는 점 등을 미루어 볼 때 다양한 모델을 사용한 지속적인 연구가 필요할 것으로 판단되었다.

#### ○ 유효 활성성분의 분리 및 정제 및 분리·정제된 단일 활성물질의 동정 분야

본 연구에서 천마의 경우 신경계 보다 순환기계에 대한 효능이 우수한 것으로 나타났으며 그 유효물질도 다당체와 같은 고분자인 것으로 추정되었다. 따라서 기존에 신경계 질환에 효능이 있는 것으로 보고되고 있는 저분자 페놀물질의 경우 그 실체를 확인하는 수준의 연구가 이루어졌으며 주로 고분자 다당체를 분리, 정제하여 그 특성을 살펴보고자 하였다. 그 결과 천마 산성 다당체를 순수 분리, 정제하였으며 간단한 특성만을 보았지만 향후 이에 대한 많은 연구가 있을 것이라 판단된다.

#### ○ 기타 주요생리활성에 대한 분획들의 효능 평가 분야

천마 추출물 및 천마 분획물들의 다양한 생리활성을 간단히 평가하여 보았다. 천마단백질 분획에서 ACE 저해 활성이, 열수추출물에서 비교적 높은 macrophage 세포의 활성화도 증가가 확인되었으며 천마의 주요 페놀성분들은

tyrosinase 저해활성을, 에탄올 가용성 저분자 분획에서는 항산화 활성이 나타났다. 이러한 결과는 향후 다양한 천마의 효능을 구명하기 위한 연구의 기초자료로 활용가능할 것으로 판단되었다.

#### ○ 기능성식품 소재 가공 공정 확립 및 다양한 기능성식품 개발 분야

건조방법을 달리하여 천마 분말의 특성을 검토하여 관능적 기호성과 용해성이 개선된 형태의 분말소재를 제조하였으며 적정볶음처리조건 및 추출조건을 확립하여 천마 엑기스를 제조하였다. 미분쇄와 분급을 통하여 다당체성분 및 농축된 분말소재를 개발하였다. 천마 엑기스를 이용하여 천마 액상차와 음료 제품을 개발하였으며 미분쇄 분말 및 분무건조 분말을 이용하여 2 종류의 과립차 제품을 개발하였다. 본 연구에서 개발한 액상차의 경우 기존의 60°Bx 진액 형태의 액상차가 가지는 문제점인 물에 잘 녹지 않는다는 문제점을 개선했다는 점에서, 과립차의 경우 기존 농축물을 이용한 액상차와 달리 천마분말 자체를 이용하면서도 기호성과 용해도를 개선했다는 점에서 기존의 제품과 차별화 될 수 있을 것으로 판단되었다.



## 제 5 장 연구개발 결과의 활용계획

### ○ 학술 분야

천마의 효능우수성을 과학적으로 입증하여 천마의 소요창출 및 천마 재배 농가의 소득 증대를 이룬다는 연구목표를 달성하기 위하여 적극적인 학술활동을 수행하고자 하였다. 그 결과, 천마의 성분, 가공공정중의 특성변화 및 효능에 관한 10여편의 학술논문을 발표 또는 게재하였다. 논문 발표 후 미투고된 연구결과에 대한 논문 작성 및 투고를 준비중에 있으며 향후 지속적인 논문발표 및 투고를 통해 천마 우수한 효능을 적극 홍보해 나갈 예정이다. 연구종료일까지 투고 또는 게재된 논문은 아래와 같다.

#### 1. 학술발표 : 총 7 회

- 천마 저분자 및 고분자 분획이 SHR의 혈압에 미치는 영향(한국식품과학회, 2003. 6)
- 천마 다당체의 분리 정제와 고지방식이를 급여한 흰쥐의 혈청지질에 미치는 영향(한국식품영양과학회, 2004. 10)
- 천마의 수확시기별 이화학적 특성 비교(한국식품과학회, 2005. 6)
- 건조방법별 천마(*Gastrodiae Rhizoma*)분말의 이화학적 특성 비교(한국식품영양과학회, 2005. 10)
- 미분쇄와 공기분급을 이용한 천마(*Gastrodiae Rhizoma*)의 유용성분 농축(한국식품영양과학회, 2005. 10)
- 천마성분이 본태성고혈압쥐의 혈압과 혈청 지질농도에 미치는 영향(한국식품영양과학회, 2005. 10)
- Effects of *Gastrodiae Rhizoma* Acidic Polysaccharide on Serum Lipid and Blood Pressure in Spontaneously Hypertensive Rats

(한국응용생명화학회, 2005. 11)

## 2. 학회투고논문 : 총 3 편(계제확정 포함)

- 천마분말, 에탄올 및 열수 추출물이 고지방식이를 급여한 흰쥐의 혈청지질과 체지방에 미치는 영향(한국식품과학회, 35(4): 720-725, 2003)
- 천마분말, 에탄올 및 열수 추출물이 본태성고혈압쥐(SHR)의 혈청지질과 혈압에 미치는 영향(한국식품영양과학회, 32(7): 1095-1101, 2003)
- 천마 분획물이 고지방식이를 급여한 흰쥐의 혈청 지질농도에 미치는 영향(한국응용생명화학회, 계제확정, 2005)

### o 개발제품의 상품화 분야

본 연구에서 개발한 액상차 및 분말 과립차의 경우 천마 주요생산자 단체 및 주요 생산지 인근 식품회사들과 지속적인 접촉을 통해 상품화를 유도할 예정이다. 이미 2005년 6월경에 분말과립차의 상품화를 위한 1차 제품 설명회 및 업무협의를 충북 진천에서 진행한 바 있다.