

발간등록번호
11-1541000-001472-01

보안과제(), 일반과제(O)

과제번호 607002-05

고려인삼의 명품화를 위한 생산과 고부가가치 제품화 및 산업화

Industrialization and manufacturalization
of most valuable products of Korean ginseng

경희대학교

농 립 수 산 식 품 부

제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “고려인삼의 명품화를 위한 생산과 고부가가치 제품화 및 산업화 에 관한 연구” 과제의 보고서로 제출합니다.

2012 년 8 월 30 일

주관연구기관명 : 경희대학교

주관연구책임자 : 양 덕 춘

세부연구책임자 : 백 남 인

백 무 열

권 우 생

진 현 오

이 병 대

백 광 희

박 인 선

김 형 민

이 태 후

강 흔 수

윤 철 희

인 준 교

박 세 호

박 문 기

요 약 문

I. 제 목

II. 연구개발의 목적 및 필요성

한국을 대표하며 종주국인 고려인삼의 산업을 활성화시켜 세계시장에서 그 우수성을 인정받고자 **제품 표준화를 위한 표준효능물질개발, 우수한 신제품개발, 고려인삼의 특이 효능연구를 통한 기능성화, 표준화제품개발 및 맞춤형 수출제품개발을 통한 세계화**를 목표로 인삼산업 관련종사자의 문제점을 해결하고 인삼산업 및 해외수출을 증진시키고자 설립.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 고려인삼 명품화를 위한 국제적 표준효능물질개발
 - 발효를 통한 인삼표준효능물질 개발
 - 인삼유효성분의 대량분리 및 동정기술 개발
 - 물리적가공을 통한 고기능성 인삼 신소재개발
 - 특정 진세노사이드를 이용한 인삼 품질 표준화(standardization)
2. 고품질 다수성 품종의 육성 및 청정원료삼 생산방법개발
 - 고품질 다수성 품종의 육성(2품종 등록) 및 기능성 품종계통선발(3계통 선발)
 - 고품질 인삼유묘생산을 위한 영양환경 개선 연구
3. 고려인삼의 기능성 고부가가치 제품개발을 위한 효능평가 및 임상연구
 - 당뇨관련 진세노사이드 고함량 인삼계통의 임상효능평가
 - 고려 인삼 사포닌의 항관절염 효능평가
 - 인삼사포닌의 세포면역반응 기전 및 면역기능 향상연구를 통한 면역보조제 및 항암효과 규명
4. 소비 촉진 및 수출증진을 위한 표준화 명품인삼 제품개발
 - 국제표준화 명품인삼제품개발
 - 기능성 식품 및 향장품으로의 인삼 신소재개발
 - 표준화 인삼상품(캡슐)의 개발

IV. 연구개발결과

- 수출 및 명품인삼을 위한 국제적인 표준 효능 물질 개발
 - 최적의 추출용매, 추출온도, 추출방법, 농축방법을 조사
 - 진세노사이드 정밀 및 신속 분석법 확립
 - 발효를 통한 표준효능물질의 대량생산기술개발
 - 고부가가치 유효성분을 변환할 수 있는 유산균의 분리 및 동정
 - Rb₁, Rg₁, Rg₃, Rh₂, C-K에 의한 인삼품질의 표준화
 - 열처리, 산처리에 의한 신기능성 표준효능물질 생산
 - 신기능성 고부가가치 인삼제품 원료의 대량생산

- 인삼유효성분의 대량분리 및 동정기술 개발
 - 인삼으로부터 유효성분의 추출 및 분획법 개발
 - 인삼분획물로부터 7개 주요성분의 분리, 정제 및 구조 동정
 - 인삼 생변환 유래 새로운 사포닌의 분리 및 구조 동정
 - 인삼 생변환 시료의 Metabolomics 분석법 개발
 - 인삼 주요 사포닌의 대량 분리법 개발
 - 인삼 사포닌의 표준화 확립

- 물리적 가공을 통한 고기능성 인삼 신소재개발
 - 인삼 유효성분의 최적 전환을 위한 수분함량 및 팽화압력에 따른 최적 팽화 조건 설정
 - 추출수율 증대를 위한 수분함량, 초고압압력 및 처리시간에 따른 최적 초고압 처리조건 설정
 - 추출용매에 따른 최적 초고압 처리 조건 설정
 - 유효성분의 최적 전환을 위한 수분함량, 초고압 압력에 따른 최적 초고압 처리 조건 설정
 - 초고압 처리시간 및 추출용매에 따른 최적 초고압 처리 조건 설정
 - PEF Processing 처리를 통한 인삼 유효성분 전환

- 고품질 다수성 품종의 육성 및 기능성 품종개발
 - 고품질 다수성 계통 선발
 - 개화결실 특성조사 및 집단 육성
 - 고품질 다수성 계통 육성 및 생산력검정시험
 - 진세노사이드 정밀 신속 분석을 이용한 육종법 개발
 - 진세노사이드 고 함량 계통 선발 및 육성
 - 고품질 다수성 계통 생산력검정 및 산지실증시험
 - 고품질 다수성 계통 산지실증시험 및 2계통 선발

- 고품질 인삼유묘생산을 위한 영양환경 개선 연구
 - 예정지 토양의 성분 분석
 - 분석치와 인삼 생육 상관 조사
 - 예정지, 본포 및 직파포 토양의 성분 분석
 - 분석치와 1년생 및 직파 2년생 인삼의 생육 상관 조사
 - 인삼토양 및 생산물의 영양성분 검사

- 예정지, 본포 및 직파재배 본포 토양의 성분 분석
 - 분석치와 이식포 및 직파포 연생별 지역별 인삼의 생육 상관 조사
 - 인삼재배지 토양 및 식물체 성분 profiling
- o 인삼 진세노사이드의 혈당개선 작용기전 규명 및 효능평가
- Streptozotocin-osmotic mini-pump infusion model의 제작
 - Blood glucose monitoring
 - Insulin monitoring
 - Glucose tolerance test
 - Isolated islet의 제작
 - 췌장소도의 배양
 - 베타세포주
 - 시료의 첨가와 cytotoxic challenge
 - Insulin monitoring/Cell viability monitoring
 - Blood glucose monitoring/Insulin monitoring/Glucose tolerance test/조직 내 insulin과 islet peptide검사/조직병리검사
- o 고려인삼 사포닌의 항 관절염 효능 평가
- 인삼 사포닌의 분리 및 분석 조건 확립
 - 여러 인삼 제품에서의 사포닌의 분포 측정
 - 분리된 인삼 사포닌의 관절염에서의 효능 평가
 - 세포 실험을 위한 인삼 사포닌의 분리 및 정제
 - 인삼 사포닌의 관절염 효능 기전 연구
 - 관절염 세포 실험 결과를 토대로 다양한 시제품 개발
 - 인삼실험을 통한 시제품의 관절염 세포에 대한 효능 평가
 - 고려인삼제품 생산
- o 인삼 사포닌(ginsenoside)의 세포 면역반응 기전 및 면역 기능 향상 연구를 통한 면역보조제 및 항암 효과 규명
- 인삼 사포닌이 선천성 면역반응에 미치는 영향 연구
 - 세포 면역반응 향상에 미치는 영향 연구를 통한 면역 보조제 및 면역 촉진제로서의 역할 규명
 - 사포닌이 면역 세포 내 신호전달체계에 미치는 영향 및 전사조절 인자 규명
 - 인삼 사포닌 (ginsenoside)이 항암세포주 신호전달에 미치는 영향 규명
 - TIEG-1 유전자 조작 생쥐를 이용한 인삼 사포닌(ginsenoside)의 항암 효능 검사
- o 표준화 명품인삼제품 개발
- 수삼 소비촉진을 위한 봉밀삼 품질개선 기술개발
 - 명품 봉밀삼 제품개발
 - 사포닌 전환처리(유기산)를 통한 건강 기능성홍삼제품의 개발
 - 유산균을 이용한 ginsenoside-Rg₃ 대량생산조건확립
 - 발효홍삼(ginsenoside Rg₃ 고함유) 음료제품 개발

- 고기능성 사포닌 compound K 대량생산 조건확립
 - 발효홍삼(compound K 고함유) 캡슐제품 개발
 - 국제 표준화 건강기능성 명품인삼제품 개발
- 기능성 식품 및 향장품으로의 인삼 신소재 개발
 - 인삼의 추출물제조 및 물성 특징
 - 상기생 및 영경퀴등의 추출물제조, 물성 및 이화학적 성질의 분석
 - 인삼 추출물을 활용한 기능성 향장품 안정화 관련 연구 실험
 - 인삼 추출물을 포함하는 기능성 향장품을 적용한 제품 개발
 - 인삼 추출물을 활용한 기능성 향장품 안정화 연구 및 기능성 향장품을 적용한 제품 개발
 - 인삼 성분의 피부 친화 및 침투력 강화기능 탐색
 - 인삼 추출물을 활용한 아토피 피부염 및 지루성 피부염의 케어를 위한 향장품 개발
 - 한방처방추출물과 인삼이 결합된 기타 피부질환용 향장품 개발
- 표준화 인삼 상품 (캡슐)의 개발
 - 인삼의 부위별, 년근별, 채취시기에 따른 시료 인삼의 성분을 분석
 - 미국, 캐나다, 중국지역의 화기삼 및 고려인삼 시료를 수집하여 성분을 분석
 - 인삼의 사포닌성분은 인삼의 채취시기 인삼의 부위에 따라 다르고 추출방법(용매, 농도) 및 농축시간 등 가공처리 방법에 따라 다르게 되므로 각각의 시료들을 수집하여 성분을 분석함.
 - 추출용매의 종류 및 농도 농축공정 및 제품화 가열온도에 따른 성분의 변화를 분석함.
 - 건강식품을 섭취하는 외국인 및 내국인에게 부합되는 표준화인삼 제품의 개발.
 - 표준화된 인삼은 원료인삼 부분과 가공과정에 따른 요소로 크게 나누어 분석하고 기초인자를 찾아서 조절하여 소재를 표준화함으로써 표준화된 제품을 생산함.
 - 캡슐 제품화

V. 연구성과 및 성과활용 계획

1) 기술개발

- 고품질 다수성 품종과 선발된 기능성 계통을 통해 우량의 인삼 생산가능
- 명품 인삼 재배생산을 위한 토양 관리에 의한 연작 경감법 확립을 통한 신 생물농약개발 등 친환경, 고품질 명품인삼 표준재배기술 확립
- 인삼의 가공처리기술을 통한 유효성분 대량생산으로 명품 인삼 제품이 개발됨
- 고려인삼의 건강 기능성의 국제적인 표준화 도출로 고려인삼의 승열 작용의 국제적 검증 및 기능성 물질 품질표준화
- 항관절염 및 혈당개선 효능평가를 통하여 기능성 식품 및 신소재 물질의 도출 가능
- 소비촉진 및 수출증진이 가능한 국제적인 인삼명품 상품화 가능

(2) 기술개발의 산업화 및 실용화 가능성

- 고품질 다수성 품종과 선발된 기능성 계통의 선발을 통하여 생산성증대
- 생물농약을 활용한 명품화 재배생산을 위한 친환경, 고품질재배 기술로 토양 관리 병해충관리를 통해 저농약을 사용하고 연작 경감법 확립
- 고려인삼과 외국삼의 기능성 물질 함량 비교를 통해 고려인삼의 승열 작용에 대한 국제적 검증과 기능성 물질에 의한 품질 표준화 달성
- 소비촉진 및 수출증진이 가능한 인삼명품 제품개발

(3) 기술개발 효과

- 국제적으로 공인된 고려인삼의 국제 규격화
- 수량증대를 위한 토양표준화 및 친환경재배법 정착
- 저농약 생산에 의한 안정성 강화에 의한 소비 촉진
- 고려인삼과 미국삼의 비교로 건강 기능성 정립 및 표준화
- 고려인삼의 과학적 효능 규명(항관절염, 혈당개선효능)으로 고려인삼의 위상제고
- 국제적 명품인삼 상품 개발

SUMMARY

o Research and Development objectives and contents

Representing Korea, we want to activate the *Panax ginseng* industry and to be recognized for its excellence in the world market. Our goal is to develop standard efficacy materials for product standardization, to develop excellent new varieties to increase the functional property of *Panax ginseng* through studying its specific efficacies, to make it global by developing standardized product and custom export product.

We will solve the problems of workers related ginseng industry and will promote ginseng industry and exports.

1. Development of international standard efficacy materials for most valuable products of Korean ginseng.

- Development of ginseng standard efficacy materials through fermentation
- Development of technology for mass separation of ginseng active ingredient
- Development of high functional new ginseng materials through physical processing
- Standardization of ginseng quality using specific ginsenosides

2. Development the way to nurture high quality and high yielding varieties and to attain the highly pure ginseng raw materials

- Nurturing of high quality and high yielding varieties (to select two varieties) and selection of functional cultivar strains (to select three strains)
- Research to improve nutritional environment for producing high quality ginseng seedlings

3. Efficacy assessment and clinical research for developing functional high value-added products of *Panax ginseng*

- Clinical efficacy assessment of ginseng varieties which contain high ginsenoside to analyze the efficacy for diabetes
- Assessment of anti-arthritic efficacy of *Panax ginseng* saponins
- Identify of adjuvants and anti-cancer effects through cellular immune response mechanisms and immune enhancement research of ginseng saponins

4. Consumption facilitation and development of standardization for the most valuable product of Korean ginseng for export promotion.

- Development of international standards for most valuable products of Korean ginseng.
- Functional foods and development of ginseng material science as Hyangjapum.

- Development of standardization for ginseng product.

* Research results

Export and development of international standardization efficacy material for most valuable products of ginseng.

- Survey of optimum extraction solvent, extraction temperature, extraction method, and concentration method.
- Established precise and rapid methodology to analyze ginsenosides.
- Mass production technology was developed with standardized efficacy of substance through fermentation.
- Lactobacillus* was identified and isolated which can convert of high value-added active ingredient.
- Standardization of ginseng quality by Rb₁, Rg₁, Rg₃, Rh₂ and C-K.
- Production of new functional standardized efficacy substance by heat treatment and acid treatment.
- Mass production of ginseng product with new functional of high value-added.

Development of mass separation technology of ginseng active ingredient.

- Development of extraction and fractionation method of active ingredient from ginseng.
- Separation, refining and structure identification of 7 main ingredients from ginseng fraction.
- Separation, refining and structure identify of new saponin derived of ginseng biotransformation.
- Metabolomics methodology development of ginseng biotransformation samples.
- Mass separation methodology development of main saponin of ginseng.
- Establishment of standardization with ginseng saponin.

Ginseng material science development with high function through physical processing.

- Optimum puffing conditions setting according to moisture content and puffing pressure with ginseng active ingredient for optimal transition.
- Optimal ultra-high pressure processing conditions according to moisture content, ultra-high pressure for optimal transition of active ingredient.
- Optimal ultra-high pressure processing conditions setting according to extraction solvent.
- Optimal ultra-high pressure processing conditions setting according to moisture content, ultra-high pressure for optimal transition of active ingredient.
- Optimal ultra-high pressure processing conditions setting according to ultra-high pressure processing time and extraction solvent.
- Conversion of ginseng active ingredient through PEF Processing.

Breeding of varieties with high quality and multiplicity and development of functional varieties.

- System selection with high quality and high yield.
- Characteristic investigation of flowering and fruiting and group foster.

- System breeding with high quality and high yield and replicated yield trial.
 - Breeding development using precision rapid analysis of ginsenoside.
 - System selection and breeding with high content of ginsenoside.
 - Production performance test and prevalence test with high quality and high yield system.
 - Prevalence test and dual system selection with high quality and multiplicity.
-
- o Research to improve of nutritional environment for producing high quality ginseng seedlings
 - Compositional analysis of the proposed site soil
 - Correlation research between analysis figures and the growth of ginseng plant
 - Compositional analysis of the proposed site, soil composition
 - Correlation research between analysis figures and 1-year-old and 2-year-old direct seeding ginseng
 - Nutritional ingredients analysis of ginseng soil and product
 - Compositional analysis of the proposed site, soil composition
 - Correlation research between analysis figures and ginseng growth analysis by direct sowing of ginseng seed or transplantation of ginseng seeding.
 - Profiling of ginseng plantation soil and plant ingredients
-
- o Identify of glycemic improvement mechanisms of ginsenoside and Efficacy assessment
 - Making S-o m-p infusion model
 - B g m
 - I m
 - G t t
 - Making I I
 - Culturing pancreatic islets
 - Beta-cell line
 - Adding the sample and cytotoxic challenge
 - I m/C v m
 - B/I./G/Tissue insulin and islet peptide examination/histopathologic examination
-
- o Assessment of anti-arthritic efficacy of Panax ginseng saponins
 - Establishing separation and analytical conditions of ginseng saponins
 - Determining the distribution of saponins from various ginseng products
 - Efficacy assessment of separated ginseng saponins in arthritis
 - Separation and purification of ginseng saponins for cell experiments
 - Researching efficacy mechanisms of ginseng saponins in arthritis
 - Developing pre-products based arthritic cell experiment results
 - Efficacy assessment of pre-products through ginseng experiments in arthritic cell
 - Production of Korean ginseng product

- o Identify of adjuvants and anti-cancer effects through cellular immune response mechanisms and immune enhancement research of ginseng saponins
 - Researching impact of ginseng saponins in innate immune response
 - Identify the role as adjuvants and immunostimulants through research of the impact of cellular immune responses enhancement
 - Identify the impact of saponins on the signal transduction pathway in immune cells and transcription factor
 - Identify the impact of ginsenoside on the signal transduction in anti-cancer cell lines
 - Anti-cancer efficacy examination of ginsenosid using TIEG-1 genetically engineered mice.

- o Development of standard most valuable ginseng products

[4]

- Quality improvement and technology development to promote consumption of honeyed ginseng.
- Product development of most valuable honeyed ginseng.
- Development of functional ginseng product through saponin conversion (lactobacillus) processing.
- Establishment of Mass production conditions with ginsenoside-Rg₃ using lactobacillus.
- Development of beverage products with fermented red ginseng(high contents with ginsenoside Rg₃).
- Establishment of mass production conditions of saponin compound K with High function.
- Development of capsules products with fermented red ginseng(high contents with compound K).
- Development of most valuable ginseng product with international standardization Health Function.

Development of new material with ginseng as functional foods and hyangjangpum.

- Extract manufacture with ginseng and properties features.
- Extract manufacture with Sanggisaeng and thistle etc, properties and analysis of physicochemical properties.
- Experimental studies related to functional hyangjangpum stabilization utilizing ginseng extract.
- Product development that is applied for functional hyangjangpum including ginseng extract.
- Studies related to functional hyangjangpum stabilization utilizing ginseng extract and product development that is applied for functional hyangjangpum.
- Skin-friendly of ginseng ingredient and navigation of penetration enhancements.
- Hyangjangpum development for care of atopic sermatitis and seborrheic dermatitis utilizing ginseng extract.
- Hyangjangpum development for other skin disorders combined herbal extract with ginseng.

Development of standardized ginseng products(capsules).

- Analysis the composition with samples of ginseng according to region, year and picking time of ginseng.
- Analysis the composition collected by Hwagisam and Korean Ginseng in USA, Canada, China.
- Analysis the composition to collect each of the samples cause of difference picking time and part of ginseng saponin. Also, they have difference processing methods between extract methods(solvent, density) and concentrated hours.
- Analysis the changes in composition according to kinds of extract solvent, density, enrichment process and commercialized heating temperature.
- The development of standardization of ginseng products to meet foreigners and domestic that intake healthy food.
- Standardized ginseng is largely divided into elements according processing and raw ginseng part. After analysis, locate and adjust the basis factor by standardizing the material thus produce standardized products.
- Capsule manufacturalization.

[5]

o Research results utilization performance and Plan

1) Technology Development

- o It is possible to product superior ginseng through high quality multiplicity varieties and selected functional strains.
- o We can establish standard cultivation techniques of eco-friendly and high quality valuable ginseng such as new bio-pesticide development, through establishing a series of continuous cropping methodology. by soil management for most valuable ginseng grown produce.
- o It is developed that most valuable ginseng product result in active ingredient mass production through ginseng processing technology.

- o It can be possible to produce functional food and new material ingredients through anti-arthritis and glyceimic improvement efficacy assessment.
- o It can be possible to commercialize most valuable ginseng which promote consumption and export internationally.

2) The possibility of the industrialization and commercialization of technology development

- o It will increase productivity through high quality multiplicity varieties and selected functional strains.
- o We can use less pesticide and manage soil and pests through cultivation techniques of eco-friendly and high quality valuable ginseng using bio-pesticide. Also we can establish

continuous cropping methodology.

- o We can produce most valuable ginseng products which promote consumption and export.

3) Technology development effectiveness

- o International standardization of Korean ginseng which internationally recognized.

- o Settlement of soil standardization and eco-friendly viticulture for quantity increase.

- o Promote consumption result from stability reinforce through using less pesticide.

- o Health functional formulation and standardization by comparison between korean ginseng and foreign ginseng.

- o Korean ginseng will have grown in stature by identifying the scientific efficacy (anti-arthritis, glycemic improvement) of Korean ginseng.

- o Development of internationally most valuable ginseng products.

CONTENTS

Part 1. The Outline for Research & Development.....	1
Part 2. The Present States of Technology and Development at Home and Abroad.....	11
Part 3. The Result of Resarch & Development.....	14
Part 4. Achievements of Purpose and Contribution for Relative Field.....	521
Part 5. Results of Research & Development and Application Plan.....	578
Part 6. Collection of Technology information.....	581
Part 7. The Present States of Research Equipments.....	583
Part 8. Reference.....	584

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요.....	1
제 2 장	국내외 기술개발 현황.....	11
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과.....	14
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도.....	521
제 5 장	연구개발 성과 및 성과활용 계획.....	578
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보.....	581
제 7 장	연구시설·장비 현황.....	583
제 8 장	참고문헌.....	584

제 1 장 연구개발과제의 개요

제1절 연구개발의 목적

한국을 대표하며 종주국인 고려인삼의 산업을 활성화시켜 세계시장에서 그 우수성을 인정받고자 **제품 표준화를 위한 표준효능물질개발, 우수한 신품종개발, 고려인삼의 특이 효능연구를 통한 기능성화, 표준화제품개발 및 맞춤형 수출제품개발을 통한 세계화**를 목표로 인삼산업 관련종사자의 문제점을 해결하고 인삼산업 및 해외수출을 증진시키고자 설립.

제2절 연구개발의 필요성

가. 목표설정의 배경

1) 국내 인삼산업 시장현황

- 고려중엽 인삼의 인공재배법이 세계 최초로 우리나라에서 개발되어지면서 우리나라가 세계의 주요 인삼 산지이자 종주국으로서의 위치를 차지하였음. 인삼은 현재도 많은 병증에 치유효과를 지닌 주요 중·한약 및 자양강장제로서 동북아시아 지역에서 중시되고 있고, 세계 생산량의 약 80% 내외가 이 지역에서 생산·소비되고 있음. 특히, 중국 내에서의 인삼재배 및 가공기술의 발전, 역내 주민들의 급격한 소득수준 향상의 영향으로 그 수급규모가 날로 증가하고 있음.
- 최근에는 인삼(Ginseng)이 인체의 생리기능을 활성화시키는 기능성 식품으로서 여러가지 유용성이 과학적으로 입증되면서, 세계의 건강보조식품시장에서 은행(Ginco)일 추출물, 마늘(Galic)과 함께 소위 3-G 붐업(Boom-up)을 주도할 정도로 비중이 점차 높아지고 있음. 또한 인삼의 주요 지표물질들이 천연활성 면역반응 변형제(Biological Active Immune Response Modifiers)로서도 우수함이 밝혀짐에 따라 앞으로 면역 의학적 치료보조제로서의 수요도 크게 증가할 것이 기대되고 있는데 반하여, 불행히 우리나라의 인삼시장은 침체일로에 있음.

① **생산성의 문제점** : 국내 인삼 재배지의 유지확대에 어려움이 가중되고 있음. 안삼 4년근 경작농가의 연간소득이 노지 참외의 93%, 시설참외의 38%, 사과 74%에 불과할 정도로 상대적 소득경쟁력이 낮아 재배농가의 이탈 증가하고 있음. 더욱이 농촌 노동력의 부족으로 인한 지속적인 인건비 상승은 이러한 어려움을 더욱 가중시키고 있으며, 실제로 주 작업 기계화율이 48%수준에 그치고 있는 인삼경작의 경우 전체 경비중 인건비가 29%정도에 달할 정도로 높아(시설채소 15% 내외) 생산비 절감이 어렵고, 까다로운 생육조건과 연작이 어려운 특성으로 타 작목에 비해 재배면적 확보가 쉽지 않은 부분 역시 생산기반 유지확대에 부정적으로 작용.

② **저렴한 외국산 인삼의 대량 유입** : 농산물 무역의 개방확대에 따라 국내시장에 외국산 인삼류의 수입 가능성이 증대함. 2004년까지는 양허협정에 따라 높은 관세를 부과하고 있어 큰 피

해는 없었으나, 2005년부터 시장개방이 본격화되 국내 인삼 생산농가들에게 큰 부담이 되고 있음. 더구나 국내시장을 목표로 한 우리인삼 품종의 해외재배가(중국 길림성 지역) 성행하고 있어 가격경쟁력이 높은 외국산 인삼의 수입가능성에 대한 심각성이 매우 큼.

③ **인삼산업의 전매제 폐지** : 1984년 백삼의 전매제 폐지, 1996년 홍삼의 전매제 폐지 이후 민간 자율성이 확대되고 경쟁체제가 자리잡아감에 따라 산업전체의 발전가능성이 점차 증대되고 있음. 이러한 시장활성화는 부가가치가 높은 홍삼가공이 확대되는 등 가공과 소비패턴의 변화로 새로운 수요의 창출이 가능하였음. 그러나 국내의 경쟁기반이 성숙되기 전에 경쟁체제의 도입으로 인하여 우리나라의 백삼시장은 그 경쟁력을 잃었고, 홍삼전매제가 폐지된 시점에서 과거 백삼의 전매제폐지에 따른 문제점이 홍삼시장에서 재연되고 있는 실정임.

④ **세계인삼시장의 확대** : 인삼의 효능에 대한 인식확대로 세계 인삼시장의 규모가 점점 확대되어 가고 있는 추세임. 실제로 최근 10년간 세계 인삼시장은 물량면에서 5배, 금액면에서 2.4배가 증가하여 커다란 성장세를 보여주고 있음. 이러한 세계 인삼시장의 성장은 침체에 빠져있는 국내 인삼산업의 새로운 돌파구를 제공해 준다는 면에서 커다란 기회임. 인삼의 중주국으로서 국제사회에서 인지도가 높기 때문에 향후 우리나라가 국정정책으로 인삼산업을 활성화시키고 품질·가격경쟁력을 제고하면, 세계 인삼에서 주도권을 지속적으로 보유할 수 있을 것이나 현재 저가의 중국삼과 미국, 캐나다 삼의 마케팅에 밀려 고전을 면치 못하고 있는 실정임-> 마케팅 부재, 홍보전략 미숙, 표준화 안됨.

- **국내인삼의 소비현황** : 현재 국내 인삼의 소비현황은 원형삼을 직접 가공한 것과 원형삼을 원료로 하여 관련 제품을 만든 것으로 나누어 보면, 홍삼이 총 46.2%, 백삼이 7.9%, 태극삼이 7.9%이며 수삼으로 사용된것이 45.7% 차지하고 있다. 그러나 수삼의 경우 거의 내수시장에 한정되어 있으며 수출은 전혀 없는 상태이다. 한국은 2010년 역시 내수가 87.6% 수출 12.4%에 그치고 있다(표 1).

표 1 . 국내 생산 인삼류 소비형태

구 분	생산량	가공 및 제품형태 (톤)		
		전 체	내 수	수 출
홍 삼	12,448톤 (46.2%)	뿌리삼 가공 2,826 (22.7%)	540 (19.1%)	2,286 (80.9%)
		가공 제품류 9,622 (77.3%)	8,843 (91.9%)	779 (8.1%)
태극삼	54톤 (0.2%)	뿌리삼 가공 54 (100%)	51 (94.1%)	3 (5.9%)
백 삼 용	2,129톤 (7.9%)	뿌리삼 가공 1,676 (78.7%)	1,461 (87.2%)	215 (12.8%)
		가공 제품류 453 (21.3%)	386 (85.2%)	67 (14.8%)
수 삼 용	12,313톤 (45.7%)	뿌리삼 생산(100%)	12,313톤 (100%)	0
계	26,944톤 (100%)	뿌리삼 : 16,869(62.6%) 가공제품 : 10,075 (37.4%)	23,594 (87.6%)	3,350 (12.4%)

- 자료 : 농림수산식품부 인삼통계자료(2010).

- 우리 나라의 인삼 수출은 1990년 미화 164.9백만 달러를 정점으로 더 이상 늘어나지 않고 오히려 계속 하락하여 1999년에는 미화 8,400만 달러로 1990년의 50%수준까지 감소함. 이로 인하여 원형삼의 경우 세계 최대의 인삼 소비시장인 중국 및 화교권 시장에서 중국삼(Asian ginseng)과 화기삼(American ginseng) 등에 대부분의 시장을 잠식당한 상태가 되었고, 기타 제품들도 고가인데다 상품의 형태나 품질마저 현지시장의 요구에 적응하지 못하여 한국산 인삼의 신규수요가 전혀 증가하지 못함.
- 한국에서 생산되는 인삼은 크게 홍삼(紅蔘)과 백삼(白蔘)으로 한국산 백삼은 이미 세계 시장성을 잃어버렸고 대부분 국내시장에만 유통되고 있는 실정임. 현재 세계 백삼 시장은 캐나다와 미국에서 생산되는 화기삼(피부백삼)이 장악하고 있는 실정으로 우리가 인삼 종주국이라는 명성과 권위를 지금까지 누리고 있는 것은 6년근 홍삼 때문임.
- 하지만, 홍삼 역시 1996년의 전매제 폐지에 따른 품질저하, 국내업체간 수출시장에서의 과당경쟁, 외국시장에서의 가짜 홍삼 범람, 국내 묘종을 해외에서 생산함에 따른 품질격차의 감소, 적정재배지역의 감소, 인건비의 상승 등 생산원가의 증가, 불합리한 유통구조에 의한 물류비용의 증가 등으로 인해 지속적으로 해외 시장점유율이 감소하고 있음.

○ **인삼 재배지 감소로 인한 현장애로 개선 한계** : 최근 수출의 급락으로 국내 판매에 주력하고 있지만 연작 장애로 인한 예정지 감소로 생산에 많은 어려움을 직면하고 있음. 인삼재배지의 집중적인 감소는 인삼의 연구 방향을 연작장애 해결에 중점을 두어야 함. 또한 그 동안 홍삼 전매법에 의해 6년근 위주의 생산에 의한 병충해의 급격한 증가로 인하여 생산량 감소로 이어지고 있음. 따라서 비교적 병충해가 적은 저년근 삼 생산도 과학적인 연구의 뒷받침으로 장려되어야 할 필요성이 있음.

2) 해외 인삼산업의 시장현황

- 세계 인삼류 주요국의 수출시장 규모는 1995년 기준으로 약 368백만불로 추정되고 있으며 한국은 139백만불 이었다. 그러나 15년이 지난 현재 2010년통계에는 124만불로 인삼값의 소폭상승에도 불구하고 오히려 감소하는 경향을 보여 수출에 심각한 타격을 입고 있는 상황이다(표 2).

표 2. 인삼류의 년도별 수출액

년 도	1995	1998	2002	2004	2006	2008	2010
홍삼류(백만불)	74.0	44.4	21.6	54.6	55.2	62.2	86.5
백삼류(백만불)	59.1	29.5	27	26.6	29.7	26.6	26.4
기 타(백만불)	6.8	8.1	6.4	8.0	4.1	8.4	11.3
계(백만불)	139.9	82	55	89.2	89	97.2	124.2

- 자료 : 농림수산물식품부 인삼통계자료(2010).

- 지역별 수출실적을 보면 1996년도에는 총 112,656천불이었던 인삼수출실적이 2003년도에는 최저로 내려가 66,642천불로 절반가량이 떨어 졌으며 2010년에는 1996년수준으로 올라갔으나 가격인상분을 포함하고 제품의 다양성을 고려한다면 증가되었다고 보기가 어렵다(표 3).

표 3. 주요국의 지역별 수출실적

(단위 : 천불, %)

년도	아시아	북미	중남미	유럽	중동	기타	계
1996	98,632	7,688	996	4,247	674	419	112,656
2003	57,232	5,589	319	2,619	316	567	66,642
2010	107,982	10525	338	3,411	932	1,016	124,204

- 자료 : 농림수산물식품부 인삼통계자료(2010).

3) 주요 국가들의 인삼 소비 실태와 인식

- **주요 국가별 인삼제품 소비 실태** : 각 나라의 소비자들이 구입 해본 인삼제품 중 한국, 미국, 일본, 그리고 대만 소비자들은 한국 인삼을 가장 많이 구입하고 홍콩 소비자들은 서양삼, 중국 소비자들은 자국의 인삼을 가장 많이 구입하고 있음. 한국, 홍콩, 중국, 일본 그리고 대만의 소비자들이 자주 구입하는 인삼 제품 형태는 원형삼(뿌리삼)인 것으로 나타났고, 미국 소비자들은 타브렛을 가장 선호하는 것으로 나타남. 인삼제품을 구입하는 주된 이유는 대만을 제외한 대부분 국가에서 **건강을 위해서 구입**한다가 가장 많이 응답하였고, 인삼 제품을 주로 구입하는 곳으로는 한국, 미국, 중국, 그리고 일본은 건강 식품점에서 홍콩과 대만 국가의 소비자들은 약국에서 가장 많이 구입함. 인삼 제품을 얼마나 자주 구입하는지에 대한 질문에 대해서는 대부분 국가들은 1년에 1-3회로 구입한다가 미국은 6개월에 1-3회로 구입한다가 가장 많았음. 그러므로 대부분 국가들의 소비자들이 인삼을 정기적으로 복용하지 않는 것으로 나타나 전 세계 인삼 소비자에게 인삼을 장기적으로 복용하도록 홍보할 필요가 있음. 인삼제품 구입 시 1회 평균 지출액은 한

국 소비자들은 10만원 이상, 미국, 홍콩, 그리고 대만 소비자들은 1-3만원 정도, 중국과 일본 소비자들은 5-10만원으로 지출하고 있음. 인삼제품을 구입하는 주 계절에 대해서는 계절에 상관없이 년중 인삼 제품을 구입함. 인삼제품 구입시 주로 영향을 받는 광고에 대한 의견으로 한국과 미국은 주위의 추천으로, 홍콩과 대만은 TV광고로 중국은 인터넷 광고 그리고 일본은 방문 판매에 가장 많이 영향을 받는 것으로 조사됨.

- **각국 인삼제품에 대한 인식** : 각 국가별 소비자들이 구입하는 각국의 인삼제품에 대한 평가 결과 한국, 미국, 일본, 그리고 대만은 한국산 인삼을 홍콩과 중국은 서양삼을 주로 구입한다고 가장 많이 응답하였음. 중국 소비자들을 제외하고는 대부분 국가의 소비자들은 한국산 인삼 제품이 최고의 품질로 인정한다고 각각 응답함. 구입하는 국가의 인삼 제품 중 가격이 가장 적당한 국가의 것에 대한 의견으로 한국, 미국, 그리고 대만 소비자들은 잘모르다가 가장 많이 응답하였으며 홍콩은 서양삼, 중국은 중국삼, 일본은 자국삼의 가격이 가장 적당하다고 각각 응답함. 이는 각국의 소비자들이 각국의 인삼 제품에 대한 적당한 가격에 정보를 잘 모르고 있어 각국의 인삼 제품에 대한 가격 정보를 제대로 홍보할 필요가 있음. 어느 국가의 인삼 제품이 가장 약효가 있는가에 대한 의견으로 중국과 대만을 제외한 국가의 소비자들은 한국의 인삼 제품이 가장 약효인 것으로 생각한다고 응답하였고, 중국은 중국산 그리고 대만은 잘 모르겠다가 가장 많았음. 어느 국가의 인삼 제품이 최고의 포장 디자인이냐에 대한 질문에는 미국과 홍콩은 한국의 것으로 중국은 서양삼, 일본은 자국 삼 그리고 한국과 대만은 잘 모르겠다를 각각 가장 많았음 -> 한국 인삼제품의 포장 디자인에 대한 개선이 필요함. 어느 국가의 인삼 제품이 가장 편리한 포장단위냐에 대한 의견으로는 미국과 홍콩은 한국의 것으로 중국은 서양삼, 일본은 일본삼 그리고 한국과 대만은 잘모르겠다를 각각 가장 많이 응답하였음 ->한국의 인삼제품의 포장 단위에 대한 개선이 필요함. 어느 국가 인삼 제품의 광고가 최고이냐에 대한 질문으로는 한국, 미국, 그리고 홍콩은 한국의 것으로 중국은 서양삼, 일본은 일본삼 그리고 대만은 잘 모르겠다가 각각 가장 많이 응답 -> 한국인삼의 적극적인 광고가 필요. 어느 국가의 인삼 제품의 향기와 맛이 최고이냐에 대한 의견으로 한국, 미국, 그리고 홍콩은 한국의 것으로 중국은 서양삼, 일본은 일본삼 그리고 대만은 잘 모르겠다를 각각 가장 많이 응답하였음.

4) 세계인삼 시장의 점유율을 높이기 위한 전략

- 인삼제품의 소비실태 조사에서 세계 각국의 소비자들은 한국 인삼을 선호함으로 알 수 있었고 인삼제품 소비에서 화교권은 원형삼 그리고 비화교권은 인삼 제품 즉 인삼 타브렛, 캡슐 등을 선호함을 알 수 있어 **국가별 맞춤형 제품·제형개발이 필요함**. 인삼을 구입하는 주 이유는 건강 증진을 위해서이므로 의약품보다는 건강기능식품으로 인식 전환이 필요함. 원산지과 가격에 대해서 중요하게 고려하는 것으로 알 수 있어 **인삼제품의 원산지 표시와 적절한 가격 마케팅** 전략도 세워야 할 것임. 인삼 제품에 대한 포장 디자인과 포장 단위로 중요한 변수로 소비자들이 휴대하고 복용하기가 편리한 포장 단위가 되어야 하고, 인삼 약효성에 대해서는 아주 중요하게 고려함으로써 고려인삼의 효능 차별화에 대한 방안을 강구하여 해외 소비자들에게 적극적으로 홍보해야 할 필요성이 있음. 전 세계 소비자들이 인삼을 비정기적으로 복용하는 것으로 나타나 정기적인 복용을 권장할 홍보가 필요하며 인삼 제품 구입 시 평균 1회 지출액은 5만원에서 10만원 이내가 가장 많이 응답하여 이에 맞는 **가격 정책 전략**이 필요함. 계절에 상관없이 년 중 인삼소비를 홍보할 필요가 있었으며 **국가별 영향을 많이 주는 광고**를 통해서 판매 전략을 세울 필요성이 있음.
- 한국 인삼에 대한 의견 조사에서는 한국 인삼의 뛰어난 약효성에 대해서 인정하고 있으며 **포장**

디자인과 포장 단위 개선이 필요하다고 응답. 각국에서 고려인삼 구입을 용이하게 하기 위하여 유통망의 개선이 필요하며 인삼의 맛과 향기에 대한 국가별 차별화 전략이 필요. 다양한 인삼제품과 소규모 포장 단위를 개발할 필요가 있으며, 한국 인삼의 적절한 가격 정책과 승열 작용에 대한 해소를 하기 위해 적극적인 홍보가 필요함 -> 해외 인삼시장에 대한 현실을 제대로 파악하여 인삼 수출 마케팅 전략을 마련 할 수 있는 계기가 필요함.

5) 미래전망

- **기능성시장 전망** : 2003년 세계 기능성식품 시장규모는 1,152억 달러로 지속적인 성장이 예상되며, 미국, 유럽, 일본이 전체시장의 83%를 차지하고 있으며 장기적으로는 경제성장 과 소득수준 향상으로 아시아, 남미지역의 시장점유율도 증가할 것으로 전망됨.
- **고려인삼의 세계화** : 인삼은 세계의 건강보조식품시장에서 은행(Ginco)및 추출물, 마늘(Galic)과 함께 소위 3-G 붐업(Boom-up)을 주도할 정도로 비중이 점차 높아지고 있고, 또한 인삼의 효능에 대한 인식확대로 세계 인삼시장의 규모가 점점 확대되어 가고 있는 추세로 실제로 최근 10년간 세계 인삼시장은 물량면에서 5배, 금액면에서 2.4배가 증가하여 커다란 성장세를 보여주고 있어 세계시장에서 침체에 빠져있는 우리나라 인삼산업의 새로운 돌파구를 제공해 준다는 면에서 커다란 기회요인임에 틀림없음.
- **해외시장에서 한국인삼의 침체원인 분석** : 고려 인삼은 80여 국가에 수출하고 있으나 수출액의 87%가 일본, 홍콩, 대만, 미국이 차지하고 그중 일본이 40% 수준을 차지하고, 국내 원료삼 가격상승으로 원료확보가 어렵고 수출원가가 상승되어 해외 바이어들이 유통마진이 저어 우리나라 인삼을 사용·취급을 기피함. 화기삼 및 중국삼의 품질향상·저가 공세와 고려인삼의 승열작용에 대한 홍보가 고려인삼의 입지를 좁게하는 중요한 요인임.
- **인삼산업 전망과 발전방향** : 고려인삼은 역사적으로 문화적으로 그리고 산업적으로 매우 중요한 우리나라의 천혜적인 민족 유산으로, 2001년 삼성경제연구소는 고려인삼을 반도체와 함께 우리나라 10대 세계 일류 상품 중에 하나로 선정. 또한 외국인들에게 한국하면 김치, 태권도와 더불어 고려인삼을 가장 먼저 연상함. 이런 천혜의 천연생약 자원을 가지고 고 부가가치를 가진 상품으로 개발하여 세계화하지 못하는 아쉬움이 있음. 스위스의 파마톤 사는 1960년대부터 단순한 인삼의 성분표준화(총함량 사포닌 4%)을 이용한 건강보조식품을 만들어 전 세계에 수출하여 연간 3조원의 매출을 올리고 있음. 세계적으로 인삼의 약효성이 알려지면서 천연생약으로 인식하여 전 세계적으로 생산을 확대하고 있음. 미국과 캐나다는 산업화하여 성공하였고 최근에는 호주와 뉴질랜드 그리고 유럽지역까지도 대단위로 생산할 준비를 하고 있음. 이러한 세계의 대단위 인삼 생산은 인삼 종주국으로서 위협적인 요소를 안고 있으며 세계 시장에서 고려 인삼의 위상을 날로 추락하고 있음. 이러한 위기를 탈출하여 비상할 수 있는 길은 고려인삼의 여러 약효성분을 이용한 고 부가가치를 지닌 인삼제품을 개발하고 상품화하여 세계시장을 진출하여 세계화하여야 함.

6) 과제간의 유기성 및 중요성

- 세계시장에서 고려인삼의 경쟁력을 높이기 위해서는 고품질 인삼 품종 육성, 청정 인삼 재배, 소비국에 따른 제품개발의 다양화, 국제적인 표준물질을 이용한 제품의 품질인증, 고려인삼의 객관

적이과 과학적인 효능의 검증 및 입증 등 어느 한 분야에 대한 연구를 집중한다고 해서 해결될 문제가 아님. 따라서 국제적인 고려인삼의 경쟁력을 키우기 위해서는 위에서 제시된 사항들을 상호 유기적으로 잘 조화시켜 나가야 인삼중주국의 위치를 확고히 하고 증가되는 인삼 수요에 부응하여 국부창출을 할 수 있음.

7) 기술개발의 필요성

- 고려인삼은 자타가 공인하는 한국의 특산품이며 우리나라 제품 중에서 타국의 제품에 비하여 10배가량 고가로 판매되고 있는 유일한 품목임. 인삼 중주국으로서 인삼의 지표물질을 표준품으로 확보하고 나아가 가장 정확한 정량분석법을 확립함과 동시에 확립한 분석법을 validate함으로서 금후 수입, 수출되는 인삼제품의 품질관리 분석법으로 활용하고자 함.
- 표준물질에 대한 정량분석은 지표물질의 정확한 함량을 제품에 고시하는 것을 가능하게 하여 고부가가치 제품으로서의 수출을 가능하게 할 것임.
- 인삼은 한국을 대표하는 특산물로 한국문화상징 Best 10, 세계일류상품 55개, 한국일등상품 10개 중 하나로, 세계시장에서도 그 우수성을 인정받고 있는 농산물임
- 고려인삼의 품종개념이 불분명하여 고려삼 종자가 전 세계에서 밀반출되어 신품종의 개발의 필요성이 절실하므로 고품질의 다수성 신품종들을 육성하고 기능성 계통을 선발해야함.
- 인삼산업의 미래를 위한 수출용 인삼제품의 개발과 국제적수준의 상품으로 육성하여 국내에서 생산되는 명품고려수삼의 소비촉진이 절실히 요구됨

제2절 연구개발의 범위

기술개발 내용

- 수출 및 명품인삼을 위한 국제적인 표준 효능 물질 개발
 - 최적의 추출용매, 추출온도, 추출방법, 농축방법을 조사
 - 진세노사이드 정밀 및 신속 분석법 확립
 - 발효를 통한 표준효능물질의 대량생산기술개발
 - 고부가가치 유효성분을 변환할 수 있는 유산균의 분리 및 동정
 - Rb₁, Rg₁, Rg₃, Rh₂, C-K에 의한 인삼품질의 표준화
 - 열처리, 산처리에 의한 신기능성 표준효능물질 생산
 - 신기능성 고부가가치 인삼제품 원료의 대량생산
- 인삼유효성분의 대량분리 및 동정기술 개발
 - 인삼으로부터 유효성분의 추출 및 분획법 개발
 - 인삼분획물로부터 7개 주요성분의 분리, 정제 및 구조 동정
 - 인삼 생변환 유래 새로운 사포닌의 분리 및 구조 동정
 - 인삼 생변환 시료의 Metabolomics 분석법 개발
 - 인삼 주요 사포닌의 대량 분리법 개발
 - 인삼 사포닌의 표준화 확립
- 물리적 가공을 통한 고기능성 인삼 신소재개발
 - 인삼 유효성분의 최적 전환을 위한 수분함량 및 팽화압력에 따른 최적 팽화 조건 설정
 - 추출수율 증대를 위한 수분함량, 초고압압력 및 처리시간에 따른 최적 초고압 처리조건 설정
 - 추출용매에 따른 최적 초고압 처리 조건 설정
 - 유효성분의 최적 전환을 위한 수분함량, 초고압 압력에 따른 최적 초고압 처리 조건 설정
 - 초고압 처리시간 및 추출용매에 따른 최적 초고압 처리 조건 설정
 - PEF Processing 처리를 통한 인삼 유효성분 전환
- 고품질 다수성 품종의 육성 및 기능성 품종개발
 - 고품질 다수성 계통 선발
 - 개화결실 특성조사 및 집단 육성
 - 고품질 다수성 계통 육성 및 생산력검정시험
 - 진세노사이드 정밀 신속 분석을 이용한 육종법 개발
 - 진세노사이드 고 함량 계통 선발 및 육성
 - 고품질 다수성 계통 생산력검정 및 산지실증시험
 - 고품질 다수성 계통 산지실증시험 및 2계통 선발
- 고품질 인삼유묘생산을 위한 영양환경 개선 연구
 - 예정지 토양의 성분 분석
 - 분석치와 인삼 생육 상관 조사
 - 예정지, 본포 및 직파포 토양의 성분 분석

- 분석치와 1년생 및 직파 2년생 인삼의 생육 상관 조사
 - 인삼토양 및 생산물의 영양성분 검사
 - 예정지, 본포 및 직파재배 본포 토양의 성분 분석
 - 분석치와 이식포 및 직파포 연생별 지역별 인삼의 생육 상관 조사
 - 인삼재배지 토양 및 식물체 성분 profiling
- o 인삼 진세노사이드의 혈당개선 작용기전 규명 및 효능평가
- Streptozotocin-osmotic mini-pump infusion model의 제작
 - Blood glucose monitoring
 - Insulin monitoring
 - Glucose tolerance test
 - Isolated islet의 제작
 - 췌장소도의 배양
 - 베타세포주
 - 시료의 첨가와 cytotoxic challenge
 - Insulin monitoring/Cell viability monitoring
 - Blood glucose monitoring/Insulin monitoring/Glucose tolerance test/조직 내 insulin과 islet peptide검사/조직병리검사
- o 고려인삼 사포닌의 항 관절염 효능 평가
- 인삼 사포닌의 분리 및 분석 조건 확립
 - 여러 인삼 제품에서의 사포닌의 분포 측정
 - 분리된 인삼 사포닌의 관절염에서의 효능 평가
 - 세포 실험을 위한 인삼 사포닌의 분리 및 정제
 - 인삼 사포닌의 관절염 효능 기전 연구
 - 관절염 세포 실험 결과를 토대로 다양한 시제품 개발
 - 인삼실험을 통한 시제품의 관절염 세포에 대한 효능 평가
 - 고려인삼제품 생산
- o 인삼 사포닌(ginsenoside)의 세포 면역반응 기전 및 면역 기능 향상 연구를 통한 면역보조제 및 항암 효과 규명
- 인삼 사포닌이 선천성 면역반응에 미치는 영향 연구
 - 세포 면역반응 향상에 미치는 영향 연구를 통한 면역 보조제 및 면역 촉진제로서의 역할 규명
 - 사포닌이 면역 세포 내 신호전달체계에 미치는 영향 및 전사조절 인자 규명
 - 인삼 사포닌 (ginsenoside)이 항암세포주 신호전달에 미치는 영향 규명
 - TIEG-1 유전자 조작 생쥐를 이용한 인삼 사포닌(ginsenoside)의 항암 효능 검사
- o 표준화 명품인삼제품 개발

- 수삼 소비촉진을 위한 봉밀삼 품질개선 기술개발
 - 명품 봉밀삼 제품개발
 - 사포닌 전환처리(유기산)를 통한 건강 기능성홍삼제품의 개발
 - 유산균을 이용한 ginsenoside-Rg₃ 대량생산조건확립
 - 발효홍삼(ginsenoside Rg₃ 고함유) 음료제품 개발
 - 고기능성 사포닌 compound K 대량생산 조건확립
 - 발효홍삼(compound K 고함유) 캡슐제품 개발
 - 국제 표준화 건강기능성 명품인삼제품 개발
- 기능성 식품 및 향장품으로의 인삼 신소재 개발
 - 인삼의 추출물제조 및 물성 특징
 - 상기생 및 영경퀴등의 추출물제조, 물성 및 이화학적 성질의 분석
 - 인삼 추출물을 활용한 기능성 향장품 안정화 관련 연구 실험
 - 인삼 추출물을 포함하는 기능성 향장품을 적용한 제품 개발
 - 인삼 추출물을 활용한 기능성 향장품 안정화 연구 및 기능성 향장품을 적용한 제품 개발
 - 인삼 성분의 피부 친화 및 침투력 강화기능 탐색
 - 인삼 추출물을 활용한 아토피 피부염 및 지루성 피부염의 케어를 위한 향장품 개발
 - 한방처방추출물과 인삼이 결합된 기타 피부질환용 향장품 개발
- 표준화 인삼 상품 (캡슐)의 개발
 - 인삼의 부위별, 년근별, 채취시기에 따른 시료 인삼의 성분을 분석
 - 미국, 캐나다, 중국지역의 화기삼 및 고려인삼 시료를 수집하여 성분을 분석
 - 인삼의 사포닌성분은 인삼의 채취시기 인삼의 부위에 따라 다르고 추출방법(용매, 농도) 및 농축시간 등 가공처리 방법에 따라 다르게 되므로 각각의 시료들을 수집하여 성분을 분석함.
 - 추출용매의 종류 및 농도 농축공정 및 제품화 가열온도에 따른 성분의 변화를 분석함.
 - 건강식품을 섭취하는 외국인 및 내국인에게 부합되는 표준화인삼 제품의 개발.
 - 표준화된 인삼은 원료인삼 부분과 가공과정에 따른 요소로 크게 나누어 분석하고 기초인자를 찾아서 조절하여 소재를 표준화함으로써 표준화된 제품을 생산함.
 - 캡슐 제품화

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제1절 세계적 수준

개념정립 단계		기업화 단계	O	기술 안정화 단계	O
---------	--	--------	---	-----------	---

- 미국, 캐나다에서는 트랙터를 이용해 대규모 농사를 지어 가격을 낮추고 ‘고려인삼은 체온을 올리고 북미산 화기삼은 낮춘다’는 연구결과가 세계 시장에 번져 세계 인삼시장에서 상위권을 차지하고 있다. 캐나다 걸프대, 토론토대 등에서 기업과 손잡고 인삼을 효능과 품질 개선 등에 대한 연구를 집중적으로 하고 있다. 최근 인삼이 감기 예방은 물론 치료에도 효과가 뛰어나다는 연구 결과가 나오면서 건강보조식품의 형태로 인삼제품 수요가 급증하고 있다.
- 미국은 ‘화기삼’이라 불리는 북미삼의 원산지로 연방과 주정부의 품질보증정책, 공격적 마케팅 전략으로 홍콩 등 주요 인삼 수입국에 인지도를 높여 세계적 인삼 수출국으로 등극했다.
- 유럽 중에서 스위스는 대표적 제약회사 베링거인겔하임의 자회사인 파마톤은 인삼가공제품 시장 점유율 세계 1위 기업이다. 인삼의 주성분인 사포닌을 추출해 ‘진사나’라는 브랜드의 캡슐제품으로 생산, 판매해 연간 4000만 달러의 매출을 올리고 있다.
- 재배면적으로는 세계 1위인 중국은 역사서 속에 ‘발해가 당에 공물로 인삼을 보냈다’는 기록은 근거로 고려 인삼은 중국 동북지방의 특산물이었으며 지금의 장백삼이라고 주장하기도 한다.
- 홍콩은 인삼 한 뿌리 나지 않는 지역이지만 ‘세계의 무역항’이라는 입지를 이용해 세계 최대의 인삼시장이란 위치를 차지하고 있다. 미국, 캐나다, 한국 등에서 수입한 인삼을 이용한 가공제품을 북미와 중국 등에 역수출하고 있다.

제2절 국내수준

- 과거에는 인삼에 대한 연구기술은 일본, 중국 등에 이어 뒤떨어지지 않은 실정이었으나, 한국인삼연초 연구원이 KT&G 중앙연구원으로 편입됨에 따라서, 해당 분야의 연구 인력이나 설비 등이 축소되고 연구 역량도 약화되어 있는 상태이다. 하지만 적정의 연구비 및 연구 인력이 투입된다면 바로 세계 수준에 진입할 수 있는 수준이다.

제3절 연구현황

현재 국내 및 국외에서는 인삼의 약리 효능 물질인 사포닌을 중심으로 다양한 연구가 진행되고 있다. 특히 뛰어난 약리효능을 나타내는 인삼의 minor사포닌은 최근들어 큰 주목을 받고 있다. 그러나 인삼에 극소량 존재하는 각종 사포닌을 생산하는데 어려움을 겪고 있으며 이에 따라 효능 연구도 어려운 실정이다.

본 연구 사업단에서는 생물 전환 기술 및 천연물 정제 기술 등을 활용하여 고기능성 물질을 대량 생산하고 이들의 효능연구를 유기적으로 할 수 있도록 구성되어 있다. 더불어 이를 활용한 상업화 연구에 필요한 제품 연구 분야, 원료의 확보 및 인삼의 고품질 다수성을 위한 재배 연구분야 등 인삼에 대한 종합적인 연구를 유기적으로 할 수 있도록 구성 되어 있어 고려인삼의 경쟁력확보를 통한 관련 산업의 활성화 및 농가소득확대에 기여 할 수 있을 것으로 기대된다.

연구사업단의 주요연구분야, 농업인·관련기관 단체 및 기업체 관심분야와 산·학·연 협력방안

1) 연구사업단의 주요연구분야

○ 고려인삼의 국제적 표준효능물질개발

- 수출 및 명품인삼을 위한 국제적인 표준효능물질 개발
- 인삼유효성분의 대량분리 및 동정기술 개발

○ 고품질 다수성 인삼 품종의 육성

- 고품질 다수성 품종의 육성 및 기능성 품종개발
- 인삼 연작을 위한 친환경예정지 관리 방법
- 청정인삼원료 생산을 위한 기능성 미생물 병방제법 개발
- 명품화를 위한 인삼재배지 토양성분분석 및 유해중금속검사

○ 고려인삼의 건강증진 기능성의 고부가가치 제품개발 및 수출을 위한 국제적인 표준효능물질 개발

- 고려인삼 진세노사이드의 혈당개선 효능평가
- 고려인삼의 승열작용에 대한 국제적인 연구를 통한 평가
- 고려인삼제제의 면역역 증진 및 항알레르기에 대한 효능분석
- 고려 인삼 사포닌의 항관절염 효능 평가
- 인삼 추출물로 부터의 도파민 수용체 길항 신소재 발굴
- 인삼사포닌의 세포면역반응 기전 및 면역기능 향상연구를 통한 면역보조제 및 항암효과 규명

○ 소비 촉진 및 수출증진을 위한 국제표준화 명품인삼 제품개발

- 국제표준화 명품 건강기능성 인삼제품 개발
- 봉밀삼 품질개선 기술 및 명품인삼 제품 개발
- 기능성 식품 및 향장품으로의 인삼 신소재 개발
- 표준화 인삼 상품 (캡슐)의 개발

2) 농업인·관련기관단체 및 기업체 관심분야

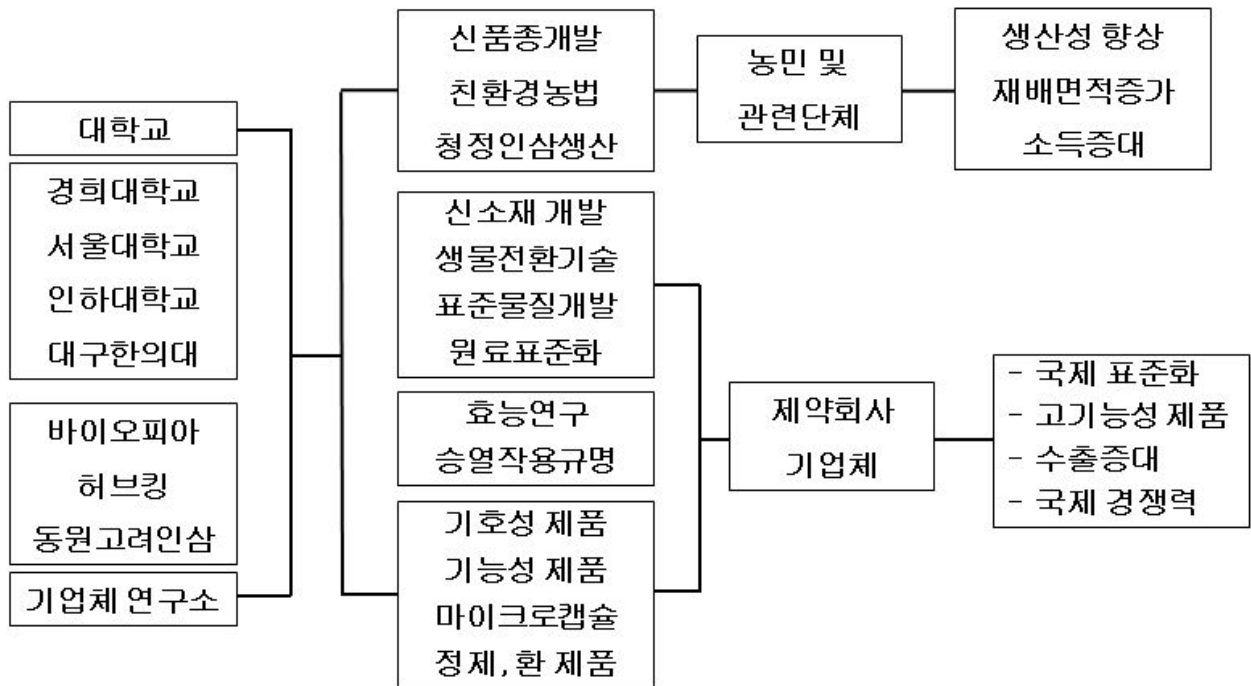
○ 농업인 관련기관 단체

- 인삼의 연작장해 개선 기술
- 고품질 다수성 신품종 육성
- 소득증대를 위한 재배법 보급

○ 기업체

- 수삼의 홍삼화 수출증진
- 인삼 사포닌의 표준화
- 건강기능성 식품 개발 및 상품화 디자인 개발
- 과학적인 자료를 통한 고려인삼의 홍보전략
- 기능성 사포닌의 대량생산 및 제품화
- 발효홍삼개발 및 효능연구

3) 산·학·연 협력방안



제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

1핵심 1세부

<연구 개발 수행 내용>

수출 및 명품인삼을 위한 국제적인 표준 효능 물질 개발

- 최적의 추출용매, 추출온도, 추출방법, 농축방법을 조사
- 진세노사이드 정밀 및 신속 분석법 확립
- 발효를 통한 표준효능물질의 대량생산기술개발
- 고부가가치 유효성분을 변환할 수 있는 유산균의 분리 및 동정
- Rb₁, Rg₁, Rg₃, Rh₂, C-K에 의한 인삼품질의 표준화
- 열처리, 산처리에 의한 신기능성 표준효능물질 생산
- 신기능성 고부가가치 인삼제품 원료의 대량생산

<연구 개발 수행 결과>

표준 효능물질 개발을 위한 고기능성 사포닌의 개발

(1) 김치로부터 유산균 분리

유산균의 분리를 위하여 전국 각지의 가정집 및 음식점에서 식용되는 60 종의 김치를 수집하였으며, 유산균 분리 배지로는 MRS-BPB (MRS-Bromphenol blue) 배지를 사용하였다(Table 1). 각 김치 시료를 채취하여 멸균 증류수로 10배수 희석법(10-fold dilution)에 따라서 $10^0 \sim 10^{-3}$ 으로 희석한 후 MRS-BPB agar 평판 배지에 도말하고 25°C incubator에서 3일 간 배양하여 독립된 집락의 크기, 외형, 색깔, 표면구조 등을 관찰하였다. 집락의 크기나 모양이 다른 것을 다른 균종으로 판단하여 MRS agar 배지(Difco, USA)에 streaking 하였으며, single colony를 4회 계대 배양하여 순수 분리하였다. 순수 분리 된 균주들은 장기 보존을 위하여 20% (v/v) glycerol stock solution을 만들어 -70°C deep freezer에 보관하였다.

Table 1. Composition of MRS-BPB agar

Components	Concentration (g/L)
Proteose Peptone No. 3	10
Beef Extract	10
Yeast Extract	5
Dextrose	20
Polysorbate 80	1
Ammonium Citrate	2
Sodium Acetate	5
Magnesium Sulfate	0.1
Manganese Sulfate	0.05
Dipotassium Phosphate	2
Bromophenol Blue	0.02
Agar	15

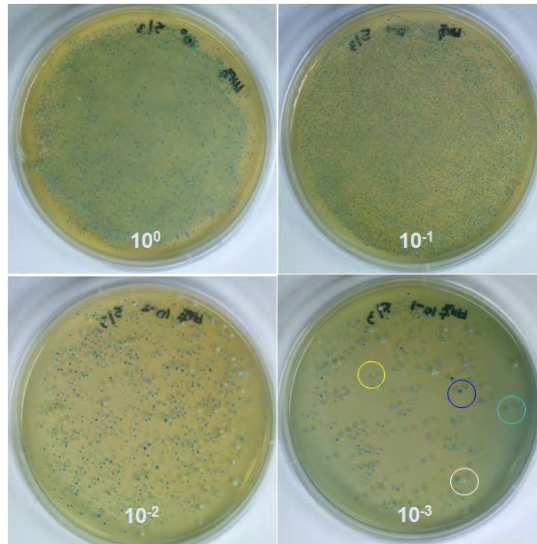


Fig. 1. Screening of lactic acid bacteria in Kimchi using MRS-BPB media according to dilution concentration.

(2) β -Glucosidase 활성 균주 선발

김치시료로부터 분리한 균주 중 ginsenoside Rb₁으로부터 당을 가수분해하여 minor 사포닌으로의 전환에 관여하는 β -glucosidase 활성 균주를 선발하고자 esculin agar법을 사용하였다(Table 2). 기본 배지인 MRS 배지에 esculin을 첨가하여 조제한 배지에 균주를 접종하고 일정시간이 지난 후 colony 주변에 black complex를 형성한 균주를 선발한다. β -Glucosidase는 esculin의 β -glucose를 절단하고, 이 때 생성된 esculetin 이 배지 내에 있던 ferric ammonium citrate와 반응하여 plate상의 colony 주위에 black complex를 형성하게 된다(Fig. 2). 따라서 colony 주위에 black complex가 형성된 균주들을 β -glucosidase 활성을 가지는 균주라고 판단하였다. 본 연구에서는 β -glucosidase 활성을 가지는 균주 300여종을 분리하였으며 각각의 균주에 ginsenoside Rb₁ 을 반응 시켜 실제 사포닌 전환 활성이 있는 지 확인하여 보았다(Table 3).

Table 2. Composition of Esculin agar

Components	Concentration (g/L)
Pancreatic digest of casein	13
NaCl	5
Yeast extract	5
Heart muscle, solids from infusion	2
Esculin	1
Ferric ammonium citrate	0.5
Agar	15

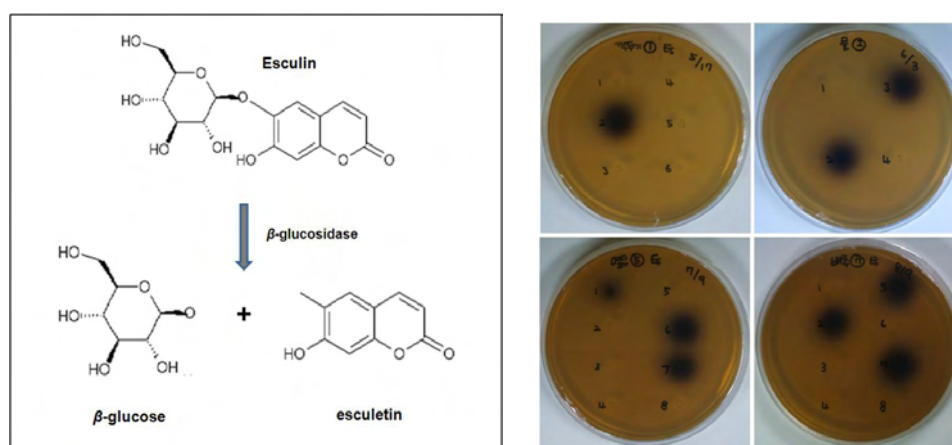


Fig. 2. Decomposition of Esculin by β -glucosidase.

Table 3. List of lactic acid bacteria isolated from Kimchi

Stock No.	Sample name	Identical strain	Similarity (%)	Conversion	Temp. (°C)
1	60301	Lactobacillus sakei	99		37
2	60801	Leuconostoc mesenteroides	99		37
3	61001	Lactobacillus arizonensis	99		37
4	61101	Leuconostoc mesenteroides	99		37
5	61201	Yeast		Rd	30
6	61301	Not determined			37
7	61401	Not determined			37
8	61501	Leuconostoc pseudomesenteroides	99		37
9	61601	Lactobacillus plantarum	99		37
10	61701	Leuconostoc citreum	99		37
11	61901	Leuconostoc citreum	99		37
12	62001	Not determined		Rg ₃	37
13	62301	Lactobacillus paraplantarum	99		37
14	62401	Lactobacillus plantarum	99		37
15	62501	Not determined		Rd	37
16	62601	Lactobacillus sakei	99		37
17	62701	Weissella cibaria	99		37
18	62801	Not determined			37
19	72602	Lactobacillus sakei	99		37
20	72702	Lactobacillus sakei	100		37
21	72807	Not determined			37
22	72903	Lactobacillus sakei	99		37
23	73001	Leuconostoc mesenteroides	99		37
24	73101	Leuconostoc mesenteroides	99		37
25	73111	Lactobacillus brevis	99		37
26	73204	Leuconostoc mesenteroides	99		37
27	73303	Not determined			
28	73407	Not determined			
30	73602	Not determined			37
31	73701	Not determined			37
32	73801	Not determined			37
33	73901	Not determined			37
34	74001	Lactobacillus sakei	99		37
35	74104	Lactobacillus sakei	99		37
36	74202	Not determined			37
37	73302	Not determined			37
38	74401	Not determined			37
39	74501	Leuconostoc citreum	99		37
41	74702	Leuconostoc mesenteroides	99		37
42	74801	Not determined			37
43	74901	Bacillus amyloliquefaciens	99		37
44	75006	Lactobacillus sakei	99		37
45	75201	Not determined			37
46	75402	Leuconostoc mesenteroides	99		37
47	86101	Weissella cibaria	99		37
48	86202	Not determined			37
49	86302	Leuconostoc citreum	99		37

51	86501	Lactobacillus sakei	99		37
52	86601	Pediococcusinopinatus	99		37
53	86702	Leuconostoc citreum	99		37
54	86805	Not determined			37
55	86902	Not determined			
57	87203	Not determined			
59	87401	Not determined			37
60	87501	Lactobacillus sakei	100		37
61	87601	Lactobacillus sakei	99		37
62	87711	Not determined			37
63	87801	Bacillus subtilis	99		37
65	88001	Lactobacillus sakei	99	Rg ₃	37
66	88101	Lactobacillus sakei	99		37
67	88201	Not determined			37
68	88305	Lactobacillussakei	99		37
69	88402	Lactobacillussakei	99		37
70	88503	Lactobacillussakei	99		37
71	88601	Leuconostocitreum	99		37
72	88801	Leuconostocmesenteroides	99	Rg ₃	37
73	88901	Not determined			37
74	89004	Not determined			37
75	89102	Lactobacillusbrevis	99		37
77	89301	Not determined			37
78	89401	Not determined			37
79	89501	Not determined			37
80	89601	Lactobacillusarizonensis	99		37
81	89701	Lactobacillus plantarum	99		
83	810001	Lactobacillus brevis	100	Rg ₃	37
84	910101	Yeast		Rd	30
85	910201	Not determined			37
86	910301	Lactobacillusplantarum	99		37
87	910401	Not determined			37
88	910501	Not determined			37
89	910601	Not determined			37
90	910701	Not determined			30
91	910801	Lactobacillus plantarum		Rg ₃	37
92	910901	Lactobacillusplantarum	100		37
93	911001	Not determined			37
94	911201	Not determined		Rg ₃	37
95	911301	Lactobacillusplantarum	99		37
96	911401	Weissellahellenica	99		37
97	911601	Weissella cibaria	99		37
98	911706	Leuconostocpseudomesenteroides	99		37
99	911804	Weissellacibaria	99		37
100	911901	Not determined			37
101	912001	Lactobacillussakei	99		37
102	912105	Leuconostoc mesenteroides	100		37
103	912301	Weissella cibaria	99		37
104	912401	Not determined			37
105	912501	Weissella cibaria	99	Rg ₃	37
106	912601	Weissella cibaria	99		37
107	912701	Leuconostocitreum	99		37
108	912803	Leuconostocgarlicum	99		37
109	912901	Not determined			37

110	913001	Not determined			37
111	913101	Leuconostoc citreum	99		37
112	913201	Leuconostoc citreum	99		37
113	913301	Weissella confusa	99		37
114	913401	Lactobacillus paraplantarum	99		37
115	913501	Not determined			37
116	913601	Weissellacibaria	99		37
117	913701	Lactobacillus alimentarius	99		37
118	913801	Weissella cibaria	99	Rg ₃	37
119	913901	Leuconostoc mesenteroides	99		37
120	914001	Not determined			37
121	KC0201	Not determined			37
122	KC0202	Not determined			37
123	KC0204	Not determined			37
126	KC0218	Lactobacillus siligionis	98		37
128	KC0228	Not determined			37
129	KC0230	Not determined			37
130	KC0232	Lactobacillus brevis	100		37
131	KC0501	Lactobacillus siligionis	98	Rd	37
132	KC0502	Bacillus subtilis	99	Rd	37
133	KC0503	Lactobacillus siligionis	98	Rd	37
134	KC0505	Bacillus subtilis	99	Rd	37
135	KC0506	Lactobacillus siligionis	98	Rd	37
136	KC0507	Lactobacillus siligionis	98	Rd	37
137	KC0508	Lactobacillus siligionis	98	Rd	37
138	KC0509	Lactobacillus siligionis	98	Rd	37
139	KC0510	Not determined		Rd	37
140	KC0701	Not determined		Rd	37
141	KC0702	Not determined		Rd	37
143	KC0704	Not determined		Rd	37
144	KC0705	Not determined			37
145	KC0706	Lactobacillus siligionis	99	Rd	37
146	KC0707	Not determined			37
147	KC0708	Not determined		Rd	37
148	KC0709	Arthrobacter davidanieli	99	Rd	30 ~ 37
149	KC0710	Arthrobacter davidanieli	99	Rd	30 ~ 37
150	KC0711	Arthrobacter davidanieli	99	Rd	30 ~ 37
151	KC0712	Not determined		Rd	30 ~ 37
152	KC0713	Not determined		Rd	30 ~ 37
153	KC0714	Arthrobacter davidanieli	99	Rd	30 ~ 37
156	KC0717	Not determined			37
157	KC0718	Not determined		Rd	37
159	KC0720	Not determined			37
160	KC0721	Not determined			37
165	KC0726	Not determined			
166	KC0727	Not determined		Rd	37
167	KC0728	Not determined			
168	KC0729	Not determined		Rd	37
170	KC0731	Not determined		Rd	37
171	KC0732	Not determined		Rd	37
172	KC0735	Not determined		Rd	30 ~ 37
174	KC0737	Lactobacillus plantarum		Rg ₃	37
176	KC0739	Not determined		Rd	37

177	KC0740	Not determined		Rd	37
178	KC0741	Not determined		Rd	37
180	KC0743	Not determined		Rd	37
181	KC0744	Bacillus subtilis	99	Rd	37
182	KC0745	Not determined		Rd	37
183	KC0746	Not determined		Rd	30 ~ 37
184	KC0747	Lactobacillus siligionis	98	Rd	37
185	KC0748	Lactobacillus brevis ATCC367	100	Rd	37
186	KC0749	Not determined			30 ~ 37
187	KC0901	Not determined			30 ~ 37
188	KC0902	Not determined			37
189	KC0903	Lactobacillus sakei	98		30 ~ 37
190	KC0904	Not determined			37
192	KC0906	Not determined			37
193	KC0907	Not determined			37
194	KC0908	Not determined			37
195	KC1301	Not determined			37
196	KC1302	Leuconostoc lactis	99		30 ~ 37
197	KC1303	Not determined			30 ~ 37
198	KC1304	Not determined			37
199	KC1305	Not determined			37
200	KC1306	Not determined			37
201	KC1307	Not determined			37
202	KC1308	Not determined			37
204	KC1602	Not determined			37
205	KC1603	Not determined			37
206	KC1604	Not determined			37
207	KC1701	Not determined			37
208	KC1702	Not determined			37
210	KC1704	Not determined			37
212	KC1706	Not determined			37
214	KC1708	Lactobacillus curvatus	99		37
215	KC2201	Not determined			37
216	KC2202	Not determined			37
220	KC2303	Not determined			37
221	KC2304	Not determined			37
222	KC2401	Not determined			37
223	KC2402	Not determined			37
224	KC2403	Not determined			37
225	KC2701	Not determined			30 ~ 37
226	KC2702	Not determined			37
227	KC2703	Not determined			37
228	KC2704	Not determined			30 ~ 37
229	KC2705	Not determined			37
230	KC2706	Not determined			37
231	KC2707	Not determined			37
232	KC2708	Not determined			37
233	KC2709	Not determined			37
234	KC2710	Not determined			37
235	KC4401	Not determined			27
236	KC4403	Not determined			37
237	KC4404	Not determined			37
238	KC4501	Not determined			37

239	KC4504	Not determined			37
240	KC4604	Not determined			37
241	A-2	Not determined			37
242	B-1	Not determined			37
243	B251-1	Not determined			37
244	B251-3	Not determined			37
245	B252-3	Not determined			37
247	B371-1	Not determined			37
248	B371-3	Not determined			37
249	B372-2	Not determined			37
251	KC4901	Not determined			37
252	KC4902	Not determined			30
253	LHI	Leuconostoc fallax			30
254	LH3	Leuconostoc mesenteroides		Rd-F2	30
255	LH6	Lactobacillus pentosus		Rd-CK	30
256	MJ-01	Weissella cibaria	100	Rg ₃	37
257	MJ-02	Lactobacillus sakei	99	Rg ₃	37
259	MJ-04	Lactobacillus sakei	100	Rg ₃	37
260	MJ-05	Lactobacillus plantarum	100	Rg ₃	37
261	MJ-06	Weissella cibaria	99	Rg ₃	37
262	MJ-07	Weissella cibaria	99	Rg ₃	37
263	MJ-08	Lactobacillus kimchii	100	Rg ₃	37
264	MJ-09	Lactobacillus sakei	100	Rg ₃	37
265	MJ-10	Lactobacillus sakei	100	Rg ₃	37
267	MJ-12	Pediococcus inopinatus	99	Rg ₃	37
268	MJ-13	Leuconostoc citreum	99	Rg ₃	37
269	MJ-14	Lactobacillus plantarum	100	Rg ₃	37
270	MJ-15	Lactobacillus kimchii	99	Rg ₃	37
271	MJ-16	Lactobacillus plantarum	100	Rg ₃	37
273	MJ-18	Weissella cibaria	100	Rg ₃	37
274	MJ-19	Lactobacillus plantarum	100	Rg ₃	37
275	MJ-20	Lactobacillus casei	99	Rg ₃	37
276	MJ-21	Lactobacillus plantarum	100	Rg ₃	37
277	MJ-22	Lactobacillus sakei	100	Rg ₃	37
278	MJ-23	Lactobacillus sakei	100	Rg ₃	37
279	MJ-24	Leuconostoc mesenteroides	100	Rg ₃	37
280	MJ-25	Weissella soli	99	Rg ₃	37
281	MJ-26	Weissella soli	99	Rg ₃	37
282	MJ-27	Weissella confusa	100	Rg ₃	37
283	MJ-28	Lactobacillus plantarum	100	Rg ₃	37
285	MJ-30	Lactobacillus plantarum	100	Rg ₃	37
286	MJ-31	Lactobacillus plantarum	100	Rg ₃	37
287	MJ-32	Lactobacillus plantarum	100	Rg ₃	37
288	MJ-33	Lactobacillus sakei	100	Rg ₃	37
289	MJ-34	Weissella cibaria	100	Rg ₃	37
290	MJ-35	Weissella cibaria	100	Rg ₃	37
291	MJ-36	Leuconostoc mesenteroides	99	Rg ₃	37
292	MJ-37	Lactobacillus sakei	100	Rg ₃	37
293	MJ-38	Lactobacillus pentosus	100	Rg ₃	37
294	MJ-39	Pediococcus pentosaceus	99	Rg ₃	37
295	MJ-40	Lactobacillus plantarum	100	Rg ₃	37
296	MJ-41	Lactobacillus plantarum	100	Rg ₃	37
297	MJ-42	Lactobacillus pentosus	100	Rg ₃	37
298	MJ-43	Lactobacillus paraplantarum	99	Rg ₃	37

299	MJ-44	<i>Lactobacilluspentosus</i>	100	Rg ₃	37
300	MJ-45	<i>Lactobacillusparaplantarum</i>	100	Rg ₃	37
301	MJ-46	<i>Lactobacilluscoryniformis</i>	99	Rg ₃	37
302	MJ-47	<i>Lactobacilluscoryniformis</i>	99	Rg ₃	37
303	MJ-48	<i>Weissellacibaria</i>	99	Rg ₃	37
304	MJ-49	<i>Leuconostocgarlicum</i>	100	Rg ₃	37
305	MJ-50	<i>Leuconostocitreum</i>	99	Rg ₃	37
306	MJ-51	<i>Lactobacilluscurvatus</i>	100	Rg ₃	37
307	6101	Not determined			37
308	6102	Not determined			37
309	6105	<i>Lactobacillus pentosus</i>	99.2		30
310	6108	Not determined			30
311	6201	Not determined			37
312	6204	Not determined			37
313	6206	Not determined			30
314	6207	Not determined			30
315	6208	Not determined			30
316	6209	Not determined			30
317	6502	Not determined			37
318	6504	Not determined			37
319	6505	Not determined			37
320	6507	Not determined			37
321	6509	Not determined			30
322	6510-1	Not determined			30
323	6511	Not determined			30
324	6512	Not determined			30
325	6513	Not determined			30
326	KHU330	<i>Leuconostoccremoris</i>	98.3	Rg ₃	27~30
327	MJ-7	<i>Lactobacillus brevis</i>	99	Rg ₃	37
328	KACC 10553	<i>Lactobacillus brevis</i>			30
329	KACC 10552	<i>Lactobacillus plantarum</i>			30
330	KACC 10770	<i>Leuconostocmesenteroidessubsp.mesenteroides</i>			30
331	KACC 10555	<i>Leuconostocmesenteroidessubsp.cremoris</i>			37
332	KACC 10251	<i>pediococcus dextrinicus</i>			30
333	KACC 10771	<i>Lactobacillusplantarumsubsp.plantarum</i>			37
334	KACC 10006	<i>Lactobacillus salivarius subsp.salivarius</i>			37
335	LH8	<i>Lactobacillus brevis</i>			30
336	NI	<i>Lactobacillus</i> sp.N1			30
337	N6	<i>Lactobacillus</i> sp.N6			30
338	NI6	<i>Lactobacillus</i> sp.N16			30

(3) 인삼사포닌의 변환

β -glucosidase 활성을 가진 것으로 선발된 균주와 실제 인삼 사포닌과의 반응을 통하여 인삼 사포닌 전환 활성 여부를 조사하였다. 반응 실험에 사용한 ginsenoside Rb₁은 인삼유전자원소재은행으로부터 분양받아 사용하였다. 분리된 ginsenoside Rb₁은 0.2M sodium phosphate buffer를 이용하여 1 mM로 만든 후 0.2 μ m membrane filter (Whatman, USA)로 여과 멸균하여 실험에 사용하였다. 5 ml의 MRS broth에 전 배양 시킨 대수증식기의 균주를 1/100(v/v)로 접종 후 배양하여 600 nm에서 O.D 값이 1.5가 되었을 때의 균주 배양액 200 μ l와 1 mM의 Rb₁ 용액 200 μ l을 혼합하여 37°C, 180 rpm 조건의 shaking incubator에서 72 시간 동안 험탁 배양하여 인삼사포닌과의 반응을 유도하였다. 72 시간 반응 후, 반응혼합물에 수포화 부탄올 200 μ l를 넣어 vortexing한 후, 13,000 rpm에서 10분 간 원심분리

하여 상층액을 취하여 사포닌을 추출하였으며, 이 과정을 2회 반복하였다. 이렇게 얻은 부탄올 추출액은 TLC 분석에 사용되었으며, 부탄올 추출액을 농축하여 MeOH로 녹인 후 0.2 μm membrane filter (DISMIC[®]-13JP, Toyo Roshi Kaisha, Ltd, Japan)로 여과하여 HPLC 분석에 사용하였다(Fig. 3).

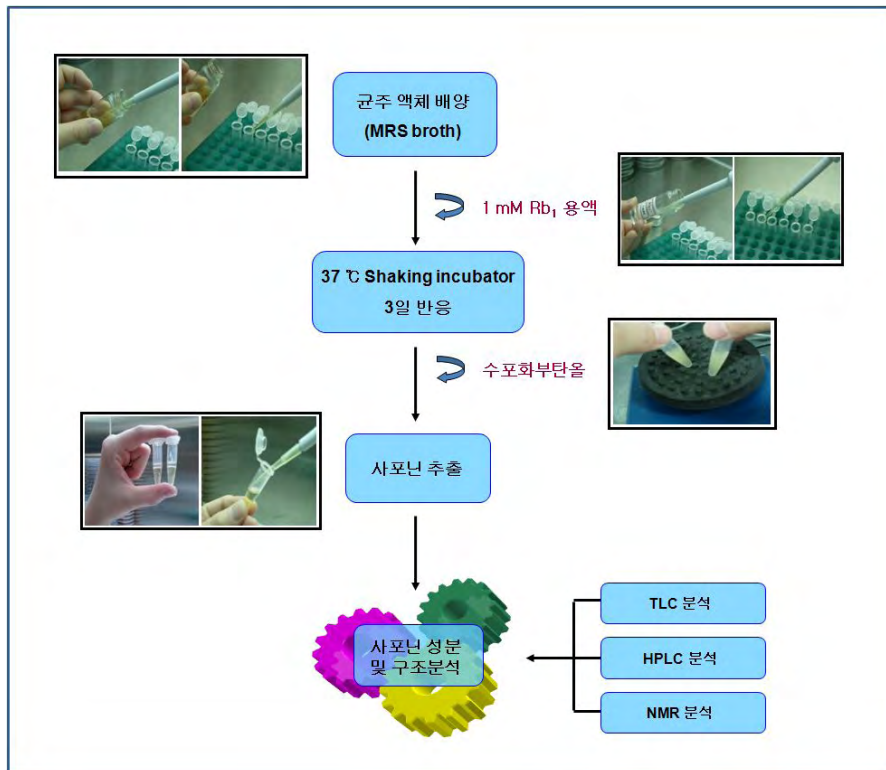


Fig. 3. The experimental scheme of biotransformation of ginsenoside Rb₁.

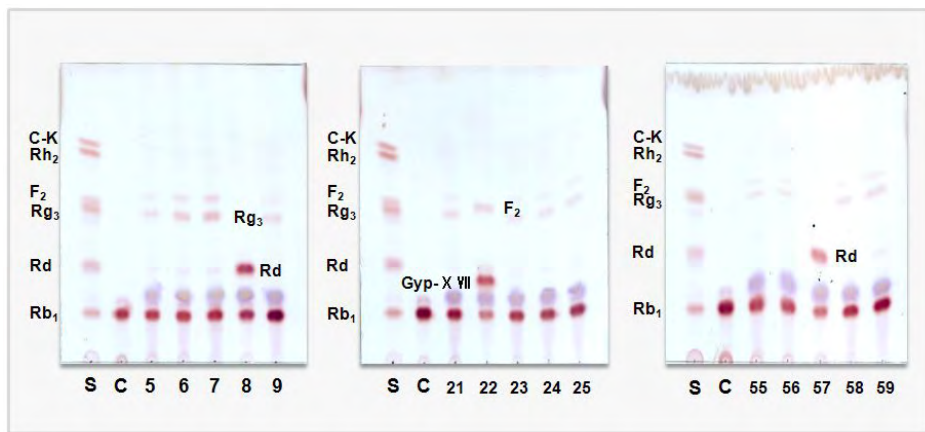


Fig. 4. TLC chromatograms of the ginsenoside-Rb₁ metabolites transformed by β -glucosidase producing strains.

실험 결과 β -glucosidase 활성을 갖는 균주들이 모두 사포닌 변환 능력을 가지고 있는 것은 아니었으며, 변환 능력이 있는 균주들도 ginsenoside Rd, Gypenoside X VII 등으로의 변환만이 뚜렷할 뿐 뛰어난 약리효능으로 관심이 주목되고 있는 ginsenoside Rg₃, ginsenoside Rh₂, compound K 등으로의 변환은 비교적 미약한 것을 볼 수 있었다. 몇몇 특이적인 활성을 가진 균주를 선발하여 최적 성장조건 및 사포닌 전환에 필요한 최적 활성 조건을 탐색하였다.

(4) *Lactobacillus brevis* stain 7 균주의 최적 성장 조건 및 사포닌 전환 조건 탐색

1) 생화학적 특성

API 20NE는 건조된 기질을 함유하고 있는 20개의 tube로 구성되어 있으며, nitrates의 환원, indole production, glucose acidification, 5개의 효소활성 test 및 12개의 당 assimilation 여부를 test 하는 kit 이다. API 20NE test를 통하여 7번 균주가 β -glucosidase 활성을 갖고 있다는 것을 다시 한번 확인할 수 있었다(Table 4). API 50CHL은 *Lactobacillus*의 동정을 위한 배지로서 API 50 CH strips에 있는 49가지의 탄수화물의 fermentation 여부를 알아보는 데 사용된다. 균주를 배양하면 배양된 균주들로부터 발효된 탄수화물이 산을 생성함에 따라 pH가 낮아지게 되며, 배지 안에 들어있던 pH indicator를 통하여 색이 변화하게 되며, 이를 통해 결과를 해석하였다. API 20NE와 API 50CHL을 통하여 7번 균주의 생화학적 특성을 조사해본 결과, 7번 균주는 β -glucosidase, β -galactosidase, arginine dihydrolase, urease 등의 효소 활성을 나타내었으며, DL-arabinose, ribose, D-xylose, galactose, D-glucose, D-fructose, α -methyl-D-glucoside, N-acetyl-glucosamine, esculin, cellobiose, maltose, melibiose, saccharose, D-turanose, gluconate, 2-keto-gluconate, 5-keto-gluconate 등의 탄수화물을 fermentation하는 것을 알 수 있었다(Table 4).

Table 4. Some physiological characteristics of strain 7

Characteristics		Characteristics	
Gram staining	+	α -Methyl-D-mannoside	+
Optimum growth temperature (°C)	37	α -Methyl-D-glucoside	w
Reduction of nitrates	-	N-Acetyl-glucosamine	-
Production of indole	-	Amygdaline	-
Production of acid from glucose	-	Arbutine	-
Arginine dihydrolase	+	Esculin	+
Urease	+	Salicine	-
β -Glucosidase (Esculin hydrolysis)	+	Cellobiose	w
Protease (gelatine hydrolysis)	-	Maltose	w
β -Galactosidase	+	Lactose	-
Assimilation of :		Melibiose	+
Glycerol	-	Saccharose	w
Erythritol	w	Trehalose	-
D-Arabinose	+	Inuline	-
L-Arabinose	+	Melezitose	-
Ribose	+	D-Raffinose	-
D-Xylose	-	Amidon	-
L-Xylose	-	Glycogene	-
Adonitol	-	Xylitol	-
β -Methyl-xyloside	w	β -Gentiobiose	-
Galactose	w	D-Turanose	w
D-glucose	w	D-Lyxose	-
D-fructose	-	D-Tagatose	-
D-Mannose	-	D-Fucose	-
L-Sorbose	-	L-Fucose	-
Rhamnose	-	D-Arabitol	-
Dulcitol	-	L-Arabitol	-
Inositol	-	Gluconate	w
Mannitol	-	2-Keto-gluconate	w
Sorbitol	-	5-Keto-gluconate	w

2) 16S rRNA gene 염기서열 분석

Ginsenoside Rb₁을 ginsenoside Rg₃로 변환시킬 수 있는 7번 균주의 동정 및 계통학적 위치결정을 위해 sequencing을 수행한 결과 7번 균주의 16S rRNA gene 영역은 1,376 bp의 염기로 구성되어 있었으며 *Lactobacillus brevis*의 type strain인 *Lactobacillus brevis* ATCC 14869^T와 99.4%의 similarity를 보여 *Lactobacillus brevis*에 속하는 균주로 확인되었다(Fig. 5-6).

```

----- 10      20      30      40      50      60      70      80      90      100     110     120
CTGCTCAGGACGACGGCTGGCGGCATGCCATATCATGCAAGTCGACGAGCTTCGCTGAAATGACGTGCTTGACACTGATTTCAACAAATGAAGCGAGTGGCGAACTGGTGGATGACACG 120
----- 130     140     150     160     170     180     190     200     210     220     230     240
TGGGGAAATCTGCCCGAAGCAGGGGATACACACTTGGAAACAGGTGCTATATCCGTAATACACACAAAATCCGCATGGATTTTGTGAAAGGTGGCTTCGGCTATCACTTCGGATGATCC 240
----- 250     260     270     280     290     300     310     320     330     340     350     360
CGCGGCGTATATGATGATGTTGGTGGGTAAAGGCCACACAGACGATGATTCGCTGACCGCTGAGAGGGTATATGGCCACATTTGGGACTGAGACACGGCCCAACTCCTACGGGAGGCGAG 360
----- 370     380     390     400     410     420     430     440     450     460     470     480
CAGTGGGAAATCTTCCACAAATGGACGAAATCTGATGGACAAATGCCGCGTGAAGTGAAGAGGGTTTCGGCTCGTAAATCTGTTGTTAAAGAAACACCTTTGAGAGTAACTGTTCA 480
----- 490     500     510     520     530     540     550     560     570     580     590     600
AGGGTTGACGGTATTTAACCAGAAACCCACGGCTACCTACGTCGACGACGCGCGGTATATCAGTGGGTGGCAGCGTTGTCGGATTTATTTGGCGTAAAGCAGCGCAGCGGTTTTTT 600
----- 610     620     630     640     650     660     670     680     690     700     710     720
AAGTCTGATGTGAAGCCCTTCGGCTTACCCGGGAAAGTGCATCGGAACATGGGAGACTTGAGTGCAGAGAGGACAGTGGAACTCCATGTTGACCGGTGAATGCGTGAATATATGGAAG 720
----- 730     740     750     760     770     780     790     800     810     820     830     840
AACACCAAGTGGCGAAGCGCGCTGCTATGCTGTAACAGACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGATTAATATCCCTGCTGATGCCATGCCGTAACGATGATGCTAAGTGT 840
----- 850     860     870     880     890     900     910     920     930     940     950     960
GGAGGGTTTCGGCCCTTCAGTGTGTCAGCTTACGCAATTAAGCACTCCGCTGGGGAGTTCGACCGCAGAGGTTGAARCTCAAGGAATTAACGGGGCCCGCACAGCGGTGGAGCATGTC 960
----- 970     980     990     1000    1010    1020    1030    1040    1050    1060    1070    1080
GTTTAAATCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCGAGGCTTTGACATCTTTCGCCAATCTTGAAGATTAAGACGTTCCCTTCGGGGACAGAAATGACAGGTGGTGCATGTTGTCGTCAGCTCGT 1080
----- 1090    1100    1110    1120    1130    1140    1150    1160    1170    1180    1190    1200
GTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCACAGGCGCACCCCTTATATCAGTTGCCAAGCAATCAGTTGGGCACCTTGGTGAAGACTGCCGGTACAAACCGGAGGAGGTGGGGATGACGT 1200
----- 1210    1220    1230    1240    1250    1260    1270    1280    1290    1300    1310    1320
CAAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTCCTCAATGGACGGTCAACAGGTTGCGAAGTCGTAGGCTTAGCTATATCTTAAAGCCGTTCTCAGTTCCGATTTGAGGC 1320
----- 1330    1340    1350    1360    1370
TGCAACTCGCCTACATGAAGTTGGAATCGCTAGTATCGCGGATCAGCATGCCGCG 1376

```

Fig. 5. The nucleotide sequence of 16S rRNA gene of lactic acid producing strain *Lactobacillus brevis* 7.

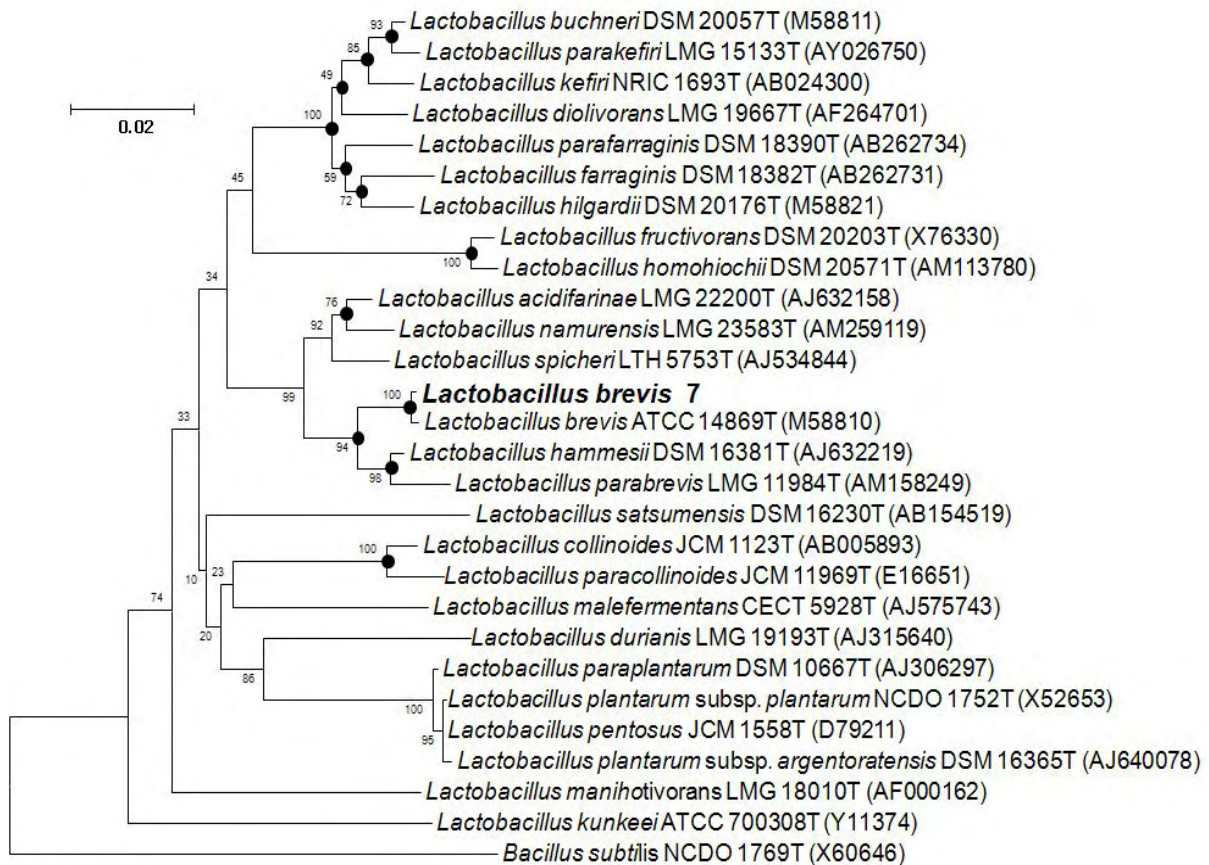


Fig. 6. Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences showing the phylogenetic relationships of the genus *Lactobacillus*. A bar represents 0.02 substitutions per nucleotide position. Dots indicate branches that were also recovered by using Maximum-parsimony algorithms. Bootstrap values were expressed as percentages of 1000 replications at the branch points.

3) β -glucosidase 활성 균주의 성장 특성

인삼사포닌의 변환 수율을 높이기 위해서는 활성 균주의 활발한 생장이 뒷받침 되어야 할 것이다. 따라서 ginsenoside Rg₃로의 변환 능력을 지닌 7번 균주의 성장 특성을 알아보기 위하여 배지 종류, 배지 농도, 배양 온도, 배지의 초기 pH 등의 조건을 달리하여 조사하였다.

4) Culture media에 따른 성장

7번 균주의 성장 정도를 알아보기 위한 배지로, 유산균의 배양을 목적으로 일반적으로 사용되고 있는 MRS medium (Difco, USA)을 비롯하여 lactic acid bacteria medium (Atlas, 1993), *Lactobacillus brevis*의 배양 목적으로 제조된 *Lactobacillus* 8664 medium (Atlas, 1993), sourdough medium (Shin, 2002) 등 4종류의 배지를 사용하였다. 72 시간 동안 37°C shaking incubator에 배양하면서 흡광도를 측정하여 본 결과, 배양 후 2 시간부터 대수증식기에 접어들어, 24 시간에 최대 성장을 나타내었으며, MRS medium에서 다른 배양 배지보다 생장이 활발한 것을 볼 수 있었다(Fig. 7).

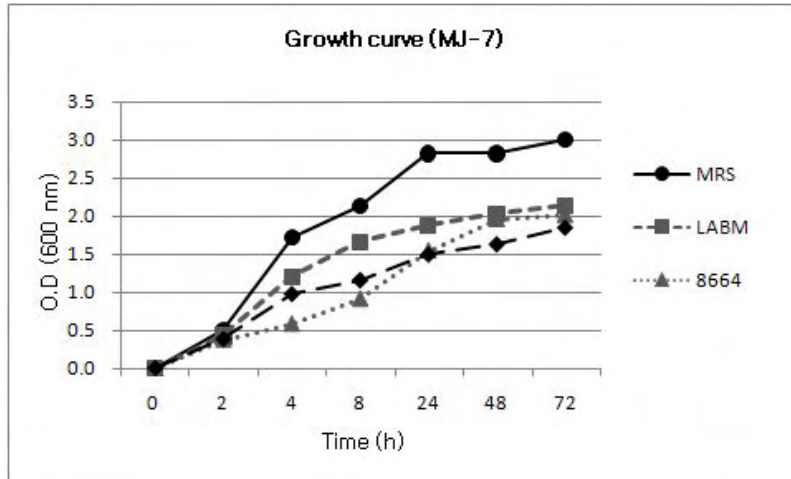


Fig. 7. Cell growth of strain 7 according to kinds of media.

① Culture media의 농도에 따른 성장

Culture media의 종류에 따른 성장 실험에서 가장 생장이 활발하였던 MRS medium을 10%, 25%, 50%, 75%, 100%의 농도로 조절하여 배지 농도에 따른 성장 정도를 알아본 결과, 마찬가지로 배양 2 시간부터 대수증식기에 접어들어 24시간에 최대 성장을 나타내었으며, 100% 농도의 MRS medium에서 가장 생장이 활발하였고, 10% 농도의 배지 조건에서는 생장이 더디게 일어나는 것을 볼 수 있었다(Fig. 8).

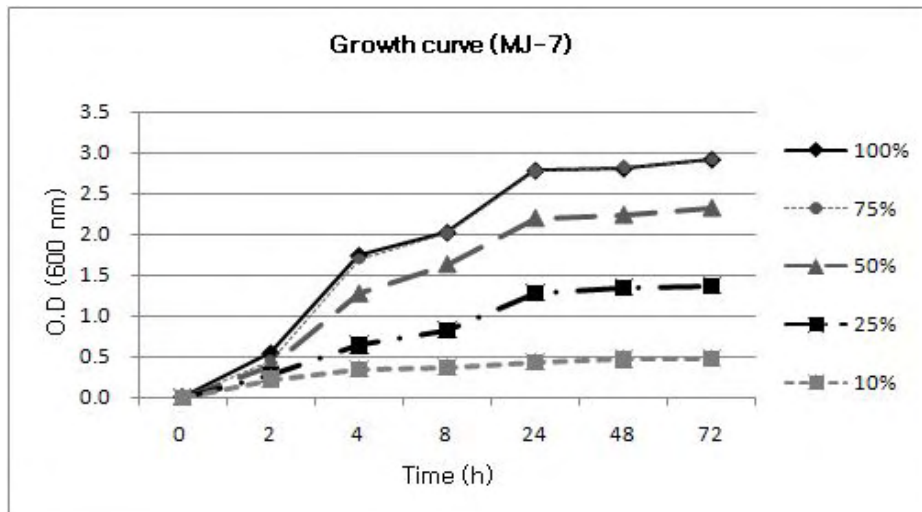


Fig. 8. Cell growth of strain 7 according to concentration of media.

② Culture temperature에 따른 성장

7번 균주의 생장에 있어 배양 온도에 따른 영향을 알아보기 위하여 18℃, 25℃, 30℃, 37℃, 45℃의 조건으로 온도를 달리하여 성장 실험을 해 본 결과, 30~37℃에서 가장 생장이 활발한 것을 볼 수 있었고, 37℃에서는 배양 2 시간부터 24 시간까지, 25℃, 30℃, 45℃에서는 배양 8 시간부터 24 시간까지, 18℃ 온도 조건에서는 배양 8 시간부터 48 시간까지 증식이 활발한 것으로 나타났다(Fig. 9).

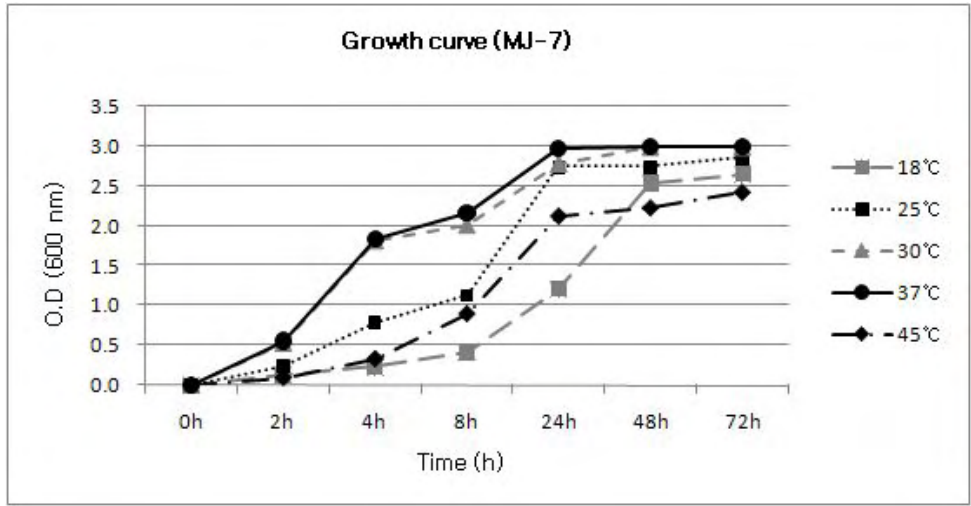


Fig. 9. Cell growth of strain 7 according to culturing temperatures.

③ Culture media의 초기 pH에 따른 성장

MRS medium의 초기 pH를 0.5 N HCl 및 0.5 N NaOH를 이용하여 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 8.0으로 조정하여 배양한 결과, 5.5~8.0까지의 pH 배지에서 활발한 성장을 보였으며, 특히 pH 6.5 ~7.0에서 가장 잘 자라는 것으로 확인되었다. 그러나 pH 3.0에서는 생장이 거의 일어나지 않았다(Fig. 10).

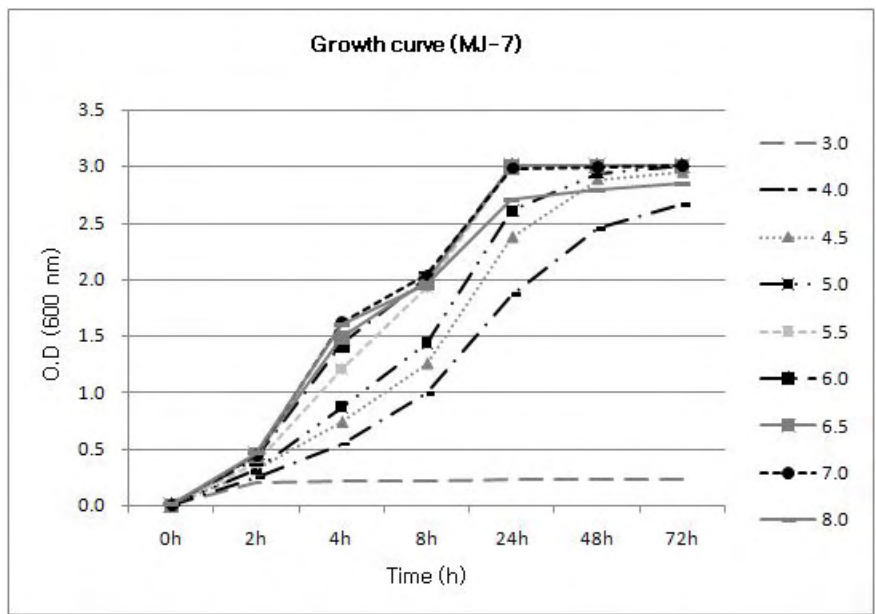


Fig. 10. Cell growth of strain 7 according to pH of media.

5) Ginsenoside Rg₃로의 최적 변환 조건 탐색

① 균주에 의한 변환

TLC를 통하여 7번 균주가 ginsenoside Rb₁을 ginsenoside Rg₃로 변환시킨다는 것을 확인할 수 있었다. HPLC 분석 결과, TLC 상에서는 나타나지 않았던 peak가 여러 개 관찰되었다(Fig. 11). Ginsenoside Rb₁, ginsenoside Rd, ginsenoside F₂, ginsenoside Rg₃, ginsenoside Rh₂, compound K 등 6종 사포닌의 standard (Fig. 11A)와 비교하였을 때, 7번 균주의 변환 산물은 ginsenoside Rd 및 ginsenoside Rg₃로 추정되었으며(Fig. 11C), peak 'a' 는 MRS 배지 상에 존재하는 물질인 것으로 판단된다(Fig. 11B).

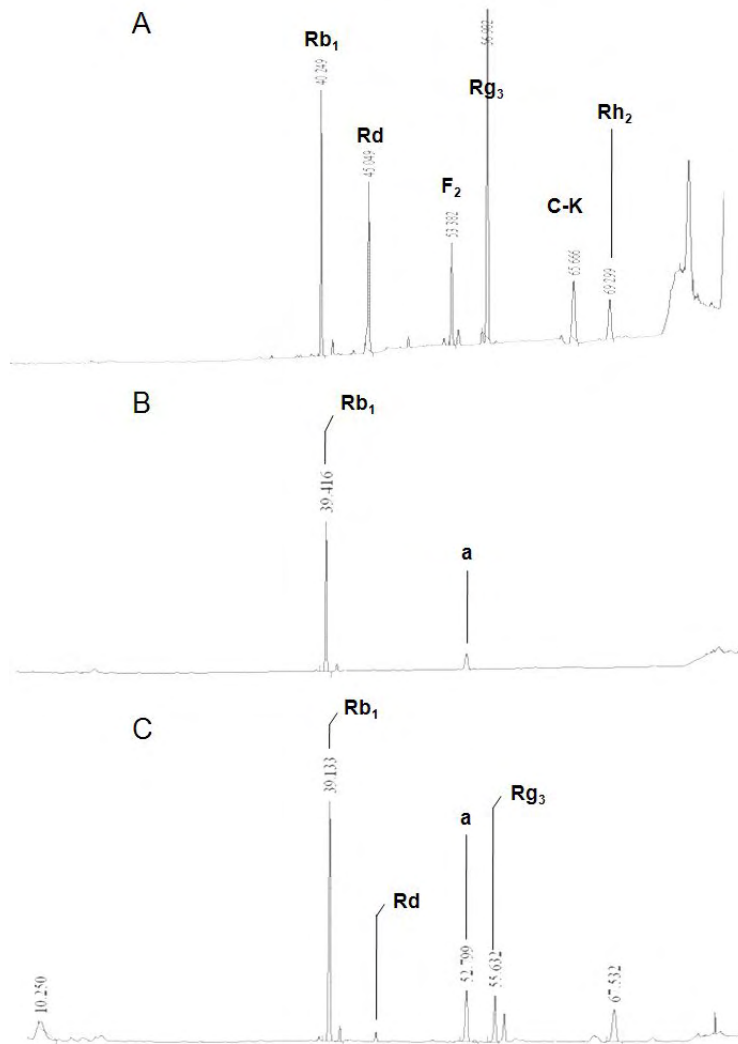


Fig. 11. HPLC chromatogram of ginsenoside-Rb₁ metabolites. A; standard of 6 minor ginsenoside, B; extract from ginsenoside Rb₁ reaction solution with MRS broth as a control, C; extract from ginsenoside Rb₁ reaction solution with strain 7.

Strain 7 균주의 변환 산물인 ginsenoside Rg₃는 silica gel column chromatography와 RP-18 flash column chromatography를 이용하여 순수 분리하였으며, pyridine-d₅로 녹여 ¹H-NMR과 ¹³C-NMR을 통하여 구조 분석을 하였다(Table 5, Fig. 12~13). 구조 동정 결과, 7번 균주에 의한

ginsenoside Rb₁의 변환 산물은 20(S)-ginsenoside Rg₃인 것으로 확인되었다.

Ginsenoside Rg₃; white powder (MeOH); ¹H-NMR (400 MHz, C₃D₅N, δ): 5.36 (1H, d, *J*=7.6 Hz, H-1''), 5.30 (1H, m, H-24), 4.92 (1H, d, *J*=7.6 Hz, H-1'), 3.91 (1H, ddd, *J*=10.0, 9.6, 5.2, H-12), 3.27 (1H, dd, *J*=11.6, 4.4 Hz, H-3), 1.64 (3H, br s), 1.61 (3H, br s), 1.41 (3H, s), 1.28 (3H, s), 1.09 (3H, s), 0.95 (3H, s), 0.94 (3H, s), 0.79 (3H, s); ¹³C-NMR (100 MHz, C₃D₅N, δ) data는 Table 5에 정리하였다.

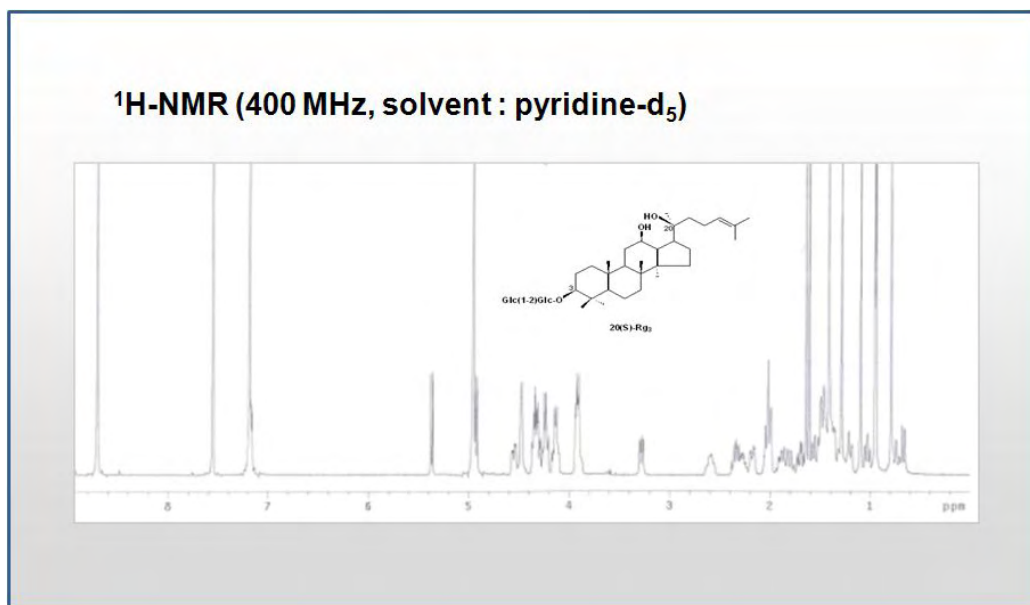


Fig. 12. ¹H-NMR spectrum of the ginsenoside Rg₃ (400 MHz, solvent: pyridine-d₅).

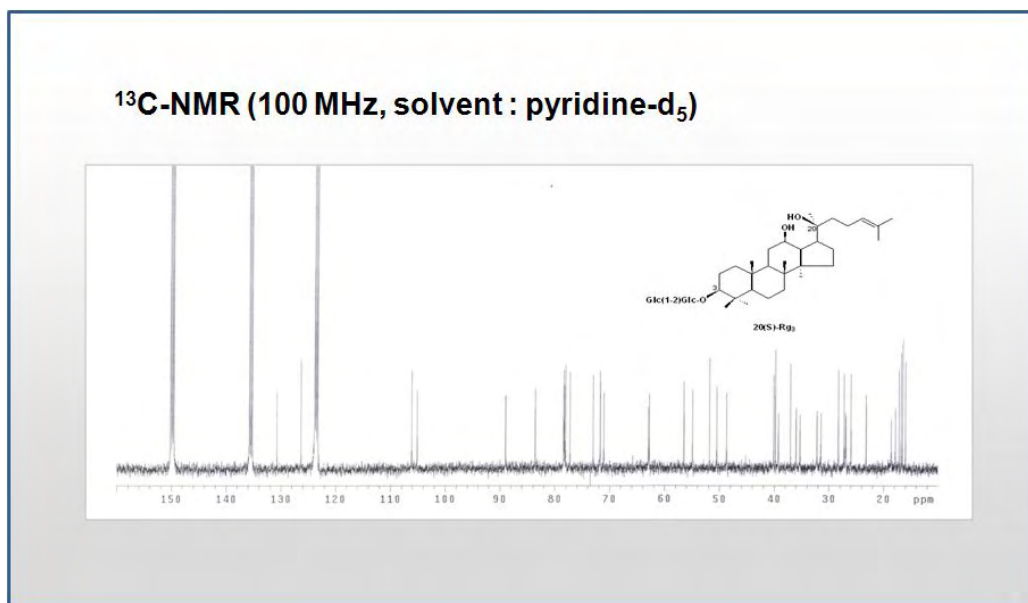


Fig. 13. ¹³C-NMR spectrum of the 20(S)-ginsenoside Rg₃ (100 MHz, solvent: pyridine-d₅).

Table 5. ^{13}C -NMR results of the metabolite produced by the strain 7 (100 MHz, solvent: pyridine- d_5)

(unit : ppm)

Carbon site	20(R)-Rg ₃ *	20(S)-Rg ₃ *	Sample	Carbon site	20(R)-Rg ₃ *	20(S)-Rg ₃ *	Sample
1	39.2	39.2	39.3	22	43.3	36	36
2	26.7	26.8	26.9	23	22.7	23.1	23.2
3	89	89	89	24	126.1	126.4	126.3
4	39.8	39.8	39.8	25	130.8	130.8	130.7
5	56.4	56.5	56.5	26	25.9	25.9	25.9
6	18.5	18.5	18.6	27	17.7	17.1	17.2
7	35.2	35.3	35.3	28	28.2	28.2	27.2
8	40	40.1	40.1	29	16.6	16.7	16.8
9	50.4	50.5	50.5	30	17.4	17.8	17.8
10	37	37	37	1'	105.2	105.2	105.1
11	32.2	32.1	32.2	2'	83.5	83.5	83.6
12	70.9	71	71.1	3'	78	78	78
13	49.3	48.7	48.7	4'	71.8	71.8	71.7
14	51.9	51.8	51.8	5'	78.1	78.3	78.3
15	31.5	31.4	31.5	6'	62.9	62.9	62.9
16	26.8	26.9	27	1''	106.1	106.1	106.1
17	50.7	54.9	54.9	2''	77.2	77.2	77.2
18	15.9	15.9	16	3''	78.4	78.4	78.4
19	16.4	16.4	16.5	4''	71.7	71.7	71.7
20	73	73	73	5''	78.3	78.2	78.2
21	22.8	28.2	28.3	6''	62.8	62.8	62.8

* Data from Teng *et al.*, 2000

㉔ pH에 따른 사포닌 전환 최적 활성 탐색

Ginsenoside Rb₁으로부터 ginsenoside Rg₃로의 변환에 미치는 pH의 영향을 알아보았다. 7번 균주를 대수증식기까지 배양하여 cell을 얻은 후, pH 3.5부터 pH 8.0까지의 0.2 M sodium phosphate buffer 200 μl 로 현탁하여 동량의 ginsenoside Rb₁ 용액과 반응시킨 후 TLC 분석을 해 본 결과, pH 6.0~7.0에서 변환 활성이 가장 좋게 나타났다. 특히 pH 6.0~6.5의 buffer에서는 ginsenoside Rb₁이 모두 분해됨에 따라 ginsenoside Rg₃의 생산이 가장 뛰어난 것으로 확인되었다(Fig. 14).

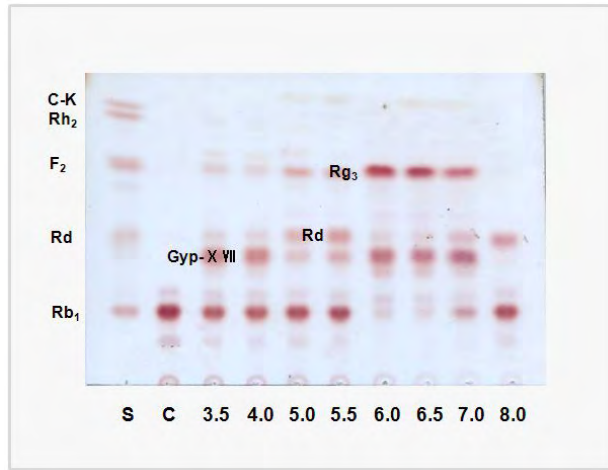


Fig. 14. Effect of pH on the transformation of ginsenoside Rb₁ by strain 7.

③ 조효소에 의한 변환

균주 배양액을 원심 분리하여 얻은 상층액을 acetone 및 ethanol로 침전시켜 얻은 조효소와 cell을 파쇄하여 얻은 조효소를 ginsenoside Rb₁과 반응 시켜 균주배양액 및 cell들과 반응시킨 것들과 비교하여 보았다. 유기용매를 이용하여 단백질을 침전시킬 경우, 유기용매에 따라서 단백질이 변성을 일으키는 경우가 많다. 7번 균주의 경우, 상층액으로부터 acetone 및 ethanol을 이용하여 조효소를 침전시켜 반응 시켜 본 결과 acetone으로 침전시켰을 경우에는 효소 활성이 그대로 유지되지만, ethanol 침전 시에는 acetone으로 침전 시킨 처리구 보다 활성이 조금 떨어지는 것으로 확인되었으며, cell을 파쇄하여 얻은 조효소액에서는 변환이 일어나지 않는 것으로 보아 사포닌 변환 효소는 세포 외 효소인 것으로 추정되었다. 특히 acetone 침전 시, 균주 배양액이나 cell을 buffer에 현탁하여 반응시킨 처리구와도 차이가 없을 정도로 효소 활성이 그대로 유지되는 것을 볼 수 있었다(Fig. 15).

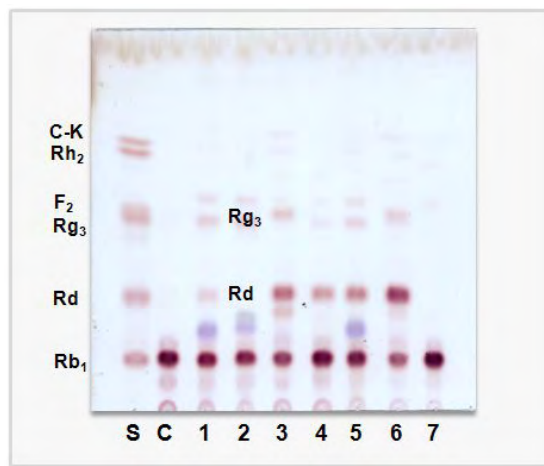


Fig. 15. TLC chromatogram of the ginsenoside Rb₁ metabolites by strain 7. Lane S: standard of 6 ginsenosides, lane C: control, lane 1: suspension culture of strain 7, lane 2: cell-free extract, lane 3: crude enzyme precipitated by acetone, lane 4: crude enzyme precipitated by ethanol, lane 5: cells suspended in MRS broth, lane 6: cells suspended in 0.2 M buffer (Na₂HPO₄/NaH₂PO₄, pH 6.5), lane 7: disrupted cell extract.

④ Ginsenoside Rg₃로의 변환에 미치는 pH의 영향

균주 배양액을 원심분리하여 얻은 상층액으로부터 acetone 및 ethanol을 이용하여 조효소를 추출해 반응시킬 경우 pH에 따른 반응 정도를 알아보기 위해 buffer의 pH를 달리하여 실험해 보았다. Acetone을 이용하여 침전시킨 경우, pH 6.0~7.0 사이에서 ginsenoside Rb₁의 변환이 일어났으며, 특히 pH 6.5의 buffer에 현탁시켜 반응 시킨 처리구에서 ginsenoside Rb₁이 모두 반응하여 ginsenoside Rd 및 ginsenoside Rg₃로 변환되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 16). Ethanol 침전의 경우에는 pH 6.0 ~ pH 8.0 사이에서 ginsenoside Rb₁의 변환이 일어났으며, acetone 침전 시보다 gypenoside XVII로의 변환이 뛰어난 것을 볼 수 있었다. Ginsenoside Rg₃로의 변환은 pH 6.0에서 가장 활발한 것으로 나타났으나, 그 변환 정도는 acetone을 이용하여 침전시킨 것보다 미약한 것을 볼 수 있었다(Fig. 17). 따라서 유기용매를 이용한 조효소 추출법을 이용하여 ginsenoside Rg₃를 대량으로 생산할 경우, acetone을 이용한 침전 후 pH 6.5의 buffer에 녹여 ginsenoside Rb₁과 반응시키는 것이 가장 효율적이라는 결론을 얻을 수 있었다.

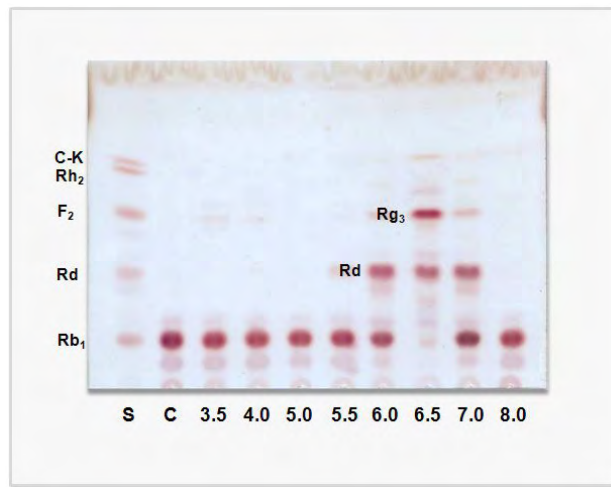


Fig. 16. Effect of pH on the transformation of ginsenoside Rb₁ by crude enzyme of strain 7 precipitated by acetone.

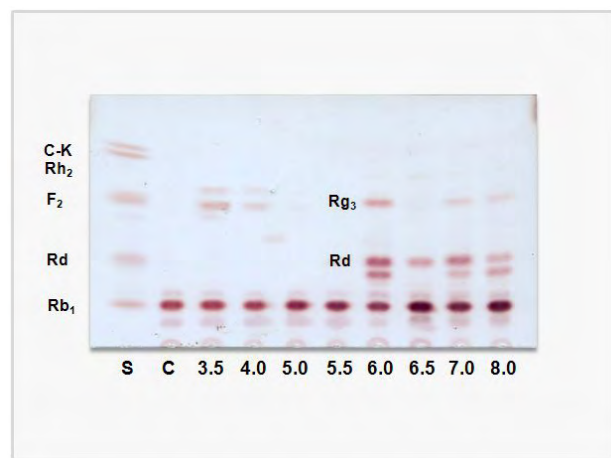


Fig. 17. Effect of pH on the transformation of ginsenoside Rb₁ by crude enzyme of strain 7 precipitated by ethanol.

⑤ Ginsenoside Rd 생산 균주와의 co-culture에 따른 변환

Ginsenoside Rg₃는 효소에 의해 ginsenoside Rb₁으로부터 ginsenoside Rd를 거쳐 생성되거나 ginsenoside Rb₁에서 바로 ginsenoside Rg₃로 생성될 수 있다. 7번 균주는 ginsenoside Rb₁과 반응시켰을 때 ginsenoside Rd와 ginsenoside Rg₃ 모두를 생성하므로 ginsenoside Rd를 거쳐 ginsenoside Rg₃를 생성해 낸다고 추측할 수 있다. 이를 확인하기 위하여 ginsenoside Rd 생산 균주인 28번 균주(Fig. 18A)와 co-culture 함으로써 ginsenoside Rg₃ 생성 과정을 알아보았다. 7번 균주와 28번 균주를 각각 MRS 배지에 액체 배양하여 같은 O.D 값을 가질 때 Ependorf tube에 각각 100 μ l씩 넣어 200 μ l의 1 mM ginsenoside Rb₁과 반응시켜 보았다. 그 결과, 7번 균주와 28번 균주를 각각 반응시킨 처리구 보다 7번과 28번 균주를 함께 넣어 반응시킨 처리구가 ginsenoside Rg₃로의 변환이 더 뛰어난 것을 확인할 수 있었다(Fig. 18B). 따라서 7번 균주를 이용한 ginsenoside Rg₃의 대량 생산을 위해서는 ginsenoside Rd 생산 균주와 함께 반응시켰을 때 그 효율이 더 높다는 것을 알 수 있었으며, 또한 7번 균주에 의한 ginsenoside Rb₁의 변환은 ginsenoside Rd를 거친 ginsenoside Rg₃의 생산이라는 것이 확인되었다. 이에 따른 ginsenoside Rb₁의 변환 과정을 Fig. 19에 나타내었다.

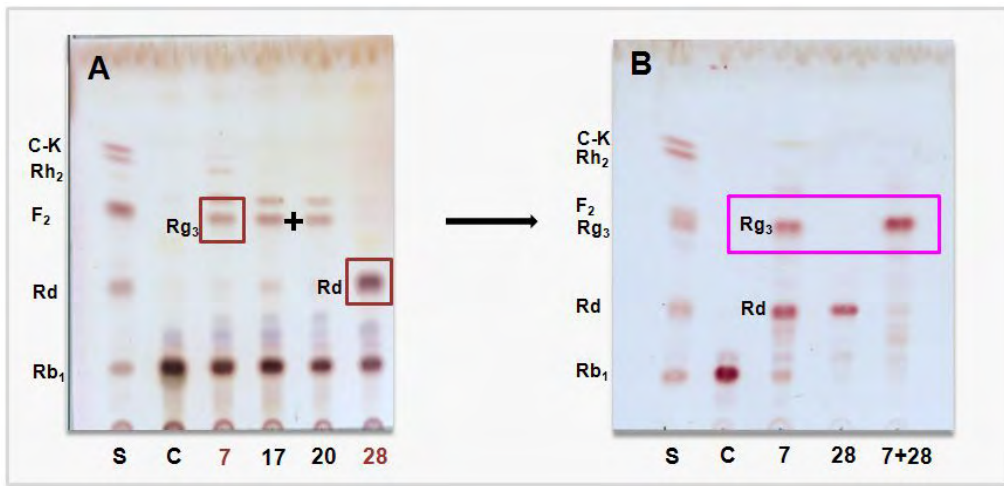


Fig. 18. Effect of co-culture on the transformation of ginsenoside Rb₁ by strain 7 and strain 28.

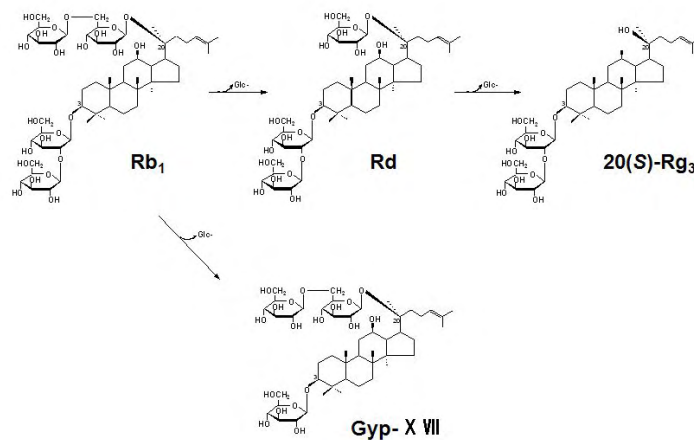


Fig. 19. Biotransformation pathway of ginsenoside Rb₁ by strain 7.

(3) KHU 효소와의 반응

KHU01, KHU03 효소와 1 mM Rb₁을 각각 1:1의 비율로 혼합하여 37°C에서 일정 시간 반응 한 후, 수포화부탄올로 반응을 정지시키고, 사포닌 성분을 추출 하여 TLC 분석을 수행하였다. 시간의 흐름에 따라 KHU01 효소의 ginsenoside Rb₁의 전환을 TLC로 확인 한 결과 control에서 있었던 ginsenoside Rb₁이 효소 반응 1시간 만에 대부분 변환 되는 것을 확인 할 수 있다. 비교적 빠른 시간에 대부분의 기질 물질이 분해된 것으로 보아 KHU01 효소는 뛰어난 사포닌 전환 활성을 가지고 있는 것으로 추정되어지며 대부분의 시간 처리구에서 Rd, F2, C-K가 생성된 것으로 보아 본 효소는 ginsenoside Rb₁을 Rd와 F2를 거쳐 최종적으로 C-K를 생성하는 것으로 생각 되어진다. KHU03 효소와 1 mM Rb₁의 반응의 경우 1시간 동안 반응 시킨 경우 Rb₁이 분해되어 Rd가 생성 되었으며 4시간 동안 처리하였을 때는 대부분의 Rb₁이 분해가 된 것을 확인 할 수 있었고 12 시간 반응 후에는 Rd와 C-K와 Rf값이 유사한 물질이 다량 생성된 것이 확인 되었다. KHU01 효소와 비교하였을 때는 C-K를 최종 대사산물로 한다는 점에서는 유사한 반응을 가지고 있는 것으로 보여 지지만 KHU01 효소가 Rb₁을 기질로 할 때 Rd와 F2를 거쳐 대부분의 물질이 C-K로 변환된 반면에 KHU03 효소의 경우 12시간 반응 후에도 많은 물질이 Rd로 남아 있는 것을 확인 할 수 있었다. 따라서 C-K의 생산을 위해서는 KHU01이 효율적일 것으로 판단되어지나 pathway상 Rd 이후의 생산 가능한 사포닌을 생산하기 위한 응용성은 KHU03이 더 높다고 할 수 있다.

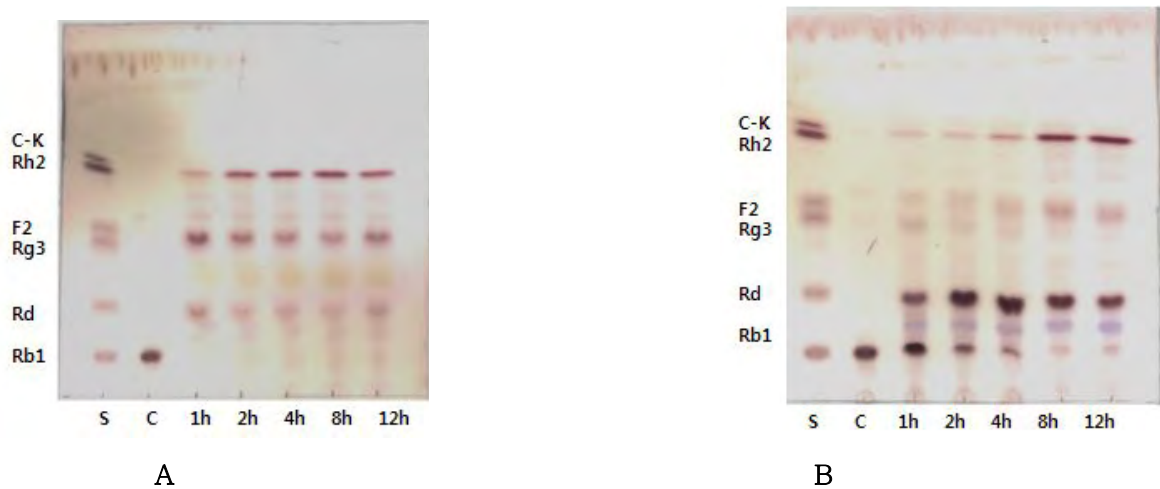


Fig. 20. Conversion of ginsenoside Rb₁ with KHU01 (A), KHU03 (B) enzyme according to reaction times.

(5) JS균주의 최적 성장 조건 및 사포닌 전환 조건 탐색

JS3, JS4, JS5, JS6균주의 16S rRNA gene은 sequencing을 통하여 분석하였으며, NCBI database를 이용하여 분리된 균주와 type strain의 similarity(%)를 확인하였다. 균주들의 16S rRNA 염기서열을 Clustal X program(Thompaon *et al.*,1997)을 이용하여 일정하게 정렬하고, gap는 BioEdit program으로 편집하였다. 균주들의 진화과정을 추적하는 작업은 Kimura two-parameter model(Kimura, 1983)을 이용하였으며 MEGA 3 program(Kumar *et al.*,2004)의 neighbor-joining(Saitou and Nei, 1987)방법으로 계통분류학적 위치를 결정하였다.

JS3 균주의 16S rRNA 염기서열 분석결과는 Fig. 21 에 나타났다. JS3 균주의 16S rRNA sequence를 NCBI에서 BLAST를 이용하여 등록된 균주들과의 상동성을 비교한 결과 *Leuconostoc* 과가장높은상동성을 나타내었다. *Leuconostoc* genus내에 속해 있는 모든 species들의 type strain 의 16S rRNA gene 염기서열을 조사하여 Bioedit program과 Clustal X program을 이용하여 alignment 하고 MEGA3 program으로 phylogenetic tree를 그려 본 후, 이들 중 JS3 균주와 가까운 유연관계를 갖고 있는 species들을 선별하여 다시 phylogenetic tree를 작성하였다(Fig. 22). JS3 균주는 *Leuconostoc lactis* AJ970316 균주와 99% 상동성을 나타내어 *Leuconostoc lactis* JS3으로 동정하였다.

9F→

```

1   TTTTGAGTTT TGGGTTCCGG CTCAGGATGA ACGCTGGCGG CGTGCCTAAT ACATGCAAGT CGAACGCGCA
71  GCGAAAAGTG CTTGCACCTT TCAAGCGAGT GCGGAACGGG TGAGTAAACAC GTGGATAACC TGCCTCAAGG
141 CTGGGGATAA CATTGGAAA CAGATGCTAA TACCGAATAA AACTTAGTAT CGCATGATAC AAAGTTGAAA
211 GCGCTACGG  CGTCACCTAG AGATGGGTCC GCGGTGCATT AGTTAGTTGG TGGGGTAAAG GCCTACCAAAG
281 ACAATGATGC ATAGCCGAGT TGAGAGACTG ATCGGCCACA TTGGGACTGA GACACGGCCC AAACCTCTAC
351 GGGAGGCTGC AGTAGGGAAT CTTCCACAAT GGGCGAAAAGC CTGATGGAGC AACGCCGCGT GTGTGATGAA
421 GGCTTTAGGG TCGTAAAGCA CTGTTGTATG GGAAGAAATG CTAGAATAGG GAATGATTCT AGTTCGACGG
491 TACCATACCA GAAAGGGACG GCTAAATACG TGCCAGCAGC CGCGGTAATA CGTATGTCCC GAGCGTTATC
561 CGGATTTATT GGGCGTAAAG CGAGCGCAGA CGGTTGATTA AGTCTGATGT GAAAGCCCCG AGCTCAACTC
631 CGGAATGGCA TTGAAAACCTG GTTAACTTGA GTGTTGTAGA GGTAAAGTGA ACTCCATGTG TAGCGGTGGA
701 ATGCGTAGAT ATATGGAAGA ACACCAGTGG CGAAGGCGGC TTA CTGGACA ACAACTGACG TTGAGGCTCG
771 AAAGTGTTGG TAGCAAACAG GATTAGATAC CCTGGTAGTC CACACCGTAA ACGATGAATA CTAGGTGTTA
841 GGAGGTTTCC GCCTCTTAGT GCCGAAGCTA ACGCATTAAAG TATTCCGCCT GGGGAGTACG ACCGCAAGGT
911 TGAAACTCAA AGGAATTGAC GGGGACCCGC ACAAGCGGTG GAGCATGTGG TTTAATTCGA AGCAACGCGA
981 AGAACCTTAC CAGGTCTTGA CATCCTTTGA AGCTTTTAGA GATAGAAAGT TTCTCTTCGG AGACAAAGTG
1051 ACAGGTGGTG CATGGTCGTC GTCAGCTCGT GTCGTGAGAT GTTGGGTTAA GTCCCGCAAC GAGCGCAACC
1121 CTTATTGTTA GTTGCCAGCA TTCAGTTGGG CACTCTAGCG AGACTGCCGG TGACAAACCG GAGGAAAGCG
1191 GGGACGACGT CAGATCATCA TGCCCCTTAT GACCTGGGCT ACACACGTGC TACAATGGCG TATAACAACGA
1261 GTTGCCAACC CGCGAGGGTG AGCTAATCTC TAAAAGTACG TCTCAGTTCC GACTGCAGTC TGCAACTCGA
1331 CTGCACGAAG TCGGAATCGC TAGTAATCGC GGATCAGCAC GCCGCGGTGA ATACGTTCCC GGGTCTTGTA
1401 CACACCGCCC GTCACACCAT GGGAGTTTGT AATGCCCAA GCGGTTGGCC TAACCTTATG GAGGGAGCCG
1471 TCTAAGGCAG GACAGATGAC TAGGGTGAGT CA ← 1512R

```

Fig. 21. 16S rRNA gene sequence of strain JS3.

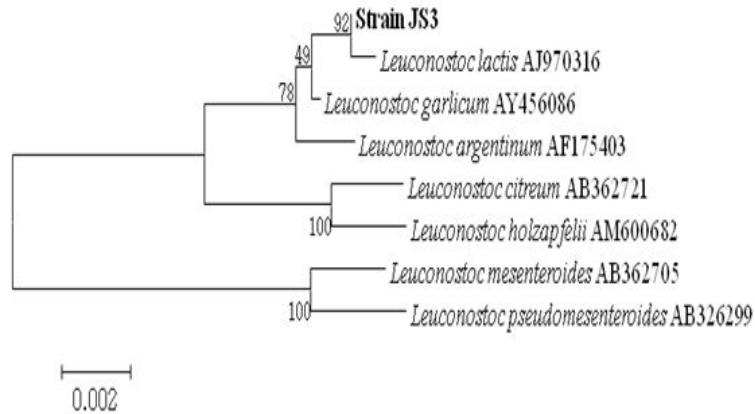


Fig. 22. Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene5 sequence, showing the phylogenetic relationships among strain JS3 and related species.

1) 배지 종류에 따른 균주의 성장

배지의 종류에 따른 성장률을 조사하기 위하여 Difco 회사의 MRS broth (Table 6), Luria-Bertani broth (LB) (Table 7), nutrient broth (NB) (Table 8), tryptic soy broth (TSB) (Table 9) 등 4종류의 배지를 사용하였다. 균주를 각각 MRS broth에 접종하여 진탕 배양기에서 37°C, 190 rpm으로 O.D₆₀₀값이 1.0 이 될 때까지 배양하였다. 균주 배양액을 멸균된 MRS broth, LB, NB 및 TSB 에 각각 1%(v/v) 접종하고 같은 배양조건으로 48시간 배양하였다. 배양과정 중 일정한 간격으로 O.D₆₀₀값을 측정하여 균의 배지 별 성장속도를 비교하였다.

Table 6. Composition of MRS medium

Ingredients	Amount (g/L)
Proteose peptone No.3	10.0
Beef extract	10.0
Yeast extract	5.0
Dextrose	20.0
Polysorbate 80	1.0
Ammonium citrate	2.0
Sodium acetate	5.0
Magnesium sulfate	0.1
Manganese sulfate	0.05
Dipotassium Phosphate	2.0

Table 7. Composition of LB medium

Ingredients	Amount(g/L)
Yeast extract	5.0
Sodium chloride	10.0
Tryptone	10.0

Table 8. Composition of NB medium

Ingredients	Amount(g/L)
Beef extract	3.0
Peptone	5.0

Table 9. Composition of TSB medium

Ingredients	Amount(g/L)
Dextrse	2.5
Dipotassium phosphate	2.5
Enzymatic digest of soybean meal	3.0
Manganese sulfat	17.0
Sodium chloride	5.0

2) 온도에 따른 균주의 생장

JS3, JS4, JS5, JS6 균주를 MRS broth에서 O.D₆₀₀값이 0.8~1.2 일 때 MRS broth에 1% 접종하여 각각 25℃, 30℃, 37℃, 45℃에서 190 rpm 으로 24시간 배양하였다. 배양액은 600 nm 에서 O.D₆₀₀값을 측정하여 균주의 적절한 배양온도 조건을 조사하였다.

3) pH에 따른 균주의 생장

MRS broth를 0.5 N HCl과 0.5 N NaOH를 이용하여 pH 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0으로 조절 한 후 JS2, JS3, JS4, JS5, JS6 균주 배양액이 O.D₆₀₀값이 0.8~1.2 일 때 MRS broth에 1% 접종하여 190 rpm 으로 24시간 배양하고 600nm에서 O.D₆₀₀값을 측정하여 균주의 적절한 pH 조건을 조사하였다.

(가) 인삼 사포닌의 전환

1) 조효소 조제 및 ginsenoside Rb1과의 반응

Esculin 방법을 이용하여 김치에서 분리한 β-glucosidase 활성 JS2, JS3, JS4, JS5, JS6 균주를 MRS 배지를 사용하여 37℃, 190 rpm 에서 현탁 배양하였다. 균 배양액은 4℃ 에서 15,000 ×g 로 10 분 원심분리 하여 세포를 제거하고 상층액은 4배의 냉각 EtOH을 첨가하여 충분히 혼합시킨 후 0℃ 에 서 40분 방치하여 단백질을 침전시켰다. 위 용액은 4℃ 에서 10,000 ×g 로 40분 원심분리 후 상층액 은 버리고 침전물은 20 mM sodium phosphate buffer (pH 6.0)에 용해시켜 조효소액으로 사용하였다. 위와 같은 방법으로 제조한 JS3, JS4, JS5, JS6 균주의 조효소액을 0.2mM ginsenoside Rb₁과 1:4(v/v)의 비율로 혼합하여 30℃, 190 rpm 에서 72시간 반응시켰다. 반응과정 중 24시간 간격으로 반응혼합물을 1.5 ml 씩 취하여 동량의 수포화부탄올로 추출하여 감압농축 한 후 TLC 및 HPLC 로 ginsenoside Rb₁의 전환여부를 확인하였다.

(나) *Leuconostoc lactis* JS3 균주에 의한 사포닌의 전환

1) 배지에 따른 균주의 최적 생장 조건 탐색

Leuconostoc lactis JS3 균주를 colony를 취하여 MRS broth에서 24 시간 배양한 현탁액을 LB,

NB, TSB, MRS에 1%(v/v) 씩 접종한 후 190 rpm, 37°C 조건에서 배양하여 일정한 시간간격으로 O.D₆₀₀ 값을 측정하여 균주의 성장을 확인하였다(Fig. 23).

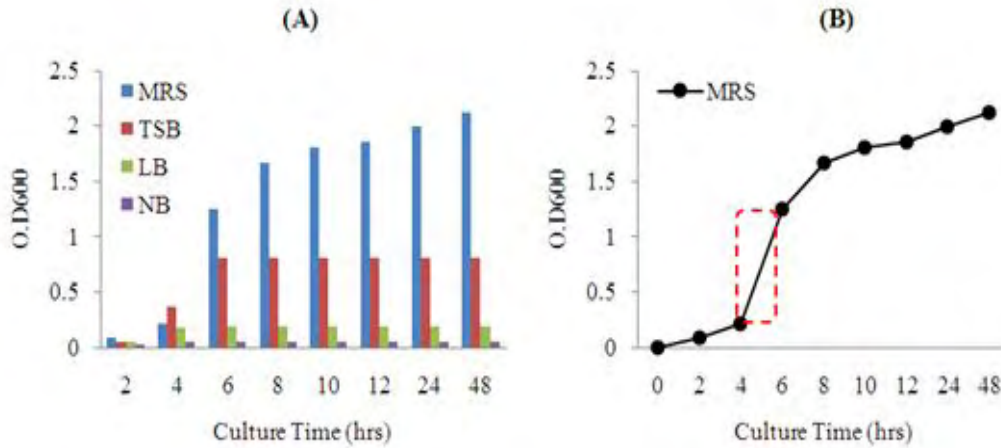


Fig. 23. Growth of the *Leuconostoc lactis* JS3 cultured in various media. Optical density was measured at 600nm.

Leuconostoc lactis JS3 균주의 성장속도는 MRS>TSB>LB>NB 순으로 나타났다. MRS broth와 TSB에서의 성장속도는 배양 4시간까지 유사하였지만 그 이후로 MRS broth에서의 성장속도가 가장 빠른 것을 확인할 수 있었다(Fig. 23A). MRS 배지에서의 성장곡선을 그려 본 결과, JS3균주는 4~6시간 사이에 성장 속도가 가장 빠르므로 이 균주의 대수기라는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 23).

2) 온도 및 pH에 따른 최적 성장 조건 탐색

Leuconostoc lactis JS3 균주는 MRS broth에 접종하여 배양온도를 각각 25°C, 30°C, 37°C, 45°C로 24 시간 배양하여 O.D₆₀₀ 값을 측정하였다(Table 10). 그 결과 *Leuconostoc lactis* JS3 균주의 생장은 온도의 영향을 많이 받았다. *Leuconostoc lactis* JS3균주는 37°C에서 가장 높은 성장속도를 보였고 30°C, 25°C순으로 성장속도가 느려지며 45°C에서 잘 자라지 않는 것을 확인할 수 있었다.

Table 10. Effect of culture temperature on the growth of *Leuconostoc lactis* JS3

Temperature(°C)	25	30	37	45
O.D ₆₀₀	1.579	1.616	1.713	0.195

MRS broth를 HCl 과 NaOH를 이용하여 pH를 조절한 후 *Leuconostoc lactis* JS3 균주를 24시간 배양하였다(Table 11). 균주는 pH5.0에서 잘 자라지 않았으며 pH6.5 ~ 8.0범위 내에는 큰 차이 없이 모두 잘 성장하는 것을 확인할 수 있었다. MRS broth 자체의 pH가 6.7이기 때문에 아래의 실험에서 pH를 조절하지 않고 직접 균 배양에 사용하였다.

Table 11. Effect of pH value of culture medium on the growth of *Leuconostoc lactis* JS3

pH	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0
O.D ₆₀₀	0.390	1.276	1.708	1.894	1.914	1.941	1.973

3) TLC 분석에 의한 사포닌 변환 패턴 확인

반응 시간에 따른 ginsenoside Rb₁의 전환을 Fig. 33에서 나타내었다. 반응 24시간부터 ginsenoside Rb₁은 gypenoside XVII로 전환되기 시작하였고 반응 48시간에는 gypenoside XVII, ginsenoside Rd, F₂로 전환되었으며 반응 72시간에는 ginsenoside Rb₁이 전부 분해되어 compound K 로 전환되는 것을 관찰할 수 있었다.

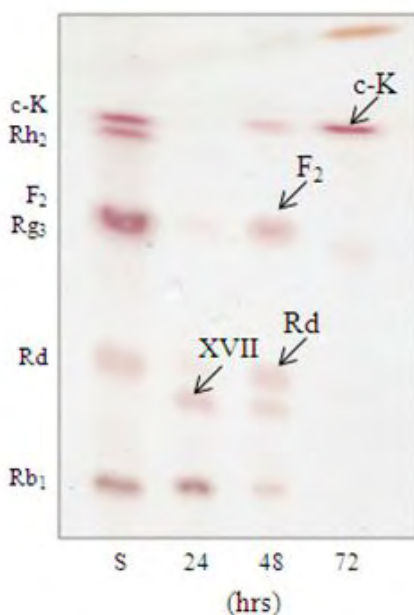


Fig. 24. TLC analysis of time-course bioconversion of ginsenoside Rb₁ by the crude enzyme of *Leuconostoc lactis* JS3 at 30°C ; pH6.0. Developing solvent: CHCl₃/MeOH/H₂O(65:35:10,by vol.,lowerphase) .S:saponinstandards

효소 활성에 미치는 온도의 영향

Ginsenoside Rb₁의 전환효소의 최적 반응 온도를 알기 위해 온도 별로(25°C, 30°C, 37°C, 50°C, 60°C) 48 시간 반응시켜 그 결과를 확인하였다. *Leuconostoc lactis* JS3 의 조효소 액과 Rb₁의 반응은 Fig. 15 에서 보다 실험이 온도의 영향을 크게 받았다. TLC분석에서 *Leuconostoc lactis* JS3 균주의 조효소 액의 활성은 30°C에서 가장 뛰어나며, 25°C와 37°C이상의 온도에서는 효소활성이 급격히 저하되는 것을 관찰 할 수 있었다(Fig. 24).

온도 별 반응산물을 HPLC를 통하여 정량분석을 수행한 결과 TLC분석과 유사한 경향을 나타내었다 (Fig. 25B). 즉 효소의 활성은 30°C에서 가장 높은 활성을 보였고 25°C에서도 활성이 비교적 높지만 37°C이상의 온도에서는 효소활성이 급격히 저하되는 것을 관찰 할 수 있었다. 이는 *Candida peltata* 유래의β-glucosidase의 최적반응온도가 50°C(Saha and Bothast, 1996), *Rhizopusjaponicas*유래의 β-glucosidase 의 최적 온도는 45°C(Kim *et al.*,1989),*Paecilomycesthermophila*의 β-glucosidase의 최

적 온도는 75°C(Yang *etal.*,2008)등 기존의 보고들과 달리 좀 낮은 온도를 나타냈고 *Leuconostoc brevis* LH8 유래의 β -glucosidase의 최적 온도는 30°C(Quan *etal.*,2008)라는 보고와 유사하였다.

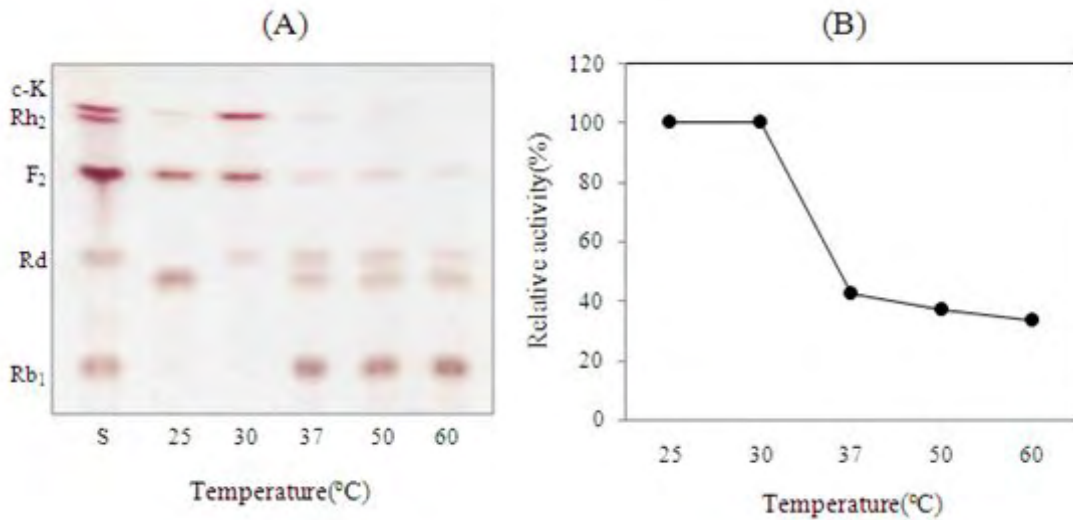


Fig.25. Effects of incubation temperature on the enzyme activity of converted ginsenoside Rb₁(A) and relativeactivity(B).

5) pH조건에 따른 효소 활성 확인

Leuconostoc lactis JS3균주의 조효소 액의 활성에 대한 pH의 영향을 조사한 결과 TLC상에서 pH5.0~10.0에서 높은 활성을 나타내었고 그 중 pH 6.0~8.0이 가장 높은 ginsenoside Rb₁의 전환활성을 나타내었으며 pH 4.0과 pH 10.0에서는 효소활성이 급격이 저하된 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 26A). pH별 반응 산물을 HPLC로 정량분석한 결과 비슷한 경향이 나타났다(Fig. 26B). 이것은 *Paecilomyces thermophila*의 β -glucosidase의 최적 pH는 6.2 (Yang *etal.*,2008), *Rhizopusjaponicus* 유래의 β -glucosidase의 최적 pH는 4.8~5.0 (Kim *etal.*,1989),*Leuconostocbrevis* LH8 유래의 β -glucosidase의 최적 pH는 6.0~12.0 (Quan *etal.*,2008), *Candidapeltata* 유래의 β -glucosidase의 최적 pH는 5.0(Saha and Bothast, 1996), 등 기존의 보고들과 유사하였다.

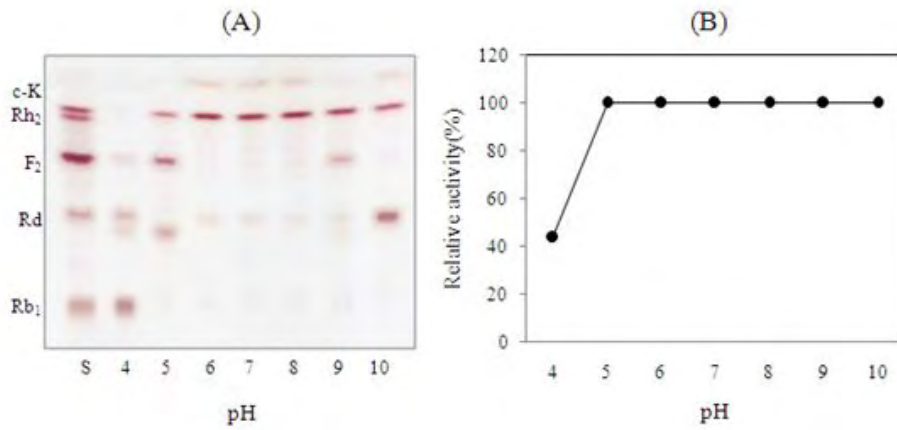


Fig. 26. Effects of pH (4.0~10.0) on the enzyme activity producing ginsenoside compound K (A) and relative activity (B).

6) HPLC를 이용한 사포닌 변환 확인

Leuconostoc lactis JS3 이 생산한 효소에 의한 ginsenoside Rb₁의 전환을 HPLC를 이용하여 확인하였다. Fig. 17의 A, B, C는 각각 반응 24 시간, 48 시간, 72 시간의 HPLC분석 결과로, 반응 72 시간의 HPLC 분석 결과로, 반응 24시간에 ginsenoside Rb₁(retentiontime44분)의 peak 가 감소되면서 ginsenoside Rd(retention time 51분)와 gypenoside XVII로 전환되기 시작하였다(Fig. 27A). Fig. 27B에서 반응 48시간에 ginsenoside Rb₁은 대부분 ginsenoside Rd 와gypenoside XVII, F₂,compoundK로 전환되는 것을 확인할 수 있었다. Fig. 17C의 retention time 81분에 나타난 peak의 분해산물은 compound K로서 반응 72시간에는 ginsenoside Rb₁이 전부compound K로 전환되었다. *Leuconostoc lactis*JS3균주가 생산하는 효소는 ginsenoside Rb₁을 Rb₁→ Rd, Gyp XVII → F₂→ compound K 의 순으로 전환시켰다(Fig. 28).

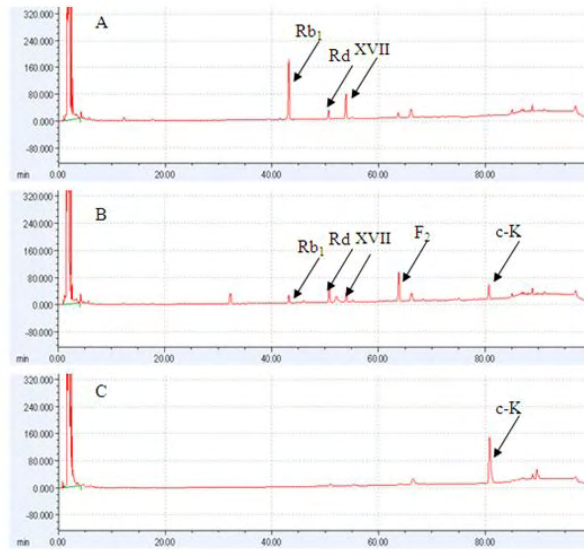


Fig. 27. HPLC profile of the metabolites of ginsenoside Rb1 converted by *Leuconostoc lactis* JS3. *Leuconostoc lactis* JS3 crude enzyme with 0.2mM ginsenoside Rb1 and then incubated for 24h(A), 48h(B), 72h(C) extracted by n-BuOH, evaporated vacuo and analyzed by HPLC after dissolved in MeOH.

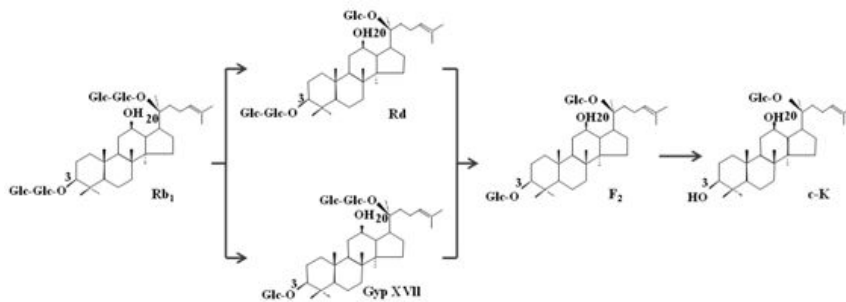


Fig. 28. Proposed transformation pathway of ginsenoside Rb1 to compound K by the crude enzyme of *Leuconostoc lactis* JS3.

(6) 열처리에 의한 인삼사포닌 변환 분석

(가) 열처리 및 산처리에 의한 인삼 사포닌 변화 패턴 분석

4년근 수삼을 이용하여 열처리 및 산처리를 수행하였다. 산처리의 경우 4년근 수삼을 1% citric acid 용액에 침지하여 열처리를 수행하였고 열처리는 90, 100, 110, 120℃에서 각각 3시간씩 수행하였으며 모든 시료는 60℃ 열풍건조기에서 건조시켜 사포닌 추출에 이용하였다. 건조된 시료를 분쇄하여 1g 씩 정량하고 환류냉각 추출법으로 1시간씩 총 2회 추출하여 모아진 추출액은 감압농축하여 이를 BuOH 추출법을 통해 조사포닌을 얻고 얻어진 조사포닌은 HPLC grade MeOH에 용해시켜 이를 TLC 및 HPLC 분석에 이용하였다(Fig. 29).

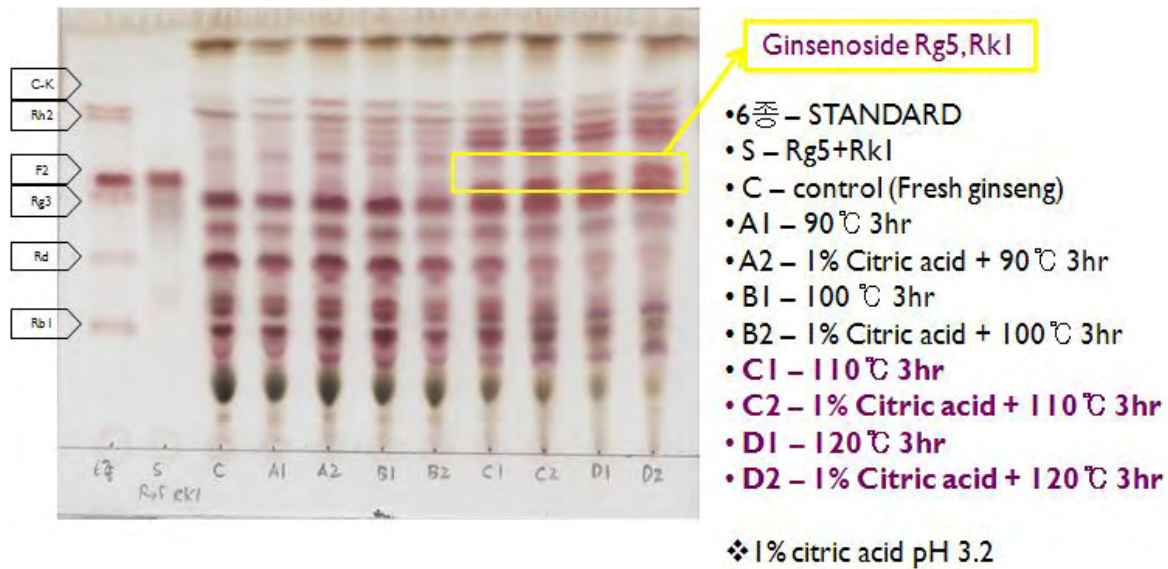
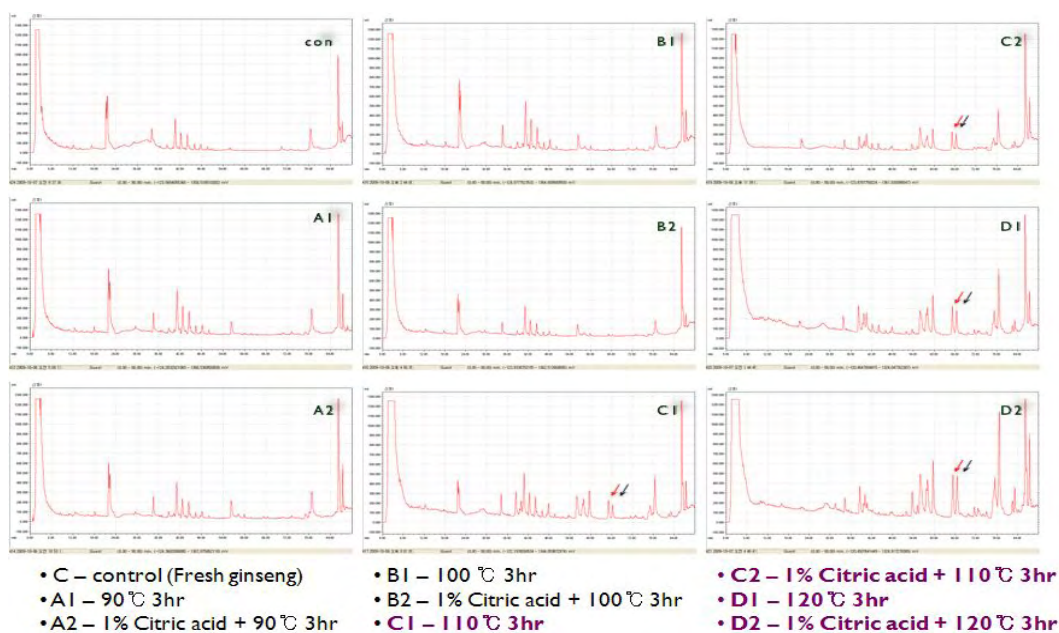


Fig. 29. The analysis of saponin transformation by heat and acid treatment.

위의 결과에서 알 수 있듯이 수삼에 일반 열처리만 하게 되면 Rg3등의 사포닌이 생성되지만 다른 Minor 사포닌으로의 변환은 미미한 것으로 나타났다. 하지만 열과 산을 같이 처리할 경우에는 ginsenoside Rk1과 Rg5가 생성되는 것을 확인 할 수 있다(Fig. 30).



❖ 1% citric acid pH 3.2

	Rb1	Rb2	Rc	Rd	Re	Rg1	Rg3	Fk1+RG5
con	2.065	1.02	0.871	0.358	0.964	0.492		
A1	3.263	1.829	1.238	0.447	0.571	0.781		
A2	2.441	1.307	1.054	0.601	0.595	0.458	1.806	
B1	1.665	0.68	0.544	0.964	0.652	0.834	2.326	
B2	2.239	1.153	0.97	0.401	0.333	0.492	1.082	
C1	3.057	1.66	1.269	1.01	0.258	0.323	2.678	3.78
C2	0.777	0.355	0.226	1.013	0.055	0.123	2.684	3.96
D1	0.921	0.442	0.31	0.245	0.034	0.049	3.245	5.97
D2	0.627	0.14	0.1	0.228			5.39	8.45

Fig. 30. The analysis of saponin transformation pattern by HPLC

HPLC 분석에서도 역시 산처리를 같이 병행 한 경우 ginsenoside Rb1, Rb2, Rc, Rd 등의 major 사포닌의 양이 줄어들고 상대적으로 Rg3 및 Rk1, Rg5의 양이 많아진 것을 확인 할 수 있다. 비교적 온도가 높을 수록 시간이 길수록 상대적으로 더 많은 변환이 이루어진 것을 확인 할 수 있다. 이러한 Rk1과 Rg5는 현재까지 Rg3로부터 생성된다고 알려져 있다(Fig. 39). ginsenoside Rk1과 Rg5의 경우 Protopanaxdiol의 aglycon이 dehydroxyprotopanaxdiol 구조로 바뀌어지게 된다. 본 연구에서는 단일 물질을 이용하여 실제 어떠한 조건에 의해 ginsenoside Rk1, Rg5가 생성되는지 알아보기 위하여 Rb1, Rd, Rg3를 각각 이용하여 사포닌의 변환을 유도하였다.

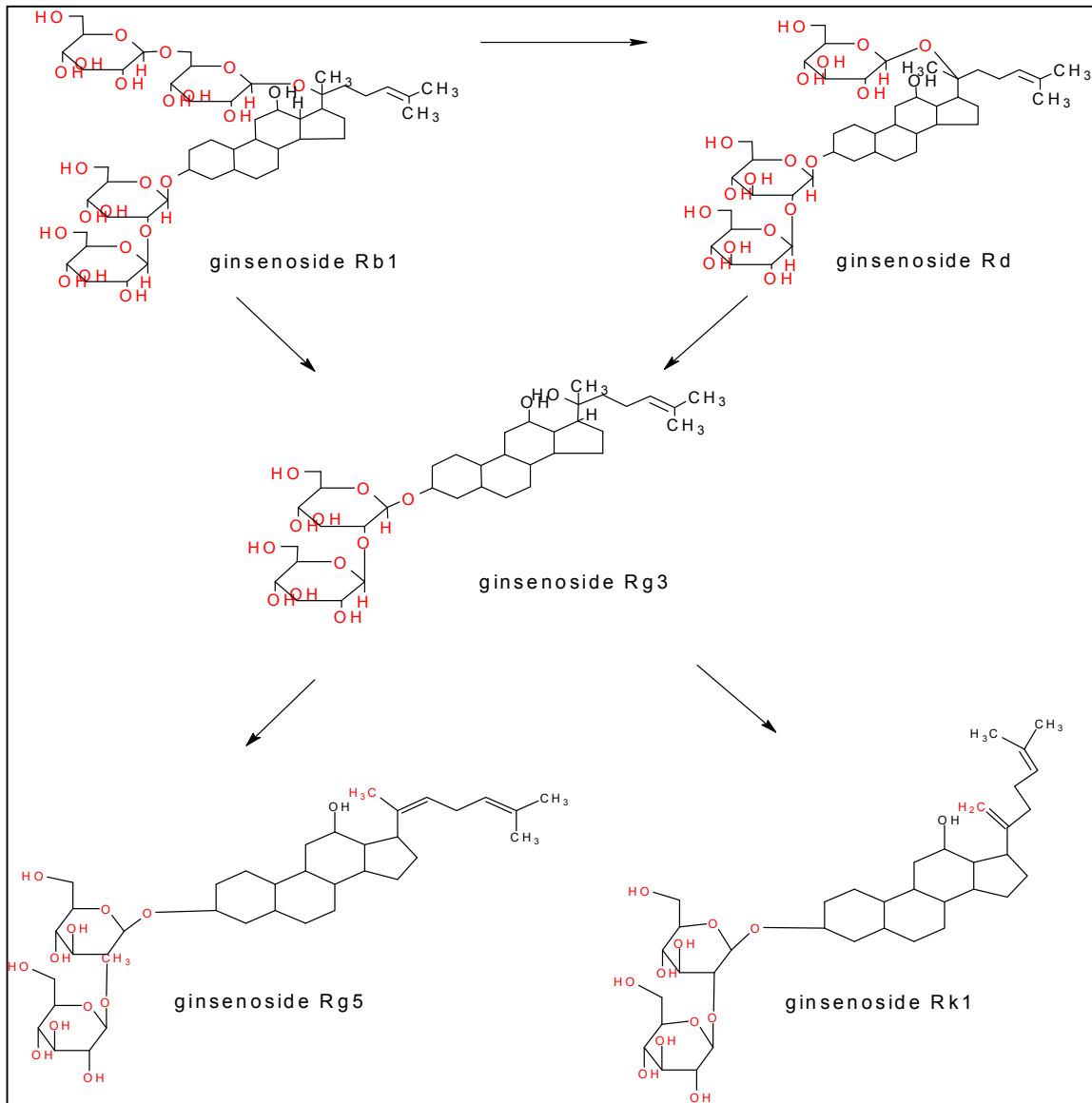


Fig. 31. The transformation pathway of ginsenoside Rg5 and Rk1

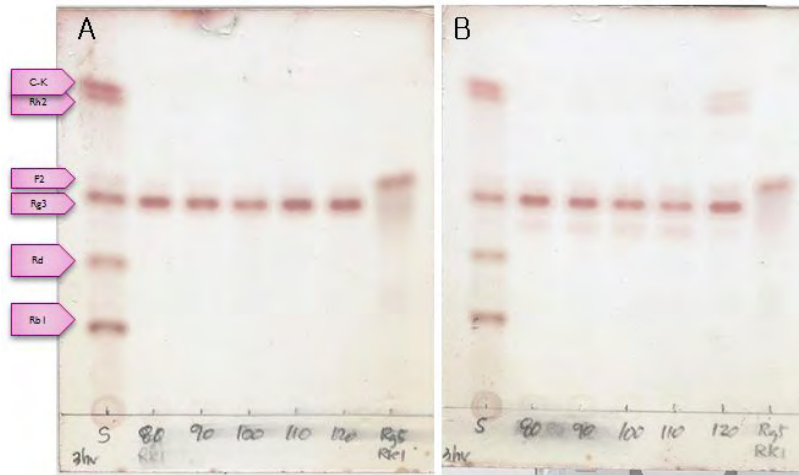


Fig. 32. Heat and Acid Treatment of ginsenoside Rg3. A: ginsenoside Rg3 treated heating 80, 90, 100, 110, 120°C for 3hr, B: ginsenoside Rg3 treated citric acid (pH2.8) and heating 80, 90, 100, 110, 120°C for 3hr

Fig. 32에서와 같이 ginsenoside Rg3를 예비실험을 통해 Rk1 및 Rg5가 생성되었던 열처리 및 산처리를 병행하는 조건으로 반응실험을 진행한 결과이다. 실제 수삼으로 실험을 진행하였을 때오 달리 ginsenoside Rg3가 거의 변화되지 않는 것을 알 수 있었다. 이는 기존에 알려진 ginsenoside Rg3로부터 Rk1 및 Rg5가 생성된다는 기존 연구와 차이가 있는 것으로 좀 더 세부적인 연구가 필요로 하였으며 이에 따라 Rb1를 이용하여 동일 연구를 다시 수행하였다.

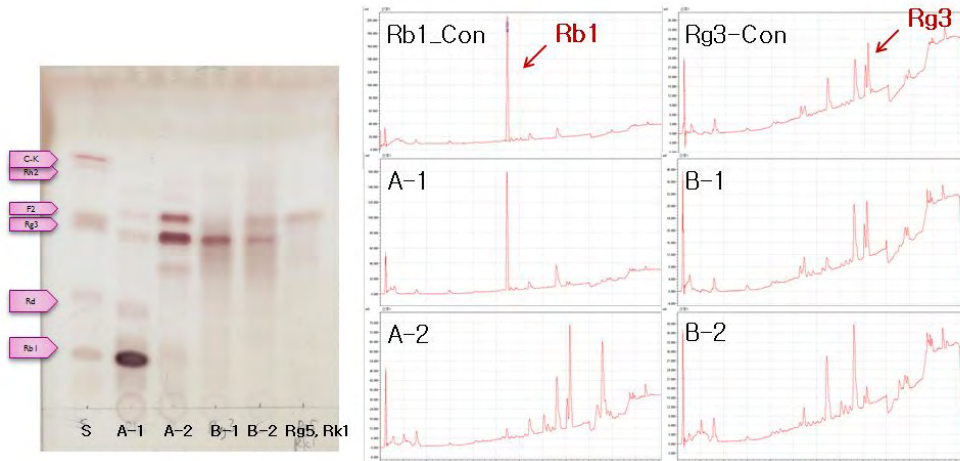
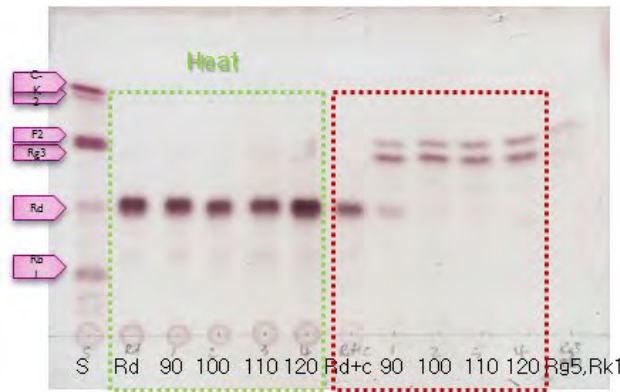


Fig. 33. Heat and Acid Treatment of ginsenoside Rb1. S - standard, A-1; ginsenoside Rb1 treated heating at 120°C for 3hr, A-2; ginsenoside Rb1 treated citric acid (pH 2.8) and heating at 120°C for 3hr, B-1; ginsenoside Rg3 treated heating at 120°C for 3hr, B-2; ginsenoside Rg3 treated citric acid (pH2.8) and heating at 120°C for 3hr; Rg5, Rk1 - ginsenoside Rg5, Rk1.

Fig. 33을 통해 ginsenoside Rb1을 이용하였을 때 Rg3 및 Rk1, Rg5가 생성되지만 Rg3로부터는 거의 생성되지 않는 것을 확인 할 수 있었다. 이는 Rg3를 통해 Rk1, Rg5가 생성되지 않는 것을 뒷받침 해 줄 수 있다고 판단되었다.



TLC & HPLC chromatogram of Ginsenoside

- S – standard
- Rd – ginsenoside Rd
- 90 - ginsenoside Rd treated heating 90 °C 3hr
- 100 - ginsenoside Rd treated heating 100 °C 3hr
- 110 - ginsenoside Rd treated heating 110 °C 3hr
- 120 – ginsenoside Rd treated heating 120 °C 3hr
- Rd+c – ginsenoside Rd treated citric acid (pH2.8)
- 90 - ginsenoside Rd treated citric acid (pH2.8) and heating 90 °C 3hr
- 100 - ginsenoside Rd treated citric acid (pH2.8) and heating 100 °C 3hr
- 110 - ginsenoside Rd treated citric acid (pH2.8) and heating 110 °C 3hr
- 120 - ginsenoside Rd treated citric acid (pH2.8) and heating 120 °C 3hr
- Rg5, Rk1 – ginsenoside Rg5, Rk1

Fig. 34. Heat and Acid Treatment of ginsenoside Rd

Rd를 이용하여 반응 시켜본 결과 다량의 Rk1 및 Rg5가 생성됨을 확인 할 수 있었다. 이로보아 열처리와 산처리를 통해 Rb1 및 Rd를 이용하여 Rk1 및 Rg5를 효과적으로 생산 할 수 있을 것이다. 하지만 Rg3의 경우 대부분의 물질이 그대로 남아 있어 Rg3를 이용하는 것은 비효율적이라고 판단된다. Rk1 및 Rg5는 구조적으로 Rg3와 거의 유사하며 aglycon만이 약간 다르다는 이유로 ginsenoside Rg3로부터 유래 되었다고 추측되어져 왔지만 실제 연구결과 Rg3에서는 변환 되지 않는 것으로 나타났으며 연구결과로 보아 Rb1 및 Rd의 단계에서 aglycon이 변화 되어 그 후 Rg3가 생성되었을 거라 추측된다. 본 연구를 좀 더 명확화 하기 위해 각 단계별 사포닌 변환 패턴에 따른 물질을 분리하여 LC/MS 및 NMR등을 통한 연구가 계속적으로 이루어져야 할 것으로 생각된다.

(7) 사포닌 변환 효소의 screen

기존 연구를 통해 다양한 사포닌 전환 균주를 탐색하였고 동정하였다. 각각의 균주는 사포닌을 특이적으로 바꾸는 고유의 특성을 가지고 있으며 이들 특징은 결국 균주가 분비하는 효소에 종류에 기인한 것으로 판단 된다. 따라서 본 연구에서는 사포닌을 특이적으로 분해하는 효소를 screening 하기 위해 사포닌 변환 균주를 이용하여 효소를 정제하고자 하였다. *L. cremoris* KHU330 균주는 ginsenoside Rb1을 C-K로 바꾸는 활성을 가지고 있다(Fig. 35, 36). 균주의 효소활성을 최대화 하기 위해 균주의 배양 시 Elicitor로 carbon source를 첨가하여 효소활성을 확인 하여본 결과 Lactose의 첨가시 효소 활성이 최대가 되는 것으로 확인 되어 균 배양시 1%의 Lactose를 첨가하였으며 그 배양액을 조효소 조제에 이용하였다.

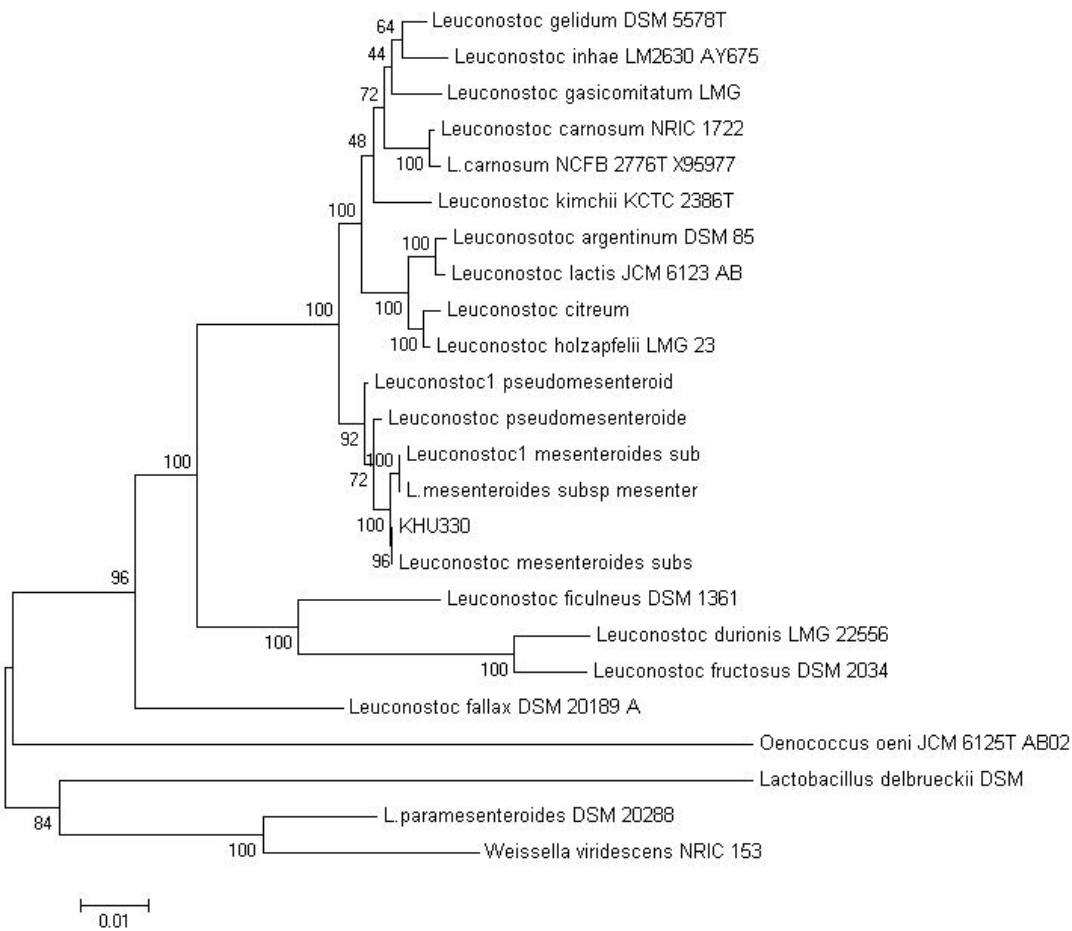
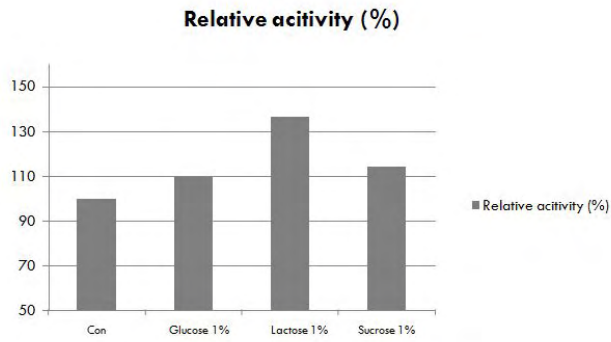


Fig. 35. Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequence showing by the phylogenetic relationships between strain KHU330 and related species.



<Carbon Source>

	Con	Glucose 1%	Lactose 1%	Sucrose 1%
Glucosidase activity (U/ml)	0.78	0.83	0.95	0.86
Relative activity (%)	100	109.44	136.65	114.31

Fig. 36. The effect of three carbon sources(glucose, lactose, sucrose) on enzymatic biosynthesis

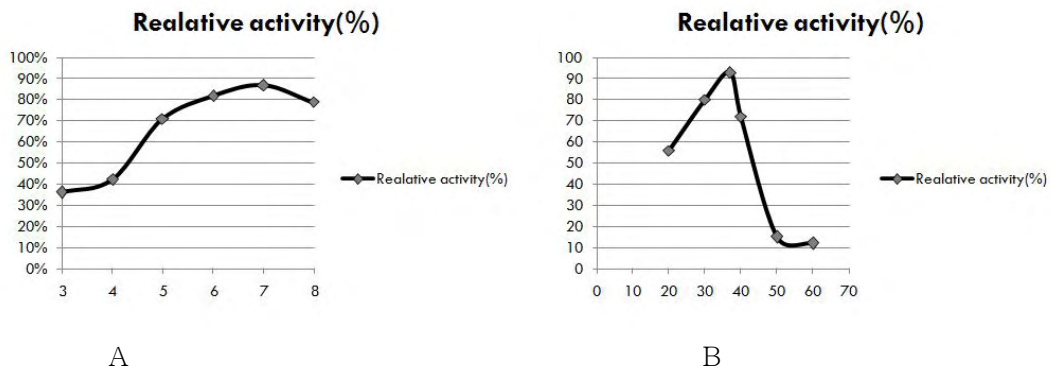


Fig. 37. Effect pH(A) and of temperature (B) on enzyme activity and stability.

분리 된 효소를 이용하여 최적 효소 활성 조건을 기본으로 하여 ginsenoside Rb1과 반응 시켜 본 결과 12시간 이후 대부분의 사포닌이 전환되어 ginsenoside C-K가 생성되는 것을 확인 하였고 이를 HPLC로 확인하였다(Fig. 38, 39).

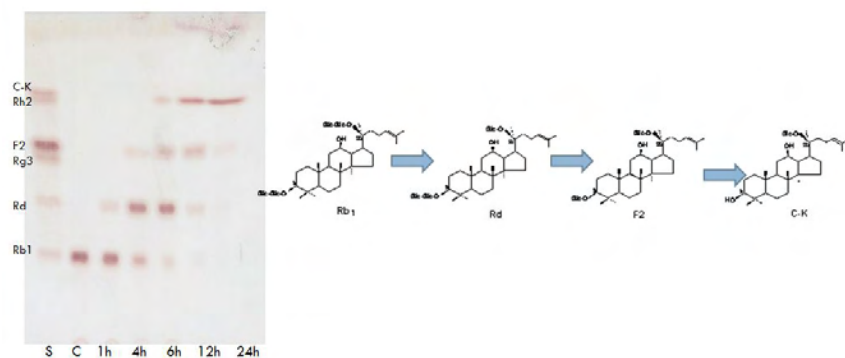


Fig. 38. Analysis of transformation of ginsenoside Rb₁ by purified enzyme of strain KHU330.

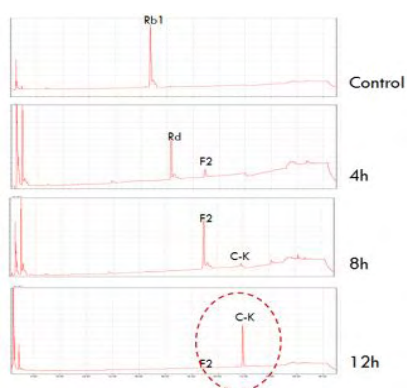


Fig. 39. HPLC profiling of transformation of ginsenoside Rb₁ by purified enzyme of strainKHU330.

(7) 유산균 의 유용균주의 효소 정제를 통한 사포닌 전환

본 연구에서는 인삼 엑스와 *A.niger* 의 반응을 통하여 major ginsenoside들이 대부분 가수분해 되어 ginsenoside C-K, Rh2, Rg2와 같은 고기능성의 minor사포닌으로 전환되는 것을 확인 하였다. 특히 이 균주의 경우 홍삼에서 거의 존재하지 않았던 C-K가 생성됨을 확인 할 수 있었고 본 연구에서는 이 균주의 효소 중 어떠한 효소가 실질적으로 C-K 생성에 관여하는지 알아보기 위하여 enzyme 정제 연구를 수행하였다.

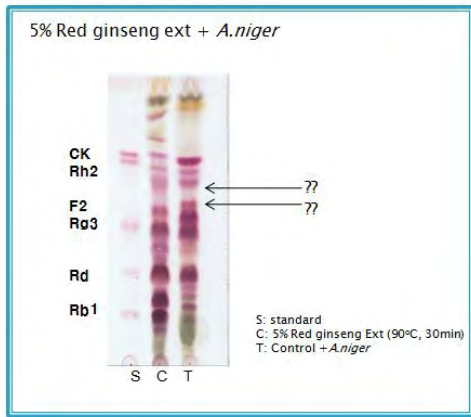


Table Ginsenoside compositions of FMG by *A.niger*

ginsenoside	Concentration(mg/g)		
	CON	7days	14days
Rb1	6.41	2.36	1.42
Rb2	4.01	1.51	0.5
Rc	4.97	1.66	0.77
Rd	2.32	3.03	1.51
Rf	0.41	0.5	0.58
Rg1	0.65	0.23	0.01
Re	2.54	0.92	0.04
Rg2	0.31	0.88	1.2
Rg3	0.84	0.92	0.44
Rh2	0.31	0.34	0.6
C-K	0	3.24	3.66
Major	21.31	10.21	4.83
Minor	1.46	5.38	5.9
Total	22.77	15.59	10.73

Major is sum of Rb1, Rb2, Rc, Rd, Rf, Rg1, Re
Minor is sum of Rg2, Rg3, Rh2, C-K

그림 40. *A.niger* 균주를 이용한 인삼 사포닌의 전환.

일차적으로 균주의 효소의 양을 늘리기 위하여 다양한 elicitor 첨가를 통한 glucosidase 활성을 확인 하여 본 결과 본 균주는 특이적으로 인삼 사포닌을 첨가하였을 경우 glucosidase 활성이 증가함을 알 수 있었다. 따라서 균주의 생장시 일정양의 사포닌을 첨가하여 균을 배양하였으며 이 배양액을 이용하여 조효소를 제조 하였다.

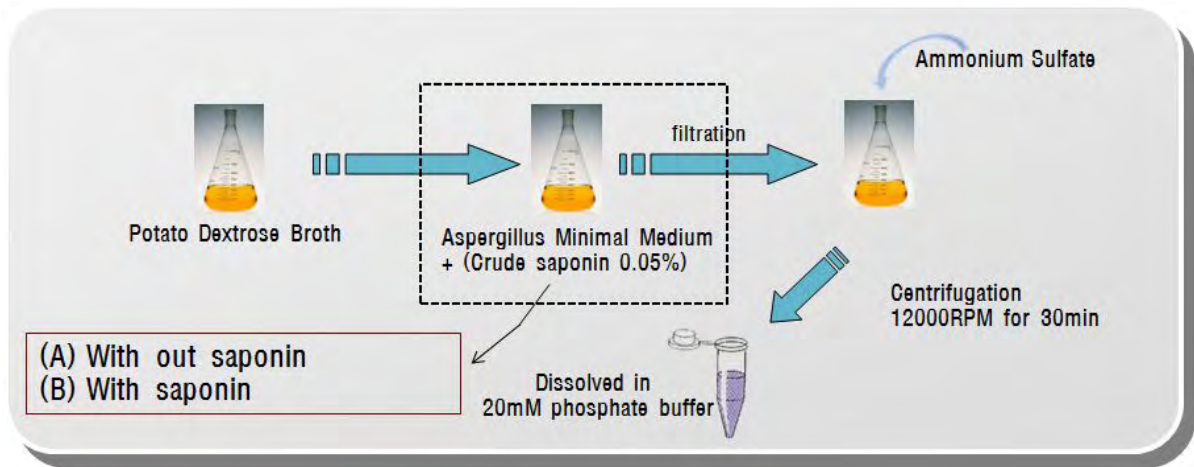
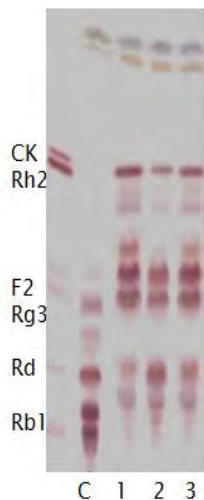


그림 41. *A.niger* 균주를 이용한 조효소 제조 방법.



C: Red ginseng
 1: Red ginseng + Enzyme (Potato Dextrose Broth)
 2: Red ginseng + Enzyme A (Aspergillus Minimal Broth with out saponin)
 3: Red ginseng + Enzyme B (Aspergillus Minimal Broth with saponin)

Table preparation of crude enzyme from *A. niger*

Enzyme	Protein(mg) ^a	Total activity(U) ^b	Specific activity(U/mg)
AMB Enzyme A (with out saponin)	2110.14	61.41	0.029
AMB Enzyme B(with saponin)	2618.81	112.17	0.043

^a Protein contents were determined according to the method of Bradford, using bovine serum albumin as the standard
^b One unit(U) of b-D-glucosidase was defined as the amount of enzyme liberating 1nmol/min of p-nitrophenyl

그림 42. 조효소에 따른 enzyme activity 검정.

Elicitor 첨가 유무에 따른 효소 활성을 검정하여 본 결과 다음과 같이 total activity가 약 2배 정도 elicitor의 첨가 시 높아지는 것을 확인 할 수 있었고 본 선행 연구를 바탕으로 사포닌을 일정량 첨가하여 이를 효소정제에 활용하였다.

Protein purification

preparation of crude enzyme from *A. niger*

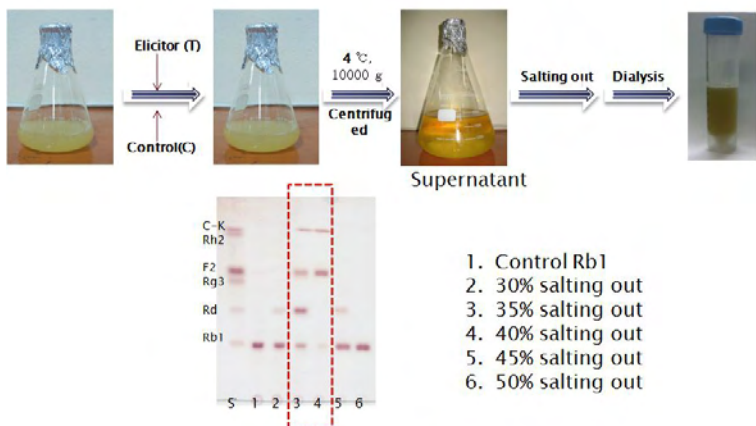


그림 43. 염석농도에 따른 단백질 석출 및 각 분획별 ginsenoside 변환 능력검정.

조효소를 제조하기 위하여 염석법을 활용하였는데 염석농도에 따라 각각의 분획으로 나누었고 탈염과정을 거쳐 이를 인삼사포닌인 ginsenoside Rb1과의 반응을 통하여 실제적으로 사포닌을 변환 시키는 분획물이 어느 분획에 있는지 확인 하였다. 그 결과 30% 농도까지의 분획에서는 사포닌 전환 활성을 가진 효소가 거의 존재하지 않음을 알 수 있었고 35~40% 농도의 분획에서는 ginsenoside Rb1이 C-K로 전환됨을 확인 할 수 있어 대부분의 사포닌 전환효소들이 본 분획에 존재함을 알 수 있었다. 따라서 본 연구에서는 1차적인 정제를 염석 농도를 통해 진행 하였고 이를 다시 column chromatography를 이용하여 후속 정제 과정을 수행하였다.

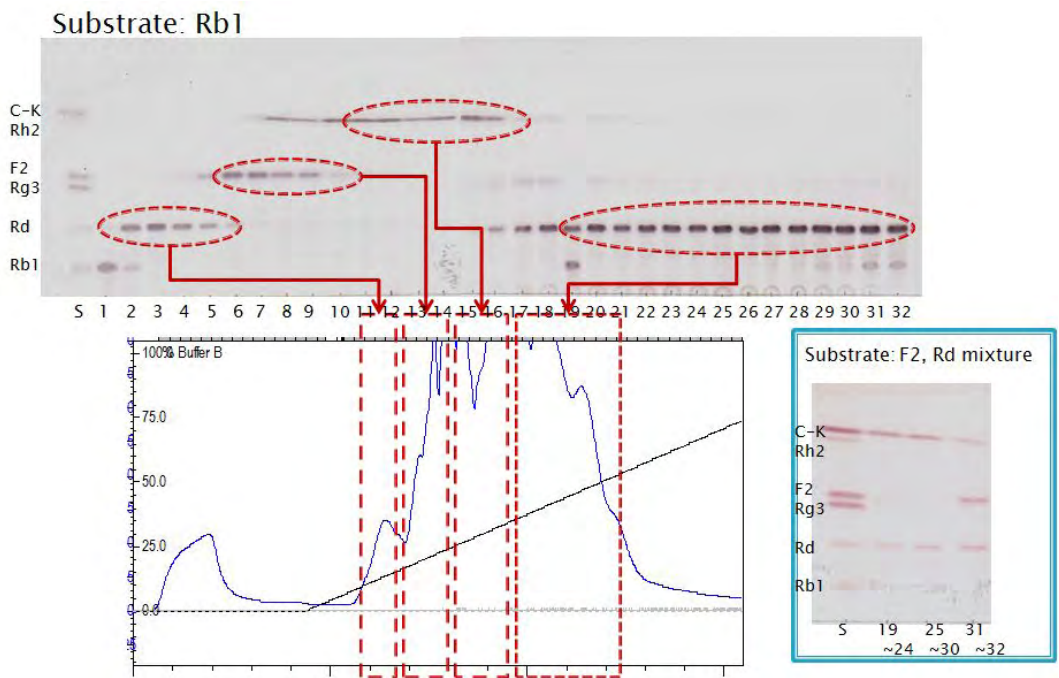


그림 44. 인삼 사포닌 변환 효소 정제 (IEX).

Column chromatography는 FPLC(Biorad, Deoflow)를 활용하여 수행하였다. 염석을 통하여 1차적으로 분획된 분획물을 다시 IEX column chromatography를 수행하였다. 컬럼은 Q-sepharose를 이용하였으며 pH7의 sodium phosphate버퍼를 기본으로하여 NaCl 농도를 조절하는 gradient 방법을 사용하여 단백질을 용출 시켰다. 각각의 분획은 모두 ginsenoside Rb1과 반응을 시켜 실제로 사포닌 전환이 이루어지는지 확인 하였다. 그 결과 일부 분획에서 C-K의 생성이 되는 것을 확인 할 수 있었으며 일부의 경우 F2 및 Rd로만 전환이 됨을 확인 하였다. 19 이후 분획물 같은 경우 Rb1의 사포닌 전환이 Rd까지만 이루어 졌지만 이를 F2와 반응 시켰을 때는 C-K로 전환되는 결과를 보였다. 이를 정리하면 Rb1에서 Rd까지의 전환이 가능하지만 Rd에서 F2까지의 전환이 불가능했고 생성된 F2가 없어 실제적으로 F2에서 C-K의 생산이 가능함에도 불구하고 반응이 Rd에서 종료된 것으로 판단된다. 이는 본 균주의 효소의 경우 한 종류의 효소가 다양한 사포닌 전환 pathway에 관여하는 것이 아니라 각각의 pathway에 관여하는 효소가 따로 있음을 추측하게 한다. 이번 연구에서는 C-K 생성에 관여하는 효소를 집중적으로 확인하기 위해 C-K로의 전환 활성이 있었던 분획만을 다시 모아 이를 다시 HIC(Hydrophobic Interaction

Chromatography)를 수행하였다.

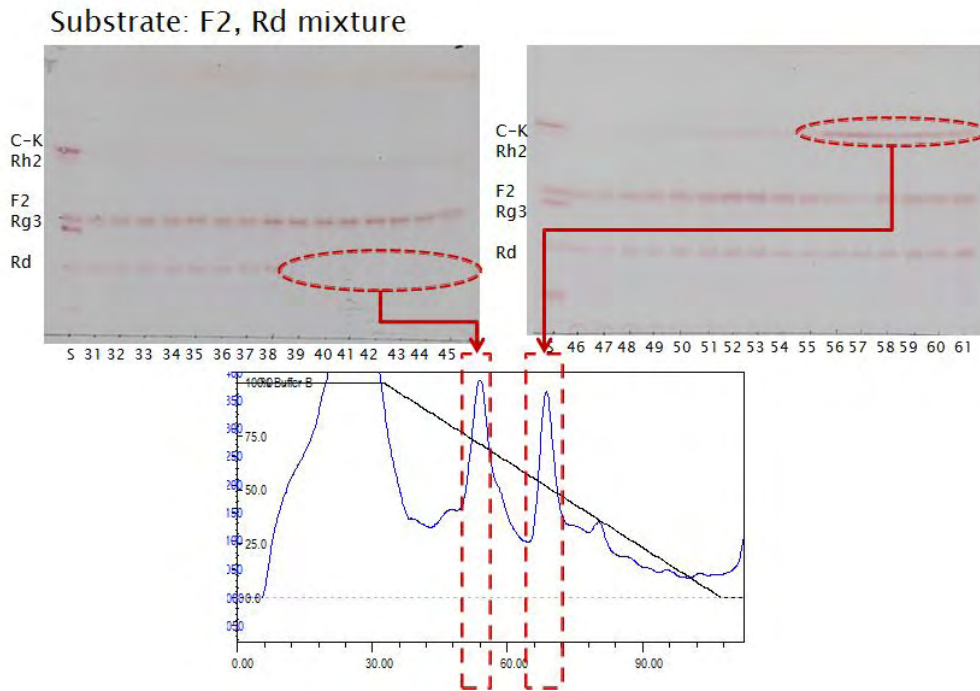


그림 45. 인삼 사포닌 변환 효소 2차 정제 (HIC).

C-K 생성 분획을 desalting column을 통해 탈염 과정을 거친 후 이를 HIC을 이용하여 2차 정제를 수행하였다. 1M Ammonium sulfate가 첨가된 sodium phosphate 버퍼를 기본으로 하여 염농도를 순차적으로 낮춰줘 순수 버퍼 조성으로 바꾸는 gradient를 사용하였고 각각의 분획은 Rd와 F2의 mixture를 사용하였다. 39-45분획의 경우 Rd가 대부분 분해 되었으나 C-K 는 생성되지 않았다. 따라서 본 분획은 Rd에서 F2까지의 전환에 관여하는 효소라고 판단되었으며 55-61 분획의 경우 C-K로 전환 활성이 있는 것으로 확인 되었다. 하지만 Rd의 경우 대부분 전환 되지 않아 본 효소 분획은 F2에서 C-K의 전환 활성에 관여하는 효소로 추정 된다.

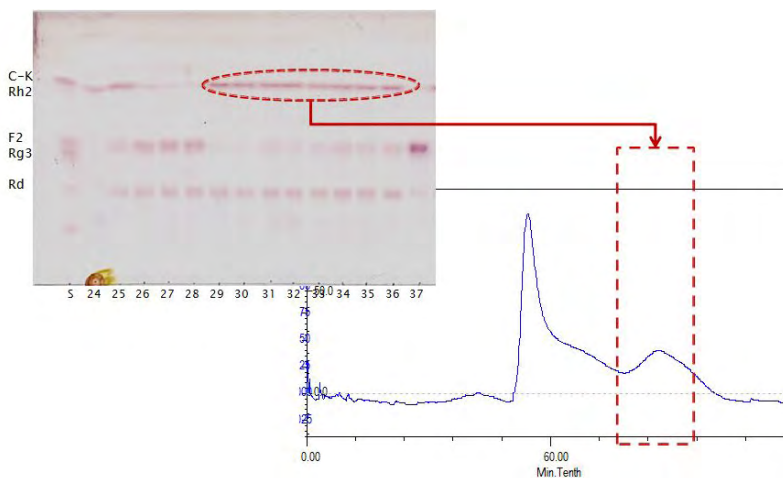


그림 46. 인삼 사포닌 변환 효소 3차 정제 (gel filtration)

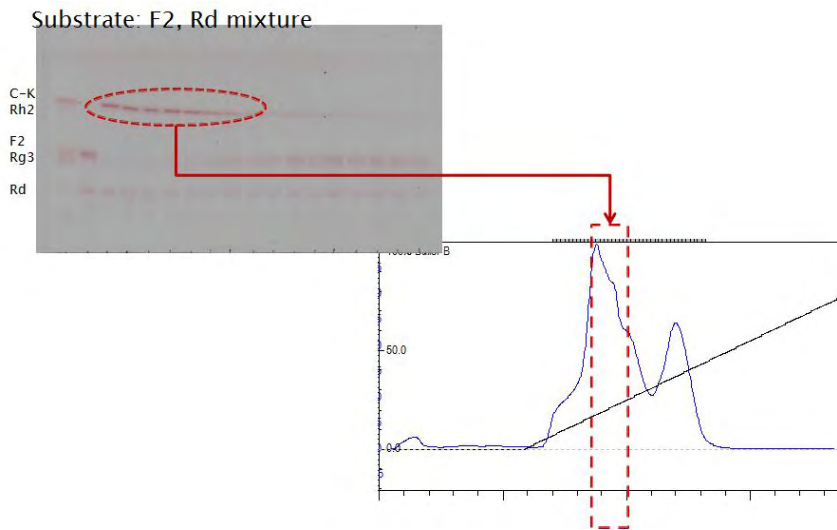


그림 47. 인삼 사포닌 변환 효소 4차 정제 (CHT).

추가적으로 Sephacryl S200, CHT hydroxy apatite를 활용한 추가적인 정제를 하였으며 각각의 분획을 반응시켜 C-K 생성 분획을 획득하였다.

Table Purification of glucosidase from *A. niger*

Purification steps	Protein(mg) ^a	Total activity(U) ^b	Specific activity(U/mg)	Purification(fold)
Crude extract	2618.81	112.17	0.043	1.0
35-40% (NH ₄)SO ₄	231.94	33.54	0.145	3.4
Q-Sepharose	26.61	23.33	0.877	20.5
Phenyl-Sepharose	8.01	16.7	2.085	48.7
Sephacryl S200	4.71	13.11	2.783	65.0
CHT	2.46	9.18	3.732	87.1

^a Protein contents were determined according to the method of Bradford, using bovine serum albumin as the standard

^b One unit(U) of b-D-glucosidase was defined as the amount of enzyme liberating 1nmol/min of p-nitrophenyl

각 단계 별 분획의 protein 함량 및 total activity를 측정한 결과 Crude extract에 비해 최종 단계에서의 단백질 함량은 크게 줄어들었지만 실제적인 glucosidase의 activity는 증가하여 purification fold값이 87.1을 나타냄을 확인 할수 있었고 이는 단백질 정제에 따라 총 단백질의 양은 감소하지만 타겟 단백질의 농도가 증가하였음을 의미한다. 각각의 분획을 SDS로 확인 하여 본 결과 정제 단계에 따라 crude 한 샘플에서 단일에 가까운 밴드로 정제됨을 확인 하여으며 타겟 단백질의 사이즈는 110kda 정도가 됨을 확인 할 수 있었다. 최종적으로 정제된 샘플을 ginsenoside F2와 반응 시켜 본 결과 다음과 같이 ginsenoside C-K로 생성 됨을 확인 할 수 있었다.

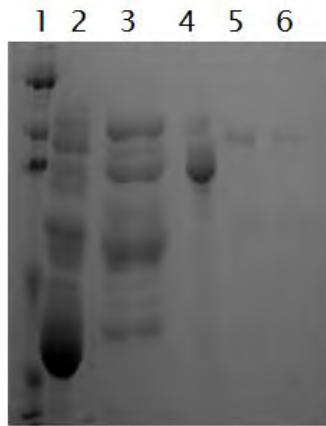


Fig. SDS-Page analysis of the ginsenoside hydrolyzing enzyme

1. Protein Marker
2. Crude extract
3. Q-Sepharose
4. Phenyl Sepharose
5. Sephacryl S200
6. CHT Hydroxy apatite

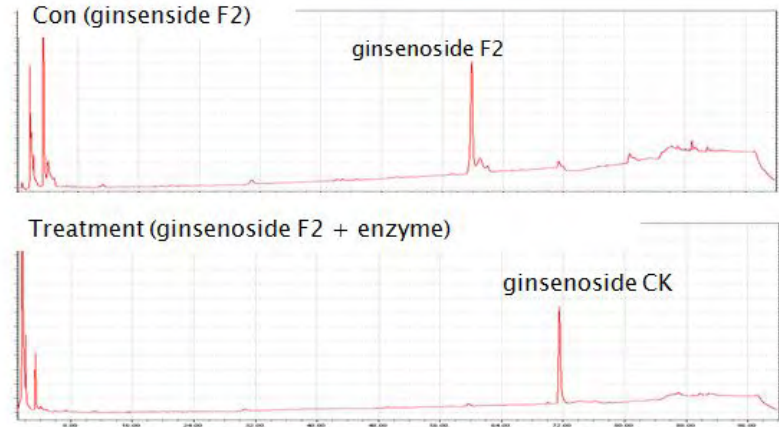


Fig. HPLC analysis of the hydrolysis of ginsenoside by purified glucosidase. The reaction mixture(200ul) 10mM of ginsenoside F2 and 5U of enzyme was incubated at 45 for up 24h

그림 48. 사포닌 전환 활성 효소 분획 SDS 검정 및 ginsenoside 반응.

(8) 진세노사이드 정밀 및 신속 분석법 확립

현재 인삼 사포닌 분석방법은 주로 부탄올 추출법에 의하여 사포닌을 추출하여 이를 TLC 및 HPLC를 이용하여 분석하고 있다. 기존에 수포화부탄올을 이용한 추출법은 물층과 부탄올층의 분리시 유화 현상이 나타나 분리하기 힘들고 부탄올의 비점이 높아 농축하기 힘들며 분말화하기가 힘들다. 따라서 시료 하나를 분석하는데 2-3일씩 시간이 걸려 효율이 낮다는 단점이 있었다. 이에 보다 효율적인 분석방법을 확립하기 위해 중국, 일본, 유럽의 약전을 구입하여 자료를 검토해본결과 유럽약전의 방법이 가장 적절한 것으로 사료되었고 유럽약전을 중점적으로 분석하여 국내 인삼 및 홍삼성분 분석방법으로의 응용 및 적합성을 검토하였다.

구분	유럽약전(2001)	유럽약전(2005)
적용대상	인삼	인삼 (홍삼 포함)
지표성분	Rg ₁ & Rb ₁	Rg ₁ & Rb ₁
함량기준	Rg ₁ & Rb ₁ ≥ 0.4%	Rg ₁ & Rb ₁ ≥ 0.4%
시험용액의 조제	① 시료분말 1.00 g에 50% methanol을 가하여 1시간 동안 환류 추출 후 원심 분리 (2회) ② 상정액을 60℃ 이하에서 감압농축 ③ 농축물을 완충용액에 녹인 후 일정량을 취하여 C18 카트리지에 loading ④ 물, 30% methanol로 세척한 후 100% methanol로 용리 ⑤ 용리액을 감압 농축 ⑥ 농축물을 methanol 2 ml에 녹이고 membrane filter로 여과 ⑦ 여액 10~20 ul를 HPLC로 분석	① 시료분말 1.00 g에 50% methanol을 가하여 1시간 동안 환류 추출 후 원심 분리 (2회) ② 상정액을 60℃ 이하에서 감압농축 ③ 농축물을 물-아세트니트릴 혼합용매에 용해한 후 membrane filter로 여과 ④ 여액 10~20 ul를 HPLC로 분석
HPLC 분석	▪ 고정상: NH ₂ ▪ 이동상: 물-아세트니트릴 혼합용매 ▪ 검출기: UV 203 nm	▪ 고정상: ODS ▪ 이동상: 물-아세트니트릴 혼합용매 ▪ 검출기: UV 203 nm

1) 새로운 진세노사이드 분석방법을 이용한 홍삼제품 분석

① 실험방법

- 홍삼분말제품의 분석 : 홍삼분말제품의 진세노사이드 함량분석법은 다음과 같다.

① 10 g의 sample을 80% MeOH 20 ml을 가하여 2회 환류추출 한다. ② 추출액을 농축 하고 이를 25 ml의 D.W.로 용해하여 이중 5 ml을 SepPak C18 cartridge에 loading한다. ③ 20 ml의 D.W로 cartridge를 세척한다. ④ 15 ml의 30% MeOH으로 cartridge를 세척한다. ⑤ 5 ml의 MeOH로 gisenoside를 용출 시킨다. ⑥ 용출된 용매를 HPLC 분석 시료로 이용한다.
--

- 홍삼농축액제품의 분석 : 홍삼농축액제품의 진세노사이드 함량분석법은 다음과 같다.

- ① 0.5 g sample을 25 ml의 D.W로 용해하여 이중 5 ml을 SepPak C18 cartridge에 loading한다.
- ② 20 ml의 D.W로 cartridge를 세척한다.
- ③ 15 ml의 30% MeOH으로 cartridge를 세척한다
- ④ 5 ml의 MeOH로 gisenoside를 용출 시킨다..
- ⑤ 용출된 용매를 HPLC 분석 시료로 이용한다.

- 홍삼성분 함유제품의 분석 : 홍삼성분 함유제품의 진세노사이드 함량분석법은 다음과 같다.

- ① 곱게 마쇄한 시료 1g에 50% MeOH를 70 ml 넣고 환류추출 한 후 추출액을 centrifuge하여 상층액만을 취한다.
- ② 위 과정을 각각 2회 진행하여 얻은 추출액을 감압 농축한다.
- ③ 농축물은 25 ml의 D.W.에 녹이고 이 중 5 ml을 SepPak C18 cartridge에 loading한다.
- ④ 20 ml의 D.W로 cartridge를 세척한다.
- ⑤ 15 ml의 30% MeOH으로 cartridge를 세척한다.
- ⑥ 5 ml의 MeOH로 gisenoside를 용출 시킨다.
- ⑦ 용출된 용매를 HPLC 분석 시료로 이용한다.

- HPLC 분석

1) Column: ODS (4.6 mm × 12.5 cm; 5 μm) [온도: 45℃]

2) Mobile phase

[A: Water, B: Acetonitrile, 유속: 1.6 ml/min]

Total time	Time	Act(100%)	DW(100%)
0	0	15	85
5	5	15	85
25	20	21	79
65	40	45	55
75	10	90	10
85	10	90	10
87	2	15	85
100	23	15	85

3) Detection : UV 203 nm

4) Equilibrium time : 20 min

5) Injection volume : 20 ul

이와 같은 조건에서 실험하였으며 이 실험에 대한 확인 및 안정성의 규명은 다음 Validation 방법으로 시행하였다(Table 6, Fig. 26)

VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES : METHODOLOGY

- Guideline Title Validation of Analytical Procedures: Methodology
- Legislative basis Directive 75/318/EEC as amended
- Date of first adoption December 1996
- Date of entry into force For studies commencing after June 1997
- Status Last revised 1996
- Previous titles/other references ICH Q2B/CPMP/ICH/281/95
- Additional Notes
 - This note for guidance concerns test procedures used in documentation submitted in accordance with Part 2, sections A~F of the annex to Directive 75/318/EEC as amended, with a view to the granting of a marketing authorisation for a medicinal product.
 - This guideline is complementary to, and should be read in conjunction with, the guideline on Validation of Analytical Procedures: Definition and Terminology.

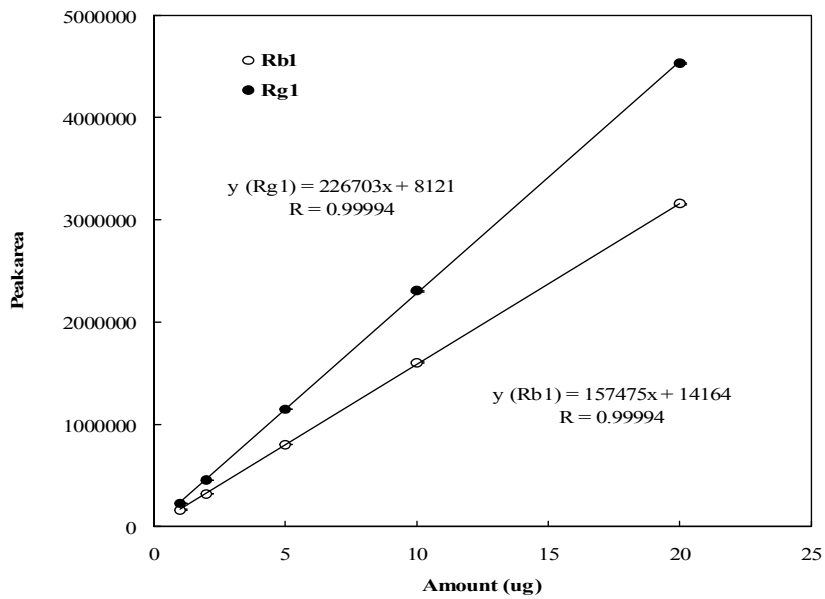


Fig. 49. Calibration curves.

Table 12. Validation of standard materials

파라미터	Ginsenoside-Rg ₁	Ginsenoside-Rg ₁
직선성	▶ Y= 226703X + 8121 (r=0.9999) X: Ginsenoside Rg ₁ amount (ug), Y: Detector response	▶ Y= 157475X + 14164 (r=0.9999) X: Ginsenoside Rg ₁ amount (ug), Y: Detector response
범위	▶ HPLC 주입량: 1~20 ug	▶ HPLC 주입량: 1~20 ug
검출한계	▶ 0.05 ug	▶ 0.04 ug
정량한계	▶ 0.15 ug	▶ 0.12 ug

2) 실험결과

- 홍삼분말제품의 ginsenoside 함량분석 : 동일 샘플을 5회 반복하여 사포닌 분석을 진행하였다. 인삼 분말 제품의 ginsenoside Rg₁의 함량은 5.22 ± 0.16 mg/g로 조사되었다. Ginsenoside Rb₁의 함량은 2.31 ± 0.10 mg/g으로 나타나 반복실험에 따른 차이가 거의 없음을 확인하였으며 기존의 함량분석과 유의적인 차이가 적은 바 본 시험 방법이 인삼 분말 제품 분석을 위해 적합함을 확인할 수 있었다(Fig. 50. 동일 시료를 이용하여 기존의 방법인 부탄올을 이용하여 사포닌을 정량 분석할 경우 ginsenoside Rg₁ 함량이 4.61 ± 0.52 mg/g, ginsenoside Rb₁ 함량이 2.04 ± 0.29 mg/g 으로 상대적으로 오차 값이 크게 나타난 것을 확인 할 수 있었다. 이는 부탄올층의 분획과정 중의 유화현상에 의한 실험상의 오차와 더불어 부탄올 분획상에 사포닌 성분 뿐 아니라 비사포닌 성분이 혼합되어 존재하기 때문으로 사료되어진다. 따라서 추출상의 효율성이 뛰어난 C18카트리지를 이용하여 사포닌을 추출하여 분석하는 것이 인삼 및 홍삼 제품 분석에 더 효율적일 것으로 판단되어진다.

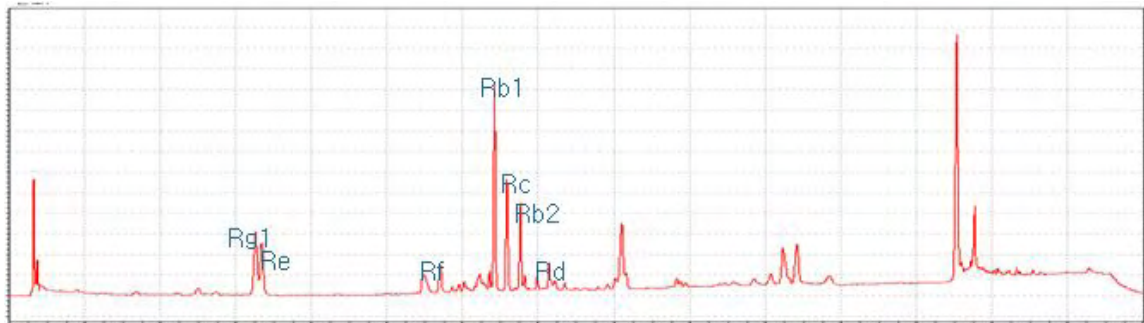


Fig. 50. HPLC profiles of ginseng powder at the flow rate of 1.6 ml/min. HPLC was performed on YMC C18RS Column(250 mm × 4.6 mm, id., 5 μm) at column temperature of 45°C. The mobile phase consisted of acetonitrile and water.

- 홍삼농축액제품의 ginsenoside 함량분석 : 위에 명시된 홍삼농축액 분석방법을 이용하여 사포닌 분석법의 적합성을 조사하였다. HPLC분석결과 ginsenoside Rg₁ 및 ginsenoside Rb₁이 올바르게 분리됨을 확인할 수 있었다. 샘플로 이용한 홍삼 농축액의 ginsenoside Rg₁의 함량은 0.301 ± 0.01 로 나타났으며, ginsenoside Rb₁의 함량은 2.97 ± 0.07 mg/g로 조사된 바 적은 오차를 나타내어 본 시험법은 홍삼 농축액을 분석하기에 적합할 것으로 사료된다. 동일 샘플을 부탄올을 이용하여 추출할 경우 ginsenoside Rg₁의 함량은 0.290 ± 0.19 로 나타났으며 ginsenoside Rb₁의 함량은 2.91 ± 0.21 로 조사되었다(Fig. 51).

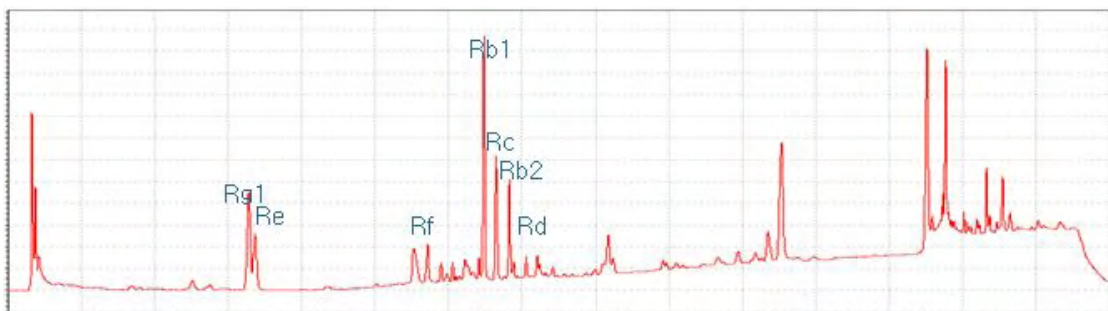


Fig. 51. HPLC profiles of ginseng extract.

- 홍삼성분함유제품의 ginsenoside 함량분석 : 샘플로 이용한 인삼차 제품의 ginsenoside Rg₁의 함량은 0.40 ± 0.02로 나타났으며 ginsenoside Rb₁의 함량은 1.40 ± 0.15 mg/g로 조사된 바 적은 오차를 나타내어 본 시험법은 홍삼 농축액을 분석하기에 적합할 것으로 사료된다(Fig. 52).



Fig. 52. HPLC profiles of ginseng extract.

최근 인삼의 major사포닌을 고기능성의 minor 사포닌으로 변화시키는 방법의 하나로 발효홍삼에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며 이에 따라 다양한 발효홍삼 제품이 상품화 되어 있다. 하지만 아직까지 발효홍삼에 관한 명확한 사포닌 분석방법은 제시 되지 못하고 있는 실정이다. 발효홍삼의 경우 인삼의 major 사포닌의 당부분이 가수되어 새로운 사포닌 구조를 형성하게 된다. 따라서 major 한 성분인 ginsenoside Rg₁, Rb₁의 경우 발효를 통하여 가수분해가 일어나 다른 다양한 사포닌으로 변환이 일어나게 된다. 현재의 인삼 제품의 기준규격이 ginsenoside Rg₁ 및 Rb₁의 일정수준의 양 이상으로 정해져 있기 때문에 major 사포닌의 전환을 통해 고기능성의 minor 사포닌이 다량 함유되어진 발효 홍삼의 경우 오히려 기준규격상으로는 사포닌 함량이 적게 나타나는 단점이 있다. 실제 분석결과 홍삼에서의 ginsenoside Rb₁ 및 Rg₁의 함량이 각각 4.814 mg/g, 0.361 mg/g이었으나 발효홍삼에서는 ginsenoside Rb₁ 1.270 mg/g이 검출되었으며 ginsenoside Rg₁은 거의 검출되지 않음을 확인 할 수 있었다. 반면에 F2와 C-K같은 minor 사포닌이 크게 증가하였다(Fig. 53). 따라서, 이들 제품들을 효율적으로 분석 할 수 있는 minor 사포닌 위주의 기준 규격 명확한 기준 규격이 마련되어야 할 것으로 사료된다.

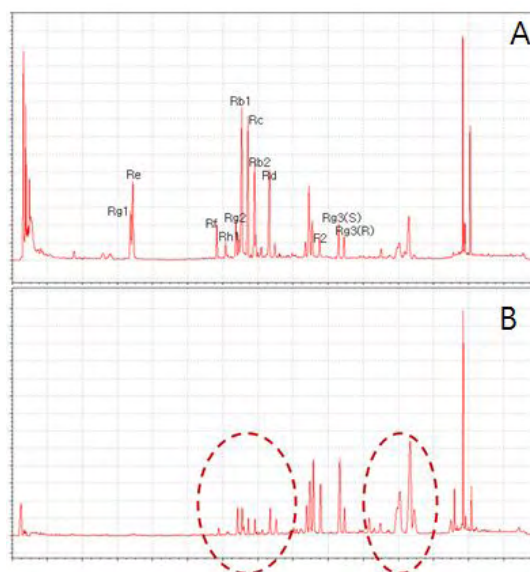


Fig. 53. HPLC profiles of Ginseng fermentation. A: ginseng extract, B: ginseng fermentation.

(9) 외국삼과 고려인삼의 성분분석

화기삼과 고려인삼을 각각 홍삼 제조방법에 따라 홍삼으로 제조하였다. 각각의 제조된 홍삼은 동일조건하에서 50% 주정을 이용하여 추출하였으며 이를 감압농축하여 60brix의 홍삼 농축액으로 제조하였으며 이의 일부를 취하여 인삼 사포닌 분석에 이용하였다. 인삼 사포닌 분석을 위해 인삼농축액 1g을 25배 물로 희석하여 C18 SPE 카트리지를 활용하여 전처리 하였다. SPE 전처리 방법은 KS 기준규격을 응용하여 사용하였다. SPE를 MeOH로 활성화 시킨 후 물로 평형화를 시킨 후 시료를 로딩하여 물과 30% 메탄올로 세척하고 추후 100% MeOH으로 용출시켜 이를 조사포닌 분획으로 하여 사포닌 분석에 이용하였다.

표 13. 홍삼으로 제조 된 고려인삼과 화기삼의 ginsenoside 성분 비교

	Rg1	Re	Rh1	Rb1	Rc	Rb2	Rd	Rg2	Rg3	F2	Rf	C-K	Rh2	Total
RG	0.72±0.01	1.18±0.01	0.3±0.02	3.57±0.01	2.96±0.01	1.6±0.01	1.27±0.01	0.11±0.02	0.944±0.01	ND	0.63±0.01	ND	0.12±0.01	13.404
AG	0.48±0.01	13.42±0.01	ND	18.99±0.01	3.21±0.01	0.45±0.01	3.44±0.01	0.42±0.01	1.51±0.01	ND	ND	ND	ND	41.91

RG: Red giseneg Ext. (60brix)
 AG: American Red ginseng (60brix)

분석결과 동량의 농축액으로 비교하였을 때 화기삼의 전체적인 total 사포닌의 함량이 더 많은 것으로 나타났다. 특히 대표적인 PPD 계열의 ginsenoside Rb1은 약 5배가 넘게 화기삼에서 더 많이 나타났으며 PPT 계열의 Re 또한 화기삼에서 더 많이 존재함을 확인 할 수 있었다. 더불어 홍삼의 제조시에 많이 나타나는 ginsenoside Rg3의 경우 또한 화기삼에서 더 많이 존재함을 알 수 있었는데 이는 Rg3의 전구 물질이라고 할 수 있는 Rb1이 상대적으로 화기삼에 더 많기 때문으로 판단되어진다. 최근 고려인삼의 특수 가공 처리를 통한 minor 사포닌의 생산에 대한 연구가 활발히 이루어 지고 있는 바 본 연구에서는 고려인삼과 화기삼의 효소처리 시 일어나는 물질의 변화에 대한 분석 연구를 병행하여 진행하였다. 위의 데이터에서 볼 수 있듯이 일반적으로 고려인삼은 화기삼에 비해 사포닌 함량이 현격히 떨어지며 따라서 기존의 major 사포닌을 전환하는 물리적, 이화학적 가공 방법을 통한 사포닌 전환 역시 실제로 연구가 진행 된다면 화기삼의 minor 사포닌 함량이 더 많을 것으로 예측되었다. 실제 고려홍삼과 화기삼 홍삼의 샘플을 각각 KHU02 효소와 반응 시켜 본 결과 대부분의 사포닌이 minor 사포닌으로 전환 되었고 특히 PPD계열의 최종 대사체로 알려진 C-K의 경우 비교적 많은 함량 차이를 나타내는 것을 알 수 있었다.

표 14. 고려홍삼과 화기삼 홍삼의 효소 전환 처리에 의한 minor 사포닌 생성 비교

	Rg1	Re	Rh1	Rb1	Rc	Rb2	Rd	Rg2	Rg3	F2	Rf	C-K	Rh2	Total
RG 120	ND	ND	0.62±0.01	0.1>	0.1>	0.1>	0.1>	0.66±0.01	0.31±0.01	1.92±0.01	0.22±0.01	2.41±0.01	ND	4.2
AG 120	0.1±0.01	2.09±0.01	1.14±0.01	3.61±0.01	0.23±0.01	0.44±0.01	5.81±0.01	5.54±0.01	0.12±0.01	2.33±0.01	ND	10.51±0.02	1.11±0.01	30

RG: Red giseneg Ext. (60brix)
 AG: American Red ginseng Ext. (60brix)

따라서 단순 사포닌만을 이용하여 고려인삼을 화기삼과 직접 비교하기엔 부적합할 것으로 생각되며 고려인삼과 화기삼의 사포닌 이외의 다양한 성분학적 비교가 필요할 것으로 판단되는 바 본 연구에서는 Q-TOF/MS에 기반한 고려인삼과 화기삼의 metabolite 분석을 수행 하고자 하였다. 80% MeOH을 이용하여 고려홍삼과 화기삼 홍삼의 샘플을 추출하여 이를 일부 희석하여 Q-TOF/MS 분석을 시행하였다. 본 분석은 waters의 UPLC와 synap Q-TOF/MS system을 활용하여 수행 하였으며 column은 C18(1.8 x 50mm, 1.7um)를 사용하였으며 이동상은 0.5% formic acid를 첨가한 acetonitrile과 water를 gradient법을 활용하여 혼합하여 사용하였다. MS detector는 ESI 모드를 활용하여 이온화 하여 positive data를 수집하여 이를 통계 분석에 활용하였다. 고려인삼과 화기삼에서 대사체 조사를 위한 mass datas는 다음과 같다 +ESI 결과 약 고려인삼 622개 화기삼 892개의 대사체가 분석되었으며 이를 기존 D/B와 비교 분석결과 분자량이 유사한 물질들이 대다수 검출되었으나 실질적인 인삼 metabolite 분석결과와는 거리가 있는 것으로 판단되어 인삼 대사체 분석을 위한 in house level의 D/B구축이 필요할 것으로 사료되어진다.

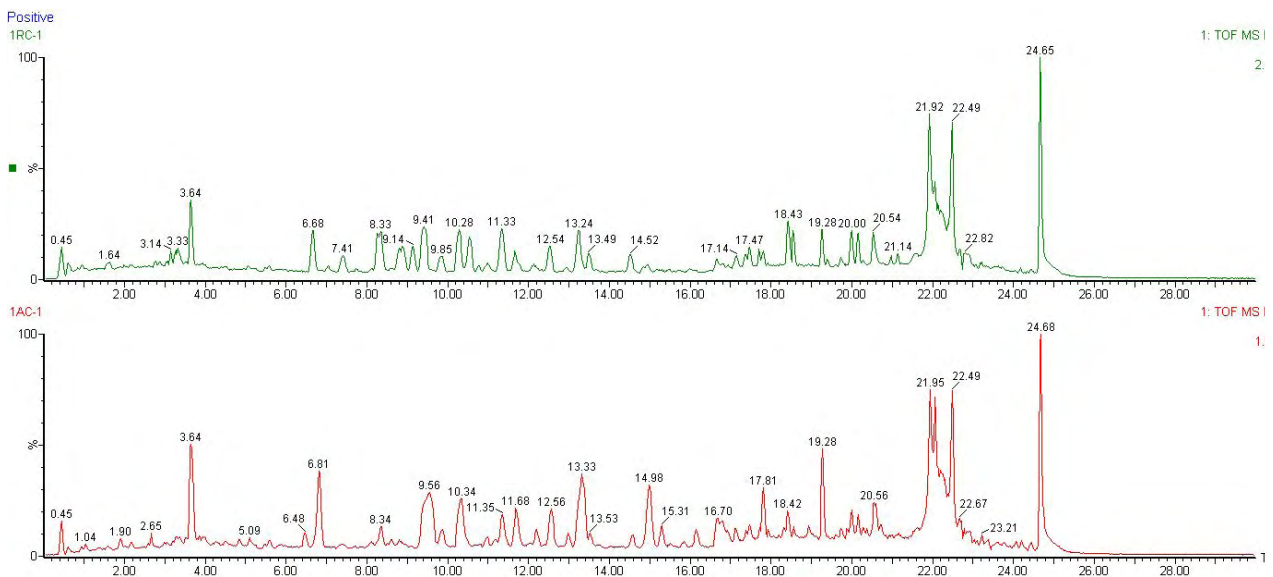
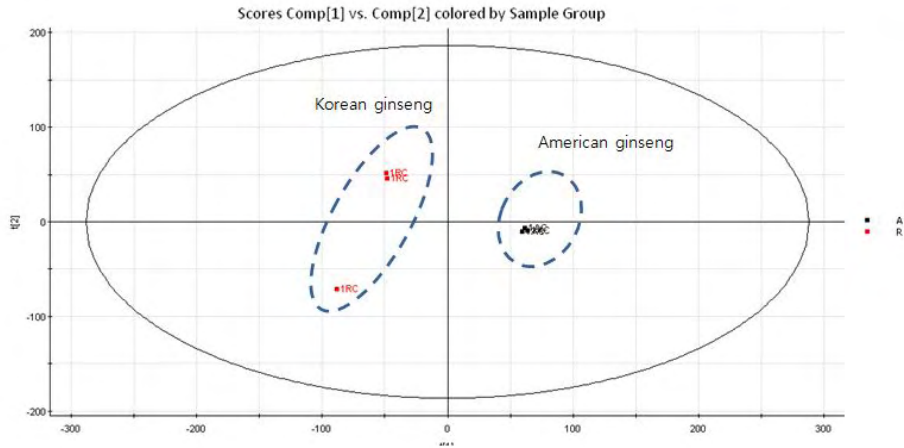


그림 54. 고려인삼과 화기삼의 ESI+ TOF/MS TIC

본 결과를 이용하여 PCA분석을 수행하여 본 결과 미국삼과 고려인삼간의 대사체의 비교에서 유의적인 차이가 나타났으며 이는 사포닌의 경우 정성적으로 유사한 성분을 가지고 있지만 80% MeOH으로 추출가능 한 다양한 대사체의 경우 정성적으로 차이가 있음을 나타낸다.

Korean red ginseng
Amrican red ginseng



Total compound: 1240

그림 55. 통계분석을 통한 고려인삼과 화기삼의 대사체 분석

(10) 연구용 minor 사포닌 대량생산을 위한 과발현 system 구축

유용 균주의 탐색 및 인삼 사포닌 전환

인삼 사포닌 전환 능력을 가지는 균주를 선발하기 위하여 다양한 균주를 분리 및 동정하였다. 그중 일부 균주에서 인삼 사포닌을 특이적으로 이용하여 분해하는 능력이 있음을 확인 하였고 이를 16S 시퀀싱을 통하여 분리 동정 하였다.

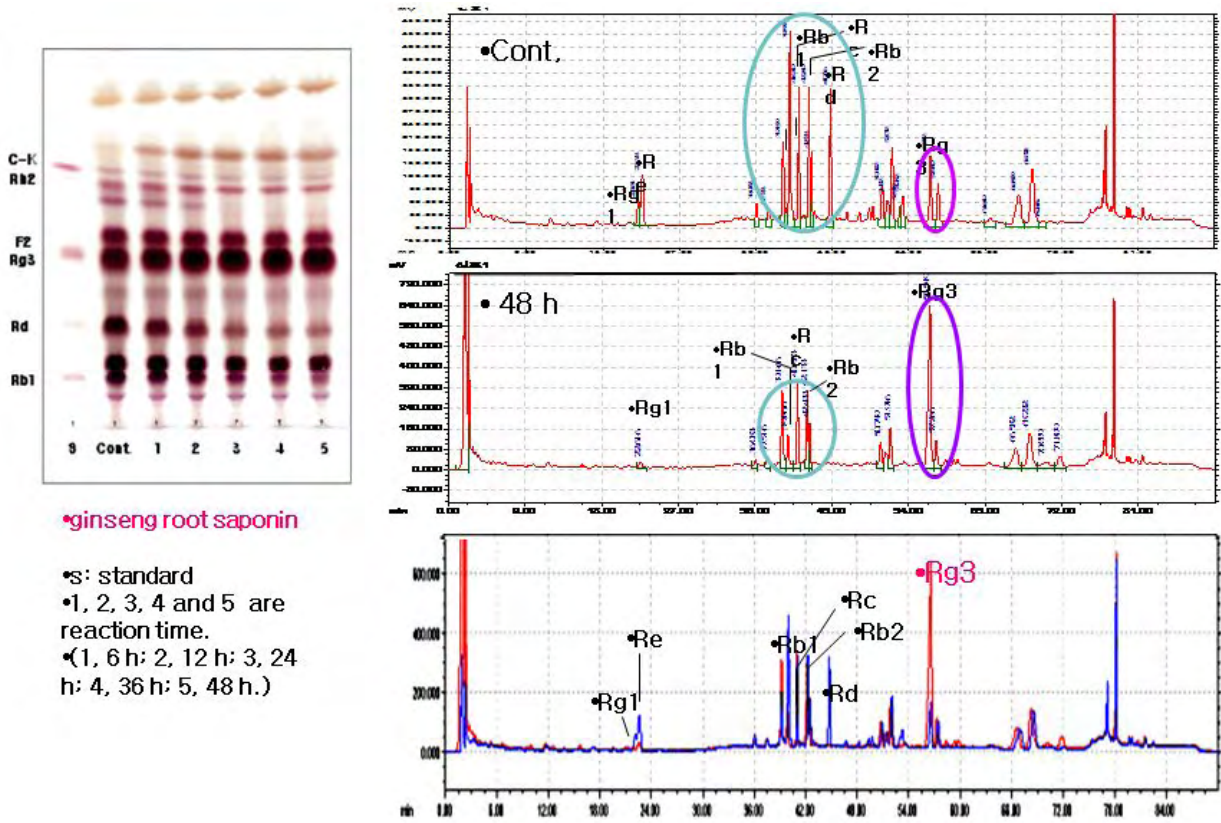


그림 56. GS514균주를 활용한 인삼 사포닌의 전환 확인

<표준효능물질 개발을 위한 선택적 인삼 사포닌 생산 시스템 구축>

preparation of *microbacterium* SP. GS 514 producing ginsenoside Rg3

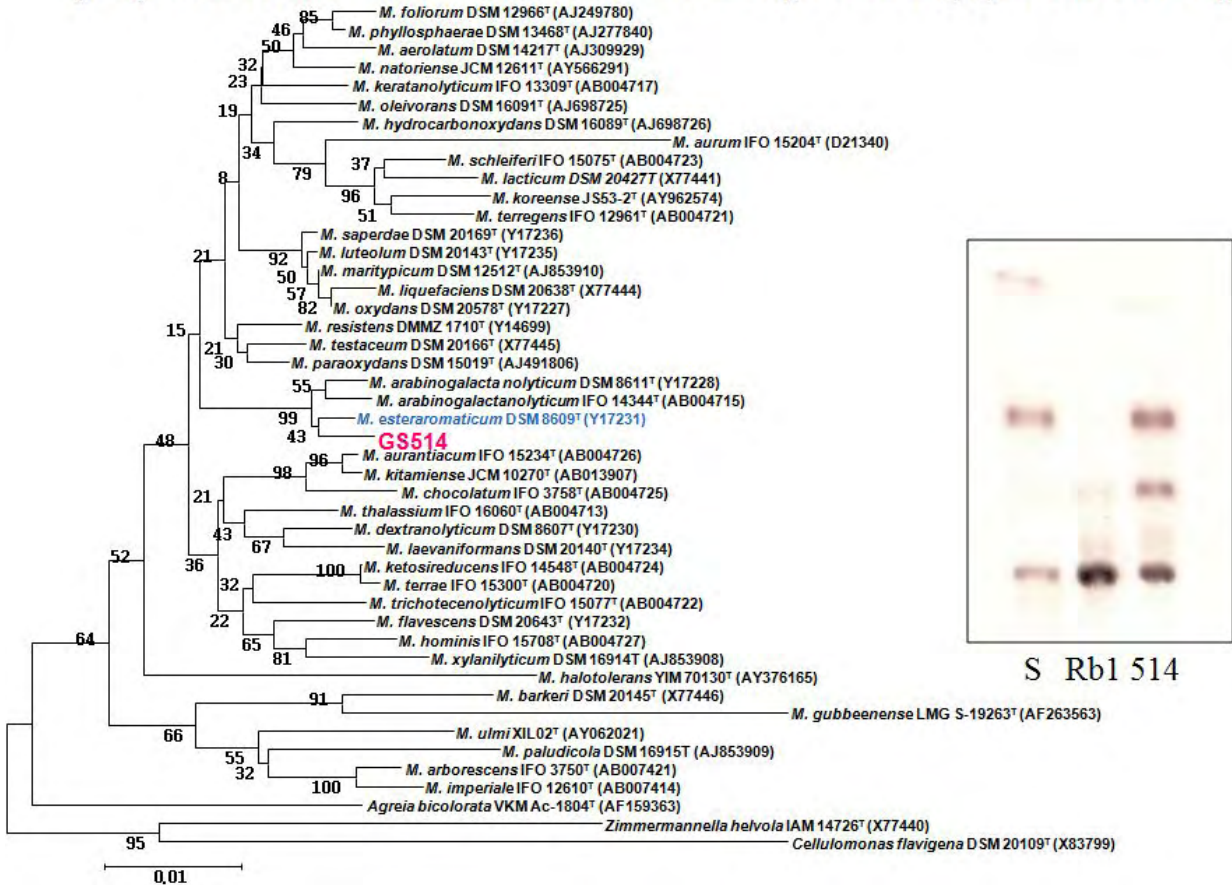


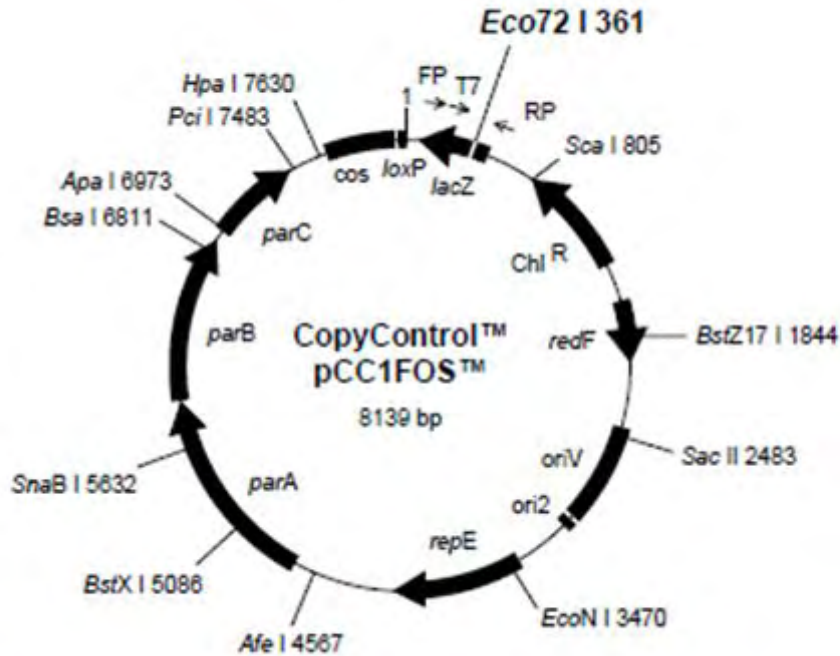
그림 57. 16S rDNA를 활용한 균주의 동정

본 균주는 *M. esteraromaticum* GS514로 명명 하였으며 특이적으로 ginsenoside Rg3로의 변환 활성을 가지고 있었으며 일부 C-K를 생성하는 것으로 확인 된 바 본 균주효소를 대량생산하기 위하여 사포닌 전환 관여 효소 유전자원을 확보하기 위하여 library를 구축하고자 하였다.

Fosmid library 구축

인삼의 major 사포닌의 minor사포닌으로의 전환 활성을 가진 GS514균주의 fosmid library를 구축하였다. GS514균주의 Fosmid DNA를 추출하여 이를 랜덤하게 fosmid vector에 ligation 한 후 이를 transformation 하여 숙주를 제작 하였다. 제작 된 숙주에 실제 사포닌 대사에 관련된 유전자가 있는지 선별하기 위하여 ginsenoside Rb1과 반응을 진행하였고 이중 Rg3 및 C-K등의 minor 사포닌 전환 활성이 있었던 균주를 선별하여 Shotgun clone sequencing을 진행하였으며 sequencing 결과 총 37,915 bp의 염기서열을 확보하였다. 확보된 염기서열을

바탕으로 ORF를 각각 조사하였으며 그 결과 총 8개의 ORF를 확보하였으며 이를 NCBI의 blast를 통하여 확인하여 본 결과 각각 glucosidase family 1, 2, 3, 43으로 확인 되었다.



Note: Not all restriction enzymes that cut only once are indicated above. See Appendix E (pg. 16) for complete restriction information. Primers are not drawn to scale.



그림 58. 본 연구에서 활용한 fosmid vector map

얻어진 일부 ORF를 이용하여 gene cloning을 수행하였으며 이를 다시 pMAL expression vector에 삽입하여 E.Coli BL21 DE3 숙주에 transformation 시켜 재조합 과발현 system을 구축하였다. 숙주를 이용하여 최적 발현 조건 및 효소 분리 조건을 확립하고 이를 수행하여 glucosidase family 3 domain을 가진 bgp3 효소를 생산하였으며 이를 각각의 인삼 사포닌과 반응시켜 실제 사포닌의 변환을 확인하였다.

MEPQMTNPIEGALDAAIERLNLTQLAALGGGASFWESKTAPGVPSFSMSDGPGLRQKQEG
 DAADHLGLGASVPATCFPPAVSMGQSWDPALARRVAAALAEAAHAQGVNVLLGPGINIKR
 DPRCGRNFEYLSEDPFLTGLLATSWMVNLQSGGASLKHFAANNAEFDRMRLSSDVDER
 PLHEIYLRAFETVIRDAQPWTVMCSYNRINGVLASQSRWLLTDVLRDQWGFAGAVVSDWG
 AVADRVAADVAGLDLQMPGDTSAFDAAVVAAVEAGTLPRAAVTRAARAVARTALLAQRSR
 REVTVDYDAHHALARETAGRSIVLLKNESALLPLDPTARIAVIGSFATEPRYQGGGSSHV
 RPTRLDIPLDQIRAAAPNAHVTHAAGFTVNGTGNQDALHADAVEIADAADVAVLFLGLAE
 HQESEGFREDIELPAEQLALLEIAAVQPHTVVVLASGGVLRRLAPVAATATAILNGLL
 GQASGSAIADVLFGKVNPSGRLAETVPLRLQDAPSYLHFPGEHSRVRYGEGVFVGYRGYD
 ARDQDVLYPFGHGLSYTTFSYEHLDLHTTEDGLLADVQIRNTGSVAGREIVQLYAAKPSD
 SVSRAPQELVGVGSIDLKPGETGTVSIARRDLAYWDDQLGRWVVEDGSYWITAAKSSR
 NAQLSQETTAVAGDDVRSPTAESTIGEVMAPAAA AVAAAFGPLMPQEGAGAELGMDVM
 KMMASMLGRVIGGVDEQSAHHLQALLGGLNAAVFA*

그림 59. bgp3 gene의 아미노산 염기서열

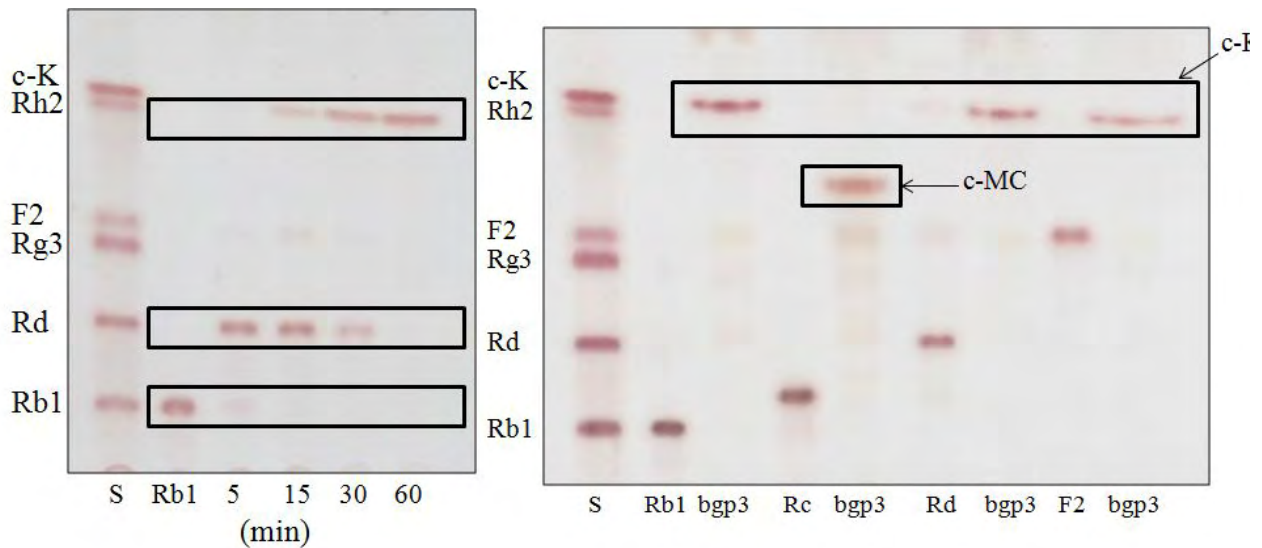
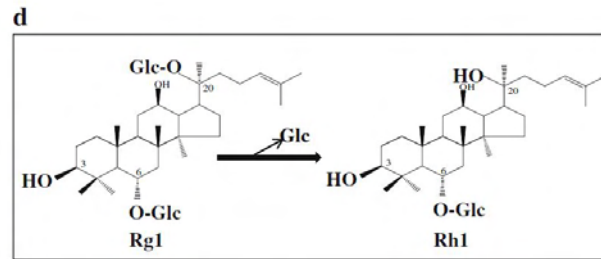
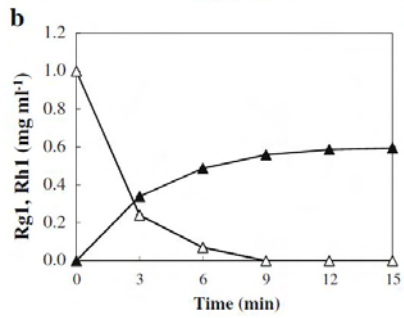
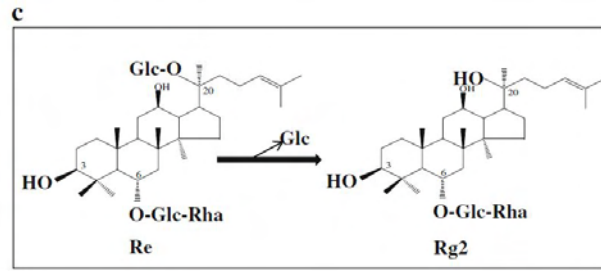
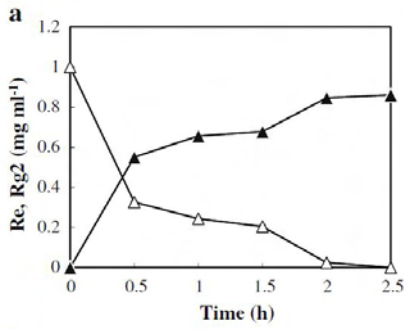


그림 60. TLC를 통한 bgp3와 인삼 단일 사포닌과의 반응분석

과발현 system을 통해 생성된 효소를 각각의 PPD 계열의 major ginsenoside와 반응시켜 본 결과 minor 사포닌으로 전환을 확인 할 수 있었다. Ginsenoside Rb1의 경우 Rd 및 F2를 거쳐 ginsenoside C-K로 전환됨을 확인 할 수 있었으며 Rc의 경우는 C-MC를 거쳐 C-K로 전환 됨을 확인 할 수 있었다. 본 연구를 통해 개발 되어진 bgp3 효소는 각각의 PPD계열의 major 사포닌을 모두 C-K로 바꾸어 C-K 생산에 적합할 것으로 판단되며 과발현 시스템을 통해 효소의 양을 scale up이 용이하기 때문에 연구용 minor사포닌 생산에도 적합할 것으로 기대된다.

C-K 뿐 아니라 다양한 PPD 타입의 사포닌은 물론 PPT 계열의 사포닌의 전환을 하는 시스템을 개발하였다. 위와 동일한 균주로부터 얻어진 fosmid library를 이용하여 각각의 유전자를 클로닝한 결과 인삼의 사포닌을 선택적으로 생산할 수 있는 각각의 시스템을 확립하였으며 특히 최근 화장품 소재로 각광받는 PPT계열의 사포닌을 선택적으로 대량생산 할 수 있어 추후 산업적으로 유용하게 적용 될 수 있을 것으로 기대된다.



(11) 표준 효능 물질 생산을 위한 ginsenoside의 정제

효능 표준물질 생산을 위한 물질의 대량 전환 및 정제

본 연구과제를 통해 개발되어진 균주 및 사포닌 전환 시스템을 이용하여 인삼의 minor 사포닌의 표준효능물질을 생산하였다.

Major Ginsenoside의 정제

인삼 시료로 3kg를 사포닌 정제에 이용하였다. 인삼 3kg을 80% MeOH에 총 2회 추출하였다. 추출액은 감압농축하여 물로 희석하였다. 희석된 추출액에 에테르 또는 ethyl acetate를 첨가하여 물층만을 분획 함으로써 지질성분을 제거 하였으며 얻어진 물층에 동량의 수포화부탄올을 첨가하여 부탄올 층을 crude 사포닌 분획으로 얻었다. 부탄올은 모두 감압농축하여 파우더 형태의 조사포닌을 제조하였으며 이 조사포닌은 단일성분 정제에 이용하였다 (Fig. 49).

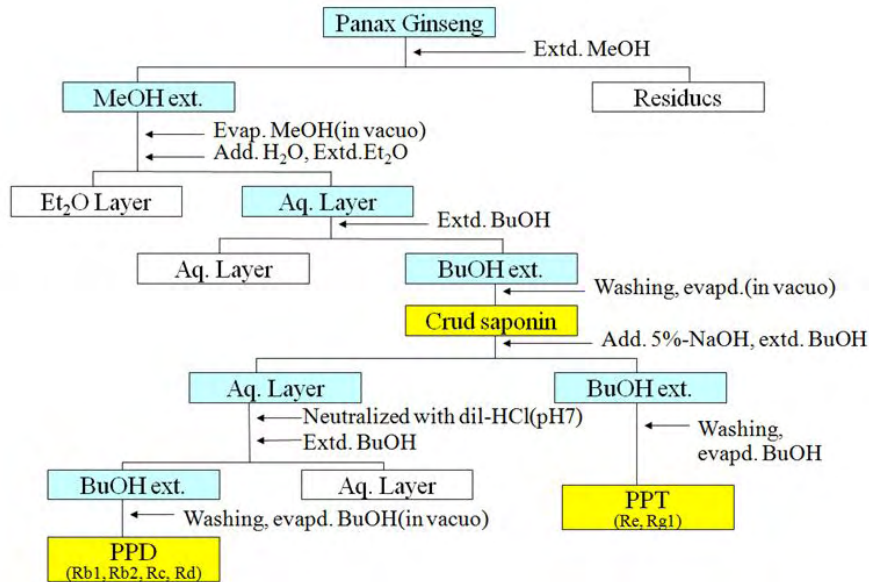


Fig. 61. Diagram of ginsenoside extraction

조사포닌 중 단일 성분의 사포닌만을 정제하기 위해서 Silica gel column chromatography를 수행하였다. 조사포닌 100g를 메탄올에 녹인 후 소량의 실리카를 첨가하여 농축하여 loading 샘플을 조제 하였다. Loading 샘플은 Silica gel이 충전 된 open 컬럼에 loading 시켰으며 전개용매는 CHCl3:MeOH:Water(65:35:10)혼합 용매를 사용 하였다. 각각의 분획은 TLC로 확인하여 유사한 Rf값을 가지는 물질끼리 혼합하여 농축하였으며 이를 2차 분리 시료로 사용하였다(Fig. 61).

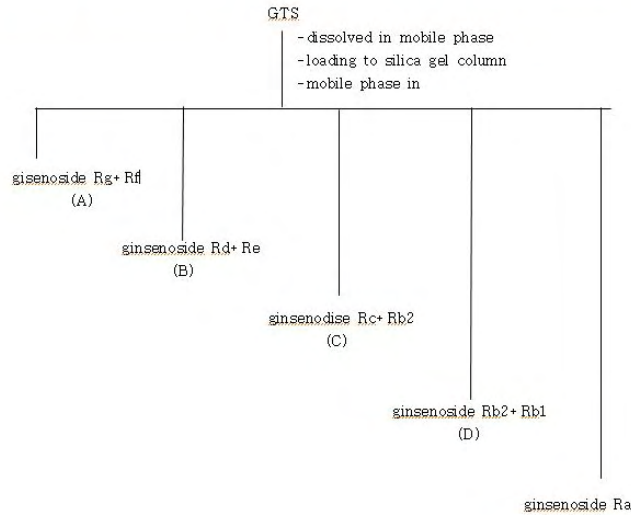


Fig. 62. The method for purification of ginsenoside

1차 분획은 ginsenoside Rg1+Rf, ginsenoside Rd+Re, ginsenoside Rc+Rb2, ginsenoside Rb2+Rb1, Ra로 나누었다. 이 중 Rb1+Rb2 분획은 ginsenoside Rb1을 얻어내기 위해서 ODS column chromatography를 이용하여 2차 정제에 이용하였다(Fig. 62)..

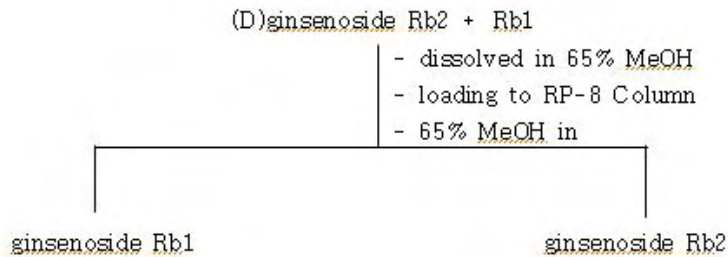
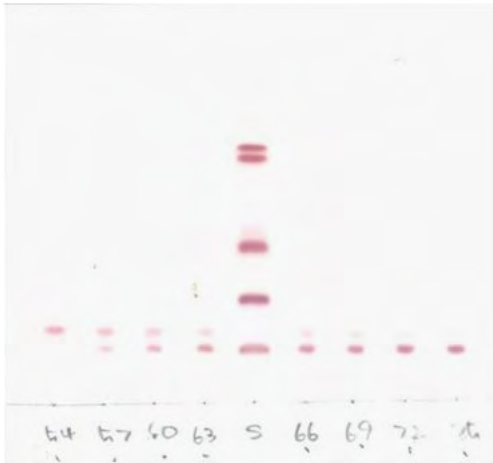


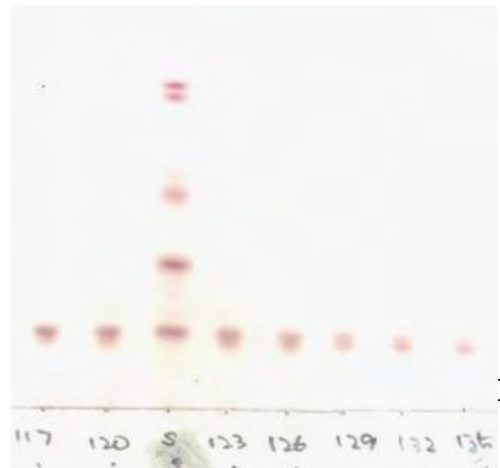
Fig. 63. Separation of ginsenoside Rb1 and Rb2

1차 분획시 사용한 silica gel chromatography에서는 Rb1과 Rb2의 Rf 값이 매우 유사하게 나타나 동일한 순상의 고정상을 이용할 경우 분리가 어려울 것으로 판단 되었다. 따라서 본 연구에서는 순상 resin과 다른 성질을 가지는 역상 resin을 2차 분리에 사용하였다. 2차 분획에서는 RP-8을 고정상으로 사용하였으며 전개용매는 65% MeOH를 사용하였다. 1차 분획과 마찬가지로 각각의 분획은 TLC를 통하여 동일한 Rf값을 가지는 물질만을 분획하여 농축하였으며 HPLC로 확인 하였다(Fig. 63).

A



B



B

Fig. 64. Separation of ginsenoside Rb1. A: Silica gel column chromatography, B: ODS column chromatography

Fig. 64에서 보는 것과 같이 최종적으로 TLC상에서 순수하게 보이는 ginsenoside Rb1을 분획할 수 있었다. 이를 HPLC로 분석 한 결과는 다음과 같다.

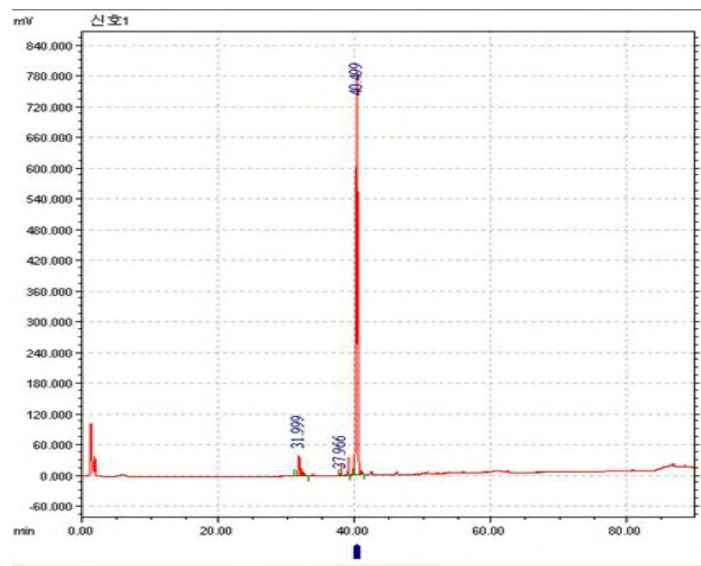


Fig. 65. Analysis of ginsenoside Rb1 by HPLC

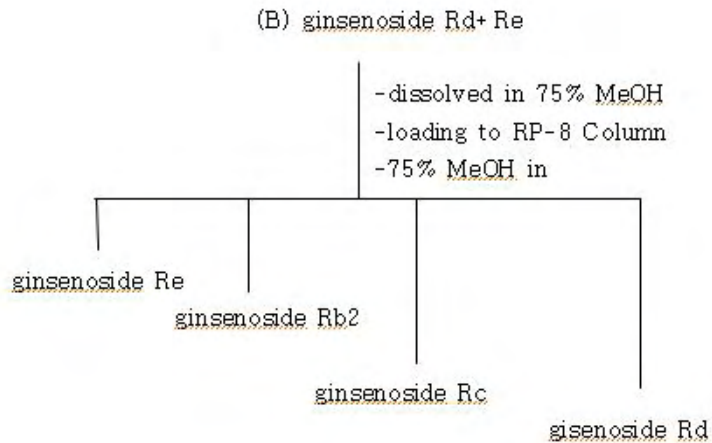


Fig. 66. Separation of ginsenoside Rd

Rd분리의 경우 Rd는 순상 column에서 Re와 Rf값이 상당히 유사하여 역시 순상컬럼을 다시 이용하여 분리하기가 어려웠다. 따라서 역상 column(RP8)을 이용하여 정제를 진행하였으며 전개용매는 75% MeOH을 이용하였다. 하지만 2차 정제시에 Rd 이외의 다른 사포닌들이 존재함을 확인함에 따라 분획물을 모아 flash column chromatography(RP18)을 이용한 3차 정제를 실시하였고 이 결과 순수한 Rd를 얻을 수 있었다(Fig. 67).

이와 같이 얻어진 물질들은 사포닌 변환실험의 기질 물질로 사용하였다. 고기능성의 minor ginsenoside의 표준 물질을 생산하기 위해서 균주 및 정제효소 등을 이용하여 major 사포닌을 전환 시켰으며 변환된 사포닌을 순수 정제하여 NMR을 통해 구조동정하였다.

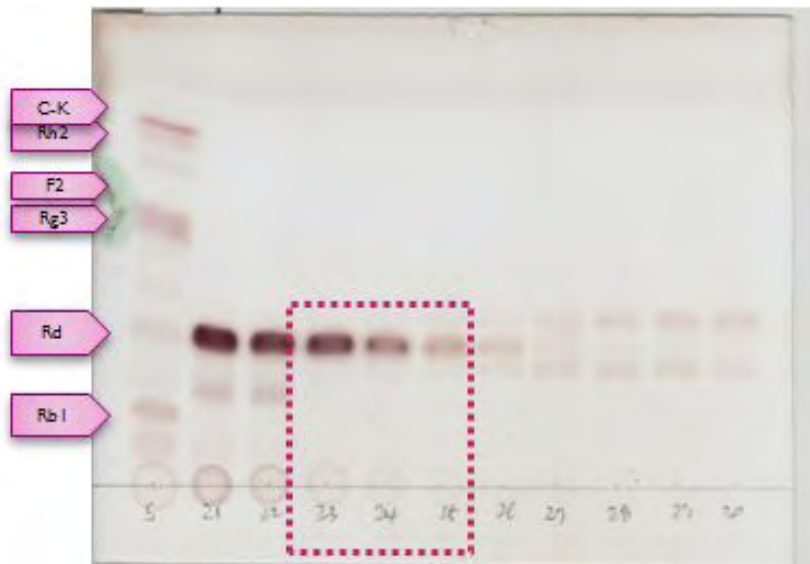


Fig. 67. Separation of ginsenoside Rd.

ginsenoside Rg3 정제

일반적으로 ginsenoside Rg3는 홍삼의 제조방법인 열처리를 통해 쉽게 만들어 질 수 있는 것으로 알려져있으나 이 경우 자연계에 존재하는 (S)form 타입의 ginsenoside 외에 부반응을 통해 (R) form의 ginsenoside가 생성된다. 하지만 균주 및 효소를 이용할 경우 부반응 없이 원하는 물질만을 정확히 생산 할 수 있으며 이렇게 생산된 물질은 표준물질로 생산하기 위해 Slica gel chromatography 및 ODS column chromatography를 수행하여 정제 하였다(Fig. 68).

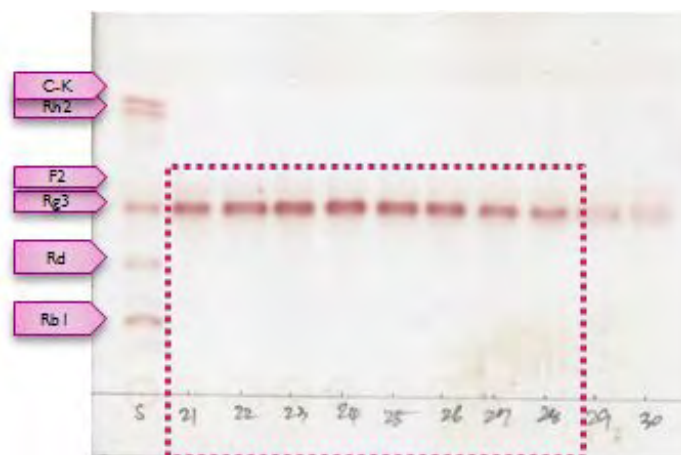


Fig. 68. The isolation of ginsenoside Rg3

순수하게 분리된 0.2 mM ginsenoside 전환산물은 pyridine- d_5 에 용해시켜 $^1\text{H-NMR}$ 과 $^{13}\text{C-NMR}$ 을 수행하였으며, 기기는 FT-NMR spectrometry (400 MHz Varian Inova AS 400, Varian USA)를 사용하였다. 분석결과 20(S) ginsenoside Rg3으로 구조동정 되었다(Table 13).

Table 13. Comparison of $^{13}\text{C-NMR}$ data for ginsenoside Rg3 with those reported in literatures (in pyridine- d_5)

C	20(R)-Rg3	20(S)-Rg3	Sample	C	20(R)-Rg3	20(S)-Rg3	Sample
1	39.2	39.2	39.3	22	43.3	36.0	36.0
2	26.7	26.8	26.9	23	22.7	23.1	23.2
3	89.0	89.0	89.0	24	126.1	126.4	126.3
4	39.8	39.8	39.8	25	130.8	130.8	130.7
5	56.4	56.5	56.5	26	25.9	25.9	25.9
6	18.5	18.5	18.6	27	17.7	17.1	17.2
7	35.2	35.3	35.3	28	28.2	28.2	27.2
8	40.0	40.1	40.1	29	16.6	16.7	16.8
9	50.4	50.5	50.5	30	17.4	17.8	17.8

10	37.0	37.0	37.0	3-O-inner -Glc-1	105.2	105.2	105.1
11	32.2	32.1	32.2	2	83.5	83.5	83.6
12	70.9	71.0	71.1	3	78.0	78.0	78.0
13	49.3	48.7	48.7	4	71.8	71.8	71.7
14	51.9	51.8	51.8	5	78.1	78.3	78.3
15	31.5	31.4	31.5	6	62.9	62.9	62.9
16	26.8	26.9	27.0	Outer-Glu -1	106.1	106.1	106.1
17	50.7	54.9	54.9	2	77.2	77.2	77.2
18	15.9	15.9	16.0	3	78.4	78.4	78.4
19	16.4	16.4	16.5	4	71.7	71.7	71.7
20	73.0	73.0	73.0	5	78.3	78.2	78.2
21	22.8	28.2	28.3	6	62.8	62.8	62.8

(사) ginsenoside C-K 정제

Ginsenoside의 하나인 compound K는 인삼 사포닌의 최종 대사체로 알려져 있는 사포닌으로 실제 인삼에는 거의 존재하지 않는 것으로 알려져 있다. 일반적으로 인삼을 섭취하였을 때 담즙 및 장내 미생물에 의하여 사포닌이 가수분해되어 최종적으로 C-K로 변환되어 체내에 흡수된다고 보고 되어있다. 따라서, C-K를 대량으로 정제하기 위해서는 미생물 등에 의한 가수분해 과정을 반드시 거쳐야 한다. 본 연구에서는 인삼유전자원소재은행으로부터 분양받은 인삼 사포닌 분해 효소를 이용하여 사포닌을 변환하였으며 이를 C-K 분리 시료로 이용하였다(그림 69).

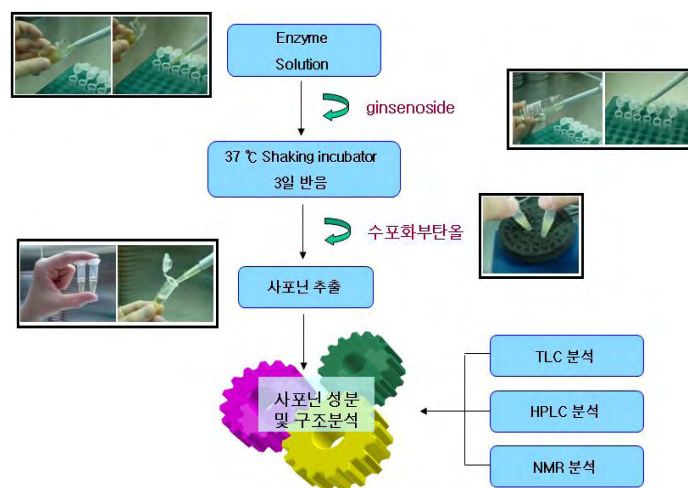


그림 69. C-K 생산을 위한 인삼사포닌의 가수분해과정

효소처리를 통해 가수분해된 인삼 사포닌은 TLC 및 HPLC 분석을 통해 실제 C-K가 생성되었는지 확인 후 정제 시료로 이용하였다. C-K의 경우 Rb1등에 비하여 극성이 낮은 물질로 본 연구에서는 silica gel을 고정상으로 하여 이동상은 CHCl₃:MeOH 10:1, CHCl₃:MeOH 9:2, CHCl₃:MeOH 8:3 비율로 점차적으로 극성을 올려주는 step gradient 방법을 이용하여 사포닌 정제를 수행하였다(그림 70). 이를 NMR을 통해 구조동정하였으며 ginsenoside C-K로 최종확인하였다(그림 71,72)

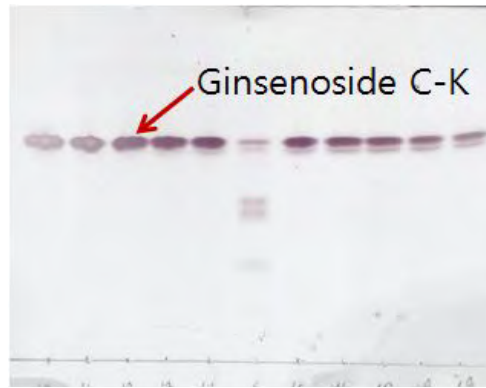


그림 70. Ginsenoside C-K의 분리

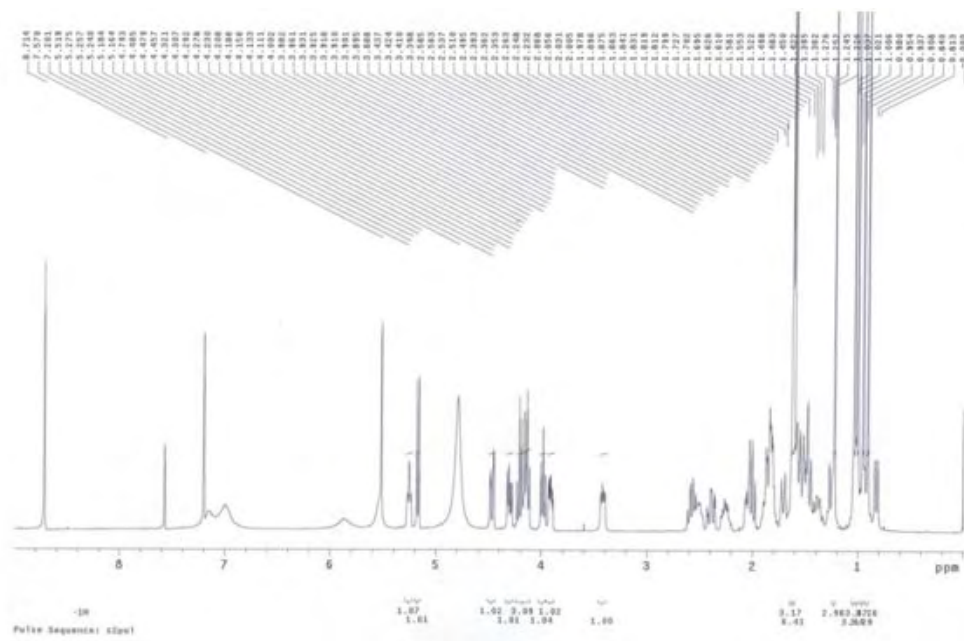


Fig. 71. ¹H-NMR spectra of the compoundK(400MHz,solvent: pyridine-d₅).

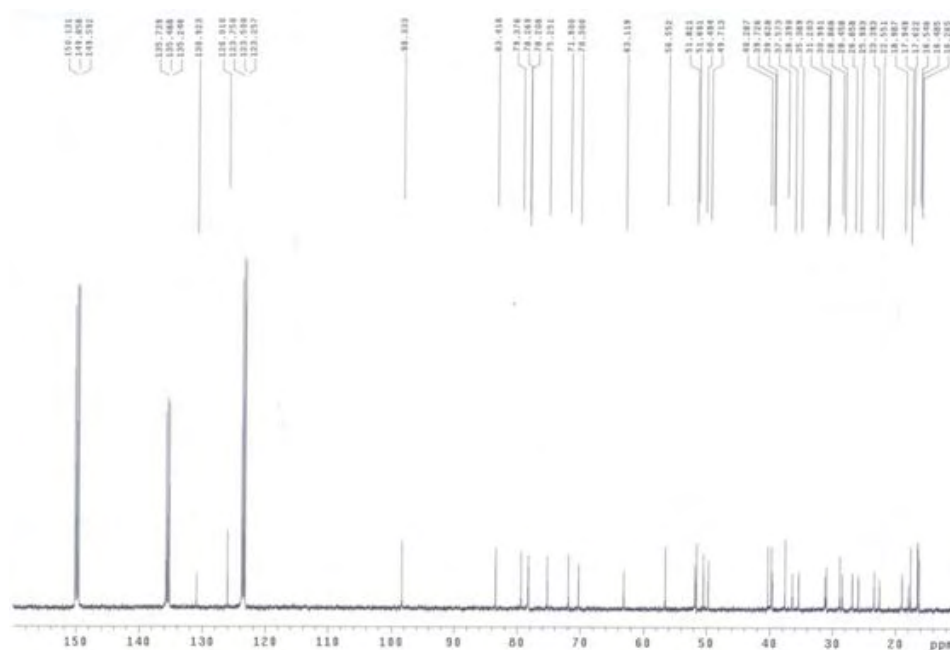


Fig. 72. ^{13}C -NMR spectra of the compound K (100 MHz, solvent: pyridine- d_5)

Table 15. Comparison of ^{13}C -NMR data for ginsenoside C-K with those reported in literatures (in pyridine- d_5)

Carbon No.	Compound K (100 MHz)	Compound			Carbon No.	Compound K (100 MHz)	Compound		
		2006 (100 MHz)	2006 (125 MHz)	2007			2006 (100 MHz)	2006 (125 MHz)	2007
1	39.62	39.4	39.19	39.42	19	16.26	16.1	16.14	16.4
2	28.45	28.3	28.05	28.3	20	83.41	83.3	83.08	83.32
3	78.2	78	77.83	78.07	21	23.39	22.5	22.13	22.37
4	39.72	39.6	39.34	39.6	22	36.39	36.1	35.96	36.2
5	56.55	56.3	56.14	56.38	23	23.62	23.4	22.98	23.22
6	18.98	18.8	18.55	18.8	24	126.01	125.9	125.75	126.03
7	35.38	35.2	34.95	35.19	25	130.92	130.9	130.69	130.01
8	40.28	40.1	39.86	40.09	26	25.9	25.9	25.54	25.81
9	50.49	50.3	50.09	50.33	27	17.62	17.9	17.54	17.8
10	37.57	37.4	37.14	37.38	28	28.86	28.8	28.47	28.73
11	30.99	30.8	30.56	30.7	29	16.54	16.4	16.14	16.3
12	70.3	70.3	69.96	70.19	30	17.34	17.4	17.18	17.42
13	49.71	49.4	49.3	49.54	1'	98.33	98.3	98.05	98.9
14	51.6	51.4	51.21	51.45	2'	75.25	75.2	74.92	75.1
15	31.2	30.9	30.74	30.99	3'	79.37	79.2	79.1	79.39
16	26.85	26.7	26.42	26.67	4'	71.9	71.5	71.45	71.63
17	51.82	51.7	51.39	51.62	5'	78.26	78.4	78.07	78.3
18	16.48	16.4	15.81	16.06	6'	63.11	62.8	62.68	62.92

Ginsenoside Rg2 및 Rg3의 제조 및 정제

Ginsenoside Rg3를 생산하기 위해 GS514균주를 활용하여 인삼의 조사포닌을 변환 시켰다. 인삼 조사포닌 50g을 물 1L에 녹여 균주 배양액과 48h동안 반응 후 이를 사포닌 정제에 활용하였다. 반응된 조사포닌 분획물을 수포화부탄올을 이용하여 사포닌 분획만을 분리하였고 이를 농축하여 변환 사포닌 분말을 제조하였다. 사포닌 분말은 다시 open column silica gel chromatography (CHCl₃:MeOH = 10:1, 9:1, 8:1, 7:3:0.5)를 이용하여 분획을 한 후 이를 ODS flash column chromatography(50% - 100% MeOH, gradient)를 활용하여 최종정제 하였다. 정제된 사포닌은 NMR을 통하여 최종 확인 하였으며 분리하였다.

■ Conversion of crude ginseng root saponins

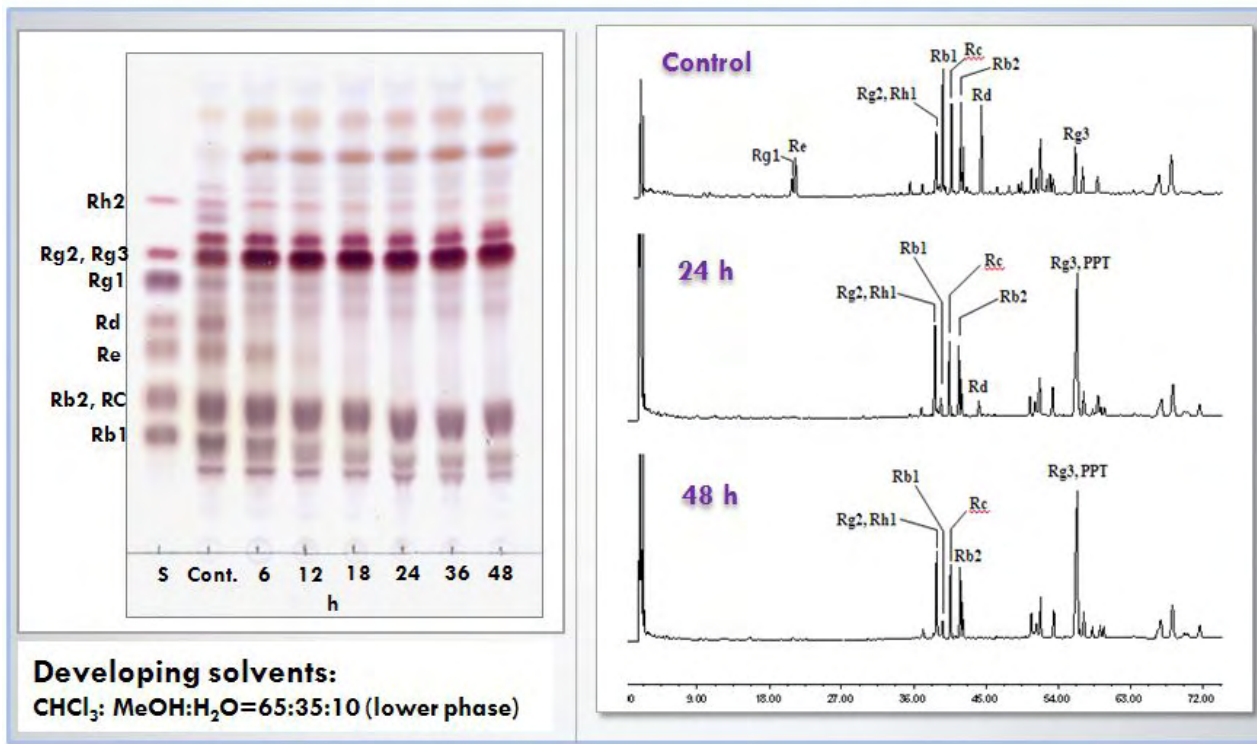
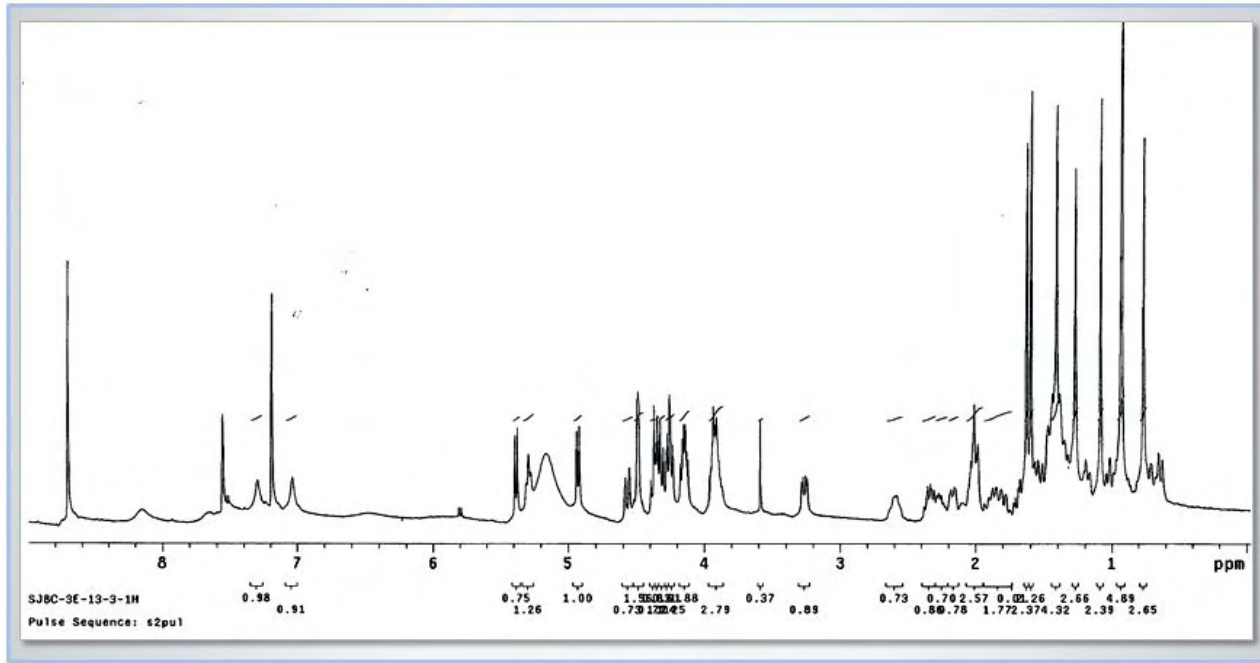


그림 73. GS514균주를 활용한 인삼 조사포닌의 ginsenoside Rg3로의 전환

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, pyridine- d_5)



$^{13}\text{C-NMR}$ ((100 MHz, pyridine- d_5)

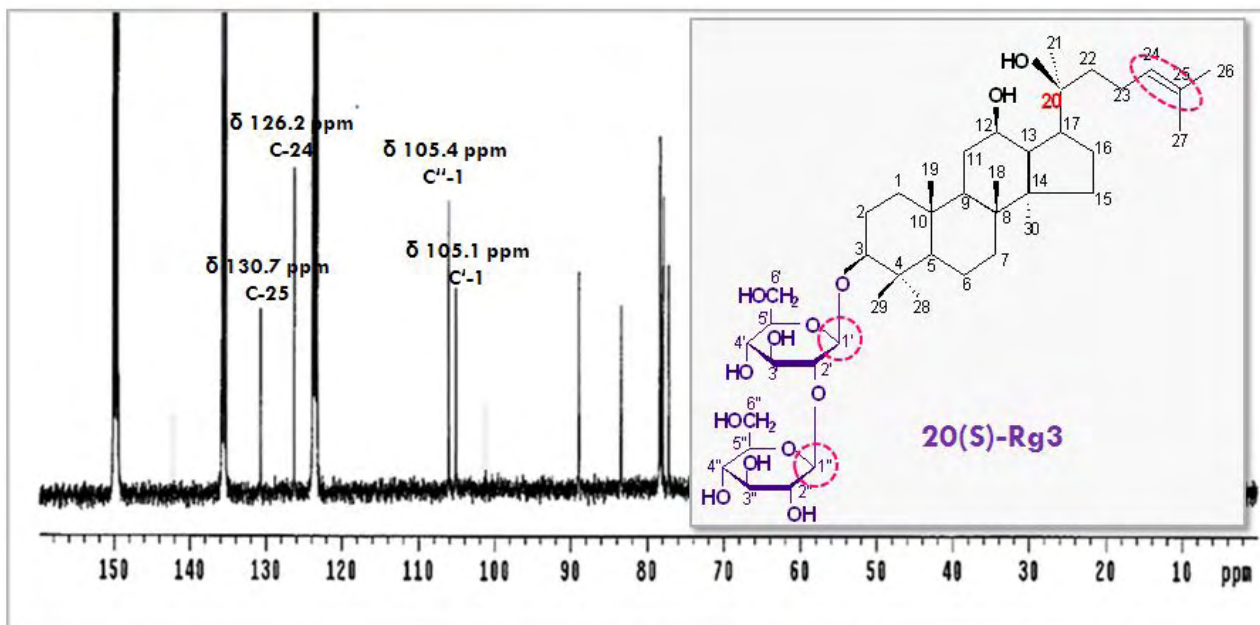


그림 74. NMR을 통한 분리된 ginsenoside Rg3의 확인

Ginsenoside Rg2를 생산하기 위해 KHU330균주를 활용하여 PPT계열의 ginsenoside Re 변환 시켰다. KHU 330 균주를 키운 배양액을 유기용매를 활용하여 조효소액을 제조한 후 이를 인삼 ginsenoside Re 10g을 물 1L에 녹여 균주 배양액과 72h동안 반응 후 이를 사포닌 정제에 활용하였다. 반응된 조사포닌 분획물을 수포화부탄올을 이용하여 사포닌 분획만을 분리하였고 이를 농축하여 변환 사포닌 분말을 제조하였다. 사포닌 분말은 다시 open column silica gel chromatography (CHCl₃:MeOH = 10:1, 9:1, 8:1, 7:3:0.5)를 이용하여 분획을 한 후 이를 ODS flash column chromatography(30% - 70% MeOH, gradient)를 활용하여 최종정제 하였다. 정제된 사포닌은 NMR을 통하여 최종 확인 하였으며 분리하였다.

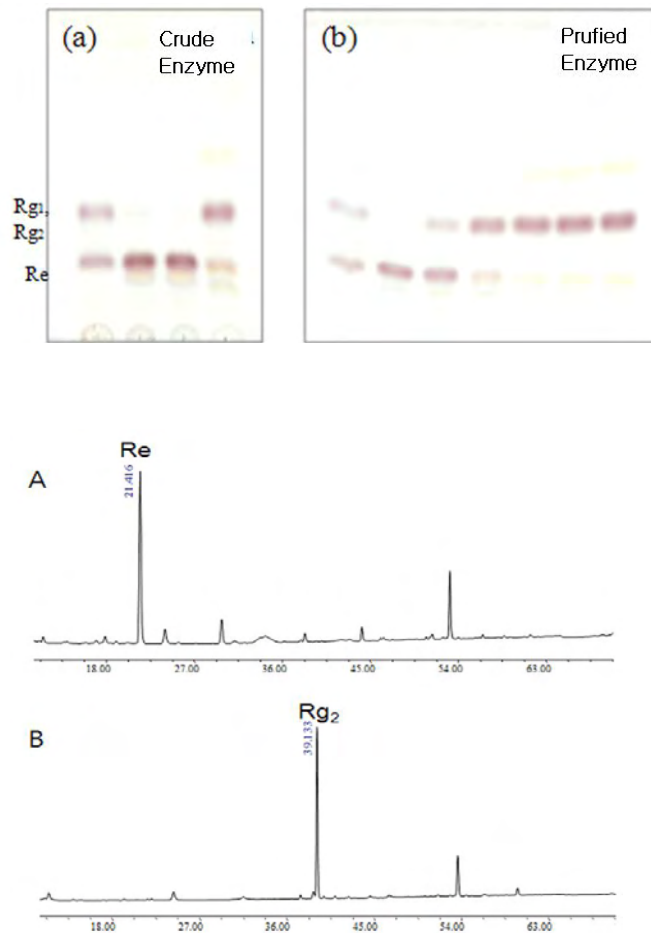


그림 75. KHU330 균주를 활용한 ginsenoside Rg2의 생산

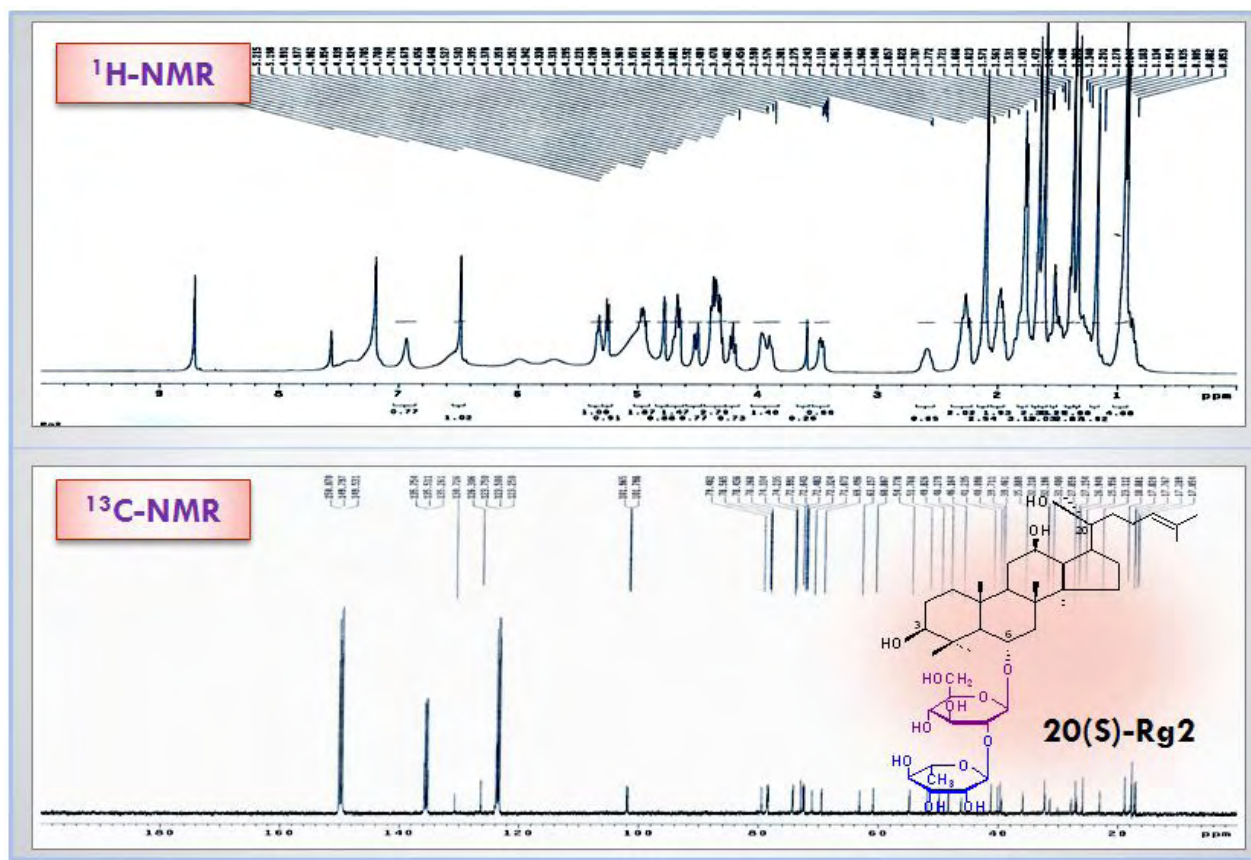


그림 76. 분리된 ginsenoside Rg2의 NMR을 통한 재확인

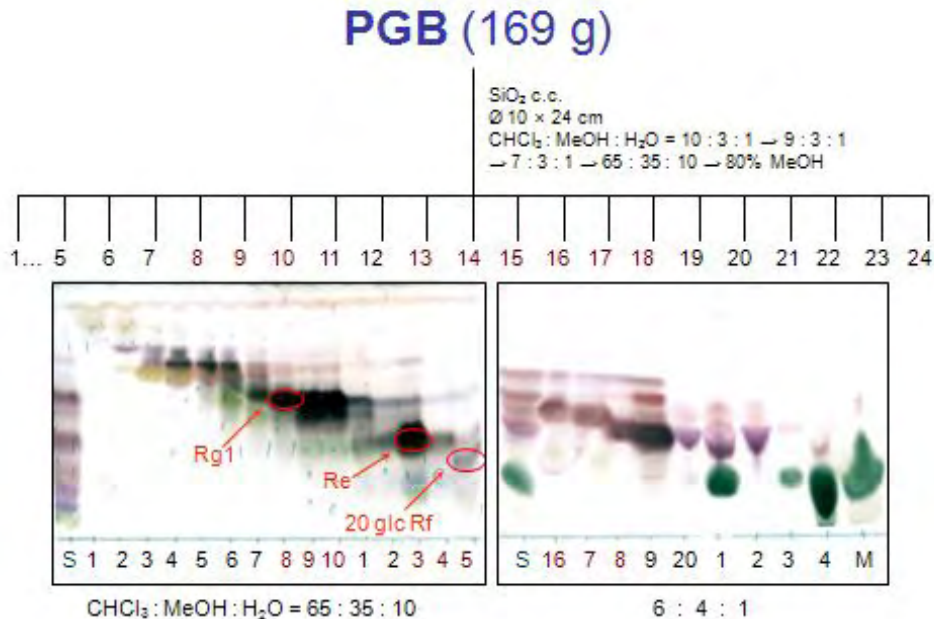


Fig. 2. Isolation procedure of ginsenosides from the roots of *Panax ginseng*.

나. 결과 및 고찰

(1) 추출 및 분획

- 6년근 수삼 20 kg(생체 중)을 세절한 후 90% MeOH 용액(50 L)에 24시간 담가서 실온에서 추출하였다. 추출물을 여과지로 여과하고, 남은 것을 80% MeOH 용액(50 L)으로 2회 더 추출하였다. 얻어진 여액을 45°C에서 감압 농축하여 농축물 2.2 kg을 얻었다. 얻어진 농축물을 EtOAc (3 L × 3)/H₂O (3 L)로 분배 추출하였으며, EtOAc 층을 제하고 남은 H₂O층을 *n*-BuOH(2.8 L × 3)로 추출 하였다. 각층을 감압 농축하여 EtOAc (25 g), *n*-BuOH (162 g) 및 H₂O 분획물을 얻었다.

- (2) 비극성 분획인 EtOAc 분획으로부터 silica gel 및 ODS column chromatography를 반복하여 saponin을 분리, 정제하였다.

- EtOAc 분획물 25 g에 대하여 SNAP Cartridge KP-Sil (100 g) Flash column chromatography (c.c.) (*n*-hexane-EtOAc=3:1→CHCl₃-MeOH=20:1→10:1→5:1)를 실시하여, 10개의 분획물(PGE1~PGE10)을 얻었다. 먼저 PGE7 분획물 1.4 g을 가지고 silica gel c.c.를 실시하여 17개의 분획물(PGE7-1~PGE7-8)을 얻었고 그 중 PGE7-4 분획물 104 mg을 가지고 ODS c.c.을 실시하여 PGE7-4-3 분획에서 ginsenoside Rh₁을 분리하였다.

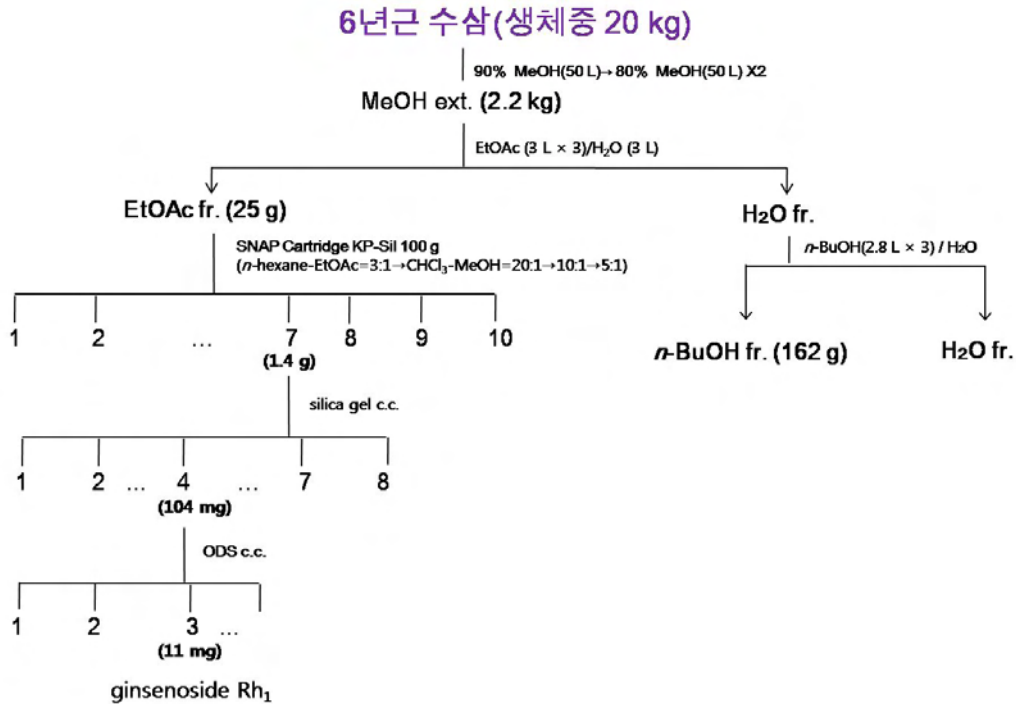


Fig. 3. Isolation procedure of ginsenosides from the roots of *Panax ginseng*.

(3) 조사포닌 분획에 대하여 silica gel 및 ODS column chromatography를 반복하여 7종의 ginsenoside을 분리, 정제하였다.

- *n*-BuOH 분획물 160 g에 대하여 silica gel column chromatography(c.c.) (φ 10 × 24 cm, CHCl₃-MeOH-H₂O=10:3:1 → 8:3:1 → 6:4:1)를 실시하여, 24개의 분획물(PGB1~PGB24)을 얻었다. 먼저 PGB8 분획물 2.88 g을 가지고 silica gel c.c.을 실시하여 17개의 분획물(PGB8-1~PGB8-17)을 얻었고 그 중 PGB8-10 분획물 466.9 mg의 ginsenoside Rg1을 분리했다. PGB9+10 분획물 18.08 g에 대하여 silica gel c.c.을 실시하여 총 14개의 분획물(PGB9+10-1~PGB9+10-14)을 얻었으며 PGB9+10-10+11 분획물 13.4 g에 대하여 다시 한 번 ODS c.c.을 진행하였고 총 8개의 분획물(PGB9+10-10+11-1~PGB9+10-10+11-8)을 얻었다. 그 분획물 중 PGB9+10-10+11-5 분획물 434 mg에 대하여 silica gel c.c.을 진행하여 16개의 분획물(PGB9+10-10+11-5-1~PGB9+10-10+11-5-16)을 얻었으며, 그 중 PGB9+10-10+11-5-13 분획물 36.1 mg의 ginsenoside Rg2와 PGB9+10-10+11-5-14 분획물 21 mg의 Notoginsenoside R2를 분리하였다. PGB13 분획물 15.8 g에 대하여 silica gel c.c.을 진행해서 18개의 분획물(PGB13-1~PGB13-18)을 얻었다. 그 중 PGB13-8 분획물 61 mg의 ginsenoside Re를 분리했다. PGB16+17 분획물 4.3 g에 대하여 silica gel c.c.을 진행하여 20개의 분획물(PGB16+17-1~PGB16+17-20)을 얻었고, 그 중 PGB16+17-7 분획물 370 mg에 대하여 다시 ODS c.c.을 진행하여 20개의 분획물(PGB16+17-7-1~PGB16+17-7-20)을 얻었고 PGB16+17-7-9 분획물 3.4 mg의 ginsenoside Rf와 PGB16+17-7-16 분획물 104 mg의 ginsenoside Rd를 얻었다.

PGB16+17-9 분획물 1.7 g에 대하여 ODS c.c.을 진행하여 36개의 분획물 (PGB16+17-9-1~PGB16+17-9-36)을 얻었고, PGB16+17-9-12 분획물 223 mg의 ginsenoside 20-glc-Rf가 분리되었고 PGB16+17-9-15 분획물 68.2 mg의 ginsenoside Re가 분리되었고 PGB16+17-9-33 분획물 42 mg이 ginsenoside Rb2로 분리되었다. PGB16+17-12 분획물 3.8 g에 대하여 ODS c.c.을 실시하여 18개의 분획물 (PGB16+17-12-1~PGB16+17-12-18)을 얻었다. 그 중 PGB16+17-12-10 분획물이 ginsenoside Rb1임을 알았고, 그 양은 24 mg이었다. PGB18분획 3.03 g에 대하여 silica gel c.c.을 실시하여 18개의 분획물(PGB18-1~PGB-18-20)을 얻었다. PGB18-6+7분획물 183.8 mg에 대해서 ODS c.c.을 실시하였고 총 9개의 분획물 (PGB18-6+7-1~PGB18-6+7-9)을 얻었고 PGB18-6+7-7분획물 47.5 mg이 ginsenoside Re임을 알았다. PGB18-9 분획물 306.5 mg을 ODS c.c.을 실시하여 총 11개의 분획물 (PGB18-9-1~PGB18-9-11)을 얻었고 PGB18-9-9 분획물 47.5 mg이 ginsenoside Rf임을 알았다. PGB18-11 분획물 60 mg이 chikusetsusaponin VI으로 분리하였다. PGB19 분획물 2.74 g을 ODS c.c. 실시하여 총 24개의 분획물(PGB19-1~PGB19-24)을 얻었고 그 중 PGB19-6 분획물 322 mg이 ginsenoside Rg1임을 알았고 PGB19-8 분획물 58.2 mg을 가지고 ODS c.c.을 실시하여 10개의 분획물(PGB19-8-1~PGB19-8-10)을 얻었고, 그 중 PGB19-8-7 분획물 21 mg이 ginsenoside Rd임을 알았다. PGB19-11 분획물 233.9 mg을 가지고 ODS c.c.을 실시하여 총 10개의 분획물(PGB11-1~PGB11-10)을 얻었고, 그 중 PGB19-11-2 분획물 32 mg에서 ginsenoside Rd를 분리하였다.

Panax ginseng n-BuOH fr. (162 g)

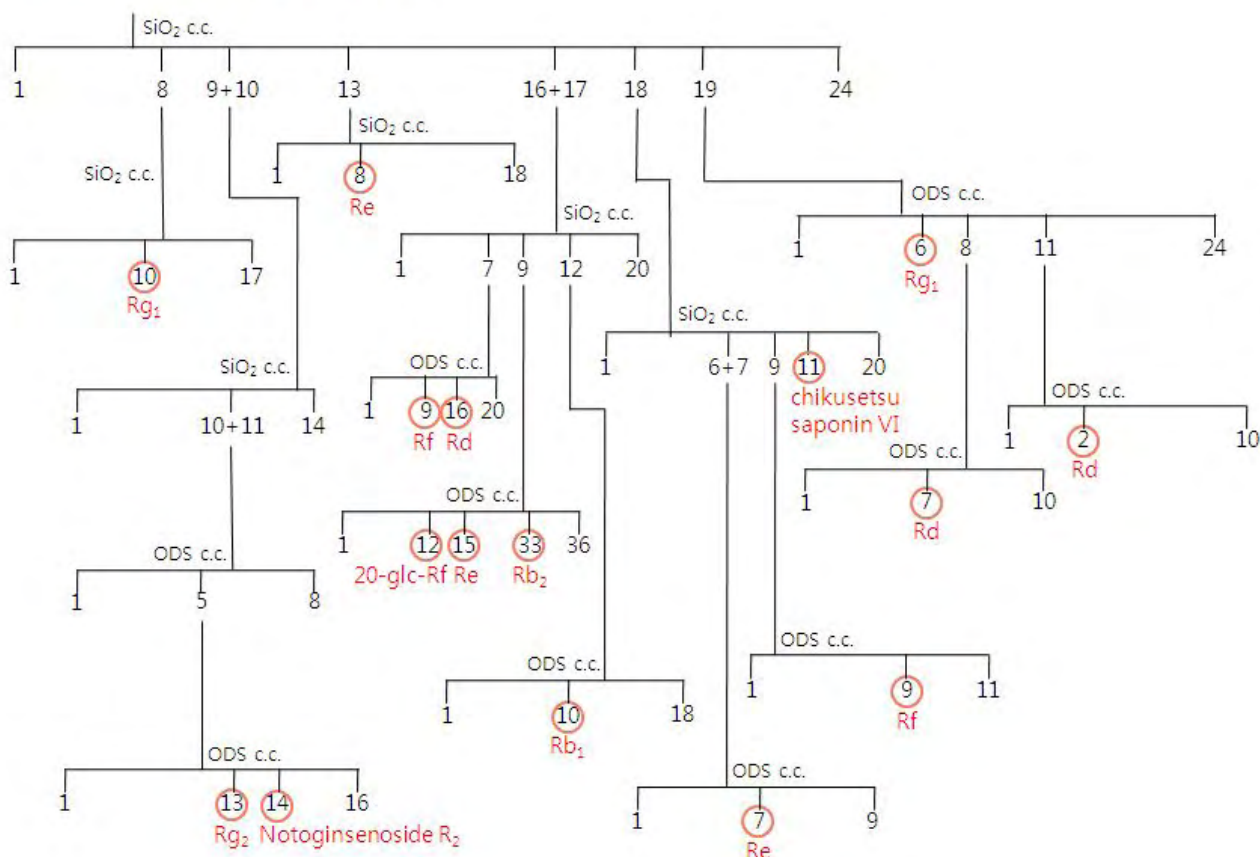


Fig. 4. Isolation procedure of ginsenosides from the roots of *Panax ginseng*.

2. 인삼 사포닌 부분가수분해산물로부터 인삼 사포닌의 분리, 정제

가. 재료 및 방법

- 인삼 3.3 kg을 추출, 농축하였다
- 농축물을 EtOAc, H₂O을 이용하여 용매 분획하였다.
- 얻어진 H₂O 분획물을 75°C에서 50% acetic acid로 90분간 반응하여 부분 가수분해를 실시하였다.
- 산으로 부분 가수분해를 실시한 H₂O 분획을 EtOAc, n-BuOH, H₂O을 이용하여 용매 분획하였다.
- TLC를 확인하여 비극성 분획인 EtOAc분획으로부터 silica gel 및 ODS column chromatography를 반복하여 saponin을 분리, 정제하였다.

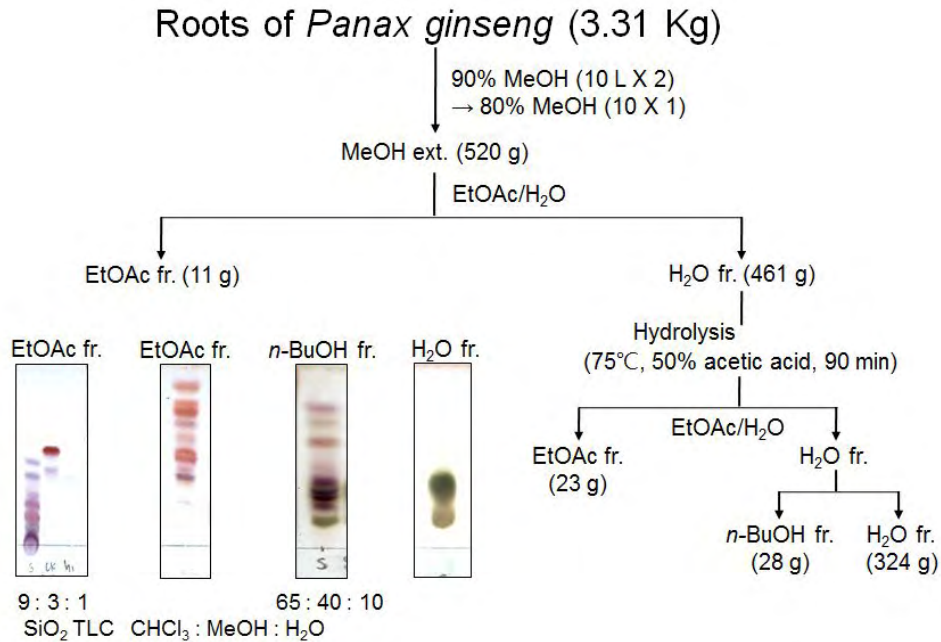


Fig. 5. Fractionation procedure of the extracts from the roots of *Panax ginseng*.

나. 결과 및 고찰

- 수삼 3.3 kg(생체중)을 세절한 후 90% MeOH 용액(10 L)에 24시간 담가서 실온에서 추출하였다. 추출물을 여과지로 여과하고, 남은 것을 80% MeOH 용액(50 L)으로 2회 더 추출하였다. 얻어진 여액을 45°C에서 감압 농축하여 농축물 520 g을 얻었다. 얻어진 농축물을 EtOAc (3 L × 3)/H₂O (3 L)로 분배 추출하였으며, EtOAc층을 제하고 남은 H₂O층 (461 g)에 대하여 75°C에서 50% acetic acids로 90분간 반응하여 부분 가수분해를 실시하였다. 그 후, 다시 EtOAc, *n*-BuOH, H₂O로 분획을 나누었고, 각각 감압 농축하여 EtOAc (23 g), *n*-BuOH (28 g) 및 H₂O 분획물을 얻었다.
- EtOAc 분획물 25 g에 대하여 Silica gel column chromatography (c.c.) (CHCl₃-MeOH=8:1→7:1→4:1→CHCl₃-MeOH-H₂O=5:4:1→100% MeOH)를 실시하여, 17개의 분획물(HPGE1~HPGE17)을 얻었다. 먼저 HPGE2 분획물 897 mg을 가지고 ODS c.c.를 실시하여 9개의 분획물(HPGE2-1~HPGE2-9)을 얻었고 그 중 HPGE2-4 분획물 420 mg을 가지고 ODS c.c.을 실시하여 HPGE2-4-5 분획에서 ginsenoside Rh₄을 분리하였다.

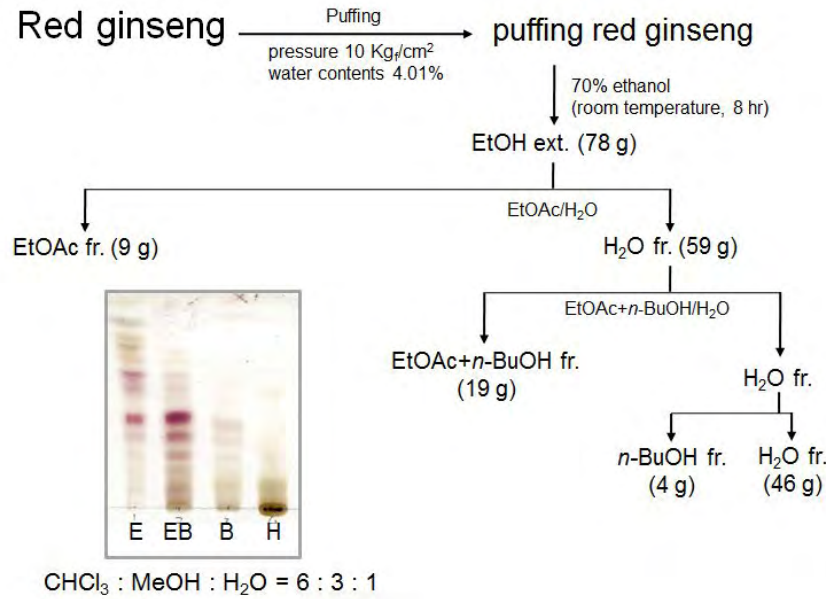


Fig. 7. Fractionation procedure of the extracts from the roots of puffing red ginseng.

나. 결과 및 고찰

- 압력 $10 \text{ kgf}\cdot\text{cm}^{-2}$ 로 팽화시킨 홍삼 208 g을 70% EtOH 용액에 8시간 담가서 실온에서 추출하였다. 추출물을 여과지로 여과하고, 얻어진 여액을 40°C 에서 감압 농축하여 농축물 78 g을 얻었다. 얻어진 농축물을 EtOAc (1 L \times 3)/H₂O (3 L)로 분배 추출하였으며, EtOAc층을 제하고 남은 H₂O층을 EtOAc-*n*-BuOH (1:3 = 1 L)로 다시 분획하고 남은 H₂O층에 대하여 *n*-BuOH (900 ml)로 분획하였다. 각각 감압 농축하여 EtOAc (9 g), EtOAc-*n*-BuOH (19 g), *n*-BuOH (4 g) 및 H₂O 분획물을 얻었다.

EtOAc-*n*-BuOH 분획물 19 g에 대하여 silica gel column chromatography (c.c.) (CHCl₃ -MeOH-H₂O = 10:3:1 \rightarrow 6:3:1 \rightarrow 100% MeOH)를 실시하여, 10개의 분획물 (PRGEB1~PRGEB10)을 얻었다. 먼저 PRGEB3 분획물 960 mg을 가지고 ODS c.c. (MeOH-H₂O = 2:1 \rightarrow 100% MeOH)를 실시하여 PRGEB3-3 분획에서 ginsenoside Rh₁을 분리하였다.

또한, PRGEB6 분획물 1 g을 가지고 silica gel c.c. (CHCl₃ -MeOH-H₂O = 10:3:1 \rightarrow 6:3:1 \rightarrow 100% MeOH)를 실시하여, 11개의 분획물 (PRGEB6-1~PRGEB6-13)을 얻었다. 이 중 PRGEB6-2 분획물 320 mg을 가지고 ODS c.c. (MeOH-H₂O = 4:1 \rightarrow 100% MeOH)를 실시하여 PRGEB6-2-2 분획에서 ginsenoside Rg₂을 분리하였다.

마지막으로, PRGEB7 분획물 2.7 g을 가지고 ODS c.c. (MeOH-H₂O = 2:1 \rightarrow 5:1 \rightarrow 10:1 \rightarrow 100% MeOH)를 실시하여 PRGEB7-11 분획에서 ginsenoside Rg₃을 분리하였다.

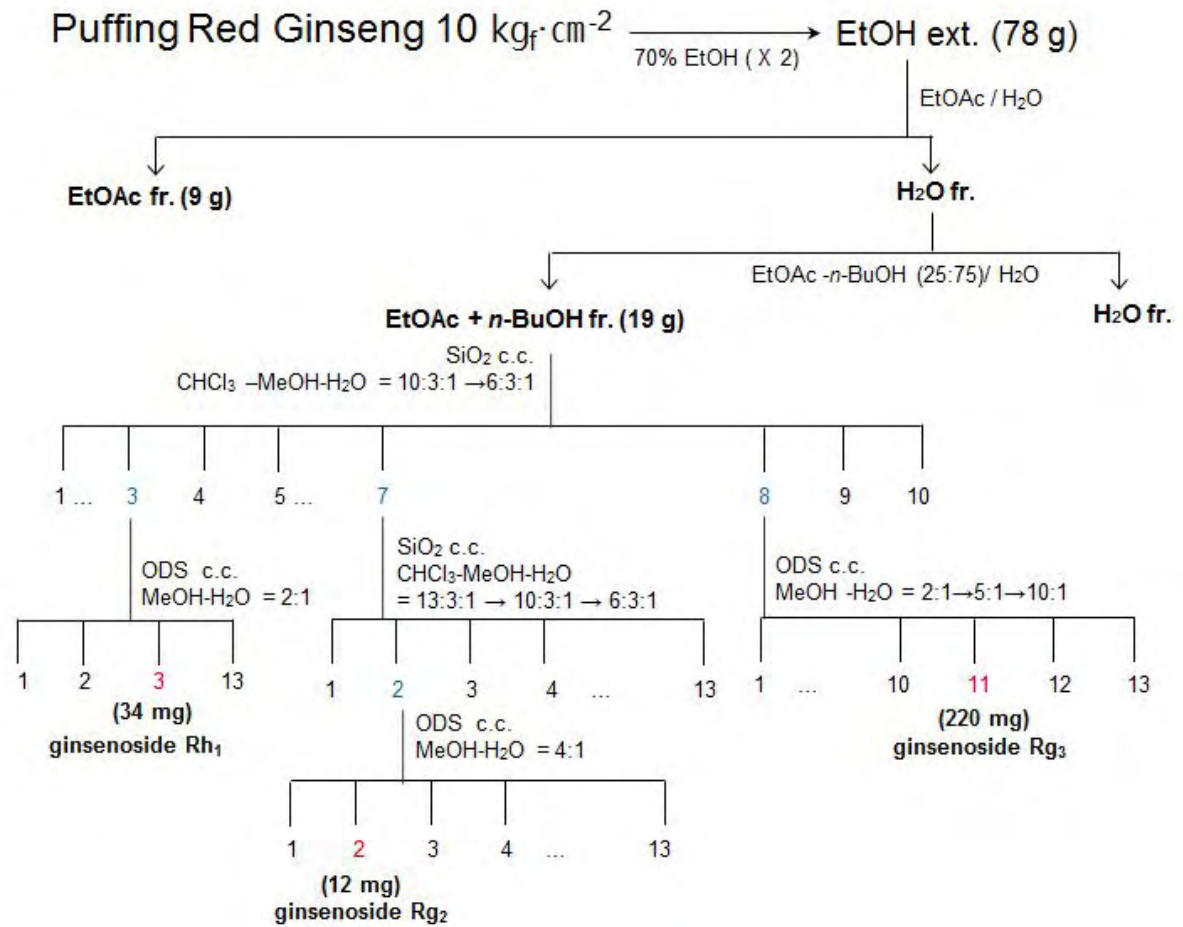


Fig. 8. Isolation procedure of ginsenosides from the roots of puffing red ginseng.

3-2. 압력 9 kgf·cm⁻²로 팽화한 홍삼으로부터 사포닌의 분리, 정제

가. 재료 및 방법

- 팽화시킨 인삼 208 g을 추출, 농축하였다.
- 농축물(71 g)을 EtOAc, *n*-BuOH, H₂O을 이용하여 용매 분획하였다.
- 얻어진 분획물을 TLC를 통하여 사포닌을 확인하였다.
- 비극성 분획인 EtOAc분획으로 부터 silica gel 및 ODS column chromatography를 반복하여 saponin을 분리·정제하였다.

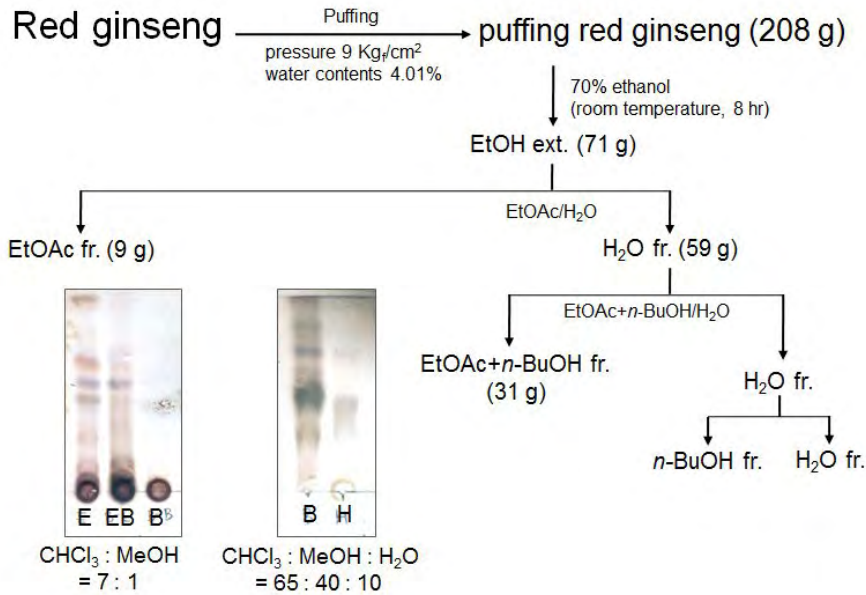


Fig. 9. Fractionation procedure of the extracts from the roots of puffing red ginseng.

나. 결과 및 고찰

팽화시킨 인삼 208 g을 70% EtOH 용액에 8시간 담가서 실온에서 추출하였다. 추출물을 여과지로 여과하고, 얻어진 여액을 45°C에서 감압 농축하여 농축물 71 g을 얻었다. 얻어진 농축물을 EtOAc (1 L × 3)/H₂O (3 L)로 분배 추출하였으며, EtOAc층을 제하고 남은 H₂O층을 EtOAc-*n*-BuOH (1:3=1L)로 다시 분획하였다. 각각 분획물을 감압 농축하여 EtOAc (9 g), EtOAc-*n*-BuOH (31 g) 및 H₂O 분획물을 얻었다.

EtOAc-*n*-BuOH 분획물 31 g에 대하여 Flash c.c. (CHCl₃-MeOH = 15:1 → 7:1 → 4:1 → EtOH-MeOH = 4:1)를 실시하여, 12개의 분획물(PG9EB1~PG9EB12)을 얻었다. 먼저 PG9EB2 분획물 735 mg을 가지고 silica gel c.c. (*n*-hexane-EtOAc = 12:1 → 10:1 → 4:1 → 1:1)를 실시하여 PG9EB3-3 분획에서 falcarinol, PG9EB3-7 분획에서 β-sitosterol을 분리하였다.

또한, PG9EB7 분획물 1.52 g을 가지고 ODS c.c. (MeOH-H₂O = 14:1 → 25:1 → 30:1)를 실시하여, 25개의 분획물(PG9EB7-1~PG9EB7-25)을 얻었다. 그 결과 PG9EB7-12 분획물에서 ginsenoside Rk3를, PG9EB7-14 분획물에서 ginsenoside Rh₄를 분리하였다.

PG9EB9 분획물 1.94 g을 가지고 ODS c.c. (MeOH-H₂O = 14:1 → 15:1 → 28:1)를 실시하여, 41개의 분획물(PG9EB9-1~PG9EB9-41)을 얻었다. 그 결과 PG9EB9-23 분획물에서 ginsenoside F₄, PG9EB9-39에서 ginsenoside Rg5를 분리하였다. 또한 PG9EB9-8번 분획 102 mg을 가지고 silica gel c.c. (CHCl₃-MeOH = 6:1)를 실시하여 8개의 분획물(PG9EB9-8-1~PG9EB9-8-12)을 얻었고, PG9EB9-8-2 분획에서 ginsenoside Rh₁을 분리하였다.

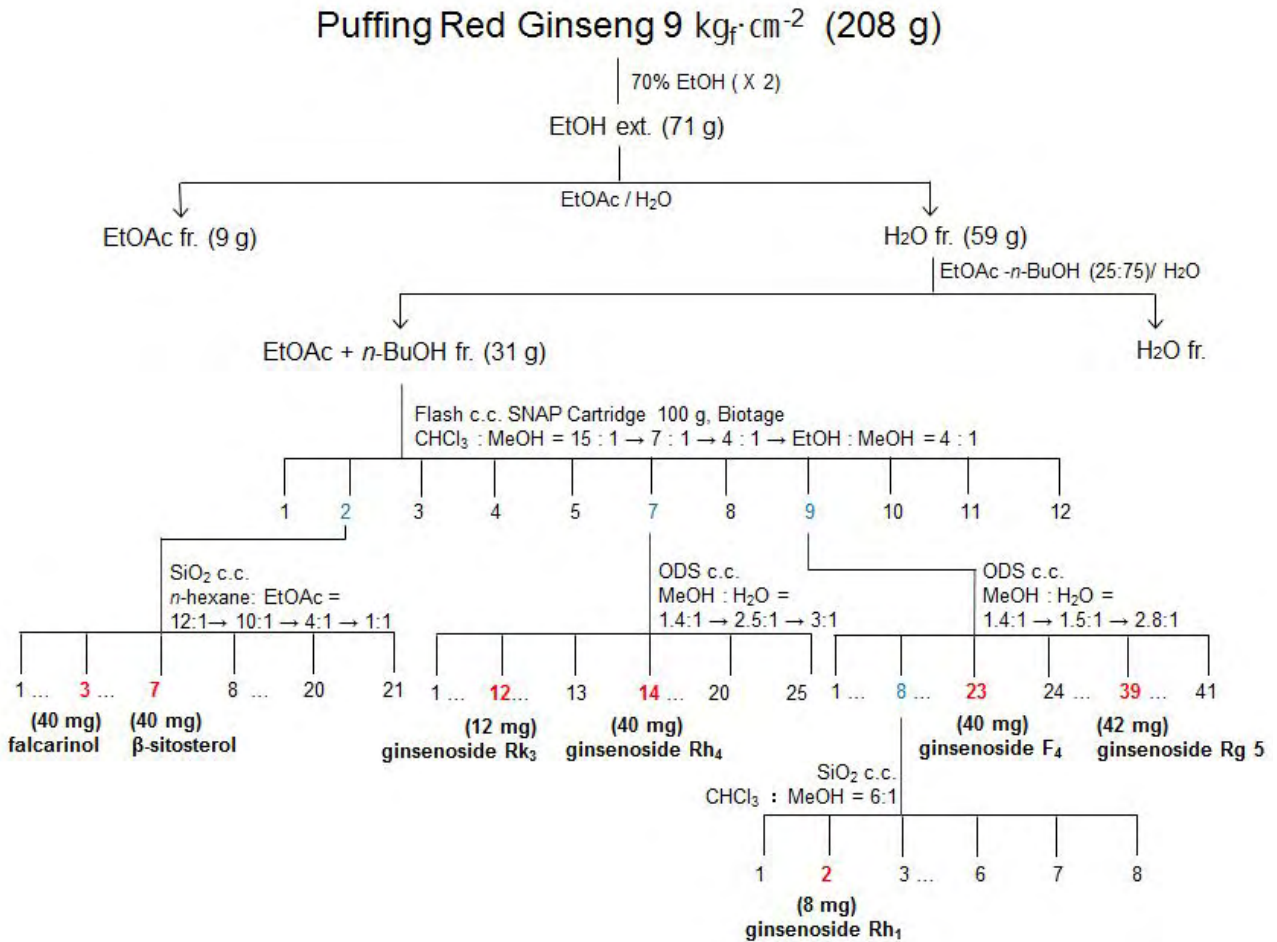


Fig. 10. Isolation procedure of ginsenosides from the roots of puffing red ginseng.

제2절 인삼 사포닌의 구조동정

1. 분리한 saponin에 대하여 다음과 같은 스펙트럼 데이터를 해석하여 구조를 동정하였다.
 - 분리한 화합물에 대해서 UV detection (254, 365 nm)과 TLC plate상의 10%-H₂SO₄ 또는 anisaldehyde H₂SO₄등의 발색시약 분무 시 나타나는 양상에 따라 화합물의 골격 군을 예상한다.
 - 화합물의 mp를 측정한다.
 - 선광도 및 CD 로부터 절대입체 구조를 결정한다.
 - UV spectrum으로부터 물질 군을 확인한다.
 - IR spectrum으로부터 화합물이 가지고 있는 관능기들을 확인한다.
 - ¹H-NMR spectrum상의 chemical shift로부터 수소관련 화학적 환경해석, coupling constant로부터 인접 수소와의 입체배열 해석, integration으로부터 수소 signal의 개수를 확인한다.
 - ¹³C-NMR spectrum으로부터 화합물을 구성하는 탄소수 및 탄소의 주위 환경을 해석한다.

- DEPT NMR data로부터 탄소의 다중도를 확인한다.
- ^1H - ^1H COSY spectrum으로부터 인접 수소의 환경을 해석하고 부분구조를 확인한다.
- ^1H - ^{13}C COSY spectrum으로부터 수소와 탄소의 direct 연결을 확인한다.
- HMBC spectrum으로부터 부분 구조를 포함한 전체적인 화학구조를 확인한다.
- NOE spectrum으로부터 공간적 입체적 상대구조를 해석한다.
- NOESY spectrum으로부터 더 확실한 상대적 입체구조를 확인한다.

ginsenoside Rg₁: ^1H -NMR (400 MHz, pyridine- d_5 , δ_{H}) 5.25 (1H, t, $J=6.8$ Hz, H-24), 5.13 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1 $''$), 4.98 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-1'), 4.34 (1H, m, H-6), 4.19 (1H, m, H-12), 3.49 (1H, dd, $J=11.6, 4.8$ Hz, H-3), 2.05 (3H, s, H-28), 1.61 (6H, s, H-26, 27), 1.58 (3H, s, H-21), 1.57 (3H, s, H-29), 1.16 (3H, s, H-18), 1.03 (3H, s, H-19), 0.82 (3H, s, H-30); ^{13}C -NMR (100 MHz, pyridine- d_5 , δ_{C}) 130.749 (C-25), 125.782 (C-24), 105.787 (C-1'), 98.098 (C-1 $''$), 83.228 (C-20), 79.983 (C-6), 79.444 (C-3'), 79.065 (C-3 $''$), 78.602 (C-3), 78.026 (C-5'), 77.920 (C-5 $''$), 75.349 (C-2'), 75.031 (C-2 $''$), 71.824 (C-4'), 71.581 (C-4 $''$), 70.155 (C-12), 63.050 (C-6 $''$), 62.808 (C-6'), 61.337 (C-5), 51.578 (C-17), 51.335 (C-14), 49.955 (C-9), 49.113 (C-13), 45.110 (C-7), 41.106 (C-8), 40.279 (C-4), 39.665 (C-10), 39.423 (C-1), 36.079 (C-22), 31.688 (C-28), 30.930 (C-11), 30.680 (C-15), 27.859 (C-2), 26.608 (C-16), 25.698 (C-26), 23.211 (C-23), 22.339 (C-21), 17.744 (C-27), 17.531 (C-18, 19), 17.175 (C-30), 16.326 (C-29)

ginsenoside Rb₁: ^1H -NMR (400 MHz, pyridine- d_5 , δ_{H}) 5.33 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1 $''$), 5.30 (1H, m, H-24), 5.08 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-1 $'''$), 5.04 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-1 $''''$), 4.89 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1'), 4.28 (1H, m, H-12), 3.25 (1H, dd, $J=11.6, 4.4$ Hz, H-3), 1.64 (3H, s, H-27), 1.62 (3H, s, H-21), 1.59 (3H, s, H-26), 1.25 (3H, s, H-28), 1.08 (3H, s, H-29), 0.94 (3H, s, H-18, 30), 0.79 (3H, s, H-19); ^{13}C -NMR (100 MHz, pyridine- d_5 , δ_{C}) 131.007 (C-25), 125.889 (C-24), 105.923 (C-1 $''$), 105.324 (C-1 $'''$), 105.082 (C-1 $''''$), 98.068 (C-1 $''''$), 89.021 (C-3), 83.486 (C-2'), 83.281 (C-20), 79.262 (C-5 $'''$), 78.337 (C-3 $''$, 5 $''$, 3 $''$, 5 $''$), 78.140 (C-5'), 77.973 (C-3'), 77.124 (C-2 $''$, 5 $''$), 75.251 (C-2 $'''$), 74.880 (C-2 $''''$), 71.665 (C-4 $''$, 4 $''$, 4 $''''$), 71.505 (C-4'), 70.209 (C-12), 69.746 (C-6 $'''$), 62.815 (C-6', 6 $''''$), 62.724 (C-6 $''$), 56.4 (C-5), 51.654 (C-14), 51.441 (C-17), 50.251 (C-9), 49.508 (C-13), 40.075 (C-4), 39.765 (C-8), 39.241 (C-1), 36.951 (C-10), 36.268 (C-22), 35.176 (C-7), 30.824 (C-11, 15), 28.162 (C-28), 26.707 (C-2, 16), 25.895 (C-26), 23.287 (C-23), 22.468 (C-21), 18.510 (C-6), 18.062 (C-27), 17.494 (C-30), 16.697 (C-29), 16.356 (C-19), 16.091 (C-18)

ginsenoside Rb₂: ^1H -NMR (400 MHz, pyridine- d_5 , δ_{H}) 5.30 (1H, m, H-24), 5.29 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1 $''$), 5.07 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1 $'''$), 4.94 (1H, d, $J=6.0$ Hz, H-1 $''''$), 4.86 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1'), 4.09 (1H, m, H-12), 3.25 (1H, dd, $J=11.2, 3.6$ Hz, H-3), 1.65 (3H, s, H-26), 1.62 (3H, s, H-27), 1.61 (3H, s, H-21), 1.26 (3H, s, H-28), 1.07 (3H,

s, H-29), 0.95 (3H, s, H-18), 0.94 (3H, s, H-30), 0.81 (3H, s, H-19); ¹³C-NMR (100 MHz, pyridine-*d*₅, δ_c) 131.340 (C-25), 126.161 (C-24), 106.203 (C-1"), 105.286 (C-1'), 104.707 (C-1""), 98.363 (C-1""), 89.332 (C-3), 83.842 (C-20), 83.721 (C-2'), 79.368 (C-3"), 78.595 (C-3""), 78.397 (C-3') , 78.333 (C-3""), 78.246 (C-5'), 78.200 (C-5"), 77.298 (C-2"), 76.919 (C-5""), 75.198 (C-2""), 72.392 (C-2""), 72.119 (C-4'), 72.043 (C-4"), 71.998 (C-4""), 70.565 (C-12), 69.48 (C-6""), 65.749 (C-5""), 63.088 (C-6'), 63.232 (C-6"), 56.802 (C-5), 52.078 (C-17), 51.790 (C-14), 50.592 (C-9), 49.826 (C-13), 40.438 (C-8), 40.059 (C-4), 39.635 (C-1), 37.314 (C-10), 36.571 (C-22), 35.555 (C-7), 31.134 (C-11, 15), 28.503 (C-28), 27.062 (C-2, 16), 26.160 (C-26), 23.605 (C-23), 22.748 (C-21), 18.866 (C-6), 18.282 (C-27), 17.819 (C-30), 17.000 (C-29), 16.667 (C-19), 16.439 (C-18)

ginsenoside Rc: ¹H-NMR (400 MHz, pyridine-*d*₅, δ_H) 5.53 (1H, d, *J*=7.2 Hz, H-1""), 5.35 (1H, d, *J*=7.6 Hz, H-1'), 5.29 (1H, m, H-24), 5.11 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-1""), 4.88 (1H, d, *J*=7.2 Hz, H-1'), 4.10 (1H, m, H-12), 3.25 (1H, dd, *J*=11.6, 4.4 Hz, H-3), 1.64 (3H, s, H-27), 1.61 (3H, s, H-21), 1.59 (3H, s, H-26), 1.25 (3H, s, H-28), 1.07 (3H, s, H-29), 0.92 (3H, s, H-18, 30), 0.77 (3H, s, H-19); ¹³C-NMR (100 MHz, pyridine-*d*₅, δ_c) 130.969 (C-25), 125.964 (C-24), 110.101 (C-1""), 105.969 (C-1"), 105.081 (C-1'), 98.083 (C-1""), 89.006 (C-3), 86.003 (C-4""), 83.440 (C-2'), 33.372 (C-20, 2""), 79.255 (C-3"), 78.868 (C-3""), 78.307 (C-5'), 78.132 (C-3", 5"), 77.988 (C-3'), 77.131 (C-2"), 76.578 (C-5""), 75.069 (C-2""), 72.127 (C-4'), 71.710 (C-4", 4""), 70.299 (C-12), 68.54 (C-6""), 62.914 (C-6'), 62.709 (C-6"), 56.438 (C-5), 51.472 (C-14), 51.699 (C-17), 50.243 (C-9), 49.477 (C-13), 40.090 (C-8), 39.771 (C-4), 39.256 (C-1), 36.973 (C-10), 36.230 (C-22), 35.199 (C-7), 30.862 (C-11, 15), 28.193 (C-28), 26.722 (C-2, 16), 25.880 (C-26), 23.264 (C-23), 22.460 (C-21), 18.540 (C-6), 17.979 (C-27), 17.478 (C-30), 16.712 (C-29), 16.371 (C-18), 16.091 (C-19)

ginsenoside Rd: ¹H-NMR (400 MHz, pyridine-*d*₅, δ_H) 5.31 (1H, d, *J*=7.2 Hz, H-1"), 5.24 (1H, m, H-24), 5.14 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-1""), 4.88 (1H, d, *J*=7.2 Hz, H-1'), 4.06 (1H, m, H-12), 3.26 (1H, dd, *J*=11.6, 3.6 Hz, H-3), 1.60 (9H, s, H-21, 26, 27), 1.27 (3H, s, H-28), 1.09 (3H, s, H-29), 0.95 (3H, s, H-18, 30), 0.82 (3H, s, H-19); ¹³C-NMR (100 MHz, pyridine-*d*₅, δ_c) 131.166 (C-25), 126.191 (C-24), 106.294 (C-1"), 105.362 (C-1'), 98.568 (C-1""), 89.301 (C-3), 83.758 (C-2'), 83.652 (C-20), 79.542 (C-3"), 78.648 (C-3""), 78.564 (C-3', 5""), 78.382 (C-5'), 78.261 (C-5"), 77.412 (C-2"), 75.471 (C-2""), 72.013 (C-4', 4", 4""), 70.557 (C-12), 63.224 (C-6'), 63.080 (C-6""), 63.224 (C-6"), 56.764 (C-5), 52.048 (C-17), 51.805 (C-14), 50.700 (C-9), 49.840 (C-13), 40.431 (C-8), 30.082 (C-4), 39.589 (C-1), 37.307 (C-10), 36.518 (C-22), 35.540 (C-7), 31.309 (C-11), 31.187 (C-15), 28.511 (C-28), 27.060 (C-2), 27.055 (C-16), 26.153 (C-26), 23.643 (C-23), 22.816 (C-21), 18.866 (C-6), 18.183 (C-27), 17.789 (C-30), 17.023 (C-29), 16.697 (C-19), 16.394 (C-18)

20-glucoginsenoside Rf: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, pyridine- d_5 , δ_{H}) 5.89 (1H, d, $J=7.2$ Hz, H-1"), 5.21 (1H, t, $J=6.4$ Hz, H-24), 5.13 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1"), 4.86 (1H, d, $J=7.2$ Hz, H-1'), 4.10 (1H, m, H-12), 3.43 (1H, dd, $J=10.8, 4.4$ Hz, H-3), 2.04 (3H, s, H-28), 1.56 (9H, s, H-21, 26, 27), 1.44 (3H, s, H-29), 1.09 (3H, s, H-18), 0.91 (3H, s, H-19), 0.76 (3H, s, H-30); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, pyridine- d_5 , δ_{C}) 130.855 (C-25), 125.896 (C-24), 103.793 (C-1'), 103.762 (C-1"), 98.196 (C-1"), 83.274 (C-20), 79.945 (C-6), 79.884 (C-2'), 79.505 (C-5'), 79.278 (C-3'), 78.964 (C-3), 78.398 (C-3"), 78.254 (C-5"), 78.057 (C-3"), 77.875 (C-5"), 76.009 (C-2"), 75.130 (C-2"), 72.332 (C-4"), 71.695 (C-4"), 71.627 (C-4'), 70.201 (C-12), 63.369 (C-6"), 62.899 (C-6', 6"), 61.420 (C-5), 51.578 (C-17), 51.426 (C-14), 49.986 (C-9), 49.204 (C-13), 44.973 (C-7), 41.212 (C-8), 4.0249 (C-4), 39.703 (C-10), 39.499 (C-1), 36.155 (C-22), 32.128 (C-28), 30.983 (C-11), 30.756 (C-15), 27.836 (C-2), 26.707 (C-16), 25.865 (C-26), 23.302 (C-23), 22.407 (C-21), 17.865 (C-27), 17.660 (C-18), 17.600 (C-19), 17.228 (C-30), 16.857 (C-29)

notoginsenoside R2: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, pyridine- d_5 , δ_{H}) 5.74 (1H, d, $J=7.2$ Hz, H-1"), 4.91 (1H, d, $J=7.2$ Hz, H-1'), 2.052 (3H, s, H-28), 1.64 (3H, s, H-26), 1.609 (3H, s, H-27), 1.432 (3H, s, H-29), 1.375 (3H, s, H-21), 0.938 (3H, s, H-19), 0.777 (3H, s, H-30); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, pyridine- d_5 , δ_{C}) 130.719 (C-25), 126.275 (C-24), 104.831 (C-1"), 103.550 (C-1'), 80.150 (C-2'), 79.884 (C-5'), 79.467 (C-6), 78.823 (C-3"), 78.770 (C-3), 78.072 (C-3'), 75.858 (C-2"), 73.007 (C-20), 71.763 (C-4'), 71.301 (C-4"), 71.043 (C-12), 67.297 (C-5"), 62.929 (C-6'), 61.367 (C-5), 54.816 (C-17), 51.730 (C-14), 50.175 (C-9), 48.302 (C-13), 45.087 (C-7), 41.167 (C-8), 40.287 (C-4), 39.703 (C-10), 39.514 (C-1), 35.882 (C-22), 32.166 (C-11), 31.832 (C-28), 31.340 (C-15), 27.882 (C-2), 27.108 (C-21), 26.919 (C-16), 25.933 (C-26), 23.097 (C-23), 17.804 (C-27), 17.744 (C-19), 17.463 (C-18), 16.910 (C-30), 16.857 (C-29)

ginsenoside Rg₃: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, pyridine- d_5 , δ_{H}) 5.30 (1H, d, $J=7.0$ Hz, H-1"), 5.29 (1H, m, H-24), 4.87 (1H, d, $J=7.2$ Hz, H-1'), 3.26 (1H, dd, $J=11.2, 2.4$ Hz, H-3), 1.63 (3H, s, H-26), 1.60 (3H, s, H-27), 1.26 (3H, s, H-28), 1.07 (3H, s, H-29), 0.95 (3H, s, H-30), 0.93 (3H, s, H-18), 0.79 (3H, s, H-19); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, pyridine- d_5 , δ_{C}) 130.59 (C-25), 126.16 (C-24), 105.92 (C-1"), 104.99 (C-1'), 88.82 (C-3), 83.33 (C-2'), 78.24 (C-3"), 78.18 (C-5'), 78.02 (C-5"), 77.86 (C-3'), 77.05 (C-2"), 72.79 (C-20), 71.56 (C-4'), 70.93 (C-4"), 70.81 (C-12), 62.77 (C-6'), 62.64 (C-6"), 56.31 (C-5), 54.74 (C-17), 51.67 (C-14), 50.35 (C-9), 48.53 (C-13), 39.97 (C-8), 39.68 (C-4), 39.11 (C-1), 36.90 (C-10), 35.86 (C-22), 35.15 (C-7), 32.03 (C-11), 31.33 (C-15), 28.11 (C-28), 27.08 (C-21), 26.84 (C-16), 26.73 (C-2), 25.82 (C-26), 23.00 (C-23), 18.45 (C-6), 17.70 (C-27), 17.02 (C-30), 16.62 (C-29), 16.38 (C-19), 15.84 (C-18)

ginsenoside Rg₅: ¹H-NMR (400 MHz, pyridine-*d*₅, δ_H) 5.23 (1H, m, H-24), 5.34 (1H, d, *J*=7.6 Hz, H-1"), 4.91 (1H, d, *J*=7.2 Hz, H-1'), 3.29 (1H, dd, *J*=11.6, 4.0 Hz, H-3), 1.63 (3H, s, H-26), 1.59 (3H, s, H-27), 1.30 (3H, s, H-28), 1.11 (3H, s, H-29), 1.03 (3H, s, H-18), 0.96 (3H, s, H-30), 0.83 (3H, s, H-19); ¹³C-NMR (100 MHz, pyridine-*d*₅, δ_C) 139.97 (C-20), 131.07 (C-25), 123.59 (C-24), 123.34 (C-22), 105.93 (C-1"), 104.99 (C-1'), 88.79 (C-3), 83.36 (C-2'), 78.23 (C-3'), 78.17 (C-3"), 78.03 (C-5"), 77.85 (C-5'), 77.07 (C-2"), 72.48 (C-12), 71.53 (C-4', 4"), 62.77 (C-6'), 62.60 (C-6"), 56.31 (C-5), 50.96 (C-13), 50.84 (C-14), 50.69 (C-9), 50.38 (C-17), 40.19 (C-8), 39.66 (C-4), 39.21 (C-1), 36.97 (C-10), 35.29 (C-7), 32.59 (C-15), 32.18 (C-11), 28.80 (C-2, 28), 27.42 (C-23), 26.73 (C-16), 25.67 (C-26), 18.41 (C-6), 17.71 (C-27), 17.00 (C-30), 16.59 (C-29), 16.44 (C-19), 15.80 (C-18), 13.17 (C-21)

ginsenoside F₄: ¹H-NMR (400 MHz, pyridine-*d*₅, δ_H) 6.441 (1H, br. s, H-1"), 5.253 (1H, d, *J*=6.0 Hz, H-1'), 5.241 (1H, m, H-24), 3.931 (1H, m, H-12), 3.479 (1H, dd, *J*=11.2, 4.8 Hz, H-3), 2.092 (3H, s, H-28), 1.813 (3H, s, H-21), 1.654 (3H, s, H-26), 1.608 (3H, s, H-27), 1.371 (3H, s, H-29), 1.275 (3H, s, H-18), 1.012 (3H, s, H-19), 0.986 (3H, s, H-30); ¹³C-NMR (100 MHz, pyridine-*d*₅, δ_C) 139.954 (C-20), 131.082 (C-25), 123.614 (C-24), 123.378 (C-22), 101.677 (C-1', 1"), 79.232 (C-3'), 78.557 (C-2'), 78.276 (C-3), 78.155 (C-5'), 74.409 (C-6"), 74.098 (C-4"), 72.582 (C-4'), 72.581 (C-12), 72.294 (C-2"), 72.195 (C-3"), 69.352 (C-5"), 63.141 (C-6'), 60.829 (C-5), 50.842 (C-14), 50.683 (C-13), 50.69 (C-17), 50.122 (C-9), 46.073 (C-7), 41.417 (C-8), 39.953 (C-4), 39.703 (C-10), 39.498 (C-1), 32.598 (C-15), 32.121 (C-11), 32.120 (C-28), 28.769 (C-2), 27.730 (C-16), 27.412 (C-23), 15.630 (C-26), 18.684 (C-6"), 17.683 (C-19, 27), 17.516 (C-29), 17.182 (C-18), 16.963 (C-30), 13.126 (C-21)

ginsenoside Rh₄: ¹H-NMR (400 MHz, pyridine-*d*₅, δ_H) 5.20 (1H, br. t, *J*=7.2 Hz, H-24), 5.01 (1H, d, *J*=7.6 Hz, H-1'), 3.89 (1H, m, H-12), 3.50 (1H, dd, *J*=11.7, 4.4 Hz, H-3), 2.03 (3H, s, H-28), 1.79 (3H, s, H-21), 1.61 (3H, s, H-26), 1.57 (3H, s, H-27, 29), 1.23 (3H, s, H-18), 1.04 (3H, s, H-19), 0.83 (3H, s, H-30); ¹³C-NMR (100 MHz, pyridine-*d*₅, δ_C) 140.137 (C-20), 131.273 (C-25), 123.811 (C-24), 123.576 (C-22), 106.03 (C-1'), 80.104 (C-6), 79.680 (C-3'), 78.706 (C-3), 78.133 (C-5'), 75.547 (C-2'), 72.719 (C-4'), 72.029 (C-12), 63.271 (C-6'), 61.58 (C-5), 50.987 (C-14), 50.873 (C-13), 50.729 (C-9), 50.539 (C-17), 45.520 (C-7), 41.539 (C-8), 40.492 (C-4), 39.931 (C-10), 39.704 (C-1), 32.712 (C-15), 32.409 (C-11), 31.856 (C-28), 28.959 (C-23), 28.079 (C-2), 27.602 (C-16), 25.812 (C-30), 17.888 (C-18), 17.880 (C-29), 17.585 (C-19), 17.031 (C-27), 16.516 (C-30), 13.301 (C-21)

ginsenoside Rk₃: ¹H-NMR (400 MHz, pyridine-*d*₅, δ_H) 5.28 (1H, m, H-24), 5.123, 4.897

(1H, br. s, H-21), 5.02 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1'), 3.87 (1H, m, H-12), 3.52 (1H, m, H-3), 2.054 (3H, s, H-28), 1.675 (3H, s, H-27), 1.609 (3H, s, H-26), 1.584 (3H, s, H-29), 1.25 (3H, s, H-18), 1.06 (3H, s, H-19), 0.859 (3H, s, H-30); ^{13}C -NMR (100 MHz, pyridine- d_5 , δ_c) 155.302 (C-20), 131.029 (C-25), 125.176 (C-24), 108.054 (C-22), 105.870 (C-1'), 79.922 (C-6), 79.520 (C-3'), 78.527 (C-3), 77.973 (C-5'), 75.387 (C-2'), 72.422 (C-12), 71.884 (C-4'), 63.111 (C-6'), 61.412 (C-5), 52.116 (C-13), 51.115 (C-14), 50.630 (C-9), 48.211 (C-17), 45.367 (C-7), 41.303 (C-8), 40.325 (C-4), 39.741 (C-10), 39.536 (C-1), 33.796 (C-22), 32.712 (C-11), 32.507 (C-15), 31.696 (C-28), 30.695 (C-16), 27.927 (C-2, 23), 25.705 (C-26), 17.736 (C-19, 27), 16.803 (C-18, 30), 16.326 (C-29)

2. 결과 및 고찰

가. 수삼으로부터 분리한 인삼 사포닌의 구조 동정

가-1. 수삼으로부터 분리한 ginsenoside Rg₁의 구조 동정

다음의 data로부터 사포닌의 구조를 ginsenoside Rg₁으로 결정하였다.

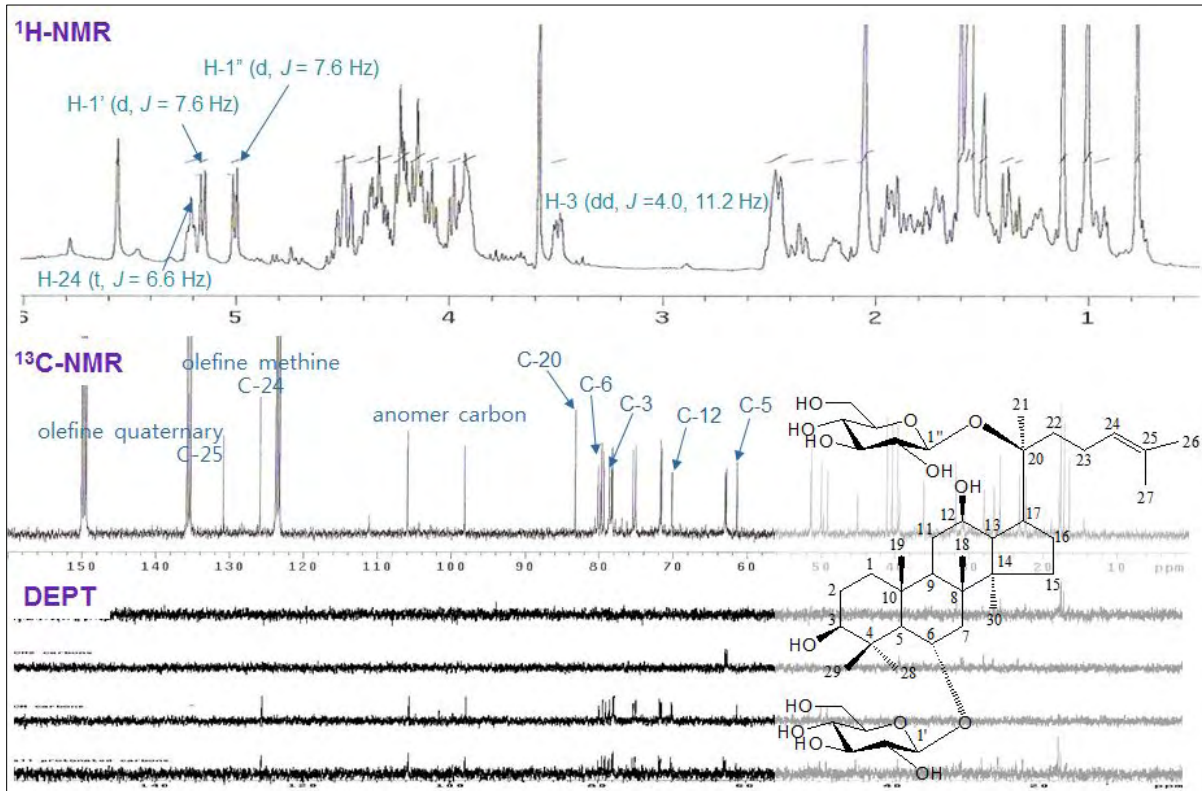
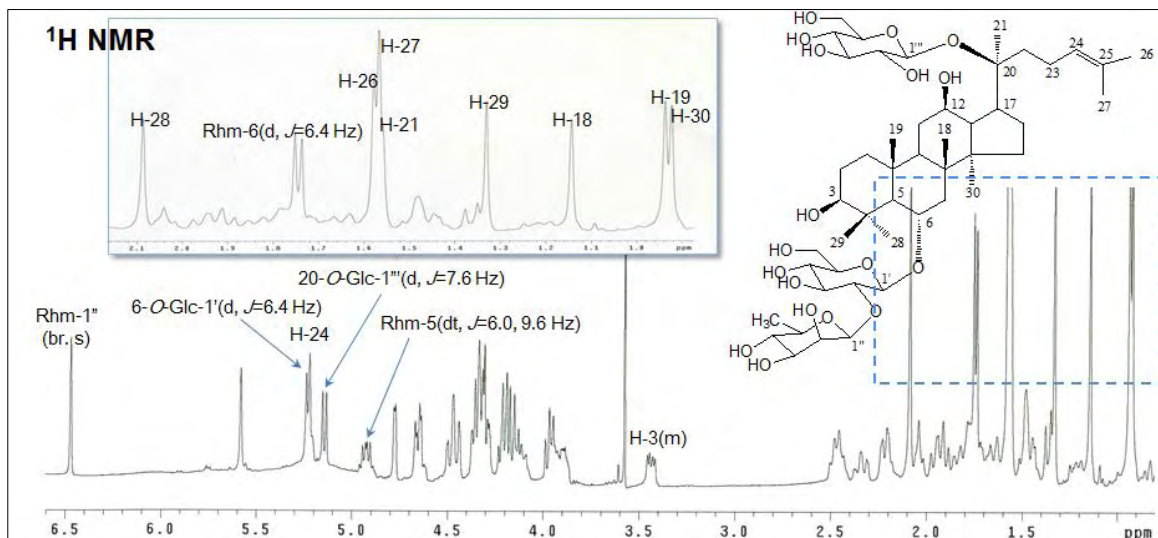


Fig. 11. ¹H-NMR (400MHz), ¹³C-NMR(100 MHz), and DEPT spectra of ginsenoside Rg₁ from the roots of *Panax ginseng* (pyridine-*d*₅).

가-2. 수삼으로부터 분리한 ginsenoside Re의 구조 동정

다음의 data로부터 사포닌의 구조를 ginsenoside Re로 결정하였다.



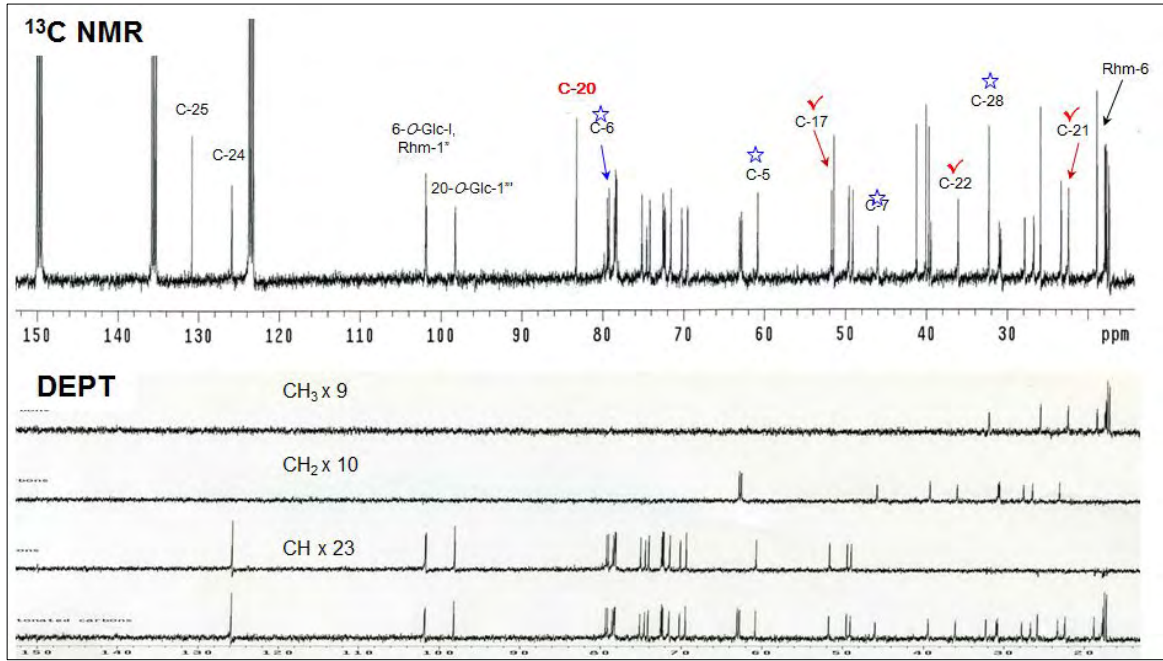


Fig. 12. ^1H -NMR (400MHz), ^{13}C -NMR(100 MHz), and DEPT spectra of ginsenoside Re from the roots of *Panax ginseng* (pyridine- d_5).

가-3. 수삼으로부터 분리한 20-gluco-ginsenoside Rf의 구조 동정

다음의 data로부터 사포닌의 구조를 20-gluco-ginsenoside Rf로 결정하였다.

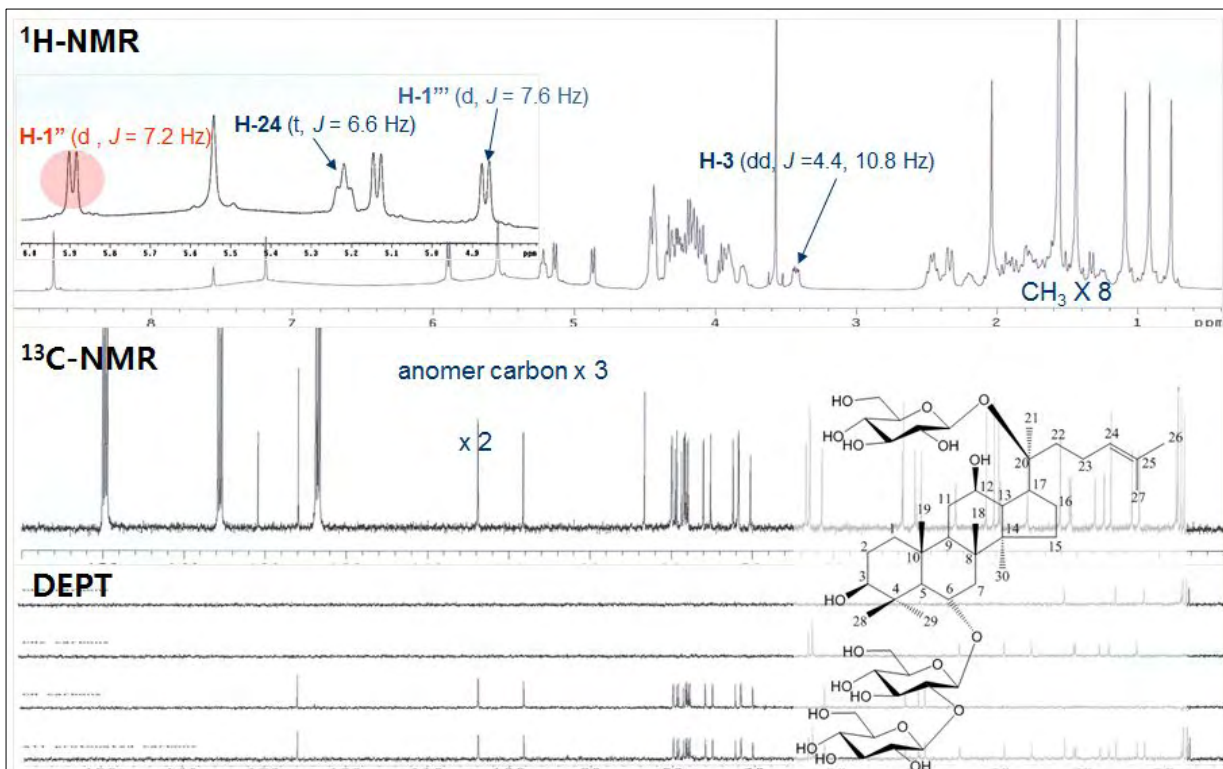
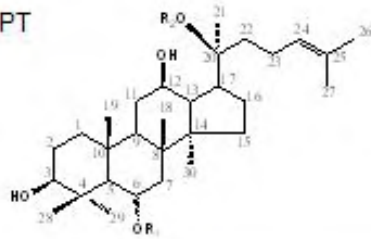
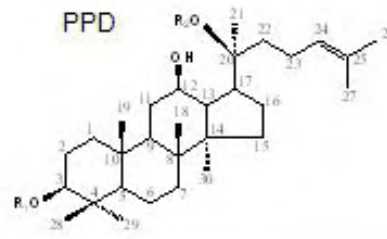


Fig. 13. ^1H -NMR (400MHz), ^{13}C -NMR(100 MHz), and DEPT spectra of 20-gluco-ginsenoside Rf from the roots of *Panax ginseng* (pyridine- d_5).

PPT



PPD



PPT			PPD		
		≡≡≡			≡≡≡
Rg1	R1=glc R2=glc	3.7 g	Rd	R1=glc(2→1)glc R2=glc	110 mg
Re	R1=glc(2→1)rhnm R2=glc	7 g	Rb2	R1=glc(2→1)glc R2=glc(6→1)ala(py)	360 mg
Rf	R1=glc(2→1)glc R2=H	50 mg			
20-glc-Rf	R1=glc(2→1)glc R2=glc	1.5 g			

Ginsenosides isolated from the root of *Panax ginseng* .

나. 인삼 사포닌 부분가수분해산물로부터 ginsenoside 분리, 정제
 다음의 data로부터 사포닌의 구조를 ginsenoside Re로 결정하였다.

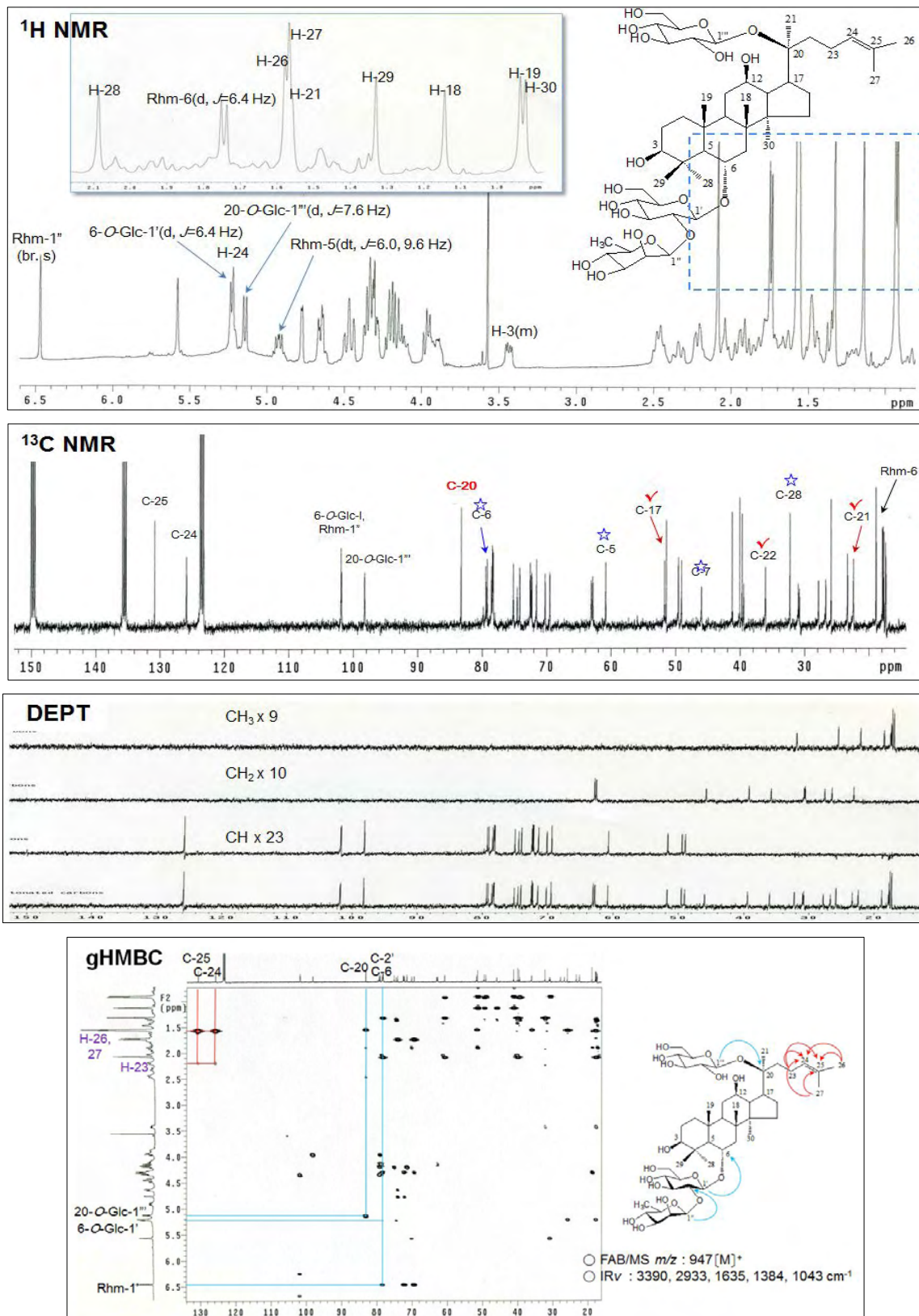


Fig. 12. ^1H -NMR (400MHz), ^{13}C -NMR(100 MHz), DEPT, and gHMBC spectra of ginsenoside Re from the roots of *Panax ginseng* (pyridine- d_5).

다. 팽화 홍삼으로부터 분리한 인삼 사포닌의 구조 동정

다-1. 압력 $10 \text{ kgf}\cdot\text{cm}^{-2}$ 로 팽화시킨 홍삼으로부터 분리한 ginsenoside의 구조 동정

다-1-1. 압력 $10 \text{ kgf}\cdot\text{cm}^{-2}$ 로 팽화시킨 홍삼으로부터 분리한 ginsenoside Rh₁의 구조 동정
 다음의 data로부터 사포닌의 구조를 ginsenoside Rh₁로 결정하였다.

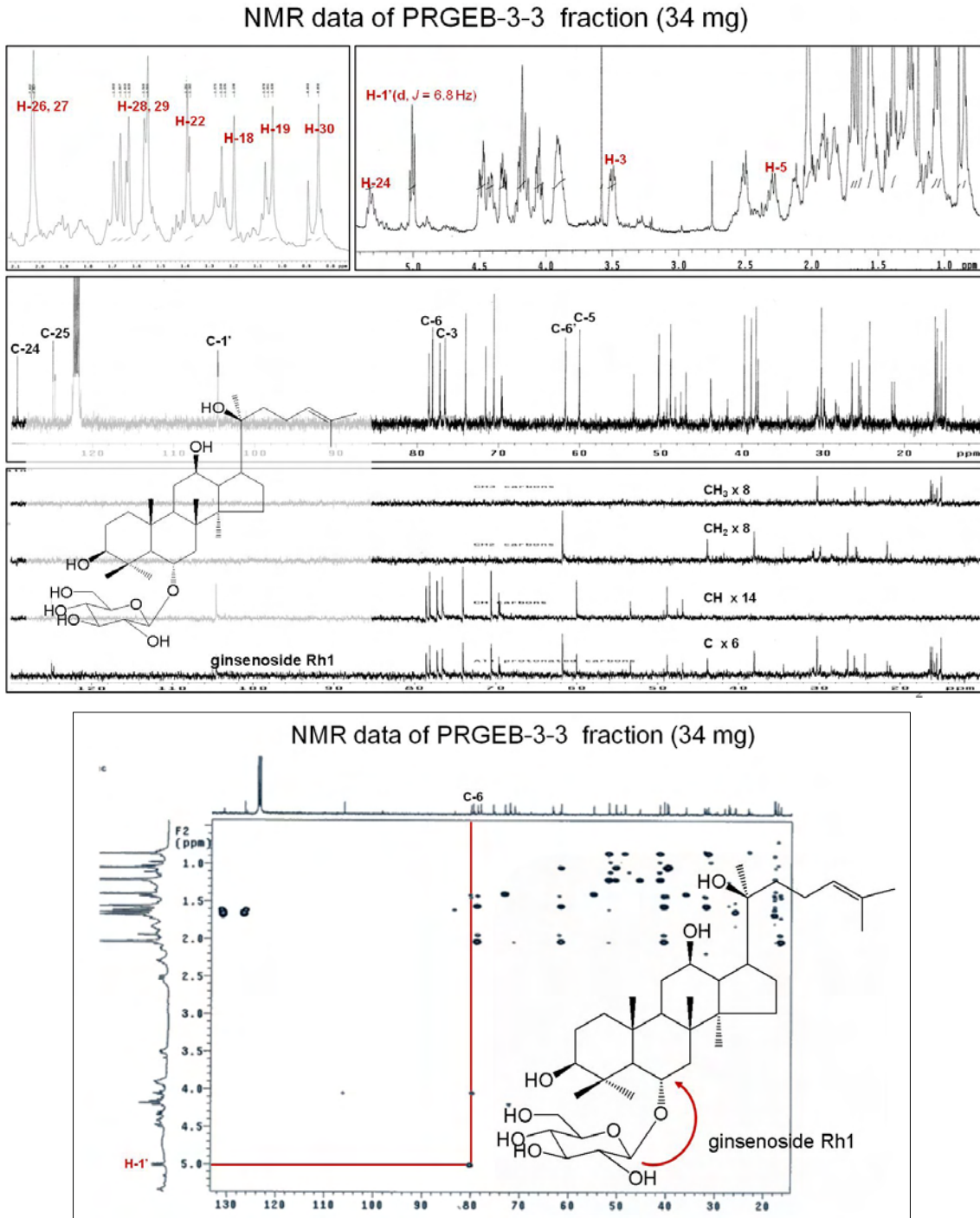


Fig. 15. ^1H -NMR (400MHz), ^{13}C -NMR(100 MHz), DEPT, and gHMBC spectra of ginsenoside Rh₁ from the roots of puffing red ginseng (pyridine- d_5).

다-1-2. 압력 $10 \text{ kgf}\cdot\text{cm}^{-2}$ 로 팽화시킨 홍삼으로부터 분리한 ginsenoside Rg₂의 구조동정
 다음의 data로부터 사포닌의 구조를 ginsenoside Rg₂로 결정하였다.

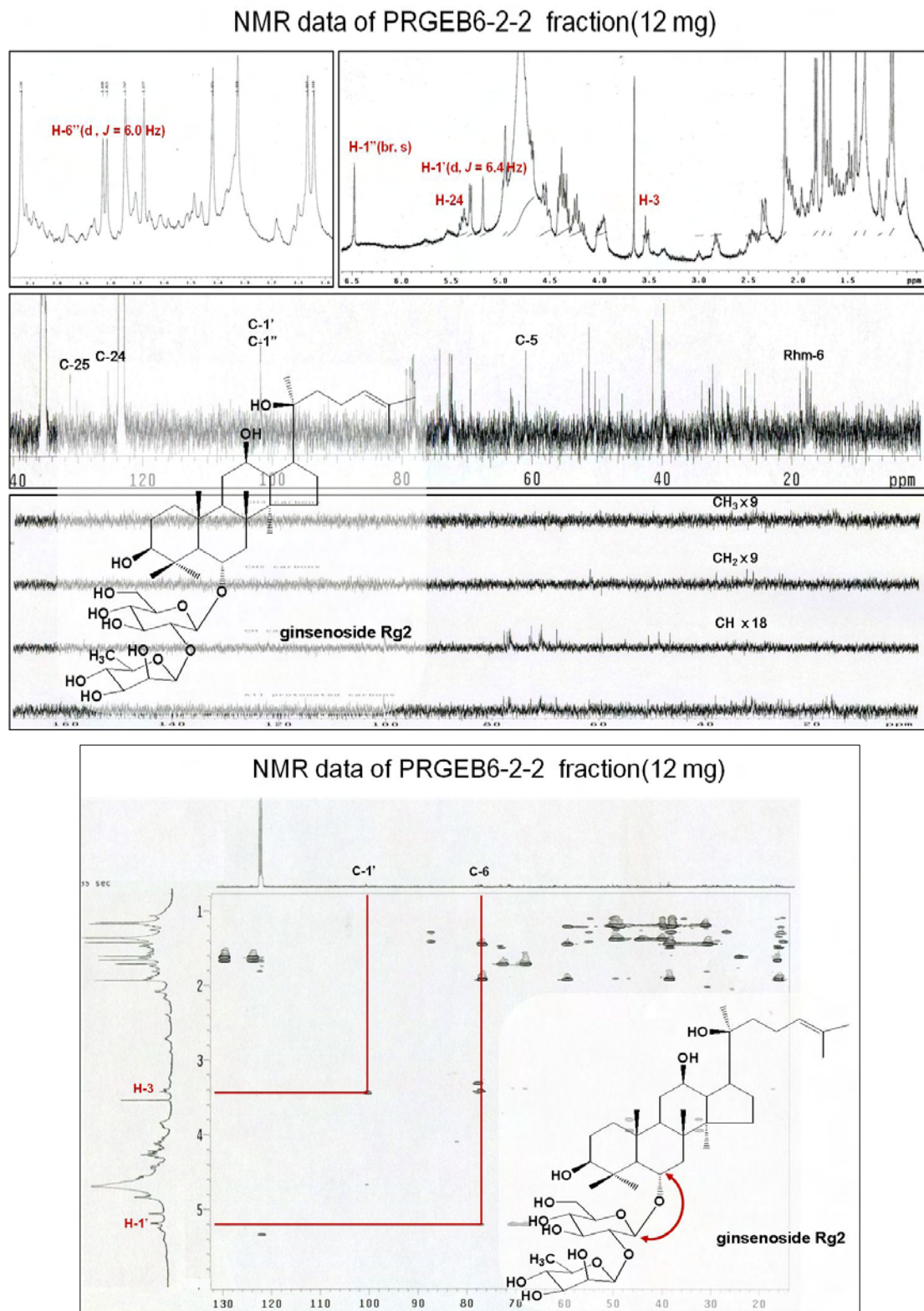


Fig. 16. ¹H-NMR (400MHz), ¹³C-NMR(100 MHz), DEPT, and gHMBC spectra of ginsenoside Rg₂ from the roots of puffing red ginseng (pyridine-*d*₅).

다-1-3. 압력 $10 \text{ kgf}\cdot\text{cm}^{-2}$ 로 팽화시킨 홍삼으로부터 분리한 ginsenoside Rg₃의 구조동정 다음의 data로부터 사포닌의 구조를 ginsenoside Rg₃로 결정하였다.

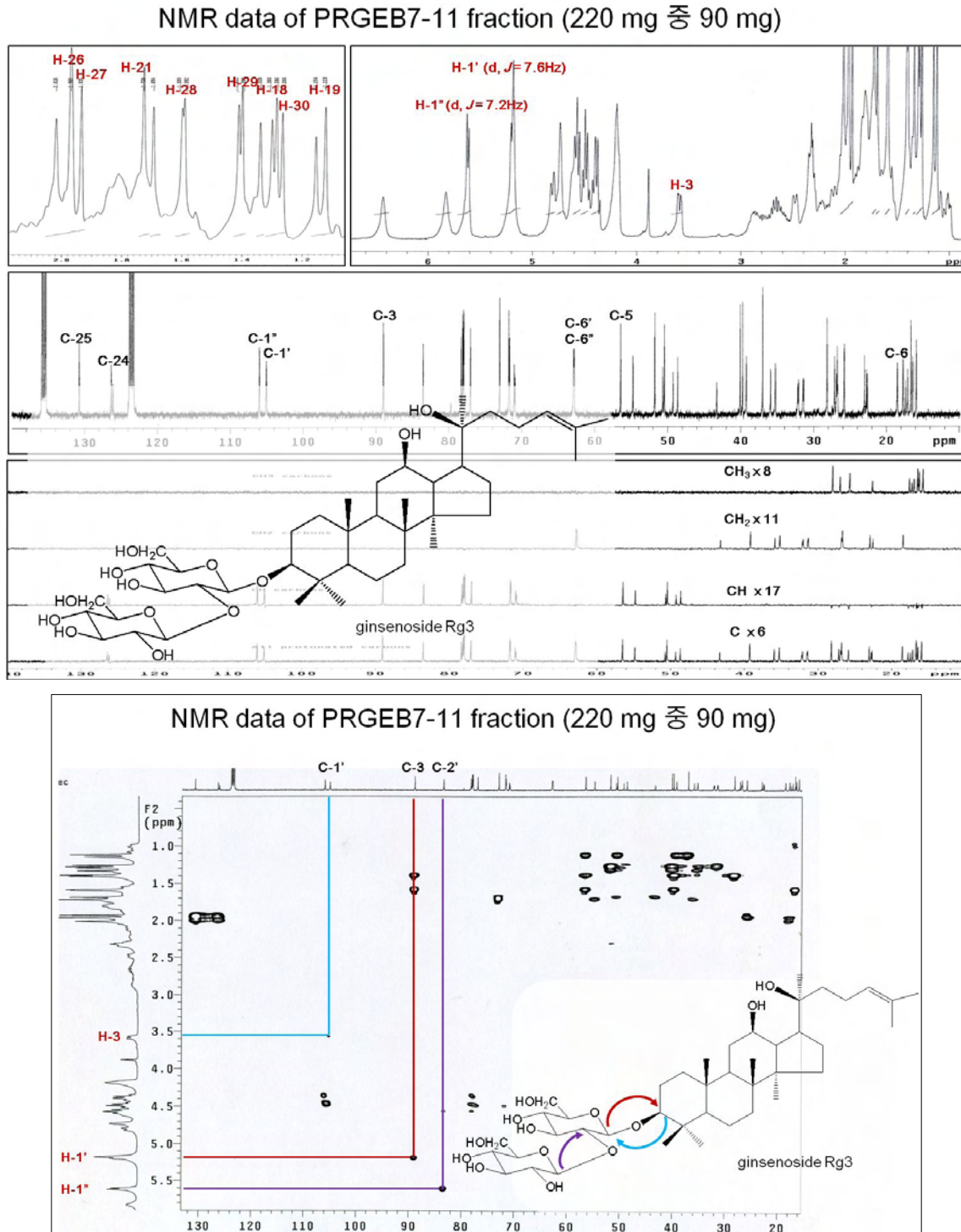


Fig. 17. ^1H -NMR (400MHz), ^{13}C -NMR(100 MHz), DEPT, and gHMBC spectra of ginsenoside Rg₃ from the roots of puffing red ginseng (pyridine- d_5).

다-2. 압력 $9 \text{ kgf}\cdot\text{cm}^{-2}$ 로 팽화시킨 홍삼으로부터 분리한 ginsenoside의 구조 동정
 다-2-1. 압력 $9 \text{ kgf}\cdot\text{cm}^{-2}$ 로 팽화시킨 홍삼으로부터 분리한 ginsenoside Rh₁의 구조 동정
 다음의 data로부터 사포닌의 구조를 ginsenoside Rh₁로 결정하였다.

NMR data of PG9EB-9-8-2 fraction

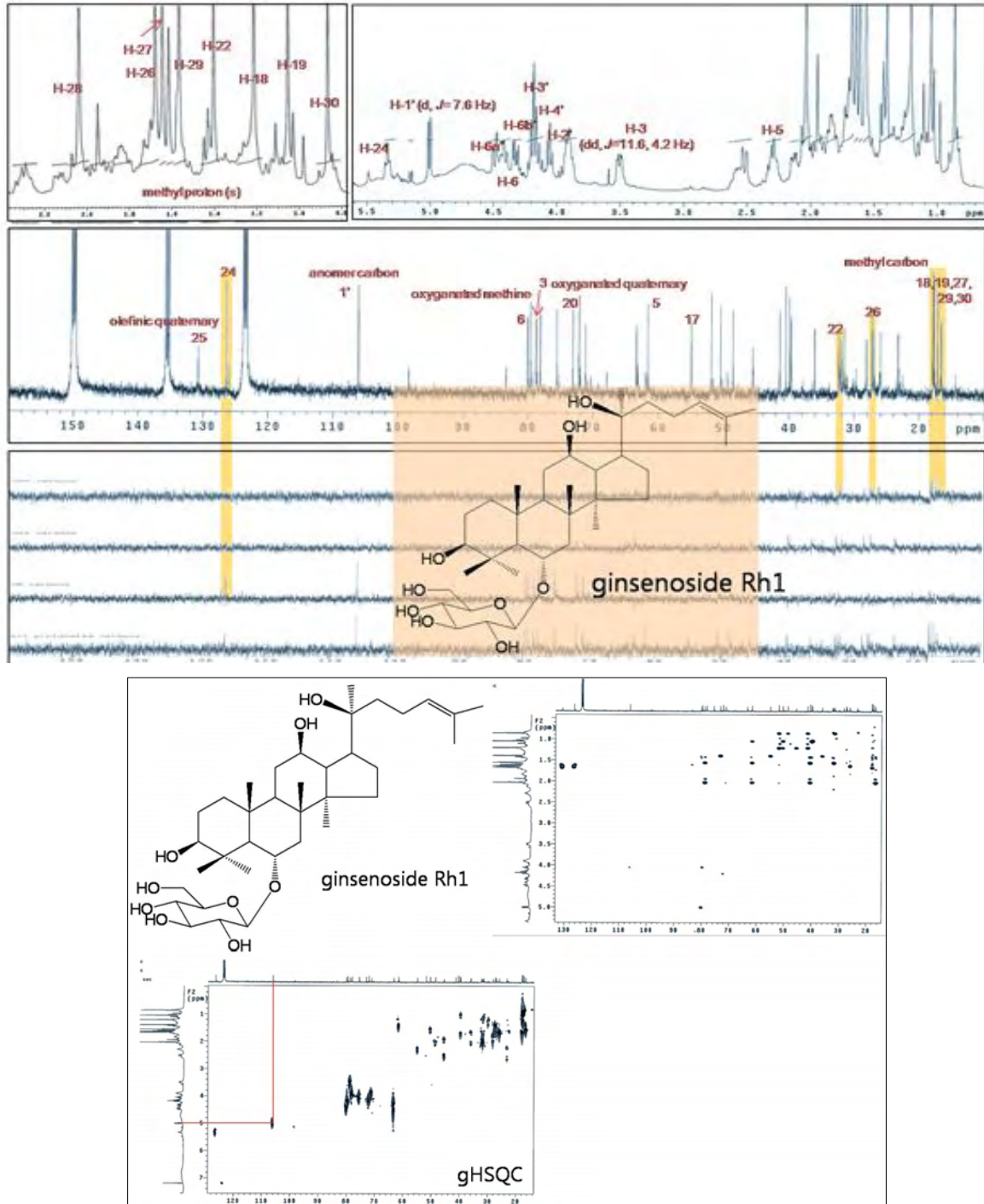


Fig. 18. ¹H-NMR (400MHz), ¹³C-NMR(100 MHz), DEPT, and gHMBC spectra of ginsenoside Rh₁ from the roots of puffing red ginseng (pyridine-*d*₅).

다-2-2. 압력 $9 \text{ kgf}\cdot\text{cm}^{-2}$ 로 팽화시킨 홍삼으로부터 분리한 ginsenoside Rh₄의 구조 동정 다음의 data로부터 사포닌의 구조를 ginsenoside Rh₄로 결정하였다.

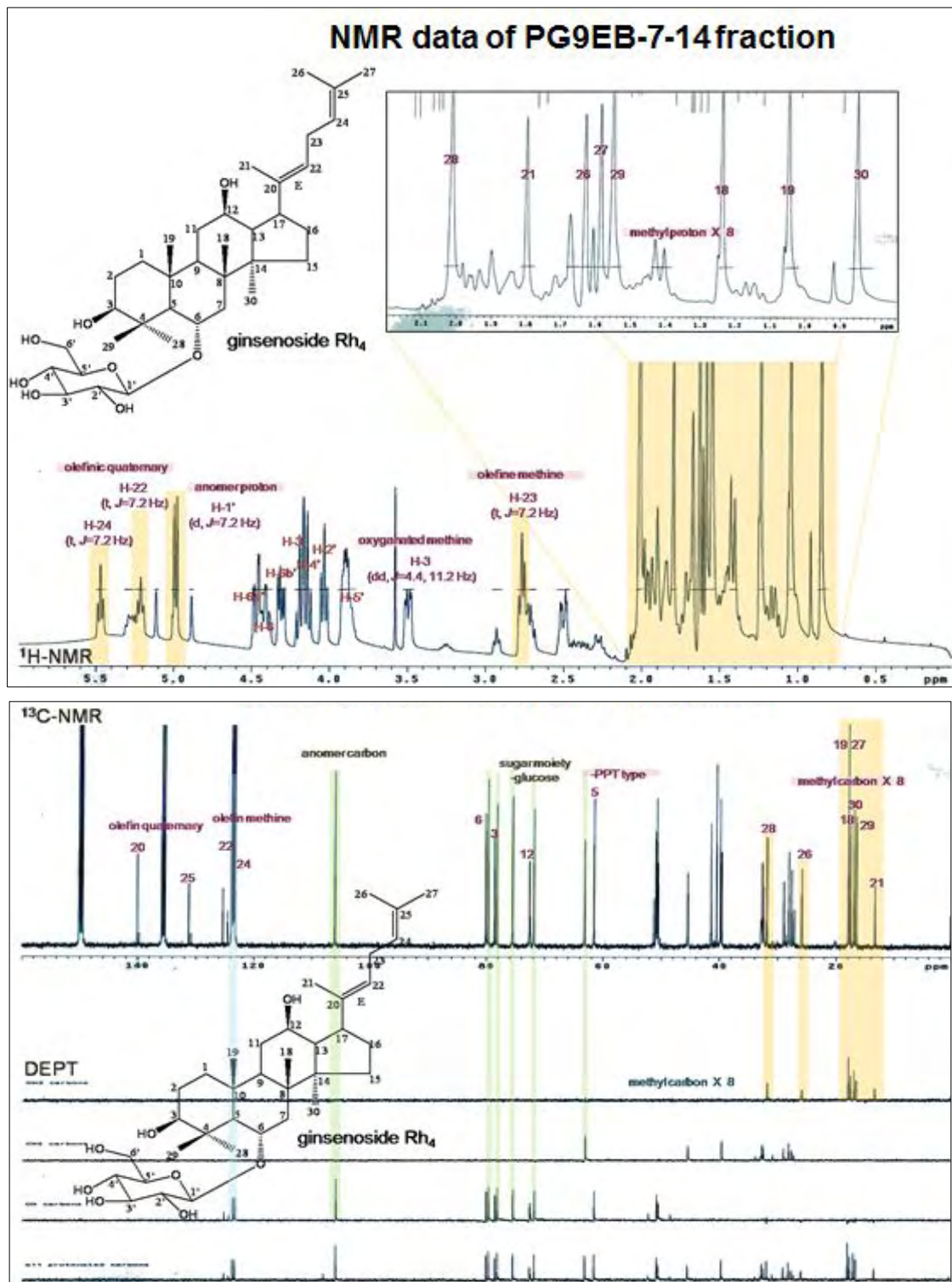


Fig. 19. ¹H-NMR (400MHz), ¹³C-NMR(100 MHz), and DEPT spectra of ginsenoside Rh₄ from the roots of puffing red ginseng (pyridine-d₅).

다-2-3. 압력 $9 \text{ kgf}\cdot\text{cm}^{-2}$ 로 팽화시킨 홍삼으로부터 분리한 ginsenoside F₄의 구조 동정
 다음의 data로부터 사포닌의 구조를 ginsenoside F₄로 결정하였다.

NMR data of PG9EB-9-23 fraction

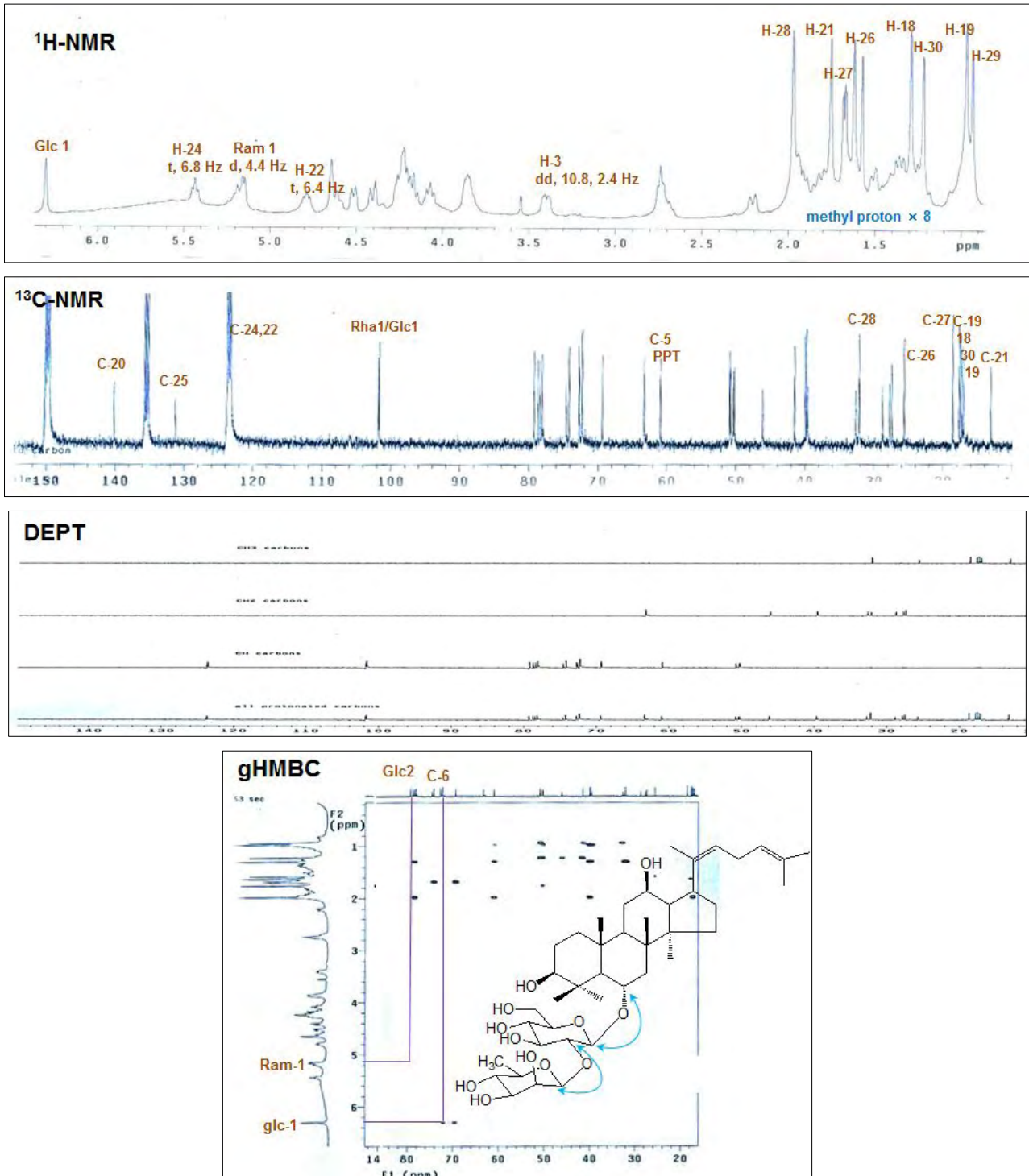
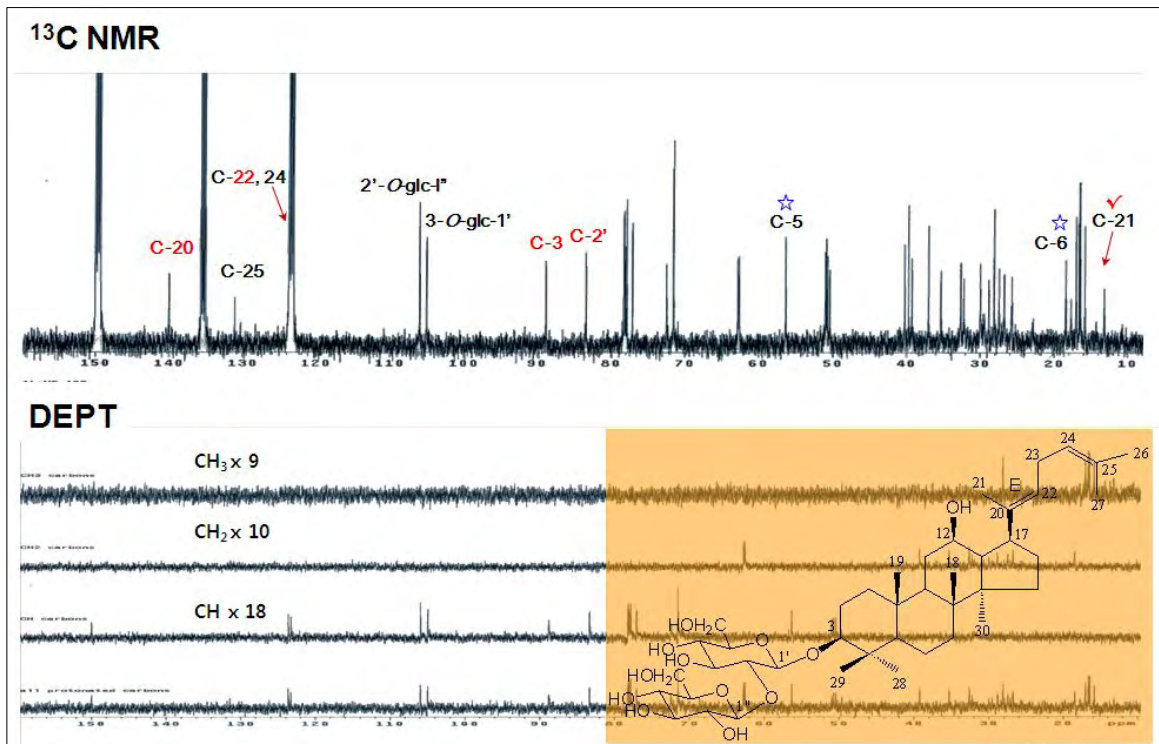
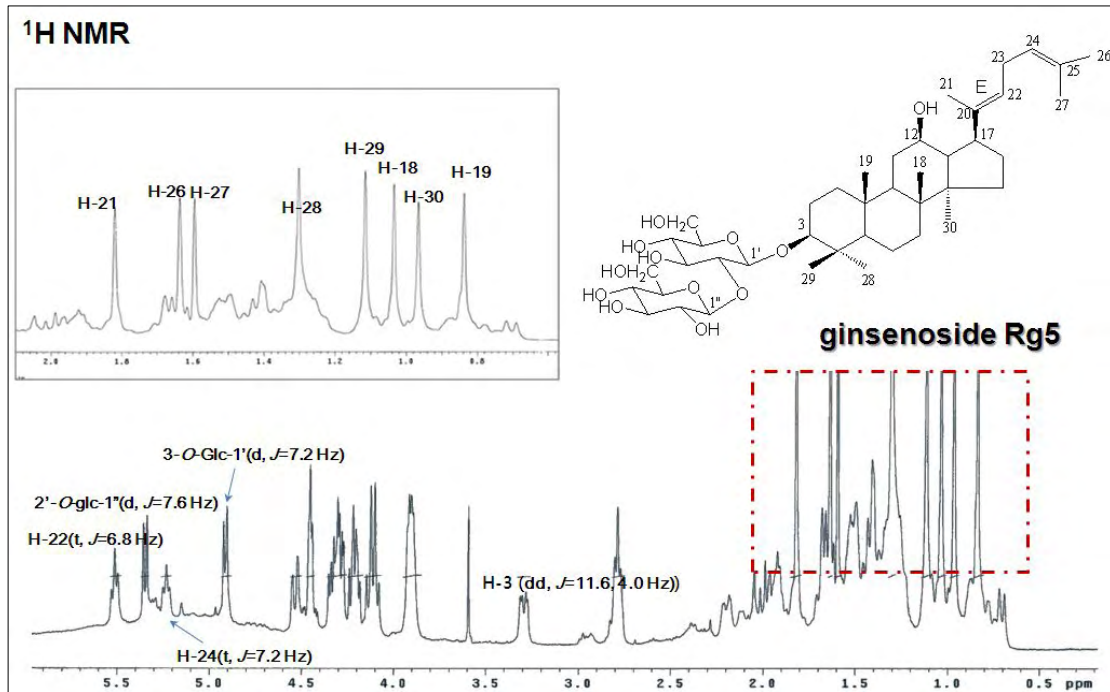


Fig. 20. ¹H-NMR (400MHz), ¹³C-NMR(100 MHz), DEPT, and gHMBC spectra of ginsenoside F₄ from the roots of puffing red ginseng (pyridine-*d*₅).

다-2-4. 팽화 인삼으로부터 분리한 ginsenoside Rg₅의 구조동정
 다음의 data로부터 사포닌의 구조를 ginsenoside Rg₅로 결정하였다.



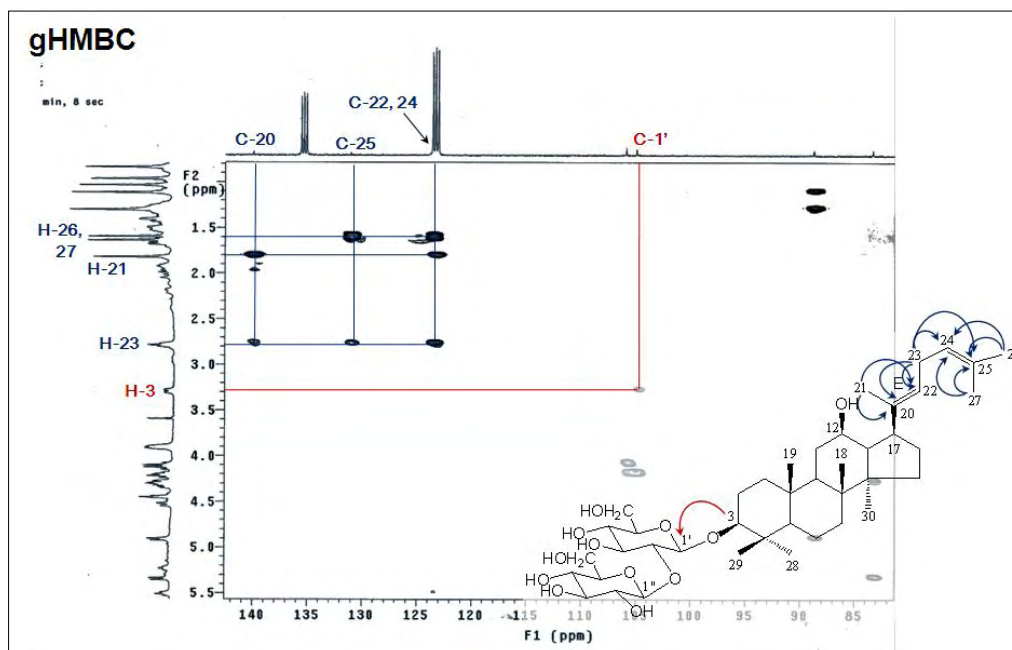


Fig. 21. ¹H-NMR (400MHz), ¹³C-NMR(100 MHz), DEPT, and gHMBC spectra of gisenoside Rg₅ from the roots of puffing red ginseng (pyridine-*d*₅).

다-2-5. 팽화 인삼으로부터 분리한 falcarinol의 구조동정
 다음의 data로부터 사포닌의 구조를 falcarinol로 결정하였다.

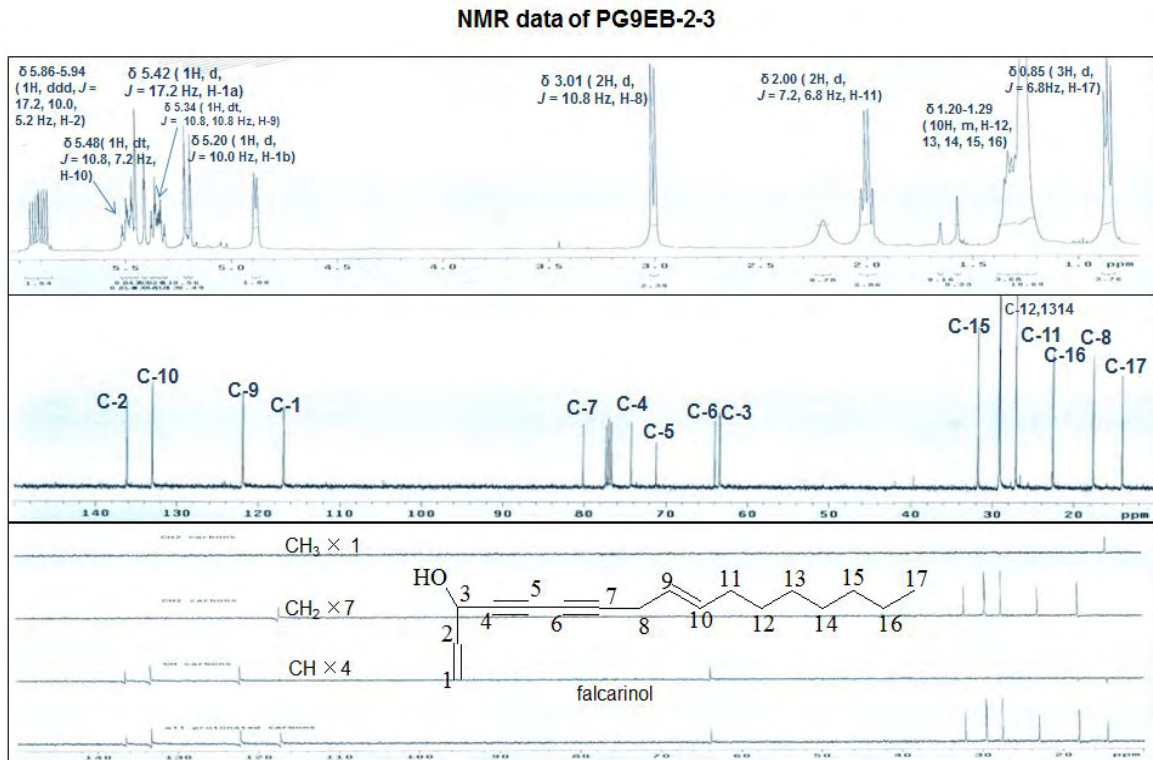


Fig. 22. ^1H -NMR (400MHz), ^{13}C -NMR(100 MHz), and DEPT spectra of falcarinol from the roots of puffing red ginseng (pyridine- d_5).

다-2-6. 팽화 인삼으로부터 분리한 β -sitosterol의 구조동정
 다음의 data로부터 사포닌의 구조를 β -sitosterol로 결정하였다.

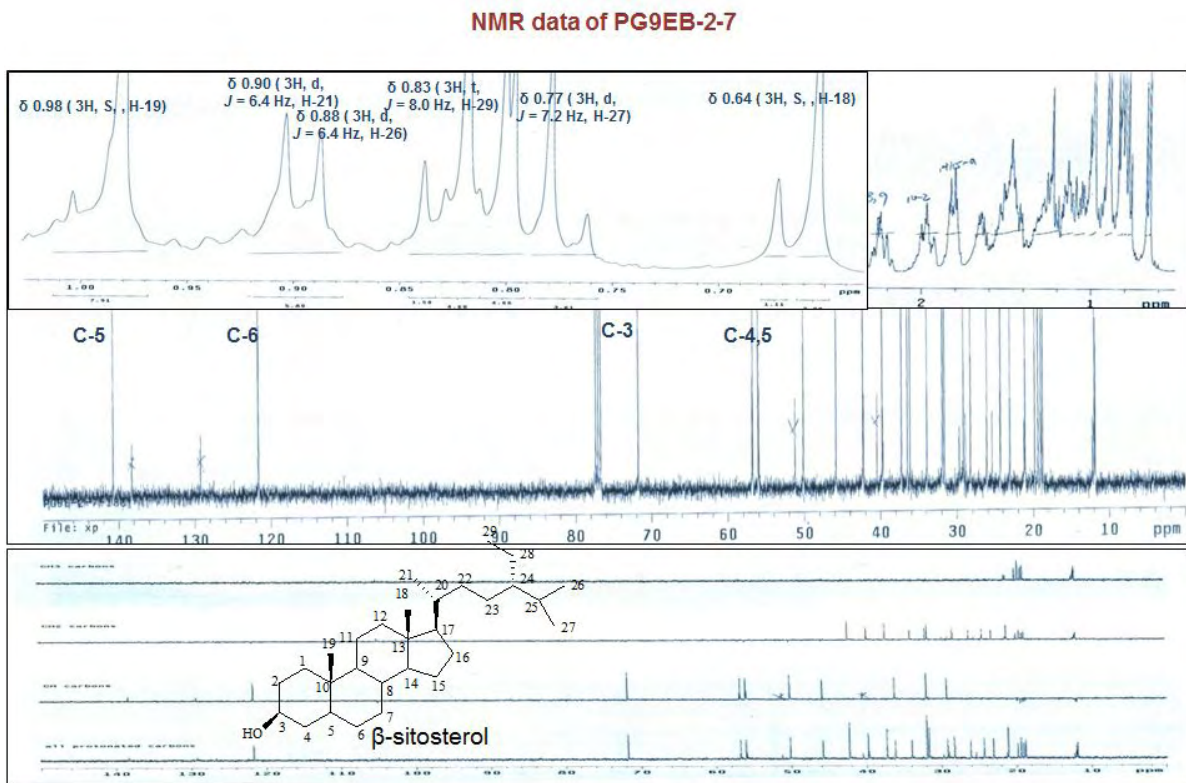


Fig. 23. $^1\text{H-NMR}$ (400MHz), $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz), and DEPT spectra of β -sitosterol from the roots of puffing red ginseng (pyridine- d_5).

다-2-7. 팽화 인삼으로부터 분리한 ginsenoside Rk₃의 구조동정
 다음의 data로부터 사포닌의 구조를 ginsenoside Rk₃로 결정하였다.

NMR data of PG9EB-7-12

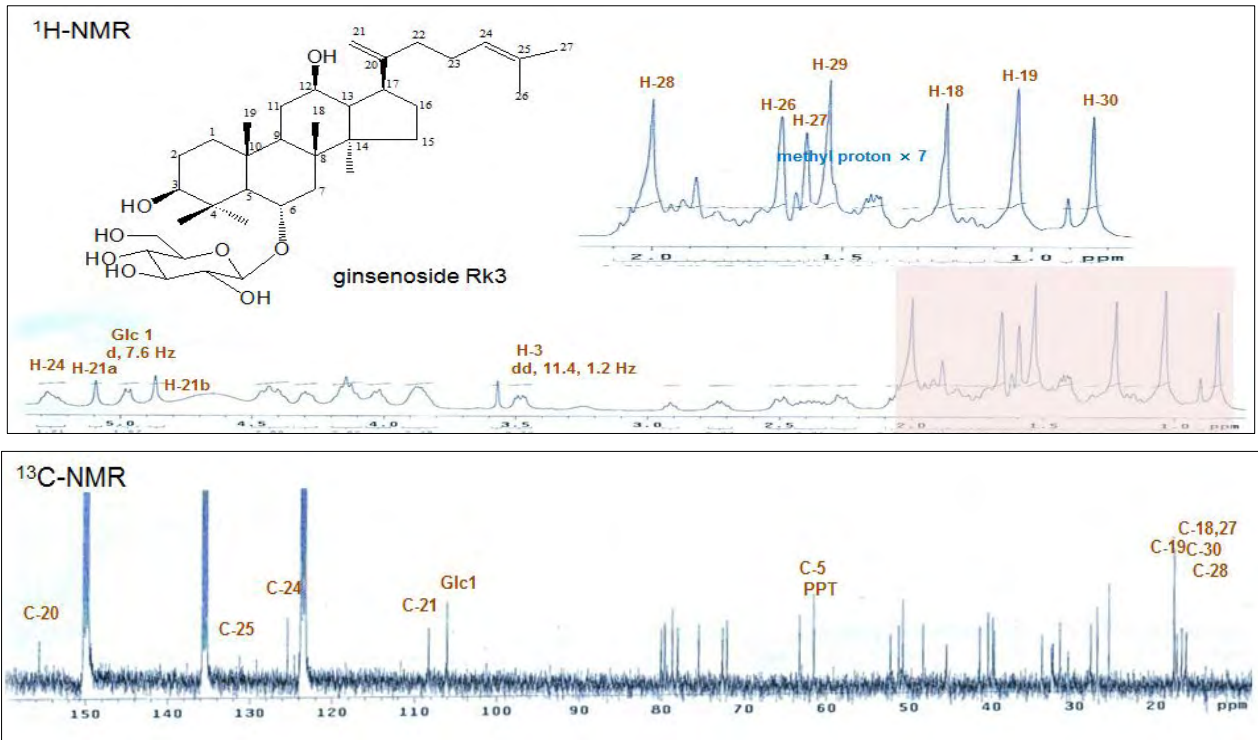
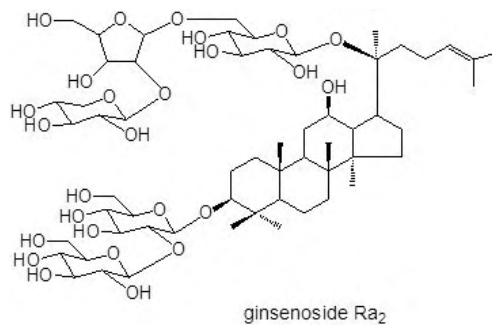
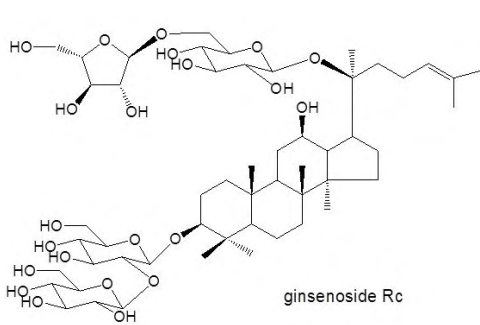
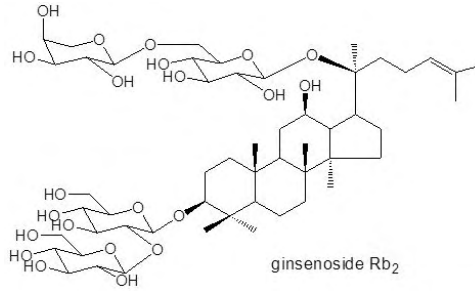
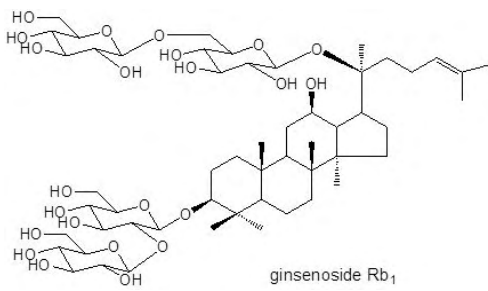
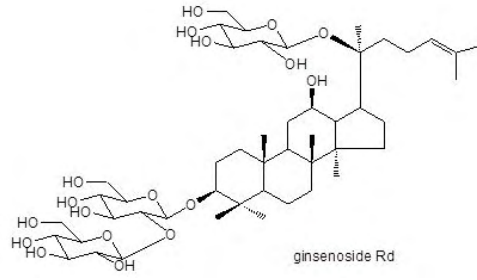
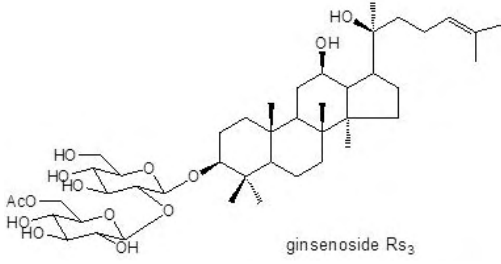
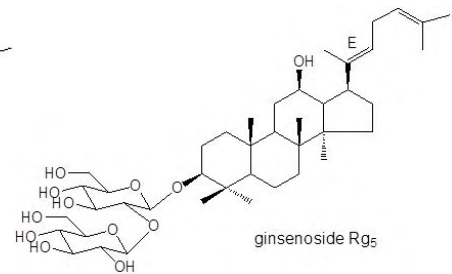
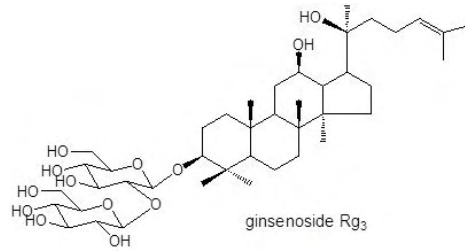
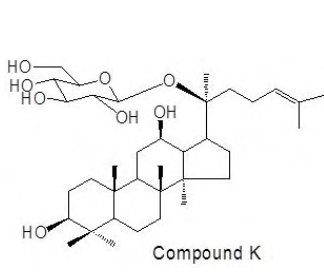


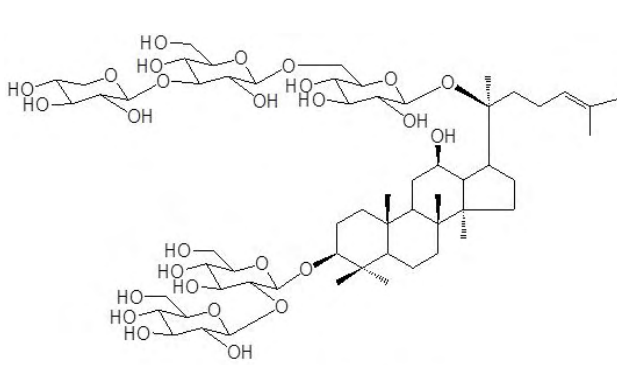
Fig. 24. ¹H-NMR (400MHz) and ¹³C-NMR(100 MHz) spectra of ginsenoside Rk₃ from the roots of puffing red ginseng (pyridine-*d*₅).

라. 인삼으로부터 분리, 동정한 ginsenoside 목록

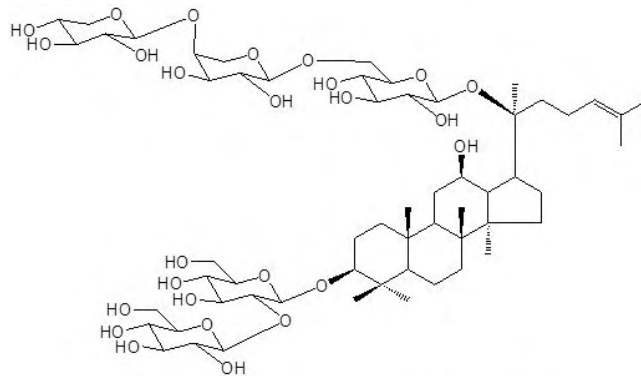
PPD type		PPT type	
ginsenoside	무게(mg)	ginsenoside	무게(mg)
C-K	5	Rh ₁	53
Rg ₃	220	Rh ₄	100
Rg ₅	42	Rk ₃	12
Rc	19	Rg ₁	900
Rd	157	Rf	52
Rb ₁	24	F ₄	40
Rb ₂	42	notoginsenoside-R ₂	21
RS ₃	18	Rg ₂	48
Ra ₁	3	20-gluco-ginsenoside Rf	223
Ra ₂	15	Re	178
Ra ₃	18		
chikusetsusaponin VI	60		

가. PPD type

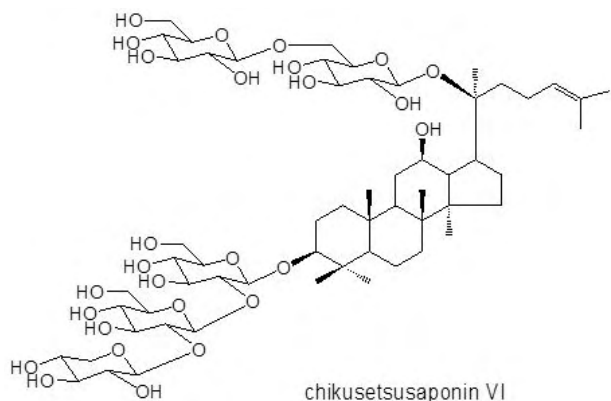




ginsenoside Ra₃

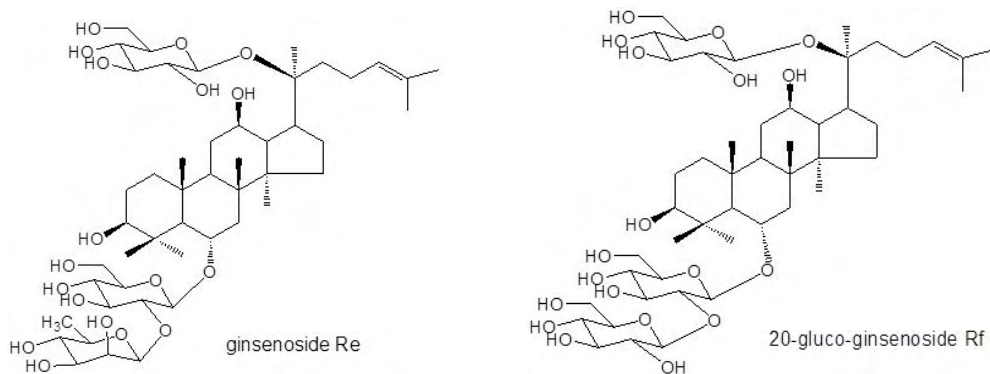
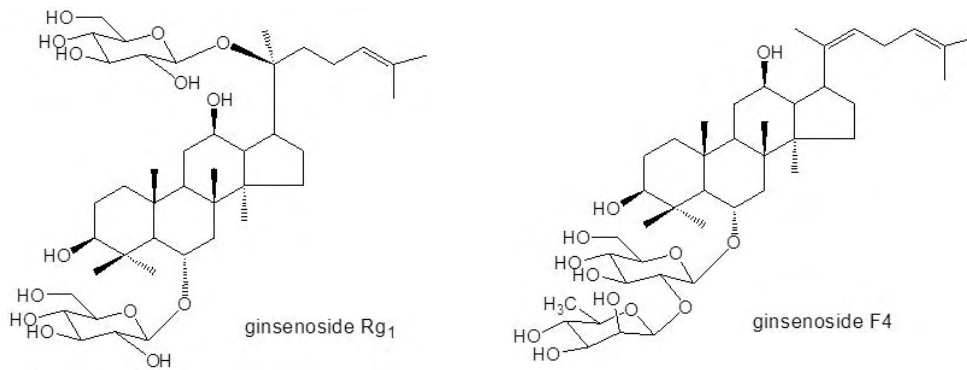
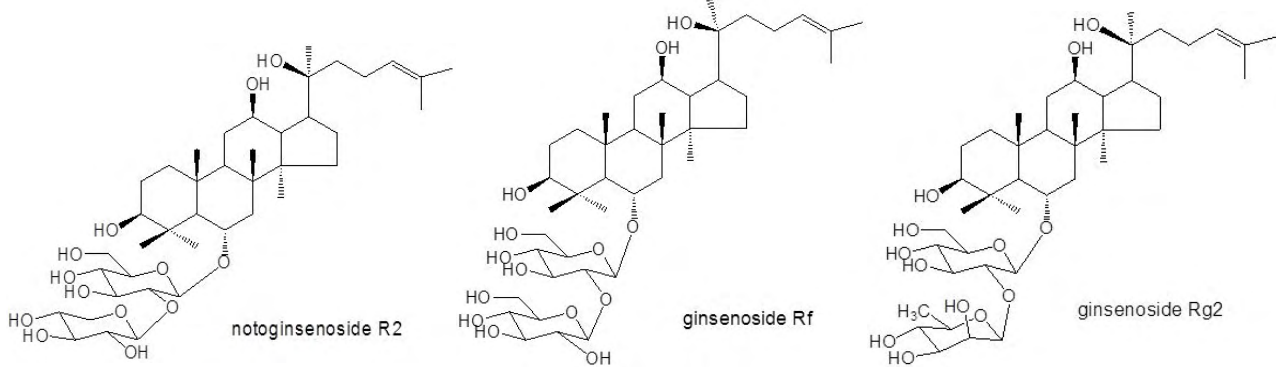
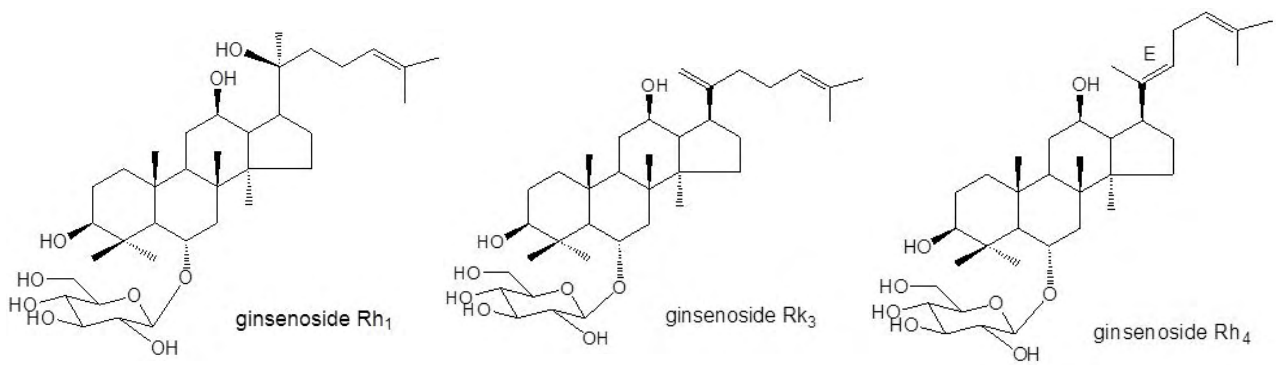


ginsenoside Ra₁



chikusetsusaponin VI

4. PPT type



제3절 Ginsenoside 물리화학적 및 spectrum data에 대한 표준화 연구

- 인삼 (*Panax ginseng*) 은 이름이 나타내는 것처럼 만병을 다스리는 효과가 있다고 알려져 왔고, 지금까지 인삼의 약리효능에 관한 많은 연구결과가 보고되었다. 이러한 약리활성을 나타내는 물질이 무엇인가에 대하여 관심이 집중되었고, 그 중에서 인삼의 주요성분으로 알려진 사포닌이 약리활성을 나타내는 가장 중요한 화합물의 하나로 인식 되어 왔다.

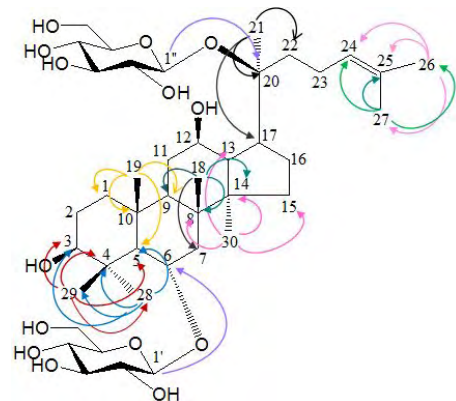
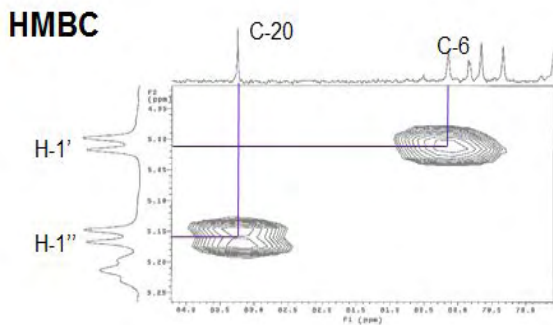
사포닌은 배당체의 하나로 그 수용액을 저으면 비누 (Soap)처럼 지속성 거품이 생긴다는 데에서 이름이 유래하였다. 따라서 비누처럼 비극성 부분과 극성 부분을 동일 분자 내에 가지고 있어야 한다. 비극성 부분인 aglycone은 triterpenoid 나 steroid처럼 탄소의 개수가 28개에서 30개 정도는 되어야 하며, 극성 부분은 당이 담당하게 되는데 보통 2개 이상은 되어야 한다. 인삼 사포닌인 ginsenoside 는 대부분은 dammarane 계열의 triterpenoid인 protopanaxadiol (PPD) 과 protopanaxatriol (PPT)이 aglycone 이며, ginsenoside R_o 만이 oleanolic acid 이다. 현재까지 panax 속 식물에서는 70여종 이상의 사포닌이 분리 보고되었고, *Panax ginseng* 에서도 40여종의 사포닌이 분리 보고되었다. 하지만 현재까지 분리 동정된 사포닌의 물리화학적 data 가 서로 상이하게 보고되는 경우가 많이 있다. 본 연구 과제에서는 사포닌 측정방법의 표준화 및 2-D NMR등을 이용하여 정확하게 각 signal을 동정하고자 하였다.

우선 인삼 사포닌 중에서 PPT계열 사포닌인 ginsenoside R_g1, R_b1, R_b2, R_c, R_d 에 대하여 NMR data를 정확하게 동정하고자 하였다. R_g1 은 표에서 보는 것처럼 여러 signal 특히 methyl 기에 대하여 서로 다르게 동정된 경우가 많이 있었다. 2-D NMR 특히 HMBC를 이용하여 각 signal 들을 정확하게 동정하였다.

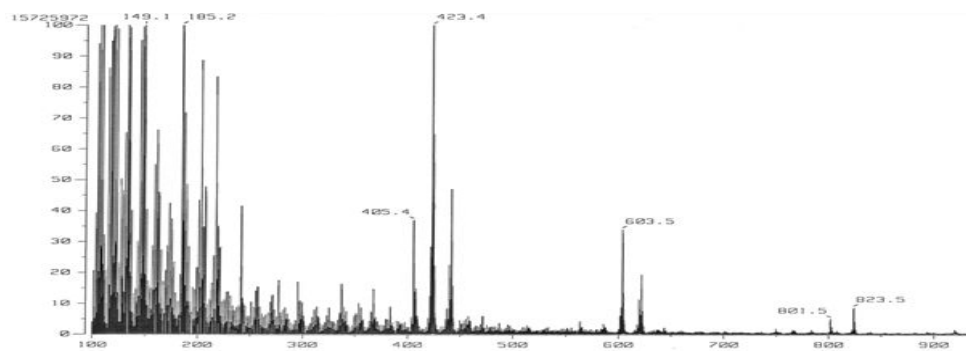
1. ginsenoside Rg1의 동정

Proton NMR Data of Rg1(400MHz; pyridine-d ₅)				
No.	1995	1998	2002	NPCL
3	3.46 dd (11.5, 4.6)	3.49 brd (10.0)	3.49 dd (10.9, 4.2)	3.49 dd (11.2, 4.6)
6	4.37 dd (10.5, 3.6)	4.37	4.41	4.36 m
12	4.11 m	4.09	3.95	4.21 m
18	1.39 s	1.16 s	1.18 s	1.124
19	1.07 s	0.96 s	1.06 s	1.006
21	1.63 s	1.58 s	1.54 s	1.566
24	5.27	5.24	6.14 dd (12.4, 0.5)	5.21 t (6.6)
26	1.62 s	1.60 s	1.72 s	1.566
27	1.62 s	1.57 s	1.72 s	1.554
28	2.01 s	2.07 s	2.05 s	2.054
29	1.52 s	1.34 s	1.61 s	1.603
30	0.94 s	0.94 s	0.72 s	0.771
1'	4.88 d (7.2)	5.22 d (6.9)	4.92 d (7.8)	5.15 d (8.4)
1''	5.15 d (7.8)	5.12 d (8.2)	5.21 d (7.6)	5.10 d (7.2)

- 문헌에서 여러 signal 중, 특히 methyl 기에 대하여 서로 다르게 동정되어있다.



- 두 개의 anomer 수소 H-1''와 H-1'는 HMBC 스펙트럼에서 각각 C-20, C-6 과 correlation 을 보인 5.15 ppm 과 5.10 ppm 의 signal 로 동정하였다.



m/z	$[\alpha]_D$	IR (cm ⁻¹)	m.p.(°C)
799([M-H] ⁻), 783([M-OH] ⁻), 637([M-H-Glc] ⁻), 475([M-H-2Glc] ⁻), 447([M-H-2Glc-2CH ₂] ⁻), 381([M-H-2Glc-CH ₃ CH ₂ -H ₂ O-3OH] ⁻)	+14.5 (30°C, c=0.50, MeOH)	3399, 2932, 1635, 1072, 1036	193-195°C

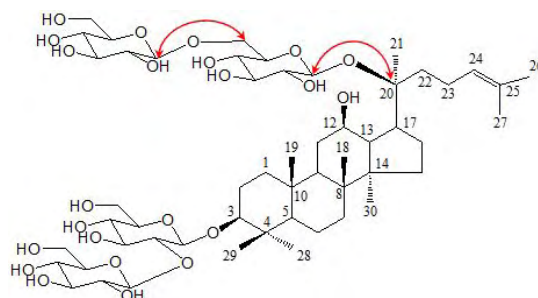
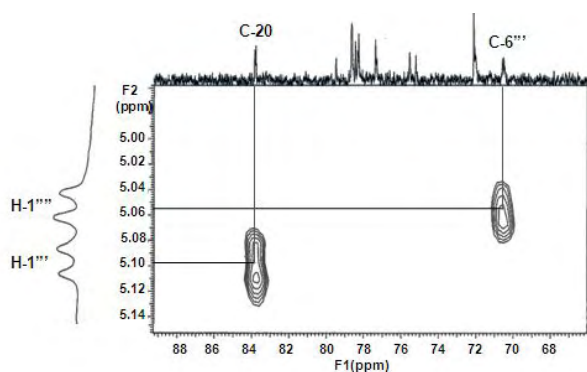
2. ginsenoside Rb1, Rb2, Rc, Rd의 동정

Table 1. Physico-chemical characteristics for ginsenosides Rb₁, Rb₂, Rc, and Rd

No.	ginsenoside Rb ₁	ginsenoside Rb ₂	ginsenoside Rc	ginsenoside Rd
crystals	white powder (H ₂ O-MeOH)	white powder (H ₂ O-MeOH)	white powder (H ₂ O-MeOH)	white powder (H ₂ O-MeOH)
mp(°C)	170-171	181-183	168-169	182-183
[α] _D	+6.49° (20°C, c=0.50, MeOH)	+14.08° (20°C, c=0.50, MeOH)	+1.91° (20°C, c=0.50, MeOH)	+18.1° (20°C, c=0.50, MeOH)
IR(cm ⁻¹)	3365, 2919, 1590, 1079, 1032	3389, 2942, 1640, 1077, 1029	3367, 2943, 1649, 1078, 1031	3366, 2943, 1647, 1077, 1034
FAB/MS (m/z)	1131, 789, 425, 407, 365, 325	1101, 789, 425, 407	1101, 789, 425, 407	969, 789, 425
TLC(Rf)	0.42 ^{a)} , 0.40 ^{b)}	0.46 ^{a)} , 0.32 ^{b)}	0.48 ^{a)} , 0.40 ^{b)}	0.50 ^{a)} , 0.25 ^{b)}
HPLC (r.t. min)	54.319 ^{c)}	47.729 ^{c)}	48.129 ^{c)}	36.550 ^{c)}

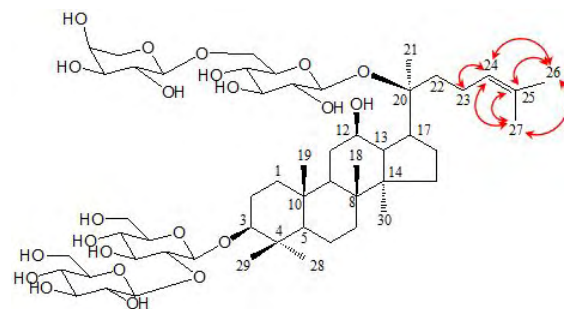
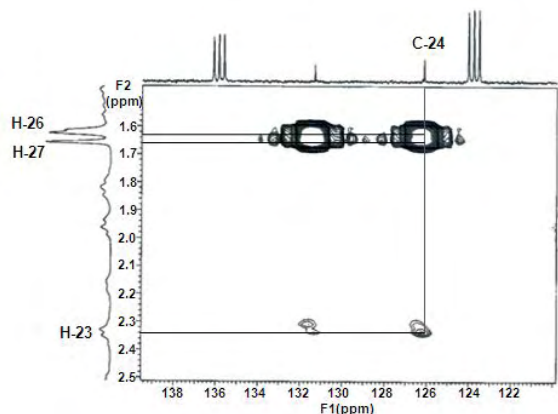
^{a)}Kieselgel 60 F₂₅₄, CHCl₃-MeOH-H₂O (65:35:10); ^{b)}Kieselgel RP-18 F_{254S}, MeOH-H₂O (3:1); ^{c)}Carbohydrate ES (5 μm, 250 × 4.6 mm), solvent P (acetonitrile-H₂O-isopropanol=80:5:15), solvent Q (acetonitrile-H₂O-isopropanol=60:25:15), gradient elution: The concentration of P was 25-50% at 0-28 min, 50-75% at 28-47 min, 75-90% at 47-50 min, 90-100% at 50-52 min, and 100-0% at 52-60 min. The flow rate was 0.8 ml/min.

- 순수하게 분리 정제한 diol계 인삼 주요 사포닌인 ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rc 및 Rd 에 대하여 분석조건을 표준화한 상태에서 결정학적 성상, 녹는점, 비선광도, IR, FAB/MS 및 NMR과 같은 물리화학적 및 분광학적 data를 제시하였고, TLC 및 HPLC에서의 Rf 값과 r.t. 값을 제시하였다.

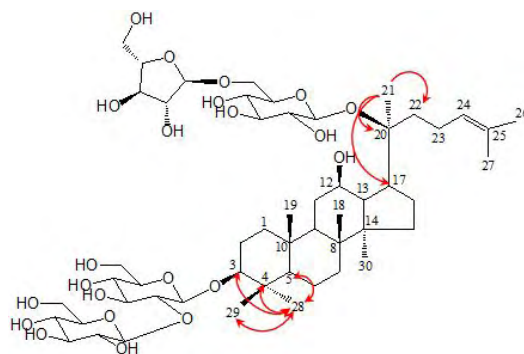
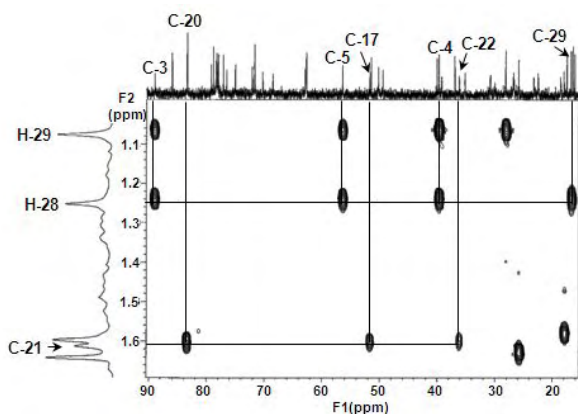


- 당의 anomer 수소인 H-1''와 H-1''' 중 후자가 더 저자장에서 나타난 것으로 보고되어 있지만, 이 실험에서는 H-1''와 H-1'''가 각각 5.08 ppm과 5.04 ppm으로 동정되어 문헌과 다를 결과를 보였는데, HMBC 스펙트럼에서 H-1'''이 C-20(δ_C 83.281)과 J₃ correlation을,

H-1'''이 C-6'''(δ_c 69.746)과 J_3 correlation을 보인 점으로부터 확인하였다.



- Olefine methine carbon인 C-24의 경우 문헌에서는 δ_c 124.80으로 보고되어 있지만, 이번 실험에서는 δ_c 126.16에서 관측되어, 1.36 ppm의 차이를 보였는데, 이 signal이 HMBC 스펙트럼에서 H-23(δ_H 2.34, 2.53)과 J_2 correlation을 보였고, H-26(δ_H 1.65) 및 H-27(δ_H 1.62)과 J_3 correlation을 보인 점으로부터 확인되었다.



- $^1\text{H-NMR}$ 에서 H-21과 H-28 methyl을 각각 1.61 ppm과 1.25 ppm에서 관측된 signal로 동정하였는데, 문헌에는 서로 바뀌어 보고되어 있다. HMBC 스펙트럼에서 C-20(J_2 , δ_c 83.372), C-17(J_3 , δ_c 51.699) 및 C-22(J_3 , δ_c 36.230)과 correlation을 보인 전자를 H-21로, C-4(J_2 , δ_c 39.771), C-29(J_3 , δ_c 16.712), C-3(J_3 , δ_c 89.006) 및 C-5(J_3 , δ_c 56.438)와 correlation을 보인 후자를 H-28로 동정하였다.

제4절 인삼 사포닌의 분석법 확립

1. HPLC를 이용한 ginsenoside 분석법 확립

가. 재료 및 방법

- 인삼 주요 사포닌 9종 ginsenoside Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rf, Rg1, Rg2, Rh1 에 대하여 TLC 및 HPLC 분석방법을 확립하였다. TLC 의 경우는 silica gel 과 ODS를 사용하였으며, HPLC의 경우 column 은 ODS 와 Carbohydrate 두 가지를 사용하였다. Detector 는 UV detector를 사용한 경우 203 nm에서 흡광도를 측정하였다. ELSD 검출기를 사용하는 경우 그림처럼 감도가 더 높게 나타났다.

(1) 분석 방법 A

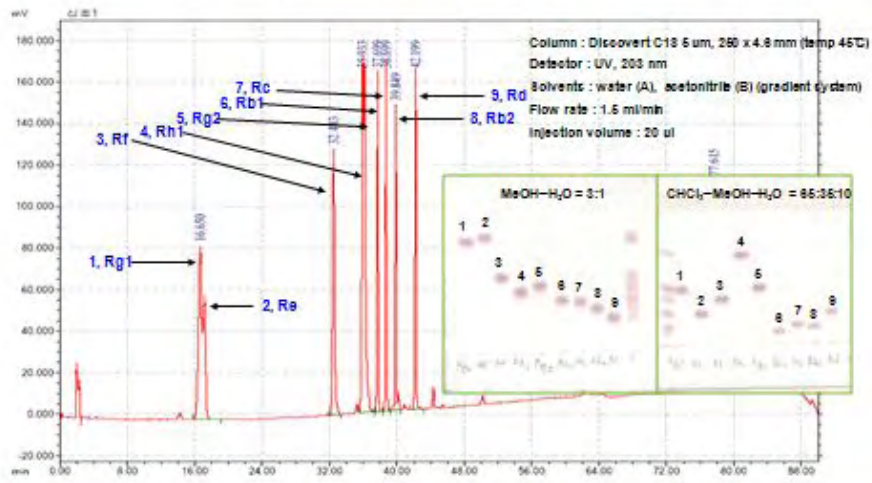
- Instrument : Shimadzu LC-20A
- Column : Discovery C18 (250 mm x 4.8 mm, 5 μ m, temp. 45°C)
- Solvent : (Sol. A : Water)
(Sol. B : MeCN)
- Flow rate : 1.5 ml/min, Injection Volume : 20 μ L
- Detector : UV detector (203 nm)

(2) 분석 방법 B

- Instrument : Shimadzu LC-20A
- Column : Carbohydrate E (250 mm x 4.8 mm, 3.5 μ m, temp. 50°C)
- Solvent : (Sol. A : acetonitrile-H₂O-isopropanol=80:5:15)
(Sol. B : acetonitrile-H₂O-isopropanol=60:25:15)
- Flow rate : 0.8 ml/min, Injection Volume : 15 μ L
- Detector : ELSD detector

나. 결과 및 고찰

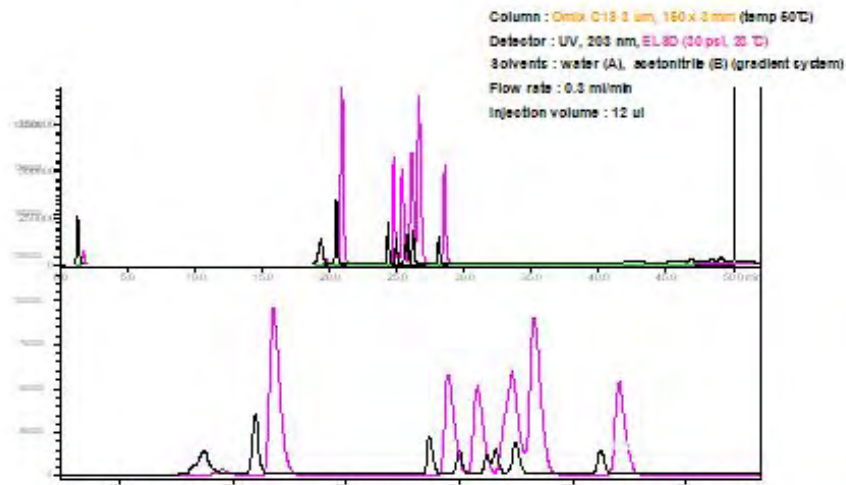
TLC and HPLC-UV analysis



HPLC chromatogram of ginsenosides using ODS column equipped by UV detector

- ODS 및 Silica gel TLC의 경우 분석조건에서 각 ginsenoside 각 잘 분리되었다.
- ODS를 이용한 HPLC 분석에서는 몇 개의 peak 가 겹치는 점이 있지만 잘 분리되었다. 다만 32분-42분 사이에서 대부분의 paek 가 관측되어 분석조건을 개선할 필요가 있다.

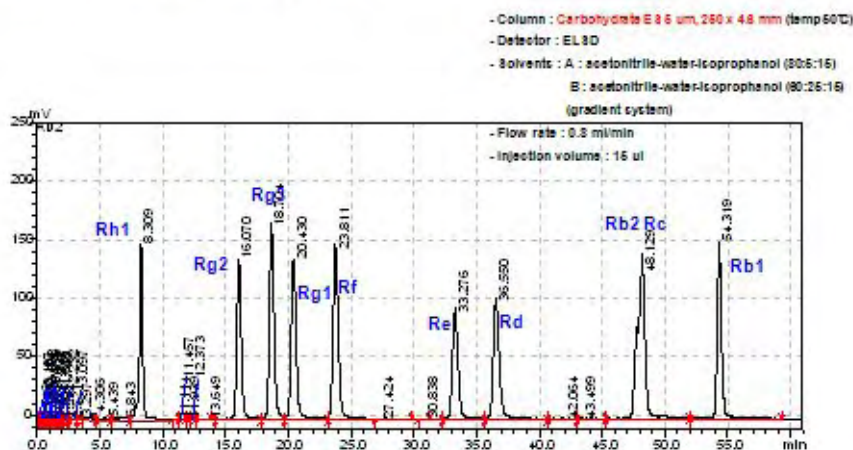
HPLC-ELSD analysis



HPLC chromatogram of ginsenosides using ODS column equipped by UV and ELSD detector

- ELSD의 경우 UV detector 에 비하여 감도가 더 높은 것으로 나타났다.

HPLC-ELSD analysis



HPLC chromatogram of ginsenosides using carbohydrate column equipped by ELSD detector

- Column을 carbohydrate로 사용하고, 검출기로 ELSD를 사용하여 분석조건을 확립하였다. 모든 peak 가 잘 분리되었다.

2. PCA 분석을 이용한 지역별 인삼 분류 연구

가. 재료 및 방법

- 한국의 전통적인 약용식물인 인삼의 뿌리에서 분리된 10개의 major ginseng saponins인 ginsenoside Rh1, Rg2, Rg3, Rg1, Rf, Re, Rd, Rb2, Rc, Rb1를 포함한 13종의 ginsenoside를 동시에 정량 측정하는 방법은 HPLC-ELSD를 통해 이루어졌다. ginsenoside를 동시에 분리하는 데 사용된 컬럼으로는 carbohydrate analytical column (5 μ m, 4.6 X 250 mm)을 사용하였고, 이동상으로는 acetonitrile-water-isopropanol (80:5:15, A) 와 acetonitrile-water-isopropanol (60:25:15, B)를 사용하였는데 이중 B용매를 0-10분간은 25%, 10-35분에는 25-50%, 35-42분에는 51-75%, 42-60분에는 75-80%, 그리고 60-70분에는 80%로 변화를 주어 사용하였다. ELSD의 drift tube 온도는 50 $^{\circ}$ C로 하였고, nitrogen의 유속은 30 psi로 하였다. 그 결과, 0.1-1 mg의 영역에서 calibration curves는 좋은 회기 곡선을 가졌다($r^2 > 0.9999$). HPLC분석과 PCA를 통하여 강화인삼과 풍기 인삼에서 재배지역에 의한 차이를 확인하였다. PCA는 다른 재배 장소에 의한 차이점의 평가를 위해 사용하였고, 강화인삼과 풍기인삼의 간단하고 확실한 차이를 입증하였다. PCA를 통해 13개의 principal component를 얻었다. PC1과 PC2는 서로 다른 지역을 구분해주었고, 인삼 원뿌리의 길이에 따른 차이를 보여주었다. 결과를 살펴보면, HPLC-ELSD와 PCA를 사용한 10개의 major ginsenoside를 포함한 13종의 ginsenoside를 동시 정량법을 확립하였고, 한국의 강화와 풍기에서 재배되는 인삼들의 경작 지역에 따른 차이를 확인하였다.

HPLC analysis of ginsenosides

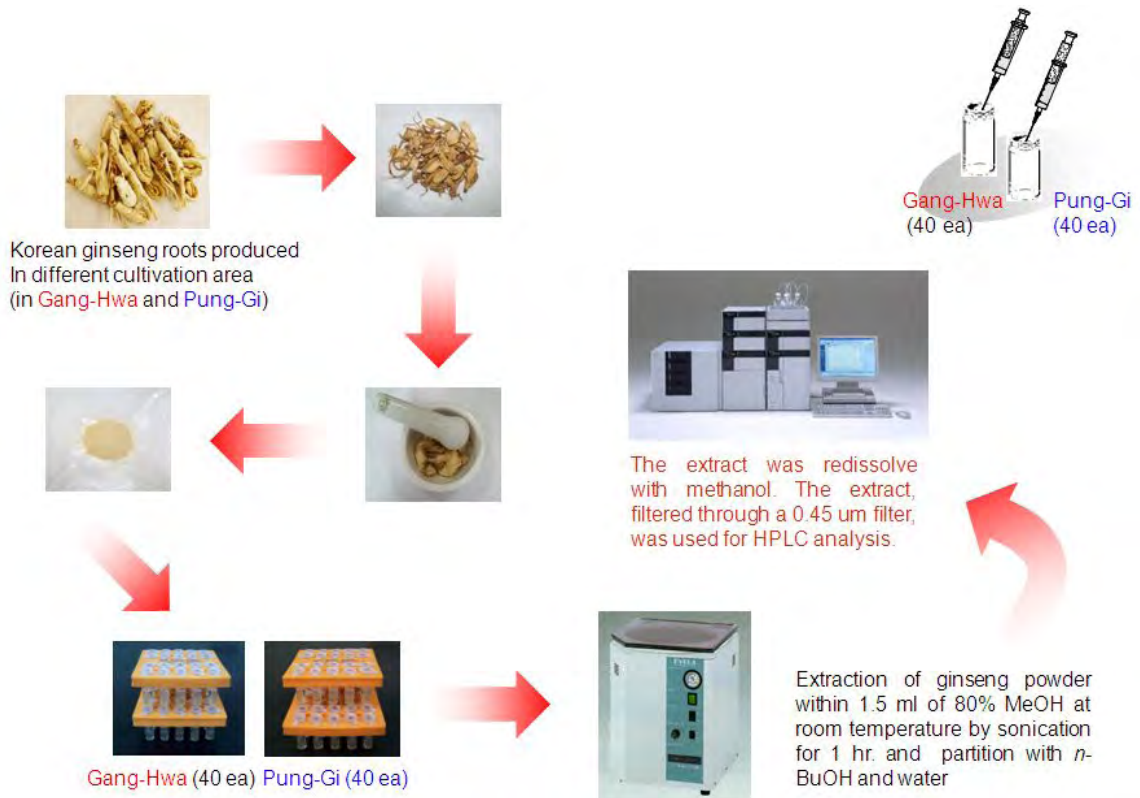


Fig. Preparation of 80% MeOH ext. of Gang-Hwa and Pung-Gi ginseng for HPLC analysis.

나. 결과 및 고찰

HPLC analysis

- Equipments : Shimadzu LC-20A, Shimadzu Co.
- Column : Carbohydrate ES 5 μ m, 250 x 4.6 mm
- Detector : ELSD (temp 50°C)
- Solvents : A : acetonitrile-water-isopropanol (80:5:15)
B : acetonitrile-water-isopropanol (60:25:15)
(gradient system)
- Flow rate : 0.8 ml/min
- Injection volume : 15 μ l

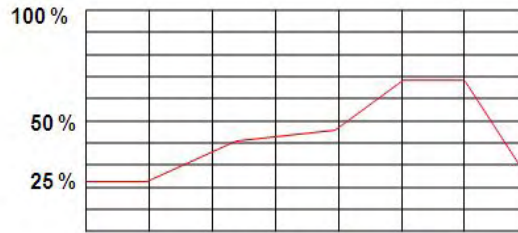


Table 1. Gradient condition of solvent B

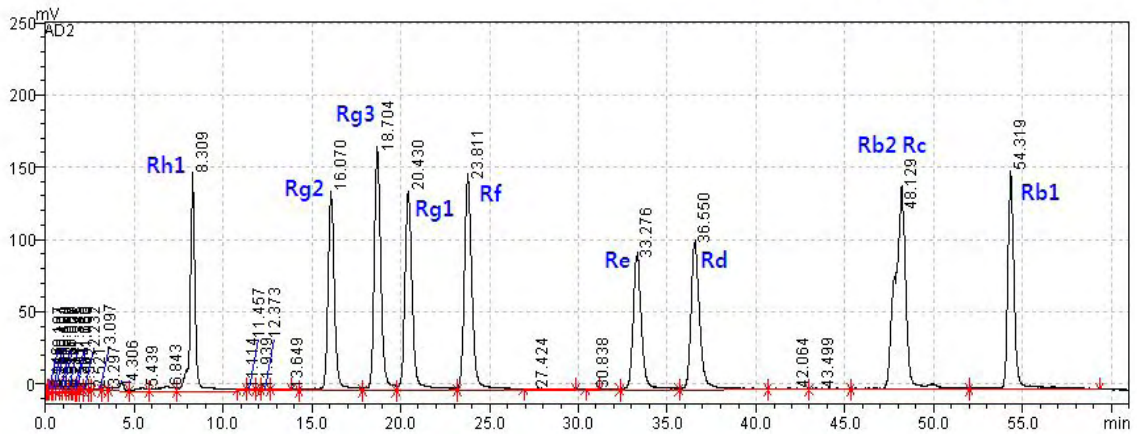


Fig. HPLC chromatogram of 10 standard ginsenosides in Ginseng.

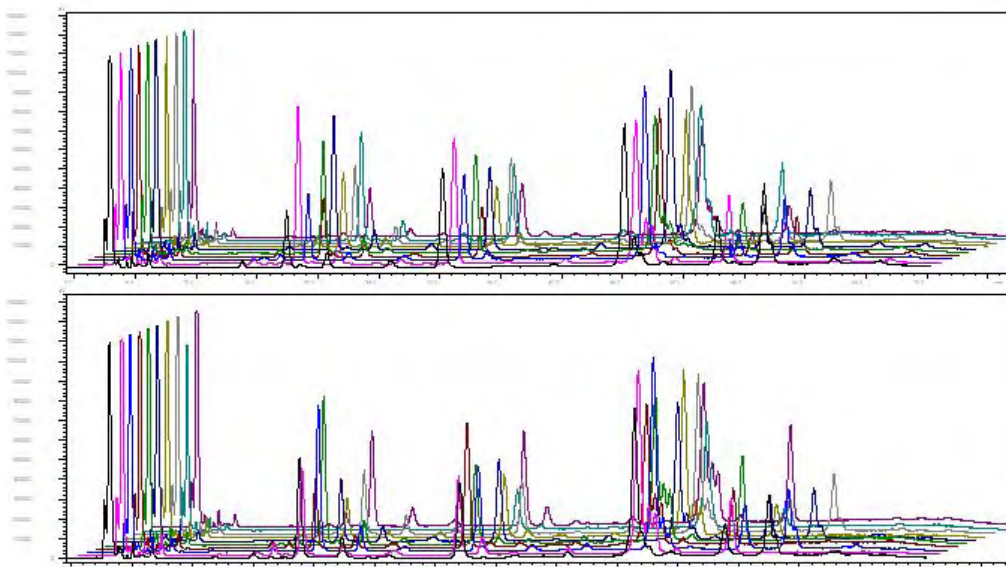


Fig. HPLC chromatogram of ginsenosides from Pung-Gi (6 years).

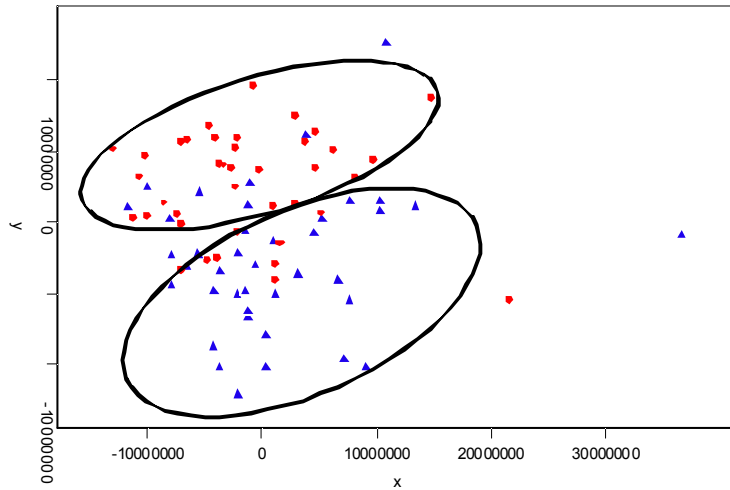


Fig. The red round cultivated in Gang-Hwa and blue triangle in Pung-Gi..

- 강화 인삼과 풍기 인삼의 유의적 차이가 나타났다.

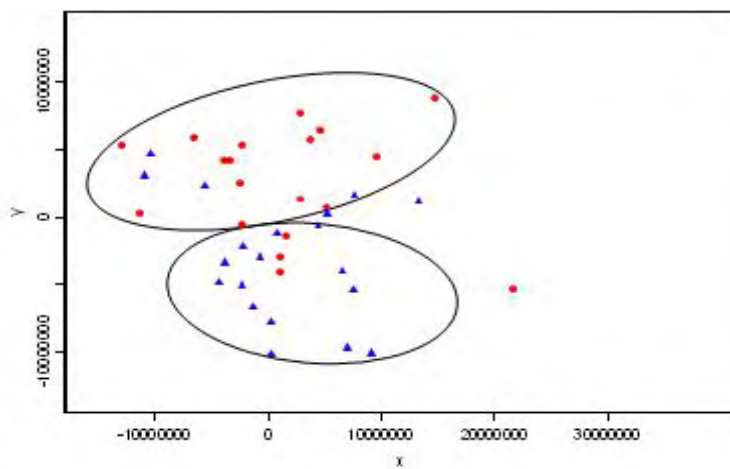


Fig.7. The red round cultivated for 6 years in Gang-Hwa and blue triangle produced for 6 years in Pung-Gi

Fig. The red round cultivated for 6 years in Gang-Hwa and blue triangle produced for 6 years in Pung-Gi..

- 강화 인삼 6년근과 풍기 인삼 6년근의 유의적 차이가 나타났다.

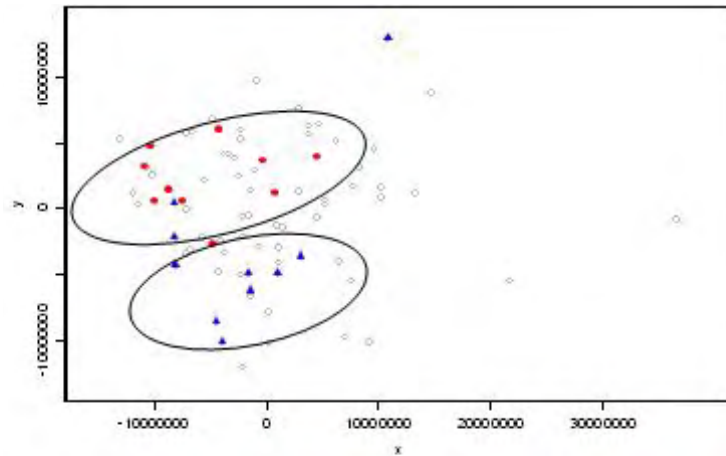


Fig. The red round were **small size** of cultivated for **4 years** in **Gang-Hwa** and blue triangle were **small size** of produced for **4 years** in **Pung-Gi**..

- 강화 인삼 4년근 작은 크기와 풍기 인삼 4년근 작은 크기의 유의적 차이가 나타났다.

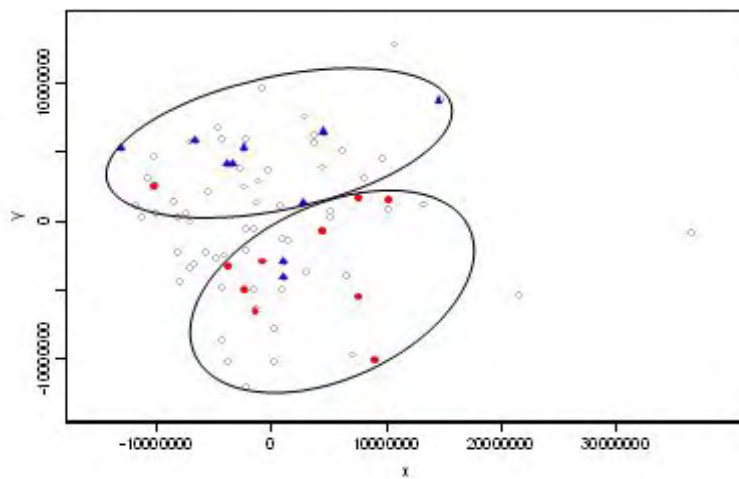


Fig. The red round were **small size** of cultivated for **6 years** in **Gang-Hwa** and blue triangle were **small size** of produced for **6 years** in **Pung-Gi**..

- 풍기 인삼 6년근 작은 크기와 강화 인삼 6년근 작은 크기의 유의적 차이가 나타났다.

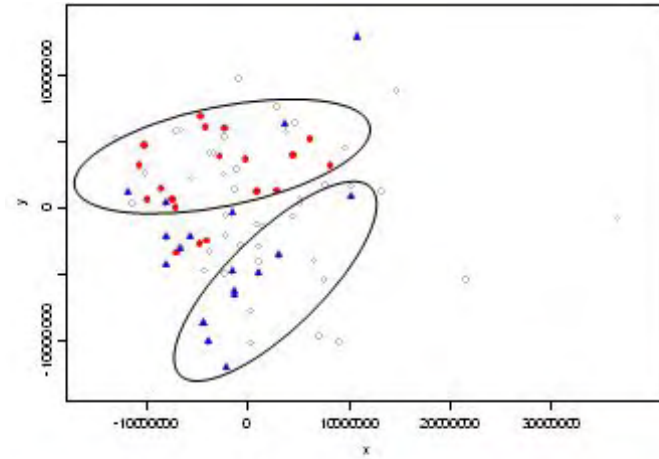


Fig. The red round cultivated for 4 years in Gang-Hwa and blue triangle produced for 4 years in Pung-Gi..

- 강화 인삼 4년근과 풍기 인삼 4년근의 유의적 차이가 나타났다.

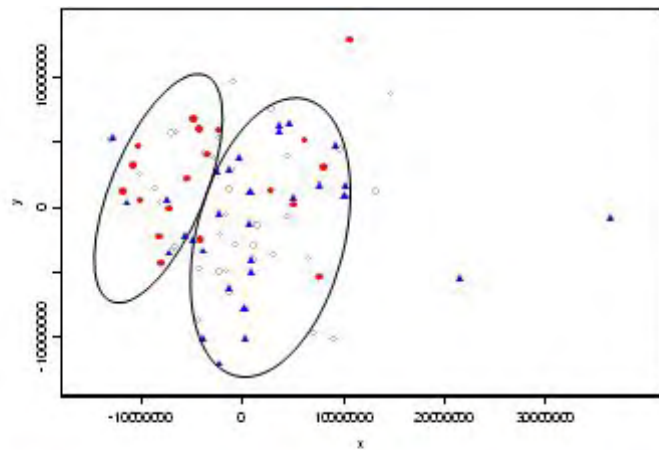


Fig. The red round were long length of main root and blue triangle were short length of main root cultivated Gang-Hwa and Pung-Gi..

- 인삼 중에서 동장 긴 것과 동장 짧은 것의 유의적 차이가 나타났다.

Principal Component Analysis (PCA)

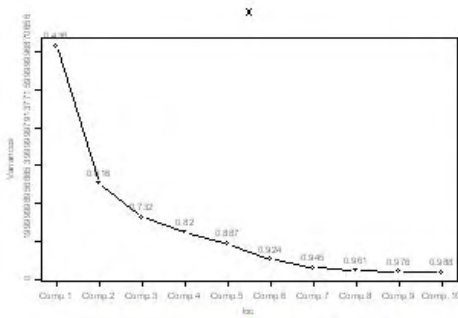


Fig. Percent of variance explained by on PC1 the principal components

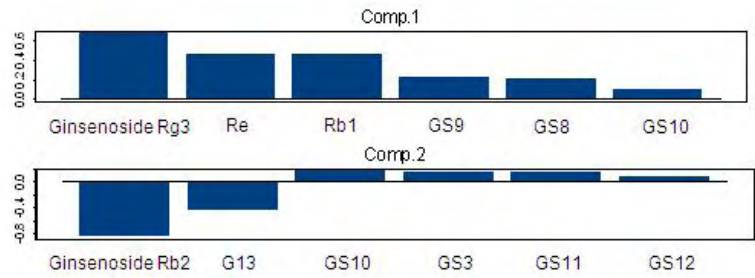


Fig. Loading bar plot showing the influence of ginsenosides

Ginsenoside	Comp.1	Comp.2	Comp.3	Comp.4	Comp.5	Comp.6	Comp.7	Comp.8	Comp.9	Comp.10	Comp.11	Comp.12	Comp.13
GS1						0.253	0.346	0.644	0.51		-0.166	0.312	
GS2												0.303	-0.945
GS3	0.671	0.158	-0.544			-0.435			0.133				
GS4						0.13	0.184	0.176	0.159			-0.887	-0.289
GS5	0.462		0.756	-0.354	0.119	-0.227					-0.112		
GS6								-0.23	-0.129	-0.404	-0.847		0.104
GS7					0.109	0.153			-0.211	0.873	-0.379		
GS8	0.208	-0.844		0.256	-0.407								
GS9	0.221		0.101	0.323		0.402	-0.764		0.281				
GS10	0.1	0.167	0.137	0.262		0.137	0.379	-0.642	0.513	0.159			
GS11	0.46	0.154		0.216	0.132	0.492	0.296		-0.516	-0.167	0.247		
GS12			-0.137	-0.656	-0.552	0.426		-0.198					
GS13		-0.437	-0.259	-0.384	-0.689	0.219		-0.176	0.149		0.116		

3. LCTOFMS를 이용한 고려인삼의 원산지 감별법 연구

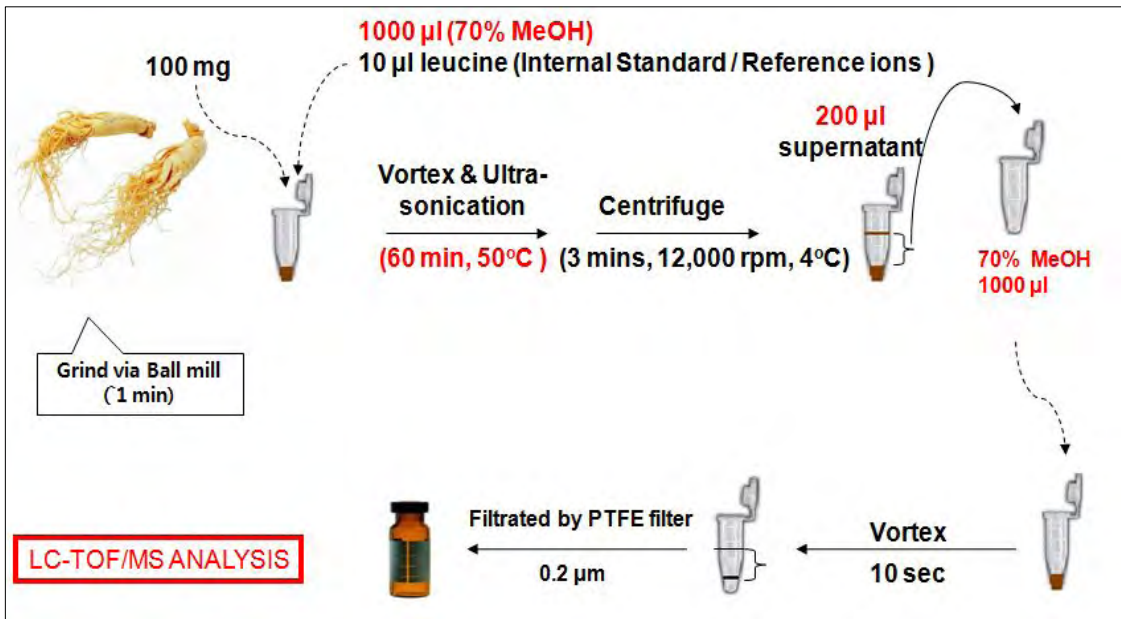
- 원산지 표시 및 표준규격화를 통하여 우수한 국산한약재를 저가 및 저급인 수입한약재와 차별적으로 유통시켜 국산 한약재의 수요를 촉진하고 수입품의 범람을 억제할 수 있다.

과학적인 원산지 판별법 개발을 통해 객관적이고 신속하게 원산지에 따른 품질 관리를 철저히 하여 불법적 유통을 막고 국산 한약재의 차별성을 확보하여 국내 한약재의 생산자와 소비자를 동시에 보호 할 수 있는 발판을 마련 할 수 있다.

가. 재료 및 방법

- (1) 기원이 확인 가능한 한국, 중국, 일본산 고려인삼 확보
- (2) LCTOFMS분석법을 적용하여, 원료생약의 최적의 측정법 개발

(3) 다변량 분석법등을 이용한 원산지 판별 알고리즘 개발



- LCMS 시료 추출법 셋업

I. RRLC method

- System : Agilent tech. 1200 RRLC SL+ 6530 Q-TOF system
- Column type: Halo C₁₈ seriee (2.1 X 100 mm 1.8 um)
- Column oven temperature: 50 °C
- Mobile phase : MeCN, H₂O + 0.1 % formic acid (v/v)
- Injection vol : 0.3 ul
- Flow rate: 0.5 ml/min (300 bar)
- Elution condition :

Time (min)	% H ₂ O	% MeCN
0	80	20
2	75	25
12	65	35
15	10	90
20	80	20

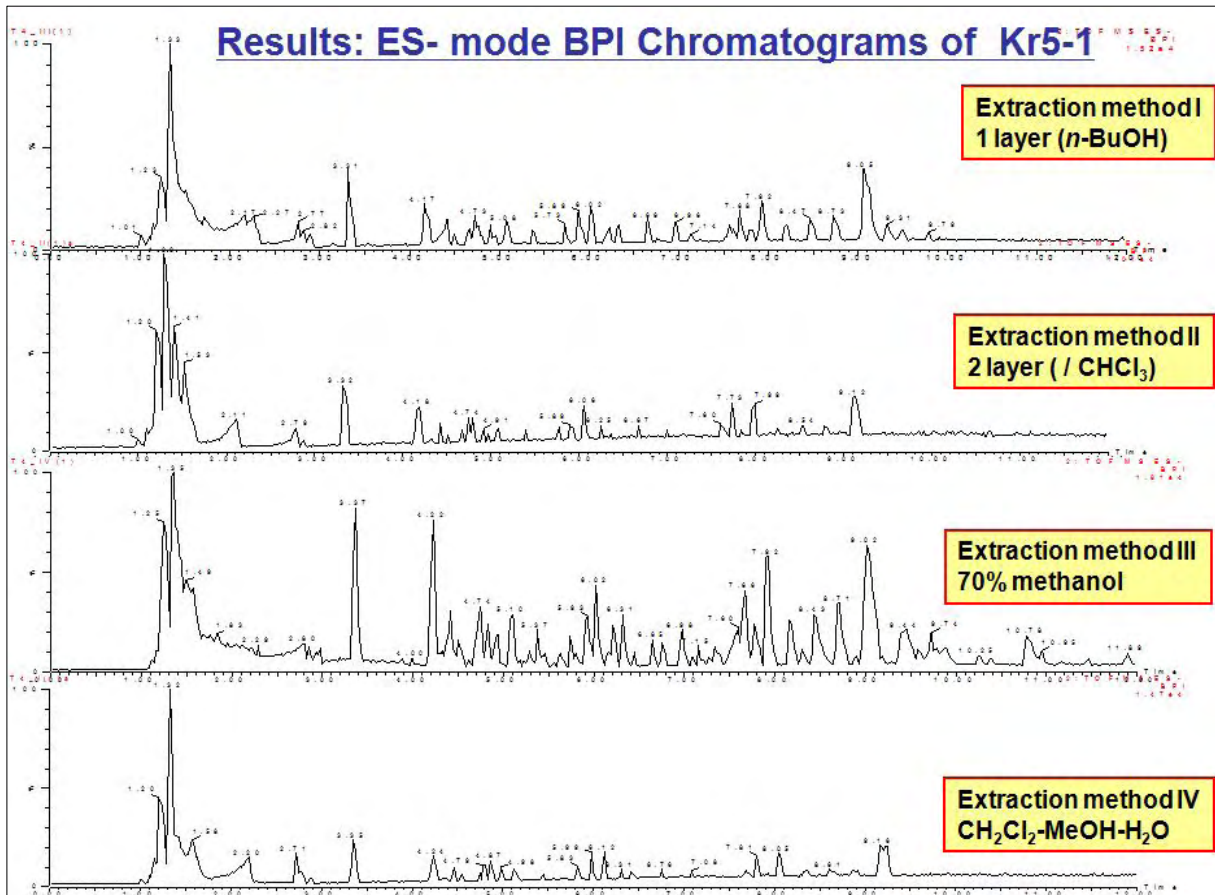
II. TOF/MS method (ESI- mode)

- Capillary voltage: 2500 V
- Sample cone voltage: 90 V
- Desolvation temperature: 350 °C
- Source temperature: 100 °C
- Cone gas flow: 50 l/hr
- Desolvation gas flow: 500 l/hr

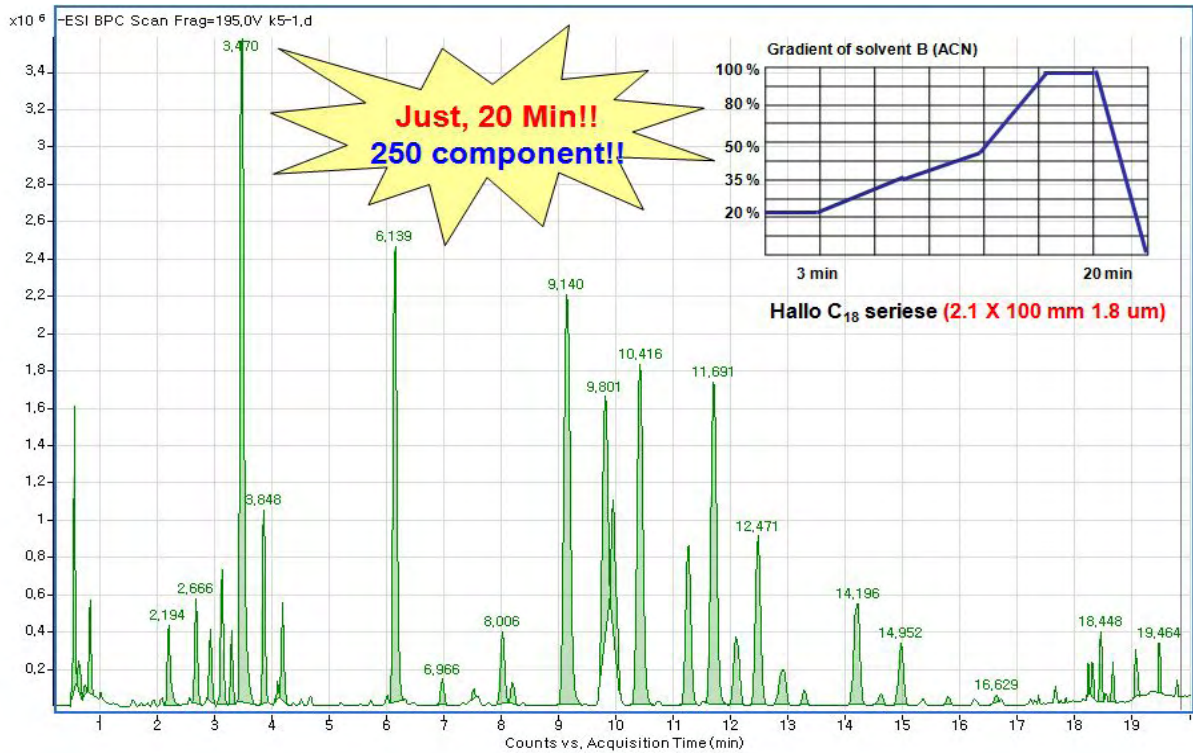
- LC-TOF/MS 분석 조건 확립

나. 결과 및 고찰

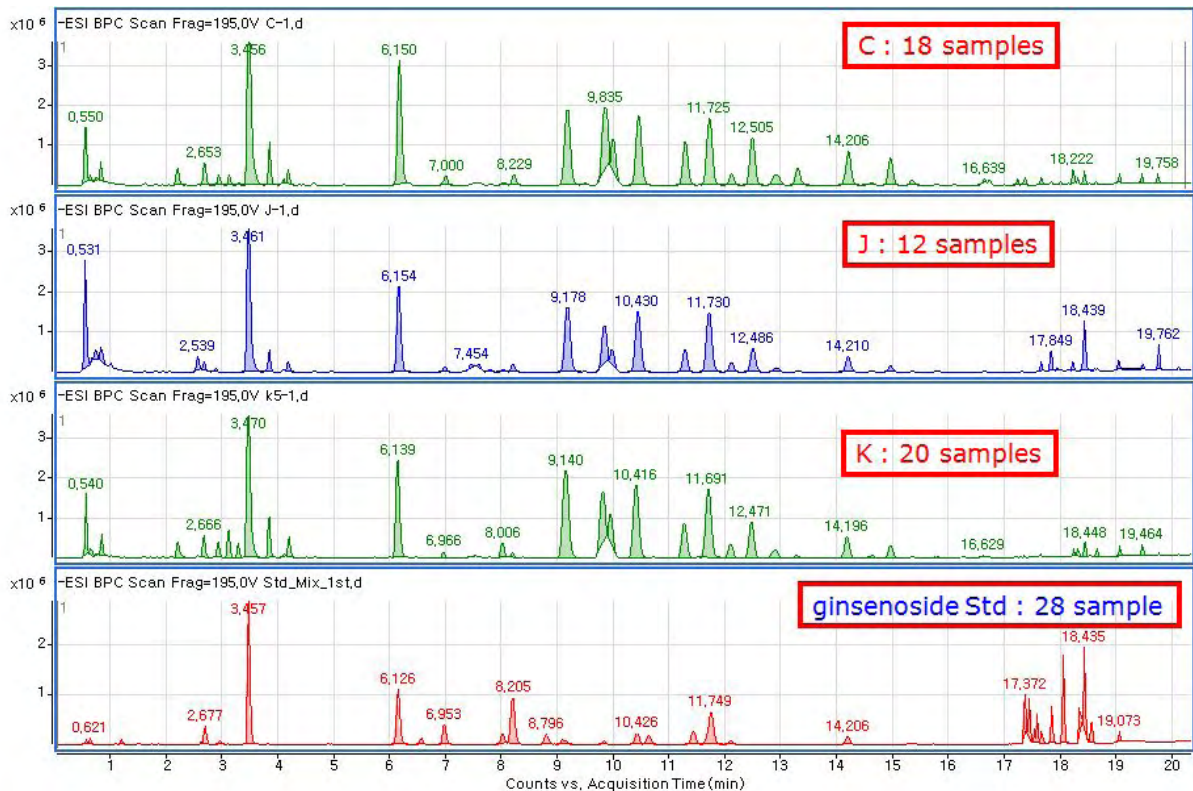
(1) 고려인삼으로부터의 최적 추출법 확립



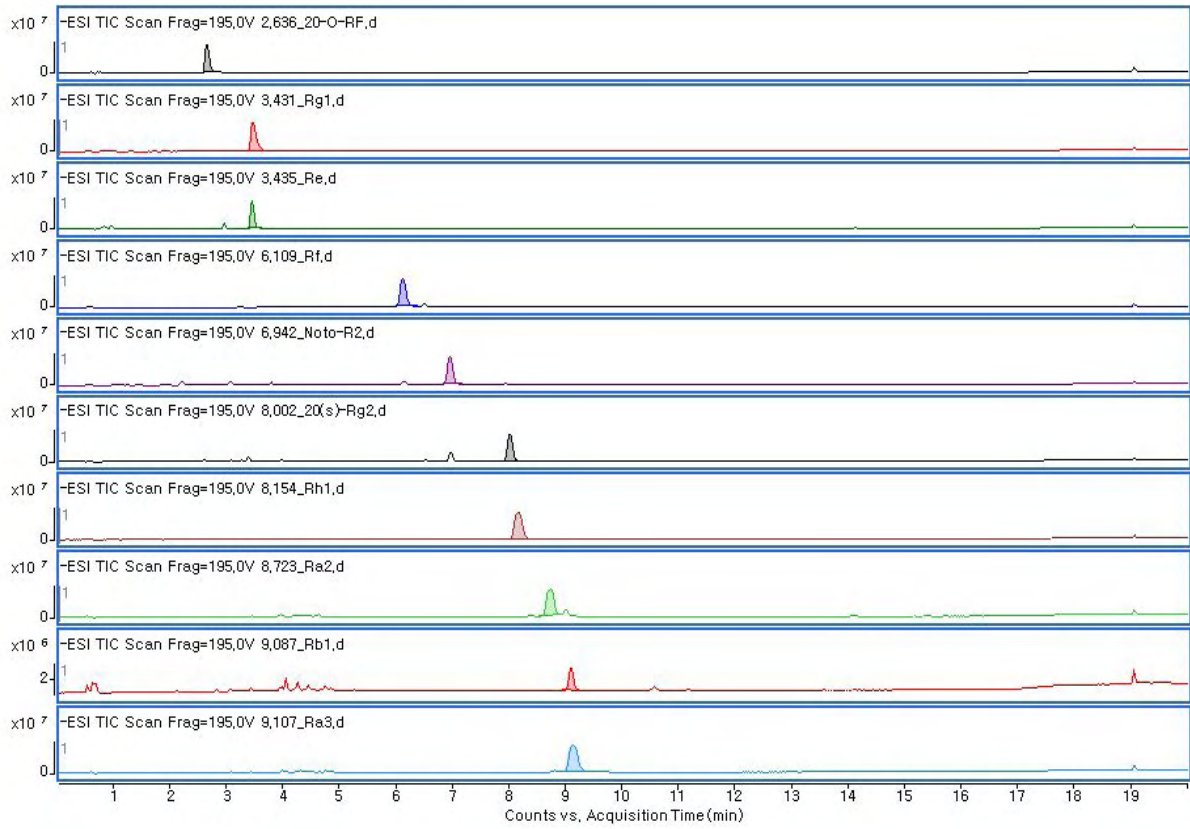
- 추출 조건에 따른 Total Ion Chromatogram : 70% MeOH 추출법이 가장 적합한 것으로 나타났음.



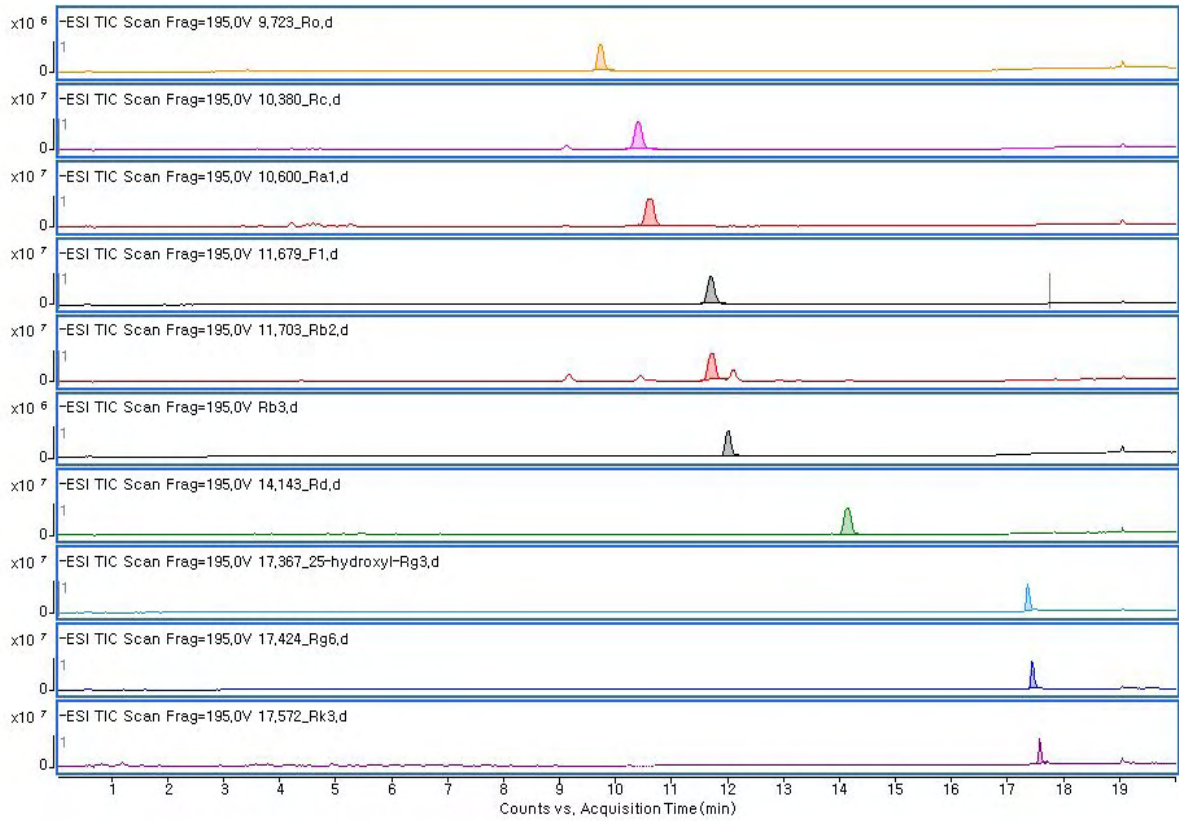
- 최적조건 확립후 측정된 Total Ion Chromatogram : 20분 내에 250여개의 MS component가 확인되었음.



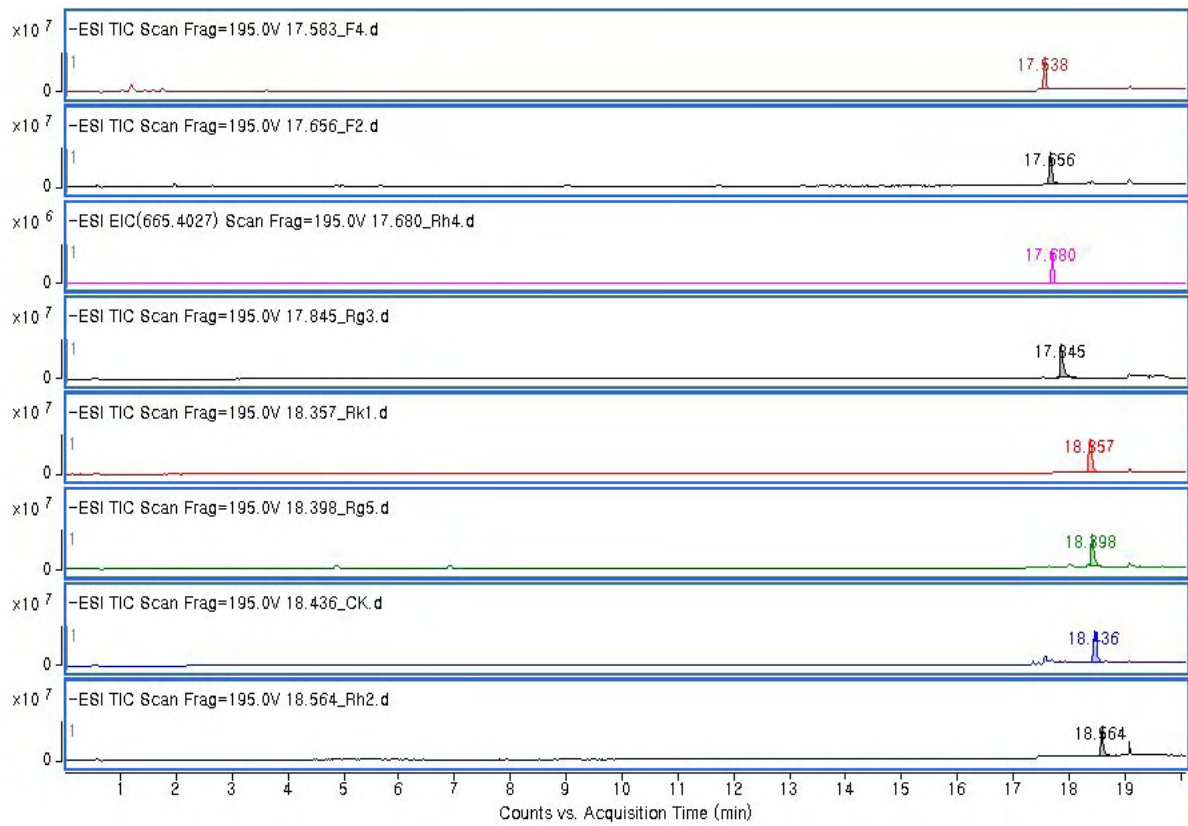
- 한국, 중국 및 일본 인삼의 대표적인 TIC 와 제 1절에서 분리된 ginsenoside의 TIC



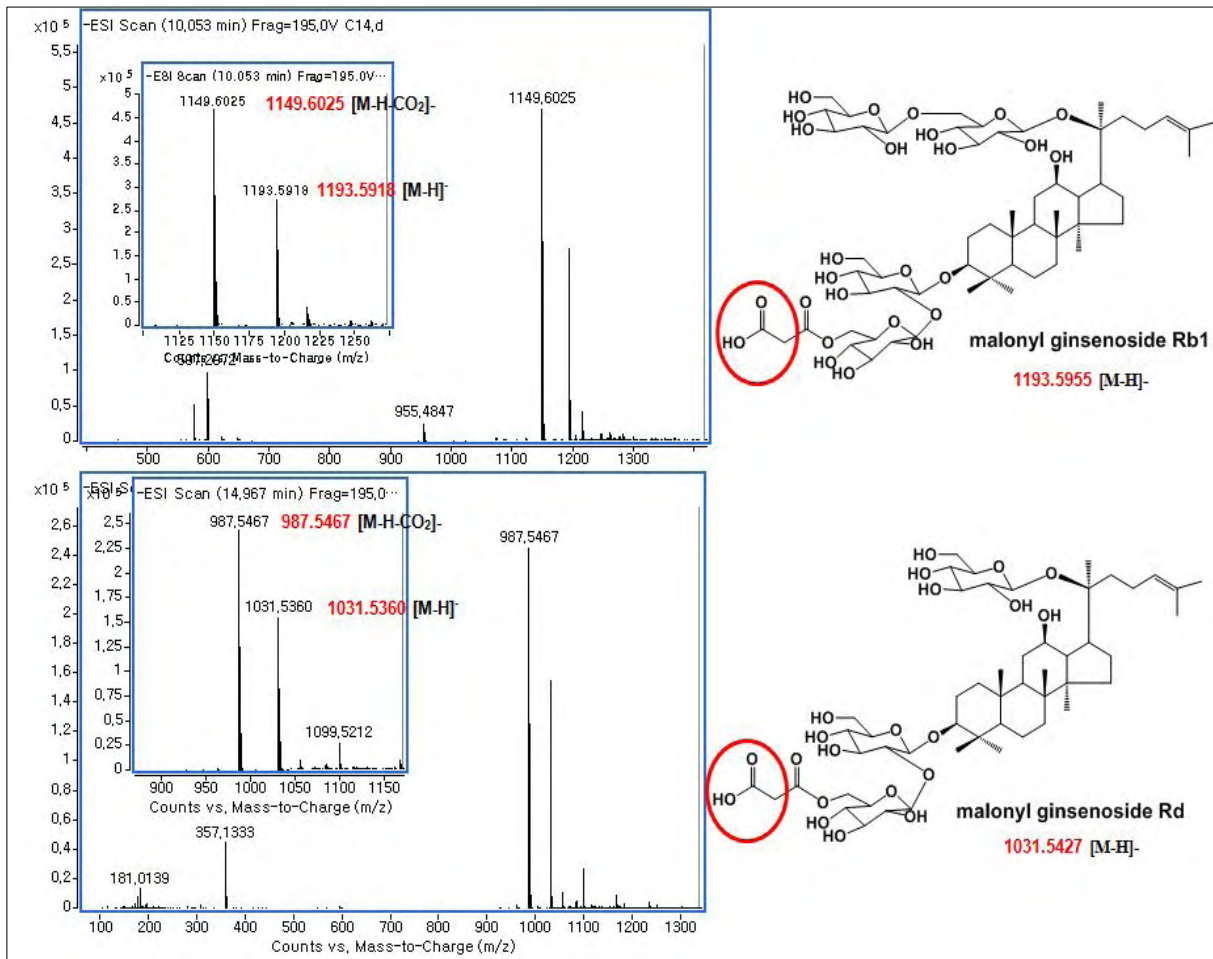
- 분리된 ginsenoside sample에 대한 TIC



- 분리된 ginsenoside sample에 대한 TIC

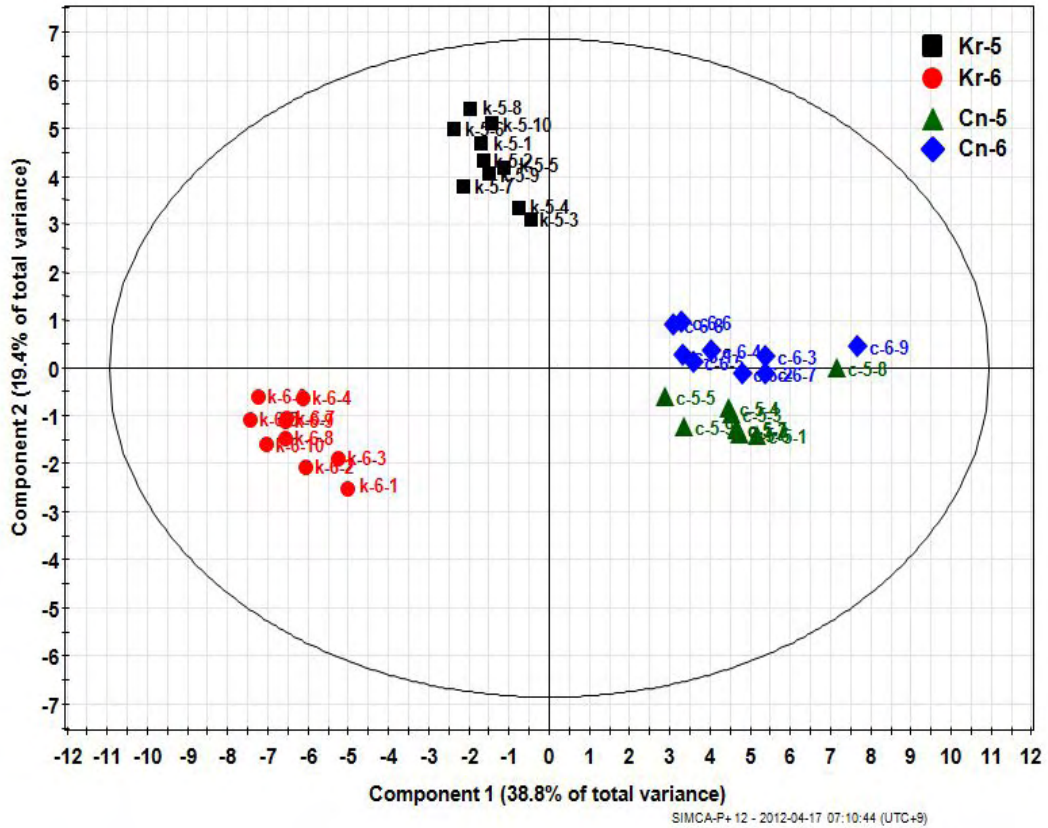


- 분리된 ginsenoside sample에 대한 TIC

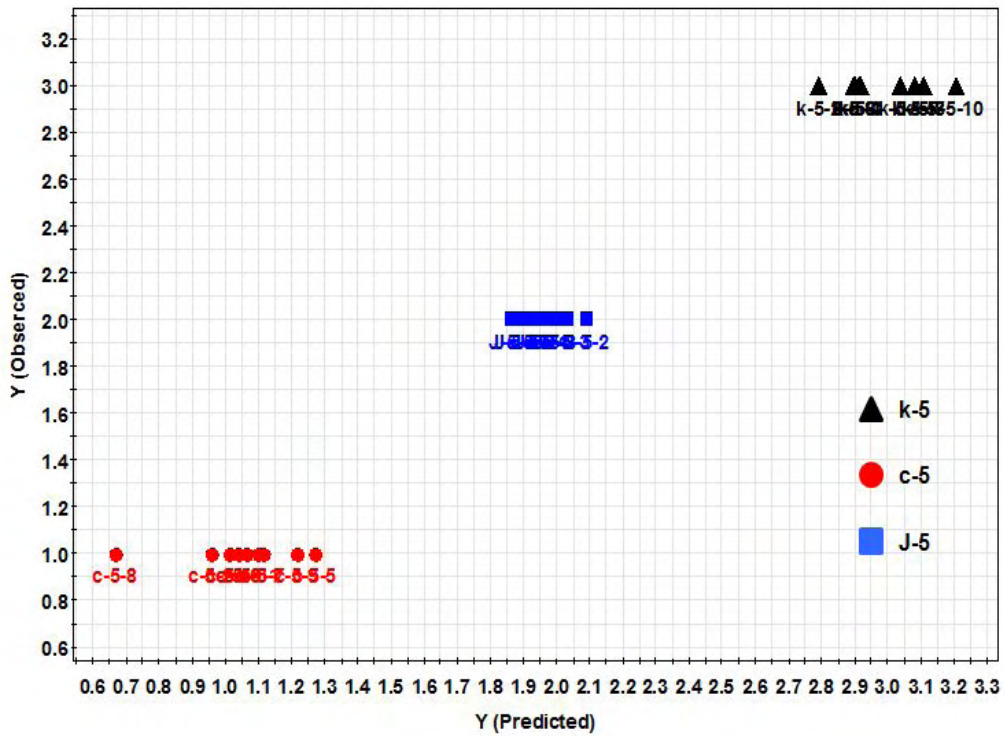


Identification	Molecular formula	Calculated mass [M-H] ⁻	QTOF/MS (ESI-) [M-H] ⁻	Mass accuracy (ppm)
Maloyl-Rb1	C ₅₇ H ₉₄ O ₂₆	1193.5955	1193.5918 [M-H] ⁻ , 1149.6025 [M-H-CO ₂] ⁻	3.1
Maloyl-Rd	C ₅₁ H ₈₄ O ₂₁	1031.5427	1031.5360 [M-H] ⁻ , 987.5467 [M-H-CO ₂] ⁻	6.5

- 기여도가 큰 화합물에 대한 MS/MS 분석
- malonyl ginsenoside Rb1은 [M-H]⁻가 1193.5955, malonyl ginsenoside Rd는 [M-H]⁻가 1031.5427로 accuracy가 각각 3.1과 6.5ppm으로 매우 정확하게 나타남



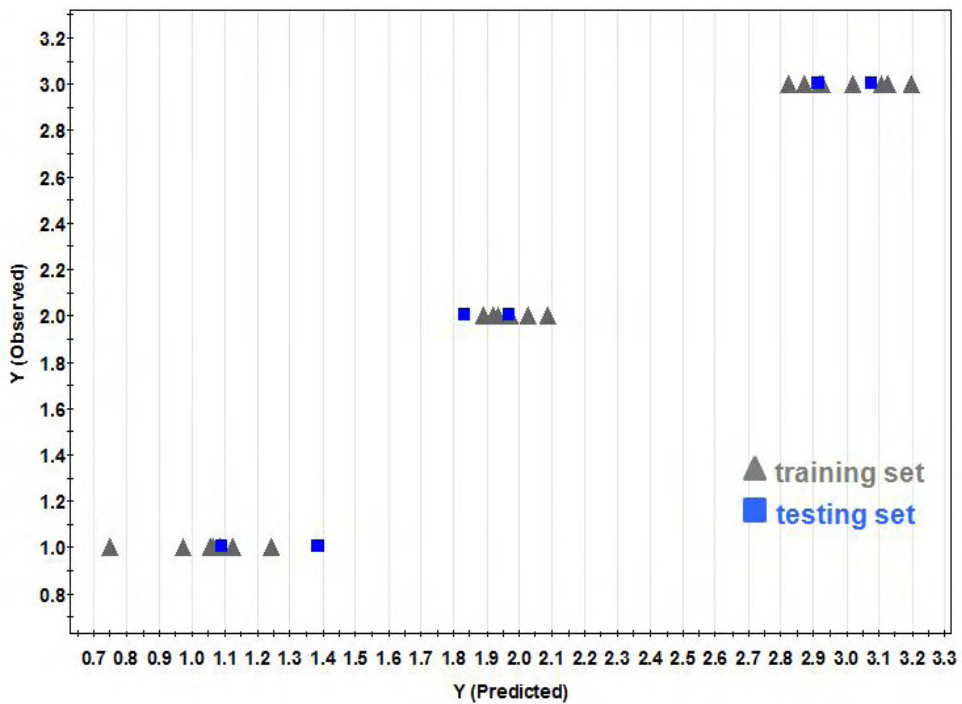
- PLS-DA plot로부터 한국 5년근 6년근 및 중국 5년근 6년근 인삼의 판별
- 한국 인삼의 5년근과 6년근은 분명하게 판별되었지만, 중국 인삼의 경우에는 5년근과 6년근이 판별되지 않았음



RMSEE = 0.133437

SIMCA-P+ 12 - 2012-03-20 08:28:42 (UTC+9)

- PLS training 모델 : 한국, 중국, 일본 인삼의 예측모델 구축



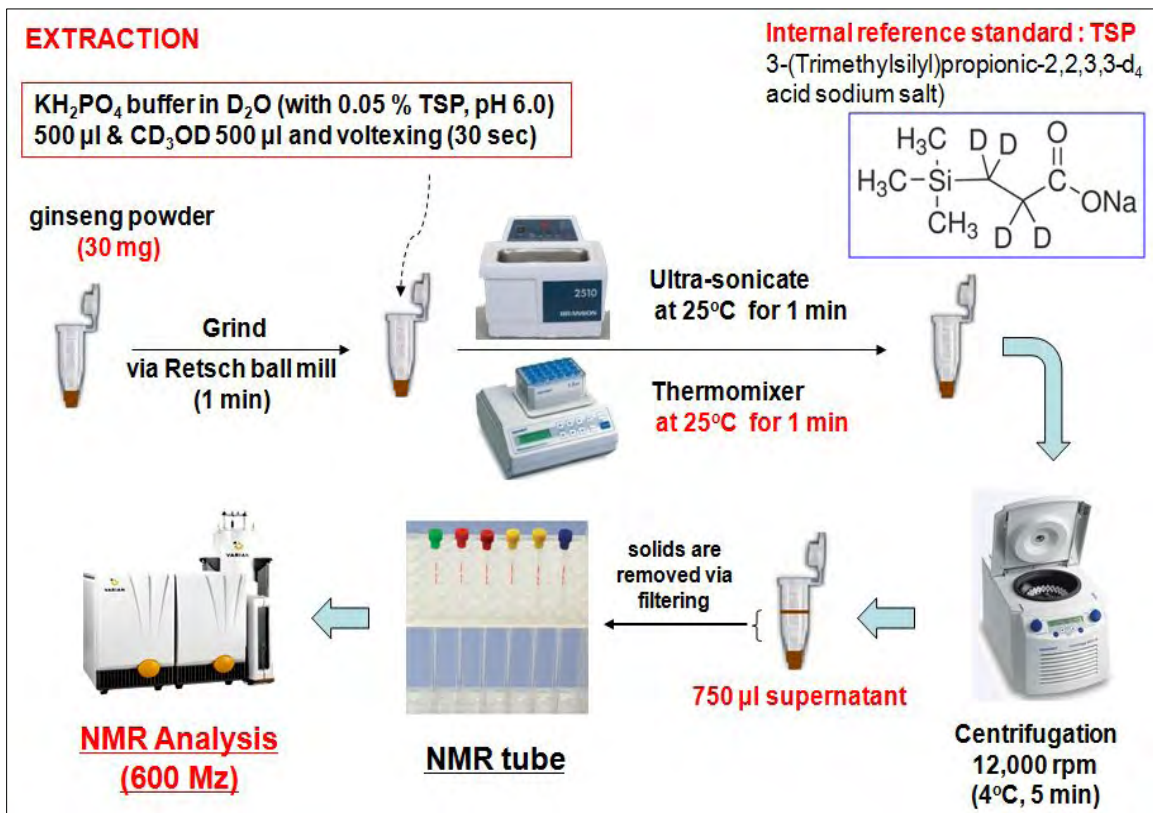
RMSEP = 0.182358

SIMCA-P+ 12 - 2012-03-20 08:34:45 (UTC+9)

- PLS test 모델 : 예측모델과 실제 실험 모델을 대입한 결과, 에러율이 0.182358 임.
 - 실험모델을 training set에 대입 한 결과 매우 정확하게 일치하였음

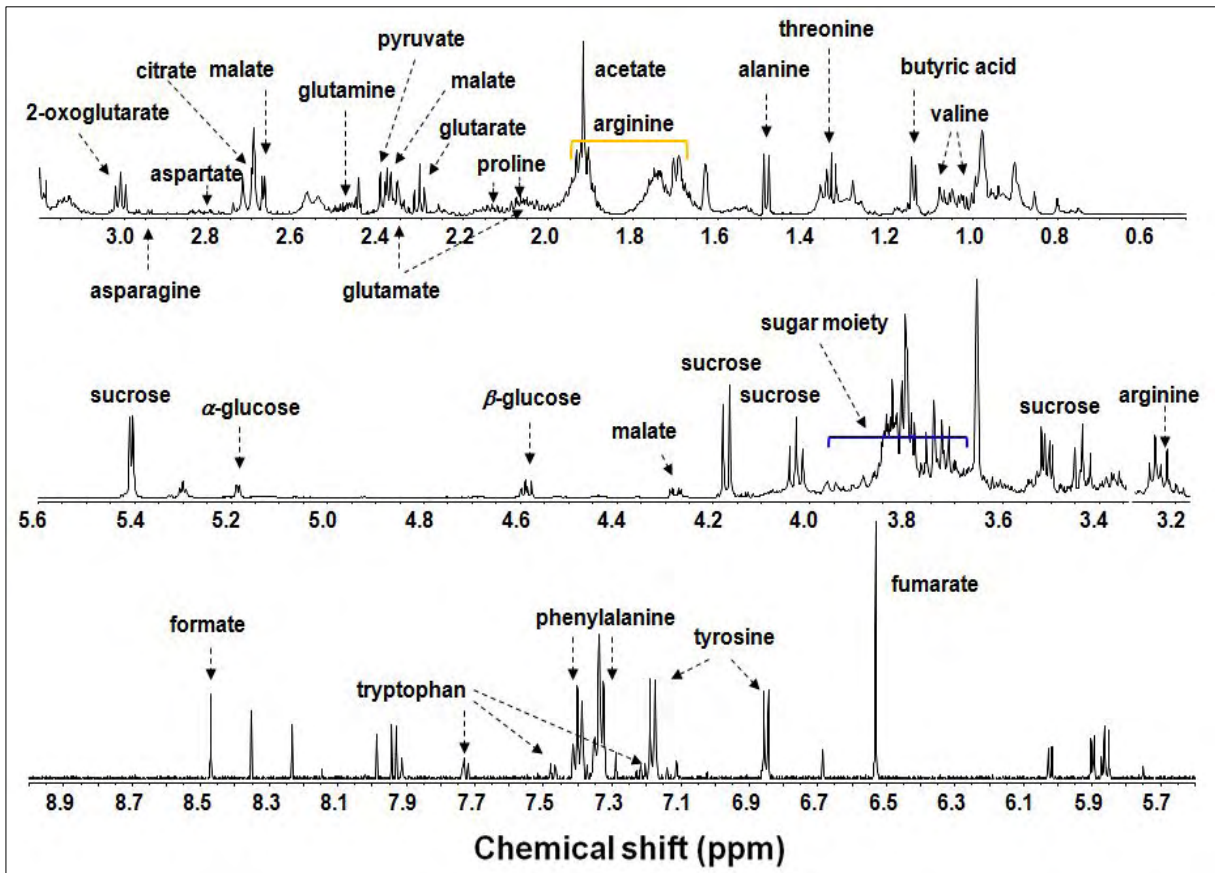
(3) NMR을 이용한 고려인삼의 관별 분석

가. 재료 및 방법

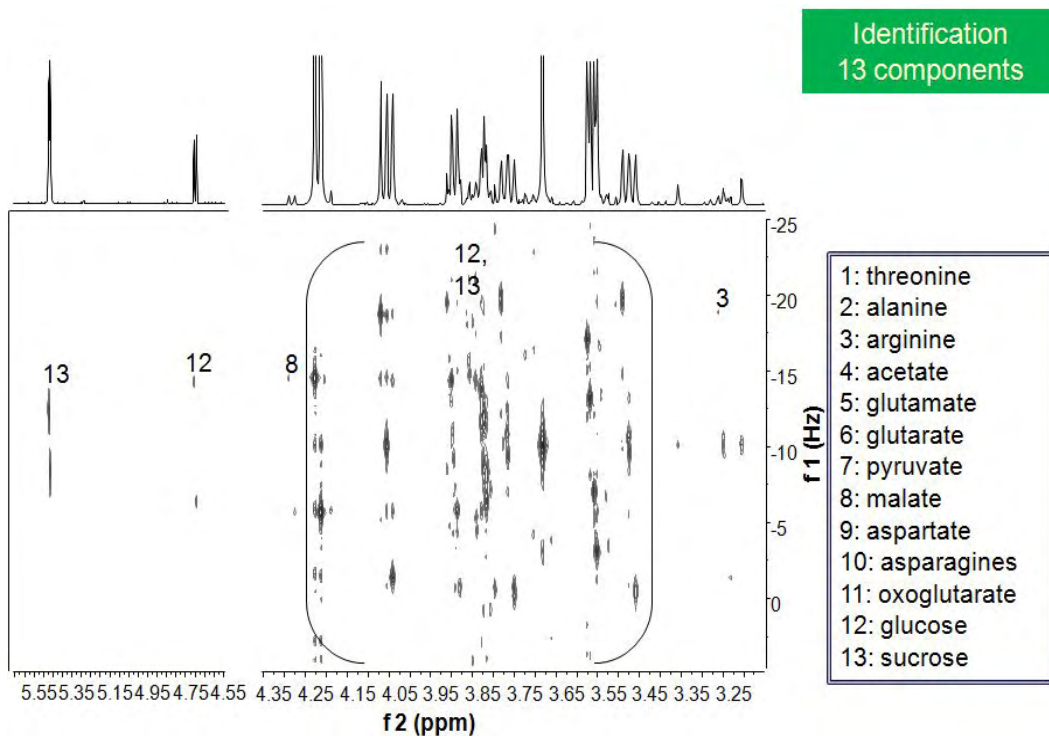


- 최적 추출 조건 및 분석 조건 확립

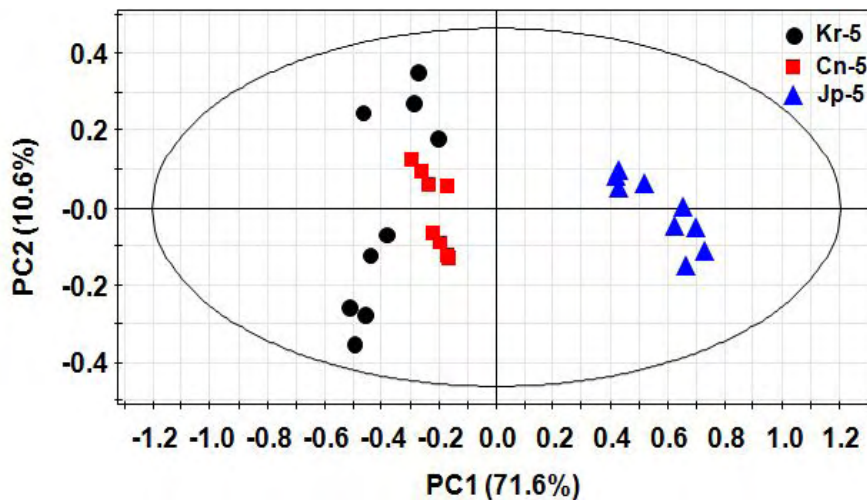
나. 결과 및 고찰



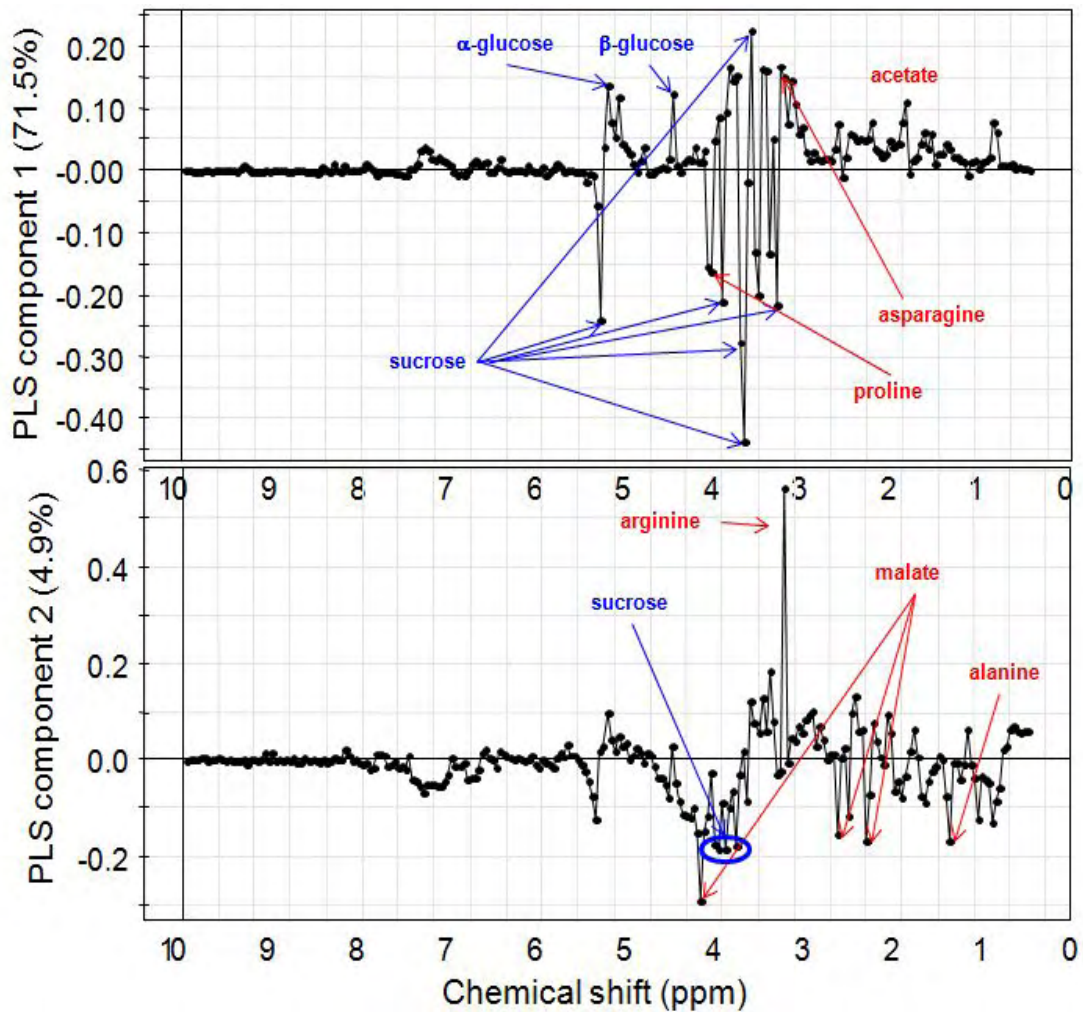
- 인삼 추출물의 1H-NMR data : 25 metabolite가 동정되었다.



- 복잡하게 겹치는 화합물에 대하여 J-resolved NMR 기법을 이용하여 구조동정 : 13 metabolite를 동정하였다.

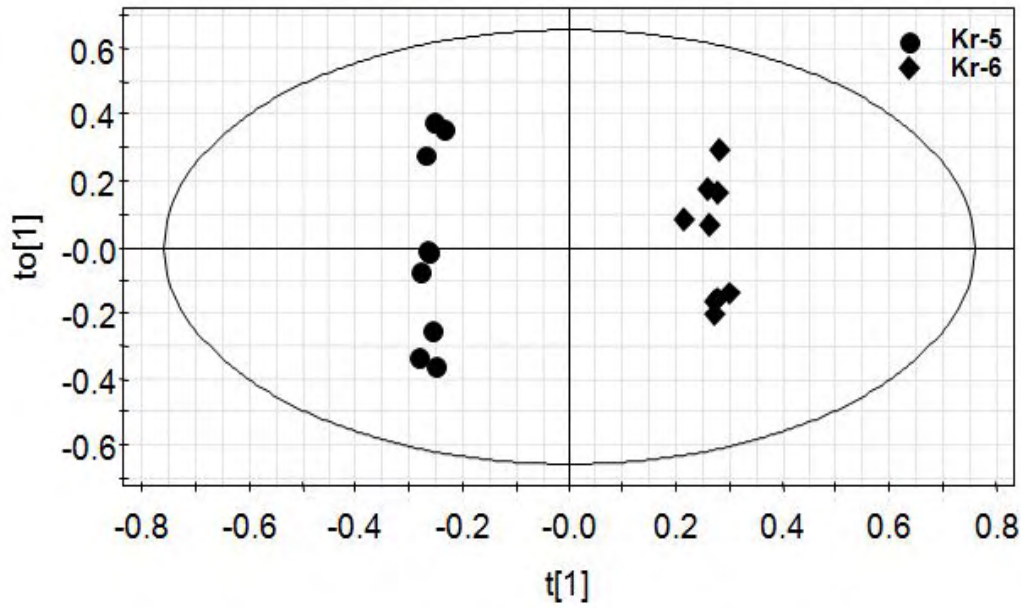


- PCA plot으로부터 한국, 중국 및 일본 인삼에 대한 구별이 확연하게 나타났다.



- PCA Loading plot으로부터 PCA data에 기여하는 metabolite 확인
 - Sucrose, glucose, proline, arginine 등이 가장 크게 기여함

p.ginseng 20120412.M16 (OPLS/O2PLS-DA)
t[Comp. 1]/to[XSide Comp. 1]
Colored according to classes in M16



R2X[1] = 0.397016

R2X[XSide Comp. 1] = 0.35499 Ellipse: Hotelling T2 (0.95)

SIMCA-P+ 12 - 2012-06-07 05:58:48 (UTC+9)

- OPLS-DA plot으로부터 한국 5년, 6년근에 대한 구별이 확연하게 나타났다.

1핵심 3세부

1. 1차년도

가. 당해연도 연구개발의 목표

○ 인삼의 추출 수율 증대를 위한 최적 팽화 기술 개발

나. 연구범위 및 연구수행 방법

연구 범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
최적 수분함량 및 인삼 건조 절편크기 결정, 최적 팽화압력 및 추출방법 결정	- 인삼의 추출수율 증대를 위한 수분함량에 따른 최적 팽화 조건 설정	- 4, 6, 8, 11% 수분함량 별 인삼 절편 제조 및 팽화
	- 인삼의 추출수율 증대를 위한 팽화압력에 따른 최적 팽화조건 설정	- 수분함량 별 인삼시료를 7, 8, 9, 10 Kgf/cm ² 의 압력으로 팽화
	- 인삼의 추출수율 증대를 위한 팽화인삼의 최적 추출방법 설정	- 수분함량 별 및 팽화압력 별 팽화 인삼시료의 추출수율 및 조사포닌 함량 분석

다. 세부연구수행 결과

(1) 재료 및 방법

본 실험에 사용한 인삼 시료는 2005년 전북 진안에서 재배한 4년근 수삼을 한국인삼을 통해 구입하여 사용하였다.

(가) 팽화 인삼의 제조

수삼의 동체를 5 mm의 일정한 두께로 세절한 뒤 40℃ 열풍건조기에서 건조시간을 달리하여 인삼 시료의 수분함량을 각각 4.0%, 6.0%, 8.0%, 11.0%로 제조하였다. 그리고 고온에 의한 인삼의 탄화를 최소화 하여 최적의 팽화 상태를 유지하기 위한 목적으로 건조한 인삼절편과 쌀을 1:4 (w/w)의 비율로 혼합하였으며, 이것을 회전식 팽화기에 넣고 가열하였다. 게이지 압력이 5 kgf/cm²에 도달했을 때 3 kgf/cm²으로 중간압을 한번 빼준 뒤, 다시 가열하여 압력이 7

kg/cm², 8 kg/cm², 9 kg/cm², 10 kg/cm²에 이르렀을 때, 팽화기의 문을 개방하여 팽화를 유도하였다. 대조군으로는 수분함량 3.0%의 건조 인삼을 사용하였다.

(나) 추출 수율

팽화인삼 약 5 g에 60% ethanol 20배를 가한 뒤, 상온에서 마그네틱바로 회전시키면서 2시간 동안 추출하였다. Kimble-filtering flask에 funnel을 장착하고 여과지(Whatman No.2)를 사용하여 추출물을 여과한 뒤 여과액을 ethanol추출물로 사용하고, 잔류물에 ethanol과 동일한 양의 증류수를 가한 뒤 70℃의 water bath에서 2시간 동안 120rpm의 속도로 교반하며 추출 하였다. 추출이 끝난 후 ethanol추출과 동일한 방법으로 여과하여 여과액을 열수추출물로 하였다. 각각의 추출물을 섞어 이것을 총추출물로 하고, 이것을 미리 항량된 수기에 넣어 45~50℃의 수온에서 rotary vacuum evaporator를 사용하여 감압농축(BÜCHI rotavapor R-124, BÜCHI water bath B-481, Switzerland)하고, 105℃에서 2시간 건조 항량 시킨 뒤 무게를 측정하여 원시료에 대한 백분율로 추출효율을 계산하였다.

(다) 조사포닌

시료의 사포닌 함량은 식품 공전에 따라 다음과 같은 방법으로 측정하였다. 팽화 인삼 20 g을 상기의 추출과 동일한 조건에서 추출물을 제조한 뒤, 미리 항량을 시킨 빈 수기에 시료를 넣고 시료의 고형분이 65±1%가 되도록 농축하고, 농축 후 수기의 무게를 측정하여 농축액의 양을 계산하였다. 농축된 시료 1~2 g을 증류수 60 ml에 녹여 분액 깔대기에 붓고 diethyl ether 60 ml을 더한 다음 시료가 골고루 섞이도록 잘 흔들어준 후 물 층과 에테르층으로 분리 될 때까지 방치 시켰다. 분리된 에테르층은 버리고 남아있는 물 층에 다시 수포화 부탄올 60 ml을 더하여 다시 잘 흔들어 준 후 분리 될 때까지 방치 시켰다. 분리된 수포화 부탄올층은 따로 모아놓고 물 층에 다시 수포화 부탄올을 붓는 과정을 3번 반복하였다. 분리된 수포화 부탄올에 증류수 50 ml를 넣고 잘 흔들어 준 후 다시 분리 될 때까지 방치시킨 후 물 층만 제거하여 주었다. 이렇게 사포닌 성분을 수포화 부탄올로 이행시킨 후, rotary vacuum evaporator(BÜCHI rotavapor R-124, BÜCHI water bath B-481, Switzerland)를 사용하여 미리 항량 된 수기에 넣고 감압농축 하였다. 감압 농축 후 dry oven에서 2시간 건조 항량 시킨 후 무게를 측정하여 조사포닌 함량을 측정하였다.

$$\text{조사포닌 (mg/g ginseng)} = \frac{W_1 - W_2}{W_3} \times \frac{A}{B}$$

W₁ : 수포화 부탄올층을 농축 건조한 후의 수기의 무게(mg)

W₂ : 항량으로 한 빈 수기의 무게(mg)

W₃ : 초기 팽화인삼의 무게(g)

A : 농축액의 총 무게(g)

B : 농축액 시료의 채취량(g)

(라) 통계분석

모든 실험은 2회 반복 측정한 다음, 통계처리 프로그램인 SAS(Statistical analysis program)을 이용하여 5% 유의 수준에서 평균값과 표준편차 그리고 Duncan's multiple range test로 평균간의 다중비교를 실시하였다.

(2) 결과 및 고찰

(가) 형태학적 변화

팽화 처리 전후의 외관상 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 팽화 전후의 가장 큰 차이점은 갈변과 부피팽창으로 요약할 수 있다. 모든 팽화 처리구에서 갈변이 발생하였으며, 팽화 압력이 증가할수록 갈변의 정도가 증가함을 확인할 수 있었다. 이것은 인삼내의 당과 아미노산의 갈변 반응으로 인해 증가하는 것으로 사료되며, Yoon 등의 보고에서와 같이 가열 온도와 가열시간이 증가할수록 갈색도가 증가하며, 또한 가용성 고형분 함량과 갈색도는 가열시간보다는 가열온도에 더 많이 영향을 받는다는 결과와도 일치하였다.

팽화 처리 하지 않은 대조군(수분함량 3.0%)은 건조시키지 않은 수삼에 비해 외관상 부피가 많이 감소하여 형태가 뒤틀렸음을 감지 할 수 있었다. 이에 반해 팽화 인삼 시료의 경우는 대조군과 비교하였을 때, 팽화 처리에 의해 팽윤이 일어나 조직이 커짐을 알 수 있었으며, 이는 팽화 압력이 증가할수록 그 정도가 증가하였다. 그래서 간혹 팽화 압력에 의해 피층과 중심부가 분리된 팽화 인삼 시료가 발견되기도 하였다.

7 kgf/cm² 이하에서 팽화 처리 했을 때의 시료는 부피팽창의 정도가 미미하였으며, 10 kgf/cm² 이상에서 팽화 시켰을 경우에는 부피팽창의 정도는 증가하지만 탄화의 정도가 극도로 심하여 시료로 사용하기에는 부적절하였다.

(나) 추출 수율

서로 다른 수분함량과 팽화 압력을 갖는 팽화 인삼시료를 60% 에탄올과 70℃ 물을 사용하여 추출 하였을 때의 추출 수율을 Fig. 2와 Table 1에 나타내었다. 대조군의 추출 수율은 37.6%, 팽화 인삼의 경우 50.0~62.1%의 범위로 측정되었다. 즉 팽화 처리에 의해 추출 수율이 대조군에 대비하여 33~65%까지 증가하였음을 관찰할 수 있었다. 이것은 팽화에 의한 조직의 다공질화로 인해 추출용매의 침투용이성이 증가하기 때문으로 판단된다. Kim 등의 연구에서 비가용성 고분자 성분이 열분해에 의해 가용성 성분의 저분자 휘발성 향기성분, 단당류, 소당류 등으로 분해되어 수율이 증가하고, 가열시간 증가와 더불어 불용성 화합물의 생성으로

다소 감소한다고 보고한 바 있다. 하지만 본 연구에서는 팽화 처리 시간이 모든 실험군에서 15분 내외로 다소 단시간에 이루어 졌기 때문에 가열시간 증가에 따른 추출 수율 감소는 일어나지 않았다.

수분함량이 일정한 조건에서 팽화 압력이 증가함에 따라 추출 수율이 유의적으로 증가하였다. 하지만 팽화 압력이 일정한 조건에서 수분 함량 증가에 따른 유의적인 차이는 없었으며, 이로부터 팽화 인삼의 추출 수율은 초기 수분함량 보다는 팽화 압력에 의한 영향이 더 크게 작용함을 알 수 있었다.



Fig. 1. Morphology of control (no-puffing, 3.0% moist content) and puffed ginseng.

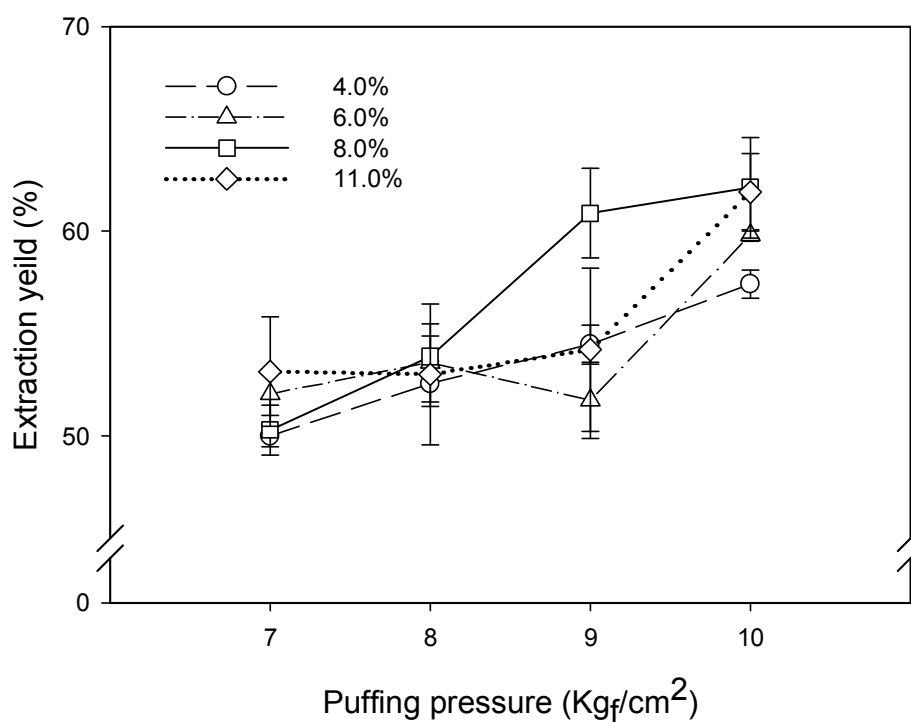


Fig. 2. Extraction yield of puffed ginseng with different moisture content and puffing pressure.

Table 1. Extraction yield (%) of puffed ginseng with different moisture content and puffing pressure. Extraction yield of control (no-puffing, 3.0% moist content) is $37.6 \pm 0.8\%$.

Puffing press	Moisture content			
	4.0%	6.0%	8.0%	11.0%
7 kg _f /cm ²	50.0 ± 0.5 ^{c*}	52.0 ± 1.0 ^b	50.3 ± 1.2 ^b	53.1 ± 2.7 ^b
8 kg _f /cm ²	52.6 ± 1.1 ^b	53.6 ± 1.9 ^b	53.9 ± 1.0 ^b	53.0 ± 3.5 ^b
9 kg _f /cm ²	54.5 ± 1.0 ^b	51.7 ± 1.9 ^b	60.9 ± 2.2 ^a	54.2 ± 4.0 ^b
10 kg _f /cm ²	54.7 ± 0.7 ^a	59.8 ± 0.3 ^a	62.1 ± 2.5 ^a	61.9 ± 1.9 ^a

* Means with the same letter are not significantly different. ($p < 0.05$)

(다) 조사포닌 함량

서로 다른 수분함량과 팽화 압력을 갖는 팽화 인삼시료에 대한 조사포닌 함량은 Fig. 3 및 Table 2와 같다. 조사포닌 함량 또한 추출 수율과 동일하게 모든 팽화 처리군 에서 대조군에 비해 그 함량이 증가하는 경향을 나타내었다. 대조군의 조사포닌 함량은 11.0 mg/g ginseng, 팽화 인삼은 19.6~48.8 mg/g ginseng의 범위로 측정되었다. 팽화 처리에 의해 조사포닌 함량이 대조군에 대비하여 78~344%까지 증가함을 확인할 수 있었다. 이것은 팽화 처리에 의해 인삼 조직이 팽화 과정을 거치면서 부피팽창에 따른 용매의 침투가 용이해지고, 배당체 형태의 사포닌에 결합되어 있는 일 부 당류가 팽화에 의해 분해되어 분자량이 작은 형태가 되어 조사포닌의 추출을 증가시키는 것으로 판단되며, 이는 후에 극성이 낮은 저분자량의 Ginsenoside-Rg3를 생성하는 기작의 뒷받침이 되어줄 것으로 사료된다. Kim 등은 압출성형공정을 통한추출수율과 조사포닌 함량의 증가는 고온, 고압, 고전단력의 압출성형 조건에서 세포벽과 분자구조의 파괴에 따른 결합력의 약화와 수분흡수의 용이성 때문이라 보고하였으며, Yoon 등에 의하면 인삼을 세절하여 동결건조시킨 후 가열온도(130~190℃)와 가열시간(10~30 min)에 따른 성분변화를 관찰하였을 때, 조사포닌의 함량은 160℃ 및 가열시간 20 min일 때 64.40 mg/g의 최대값으로 측정되었으며 그 이후의 가열온도와 가열시간의 범위에서는 조사포닌의 함량이 감소하는 경향을 나타내었으며, 조사포닌 함량은 가열시간에 영향을 많이 받으며, 가용성 고형분 함량, 산성다당체 및 총 페놀성 화합물 함량은 가열온도에 영향을 많이 받는 다고 보고한 바 있다.

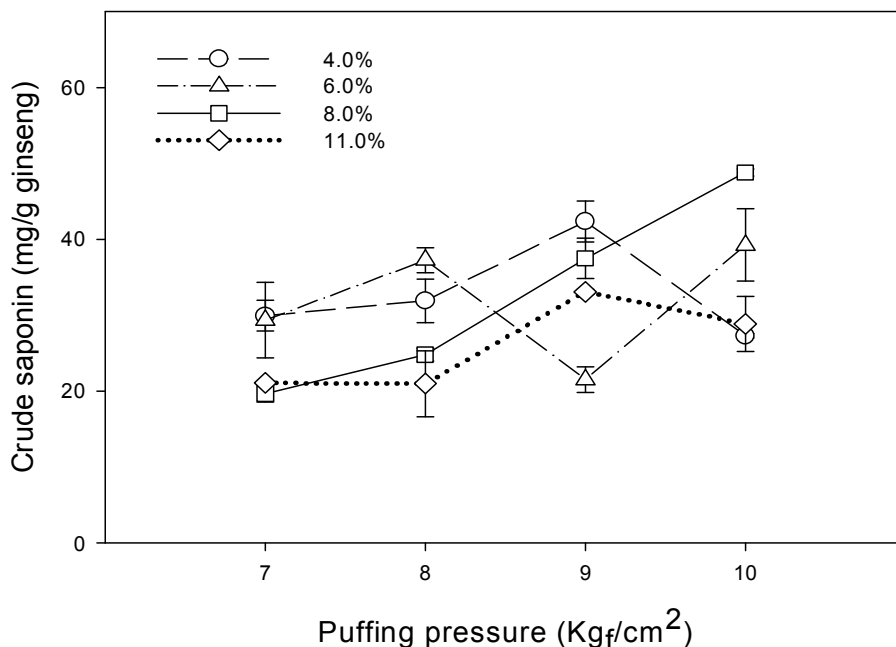


Fig. 3. Crude saponin contents of puffed ginseng with different moisture content and puffing pressure.

Table 2. Crude saponin contents (mg/g ginseng) of puffed ginseng with different moisture content and puffing pressure. Crude saponin content of control (non-puffing, 3.0% moist content) is 11.0±1.0 mg/g ginseng.

Puffing press	Moisture content			
	4.0%	6.0%	8.0%	11.0%
7 kg _f /cm ²	29.9±2.0 ^{b*}	29.3±5.0 ^{ab}	19.6±1.1 ^d	21.1±0.1 ^b
8 kg _f /cm ²	31.9±2.9 ^b	37.2±1.7 ^a	24.8±0.8 ^c	21.0±4.4 ^b
9 kg _f /cm ²	42.3±2.7 ^a	21.5±1.7 ^b	37.5±2.7 ^b	33.1±0.3 ^a
10 kg _f /cm ²	27.3±0.3 ^b	39.2±4.8 ^a	48.8±0.4 ^a	28.9±3.6 ^a

* Means with the same letter are not significantly different. (p<0.05)

(3) 결 론

팽화에 의한 인삼 사포닌 성분(추출수율, 조사포닌)에 대한 영향을 조사해 본 결과는 다음과 같다. 팽화 처리 후 외관상의 가장 큰 변화는 갈변과 부피팽창이었다. 팽화 압력이 증가할수록 갈변과 부피팽창의 정도는 증가하였지만, 수분함량에 따른 차이는 관찰되지 않았다. 추출수율 측정 결과, 대조군은 37.6%, 팽화 인삼의 경우 50.0~62.1%의 범위로 측정되었다. 이것은 팽화에 의한 조직의 다공질화로 인해 추출용매의 침투용이성의 증가로 기인하는 것으로 사료된다. 그리고 팽화 압력 증가에 따라 추출수율 또한 증가하는 경향을 나타내었지만, 초기 수분함량에 따른 유의적인 차이는 관찰되지 않았다. 조사포닌 함량의 경우 대조군은 11.0 mg/g ginseng, 팽화 인삼은 19.6~48.8mg/g ginseng의 범위로 측정되었다. 조사포닌 함량 또한 추출수율에서와 동일하게 팽화 압력 증가에 따라 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었지만, 초기 수분함량에 따른 유의적인 차이는 관찰되지 않았다.

2. 2차년도

가. 당해연차 연구개발의 목표

○ 인삼 유효성분의 전환 증대를 위한 최적 팽화 기술 개발

나. 연구범위 및 연구수행 방법

연구범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
인삼 유효성분의 전환 증가를 위한 최적 수분함량 및 최적 팽화압력 확인	- 인삼 유효성분의 전환 증가를 위한 수분함량에 따른 최적 팽화 조건 설정	- 4, 6, 8, 11% 수분함량 별 인삼 시료 팽화 후 진세노사이드 성분 분석
	- 인삼 유효성분의 전환 증가를 위한 팽화압력에 따른 최적 팽화조건 설정	- 인삼시료를 7, 8, 9, 10 Kgf/cm ² 의 압력으로 팽화 후 진세노사이드 성분 분석

다. 핵심 및 세부연구수행 결과

(1) 재료 및 방법

본 실험에 사용한 인삼 시료 및 홍삼시료는 2005년 및 2007년 전북 진안에서 재배한 4년근 삼을 한국인삼을 통해 구입하여 사용하였다.

(가) 팽화 인삼 및 홍삼의 제조

수삼의 동체를 5 mm의 일정한 두께로 세절한 뒤 40 °C 열풍건조기에서 건조시간을 달리하여 인삼 시료의 수분함량을 각각 4.0 %, 6.0 %, 8.0 %, 11.0 %로 제조하였다. 그리고 고온에 의한 인삼의 탄화를 최소화 하여 최적의 팽화 상태를 유지하기 위한 목적으로 건조한 인삼절편과 쌀을 1:4 (w/w)의 비율로 혼합하였으며, 이것을 회전식 팽화기에 넣고 가열하였다. 게이지 압력이 5 kgf/cm²에 도달했을 때 3 kgf/cm²으로 중간압을 한번 빼준 뒤, 다시 가열하여 압력이 7 kgf/cm², 8 kgf/cm², 9 kgf/cm², 10 kgf/cm²에 이르렀을 때, 팽화기의 문을 개방하여 팽화를 유도하였다. 대조군으로는 수분함량 3.0 %의 건조 인삼을 사용하였다. 홍미삼의 경우, 수분함량을 일정하게 9.8%로 하여 압력별(7 kgf/cm², 8 kgf/cm², 9 kgf/cm², 10 kgf/cm²)로 팽화를 하였다.

(나) 팽화인삼의 ginsenoside 함량 측정

사포닌의 분리 및 정량은 Ultrasonic extraction을 이용하여 추출물을 제조하고 수포화부탄올 추출법으로 사포닌을 분획 하였다. 인삼 시료 5 g에 70 % 에탄올 50 ml을 가하여 Ultrasonic bath(ESW-2825B, e-science Inc., Korea)를 사용하여 15분간 총 3회 반복 추출하였다. 추출물을 원심분리(3000 rpm)하여 상등액을 따로 분리하였으며, 침전물에 대해 위와 같은 과정을 3번 반복하였다. 추출물은 상기의 수포화 부탄올법에 의거하여 n-butanol 층으로 이행된 사포닌을 분리 농축시켜 조사포닌으로 하였다. Ginsenoside 함량은 조사포닌을 메탄올에 용해한 후 Millipore filter (pore size 0.45 μm)로 여과한 후 HPLC를 이용하여 분석하였다. 본 실험에 사용된 HPLC 장비와 조건은 Table 3과 같다.

(다) 팽화홍삼의 추출 수율

팽화홍삼 약 50 g에 70 % ethanol 20배를 가한 뒤, 환류추출기로 추출하였다. Kimble-filtering flask에 funnel을 장착하고 여과지(Whatman No.2)를 사용하여 추출물을 여과한 뒤, 이것을 총추출물로 하고, 이것을 미리 항량된 수기에 넣어 45~50 °C의 수온에서 rotary vacuum evaporator를 사용하여 감압농축(BÜCHI rotavapor R-124, BÜCHI water bath B-481, Switzerland)하고, 105 °C에서 2시간 건조 항량 시킨 뒤 무게를 측정하여 원시료에 대한 백분율로 추출효율을 계산하였다.

Table 3. HPLC conditions for ginsenoside analysis in puffed ginseng.

HPLC	SCL-10A controller unit that includes SPD-M10A UV
Column	YMC-PACK ODS C18 column (j 6_150 mm, YMC-Gel, company, Tokyo, Japan)
Detector	UV detector (203nm)
Flow rate	1.0 ml/min
Gradient elution	Water (solvent A), Acetonitrile (solvent B)
	0-5min : A-B (85:15, v/v) ,5-25min : A-B (79:21, v/v)
	25-65min : A-B (55:45, v/v), 65-75min : A-B (10:90, v/v)
	75-85min : A-B (10:90, v/v), 85-87min : A-B (85:15, v/v)
	87-100min : A-B (85:15, v/v),

(라) 팽화홍삼의 조사포닌

시료의 사포닌 함량은 식품 공전에 따라 다음과 같은 방법으로 측정하였다. 팽화홍삼 50 g을 상기의 추출과 동일한 조건에서 추출물을 제조한 뒤, 미리 항량을 시킨 빈 수기에 시료를 넣고 시료의 고형분이 4 g이 되도록 농축하고, 농축된 시료를 증류수 120 ml에 녹여 분액 깔대기에 붓고 diethyl ether 60 ml을 더한 다음 시료가 골고루 섞이도록 잘 흔들어준 후 물 층과 에테르층으로 분리 될 때까지 방치 시켰다. 분리된 에테르층은 버리고 남아있는 물 층에 다시 수포화 부탄올 120 ml을 더하여 다시 잘 흔들어 준 후 분리 될 때까지 방치 시켰다.

분리된 수포화 부탄올층은 따로 모아놓고 물 층에 다시 수포화 부탄올을 붓는 과정을 3번 반복하였다. 분리된 수포화 부탄올에 증류수 120 ml를 넣고 잘 흔들어 준 후 다시 분리 될 때까지 방치시킨 후 물 층만 제거하여 주었다. 이렇게 사포닌 성분을 수포화 부탄올로 이행시킨 후, rotary vacuum evaporator(BÜCHI rotavapor R-124, BÜCHI water bath B-481, Switzerland)를 사용하여 미리 항량 된 수기에 넣고 감압농축 하였다. 감압 농축 후 dry oven에서 2시간 건조 항량 시킨 후 무게를 측정하여 조사포닌 함량을 측정하였다.

$$\text{조사포닌 (mg/g red ginseng)} = \frac{W_1 - W_2}{W_3}$$

W₁ : 수포화 부탄올층을 농축 건조한 후의 수기의 무게(mg)

W₂ : 항량으로 한 빈 수기의 무게(mg)

W₃ : 농축액 시료의 채취량(g)

(마) 팽화홍삼의 Ginsenoside 함량 측정

Ginsenoside 함량은 분리한 조사포닌을 메탄올에 용해한 후 Millipore filter (pore size 0.45 um)로 여과한 후 HPLC를 이용하여 분석하였다. 본 실험에 사용된 HPLC 장비와 조건은 Table 4와 같다.

Table 4. HPLC conditions for ginsenoside analysis in puffed red ginseng.

HPLC	Futecs NS3000i system
Column	ODS (4.6mm X 250mm)
Detector	UV detector (203nm)
Flow rate	1.6 ml/min
Gradient elution	Water (solvent A), Acetonitrile (solvent B)
	0-10min : A-B (80:20, v/v) ,10-40min : A-B (68:32, v/v)
	40-55min : A-B (50:50, v/v), 55-70min : A-B (35:65, v/v)
	70-72min : A-B (10:90, v/v), 72-82min : A-B (10:90, v/v)
	82-84min : A-B (80:20, v/v), 84-90min : A-B (80:20, v/v)

(마) 통계분석

모든 실험은 3회 반복 측정한 다음, 통계처리 프로그램인 SAS(Statistical analysis program)을 이용하여 5% 유의 수준에서 평균값과 표준편차 그리고 Duncan's multiple range test로 평균간의 다중비교를 실시하였다.

(2) 결과 및 고찰

(가) 팽화홍삼의 형태학적 변화

팽화 처리 전후의 외관상 변화를 Fig. 4에 나타내었다. 팽화 전후의 가장 큰 차이점은 갈변과 부피팽창으로 요약할 수 있다. 모든 팽화 처리구에서 갈변이 발생하였으며, 팽화 압력이 증가할수록 갈변의 정도가 증가함을 확인할 수 있었다. 이것은 홍삼내의 당과 아미노산의 갈변 반응으로 인해 증가하는 것으로 사료되며, 윤 등의 보고에서와 같이 가열 온도와 가열시간이 증가할수록 갈색도가 증가하며, 또한 가용성 고형분 함량과 갈색도는 가열시간보다는 가열온도에 더 많이 영향을 받는다는 결과와도 일치하였다.

팽화홍삼 시료의 경우는 대조군과 비교하였을 때, 팽화 처리에 의해 팽윤이 일어나 조직이 커짐을 알 수 있었으며, 이는 팽화 압력이 증가할수록 그 정도가 증가하였다. 그래서 간혹 팽화 압력에 의해 피층과 중심부가 분리된 팽화 인삼 시료가 발견되기도 하였다.

7 kgf/cm² 이하에서 팽화 처리 했을 때의 시료는 부피팽창의 정도가 미미하였으며, 10 kgf/cm² 이상에서 팽화 시켰을 경우에는 부피팽창의 정도는 증가하지만 탄화의 정도가 극도로 심하여 시료로 사용하기에는 부적절하였다.

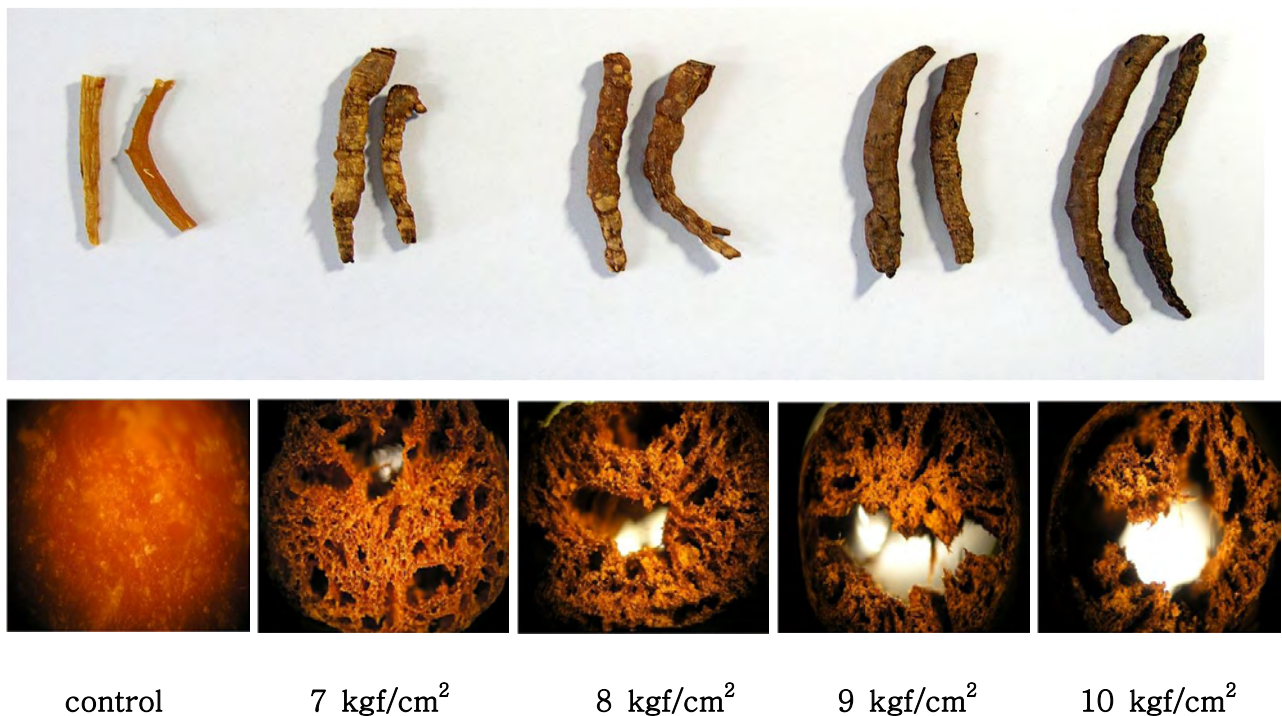


Fig. 4. Morphology of control and puffed red ginseng.

(나) 팽화홍삼의 추출 수율

서로 다른 팽화 압력을 갖는 팽화홍삼 시료를 70 % 에탄올을 사용하여 추출시간을 달리하여 추출 하였을 때의 추출 수율을 Fig. 5에, 팽화압력에 따른 추출 수율을 Fig. 6에 나타내었다. 대조군의 추출 수율은 29.7~45.7 %, 팽화 인삼의 경우 41.1~48.2 %의 범위로 측정되었다.

즉 팽화 처리에 의해 추출 수율이 대조군에 대비하여 증가하였음을 관찰할 수 있었다. 이것은 팽화에 의한 조직의 다공질화로 인해 추출용매의 침투용이성이 증가하기 때문으로 판단된다. 김 등의 연구에서 비가용성 고분자 성분이 열분해에 의해 가용성 성분의 저분자 휘발성 향기성분, 단당류, 소당류 등으로 분해되어 수율이 증가하고, 가열시간 증가와 더불어 불용성 화합물의 생성으로 다소 감소한다고 보고한 바 있다. 하지만 본 연구에서는 팽화 처리 시간이 모든 실험군에서 15분 내외로 다소 단시간에 이루어 졌기 때문에 가열시간 증가에 따른 추출 수율 감소는 일어나지 않았다.

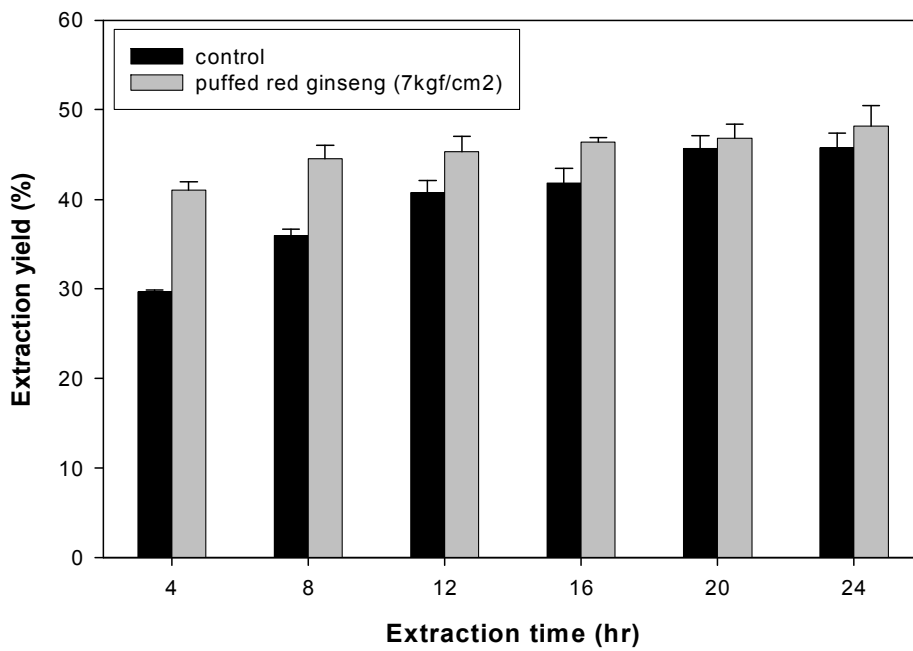


Fig. 5. Extraction yield of puffed red ginseng with different extraction time.

Fig. 6. Extraction yield of puffed red ginseng with different puffing pressure.

(다) 조사포닌 함량

서로 다른 팽화 압력을 갖는 팽화 홍삼시료에 대한 조사포닌 함량은 Fig 7과 같다. 조사포닌 함량 또한 추출 수율과 동일하게 모든 팽화 처리군 에서 대조군에 비해 그 함량이 증가하는 경향을 나타내었다. 대조군의 조사포닌 함량은 161.7~189.0 mg/g ginseng, 팽화 홍삼은 201.0~219.0 mg/g ginseng의 범위로 측정되었다. 팽화 처리에 의해 조사포닌 함량이 대조군에 대비하여 증가함을 확인할 수 있었다. 이것은 팽화 처리에 의해 홍삼 조직이 팽화 과정을 거치면서 부피팽창에 따른 용매의 침투가 용이해지고, 배당체 형태의 사포닌에 결합되어 있는 일부 당류가 팽화에 의해 분해되어 분자량이 작은 형태가 되어 조사포닌의 추출을 증가시키는 것으로 판단되며, 이는 후에 극성이 낮은 저분자량의 Ginsenoside-Rg3를 생성하는 기작의 뒷받침이 되어줄 것으로 사료된다. 김 등은 압출성형공정을 통한추출수율과 조사포닌 함량의 증가는 고온, 고압, 고전단력의 압출성형 조건에서 세포벽과 분자구조의 파괴에 따른 결합력의 약화와 수분흡수의 용이성 때문이라 보고하였으며, 윤 등에 의하면 인삼을 세절하여 동결건조시킨 후 가열온도(130~190 ℃)와 가열시간(10~30 min)에 따른 성분변화를 관찰하였을 때, 조사포닌의 함량은 160 ℃ 및 가열시간 20 min일 때 64.40 mg/g의 최대값으로 측정되었으며 그 이후의 가열온도와 가열시간의 범위에서는 조사포닌의 함량이 감소하는 경향을 나타내었으며, 조사포닌 함량은 가열시간에 영향을 많이 받으며, 가용성 고형분 함량, 산성다당체 및 총 페놀성 화합물 함량은 가열온도에 영향을 많이 받는다고 보고한 바 있다.

Fig. 7. Crude saponin contents of puffed red ginseng with different puffing pressure.

(라) 팽화인삼의 Ginsenoside 전환

초기 수분함량과 팽화 압력에 따른 ginsenoside-Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1, Rg3와 total ginsenoside의 분석결과는 Table 5와 같다. 팽화처리구의 경우 무처리구와 비교하였을 때, major ginsenoside(ginsenoside-Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1)의 함량은 전반적으로 무처리구보다 증가하였으며 팽화 압력이 증가할수록 감소하는 경향을 나타냈다. 그리고 홍삼특유의 사포닌으로 알려진 Rg3의 경우 무처리구에서 검출되지 않았으나 팽화처리구에서는 발견되었으며, 그 함량은 팽화 압력의 상승에 따라 증가하는 경향을 나타내었다. Ginsenoside-Rg3는 C3에 glucosyl잔기 2개가 결합되어있는 형태의 PPD계열의 사포닌이며, 기존 인삼에 함유되어있던 PPD계열의 사포닌인 ginsenoside-Rb1, Rb2, Rc, Rd의 C20에 연결된 당들이 열에 의해 분해되어 떨어져 나감으로써 생성되는 것으로 판단된다.

일반적으로 인삼사포닌인 ginsenoside는 열에 매우 불안정한 물질로 알려져 있다. 이러한 ginsenoside의 특징을 이용한 대표적인 제품이 바로 홍삼이며, 홍삼의 steaming과정 이외에 인삼에 열처리를 하여 비교적 극성이 낮은 저분자량의 ginsenoside를 생성하려는 연구가 많이 이루어져 있다. 그 예로 Yang 등은 인삼에 고온고압처리를 함으로써 ginsenoside-Rg3와 Rh2를 생성한바 있으며, Ha 등은 압출성형을 이용하여 수삼의 홍삼화에 대한 연구를 하였으며, 그 결과 ginsenoside-Rg3를 형성하는 압출성형조건을 발표한 바 있다.

앞서 조사포닌 측정 결과에서는 팽화 압력이 증가함에 따라 그 함량이 증가하였지만, HPLC를 통한 ginsenoside함량 분석 결과에 따르면 total ginsenoside함량이 감소하는 것으로 나타

났다. 이것은 팽화처리에 의해 상당량 생성되는 당류 또는 일부 인삼 성분의 열분해산물로 비교적 극성이 낮은 물질로 판단되며, 이러한 결과는 실제 수포화부탄올법으로 사포닌 분석 시 부탄올층과 물층 경계 사이에 극성이 모호한 물질들이 혼합되어 emulsion층을 형성하였으며, 극성에 따른 층분리가 용이하지 않았던 것으로부터 유추할 수 있었다.

(마) 팽화홍삼의 Ginsenoside 전환

팽화 압력에 따른 ginsenoside-Rb1, Rb2, Rc, Rd, Rh1, Rf, Rg2, Rg3, F2의 분석결과는 Fig. 8과 같다. 팽화처리구의 경우 무처리구와 비교하였을 때, major ginsenoside (ginsenoside-Rb1, Rb2, Rc, Rd)의 함량은 전반적으로 무처리구보다 감소하였으며 팽화 압력이 증가할수록 감소하는 경향을 나타냈다. 그리고 홍삼특유의 사포닌으로 알려진 Rg3의 경우 팽화처리구에서는 상당히 증가하였으며, 그 함량은 팽화 압력의 상승에 따라 증가하는 경향을 나타내었다. Ginsenoside-Rg3는 C3기에 glucosyl잔기 2개가 결합되어있는 형태의 PPD계열의 사포닌이며, 기존 인삼에 함유되어있던 PPD계열의 사포닌인 ginsenoside-Rb1, Rb2, Rc, Rd의 C20에 연결된 당들이 열에 의해 분해되어 떨어져 나감으로써 생성되는 것으로 판단된다.

Ginsenoside-Rg3의 대표적인 약리 활성으로는 암세포의 정상 세포내로의 침윤과 혈관신생을 억제함으로써 암세포의 전이억제효과가 있으며 그밖에 항암제 내성 억제, 혈관의 팽활근 확장

Table 5. Changes in ginsenosides of puffed ginseng.

		Ginsenoside (mg/g dry wt.)							
		Rb1	Rb2	Rc	Rd	Re	Rf	Rg1	Rg3
control		1.11	0.29	0.45	-	1.11	0.29	0.93	-
4.0%	7 kg _f /cm ²	1.42	1.26	1.14	-	1.36	0.50	0.97	0.70
	8 kg _f /cm ²	1.11	0.85	1.09	-	0.85	0.48	0.44	1.06
	9 kg _f /cm ²	-	-	0.80	-	-	0.27	-	1.77
	10 kg _f /cm ²	-	-	0.60	-	-	0.20	-	1.88
6.0%	7 kg _f /cm ²	1.18	0.96	1.15	-	0.79	0.48	0.51	0.82
	8 kg _f /cm ²	-	-	1.01	-	0.22	0.38	0.17	1.29
	9 kg _f /cm ²	0.22	-	0.55	-	0.15	0.20	0.14	0.92
	10 kg _f /cm ²	-	-	0.56	-	-	0.15	-	0.82
8.0%	7 kg _f /cm ²	0.99	0.80	0.69	-	1.01	0.28	0.57	0.59
	8 kg _f /cm ²	-	-	0.52	-	-	0.18	-	0.97
	9 kg _f /cm ²	1.59	1.27	1.64	-	1.05	0.62	0.65	1.43
	10 kg _f /cm ²	-	-	0.65	-	-	0.21	-	1.84
11.0%	7 kg _f /cm ²	1.01	0.86	0.77	-	1.06	0.33	0.78	0.43
	8 kg _f /cm ²	0.77	0.61	0.64	-	0.60	0.27	0.45	0.68
	9 kg _f /cm ²	-	-	0.64	-	-	0.20	-	0.87
	10 kg _f /cm ²	-	-	0.44	-	-	0.13	-	1.32

작용으로 인한 혈압저하, 혈관이완작용을 하는 cGMP의 분해 억제, 혈액순환촉진 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있다.

팽화처리구에서 ginsenoside-F2 역시 상당히 증가하였는데, 이것은 고려인삼 잎에 함유되어 있으며 종양세포나 세균에서 나타나는 다제 내성을 반전시키는 효과 등이 있는 것으로 알려져 있다. 또한 팽화처리 후에 unknown peaks가 발견되었는데 이들에 대한 구조분석이 더 필요하다고 판단된다.

(3) 결론

팽화인삼에서는 홍삼 특유 사포닌인 ginsenoside-Rg3가 검출되었다. 기존 인삼에 함유되어 있던 PPD계열의 사포닌의 C20에 결합되어 있던 당이 열에 의해 분해되면서 생성되는 것으로 판단되며, ginsenoside-Rg3의 생성량은 팽화 압력이 증가함에 따라 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었다. Ginsenoside-Rg3를 제외한 나머지 기본 ginsenoside와 total ginsenoside함량은 대조군에 비해 모두 증가하였지만, 팽화 압력이 증가함에 따라 그 양이 감소하는 경향을 나타내었다. 이것은 팽화처리에 의해 생성되는 당류 또는 일부 인삼의 열 분해산물 등이 부탄올에 용해되어 함께 측정되었기 때문으로 생각되며, 실제 이 부분은 수포화부탄올을 이용하여 사포닌을 분리하는 과정에서 부탄올층과 물층의 경계에

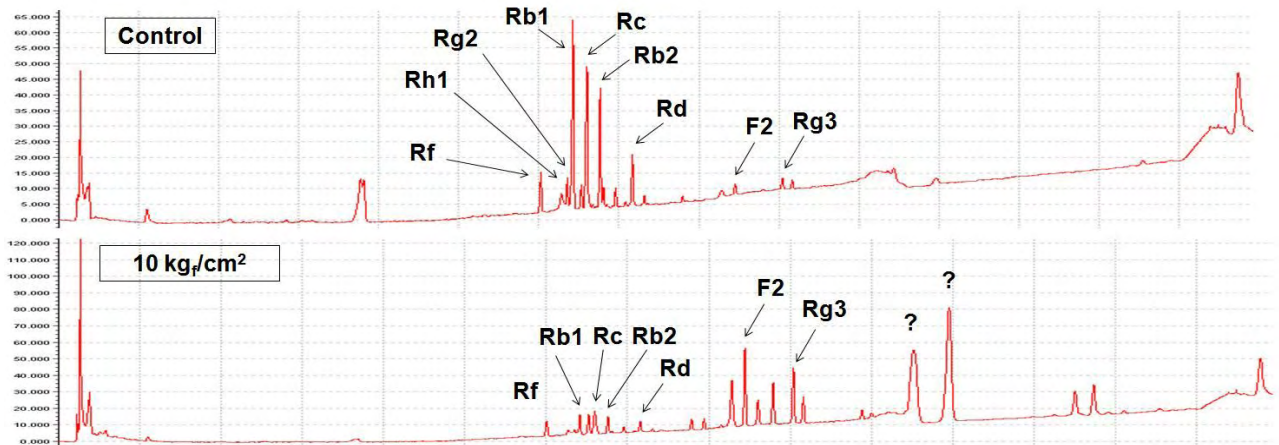
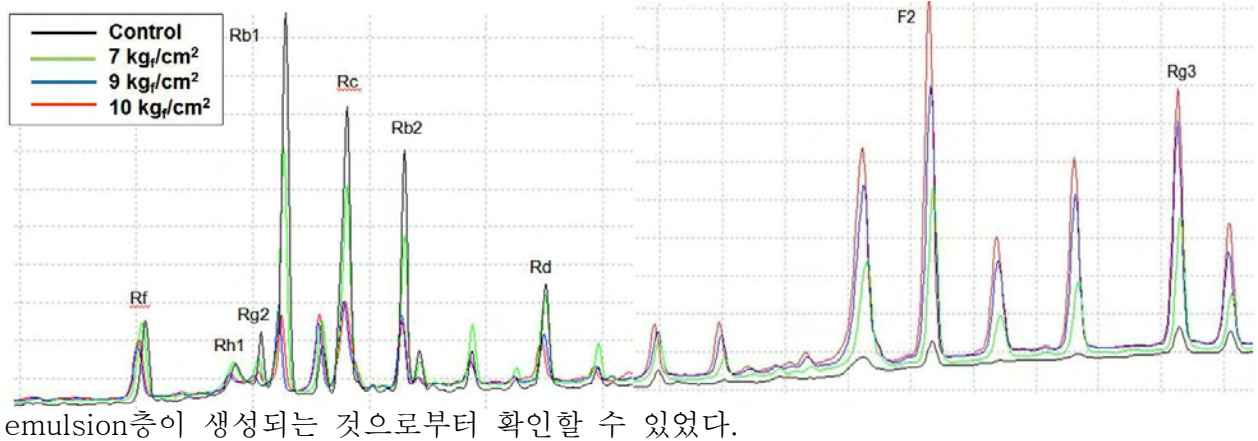


Fig. 8. HPLC chromatograms of puffed red ginseng.

따라서 팽화에 의한 홍삼 사포닌 성분(추출수율, 조사포닌)에 대한 영향을 조사해 본 결과는 다음과 같다. 팽화 처리 후 외관상의 가장 큰 변화는 갈변과 부피팽창이었다. 팽화 압력이 증가할수록 갈변과 부피팽창의 정도는 증가하였다. 추출수율 측정 결과, 대조군은 29.7~45.7%, 팽화 인삼의 경우 41.1~48.2%의 범위로 측정되었다. 이것은 팽화에 의한 조직의 다공질화로 인해 추출용매의 침투용이성의 증가로 기인하는 것으로 사료된다. 그리고 팽화 압력 증가에 따라 추출수율 또한 증가하는 경향을 나타내었다. 조사포닌 함량의 경우 대조군은 161.7~189.0 mg/g ginseng, 팽화홍삼은 201.0~219.0 mg/g ginseng의 범위로 측정되었다. 조사포닌 함량 또한 추출 수율에서와 동일하게 팽화 압력 증가에 따라 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 팽화홍삼에서는 major ginsenoside (ginsenoside-Rb1, Rb2, Rc, Rd)의 함량은 전반적으로 무처리구보다 감소하였으며 팽화 압력이 증가할수록 감소하는 경향을 나타냈다. 그리고 홍삼특유의 사포닌으로 알려진 Rg3의 경우 팽화처리구에서는 상당히 증가하였으며, 그 함량은 팽화 압력의 상승에 따라 증가하는 경향을 나타내었다. 팽화처리구에서 ginsenoside-F2 역시 상당히 증가하였으며 아직 규명되지 않은 새로운 ginsenoside가 생성되었다.

3. 3차년도

가. 당해연차 연구개발의 목표

○ 수삼으로부터 백삼, 홍삼 및 흑삼의 최적 가공 조건 확립 및 이들의 유효성분 변화 분석 연구

나. 연구범위 및 연구수행 방법

연구 범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
인삼 유효성분의 전환 증가를 위한 최적 가공 조건 확립 및 유효성분 변화 분석	- 인삼 유효성분의 전환 증가를 위한 최적 가공 조건 설정	- 수삼으로부터 백삼, 홍삼 및 흑삼을 제조하고 이들의 추출수율 및 조사포닌 함량 분석
	- 가공 조건에 따른 인삼 유효성분의 변화 분석	- 수삼으로부터 백삼, 홍삼 및 흑삼을 제조하고 이들의 유효성분 변화 분석

다. 핵심 및 세부연구수행 결과

(1) 재료 및 방법

본 실험에 사용한 수삼 시료는 2008년 전북 진안에서 재배한 4년근 수삼을 한국인삼을 통해

구입하여 사용하였다.

(가) 인삼시료의 제조

① 백삼

수삼을 흐르는 수돗물로 깨끗이 수세한 후, 30분간 방치하여 물기를 제거한 후 50℃에서 건조하여 수분함량이 14%가 되도록 제조하였다.

② 홍삼

수삼을 흐르는 수돗물로 깨끗이 수세한 후, 30분간 방치하여 물기를 제거하였다. 세척된 수삼을 건조하지 않고 증숙할 경우, 수삼이 터지는 경우가 많으므로 이를 방지하기 위하여 40℃에서 24시간 건조하였다. Autoclave에 10리터의 증류수를 채운 후 수삼을 부드러운 천으로 다발모양으로 감싸서 너두부분을 아래로 향하게 하여 가지런히 세웠다. 예열시간은 autoclave의 온도가 96~98℃에 이를 때까지 걸리는 시간으로 통상 30여분 소요되었다. 홍삼 제조를 위한 열처리는 압력이 걸리지 않도록 96~98℃로 조정된 autoclave를 사용하여 3시간 정도 수증기로 증삼하였고, 열풍건조기를 이용하여 70℃에서 24시간 1차 건조한 후, 50℃로 낮추어 약 72시간동안 2차 건조를 실시하여 홍삼을 제조하였다.

③ 흑삼

증숙 전 시료의 준비는 위의 홍삼과 같은 방법으로 하였다. 흑삼제조를 위한 열처리는 96~98℃로 조정된 autoclave를 사용하여 3시간동안 증삼하였다. 건조는 열풍건조기의 온도를 60℃로 유지시키면서 1차 증숙 수삼 건조 시간은 36시간, 2차 증숙 수삼 건조시간은 14시간이며 3차부터 9차까지의 증숙 수삼 건조 시간은 12시간으로 하였다.

(나) 추출 수율

① Non-thermal extraction

실험에서 추출온도의 영향을 알아보기 위하여 수삼시료는 non-thermal과 thermal추출로 나누어서 추출을 진행하였다. Non-thermal 추출 시에는 수삼 시료의 고형분 약 200g에 70% ethanol 4리터를 가한 뒤, 믹서로 갈아서 4℃, 3000rpm에서 1시간동안 원심분리한 후, 그 상등액을 추출액으로 하였다.

② Thermal extraction

각각의 인삼 시료의 고형분 무게 약 200g에 70% ethanol 70%를 가한 뒤, 70℃에서 추출시간을 24시간으로 하여 추출하였다. Kimble-filtering flask에 funnel을 장착하고 여과지(Whatman No.2)를 사용하여 추출물을 여과한 뒤 여과액을 미리 항량된 수기에 넣어 45~50℃의 수온에서 rotary vacuum evaporator를 사용하여 감압농축(BÜCHI rotavapor R-124, BÜCHI water bath B-481, Switzerland)하고, 105℃에서 2시간 건조 항량 시킨 뒤 무게를 측정하여 원시료에 대한 백분율로 추출수율을 계산하였다

$$\text{Extraction yield(\%)} = \frac{\text{Total solid contents in extraction solution}}{\text{Total solid contents in ginseng}}$$

(다) 조사포닌

시료의 사포닌 함량은 식품 공전에 따라 다음과 같은 방법으로 측정하였다. 인삼 200g을 상기의 추출과 동일한 조건에서 추출물을 제조한 뒤, 빈 수기에 시료를 넣고 시료의 최종 고형분이 4g이 되도록 농축하였다. 농축된 시료 4g을 증류수 120ml에 녹여 분액 깔대기에 붓고 diethyl ether 120ml을 더한 다음 시료가 골고루 섞이도록 잘 흔들어준 후 물 층과 에테르층으로 분리 될 때까지 방치 시켰다. 분리된 에테르층은 버리고 남아있는 물 층에 다시 수포화 부탄올 120 ml을 더하여 다시 잘 흔들어 준 후 분리 될 때까지 방치 시켰다. 분리된 수포화 부탄올층은 따로 모아놓고 물 층에 다시 수포화 부탄올을 붓는 과정을 3번 반복하였다. 분리된 수포화 부탄올에 증류수 120ml를 넣고 잘 흔들어 준 후 다시 분리 될 때까지 방치시킨 후 물 층만 제거하여 주었다. 이렇게 사포닌 성분을 수포화 부탄올로 이행시킨 후, rotary vacuum evaporator(BÜCHI rotavapor R-124, BÜCHI water bath B-481,Switzerland)를 사용하여 미리 항량된 수기에 넣고 감압농축 하였다. 감압 농축 후 dry oven에서 2시간 건조 항량시킨 후 무게를 측정하여 조사포닌 함량을 측정하였다.

$$\text{Crude saponin(mg/g)} = \frac{W_1 - W_2}{W_3}$$

W₁ : 수포화 부탄올층을 농축 건조한 후의 수기의 무게(mg)

W₂ : 항량으로 한 빈 수기의 무게(mg)

W₃ : 농축액 시료의 채취량(g)

(라) Ginsenoside 함량 측정

사포닌의 분리 및 정량은 상기의 추출과 동일한 조건에서 추출물을 제조하고, 추출물은 상기의 수포화 부탄올법에 의거하여 n-butanol층으로 이행된 사포닌을 분리 농축시켜 조사포닌으로 하였다. Ginsenoside 함량은 조사포닌을 HPLC grade 메탄올에 용해한 후 Millipore filter (pore size 0.45 μm)로 여과한 후 HPLC를 이용하여 분석하였다. 본 실험에 사용된 HPLC 장비와 조건은 표1과 같다.

Table 6. HPLC conditions for ginsenoside analysis.

HPLC	Futecs NS 3000i system
------	------------------------

Column	Supelco Discovery C18 (4.6mm X 250mm)
Detector	UV detector (203nm)
Flow rate	1.6 μ l/min
Gradient elution	Water (solvent A), Acetonitrile (solvent B)
	0-30min : A-B(80:20, v/v) ,30-65min : A-B(55:45, v/v) 65-75min : A-B(10:90, v/v), 75-85min : A-B(10:90, v/v) 85-87min : A-B(80:20, v/v), 87-100min : A-B(80:20, v/v)

(마) 통계분석

모든 실험은 2회 반복 측정된 다음, 통계처리 프로그램인 SAS(Statistical analysis program)을 이용하여 5% 유의 수준에서 평균값과 표준편차 그리고 Duncan's multiple range test로 평균간의 다중비교를 실시하였다.

(2) 결과 및 고찰

(가) 형태학적 변화

증숙과 건조 처리를 거친 인삼의 외관상 변화를 Fig. 9에 나타내었다. 처리 전후의 가장 큰 차이점은 갈변이다. 건조처리만 거친 백삼의 경우에는 갈변이 발생하지 않았으며, 증숙 처리된 인삼(홍삼, 흑삼)에서는 열처리 정도가 증가할수록 갈변의 정도가 증가함을 확인할 수 있었다. 홍삼과 흑삼은 증숙할 때 열처리가 가해지므로 인삼의 전분이 호화되고 아미노-카보닐반응(amino-carbonyl reaction)에 의해 내용조직은 담황갈색-적갈색을 띠게 된다.

또 증숙이나 건조처리를 거친 백삼, 홍삼, 흑삼은 수삼에 비해 외관상 부피가 감소함을 알 수 있었다. 이는 수삼 전체 무게의 60~70%정도가 수분이라는 점을 감안하면, 건조처리를 거치면서 수분이 빠져나가 그 부피가 줄어들기 때문인 것으로 생각된다.



Fig. 9. Morphology of raw, white, red and black ginsengs.

(나) 추출 수율

서로 다른 정도의 열처리와 건조처리를 거친 인삼 시료를 70% 에탄올을 사용하여 24시간 추출하였을 때의 추출수율을 표2에 나타내었다. 먼저 ‘비열추출수삼’과 ‘열추출 수삼’의 추출수율 결과를 비교해보면, 비열처리 수삼의 추출수율은 43.3%, 열처리 수삼의 경우 36.2%로 나타났다. 상대적으로 열추출시료들보다는 비열추출에서 더 높은 추출수율 값을 나타내었는데, 비열추출수삼은 에탄올과 함께 갈아서 원심분리 후 그 상등액을 추출액으로 하였기 때문에 고형분의 용매로의 이행량이 높아짐에 따라 추출수율이 높게 나온 것으로 보인다. 그리고 열추출 각 시료에서의 추출수율을 살펴보면 수삼, 백삼, 홍삼, 흑삼에서 각각 36.2, 35.4, 40.5, 33.8%로 나타나 그 값에 유의적인 관계가 없는 것으로 보이며, 이는 통계처리 값에서도 값들 사이에 유의적인 관계가 없음을 확인할 수 있었다.

(다) 조사포닌 함량

서로 다른 정도의 열처리와 건조처리를 거친 인삼 시료에 대한 조사포닌 함량은 Table 8과 같다. 비열처리 수삼과 열처리 수삼간의 조사포닌 함량 결과를 비교해보면, 비열추출에서 조사포닌 함량이 눈에 띄게 낮음을 확인할 수 있었다. 비열추출 수삼의 조사포닌 함량은 0.1518mg/g dried ginseng, 열처리 추출한 수삼은 0.3749mg/g dried ginseng로 측정되었다. 열처리 수삼의 추출수율이 비열처리수삼의 추출수율보다 높은 값을 나타냈던 것에 비해서 조사포닌 함량은 눈에 띄게 적게 나타났다. 이것으로 예측컨대, 수삼을 비열추출한 경우에는 고형분이 다량 추출되어 추출수율은 높게 나타났지만, 전체 추출된 고형분 대비 사포닌의 함량은 미량만 추출됨을 알 수 있었다. 때문에, 사포닌의 용매로의 이행량이 비열추출에 비해 열추출에서 더 효율적이라 생각된다. 나머지 열처리 추출 인삼들의 조사포닌 함량을 살펴보면, 그 값들이 비슷한 결과를 나타내었고 이것은 통계처리된 값에서도 볼 수 있듯이 유의적인 값들을 나타내어 조사포닌에 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다. 흑삼에서 특히 추출수율이 낮게 나온 것은 증숙 시 호화된 전분이 겔(gel)상태를 이루어 수포화부탄올로 사포닌 분석 시 부탄올 층과 물 층 경계 사이에 점액질층을 형성하여 층분리가 용이하지 않았기 때문이라 유추할 수 있었다.

Table 7. Extraction yield of raw, white, red and black ginsengs.

Extraction yield (%)				
Non-Thermal Extraction	Thermal Extraction			
	Raw ginseng	White ginseng	Red ginseng	Black ginseng
Raw ginseng				

43.3±3.69^a 36.2±1.17^{bc} 35.4±0.33^c 40.5±0.47^{ab} 33.8±1.80^c

* Means with the same letter are not significantly different. (p<0.05)

(라) 유효성분(Ginsenoside)의 변화

서로 다른 정도의 열처리와 건조처리를 거친 인삼 시료에 대한 ginsenoside-Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rg₁, Rg₃, Rg₅, Rk₁, F₂와 total ginsenoside의 분석결과는 Fig.10 및 Table 9와 같다. 비열처리수삼의 경우 열처리수삼과 비교하였을 때, total ginsenosides의 함량은

Table 8. Crude saponin contents of raw, white, red and black ginsengs.

Crude saponin (mg/g)				
Non-Thermal Extraction	Thermal Extraction			
Raw ginseng	Raw ginseng	White ginseng	Red ginseng	Black ginseng
0.1518±0.01 ^b	0.3749±0.01 ^a	0.4020±0.00 ^a	40.5±0.47 ^{ab}	0.3568±0.07 ^a

* Means with the same letter are not significantly different. (p<0.05)

열처리구에서 더 많이 나타났으며, protopanaxadiol(PPD) ginsenosides도 열처리구에서 더 많이 검출되었다. 홍 등의 연구에 의하면 이것은 수삼에는 불안정하여 물로 가열하면 쉽게 이탈되는 malonyl기가 결합된 형태의 PPD계 ginsenosides가 많이 존재하고 있어 추출 시 열에 의해 malonyl기 가수분해가 일어났기 때문에 열추출한 수삼에서 PPD계 ginsenosides와 total ginsenosides가 증가한 것으로 생각된다.

열처리구의 경우 major ginsenosides(ginsenoside-Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rg₁)의 함량은 전반적으로 수삼, 백삼에서보다 홍삼에서 적은 함량을 나타내었으며 홍삼 특유의 사포닌으로 알려진 ginsenoside Rg₃가 수삼, 백삼에서는 검출되지 않았으나 홍삼에서 발견되었다. 홍삼에서 미량 존재하던 ginsenoside Rg₃는 흑삼에서는 6배정도 늘어난 1.0621mg/g dried ginseng의 함량을 나타내었고, Rk₁과 Rg₅는 2.8394mg/g dried ginseng의 함량을 나타내었다.

Ginsenoside Rg₃는 C-3에 glucosyl 잔기 2개가 결합되어 있는 형태의 PPD계열의 사포닌이며, 인삼에 다량 존재하는 고분자 사포닌인 ginsenoside Rb₁에 붙어 있는 C-20위치의 glucose 하나가 탈락되었을 경우 ginsenoside Rd가 생성되고, 이 ginsenoside Rd로부터 glucose 하나 더 떨어지게 되면 Rg₃가 생성된다. 또 중간물질 Rd의 생성 없이 20번 탄소 안쪽 glucose의 가수분해에 의한 Rg₃ 생성이 일어날 수도 있다. 더 나아가 이 Rg₃의 20번 탄소에서 -OH기가 떨어져 나가고 이중결합이 생성되어 Rg₅과 Rk₁이 생성되게 되는데, Rg₅와 Rk₁은 20번 탄소에서 어느 방향으로 이중결합이 있느냐에 따라 다른

이성체관계이며 이것은 증속처리에 의해 20번 탄소에 있는 glucose 잔기가 제거된 후, -OH기의 선택적인 가수분해 때문에 생긴다. 홍 등의 연구에서도 주요 진세노사이드 함량 변화를 살펴본 결과 증속 처리 시 Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rg₁ 등의 함량은 감소하고 Rg₂, Rh₁, Rg₃ 등의 홍삼 특이성분 함량은 5번 증속 처리 이후부터 크게 증가하였다.

Ginsenoside-Rg₃의 대표적인 약리 활성으로는 암세포의 정상 세포내로의 침윤과 혈관신생을 억제함으로써 암세포의 전이억제효과가 있으며 그 밖에 항암제 내성 억제, 혈관의 팽활근 확장 작용으로 인한 혈압저하 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있다.

흑삼에서 ginsenoside-F₂가 상당량 생성되었는데, 이것은 고려인삼 잎에 함유되어 있으며 종양세포나 세균에서 나타나는 다제 내성을 반전시키는 효과 등이 있는 것으로 알려져 있다. Rk₁과 Rg₅ 또한, 치매를 유발시키는 뇌신경 독성물질인 '에이베타 아밀로이드42'를 선택적으로 제거하여 치매치료 및 예방효과가 뛰어나며 혈관 확장 효과, 항암효과, 뇌신경 세포 보호 효과 등이 강한 것으로 알려져 있다.

일반적으로 인삼사포닌인 ginsenoside는 열에 매우 불안정한 물질로 알려져 있다. 이러한 ginsenoside의 특징을 이용한 대표적인 제품이 바로 홍삼이며, 홍삼의 steaming과정 이외에 인삼에 열처리를 하여 비교적 극성이 낮은 저분자량의 ginsenoside를 생성하려는 연구가 많이 이루어져 있다. 그 예로 Yang 등은 인삼에 고온고압처리를 함으로써 ginsenoside-Rg₃와 Rh₂를 생성한 바 있다.

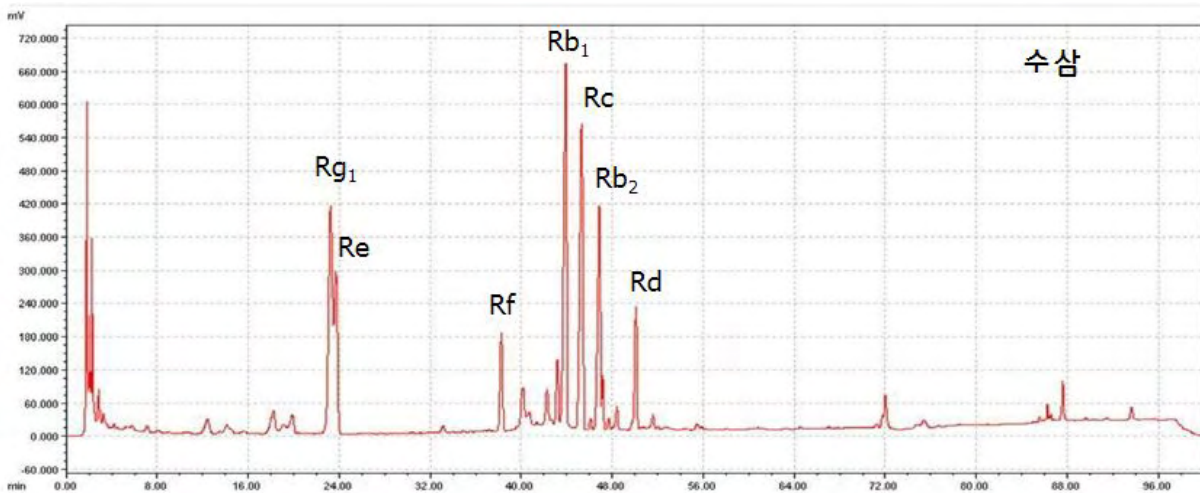
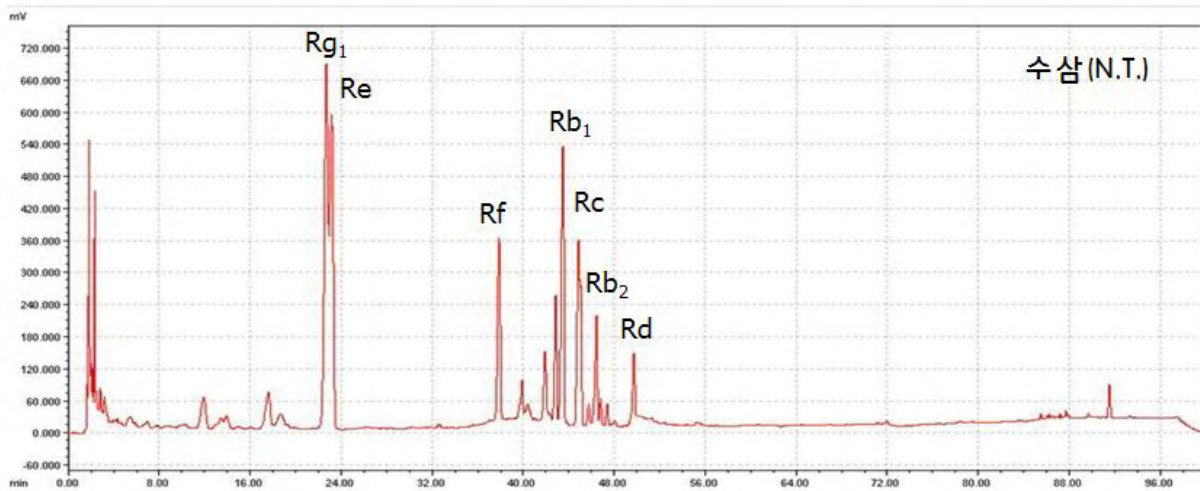
앞서 조사포닌 측정 결과와 HPLC를 통한 ginsenoside 함량 분석 비교 결과에 따르면 total ginsenoside 함량이 감소하는 것으로 나타났다. 이것은 열처리에 의해 상당량 생성되는 당류 또는 일부 인삼 성분의 열분해산물로 비교적 극성이 낮은 물질로 판단되며, 이러한 결과는 실제 수포화부탄올법으로 사포닌 분석 시 부탄올 층과 물 층 경계 사이에 극성이 모호한 물질들이 혼합되어 emulsion층을 형성하였으며, 극성에 따른 층분리가 용이하지 않았던 것으로부터 유추할 수 있었다.

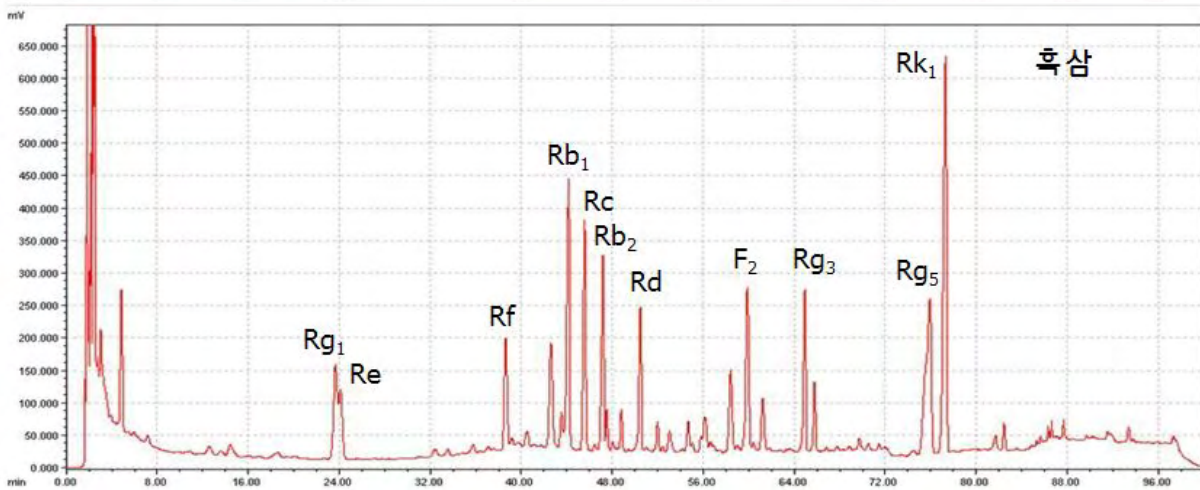
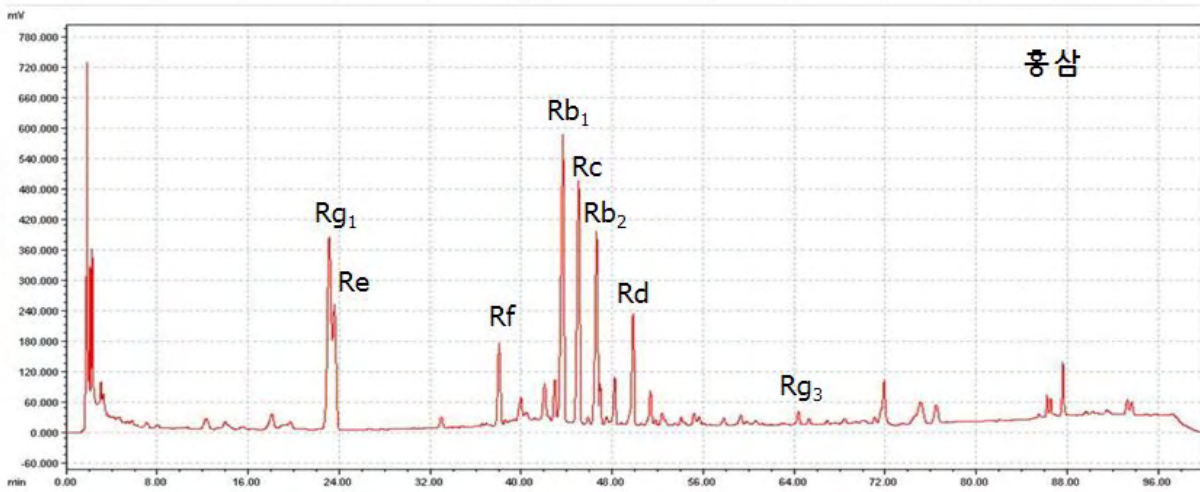
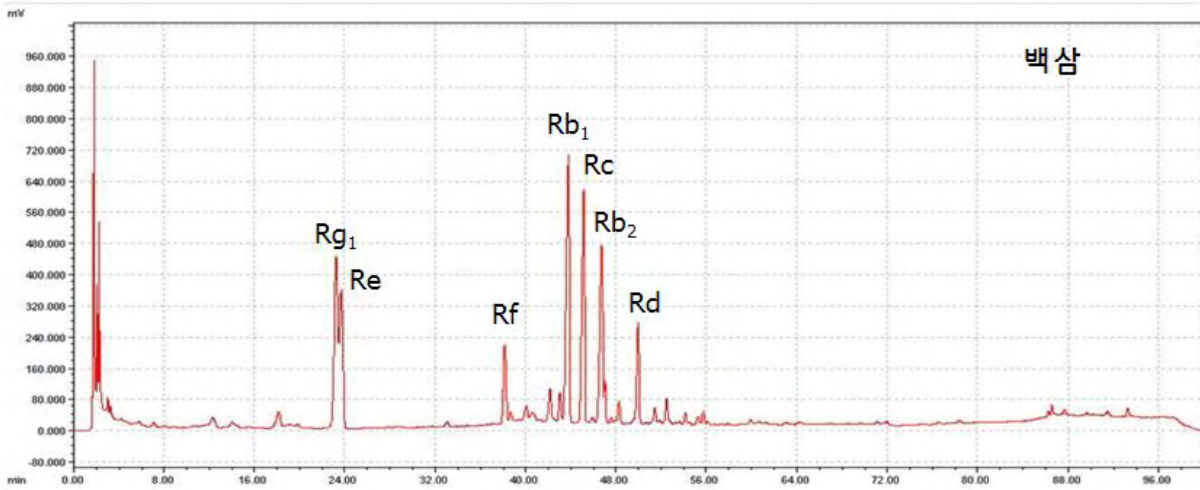
(3) 결 론

서로 다른 정도의 열처리와 건조처리를 거친 인삼 시료에 대해 증속처리를 거친 홍삼과 흑삼에서는 ginsenoside-Rg₃가 검출되었고, 더 나아가 ginsenoside F₂, Rg₅, Rk₁이 검출되었다. Ginsenoside-Rg₃의 생성은 열처리정도가 증가함에 따라 증가하는 경향을 나타내었으며, 더 나아가 이 Rg₃의 20번탄소에서 -OH기가 떨어져 나가고 이중결합이 생성됨에 따라 Rg₅와 Rk₁이 생성되게 된다. 반면 major ginsenoside (ginsenoside-Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rg₁)의 함량은 열을 처리함에 따라 감소하는 경향을 보였다. 이것은 기존 인삼에 함유되어 있던 PPD계 사포닌의 C-20에 결합되어 있던 당이 열에 의해 분해되어 기존의 major ginsenosides는 감소하고 새로운 ginsenosides가 생성되기 때문인 것으로 판단된다.

서로 다른 정도의 열처리와 건조처리를 거친 인삼에 대한 추출수율, 조사포닌의 경우 상대적으로 열추출 인삼에서보다는 비열추출에서 더 높은 추출수율 값을 나타내었는데,

비열추출수삼은 에탄올과 함께 갈아서 원심분리 후 그 상등액을 추출액으로 하였기 때문에 고형분의 용매로의 이행량이 높아짐에 따라 추출수율이 높게 나온 것으로 보인다. 그리고 열추출 각 시료에서의 추출수율 간에는 그 값에 유의적인 관계가 없는 것으로 나타났다. 비열추출에서 조사포닌 함량이 눈에 띄게 낮게 나타났는데, 비열추출 수삼의 조사포닌 함량은 0.1518mg/g dried ginseng, 열처리 추출한 인삼시료들은 0.3566~0.4020mg/g dried ginseng의 범위로 측정되었다. 이것으로 전체 추출된 고형분 대비 사포닌의 함량은 미량만 추출됨을 알 수 있었다. 나머지 열처리 추출 시료들의 조사포닌 함량에는 관계가 없는 것으로 나타났다.





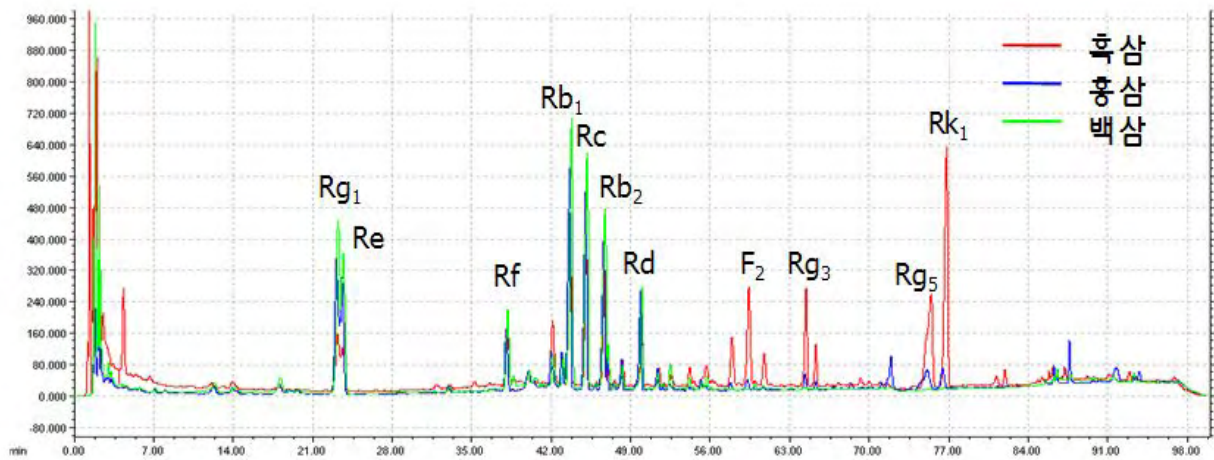


Fig. 10. HPLC chromatograms of various ginsenos with different treatment.

Table 9. Changes in ginsenosides of various ginsengs with different treatment.

Ginsenosides (mg/g dried ginseng)	Ginseng				
	Raw ginseng (N.T.)	Raw ginseng	White ginseng	Red ginseng	Black ginseng
Rg ₁	0.9393	0.6082	0.6484	0.6549	0.2692
Re	1.3020	0.7724	0.9846	0.6738	0.2456
Rb ₁	2.7983	3.9695	4.1445	3.3517	2.3929
Rc	2.8434	3.9532	4.1452	3.2284	2.4315
Rb ₂	1.0088	2.3001	2.4935	1.9312	1.6022
Rd	0.5242	1.0685	1.3649	1.1846	1.1848
Rg ₃	N.D.	N.D.	N.D.	0.1662	1.0621
Rk ₁ +Rg ₅	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.8394
Total ginsenosides	9.4160	12.6719	13.7812	11.1907	12.0276

* N.T. : non thermal

* N.D. : not detected

4. 4차년도

가. 당해연차 연구개발의 목표

○ 인삼의 추출수율 증대와 인삼 유효성분의 최적 전환을 위한 초고압 처리 조건 설정

나. 연구범위 및 연구수행 방법

연구 범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
인삼 유효성분의 전환 증가를 위한 최적 가공 조건 및 유효성분 변화 분석	- 인삼 유효성분의 전환 증가를 위한 최적 가공 조건 설정	- 수삼으로부터 팽화 백삼, 홍삼 및 흑삼을 제조하고 이들의 추출수율 및 조사포닌 함량 분석
	- 가공 조건에 따른 인삼 유효성분의 변화 분석	- 수삼으로부터 팽화 백삼, 홍삼 및 흑삼을 제조하고 이들의 유효성분 변화 분석
	- 초고압 압력에 따른 최적 초고압 처리 조건 설정	- 최적 추출 초고압압력에 따른 추출 수율 증가 여부
	- 초고압 처리시간에 따른 최적 초고압 처리 조건 설정	- 최적 추출 초고압 처리시간에 따른 추출 수율 증가 여부
	- 추출용매에 따른 최적 초고압 처리 조건 설정	- 최적 추출 추출용매에 따른 추출 수율 증가 여부
	- 인삼 유효성분의 최적 전환을 위한 초고압 압력에 따른 최적 초고압 처리 조건 설정	- 초고압압력에 따른 인삼 유효성분(진세노사이드)의 전환 여부
	- 인삼 유효성분의 최적 전환을 위한 초고압 처리시간에 따른 최적 초고압 처리 조건 설정	- 초고압 처리시간에 따른 인삼 유효성분(진세노사이드)의 전환 여부
	- 인삼 유효성분의 최적 전환을 위한 추출 용매에 따른 최적 초고압 처리 조건 설정	- 추출용매에 따른 인삼 유효성분(진세노사이드)의 전환 여부

다. 세부연구수행 결과

Part 1. 수삼으로부터 팽화 백삼, 팽화 홍삼 및 팽화 흑삼을 제조하고 이들의 추출수율, 조사포닌 함량 분석 및 유효성분 변화 분석

(1) 재료 및 방법

본 실험에 사용한 수삼 시료는 2008년 전북 진안에서 재배한 4년근 수삼을 한국인삼을 통해 구입하여 사용하였다.

(가) 시료(팽화 인삼)의 제조

백삼, 홍삼, 흑삼 시료를 제조한 후, 고온에 의한 인삼의 탄화를 최소화 하여 최적의 팽화 상태를 유지하기 위한 목적으로 건조한 인삼과 쌀을 1:4 (w/w)의 비율로 혼합하였으며, 이것을 회전식 팽화기에 넣고 가열하였다. 게이지 압력이 5 kgf/cm²에 도달했을 때 3 kgf/cm²으로 중간 압을 한번 빼준 뒤, 다시 가열하여 압력이 8 kgf/cm²에 이르렀을 때, 팽화기의 문을 개방하여 팽화를 유도하였다.

(나) 추출 수율

각각의 인삼 시료의 고형분 무게 약 200g에 70% ethanol 70%를 가한 뒤, 70℃에서 추출시간을 24시간으로 하여 추출하였다. Kimble-filtering flask에 funnel을 장착하고 여과지(Whatman No.2)를 사용하여 추출물을 여과한 뒤 여과액을 미리 항량된 수기에 넣어 45~50℃의 수온에서 rotary vacuum evaporator를 사용하여 감압농축(BÜCHI rotavapor R-124, BÜCHI water bath B-481, Switzerland)하고, 105℃에서 2시간 건조 항량 시킨 뒤 무게를 측정하여 원시료에 대한 백분율로 추출수율을 계산하였다.

$$* \text{Extraction yield}(\%) = \frac{\text{Total solid contents in extraction solution}}{\text{Total solid contents in ginseng}}$$

(다) 조사포닌

시료의 사포닌 함량은 식품 공전에 따라 다음과 같은 방법으로 측정하였다. 인삼 200g을 상기의 추출과 동일한 조건에서 추출물을 제조한 뒤, 빈 수기에 시료를 넣고 시료의 최종 고형분이 4g이 되도록 농축하였다. 농축된 시료 4g을 증류수 120ml에 녹여 분액 깔대기에 붓고 diethyl ether 120ml을 더한 다음 시료가 골고루 섞이도록 잘 흔들어준 후 물 층과 에테르층으로 분리 될 때까지 방치 시켰다. 분리된 에테르층은 버리고 남아있는 물 층에 다시 수포화 부탄올 120ml을 더하여 다시 잘 흔들어 준 후 분리 될 때까지 방치 시켰다. 분리된 수포화 부탄올 층은 따로모아놓고 물 층에 다시 수포화 부탄올을 붓는 과정을 3번 반복하였다. 분리된 수포화 부탄올에 증류수 120ml를 넣고 잘 흔들어 준 후 다시 분리 될 때까지 방치시킨 후 물 층만 제거하여 주었다. 이렇게 사포닌 성분을 수포화 부탄올로 이행시킨 후, rotary vacuum evaporator(BÜCHI rotavapor R-124, BÜCHI water bath B-481,Switzerland)를 사용하여 미리 항량된 수기에 넣고 감압농축 하였다. 감압 농축 후 dry oven에서 2시간 건조 항량시킨 후 무게를 측정하여 조사포닌 함량을 측정하였다.

$$\text{조사포닌 (mg/g ginseng)} = \frac{W_1 - W_2}{W_3} \times \frac{A}{B}$$

W1 : 수포화 부탄올층을 농축 건조한 후의 수기의 무게(mg)

W2 : 항량으로 한 빈 수기의 무게(mg)

W3 : 초기 팽화인삼의 무게(g)

A : 농축액의 총 무게(g)

B : 농축액 시료의 채취량(g)

(라) Ginsenoside 함량 측정

사포닌의 분리 및 정량은 상기의 추출과 동일한 조건에서 추출물을 제조하고, 추출물은 상기

의 수포화 부탄올법에 의거하여 n-butanol층으로 이행된 사포닌을 분리·농축 시켜 조사포닌으로 하였다. Ginsenoside 함량은 조사포닌을 HPLC grade 메탄올에 용해한 후 Millipore filter (pore size 0.45 μ m)로 여과한 후 HPLC를 이용하여 분석하였다. 본 실험에 사용된 HPLC 장비와 조건은 Table 10과 같다.

Table 10. HPLC conditions for ginsenoside analysis.

HPLC	Futecs NS 3000i system
Column	Supelco Discovery C18 (4.6mm X 250mm)
Detector	UV detector (203nm)
Flow rate	1.6ml/min
Gradient elution	Water (solvent A), Acetonitrile (solvent B)
	0-30min: A-B(80:20, v/v), 30-65min: A-B(55:45, v/v)
	65-75min: A-B(10:90, v/v), 75-85min: A-B(10:90, v/v)
	85-87min: A-B(80:20, v/v), 87-100min: A-B(80:20, v/v)

(마) 통계분석

모든 실험은 2회 반복 측정 한 다음, 통계처리 프로그램인 SAS(Statistical analysis program)을 이용하여 5% 유의 수준에서 평균값과 표준편차 그리고 Duncan's multiple range test로 평균간의 다중비교를 실시하였다.

(2) 결과 및 고찰

(가) 추출 수율

백삼, 홍삼, 흑삼을 각각 8 kgf/cm²의 압력으로 팽화하여 팽화 무처리구와 팽화구의 추출수율을 Table 11에 나타내었다.

팽화 무처리구인 백삼, 홍삼, 흑삼은 각각 35.37, 40.47, 33.80%의 추출수율을 나타내었고 팽화 백삼, 홍삼, 흑삼의 경우 50.80, 49.87, 58.60%의 추출수율을 나타내어, 추출수율이 무처리구에 대비하여 증가하였음을 관찰할 수 있었다. 이것은 팽화에 의한 조직의 다공질화로 인해 추출용매의 침투용이성이 증가하기 때문으로 판단된다. Kim 등의 연구에서 비가용성 고분자 성분이 열분해에 의해 가용성 성분의 저분자 휘발성 향기성분, 단당류, 소당류 등으로 분해되어 수율이 증가하고, 가열시간 증가와 더불어 불용성 화합물의 생성으로 다소 감소한다고 보고한 바 있다. 하지만 본 연구에서는 팽화 처리 시간이 모든 실험군에서 15분 내외로 다소 단시간에 이루어 졌기 때문에 가열시간 증가에 따른 추출 수율 감소는 일어나지 않았다.

Table 11. Extraction yield of white, red and black ginsengs.

Extraction yield (%)			
No-puffed ginseng	White ginseng	Red ginseng	Black ginseng
	35.37±0.33 ^d	40.47±0.47 ^c	33.80±1.80 ^d
Puffed ginseng	White ginseng	Red ginseng	Black ginseng
	50.80±0.80 ^b	49.87±0.31 ^b	58.60±2.11 ^a

* Means with the same letter are not significantly different (p<0.05)

(나) 조사포닌 함량

팽화 무처리구와 팽화구의 조사포닌 함량을 Table 12에 나타내었다. 팽화 무처리구인 백삼, 홍삼, 흑삼은 각각 35.55, 37.55, 34.15 mg/g dried ginseng 의 조사포닌 함량을 나타내었지만, 팽화 처리에 의해 62.57, 59.40, 63.87mg/g dried ginseng을 나타내어 조사포닌 함량이 158~187%까지 증가함을 확인할 수 있었다. 이결과는 팽화홍삼이 팽화하지 않은 홍삼에 비해 높은 추출수율과 조사포닌 함량을 나타내었다는 기존의 연구결과와도 일치한다. 이것은 인삼 조직이 팽화 과정을 거치면서 부피팽창에 따른 용매의 침투가 용이해지고, 배당체 형태의 사포닌에 결합되어 있는 일부 당류가 팽화에 의해 분해되어 분자량이 작은 형태가 되어 조사포닌의 추출을 증가시키는 것으로 판단되며, 이는 후에 극성이 낮은 저분자량의 Ginsenoside-Rg3를 생성하는 기작의 뒷받침이 되어줄 것으로 사료된다. Kim 등은 압출성형공정을 통한 추출수율과 조사포닌 함량의 증가는 고온, 고압, 고전단력의 압출성형 조건에서 세포벽과 분자구조의 파괴에 따른 결합력의 약화와 수분흡수의 용이성 때문이라 보고하였으며, Yoon 등에 의하면 인삼을 세절하여 동결건조시킨 후 가열온도 (130~190℃)와 가열시간(10~30min)에 따른 성분변화를 관찰하였을 때, 조사포닌의 함량은 160℃ 및 가열시간 20 min일 때 64.40 mg/g의 최대값으로 측정되었으며 그 이후의 가열온도와 가열시간의 범위에서는 조사포닌의 함량이 감소하는 경향을 나타내었으며, 조사포닌 함량은 가열시간에 영향을 많이 받으며, 가용성 고형분 함량, 산성다당체 및 총 페놀성 화합물 함량은 가열온도에 영향을 많이 받는다고 보고한 바 있다.

(다) 유효성분(Ginsenoside)의 변화

팽화한 백삼, 홍삼, 흑삼의 ginsenoside-Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1, Rg3, Rg5, Rk1, F2 와 total ginsenoside의 분석결과는 Fig. 11 및 Table 13과 같다.

Table 12. Crude saponin contents of white, red and black ginsengs.

Crude saponin contents (mg/g sample)			
No-puffed ginseng	White ginseng	Red ginseng	Black ginseng
	35.55±0.60 ^d	37.55±1.87 ^c	34.15±0.58 ^d
Puffed ginseng	White ginseng	Red ginseng	Black ginseng
	62.57±2.57 ^b	59.40±0.53 ^b	63.87±4.44 ^a

* Means with the same letter are not significantly different (p<0.05).

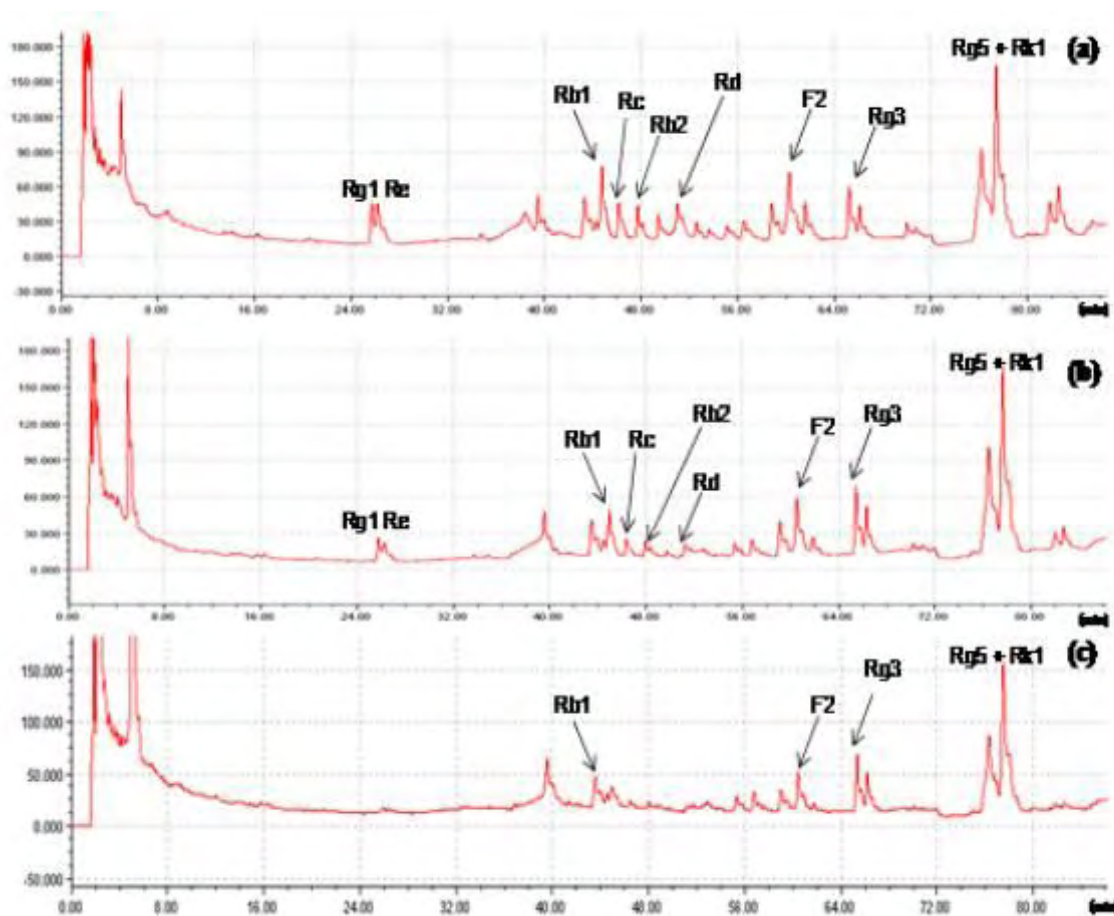


Fig. 11. HPLC chromatograms of puffed white, red and black ginsengs. (a) puffed white ginseng, (b) puffed red ginseng, (c) puffed black ginseng

Table 13. Ginsenoside contents of puffed white, red and black ginsengs.

	Ginsenoside (mg/g saponin)									
	Rb1	Rc	Rb2	Rd	Re	Rg1	F2	Rg3	Rk1+Rg5	Total
White ginseng	207.23±14.79 ^a	207.26±13.28 ^a	124.68±2.30 ^a	68.25±1.63 ^a	49.88±3.25 ^a	33.55±2.33 ^b	-	-	-	690.85±36.59 ^a
Red ginseng	167.59±1.27 ^b	161.42±6.70 ^b	96.56±1.06 ^b	59.23±6.69 ^a	34.34±10.94 ^b	33.88±5.48 ^b	-	8.81±1.80 ^b	-	561.83±33.42 ^a
Black ginseng	119.65±19.68 ^c	121.80±28.71 ^c	80.11±8.27 ^c	59.24±11.88 ^a	12.93±6.63 ^c	14.59±2.19 ^c	-	43.61±5.18 ^a	102.19±36.97 ^d	554.12±69.88 ^b
Puffed white ginseng	19.96±2.91 ^d	10.99±1.03 ^d	9.67±1.07 ^d	10.32±5.31 ^b	5.25±3.01 ^c	55.09±17.06 ^a	15.65±2.70 ^a	54.81±1.85 ^a	171.83±0.95 ^b	349.57±71.09 ^b
Puffed red ginseng	11.78±1.16 ^d	5.51±1.46 ^d	5.90±1.27 ^d	2.45±0.27 ^b	3.14±0.13 ^c	2.33±0.29 ^c	11.79±0.85 ^a	49.55±5.69 ^a	184.91±22.78 ^a	276.36±30.68 ^b
Puffed black ginseng	9.84±1.14 ^d	1.07±0.37 ^d	0.68±0.01 ^d	0.72±0.01 ^b	3.30±0.11 ^c	2.33±0.13 ^c	8.53±2.01 ^a	54.62±1.48 ^a	161.24±4.95 ^c	247.33±9.87 ^c

* Means with the same letter in the same column are not significantly different (p<0.05).

팽화구의 경우 무처리구와 비교하였을 때, major ginsenosides (ginsenoside-Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1)의 함량은 84.5~94.6%까지 감소하는 경향을 나타냈다. 그리고 홍삼특유의 사포닌으로 알려진 Rg3의 경우, 팽화구에서 새로 생성되거나 증가되었으며, 그 함량은 팽화구에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다. Ginsenoside-Rg5, Rk1은 팽화한 백삼과 홍삼에서 새로 생성 되었으며 팽화흑삼에서는 13.4% 증가하였다. F2 또한 무처리구에서 검출되지 않았으나 팽화구에서는 발견되었으며, 생성된 함량은 상대적으로 미량이었다. Ginsenoside-Rg5, Rk1, F2도 Ginsenoside-Rg3와 마찬가지로 팽화구에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 그러므로 흑삼까지 제조하여 팽화할 필요 없이 백삼을 팽화하는 것만으로도 동일한 양의 팽화에 의해 생성되는 사포닌을 얻을 수 있을 것으로 보인다. 이와 같은 결과로부터, 팽화로부터 생성되는 인삼 사포닌 성분을 이용한 고부가가치 인삼제품의 개발에 있어서 흑삼을 제조할 필요 없이 백삼을 팽화하는 것이 비용과 에너지에 있어서 효율적일 것이라 생각된다.

앞서 조사포닌 측정 결과와 HPLC를 통한 ginsenoside 함량 분석 비교 결과에 따르면 total ginsenoside 함량이 감소하는 것으로 나타났다. 이것은 열처리에 의해 상당량 생성되는 당류 또는 일부 인삼 성분의 열분해산물로 비교적 극성이 낮은 물질로 판단되며, 이러한 결과는 실제 수포화부탄올법으로 사포닌 분석 시 부탄올 층과 물 층 경계 사이에 극성이 모호한 물질들이 혼합되어 emulsion층을 형성하였으며, 극성에 따른 층분리가 용이하지 않았던 것으로부터 유추할 수 있었다. 추후 이러한 성분들에 대한 정확한 동정 연구 수행이 필요할 것이라 생각된다.

(3) 결론

팽화 처리에 따른 인삼 사포닌 추출수율, 조사포닌 함량, ginsenoside profile 변화에 대해 조사해 본 결과는 다음과 같다. 팽화인삼의 추출수율 측정 결과, 무처리구는 33.80~40.47%, 팽화구는 49.87~58.60%의 추출수율의 범위로 측정되었다. 이것은 팽화에 의한 조직의 다공질화로 인해 추출용매의 침투용이성이 증가하기 때문인 것으로 생각된다. 조사포닌 함량의 경우 팽화 무처리구는 34.15~37.55mg/g dried ginseng, 팽화구는 59.40~63.87mg/g dried ginseng의 범위로 측정되어 팽화에 의한 조사포닌 함량 증가를 확인할 수 있었다. 이는 배당체 형태의 사포닌에 결합되어 있는 일부 당류가 팽화에 의해 분해되어 분자량이 작은 형태가 되어 조사포닌의 추출을 증가시키는 것으로 판단되며, 후에 극성이 낮은 저분자량의 Ginsenoside-Rg3를 생성하는 기작의 뒷받침이 되어줄 것으로 생각된다. 팽화 인삼에서는 홍삼 특유 사포닌인 ginsenoside-Rg3가 검출되었다. 기존 인삼에 함유되어있던 PPD계열의 사포닌의 C-20에 결합되어 있던 당이 열에 의해 분해되면서 생성되는 것으로 판단된다.

Ginsenoside-Rg5, Rk1은 팽화한 백삼과 홍삼, 흑삼에서 모두 발견되었다. Ginsenoside-Rg5, Rk1, Rg3는 모두 팽화구에서 유의적인 차이를 나타내지 않았으므로, 흑삼을 제조하여 팽화할 필요 없이 백삼을 팽화하는 것만으로도 동일한 양의 팽화에 의해 생성되는 사포닌을 얻을 수 있을 것으로 보인다.

이와 같은 결과로부터, 팽화로부터 생성되는 인삼 사포닌성분을 이용한 고부가가치 인삼제품의 개발에 있어서 흑삼을 제조할 필요 없이 백삼을 팽화하는 것이 비용과 에너지에 있어서 효율적일 것이라 생각된다. Total ginsenoside 함량은 팽화에 의해 감소하는 것으로 나타났다. 이것은 열처리에 의해 상당량 생성되는 당류 또는 일부 인삼 성분의 열분해산물로 비교적 극성이 낮은 물질로 판단되며, 이러한 결과는 실제 수포화부탄올법으로 사포닌 분석 시 부탄올 층과 물 층 경계 사이에 극성이 모호한 물질들이 혼합되어 emulsion층을 형성하였으며, 극성에 따른 층분리가 용이하지 않았던 것으로부터 유추할 수 있었다. 추후 이러한 성분들에 대한 정확한 동정 연구 수행이 필요할 것이라 생각된다.

결론적으로, 팽화 처리에 의해 인삼의 추출 수율, 조사포닌의 수득률을 높일 수 있었으며, 개별 ginsenoside의 팽화에 의한 일부 열분해로 인해 ginsenoside-Rg3를 생성하여 항산화 활성 등의 기능성을 부여해 줄 수 있음을 확인하였다. 팽화로부터 생성되는 인삼 사포닌 성분을 이용한 고부가가치 인삼제품의 개발에 있어서 흑삼을 제조하여 팽화할 필요 없이 백삼을 팽화하는 것이 비용과 에너지에 있어서 효율적이라는 결론도 얻을 수 있었다.

이로써 팽화를 이용한 새로운 기능성 인삼 가공 기술을 확보할 수 있으며, 고가 원료인 인삼 농축액의 추출 수율 증대로 인한 기업의 원가 절감이 기대되는 바이다.

Part 2. 초고압 처리에 따른 팽화 인삼의 최적 추출 조건 설정

(1) 재료 및 방법

본 실험에 사용한 수삼 시료는 2010년 전북 진안에서 재배한 4년근 수삼을 한국인삼을 통해 구입하여 사용하였다.

(가) 인삼 시료의 제조

수삼을 흐르는 수돗물로 깨끗이 수세한 후, 30분간 방치하여 물기를 제거한 후 수삼의 동체는 5mm의 일정한 두께로 세절하여 절편화 한 뒤, 50℃에서 건조하여 수분함량이 8%가 되도록 백삼으로 제조하였다. 그리고 고온에 의한 인삼의 탄화를 최소화 하여 최적의 팽화 상태를 유지하기 위한 목적으로 건조한 인삼과 쌀을 1:4 (w/w)의 비율로 혼합하였으며, 이것을 회전식 팽화기에 넣고 가열하였다. 게이지 압력이 5 kg_f/cm²에 도달했을 때 3 kg_f/cm²으로 중간압을 한번 빼준 뒤, 다시 가열하여 압력이 8kg_f/cm²에 이르렀을 때, 팽화기의 문을 개방하여 팽화를 유도하였다.

(나) 열 추출법

기존에 인삼 추출시 주로 사용되는 환류 추출을 초고압 추출에 대한 대조구 로써 진행하였다. 각각의 인삼 시료의 고형분 무게 약 200g에 70% (v/v) ethanol 을 20배 가한 뒤, 70℃에서 추출시간을 24시간으로 하여 추출하였다.

(다-1) 추출 용매 농도에 따른 초고압 추출법

팽화한 인삼의 추출에 적합한 추출 용매를 선정과 용매의 농도가 추출 수율 및 유효성분 함량에 미치는 영향을 검토하기 위해, 0~90% (v/v) ethanol을 제조하여 추출을 진행하였다. 플라스틱 파우치에 팽화 인삼 약 15g와 각 농도의 ethanol을 150ml 가한 후, 가열밀봉기를 이용하여 밀봉해준다. 시료와 용매가 혼합된 파우치는 상온 에서 추출시간을 5분, 처리 압력은 200MPa로 하여 초고압 추출을 진행 하였다.

(다-2) 시료와 추출 용매 간 비율에 따른 초고압 추출법

팽화한 인삼과 추출 용매인 에탄올간의 혼합 비율을 선정하기 위하여, 1:10, 1:20, 1:30 (시료:용매)의 비율로 하여 추출을 진행하였다. 플라스틱 파우치에 팽화 인삼과 70% ethanol을 비율에 맞게 넣어준 후 가열밀봉기를 이용하여 파우치를 밀봉해준다. 시료와 용매가 혼합된 파우치는 상온에서 추출시간을 5분, 처리 압력은 200MPa로 하여 초고압 추출을 진행 하였다.

(라) 추출 수율

Kimble-filtering flask에 funnel을 장착하고 여과지(Whatman No.2)를 사용하여 추출물을 여과한 뒤 여과액의 총무게를 재고, 그 후 여과액 1g을 취해서 105℃ dry oven에서 16시간 건

조시킨 후 무게를 측정하여 1g의 여과액에 대한 고형분 함량을 측정하였다. 측정된 고형분 함량을 이용하여 총 추출액의 고형분 함량을 측정하였으며, 원시료에 대한 총 추출액의 고형분 함량을 백분율로 하여 추출 수율을 계산 하였다.

$$\text{Extraction yield (\%)} = \frac{\text{Weight of solid extracted}}{\text{Weight of dried ginseng}} \times 100$$

(마) 조사포닌

시료의 사포닌 함량은 식품 공전에 따라 다음과 같은 방법으로 측정하였다. 인삼 고형분을 상기의 추출과 동일한 조건에서 추출물을 제조한 뒤, 빈 수기에 시료를 넣고 시료의 최종 고형분이 2g이 되도록 농축하였다. 농축된 시료 2g을 증류수 60ml에 녹여 분액 깔대기에 붓고 diethyl ether 60ml을 더한 다음 시료가 골고루 섞이도록 잘 흔들어준 후 물 층과 에테르층으로 분리 될 때까지 방치 시켰다. 분리된 에테르층은 버리고 남아있는 물 층에 다시 수포화 부탄올 60ml을 더하여 다시 잘 흔들어 준 후 분리 될 때까지 방치 시켰다. 분리된 수포화 부탄올 층은 따로 모아놓고 물 층에 다시 수포화 부탄올을 붓는 과정을 3번 반복하였다. 분리된 수포화 부탄올에 증류수 60ml를 넣고 잘 흔들어 준 후 다시 분리 될 때까지 방치시킨 후 물 층만 제거하여 주었다. 이렇게 사포닌 성분을 수포화 부탄올로 이행시킨 후, rotary vacuum evaporator (BÜCHI rotavapor R-124, BÜCHI water bath B-481,Switzerland) 를 사용하여 미리 항량된 수기에 넣고 감압농축 하였다. 감압 농축 후 dry oven에서 2시간 건조 항량시킨 후 무게를 측정하여 조사포닌 함량을 측정하였다.

$$\text{조사포닌 (mg/g ginseng)} = \frac{W_1 - W_2}{W_3} \times \frac{A}{B}$$

W₁ : 수포화 부탄올층을 농축 건조한 후의 수기의 무게(mg)

W₂ : 항량으로 한 빈 수기의 무게(mg)

W₃ : 초기 팽화인삼의 무게(g)

A : 농축액의 총 무게(g)

B : 농축액 시료의 채취량(g)

(바) 통계분석

모든 실험은 3회 반복 측정한 다음, 통계처리 프로그램인 SAS(Statistical analysis program) 을 이용하여 5% 유의 수준에서 평균값과 표준편차 그리고 Duncan's multiple range test로 평균간의 다중비교를 실시하였다.

(2) 결과 및 고찰

(가-1) 추출 방법 간의 추출 수율

백삼을 8 kgf/cm²의 압력으로 팽화한 시료를 이용하여 대조구인 환류 추출과, 초고압 추출시의 가장 높은 추출수율을 Table 14에 나타내었다. 초고압 추출에서 가장 높은 추출 수율은 0% (v/v) ethanol 을 추출 용매로 이용 하였을 때 15.63% 으로 나타났다. 대조구인 환류추출에서는 0% (v/v) ethanol 을 추출 용매로 이용 하였을 때, 65.10%의 추출 수율이 나타났는데 이는, 상온에서 단지 5분간 추출이 진행 된 초고압 추출에 비하여 환류추출의 경우 추출 온도가 70℃로 진행되어, 가열시 물질로의 용매 투과 비율을 높여주고 성분의 용해도를 증가시켜줄 수 있으며 또한 추출 시간이 24시간으로 매우 길었기 때문에 높은 추출 수율이 나타날 수 있다고 판단된다.

(가-2) 추출 용매 농도별 추출 수율

백삼을 8 kgf/cm²의 압력으로 팽화한 시료를 이용하여, 추출 용매인 에탄올의 다양한 농도 범위에 따른 추출수율을 Fig. 12에 나타내었다.

Table 14. Extraction yield of puffed ginseng with different extraction method.

Extraction yield (%)	
Heat reflux extraction	Ultra high press extraction
65.10±0.33 ^a	15.63±0.33 ^b

* Means with the same letter are not significantly different (p<0.05)

Ethanol 농도에 따른 추출 수율은 2.37% ~ 15.63% 로 다양하게 나타났다. 0~20% (v/v) ethanol 에서의 추출 수율은 큰 유의적 차이를 보이지 않았으나, 30% 이상의 농도범위에서는 에탄올 농도가 증가함에 따라 추출 수율은 감소하는 경향을 나타냈다. Seong 등에 따르면 일반적으로 식물체의 구성성분은 극성이 높은 용매에서 용출이 잘 되는 것으로 보고되고 있어 수율적인 면에서는 용매 에탄올의 농도가 낮을수록 추출 수율을 높이는 데에는 효과적이라고 할 수 있다.

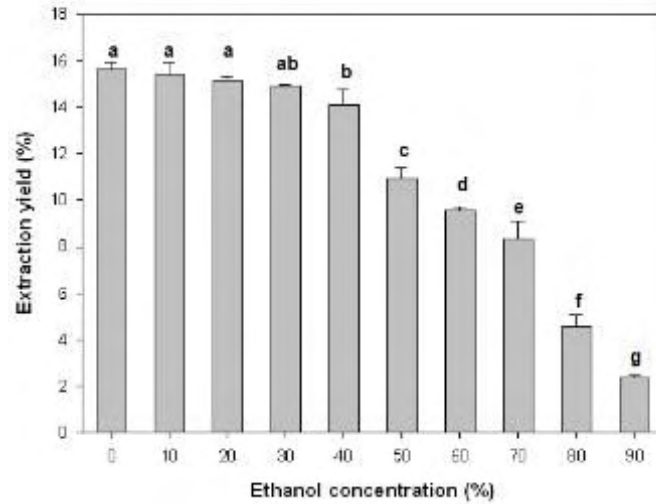


Fig. 12. Extraction yield of puffed ginseng with different ethanol concentration.

* Means with the same letter are not significantly different ($p < 0.05$)

(가-3) 시료와 추출 용매 간 비율에 따른 추출 수율

백삼을 8 kgf/cm²의 압력으로 팽화한 시료를 이용하여, 시료와 추출 용매의 혼합 비율에 따른 추출수율을 Table 15에 나타내었다. 시료 대비 용매의 양이 증가 할수록 추출 수율도 증가 하는 경향을 나타냈다. 하지만 1:20과 1:30의 조건에서의 추출 수율에서는 유의적 차이가 나타나지 않았다. 시료 대비 용매의 양이 증가함에 따라 추출 수율이 증가하는 이유는, 증가한 용매의 양으로 인해 시료가 접촉할 수 있는 기회가 증가 하게 되고 또한, 시료 내부로의 확산도 용이 하기 때문이라고 추측해 볼 수 있다. 추출 용매의 양이 증가하게 되면, 용매의 증발을 위한 시간이 길어지게 하고 비용의 증가로 이어지기 때문에 용매의 투입 비용과 재회수 비용 등의 경제적인 면을 고려하여 시료와 용매간의 혼합 비율은 1:20의 조건이 적합하다고 판단했다.

Table 15. Extraction yield of puffed ginseng with different ethanol concentration.

Extraction yield (%)		
1:10	1:20	1:30
8.33±0.77 ^b	11.93±0.41 ^a	12.10±0.62 ^a

* Means with the same letter are not significantly different ($p < 0.05$)

(나-1) 열 추출법과 초고압 추출법에 따른 조사포닌 함량

백삼을 8 kgf/cm²의 압력으로 팽화한 시료를 이용하여 대조구인 환류 추출과, 초고압 추출 시 조사포닌 함량을 Table 16에 나타내었다. 대조구로 사용한 환류 추출에서의 조사포닌 함량이, 초고압 추출에서의 함량보다 약 2배 가량 높게 나타났다. 이는 환류 추출 시 처리 시간은 24시간인 반면, 초고압 추출 시 처리 시간은 단지 5분이었기 때문에 환류 추출 시 나타난 조사포닌의 양과 유사한 양을 얻는데 필요한 초고압 추출 시간은, 환류 추출을 위해 필요한 시간에 비해 길지 않을 것으로 추측된다.

Table 16. Crude saponin contents of puffed ginseng with different extraction method.

Crude saponin (mg/g)	
Heat reflux extraction	Ultra high press extraction
13.68±0.60 ^a	6.47±0.23 ^b

* Means with the same letter are not significantly different (p<0.05)

(나-2) 초고압 추출 시 추출 용매 농도별 조사포닌 함량

백삼을 8 kgf/cm²의 압력으로 팽화한 시료를 이용하여 추출 용매인 ethanol 의 다양한 농도 범위에 따른 조사포닌 함량을 Fig. 13에 나타내었다. Ethanol 농도에 따라 얻은 조사포닌 함량은 4.53±0.12 mg/g dried ginseng ~ 6.42±0.13 mg/g dried ginseng의 범위로 나타났다. 0~30% (v/v) ethanol 에서 대체적으로 유사한 조사포닌 함량을 나타내었고, 40% (v/v) ethanol 부터 조사포닌 함량이 증가하는 경향을 나타냈으며, 80% (v/v) ethanol 이상에서는 조사포닌 함량이 감소하는 경향을 나타냈다.

총 조사포닌 함량은 70% (v/v) ethanol 에서 최대로 나타났으며, 50%, 60% (v/v) ethanol 에서 또한 70% (v/v) ethanol 에서의 조사포닌 함량과 큰 유의적 차이를 보이지는 않았다.

이는 기존의 Seong 등의 연구와도 유사한 경향을 나타내며, 가장 조사포닌 함량이 높은 70% (v/v) ethanol 의 농도가 초고압을 통한 인삼 추출에 적합하다고 판단되었다.

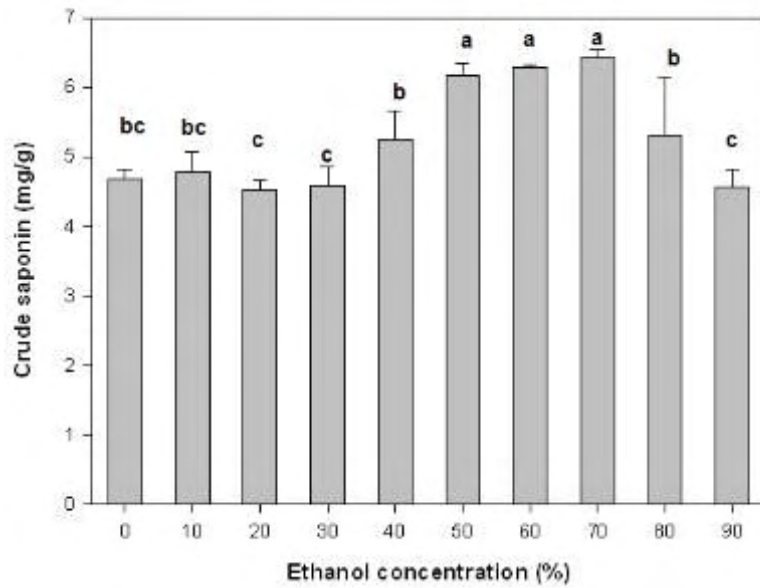


Fig. 13. Crude saponin contents of puffed ginseng with different ethanol concentration.
 * Means with the same letter are not significantly different (p<0.05)

(나-3) 초고압 추출 시 시료와 추출 용매 간 비율에 따른 조사포닌 함량

백삼을 8 kgf/cm²의 압력으로 팽화한 시료를 이용하여, 시료와 추출 용매의 혼합 비율에 따른 조사포닌 함량을 Table 17에 나타내었다. 결과적으로, 시료에 대한 추출 용매의 양이 증가 하는 것과 조사포닌 함량 간에는 큰 유의적 차이를 나타내지 않았다.

Table 17. Crude saponin contents of puffed ginseng with different ethanol concentration.

Crude saponin (mg/g)		
1:10	1:20	1:30
6.42±0.13 ^a	6.47±0.23 ^a	6.34±0.73 ^a

* Means with the same letter are not significantly different (p<0.05)

(3) 결 론

비열추출이 가능한 초고압과 기존의 열추출 방법을 비교 하였을 때, 추출 수율과 조사포닌 함량은 열추출법인 환류 추출에서 그 비율이 더 높게 나타났다. 하지만, 초고압 추출은 단지 5분의 처리를 통해 추출이 이루어 졌기 때문에, 24시간 동안 추출을 진행한 환류추출에 비해 시료와 용매의 반응 시간을 고려해 보았을 때 효율적인 추출 법으로 적용될 수 있다고 판단 된다. 고려 인삼은 성분중의 60%~70%의 전분을 포함하는 탄수화물을 함유하고 있기 때문에,

고온을 가하는 인삼의 팽화 과정에서 전분의 호화가 발생할수 있으며, 호화된 전분이 네트워크 구조를 형성하여 짧은 시간동안의 추출과 가열처리 하지 않는 상온에서의 추출만으로는 사포닌 등의 유효 성분이 빠져나오기 어려울 수 있다. 하지만, 추출 압력과 처리시간을 증가함에 따라 이러한 부분이 개선될 수 있을 것으로 판단 된다. 기존에 보고된 성(23), Chen (2) 등의 연구 에서 70% 에탄올 농도의 용매를 사용하였을 때 조사포닌의 수용적인 면에서 효율을 나타낸 것과 마찬가지로, 팽화 인삼의 초고압 추출에서도 이와 같은 조건이 성립함을 확인할 수 있었다. 유효성분으로 알려진 조사포닌의 추출양의 경우, 추출 수율에는 비례하지 않는 결과를 나타냈으며 성 (22)등의 연구에서와 같이 50~70% (v/v) ethanol 의 범위에서 높은 양의 조사포닌이 추출 됨을 확인할 수 있었다. 저농도 에탄올 추출의 경우 인삼의 팽윤 및 흡수성에 의한 용매 사용량의 증대를 초래하여 전분 등의 수용성 물질 다량 용출로 인한 여과 및 농축에서의 작업성등을 고려할 때 고농도 에탄올이 적합하다고 보고된 바 있다. 무엇보다도 초고압을 통한 추출은 비열 추출이 가능하므로 실질적인 유효성분 파괴를 막아주는 특징이 있으며, 이러한 장점을 바탕으로 압력과 처리 시간을 다양한 범위로 조절하여 유효성분의 수득량을 높일 수 있는 최적 조건을 찾기 위한 연구가 진행되어야 할 것이다.

5. 5차년도

가. 당해연차 연구개발의 목표

○ 팽화 인삼 추출을 위해 최적화 된 초고압 추출법과 PEF 추출법 및 이외의 다양한 추출 방법의 추출 수율 및 조사포닌 함량 비교

나. 연구범위 및 연구수행 방법

연구 범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
초고압 및 Pulsed Electric Field Processing을 이용한 인삼유효성분의 물리적 전환 기술 개발	- 인삼의 추출수율 증대를 위한 팽화인삼의 최적 추출방법 설정	- Heat reflux extraction 조건 확립
		- Ultra high pressure extraction 조건 확립
		- Pulsed electric field extraction 조건 확립

다. 세부연구수행 결과

(1) 재료 및 방법

본 실험에 사용한 인삼 시료는 2010년 전북 진안에서 재배한 4년근 수삼을 한국 인삼을 통해 구입하여 사용하였다.

(가) 인삼 시료의 제조

① 백삼의 제조

수삼을 흐르는 수돗물로 깨끗이 수세한 후, 30분간 방치하여 물기를 제거한 후 수삼의 동체는 5mm의 일정한 두께로 세절 하여 절편화 한 뒤, 50℃에서 건조하여 수분함량이 8%가 되도록 백삼으로 제조하였다.

② 팽화 인삼의 제조

백삼 시료를 제조한 후, 고온에 의한 인삼의 탄화를 최소화 하여 최적의 팽화 상태를 유지하기 위한 목적으로 건조한 인삼과 쌀을 1:4 (w/w)의 비율로 혼합하였으며, 이것을 회전식 팽화기에 넣고 가열하였다. 게이지 압력이 5 kgf/cm²에 도달했을 때 3 kgf/cm²으로 중간압을 한번 빼준 뒤, 다시 가열하여 압력이 8 kgf/cm²에 이르렀을 때, 팽화기의 문을 개방하여 팽화를 유도하였다. 제조한 백삼과 팽화 백삼의 각 형태는 아래 Fig. 14와 같다.

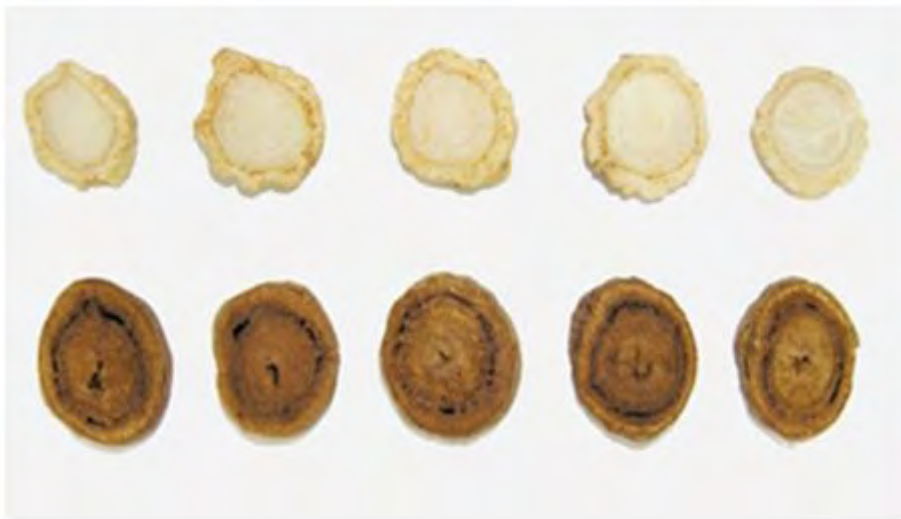


Fig. 14. Morphology of sliced white and puffed ginsengs.

(나) 추출법

① 초고압 추출

㉠ 추출 용매 농도에 따른 초고압 추출

팽화 한 인삼의 추출을 위해 적합한 추출 용매의 선정과, 용매의 농도가 추출 수율 및 유효 성분 함량에 미치는 영향을 검토하기 위해, 0 ~ 90% (v/v) ethanol을 제조하여 추출을 진행하였다. 플라스틱 파우치에 팽화 인삼 약 15g과 각 농도의 ethanol을 150ml 가한 후, 가열 밀

봉기를 이용하여 밀봉해준다. 시료와 용매가 혼합된 파우치는 상온 에서 추출시간을 5분, 처리 압력은 200MPa로 하여 초고압 추출을 진행 하였다.

㉠ 시료와 추출 용매 간 비율에 따른 초고압 추출법

팽화 한 인삼과 추출 용매인 ethanol간의 혼합 비율을 선정하기 위하여, 1:10, 1:20, 1:30 (시료:용매)의 비율로 하여 추출을 진행하였다. 플라스틱 파우치에 팽화 인삼과 70% (v/v) ethanol을 비율에 맞게 넣어준 후 가열 밀봉기를 이용하여 파우치를 밀봉해준다. 시료와 용매가 혼합된 파우치는 상온에서 추출시간을 5분, 처리 압력은 200MPa로 하여 초고압 추출을 진행 하였다.

㉡ 반응표면분석법에 의한 초고압 추출

팽화 한 인삼의 초고압 추출 조건 최적화 공정을 결정하기 위한 실험 설계 및 최적화를 위해서 반응표면분석법(Response surface methodology)이 사용 되었다. 이때 사용된 프로그램은 Design-Expert ver.7.0.0 (Stat-Ease, Inc., Minneapolis, MN, USA)이며, 실험 점 확립을 위한 독립 변수(independent variables)로는 반응압력(X_1 ,MPa)과 반응시간(X_2 ,min)으로 설정하였다. 또한, 종속 변수(dependent variables)는 추출수율(Y_1 ,%)과 조 사포닌 함량(Y_2 ,mg/g)으로 하였다. 각 실험군은 중심합성계획법(Central composite design, CCD)으로 선정하였으며 아래 표 과 같이 나타낼 수 있다. 각 요인의 -1, 0, +1 점을 부호화하였으며 반응압력은 200(-1), 325(0), 450(+1)MPa의 범위로 선정하였고, 반응시간은 5(-1), 10(0), 15(+1)min의 범위로 선정하였다.

Table 18. Coded and actual levels of independent variables in central composite design for ultra high press extraction conditions.

Independent variables	Symbol	Variable levels				
		-1.414	-1	0	1	1.414
Pressure (MPa)	X_1	148.22	200	325	450	501.78
Time (min)	X_2	2.93	5	10	15	17.07

㉢ 환류 추출(Heat reflux extraction)

열 추출의 대표적인 방법으로, 기존에 인삼의 유효성분 추출 시 주로 사용되는 환류 추출법을 진행하였다.

팽화 인삼 시료의 고형분 무게 약 200g에 70% (v/v) ethanol 을 20배 가한 뒤, 70℃에서 추출시간을 24시간으로 하여 추출하였다.

③ Microwave-assisted extraction

팽화 인삼 시료와 용매간의 비율을 1:20으로 하여 microwave (750W, 2450MHz, MR-307S, LG, Korea.)로 끓는점에 도달하기 전의 추출 시간인 1분간 추출을 진행 하였다.

④ Ultrasound-assisted extraction

팽화 인삼 시료와 용매간의 비율을 1:20으로 하여 POWER SONIC 410 (40Hz, Hwashin TECH, Korea.)으로 40분간 추출을 진행 하였다.

⑤ Pulsed Electric Field extraction

팽화 인삼을 분말화 하여 continuous식의 Pulsed Electric Field (ELCRACK-HVP5, DIL,Germany.)를 이용하여 14.7L/hr의 유속으로 18.5kV/cm 의 전기장을 걸어 추출을 진행 하였다.

(다) 추출 수율

팽화 인삼을 추출한 후 Kimble-filtering flask에 funnel을 장착하고 여과지(Whatman No.2)를 사용하여 추출물을 2번 여과한 뒤, 여과 액의 총 양을 측정한 후 여과 액 1g 을 취하여 105°C dry oven에서 overnight 하여 건조시킨 다음, 그 무게를 통해 1g의 여과 액에 대한 고형분 함량을 측정하였다. 측정된 고형분 함량을 바탕으로 총 추출액의 고형분 함량을 측정하였으며, 원 시료에 대한 총 추출 액의 고형분 함량을 백분율로 추출 수율을 계산하였다.

$$\text{Extraction yield (\%)} = \frac{\text{Weight of solid extracted}}{\text{Weight of dried ginseng}} \times 100$$

(라) 조 사포닌

시료의 사포닌 함량은 식품 공전에 따라 다음과 같은 방법으로 측정하였다. 팽화 인삼을 상기의 추출과 동일한 조건에서 추출물을 제조한 뒤, 빈 수기에 추출물을 넣고 시료의 최종 고형분이 2g이 되도록 농축하였다. 농축된 시료 2g을 증류수 60ml에 녹여 분액 깔대기에 붓고 diethyl ether 60ml을 더한 다음 시료가 골고루 섞이도록 잘 흔들어준 후 물 층과 에테르층으로 분리 될 때까지 방치 시켰다. 분리된 에테르층은 버리고 남아있는 물 층에 다시 수포화 부탄올 60ml을 더하여 다시 잘 흔들어 준 후 분리 될 때까지 방치 시켰다. 분리된 수포화 부탄올 층은 따로 모아놓고 물 층에 다시 수포화 부탄올을 붓는 과정을 3번 반복하였다. 분리된 수포화 부탄올에 증류수 60ml를 넣고 잘 흔들어 준 후 다시 분리 될 때까지 방치시킨 후 물 층만 제거하여 주었다. 이렇게 사포닌 성분을 수포화 부탄올로 이행시킨 후, rotary vacuum evaporator (BÜCHI rotavapor R-124, BÜCHI water bath B-481,Switzerland)를 사용하여 미리 항량된 수기에 넣고 감압농축 하였다. 감압 농축 후 dry oven에서 2시간 건조 항량시킨

후 무게를 측정하여 조 사포닌 함량을 측정하였다.

$$\text{조사포닌 (mg/g ginseng)} = \frac{W_1 - W_2}{W_3} \times \frac{A}{B}$$

- * W₁:수포화 부탄올층을 농축 건조한 후의 수기의 무게(mg)
- * W₂:항량으로 한 빈 수기의 무게(mg)
- * W₃:초기 팽화인삼의 무게(g)
- * A : 농축액의 총 무게(g)
- * B : 농축액 시료의 채취량(g)

(마) Ginsenoside 함량 측정

사포닌의 분리 및 정량은 상기의 추출과 동일한 조건에서 추출물을 제조하고, 추출물은 상기의 수포화 부탄올법에 의거하여 n-butanol층으로 이행된 사포닌을 분리·농축시켜 조 사포닌으로 하였다. Ginsenoside 함량은 조 사포닌을 HPLC grade 메탄올에 용해한 후 Millipore filter (pore size 0.45 μm)로 여과한 후 HPLC를 이용하여 분석하였다. 본 실험에 사용된 HPLC 장비와 조건은 Table 19와 같다.

Table 19. HPLC conditions for ginsenoside analysis.

HPLC	Futecs NS 3000i system
Column	Supelco Discovery C18 (4.6mm X 250mm)
Detector	UV detector (203nm)
Flow rate	1.6ml/min
Gradient elution	Water (solvent A), Acetonitrile (solvent B) 0-5min: A-B(85:15, v/v) ,5-17min: A-B(80:20, v/v) 17-57min: A-B(61:39, v/v), 57-70min: A-B(52:48, v/v), 70-80min: A-B(30:70, v/v), 80-82min: A-B(10:90, v/v) 82-92min: A-B(10:90, v/v) 92-94min: A-B(85:15, v/v) 94-110min: A-B(85:15, v/v)

(바) 통계분석

모든 실험은 3회 반복 측정한 다음, 통계처리 프로그램인 SAS (Statistical analysis program)을 이용하여 5% 유의 수준에서 평균값과 표준편차 그리고 Duncan's multiple range test로 평균간의 다중비교를 실시하였다.

(2) 결과 및 고찰

① 팽화 인삼의 초고압 추출 조건 최적화

㉔ 반응표면분석법(Response Surface Methodology)에 의한 초고압 추출 및 최적화 실험 설계

초고압 추출 공정의 최적화를 위해, 추출을 위한 용매의 농도 및 용질과 용매간의 비율에 따른 요인 인자는 선행 실험 추출 용매 농도에 따른 초고압 추출 및 시료와 추출 용매 간 비율에 따른 초고압 추출법을 통해 얻은 결과로써 고정하였다.

팽화 인삼의 초고압 추출 공정을 통해 추출 수율과 조 사포닌 함량에 대한 적용 압력과 처리 시간이 미치는 영향을 알아보고, 최적의 추출 조건을 설정하기 위하여 압력과 시간을 독립 변수로 하여 최적의 반응 조건을 도출해 내기 위해 RSM 을 통하여 9가지의 실험 조건이 제시되었으며, 중심점을 총 3반복 하여 총 11가지의 조건으로 실험을 진행 한 결과는 Table 20 과 같다. 부호화된 값(coded value) 중 (1, 1), 즉 실제값(uncoded value)의 450MPa, 15min 에서 가장 높은 추출 수율 및 조 사포닌 양을 얻은 반면, (-1, -1)의 부호화된 값인 200MPa 의 압력에서 5min 의 시간 동안 추출을 진행 하였을 때 가장 낮은 추출 수율 및 조 사포닌 양을 얻었다.

Table 20. Central composite design and responses of dependent variables for ultra high press extraction conditions to independent variables.

Exp. No.	Coded levels of variables		Responses	
	X ₁ (Pressure)	X ₂ (Time)	Y ₁ (Extraction Yield, %)	Y ₂ (Crude saponin contents, mg/g)
1	-1	-1	11.93 ^h	6.47 ^f
2	1	-1	18.73 ^{de}	8.88 ^c
3	-1.414	0	18.6 ^{de}	9.22 ^{de}
4	-1	1	17.07 ^f	13.03 ^b
5	1.414	0	19.47 ^{cd}	9.27 ^{de}
6	0	0	20.07 ^{bc}	10.95 ^c
7	0	0	20.53 ^b	9.1 ^{de}
8	1	1	21.67 ^a	14.57 ^a
9	0	-1.414	13.53 ^g	6.88 ^g
10	0	1.414	19.73 ^{bc}	10.59 ^{cd}
11	0	0	18.33 ^c	9.27 ^{de}

㉕ 최적화 된 초고압 추출 조건의 반응 표면 모델 식(Response Surface Model Equation)

실험 결과 ㉔ 반응표면분석법(Response Surface Methodology)에 의한 초고압 추출 및 최적화 실험 설계를 토대로 최적화 된 실험 조건이 제시되었으며, 표 3 은 종속 변수 Y₁, Y₂에 대한

반응 표면 모델 식을 나타낸 것이다. 모델 식에서 볼 수 있듯이 추출 수율에 있어서 적용 압력의 상수는 1.58 이고, 처리 시간의 상수는 2.21 로 나타났다. 따라서 압력보다는 시간에 약간 더 의존적으로 추출 수율이 반응 한다는 것을 알 수 있었다.

조사포닌 함량에 있어서는 적용 압력과 처리 시간의 상수가 약간 더 큰 차이를 보였는데, 적용 압력의 상수는 0.64 이고 처리 시간의 상수는 2.32 로 나타났으며 이는 조사포닌의 함량을 얻는데 있어서 시간의 영향에 특히 더 의존적이라는 것을 확인 할 수 있었다.

계수와 유의성을 나타낸 결과는 Table 21과 같고, 모델 식의 계수들을 살펴 본 결과 추출 수율과 조사포닌 양을 얻는 데에 있어, 추출 시 적용한 압력에 따른 영향보다는 추출을 위한 반응 시간에 따른 영향에 대해 더욱 의존적인 반응을 보임을 확인할 수 있었다. 독립 변수로 제시된 압력(X_1)과 시간(X_2)이 각각 독립적으로 작용하는 linear 모델이 선정 되었으며, p-value 가 5% 이내에서 유의성을 보여 모델의 적합성이 인정되었다.

Table 21. Analysis of selected models and regressions using polynomial equations for the response to different extraction conditions.

Responses	Model	p-value	Equation in terms of coded factors
Y_1	Linear	0.0184	$Y_{EY} = 18.15 + 1.58X_1 + 2.21X_2$
Y_2	Linear	0.0105	$Y_{CS} = 9.94 + 0.64X_1 + 2.32X_2$

X_1 : Pressure, X_2 : Time

Y_1 : Extraction yield, Y_2 : Crude saponin content

㉔ 최적의 추출 수율을 위한 초고압 추출 조건 예측치

독립 변수(Dependent variables) 인 적용 압력과 시간을 범위 내로 하여 모델화에 의해 결정된 반응식을 시용함에 따라 종속 변수(Independent variables)인 추출 수율에 대해 만족하는 최적의 수치점(numerical solution)을 예측하였다.

추출 수율(Y_1)에 대해 통계적으로 산출된 독립 변수의 실제 값(uncoded value)은 적용 압력(X_1)이 446.46MPa, 처리 시간(X_2)은 14.84min 이 최적의 조건으로 도출 되었으며(Table 22), 실험의 적합성을 나타내는 desirability가 1.000 인 점이 최적 점으로 선정되었다. 독립 변수인 압력과 시간이 추출 수율(Y_1 , %)에 미치는 영향에 대한 반응 표면 분석 결과는 Fig. 15에 나타났다. 적용 압력과 처리 시간이 증가함에 따라 추출 수율 또한 대체적으로 증가하는 경향을

나타냈고 앞서 각각의 독립 변수는 서로 상호 작용이 없이 독립적으로 작용함을 모델 식을 통해 확인 한 바 있다. 추가적으로 추출 수율에 대해 적용 압력보다는 처리 시간에 약간 더 영향을 받는 것을 확인할 수 있었다.

Table 22. Optimum extraction condition on extraction yield of constraint values and predicted score of responses.

Constraints name	Goal	Numerical optimization solution
Pressure	is in range	446.46 MPa
Time	is in range	14.84 min
Extraction yield	maximize	21.72%
Desirability		1.000

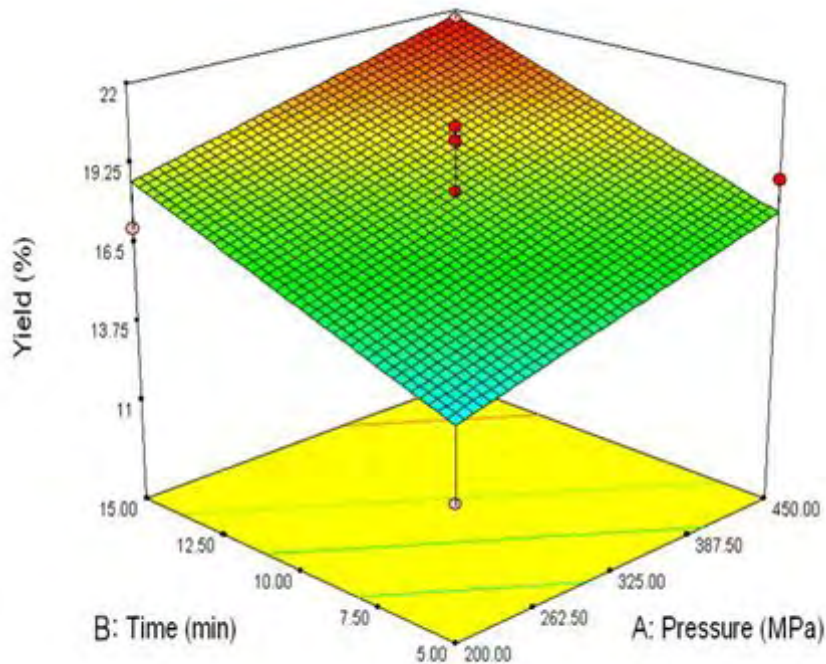


Fig. 15. Response surface for extraction yield of puffed ginseng depending on pressure and time for ultra high press extraction.

㉔ 최적의 조 사포닌 함량을 위한 초고압 추출 조건 예측치

독립 변수인 적용 압력과 시간을 범위 내로 하여 모델화에 의해 결정된 반응식을 시용함에 따라 종속 변수인 조 사포닌 함량에 대해 만족하는 최적의 수치점(numerical solution)을 예측

하였다.

조 사포닌 함량(Y_2)에 대해 통계적으로 산출된 독립변수의 실제 값(uncoded value)은 적용 압력(X_1)이 450MPa, 처리 시간(X_2)은 15min 일 때가 최적 조건으로 제시되었으며(Table 23), 실험의 적합성을 나타내는 desirability가 0.700 인 점이 최적 점으로 선정되었다. 각 독립 변수가 조 사포닌 함량(Y_2 ,mg/g)에 미치는 영향에 대한 반응 표면 분석 결과는 Fig. 16에 나타났다. 적용 압력에 대한 영향도 존재 하지만 시간 보다는 그 의존도가 낮아, 처리 시간에 따른 영향에 대해 반응 요인이 더 크게 의존하는 것을 확인할 수 있었고 추출 수율의 최적화에서와 마찬가지로, 각각의 독립 변수는 서로 상호 작용이 없이 독립적으로 기여함을 모델 식을 통해 확인 한 바 있다.

Table 23. Optimum extraction condition on crude saponin contents of constraint values and predicted score of responses.

Constraints name	Goal	Numerical optimization solution
Pressure	is in range	450 MPa
Time	is in range	15 min
Crude saponin contents	maximize	12.90mg/g
Desirability		0.700

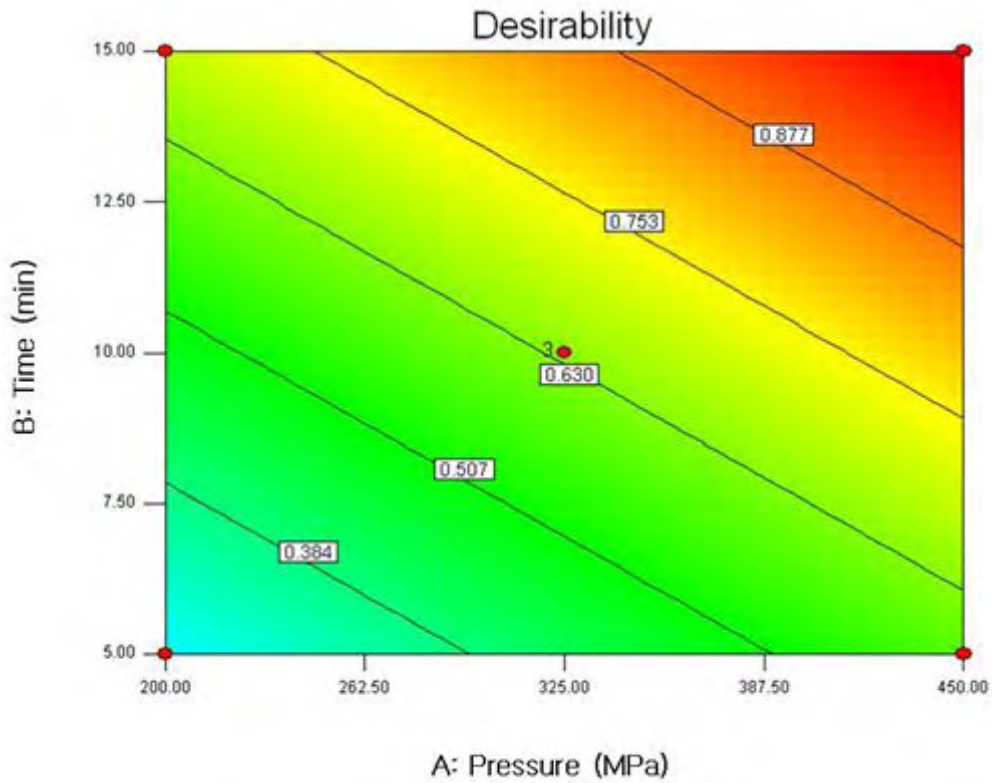


Fig. 16. Contour plot of desirability of the optimum condition of extraction yield with pressure and time

② 추출 수율과 조 사포닌 함량을 동시에 고려한 최적 초고압 추출 조건 예측치

독립 변수에 대한 모든 종속 변수의 최대화를 위한 최적 조건에 대해 통계적으로 산출된 독립변수의 실제 최적값(uncoded value)은 반응 압력(X_1)이 450MPa, 반응 시간(X_2)은 15min 일 때로 나타났으며(Table 24), 제시된 최적 조건의 desirability는 다음의 그래프로 나타낼 수 있다(Fig. 17).

Table 24. Optimum constraint values using numerical optimization method.

Constraints name	Goal	Numerical optimization solution
Pressure	is in range	450 MPa
Time	is in range	15 min
Extraction yield	maximize	21.84%
Crude saponin contents	maximize	12.90mg/g
Desirability		0.837

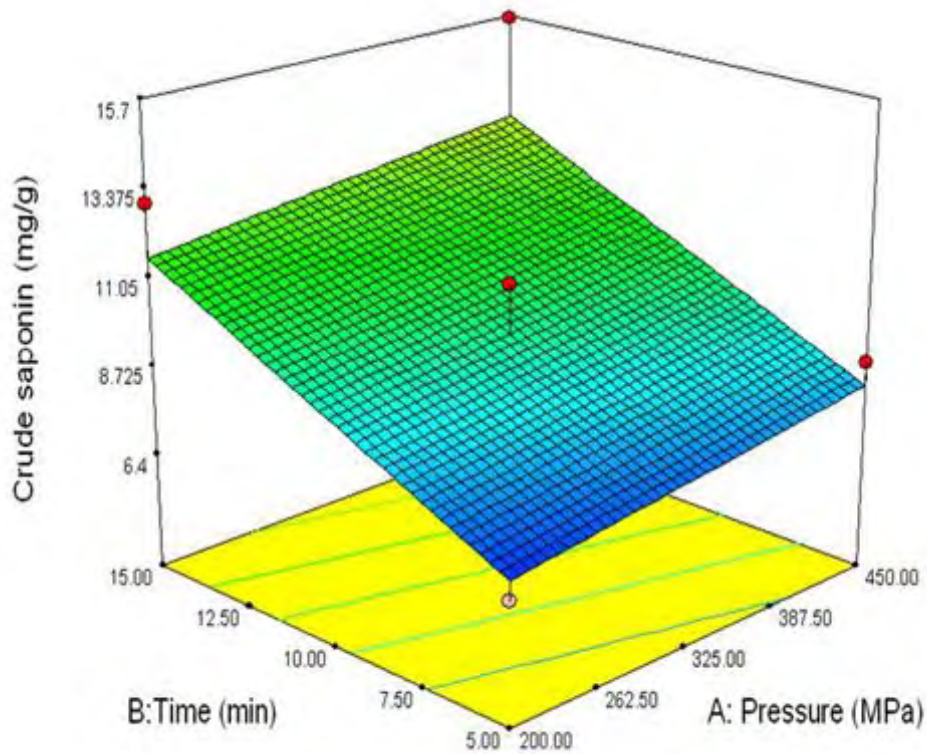


Fig. 17. Response surface for crude saponin content of puffed ginseng depending on press and time for ultra high press extraction.

③ 최적화 된 조건의 검증

제시된 모델 조건을 검증하기 위하여 설정된 최적 조건을 이용해 실제 팽화 인삼의 초고압 추출 조건 실증실험을 실시한 결과 추출 수율은 22.67 ± 1.25 %로 나타났고, 조 사포닌 함량은 14.57 ± 0.69 mg/g 으로 검증되어, 통계적으로 예측된 결과와 유사하였으며, 95% 신뢰구간에도 포함됨을 확인할 수 있었다(Table 25). 따라서 본 실험에서 반응표면분석을 이용하여 설정한 팽화 인삼을 초고압 추출할 때의 최적 조건 설정이 유효함을 증명하였다.

Table 25. Validating tests of the optimum condition.

	Constraints name	Verification data	95 % Confidence Interval
446.46 MPa 14.84 min	Extraction yield	22.67 ± 1.25 %	16.39 - 27.06 %
450 MPa 15 min	Crude saponin content	16.59 ± 0.76 mg/g	8.48 - 17.31 mg/g
	Extraction yield	23.47 ± 1.04 %	16.47 - 27.20 %

④ 팽화 인삼 추출을 위해 최적화 된 초고압 추출법과 이외의 다양한 추출법의 추출 수율 및 조 사포닌 함량 비교

팽화 인삼을 이용하여 초고압 추출을 하는데 있어 최적의 추출 조건을 확립한 후, 기존에 알려진 인삼 추출을 위한 방법들의 최적 조건들과 그 결과를 비교한 표를 Table 26에 나타냈다.

추출 수율이 가장 높게 나타난 것은 환류 추출을 이용하는 추출의 경우(28.07 ± 1.86 %)로 나타났으며, microwave에서 가장 낮게 나타났다. 다양한 추출법을 통해 최소 1min 에서 24h의 진행을 거침에 따라 추출 시간이 긴 추출법일수록 더 높은 추출 수율을 나타내는 것이 확인되었고 즉, 추출 수율은 추출 시간에 보다 많은 영향을 받는 것임을 유추해 볼 수 있었다. 조 사포닌 양이 가장 높게 나타난 것은 초고압 추출을 진행 했을 때(16.59 ± 0.76 mg/g)로 나타남을 확인할 수 있었다.

추가적으로 Table 26에 나타낸 PEFE의 추출의 경우, 추출 수율과 조 사포닌 함량이 다른 방법들에 비해 월등히 높게 나타났지만, 이는 continous식의 추출 방법 자체의 특성으로 인해 분말의 성상으로만 실험을 진행할 수 있었고 또한 고압을 다루는 PEFE의 특성상 ethanol의 농도가 비교적 높은 70% ethanol을 용매로 사용할 수 없었기 때문에, 다른 실험 방법들과 용매와 시료의 성상의 차이로 데이터의 직접적인 비교는 어려울 것으로 판단 된다. 하지만 파우더 형태의 시료로 추출을 진행한 PEFE의 추출 수율 및 조 사포닌의 함량이 다른 추출 방법들에 비해 높은 값을 나타낸 것으로 미루어 보아 추출을 함에 있어 시료의 particle size가 큰 영향을 미침을 유추해 볼 수 있었다. 인삼 절편에 비하여, 이를 분말화 한 인삼시료는 용매와 반응할 수 있는 표면적이 넓어져 추출 수율과 조 사포닌 함량을 증가 시키는데 영향을 끼쳤을 것이라고 판단된다.

Table 26. The comparison of Extraction effects on different extracting methods.

Extraction method	Solute/solvent ratio	Solvent	Pressure (MPa)	Time	Extraction yield (%)	Crude saponin (mg/g dried ginseng)
HRE			0.1	24hr	28.07±1.86 ^a	13.68±0.60 ^b
UHPE	1 : 20	70% EtOH	446.46	14.84min	22.67±1.25 ^c	15.65±1.28 ^a
			450	15min	23.47±1.04 ^{bc}	16.59±0.76 ^a
UAE			0.1	40min	26.13±0.47 ^{ab}	14.86±1.54 ^{ab}
MAE			0.1	1min	9.93±0.09 ^d	8.57±0.52 ^c
PEFE		Water	0.1	14.7L/hr	66.0±0.71	26.04±3.19

- HRE : Heat Reflux Extraction, •UHPE : Ultra High Pressure Extraction
- UAE : Ultrasound-assisted Extraction, • ME : Microwave-assisted Extraction
- PEFE : Pulsed Electric Field Extraction

(3) 결론

비열추출이 가능한 초고압과 기존의 열 추출 방법들과 비교 하였을 때, 추출 수율 면에서 환류 추출법을 통해 가장 높은 추출 수율인 28.07±1.86 %을 얻을 수 있었던 이유는 아마도 추출 시간이 타 추출 방법들과는 비교적 큰 차이로 24hr을 진행했기 때문에 나타날 수 있는 결과로 사료되며, 반면 이에 비해 약 96% 감소된 시간인 15min 으로 처리한 초고압 추출의 추출 수율은 23.7±1.86 %로 나타난 것으로 보아 기존에 인삼 추출을 위해 사용 되어 온 환류 추출법 보다 추출 소요 시간 즉 시료와 용매의 반응 시간을 고려해 보았을 때 이에 따른 시간과 비용의 경제적인 면에서 효율적인 추출 법으로 적용될 수 있다고 판단 된다. 무엇보다도 초고압을 통한 추출은 비열 추출이 가능하므로 실질적인 유효성분 파괴를 막아주는 특징이 있기 때문에 열처리로 인해 손실 될 수 있는 사포닌의 종류를 최소화 할 수 있고 또한 총 사포닌의 함량을 증가시킬 수 있는 것이 장점으로 작용할 수 있을 것이다.

조 사포닌 함량의 경우 초고압 추출 시 가장 높은 함량을 나타냈기 때문에 기존의 인삼을 위해 사용되어온 추출 법들을 대신해 이용할 가치가 충분히 있다고 사료된다.

결론적으로 팽화 인삼을 이용해 효과적인 추출 효율을 나타낼 수 있는 추출 방법은 환류 추출 뿐 아니라, 신개념 프로세스인 초고압 추출법을 통해서도 유사하거나 더 높은 효율을 나타낼 수 있음을 실험을 통해 확인 할 수 있었다.

2핵심 1세부

(1) 년도별 유전자원 수집 및 계통 육성시험

(가) 유전자원 수집

1) 2007년 유전자원 수집

자원은 주로 포천지역에서 수집하였으며, 재작지포장에서 생존한 자원도 상당수가 포함 되어 있으며 수집된 개체는 0701외 30개체가 수집되었다. 선발기준은 품종등록 기준에 준한 특성위주로 수집하였다(표1).

표 1. 2007년 수집 자원 특성표

자원 번호	수집지	특 성		
0701	포천 창수	줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : 세력왕성	기타특성 : 진한자색으로 왕성한 세력을 보임	
0702	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 윤기가 있음
		열매특성 : 송이 큼	열매색 :	
		전체특성 :	기타특성 : 잎이 토끼귀처럼 서고 윤기있음	
0703	“	줄기수 : 1	줄기색 : 1/2부위 자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 분지부위 자	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	5소 3, 4소 1, 6소 1
		전체특성:세력매우왕성	기타특성 : 세력에 비해 불임을 높음	
0704	“	줄기수 : 1	줄기색 :	큰잎수 :
		엽병색 :	작은잎수 :	엽색 :
		열매특성 : 원형	열매색 :	천풍은 부채꼴
		전체특성 : 세력왕성	기타특성 : 천풍에서 재선발	
0705	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 6
		엽병색 : 자	작은잎수 : 30	엽색 :
		열매특성 : 송이매우큼	열매색 :	
		전체특성 :	기타특성 : 열매송이모양이 반원형으로 매우큼	
0706	“	줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 : 6
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 26	엽색 :
		열매특성 : 송이 큼	열매색 :	
		전체특성 : 세력왕성	기타특성 : 진한자색, 1소엽 장엽	
0707	“	줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 :
		엽병색 : 진자	작은잎수 :	엽색 :
		열매특성 : 송이 큼	열매색 :	
		전체특성 : 세력왕성	기타특성 : 진자색으로 잎이 안으로 오프라둠	
0708	“	줄기수 : 1	줄기색 : 기저부위 자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 천풍과 같음	작은잎수 : 25	엽특성 : 광엽형
		열매특성 :	열매색 : 적색	
		전체특성 :	기타특성 : 천풍과 거의 같으나 과색이 적색	
0709	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 4
		엽병색 : 약진자	작은잎수 : 23	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	5소 1, 6소 3

		전체특성 :	기타특성 : 중앙소엽이 옆으로 뒤집히는 모양	
0710	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 자	작은잎수 : 여러모양	엽색 :
		잎모양 : 1측엽과 2측엽이 붙은 모양 1, 1측엽이 원형과 가위손 모양 2, 한쪽에 2개의 가위손 모양과 한쪽은 원형 1, 양쪽에 가위손모양잎1개와 원형 1개씩 1		
		전체특성 :	기타특성 : 잎모양에 가위손 모양잎이 많음	
0711	“	줄기수 : 1	줄기색 : 자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 진자(9)	작은잎수 : 24	엽색 :
		열매특성 : 원형	열매색 :	5소 4, 4소 1
		전체특성 :	기타특성 : 엽이 뒤집어지는 형	
0712	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 진자(7)	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 : 원형	열매색 :	
		전체특성 :	기타특성 : 엽이 뒤집어지는 형	
0713	“	줄기수 : 1	줄기색 : 자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :	기타특성 : 꽃송이가 7개 방사형에 중앙 송이가 있는 형태. 중앙송이는 반점병으로 고사	
		전체특성 :		
0714	부여 구룡	줄기수 : 1	줄기색 : 자색	큰잎수 : 5
		엽병색 : 연자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹색
		열매특성 :	열매색 : 주황	
		전체특성 :	기타특성 : 천풍과 자경의 중간 과색	
0715	포천 창수	줄기수 :	줄기색 :	큰잎수 :
		엽병색 :	작은잎수 :	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 :	기타특성 : 연한 핑크빛 열매색	
0716	“	줄기수 : 1	줄기색 : 자	큰잎수 : 6
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 30	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 :	기타특성 : 큰잎이 수평적으로 벌어짐	
0717	포천 호병골 (재작지)	줄기수 : 1	줄기색 : 자	큰잎수 : 7
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 31	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 :	기타특성 : 많은 장엽, 적은 소엽	
0718	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 6
		엽병색 : 자	작은잎수 : 26	엽색 :
		열매특성 :송이 매우 큼	열매색 :	
		전체특성 : 세력 왕성	기타특성 : 세력이 왕성	
0719	“	줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	기부에서 소엽병 진자
		전체특성 :	기타특성 : 잎이 뒤집어지고, 엽병이 김	
0720	“	줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 : 4
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 : 꽃대 길음	열매색 :	기부부터 소엽병 진자
		전체특성 :	기타특성 : 엽병이 길고 수평, 적은장엽많은소엽	
0721	“	줄기수 : 1	줄기색 : 녹색	큰잎수 : 6
		엽병색 :분지부위 자색	작은잎수 :	엽색 :
		열매특성 : 송이 큼	열매색 :	

		전체특성 :	기타특성 :	
0722	“	줄기수 : 1	줄기색 :	큰잎수 : 5
		엽병색 :	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 :	기타특성 : 소엽에 양쪽 한쪽에 흑잎이 있음	
0723	“	줄기수 : 2	줄기색 : 녹색	큰잎수 : 5
		엽병색 : 분지부위 자	작은잎수 : 28	엽색 :
		열매특성 : 꽃대 김	열매색 :	
		전체특성 :	기타특성 : 엽병이길고 수평	
0724	“	줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 26	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : 고풍비슷	기타특성 : 단경으로 고풍과 비슷	
0725	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : 엽이 수평	기타특성 : 연작피해지 생존(주변 생존체 없음)	
0726	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 6
		엽병색 : 분지부위 자색	작은잎수 : 26	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : 단경 굵음	기타특성 : 엽이 거칠고 안으로 오므라들음	
0727	“	줄기수 : 2	줄기색 : 연자	큰잎수 : 3
		엽병색 : 자	작은잎수 : 20	엽색 :
		열매특성 : 원형	열매색 :	
		전체특성 :	기타특성 : 7소엽 2, 6소엽 1	
0728	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 :	기타특성 : 엽이 정갈하고 평편함	
0729	“	줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 : 3
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 13	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : 단경	기타특성 : 광내성, 기부에서 소엽병까지 진자	
0730	“	줄기수 :	줄기색 : 자색	큰잎수 : 5
		엽병색 : 연자색	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 :	기타특성 : 엽뒤집어지면서 처지는 형	
0731	포천 호병골	줄기수 : 2	줄기색 :	큰잎수 : 5
		엽병색 :	작은잎수 : 24	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 :	기타특성 : 모든 소엽기부에 양쪽으로 흑잎	

2) 2008년 유전자원 수집

고려인삼의 개체선발은 연천, 포천, 부여지역에서 수집하였으며, 북미삼 개체선발 및 유전자원 수집은 전남 해남군에서 인삼재배 농가에서 시험적으로 북미삼을 재배하고 있는 포장에서 각각 선발체는 0801 외 51개체와 Q0801 외 9개체와 포장에서 북미삼과 고려인삼이 자연교배된 개체도 3개체를 수집하였다. 선발기준은 품종등록 특성표에 준하여 수집하여 특성을 다음 표와 같이 정리하였다(표 2).

표 2. 2008 수집자원 특성표(*P. ginseng*)

자원 번호	수집지	특 성		
0801	포천	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 진자, 김	작은잎수 : 25	엽색 : 연녹
		열매특성 :	열매색 : 붉음	Y1(포천영종)
		전체특성 : - 잎이 안쪽으로 오므라 듬 - 엽병은 90도 각도 벌어짐 - 화병 매우길고 열매는 듬성		
0802	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 : 진자
		열매특성 : 역삼각	열매색 : 심홍	
		전체특성 : - 잎은 평면형 - 열매는 듬성		
0803	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 6
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 28	엽색 : 연녹
		열매특성 : 부채꼴	열매색 : 붉음	
		전체특성 : - 꽃대는 길고 - 잎은 평평하며 뾰뾰하며 - 엽치가 매우 작고 순함		
0804	“	줄기수 : 1	줄기색 : 기부자색	큰잎수 : 5
		엽병색 : 기부자색	작은잎수 : 25	엽색 : 연녹
		열매특성 :	열매색 : 연한핑크	
		전체특성 : - 전반적으로 천풍과 같으며 열매색만 다름		
0805	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 : 연녹
		열매특성 : 반원형	열매색 : 붉음	
		전체특성 : - 엽맥골이 깊고 안으로 오므라듬 - 제 2측엽에 가위손 잎 3/5 - 열매송이가 큼		
0806	“	줄기수 : 1	줄기색 : 자색	큰잎수 : 5
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹
		열매특성 : 부채꼴	열매색 : 붉음	
		전체특성 : - 엽주맥이 자색 - 엽맥골이 깊고 뒤집어짐 - 중앙엽과 1측엽은 긴 유선형, 2측엽은 매우작음 - 화경은 매우 길고 열매는 굵음		
0807	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 6
		엽병색 : 연자	작은잎수 : 30	엽색 : 진녹
		열매특성 :	열매색 : 붉은	
		전체특성 : - 잎은 광엽형으로 끝브른에서 뒤집어짐 - 화경은 세력에 비해 짧고 - 열매는 불임이 많고 굵음		
0808	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : - 소엽병 부위의 엽치는 크고 거치나 잎 끝으로 갈수록 순함 - 엽병은 짧고 중앙소엽병은 긴편임		

		- 불임종자가 많아 임신종자는 적음		
0809	“	줄기수 : 1	줄기색 :아주연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 연자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹
		열매특성 :부채꼴	열매색 : 붉음	
		전체특성 : - 엽병이 90도 각도로 벌어짐 - 앞은 오므라들고 뒤틀림 - 화경은 매우 길며 열매수는 적음		
0810	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 자색	작은잎수 : 28	엽색 : 녹
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : - 엽병과 화경은 짧고 - 앞은 빠뻓하게 평편하며 - 2측엽에 2/5개의 턱엽이 있고 - 그중 1매는 가위손 모양		
0811	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 자색	작은잎수 : 25	엽색 : 진녹
		열매특성 :역삼각	열매색 : 심홍색	
		전체특성 : - 중앙엽과 1측엽은 유선형으로 쪽 뺏고 - 엽맥골이 깊고 - 모든 엽이 뒤집어 지는 형 - 화경은 세력에 비해 짧고 열매수는 적음		
0812	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 진녹
		열매특성 : 역삼	열매색 : 붉은	Y12
		전체특성 : - 단간이며 화경은 길고 - 이병주 집단에서 정상 - 앞은 빠뻓하고 평편하며 - 길지 않은 유선형으로 엽맥골은 깊음		
0813	“	줄기수 : 1	줄기색 :아주연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 연자	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :부채꼴	열매색 : 붉음	
		전체특성 : - 엽병 분지부위 진자 소엽병분지 진자 - 엽은 광엽형이고 크고 수세강함 - 화경은 짧고 열매는 크고 숫자는 적음		
0814	“	줄기수 : 1	줄기색 : 자색	큰잎수 : 5
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 많음	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : - 2측엽이 작고 턱엽이 여러개 달린 총생형 - 화경은 짧고 종자량이 많지 않음		
0815	“	줄기수 : 1	줄기색 :천풍답음	큰잎수 : 5
		엽병색 :청풍답음	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :	열매색 : 붉음	
		전체특성 :		
0816	“	줄기수 : 1	줄기색 : 자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 : 진녹
		열매특성 : 역삼	열매색 :	
		전체특성 : - 2측엽도 크고 둥글고 - 엽맥골은 깊고 화경 짧음		
0817	“	줄기수 : 1	줄기색 :아주연자	큰잎수 : 6
		엽병색 : 연자	작은잎수 : 27	엽색 : 연녹

		열매특성 : 원형	열매색 : 붉음	
		전체특성 : - 엽병과 화경이 길		
0818	“	줄기수 : 1	줄기색 :하진상연	큰잎수 : 6
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 38	엽색 :
		열매특성 : 역삼	열매색 :	Y18
		전체특성 : - 엽이 좌편진형 - 소엽수가 많음		
0819	화천	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 분지자	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :부채꼴	열매색 :	H1
		전체특성 : - 엽병과 소엽병부위 자색 - 수세왕성 - 열매송이 크고 꽃대길이 약간 길음		
0820	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 분지자	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :부채꼴	열매색 :	
		전체특성 : - 엽병과 소엽병부위 자색 - 수세왕성 - 열매송이 크고 꽃대길이 약간 길음 - 엽이 처짐		
0821	“	줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :	열매색 : 심홍	
		전체특성 : - 고풍과 비슷 - 줄기, 엽병, 엽맥까지 진한 자색		
0822	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 자색	작은잎수 : 25	엽색 : 진녹
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : - 엽모양이 특성		
0823	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : - 잎은 가는 세엽 유선형 - 열매송이 크고 길음		
0824	“	줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : - 줄기, 엽병, 소엽병 진한 자색 - 꽃대 녹색 - 잎이 크고 길며 열매송이는 매우 큼		
0825	“	줄기수 : 1	줄기색 :아주연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 자색	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : - 꽃대 길고 불임 열매가 많음 - 중앙엽과 1측엽 유선형이며 뒤로 처지며 안으로 오므라들고, 2측엽 거치가 굽고		
0826	“	줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	

		전체특성 : - 줄기와 꽃대 단간형 - 잎이 활모양으로 휘어지고 뒤집어짐 - 종자는 굵음		
0827	“	줄기수 : 1	줄기색 : 자색	큰잎수 : 5
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : - 소엽병도 진한 자색 - 줄기가 길고 수세 왕성 - 잎은 광엽형으로 넓고 짧음 - 열매송이 매우 큼		
0828	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 자색	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	H10
		전체특성 : - 소엽병도 자색 - 잎은 광엽 - 소엽병에서 끝부분에서부터 꺾임으로 뒤로 젖혀짐 모양		
0829	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 7
		엽병색 : 연자	작은잎수 :	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	포천 영중
		전체특성 : 연풍모양이나 엽처짐 모양		
0830	포천	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 자색	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 :		
0831	“	줄기수 : 1	줄기색 : 자색	큰잎수 : 5
		엽병색 : 연자	작은잎수 : 30	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : - 열매송이 매우 큼 - 연풍 변종으로 턱엽은 없음		
0832	“	줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : - 진한 자색 세력왕성		
0833	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 윤기가 있음
		열매특성 : 송이 큼	열매색 :	
		전체특성 : - 엽면에 윤기있음		
0834	“	줄기수 : 1	줄기색 : 1/2부위 자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 분지부위 자	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : 세력매우왕성		
0835	“	줄기수 : 1	줄기색 :	큰잎수 :
		엽병색 :	작은잎수 :	엽색 :
		열매특성 : 원형	열매색 :	
		전체특성 : 세력왕성		
0836	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 6
		엽병색 : 자	작은잎수 : 30	엽색 :
		열매특성 : 송이매우큼	열매색 :	
		전체특성 : 열매송이모양이 반원형으로 매우큼		

0837	“	줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 : 6
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 26	엽색 :
		열매특성 : 송이 큼	열매색 :	
		전체특성 : 세력왕성		
0838	“	줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 :
		엽병색 : 진자	작은잎수 :	엽색 :
		열매특성 : 송이 큼	열매색 :	
		전체특성 : - 세력왕성 - 진자색으로 잎이 안으로 오므라듐		
0839	“	줄기수 : 1	줄기색 : 기저부위 자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 천풍과같음	작은잎수 : 25	엽특성 : 광엽형
		열매특성 :	열매색 : 적색	
		전체특성 : - 천풍과 거의 같으나 과색이 적색		
0840	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 4
		엽병색 : 약진자	작은잎수 : 23	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	5소 1, 6소 3
		전체특성 : - 중앙소엽이 옆으로 뒤집히는 모양		
0841	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 자	작은잎수 : 여러모양	엽색 :
		잎모양 : - 잎 모양이 특성이 있음		
		전체특성 : - 잎모양에 가위손 모양잎이 많음		
0843	부여	줄기수 : 1	줄기색 : 천풍담	큰잎수 : 5
		엽병색 :	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 : 원형	열매색 : 붉음	
		전체특성 : - 천풍을 닮았으며 - 턱잎이 있고 열매송이는 원형		
0844	“	줄기수 : 1	줄기색 : 천풍담	큰잎수 : 5
		엽병색 : 분지자	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :	열매색 : 붉음	
		전체특성 : - 수세가 강하고 - 천풍을 닮음		
0845	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 자색	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :	열매색 : 붉음	
		전체특성 : - 직립형으로 곧은 수세 - 2측엽에 가위손 모양잎과 턱엽이 있고 - 짧은 꽃대		
0846	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 :	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : - 줄기는 짧고 엽병은 매우 김 - 엽은 세엽형으로 긴 유선형 - 꽃대는 중간		
0847	“	줄기수 : 1	줄기색 : 녹색	큰잎수 : 5
		엽병색 : 녹색	작은잎수 :	엽색 :
		열매특성 :	열매색 : 핑크	
		전체특성 : - 황숙종으로 열매는 핑크색임		
0848		줄기수 : 1	줄기색 :	큰잎수 : 5

		엽병색 :	작은잎수 : 30	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : - 후주에 있으면서 직립형 - 각 장엽은 턱잎이 있는 6매 소엽 - 잎에 웨이브가 심하고 면이 쭈글쭈글 함		
0849	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 6
		엽병색 : 자색	작은잎수 : 28	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : - 엽에는 깨알모양 황증이 심하나 세력왕성 - 엽은 광엽형		
0850	“	줄기수 : 2	줄기색 :	큰잎수 : 6
		엽병색 :	작은잎수 : 28	엽색 :
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : - 두줄기이며 - 옆에 윤기가 있음		
0851	“	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹색
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : - 엽과 엽병이 일직선으로 45도로 곧게 섬 - 열매가 굵음		
0852		줄기수 : 1	줄기색 : 천풍담음	큰잎수 : 5
		엽병색 : 천풍담	작은잎수 : 25	엽색 :
		열매특성 : 원형	열매색 : 붉음	
		전체특성 : - 수세가 왕성 천풍처럼 분지부위만 자색 - 열매는 붉으며 원형		

3) 2009년도 유전자원 수집

고려인삼의 개체선발은 화천, 부여, 영암지역에서 수집하였으며, 북미삼 개체선발 및 유전자원 수집은 전남 해남군에서 인삼재배 농가에서 시험적으로 북미삼을 재배하고 있는 포장에서 각각 선발체는 0901 외 31개체와 Q0901 외 13개체를 수집하였다. 선발기준은 품종등록 특성표에 준하여 수집하여 특성을 다음 표와 같이 정리하였다(표 3).

표 3. 2009년 수집자원 특성표(*P. ginseng*)

0901		줄기수 : 1	줄기색 : 자	큰잎수 : 6
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 29	엽색 : 녹
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : 엽은 유선형 윤기가 있고 안으로 오므라 듦		
0902		줄기수 : 3	줄기색 : 연자	큰잎수 : 4
		엽병색 : 자	작은잎수 : 26	엽색 : 녹
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : 엽 장방형, 왜소형 소엽 6매-2, 7매-2		
0903		줄기수 : 1	줄기색 : 자	큰잎수 : 5
		엽병색 :	작은잎수 : 25	엽색 : 진녹
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : 준 왜소형		
0904		줄기수 : 1	줄기색 : 녹	큰잎수 : 4
		엽병색 : 기부연자	작은잎수 : 25	엽색 : 연녹
		열매특성 :	열매색 :	

		전체특성 : - 엽이 좁고 주름이 많음, 엽병 매우 김 - 중앙엽 및 1측엽은 식물체에 비해 크고 2측엽은 총생		
0905	줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 : 5	
	엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 : 진녹	
	열매특성 :	열매색 :		
	전체특성 : 왜소형으로 진한 자색			
0906	줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 : 5	
	엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹	
	열매특성 :	열매색 :		
	전체특성 : 장방형으로 작으며 평평하며, 윤곽이 뚜렷함			
0907	줄기수 : 1	줄기색 : 녹	큰잎수 : 5	
	엽병색 : 기저연자	작은잎수 : 25	엽색 : 연녹	
	열매특성 :	열매색 :		
	전체특성 : -천풍과 비슷하나 엽은 반대로 뒤집어지는 둥근 장방형 - 제 2측엽이 둥근형			
0908	줄기수 : 4	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5	
	엽병색 : 연자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹	
	열매특성 : 원형	열매색 :		
	전체특성 : -엽모양은 연풍이나 소엽형으로 윤기있는 연녹색 - 전반적으로 왜생형이며 4줄기			
0909	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 4	
	엽병색 : 진자	작은잎수 : 24	엽색 : 녹	
	열매특성 :	열매색 :		
	전체특성 : -각 장엽에 턱엽이 있고 잎이 거칠거칠함			
0910	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5	
	엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹	
	열매특성 :	열매색 :		
	전체특성 : 엽이 평평하며 수평형으로 5엽이 분명			
0911	줄기수 : 1	줄기색 : 녹	큰잎수 : 5	
	엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹	
	열매특성 :	열매색 :		
	전체특성 : 전체적으로 잎이 크며 45도로 쪽 뺏고, 천풍처럼 안으로 오므라들며 가장자리 wave가 1~2개 있음			
0912	줄기수 : 1	줄기색 : 연녹	큰잎수 : 5	
	엽병색 : 천풍뒹뒹	작은잎수 : 25	엽색 : 연녹	
	열매특성 :	열매색 :		
	전체특성 : 45각도로 섰으며, 연녹색으로 엽치가 거칠고 가장자리 wave가 있음			
0913	줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 : 5	
	엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 : 진녹	
	열매특성 :	열매색 :		
	전체특성 : 엽과 줄기 모두 진한 자색 및 녹색을 띠고 있어 전체적으로 강한 모양임			
0914	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5	
	엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 : 연녹	
	열매특성 :	열매색 :		
	전체특성 : 세엽형 유선형으로 날씬한 형의 수평형임			
0915	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5	
	엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹	
	열매특성 :	열매색 :		
	전체특성 : 잎에 윤기가 있으며 장방형으며, 엽병과 소엽병이 길다			
0916	줄기수 : 1	줄기색 : 녹	큰잎수 : 6	

		엽병색 : 천풍담음	작은잎수 : 30	엽색 : 녹
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : 왜소형이며 외대 연풍 모양임		
0917		줄기수 : 1	줄기색 : 자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : 제2측엽에서 총생형이며 수평형으로 뾰족한 모양임		
0918		줄기수 : 1	줄기색 : 자	큰잎수 : 6
		엽병색 : 자	작은잎수 : 30	엽색 : 녹
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : 화경이 길며 2층구조이며 잎은 평평한 유선형임		
0919		줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 : 6
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 30	엽색 : 연녹
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : 장엽마다 5소엽과 1잎의 턱엽이 있음		
0920		줄기수 : 1	줄기색 : 자	큰잎수 : 6
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 30	엽색 : 녹
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : 세력이 왕성하고 열매송이가 원형이며 중앙소엽과 제 1측엽의 발달은 뚜렷한 반면 제2측엽은 매우 작음		
0921		줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 : 진녹
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : 꽃대가 길고 원형임		
0922		줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 진녹
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : 엽병이 비교적 길고 열매송이가 큼		
0923		줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 : 진녹
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : 세력이 매우 왕성하고 꽃대가 길고 열매송이는 부채꼴, 엽은 뒤집어짐		
0924		줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 : 연녹
		열매특성 :	열매색 : 붉음	
		전체특성 : 천풍모양이며 세력이 좋고 열매송이는 이단형임		
0925		줄기수 : 1	줄기색 : 자	큰잎수 : 4
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 20	엽색 : 녹
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : 엽이 아주 평열하며 작고 5엽이 분명함		
0926		줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 : 5
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹
		열매특성 :	열매색 : 등황숙	
		전체특성 : 꽃대길이와 줄기길이가 같은 단간형으로		
0927		줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 : 6
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 30	엽색 : 녹
		열매특성 :	열매색 :	
		전체특성 : 세력이 왕성하고 열매송이는 2단형으로 매우 큼		
0928		줄기수 : 1	줄기색 : 자	큰잎수 : 6
		엽병색 : 진자	작은잎수 : 30	엽색 :
		열매특성 :	열매색 : 등황숙	
		전체특성 : 여러요소가 천풍과 비슷함		

0929	줄기수 : 1	줄기색 : 자	큰잎수 : 4
	엽병색 : 자	작은잎수 : 23	엽색 : 녹
	열매특성 :	열매색 :	
	전체특성 : 단간형으로 엽병이 짝퍼진 수평형이며 1장엽이 8소엽		
0930	줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 : 4
	엽병색 : 진자	작은잎수 : 20	엽색 : 진녹
	열매특성 :	열매색 :	
	전체특성 : 엽이 크고 세력이 왕성 엽 하단부 거치가 거칠음		
0931	줄기수 : 1	줄기색 : 자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 : 진녹
	열매특성 : 숙기늦음	열매색 :	
	전체특성 : 엽표면에 주름이 많고 엽장이 짧은 장방형, 늦음 숙기		
0932	줄기수 : 1	줄기색 : 자	큰잎수 : 6
	엽병색 : 진자	작은잎수 : 30	엽색 : 녹
	열매특성 : 조숙	열매색 :	
	전체특성 :		

4) 2010년도 유전자원 개체 수집

고려인삼의 유전자원 및 개체선발은 포천지역을 중심으로 선발개체는 1001외 50개체를 수집하였으며, 북미삼은 전남 영암군 인삼재배 농가에서 시험적으로 북미삼을 재배하고 있는 포장에서 Q1001 외 14개체를 수집하였다. 선발기준은 품종등록 특성표에 준하여 수집하여 특성을 다음 표와 같이 정리하였다(표 4).

표5. 2011년 수집자원 특성표(*P. ginseng*) 수집지 : 영중 서영교 포장

1101	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 연자	작은잎수 : 23	엽색 : 연녹
	열매특성 : 이단형 일단열매x	열매색 : 적	
	전체특성 : 광엽형		
1102	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 연자	작은잎수 : 25	엽색 :
	열매특성 : 원형	열매색 : 적	
	전체특성 : 장방형		
1103	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 4
	엽병색 : 연자	작은잎수 : 20	엽색 : 녹
	열매특성 : 부채	열매색 : 적	
	전체특성 : 세력이 약함		
1104	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 연자	작은잎수 : 25	엽색 : 진녹
	열매특성 : 원형	열매색 : 적	
	전체특성 : 엽이 뒤집어지는 형		
1105	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 연자	작은잎수 : 28	엽색 : 진녹
	열매특성 : 원형	열매색 : 적	
	전체특성 : 턱엽이 있으며 장방형 엽		
1106	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 연자	작은잎수 : 29	엽색 : 연녹
	열매특성 : 부채형	열매색 : 적	
	전체특성 : 단간형이며 엽에 턱엽이 총생함		
1107	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 연자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹

	열매특성 : 부채형	열매색 : 적	
	전체특성 : 세력이 약하고 엽이 아주 평편함		
1108	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 연자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹
	열매특성 : 부채형	열매색 : 적	
	전체특성 : 엽이 뒤집어지는 형으로 세력은 중간		
1109	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 연자	작은잎수 : 25	엽색 : 연녹
	열매특성 : 부채형	열매색 : 적	
	전체특성 : 세력이 왕성함		
1110	줄기수 : 1	줄기색 : 연녹	큰잎수 : 5
	엽병색 : 진녹	작은잎수 : 25	엽색 : 연녹
	열매특성 : 역삼형	열매색 : 연적	
	전체특성 : 엽이 가는 유선형이며 소엽병이 길고 만숙형		
1111	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 연자	작은잎수 : 23	엽색 : 녹
	열매특성 : 역삼형	열매색 : 적	
	전체특성 : 세력은 약하나 수관이 좋음		

5) 2011년도 유전자원 개체 수집

고려인삼의 유전자원 및 개체선발은 포천영중지역을 중심으로 선발개체는 1101외 64개체를 수집하였으며, 북미삼은 전남지역 인삼재배 농가에서 시험적으로 북미삼을 재배하고 있는 포장에서 Q1101 외 19개체를 수집하였다. 선발기준은 품종등록 특성표에 준하여 수집하여 특성을 다음 표와 같이 정리하였다(표 5).

1112	줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 : 진녹
	열매특성 : 역삼형	열매색 : 적	
	전체특성 : 세력이 왕성하고 수관이 좋은		
1113	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 연자	작은잎수 : 25	엽색 : 연녹
	열매특성 : 원형	열매색 : 적	
	전체특성 : 엽이 장방형이고 5엽이 분명함		
1114	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 연자	작은잎수 : 25	엽색 : 연녹
	열매특성 : 부채형	열매색 : 적	
	전체특성 : 엽이 위쪽으로 뺏치는 형		
1115	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 6
	엽병색 : 자	작은잎수 : 30	엽색 : 녹
	열매특성 : 원형	열매색 :	
	전체특성 : 세력이 왕성하고 엽맥골이 깊음		
1116	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹
	열매특성 : 부채형	열매색 : 심홍	
	전체특성 : 5엽은 분명하나 엽두께가 얇음		
1117	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 자	작은잎수 : 28	엽색 : 녹

	열매특성 : 부채형	열매색 :	
	전체특성 : 세력은 약해보이나 엽세는 있음		
1118	줄기수 : 2	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 자	작은잎수 : 27	엽색 : 녹
	열매특성 : 원형	열매색 :	
	전체특성 : 세력이 왕성하고 엽이 뒤집어지는 형		
1119	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 연자	작은잎수 : 27	엽색 : 녹
	열매특성 : 부채형	열매색 :	
	전체특성 : 엽이 45각도로 퍼진 유선형		
1120	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 자	작은잎수 : 27	엽색 : 녹
	열매특성 : 부채형	열매색 : 적	
	전체특성 : 엽거치가 거칠고 엽맥이 깊음		
1121	줄기수 : 2	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 연자	작은잎수 : 29	엽색 : 녹
	열매특성 : 부채형	열매색 : 적	
	전체특성 : 세력은 약하나 엽이 길고 좁은 유선형이며 턱엽이 많음		
1122	줄기수 : 2	줄기색 : 연자	큰잎수 : 4
	엽병색 : 자	작은잎수 : 23	엽색 : 진녹
	열매특성 : 부채형	열매색 : 적	
	전체특성 : 엽이 작고 아주 평편함		

1123	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 6
	엽병색 : 자	작은잎수 : 33	엽색 : 녹
	열매특성 : 역삼형	열매색 : 적	
	전체특성 : 단간형으로 세력이 좋음 3장의 장엽에 턱엽이 있음		
1124	줄기수 : 1	줄기색 : 진자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 진자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹
	열매특성 : 역삼형	열매색 : 적	
	전체특성 : 불임종자가 많음		
1125	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 진녹
	열매특성 : 역삼형	열매색 : 적	
	전체특성 : 불임종자가 많고 엽거치가 크고 거침		
1126	줄기수 : 1	줄기색 : 기부만 연자	큰잎수 : 4
	엽병색 : 연자	작은잎수 : 20	엽색 : 녹
	열매특성 : 역삼형	열매색 :	
	전체특성 : 줄기는 길고 세력은 약함		
1127	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹
	열매특성 : 원형	열매색 : 적	
	전체특성 : 광엽형으로 엽이 뒤집어지는 형		
1128	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹
	열매특성 : 부채형	열매색 : 적	
	전체특성 : 엽이 세엽형으로 매우 길며 느러지는 형		
1129	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 6

	엽병색 : 자	작은잎수 : 30	엽색 : 녹
	열매특성 : 부채형	열매색 : 적	
	전체특성 : 광엽형으로 세력이 왕성하고 측화경이 있어 종자가 달림		
1130	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹
	열매특성 : 부채형	열매색 : 적	
	전체특성 : 유선형의 엽으로 세력왕성		
1131	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 진녹
	열매특성 : 부채형	열매색 : 적	
	전체특성 : 줄기와 엽은 크나 수세는 약해보임		
1132	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹
	열매특성 : 역삼형	열매색 : 적	
	전체특성 : 단간형으로 세력이 강함		
1133	줄기수 : 2	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 연자	작은잎수 : 25	엽색 : 진녹
	열매특성 : 부채	열매색 : 적	
	전체특성 : 엽이 복미삼처럼 조롱박형이고 세력은 약함		

1134	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 연녹
	열매특성 : 역삼형	열매색 : 연적	
	전체특성 : 단간형이고 5엽이 분명하고 수세가 강함		
1135	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹
	열매특성 : 원형	열매색 : 적	
	전체특성 : 장방형 엽으로 측엽거치가 거칠음		
1136	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 연자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹
	열매특성 : 원형	열매색 : 적	
	전체특성 : 엽이 평편하고 크며 세력이 왕성함		
1137	줄기수 : 2	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 연자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹
	열매특성 : 원형	열매색 : 적	
	전체특성 : 장간형으로 엽도 길쭉하며 세력이 약함		
1138	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 연녹
	열매특성 : 원형	열매색 : 적	
	전체특성 : 엽병이 길음		
1139	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 연녹
	열매특성 : 부채형	열매색 : 적	
	전체특성 : 엽세는 강한 형		
1140	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 연녹
	열매특성 : 역삼형	열매색 : 적	
	전체특성 : 불임종자가 많고 5엽이 분명함		
1141	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 25
	엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹
	열매특성 : 부채형	열매색 : 적	
	전체특성 : 세력은 약하나 열매송이는 매우 큼		
1142	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5

	엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 녹
	열매특성 : 부채	열매색 : 적	
	전체특성 : 엽이 뒤로 제쳐지는 형		
1143	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 5
	엽병색 : 자	작은잎수 : 25	엽색 : 진녹
	열매특성 : 원형	열매색 : 적	
	전체특성 : 엽이 평편하며 꽃대길이가 매우 김		
1144	줄기수 : 1	줄기색 : 연자	큰잎수 : 4
	엽병색 : 연자	작은잎수 : 20	엽색 : 연녹
	열매특성 : 부채형	열매색 : 적	
	전체특성 : 엽은 작으나 엽거치는 크고 거침		

1145	줄기수:1	줄기색:연자	큰잎수:6
	엽병색:자	작은잎수:30	엽색:진녹
	열매특성:부채형	열매색:적	
	전체특성:엽은장방형이고세력이 좋음		
1146	줄기수:1	줄기색:연녹	큰잎수:4
	엽병색:연자	작은잎수:18	엽색:녹
	열매특성:부채형	열매색:	
	전체특성:장간형으로엽면에주름이 많고작으며거치는 큼		
1147	줄기수:1	줄기색:연자	큰잎수:5
	엽병색:자	작은잎수:25	엽색:녹
	열매특성:부채형	열매색:적	
	전체특성:엽은작으며뒤집어지는 형으로세력은 좋음		
1148	줄기수:1	줄기색:연자	큰잎수:6
	엽병색:자	작은잎수:28	엽색:연녹
	열매특성:부	열매색:적	
	전체특성:장엽하나가엽분화가없이충생형임		
1149	줄기수:1	줄기색:연자	큰잎수:4
	엽병색:자	작은잎수:22	엽색:녹
	열매특성:부	열매색:적	
	전체특성:엽이장방형이며엽맥골이 깊음		
1150	줄기수:1	줄기색:자	큰잎수:5
	엽병색:진자	작은잎수:25	엽색:녹
	열매특성:부채형	열매색:적	
	전체특성:엽이수평적으로벌어지며5엽이분명함		
1151	줄기수:1	줄기색:연자	큰잎수:5
	엽병색:연자	작은잎수:25	엽색:녹
	열매특성:원형	열매색:적	부여에서 선발
	전체특성:6월30일에열매가익어다른것에비해초조기로익음		
1152	줄기수:1	줄기색:자	큰잎수:5
	엽병색:자	작은잎수:26	엽색:녹
	열매특성:부채형	열매색:적	
	전체특성:엽이아주평편함		
1153	줄기수:1	줄기색:자	큰잎수:5
	엽병색:자	작은잎수:25	엽색:녹
	열매특성:부채형	열매색:적	
	전체특성:엽이장방형으로세력 좋음		
1154	줄기수:1	줄기색:자	큰잎수:5
	엽병색:자	작은잎수:25	엽색:연녹
	열매특성:부채형	열매색:적	
	전체특성:엽이천풍처럼안으로오그라들며좁고길음		
1155	줄기수:1	줄기색:자	큰잎수:4

	엽병색:진자	작은잎수:20	엽색:녹
	열매특성:부채형	열매색:적	
	전체특성:단간형으로5엽이분명함		
1156	줄기수:1	줄기색:자	큰잎수:4
	엽병색:자	작은잎수:21	엽색:진녹
	열매특성:부채형	열매색:적	
	전체특성:엽이아주얇퍼진형		
1157	줄기수:1	줄기색:자	큰잎수:4
	엽병색:자	작은잎수:25	엽색:진녹
	열매특성:부채형	열매색:적	
	전체특성:엽이처지는형이며화경이매우깊		
1158	줄기수:1	줄기색:연자	큰잎수:5
	엽병색:진자	작은잎수:29	엽색:녹
	열매특성:부채형	열매색:적	
	전체특성:소엽병이짧고엽은장방형으로큼		
1159	줄기수:1	줄기색:연자	큰잎수:5
	엽병색:자	작은잎수:25	엽색:녹
	열매특성:부채꼴	열매색:적	
	전체특성:중앙소엽과1측엽크기가거의같음		
1160	줄기수:1	줄기색:연자	큰잎수:4
	엽병색:자	작은잎수:20	엽색:녹
	열매특성:부채형	열매색:적	
	전체특성:줄기에비해화경이매우깊		
1161	줄기수:1	줄기색:진자	큰잎수:5
	엽병색:진자	작은잎수:25	엽색:연녹
	열매특성:역삼형	열매색:	
	전체특성:엽이좁고긴유선형임		
1162	줄기수:1	줄기색:연자	큰잎수:5
	엽병색:연자	작은잎수:25	엽색:진녹
	열매특성:부채형	열매색:적	
	전체특성:광엽형이며엽맥골이깊음		
1163	줄기수:1	줄기색:연자	큰잎수:5
	엽병색:자	작은잎수:25	엽색:녹
	열매특성:부채형	열매색:	
	전체특성:광엽형으로뒤집어지는형으로1측엽중앙소엽크기가같음		
1164	줄기수:1	줄기색:진자	큰잎수:4
	엽병색:진자	작은잎수:20	엽색:연녹
	열매특성:부채형	열매색:적	
	전체특성:줄기엽병화경모두가진한자색을띤		
1165	줄기수:1	줄기색:연자	큰잎수:4
	엽병색:연자	작은잎수:20	엽색:녹
	열매특성:부채형	열매색:적	
	전체특성:줄기는단간형이나화경은긴편임		
2011년수집자원특성표(<i>P. quinquefolius</i>)8월19일수집지:영암김찬중포장			
Q1101	큰잎수:3		
	작은잎수:15		
	전체특성:단간형엽병은긴편임		
Q1102	큰잎수:4		
	작은잎수:25		
	전체특성:대단히큰광엽형이고2측엽은총생형임		
Q1103	큰잎수:3		
	작은잎수:15		
	전체특성:광엽형이고엽거치가크고거칠음		
Q1104	큰잎수:4		

	작은잎수:22
	전체특성:단간형이며수관에비해엽수가많음
Q1105	큰잎수:4 작은잎수:22
	전체특성:엽이원형에가깝고2측엽은총생형임
Q1106	큰잎수:4 작은잎수:22
	전체특성:엽이꺼어지고뒤틀리는형
Q1107	큰잎수:3 작은잎수:15
	전체특성:엽이긴호로병형으로긴편임
Q1108	큰잎수:4 작은잎수:17
	전체특성:엽은매우큰편이나조낙이되었음
Q1109	큰잎수:5 작은잎수:23
	전체특성:엽이수평형이며부채형으로엽병이매우굵
Q1110	큰잎수:4 작은잎수:30
	전체특성:1,2측엽에턱엽이달리고장간소엽형임

Q1111	큰잎수 : 4 작은잎수 : 22
	전체특성 : 숙기가 늦고 장간 직립형임
Q1112	큰잎수 : 4 작은잎수 : 23
	전체특성 : 엽이 평편하며 소엽발생이 분명하고 2장엽엔 턱엽이 있음
Q1113	큰잎수 : 4 작은잎수 : 22
	전체특성 : 엽맥이 깊고 거치가 거칠며 엽이 꺾어진 형이며 진자색엽병
Q1114	큰잎수 : 4 작은잎수 : 24
	전체특성 : 열매가 굵고 2측엽에서는 총생형 엽 발달
Q1115	큰잎수 : 3 작은잎수 : 17
	전체특성 : 소엽 모양이 마름모꼴 임
Q1116	큰잎수 : 4 작은잎수 : 20
	전체특성 : 엽맥이 깊고 거치가 거칠고 뒤틀린 형
Q1117	큰잎수 : 4 작은잎수 : 20
	전체특성 : 엽이 진녹색이며 둥근형으로 총생형이며 2단 열매임
Q1118	큰잎수 : 3 작은잎수 : 19
	전체특성 : 소엽병이 길고 기형적으로 소엽병에 2단 가지처럼 발달
Q1119	큰잎수 : 4 작은잎수 : 20
	전체특성 : 엽이 거친 파도형 한 장엽에 3소엽 3매, 열매송이에 엽발달
Q1120	큰잎수 : 4 작은잎수 : 20
	전체특성 : 단간형 진녹색 엽과 2측엽에 좌우로 턱엽이 달려 있음

6) 2012년도 유전자원 개체 수집

고려인삼의 유전자원 및 개체선발은 연천군남지역을 중심으로 하였으며, 선발개체는 1201의 52 개체를 수집하였으며, 북미삼은 7월 말 현재 열매가 익지 않아 수집을 할수 없으며 추후 할 계획이다. 선발기준은 품종등록 특성표에 준하여 다음 표와 같이 정리하였다(표 6).

1112	줄기수:1	줄기색:진자	큰잎수:5
	엽병색:진자	작은잎수:25	엽색:진녹
	열매특성:역삼형	열매색:적	
	전체특성:세력이 왕성하고수관이좋은		
1113	줄기수:1	줄기색:연자	큰잎수:5
	엽병색:연자	작은잎수:25	엽색:연녹
	열매특성:원형	열매색:적	
	전체특성:엽이장방형이고5엽이분명함		
1114	줄기수:1	줄기색:연자	큰잎수:5
	엽병색:연자	작은잎수:25	엽색:연녹
	열매특성:부채형	열매색:적	
	전체특성:엽이위쪽으로뻗치는형		
1115	줄기수:1	줄기색:연자	큰잎수:6
	엽병색:자	작은잎수:30	엽색:녹
	열매특성:원형	열매색:	
	전체특성:세력이 왕성하고엽맥골이깊음		
1116	줄기수:1	줄기색:연자	큰잎수:5
	엽병색:자	작은잎수:25	엽색:녹
	열매특성:부채형	열매색:심홍	
	전체특성:5엽은분명하나엽두께가얇음		
1117	줄기수:1	줄기색:연자	큰잎수:5
	엽병색:자	작은잎수:28	엽색:녹
	열매특성:부채형	열매색:	
	전체특성:세력은약해보이나엽세는있음		
1118	줄기수:2	줄기색:연자	큰잎수:5
	엽병색:자	작은잎수:27	엽색:녹
	열매특성:원형	열매색:	
	전체특성:세력이 왕성하고엽이뒤집어지는형		
1119	줄기수:1	줄기색:연자	큰잎수:5
	엽병색:연자	작은잎수:27	엽색:녹
	열매특성:부채형	열매색:	
	전체특성:엽이45각도로퍼진유선형		
1120	줄기수:1	줄기색:연자	큰잎수:5
	엽병색:자	작은잎수:27	엽색:녹
	열매특성:부채형	열매색:적	
	전체특성:엽거치가거칠고엽맥이깊음		
1121	줄기수:2	줄기색:연자	큰잎수:5
	엽병색:연자	작은잎수:29	엽색:녹
	열매특성:부채형	열매색:적	
	전체특성:세력은약하나엽이길고좁은유선형이며터엽이많음		
1122	줄기수:2	줄기색:연자	큰잎수:4
	엽병색:자	작은잎수:23	엽색:진녹
	열매특성:부채형	열매색:적	
	전체특성:엽이작고아주평편함		

7) 총 수집된 유전자원은 381점으로 고려인삼이 284점, 북미삼 59점, 종간교잡종 37점과 기타 1점이며, 수집년도 별로는 현재 5년생인 2007년 수집 31점, 4년생인 2008년 62점, 3년생인 2009년 47점, 2년생인 2010년 103점, 1년생인 2011년 85점과 올해 2012년 수집하여 현재 개갑 상태에 있는 53점이다.

표 7. 유전자원 총 수집

년도	2007	2008	2009	2010	2011	2012	계
고려인삼	31	52	32	51	65	53	284
북미삼		10	14	15	20		59
종간교잡종				37			37
기타			1				1
계	31	62	47	103	85	53	381

1. 종간교잡종은 고려인삼 x 북미삼, 북미삼 x 고려인삼 종으로 F2세대 임.
2. 기타 1점은 *P. trifolius*로 국내 토양 환경적응에 실패하였음.

(나) 유전자원계통의 생육

1) 2007년 선발 유전자원의 년차별 생육특성

2년차 육성계통의 지상부 생육은 전체적으로 비교적 양호한 생육을 보이고 있다(표 8).

표 8. 2년생 육성계통 지상부 형질 특성

계통명	경직경	경장	엽병장	엽장	엽폭	장엽수	소엽수	비고	
천풍(대비)	1.9	9.5	5.7	6.8	3.3	2.4	11.2		
0701	1.9	8.1	4.7	6.9	3.1	2.2	10.8	- 전체적으로 매우 양호하며 균일한 생육을 보이고 있음	
0702	1.9	7.6	5.0	6.3	3.0	2.4	13.2		
0703	1.9	8.7	5.5	7.0	3.4	2.2	10.5		
0704	1.9	8.8	5.5	7.3	3.6	2.0	10.0		
0705	2.1	7.5	4.8	6.3	3.3	2.2	10.6		
0706	2.3	8.7	4.9	6.9	3.7	2.4	12.6		
0707	2.1	6.6	4.8	6.4	3.3	2.0	9.6		- 생육조사가 시기적으로 좀 이른 감이 있어 후반기 생육조사로 생육양호를 평가하고자 함
0708	1.8	7.7	5.7	7.2	3.2	2.0	10.0		
0709	1.8	7.5	5.3	7.4	3.1	2.0	10.0		
0710	1.9	6.2	5.1	6.2	3.0	2.0	10.6		
0711	1.9	6.5	4.9	6.2	3.1	2.0	9.6		
0712	1.9	7.4	5.4	6.8	3.3	2.0	9.9		
0713	2.1	7.8	5.2	7.3	3.5	2.0	10.4		
0714	1.8	6.5	5.6	6.7	3.1	2.0	11.4		
0715	1.9	6.8	6.0	6.2	3.2	2.0	10.9		

0716	2.1	6.5	5.2	6.3	3.0	2.2	12.4	
0717	2.0	8.1	5.8	7.5	3.4	2.0	10.8	
0718	2.1	7.8	5.2	6.5	3.1	2.5	14.6	
0719	2.0	6.4	5.3	6.8	3.5	2.0	9.8	
0720	1.9	7.6	5.0	6.3	2.7	2.0	10.6	
0721	1.6	7.0	5.1	6.6	3.1	2.6	12.8	
0722	2.2	7.6	5.8	7.3	3.3	2.2	12.2	
0723	1.9	6.5	4.5	6.3	3.1	2.4	10.8	
0724	2.2	8.0	5.4	6.7	3.2	2.1	11.2	
0725	2.0	7.2	5.8	7.1	3.5	2.0	9.6	
0726	1.7	6.0	5.6	7.4	3.6	1.4	6.2	
0727	1.9	6.9	5.8	7.0	3.6	2.0	9.6	
0728	1.9	7.4	4.9	6.8	2.9	2.2	11.4	
0729	1.9	7.7	5.8	7.6	3.4	2.4	11.2	
0730	1.9	7.9	5.7	6.5	3.1	2.2	11.4	
0731	1.8	7.4	5.1	6.8	3.0	2.6	12.0	
0732	1.7	6.9	5.2	7.0	3.4	2.3	11.7	

표 9. 3년생 육성계통 지상부 형질 특성

계통명	경직경	경장	엽병장	엽장	엽폭	장엽수	소엽수	비고
천풍(대비)	3.2	13.2	6.8	10.4	4.9	3.0	15.0	- 전체적으로 매우 양호하며 균일한 생육을 보이고 있음 - 생육조사가 시기적으로 좀 이른감이 있어 후반기 생육조사로 생육 양호를 평가하고자 함
0701	3.4	13.5	6.7	10.2	4.6	3.4	17.1	
0702	3.6	14.5	6.2	10.1	4.6	3.0	15.0	
0703	4.2	21.4	6.4	10.4	4.6	4.0	20.0	
0704	4.1	22.4	6.3	10.8	4.6	4.0	19.6	
0705	4.2	18.9	7.2	10.4	4.2	4.0	19.0	
0706	4.3	18.4	7.6	11.3	4.8	3.4	17.0	
0707	3.8	16.0	7.1	10.5	4.4	3.4	17.4	
0708	3.2	18.3	7.6	11.9	5.3	3.0	15.0	
0709	3.2	16.7	7.4	11.0	5.4	3.2	15.7	
0710	3.2	16.4	7.2	11.4	5.7	3.2	15.3	
0711	2.6	10.2	7.4	12.0	6.0	3.4	15.8	
0712	3.8	17.4	7.2	11.4	5.6	3.0	15.0	
0713	3.5	18.0	5.8	10.9	7.0	3.0	15.0	

0714	3.4	13.2	7.2	10.4	7.0	3.0	15.0
0715	3.8	18.9	6.9	12.5	5.5	3.0	15.0
0716	3.6	19.5	8.6	12.1	5.1	3.3	17.0
0717	3.8	18.9	6.9	12.5	5.5	3.0	15.0
0718	3.5	15.2	6.7	11.4	5.9	3.0	15.0
0719	3.3	14.5	6.7	10.4	5.6	3.5	16.1
0720	3.5	15.5	6.9	10.8	5.5	3.2	15.6
0721	3.4	18.4	6.5	9.4	5.6	3.6	15.8
0722	4.1	20.4	6.9	10.8	6.9	4.0	19.6
0723	3.2	18.9	7.8	9.8	5.2	4.0	19.0
0724	4.1	16.4	7.3	10.3	5.8	3.3	17.0
0725	3.8	17.0	7.5	11.5	5.4	3.4	17.4
0726	3.3	19.3	7.7	11.0	5.7	3.0	15.0
0727	3.1	17.7	7.6	11.1	5.4	3.3	15.7
0728	3.2	17.4	7.3	10.4	5.7	3.6	15.3
0729	3.6	16.2	7.4	11.0	5.8	3.4	15.8
0730	3.8	17.4	8.2	11.4	5.5	3.0	15.0
0731	3.5	17.0	6.8	9.9	6.0	3.4	16.1
0732	3.5	15.2	6.2	10.4	6.0	3.5	16.0

표 10. 4년생 육성계통 지상부 형질 특성

계통명	경직경	경장	엽병장	엽장	엽폭	장엽수	소엽수	생육상	출아형	비고
천풍(대비)	5.7	38.6	7.5	14.0	6.0	4.0	19.0	하	극만	- 직파재배를 하였기에 전체적으로 생육이 매우 양호하며 균일함.
0701	6.7	34.9	9.3	16.3	7.0	4.7	23.7	상	중	
0702	6.1	34.2	10.9	16.1	7.0	4.7	23.3	상	만	
0703	6.2	46.3	11.1	14.2	5.3	4.3	22.0	중	조	
0704	6.5	40.7	9.7	18.5	7.7	4.0	22.3	하	만	
0705	5.7	39.2	10.9	15.4	6.1	4.7	23.3	중	만	
0706	5.5	32.8	13.7	17.8	5.2	5.0	25.3	중	조	
0707	7.3	39.7	9.1	18.5	6.6	4.1	20.0	중	만	
0708	7.3	43.8	11.2	16.3	5.8	5.0	25.7	상	중	
0709	6.5	36.0	10.4	17.1	7.5	4.7	23.0	중	만	
0710	6.3	35.9	8.8	16.5	6.4	4.3	22.0	하	만	
0711	7.2	43.0	11.5	17.4	7.3	4.3	22.0	상	만	
0712	6.5	37.3	10.3	15.4	5.6	4.7	23.3	중	만	
0713	6.2	35.0	9.9	17.5	7.5	4.7	22.7	상	조	
0714	6.7	39.2	10.5	17.8	6.7	4.7	23.0	중	극만	
0715	5.7	43.8	11.9	14.5	5.5	4.3	21.7	상	중	
0716	7.3	47.0	11.6	20.5	7.5	4.3	22.0	중	조	
0717	5.8	36.1	9.9	17.4	7.3	4.7	23.0	상	중	
0718	5.5	35.6	9.5	15.0	6.1	4.1	19.0	중	조	
0719	6.7	35.9	10.3	17.3	7.3	4.8	24.7	상	중	

0720	6.2	34.2	12.9	16.4	7.1	4.5	24.3	중	만	
0721	6.1	36.3	10.1	15.2	5.3	4.3	24.0	상	만	
0722	6.3	41.7	9.5	18.7	7.2	4.5	24.3	상	만	
0723	6.2	38.2	10.0	16.4	7.1	4.2	24.3	중	조	
0724	6.5	35.8	11.7	12.8	5.8	5.1	25.0	하	중	
0725	6.3	39.6	9.5	18.3	6.7	5.1	24.0	상	조	
0726	6.3	40.8	10.2	16.5	6.8	5.6	25.7	중	만	
0727	6.5	37.0	10.3	18.1	7.3	5.7	23.0	하	조	
0728	6.3	37.9	9.8	17.5	6.5	4.3	24.0	상	중	
0729	6.2	43.2	10.5	17.1	7.1	5.3	23.0	하	극조	
0730	7.5	37.3	11.3	16.4	6.6	5.7	25.3	중	조	
0731	7.2	37.8	9.0	17.2	7.5	4.9	24.7	중	조	
0732	6.7	39.7	10.3	17.5	7.7	5.7	25.0	중	조	

* 생육상은 엽소증을 중심으로 2010년 8월 계속되는 혹서기에 생육상태를 조사하였음.

표 11. 5년생 육성계통 지상부 형질 특성

계통	줄기		엽병 길이 (cm)	잎		잎수		출아기	숙기	생육상태	
	굵기 (mm)	길이 (cm)		길이 (cm)	너비 (cm)	큰잎 (매)	작은잎 (매)			초기 (5초)	중기 (7초)
0701	8.0	38.5	8.8	16.5	7.5	4.5	21.5	극조	조	상	상
0702	7.7	41.5	8.5	17.4	7.4	5.0	25.0	중	중	하	상
0703	7.8	47.0	10.3	17.8	7.3	5.0	25.0	중	중	중	상
0704	7.7	40.1	9.0	16.9	8.2	5.0	25.0	중	중	중	상
0705	7.5	38.3	11.2	16.5	7.5	5.1	25.5	조	만	상	상
0706	6.8	35.0	9.5	17.5	6.5	5.0	25.6	중	조	중	중
0707	7.5	32.4	11.5	17.1	6.6	4.8	24.5	중	조	하	중
0708	7.0	33.3	10.6	16.4	6.7	4.9	24.2	중	조	하	중
0709	6.5	37.2	9.0	17.3	6.4	4.5	24.4	만	중	하	하
0710	8.3	31.3	11.3	17.9	7.6	4.7	24.7	중	조	상	상
0711	7.3	39.1	12.5	15.2	7.7	5.5	26.5	중	중	중	중
0712	8.7	38.4	11.0	17.5	8.0	5.4	27.8	조	조	상	상
0713	6.5	33.4	10.7	16.6	6.5	4.8	24.6	중	조	중	중
0714	7.4	38.6	11.0	18.4	7.4	4.8	24.5	만	극만	하	상
0715	7.7	45.5	9.8	19.5	7.9	5.1	25.7	중	조	상	상
0716	8.5	40.3	10.0	18.6	8.7	5.4	27.0	조	조	상	극상
0717	7.5	36.2	12.1	16.7	8.0	5.0	23.8	중	조	중	상
0718	8.1	35.2	11.2	17.2	7.5	5.5	27.5	중	조	중	상
0719	6.8	37.5	9.3	16.1	7.2	4.1	22.2	중	중	중	중
0720	6.6	37.5	10.4	16.3	6.5	4.3	22.1	중	조	중	중
0721	6.3	35.5	10.6	15.7	6.2	4.7	24.0	만	조	하	하
0722	5.1	38.3	11.0	14.7	6.3	4.8	28.1	만	조	중	하

0723	7.5	37.7	13.4	18.0	8.4	5.3	27.1	조	조	상	상
0724	6.0	35.4	11.5	15.9	6.3	4.2	23.3	만	중	하	하
0725	7.9	37.6	10.0	18.4	7.8	5.1	25.8	중	조	상	상
0726	7.3	40.0	9.5	17.6	7.7	5.1	25.9	중	조	상	상
0727	7.7	38.3	11.1	17.7	8.7	4.9	24.7	중	조	상	상
0728	8.1	36.6	10.8	19.5	8.5	6.0	30.3	조	중	상	상
0729	7.4	40.5	11.0	18.8	7.7	5.5	27.6	조	조	상	상
0730	7.7	46.2	10.3	19.0	7.5	5.3	26.7	중	중	상	상
0731	7.4	45.7	11.5	18.0	8.5	5.8	28.9	중	조	상	상

2007년도 선발 계통의 5년생까지 32계통의 생육은 표 8~11과 같다. 출아기는 비교적 빠른 0701과 같은 계통이 있는가 하면 0714와 같이 늦은 계통까지 다양하게 분포하고 있으며, 열매가 익는 속기는 출아기와 거의 같은 경향을 보여 인삼 종자가 익는 데는 개화에서부터 40일 후부터는 익기시작하여 50일 정도면 몇몇 계통을 제외하고는 채종하기에 적합할 것으로 판단된다. 생육상황으로 분류하여 5월 초순 전엽기의 생육과 7월 초 생육을 비교하여 보면 대부분의 계통은 초기 생육이 좋은 계통이 중기생육까지 좋은 경향을 보였고, 0702와 같은 계통은 초기 생육은 좋지 않았으나 중기 생육에서는 양호한 경향을 보였다. 전반적으로 보면 0716계통이 가장 좋은 생육을 보였고, 0701외 18계통이 비교적 양호하였고, 0706외 5계통의 중간 정도의 생육을 보였으며, 0709외 4계통의 생육은 미진함을 보였다. 앞으로 채굴하여 지하부 생육과 비교하여 생산력 검정시험에 공시할 계획을 가지고 있음.

1)2008년 선발 유전자원의 년차별 생육특성

표 12. 2년생 육성계통 지상부 형질 특성

계통명	경직경	경장	엽병장	엽장	엽폭	장엽수	소엽수	비고
천풍(대비)	2.1	7.8	4.0	6.0	3.4	2.4	8.2	
0801	2.3	8.2	3.9	6.3	3.0	3.0	9.0	
0802	2.2	5.0	3.4	6.1	3.4	2.3	10.7	- 전체적으로 매우 양호하며 균일한 생육을 보이고 있음
0803	2.6	7.9	3.9	7.0	3.4	2.6	12.9	
0804	1.9	5.8	3.4	4.5	2.6	2.3	8.3	
0805	2.4	7.3	4.5	6.7	3.5	2.6	9.6	
0806	1.9	2.7	4.3	5.6	3.2	2.3	10.3	
0807	1.9	5.5	4.2	3.8	2.3	2.6	9.7	
0808	2.0	5.2	3.7	6.1	2.8	2.3	8.3	
0809	1.9	4.7	3.6	5.0	2.6	2.0	10.0	
0810	1.9	4.9	4.1	6.0	2.8	2.3	9.3	
0811	2.1	9.0	4.4	6.8	3.3	3.0	8.0	
0812	1.9	6.0	4.4	6.6	2.8	1.6	11.0	
0813	2.3	6.3	4.0	6.2	3.0	2.3	12.3	
0814	2.2	4.7	4.5	7.2	3.7	1.3	6.4	
0815	2.4	9.5	4.1	6.4	3.0	2.7	11.2	
0816	2.0	4.7	3.9	4.6	2.1	2.3	11.6	
0817	2.2	6.2	4.2	5.8	3.5	2.0	9.6	

0818	1.9	7.4	4.5	6.3	2.8	2.3	10.7	
0819	2.2	4.9	5.8	6.6	3.2	2.0	9.8	
0820	1.9	4.2	5.6	6.7	3.6	1.6	8.0	
0821	2.3	5.2	5.7	7.1	3.5	2.2	12.0	
0822	2.0	3.8	5.5	6.4	3.5	1.8	8.6	
0823	2.2	4.8	4.9	5.9	2.9	2.0	9.8	
0824	2.4	4.3	5.0	6.6	3.3	2.4	13.0	
0825	2.1	4.8	5.9	7.4	3.5	2.2	10.0	
0826	2.2	2.8	4.5	6.2	2.9	2.0	8.8	
0827	2.0	4.5	6.0	7.2	3.6	1.6	7.6	
0828	2.0	4.8	6.3	6.4	3.4	1.8	8.0	
0829	1.9	4.0	4.8	5.7	3.1	2.0	9.8	
0830	2.4	3.8	6.1	7.2	3.5	1.8	8.6	
0831	2.3	5.8	5.2	6.7	3.2	2.2	10.2	
0832	2.1	5.0	5.5	6.6	4.3	1.8	8.4	
0833	2.3	4.5	5.3	5.9	3.5	1.6	7.2	
0834	2.0	3.6	5.5	6.6	3.4	1.6	7.4	
0835	1.9	4.4	5.8	7.3	3.7	1.6	7.6	
0836	1.9	3.3	6.3	6.0	3.3	1.2	6.0	
0837	2.0	4.2	5.6	6.6	3.6	1.8	7.6	
0838	2.3	6.1	5.7	7.8	4.0	2.0	9.6	
0839	2.3	4.9	5.0	6.1	2.8	2.8	13.0	
0840	2.0	5.1	5.9	6.7	4.1	1.8	7.8	
0841	1.8	4.1	5.3	7.6	4.0	1.4	6.6	
0842	2.1	6.0	5.5	6.5	3.3	2.2	10.0	
0843	2.1	3.5	5.8	7.1	3.8	2.0	9.0	
0844	2.3	4.2	5.5	7.8	4.0	1.6	7.2	
0845	2.1	5.3	5.3	7.0	3.6	2.0	9.0	
0846	2.2	4.2	5.5	6.7	3.2	2.4	11.4	
0847	2.1	3.9	5.5	6.7	3.7	1.8	8.6	
0848	2.0	4.4	5.4	6.3	3.5	1.8	8.4	
0849	2.1	4.5	6.9	7.0	3.3	1.8	8.4	
0850	2.0	6.4	5.3	6.5	3.1	2.2	10.6	
0851	2.0	5.2	5.4	6.5	3.2	1.8	9.2	
0852	2.0	2.3	5.8	6.8	3.5	1.2	6.0	

표 13. 3년생 육성계통 지상부 형질 특성

고려인삼의 생육 특성									
계통명	경직경	경장	엽병장	엽장	엽폭	장엽수	소엽수	생육상	비고
천풍(대비)	3.7	26.6	7.2	12.2	4.9	3.7	18.7	중	- 전체적으로 매우 양
0801	4.2	26.4	8.3	13.2	5.0	4.0	20.2	상	

0802	4.5	25.6	9.0	15.4	6.1	4.0	19.6	중	호하며 균일한 생육을 보이고 있음
0803	4.1	21.6	7.5	12.0	4.7	4.0	19.8	상	
0804	3.8	22.5	7.9	13.3	5.3	3.2	16.0	중	
0805	4.4	28.9	8.9	13.4	5.2	4.0	20.0	상	
0806	3.1	22.2	7.4	11.5	3.9	4.0	20.2	상	
0807	4.1	24.5	7.3	14.2	5.5	3.7	19.0	상	
0808	3.9	23.5	8.9	13.9	5.5	3.2	16.4	중	
0809	5.2	25.6	9.3	13.5	5.5	3.8	19.2	상	
0810	4.0	17.4	8.1	11.9	5.1	3.0	16.8	상	
0811	4.1	22.3	8.6	13.9	5.6	3.2	16.4	상	
0812	3.8	23.9	8.4	13.1	5.7	3.0	16.2	중	
0813	3.8	23.9	8.4	13.1	5.7	3.0	16.2	중	
0814	2.9	15.0	6.6	10.3	4.3	2.7	13.0	상	
0815	3.5	19.0	8.0	13.1	5.4	3.0	14.8	상	
0816	4.1	23.1	8.8	13.2	5.4	3.0	15.7	상	
0817	4.6	27.7	8.7	12.9	5.3	4.0	21.0	상	
0818	4.6	27.7	8.7	12.9	5.3	4.0	21.0	극하	
0819	4.3	25.6	8.9	13.5	5.9	3.6	17.8	하	
0820	3.3	20.5	7.9	14.1	5.3	3.0	15.0	중	
0821	3.1	18.2	7.1	12.0	5.4	3.2	15.8	중	
0822	3.5	22.6	7.3	14.5	6.1	3.2	15.6	하	
0823	3.3	17.0	7.6	12.3	4.7	3.0	14.8	중	
0824	4.3	26.1	8.3	13.8	5.2	4.0	20.6	상	
0825	3.6	20.6	8.0	12.9	5.5	3.0	15.6	상	
0826	3.7	20.0	7.4	11.7	4.5	3.2	16.2	중	
0827	3.7	21.5	8.8	13.3	5.8	3.0	15.6	상	
0828	3.4	18.7	9.4	13.4	5.4	3.4	16.6	상	
0829	3.6	21.3	7.6	12.7	5.0	4.0	19.8	상	
0830	4.5	27.9	8.6	13.0	5.5	3.6	18.0	상	
0831	3.6	26.8	7.3	12.6	4.5	3.7	19.7	상	
0832	4.0	25.4	8.0	13.8	5.3	4.0	21.2	상	
0833	4.6	24.6	8.0	14.4	5.1	4.3	19.5	상	
0834	4.2	23.6	8.5	12.8	5.7	4.0	19.7	상	
0835	3.7	23.5	7.5	13.6	5.0	3.5	17.0	상	
0836	3.4	28.7	7.9	12.4	5.0	3.0	21.0	상	
0837	3.8	22.5	7.6	13.5	4.9	4.0	20.3	상	
0838	4.5	23.5	7.3	12.2	5.8	3.8	19.5	상	
0839	3.5	25.5	7.9	13.8	5.7	3.3	17.4	상	
0840	4.2	25.6	8.3	13.6	5.9	3.7	19.5	상	
0841	4.0	19.4	8.6	13.9	5.6	3.0	17.8	상	
0842	4.1	21.3	8.5	13.2	5.5	3.1	17.4	상	
0843	3.7	23.5	8.3	13.7	4.7	3.0	16.1	상	
0844	3.8	22.9	8.2	13.5	5.1	3.0	16.2	중	

0845	3.9	19.0	7.6	12.3	4.3	2.9	15.0	하	
0846	3.5	19.0	7.0	13.7	5.5	3.0	14.3	상	
0847	4.0	23.1	7.8	13.5	5.8	3.5	16.7	상	
0848	4.5	27.5	7.7	12.5	5.4	4.2	20.0	중	
0849	4.0	25.7	8.3	13.9	5.3	3.0	21.0	상	
0850	4.0	20.6	8.5	13.6	5.6	3.7	18.8	중	
0851	4.3	19.5	7.9	13.1	5.3	3.3	16.0	상	
0852	3.5	18.0	7.3	13.0	5.7	3.1	17.8	중	

북미삼의 생육 특성

Q0801	3.0	20.4	8.1	9.9	6.1	3.0	15.8	하	
Q0802	3.1	22.3	8.6	8.9	6.6	3.2	15.4	하	
Q0803	3.3	23.9	8.4	10.1	6.7	3.0	14.2	중	
Q0804	3.2	23.9	8.4	8.1	7.7	3.0	15.2	중	
Q0805	3.5	19.0	6.6	7.3	7.3	2.7	13.0	상	
Q0806	3.5	19.0	8.0	8.1	6.4	3.0	14.8	상	
Q0807	3.1	23.1	8.8	9.2	6.4	3.0	14.7	상	
Q0808	3.6	27.7	8.7	10.2	7.3	4.0	15.0	상	
Q0809	3.6	27.7	8.7	9.9	6.3	4.0	15.0	극하	
Q0810	3.3	25.6	8.9	8.5	6.9	3.6	15.8	상	

표 14. 4년생 육성계통 지상부 형질 특성

계통	줄기		엽병 길이 (cm)	잎		잎수		출아기	숙기	생육상태	
	굵기 (mm)	길이 (cm)		길이 (cm)	너비 (cm)	큰 (매)	작은 (매)			초기 (5초)	중기 (7초)
0801	7.0	36.7	9.2	16.7	6.9	4.7	21.5	만	만	중	중
0802	7.9	43.5	8.8	16.4	6.4	5.2	25.3	극조	조	상상	상
0803	7.5	37.0	11.0	17.4	7.5	4.9	24.0	만	중	상	상
0804	7.7	38.1	10.0	18.9	8.2	5.3	26.1	중	조	상	상상
0805	7.3	38.9	12.2	16.8	6.5	5.1	24.5	중	만	상	상
0806	6.8	35.0	9.2	15.5	5.9	5.1	25.7	만	만	상	중
0807	7.9	33.1	10.5	16.2	6.6	5.0	24.7	조	조	상	상
0808	7.0	33.2	9.6	15.4	6.0	4.9	24.2	중	중	중	중
0809	6.5	39.2	10.0	17.1	6.4	4.1	23.5	만	중	중	중
0810	7.3	41.3	13.3	18.9	7.6	4.9	24.7	만	중	중	상
0811	7.3	39.1	8.5	17.2	7.5	5.5	25.5	만	만	하	상
0812	7.7	32.4	10.0	18.9	7.9	5.0	26.7	중	조	상	상
0813	6.9	33.9	9.7	16.6	6.5	4.9	24.7	만	만	하	중
0814	6.4	33.7	11.2	18.0	7.4	4.8	24.5	만	중	상	중*
0815	6.7	39.5	8.8	17.5	7.9	5.0	25.2	중	중	상	상
0816	7.2	33.3	12.0	17.6	7.7	5.4	25.0	중	만	상	상
0817	7.0	36.6	10.0	16.0	5.0	4.8	23.8	중	중	중	중

0818	6.1	35.2	12.2	15.3	6.5	4.5	22.5	중	중	하	하
0819	5.6	30.8	9.2	16.1	5.8	4.1	24.2	만	만	하	하
0820	6.3	37.5	10.5	16.7	6.9	4.4	22.1	중	중	중	중
0821	6.3	37.5	9.6	16.7	7.2	4.7	24.0	중	조	상	중
0822	7.1	38.4	10.0	19.0	8.4	5.8	28.1	중	조	하	상
0823	7.5	37.5	13.3	17.0	8.4	5.3	27.1	중	조	상	상
0824	7.0	35.4	8.5	17.9	8.3	5.2	26.3	중	조	상	상
0825	6.9	37.2	10.0	18.4	7.1	5.1	25.8	중	조	상	상
0826	7.3	39.0	9.7	16.3	7.2	5.1	25.9	중	조	중	상
0827	6.7	38.4	11.2	15.3	6.7	4.9	24.7	만	중	중	중
0828	8.1	30.8	8.8	17.2	7.5	6.1	32.3	만	중	상	상
0829	5.4	37.5	12.0	17.6	5.7	4.2	24.6	중	조	하	하
0830	7.7	38.2	10.0	19.0	7.0	5.3	25.9	조	만	상	상
0831	7.4	38.7	12.2	17.0	7.5	5.8	23.9	만	만	상	상
0832	6.7	35.5	9.2	16.8	7.2	6.4	30.2	중	중	상	상*
0833	7.2	37.0	10.5	18.7	7.9	5.7	28.5	중	중	상	상*
0834	7.1	38.3	9.6	18.4	8.4	5.2	25.3	조	조	상상	상
0835	8.1	39.9	10.0	17.4	8.5	5.9	29.0	조	조	상상	상상
0836	5.6	35.0	13.3	16.9	6.2	4.2	23.1	중	중	하	중*
0837	7.3	36.1	8.5	17.8	7.5	5.1	26.5	중	중	중	상
0838	7.3	36.2	10.0	17.5	6.9	5.1	25.7	중	만	중	상
0839	8.5	39.3	9.7	17.2	8.6	5.0	24.7	조	조	상상	상상
0840	7.5	41.3	10.7	17.4	8.0	4.9	24.2	중	중	상상	상
0841	7.0	34.1	9.1	15.1	6.4	5.1	25.5	중	만	하	중
0842	6.9	32.5	11.2	16.9	7.6	4.9	24.7	조	중	상	중*
0843	7.3	34.9	10.3	17.2	7.5	5.5	28.5	중	중	상	상
0844	6.1	33.6	10.5	16.9	6.9	4.0	26.7	중	중	상	중*
0845	5.6	39.5	9.6	16.6	6.5	4.9	24.7	중	중	하	중*
0846	6.3	35.3	10.3	17.0	7.4	4.8	23.5	중	중	상	중*
0847	5.3	36.6	12.3	15.5	5.9	4.0	22.2	중	중	하	하*
0848	6.1	35.7	9.7	16.6	6.7	4.4	21.0	조	조	상	중*
0849	5.5	30.4	10.5	14.0	5.0	4.8	23.8	조	조	하	하
0850	7.0	37.5	10.7	17.3	7.5	5.5	28.5	중	중	중	상*
0851	6.9	36.5	11.2	16.1	6.8	5.1	24.2	만	만	중	중
0852	7.3	38.5	10.8	17.7	7.9	6.4	30.1	조	중	상	상*

* 분리가 일어나는 계통

북미삼 계통 생육

계통명	출아기	개화기	초기생육	중기생육	비고
Q0801					고려인삼
Q0802	만	만	하	하	
Q0803	중	만	중	상	
Q0804	중	만	중	상	

Q0805	조	중	상	상
Q0806	조	중	상	중
Q0807	조	조	상	중
Q0808	중	만	상	상
Q0809	만	만	하	상
Q0810	조	조	상	중

2008년에 선발한 계통 중 현재 4년생 중반 생육까지 지상부 생육이 왕성하고 생존율이 높은 계통은 0804외 2계통이 있고, 0802외 25계통은 비교적 좋은 생육을, 0801외 17계통은 보통의 생육을 보였다. 0811외 4통의 생육은 미진함을 보였다. 특히 4년생에서는 분리가 일어나는 계통이 많이 있음이 조사되었다. 0814와 같은 계통은 선발시 핑크색 열매를 맺는 특성을 보였으나 몇몇 개체에서 적색 열매가 맺혀 아직도 고정된 상태가 아닌 분리가 있음이 조사되었고, 기타 11계통에서도 노란 열매가 분리되는 것이 발견되었다. 이러한 계통은 다시 각각 채종으로 좀 더 조사가 있어야 할 것으로 본다. 북미삼은 몇 계통을 제외하고는 비교적 양호한 생육을 나타내고 있으며, 조기 개화하는 계통이나 비교적 뿌리 모양이 고려인삼에 가까운 체형이나, 사포닌 함량이 높은 계통 또는 적변에 비교적 내성 등등의 특성을 찾아 중간 교배 모본으로 사용하고자 육성하고 있다.

표 15. 2년생 육성계통 지상부 형질 특성

고려인삼의 생육 특성									
계통명	경직경	경장	엽병장	엽장	엽폭	장엽수	소엽수	생육상	비고
천풍(대비)	2.2	4.9	5.8	6.6	3.2	2.0	9.8	중	
0901	1.9	4.2	5.6	6.7	3.6	1.6	8.0	중	
0902	2.3	5.2	5.7	7.1	3.5	2.2	12.0	중	
0903	2.0	3.8	5.5	6.4	3.5	1.8	8.6	중	
0904	2.2	4.8	4.9	5.9	2.9	2.0	9.8	하	
0905	2.4	4.3	5.0	6.6	3.3	2.4	13.0	중	
0906	2.1	4.8	5.9	7.4	3.5	2.2	10.0	하	
0907	2.2	2.8	4.5	6.2	2.9	2.0	8.8	상	
0908	2.0	4.5	6.0	7.2	3.6	1.6	7.6	하	
0909	2.0	4.8	6.3	6.4	3.4	1.8	8.0	중	
0910	1.9	4.0	4.8	5.7	3.1	2.0	9.8	상	
0911	2.4	3.8	6.1	7.2	3.5	1.8	8.6	중	
0912	2.3	5.8	5.2	6.7	3.2	2.2	10.2	상	
0913	2.1	5.0	5.5	6.6	4.3	1.8	8.4	하	
0914	2.3	4.5	5.3	5.9	3.5	1.6	7.2	상	
0915	2.0	3.6	5.5	6.6	3.4	1.6	7.4	중	
0916	1.9	4.4	5.8	7.3	3.7	1.6	7.6	중	
0917	1.9	3.3	6.3	6.0	3.3	1.2	6.0	중	
0918	2.0	4.2	5.6	6.6	3.6	1.8	7.6	하	
0919	2.3	6.1	5.7	7.8	4.0	2.0	9.6	중	
0920	2.3	4.9	5.0	6.1	2.8	2.8	13.0	상	
0921	2.0	5.1	5.9	6.7	4.1	1.8	7.8	중	

- 생육상은 2010년 후 반기의 생육 상태를 조사 하였음.
- 전체적으로 매우 양호하며 균일한 생육을 보이고 있음

0922	1.8	4.1	5.3	7.6	4.0	1.4	6.6	상	
0923	2.1	6.0	5.5	6.5	3.3	2.2	10.0	중	
0924	2.1	3.5	5.8	7.1	3.8	2.0	9.0	상	
0925	2.3	4.2	5.5	7.8	4.0	1.6	7.2	중	
0926	2.1	5.3	5.3	7.0	3.6	2.0	9.0	하	
0927	2.2	4.2	5.5	6.7	3.2	2.4	11.4	상	
0928	2.1	3.9	5.5	6.7	3.7	1.8	8.6	상	
0929	2.0	4.4	5.4	6.3	3.5	1.8	8.4	중	
0930	2.1	4.5	6.9	7.0	3.3	1.8	8.4	상	
0931	2.0	6.4	5.3	6.5	3.1	2.2	10.6	중	
0932	2.0	5.2	5.4	6.5	3.2	1.8	9.2	중	

북미삼의 생육 특성

Q0901	1.7	3.9	5.0	5.1	3.8	2.0	10.0	상	
Q0902	1.2	4.1	5.9	4.7	2.1	1.8	8.8	상	
Q0903	1.6	4.3	5.3	5.6	4.0	1.4	7.6	상	
Q0904	1.7	5.1	5.5	6.0	4.3	2.0	10.0	상	
Q0905	1.5	3.5	5.8	5.7	3.8	2.0	9.0	상	
Q0906	1.8	4.5	5.5	5.8	4.1	1.6	7.2	상	
Q0907	1.6	4.3	5.3	6.0	3.9	2.0	9.0	상	
Q0908	1.7	4.0	5.5	6.7	3.8	2.0	9.4	중	
Q0909	1.7	3.9	5.5	5.7	3.5	1.8	8.6	중	
Q0910	1.9	3.8	5.4	5.3	3.5	1.8	8.4	중	
Q0911	1.5	3.5	6.9	6.0	4.0	1.8	8.4	상	
Q0912	1.4	3.4	5.3	5.5	3.5	1.6	7.6	하	

표 16. 3년생 육성계통 지상부 형질 특성

계통	줄기		엽병 길이 (cm)	잎		잎수		출아기	숙기	생육상태	
	굵기 (mm)	길이 (cm)		길이 (cm)	너비 (cm)	큰 (매)	작은 (매)			초기 (5초)	중기 (7초)
0901	3.4	22.3	7.7	13.2	5.5	3.0	15.0	만	중	하	하
0902	3.3	21.0	7.8	12.0	5.1	3.6	18.0	중	중	상	하
0903	3.8	25.8	6.3	11.3	4.5	3.0	14.7	중	조	상	중
0904	3.2	21.2	7.8	14.3	6.5	3.0	15.0	만	만	하	하
0905	3.7	28.0	8.4	14.1	5.0	3.5	17.0	중	조	상	중
0906	3.0	18.9	8.0	11.6	5.5	2.5	12.8	중	중	중	하
0907	3.4	24.3	8.2	13.1	4.9	3.3	16.7	조	만	상	중
0908	3.1	19.8	7.2	12.5	5.2	2.3	12.0	만	중	하	하
0909	4.5	27.1	7.6	13.4	5.3	4.0	20.0	만	만	상	상
0910	4.1	29.3	6.8	11.7	4.8	3.8	18.7	중	중	상	상
0911	3.0	23.0	7.2	12.9	5.7	2.6	12.7	중	만	하	하
0912	3.2	21.8	7.5	12.8	5.2	2.3	12.7	중	중	중	하

0913	4.2	28.3	7.7	11.6	5.3	4.0	20.0	조	조	상	상
0914	3.9	29.3	7.1	13.1	5.0	3.7	17.0	중	중	중	상
0915	4.6	28.0	7.8	12.3	5.7	4.5	22.0	만	중	하	상상
0916	3.3	20.8	6.5	11.3	4.4	3.0	15.7	만	중	상	하
0917	3.5	25.2	7.9	14.2	6.0	3.5	17.0	조	중	상	중
0918	3.6	28.0	8.3	14.3	5.3	3.2	16.4	조	중	상	중
0919	4.0	28.9	8.0	11.7	5.8	4.0	20.0	중	조	상	상
0920	3.6	24.3	8.1	13.1	4.7	3.5	16.7	중	중	상	중
0921	4.2	25.8	7.2	12.7	5.7	4.0	20.0	조	조	상	상
0922	4.4	27.1	7.6	13.4	5.7	4.5	22.0	중	조	상	상상
0923	4.4	29.3	7.0	12.7	4.7	4.1	21.7	조	중	상	상
0924	4.3	25.0	7.3	13.9	5.0	3.6	17.7	만	중	상	상
0925	3.5	21.8	7.7	12.7	5.7	3.3	16.7	만	만	하	중
0926	3.1	23.3	7.7	11.5	5.3	3.0	15.0	중	중	하	중
0927	4.6	28.8	7.2	13.2	5.2	4.0	20.0	조	중	상	상상
0928	4.5	27.1	7.6	13.0	5.4	4.2	22.0	만	만	상	상
0929	3.5	29.3	6.8	12.3	4.9	4.3	23.7	중	만	중	상
0930	4.4	25.0	7.3	14.3	5.7	4.4	20.0	조	중	상	상상
0931	4.2	26.8	7.7	14.1	5.3	4.5	23.0	조	만	상	상상
0932	4.5	24.3	7.6	13.6	5.3	4.1	21.8	중	조	상	상

북미삼 계통 생육

계통명	출아기	개화기	초기생육	중기생육	비고
Q0901	만	만	상	상	x 0929 임실이 전혀 없음
Q0902	만	만	상	상	
Q0903	중	만	상	상	x 0929 임실율은 낮음
Q0904	중	만	중	중	x 0925 임실율이 비교적 높음
Q0905	조	중	상	중	
Q0906	중	중	상	중	
Q0907	중	만	중	상	
Q0908	만	만	중	상	
Q0909	조	중	상	상	
Q0910	중	만	상	상	
Q0911	만	만	상	상	
Q0912	중	만	하	중	
Q0913	중	만	상	상	
Q0914	만	만	상	상	

2009년도 선발한 계통 중 0915외 4계통의 7월까지의 생육은 매우 왕성함을 보였고, 0907외 9계통의 생육은 비교적 양호한 경향을, 0903외 6계통은 중간 정도 그리고 0901외 6계통의 생육은 약한 경향을 보였다. 북미삼의 생육은 무두 비교적 양호한 생육을 보였으며, 교배 모본으로 이용하였다.

표 17. 2년생 육성계통 지상부 형질 특성

계통	줄기		엽병 길이 (cm)	잎		잎수		생육상태 (7초)
	굵기 (mm)	길이 (cm)		길이 (cm)	너비 (cm)	큰잎 (매)	작은잎 (매)	
1001	1.9	4.5	2.8	5.1	3.0	2.4	12.2	중
1002	2.0	4.5	3.4	5.0	3.3	3.0	15.0	상
1003	2.1	3.8	2.2	4.8	3.1	2.3	10.7	중
1004	1.9	4.9	3.2	5.4	3.7	2.7	12.9	상
1005	1.5	2.5	2.7	3.5	2.5	2.3	11.3	하
1006	2.0	5.0	3.5	4.8	3.3	2.7	12.6	상
1007	1.9	4.2	2.2	4.0	2.8	2.3	11.3	중
1008	1.4	3.4	2.5	4.3	2.5	2.1	11.7	하
1009	2.1	4.8	2.7	5.4	3.5	2.8	12.3	상
1010	2.3	4.9	4.0	5.3	3.6	2.0	13.0	상
1011	1.9	5.4	4.7	5.5	3.3	2.7	14.3	상
1012	1.6	3.0	2.7	4.6	3.4	2.0	10.0	중
1013	1.5	3.1	3.0	4.5	2.0	1.7	8.0	하
1014	1.8	4.5	3.8	5.0	3.4	2.7	12.3	상
1015	1.6	3.7	3.5	4.7	3.1	2.3	10.4	중
1016	1.6	3.5	3.6	5.1	2.6	2.7	11.2	중
1017	1.8	3.1	3.7	4.5	3.0	2.3	11.6	중
1018	1.6	2.8	3.4	4.3	2.2	2.0	9.6	하
1019	2.3	5.0	4.5	5.0	3.3	2.8	13.7	상
1020	1.8	4.1	2.7	5.0	2.8	2.4	12.3	중
1021	2.2	4.5	2.8	5.7	3.6	3.0	15.0	상
1022	1.7	2.8	3.0	4.6	2.8	2.1	10.3	하
1023	1.9	4.4	3.5	5.5	3.3	3.0	15.0	상
1024	1.7	3.7	3.5	4.3	3.0	2.5	11.3	중
1025	1.5	2.6	3.0	4.4	2.3	2.2	10.0	하
1026	1.4	3.4	2.9	4.3	2.1	2.3	13.0	하
1027	1.7	3.5	2.1	4.7	3.1	2.5	12.3	중
1028	1.8	3.8	2.5	4.9	2.5	2.7	12.0	중
1029	2.3	5.3	2.7	5.7	3.3	2.6	13.2	상
1030	1.7	3.5	4.0	4.2	2.8	2.7	11.6	중
1031	1.4	2.4	3.5	4.1	2.5	1.7	8.6	하
1032	1.6	3.5	3.8	4.8	3.0	2.7	12.7	중
1033	1.9	4.0	4.1	5.5	3.4	2.7	13.3	상
1034	2.1	4.8	3.3	5.8	3.5	2.3	12.0	상
1035	2.3	5.1	4.8	5.2	3.4	2.7	13.0	상
1036	1.6	3.1	2.4	4.1	2.7	1.9	9.3	하
1037	1.4	2.8	2.6	4.0	2.4	1.7	7.3	하
1038	1.7	3.4	4.0	4.5	3.0	2.8	12.0	중
1039	1.8	4.6	4.5	5.6	3.3	2.8	13.3	상
1040	2.0	4.1	4.9	5.5	3.5	3.1	13.0	상

1041	2.3	4.9	5.0	5.3	3.7	3.3	15.5	상
1042	2.1	4.6	2.7	5.7	3.5	2.7	13.3	상
1043	2.1	4.7	4.8	5.7	3.3	2.5	12.5	상
1044	2.3	5.1	3.8	5.3	3.8	2.7	13.2	상
1045	1.5	2.9	3.0	4.3	2.5	2.1	10.6	하
1046	1.5	3.0	4.1	3.8	2.5	2.1	10.2	하
1047	1.4	2.5	3.4	4.0	2.1	1.8	8.7	하
1048	1.7	3.3	3.6	4.7	3.0	2.0	10.3	중
1049	1.9	3.5	4.1	4.5	3.4	2.7	12.0	중
1050	2.0	5.0	4.8	5.5	3.3	2.9	13.0	상
1051	2.3	4.3	4.5	5.6	3.6	2.7	14.3	상

북미삼 계통 생육

계통명	출아기	초기 생육	중기 생육	
Q1001	만	중	상	올해 발아함
Q1002	만	하	하	
Q1003	만	중	중	
Q1004	중	하	하	
Q1005	중	하	중	
Q1006	조	하	하	
Q1007	중	하	하	
Q1008	중	하	하	
Q1009	만	상	상	
Q1010	중	상	상	
Q1011	중	상	상	
Q1012	만	상	상	
Q1013	만	중	중	
Q1014	만	하	중	
Q1015	중	중	상	
Q1016	만	상	상	
Q1017	만	상	상	
Q1018	중	하	하	
Q1019	중	하	중	
Q1020	만	중	중	
Q1021	중	상	상	

2010년도에 선발한 계통의 생육은 비교적 강한 계통은 1002외 22계통, 중간정도는 1001외 13계통 1005외 12계통은 약한 생육을 보였다. 북미삼은 Q1001외 9계통은 양호한 생육을, Q1003외 5계통은 중간정도의 생육을, Q1002외 5계통은 약한 생육을 보였는데, 특히 Q1006 계통은 올해에 발아하였다.

(다) 종간(*Panax ginseng* X *P. quinquefolius*, *Panax quinquefolius* X *P. ginseng*)인공교배
 고려인삼(*Panax ginseng*)과 북미삼(*Panax quinquefolius*)간 종간교잡을 위하여 금년도도 실시하였던 바, Q0904(북미삼) X 0925(고려인삼), Q0903 X 0929, Q0901 X 0929 간의 종간교잡을

실시하였던 바, 다음 표와 같다.

표 18. 종간교배간 임신율

교배조합	임신율			
	R1	R2	R3	Mean
Q0904 X 0925	57.7(15/26)	57.9(11/19)	44.4(8/18)	53.3
Q0903 X 0929	11.1(2/18)	13.6(3/22)	31.8(7/22)	18.8
Q0901 X 0929	0.0(0/20)	0.0(0/23)	0.0(0/19)	0.0
북미삼 X 고려인삼	15.6(5/32)	20.0(7/35)	17.1(6/35)	17.6
북미삼 X 고려인삼 ⁺	5.4(3/55)	2.9(2/68)	3.1(2/65)	3.8

+ 이 모본은 4년생으로 하였으며, 기타 다른 조합은 3년생으로 하였음.

이제까지의 종간교배에서는 계통화 또는 품종화된 고려 인삼과 불특정 북미삼과의 교배였으나 본 시험에서는 계통화된 북미삼을 이용하여 실시하였고 그 결과를 보면 Q0904 X 0925간의 임신율이 53.3%로 가장 높았으며, 그 다음은 Q0903 X 0929 간으로 18.8% 를 보였으나 Q0901 X 0929 간에는 전혀 임신이 되지 않았다. 이 교배조합간에는 친화력을 직접적으로는 비교할 수 없으나 나온 결과로는 Q0904 X 0925가 비교적 높은 친화력을 보였다고 할 수 있다. 북미삼과 고려인삼을 교배한 3년생은 17.6%, 4년생간에는 임신율은 3.8%로 년생간에 상당한 차이를 나타내고 있다. 교배가 짧은 기간에 동시에 이뤄지지 않았기에 시기적인 문제는 있을 것으로 판단된다. 한편으로 4년생을 교배할 시기에 이미 고려인삼은 만개를 하였으나 부분으로 사용할 북미삼은 아직 개화가 되지 않은 개화시기의 현격한 차이를 나타내 모부분의 교차교배를 할 수 없었다. 특히 부분으로 사용한 고려인삼의 경우도 화분을 충분히 사용할 만한 개체가 없어 교배조합을 부득히 이렇게 작성할 수 밖에 없었다. 이는 시기적인 차이와 연생간의 차이가 복합적으로 작용한 것으로 보이나 시기적인 차이가 더 있는 것으로 판단 된다. 3년생의 경우는 5월 22일, 4년생의 경우는 5월 18일로 4일간의 간격이 있었으며, 기타 북미삼 계통과 고려인삼 계통간의 교배는 6월 3일 실시하였다. 올해 2012년 교배적기는 5월 25일에서 30일까지라 할 수 있는데 이시기를 놓쳤다고 할 수 있다. 이 연구로 과제 발생을 하기 위해 ipet에 과제 신청을 하였던바 31일에 발표 계획이 잡혀 할 수 없었다. 결과는 과제발생도 되지 못했고, 시기도 놓쳤다.

2012년 현재 4년생인 북미삼과 천풍, 천풍과 북미삼 교잡종은 2007년도 해남에서 교잡을 실시하여 얻은 F1을 고창에 심어 이 식물체에서 F2가 되는 종자를 채종하였다. 일제시대 개성인삼연구소에서부터 고려인삼연구소, 한국인삼연초연구소, KT&G중앙연구원으로 이어지는 육종연구에서 인공교잡으로 F1개체까지는 얻었으나 F1개체가 불임으로 F2세대가 되는 종자를 얻을 수 없었다. 그러나 본 연구에서 F1에서 종자를 얻었다는 것은 인삼의 종간교잡 육종에 대한 새로운 전기점이 될 것으로 보며, 종간잡종에 대한 진전된 연구 결과를 얻을 것으로 본다. 3년생에서는 전혀 채종을 할 수 없었으나 현재 4년생에서도 임성을 보여 채종 가능성이 있을 것으로 본다. F2 식물체는 현재 2년생으로 양호한 생육을 보이고 있으며, 현재 7월 2일 일부 개체는 이제 개화를 하고 한 개체에서는 정확히 한 개의 종자가 달린 것을 확인하였다.

표 19. 2년생 F2의 생육특성

교배조합	경직경	경장	엽병장	엽장	엽폭	장엽	소엽
북미삼 X 천풍	2.6	5.7	5.0	8.6	4.3	1.6	8.0

비고	- 개화개체수는 현재 36개체 중 15개체가 개화중에 있음 - 확실한 임신종자는 1개체에서 1개가 달렸음.
----	--

2012년 현재 3년생은 2007년 해남에서 채굴한 모본을 학교농장으로 옮겨와서 이식하여 2008년에 북미삼과 K-1, K-1과 북미삼을 교잡하여 얻은 종자를 김제에 파종하였으며, 양호한 생육을 보이고는 있으나 임성은 불확실한 상태에 있다. 현재 2년생도 학교농장에서 북미삼과 K-1을 교잡하여 얻은 종자로 생육은 정상이나 아직도 꽃이 피고 있어 임성은 불확실하다. 1년생에는 교잡종이 없다.

4년생의 북미삼 x 천풍과 천풍 x 북미삼의 F1은 모본은 잡종강세현상을 보여 왕성한 생육상태를 보이고 있으며, 특히 천풍을 모본으로 한 개체들이 더 왕성한 생육을 보이고 있으며, 표현형의 형질은 모본쪽으로 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 북미삼을 혼계로 식재한 집단에서 자연교잡으로 발생한 F1을 몇 개체 발견하였으며 이들에 대하여 지속적인 조사를 할 계획이다. 아마 이러한 현상은 이것들의 모본을 재배하던 해남군에서 이뤄진 것으로 중간매체에 의한 것이라 본다.

표 20. 3년생 F1의 생육특성

교배조합	경직경	경장	엽병장	엽장	엽폭	장엽	소엽
천풍 x 북미삼	4.5	25.6	9.0	15.4	7.1	4.0	19.6
북미삼 x 천풍	4.1	26.7	8.5	16.0	6.7	4.0	19.8
비고	- 인삼연구 사상 최초로 중간교배 F1식물 종자를 채취하였음. - 2년생에서 종자를 얻었음. - 3년생에서도 채종이 가능 여부는 지켜보아야 할 것임.						

(2) 생산력 검정시험 및 산지실증시험

(가) 생산력 검정시험

1) 생검계통 모본의 생육특성

이 계통은 경작자가 관심을 가지고 있던 계통들로 2007년 조사된 자료다. 황숙계인 0301와 0303의 생육이 왕성하였으며, 특히 생존율이 다른 계통에 비해 상당히 높았다. 이러한 생존율이 갖는 의미는 이 포장은 재작지로서 경작자가 재배하던 혼계자경종은 거의 전부 고사해버린 데 비해 이렇게 높은 생존율을 보였다.

표 21. 생검계통의 모본 6년생 지상부 생육특성

계통	생존율	초장	줄기길이	잎길이	잎너비	장엽수
0301	56	74.0±2.62	44.6±1.34	18.1±2.07	8.1±0.88	5.4
0302	45	61.7±1.15	37.3±1.53	14.7±0.99	6.0±0.46	4.3
0303	58	78.0±5.20	43.3±2.79	19.2±1.21	7.9±0.83	5.3
0304	32	75.2±1.92	45.6±2.51	18.9±1.93	7.5±1.16	5.4
0305	27	62.6±2.70	37.9±2.51	16.3±1.86	7.0±0.97	5.2
0306	62	63.5±3.30	37.4±2.67	15.8±2.25	7.2±1.20	5.1

2) 생검계통 지상부 생육특성

생산력검정 계통은 81년도에 선발하여 5세대 이상 경과된 오래동안 유지한 계통들이며, 특히 이전 세대의 모본은 재작지에 식재되어 있으면서 6년까지 생존하였던 계통이기에 앞으로 관심을 갖고 지켜볼만한 것으로 생각되며, 이중에서도 황숙계인 0301계통과 자경계인 0303 및 0306계통의 생육이 매우 양호하며 0306계통은 진자색으로 잎에 주름이 많으며, 2대 이상의 줄기 발생율이 매우 높은 특성이 있어 앞으로 지하부 특성과 수량적인 면에 집중할 계획임. 특히 3년생인 2010년 8월의 계속되는 혹서기에 지상부 생육을 조사하였던 바, 0301과 0303은 강, 0302와 0306은 중, 0304은 약, 0305는 매우 약한 경향을 보였다. 표 22의 생육 특성을 보인 자식세대인 2년생 생육계통의 생육은 매우 양호하였으며, 특히 황숙계인 0301계통과 자경계인 0303계통의 생육이 매우 양호하였다.

표 22. 2년생 생검계통의 지상부 생육표

계통	6년생(모본)		2년생(자식)		비고
	생존율	줄기길이	2년 출아율	생육상태	
0301	56	44.6 ±1.34	92	매우 양호	현재는 직파재 배를 하여 종자증식에 치중하고 있음.
0302	45	37.3 ±1.53	90	양호	
0303	58	43.3 ±2.79	93	매우 양호	
0304	32	45.6 ±2.51	87	양호	
0305	27	37.9 ±2.51	89	양호	
0306	62	37.4±2.67	94	양호	

생산력검정 계통은 81년도에 선발하여 5세대 이상 경과된 오래동안 유지한 계통들이며, 특히 이전 세대의 모본은 재작지에 식재되어 있으면서 6년까지 생존하였던 계통이기에 앞으로 관심을 갖고 지켜볼만한 것으로 생각되며, 이중에서도 황숙계인 0301계통과 자경계인 0303 및 0306계통의 생육이 매우 양호하며 0306계통은 진자색으로 잎에 주름이 많으며, 2대 이상의 줄기 발생율이 매우 높은 특성이 있어 앞으로 지하부 특성과 수량적인 면에 집중할 계획임. 특히 3년생인 2010년 8월의 계속되는 혹서기에 지상부 생육을 조사하였던 바, 0301과 0303은 강, 0302와 0306은 중, 0304은 약, 0305는 매우 약한 경향을 보였다.

표 23. 생산력 검정시험 4년생 생육 특성

계통명	줄기		앞자루 길이 (cm)	잎		잎수		상육상	출아기	비고
	굵기 (mm)	길이 (cm)		길이 (cm)	너비 (cm)	큰잎	작은 잎			
0301	6.5	37.6	9.5	15.0	6.1	4.1	19.0	상	중	3년생에 서 채종 하여 S2 세대로 증식하고 있음.
0302	5.7	35.9	10.3	17.3	7.3	4.8	24.7	중	중	
0303	6.4	38.2	11.9	16.4	7.1	4.5	24.3	상	중	
0304	5.9	36.3	10.1	15.2	5.3	4.3	24.0	중	조	
0305	6.3	35.7	9.5	18.7	7.2	4.5	24.3	중	조	
0306	6.5	35.5	9.3	17.8	7.5	4.3	23.5	상	조	

생산력 검정시험 중인 계통 중 0306은 고년생으로 갈 수록 생육도 왕성하고 생존율이 높고 균일한 생육을 보여 G-1 이라는 품종명으로 명명하여 품종출원중이며 일년차 특성조사를 하는 중에 있음. 특히 이 품종은 재작지에서의 생존율이 높고 생육이 좋았던 점으로 미루어 앞으로 재작지를 이용한 시험으로 재현성을 확인하고자 한다.

표 24. 생산력 검정시험 5년생 생육 특성

계통명	줄기		앞자루 길이 (cm)	잎		잎수		상육상	출아기	비고
	굵기 (mm)	길이 (cm)		길이 (cm)	너비 (cm)	큰잎	작은 잎			
0301	7.1	39.5	9.5	15.0	6.1	4.1	19.0	상	중	채종을 3년 생과 4년생 2회에 걸쳐 하였으며, 5 년생 현재도 채종계획임.
0302	6.5	37.03	10.3	17.3	7.3	4.8	24.7	중	중	
0303	6.9	6.7	11.9	16.4	7.1	4.5	24.3	상	중	
0304	6.5	38.6	10.1	15.2	5.3	4.3	24.0	중	조	
0305	7.2	36.7	9.5	18.7	7.2	4.5	24.3	중	조	
0306	7.0	35.5	9.3	17.8	7.5	4.3	23.5	상	조	

표 25. 생산력 검정시험 계통 ginsenoside 함량

계통		Rg1	Re	Rf	Rb1	Rc	Rb2	Rd	Total
동체	0301	2.58	2.84	0.60	1.25	0.71	0.69	0.23	8.90
	0302	1.13	1.69	0.26	0.72	0.55	0.20	0.01	4.56
	0303	2.35	2.10	0.45	1.34	0.94	0.44	0.15	7.77
	0304	5.89	4.10	1.45	3.01	2.77	1.44	0.47	19.13
	0305	5.53	3.62	1.19	2.86	2.05	1.11	0.35	16.71
	0306	3.01	1.10	0.52	1.38	0.76	0.69	0.13	7.59
지근	0301	2.72	8.95	1.12	3.53	2.58	0.91	1.14	20.95
	0302	1.54	8.46	0.90	3.83	2.83	1.04	1.08	19.68
	0303	0.93	4.77	0.49	2.14	2.02	0.81	0.74	11.90
	0304	3.75	13.10	1.80	9.33	11.15	5.63	1.98	46.74
	0305	3.58	16.90	2.01	9.67	11.51	5.80	2.22	51.69
	0306	7.28	2.14	0.98	3.79	5.48	0.39	1.74	21.80

(나) 산지실증시험

1) 품종 유망 계통 생육특성

품종으로 유망시되는 뉴천(가칭)의 생육상태는 다음과 같다. 부여에 식재되어 있으며, 현재 4년생으로 생육은 매우 양호한 경향을 보이고 있다. 그러나 3년생인 2010년 8월의 계속되는 혹서기에 지상부 생육을 조사하였던 바, 대비종인 천풍은 대부분 지상부가 고사한 반면에 뉴천은 중간 정도의 생육 상태를 보여 천풍보다는 혹서에 강하다는 것을 확인 하였다. 그러나 앞으로 이 계통에 대한 좀더 조사하여 품종으로 출원하고자 한다.

표 26. 뉴천의 생육

계 통	생존율(%)	경장	엽병장	엽장	엽폭	소엽수/줄기	생육상	출아기
뉴 천	76	44.5	11.3	15.6	7.1	27.7	중	만
천풍(대비)	78	43.7	10.7	16.4	7.5	28.3	약	만

2) 품종 K-1의 생육특성

품종이 완료된 K-1은 제 167호 품종보호공보(국립종자원, 2012년 6월 15일)p-96에 의하면 다 음표와 같다.

표 27. 케이원의 품종보호 이력

출원공보 번호	2012-15	출원공고 일자	2012. 1. 15
품종보호권 등록번호	3949	등록일자	2012. 3. 28
출원번호	2010-253	출원일자	2010. 4. 7
식물의 종류	인삼	품종의 명칭	케이원(K-1)
품종 보호권자	경기도지사 경기도 수원시 팔달구 효원로 1		
	경희대학교 국제캠퍼스 산학협력처 경기도 용인시 기흥구 영덕대로 1732		
	한방바이오주식회사 경기도 용인시 기흥구 신정로 101		
품종보호권 존속기간	2012. 3. 28 - 2032. 3. 27		

K-1은 품종으로 유망시 되어 계통명을 가칭 “명품 또는 명삼”으로 하였으나 품종등록규정에 저촉되어 “K-1”으로 명명하여 2010년 4월 7일에 품종출원을 하여 당년에 1차 심사를 끝내고, 2011년에 2차 심사를 맞혀 품종에 등록 되었음. 2007년도에 공시한 산지실증시험은 현재 5년생으로 지역은 해남, 부여, 포천지역에 식재되어 있으며 년생별 생육 상태는 표 28과 29와 같다. 지역적으로는 약간의 생육차이를 나타내고는 있으나 이 품종의 지상부 특성은 잘 발현되고 있음. 생육적인 차이는 지역에 따른 일복구조가 가장 큰 요인으로 작용하는 것으로 판단되며, 기타 지역적 기후나 토양 등의 요인이 있는 것으로 보며, 부여지역은 직파로 식재를 하여 밀식이 되어 있어 경직경은 작으면서 경장은 길어 약간은 웃자람 현상을 보이는 경향이 있고, 3, 4, 5년생 때 채종을 하였기에 지하부 생육에는 상당한 영향을 미쳤을 것으로 판단된다. 특히 3년생인 2010년 8월의 계속되는 혹서기에 지상부 생육을 조사하였던 바, 대비종인 천풍은 대부분 지상부가 고사한 반면에 K-1은 대부분이 건재하였음.

표 28. 4년생 K-1의 산지실증시험

지역	경직경	경장	엽병장	엽장	엽폭	장엽수	소엽수
포 천	7.5±0.7	36.6±2.7	9.5	15.0±0.9	6.1	4.1	19.0±2.8
부 여	6.1±1.2	38.9±3.2	10.3	17.3±0.7	7.3	4.8	24.7±2.7
해 남	7.3±0.8	37.2±3.0	11.9	16.4±1.1	7.1	4.5	24.3±3.0

표 29. 5년생 K-1의 산지실증시험

지역	경직경	경장	엽병장	엽장	엽폭	장엽수	소엽수
포 천	8.8	35.6	10.3	16.0	6.5	5.1	20.3
부 여	7.5	38.5	9.8	16.7	6.9	5.5	25.6
해 남	7.8	37.2	10.5	17.2	7.0	5.4	24.5

K-1품종과 G-1품종의 출원 내역은 다음과 같다.

접수인란	방식심사란			담 당	심사관
품 종 보 호 출 원 서					
출 원 인	①성 명	(한글) (별지사용) (영문)	②주민등록번호	(별지사용)	
	③주 소	(한글) (영문) (별지사용) (전화 :)	④지 분	(별지사용)	
대 리 인	⑥성 명		⑦주민등록번호		
	⑧주 소		⑨전 화 번 호		
육 성 자	⑨성 명	(한글) (별지사용) (영문)	⑩주민등록번호 (외국인은 국적)	(별지사용)	
	⑪주 소	(한글) (별지사용) (영문)	⑫전 화 번 호	(별지사용)	
⑬품 종 이 속 하 는 작물의 학명 및 일반명		<i>Panax ginseng C. A. Meyer</i>			
⑭품종의 명칭		(한글) 케이원 (영문) K-1			
「중자산업법」 제27조제3항에 따른 우선권 주장	⑮출 원 국 명	⑯출 원 자	⑰출 원 번 호	⑱증명서류	
				첨 부	미첨부
⑲품 종 의 특 성 설 명		(별지사용)			
⑳품종육성과정의 설명		(별지사용)			
<p>「중자산업법」 제26조제1항 및 같은 법 시행규칙 제28조에 따라 위와 같이 품종보호출원을 합니다. 2010년 3월 일</p> <p style="text-align: center;">출원인(대리인) 경희대학교 산학협력단장 (서명 또는 인)</p> <p style="text-align: right;">국립종자원장 귀하</p>					
구비서류 1. 출원품종의 사진 및 종자시료(영양체 종자인 경우에는 종자시료의 첨부를 생략할 수 있습니다) 2. 품종보호출원 수수료 납부증명서 1부 3. 우선권주장 수수료 납부증명서 1부(우선권을 주장하는 경우에 한합니다) 4. 권리에 관한 지분을 증명하는 서류 1부(지분이 약정되어 있는 경우에 한합니다) 5. 대리권을 증명하는 서류 1부(대리인의 경우에 한합니다)				수수료	
				품종당 3만8천 원	

210mm × 297mm[신문용지4g/㎡ 재활용품]

○ 출원인

①성 명(기관명)	②주민등록번호 (사업자등록 및 고유번호)	③주 소	④지 분
경희대학교 산학협력단		경기 용인시 기흥구 서천동 1번지 경희대학교 국제캠퍼스내	60
경기도		경기 수원시 팔달구 매산로 3가 1번지 경기도청	30
한방바이오주식회사		경기 용인시 기흥구 신갈동 384-4	10

○ 육성자

⑨성명	⑩ 주민등록번호	⑪ 주 소	⑫ 전화번호
권우생 Kwon Woo-Saeng		경기 용인시 기흥구 서천동 1번지 경희대학 교국제캠퍼스 애지원 한방바이오센터내 고려인삼명품화사업단	
양덕춘 Yang Deok-Chun		경기 용인시 기흥구 서천동 1번지 경희대학교 국제캠퍼스 생명과학대학	
이은구 Lee Eun-Koo		경기 용인시 기흥구 신갈동 384-4 한방바 이오주식회사	
김찬중 Kim Chan-Jung		“	
서영교 Seo Young-Gyo		“	
인준교 In Jun-Gyo		“	
이범수 Lee Bum Soo		“	
김영호 Kim Young-Ho		경기 화성시 기산동 315번지 경기도농업기술원	
박경열 Park Kyeong-Yeol		“	
김희동 Kim Hee-Dong		“	
안영남 An Young-Nam		“	

⑬ 품종의 특성설명

본 품종의 줄기, 엽병, 꽃대 색은 전체적으로 진자색이며 개체당 줄기수는 대부분이 1개다. 잎은 대부분 5소엽이 많으며 소엽은 원추형으로 볼록한 모양으로 밖으로 뒤집어진 형이다. 엽색은 진녹색으로 엽면에 윤기가 있다. 출아 및 개화기는 중간 정도다. 몸통뿌리의 모양은 원통형이며 2~3개의 지근이 발달되고 잔뿌리가 많은 특성을 갖고 있다.

㉔ 품종육성과정의 설명

본 품종은 산지에서 선발된 1개체로부터 순계분리법으로 육성한 것으로 육성내력은 아래와 같다.

1) 품종육성경과도표

구분 연도	1984	1987	1989	1992	1993	1997	1998	1999	2002	2005	2009
개체선발 및 증식	—————										
계통육성			—————								
생산력검정 1차				—————							
생산력검정 2차					—————						
농가실증 1차								—————			
농가실증 2차 시험중										—————	

2) 품종육성과정 설명

① 1984년~1989년 : 개체선발 및 증식

인삼종자 증식은 년 10배 정도로 매우 낮은 관계로 4년생과 5년생에서 2번의 채종으로 증식과정을 거쳐 다음 단계 시험으로 넘어 감.

② 1988년~1993년 : 계통육성

③ 1992년~1998년 : 생산력검정 1, 2차 시험

인삼은 4년생 이상 6년생 재배하였을 시 필요로하는 뿌리를 얻을 수 있는 특성이 있고, 특히 6년생과 같은 경우는 뿌리 홍삼이나 원료로서 더 높은 부가가치를 인정받을 수 있어 6년을 재배하여 뿌리의 특성을 검정하여야하는 관계로 적어도 2회 정도의 시험을 필요로 하고 있음.

④ 1999년 ~ 2009년 : 농가 실증 1, 2차 시험

농가실증시험은 생산력검정시험과 마찬가지로 농가에서 2차 시험과정을 거쳐 실시하였음.

3) 품종의 육성 계통도

연도	세대	육성내력	비고
1984	S1	개체선발 및 증식	수량성 예비검정, 내병성검정
1988 ~ 1993	S2	생산력검정 1차 시험	수량성 검정, 뿌리체형조사, 홍삼품질예비조사
1989 ~ 1994	S3	생산력검정 2차 시험	“
1999 ~ 2005	S4	농가실증 1차 시험	수량성 및 뿌리체형 등의 재현성 검정
2005 ~ 2009	S5	농가실증 2차 시험	“

4) 기타

① 농가실증시험 생산물의 홍삼품질은 예비시험에 이어 추후 조사할 계획임.

② 개갑율이 떨어지는 원인 시험도 추후 실시할 계획임.

다. 품종의 특성설명

- 식물의 종류 : 인삼 *Ginseng (Panax ginseng C.A. Meyer)*
- 출원품종의 명칭 :
- 출원인의 성명 :
- 특성 조사자 성명 : 권우생, 이은구
- 특성 조사 연도 : 2008. 3 ~ 2008. 12
- 특성 조사 장소 : 충남 부여군 구룡면
- 대조품종(제일 유사한 품종)의 명칭 : 천풍

No	형 질	표 현 형 태									출원품종		대조품종	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	No	실측치	No	실측치
1	식물체 : 줄기의 길이			짧다		중간		길다			5	44.4cm	6	49.6cm
2	줄기 : 줄기 수	1경	2경	3경							1	1대	1	1대
3	줄기 : 안토시아닌 색	없다								있다	8		2	
4	줄기 : 안토시아닌의 분포	기부	기부 + 상부	상부	전체						4		1	
5	잎 : 줄기 당 소엽수			적다		중간		많다			5	27.0매	5	26.7매
6	잎자루 : 길이			짧다		중간		길다			7	12.6cm	5	10.0cm
7	잎자루 : (화경기준)각도	직립		중간		수평					5	50°	5	48°
8	잎 : 탁엽의 발생정도	약하다	중간	강하다							1		1	
9	잎 : 표면 주름정도			약하다		중간		강하다			4		5	
10	잎 : 녹색정도			약하다		중간		강하다			7		3	
11	소엽 : 길이			짧다		중간		길다			7	23.3cm	4	18.8cm
12	소엽 : 너비			좁다		중간		넓다			6	8.7cm	4	7.8cm
13	소엽 : 모양	넓은 타원형	타원형	주걱형							2	넓은 유선형	2	유선형
14	소엽 :	오	평	볼							3		1	

가로 자른면의 모양		목하다	편하다	룩하다										
No	형 질	표 현 형 태									출원품종		대조품종	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	No	실측치	No	실측치
15	소엽 : 거치	없거나 매우 약하다	중간	강하다							2		2	
16	개화기			빠르다		중간		늦다			5		6	
17	꽃대 : 길이			짧다		중간		길다			5	22.7cm	6	24.9cm
18	꽃송이 모양	단형	중간	복합형							1		1	
19	소화경 : 자세	반직립		수평		처짐					1		1	
20	열매 : 성숙기			빠르다		중간		늦다			6		7	
21	열매 : 색	노란색	등황색	붉은색							3		2	
22	열매 : 모양	원형	신장형								2		2	
23	잎 : 노화시 색깔	노란색	오렌지색	빨간색							3		2	
24	뿌리 : 몸통의 지름			가늘다		중간		굵다			5	2.7cm (6년근)	5	2.3(cm) (6년근)
25	뿌리 : 몸통의 길이			짧다		중간		길다			5	6.7cm	7	7.0cm
26	뿌리 : 색	백색	미색	황색							2		2	
27	지하경 : 수근	없다							있다		9		1	

※ 작성요령

- 계급(NO.)란에 해당되는 표현형태의 계급번호를 기입
- 실측형질의 경우 계급(No)란에 계급을 기록하고 실측치란에 정확한 수치기입

라. 품종의 특성기술서

1. 종(種) 및 학명 : 인삼 (<i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer)
2. 품종명 : 케이원(K-1)
3. 식물체의 주요 형태적 특성 <ul style="list-style-type: none"> - 줄기, 장엽병 및 소엽병이 진한 자색을 띤다. - 엽에 윤기가 있다. - 소엽이 처지는 형이다. - 소엽이 뒤집히는 모양이다. - 소엽은 5엽으로 엽모양은 광엽 유전형이다. - 뿌리의 동체와 지근 부위에 세근발달이 왕성하다. - 종자의 개갑율은 떨어지는 편이다.
4. 출원품종이 대조품종과 구별되는 특성 <ul style="list-style-type: none"> - 출아가 대조품종보다 빠름 - 출원품종은 줄기, 엽병 및 꽃대 색이 진한 자색이나 대비품종은 줄기의 기저 부위, 엽병과 꽃대의 분지에만 약간의 자색을 보임 - 잎의 색은 진녹색이며 윤기가 있으나 대비품종은 연녹색으로 윤기가 없음. - 잎몸의 가로 자른 모양이 불룩하나 대비품종은 오목함. - 열매색은 붉은 반면 대비품종은 등황숙임. - 뿌리의 몸통은 대비종과 같이 긴 원통형이나 대비품종은 몸통뿌리에 세근이 적게 발달하지만 출원품종은 세근 발달이 왕성함.
5. 출원품종의 균일성과 안정성을 기술(대조품종 포함) <ul style="list-style-type: none"> - 년차적인 시험재배에서 이형주 발생은 없어 균일성 요건을 충족하였고, 종자 증식을 위한 재배에서도 균일성을 보여 안정성을 갖춘 것으로 판단 됨.
6. 품종구별에 도움이 되는 추가정보 <p>6.1 병과 충에 대한 저항성</p> <ul style="list-style-type: none"> - 6년생까지 생존율이 재래혼계종에 비해 높아 내병성이 있는 것으로 판단되나 추가적으로 병에 대한 시험이 수반 되어야 할 것으로 봄. <p>6.2 생리장해저항성</p> <ul style="list-style-type: none"> - 생리장해 저항성 조사나 시험은 없었음. <p>6.3 기타정보</p> <ul style="list-style-type: none"> - 현재까지는 기존의 다른 품종에 비해 개갑율이 떨어지는 것이 관찰되었으나 이에 대한 추가 시험이 필요하다고 판단 됨.
7. 품종육성에 관한 정보 <p>7.1 위 품종은 유전적변형 기술에 의해 육성된 품종(GMO)입니까? 예(). 아니오(0)</p> <p>7.2 유전적변형기술에 의한 품종(GMO)인 경우 보건복지부고시 1997-12호의 “유전자 재조합체 실험 지침”이나 농촌진흥청의 “농림축산업 관련 유전자 재조합체 실험 및 취급지침[연협 51800-42(‘99. 1. 28)]” 또는 관련 국제규정에 의해 실험을 실시하였습니까 ? 예(), 아니오()</p>

7.3 관련규정에 의해 실험을 실시한 경우 안전성 평가결과를 첨부하였습니까? 예(), 아니오()
 * 질문7.3에서 아니오에 해당되는 경우 첨부서류가 구비되기 전에는 다음의 절차가 진행되지 않습니다.
 가. 품종의 심사(품종보호출원품종, 국가품종목록 등재신청 품종의 경우)
 나. 품종의 생산.판매 신고필증 교부(품종의 생산.판매 신고품종의 경우)

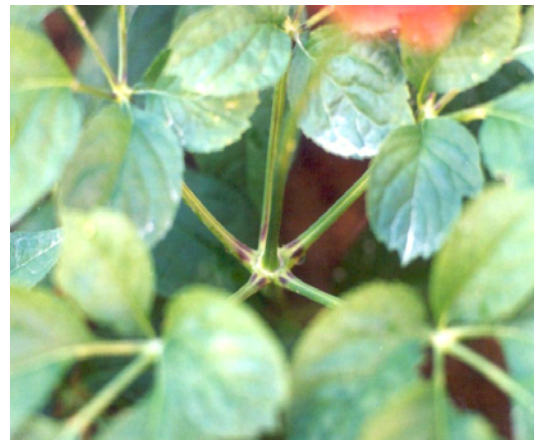
□ 출원 품종 포장 및 식물체 사진



케이원(출원품종)포장 전경



케이원(출원품종)



천 풍(대비품종)

□ 자색발현정도(줄기, 꽃대, 큰잎 및 작은잎 분지부위)



케이원(출원 품종)



천풍(대비 품종)

□ 첨부 1

1. 조사개체수 및 이형주수

총 조사개체수	반복	이형주수	조사년차 및 년도
20	4	0	1년차(2009년)

2. 시험성적 통계분석

품종	줄기 길이		작은잎 길이		작은잎 너비		꽃대 길이	
	1년차	2년차	1년차	2년차	1년차	2년차	1년차	2년차
대비(천풍)	49.6		18.8		7.8		24.9	
케이원	44.4	-	23.3	-	8.7	-	22.7	-
LSD .05	2.80		0.93					
LSD .01	5.14		1.71		ns		ns	
ANOVA Variety(Tret.) Rep.	122.96* 2.18		36.05** 0.15		ns		ns	-

□ 첨부 2

- 육성자 지분율

육성 품종명		케이원(K-1)		
육성자	성명	지분율	소속	서명 및 날인
	권우생	20	경희대학교	
	양덕춘	20	“	
	이은구	20	한방바이오(주)	
	김찬중	5	“	
	서영교	5	“	
	인준교	5	“	
	이범수	5	“	
	김영호	5	경기도농업기술원	
	박경열	5	“	
	김희동	5	“	
	안영남	5	“	
주발명자의 부서장	<p style="text-align: center;">2010년 3월 일</p> <p style="text-align: center;">경희대학교 고려인삼명품화사업단</p> <p style="text-align: center;">단장 양 덕 춘 (서 명)</p>			

접수인란		결재인란	
대표자 <input checked="" type="checkbox"/> 선정 <input type="checkbox"/> 해임 <input type="checkbox"/> 신고서			
신 고 인	①성 명	경희대학교 산학협력단 (권우생)	②주민등록번호 (외국인은 국적) 135-82-107989
	③주 소	446-701, 경기도 용인시 기흥구 서천동 1번지 경희대학교 국제캠퍼스내	
	④전화번호		⑤사건과의 관계
대 리 인	⑥성 명		⑦주민등록번호
	⑧주 소		⑨전 화 번 호
사 건 의 표 시	⑩출원번호		⑪출 원 일 자
	⑫심판번호		⑬심판청구일자
⑭작 물 의 명 칭		인삼(<i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer)	
⑮품 종 의 명 칭		케이원(K-1)	
⑯신 고 내 용			
<p>「중자산업법」 제5조제1항 단서 및 같은 법 시행규칙 제5조에 따라 위와 같이 대표자 선정 해임 신고를 합니다.</p> <p style="text-align: center;">2010년 3월 일</p> <p style="text-align: center;">신고인(대리인) 경희대학교 산학협력단장 (서명 또는 인)</p> <p>해양수산부장관 국립종자원장 산림청장 귀하 품종보호심판위원회 위원장</p>			
구비서류 1. 대표자임을 증명하는 서류 1부 2. 신고내용을 증명하는 서류 1부 3. 대리권을 증명하는 서류 1부(대리인의 경우에 한합니다)			수수료 없음
위 품종에 대한 대표자는 경희대학교 산학협력단임을 인정함			경기도 (인)
위 품종에 대한 대표자는 경희대학교 산학협력단임을 인정함			한방바이오주식회사 (인)

접수인란				방식심사란	담 당	심사관
품 종 보 호 출 원 서						
출 원 인	①성 명	(한글) (별지사용) (영문)	②주민등록번호		(별지사용)	
	③주 소	(한글) (영문) (별지사용) (전화 :)	④지 분		(별지사용)	
대 리 인	⑥성 명		⑦주민등록번호			
	⑧주 소		⑨전 화 번 호			
육 성 자	⑨성 명	(한글) (별지사용) (영문)	⑩주민등록번호 (외국인은 국적)		(별지사용)	
	⑪주 소	(한글) (별지사용) (영문)	⑫전 화 번 호		(별지사용)	
⑬품종이 속하는 작물의 학명 및 일반명		<i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer				
⑭품종의 명칭		(한글) 지원 (영문) G-1				
「종자산업법」 제27조제3항에 따른 우선권 주장		⑮출 원 국 명	⑯출 원 일 자	⑰출 원 번 호	⑱증명서류 첨 부 미첨부	
⑲품종의 특성 설명		(별지사용)				
⑳품종육성과정의 설명		(별지사용)				
<p>「종자산업법」 제26조제1항 및 같은 법 시행규칙 제 28조에 따라 위와 같이 품종보호출원을 합니다.</p> <p style="text-align: center;">2012년 1월 일</p> <p style="text-align: center;">출원인(대리인) 경희대학교 산학협력단장 (서명 또는 인)</p> <p>국 립 종 자 원 장 귀하</p>						
구비서류 1. 출원품종의 사진 및 종자시료 (영양체 종자인 경우에는 종자시료의 첨부를 생략할 수 있습니다) 2. 품종보호출원 수수료 납부증명서 1부 3. 우선권주장 수수료 납부증명서 1부 (우선권을 주장하는 경우에 한합니다) 4. 권리에 관한 지분을 증명하는 서류 1부 (지분이 약정되어 있는 경우에 한합니다) 5. 대리권을 증명하는 서류 1부(대리인의 경우에 한합니다)					수수료 품종당 3만8천 원	

210mm × 297mm[신문용지54g/㎡ 재활용품]

출원인

①성 명(기관명)	②주민등록번호 (사업자등록 및 고유번호)	③주 소	④지 분
경희대학교 산학협력단	135-82-10789	경기 용인시 기흥구 서천동 1번지 경희대학교 국제캠퍼스	60
경기도	124-83-00269	경기 수원시 팔달구 매산로 3가 1번지 경기도청	30
한방바이오주식회사	307-81-18434	경기 용인시 기흥구 상갈동 199	10

육성자

⑨성명	⑩ 주민등록번호	⑪ 주 소	⑫ 전화번호
권우생 Kwon Woo-Saeng		경기 용인시 기흥구 서천동 1번지 경희대학교국제캠퍼스 애지원 한방바이오센터내 고려인삼명품화사업단	
양덕춘 Yang Deok-Chun		경기 용인시 기흥구 서천동 1번지 경희대학교 국제캠퍼스 생명과학대학	
김민경 Kim Min-Kyeong		"	
양동욱 Yang Dong-Uk		"	
이은구 Lee Eun-Koo		경기 용인시 기흥구 신갈동 384-4 한방바이오주식회사	
김찬중 Kim Chan-Jung		"	
서영교 Seo Young-Gyo		"	
이상훈 Lee Sang-Hoon		경기도 여주군	
임재욱 Lim Jae-Wook		경기도 화성시	
김희동 Kim Hee-Dong		"	
이해길 Lee Hae-Gil		"	
정구현 Jung Gu-Hyun		"	
안영남 An Young-Nam		"	

⑱ 품종의 특성설명

G-1 품종의 줄기, 엽병, 꽃대 색은 전체적으로 진자색이며 개체당 줄기수 발생율은 높은 편이며 줄기가 짧은 형이다. 잎은 대부분 5소엽이며 제2측엽에 턱엽(사진)이 있으며, 잎은 좁고 긴 원추형으로 가장자리에 3-4개의 웨이브가 있다. 특히 줄기의 자색 발현정도는 광을 많이 받는 앞부위는 진한 자색을 띠나 뒷부위는 연한 자색을 띤다. 잎색은 진녹색이며, 잎표면은 약간의 요철이 있다. 출아 및 개화기는 중간 정도다. 몸통뿌리는 미백색이며, 모양은 원통형으로 지근발달은 양호한 편이다.

⑳ 품종육성과정의 설명

본 품종은 산지에서 선발된 1개체로부터 순계분리법으로 육성한 것으로 육성내력은 아래와 같다.

1) 품종육성경과도표

구분 연도	1987	1988 ~ 1991	1992 ~ 1995	1996 ~ 1999	2000 ~ 2003	2004 ~ 2009	2008 ~ 현재
개체선발 및 증식	—————						
계통육성			—————				
생산력검정 1차				—————			
생산력검정 2차					—————		
농가실증 1차						—————	
농가실증 2차 시험중							—————

2) 품종육성과정 설명

① 1987년 : 개체선발

1988년-1995년 : 증식

인삼은 증식율이 년 10배 정도로 타작물에 비해 매우 낮은 특성을 갖고 있다. 증식율을 높이기 위해 뿌리비대가 왕성한 4-6년생 때 수량감소를 무릅쓰고 2-3회 채종하는 방법으로 증식을 함.

② 1992년-1995년 : 계통육성

③ 1996년-2003년 : 생산력검정 1, 2차 시험

인삼은 4년 이상 6년 정도를 재배하여야 상품가치가 있는 뿌리를 생산할 수 있는 작물임. 수확물의 부가가치를 높이기 위한 방법으로 홍삼을 제조하는데 4년생 보다는 6년생이 높은 가치를 인정받을 수 있어 6년을 재배하여 뿌리의 특성을 조사해야할 필요

성이 있음.

④ 2004년 ~ 2012 현재 : 농가 실증 1, 2차 시험

농가실증시험은 생산력검정시험과 마찬가지로 농가에서 1차 시험과정을 거쳐 실시하였고, 2012년 현재 2차 시험중.

3) 품종의 육성 계통도

연도	세대	육성내력	비고
1987 ~ 1995	S1	개체선발 및 증식	종자증식 2작기
1992 ~ 1995	S2	계통육성	수량성 예비검정, 생존율 조사
1996 ~ 1999	S3	생산력검정 1차 시험	수량성 검정, 내병성(생존율), 뿌리모양
2000 ~ 2003	S4	생산력검정 2차 시험	“
2004 ~ 2009	S4	농가실증 1차 시험	수량성 및 뿌리모양 등의 재현성 검정
2008 ~ 2012 현재	S5	농가실증 2차 시험	“

4) 기타

① 농가실증시험 생산물의 홍삼품질은 예비시험에 이어 추후 조사할 계획임.

라. 품종의 특성설명

○ 식물의 종류 : 인삼 *Ginseng (Panax ginseng C.A. Meyer)*

○ 출원품종의 명칭 : G-1

- 출원인의 성명 : 별지내역과 같음
- 특성 조사자 성명 : 권우생, 이은구
- 특성 조사 연도 : 2010. 3 ~ 2011. 8
- 특성 조사 장소 : 충남 부여군 구룡면 죽교리
- 대조품중(제일 유사한 품종)의 명칭 : 선풍

No	형 질	표 현 형 태									출원품종		대조품종	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	No	실측치	No	실측치
1	식물체 : 줄기의 길이			짧다		중간		길다			3	35.7±1.55 cm	7	41.2±2.80 cm
2	줄기 : 줄기 수	1경	2경	3경							1	1.5대	1	1대
3	줄기 : 안토시아닌 색	없다								있다	9		9	
4	줄기 : 안토시아닌의 분포	기부	기부+상부	상부	전체						4		4	
5	잎 : 줄기 당 소엽수			적다		중간		많다			7	27.6±1.76 매	7	27.8±2.43 매
6	잎자루 : 길이			짧다		중간		길다			5	8.3±0.60 cm	7	11.4±1.58 cm
7	잎자루 : (화경기준)각도	직립		중간		수평					5	60.1±5.12°	5	59.4±5.28°
8	잎 : 탁엽의 발생정도	약하다	중간	강하다							3		1	
9	잎 : 표면 주름정도			약하다		중간		강하다			6		5	
10	잎 : 녹색정도			약하다		중간		강하다			7		6	
11	소엽 : 길이			짧다		중간		길다			5	17.1±0.71 cm	8	18.6±0.77 cm
12	소엽 : 너비			좁다		중간		넓다			4	6.5±0.33 cm	7	8.0±0.78 cm
13	소엽 : 모양	넓은 타원형	타원형	주걱형							2		1	
No	형 질	표 현 형 태									출원품종		대조품종	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	No	실측치	No	실측치
14	소엽 : 가로 자른면의 모양	오목	평편	볼록							15		2	

		하 다	하 다	하 다															
15	소엽 : 거치	없 거나 매우 약하 다	중 간	강 하 다										2					2
16	개화기			빠 르 다	중 간			낮 다						5					3
17	꽃대 : 길이			짧 다	중 간			길 다						4	22.6±2.55 cm			8	31.3±3.83 cm
18	꽃송이 모양	단 형	중 간	복 합 형										1					1
19	소화경 : 자세	반 직 립		수 평	처 짐									1					1
20	열매 : 성숙기			빠 르 다	중 간			낮 다						5					3
21	열매 : 색	노 란 색	등 황 색	붉 은 색										3					3
22	열매 : 모양	원 형	신 장 형											2					2
23	잎 : 노화시 색깔	노 란 색	오 렌 지 색	빨 간 색										3					3
24	뿌리 : 몸통의 지름			가 늘 다	중 간			굵 다						5	1.9±0.30 cm (4년근)			5	2.5±0.46 cm (4년근)
25	뿌리 : 몸통의 길이			짧 다	중 간			길 다						5	6.5±0.62 cm			7	7.2±0.76 cm
26	뿌리 : 색	백 색	미 색	황 색										2					2
27	지하경 : 수근	없 다											있 다	9					9

※ 작성요령

- 계급(NO.)란에 해당되는 표현형태의 계급번호를 기입
 - 실측형질의 경우 계급(No)란에 계급을 기록하고 실측치란에 정확한 수치기입
- 마. 품종의 특성기술서

1. 종(種) 및 학명 : 인삼 (<i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer)
2. 품종명 : 지원(G-1)
3. 식물체의 주요 형태적 특성 <ul style="list-style-type: none"> - 줄기, 엽병, 꽃대 및 소엽병이 진한 자색을 띤. - 줄기는 짧은 편입. - 작은잎은 약간 오목한 형입. - 잎가장자리에 3-4개의 웨이브가 있음. - 꽃대는 직립형입. - 제 2측엽에 턱엽이 있음. - 뿌리의 동체와 지근 발달이 양호함.
4. 출원품종이 대조품종과 구별되는 특성 <ul style="list-style-type: none"> - 출원품종의 출아는 대조품종보다 늦음 - 출원품종의 줄기의 색은 자색이나 대비품종은 연한 자색을 보임 - 출원품종의 작은 잎모양은 작은 타원형이나 대비품종은 큰타원형입. - 출원품종의 꽃대는 대비품종에 비해 짧음. - 출원품종은 제 2측엽에 턱엽이 있으나 대비품종은 없음
5. 출원품종의 균일성과 안정성을 기술(대조품종 포함) <ul style="list-style-type: none"> - 년차적인 시험재배에서 이형주 발생은 없어 균일성 요건을 충족하였고, 종자 증식을 위한 재배에서도 균일성을 보여 안정성을 갖춘 것으로 판단 됨.
6. 품종구별에 도움이 되는 추가정보 <p>6.1 병과 충에 대한 저항성</p> <ul style="list-style-type: none"> - 6년생까지 생존율이 재래혼계종에 비해 높아 내병성이 있는 것으로 판단되나 구체적인 병검정은 실시하지 않았음. <p>6.2 생리장해저항성</p> <ul style="list-style-type: none"> - 2010년도 8월에 2주정도 매우 높은 고온기에 비교적 양호한 생육을 유지함. <p>6.3 기타정보</p>

7. 품종육성에 관한 정보

7.1 위 품종은 유전적변형 기술에 의해 육성된 품종(GMO)입니까?.

예(), 아니오(0)

7.2 유전적변형기술에 의한 품종 (GMO)인 경우 보건복지부고시 1997-1호의 “유전자 재조합체 실험지침”이나 농촌진흥청의 “농림축산업 관련 유전자 재조합체 실험 및 취급지침[연협51800-42(‘99. 1. 28)]” 또는 관련 국제규정에 의해 실험을 실시하였습니까 ?

예(), 아니오()

7.3 관련규정에 의해 실험을 실시한 경우 안전성 평가결과를 첨부하였습니까?

예(), 아니오()

* 질문7.3에서 아니오에 해당되는 경우 첨부서류가 구비되기 전에는 다음의 절차가 진행되지 않습니다.

가. 품종의 심사(품종보호출원품종, 국가품종목록 등재신청 품종의 경우)

나. 품종의 생산.판매 신고필증 교부(품종의 생산.판매 신고품종의 경우)

출원 품종 포장 및 식물체 사진



지원(G-1)(출원품종)포장 전경



지 원(G-1)(출원품종)



선 풍(대비품종)

자색발현정도(줄기, 꽃대, 큰잎 및 작은잎 분지부위)



지원(G-1)(출원품종)



선 풍(대비품종)

첨부 1

육성자 지분율

육성 품종명		지원(G-1)		
육성자	성명	지분율	소속	서명 및 날인
	권우생	20	경희대학교	
	양덕춘	20	“	
	김민경	5	“	
	양동욱	5	“	
	이은구	10	한방바이오(주)	
	김찬중	5	“	
	서영교	5	“	
	이상훈	5	”	
	임재욱	5	경기도농업기술원	
	김희동	5	“	
	이혜길	5	“	
	정구현	5	“	
	안영남	5	“	
주발명자의 부서장		2012년 3월 일 경희대학교 고려인삼명품화사업단 단장 양 덕 춘 (서 명)		

접수인란		결재인란	
대표자 <input checked="" type="checkbox"/> 선정 <input type="checkbox"/> 해임 <input type="checkbox"/> 신고서			
신 고 인	①성 명	경희대학교 산학협력단 (권우생)	②주민등록번호 (외국인은 국적) 135-82-107989
	③주 소	446-701, 경기도 용인시 기흥구 서천동 1번지 경희대학교 국제캠퍼스	
	④전화번호	031)201-2065	⑤사건과의 관계 육성자
대 리 인	⑥성 명		⑦주민등록번호
	⑧주 소		⑨전 화 번 호
사 건 의 표 시	⑩출원번호		⑪출 원 일 자
	⑫심판번호		⑬심판청구일자
⑭작 물 의 명 칭		인삼(<i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer)	
⑮품 종 의 명 칭		지원(G-1)	
⑯신 고 내 용			
<p>「종자산업법」 제5조제1항 단서 및 같은 법 시행규칙 제 50에 따라 위와 같이 대표자(선정)신고를 합니다.</p> <p style="text-align: center;">2012년 1월 일</p> <p style="text-align: center;">신고인(대리인) 경희대학교 산학협력단장 (서명 또는 인)</p> <p>해양수산부장관 국립종자원장 산림청장 귀하 품종보호심판위원회 위원장</p>			
구비서류 1. 대표자임을 증명하는 서류 1부 2. 신고내용을 증명하는 서류 1부 3. 대리권을 증명하는 서류 1부(대리인의 경우에 한합니다)			수수료 없음
위 품종에 대한 대표자는 경희대학교 산학협력단임을 인정함		경기도 (인)	
위 품종에 대한 대표자는 경희대학교 산학협력단임을 인정함		한방바이오주식회사 (인)	

2핵심 2세부

제 1 절 재료 및 방법

1. 경기지역(안성, 포천)

조사지역은 경기도 지역 내 주요 인삼 재배지인 안성지역과 포천지역으로 이 지역에 위치한 인삼재배 농가에서 안성은 2년근에서 5년근까지 포천은 2년근에서 6년근까지 연근별로 생육상황이 양호한 포지와 불량한 포지를 대상으로 하였다. 인삼시료는 포지별로 생육별, 연근별로 각각 3지점에서 평균적인 생육상태를 보이고 있는 개체 5-6본을 채취하였다. 또한 토양시료는 인삼시료가 채취된 지점의 직하부 표토(0-20 cm)를 토양 sampler를 사용하여 채취하였다. 지상부 생육은 줄기, 잎의 형질에 대하여 지하부 생육은 뿌리의 형질에 대하여 측정하였으며 지상부, 지하부 생육상태 특히, 주당 근중의 차이에 따라 우량포지, 불량포지로 구분하였다.

토양 및 엽분석은 국립농업과학원의 토양 및 식물체 분석법 (RDA, 2010)에 준하여 측정하였다. 공시토양은 풍건 후, 2mm체를 통과한 세토에 대하여 pH는 초자전극법, 유기물은 Tyurin법, 유효인산은 Lancaster법, 질소는 Kjeldahl 증류법에 의해 측정하였다. 치환성 염기 (Exch. Ca, Mg 및 K)는 1N-NH₄OAc (pH 7.0)용액으로 침출 여과 후 원자흡광광도계로 분석하였다. 엽분석을 위하여 채취한 잎은 70°C 건조기에서 7일간 건조한 후 N, P, K, Ca 및 Mg 등의 무기성분을 조사하였다. 질소는 Kjeldahl 증류법, 그 외의 원소는 HNO₃-HClO₄ 습식 분해 후 인산은 비색법, Ca, Mg 및 K는 원자흡광도법으로 분석하였다. 분석자료의 통계분석은 PC용 SAS program(SAS Institute Inc., 1987)을 이용하여 상관관계 및 주성분 분석을 실시하였다.

2. 충남지역(금산)

조사지역은 충청남도 지역 내 금산지역으로 이 지역에 위치한 인삼재배 농가에서 연근별(2.5년근) 직파 및 이식 재배 포장을 선정하여 생육상황이 양호한 포지와 불량한 포지를 대상으로 하였다. 인삼시료는 각 포장별, 생장별로 27개소에서 각 4-5개체씩 채취하였다. 채취한 인삼시료는 지상부(경장, 경직경, 엽장, 엽폭)와 지하부(근장, 동장, 근직경, 생중량)로 구분하였다. 또한 토양시료는 인삼시료가 채취된 지점의 직하부 표토(0-20 cm)를 토양 sampler를 사용하여 채취하였다. 지상부 생육은 줄기, 잎의 형질에 대하여 지하부 생육은 뿌리의 형질에 대하여 측정하였으며 지상부, 지하부 생육상태 특히, 주당 근중의 차이에 따라 우량포지, 불량포지로 구분하였다.

토양 및 엽분석은 국립농업과학원의 토양 및 식물체 분석법 (RDA, 2010)에 준하여 측정하였다. 공시토양은 풍건 후, 2mm체를 통과한 세토에 대하여 pH는 초자전극법, 유기물은 Tyurin법, 유효인산은 Lancaster법, 질소는 Kjeldahl 증류법에 의해 측정하였다. 치환성 염기 (Exch. Ca, Mg 및 K)는 1N-NH₄OAc (pH 7.0)용액으로 침출 여과 후 원자흡광광도계로 분석하였다. 엽분석을 위하여 채취한 잎은 70°C 건조기에서 7일간 건조한 후 N, P, K, Ca 및

Mg 등의 무기성분을 조사하였다. 질소는 Kjeldahl 증류법, 그 외의 원소는 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ 습식 분해 후 인산은 비색법, Ca, Mg 및 K는 원자흡광도법으로 분석하였다. 분석자료의 통계분석은 PC용 SAS program(SAS Institute Inc., 1987)을 이용하여 상관관계 및 주성분 분석을 실시하였다.

재배지역 구분에 따라 논 재배지(4년근)와 밭 재배지(5년근)의 포장 2개소를 선정하여 포장별, 생장별로 27개소에서 인삼시료를 4-5개체씩 채취하였다. 채취한 인삼시료는 지상부와 지하부로 구분하여 생육조사 및 생근중의 차이에 따라 우량포지와 불량포지로 구분하였으며, 토양은 인삼시료 채취 직하부 표토(0-20 cm)를 토양 sampler를 사용하여 채취하였다. 시료는 토양의 이화학적, 엽분석을 실시한 후, 분석자료의 통계분석은 PC용 SAS program(SAS Institute Inc., 1987)을 이용하여 상관관계 및 주성분 분석을 실시하였다.

토양 및 중금속의 적정농도 분석 방법은 논과 밭 재배 인삼포장별 15개소를 선정하여 공시 토양을 채취(토심 0-20cm)하여 토양 및 인삼근의 중금속(Pb, Cu, Cd, Mn, Zn)을 각각 0.1N HCl 추출법, $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ 습식분해를 이용하여 분석하였다. 분석자료의 통계분석은 PC용 SAS program을 이용하여 유의차 검정 및 주성분 분석을 실시하였다.

3. 경북지역(풍기)

가. 묘삼 포지

조사지는 우리나라 주요 인삼재배지인 풍기지역의 인삼농가 묘삼포지를 대상으로 하였다. 묘삼시료는 포지별로 크기 30×90cm 포지 각각 10지점에서 개체를 채취하였다. 또한 토양시료는 묘삼시료가 채취된 지점의 직하부 표토(0-20cm)를 토양 sampler를 사용하여 채취하였다.

토양의 물리적 성질에 있어서 토양삼상은 Core법으로 측정하였다. 공시토양은 풍건 후, 2mm체를 통과한 세토에 대하여 pH는 초자전극법, 유기물은 Tyurin법, 유효인산은 Lancaster 법, 질소는 Kjeldahl 증류법에 의해 측정하였다. 치환성 염기 (Exch. Ca, Mg 및 K)는 1N- NH_4OAc (pH 7.0)용액으로 침출 여과 후 원자흡광도계로 분석하였다. 뿌리는 70℃ 건조기에서 7일간 건조한 후 분쇄하여 N, P, K, Ca 및 Mg 등의 무기영양성분을 조사하였다. 질소는 Kjeldahl 증류법, 그 외의 원소는 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ 습식분해 후 인산은 비색법, Ca, Mg 및 K는 원자흡광도계로 분석하였다. 중금속(Mn, Zn, Cu, Pb, Cd 분석)은 토양은 0.1N HCl 침출법, 뿌리는 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ 습식분해 후 원자흡광도계로 분석하였다. 분석자료의 통계분석은 PC용 SAS program 을 이용하여 유의차 검정 및 주성분 분석을 실시하였다.

나. 직파 및 이식 포지

조사지는 4년생 동일 인삼포지에 있어서 직파 및 이식재배지 각각 10개소를 대상으로 하였다. 인삼시료는 포지별로 1개소당 평균적인 생육상태를 보이고 있는 개체 5-6분을 채취하여 근장, 근직경 및 생근중 등의 뿌리형질에 대하여 측정하였으며, 지하부의 생육상태. 특히 생근중의 차이에 따라 우량포지, 불량포지로 구분하였다. 또한 토양시료는 인삼시료가 채취된 지점의 직하부 표토(0-20cm)를 토양 sampler를 사용하여 채취하였다.

토양의 물리적 성질에 있어서 토양삼상은 Core법으로 측정하였다. 공시토양은 풍건 후

2mm체를 통과한 세토에 대하여 pH는 초자전극법, 유기물은 Tyurin법, 질소는 Kjeldahl 증류법, 유효인산은 Lancaster법에 의해 측정하였다. 치환성 염기 (Exch. Ca, Mg 및 K)는 1N-NH₄OAc (pH 7.0)용액으로 침출 여과 후 원자흡광광도계로 분석하였다. 중금속분석(Mn, Zn, Cu, Pb, Cd)은 0.1N HCl 침출 후 원자흡광도계로 분석하였다. 분석자료의 통계분석은 PC용 SAS program 을 이용하여 유의차 검정 및 주성분 분석을 실시하였다.

4. 강원지역(홍천)

조사지는 우리나라 주요 인삼재배지인 강원도 홍천지역의 인삼농가 묘삼포지 20개소를 대상으로 하였다. 묘삼시료는 포지별로 크기 30×90cm 포지에서 평균적인 생육상태를 보이고 있는 개체 5-6본을 채취하였다. 묘삼의 생근중을 측정하여 생근중의 차이에 따라 우량포지, 불량포지로 구분하였다. 또한 토양시료는 묘삼시료가 채취된 지점의 직하부 표토(0-20cm)를 토양 sampler를 사용하여 채취하였다.

토양의 물리적 성질에 있어서 토양삼상은 Core법으로 측정하였다. 공시토양은 풍건 후, 2mm체를 통과한 세토에 대하여 pH는 초자전극법, 유기물은 Tyurin법, 유효인산은 Lancaster법, 질소는 Kjeldahl 증류법에 의해 측정하였다. 치환성 염기 (Exch. Ca, Mg 및 K)는 1N-NH₄OAc (pH 7.0)용액으로 침출 여과 후 원자흡광광도계로 분석하였다. 뿌리는 70℃ 건조기에서 7일간 건조한 후 분쇄하여 N, P, K, Ca 및 Mg 등의 무기영양성분을 조사하였다. 질소는 Kjeldahl 증류법, 그 외의 원소는 HNO₃-HClO₄ 습식분해 후 인산은 비색법, Ca, Mg 및 K는 원자흡광도계로 분석하였다. 중금속(Mn, Zn, Cu, Pb, Cd 분석)은 토양은 0.1N HCl 침출법, 뿌리는 HNO₃-HClO₄ 습식분해 후 원자흡광도계로 분석하였다. 분석자료의 통계분석은 PC용 SAS program 을 이용하여 유의차 검정 및 주성분 분석을 실시하였다.

5. 토양표준화

동일 지역내 예정지, 묘포, 본포토양의 이화학적 성질의 분포범위와 위치관계를 비교하기 위하여 5차년도 조사지인 강원도 홍천 지역내 예정지 20개소, 묘포지 20개소, 이식포지 20개소, 직파포지 10개소를 대상으로 표토(0-20cm)를 토양 Sampler를 사용하여 채취하였다. 토양의 이화학적 분석은 제 3장 1절에서의 분석방법과 같으며, 이화학적 성질의 분포범위와 위치관계를 해석하기 위하여 주성분분석을 이용하였다.

전국적으로 인삼재배에 적용하기 위한 토양표준화 체계를 수립하기 위하여 1-5차년도 연구에서 지역별로 설정된 인삼재배지 토양의 적정농도를 비교하고 공통적으로 인삼생육에 관여하는 토양요인을 추출함과 동시에 그 적정농도와 성분비 등을 설정하였다.

6. 토양개선편자료의 선발

시험에 공시된 인삼종자는 용인시에 위치하는 경희대학교 농장에서 재배된 천풍품종의 고려인삼 4년생에서 채취한 종자와 1년생 묘삼을 구입하여 사용하였다. 시험에 이용한 원야토는 경기도 광주군 소재 경희대학교 연습림 내 굴참나무림(40년생) 표층토(0-20cm)를 채취하여 5mm 체를 통과한 토양을 균일하게 혼합하여 실험실로 운반하였다. 굴참나무 수피퇴비는 우리

나라에서 제조하지 않는 관계로 일본에서 수입하였으며, 미도리(紀南목재부제품 주식회사)와 키녹스K(王子목재녹화 주식회사)를 1:1 등량 혼합하여 토양개량재료로 사용하였다. 처리는 대조구(무처리구)와 수피퇴비와 원야토의 용적비율(v:v)로 수피퇴비 5%, 10%, 20%의 처리구, 수피퇴비 5%, 10%, 20%에 유기석회비료(권장량 150g/m²)를 각각 75g/m², 150g/m², 225g/m² 추가한 처리구, 그리고 원야토에 유기석회 비료만을 추가한 처리구를 3반복으로 수행하였다.

시험 용기인 스티로폼 포트(270×200×150mm)에 혼합한 토양개량재료를 충전하고 충분히 관수한 후 종자는 3.5×3.5cm 간격으로 파종, 묘삼은 5.0×5.0cm 간격으로 식재하였다. 시험용기는 농장 내 인삼품종 시험포지내에 설치하여 자연환경 조건하에서 생육시켰다. 지상부 생육은 종자시험구에서는 발아율, 줄기, 잎에 대하여, 묘삼시험구에서는 줄기, 잎의 각 형질에 대하여 조사하였다.

제 2 절 결과 및 고찰

1. 경기지역(안성, 포천)

가. 인삼생육과 토양의 이화학적 성질

(1) 생육 특성

인삼생육에서 지하부 생육의 분기점은 4년생에서 5년생으로 넘어가는 1년이 가장 중요한 기간이므로 4년생의 생육비교는 의미가 크다(권 등, 2000), 인삼은 연간 성장량이 매우 작으며 4년생 주당 근중은 4년생에서 62 g의 평균값을 보이는데 (이 등, 2004b), 이 값과 본 조사지의 우량포지 4년근(안성 : 47.5 g, 포천: 40.3 g)과 불량포지 4년근 (안성: 9.9 g, 포천: 21.8 g)의 주당 근중과 비교하면(표 1-1), 안성지역과 포천지역의 우량포지에서 각각 77%, 65%, 불량포지에서 각각 16%, 35%의 낮은 값을 나타내었다. 이와 같이 재배지역간, 또는 동일재배지역내 포지별 생육에 큰 차이를 보이고 있는 것은 토양수분 및 양분조건에 따른 결과라 예상되며 불량포지에 있어서의 토양환경의 개선이 크게 요구된다. 두 지역 모두 생육은 2년근에 있어서는 포지 간 큰 차이가 없었으나, 3년근 이후부터는 우량포지에서는 급격하게 증가하는 반면 불량포지에서는 완만한 증가경향을 보여 포지 간 생육차이가 뚜렷하였으며, 특히 안성지역의 4년근 이후의 우량포지의 생육은 식물체 부위별 차이는 있으나 불량포지에 비하여 1.5-5.0배 정도의 높은 값을 보였다.

표 1-1. 안성·포천 지역 인삼의 생육특성

지역	연근	생육상태	잎		줄기		뿌리		생중량 (g)	
			길이 (cm)	폭 (cm)	길이 (cm)	직경 (cm)	길이 (cm)	직경 (mm)		
안성	2	우량	7.6	3.5	14.1	2.0	11.2	5.1	4.0(100)	
		불량	7.5	3.5	11.4	1.2	10.0	4.2	2.0(50)	
	3	우량	12.1	5.0	30.8	4.4	18.7	11.2	15.8(100)	
		불량	7.8	3.4	19.0	3.7	17.4	9.7	7.9(50)	
	4	우량	16.3	5.7	47.5	10.2	17.2	20.9	47.5(100)	
		불량	7.4	3.2	19.3	3.5	13.8	10.8	9.9(21)	
	5	우량	15.0	6.2	44.8	8.5	23.1	24.1	58.7(100)	
		불량	11.5	4.5	17.3	5.3	15.2	15.9	21.8(37)	
	포천	2	우량	6.9	3.5	15.7	2.3	8.6	6.5	6.8(100)
			불량	6.2	3.1	11.4	2.1	9.7	6.2	7.7(113)
3		우량	13.2	5.4	33.4	4.7	16.1	16.2	21.1(100)	
		불량	9.3	4.2	20.2	2.2	12.7	9.0	14.5(69)	
4		우량	15.2	5.8	46.9	9.3	16.0	21.0	40.3(100)	
		불량	12.8	4.9	23.9	8.1	15.3	17.1	21.8(54)	
6		우량	17.2	6.8	48.6	8.8	23.1	22.4	51.7(100)	
		불량	No data(Missing rate 100%)							

() : 비교 지수Relative index

(2) 토양의 이화학적 성질

토양의 이화학적 성질은 안성지역이 포천지역에 비하여 토양의 물리성과 pH를 제외하고는 높은 값과 넓은 범위를 보이고 있었다(표 1-2). 두 지역 모두 사양토(SL)와 양토(L)가 대부분이었으며 토성과 인삼의 생육과의 관계는 뚜렷한 경향을 보이지 않았다. 공극률(액상+기상)은 안성지역에 있어서는 우량포지에서 53-56%, 불량포지에서 48-53%의 값을 나타내어 인삼의 생육에 영향을 미치는 토양의 이화학적 성질 중 주요 인자임을 알 수 있었으나 포천지역에 있어서는 뚜렷한 경향을 보이고 있지 않았다. 안성지역에 있어서는 인삼의 생육 및 수량에 공극률 등이 깊게 관여하고 있다는 연구결과와 일치하였다(이와 욱, 1980; 이 등, 2004a).

우리나라에 있어서 인삼재배지의 토양 양분함량 적정치(박 등, 1996)는 pH 4.8-5.3, 유기물 19g/kg, 유효인산 200 mg/kg이하, 치환성 K, Ca, Mg(cmol⁺/kg)에서 각각 0.5, 3.0, 1.5로 되어 있는데, 본 조사지역의 토양 양분함량은 이에 비해 모든 인자에서 높은 값을 보였다. 특히 유효인산의 경우 안성지역에서 5배, 포천지역에서 3배 이상의 큰 값을 보였으며 치환성 Ca, Mg, K에서도 두 지역 모두 2-3배 이상의 큰 값을 보여 인삼생육에 필요한 적정양분 함량보다 과잉상태를 보이고 있었다. 따라서, 치환성 염기와 염류농도가 높은 포지에서 황증, 적변증 등의 생리 장애현상 발생이 증가한다는 연구결과(이 등, 2004a; 강 등, 2007)로 보아 고염류 포지에 대한 합리적인 토양관리 및 시비체계 수립이 필요하다고 사료된다. 한편, pH가 낮고 치환성 염기량이 낮은 불량포지에서는 유기물 공급에 의해 인삼의 생존율과 수량이 증대하였다는 연구결과(Nadeau *et al.*, 2003)와 일반과원에서 유기물 함량이 높을수록 pH가 높고 치환성 염기함량이 높았다는 이 등(1989)의 연구결과로 보아 불량포지에서의 인삼생육 및 수량의 증대를 위해 적정수준의 pH 및 치환성 염기량을 고려한 유기물의 공급이 필요하다고 생각된다.

표 1-2. 인삼 경작지 토양의 이화학적 성질

지역	생육 상태	토양	삼상(%)			pH (1:5)	유기물 (g/kg)	전 질소 (mg/kg)	유효인산 (mg/kg)	치환성 염기(cmol ⁺ /kg)			
			고상	액상	기상					K	Ca	Mg	
안성	우량	SL, L	M±SD	45.2±1.8	8.6±2.1	46.2±2.6	6.2±0.6	29.2±6.5	2.5±0.6	719±212	1.3±0.5	6.9±1.1	3.1±1.2
			Range	42.8-46.7	6.5-10.9	42.3-48.0	5.4-6.8	23.2-35.8	1.9-3.3	493-992	0.61-1.66	5.58-8.09	1.48-4.06
	불량	SL, L	M±SD	49.2±2.7	10.2±3.2	40.6±3.8	5.4±0.8	25.2±14.2	2.2±1.0	849±146	1.5±0.9	5.1±1.9	2.4±1.2
			Range	46.7-52.1	6.6-14.2	38.4-46.3	4.6-6.2	15.3-45.7	1.4-3.6	647-994	0.67-2.7	3.61-7.8	1.62-4.12
포천	우량	SL, L	M±SD	49.2±2.2	14.3±1.7	36.5±0.8	5.7±0.8	16.1±5.4	1.4±0.3	531±127	0.6±0.4	4.4±1.8	1.3±1.0
			Range	46.4-51.5	13.1-16.8	35.3-36.9	5.2-6.9	12.2-24.1	1.2-1.8	415-672	0.39-1.25	3.20-6.97	0.74-2.79
	불량	SL, L	M±SD	48.4±5.5	10.4±1.8	41.3±6.7	6.3±0.6	21.9±4.2	1.8±0.4	466±256	0.8±0.3	5.3±1.0	1.8±0.8
			Range	41.2-54.3	8.3-12.7	33.1-48.7	5.6-7.0	216.9-26.2	1.3-2.1	236-737	0.53-1.15	4.47-6.75	0.84-2.85

나. 인삼 생육과 엽 농도

(1) 지역별 엽 중 무기양분 함량

엽 중 무기양분 함량(평균치)은 안성지역이 N 2.45%, P 0.25%, K 3.03%, Ca 0.26%, Mg 0.23%, 그리고 포천지역이 N 2.37%, P 0.20%, K 2.02%, Ca 0.74%, Mg 0.29%의 값을 보였다(표 1-3). 지역 간 비교에 있어서는 K는 안성지역에서 1.5배, Ca는 포천지역에서 3배 높은 값을 보이고 있는 외의 다른 원소함량에 있어서는 비슷한 값을 보이고 있었다. 엽 중 무기양분 함량의 크기는 안성지역에 있어서 K > N > P ≒ Ca ≒ Mg 순이었으며, 포천지역에 있어서는 N > K > Ca > Mg > P 순이었다. 선행된 연구(고 등, 1996)에 의하면 대부분의 인삼 속 식물에 있어서 엽 중 무기양분 함량은 N > K > P ≒ Ca > Mg 순으로 안성지역의 엽 중 원소 중 K가 N보다 높은 함량을 보이고 있었는데 이는 무기양분의 흡수량은 토양 배지 조건과 품종 차이에 따른 인삼의 양분흡수 특성(서 등, 2002)에 기인한 결과로 추측된다. 두 지역의 엽 중 무기양분 함량(평균치)과 Khwaja와 Roy(1995)에 의해 설정된 북미삼 엽 중 무기함량 적정범위인 N 2.5-5.0%, P 0.31-0.95%, K 3.1-5.5%, Ca 0.51-1.0%, Mg 0.26-2.5%와 비교하면 포천지역에 있어서 Ca과 Mg은 비슷한 값을 그 외의 원소에 있어서는 두 지역 모두 낮은 값을 보이고 있으며, 특히 안성지역의 Ca성분에서는 하한값의 1/2정도의 수준으로 현저하게 낮았다. 이러한 원인은 토양의 유효태 양분의 존재양식 및 식물의 양분흡수 특성 차이에 따른 결과라 사료된다.

표 1-3. 엽 중 무기양분 함량

지역	생육상태		N	P	K	Ca	Mg
			(%)				
안성	우량	M±SD	2.76±0.38	0.22±0.04	2.97±0.46	0.32±0.05	0.26±0.03
		Range	2.31-3.16	0.18-0.27	2.32-3.38	0.24-0.35	0.23-0.30
	불량	M±SD	2.15±0.86	0.27±0.03	3.09±0.37	0.20±0.10	0.20±0.02
		Range	1.27-2.97	0.24-0.31	2.60-3.41	0.11-0.29	0.17-0.22
포천	우량	M±SD	2.48±0.12	0.19±0.03	2.19±0.26	0.68±0.06	0.30±0.06
		Range	2.32-2.59	0.17-0.24	1.97-2.56	0.6-0.74	0.25-0.38
	불량	M±SD	2.23±0.58	0.22±0.12	1.80±0.27	0.83±0.27	0.28±0.14
		Range	1.64-2.79	0.13-0.35	1.53-2.06	0.66-1.14	0.18-0.44

다. 토양 및 엽 중 적정농도 설정

(1) 인삼생육에 관여하는 토양 및 엽 중 인자추출

인삼의 생육에 영향을 미치는 인자추출과 토양 및 엽 중 무기양분 함량의 적정 범위를 설정을 위하여 주성분 분석을 이용하였다. 주성분 분석에 있어서 주성분의 수는 누적기여율(Cumulative propotion)이 80%이상, 고유치(Eigen value)가 1이상의 2개의 주성분(제1주성분, 제2주성분)을 추출하였다. 토양의 물리적 성질과 생육포지 간의 위치관계를 보면(그림 1-1), 안성지역의 경우 제 1 주성분에 있어서 공극률(-)이 우량포지에서 큰 값을, 불량포지에서 작은 값을 나타내는 위치에 분포하고 있었으며, 제 2 주성분에 있어서 일부 우량포지에 있어서 모래 함량이 작은 값을 나타내는 위치에 분포하고 있었으나 뚜렷한 위치관계는 보이지 않았다. 또한 포천지역의 경우 제 1 주성분은 공극률(-)과 모래로 대표되었으나 생육포지 간 위치관계는 뚜렷하지 않았다. 그러나 제 2 주성분에 있어서는 액상(-)이 우량포지에서 큰 값을, 불량포지에서 작은 값을 나타내는 위치에 분포하고 있었다. 따라서 안성지역은 공극률이, 포천지역은 액상이 각각 인삼 생육에 크게 관여하는 물리적 요인이라는 것을 알 수 있었다.

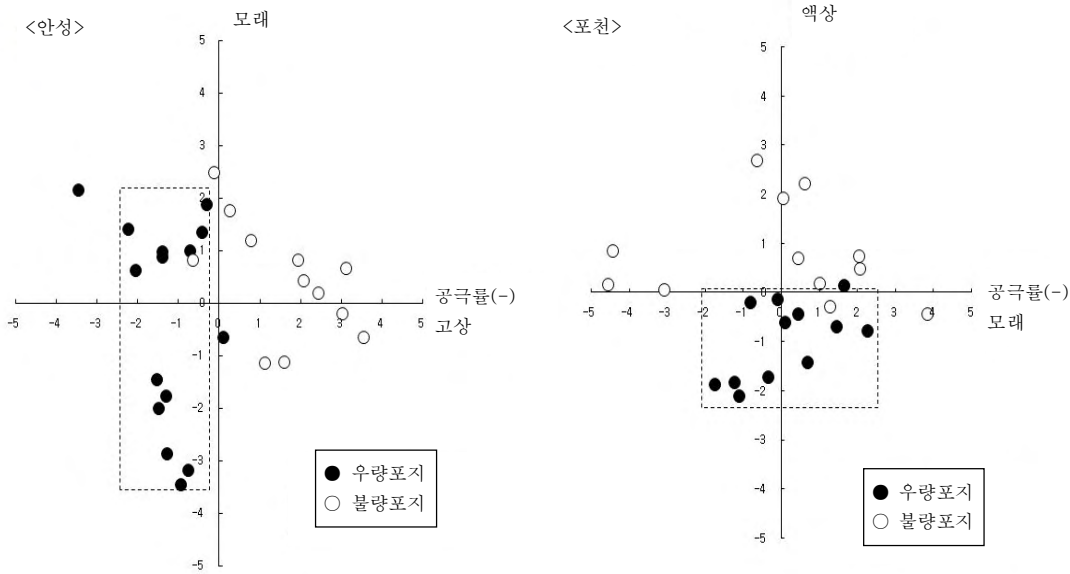


그림 1-1.

토양의 물리적 성질과 생육포지 간의 위치관계

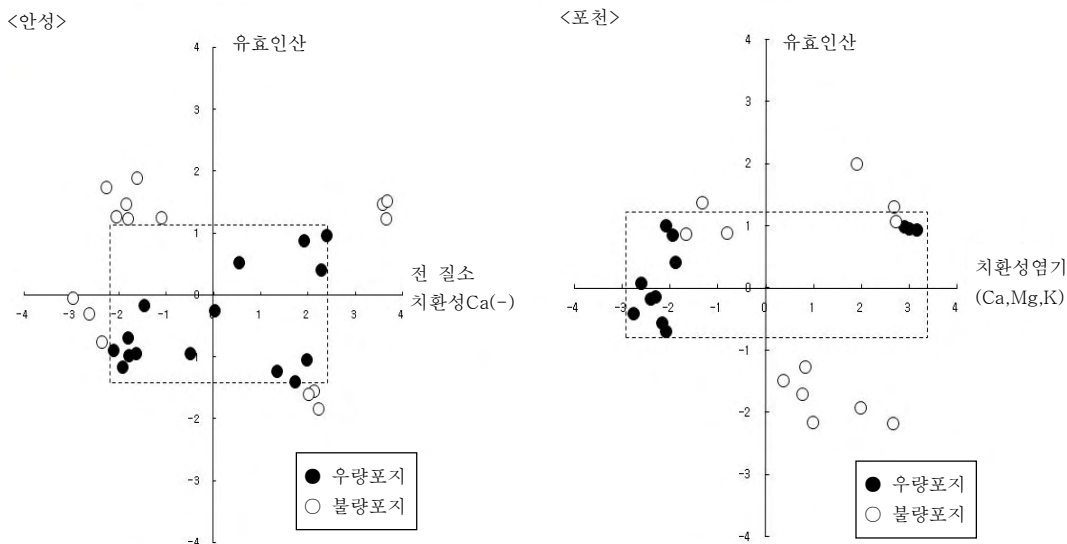


그림 1-2. 토양의 화학적 성질과 생육포지 간의 위치관계

토양의 화학적 성질과 생육포지 간의 위치관계를 보면(그림 1-2), 안성지역에 있어서는 전 질소와 치환성 Ca(-)로 대표되는 제 1 주성분과 유효인산으로 대표되는 제 2 주성분에 있어서 우량포지는 모두 중앙부분 위치에 분포하고 있었으며, 불량포지는 우량포지의 상한값 이하, 하한값 이상의 값을 나타내는 위치에 분포하고 있었다. 따라서 인삼생육에 밀접한 관계를 보이고 있는 화학적 요인으로서 전 질소, 치환성 Ca 및 유효인산이며, 또한 중간값을 나타내는 위치에 분포하고 있는 것으로 보아 이 값의 상한값과 하한값이 적정범위임을 알 수 있었다. 포천 지역에 있어서는 제 1 주성분인 치환성 염기는 일부 예외는 있으나 우량포지 모두 상한값을 나타내고 있었으며, 제 2 주성분에 있어서는 유효인산이 우량포지는 중간값을 나타내는 위치에 분포하고 있음을 알 수 있었다. 이에 비해 불량포지는 치환성 염기가 큰 값, 유효태인산이

낮은 값을 나타내는 위치에 분포하고 있었다.

엽 중 무기양분 함량과 생육포지 간의 위치관계(그림 1-3)에 있어서는 안성지역이 엽 중 N, K, Ca 성분으로 대표되는 제 1 주성분에서는 우량포지, 불량포지 모두 비슷한 위치에 분포하고 있었으나, P(-)와 Mg로 대표되는 제 2 주성분에서는 P(-)함량이 낮고 Mg함량이 높은 값을 나타내는 위치에 우량포지가 분포하고 있음을 알 수 있었다. 따라서 생육차이에 따른 엽 중 무기성분은 P와 Mg성분으로 나타났으며, 전술한 토양의 화학적 성질과는 다르게 적정범위보다는 적정값을 기준으로 포지 간 위치관계가 뚜렷하게 구분되었다. 포천지역은 제 1 주성분인 K, Ca에 있어서 우량포지가 중간 값을 나타내고 있었으나 N과 P로 대표되는 제 2 주성분에서는 우량포지에서 중간값을 나타내고 있었다.

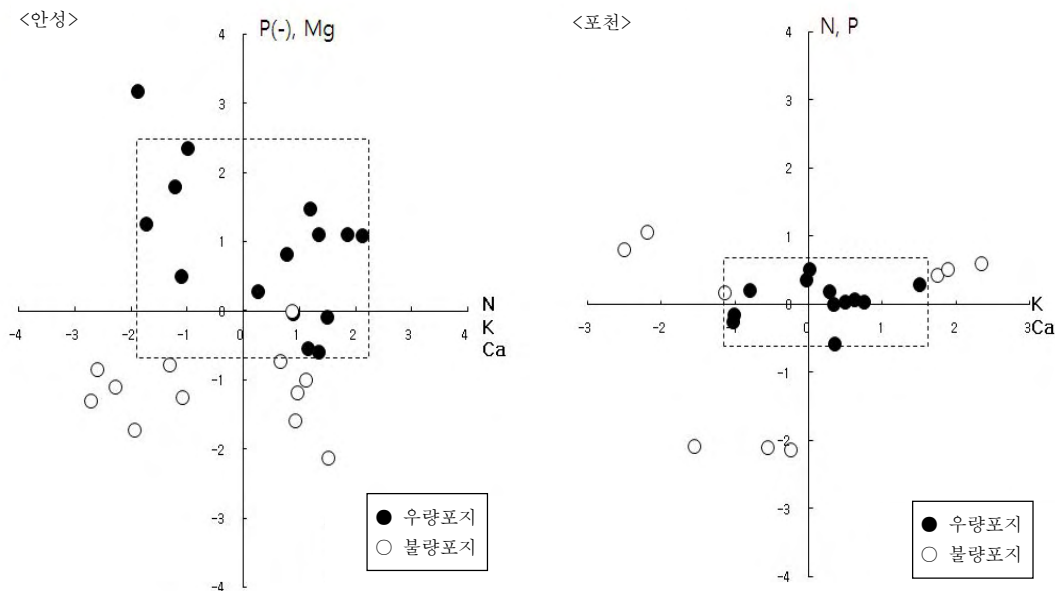


그림 1-3. 엽 중 무기양분 함량과 생육포지 간의 위치관계

(2) 지역별 토양 및 엽 중 무기양분 함량의 적정범위

주성분 분석으로부터 얻어진 인삼생육에 관여하는 토양 및 엽중 인자 추출 결과로부터 우량포지가 분포하는 토양의 이화학적 성질 및 엽 중 무기양분 함량의 적정범위(sufficient), 적정값의 하한값 이하를 결핍(low), 상한값 이상을 과잉(high)으로 설정하였다(표 1-4). 그 결과, 안성지역의 경우 토양의 물리적 성질에 있어서 공극률 50%이상이 적정치를 나타내었으며, 토양의 화학적 성질에 있어서는 전 질소 2.0-2.8g/kg, 유효인산 300-500 mg/kg, 치환성 Ca 2.3-3.5 cmol⁺/kg이 적정범위로 나타났으며, 하한값 이하는 결핍범위, 상한값 이상은 과잉범위로 표시하였다. 토양의 치환성 Ca과 인삼생육과의 관계는 미국삼 재배 연구결과에서 다수 보고되고 있으며 (Stoltz, 1982; Konsler and shelton, 1990), 일본의 작물재배에 있어서 치

환성 염기의 성분비(Exch. Ca:Mg:K)목표를 13:2:1로 설정하고 있다 (Jin *et al.*, 1988). 본 연구에 있어서 인삼의 생육과 치환성 염기의 성분비와의 관계를 검토한 결과 안성지역의 우량포지에서 6:2:1, 불량포지에서 4:2:1로 나타나 치환성 K에 대하여 치환성 Ca의 함량이 많은 토양조건에서 인삼의 생육이 양호하였으나, 치환성 Mg의 영향은 그다지 크지 않음을 시사하고 있다. 포천지역의 경우 토양의 물리적 성질에 있어서는 액상이 13% 이상의 적정치를 나타내었으며, 화학적 성질에 있어서는 유효인산 400-650 mg/kg, 치환성 Ca 4.0-4.7 cmol⁺/kg, 치환성 Mg 0.8 cmol⁺/kg 이하, 치환성 K 0.5 cmol⁺/kg 이하가 적정범위로 나타났으며, 하한값 이하는 결핍범위, 상한값 이상은 과잉범위로 표시하였다.

표 1-4. 인삼생육에 관여하는 토양 및 엽 중 적정농도

지역	안성			포천			
	범위	결핍	적정	과잉	결핍	적정	과잉
토양 물리성	공극률(%)	<50	50<		Liquid phase(%)	<13	13<
	모래(%)	30<	<30				
토양 화학성	전질소(g/kg)	<2.0	2.0-2.8	2.8<	유효인산(mg/kg)	<400	400-650 650<
	유효인산(mg/kg)	<500	500-900	900<	치환성.Ca(cmol ⁺ /kg)	<4.0	4.0-4.7 4.7<
	치환성.Ca(cmol ⁺ /kg)	<2.3	2.3-3.5	3.5<	치환성.Mg(cmol ⁺ /kg)		<0.8 0.8<
	치환성.Ca:Mg:K	e4:2:1	6:02:01		치환성.K(cmol ⁺ /kg)		<0.5 0.5<
엽 중 무기양분함량	P(%)	0.25<	<0.25		N(%)	<1.8	1.8<
	Mg(%)	<0.22	0.22<		P(%)	<0.18	0.18<
	N/P	<10	10<		K(%)	<1.5	1.5-3.0 3.0<
	N/Mg	<10	10-13	13<	N/Mg	<5	5-10 10<
	K/Mg		<14		K/Mg	<5	5-10 10<
	Ca/P		1<		Ca/Mg	<2	2-3 3<

엽 중 무기양분 함량에 있어서는 안성지역의 경우 P 0.25%이하, Mg 0.22%이상이 적정치를 나타냈으며, 그 외 원소 간 성분비에서도 적정범위를 보였는데 우량포지에서 N/P 10이상, N/Mg 10-13, K/Mg 14 이하, Ca/P 1이상의 값을 보였다. 포천지역의 경우 N 1.8%이상, P 0.8%이상, K 1.5-3.0%에서 적정치를 나타냈으며, 그 외 원소 간 성분비에서도 적정범위를 보였는데 우량포지에서 N/Mg 5-10, K/Mg 5-10, Ca/Mg 2-3의 값을 보였다.

이상의 연구 결과로부터 인삼의 생육에 관여하는 토양의 이화학적 성질 및 엽 중 무기양분 함량은 지역에 따라 다른 경향을 보였으며, 토양 및 엽 중 무기양분 함량의 적정 범위를 선행 연구결과와 비교하면 인삼생육에 적정양분 함량보다 과잉 또는 결핍농도를 보인 불량포지가 많이 분포하였는데, 이는 지역 간, 또는 동일지역 내 인삼포지의 토양특성 및 시비방법 등의 재배법에 따른 차이 때문인 것으로 추측된다. 앞으로 토양 및 엽 중 적정농도 설정을 위해서는 인삼재배지의 지역별 영양환경에 대한 지속적인 연구가 필요하다고 생각된다.

2. 충남지역(금산)

가. 직파, 이식 재배지 인삼생육과 토양의 이화학적 성질 및 중금속 농도와의 관계

직파와 이식재배에 따른 인삼재배지 토양의 이화학적 성질을 비교한 결과 (표 2-1), 4년근 재배지의 전 질소에서 직파재배가 이식재배에 비하여 약간 높은 값을 보이고 있었으나, 5년근 재배지에 있어서는 직파재배가 이식재배에 비하여 전질소, 유효인산, 치환성 Ca 및 Mg에서 높은 경향을 보이고 있었으며, 특히 치환성 Ca 및 Mg에서 각각 2배, 8배의 현저한 차이를 보였다. 이는, 연근별 (4, 5년근) 재배지의 비교(그림 2-1)에서 알 수 있듯이 이러한 차이를 보인 토양 요인의 양분함량이 현저하게 높은 5년근 재배지에서 나타난 것으로 보아 토양의 양분함량이 낮은 재배지에서의 직파와 이식재배에 따른 토양특성의 차이는 뚜렷하지 않았다고 추측된다. 현재까지 직파와 이식재배에 따른 수삼 수확량 및 성분함량과의 관계에 관한 보고는 많으나, 재배조건에 따른 토양특성에 관한 보고는 없는 실정이다. 앞으로 생산비 절감차원에서 재배면적이 증가될 것으로 예상되는 직파재배에 적합한 재배지 선정에 관한 추가 연구 조사가 필요하다고 생각된다.

표 2-1. 직파와 이식재배에 따른 인삼재배지 토양의 이화학적 성질

연 근 방법	토성	삼상(%) 고상 액상 기상	pH	유기물 (g/kg)	전 질소 (g/kg)	유효인산 (mg/kg)	치환성 염기(cmol+/kg)					
							Ca	Mg	K			
4	직파 CL	편차	42±4	27±8	31±8	4.8±0.3	18±2	1.3±0.3	91±39	3.0±0.6	0.52±0.16	0.46±0.13
		범위	38-51	22-45	17-40	4.2-5.1	13-20	0.83-1.80	45-167	2.1-4.2	0.29-0.86	0.28-0.70
4	이식 L	편차	48±5	27±5	25±6	4.9±0.3	16±2	1.1±0.3	87±42	3.1±0.5	0.54±0.16	0.48±0.16
		범위	41-59	18-34	15-36	4.4-5.2	13-21	0.54-1.60	21-164	2.3-4.0	0.31-0.86	0.30-0.77
5	직파 CL	편차	50±4	24±2	25±5	6.9±0.5	9.3±1.6	1.1±0.4	334±118	7.4±1.5	3.9±0.8	0.46±0.14
		범위	44-55	20-27	20-36	4.2-7.1	6.9-13	0.6-1.9	155-556	5.3-9.8	2.8-5.7	0.28-0.78
5	이식 L	편차	47±4	24±2	29±5	6.2±0.5	9.1±1.5	0.9±0.2	285±66	6.0±2.0	3.1±0.9	0.42±0.10
		범위	40-52	21-29	22-35	4.8-6.8	6.7-11	0.6-1.3	155-372	3.8-9.6	1.4-4.6	0.30-0.67

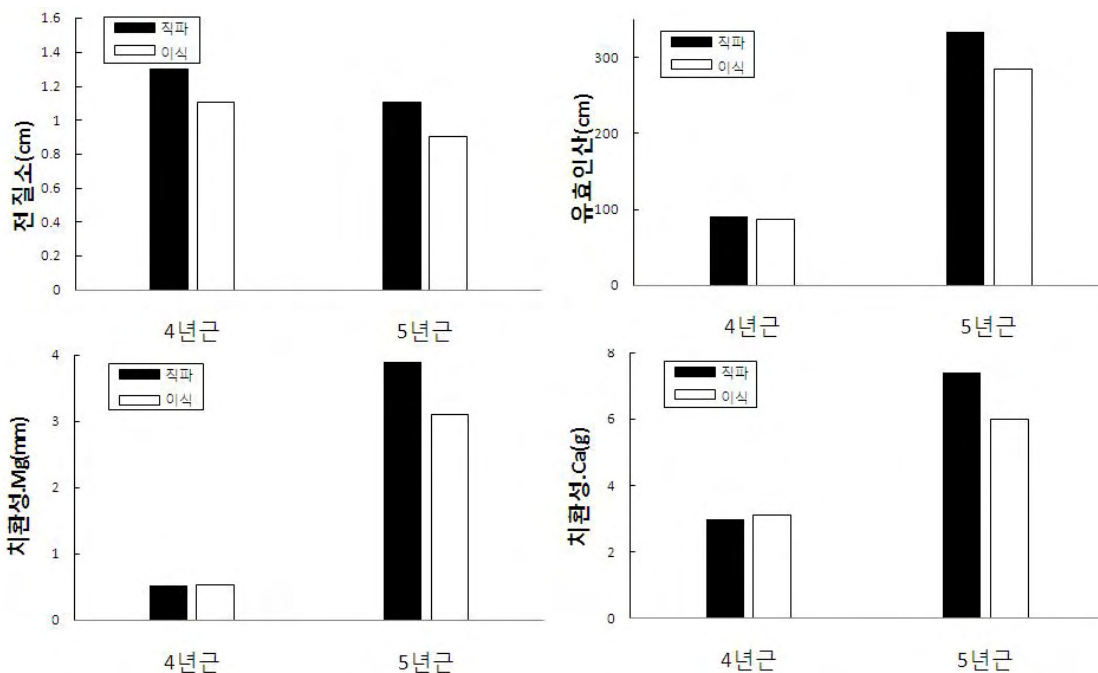


그림 2-1. 직파 및 이식재배지의 토양 화학성 비교

직파와 이식재배에 따른 생육특성을 비교한 결과(표 2-2), 4년근 재배지에 있어서는 재배조건에 따른 인삼의 지상부 (줄기, 잎), 지하부 (뿌리)의 생육차이는 거의 없었으나, 5년근 재배지에 있어서는 직파재배가 이식재배에 비하여 동직경에서 높은 값을, 동장, 생중량에서 낮은 값을 나타내었다(그림 2-2). 재배조건에 따른 인삼의 생육특성을 조사한 선행연구에서는 전체적인 생육특성은 비슷하였다는(이 등, 1998; 원과 조, 1999) 연구보고가 있는 반면 이식재배에서의 인삼의 동직경은 비슷하나 근장이 길어 체형계수가 뚜렷하게 작은 특징과 주당 근중이 현저하게 작았다는(이 등, 2005) 연구결과가 보고되고 있는데, 이와 같이 재배조건에 따른 생육특성에 일정한 경향을 보이고 있지 않는 것은 전술한 재배지의 토양 특성 외에 파종밀도(성 등, 2010), 시비체계(원과 조, 1999), 간인방법 등의 요인에 의해 각각 다른 경향을 보이고 있다고 판단된다.

표 2-2. 직파와 이식재배에 따른 생육특성 비교

연근	재배 방법	인삼근				줄기		잎		
		길이 (cm)	길이(동장) (cm)	직경 (mm)	생중량 (g)	길이 (cm)	직경 (cm)	길이 (cm)	폭 (cm)	
4	직파	편차	12±2.2	4.7±1.2	1.9±0.3	19.6±6.8	43.6±5.3	0.8±0.1	15.7±1.7	6.6±0.6
		범위	8.2-15.7	2.46.8	1.62.5	11.430.1	33.652.4	0.60.9	13.218.6	5.57.6
	이식	편차	13.4±3.7	4.6±1.6	1.9±0.2	22.6±7.6	42.8±6.4	0.8±0.1	15.8±2.3	6.6±0.9
		범위	9.4-23.7	2.6-7.7	1.5-2.2	13.2-35.1	34.6-54.7	0.6-1	12.7-21	5.4-8.5
5	직파	편차	18.3±4.4	6±2.2	1.7±0.4	19.2±13	34.1±10.3	0.6±0.2	13.8±3.4	5.5±1.4
		범위	1.8-26.3	3.2-9.5	1.2-2.4	5.2-46.4	20.9-47.2	0.3-0.9	9.3-19.3	3.7-8.1
	이식	편차	18.9±4.3	7.2±1.7	1.9±0.6	2.2±22.8	36.9±10.3	0.8±0.3	15.6±4.3	5.9±1.5
		범위	11.7-27.2	3.8-10.1	1.2-3	5.2-80.7	20.1-48.1	0.3-1.4	8.7-23.1	3.4-8.1

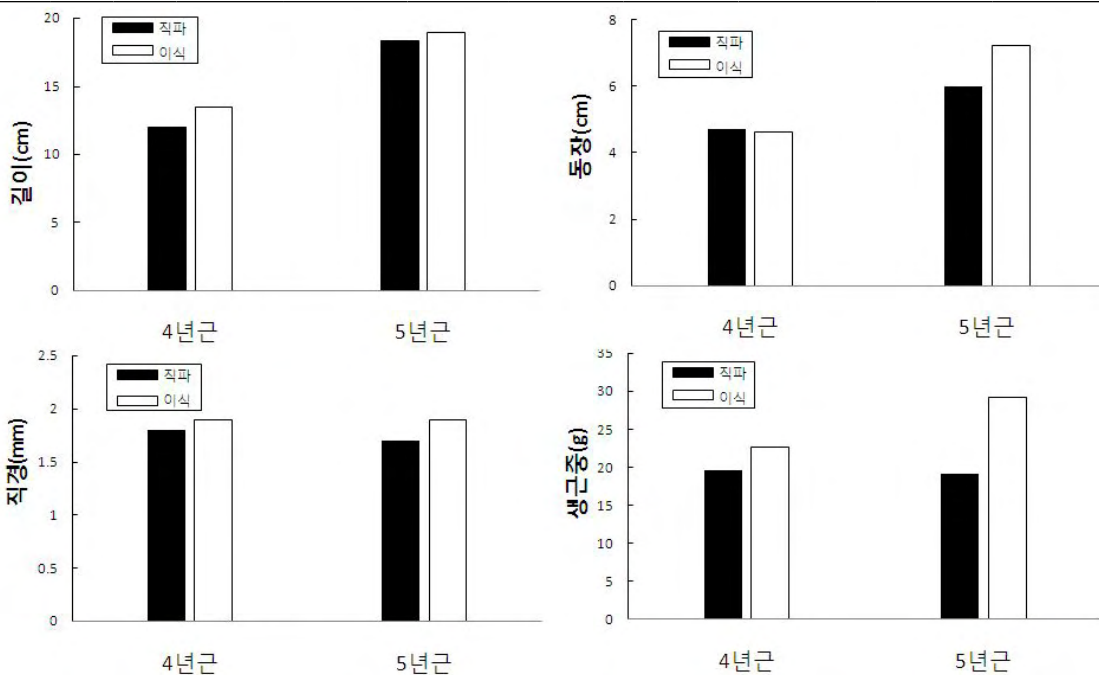


그림 2-2. 직파 및 이식 재배에 따른 인삼근 생육 특성

나. 논토양, 밭토양 인삼재배지 인삼생육과 토양의 이화학적 성질 및 중금속 농도

논재배 토양과 밭재배 토양의 이화학적 성질을 비교하면(표 2-3), 논재배 토양, 밭재배 토양의 토성은 모두 식양토(CL), 양토(L)가 대부분이며, 논·밭 토양간의 차이는 뚜렷하지 않았다.

이것은 국내 논토양의 토성은 대부분 양토에 속하고 밭토양의 토성은 대부분 사양토에 속한다는 보고와는 일치하지 않았다.

표 2-3. 논재배 토양과 밭재배 토양의 이화학적 성질

구분	재배 토성 방법	삼상(%)			공극률 (%)	pH	유기물 (g/kg)	질소 (g/kg)	유효인산 (mg/kg)	치환성 염기(cmol+ /kg)			
		고상	액상	기상						Ca	Mg	K	
논	직파 CL	평균±편차	45±6	27±5	28±8	55±6	1.9±0.2	16±2	1.1±0.3	83±33	3.0±0.5	0.55±0.17	0.44±0.12
		범위	38-59	18-38	15-40	41-62	4.5-5.2	13-20	0.8-1.7	21-145	2.3-3.8	0.34-0.86	0.30-0.77
논	이식 L	평균±편차	45±5	27±7	28±8	55±5	4.7±0.3	17±2	1.2±0.3	96±43	2.9±0.6	0.49±0.12	0.51±0.15
		범위	38-53	21-46	11-38	47-62	4.2-5.1	13-21	0.5-1.7	43-167	2.1-4.2	0.29-0.68	0.28-0.71
밭	직파 CL	평균±편차	46±3	23±3	31±5	54±3	6.2±0.5	10±1	0.9±0.4	380±107	5.7±1.2	3.0±0.7	0.42±0.12
		범위	40-50	16-27	24-39	50-60	4.8-6.9	8-12	0.6-1.9	274-555	3.8-8.1	1.4-4.0	0.28-0.60
밭	이식 L	평균±편차	50±4	24±2	26±5	50±4	6.2±0.5	9±2	1.0±0.3	251±25	7.3±1.6	3.92±0.89	0.47±0.13
		범위	42-55	21-28	20-34	45-58	5.2-7.1	7-13	0.6-1.3	211-286	5.0-9.8	2.1-5.7	0.31-0.78

밭재배 토양의 고상은 논재배 토양에 비하여 높은 값을, 액상은 논재배 토양에 비하여 낮은 값을 나타내었으나 기상은 큰 차이가 없었다. 또한, 공극률은 논재배 토양이 밭재배 토양에 비하여 높은 값을 나타내어, 논토양의 토양수분과 공극률은 밭토양보다 뚜렷하게 높았다는 이 등(2004a)의 연구결과와 일치하였다. 토양의 화학적 성질에 있어서 밭재배 토양은 논재배 토양에 비해 pH와, 유효인산, 치환성 Ca, Mg 함량이 높았으며 유기물에서는 낮은 함량을 보였다. 논재배 토양에서의 유기물 함량은 적정농도보다 높은 수준이었으며 밭재배 토양에서는 유효인산, 치환성 Ca 및 Mg 이 적정농도에 비하여 현저하게 높은 수준이었다.

논재배 토양과 밭재배 토양에서의 인삼생육(생근중)에 영향을 미치는 인자추출과 토양 및 엽중 무기함량의 적정범위의 설정을 위하여 주성분 분석을 실시하였다. 토양의 물리적 성질과 생육포지(우량포지, 불량포지) 간의 위치관계를 보면(그림 2-3), 논재배 토양, 밭재배 토양 모두 모래함량이 우량포지에서 작은 값을 보이고 있었으나, 공극률은 포지간 뚜렷한 위치관계는 보이지 않았다. 따라서 논재배 토양, 밭재배 토양 모두 모래함량이 작은 즉, 미사와 점토의 함량이 높은 토양에서 인삼의 생육이 양호함을 알 수 있었다.

토양의 화학적 성질과 생육포지 간의 위치관계에서는(그림 2-4), 논재배 토양에서는 우량포지, 불량포지 모두 뚜렷한 위치관계는 보이고 있지 않지만, 밭재배 토양에 있어서는 유효인산이 우량포지에서 높은 값을 보이고 있었으나 유기물 함량은 포지간 뚜렷한 위치관계는 보이지 않았다. 따라서, 밭재배 토양에 있어서는 유효인산이 인삼생육에 크게 관여하는 화학적 요인이라는 것을 알 수 있었다.

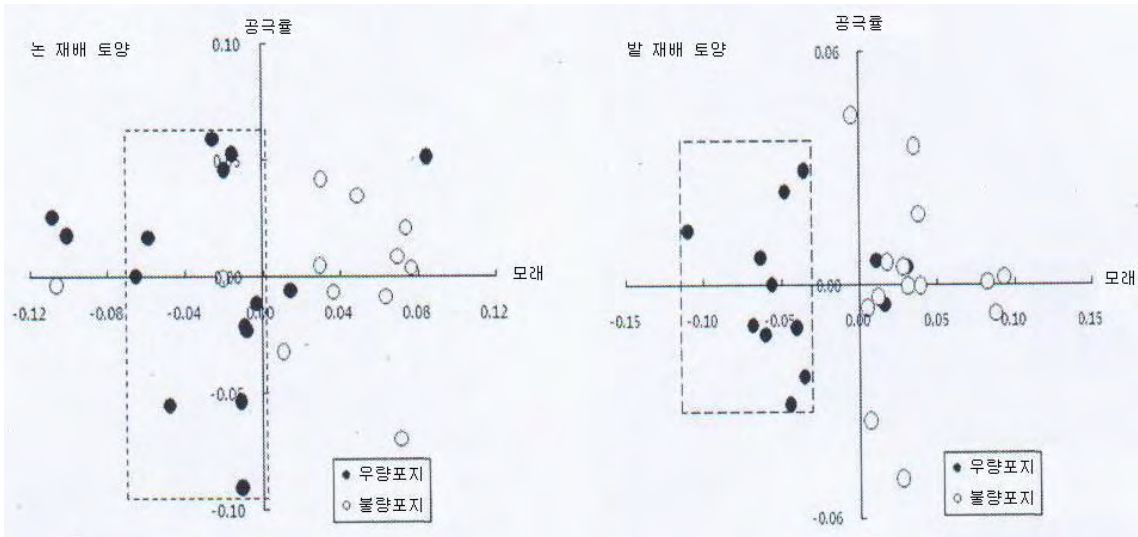


그림 2-3. 토양의 물리적 성질과 생육포지 간의 위치관계

엽 중 무기양분 함량과 생육포지 간의 위치관계 (그림 2-5)에 있어서는 논 재배토양에서는 예외는 있으나 엽중 Ca, K 함량이 우량포지에서 높은 값을 밭토양에서는 N 함량이 우량포지에서 낮은 값을 나타내고 있었다. 주성분 분석으로부터 얻어진 인삼생육에 관여하는 토양 및 엽 성분 인자추출 결과로부터 우량포지가 분포하는 토양의 이화학적 성질 및 엽 중 무기양분 함량의 적정치(Sufficient) 또는 적정치의 하한값 이하를 결핍(Low), 적정치의 상한값 이상을 과잉(High)으로 설정하면 표 2-4과 같다. 토양의 물리적 성질은 논재배 토양의 경우 모래함량이 50% 이하가 적정치, 밭재배 토양에 있어서는 모래함량이 40% 이하가 적정치로 나타났다. 토양의 화학적 성질은 논재배 토양의 경우 인삼의 생육에 관여하는 인자를 추출할 수 없었으나, 밭재배 토양에 있어서는 유효인산 280mg/kg 이상이 적정치로 나타났다. 이러한 결과로부터 논재배 토양은 토성과 같은 물리적 요인이 인삼의 생육에 관여하고 있는 반면 밭재배 토양은 토성과 유효인산과 같은 물리적, 화학적 요인이 복합적으로 인삼의 생육에 관여하고 있음을 알 수 있었다.

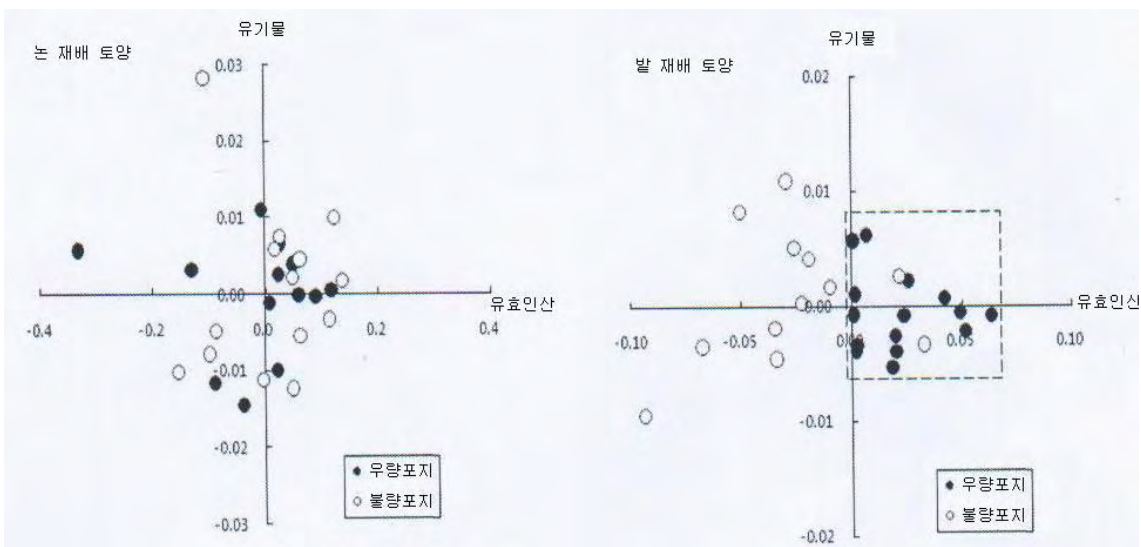


그림 2-4. 토양의 화학적 성질과 생육포지 간의 위치관계

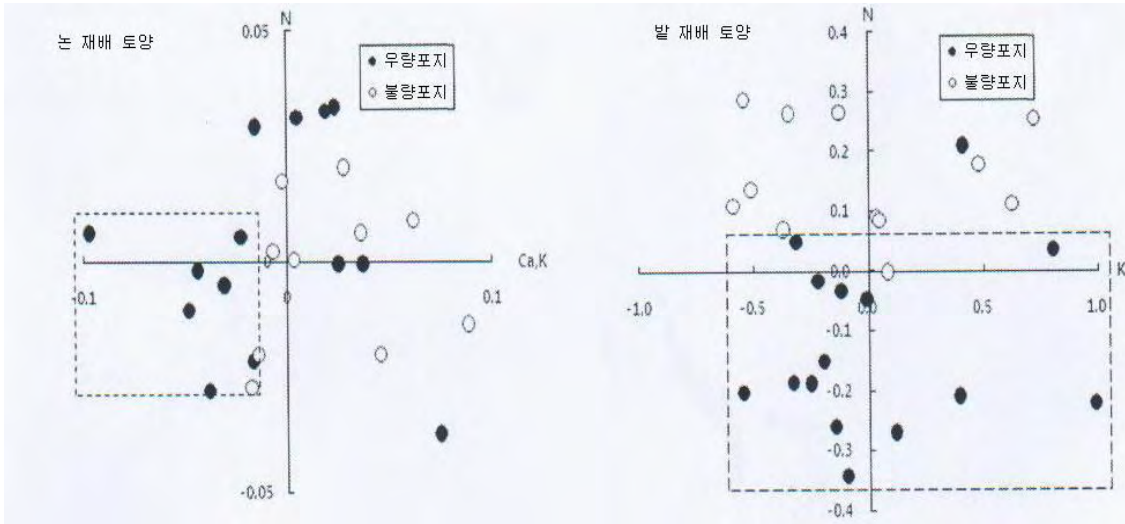


그림 2-5. 식물체 엽 중 무기양분 함량과 생육포지 간의 위치관계

표 2-4. 토양 및 엽 중 적정농도

구분		논		밭			
범위	결핍	적정	과잉	결핍	적정	과잉	
토양	물리적 성질	모래(%)	<40	40<	모래(%)	<50	50<
	화학적 성질	유효인산 (mg/kg)	<280	280<			
엽 중 무기성분		N(%)	<2.6	2.6<	K(%)	<1.9	1.9<

엽 중 무기양분 함량에 있어서는 논재배 토양의 경우 K 1.9% 이상, 밭재배 토양의 경우 N 2.6%이하가 적정치로 나타났다. 이상의 연구 결과로부터 인삼의 생육에 관여하는 토양의 이화학적 성질 및 엽 중 무기양분 함량은 논·밭재배 토양에 따라 다른 경향을 보였으며, 토양 및 엽 중 무기양분 함량의 적정치를 선행연구 결과와 비교하며 밭재배 토양의 유효인산 (200mg/kg)에서 높은 값을 보였으며, 논재배 토양에서 엽 중 K 함량이 낮은 값을 밭재배 토양에서 엽중 N 함량이 적정치의 하한값 수준이었다.

다. 토양 및 중금속 적정농도 설정

논재배 토양 중금속 농도의 분포 및 평균값을 보면 논재배 토양에서 Pb 0.5-9.0mg/kg (2.8mg/kg), Cu 11.5-22.0mg/kg (16.6mg/kg), Cd 0.50-1.50mg/kg (0.80mg/kg), Mn 26.5-82.0mg/kg (48.5mg/kg), Zn 26-115mg/kg (50.0mg/kg)으로 측정되었다. 밭재배 토양

에서는 Pb 1.0-6.5mg/kg (4.3mg/kg), Cu 18-115 (50.8mg/kg), Cd 0.00-0.50mg/kg (0.32mg/kg), Mn 15.5-47.5mg/kg (22.0mg/kg), Zn 5.5-35.0mg/kg (11.6mg/kg)으로 측정되었다.

이 값을 각각 우리나라 논토양과 밭토양의 중금속 평균농도와 비교하면 Mn, Zn은 비슷한 값을 보이고 있으나, 논재배 토양에서 Pb, Cu, Cd에서 2-4배의 높은 값을 나타내었는데 밭재배 토양에 있어서도 밭토양과 유사한 경향을 나타내었다. 본 연구의 논재배 토양과 밭재배 토양의 중금속 평균농도 특히 Pb, Cu, Cd 농도는 전국의 논토양, 밭토양과 비교하여 높은 값을 나타내었으며, 논재배 토양에서 토양오염의 판정기준에 근사한 값을 보이고 있었으나, 밭재배 토양에서는 10-50%수준이었다. 따라서 논재배 토양에서의 중금속의 농도가 증가되는 요인을 파악하여 이에 따른 토양개량 등 적절한 대책 수립이 필요하다고 사료된다.

논재배 토양과 밭재배 토양에서 생육한 인삼근의 중금속 농도를 비교하면 (표 2-5), Pb, Cu는 밭재배 토양에서 높았으며 Cd, Zn은 논재배 토양에서 높았으나 Mn은 비슷한 경향을 보였는데 전술한 같은 토양에서의 동일원소 비교에서 Cd를 제외한 모든 원소에서 반대의 경향을 보이고 있었다. 이러한 결과는 일반적으로 재배지 토양과 한약재 중의 중금속 농도는 비례관계를 보인다고 하는 연구결과(박과 김, 2006)와는 상반된 경향을 나타내었다.

표 2-5. 인삼근의 중금속 농도

구분	생육상태		Mn	Zn	Cu	Pb	Cd
			(mg/kg)				
논	우량	M±SD	44.8±16.1	52.4±24.1	16.5±2.6	3.1±2.5	0.77±0.26
		Range	26.5-82.0	27.5-115	12.5-22.0	0.5-9.0	0.5-1.00
	불량	M±SD	51.8±13.4	47.5±12	16.6±3.3	2.4±2.1	0.86±0.32
		Range	31.5-80.5	26.0-69.0	11.5-21.5	0.5-6.0	0.50-1.50
밭	우량	M±SD	23.5±7.7	14.6±6.4	51.4±29.5	4.7±1.0	0.32±0.25
		Range	15.5-47.5	9.5-35.0	26.6-115	3.0-6.5	0.00-0.50
	불량	M±SD	18.9±2.6	8.3±1.6	50.2±27.6	4.0±1.6	0.31±0.25
		Range	16.0-24.0	5.5-11.5	18.0-91.0	1.0-6.0	0.00-0.50

논재배 토양과 밭재배 토양에서의 인삼생육(생근중)과 중금속 원소와의 관계 및 토양 및 인삼근의 무기함량의 적정범위를 설정하기 위하여 주성분 분석을 실시하였다. 논재배 토양의 중금속의 경우 Cu 함량이 우량포지에서 높은 값을, 밭재배 토양의 경우 Mn, Cu, Zn이 우량포지에서 높은 값을 나타내었다(그림 2-6). 인삼근의 중금속 농도와 생육과의 관계에 있어서는(그림 2-7) 논재배 토양에서 Zn 함량이 우량포지에서 낮은 값을, 밭재배 토양에 있어서는 Cu 함량이 우량포지에서 높은 값을 보였다. 이러한 결과는 밭재배 토양에서의 Mn, Cu, Zn과 인삼근의 Cu 농도는 현재로서는 인삼의 생육에 위해를 미치는 오염 농도 수준에는 도달하고 있지는 않으나 논재배 토양에서의 인삼근의 Zn 농도는 뿌리의 생육에 영향을 미치는 수준에 도달하였다고 추측된다.

따라서 밭재배 토양에서의 Cu, Mn, Zn은 식물의 생육에 필수미량원소로서 흡수·이용되고

있는 반면, 논재배 토양에 있어서 Zn은 유해 중금속으로서 인삼의 생육에 위해한 작용을 미치는 원소라는 것을 시사하고 있다.

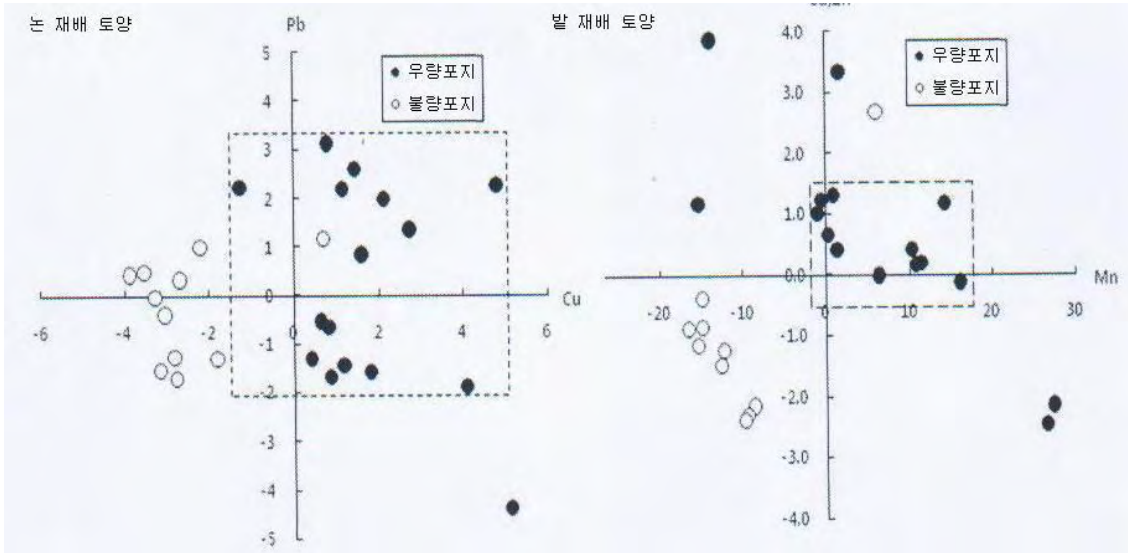


그림 2-6. 토양 중금속 농도와 생육포지 간의 위치관계

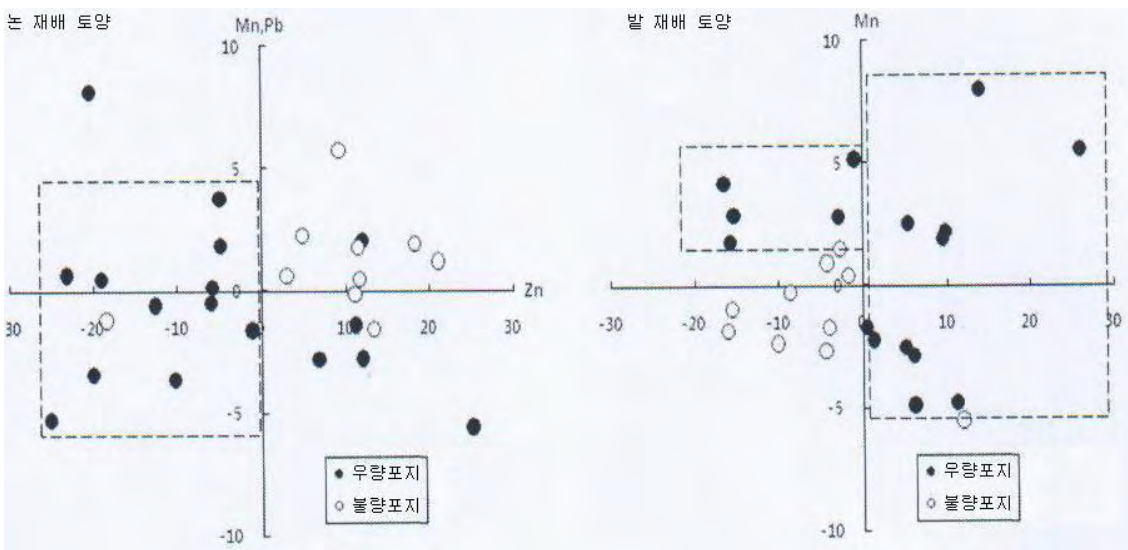


그림 2-7. 인삼근의 중금속 농도와 생육포지 간의 위치관계

3. 경북지역(풍기)

가. 묘삼생육과 토양, 근 중 무기성분 및 중금속 농도

(1) 묘삼생육과 토양의 이화학적 성질 및 중금속 농도와의 관계

묘삼포지 토양의 이화학적 성질은 표 3-1과 같다. 토양의 물리적 성질은 포지간 또는 동일 포지간에 있어서 큰 차이를 보이지 않는 반면, 토양의 화학적 성질은 전질소, 유기물, 유효인산 및 치환성 Ca, Mg, K에서 2-4배의 큰 차이를 보이고 있는 것으로 보아 묘삼의 생육에는 토양의 물리적 성질에 비하여 토양의 화학적 성질이 크게 관여하고 있다고 추측된다.

표 3-1. 묘삼포지 토양의 이화학적 성질

	삼상(%)			공극률 (%)	pH (1:5)	전 질소 (g/kg)	유기물 (g/kg)	유효인산 (mg/kg)	치환성염기(cmol ⁺ /kg)			CEC (cmol ⁺ /kg)	BS (%)
	고상	액상	기상						K	Ca	Mg		
M	43.8	12.9	43.3	56.2	5.48	0.6	8.7	260	0.31	2.69	1.29	7.3	58.5
SD	1.1	0.6	1.3	1.1	0.66	0.2	3.7	93	0.08	1.07	0.62	1.8	13.4
Range	41.2	12.0	40.8	54.5	4.73	0.3	4.6	145	0.20	1.76	0.61	4.7	40.5
	-45.5	-13.7	-45.9	-58.8	-6.72	-0.9	-13.2	-423	-0.48	-5.03	-2.62	-10.1	-78.0

단위면적당 묘삼수량은 우량포지에서 평균 450g/kan(범위 350-600g/kan), 불량포지에서 평균 200g/kan (범위 100-350g/kan)의 값을 보여, 우량포지가 불량포지에 비하여 2배 이상의 수량차이를 보였다. 일반적으로 묘삼의 수량은 토양수분함량이 많을수록 현저히 증가한다는 연구보고(박 등, 1984; 이 등, 1988)가 있는데, 본 연구에 있어서는 묘삼의 수량과 토양수분함량과의 관계(그림 생략)는 뚜렷하지 않았다. 이는 묘포토양의 액상값 (12.0-13.7%)에 큰 차이가 없는 관계로 토양수분함량이 묘삼생육에 큰 영향을 주지 않았으리라 판단된다.

묘삼생육과 토양의 화학적 성질과의 관계를 검토한 결과(그림 3-1), 전 질소, 유기물, 양이온 교환용량 및 치환성Ca에서 통계적인 유의성 차이(P<0.05)가 인정되었는데, 각각의 평균값 0.6g/kg, 10g/kg, 7.0cmol⁺/kg 및 2.0cmol⁺/kg에서 우량포지와 불량포지가 구분되었다. 인삼 재배에 있어서 토양양분함량 적정치는 유기물 1.9% 유효인산 300mg/kg 이하, 치환성 K, Ca, Mg(cmol⁺/kg)에서 각각 0.2-0.5, 1.6-1.7, 2.0-4.5 로 되어있는데(Mok *et al.*, 1996), 본 연구결과는 이에 비해 유기물에서 1/2정도 낮은 값을 보이고 있었다. 인삼포지에서 유효인산 함량이 많으면 인삼결주가 많이 생기고 인삼수량이 감소하는 경향을 보이며, 묘삼수량과 유효인산과는 유의성 정의 곡선관계를 보였다는 연구결과(이 등, 1986)가 있어 묘삼생육은 토양의 화학적 성질 중 특히 유효인산의 결핍 및 과잉농도에 의한 영향이 크다고 추측되는 바, 주성분 분석에 의하여 묘삼생육과 유효인산 함량과의 관계를 검토하였다(그림 3-2).

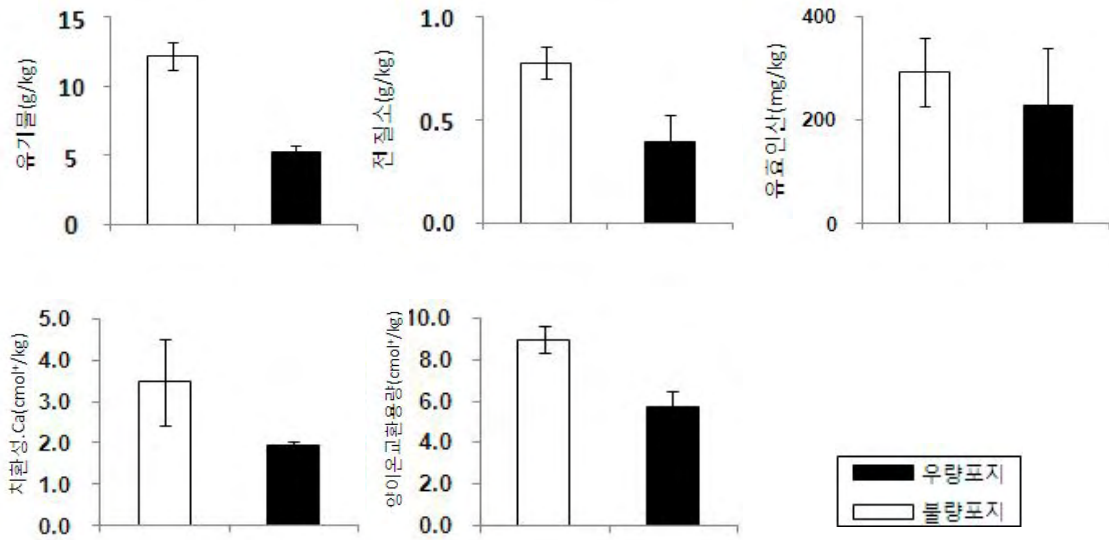


그림 3-1. 묘삼생육과 토양의 화학적 성질과의 관계

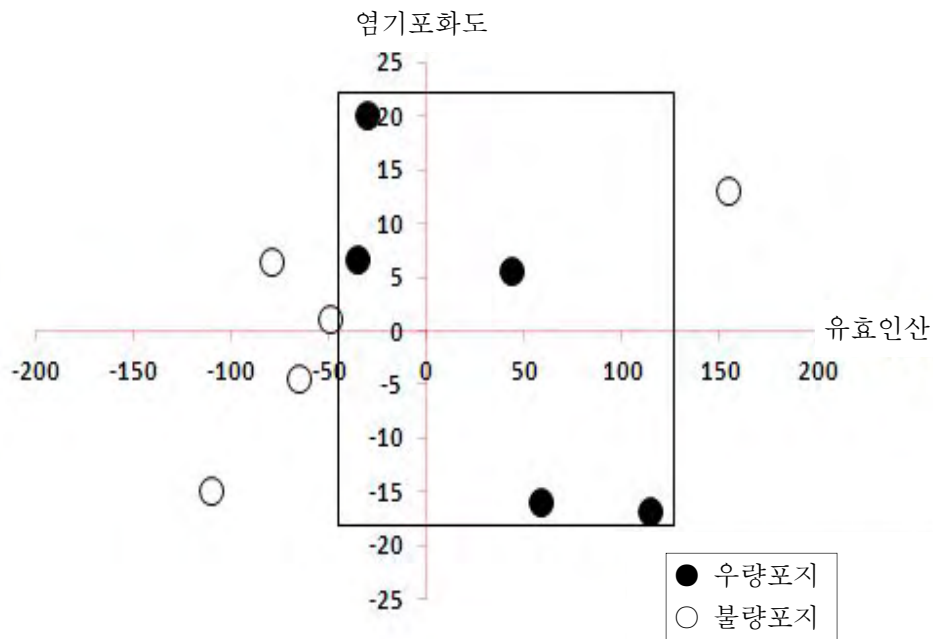


그림 3-2. 토양의 이화학적 성질과 묘삼포지 간의 위치관계

묘삼생육과 토양의 화학적 성질과의 위치관계를 보면, 유효인산으로 대표되는 제 1주성분과 염기포화도로 대표되는 제 2주성분에 있어서 우량포지는 제 1주성분의 중앙부 위치에, 불량포지는 우량포지의 상한값 이상, 하한값 이하의 값을 나타내는 위치에 분포하고 있었다. 제 2주성분에 있어서는 뚜렷한 위치관계는 보이지 않았다. 따라서 묘삼생육에 밀접한 관계를 보이고 있는 토양의 화학적 성질은 전술한 전 질소, 유기물, 양이온 교환용량 및 치환성Ca 외에 유효

인산도 주요 인자임을 알 수 있었으며, 중간값을 나타내는 위치에 분포하고 있는 것으로 보아 이 값의 상한값과 하한값의 범위가 적정농도라 판단되었다.

묘삼포지 토양의 중금속 농도를 나타내면 표 3-2와 같다. 묘삼포지 토양의 중금속 농도의 범위는 Mn, Cu, Pb 및 Cd에서 2-3배의 차이를 보이고 있었으나, Zn에서는 14배 정도의 현저한 차이를 보이고 있었다. 이는 타 중금속 원소에 비하여 인간활동에 의하여 유입된 Zn은 용이하게 토양표면에 흡착되고, 일단 흡착된 Zn은 그들의 강한 흡착력 때문에 토양에 고정되었기 때문이라 추측된다. 묘삼포지 토양의 중금속 평균농도를 우리나라 논토양과 밭토양의 중금속 평균농도와 비교하면 Zn, Cu, Pb에서 낮은 값을, Cd에서 비슷하거나 낮은 값을 보이고 있었으며, 또한 토양오염 판단기준보다 낮은 값을 나타내어 조사지인 풍기지역 묘삼은 청정한 재배환경 하에서 생육되고 있음을 시사하고 있다고 판단된다.

표 3-2. 묘삼포지 토양의 중금속 농도

	중금속 농도 (mg/kg)				
	Mn	Zn	Cu	Pb	Cd
M	40.1	3.18	1.21	2.23	0.09
SD	17.2	2.15	0.34	0.60	0.04
Range	18.7-64.3	0.52-7.03	0.65-1.67	1.27-3.15	0.05-0.15
전국 밭토양 농도	-	4.67	3.33	4.95	0.08
전국 논토양 농도	-	8.49	3.05	4.17	0.16
판단 기준	-	-	12	12	0.3
오염 우려 기준	-	300	50	100	1.5

묘삼생육과 토양의 중금속 농도와의 관계를 검토한 결과(그림 3-3), 우량포지는 불량포지와 비교하여 토양의 Mn, Zn농도가 높고, Cd 농도가 낮은 위치에 분포하고 있었다. 따라서 Mn, Zn은 토양오염 판단 기준치 이하인 묘삼포지 토양에 있어서는 필수미량원소로서 묘삼생육에 유효하게 흡수·이용되고 있으나, Cd와 같은 유해중금속은 묘삼생육에 위해로운 영향을 미치는 원소임을 알 수 있었다.

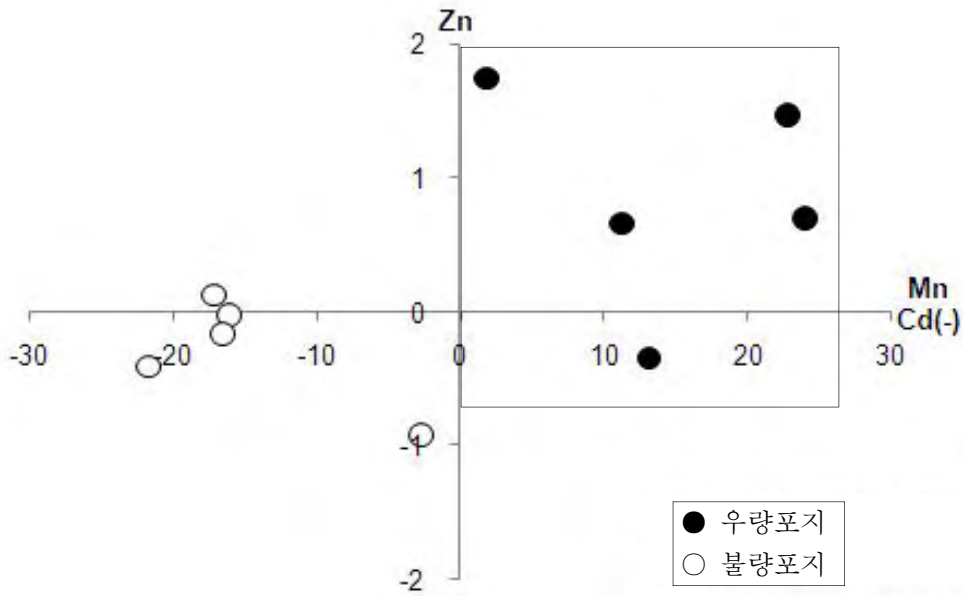


그림 3-3. 토양의 중금속 농도와 묘삼포지 간의 위치관계

(2) 묘삼생육과 묘삼 근 중 무기영양성분 함량 및 중금속 농도와의 관계

묘삼 근 중 무기영양성분 함량 및 중금속 농도를 보면(표 3-3), 무기영양성분 함량에 있어서 N은 큰 차이가 없었으나 그 외의 원소에 있어서는 1.5-2.0배의 차이를 보이고 있었으며 중금속 농도에 있어서는 원소에 따라 2-10배의 큰 차이를 보였는데, 특히 Mn, Pb 및 Cd 농도에 있어서 각각 5, 7, 10배 정도의 현저한 차이를 보이고 있었다. 또한, 묘삼생육과 묘삼 근 중 무기영양성분 함량 및 중금속 농도와의 관계(그림 생략)에서 통계적으로 유의미한 차이가 인정된 원소는 Ca와 Cd로써 Ca가 큰 값(2.0% 이상)에서 양호한 생육을 보이고 있는 반면, Cd에서는 작은 값(0.05mg/kg 이하)에서 양호한 생육을 보였는데 이와 같이 묘삼생육에는 토양과 묘삼 근 중 Ca의 공급량 및 흡수량이 유리하게 작용하고 있으나, Cd는 위해로운 원소로서 작용하고 있음을 알 수 있었다.

표 3-3. 묘삼 근 중 무기성분 함량 및 중금속 농도

	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	중금속 농도(mg/kg)				
						Mn	Zn	Cu	Pb	Cd
평균	3.05	0.48	2.51	0.21	0.34	2.90	1.88	0.96	0.32	0.05
편차	0.14	0.07	0.35	0.04	0.09	1.61	0.54	0.19	0.17	0.04
범위	2.82	0.34	2.11	0.14	0.24	1.25	1.20	0.75	0.10	0.00
	-3.25	-0.60	-3.31	-0.27	-0.50	-6.48	-2.98	-1.30	-0.70	-0.10

(3) 묘삼포지 토양 및 묘삼 근 중 무기영양성분 함량과 중금속 농도의 적정범위

앞에서 설명한 묘삼생육에 있어서 통계적으로 유의미한 차이가 인정된 토양의 화학적 성질과 중금

속 농도 및 묘삼근 중 무기영양성분 함량과 중금속 농도를 해석한 결과와 주성분 분석으로부터 얻어진 결과로부터 토양 및 묘삼 근 중 적정농도(Sufficient)와 결핍(Low) 및 과잉(High) 농도를 설정하였다(표 3-4). 그 결과, 토양의 화학적 성질에 있어서는 전 질소 0.6g/kg이상, 유기물10g/kg이상, 유효인산 200-400mg/kg, 양이온 교환용량 7.0cmol⁺/kg이상, 치환성 Ca 2.0cmol⁺/kg이상이 적정농도로 설정되었다.. 유효인산을 제외한 화학적 성질에 있어서는 적정 농도 이하를 결핍농도로 설정하였고, 유효인산의 경우 적정범위의 하한값 이하를 결핍농도, 상한값 이상을 과잉농도로 설정하였다.

표 3-4. 토양의 화학적 성질과 중금속 농도 묘삼근 중 무기성분 함량 및 중금속 농도의 적정 범위

		결핍	적정	과잉	
토양	이화학적 성질		NF		
		N(g/kg)	<0.6	0.6<	
		유기물(g/kg)	<10	10<	
		유효인산(mg/kg)	<200	200~400	400<
	화학적 성질	양이온 교환용량 (cmol ⁺ /kg)	<7.0	7.0<	
		치환성.Ca(cmol ⁺ /kg)	<2.0	2.0<	
		치환성.Ca:Mg:K	7:4:1	10:4:1	
중금속		Mn(mg/kg)	<40.0	40.0<	
		Zn(mg/kg)	<3.0	3.0<	
		Cd(mg/kg)		<0.10	0.10<
묘삼근	무기성분	Ca(%)	< 0.20	0.20 <	
	중금속	Cd(mg/kg)		<0.05	0.05<

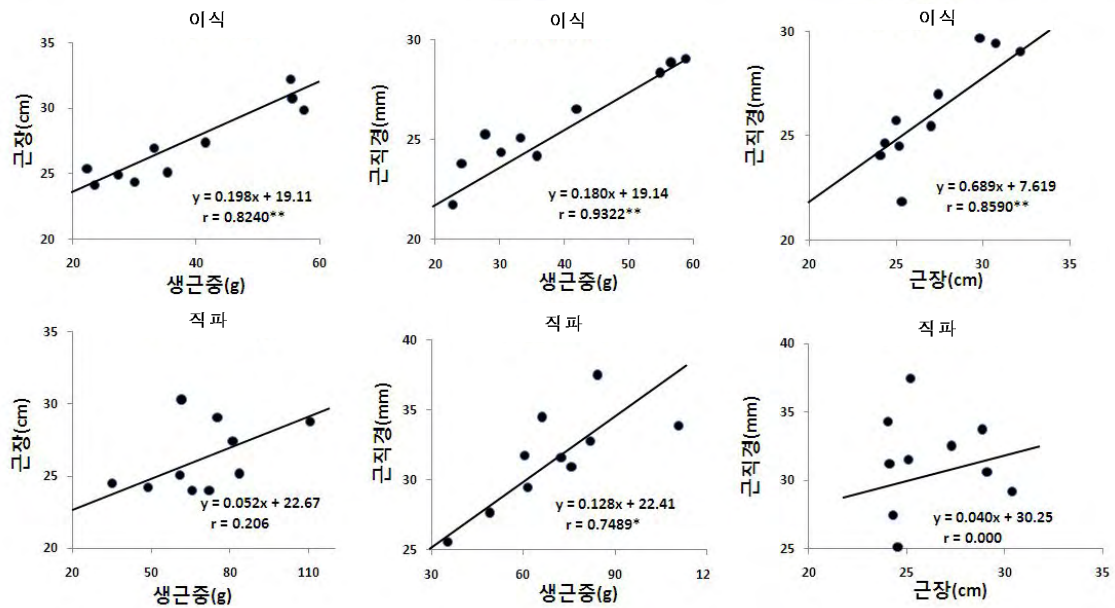
인삼 및 묘삼생육과 토양의 치환성 Ca와의 관계를 구명한 연구결과는 다수 보고되고 있으나 (Stoltz, 1982; 박 등, 1984; 이 등, 1986; 이 등, 1988; Konsler and Shelton, 1990), 치환성 염기의 성분비 (Exch.Ca: Mg: K)와의 관계를 구명한 연구결과는 거의 없는 실정이다. 일본의 작물재배의 이상적인 치환성 염기의 성분비 목표를 13:2:1로 설정하고 있다(Jin *et al.*, 1988). 본 연구에 있어서는 치환성 염기의 성분비가 우량포지에서 10:4:1, 불량포지에서 7:4:1의 값을 보이고 있는데, 이는 치환성 K에 대하여 치환성 Ca의 함량이 많은 토양조건에서 묘삼의 생육이 양호하였으나, 치환성 Mg의 영향은 그다지 크지 않았음을 시사하고 있다. 토양 중금속 농도에 있어서는 Mn, Zn이 각각 40, 3.0mg/kg이상이 적정농도인 반면, Cd는 0.10mg/kg이하에서 적정농도를 나타내었다. 또한, 묘삼근 중 무기영양성분 함량은 Ca가 0.20%이상, 중금속 농도는 Cd가 0.05mg/kg이하에서 각각 적정농도를 나타내었다.

이상의 연구결과로부터 묘삼생육에 관여하는 토양 및 묘삼 근 중 무기성분 및 중금속 농도가 포지간 또는 동일포지에 따라 다른 경향을 보이고 있는 바, 향후 묘삼수량의 증대를 위해서는 적정농도 수준을 고려한 합리적이고 체계적인 상토조성 및 시비체계 등의 묘포관리가 절실히 요구된다.

나. 직파 및 이식재배에 따른 인삼의 생육특성과 토양, 근 중 무기성분함량 및 중금속 농도

(1) 직파 및 이식재배에 따른 인삼의 생육특성

직파와 이식재배에 따른 인삼의 성장량을 비교한 결과는 그림 3-4과 같다. 직파재배와 이식재배 인삼의 주당근중은 각각 40, 70g으로 약 1.8배 정도, 근직경은 각각 25, 30mm로 약



1.2배 정도로 이식재배에서 큰 값을 보였지만 근장에 있어서는 재배방법에 따른 차이는 보이지 않았다. 재배방법에 따른 인삼의 생육특성은 연구자에 따라 많은 차이를 보이고 있으나, 일반적으로 동장 및 근장에는 큰 차이는 없으며 주당근중은 직파재배에서 비슷하거나 작다는 연구결과(원과 조, 1999; 이 등, 2005; 이 등, 2010)와 일치하였다. 재배방법에 따른 인삼의 성장형질(주당근중, 근장, 근직경)간 상관관계를 보면(그림 3-5), 이식재배에 있어서는 모든 형질간 유의적 정의 상관관계를 보였으나, 직파재배에 있어서는 주당근중과 근직경간의 유의적 정의상관관계를 보인 반면 주당근중과 근장, 근장과 근직경간에는 유의적 상관관계가 인정되지 않았다. 이러한 결과는 인삼의 체형을 고려하였을 때 이식재배가 직파재배에 비하여 유리한 재배방법임을 시사하고 있다.

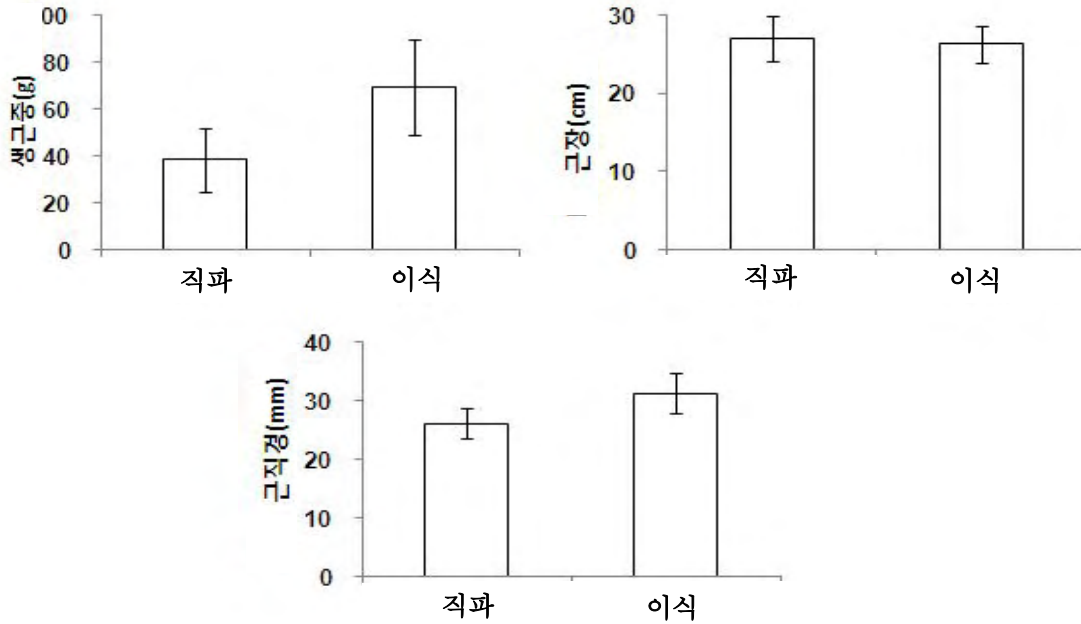


그림 3-4. 직파와 이식재배에 따른 인삼의 생육특성

그림 3-5. 재배방법에 따른 인삼의 성장형질 간 상관관계

(2) 직파 및 이식재배지 토양의 이화학적 성질

직파 및 이식재배지 토양의 이화학적 성질을 비교한 결과는 표 3-5와 같다. 재배방법에 따른 토양의 이화학적 성질의 평균값은 큰 차이를 보이지 않았다. 토양의 이화학적 성질에 있어서는 그 범위(최대값과 최소값)가 요인에 따라 1.2-3.2배 정도 차이를 보이고 있었는데, 특히 직파재배지의 유기물과 이식재배지의 치환성 K에서 각각 3.2배, 2.3배로 현저한 차이를 보이고 있었다. 본 조사지의 토양의 화학적 성질은 우리나라에 있어서 인삼재배지 토양의 양분함량 적정치(박, 1996)와 비교하면 pH, 유효인산, 치환성Ca 및 Mg에서 높은 값을, 유기물에서 낮은 값을, 치환성 K에서 비슷한 값을 보이고 있었다. 특히 본 조사지의 유효인산은 약 400-600mg/kg으로 적정치(200mg/kg 이하)의 2-3배정도 현저히 높은 값을 보이고 있었다. 인삼포지에 있어서 유효인산 함량이 많으면 결주율이 높다고 알려져 있다(박 등, 1985; 이 등, 1988; 이 등, 2008). 그러나 본 조사결과와 선행 연구결과(진 등, 2011)로서는 유효인산 600mg/kg 수준까지 인삼이 생육하고 있는 것으로 보아 토양 및 재배조건에 따라서는 유효인산이 상당히 높은 수준에서도 인삼의 생육이 가능하다고 판단되나 근부병과 관련된 결주율과 유효인산 함량의 관계에 대해서는 지속적인 연구가 필요하고 판단된다.

표 3-5. 직파 및 이식재배지 토양의 이화학적 성질

재배 방법	삼상(%)	공극률	pH	전 질소	유기물	유효인산	치환성 염기(cmol+/kg)	양이온 교환용량	염기포화도
-------	-------	-----	----	------	-----	------	------------------	----------	-------

		고상	액상	기상	(%)	(1:5)	(g/kg)	(g/kg)	(mg/kg)	K	Ca	Mg	(cmol ⁺ /kg)	(%)
직파	M	40.6	14.7	44.7	59.4	5.97	1.10	13.9	515	0.54	4.79	3.27	11.9	72.9
	SD	1.3	1.0	1.3	1.3	0.24	0.10	1.9	77	0.13	0.53	0.42	1.2	8.4
	Range	38.7 -42.3	13.4 -16.9	43.2 -46.6	57.7 -61.3	5.53 -6.30	1.00 -1.20	10.9 -16.5	415 -616	0.33 -0.76	4.21 -5.84	2.65 -3.92	10.7 -14.1	60.5 -83.6
이식	M	40.7	14.8	44.4	59.3	5.92	1.00	16.7	526	0.43	4.76	2.85	11.7	69.3
	SD	1.3	1.2	1.7	1.3	0.21	0.20	4.7	41	0.08	0.32	0.25	1.2	5.1
	Range	39.0 -43.1	13.0 -16.4	41.7 -47.0	56.9 -61.0	5.67 -6.33	0.70 -1.20	6.6 -21.1	469 -587	0.32 -0.57	4.23 -5.13	2.51 -3.43	9.1 -13.1	62.6 -77.9

(3) 직파 및 이식재배지 토양의 중금속 농도

직파 및 이식재배지 토양의 중금속 농도를 비교하면(표 3-6), 이식재배지가 직파재배지에 비하여 Cu농도에서 1.4배 정도 높은 값을 나타내는 것 외에는 재배조건에 따른 중금속 농도의 차이는 뚜렷하지 않았다. 또한 농도범위에 있어서도 이식재배지의 Cu 농도에서 3배 정도 높은 값을 나타내는 것 외에 1.2-1.6배 내에서 농도 분포를 보이고 있어 재배조건에 따른 중금속 농도의 차이는 뚜렷하지 않았다.

직파 및 이식재배지 토양의 중금속 농도를 전국 논토양, 밭토양의 중금속 농도 평균값에 비하여 Cu에서 약간 높은 값을, 그 외의 성분에는 비슷하거나 낮은 값을 보이고 있었으며, 또한 토양오염 판단기준치에 비하여 낮은 값을 보여 현재로서는 인삼의 생육에 영향을 미치는 중금속 농도 수준에는 도달하고 있지 않다고 생각된다.

표 3-6. 직파 및 이식재배지 토양의 중금속 농도

경작 방법		농도 (mg/kg)				
		Mn	Zn	Cu	Pb	Cd
직파	M	69.2	6.45	7.4	1.73	0.12
	SD	3.8	0.57	2.9	0.22	0.02
	Range	64.4-77.2	5.60-7.33	4.7-14.6	1.43-2.02	0.10-0.15
이식	M	64.3	6.16	5.13	1.47	0.11
	SD	4.7	0.93	0.72	0.11	0.02
	Range	58.8-73.2	4.98-7.80	3.63-6.02	1.35-1.73	0.08-0.13
전국 밭토양 농도		-	4.67	3.33	4.95	0.08
전국 논토양 농도		-	8.49	3.05	4.17	0.16
판단 기준		-	-	12	12	0.3
오염 우려 기준		-	300	50	100	1.5

(4) 인삼생육 분포와 재배지 토양의 이화학적 성질 및 중금속 농도의 위치관계

재배조건에 따른 인삼생육 분포와 재배지 토양의 이화학적 성질 및 중금속 농도의 위치관계를 주성분분석에 의해 검토하였다(그림 3-5, 그림 3-6). 재배조건에 따른 인삼의 생육분포는 재배지 토양의 물리적 성질에서는 직파 및 이식재배 모두 큰 차이가 없었으나, 토양의 화학적

성질에 있어서는 이식재배지가 직파재배지에 비하여 유효인산과 염기포화도가 작은 값을 나타내는 입지에 분포하고 있었는데, 이는 이식재배지의 경우 유효인산의 과잉과 결핍현상에 의한 결주에 의해 생육하지 않았던 것으로 추측되며 또한 염기포화도가 과잉현상을 나타낸 곳에서 분포하지 않은 것은 치환성 염기와 염류농도가 높은 포지에서 황증, 적변증 등의 생리 장애현상이 발생이 증가한다는 연구결과(이 등, 2003a; 이 등, 2003b)로 보아 염류의 영양으로 인한 결주를 증가에 기인한 결과라 사료되며, 특히 묘삼포지와 토양환경이 다른 조건하에서 생육한 것에 기인한 결과라 사료된다..

그러나, 직파재배는 이식재배에 비하여 유효인산과 염기포화도가 큰 값과 작은 값을 나타내고 있는 입지에서도 분포하고 있었다. 그 원인으로서는 직파재배에 있어서 인삼뿌리는 수직으로 뻗어 내려가는 특징을 가지고 있는데, 뇌두, 동체 부위가 표토아래 5-6cm 부위에 존재하여 비교적 염류의 피해를 적게 받아 적변현상 등으로 인한 결주율이 낮았기 때문인 것으로 추측된다(이 등, 2005). 또한 직파재배는 묘삼포지와 본포지의 비옥도 및 유기질 비료 사용등의 차이에 따른 양분흡수의 불균형을 야기시키는 이식재배와는 달리 동일한 토양환경 조건하에서의 생육에 기인한 결과로 판단된다.

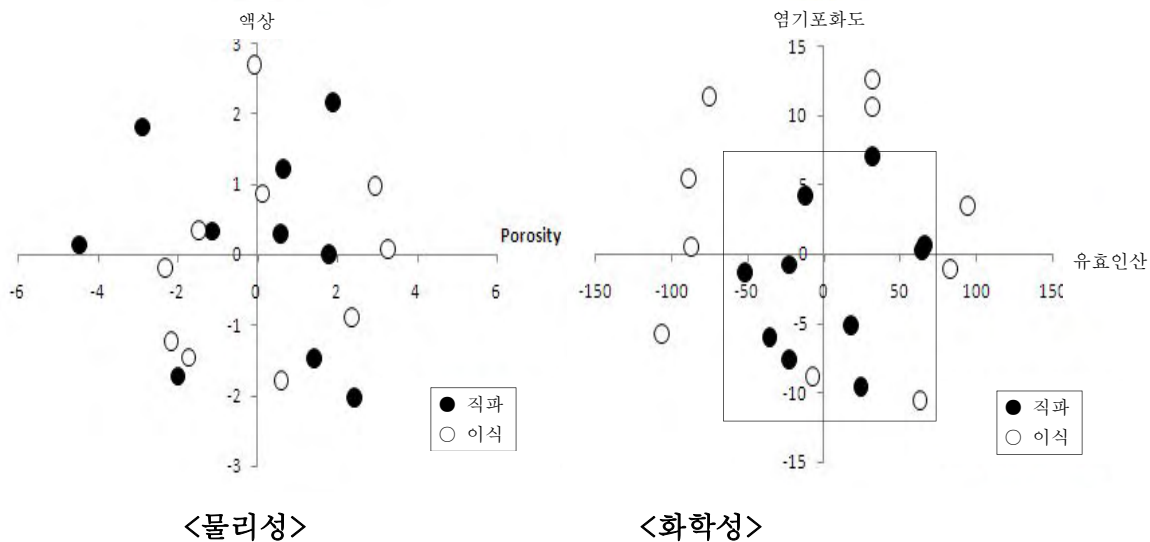


그림 3-5. 재배방법에 따른 토양의 이화학적 성질과 생육포지 간의 위치관계
공극률

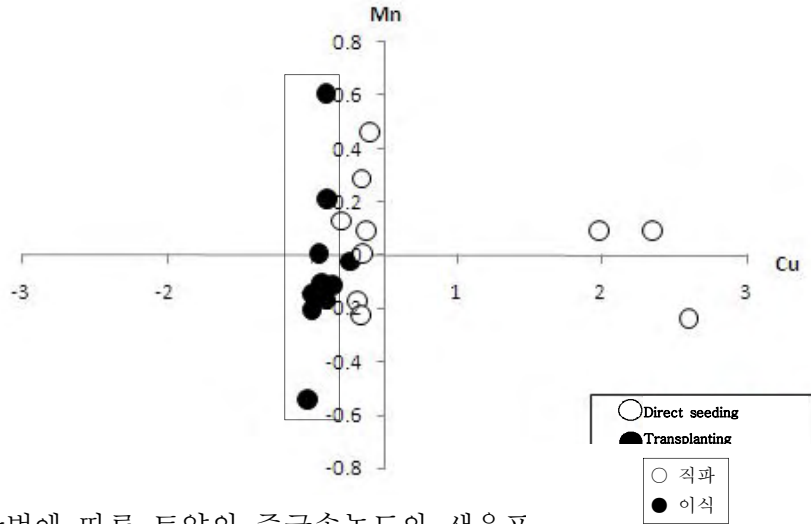


그림 3-6. 재배방법에 따른 토양의 중금속농도와 생육포

다. 토양의 이화학적 성질 및 중금속 적정농도 설정

(1) 토양 무기영양성분 함량의 적정농도 구명

직파 및 이식재배지에 있어서 인삼생육(우량포지, 불량포지)과 토양의 물리적 성질과의 위치 관계(그림 생략)에 있어서 뚜렷한 경향은 없었으나, 토양의 화학적 성질과의 관계(그림 3-7)를 보면 이식재배지는 염기포화도가 중간 값, 직파재배지는 높은 값을 나타내는 곳에 우량포지가 분포하고 있었다. 그러나 이식재배지, 직파재배지에 있어서 인삼생육에 미치는 유효인산의 영향은 그다지 크지 않음을 알 수 있었다.

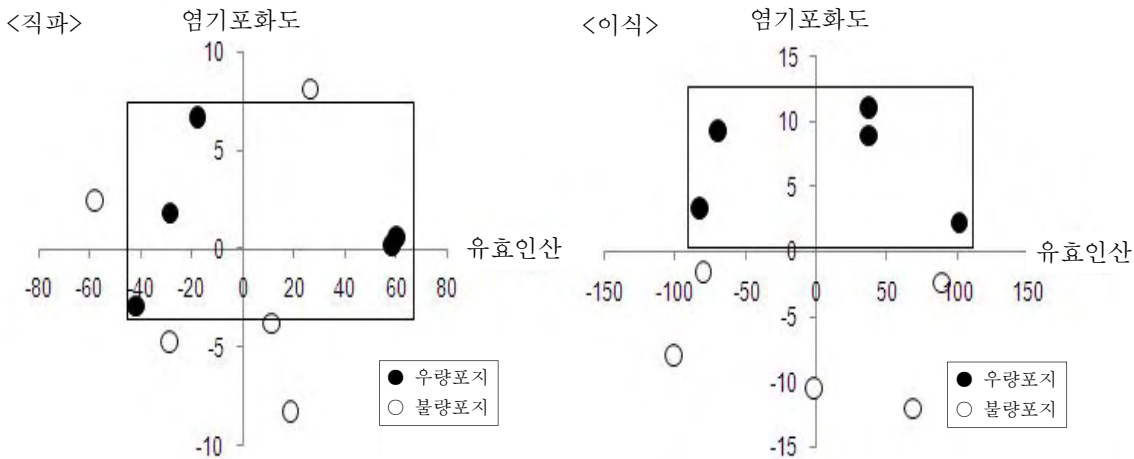


그림 3-7. 인삼생육과 토양의 화학적 성질 간의 위치관계

주성분 분석으로부터 얻어진 인삼생육에 관여하는 인자추출 결과로부터 우량포지가 분포하는 토양의 이화학적 성질 중 염기포화도의 적정범위(sufficient), 적정값의 하한값 이하를 결핍(low), 상한값 이상을 과잉(high)으로 설정하였다. 그 결과 이식재배지에 있어서는 염기포화도 65~75%가 적정범위, 65% 이하가 결핍, 75% 이상이 과잉으로 설정된 반면, 직파재배지에 있

어서는 염기포화도 75% 이상이 적정범위, 75% 이하가 결핍으로 설정되었다(표 3-7).

표 3-7. 토양의 이화학적 성질 및 중금속 농도의 적정치

	이식 재배지			직파 재배지			
	결핍	적정	과잉	결핍	적정	과잉	
물리성		N.F				N.F	
토양 화학성	BS (%)	< 65	65 ~ 75	75 <	<75	75 <	
중금속		NF				NF	

작물의 생리장애는 토양성분이 부족함으로 인한 것 보다는 특정성분이 과다하여 발생하는 경우가 많으며(Chung and Choi., 2003), 토양의 Ca, Mg 및 Na의 함량이 높은 재배지에서 생리장애가 복합적으로 나타나는 현상을 보이고 있는데(현 등, 2009; 권 등, 2011), 본 연구에 있어서 이식재배지의 인삼생육은 염기포화도의 과잉증상에 크게 영향을 받고 있다는 결과와 일치하였다.

이상의 결과로 보아 향후 내비성이 약하고 적정비옥도 수준의 폭이 좁다고 판단되는 인삼의 수량증대를 위해서는 재배방법에 따른 합리적이고 체계적인 토양 및 시비관리 등의 영양환경 구멍이 절실히 요구되며, 특히 이식재배에 있어서는 묘삼포지와 본포지의 적정농도 수준의 예정지 관리가 중요하며 이에 대한 추가연구와 장기적인 monitoring이 필요하다고 생각된다.

4. 강원지역(홍천)

가. 묘삼생육과 토양 중 이화학적 성질 및 중금속 농도

(1) 묘삼생육과 토양의 이화학적 성질 및 중금속 농도와의 관계

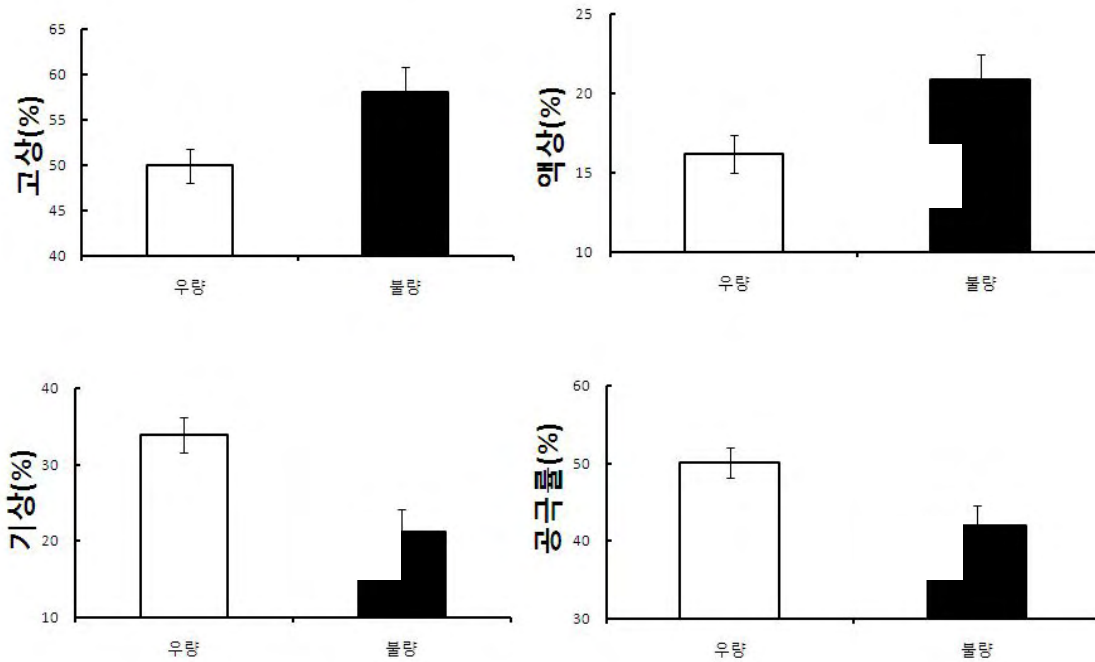
묘삼포지 토양의 이화학적 성질은 표 4-1과 같다. 토양의 물리적 성질은 포지에 따라 토양 삼상 및 공극률에서 1.4-2.6배의 차이를 보이고 있었는데, 특히 기상에서 최대값과 최소값에서 현저한 차이를 보이고 있었다. 토양의 화학적 성질에 있어서도 포지에 따라 1.5-7.2배의 차이를 보이고 있었는데, 특히 치환성 Ca, Mg에서 각각 7.2배, 4.7배, 유효인산에서 4.6배, 염기포화도에서 5.9배의 현저한 차이를 보이고 있었다. 이러한 결과를 보아 홍천지역에 있어 묘삼의 생육에는 토양의 이화학적 성질이 크게 관여하고 있다고 추측된다.

표 4-1. 묘삼포지 토양의 이화학적 성질

생육상태	삼상(%)			공극률 (%)	p.H	유기물 (g/kg)	전 질소 (g/kg)	C/N	유효인산 (mg/kg)	치환성염기(me/100g)			양이온 교환용량 (me/100g)	염기포화도 (%)
	고상	액상	기상							Ca	Mg	K		
우량	M 49.95	16.2	33.9	50.1	4.82	14.42	0.77	11.1	261	0.97	1.04	0.41	11.0	21.9
	SD 1.87	1.2	2.3	1.9	0.20	2.08	0.11	2.3	79	0.21	0.27	0.10	0.9	4.2
	Range 47.1-52.5	14.2-18.6	30.5-37.5	47.5-52.9	4.51-5.08	11.29-17.22	0.63-1.01	6.5-13.98	113.5-375.5	0.61-1.41	0.68-1.56	0.24-0.57	9.45-12.6	14.96-27.85
불량	M 58.07	20.8	21.1	41.9	6.09	8.62	0.43	11.8	108	3.37	2.82	0.49	12.3	57.1
	SD 2.69	1.6	3.1	2.7	0.28	1.74	0.08	2.7	16	0.43	0.36	0.11	1.0	12.8
	Range 54.2-64.1	18.6-24	14.7-26.8	35.9-45.8	5.74-6.66	6.47-12.99	0.31-0.57	8.98-17.1	82.5-135	2.81-4.27	2.27-3.33	0.3-0.64	10.35-13.5	43.86-88.35

단위면적당 묘삼수량은 우량포지에서 평균 490g/kan(범위 370-700g/kan), 불량포지에서 평균 50kg/kan(범위 20-80g/kan)의 값을 보여 10배 정도의 큰 차이를 보였다. 일반적으로 칸(180×90cm)당 식재가능 묘삼생산량은 300-400g인데(이 등 1984), 산지 및 묘포의 종류에 따라서는 700g/kan이상의 묘삼을 생산하는 농가가 있는 것으로 보아 이러한 포지에 따른 묘삼수량의 차이는 전술한 바와 같이 토양의 이화학적 성질에 크게 영향을 받을 것이라 추측되는 바, 묘삼생육과 토양의 이화학적 성질과의 관계를 검토하였다(그림 4-1). 토양의 물리적 성질에 있어서는 토양삼상과 공극률에서 모두 묘삼생육에 관여하는 인자임을 알 수 있었는데 특히 우량포지는 불량포지에 비하여 기상 및 공극률에서 큰 값을, 고상 및 액상에서 작은 값을 나타내었다.

그림 4-1. 묘삼생육과 토양의 물리적 성질과의 관계



이러한 결과는 인삼의 생육 및 수량을 지배하는 토양의 물리적 성질은 토성에 관계없이 공극률 등이 깊이 관여하고 있다는(이 등, 2004a) 연구결과와 일치하였다.

묘삼생육과 토양의 화학적 성질과의 관계를 검토한 결과(그림 4-2) pH, 유기물, 전질소, 유효인산, 치환성 Ca 및 Mg, 염기포화도 통계적인 유의미의 차이(P<0.01)가 인정되었다. 우량포지는 불량포지에 비하여 유기물, 전질소, 유효인산에서 높은 값을, 치환성 Ca 및 Mg, 염기포화도에 있어서는 낮은 값을 나타내고 있었다. 이는, 불량포지에 있어서는 치환성 Ca 및 Mg의 과

잉농도에 따른 염류집적이 묘삼의 생육에 큰 영향을 주었을 것이라 판단된다.

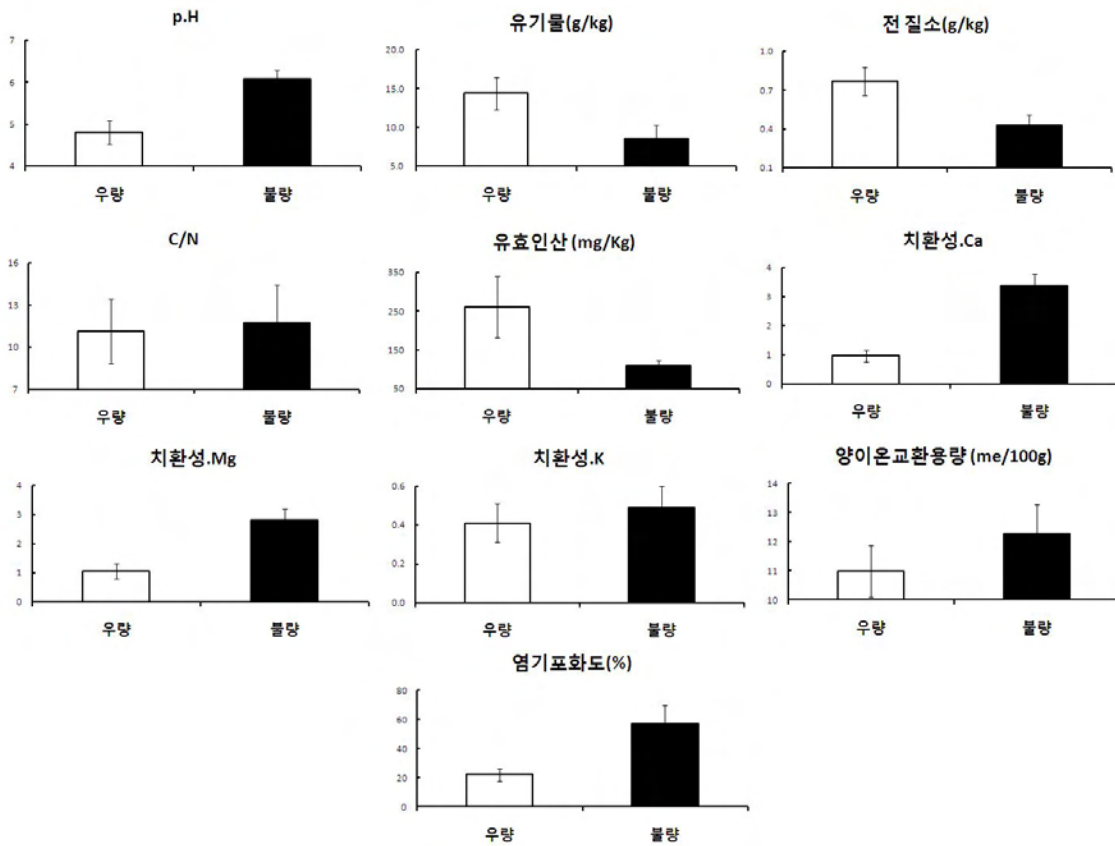


그림 4-2. 묘삼생육과 토양의 화학적 성질과의 관계

묘삼포지의 중금속 농도를 나타내면 표 4-2와 같다. 중금속 농도의 범위(최대값, 최소값)는 Mn, Zn 및 Pb에서 3배 이상의 값을, Cu에서 2.3배 정도의 큰 차이를 보인 반면 Cd에서는 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 묘삼포지 토양의 중금속 평균 농도를 우리나라 논 토양, 밭토양의 중금속 농도 및 토양 오염판단기준보다 낮은 값을 나타내어 전술한 풍기지역과 같이 홍천지역 묘삼은 청정한 재배환경 하에서 재배되고 있음을 시사하고 있다.

표 4-2. 묘삼포지토양의 중금속 농도

생육상태		중금속 (mg/kg)				
		Mn	Zn	Cu	Pb	Cd
우량	M	31.8	1.60	0.91	5.42	0.076
	SD	11.3	0.29	0.21	1.24	0.013
	Range	18.6-52.8	1.20-2.04	0.56-1.32	3.12-7.20	0.04-0.08
불량	M	56.0	2.98	1.17	2.69	0.080
	SD	11.0	0.37	0.15	0.46	0.012
	Range	38.6-69.8	2.60-3.68	1.02-1.43	2.03-3.60	0.06-0.11
전국 밭토양 농도		-	4.67	3.33	4.95	0.08

전국 농토양 농도	-	8.49	3.05	4.17	0.16
판단 기준	-	-	12	12	0.3
오염 우려 기준	-	300	50	100	1.5

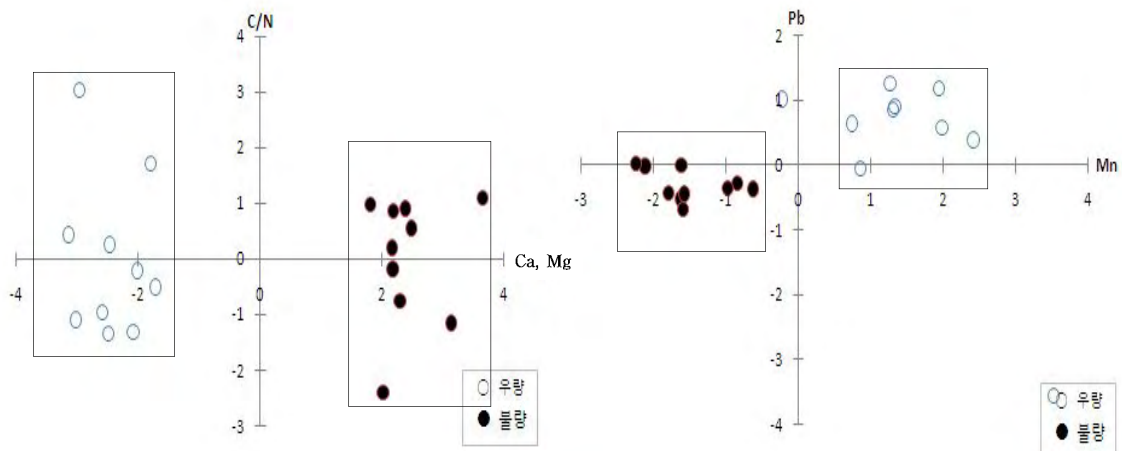
(2) 묘삼포지 토양의 이화학적 성질 중금속 농도의 적정범위

앞에서 밝혀진 묘삼생육에 있어서 통계적으로 유의차가 인정된 토양의 이화학적 성질과 중금속 농도를 비교한 결과와 주성분 분석으로부터 얻어진 결과(그림 4-3)를 종합하여 묘삼포지 토양의 이화학적 성질 및 중금속의 적정농도, 결핍 및 과잉 농도를 설정하였다(표 4-3). 그 결과, 토양의 물리적 성질에 있어서 공극률 45%이상, 화학적 성질에 있어서는 pH 5.7이하, 유기물 12g/kg이상, 전 질소 0.6g/kg이상, 유효인산 120-400mg/kg, 치환성 Ca 및 Mg(cmol⁺/kg)에서 모두 2.0이하의 값이 적정농도로 설정되었다.

그림 4-3. 토양의 이화학적 성질 및 중금속 농도와 생육포지 간의 위치관계

표 4-3. 묘삼포지 토양의 이화학적 성질 및 중금속농도의 적정치 범위

지금까지 인삼 및 묘삼생육과 토양의 단순요인과의 관계를 구명한 연구가 대부분이며, 토양의 복합요인 즉 양분의 성분비를 구명한 연구는 거의 없는 실정이다. 작물 및 임목생육에 있어서 치환성 염기의 성분비 (치환성Ca:Mg:K)를 구명한 연구(Jin *et al.*, 1988)는 있으나, 인삼 및 묘삼생육에 있어서는 진 등(2009, 2011)의 연구보고 외에는 전무한 실정이다. 일본에서는



작물재배의 이상적인 치환성 염기의 성분비 목표를 13:2:1로 설정하고 있다(Jin *et al.*, 1988).

본 연구에 있어서는 치환성 염기의 성분비는 우량포지에서 2.5:2.5:1, 불량 포지에서 7:6:1의 값을 보였는데, 이는 치환성K에 대하여 치환성Mg의 높은 성분비가 불량포지에 있어서 묘삼생육에 크게 영향을 주었으리라 추측되며 앞으로 묘삼생육과 치환성염기에 대한 추가연구가

		결핍	적정	과잉
이 화학적 성질	공극률(%)	45 <	45 <	
	pH		< 5.7	5.7 <
토양 화학적 성질	유기물 (g/kg)	12 <	12 <	
	전 질소 (g/kg)	0.6 <	0.6 <	
	유효인산 (mg/kg)	< 120	120-400	400 <
	치환성 염기 Ca (me/100g)		< 2.0	2.0 <
	Mg		< 2.0	2.0 <
중금속			NF	

필요하다고 생각된다. 따라서, 홍천지역의 묘삼생육에는 치환성 Ca 및 Mg의 과잉농도에 따른 염류집적 및 치환성 염기의 성분비가 크게 관여하고 있다고 판단된다. 향후 묘삼수량의 증대를 위해서는 공극률 뿐만 아니라 적정농도 및 양분균형을 고려한 합리적이고 체계적인 상토조제 및 시비체계 등의 묘포관리가 중요하다고 사료된다.

나. 인삼생육과 토양 중 이화학적 성질 및 중금속 농도

(1) 인삼포지 토양의 이화학적 성질

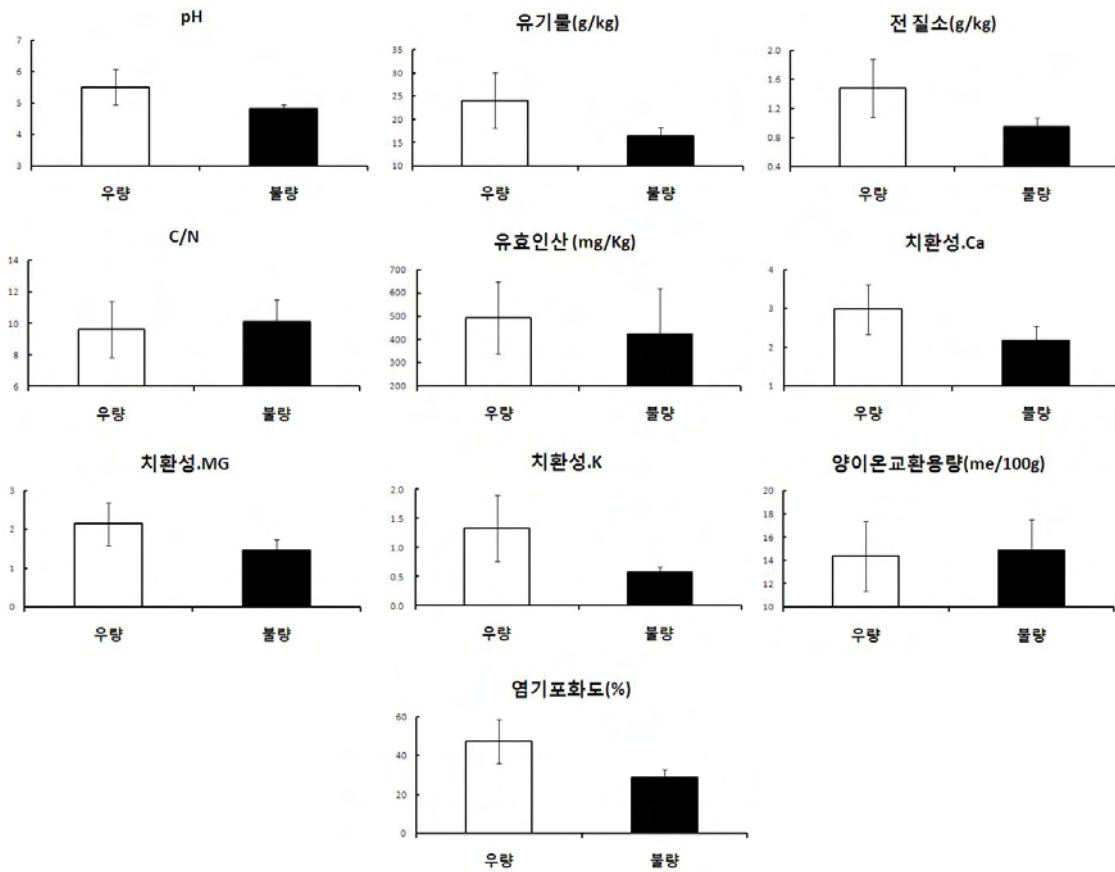
우량포지와 불량포지에서 생육한 인삼의 주당근중의 평균값(범위)을 비교하면, 우량포지에서 30g(25-40g), 불량포지에서 14g(9-29g)으로 우량포지에서 약 2배 이상 높은 생육상태를 보이고 있었다. 인삼근의 평균적인 연근 생장량은 주당근중이 4년생에서 62g을 보이고 있는데(이 등, 2004b), 이 값과 본 조사지의 주당 근중을 비교하면 우량포지에서 약 50% 불량포지에서 약 20%의 낮은 값을 나타내었다. 따라서 불량포지에 대한 토양요인의 구명과 이에 따른 토양환경의 개선이 필요하다고 생각된다.

인삼포지 토양의 이화학적 성질을 비교하면 표 4-4와 같다. 토양의 물리적 성질은 우량포지, 불량포지에서 큰 차이를 보이고 있지 않는 반면, 토양의 화학적 성질은 pH, 유기물, 전 질소, 치환성 염기(Ca, Mg, K) 및 염기포화도가 불량포지에 비하여 우량포지에서 높은 값을 나타내었으며 통계적으로 유의미한 차이(P<0.01)가 인정되었다(그림 4-4).

표 4-4. 인삼포지 토양의 이화학적 성질

생육 상태	삼상(%)			공극률 (%)	pH	유기물 (g/kg)	전 질소 (g/kg)	C/N	유효인산 (mg/kg)	치환성염기(me/100g)			양이온 교환용량 (me/100g)	염기포화도 (%)	
	고상	액상	기상							Ca	Mg	K			
우량	M	53.22	16.5	30.3	46.8	5.50	24.10	1.48	9.6	493	2.98	2.14	1.33	14.4	47.3
	SD	4.98	4.6	7.0	5.0	0.56	6.02	0.40	1.8	155	0.63	0.56	0.57	3.0	11.2
	Range	436	122	203	41.1	4.72	4.29	0.92	6.1	251	1.64	1.41	0.67	9.72	4.95
불량	M	51.29	15.5	33.2	48.7	4.82	16.39	0.95	10.1	422	2.17	1.46	0.57	14.9	28.8
	SD	2.31	2.7	3.0	2.3	0.12	1.80	0.12	1.4	195	0.36	0.28	0.09	2.6	4.1
	Range	47.6	11.6	29	44.6	4.62	1.37	0.79	3.1	153.5	1.52	1.2	0.39	12.6	22.53
		-55.4	-20.1	-38.8	-52.4	-4.96	-19.71	-1.17	-12.43	-663	-2.8	-1.9	-0.71	-21.42	-34.24

그림 4-4. 인삼생육과 토양의 화학적 성질과의 관계



유의의 차이가 인정되는 토양의 화학적 성질에 있어서 우량포지의 하한값과 불량포지의 상한값을 비교하면 pH 4.8, 유기물 18g/kg, 전 질소 1.0g/kg, 치환성Ca 2.5cmol⁺/kg, 치환성 Mg 1.7cmol⁺/kg, 치환성K 0.7cmol⁺/kg, 염기포화도 35%이상에서 우량포지가 분포하고 있었다. 인삼의 토양양분함량 적정치는(Mok *et al.*, 1996) pH 5.0-6.0, 유기물 19g/kg, 치환성K, Ca, Mg(cmol⁺/kg)에서 각각 0.5, 3.0, 1.5로 되어있는데, 본 연구결과를 이 값과 비교하면 거의 비슷한 경향을 보이고 있다.

본 조사지의 유효인산의 평균값(범위)은 우량포지, 불량포지에서 각각 493mg/kg(250-700mg/kg), 422mg/kg(150-700mg/kg)으로 적정치인 200mg/kg 이하의 2배 이상 높은 값을 보이고 있었다. 인삼생육에 있어서 유효인산 함량이 많으면 생리장애에 의한 결주율이 높다고 알려져 있다(박 등, 1985; 이 등, 1998; 이 등, 2008). 그러나 본 조사결과와 선행 연구결과(진 등, 2011)로서는 유효인산 400mg/kg 수준에서도 인삼이 생육하고 있는 것으로 보아 토양 및 재배조건에 따라서는 유효인산이 상당히 높은 수준에서도 인삼의 생육이 가능하다고 판단된다.

(2) 인삼포지 토양의 중금속 농도

인삼포지 토양의 중금속 농도를 비교하면 표 4-5와 같다. 토양의 중금속 농도는 Mn이 우량포지에서 1.8배, Pb는 불량포지에서 1.6배 높은 값을 나타내었으며 통계적으로 유의미한 차이가 (P<0.01) 인정되었다(그림 4-5). 그 외의 Zn, Cu, Cd에 있어서는 그 차이가 뚜렷하지 않았다. 토양의 중금속 농도를 우리나라 밭 토양의 중금속 농도와 비교하면 Zn, Cu, Cd에서 비슷한

값을, Pb에서 낮은 값을 보이고 있었으며, 또한 토양오염 판단기준에 비하여 낮은 값을 나타내고 있었다. 따라서 토양오염 판단 기준치 이하인 인삼포지에 있어서는 Mn은 필수미량원소로서 인삼생육에 유효하게 흡수, 이용되고 있으나, Cu는 인삼생육에 유해로운 영향을 미치는 중금속 원소임을 알 수 있었다.

표 4-5. 인삼포지 토양의 중금속 농도

생육상태		중금속 농도 (mg/kg)				
		Mn	Zn	Cu	Pb	Cd
우량	M	56.7	9.72	2.56	2.28	0.124
	SD	10.3	1.97	1.80	0.37	0.055
	Range	42.9-72.9	5.56-11.88	0.82-6.57	1.36-2.72	0.082-0.242
불량	M	30.7	7.58	4.45	3.67	0.120
	SD	2.8	2.21	2.15	0.97	0.027
	Range	25.8-35.8	3.76-11.68	1.64-9.48	2.61-5.23	0.084-0.163
전국 밭토양 농도		-	4.67	3.33	4.95	0.08
전국 논토양 농도		-	8.49	3.05	4.17	0.16
판단 기준		-	-	12	12	0.3
오염 우려 기준		-	300	50	100	1.5

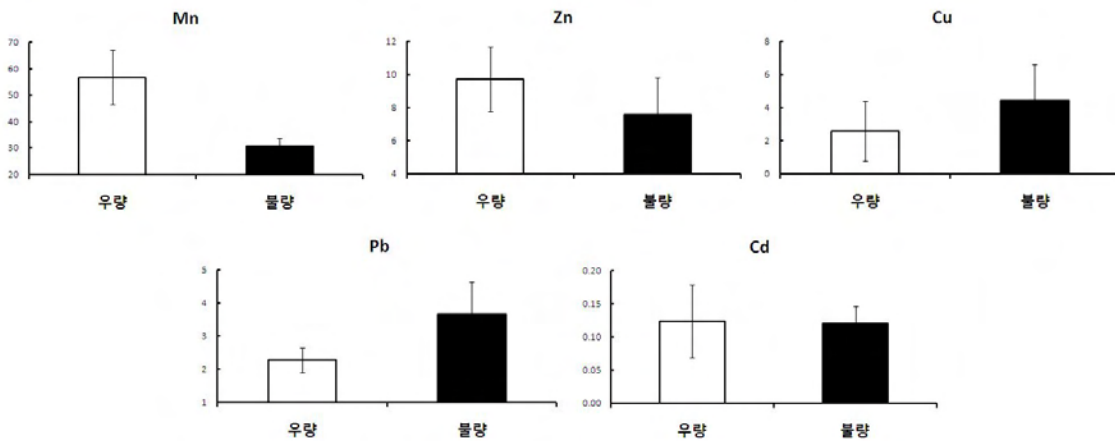


그림 4-5. 인삼생육과 토양의 중금속 농도와의 관계

(3) 인삼포지 토양의 이화학적 성질 및 중금속 적정농도 설정

전술한 묘삼포지와 마찬가지로 인삼생육에 있어서 통계적으로 유의차가 인정된 토양의 이화학적 성질과 중금속 농도를 비교한 결과와 주성분 분석에서 얻어진 결과(그림 4-6)를 종합하여 인삼포지 토양의 이화학적 성질 및 중금속의 적정농도, 결핍 및 과잉농도를 설정하였다(표 4-6). 그 결과 토양의 화학적 성질에 있어서 pH 4.8, 유기물 18g/kg, 전질소 1.0g/kg, 치환성 Ca, Mg 및 K에서 각각 2.5, 1.7, 0.7cmol⁺/kg, 염기포화도 35% 이상을 적정농도로, 적정농도 이하를 결핍농도로 설정되었다. 또한 전술한 묘삼토양에서와 같이 인삼생육에 미치는 치환성 염기의 성분비(치환성 Ca:Mg:K)는 우량포지(2.2:1.6:1)와 불량포지(3.8:2.6:1)에 있어서 그다

지 큰 차이를 보이지 않고 있어 전술한 묘삼토양에서와 같은 인삼생육에 미치는 치환성 염기의 성분비의 영향은 크게 관여하지 있지 않음을 알 수 있었다.

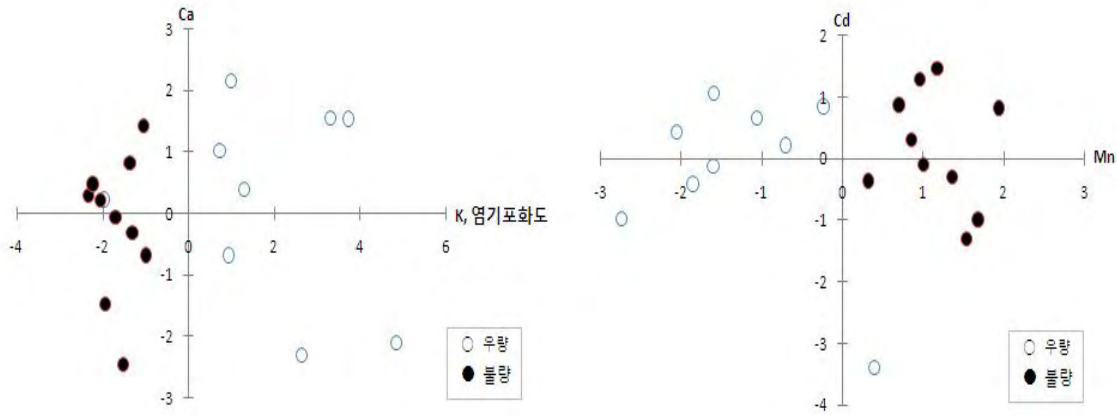


그림 4-6. 토양의 이화학적 성질 및 중금속 농도와 생육포지 간의 위치관계
표 4-6. 토양의 이화학적 성질 및 중금속농도의 적정치 범위

		결핍	적정농도	과다	
이화학적 성질		N.F			
토양	pH	< 4.5	4.5 <		
	유기물 (g/kg)	< 1.8	1.8 <		
	전 질소 (g/kg)	< 1.0	1.0 <		
	화학적 성질				
	Ca	< 2.5	2.5 <		
	치환성염기 (me/100g)	Mg	< 1.7	1.7 <	
		K	< 0.7	0.7 <	
	염기포화도 (%)	< 35	35 <		
중금속		NF			

5. 인삼재배지의 토양표준화

가. 예정지, 묘포 및 본포토양의 이화학적 성질의 분포범위와 위치관계

동일지역(홍천) 내 예정지, 묘포 및 본포토양의 이화학적 성질의 분포범위와 위치관계를 주 성분 분석에 의해 비교 검토하였다(그림 4-7). 주성분 분석에 있어서 주성분의 수는 누적 기여율이 80% 이상, 고유치가 1 이상의 2개의 주성분 (제1주성분, 제2주성분)을 추출하였다. 토양의 물리적 성질과 예정지 및 포지(묘포, 본포)간의 위치관계를 보면 묘포2와 예정지1을 제외한 예정지2와 포지는 공극률, 기상, 고상 및 액상에서 비교적 유사한 분포범위와 위치관계를 보이고 있었다. 반면, 묘포2와 예정지1은 공극률, 기상에서 낮은 값을, 고상, 액상에서 높은 곳에 위치하고 있었다. 이는 예정지 조성 및 상토조제 시 표준화된 토양 물리성을 고려하지 않고

재배자의 관행적인 예정지 및 묘포 및 본포토양의 환경 조건을 달리한 결과에 기인한 것으로 사료된다.

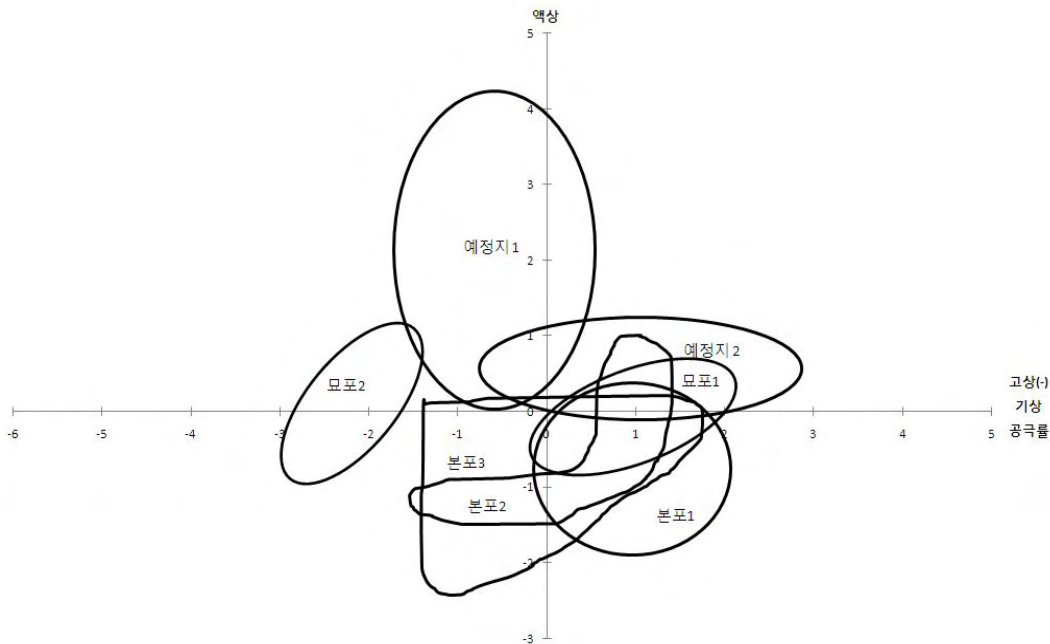


그림 4-7. 예정지, 묘포 및 본포토양의 물리적 성질의 분포범위와 위치관계

토양의 화학적 성질과 예정지 및 포지(묘포, 본포)간의 위치관계를 보면(그림 4-8), 전술한 토양의 물리적 성질과는 뚜렷한 차이를 보이고 있는데, 본포2와 본포3이 유사한 분포범위와 위치관계를 보인 반면 그 외의 예정지, 묘포, 본포토양은 각기 다른 분포범위와 위치관계를 보이고 있었다. 묘포2를 제외하고는 pH와 유기물에서 큰 차이는 없었으나, 전 질소, 유효인산, 치환성 염기 및 염기포화도에서 폭 넓은 수준의 차이를 보이고 있어, 동일지역에 있어서도 예정지 및 포지에 따라 화학비료와 석회질비료의 과다시비에 의한 비옥도에 큰 차이가 있으며 양분간의 균형에도 많은 문제점을 시사하고 있다고 사료된다.

따라서, 고품질 다수확 인삼재배 생산을 위해서는 인삼재배지의 영양환경을 바탕으로 한 토양표준화 및 토양개선재료 생산의 기술개발을 위한 객관적이고 정량화된 지침을 수립하는 것이 시급한 과제라 판단된다.

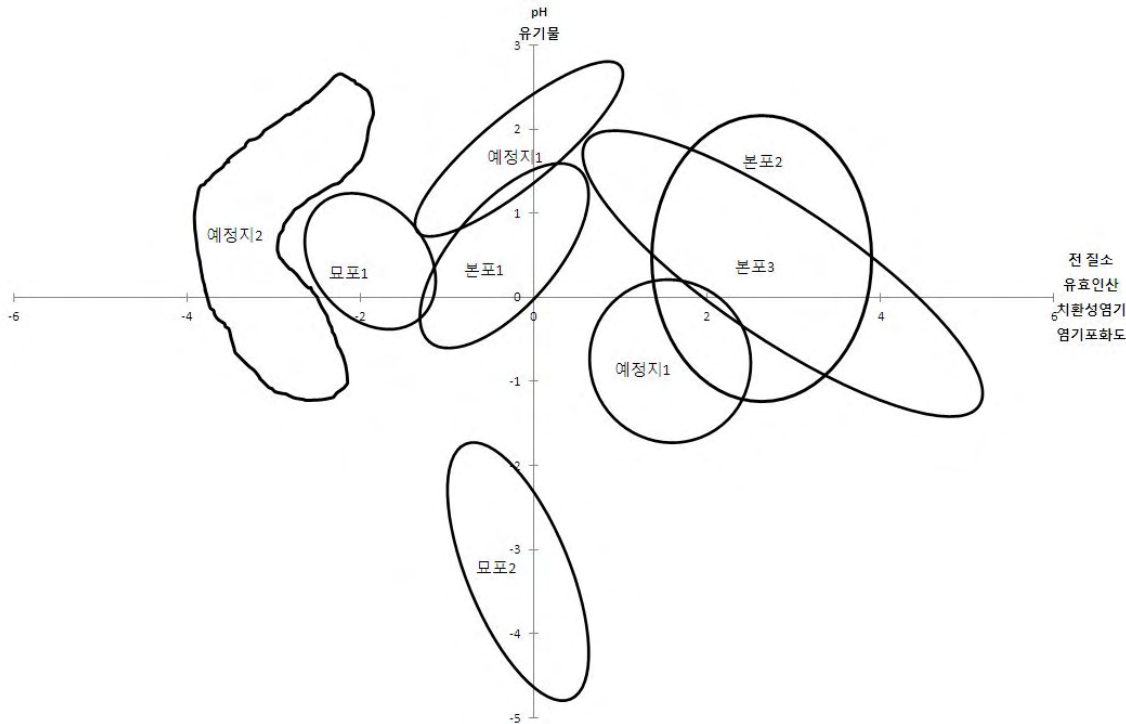


그림 4-8. 예정지, 묘포 및 본포토양의 화학적 성질의 분포범위와 위치관계

나. 지역별 인삼재배지 토양의 적정농도를 이용한 토양표준화 체계 수립

5년간 수행한 지역별 인삼재배지(묘포, 본포) 토양의 적정농도를 나타내면 표 4-7과 같다. 인삼생육에 관여하는 토양의 이화학적 성질은 지역에 따라 또는 포지(묘포, 본포)에 따라 차이는 있으나 대체적으로 토양의 물리적 성질에 있어서는 공극률이, 토양의 화학적 성질에 있어서는 유기물, 유효인산 및 치환성 염기 등이 공통으로 인삼생육에 영향을 미치는 주요 인자임을 알 수 있었다. 우리나라 인삼재배지에 있어서 인삼생육에 적합한 토양기준치(박 등 1984; Mok *et al.*, 1996)는 설정되어 있으나, 지역별 토양의 적정농도 및 성분비를 종합적으로 비교, 해석한 연구는 없다. 따라서 인삼생육에 관여하는 지역별 토양의 공통 요인의 적정농도 및 성분비를 설정하여 전국적으로 활용할 수 있는 인삼재배지의 토양표준화 지침을 수립하였다(표 4-8). 그 결과 토양의 물리적 성질에 있어서 공극률은 45% 이상, 토양의 화학적 성질에 있어서 pH 4.5-5.7, 유기물 18g/kg이상, 전 질소 0.6-1.0g/kg, 유효인산 200-400mg/kg이 적정농도로 설정되었다. 또한 치환성 Ca, Mg 및 K(cmol⁺/kg)에서는 각각 2.5-4.0, 1.5이상, 0.5이상이 치환성 염기성분비(치환성 Ca:Mg:K)는 6:3:1이 적정성분비로 설정되었다. 염기포화도는 지역에 따라 큰 차이는 있으나 65% 이상이 인삼생육에 있어 적합한 농도라 판단되었다.

표 4-7. 지역별 인삼재배지(묘포, 본포) 토양의 적정농도

	안성	포천	금산	풍기	풍기 묘상	홍천	홍천 묘상
공극률(%)	50 <	-		-		-	45 <
pH	-	-		-		4.5 <	< 5.7
유기물(g/kg)	-	-		-		18 <	12 <
전 질소(g/kg)	< 2.0	-		-	0.6 <	1.0 <	0.6 <
유효인산(mg/kg)	300-500	300-600	280 <	-	200-400	-	120-400
Ca	2.3-3.5	4.0-4.7		-	2.0 <	2.5 <	< 2.0
치환성염기 (me/100g)	Mg	< 0.8		-	-	1.7 <	< 2.0
K	-	< 0.5		-	-	0.7 <	
양이온교환용량 (cmol ⁺ /kg)	-	-			7.0 <		
염기포화도(%)	-	-		65-75	-	35 <	
Ca : Mg : K	6:2:1				10:4:1	3:3:1	

표 4-8. 지역별 토양 공통요인의 적정농도 및 성분비

	토양표준화 지침	기존 토양기준치
공극률(%)	45 <	-
pH	4.5 - 5.7	4.5-6.0
유기물(g/kg)	18 <	20
전 질소(g/kg)	0.6 - 1.0	0.15-0.8
유효인산(mg/kg)	200-400	200이하
Ca	2.5 - 4.0	1.2-4.1
치환성염기 (me/100g)	Mg	0.7-1.5
K	0.5 <	0.2-0.7
양이온교환용량(cmol ⁺ /kg)	7.0 <	
염기포화도(%)	65 <	
Ca : Mg : K	6:3:1	

이 값을 박훈(1984)과 Mok et al.(1996)에 의해 설정된 인삼재배지 토양의 기준치와 비교하면 pH, 유기물, 전 질소, 치환성 Ca 및 K에서는 거의 비슷한 경향을 보이고 있으나 유효인산에서 2배정도 높은 값을 보이고 있었다. 인삼 토양에 있어서 유효인산 함량이 많으면 결주율이 높으며 근부병의 발생율이 높다고 보고되고 있다(박 등, 1985; 이 등, 2008). 그러나 본 조사결과로서는 유효인산 함량이 600mg/kg 수준까지 인삼이 생육하고 있는 것으로 보아 토양 및 재배조건에 따라서는 유효인산이 상당히 높은 수준에서도 인삼의 생육이 가능하다고 판단되는데, 이에 대한 지속적인 연구가 필요하다고 판단된다.

치환성 염기 성분비(치환성 Ca:Mg:K)는 6:3:1이 적합하며 지역에 따라서는 치환성 K함량에 대한 치환성 Ca함량이 많은 토양조건에서 인삼의 생육이 양호하였으나, 치환성 K함량에 대한

치환성 Mg 함량이 높은 토양에서 인삼의 생육이 불량한 포지가 많이 분포하고 있었다. 작물의 생리장애는 토양성분이 부족함으로 인한 것보다는 특정성분이 과다하여 발생하는 경우가 많으며(Chung and Choi, 2003), 토양의 Ca, Mg 및 Na의 함량이 높은 재배지에서 생리장애가 복합적으로 나타나는 현상을 보이는 연구결과가 (현 등, 2009; 권 등, 2011)있다. 그러나 이러한 연구결과는 토양의 단순요인만을 작물생육과 관련시킨 것으로, 본 연구에 있어서의 양분간의 불균형이 작물의 생리장애에 큰 영향을 미치고 있다는 연구 결과는 향후 인삼재배에 있어서 고려해야할 큰 과제라 생각된다.

6. 활엽수(굴참나무) 수피퇴비 시험을 통한 토양개선재료 선발

가. 공시토양의 화학적 성질

시험 전 공시토양(굴참나무림 표층토)의 화학적 특성은 표 4-9와 같다. pH는 4.8로 약산성을 나타내었는데, 이는 전국 산림토양 평균인 5.5(이, 1991)에 비해 낮았다. 유기물 함량과 전 질소는 각각 32.0g/kg, 2.25g/kg으로 우리나라 산림토양의 평균값(정 등, 2002)인 44.9g/kg, 1.9g/kg에 비해 유기물 함량에서는 낮은 값, 전 질소함량에서는 비슷한 값을 보였다. 토양 중 유효인산은 25.0mg/kg 으로 우리나라 산림토양의 평균 값(정 등, 2002)인 25.6mg/kg과 거의 같은 값을 보였다. 치환성 Ca, Mg, K 및 양이온 교환용량은 각각 1.48, 0.63, 0.30 및 17.2cmol⁺/kg으로 우리나라 산림토양(정 등, 2002)에 비하여 치환성 Ca, Mg에서 1/2정도 낮은 값을, 치환성 K, 양이온 교환용량에서 약간 높은 값을 보였다.

표 4-9. 공시토양의 화학적 특성

부위	침엽수(소나무)					활엽수(굴참나무)				
	N	P	K	Ca	Mg	N	P	K	Ca	Mg
잎	1.264	0.09	0.483	0.411	0.155	2.167	0.14	0.626	0.890	0.187
가지	0.277	0.02	0.140	0.314	0.057	0.585	0.06	0.200	0.611	0.058
줄기	0.046	0	0.045	0.011	0.017	0.202	0.01	0.132	0.191	0.019
수피	0.240	0	0.030	0.142	0.020	0.634	0.03	0.163	4.481	0.076

조사지인 굴참나무림의 인근에 위치하는 침엽수림(소나무림)의 표층토의 화학성과 비교하면 모든 요인에 높은 값을 보였는데, 특히 유기물 함량, 전 질소함량, 염기포화도, 유효인산에서 1.5-2.0배, 치환성 Ca, Mg, K에서 3배 정도 높은 값을 보여 침엽수림 토양에 비하여 본 조사지인 굴참나무림의 토양환경 및 비옥도 측면에서 양호함을 알 수 있었다. 이러한 결과는 향후 인삼재배지의 예정지 및 묘포조성에 있어서 침엽수 토양보다 활엽수 토양이 인삼생육에 적합한 원야토임을 시사하고 있다고 판단된다.

나. 식물체 기관별 무기성분 조성

활엽수 수피원료가 퇴비로서의 적합성을 파악하기 위하여 식물체 부위별 무기원소(N, P, K, Ca 및 Mg) 농도를 분석하고 침엽수(소나무)와 비교하였는데 그 결과는 Table1와 같다. 보충 자료로서 손 등(2007)이 보고한 강원지역 굴참나무, 신갈나무의 부위별 무기원소 농도도 참고 자료로 나타내었다(표 4-10).

표 4-10. 강원지역 굴참나무, 신갈나무의 부위별 무기원소 농도

부위	굴참나무						신갈나무					
	N	P	K	Ca	Mg	Na	N	P	K	Ca	Mg	Na
줄기 목질부	0.175	0.023	0.244	0.311	0.037	0.106	0.160	0.046	0.173	0.109	0.017	0.088
줄기 수피	0.532	0.044	0.197	3.127	0.044	0.093	0.496	0.107	0.216	3.268	0.059	0.154
생지	0.519	0.037	0.226	1.432	0.069	0.126	0.568	0.150	0.371	1.052	0.073	0.133
고사지	0.579	0.086	0.143	1.835	0.071	0.098	0.532	0.078	0.149	1.727	0.051	0.146
당년생 소지	0.750	0.061	0.550	1.402	0.134	0.095	0.889	0.160	0.543	1.077	0.129	0.113
잎	2.308	0.096	0.790	0.910	0.119	0.099	2.171	0.083	0.884	0.743	0.134	0.117
뿌리	0.559	0.064	0.458	0.627	0.064	0.120	0.512	0.068	0.464	1.339	0.067	0.161

굴참나무는 수피를 제외한 모든 부위의 원소농도에서 N>Ca>K>Mg>P 순이었으며, 수피에서는 Ca>N>K>Ca>P 순으로 Ca에서 가장 높은 농도를 나타내었다. 소나무는 원소에 따라 차이가 있으나 모든 부위에서 N>K>Ca>Mg>P 순이었다.

산림생태계에서 1차 생산자인 식물이 광합성작용에 의해 합성한 유기물 가운데 잎, 가지, 수피 등 식물체의 일부는 낙엽으로 낙엽층에 환원되는데, 식물은 생육기에 양분을 흡수하고 낙엽 전에 각 기관별로 양분을 분배한다. 양분의 분배 및 축적은 수종에 따라 차이가 있으나 대부분의 수종에서 N, P, K는 잎이 줄기와 뿌리보다 높은 농도를 보였다는 보고가 있다(장과 김, 1983).

동일 부위에 있어서 각 원소농도는 굴참나무가 침엽수에 비해 높은 농도를 보이고 있는데, 특히 굴참나무 수피의 Ca농도는 4.48%로 침엽수의 0.14%에 비해 약 32배 현저히 높은 값을 보이고 있다. 이와 같은 결과는 수피의 무기원소 함량의 수종간 비교에서 참나무속, 사시나무속, 소나무속 순으로 낮아지고 있으며 이들 원소중 Ca가 제일 높고 N, K가 비슷하게 높고 P의 함량이 전체적으로 낮았다는 연구결과(장 등, 1987)와 일치하였다. 따라서 본 연구결과와 전술한 활엽수와 침엽수의 토양의 화학성 비교결과를 종합하여 보면 활엽수가 침엽수보다 토양 중 유기물, 전 질소, 유효인산 함량에서 높은 값을 보일 뿐 아니라 수피의 무기원소 함량 중 Ca 농도에 높은 값을 보이고 있는 것으로 보아 인삼 생육에 크게 관여하고 있는 주요인자가 유기물, 유효인산, 치환성 Ca임을 고려할 때, 활엽수의 토양이 원야토의 재료로서, 활엽수의 수피가 수피퇴비의 원료로서 적합하다고 판단된다.

다. 활엽수 수피퇴비 및 유기비료 시험

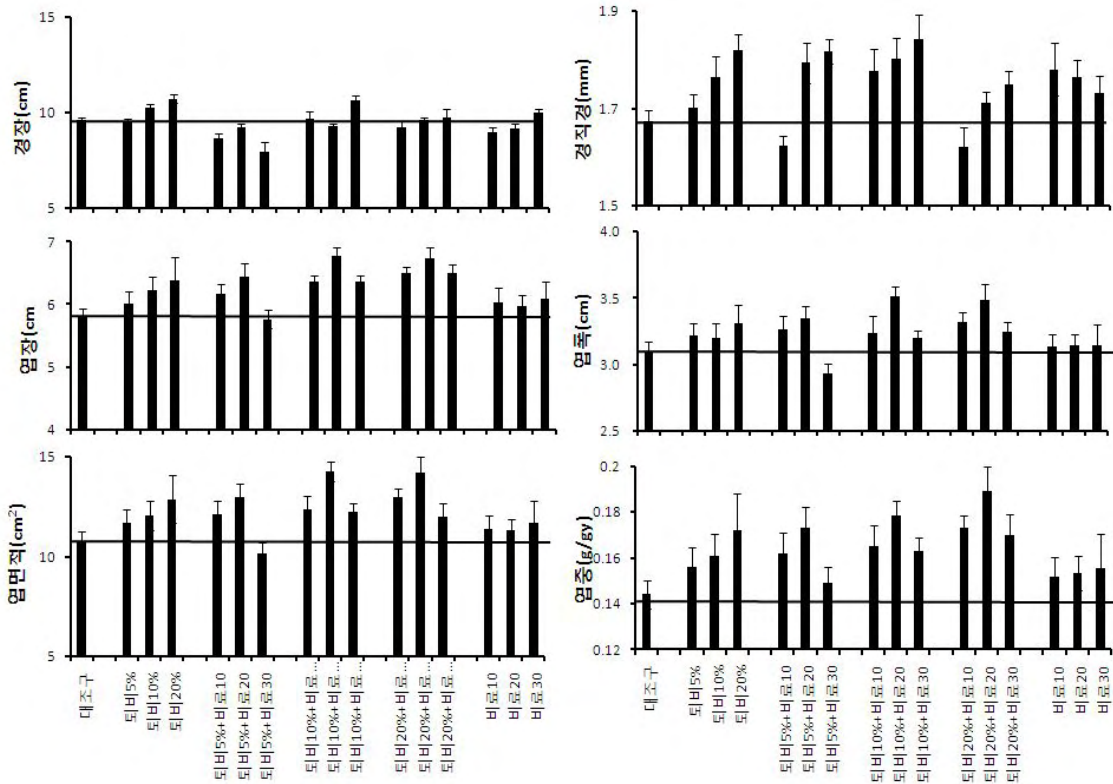
수피퇴비는 임업잔사인 수피를 원료로 하여 우분 계분 등의 유기물을 혼합하여 고온 발효시켜 만들어진 토양개량제이다. 시험에 사용한 활엽수 수피퇴비의 이화학적 조성은 표 4-11과 같으며, 토양의 기본적 이화학적 성질과 전혀 다른 이화학적 조성을 보이고 있다. 즉 높은 함유율과 중성에 가까운 pH, 그리고 높은 함량의 유기물, 질소, 유효인산 그리고 높은 양이온 교환용량과 치환성염기 및 염기포화도를 나타내고 있다. 이는 영양부식과 내구부식을 적당한 비율로 함유하고 있어 일반 퇴비보다도 토양의 물리성, 화학성 등의 개량효과가 크고 또한 영속 효과가 있어 특히 인삼과 같은 생산기간이 4-6년 소요되는 장년 재배작물에 있어서는 유용한 퇴비라 추측할 수 있다.

표 4-11. 활엽수 수피퇴비의 이화학적 조성

수피퇴비종류 (제조회사)	수분(%)	pH	양이온교환용량 (me/100g)	염기포화도 (%)	C	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	C/N
미도리 (기남목재부제품 주식회사)	61.9	6.7	87.3	86.8	46.0	1.41	1.05	0.95	33
키녹스K (왕자목재녹화 주식회사)	62.1	7.5	110.3	79.1	43.2	1.6	0.84	0.75	27

수피퇴비의 혼합비율 및 유기석회비료 시용량에 따른 종자 및 묘삼의 지상부 생육을 보면 (그림 4-9), 종자시험구 있어서는 수피퇴비구가 대조구에 비하여 발아율을 비롯한 모든 생장 형질에서 생육이 좋았으나 유기석회비료 처리구는 비해 경직경을 제외하고는 대조구와 거의 비슷한 생육을 보이고 있었다. 수피퇴비구는 경장을 제외한 모든 생장 형질에서 수피퇴비의 비율이 증가할수록 생육이 양호함을 알 수 있었는데, 특히 그 경향은 경직경에 있어서 뚜렷하였다. 이러한 결과는 수피(침엽수)를 주원료로 하는 약토함량이 증가할수록 엽면적 및 생장량이 증가하였다는 연구결과(안 등 2003; 양, 1995)일치하였다. 또한 수피퇴비+유기석회비료 처리구에 있어서는 예외는 있으나 대부분의 수피퇴비+유기석회비료 1.0배구(시용 권장량)에서 전반적으로 생육이 양호하였다.

그림 4-9. 수피퇴비의 혼합비율 및 유기석회비료 시용에 따른 종자 및 발아 및 묘삼의 지상부 생육



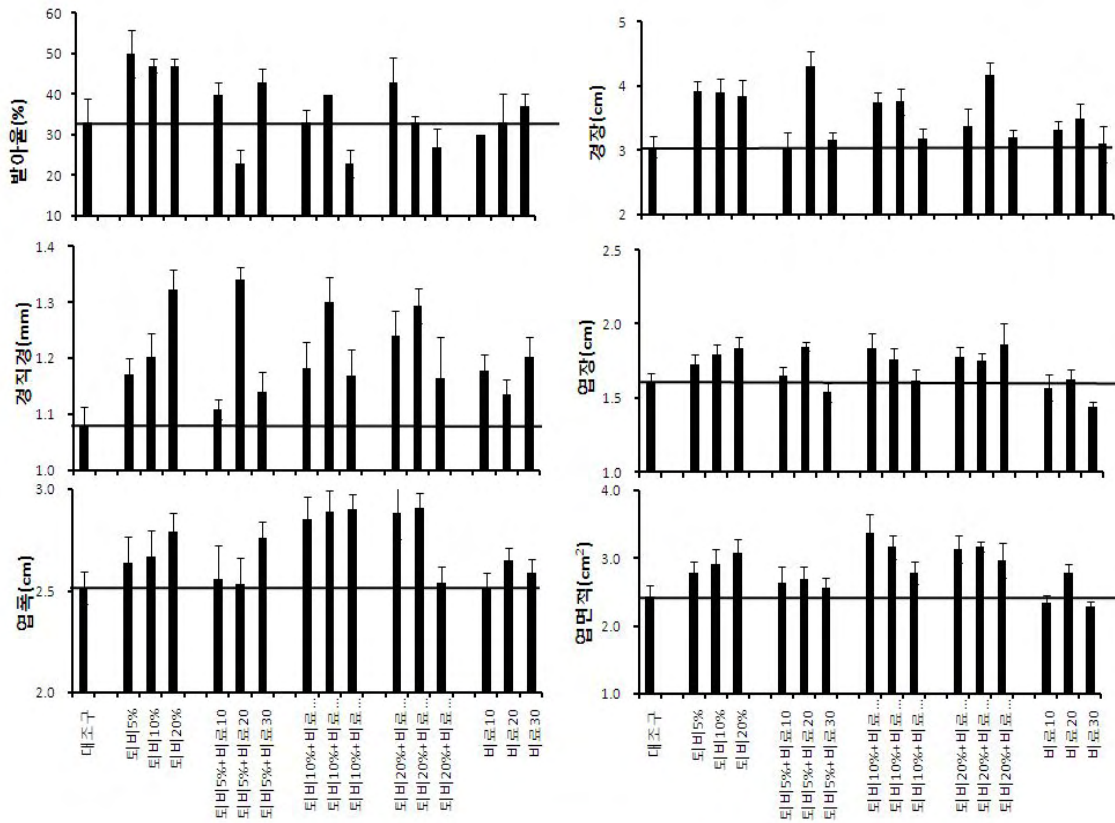
묘삼시험구에 있어서는(그림 4-10)경장은 대조구와 모든 처리구에 있어서 큰 차이를 보이지 않고 대부분 비슷한 생육경향을 보이고 있었다. 반면, 그 외의 생육형질에 있어서는 수피퇴비구가 대조구에 비하여 생육이 좋았으나 유기석회비료 처리구는 경직경을 제외하고는 다른 생육형질에 있어 대조구에 비해 큰 차이를 보이지 않아 수피퇴비의 시용효과가 유기석회비료 시용효과보다 양호한 결과를 보여주었다(양, 1995).

그림 4-10. 수피퇴비의 혼합비율 및 유기석회비료 시용에 따른 묘삼의 지상부 생육

이와 같은 결과는 수피(소나무)유기질 비료 처리구에 화학비료 권장량의 반량, 또한 수피퇴비+3요소 1.5배구가 각각 채소류와 야콘생육에서 양호한 생육을 보였다는 연구결과(허 등 2007; 양 등 1995)와 일치하는 것으로 수피퇴비와 화학비료 적당량을 혼용할 경우 화학비료의 혼용시용으로 화학비료의 시용절감효과를 기대할 수 있다고 판단된다.

수피퇴비구는 엽폭을 제외한 대부분의 성장형질에서 수피퇴비의 혼합비율이 증가함에 따라 양호한 생육을 보였는데, 특히 그 경향은 종자시험결과와 같이 경직경에 있어서 현저하였다. 수피퇴비+유기석회비료 혼합 처리구에 있어서는 종자시험결과와 동일한 경향, 즉 수피퇴비+유기석회비료 1.0배구(시용권장량)에서 생육이 가장 양호하였다.

이상의 결과로부터 수피퇴비의 혼합비율이 많을수록 지상부 생육이 증가하는 경향은 주로 수피퇴비의 시용으로 토양의 물리성 개선에 의한 결과이며, 수피퇴비구+유기석회 1.0배구에서



양호한 생육을 나타낸 것은 토양의 물리성과 화학성 개선의 상승효과에 따른 결과라 생각된다. 그러나 유기석회비료 처리구에서의 생육이 대조구와 큰 차이를 보이지 않은 것은 토양의 물리성 개량을 고려하지 않은 화학성 개량에는 한계가 있다는 것을 시사하고 있다.

따라서, 인삼재배지의 토양개선재료로서 활엽수 수피퇴비만을 이용할 경우 원야토에 대한 수피퇴비 혼합비율은 20%정도가 적당하다고 생각된다. 또한 수피퇴비나 유기석회비료를 병용할 경우에는 수피퇴비 10%+유기석회비료 1.0(시용권장량, 150g/m²)이 적합한 시용량이라 할 수 있으나, 짧은 시험기간(4개월)으로 인하여 분석하지 못한 처리구별 토양의 이화학적 성질 및 지하부의 뿌리의 생육상황 등에 대한 추가 연구를 수행한 결과를 토대로 활엽수 수피퇴비의 토양개선 재료로서의 종합적이고 과학적인 평가를 기대할 수 있을 것으로 사료된다. 마지막으로 작물의 생육 및 수량증대에 미치는 참나무 목탄의 효과(윤 등, 2004a, 2004b)와 중금속 흡착에 미치는 참나무 톱밥의 효과(이 등 2009)등의 연구보고와 같이 활엽수, 특히 참나무 수종의 수피퇴비의 시용은 토양의 물리적, 화학적 개선을 물론 중금속 오염방지등의 환경적 문제점을 경감시키는 등의 부가가치 효과를 얻을 수 있는 토양개선 재료로서 유리한 조건을 갖추었다고 생각된다.

2핵심 3세부

제 1 절 연구개발 수행내용

1. 인삼병원균별 친환경 훈증제의 훈증효과검정방법 확립
2. 토성별 훈증제의 효과 극대화를 위해 최적토양수분함량 결정
3. 훈증제의 토양미생물상에 미치는 영향
4. 석회질소(친환경훈증제)의 시용량별 토양화학성변화조사(무기태질소 : Ca, pH변화)
5. 석회질소의 수단그라스 생산량에 미치는 영향 구명
6. 연작지 친환경훈증 시험
7. 양직묘포에서 미생물보호제를 사용한 무농약 묘삼생산 시험
8. 훈증토양에서의 무농약묘삼 생산방법 연구
9. 예정지에서의 발병억제 미생물 증식방법 수립

제 2 절 연구결과

1. 토양훈증효과 측정방법 수립, 바이오 어세이법

가. 가스챔버 바이오어세이 키트 개발

밀폐상자에서 훈증제량을 달리하여 일정시간 가스 발생을 허용하고 이때 여러 가지 병원균의 씨앗을 노출시켜 가스의 살균 및 살초효과를 검정하는 키트를 만들었다. 이를 활용하여 다음과 같은 훈증효과에 관한 여러 정보를 정확히 얻을 수 있다.

(1) 토양수분이 토양훈증제의 살균 및 살초효과에 미치는 영향

밧사미드의 추천량은 100ppm이다. 표1에서 보면 밧사미드의 라이족토니아 멸균율은 포장용수량의 30% 이상일 때 100%이다. 수단그라스종자를 사멸시키는 효과는 포장용수량의 40% 이상에서 높다. 발아된 종자의 유근길이도 멸균, 살초 효과를 따른다. 밧사미드는 포장용수량이 70%일 때가 가장 효과가 크다.

Table 1. Effect of soil water on the sterilization of humigates of pathogen and inhibition of grass seed germination

soil water (% of field capacity)	Basamid (100ppm)			CaCN ₂ (PN,500ppm)			CaCN ₂ (Alfa Aesar,100ppm)		
	멸균 (%)	살초 (%)	발아 (mm)	멸균 (%)	살초 (%)	발아 (mm)	멸균 (%)	살초 (%)	발아 (mm)
10	89	30	5.3	0.0	10	7.4	0.0	40	13.1
20	96	0.0	7.8	31	10	9.2	59	10	14.4
30	100	40	1.3	44	10	8.2	36	10	9.7
40	100	80	4.0	37	20	11.1	54	10	12.6
50	100	80	2.5	50	20	9.5	29	10	9.4
60	100	70	3.0	44	10	9.6	42	0	6.9
70	100	100	0.0	71	10	11.7	36	20	8.6
80	100	70	7.3	31	20	7.5	36	20	14.1

Pathogen sterilization : *Rhizoctonia solani*, seed sterilization : 수단그라스종자 사멸,
Primary root of Sudan grass : 수단그라스 종자 유근 길이, grass : Sudan grass seed

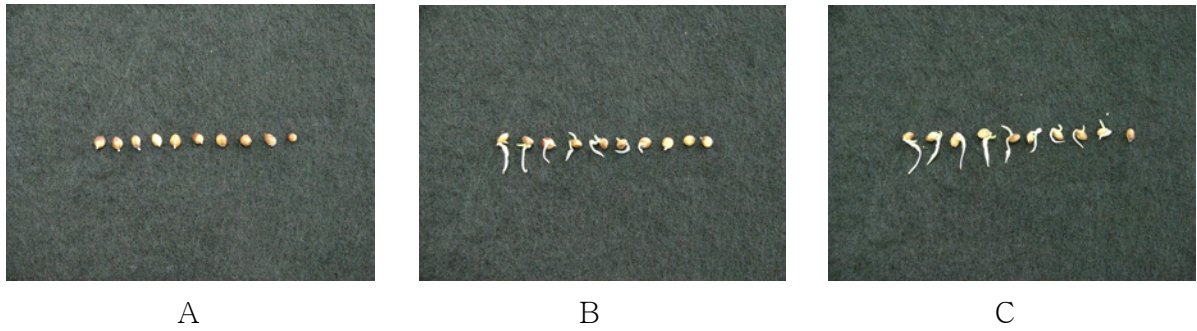


그림 1. 수단그라스종자를 이용한 토양훈증제의 살초효과 검정(A : 밧사미드100ppm, B : CaCN₂ PN500ppm, C : CaCN₂ Alfa Aesar100ppm)

(2) 훈증제의 시용량별, 제형별 훈증효과

표1에서 본 바와 같이 석회질소의 권장량(138ppm)보다 상당히 높은 농도에서도 효과가 없다. 표2에서 보면 석회질소 농도를 훨씬 높임으로써 효과가 나타나는데 입제보다는 분제가 효과가 크다. 표3에서는 밧사미드의 시용량별 피지움살균효과가 잘 나타나 유효량이 100ppm임을 알 수 있다.

Table 2. Effect of soil fumigation on the inhibition of lettuce seed germination and growth of *Pythium sp.*

	Lettuce seed	<i>Pythium</i> growth
Basamid(100ppm)	50	100
CaCN ₂ , powder(10,000ppm)	40	99
CaCN ₂ , powder(15,000ppm)	100	100
CaCN ₂ , powder(20,000ppm)	100	100
CaCN ₂ , granule(10,000ppm)	10	0
CaCN ₂ , granule(15,000ppm)	10	0
CaCN ₂ , granule(20,000ppm)	10	40
Control	10	0

Table 3. Effect of soil fumigation on the inhibition of lettuce seed germination and growth of *Pythium sp.*(%)

	germination inhibition	growth inhibition
Basamid(10ppm)	60	14
Basamid(20ppm)	90	36
Basamid(50ppm)	100	92
Basamid(100ppm)	100	100
CaCN ₂ , granule(5,000ppm)	70	0
CaCN ₂ , granule(10,000ppm)	100	44
CaCN ₂ , powder(5,000ppm)	90	0
CaCN ₂ , powder(10,000ppm)	100	80
Control	70	0

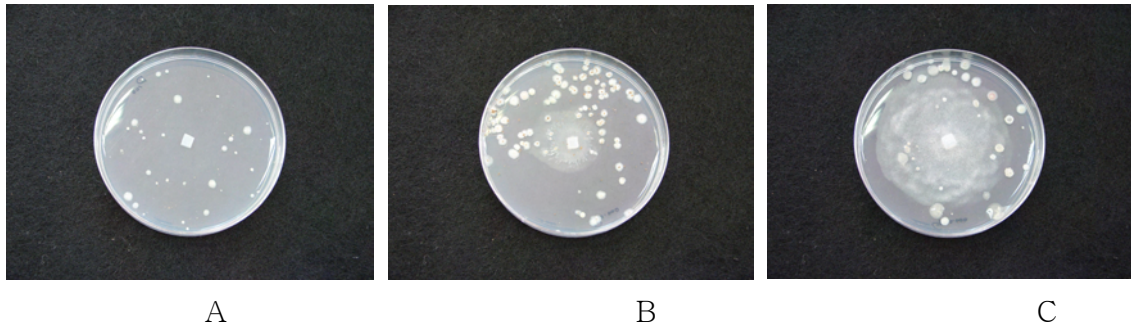


그림 2. 토양훈증제 제형별 *Pythium sp.*의 살균효과(A : 밧사미드 100ppm, B : CaCN₂ powder 10,000ppm, CaCN₂ granule 10,000ppm)

(3) 병원균별 훈증제 효과 검정

표1-3에서 보는바와 같이 라이족토니아와 피지움 등 병원균별로 훈증제의 멸균효과를 알 수 있다.

(4) 훈증제 시용량이 토양미생물 밀도에 미치는 영향

표4에서와 같이 밧사미드는 곰팡이에 대한 멸균효과가 가장 크고 세균에는 큰 영향이 없고 방선균에도 멸균효과가 없다. 석회질소는 곰팡이 멸균력이 가장 크고 방선균력이 다음이고 세균살균력은 가장 약하다. 석회질소 제형에서는 병원균 멸균과 달리 토양균 살균에는 분제보다 입제가 효과가 크다.

Table 4. Effect of soil fumigation on the population of soil microorganism

	Total bacteria	Total Actinomycetes	Total fungi
Basamid(10ppm)	8.65 × 10 ⁵	3.7 × 10 ⁵	5.1 × 10 ⁴
Basamid(20ppm)	9.60 × 10 ⁵	3.45 × 10 ⁵	5.2 × 10 ⁴
Basamid(50ppm)	8.40 × 10 ⁵	1.75 × 10 ⁵	1.4 × 10 ³
Basamid(100ppm)	7.55 × 10 ⁵	2.95 × 10 ⁵	5 × 10 ¹
CaCN ₂ , granule(5,000ppm)	4.75 × 10 ⁵	0	0
CaCN ₂ , granule(10,000ppm)	2.1 × 10 ⁴	0	0
CaCN ₂ , powder(5,000ppm)	6.0 × 10 ⁵	3.5 × 10 ⁴	5 × 10 ¹ >
CaCN ₂ , powder(10,000ppm)	2.6 × 10 ³	0	0
Control	7.7 × 10 ⁵	1.9 × 10 ⁵	4.45 × 10 ⁴

2. 연작시 친환경 훈증방법개발

가. 석회질소 시용 수준별 인삼 유묘 생산 조사

석회질소 현행 추천량(60kg/10a, 138ppm)을 중심으로 40kg과 80kg의 수준으로 토양을 소독하고 인삼종자를 파종하여 파종 후 15일과 33일에 유묘생산상태를 조사결과 표5와 같다. 전엽주수, 미전엽주수, 갈고리 상태주수에서 처리 간 뚜렷한 차이가 없다. 재작지라 하더라도

인삼유묘에서 병을 즉각 일으키는 것이 아니기 때문이며 인삼유묘바이오어세이로는 토양의 이 병성을 알 수가 없다. 그러므로 석회질소의 토양병원균 멸균효과도 인삼유묘검정으로는 알 수가 없다.

Table 5. Seedling growth performance of *Panax ginseng* replanted after fumigation with

calcium cyanamide (% / seed sown)

	CaCN ₂ (ppm)	Caly loam				Sandy loam			
		0	92	138	184	0	92	138	184
DAS15	Unfolded	37	17	23	20	83	70	53	70
	Folded	40	33	53	60	07	07	13	13
	Hooked	17	40	10	10	03	0	20	13
	Total	94	80	86	90	93	77	88	96
DAS33	Healthy	83	80	90	87	90	90	80	90
	Diseased	3	7	3	0	0	0	7	3
	Total	86	87	93	87	90	90	87	93

DAS: days after sowing

나. 석회질소시용수분별 인삼유묘생장량

석회질소 시용 수준별 유묘생장량은 사양토에서는 고수준에서 양이 적고(표6) 식양토에서는 그 반대 현상을 보였다(표7). 처리간 생장량은 처리간 유의성있는 차이이다. 토양무기태질소 함량과도 크게 관련되지 않는 것 같다.

Table 6. Effect of calcium cyanamide on seedling growth of *Panax ginseng* in sandy loam soil (gr./Fw/pot)

Rep. (ppm)	1	2	3	mean	DMRT
0	1.8	1.70	1.41	1.637	a
92	1.47	1.80	1.69	1.653	a
138	1.42	1.40	1.44	1.420	b
184	1.39	1.39	1.37	1.383	b
LSD(0.1)	0.201				

Table 7. Effect of calcium cyanamide on seedling growth of *Panax ginseng* in clay loam soil (gr./Fw/pot)

Rep. (ppm)	1	2	3	mean	DMRT
0	0.95	1.11	0.83	0.96	b
92	0.67	0.93	0.92	0.84	a
138	1.19	1.23	1.27	1.23	c
184	1.04	1.19	3.48	1.16	c
LSD(0.05)				0.220	

다. 석회질소 시용수분별 토양화학성 변화

석회질소는 친환경농약이면서 질소와 칼슘의 비료이다. 질소는 호밀과 수단그라스 등 청초 재배에 필요하며 칼슘은 인삼에 필요하고 토양을 떼알로 만드는데 기여한다. 석회질소 시용 후 4개월 후에 시용수준이 높아지면 사양토와 식양토 공히 토양칼슘이 증가하는 경향을 보이고 토양pH가 올라가는 경향을 보였다(표8). 석회질소는 pH가 낮은 토양에 유리할 것이다.

Table 8. Effect of CaCN₂ levels on chemical properties of soil

CaCN ₂ (ppm)	pH (1:5)	EC (ds/m)	OM (g/kg)	Av. P (mg/kg)	K (-----cmole/kg-----)	Ca	Mg
Clay loam							
0	4.8	1.54	7	267	0.48	2	0.9
92	5.6	1.67	7	248	0.55	2.2	1
138	4.8	1.48	6	230	0.55	2.5	1
184	4.8	1.58	6	236	0.54	2.5	1
Sandy loam							
0	4.8	1.55	16	1207	0.35	2.9	0.9
92	5	1.19	14	1184	0.37	3.1	0.9
138	5.1	0.96	13	1256	0.34	2.8	0.8
184	5.1	1.28	16	1259	0.34	3.2	0.8

2 months after mix in pot experiment

라. 연작지 예정지 포장처리

안성시 죽산면 매산리 연작지에 밧사미드와 석회질소로 훈증처리 후 수단그라스 재배.

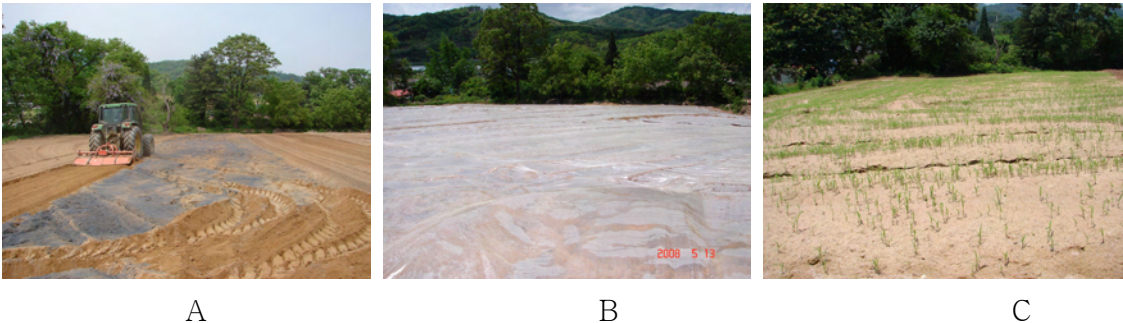


그림 3. 연작지 예정지의 토양훈증처리(A : 토양훈증제 살포 후 혼합, B : 토양혼합 후 비닐피복, C : 피복제거 후 수단그라스 파종재배)

3. 토양무기태 질소의 동태조사

석회질소처리 4개월 후 석회질소 시용수준별 토양 중 암모니움태와 질산태의 함량을 조사하였다(표9). 사양토와 식양토 공히 암모니움태 보다 질산태질소가 많아 식양토는 3-4배 사양토에서는 7-9배이다. 석회질소시용 수준에 따라 암모니움태가 증가하나 질산태는 대조구보다 감소하다가 최고수준인 184ppm 구에서 증가한다. 그러나 무시용구의 함량에 미달이며 사양토에서 더욱 미달한다. 석회질소를 처리하고 비닐 피복한 처리구는 토양의 암모니아태나 질산태가 모두 증가하였다. 이는 가스로 휘산 될 시안아마이드가 휘산이 안되고 토양에 흡착된 후 암모니움태와 질산태로 변화하는 것으로 볼 수 있다. 포장에서 석회질소처리 시 비닐피복은 반드시 해야만 가스 휘산을 막아 살균효과도 높고 토양질소 함량은 높여 청초 생산에 도움을 주게 될 것이다. 총무기태함량은 최고 시용량구에서만 사양토에서는 무시용구의 수준으로 거의 도달하였으며 식양토에서는 암모니움태의 증가로 총량이 증가하였다(표10).

Table 9. Effect of CaCN_2 application level on mineral nitrogen content in soil(mgN/kg)

CaCN ₂ (ppm)	NH ₄ -N				(NO ₃ + NO ₂)-N			
	0	92	138	184	0	92	138	184
Clay loam	39.0	50.0	51.0	61.0	147.6	124.4	115.6	145.7
Clay loam+ V	39.3	54.5	60.5	74.5	168.0	132.8	116.1	146.7
Sandy loam	16.7	23.5	28.6	35.4	128.9	92.2	63.3	106.7
Sandy loam+ V	16.2	27.5	34.0	47.2	148.5	90.6	83.9	116.1

V: Closed soils with vinyl envelope

Table 10. Effect of CaCN₂ application level on total mineral nitrogen content in soils(mgN/kg)

CaCN ₂ (ppm)	0	92	138	184
Clay loam	187	174	167	207
Clay loam+ V	207	187	177	221
Sandy loam	146	116	92	142
Sandy loam+ V	165	118	118	163

V: Closed soil after application with vinyl envelope

4. 청초생산량에 미치는 석회질소의 효과

식양토에서 수단그라스 생산량은 무시용구에서 가장 적었으며(p=0.05)(표11) 토양 중 암모니움 함량과 같은 경향(r=0.772)을 보였다. 사양토에서는 토양 중 질산태질소 함량과 같은 경향(r=0.881)을 보였다. 사양토에서는 암모니아태보다도 질산태가 월등히 높기 때문으로 보인다. 시험에 공시한 두 연작지 토양은 모두 토양질소가 많기 때문에 석회질소에 포함된 질소 함량으로 토양 질소함량이 문제가 될 정도로 증가하지 않는다. 사양토에서는 오히려 감소하므로 질소효과는 기대할 수 없다. 연작지들은 청초재배에 의하여 토양 중 무기태질소를 고정시키는 효과를 고려할 필요가 있다.

Table 11. Effect of CaCN₂ level on the growth of Sudan grass in clay loam (gr.Fw/pot)

CaCN ₂ (ppm)	1	2	3	mean	DMRT
0	6.5	8.2	7.8	7.5	a
92	9.7	10.2	11.2	10.4	b
138	8.3	8.3	11.2	9.3	ab
184	10.8	8.2	10.6	9.9	ab
LSD(0.05)				2.5	

Table 12. Effect of CaCN₂ level on the growth of Sudan grass in sandy loam (gr.Fw/pot)

CaCN ₂ (ppm)	1	2	3	mean	DMRT
0	9.8	9.3	9.7	9.6	a
92	7.8	11.3	6.9	8.7	ab
138	7.8	7.1	7.2	7.4	bc
184	6.4	8.6	12.0	9.0	ab
LSD(0.1)				1.90	

5. 양지에서 무농약 청정묘삼 생산방법 확립

가. 유기질 재료별 효과

안성시 미양면 보체리 신개간지인, 화강암 풍화토 포장에 묘포용 퇴비를 칸당 40kg(2포대)씩 넣고 양직 묘포를 만들었다. 개갑씨를 미생물 보호제로 침지하여 파종하였다. 내몽고산 광물성 니탄과, 초탄(sedge peat) 그리고 네덜란드제 산도가 조정된 peat를 넣었다. 성묘율을 보면 네덜란드제가 가장 낮았으며 무처리보다 크게 개선된 처리구가 없다(표13).

Table 13. Effect of organic materials on seedling performance (plates)

	1	2	3	4	Mean	DMRT	CV
Control	87	58	135	100	95	a	33.6
Peat soil(China)	99	78	104	102	96	a	12.5
Sedge peat	106	95	72	92	91	a	15.6
Peat(Netherlands)	78	90	85	47	75	b	25.7

나. 입고병방제

묘포에서는 초기입고병의 방제가 가장 중요하다. 현행 미생물제의 병원균 라이족토니아에 대한 예방력을 검사한 결과 리조렉스가 92%인데 반하여 가장 좋게 나타난 천사미 ISR2가 65%였으며 리조렉스와 유의차를 보였다(표14).

Table 14. Protection effect of various microbial products against *Rhizoctonia solani* infection on *Panax ginseng* seedling

Rep.	1	2	3	4	5	mean	DMRT (0.05)	CV
Rhizolex	80	90	100	100	90	92	a	8.13
Cheon-ISR2	90	75	56	33	70	64.8	b	29.7
Bi	40	50	50	44	50	46.8	bc	8.8
Cheon 2	30	40	33	64	64	46.2	bc	32.2
Ex	27	25	63	50	33	39.6	cd	36.9
Cheon-ISR1	45	73	50	25	0	38.0	cd	62.6
Control	27	0	27	63	38	31.2	cd	64.2
To	27	27	1	13	40	21.6	d	62.0
LSD(0.05)						23.04		

Cheon: Cheonsami

또한 화학농약에 비하여 미생물 보호제의 CV가 크게 나타났다. 평균보호율의 변이는 환경 요인의 변화가 환경과 병원균의 상호작용에서 것으로 보인다. 평균보호율과 CV간에는 $m=75.2708-0.7263CV$ 의 상관관계있고 $r=-0.7642$ 로 $p=0.05$ 에서 유의성을 갖는다. 미생물보호제를 성공적으로 사용하려면 농약보다 더 세심한 주의가 필요함을 의미한다.

Table 15. Protection effect of various microbial products against *Rhizoctonia solani* infection on *Panax ginseng* seedling (% protection)

Rep.	1	2	3	4	5	mean	CV
Balimoon	100	100	100	100	75	95.0	10.5
Cheon-ISR2	83	100	100	100	75	91.6	11.6
Gi	67	80	100	60	100	81.4	20.3
Bi	17	100	75	80	86	71.6	39.9
Control	71	50	0	100	71	58.6	56.1

Cheon: Cheonsami

농약바리문을 대조로하여 조사한 경우 제제간 유의성이 있는 차이를 보이지 않았으나 바리문이 95%의 보호율을 보였고 천사미 ISR2가 92%를 보였다(표15). 이 경우에도 평균 보호율과 CV간에는 $r=-0.9877$ 로 유의성($p=0.01$)이 높았다. 입고병의 병원균이 피지움에 대하여는 리도밀을 대조로하여 검토한 결과 리도밀이 94%의 보호율에 비하여 천사미 ISR2는 77%로 적었으나 유의성은 없었다.(표16). 이 경우에도 보호율과 CV간에는 $r=-0.8510$ 의 부상관을 갖고 유의성($p=0.1$)을 보였다.

Table 16. Protection effect of various microbial products against *Pythium sp.*

infection on *Panax ginseng* seedling (% protection)

Rep.	1	2	3	4	5	mean	CV
Ridomil	100	90	100	90	90	94.0	5.2
Cheon-ISR2	100	75	100	22	90	77.4	37.7
Cheon-ISR1	83	90	50	30	55	63.3	38.5
Ex	45	80	44	63	63.3	62.8	26.0
Control	9	9	91	73	62.8	34.9	68.4

Cheon: Cheonsami



A



B

그림 4. 양직에서 미생물을 이용한 무농약 청정묘삼 재배(A : 천사미ISR처리 무농약묘삼 시험포, B : 농가관행 화학농약 처리구 모잘록병 발병포)

6. 양직묘포의 무농약묘삼 생산증대를 위한 유기질재료 선발

안성시 미양면 보체리 신개간지인 화강암 풍화토 포장에 내몽고산 광물성 니탄, 초탄(sedge peat) 그리고 네덜란드산 산도(pH 5.5~6.0)가 조정된 peat를 넣었다. 칸당 초탄과 피트 20kg, 니탄 20리터를 처리하였다. 3월 파종 후 이듬해 4월 처리별 묘삼생육상태를 조사하였다. 조사결과 peat와 초탄이 관행에 비하여 유의성있게 묘삼의 밀도를 증가시켜(표 17, 그림 5) 관행보다 69%의 증수를 나타냈다(그림 6). 니탄은 통계적 유의성은 없었으나 관행에 못 미쳤다.

표 17. 양직묘포에서 유기질재료의 묘삼밀도 증대효과

	1	2	3	4	mean	DMRT
관행	312	324	396	522	388	bc
peat	612	738	744	525	656	a
초탄	564	660	492	642	590	ab
니탄	246	432	372	252	326	c
LSD(0.01)	77.48					

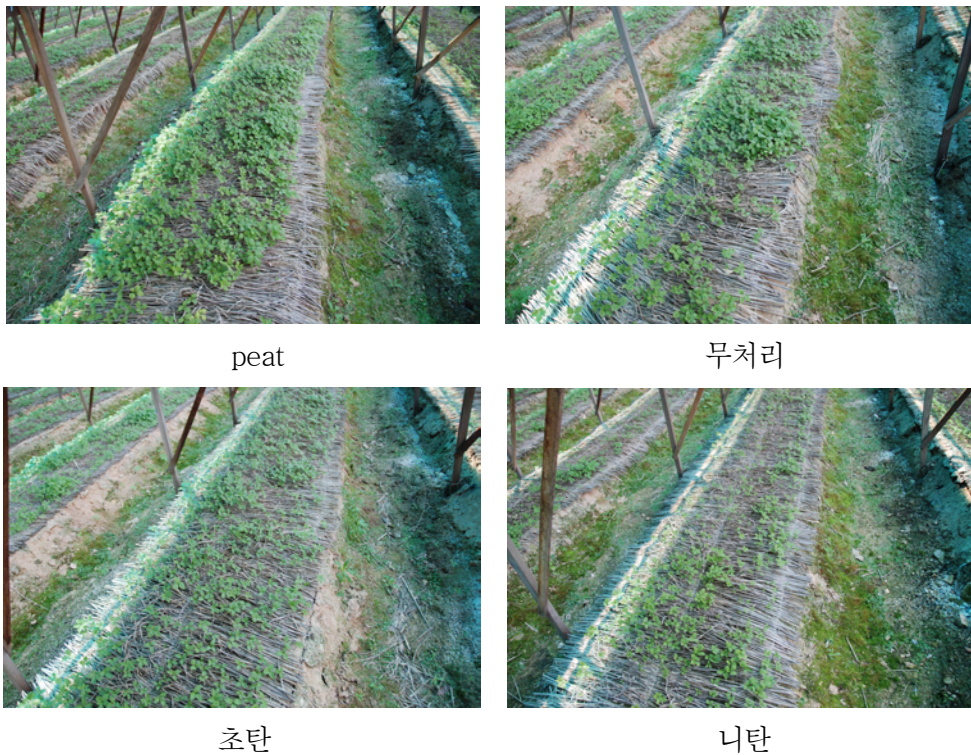


그림 5. 유기질재료별 묘삼밀도 증가

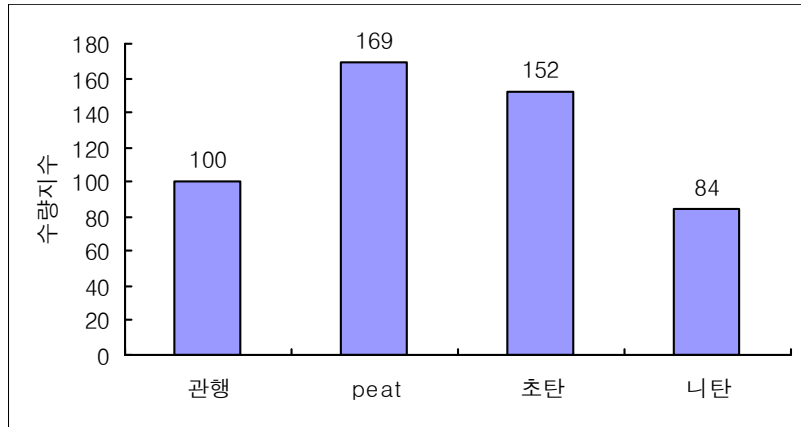


그림 6. 유기질재료에 따른 묘삼증수(%) 효과

7. 재작지의 토양훈증처리에 따른 모잘록병 억제효과

토양훈증제인 Dazomet와 석회질소를 사용하여 4년근 인삼 채굴포장의 훈증을 실시하였다. Dazomet와 석회질소를 3.3m²당 각각 100g, 500g을 토양과 혼합하고 수분과의 효과적인 반응을 유도하기 위해 3.3m²당 10리터의 물을 뿌려준 다음 비닐피복을 하였다. 처리 10일 후 피복을 벗기고 잔류가스가 제거 되도록 기경을 3회 이상 실시하였다.

가을 파종을 실시하여 훈증처리별 출아 시 묘포에 발생하는 모잘록병의 발병상태를 조사하였다.

모잘록병의 피해는 발병이 시작되는 지점의 수(발병빈도)와 병발생지점별 진전속도(발병강도)에 의하여 결정되는 양상이었으며 다음과 같은 식으로 정의된다. 모잘록병 피해 면적(cm²/칸)=발병빈도(병반수/칸)×발병강도(cm²/병반)

묘포의 모잘록병 피해는 발병빈도가 발병강도보다 더 큰 요인으로 작용하고 있으며 석회질소의 사용은 무처리보다 발병빈도를 줄여서 피해면적을 줄이는 경향은 있으나 유의성은 없었다(표 20).

Dazomet는 발병강도(표 18)와 발병피해면적(표 19) 특히 발병빈도(표 20)에서 억제효과가 탁월한 것으로 나타났다(그림 7).

표 18. 토양훈증에 의한 재작지 묘포의 모잘록병 발병강도(cm²/병반)저하효과

	1	2	3	mean	DMRT
Control	1108	1107	872	1029	a
CaCN ₂	1355	1366	371	1031	a
Dazomet	0.0	0.0	313	104	b
LSD(0.1)	657				

표 19. 토양훈증에 의한 재작지 묘포의 모잘록병 피해면적(cm²/칸) 감소효과

	1	2	3	mean	DMRT
Control	1606	1107	633	115	a
CaCN ₂	1450	1011	208	890	a
Dazomet	0.0	0.0	15	15	b
LSD(0.05)				764	

표 20. 토양훈증에 의한 재작지 묘포의 모잘록병 발병빈도 억제효과(병반수/칸)

	1	2	3	mean	DMRT
Control	1.45	1.00	0.73	1.06	a
CaCN ₂	1.04	0.74	0.56	0.78	a
Dazomet	0.0	0.0	0.048	0.016	b
LSD(0.05)				0.742	



Dazomet

석회질소

무처리

그림 7. 토양훈증처리에 의한 모잘록병 발병 감소 효과

8. 예정지에서의 발병억제미생물의 증식방법 연구

예정지관리 시 발병억제미생물의 효과적인 증식을 위해 수단그라스를 재배 후 갈아엎은 후 ISR미생물을 처리하였다. 1회처리 시 4×10^4 cfu/ml 균밀도의 미생물을 3.3m²당 1리터 뿌려주었으며 총 3회 실시하고 처리토양의 미생물상의 변화를 조사하였다. 훈증처리별 처리미생물의 밀도는 Dazomet처리가 초기에 약간 높았으며 처리 횟수에 따라 미생물밀도의 증가하지 않는 경향이였다. 처리시기별로는 9월중순까지 미생물이 증가하는 경향을 보이다가 10월 이후 밀도가 감소하는 경향이였음(그림 8). 예정지관리 시 미생물의 유효처리시기는 수단그라스를 베어 예정지에 매몰하는 8월 중순에서 9월초가 적합한 것으로 나타났다. 처리토양별 총방선균, 총진균 조사의 결과, ISR미생물의 처리에 의한 미생물상에 영향을 받지 않는 경향이였다(그림 9, 10).

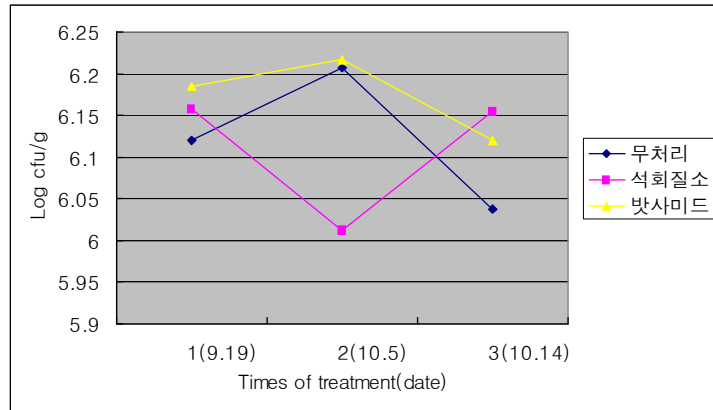


그림 8. 토양훈증처리별 ISR미생물처리 토양의 총세균밀도 조사

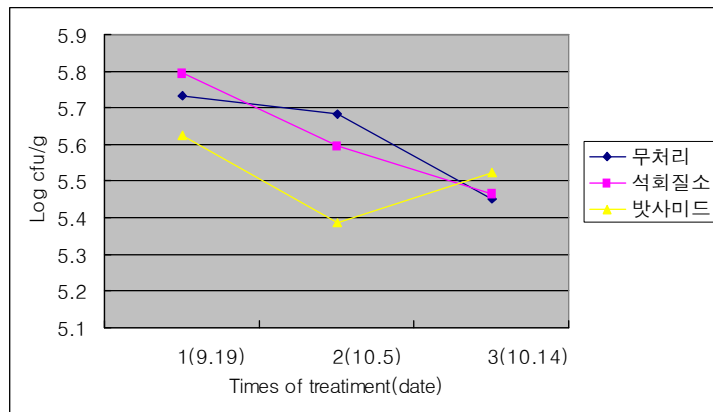


그림 9. 토양훈증처리별 ISR미생물처리 토양의 총방선균밀도 조사

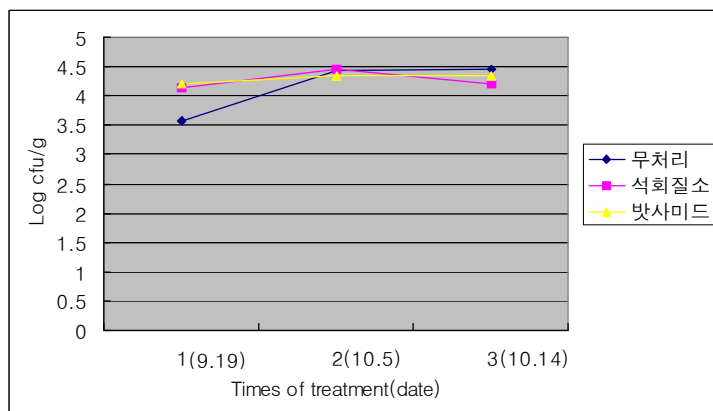


그림 10. 토양훈증처리별 ISR미생물처리 토양의 총진균밀도 조사

3핵심 1세부

제 1 절. 도파민 수용체 (D1 및 D2) 발현세포주 제작

1. D1 및 D2 유전자 발현 벡터 제작

가. PCR에 의한 도파민 수용체(D1, D2)의 유전자 확보

(1) D1 수용체 유전자 확보

- Genestorm로부터 구입한 DNA를 주형으로 5D1, 3D1 primer와 *pfu* Polymerase를 이용하여 PCR을 수행한 결과 1341 bp의 PCR product를 확보하였음.

5D1NheI (*Nhe* I-Kozac): CTAgCTAgCCACCATgAggACTCTgAACAC

3D1XhoI (*Xho* I): CCgCTCgAgTCAggTTgggTgCTgACC

(2) D2 수용체 유전자 확보

- Crystal Genomics로부터 받은DNA를 주형으로 5D2, 3D2 primer와 *Taq* Polymerase를 이용하여 PCR을 수행한 결과 1332 bp의 PCR product를 확보하였음.

5D2 (*Nhe I*-Kozac): 5'-gCTAgCgCCACCATggATCCACTgAATCTgTC-3'

3D2 (*Xho I*): 5'-CTCgAgTCAgCAgTggAggATCTTCAg-3'

나. 자체 개발한 동물세포 발현 벡터 (pSI1)에 D1, D2 유전자 클로닝

- D1 수용체는 확보된 PCR product를 *Nhe I* 과 *Xho I* 제한 효소로 처리 하여 분리하고, 같은 제한효소로 선형화된 pSI-1 벡터와 ligation 반응시켜 pSI1-D1R을 제작하였음. 발현벡터에 삽입된 유전자의 염기서열을 분석한 결과 GeneBank Accession No. X58987 과 525 bp 위치의 염기서 열 하나만 다르고 아미노산 서열은 완전히 일치함을 확인하였음 (그림1)
- D2 수용체는 확보된 PCR product를 T-easy 벡터에 클로닝하여 염기서 열을 분석한 결과 GeneBank Accession No. M29066과 729 bp 위치의 염기서열 하나만 다르고 아미노산 서열은 완전히 일치함을 확인하였음 (그림 2).
- 벡터로부터 *Nhe I*과 *Xho I* 제한 효소를 처리하여 D2 수용체 유전자를 확보하고, 같은 제한효소로 선형화된 pSI-1 벡터와 ligation 반응 시켜 pSI-1-D2R을 제작하였음.

2. D1 및 D2 발현 벡터의 형질전환 및 발현 CHO 세포주의 개발

가. CHO 세포에 사람의 도파민 수용체 유전자의 형질전환

- 제작된 수용체 발현벡터는 형질도입을 위해 *Sca I* 제한 효소로 선형화 한 후 정제하였음.
- CHO DG44 숙주 세포는 세포주 은행으로부터 꺼내어 3계대 배양이상 수행하였음.
- pSI-1-D1, D2 발현벡터를 liposome 방식에 의해 CHO DG44 세포에 형질 전환하였음.
- 100 mm dish에서 0 nM 수용체 발현 단일 세포주 분리하였음.
- 2 ~ 3 일 간격으로 배지 교환하면서 0 nM 적응 세포 선별하였음.

나. 형질전환된 CHO 세포로부터 사람의 도파민 수용체 발현 세포주 선별

- 초기 적응된 세포주는 Methotrexate (MTX)농도를 10 → 100 → 1000 nM로 단계적으로 증가 시키면서 도파민 수용체 유전자 증폭을 유도하였음.
- 초기 적응된 세포주로부터 수용체 발현 세포주 만을 선별하기 위해서 RT-PCR을 수행하

- 여 D1-1, 4, 5, 6, 7 단일 세포주를 선택하여 10 nM MTX에 적응시켰음 (그림 3).
- D2 수용체 발현 세포주는 10 nM 적응 후 D2-3, 5, 6, 10, 22 단일 세포주를 선택하여 이후 100 nM MTX에 적응 시켰음 (그림 4).
 - 선별된 세포주들은 1 μ M MTX까지 적응 시켰고, 막 단백질을 이용한 Western blot 을 수행하여 MTX 농도에 따른 발현량 증가 분석 및 발현 효율이 높은 세포주를 선별하고자 하였음.
 - Western blot을 수행한 결과 D1 수용체는 Western blot으로는 수용체 단백질을 관찰할 수 없었으나 RT-PCR을 수행하여 수용체 단백질 발현 을 확인하였음.
 - D2 수용체 발현 세포주는 Western blot을 수행하여 단백질 발현을 확인할 수 있었으며 MTX 농도에 따라 수용체 단백질 발현이 증가됨을 알 수 있었음 (그림 5).

(A)

```
atgaggactc tgaacacctc tgccatggac gggactgggc tgggtgggga gagggacttc 60
tctgttcgta tctcactgctc ctgtttctcg tcgctgctca tctgtccac gctcctgggg 120
aacacgctgg tctgtgctgc cgttatcagg ttccgacacc tgcggtccaa ggtgaccaac 180
ttctttgca tctccttgge tgtgtcagat ctcttgggtg cgcctcctgg catgccctgg 240
aaggcagtgg ctgagattgc tggcttctgg cctttgggt ccttctgtaa catctgggtg 300
gcctttgaca tcatgtgctc cactgcatcc atccacaacc tctgtgtgat cagcgtggac 360
aggfattggg ctatctccag cctttccgg tatgagagaa agatgacccc caaggcagcc 420
ttcatctga tcaagtgggc atggacctg tctgtactca tctccttcat cccagtgcag 480
ctcagctggc acaaggcaaa acccaacaagc cctctgatg gaaacgccac ttcctggct 540
gagaccatag acaactgtga ctccagcctc agcaggacat atgcatctc atcctctgta 600
ataagctttt acatccctgt ggccatcatg attgtacct acaccaggat ctacaggatt 660
gctcagaaac aaatacggcg cattgcggcc ttggagaggg cagcagtcca cgccaagaat 720
tgcagacca ccacaggtaa tggaaagcct gtcgaatgt ctcaaccgga aagttctttt 780
aagatgtctc tcaaaagaga aactaaagtc ctgaagactc tgtcgggtgat catgggtgtg 840
tttgtgtct gttggctacc tttctcact ttgaactgca tttgccctt ctgtgggtct 900
ggggagacgc agcccttctg cattgattcc aacacctttg acgtgtttgt gtggtttggg 960
tgggctaatt cactctgaa cccatcatt tatgccttta atgctgatt tcggaaggca 1020
ttttcaacc tcttaggatg ctacagactt tgccttcgca cgaataatgc catagagacg 1080
gtgagatca ataacaatgg ggccgcgatg tttccagcc atcatgagcc acgaggctcc 1140
atctccaagg agtgaatct ggtttacctg atcccacatg ctgtgggctc ctctgaggac 1200
ctgaaaaagg aggaggcagc tggcatgcc agaccctgg agaagctgtc cccagccta 1260
tcggatcat tggactatga cactgacgct tctctggaga agatccaacc catcacaaa 1320
aacggtcagc acccaacctg a 1341
```

(B)

```
MRTLNTSAMD GTGLVVERDF SVRILTACFL SLLILSTLLG NTLVCAAVIR FRHLRSKVTN
60
FFVISLAVSD LLVAVLVMPW KAVAEIAGFW PFGSFCNIWV AFDIMCSTAS IHNLCVISVD
120
RYWAISSPFR YERKMTPKAA FILISVAWTL SVLISFIPVQ LSWHKAKPTS PSDGNATSLA
180
ETIDNCDSSL SRTYAISSSV ISFYIPVAIM IVTYTRIYRI AQKQIRRIAA LERAAVHAKN 240
CQTTTNGNGKP VECSQPSSF KMSFKRETKV LKTLVIMGV FVCCWLPFFI LNCILPFCGS
300
GETQPFIDS NTFDVFVWFG WANSSLNPII YAFNADFRKA FSTLLGCYRL CPATNNAIET
360
VSINNGAAM FSSHHEPRGS ISKECNLVYL IPHAVGSSSED LKKEEAAGIA RPLEKLSPAL
420
SVILDYD TDV SLEKIQPITQ NGQHPT 446
```

그림 1. 발현벡터에 도입된 D1 수용체의 염기 및 아미노산 서열.

(A)

```
atggatccac tgaatctgct ctggtatgat gatgatctgg agaggcagaa ctggagccgg 60
cccttcaacg ggtcagacgg gaaggcggac agaccccact acaactacta tgccacactg 120
ctcaccctgc tcatcgctgt catcgtcttc ggcaactgctc tgggtgtgcat ggctgtgtcc 180
cgcgagaagg cgctgcagac caccaccaac tacctgatcg tcagcctcgc agtggccgac 240
ctcctcgtcg ccactggt catgcctgg gttgtctacc tggaggtggt aggtgagtgg 300
aaattcagca ggattcactg tgacatcttc gtcactctgg acgtcatgat gtgcacggcg 360
agcactctga acttgtgtgc catcagcctc gacaggtaca cagctgtggc catgccccatg 420
ctgtacaata cgcgctacag ctcaagcgc cgggtcaccg tcatgatctc catcgtctgg 480
gtcctgtctc tcaccatctc ctgccactc ctcttcggac tcaataacgc agaccagaac 540
gagtgcata ttgccaacc ggcttctgtg gtcactctct ccatcgtctc ctctcactg 600
ccttcatgtg tcacctgct ggtctacatc aagatctaca ttgtctcctc cagacgccgc 660
aagcgagtca acacaaacg cagcagccga gctttcaggg cccactgag ggctccaacta 720
aagggaatt gtactcacc cgaggacatg aaactctgca cgttatcat gaagtetaat 780
gggagtttc cagtgaacag gcggagagtg gaggtgcc gccgagccca ggagctggag 840
atggagatgc tctccagcag cagcccacc gagaggacc ggtacagccc catcccacc 900
agccaccacc agctgactct cccgaccgc tcccacatg gctccacag cactcccagc 960
agccccgcca aaccagagaa gaatgggcat gccaaagacc acccaagat tgccaagatc 1020
tttgagatcc agaccatgcc caatggcaaa acccggacct cctcaagac catgagccgt 1080
aggaagctct cccagcagaa ggagaagaaa gccactcaga tgcctgccat tgtctcggc 1140
```

gtgttcatca tctgctggct gcccttcttc atcacacaca tctgaacat aactgtgac 1200
 tgcaacatcc cgcctgtect gtacagcgcc ttacgtggc tgggctatgt caacagcgcc 1260
 gtgaaccca tcactacac caccttaac attgagttcc gcaaggcctt cctgaagatc 1320
 ctccactgct ga 1332

(B)

MDPLNLSWYD DDLERQNWSR PFNGSDGKAD RPHYNYATL LTLIAVIVF
 GNVLCMAVS 60
 REKALQTTTN YLIVSLAVAD LLVATLVMPW VVYLEVVG EW KFSRIHCDIF
 VTLDVMMCTA 120
 SILNLCAISI DRYTAVAMPM LYNTRYSSKR RVTVMISIVW VLSFTISCPL LFGLNNADQN
 180
 ECIANPAFV VYSSIVSFYV PFIVTLLVYI KIYIVLRRRR KRVNTRKSSR AFRAHLRAPL
 240
 KGNCTHPEDM KLCTVIMKSN GSFPVNR RR V EAARRAQELE MEMLSSTSPP ERTRYSPIPP
 300
 SHHQLTLPDP SHHGLHSTPD SPAKPEKNGH AKDHPKIAKI FEIQTMPNGK TRTSLKTMSR
 360
 RKLSQQKEKK ATQMLAIVLG VFIICWLPFF ITHILNIHCD CNIPPVLYSA FTWLG YVNSA
 420
 VNPIIYTTFN IEFRKAFLKI LHC 443

그림 2. 발현벡터에 도입된 D2 수용체의 염기 및 아미노산 서열 .

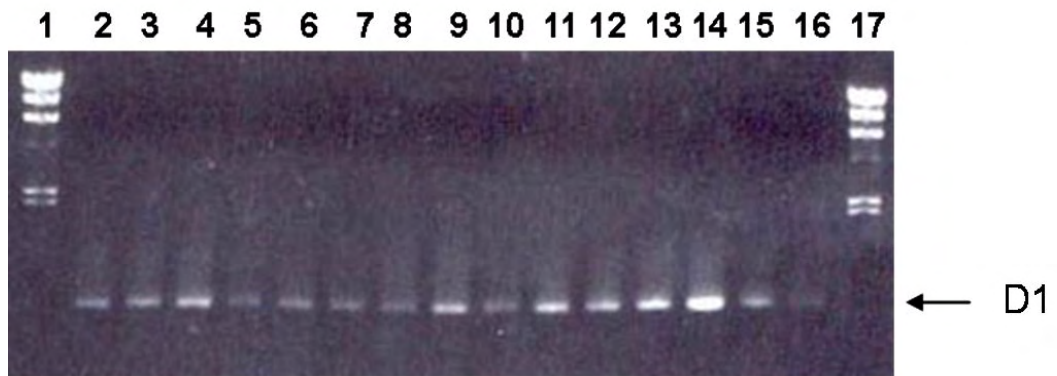


그림 3. D1 도파민 수용체 발현 세포주의 RT-PCR 결과 (0 nM). D1-1 (lane 2), D1-4 (lane 3), D1-5 (lane 4), D1-6 (lane 5), D1-7 (lane 6)을 선택.

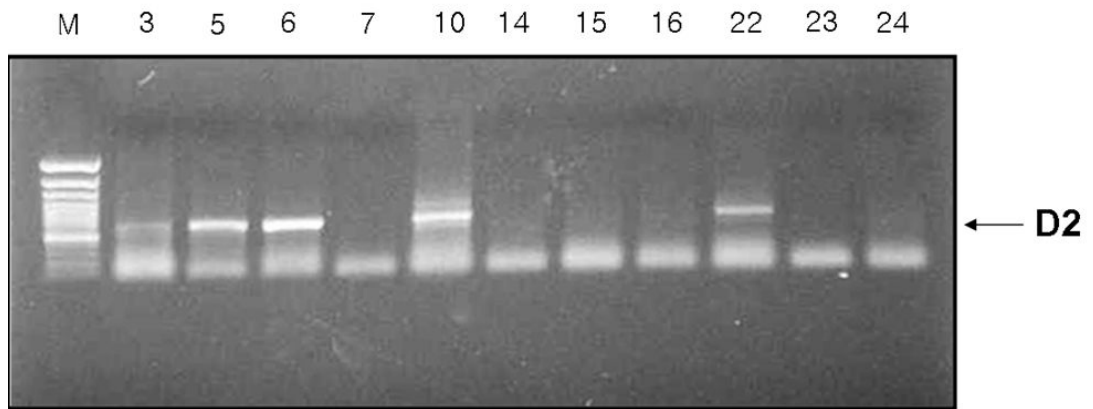


그림 4. D2 도파민 수용체 발현 세포주의 RT-PCR 결과. D2-3, 5, 6, 10, 22 세포주를 선택하여 100 nM MTX에 적응시킴.

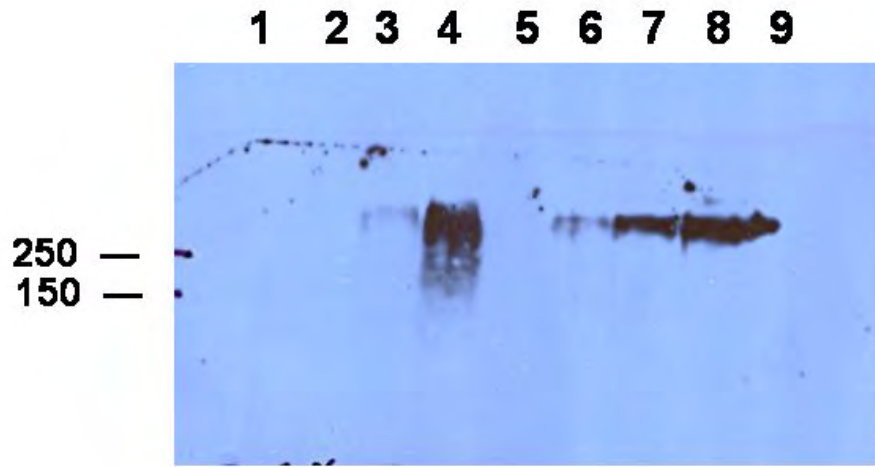


그림 5. D2 도파민 수용체 발현 세포주의 Western blot 결과. 1. pSI vector (100 nM), 2. D2-3 (0 nM), 3. D2-3 (10 nM), 4. D2-3 (100 nM), 5. D2-3 (1000 nM), 6. D2-5 (0 nM), 7. D2-5 (10 nM), 8. D2-5 (100 nM), 9. D2-5 (1000 nM).

제 2 절. 도파민 수용체 (D1 및 D2) 발현 세포주의 분석

1. 도파민 수용체 (D1 및 D2)의 발현량 분석

수용체 발현 세포주들이 각각의 수용체를 세포막에 잘 발현하고 있는지를 확인하기 위해서 Western Blotting을 수행하였다. 세포는 약 5×10^7 cells 씩 수확하여 막 단백질을 분리하였다. 분리된 막 단백질은 분리과정에서 detergent가 많이 들어있어 정량이 어려웠기 때문에 MTX의 농도 증가에 따른 수용체 단백질이 증가하는지를 관찰하기 위해서 분리하기 전에 세포 수를 일정하게 하였다. Western Blotting을 수행하였으나 soluble 단백질이 아니기 때문에 SDS-PAGE 수행과정에서 gel을 통과하지 못하고 well에 걸려 있거나 수용체 특이 항체를 이용하였음에도 Western blot 방법으로 정확한 크기의 수용체 단백질을 관찰할 수 없었다. 하지만 1차년도에 이미 RT-PCR을 통해 발현을 확인하였고, 아래와 같이 발현된 수용체가 리간드에 대한 결합과 기능성 분석이 완료되어 그 발현에 문제가 없음을 재차 확인할 수 있었음.

2. 세포막 분획을 이용한 수용체 결합 (receptor binding) 분석

Receptor binding assay에 사용할 세포막 분획을 얻기 위해서 세포를 75 cm² flask에서 대량 배양 하였다. 세포의 상태가 좋고 플라스크에 약 80-90%정도 자랐을 때 1 mM EDTA-PBS 용액을 이용하여 수확 하였다. 초원심분리하여 얻은 세포막 분획은 각각의 binding buffer에 녹인 후 하룻밤 동안 용출시켰다. Receptor binding assay에 필요한 단백질의 양은 각 수용체마다 선행된 연구결과 (Euroscreen)를 바탕으로 조금씩 다르게 사용하였고, non-specific binding에 사용한 리간드는 10 μM의 농도로 사용하였으나 수용체에 따라서 조절하였다. 모든 radioligand는 0.01 ~ 10 nM 까지 여러 농도를 이용하여 1차 binding assay를 수행하였고, binding 결과를 관찰한 후에 농도의 범위를 좁혀서 assay를 수행하였다. 각 수용체의 Binding assay 결과는 GraphPad Prism 3.03 program을 이용하여 분석하였다.

가. D1 도파민 수용체

D1 도파민 수용체는 total binding 값에 비해서 non-specific binding 값이 낮기 때문에 radioligand의 농도가 증가할수록 높은 specific binding 값을 얻었다. GraphPad Prism 3.03을 이용하여 [³H-SCH23390] 리간드에 대한 specific binding affinity와 수용체 단백질의 density를 분석한 결과 K_d는 1.47 ± 0.32 nM로 높은 affinity를 나타내었고, B_{max}는 1.44 ± 0.1 pmol/mg protein이었다 (그림 6A). 이런 결

과는 전형적인 binding assay 결과인 B_{max} 10~1000 fmol, K_d 10 pM~10 nM (B_{max} 의 경우 수용체 유전자가 형질전환 되었을 때는 몇 배 더 값이 커짐)의 범위 내에 포함된다.

나. D2 도파민 수용체

D2 도파민 수용체는 total binding 값에 비해서 non-specific binding 값이 낮기 때문에 radioligand의 농도가 증가할수록 높은 specific binding 값을 얻었다. GraphPad Prism 3.03을 이용하여 [3 H-Spiperone] 리간드에 대한 specific binding affinity와 수용체 단백질의 density를 분석한 결과 K_d 는 0.45 ± 0.13 nM로 높은 affinity를 나타내었고, B_{max} 는 1.4 ± 0.13 pmol/mg protein이었다 (그림 6B). 이런 결과는 전형적인 binding assay 결과인 B_{max} 10~1000 fmol, K_d 10 pM~10 nM (B_{max} 의 경우 수용체 유전자가 형질전환 되었을 때는 몇 배 더 값이 커짐)의 범위 내에 포함된다.

3. cAMP 농도 변화를 통한 도파민 수용체 (D1 및 D2) 기능성 확인

수용체를 통한 세포내로의 신호전달체계가 활성화되는지를 관찰하기 위하여 수용체 발현 CHO 세포주에 대표적인 리간드를 처리하여 생성되는 cAMP의 농도 변화를 관찰하였다.

가. 도파민 수용체 D1

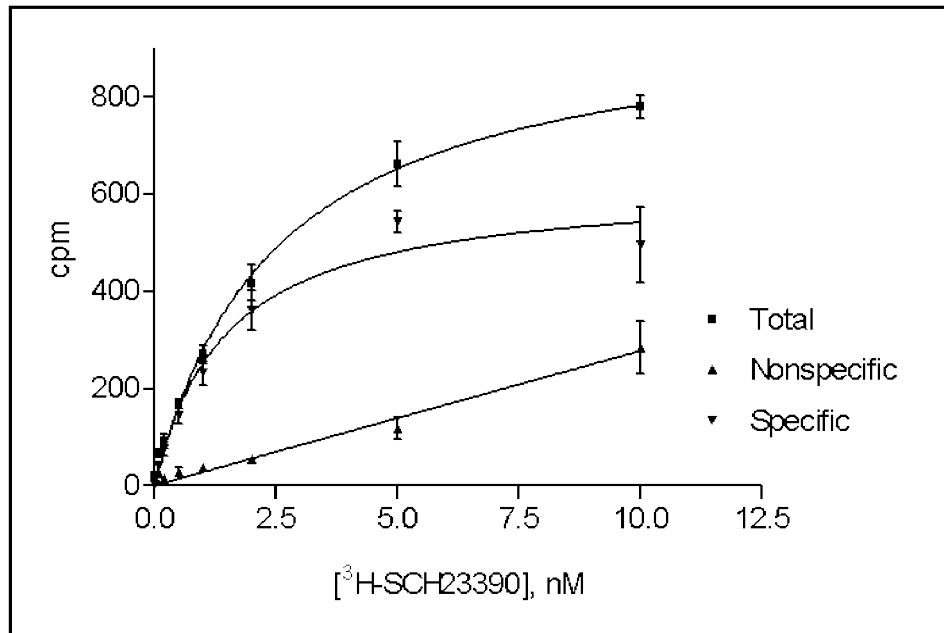
도파민 수용체 D1은 리간드를 처리하면 G_s pathway로 진행하면서 Adenylyl cyclase에 의한 cAMP의 생성을 촉진시킨다. 도파민 수용체 D1을 발현하는 세포주에 도파민을 10^{-6} ~ 10^{-15} 의 농도로 처리하였다. 모든 assay에는 cAMP standard를 함께 수행하여 실험에서 얻어진 OD 값은 standard curve를 이용하여 cAMP 농도로 계산하였고, 그래프와 EC_{50} 값은 GraphPad Prim 3.0 프로그램을 이용하여 분석하였다. 도파민의 농도가 증가할수록 생성되는 cAMP의 농도는 증가하였고, EC_{50} 은 11 nM이었다 (그림 7A).

나. 도파민 수용체 D2

도파민 수용체 (D_2)는 리간드를 처리하면 $G_{i/o}$ pathway로 진행하면서 Adenylyl cyclase에 의한 cAMP의 생성을 저해시킨다. 도파민 수용체 (D_2)를 발현하

는 세포주에 forskolin과 함께 도파민을 10^{-6} ~ 10^{-15} 의 농도로 처리하였다. 모든 assay에는 cAMP standard를 함께 수행하여 실험에서 얻어진 OD 값은 standard curve를 이용하여 cAMP 농도로 계산하였고, 그래프와 EC_{50} 값은 GraphPad Prim 3.0 프로그램을 이용하여 분석하였다. 도파민의 농도가 증가할수록 생성되는 cAMP의 농도는 감소하였고, EC_{50} 은 0.85 ± 0.025 nM이었다 (그림 7B). 도파민 수용체 (D_2) 발현 세포주는 수용체를 통한 신호전달 체계가 활성화 되었고 도파민에 대한 높은 친화력을 가졌으므로 세포기반 고속시스템에 도입이 유용함이 확립되었다.

A.



B.

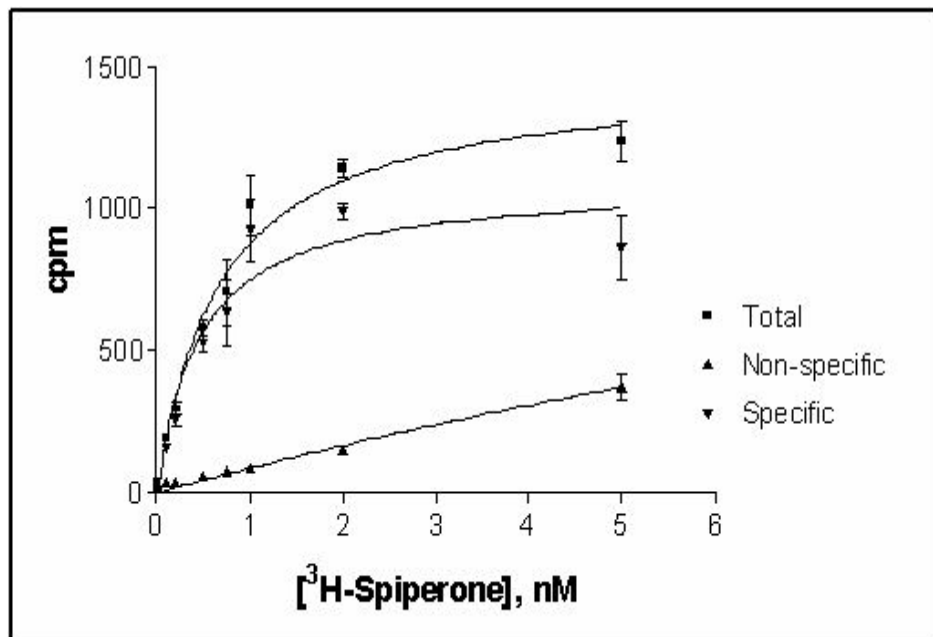
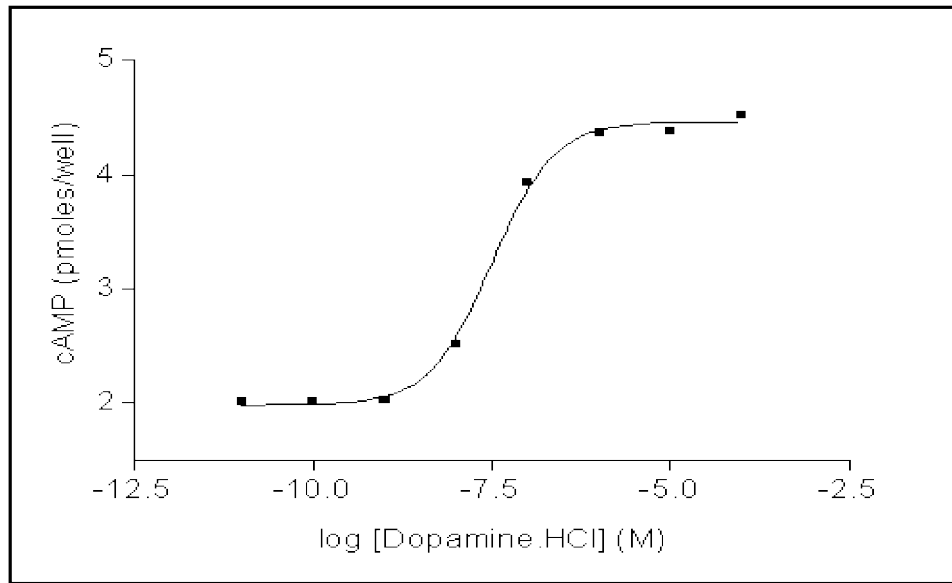


그림 6. 도파민 수용체의 Receptor binding assay에 의한 결합력 분석

A. D1 도파민 수용체

B. D2 도파민 수용체

A.



B.

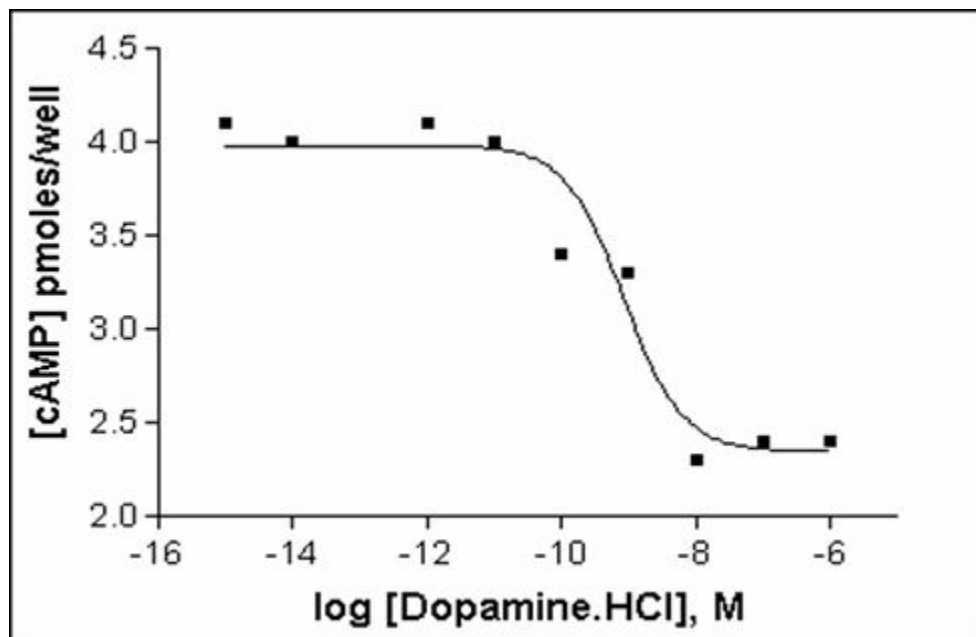


그림 7. 도파민 수용체 발현 세포주의 cAMP assay

A. D1 도파민 수용체

B. D2 도파민 수용체

제 3 절. 인삼추출물의 분획 및 활성분석

1. MPLC를 이용한 인삼추출물의 분획 및 활성분석

가. MPLC Fraction 분리

(1) 분획 분리

인삼추출물 2 g을 2 mL의 물에 녹인 후 filtering하여 MPLC에 로딩하여 분리하였다. 추출물을 물과 MeOH의 농도 구배를 통해 분획하였다. 그림 8과 같이 0 min ~ 20 min 까지 100% 물을 통과시킨 구역(Fraction 1)과 20 min ~ 40 min 까지 기울기를 준 부분(Fraction 2), 40 min ~ 50 min 까지 기울기를 준 부분(Fraction 3), 마지막으로 MeOH을 100% 흘려준 4개의 분획(Fraction 4)으로 나누었다. 이와 같은 과정을 18회 반복하여 분획물을 획득하여 농축한 후 활성 분석에 이용하였다.

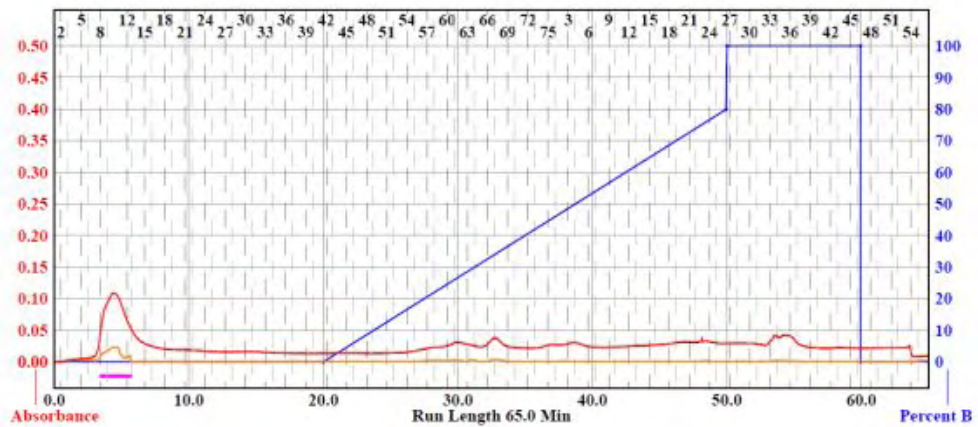


그림 8. MPLC을 이용한 인삼추출물 분획 크로마토그램

(2) 활성분석

- 농축된 개의 분획은 도파민 수용체 D1 과 D2 발현 세포주를 이용하여 각 각 활성분석을 수행하였다. 분석결과 그림 9와 같이 Fraction 1과 Fraction 3에서 대조군에 비해 D1 수용체를 활성화시키는 agonist 활성이 있는 것으로 확인되었다.

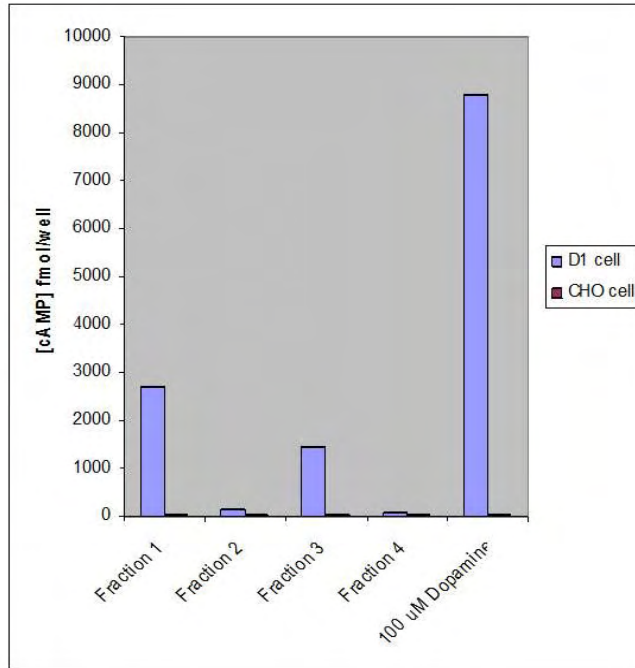


그림 9. 인삼추출물 1차 활성분석 결과

- 도파민 수용체 D2에 대한 활성분석을 수행한 경우 Fraction 1 ~ 4에 대해서 도파민 D2 수용체 발현 세포주에 대한 활성분석 결과 Fraction 3이 D2 수용체에 대한 agonist 활성이 있는 것으로 관찰되었다 (그림 10).

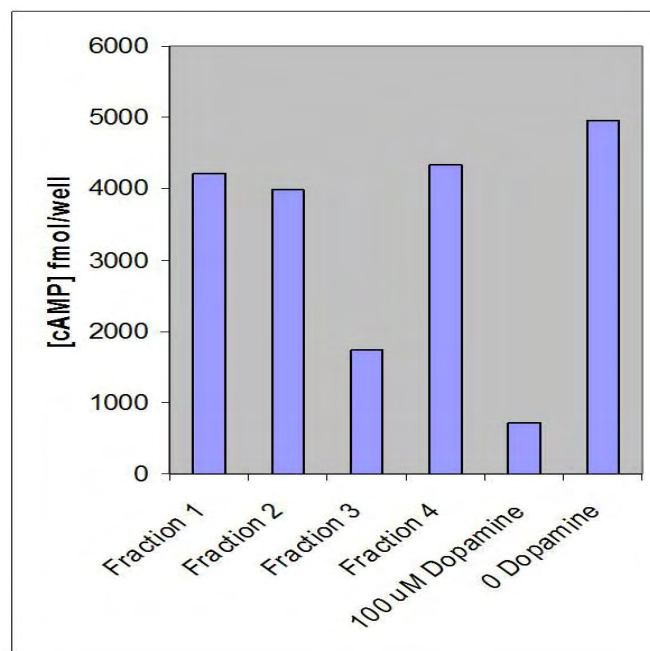


그림 10. 인삼추출물 분획 1 - 4의 D2 수용체에 대한 활성분석 결과

나. 2차 분획 분리

(1) D1 수용체에 대한 agonist 활성이 있는 것으로 분석된 Fraction 1과 Fraction 3에 대하여 그림 11과 같이 추가적인 분획을 시도하였다. Fraction 1을 HP20을 이용하여 1-1분획과 1-2 분획으로 나누었으며, Fraction 3에 대하여 ODS c.c.(ϕ 3 × 7 cm, MeOH-H₂O = 2:1)를 실시하여 3-1 ~ 3-7 분획으로 분리하였다.

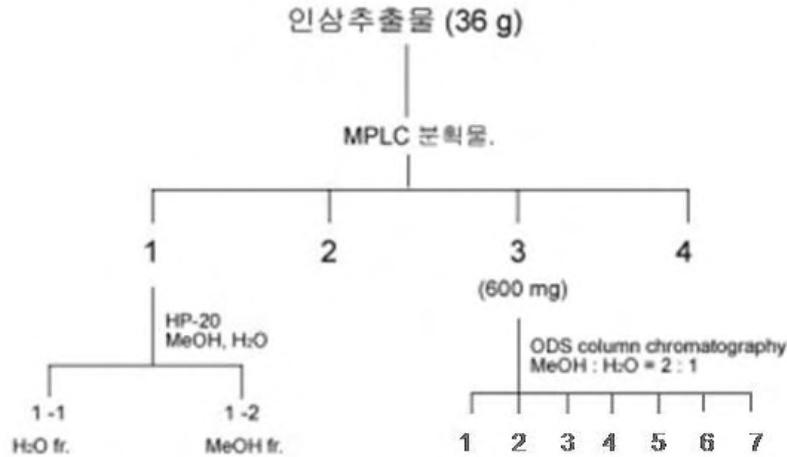


그림 11. 인삼추출물 분리도

(2) 2차 분획물의 도파민 수용체 D1에 대한 활성분석

- 분획 1-1과 1-2에 대해서 도파민 수용체 D1 발현 세포주를 이용한 agonist 활성분석을 수행하였다. 대조군으로 도파민 수용체를 발현하지 않는 CHO 숙주세포를 사용하였고, 양성 대조군으로 100 μ M 도파민을 사용하였다. 분석결과 분획 1-1이 도파민 수용체 D1의 agonist 활성이 있는 것으로 분석되었다 (그림 12).
- ODS 컬럼에 의해 분리된 분획 3-1 ~ 3-7에 대해서 도파민 수용체 D1 발현 세포주를 이용하여 agonist 활성분석을 수행하였다. 분석결과 분획 3에서는 D1 수용체에 대한 agonist 활성이 있는 것으로 관찰되었으나 분획 3-1 ~ 3-7은 D1 수용체에 대해서 활성이 거의 없는 것으로 분석되었다 (그림 13). 따라서, 2차 분획 이후에 활성이 없는 것으로 보아 분획 방법의 새로운 모색이 필요한 것으로 판단되고 있다.

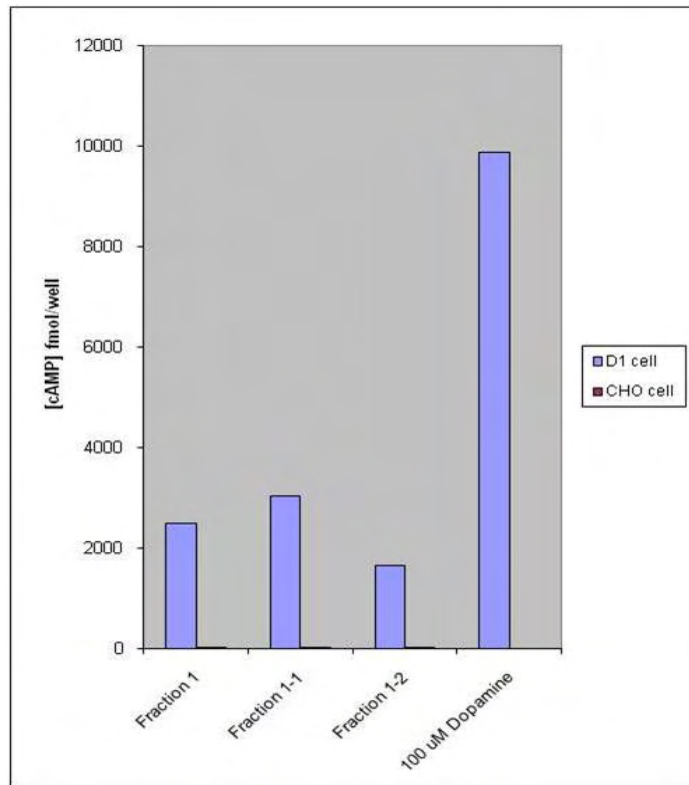


그림 12. 인삼추출물 분획 1-1과 1-2의 D1 수용체에 대한 활성분석 결과

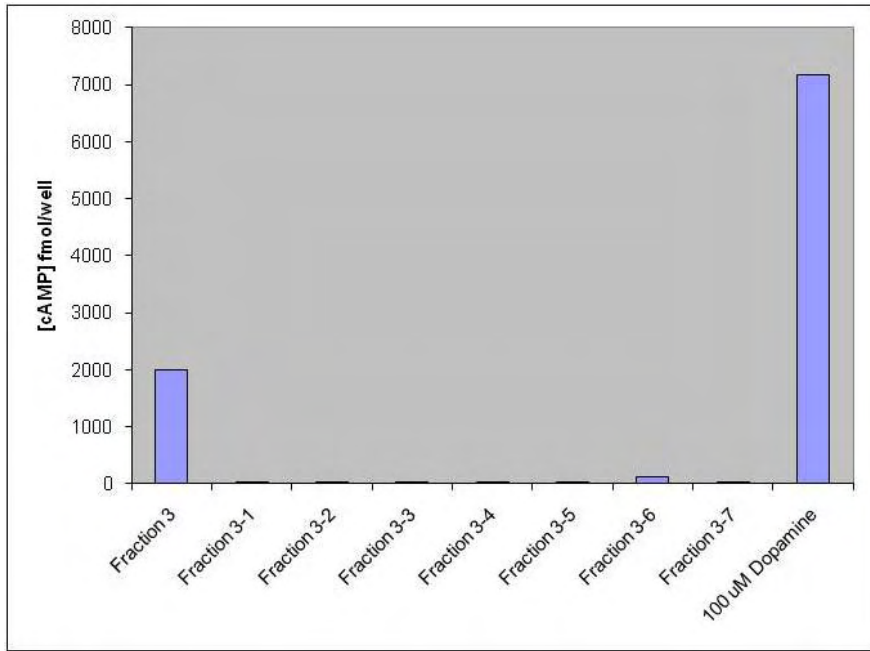


그림 13. 인삼추출물 분획 3-1 ~ 3-7의 D1 수용체에 대한 활성분석 결과

(3) 2차 분획물의 도파민 수용체 D2에 대한 활성분석

- 위의 결과에 따라 Fraction 3의 subfraction인 분획 3-1 ~ 3-7 분획에 대해서 도파민 수용체 D2에 대한 활성분석을 수행하였다. 분석결과 3-2가 D2 수용체에 대해서 agonist 활성이 있는 것으로 관찰되었다 (그림 14).

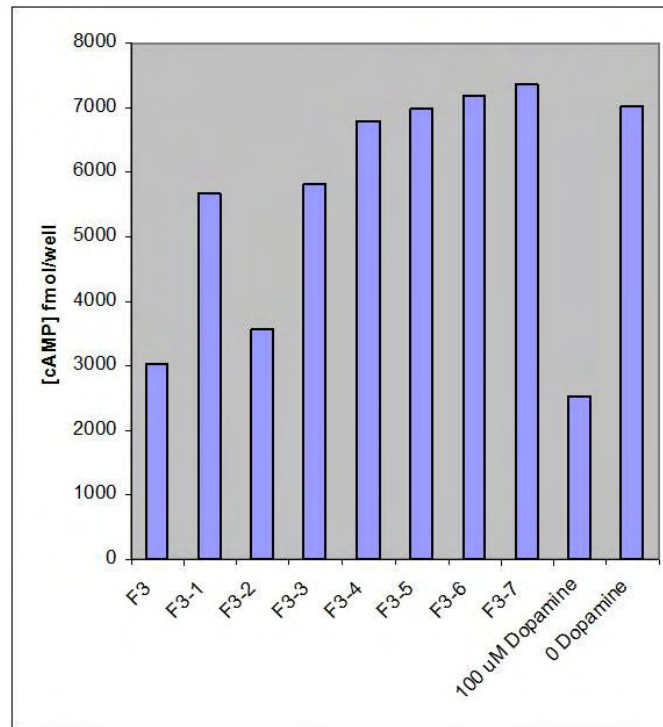


그림 14. 인삼추출물 분획 3-1 ~ 3-7의 D2 수용체에 대한 활성분석 결과

2. SepBox 2D-250을 이용한 분획 분리

가 분획분리

활성물질 규명을 시간을 절약하기 위해 인삼추출물 시료의 일부를 이용하여 SepBox chromatography를 수행하였다. SepBox을 이용하여 분리한 결과 main separation에서는 2차 대사물질이 존재하지 않은 것으로 보였으나, 인삼추출물의 특성상 극성 높은 물질이 많을 것으로 사료되어 극성분리를 셋팅하여 분리하였다. 시료를 ion exchange column으로 분리한 결과 anion column (step 16)과 cation column (step 17)으로 분리되는 단계에서 상당한 양의 물질이 분리되어 prep되는 것을 확인 할 수 있었다. (그림 15, 16)

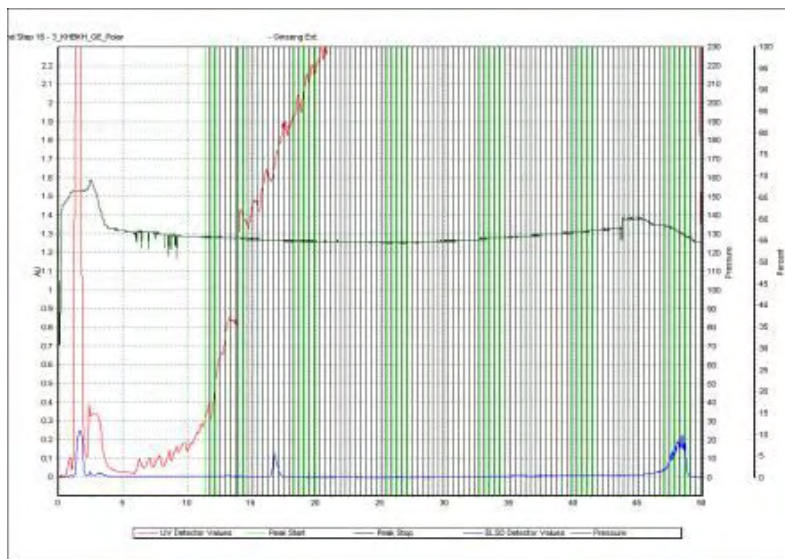


그림 15. 인삼추출물 시료의 anion column separation 그래프

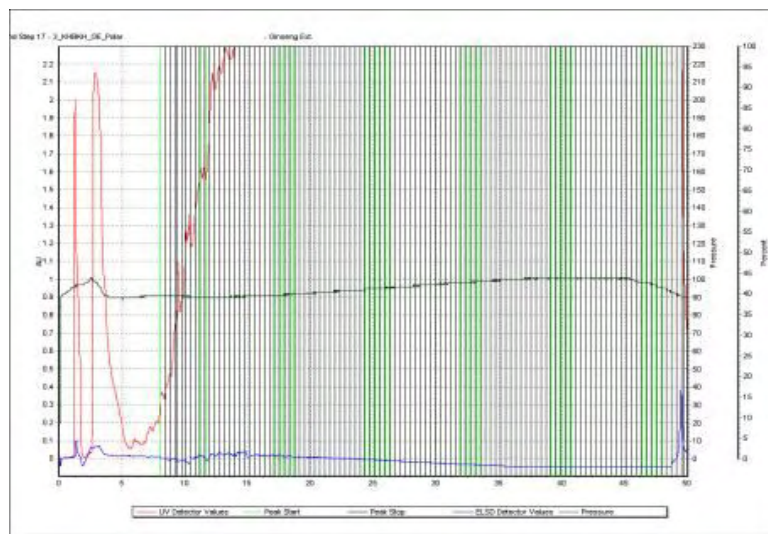


그림 16. 인삼추출물 시료의 cation column 분리도

나. 활성 분석 및 DB 검색결과

SepBox를 이용하여 분리된 분획물을 분석한 결과 그림 17과 같이 Fraction 35에서 D1 수용체에 대한 agonist 활성이 있는 것이 확인되었다. 활성이 있는 Fraction 35을 Q-TOF MS을 이용하여 분석한 결과를 METLIN Personal DB을 사용하여 검색하여 보았다. 검색한 결과 Molecular feature extract(MFE) 값과 METLIN Personal DB의 일치도가 가장 높은 화합물로 fumaric acid와 pyroglutamic acid을 검색할 수 있었다 (그림 17). 그 밖에 malic acid와 6-phosphogluconic acid등이 검색되었다. 하지만 이들은 D1 수용체에 대한 agonist 활성이 없는 것으로 밝혀져 SepBox를 이용한 활성물질 규명은 실효성이 없는 것으로 생각된다.

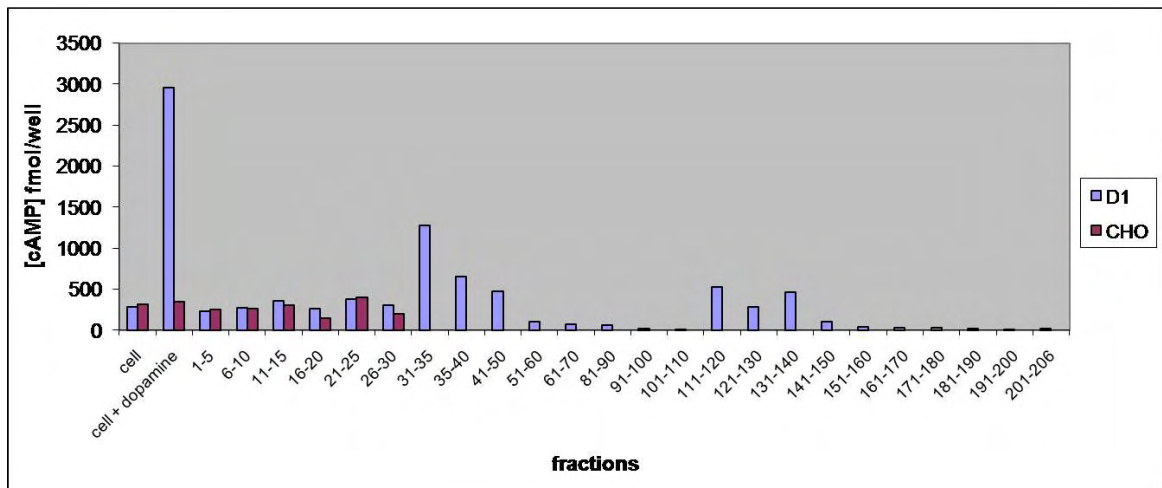
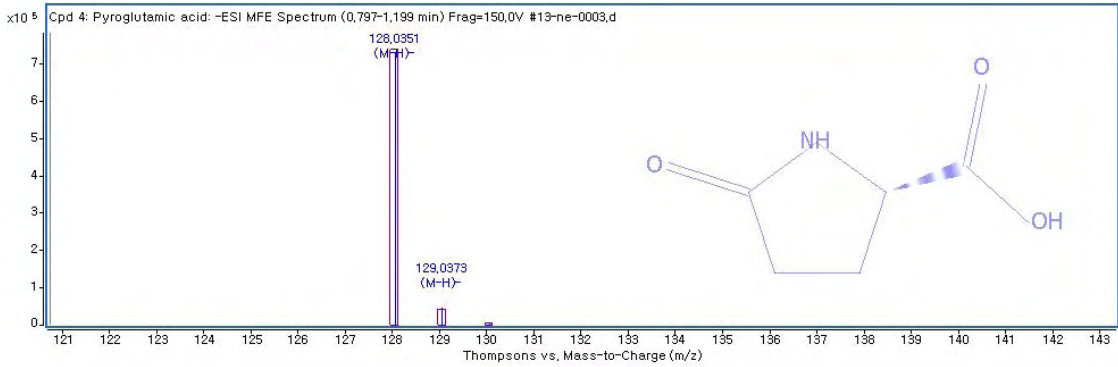
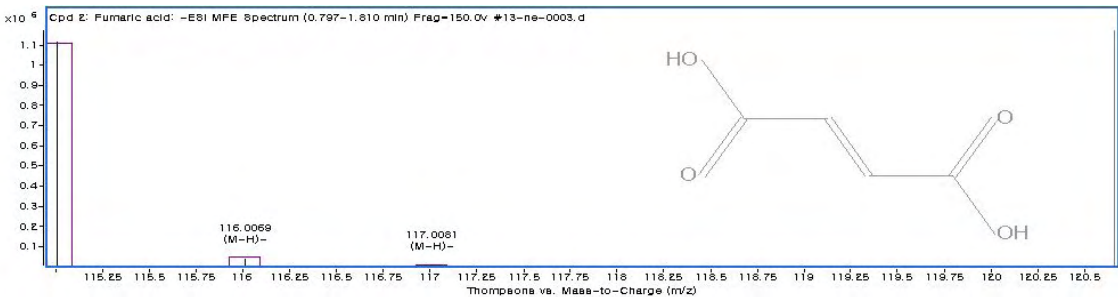


그림 17. 인삼추출물 SepBox 분획의 D1 수용체에 대한 활성분석 결과



Name	RT	Mass	Formula	Score (MFG)	DB Formula	Score (DB)
Pyroglutamic acid	0.894	129.042 3	C5 H7 N O3	98.79	C5 H7 N O3	98.12



Name	RT	Mass	Formula	Score (MFG)	DB Formula	Score (DB)
Fumaric acid	0.878	116.011	C4 H4 O4	99.65	C4 H4 O4	99.63

그림 18. METLIN Personal DB 분석 결과

3. 인삼추출물 대량 분리 및 분획

가. 분획 분리

1차 분리과정에 사용한 시료의 양이 충분하지 않아 다음단계 진행에 어려움이 있어서 대량의 인삼추출물을 이용하여 분리를 진행하여 얻은 분획으로 물질 규명을 하고자 하였다.

발효인삼추출물 160 g을 ethyl acetate와 물 층으로 분획하였고, 물 분획은 HP20 column chromatography를 거쳐 MeOH 와 물 층으로 분획하였다 (그림 19)). 각 분리 단계에서 확보된 분획은 다음과 같다.

Sample No 1: Ethyl acetate fraction

Sample No 2: Saponin fraction

Sample No 3: Sugar fraction

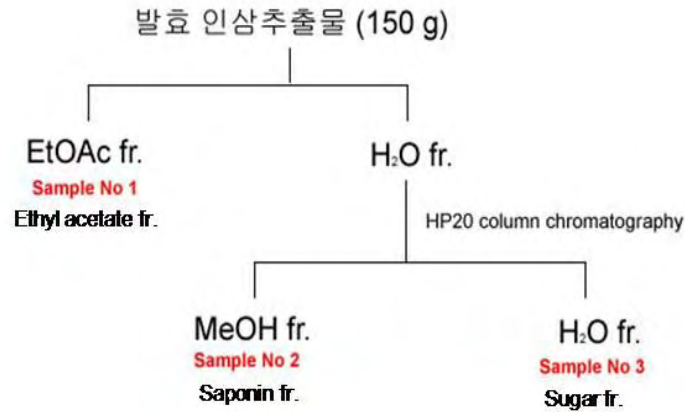


그림 19. 인삼추출물의 대량 분획 분리도

나. 도파민 수용체에 대한 활성분석을 위한 예비실험

그림 19과 같이 분리된 추출물 (Sample No. 1 ~ 3)을 이용하여 도파민 수용체 D1, D2에 대한 agonist 및 antagonist 활성분석을 수행하기 위해 대조군으로 D1 혹은 D2 수용체가 발현하지 않는 CHO 세포를 이용하여 cAMP 농도 측정에 영향을 주는 지 분석하였다. 분석 결과 Figure 20와 같이 sample No. 1 (ethyl acetate), sample No. 2 (saponin) 분획물로 CHO 세포를 처리한 경우 forskolin을 사용하여 cAMP의 농도를 인위적으로 올려도 실제 cAMP의 농도는 매우 낮게 나타났다. 이는 분획물이 cAMP 농도 측정을 방해하는 것을 의미한다. 따라서, 실질적인 agonist 및 antagonist 활성분석을 수행하기 위해서는 분획물의 순차적인 희석을 통해 cAMP 농도 측정을 방해하지 않은 최대 농도를 결정한 후 이 농도에서 D1 혹은 D2 수용체가 발현하는 CHO 세포를 이용하여 필요할 것으로 생각된다.

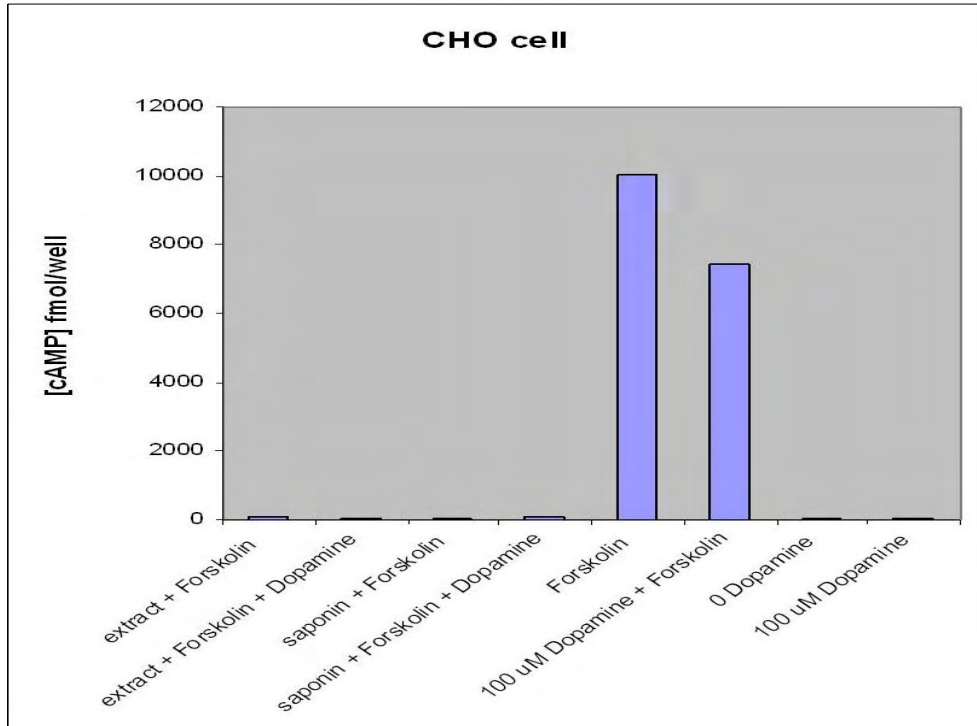


그림 20. 분획물에 의한 cAMP 농도 측정 방해

3핵심 2세부

(1) STZ (streptozotocin) 투여를 통한 당뇨병 동물 모델 제작

- 본 연구실에서 STZ를 이용하여 제1형 당뇨병 질환 동물모델을 제작하였고, STZ 투여 후 미정맥 채혈 및 glucometer를 이용하여 고혈당 당뇨병 질환 모델을 확인하였다. STZ 투여 후 3주 동안 300 mg/dl 이상의 혈당 수치를 보였다(그림 1).

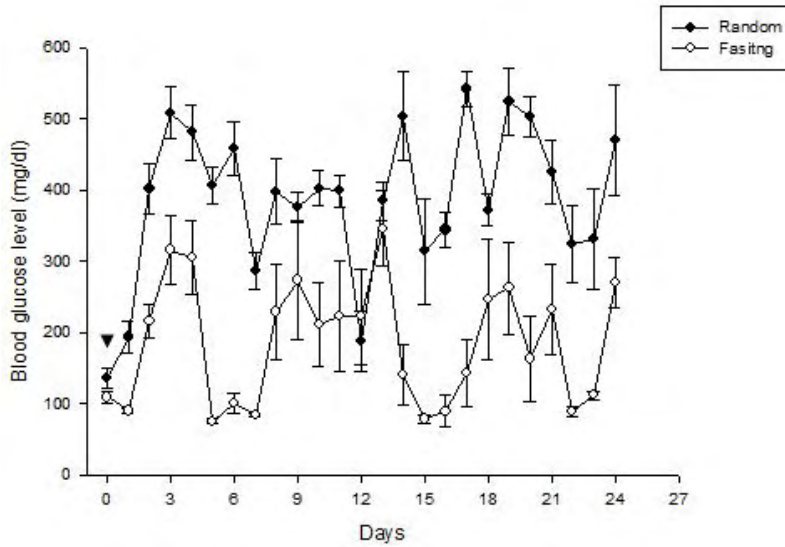


그림 1. 스트렙토조토신(STZ) 주입에 의한 당뇨 모델 생성.

- STZ에 의해 베타세포파괴를 확인하기 위하여 췌장 조직을 조직병리검사(hematoxylin & eosin)한 결과 STZ 투여 동물에서는 wild type 동물과는 달리 베타세포 파괴 및 islet 손상되어 있는 것을 확인 할 수 있었다. 또한 조직면역화학법(immunocytochemistry) 결과 wild type rat과 당뇨병 질환동물을 비교 하였을 때 당뇨병 질환 동물모델에서 insulin 발현 양상이 감소하는 것을 확인할 수 있었다(그림 2).

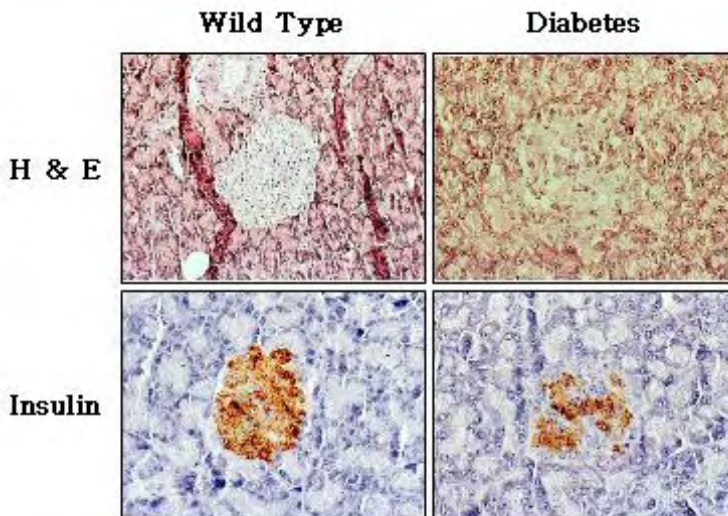


그림 2. 스트렙토조토신에 의한 췌장소도의 변화.

(2) 인삼 진세노사이드 투여에 따른 항당뇨 및 혈당조절 작용기능 관찰

- 인삼 진세노사이드의 항당뇨 및 혈당조절 작용기능을 살펴보기 위해 다음과 같은 방법으로 시행하였다. 고혈당 당뇨병 질환 모델에 각각 인삼 진세노사이드를 2주, 3주간 투여 하였을 때 변화하는 혈당 수치를 확인하였다(그림 3).

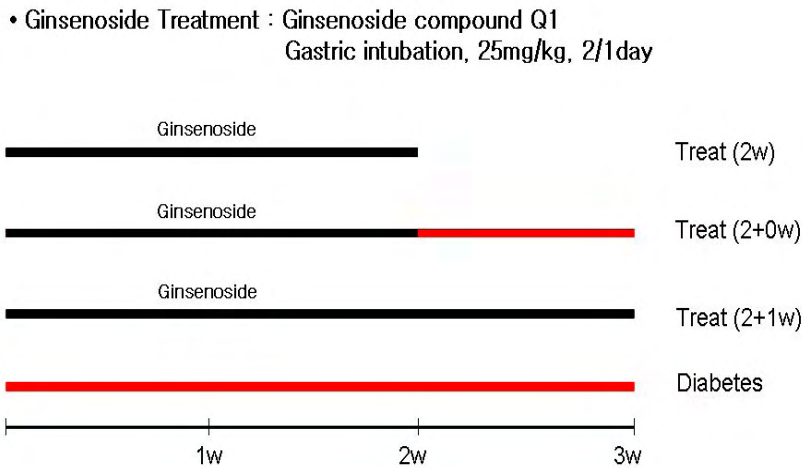


그림 3. 진세노사이드 처리에 따른 실험의 계획.

- Wild type rat에 STZ 투여 후 3일째부터 인삼 진세노사이드를 gastric intubation 방법으로 1일 2회 투여 하였으며, 충분한 먹이 섭취 후 혈당수치(random blood glucose level)를 확인하였다. 인삼 진세노사이드를 투여하지 않은 동물에서는 300 mg/dl 이상의 혈당수치를 삼 진세노하지만 인삼 진세노사이드 투여 동물에서는 2일째부터 혈당 수치가 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 실험 3주 동안 인삼 진세노사이드를 투여하지 않은 동물의 혈당수치는 200-520 mg/dl로 심하게 변화하는 반면에 투여 동물에서는 200 mg/dl 이하의 혈당수치를 확인할 수 있었다(그림 4).

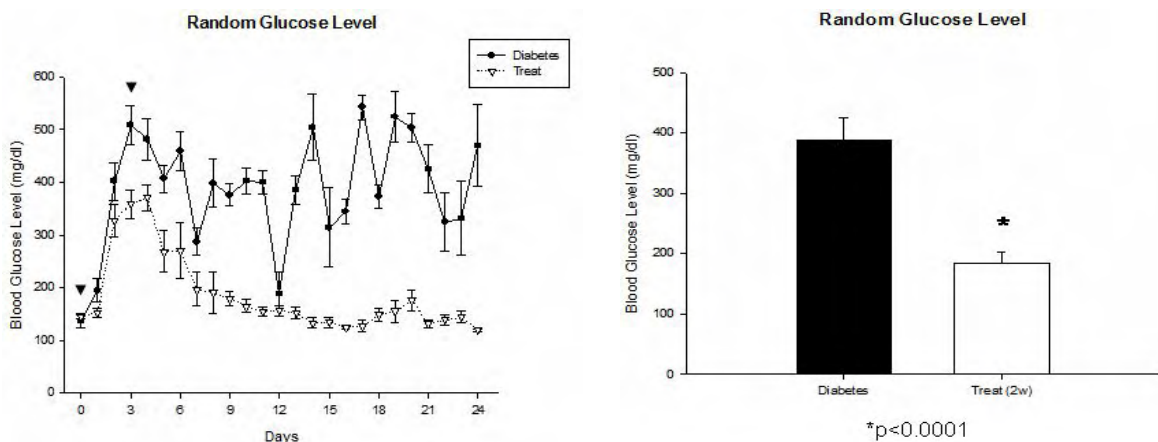


그림 4. 당뇨병모델에서 진세노사이드 복용에 의한 무작위 혈당변화.

- 4-5시간 금식 후 Fasting blood glucose level을 확인하였다. 투여 하지 않은 당뇨병 질환 동물에서는

약 100-300 mg/dl로 변화가 심한 반면에 투여한 동물모델에서는 투여 한 동물모델에서는 200 mg/dl 이하의 혈당 수치를 확인할 수 있었다(그림 5).

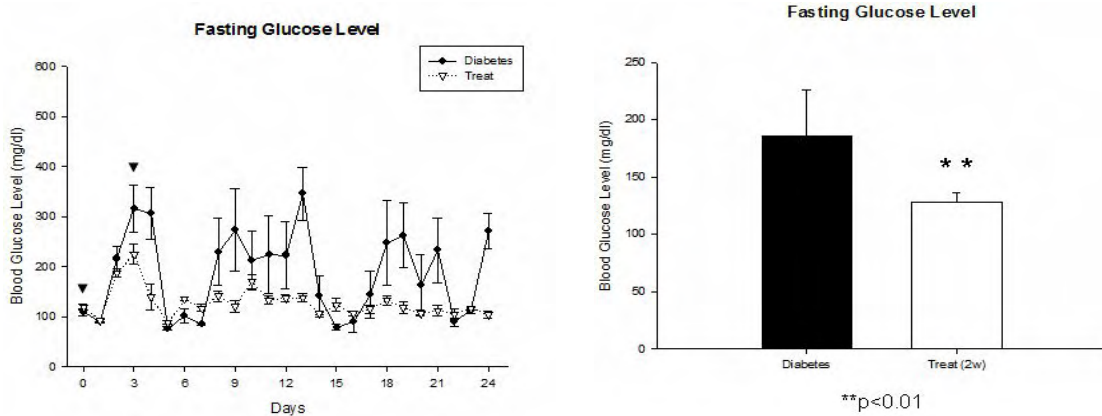


그림 5. 금식 혈당의 변화.

- 인삼 진세노사이드 2주 동안 투여 한 후 고혈당 당뇨병 질환모델과 인삼 진세노사이드 투여 그룹 (Treat 2w)에서 Glucose Tolerance Test (IPGTT)를 시행하였다(그림 6).

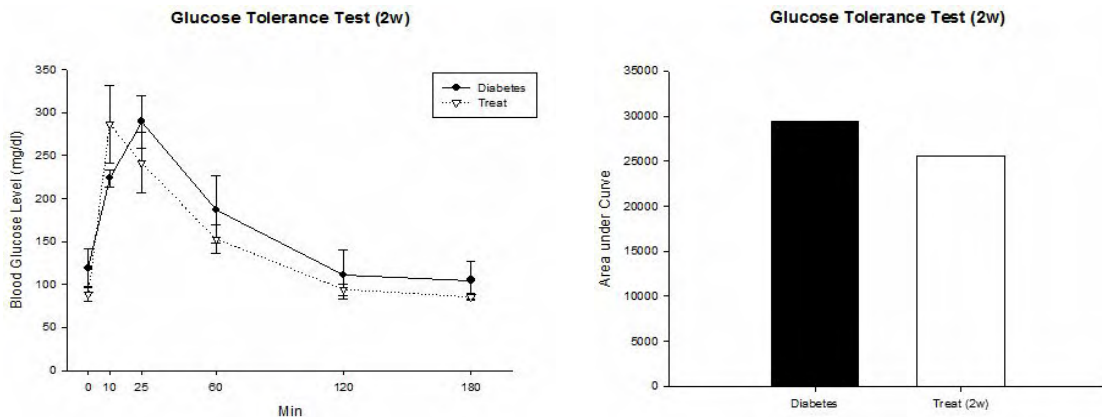


그림 6. 인삼진세노사이드 투여에 의한 내당능의 변화.

- 2주 후 물만 투여 한 그룹(Treat 2+0w) 과 인삼 진세노사이드 투여 그룹(Treat 2+1w)으로 나누어 실험하였다. 인삼 진세노사이드 투여 그룹(Treat 2+1w)에서는 random blood glucose level이 약 200 mg/dl이하 혈당수치를 보였다. 하지만 투여 중단한 그룹(Treat 2+0w)에서는 2일후부터 점차 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 공복 시(fasting blood glucose level) 혈당수치에는 차이를 보이지 않았다(그림 7).

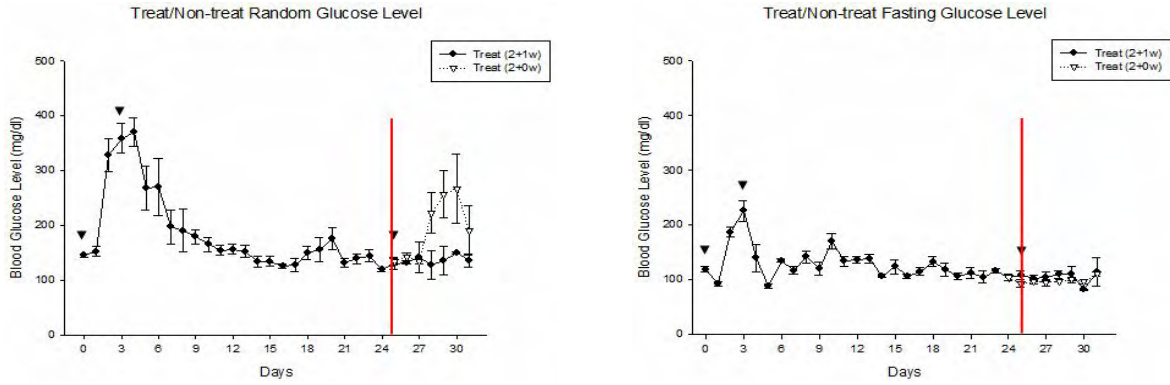


그림 7. 인삼 진세노사이드의 혈당조절효과.

- 2주 투여 후 투여하지 않은 그룹(Treat 2+0w)과 3주 동안 투여한 그룹(Treat 2+1w)에서 Glucose Tolerance Test (IPGTT)를 시행하였다(그림 8).

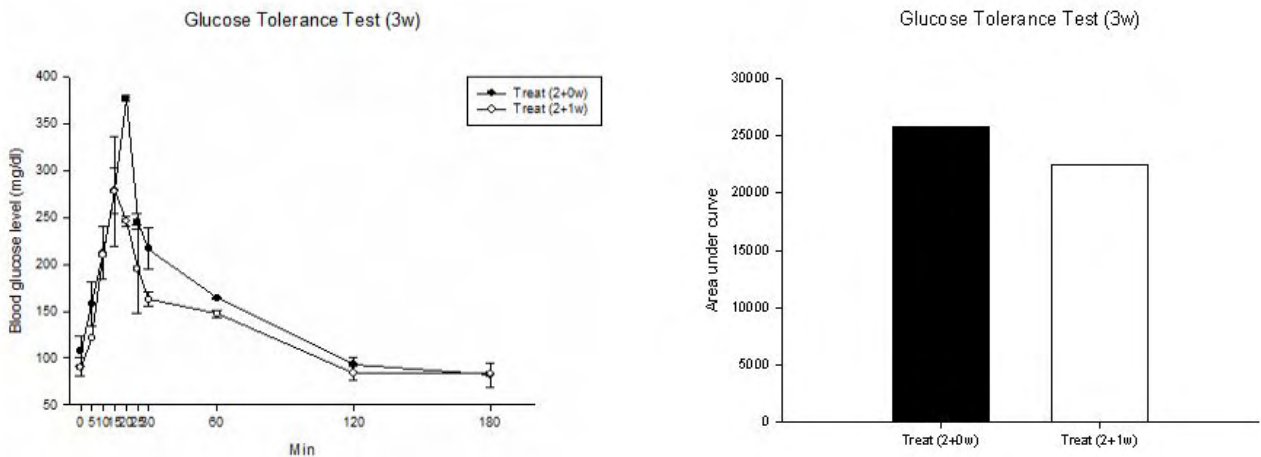


그림 8. 진세노사이드 투여 중단에 의한 내당능의 변화.

(3) 인삼 진세노사이드 투여에 따른 인슐린 분비세포의 분화동정

- STZ에 의해 베타세포 손상 후 인삼 진세노사이드 투여에 따른 조직병리검사(hematoxylin & eosin) 및 조직면역화학법(immunocytochemistry)을 시행하였다. 조직병리검사 결과 당뇨병 질환동물에서 손상된 islet을 보이지만, 인삼 진세노사이드 투여 동물모델의 islet에서는 회복된 것을 볼 수 있었다. 또한 3주 동안 투여 한 동물모델에서 2주 동안 투여 후 중단한 동물모델보다 높은 insulin, c-peptide 발현을 확인할 수 있었다(그림 9).

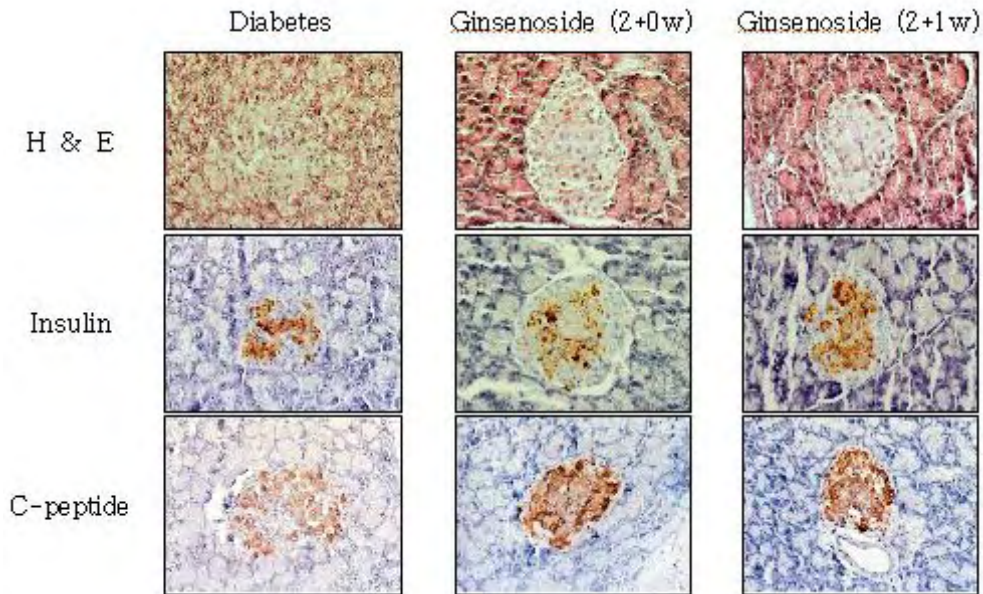


그림 9. 진세노사이드 복용에 의한 췌장소도의 변화.

- 인삼 진세노사이드 투여에 따른 베타세포 transcription factor (pdx-1)와 proliferation (PCNA)을 확인하기 위해 조직면역화학법(immunocytochemistry)을 시행하였다. 인삼 진세노사이드 투여 동물모델에서 pdx-1 및 PCNA의 발현이 투여하지 않은 동물모델에 비해 증가하는 것을 관찰할 수 있었다(그림 10).

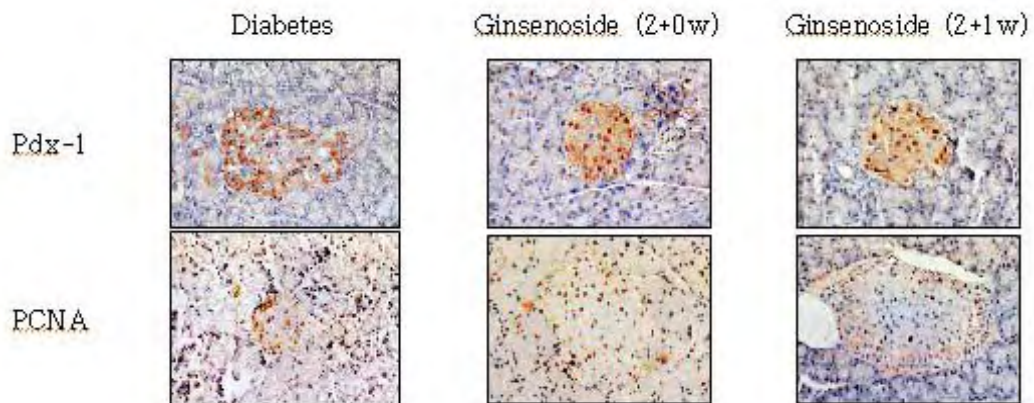


그림 10. 진세노사이드 복용에 의한 베타세포의 분화 및 증식의 변화.

- Morphometric analysis를 통해 인삼 진세노사이드 투여에 따른 변화를 관찰하였다. 베타세포 transcription factor인 Pdx-1의 경우 각각 diabetes ($19.3\% \pm 3.1283$), Treat 2+0w ($37.0\% \pm 2.3497$), Treat 2+1w ($48.7\% \pm 3.5849$)로 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 proliferation에 관여하는 PCNA 역시 diabetes ($5.4\% \pm 1.0695$), Treat 2+0w ($41.6\% \pm 2.2004$), Treat 2+1w ($43.5\% \pm 10.0195$)로 증가하는 것을 관찰 하였다(그림 11).

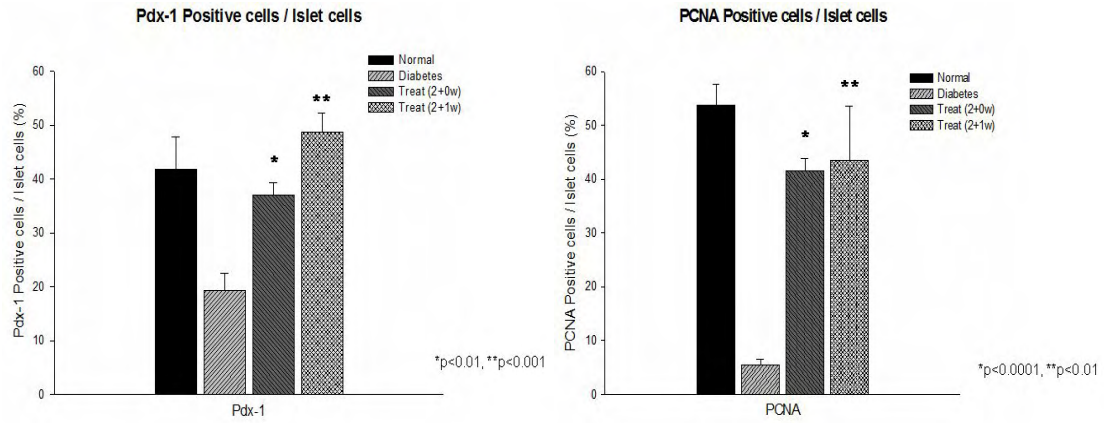


그림 11. 진세노사이드 복용에 의한 베타세포의 변화.

(4) 인삼 Saponin 및 Extract A, B, C, D, E 투여에 따른 항당뇨 및 혈당조절 작용기능 관찰

- Wild type rat에 STZ 투여 후 8일째부터 saponin을 gastric intubation 방법으로 1일 2회 투여 하였으며, 충분한 먹이 섭취 후 혈당수치(random blood glucose level)를 확인하였다. Saponin을 투여한 그룹에서 혈당 조절 효과는 관찰할 수 없었다. 하지만 saponin 투여한 그룹은 당뇨병 모델 보다 일정한 혈당 수치를 볼 수 있었다(그림 12).

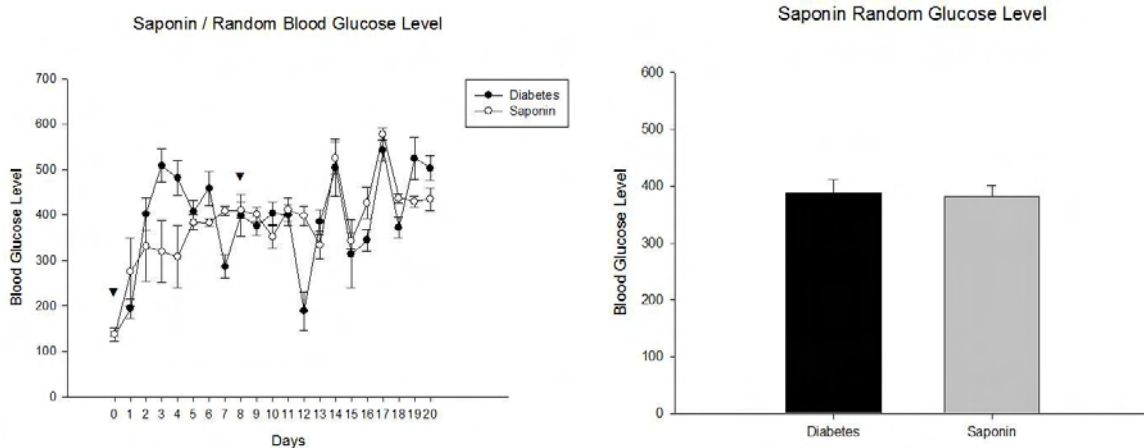


그림 12. 당뇨모델에서 사포닌 주입에 의한 혈당변화.

- 4-5시간 금식 후 Fasting blood glucose level을 확인하였다. Saponin을 투여 한 그룹에서 혈당조절 효과는 관찰할 수 없었다. 하지만 투여한 그룹에서 혈당 수치는 높지만 당뇨병 모델에 비해서 일정한 혈당수치를 확인할 수 있었다(그림 13).

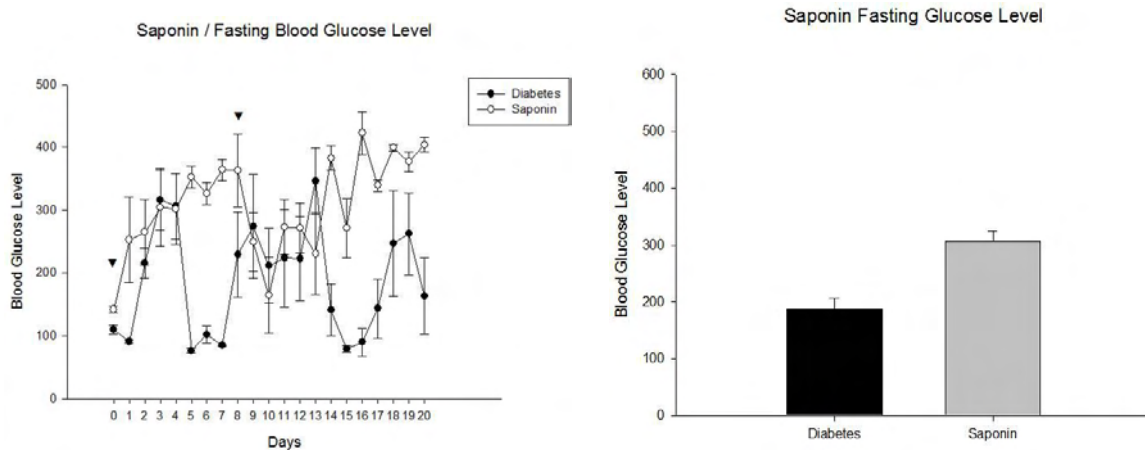


그림 13. 당뇨모델에서 사포닌 복용에 의한 혈당변화.

- Wild type rat에 STZ 투여 후 8일째부터 Extract A를 gastric intubation 방법으로 1일 2회 투여 하였으며, 충분한 먹이 섭취 후 혈당수치(random blood glucose level)를 확인하였다. Extract A를 투여한 그룹에서 혈당 조절 효과는 관찰할 수 없었다. 하지만 Extract A를 투여한 그룹은 당뇨병 모델 보다 일정한 혈당 수치를 볼 수 있었다(그림 14).

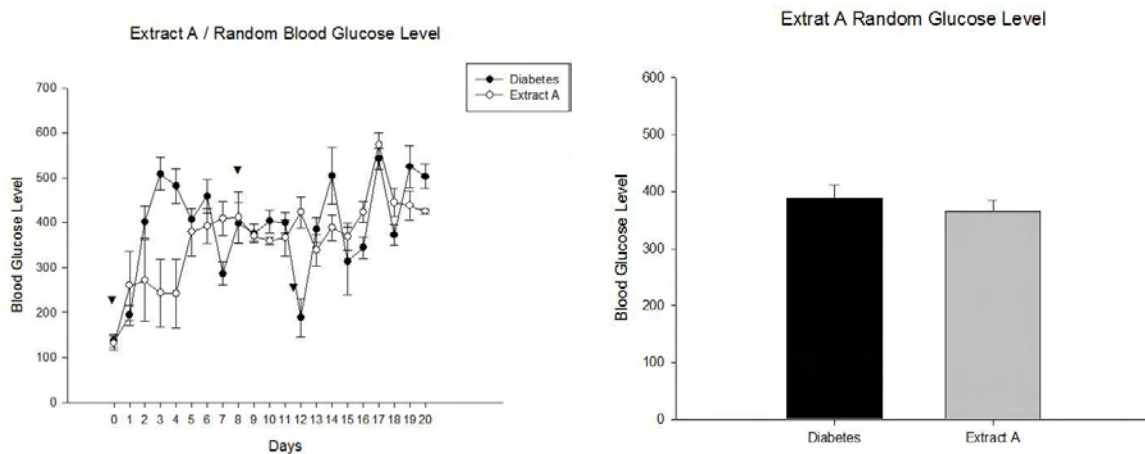


그림 14. 추출물A에 의한 임의혈당의 변화.

- 4-5시간 금식 후 Fasting blood glucose level을 확인하였다. Extract A를 투여 한 그룹에서 혈당조절 효과는 관찰할 수 없었다. 하지만 투여한 그룹에서 혈당 수치는 높지만 당뇨병 모델에 비해서 일정한 혈당수치를 확인할 수 있었다. 오히려 평균 혈당수치는 당뇨병 모델보다 더 높은 수준을 보였다(그림 15).

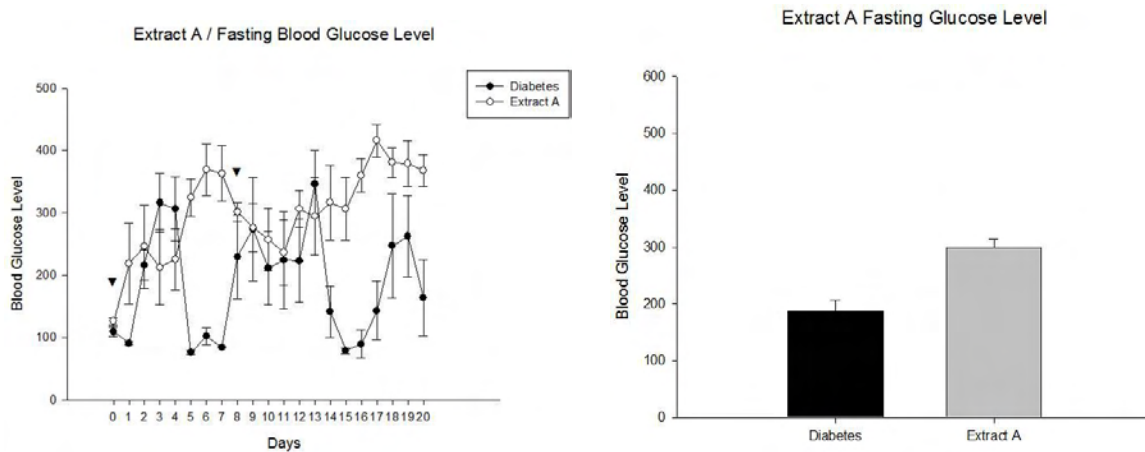


그림 15. 추출물A에 의한 공복혈당의 변화.

- Wild type rat에 STZ 투여 후 8일째부터 Extract B를 gastric intubation 방법으로 1일 2회 투여 하였으며, 충분한 먹이 섭취 후 혈당수치(random blood glucose level)를 확인하였다. Extract B를 투여한 그룹에서 당뇨병 모델보다 낮은 수준의 혈당수치를 보였으나, 고혈당을 유지하고 있고 있었으며, 일정한 수준의 혈당수치를 확인할 수 있었다. 투여 그룹에서 조금 낮은 평균 혈당수치를 확인할 수 있었다(그림 16).

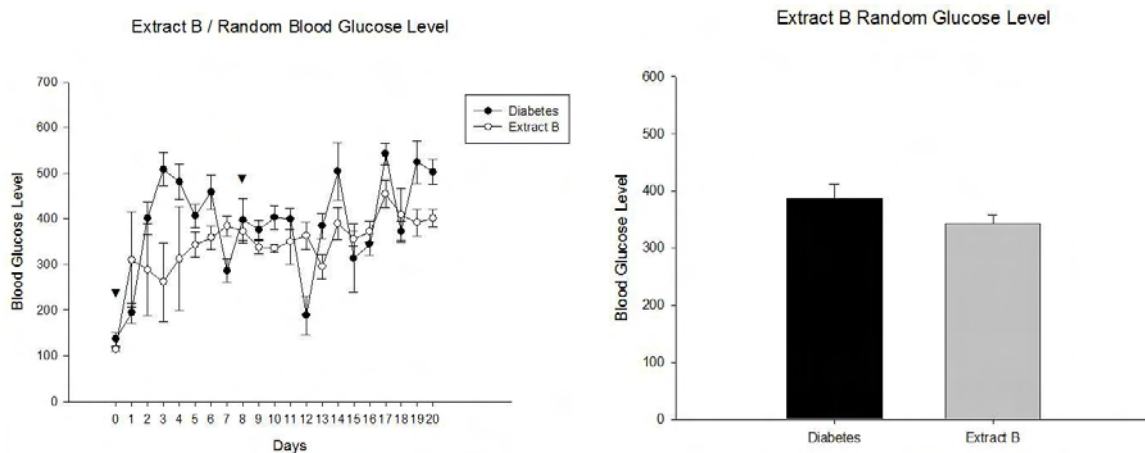


그림 16. 추출물B에 의한 임의혈당의 변화.

- 4-5시간 금식 후 Fasting blood glucose level을 확인하였다. Extract B를 투여 한 그룹에서 혈당조절 효과는 관찰할 수 없었다. 하지만 투여한 그룹에서 일정한 혈당 수치를 관찰할 수 있었다. 하지만 평균 혈당 수치는 조금 높은 수준을 관찰할 수 있었다(그림 17).

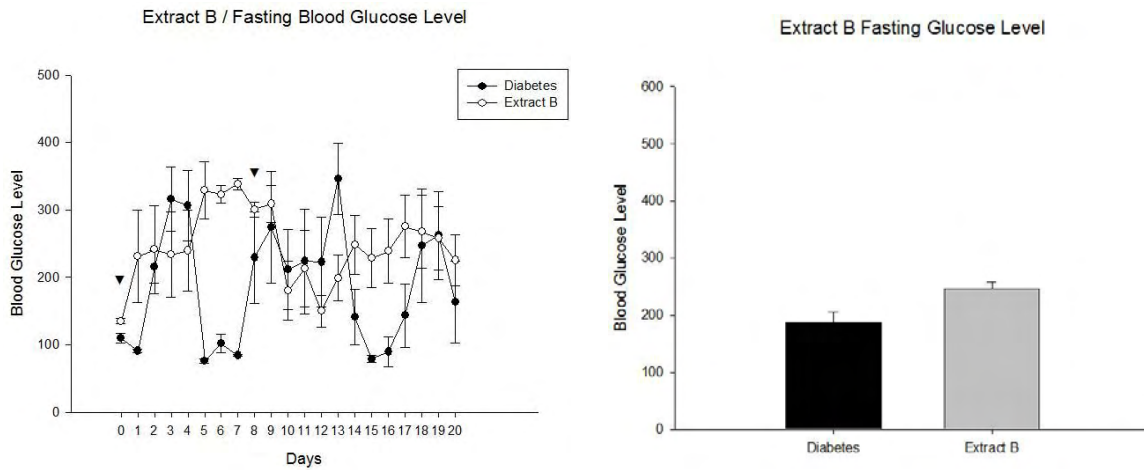


그림 17. 추출물B에 의한 공복혈당의 변화.

- Wild type rat에 STZ 투여 후 8일째부터 Extract C를 gastric intubation 방법으로 1일 2회 투여 하였으며, 충분한 먹이 섭취 후 혈당수치(random blood glucose level)를 확인하였다. Extract C를 투여한 그룹에서 혈당 조절 효과는 볼 수 없었다. 또한 평균 혈당수치에서도 차이가 없었다(그림 18).

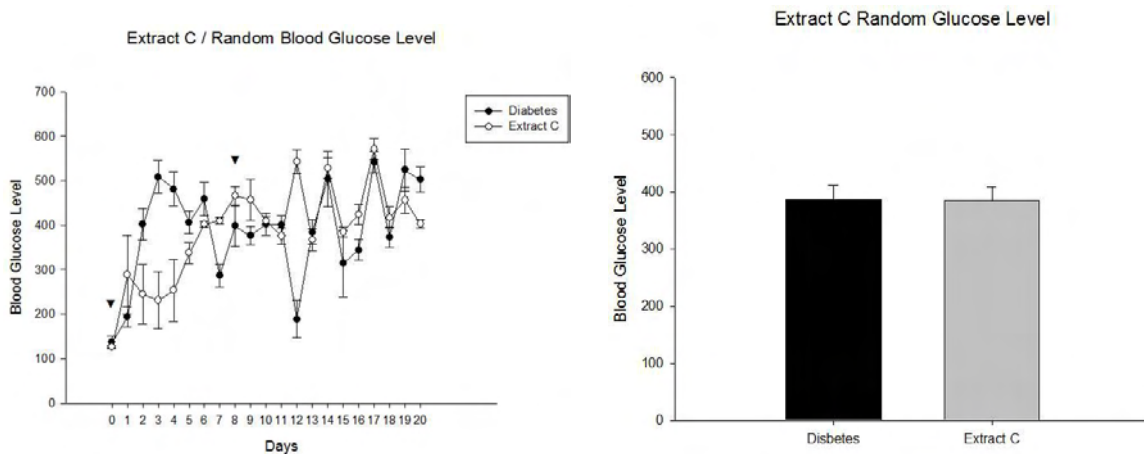


그림 18. 추출물C에 의한 임의혈당의 변화.

- 4-5시간 금식 후 Fasting blood glucose level을 확인하였다. Extract C를 투여 한 그룹에서 혈당조절 효과는 관찰할 수 없었다. 하지만 투여한 그룹에서 일정한 혈당 수치를 관찰할 수 있었다. 그렇지만 평균 혈당수치는 당뇨병 모델보다 높은 것을 관찰할 수 있었다(그림 19).

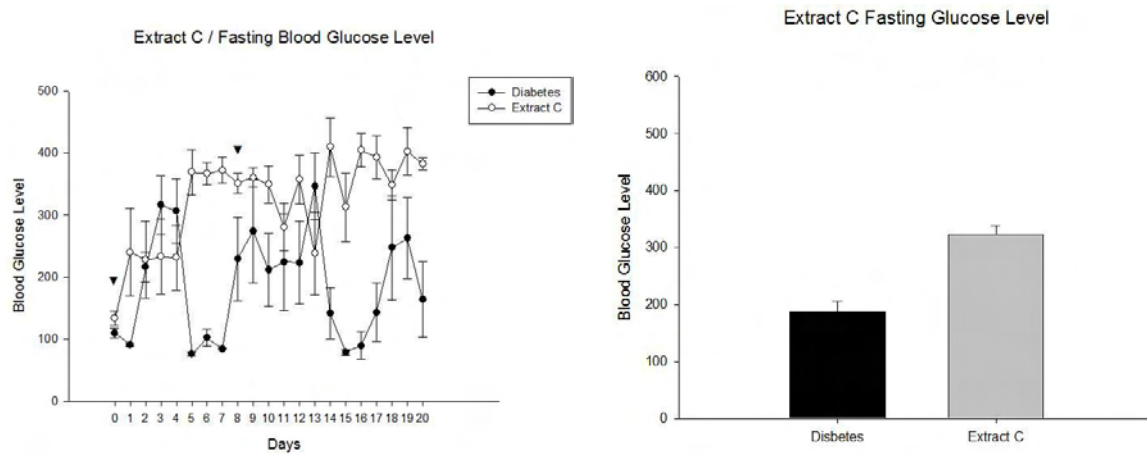


그림 19. 추출물C에 의한 공복혈당의 변화.

- Wild type rat에 STZ 투여 후 3일째부터 Extract D를 gastric intubation 방법으로 1일 2회 투여 하였으며, 충분한 먹이 섭취 후 혈당수치(random blood glucose level)를 확인하였다. Extract D를 투여한 그룹에서 혈당 조절 효과는 볼 수 없었다. 또한 평균 혈당수치가 당뇨병 모델에 비하여 높은 수준을 보였다(그림 20).

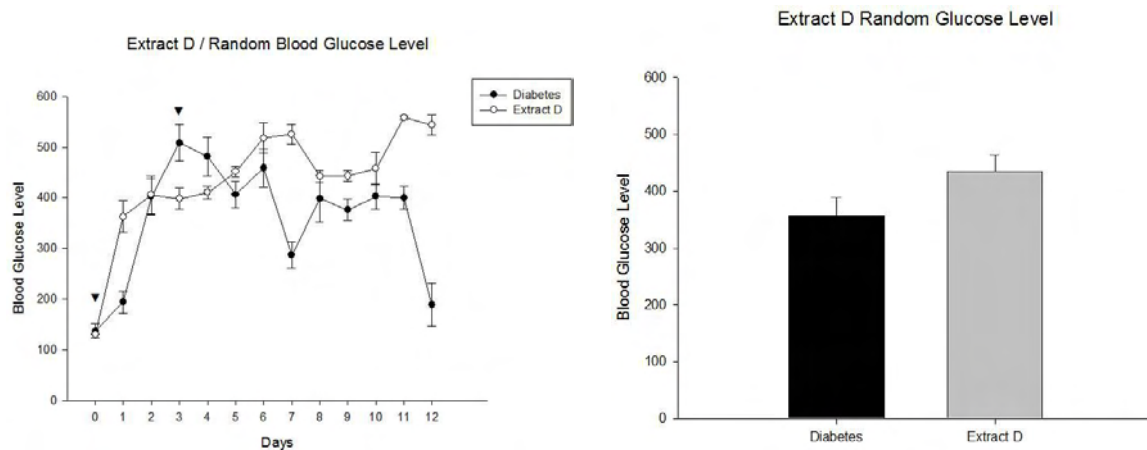


그림 20. 추출물D에 의한 임의혈당의 변화.

- 4-5시간 금식 후 Fasting blood glucose level을 확인하였다. Extract D를 투여 한 그룹에서 혈당조절 효과는 관찰할 수 없었다. 또한 평균 혈당수치는 당뇨병 모델보다 높은 것을 관찰할 수 있었다(그림 21).

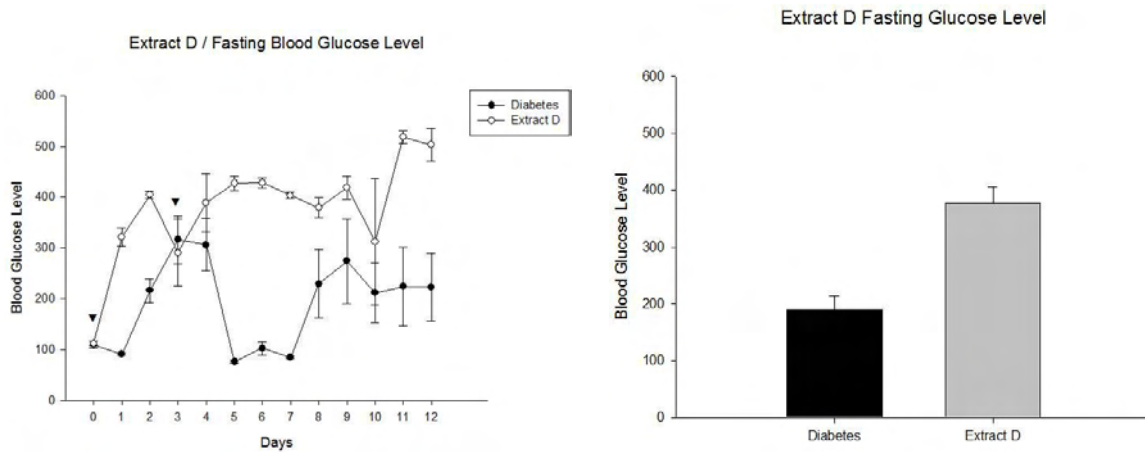


그림 21. 추출물D에 의한 공복혈당의 변화.

- Wild type rat에 STZ 투여 후 3일째부터 Extract E를 gastric intubation 방법으로 1일 2회 투여 하였으며, 충분한 먹이 섭취 후 혈당수치(random blood glucose level)를 확인하였다. Extract E를 투여한 그룹에서 혈당 조절 효과는 볼 수 없었다. 또한 평균 혈당수치가 당뇨병 모델에 비하여 높은 수준을 보였다(그림 22).

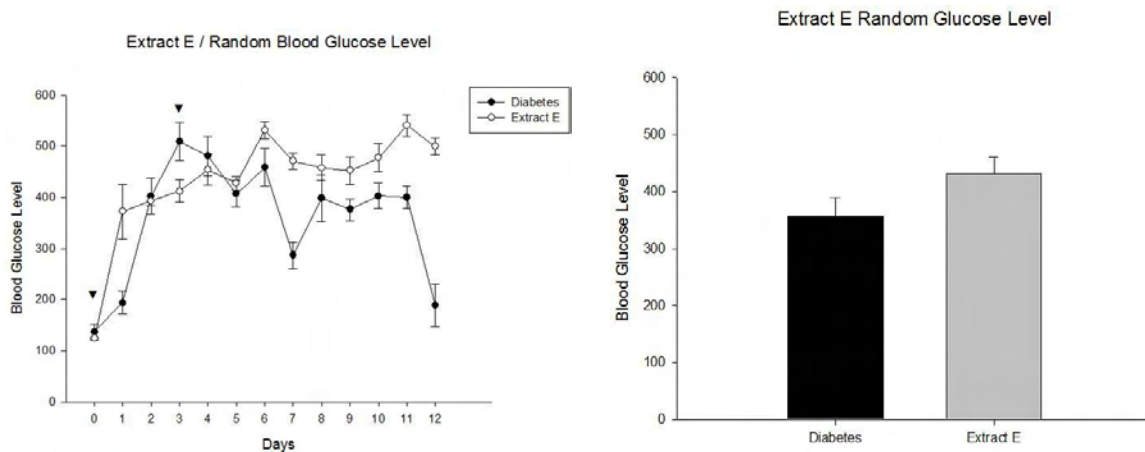


그림 22. 추출물E에 의한 임의혈당의 변화.

- 4-5시간 금식 후 Fasting blood glucose level을 확인하였다. Extract E를 투여 한 그룹에서 혈당조절 효과는 관찰할 수 없었다. 또한 평균 혈당수치는 당뇨병 모델보다 높은 것을 관찰할 수 있었다(그림 23).

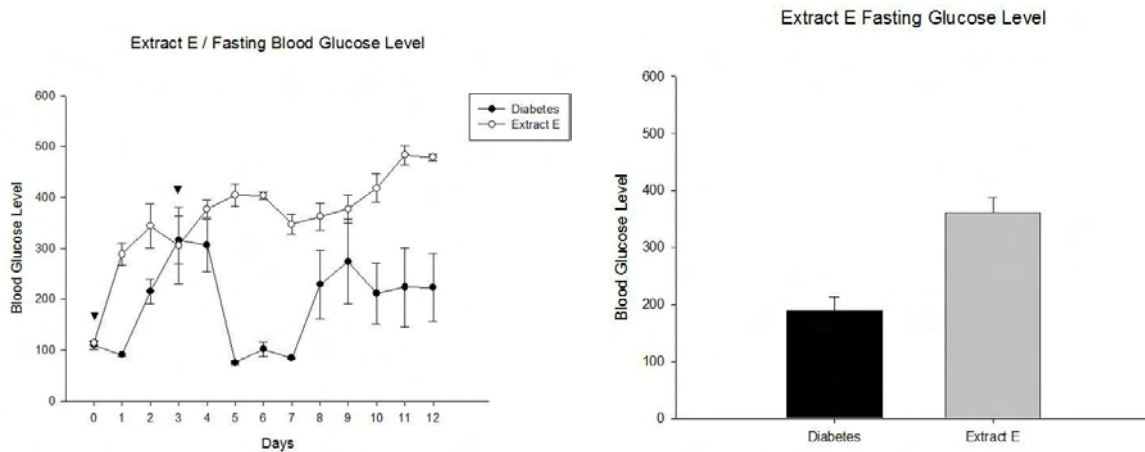


그림 23. 추출물E에 의한 공복혈당의 변화.

(5) 인삼 Extract C-301/C-302 투여에 따른 항당뇨 및 혈당조절 작용기능 관찰

- Wild type rat에 STZ 투여 후 3일째부터 Extract C-301/302를 gastric intubation 방법으로 1일 2회 투여 하였으며, 충분한 먹이 섭취 후 혈당수치(random blood glucose level)를 확인하였다. Extract C-301/302를 투여한 그룹에서 혈당 조절 효과는 볼 수 없었다. 당뇨병 모델과 비교하였을 때 Extract C-301, 302 모두 유사한 평균 혈당수치를 관찰할 수 있었다(그림 24).

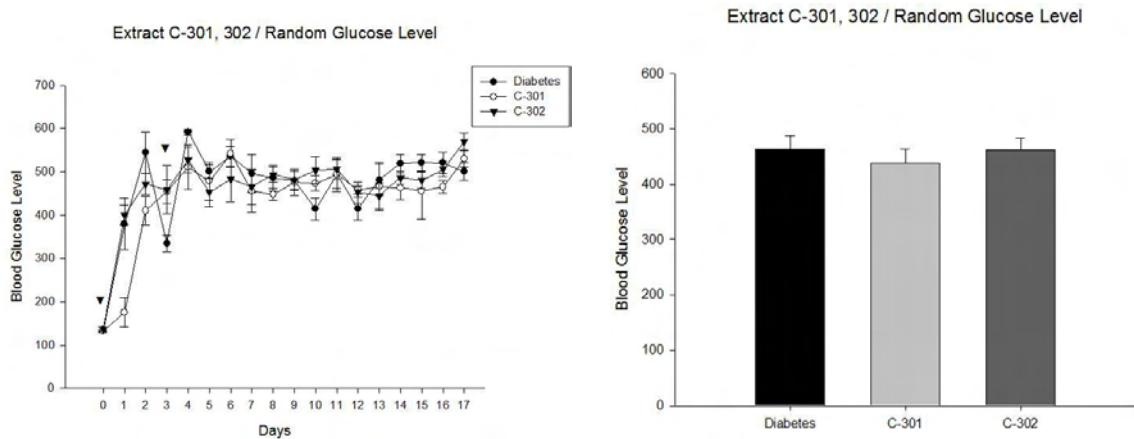


그림 24. 추출물C-301/302에 의한 임의혈당의 변화.

- 4-5시간 금식 후 Fasting blood glucose level을 확인하였다. Extract C-301/302를 투여 한 그룹에서 혈당조절 효과는 관찰할 수 없었다. 또한 유사한 평균 혈당 수치를 관찰할 수 있었다(그림 25).

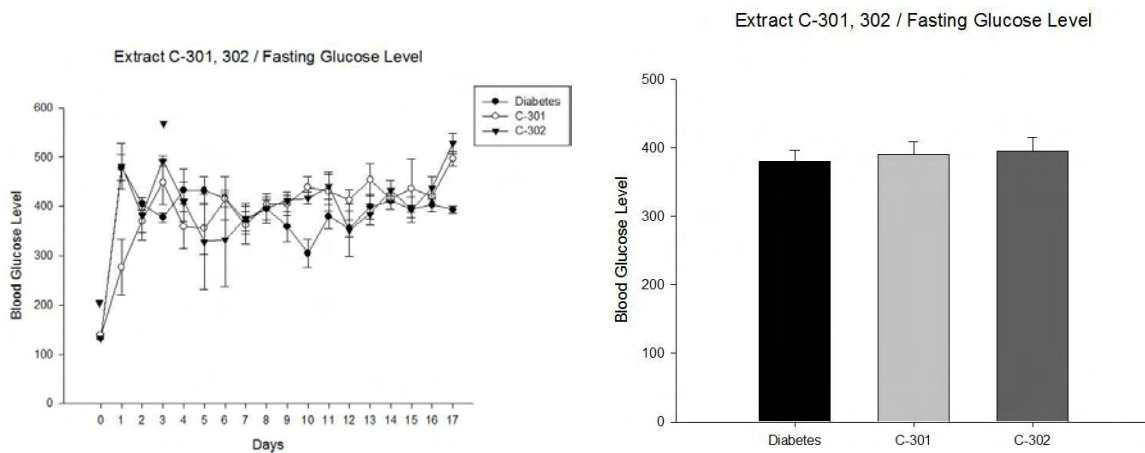


그림 25. 추출물C-301/302에 의한 공복혈당의 변화.

- Extract C-301,302 2주간 투여 후 Glucose Tolerance Test (IPGTT)를 시행하였다. IPGTT 시행 전 fasting 과정에서 다수의 실험모델이 죽게 되었다(그림 26).

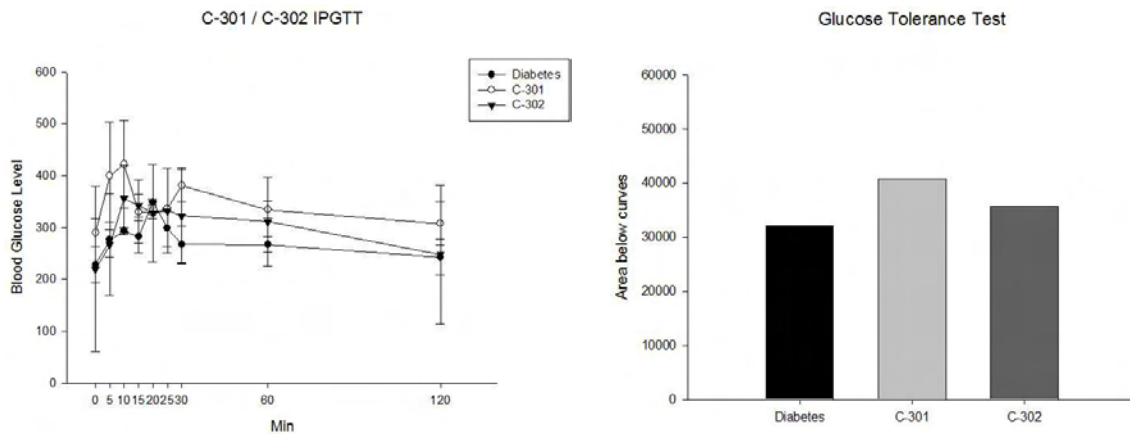


그림 26. 추출물C-301/302에 의한 내당능의 변화.

(6) 인삼 Extract M-101/M-102 투여에 따른 항당뇨 및 혈당조절 작용기능 관찰

- Wild type rat에 STZ 투여 후 3일째부터 Extract M-101/102를 gastric intubation 방법으로 1일 2회 투여 하였으며, 충분한 먹이 섭취 후 혈당수치(random blood glucose level)를 확인하였다. Extract M-101/102를 투여한 그룹에서 혈당 조절 효과는 볼 수 없었다. 당뇨병 모델과 비교하였을 때 Extract M-101/102 모두 유사한 평균 혈당수치를 관찰할 수 있었다(그림 27).

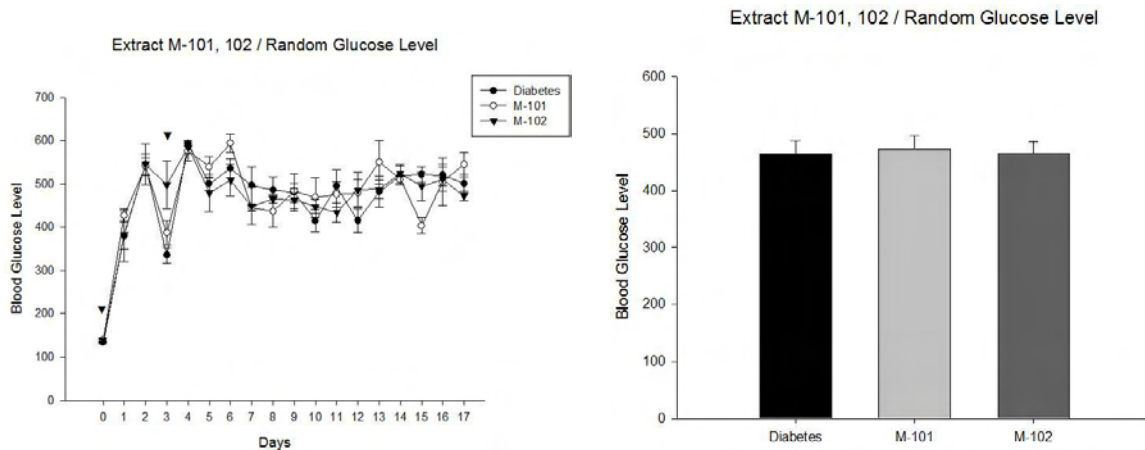


그림 27. 추출물M-101/M-102에 의한 임의혈당의 변화.

- 4-5시간 금식 후 Fasting blood glucose level을 확인하였다. Extract M-101/102를 투여 한 그룹에서 혈당조절 효과는 관찰할 수 없었다. 또한 유사한 평균 혈당 수치를 관찰할 수 있었다(그림 28).

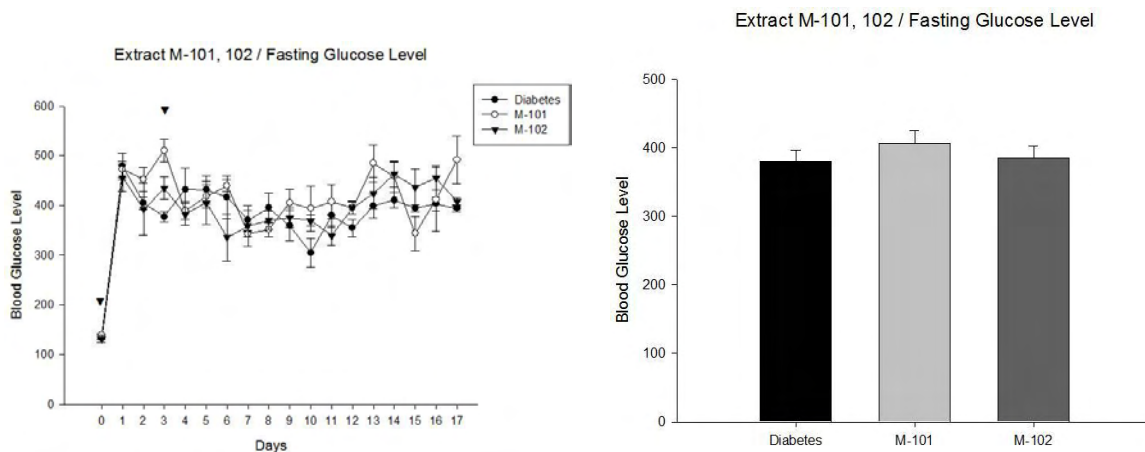


그림 28. 추출물M-101/M-102에 의한 공복혈당의 변화.

- Extract M-101,102 2주간 투여 후 Glucose Tolerance Test (IPGTT)를 시행하였다. IPGTT 시행전 fasting 과정에서 다수의 실험모델이 죽게 되었다(그림 29).

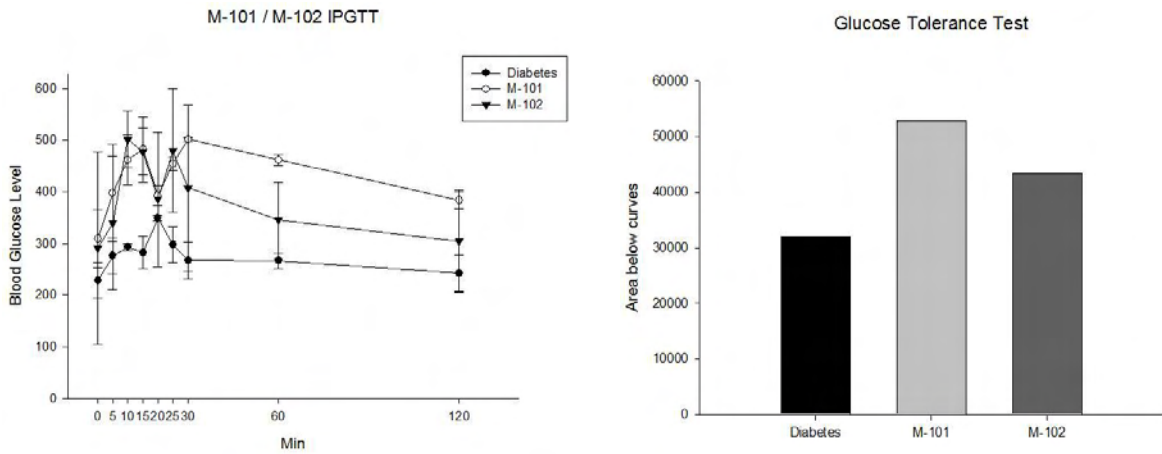


그림 29. 추출물M-101/M-102에 의한 내당능의 변화.

(7) 인삼 Extract S-201/S-202 투여에 따른 항당뇨 및 혈당조절 작용기능 관찰

- Wild type rat에 STZ 투여 후 3일째부터 Extract S-201/202를 gastric intubation 방법으로 1일 2회 투여 하였으며, 충분한 먹이 섭취 후 혈당수치(random blood glucose level)를 확인하였다. Extract S-201/202를 투여한 그룹에서 혈당 조절 효과는 볼 수 없었다. 당뇨병 모델과 비교하였을 때 Extract S-201/202 모두 유사한 평균 혈당수치를 관찰할 수 있었다(그림 30).

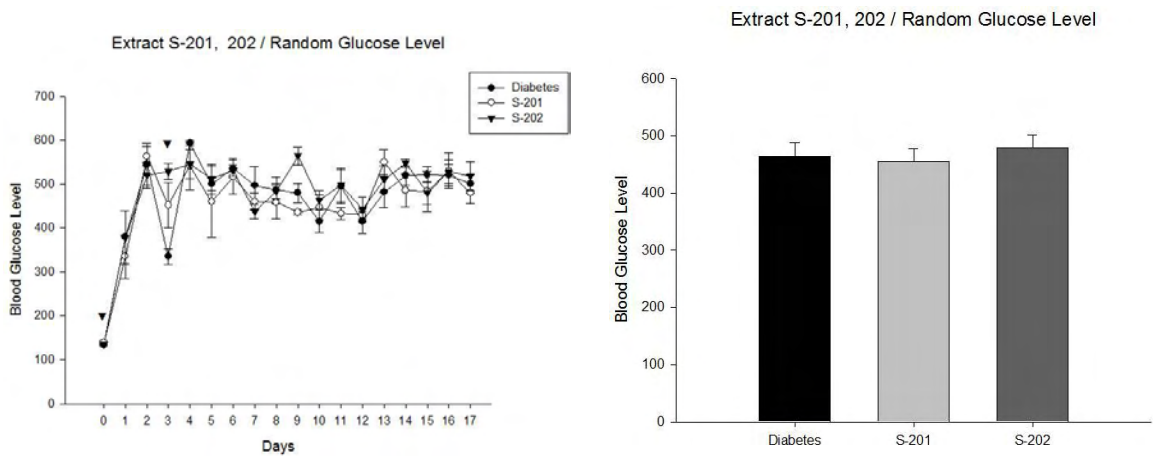


그림 30. 추출물S-201/S-202에 의한 임의혈당의 변화.

- 4-5시간 금식 후 Fasting blood glucose level을 확인하였다. Extract S-201/202를 투여 한 그룹에서 혈당조절 효과는 관찰할 수 없었다. 또한 유사한 평균 혈당 수치를 관찰할 수 있었다(그림 31).

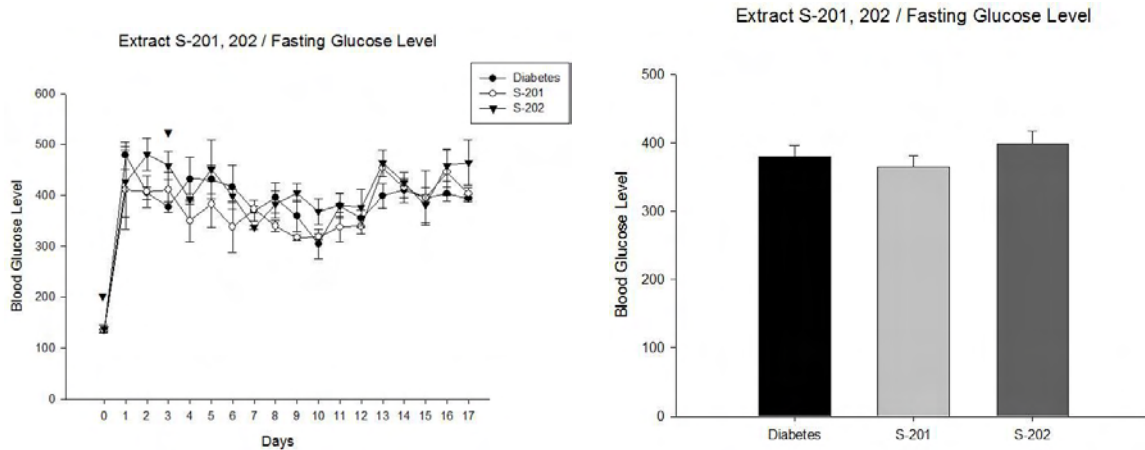


그림 31. 추출물S-201/S-202에 의한 공복혈당의 변화.

- Extract S-201,202 2주간 투여 후 Glucose Tolerance Test (IPGTT)를 시행하였다. IPGTT 시행전 fasting 과정에서 다수의 실험모델이 죽게 되었다(그림 32).

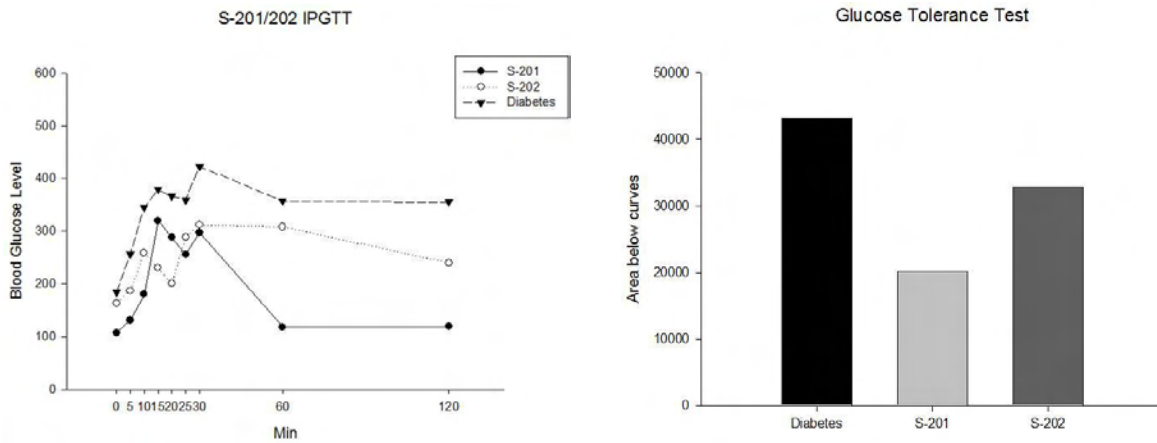


그림 32. 추출물S-201/S-202에 의한 내당능의 변화.

- Extract S-201,202 그룹과 당뇨병 질환모델간의 IPGTT를 확인해 보았다(그림 33).

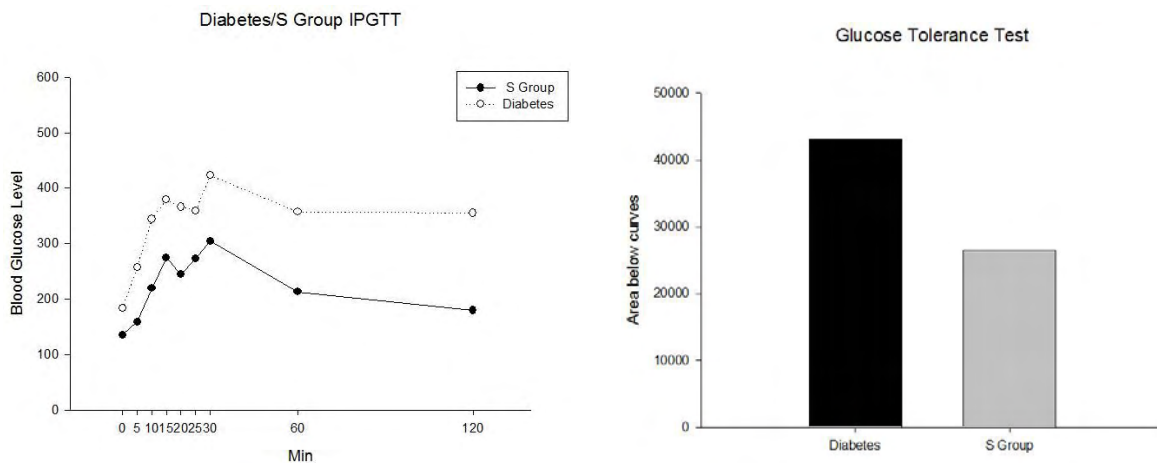


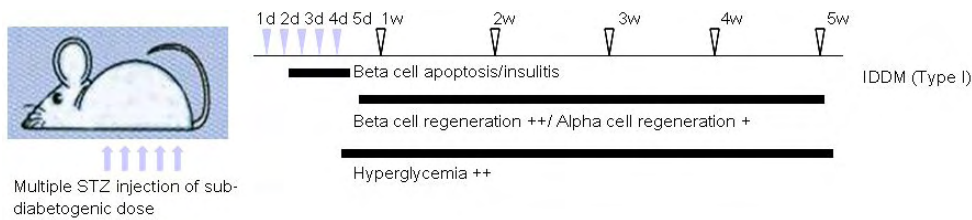
그림 33. 추출물S-201/S-202에 의한 내당능의 변화.

표 2. 최종결과

Ginsenosides	Anti-diabetic effect
Compound Q1	?
Saponin X	(-)
Extract A	(-)
Extract B	(-)
Extract C	(-)
Extract D	(-)
Extract E	(-)
Extract C-301	(-)
Extract C-302	(-)
Extract M-101	(-)
Extract M-102	(-)
Extract S-201	partially positive/ on processing
Extract S-202	partially positive/ on processing

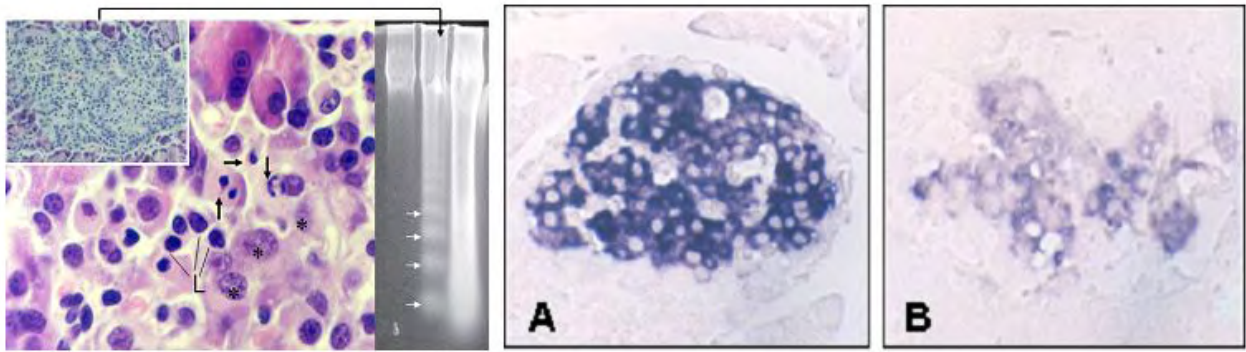
2. 당뇨모델 제작 및 이용

(1) **저용량 streptozotocin의 반복투여 당뇨병 모델** (Multiple sub-diabetic dose streptozotocin injection model) 제작: 실험동물인 SD rat에 streptozotocin(40mg/kg-bw)을 5일간 연속 주사하여 제1형당뇨모델을 제작하였다(아래그림 1 참조).



<그림 1>

1) **췌장조직 변화:** 이러한 실험모델에서는 insulinitis에 의한 베타세포로 특징적인 제1형 당뇨병을 유발시키나, 베타세포의 파괴 후에는 알파세포의 동반 재생이 관찰되었다. 당뇨가 나타나는 개체의 췌장소도에서는 림프구나 대식세포의 침윤과 베타세포의 사멸이 나타났고 림프구 침윤은 streptozotocin의 투여 과정 중, 3-5회 주사일에서 뚜렷하게 관찰할 수 있었으며 (그림 2의 왼쪽 상단 사진)과 가운데 L로 표시) 이때 시작되는 베타세포의 사멸은 최종 주사 후 3-4일 까지 진행되었다. 이 모델에서의 베타세포 사멸은 전형적인 apoptosis를 나타내는데, 파괴되는 베타세포에 핵농축과 apoptosis body가 잘 관찰되며 (아래그림 2의 화살표), 알파세포는 streptozotocin투여 1주 후에 빠른 증식을 보이나 그 이후 시기에서는 증식이 나타나지 않았다. 이 조직에서 DNA를 추출하여 전기영동한 결과 뚜렷한 fraction현상이 나타났다(그림2의 오른쪽 사진).



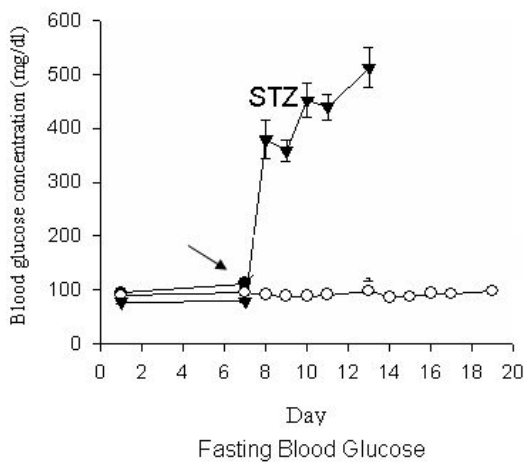
<그림 2>

<그림 3>

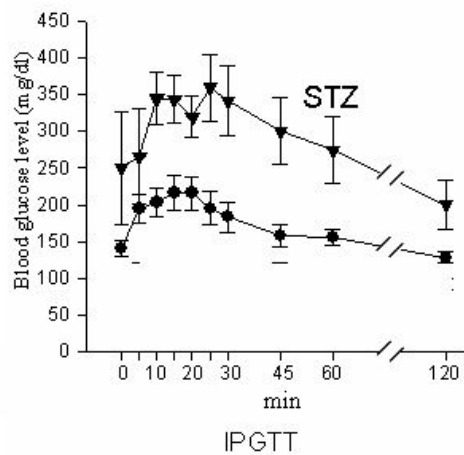
이때 췌장에서 인슐린을 분비하는 세포들의 모임인 Langerhans islet (이자섬)에 대하여 insulin mRNA의 발현을 나타내는 in-situ hybridization을 시행한 결과 정상조직에서는 거의 모든 베타세포에서 다량의 insulin mRNA의 발현이 관찰되었으나 (그림 3의 A), 당뇨모델에서는 매우 미약하게 발현되어 나타났다(그림 3의 B).

2) 고혈당발현: 당뇨를 나타내는 동물에서 미정맥 채혈 및 glucosemeter를 이용하여 고혈당 당뇨병 질환 모델을 확인한 결과 STZ 투여 후 300 mg/dl 이상의 혈당 수치를 나타내 고혈당이 나타나는 것을 확인하였다 (그림 4의 STZ/ ○:정상대조군).

3) 내당능 (glucose tolerance)과 내당능 장애(IGT, impaired glucose tolerance): 생체가 정상적으로 포도당을 대사할 수 있는 능력을 내당능(glucose tolerance)이라 한다. 고혈당증은 이러한 내당능의 저하에 기인하고 고혈당은 내당능장애(impaired glucose tolerance, IGT)를 나타낸다. 당뇨개체의 경우 OGTT 검사이후 정상군에 비해 혈당농도가 지속적으로 높게 나타나 전형적인 내당능장애를 나타냈고, 2시간 경과 후 혈당농도가 7.8-11.1 mmol (140-200 mg/dl)이상을 보였다 (그림5의 STZ/ ●:정상대조군).



<그림 4>

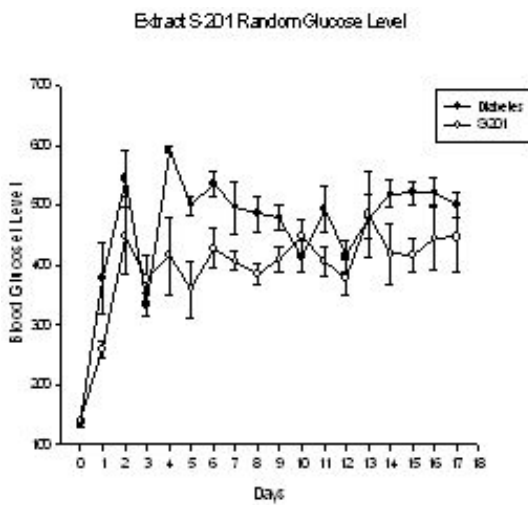


<그림 5>

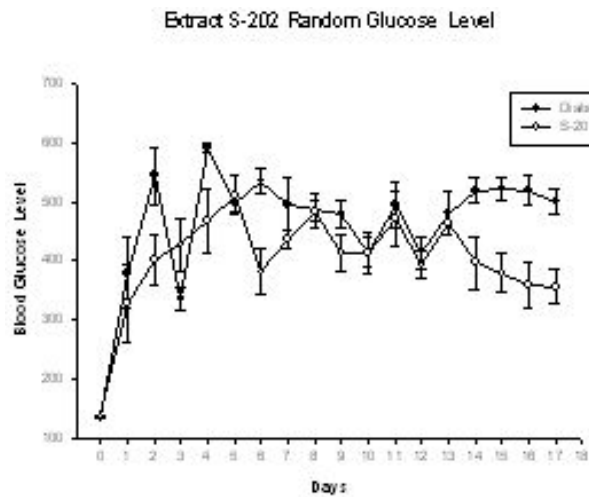
2. Ginsenoside의 항당뇨 및 혈당조절 작용기능 유효성 검증: 위와 같이 제작된 당뇨모델을 이용하여 2년차 연구에서 내당성검사 (glucose tolerance test)에서 항당뇨효과의 가능성이 제시되었던 S-201과 S-202에 대한 항당뇨 및 혈당조절 유효성을 검증하였다.

1) Random glucose level(비금식 혈당농도)조절

금식시키지 않은 상태에서의 혈당농도의 변화는 s-201, 202 모두 streptozotocin을 투여하여 당뇨를 유발시킨 12일까지는 특이한 혈당농도 조절효과를 보여주지 못하였으나 12일 이후 부터는 뚜렷한 혈당조절 효과를 나타냈다 (그림 6-7). 특히 S-201의 경우에는 당뇨유발 초기(3-4일) 이후에도 약간의 혈당조절 효과가 나타났다.



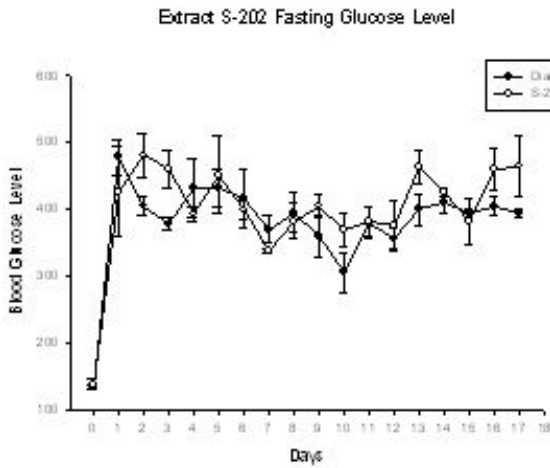
<그림 6>



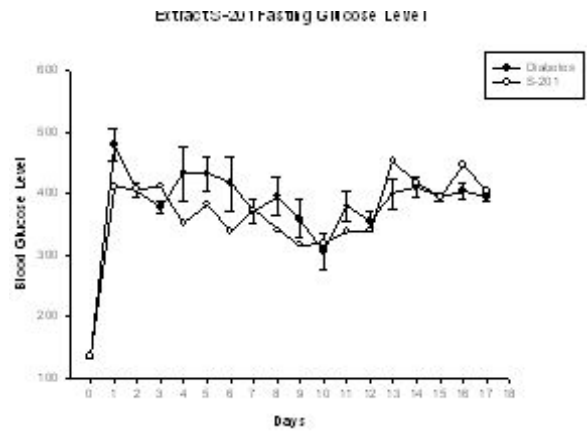
<그림 7>

2) 금식 혈당농도 (fasting glucose level)조절

Random glucose에 대한 조절효과를 보인 S-201 과 202에 대하여 금식혈당변화를 관찰한 결과 두 시료 모두 만족할 만한 금식혈당조절 효과는 나타내지 못하였다. 즉 두 시료 모두 금식혈당이 300mg/이 이상으로 당뇨대조군의 것과 비슷한 양상이 있다 (그림 8-9).

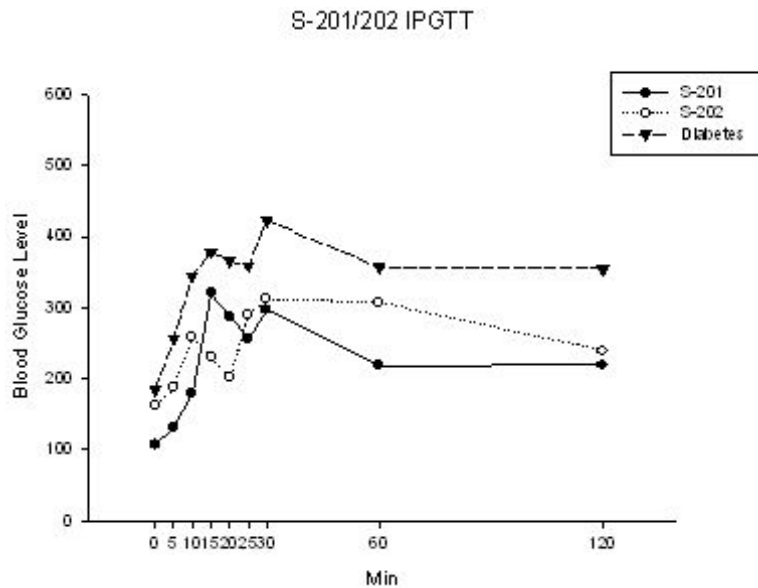


<그림 8>



<그림 9>

3) 내당능 검사: S-201 과 S-202를 2주간 투여 후 Glucose Tolerance Test (IPGTT)를 시행한 결과 아래 그림 (그림 10)과 같이 당뇨대조군에 비하여 뚜렷한 내당능 조절 효과를 나타냈다. 특히 이들은 glucose 투여 초기반응 (5-30분)에서 더 잘 반응하고 있음을 나타냈다.

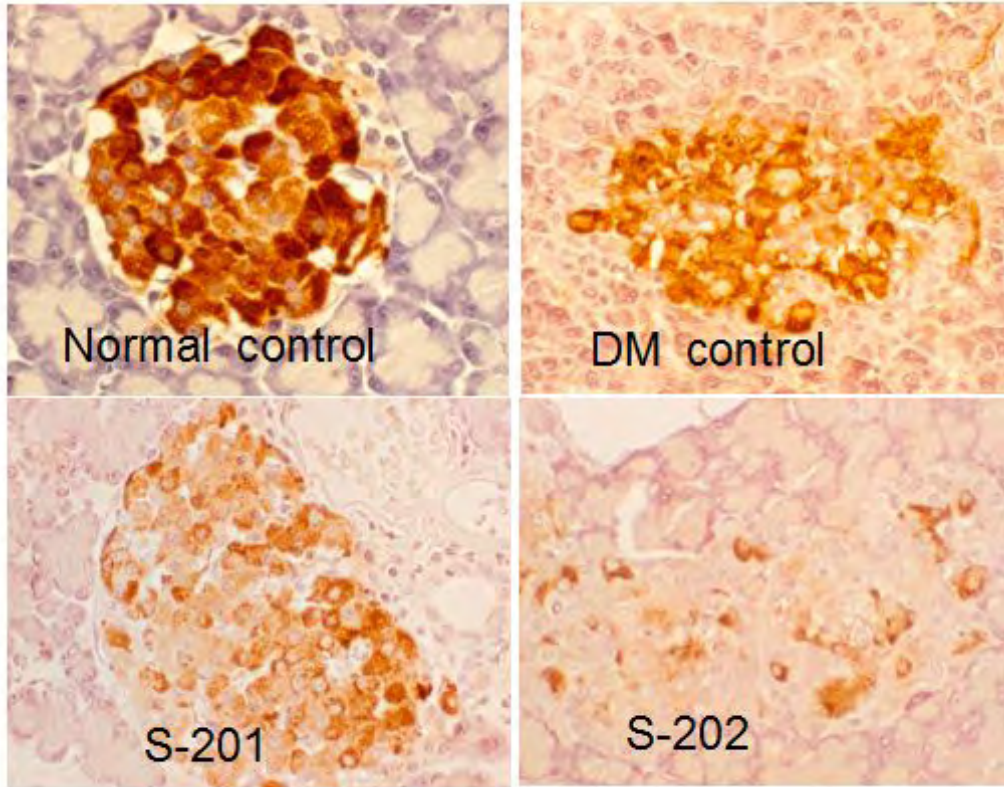


<그림 10>

3) 인슐린 농도변화 : 실험 28일에 정맥혈에서 인슐린 농도를 측정된 결과 S-201과 S-202투여군에서 각각 $6.75 \pm 1.15 \text{ ng/ml}$ 와 $5.11 \pm 1.05 \text{ ng/ml}$ 로 당뇨군(5.00 ± 1.070)보다는 다소 높았으나, 통계적으로 유의성은 없었고 정상대조군 ($13.4 \pm 1.39 \text{ ng}$) 에 비하여 현저히 낮은 수준이었다 (그림 11).

<그림 11>

- 4) 췌장 조직변화 : STZ에 의해 베타세포 손상 후 인삼 진세노사이드 투여에 따른 조직병리검사 (hematoxylin & eosin) 및 조직면역화학법(immunocytochemistry)을 시행하였다. 조직병리검사 결과 당뇨병 질환동물에서 손상된 이자섬과 파괴된 인슐린 분비세포를 보였다. 그에 비하여 인삼 진세노사이드 s-201을 투여한 개체에서는 비교적 덜 파괴된 베타세포와 인슐린 면역반응성 (아래그림 12 참조)을 나타냈다. 이에 비하여 s-202를 투여한 실험군에서는 당뇨대조군에 비하여 인슐린을 분비하는 베타세포의 viability는 향상되어 있었지만 insulin 면역 반응성은 정상대조군이나 S-201투여군에 비하여 약화 된 상태로 관찰되었다. 이와 같은 결과는 s-202 또는 S-202투여 결과 베타세포의 손상을 완화시켜 인슐린 분비를 가능하게 하지만 고혈당으로 인한 인슐린 필요량이 부족하여 실제 베타세포에 포함되어 있는 인슐린의 양은 많지 않은 것으로 풀이된다.



<그림 12>

5) S-201과 S-202의 항당뇨 효과 검증에 대한 중간 평가: S-202과 202는 Random glucose level 과 내당능 (glucose tolerance)에서는 유의한 항당뇨 효과를 나타냈고 이는 인슐린을 분비하는 베타 세포가 잘 보존되어 향상된 인슐린 분비에 의한 현상으로 판단된다. 이중 S202이 보다 낮은 항당뇨 효능을 보이고 있다. 그러나 이 두 ginsenoside가 금식혈당을 조절하지 못하는 것으로 나타나 이에 대한 추가 실험이 요구된다. 그러므로 이 두 가지 ginsenoside에 대한 보완 실험을 거쳐 임상실험 진입여부를 결정하여야 할 것으로 생각된다.

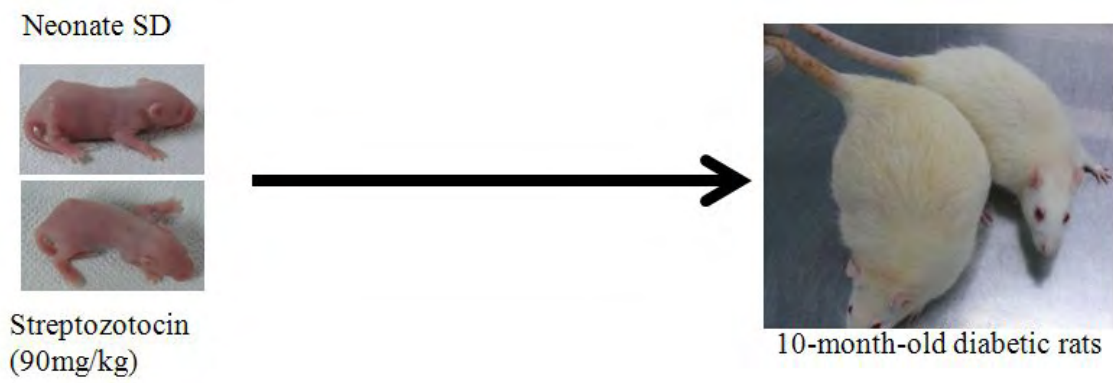
I. 진세노사이드의 항당뇨 효능분석을 위한 실험동물모델 제작

지금까지 혈당조절을 위해 개발된 기능성식품의 평가 모델로 거의 대부분 streptozotocin이나 alloxan 에 의해 고혈당이 유도된 동물모델을 이용하고 있다. Streptozotocin과 alloxan모두 베타세포를 선택적으로 파괴시켜 인슐린결핍으로 인한 고혈당을 유발시킨다. 두 물질 모두 동물특이적인 반응을 나타내는데, 평가모델로 많이 이용되는 rat 이나 mouse와 같은 소형 설치류의 경우 베타세포특이독성 (beta cell specific toxicity)이 더 높은 streptozotocin이 추천되고 있다. 그러나 streptozotocin의 경우에도 투여 양, 투여 경로, 동물의 age에 따라 나타나는 고혈당 또는 당뇨의 현상이 다르다. 특히 현재의 평가

모델로 가장 많이 이용되고 있는 고용량 단회 투여방법 (single high dose streptozotocin, SHDS)은 베타세포의 대량괴사로 인한 급격한 고혈당을 비가역적으로 유발시키기 때문에 기능성식품의 효과를 적절히 평가할 수 없다. 그러므로 이에 대한 새로운 평가모델의 개발이 매우 중요하다. 이에 따라 본 연구에서는 인삼추출물에 대한 항당뇨 효과를 검증하기 위한 동물모델을 새롭게 제작 이용하고 있다.

1. Neonate-streptozotocin 당뇨모델의 제작과 이용: 당뇨병은 원인에 따라 나타나는 고혈당의 유형이 다르며, 이에 따라 고혈당의 변화를 측정할 수 있는 방법과 다양한 모델이 개발되고 있다. 즉 당뇨병의 유형 (제1형 또는 제 2형)과 비만의 동반 여부 등 각 유형에 따라 여러 종류의 동물모델과 실험모델이 보고되어 있으며, 목적에 따라 알맞는 모델을 선택하여야 할 것으로 판단된다. 항당뇨 연구에 일반적으로 이용되고 있는 성체동물에 streptozotocin (STZ)을 투여하여 제작하는 당뇨실험모델은 인슐린을 분비하는 췌장베타세포를 선택적으로 파괴함으로써 고혈당을 유도하는 유형이다. 이 동물모델은 베타세포의 비가역적 파괴로 인해 과도한 고혈당이 나타나는 제1형 당뇨병 모델로 이는 우리나라에서는 거의 없는 당뇨유형이며, 치료제가 아닌 기능성식품의 효능을 검증하는데 무리가 있는 것으로 보인다. 이를 극복하기 위하여 본 연구에서 제작-이용한 neonate streptozotocin모델은 생후 1-2일의 신생 Sprague-Dawley rat에 STZ를 투여하여 성체가 되었을 때 중등도의 고혈당과 인슐린저항성을 나타낸다. 이 모델은 오랜 제작기간과 비용이 요구되지만 우리나라에서 나타나는 비비만성 2형 당뇨모델로 인삼추출물과 같은 기능성식품의 효능을 검증하는데 알맞다.

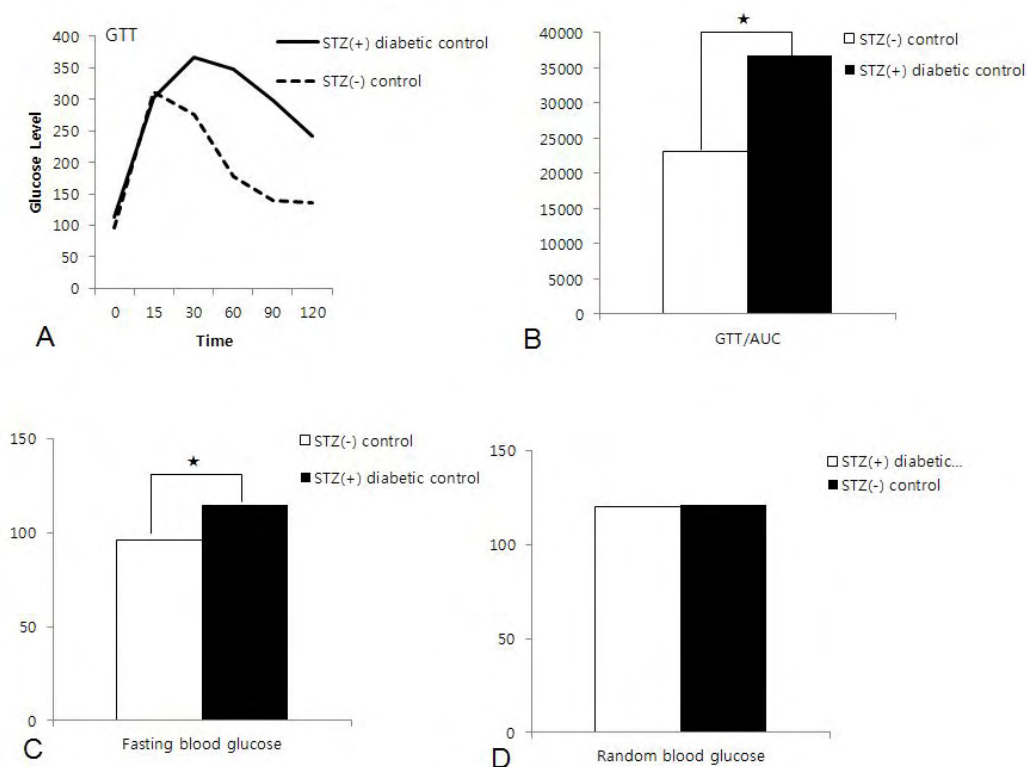
1)제작방법: 생후 2일된 흰쥐의 복강에 streptozotocin (90mg/kg)을 주사하고 10개월 이상 혈당과 당부하검사 (GTT, glucose tolerance test)와 몸무게 변화를 몸무게 변화를 관찰하고 당뇨가 나타나는 개체를 선별한다. 일반적으로 STZ주사 1-2일에 70%정도가 폐사하며, 살아남은 개체 중에서도 30-40% 정도가 실험에 이용할 수 있는 고혈당과 인슐린 저항성을 보인다.



[Neonate-STZ 당뇨모델 제작]

2) 인삼 추출물 투여 전 대조군의 분석

중등도의 고혈당과 인슐린저항성이 나타나는 개체를 10-12주 동안 반복적으로 혈당과 GTT를 측정하여 인삼 추출물 투여전 대조군의 실험 data로 이용하였다. Neonate-STZ모델의 당뇨발현 결과를 보면, STZ 투여 후 10개월경과 후 당뇨가 유발된 개체들은 모두 정상 대조군에 비하여 공복혈당이 유의성 있게 증가되어 있었고(96 vs 115 mg/dl),사람에서는 정상과 당뇨판정이 기준 (110-125mg/dl)로 IFG (impaired fasting glucose)로 나타났으며(그림 2C). 식후 2시간 후의 혈당은 240mg/dl로 고혈당의 당뇨를 나타냈다. 더욱이 이들에 대한 GTT 검사에서는 정상군에 비하여 심각한 정도로 당부하를 조절하지 못하는 것으로 분석되었다 (그림 2A, B). 그러나 이들의 random blood glucose는 정상과 차이를 나타내지 않았다. 이러한 결과를 종합하여 보면 neonate STZ 당뇨모델은 당부하 조절이 빈약한 중등도의 당뇨를 나타내는 것으로 판단되었다.



[Fig.2. Diabetic analysis of the Neonate STZ model by GTT (A, B), fasting blood glucose (C) and Random blood glucose levels (D).]

3) 당뇨유발결과 및 실험군 선택: 총 184마리의 신생 SD-rat에 STZ를 투여하여 10개월 관리한 결과 35개체가 생존하였고 이중 27개체에서 공복혈당과 당부하검사를 통해 당뇨가 유발된 것을 확인하였다.

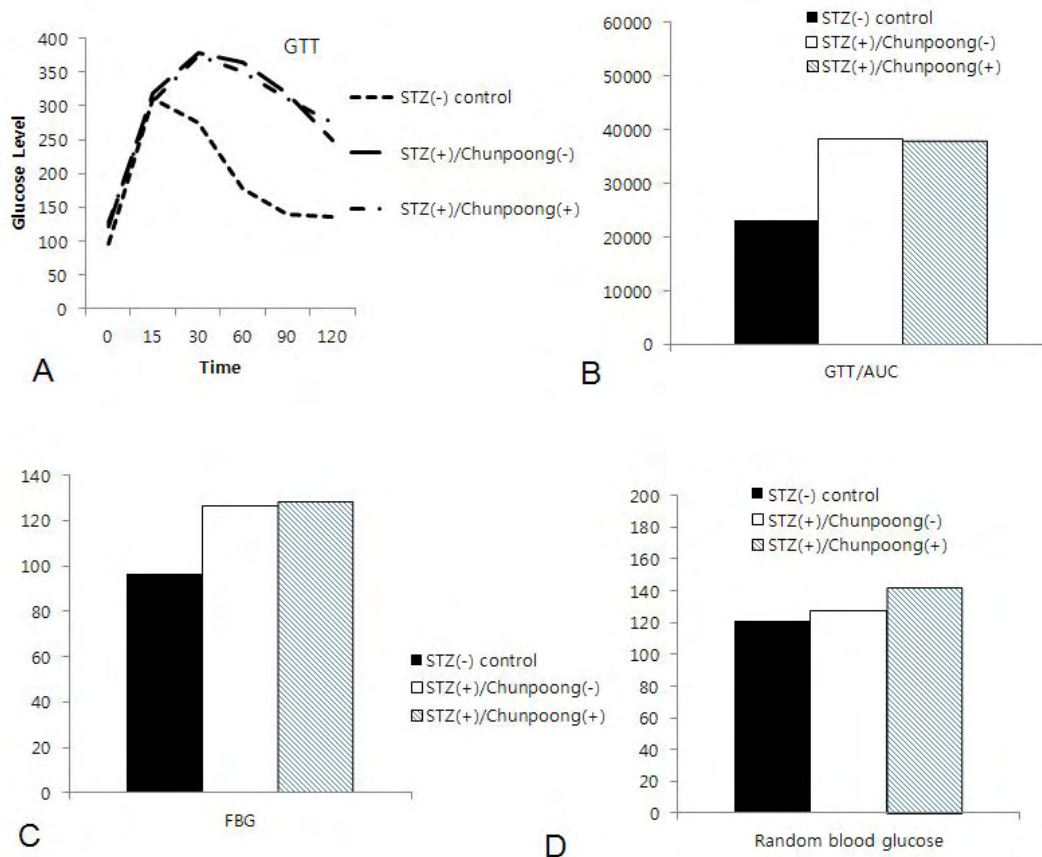
II. 인삼추출물의 항당뇨효과 분석

인삼 추출물 투여: 당뇨가 나타나는 10개월령 이상의 개체에 인삼 추출물 시료 (천풍, GK-1)를 음용수 (1g/l)에 넣어 투여하면서 혈당농도 (random blood glucose, fasting blood glucose) 와 GTT를 측정하였다.

1. 천풍 추출물의 효능검증: 당뇨가 유발된 5마리의 개체에 천풍을 투여하면서 항당뇨 효과를 검증한 결과 천풍추출물은 random blood glucose, fasting blood glucose 와 GTT를 모두 개선하지 못하는 것으로 평가되고 있다 (그림 4).

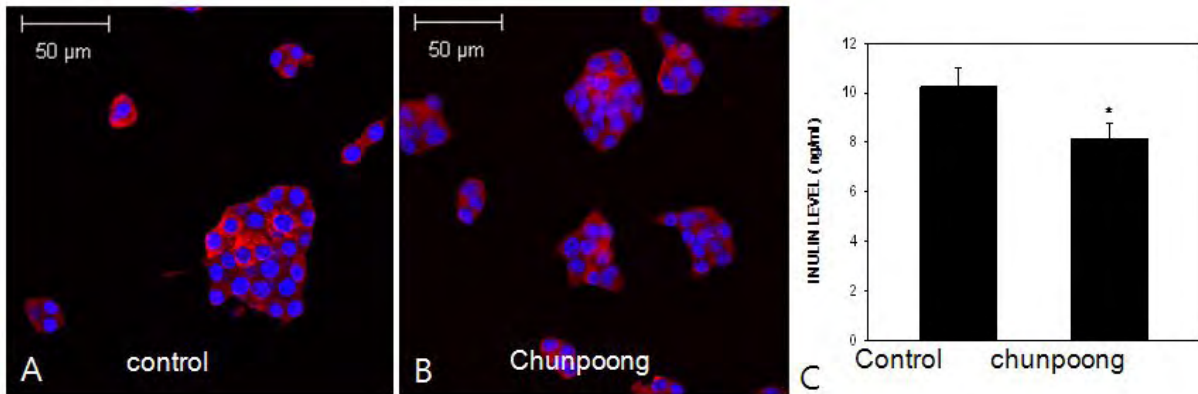
1)당부하 검사 (glucose tolerance test): 천풍을 투여하는 당뇨개체에 체중 kg당 75g의 glucose 를 투여한 뒤 일정한 시간 (0, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 120 및 180분)에 혈당을 측정하였다. 이를 주 1회씩 4주간에 걸쳐 시행한 결과 아래와 같이 당부하를 개선하지 못하는 것으로 나타났다 (그림 3A, B).

2) Fasting blood glucose/Random blood glucose:천풍 추출물의 투여로 인하여 금식혈당및 식 후 혈당은 개선되지 않는 것으로 판정되었다 (그림 3 C, D).



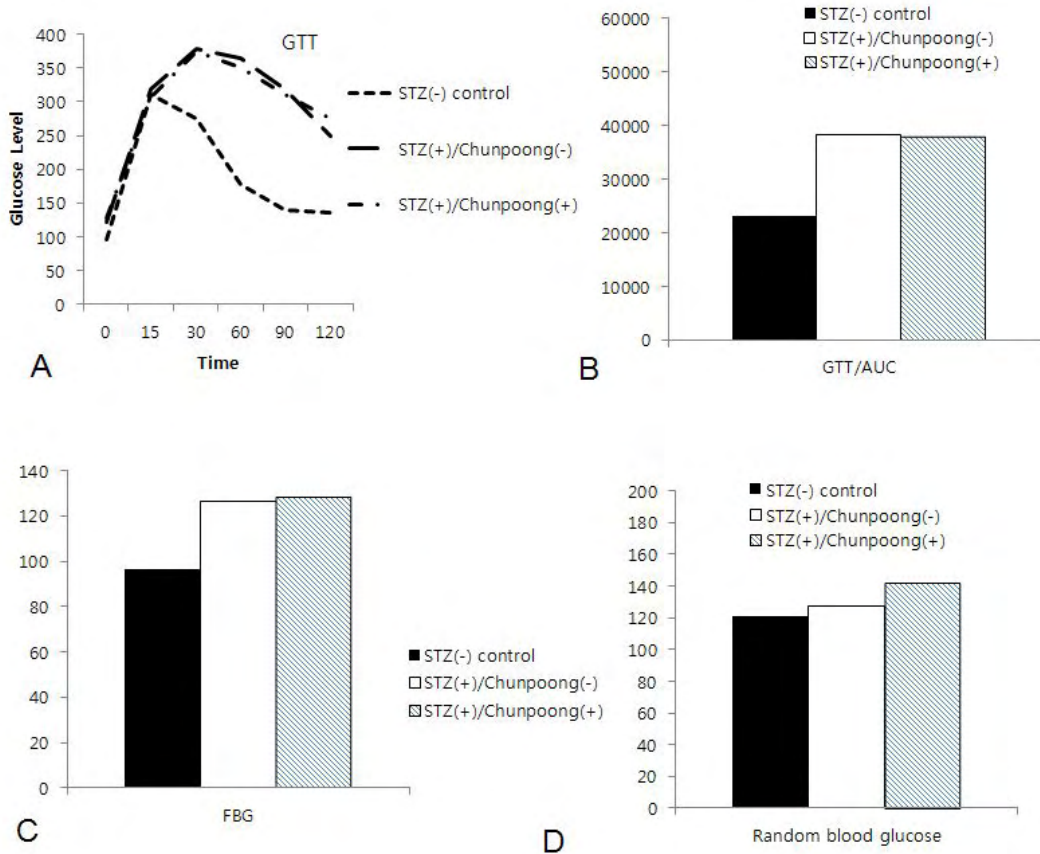
[Fig. 2. Glucose tolerance test examined in the diabetic rats treated with ginseng extract (chunpoong). Figure A shows sequential GTT data for 11 consecutive weeks which were summarized in B. It shows that rats treated with chunpoong did not improve their impaired glucose tolerance (IGT). Fasting blood glucose (FBG) and Random blood glucose (RBG) levels were analysed in C and D, respectively.]

3) 베타세포에 대한 인슐린 분비능검사: 인삼 추출물이 베타세포의 인슐린 분비능을 개선시키는지
 를 분석하기 위하여 베타세포주인 INS-1을 이용하여 천풍추출물을 1:1000으로 희석시켜 1일
 동안 처리한 후 세포와 배지에서 인슐린의 발현과 농도를 측정하였다. 그 결과 천풍추출물은
 베타세포의 인슐린 분비를 다소 억제시키는 것으로 나타났다 (그림 4).



[Fig.3. Confocal microscopy shows immunofluorescence labeling in control(A) and chunpoong treated INS-1 cells (B). A weak immunolabeling was observed in chunpoong-treated cells, while a significantly lower level of insulin was detected in the culture media of chunpoong-treated cells compared with that of the control in C.]

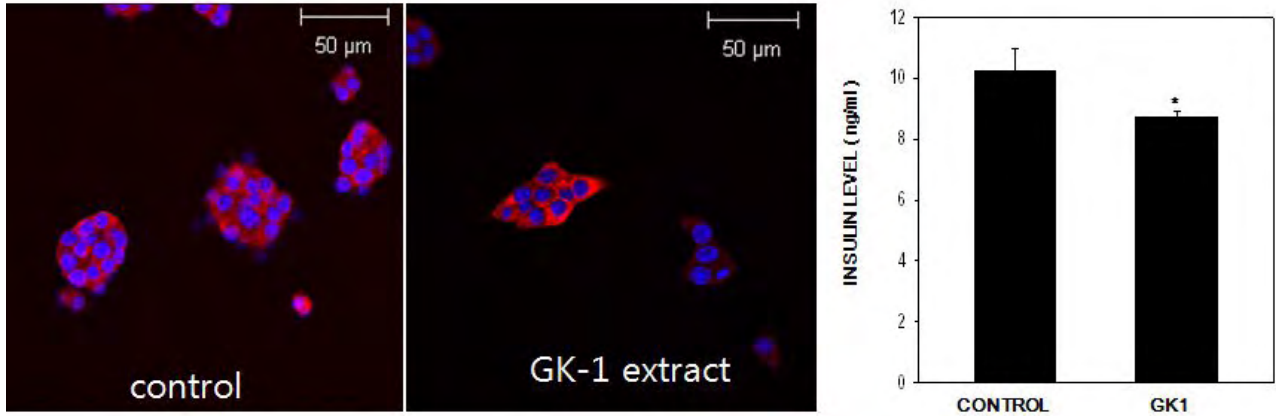
2. GK-1 추출물의 효능검증 : 당뇨가 유발된 5마리의 개체에 천풍을 투여하면서 항당뇨 효과를 검증한 결과 K-1은 random blood glucose 및 fasting blood glucose의 개선에는 유효한 결과를 나타내지 않았지만 당부하를 유의성 있게 개선하는 것으로 평가되고 있다.



[Fig. 2. Glucose tolerance test examined in the diabetic rats treated with ginseng extract (GK-1). Figure A shows sequential GTT data for 11 consecutive weeks which were summarized in B. It shows that rats treated with GK-1 significantly improve their glucose tolerance (A, B), but not for FBG and RBG. Fasting blood glucose (FBG) and Random blood glucose (RBG) levels were analysed in C and D, respectively.]

- 1) 당부하 검사 (glucose tolerance test): 인삼 추출물 K-1을 투여하는 당뇨개체에 체중 kg당 75g의 glucose를 투여한 뒤 일정한 시간 (0, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 120 및 180분)에 혈당을 측정하였다. 이를 주 1회씩 12주간에 걸쳐 시행한 결과 아래와 같이 당부하를 뚜렷이 개선하는 것으로 나타났다 (그림 5 A, B).
- 2) Fasting blood glucose/Random blood glucose: GK-1 추출물의 투여로 인하여 금식혈당 및 식후 혈당은 개선되지 않는 것으로 보였다 (그림 5 C, D).
- 3) 베타세포에 대한 인슐린 분비능검사: 인삼 추출물이 베타세포의 인슐린 분비능을 개선시키는지 분석하기 위하여 베타세포주인 INS-1을 이용하여 GK-1을 1:1000으로 희석시켜 1일 동안

처리한 후 세포와 배지에서 인슐린의 발현과 농도를 측정하였다. 그 결과 천풍추출물은 베타 세포의 인슐린 분비를 다소 억제시키는 것으로 나타났다 (그림 6). 이는 GK-1의 항당뇨효과가 베타세포의 인슐린 분비를 촉진하여 나타나는 것이 아니라, 말초조직에서 인슐린저항성을 완화시킨 결과로 당뇨가 개선되는 것임을 나타내는 것이다.



[Fig.6. Confocal microscopy shows immunofluorescence labeling in control(A) and GK-1 treated INS-1cells (B). A weak immunolabeling was observed in GK-1 treated cells, while a significantly lower level of insulin was detected in the culture media of GK-1-treated cells compared with that of the control in C.]

3핵심 3세부

승열 반응에 미치는 고려인삼과 화기삼의 인체 승열반응 영향 평가 기준 마련하기 위하여 연구에 적용 가능한 지표를 다국적 팀을 통한 공동개발을 목표로 중국측 공동 연구기관과의 연구 수행 협약을 완료하였고 수행 가능하도록 체열진단 장비를 북경중의약 대학의 부속병원의 임상평가 연구실에 설치완료하고 임상 시험 디자인을 진행하였다. 임상시험은 randomized placebo-controlled study를 이중 맹검법(double blinded method)으로 시행하기 위한 환자 모델링을 연구하였으며 연구 결과 환자에게 적용 가능한 설문과 기준을 제시하였다.

A. 연구 일정 (研究 日程)

(평가일 : 방문예정일±3일)	스크리닝	치료기간		
	- 14일	1일 (0주)	15일	29일 (4주)
방 문 회 수	1	1	2	4
피험자 동의	0			
기초 조사 ¹⁾	0			
이학적 검사 ²⁾	0	0	0	0
병력/약물 복용력 조사	0			
실험실적 검사 ³⁾	0			
진단기준	0			
선정 / 제외 기준 판정 ⁴⁾		0	0	
체열 촬영		0	0	0
설문 조사		0	0	
이상반응 조사				0
총괄적 유효성 평가				

1) 기초 조사 : 생년월일, 성별, 주소, 신장(신을 벗고 cm 단위로 측정한다), 체중 등을 조사한다.
 2) 이학적 검사 : 혈압, 맥박수(5분간 앉은 자세로 안정을 취한 후 측정하며, 2회 측정 하여 평균값을 기재한다.), 호흡수, 체온
 3) 실험실적 검사 : 검사는 정해진 일정대로 수행하며, 0주와 2주 4주에 측정한다.
 4) 선정/제외기준 판정 : 각각의 스크리닝 검사가 끝난 후 실시한다.

B. 연구방법 요약(研究方法)

① 高麗人參、西洋參及模似劑分別為粉末狀，分裝膠囊，每粒含生藥0.5g，每次服用2粒，每日2次，連續

服用28天(0.5 g 으로 캡슐포장된 고려인삼, 서양삼, 컨트롤 그룹의 캡슐을 1회 2알을 1일 2회 복용 일 총량 2g 복용 총 28일간 복용).

② 服用者随机分为3组, 每组25人。服用者于服用前、服用第15天、服用第29天以红外体温计测量体温并记 (매조 25명씩 3조로 나누어서 복용시작일 , 15일, 29일차 체온측정).

③ 相应体温记录结果应用统计学方法进行比较, 以确认高丽参对服用者体温的影响。同时, 对气虚证、健康者、其它证型患者分三类应用统计学方法进行比较, 以区别高丽参与西洋参作用的不同(측정된 체온 분포 특성에 대한 통계처리 및 체질과 병증에 대한 영향 분석(체온측정전 체질 및 기왕력, 기타 현증에 대한 진단).

C. 임상 시험 평가 표준 계획의 기록

(1) 일반자료(一般资料) : 연령, 성별, 혼인력, 직업, 키, 체중, 약물과민 등 기록

年龄	_____ 周岁
性别	<input type="checkbox"/> 男 <input type="checkbox"/> 女
婚姻状况	<input type="checkbox"/> 已婚 <input type="checkbox"/> 未婚
民族	<input type="checkbox"/> 汉族 <input type="checkbox"/> 其它, 请注明 _____
工作性质	<input type="checkbox"/> 体力 <input type="checkbox"/> 非体力, 请说明 _____
身高	_ _ _ _ cm
体重	_ _ _ _ kg
联系电话	
地址	
药物过敏	<input type="checkbox"/> 无 <input type="checkbox"/> 有 如有, 请记录: 药物名称/类别: 反应类型/表现((如皮疹等)

(2) 과거병력, 임상평가전 기타병력, 과거 치료받았던 내용 등 기록

病史记录

病程: _____ 年 _____ 月

序号	疾病名称
1	
2	

入选时合并其他疾病: 无 有 如“有”,请填下表:

既往治疗

药物治疗 无 <input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 如“有”，请在下面记录：			
药物名称 (请写通用名, 复方药写商品名)	剂量和用法	开始日期 (年/月/日)	停药日期 (年/月/日)
		/ /	/ /
非药物治疗/手术 无 <input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 如“有”，请在下面记录：			
治疗/手术	开始日期(年/月/日)		
	/ /		

既往治疗史

(3) 현재 질병유무 진단, 일반적임상평가(혈압, 맥박, 심장박동 등), 현재증상의 진단 등 기록

本次入选疾病诊断

中医诊断	<input type="checkbox"/> 气虚证	<input type="checkbox"/> 健康人	<input type="checkbox"/> 其它
------	------------------------------	------------------------------	-----------------------------

一般体格检查

观察项目	单位	观察结果	临床意义判定
心率	次/分		1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/>
血压	mmHg	/	
心律		<input type="checkbox"/> 齐 <input type="checkbox"/> 不齐	

症状积分

中医症状	记分
乏力	<input type="checkbox"/> 无0分 <input type="checkbox"/> 轻度1分 <input type="checkbox"/> 中度2分 <input type="checkbox"/> 重度3分
气短	<input type="checkbox"/> 无0分 <input type="checkbox"/> 轻度1分 <input type="checkbox"/> 中度2分 <input type="checkbox"/> 重度3分
懒言	<input type="checkbox"/> 无0分 <input type="checkbox"/> 轻度1分 <input type="checkbox"/> 中度2分 <input type="checkbox"/> 重度3分
声低	<input type="checkbox"/> 无0分 <input type="checkbox"/> 轻度1分 <input type="checkbox"/> 中度2分 <input type="checkbox"/> 重度3分
心悸	<input type="checkbox"/> 无0分 <input type="checkbox"/> 轻度1分 <input type="checkbox"/> 中度2分 <input type="checkbox"/> 重度3分
纳呆	<input type="checkbox"/> 无0分 <input type="checkbox"/> 轻度1分 <input type="checkbox"/> 中度2分 <input type="checkbox"/> 重度3分
头晕	<input type="checkbox"/> 无0分 <input type="checkbox"/> 轻度1分 <input type="checkbox"/> 中度2分 <input type="checkbox"/> 重度3分
大便稀溏	<input type="checkbox"/> 无0分 <input type="checkbox"/> 轻度1分 <input type="checkbox"/> 中度2分 <input type="checkbox"/> 重度3分
自汗	<input type="checkbox"/> 无0分 <input type="checkbox"/> 轻度1分 <input type="checkbox"/> 中度2分 <input type="checkbox"/> 重度3分
舌象	<input type="checkbox"/> 正常 <input type="checkbox"/> 舌淡, 胖嫩 <input type="checkbox"/> 其它舌象
脉象	<input type="checkbox"/> 正常 <input type="checkbox"/> 弱 <input type="checkbox"/> 其它脉象
积分	

(4) 체열진단 기록(体温记录表)

체열진단은 국제 체열진단 표준 기기인 DITI를 기반으로 진단함

(5) 실험 참가자 선발 기준, 실험참가자 배제기준 등 기록

入选标准	是	否
1. 符合中医辨证为气虚证者、健康人或其它。	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. 签署知情同意书。	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. 年龄在18—65岁之间。	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. 2周内未接受相关药物治疗。	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

排除标准	是	否
1. 年龄在18岁以下或65岁以上，妊娠或哺乳期妇女，过敏体质或可能对本药过敏者。	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. 合并有心血管、肝、肾和造血系统等严重原发性疾病。 ① 血肌酐>正常值，血尿素氮>正常值上限20%，蛋白尿>+或/和红细胞>+;	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
② ALT>正常值上限50%;	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
③ 有临床意义的心率失常。	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. 消化性溃疡、胃粘膜糜烂、肿瘤等器质性病变，肝、胆、胰疾病及糖尿病、结缔组织病、神经肌肉等全身性疾病。	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. 精神或法律上的残疾者。	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. 正在参加其他临床试验的患者。	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. 不符合上述纳入标准者。	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. 怀疑或确有酒精、药物滥用病史。	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. 根据研究者的判断、具有降低入组可能性或使入组复杂化的其他病变，如工作环境经常变动等易造成失访的情况。	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

(6) 일반 생체활성 검사, 증상의 패턴분석 등 기록

一般体格检查

观察项目	单位	观察结果	临床意义判定
心率	次/分		1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/>
血压	mmHg	/	
心律	<input type="checkbox"/> 齐 <input type="checkbox"/> 不齐		
呼吸	次/分		

症状积分

中医症状	记分
乏力	<input type="checkbox"/> 无0分 <input type="checkbox"/> 轻度1分 <input type="checkbox"/> 中度2分 <input type="checkbox"/> 重度3分
气短	<input type="checkbox"/> 无0分 <input type="checkbox"/> 轻度1分 <input type="checkbox"/> 中度2分 <input type="checkbox"/> 重度3分
懒言	<input type="checkbox"/> 无0分 <input type="checkbox"/> 轻度1分 <input type="checkbox"/> 中度2分 <input type="checkbox"/> 重度3分
声低	<input type="checkbox"/> 无0分 <input type="checkbox"/> 轻度1分 <input type="checkbox"/> 中度2分 <input type="checkbox"/> 重度3分
心悸	<input type="checkbox"/> 无0分 <input type="checkbox"/> 轻度1分 <input type="checkbox"/> 中度2分 <input type="checkbox"/> 重度3分
纳呆	<input type="checkbox"/> 无0分 <input type="checkbox"/> 轻度1分 <input type="checkbox"/> 中度2分 <input type="checkbox"/> 重度3分
头晕	<input type="checkbox"/> 无0分 <input type="checkbox"/> 轻度1分 <input type="checkbox"/> 中度2分 <input type="checkbox"/> 重度3分
大便稀溏	<input type="checkbox"/> 无0分 <input type="checkbox"/> 轻度1分 <input type="checkbox"/> 中度2分 <input type="checkbox"/> 重度3分
自汗	<input type="checkbox"/> 无0分 <input type="checkbox"/> 轻度1分 <input type="checkbox"/> 中度2分 <input type="checkbox"/> 重度3分
舌象	<input type="checkbox"/> 正常 <input type="checkbox"/> 舌淡，胖嫩 <input type="checkbox"/> 其它舌象 _____

脉象	<input type="checkbox"/> 正常 <input type="checkbox"/> 弱 <input type="checkbox"/> 其它脉象_____
积分	

(7) 실험참가자의 약물 복용 등에 관한 기록, 질병 과거력 및 복용약물

治疗本病合并用药 无 有 如“有”，请填下表：

药名	用法	药量	使用原因	开始时间 年/月/日	减药时间 年/月/日	停药时间 年/月/日

治疗其它疾病合并用药 无 有 如“有”，请填下表：

药名	用法	药量	使用原因	开始时间 年/月/日	减药时间 年/月/日	停药时间 年/月/日

(8) 실험 참가중 발생하는 부작용에 대한 지표

不良事件记录表：是否出现不良反应：否 是 若“是”，请详细填写下列表格：（用标准医学术语）记录所有观察到的和用以下问句“自上次检查后，您有何不同的感觉？”直接询问得出的不良事件尽量使用诊断名称而不使用症状名称。每一栏记录一个不良事件

不良事件名称			
不良事件描述			
发生时间	年 月 日 时	年 月 日 时	年 月 日 时
结束时间	年 月 日 时	年 月 日 时	年 月 日 时
持续时间			
程度	<input type="checkbox"/> 轻 <input type="checkbox"/> 中 <input type="checkbox"/> 重	<input type="checkbox"/> 轻 <input type="checkbox"/> 中 <input type="checkbox"/> 重	<input type="checkbox"/> 轻 <input type="checkbox"/> 中 <input type="checkbox"/> 重
转归	<input type="checkbox"/> 消失 →后遗症 <input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 无 <input type="checkbox"/> 缓解 <input type="checkbox"/> 持续 <input type="checkbox"/> 死亡	<input type="checkbox"/> 消失 →后遗症 <input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 无 <input type="checkbox"/> 缓解 <input type="checkbox"/> 持续 <input type="checkbox"/> 死亡	<input type="checkbox"/> 消失 →后遗症 <input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 无 <input type="checkbox"/> 缓解 <input type="checkbox"/> 持续 <input type="checkbox"/> 死亡
对试验药物采取的措施	<input type="checkbox"/> 持续使用 <input type="checkbox"/> 减小剂量	<input type="checkbox"/> 持续使用 <input type="checkbox"/> 减小剂量	<input type="checkbox"/> 持续

	<input type="checkbox"/> 药物暂停后又使用 <input type="checkbox"/> 停用	<input type="checkbox"/> 药物暂停后又使用 <input type="checkbox"/> 停用	<input type="checkbox"/> 使用 <input type="checkbox"/> 减小剂量 <input type="checkbox"/> 药物暂停后又使用 <input type="checkbox"/> 停用
与试验药物的关系	<input type="checkbox"/> 肯定 <input type="checkbox"/> 很可能 <input type="checkbox"/> 可能 <input type="checkbox"/> 可疑 <input type="checkbox"/> 不可能	<input type="checkbox"/> 肯定 <input type="checkbox"/> 很可能 <input type="checkbox"/> 可能 <input type="checkbox"/> 可疑 <input type="checkbox"/> 不可能	<input type="checkbox"/> 肯定 <input type="checkbox"/> 很可能 <input type="checkbox"/> 可能 <input type="checkbox"/> 可疑 <input type="checkbox"/> 不可能
是否给予了纠正治疗	<input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/> 是 如是, 请记录:	<input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/> 是 如是, 请记录:	<input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/> 是 如是, 请记录:
是否因不良事件退出试验	<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 否	<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 否	<input type="checkbox"/> 是 <input type="checkbox"/> 否

(9) 시험참가자의 진행 및 중지 기록

完成临床试验情况：

完成 未完成， 如为“未完成”者， 请选择并填写以下原因表：

未完成试验归类	时间 (第几天)	未完成试验原因	具体原因
<input type="checkbox"/> 剔除			<input type="checkbox"/> 误诊 <input type="checkbox"/> 误纳 <input type="checkbox"/> 符合排除标准 <input type="checkbox"/> 全未用药 <input type="checkbox"/> 全无检测记录
<input type="checkbox"/> 退出 (脱落)		病人自退	<input type="checkbox"/> 疗效差 <input type="checkbox"/> 难耐受 <input type="checkbox"/> 经济原因 <input type="checkbox"/> 拒绝说明 <input type="checkbox"/> 失访
		医师劝退	<input type="checkbox"/> 依从性差 <input type="checkbox"/> 合并症 <input type="checkbox"/> 转科 <input type="checkbox"/> 不良反应
<input type="checkbox"/> 全面中止试验		研究方中止	<input type="checkbox"/> 严重不良反应 <input type="checkbox"/> 疗效太差 <input type="checkbox"/> 方案重大失误 <input type="checkbox"/> 实施严重偏差
		申办方中止	<input type="checkbox"/> 经费原因 <input type="checkbox"/> 管理原因
		行政中止	<input type="checkbox"/> SDA

(10) 실험참가자의 약물 복용 형태 및 관련기록 / 통계처리기준

试验药品服用情况：全部服用 偶尔漏服 1/3未服 1/2以上未服

临床试验依从性 = $\frac{\text{实际服用量}}{\text{处方量}} \times 100\%$
依从性 = $(\text{处方量} - \text{遗漏量}) / \text{处方量} \times 100\%$

疗效评定：(请在相应的括号内划“√”)
中医症状疗效标准：根据积分法判定症状疗效。

疗效指数 (n) = $\frac{\text{总积分}}{\text{满分}} \times 100\%$

(11) 임상시험평가 환자동의서

床试验患者知情同意书

尊敬的患者：

我们请您参加一项中医治疗方案的临床研究。

如果您决定参加本研究，医生将检查您是否符合参加本研究的条件，询问您的健康情况和有关疾病的情况，医生还将对您进行体格检查，包括抽血检查肝肾功能等。在您用药的过程中，请您按医生的要求提供有关记录的内容。

您参加本研究完全是自愿的。我们希望您能坚持完成本研究。如果您在任何时候因为任何原因退出本研究，请与您的医生联系，并完成最后一次就诊时所要求回答的问题，以便医生能完成最后一次就诊要求的所有检查项目。如果您决定退出本研究，将不会影响您与医生的关系，医生将根据您的病情和患者至上的原则对您进行合理的治疗。在您完成本研究后，还要求您在应用最后一次药物及时就诊。

签署了这份知情同意书，即表示您同意参加本研究。

有关您身份的记录都是保密的，只有您的医生清楚。您的临床研究资料将记录在病例报告表上。您的姓名不会出现在任何研究报告和公开出版物中。

我已阅读了患者知情同意书，并且我的医生给我做了完整的解释，我自愿参加本研究，并愿意按研究方案要求与医生合作，完成本次研究内容。我也同意有关方面对照我的原始医疗记录检查核对收集的资料。

3핵심 4세부

◦ IGS의 항알레르기 효과

- IGS에 의한 compound48/80 유도성 전신성 아나필락시 반응 억제

IGS은 인삼함유 처방으로 주로 장질환 개선에 사용된 처방임. 인삼 함유 처방의 새로운 효능을 발굴하기 위한 2차년도 연구에서 IGS의 항알레르기 효과를 연구하게 됨. 먼저 IGS에 의한 전신성 아나필락시반응 실험에서 치사량의 compound48/80으로 마우스를 자극했을 때 IGS을 1g/kg 혹은 0.1g/kg 농도로 처리한 마우스에서 그 치사율이 억제됨을 관찰함(표 1).

표 1. 전신성 아나필락시 반응 억제

IGS concentration (mg/g) ^a	Compound 48/80 (8 ug/g) ^b	Mortality (%) ^c
None(saline)	+	100.0
0.01	+	100.0
0.1	+	50.0
1	+	40.0
1		0.0

- IGS에 의한 compound 48/80 유도성 가려움증 억제 효과

알레르기 반응에서 가려움증은 중요한 임상반응중 하나임. 마우스에서 compound48/80으로 유도한 가려움증이 IGS에 의해 억제 되는지를 관찰함. 그 결과 IGS 1 g/kg 농도에서 가려움증을 억제함이 관찰됨(그림 1).

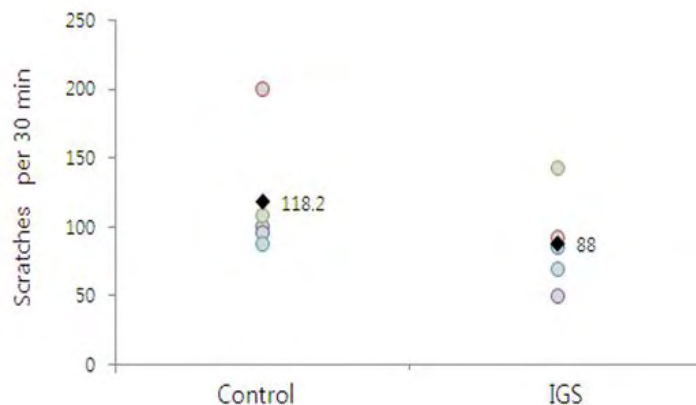


그림 1. 비만세포 탈과립제 compound48/80으로 유도한 가려움증 억제 효과.

마우스에 IGS을 경구투여하고 1시간 후 마우스의 왼쪽 발바닥 피내에 compound 48/80을 주사하

고 30분 동안 마우스가 주사한 발을 이용하여 굽거나 깨무는 행동을 관찰함.

- IGS의 *in vitro* 실험을 통한 항염증 활성

IGS의 세포내 기전을 확인하기 위하여 비만세포를 이용하여 먼저 IGS은 MTT assay를 통해 세포독성이 없음을 확인하고 자극제에 의해 염증성 사이토카인의 분비정도를 관찰함. 그 결과 IGS의 전처리에 의하여 비만세포로부터 분비되는 IL-6의 분비량이 감소함을 알 수 있었고 또한 세포내 신호전달 물질인 ERK의 활성화를 억제함이 관찰되었음(그림 2-4).

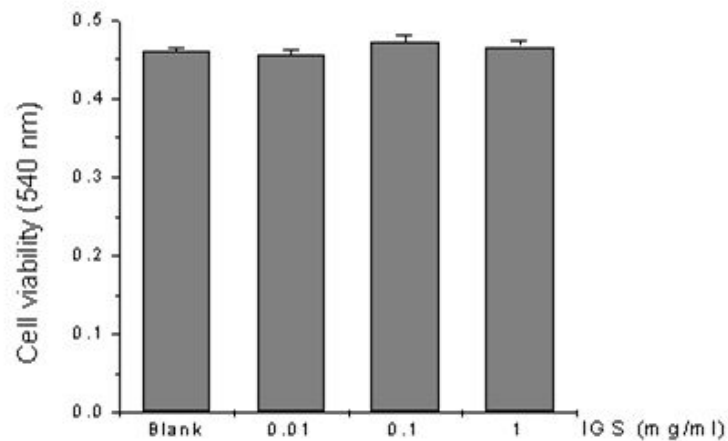


그림 2. IGS의 세포 생존율에 대한 영향분석. IGS을 각 농도별로 세포에 처리하고 24시간 후 MTT 방법을 이용하여 세포 생존율을 확인함.

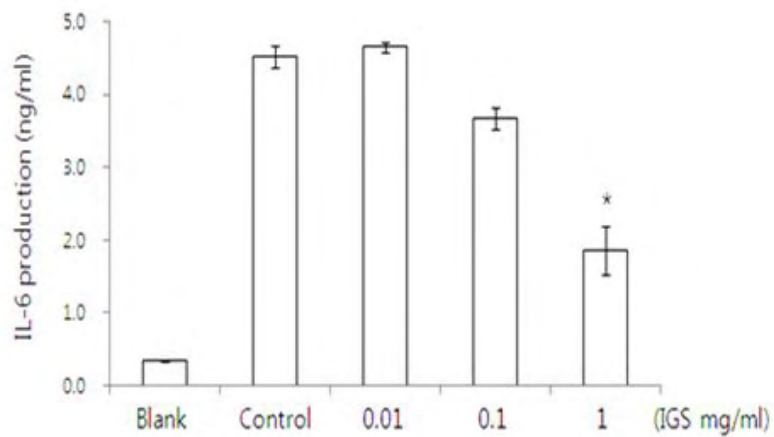


그림 3. 활성화된 HMC-1에서 IL-6의 분비억제조사. MC-1 세포에 IGS을 농도별로 처리하고 30분 뒤 자극제로 HMC-1을 활성화 하여 IL-6 분비에 대한 IGS의 영향을 확인함.

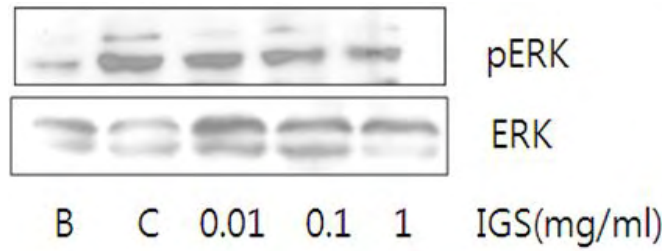


그림 4. 활성화된 HMC-1에서 ERK 발현 억제분석.
ERK의 활성화에 대한 IGS의 영향을 western blot 방법을 이용하여 확인함.

◦ IGS의 항암효과

- 1차년도에서 IGS의 성분에 의한 항암 활성이 확인 되었으며 2차년도에서는 IGS의 항암활성을 확인함. 먼저 HL-60 세포를 이용한 세포독성 유도 실험에서 IGS은 농도의존적이고 시간의존적인 경향으로 세포독성을 일으켰으며(그림 5), apoptosis의 중요한 기전으로 세포내 caspase-3의 활성을 유도하고(그림 6) 미토콘드리아막의 cytochrome c의 방출을 통하여 세포독성 효과를 나타냄을 확인함(그림 7).

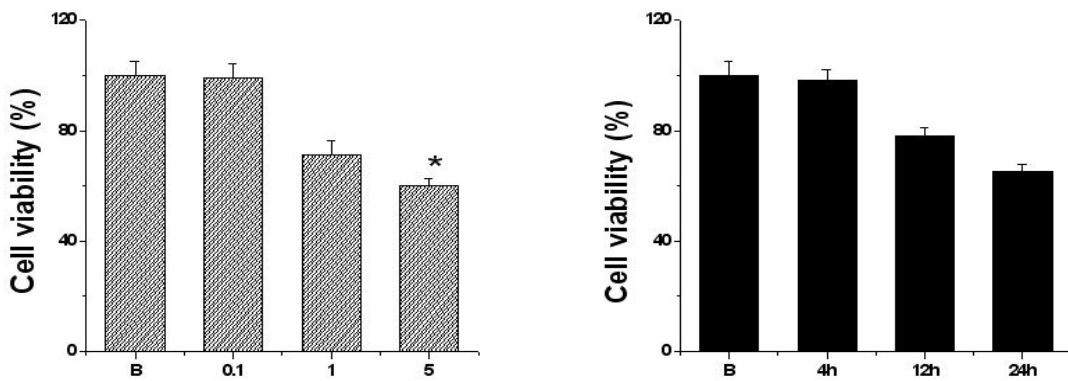


그림 5. IGS의 농도 의존적, 시간 의존적인 세포 생존율에 대한 영향. IGS을 농도별, 시간 대별로 처리하고 각각의 세포 생존율을 MTT방법을 이용하여 확인함.

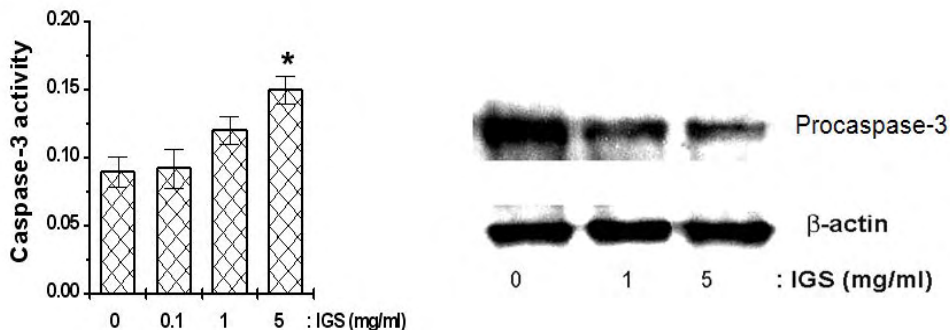


그림 6. Caspase-3의 활성 유도 및 전구체 pro-caspase-3의 발현 억제. IGS을 처리하고 caspase-3에 대한 활성을 activity assay kit와 western blot방법을 이용하여 확인함.

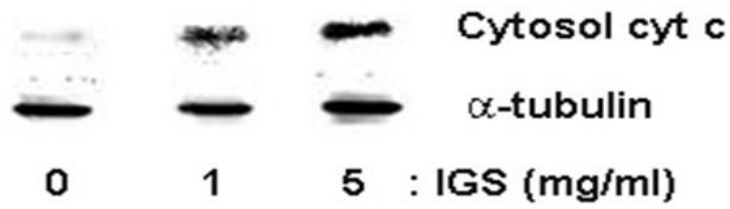


그림 7. 세포질내 cytochrome C의 방출. 미토콘드리아의 cytochrome C의 세포질내 방출 정도를 western blot 방법을 이용하여 확인함.

◦ SMS의 항염 효과

- SMS의 새로운 효능을 찾기 위하여 먼저 항염활성을 확인하고자 함. 마우스의 복강 대식세포를 이용한 SMS의 항염증 실험에서 SMS는 세포독성을 나타내지 않았으며(그림 8), LPS로 유도된 염증성 사이토카인의 분비를 억제하는 효과를 나타냄(그림 9). 또한 배양액 내에 LPS로 과량 분비되는 일산화질소를 억제하는 효과를 나타냄(그림 10).

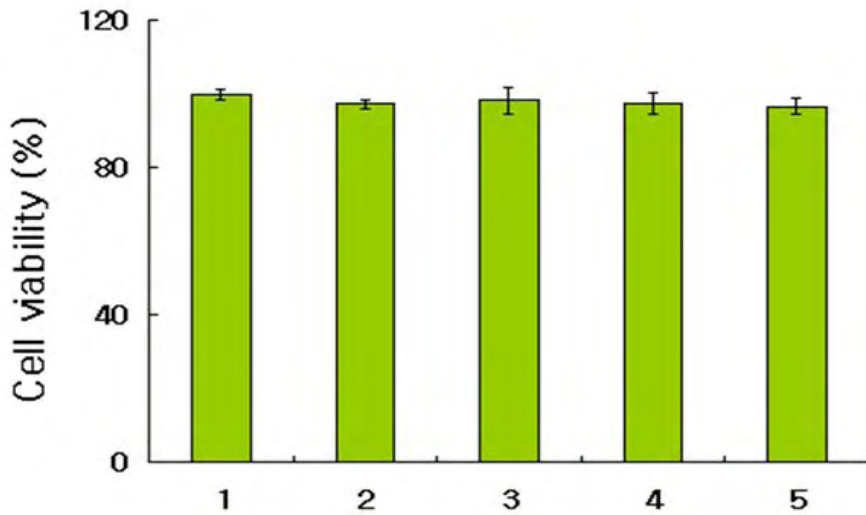


그림 8. SMS의 농도별 세포생존율에 대한 영향분석. 1. Blank, 2. LPS, 3. LPS + 1 mg/ml SMS, 4. LPS + 2.5 mg/ml SMS, 5. LPS + 5 mg/ml SMS

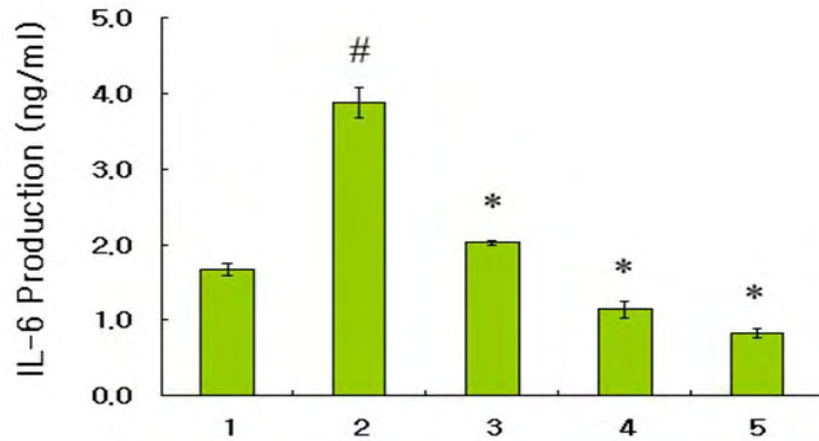


그림 9. LPS로 활성화된 대식세포에서 IL-6분비에 대한 SMS의 영향. 1. Blank, 2. LPS, 3. LPS + 1 mg/ml SMS, 4. LPS + 2.5 mg/ml SMS, 5. LPS + 5 mg/ml SMS #P<0.05, significantly different from Blank, *P<0.05, significantly different from LPS.

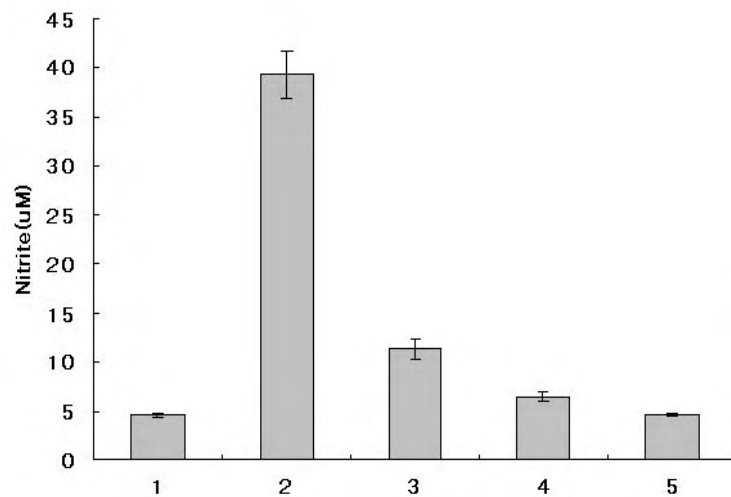


그림 10. LPS로 유도된 복강대식세포에서 NO 분비에 대한 SMS의 영향.

- SMS의 항염 활성은 COX-2 단백질의 발현억제를 통해서도 이루어지며 그 중요한 기전으로 RIP2가 관여함을 알수 있음(그림 11). RIP2의 상위기전인 caspase-1의 활성을 SMS가 억제하는 결과를 통하여 caspase-1, RIP2 기전을 통하여 대식세포에서 염증성 사이토카인의 분비를 억제하는 것으로 사료 됨(그림 12).

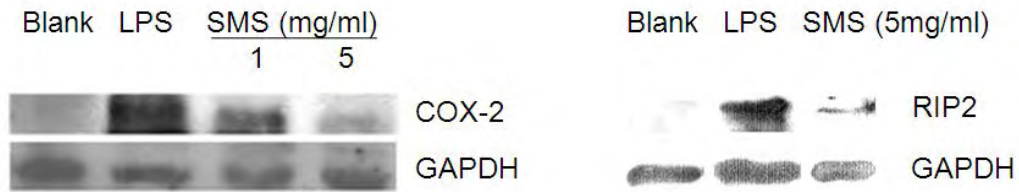


그림 11. LPS 유도성 COX-2 억제 및 RIP2의 발현 억제. 복강대식세포에 SMS 를 농도별로 처리하고 30분 뒤 LPS를 자극함. 24시간 후 COX-2, RIP2의 발현을 western blot 방법을 통하여 확인함.

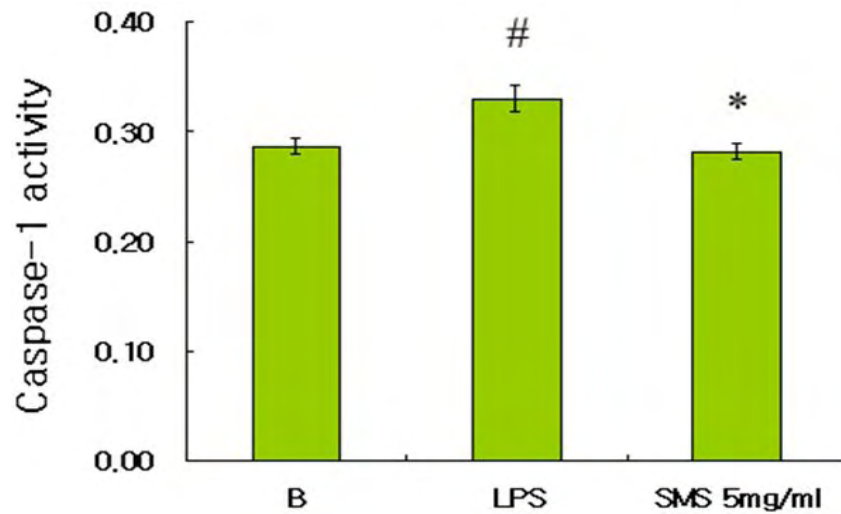


그림 12. SMS에 의한 caspase-1활성 억제 효과. 복강대식세포에 SMS를 처리하고 LPS로 자극함. 이후 caspase-1 assay kit를 이용하여 SMS에 의한 caspase-1활성을 확인함.

◦ IHT의 접촉성피부염 억제효과

- IHT는 인삼함유 고전 처방으로 주로 천식 및 오래된 기침에 사용되는 처방임. 먼저 IHT의 알레르기 및 접촉성 피부염에 대한 효과를 확인해 보고자 마우스를 이용하여 DNFB 유도성 접촉성 피부염을 일으킨 마우스에 IHT를 경구 투여함. 피부염이 일어난 마우스를 이용하여 일주일 동안 IHT를 경구 투여한 결과 심하게 유발되었던 피부염이 실험시간 내에 많이 호전됨을 확인함(그림 13).

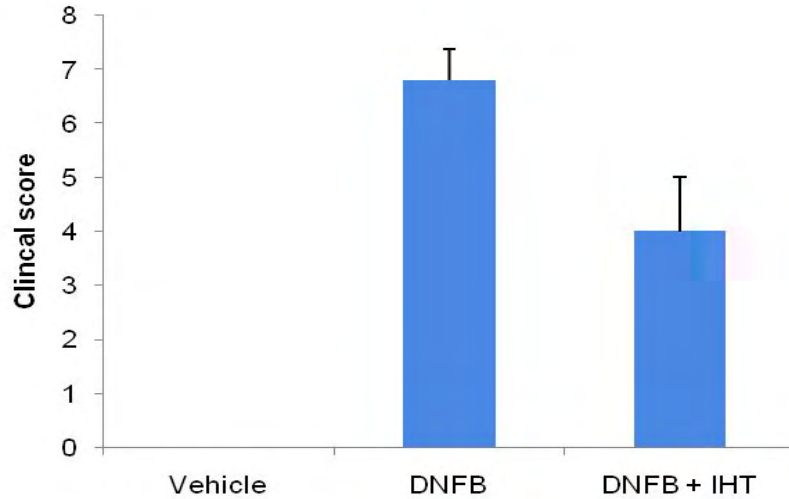


그림 13. IHT의 DNFB 유도성 접촉피부염 억제효과. 마우스를 이용하여 DNFB로 접촉피부염을 유도하고 IHT를 2주동안 경구 투여하여 피부염증 상태를 확인함.

- 세포내 IHT은 비만세포에서 PMA 와 A23187로 자극되어 과량 분비되는 IL-8의 양을 효과적으로 억제했으며 이것은 세포질내 IκB의 분해억제를 통하여 이루어짐을 확인할 수 있었음(그림 14-15).

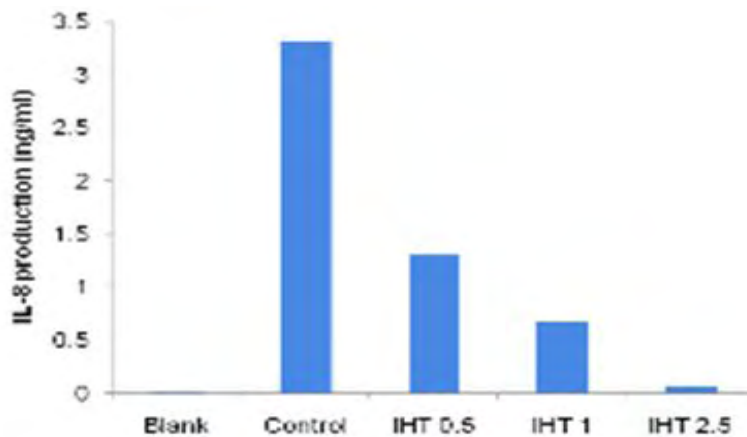


그림 14. 활성화된 HMC-1에서 IL-8 분비 억제 효과. IHT 각 농도 별로 HMC-1에 처리하고 30분 뒤 PMA와 A23187을 이용하여 세포를 활성화 시킴. 이후 분비된 IL-8을 ELISA를 이용하여 측정함.

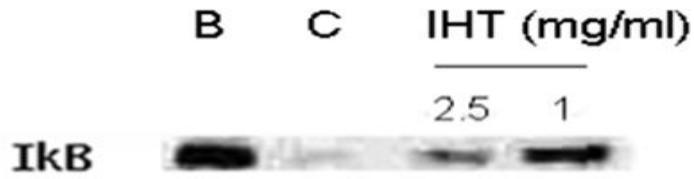


그림 15. IκB 활성화에 대한 IHT의 효과.

◦ IGS 성분의 대장염 억제

- IGS 성분의 항염증 효과를 더 확인해 보고자 DSS로 유도시킨 대장염모델에서 실험을 진행함. 먼저 DSS로 일동안 대장염을 유도하면서 매일 IGS성분을 경구 투여하였음. 대장염의 유발 지표인 체중을 비교해 볼때 대조군에서 약 3g의 무게를 잃었지만 IGS를 처리한 마우스에서는 약 2g의 무게를 잃는 결과를 나타냈음(그림 16). 또한 대장 길이에 의한 대장염 진행 정도를 확인해본 결과 DSS로 유도된 대장염 질환군에서 대장의 길이가 현저히 짧아진데 대해 IGS 성분 처리군에서는 더 개선되는 효과를 보임(그림 17).

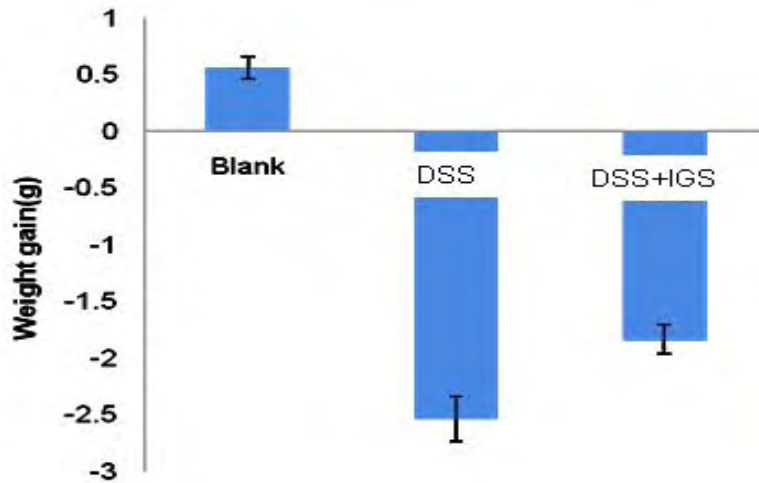


그림 16. IGS에 의한 체중변화. DSS로 유도한 실험 마우스의 체중변화가 IGS에 의해 억제됨.

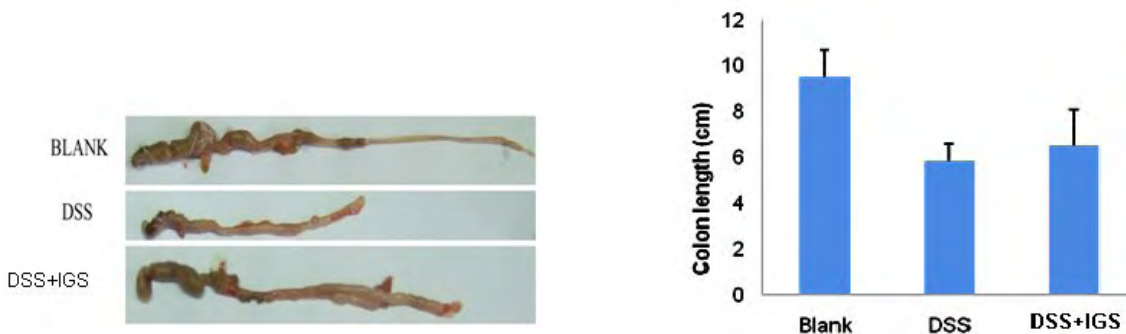


그림 17. DSS로 유도한 대장염에 대한 IGS의 영향. 각 실험군의 대장의 길이를 비교하여 사진과 그래프로 나타냄.

◦ Kanamycin을 이용한 알레르기유도 효과

- 선진국일수록 아토피 질환이 증가하는 것을 관찰할 수 있는데 이에 대한 이론은 환경위생설을 들 수 있음. 또한 최근에 장내 세균 이상으로 인한 아토피 관련 연구가 발표되 본 연구실에서는 항생제를 이용했을 때 나타나는 아토피성 반응을 연구함. NC/Nga마우스의 비장세포를 활성화 시키고 분비되는 사이토카인을 관찰함. CD3의 공동 자극으로 활성화된 비장 세포에서 IL-4, IFN- γ 의 양이 증가했으며(그림 18), 특히 IFN- γ 보다 IL-4의 분비에 더 큰 영향을 줄 것으로 사료됨.

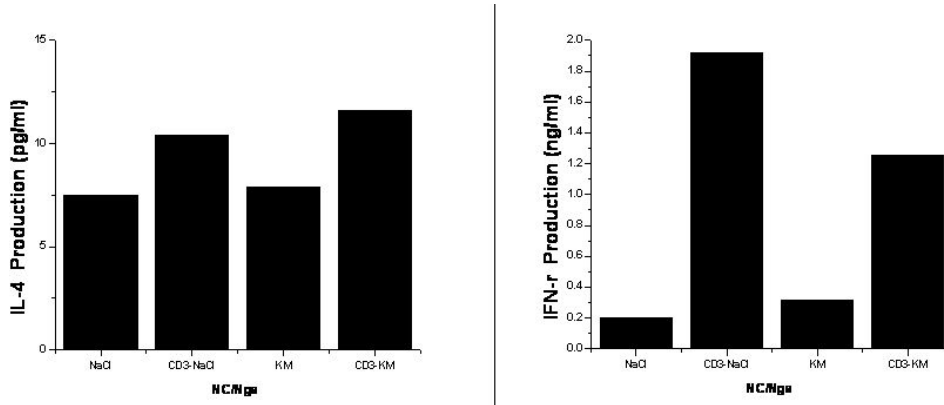


그림 18. KM에 의한 비장세포에서 IL-4, IFN- γ 생성에 대한 영향. NC/Nga의 비장에서 세포를 분리하여 IL-4, IFN- γ 의 생성을 ELISA를 이용하여 확인함.

-NC/Nga 마우스 혈청내 IgE와 IgG₁을 측정된 결과 대조군에 비하여 KM 처리군에서 그 분비가 더 증가되어 있음을 확인함(그림 19). 항생제 KM처리가 아토피 유발 관련 물질을 활성화 시키고, 세포의 사이토카인 분비를 증가시켜 아토피 관련 질환에 문제를 일으킬 것으로 사료됨.

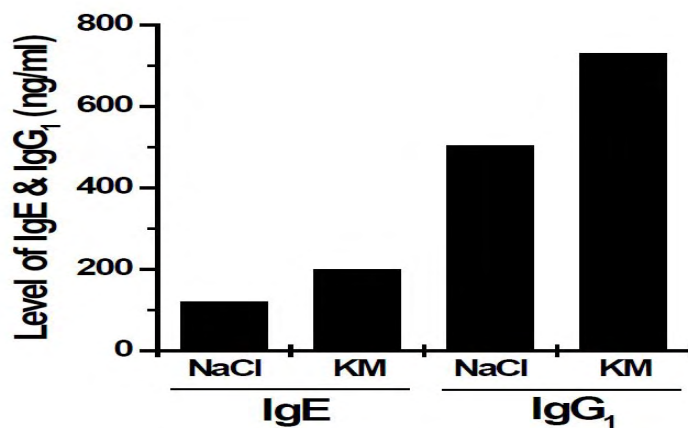


그림 19. KM이 처리된 NC/Nga 마우스의 혈청내 IgE, IgG₁의 함량분석

3핵심 5세부

1. 인삼 사포닌 분리

가. 인삼 10 kg를 건조·분말화 하여 3배수의 MeOH로 추출한 뒤, n-BuOH로 재추출하여 crude saponin extract를 제조한다.

나. Crude saponin extract를 제조한 후, MeOH과 Water를 용매조건으로 하여 column chromatography를 시행하여 saponin fraction을 분리한다.

(그림 1).

다. 분리된 saponin fraction을 재결정화하여, 단일 성분의 인삼사포닌 (ginsenosides)을 정제한다.

라. 정제된 ginsenosides를 가지고 분광학적인 방법을 이용하여 구조를 확인한다.

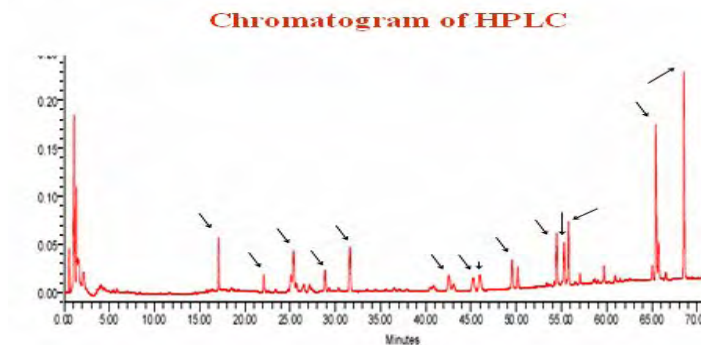


그림 1. 인삼사포닌 분석 조건 확립. 화살표(→)는 왼쪽부터 차례로 Rg1+Re, Rf, Rb1, F1, Rd, F2, Compound Y, Mc, Rg3, Compound K, Rk1+Rg5, Rh2, ΔPPD, PPD를 나타냄.

2. 분리한 인삼 사포닌의 정량 및 정성 분석

가. 구조가 확인된 ginsenoside로부터 일정량을 취해 정성 및 정량 분석을 위한 샘플용액을 제조한다. 분석은 Waters 사의 HPLC-ELSD 및 HPLC-UV/visible system을 이용한다.

나. 분리된 ginsenoside와 같은 종류의 표준품을 일정한 농도로 제조한 다음 각 ginsenoside 별로 HPLC를 이용하여 정량 곡선을 작성한다.

다. 정량 곡선을 이용하여, 정성 및 정량분석 시행한다.

라. HPLC 분석 조건은, 이동상으로 물과 아세트니트릴을 사용하여, 농도구배로 분석하였으며, 컬럼은 C18컬럼 (4.6 x 250mm, 5um)을 사용하였고, 분석 시간은 72분이다. ELSD(Alltech 2000) 검출기 조건은, drift tube temperature는 60°C, nitrogen gas 유속은 1.4L/min, Impact on , gain 8로 설정하였다. UV 검출기 조건은 203nm 와 198nm 파장에서 설정하여 분석한다. (그림 2)

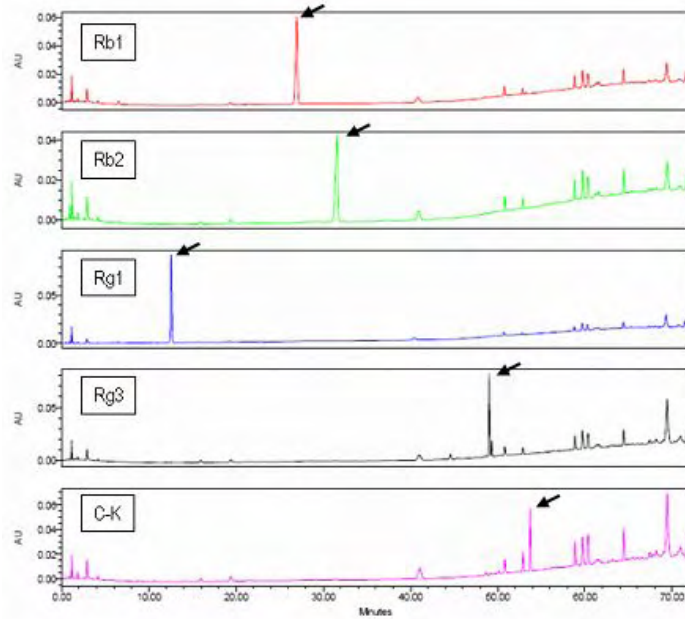


그림 2. 인삼사포닌(Rb1, Rb2, Rg1, Rg3, Compound K) 분석

3. 여러 사포닌 인삼 제품에서의 사포닌 분포 측정

가. 현재 시판중인 인삼 제품을 확보한다.

나. 본 연구에서 확립한 인삼사포닌 분리 및 분석 방법으로 다음과 같이 인삼 제품에 함유된 인삼 사포닌의 분포 측정한다. (그림 3).

다. HPLC (Waters 600 controller-Waters 717 plus autosampler) 분석 조건은, 이동상으로 물과 아세트니트릴을 사용하여, 농도구배로 분석하였으며, 컬럼은 Zorbax Eclipse XDB-C18 (4.6 x 250 mm, 5 μ m)을 사용하였고, 분석 시간은 72분이다. ELSD (Alltech 2000) 검출기 조건은, drift tube temperature는 60 $^{\circ}$ C, nitrogen gas 유속은 1.4 L/min, Impact on , gain 8로 설정하였다. UV 검출기 조건은 203 nm 와 198 nm 파장에서 설정하여 분석한다.

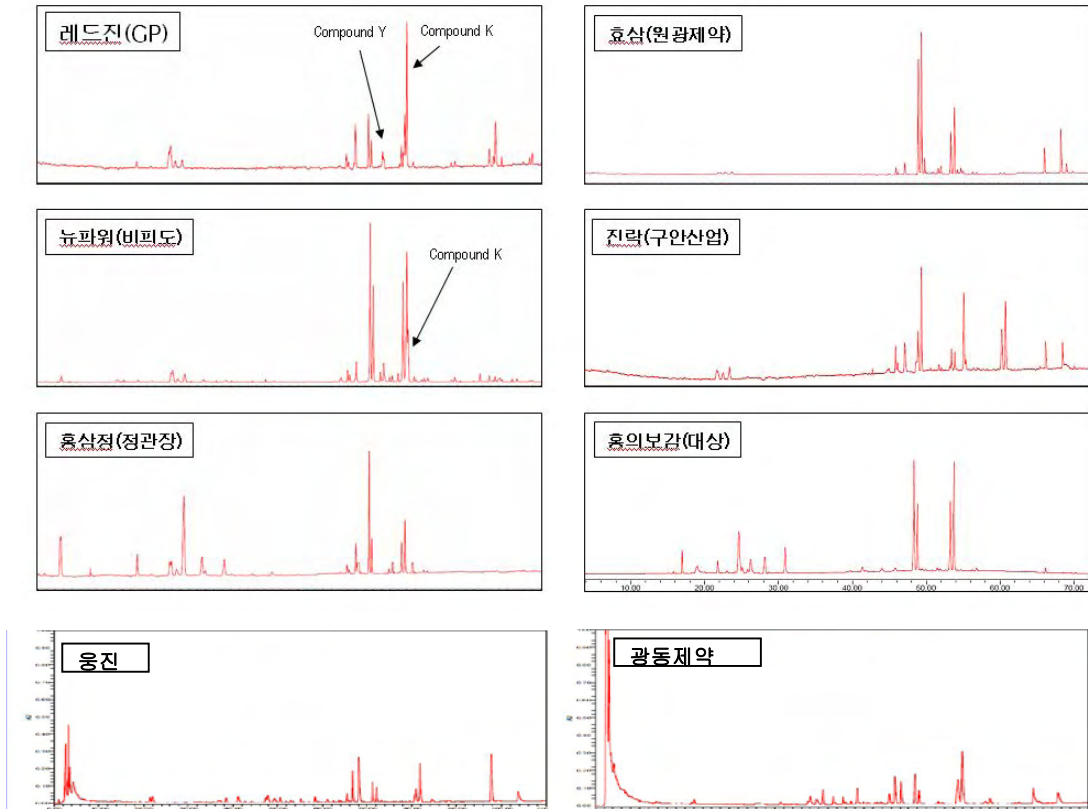


그림 3. 현재 시장에 출하된 인삼 제품의 함유된 인삼사포닌 분석

4. 분리한 인삼 사포닌의 세포 수준에서의 효능 평가

가. 인삼 사포닌의 지표물질 Compound K(CK)의 연골 세포 독성 평가

연골세포(Human chondrocyte)에서 인삼 사포닌 지표물질인 CK의 MTT assay를 통해 세포 독성을 확인하였다. 그 결과, CK 100 µg/ml까지 세포 생존율이 80 % 이상이 나와 최종농도를 100 µg/ml로 결정했다. (그림 4)

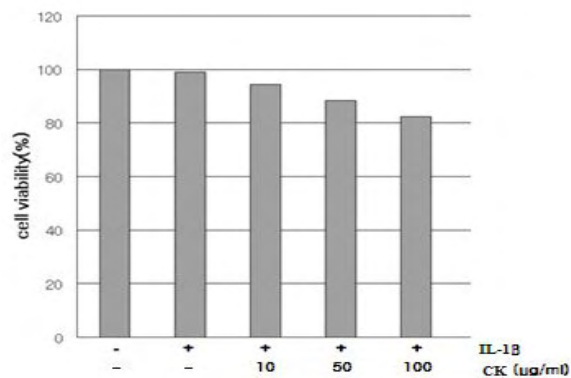


그림 4. 연골세포에서 인삼사포닌의 세포 독성 확인

나. 인삼 사포닌 지표물질 Compound K(CK)에 대한 염증억제 효능 평가

(1) IL-1β에 의한 NO생성에 있어 CK에 의한 감소효과 평가

IL-1 β 에 의해 유도되는 염증 관련 인자 중 하나인 NO의 생성에 있어서 CK에 의한 감소효과를 확인했다. (그림 5)

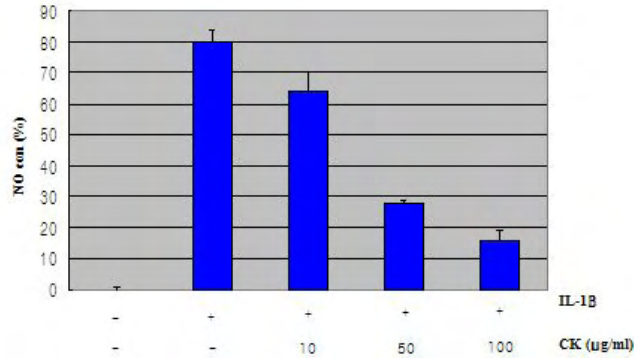


그림 5. 연골세포에서 CK에 의한 NO 감소효과

(2) NO 합성효소의 단백질 발현과 mRNA발현에 있어서도 CK에 의해 농도 의존적으로 감소효과를 확인했다. (그림 6)

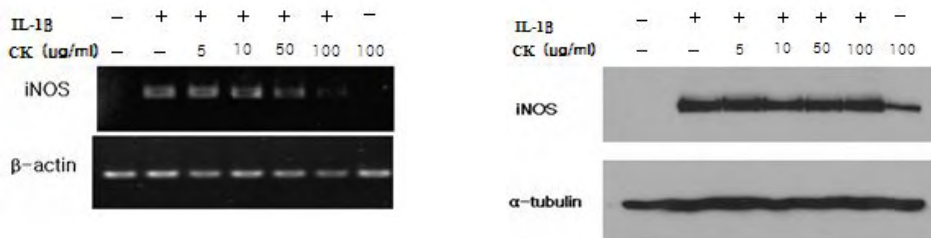


그림 6. 연골세포에서 CK에 의한 NO 감소효과

(3) IL-1 β 에 의한 MMP-13 발현 Compound(CK)에 의한 감소평가 iNOS뿐 아니라 IL-1 β 에 의해 유도되는 collagensae중의 하나인 MMP-13 gene발현에 있어서 CK에 의한 감소효과를 확인했다.(그림 7)

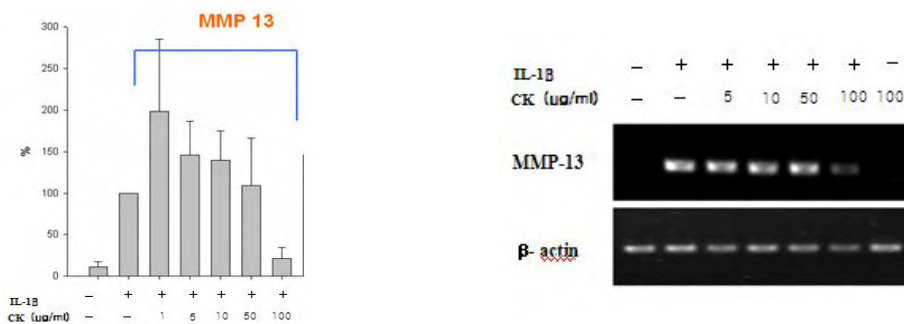


그림 7. 연골세포에서 CK에 의한 MMP-13 감소효과

(4) IL-1 β 에 의한 GAG 생성에 있어 Compound K(CK)의 감소평가 연골을 구성하는 성분으로 알려진 GAG의 IL-1 β 에 의한 세포외로의 방출에 있어서 CK가 가장 뛰어난 감소효과를 확인했다. (그림 8)

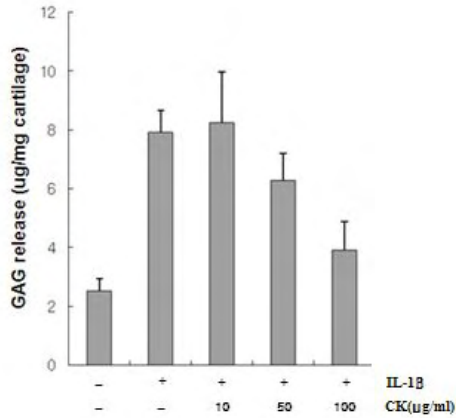


그림 8. 연골세포에서 CK에 의한 GAG 감소효과

- (5) IL-1 β 에 의한 NF- κ B의 활성화가 compound K(CK)에 의해 감소됨을 확인
 (가) 염증관련 전사인자인 NF- κ B p65의 활성화가 CK에 의해 감소됨 (그림 9).
 (나) IL-1 β 에 의한 NF- κ B 활성화에 따른 I κ B의 분해에 있어서 CK가 분해를 억제함을 확인 (그림 9).

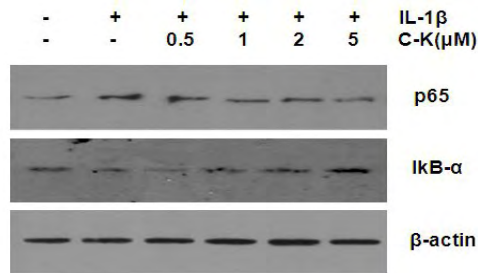


그림 9. IL-1 β 에 의한 NF- κ B 활성화에 있어서의 CK에 의한 감소효과

- (6) IL-1 β 에 의해 활성화된 MAPK(p38, ERK, JNK)에 대한 Compound K(CK)의 감소효과 평가
 IL-1 β 에 의한 관절염 관련 인자의 upstream인 MAPK (p38, ERK, JNK)의 활성화가 CK에 의해 감소됨. (그림 10)

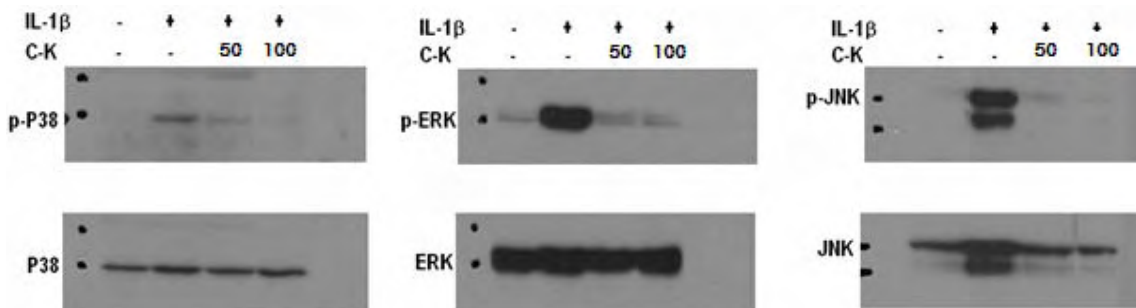


그림 10. 연골세포에서 MAPK의 활성화에 있어서의 CK에 의한 감소효과

- (7) 인삼 사포닌 지표물질 Compound(CK)의 파골세포 분화 감소 평가
 골 손실은 골을 형성하는 조골세포의 활성화보다 파골 세포의 과도한 활성화에 의해

유도된다. 사람 혈액으로부터 분리한 단핵구에 RANKL로 파골 세포로의 분화를 촉진시킨다. RANKL에 의해 유도되는 파골 세포가 CK에 의해 감소되는 것을 파골세포 분화실험과 파골세포의 특이한 표지자로 알려진 TRAP 양성 세포 계측을 통해 확인했다.(그림 11)

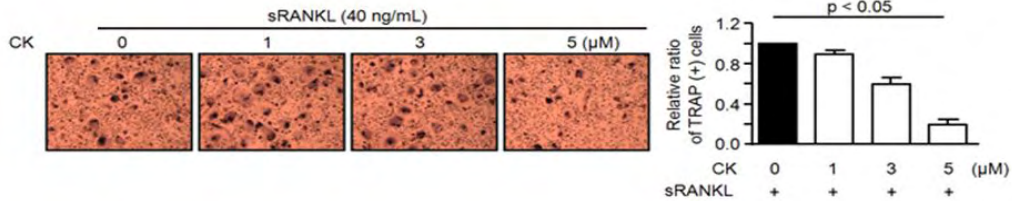


그림 11. 파골세포에서 CK에 의한 파골세포 분화 감소 효과

5. 홍삼 가수분해 농축액(Bioginseng, BG)의 세포 수준에서의 효능 평가

가. 홍삼 가수분해 농축액(Bioginseng, BG) 연골세포 독성 평가

연골세포에서 Bioginseng의 세포 독성을 확인한 결과 Bioginseng 2 mg/ml까지 실험한 결과 세포 생존률이 90 % 이상 나와 세포 독성이 없는 것으로 확인했고, Bioginseng 최종농도를 1 mg/ml로 결정하였다. (그림 12)

MTT assay (Cell: Human Chondrocyte, 5×10^4 cells/well, for 24hr)

Bioginseng extract

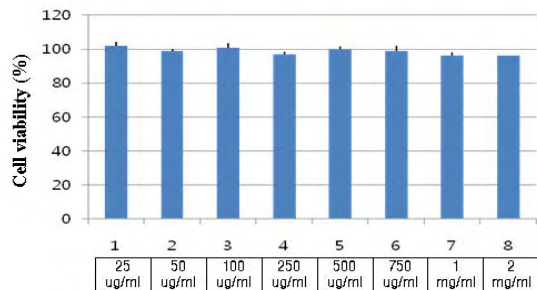


그림 12. 연골세포에서 Bioginseng의 세포 독성 확인

나. Bioginseng 대한 염증억제 효능 평가

(1) IL-β에 의한 NO생성에 있어 Bioginseng에 의한 감소효과 평가

IL-β에 의해 유도된 NO 생성이 Bioginseng에 의한 감소효과를 확인했다. (그림 13)

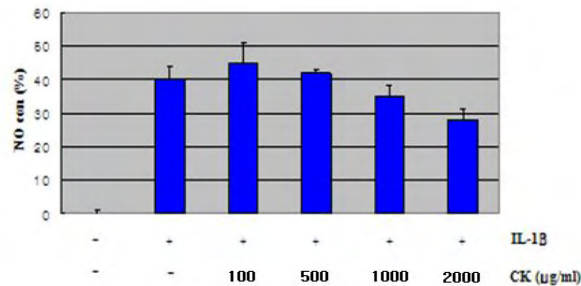


그림 13. 연골세포에서 Bioginseng의 NO 감소효과

- (2) IL-1 β 에 의해 유도된 NF- κ B의 활성화가 Bioginseng에 의한 억제효과
 IL-1 β 에 의해 유도된 NF- κ B의 활성화가 Bioginseng에 의해 활성화가 억제됨을 확인했다. (그림 14)

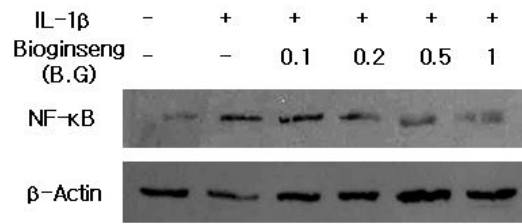


그림 14. 연골세포에 Bioginseng의 NF- κ B 활성화 억제효과

- (3) IL-1 β 에 의한 MMPs 발현과 생성이 Bioginseng에 의한 감소평가
 IL-1 β 에 의해 유도된 관절건강에 관련된 유전자인 MMP-1, MMP-3, MMP-13의 발현이 Bioginseng에 의해 농도 의존적으로 감소함을 확인했다. (그림 15)

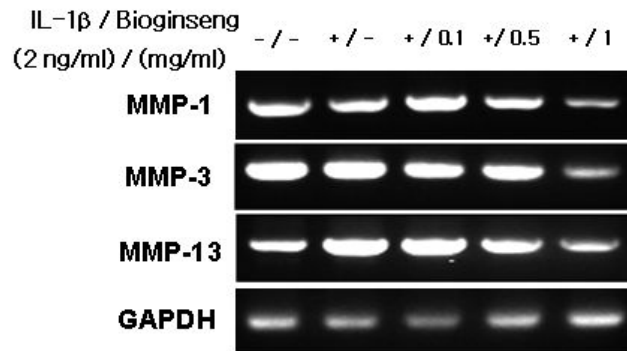


그림 15. 연골세포에 Bioginseng의 MMPs 감소 효과

다. Bioginseng의 파골 세포 분화 감소 평가

RANKL에 의해 유도된 파골 세포가 Bioginseng에 의해 감소되는 것을 파골세포 분화 실험과 파골세포의 특이한 표지자로 알려진 TRAP 양성 세포 계측을 통해 확인했다. (그림 16)

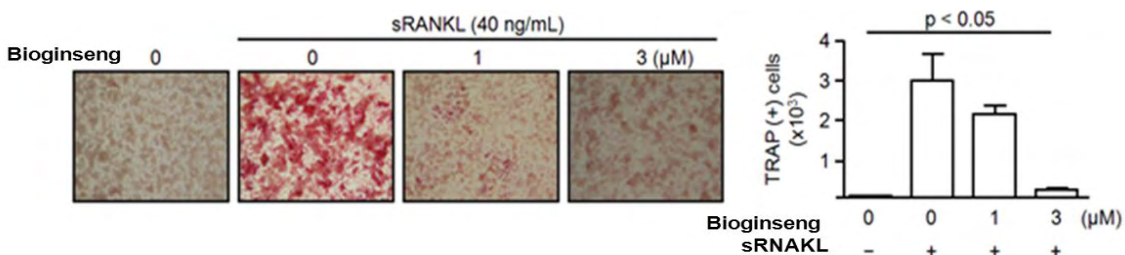
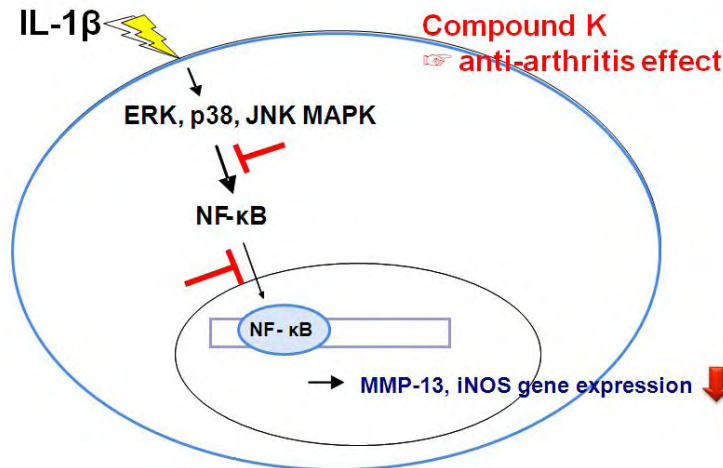


그림 16. 파골세포에서 Bioginseng에 의한 파골세포 분화 감소 효과

라. 인삼 사포닌의 지표물질인 Compound K(CK)와 홍삼 가수분해 농축액 (Bioginseng)의 세포 수준에서의 효능 평가 최종 결론



Biomechaical signal regulate NF-κB pathway. *Biorheology* 45 (2008) 245-256

그림 17. IL-1 β 에 의한 관절염 신호전달기전에 있어서 compound K와 홍삼 가수분해 농축액 (Bioginseng)의 효과

- 관절염은 초기 단계에 관절 구성 성분에 대한 자가 면역성을 확립하여 결국 관절 조직 파괴적인 면역 반응으로 발전하게 된다. 말초 림프 조직 (peripheral lymph node)에서 T 세포가 자가 항원을 제시하는 항원제시세포 (APC, antigen presenting cell)을 인식하여 반응하면 Th1 세포로 분화하고 관절 내로 모여들게 된다. 이 Th1 세포는 TNF- α , IL-1 β , IFN- γ 와 같은 염증성 세포들을 유인하는 동시에 활성을 높여줌으로서 자가 면역반응을 진행한다. 관절 내 침투한 다양한 세포와 관절에 존재하는 활액 세포 (synovial cell)에 의해 생산되어지는 염증성 사이토카인, nitric oxide (NO), free radical, matrix metallo proteinase (MMP)등은 관절 및 골조직의 파괴에 중요한 역할을 담당한다.

골항상성(Bone homeostasis)은 골흡수에 관여하는 파골세포와 골형성에 관여하는 조골세포의 긴밀한 상호 작용에 의해 유지 된다. 이러한 골 항상성은 만성 염증에 의해 쉽게 깨진다. 골다공증과 류마티스 관절염과 같은 골 손실은 조골세포보다 파골세포의 과도한 활성화에 의해 유도된다. 파골세포는 조혈모세포에서 유래되는 다형핵 세포이며 대식 세포계의 세포이다. 파골세포의 분화는 골 흡수에 매우 중요한 과정이며 파골세포의 분화를 매개하는 주된 신호물질은 receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)이다. RANKL은 파골세포를 활성화하는 가장 중요한 사토카인으로 조골세포 또는 활성화된 면역세포에서 생성된다. 생성된 RANKL은 파골세포 및 전구세포에 위치한 수용체 (RANKL)와 결합하여 파골세포의 형성과 활성을 촉진한다. RANKL은 파골세포의 분화, 증식과 기능의 활성화를 유발하여 결과적으로 골 감소를 유발하게 된다.

본 연구에서는 홍삼 가수분해 농축액 (Bioginseng)이 염증억제에 효과가 있는지를 확인하기 위해 먼저 인삼 사포닌의 지표물질인 Compound K (CK)가 관절건강에 효과가 있는지를 염증 과정 중에 NF κ -B signal pathway (그림 13)에 의해 발현되는 iNOS와 그의 산물인 NO 생성 억제와 MMPs 생성 억제, 그리고 GAG 생성 억제 효과 평가를 통해 알아보았다. 연골세포 독성 실험을 통하여 *in vitro* 에 처리할 CK의 최종농도를 100 μ g/ml로 결정하고 10, 50, 100 μ g/ml 각각의 농도별로 관절건강 효과를 확인해 보았다. 그 결과, 홍삼 가수분

해 농축액의 지표물질인 CK는 농도 의존적으로 NFκ-B signal pathway의 첫 단계인 MAPK(p38, ERK, JNK)의 활성화를 억제시켜 NFκ-B를 차단하고, 결과적으로 염증관련 인자인 iNOS, NO, MMPs(MMP-13)의 생성을 억제함을 확인하였다. 또한, CK에 대한 골과피를 억제하는 효과도 확인하였다. 사람 혈액으로부터 분리한 단핵구에 RANKL로 파골 세포로의 분화를 촉진시켰다. 그 결과 RANKL에 의해 유도되는 파골 세포가 CK에 의해 농도 의존적으로 감소되는 것을 파골세포 분화실험과 파골세포의 특이한 표지자로 알려진 TRAP 양성 세포 계측을 통해 확인하였다.

지표물질인 CK의 염증억제 효과가 있다는 것을 확인 후, 홍삼 가수분해 농축액 (Bioginseng)안의 CK의 성분은 1 %이상 포함되어 있는 것에 유의하여 연골세포 독성 실험을 통해 in vitro에 처리할 홍삼 가수분해 농축액 (Bioginseng)의 농도를 100, 200, 500, 1000, 2000 µg/ml 결정하여 홍삼 가수분해 농축액 (Bioginseng)의 관절건강 효과 평가를 알아보았다. 그 결과, 지표물질인 CK와 마찬가지로 NFκ-B를 차단시켜 염증관련 인자인 iNOS, NO, MMPs의 생성을 유의적으로 억제함을 확인할 수 있었으며, 파골 세포 분화를 감소시키는 영향을 주는 것을 확인 할 수 있었다. 이 결과로 우리는 홍삼 가수분해 농축액 (Bioginseng)이 관절건강에 효과가 있는 것이라 할 수 있다.

6. 홍삼 가수분해 농축액 (Bioginseng, BG)의 관절염 유발동물에 대한 효능

가. CIA유발생쥐의 관절염 지수 (AI)에 미치는 영향

- 6주간 CIA생쥐모델에 CK와 BG 약물을 투여한 후 arthritis index (AI)를 관찰한 결과, 그림 18 에서 같이 대조군에 비하여 실험군인 CK와 BG 투여군들은 약물 투여 2주 후부터 index값이 유의성 있게 감소되어 최종 6주 후에는 대조군 (CIA-CT)에 비하여 각각 10 mg/kg 이상 CK와 0.5 g/kg이상 BG 투여군에서 CIA index값이 50%이상 감소됨을 알 수 있었다 (p<0.001). 그리고 CK와 BG가 각각 5 mg/kg, 0.25 g/kg 투여군도 약물 투여 최종 6주 후에는 대조군 (CIA-CT)에 비하여 CIA index값이 각각 48.1%와 42.6%이상 감소되었다 (p<0.001). 또한 투여 농도에 따른 관절염 지수 효력은 10 mg/kg과 20 mg/kg인 CK 투여군, 그리고 0.5 g/kg, 1 g/kg, 2 g/kg인 BG 투여군에서는 농도 증가에 따른 차이는 나타나지 않았다.

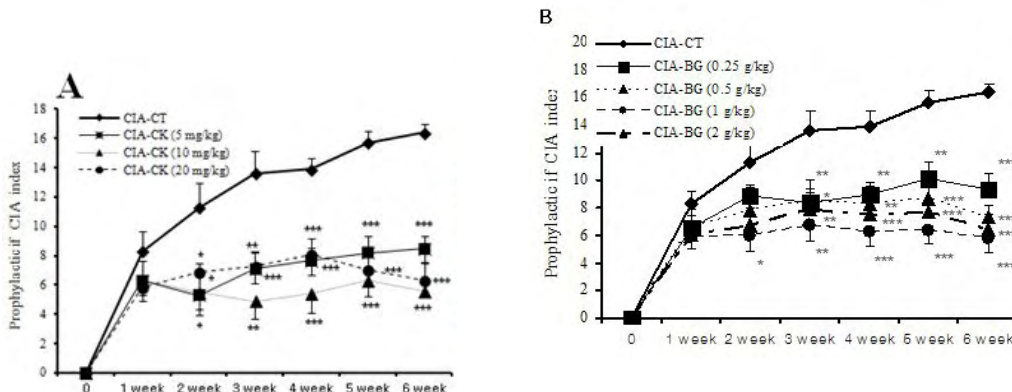
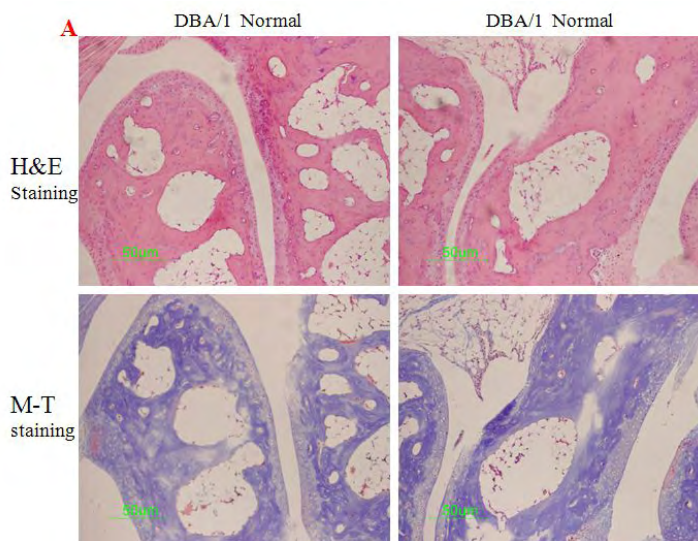
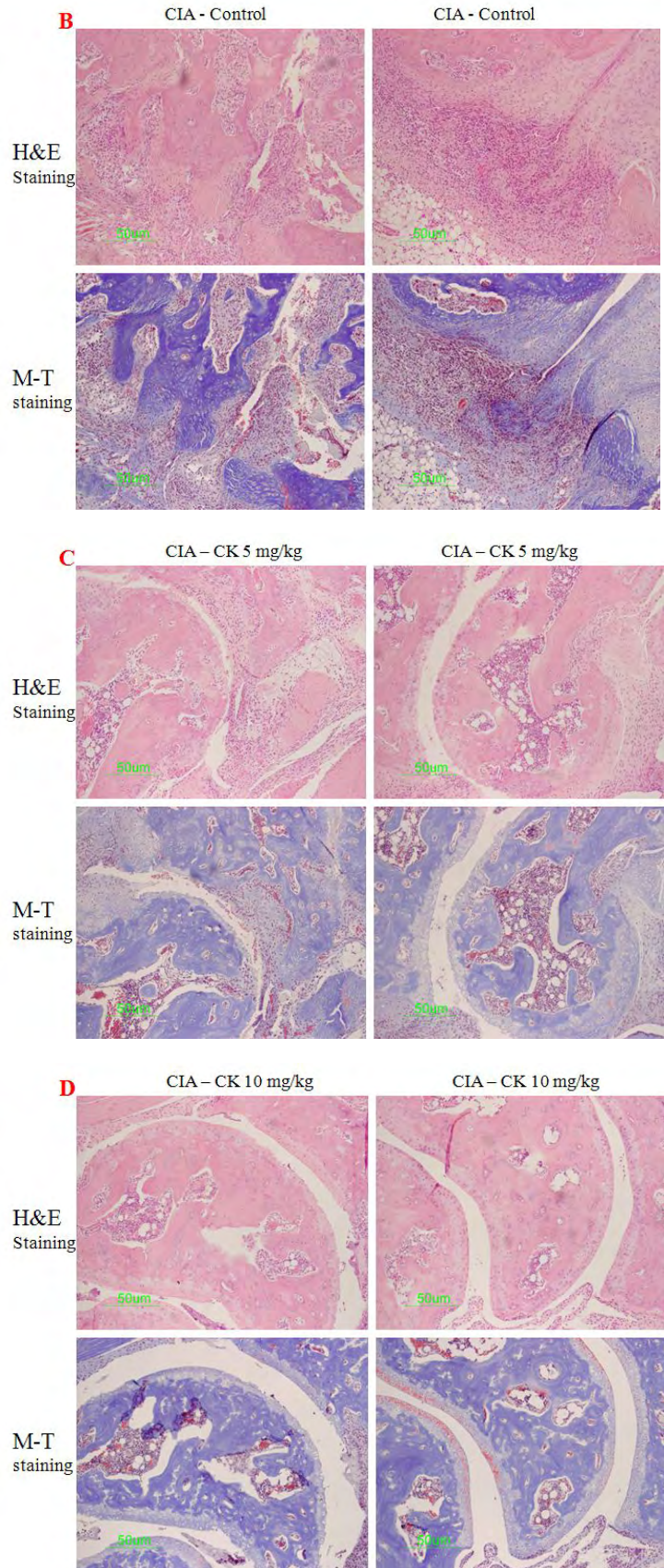


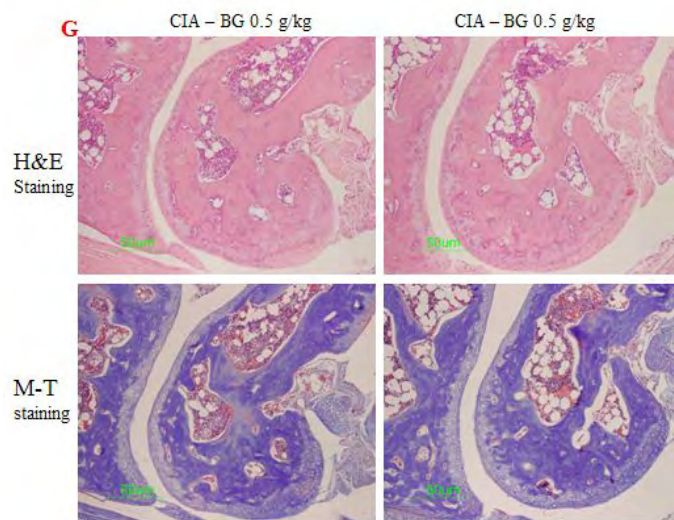
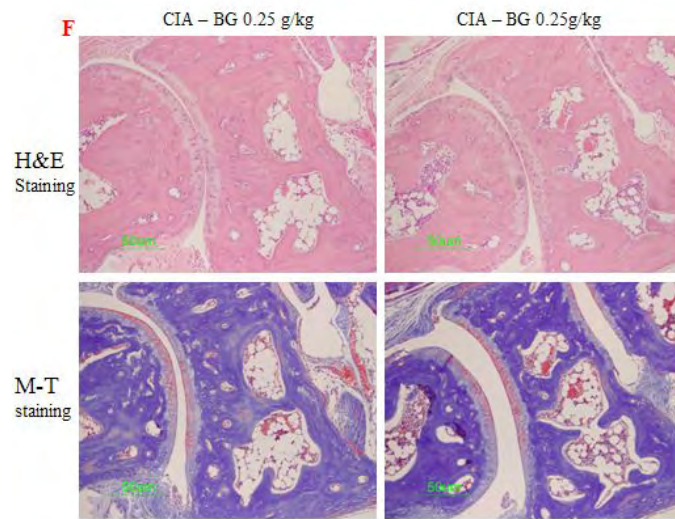
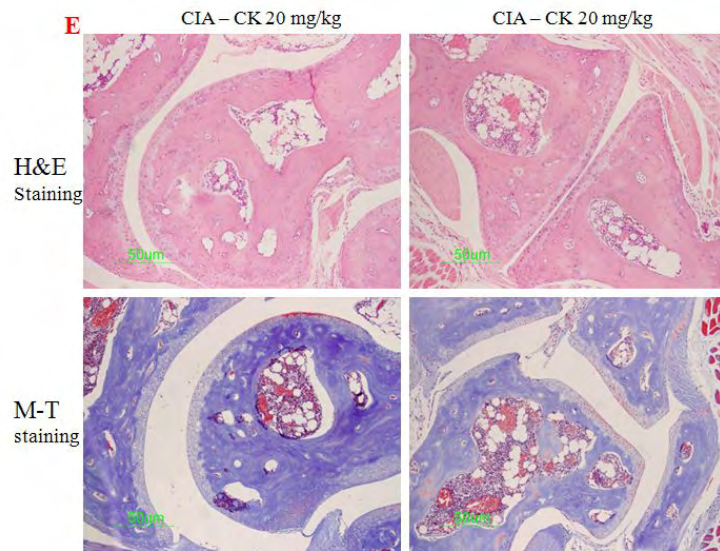
그림 18. 관절염 생쥐 (CIA) 모델에서 CK와 BG가 관절염 지수 (AI)에 미치는 효과

나. 후족부 (Hindfoot) 조직병리 검사

CIA 생쥐모델에 5주간 CK와 BG를 투여하고, 실험 종료 후 생쥐의 후족부 (Hindfoot)를 적출하여 H&E 염색과 M-T 염색을 통하여 조직을 분석하였다. 그림 26는 대조군 (CIA-CT)으로 CII에 의한 관절염 유발로 관절주변에 대식세포, 과립구세포, 단핵구 세포, 활막염증화 세포, 그리고 활막세포 hyperplasia의 침투가 일어나 연골과 뼈의 침하로 joint architecture의 손실이 일어난 것을 관찰할 수 있다. 약물 투여 효능에 대한 관절조직 분석 결과, 대조군에 비하여 면역세포의 침투나 연골의 erosion, 그리고 활막세포의 손상이 정상군에 가깝게 억제된 실험군은 CK (20 mg/kg, 그림 19E), BG (0.5 g/kg, 그림 19G), 그리고 BG (2 g/kg, 그림 19I), 투여군 이었다. CK 5 mg/kg (그림 19C)은 대조군에 비하여 약간의 염증 억제 효과가 나타났다. 또한 CK (10 mg/kg, 그림 19D), BG (0.25 g/kg, 그림 19F), 그리고 BG (1 g/kg, 그림 19H) 투여군도 대조군에 비하여 현저하게 염증 억제 효능을 나타내었다.







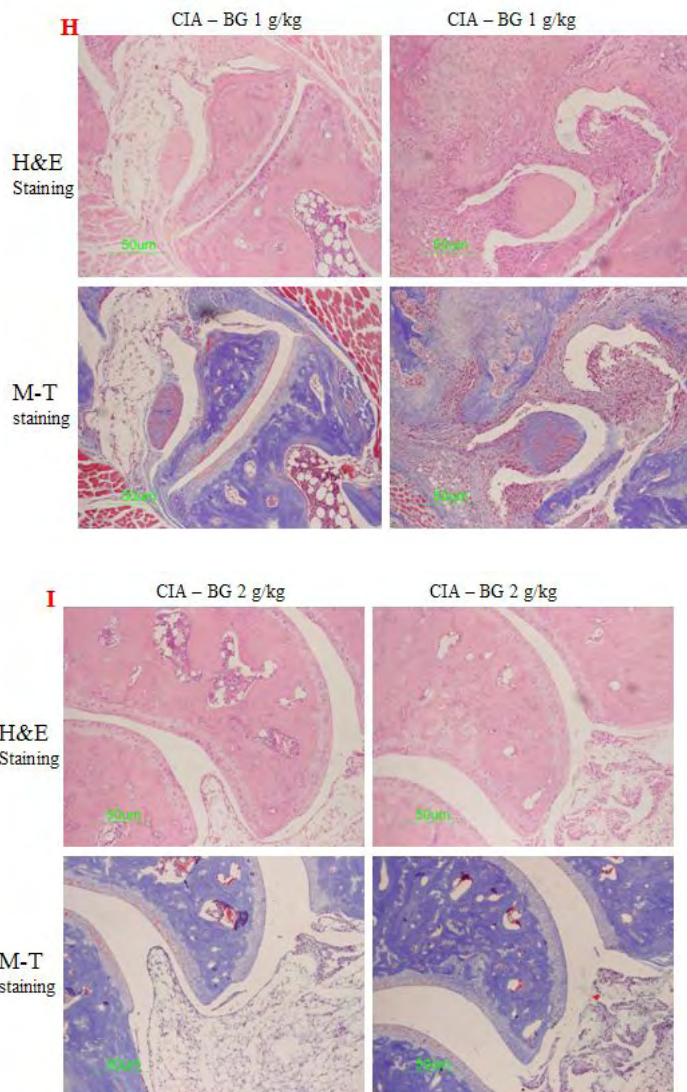
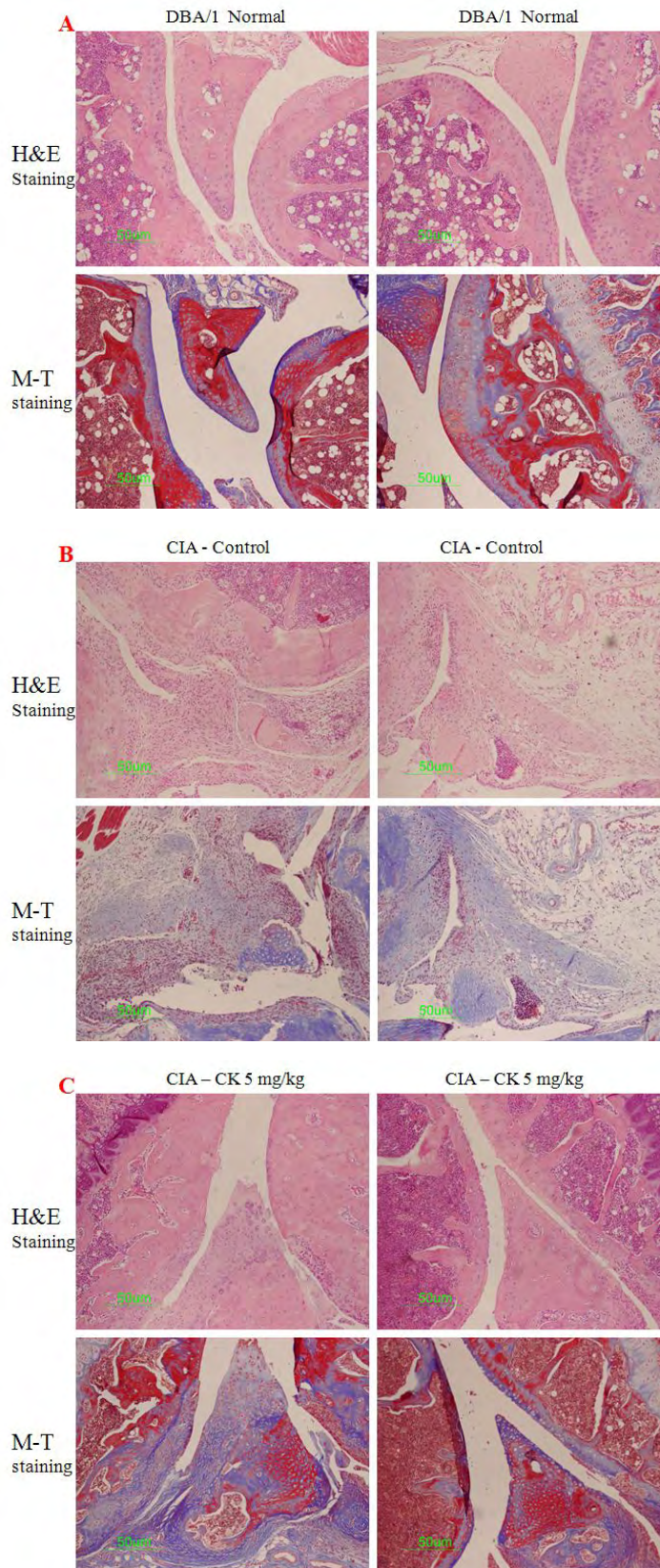
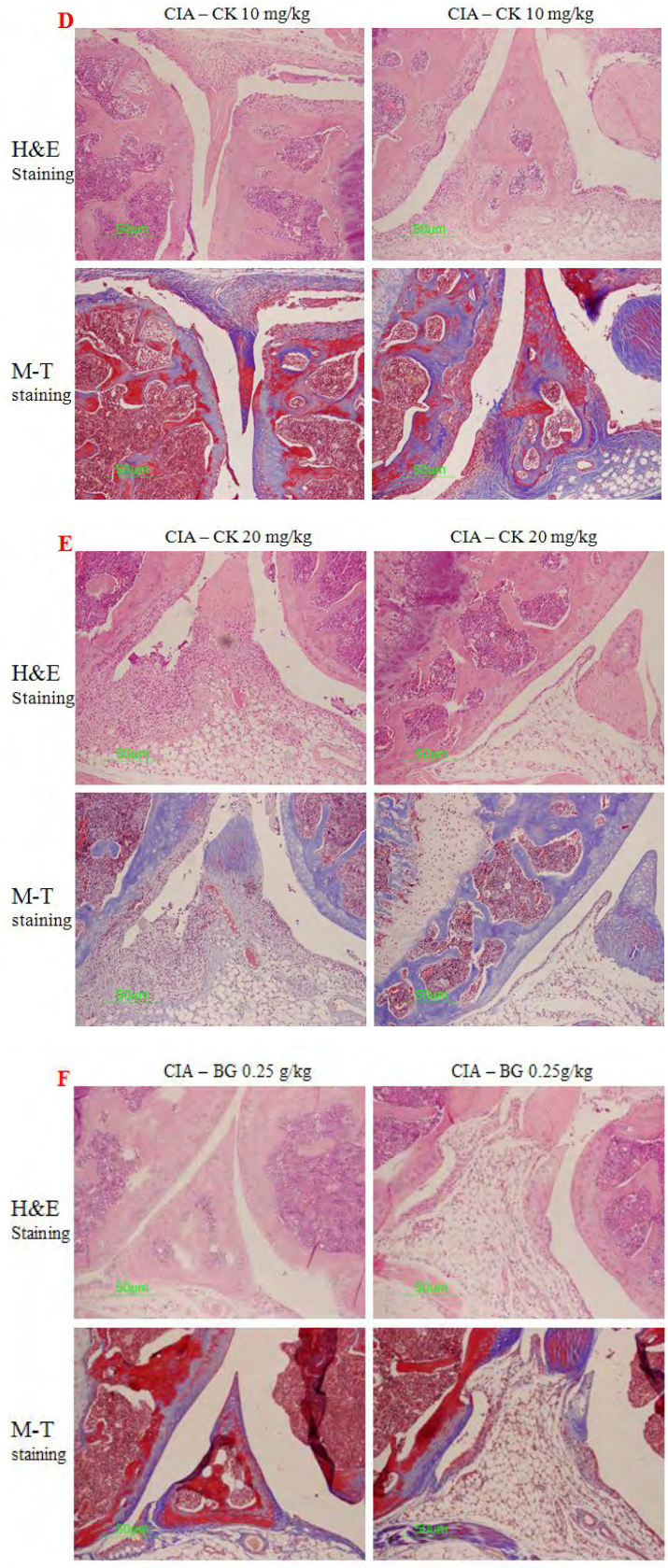


그림 19. CK와 BG에 대한 후족부(Hindfoot) 조직병리 검사

다. 대관절 (hind knee joint) 조직병리 검사

CIA 생쥐 모델에 5주간 CK와 BG를 투여하고, 실험 종료 후 생쥐의 뒷다리 대관절 (paw joints)를 적출하여 H&E 염색과 M-T 염색을 통하여 조직을 분석하였다. 그림 20B는 대조군 (CIA-CT)으로 CII에 의한 관절염 유발로 관절주변에 대식세포, 과립구세포, 단핵구 세포, 활막염증화 세포, 그리고 활막세포 hyperplasia의 침투가 일어나 연골과 뼈의 침하로 joint architecture의 손실이 일어난 것을 관찰할 수 있었다. 약물 투여 효능에 대한 관절조직 분석 결과, CK (5 mg/kg, 그림 20C), BG (1 g/kg, 그림 20H), 그리고 BG (2 g/kg, 그림 20I) 투여군은 대조군에 비하여 약간의 염증 억제 효능을 나타내었다. 대조군에 비하여 면역세포의 침투나 연골의 erosion, 그리고 활막세포의 손상이 현저하게 억제를 보인 실험군은 CK (10 mg/kg, 그림 20D), CK (20 mg/kg, 그림 20E), BG (0.25 g/kg, 그림 20F), 그리고 BG (0.5 g/kg, 그림 20G) 투여군 이었다.





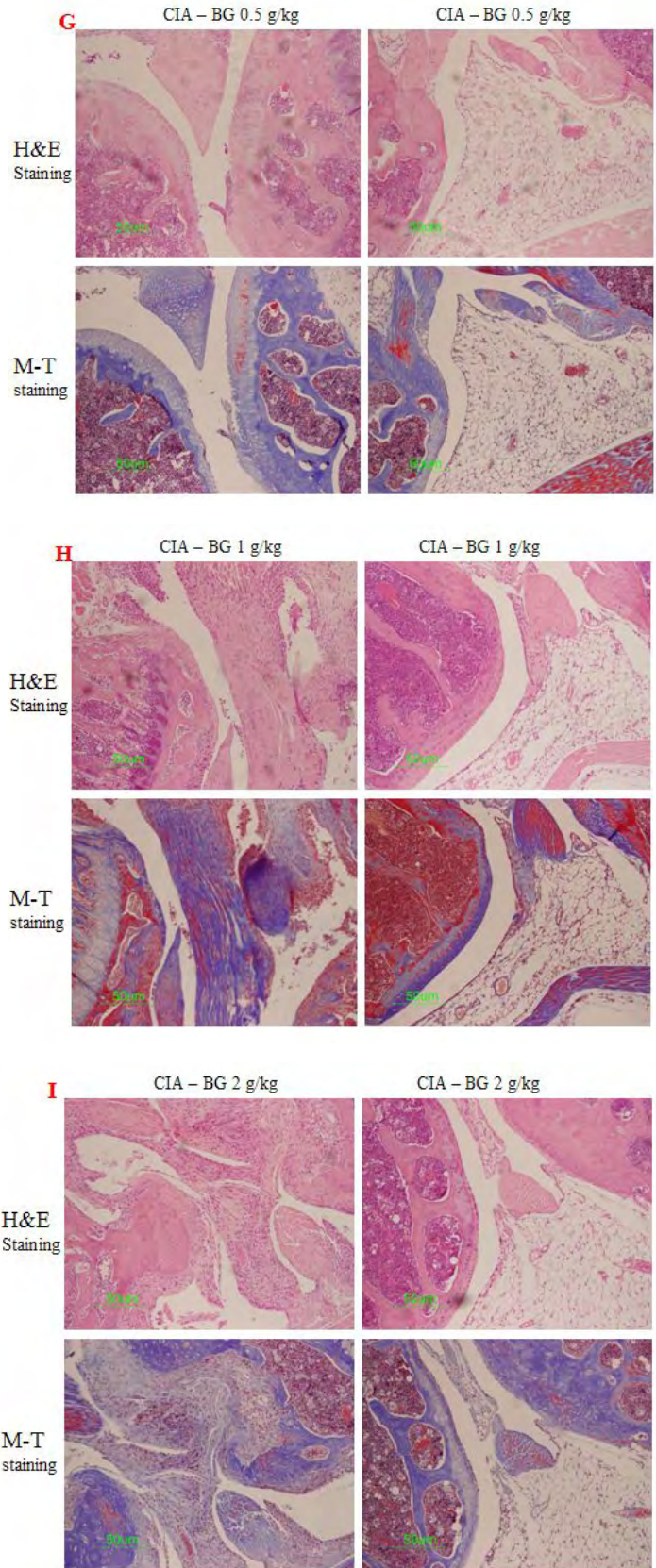
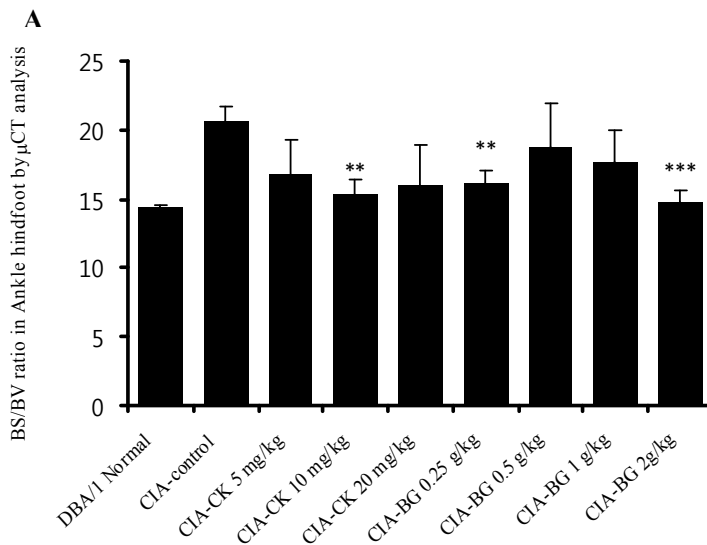


그림 20. CK와 BG에 대한 대관절(Hind knee joint) 조직병리 검사
 라. μ CT로 관절의 VOI분석
 DBA/1 OlaHsd 생쥐에 CII 주사 3주 후 각 실험군의 관절염 유발 생쥐 (CIA)의 뒷다리

(hind whole paw)와 앞발 (middle finger)을 6주간 CIA index값을 모니터링 하였다. 실험 종료 후 10% 포르말린에 고정하여 SkyScan 1172 Desktop X-ray Microtomograph (Micro-CT, Irvine, CA)로 분석하여 BV (bone volume)와 BS (bone surface)에 대한 BS/BV를 산출하여 관절의 염증정도를 판정하였다. 그 결과, 그림 21A에서처럼 후족부 (hind ankle) 분석결과는 BS/BV의 값이 정상군은 14.37 ± 0.172 (1/mm)이었고, 대조군의 BS/BV는 20.63 ± 1.117 (1/mm)로 30.3% 이상 증가하였다. CK 5 mg/kg (18.3% 감소), CK 20 mg/kg (22.1% 감소), BG 0.5 g/kg (9.1% 감소), 그리고 BG 2 g/kg (13.7% 감소) 실험군이 감소를 나타내었지만 농도 의존적 유의성은 없었다. 그러나 CK 10 mg/kg (25.4% 감소, $p < 0.01$), BG 0.25 g/kg (22.0% 감소, $p < 0.01$), BG 2 g/kg (28.3% 감소, $p < 0.001$)의 실험군에서 대조군에 비하여 농도 의존적으로 유의성이 있는 감소를 나타내었다. 그림 21B에서 같이 앞다리 (middle finger) 분석결과로, BS/BV의 값이 정상군은 18.26 ± 1.44 (1/mm)이었고, 대조군의 BS/BV는 22.15 ± 1.139 (1/mm)로 17.5% 이상 증가하였다. BG 2 g/kg(15.1% 감소), 0.25 g/kg (9.0% 감소)와 BG 1 g/kg (6.3% 감소)도 , 대조군에 비하여 감소를 나타내었지만 통계학적 유의성은 없었지만, CK 10 mg/kg (11.0% 감소, $p < 0.05$)와 CK 20 mg/kg (15.7% 감소, $p < 0.05$) 실험군은 대조군에 비하여 농도 의존적으로 유의성이 있는 감소를 나타내었다. 하지만, 통계학적으로 CK, BG 모두 염증억제 효과가 있다는 유의성 있는 결과를 얻었다.



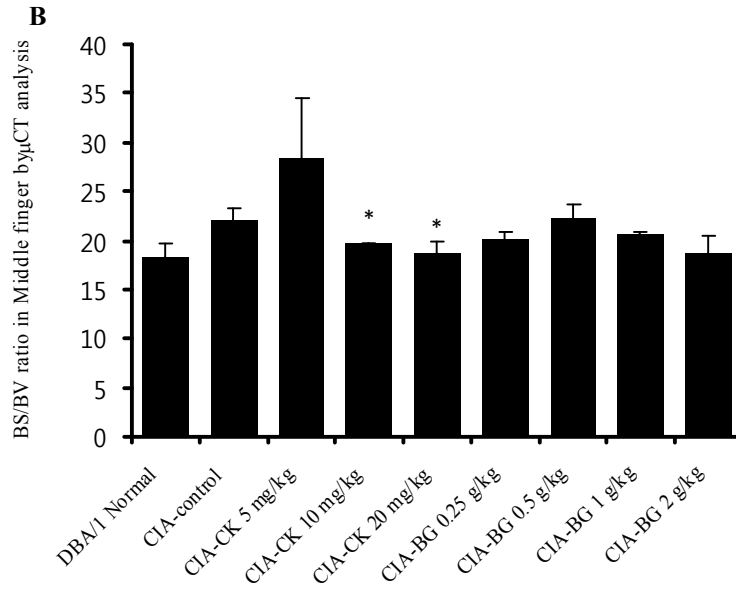


그림 21. CK와 BG에 대한 관절의 VOI 분석

마. 혈청내 collagen II antibody량 측정

Collagen type II를 감작하여 Th1 관절염 자가면역질환을 유도한 동물모델에서 CK와 BG 투여에 따른 치료효능을 관찰하기 위하여 total IgG2a (그림 22A)와 IgG2b (그림 22B) 항체수준을 측정하였다. 실험종료 후 혈청을 분리하여 IgG2a (그림 22A)를 ELISA로 측정한 결과는 정상군에 비하여 대조군이 68배 이상 증가하였고, CK 10 mg/kg와 BG 1 g/kg 투여군은 대조군에 비하여 각각 26.6%와 18.9%이상 감소를 나타내었지만 농도 의존적 유의성은 없었다. 대조군에 비하여 농도 의존적으로 유의성이 있는 감소를 나타낸 실험군은 CK 5 mg/kg (3.3배 감소, $p < 0.01$), CK 20 mg/kg (13.1배 감소, $p < 0.001$), BG 0.25 g/kg (2.6배 감소, $p < 0.05$), 그리고 BG 0.5 g/kg (7.2% 감소, $p < 0.001$)이었다. 그리고 IgG2b (그림 5B)를 ELISA로 측정한 결과는 정상군에 비하여 대조군이 58.6% 이상 증가하였고, CK 5 mg/kg, CK 10 mg/kg, BG 0.5 g/kg, 그리고 BG 2 g/kg 투여군은 대조군에 비하여 감소를 나타내었지만 농도 의존적 유의성은 없었다.

대조군에 비하여 농도 의존적으로 유의성이 있는 감소를 나타낸 실험군은 CK 20 mg/kg (69.6% 감소, $p < 0.01$), BG 0.25 g/kg (58.6% 감소, $p < 0.05$), 그리고 BG 0.5 g/kg (81.6% 감소, $p < 0.01$)이었다. 하지만, 통계학적으로 CK, BG 모두 염증억제 효과가 있다는 유의성 있는 결과를 얻었다.

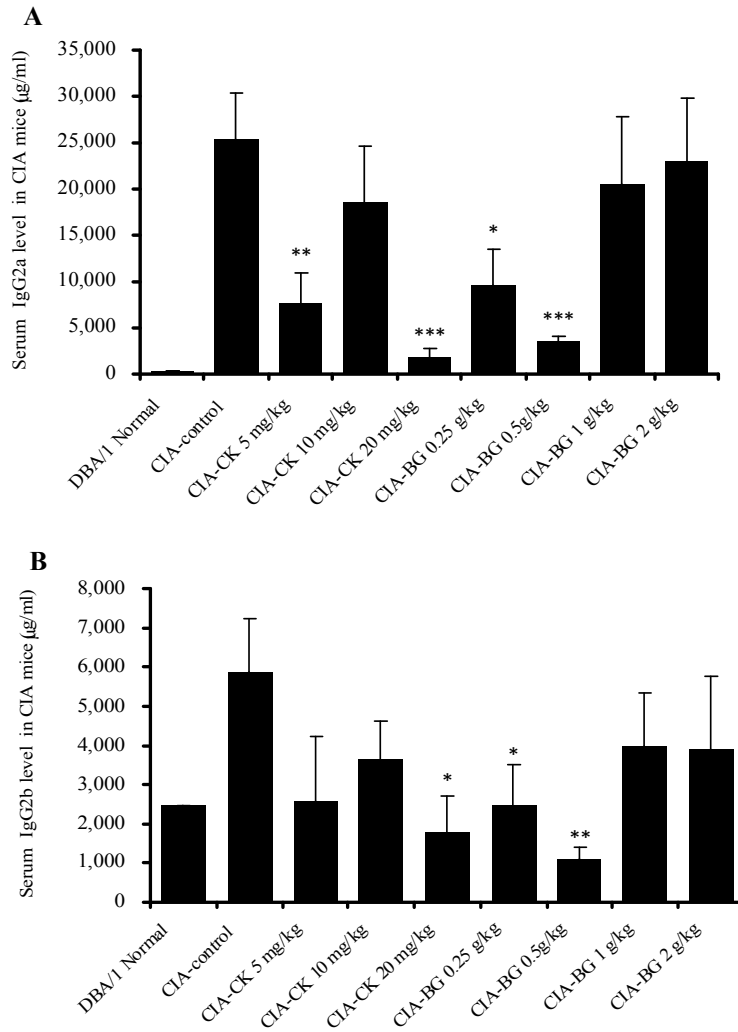


그림 22. CK와 BG에 대한 혈청내 collagen II antibody량 측정

바. Luminex cytokine 분석

DBA/1생쥐에 6주간 CK와 BG를 투여한 후 혈청과 비장세포를 배양한 배양 상층액에서 Luminex cytokine panel kit로 분석한 결과이다.

(1) 혈청내 TNF- α 와 IL-17 수준 측정

Collagen type II를 감작하여 Th1 관절염 자가 면역 질환을 유도한 동물모델에서 CK와 BG 투여에 따른 치료효능을 관찰하기 위하여 proinflammatory cytokine인 TNF- α (그림 23A)와 IL-17 (그림 23B) 생산량을 측정하였다. 실험종료 후 혈청을 분리하여 TNF- α (그림 23A)와 IL-17 (그림 23B) 생산량을 ELISA로 측정한 결과는 실험군 또는 투여농도간의 TNF- α 와 IL-17 생산량의 의미 있는 차이가 없었다. 이는 두 TNF- α 와 IL-17 생산량 수준이 너무 낮아 실험분석이 불가능하였다.

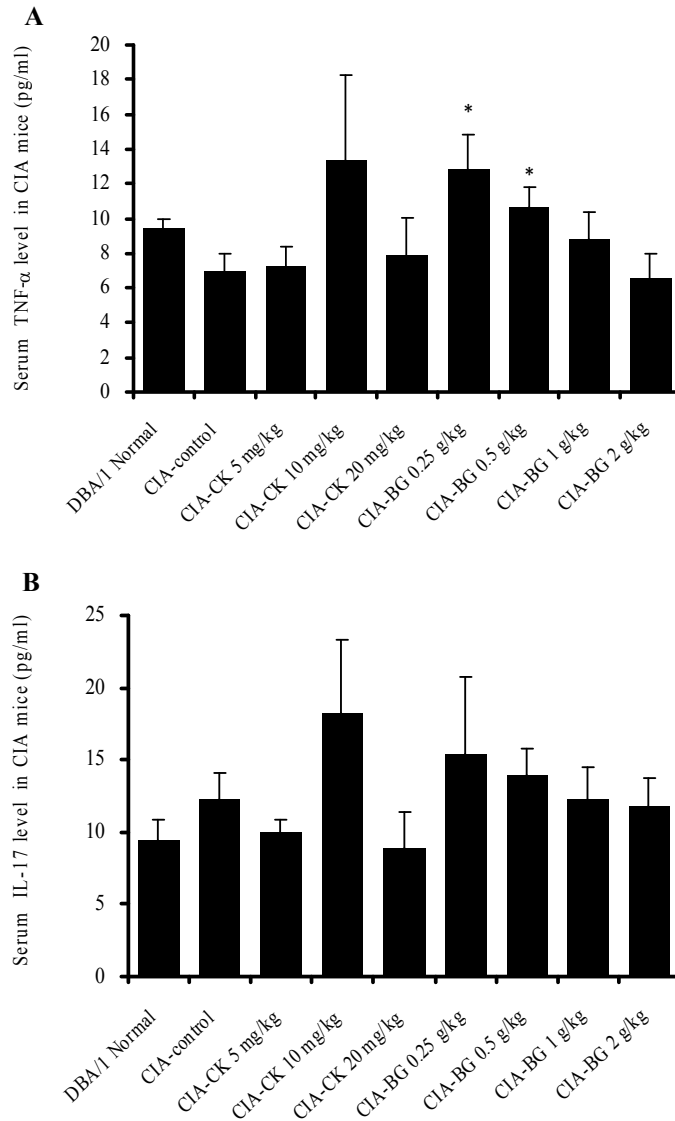


그림 23. CK와 BG에 대한 혈청내 TNF- α 와 IL-17 수준 측정

(2) Specific type collagen II response cells in splenocytes of DBA/1 mice

실험 종료후 DBA/1 생쥐에서 비장세포를 분리한 후 미리 type II collagen protein을 coating해 놓은 96 well plate에 1×10^6 세포를 분주하여 48시간 배양 후 배양 상층액에서 proinflammatory cytokine인 TNF- α (그림 31A)와 IL-17 (그림 24B) 생산량, 그리고 IL-2 (그림 24C)와 IFN- γ (그림 24D)의 생산량을 ELISA로 측정하였다. 그 결과 proinflammatory cytokine인 TNF- α (그림 24A) 생산량은 정상군에 비하여 대조군이 각각 2.4배 이상 증가하였다. CK 20 mg/kg, BK 0.25 g/kg, 그리고 BG 2 g/kg 투여군은 대조군에 비하여 감소를 나타내었지만 농도 의존적 유의성은 없었다.

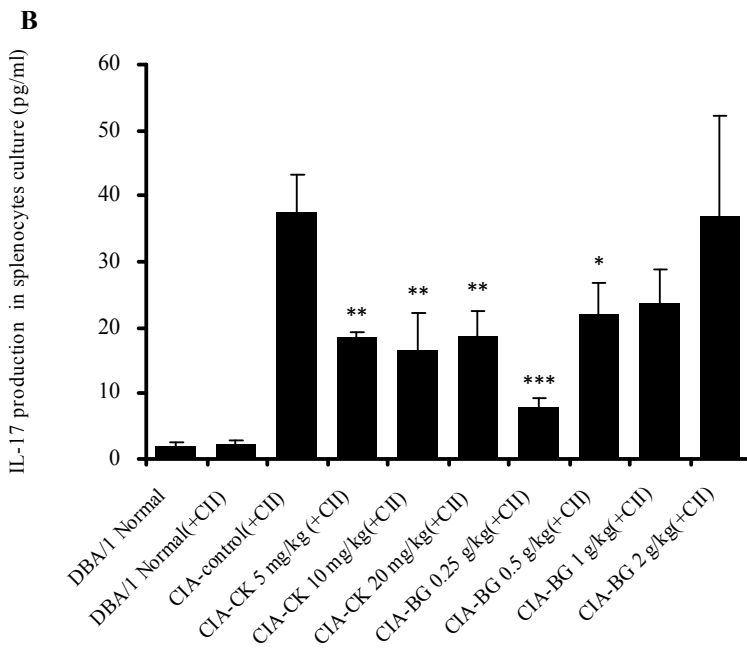
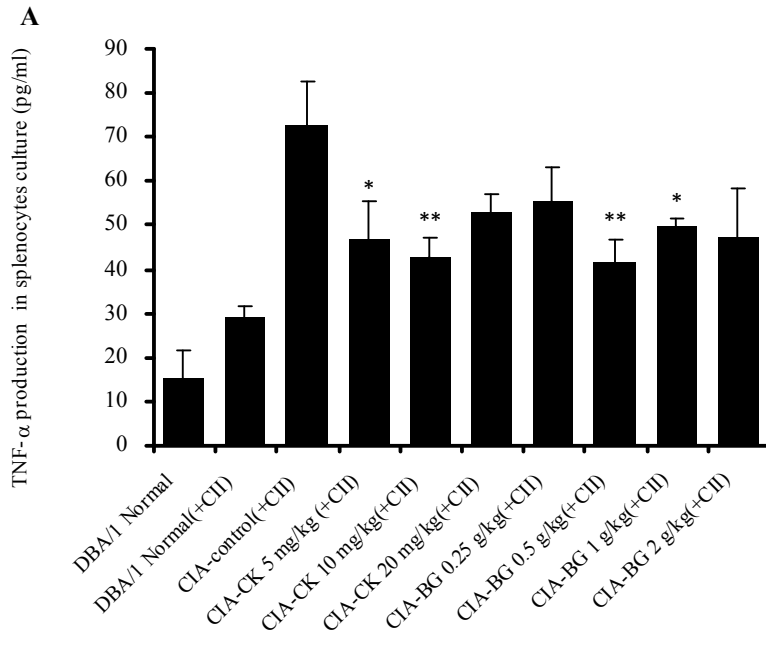
대조군에 비하여 농도 의존적으로 유의성이 있는 감소를 나타낸 실험군은 CK 5 mg/kg (35.8%이상 감소, $p < 0.05$), CK 10 mg/kg (41.1%이상 감소, $p < 0.01$), BG 0.5 g/kg

(42.6%이상 감소, $p < 0.01$), 그리고 BG 1 g/kg (31.42%이상 감소, $p < 0.05$)이었다.

IL-17 (그림 24B) 생산량은 정상군에 비하여 대조군이 각각 15.6배 이상 증가하였고, BG 1 g/kg 투여군은 대조군에 비하여 감소를 나타내었지만 농도 의존적 유의성은 없었지만, CK 5 mg/kg (50.7%이상 감소, $p < 0.01$), CK 10 mg/kg (56.1%이상 감소, $p < 0.01$), CK 20 mg/kg (50%이상 감소, $p < 0.01$), BG 0.25 g/kg (79.5%이상 감소, $p < 0.001$), 그리고 BG 0.5 g/kg (42.0%이상 감소, $p < 0.05$)에서 대조군에 비하여 농도 의존적으로 유의성이 있는 감소를 보였다.

그림 24C에서 보듯이 IL-2 생산량은 정상군에 비하여 대조군이 각각 63.2% 이상 증가하였고, 대조군에 비하여 CK와 BG 투여군중 BG 0.5 g/kg ($p < 0.05$)만이 농도 의존적으로 유의성 있게 감소를 나타내었고, 그 밖의 CK와 BG 투여 농도에서는 대조군과 큰 차이가 없었다. *Ex. vivo* lymphokine assay인 IFN- γ (그림 24D) 생산량은 정상군에 비하여 대조군이 각각 11.7배 이상 증가하였다. CK 20 mg/kg (41.4%이상 감소), BG 0.5 g/kg (41.5%이상 감소), 그리고 BG 2 g/kg (27.9%이상 감소) 투여군은 대조군에 비하여 감소를 나타내었지만 농도 의존적 유의성은 없었다. 대조군에 비하여 농도 의존적으로 유의성이 있는 감소를 나타낸 실험군은 CK 5 mg/kg (79.8%이상 감소, $p < 0.01$), CK 10 mg/kg (67.3%이상 감소, $p < 0.01$), BG 0.25 g/kg (72.3%이상 감소, $p < 0.01$), 그리고 BG 1 g/kg (52.8%이상 감소, $p < 0.05$)이었다.

이러한 결과로 CK와 BG투여에 대한 항염 효능은 각각 10 ~ 20 mg/kg, 0.5 g/kg ~ 1 g/kg사이에서 가장 큰 효과를 나타내었고, 고농도 보다는 저 농도로 투여했을 때 결과 수치가 일정하여 농도 의존적 유의성이 많이 도출되는 경향을 나타내었다. 통계학적으로도 CK, BG 모두 염증억제 효과가 있다는 유의성 있는 결과를 얻었다.



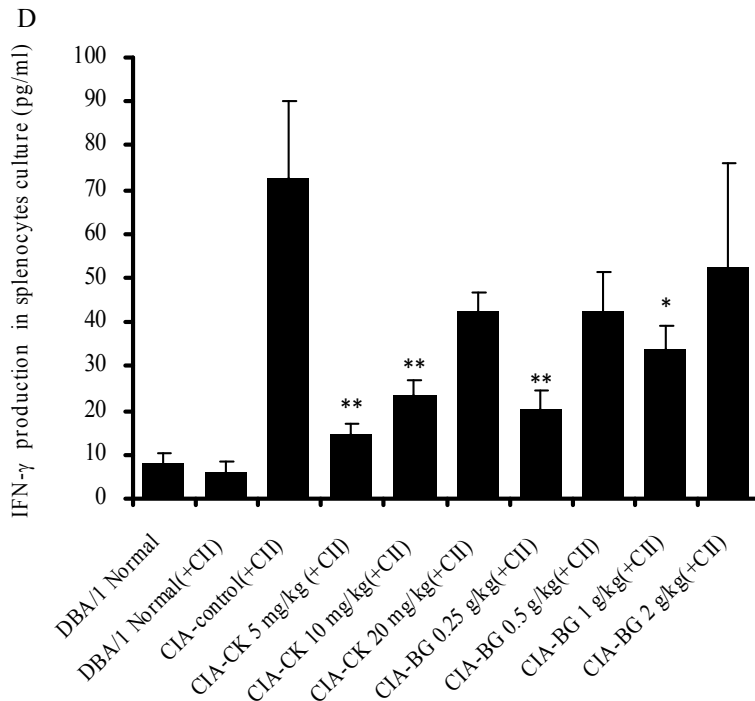
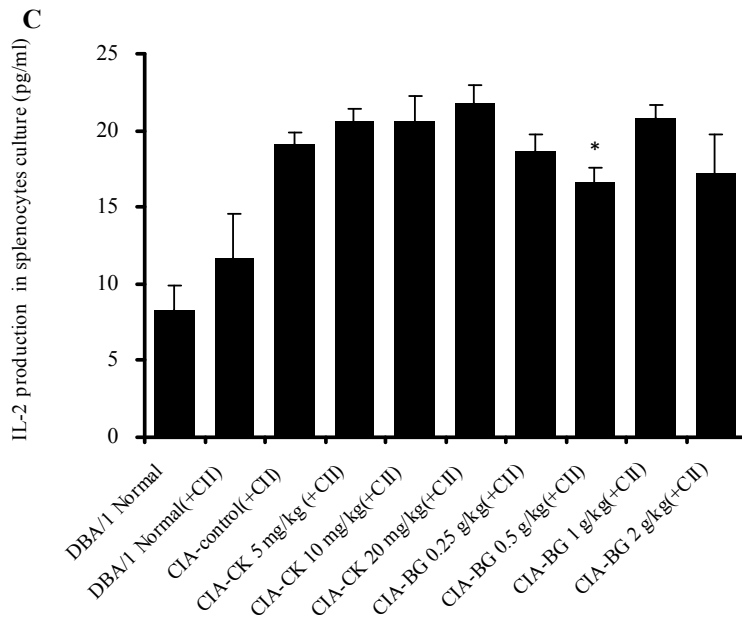


그림 24. Lymphokine assay를 통한 CK와 BG의 효과

사. CIA 생쥐의 후족부 Real-Time Quantitative PCR 분석

DBA/1 생쥐에 6주간 CK와 BG를 투여한 후 μ CT 촬영이 종료된 시험군 생쥐의 후족부에서 조직에서 RNA를 분리하여 real-time PCR로 유전자 발현을 분석한 결과이다.

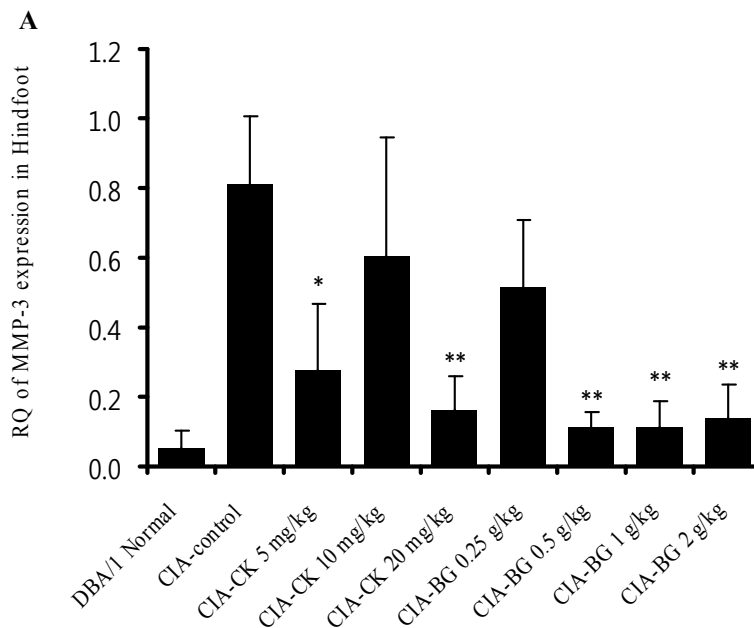
(1) MMP-3와 MMP-13 유전자 발현 분석

μ CT 촬영이 종료된 시험군 생쥐의 후족부에서 조직을 분리하여 연골퇴화 및 관절 손상을

유도하는 Matrix metalloprotease-3 (MMP-3)와 Matrix metalloprotease-13 (MMP-13)의 mRNA 유전자 발현을 분석하였다. 그 결과 MMP-3 (그림 25A) 유전자 발현은 정상군에 비하여 대조군이 현저하게 증가하였다. CK 10 mg/kg, 과 BG 0.25 g/kg 투여군에서는 대조군에 비하여 감소를 나타내었지만 농도 의존적 유의성은 없었다. 하지만, CK 5 mg/kg ($p<0.05$), CK 20 mg/kg ($p<0.01$), BG 0.5 g/kg ($p<0.01$), BG 1 g/kg ($p<0.01$), 그리고 BG 2 g/kg ($p<0.05$) 실험군에서 대조군에 비하여 농도 의존적으로 유의성이 있는 감소를 나타내었다.

MMP-13 (그림 25B) 유전자 발현은 정상군에 비하여 대조군이 각각 현저하게 증가하였다. CK 10 mg/kg 투여군은 대조군에 비하여 감소를 나타내었지만 농도 의존적 유의성은 없었지만, CK 5 mg/kg ($p<0.001$), CK 20 mg/kg ($p<0.001$), BG 0.25 g/kg ($p<0.01$), BG 0.5 g/kg ($p<0.001$), BG 1 g/kg ($p<0.001$), 그리고 BG 2 g/kg ($p<0.001$) 실험군이 대조군에 비하여 농도 의존적으로 유의성이 있는 감소를 나타내었다. 하지만, 통계학적으로 CK, BG 모두 염증억제 효과가 있다는 유의성 있는 결과를 얻었다.

이러한 결과에서 연골 파괴 및 관절 손상을 유발하는 MMP-3와 MMP-13 유전자 발현을 CK와 BG투여로 억제하여 항 관절염 효과를 나타내었고, CK 투여 농도에 따른 효능에는 5~20 mg/kg에서 큰 차이가 없었고, BG는 0.5~2 g/kg에서 농도에 따른 큰 차이가 나타나지 않았다.



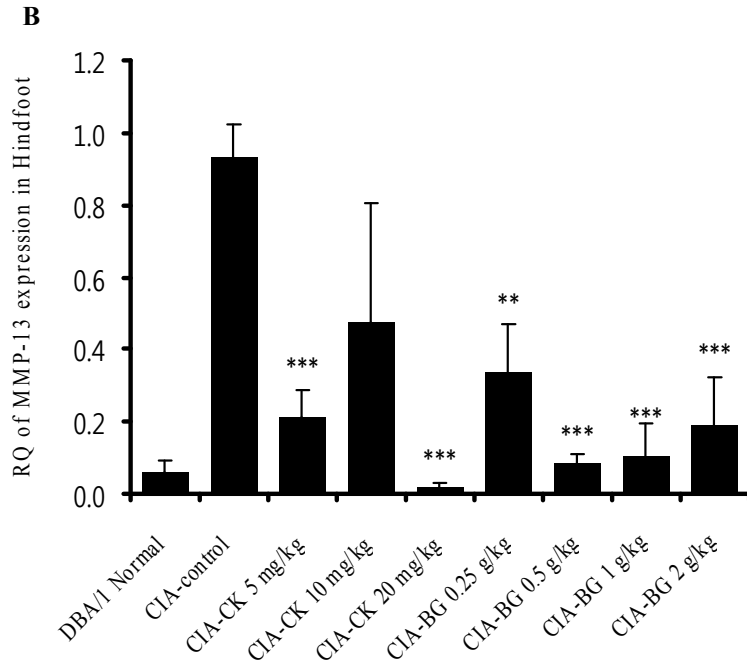


그림 25. CK와 BG에 대한 MMP-3와 MMP-13 유전자 발현 분석

(2) RANKL과 OPG 유전자 발현 분석

μ CT 촬영이 종료된 시험군 생쥐의 후족부에서 조직을 분리하여 연골퇴화 및 관절 손상을 유도하는 Receptor Activator of NF- κ B ligand (RANKL)과 Osteoprotegerin(OPG)의 mRNA 유전자 발현을 분석하였다. 그 결과 RANKL (그림 26A) mRNA 유전자 발현은 정상군에 비하여 대조군이 크게 증가하였다. CK 10 mg/kg, BG 500 mg/kg, 그리고 BG 1 g/kg 투여군은 대조군에 비하여 감소를 나타내었지만 농도 의존적 유의성은 없었다. CK 5 mg/kg ($p < 0.01$), CK 20 mg/kg ($p < 0.01$), BG 2 g/kg ($p < 0.01$), 그리고 BG 4 g/kg ($p < 0.05$) 실험군에서 대조군에 비하여 농도 의존적으로 유의성이 있는 감소를 나타내었다.

OPG (그림 26B) 유전자 발현은 정상군에 비하여 대조군이 현저하게 증가하였고, 대조군에 비하여 농도 의존적으로 유의성이 있는 감소를 나타낸 실험군은 CK 5 mg/kg ($p < 0.001$), CK 10 mg/kg ($p < 0.01$), CK 20 mg/kg ($p < 0.001$), BG 500 mg/kg ($p < 0.001$), BG 1 g/kg ($p < 0.001$), BG 2 g/kg ($p < 0.01$), 그리고 BG 4 g/kg ($p < 0.05$) 등으로 모든 농도에서 감소를 나타내었다. 또한 CK 투여 농도에 따른 효능에는 5~20 mg/kg에서 큰 차이가 없었고, BG는 500 mg/kg~4 g/kg에서 농도에 따른 큰 차이가 나타나지 않았다. 하지만, 통계학적으로 CK, BG 모두 염증억제 효과가 있다는 유의성 있는 결과를 얻

었다.

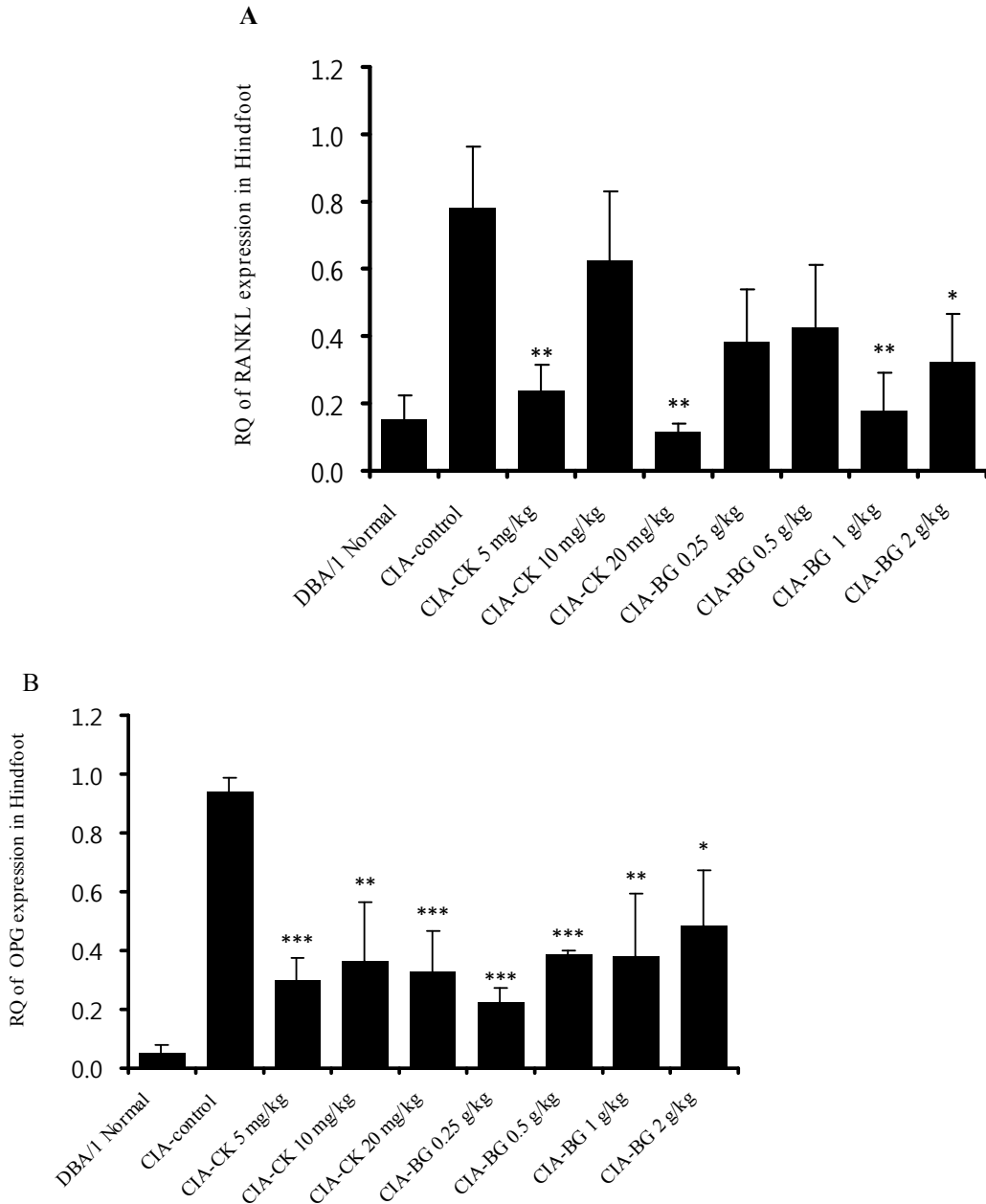
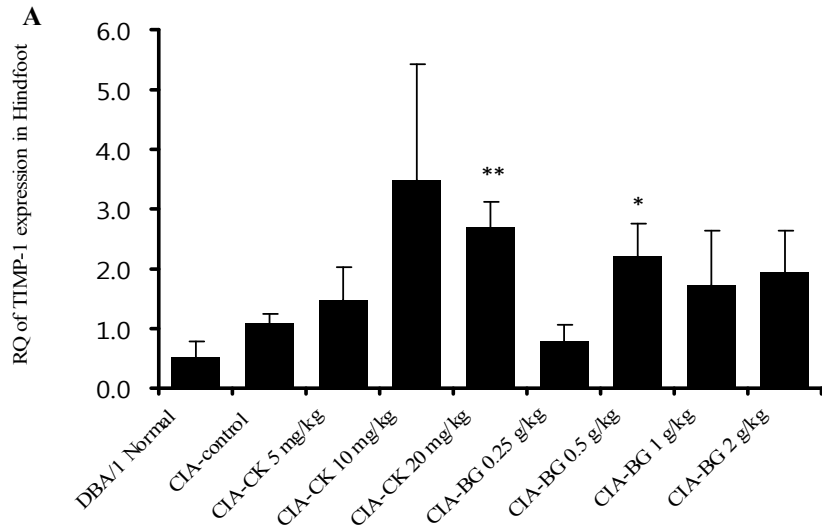


그림 26. CK와 BG에 대한 RANKL과 OPG 유전자 발현 분석

(3) TIMP-1 유전자 발현 분석

μCT 촬영이 종료된 시험군 생쥐의 후족부에서 조직을 분리하여 연골세포에서 생산되는 MMPs의 억제제로 알려진 Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1 (TIMP-1)의 mRNA 유전자 발현을 분석하였다. 그 결과 TIMP-1 (그림 27) mRNA 유전자 발현은 실험군에 대한 대조군의 상대 정량값을 분석하였다. 농도 의존적 유의성은 없었지만, CK 10 mg/kg (3.17배 이상), BG 2 g/kg (1.57배 이상), 그리고 BG 4 g/kg (1.77배 이상) 투여군은 대조군에 비하여 증가를 나타내었다. CK 20 mg/kg (2.46배 이상, $p < 0.01$)과 BG 1 g/kg (2.02배 이상, $p < 0.01$) 실험군에서 대조군에 비하여 농도 의존적으로 유의성이 있는



증가를 나타낸다.

그림 27. CK와 BG에 대한 TIMP-1 유전자 발현 분석

아. 후족부에서 면역화학조직염색 (immunohistochemical staining)

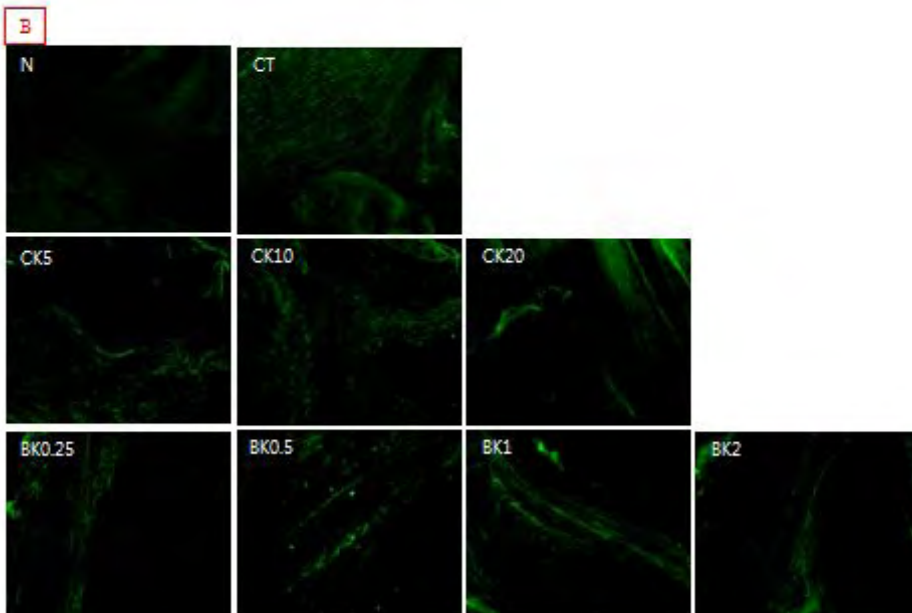
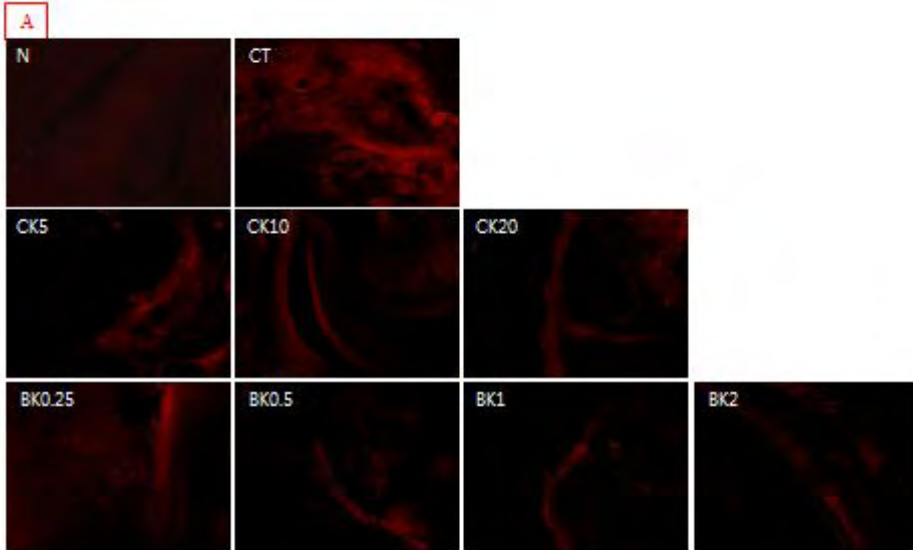
DBA/1 생쥐에 6주간 CK와 BG를 투여한 후 μ CT/total RNA 분석한 후족부가 아닌 다른 쪽 시험군 생쥐의 후족부를 적출하여 -20°C 에서 냉동시킨 후 cryostat를 이용하여 $20\ \mu\text{m}$ 의 두께로 잘라 슬라이드에 부착시킨 후 TIMP-1, MMP-1/8, MMP-3, MMP-13에 대한 면역화학조직염색을 분석한 결과이다.

(1) MMP-1/8, MMP-3, 그리고 MMP-13 단백질 발현 분석

MMP-1/8 (그림 28A), MMP-3 (그림 28B), 그리고 MMP-13 (그림 28C)의 단백질 발현을 면역조직염색법으로 분석하였다. 그 결과 후족부 관절 활막 조직에서 MMP-1/8 (그림 28A) 발현은 정상군에 비하여 대조군 (CT)이 현저하게 증가하였고, 대조군에 비하여 CK 10 mg/kg, CK 20 mg/kg, BG 0.5 g/kg, BG 1 g/kg, 그리고 BG 2 g/kg 투여군의 후족부 관절 활막 주변에서 MMP-1/8 단백질 발현이 감소를 나타내었다.

MMP-3 (그림 28B) 단백질 발현은 정상군(N)에 비하여 대조군 (CT)이 현저하게 증가하였고, 대조군에 비하여 CK 10 mg/kg, CK 20 mg/kg, 그리고 BG 2 g/kg 투여군의 후족부 관절 활막 주변에서 MMP-3 단백질 발현이 감소를 나타내었다.

후족부 관절 활막 조직에서 MMP-13 (그림 28C) 발현은 정상군에 비하여 대조군 (CT)이 현저하게 증가하였고, 대조군에 비하여 CK 10 mg/kg, CK 20 mg/kg, BG 0.5 g/kg, BG 1 g/kg, 그리고 BG 2 g/kg 투여군의 후족부 관절 활막 주변에서 MMP-13 단백질 발현이 감소를 나타내었다. 이러한 결과는 MMP-1/8 단백질 발현과 거의 일치하는 결과로 나타났다.



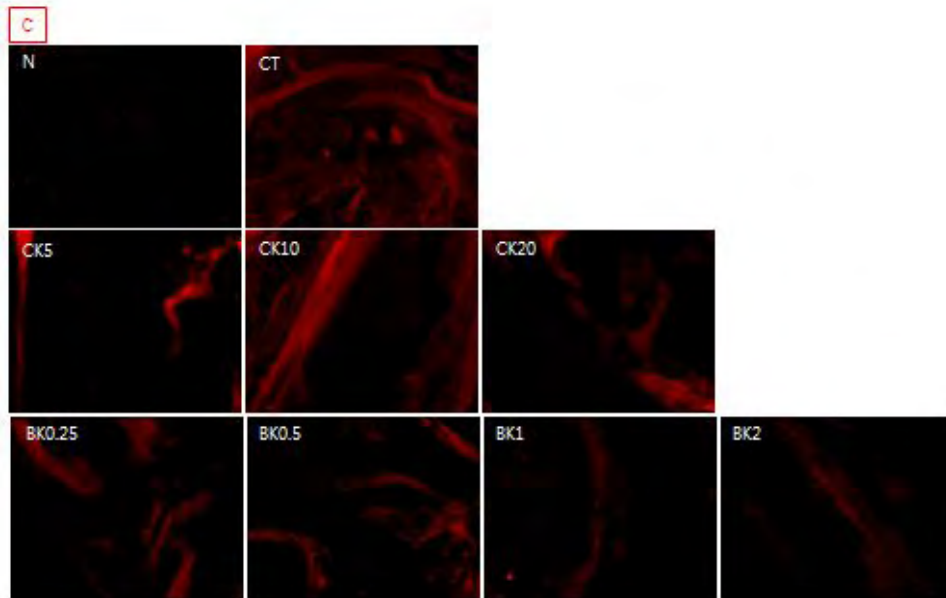


그림 28. CK와 BG에 대한 MMP-1/8, MMP-3, MMP-13 단백질 발현 분석

(2) TIMP-1 단백질 발현 분석

연골세포에서 생산되는 MMPs의 억제제로 알려진 Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1 (TIMP-1, 그림 29)의 단백질 발현을 면역조직염색법으로 분석하였다. 그 결과 후족부 관절 활막 조직 주변에서 TIMP-1 단백질 발현은 정상군 (N)에 비하여 대조군 (CT)이 큰 차이가 나타나지 않았고, 대조군에 비하여 CK 10 mg/kg, CK 20 mg/kg, BG 0.5 g/kg, BG 1 g/kg, 그리고 BG 2 g/kg 투여군의 후족부 관절 활막 주변에서 TIMP-1 단백질 발현이 증가되었다.

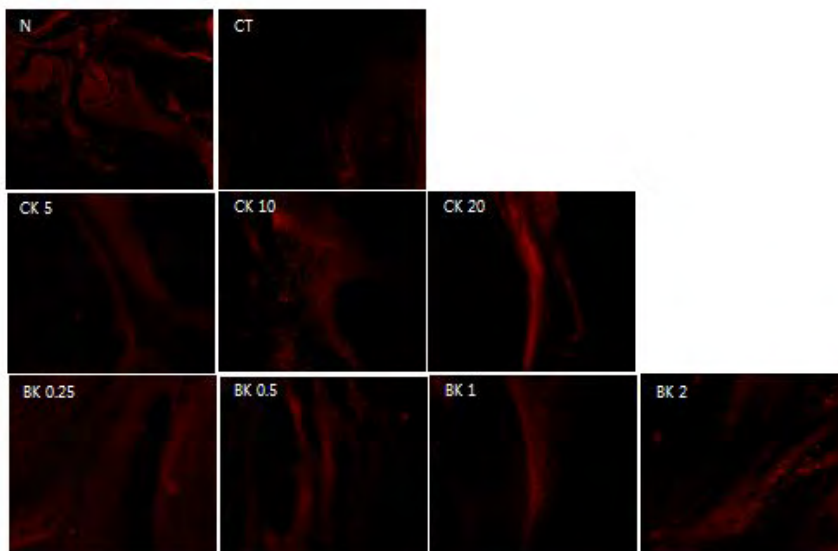
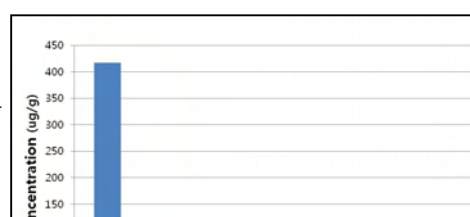


그림 29. CK와 BG에 대한 TIMP-1 단백질 발현 분석

아. Compound K(CK) 경구 투여의 약물 동태학 및 약물 동력학 실험(Rat)

- CK 100 mg/kg을 경구투여한 후 최고 혈장 중 농도는 30분이었으며, 이 후 완만한 소실을 보였다. 생체 이용율은 약 50 %였음. (그림 30)



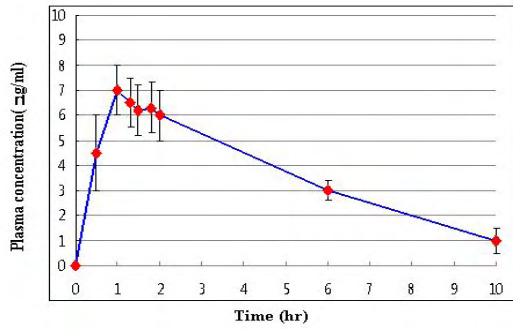


그림 30. 경구 투여 후 시간별 Compound K(CK)의 농도 변화(왼쪽) 및 인삼사포닌의 체내 분포 (오른쪽)

자. Compound K(CK) 정맥 투여의 약물 동태학 및 약물 동력학 실험(Rat)

CK 10 mg/kg을 정맥 주사한 15분 이후에는 혈장 중 농도가 검출되지 않았으며 조직내로 빠르게 분포하고 주로 간에 분포하므로 담즙으로 배설되는 것으로 판단됨. (그림 31)

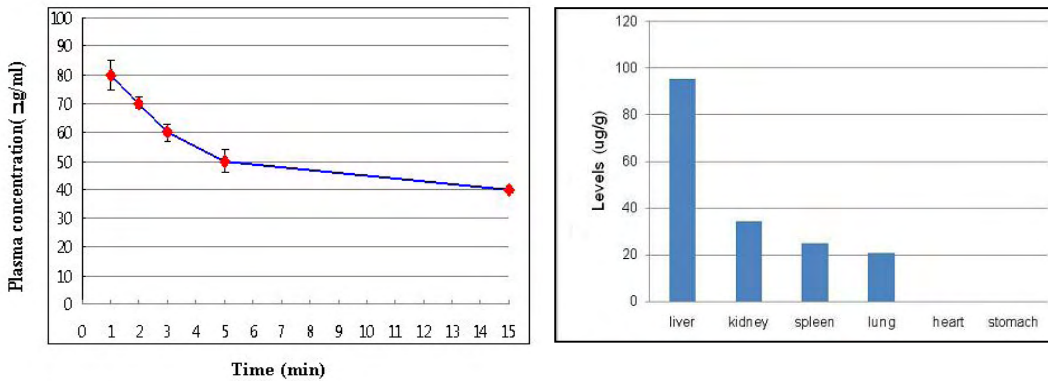


그림 31. 정맥 투여후 시간별 Compound K(CK)의 농도 변화(왼쪽) 및 인삼사포닌의 체내 분포 (오른쪽)

타. Compound K (CK) 약물 동태학 및 약물 동력학 실험(Human)

CK 1 mg/kg을 경구투여한 후 최고 혈장 중 농도는 4 시간이었으며, 이 후 완만한 소실을 보였다. (그림 32)

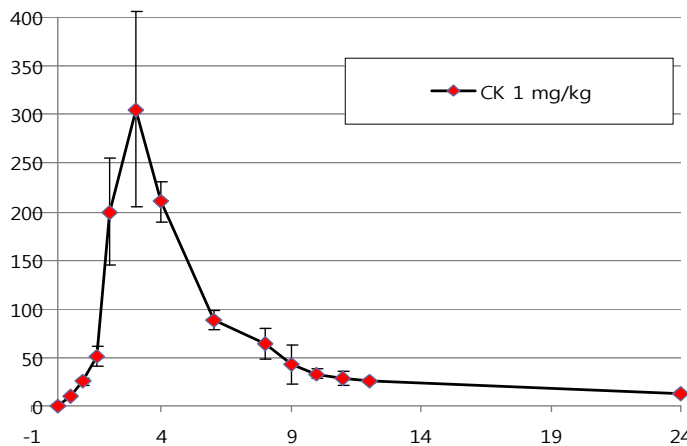


그림 32. 경구 투여 후 시간별 Compound K(CK)의 농도 변화

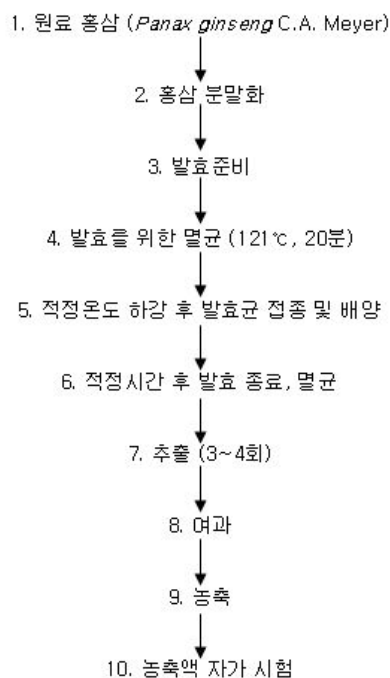
자. 인삼 사포닌의 지표물질 Compound K(CK)와 시제품(Bioginseng)의 관절염 실험동물 모델에서의 효능 최종 결론

본 연구에서는 홍삼 가수분해 농축액 (Bioginseng, BG)의 *in vitro* 관절건강 효과를 토대로 *in vivo* 실험을 시행하였다. 이번 연구에서도 *in vitro* 실험과 마찬가지로 홍삼 가수분해 농축액 (Bioginseng, BG)의 지표물질인 Compound K (CK)를 동반하여 CK(5, 10, 20 mg/kg), BG(0.25, 0.5, 1, 2 g/kg)을 관절염의 대표적인 동물 모델인 CIA 생쥐에 경구 투여하여 CIA의 관절염 지수, 조직학적, 면역학적 분석을 통해 염증 억제 효과를 확인하였다. 여기서 CK를 홍삼 가수분해 농축액 (Bioginseng)과 동반한 이유는 *in vitro* 실험과 마찬가지로 홍삼 가수분해 농축액 (Bioginseng)의 기능성을 나타내는 주요성분이 CK이기 때문이다.

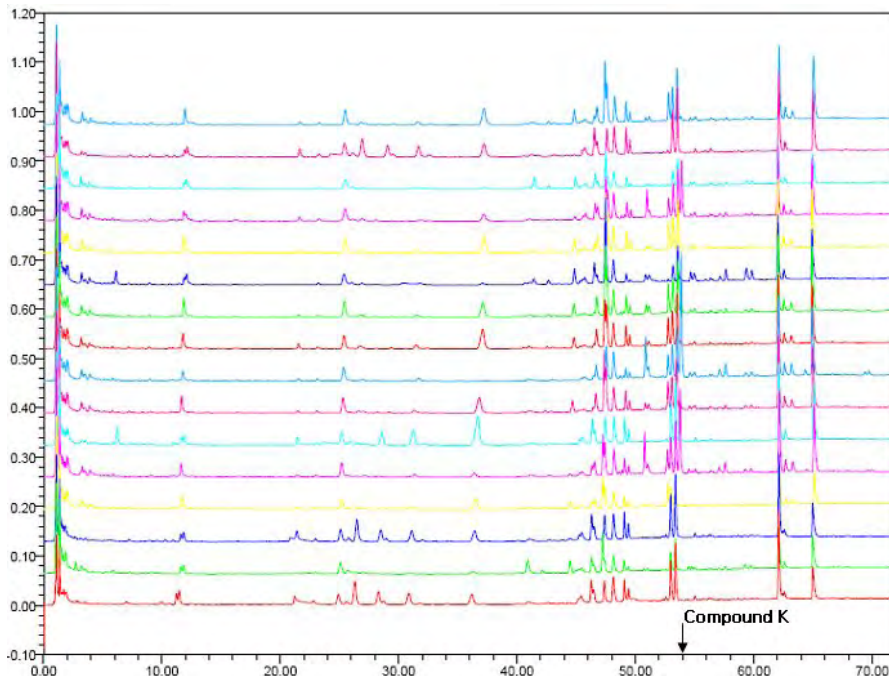
CIA의 관절염 지수, 조직학적, 면역학적 분석결과는 대조군에 비해서 농도 의존적이지는 않았지만, 통계적으로는 CK와 BG 모두 염증억제 효과가 있다는 유의성 있는 결과를 얻었다. 홍삼 (Bioginseng)의 지표물질 CK는 5 ~ 20 mg/kg투여농도에서 시제품 (Bioginseng)은 0.25 ~ 2 g/kg 투여농도에서 관절염 억제가 대조군에 비하여 가장 크게 나타남이 확인되었다. 이것은 시제품 (Bioginseng)안에 지표물질 CK가 1 %정도 함유되어있다는 것에 의거하면 유의성 있는 결과를 도출하였고, 시제품 (Bioginseng)이 *in vivo*에서도 관절건강에 효과가 있는 결과를 얻었다.

9. 제품(Bioginseng) 생산방법 확립

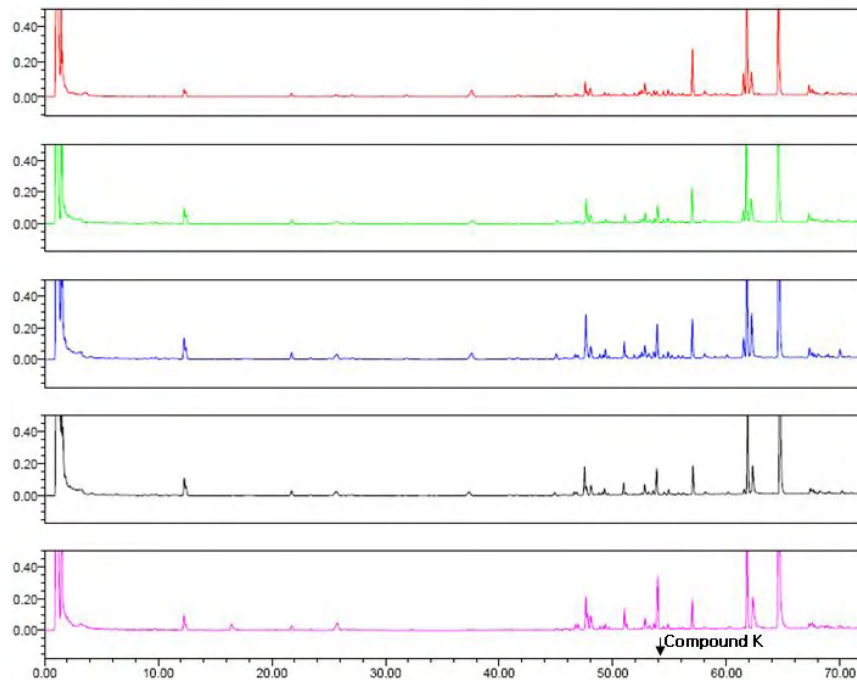
가. 홍삼 가수분해 농축액(Bioginseng) 농축액 생산공정



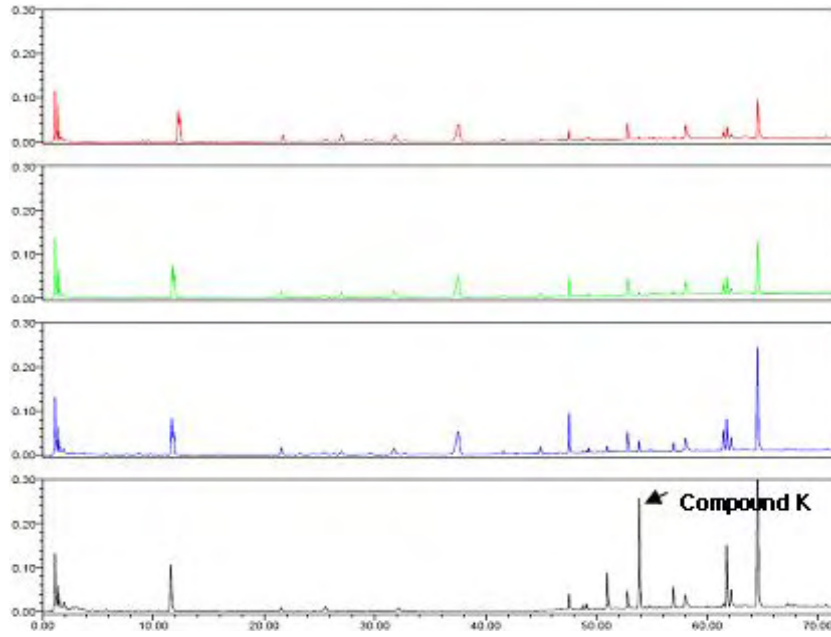
나. Bioginseng 농축액 Compound K 규격 설정을 위한 HPLC 분석 Chromatogram



* 발효균주에 따른 Bioginseng 농축액 Compound K 규격 설정을 위한 HPLC 분석 Chromatogram



* 발효시간에 따른 Bioginseng 농축액 Compound K 규격 설정을 위한 HPLC 분석 Chromatogram



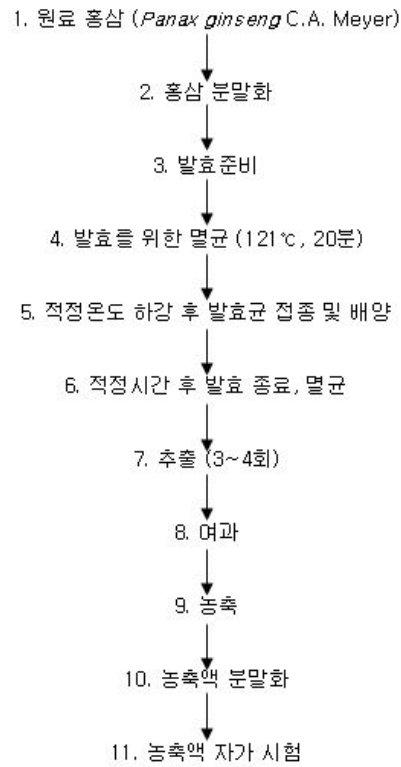
* 접종량에 따른 Bioginseng 농축액 Compound K 규격 설정을 위한 HPLC 분석 Chromatogram

- 발효관련 인자의 변화에 따른 Compound K 생산량의 차이가 다양하게 나타남을 알 수 있음, 최적발효조건을 이용하여 Compound K 함량을 10.39 mg/g~13.23 mg/g으로 설정

다. Bioginseng 농축액 규격 및 결과

항목	규격	결과	판정
성상	고유의 색상과 맛을 가지며, 이미 이취가 없어야 한다.	이미 이취가 없고 고유의 향미가 있는 흑갈색의 점조성 액상	적합
고형분 함량(%)	>60	65.5	적합
물불용성침전물(%)	<2.0	1.0	적합
카라멜색소	불검출	불검출	적합
세균수	ml당 3000이하	불검출	적합
Coliform	<100 CFU/ml	0	적합
대장균군	음성	음성	적합
중금속 (Lead, Cadmium, Arsenic, etc.)	불검출	불검출	적합
조사포닌	>70 mg/g	72	적합
Compound K	10.39~13.23 mg/g	12.10 mg/g	적합

라. Bioginseng 분말 생산 방법



마. Bioginseng 분말 규격 및 결과

항목	규격	결과	판정
성상	고유의 색택과 향미를 가지며, 이미 이취가 없다	이미, 이취가 없고 고유의 향미가 있는 흑갈색의 가루	적합
수분 함량(%)	<5%	2.4	적합
카라멜 색소	불검출	불검출	적합
세균수	불검출	불검출	적합
Coliform	<100CFU/ml	0	적합
대장균군	불검출	불검출	적합
중금속 (Lead, Cadmium, Arsenic, etc.)	불검출	불검출	적합
조사포닌	>50mg/g	54	적합
Compound K	7.27~9.26mg/g	8.47mg/g	적합

바 식품의약품안전청 건강기능식품기준과에 홍삼 가수분해 농축액(Bioginseng)에 대해 건강기능식품 개별인정형 기능성원료로 신청을 하였다. (접수번호 20120193056)

접수 번호	20120193056		수령방 법	우편수령
접수 일시	2012년07월10일	13시2 0분	처리 기한	2012년11월29일
처리 부서	식품안전국 건강기능식품기준과			
민원명	건강기능식품 기능성원료 인정 신청(새로운원료)			
민원 건명	홍삼가수분해농축액(바이오진생)			
처리과기 특물등록번호				

3핵심 6세부

1. 인삼 사포닌 (ginsenoside)이 면역세포에 미치는 영향 규명 :

사포닌(ginsenoside)에 의해 단핵세포주 (THP-1)와 인간 혈액 유래 단핵세포에서 발현되는 면역 관련 인자 mRNA 수준의 발현변화 측정 조건을 확립하고 ELISA를 이용한 면역세포 특이 사이토카인 분석과 유세포분석기(Flow cytometry) 분석 기법을 이용한 면역세포 표면 단백질 분석하는 방법을 통하여 인삼 사포닌이 선천성 면역 반응에 미치는 영향을 연구하고, 면역세포 및 암세포의 신호전달 연구를 위한 시스템 확립에 중점을 두어 인삼사포닌이 면역 세포에 미치는 영향을 규명.

2. 인삼 사포닌 (ginsenoside)이 세포 면역반응 및 신호전달에 미치는 영향 연구 :

인삼사포닌이 면역 세포에 미치는 영향을 규명한 후에 이러한 시스템이 확립되면 이를 바탕으로 인삼 사포닌이 세포 면역반응에 미치는 영향에 관한 연구가 진행 될 것이며, 사포닌(ginsenoside)과 숙주 면역 세포의 상관관계 이해를 통한 면역 조절 작용점을 연구하고 유세포 분석(FACS analysis) 기법을 이용하여 사포닌(ginsenoside)에 의한 면역세포분열반응 및 세포 내 면역단백질 측정과 사포닌이 면역세포 신호전달 체계에 미치는 영향을 연구하여 인삼 사포닌이 세포면역 반응에 어떠한 변화를 미치는지에 대한 연구와 사포닌이 면역 세포 내 신호전달체계에 미치는 영향 및 전사조절 인자를 규명.

3. 인삼 사포닌 (ginsenoside)이 성장호르몬에 반응하는 암세포에 미치는 역할 규명 :

사포닌(ginsenoside)이 숙주와 암세포의 상관관계에 미치는 영향을 연구하고, 유세포 분석(FACS analysis) 기법을 이용하여 사포닌 (ginsenoside)에 의한 암세포 특이 면역반응을 측정하여 인삼사포닌 이 성장호르몬에 자극된 암세포의 신호전달에 미치는 영향을 규명하며, 신호전달 억제제를 이용한 암세포 신호전달 체계에 사포닌이 미치는 영향을 연구하여 인삼사포닌(ginsenoside)이 성장호르몬에 자극된 암세포의 면역작용점에 미치는 영향을 연구.

4. 인삼 사포닌 (ginsenoside)의 암세포주 증식 또는 억제 기작 규명 : 인삼 사포닌

(ginsenoside)이 성장호르몬에 반응하는 암세포에 미치는 역할 규명이 끝나면, 인삼사포닌(ginsenoside) 이 암세포주 활성 억제에 미치는 영향 연구와 인삼사포닌 (ginsenoside)이 항암세포주 신호전달에 미치는 영향 규명을 하여야 하는데 이는 사포닌(ginsenoside)과 숙주 면역세포의 상관관계 이해를 통한 면역 조절의 작용점을 연구하고, 사포닌과 사이토카인이 암세포에 미치는 영향연구, 그리고 신호전달 억제제를 이용한 특이 신호전달 기전을 연구하는 방법으로 진행.

5. 인삼 사포닌 (ginsenoside)의 세포 면역반응 향상을 통한 항염효과 규명 : 인삼 사포닌

(ginsenoside)의 수지상세포 분화에 미치는 영향을 연구하고, 인삼사포닌 처리에 의해 분화 된 수지상세포가 외부 항원 인식 기능 및 궁극적으로 T 세포의 활성화에 미치는 영향을 규명하도록 하며, 이를 통한 인삼사포닌이 가지는 항염효과와 면역반응간의 관계 규명을 위한 연구

1. 1년차 연구 결과

가. 단핵세포에서 lipopolysaccharide (LPS)와 인삼 사포닌(ginsenoside)에 의한 사이토카인의 mRNA 변화 연구

:본 연구팀은 본격적인 실험에 앞서, 염증 유발 물질로 잘 알려진 lipopolysaccharide (LPS)에 대해 인삼 사포닌이 어떠한 영향을 끼치는지 알아보기 위해 인간세포주 THP-1 세포주를 가지고 실험을 하였다. TNF- α 는 체내 면역기능 및 염증유도에서 중요한 기능을 하는 사이토카인으로 알려져 있다. 또한 CD120은 TNF- α 수용체 family 중의 하나로서 TNF- α 에 의해 유도는 신호전달의 정상적 기능 여부를 확인 할 수 있다. SOCS3는 대표적인 세포내 음성조절 인자로서 세포의 사이토카인 생성 억제에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 마지막으로 IL-10의 경우, anti-inflammatory 사이토카인으로서 항염증성 기능을 가진 사이토카인으로 보고되어진다. 따라서 본 연구에서는 이러한 사이토카인 및 수용체, 신호전달 물질의 발현을 mRNA 수준에서 측정하였고, 인삼사포닌에 의해 이러한 물질들의 발현이 증가 되는 것을 확인 하였다(그림 1). 또한 TNF- α 의 경우, 단백질 수준에서 인삼사포닌에 의해 생성이 증가되어지는 것을 확인하였다(그림 1).

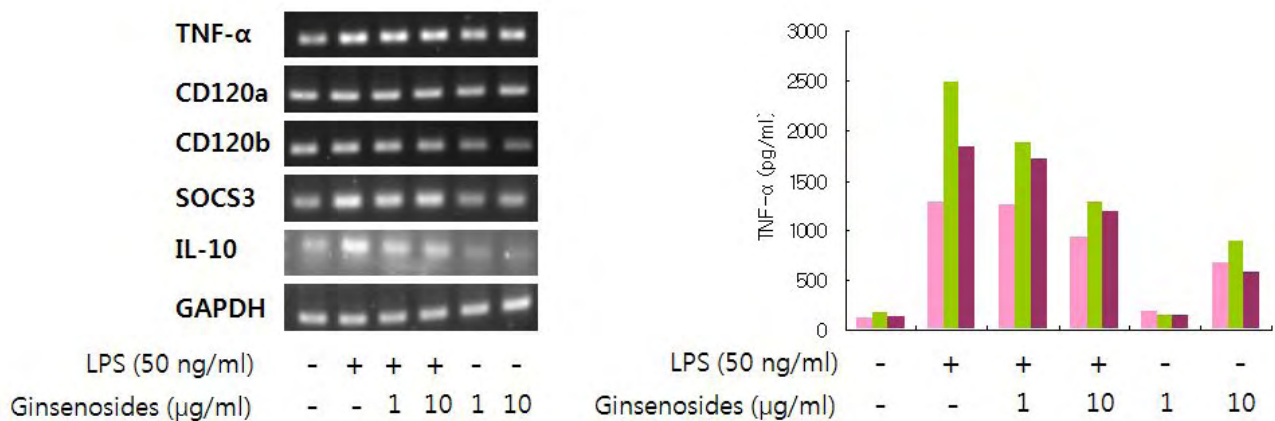


그림 1. 인삼사포닌에 의한 THP-1에서의 사이토카인 및 수용체의 변화 연구

나. 유세포(Flow cytometry) 분석 기법을 이용한 면역세포 표면 단백질 분석

본 실험에서는 우선 LPS와 인삼 사포닌에 의한 CD14 molecule의 변화를 연구하고자 하였다. LPS는 이미 Toll-like receptor4 (TLR4)의 ligand로 잘 알려진 물질이기 때문에, 우리는 LPS에 의한 염증성, 항 염증성 사이토카인들의 변화가 TLR4에 의한 신호전달의 결과라고 알 수 있다. 하지만 인삼사포닌에 의한 여러 사이토카인들의 변화 기작에 대해서는 아직 구체적으로 밝혀진 것이 없다. 따라서 우리는 LPS와 같이 TLR4의 신호전달을 하기위해 필수적 요소인 CD14 molecule의 변화를 확인해 보고자 하였다. 앞서 실험에서 보았듯이 LPS에 의해 증가 된 TNF- α 의 발현이 인삼 사포닌에 의해 감소되었으며, 인삼 사포닌 자체만으로는 TNF- α 의 발현수준을 증가시키는 것을 알 수 있었다(그림 1). 그래서 우리는 LPS를 ligand로 가지고 신호전달을 하는 TLR4에 인삼 사포닌이 경쟁적으로 결합하는 것이 아닐까 하는 의문을 갖고 다음 실험을 진행하였다.

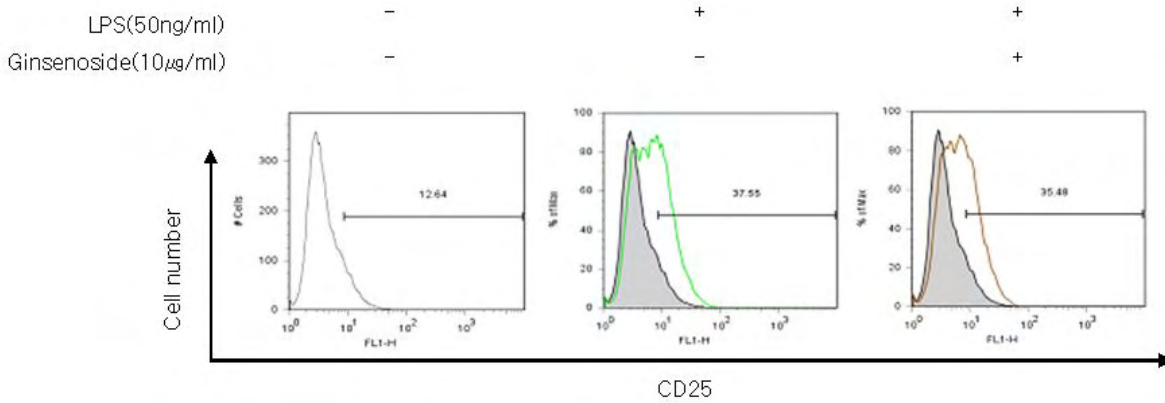


그림 2. TLR4 발현 CHO 세포에서 인삼사포닌의 신호전달 양상 비교

CD25와 TLR4를 형질전환 시킨 CHO세포에서 LPS와 인삼 사포닌을 처리하여 CD25의 발현 정도를 확인하였지만, 위의 그림에서 보는 바와 같이 인삼 사포닌에 의한 CD25의 발현은 크게 변하지 않음을 알 수 있었고(그림 2), 우리는 인삼 사포닌이 TLR4에 LPS와 경쟁적으로 결합하지 않음(그림 3)을 알 수 있었다.

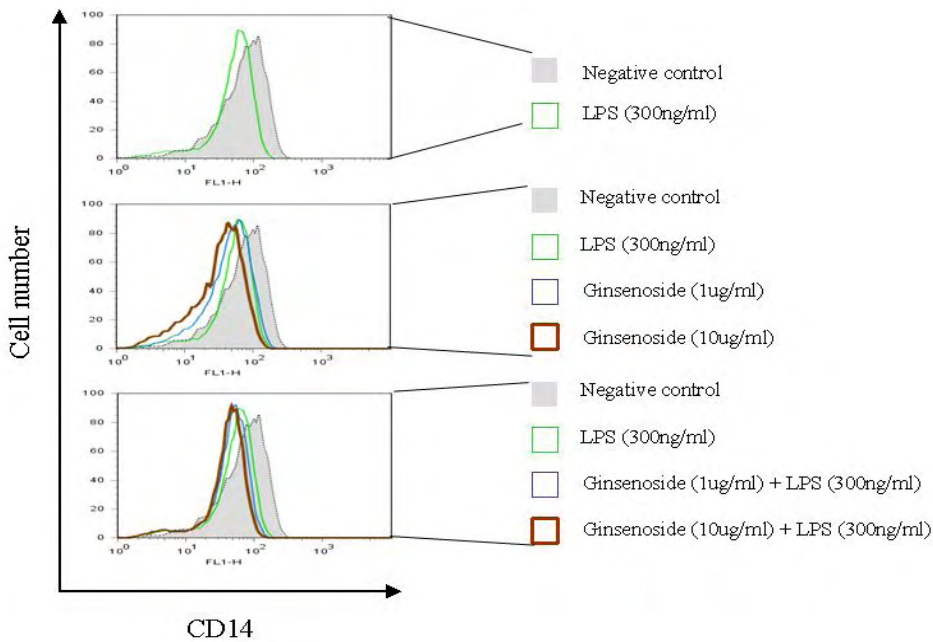


그림 3. 인삼사포닌과 LPS에 의한 CD14 분자의 발현변화 연구

결론: 인삼사포닌은 THP-1에서의 사이토카인과 TNF- α 수용체의 발현을 증가 시키지만, LPS에 의해 증가되는 물질들의 생성은 억제시키는 특성을 가지고 있음. 하지만 이러한 LPS의 효과 감소는 LPS의 특이 수용체인 TLR4와의 신호전달 경쟁에 의한 것은 아님. 따라서 향후 연구에서는 실제 인간 단핵세포에서의 인삼사포닌의 반응성과 신호전달 기전에 대한 연구가 필요함.

2. 2년차 연구 결과

가. 인삼사포닌에 의한 인간 혈액 유래 CD14 단핵세포에서의 사이토카인 생성 변화

본 연구팀은 본격적인 실험에 앞서, 인삼 사포닌이 어떠한 염증성 사이토카인에 영향을 미치는지 알아보기 위해 단핵세포에 인삼사포닌을 처리하여 여러 염증성 사이토카인을 확인하는 실험을 진행하였다. 단핵세포에 인삼사포닌을 12시간동안 처리한 뒤 배지를 ELISA를 사용하여 사이토카인의 발현을 protein 수준에서 확인하였다. 잘 알려진 염증성 사이토카인인 IL-1 β , IL-6와 TNF- α 를 확인해 본 결과 인삼사포닌을 처리한 농도에 따라 각각의 염증성 사이토카인의 발현이 증가하는 것을 알 수 있었고(그림 4), 그 변화 차가 가장 큰 TNF- α 에 대해 자세히 연구해 보고자 하였다.

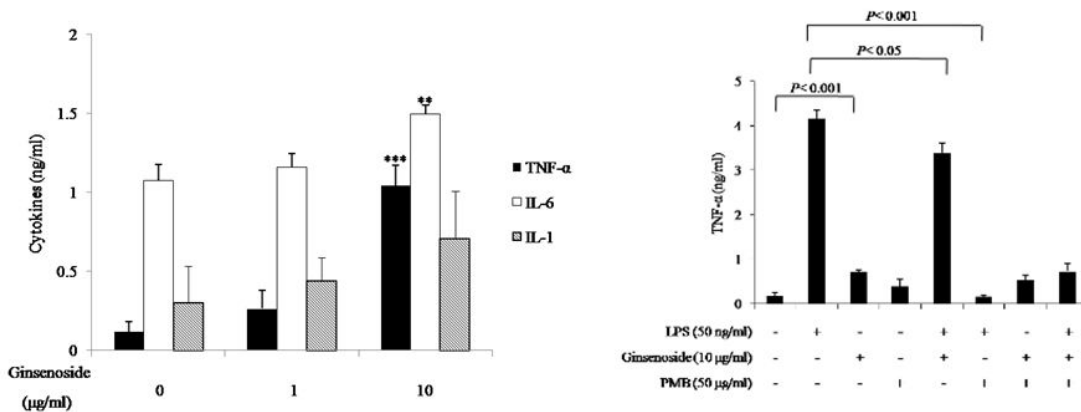


그림 4. 인간 혈액 유래 CD14 단핵세포에서 인삼사포닌에 의한 사이토카인 생성 및 LPS 오염 여부

다음으로 본 연구팀은 인삼사포닌에 의해 증가되는 TNF- α 의 발현이 염증성 사이토카인을 유발시킨다고 잘 알려진 LPS의 오염으로 인한 것은 아닌지를 알아보기 위하여 LPS 억제제인 polymyxin B (PMB)를 사용하여 실험을 진행하였다. 단핵세포에 PMB를 1시간동안 처리한 뒤 10 μ g/ml의 인삼사포닌과 5 μ g/ml LPS를 각각 12시간동안 처리한 뒤 배지만을 가지고 ELISA를 이용하여 TNF- α 의 발현정도를 확인해보았다. 우선 PMB자체가 TNF- α 발현에 영향을 주는지 알아보기 위해 PMB만을 처리한 단핵세포에서의 TNF- α 의 발현을 확인해 보았더니 그 효과가 거의 없음을 알 수 있었고, 반면 PMB를 전 처리한 뒤 LPS를 처리한 세포의 배지에서는 LPS에 의한 TNF- α 의 발현이 억제되었음을 알 수 있었다(그림 4). 우리가 알아보려고 하였던 인삼사포닌의 LPS 오염여부를 확인하기 위해 인삼사포닌만을 처리한 세포의 배지와 PMB를 전처리하고 인삼사포닌을 처리해 준 세포의 배지에서의 TNF- α 발현을 확인해 보았더니 거의 변화가 없었다(그림 4). 따라서 우리는 인삼사포닌에 의해 증가되는 TNF- α 의 발현이 LPS의 오염 때문이 아닌 인삼사포닌 자체의 효과인 것을 확인 할 수 있었다.

나. 인삼사포닌을 처리한 CD14 단핵세포에서의 ERK1/2 신호전달경로를 통한 TNF- α 의 발현
최근 TNF- α 의 발현에 관한 mitogen-activated protein kinase (MAPK)의 연구가 활발히 진행되고 있고 그 메커니즘이 점차 밝혀지고 있다. 본 연구팀은 인삼사포닌에 의해 발현되는 TNF- α 가 MAPK 신호전달경로에 의한 것이라는 가설을 가지고 다음과 같은 실험을 진행하였

다. MAPK의 하나인 ERK1/2의 인산화를 확인하기 위하여 10 μ g/ml의 인삼사포닌을 인간 단핵세포에 처리한 뒤 각각 5, 15, 30, 60, 120 그리고 360분 후에 단백질을 분리하여 western blot 분석 기법을 통하여 ERK1/2의 인산화의 변화를 확인해보았다. 인삼사포닌을 처리한 시간에 따라 ERK1/2의 인산화가 증가하는 것을 알 수 있었고, 따라서 우리는 CD14+ 단핵세포에서 인삼사포닌이 ERK1/2를 활성화시킴을 알 수 있었고(그림 5) TNF- α 의 발현이 ERK1/2의 경로에 의해서인지 확인하기 위하여 ERK1/2의 상위분자인 MEK의 억제제를 사용하여 다음과 같은 실험을 진행하였다.

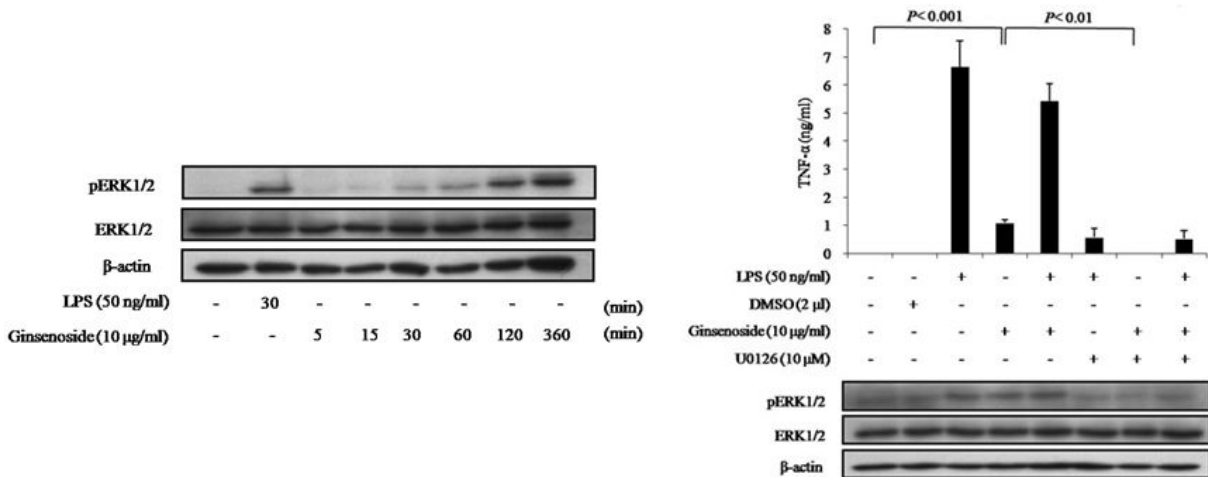


그림 5. EKR 신호전달 기전을 통한 인삼사포닌의 TNF- α 생성 유도 확인

MEK의 억제제인 U0126을 사용하여 실험을 진행하였는데, CD14+ 단핵세포에 U0126을 1시간동안 처리한 뒤 5 μ g/ml의 LPS와 10 μ g/ml의 인삼사포닌을 각각 처리한 뒤 12시간 후에 배지만을 가지고 ELISA로 TNF- α 의 발현을 확인해 보았다. U0126을 처리한 뒤 LPS를 처리한 세포의 배지에서 TNF- α 의 발현이 현저히 감소하고, 인삼사포닌을 처리한 세포의 배지에서 또한 TNF- α 의 발현이 감소한 것을 확인 할 수 있었다(그림 5). 또한 U0126에 의해 ERK1/2의 억제가 잘 되었는지를 확인하기 위해서 같은 조건에서 진행된 세포를 가지고 단백질을 분리한 뒤 western blot 실험기법을 사용하여 ERK1/2의 인산화를 확인해 보았더니 활성화가 거의 되지 않음을 확인 할 수 있었다(그림 5).

다. 인삼사포닌을 처리한 CD14 단핵세포에서의 JNK 신호전달경로를 통한 TNF- α 의 발현 다음으로 본 연구팀은 MAPK의 하나인 P38의 인산화를 확인하였지만 변화가 없었다. 따라서 우리는 JNK의 변화를 확인해보고자 10 μ g/ml의 인삼사포닌을 인간 단핵세포에 처리한 뒤 각각 5, 15, 30, 60, 120 그리고 360분 후에 단백질을 분리하여 western blot 분석 기법을 통하여 JNK의 인산화의 변화를 확인해보았다. 인삼사포닌을 처리한 시간에 따라 JNK의 인산화가 증가하는 것을 알 수 있었고, 따라서 우리는 CD14+ 단핵세포에서 인삼사포닌이 JNK또한 활성화 시킴을 알 수 있었고(그림 6) TNF- α 의 발현이 JNK의 경로에 의해서인지 확인하기 위하여 JNK의 억제제를 사용하여 다음과 같은 실험을 진행하였다. JNK의 억제제인 SP600125를 사용한 결과, CD14+ 단핵세포에 SP600125를 1시간동안 처리한 뒤 5 μ g/ml의 LPS와 10 μ g/ml의 인삼사포닌을 각각 처리하고 12시간 후에 배지에서 ELISA로 TNF- α 의 발현을 확인해 보았다. SP600125를 처리한 뒤 LPS를 처리한 세포의 배지에서 TNF- α 의 발현이 현저히 감

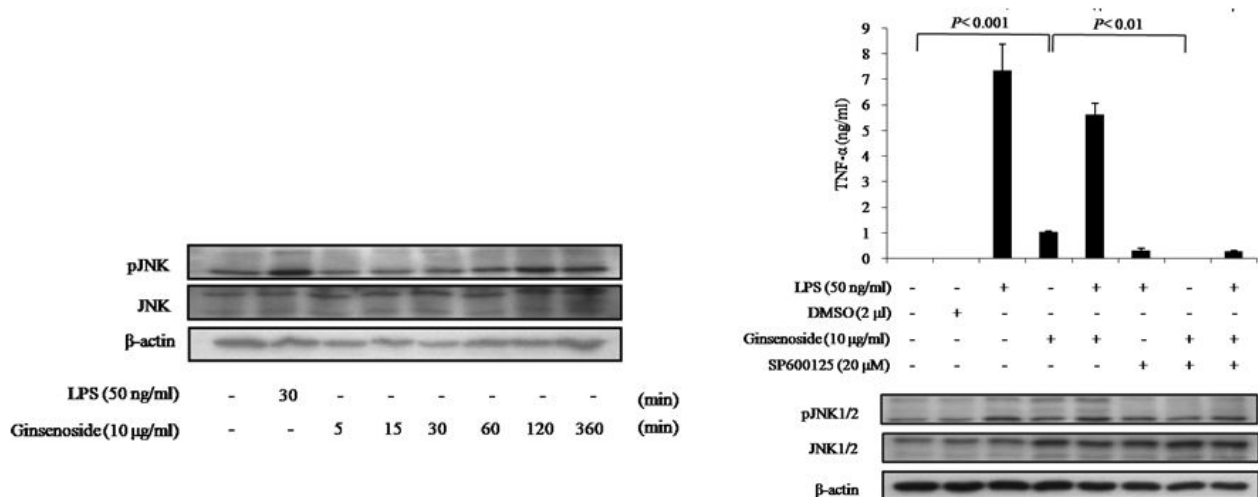


그림 6. ERK 신호전달 기전을 통한 인삼사포닌의 TNF-α 생성 유도 확인

소하고, 인삼사포닌을 처리한 세포의 배지에서 또한 TNF-α의 발현이 감소한 것을 확인 할 수 있었다(그림 6). 또한 SP600125에 의해 JNK의 인산화가 억제 되었는지를 확인하기 위해서 같은 조건에서 진행된 세포에서 JNK의 인산화를 확인해 본 결과 활성화가 거의 되지 않음을 확인 할 수 있었다.

결론: 인삼사포닌은 인간 단핵세포에서도 사이토카인의 생성을 유도하며, 이는 LPS의 오염에 의한 것이 아닌, 주요 전사인자인 ERK와 JNK의 활성을 통해서 이루어지는 것을 확인. 차후 연구에서는 단핵 세포 뿐만 아닌 수지상세포와 T 세포등의 다른 면역세포에서의 인삼사포닌의 기능 및 신호전달에 대한 연구가 추가 적으로 필요함.

3. 3년차 연구 결과

가. 인삼사포닌의 T 세포 활성화 조절 연구

(1) 인삼사포닌 Re의 CD4+ T cell의 사이토카인 조절 능력

인삼사포닌 Re가 면역세포에 미치는 영향을 조사하였다. 면역조절에 관여하는 CD4+ T cell에 Re를 처리하고 유세포 분석기를 이용하여 사이토카인의 발현 정도를 측정하였다. 그 결과 Re는 CD4+ T cell의 사이토카인 중 하나인 IFN-γ를 억제함을 확인하였고 IL-13의 억제는 유효적인 변화를 보이지 않았다(그림 7A). 이것으로 Re는 CD4+ T cell의 사이토카인 발현 능력을 조절함을 알 수 있었으며 ELISA assay 방법을 사용하여 Re가 IFN-γ와 IL-13을 억제함을 다시 확인하였다(그림 7 B, C).

(2) 활성화 CD4+ T cell에서 인삼사포닌 Re의 autophagy 조절 능력

본 연구진은 Re가 CD4+ T cell의 IFN-γ 발현을 억제함을 관찰하였으며 문헌 검색을 통하여 IFN-γ는 autophagy를 증가시킴을 확인하였다 (Vet Immunol Immunopathol 2009: 128: 37-43). 그리하여 Re가 CD4+ T cell에서 autophagy 조절 능력을 관찰하였다. 세포에서 Autophagy가 일어나는 현상은 LC3-I이 LC3-II로 바뀌는 것을 관찰함으로써 측정할 수 있다 (그림 8A). Western blot 실험 결과 Re는 CD4+ T cell에서 LC3-II의 증가를 억제함을 관찰

하였고 MDC staining 기법을 이용하여 autophagy의 특징 중 하나인 autophagosome 생성이 억제됨을 확인하였다(그림 8B).

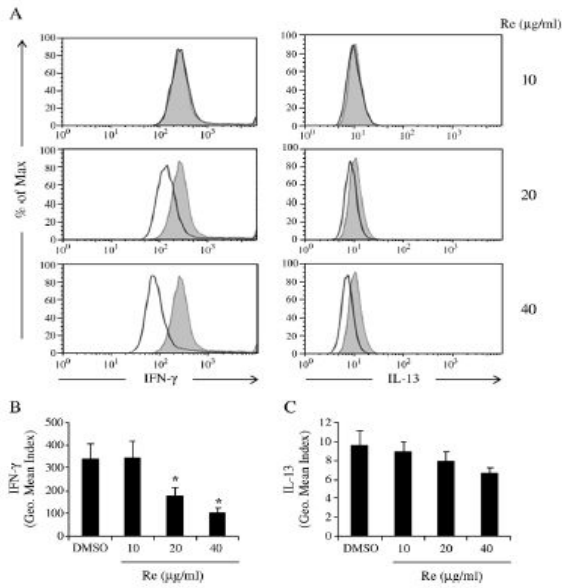


그림 7. Ginsenoside Re에 의한 T 세포의 사이토카인 분비 능력 억제

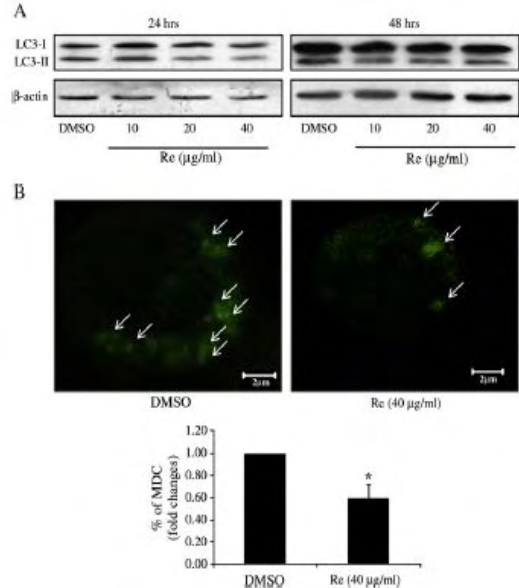


그림 8. Ginsenoside Re에 의한 T 세포의 autophagy 형성 억제

(3) IRGM 조절을 통한 인삼사포닌 Re의 autophagy 조절 능력

인삼사포닌 Re는 IFN- γ 의 억제를 통하여 autophagy 형성을 억제함을 그림 7, 8에서 확인하였다. 이와 관련하여 본 연구진은 Re가 autophagy의 신호전달체계에 미치는 영향을 CD4+ T cell에서 연구하였다. Autophagy 현상은 PI3K-mTOR-p70S6K, p38-ERK1/2, IFN- γ -IRGM 신호전달을 통하여 일어난다(Vet Immunol Immunopathol 2009: 128: 37-43)는 문헌정보에 따라 western blot 실험을 수행하였다. Western blot 실험 결과 Re는 IFN- γ -IRGM 신호전달을 통하여 CD4+ T cell에서 autophagy를 증가시킴을 관찰하였으며 band의 intensity를 측정하여 정량화 하였다. IFN- γ 을 CD4+ T cell에 처리하고 LC3-I이 LC3-II로 바뀌는 현상을 관찰함으로써 IFN- γ 이 CD4+ T cell에서 autophagy를 유도함을 증명하였다(그림 9).

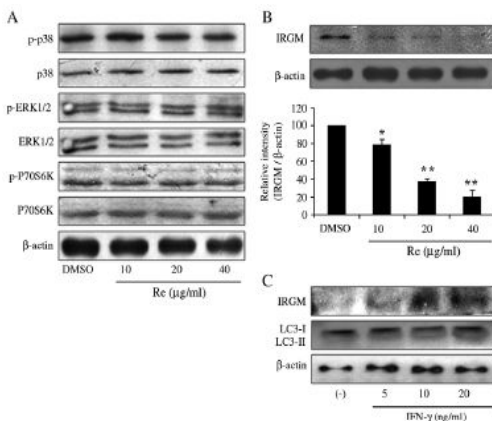


그림 9. Ginsenoside Re의 IRGM 조절 매개 autophagy 형성 조절

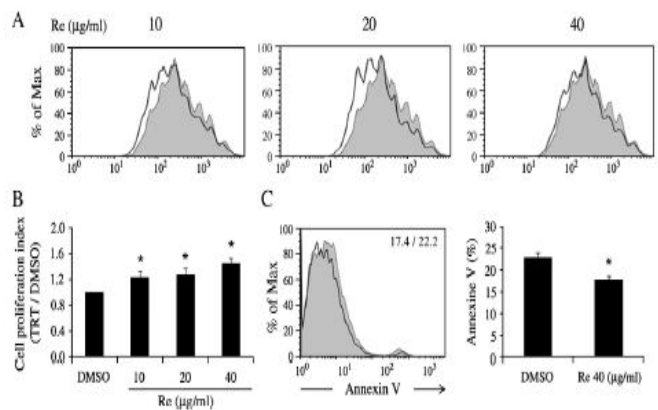


그림 10. Ginsenoside Re에 의한 autophagy 형성억제가 T 세포의 증식 및 생존 증가 유도

(4) 인삼사포닌 Re가 CD4+ T 세포의 증식에 미치는 영향

위의 실험결과(그림 7, 8, 9)를 바탕으로 본 연구진은 인삼사포닌 Re가 CD4+ T cell에서 IFN- γ 를 억제를 통한 autophagy 감소 유도를 증명하였다. Autophagy는 T cell의 항상성 유지를 위하여 cell death에 관여한다(Autophagy 2007; 3; 266-7)는 문헌을 근거로, 인삼사포닌 Re가 CD4+ T cell의 항상성 유지에 관여하는지를 관찰하였다. Re를 CD4+ T cell에 처리하고 CFSE staining을 한 후 유세포 분석기로 cell proliferation을 관찰하였다. 실험결과 Re는 CD4+ T cell의 proliferation을 증가시켰으며 이 결과는 MTT assay를 통하여 재확인하였다(그림 10A).

그리고 Annexin-V staining을 통하여, Re는 세포사멸을 억제함으로써 CD4+ T cell의 proliferation을 증가시킴을 증명하였다(그림 10B). 이러한 실험 자료를(그림 7, 8, 9, 10)를 바탕으로 인삼 사포닌 Re는 cell death에 관여하는 autophagy를 억제함으로써 CD4+ T cell의 proliferation을 증가시킴을 확인하였다. 이러한 CD4+ T cell의 증식효과는 Re의 IFN- γ -IRGM 신호전달 억제 효과임을 증명하였으며 인삼사포닌 Re가 CD4+ T cell의 증식을 통하여 자가면역질환 치료의 후보물질 가능성을 확인하였다.

나. 인삼사포닌 Compound K와 Rh2의 유방암 세포주 증식 억제 효과

(1) Compound K와 Rh2의 항암효과

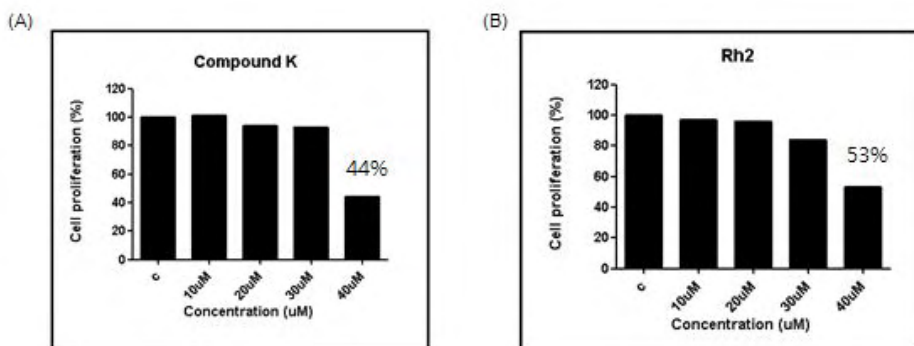


그림 11. 유방암 세포주 MCF-7에서 인삼사포닌 Compound K와 Rh2의 항암효과

최근 사망률이 점점 증가하고 있는 유방암에서 인삼사포닌의 항암 효과를 확인하였다. 유방암

세포주인 MCF-7에 인삼사포닌을 처리하여 MTT assay를 수행하였다. MTT assay를 통하여 다양한 인삼 사포닌의 항암 효과를 screening 하였다. 그 결과 인삼사포닌 성분 중 Compound K와 Rh2가 유방암 세포주인 MCF-7에 항암 효과가 있음을 확인하였다. MCF-7 유방암 세포주에 Compound K와 Rh2는 0, 10, 20, 40 μM 의 농도로 72시간 처리되었다. Compound K와 Rh2는 모두 40 μM 에서 MCF-7에 50% 정도의 growth inhibition을 나타내는 항암 효과를 보였다(그림 11).

(2) 인삼사포닌 Compound K의 유방암 세포주 세포 사멸 효과

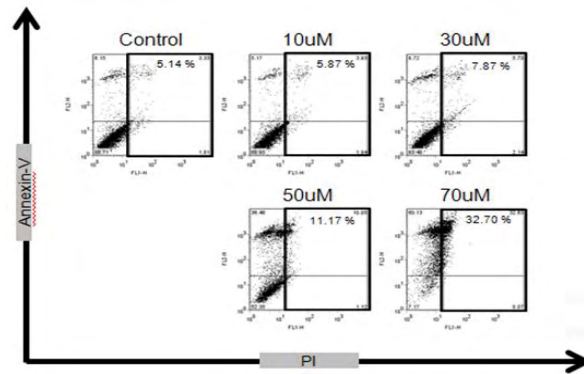


그림 12. 유세포 분석기를 이용한Compound K의 세포 사멸 효과

Compound K 처리 후 세포 사멸 기전 중 하나인 apoptosis 현상을 MCF-7세포에서 확인하였다. Compound K를 MCF-7에 농도별(0, 10, 30, 50, 70 μM)로 48시간 처리하였다. Apoptosis와 necrosis 현상을 관찰할 수 있는 annexin-V/PI staining을 하여 유세포 분석기로 관찰하였다. 실험 결과 Compound K에서 apoptosis가 대조군 5%에 비하여 32%로 증가되었다(그림 12). 이 결과는 Compound K가 MCF-7 세포에서 apoptosis를 일으킴을 말해준다. 또한 Compound K를 MCF-7에 24시간 처리하였을 때 MCF-7 세포주가 cell cycle arrest 현상을 나타냄을 확인하였다 (data not shown). Compound K의 이러한 기능이 밝혀짐에 따라 4년차에서는 Compound K가 MCF-7의 cell cycle과 apoptosis에 미치는 효과와 그와 관련된 신호전달 체계를 연구하였다.

결론: 인삼사포닌은 인간 CD4+ T 세포에서 IFN- γ 생성 억제를 통해서 autophagy의 활성화 억제 유도하고 이는 활성화 된 CD4+ T 세포의 생존을 증가 효과를 유도함. 또한 인삼사포닌의 단일분자 중 compound K는 유방암 세포주의 증식을 억제시키고 세포 사멸을 유도함을 확인하였음.

4. 4년차 연구 결과

세포 죽음(cell death)은 크게 apoptosis, autophagy, necrosis 3가지 형태로 정의된다. 이 중 apoptosis는 세포 shrinkage, chromatin condensation, DNA degradation을 특징으로 하며 이러한 현상은 caspase에 의해 매개된다. Autophagy는 미토콘드리아나 소포체등의 미세소기

관을 포식하는 현상을 나타내며 LC3-I이 LC3-II로 바뀌는 것이 특징이다. 최근까지 necrosis는 계획된 조절 기전 없이 비생리적 조건에서 우연히 일어나는 것으로 알려져 있었다. 그러나, 최근 여러 연구들에서 necrosis가 우연히 일어나는 것이 아니라 계획된 조절 기작에 의해서도 발생(programmed necrosis) 한다는 보고가 발표되고 있다. 이러한 programmed necrosis의 연구들을 바탕으로 본 연구실은 MCF-7에서 Copound K에 의한 항암효과 및 programmed necrosis의 현상을 연구하였다. 그 결과, 3년차 연구에서는 인삼사포닌 Compound K는 MCF-7에서 dose- and time-dependent하게 항암효과와 programmed necrosis를 일으킴을 확인하였다.

현재 많이 사용되는 항암제들은 암세포에 apoptosis를 유도하는 것이 특징이다. 하지만 항암제 내성을 갖는 암세포의 경우 기존의 항암제로는 치료가 불가능한 경우가 많다. 이러한 기존의 apoptosis 유도 항암제의 대안으로 programmed necrosis가 연구되고 있다. programmed necrosis는 apoptosis와는 다른 기전을 통하여 일어나며, 염증반응을 일으키지 않는다는 장점이 있기 때문에 항암제의 새로운 전략으로 주목받고 있다. 본 연구실에서는 4년차 연구를 통하여 (1) Compound K가 MCF-7에서 programmed necrosis를 유도하였으며, (2) 암세포의 증식을 억제함을 확인하였다. 또한, 이러한 현상은 (3) Wnt/ β -catenin과 apoptosis inducing factor (AIF)에 의해 유도됨을 증명하였다.

가. 인삼사포닌 Compound K의 암세포 증식억제 효과

유방암 세포주 MCF-7에서 인삼사포닌 Compound K의 암세포 증식 억제 효과를 확인하였다. MCF-7에 Compound K 0, 10, 30, 50, 70 uM을 24, 48 hrs 동안 처리하였다. 그 후, MTT assay를 통하여 Compound K의 암세포 증식 억제 효과를 관찰하였다. 그 결과 24 hrs에서 Compound K 50 uM, 70 uM은 각각 23.5%와 60.3%의 암세포 증식 억제 효과를 나타내었다(그림 13). 또한 48 hrs에서 Compound K 50 uM, 70 uM은 각각 34.4%, 89.4%의 암세포 증식억제를 나타내었다(그림 13).

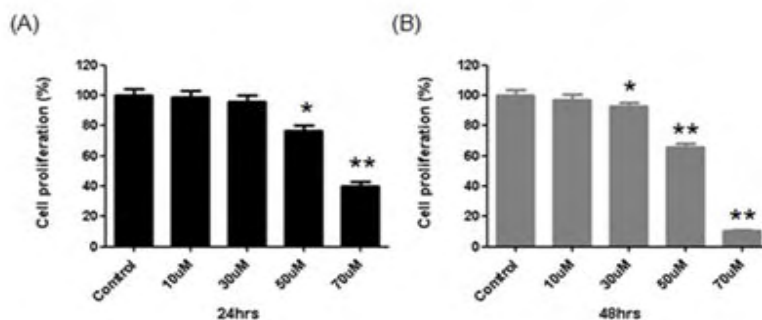


그림 13. 인삼사포닌 Compound K의 MCF-7의 증식억제 효과

나. 인삼사포닌 Compound K에 의한 apoptosis 유도 확인

인삼사포닌 Compound K가 apoptosis를 유도하는지 확인하기 위하여 PI staining을 하였다. PI staining은 flow cytometry를 사용하여 apoptosis를 확인하는 방법으로 세포에 apoptosis가 일어날 때 Sub G1이 증가하는 현상을 나타낸다. MCF-7에 Compound K 70 uM을 0, 1,

3, 6, 12, 24hrs 동안 처리하였다. PI staining의 실험 결과 모든 처리군에서 Sub G1은 1%미만으로 나타났으며 Compound K는 MCF-7에서 apoptosis를 일으키지 않음을 확인 할 수 있었다(그림 14).

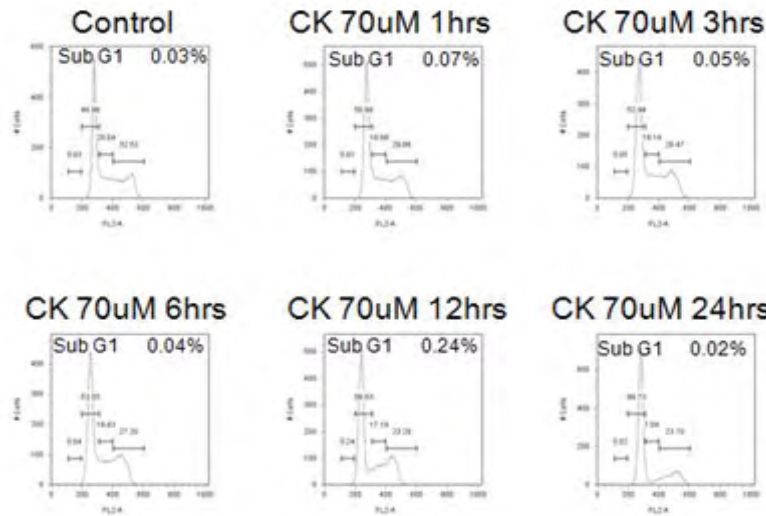


그림 14. 인삼사포닌 Compound K에 의한 apoptosis유도 여부 연구

다. 인삼사포닌 Compound K에 의한 Autophagy 유도 확인

세포 죽음 중 하나인 autophagy는 LC3-I이 LC3-II로 바뀌는 현상을 특징으로 한다. 인삼사포닌 Compound K에 의한 autophagy 유도 현상을 확인하기 위하여 MCF-7에 Compound K를 단독 혹은 3MA (autophagy inhibitor)와 함께 처리하였다. MCF-7에 70 uM Compound K를 단독 혹은 1 mM 3MA와 함께 처리 하였다. 그리고 24 hrs 후에 MTT assay를 통하여

autophagy 유도현상을 관찰하였다. 그 결과, Compound K에 의한 세포 죽음은 autophagy inhibitor 3MA에 의해 회복되지 않음을 확인할 수 있었다 (그림 15). 실험 결과 compound K는 autophagy를 유도하지 않았으며 (data not shown), autophagy가 아닌 다른 형태의 세포 죽음을 유도함을 알 수 있었다.

라. 인삼사포닌 Compound K의 necrosis 유도 확인

본 연구에서 그림 14, 15의 결과에 의하면 인삼사포닌 Compound K는 MCF-7 암세포에서 apoptosis와 autophagy를 유도하지 않음을 확인하였다. 인삼사포닌 Compound K의 세포 죽음 유도 효과를 확인하기 위하여 Annexin-V/PI staining을 하였다. Annexin-V와 PI의 염색 유무에 의해 apoptosis와 necrosis를 구분할 수 있는데, Annexin-V/PI-; alive, Annexin-V+/PI-; early apoptosis, Annexin V+/PI+; late apoptosis, Annexin-V-/PI+; necrosis를 나타낸다. 세포에 apoptosis가 일어나면 세포막의 phosphatidylserine (PS)이 세포막 밖으로 나오게 된다. 이렇게 세포막 밖으로 노출된 phosphatidylserine을 Annexin-V-FITC로 확인함으로써 apoptosis의 유무를 알 수 있다. 또한 죽은 세포는 살아있

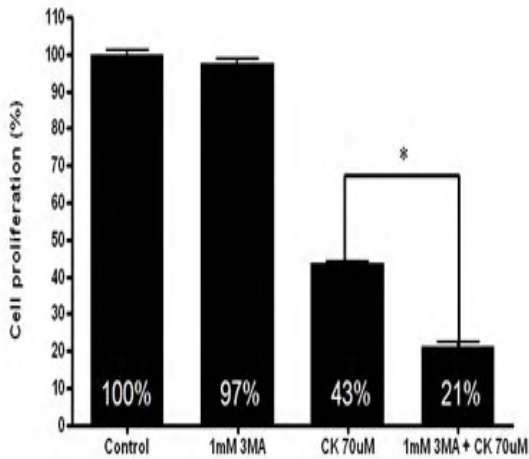


그림 15. 인삼사포닌 Compound K에 의한 autophagy 활성화 여부 연구

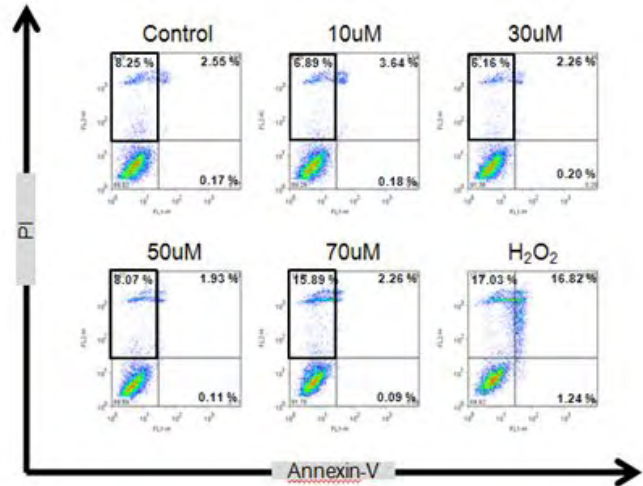


그림 16. 인삼사포닌 Compound K에 의한 necrosis 유도 효과

는 세포와는 다르게 Propidium iodide (PI)에 의해 핵이 염색이 되는 특징이 있다. 그러므로 Annexin-V/PI staining을 통하여 apoptosis와 necrosis의 유무를 확인할 수 있다. 본 연구에서는 MCF-7에 compound K 0, 10, 30, 50, 70 uM을 24hrs동안 처리하였으며 실험을 하였다. 그리고 MCF-7에 100 uM H₂O₂를 24 hrs동안 처리하여 apoptosis의 positive Control로 사용하였다. MCF-7에 Compound K를 처리한 결과 Control에 비해 70 uM CompoundK 에서 Annexin-V-/PI+ 가 증가하는 현상을 관찰할 수 있었다. 하지만 Annexin-V+/PI-와 Annexin-V+/PI+ 는 증가하지 않았다(그림 16). 이러한 실험 결과로부터 Compound K는 MCF-7에서 apoptosis가 아닌 necrosis를 유도함을 확인할 수 있었다(그림 16).

마. Compound K에 의한 PARP1의 발현 증가 확인

Poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP1)은 DNA repair 기능을 갖는 enzyme으로 apoptosis가 일어날 때 cleavage가 일어난다. 하지만 Programmed necrosis가 일어날 때 PARP1의 activation이 일어나며 poly(ADP-ribose) (PAR)이 증가하며, PARP1은 programmed necrosis가 일어날 때 발현이 증가한다(PNAS 2010;107(28): 12611-12616). 이러한 문헌들을 바탕으로 인삼사포닌 Compound K에 의한 PARP의 발현 증가 현상을 실험 하였다. MCF-7에 Compound K 70uM을 0, 1, 3, 6, 12, 24 hrs 동안 처리한 후, western blot 실험으로 PARP1의 발현 증가를 관찰하였다. 실험 결과, PARP1은 Control 0 hrs에 비하여 24 hrs까지 증가하는 현상을 나타내었다. 이러한 실험 결과를 바탕으로 Compound K는 PARP1 활성화를 통하여 apoptosis, autophagy가 아닌 programmed necrosis를 유도함을 확인하였다(그림 17).

바. 인삼사포닌 Compound K의 Wnt/ β -catenin 유도 연구

Wnt/ β -catenin 신호전달은 세포 성장, 분화 등 많은 세포 반응에 관여한다고 알려져 있다. 하지만 비정상적인 Wnt/ β -catenin 신호전달은 암 발생을 초래한다고 알려져 있다(Science 1997;275:1787-1790). 이러한 Wnt/ β -catenin 신호전달의 연구를 바탕으로 인삼사포닌

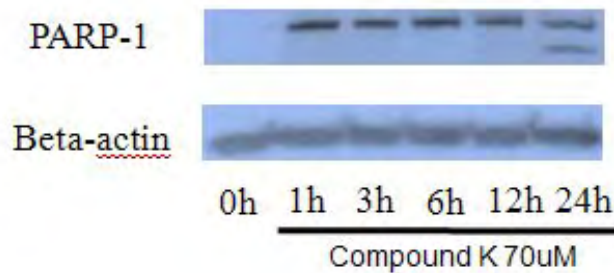


그림 17. 인삼사포닌 Compound K의 PARP1 발현 증가 유도

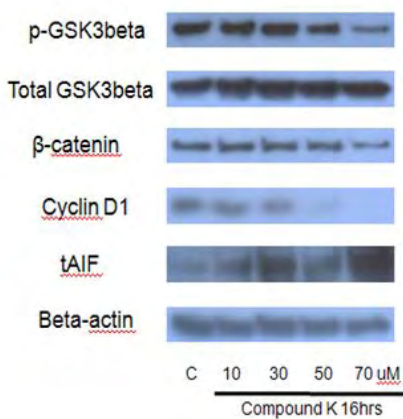


그림 18. 인삼사포닌 Compound K에 의한 Wnt/ β -catenin과 AIF 신호전달의 유도

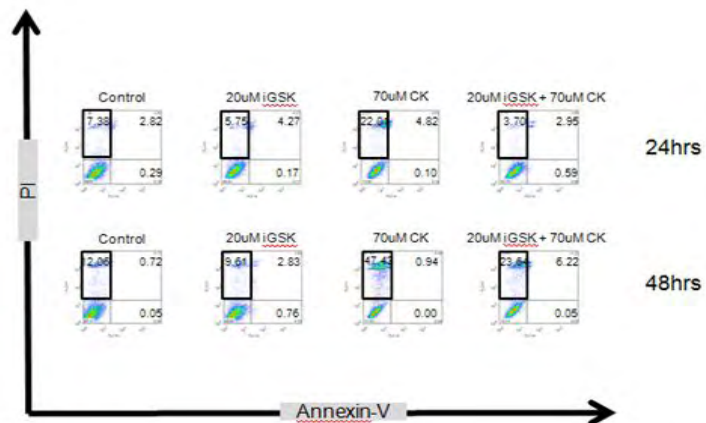


그림 19. GSK3 β inhibitor에 의한 인삼사포닌 Compound K의 necrosis 유도 억제 효과

Compound K가 Wnt/ β -catenin 신호전달을 통하여 programmed necrosis를 유도하는지 western blot 실험을 통하여 관찰하였다. 또한, programmed necrosis가 일어날 때 활성화 되는 apoptosis-inducing factor (AIF)가 Compound K에 의해 활성화 되는지를 western blot을 사용하여 확인하였다. MCF-7에 인삼사포닌 Compound K 0, 10, 30, 50, 70uM를 16hrs 동안 처리하였다. MCF-7에 인삼 사포닌 Compound K 처리 시, GSK3 β 가 dephosphorylation 되면서 활성이 증가하였다. 그 결과 β -catenin의 발현이 감소하였으며 β -catenin에 의해 증가하는 Cyclin D1이 감소함을 확인하였다(그림 18). 또한 programmed necrosis가 일어날 때 cleavage가 일어나 활성화되는 AIF (tAIF)도 증가함을 western blot으로 확인하였다 (그림 18). 본 연구결과 Compound K는 AIF의 활성을 증가시킴으로써 Wnt/ β -catenin과 AIF 신호전달을 통하여 programmed necrosis를 일으킴을 확인할 수 있었다.

사. GSK3 β inhibitor 실험을 통한 인삼사포닌 Compound K의 Wnt/ β -catenin의 신호전달 확인

위의 결과(그림 18)를 통하여 인삼사포닌 Compound K는 Wnt/ β -catenin과 AIF 신호전달을 통하여 MCF-7에 programmed necrosis를 일으킴을 확인하였다. 이러한 실험결과는 GSK3 β inhibitor를 사용하여 다시 확인하였다. MCF-7에 Compound K 70 uM을 단독 혹은 20 uM GSK3 β inhibitor VIII와 함께 24, 48 hrs 동안 처리한 후, necrosis를 Annexin-V/PI

staining을 통하여 확인하였다. 그 결과, MCF-7에 70uM Compound K를 20 uM GSK3 β inhibitor VIII와 함께 24, 48 hrs동안 처리한 것은 70 uM Compound K를 단독 처리한 것보다 각각 19%, 24%의 necrosis가 감소함을 나타내었다. 이러한 결과를 바탕으로 인삼 사포닌 Compound K는 Wnt/ β -catenin과 AIF 신호전달을 통하여 MCF-7에 programmed necrosis를 일으킴을 재확인하였다(그림 19).

결론: 인삼사포닌 Compound K는 Wnt/ β -catenin과 AIF 신호전달기전을 통하여 유방암 세포주에서의 programmed necrosis를 유도하고 이를 통해 암세포주의 사멸을 유도함. 차후 연구에서는 이러한 특이적 세포사멸기전이 다른 암세포주에서도 발생하는지에 대한 추가연구가 필요함.

5. 5년차 연구 결과

가. 인삼사포닌에 의한 수지상세포의 분화 영향 연구

인간 단핵세포는 in vitro 환경에서 GM-CSF와 IL-4의 처리에 의해 5일간 배양 후, 수지상세포로 분화된다. 본 연구에서는 이러한 환경에서 인삼사포닌이 추가적으로 처리 될 경우, 수지상세포의 분화에 미치는 영향을 조사하고자 하였다. 수지상세포는 단핵세포에서 분화 되어질 시, 세포표면에서 특이적 마커의 생성이 증가 된다. 대표적으로 CD80, CD86

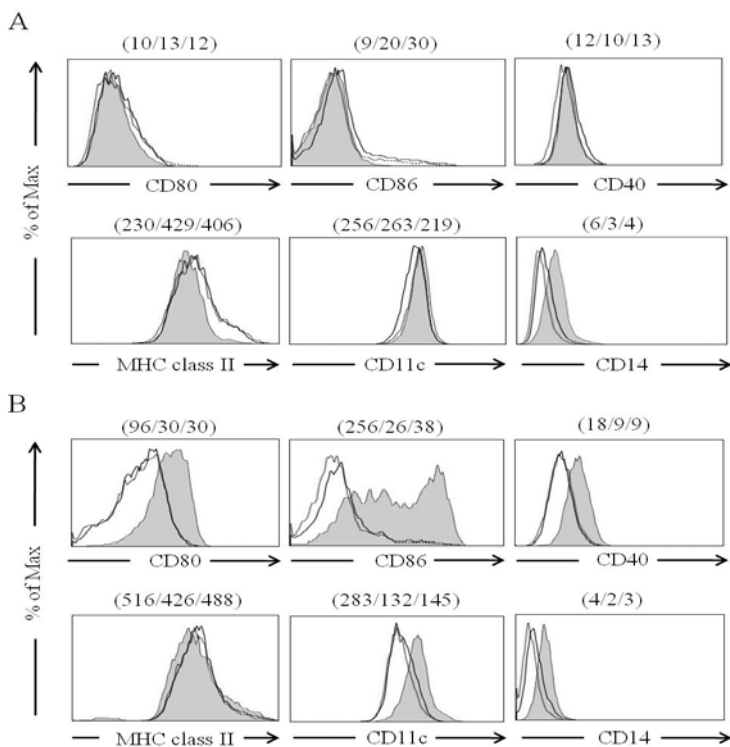


그림 20. 인삼사포닌에 처리에 따른 수지상세포의 분화 특성 조사

군과 비교했을 시, 세포표면의 마커들의 발현에 큰 차이가 없는 것을 확인 할 수 있었다(그림 20). 하지만, 5일 뒤 측정에서, 인삼사포닌이 처리된 샘플에서 확연하게 이러한 표면마커의 발현이 억제되어 있는 것을 확인 할 수 있었다. 이는 인삼사포닌이 단핵세포에서 수지상세포로의 분화를 억제하는 효과가 있을 것으로 기대되며, 따라서 다음 실험에서 이렇게 분화된 수지상세

상세포의 분화에 미치는 영향을 조사하고자 하였다. 수지상세포는 단핵세포에서 분화 되어질 시, 세포표면에서 특이적 마커의 생성이 증가 된다. 대표적으로 CD80, CD86의 경우 co-stimulatory molecules로서 T 세포의 활성화에 매우 중요한 역할을 하는 물질이다. 또한 MHC class II의 경우 수지상세포가 인지한 외부항원의 단편을 T 세포에 전달하는 역할을 수행한다. CD11c는 대표적인 수지상세포 마커이며, CD14의 경우, 단핵세포에서 수지상세포로 분화 시 발현이 감소한다.

본 연구 결과에서 인삼사포닌을 GM-CSF, IL-4와 함께 단핵세포에 처리해서 3일간, 5일간 배양하였다. 그 결과, 3일간 배양 시에는 인삼사포닌이 들어가지 않은 대조

포의 기능에 대해 연구하였다.

나. LPS 처리에 따른 인삼사포닌에 처리 수지상세포의 성숙화

앞선 실험에서 인삼사포닌 존재하에 분화 된 수지상세포의 표면 마커 생성 억제를 확인 하였다. 따라서 본 실험에서는 이렇게 분화된 수지상세포가 정상적으로 외부 항원을 인지할 수 있는지에 대한 연구를 진행하였다. LPS를 외부항원으로 처리하였을 경우, CD80, CD86, MHC class II의 생성이 확연하게 억제되어 있는 것을 확인 하였다(그림 21). 본 결과는 인삼사포닌에 존재하에 분화된 수지상세포는 항원인지에 의한 성숙화가 억제된다는 것을 말해준다.

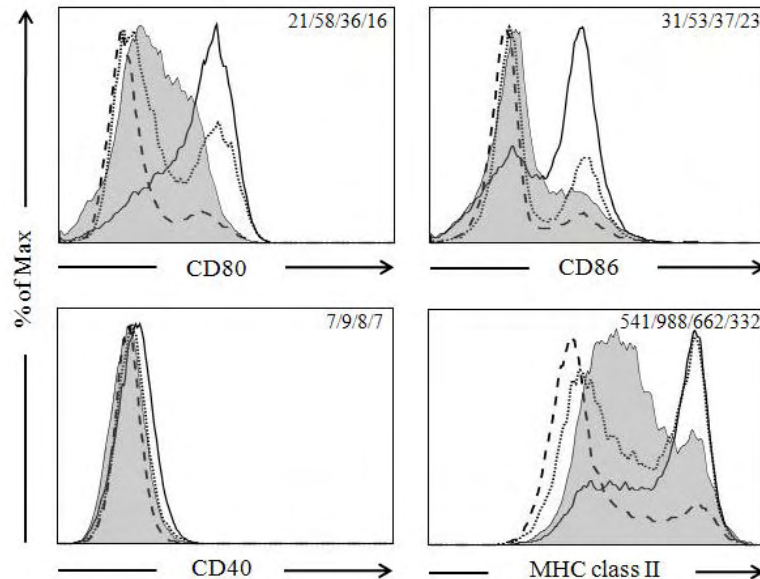


그림 21. 인삼사포닌 존재 하에 분화된 수지상세포의 LPS에 의한 성숙화 억제 현상 확인

다. 인삼사포닌 존재 하에 분화 된 수지상세포의 T 세포 활성화에 대한 영향 연구

수지상세포의 가장 중요한 기능중 하나는 인지한 외부항원을 T 세포로 전달하여 T 세포의 활성을 유도하고 획득성 면역반응을 시작 시킨다는 것이다. 따라서 본 연구에서는 비활성화 시킨

황색포도상구균을 항원으로 사용하여, 수지상세포에 처리 후, T 세포와의 공동 배양을 실시하였다. CFSE를 이용한 T 세포의 증식 연구에서 인삼사포닌 존재 하에 분화 시킨 수지상세포와 공동 배양한 T 세포는 증식율이 감소되는 것을 확인 하였다(그림 21). 그와 동시에 IFN- γ 의 생성 또한 감소되는 것을 확인하였다(그림 21). 본 연구 결과로 인삼사포닌에 의해 분화 된 수지상세포는 T 세포의 활성 유도를 위한 기능이 감퇴 된 것을 확인 하였다.

결론: 인삼사포닌은 단핵세포에서 수지상세포로의 분화를 억제 시키므로 수지상세포의 성숙화 및

T 세포 활성화에 면역관용성을 나타내게 함. 이는 과도한 면역활성으로 인해 유도될 수 있는 염

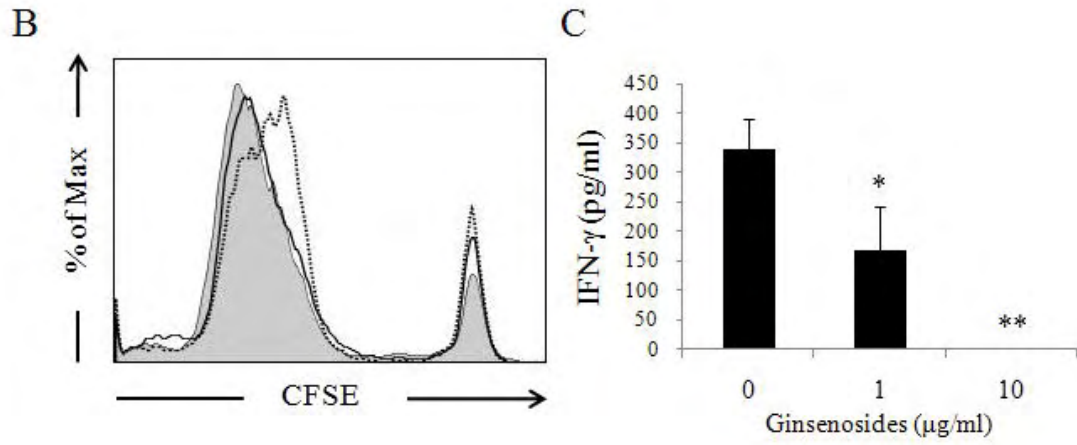


그림 22. 인삼사포닌 존재 하에 분화된 수지상세포의 T 세포 활성화 여부 연구 중성 질환을 억제하는 인삼사포닌의 항염반응을 설명해주는 결과로 생각 됨.

4핵심 1세부

1)수삼 소비촉진을 위한 봉밀삼 품질개선 기술개발

가) 국내 봉밀삼시장 현황 및 판매제품의 특성

소득증대에 의한 웰빙의 영향으로 최근 소비자들은 건강유지 및 증진을 위한 새로운 식거리를 찾고 있어 기존 한방소재 중심의 인삼을 식재료로서 인식전환을 통하여 수삼의 소비량을 증대시킬 수 있도록 기호성이 높고 부담없이 먹을 수 있는 수삼을 활용한 제품을 개발할 필요성이 대두되고 있다. 봉밀(蜂蜜)에 수삼을 침지하여 만드는 봉밀삼(蜂蜜蔘)은 복용이 편리하고 장기간 보관이 가능하며 휴대가 편리한 장점이 있다. 그러나 시중에 유통되고 있는 제품들은 섭취시 치아사이에 잔유물질이 잔존하고 쓴맛이 강하거나 저작하기 어렵고 섭취시 위에서 거부감을 느끼는 등의 단점들이 소비자들에 의해서 제기되고 있는 실정이다. 또한 관행적으로 봉밀삼을 제조하고 있으며, 봉밀삼의 제품품질에 대한 표준화가 되어 있지 않아 제조회사에 따라서 품질의 차이가 매우 크다.

따라서, 본 연구에서는 이러한 문제점을 해결하고 식(食)재료로서의 의식전환을 통한 수삼의 소비증대를 목적으로 국내시장에서 유통되고 있는 15종류의 봉밀삼 제품을 수집하였다(Fig. 1). 수집한 봉밀삼은 포장중량, 당도(brix), pH, 색택, 사포닌 함량 등의 항목을 설정하여 조사하였다. 봉밀삼은 뿌리동체를 일정한 크기로 자른 절편삼(Fig. 2A)과 잔뿌리를 제거하고 뿌리원형을 그대로 살린 정과(Fig. 2B) 두 형태로 유통되고 있었으며, 정과는 30~36 g 단위로, 절편삼은 20 g 소포장 단위로 포장되어 있었다(Fig. 1).



Fig. 1. Honeyed ginseng being sold in the market. Ginsengs preserved in honey : 2, 12, 15 ; Sliced ginseng : 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14.

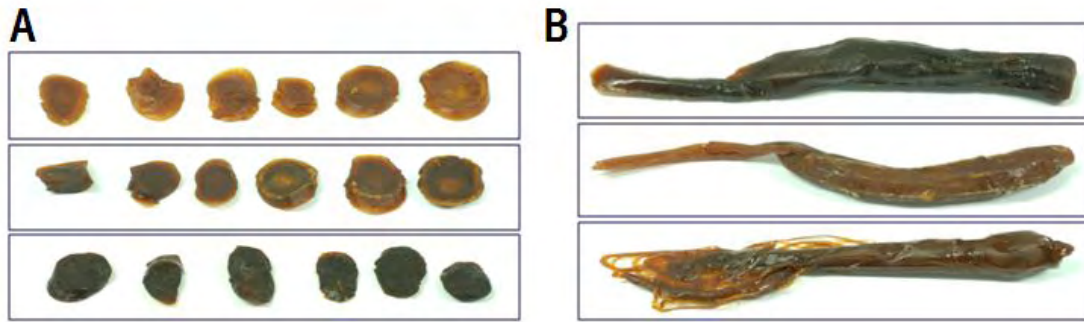


Fig. 2. Two types of honeyed ginsengs. A : Sliced ginseng preserved in honey, B : Ginseng root preserved in honey.

정과 제조시 사용되는 수삼은 4년근, 5년근, 6년근을 사용하고 있었으며, 이 중에서 4년근이 가장 많이 이용되고 있었다(Table 1). 정과 제조시에 당원은 주로 봉밀 단독으로 사용하는 제품이 주류를 이루었으며, 일부 제품은 이성화당, 올리고당, 포도당을 혼합하여 사용하고 있었다. 절편삼의 경우에는 2개 업체에서 봉밀원을 단독으로 사용하였고 봉밀, 올리고당, 과당, 포도당, 이성화당, 저당, 이소말토올리고당 등 다양한 당원의 혼합으로 제조하고 있었으며 일부업체에서는 정백당을 사용하는 경우도 있었다(Table 1). 특이적으로 피쉬콜라겐, 홍삼추출액, 산양삼 추출액을 첨가하여 제조한 업체도 있었다.

Table 1. Root age and glycogetic ingredients of honeyed ginseng collected

Sample No.	Contents	Sugar components
1	Red ginseng (4-year old)	Honey 30%, oligosaccharide 30%, fructose 30%, glucose 10%
2	Red ginseng (6-year old)	Honey 100%
3	Red ginseng (4-year old)	Honey 50%, fructose 50%
4	Red ginseng (6-year old)	Honey 100%
5	Red ginseng (6-year old)	Honey 24.5%, isomaltooligosaccharide, fish collagen
6	Red ginseng (4-year old)	Honey 5%, fructose 65%, low sugar 20%, glucose 10%
7	Red ginseng (4-year old)	Honey 100%
8	Red ginseng (4-year old)	Honey 100%
9	Red ginseng (4-year old)	Honey 10%, fructose 90%
10	Red ginseng (4-year old)	Honey 10%, maltose 10% , isomerized sugar 80%
11	Fresh ginseng (4-year old)	6-year extract 8%, mountain cultured ginseng extract 0.03% , honey 10%, sugar 39.97% , oligosaccharide 42%
12	Red ginseng (6-year old)	Honey 49%
13	Fresh ginseng (4~5 -year old)	Oligosaccharide 50%, fructose 20%, honey 30%
14	Fresh ginseng (4-year old)	Isomerized sugar 80%, glucose 10%, oligosaccharide 10%
15	Red ginseng (6-year old)	Fructose 70%, honey 30%

당정도는 정과와 절편을 적당한 크기로 자르고 액체질소로 급속 냉각시킨 후 균질기로 마쇄한 후 증류수를 첨가하여 분석에 이용하였다. 산도를 측정하기 위해서 pH meter로 각각의 시료를 조사한 결과 수삼의 경우 산도가 6.24로 조사되었는데 비하여 봉밀삼에서는 4.45~5.36으로 나타나 봉밀삼 제조과정에서 산도가 높아졌다(Table 2). 당도계(handle refractometer, ATAGO)를 이용하여 봉밀삼의 당도를 측정한 결과 봉밀삼 제조전 수삼은 2.0 brix 정도의 당도를 나타내었던 것이 봉밀삼에서는 11.4~13.6 brix 정도로 높아졌으나, 봉밀삼 제조시에 사용된 당원과의 연관성은 찾을 수 없었다(Table 2). 당원에 수삼을 넣고 당침하면서 가열과정을 거치는 동안 수삼은 점차 갈색으로 변화되어 간다. 수삼을 대조구로 하여 당밀삼의 갈변화 정도를 조사한 결과 각 제조회사별로 갈변화 정도에 많은 차이를 나타내었다(Table 2).

봉밀삼의 조사포닌(crude saponin)함량을 조사하기 위해서 균질기를 이용하여 마쇄한 시료 7g을 부탄올(BuOH) 추출법으로 추출·정제하고 감압·농축한 후, 105℃에서 20분간 건조시키고 desiccator에서 30분간 식혀 무게를 측정하여 조사포닌 함량을 결정하였다. 그 결과 정과에서는 13.4~14.32 mg/gHG으로 제품간 조사포닌 함량의 차이가 적었지만, 절편삼에서는 10.1~52.4 mg/gHG으로 제품에 따라서 조사포닌의 함량 편차가 심하게 나타났다(Table 2).

Table 2. pH, brix, browning and crude saponin of honeyed ginseng

Sample No.	pH	°Brix	Browning	Crude saponin (mg/g)
1	5.11± 0.21	13.6± 0.04	+++	15.9± 2.4
2	5.05± 0.15	13.6± 0.09	+++	18.4± 1.9
3	4.96± 0.18	11.2± 0.03	+++	13.4± 2.6
4	5.11± 0.23	13.0± 0.03	++	13.9± 3.2
5	5.01± 0.13	11.8± 0.05	++	15.5± 1.4
6	4.60± 0.10	12.4± 0.02	+	20.1± 0.4
7	4.93± 0.18	11.6± 0.06	++	14.3± 3.0
8	4.52± 0.21	11.8± 0.03	+++	26.2± 1.8
9	4.86± 0.24	12.8± 0.03	++	9.9± 0.8
10	4.88± 0.12	12.2± 0.05	++	52.4± 12.4
11	4.45± 0.11	13.2± 0.04	++++	38.7± 1.2
12	5.03± 0.15	13.4± 0.07	++	42.6± 1.9
13	4.81± 0.20	11.4± 0.02	+++	59.7± 2.9
14	5.22± 0.12	11.4± 0.02	+++	14.3± 2.4
15	5.36± 0.17	12.6± 0.09	+++	57.8± 7.4
16 (fresh root)	6.24± 0.09	2.0± 0.03	-	-

봉밀삼의 강직도 분석을 위해서 texture analyser(TA_HD plus)를 사용하여 절편삼, 정과, 수삼, 홍삼을 각각 동일한 두께로 자른 후 강직도 분석을 실시하였다(Fig. 3). 강직도는 texture analyser의 칼날에 의하여 절편이 잘리는데까지 필요로하는 힘(g)을 측정하는 것으로 비교하였다(Fig. 4). 그 결과 4년근 수삼을 절편삼 두께인 0.4~0.5 cm로 잘라 조사한 결과 6,889g 값을 나타내었는데, 절편삼은 제품에 따라서 1,480~13,015g 으로 편차가 매우 심하게 나타났다(Table 3).

이상의 봉밀삼 분석결과를 보면 봉밀삼 제품의 일정 규격이나 표준화가 없이 각 생산업체의 제조방법에 따라서 다양하게 만들어지고 있다는 사실을 알 수 있었다. 따라서 본 연구에서는 봉밀삼 제조방법의 표준화와 유효성분 증대방법의 개발을 통하여 명품 봉밀삼을 제조하는 것을 목표로 연구를 수행하였다.



Fig. 3. Texture analyser for measuring the rigidity of fresh ginseng and honeyed ginseng.

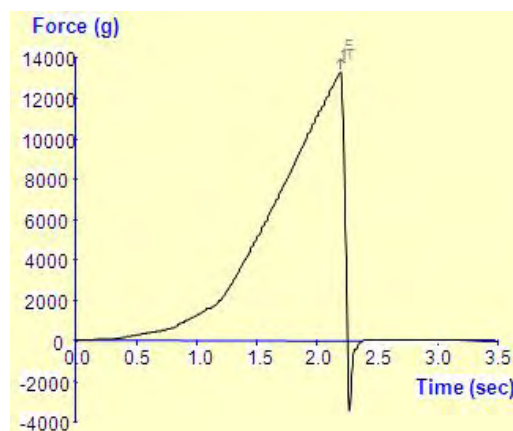


Fig. 4. Rigidity of honeyed ginseng by texture analyser.

Table 3. Rigidity of fresh ginseng and honeyed ginseng by texture analyser

Sample No.	Force (g)	Time (s)
1	4740.9±0.13	2.0±0.09
2	7166.9±0.15	2.5±0.16
3	6137.6±0.17	1.3±0.12
4	1576.2±0.21	1.1±0.22
5	8432.1±0.10	1.6±0.19
6	5418.1±0.17	1.4±0.11
7	10202.6±0.21	2.0±0.15
8	4232.8±0.12	2.0±0.17
9	1093.2±0.19	1.4±0.15
10	5706.6±0.15	1.3±0.11
11	13015.9±0.11	2.0±0.19
12	6071.5±0.17	1.9±0.17
13	3957.5±0.19	2.1±0.15
14	1480.3±0.15	1.7±0.12
15	7886.6±0.16	2.5±0.15
16(Fresh root)	6889.1±0.17	1.3±0.11

나) 관행 봉밀삼 제조법 개선

최근 소득증대와 웰빙의 영향으로 인삼의 소비가 꾸준히 증가하고 있다. 그러나 인삼은 우리 소비자에게 있어 여전히 약재로서 인식이 되어 있어 소비증진에 큰 장벽으로서 작용한다. 따라서 인삼을 식품소재로서 소비자들에게 인식을 확산하기 위해서는 다양한 식품소재로서의 인식확산이 시급한 과제이다. 본 연구에서는 소비자들의 먹거리로서의 인식확산과 선호도 및 섭취를 증진시키기 위해서 기존의 관행 봉미삼제조법을 개선하고자 하였다.

봉밀삼(蜂蜜蔘)은 복용이 편리하고 장기간 보관이 가능하며 휴대가 편리한 장점이 있으나, 유통되고 있는 제품들은 섭취시 치아사이에 잔유물질이 잔존하고 쓴맛이 강하거나 저작하기 어렵고 섭취시 위에서 거부감을 느끼는 등의 단점들이 소비자들에 의해서 제기되고 있는 실정이다. 또한 관행적으로 봉밀삼을 제조하고 있으며, 봉밀삼의 제품품질에 대한 표준화가 되어 있지 않아 제조회사에 따라서 품질의 차이가 매우 크다. 특히 장기간의 침지로 인하여 인삼의 유효성분인 사포닌의 용출이 심하게 발생한다.

따라서, 본 연구에서는 이러한 문제점을 해결하고 식(食)재료로서의 의식전환을 통한 수삼의 소비증대를 목적으로 기존 관행방법을 개선하여 제조과정의 단축과 사포닌의 용출량을 최소화하고자 하였다. 기존 관행 제조방법은 수삼을 수확하여 세척한 후 박피, 증숙, 당침(최소 sugar syrup에 5번) 과정을 거치며 이에 최소 6-7일 정도의 기간이 소요된다(Fig. 5A). 본 연구에서는 이러한 기간 단축과 제조과정의 단순화 및 표준화를 통하여 제조과정을 수삼세척한 후 증숙을 하고 이의 박피를 하는 과정을 변형하고 당침을 최소화 함으로서 기간을 2-3일 정도로 단축하였다(Fig. 5B).

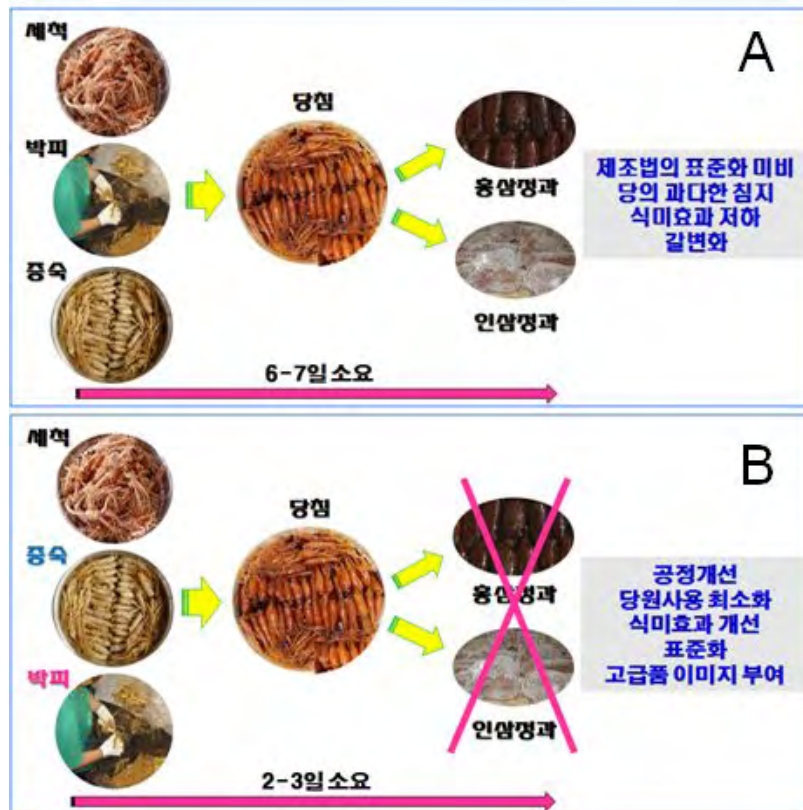


Fig. 5. Simplification and standardization in manufacturing process of honeyed ginseng. Customary(A) and improved(B) methods manufacturing honeyed ginseng.

관행의 방법으로 제조되어 시중에서 유통되고 있는 봉밀삼의 품질을 분석한 결과를 보면 봉밀삼제품의 일정규격이나 표준화가 없이 각 생산업체의 제조방법에 따라서 다양하게 만들어지고 있다. 본 연구에서는 이들과 차별화를 위한 목적으로 제조과정의 단순화, 당침시간의 최소화, 소비자 선호도 증진을 위해서 당삼에 금분을 입히는 것을 시도하였다. 울리고당과 꿀혼합물에 12시간 수삼을 당침한 후 3시간 실온에서 자연건조한 후 금박을 표면에 부착하였다. 소비자 선호도를 조사한 결과 일반 정과에 비하여 호감도와 선호도가 높게 나타났다.

정과 및 절편삼의 가장 큰 문제로 지적되고 있는 섭취시의 치아사이의 잔유물로 인한 기호성 저하는 유통과정 중의 안정성을 높이기 위해서 일정수분이하로 건조를 함으로서 발생한다. 본 금삼은 이러한 점을 개선하고자 인위적인 건조를 하지 않고 자연 건조함으로써 부드러운 조직감을 유지할 수 있는 장점이 있다. 그러나 유통과정 중에서 안정성 문제로 인하여 냉장보관 및 유통을 하여야 한다는 문제점이 있는데 이는 앞으로 해결해 나가야 할 것으로 사료된다.

다) 봉밀삼 제조시 당침전처리 특성

1) 박피를 위한 증숙처리시간

봉밀삼 제품 섭취 시 이물감을 최소화하기 위해서 박피를 하는데 관행방법을 대나무칼 등으로 수삼상태에서 껍질을 제거한다. 본 연구에서는 소비자들의 선호도 증진 및 고급화를 위해서 수삼 동체만을 사용하여 봉밀삼을 제조하는 것으로 목적으로 당침 전에 증숙 처리하여 동체의 모양에 손상을 가하지 않으면서 쉽게 박피할 수 있는 증숙처리 시간을 조사하였다(Fig. 6). 95℃ 압력솥에서 수삼에서 미삼을 제거하고 동체만을 선별하여 2시간, 4시간, 6시간, 8시간, 12시간 각각 처리하여 박피제거를 위한 가장 효율적인 증숙 처리시간을 조사하였다.

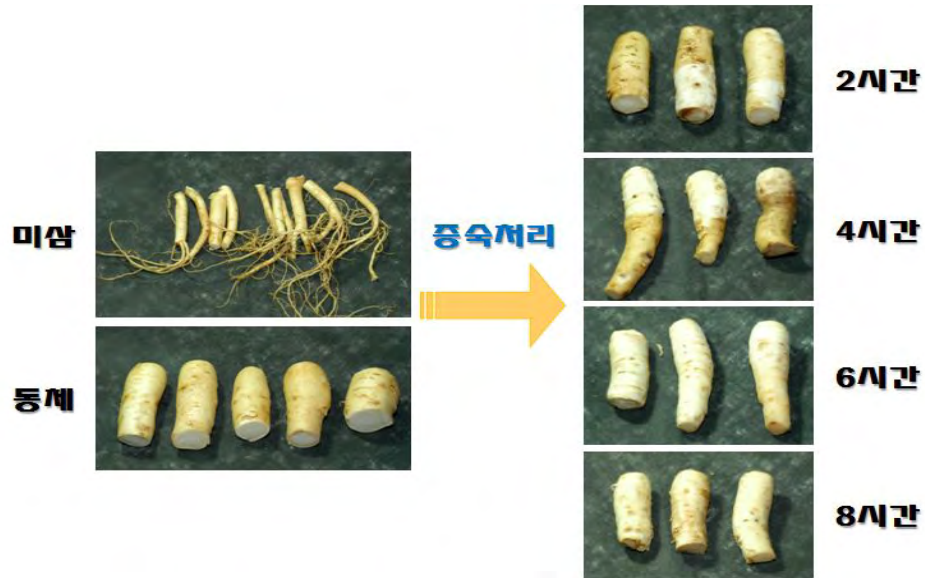


Fig. 6. Effective peeling through the control of steaming time before preserving in honey.

2) 증숙 처리시간에 따른 박피성 분석

수삼 동체의 표피를 효율적으로 제거하기 위해서 95℃ 압력솥에서 증숙 처리시간을 달리 처리하여 조사한 결과 2시간과 4시간 처리구는 수삼의 표피가 완전히 분리되지 않아서 박피가 잘되지 않았다. 그러나 6시간 처리구는 비교적 수월하게 표피를 제거할 수 있었으며, 8시간 처리구의 경우 표피가 종이를 제거하듯이 효율적으로 일거에 제거가 가능하고 동체가 물러지지 않아서 박피제거에 가장 효과적인 처리 시간이었다(Table 4). 8시간 이상의 처리구에서는 조직이 너무 물러져서 박피작업의 효율성이 오히려 떨어졌다.

Table 4. Peeling degree of fresh ginseng according to steaming time

Steaming time	Main root of fresh ginseng	Steaming time(hour)				
		2	4	6	8	12
Degree of peeling	-	+	++	++++	+++++	+++++

- Control of main root of fresh ginseng : -

3) 물리적 강도 실험

봉밀삼 제조시 증숙 처리한 수삼의 물리적인 강도를 조사하였다. 그 결과 수삼을 대조구로 하여 조사한 결과 증숙 처리시간이 경과함에 따라서 상대적인 물리적 강도가 감소하였다(Table 5).

Table 5. Physical rigidity according to steaming times

Steaming time	Main root of fresh ginseng	Steaming time(hour)				
		2	4	6	8	12
Physical rigidity	+++++	+++++	++++	+++	++	+

- Control of main root of fresh ginseng. Control : +++++.

4) 당원의 종류에 따른 당삼의 품질분석

시중에 유통되고 있는 정과는 제조시에 봉밀 단독으로 사용하는 제품이 주류를 이루었으며, 일부제품은 이성화당, 올리고당, 포도당을 혼합하여 사용하고 있었으며, 절편삼의 경우에는 2개 업체에서 봉밀원을 단독으로 사용하였고 봉밀, 올리고당, 과당, 포도당, 이성화당, 저당, 이소말토올리고당 등 다양한 당원의 혼합으로 제조하고 있었으며 일부업체에서는 정백당을 사용하는 경우도 있었다. 당침에 의한 수삼내의 당원 혼입을 조사한 결과 9.4~11.4% 정도의 당이 수삼내부로 침투되어 당분이 최고 13.6% 정도 함유하고 있는 것으로 조사되었다(Table 6).

Table 6. Glycogenic ingredients of honeyed ginseng being sold in the market

honeyed ginseng being sold in the market	Glycogenic ingredients (brix)
1	13.6± 0.04
2	13.6± 0.09
3	11.2± 0.03
4	13.0± 0.03
5	11.8± 0.05
6	12.4± 0.02
7	11.6± 0.06
8	11.8± 0.03
9	12.8± 0.03
10	12.2± 0.05
11	13.2± 0.04
12	13.4± 0.07
13	11.4± 0.02
14	11.4± 0.02
15	12.6± 0.09
Fresh root	2.0± 0.03
Red ginseng	5.2± 0.04

본 연구에서는 정과섭취시의 과도한 당원섭취를 줄이기 위해서 열량 및 맛을 고려한 이상적인 당원을 선별하고자 과당, 꿀, 올리고당, 말티톨 등을 각각 당침 처리하여 당삼의 색, 당도, 수분 함량 등을 조사하였다(Fig. 7). 당침처리시간은 용출되는 사포닌의 함량을 최소화하고 제조과정을 단순화하기 위해서 6시간, 8시간, 12시간, 24시간 처리하여 비교한 결과 12시간 전후 처리가 비교적 색도, 맛에서 우수하였다. 당원 별 처리 후 식미효과를 조사한 결과 열량이 낮은 말티톨과 올리고당은 식미효과가 낮았다. 선호도가 높은 꿀의 경우 열량이 높고 단맛이 강하여 이를 보완하고자 올리고당과 꿀을 3:7 비율로 혼합하여 당침을 실시하였다. 그 결과 식미효과, 열량 및 색도 면에서 선호도가 높게 나타났다.

당삼의 수분함량을 조사한 결과 올리고당이 31%로 가장 높은 함수율을 나타내었고 과당이 27%로 상대적으로 낮은 함수율을 나타내었다(Table 7).

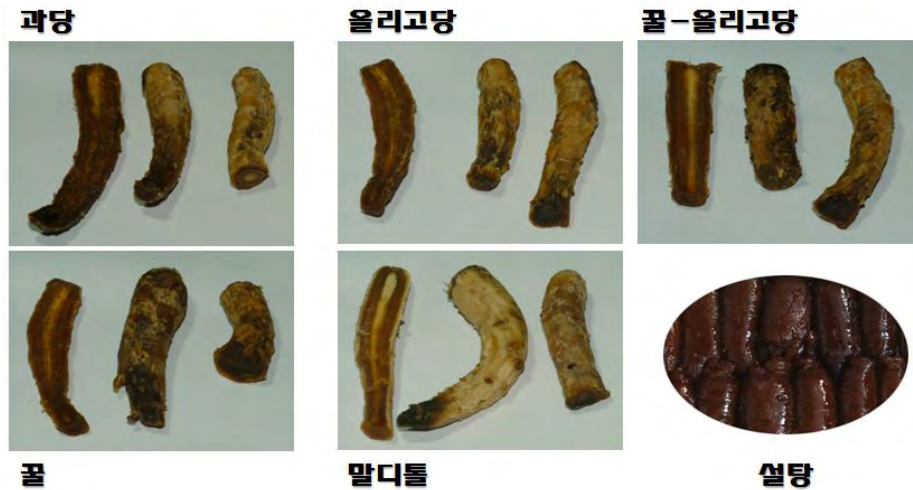


Fig. 7. Change of color in honeyed ginseng according to glycogetic ingredients.

Table 7. Water content of honeyed ginseng according to glycogetic ingredients

glycogetic ingredients	Water content(%)
Honey	27.9±1.7
Oligosaccharides	31.3±0.6
Maltitol	29.7±1.6
Fructose	27.0±2.7

2) 유기산 처리에 의하여 전환된 사포닌을 이용한 홍삼제품의 개발

가) 시제품 제조를 위한 formula 개발

유기산에 의하여 전환된 사포닌 첨가용 제품개발을 목적으로 오가피를 주원료로 하고 전환 사포닌엑스, 산삼배양근엑스, 비에이씨혼합추출물 등의 식물혼합추출물을 조성으로 하는 제품 formula 개발하였다. 오가피를 주원료로 하고 여기에 유기산 변환 홍삼가공추출물을 이용한 건강식품개발을 위한 배합비율을 선정하기 위해서 ginsenoside-Rg₃ 고농도로 함유한 변환홍삼엑스, 산삼배양근 추출물, 대보농축액, 겨우살이 추출물, 비에이씨식물혼합추출물을 부원료로 첨가하고, 보조군으로서 비타민 B군(B1, 2, 3, 6) 추가하였다. 당류는 열량이 적은 기능성 당류인 말티톨과 천연감미제인 스테비오사이드를 사용하였다(Table 8).

나) 시제품의 식미 효과 증진 및 향미 우수 실험구 선정

유기산 처리한 변환홍삼엑스는 산도가 높을수록 기능성이 뛰어난 minor 사포닌의 생산성이 높아진다(Han *et al* 1982, In *et al.* 2006, Kim *et al.* 2010). 그러나 산도가 높으면 신맛이 강하여 식미효과가 다소 떨어지는 단점이 있다. 본 연구에서는 유기산을 이용하여 산도를 pH

2.5로 조정하였을 때 가장 좋았으나 제품에 첨가하기에는 신맛이 강하기 때문에 온도조정을 통하여 최적 조건을 탐색하였다. 그 결과 홍삼과 유기산의 처리비율을 7:3(v:v)으로 하고 후속 온도를 80℃로 하여 24hr 처리하였을 경우에 Rg₃ 15.18 mg으로 높은 전환효율을 보였다 (Table 9). 신맛을 최대한 줄이고 식미효과를 높이기 위해서 열량이 적은 말티톨 첨가를 시험한 결과 5g 첨가구에서 신맛이 나긴 하였지만 개선된 식미효과를 나타내었다. 또한 신맛을 줄이기 위해서 많이 사용되는 사과산 나트륨으로 첨가하여 실험해보았으나, 별로 효과적이지는 못하였고 사용한 원료자체의 향이 있어 별도로 향을 첨가하지는 않았다.

Table 8. Formula of health food added red ginseng extract treated with organic acid

Component	Content (mg)/EA
Acanthopanax extract (solid 60%)	1,000
Cultured mountain ginseng extract (solid 1%)	1,200
Red ginseng extract (solid 60%)	428
Daebo extract (solid 55%)	2,000
BAC Medicinal plant mixing extract	210.0
Mistletoe	50.0
Vitamin B1	0.70
Vitamin B2	0.80
Nicotinic acid amide	8.00
Vitamin B6	1.00
Taurine	500
Maltitol syrup	5,000
Polydextrose	500
Guar gum	48
Stevioside	15.0
Grapefruit Seed Extract	20.0

Table 9. Red ginseng ginsenosides converted through organic acid processes.

Inspection matter	Ginsenoside content (mg/Ex/gr)											
	Rh ₂	Rh ₁	Rg ₂	Rg ₁	Rg ₃	Rf	Re	Rd	Rc	Rb ₂	Rb ₁	total
Ginseng ext.	0.39	2.50	3.96	2.92	3.30	3.23	5.25	4.01	8.23	7.23	7.91	48.93±
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	0.008
80°C for 48hr	0.001	0.002	0.012	0.009	0.001	0.007	0.005	0.013	0.015	0.016	0.009	33.82±
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	0.004
	0.003	0.010	0.002	0.003	0.009	0.003	0.002	0.005	0.007	0.004	0.002	

다) 시제품의 생산 및 안전성 검사

최근 소비자들은 진한농도의 제품을 선호하는 경향이 강하다. 따라서 앞서 개발된 제품 formula를 사용하여 두 개의 시제품을 생산하였다. 하나는 원래 formula 성분을 그대로 사용(제품 A)하고 다른 하나는 첨가된 생약제 성분을 1.6배 더 첨가하여 진한 맛이 나도록 한 제품(제품 B)을 생산하였다. 설문조사를 하기 전에 이들 시제품의 유통기간과 안전성 검사를 위해서 37°C incubator에 보관하면서 호기성 세균수 측정용과 대장균군 측정용 petrifilm(3M, USA)을 이용하여 3개월간 균수생장을 조사하였다. 그 결과 제품의 3개월간의 처리 후에도 맛과 향, 색상, 산도 등의 변화는 없었으며, 균증식도 관찰되지 않아 안정성과 안전성에는 전혀 문제가 없었다(Table 10, Table 11).

Table 10. Physiochemical stability of a prototype

Distribution	Basis	36°C incubation		
		One month later	Two months later	Three months later
Taste	·	○	○	○
Fragrance	·	○	○	○
Color	·	○	○	○
pH	·	4.51	4.51	4.52

* ○ : Excellent, △ : Good, × : Imbalance.

Table 11. Microorganism analysis for expiry date setting of a prototype

Distribution	Basis	36°C incubation		
		One month later	Two months later	Three months later
Coliform Group	negative	negative	negative	negative
Standard plate count (cfu/ml)	100이하	ND	ND	ND

*ND : Not detected.

라) 시음회를 통한 설문조사

시제품 A, B의 선호도 및 가격대 결정을 위하여 설문조사서를 작성하고, 다양한 연령대 48인을 선정하여 선호도 등의 설문조사를 실시하였다. 설문조사에 참여하는 인원의 연령대는 골고루 분산시켰으며(Fig. 8A), 소비자 가격대는 10만원대 초중반이 89% 정도 차지하였다(Fig. 8B). 또한 제품의 쓴맛의 경우 60% 정도에서 좋은 평가를 받았으며(Fig. 7C), 제품의 농도 호감도는 69% 정도로 비교적 높게 나타났다(Fig. 8D). 시제품 선호도는 A가 농도가 더 첨가되어 진한 B보다 20% 이상 선호도가 높게 나타났다.

시제품 선호도 평가

헬스플러스 골드는 우리의 건강을 위협하는 질병으로부터 우리 몸을 보호하고 건강한 삶을 영위할 수 있도록 산삼배양근과 홍삼 및 각종 한방소재를 조화롭게 배합하여 만든 제품입니다. 시용하시고 아래의 내용을 평가해 주세요.

※ 평가 방법 : 평안한 마음으로 향미를 음미하며, 다음의 내용을 평가해주세요.

- 설문자의 나이는? 30대 (), 40대(✓), 50대(), 60대(), 기타 ()

- 설문자의 성별은? 남자 (), 여자(✓)

- 현재 드시고 있는 건강식품이 있습니까? ① 있다 (), ② 없다 (✓)

- 시제품의 향기는 어떤가요 ?
 ⊕ 향기가 좋았던 제품은 : 시제품 2 (✓), 시제품 4 ()
 아주 좋다(), 좋다(), 그저 그렇다(), 싫다(), 아주 싫다()

- 시제품의 맛은 어떤가요 ?
 ⊕ 맛이 좋았던 제품은 : 시제품 2 (✓), 시제품 4 ()
 아주 좋다(), 좋다(), 그저 그렇다(✓), 싫다(), 아주 싫다()

- 시제품의 쓴맛에 대하여
 효능이 좋다면 쓴맛은 별문제 없다. (), 더 진했으면 좋겠다. (),
 보약은 이 정도 쓴맛이어야 한다. (), 먹기 힘들 정도로 쓰다. (✓)

- 내용물의 농도에 대하여
 진해서 고급스러운 느낌이 든다. 그래서 좋다. (), 그래서 싫다. ()
 더 진했으면 좋겠다. (), 묽었으면 좋겠다. (✓)

- 향과 맛을 종합하여 평가한 결과를 순위로 정해 보면
 2 → 4

- 시제품이 제품화 되었을때 적정 구매 가격은? (30ml * 20병)
 ① 10만원 초반 (✓), ② 15만원 초반 (), ③ 20만원 초반 (),
 ④ 기타 (원)

- 종합적인 품질에 대하여
 ⊕ 이런 점만 보완한다면 좋은 제품이 되겠다고 생각된다(부족할 경우 뒷장을 이용해주세요).

설문에 대해 주셔서 감사합니다. 즐거운 하루 되시기 바랍니다.

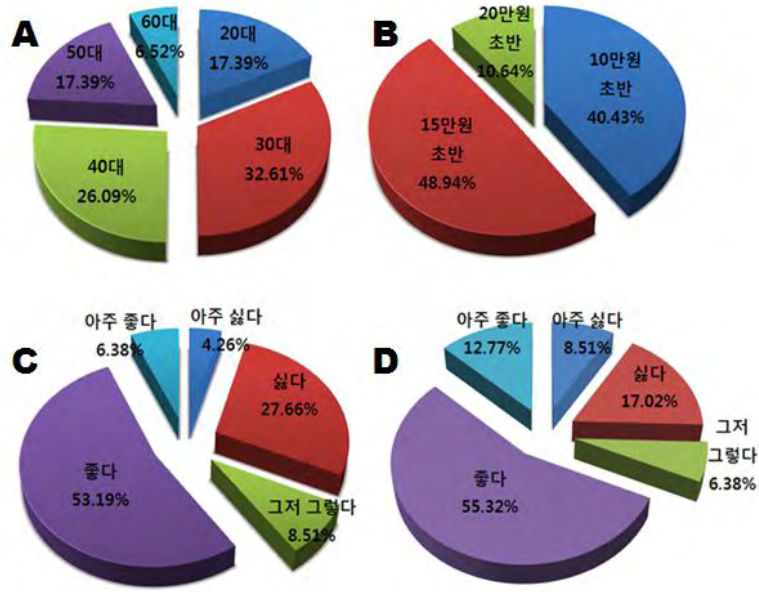


Fig. 8. Preference investigation of a prototype. A, Respondent face age ; B, Consumer preference range of price of a prototype. ; C, Bitter taste preference. ; D, Sweet taste preference.

마) 시제품 생산을 위한 상자 및 스티커 디자인 개발

설문조사를 통하여 선정된 시제품 A의 제품화를 위해서 상자와 스티커 디자인을 개발하였다 (Fig. 9). 제품명은 한방소재를 중심으로 하여 개발되었기 때문에, 최근의 웰빙트렌드에 맞추어 “웰빙한방 헬스플러스”로 명명하였으며, 제품 유형은 30 ml 병제품으로 하여 한 세트에 20병을 기준으로 제작하였다.



Fig. 9. Case design development for prototype production.

3) Ginsenoside Rg3 및 Rh2 고함유 홍삼 건강기능성 제품개발

가) 홍삼건강기능성제품 제조를 위한 formula 개발

유기산에 의하여 전환된 마이너사포닌 Rg3 및 Rh2를 고함유하고 있는 홍삼 6년근 홍삼농축액에 홍미삼/매실 추출물숙성농축액, 홍삼동체추출물을 주성분으로 하고 여기에 아가리쿠스, 건강, 대추, 황기, 당귀 등의 약제 추출물과 타우린, 식이섬유 및 4가지 비타민을 첨가한 건강기능성 식품을 개발하였다. 당류는 열량이 적은 기능성 당류인 말티톨과 아세설팜-칼륨을 사용하였다(Table 12).

Table 12. Formula for health functional product of red ginseng with high concentration of ginsenoside-Rg3 and Rh2

Component	Content(mg/EA)
6 years Red ginseng extract	1,500
Red ginseng/Plum mature extract	1,280
Red ginseng Root extract	500
Agaricus extract	800
Ginger extract(solid 60%)	30
Jujube extract(solid 60%)	770
Astragali Radix extract(solid 60%)	450
Angelicae Gigantis Radix extract(solid 60%)	750
Taurine	300
Fiber	500
Vitamin B1	0.7
Vitamin B2	0.8
Nicotinic acid amide	8
Vitamin B6	1
Guar gum	30
D-Maltitol	8,000
Acesulfame Potassium	13

나) 시제품의 생산 및 안전성 검사

시제품의 유통기간과 안전성 검사를 위해서 37℃ incubator에 보관하면서 호기성 세균수 측정용과 대장균군 측정용 film(3M, USA)을 이용하여 3개월간 균수생장을 조사하였다. 그 결과 제품의 3개월간의 처리 후에도 맛과 향, 색상, 산도 등의 변화는 없었으며, 균증식도 관찰되지 않아 안정성과 안전성에는 전혀 문제가 없었다(Table 13, Table 14).

Table 13. Physiochemical stability of a prototype

Distribution	Basis	36℃ incubation		
		One month later	Two months later	Three months later
Taste	.	○	○	○
Fragrance	.	○	○	○
Color	.	○	○	○
pH	.	4.51	4.51	4.52

* ○ : Excellent, △ : Good, × : Imbalance.

Table 14. Microorganism analysis for expiry date setting of a prototype

Distribution	Basis	36℃ incubation		
		One month later	Two months later	Three months later
Coliform Group	negative	negative	negative	negative
Standard plate count (cfu/ml)	100 and less	ND	ND	ND

*ND : Not detected.

다) 제품 디자인 개발

제품화를 위해서 상자와 스티커 디자인을 개발하였다(Fig. 10). 제품명은 홍삼을 주원료로 한 건강기능성 식품으로 개발하였기 때문에, “이뮤니티”로 명명하였으며, 제품 유형은 30 ml 병 제품으로 하여 한 세트에 30병을 기준으로 제작하였다.



Fig. 10. Box design developed for red ginseng health functional product.

라) 사포닌 전환을 통한 고기능성 Rg3 대량생산을 위한 최적 전환 조건 확립

(1) 사포닌 전환을 위한 유산균 최적 조건 확립

1) 홍삼엑스 공동배양을 통한 사포닌 전환처리

최근 인삼 엑스와 ginsenoside 전환 균주의 반응을 통하여 major ginsenoside들이 대부분 가수분해 되어 ginsenoside C-K, Rh2, Rg3와 같은 고기능성의 minor사포닌으로 전환된다는 실험실적 연구는 많이 수행되고 있는 실정이다(Zhou *et al.* 2006, Quan *et al.* 2010, Chi *et al.* 2005, Chi and Ji 2005) .

본 연구에서는 홍삼엑스의 첨가농도에 따라서 균주 및 효소활성에 차이가 있을 것으로 예상되어 이들의 최적조건을 탐색하기 위해서 Rg3 전환활성이 있는 유산균(*Lactobacillus brevis*) 균주와 홍미삼 엑스를 5%, 10%, 20%, 30% 농도로 첨가하여 공동배양하면서 미생물의 증식과 사포닌 전환효율을 조사하였다(Fig. 11). 그 결과 MRS 배지에서 키운 유산균(*Lactobacillus brevis*)은 MRS 단독배지에서 키운 대조구 보다 오히려 30% 홍미삼엑스를 처리한 구에서 오히려 왕성한 성장을 보였다. 이러한 결과로 볼 때 비교적 높은 농도의 홍미삼 첨가구에서 β -glucosidase 활성을 갖고 있는 미생물이 비교적 잘 성장함으로 요구하는 특정 사포닌 생산 균주를 선발하여 공동 배양을 통하여 유용 마이너사포닌을 대량으로 생산하는데 있어 경제성이 높을 것으로 사료된다.

***Lactobacillus brevis* in MRS medium**

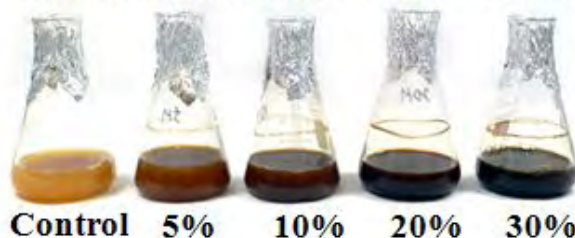


Fig. 11. Concentrations of red ginseng extract for co-culture of *Lactobacillus brevis* and red ginseng extract.

2) 사포닌 전환산물의 분석을 통한 Rg3 생산성 분석

β -glucosidase 활성 미생물과 홍미삼 엑스의 공동배양을 통한 사포닌 전환산물의 분석을 위해서

부탄올 방법을 사용하여 추출·정제한 후 TLC plate에 0.6 cm 간격으로 spotting하고 CHCl₃/CH₃OH/H₂O (65:35:10, v/v, 하층) 혼합용매로 5.5 cm 전개한 후 10% H₂SO₄을 분무하여 110℃에서 가열하여 발색시켜 관찰하였다(Fig. 12A). ELSD detector를 사용한 HPLC 분석을 통한 total saponin 함량조사를 위해서 C18 column(250×4.6 mm, ID 5 μm)을 사용하였으며, 이동상은 acetonitrile (solvent A)과 증류수(solvent B)를 사용하였다. 정제한 시료는 20 μl 주입하였으며, 유속은 1.6 ml/min, UV detector로 203 nm에서 측정하였다. 정제된 시료들은 10 ul를 HPLC기에 주입하여 ELSD detector를 사용하여 ginsenosides를 분리·정량하였다(Fig. 12B). 사포닌 화합물의 확인 및 정량은 KT&G에서 분양받은 11종의 ginsenosides 표준품(Rg₁, Rf, Re, Rd, Rc, Rb₂, Rb₁, Rg₂, Rg₃, Rh₁, Rh₂)을 사용하였다. 그 결과 균체배양 추출물을 이용한 기질 실험보다는 낮은 전환효율을 나타내었다.

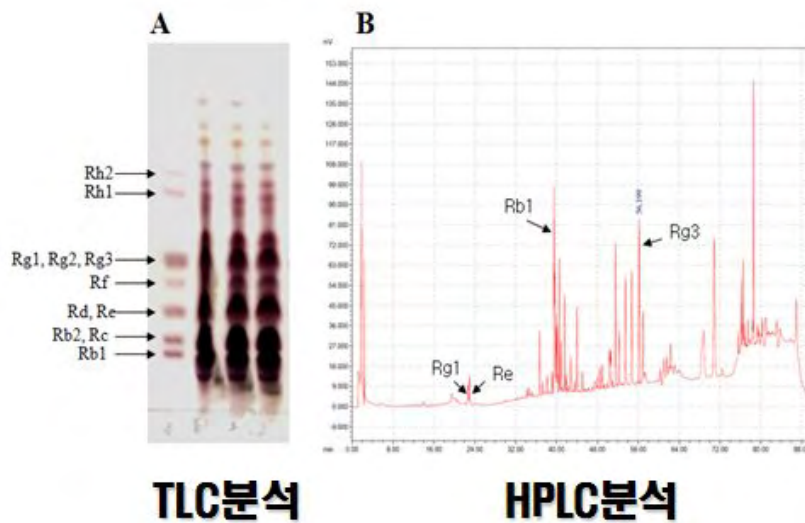


Fig 12. Ginsenoside patterns converted. A, TLC pattern ; B, HPLC pattern.

NMR분석을 통한 구조분석 ginsenoside Rb₁을 Rg₃로 전환하는 특성이 있다. 홍미삼 엑스와 bioreactor에서 공동 배양한 경우에도 생산되는지 여부를 조사하였다. ¹³C-NMR분석한 결과 105.1 ppm과 106.1 ppm에서 C-3에 연결된 inner-β-D-glucose 와 outer-β-D-glucose의 anomeric 탄소 signal이 관측이 되었고 126.2 ppm와 130.7 ppm에서 측쇄 부분의 C-24와 C-25의 olefinic carbon의 signal이 관측이 되었으며, C-3의 signal은 88.9 ppm에서 (Rb₁의 89.0 ppm 나타난 C-3의 signal과 유사), C-20의 signal은 73.0 ppm (Rb₁의 83.5 ppm에서 나타난 C-20의 signal에 비해 현저하게 고 자장으로 이동)에서 관측이 되어 ¹H-NMR분석 결과와 마찬가지로 ginsenoside Rb₁은 GS514균주에 의하여 ginsenoside Rg₃로 전환된다는 결론을 얻을 수 있었는데, *M. esteraromaticum* 균주에 의한 Rb₁의 전환산물은 3-O-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl]-20(S)-protopanaxadiol로 구조 동정하여 20(S)-ginsenoside Rg₃임을 확인하였다(Table 15).

Table 15. Structural analysis of product converted by lactic acid bacteria through NMR

(Unit:ppm)

Carbon site	20(R)-Rg ^a	20(S)-Rg ^a	Metabolite	Carbon site	20(R)-Rg ^a	20(S)-Rg ^a	Metabolite
C-1	39.2	39.2	39.1	C-22	43.3	36.0	36.0
C-2	26.7	26.8	26.9	C-23	22.7	23.1	23.1
C-3	89.0	89.0	88.9	C-24	126.1	126.4	126.3
C-4	39.8	39.8	39.8	C-25	130.8	130.8	130.8
C-5	56.4	56.5	56.4	C-26	25.9	25.9	25.9
C-6	18.5	18.5	18.5	C-27	17.7	17.1	17.8
C-7	35.2	35.3	35.2	C-28	28.2	28.2	28.2
C-8	40.0	40.1	40.1	C-29	16.6	16.7	16.7
C-9	50.4	50.5	50.4	C-30	17.4	17.8	17.1
C-10	37.0	37.0	37.0	1'	105.2	105.2	105.1
C-11	32.2	32.1	32.2	2'	83.5	83.5	83.4
C-12	70.9	71.0	71.0	3'	78.0	78.0	78.0
C-13	49.3	48.7	48.7	4'	71.8	71.8	71.6 ^b
C-14	51.9	51.8	51.8	5'	78.1	78.3	78.3 ^b
C-15	31.5	31.4	31.5	6'	62.9	62.9	62.8
C-16	26.8	26.9	27.2	1''	106.1	106.1	106.1
C-17	50.7	54.9	54.9	2''	77.2	77.2	77.2
C-18	15.9	15.9	15.9	3''	78.4	78.4	78.3 ^b
C-19	16.4	16.4	16.5	4''	71.7	71.7	71.6 ^b
C-20	73.0	73.0	73.0	5''	78.3	78.2	78.2
C-21	22.8	28.2	27.2	6''	62.8	62.8	62.7

(2) 생물반응기를 이용한 1,000 L 용량의 전환시운전

유산균의 배양배지인 MRS나 일반 미생물 배양배지인 LB 배지를 사용하여 18L bioreactor에서 홍미삼과 공동배양을 하여 균주의 생장을 비교하고자 18L bioreactor당 균 배양액 1 ml를 접종하여 배양하였다. 그 결과 양호한 생장을 보였으며, 이를 1ton 규모로 확대하여 사포닌 전환시험을 진행하고 있다(Fig. 13). 18 L Bioreactor에서 반응시킨 산물의 정성분석을 위해서 반응산물을 160 ml 수포화 부탄올로 3회 반복 추출하고, 45℃에서 감압 농축한 후 잔여물은 소량의 이동상으로 용해하여 silica gel column (5×28 cm)에 흡착시키고 CHCl₃/CH₃OH/H₂O (9:3:1, v/v, 하층) 혼합용매를 이동상으로 20~25 ml씩 분취하여 사용하여 TLC와 HPLC분석로 사포닌 전환 활성을 측정하여 ginsenoside-Rg₃, -Rd, F₂의 전환 반응이 관찰되었다. 홍미삼으로부터 추출한 엑스를 직접 생물반응기에 첨가하여 사포닌 전환을 시도한 결과 엑스의 적정 농도와 첨가 시기 등에 매우 민감하게 나타났다. 홍미삼엑스를 저농도로 처리할수록 고농도에 비하여 효과적이었으나 경제성 면에서 재검토하여야 할 것으로 판단된다.

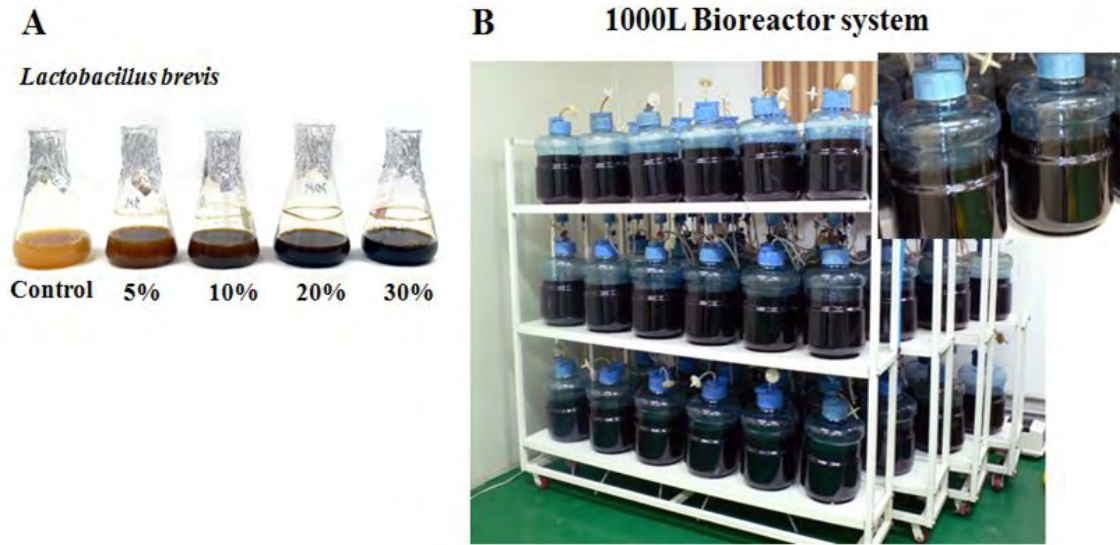


Fig. 13. Bioreactor system for ginsenoside conversion.

4) 지표물질 선정에 따른 표준화 홍삼제품개발

가) 지표물질 선정에 따른 표준화 홍삼제품개발

현재 시중에서 제품화되어 판매되고 있는 인홍삼제품의 가장 큰 문제점으로 지적되고 있는 것이 성분표준화이다. 기존에는 인삼의 조사포닌(crude saponin)을 함량을 기준으로 하여 왔으나, 많은 문제점이 지적되고 있다. 따라서 본 연구에서는 인삼 total saponin 중 ginsenoside Rb1과 Rg1을 지표물질(Fig. 14)로 선정하고 이를 활용하여 표준화된 홍삼정(100g) 및 홍삼정골드 제품을 개발하였다.

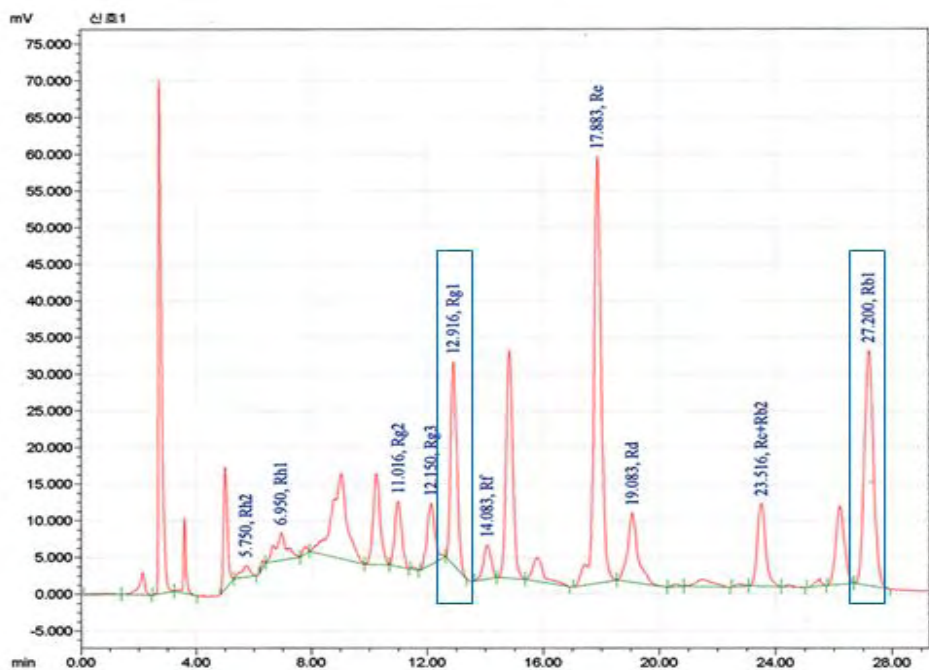


Fig 14. HPLC chromatogram of ginsenosides.

(1) 홍삼엑스의 중금속 함량

6년근 인삼의 경우 땅에서 6년간 숙근초로서 성장하기 때문에 지하부인 뿌리에 유용한 효능성분뿐만 아니라 중금속 등도 축적되어 있을 가능성이 있다. 식품공전(2009)의 시험법에 따라서 6년근 홍삼으로부터 추출하여 농축한 홍삼엑스의 중금속 함유여부를 조사하기 위해서 4종의 납(Pb), 비소(As), 카드뮴(Cd), 수은(Hg)의 잔류성을 분석하였다. 그 결과 위 4가지 중금속은 6년근 홍삼엑스에서는 기준치 이상으로는 검출이 되지 않았다(Table 16).

Table 16. Heavy metal component of 6-year old red ginseng extract

Item	Basis	Results
Lead (Pb)	1.0 mg/kg and less	Not detected
Arsenic(As)	1.0 mg/kg and less	Not detected
Cadmium(Cd)	1.0 mg/kg and less	Not detected
Mercury(Hg)	1.0 mg/kg and less	Not detected

(2) 홍삼엑스의 안전성 검사

6년근 홍삼엑스(고형분 60% 이상)의 안전성 조사를 위해서 그람 음성 세균인 대장균군과 일반세균을 조사하였다(식품공전 2009). 홍삼엑스를 멸균증류수에 처리한 후 각 단계 희석액 1 ml를 접종한 대장균군 건조필름배지(배지 54)에 접종한 후 잘 흡수시키고, 36±1℃ incubator에서 24시간 배양하였다. 필름에 생성된 붉은 집락 중 주위에 기포를 형성하고 있는 집락수를 조사한 결과 홍삼엑스에서는 전혀 대장균 및 세균군이 검출되지 않았다(Table 17).

Table 17. A safety inspection of 6-year old red ginseng extract

Item	Basis	Results	Judgment
Coliform group	negative	negative	suitability
Standard plate count	100 cfu/ml and less	0/ml	suitability

(3) 홍삼엑스의 농약 잔류량

반음지성 식물인 인삼은 다년간 차광막아래에서 양에서 재배되는 인삼은 혈당조절 제품의 농약잔류성을 조사하기 위해서 식품공전(2009)의 시험법에 따라서 25종에 대한 농약잔류시험 분석을 한 결과 시험항목 등을 전혀 검출이 되지 않았다(Table 18).

Table 18. Agricultural chemicals residue of 6-year old red ginseng extract

Item	Basis	Results	Judgment
DDT(ppm)	0.05 and less	Not detected	pass
Metalaxyl(ppm)	0.5 and less	Not detected	pass
BHC(ppm)	0.05 and less	Not detected	pass
Endrin(ppm)	0.05 and less	Not detected	pass
Carbendazim(ppm)	0.5 and less	Not detected	pass
Quintozene(ppm)	0.5 and less	Not detected	pass
Difenoconazole(ppm)	0.2 and less	Not detected	pass
Cypermethrin(ppm)	0.1 and less	Not detected	pass
Azoxystrobin(ppm)	0.5 and less	Not detected	pass
Tolyfluand(ppm)	0.01 and less	Not detected	pass
Tolclofos-methyl(ppm)	0.5 and less	Not detected	pass
Iminoctadine(ppm)	0.2 and less	Not detected	pass
Pyrimethanil(ppm)	0.3 and less	Not detected	pass
Fenhexamid(ppm)	0.3 and less	Not detected	pass
Cyazofamid(ppm)	0.3 and less	Not detected	pass
Cyprodinil(ppm)	2.0 and less	Not detected	pass
Kresoxim-methyl(ppm)	0.1 and less	Not detected	pass
Aldrin & Dieldrin(ppm)	0.05 and less	Not detected	pass
Carbosulfan(ppm)	0.2 and less	Not detected	pass
Trifloxystrobin(ppm)	0.2 and less	Not detected	pass
Fludioxonil(ppm)	1.0 and less	Not detected	pass
Cyfluthrin(ppm)	1.0 and less	Not detected	pass
Thifluzamide(ppm)	2.0 and less	Not detected	pass
Diethofencarb(ppm)	2.0 and less	Not detected	pass
Cadusafos(ppm)	0.1 and less	Not detected	pass

(4) **홍삼정** 제품 개발

1) 제품의 제조방법

○ 제품명 : 홍삼정

○ 원료 및 성분함량 : 기능성원료 [홍삼농축액(ginsenoside Rg1과 Rb1의 합 6 mg/g)]

○ 섭취방법 : 1일 3회, 1회 1g씩 식전 또는 식후에 물과 함께 섭취

○ 섭취시 주의사항 :

① 알레르기 체질이신 경우 성분을 확인하신 후 섭취하여 주시기 바랍니다.

② 제품의 섭취시 섭취량 및 섭취방법을 확인하고 섭취하세요.

③ 제품개봉 또는 섭취시 포장재에 의해 상처를 입을 수 있으니 주의하세요.

○ 포장방법 : 병 포장

○ 포장단위 : 100g (2입)

○ 포장 재질 : 병-유리, 뚜껑-폴리에틸렌

○ 성상 : 진갈색의 액상제품

○ 기능성내용 : [홍삼제품] ① 면역력 증진, ② 피로회복, ③ 혈소판 응집 억제를 통한 혈액흐름에 도움

○ 제조방법

- ① 원료 : 건강기능식품공전에서 정하는 적합한 원재료(홍삼 6년근)를 선별 구입하여 사용한다.
- ② 추출 : 구입한 홍삼을 추출기에 투입하여 30% 이상 에탄올로 섞어 60-80℃에서 10-12시간 썩 5회 반복 추출하여 추출액을 여과한 후 이 여액을 섞어 60℃에서 감압농축(500-700 mmHg)하여 고형분 60%(ginsenoside Rg1과 Rb1의 합 6 mg/g) 이상 홍삼농축액을 얻는다.
- ③ 살균 : 농축액을 살균장치에서 90℃에서 30분간 살균한다.
- ④ 충전 및 포장 : 갈색 유리병에 포장단위별 중량으로 충전, 밀봉한 후 유통기한을 표시하여 제품화 한다.
- ⑤ 검사 : 건강기능식품 규격에 의한 검사를 실시한다(Ginsenoside Rg1과 Rb1의 합, 대장균군, 세균수).

○ 기준규격

- ① 성상 : 갈색의 액상제품으로서 이미, 이취가 없어야함.
- ② Ginsenoside Rg1과 Rb1의 합(6 mg/g)의 80-150%.
- ③ 대장균군 : 음성.
- ④ 세균수 100cfu/ml 이하.

2) 영양 성분분석

식품공전(2009)의 시험법에 따라서 홍삼정 시제품의 열량(Kcal), 탄수화물(g), 단백질(g), 지방(g), 나트륨(mg)등을 분석한 결과 조단백질과 조지방에서는 기준치를 약간 초과하였다(Table 19).

Table 19. A nutritious component of a red ginseng extract prototype

Item	Content	Nutritive substance standard(%)
Calorie(kcal/100 g)	298.7	-
Carbohydrate(g/100 g)	57.1	17
Protein(g/100 g)	8.8	15
Fat(g/100 g)	3.9	8
Sodium(mg/100 g)	99.0	5

3) 기준규격 시험분석

홍삼정 제품은 성상이 갈색의 액상제품으로서 이미, 이취가 없어야하고 건강기능식품으로서 인정을 받기 위해서는 일정수준이상의 사포닌(ginsenoside Rg1과 Rb1의 합(6 mg/g)의 80-150% 이상)이 함유되어 있어야 한다. 또한 대장균군이 발견되어서는 안되며 세균수는 100cfu/ml 이하이어야 한다. 홍삼정 시제품의 기준규격 시험을 분석한 결과 모두 만족하는 결과를 얻을 수 있었다(Table 20).

Table 20. Standard provision of a red ginseng extract prototype

Item	Basis	Results	Judgment
Sensory attribute	A brown liquid product	A brown liquid product	Pass
Ginsenoside Rg1& Rb1 Total	6mg/g (80-150%)	7.4 mg/g	Pass
Coliform Group	negative	negative	Pass
Standard plate count	100 cfu/ml and less	0/ml	Pass

4) 홍삼정 제품디자인 개발

홍삼정 제품디자인은 기존제품들과는 차별성 있게 부드럽고 고급스러운 이미지를 강조하면서 선물하기 좋게 병당(100g 제품) 개별포장을 하고 한 상자에 3개가 들어갈 수 있도록 배치하였다(Fig. 15).



Fig. 15. Designs of red ginseng extract and packing materials.

(5) 홍삼정 골드 제품 개발

1) 제품의 제조방법

- 제품명 : 홍삼정 골드
- 원료 및 성분함량 : Table 21과 같이 조성하였다.

Table 21. Raw materials and combination ratio of red ginseng extract gold

Raw materials	Name	Ratio(%)	Functionality indication & Other matter
Functionality raw materials	Red ginseng extract (Rg1 & Rb1 Total 6 mg/g)	10.50	Immunity increase, Fatigue recovery, You help to blood stream through blood platelet cohesion suppression.
Raw materials	Isomaltooligosaccharide	53.90	
	Deabo extract	20.00	solid 55%
	Astragali Radix	12.65	
	Angelicae Gigantis Radix	12.65	
	Glycyrrhizae	12.65	
	Cinnamon Bark	12.65	
	Atractylodes rhizome white	11.49	
	Cnidii Rhizoma	10.34	
	Rehmanniae Radix et Rhizoma Preparata	10.34	
	Paeoniae Radix	9.49	
	Hoelen	5.74	
	deer antlers	2.00	
	Maltodextrin	9.00	
	Thunberg extract	1.00	
	Vitamin C	0.50	
	Grapefruit Seed Extract	0.10	

- 섭취방법 : 1일 3회, 1회 1스푼(5g)씩 식전 또는 식후에 물과 함께 섭취하세요.
- 섭취시 주의사항 :
 - ① 알레르기 체질이신 경우 성분을 확인하신 후 섭취하여 주시기 바랍니다.
 - ② 제품의 섭취시 섭취량 및 섭취방법을 확인하고 섭취하세요.
 - ③ 제품개봉 또는 섭취시 포장재에 의해 상처를 입을 수 있으니 주의하세요.
- 포장방법 : 병 포장
- 포장단위 : 240g (2입)
- 포장 재질 : 병-유리, 뚜껑-폴리에틸렌
- 성상 : 진갈색의 액상제품
- 기능성내용 : [홍삼제품] ① 면역력 증진, ② 피로회복, ③ 혈소판 응집 억제를 통한 혈액흐름에

도움

○ 제조방법

- ① 원료 : 모든 원료는 건강기능식품공전, 식품공전, 식품첨가물공전 등의 기준규격에 적합한 원료를 구매하여 품질관리후 적합한 것만 사용한다.
- ② 칭량 : 배합비율에 맞게 원료를 칭량한다.
- ③ 혼합 : 칭량한 원료를 혼합기에서 혼합한다.
- ④ 살균 : 95-100℃에서 30분간 살균한다.
- ⑤ 여과 : MESH망을 이용하여 여과한다.
- ⑥ 충전 : 규격에 맞게 충전한다.
- ⑦ 포장 : 규격에 맞게 포장한다.
- ⑧ 검사 : 건강기능식품 홍삼제품 규격에 준하여 자가품질검사를 한다.
- ⑨ 출하 : 적합한 제품에 한하여 출하한다.

○ 기준규격

- ① 성상 : 갈색의 액상제품으로서 이미, 이취가 없어야함.
- ② Ginsenoside Rg1과 Rb1의 합 : 표시량(3.15 mg/5g)의 80-150%.
- ③ 대장균군 : 음성.
- ④ 세균수 100cfu/g 이하.

2) 영양 성분

식품공전(2009)의 시험법에 따라서 홍삼정 시제품의 열량(Kcal), 탄수화물(g), 단백질(g), 지방(g), 나트륨(mg)등을 분석한 결과 조단백질과 조지방에서는 기준치를 약간 초과하였다(Table 22).

Table 22. A nutritious component of a red ginseng extract gold prototype.

Item	Content	Nutritive substance standard(%)
Calorie(kcal/100 g)	298.1	-
Carbohydrate(g/100 g)	72.2	22
Protein(g/100 g)	2.1	4
Fat(g/100 g)	0.1	0
Sodium(mg/100 g)	61.1	3

3) 기준규격 시험분석

홍삼정골드 제품은 성상이 갈색의 액상제품으로서 이미, 이취가 없어야하고 건강기능식품으로서 인정을 받기 위해서는 일정수준이상의 사포닌(ginsenoside Rg1과 Rb1의 합(6 mg/g)의 80-150%)이 함유되어 있어야 한다. 또한 대장균군이 발견되어서는 안되고 세균수는 100cfu/g 이하이어야 한다. 홍삼정 시제품의 기준규격 시험을 분석한 결과 모두 만족하는 결과를 얻을 수 있었다(Table 23).

Table 23. Standard provision of a red ginseng extract gold prototype

Item	Basis	Results	Judgment
Sensory attribute	Having specific smelling Dark Brown Liquid	Acceptable	Pass
Red ginseng component (mg/g)	Over 7.0	8.3	Pass
Identification of Ginseng	Ginsenoside Rb1 & Rg1	Identified	Pass
Coliform Group	negative	negative	Pass
Standard plate count	100 cfu/g and less	0	Pass

4) 홍삼정골드의 제품디자인 개발

홍삼정골드 제품디자인은 기존제품들과는 차별성 있게 부드럽고 고급스러운 이미지를 강조하면서 개별포장을 하지 않고 한 상자에 2개 병제품(240 g)이 들어갈 수 있도록 배치하였다(Fig. 16).



Fig. 16. Designs of Red ginseng extract gold and packing materials.

나) 지표물질 선정에 따른 표준화 홍삼제품개발

(1) Bioreactor를 이용한 인삼전환사포닌의 발효 생산성 분석

홍삼엑스의 산업화를 위한 대량전환을 위해서 18 L Bioreactor에서 미생물효소와 반응시켜 1 ton 시스템을 확립하였다(Fig. 17). 산물의 사포닌 전환 정성분석을 위해서 반응산물을 160 ml 수포화 부탄올로 3회 반복 추출하고, 45°C에서 감압 농축한 후 잔여물은 소량의 이동상으로 용해하여 silica gel column(5×28 cm)에 흡착시키고 CHCl₃/CH₃OH/H₂O (9:3:1, v/v, 하층) 혼합용매를 이동상으로 20~25 ml씩 분취하여 사용하여 TLC와 HPLC분석을 실시하였다. 그 결과 compound K의 사포닌 전환반응이 관찰되었다(Fig. 18). 생물반응기에서 미생물효소와 홍삼엑스의 반응은 엑스의 적정 농도와 첨가 시기 등에 매우 민감하게 반응을 나타내었다. 홍삼엑스를 저농도로 처리할수록 고농도에 비하여 효과적이었으나 경제성이 떨어지는 문제점이 있다. 따라서 경제성이 있는 홍삼 엑스 첨가 농도

를 위해서는 우수한 효소개발이 계속되어야 할 것이다.



Fig. 17. One ton bioreactor system for ginsenoside conversion and industrialization.

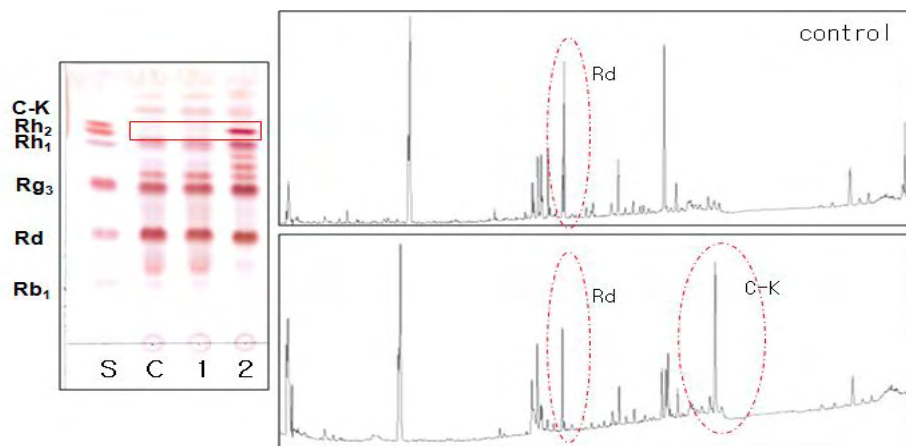


Fig. 18. Compound K content of product produced in 1 ton bioreactor system.

(2) 전환산물의 NMR분석을 통한 구조분석

미생물효소 전환산물 중 compound K의 구조분석을 위해서 ^{13}C -NMR분석을 통하여 구조 확인을 하였다(Fig. 19). 생물전환된 compound K는 compound K 고함유 음료 및 캡슐제품 원료로 사용될 것이다.

¹H-NMR(400 MHz) of the compound K (400 MHz, solvent: pyridine-d₅).

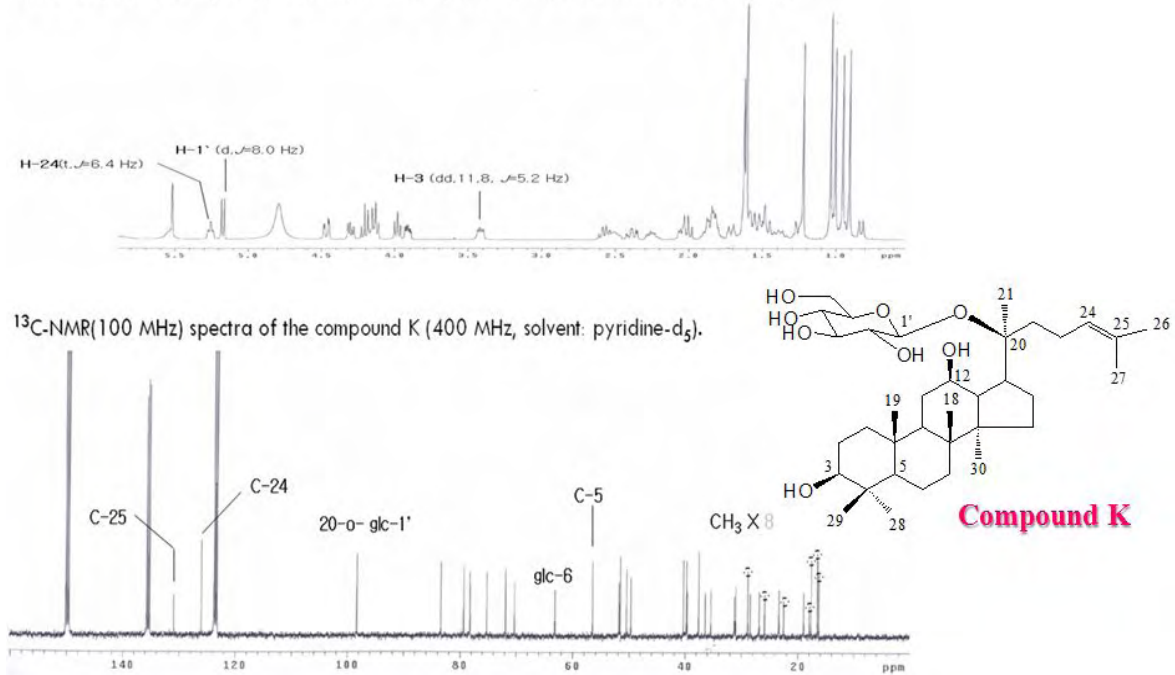


Fig. 19. NMR analysis of the compound K converted.

5) 특정 활성균주를 이용한 고기능성 발효홍삼 제품개발

가) 특정 활성균주 이용한 고기능성 발효홍삼제품 개발

(1) 발효 과정을 통한 고기능성 사포닌의 함량

Aspergillus 속 균주를 배양하여 배양액 10ml을 5% 홍삼액 1,000ml에 첨가하여 발효를 진행하였다. 약 1주일간의 발효를 거친 후 이를 여과하여 이를 발효홍삼액으로 사용하였으며 발효홍삼액 10ml을 수포화부탄올 10ml로 2회 추출하여 감압농축한 후 이를 MeOH에 녹여 TLC 및 HPLC분석에 이용하였다(Fig. 20). TLC 분석 결과 Control에 없었던 C-K위치에 밴드가 진하게 나타나고 상대적으로 Rb1, Rb2, Rc 위치의 밴드들은 감소한 것을 확인 할 수 있었으며 그 함량은 Table 24와 같았다.

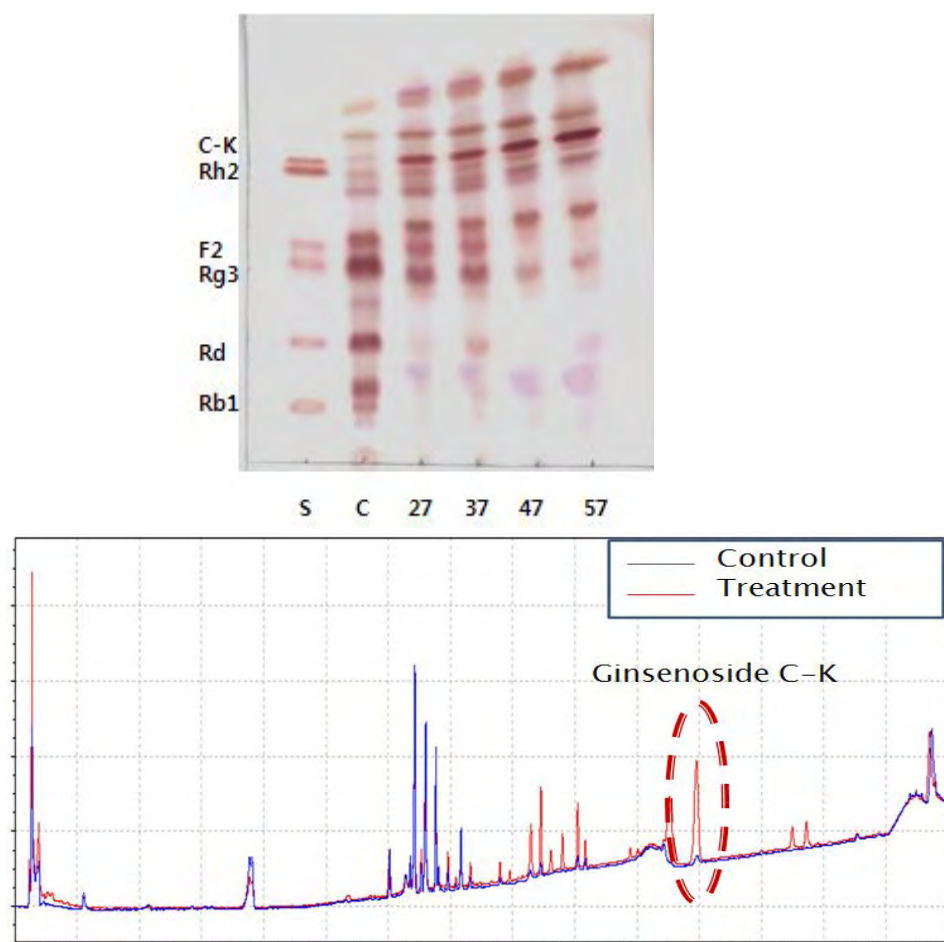


Fig. 20. TLC and HPLC patterns of fermented red ginseng extract.

Table 24. Content of ginsenosides converted by *Aspergillus* sp.

Ginsenoside compositions of FMG by *Aspergillus* sp.

ginsenoside	Concentration(mg/g)		
	CON	7days	14days
Rb1	6.41	2.36	1.42
Rb2	4.01	1.51	0.5
Rc	4.97	1.66	0.77
Rd	2.32	3.03	1.51
Rf	0.41	0.5	0.58
Rg1	0.65	0.23	0.01
Re	2.54	0.92	0.04
Rg2	0.31	0.88	1.2
Rg3	0.84	0.92	0.44
Rh2	0.31	0.34	0.6
C-K	0	3.24	3.66
Major	21.31	10.21	4.83
Minor	1.46	5.38	5.9
Total	22.77	15.59	10.73

Major is sum of Rb1, Rb2, Rc, Rd, Rf, Rg1, Re
 Minor is sum of Rg2, Rg3, Rh2, C-K

(2) 발효홍삼엑스의 안전성 분석

발효홍삼엑스의 안전성 분석을 위해 농약잔류 분석(34종), 중금속분석(4종), 미생물 분석(2종)을 실시하였다

1) 농약잔류분석

식품공전(2011)의 시험법에 따라서 34종에 대한 잔류농약시험 분석한 결과 시험항목등에 잔류농약이 검출되지 않았다(Table 25).

Table 25. Agricultural chemicals residue of fermented red ginseng extract

Item	Basis	Results	Judgment
DDT(ppm)	0.1 and less	Not detected	Pass
Metalaxyl(ppm)	2.0 and less	Not detected	Pass
Aldrin&Dieldrin	0.1 and less	Not detected	Pass
BHC(ppm)	0.1 and less	Not detected	Pass
Endrin(ppm)	0.1 and less	Not detected	Pass
Carbendazim(ppm)	2.0 and less	Not detected	Pass
Quintozene(ppm)	1.0 and less	Not detected	Pass
Difenoconazole(ppm)	0.5 and less	Not detected	Pass
Cypermethrin(ppm)	0.3 and less	Not detected	Pass
Azoxystrobin(ppm)	2.0 and less	Not detected	Pass
Tolyfluanid(ppm)	0.01 and less	Not detected	Pass
Tolclofos-methyl(ppm)	1.0 and less	Not detected	Pass
lminoctadine(ppm)	0.5 and less	Not detected	Pass
Pyrimethanil(ppm)	1.0 and less	Not detected	Pass
Fenhexamid(ppm)	2.0 and less	Not detected	Pass
Cyazofamid(ppm)	1.0 and less	Not detected	Pass
Cyprodinil(ppm)	5.0 and less	Not detected	Pass
Kresoxim-methyl(ppm)	1.0 and less	Not detected	Pass
Diethofencarb(ppm)	2.0 and less	Not detected	Pass
Carbosulfan(ppm)	0.3 and less	Not detected	Pass
Trifloxystrobin(ppm)	0.2 and less	Not detected	Pass
Pencycuron(ppm)	0.7 and less	Not detected	Pass
Ethylenebis(dithiocarbamate)s(ppm)	0.3 and less	Not detected	Pass
Fludioxonil(ppm)	3.0 and less	Not detected	Pass
Cyfluthrin(ppm)	0.3 and less	Not detected	Pass
Chloothalonil(ppm)	0.1 and less	Not detected	Pass
Tefluthrin(ppm)	0.1 and less	Not detected	Pass
Fluquinconazole(ppm)	0.2 and less	Not detected	Pass
Cymoxyanil(ppm)	0.2 and less	Not detected	Pass
Tebupirimfos(ppm)	0.01 and less	Not detected	Pass
Flutolanil(ppm)	1.0 and less	Not detected	Pass
Thifluzamide(ppm)	2.0 and less	Not detected	Pass
Dimethomorth(ppm)	0.2 and less	Not detected	Pass
Cadusafos(ppm)	0.1 and less	Not detected	Pass

2) 중금속분석

식품공전(2011)의 시험법에 따라서 4종에 대한 중금속을 분석한 결과 시험항목등에 중금속이 검출되지 않았다(Table 26).

Table 26. Heavy metal component of fermented red ginseng extract

Item	Basis	Results
Lead (Pb)	1.0 mg/kg and less	Not Detected
Arsenic(As)	1.0 mg/kg and less	Not Detected
Cadmium(Cd)	1.0 mg/kg and less	Not Detected
Mercury(Hg)	1.0 mg/kg and less	Not Detected

3) 미생물 분석

건강기능식품공전(2011)의 시험법에 따라서 2종에 대한 미생물 검사를 한 결과 시험항목등에 미생물이 발견되지 않았다(Table 27).

Table 27. A safety of fermented red ginseng extract

Item	Basis	Results
Coliform group	negative	negative
Standard plate count	3,000 cfu/g and less	Pass

(3) 발효홍삼정 제품 개발

1) 제품의 제조방법

○ 원료 및 성분함량

기능성원료[발효홍삼농축액(Ginsenoside Rb1과 Rg1의 합 6mg/g)]100%

○ 제조방법

- ① 원료 : 모든 원료는 건강기능식품공전, 식품공전 등의 기준규격에 적합한 원료를 구매하여 품질관리 후 적합한 것만 사용한다.
- ② 칭량 : 배합비율에 맞게 원료를 칭량한다.
- ③ 선별 및 세척 : 이물질을 선별한 후 추출기에 넣고 정제수를 이용하여 세척한다.
- ④ 추출 : 세척한 홍삼원료를 추출기에서 7~10배의 50% 주정을 가한 후 65~85℃에서 8시간 이상 추출하여 저장탱크로 옮기고 같은 방법으로 3회 이상 더 추출한 후 저장탱크로 이송한다.
- ⑤ 여과 : 추출액을 필터여과기로 여과한다.
- ⑥ 농축 : 여과한 추출액을 농축기에서 45~65℃, 550~850mmHg의 진공도로 농축한다.
- ⑦ 발효 : 주정이 제거된 농축액에 3~5배의 정제수를 가한 후 김치유산균(배양액)을 넣고 25~35℃에서 48시간 이상 교반하면서 발효시킨다.
- ⑧ 살균 : 발효액을 85~95℃에서 1시간 이상 살균한다.
- ⑨ 여과 : 살균액을 12,000rpm 이상의 원심분리여과기로 여과한다.
- ⑩ 농축 : 여과액을 농축기에서 45~65℃, 550~850mmHg의 진공도로 농축한다.
- ⑪ 살균 : 농축액을 70~75℃에서 3시간 이상 교반 살균한다.
- ⑫ 충전 및 밀봉 : 살균이 완료된 농축액을 일정단위로 유리병 및 폴리에틸렌(PE)용기에 충전

후 밀봉한다.

⑬ 검사 : 건강기능식품공전에서 정하는 기준 및 규격에 적합한지 품질검사한다.

⑭ 포장 및 출하 : 적합한 제품에 한하여 표시사항을 확인 후 포장하여 출하한다.

○ 기능성내용 : ① 면역력 증진, ② 피로회복, ③ 혈소판 응집 억제를 통한 혈액흐름에 도움 ④ 기억력 개선에 도움을 줄 수 있음

○ 기준규격

① 성상 : 암갈색의 점조성을 가진 액상제품으로서 이미, 이취가 없어야함.

② Ginsenoside Rg1과 Rb1의 합 : 표시량의 80%이상.

③ 대장균군 : 음성.

④ 세균수 : 3,000cfu/g 이하.

2) 기준규격 시험분석

발효홍삼정 제품은 암갈색의 점조한 액상제품이며 이미 이취가 없어야 하고 건강기능식품으로 인정 받기 위해서는 건강기능식품에 관한 법률에 의거하여 기준 규격이 일정량 이상의 사포닌(Ginsenoside Rg1과 Rb1의 합)을 섭취 할 수 있도록 제품에 홍삼이 함유되어야 한다. 또한 대장균군이 음성이어야 하며, 세균수는 3,000cfu/g 이하여야 한다. 발효홍삼정 제품을 기준규격 시험을 실시한 결과 적합한 결과를 얻을 수 있었다(Table 28).

Table 28. Standard provision of a fermented red ginseng extract prototype

Item	Basis	Results
Sensory attribute	A brown liquid product	Pass
Coliform Group	negative	negative
Standard plate count	100 cfu/ml and less	0/ml
Ginsenoside Rb1&Rg1 Total (6mg/g)	80 % over	6.5mg/g

3) 발효홍삼정 제품디자인 개발

발효홍삼정 제품은 240g을 갈색의 유리병에 담아 정량 스푼이 동봉되어 한 스푼이 1회 정량이 될 수 있게 포장되었으며, 금지에 붉게 홍삼을 형상화한 그림을 입혀 고급스러운 이미지와 케이스 개봉이 편리하게 제작되었다(Fig. 21).



Fig. 21. Designs and packing materials of fermented red ginseng extract product.

나) 코기능성 사포닌(CK) 함유 홍삼제품 개발

(1) 어린이용 홍삼제품 개발

1) 제품의 제조방법

- 원료 및 성분함량(Table 29)

Table 29. Component of a red ginseng product manufactured for a child

Raw materials	Name	Ratio(%)	Functionality indication & other matter
Functionality raw materials	Red ginseng extract (Rg1 & Rb1 total 6 mg/g)	6.500	Immune promotion, anti-fatigue, improvement of blood circulatuiou
Raw materials	Water	52.505	
	Medicinal plant mixing extract	14	solid 2%
	Astragali radix	15	
	Angelicae Gigantis Radix	15	
	Jujube	15	
	Rehmanniae radix	10	
	Atractylodes rhizome white	10	
	Cnidii rhizoma	5	
	Lycii fructus	5	
	Polygalae radix	5	
	Zizyphus jujuba miller	5	
	Acori gramineri rhizoma	5	
	Schisandrae fructus licorice	5	
	Cyclodextrin syrup	12	
	Agave syrup	8	
	Honey	2	
	Fructooligosaccharide	2	
	Apple extract	1.2	
	Maltitol syrup	1	
	Yogurt flavor + Vanillacream flavor	0.105	
	Taurine	0.05	
	Calcium lactate	0.05	
	Xanthan gum	0.08	
	Cultured mountain ginseng extract	0.05	
	Deer antlers extract powder	0.01	
	Vitamin mixing powder	0.02	
	Swingle extract	0.43	

○ 제조방법

- ① 원료 : 모든 원료는 건강기능식품공전, 식품공전, 식품첨가물공전 등의 기준규격에 적합한 원료를 구매하여 품질관리 후 적합한 것만 사용한다.
- ② 칭량 : 배합비율에 맞게 원료를 칭량한다.
- ③ 추출 : 식물혼합물을 추출탱크에 넣고 90℃에서 8시간 추출한다.

- ④ 여과 : 카트리지 필터를 이용하여 여과한다.
- ⑤ 1차 혼합 : 칭량한 홍삼농축액, 식물혼합추출물, 정제수, 산삼배양근농축액, 시클로텍스트린시럽 원료를 혼합기에서 넣어 1차 혼합한다.
- ⑥ 2차 혼합 : 1차 혼합액에 나머지 원료를 넣어 혼합한다.
- ⑦ 여과 : MESH망을 이용하여 여과한다.
- ⑧ 충전 : 규격에 맞게 충전한다.
- ⑨ 후살균 : 85~87℃에서 40분간 살균한다.
- ⑩ 포장 : 규격에 맞게 포장한다.
- ⑪ 검사 : 건강기능식품 홍삼제품 규격에 준하여 자가품질검사를 실시한다.
- ⑫ 출하 : 적합한 제품에 한하여 출하한다.

○ 기능성내용 : ① 면역력 증진, ② 피로회복, ③ 혈소판 응집 억제를 통한 혈액흐름에 도움 ④ 기억력 개선에 도움을 줄 수 있음

○ 기준규격

- ① 성상 : 진갈색의 액상제품으로서 이미, 이취가 없어야함.
- ② Ginsenoside Rg1과 Rb1의 합 : 표시량의 80%이상.
- ③ 대장균군 : 음성.

2) 어린이용 홍삼제품의 관능평가

어린이용 홍삼제품은 기존 성인제품과는 차별성 있게 홍삼 향과 맛을 싫어하는 어린이 취향에 맞추어 어린이가 좋아하는 향과, 홍삼의 쓴맛을 포집하는 텍스트린을 사용하여 쓴맛을 줄여 어린이가 맛있게 먹을 수 있도록 원료배합을 구성하였다. 인근 수원성 교회의 어린이 30명을 대상으로 관능평가를 실시하여 어린이용 홍삼제품의 선호도를 조사하였으며, 그 결과를 통해 제품의 방향을 설정하였다. 관능검사는 질과 양의 시험법 중에서 기호 척도법을 적용하여 실시하였다(Fig. 22).



Fig. 22. Sensory evaluation of a red ginseng product manufactured for a child.

3) 어린이용 홍삼제품 디자인 개발

어린이가 한 번에 섭취할 수 있는 양으로(20ml) 개별포장하여 손쉽게 가지고 다니며 음용 할 수 있도록 하였으며, 어린이가 섭취 시 내용물을 흘리지 않도록 파우치 모양을 디자인하여 제작하였다. 그리고 어린이가 쉽게 절취 할 수 있도록 절취선을 넣어 주었다. 포장단위는 20ml 파우치가 10포가 소케이스에 들어가며 이 소케이스가 3개 들어가는 구성으로 되었다(Fig. 23).



Fig. 23. Designs and packing materials of a red ginseng product manufactured for a child.

(2) 홍삼토닉제품 개발

1) 제품의 제조방법

- 원료 및 성분함량(Table. 30)

Table. 30. Raw materials and component of red ginseng tonic product

Raw materials	Name	Ratio(%)	Functionality indication & other matter
Functionality raw materials	Red ginseng extract (Saponin 70mg/g, solid 60%)	2.000	
Raw materials	Medicinal plant mixing extract	79.000	solid 2%
	Jujube	52	
	Lycii Fructus	10	
	Rehmanniae Radix	10	
	Ginger	8	
	Licorice	8	
	Cinnamon	7	
	Angelicae Gigantis Radix	5	
	Fructose syrup	10.236	
	Cyclodextrin	5.000	
	Honey	3.000	
	Caramel colors	0.250	
	Citric acid	0.150	
	Vitamin B6	0.010	
	Herb flavor	0.100	
	Xanthan Gum	0.100	
	Sodium citrate	0.070	
	Salt	0.004	
	Sodium benzoate	0.060	
	Vitamin B1	0.010	
	Taurine	0.010	

- 제품의 형태 : 흑갈색의 점조한 액상제품.
- 포장재질 : 유리 및 폴리에틸렌
- 포장방법 : 유리병포장 + 케이스포장
- 포장단위 : 750 ml × 1병(Fig. 24)
- 섭취방법 : 1일 1회, 1회 30ml을 식후에 섭취하세요.
- 섭취시 주의사항 :
 - ① 특정성분에 알레르기 체질이신 분은 섭취 전 제품의 원료성분을 확인 후 섭취하십시오.
 - ② 제품개봉 후에는 냉장 보관하여 주십시오.
 - ③ 제품개봉 또는 섭취시 포장재에 의해 상처를 입을 수 있으니 주의하세요.
- 유통기간 : 제조일로부터 24개월
- 제조방법
 - ① 원료 : 모든 원료는 건강기능식품공전, 식품공전, 식품첨가물공전 등의 기준규격에 적합한 원료를 구매하여 품질관리 후 적합한 것만 사용한다.
 - ② 칭량 : 배합비율에 맞게 원료를 칭량한다.
 - ③ 추출 : 식물혼합물을 추출탱크에 넣고 90℃에서 8시간 추출한다.
 - ④ 여과 : 카트리지 필터를 이용하여 여과한다.
 - ⑤ 1차 혼합 : 칭량한 홍삼농축액, 식물혼합추출물, 시클로덱스트린 원료를 혼합기에서 넣어 1차

혼합한다.

- ⑥ 2차 혼합 : 1차 혼합액에 나머지 원료를 넣어 혼합한다.
- ⑦ 여과 : MESH망을 이용하여 여과한다.
- ⑧ 후살균 : 85~87℃에서 40분간 살균한다.
- ⑨ 충전 : 규격에 맞게 충전한다.
- ⑩ 포장 : 규격에 맞게 포장한다.
- ⑪ 검사 : 홍삼음료제품 규격에 준하여 자가품질검사를 실시한다.
- ⑫ 출하 : 적합한 제품에 한하여 출하한다.

○ 기준규격

- ① 성상 : 흑갈색의 점조한 액상제품으로서 이미, 이취가 없어야함.
- ② 홍삼성분 확인 : 확인.
- ③ 대장균군 : 음성.
- ④ 세균수 : 1 ml당 100 이하.
- ⑤ 납(mg/kg) : 0.3이하
- ⑥ 타르색소 : 불검출
- ⑦ 보존료(g/kg) : 0.6 이하(안식향산으로서)



Fig. 24. Designs and packing materials of red ginseng tonic product.

(3) 홍삼드링크제품 개발

1) 제품의 제조방법

- 원료 및 성분함량(Table 31)

Table 31. Raw materials and component of red ginseng drink product

Raw materials	Name	Ratio(%)	Functionality indication & other matter
Functionality raw materials	Red ginseng extract (Rg&+Rb1 Total 6mg/g)	1.200	Immune promotion, anti-fatigue, improvement of blood circulatuiion
	Fermentation red ginseng extract (Rg&+Rb1 Total 6mg/g)	0.300	
Secondary materials	Astragali Radix extract	0.211	
	Ginger extract	0.078	
	Schisandrae Fructus extract	0.310	
	Lycii Fructus extract	0.300	
	Jujube extract	1.123	
	deer antlers extract powder	0.100	
	Vitamin B2	0.010	
	Vitamin B6	0.020	
	Nicotinic acid amide	0.050	
	Anhydrous caffeine	0.100	
	Fructose	16.500	
	Citric acid	0.160	
	Starch syrup	11.000	
	Caramel syrup	0.600	
	Sodium benzonate	0.060	
	Sodium citrate	0.040	
	Cultured mountain ginseng extract	0.010	
	Synthetic flavour	0.120	
Taurine	0.075		
Water	67.603		

- 제품의 형태 : 흑갈색의 액상제품
- 포장재질 : 유리 + 폴리에틸렌
- 포장방법 : 유리병포장 + 케이스포장
- 포장단위 : 30 ml × 1병(Fig. 25)
- 섭취방법 : 1일 1회, 1회 1병을 식후 섭취하세요.
- 섭취시 주의사항 :
 - ① 특정성분에 알레르기 체질이신 분은 섭취 전 제품의 원료성분을 확인 후 섭취하십시오.
 - ② 제품개봉 후에는 가급적 빨리 섭취하여 주십시오.
 - ③ 제품개봉 또는 섭취시 포장재에 의해 상처를 입을 수 있으니 주의하세요.
- 유통기간 : 제조일로부터 24개월
- 주된기능성 : ① 면역력 증진 ② 피로회복 ③ 혈소관 응집 억제를 통한 혈액흐름에 도움
 - ④ 기억력 개선에 도움을 줄 수 있음
- 제조방법

- ① 원료 : 모든 원료는 건강기능식품공전, 식품공전, 식품첨가물공전 등의 기준규격에 적합한 원료를 구매하여 품질관리 후 적합한 것만 사용한다.
 - ② 칭량 : 배합비율에 맞게 원료를 칭량한다.
 - ③ 1차 혼합 : 칭량한 정제수, 홍삼농축액, 발효홍삼농축액, 황기농축액, 생강농축액, 오미자농축액, 구기자농축액, 대추농축액, 산삼배양근농축액 원료를 혼합기에서 넣어 1차 혼합한다.
 - ④ 2차 혼합 : 1차 혼합액에 나머지 원료를 넣어 혼합한다.
 - ⑤ 살균 : 85~87℃에서 40분간 살균한다.
 - ⑥ 여과 : 카트리지 필터를 이용하여 여과한다.
 - ⑦ 충전 : 규격에 맞게 충전한다.
 - ⑧ 포장 : 규격에 맞게 포장한다.
 - ⑨ 검사 : 건강기능식품 홍삼제품 규격에 준하여 자가품질검사를 실시한다.
 - ⑩ 출하 : 적합한 제품에 한하여 출하한다.
- 기능성내용 : ① 면역력 증진, ② 피로회복, ③ 혈소관 응집 억제를 통한 혈액흐름에 도움
④ 기억력 개선에 도움을 줄 수 있음
- 기준규격
- ① 성상 : 진갈색의 액상제품으로서 이미, 이취가 없어야함.
 - ② Ginsenoside Rg1과 Rb1의 합 : 표시량의 80%이상.
 - ③ 대장균군 : 음성.



Fig. 25. Designs and packing materials of red ginseng drink product.

(다) 홍삼연질캡슐제품 개발

1) 제품의 제조방법

- 원료 및 성분함량(Table 32)

Table 32. Raw materials and component of a red ginseng soft capsule product

Raw materials	Name	Ratio(%)	Functionality indication & Other matter
Functionality raw materials	Red ginseng extract (Rg1&Rb1 Total 6mg/g)	15.000	Immune promotion, anti-fatigue, improvement of blood circulatuiion
	Fermentation red ginseng extract (Rg&+ Rb1 Total 6mg/g)	5.000	
Raw materials capsule base	Soybean oil	23.500	
	Palm oil	37.990	
	Wax	6.500	
	Lecithin	1.500	
	Vitamin B1	1.500	
	Vitamin B2	0.500	
	Vitamin B6	1.500	
	Vitamin B12	0.010	
	Royal jelly powder	1.500	
	L-carnitine	2.000	
	Gelatin	68.330	
	Glycerine	22.626	
	D-sorbitol	8.126	
	Titanium Dioxide	0.343	
	Ethyl vanillin	0.200	
	Food Red No.40	0.275	
	Food Blue No.1	0.030	
	Food Yellow No.5	0.055	
Food Yellow No.4	0.015		

- 제품의 형태 : 흑갈색의 내용물이든 적자색의 연질캡슐
- 포장재질 : PVP(염화비닐수지) + Al-Foil(알루미늄 호일)
- 포장방법 : PTP 포장 + 케이스 포장(Fig. 26)
- 포장단위 : 450 mg × 50 캡슐
- 섭취방법 : 1일 1회, 1회 2캡슐을 물과 함께 섭취하세요.
- 섭취시 주의사항 :
 - ① 섭취량을 준수하며, 캡슐이 기도에 걸릴 수 있으니 주의하십시오.
 - ② 특정성분에 알레르기 체질이신 분은 섭취 전 제품의 원료성분을 확인 후 섭취하십시오.
 - ③ 제품개봉 또는 섭취시 포장재에 의해 상처를 입을 수 있으니 주의하세요.
- 유통기간 : 제조일로부터 24개월
- 주된 기능성 : ① 면역력 증진 ② 피로회복 ③ 혈소판 응집 억제를 통한 혈액흐름에 도움
④ 기억력 개선에 도움을 줄 수 있음
- 제조방법
 - ① 원료 : 모든 원료는 건강기능식품공전, 식품공전, 식품첨가물공전 등의 기준규격에 적합한 원료를 국내, 외에서 구입한다.

- ② 칭량 : 미량원료는 정밀 전자저울(1 mg - 100 g)을 이용하고 기타의 원료는 전자저울(100 g - 150 kg)을 이용하여 칭량한다.
 - ③ 젤라틴농축
 - 1차 용해 : 정제수, 젤라틴, 글리세린을 용해탱크에 넣고 18-20 rpm으로 교반 후 55-70cmHg의 진공도에서 혼합한다(감압시간 20-35분).
 - 2차 용해 : 1차 용해한 탱크에 이산화티타늄과 에틸바닐린 그리고 색소를 넣고 80℃ 유지하면서 2시간 동안 용융시킨 후 감압하여 정도를 조정한다.
 - ④ 혼합
 - 혼합 : 칭량한 원료를 혼합탱크에서 60℃로 4시간 교반 후 스톤밀로 분쇄하여 80메쉬체로 여과한다.
 - 균질 : 여과액을 콜로이드밀 혼합기에 투입한 후 90분간 1,000-1,800 rpm으로 균질화 한다.
 - ⑤ 충전 : 젤라틴과 글리세린을 캡슐기제로 사용하여 일정량(1캡슐 내용량 : 500 mg)을 충전, 성형한다(냉각드럼온도 : $20\pm 3^{\circ}\text{C}$, 신전박스온도 : $55-60^{\circ}\text{C}$ 의 조건으로 충전).
 - ⑥ 건조 : 덩블러에서 1차 건조한 캡슐을 건조실로 옮겨서 12-16시간 정도 건조한다.
 - ⑦ 선별 : 불량 캡슐을 선별한다.
 - ⑧ PTP 포장 : 선별된 캡슐을 포장단위별로 PTP 포장한다.
 - ⑨ 포장 : 포장단위별로 박스 포장한다.
 - ⑩ 검사 : 건강기능식품 규격에 의한 검사를 실시한다.
 - ⑪ 보관 및 출하 : 검사 후 규격에 적합한 제품에 한하여 보관 또는 출하한다.
- 기준규격
- ① 성상 : 적갈색의 연질캡슐제품으로서 이미, 이취가 없어야함.
 - ② Ginsenoside Rg1과 Rb1의 함 : 표시량의 80% 이상.
 - ③ 대장균군 : 음성.
 - ④ 봉해도 : 적합



Fig. 26. Designs and packing materials of red ginseng soft capsule product.

4핵심 2세부

1. 원료인삼 가공조건 연구

인삼제조에 있어서 원료인삼의 가공조건은 상품의 관능특성(맛, 색상, 향) 및 인삼성분인 사포닌 함량에 영향을 미치는 핵심 특성요인이다.

1) 수삼의 채굴시기에 따른 성분 변화

인삼도 살아있는 식물이므로 생육조건 특히, 광 및 온도에 따라서 유리당 및 전분의 함량이 변동되므로 엑스의 수율 및 점도 등 품질 특성에 크게 영향을 미치게 됨. 따라서 인삼 채굴시기별 인삼의 주요 성분 변화를 조사한 결과는 표 1에서 보는 바와 같다. 유리당인 sucrose의 함량은 인삼의 낙엽기인 11월에서 3월사이에는 3.13~8.91%이었으나 유엽기인 5월부터는 0.5% 미만으로 감소되었다. 그러나 전분함량은 낙엽기보다는 유엽기에 많았다. 엑스 수율은 유엽기인 5~10월에 비해 낙엽기인 11월 이후에 현저히 증가되어 1~2월에서 현저히 많아졌다. 사포닌 함량은 엑스함량과는 정 반대의 현상을 보였음. 따라서 인삼의 채굴시기는 인삼의 맛 및 품질에 크게 영향을 주며, 사포닌 함량을 고려해 볼 때 낙엽기에 수삼을 채굴하는 것은 바람직한 방법이 아니라는 사실이 확인되었다.

표 1. 수삼의 채굴시기별 인삼의 성분 변화

(단위 : %)

월 성분		12	1	2	3	5	6	7	8	10	11
		Extract	22.25	21.78	23.31	17.13	10.04	7.54	6.65	8.42	12.5
Saponin	1.09 (4.88)	1.29 (5.92)	1.08 (4.61)	0.73 (4.24)	1.64 (16.30)	1.38 (18.2)	1.13 (14.2)	1.44 (17.0)	0.99 (17.1)	0.98 (6.28)	
Fructose	1.86 (8.35)	0.99 (4.54)	0.46 (1.96)	0.44 (2.59)	1.08 (16.98)	0.52 (4.82)	0.35 (4.82)	0.19 (2.31)			
Glucose	2.43 (1.91)	1.39 (6.36)	0.75 (3.21)	0.42 (2.47)	1.11 (11.11)	0.52 (6.85)	0.43 (6.01)	0.19 (2.24)	0.45 (3.6)	1.11 (7.1)	
Sucrose	5.55 (24.9)	7.08 (32.5)	8.91 (38.2)	5.58 (32.55)	0.46 (4.61)	0.24 (3.19)	0.45 (6.28)	0.85 (10.1)	1.85 (10.1)	3.13 (20.5)	
Maltose	-	-	-	-	0.01 (0.60)	0.18 (2.39)	0.11 (1.58)	0.06 (0.71)	-	-	
전분 함량	동체	1.28	1.50	1.58	1.50	3.39	9.81	8.61	7.26	2.22	1.89
	미삼	0.55	0.5	0.76	0.60	3.42	04.52	5.84	3.36	1.11	0.87

- ()는 엑스대비 수치임.

2) 인삼뿌리 부위별 건조조건에 따른 인삼성분 변화

(1) 미삼의 건조

수삼 부위를 미삼, 동체부위로 구분하여 일광건조 및 온도를 달리한 열풍 건조하여(수분 14%) 인삼의 엑스 함량을 조사한 결과는 미삼의 경우 표 2에서와 같이 건조 방법 및 건조온도에 따라 일정한 경향을 보이지 않았다. 또한 건조 방법 및 건조온도에 따른 인삼의 조사포닌 함량은 일정한 경향이 없

었다(표 3).

표 2. 미삼의 건조 조건에 따른 엑스 수율 변화

(단위 : %)

건조처리	80% 주정추출		40%주정추출	
	엑스 수율	증가 비율	엑스 수율	증가 비율
수삼	10.55		13.99	
일광건조	13.37	22.73	16.17	53.27
30℃ 건조	14.38	36.30	19.75	87.20
45℃ 건조	11.07	4.93	15.89	50.62
60℃ 건조	9.82	-6.92	14.21	34.69
75℃ 건조	11.01	1.204	14.91	41.33
90℃ 건조	14.41	36.59	15.77	49.48

- 엑스 수율은 수삼기준임.

표 3. 미삼의 건조 조건에 따른 사포닌 함량 조사

(단위 : %)

건조처리	사포닌 함량(%)	
	수삼기준	건조삼 기준
수삼	1.595	
일광건조	1.583	11.843
30℃ 건조	1.489	10.351
45℃ 건조	1.464	13.227
60℃ 건조	1.470	14.979
75℃ 건조	1.470	12.991
90℃ 건조	1.916	13.294

- 80% 주정 추출.

(2) 동체삼의 건조

건조방법 및 건조온도를 달리하여 인삼동체를 건조할 경우 표 4에서와 같이 엑스 수율의 경우는 일광건조에 비해 열풍건조에서 많은 경향이었고, 건조온도별로는 저온건조에 비해 고온 건조에서 많은 경향이였다. 75℃와 90℃ 건조의 경우 색상이 짙어 졌다. 사포닌 함량의 경우는 일광건조에서 열풍건조에 비해 많은 경향을 보였으며 건조 온도에는 일정한 경향이 없었음(표 5).

표 4. 인삼동체의 건조 조건에 따른 엑스 수율 변화

(단위; %)

건조처리	80% 주정추출		40% 주정추출	
	엑스 수율	증가 비율	엑스 수율	증가 비율
수삼	11.20		16.35	
일광건조	13.09	16.875	15.30	36.607
30℃ 건조	10.40	55.357	21.09	88.304
45℃ 건조	10.20	-8.929	12.74	13.75
60℃ 건조	12.83	14.551	15.30	41.071
75℃ 건조	16.95	51.339	21.96	96.071
90℃ 건조	16.49	47.232	21.59	92.768

- 엑스 수율은 수삼기준임.

표 5. 인삼동체 건조 조건에 따른 사포닌함량 변화

(단위; %)

건조처리	사포닌함량(%)	
	수삼기준	건조삼기준
수삼	0.652	
일광건조	0.716	5.467
30℃ 건조	0.718	4.126
45℃ 건조	0.509	4.996
60℃ 건조	0.651	5.076
75℃ 건조	0.749	4.424
90℃ 건조	0.698	4.423

- 80% 주정 추출.

2. 추출농축 공정 개발 연구

1) 인삼부위별 추출시간 및 추출회수에 따른 엑스수율 조사

상업적인 수준에서 대량 추출 및 농축조건을 검토하기 위하여 150 kg의 건조미삼을 1,000 L 탱크에 투입, 50% 주정을 용매로 하여 추출한 결과는 표 6과 같음. 엑스 수율은 매회 추출시간을 증가할수록 많아지는 경향이었고, 추출회수별로는 1차 추출에서 48.1%, 2차 추출에서 24.6%, 3차 추출에서 11.9%, 4차 추출에서 8.1%의 수율을 보였다(표 6). 따라서 엑스 수율면에서는 원료인삼이 고가인 점을

감안하면 5차에 걸쳐 추출하는 것이 바람직한 것으로 판단된다. 추출시간 및 추출회수를 달리하여 사포닌 수율을 조사 결과는 표7에서와 같이 원료삼(미삼)을 기준으로 하여 보면 1회에 66.95%, 2회 17.94%, 3회 7.71%, 4회 4.97%, 5회 2.07%, 6회 1.18%가 추출되었으며, 엑스 기준으로 추출된 사포닌 비율은 1회 20.45%, 2회 10.72%, 3회 8.85%, 4회 8.90%, 회 6.57%, 6회 6.47% 이었다.

표 6. 미삼에 대한 추출 시간 및 회수별 엑스수율 변화

(단위 :%)

추출회수 \ 추출시간	1	2	3	4	5	6
2	21.44	12.34	4.56	2.63	1.33	0.79
4	23.13	12.39	5.70	3.94	2.36	1.47
5	24.45	12.97	6.38	3.96	2.36	1.47
6	27.06	13.83	6.70	4.57	2.60	1.51
전 엑스에 대한 추출율	48.1%	24.6%	11.9%	8.1%	4.6%	2.7%

표 7. 미삼에 대한 추출 시간 및 회수별에 따른 사포닌 수율

(단위 : %)

수율 \ 시간	추출회수	1	2	3	4	5	6
원료기준	2	3.845	1.245	1.400	0.251	1.086	0.057
	4	4.507	1.347	0.481	0.327	0.130	0.091
	5	4.705	1.474	0.550	0.351	0.143	0.094
	6	5.536	1.483	0.593	0.407	0.171	0.098
총사포닌 수율비교		66.95	17.94	7.71	4.97	2.07	1.18
엑스 기준	2	17.93	10.09	8.76	9.36	6.46	7.18
	4	19.48	10.87	8.44	8.30	6.20	6.68
	5	19.24	11.36	8.62	8.90	6.07	6.36
	6	20.45	10.72	8.85	8.90	6.57	6.49

2) 용매량 증가에 따른 엑스 및 조사포닌 수율

추출용매를 주정 35%, 50%, 70%로 하여 원료 미삼에 대한 중량비로 6, 8, 9, 10배량을 가하여 추출한 결과는 표 8과 같다. 엑스 수율은 용매농도(주정농도)가 낮을수록 증가되는 경향을 보였다. 용매의 사용량은 원료 중량대비 6배이상 사용할 경우 엑스 수율이 많았으나 8~10배 사이는 용매사용량에 따른 차이는 없는 것으로 나타났음. 따라서 엑스 수율로 보면 6배의 용량을 사용하는 것이 바람직한

것으로 여겨졌다. 사포닌 수율은 용매농도가 증가될수록 많아지는 경향이었으며, 용매사용량 간에는 용매농도에 관계없이 원료인삼 중량비로 8배 사용하는 것이 가장 유리한 것으로 나타났다.

표 8. 원료 미삼에 대한 용매 농도 및 용매 사용량에 따른 엑스 및 사포닌 수율 변화

(단위 : %)

용매농도		6배	8배	9배	10배	과쇄8배
엑스 수율	35	49.31	53.08	51.81	53.16	52.81
	50	47.75	53.30	52.44	52.13	5.81
	70	46.40	50.91	48.65	51.25	45.56
Saponin 수율	35	5.998	7.017	5.722	6.814	6.257
	50	6.002	7.250	6.853	6.413	6.641
	70	6.111	7.315	7.233	7.053	6.584

3) 저장일수(냉장)에 따른 인삼성분 변화

수삼을 채굴 후 즉시 처리할 수가 없을 경우를 대비하여 수삼을 냉장고(-1~4℃)에 저장하면서 경시적으로 인삼의 성분을 조사한 결과 표 9에서와 같음. 전분함량은 저장기간이 길어질수록 감소되었고, 그 감소정도는 10일 이후에 현저하였다. 유리당 함량은 오히려 저장기간이 길어질수록 감소되었다. 엑스 함량은 저장기간이 길어질수록 증가되었는데 이는 유리당의 함량이 증가된데 기인된 것으로 보였다. 사포닌 함량은 일정한 경향이 없었음. 따라서 인삼 사포닌만을 고려할 때 냉장저장의 경우 20일까지의 저장기간은 비교적 안전한 것으로 추측된다.

표 9. 수삼의 저장일수(냉장일수)에 따른 인삼성분 변화

(단위 : %)

분석항목	일수					
	대조	3일	5일	10일	15일	20일
엑스수율	9.39	10.10	10.63	12.53	15.47	15.80
사포닌수율	0.712 (7.58)	0.759 (7.51)	0.860 (7.51)	0.989 (7.90)	0.892 (8.09)	0.817 (5.17)
유리당	1.934 (20.60)	2.334 (23.11)	2.912 (27.39)	4.039 (32.39)	5.3 (34.54)	4.922 (31.16)
전분	3.83	3.58	3.12	1.67	1.22	1.25

- ()는 엑스 기준임.

4) 홍삼과 백삼 부위별 및 추출 방법별 조사포닌 함량

인삼뿌리 부위별로 용매를 달리할 경우 인삼농축액 수율, 사포닌 수율을 조사한 결과 표 10에서와 같다. 농축액수율은 물을 추출 용매로 사용한 경우가 70%주정을 추출용매로 사용한 경우보다 10%이

상 높게 나왔다. 홍삼뿌리 대비 환산된 조사포닌의 함량은 70%주정을 추출용매로 사용한 경우가 물 추출보다 약 2배 높게 나타나므로 사포닌 추출 활용 효율의 견지에서 물 추출 후 고농도 주정으로 추출하는 것도 바람직 할 것으로 생각되었다. 백삼의 경우 물을 용매로 사용한 추출방법이 70%주정을 사용한 경우보다 농축액수율이 10%이상 월등히 높았다(표 11). 백삼원료대비 환산 조사포닌의 함량은 동체부위 보다 중소미의 함량이 월등히 높아서 홍삼 추출의 경우와 같은 경향을 보였다. 물 추출 경우 70%주정을 추출용매로 사용하는 경우에 비하여 약 50%가 낮았다.

표 10. 홍삼 부위별 및 추출 방법에 따른 조사포닌 함량

홍삼(6년근)	추출용매	농축액수율 (%, 고형분 60%)	농축액 중 홍삼성분(mg/g)	원홍삼 홍삼성분(mg/g)
전근	물	88.33	32.82	28.80
	70%주정	79.21	89.98	68.10
동체	물	92.12	22.85	20.38
	70%주정	75.9	69.05	49.99
대미	물	97.83	25.65	23.61
	70%주정	85.10	71.43	58.54
중소미	물	87.90	120.94	106.95
	70%주정	76.10	185.18	135.30

표 11. 백삼 부위별 및 추출용매에 따른 조사포닌 함량

백삼(6년근)	추출용매	농축액 수율 (%, 고형분 60%)	인삼성분(mg/g) 농축액 중	백삼 중 인삼성분(mg/g)
전근	물	93.75	27.90	26.10
	70%주정	83.72	56.99	46.72
동체	물	95.64	13.46	12.87
	70%주정	71.99	44.93	33.42
대미	물	94.05	21.32	20.07
	70%주정	79.99	68.96	55.17
중소미	물	96.64	101.16	97.76
	70%주정	75.5627.90	163.37	123.35

6) 홍삼과 백삼 부위별 및 추출방법에 따른 ginsengside 함량

홍삼 부위별 용매에 따른 진세노사이드의 함량을 조사한 결과는 표 12와 같다. 조사된 모든 진세노사이드 함량은 홍삼뿌리의 부위에 관계없이 물을 용매로 사용한 경우에 비해 70%주정을 용매로 사용

할 경우가 월등히 많았다. 백삼 부위별 ginsenoside 들의 함량은 표 13과 14에서 보는 바와 같이 ginsenoside-Rb₁, -Rb₂, -Rc, -Rd, -Rg₁ 등은 중소미에서 동체나 대미에서 보다 월등히 높았고, Rb₁은 중소미가 동체 대미에 비하여 월등히 높으며, Rg₁은 동체나 중소미 간에 차이가 없었다. 이러한 경향은(Yamaguchi, 1988)가 재배인삼에서 연근별 동체와 지근에서의 사포닌 함량 비교 시험에서 보고한 내용과 유사한 결과를 나타내었다. 추출용매 간에는 홍삼의 경우와 같이 백삼 부위에 관계없이 물추출에 비해 70% 주정 추출에서 많았다.

표 12. 홍삼부위별 추출용매에 따른 ginsenoside 조성 및 함량

(단위: %/원료홍삼)

부위	추출용매	Rb ₁	Rb ₂	Rc	Rd	Re	Rg ₁	Total
전체	물	0.247	0.068	0.126	0.024	0.062	0.060	0.587
	70%주정	1.031	0.356	0.590	0.54	0.358	0.394	2.828
동체	물	0.136	0.031	0.057	0.008	0.032	0.057	1.585
	70%주정	0.594	0.202	0.241	0.040	0.167	0.341	1.585
대미	물	0.147	0.037	0.074	0.008	0.042	0.049	0.357
	70%주정	0.474	0.163	0.302	0.034	0.175	0.211	1.459
중소미	물	0.143	0.036	0.072	0.008	0.041	0.214	0.514
	70%주정	1.842	0.725	1.384	0.302	0.828	0.340	4.537

표 13. 백삼부위별 70% 주정 추출 ginsenoside 조성

(단위: %/원료백삼)

재료	Rb ₁	Rb ₂	Rc	Rd	Re	Rg ₁	Total
전체	0.648	0.232	0.390	0.084	0.272	0.265	1.891
동체	0.395	0.110	0.181	0.031	0.316	0.235	1.268
대미	0.871	0.320	0.522	0.067	0.387	0.432	2.599
중소미	2.403	0.893	1.897	0.386	1.123	0.322	7.024

표 14. 백삼 부위 별 물 추출 ginsenoside 조성 및 함량

(단위: %/원료백삼)

재료	Rb ₁	Rb ₂	Rc	Rd	Re	Rg ₁	Total
전체	0.583	0.173	0.332	0.061	0.143	0.129	1.421
동체	0.266	0.047	0.129	0.014	0.044	0.118	0.618
대미	0.392	0.114	0.201	0.026	0.083	0.142	0.958
중소미	2.276	0.182	1.604	0.370	0.664	0.206	5.302

3. 외국 상품 및 국내 상품 연구

1) 국내 시장 유통 홍삼농축액의 품질 및 진세노사이드 함량 조사

국내에서 유통되고 있는 상품에 홍삼엑스에 대한 점도, 색도 및 홍삼성분 함량을 조사한 결과는 표 15와 같음. 색도, 브릭스 및 산도는 제품간에 차이가 적었으나, 점도 및 홍삼성분 함량은 제품간에 현저한 차이를 보였다(표 15).

표 15. 국내 시장에서 유통되는 홍삼엑스의 품질

품명	점도 (cp/27℃)	색도 (420 nm)	산도 (pH)	브릭스 (°brix)	홍삼성분 (mg/g)	맛, 부유물
L사	231.600	4.4	4.92	75	32.42	+++ /흐림
J사	75.300	3.9	4.94	72	41.40	*/맑음
K사	182.000	3.9	5.05	76	38.60	+
K사	20.400	3.6	5.67	71	79.82	*
D사	50.600	4.0	4.90	76	36.35	++ /흐림
KB사	13.290	4.4	4.64	74	133.13	+++ /흐림
D사	22.250	3.68	5.06	76	101.68	+

국내에서 유통되고 있는 홍삼엑기스를 시장에서 2009년 3월에 구입하여 진세노사이드 함량을 조한 결과 표 16과 같이 제품에 따라 현저한 차이를 보이고 있다. G-Rb₁의 경우 KB사의 제품은 43.544 mg/g인데 비해 J사의 제품은 13.5 mg/g인 반면, -Rg₁은 KB사의 제품은 0.351 mg/g인데 비해 J사 제품은 0.239 mg/g으로 나타났는데 이러한 사실은 시중에 유통되고 있는 인삼제품의 신용도를 추락시킬 수도 있는 요인으로 작용할 수도 있을 것이다.

표 16. 국내 시장에서 유통되는 홍삼엑스의 Ginsenoside 함량

(단위 : mg/g)

제조업체	Rb ₁	Rb ₂	Rc	Rd	Re	Rg ₁
L사	4.670	0.221	0.520	0.200	0.076	0.093
J사	13.54	0.716	1.67	0.529	0.345	0.239
K사	11.628	4.572	5.826	2.119	2.787	1.0368
K사	11.198	0.961	1.496	0.561	0.794	0.639
D사	9.894	0.796	1.343	0.531	0.462	0.348
KB사	43.544	0.043	3.914	3.600	0.081	0.351
D사	25.072	0.022	3.876	2.696	2.445	1.181

국내시장에서 유통되고 있는 인삼제품의 일반 성분(조단백질, 조지방, 조섬유, 회분, 가용성무질소)을 분석한 결과 표 17에 나타났다. 국내시장에서 유통되는 인삼 및 인삼제품의 일반성분 함량은 식품공정에 명기되어 있는 기준치와 차이가 없었다.

표 17. 국내 시장 유통 인삼 및 제품 성분분석

(단위 : %)

일반성분 제품	수분	조단백질	조지방	조섬유	회분	가용성 무질소	비고
수삼	75.49	5.19	0.24	1.94	2.14	15.00	1~2
백삼	12.41	17.08	2.32	2.77	3.44	62.00	3~4
미삼	10.90	13.16	2.98	6.47	4.65	61.75	12~14
인삼차	2.13	2.19	0.71	-	0.71	94.26	-
엑스	38.83	13.31	0.82	-	4.30	42.74	-
인삼정분	2.7	23.50	1.20	-	8.70	64.00	19.5

2) 해외 인삼상품(capsule)의 진세노사이드 함량조사

해외시장에서 유통되고 있는 연질캡슐, Ginsana등을 구입하여 ginsenoside조성과 함량을 조사한 결과는 표 18에 나타내었다. 상품 Ginsana의 경우는 제조회사에서 발표한 진세노사이드 함량(표 19)과 대등한 수치를 보였고, 그 외의 3제품은 제품간 심한 차이를 보였다.

표 18. 해외 인삼 상품(캡슐)의 ginsenoside 함량조사

(단위 : mg/g)

	Rb ₁	Rb ₂	Rc	Rd	Re	Rg ₁
Ginsana	3.505	0.0046	0.804	0.700	0.470	0.287
Ginseng Concentrate	1.721	0.412	0.443	0.343	0.179	0.088
Ginseng Energy	3.671	0.803	0.654	0.716	11.109	1.347
Ginseng Vita	0.002	-	0.001	0.005	0.019	0.095

외국시장에서 유통되고 있는 인삼제품(표준화되어 있지 않은 제품)에 대한 진세노사이드 함량을 문헌상에 기재된 성적을 정리한 결과 표 19에서와 같다. 조사된 진세노사이드 함량은 제품간에 커다란 차이가 없는 것으로 나타내었다.

표 19. 표준화 된 ginseng extract (Ginsana115)의 ginsenoside 함량 분석

(단위 : %)

Lot.No	Rg1	Re	Rf	Rg2	Rb1	Rc	Rb1	Rd	Total
A	0.946	0.352	0.27	0.065	1.338	0.714	0.567	0.286	4.14
B	0.733	0.586	0.285	0.11	0.976	0.603	0.425	0.267	4.198
C	0.733	0.236	0.238	0.142	1.095	0.682	0.443	0.229	4.201
D	0.896	1.453	0.317	0.168	1.776	1.555	1.028	0.553	7.586
E	0.769	1.442	0.137	0.188	1.842	1.618	1.081	0.572	7.953
F	0.548	1.149	0.301	0.2	1.743	1.507	1.028	0.515	7.212
Average	0.770	0.920	0.288	0.146	1.478	1.113	0.762	0.404	5.881
S.D.	0.020	0.238	0.001	0.003	0.129	0.242	0.099	0.025	3.530

표준화되었다고 인정되고 있는 스위스 파마톤사 제품인 Ginsana 115의 제조 Lot별 진세노사이드 함량을 조사한 결과 표 19에서와 같이 Lot간에 근소한 차이를 보이고 있다. 따라서, 우리나라 인삼제품이 세계적으로 명성을 유지시키기 위해서는 Ginsana 115제품과 같은 제조 Lot간의 제품별 진세노사이드 함량에 심한 차이를 나타내지 않은 방법적용이 선결조건으로 표준화 방법이 개발되어야 할 것이다.

(1) 원료인삼 가공조건 연구

동일한 환경조건에서 재배된 6년근 수삼을 원료로 하여 홍삼과 피부백삼을 제조하여 인삼성분함량을 비교 조사하고, 기 발표된 선행연구결과를 정리하여 우리나라에서 생산되는 홍삼과 백삼의 진세노사이드 함량의 범위를 조사하였음.

표 1. 분석 및 선행연구결과로 본 홍삼과 백삼의 진세노사이드 함량 조사

처리	조사규모	조사항목	진세노사이드(%)							
			Rb1	Rb2	Rc	Rd	Re	Rf	Rg1	Total
시험분석	홍삼 n=5	평균	0.70± 0.24	0.27± 0.07	0.43± 0.12	0.10± 0.02	0.27± 0.06	-	0.38± 0.16	2.07± 0.54
		변이계수 (%)	34.3	25.9	27.9	20.0	22.2	-	42.1	26.1
	백삼 n=5	평균	0.60± 0.07	0.24± 0.02	0.40± 0.06	0.10± 0.02	0.27± 0.01	-	0.24± 0.02	1.87± 0.02
		변이계수 (%)	11.7	8.3	15.0	20.2	3.7		8.3	0.1
문헌분석	홍삼 n=12	평균	0.54± 0.32	0.3± 0.19	0.35± 0.28	0.16± 0.21	0.27± 0.21	0.11± 0.05	0.37± 0.22	2.26± 1.08
		변이계수 (%)	59.2	63.3	80.0	131	77.7	45.4	59.5	47.8
	백삼 n=22	평균	0.61± 0.41	0.21± 0.19	0.37± 0.19	0.12± 0.08	0.38± 0.23	0.14± 0.08	0.59± 0.22	2.47± 1.04
		변이계수 (%)	67.2	79.2	51.4	66.7	60.5	57.1	37.3	42.1

표 2. 분석 및 선행연구결과로 본 홍삼과 백삼의 각 진세노사이드 함량 분포비 및 변이정도

처리	조사규모	조사항목	진세노사이드(%)							
			Rb1	Rb2	Rc	Rd	Re	Rf	Rg1	Total*
시험분석	홍삼 n=5	평균	33.0± 2.6	12.9± 1.3	20.5± 1.0	4.9± 1.7	13.1± 0.4	-	17.9± 4.3	2.07± 0.54
		변이계수 (%)	7.8	10.1	4.9	34.7	3.1	-	24.0	
	백삼 n=5	평균	32.3± 1.4	13.0± 1.2	21.2± 0.5	5.5± 1.0	14.6± 0.3	-	13.2± 1.1	1.87± 0.02
		변이계수 (%)	4.3	9.2	2.4	18.2	2.1	-	8.3	
문헌분석	홍삼 n=12	평균	25.1± 5.7	11.5± 4.6	16.8± 2.1	6.6± 1.4	13.6± 2.4	8.9± 1.7	19.2± 1.2	2.26± 1.08
		변이계수 (%)	22.7	40.0	12.5	21.2	17.6	19.1	6.3	
	백삼 n=22	평균	20.8± 4.4	11.5± 4.6	15.2± 1.9	6.9± 1.4	15.0± 2.3	8.9± 1.5	22.6± 1.2	2.47± 1.04
		변이계수 (%)	21.2	29.5	12.5	20.3	15.3	16.9	5.3	

표 3. 분석 및 선행연구결과로 본 인삼뿌리 부위별 진세노사이드 함량

처리	조사규모	조사항목	진세노사이드(%)							
			Rb1	Rb2	Rc	Rd	Re	Rf	Rg1	Total
시험분석	주근 n=4	평균	0.49± 0.10	0.16± 0.08	0.18± 0.01	0.04± 0.01	0.24± 0.07	-	0.29± 0.32	1.43± 0.16
		변이계수 (%)	20.4	50.0	5.6	25.0	29.2	-	110.3	11.2
	대미 n=4	평균	0.67± 0.20	0.24± 0.08	0.41± 0.11	0.05± 0.02	0.28± 0.11	-	0.32± 0.11	2.60± 0.15
		변이계수 (%)	29.9	33.3	26.8	40.0	39.3	-	34.3	5.8
	중소미 n=4	평균	2.12± 0.28	0.81± 0.09	1.64± 0.26	0.34± 0.04	0.98± 0.15	-	0.33± 0.01	5.78± 1.24
		변이계수 (%)	13.2	11.1	15.9	11.8	15.4	-	3.0	21.5
문헌분석	주근 n=34	평균	0.55± 0.6	0.16 0.24	0.26± 0.10	0.12± 0.10	0.34± 0.09	0.11 0.05	0.48± 0.11	1.96± 0.62
		변이계수 (%)	10.9	150.0	38.5	83.3	26.4	45.4	22.9	31.6
	미삼 n=34	평균	1.87± 0.89	0.77± 0.39	1.06± 0.40	0.39± 0.20	0.83± 0.47	0.20± 0.09	0.54± 0.14	5.59± 1.99
		변이계수 (%)	47.6	50.6	7.7	51.2	56.6	45.0	25.9	35.6

표 4 . 선행연구결과로 인삼뿌리 부위별 각 진세노사이드 함량 분포비 및 변이정도

처리	조사규모	조사항목	진세노사이드(%)							
			Rb1	Rb2	Rc	Rd	Re	Rf	Rg1	Total*
문헌분석	주근 n=12	평균	27.3± 6.59	10.8± 4.74	11.4± 3.13	2.3± 1.08	11.6± 4.76	8.5± 3.35	27.7± 6.21	1.96± 0.62
		변이계수 (%)	24.1	43.9	27.5	46.9	41.0	39.4	22.4	
	지근 n=22	평균	29.8± 8.11	17.6± 6.65	18.1± 3.67	5.6± 2.04	14.5± 4.71	5.5± 2.29	10.7± 4.11	5.59± 1.99
		변이계수 (%)	27.2	37.8	20.2	36.4	32.5	41.6	38.4	

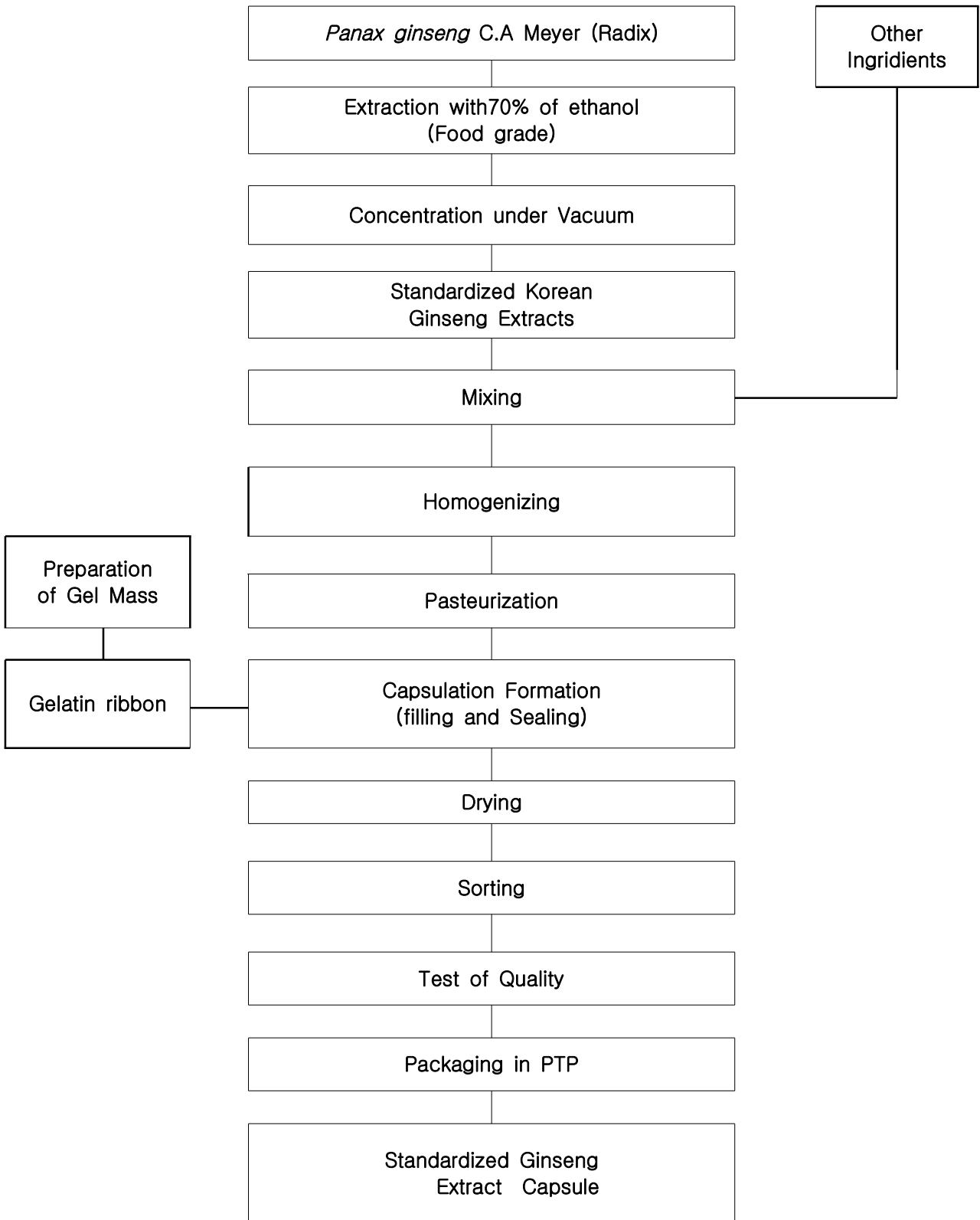
표 5. 진사나 G115제품의 진세노사이드 함량 분포비 및 변이정도

제품별	규격	조사항목	진세노사이드							
			Rb1	Rb2	Rc	Rd	Re	Rf	Rg1	Total*
엑기스	총사포닌 4% n=3	평균	28.0± 3.71	11.4± 1.61	15.9± 1.16	6.3± 0.61	11.8± 2.39	6.3± 0.49	15.3± 2.11	4.18± 0.03
		변이계수 (%)	13.3	14.1	7.3	9.6	20.3	7.8	13.8	0.01
	총사포닌 7% n=3	평균	23.6± 0.41	13.8± 0.33	20.5± 0.25	7.2± 0.08	17.7± 1.41	4.1± 0.09	10.5± 0.61	7.58± 0.03
		변이계수 (%)	1.7	2.4	1.2	0.01	8.0	2.2	5.8	0.4
캡슐	연질캡슐 n=4	평균	26.8± 1.90	10.1± 0.21	14.1± 0.91	5.1± 0.21	15.0± 1.61	-	19.6± 2.51	0.73± 0.11
		변이계수 (%)	7.1	2.1	6.5	4.1	10.7		12.8	15.1

* : 총사포닌함량(%)

- ① 인삼뿌리의 부위별 ginsenoside 조성은 주근에서는 Rb₁ 과 Rg₁ 의 비율이 1.6:1 중소미에서는 6:1의 비율로 특징이 나타나므로 원료 인삼부터 구분하여 콘트롤 하여야함.
- ② 원료 인삼의 각각의 ginsenoside 조성은 변이계수 (c.v)가 20~40으로 크므로 표준화 인삼 농축액의 생산 공정에서 원료인삼을 추출하여 구분한 농축액 단위로 로트관리를 통하여 computer 조합에 의하여 제조하는 것이 필요함.
- ③ 인삼 원료의 채취 시기는 9월~11월로 계절적으로 일정하게 채굴한 수삼을 65℃에서 일정하게 건조 보관 하여 사용하는 것이 필요함.

2. 표준화인삼농축액 연질캡슐 제조공정



3. 표준화 인삼농축액 캡슐 시상품

4. 성인병 우려부담 인삼과립차의 부형제를 건강형 부형제로 전환한 인(홍)삼차의 개발

고령사회 진입이 빨라지고 ,서구화된 식품섭취로 고혈압, 당뇨등의 성인병 이병율이 높아지고 건강에 대한 관심이 높아지면서, 시장에서 인(홍)삼차의 매출은 현격하게 줄어들었고 ,점차 가격 경쟁에만 의지하게 되어 품질이 저하 되어 왔고 1970 ~ 80년에 인기 상품이었던 인(홍)삼차는 시장 판매 상황이 정체 상태를 보여 왔음

이것은 인(홍)삼 음료 (병, PET, Pouch)의 소비확대에 의한 영향이 크지만, 또 다른 원인은 부형제로 사용하는 포도당 및 유당이 당류 섭취를 꺼려하는 소비자에게 외면당하는 이유가 크다고 판단됨.

① 부형제의 선정

식이섬유인 Poly dextrose, 난소화성 dextrin, Sun fiber, 대두 분리 단백질을 대체 부형제로 사용하였음.

②과립성형 및 건조

홍삼농축액 10%, 부형제90%로 하여 각각의 부형제에 혼합하고 12Mesh, 14Mesh 과립체에 압력을 가하여 과립을 형성하고 2cm 이하의 두께로 65℃ 열풍 건조기에서 수분이 약 3%이하로 건조하였음.

③부형제 별 과립제조 특성

부형제	과립성형특성	물 용해성	관능
Poly dextrose	홍삼농축액에 녹아서 성형불능		-
난소화성 dextrin			-
sun fiber	과립성형우수	우수	5
대두분리 단백질	균일혼합 어려움	부적합	-
포도당	과립성형 우수	우수	4

포도당을 부형제로한 현재의 홍삼차는 감미가 높았으나, 관능의 측면에서 sun fiber식이섬유를 부형제로 성형한 건강 홍삼차는 감미가 낮고 색상이 미려하며 맛이 선호 되었음.

1.베트남 수출용 표준화 연질 캡슐용 상품

1) 시험 방법 및 결과

(1) ginsenoside Rb₁ 과 Rg₁ 함량의 정량 방법

① 농축액 시료

농축액 약 2 g을 정밀히 달아 50 mL 부피 플라스크에 취하고 완전히 용해시킨 후

증류수를 표선까지 채우고, 멤브레인 필터(0.45 μm)로 여과하여 HPLC 분석시험 용액으로 함.

② soft capsule

캡슐 내용액 3~4 g을 정밀히 달아 분액여두에 취하고 n-Hexane 100 mL 및 70%

methanol을 100 mL를 가하여 3시간동안 진탕 추출함. 층이 완전히 분리될 때까지 정지한 다음 하층을 환저 플라스크에 취하여 수욕 중에서 감압농축하고 농축물을 증류수 10 mL에 용해한 후 여과(0.45 μm)하여 HPLC 분석 시험용액으로 함.

③ HPLC 분석

표 1. HPLC 분석 조건

항 목	조 건
주입량	20 μL
검출기 파장	203 nm
칼럼 온도	30℃
이동상	A : 증류수, B : 아세토니트릴
유속	1.0 mL/분

표 2. Mobile phase의 조건

시간(분)	증류수용액(%)	aretoritrile(%)
0	80	20
5	80	20
35	60	40
45	60	40
45.1	80	20
50	80	20

(2) 농축액의 색도 측정

홍삼 농축액을 1.0g를 정밀히 달아 증류수로 용해 하여 100ml 로 하고 420nm에서 증류수를 대조로 흡광도를 검사 하였음.

(3) 홍삼 soft capsule 제품의 안정성 테스트 방법

According to the Quality specification of HOMKAOLI Ginseng Capsule of Dongwon, 6 month Accelerated Stability Test and 12 month Room Temperature Stability Test were carried out on the capsule (2010006).

1. 6 Month Accelerated Stability Test of the Products.

1.1 Time : 2010. 07. 12 ~ 2011. 01. 12

1.2 Method of Accelerated Stability Test.

Packaged products samples were kept in the incubators with the temperature

of $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ and relative humid of $75\% \pm 5\%$ for 6 months.

2. 24 month Room Temperature Stability Test of the Products.

2.1 Time : 2010. 07. 15 ~ 2011. 06. 15

2.2 Method of Room Temperature Stability Test

Product samples packaged with aluminum were stored at the room temperature of $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ and relative humid of $60\% \pm 10\%$ for 12 months.

3. Test Items

Examinations were performed in accordance with the quality specification of HOMKAOLI Ginseng Capsule of Dongwon, including character test, contents determination and microbial test.

4. Methods and Results

Methods are in accordance with the The Code of Health and Functional Food, Republic of Korea. Details go as the following attached tables.

2). 성분 표준화 홍삼농축액 가열 중의 성분 변화

인삼 또는 홍삼 농축액은 ginsenoside 성분이 표준화 되어 있어도 2차 상품으로 가공 과정에서 배합, 숙성, 살균 공정을 거치면서 성분 함량이 변화 되는 것으로 알려져 있음. 인삼 자체에도 유기산이 함유 되어 있어서, ginsenoside Rb₁ 성분의 C 20 위치의 당 성분이 가수분해 되어 ginsenoside Rg₃ 로 전환 되어지는 것이 대표적임. 가공조건을 달리하여 50℃, 65℃, 85℃ 및 95℃에서의 각각 2, 6, 24시간 가열 하였을 경우 대표적 ginsenoside Rg₁ 과 Rb₁ 의 함량 변화를 살펴본 바는 표 3과 같음. 가열 처리 온도 50℃, 65℃에서는 24시간에서도 변화가 없지만, 85℃ 24시간 가열의 경우 ginsenoside Rg₁ 과 Rb₁ 의 함량이 1.5 mg/g 감소 되었고 특히 95℃ 가열의 경우에는 5.1 mg/g이 낮았었음. 특히 성분 표준화 제품에서는 가열에 의한 변화를 제어 하여야 성분을 일정하게 유지 할 수가 있음.

가열 처리 된 홍삼농축액의 pH와 갈색 색도를 측정 한 결과 표 4에서 보는 바와 같이 55℃, 65℃의 온화한 조건에서는 뚜렷한 변화가 없지만 85℃와 특히 95℃에서는 pH 값이 크게 떨어져 갈색화 과정에서 생성 된 acid에 의한 ginsenoside 성분 변화가 큰 것으로 보이므로, 제품의 농축액 제품의 2차 가공 처리 과정에서의 유의할 key point 됨.

표 3. 성분 표준화 홍삼농축액 가열 중의 성분 변화

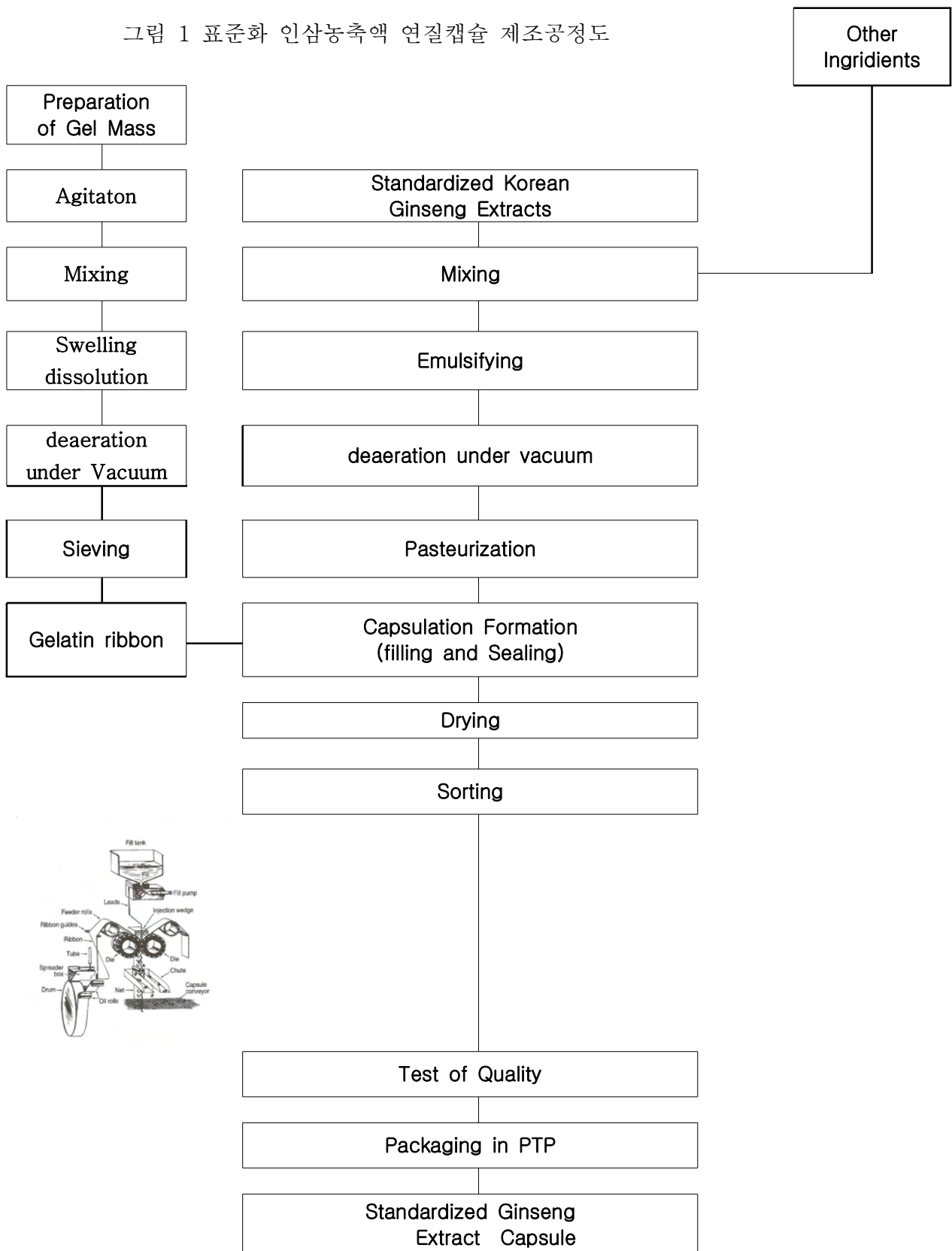
온도(°C)	가열시간 (Hrs)	ginsenoside Rg ₁ (mg/g)	ginsenoside Rb ₁ (mg/g)	sum of ginsenoside Rg ₁ and Rb ₁ (mg/g)
50	2	1.7740	4.8605	6.63
	6	1.8589	5.1302	6.98
	24	1.8515	5.0611	6.91
65	2	1.9515	5.3127	7.26
	6	1.8640	5.0585	6.92
	24	1.9279	5.2679	7.18
85	2	1.8239	4.9813	6.80
	6	1.854	5.0773	6.85
	24	1.2036	4.1712	5.37
95	2	1.6164	4.7538	6.36
	6	0.9770	3.5644	4.53
	24	0.386	0.766	1.15

표 4. 성분 표준화 홍삼 농축액 가열중의 물성 변화

온도(°C)	가열시간(Hrs)	pH	색도(420nm)
50	2	5.30	2.91
	6	5.26	3.04
	24	5.21	3.08
65	2	5.20	3.10
	6	5.18	3.12
	24	5.13	3.53
85	2	5.20	4.01
	6	5.11	5.21
	24	4.60	7.12
95	2	4.91	6.43
	6	4.73	7.12
	24	4.22	22.4

3) 성분 표준화 홍삼 연질 캡슐의 제조 공정도

그림 1 표준화 인삼농축액 연질캡슐 제조공정도



4) 베트남 캡슐 제품에 관한 조사

(1) 일반적으로 인삼 캡슐제품은 의약품과 건강기능식품으로 크게 나눌 수 있으며, 두 분류의 차이점은 다음과 같음.

항목	의약품	건강기능식품
수입관세	2-3%	20%
VAT	10%	10%
등록기간	1년	1달
등록비용	USD2,500-3,000	USD200-300
등록증 유효기간	5년	2년
판매방법	의사의 처방전으로 판매	일반의약품으로 판매

(2)인삼이 함유된 캡슐의 관세 참조

HS code	Description	MFN	VAT	CEPT 2006
	Ginseng based products	20	10	5

Note:

- MFN: Most Favored Nations. This tariff is especially for the countries that Vietnam offers favored tariff to. (Korean companies applied for it)
- CEPT: Common Effective Preferential Tariff. This tariff is especially for ASEAN countries (10 countries, including Vietnam).
- VAT: Valued added tax

Source:

- Export - Import Tariff and VAT on Imports Book (Ministry of Finance)

가장 큰 공통점은 건강기능식품의 인삼캡슐이 약국에서 판매가 가능하여, 널리 유통이 되고 있음.

(3) 수입, 통관 절차는 다음과 같음.

- ① MOH(Ministry Of Health)에 제품을 등록.
- ② 등록번호로 제품을 수입.
- ③ 항구에 도착한 제품은 현지 통관 업체에 위탁하여 통관을 합니다. 통관에 필요한 제반 서류 INVOICE, PACKING LIST, B/L, CO, 보험, 세금을 지불한 영수증 등을 구비하면 됨.
- ④ 세관 신고를 거쳐 반출한 제품은 창고에 적재함.

⑤ MOH 산하 제품 검사 기관에 등록된 제품과 동일한 제품인지 성분검사를(소요기간은 10일) 거친 후 확인증을 수령하면, 판매가 가능함. 그 이전에는 판매가 불가 함.

5) 성분 표준화 연질 캡슐의 안정성 실험 결과

(1) 가속 실험

Product : HOMKAOLI Capsule

Date of sampling		2010 7.12	2010 8.12	2010 9.12	2010 10.12	2010 11.12		
Observation time(month)		0	1	2	3	6		
Items of Test	Items	Standard	Result of test					
	Character	soft capsule with homkaoli ginseng mixture, no leak	suitable	suitable	suitable	suitable	suitable	
	Components of ginseng(mg/g)	up 15.4	16.0	16.2	16.2	16.2	16.1	
	Moisture(%)	less than 9.0	7.6	7.7	7.7	7.8	7.7	
	Disintegration test	within 20 minutes	passed	passed	passed	passed	passed	
	Microbial test	Total colony count (cfu/g)	below 100	0	0	0	0	0
		<i>E.coli</i>	negative	negative	negative	negative	negative	negative

(2) 실온 보관실험

Product : HOMKAOLI Ginseng Capsule

Date of sampling		2010 7.15	2010 10.15	2010 11.15	2011 4.15	2011 6.15	2009 12.15		
Observation time(month)		0	3	6	9	12	18		
Items of Test	Items	Standard	Result of test						
	Character	soft capsule with homkaoli ginseng mixture, no leak	suitable	suitable	suitable	suitable	suitable	suitable	
	Components of ginseng(mg/g)	up 15.4	16.1	16.2	16.0	16.2	16.2	16.2	
	Moisture(%)	less than 9.0	7.7	7.8	7.6	7.7	7.7	7.8	
	Disintegration test	within 20 minutes	passed	passed	passed	passed	passed	passed	
	Micro bial test	Total colony count (cfu/g)	below 100	0	0	0	0	0	0
		<i>E.coli</i>	negative	negative	negative	negative	negative	negative	negative

5) 표준화 연질캡슐 상품의 배합 비율

표 5. Ingredients and contents of HOMKAOLI GINSENG SOFT CAPSULE, VIETNAM

원재료명	배합비(%)		
	1	2	3
표준화 홍삼농축액	18.0	18.0	18.0
영지 추출액	2.0	2.	2.0
비타민 B ₁	1.0	1.0	1.0
비타민 B ₂	0.2	0.2	0.2
비타민 C	1.0	1.0	1.0
dl-α 토크페롤 아세테이트	2.0	2.0	2.0
Bees wax	5.0	7.0	3.0
Palm oil	15.0	15.0	15.0
Soy bean oil	65.7	63.7	67.5
합계	100	100	100

캡슐 내용물 중 Bees wax 조성을 달리 하여 시제품을 생산 연질 캡슐의 점조도를 달리 하였을 때 Bees wax 5%의 시생산품을 상품으로 선발 하였음. 또한 표7에서 보는 바와 같이 각 ginsenoside 성분 함량의 일정 비율이 유지 되는 것을 확인 하였음. 내용물 배합의 방법을 변경하여 홍삼농축액을 제외한 원료들을 혼합 하여 85℃로 용해하고 이 내용물을 65℃까지 냉각한 다음 홍삼농축액을 첨가 하여 캡슐 충전 성형기에서 연질 캡슐을 생산하였음.

6) 베트남 수출용 soft capsule



그림 2. 베트남 수출용 soft capsule 상품

표 6. Ginsenoside content in HOMKAOLI soft capsule

LOT	Rb ₁	Rb ₂	Rc	Rd	Re ₁	Rg ₁
홍삼농축액	1.121	0.301	0.613	0.310	0.39	0.402
시생산품1	0.242	0.63	0.122	0.062	0.078	0.081
시생산품2	0.201	0.058	0.98	0.068	0.081	0.093
시생산품3	0.189	0.043	0.103	0.059	0.083	0.078
Homkaoli	10.223	0.063	0.111	0.049	0.079	0.084

2. 일본 시장 판매용 음료원료용 표준화 홍삼농축액 개발

1) 수용성 표준화 홍삼농축액 제조방법

홍삼의 추출용매로 식용 주정을 사용 하여 제조한 홍삼농축액은 음료에 함유 된 구연산 등의 유기산에 의하여 ginsenoside Rb₁ 이 (R) ginsenoside Rg₃ 로 전환되어 흰색의 folc이 형성 되어 혼탁 현상이 발생하여 제품의 불량 원인이 됨. 또한 ginsenoside 이외의 비수용성 물질이 혼탁 될 수도 있으므로 혼탁 원인 물질이 없는 홍삼음료를 제조하기 위한 원재료용 홍삼농축액 제품을 개발 하였음.

먼저 주정 추출 홍삼농축액을 5배 의 정제수에 용해하고 5℃에서 24시간 정치하고 상등액을 50℃이하에서 감압 농축하여 음료 원료등 수용성 홍삼농축액을 제조하였음.

이때 정제과정의 물질 수지는 표 8에 표시 되어 있는 것과 같음.

또한 정제 공정은 그림 2와 같음.

표 7. 홍삼농축액 수용성 정제의 물질수지

	홍삼농축액 (g)	crude 사포닌 (mg/g)	고형분수지 (%)	사포닌수지 (%)
홍삼농축액	70	190.1	-	-
상등액	61.99	180.1	86.5	83.4
침전물	6.09	288.7	8.7	13.2

2) 일본 수출용 음료원료 홍삼농축액 상품



그림 3. 일본수출음료원료 표준화 홍삼농축액 (주) 하세가와 향료)

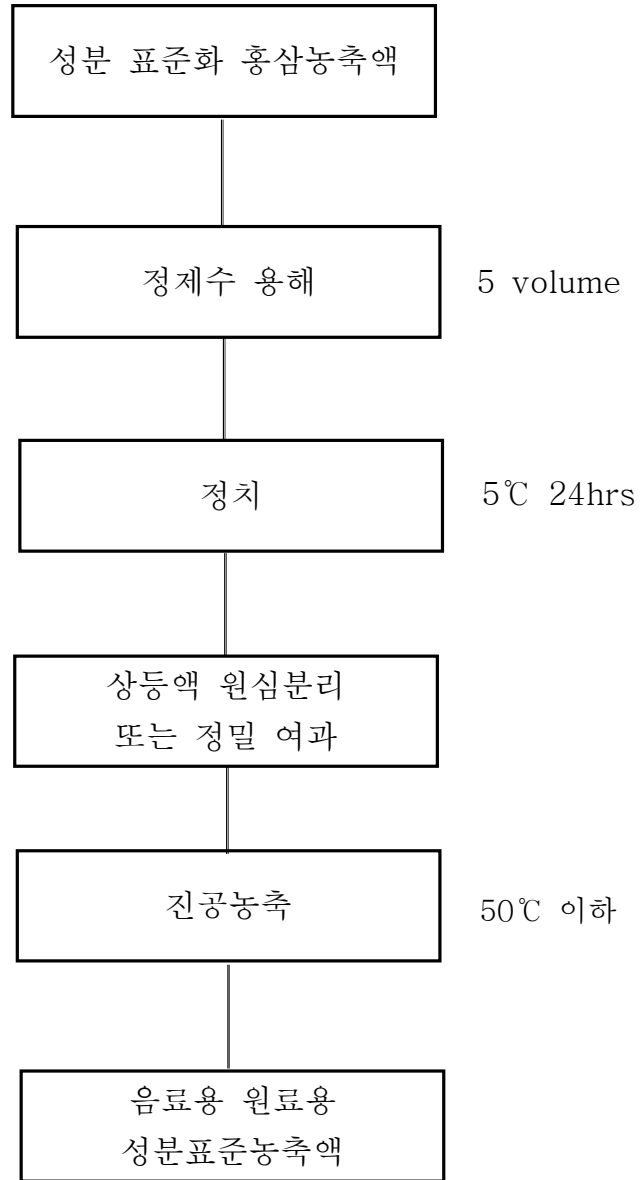


그림 4. 수용성 표준화 홍삼농축액 제조 공정도

3. 중국 수출용 성분 표준 홍삼차 개발

1) 중국 수출용도로 건강형 성분 표준 홍삼차를 개발 하였음. 중국 시장 환경이 생활 수준의 향상에 따라 건강 지향적으로 변화 되고 있음. 홍삼차에 전통적으로 사용하여 온 부형제 포도당에 대한 기피현상이 심하여 지고 있는 추세임. 또한 성분을 표준화하여 제품의 신뢰도를 향상 시킨 건강형 홍삼차 과립 제품을 수출 상품으로 개발 하였음.

표 7. 중국 시장 수출용 건강 홍삼차

원재료명	배합비율	기타
홍삼농축액	10	성분표준 홍삼농축액 식이섬유
썬 화이버	20.9	
무수포도당	69.08	
비타민 C	0.02	
	100	

2) 중국 수출용 성분 표준 홍삼차 상품



그림 5. 중국 수출용 성분 표준 홍삼차 상품 (동인당 제약, 고려홍삼중앙회)

4핵심 3세부

(1) 마시는 경옥골드 개발 및 제품 판매

1차 년도에서 고려인삼의 신경기능조절, 신진대사기능 조절, 강심, 성기능강화, 면역증강작용 등을 활용한 기능성 건강식품의 시제품을 생산하여 제품의 가능성을 검토한 후 대구한의대학교 학교기업을 통한 판매를 시작하였다.

* 제품의 특성

- 기존 경옥고보다 휴대성 강화
- 간편하고 쉬운 보관과 이용성
- 간편한 복용 및 빠른 효과 기대
- 제품의 이미지 변화와 새로움 추구

(2) 한방샴푸 개발

피부 개선용 기능성 향장품 개발과 기능성 모발제품(헤어토닉, 헤어샴푸 등) 개발

< 한방 샴푸개발 >

* 생약 추출물의 제조

- 인삼, 하수오 및 산약 등을 세척한 뒤 기계식 약탕기에 넣고, 여기에 물을 첨가하고 농축하여 복합 생약 추출물 제조

* 마우스를 통한 발모 촉진 효과 실험

- 복합 생약 추출물을 이용하여 마우스에서의 실제 발모 촉진 효과를 알아보기 위해 Rho 등의 방법(Seok-Seon Rho et al., Journal of Dermatological Science, 38, pp.89-97, 2005)을 이용.
- 텔로젠(telogen) 시기를 앞둔 6주령 생쥐(C57/BL6, 오리엔트, 한국, 18 내지 20 g)를 1주일간 사육실에서 적응하도록 한 후 제모시킴.
- 효과를 검증하기 위하여 쥐를 3개군으로 나누어(5일째: 군당 5마리 10일, 15일째: 군당 15마리 20일째: 군당 8마리) 매일 상기 시료 물질을 20일 동안 하루에 한 번 씩 도포(2% 미녹시딜: 0.1 ml, 복합 생약 추출물: 0.3 ml)하였으며,
- 음성 대조군은 미녹시딜 용매(알코올: 60%, 물: 20%, PEG400: 20%)를, 양성 대조군은 2% 미녹시딜, 실험군은 50% 복합 생약 추출물을 이용

* 발모 효과 관찰

- 3개군으로 나눈 생쥐의 발모 효과를 관찰하기 위해 5일, 10일 및 20일째 사진을 촬영하여 발모 진행의 정도를 관찰함.
- 7주령 생쥐는 자연 탈모가 되는 시기인 텔로젠(telogen)이므로, 제모 후 등의 피부가 희게 보였으며, 음성 대조군 및 양성 대조군 실험군 모두 5일까지 뚜렷한 변화는 관찰되지 않았지만,
- 미녹시딜(Minoxidil)과 50% 복합 생약 추출물을 처리한 생쥐의 등에서 모낭(hair follicle)이 자라고 있는 흔적이 관찰됨.
- 5일 이후 생쥐들의 발모는 실험군에 따라 차이를 보였고, 10 일째 한약재를 처리한 실험군의 생쥐의 등에서 거의 70% 이상 발모가 관찰되었고, 이 현상은 미녹시딜을 처리한 양성 대조군의

결과와 비슷함.

- 10일 이후는 거의 모든 생쥐군에서 급속도로 빨리 발모가 진행되었고, 20일째는 모든 군에서 완전한 발모가 관찰됨.
- 상기 실험결과로부터 50% 복합 생약 추출물이 발모에 효과가 있음을 확인함.
- 50% 복합 생약 추출물의 효과 정도는 5일째 모낭의 출현이나 10일째 발모가 왕성히 일어나는 양상이 미녹시딜과 유사하거나 뒤지지 않는 효과가 있음을 확인함.

※ 제품 처방에 의한 임상 시험단계

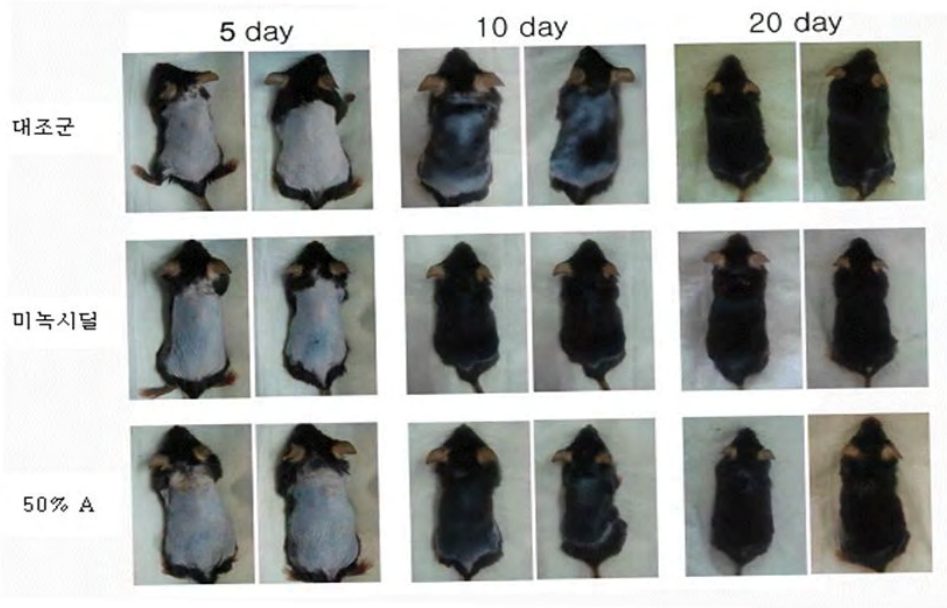


그림 1. 복합생약추출물의 발모촉진효과.

* 모발의 밀도 및 굵기 측정

- 3개군으로 나눈 생쥐의 모발 밀도 및 굵기를 영상장치(Leadm, 한국)와 폴리스코프(Leadm, 한국)를 사용하여 측정
- 모발의 밀도 측정 결과 그림 2, 3과 표 1에 나타낸바와 같이 50% 복합 생약 추출물을 처리한 실험군의 모발 밀도가 10일째 미녹시딜을 처리한 군과 유사한 밀도수준을 보였으며 이것은 대조군에 비해 2배 이상 높은 것으로 확인

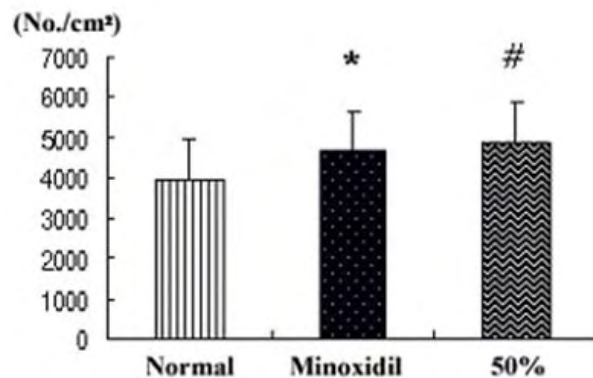


그림 2. 모발의 밀도 측정(대조군).

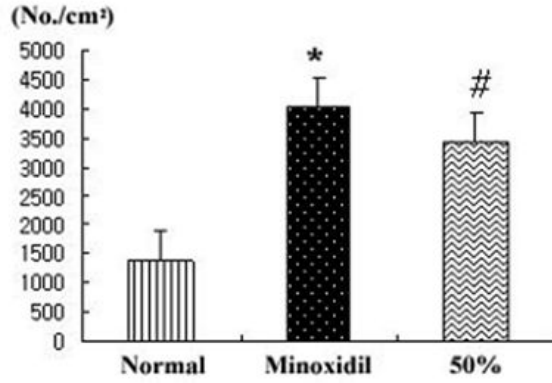


그림 3. 모발의 밀도 측정(생약처리군).

표 1. 복합생약추출물 처리에 의한 모발의 밀도분석

	10 일째(개수/ cm ²)	15 일째(개수/ cm ²)
대조군	1,391 ± 64	3,960 ± 53
미녹시딜	4,015 ± 435*	4,664 ± 138*
50% A	3,429 ± 425#	4,882 ± 194#

*, #: Turkey test, p<0.001에서 유의적으로 증가하였다.

- 모발의 굵기 측정 결과는 그림 4, 5와 표 2에 나타낸바와 같이 50% 복합 생약 추출물을 처리한 군의 모발 밀도가 10일째 미녹시딜을 처리한 군과 유사한 굵기를 보였으며 대조군에 비해 2 배 이상 두꺼운 것으로 확인.

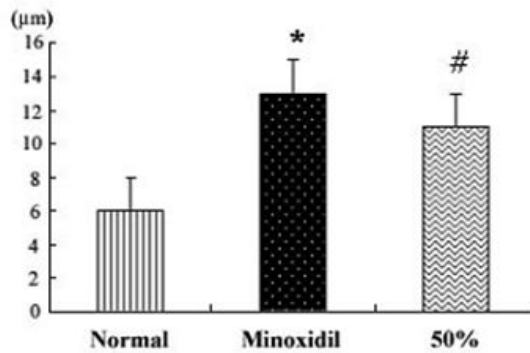


그림 4. 모발의 밀도 측정(대조군).

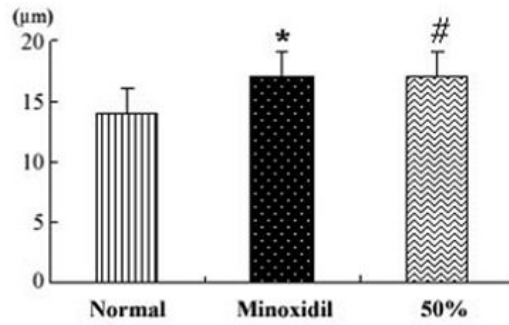


그림 5. 모발의 굵기 측정(생약처리군).

표 2. 모발의 밀도 측정

	10 일째(mm)	15 일째(mm)
대조군	5.67 ± 0.47	13.6 ± 0.47
미녹시딜	12.67 ± 0.47*	17.3 ± 0.47*
50% A	11.33 ± 1.7#	17.0 ± 0#

*, #: Turkey test, p<0.001에서 유의적으로 증가하였다.

* 마우스를 통한 피부 두께 측정

- 3군으로 나눈 생쥐의 피부두께를 현미경(Moticam 2300; Motic, 홍콩)을 이용하여 실험을 실시.
- 피부 두께 측정 결과는 그림 6과 표 3에 나타난 바와 같이 50% 복합생약 추출물을 처리한 군의 피부 두께가 10일째 미녹시딜(Minoxidil)을 처리한 군과 유사한 수준을 보였으며 이것은 대조군에 비해 2배 이상 높은 것을 확인.

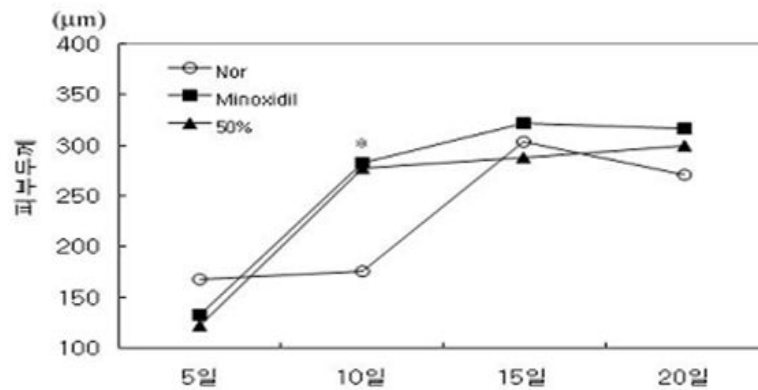


그림 6. 복합생약 추출물 처리의 마우스 피부 두께에 미치는 영향분석.

표 3. 피부 두께 측정

	5 일째	10 일째	15 일째	20 일째
대조군	167.6 ± 55.6	175.8 ± 22.5	303.4 ± 45.9	271.0 ± 45.9
미녹시딜	132.9 ± 25.0	282.3 ± 40.7*	321.3 ± 73.6	316.5 ± 62.0
50% A	122.4 ± 14.3	277.1 ± 54.9*	388.1 ± 105.3	299.7 ± 65.8

*, #: Turkey test, $p < 0.001$ 에서 유의적으로 증가하였다.

(1) 기능성 ‘경옥진액’ 및 ‘홍삼경옥골드’ 제품 개발

- 2차 년도에서 고려인삼의 신경기능조절, 신진대사기능 조절, 강심, 성기능강화, 면역증강작용 등을 활용한 기능성 건강식품의 시제품을 생산
- 제품의 가능성을 검토한 후 대구한의대학교 학교기업을 통한 판매
- 병으로 된 기존 제품의 휴대성과 기능성 및 맛을 업그레이드한 파우치 형태의 ‘홍삼경옥골드’ 제품을 개발
- 한방특구로 지정되어 있는 경북 영천시와 공동으로 ‘마시는 경옥진액’을 파우치 형태로 개발
- 마시는 경옥진액의 특성 : 체내 흡수율을 높여 효과가 더욱 좋으며, 휴대 및 복용이 편리함
- 일반 경옥고와 마시는 경옥진액의 차이 : 생약성분을 추출, 농축하여 일반 경옥고보다 소화흡수 가 빠르고, 언제 어디서든 휴대 및 복용이 가능
- 마시는 경옥진액의 장점 : 휴대성 및 복용의 편의성
- 예전의 경옥고는 주로 항아리 안에 들어있는 꿀과 같은 상태로 만들어져 집에 보관하면서 손가락으로 떠먹어야 하기 때문에 휴대하면서 복용하는 데에는 많은 불편함이 많았으나 “마시는 경옥진액”은 휴대가 간편할 뿐만 아니라 멸균가공 과정을 거쳤기 때문에 보관기간이 길어져 365일 휴대가 가능하고, 직장여성이나 여행을 다닐 시에도 편하게 복용할 수 있음.
- 생산 및 브랜드명은 차후 영천시와 협의하여 결정하며 영천시 소재 생산 기업인 ‘세인비엔비’ 등과 생산하며 브랜드와 판매 홍보전략 등은 영천시 농업기술센터와 영천 약령시를 활용하여 판매를 촉진할 수 있음.
- 제품원료는 영천시 소재의 많은 약업사에서 조달 가능하며 향후 대표적인 영천 브랜드로 키울 수 있음

<제품사진>



마시는 경옥진액



홍삼 경옥골드

(2) 한방샴푸 개발

발모촉진효과가 있는 기능성 샴푸개발과 기능성 모발제품 (헤어토닉, 헤어샴푸 등) 개발

< 한방 샴푸개발 >

* 생약 추출물의 제조

- 인삼, 하수오 및 산약 등을 세척한 뒤 기계식 약탕기에 넣고, 여기에 물을 첨가하고 농축하여 복합 생약 추출물 제조

* 마우스를 통한 발모 촉진 효과 실험

- 복합 생약 추출물을 이용하여 마우스에서의 실제 발모 촉진 효과를 알아보기 위해 Rho 등의 방법 (Seok-Seon Rho et al., Journal of Dermatological Science, 38, pp.89-97, 2005)을 이용.
- 텔로젠(telogen) 시기를 앞둔 6주령 생쥐(C57/BL6, 오리엔트, 한국, 18 내지 20 g)를 1주일간 사육실에서 적응하도록 한 후 제모시킴.
- 효과를 검증하기 위하여 쥐를 3개군으로 나누어(5일째: 군당 5마리 10일, 15일째: 군당 15마리 20일째: 군당 8마리) 매일 상기 시료 물질을 20일 동안 하루에 한 번 씩 도포(2% 미녹시딜: 0.1 ml, 복합 생약 추출물: 0.3 ml)하였으며,
- 음성 대조군은 미녹시딜 용매(알코올: 60%, 물: 20%, PEG400: 20%)를, 양성 대조군은 2% 미녹시딜, 실험군은 50% 복합 생약 추출물을 이용

* 발모 효과 관찰

- 3개군으로 나눈 생쥐의 발모 효과를 관찰하기 위해 5일, 10일 및 20일째 사진을 촬영하여 발모 진행의 정도를 관찰함.
- 7주령 생쥐는 자연 탈모가 되는 시기인 텔로젠(telogen)이므로, 제모 후 등의 피부가 희게 보였으며, 음성 대조군 및 양성 대조군 실험군 모두 5일까지 뚜렷한 변화는 관찰되지 않았지만,
- 미녹시딜(Minoxidil)과 50% 복합 생약 추출물을 처리한 생쥐의 등에서 모낭(hair follicle)이 자라고 있는 흔적이 관찰됨.

- 5일 이후 생쥐들의 발모는 실험군에 따라 차이를 보였고, 10 일째 한약재를 처리한 실험군의 생쥐의 등에서 거의 70% 이상 발모가 관찰되었고, 이 현상은 미녹시딜을 처리한 양성 대조군의 결과와 비슷함.
- 10일 이후는 거의 모든 생쥐군에서 급속도로 빨리 발모가 진행되었고, 20일째는 모든 군에서 완전한 발모가 관찰됨.
- 상기 실험결과로부터 50% 복합 생약 추출물이 발모에 효과가 있음을 확인함.
- 50% 복합 생약 추출물의 효과 정도는 5일째 모낭의 출현이나 10일째 발모가 왕성히 일어나는 양상이 미녹시딜과 유사하거나 뒤지지 않는 효과가 있음을 확인함.

* 모발의 밀도 및 굵기 측정

- 3개군으로 나눈 생쥐의 모발 밀도 및 굵기를 영상장치(Leadm, 한국)와 폴리스코프(Leadm, 한국)를 사용하여 측정
- 모발의 밀도 측정 결과 50% 복합 생약 추출물을 처리한 실험군의 모발 밀도가 10일째 미녹시딜을 처리한 군과 유사한 밀도수준을 보였으며 이것은 대조군에 비해 2배 이상 높은 것으로 확인

[표 1]

	15 일째(개수/ cm ²)	20 일째(개수/ cm ²)
대조군	1,398 ± 64	2,084 ± 53
미녹시딜	1,879 ± 435*	2,235 ± 138*
A	2,024 ± 415 [#]	2,397 ± 110 [#]
B	2,399 ± 510 ^{**}	2,598 ± 215 ^{**}

* , # , **: Turkey test, $p < 0.001$ 에서 유의적으로 증가하였다.

[표 2]

	10 일째(mm)	15 일째(mm)
대조군	4.7 ± 0.47	4.6 ± 0.47
미녹시딜	4.8 ± 0.47*	4.6 ± 0.47*
A	5.0 ± 1.5 [#]	4.9 ± 0.3 [#]
B	4.6 ± 1.7 ^{**}	5.2 ± 0.7 ^{**}

* , # , **: Turkey test, $p < 0.001$ 에서 유의적으로 증가하였다.

<제품사진>



한방샴푸

<마시는 경옥진액의 특성>

- 체내 흡수율을 높여 효과가 더욱 좋으며, 휴대 및 복용이 편리함
- 고려인삼의 신경기능조절, 신진대사기능 조절, 강심, 성기능강화, 면역증강작용 등을 활용한 기능성 건강식품의 시제품을 생산
- 제품의 가능성을 검토한 후 대구한의대학교 학교기업을 통한 판매
- 한방특구로 지정되어 있는 경북 영천시와 공동으로 ‘마시는 경옥진액’을 파우치 형태로 개발

<일반 경옥고와 마시는 경옥진액의 차이>

- 생약성분을 추출, 농축하여 일반 경옥고보다 소화흡수 가 빠르고, 언제 어디서든 휴대 및 복용이 가능
- 예전의 경옥고는 주로 항아리 안에 들어있는 꿀과 같은 상태로 만들어져 집에 보관하면서 숟가락으로 떠먹어야 하기 때문에 휴대하면서 복용하는 데에는 많은 불편함이 많았으나 “마시는 경옥진액”은 휴대가 간편할 뿐만 아니라 멸균가공 과정을 거쳤기 때문에 보관기간이 길어져 365일 휴대가 가능하고, 직장여성이나 여행을 다닐 시에도 편하게 복용할 수 있음.
- 생산 및 브랜드명은 차후 영천시와 협의하여 결정하며 영천시 소재 생산 기업인 ‘세인비엔비’ 등과 생산하며 브랜드와 판매 홍보전략 등은 영천시 농업기술센터와 영천 약령시를 활용하여 판매를 촉진할 수 있음.
- 제품원료는 영천시 소재의 많은 약업사에서 조달 가능하며 향후 대표적인 영천 브랜드로 키울 수 있음

<마시는 경옥진액의 장점>

- 휴대성 및 복용의 편의성
- 타 연구 논문 등에서 빠른 흡수율에 따른 기능성 증대

<제품사진>



<홍삼 경옥골드>



<마시는 경옥진액>

(2) 헤어토닉 개발

발모촉진효과가 있는 기능성 샴푸개발과 기능성 모발제품 (헤어토닉, 헤어샴푸 등) 개발

< 한방 헤어토닉개발 >

< 생약 추출물의 제조>

- 인삼, 하수오 및 산약 등을 세척한 뒤 기계식 약탕기에 넣고, 여기에 물을 첨가하고 농축하여 복합 생약 추출물 제조

< 마우스를 통한 발모 촉진 효과 실험>

- 복합 생약 추출물을 이용하여 마우스에서의 실제 발모 촉진 효과를 알아보기 위해 Rho 등의 방법 (Seok-Seon Rho et al., Journal of Dermatological Science, 38, pp.89-97, 2005)을 이용.
- 텔로젠(telogen) 시기를 앞둔 6주령 생쥐(C57/BL6, 오리엔트, 한국, 18 내지 20 g)를 1주일간 사육실에서 적응하도록 한 후 제모시킴.
- 효과를 검증하기 위하여 쥐를 3개군으로 나누어(5일째: 군당 5마리 10일, 15일째: 군당 15마리 20일째: 군당 8마리) 매일 상기 시료 물질을 20일 동안 하루에 한 번 씩 도포(2% 미녹시딜: 0.1 ml, 복합 생약 추출물: 0.3 ml)하였으며,
- 음성 대조군은 미녹시딜 용매(알코올: 60%, 물: 20%, PEG400: 20%)를, 양성 대조군은 2% 미녹시딜, 실험군은 50% 복합 생약 추출물을 이용

< 발모 효과 관찰>

- 3개군으로 나눈 생쥐의 발모 효과를 관찰하기 위해 5일, 10일 및 20일째 사진을 촬영하여 발모 진행의 정도를 관찰함.
- 7주령 생쥐는 자연 탈모가 되는 시기인 텔로젠(telogen)이므로, 제모 후 등의 피부가 희게 보였으며, 음성 대조군 및 양성 대조군 실험군 모두 5일까지 뚜렷한 변화는 관찰되지 않았지만,
- 미녹시딜(Minoxidil)과 50% 복합 생약 추출물을 처리한 생쥐의 등에서 모낭(hair follicle)이 자라고 있는 흔적이 관찰됨.
- 5일 이후 생쥐들의 발모는 실험군에 따라 차이를 보였고, 10 일째 한약재를 처리한 실험군의 생쥐의 등에서 거의 70% 이상 발모가 관찰되었고, 이 현상은 미녹시딜을 처리한 양성 대조군의 결과와 비슷함.
- 10일 이후는 거의 모든 생쥐군에서 급속도로 빨리 발모가 진행되었고, 20일째는 모든 군에서 완전한 발모가 관찰됨.
- 상기 실험결과로부터 50% 복합 생약 추출물이 발모에 효과가 있음을 확인함.
- 50% 복합 생약 추출물의 효과 정도는 5일째 모낭의 출현이나 10일째 발모가 왕성히 일어나는 양상이 미녹시딜과 유사하거나 뒤지지 않는 효과가 있음을 확인함.

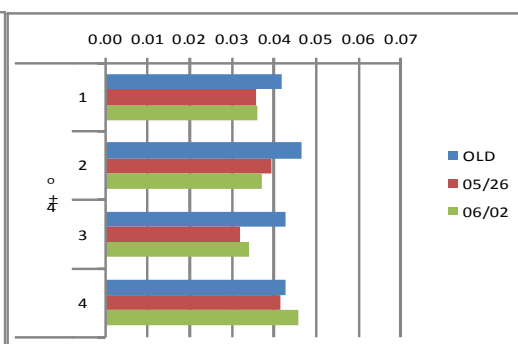
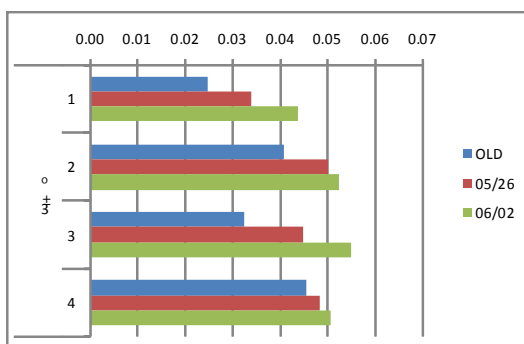
	15 일째 (개수/ cm ²)	20 일째 (개수/ cm ²)
음성대조군	1,398 ± 64	2,084 ± 53
양성대조군(미녹시딜 처리군)	1,879 ± 435*	2,235 ± 138*
복합 생약 추출물(A) 처리군	2,024 ± 415 [#]	2,397 ± 110 [#]

*, #: Turkey test, $p < 0.001$ 에서 유의적으로 증가하였다.

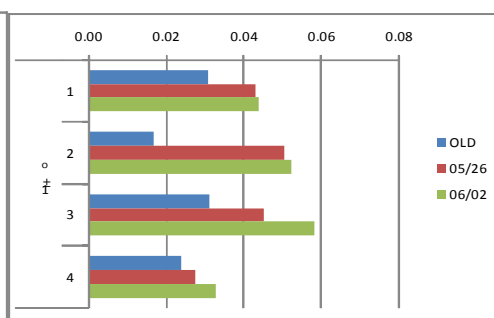
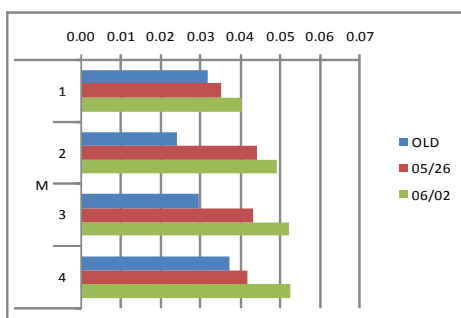
	10 일째(mm)	15 일째(mm)
음성대조군	4.7 ± 0.47	4.6 ± 0.47
양성대조군(미녹시딜 처리군)	4.8 ± 0.47*	4.6 ± 0.47*
복합 생약 추출물(A) 처리군	5.0 ± 1.5 [#]	4.9 ± 0.3 [#]

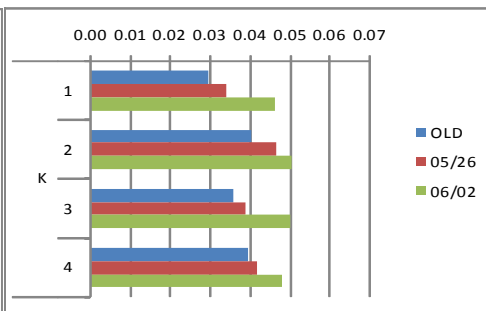
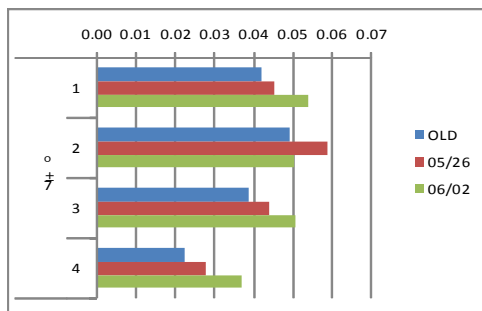
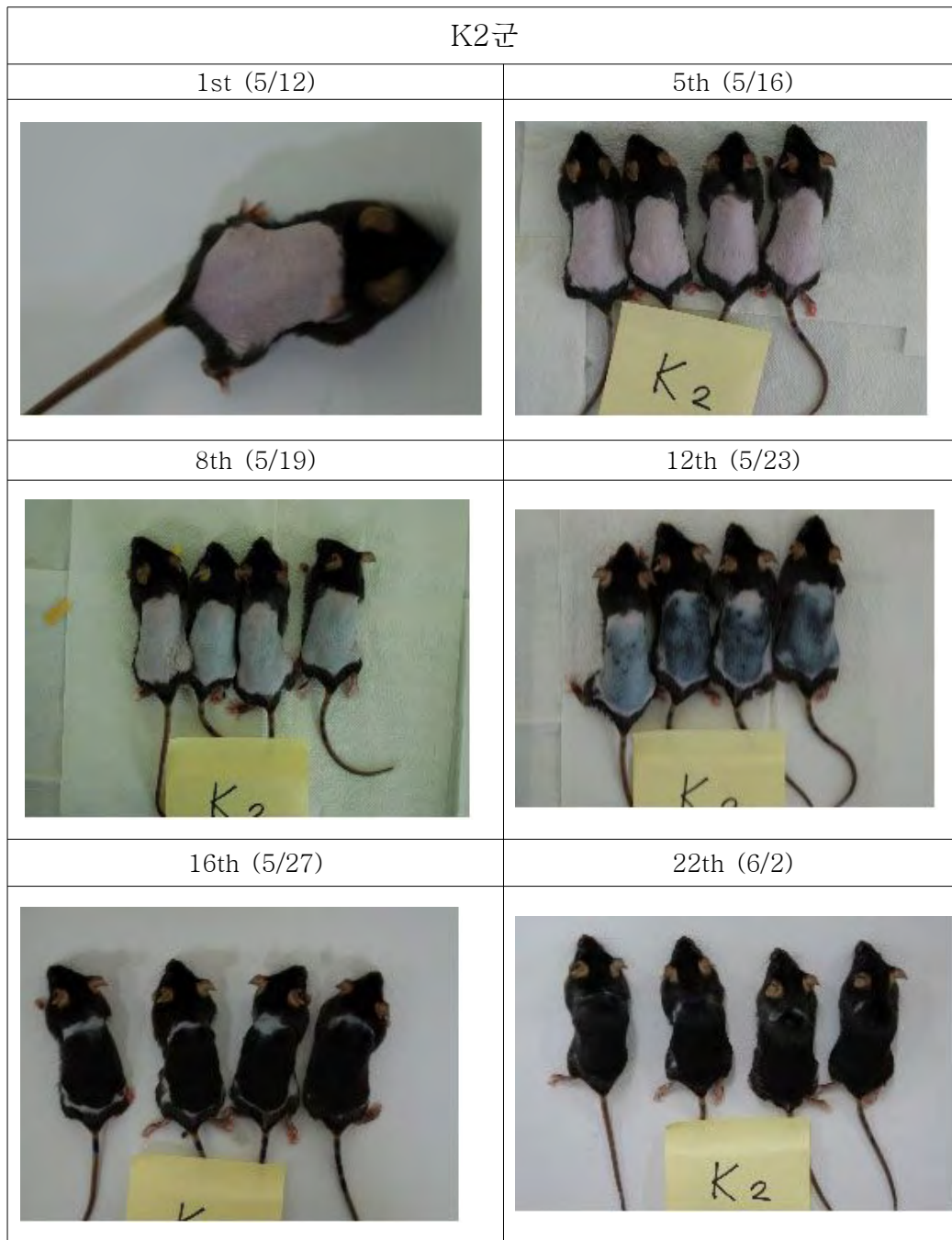
*, #: Turkey test, $p < 0.001$ 에서 유의적으로 증가하였다.

1군



3군





M2군	
1st (5/12)	5th (5/16)
	
8th (5/19)	12th (5/23)
	
16th (5/27)	22th (6/2)
	

< 모발의 밀도 및 굵기 측정>

- 3개군으로 나눈 생쥐의 모발 밀도 및 굵기를 영상장치(Leadm, 한국)와 폴리스코프(Leadm, 한국)를 사용하여 측정
- 모발의 밀도 측정 결과 50% 복합 생약 추출물을 처리한 실험군의 모발 밀도가 10일째 미녹시딜을 처리한 군과 유사한 밀도수준을 보였으며 이것은 대조군에 비해 2배 이상 높은 것으로 확인

<피부개선 효과가 높은 미백화장품 개발>

- 홍삼을 함유한 경옥고베이스
- 대구한의대 학교기업 생산
- 브랜드 “자안”

<경옥고 증류액에 대한 기초검사>

- 화장품의 원료인 경옥고 증류액에 대한 기초검사 실시
- 안전성 검사에서 유해물질은 검출되지 않음

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제1절 목표달성도

1핵심 1세부 수출 및 명품인삼을 위한 국제적인 표준 효능 물질 개발

최 종 목 표	내 용
국내외에서 인정을 받을 수 있는 표준효능물질 개발	- 진세노사이드 정밀 및 신속 분석법 확립 - Rg3, compound K를 새로운 홍삼의 지표물질로 하기 위해 CRM 혹은 RM수준의 국제적인 인증 표준 효능물질을 개발
진세노사이드 정밀 및 신속 분석법개발	- 최적의 추출용매, 추출온도, 추출방법, 농축방법을 조사 - C18 카트리지 등을 사용하여 HPLC에 의해서 분석 - 경제적인 HP20을 이용한 신규 미량사포닌 분석법 확립
기능성 물질에 의한 인삼품질의 표준화	- Rb1, Rg1, Rg3, Rh2, C-K에 의한 인삼품질의 표준화 - 기 생산된 효소중에서 사포닌 변환 효소의 screen - 신기능성 인삼 엑스생산을 위한 유효성분변환 유산균의 screen - 사포닌 변환에 의해서 생산된 신기능성 인삼 엑스의 제 4 핵심과제에 공급시작
고려인삼과 외국삼의 기능성 물질 함량 비교	- 신속분석법에 의한 외국삼과 신품종의 연근별, 부위별 사포닌 함량 비교
고부가가치 유효성분변환기술에 의한 표준효능물질 개발	- 비사포닌 물질에 의한 인삼품질의 표준화 방안 검토 - 산처리에 의한 신기능성 표준효능물질 생산 - 기능별로 인삼 엑스생산을 위한 유산균으로부터 유효성분의 변환 - 사포닌변환에 의해서 생산된 신기능성 인삼 엑스의 제 4 핵심과제에 공급 - 제 3 핵심과제에서 밝혀진 결과에 의한 기능성 물질추적

연차별 연구 개발 수행 내용 및 달성도

구분	연도	세부연구목표	달성도	연구개발수행내용
1차 년도	2007	유산균을 이용한 고려인삼의 변환 효능표준물질생산	100 %	-유산균을 이용한 인삼 사포닌 변환
		인삼사포닌을 변환시킬 수 있는 균주의 선발	100 %	-인삼사포닌을 변환할 수 있는 유산균을 효율적으로 분리 및 확인
		진세노사이드 정밀 및 신속 분석법 조사	100 %	-최적의 추출용매, 온도, 농축방법의 조사 및 사포닌 함량 비교
2차 년도	2008	진세노사이드 정밀 및 신속 분석법 확립	100 %	-C18 카트리지 추출법 최적화 및 표준화
		고부가가치 유효성분변환기술에 의한 표준효능물질 개발	100 %	-Rg3, compound K의 생산법 확립
		고부가가치 유효성분을 변환 미생	100 %	-고부가가치 유효성분을 변환할 수

		물자원 확보		있는 유산균의 분리, 동정
3차 년도	2009	기능성 물질에 의한 인삼품질의 표준화	100 %	-Rb1, Rg1, Rg3, Rh2, C-K에 의한 인삼품질의 표준화 -제 3 핵심과제에서 밝혀진 결과에 의한 기능성 물질추적 -열처리에 의한 신기능성 표준효능물질 생산
		고부가가치 유효성분변환기술에 의한 표준효능물질 개발	100 %	-기 생산된 효소중에서 사포닌 변환 효소의 screen -신기능성 인삼 엑스생산을 위한 유효성분변환 유산균의 screen
4차 년도	2010	기능성 물질에 의한 인삼품질의 표준화	100 %	-산처리에 의한 신기능성 표준효능물질 생산
		사포닌 변화물질 공급 및 기능성 물질 추적	100 %	-사포닌변환에 의해서 생산된 신기능성 인삼엑스 제4핵심과제에 공급 -제 3 핵심과제에서 밝혀진 결과에 의한 기능성 물질추적
		고부가가치 유효성분변환기술에 의한 표준효능물질 개발	100 %	- 기능별로 인삼 엑스생산을 위한 유산균으로부터 유효성분의 변환
5차 년도	2011	기능성 물질에 의한 인삼품질의 표준화	100 %	-인삼품질 표준화의 실용화 -제 4 핵심과제에서 개발한 국제 수준에 맞는 제품의 표준화여부 조사
		고부가가치 유효성분변환기술에 의한 표준효능물질 개발	100 %	-신기능성 고부가가치 인삼제품 원료의 대량생산
최종 평가		국내외에서 인정을 받을 수 있는 표준효능물질 개발	100 %	-Rb1, Rg1, Rg3, Rh2, C-K에 의한 인삼품질의 표준화여부
		진세노사이드 정밀 및 신속 분석법개발	100 %	-C18 카트리지 추출법 최적화 및 표준화 분석시스템 구축여부
		기능성 물질에 의한 인삼품질의 표준화	100 %	-분석시스템에 의한 제품표준화여부
		고려인삼과 외국삼의 기능성 물질 함량 비교	100 %	-외국삼과 신품종의 연근별, 부위별 사포닌 함량 비교여부
		고부가가치 유효성분 변환기술에 의한 표준효능물질 개발	100 %	-유산균에 의한 유효성분의 변환 고기능성 엑스생산여부

1핵심 2세부 인삼 유효성분의 대량분리 및 동정 기술개발

최종목표	내용
<ul style="list-style-type: none"> - 유효성분의 대량추출, 분리, 농축기술 개발 - 국제화, 표준화 및 기능성화를 위한 유효성분의 분리 및 동정 	<ul style="list-style-type: none"> - 인삼으로부터 주요사포닌 7종, 미량 사포닌 15종을 분리, 정제 - 각 사포닌에 대한 표준화된 물리화학적 data 및 HPLC, GC 등에 있어서의 표준화된 data 확보

연차별 연구 개발 수행 내용 및 달성도

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차 연도 (2007)	인삼 유효성분의 대량분리 및 동정 기술 개발	7종 사포닌의 추출, 분획	100	사포닌 추출 여부 확인
		7종 사포닌의 분리 정제	100	사포닌의 분리, 정제
2차 연도 (2008)	인삼 유효성분의 대량분리 및 동정 기술 개발	사포닌 분리, 동정	100	사포닌 분리, 동정
		인삼 사포닌 분석법 확립	100	사포닌의 분석 조건 확립
3차 연도 (2009)	인삼 유효성분의 대량분리 및 동정 기술 개발	사포닌 분리, 동정	100	5종 사포닌 분리, 동정
		인삼 사포닌 분석법 확립	100	사포닌의 분석 조건 확립
		인삼 사포닌 표준화	100	3종 사포닌 표준화자료 확보
4차 연도 (2010)	인삼 유효성분의 대량분리 및 동정 기술 개발	사포닌 분리, 동정	100	생변환 및 활성 연구에 필요한 인삼 사포닌 분리, 동정
		사포닌 표준화 연구	100	사포닌 표준화자료 확보
		인삼 분별법 확립	100	인삼 종류별 분별법 확립
5차 연도 (2011)	인삼 유효성분의 대량분리 및 동정 기술 개발	평화 인삼으로부터 미량 사포닌 의 분리, 동정	100	평화 인삼을 추출하여 미량 사포닌 을 분리, 동정
		LC/MS를 이용한 인삼의 metabolomics 분석법 개발	100	각 사포닌에 대한 LC/MS data를 이용한 metabolomics 분석법 개발
		NMR를 이용한 인삼의 metabolomics 분석법 개발	100	각 사포닌에 대한 NMR data를 이 용한 metabolomics 분석법 개발
		동정된 17종 ginsenoside의 HPLC 분석	100	분리, 보유한 ginsenoside의 HPLC 분석

1핵심 3세부 물리적 가공을 통한 고기능성 인삼 신소재 개발

최종 목표	내용
물리적 가공방법인 팽화(puffing), 초고압(ultra high pressure processing), pulsed electric field processing을 이용한 인삼의 유효성분 추출 방법 개발 및 유효성분의 전환을 통한 체내 흡수율 증진 소재 개발	<ul style="list-style-type: none"> ◦ 팽화를 통한 추출 수율 증대 및 유효성분 전환 연구 <ul style="list-style-type: none"> - 최적 수분함량 및 절편크기에 대한 연구 - 최적 팽화 압력에 대한 연구 - 추출용매에 따른 최적 추출수율 조건 확립 - HPLC를 통한 유효성분의 정성, 정량 연구 ◦ 초고압을 통한 추출 수율 증대 및 유효성분 전환 연구 <ul style="list-style-type: none"> - 최적 수분함량에 대한 연구 - 최적 초고압 처리 수준, 처리 시간에 대한 연구 - 추출용매에 따른 최적 추출수율 조건 확립 - HPLC를 통한 유효성분의 정성, 정량 연구 ◦ Pulsed Electric Field Processing을 이용한 인삼유효성분의 물리적 전환 기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 추출방법에 따른 인삼 유효성분 확인 - PEF 처리를 통한 유효성분 전환확인

연차별 연구 개발 수행 내용 및 달성도

구분	연도	세부연구개발 목표	달성도 (%)	연구개발수행내용
1차 년도	2007	- 최적 인삼 건조 절편크기 결정	100 %	- 최적인삼 건조 절편 크기에 따른 추출 수율 확인
		- 최적 수분함량 확립	100 %	- 최적 추출 수분함량에 따른 추출 수율 확인
		- 최적 팽화압력 결정	100 %	- 최적 추출 팽화압력에 따른 추출 수율 확인
2차 년도	2008	- 최적 인삼 건조 절편크기 결정	100 %	- 최적인삼 건조 절편 크기에 따른 유효성분 전환 확인
		- 최적 수분함량 확립	100 %	- 최적 전환 수분함량에 따른 유효성분 전환 확인
		- 최적 팽화압력 결정	100 %	- 최적 전환 팽화압력에 따른 유효성분 전환 확인
		- HPLC를 통한 유효성분 전환 확인	100	- 전환된 유효성분의 정성, 정량분석
3차 년도	2009	- 수분함량에 따른 최적 추출수율 조건 확립	100 %	- 최적 추출 수분함량에 따른 추출 수율 증가 확인
		- 최적 초고압 처리 수준, 처리 시간 확립	100 %	- 최적 추출 시간, 압력에 따른 추출 수율 증가 확인
		- 추출용매에 따른 최적 추출수율 조건 확립	100 %	- 최적 추출용매에 따른 추출 수율 증가 확인

4차 년도	2010	- 수분함량에 따른 최적 전환조건 확립	100 %	- 최적 전환 수분함량에 따른 유효성 분 전환
		- 최적 초고압 처리 수준, 처리 시 간 확립	100 %	- 최적 추출 시간, 압력에 따른 유효 성분 전환
		- 추출용매에 따른 최적 전환 조건 확립	100 %	- 최적 추출용매에 따른 유효성분 전 환
		- HPLC를 통한 유효성분 전환 확 인	100	- 전환된 유효성분의 정성, 정량분석
5차 년도	2011	-추출방법에 따른 인삼 유효성분 확인	100 %	- 팽화, 초고압에 의한 추출물 내 유효 성분 차이 여부
		-PEF 처리를 통한 유효성분 전환 확인	100 %	- PEF 처리에 의한 유효성분 전환 여 부
최종 평가	2012	- 추출방법에 따른 유효성분의 추 출수율 증진	100 %	- 추출수율이 증진된 추출방법 개발 여부
		- 물리적 가공 방법에 따른 유효성 분의 전환 방법 개발	100 %	- 새로운 물리적 가공방법에 의한 유효 성분 전환 기술 개발 여부

2핵심 1세부 고품질 다수성 품종의 육성 및 기능성 품종 개발

최 종 목 표	내 용
고품질 다수성 품종개발	· 2품종 등록
DNA marker 및 개화특성에 준한 집단육종 계통 육성	· 3계통 육성

연차별 연구 개발 수행 내용 및 달성도

구분	연도	세부연구목표	달성도	연구개발수행내용
1차 년도	2007	유전자원수집	100 %	품종등록특성 기준 개체선발
		계통육성 시험 및 증식 시험	100 %	계통선발 및 증식
		생산력 검정시험	100 %	계통의 생산력 검정
		농가실증시험	100 %	품종 유망계통 농가실증시험
2차 년도	2008	유전자원수집	100 %	품종등록특성 기준 개체선발
		계통육성 시험 및 증식 시험	100 %	계통선발 및 증식
		생산력 검정시험	100 %	계통의 생산력 검정
		지역적응 및 농가실증시험	100 %	품종 유망계통 농가실증시험
3차 년도	2009	유전자원수집	100 %	품종등록특성 기준 개체선발
		계통육성 시험 및 증식 시험	100 %	계통선발 및 증식
		생산력 검정시험	100 %	계통의 생산력 검정
		지역적응 및 농가실증시험	100 %	품종 유망계통 농가실증시험
4차 년도	2010	유전자원수집	100 %	품종등록특성 기준 개체선발
		계통육성 시험 및 증식 시험	100 %	계통선발 및 증식
		생산력 검정시험	100 %	계통의 생산력 검정
		지역적응 및 농가실증시험	100 %	품종 유망계통 농가실증시험
5차 년도 (최종 평가)	2011	품종등록	100 %	2품종
		특성에 따른 집단육종 계통	100 %	3계통

2핵심 2세부 맞춤형 인삼유묘생산 및 고품질 재배기술 개발

최종목표	내용
<ul style="list-style-type: none"> 수량증대를 위한 토양 표준화 및 개선재료 생산 결핍 및 과잉증상의 한계농도 구명 및 개선 방법 개발 맞춤형 인삼 유묘생산을 위한 생산 공장형 시스템 개발 	<ul style="list-style-type: none"> 연구결과를 종합하여 기준을 세우고 농업기술지도 담당자 또는 독농가 수준에서 쉽게 알 수 있는 표준과 계산법작성 미사질 식양토로 개량하기 위해 모래, 미사, 점토 함량조사 묘삼생산 시 결핍 및 과잉증상 한계농도 구명 생리장해와 관련하여 현장조사로 진단기준을 확립

연차별 연구 개발 수행 내용 및 달성도

구분	연도	세부연구목표	달성도	연구개발수행내용
1차 년도	2007 -	수량증대를 위한 각종 토양 조건 구명	100 %	생육별 인삼포지의 토양 이화학성 분석 비교
		인삼의 연근별 생장량 조사	100 %	생육별 인삼부위별 생장량 조사
	2008	식물체의 무기성분 분석을 통한 결핍 및 과잉증상 한계농도 구명	100 %	엽분석 및 뿌리의 무기성분 비교
2차 년도	2008 -	예정지, 본포 및 직파포 토양의 성분 분석	100 %	토양의 이화학성 분석 비교
	2009	수량증대를 위한 토양 개선재료 선발	100 %	표준 및 계산법 작성
3차 년도	2009 -	예정지, 보포 및 직파재배 본포 토양의 성분 분석	100 %	토양의 이화학성 분석 비교
		분석치와 이식포 및 직파포 연생별 지역별 인삼의 생육 상관조사	100 %	유효인산 기준을 200ppm으로 하고 있음. 일반작물에서 한계농도조사 각종 영양액을 묘삼과 토양조건에서 조사
	2010	인삼토양 및 생산물의 중금속 성분 검사	100 %	인삼토양 및 생산물의 중금속 성분 검사
4차 년도	2010 -	예정지, 보포 및 직파재배 본포 토양의 성분 분석	100 %	토양의 이화학성 분석 비교
	2011	묘삼생산 시 결핍 및 과잉증상 한계농도 구명	100 %	미사질 식양토로 개량하기 위해 모래, 미사, 점토 함량조사
5차 년도	2011 -	결핍 및 과잉증상의 구명 및 개선 방법 개발	100 %	생리장해와 관련한 현장조사
	2012	인삼토양 및 생산물의 중금속 성분 profiling	100 %	생리장해와 관련하여 현장조사로 진단 기준을 확립
최종 평가	2007 -	수량증대를 위한 토양 표준화 및 개선재료 생산	100 %	표준 및 계산법 작성
		결핍 및 과잉증상의 한계농도 구명 및 개선 방법 개발	100 %	묘삼생산 시 결핍 및 과잉증상 한계농도 구명
		맞춤형 인삼 유묘생산을 위한 생산 공장형 시스템 개발	100 %	생리장해와 관련하여 현장조사로 진단 기준을 확립

2핵심 3세부 맞춤형 인삼유묘생산 및 고품질 재배기술 개발

최종목표	내용
친환경 토양훈증에 의한 예정지 관리방법	- 친환경토양훈증처리방법 연구 - 바이오어세이법에 의한 토양병원균 억제효과 측정방법 수립 - 토양무기태질소의 동태조사 및 청초생산량에 미치는 석회질소효과 - 예정지 관리시 친환경 훈증도양의 발병억제 및 균증식방법수립
ISR, 길항미생물을 적용한 무농약재배방법 확립	- 이식시 근권 발병억제미생물 증식방법 수립 - 본포 지제부의 생물적 병해방제 방법 수립 - 본포 지상부의 생물적 병해방제방법 수립

연차별 연구 개발 수행 내용 및 달성도

구분	연도	세부연구목표	가중치	평가의 착안점 및 기준
1차 년도	2007	토양소독효과 측정방법수립, 바이오어세이법	30 %	훈증제의 개발, 병원균 살균력측정(개스챔버 바이오어세이킷), 토양훈증효과극대화 환경요인결정
		연작지 친환경훈증방법개발	20 %	포장시험현장평가, 친환경훈증제의 토양화학성조사결과
		토양무기태질소의 동태조사	30 %	석회질소시용량별 암모니움태 및 질산태의 함량변화
		청초생산량에 미치는 석회질소효과	10 %	토성별 무기태질소와 청초생산량 관계
		양지에서 무농약 청정묘삼생산방법 확립	10 %	포장에서 미생물보호제만에 의한 묘포 초기입고병방제효과
2차 년도	2008	예정지 관리시 ISR미생물처리	30 %	토양미생물상조사 결과
		ISR 미생물의 침지처리, 이식 후 및 낙엽 후 결빙 전 관주처리	40 %	미생물처리의 적절성 여부 및 토양미생물상조사 결과
		예정지관리 방법별 인삼 작황 조사	30 %	처리별 발병억제율 및 작황 조사 결과
2차년도 심사 후 연구과제 종료				

3핵심 1세부 인삼 추출물로부터의 도파민 수용체 길항 신소재 개발

최종 목표	내용
<ul style="list-style-type: none"> - 도파민 수용체 발현 세포주 확립 - 인삼 추출물로부터 도파민 수용체 발현 세포주를 기반으로 도파민 수용체 길항 신소재 발굴 	<ul style="list-style-type: none"> - 형질전환된 CHO 세포로부터 사람의 도파민 수용체 (D1 및 D2) 발현 세포주 선별 - cAMP 농도 변화를 통한 사람의 도파민 수용체 발현 동물세포주의 기능성 분석 - 도파민 수용체 발현 동물세포주를 이용한 인삼 추출물로부터의 도파민 수용체 길항 물질 선별 - 선별된 도파민 수용체 길항 물질 특성 분석 - 선별된 도파민 수용체 길항 물질의 구조 결정 및 유도체 분석

연차별 연구 개발 수행 내용 및 달성도

구분	연도	세부연구개발 목표	달성도 (%)	연구개발수행내용
1차년도	2007	사람의 도파민 수용체 (D1 및 D2) 유전자의 클로닝	100 %	<ul style="list-style-type: none"> - PCR에 의한 도파민 수용체(D1, D2)의 유전자 확보 - 발현벡터에 삽입 후 DNA 염기서열 분석
		CHO 세포에 사람의 도파민 수용체 (D1 및 D2) 유전자의 형질전환	100 %	<ul style="list-style-type: none"> - pSI-1-D1, D2 발현 벡터를 CHO DG44 세포주에 형질 전환
		형질전환된 CHO 세포로부터 사람의 도파민 수용체 (D1 및 D2) 발현 세포주 선별	100 %	<ul style="list-style-type: none"> - 수용체 발현 단일 세포주 분리 - RT-PCR에 의한 유전자 발현 세포주의 선별 - Methotrexate (MTX) 농도를 단계적으로 증가 시키면서 도파민 수용체 유전자 증폭을 유도
2차년도	2008	도파민 수용체 (D1 및 D2)의 발현량 분석	100 %	<ul style="list-style-type: none"> - 수용체 단백질 확보 - 수용체 특이 항체를 확보 및 Western blot 방법에 의한 수용체 단백질 발현량 확인 - RT-PCR을 통한 발현 확인
		도파민과 도파민 수용체 (D1 및 D2)의 결합력 분석	100 %	<ul style="list-style-type: none"> - 리간드와 방사성 동위원소가 결합된 리간드 확보 - 막 단백질 분리 방법에 의해 수용체 단백질 분리 - 방사능 분석에 의한 리간드와 도파민 수용체에 대한 결합력 분석
		cAMP 농도 변화를 통한 도파민 수	100 %	<ul style="list-style-type: none"> - 수용체 특이 리간드와 수용체와의 결합에 의한 세포내 cAMP 농도 변화를

		용체 (D1 및 D2) 기능성 확인		cAMP의 농도 측정 kit를 이용하여 수용체에 의한 도파민 수용체 기능성 확인
3차 년도	2009	도파민 수용체 길항 물질 선별을 위한 인삼 추출물의 분획	100 %	<ul style="list-style-type: none"> - 도파민 수용체 길항 물질 선별을 위해 3가지 서로 다른 인삼추출물의 분획 방법을 수행하였음. 1) MPLC를 이용한 1차분획 및 HP-20 및 ODS column을 이용한 2차분획 수행하였음. 2) 소량의 추출물을 이용하여 분석이 용이한 SepBox 2D-250을 이용하여 200여개의 분획을 확보하였음. 3) 활성물질의 대량 분리를 위해 발효인삼(160g)을 ethyl acetate와 물 층으로 분획하였고, 물 분획은 HP20 column chromatography를 거쳐 MeOH 와 물 층으로 분획을 수행하였음.
		도파민 수용체 발현 동물세포주를 이용하여 분획된 인삼 추출물로부터 도파민 수용체 길항 물질 선별	100 %	<ul style="list-style-type: none"> - MPLC 분획물들이 D1과 D2 수용체에 대한 agonist 및 anatagonist 활성이 있는 지를 분석하였으며, 그 결과 D1 수용체에 대한 agonist 활성이 있음을 확인할 수 있었음 - SepBox 2D-250를 통해 200여개의 분획물을 얻었으며, 이들 분획물에 대한 분석 결과 D1 수용체에 대한 agonist 활성 확인 - 인삼추출물의 대량 분획을 위해 발효인삼(160g)을 ethyl acetate와 물 층으로 분획하였고, 물 분획은 HP20 column chromatography를 거쳐 MeOH 와 물 층으로 분획을 수행하였으며, 수용체에 대한 활성분석을 위한 선행 실험을 수행하였음.
3차년도 심사 후 연구과제 종료				

3핵심 2세부 인삼 진세노사이드의 혈당 개선 효능 평가

최 종 목 표	내 용
<p>진세노사이드를 이용하여 항당뇨작용 및 혈당조절 작용기능을 평가 할 수 있는 평가 자료의 확보와 재평가에 따른 기능성과 안전성 확보를 통하여 인삼제품의 표준화와 기능성 평가방법의 체계를 확립하여 세계 건강기능식품 시장에서 인삼제품에 대한 우수한 경쟁력 확보를 통하여 세계시장을 공략하고자 한다.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ in-vitro (세포실험)검증 ◆ in-vivo model(질환동물모델)을 이용한 검증 하고 이 자료를 바탕으로 ◆ 소규모 예비 임상실험에 의한 검증 (evaluation by pilot clinical study) ◆ 다기관 임상실험(multi-center clinical trials)을 통한 기능성 검증을 시행하여 기능성을 확인하고 제품화를 모색한다.

연차별 연구 개발 수행 내용 및 달성도

구분	연도	세부연구목표	달성도	연구개발수행내용
1차 년도	2007	혈당조절 기능성 평가에 대한 in-vitro simulation, ◇췌장소도 분리, ◇ 베타세포주	100 %	혈당조절 기능성 확인
		◇ Insulin monitoring, ◇ Cell viability monitoring, ◇ Thymidine uptake, ◇ 세포사멸 분석	100 %	Insulin 분비와 베타세포 사멸 방어 확인
2차 년도	2008	혈당조절 기능성 평가에 대한 in-vivo simulation, ◇ STZ투여 모델, ◇ db/db mouse, ◇ ob/ob, ◇ NOD	100 %	실험동물 제작완성도
		◇ Insulin monitoring, ◇ Cell viability monitoring, ◇ Thymidine uptake, ◇ 세포사멸 분석, ◇ 췌장베타세포의 기능성 측정·조직병리검사, ◇ RNA분리 및 베타세포에 대한 Northern blot 분석	100 %	베타세포의 in-vivo 활성 확인
3차 년도	2009	베타세포 기능 분석	100 %	정상 insulin 유지 확인
		금식혈당 (fasting glucose) 조절 기능	100 %	금식혈당 조절기능성 확인
		내당능 (glucose tolerance) 조절 기능	100 %	내당능조절 기능성 확인
4차 년도	2010	안정성 검토	100 %	안정성 여부 확인
4차년도 심사 후 연구과제 종료				

3핵심 4세부 고려인삼제제의 면역증진 및 알레르기 염증반응 조절 효과 연구

최종목표	내용
기성한의서 수재 고려인삼을 함유한 제제의 면역증진 효과 및 그 기전 연구	면역세포 증식능 분석, 대식세포 활성화 분석등의 생체 내외 면역증진 바이오마커들에 미치는 효과 기전 연구
기성한의서 수재 고려인삼을 함유한 제제의 알레르기염증반응 조절 효과 및 그 기전 연구	동물실험 모델에서 급·만성 항알레르기 효과 기전 및 비만세포에서 히스타민 합성 및 분비 분석, 염증성 사이토카인 합성 및 분비 조절 기전 연구

연차별 연구 개발 수행 내용 및 달성도

구분	연도	세부연구목표	달성도	연구개발수행내용
1차 년도	2007- 2008	FST를 통한 면역증진효과분석 혈액성분의 변화 측정 분석	100 %	실험군과 대조군이 적절이 사용되었는가? 실험은 타당하게 진행 되었는가?
		전신성 아나필락시스 실험	100 %	자극제로 사용된 물질은 타당한가?
		수동성 피부 알레르기 반응 비만세포 탈과립제에 의한 발부종 측정	100 %	적령의 마우스를 사용했으며 자극 물질은 타당한가? 유의성 있는 평가 결과가 도출되었는가?
2차 년도	2008- 2009	면역세포 증식능 분석 대식세포 활성화 분석	100 %	재현성 있는 세포 실험이 진행되었는가?
		비만세포에 의한 히스타민 방출 실험	100 %	적절한 대조물질이 사용되었는가?
		비만세포의 사이토카인 분비 측정 실험 비만세포의 사이토카인 분비 신호전달 과정 측정 및 분석	100 %	시험군과 대조군이 타당하게 선택되었는가? 유의성 있는 평가 결과가 도출되었는가?
최종 평가		인삼신제품의 면역조절 효과 연구	100 %	각 실험 방법에 의해 도출된 평가가 유의성 있는가 또한 면역 조절 효과 연구에 표준을 제시하는가?
		인삼신제품의 알레르기 억제 효과 연구	100 %	각 실험 방법에 의해 도출된 평가가 유의성 있는가 또한 알레르기 억제 효과 연구에 표준을 제시하는가?

3핵심 5세부 고려인삼 사포닌의 항관절염 효능 평가

최 종 목 표	내 용
<p>인삼 사포닌 중에서 항관절염 효과가 있는 유효성분을 분리 및 정제하여 이들이 관절염이 일어난 세포에서 효능을 발휘하는 기전을 확립하고, 동물 실험 및 임상 시험을 실시하여 이 성분이 체내에서의 약동학 및 약력학 과정을 추적하여 인삼 사포닌 성분의 기능성을 연구함. 또한 이를 바탕으로 시제품 생산. 고부가가치의 기능성 인삼 제품을 생산</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 인삼 사포닌의 분리 및 분석 조건 확립 ○ 여러 인삼 제품에서의 사포닌의 분포 측정 ○ 분리된 인삼 사포닌의 관절염에서의 효능 평가 ○ 세포 실험을 위한 인삼 사포닌의 분리 및 정제 ○ 인삼 사포닌의 관절염 효능 기전 연구 ○ 인삼 사포닌의 관절염 세포 독성 실험 ○ 인삼 사포닌의 관절염 세포 흡수, 대사, 신호 전달과정 연구 ○ 인삼 사포닌의 세포 실험 결과 정리 ○ 관절염 세포 실험 결과를 토대로 다양한 시제품 개발 ○ 시제품의 관절염 세포에 대한 효능 평가 ○ 제품 생산 방법 확립 ○ 동물 실험을 위한 IRB 통과 ○ 인삼 사포닌의 약동학/약력학적 특성을 실험 동물을 통해 측정 ○ 인삼 사포닌의 각종 조직별 독성 및 영향을 실험 동물을 통해 측정 ○ 인삼 사포닌의 관절염에 대한 효능을 모델 동물로 확인 ○ 인삼 사포닌을 관절염 환자에게 대하여 임상 시험 ○ 고려인삼 시제품 생산 공정 개발 ○ 인삼 사포닌에 대한 동물 실험 모델을 통한 유효성 평가 ○ 고려인삼 시제품 생산 ○ 고려인삼 생산 공정 확립 ○ 고려인삼 제품 규격 설정 및 자료를 파악화 ○ 식약청 인허가를 위한 자료화

연차별 연구 개발 수행 내용 및 달성도

구분	연도	세부연구개발 목표	달성도(%)	평가의 착안점 및 기준
1차 년도	2007. 07.30~	인삼 사포닌의 분리 및 분석 조건 확립	100	분리 및 분석 조건의 확립 여부
		여러 인삼 제품에서의 사포 닌의 분포 측정	100	인삼 사포닌의 정량 및 정성 분석 여부
	2008. 07.29	분리된 인삼 사포닌의 관절 염에서의 효능 평가	100	효능 평가 여부
2 차 년도	2008. 07.30~	세포 실험을 위한 인삼 사포 닌의 분리 및 정제	100	정제된 인삼 사포닌의 양
		인삼 사포닌의 관절염 효능 기전 연구	100	관절염 효능 기전 확립 여부
	2009. 07.29	인삼 사포닌의 관절염 세포 독성 실험	100	독성이 없는 인삼 사포닌의 양

		인삼 사포닌의 관절염 세포 흡수, 대사, 신호 전달 과정 연구	100	인삼 사포닌의 관절염 세포에서의 대사 과정 이해 정도
3차 년도	2009. 07.30~ 2010 07.29	인삼 사포닌의 세포 실험 결과 정리	100	실험 결과 정리 여부
		관절염 세포 실험 결과를 토대로 다양한 시제품 개발	100	시제품의 관절염 세포에서의 효능
		시제품의 관절염 세포에 대한 효능 평가	100	제품 생산 방법 확립 여부
		제품 생산 방법 확립	100	제품 생산 방법 확립 여부
		동물 실험을 위한 IRB 통과	100	IRB 통과 여부
4 차 년도	2010. 07.30~ 2011. 07.29	인삼 사포닌의 약동학/약력학적 특성을 실험동물을 통하여 측정	100	인삼 사포닌의 약동학/약력학 시험
		인삼 사포닌의 각종 조직별 독성 및 영향을 실험동물을 통하여 측정	100	인삼 사포닌의 조직에 관한 시험
		인삼 사포닌의 관절염에 대한 효능을 모델 동물로 확인	100	동물 실험을 통한 효능 확인
		고려 인삼 시제품 생산 공정 개발	100	시제품 생산 공정 개발 여부

3핵심 6세부 인삼사포닌의 세포 면역반응 기전 및 면역 기능 향상 연구를 통한 면역 보조제 및 항암 효과 규명

최종 목표	내용
본 연구의 최종 목표는 인삼 사포닌(ginsenoside)의 세포 면역반응 향상을 통한 항암효과 규명	인삼 사포닌이 면역세포에 미치는 영향을 규명하고, 성장호르몬에 반응하는 암세포에서의 신호전달 연구를 통하여, 암세포주 증식 억제에 대한 작용점을 제시함으로써 인삼 사포닌(ginsenoside) 효과를 규명함은 물론 암치료 약물과의 동시투여 가능성 타진을 하여 암치료 방법 개선에 극대화

연차별 연구 개발 수행 내용 및 달성도

구분	연도	세부연구개발 목표	가중치	평가의 착안점 및 기준
1차 년도	2007	사포닌(ginsenoside)에 의해 면역세포에서 발현되는 면역관련인자 mRNA 수준의 발현변화 측정 조건 확립	40 %	면역세포 연구를 위한 시스템 확립
		ELISA를 이용한 면역세포 특이 사이토카인 분석	30 %	특정 사이토카인 분비 확인 및 분석 기법 확립
		유세포(Flow cytometry) 분석 기법을 이용한 면역세포 표면 단백질 분석	30 %	유세포 분석 기법 확립을 통한 면역세포 반응 확인 여부
2차 년도	2008	사포닌(ginsenoside)과 숙주 면역세포의 상관관계 이해를 통한 면역 조절 작용점 연구	30 %	인삼사포닌(ginsenoside)이 숙주 세포 면역반응에 미치는 효과 규명 여부
		인삼사포닌(ginsenoside)에 의한 면역세포분열반응 및 세포 내 면역단백질 측정	40 %	인삼사포닌(ginsenoside)에 의한 면역세포 반응여부 확인 및 면역 단백질 측정기법 확립
		사포닌이 면역세포 신호전달 체계에 미치는 영향 연구	30 %	인삼사포닌(ginsenoside)이 면역 세포 내 신호전달체계에 미치는 영향(전사조절 인자) 규명
3차 년도	2009	인삼사포닌(ginsenoside)이 숙주와 암세포의 상관관계에 미치는 영향 연구	35 %	숙주면역세포와 암세포의 상관관계에 미치는 인삼사포닌(ginsenoside)의 역할 연구
		인삼 사포닌(ginsenoside)에 의한 암세포 특이 면역반응 연구	35 %	인삼사포닌(ginsenoside)에 의한 암세포 특이면역반응 유도 확인
		신호전달 억제제를 이용한 암세포 신호전달 체계에 인삼사포닌이 미치는 영향 연구	30 %	인삼사포닌(ginsenoside)이 암세포의 신호전달에 미치는 인자 확인
4차년도	2010	사포닌(ginsenoside)과 숙주	30 %	인삼사포닌(ginsenoside)이 세포

		면역세포의 상관관계 이해를 통한 면역 조절 작용점 연구		면역반응 향상에 미치는 영향 확인
		사포닌과 사이토카인이 암세포에 미치는 영향연구	30 %	암세포에 인삼사포닌(ginsenoside)과 사이토카인이 미치는 효과 확인
		신호전달 억제제를 이용한 특이 신호전달 기전 연구	40 %	인삼사포닌(ginsenoside)이 암세포주 활성 억제에 미치는 영향 확인
5차년도	2011	사포닌에 의한 수지상세포의 면역관용 및 면역세포 활성화 연구	60 %	인삼사포닌 (ginsenoside)에 의해 분화 된 수지상세포의 면역 관용 기전 관련 분자들에 대한 연구
		사포닌을 처리한 수지상세포가 T 세포 활성화에 미치는 영향 연구	40 %	인삼사포닌에 의해 면역관용이 유도된 수지상세포의 T 세포 활성화 변화 확인

4 핵심 1세부 인삼사포닌의 세포 면역반응 기전 및 면역 기능 향상 연구를 통한 면역 보조제 및 항암 효과 규명

최 종 목 표	내 용	비 고
고려인삼의 지명도에 걸맞는 명품인삼 제품 3개 이상 개발	<ul style="list-style-type: none"> · 사포닌 전환처리용 건강 기능성 음료 및 캡슐(CK) 홍삼제품 개발 · 명품 봉밀삼개발 · Rg3 고함유 음료제품 개발 	
중국, 일본, 미국, 유럽 등 각 나라의 특성에 맞는 맞춤형 건강기능성 명품인삼 제품개발	<ul style="list-style-type: none"> · Ginsenoside Rb1, Rg1 등의 사포닌 성분을 이용한 표준화법 확립 · 표준화 홍삼엑스(extract), 캡슐, 음료 등 건강기능성식품 개발 	
기능성 사포닌을 이용한 고순도 명품고려인삼 제품개발을 통한 해외수출 증대	<ul style="list-style-type: none"> · 해외 수출 시장 판로 확보를 위한 시장 조사 · 3핵심과제의 효능 연구결과를 바탕으로하는 효능 컨셉에 맞춘 제품개발 및 홍보 · 참여업체를 중심으로 하는 해외 수출협력망 구축 	

연차별 연구 개발 수행 내용 및 달성도

구분	연도	세부연구개발 목표	가중치	평가의 착안점 및 기준
1차년도	2007	- 봉밀삼 품질개선 기술개발	21 %	· 품질 검토 및 당밀배합 비율선정 · 식미효과 증진방법
		- 사포닌 전환처리 용 건강 기능성 홍삼제품의 개발	30 %	· Formula 선정 및 부재료의 배합 · 식미효과 증진 및 시제품 생산
2차년도	2008	- 명품봉밀삼 제품개발	29 %	· 품질요소 개선 및 사포닌 성분분석 · 명품 봉밀삼 시제품개발
		- 미생물을 이용한 G-Rg3 대량생산조건확립	20 %	· 미생물 최적 성장조건확립 · 1ton 규모의 bioreactor 시운전
3차년도	2009	- Rg3 고함유 음료제품 개발	26 %	· 홍삼엑기스와 부재료의 배합 · 식미효과 증진 및 안전성검사
		- 고기능성 사포닌 (CK) 대량생산 조건확립	20 %	· 발효 생산성 및 지표물질 선정 · 1 ton 배양 및 원료 표준화
4차년도	2010	- 발효홍삼(CK 고함유) 캡슐제품 개발	35 %	· 원료의 대량생산 및 원료표준화 · 캡슐제품개발
		- 지표물질 성분 분석 및 캡슐 제품생산	11 %	· 시제품 캡슐생산 · 지표물질 성분 분석 성분표준화

				· 포장디자인 및 시제품 생산
5차 년도:	2011	- 지표물질을 이용한 성분 표준화	15 %	· Ginsenoside Rb1, Rg1 등의 사포닌 성분을 이용한 표준화법 확립
		- 국제 표준화 건강기능성 명품인삼제품 개발	31 %	· 부원료 선정 및 기능성 식품 개발을 위한 formula 개발 · 포장디자인 및 시제품 생산
최종 평가	2012	- 고려인삼의 지명도에 걸맞는 명품인삼 제품 3개 이상 개발	33 %	· 사포닌 전환처리용 건강 기능성 음료 및 캡슐(CK) 홍삼제품 개발 · 명품 봉밀삼개발 · Rg3 고함유 음료제품 개발
		- 국제표준화 국제 명품인삼개발을 위한 성분표준화	15 %	· Ginsenoside Rb1, Rg1 등의 사포닌 성분을 이용한 표준화법 확립
		- 인삼 명품 기능성 제품개발	12 %	· 기능성 제품개발건수와 특허수

4핵심 2세부

최종목표	내용	비고
기능성 식품 개발과 난치성 피부 질환용 기능성 향장품을 개발	건강식품의 개발 및 인삼 추출물을 포함하는 기능성 향장품을 적용한 제품 개발	상품 및 특허출원

구분	연도	세부연구개발 목표	가중치	평가의 착안점 및 기준
1차년도	2007	인삼과 한약재의 혼합비에 열수 추출물의 이화학적 특성 실험	30 %	객관화된 자료의 검증
		인삼의 추출물제조 및 물성 특징	30 %	인삼의 추출물에 대한 기초자료 확보여부
		상기생 및 영경귀등의 추출물제조 및 물성 특성 실험	40 %	기타 한약재의 특성 지표의 안전성 여부
2차년도	2008	기능성 건강식품제조를 위한 성분 분석	30 %	성분분석의 정확성 여부
		건강식품의 항산화성 및 항균성 분석	40 %	항산화성 및 항균성 분석의 개연성
		건강식품의 제조방법의 최적화	30 %	제조방법의 차별화정도
3차년도	2009	기능성 건강식품의 제조를 위한 기초조사	20 %	자료확보의 질과 양 기준
		건강식품의 개발에 가공처리시 이화학적 변화 조사	40 %	가공처리시 이화학적 변화 유무
		반응표면분석에 의한 건강식품제조방법의 최적화	40 %	건강식품제조방법의 최적화를 통한 타당성 조사
4차년도	2010	인삼을 활용한 기능성 향장품 개발	40 %	기능성 향장품의 개발여부
		인삼 추출물을 활용한 기능성 향장품 안정화 관련 연구 실험	30 %	기능성 향장품의 안정화 측정
		인삼 추출물을 포함하는 기능성 향장품을 적용한 제품 개발	30 %	제품 개발 정도
5차년도	2011	인삼 성분의 피부 친화 및 침투력 강화기능 탐색	20 %	피부 친화 및 침투력 강화기능 우수성 여부
		인삼 추출물을 활용한 아토피 피부염 및 지루성 피부염의 케어를 위한 향장품 개발	20 %	아토피 피부염에 대한 효능검증
		한방처방추출물과 인삼이 결합된 기타 난치성 피부질환용 향장품 개발	60 %	피부질환용 향장품 개발 여부
최종	2012	인삼을 활용한 건강식품 개발	30 %	건강식품 개발건수와 호응도

평가	기능성 제품개발	35 %	기능성 제품개발건수와 특허수
	기능성 향장품 개발	35 %	기능성 향장품 개발건수와 특허수

4핵심 3세부

최종목표	내용	비고
표준화된 신뢰성 있는 표준화 인삼캡슐 상품 개발	<ul style="list-style-type: none"> - 단순가공 형태의 농축액/차/ 당침인삼 제품은 기술특화가 어려워 경쟁의 심화로 가격이 하락되고 품질이 크게 저하됨. - 또한 인삼 수출이 담보되고, 인삼수출 지역이 동남아시아로 편중됨. - 농가 소득작날이 협소하게 되고 인삼 재배량이 많아져 가격하락이 우려됨. - 인삼은 외국인 섭취가 어렵고 고미, 냄새에 대한 부담감이 있음. - 이러한 문제점을 타개함으로서 인삼 소비를 늘려 재배농가를 보호하고 한국인삼에 활로를 적극적으로 개척하기 위하여는 기술이 직접되고 제품의 품질과 효능효과에 대한 확립된 명품화 제품을 개발하여 적극적으로 국내 및 해외시장을 공략하여야함. - 인삼 효능인 포인 Rb1,Rb2,Rc, Rd,Re,Rg1등의성분 함량을 표준화하여 그 대표적인 베링거 인겔하임(과마톤사)이 표준인삼 개발 세계시장에 년 간 1억\$매출을 올리는 것과 같이 표준화인삼 소재를 개발 고미를 싫어 하는 외국인에 적합한 복용이 편리한 제충형태(캡슐, 액상)의 신뢰성이 있는 인삼상품개발을 목표로 함. 	표준화 Ginsana G115soft capsule

구분	연도	세부연구목표	가중치	평가의 착안점 및 기준
1차년도	2007	인삼부위별 성분 연구	70 %	인삼 성분 분석
		외국인삼 성분 연구	5 %	외국인삼 성분 분석
		표준인삼조합 연구	20 %	원료인삼조합 표준화 여부
2차년도	2008	원료인삼 가공 조건 연구	35 %	원료가공 중 성분 변화 연구
		추출 농축 등 공정 개발	35 %	공정조건 확립
		외국상품 연구	10 %	외국판매 상품 분석
		표준화 인삼농축액 상품 개발	20 %	인삼 농축액 표준화
3차년도	2009	연질캡셀 제품 개발	60 %	시상품 제작
		제품 안정성 조사	40 %	안정성 연구
4차년도	2010	유럽 수출용 마이크로 캡셀 1 제품 개발	100 %	제품개발여부

5차 년도	2011	미국 수출용 마이크로 캡슐 1 제품 개발	100 %	제품개발여부
최종 평가		제품의 표준화	50 %	
		표준화된 마이크로 캡슐 제품생 산	50 %	

제2절 기여도

- 인삼으로부터 ginsenoside Rg1, Re, Rd, F4, 20-gluco-ginsenoside Rf 등 17종의 ginsenoside를 분리하고, 정확히 동정하였다. 더불어 인삼의 대사체를 유용 미생물을 활용하여 생산하는 방법을 개발하였으며 이를 활용하여 인삼 사포닌의 대량생산을 통한 표준품을 정확히 동정함으로써 잘못 동정된 문헌을 수정하고, 인삼 사포닌 표준품에 대한 정확한 data base 구축과 함께 모든 연구자들이 표준품을 활용할 수 있게 하였다. 또한, 표준품의 NMR, MS, IR, HPLC 및 LC/MS 등의 표준화 자료를 확보 및 확립된 분석법은 산업적으로 이용될 수 있을 것이다. 더불어 이는 지표물질의 정확한 함량을 제품에 고시하는 것을 가능하게 하여 고부가가치 제품으로서의 수출을 가능하게 할 것으로 기대된다. 본 사업단에서는 품종 개념이 불분명한 고려인삼의 신품종의 개발 필요성이 대두됨에 따라 국내 인삼의 식물 유전자원의 확보 및 고품질 다수성 인삼 생산을 위한 신품종을 등록하였으며 기능성 계통을 선발하였다. 본 품종들은 본 사업단의 연구 성과로 이루어진 것으로 향후 인삼 농가의 고품질 인삼 생산에 도움을 주어 농가소득 확대에 기여할 수 있을 것으로 판단 되어 진다. 본 사업단의 고품질 인삼 품종 육성, 청정 인삼 재배, 소비국에 따른 제품개발의 다양화, 국제적인 표준물질을 이용한 제품의 품질인증, 고려인삼의 객관적이과 과학적인 효능의 검증 및 입증을 통해 고려인삼의 국제적인 고려인삼의 경쟁력을 키우고 나아가 인삼종주국의 위치를 확고히 하여 증가되는 인삼 수요에 부응하여 국부창출을 할 수 있을 것이다.

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제1절 연차별 연구개발 성과

1) 성과지표 및 달성도 (정량 및 정성적 목표)

(1) 연구성과 목표

구분	특허		신품종등록 (유전자원 등 포함)	논문		기타 (신물질)
	출원	등록		국외(SCI)	국내	
1차년도(2007)	3	-	-	2	6	
2차년도(2008)	5	-	-	6	12	
3차년도(2009)	8	3	-	6	12	
4차년도(2010)	8	5	-	8	15	
5차년도(2011)	8	7	2(품종), 3(계통)	8	15	3
합계	32	15	5	30	60	3

(2) 연구결과 활용 목표 및 달성

구분	기술이전	상품화	정책자료	교육지도	언론홍보	달성도
활용건수	10	10	10	20	20	100

2) 사업단의 성과지표 (달성도)

(1) 연구성과 목표 :

구분	특허		신품종등록 (유전자원 등 포함)		논문		기타 (신물질)	달성도
	출원	등록	출원	등록	국외(SCI)	국내		
목표	32	15	2	-	30	60	3	
달성	21	11	2(신품종)	3(계통)	81	12	5	100

* 특허의 경우 추가적으로 출원 및 등록 중

1. 논문게재 성과

번호	게재 연도	논문명	저자			학술지명	Vol. (No.)	국내외 구분	SCI
			주저자	교신저자	공동저자				(E) 구분
1	2008	solation and characterization of a glutaredoxin gene from PanaxginsengC.A.Meyer.		0		Plant Molbiol Rep	26	국외	sci
2	2008	Aeromicrobiun ginsengisoli sp. nov., a bacterium isolated from a ginseng field.		0		ijsem	58	국외	sci
3	2008	Isolationand characterization of a novel short-chain alcohol dehydrogenase gene from Panax ginseng		0		BMB reports	42	국외	sci
4	2009	Brevibacillus panacihumi sp. nov., a b- glucosidase producing bacterium		0		ijsem	59	국외	sci
5	2009	Castellaniellaginsengisolisp.nov.,a b-glucosidase-producingbacterium		0		ijsem	59	국외	sci
6	2009	Nocardioideshumisp.nov.,ab-glucosidaseproducingbacterium isolated from soil of a ginseng field		0		IJSEM	59	국외	sci
7	2009	IsolationandCharacterizationofPathogenesis-RelatedProtein5 (PgPR5) Gene from Panax ginseng		0		Plant Pathol. J.	25	국외	sci
8	2010	Identification and characterization of spermidine synthase gene from Panax ginseng		0		Mol Biol Rep (네덜란드)	37	국외	sci
9	2010	Somatic Embryogenesis of Two New Panax ginseng Cultivars,YunPoong and ChunPoong		0		Russian Journal of Plant Physiology	57	국외	sci
10	2010	GenerationandanalysisofexpressedsequencetagsfromleafandrootofWithaniasomnifera(Ashwgandha)		0		Mol Biol Rep (네덜란드)	37	국외	sci
11	2010	Microbacteriumsolisp.nov.,a-glucosidaseproducingbacteriumisolatedfromsoilofaginsengfield		0		IJSEM	60	국외	sci
12	2010	Ginsenoside Re enhances survival of human CD4+ T cells through regulation of autophagy.		0		International immunopharmacolog	10	국외	sci

						y			
13	2010	Isolation of a novel catalase (Cat1) gene from <i>Panax ginseng</i> and analysis of the response of this gene to various stresses			0	Plant Physiology and Biochemistry	48	국외	sci
14	2010	Gene Ontology Study of Methyl Jasmonate-Treated and Non-Treated Hairy Roots of <i>Panax ginseng</i> to Identify Genes Involved in Secondary Metabolic Pathway			0	Russian Journal of Genetics	46	국외	sci
15	2010	<i>Parapusillimonasgranuligen.nov.,sp.nov.</i> , isolated from the egranules from a wastewater-treatment bioreactor			0	IJSEM	60	국외	sci
16	2010	Identification of "Chunpoong" among <i>Panax ginseng</i> Cultivars Using Real Time PCR and SNP Marker			0	J.Ginseng Res	34	국내	scie
17	2010	Isolation of Sesquiterpene Synthase Homolog from <i>Panax ginseng</i> C.A.Meyer			0	J.Ginseng Res	34	국내	scie
18	2010	Molecular Identification of Korean Mountain Ginseng Using an Amplification Refractory Mutation System (ARMS)			0	J.Ginseng Res	34	국내	scie
19	2010	Overexpression of PgSQS1 Increases Ginsenoside Production and Negatively Affects Ginseng Growth Rate in <i>Panax ginseng</i> .			0	J.Ginseng Res	34	국내	scie
20	2010	Physicochemical Characterization and NMR Assignments of Ginsenosides Rb1, Rb2, Rc, and Rd Isolated from <i>Panax ginseng</i> .			0	J.Ginseng Res	34	국내	scie
21	2010	<i>Stenotrophomonas ginsengisoli</i> sp.nov., a bacterium isolated from a ginseng field.			0	IJSEM	60	국외	sci
22	2010	<i>Lysobacter</i> sp.nov., isolated from soil of a ginseng field.			0	IJSEM	60	국외	sci
23	2010	Molecular characterization of a cysteine proteinase inhibitor, PgCPI, from <i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer			0	Acta Physiologica Plant	32	국외	scie
24	2010	Expression and functional characterization of pathogenesis-related protein family gene, PgPR10-2, from <i>Panax ginseng</i> C.A.Meyer.			0	Physiological and Molecular Plant Pathology	74	국외	sci
25	2010	Molecular identification of oriental medicinal plant <i>Schizonepeta tenuifolia</i> bunge (Hyung-Gae) by multiplex PCR			0	PLANT BIOTECHNOLOGY REPORTS	4	국외	sci
26	2010	Isolation and expression analysis of a novel major latex-like protein (MLP151) gene from <i>Panax ginseng</i>			0	Molecular Biology Reports	37	국외	sci

27	2010	Generation and gene ontology based analysis of expressed sequence tags (EST) from a <i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer roots	0	Mol Biol Rep	37	국외	sci
28	2010	Development of a Multiplex Polymerase Chain Reaction Method for Simultaneous Detection of Four Cimicifuga Species.	0	Crop Science Society of America	50	국외	sci
29	2010	<i>Sphingopyxis panaciterrula</i> sp. nov., isolated from soil of a ginseng field.	0	IJSEM	60	국외	sci
30	2010	<i>Rhodanobacter soli</i> sp. nov., isolated from soil of a ginseng field	0	IJSEM	60	국외	sci
31	2010	Bioconversion of Ginsenoside Rd into Compound K by <i>Lactobacillus pentosus</i> DC101 Isolated from Kimchi	0	J.Ginseng Res	34	국내	scie
32	2010	Isolation and Characterization of a Type II Peroxiredoxin Gene from <i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer	0	J.Ginseng Res	34	국내	scie
33	2011	Enzymatic Preparation of 20(S)-Ginsenoside Rg2, 20(S)-ginsenoside Rh1, and 20(S)-ginsenoside PPT.	0	Chemical Journal of Chinese Universities	32	국외	sci
34	2011	Ethanol fermentation from red ginseng extract using <i>Saccharomyces cerevisiae</i> and <i>Saccharomyces carlsbergensis</i> .	0	Food Sci. Biotechnol.	20	국외	sci
35	2011	Identification and characterization of class I chitinase in <i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer.	0	Mol Biol Rep	38	국외	sci
36	2011	In silico Analysis for Expressed Sequence Tags from Embryogenic Callus and Flower Buds of <i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer	0	J.Ginseng Res	35	국내	scie
37	2011	Inhibitory effects of the transgenic <i>Panax ginseng</i> on phorbol ester plus A23187-induced IL-6 production and cyclooxygenase-2 via suppression of NF- κ B and MAPKs in HMC-1	0	Immunopharmacology and Immunotoxicology	33	국외	sci
38	2011	Discrimination of <i>Panax ginseng</i> Roots Cultivated in Different Areas in Korea Using HPLC-ELSD and Principal Component Analysis	0	J.Ginseng Res	35	국내	scie
39	2011	Chemical conversion of ginsenosides in puffed red ginseng.	0	Food Science and	44	국외	sci

					Techno logy			
40	2011	Lactobacillus kimchiensis sp. nov., a β -glucosidase producing bacterium isolated from kimchi.		0	IJSEM	61	국외	sci
41	2011	Lactobacillus koreensis sp. nov., isolated from the traditional Korean food kimchi.		0	IJSEM	61	국외	sci
42	2011	Transcript profiling of antioxidant genes during biotic and abiotic stresses in <i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer		0	Mol Biol Rep	38	국외	sci
43	2011	In silico gene expression analysis in <i>Codonopsis lanceolata</i> root		0	Mol Biol Rep	38	국외	sci
44	2011	Interactions of dendritic cells with cancer cells and modulation of surface molecules affect functional properties of CD8+ T cells		0	MOLE CULAR IMMU NOLO GY	48	국외	sci
45	2011	Discrimination of Korean Ginseng (<i>Panax ginseng</i>) Roots Using Rapid Resolution LC-QTOF/MS Combined by Multivariate Statistical Analysis		0	Food Sci. Biotec hnl.	24	국외	sci
46	2011	Biotransformation of Ginsenoside Rb1 to Prosapogenins, Gypenoside XVII, Ginsenoside Rd, Ginsenoside F2, and Compound K by <i>Leuconostoc mesenteroides</i> DC102		0	J. Ginsen g Res	35	국내	scie
47	2011	Transcriptome profiling and in silico analysis of <i>Gynostemma pentaphyllum</i> using a next generation sequencer		0	Plantce llreport s	30	국외	sci
48	2011	Effects of Red Ginseng Extract on the Epididymal Sperm Motility of Mice Exposed to Ethanol		0	NTER NATIO NAL JOURN AL OF TOXIC OLOGY	30	국외	sci
49	2011	SCREENING AND OPTIMIZATION OF PECTIN LYASE AND D-POLY GALACTURONASE ACTIVITY FROM GINSENG PATHOGEN CYLINDROCARPON DESTRUCTANS		0	BRAZI LIANS OCIET Y FOR MICRO BIOLO GY	42	국외	sci
50	2011	Classification and Characterization of Putative Cytochrome P450 Genes from <i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer		0	Bioche mistry (Mosco w)	12	국외	sci
51	2011	BIOCONVERSION OF GINSENO SIDER B1 INTO COMPOUND K BY <i>LEUCONOSTOC CITREUM</i> LH1 ISOLATED FROM KIMCHI		0	Brazilia n Journal	42	국외	sci

						of Microbiology			
52	2010	A PCR-based SNP marker for specific authentication of Korean ginseng (panaxginseng) cultivar 'Chunpoong'		0	0	MolBio lRep	37	국외	sci
53	2010	Development of Molecular Markers for the Determination of the New Cultivar 'chunpoong' in <i>Panaxginseng</i> C.A. MEYER Associated with a Major Latex-Like Protein Gene		0	0	Biol. Pharm. Bull	37	국외	sci
54	2010	A Simplified Method for Identifying the <i>Panaxginseng</i> Cultivar Gumpoong Based on 26 SrDNA		0	0	Planta Medica	76	국외	sci
55	2011	Defense Genes Induced by Pathogens and Abiotic Stresses in <i>Panaxginseng</i> C.A. Meyer		0	0	J.Ginse ngRes	35	국내	scie
56	2011	In silico Analysis for Expressed Sequence Tags from Embryogenic Callus and Flower Bud of <i>Panaxginseng</i> C.A. Meyer		0	0	J.Ginse ngRes	35	국내	scie
57	2011	Molecular authentication of <i>Panaxginseng</i> and ginseng products using robust SNP markers in ribosomal external transcribed spacer region		0	0	Journal ofPhar maceut icaland Biomed icalAna lysis	55	국외	sci
58	2011	Development of a Multiplex amplification refractory mutation system for simultaneous authentication of Korean ginseng cultivars "Gumpoong" and "Chungsun"		0	0	Mitoch ondiral DNA	22	국외	sci
59	2011	Defense Genes Induced by Pathogens and Abiotic Stresses in <i>Panaxginseng</i> C.A. Meyer		0	0	J.Ginse ng Res	35	국내	scie
60	2011	A simple and rapid technique for the authentication of the ginseng cultivar, Yunpoong, using an SNP marker in a large sample of ginseng leaves		0	0	GENE	487	국외	sci
61	2008	Ginsenoside Rg1 의 NMR 데이터 동정		0		Journal of Ginse ng Resear ch	32(4)	국내	비S CI
62	2010	Physicochemical Characterization and NMR Assignments of Ginsenosides Rb1, Rb2, Rc, and Rd Isolated from <i>Panaxginseng</i>		0		Journal of Ginse ng Resear	34(2)	국내	SCI E

						ch			
63	2011	Discrimination of Panax ginseng Roots Cultivated in Different Areas in Korea Using HPLC-ELSD and Principal Component Analysis			0	Journal of Ginseng Research	35(1)	국내	SCIE
64	2011	Discrimination of Korean Ginseng (Panax ginseng) Roots Using Rapid Resolution LC-QTOF/MS Combined by Multivariate Statistical Analysis.			0	1. Food Sci. Biotechnol.	20(4)	국내	SCIE
65	2009	인삼재배지의 영양환경이 인삼의 생육에 미치는 영향			0	한국차원식물학회지	33	국내	
66	2010	Bioconversion of Ginsenosid Rd into Compound K by Lactobacillus pentococcus Dc101 Isolated from kimchi			0	J. Ginseng Res	34	국내	scie
67	2011	경기지역 인삼재배지의 토양 및 엽중 적정양분함량 검정			0	한국차원식물학회지	24(5)	국내	
68	2012	묘삼포지의 토양 및 묘삼 근 중 적정양분 함량 설정			0	한국차원식물학회지	계재예정	국내	
69	2012	직파 및 이식재배에 따른 인삼의 생육 특성 및 재배지 토양 비교			0	한국차원식물학회지	계재예정	국내	
70	2010	Screening and isolation of a natural dopamine D1 receptor antagonist using cell-based assays			0	Journal of Biotechnology	145	국외	sci
71	2010	Overproduction of recombinant human hepatocyte growth factor in Chinese hamster ovary cells			0	Protein Expression and Purification	70	국외	sci
72	2008	OspF directly attenuates the activity of extracellular signal-regulated kinase during invasion by <i>Shigella flexneri</i> in human dendritic cells			0	Molecular Immunology	45	국외	sci
73	2009	Synergistic production of interleukin-23 by dendritic cells derived from cord blood in response to co-stimulation with LPS and IL-12			0	Journal of Leukocyte Biology	86	국외	sci

74	2010	Ginsenoside Re enhances survival of human CD4+ T cells through regulation of autophagy			0	International Immunopharmacology	10	국외	sci
75	2011	Interactions of dendritic cells with cancer cells and modulation of surface molecules affect functional properties of CD8 ⁺ T cells			0	Molecular Immunology	48	국외	sci
76	2012	Ginsenosides regulate T cells via the action of monocytes and their differentiation into dendritic cells			0	International Immunopharmacology	In Submission	국외	sci
77	2012	Compound K induces programmed necrosis in MCF-7 cells via GSK3 β signal pathway			0	Biochemical and Biophysical Research Communications	In Submission	국외	sci
78	2009	인삼재배용미생물제품의 식물보호효과변이계수와와의관계	0	0		고려인삼학회	JGR-09-16	국내	scie
79	2009	석회질소토양훈증의 라이족토니아소라니, 피시움, 토양미생물과 씨앗의 사멸효과	0	0		고려인삼학회	JGR-09-18	국내	scie
80	2007	팽화에 의한 인삼 향기성분의 변화			0	경희대학교 생명자원연구 논문집	26(2)	국내	
81	2008	Changes in effective components of ginseng by puffing			0	J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.	51(3)	국내	SCIE
82	2010	팽화홍삼으로부터 20(S)-ginsenoside Rg ₃ 와 Rg ₅ 의 분리 및 구조 동정			0	한국산업식품공학회지	14(2)	국내	1급
83	2010	Ultrahigh pressure extraction (UHPE) of ginsenosides from Korean <i>Panax ginseng</i> powder			0	Food Sci. Biotech.	19(3)	국내	SCIE

					hnol.			
84	2011	Chemical conversion of ginsenosides in puffed red ginseng		0	LWT-Food Science and Technology	44	국외	SCI
85	2012	Changes in the ginsenoside profile of ginseng by steaming and puffing		0	Journal of Agric. Food Chem.	투고 중	국외	SCI
86	2012	Joint-protective effects of compound K, a major ginsenoside metabolite, in rheumatoid arthritis: in vitro evidence		0	Arthritis and Rheumatism	submitted	국외	SCI
87	2011	Joint-protective effects of compound K, a major ginsenoside metabolite, in rheumatoid arthritis: in vitro evidence		0	Food and Industry	45(60)	국외	SCIE
88	2010	Fermented red ginseng CK20 with high content of Compound K		0	Food processing and ingredients	45(8)	국외	SCIE
89	2008	시중에 유통되는 한방생약제제의 중금속 함량		0	한국환경과학회지	17	국내	학진 등재지
90	2009	Effect of soluble EPCR on the Anti-Inflammatory Effects by Activated Protein C		0	화학공학	47	국내	학진 등재지
91	2009	Concentration dependent dual effect of thrombin in endothelial cells via par-1 and pi3kinase		0	Cellular Physiology	219	국외	sci
92	2010	Abietic Acid from Resin of Pinus Species as a Testosterone 5 α -Reductase Inhibitor		0	J. of Health Science	56(4)	국외	SCI
93	2010	Proteomic biomarkers for diagnosis in acute myocardial infarction		0	Biomarker	16(1)	국외	SCI

2. 특허 출원 및 등록 성과

번호	년도	특허명	출원인	출원 국	출원 번호	비고
1	2008.2.22	농산물및그가공식품의안전성을보증하는안전농산물생산 관리시스템및그방법.	양덕춘	한국	10-08 08645	등록
2	2008.12.12	도파민 D1수용체 발현 세포주 및 이를 이요한 신약 개발 방법	백남인	한국	10-20 08-01 26427	출원
3	2008	도파민D2수용체발현세포주및이를이용한신약개발방법	백남인	대한 민국	10-20 08-01 26428	출원
4	2008.10.23	산삼배양근 추출물을 함유하는 고혈압 예방용 건강 보조 식품	양덕춘	한국	10-20 08-01 04458	출원
5	2009.05.13	석결명에 의한 산삼배양근의 대량 생산 방법	양덕춘	한국	10-20 09-00 41718	출원
6	2009.06.10	산삼배양근을 포함하는 사료첨가제 조성물과 이를 포함하는 사료	양덕춘	한국	10-20 09-00 51416	출원
7	2010. 4. 7	고려인삼 신품종 K-1의 출원	양덕춘	한국	2010- 571	출원
8	2010.03.10	고려인삼 금풍종 구별용 에스엔피 프라이머	양덕춘	한국	10-20 10-00 21544	출원
9	2010.03.10	인삼 사포닌의 생물 전환을 위한 락토바실러스 균주 및 이를 이용한 사포닌 생물 전환 방법	양덕춘	한국	10-20 10-00 21196	출원
10	2010.03.10	배추김치 유래의 젖산균을 이용하여 고농도의 홍삼 추출액을 함유하는 유제품을 젖산 발효하는 방법	양덕춘	한국	10-20 10-00 21191	등록
11	2011.10.30	NAD7 인트론4 영역에 특이적인 고려인삼 천풍 구별용 SNP 프라이머와 이를 이용한 천풍종 구별방법	양덕춘	한국	10-10 80128	등록
12	2011.03.02	COX2 인트론 II 영역에 특이적인 고려인삼 천풍구별용 SNP프라이머및 이를이용한 고려인삼 천풍구별방법	양덕춘	한국	10-10 20584	등록
13	2011.03.18	고려인삼 금풍종 또는 청선종 선별용 SNP 프라이머 및 이를 이용한 금풍종 또는 청선종 선별방법	양덕춘	한국	10-20 11-00 24511	출원
14	2011.03.18	고려인삼 연풍 품종 구별용 SNP 프라이머 및 이를 이용한 연풍품종구별방법	양덕춘	한국	10-20 11-00 24506	출원
15	2011.03.28	팽화를 이용한 인삼의 추출수율 및 진세노사이드 성분 증진방법	백무열	한국	2008- 00866 27	등록
16	2011.09.22	석결명을 이용한 산삼배양근 대량생산방법	양덕춘	한국	10-10 63842	등록
17	2011.10.30	MLP 유전자에 특이적인 고려인삼 천풍 구별용 SNP프라이머 및 이를 포함하는 키트및 이용한 고려인삼 천풍 구별방법	양덕춘	한국	10-10 80129	등록
18	2011.10.21	신규한 β -글루코시다제단백질및이의용도(<i>bgp1</i>)	양덕춘	한국	10-20 11-01	출원

					08053	
19	2011.10.21	신규한 β -글라이코시다제단백질밋이의용도(bgp2)	양덕춘	한국	10-20 11-01 08084	출원
20	2011.10.21	신규한 β -글라이코시다제단백질밋이의용도(bgp3)	양덕춘	한국	10-20 11-01 08102	출원
21	2012.2.28	인삼병원균검출용동시다중유전자증폭용검출방법	양덕춘	한국	10-20 12-00 20596	출원
22	2012.2.28	인삼병원균다중진단용특이프라이머밋이의용도	양덕춘	한국	10-20 12-00 20595	출원
23	2012.05.22	진세노사이드 Rg5, Pk1, Rg3,F2의 함량이 증가된 팽화 홍삼의 제조 방법	백무열	한국	2010- 00168 32	등록
24	2006.12.28	발효인삼 또는 홍삼의 제조방법	메타볼 랩(주)	한국	10-20 06-01 36400	등록
25	2007.10.15	발효인삼 또는 홍삼의 제조방법	메타볼 랩(주)	한국	10-20 07-01 03435	등록
26	2007.04.19	진세노사이드의 효소전환	메타볼 랩(주)	한국	10-20 07-00 38480	등록
27	2007.12.11	진세노사이드 F2로의 전환방법	메타볼 랩(주)	한국	10-20 07-01 27955	출원
28	2007.10.11	진세노사이드의 화합물 k로의 전환방법	메타볼 랩(주)	한국	10-20 07-01 02626	출원
29	2011.06.29	홍삼 발효액을 포함하는 관절염 예방 또는 치료용 조성물	메타볼 랩(주)	한국	10-20 11-00 63564	출원
30	2008	진세노사이드의 효소전환	메타볼 랩(주)	한국	87748 9	출원
31	2008	발효인삼 또는 홍삼의 제조방법	메타볼 랩(주)	한국	85679 0	출원
32	2008	진세노사이드 F2로의 전환방법	메타볼 랩(주)	한국	87748 9	출원

* 학술대회 초록

학회지	제목	이름
고려인삼학회 춘계 고려인삼학회 2008년도 춘계학술대회	Agrobacterium-mediated genetic transformation of ginseng for biosynthetic pathway in high-density ginsenoside	Ju-Sun Shim, Rama Krishna Pulla, Yu-Jin Kim, Dae-Yung Jung, Jung-Hye Lee, Deok-Chun Yang
고려인삼학회 춘계 고려인삼학회 2008년도 춘계학술대회	Identification and Characterization of Glutathione S-transferase (PgGST) gene related to abiotic stress from Panax ginseng	Yu-Jin Kim, Ju-Sun Shim, Rama Krishna Pulla, Jung-Hye Lee, Dae-Yung Jung, Jun-Gyo In, Bum-Soo Lee, Deok-Chun Yang
고려인삼학회 춘계 고려인삼학회 2008년도 춘계학술대회	DNA 지문법에 의한 고려인삼 신품종 천풍의 구별	손화, 베갈마, 노종훈, 왕홍도, 인준교, 이범수, 권우생, 양덕춘
고려인삼학회 춘계 고려인삼학회 2008년도 춘계학술대회	Transformation of Ginseng saponin by Lactic Acid Bacterium Isolated from Kimchi 2008	Min-Ju park, Ho-Bin Kim, Se-Hwa Kim, Lin-hu Quan, Deok-chun yang
고려인삼학회 춘계 고려인삼학회 2008년도 춘계학술대회	Induction and characteristics of polyploid adventitious roots from Panax ginseng C.A. Meyer 2008	Min-Ju park, Ho-Bin Kim, Se-Hwa Kim, Lin-hu Quan, Deok-chun yang
고려인삼학회추계 고려인삼학회2008 년도추계학술대회	Transformation of Gypenoside to Ginseng Saponin by Crude Enzymes from Microorganisms	Jin-Woo Min, Se-Hwa Kim, Ho-Bin Kim, Linhu Quan, srinivasan sathiyaraj, Deok-chun yang
고려인삼학회추계 고려인삼학회2008 년도추계학술대회	Initiation & Characteristics of Polyploidy from Anther in Panax ginseng C.A. Meyer	Jung-hye Lee, Yu-jin Kim, Dae-young Jeong, Ju-sun Shim, Deok-chun Yang
고려인삼학회추계 고려인삼학회2008 년도추계학술대회	Microbial Transformation of Ginseng Saponin by Lactobacillus pentosus	Se-Hwa Kim, Ho-Bin Kim, Jin-Woo Min, Lin-hu Quan, Deok-chun yang
고려인삼학회추계 고려인삼학회2008 년도추계학술대회	Molecular characterization of Alcohol Dehydrogenase Gene Related to Abiotic Stress from Panax ginseng.	Yu-Jin Kim, Ju-Sun Shim, Jung-Hye Lee, Dae-Young Jung, Jun-Gyo In, Bum-Soo Lee, Deok-Chun Yang
고려인삼학회추계 고려인삼학회2008 년도추계학술대회	Isoalatin and Expression Analysis of a Major Latex-like Protein gene from Panax ginseng	Hua Sun, Myung-Kyun Kim, Rama Krishna Pulla, Yu-Jin Kim, Deok-Chun Yang
고려인삼학회추계 고려인삼학회2008 년도추계학술대회	Molecular identification of Korean ginseng cultivar 'Chunpoong' using Mitochondrial DNA cytochrome Oxidase Subunit 2 (cox2) intron II region.	Hongtao-Wang, Hua Sun, Woo Saeng Kwon, Deok Chun Yang
고려인삼학회추계 고려인삼학회2008 년도추계학술대회	Transformation of Ginsenoside Rd into F2 and Compound K by Lactobacillus pentosus LH6 Isolated from Kimchi	Lin-hu Quan, Ho-Bin Kim, Se-Hwa Kim, Yeon-Ju Kim, Deok Chun Yang
고려인삼학회추계 고려인삼학회2008 년도추계학술대회	Increase of Ginsenosides by the treatment of <i>Haliothis gigantea</i> to Hairy Roots of <i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer	Dae-young Jeong, Yu-jin Kim, Jung-hye Lee, Ju-sun Shim, Deok-chun Yang
고려인삼학회추계 고려인삼학회2008	Isolation of a novel NADP-isocitrate Dehydrogenase gene from <i>Panax ginseng</i> and Analysis of its Resp	Shohan Parvin, Rama krishna Pulla, Yu-Jin Kim, Ju-Sun

년도추계학술대회	onsetoAbioticStress	Shim, Jung-Hye Lee , Deok-Chun Yang
고려인삼학회추계 고려인삼학회2008 년도추계학술대회	Isolation of Ribonuclease2 gene fromcDNAof <i>Panaxginseng</i> C. A.Meyer	Rama krishna Pulla, Myung Kyung Kim, Yu-Jin Kim, Kalai Selvi, Deok-Chun Yang
고려인삼학회추계 고려인삼학회2008 년도추계학술대회	Isolation and Characteristics of a GDP-mannose-3',5'-epimerase (GME) Gene From <i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer	Piao Jinying, Jung-Hye Lee, Yu-Jin Kim, Deok-Chun Yang
국가미래생물자원 부국화방안모색	the role of ginseng genetic resourcebankas,life resources collecting institute for the advance nation	양덕춘, 손화
미생물생명공학회 추계	paracastellaniellaterra gen.nov., sp .nov. Isolated from the granule in a wastewater -treatment bioreactor	yeon-ju kim, min-jiu park, myung kyum kim,Srinivasan sathiyaraj,jin-woo min,se-hwa kim, ho-bin kim,deok-chun yang
미생물생명공학회 추계	castellaniella ginsengisoli sp. nov.,isolated from soilof a ginseng field	Srinivasan sathiyaraj, myung kyum kim,yeonjukim ,ho bin kim,jin-woomin,se-hwa kim, deok-chun yang
식물생명공학회	cytochrome p450유전자를 이용 한 인삼의 형질전환및 protopanaxatriol계 사포닌의증대	심주선,김유진, 민진우,이정혜 ,정대영,라마크리스티나 폴라, 이범수 ,양덕춘
식물생명공학회	MolecularchatacterizationofcDNA Encoding cinnamyl-alcohol dehydrogenase(CAD)frompanax ginseng	Rama krishna Pull,Shohan Parvin,ju-sunshim,yu-jin kim,kalai selvi,deok-chun yang
식물생명공학회	Molecular chatacterization of cDNA Encoding cinnamyl-COA reductase (CCR) from panax ginseng	Shohan Parvin,Rama krishna ,ju-sunshim,yu-jin kim, deok-chun yang
한국약용작물학회 추계학술	엽록체 trnLF염기서열을 이용한 지모(<i>Anemarrhenaasphosel</i> <i>oides</i>)의유연관계확인및중감별분자마커개발	노종훈, 김명겸, 베갈마, 양덕춘
한국약용작물학회 추계학술발표회	석결명(石決明)의 첨가가 인삼모상 근의 성장과 사포닌 생합성에 미 치는영향	정대영,심주선,김유진,이정혜, 양덕춘
한국약용작물학회 추계학술발표회	인삼 사포닌 변환 기술을 이용한 ginsengnoside Rg3의 생산	박민주, 김호빈, 김세화, 양희 찬, 전립호, 양덕춘
한국약용작물학회 추계학술발표회	MolecularCharacterizationofcDNAEncodingS- Adenosylmet honine decarboxylase from panax jinseng	Rama Krishna Pulla, Shohana Parvin Jhuma, Ju-sun Shim , Deok-Chun yang
한국약용작물학회 추계학술발표회	DNA 지문분석을 통한 형개 (<i>Schizonepeta tenuifolia</i>)의 유연 관계 분석	베갈마, 김명겸, 노종훈, 양덕춘
한국약용작물학회 추계학술발표회	Feasibility of 5S rRNA spacer and atpB-rbcL intergrnic spacer region to the identif ication of ginseng cultivars	hong-tao Wang, Hua Sun Deok-chun Yang
한국약용작물학회 추계학술발표회	trnLF, ndhF 염기서열을 이용한 한약재 신이(<i>Magnolia Flos</i>)의 유연관계 확인 및	노종훈, 김명겸, 베갈마, 양덕춘

	중감별 분자마커 개발	
한국약용작물학회 추계학술발표회	Lactobacillus sp.6105의 효소에 의한 인삼사포닌의 전환	김세화, 김호빈, 민진우, 전립호, 양덕춘
한국약용작물학회 추계학술발표회	stenotrophomonas ginsengisoli sp. nov, isolated from soil of a ginseng field	sathivarai srinivasan, Myung-Kyun Kim, Yeon-Ju Kim , Deok Chun Yang
한국약용작물학회 추계학술발표회	인삼 cDNA로부터 glutamate decarboxylase(GAD)의 molecular cloning과 스트레스 반 응에 의한 다른 발현	이정혜, 라마 크리시나폴라, 김 유진, 정대영, 민진우, 김세화, 양덕춘
한국약용작물학회 추계학술발표회	Multiplex - PCR을 이용한 한약 재 승마(Genus Cimicifurga)의 구 별	노종훈, 김명겸, 배갈마, 양덕춘
한국약용작물학회 추계학술발표회	Bioconversion of ginsenoside Rd into compound K by Lactobacillus pentosus LH6 isolated from Kimchi	Lin-hu Quan, Ho-Bin Kim, Se-Hwa Kim, Yeon-Ju Kim, Deok Chun Yang
한국약용작물학회 추계학술발표회	ITS, trnL-F 염기서열을 이용한 한 약재 하고초 (Prunella Spike)의 기원 및 유연관계	배갈마, 김명겸, 노종훈, 양덕춘
한국자원식물학회 추계학술발표회	Transformation of Gypenoside(Gynostemma pentaphyllum saponin) by Enzymes isolated from Aspergillus niger	Jin-woo Min, Hyun-myung Lee, Se-hwa Kim , Deok-chun Yang
한국자원식물학회 한국자원식물학회 추계학술발표회	Beta-glucoside 활성을 가진 미생 물의 인삼사포닌 전환	김세화, 김호빈, 박민주, 민진 우, 전립호, 양덕춘
한국자원식물학회 한국자원식물학회 추계학술발표회	Patulibacter soli sp. nov. Isolated from Ginseng field	Rama Krishna Pulla, Myung-kyum Kim, Srinivasan Sathiyaraj , Deok-chun Yan
한국자원식물학회 한국자원식물학회 추계학술발표회	Ginsenoside Rb1 변환 활성을 가 진 Lysobacter sp. DCY21의 분 리 및 특성검정	김호빈, 박민주, 김세화, 전립 호, 양덕춘
한국자원식물학회 한국자원식물학회 추계학술발표회	Brevibacillus ginsengihumi sp. nov., Isolated from soil of a ginseng field	Srinivasan Sathiyaraj, Myung-kyum Kim Deok-chun Yang
한국자원식물학회 한국자원식물학회 추계학술발표회	In vitro Transformation of Ginsenoside Rd to Ginsenoside F2 by Enzymes isolated from Leuconostoc fallax LH3	Lin Hu Quan, Ho-bin Kim, Min-ju Park, Se-hwa Kim , Deok-chun Yang
한국자원식물학회 한국자원식물학회 추계학술발표회	자원식물로부터 미생물을 이용하고 부가가치 기능성 물질의 대량생산	양덕춘, 김세화, 민진우, 인준교, 이범수, 김종학
한국자원식물학회 한국자원식물학회 추계학술발표회	Phylogenetic analysis of Angelicae tenuissimae Radix (Go-bon) on the basis of ITS and trnL-F Sequences	Jigden Baigalmaa, Myung -kyum Kim, Jong-hun Noh , Deok-chun Yang
한국자원식물학회 한국자원식물학회 추계학술발표회	Isolation and characterization of Alcohol Dehydrogenase (ADH) gene from Panax ginseng	Yu-jin Kim, Ju-sun Shim, Jung-hye Lee, Dae-young Jung, Jun-gyo In, Bum-soo Lee , Deok-chun Yang
한국자원식물학회	Molecular characterization of cDNA	Rama Krishna Pulla,

한국자원식물학회 추계학술발표회	Encoding Ribonuclease2(RNase2) from Panaxginseng	Myung-kyum Kim, Shohana Parvin, Neha Wasnik, S Sathiyamoorthy, Kalai Selvi ,Deok-chun Yang
한국자원식물학회 한국자원식물학회 추계학술발표회	Isolation and characterization of NADP-isocitrate dehydrogenasegenefrom gene from Panax ginseng C.A.Meyer	Shohana Parvin, Rama Krishna Pulla, Yu-jin Kim, Ju-sun Shim, Jung-hye Lee ,Deok-chun Yang
한국자원식물학회 한국자원식물학회 추계학술발표회	Molecular Authentication of Korean ginseng cultivar 'Chunpoong'byamplification refractory mutation system(ARMS)-PCR	Hong-tao Wang, Hua Sun , Woo-saeng Kwon , Deok-chun Yang
한국자원식물학회 한국자원식물학회 추계학술발표회	Isolation and expression analysis of a Novel Major Latex-like Protein (MLP151) gene from Panax ginseng	Hua Sun, Myung-kyum Kim, Rama Krishna Pulla, Yu-jin Kim , Deok-chun Yang
한국자원식물학회 한국자원식물학회 추계학술발표회	Transformation of Gypenoside V by using Microbacterium Esteraromaticum GS514 isolatedfromginsengfield	Jin-woo Min, Se-hwa Kim, Ho-bin Kim ,Deok-chun Yang
한국자원식물학회 한국자원식물학회 추계학술발표회	Phylogenetic analysis of Cimicifuga Rhizome on the BasisofDNAsequences	Jong-hun Noh, Myung-kyum Kim, Jigden Baigalmaa , Deok-chun Yang
2009		
한국자원식물학회 춘계학술대회2009	Sediminibacterium ginsengisoli sp.nov., $\alpha\beta$ -glucosidase producing bacterium isolated from soil of a ginseng field	Yeon-Jin Kim, Myung Kyum Kim, ThiPhuong NamBui, SrinivasanSathiyaraj, Ho-Bin Kim, Zhi-qi Liang , Deok-Chun Yang
한국자원식물학회 춘계학술대회	Stenotrophomonasginsengisolispp.nov.,abacteri umisolatedfromaginsengfield	Ho-Bin Kim, Lin-Hu Quan,Jin-Ying Piao, Yeon-Ju Kim, Sathiyaraj Srinivasan, Thi Phuong NamBui,Deok-Chun Yang
한국자원식물학회 춘계학술대회	Trnasformationofginsenosideby <i>Prunusmume</i> f ruitExt	Hyo-Yun Kim, Jin-Woo Min, Mi Jang, Na-Ri Son,Deok-Chun Yang
한국자원식물학회 춘계학술대회	hodanobactersolispp.nov.,isolatedfromsoilofagin sengfieldinSouthKorea	Thi Phuong Nam Bui, Yeon-Ju Kim,Sathiyaraj Srinivasan, Ho-Bin Kim, Deok-Chun Yang
한국자원식물학회 춘계학술대회	Confirming of Origin of MagnoliaeFlos on the DNA analysis method and Identification	Jong-Hun Noh, Sun-Hua, Baigalmaa Jigden, Deok-Chun Yang
한국자원식물학회 정기총회 및 춘계학술대회	Transformation of Protopanaxadiol Type ginsensi defrom <i>Panaxginseng</i> by UsingFoodenzymes	Jin-Woo Min, Na-Ri Son, Mi Jang, Hyo-Yun Kim, Deok-Chun Yang
한국자원식물학회 정기총회 및 춘계학술대회	TransformationofginsenosideRb ₁ intoF ₂ by <i>Lacto</i> <i>bacilluscurvatus</i> JS106isolatedfrom Kimchi	Jin-Ying Piao, Ho-Bin Kim, Lin-Hu Quan, Se-Hwa Kim, ,Deok-Chun Yang
한국자원식물학회 정기총회 및 춘계학술대회2009	MolecularIdentificationofGenus <i>Ligusticum</i> "Go- Bon"byMultiplexPCR	JigdenBaigalmaa, Jong-Hun

.05.08		Noh,Deok-Chun Yang
한국자원식물학회 정기총회 및 춘계학술대회	Microbacterium solisp.nov., ana-glucosidase producing bacterium isolated from soil of ginseng field	Sathiyaraj Srinivasan, Gayathri Sathiyaraj, Ho-Bin Kim, Yeon-Ju Kim, Deok-Chun Yang
자원식물학회 추계	Polygalacturonase inhibiting protein : isolation, developmental regulation and pathogen related expression in <i>Panax ginseng</i> C.A.Meyer	Gayathri Sathiyaraj, Sathiyaraj Srinivasan, Sathiyamoorthy Subramaniam, Yu-Jin Kim, Yeon-Ju Kim, Woo-Saeng Kwon, Deok-Chun Yang
자원식물학회 추계	Isolation and Characterization of Cysteine Proteinase Inhibitor gene from <i>Panax ginseng</i> C.A.Meyer	dae-young jung , Yu-jin kim , Jung-Hye Lee, Rama Krishna Pulla, Gayathri Sathiyaraj, Ju-Sun Shim, Deok-Chun Yang
자원식물학회 추계	Isolation and Characterization of a peroxidase gene from <i>Panax ginseng</i> C.A.Meyer	Yu-jin kim , Ju-Sun Shim, Jung-Hye Lee, dae-young jung Deok-Chun Yang
자원식물학회 추계	Isolation and Characterization of glycolate oxidase gene from <i>Panax ginseng</i> C.A.Meyer	shohana parvin , rama krishpulla , yu jinkim, gayathri sathiyaraj, altanzul khorolragchaa, jungyoin, deokchunyang
고려인삼학회 춘계 고려인삼연구와 산업 2009.05.22	Bioconversion of ginsenoside Rb1 into F2 by <i>Lactobacillus curvatus</i> JS106 isolated from Kimchi	Jin-Ying Piao, Ho-Bin Kim, Lin-Hu Quan, Se-Hwa Kim, Deok-Chun Yang
고려인삼학회 춘계 고려인삼연구	Bioconversion of ginsenoside Rb1 into F2 by <i>Lactobacillus curvatus</i> JS106 isolated from Kimchi	Jin-Ying Piao, Ho-Bin Kim, Lin-Hu Quan, Se-Hwa Kim, Deok-Chun Yang
고려인삼학회 춘계 고려인삼연구	Molecular Characterization of cDNA Encoding RNase2 from <i>Panax ginseng</i> and <i>Agrobacterium</i> mediated Transformation of RNase2 into Tobacco and <i>Arabidopsis</i>	Rama Krishna Pulla, Shohana Parvin Jhuma, Ju sun Shim, Yu-Jin Kim, Jun-Gyo In, Kalai Selvi Senthil, Deok-Chun Yang
고려인삼학회 춘계 고려인삼연구	Isolation and Characterization of Spermidine Synthase Gene from <i>Panax ginseng</i> C.A.Meyer	Shohana Parvin, Rama Krishna Pulla, Yu-Jin Kim, Deok-Chun Yang
고려인삼학회 춘계	Isolation and Characterization of Spermidine Synthase Gene from <i>Panax ginseng</i> C.A.Meyer	Shohana Parvin, Rama Krishna Pulla, Yu-Jin Kim, Deok-Chun Yang
고려인삼학회 춘계	Isolation and Characterization of Sesquiterpene Synthase Gene from <i>Panax ginseng</i> C.A.Meyer	Altanzul Khorolragchaa, Shohana Parvin, Neha G. Wasnik, Yu-Jin Kim, Deok-Chun Yang
고려인삼학회 춘계 고려인삼연구	Bioconversion of ginsenoside Rb1 into F2 by <i>Lactobacillus sakei</i> LH1 isolated from Kimchi	Lin-Hu Quan, Ho-Bin Kim, Jin-Ying Piao, Se-Hwa Kim, Deok-Chun Yang

고려 인삼학회 추계	산처리에 의한 ginsenoside Rb1, Rb2, Rc 의 minor 사 포닌 으로의 전환	장미, 민진우, 손나리, 김효연, 양덕춘
고려인삼학회 추계 고려인삼연구	Transformation of ginsenoside Rb1 and Rctoginse noside Rg3 by <i>Microbacterium</i> ester aromaticum GS514	손 나리, 민진우, 장미, 김효연, 양덕춘
고려인삼학회추계	Exploring the Transcriptome of <i>Withania somnifer</i> a, an Important Indian Medicinal Plant	<i>Neha G. Wasnik, Kalaiselvi Senthil, Sathiyamoorthy</i> Subramaniam, Veena Vaidyanathan, Pulla Ramakrishna, Myung Kyum Kim, Deok-Chun Yang
고려인삼학회 추계 고려인삼연구	Molecular Characterization of a Novel Thaumatococcal Protein (TLP) Gene from <i>Panax ginseng</i>	<i>Yu-Jin Kim, Ju-Sun Shim,</i> Jung-Hye Lee, Dae-Yung Jung, Jun-Gyo In, Deok-Chun Yang
고려인삼학회추계	The Effect of Various Hormones on the Formation of Adventitious Root and Callus in <i>Gynostemma pent</i> <i>aphyllum</i>	Dae-Yung Jung, Yu-Jin Kim, Ju-Sun Shim, Jung- Hye Lee, Jun-Gyo In, Deok-Chun Yang
2009.05.22 고려인 삼학회추계	Isolation and Characterization of a Sucrose Synthase (SUS) Gene from <i>Panax ginseng</i>	<i>Jung-Hye Lee, Yu-Jin Kim, Rama Krishna Pulla, Ju-</i> <i>Sun</i> Shim, Dae-Yung Jung, Deok-Chun Yang
2009.12.04 고 려 인삼학회 추계 고려인삼	Polygalacturonase inhibiting protein: isolation, developmental regulation and pathogen related expression in <i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer	Gayathri Sathiyaraj, Sathiyaraj Srinivasan, Sathiyamoorthy Subramaniam, Yu-Jin Kim, Yeon-Ju Kim, Woo-Saeng Kwon, Deok Chun Yang
2009.12.04 고려 인삼학회 추계	Isolation and Characterization of Spermidine Synthase Gene from <i>Panax</i> <i>ginseng</i> C.A. Meyer	Shohana Parvin, Yeon-Ju Kim, Rama Krishna Pulla, S. Sathiyamoorthy, Md. Giashuddin Miah, Yu-Jin Kim, Neha G Wasnik, Deok-Chun Yang
고려인삼학회추계 고려인삼	Molecular identification of the <i>Panax ginseng</i> Cultivar "Gumpoong" based on 26SrDNA	Hongtao Wang, Hua Sun, Woo-Saeng Kwon, Deok-Chun Yang
고려 인삼학회 추계 고려인삼 연구와 산업	인삼(<i>Panax ginseng</i> C.A Meyer) 으로부터 Defensin 유전자의 분리 및 발현 특성 분석	인준교, 김은정, 이범수, 최 광태, 최관삼, 이정혜, 양덕춘
고려 인삼학회 추계 고려인삼 연구와 산업	포삼유래 고기능성 사포닌 compound K 생산 균주 분 리 및 특성 분석	인준교, 이범수, 최광태, 전임호, 박금영, 민진우, 양덕춘
고려 인삼학회 추계 고려인삼 연구와 산업	Bioconversion of ginsenoside Rb1 into F2 by food en zyme from <i>Humicola insolens</i> .	Na-Ri Son, Jin-Woo Min, Mi Jang, Hyo-Yeon Kim, Deok-Chun Yang

고려 인삼학회 추계 고려인삼 연구와 산업	IsolationandIdentificationof <i>Lactobacillusbuchneri</i> DCY 40which converting ginsenoside Rb ₁ toF ₂ andCompound-K	Ho-Bin Kim, Sang-Rae Kim, Lin-Hu Quan, Deok-Chun Yang
고려 인삼학회 추계 고려인삼 연구와 산업	Isolationandcharacterizationof <i>Sphingomonas</i> DCY40fromGinsengField	Sang-Rae Kim, Ho-bin Kim, Lin-hu Quan, Deok-Chun Yan
고려 인삼학회 추계 고려인삼 연구와 산업	Bioconversion of ginsenoside Rb ₁ intocompoundKby <i>Leuconostoc</i> <i>mesenteroides</i> LH2isolatedfrom Kimchi	Lin-Hu Quan, Jin-Ying Piao, Jin-Woo Min, Ho-Bin Kim, Sang-Rae Kim, Deok-Chun Yang
고려 인삼학회 추계 고려인삼 연구와 산업	ConversionofGinsenosideRb ₁ byFungala- <i>amylase</i> producedfrom <i>Aspergillusoryzae</i>	Mi Jang, Jin-Woo Min, Na-Ri Son, Hyo-Yeon Kim, Deok-Chu yang
고려 인삼학회 추계 고려인삼 연구와 산업	CloningExpressionandFunctional Characterizationofa <i>Prx</i> GenefromGinseng	Ju-Sun Shim, Yu-Jin Kim, Dea-Young Jung, Jung-Hye Lee, Deok-Chun Yang
고려 인삼학회 추계 고려인삼 연구와 산업	BioconversionofGinsenosideRb ₁ bycrudeenzym esproducedfrom <i>Leuconostoc</i> <i>lactis</i> JY1120	Jin-Ying Piao, Lin-Hu Quan, Jin-WooMin, Ho-BinKim, Deok-Chun Yang
고려 인삼학회 추계 고려인삼 연구와 산업	PurificationofginsenosideRb ₁ hydrolyzingenzym efrom <i>L.cremoris</i>	Jin-Woo Min, Na-Ri Son, Mi Jang, Hyo-Yeon Kim, Lin-hu Quan, Deok-Chun Yang
고려 인삼학회 추계 고려인삼 연구와 산업	TheconversionofGinsenosidebyheatandacidicp rocessed	Hyo-Yun Kim, Jin-Woo Min, Mi Jang, Na-Ri Son, Deok-Chun Yang
고려 인삼학회 추계 고려인삼 연구와 산업	Molecularcharacterizationofacysteineproteinasin ehibitor, <i>PgCPI</i> ,from <i>Panaxginseng</i> C.A.Meyer	Dae-Young Jung, Ok-Ran Lee, Yu-Jin Kim, Jung-Hye Lee, Rama Krishna Pulla, Gayathri Sathiyaraj, Ju-Sun Shim, Deok-Chun Yang
고려 인삼학회 추계 고려인삼 연구와 산업	Generationandgeneontologybasedanalysisofex pressedsequencetags(EST)froma <i>Panaxginseng</i> C.A.Meyerroots.	Subramaniam Sathiyamoorthy, Jun-Gyo In, Sathiyaraj Gayathri, Yeon-JuKim ,Deok-Chun Yang
2009.10.26-27한 국식물과학협의회	Isolationandcharacterization of a peroxidase gene from <i>Panaxginseng</i> C.A.Meyer	Yu-Jin Kim, Ju-SunShim, Jung-Hye Lee, Dae-Young Jung, Jun-Gyo In, Deok-Chun Yang
2009.10.26-27한 국식물과학협의회	Polygalacturonase inhibiting protein : isolation, developm ental regulation and pathogen relatedexpressionin <i>Panax</i> <i>ginseng</i> C.A.Meyer	Gayathri Sathiyaraj, Sathiyaraj Srinivasan, Sathiyamoorthy Subramaniam, Yu-Jin Kim, Yeon-Ju Kim, Woo-SaengKwon, Deok-Chun Yang
2009.10.26-27한 국식물과학협의회	Isolation and Characterization of Glycolate Oxidase Gene from PPanaxginsengC.A.Meyer	Shohana Parvin, Rama Krishna Pulla, Yu-Jin Kim, Gayathri Sathiyaraj, AltanzulKhorolragchaa, Jun Gyo In, Deok-Chun Yang
2009.06.25	Microbacteriumginsengiterrae	Yeon-Ju Kim, Myung Kyum Kim, Thi

TheKorean Society for Microbiology Biochnology	sp.nov.,aβ-glucosidase Producing Bacterium,isolated fromsoilofaginsengfield	Phuong Nam Bui, Ho-Bin Kim, Sathiyaraj Srinivasan, Deok-Chun Yang
2009.06.25 TheKorean Society for Microbiology Biochnology	Devosiaterraesp.nov.,a Bacterium Isolated from Soil inaGinsengField 2009.06.25 The Korean Society forMicrobiologyBiochnology	Yeon-Ju Kim,Myung Kyum Kim, Wang-Yeon Weon, Thi Phuong Nam Bui, Sathiyaraj Srinivasan, Deok-Chun Yang
2009.06.25 TheKorean Society for Microbiology Biochnology	A gene encoding a polygalacturonase-inhibiting protein (PGIP) shows developmental regulation and pathogen-inducedexpressionin PanaxginsengC.A.Meyer 2009.05.12 Korean Society for Biochemistry and Molecular Biology	GayathriSathiyaraj,Srinivasan Sathiyaraj, Yeon-Ju Kim, Yu-Jin Kim,Deok-Chun Yang
2010년~		
응용생명화학회	Hydrogenophaga temperata sp. nov., a motile bacterium not utilizing sugar	yeon-ju kim.myung kyum kim,ho-bin kim, deok-chun yang
고려인삼학회 2010.9.13-09.16	TransformationofGypenosideVbyusingMicroba cteriumEsteraromaticumGS514IsolatedfromGin sengField	Jin-Woo Min, Se-Hwa Kim, Ho-Bin Kim, Deok-Chun Yang
고려인삼학회 2010.9.13-09.16	TransformationofProtopanaxadioltypeGinsenos idefromPanaxginsengbyusingFoodEnzymes.	Jin-Woo Min, Na-Ri Son, Hyo-Yeon Kim, Ji-Na Jeon, Ho-Bin Kim, Deok-Chun Yang
고려인삼학회 2010.9.13-09.16	MolecularCloning,FunctionalExpressionandCha racterizationofTerpeneSynthaseGenefromPana xginsengC.A.Meyer	Ah- Rom Ham, Jin-Woo Min, Ha-Na Kim, Deok-Chun Yang
고려인삼학회추계	expression analysis of sesquiterpene synthase gene from panax ginseng C.A Meyer	Altanzulkhorolragchaa,ok-ran lee,shohanaparvin,gaythri sathiyaraj,sri renuka deviB,Yu-jinkim,deokchun yang
고려인삼학회 춘계	Functional and comparative genomic analysis of the panax ginseng C.A Meyer	SubramanuyamSathiyamoorthy ,Yu-jin kim,Jun-gyo in,ok ran lee,deok-chun Yang
고려인삼학회 춘계	고려인삼게놈프로젝트 수행에 의한 인삼홍보의 극대화	인준교,김유진,사티무띠,김옥란 최광태,양덕춘
고려인삼학회 춘계	외국삼 판별을 위한 snp분자마터및 분석시스템개발	인준교,최광태,양덕춘
일본riken	ginseng genetic resources bank(GGRB) IN KOREA	양덕춘
자원식물학회추계	DNA분석법에의한한약재굴핵(橘核),형개(荊芥)와 하고초(夏枯草)의 종감별	김민경, 문제열, 왕홍도, 칭가우, 사티무띠, 권우생, 양덕춘

자원식물학회추계	인삼근권토양으로부터 <i>Flavobacterium</i> DCY55 균주의 분리 및 동정	김상래, 김호빈, 은구벤 은곡 란, 황반 안, 전립호, 김연주, 양덕춘*
자원식물학회추계	<i>Bacillus ginsensis</i> sp. nov., isolated from soil of a ginseng field	Ngoc-Lan Nguyen, Yeon-Ju Kim, Van-An Hoang, Thi Phuong Nam Bui, Sang-Re Kim, Ho-Bin Kim, Deok-Chun Yang
자원식물학회추계	Identification and Characterization of Cytochrome P450 (CYP96A) from <i>Panax ginseng</i>	Sri Renuka Devi, B. Ok Ran Lee, Altanzul Khorolragchaa, Gayathri Sathiyaraj, Shohana Parvin, Yu-Jin Kim, Deok-Chun Yang
자원식물학회추계	In silico Analysis for Expressed Sequence Tags from Embryogenic Callus and Flower Bud of <i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer	Subramaniyam Sathiyamoorthy, Jun-Gyo In, Min-Kyeoung Kim, Ramya Mathiyalagan, Sathishkumar Natarajan, Deok-Chun Yang
자원식물학회추계	산처리에 의한 Gypenoside V의 minor ginsenosides로의 전환	손나리, 민진우, 장미, 김효연, 양덕춘
자원식물학회추계	Gypenoside V로부터 minor ginsenosides의 생산	손나리, 민진우, 장미, 김효연, 전지나, 양덕춘
자원식물학회추계	<i>Pedobacter ginsengiterrae</i> DCY49 ^T sp. nov., isolated from ginseng soil in South Korea	Van An Hoang, Yeon-Ju Kim, Thi Phuong Nam Bui, Ngoc Lan Nguyen, Ho-Bin Kim, Deok-Chun Yang
자원식물학회추계	Isolation and Identification of <i>Lactobacillus kimchicus</i> sp. nov. and bioconversion of ginseng saponin	zhiqi liang, ho bin kim, yeon-ju kim, hong-tao wang, deokchun yang
자원식물학회추계	Development of a multiplex ARM-PCR for simultaneous authentication of Korean ginseng cultivars "Gumpoong" and "Chungsun"	HongTaoWang, Woo-SaengKwon, Min-KyeoungKim, Deok-ChunYang*
자원식물학회추계	인삼사포닌 중 ginsenoside Rb1의 마우스 체열반응에 미치는 영향	인준교, 민진우, 양덕춘, 김길수
자원식물학회추계	홍삼농축액에서 <i>Saccharomyces ellipsoideus</i> 와 <i>Saccharomyces bayanus</i> 에 의한 ginsenosides의 bioconversion	장미, 민진우, 손나리, 김효연, 양덕춘
자원식물학회추계	Bioconversion of ginsenoside Rb1 into compound K by <i>Lactobacillus brevis</i> DCY102 isolated from Kimchi	Lin-Hu Quan · Ho-Bin Kim · Jin-Woo Min · Sang-Rae Kim · Deok Chun Yang
작물기능유전체학	expression Analysis of POLYGALACTURONASE inhibiting protein gene from <i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer	Gayathri Sathiyaraj, Yu-Jin Kim, Shohana Parvin, Altanzul Khorolragchaa, Ok Ran Lee, Jun Gyo In, Deok-Chun Yang
작물기능유전체학	MODULATION OF SPERMIDINE LEVELS IN GINSENG HAIRY ROOTS SUBJECTED TO LONG-TERM SALT STRESS	Shohana Parvin, Ok Ran Lee, Gayathri Sathiyaraj, Yu-Jin Kim, Altanzul Khorolragchaa, Jun Gyo In, Deok-Chun Yang
작물기능유전체학	MOLECULAR CHARACTERIZATION OF SESQUITERPENE SYNTHASE GENE FROM PANAX GINSENG C.A. MEYER	Altanzul Khorolragchaa, Shohana Parvin, Gayathri Sathiyaraj, Yu-Jin Kim, Ok Ran Lee, Jun Gyo In, Deok-Chun Yang
작물기능유전체학	COMPARATIVE GENOMICS OF THE <i>PANAX GINSENG</i> C.A. MEYER	Subramaniyam Sathiyamoorthy, Jun Gyo In, Yu-Jin Kim, Ok Ran Lee, Deok-Chun Yang
작물기능유전체학	MOLECULAR CHARACTERIZATION AND EXPRESSION	Yu-Jin Kim, Ok Ran Lee, Ju-Sun Shim, Gayathri Sathiyaraj, Shohana Parvin, Bum Soo Lee, Jun Gyo In

	ESSIONPROFILINGOFSEVERALGENESINPAN AXGINSENGC.A.MEYER	,DeokChunYang
작물기능유전체학	THE GINSENG EST DATABASE	SubramaniyamSathiyamoorthy,JunGyoIn,Yu-J inKim,Deok-ChunYang.
작물기능유전체학	TRANSCRIPTOMEOKOREANGINSENG(PAN AXGINSENG)ROOT	JunGyoIn,BumSooLee,SubramaniyamSathiya moorthy,YuJinKim,ShohanaParvin,GayathriSa thiyaraj,AltanzulKhorolragchaa,DeokChunYan g
작물기능유전체학	TRANSCRIPTOMEOKOREANGINSENG(PAN AXGINSENG)ROOT	JunGyoIn,BumSooLee,SubramaniyamSathiya moorthy,YuJinKim,ShohanaParvin,GayathriSa thiyaraj,AltanzulKhorolragchaa,DeokChunYan g
secnod-china ihb20101019	The role of ginseng bank in korea to develop an advanced nation	deokchun yang
춘계자원식물학회 2010.5	Molecular identification of Korean ginseng cultivar "Chunpoong"usingthemitochodrialnad7intron4r egion	Hong-tao Wang, Min-kyeoung Kim, Woo-Saeng Kwon,Deok-Chun Yang
춘계자원식물학회 2010.5	홍삼농축액에서Saccharomycescerevisiae와Sac charomycescarlsbergensis에의한Ginsenosides 의bioconversion	장미, 민진우, 김주환, 김세영, 양덕춘
춘계자원식물학회 2010.5	MultiplexPCR을이용한한약재상엽(Morusalba)검 증	김민경, 왕홍도, 권우생, 양덕춘
춘계자원식물학회 2010.5	인삼근권토양으로부터FlavobacteriumDCY53균 주의분리및동정	김상래, 김호빈, 전립호, 전지나, 김연주, 양덕춘
춘계자원식물학회 2010.5	인삼사포닌분해효소활성을가진유산균을이용한Gi nsenoside의전환	김호빈, 김상래, 전립호, 남, 양지제, 김연주, 양덕춘
춘계자원식물학회 2010.5	Transformation of Ginsenoside Rd by heat treatment process	Hyo-Yun Kim, Jin-Woo Min, Mi Jang, Na-Ri Son, Deok-Chun Yang
춘계자원식물학회 2010.5	Lactobacilluskimchii유래정제효소에의한인삼사 포닌의전환	민진우, 손나리, 전립호, 장미, 김효연, 전지나, 양덕춘
춘계자원식물학회 2010.5	COMPARATIVEGENOMICSOFTHEPANAXGIN SENGC.A.MEYER	Subramaniyam Sathiyamoorthy, Jun-Gyo In, Yu-Jin Kim, Ok Ran Lee , Deok-Chun Yang
춘계자원식물학회 2010.5	ConversionofmajorginsenosideRb1tominorgins enosidesbyLactobacillusnagelii	Na-Ri Son, Jin-Woo Min, Hyo-Yeon Kim, Ji-Na Jeon,Deok-Chun Yang
춘계자원식물학회 2010.5	김치로부터β-glucosidase을생산하는신종Lactob acilluskimchicus분리및동정	양지제, 싸띠, 김호빈, 김연주, 양덕춘
춘계자원식물학회 2010.5	추출 조건 및 분석방법에 따른 인삼사포닌 조성차이	전지나, 민진우, 손나리, 김효연, 양덕춘
춘계자원식물학회 2010.5	인삼으로부터 분리한 sesquiterpene synthase 유전자의 발현 분석	조아, 이옥란, 쇼하나, 가야쓰리, 김유진, 싸티무띠, 양덕춘
2011		
고려인삼학회	2011.4.28	
고려인삼학회 2011.4.28	Molecular authentication of Panax ginseng and gin seng products using robust SNP markers in riboso malexternaltranscribedspacerregion	HongtaoWang,Min-KyeoungKim,Woo-Saeng Kwon,Deok-ChunYang
고려인삼학회	Influence of Potassium Nitrate on Antioxidant Leve ls and Secondary Metabolite Genes under Cold Stre ss in Panax ginseng	Balusamy Sri Renuka Devi, Yu Jin Kim, Senthil Kal ai Selvi, Sathiyaraj Gayathri, Khorolragchaa Alta nzul, Shohana Parvin, Donk-Uk Yang, Ok Ran

2011.4.28		Lee, ,Deok-Chun Yang
고려인삼학회 2011.4.28	Exogenous spermidine alleviates the growth of saline-stressed <i>Panax ginseng</i> seedling through antioxidant defense system	Shohana Parvin, Ok Ran Lee, Gayathri Sathiyaraj, Altanzul Khorolragchaa, Yu Jin Kim, Sri Renuka Devi ,Deok Chun Yang
고려인삼학회 2011.4.28	Gene expression of some glycosyltransferase genes in ginseng tissues and adventitious root culture elicited by methyl jasmonate	Altanzul Khorolragchaa, Ok Ran Lee, Subramaniyam Sathiyamoorthy, Sri Renuka Devi Balusamy, Yu Jin Kim, Gayathri Sathiyaraj, Shohana Parvin, Deok Chun Yang
고려인삼학회 2011.4.28	Transcript profiling of antioxidant genes during biotic and abiotic stresses in <i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer	Gayathri Sathiyaraj, Ok Ran Lee, Shohana Parvin, Altanzul Khorolragchaa, Yu-Jin Kim, Deok-Chun Yang
고려인삼학회 2011.4.28	Molecular modelling approach to identify potential inhibitor of MMP9 from <i>Panax ginseng</i>	Mathiyalagan Ramya, Natarajan Sathishkumar, Subramaniyam Sathiyamoorthy, Deok-Chun Yang
고려인삼학회 2011.4.28	Discovery of potential inhibitors of BRCA1 protein from <i>Panax ginseng</i> using molecular simulations	Natarajan Sathishkumar, Subramaniyam Sathiyamoorthy, Mathiyalagan Ramya, Deok-Chun Yang
고려인삼학회 2011.4.28	단일인삼사포닌투여에 의한 마우스의 유전자 발현 프로파일링 분석	인준교, 안인옥, 강제용, 민진우, 양덕춘, 김길수
자원식물학회 2011 .4.29-30	인삼 사포닌 생합성에 관여하는 유전자들의 특성 검정	김유진, 이옥란, 가야쓰리, 주마, 조아, 레누카, 양덕춘
자원식물학회 2011 .4.29-30	인삼 기능성 식품소재의 개발	양덕춘
자원식물학회 2011 .4.29-30	<i>Microbacterium panaciterrae</i> sp. nov., isolated from soil of ginseng field	Ngoc-Lan Nguyen, Yeon-Ju Kim, Van-An Hoang, Sang-Rae Kim, Jin-Woo Min, Ji-Na Jeon, Lin-Hu Quan, Zhi-Qi Liang, Deok-Chun Yang.
자원식물학회 2011 .4.29-30	<i>Hymenobacter ginsengis</i> sp. nov., isolated from soil of ginseng field	Van-An Hoang, Yeon-Ju Kim, Ngoc Lan Nguyen, Sang-Rae Kim, Jin-Woo Min, Ji-Na Jeon, Lin-Hu Quan, Zhi-Qi Liang, Deok-Chun Yang
자원식물학회 2011 .4.29-30	Brassicaceae functional metabolite database	Sathiyamoorthy Subramaniyam, Ramya Mathiyalagan, Sathishkumar Natarajan, Yeon-ju Kim, Deok-Chun Yang
자원식물학회 2011 .4.29-30	In silico chemical genomics analysis to annotate <i>Brassicaceae</i> metabolites	Sathiyamoorthy Subramaniyam, Ramya Mathiyalagan, Sathishkumar Natarajan, Yeon-ju Kim, Deok-Chun Yang
자원식물학회 2011 .4.29-30	3년근 고려인삼의 시기별 진세노사이드 함량 분석과 항산화 활성	전지나, 민진우, 전립호, 김상래, 김연주, 양덕춘
자원식물학회 2011 .4.29-30	<i>Lactobacillus</i> 속 균주에 의한 Major 인삼사포닌의 Rg2로의 전환	민진우, 전립호, 전지나, 안, 김상래, 김연주, 양덕춘
자원식물학회 2011 .4.29-30	Cloning and characterization of β -glucosidase from <i>Microbacterium lacticum</i> GS514 and its bioconversion of ginsenosides Re and Rg1	Lin-Hu Quan. Jin-Woo Min. Sang Rae Kim. Ji-Na Jeon. Yeon-Ju Kim .Deok-Chun Yang
자원식물학회 2011 .4.29-30	Effect of glucosinolate biosynthetic genes in response to temperature stress in Brassicaceae	Balusamy Sri Renuka Devi, Ok Ran Lee, Yu Jin Kim, Sathiyaraj Gayathri, Shohana Parvin, Subramaniyam Sathiyamoorthy, Deok-Chun Yang
자원식물학회 2011 .4.29-30	인삼근권 토양으로부터 <i>Flavobacterium</i> DCY54,55 균주의 분리 및 동정 과정과 Ginsenoside Rb1의 전환	김상래, 김연주, 은구벤 은곡 란, 황반 안, 전립호, 전지나, 양덕춘
자원식물학회 2011	DNA 분석법에 의한 한약재 오가피(五加皮)의 종감별	김민경, 왕홍도, 칭가우, 김애경, 김진영,

.4.29-30		사티무띠, 람야, 사띠쉬쿠마, 쉬리프리야, 권우생, 양덕춘
Mol. Cell. 2011.10.6-7	Ginseng HMG Co-A reductase is regulated at the transcriptional level of isoprenoid biosynthesis pathway.	Yu-Jin Kim, Ok Ran Lee, Deok-Chun Yang
international Union of Microbiological Societies 2011 Congress 2011.9.6`10	Analysis of Microbial Diversity and Soil elements profiles in Ginseng cultivated soil	Yeon-JuKim, Ho-BinKim, Van-AnHoang, Ngoc LanNguyen, Jin-WooMin, Ji-NaJeon, Deok-ChunYang
약용작물학회 2011.9.21~22	Bioconversion of Gypenoside to minor ginsenoside using purified enzyme from <i>Aspergillus</i> sp	Jin- Woo min, Lin-hu Quan, Ji-Na Jeon, Deok-Chun Yang
약용작물학회 2011.9.21~22	Coculture fermentation of Red Ginseng Extract using Lactic Acid Bacteria	Ji-Na Jeon, Jin- Woo min, Lin-hu Quan, Hoang Van An, Nguven Ngoc Lan, Deok-Chun Yang
약용작물학회 2011.9.21~22	DNA분석법에 의한 한약재상업의 종감별	김민경, 사띠, 권우생, 양덕춘
자원식물학회 Oct 21-22, 2011.	<i>Sphingomonas ginsengisoli</i> sp. nov., Isolated from soil of Ginseng Soil	Van-An Hoang, Yeon-Ju Kim, Ngoc-Lan Nguyen, Ji Na jeon, Jin Woo Min , Deok-Chun Yang
자원식물학회 Oct 21-22, 2011.	<i>Delftia ginsengisoli</i> sp. nov., Isolated from soil of a Ginseng field	Ngoc-Lan Nguyen, Yeon-Ju Kim, Van-An Hoang, Jin-Woo Min, Zhi-qi Liang, Deok-Chun Yang
자원식물학회 Oct 21-22, 2011.	Authentication of <i>Acanthopanax</i> Cortex using DNA analysis techniques	Min-KyeoungKim, Myeong-SooJeong, Ah-KyungKim, Jin-Youngkim, SathiyamoorthySubramayam, RamyaMathiyalagan, SathishkumarNatarajan, ShreepriyaPonnuraj, Woo-SaengKwon, Deok-ChunYang
자원식물학회 Oct 21-22, 2011.	Enhancement of spermidine content and antioxidant capacity by modulating ginseng spermidine synthase in response to abiotic and biotic stresses	Shohana Parvin, Ok Ran Lee, Gayathri Sathiyaraj, Yu-Jin Kim, Altanzul Khorolragchaa , Deok-Chun Yang
고려인삼학회 2011.11.11	Researches for Genomics and Functional Materials of Korean Ginseng	Deok Chun Yang
고려인삼학회 2011.11.11	Acclimation of hydrogen peroxide enhances salt tolerance by the activation of antioxidant enzymes and defense related proteins in <i>Panax ginseng</i> C.A Meyer	Gayathri Sathiyaraj, Ok Ran Lee, Shonana Parvin, Altanzul Khorolragchaa, Yu-Jin Kim , Deok Chun Yang
고려인삼학회 2011.11.11	Overexpression of ginseng polygalacturonase inhibiting protein gene (PgPGIP) shows enhanced resistance against phytopathogens	Gayathri Sathiyaraj, Ok Ran Lee, Shohana Parvin, Yu-Jin Kim, Altanzul Khorolragchaa, Sri Renuka Devi , Deok-Chun Yang
고려인삼학회	Interrelationship between calmodulin (CAM) and H ₂ O ₂ in abscisic acid-induced antioxidant defense in the seedlings of	Shohana Parvin, Ok Ran Lee, Gayathri Sathiyaraj, Altanzul Khorolragchaa, Yu-Jin Kim, Balusamy Sri Renuka Devi ,

2011.11.11	Panax ginseng	Deok-Chun Yang
고려인삼학회 2011.11.11	The influence of culture conditions on anther culture of Panax ginseng C. A. Meyer	Altanzul Khorolragchaa, Ok Ran Lee, Yu Jin Kim, Shohana Parvin, Gayathri Sathiyaraj, Sri Renuka Devi Balusamy, Deok Chun Yang
고려인삼학회 2011.11.11	Biotransformation of ginsenoside Rb1 into compound K by a recombinant β -glucosidase from Microbacterium esteraromaticum GS514	Lin-Hu Quan, Yan Jin, Jin-Woo Min, Ji-Na Jeon, Yeon-Ju Kim, Deok-Chun Yang
고려인삼학회 2011.11.11	Enzymatic transformation of ginsenoside Rb1 to 20(S)-Rg3 by recombinant β -glucosidase from Microbacterium esteraromaticum	Lin-Hu Quan, Jin-Woo Min, Dong-Uk Yang, Gayathri Sathiyaraj, Yeon-Ju Kim, Deok-Chun Yang
고려인삼학회 2011.11.11	Production of the rare ginsenoside Rh2 by recombinant glycosidase from Microbacterium esteraromaticum GS514	Lin-Hu Quan, Chao Wang, Jin-Woo Min, Dong-Uk Yang, Subramaniyam Sathiyamoorthy, Deok-Chun Yang
2012 current pharmaceutical biotechnology 2012.2.14~15	Identification of BACE1 inhibitors from Panax ginseng using in silico screening and molecular modeling studies	Sathiyamoorthy Subramaniyam, Sathishkumar Natarajan, Lin-hu Quan, Deok-Chun Yang
고려인삼학회(2012.04.23-04.24)	Molecular docking studies of anti-apoptotic BCL-2, BCL-XL, and MCL-1 proteins with ginsenosides from Panax ginseng	Veerappan Karpagam, Natarajan Sathishkumar, Subramaniyam Sathiyamoorthy, Yeon-Ju Kim, Shila Samuel, Deok-Chun Yang
고려인삼학회(2012.04.23-04.24)	Changes of ginsenosides, Acidic Polysaccharides and Phenolic Compounds in Ginseng by 9 Repetitive Steaming and Drying Process	Natarajan Sathishkumar, Subramaniyam Sathiyamoorthy, Mathiyalagan Ramya, Deok-Chun Yang
고려인삼학회(2012.04.23-04.24)	Identification of microRNAs and their targets using deep sequencing for Panax ginseng C. A. Meyer roots	Yan Jin, Ji-Na Jeon, Chao Wang, Jin-Woo Min, Yeon-Ju Kim, Deok-Chun Yang
고려인삼학회(2012.04.23-04.24)	AGROBACTERIUM-MEDIATED TRANSFORMATION OF GLYCOSYLTRANSFERASE GENES FROM PANAX GINSENG AND THEIR EXPRESSIONS IN ABIOTIC STRESS CONDITIONS	Ramya Mathiyalagan, Sathiyamoorthy Subramaniyam, Sathishkumar Natarajan, Kim Yeon Ju, Deok Chun Yang
고려인삼학회(2012.04.23-04.24)	Wounding along with Methyl Jasmonate Showed Negative Effect on Cytochrome P450 Expression and Terpenoid Accumulation in Panax ginseng	Altanzul Khorolragchaa, Ok Ran Lee, Yu Jin Kim, Sri Renuka Devi Balusamy, Shadi Rahimi, Deok Chun Yang
한국약용작물학회	2012년 한국 약용작물학회 심포지엄 및 춘계 학술 발표회	
1	Chryseobacterium ginsengiterraesp.nov., a bacterium with ginsenoside converting activity isolated from soil of ginseng field	Van -An Hoang, Yeon-Ju Kim, Ngoc Lan Nguyen, Ji Na Joen, Jin Woo Min, Jin Yan, Deok-Chun Yang
2	Authentication of Epimedium Herba and adulterant plants by Multiplex PCR	Min-Kyeong Kim, Sathiyamoorthy Subramaniyam, Yeon-Ju Kim, Woo-Saeng, Kwon, Deok-Chun Yang
3	한약재 경천의 기원정립과 감별마커	김애경, 김민경, 김연주 이옥란 양덕춘
4	Chryseobacterium ginsengisolisp.nov., isolated from	ngoc-lannguyen, Yeon-Ju Kim, Van-An Hoang,

	rommountain ginseng soil	Jin Woo Min, Jin Yan, Wang Chao ,Deok-Chun Yang
5	근부병원인균정밀진달을위한MultiplexPCRprimer개발	황규현, 김희동, 이해길, 정구현, 안영남, 이정혜, 양덕춘
한국자원식물학회	2012년 한국자원식물학회정기총회 및 춘계학술발표회	신녹색성장시대의자원식물실용산업화
1	사포닌변환에 의한 맞춤형인삼제품개발	양덕춘,최광태
2	MultiplexPCR을이용한cynanchunwilfordii과cynanchumauriculatum 및 polygonum multiflorum간의 분자마커의 개발및 감별	김민경,이옥란, 김연주, 사티무띠, 권우생, ,이승룡 ,양덕춘
3	인삼경작지로부터 분리된 신규 미생물 chryseobacterium yeoncheonense sp.nov.,분리동정및 인삼사포닌 rb1으로부터 F2로의 전환 경로 탐색	홍반안, 김연주, 란, 전지나, 민진우, 김염,정선영, 왕초,양덕춘
4	인삼에서의 트리터페노이드 진세노사이드의 생합성	김유진, 이옥란, 양덕춘
5	구중구포 인삼 추출물 처리시 당노 세포의 소포체손상억제효과	프리야,김염,민진우화이자,셀비,김연주, 최광태,양덕춘
한국식물생명공학회	light-dependent expression of HMG-COA reductase regulates ginsenoside contents in Panax ginseng C.A Meyer	김유진,오지연,양덕춘 , 이옥란
20th international symposium on plant lipids ISPL 2012	triterpeneproductioninpanaxginsengC.A.Meyer and its modulation by HMG-COA reductase and oxidosqualene cyclases	김유진,오지연,양덕춘 이옥란

MOU

번호	날 짜	MOU체결대상	기 간
1	2007.06.25	중국연태대학교	3년(2007.06 -2010.06)
2	2007.11.18	중국 길림 인삼연구원	2년(2007.11 -2009.11)
3	2007.11.28	(주)뉴엘 경희대학교 생명공학원	1년(2007.11-200 8.11)
4	2008.05.28	홍천메디칼허브자원산업화연구소 & (주)바이오피아	고려인삼명품회사 업단 정부협약 기간 동안
5	2009.05.23	전라남도천연자원연구원	3년(2009.05~201 2.05)
6	2008.06.12	경희대학교 피부생명공학센터	2년(2008.06~201 0.06)
7	2009.02.27	한국생명공학원연구원자생식물이용기술개발사업단 진안군친환경홍삼한방산업클러스터사업단 재)진안홍삼연구소	1년(2009.02~201 0.02)
8	2009.05.28	전라남도천연자원연구원	3년(2009.05~201 2.05)
9	2009.08.03	인도 Avinashilingam University	3년(2009.08~201 2.08)
10	2009.11.24	농촌진흥청 국립농업과학원 농업유전자원센터	2년(2009.11~201 1.11)
11	2011.07.26	경희대 고려 인삼명품회사업단-경기도 농업기술원	고려인삼명품회사 업단 정부협약 기간 동안

홍보자료

날짜

TTV NEWS
(2007)



날짜

동 아 일 보
(2007.1.24)

美日日報 2007년 1월 24일 수요일

“건강식품 원료 43개중 29개 일부 효능 과학적 근거 없다”

건강식품 원료 43개중 29개 일부 효능 과학적 근거 없다. 식품의약품안전처가 건강기능식품 원료 43개 중 29개에 대해 효능에 대한 과학적 근거가 부족하다고 판단하여, 일부 원료의 효능에 대해 과학적 근거를 요구했다. 이는 건강기능식품 원료의 효능에 대한 과학적 근거를 요구하는 첫 번째 조치로, 소비자 보호를 위한 조치로 평가된다.

식품의약품안전처는 건강기능식품 원료 43개 중 29개에 대해 효능에 대한 과학적 근거가 부족하다고 판단하여, 일부 원료의 효능에 대해 과학적 근거를 요구했다. 이는 건강기능식품 원료의 효능에 대한 과학적 근거를 요구하는 첫 번째 조치로, 소비자 보호를 위한 조치로 평가된다.

한국아이닷컴
(2007.1.24)

한국아이닷컴 1월 24일 1페이지

hankooki.com 한국일보

“정보통신 산업의 커다란 보물 창고”

정보통신 산업의 커다란 보물 창고. IT 산업의 발전은 국가 경제의 성장에 크게 기여하고 있다. 특히, 인터넷과 모바일 통신의 보급은 소비자의 생활을 편리하게 만들고 있다. 정부는 이러한 발전을 촉진하기 위해 다양한 정책을 추진하고 있다.

한국경제신문
(2007.11.15)

경희대 고려인삼명품화사업단
고려인삼 명품화 위한 연구과제 수행

경희대 고려인삼명품화사업단. 고려인삼의 명품화를 위한 연구과제를 수행하고 있다. 이는 인삼의 품질을 높이고, 소비자의 건강을 증진시키기 위한 노력이다. 연구팀은 인삼의 재배, 가공, 유통 등 전 과정을 관리하고 있다.

중부일보국제
심포지움
(2007.12.11)

중부일보 2007년 12월 11일 화요일

고려인삼 국제 심포지움 12일부터 개최대사 개최

고려인삼 국제 심포지움 12일부터 개최대사 개최. 이번 심포지움은 고려인삼의 국제 시장 확대를 위한 중요한 계기로 평가된다. 참가자들은 인삼의 생산, 가공, 유통 등 전 과정을 논의하고 있다.

농어민신문
(2007.12.24)

고려인삼 명품화 사업단 양대 총괄대 교수

고려인삼 명품화 사업단 양대 총괄대 교수. 이 교수는 인삼의 명품화를 위한 연구과제를 수행하고 있다. 이는 인삼의 품질을 높이고, 소비자의 건강을 증진시키기 위한 노력이다.

한국경제
(2008.1.7)

한국경제
(2008.1.7)

새전복신문
(2008.1.10)

새전복신문
(2008.1.10)

뉴스 피플
(2009.09)



월간 새농사
(2009.09)



뉴스 피플
(2009.09)



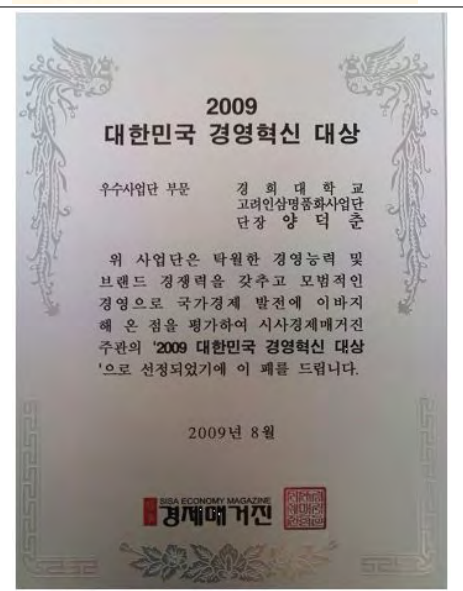
월간 새농사
(2009.09)



동아일보
가치혁신기업
(2009.09.01)



대한민국
경영혁신
대상
(2009.08)



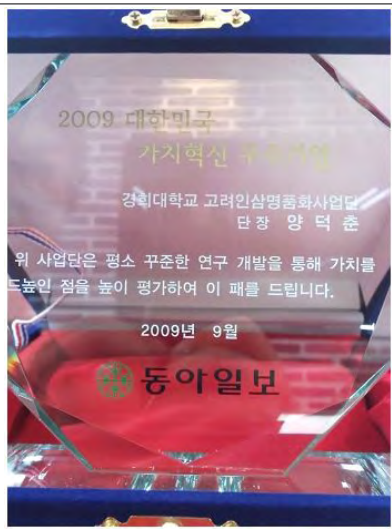
대한민국
가치혁신
우수기업 -
동아일보
(2009.09)

월간 새농사
(2009.10)

월간 새농사
(2009.10)

월간 새농사
(2009.10)

2009 대한민국의
가치혁신 우수기업
경희대학교 고려인삼명품회사업팀
단장 양 덕 훈
위 사업팀은 평소 꾸준한 연구 개발을 통해 가치를
높인 점을 높이 평가하여 이 패를 드립니다.
2009년 9월
동아일보



MBC 특집
다큐멘터리.천
년의 자존심,
세계로
비상하다
(2009.12.11)



생생정보
플러스
(2009)

현장 취재 | 경기도 용인시 인삼 유전자원소재 은행
인삼은 고령 예방과 건강을 위한 보양제와 함께 최고의 유전자원. 한때는 경제위기를 극복
하는 수출산업으로 각광을 받았지만 최근에는 중국, 미국, 러시아에 인삼재배면적이 급증하면서
고려인삼의 가치가 점차 무너지고 있는 실정이다. 이에대응해 한경대학교와 고려대학교 인삼유전자원
소재은행 은행장을 겸직하고 있는 양덕훈(56) 은행장을 만나 인삼 유전자원 소재은행을 소개한다.
출처: 한경닷컴 www.kmnews.com
“인삼 속 유전자원 이용해
맞춤형 수출 제품 개발”로
인삼분야의 새로운 전기 마련
한경닷컴, 경기도 인삼유전자원소재은행 양덕훈 은행장
인삼 산업의 활성화 및 경쟁력 강화 위해 설립
경기도 용인시에 위치한 인삼유전자원소재
은행(Gyeonggi Genetic Resource Bank, GGRB)
은 한국연구재단의 지원을 받아 설립된 국가지
정 연구소재은행이다.
수도, 세계 각국의 인삼속(Panax)에 포함된
종자, 식용조미, 향신료, 천연계 및 화장품
재료 조형식품 등 각종 유전자원을 수집하여
분류함으로써 연구의 편의성을 제공하고, 인삼
산업의 활성화를 위해 중간 허브 역할을 한다.
또한, 미래를 위한 유전정보시스템(GDNA, cDNA
및 tRNA library, EST, Pac library)을 개발·
수집하여 효율적으로 계통학 및 침묵자를 하고,
인삼에 관한 모든 관련자료 및 문헌정보의 DB



경인일보
(2010.10.27)



농촌여성신문
(2010.9.6)



스포츠서울
(2010.8.31)



조선일보
(2010.10.27)



한국농어민
신문
(2010.10.25)



한국일보
(2010.11.5)



친환경
(2010.11)



연합이매진
(2010.8)



동북아인삼대전쟁-KBS
보도 특집
(2010.11.4)



뉴스메이커
(2010.10)



시사매거진
(2011.1)



뉴스메이커
(2011.2)



원예산업신문
(2010.07.07)



원예산업신문
(2010.06.30)



원예산업신문
(2010.08.30)



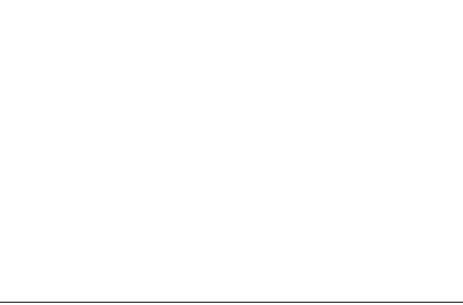
유통&컴퍼니
(2010.10)



KBS NEWS
(2010)



서울경제신문
(2011.01.19)



원예산업신문
(2011.01.19)



서울경제신문
(2011.05.11)



친 환 경
(2011.05)



경 인 일 보
(2011.06.14)



시사매거진
(2011.01)



뉴스메이커
(2011.02)



KBS생로병사의 비밀
(2011.07.02)



Plant DNA Fingerprinting and Barcoding.
Humana Press 서적
(2012)



METROPOLIS
(2012.01.08)



(2012.01.09)



제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1 절 연구개발 성과 및 성과활용 계획

1. 고려인삼의 사포닌에 대한 과학적인 치료 효과를 확립함으로써 고려인삼의 부가가치를 높이고 세계적으로 위상을 높일 수 있음
2. 인삼의 대사체의 선택적 생산의 가능으로 맞춤형 고기능성 인삼 사포닌의 생산 가능
3. 생물전환 기술을 응용한 산업적 발효인삼 제품의 생산 방법 확립
4. 실험 과정에서 인삼 사포닌의 분리 및 정제 기술의 발전을 통하여 다른 신약 개발에 응용 가능
5. 고품질 다수성 인삼 품종의 개발을 통한 고유 자원의 확보
6. 연구 과정에서 다양한 질병에 응용할 수 있는 부가적인 결과를 얻을 수 있어서 고려인삼의 과학화에 기여함
7. 고려인삼의 가치를 높여서 궁극적으로 농민들의 소득 향상 및 농업 기술의 발전을 촉진시킴
8. 의학, 기초과학, 농학 등의 산학연계를 통한 시너지 효과를 얻을 수 있음
9. 건의 특허 등록 과 건의 특허를 출원함.
10. 건의 SCI급 학회지과 1건의 국내 학회지 그리고 5건을 학회 바에서 발표함.
8. 2009년 대한민국 특허 대전에서 지경부 장관상 금상 수상함.
9. 본 사업단의 연구기술을 인삼 제조 회사에 이전하고 본 과제를 통해서 제조한 고함유 CK 발효 인삼 제품을 일본에 수출하고 있음.
10. 식품의약품안전청 건강기능식품기준과에 CK 고함유 발효 인삼 제품(Bioginseng)에 대해 건강기능식품 개별인정형 기능성원료 신청함. (접수번호20120193056)
11. 새로운 건강식품 개발에 활용하고자 함.
12. 해외에 수출을 강화하고자 함.
13. 수삼, 가수분해 인삼, 및 팽화 인삼으로부터 분리, 정제하고, 정확히 동정한 표준품과 확립된 분석 방법을 인삼 제품 표준화에 이용할 수 있도록 기술이전
14. 정확히 동정한 ginsenoside 표준품을 17종 확보함으로써 모든 연구자들이 사용할 수 있도록 공급, 활용
15. 모든 연구자들이 분석 방법을 효과적으로 사용할 수 있도록, 또는 인삼을 산업화 하는데 확립된 분석법을 효과적으로 이용할 수 있도록 교육을 진행할 계획
16. 수삼, 가수분해 인삼, 및 팽화 인삼으로부터 분리, 정제한 17 종의 ginsenoside를 정확히 동정하고, 표준품을 확보함으로써 ginsenoside에 대한 data base를 구축. HPLC, LC/MS, 및 NMR을 이용한 분석 방법을 확립하였으며, ginsenoside에 대한 표준화 자료를 확보하여 metabolomics 연구에 중요한 기초자료로 이용

2절 연구개발결과의 활용방안

1) 농업의 발전

- 고품질 다수성 품종 및 기능성 계통선발을 통한 생산성증대
- 명품 인삼 재배생산을 위한 토양 관리에 의한 연작 경감법 확립과 친환경, 고품질 명품인삼 표준재배기술 확립
- 고려인삼의 건강 기능성의 국제적인 표준화 도출
 - > 기능성 물질을 이용한 품질표준화
- 소비촉진 및 수출증진이 가능한 국제적인 인삼명품제품의 상품화 가능
- 국제적으로 공인된 고려인삼의 국제 규격화
- 수량증대를 위한 토양표준화 및 친환경재배법 정착
- 저농약 생산에 의한 안정성 강화에 의한 소비 촉진
- 고려인삼과 미국삼의 비교로 건강 기능성 정립 및 표준화
- 국제적 명품인삼 상품 개발

2) 연구개발과 인력양성

- 대학에서는 인삼 추출물의 대량분리, 지표물질분석, 효능 분석 등의 연구를 수행
 - > 인삼연구에 대한 지식과 기술을 축적하여 인삼의 연구발전에 기여함.
- 인삼 재배조합과 연계하여 농민들의 애로 사항을 해결하고 기술지도
 - > 인삼재배농민들의 지식축적을 향상시켜 고품질인삼의 생산이 기여함.
- 기업체들에서는 인삼의 지표물질을 이용한 원료 표준화를 통하여 다양한 제품의 개발 및 생산
 - > 국제적인 명품고려인삼제품으로 인삼소비증진 및 수출증대에 기여함.
- 연구결과는 학회 및 세미나발표 등을 통하여 관련 농민단체, 산업체, 학계에 적극적으로 홍보
 - > 관련 인삼산업발전에 기여함.

3) 연구개발결과의 성과 및 활용목표

- 고품질 다수성 품종 및 사포닌 고생산 계통선발을 통한 품종 등록
- 친환경(백신과 하이드로젤 마이크로캡슐 제형 등) 생물농약을 활용한 명품화 재배생산을 위한 친환경, 고품질재배 기술로 토양 관리 병해충관리를 통해 저농약을 사용하고 연작 경감법 확립
- 고려인삼과 외국삼의 기능성 물질 함량 비교를 통해 고려인삼의 승열 작용에 대한 국제적 검증으로 고려인삼의 국제시장 점유율 확대
- 고려인삼 진세노사이드의 혈당개선 효능평가를 통하여 기능성 추가
- 고려인삼의 항관절염 효능평가를 통하여 고려인삼의 가치를 높여서 궁극적으로 농민들의 소득 향상 및 농업 기술의 발전에 기여
- 고려인삼의 지표물질을 이용한 기능성 물질로 원삼의 품질 표준화를 실시
- 지표물질을 이용한 고려인삼의 성분표준화로 소비촉진 및 수출증진이 가능한 인삼명품 제품개발
 - > 고려인삼제품의 국제적 신용도 증가

3절 정성적 성과

1. 기술적 측면

고려인삼의 고품질 인삼 품종 육성을 통한 국내 고유 유전자원을 확보 하였으며 인삼의 고기능성화를 위한 다양한 고기능성 물질 개발연구를 수행하였다. 더불어 효능 표준물질 확보를 통한 기능성 물질의 표준화 및 분석 방법을 확립하였다. 다양한 세포면역학적 반응 기전 연구 및 면역반응등의 생리활성 연구를 통하여 고려인삼의 항염작용, 항종양작용, 면역능력 향상, 항관절염 효과 등과 같은 인삼의 효능을 밝힘으로서 국제 경쟁력 강화 및 원천 기술을 확보하여 세계 최고의 고려 인삼 생산 기술을 확보하는데 중요한 정보를 제공하고자 하였다.

2. 경제적·산업적 측면

가. 본 연구결과는 고려인삼의 면역기능성을 토대로 소비자 중심의 고려인삼의 품질 고급화를 통한 고부가가치를 창출함과 동시에 웰빙수요를 충족시킬 수 있을 것으로 사료 된다.

나. 건강기능성 식품에 대한 요구가 증가하고 있는 사회적 기대에 부응하여 수행된 본 연구는 앞으로 국민 보건 및 삶의 질 향상에 도움을 주고 각종 질병 예방을 위한 인삼 약제개발의 자료로의 활용이 가능할 것으로 사료 된다. 본 연구결과는 인삼 및 인삼의 고기능성 사포닌 대사체의 기능성을 밝힘으로서 고령화 시대에 적절한 건강예방 의식과 함께 건강수명을 연장할 수 있는 보조제로서 가능성을 제시하였다. 나아가 고부가가치 신소재(면역보조제 또는 면역촉진제) 및 의약품 개발과 고려인삼의 건강 증진 기능성의 고부가가치 제품개발을 할 수 있는 발판을 마련함으로써 수출을 위한 국제 표준화 제품을 개발할 수 있을 것으로 사료된다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1. Chemopreventive Effects of Heat-processed Panax quinquefolius Root on Human Breast Cancer Cells (Anticancer Research 2008, 28:2545-2551)

; 본 연구 논문은 화기삼(북미삼)을 홍삼화하여 다양한 사포닌을 제조한 후 이의 항암활성에 대하여 알아본 것이다. 최근 화기삼의 열처리를 통한 기존의 수삼 및 백삼에 존재하지 않았던 사포닌의 생산을 통해 화기삼에도 다양한 사포닌이 존재 할 수 있다는 것이 알려지고 있으며 이에 따라 화기삼에 비하여 사포닌의 종류가 다양하다는 장점을 지닌 고려인삼의 경쟁력이 저하되고 있는 실정으로 고려인삼을 활용하여 단순 물리가공 처리로 생산 될 수 없는 다양한 사포닌을 생산함으로써 비교 우위에 있을 수 있는 다양한 원천기술 확보가 반드시 이루어져야 할 것으로 사료된다.

2. Inhibiting effects of total saponins of panax ginseng on immune maturation of dendritic cells induced by oxidized-low density lipoprotein (Cellular Immunology , 2010, 263:99)

: 이 논문에서는 본연구진과 마찬가지로 인삼사포닌에 의한 수지상세포의 성숙화 억제를 언급하고 있다. 하지만, 본 연구진이 단핵세포에서 수지상세포로의 분화 과정에서 인삼사포닌의 간섭에 포커스를 맞춘 반면 논문의 저자들은 이미 분화된 미성숙 수지상세포에서의 성숙화 여분에 포커스를 맞추고 있다. 또한 본 논문에서는 다른 신호전달 기전보다 PPAR- γ 에 의한 low-density lipoprotein에 의한 수지상세포의 성숙화억제를 강조한 것이 본 연구진의 결과와의 차이점이다. 하지만, 인삼사포닌에 의한 수지상세포의 기능 억제라는 측면에서는 본 연구진의 연구결과를 뒷받침 해줄 수 있을 거라 생각 된다.

3. Effects of Panax ginseng on Tumor Necrosis Factor- α -Mediated Inflammation: A Mini-Review (Molecules, 2011, 16:2802)

: 본 연구 논문은 인삼사포닌의 단일 분자들에 초점을 맞추어 각각의 단일 분자들이 체내 면역역반응 및 염증반응에 미치는 영향에 대해서 보고하고 있다. 본 논문의 내용에 따르면 대부분의 인삼사포닌 단일분자들은 항염증반응에 대한 기능을 가지고 있지만, 이러한 반응을 유도하는 신호전달 기전은 각각의 단일분자에 따라 조금씩 다른 메커니즘을 가지고 있다고 설명하고 있다. 본 연구진이 연구과제를 수행함에 있어 사용한 인삼사포닌은 단일 물질 Re, Rh, compound K, 그리고 total saponin이었다. 따라서 각각의 물질들이 가지는 기전에 조금씩 차이가 나는 것에 대한 증빙자료로서 본 논문은 가능성을 시사해준다.

4. Dendritic Cells Promoted by Ginseng Saponins Drive a Potent Th1 Polarization (Biomark Insights. 2008, 3).

: 본 연구논문은 인삼의 특정 성분들이 단핵세포로부터 수지상세포로의 분화를 촉진하고 또한 특정 사이토카인 (IL-12)의 분비를 증가 시켜 결론적으로 Th1 세포의 분화를 유도한다는 내용을 보고하고 있다. 이는 본 연구진이 발표한 내용과는 상반되는 결과이다. 하지만 본 연구논문에서 다루고 있는 인삼사포닌의 단일 성분은 인삼사포닌으로부터 직접 추출한 성분이 아닌

이것을 *in vitro* metabolic 과정을 통해 성분 변환을 시킨 물질로 본 연구진이 사용한 인삼사포닌과는 상이한 성질을 보일 것으로 판단된다. 또한 본 연구논문 뿐만 아닌 타 논문에서도 이렇듯 성분을 변환 시킨 인삼사포닌 단일물질의 연구결과는 서로 조금씩 다른 기능과 함께 다른 가능성을 제시한다. 이는 작용기전을 보다 심도있게 연구함으로써 인삼사포닌의 응용 및 이용 확대에 도움을 줄 있을 것으로 판단된다.

표 1. 인삼사포닌 단일물질에 따른 면역 조절 기능

Ginsenosides	Experimental model	Regulatory proteins	Effects	References
Rb1	TNF-induced epithelial cells	MAPK and NF-κB	↓ TNF-α	13
	Capsaicin-HaCaT Human keratinocyte	NF-κB	↓ IL-8, PGE2	14
	IFN-γ, LPS/L-1β-induced CIA mice	-	↓ TNF-α in PBMC, fibroblast-like synoviocytes and chondrocytes	15
Rd	Transient focal cerebral ischemia	-	↓ iNOS, COX-2	16
Rg1	LPS-injected mice	P38 MAPK, JNK and NF-κB	↓ TNF-α, iNOS and ionized calcium binding adaptor molecule-1	17
	LPS-N9 microglial cells	NF-κB	↓ TNF-α, nitric oxide	18
	CD4(+) T cells of Candida albicans-infected mice	-	↑ IL-2, IFN-γ	19
Rg3	TPA-induced mouse skin cells and U937 Promyelocytic leukemia cells	AP-1, NF-κB	↓ COX-2	20
	Beta-amyloid-induced BV2 murine microglial cells	-	↓ TNF-α, IL-β, IL-6, MCP-1, MIP-1γ	21
	TNF-α-induced-ECV304 human endothelial cells	AKT	↓ VCAM-1, ICAM-1	22, 23
Rh1	IFN-γ-BV2 murine microglial cells	ERK, STAT1, IRF-1 and NF-κB	↓ Nitric oxide, reactive oxygen species, TNF-α	24
	LPS-stimulated microglia	cAMP-dependent protein kinase	↑ IL-10, hemeoxygenase-1	25
	LPS-stimulated microglia	ERK and NF-κB	↓ iNOS, COX-2	25
	Oxazolne-induced atopic dermatitis skin lesion in mice	-	↓ IL-6, IgE in peripheral blood ↑ Foxp3	26
	LPS-induced RAW murine macrophages	NF-κB	↓ iNOS, COX-2	27, 28
Rh2	TNF-α-induced human astroglial cells	JNK and NF-κB	-	29

(Molecules, 2011, 16:2802)

제 7 장 연구시설, 장비 현황

연구기자재 및 연구시설	규격	수량	활용용도	보유기관	확보상태	비고
HPLC	set	3	물질분리분석	경희대	기확보	.
GC	set	2	물질분석	경희대	기확보	
NMR	set	1	구조동정	경희대	기확보	
LC/MS	set	1	물질분석	경희대	기확보	
IR	set	1	물질분석	경희대	기확보	
ELISA	set	1	cytokine 측정	경희대	기확보	
UV fluorometer	set	1	물질분석	경희대	기확보	
분획분취기	set	1	물질분리	경희대	기확보	
FPLC	set	1	단백질분리	경희대	기확보	
초저온냉동고	set	2	소재보관	경희대	기확보	
대형농축기	set	1	물질농축	경희대	기확보	
농축기	set	4	물질농축	경희대	기확보	
PCR	set	2	유전자증폭	경희대	기확보	
미생물배양기	set	3	사포닌전환	경희대	기확보	
Microscope	set	1	세포 확인	서울대	기확보	.
pH meter	set	1	완충액 조절	서울대	기확보	.
Chemical balance	set	1	시약정량	서울대	기확보	.
Clean Bench	set	3	무균 조작	서울대	기확보	.
Nitrogen container	set	2	세포보존	서울대	기확보	.
Water bath	set	1	시료항온유지	서울대	기확보	.
Dry oven	set	1	초자기구건조	서울대	기확보	.
Autoclave	set	1	기기멸균	서울대	기확보	.
Deep freezer	set	1	시료보관	서울대	기확보	.
Refrigerator	set	2	시료보관	서울대	기확보	.
Hot plate	set	2	시약용해	서울대	기확보	.
Magnetic stirrer	set	2	시료혼합	서울대	기확보	.
Vortex mixer	set	4	시료혼합	서울대	기확보	.
Air conditioner	set	1	항온유지	서울대	기확보	.
Centrifuge	set	2	시료침전	서울대	기확보	.
Vacuum pump	set	2	배양액 제거	서울대	기확보	.
Image Analyzer	set	1	Gel 전기영동 분석	서울대	기확보	.
Spectrophotomet er	set	1	RNA 및 DNA, bacteria 정량	서울대	기확보	.
PCR	set	1	DNA 증폭	서울대	기확보	.
ELISA	set	1	cytokine 측정 및 단백질 정량	서울대	기확보	.
유세포 분석기	set	1	세포 분석	서울대	기확보	.

제 8 장 참고문헌

1. Jung HK, Lim SK, Park MJ, Bae CS, Yoon KC, Han HJ, and Park SH. The protective effect of ginseng saponin against high glucose-induced secretion of insulin-like growth factor (IGF)-I in primary cultured rabbit proximal tubule cells. *J Ginseng Res.* 2009; 33: 26-32.
2. Hong HD, Choi SY, Kim YC, Lee YC, and Cho CW. Rapid determination of ginsenosides Rb₁, Rf, and Rg₁ in Korean ginseng using HPLC. *J Ginseng Res.* 2009;33: 8-12.
3. Lee DY, Cho JG, Lee MK, Lee JW, Park HJ, Lee YH, Yang DC, and Baek NI. Standardization of physico-chemical data for ginseng saponins-I. Identification of NMR data for ginsenoside Rg₁. *J Ginseng Res.* 2009; 32: 291-299.
4. Lee CR, Whang WK, Shin CG, Lee HS, Han ST, Im BO, and Ko SK. Comparison of ginsenoside composition and contents in fresh ginseng roots cultivated in Korea, Japan, and China at various ages. *Korean J Food Sci Technol.* 2004; 30: 847-850.
5. Park JD. Study on chemical constituents from *Panax ginseng*. p. 79. In: The Korean Society of Ginseng (ed), *Ginseng Research during the Past 20 Years*. The Korean Society of Ginseng, Seoul(1997)
6. Dong A, Ye M, Guo H, Zheng J, and Guo D. Microbial transformation of ginsenoside Rb₁ by *Rhizopus stolonifer* and *Curvularia lunata*. *Biotechnol Lett.* 25: 339-344 (2003)
7. Du Q, Jerz G, Waibel R, and Winterhalter P. Isolation of dammarane saponins from *Panax notoginseng* by high-speed counter-current chromatography. *J Chromatogr. A.* 1008: 173 (2003)
8. Karikura M, Miyase T, Tanizawa H, Taniyama T, and Takino Y. Studied on Absorption, distribution, excretion and metabolism of ginseng saponin. VI. Comparision of the decomposition modes of ginsenoside-Rb₂ in the stomach of rats. *Chem Pharm Bull.* 39: 400 (1991)
9. Kim Y-H, Lee Y-G, Choi K-J, Uchida K, and Sujuki, Y. Transglycosylation to ginseng saponins by cyclomaltodextrin glucanotransferases. *Biosci Biotechnol Biochem.* 65: 875 (2001)
10. Xuesong Z, Juan W, Jie L, Ling F, Juan G, Xiuli D, Hongtao B, Yifa Z, and Guihua T. Highly selective biotransformation of ginsenoside Rb₁ to Rd by the phytopathogenic fungus *Cladosporium fulvum* (*syn. Fulvia fulva*). *J Ind Microbiol Biotechnol.* 36: 721-726 (2009)
11. Yang T, Kasai R, Zhou J, and Tanaka O. Dammarane saponins of leaves and seeds of *Panax notoginseng*. *Phytochemistry* 22: 1473 (1983)

12. Cao X-L, Tian Y, Zhang T-Y, Liu Q-H, Jia L-J, and Ito Y. Separation of dammarane-saponins from notoginseng, root of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen, by HSCCC coupled with evaporative light scattering detector. *J Liq Chromatogr Relat Technol.* 26: 1579-1591 (2003)
13. Cheng LQ, Kim MK, Lee JW, Lee YJ, and Yang DC. Conversion of major ginsenoside Rb₁ to ginsenoside F₂ by *Caulobacter leidyia*. *Biotechnol Lett.* 28: 1121-1127 (2006)
14. Liu C, Han, JY, Duan YQ, Xin H, and Hua W. Purification and quantification of ginsenoside Rb₃ and Rc from crude extracts of caudexes and leaves of *Panax notoginseng*. *Sep Purif Technol.* 54: 198-203 (2007)
15. Wei GM, Masanori M, Karl EM, Shao LL, Bertrand D, and Satoshi T. Saponins from the roots of *Panax notoginseng*. *Phytochemistry* 52: 1133-1139 (1999)
16. Wei W, Yuqing Z, Elizabeth RR, Donald LH, Hui W, and Ruiwen Z. *In vitro* anti-cancer activity and structure-activity relationships of natural products isolated from fruits of *Panax ginseng*. *Cancer Chemother Pharmacol.* 59: 589-601 (2007)
17. Xuesong Z, Juan W, Jie L, Ling F, Juan G, Xiuli D, Hongtao B, Yifa Z, and Guihua T. Highly selective biotransformation of ginsenoside Rb₁ to Rd by the phytopathogenic fungus *Cladosporium fulvum* (syn. *Fulvia fulva*). *J Ind Microbiol Biotechnol.* 36: 721-726 (2009)
18. Teng R, Li H, Chen J, Wang D, He Y, and Yang C. Spectral assignments and reference data. *Magn Reson Chem.* 40: 483 (2002)
19. Oura H, Kumakai A, Shibata S, and Takaki K. Chemical constituents of *Panax ginseng*. pp. 46-47. In: *Panax ginseng ; It's study and progress*. Kyoritz Press Ltd., Tokyo(1981)
20. Karikura M, Miyase T, Tanizawa H, Taniyama T, and Takino Y. Studied on Absorption, distribution, excretion and metabolism of ginseng saponin. VII. Comparison of the decomposition modes of ginsenoside-Rb₁, and -Rb₂ in the digestivetract of rats. *Chem Pharm Bull.* 39: 2357 (1991)
21. Sanada S, Kondo N, Shoji J, Tanaka O, and Shibata S. Studied on the saponins of ginseng. I. Structures ginsenoside-Ro, -Rb₁, -Rb₂, -Rc and-Rd. *Chem Pharm. Bull.* 22: 421 (1974)
22. Yahara S, Kaji K, and Tanaka O. Further study on dammarane-type saponins of roots, leaves, flower-buds, and fruits of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Chem Pharm Bull.* 27: 88-92 (1979)
23. Dong A, Ye M, Guo H, Zheng J, and Guo D. Microbial transformation of ginsenoside R₁ by *Rhizopus stolonifer* and *Curvularia lunata*. *Biotechnol Lett.* 25: 339-344 (2003)
24. Teng R, Ang C, McManus D, Armstrong D, Mau S, and Bacic A. Regioselective acylation of ginsenosides by *Novozyme 435* to generate molecular diversity. *Helv Chim Acta.* 87: 1860-1872 (2004)

25. Wang H, Tong Y-X, Ye W-C, and Zhao S-X. Studies on chemical constituents in root of *Polygala tenuifolia*. *China J Chinese Materia Medica* 28: 830-833 (2003)

고려인삼 명품화 사업단 연구 보고서 별첨자료

목록

- [별첨 1] 연구개발보고서 초록
- [별첨 2] 자체평가의견서
- [별첨 3] 연구결과 활용계획서

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 고려인삼의 명품화를 위한 생산과 고부가가치 제품화 및 산업화				
	(영문) Industrialization and manufacturalization of most valuable products of Korean ginseng				
주 관 연구 기관	경희대학교		주 관 연 구 책 임 자	(소속) 경희대학교	
참 여 기 업	한방바이오 외 7개업체			(성명) 양덕춘	
총 연구개발비 (6,270,000 천원)	계	6,270,000	총 연 구 기 간	2007년 7월 30일 부터 ~ 2012년 7월 29일 까지 (5년)	
	정부출연 연구개발비	3,000,000	총 참 여 연 구 원 수	총 인 원	102
	기업부담금	1,920,000		내부인원	19
	연구기관부담금	1,350,000		외부인원	83
<p>○ 연구개발 목표 및 내용</p> <p>한국을 대표하며 중주국인 고려인삼의 산업을 활성화시켜 세계시장에서 그 우수성을 인정받고자 제품 표준화를 위한 표준효능물질개발, 우수한 신제품개발, 고려인삼의 특이 효능연구를 통한 기능성화, 표준화제품개발 및 맞춤형 수출제품개발을 통한 세계화를 목표로 인삼산업 관련종사자의 문제점을 해결하고 인삼산업 및 해외수출을 증진시키고자 설립.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 고려인삼 명품화를 위한 국제적 표준효능물질개발 <ul style="list-style-type: none"> - 발효를 통한 인삼표준효능물질 개발 - 인삼유효성분의 대량분리 및 동정기술 개발 - 물리적가공을 통한 고기능성 인삼 신소재개발 - 특정 진세노사이드를 이용한 인삼 품질 표준화(standardization) 2. 고품질 다수성 품종의 육성 및 청정원료삼 생산방법개발 <ul style="list-style-type: none"> - 고품질 다수성 품종의 육성(2품종 등록) 및 기능성 품종계통선발(3계통 선발) - 고품질 인삼유묘생산을 위한 영양환경 개선 연구 3. 고려인삼의 기능성 고부가가치 제품개발을 위한 효능평가 및 임상연구 <ul style="list-style-type: none"> - 당뇨관련 진세노사이드 고함량 인삼계통의 임상효능평가 - 고려 인삼 사포닌의 항관절염 효능평가 - 인삼사포닌의 세포면역반응 기전 및 면역기능 향상연구를 통한 면역보조제 및 항암효과 규명 					

4. 소비 촉진 및 수출증진을 위한 표준화 명품인삼 제품개발

- 국제표준화 명품인삼제품개발
- 기능성 식품 및 향장품으로의 인삼 신소재개발
- 표준화 인삼상품(캡슐)의 개발

○ 연구결과

○ 수출 및 명품인삼을 위한 국제적인 표준 효능 물질 개발

- 최적의 추출용매, 추출온도, 추출방법, 농축방법을 조사
- 진세노사이드 정밀 및 신속 분석법 확립
- 발효를 통한 표준효능물질의 대량생산기술개발
- 고부가가치 유효성분을 변환할 수 있는 유산균의 분리 및 동정
- Rb₁, Rg₁, Rg₃, Rh₂, C-K에 의한 인삼품질의 표준화
- 열처리, 산처리에 의한 신기능성 표준효능물질 생산
- 신기능성 고부가가치 인삼제품 원료의 대량생산

○ 인삼유효성분의 대량분리 및 동정기술 개발

- 인삼으로부터 유효성분의 추출 및 분획법 개발
- 인삼분획물로부터 7개 주요성분의 분리, 정제 및 구조 동정
- 인삼 생변환 유래 새로운 사포닌의 분리 및 구조 동정
- 인삼 생변환 시료의 Metabolomics 분석법 개발
- 인삼 주요 사포닌의 대량 분리법 개발
- 인삼 사포닌의 표준화 확립

○ 물리적 가공을 통한 고기능성 인삼 신소재개발

- 인삼 유효성분의 최적 전환을 위한 수분함량 및 팽화압력에 따른 최적 팽화 조건 설정
- 추출수율 증대를 위한 수분함량, 초고압압력 및 처리시간에 따른 최적 초고압 처리조건 설정
- 추출용매에 따른 최적 초고압 처리 조건 설정
- 유효성분의 최적 전환을 위한 수분함량, 초고압 압력에 따른 최적 초고압 처리 조건 설정
- 초고압 처리시간 및 추출용매에 따른 최적 초고압 처리 조건 설정
- PEF Processing 처리를 통한 인삼 유효성분 전환

○ 고품질 다수성 계통의 육성 및 기능성 품종개발

- 고품질 다수성 계통 선발
- 개화결실 특성조사 및 집단 육성
- 고품질 다수성 계통 육성 및 생산력검정시험
- 진세노사이드 정밀 신속 분석을 이용한 육종법 개발
- 진세노사이드 고 함량 계통 선발 및 육성
- 고품질 다수성 계통 생산력검정 및 산지실증시험
- 고품질 다수성 계통 산지실증시험 및 2계통 선발

- 고품질 인삼유묘생산을 위한 영양환경 개선 연구
 - 예정지 토양의 성분 분석
 - 분석치와 인삼 생육 상관 조사
 - 예정지, 본포 및 직파포 토양의 성분 분석
 - 분석치와 1년생 및 직파 2년생 인삼의 생육 상관 조사
 - 인삼토양 및 생산물의 영양성분 검사
 - 예정지, 본포 및 직파재배 본포 토양의 성분 분석
 - 분석치와 이식포 및 직파포 연생별 지역별 인삼의 생육 상관 조사
 - 인삼재배지 토양 및 식물체 성분 profiling

- 인삼 진세노사이드의 혈당개선 작용기전 규명 및 효능평가
 - Streptozotocin-osmotic mini-pump infusion model의 제작
 - Blood glucose monitoring
 - Insulin monitoring
 - Glucose tolerance test
 - Isolated islet의 제작
 - 췌장소도의 배양
 - 베타세포주
 - 시료의 첨가와 cytotoxic challenge
 - Insulin monitoring/Cell viability monitoring
 - Blood glucose monitoring/Insulin monitoring/Glucose tolerance test/조직 내 insulin과 islet peptide검사/조직병리검사

- 고려인삼 사포닌의 항 관절염 효능 평가
 - 인삼 사포닌의 분리 및 분석 조건 확립
 - 여러 인삼 제품에서의 사포닌의 분포 측정
 - 분리된 인삼 사포닌의 관절염에서의 효능 평가
 - 세포 실험을 위한 인삼 사포닌의 분리 및 정제
 - 인삼 사포닌의 관절염 효능 기전 연구
 - 관절염 세포 실험 결과를 토대로 다양한 시제품 개발
 - 인삼실험을 통한 시제품의 관절염 세포에 대한 효능 평가
 - 고려인삼제품 생산

- 인삼 사포닌(ginsenoside)의 세포 면역반응 기전 및 면역 기능 향상 연구를 통한 면역보조제 및 항암 효과 규명
 - 인삼 사포닌이 선천성 면역반응에 미치는 영향 연구
 - 세포 면역반응 향상에 미치는 영향 연구를 통한 면역 보조제 및 면역 촉진제로서의 역할 규명
 - 사포닌이 면역 세포 내 신호전달체계에 미치는 영향 및 전사조절 인자 규명
 - 인삼 사포닌 (ginsenoside)이 항암세포주 신호전달에 미치는 영향 규명
 - TIEG-1 유전자 조작 생쥐를 이용한 인삼 사포닌(ginsenoside)의 항암 효능 검사

- 표준화 명품인삼제품 개발

- 수삼 소비촉진을 위한 봉밀삼 품질개선 기술개발
- 명품 봉밀삼 제품개발
- 사포닌 전환처리(유기산)를 통한 건강 기능성홍삼제품의 개발
- 유산균을 이용한 ginsenoside-Rg₃ 대량생산조건확립
- 발효홍삼(ginsenoside Rg₃ 고함유) 음료제품 개발
- 고기능성 사포닌 compound K 대량생산 조건확립
- 발효홍삼(compound K 고함유) 캡슐제품 개발
- 국제 표준화 건강기능성 명품인삼제품 개발

◦ 기능성 식품 및 향장품으로의 인삼 신소재 개발

- 인삼의 추출물제조 및 물성 특징
- 상기생 및 영경귀등의 추출물제조, 물성 및 이화학적 성질의 분석
- 인삼 추출물을 활용한 기능성 향장품 안정화 관련 연구 실험
- 인삼 추출물을 포함하는 기능성 향장품을 적용한 제품 개발
- 인삼 추출물을 활용한 기능성 향장품 안정화 연구및 기능성 향장품을 적용한 제품 개발
- 인삼 성분의 피부 친화 및 침투력 강화기능 탐색
- 인삼 추출물을 활용한 아토피 피부염 및 지루성 피부염의 케어를 위한 향장품 개발
- 한방처방추출물과 인삼이 결합된 기타 피부질환용 향장품 개발

◦ 표준화 인삼 상품 (캡슐)의 개발

- 인삼의 부위별, 년근별, 채취시기에 따른 시료 인삼의 성분을 분석
- 미국, 캐나다, 중국지역의 화기삼 및 고려인삼 시료를 수집하여 성분을 분석
- 인삼의 사포닌성분은 인삼의 채취시기 인삼의 부위에 따라 다르고 추출방법(용매, 농도) 및 농축시간 등 가공처리 방법에 따라 다르게 되므로 각각의 시료들을 수집하여 성분을 분석함.
- 추출용매의 종류 및 농도 농축공정 및 제품화 가열온도에 따른 성분의 변화를 분석함.
- 건강식품을 섭취하는 외국인 및 내국인에게 부합되는 표준화인삼 제품의 개발.
- 표준화된 인삼은 원료인삼 부분과 가공과정에 따른 요소로 크게 나누어 분석하고 기초인자를 찾아서 조절하여 소재를 표준화함으로서 표준화된 제품을 생산함.
- 캡슐 제품화

○ 연구성과 활용실적 및 계획

1) 기술개발

- 고품질 다수성 품종과 선발된 기능성 계통을 통해 우량의 인삼 생산가능
- 명품 인삼 재배생산을 위한 토양 관리에 의한 연작 경감법 확립을 통한 신 생물농약개발 등 친환경, 고품질 명품인삼 표준재배기술 확립
- 인삼의 가공처리기술을 통한 유효성분 대량생산으로 명품 인삼 제품이 개발됨
- 고려인삼의 건강 기능성의 국제적인 표준화 도출로 고려인삼의 승열 작용의 국제적 검증 및 기능성 물질 품질표준화
- 항관절염 및 혈당개선 효능평가를 통하여 기능성 식품 및 신소재 물질의 도출 가능
- 소비촉진 및 수출증진이 가능한 국제적인 인삼명품 상품화 가능

(2) 기술개발의 산업화 및 실용화 가능성

- 고품질 다수성 품종과 선발된 기능성 계통의 선발을 통하여 생산성증대
- 생물농약을 활용한 명품화 재배생산을 위한 친환경, 고품질재배 기술로 토양 관리 병해충관리를 통해 저농약을 사용하고 연작 경감법 확립
- 고려인삼과 외국삼의 기능성 물질 함량 비교를 통해 고려인삼의 승열 작용에 대한 국제적 검증과 기능성 물질에 의한 품질 표준화 달성
- 소비촉진 및 수출증진이 가능한 인삼명품 제품개발

(3) 기술개발 효과

- 국제적으로 공인된 고려인삼의 국제 규격화
- 수량증대를 위한 토양표준화 및 친환경재배법 정착
- 저농약 생산에 의한 안정성 강화에 의한 소비 촉진
- 고려인삼과 미국삼의 비교로 건강 기능성 정립 및 표준화
- 고려인삼의 과학적 효능 규명(항관절염, 혈당개선효능)으로 고려인삼의 위상제고
- 국제적 명품인삼 상품 개발

[별첨 2]

자체평가 의견서

연구개발분야	생명산업기술개발사업	과제구분	연구사업단	관리번호	607002-05-2-SU000
연구과제명	고려인삼의 명품화를 위한 생산과 고부가가치 제품화 및 산업화 (인삼연구사업단)				
주관연구기관	경희대학교				
연구담당자	주관연구책임자	양덕춘			
	협동/위탁/세부 연구책임자	기관(부서)	경희대학교	성명	백남인
		기관(부서)	경희대학교	성명	백무열
		기관(부서)	경희대학교	성명	권우생
		기관(부서)	경희대학교	성명	진현오
		기관(부서)	허브킹	성명	이병대
		기관(부서)	경희대학교	성명	백광희
		기관(부서)	경희대학교	성명	김형민
		기관(부서)	경희대학교	성명	이태후
		기관(부서)	인하대학교	성명	박인선
		기관(부서)	메타볼랩	성명	강훈수
		기관(부서)	서울대학교	성명	윤철희
		기관(부서)	한방바이오	성명	인준교/배귀식
		기관(부서)	동원고려인삼	성명	박세호
		기관(부서)	대구한의대	성명	박문기
연구기간	총 기간	2007년 7월 30일 부터 ~ 2012년 7월 29일 까지 (5 년)	당해년도기간	최종 5년차	
연구비(천원)	총 규모	6,270,000	당해년도규모	1,240,000	

1. 연구는 당초계획대로 진행되었는가?

당초계획 이상으로 진행 계획대로 진행 계획대로 진행되지 못함

○ 계획대로 수행되지 않은 원인은?

5-5 수상 등

<input checked="" type="checkbox"/> 있다	상 명칭 및 일시 :	우수포스터발표상-자원식물학회	2007.11.02.
		우수포스터발표상-자원식물학회	2007.11.02.
		우수포스터발표상-식물생명공학회	2007.11.02.
		우수포스터발표상-약용작물학회	2007.11.02.
		우수포스터발표상-자원식물학회	2008.04.25.
		우수포스터발표상-고려인삼학회	2009.05.22.
		우수포스터발표상-고려인삼학회	2009.05.22.
		대한민국발명특허대전	2009.12.03.
		우수포스터발표상-고려인삼학회	2009.12.04.
		대한민국가치혁신 우수기업	2009.09
		대한민국 경영혁신 대상	2009.08
		최우수구두발표상	2010.10.08
		표창장-농림수산식품부장관	2010.10.21.
		공로상-고려인삼학회	2010.12.13.
		학술상-자원식물학회	2011.04.29.
		우수발표상-식품과학영양학회	2011.11.01.
		우수발표상-고려인삼학회	2011.11.11.
		학술상-고려인삼학회	2011.11.11.
		의산최우수논문상-고려인삼학회	2012.04.17.
		우수연구상- 고려인삼학회	2012.04.17.

5-6 매스컴 등의 PR

있다

47 건

6. 연구개발착수 이후 국내 다른 기관에서 유사한 기술이 개발되거나 또는 기술 도입함으로 연구의 필요성을 감소시킨 경우가 있습니까?

- 없다 약간 감소되었다 크게 감소되었다

○ 감소되었을 경우 구체적인 원인을 기술하여 주십시오?

7. 관련된 기술의 발전속도나 추세를 감안할 때 연구계획을 조정할 필요가 있다고 생각하십니까?

- 없다 약간 조정필요 전반적인 조정필요

8. 연구과정에서의 애로 및 건의사항은?

(※ 아래사항은 기업참여시 기업대표가 기록하십시오)

1. 연구개발 목표의 달성도는?

- 만족 보통 미흡

(근거 : 인삼의 신품종 육성으로 인한 고유 인삼 자원의 확보와 더불어 사포닌의 고기능성화 및 표준효능물질에 의한 제품의 표준화가 가능하게 됨에 따라 인삼 시장 및 국내 외의 제품 시장에서의 경쟁력 확보로 이어 질 수 있을 것으로 기대된다.)

2. 참여기업 입장에서 본 본과제의 기술성, 시장성, 경제성에 대한 의견

가. 연구성과가 참여기업의 기술력 향상에 도움이 되었는가?

- 충분 보통 불충분

나. 연구성과가 기업의 시장성 및 경제성에 도움이 되었는가?

- 충분 보통 불충분

3. 연구개발 계속참여여부 및 향후 추진계획은?

가. 연구수행과정은 기업의 요청을 충분히 반영하였는가?

- 충분 보통 불충분

나. 향후 계속 참여 의사는?

- 충분 고려 중 중단

다. 계속 참여 혹은 고려중인 경우 연구개발비의 투자규모(전년도 대비)는?

- 확대 동일 축소

4. 연구개발결과의 상품화(기업화) 여부는?

- 즉시 기업화 가능 수년 내 기업화 가능 기업화 불가능

5. 기업화가 불가능한 경우 그 이유는?

구 분	소 속 기 관	직 위	성 명
주관연구책임자	경희대학교	교수	양덕춘 (인)
참여기업대표	한방바이오	기술이사	최광태 (인)

3. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	고려인삼의 신품종 육성
②	인삼 사포닌의 생물학적 전환기술 개발
③	표준 효능 물질의 분리 정제 및 동정
④	효능 검정을 통한 인삼의 기능성 검정
⑤	고기능성 인삼 제품 표준화 및 산업적 적용을 위한 제품화

4. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해결	정책 자료	기타
①고려인삼의 신품종 육성	v					v	v	v	v	
②인삼 사포닌의 생물학적 전환기술 개발		v		v	v	v	v	v		
③표준 효능 물질의 분리 정제 및 동정		v								
④효능 검정을 통한 인삼의 기능성 검정		v				v	v			

* 각 해당란에 v 표시

5. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①고려인삼의 신품종 육성의 기술	1. 신품종 육성에 대한 경기도 농업기술원과의 공동 연구를 통해 경기도 기술원에서 신품종 종자 보급 2. 정부와 신품종 보급 및 표준화 작업에 대한 신규과제 창출 계획
②인삼 사포닌의 생물학적 전환기술 개발	1. 인삼사포닌의 전환을 통한 고기능성 사포닌 생산 2. 고기능성 물질의 상업화를 위한 대기업과의 기술이전 계획 중 3. 본 과제의 연구를 통한 기술 적용한 다양한 식물에서의 고기능성 사포닌 대사 물질 생산을 위한 신규 사포닌 사업단 구상 중
③표준 효능 물질의 분리	1. 인삼의 표준 효능물질로의 활용 2. 인삼 제품의 표준화 확립에 기여

정제 및 동정	3. 인삼 사포닌 연구를 위한 연구 소재로 활용가능
④효능 검정을 통한 인삼의 기능성 검정	1. 효능 검정을 통한 인삼의 신규 기능성 확인 2. 관절염 효과의 경우 개별인정형 기능성 신청

6. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

* 기술이전 관련 협의 중(IPET 규정에 의거)

핵심기술명	고려인삼 신제품 육성		
이전형태	<input checked="" type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	천원
이전방식	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input checked="" type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간		실용화예상시기	
기술이전시 선행조건	경기도 농업기술원을 통한 신제품 보급		

핵심기술명	인삼 사포닌의 생물학적 전환기술 개발 및 산업화		
이전형태	<input checked="" type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	매출의 5%
이전방식	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input checked="" type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간		실용화예상시기	현재 산업적 생산 및 판매 예정
기술이전시 선행조건	공정개선 연구 및 산업적 효율성 확대		

* 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성

** 기술이전시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전 전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)

*** 실용화예상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등

주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 생명산업기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 생명산업기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.