

발간등록번호

11-1543000-001289-01

국내산 단삼의 고랭지 재배기술 및 유효성분 강화 가공  
기반구축

(Highland cultivation technology and processing set  
up focused on the active ingredient enhancing using  
the domestic *Salvia miltiorrhiza*)

(주) 케이엠에프

농 립 축 산 식 품 부

## 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “국내산 단삼의 고랭지 재배기술 및 유효성분 강화 가공 기반구축에 관한 연구” 과제의 보고서로 제출합니다.

2016 년 3월 16일

주관연구기관명 : (주) 케이엠에프

주관연구책임자 : 김 미 연

세부연구책임자 : 김 미 연

연 구 원 : 박 난 영

연 구 원 : 정 용 진

연 구 원 : 구 자 명

연 구 원 : 김 재 화

연 구 원 : 조 희 욱

연 구 원 : 우 승 미

연 구 원 : 조 용 준

연 구 원 : 김 선 화

협동연구기관명 : 경북 봉화 약초 시험장

협동연구책임자 : 김 종 수

연 구 원 : 서 영 진

연 구 원 : 이 종 필

연 구 원 : 김 병 성

위탁연구기관명 : 경북대학교

위탁연구책임자 : 정 신 교

# 요 약 문

## I. 제 목

국내산 단삼의 고랭지 재배기술 및 유효성분 강화 가공 기  
반구축

## II. 연구성과 목표 대비 실적

구분	세부연구 개발목표	가중치 (%)	평가의 착안점 및 기준	달성도 (%)
1세부	단삼의 가공적성 개발	50	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 단삼 유효성분 함량 범위설정                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 함량 85-115% 규격 설정</li> </ul> </li> <li>• 단삼 유효성분 함량 재현성제시                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 함량의 RSD 5%이내</li> </ul> </li> </ul>	100
	단삼을 활용한 제품화 기반 구축	50	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 시제품 개발 5종                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 기능성 음료 1종</li> <li>- 농축액 1종, 타블렛 1종</li> <li>- 침출차 1종</li> <li>- 침출제품 1종</li> </ul> </li> </ul>	100
1협동	유효성분 증대 재배기술 개발	60	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 재배년수, 수확시기 설정</li> </ul>	100
	가공제품별 원료삼 생산조건 구명	40	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 정식시기, 재식밀도, 파종방법 설정</li> </ul>	100
위탁 과제	단삼 유효성분 분석법 개발	50	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 표준분석절차 SOP 개발 1종</li> </ul>	100
	단삼 유효성분 함량 분석	50	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 재배조건별 단삼의 유효성분 함량 제시</li> <li>• 단삼 추출물의 유효성분 함량 제 시 1종</li> <li>• 단삼 가공제품의 유효성분 함량 제시 5종</li> </ul>	100

### Ⅲ. 연구개발의 목적 및 필요성

#### 1. 국내산 단삼의 유효성분 강화 가공기반 구축

단삼은 대한약전에 수재되어 있는 약용작물로 한약재 수요가 높아짐에 따라 약재수요의 대부분을 수입에 의존하여 수입량은 2010년 146톤(33만\$)에 달하고 있다. 단삼은 국내에서 재배되지 않았으나 경북 영양군에서 2012년 재배가 성공함에 따라 농가에서 단삼을 일부 생산하고 있다. 그러나, 단삼 가공 식품으로의 활용 방법이 미흡하여 생산되는 단삼의 수요를 높이기 위하여 효율적인 추출 공정의 개발 및 추출액이나 원물을 이용할 수 있는 다양한 가공방법 개발이 필요하며, 단삼 가공법 개발을 위한 기본적인 추출조건의 최적화 및 특성에 대한 연구가 시급한 실정이다. 또한 단삼은 열에 약한 기능성 성분을 함유하고 있는 단삼을 이용하기 위해선, 기능성분 증진, 가공제품 개발 등 단삼의 용도 다양화를 위해서는 **열에 약한 단삼의 유효성분 강화를 위한** 효소 처리를 이용한 차별화 기능성 단삼 추출물 제조조건 설정, 단삼 추출처리별, 가공 제품별 유효성분 함량 변화 패턴 분석, 단삼을 활용한 제품(음료류, 다류, 침출제품) 개발 기반 구축 등 식품산업 소재 활용에 적합한 단삼 추출농축액 생산기술 개발이 가능하였다.

#### 2. 기능성 식품원료 활용을 위한 가공적성 우수 단삼 생산기술 개발

수입 의존 약용작물인 단삼을 2012년 경북 영양군에서 국내 재배가 성공하게 되었다. 농가에서 단삼을 일부 생산하고 있으나, 천연물은 산지, 채집시기 등에 따라 원료생약의 유효성분 함량 및 품질 차이가 있고, 건조 상태, 가공법에 따라 지표성분 등의 차이가 있어 원료생약에 대한 기준규격시험이 필요하며 규격화된 시료의 공급이 필요하다. 국내 재배기술을 체계적으로 확립하여 한약재 및 가공원료의 공급으로 고령지 재배 단삼의 특화생산을 통한 소득 작물화 및 건강기능성 제품 개발을 위한 기반구축 및 재배기술 기반의 취약하여 영농관련 애로기술 해결이 필요하다. 본 연구는 국내산 단삼을 활용한 식품개발을 위해 가공적성이 우수한 단삼을 생산하기 위하여 수행하였다. 유효성분 함량이 높은 단삼의 고령지 재배기술 개발 기반 구축과 가공제품 맞춤형 원료삼 생산조건 확립을 위하여 단삼의 광합성, 증산율 등 생리반응을 고려하여 단삼의 유효성분의 함량이 가장 높은 시기에 수확시기의 파악 및 가공적성 맞춤형 재배기술을 확보하기 위해 유효성분을 고려한 적정 수확년수 및 수확시기 설정, 원료삼 품위조절을 위한 파종기, 파종방법, 재식거리 및 재배년수별 품질 등 재배법을 확립하고자 하며, 이를 활용한 표준화된 추출물의 생산기반 구축 연구를 도모하고자 한다.

#### 3. 단삼 및 가공제품의 유효성분의 변화 분석

단삼(*Salvia miltiorrhiza*)은 꿀풀과 다년생 식물로 항암, 항염증, 간 보호작용 등으로 주로 한방 약재로 사용되어 왔으며, 유효성분은 tanshinone 1 & 2A, cryptotanshinone, tanshindiol, hydroxytanshinon, isotanshinone 등이 주성분으로 보고되어 있다. 하지만, 단삼의 식품학적 특

성이나 건강기능성 제품화 및 이와 관련하여 단삼 유효성분에 관한 연구는 거의 없는 형편이므로 단삼 추출물 및 가공제품의 유효성분 분석법 개발로 원료 및 가공제품의 표준화 기반 구축이 필요하다.

## IV. 연구개발 내용 및 범위

### 1. 국내산 단삼의 유효성분 강화 가공기반 구축

국내산 단삼을 이용하여 유효성분 강화 가공기반 구축을 위해 유효성분 추출공정별 이화학적 특성을 조사하였으며, 저온 추출에 따른 추출물의 이화학적 특성을 비교 조사하여 유효성분 극대화 최적 추출조건을 설정하고자 하였다. 추출을 위한 효소종류 및 추출온도 시간 설정별 이화학적 특성 및 생리 활성의 변화 패턴을 조사한 후 Lab scale에서의 최적 추출조건을 일차적으로 설정하였으며, pilot scale, mass scale로 순차적 생산을 통해 최적공정을 확립하였다. 최적공정을 통해 생산된 단삼 추출농축물을 활용한 가공제품으로의 개발을 위해, 음료베이스 및 타블렛 제형 검토, 단삼원물 활용 침출차 및 침출주 제형을 검토하였다.

#### 가. 단삼의 가공적성 개발

- 효소 농도, 온도 시간에 따른 추출조건 조사
- 고형분 함량, 당도, pH조사를 통한 추출수율 조사
- 분쇄 입도별 적성 조사

#### 나. 효소 처리를 이용한 차별화 기능성 단삼 추출물 제조조건 확립

- 효소 처리 추출조건 조사
- 효소 처리 추출물의 기능성 특성 조사
- SCALE-UP 추출공정 표준화

#### 다. 단삼 추출물 및 가공제품의 효능평가

- 항산화 효능 평가
- 항치매 활성 평가
- 항염증 효능 평가

#### 라. 단삼 추출처리별, 가공제품별 유효성분 함량 변화 패턴 분석

- 단삼 원료 유효성분 규격 설정
- Lab scale, pilot scale, mass scale 별 유효성분 함량 평가

#### 마. 단삼을 활용한 제품화 기반 구축

- 단삼 추출물을 이용한 음료 개발
- 단삼 추출물을 이용한 제품 개발
- 단삼 이용한 침출차 개발
- 단삼 원형 보존 침출 제품 개발
- 단삼 가공제품의 유효성분 함량 조사

## 2. 기능성 식품원료 활용을 위한 가공적성 우수 단삼 생산기술 개발

국내 재배기술을 체계적으로 확립하여 한약재 및 가공원료의 공급으로 고랭지 재배 단삼의 특화생산을 통한 소득 작물화 및 건강기능성 제품개발을 위한 기반구축 및 재배기술 기반의 취약하여 영농관련 애로기술 해결이 필요하다. 단삼의 유효성분의 함량이 가장 높은 시기에 수확시기의 파악 및 가공적성 맞춤 재배기술을 확보하기 위해 유효성분을 고려한 적정 수확년수 및 수확시기 설정, 원료삼 품위조절을 위한 파종기, 파종방법, 재식거리 등 재배법을 고려한 가공제품 맞춤형 고품질 원료삼 생산조건을 확립하고자 한다.

#### 가. 유효성분 증대 재배기술 개발

- 단삼 생산 재배적지 구분을 위한 환경조건 구명
- 유효성분 증대를 위한 적정 수확년수 및 수확시기 구명

#### 나. 가공제품별 원료삼 생산조건 구명

- 원료삼 품위조절을 위한 파종시기, 파종방법 및 재식거리 구명

## 3. 단삼 및 가공제품의 유효성분의 변화 분석

단삼을 이용한 단삼 추출물 및 가공제품의 유효성분 분석법 개발로 원료 및 가공 제품의 표준화 기반 구축이 필요하다. 단삼분석용 시료의 전처리 방법(분쇄, 추출, 농축, 여과 등) 확립, 단삼 성분의 표준 분석 조건 확립, 개발 품종별 단삼 유효성분 함량 분석, 단삼 유효성분의 추출 함량 및 수율 분석, 단삼 가공제품의 유효성분 함량 분석을 하고자 한다.

#### 가. 단삼의 가공적성을 위한 처리별 유효성분의 변화 분석

- 표준분석절차 SOP 개발 1종

#### 나. 단삼 가공 전후의 유효성분의 안정성 검토

- 재배조건별 단삼의 유효성분 함량 제시
- 단삼 추출물의 유효성분 함량 제시 1종
- 단삼 가공제품의 유효성분 함량 제시 5종

## V. 연구개발결과

### 1. 국내산 단삼의 유효성분 강화 가공기반 구축

- 가. 최적 효소제로 amylase를 선정하였으며, 추출시간 4시간, 추출온도 60도, 분쇄입도 미분쇄로 추출하는 것을 최적 추출조건으로 설정함.
- 나. 최적 추출조건에서 단삼의 지표성분이자 기능성 성분인 salviannolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1, tanshinone 2A의 함량의 범위를 설정함.
- 다. 단삼 추출물의 항산화 및 항치매 저해활성을 조사한 결과 최적 추출조건에서 가장 우수한 효능을 나타냄.
- 라. Scale별 생산시 최적 추출조건에서 단삼추출농축액 및 원료 단삼의 유효성분 함량 85-115% 범위 설정 자료를 확보함
- 마. 단삼추출농축액을 다양한 가공식품 및 건강기능식품 원료로 활용하기 위하여 음료베이스, 타블렛 제형, 분무건조분말, 단삼 원물활용 침출차, 침출주 등 가공적성을 검토 완료함.
- 바. 단삼추출농축액을 활용한 가공제품의 단삼 지표성분의 안정성을 평가, 관리 자료를 확보함.

### 2. 기능성 식품원료 활용을 위한 가공적성 우수 단삼 생산기술 개발

- 가. 단삼 생산 재배적지 구분을 위한 환경조건은 온도 및 광 조건에 따른 단삼의 광합성율, 증산율 및 엽록소 형광반응 특성조사 결과, 단삼의 광합성 등 생리특성은 20℃에서 가장 높고 온도가 높을수록 낮아져 재배기간 중 온도가 가장 큰 영향을 주었음.
- 나. 적정 파종시기는 4월 하순 파종시 5월 상순 보다 근 직경이 굵었고 그 외 특성 차이는 없었음.
- 다. 적정 수확시기는 당해연도 수확보다 익년 3월 중순 이후 수확시 Salviannolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1, tanshinone 2A 함량이 높아 적정 수확시기는 익년 3월 중순으로 확인됨.

- 라. 적정 재배년수는 1년생 수확시 cryptotanshinone, tanshinone 1, tanshinone 2A 함량이 높았고 매년 수확이 가능하므로 2년생, 3년생에 비해 1.3~1.5배 수확량이 증가하는 효과가 있었음.
- 마. 적정 재식거리는 30×5cm에서 수량이 가장 많았고 30×10cm, 30×20cm에 비해 2.6~3.2배 증수효과가 있었고, cryptotanshinone, tanshinone 1의 함량도 높은 경향을 나타내었음.
- 바. 적정 파종방법은 트레이육묘 처리에서 수량이 가장 많았고 salvianolic acid B, cryptotanshinone 함량도 높았음.
- 사. 단삼의 재배는 기온이 20℃ 정도의 고랭지가 적지이며, 트레이 육묘한 모종을 4월 하순 이전에 정식하고 30×5cm로 식재하여 익년 3월 중순 이후에 수확하는 것이 품질이 우수한 단삼을 생산하는 조건임.

### 3. 단삼 및 가공제품의 유효성분의 변화 분석

- 가. 단삼 유효성분 분석법 확립을 위해 HPLC 분석법을 적용하였으며, 검출한계, 정량한계, 일간, 일중 변동 분석에서 우수한 정밀도를 나타냄.
- 나. 국내산과 중국산 단삼의 유효성분의 차이에서 국내산은 tanshinone 2A의 함량이 높았고, 중국산은 tanshinone 1의 함량이 높은 것으로 나타남.
- 다. 부위별 단삼의 유효성분의 차이는 주근에서는 salvianolic acid B와 tanshinone 1이 높게 나타났고, 지근에서는 cryptotanshinone과 tanshinone 2A가 높은 함량을 나타냄.
- 라. 수확시기별 단삼의 유효성분은 수확시기가 늦을수록 증가하였으며, cyryptotanshinone, tanshinone 1, tanshinone 2A의 경우 완만한 증가를 보인 반면에, salvianolic acid B의 경우 3월에 수확한 시료가 11월에 수확한 것보다 20배 이상 함량이 증가되는 것으로 나타남.
- 마. 단삼의 메탄올 추출시 수율은 57~83%의 범위였으며, 주근의 추출 수율이 가장 높게 나타남.
- 바. 단삼 시제품의 유효성분은 효소 처리구에서 함량이 증가하는 경향을 나타냄.

## VI. 연구성과 및 성과활용 계획

### 1. 국내산 단삼의 유효성분 강화 가공기반 구축

중국산에 비하여 유효성분 함량이 높은 국내산 단삼을 이용하여 유효성분이 파괴되지 않으면서, 함량 및 생리활성이 우수한 국내산 단삼 추출농축액의 제조공정을 확립하고 이를 원천기술로 활용하기 위하여 특허 출원하였다. 국내외에서 차별화된 추출공법으로 기술적으로 앞선 단삼 추출농축액을 제조 생산함으로써 타제품과의 차별성을 확보하게 되었으며, 현재 영양군 단삼을 활용하여 단삼 추출농축액의 1 ton 규모의 본 생산을 마친 상태이다.

향후 이를 활용한 다양한 제품개발을 통해 고부가가치화하고자 현재, KMF에서는 2015년 11월 27일 (주)코스맥스 바이오와 경북 영양군 단삼 제품화 기반 구축을 위한 MOU체결을 통해 단삼의 제품화 및 향후 추가적인 공동연구의 기틀을 마련하였다.

이와 같이 단삼의 신수요를 창출하여 활용도를 높이고, 다양하게 상품화하여 국민들의 건강에의 기여 및 국내산 단삼 재배농가의 수입증대에 도움이 되며, 전량 수입에 의존하는 단삼의 안전생산 체계 구축으로 중주국인 중국으로의 수출까지 가능한 식·의약품원료로의 활용이 가능할 것으로 생각된다.



### 2. 기능성 식품원료 활용을 위한 가공적성 우수 단삼 생산기술 개발

중국산 단삼에 의존하던 약재의 유효성분 함량이 높은 국내산 단삼의 재배가 가능해짐에 따라, 가공적성이 향상된 품종의 재배기술을 활용이 가능하도록 영농기술 자료 제작 및 농가 보급, 재배농가의 현장 컨설팅을 통한 재배기술 교육 및 컨설팅 등 다양한 현장 적용을 위해 활용하고자 한다. 또한, 소비촉진, 홍보를 위해 개발기술의 언론홍보 및 단삼산업 육성을 위한 시책건의 자료의 발굴이 진행됨에 지역특산물화를 통해 관련 농가소득 증대 및

고부가가치화와 중국산 단삼 수입대체 효과 및 국산 단삼의 우수성 확보로 국익에 기여가 예상된다.

### 3. 단삼 및 가공제품의 유효성분의 변화 분석

신속 정확한 단삼 유효성분 분석 조건을 확립하였고, 이를 통해 단삼 및 그 가공품의 품질 관리 및 연구에 활용하고자 한다. 또한, 유효성분 분석을 통한 단삼의 최적 수확시기를 결정하였고, 부위별 및 국내산과 중국산 단삼의 유효성분의 차이를 검정하였다. 최적 수확시기를 확립함에 따라 단삼의 효율적인 생산과 재배농가의 소득증대가 기대되며, 사용목적에 따른 부위별 단삼의 활용 가능성이 증가할 것으로 기대되며, 국내산 단삼의 높은 유효성분 함량은 기능성 식품의 개발 및 수출에 기여가 예상된다.

## SUMMARY

### I. Title

Highland cultivation technology and processing set up focused on the active ingredient enhancing using the domestic *Salviae Miltiorrhizae* Bunge

### II. Objectives & Results of R&D

Types of Objectives	Objectives in Detail	Weights (%)	Points and Criteria of Evaluation	Degree of Completion (%)
I Independent	Development of Processing Suitability of <i>Salviae Miltiorrhizae</i> Bunge	50	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Determination of the Content of Active compounds in <i>Salviae Miltiorrhizae</i> Bunge</li> <li>-Set up of the Specification (85-115% of Content)</li> <li>-Presentation of the Reproducibility of Active Ingredient in <i>Salviae Miltiorrhizae</i> Bunge extract</li> <li>-Within RSD 5% of Content</li> </ul>	100
	Establishment of the Foundation of Commercialization of <i>Salviae Miltiorrhizae</i> Bunge products	50	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Development of 5 type product</li> <li>-Functional Drink    -Leaching Tea</li> <li>-Leaching wine      -Concentrated extract</li> <li>-Tablet &amp; Powder</li> </ul>	100
I Collaborative	Development of Cultivation Technology enabling the Enrichment of Active Ingredients of <i>Salviae Miltiorrhizae</i> Bunge	60	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Determination of the Period of Cultivation (years) and Time of Harvest</li> </ul>	100
	Clarification of Conditions to produce Raw Radices of Dansam to be prepared for the Production of Each Product	40	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Determination of the Time of Planting, Planting Density, and Seeding Method</li> </ul>	100
Entrusted	Development of Methods to Analyze Active Ingredients of <i>Salviae Miltiorrhizae</i> Bunge	50	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Development of SOP for Standard Analysis Procedure (1 Prototype)</li> </ul>	100
	Analysis of Active Ingredients' Contents of <i>Salviae Miltiorrhizae</i> Bunge	50	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Presentation of Active Ingredient Contents of Dansam for each Condition of Cultivation</li> <li>• Presentation of Contents of Active Ingredient of <i>Salviae Miltiorrhizae</i> Bunge Extraction (1 Prototype)</li> <li>• Presentation of Contents of Active Ingredient of <i>Salviae Miltiorrhizae</i> Bunge Product (5 Prototypes)</li> </ul>	100

### **III. Objectives and Importance of the Project**

#### **Section 1. Establishment of Foundation of the Process Enabling Enrichment of Active Ingredients of Domestic *Salviae Miltiorrhizae* Bunge**

*Salviae Miltiorrhizae* Bunge is a medicinal plant registered in Korea Pharmacopeia and most of the demand has been fulfilled by imported amount reached 145 ton (330,000 USD) (2010). It was not cultivated in full scale until 2012 when Yongyang County of Gyeongbuk Province succeeded in the full scale cultivation of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge. Since then some of farmers have been cultivating the plant however, actual commercialization of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge requires diverse approaches to the proper processing of the plant.

However, given that there are not many processed food products using *Salviae Miltiorrhizae* Bunge, the development of an efficient extraction process and processing methods using the extracts and raw material are needed in order to increased its demands. Given this, studies on the optimization of basic extraction conditions and characteristics for the development of processing methods of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge are in urgent need. Also, in order to utilize *Salviae Miltiorrhizae* Bunge containing functional ingredients with high resistance against heat, Functional ingredients promote, processing product development, such as differentiating function ality using an enzyme treatment for strengthening the active ingredient of the weak *Salviae Miltiorrhizae* Bunge column fort he purpose diversity of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge, *Salviae Miltiorrhizae* Bunge extract scon ditioning, *Salviae Miltiorrhizae* Bunge extract processed by machining product-specific active ingredient contents in pattern analysis, utilizing *Salviae Miltiorrhizae* Bunge products (beverages, Tea, leaching products) based building development and food production technology development *Salviae Miltiorrhizae* Bunge extract concentrate was possible materials for industrial utilization.

#### **Section 2. Development of Cultivation Technology of Domestic *Salviae Miltiorrhizae* Bunge enabling Excellent Processing Suitability as a Raw Material to Produce Functional Health Products**

*Salviae Miltiorrhizae* Bunge that had been imported as a medicinal plant was cultivated in 2012 for the first time by the Yeongyang County in Gyeongbuk Province. Since then, some farmers have been cultivating the plant, however, tests to establish standardized specifications of raw materials and supply of standardized specimens have been needed because the quality and contents of active ingredients of the plant were varied according to sites of cultivation, seeding time, seeding methods, times of harvest, dryness, and

processing methods.

Thus the establishment of systematic technologies for the highland cultivation of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge as a medicinal plant and as a raw material for food products was required to consolidate the agricultural foundation to secure the earning of farmers and development of functional food products for health. This study was designed to find ways to cultivate domestic *Salviae Miltiorrhizae* Bunge having excellent processing suitability enabling the development of functional food products.

And the identification of harvest time, periods (years) of highland cultivation, times for seeding, methods of seeding, planting spacing, and methods and qualities per years of cultivation of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge etc. were selected as objectives of this study by considering factors associated with the highland cultivation of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge such as photosynthesis and transpiration rate for the harvest of the highest level of active ingredients of medicinal effects and processing suitability thereof etc. to establish the foundation of the production of standardized extraction of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge.

### **Section 3. Analysis of Varied Active Ingredients in *Salviae Miltiorrhizae* Bunge and Products Processed Thereof**

*Salviae Miltiorrhizae* Bunge is a perennial plant belonging to Labiatae and has been used as one of traditional medicinal materials of oriental medicines and, currently, active ingredients like tanshinone I, II, cryptotanshinone, tanshindiol, hydroxytanshinon, and isotanshinone have been reported as its principal substances. However, studies delved into active ingredients of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge on the standpoint of bromatology or commercialization of subsidiary products are few and therefore the foundation of the production of standardized functional health products made of standardized extractions of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge should be established based on the development of methods for an analysis of active ingredients thereof.

## **IV. Contents and Scope of the Project**

### **Section 1. Establishment of Foundation of the Process Enabling Enrichment of Active Ingredients of Domestic *Salviae Miltiorrhizae* Bunge**

Analyzed the physiochemical properties of active ingredients in each phase of extraction to establish the foundation for processing of reinforced active ingredients using the domestically produced *Salviae Miltiorrhizae* Bunge, and conducted a comparative study on the physiochemical properties of the extract due to a low-temperature extraction in order

to set up the optimized extraction condition that can maximize the content rate of active ingredients. After examining the changes in physiochemical properties and physiological properties depending on the type of enzymes used for extraction and according to extraction temperatures, the optimized extraction conditions were primarily set up in the Lab scale, and then, the optimized production processes were established on an consecutive order from the pilot scale and to the mass scale. We assessed how to process *Salviae Miltiorrhizae* Bunge into beverage base, tablets, leached tea or leached wine in order to develop processed food products by utilizing the extract produced through the optimized process.

**A. Establishment of production conditions for differentiated functional extract of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge through enzyme treatment**

- Research on extraction conditions depending on enzyme concentrations and temperature differences
- Research on extraction yields through analysis of solid content, sugar content and pH analysis
- Research on aptitude by particle size
- research on enzyme-treated extraction conditions

**B. Evaluation of efficacy of *Salviae miltiorrhizae radix* extract and processed products**

- Evaluation of anti-oxidant efficacy
- Evaluation of anti-dementia efficacy
- Evaluation of anti-inflammatory efficacy

**C. Analysis of active ingredient content patterns depending on extraction processing methods of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge and by the type of processed products**

- Evaluation of reproducibility of active ingredient content ranges of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge
- Evaluation of reproducibility of active ingredient content ranges by lab scale, pilot scale, and mass scale

**D. Establishment of Foundation for Products made of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge**

- Development of Beverage made of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge Extraction

- Development of Concentrated Liquid and Tablet of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge Extraction
- Development of Leaching Tea Made of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge
- Development of Leaching Products made of Original *Salviae Miltiorrhizae* Bunge
- Examination on Contents of Active Ingredients in Processed Products

## **Section 2. Development of Cultivation Technology of Domestic *Salviae Miltiorrhizae* Bunge enabling Excellent Processing Suitability as a Raw Material to Produce Functional Health Products**

The agricultural solution embodied through systematic technologies for domestic farmers for the high land cultivation of medicinal herbs like *Salviae Miltiorrhizae* Bunge is needed to provide farmers with profitable farm products and to supply raw materials thereby to produce functional health products.

Therefore, the conditions for the cultivation of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge such as the period of cultivation and times for harvest, times of seeding, methods of seeding, or planting spacing etc. to attain optimal active ingredients should be established for the production of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge equipped with the processing suitability to produce functional health products thereof.

### **A. Development of Cultivation Technology Enabling Enrichment of Active Ingredients**

- Investigation on Environmental Conditions to find Optimal Sites for Cultivation of Domestic *Salviae Miltiorrhizae* Bunge
- Investigation on Optimal Years of Cultivation and Times for Harvest of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge to Improve the Level of Active Ingredients

### **B. Investigation on Cultivation Conditions of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge for Each Type of Processed Products.**

- Investigation on times for seeding, methods of seeding, and planting spacing to attain optimal quality of Raw (Radices of) *Salviae Miltiorrhizae* Bunge

## **Section 3. Analysis of Varied Active Ingredients in *Salviae Miltiorrhizae* Bunge and Products Processed Thereof**

The foundation for the production of standardized raw materials and products is needed through the development of analytical methods of active ingredients in extractions from *Salviae Miltiorrhizae* Bunge and in products thereof.

Therefore, the methods of pretreatment of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge (grinding, extraction, concentration, filtration etc.) and of standardized analysis for active ingredients and substances in original *Salviae Miltiorrhizae* Bunge and products thereof together with the yield of production process are needed.

**A. Analysis of Varied Active Ingredients in Dansam for the Processing Suitability of Dansam**

- Development of SOP for Standard Analysis Procedure (1 Prototype)

**B. Examination on the Stability of Pre- and Post-Process Active Ingredients of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge**

- Presentation of Active Ingredient Contents of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge for each Condition of Cultivation
- Presentation of Contents of Active Ingredient of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge Extraction (1 Prototype)
- Presentation of Contents of Active Ingredient of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge Product (5 Prototypes)

## **V. Results of the Project**

### **Section 1. Establishment of Foundation of the Process Enabling Enrichment of Active Ingredients of Domestic *Salviae Miltiorrhizae* Bunge**

- A. We selected amylase as the optimal enzyme, and identified 4 hours of extraction at a temperature of 60°C with fine particle size as the optimized extraction conditions.
- B. We established the content ranges of indicator ingredients and functional ingredients such as salvianolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1, and tanshinone 2A at the optimized extraction condition.
- C. The optimized extraction condition showed the best efficacy of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge extract through the research on antioxidant and anti-dementia efficacy and inhibitory activities
- D. The reproducibility of active ingredients of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge extract at the optimized extraction conditions by scale of production was identified.
- E. After examining the development of various processed food products by using the *Salviae Miltiorrhizae* Bunge extract as a food raw material, the study completed

review of the possibility of utilizing *Salviae Miltiorrhizae* Bunge as a beverage base, tablets, leached tea and wines using the raw produce.

## **Section 2. Development of Cultivation Technology of Domestic *Salviae Miltiorrhizae* Bunge enabling Excellent Processing Suitability as a Raw Material to Produce Functional Health Products**

- A. The photosynthetic quotient, transpiration rate, and characteristics of chlorophyll fluorescent responses etc. of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge were examined to find an optimal environmental condition such as in temperature or in photo-conditions for the cultivation of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge. Results obtained from the examination showed the physiological characteristics of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge such as photosynthesis etc. showed the highest level of active ingredients at the temperature of 20°C and the level decreased in accordance with the increase of temperature that influenced the greatest effect on active ingredients.
- B. Regarding the seeding time, the *Salviae Miltiorrhizae* Bunge seeded at the end of April exhibited thicker diameter of root compared to that seeded during the first 10 days of May with no differences in characteristics of Dansam elsewhere.
- C. Appropriate times for the harvest of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge was found to be the period after mid-March of next year from the year of seeding of Dansam when the level of contents of Salvianolic acid B, Cryptotanshinone, Tanshinone I, and Tanshinone IIA appeared high.
- D. Optimal period of cultivation of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge was also examined. And in the case of the harvest of 1-year old Dansam, the level of contents of Cryptotanshinone, Tanshinone I, and Tanshinone IIA appeared higher than those of the Dansam of 2 or 3 years old; and thus the annual harvest of Dansam was concluded to enable the productivity increase by 1.3~1.5 times compared to the harvest of 2 or 3 years old Dansam.
- E. The planting spacing of 30×5cm yielded the largest amount which was about 2.6~3.2 times higher than those of 30×10cm and 30×20cm with higher level of the contents of Cryptotanshinone and Tanshinone I.
- F. Regarding the seeding of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge, the raising seedling in a tray rendered the largest amount with higher contents of Salvianolic acid B and Cryptotanshinone.
- G. The highland at temperature of approx. 20°C appeared to be the best place for the cultivation of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge. And to let seedlings raised in a tray be

planted before the end of April with the planting spacing of 30×5cm and be harvested after mid-March next year was concluded as the condition for the cultivation of Dansam of high quality.

### **Section 3. Analysis of Varied Active Ingredients in *Salviae Miltiorrhizae* Bunge and Products Processed Thereof**

- A. For the analysis of active ingredients of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge, the high-performance liquid chromatography was employed and results obtained thereof exhibited excellent precision in respects of the limits of detection & quantification and of daily & circadian variation.
- B. The Chinese and Korean Dansam were compared with each other and, results obtained from the comparison showed higher level of tanshinone 2A in domestic Dansam while the Chinese Dansam showed the level of tanshinone 1 higher than domestic Dansam.
- C. Each part of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge was examined to find the difference in distribution of active ingredients. The main root revealed comparatively higher level of salvianolic acid B and tanshinone 1 while the rootlets exhibited higher contents of cryptotanshinone and tanshinone 2A.
- D. Level of active ingredients according to each time of harvest was also examined. The level of active ingredients increased along with the delay of harvest. The ingredients of cyryptotanshinone, tanshinone 1, and tanshinone 2A showed slow increase but, the salvianlonic acid B in the Dansam harvested in March marked more than 20 times higher level than that of harvested in November.
- E. The range of yield in the extraction of methanol from *Salviae Miltiorrhizae* Bunge marked 57%~83%; and the main root of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge exhibited the highest yield.
- F. The active ingredients of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge contained in prototype products tended to be increasing in the ones from enzyme treatment.

## **VI. Proposed Applications for Results**

### **Section 1. Establishment of Foundation of the Process Enabling Enrichment of Active Ingredients of Domestic *Salviae Miltiorrhizae* Bunge**

By using the Korean *Salviae Miltiorrhizae* Bunge that has a higher content of active ingredients compared to the Chinese counterpart, we established the production process for the extract using the domestically produced *Salviae Miltiorrhizae* Bunge known for its

higher content of active ingredients and an excellent level of physiological properties, and applied for patent to use it as a source technology. We have secured the competitive advantage over other products by producing the *Salviae Miltiorrhizae* Bunge extract using the domestically and internationally differentiated and advanced extraction technology, and completed the 1 ton-scale production of the extract using *Salviae Miltiorrhizae* Bunge produced in Yeongyang County, Gyeongbuk Province in South Korea.

As part of an effort to produce high-value added products through the diversification of product development using the extract, the KMF signed the MOU with COSMAX BIO Co. Ltd., for the establishment of the foundation for commercialization of products using *Salviae miltiorrhizae* radix produced in Yeongyang County, and laid the framework for joint researches in the future.

By creating new demands for *Salviae Miltiorrhizae* Bunge, enhancing its application possibility, and diversifying food products, it can contribute to improving the public health and increasing the domestic producers' incomes. Although the entire demands for *Salviae Miltiorrhizae* Bunge is currently dependent on imports, it is believed that the establishment of a safe production system and the use of the domestically-produced *Salviae Miltiorrhizae* Bunge will make it possible to use it as a raw material for food and medical products which can be exported back to China, which is its country of origin.

## **Section 2. Development of Cultivation Technology of Domestic *Salviae Miltiorrhizae* Bunge enabling Excellent Processing Suitability as a Raw Material to Produce Functional Health Products**

By the accomplishment of successful cultivation of domestic *Salviae Miltiorrhizae* Bunge containing high level of active ingredients, the Chinese Dansam which have been imported can be replaced with domestic *Salviae Miltiorrhizae* Bunge and for this purpose, the materials to distribute developed agricultural technologies will be prepared for the education and consulting to domestic farmers to cultivate domestic *Salviae Miltiorrhizae* Bunge.

Besides, the secured agricultural technology is expected to bring about the increase of national interest through the increased earning of domestic farmers from high value added products and the import substitution for Chinese Dansam along with the proposition of policies to foster the industry of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge cultivation and associated products (through promotions of consumption of such products and public relations of developed technology).

### **Section 3. Analysis of Varied Active Ingredients in *Salviae Miltiorrhizae* Bunge and Products Processed Thereof**

The fast and accurate analysis of active ingredients of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge was consolidated by the study and this will be exploited for the quality control and R&D of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge and products therefrom.

The optimal time for the harvest of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge was determined through the analysis of active ingredients and, the differences in the level of active ingredients in each part of the plants of domestic and Chinese Dansam were examined. The determined optimal harvest time of planted *Salviae Miltiorrhizae* Bunge is expected to bring about increased earnings for farmers; and each part of Dansam is also expected to be exploited for respective purposes. The high level of active ingredients in domestic *Salviae Miltiorrhizae* Bunge also gives us the prospect that it could contribute to the development and export of additional functional food products.

# CONTENTS

Chapter 1. Summary of the study .....	23
Chapter 2. Present conditions of world-wide technical developments .....	25
Chapter 3. Contents and results of the study .....	27
Part 1: Establishment of Foundation of the Process Enabling Enrichment of Active Ingredients of Domestic <i>Salviae Miltiorrhizae</i> Bunge .....	29
Part 2. Development of Cultivation Technology of Domestic <i>Salviae Miltiorrhizae</i> Bunge enabling Excellent Processing Suitability as a Raw Material to Produce Functional Health Products .....	70
Part 3. Analysis of Varied Active Ingredients in <i>Salviae Miltiorrhizae</i> Bunge and Products Processed Thereof .....	88
Chapter 4. Achievement of aims and contribution .....	110
Chapter 5. Application of the study .....	111
Chapter 6. Information of foreign science and technology .....	118
Chapter 7. Research facilities and equipments .....	118
Chapter 8. Laboratory safety management implementation performance .....	118
Chapter 9. References .....	121

# 목 차

<b>제 1장 연구개발 과제의 개요 및 성과 목표</b> .....	<b>23</b>
제 1절 연구개발의 목표 .....	23
제 2절 연구개발의 내용 .....	23
제 3절 연구개발의 필요성 .....	23
제 4절 연구성과 목표 대비 실적 .....	24
<b>제 2장 국내외 기술개발 현황</b> .....	<b>25</b>
제 1절 국내외 단삼 시장 현황 .....	25
제 2절 국내외 단삼 재배관련 기술 개발 현황 .....	26
<b>제 3장 연구개발 수행내용 및 결과</b> .....	<b>27</b>
제 1절 연구개발 수행내용 .....	27
제 2절 연구개발 수행결과 .....	29
<b>&lt;1 세부 과제: 국내산 단삼의 유효성분 강화 가공 기반 구축(케이엠에프)&gt;</b>	
1. 재료 및 방법 .....	29
2. 연구개발 수행결과 .....	33
가. 단삼의 가공적성 개발 .....	33
나. 효소 처리를 이용한 차별화 기능성 단삼 추출물 제조 조건 확립 및 효능평가 .....	37
다. 단삼추출 scale별 유효성분 함량 .....	53
라. 단삼을 활용한 제품화 기반 구축 .....	55
<b>&lt;제 1협동과제: 기능성 식품원료 활용을 위한 가공적성 우수 단삼 생산기술 개발(봉화약초시험장)&gt;</b>	
1. 재료 및 방법 .....	70
2. 연구개발 수행결과 .....	72
가. 유효성분 강화 고랭지 단삼 재배 기술 개발 .....	72
나. 재배방법에 따른 생육, 수량 및 품질 .....	76
<b>&lt;위탁과제: 단삼 및 가공제품의 유효성분의 변화 분석&gt;</b>	
1. 재료 및 방법 .....	88
2. 연구개발 수행결과 .....	92
가. 단삼유효성분 분석법 개발 .....	92
나. 단삼 개발 품종의 유효성분 함량 분석 .....	96
다. 단삼 전처리 및 수확시기에 따른 유효성분 함량 분석 .....	98
라. 단삼의 항산화 성분 함량 및 활성 .....	102

다. 단삼 시제품의 유효성분 함량 분석 .....	105
<b>제 4장 목표달성도 및 관련 분야에의 기여 .....</b>	<b>110</b>
<b>제 5장 연구개발 성과 및 성과 활용계획 .....</b>	<b>111</b>
제 1절 연구개발 성과목표 대비 실적 .....	111
제 2절 연구개발 성과목록 .....	111
제 3절 추가 연구 및 연구에 활용 계획 .....	118
<b>제 6장 연구개발과정에서 수집한 해외 과학기술 정보 .....</b>	<b>118</b>
<b>제 7장 연구시설 장비 현황 .....</b>	<b>118</b>
<b>제 8장 연구실 안전관리 이행 실적 .....</b>	<b>118</b>
<b>제 9장 참고 문헌 .....</b>	<b>121</b>

# 제 1 장 연구개발과제의 개요 및 성과목표

## 제 1 절 연구개발의 목표

국내산 단삼의 고랭지 재배기술 및 유효성분 강화가공 기반구축

## 제 2 절 연구개발의 내용

- 단삼의 고랭지 재배기술 개발 기반 구축
- 가공제품 맞춤형 고품질 원료삼 생산조건 확립
- 저온 효소 처리를 활용한 유효성분 강화 단삼 추출물 제조조건 개발
- 단삼 추출물 및 가공제품의 효능평가
- 단삼 및 단삼추출 처리별 유효성분 함량 변화 모니터링
- 단삼을 활용한 제품(음료류, 다류, 침출제품) 개발 기반 구축
- 단삼의 가공적성을 위한 처리별 유효성분의 변화 분석
- 단삼 가공 전후의 유효성분의 안정성 검토

## 제 3 절 연구개발의 필요성

- 단삼(Danshen, *Salvia Miltiorrhiza* Bunge)은 적삼, 자단삼, 대홍포, 활혈근으로도 불리며, 뿌리가 붉어서 단삼이라고 한다. 원산지는 중국으로서 심혈관 질환, 생리불순, 생리통, 어혈성 심복부동통, 불면증, 피부발진 등의 치료에 널리 사용되며, 건조한 뿌리를 약재로 사용하고 있음.
- 단삼(*Salvia miltiorrhizae*)은 꿀풀과 다년생 식물로 향암, 향염증, 간 보호작용 등으로 주로 한방 약재로 사용되어 왔음. 단삼은 대한약전에 수재되어 있는 약용작물로 한약재 수요가 높아짐에 따라 약재수요의 대부분을 수입에 의존하며, 수입량은 2010년 146톤(33만\$)에 달함.
- 단삼은 국내에서 재배되지 않았으나 경북 영양군에서 재배가 성공함. 농가에서 단삼을 일부 생산하고 있으나 재배기술 기반의 취약하여 영농관련 애로기술 해결이 시급한 편임.
- 천연물은 산지, 채집시기 등에 따라 원료생약의 유효성분 함량 및 품질 차이가 있고, 건조 상태, 가공법에 따라 지표성분 등의 차이가 있어 원료생약에 대한 기준규격시험이 필요하며 규격화된 시료가 필요한 실정임.

- 단삼의 식품학적 특성이나 건강기능성 제품화 및 이와 관련하여 단삼 유효 성분 에 관한 연구는 거의 없음.
- 단삼의 기능성분 증진, 가공제품 개발 등 단삼의 용도 다양화를 위해서는 식품산업소재 활용에 적합한 고품질 단삼 생산기술 개발이 요구됨.
- 수입의존 약용작물인 단삼의 국내 재배기술을 체계적으로 확립하여 한약재 및 가공원료의 공급으로 고랭지 재배 단삼의 특화생산을 통한 소득 작물화 및 건강기능성 제품개발을 위한 기반구축이 필요함.
- 단삼의 유효성분의 함량이 가장 높은 시기에 수확시기의 파악 및 가공적성 맞춤 재배기술을 확보하여야 하며, 이를 활용한 표준화된 추출물의 생산기반 구축 연구가 필요한 실정임.
- 단삼 추출물 및 가공제품의 유효성분 분석법 개발로 원료 및 가공 제품의 표준화 기반 구축이 필요함.
- 열에 약한 단삼의 유효성분 강화를 위한 효소 처리 가공방법 개발 필요.
- 국내에서는 단삼 추출 액상차, 단삼환 수준에 그치고 있어, 국내에서 생산되는 단삼의 수요를 높이기 위해서는 국내 시장에 적합한 가공제품개발 연구가 필요함.

#### 제 4 절 연구성과 목표 대비 실적

구분	세부연구 개발목표	가중치 (%)	평가의 착안점 및 기준	달성도 (%)
1세부	단삼의 가공적성 개발	50	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 효소 처리 단삼 추출물 유효성분함량 범위설정               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 함량 85-115% 규격 설정</li> </ul> </li> <li>• 효소 처리 단삼 추출물 유효성분함량 재현성 제시               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 함량의 RSD 5%이내</li> </ul> </li> </ul>	100
	단삼을 활용한 제품화 기반 구축	50	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 시제품 개발 5종               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 기능성 음료 및 액상차 1종, 침출차 1종</li> <li>- 침출제품 1종, 농축액 및 타블렛 등 제품화</li> </ul> </li> </ul>	100
1협동	유효성분 증대 재배기술 개발	60	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 재배년수, 수확시기 설정</li> </ul>	100
	가공제품별 원료삼 생산조건 구명	40	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 정식시기, 재식밀도, 파종방법 설정</li> </ul>	100
위탁과제	단삼 유효성분 분석법 개발	50	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 표준분석절차 SOP 개발 1종</li> </ul>	100
	단삼 유효성분 함량 분석	50	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 재배조건별 단삼의 유효성분 함량 제시</li> <li>• 단삼 추출물의 유효성분 함량 제시 1종</li> <li>• 단삼 가공제품의 유효성분 함량 제시 5종</li> </ul>	100

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 제 1 절 국내외 단삼 시장 현황

- 국내 단삼은 전량 수입의존 작물로 2009년 100톤(약 1억 5천만원)이 수입되었으며, 주요 수입국은 중국임. 수입대체 약용작물로 선정되어 경상북도 봉화와 영양군에서 대량 재배를 시작함.
- 경북 영양군의 단삼 생산량은 2011년 10톤, 2012년 36톤, 2013년 60톤, 2014년 75톤으로 매년 생산량이 증대되고 있음. 현재 국내산 단삼의 대부분은 원물로 거래되고 있으며, 일부 가공제품(과우치 등)과 건조제품으로 사용되고 있으나 판매가 원활하지 않음.
- 시판 단삼제품은 한약재료로 중국산 단삼건조물이 대부분이며, 가공제품으로는 환제품 및 다류제품 등으로 제한적으로 개발되어 있으며, 원료의 일부로 사용되고 있는 실정임.
- 중국의 제3차 전국중약자원조사 결과에 따르면, 중약재에 활용되는 중약자원은 모두 799과(科), 3,192속(屬), 12,772종(種)이다. 이 가운데 약용식물이 11,118종으로 87.0%를 차지함. 약용식물 가운데 주요 한약재라 할 수 있는 상용식물약재(常用植物藥材)는 32종이며, 중국 전국에 위치한 약재 생산기지는 600여개에 이르고 있음.
- 중국의 2011년 단삼 생산량은 35,880톤으로 약 765억의 시장이(계상기준 : 산지평균가격) 형성된 것으로 예측되며, 우리나라 단삼 생산량의 약 512배에 해당함.

표 1. 단삼 생산 현황(2011년)

재배면적	수확면적	생산량(톤)	산지평균가격(원/kg)
114,700	123,400	35,880	2,131 (11.88 위안)

\*출처 : 중국의 중약자원 관리 현황과 세계화 전략, 대외경제정책연구원, 2013

- 중국의 단삼 가공 제품으로는 관상동맥심질환, 뇌경색 및 혈액순환 등과 관련된 캡슐, 환, 타블렛, 다류, 주사용 등의 다양한 제형들의 제품이 판매되고 있음. 또한 단삼의 유효성분인 salviannic acid B와 tanshinone 2A를 추출, 정제하여 제품화함.

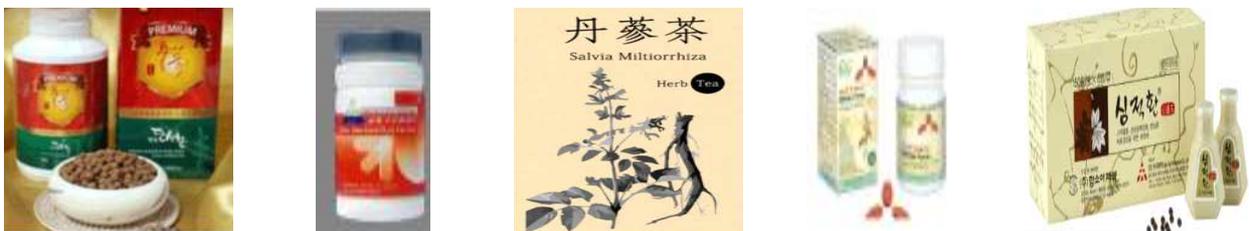


그림 1. 단삼 가공 제품류

## 제 2절 국내외 단삼 재배관련 기술개발 현황

○ 단삼의 식품학적 특성이나 건강기능성 제품화 및 이와 관련하여 단삼 유효성분에 관한 연구는 거의 없는 실정임.

### ○ 재배적지 및 재배기술 관련 연구 미흡

- 광합성 산물, 질소성분의 흡수량 등과 같은 환경조건이 전구물질의 생합성에 영향을 미칠 수 있어, 유효성분 함량이 높은 단삼을 생산, 유통하기 위하여 기상조건을 고려한 재배관리 방법의 개발이 필요함.
- 현재까지 단삼 생산을 위한 재배방법 개발을 위하여 종자채종을 위한 개화결실 특성, 시비량 산정, 잡초방제, 재식밀도와 피복재료 선발에 대한 연구가 수행되었을 뿐 유효성분 함량이 높은 단삼을 생산, 유통하기 위하여 재배환경이 단삼의 생리특성 및 유효성분 함량 변화에 미치는 영향에 대한 연구는 전무한 실정임.

### ○ 재배조건별 생육, 수량 및 품질

- 고품질 단삼을 생산, 유통하기 위해 재배년수, 파종시기, 파종방법, 수확시기 구명에 따른 생육, 수량 및 성분함량을 분석하였으며, 가공적성이 우수하고 유효성분 함량이 높은 단삼을 생산하는 기초자료를 구명하여 고품질 단삼이 생산, 유통 기대됨.

### ○ 기후변화 대응 재배적지 설정

- 현재까지 채종방법, 시비량 산정, 피복재료 선발 등의 연구가 수행되었을 뿐 재배지대 설정에 대한 연구는 없었고, 단삼 생육에 적합한 온도조건 등 환경설정에 대한 연구는 없었으므로 본 연구에서는 단삼의 생육에 적합한 기상조건 구명을 위하여 온도별 광합성, 증산율 및 엽록소 형광반응을 조사하여 유효성분이 높은 고품질 단삼생산을 위한 환경조건을 설정하여 재배적지 분류와 기후온난화에 따른 기후변화 대응 단삼 재배기술 개발의 기초자료를 제공이 가능함.

### 제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과

#### 제 1 절 연구개발 수행내용

##### 1. 연구개발 목표 및 연구개발 수행내용

세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용
국내산 단삼의 유효성분 강화 가공 기반 구축	단삼의 가공적성 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>▫ 추출조건 : 효소농도, 온도, 시간</li> <li>▫ 추출수율 : 고형분 함량, 당도, pH</li> <li>▫ 단삼 분쇄 입도 별 : 원물, 조분쇄, 미분쇄</li> </ul>
	효소 처리를 이용한 차별화 기능성 단삼 추출물 제조조건 확립	<ul style="list-style-type: none"> <li>▫ 효소종류 : amylase계, cellulase계, pectinase계, protease계</li> </ul>
	단삼 추출물 및 가공제품의 효능평가	<ul style="list-style-type: none"> <li>▫ 항산화 : DPPH, ABTS radical 소거능</li> <li>▫ 항치매 : Acetyl choline esterase 저해활성</li> <li>▫ 항염증 : NO radical 소거능</li> </ul>
	단삼 추출처리별, 가공제품별 유효성분 함량 변화 패턴 분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>▫ 유효성분 함량 재현성 평가 : tanshinone I, salvianolic acid B &amp; A</li> </ul>
	단삼을 활용한 제품화 기반 구축	<ul style="list-style-type: none"> <li>▫ 단삼 추출물을 이용한 음료 개발                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 배합비 개발 및 관능적 특성 조사</li> </ul> </li> <li>▫ 단삼 추출물을 이용한 제품 개발                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 농축액 및 타블렛</li> </ul> </li> <li>▫ 단삼 이용한 침출차 개발                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 볶음 조건 및 향미 강화 방안 조사</li> </ul> </li> <li>▫ 단삼 원형 보존 침출 제품 개발                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 알코올 침출제품</li> </ul> </li> <li>▫ 단삼 가공제품의 유효성분 함량 조사                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 가공후 유효성분 함량 및 안정성 조사</li> </ul> </li> </ul>
기능성 식품원료 활용을 위한 가공적성 우수 단삼 생산기술 개발	단삼 유효성분 증대를 위한 재배기술 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>▫ 유효성분을 고려한 적정 수확년수 및 수확시기 설정</li> </ul>
	가공제품 맞춤형 고품질 원료삼 생산조건 확립	<ul style="list-style-type: none"> <li>▫ 원료삼 품위조절을 위한 파종기, 파종방법, 재식거리 등 재배법 확립</li> </ul>
단삼 및 가공제품의 유효성분의 변화 분석	단삼 유효성분 분석법 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>▫ 표준분석절차 SOP 개발 확립</li> </ul>
	단삼 유효성분 함량 분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>▫ 재배조건별 단삼의 유효성분 함량 조사</li> <li>▫ 단삼 추출물의 유효성분 함량 범위 제시</li> <li>▫ 단삼 가공제품의 유효성분 함량 범위 제시</li> </ul>

## 2. 연구범위 및 연구 수행방법

연구범위		연구 수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
(1세부) 케이엠 에프	단삼의 가공적성 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>추출조건에 따른 변화</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>추출온도에 따른 변화</li> <li>품질 특성: 당도, pH, 색도</li> <li>유효성분(tanshinone, salvianolic acid B &amp; A) 함량 조사</li> </ul>
	효소 처리를 이용한 차별화 기능성 단삼 추출물 제조조건 확립	<ul style="list-style-type: none"> <li>효소 처리 추출조건 조사</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>효소: amylase계, cellulase계, pectinase계, protease계</li> <li>추출조건: 효소농도, 온도, 시간</li> <li>추출수율: 고형분 함량, 당도, pH</li> <li>단삼 분쇄 입도 별: 원물, 조분쇄, 미분쇄</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>효소 처리 추출물의 기능성 특성 조사</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>항산화: DPPH, ABTS radical 소거능</li> <li>항치매: Acetyl choline esterase 저해활성</li> <li>항염증: NO radical 소거능</li> <li>유효성분 함량 재현성 평가: tanshinone I, salvianolic acid B &amp; A</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>단삼 분쇄 정도에 따른 변화</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>분쇄 정도에 따른 변화: 원물, 분쇄</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>SCALE-UP 추출공정 표준화</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>추출 제조공정도 확정</li> <li>추출물의 규격 설정</li> </ul>
	단삼을 활용한 제품화 기반 구축	<ul style="list-style-type: none"> <li>단삼 추출물을 이용한 기능성 음료 개발</li> <li>단삼 추출물을 이용한 제품 개발</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>감미제 첨가 배합비 개발 및 관능적 특성 조사</li> <li>농축액 및 타블렛</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>단삼 이용한 침출차 개발</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>볶음 조건 및 향미 강화 방안 조사</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>단삼 원형 보존 침출 제품 개발</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>알코올 침출제품</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>단삼 가공제품의 유효성분 함량 조사</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>가공전후 유효성분 함량 및 안정성 조사</li> </ul>
	(1협동) 봉화약초 시험장	유효성분 증대 재배기술 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>유효성분 고함유 단삼 재배년수 설정</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>유효성분을 고려한 수확 시기 설정</li> </ul>			<ul style="list-style-type: none"> <li>수확시기: 11월(상,중,하순), 12월 상순, 3월 상순</li> <li>지하부 비대특성 및 수량성</li> <li>tanshinone, salvianolic acid A, B함량 등</li> </ul>
가공제품별 단삼 생산조건 확립		<ul style="list-style-type: none"> <li>가공제품용 세근 생산 정식기 구명</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>정식시기: 4월 하순, 5월 상순</li> <li>생육, 수량성 및 생리장애 발생도</li> <li>tanshinone, salvianolic acid A, B함량 등</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>가공제품용 세근 생산 재식밀도 구명</li> <li>가공제품용 세근 생산 파종방법 구명</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>파종방법: 30×5cm, 30×10cm, 30×20cm</li> <li>생육, 수량성 및 뿌리 품위</li> <li>tanshinone, salvianolic acid A &amp; B함량 등</li> <li>파종방법: 조과, 절과, 육묘이식</li> <li>생육, 수량성 및 뿌리 품위</li> <li>tanshinone, salvianolic acid A &amp; B함량 등</li> </ul>
(위탁) 경북 대학교	단삼 유효성분 분석법 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>표준분석절차 SOP 개발 확립</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>단삼 분석용 시료의 전처리 방법 확립 (분쇄, 추출, 농축, 여과 등)</li> <li>단삼 성분의 표준 분석 조건 확립 (표품 확보, 칼럼, HPLC 조건, 정량법)</li> </ul>
	단삼 유효성분 함량 분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>재배조건별 단삼의 유효성분 함량 조사</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>개발 품종별 단삼 유효성분 함량 분석</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>단삼 추출물의 유효성분 함량 제시 1종</li> <li>단삼 가공제품의 유효성분 함량 제시 5종</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>단삼 유효성분의 추출 함량 및 수율 분석</li> <li>단삼 가공제품의 유효성분 함량 분석</li> </ul>

## 제 2 절 연구개발 수행결과

### <1 세부 과제: 국내산 단삼의 유효성분 강화 가공 기반 구축(케이엠에프)>

#### 1. 재료 및 방법

##### 가. 실험 재료 및 시약

본 실험에 사용된 단삼은 2014년 11월경부터 경상북도 봉화군 및 영양군에서 채취하여 음건한 것을 구입·사용하였으며, 제품화를 위한 부재료인 익모초, 국화, 감초 등의 약재는 대구시 약령시에서, 히비스커스 농축액은 (주)비즈윈에서 구입·사용하였다. 현미식초와 이온화칼슘은 (주)케이엠에프에서 생산하는 것을 제공받았다. 본 실험에 이용된 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), salvianolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1 및 tanshinone 2A, acetonitrile, acetylcholinesterase는 Sigma(St. Louis, Mo., USA)로부터 구입하여 사용하였다.

##### 나. 시료 추출물 제조

단삼 유효성분 함량 분석을 위한 추출조건은 단삼과 3차 증류수와 혼합하여 각각의 효소제를 첨가하여 진탕 향온기(HB-205SW, Hanback Sci., Co., Incheon, Korea)를 이용하여 각 온도에서 추출한 후 여과지(Whatman No. 41)로 여과한 추출액을 감압농축 및 동결 건조하여 분석시료로 사용하였다. Pilot scale 및 Mass scale로의 Scale-up 단삼추출농축액은 각 생산공정에서 추출 감압농축한 후 분석시료로 사용하였다. 단삼추출농축물 함유 가공제품은 Scale-up process를 통해 단삼추출농축액을 활용하여 음료베이스로 생산한 다음 지표성분 함량 분석에 사용하였다. 단삼지표성분의 열 및 pH에서의 안정성 검토를 위한 시료는 단삼 농축액의 pH 무보정 값인 pH 5.8과 식품용 구연산을 첨가하여 pH 3.8로 조정한 후, 85도에서 2, 4, 6, 8시간 열처리후 지표성분함량을 분석하였으며, 열처리후 상온에서 7일 방치후 지표성분의 함량 분석용 시료로 사용하였다.

##### 다. 추출수율, pH, 당도 및 색도 측정

각 조건에서 얻어진 단삼 추출물의 추출수율은 추출액 10 mL을 취하여 105℃에서 증발 건조(HB-502M, Hanbaek Scientific Co., Incheon, Korea)시켜 그 무게를 측정하여 사용된 원료 양의 백분율로 추출수율을 나타내었다. 단삼 추출물의 pH는 pH meter(Metrohm 691, Metrohm UK Ltd., Herisau, Switzerland)를 이용하여 측정하였으며, 당도는 digital refractometer(PR-101, Atago., Japan)로 측정하였다. 단삼 추출물의 색도는 UV-visible

spectrophotometer(UV-1601, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 이용하여 L(lightness), a(redness), b(yellowness)를 각각 측정하여 Hunter's color value로 나타내었다. 표준 백색판의 L값은 100.00, a값은 0.06 및 b값은 -0.09이었다.

#### 라. 총 폴리페놀성 화합물 함량 측정

총 폴리페놀성 화합물 함량은 Folin-Denis 법을 이용하여 비색정량하였다. 시료 추출 여과액 2 mL에 50% phenol reagent(Folin-Ciocalteu's reagent) 2 mL을 첨가하여 3분간 방치 후 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>용액 2 mL을 가한 다음 실온에서 10분간 정치 발색시키고 UV-visible spectrophotometer(UV-1601, Shimadzu Co.)를 이용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 gallic acid(Yakuri pure chemicals Co., Ltd. Kyoto, Japan)를 사용하여 0~4 mg%의 농도로 조제한 후 상기의 방법으로 작성한 표준곡선으로부터 환산하여 mg%로 표시하였다.

#### 마. DPPH radical 소거 활성 측정

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Sigma) 라디칼 소거활성은 Blois방법을 변형하여 측정하였다. DPPH 0.15 mM을 absolute ethanol 100 mL에 용해한 후, 50% ethanol용액을 대조구로 하여 517 nm에서 DPPH용액의 흡광도를 약 1.0이 되도록 희석하여 사용하였다. 시료 0.5 mL에 DPPH용액 2.5 mL을 혼합하여 정확히 3분 동안 반응시킨 후 UV-Visible spectrophotometer(UV-1601)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하여 아래의 식으로부터 DPPH radical 소거 활성을 계산하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{As}{Ac}\right) \times 100$$

As : Absorbance of group with sample

Ac : Absorbance of group without sample

#### 바. ABTs radical 소거 활성 측정

ABTs radical 소거능은 Re 등의 방법을 일부 수정하여 실험하였다. ABTs 7 mM과 potassium persulfate 2.45 mM을 증류수에 용해하여 12~16시간 동안 암소에 방치하여 ABTs cation radical(ABTS<sup>+</sup>)을 형성시켰다. 이 용액을 80% ethanol을 이용하여 734 nm에서 0.700±0.002의 흡광도 값을 갖도록 희석하였다. 증류수에 희석한 시료 추출물 50 μL를

시험관에 가한 다음 희석된 ABTs<sup>+</sup> 용액 3 mL를 첨가하였다. 실온에서 6분간 반응시켜 UV-visible spectrophotometer(UV-1601)를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 사. Nitrite 소거 활성 측정

Nitrite 소거 활성은 시료 1 mL에 1mM NaNO<sub>2</sub> 용액 1 mL을 첨가하고 여기에 0.1 N HCl(pH 1.2)로 전체 부피를 10 mL로 정용하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 각 반응액 1 mL에 2% acetic acid solution 5mL 과 Griess 시약(30% acetic acid로 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine의 1:1 혼합액) 0.4 mL을 가하여 실온에서 15분간 반응시킨 후 UV-visible spectrophotometer를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 Nitrite 소거활성을 측정하였다. 대조구는 증류수를 사용하였다.

#### 아. Acetyl choline esterase 저해 활성

Acetylcholinesterase(AChE)저해 활성은 Ellman 등의 방법으로 측정하였다. AChE억제 방법의 기질은 Acethylcholine chloride(ACh)를 사용하였다. sample 70 µL, DTNB 80 µL, 0.2 U/mL acetylcholinesterase 20µL를 micro well plate에 넣고 섞어준 뒤, 37°C에서 5분간 incubation 한다. 배양 후 acetylcholine iodide 15µL를 넣고 다시 37°C에서 5분간 incubation 한 뒤, 412 nm에서 흡광도(EPOCH, BioTek instument Inc)를 측정하였다.

$$\text{Inhibition(\%)} = \left(1 - \frac{(\text{ABS}_{\text{sample}} - \text{ABS}_{\text{blank}})}{\text{ABS}_{\text{control}}}\right) \times 100$$

ABS<sub>sample</sub> : Absorbance of the experimental sample

ABS<sub>control</sub> : Absorbance of the experimental control

ABS<sub>blank</sub> : Absorbance of 412nm determenied with 100mM phosphate buffer instead of substrate

#### 자. 단삼 유효성분 분석

단삼의 유효성분인 Salvianolic acid B, Cryptotanshinone, Tanshinone 1 및 Tanshinone 2A는 HPLC(1260 Infinity Quaternary LC System, Agilent Technologies)를 이용하여

분석하였으며, 분석 조건은 Table 1과 같다. 단삼 추출물 및 단삼가공품의 유효성분 함량 측정은 표준품 salvianolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1 및 tanshinone 2A을 이용하여 작성한 검량선의 회귀식으로부터 구하였다.

**Table 1. HPLC conditions for the assay of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge**

Time (min)	Mobile phase A	Mobile phase B
0	75	25
1	60	40
14	60	40
22	40	60
23	11	89
45	11	89
50	75	25
Mobile phase A	1% formic acid in H <sub>2</sub> O	
Mobile phase B	1% formic acid in acetonitrile : methanol = 75:25	
Detector	UV (280 nm)	
Column	YMC ODS-H80 (250 X 4.6 mm, 4 μm)	
Flow rate	0.5 mL/min	
Column temp.	20°C	
Injection volume	5 μL	

#### 차. 관능 평가

단삼 추출물을 이용한 음료를 개발하기 위해 실시한 관능평가는 관능검사에 관심과 경험이 있는 검사요원을 선발하여 관능검사를 실시하였다. 평가내용은 특성 강도와 기호도로 나누어 7점 채점법 (매우 바람직하지 않다 1점 ↔ 매우 바람직하다 7점)으로 평가하였다.

#### 카. 통계처리

본연구의 실험 결과는 3회 반복하여 실험군당 평균과 표준편차로 나타내었다.

## 2. 연구개발 수행결과

### 가. 단삼의 가공 적성 개발

#### (1) 단삼의 일반성분 및 표준물질 함량

국내산 단삼의 수확시기에 따른 일반성분 함량변화를 조사한 결과는 Table 2에 나타내었다. 2014년 11월 10일과 2015년 3월 30일에 수확한 단삼의 일반성분 중 단백질 함량은 16 및 24%로 2015년 3월 30일에 수확한 단삼에서 높은 함량을 나타내었고, 수분함량은 6.8 및 3.5%로 2014년 11월 10일에 수확한 단삼에서 많은 수분함량을 나타내었다. 탄수화물 함량은 73.1 및 65.8%로 2014년 11월 10일에 수확한 단삼의 함량이 높음을 확인하였다.

**Table 2. Proximate composition of *Salviae Miltiorrhizae* Bunge with harvesting time (unit: %)**

Harvesting time	Carbohydrate	Protein	Lipid	Ash	Moisture	Reducing sugar
10 Nov.	73.1	16.0	0.0	4.1	6.8	8.89
30 Mar.	65.8	24.0	1.0	5.7	3.5	9.58

#### (2) 추출조건에 따른 변화

##### (가) 추출온도 및 시간에 따른 단삼 추출물의 pH, 당도 및 색도변화

건조된 단삼의 뿌리는 약재로 분류되어 있으며 한약 재료로 이용되고 있는 국내산 단삼을 추출온도를 50 및 60℃의 중·저온에서 추출시간은 4, 6 및 8시간으로 설정하여 단삼 추출물의 pH, 당도 및 색도의 변화를 조사한 결과는 Table 3에 나타내었다. pH변화는 추출온도 및 시간에 따른 차이를 나타내고 있으며, 당도변화는 추출시간이 길어질수록 추출온도가 높을수록 높아지는 경향을 보이고 있으며, 색도변화는 추출시간이 길어질수록 황적색에서 적황색으로 변화됨을 확인할 수 있다.

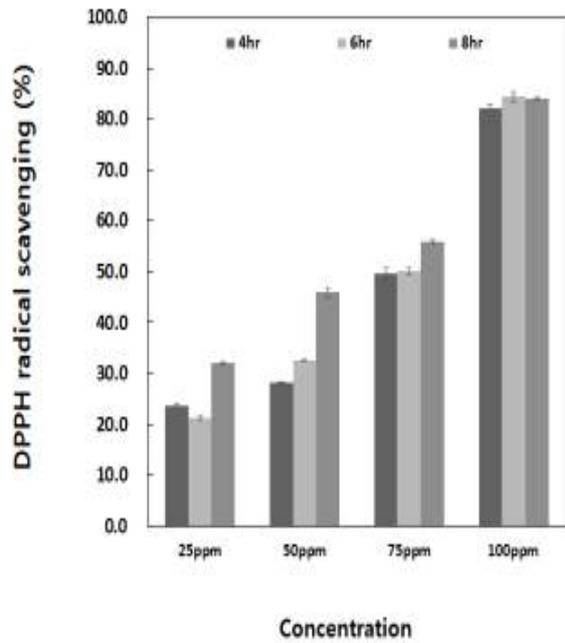
**Table 3. Changes of pH, sugar content and Hunter's color value in *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts divided by extraction temperature and time**

Group	pH	Sugar content (°Bx)	Hunter's color value			
			L	a	b	
50°C	4hr	6.19±0.16 <sup>1)</sup>	2.2±0.1	60.77±0.53	8.74±0.17	30.61±0.21
	6hr	6.26±0.17	2.6±0.2	59.63±0.31	11.91±0.03	29.90±0.12
	8hr	6.17±0.21	3.5±0.1	57.02±1.21	15.02±0.72	28.33±2.10
60°C	4hr	6.31±0.07	2.3±0.1	53.11±0.75	12.00±1.12	31.52±1.05
	6hr	6.25±1.53	3.4±0.1	44.99±0.31	15.01±2.01	28.48±1.62
	8hr	6.21±0.02	4.1±0.2	46.67±0.35	14.85±1.51	28.65±0.62

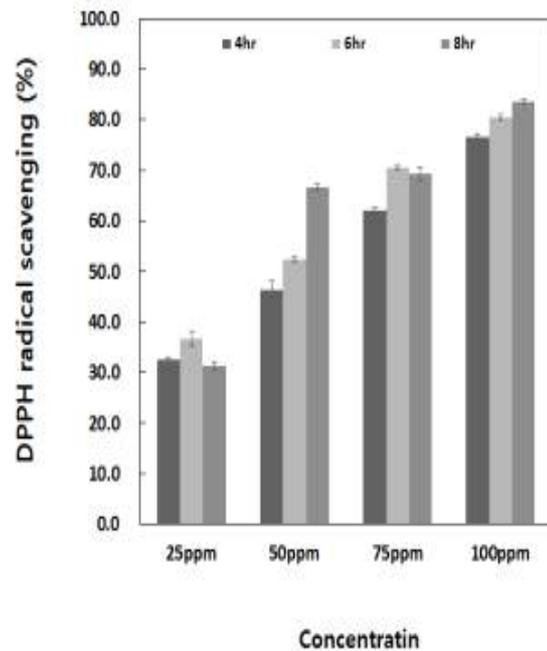
<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3).

#### (나) 추출온도 및 시간에 따른 단삼 추출물의 항산화 활성

국내산 단삼의 유효성분은 색소계 및 폴리페놀계이므로 고온에서 추출시 색과피와 폴리페놀계 성분함량의 변화가 일어날 수 있으므로 중·저온에서 추출조건을 설정하기 위해 추출온도를 50 및 60°C에서 4, 6 및 8시간 추출한 추출물에 따른 변화를 조사한 결과는 Fig. 1~4에 나타내었다. 단삼 추출물의 총 폴리페놀 함량은 추출온도 및 추출시간에 따라 변화를 나타내고 있으며, 추출시간이 길어질수록 높은 함량은 나타내고 있다. DPPH radical 소거능은 추출온도가 높을수록, 추출시간이 길어질수록 높은 활성을 나타내고 있으며 60°C에서 4시간 추출한 구간에서의 활성이 가장 높게 나타났다. ABTs radical 소거능은 추출온도보다 추출시간에 따른 차이를 나타내고 있으며, 50°C에서 8시간 추출한 구간에서 비교적 높은 활성을 나타내고 있다. NO 소거능은 추출시간보다 추출온도에 따라 활성의 차이를 보이고 있으며 60°C에서 추출한 단삼 추출물의 활성이 비교적 높게 나타났다.

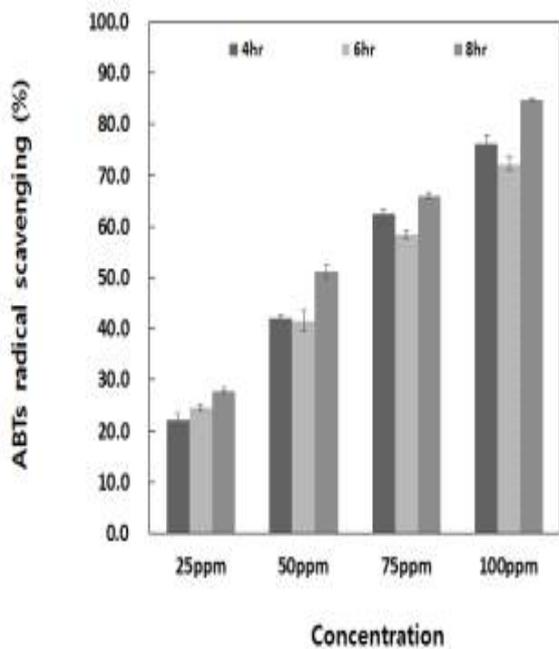


(a) 50°C

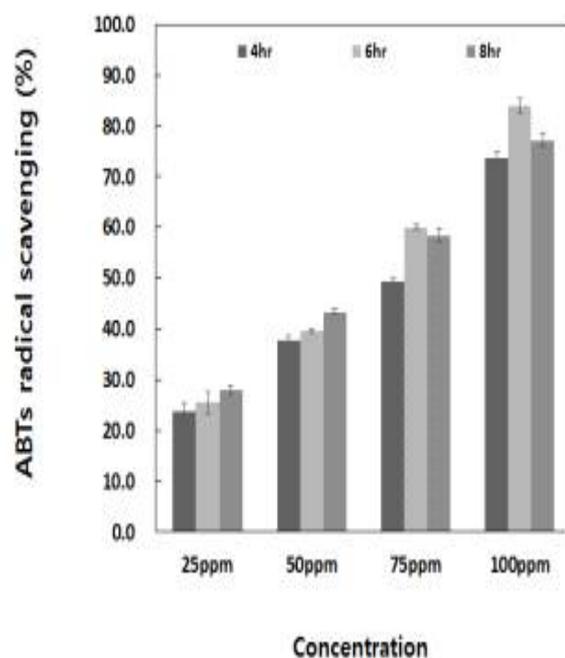


(b) 60°C

Fig. 1. DPPH radical scavenging abilities in *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts of the extraction temperature and times.

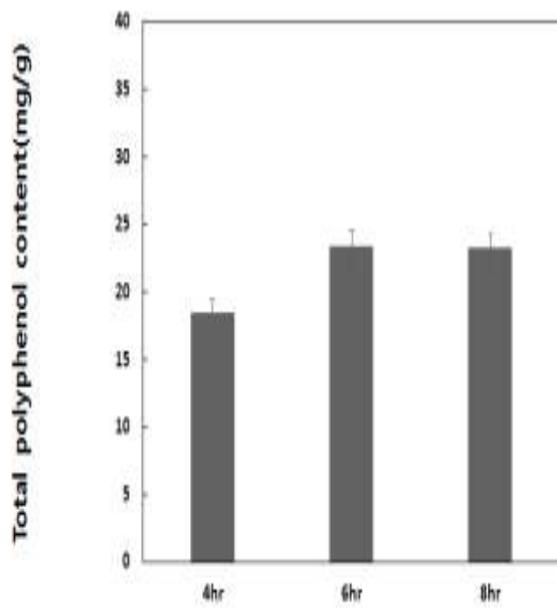


(a) 50°C

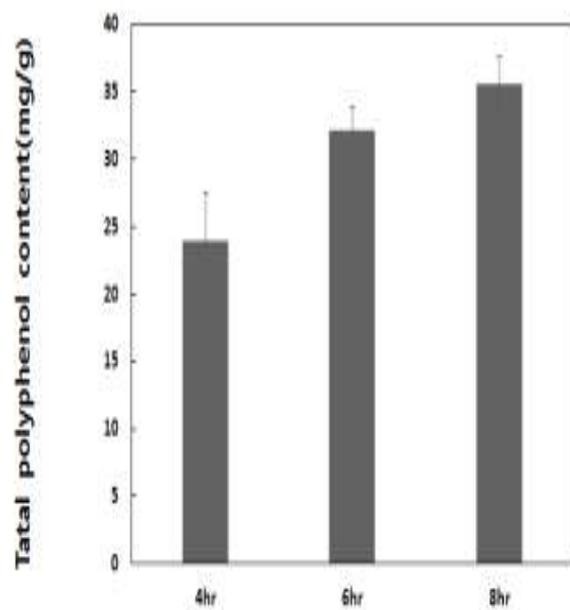


(b) 60°C

Fig. 2. ABTS radical scavenging abilities in *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts of the extraction temperature and times.

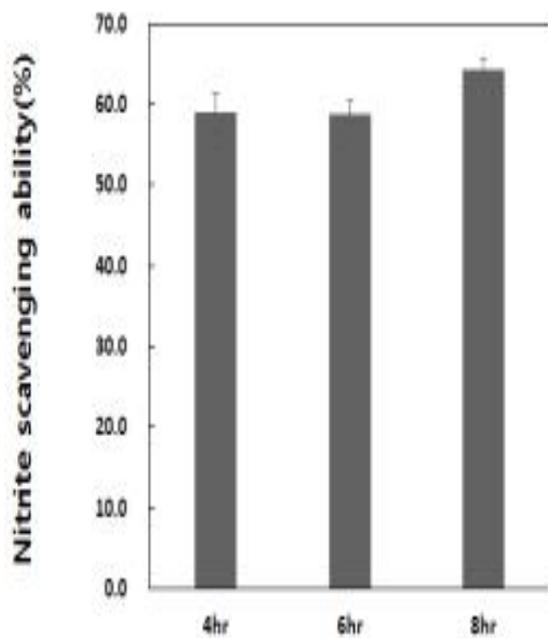


(a) 50°C

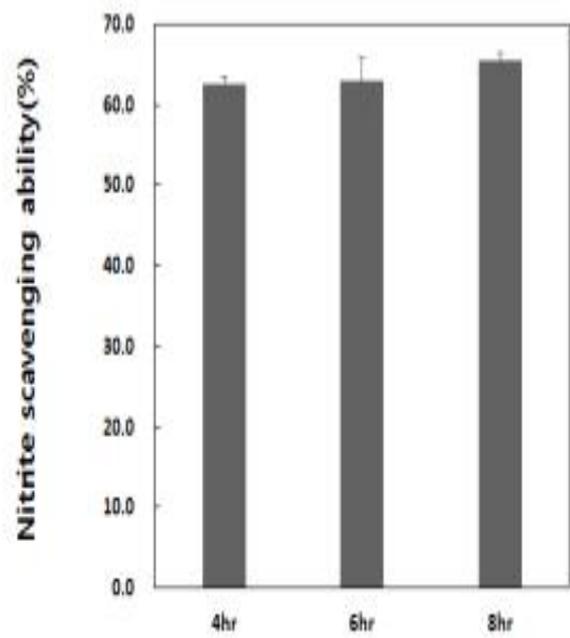


(b) 60°C

Fig. 3. Total polyphenolic compound contents in *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts of the extraction temperature and times.



(a) 50°C



(b) 60°C

Fig. 4. Nitrite scavenging abilities in *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts of the extraction temperature and time.

(다) 추출온도 및 시간에 따른 단삼 추출물의 유효성분 함량 변화

국내산 단삼의 추출온도 및 추출시간에 따른 표준물질 함량의 차이는 Table 4에 나타내었다. 추출온도가 높을수록, 추출시간이 길어질수록 함량이 증가하지만 60℃에서 4시간 이상 추출한 구에서는 salvianolic acid B 함량의 차이가 미비하게 나타내고 있으며, tanshinone 1 함량은 60℃에서 6시간 이상 추출한 구에서 높음 함량을 나타내었다. 이상의 결과는 단삼 추출물은 60℃에서 효소 처리를 함에 큰 무리가 없을 것으로 사료되어 60℃에서 처리하기로 결정하였다.

Table 4. Changes of salvianolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1 and tanshinone 2A in *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts divided by the extraction temperature and time (unit: mg/100mL)

Group	Salvianolic acid B	Cryptotanshinone	Tanshinone 1	Tanshinone 2A	
50℃	4hr	134.88±2.58 <sup>1)</sup>	0.26±0.01	2.02±0.03	ND <sup>2)</sup>
	6hr	182.86±3.34	0.31±0.04	2.06±0.01	ND
	8hr	196.41±1.30	0.32±0.02	2.04±0.02	ND
60℃	4hr	238.70±3.48	0.28±0.02	2.06±0.06	ND
	6hr	237.20±3.18	0.36±0.02	2.17±0.02	ND
	8hr	236.41±4.90	0.36±0.03	2.18±0.01	ND

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3), <sup>2)</sup>ND, Not Detected.

나. 효소 처리를 이용한 차별화 기능성 단삼 추출물 제조조건 확립 및 효능평가

(1) 효소제 처리농도에 따른 변화

(가) 효소제 처리농도에 따른 pH, 당도 및 색도 변화

건조된 단삼을 분쇄한 후 효소제 4종(amylase, cellulase, pectinase 및 protease)을 이용하여 추출하였다. 각 효소제의 특성은 다음의 Table 5에 나타내었다.

**Table 5. Optimum hydrolysis conditions of the enzymes used for preparation of enzymatic extracts**

Enzyme	Product Co.	Optimum hydrolysis conditions	
		pH	Temp.(°C)
Amylase	DaiwaKASEI	4.0~6.0	50~60
Cellulase	AB Enzymes	6.0	45
Pectinase	DSM Food Specialities	4.5	40
Protease	Amano enzyme Inc	6.0~9.0	40~60

효소제 종류 중 4종을 이용하여 시료 대비 0.3 및 0.5%의 효소제를 사용하여 60°C에서 4시간 추출하여 pH, 당도 및 색도의 변화를 조사한 결과는 Table 6에 나타내었다. 효소제 중 amylase계 효소를 이용한 시료의 당도가 비교적 높게 나타났으며 효소농도는 0.3%에서 0.5% 대비 유사한 효능을 나타내었다.

**Table 6. Changes in pH, sugar content and Hunter's color value in *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts treated with each enzyme**

Enzymes	Conc.(%)	pH	Sugar content (°Bx)	Hunter's color value		
				L	a	b
Control	0	6.31±0.07 <sup>1)</sup>	2.30±0.00	53.11±0.75	12.00±1.12	31.52±1.05
Amylase	0.3	5.91±0.01	5.20±0.00	57.87±0.02	16.04±0.02	28.91±0.01
	0.5	5.99±0.01	5.30±0.02	63.91±0.05	13.31±0.50	35.69±0.15
Cellulase	0.3	5.94±0.01	5.20±0.10	56.64±0.01	13.78±0.03	32.27±0.01
	0.5	6.36±0.00	4.97±0.06	51.11±0.01	16.93±0.01	24.70±0.00
Pectinase	0.3	5.89±0.00	5.37±0.23	50.56±0.03	12.37±0.01	30.12±0.02
	0.5	5.63±0.01	5.5±0.30	48.31±0.14	16.54±0.05	24.50±0.15
Protease	0.3	5.93±0.00	5.32±0.06	57.05±0.11	14.88±0.05	33.87±0.08
	0.5	5.56±0.02	5.5±0.00	53.89±0.01	15.96±0.01	31.23±0.01

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3).

(나) 효소제 처리농도에 따른 항산화성 변화

효소제 종류 중 4종(amylase, cellulase, pectinase 및 protease)을 이용하여 시료 대비 0.3 및 0.5%의 효소제를 사용하여 60℃에서 4시간 추출하여 총 폴리페놀성 화합물 함량, NO, DPPH 및 ABTs radical 소거활성 변화를 조사한 결과는 Fig. 5~7에 나타내었다. 효소제를 처리하는 구간이 대조구보다 높은 항산화 활성을 나타내었으며, 사용 효소제 중 amylase효소 0.3% 처리한 구간에서 비교적 높은 활성을 나타냄을 알 수 있었다.

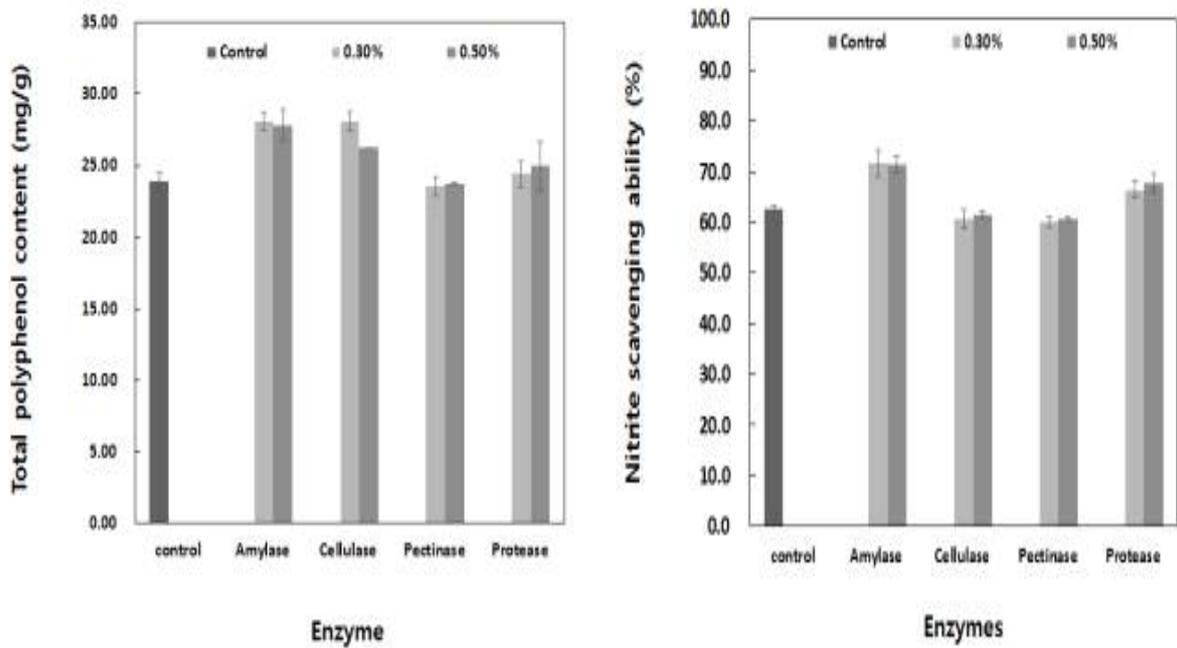


Fig. 5. Total polyphenolic compound contents and Nitrite scavenging ability of *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts treated with each enzyme.

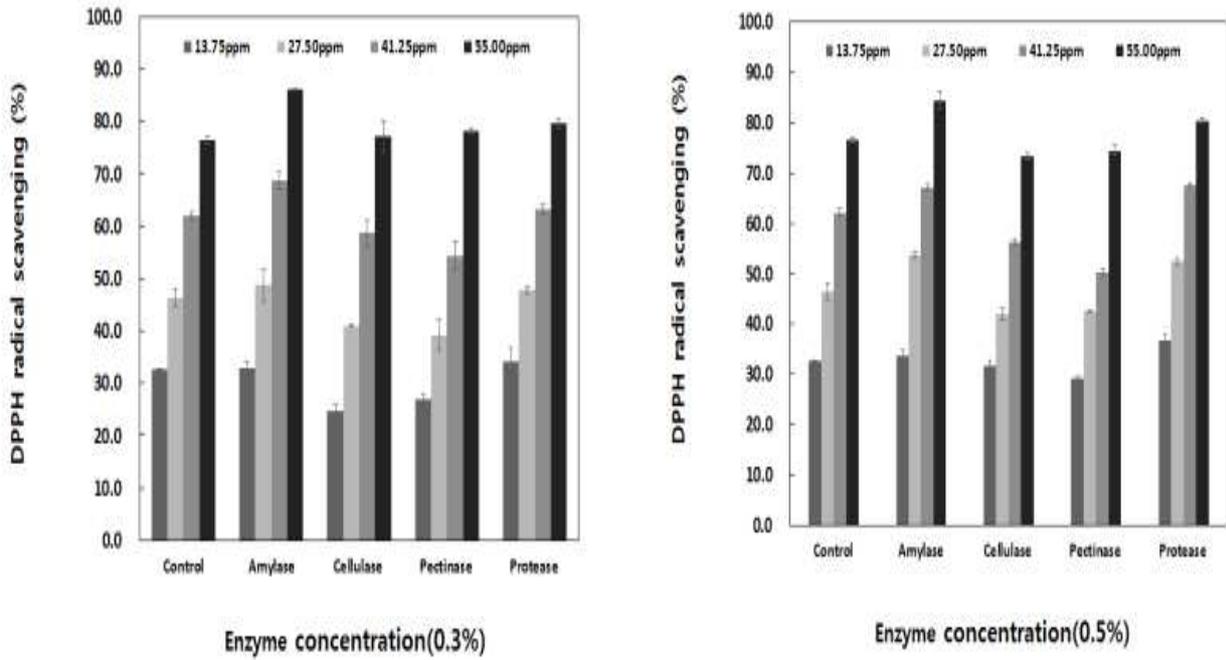


Fig. 6. DPPH radical scavenging abilities of *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts treated with each enzyme.

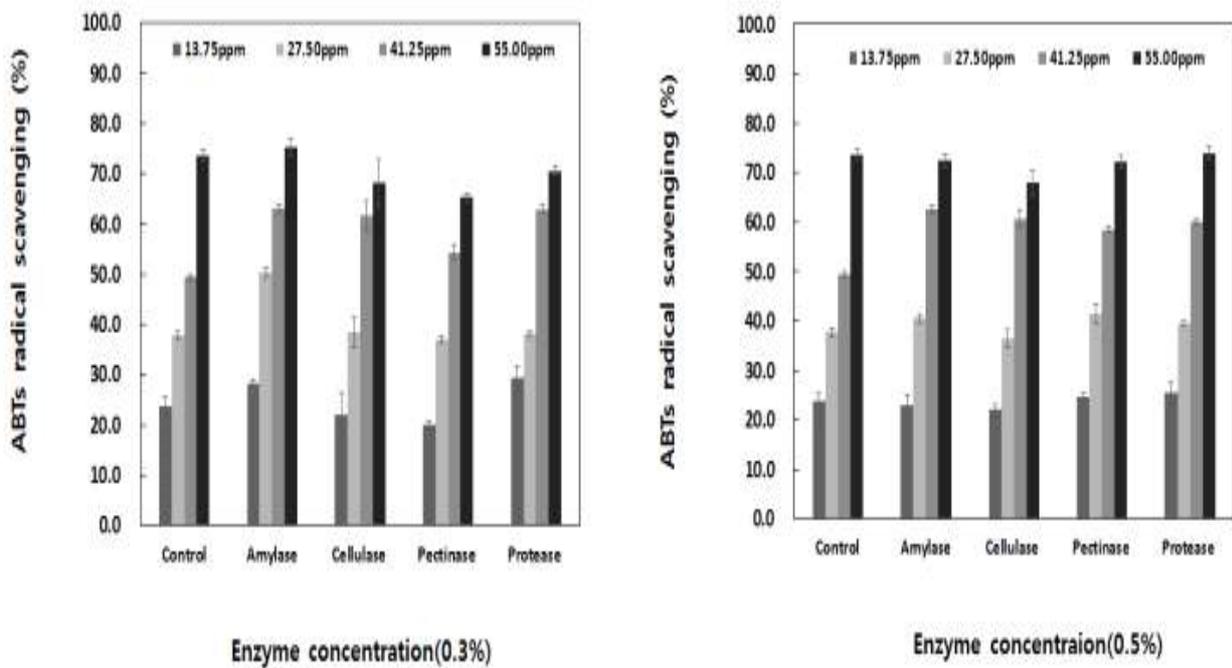


Fig. 7. ABTs radical scavenging abilities of *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts treated with each enzyme.

## (2) 효소제 종류에 따른 품질변화

### (가) 효소제 처리시간 및 추출온도에 따른 pH, 당도 및 색도변화

일반적으로 효소제는 시료 대비 0.1~0.5%를 사용함으로 본 실험의 선행 연구에서 0.3%의 효소제를 사용한 구간에서 비교적 높은 활성을 나타냄을 알 수 있었으며 추출온도를 비교적 낮은 50 및 60℃로 구분하여 추출시간에 따른 품질변화를 조사한 결과는 Table 7~9에 나타내었다.

효소제 종류별 처리시간에 따른 pH변화는 추출시간보다 사용하는 효소제 종류에 따른 차이를 나타내고 있다 (Table 7).

효소제 종류별 처리시간에 따른 당도는 대조구보다 효소제를 이용한 구간에서 높은 함량을 나타냈으며 효소 처리시간이 길어질수록 조금씩 높아지는 나타내고 있다. 사용 효소제 중 amylase효소를 이용한 구간에서 가장 높은 당도를 나타내었다 (Table 8).

효소제 종류별 처리시간에 따른 색도변화는 효소 처리시간이 길어질수록 a 및 b값이 증가하는 경향을 보이는 반면 L값은 감소하는 것을 확인 할 수 있으며 효소제 종류에 따른 차이는 미미하다 (Table 9).

**Table 7. pH values of *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts treated with each enzyme**

Enzyme	Condition		
	Time(hour)	50℃	60℃
Control	4	6.19±0.16 <sup>1)</sup>	6.31±0.07
	6	6.26±0.17	6.25±1.53
	8	6.17±0.21	6.21±0.02
Amylase	4	5.99±0.05	5.91±0.01
	6	6.33±0.01	6.04±0.05
	8	6.38±0.15	6.16±0.01
Cellulase	4	5.53±0.02	5.94±0.01
	6	5.57±0.10	5.63±0.15
	8	5.60±0.02	5.67±0.01
Pectinase	4	6.11±0.02	6.26±0.05
	6	6.15±0.02	6.12±0.03
	8	6.20±0.01	6.12±0.21
Protease	4	5.50±0.05	5.93±0.00
	6	5.55±0.25	5.69±0.02
	8	5.64±0.02	5.73±0.01

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3).

**Table 8. Sugar contents of *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts treated with each enzyme**

Enzyme	Condition		
	Time(hour)	50°C	60°C
Control	4	2.2±0.1 <sup>1)</sup>	2.3±0.1
	6	2.6±0.2	3.4±0.1
	8	3.5±0.1	4.1±0.2
Amylase	4	5.3±0.1	5.2±0.0
	6	5.2±0.1	5.5±0.1
	8	5.2±0.1	5.4±0.1
Cellulase	4	4.4±0.2	4.5±0.1
	6	4.4±0.1	4.3±0.2
	8	4.7±0.2	4.4±0.1
Pectinase	4	4.6±0.1	4.3±0.2
	6	4.7±0.2	4.4±0.1
	8	4.7±0.1	4.4±0.2
Protease	4	5.0±0.2	5.1±0.1
	6	4.9±0.1	5.1±0.1
	8	4.9±0.1	5.2±0.1

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3).

**Table 9. Hunter's color values of *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts treated with each enzyme**

Enzyme	Time (hour)	Hunter's color values					
		50 °C			60°C		
		L	a	b	L	a	b
Control	4	60.77±0.53 <sup>1)</sup>	8.74±0.17	30.61±0.21	53.11±0.75	12.00±1.12	31.52±1.05
	6	59.63±0.31	11.91±0.03	29.90±0.12	48.99±0.31	15.01±2.01	28.48±1.62
	8	59.02±1.21	15.02±0.72	28.33±2.10	49.67±0.35	14.85±1.51	28.65±0.62
Amylase	4	60.75±1.31	9.83±1.21	28.99±0.86	57.87±0.02	16.04±0.02	28.91±0.01
	6	63.15±0.64	11.70±0.56	29.94±1.32	65.09±0.64	14.99±0.51	30.90±0.21
	8	63.54±0.87	12.94±0.94	31.98±1.03	64.15±0.35	15.15±0.32	30.36±0.67
Cellulase	4	60.59±1.32	11.02±0.31	29.48±0.68	56.64±0.01	13.78±0.03	32.27±0.01
	6	56.87±0.93	14.30±0.64	31.77±0.32	51.76±0.24	13.69±0.95	29.24±0.24
	8	56.64±0.72	13.92±0.37	29.93±0.15	48.90±0.75	15.52±1.24	30.48±0.48
Pectinase	4	64.13±0.52	10.26±1.53	28.48±0.95	50.56±0.03	12.37±0.01	30.12±0.02
	6	60.28±0.70	11.02±1.42	28.83±0.38	48.69±0.31	18.99±0.65	30.55±0.32
	8	61.17±0.62	10.63±0.20	30.83±0.64	48.32±1.02	18.19±0.31	27.62±0.62
Protease	4	61.58±0.34	12.56±0.35	29.28±0.87	54.05±0.11	14.88±0.05	33.87±0.08
	6	58.54±0.61	13.51±0.51	27.86±0.03	53.10±0.65	15.47±1.02	30.77±1.02
	8	58.83±1.52	11.40±0.67	30.61±0.21	52.08±1.25	15.64±0.75	30.51±0.52

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3).

## (나) 효소제 처리시간 및 추출온도에 따른 단삼 추출물의 항산화 활성 변화

선행 연구에서 0.3%의 효소제를 사용한 구간에서 비교적 높은 활성을 나타냄을 알 수 있었으며 추출온도를 비교적 낮은 50 및 60℃로 구분하여 추출시간에 따른 항산화 활성 변화를 조사한 결과는 Fig. 8~11에 나타내었다. 효소제 종류별 처리시간에 따른 DPPH radical 소거능 변화는 효소제를 사용하여 효소 처리 후 추출한 구간에서의 소거능이 대조구보다 높게 나타났으며, 50℃보다는 60℃에서 조금 높은 소거능을 보임을 확인할 수 있었다. ABTs radical 소거능 변화는 DPPH radical 소거능과 유사한 결과를 나타내었다. 효소제 중 amylase 효소를 이용한 구간에서 비교적 높게 나타남을 확인할 수 있었다. 효소제 종류별 처리 시간에 따른 Nitrite 소거능 변화는 효소제를 사용하여 효소 처리 후 추출한 구간에서의 소거능이 대조구보다 높게 나타났으며, 50℃보다는 60℃에서 조금 높은 소거능을 보임을 확인할 수 있었다. 효소제 종류별 처리시간에 따른 총 폴리페놀성 화합물 함량의 변화는 추출시간이 길어질수록 증가하는 경향을 보인다. 단삼의 유효성분 활용을 높이기 위해 고온이 아닌, 60℃에서 단삼 추출물을 제조하는 것이 적합할 것으로 생각된다.

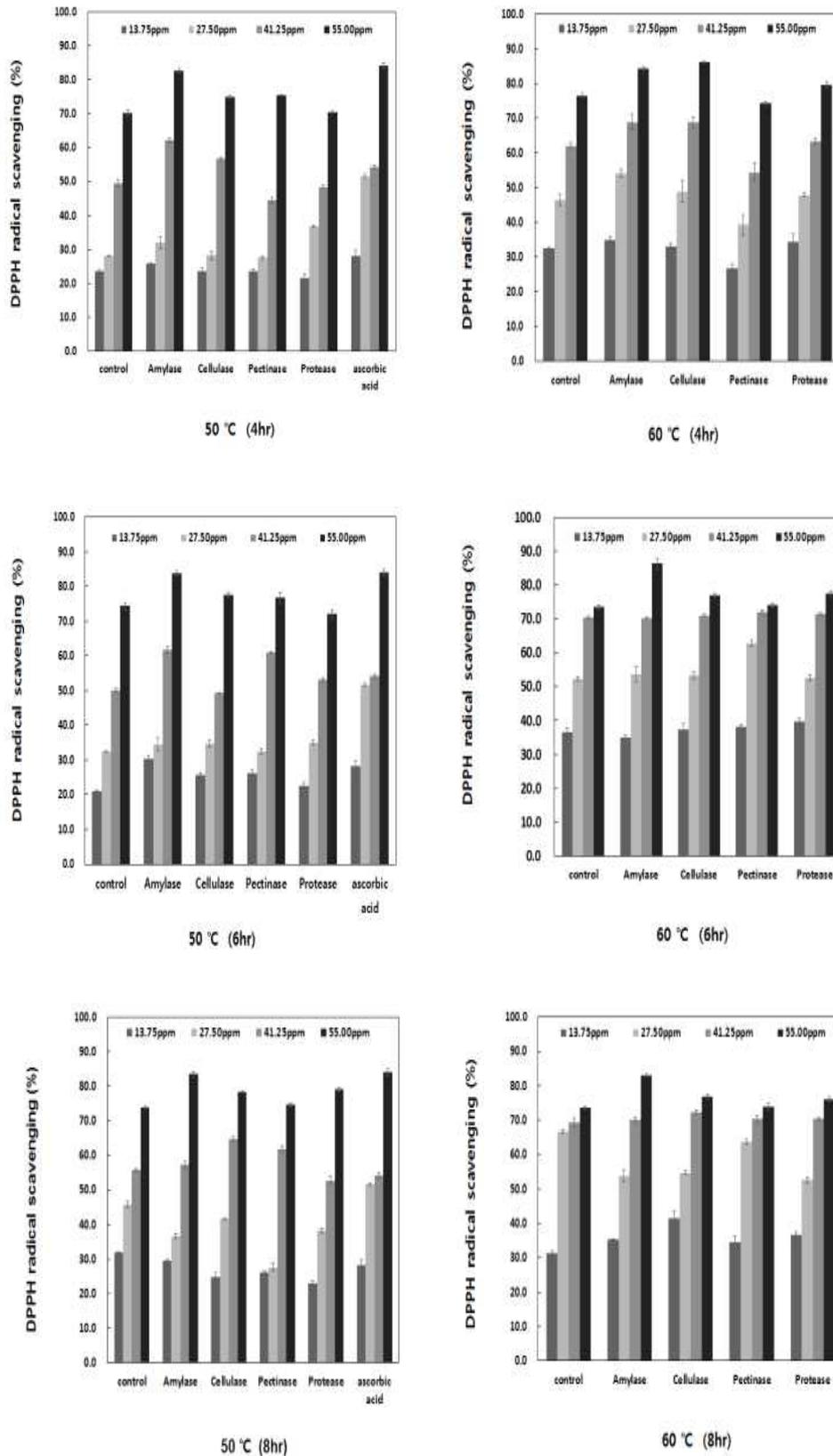


Fig. 8. DPPH radical scavenging abilities of *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts treated with each enzyme.

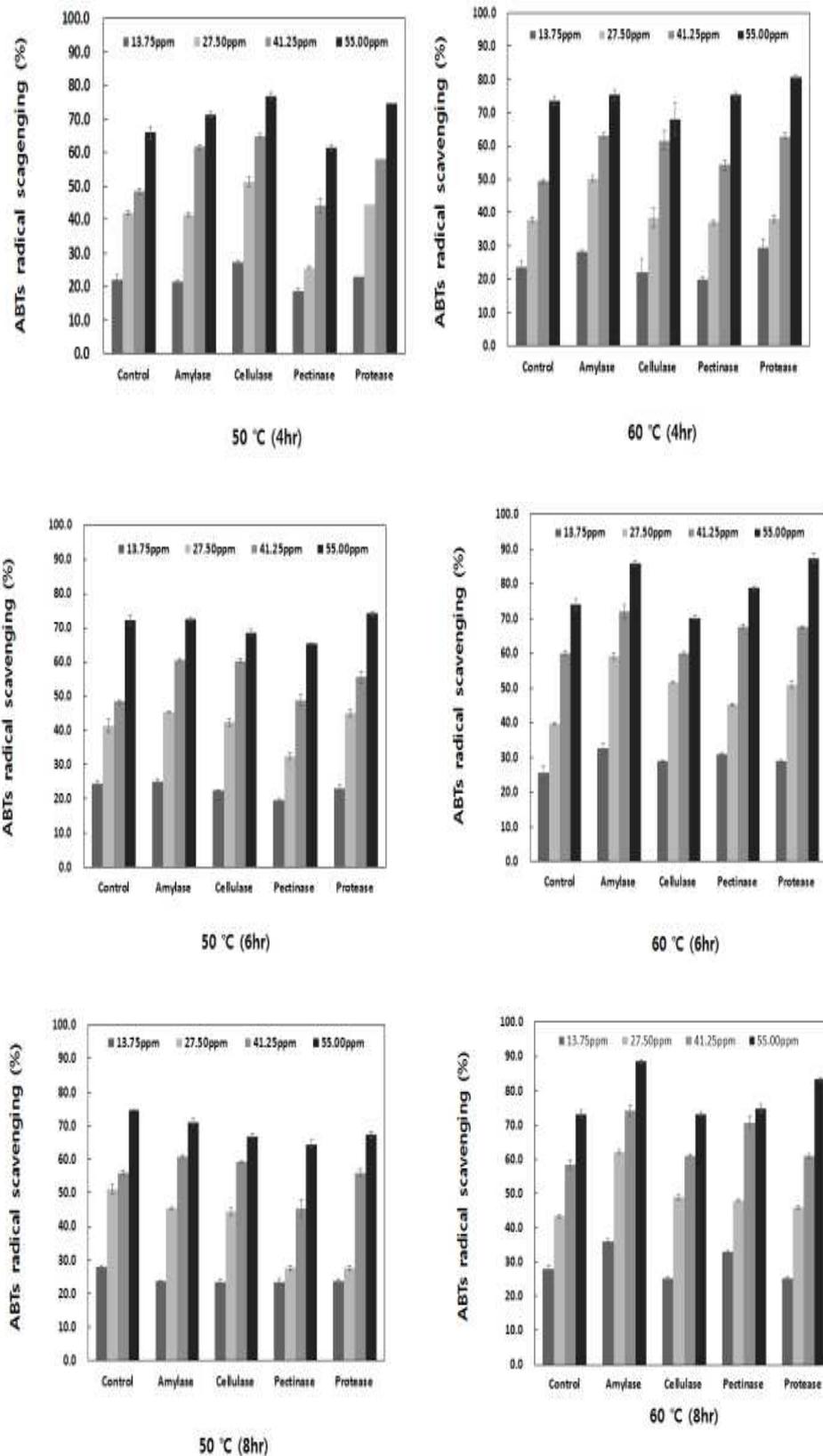


Fig. 9. ABTs radical scavenging abilities of *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts treated with each enzyme.

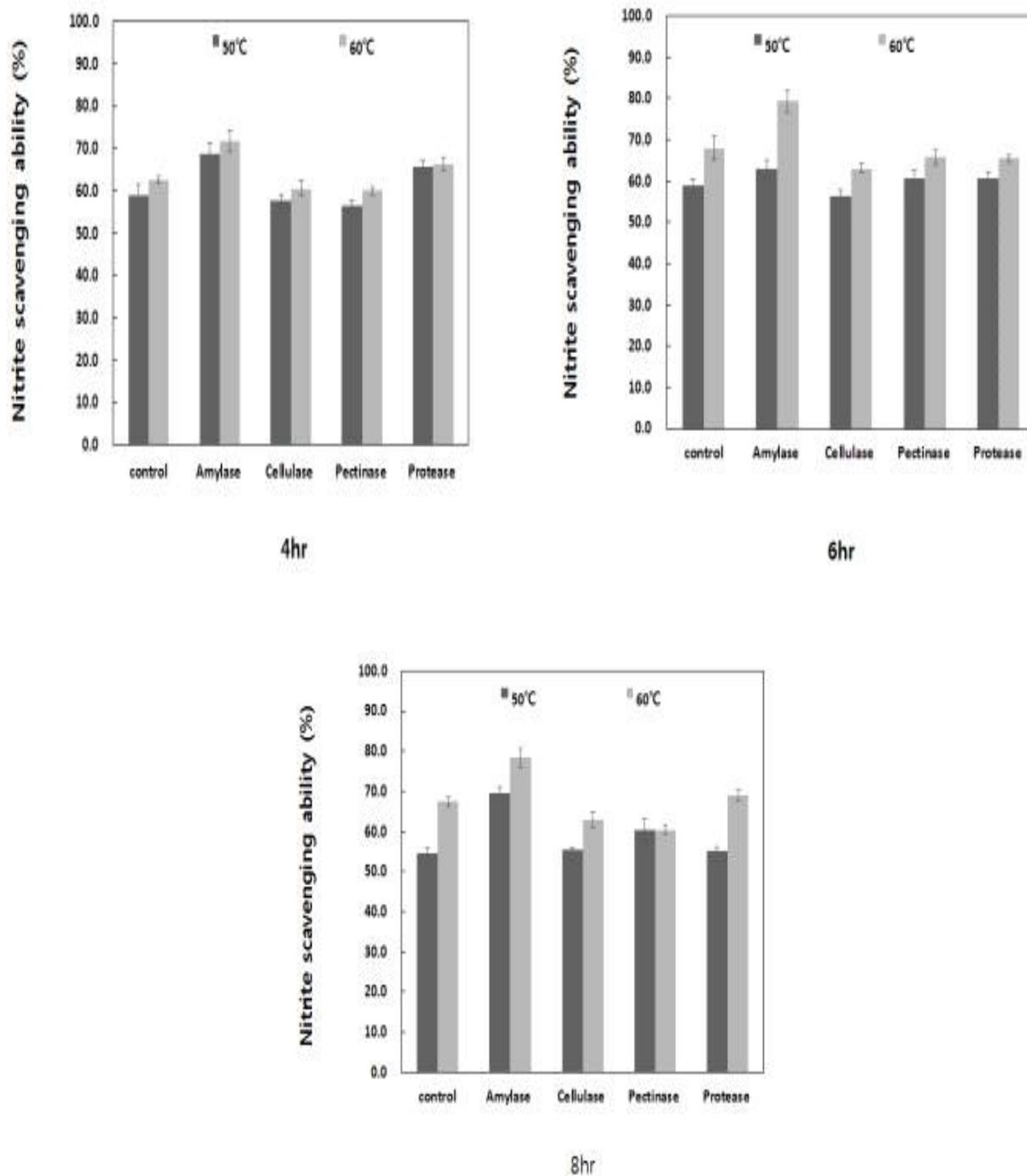


Fig. 10. Nitrite scavenging abilities of *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts treated with each enzyme.

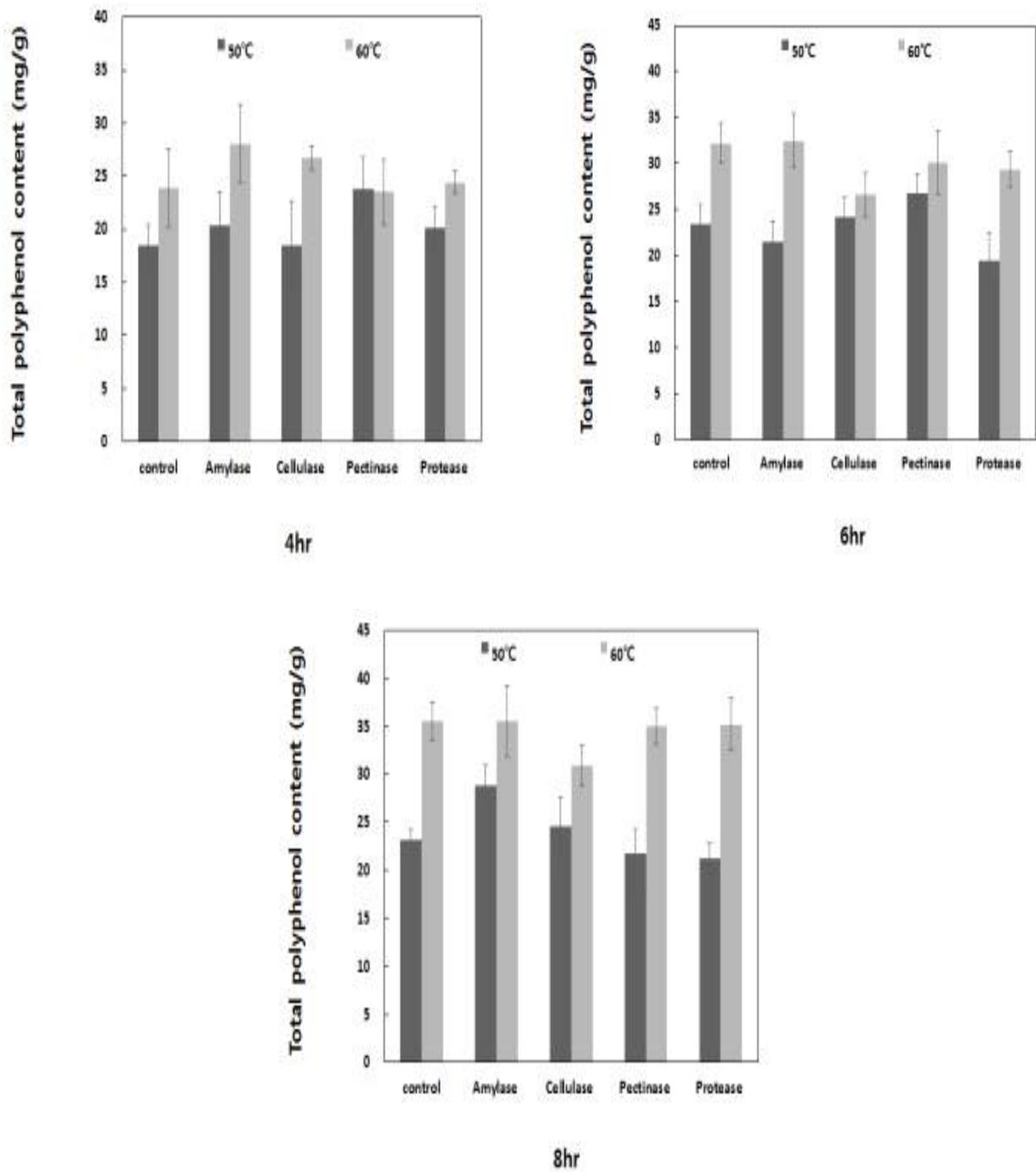


Fig. 11. Total polyphenolics contents of *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts treated with each enzyme.

(다) 효소제 처리시간 및 추출온도에 따른 단삼 추출물의 유효성분 변화

앞선 실험의 결과에서 0.3%의 효소제를 사용한 구간에서 비교적 높은 활성을 나타냄을 알 수 있었으며 추출온도는 50℃보다는 60℃에서 효소 처리한 구간에서 높은 활성을 보이는 것으로 확인되어 60℃에서 추출시간에 따른 유효성분 변화를 조사한 결과는 Table 10에 나타내었다. Amylase 효소제 처리구간에서 비교적 높은 활성을 보이고 있으며 6시간 이후 추출물의 활성이 조금 높게 나타남을 확인할 수 있다.

Table 10. Contents of salvianolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1 and tanshinone 2A of *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts treated with each enzyme (unit: mg/100mL)

Group	Time (hour)	Salvianolic acid B	Cryptotanshinone	Tanshinone 1	Tanshinone 2A
Control	4	239.76±3.50 <sup>1)</sup>	0.33±0.02	1.17±0.10	TR <sup>2)</sup>
	6	237.20±3.18	0.36±0.02	2.17±0.01	ND <sup>3)</sup>
	8	286.41±4.90	0.41±0.03	2.18±0.01	ND
Amylase	4	300.60±14.60	0.38±0.01	1.34±0.10	TR
	6	250.18±8.71	0.40±0.02	2.17±0.02	ND
	8	247.70±3.63	0.34±0.01	2.07±0.41	ND
Cellulase	4	293.36±15.00	0.34±0.02	1.32±0.10	TR
	6	235.00±24.66	0.36±0.05	1.99±0.30	ND
	8	206.92±18.83	0.34±0.04	2.07±0.14	ND
Pectinase	4	236.75±25.70	0.34±0.01	1.24±0.10	TR
	6	245.08±13.44	0.34±0.03	2.02±0.20	ND
	8	196.49±13.11	0.30±0.03	1.94±0.11	ND
Protease	4	162.54±3.50	0.30±0.01	2.05±0.11	TR
	6	241.44±5.87	0.29±0.02	1.94±0.52	ND
	8	231.74±0.67	0.32±0.03	1.92±0.14	ND

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3); <sup>2)</sup>TR, Trace; <sup>3)</sup>ND, Not detected.

### (3) 단삼의 분쇄정도에 따른 변화

#### (가) 분쇄정도에 따른 단삼 추출물의 당도, pH 및 색도변화

선행연구 결과에서 amylase 효소제를 이용하여 60°C에서 추출하는 구간의 항산화 활성이 비교적 높게 나타났음을 확인할 수 있었다. 단삼의 분쇄정도에 따라 amylase 효소제를 이용한 추출물의 추출시간에 따른 변화를 조사한 결과는 Table 11에 나타내었다. 당도 및 pH 변화는 분쇄 정도에 따른 차이를 나타내고 있다. 색도변화는 분쇄정도에 따른 차이가 크지 않음을 알 수 있다.

**Table 11. Change in pH, sugar content and Hunter's color value of *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts divided by ground level**

Group	Sugar content (°Bx)	pH	Hunter's color value			
			L	a	b	
Prototype	control	2.30±0.01 <sup>1)</sup>	6.31±0.07	53.11±0.75	12.00±1.12	31.52±1.05
	amylase	5.20±0.00	5.91±0.01	57.87±0.02	16.04±0.02	28.91±0.01
Coarse	control	3.53±0.05	5.79±0.01	57.79±0.02	14.14±0.02	31.64±0.02
	amylase	5.53±0.05	5.84±0.01	51.94±0.02	14.19±0.01	31.19±0.02
Fine	control	3.53±0.05	5.78±0.01	54.54±0.01	14.23±0.01	31.92±0.02
	amylase	5.56±0.00	5.86±0.02	52.49±0.02	15.95±0.01	33.03±0.01

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3)

#### (나) 분쇄정도에 따른 단삼 추출물의 항산화 활성 변화

단삼의 분쇄정도에 따른 항산화 활성에 대한 조사는 Fig 12와 13에 나타내었다.

폴리페놀성 화합물 함량은 원물보다는 분쇄를 한 구간에서 높게 나타났으며, 분쇄 정도에 따른 차이는 크지 않았으며, 효소 처리 유무에 따른 차이를 크게 나타내고 있다. NO radical 소거 활성은 분쇄 정도보다는 amylase 효소 처리를 한 구간에서 비교적 높은 활성을 나타내고 있다. DPPH 및 ABTs radical 소거 활성은 분쇄 및 amylase 효소 처리를 한 구간에서 높은 활성을 나타냄으로써, 단삼을 이용한 저온 추출방법에는 분쇄를 하여 효소 처리를 하는 것이 가장 적합할 것으로 판단된다.

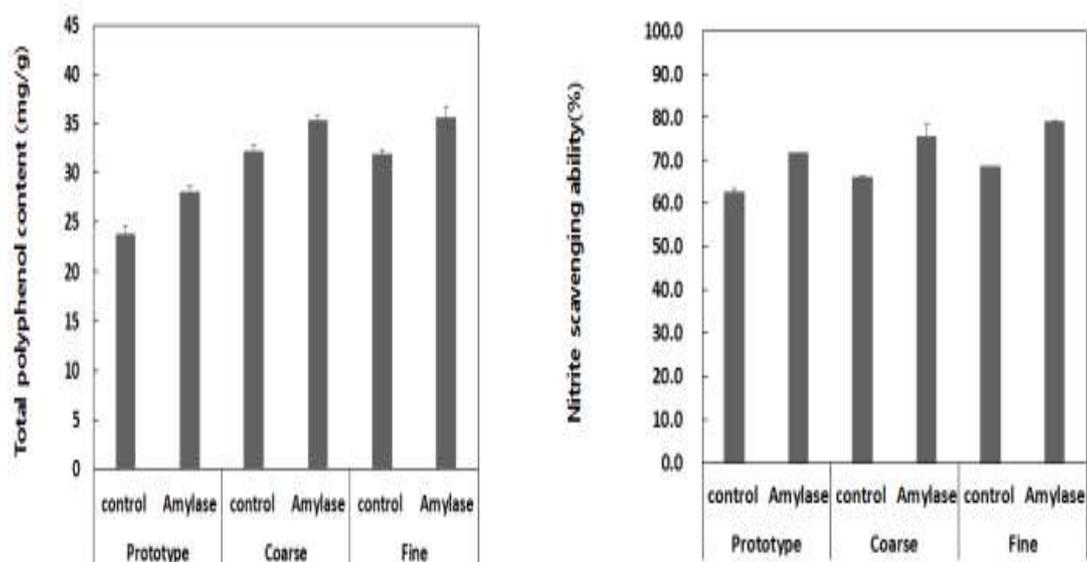


Fig. 12. Total polyphenolics contents and Nitrite scavenging abilities of *Salvia miltiorrhiza* extracts divided by ground level.

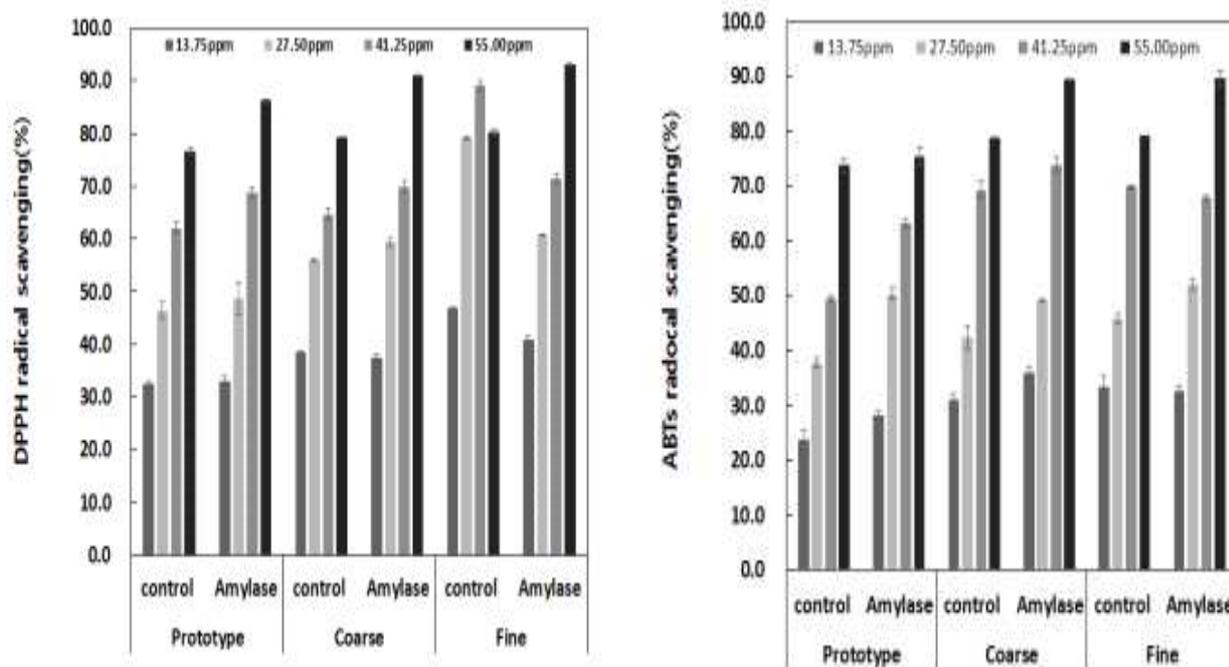


Fig. 13. DPPH and ABTs radical scavenging abilities of *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts divided by ground level.

(다) 분쇄정도에 따른 단삼 추출물의 유효성분 함량 변화

분쇄정도에 따른 단삼 추출물의 유효성분 함량을 조사한 결과는 Table 12에 나타내었다. 단삼의 Salvianolic acid B는 radical과 반응성이 높은 페놀성 수산기를 7종 지니고 있으며, 가수분해, decarboxylation 등의 반응에 더하여 radical과 반응까지 수반됨으로써 분해 반응은 가열에 의해 급속히 진행 될 것이라고 한 보고가 있으며, tanshinone 1은 활성화된 간성상 세포의 자가사멸을 유도하여 항섬유화 효과를 나타내는 효능이 있다고 알려져 있다. 수용성 성분인 salvianolic acid B의 함량은 amylase효소 처리구에서 높게 나타났다.

Table 12. Content change in salvianolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1 and tanshinone 2A of *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts divided by ground level

(unit : mg/100mL)

Group	Salvianolic acid B	Cryptotanshinone	Tanshinone 1	Tanshinone 2A	
Prototype	control	239.76±3.50 <sup>1)</sup>	0.33±0.02	1.17±0.10	TR <sup>2)</sup>
	amylase	300.60±14.60	0.38±0.01	1.34±0.10	TR
Coarse	control	258.8± 4.50	0.28±0.01	0.92±0.1	TR
	amylase	302.6±14.60	0.38±0.01	2.14±0.1	TR
Fine	control	249.3±9.70	0.26±0.01	0.91±0.1	TR
	amylase	293.6±15.00	0.34±0.02	2.12±0.1	TR

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3); <sup>2)</sup>TR, Trace

(라) 단삼 추출물의 항치매 저해 활성

위의 실험 결과, 적정 조건 즉, 미분쇄한 단삼을 이용하여 100℃에서 30분간 전처리한 후 amylase 계 효소 0.3%를 이용하여 60℃에서 4시간 효소 처리한 추출물의 항치매 저해 활성을 조사한 결과는 Fig. 14에 나타내었다. 100℃에서 30분간 추출한 대조구에 비해 효소 처리를 한 구간에서 높은 항치매 저해 활성이 나타남을 알 수 있다.

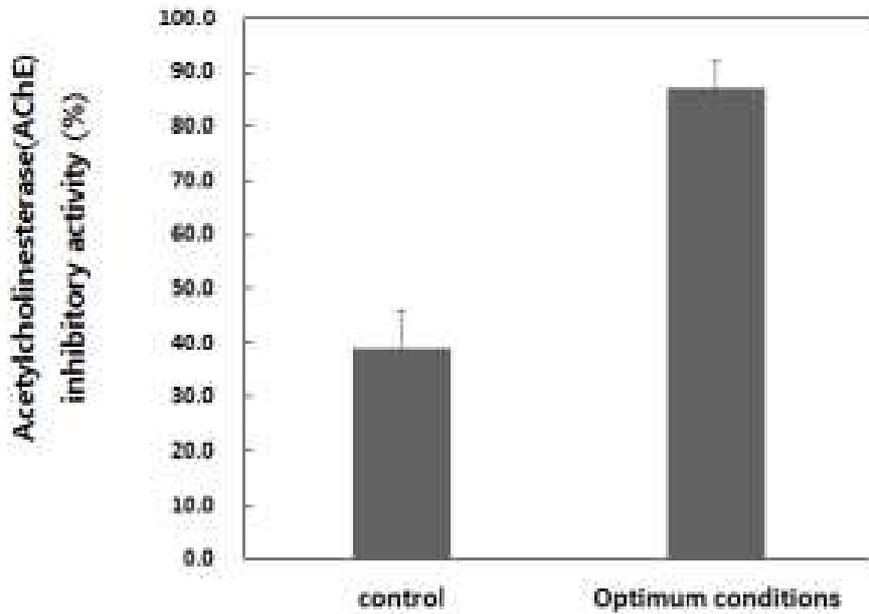


Fig. 14. Acetylcholin esterase inhibitory activity of *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts by optimum conditions.

#### 다. 단삼추출 scale별 유효성분 함량

##### (1) Scale up을 통한 단삼 추출물의 유효성분 함량 재현성 평가

앞선 연구 결과를 중심으로 설정된 적정 추출조건인 100℃에서 30분간 전처리를 한 후 amylase효소를 사용하여 60℃에서 4시간 추출한 구간의 salvianolic acid B, cryptotanshinone 및 tanshinone 1의 유효성분 함량 재현성 검증을 한 결과는 Table 13에 나타내었다. 우선, 실험실의 실험결과에서 적합하다고 결정된 조건에 의한 추출방법인 단삼을 100℃에서 30분간 전처리 후 amylase효소를 사용하여 60℃에서 4시간 열수 추출하여 실험에 사용하였다. 메탄올 추출물과 다르게 유효성분으로 tanshinone 2A를 제외한 salvianolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1이 검출되었고, 수용성 성분인 salvianolic acid B가 다른 성분들에 비해 월등히 많은 양이 검출되었다. 전반적으로 효소 처리구에서 유효성분의 함량이 증가하는 경향을 나타내었고, salvianolic acid B는 최대 1.3배, cryptotanshinone은 1.4배, tanshinone 1은 1.2배 정도 증가하는 것으로 유효성분 함량이 높게 나타나는 경향이 비슷함을 보여주었다.

**Table 13. Contents of Salvianolic acid B, Cryptotanshinone and Tanshinone 1 in *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts by lab scale production** (unit: mg/100mL)

Samples	Salvianolic acid B	Cryptotanshinone	Tanshinone 1
C-1 <sup>1)</sup>	332.08±29.15 <sup>2)</sup>	0.50±0.05	1.08±0.04
C-2	337.70±22.03	0.47±0.02	1.20±0.09
Average±SD	334.89±23.31	0.48±0.04	1.20±0.09
A-1	444.12± 7.00	0.46±0.02	1.12±0.04
A-2	424.52±17.92	0.63±0.06	0.90±0.00
A-3	381.57±24.63	0.68±0.05	1.36±0.17
A-4	372.13±17.91	0.56±0.03	1.36±0.03
A-5	386.49±26.58	0.64±0.11	0.12±0.07
Average±SD	401.76±33.27	0.59±0.09	0.84±0.57

<sup>1)</sup>C-1, C-2, non-enzymatic treatment; A-1~A-5, enzymatic treatment.

<sup>2)</sup>Values are means±SD (n=3).

실험실의 실험결과에서 적합하다고 결정된 조건에 의한 추출방법을 이용한 대량생산에서의 유효성분 함량의 변화를 확인할 결과는 Table 14에 나타내었다. Salvianolic acid B 및 tanshinone 1은 실험실 결과와 비슷한 함량을 나타냈으나, cryptotanshinone은 조금 낮게

나타났으며, 실험실의 재현성 검증에서는 나타나지 않은 tanshinone 2A의 함량이 미량 나타남을 알 수 있다. 본 대량생산의 함량결과를 바탕으로 단삼 추출농축액의 지표성분 규격을 85~115%로 잡아, 규격을 관리하는 기초 데이터로 하고자 한다.

**Table 14. Contents of salvianolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1 and tanshinone 2A in *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts by mass scale production**  
(unit: mg/100mL)

Samples	Salvianolic acid B	Cryptotanshinone	Tanshinone 1	Tanshinone 2A
1	426.84±10.38 <sup>1)</sup>	0.39±0.03	1.25±0.01	0.09±0.03
2	540.38±20.99	0.76±0.04	1.80±0.38	0.12±0.05
3	466.99±16.92	0.36±0.04	1.42±0.08	0.12±0.04
Average	478.07±51.91	0.50±0.19	1.49±0.31	0.11±0.03
85%	406.36	0.428	1.267	0.094
115%	549.78	0.579	1.714	0.127

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3)

단삼의 랩규모와 대량생산으로 얻은 각각의 추출물로부터 유효성분 지표 중 생산 규모에 따른 처리단계별 머무름 시간이 미치는 영향에 민감한 성분의 유무를 확인한 결과는 Table 15에 나타내었다. Salvianolic acid B, Cryptotanshinone, Tanshinone 1의 성분 중 생산규모에 따라 유의적인 함량의 차이를 보인 것은 salvianolic acid B로 나타났다.

**Table 15. Content Comparison from lab and mass scale extraction of *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts**  
(unit: mg/100mL)

Samples	Salvianolic acid B	Cryptotanshinone	Tanshinone 1
Lab scale	403.67±33.05	0.56±0.08	1.17±0.16
Pilot scale	477.66±49.06	0.50±0.19	1.51±0.32
T test	0.014 <sup>1)</sup>	0.784	0.078

<sup>1)</sup> Values are obtained from Lab and Pilot scales value's comparison.

Table 16. Mass scale production process of *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts

공정	내용	
1. 원료 준비	원료 투입	
2. 1차 추출	100℃, 30 분	
3. 냉 각	60℃로 냉각	
4. 효소 처리	효소 투입	
5. 여 과	Filter press	
6. 농 축	30 Brix	

#### 라. 단삼을 활용한 제품화 기반 구축

##### (1) 단삼의 유효성분 규격설정

국내산 단삼을 건조 후 절단 및 분쇄하여 >20~40mesh로 선별한 단삼 분말 0.5 g에 75% 메탄올 50 mL를 가하여 30분 동안 sonication 추출하여 지표성분 salvianolic acid B 분석을 실시하여 봉화 영양지역의 단삼 재배 가구별 지표성분 함량을 분석하였다. 분석한 결과는 Table 17에 나타내었다. 봉화 영양의 2015년 3월 채취 단삼의 지표성분 규격은 평균 6.93%의 85~115% 범위로 설정하여 규격을 관리하는 기초자료로 잡고자 한다.

Table 17. Salvianolic acid B contents of *Salvia miltiorrhiza* Bunge depending on grower

Samples	Salvianolic acid B (g/100g)	RSD (%)	85%		115%	
A	6.25±0.27 <sup>1)</sup>	0.44	5.32	7.19		
B	7.39±0.25	0.34	6.29	8.50		
C	6.79±0.21	0.31	5.77	7.81		
D	6.39±0.25	0.39	5.43	7.35		
E	7.09±0.15	0.21	6.03	8.15		
F	7.65±0.28	0.36	6.50	8.79		
Average	6.93	0.34	5.89	7.97		

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=8).

## (2) 단삼 추출농축액을 이용한 기능성 음료 개발

### (가) 단삼 추출농축액을 이용한 기능성 음료 배합비

현대에는 한약재를 이용한 고부가가치 식·의약품을 개발하여 막대한 이익 창출이 가능한 시대로 변화하면서, 한약재가 단순히 약재로서의 기능뿐 만 아니라 건강기능성 식품으로의 전환되고 있다. 건조한 단삼은 거칠고 세로 주름이 있으며 표피에 적색 색소가 침착되어 한약 재료로 사용되고, 활혈거어(活血祛瘀), 조경지통(調經止痛), 양혈안신(養血安神), 양혈소옹(涼血消癰) 등에 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 한의학에서는 어혈성의 심복부 동통, 타박상 치료와 불면증, 피부발진 등에 이용하는 약재로. 특히, 단삼은 어혈제거에 탁월한 효과가 있으며 여성에게 도움이 되는 사물탕과도 유사한 효과가 있다고 알려져 있는 약재이다.

단삼을 활용하여 여성에게 도움이 되는 마시는 음료를 개발하기 위해 여성 건강에 좋은 약재를 조사한 결과, 단삼, 감초, 국화, 익모초, 히비스커스 5종을 선별하게 되었으며, 각각의 특성은 Table 18에 나타내었다. 선정된 단삼, 감초, 국화, 익모초, 히비스커스 일정량에 10배 가수하여 100℃에서 30분간 추출 후 방냉하여 여과한 액을 농축기(N-3010, Tokyo Rikakikal Co., LTD. Tokyo, Japan)를 이용하여 20°brix까지 농축한 후 액상차로 개발하였다.

Table 18. Properties of each herb for functional drink

Material		Efficacy	Ingredient
<p><i>Salvia miltiorrhizae</i> Bunge</p>		<p>타박상, 불면증, 어혈제거</p>	<p>Tanshinone I , Salvianolic acid B,</p>
<p><i>Leonurus sibiricus</i></p>		<p>행혈, 활혈, 거어, 해독, 하수, 부종, 어혈복통, 월경부조 고지혈증 억제, 혈압강하</p>	<p>Vitamin A, Linolenic acid, Oleic acid, Rutin, Leonurin</p>
<p><i>Chrysanthemum indicum</i> Linne</p>		<p>월경불순, 자궁냉증, 두통, 빈혈 진정작용, 혈압강하, 바이러스 억제, 항균,</p>	<p>Vitamin C, Acacetin</p>
<p><i>Hibiscus sabdarffa</i></p>		<p>체지방 제거 콜레스테롤 저하, 해열(목감기, 인후염), 면역력 강화, 숙취해소, 부통완화, 생리불순</p>	<p>Minerals, Vitamin C, K</p>
<p><i>Licorice Glycyrrhuzae</i> Radix</p>		<p>통증 및 경련 완화, 간질환, 알레르기, 멜라닌형성억제, 해독, 항암, 항염, 항혈전,</p>	<p>Glycyrrhizin, Liquiritigenin</p>

(나) 단삼 추출농축액을 이용한 기능성 음료의 특성

단삼 추출농축액을 이용한 음료를 제조하기 위해 허브 원재료들을 각각 추출하여 추출수율, pH 및 색도를 조사한 결과는 Table 19에 나타내었다. 추출수율은 단삼이 가장 높고, 익모초와 국화가 낮게 나타났으며, 이는 건조물 성상에 따라 차이가 나는 것으로 보여진다. 추출물의 pH는 익모초 추출물이 가장 높았으며, 히비스커스 추출물이 pH 2.97로 가장 낮게 나타났으며 혼합한 음료는 pH 3.93으로 나타내었다. 색도는 단삼, 익모초, 감초는 비슷한 명도를 나타내었으며, 단삼 및 히비스커스가 붉은색을 나타내는 +(a)값을 나타내었다.

Table 19. Extraction yield, pH and Hunter's color value of each herb

Samples	Extraction yield(%)	pH	Hunter's color value		
			L	a	b
<i>Salvia miltiorrhiza</i> Bunge	75.0	5.93	59.85±3.71 <sup>1)</sup>	15.57±0.47	33.08±4.83
<i>Leonurus sibiricus</i>	40.0	6.8	57.18±2.47	9.42±1.26	34.10±1.15
<i>Chrysanthemum indiaum</i> Linne	40.0	4.64	73.92±1.08	-5.38±0.70	30.76±0.12
<i>Hibiscus sabdarffa</i>	60.0	2.97	10.32±0.42	24.83±1.07	6.53±0.29
<i>Licorice Glycyrrhuzae</i> Radix	50.0	5.04	63.93±0.18	-2.20±0.10	31.39±0.19
Drink	66.7	3.93	2.93±0.07	0.14±0.06	-0.33±0.07

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3)

(다) 단삼 추출농축액을 이용한 기능성 음료의 유효성분 함량 평가

단삼 추출농축액을 이용한 음료 제조비율에 맞춘 25°brix로 농축한 단삼 단일 추출농축액과 20°brix로 농축한 5종의 혼합 추출농축액의 유효성분 함량 변화를 조사한 결과는 Table 20에 나타내었다. Salvianolic acid B는 단삼의 배합 비율로 단일 추출농축액 A함량보다 5종 혼합 추출농축액의 함량이 조금 낮게 나타났으나, tanshinone 1 함량은 salvianolic acid B 함량과는 반대되는 결과를 나타내었다.

**Table 20. Contents of salvianolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1 and tanshinone 2A in multi herb extracts** (unit: mg/100mL)

Samples	Salvianolic acid B	Cryptotanshinone	Tanshinone 1
1	313.80±16.26 <sup>1)</sup>	0.15±0.01	1.20±0.01
2	416.74±21.97	0.32±0.05	1.49±0.24

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3)

2015년 3월 채취 단삼을 활용하여 제품화한 **단아후<sup>R</sup>**에서 단삼의 지표성분함량을 분석한 결과는 Table 21과 같다. 음료 100mL당 평균 195mg의 단삼 유효성분을 함유하고 있는 것으로 분석되었으며, 이는 단삼 3g에 함유된 salvianolic acid를 함유하는 것으로 환산된다.

**Table 21. Contents of salvianolic acid B in Drink *Danahu<sup>R</sup>* developed using multi herb extracts** (unit: mg/100mL)

Samples	Salvianolic acid B
1	203.5
2	187.2
3	195.7
4	196.5
Average	195.73±6.68
85%	166.37
115%	225.08

(라) 단삼 추출농축액 지표성분의 안정성

단삼 추출농축액을 이용하여 다양한 가공제품의 개발시 열처리 공정을 통하여 음료배합, 살균공정 등 저온 추출단계 후에도 다양한 열처리 공정이 추가적으로 발생하는 점을 고려하여 음료배합적정 농도로 8%의 단삼추출농축 함유액에 대하여 pH 무보정값인 5.8과 구연산으로 pH 3.8로 보정한 후 85도에서 2, 4, 6, 8 시간 열처리후의 지표성분의 함량변화를 분석한 결과는 Table 22와 같다.

열처리시간에 따라 salvianolic acid 함량이 감소되었으며 pH 보정구간이 무보정구간보다 감소율은 무보정구간은 36%, 보정구간은 16% 로, 유의성 있게 pH 3.8에서 성분이 안정함을 알 수 있었다. 음료 등 가공을 위하여 배합조에서 장시간 머무름시 성분의 분해는 진행되므로, 가공 배치량의 조정으로 최적공정 검토가 필요한 것으로 판단되었다.

**Table 22. Content Change of Salvianolic acid B content of *Salviae miltiorrhizae* Bunge extract after heating process**  
(unit: mg/100mL)

Heating time	pH 5.8		pH 3.8	
	content	recovery rate(%)	content	recovery rate%
0h	110.0	100	92.0	100
2h	81.6	74	82.9	90
4h	78.6	71	85.9	93
6h	76.3	69	81.7	89
8h	70.3	64	77.2	84
T test	0.018 <sup>1)</sup>			

<sup>1)</sup> Values are obtained from each recovery rate value's comparison.

열처리후 상온 유통시 발생 될 수 있는 지표성분의 변화를 예측하기 위하여 열처리 직후 2일과 5일 후 성분함량을 분석한 결과는 Table 23과 같다. 열처리 직후에 성분의 파괴가 진행된 후, 상온 방치 2일후, 5일후 성분 함량을 분석한 결과 Salvianolic acid B의 함량이 회복되어 유의적으로 차이가 있는 수준으로 회복되었음을 알 수 있었다. Salvianolic acid B의 구조가 열에 불안정하여 개환되었다가, 상온에 방치되고, 냉각되면서, 성분의 구조가 복귀되는 것으로 확인되었다. 이상의 분석결과, 단삼으로부터 저온에서 추출된 성분은 가공공정에서

열처리에 의하여 순간적으로 성분의 구조가 바뀌나, 가공이 완료된 후 성분의 구조는 회복되어, 지표성분의 함량 유지 관리는 가능한 것으로 판단된다.

Table 23. Change of Salvianolic acid B content of *Salviae miltiorrhizae* Bunge extract after heating and cooling at room temperature (unit: mg/100mL)

Heating time	pH 5.8			pH 3.8		
	0 day	2 days	5 days	0 day	2 days	5days
2h	81.6	113.0	110.0	82.9	115.0	117.0
4h	78.6	108.0	107.0	85.9	114.0	114.0
6h	76.3	103.0	98.0	81.7	105.0	106.0
8h	70.3	101.0	94.0	77.2	107.0	108.0
T test		0.0001 <sup>1)</sup>	0.0534 <sup>2)</sup>		0.0006 <sup>1)</sup>	0.0917 <sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Values are obtained from 0 and 2 day value's comparison.

<sup>2)</sup>Values are obtained from 2 and 5 day value's comparison.

#### (마) 단삼 추출농축액을 이용한 기능성 음료의 항치매 저해활성

음료 제조비율에 맞춘 단삼 단일 추출농축액과 5종의 혼합 추출농축액의 항치매 저해활성 조사를 한 결과는 Fig. 15에 나타내었다. 음료에 이용될 배합비율에 따른 단삼 단일추출농축액은 27.64%의 항치매 저해활성을 나타내었으나, 5종의 혼합 추출농축액은 31.85%로 더 높은 항치매 저해활성을 나타냄으로써 단삼 뿐 만아니라 다른 재료의 추출농축액에서도 항치매 저해 활성 효과가 있어 시너지 효과를 내는 것으로 생각된다. 배합비율에 따른 단삼의 유효성분 함량에 재현성 조사에서도 큰 변화를 나타내지 않은 것을 확인하였다.

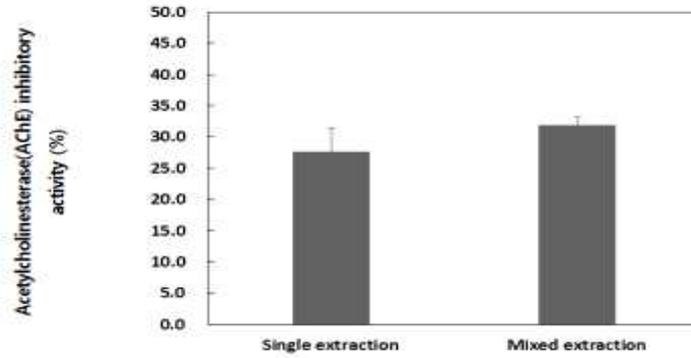


Fig. 15. Acetylcholin esterase inhibitory activities of single and multi herb extracts.

Single extraction, *Salvia miltiorrhiza* Bunge;  
 Mixed extraction, *Salvia miltiorrhiza* Bunge,  
*Leonurus sibiricus*, *Chrysanthemum indiaum* Linne,  
*Hibiscus sabdarffa*, *Licorice Glycyrrhuzae* Radix

(바) 단삼 추출농축액을 이용한 기능성 음료의 관능평가

단삼 추출농축액을 이용하여 혼합 추출농축액을 제조하여 음료 제조배합(Table 21)의 관능평가를 조사한 결과는 Fig. 16에 나타내었다. 음료 제조에서 식초, 올리고당 등의 부재료는 고정을 하고 5종의 혼합 추출농축액 함량을 가감하여 관능평가를 한 결과 'B' 배합 비율일 때의 음료가 가장 선호도가 높은 것으로 나타났다.

Table 21. Functional drink combination ratio using herb extracts

Ingredients	A	B	C
Vinegar	12	11	12
Fructo_oligosugar	40	41	40
Sweetness	0.05	0.05	0.05
Calcium	0.5	0.5	0.5
<i>Salviaemiltiorrhizae</i>	4	8	12
<i>Leonurus sibiricus</i>	4	8	12
<i>Chrysanthemum indiaum</i>	4	4	4
<i>Hibiscus sabdarffa</i>	2	1.8	2
<i>Licorice Glycyrrhuzae</i>	0	2	2
Water	33.55	23.47	15.45
Total	100	100	100

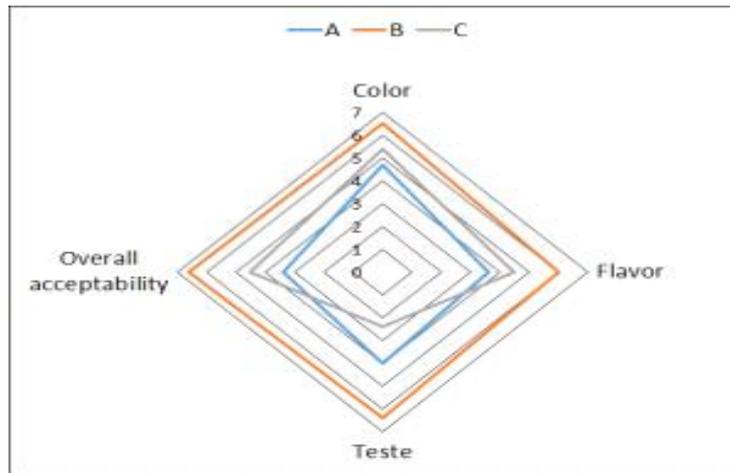


Fig. 16. Sensory evaluation of Functional drink using *Salvia miltiorrhiza* Bunge.

## (2) 단삼 이용 침출차 제형 적성

단삼을 이용한 침출차는 피로회복 및 혈압강화에 도움이 되는 재료 중에서 단삼과 맛과 향에서 어울린다고 생각되는 국화 및 오미자를 이용하여 티백 형태로 제조하였다. 각 재료를 이용한 전처리 및 제조방법은 다음과 같다. 가공되지 않고 건조된 단삼과 건조가 미미한 상태이므로 티백으로 가공 후 저장을 고려하여 오미자의 볶음 시간은 6분으로 정하고 볶음 온도를 선정하기 위해 60, 80 및 100℃에서 볶음 처리를 하였을 때, 100℃에서는 단삼과 오미자의 겉이 검게 탔으며, 60℃에서는 단삼이 잘 볶아지지 않았다. 그리하여 볶음 온도를 80℃로 설정하여 볶음 처리를 하였다. 국화는 100℃에서 1분간 증기로 찌서 그늘에 말린 것을 사용하였다. 가공된 단삼, 오미자 및 국화를 이용하여 2g씩 티백포장으로 상품화 하고자 한다. 단삼 침출차 티백을 95℃에서 1분간 우렸을 때, 단삼과 오미자에서 우러나오는 붉은색과 국화의 향이 잘 어울려짐을 확인 한 결과, 상품화가 가능할 것으로 생각된다.



Fig. 17. Leaching tea making step using *Salvia miltiorrhiza* Bunge, *Schizandra Chinensis* and *Chrysanthemum indiaum*

### (3) 단삼 원형 보존 침출 제형 적성

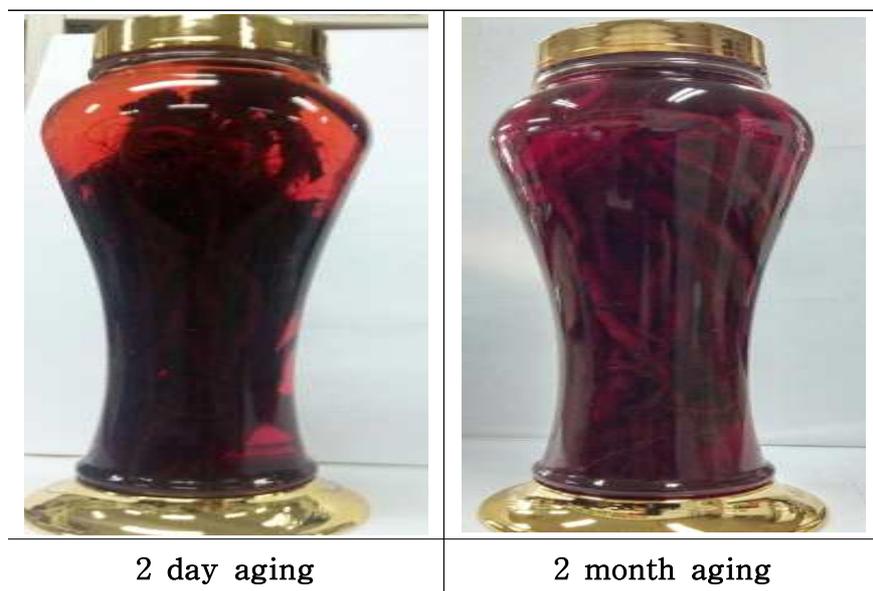
건단삼을 이용하여 소금, 구연산, 아스파탐을 가미한 40% 주정을 사용하여 유효성분 추출을 극대화하고자 건단삼 90 g에 40% 주정 1.7L에 침지시켜 침출주를 제조하였다. 제조한 단삼 침출주 저장 8주 후에 pH, 당도, 색도 및 유효성분을 조사한 결과는 Table 22에 나타내었다.

40% 주정의 pH는 pH 8.41였으나, 단삼 침출주는 pH 6.53으로 중성에서 약산성으로 낮아졌으며, 당도는 40%주정보다 2.2 °brix 정도 높아짐을 알 수 있으며, 색도변화는 a 및 b 값이 높은 것으로 나타나서 적갈색의 색소가 침출됨을 알 수 있으며, 침지 1일에 색소성분이 추출되어 침지액의 색이 붉은 색으로 변화하기 시작하여 침지 72시간 정도면 대부분이 추출되는 것으로 보여진다. 단삼의 유효성분 중 salvianolic acid가 124.1mg/ml로 검출되었다.

**Table 22. Characteristics of *Salvia miltiorrhiza* Bunge wine**

Samples	pH	Sugar content (°Bx)	Hunter's color value			Salvianolic acid (mg/100mL)
			L	a	b	
<i>Salvia miltiorrhiza</i> Bunge wine	6.53±0.01	16.7±0.1	75.17±0.05	14.99±0.03	36.20±0.03	124.1

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3)



**Fig. 18. Visual of *Salvia miltiorrhiza* Bunge wine**

(4) 타정 제형 및 분무건조분말 제형 적성

단삼 추출농축액의 동결건조 분말을 이용한 제형화의 가능성을 확인하기 위해 단삼 추출물을 20°brix로 농축시켜 동결건조 분말을 제조하였다. 단삼과 히비스커스 분말을 이용하여 제형을 하였다. 배합비는 원료 분말 40%, 부형제인 텍스트린 30%, 유당 30% 및 활택제 스테아리산마그네슘 2%를 혼합하여 타정 제형화가 가능함을 확인할 수 있었다.



Fig. 19. Tablet using *Salvia miltiorrhiza* Bunge and *Hibiscus sabdarffa* extract

더불어 단삼 분말 농축액의 분무건조 적성을 확인하였다. 30브릭스 농축액으로 분무건조를 진행시 부형제 없이 100%의 단삼농축분말을 얻을 수 있었다. 순간 고온 처리로 인한 성분함량의 파괴는 없는 것으로 분석되었다

Table 23. Salvianolic acid content of spray dried *Salvia miltiorrhiza* Bunge extract

(unit : mg/100g)

Sample	Salvianolic acid B
30 Bx extract	197
Spray dried powder	210

## (5) 단삼활용 제품 컨셉

단삼 추출농축액을 이용한 음료 브랜드 개발을 위한 타겟은 건강기능식품으로의 연관 키워드를 도출하여 이를 의미를 함축적으로 상징화함을 목적으로 디자인을 의뢰한 결과는 Fig. 20에 나타내었다.

<p>Brand &amp; Package Design Development      디자인 전략</p> <p>단삼을 활용한 음료 브랜드 개발은...</p>  <p>단삼음료의 주요 타겟을 설정하고 건강기능식품으로의 연관 키워드를 도출하여 이를 의미함축적으로 상징화시켜 가는 것.</p>	<p>Brand &amp; Package Design Development      디자인 전략</p>  <p>귀한 한약재료를 만든 단삼초</p> <p><b>1. “단아한 한국의 미(美)를 머금다”</b></p> <p>여성을 위해 특화된 제품의 특성을 고려하여, 귀한 한약재료를 사용하여 만든 제품의 고급화된 이미지와 단아하고 고운채래의 여성의 이미지를 상징화.</p>										
<p>Brand &amp; Package Design Development      디자인 전략</p>  <p>붉은색 고운채래, 단삼</p> <p><b>2. “단삼의 색(美)을 담다” - Red Therapy</b></p> <p>단삼은 붉은 색상 때문에 지어진 이름으로 적삼이라고 부르기도 한다. 미용에서 느낄 수 있는 1차원적인 색상 이미지를 강조하여 생채료를 부각.</p>	<p>Brand &amp; Package Design Development      디자인 전략</p>  <p>치료, 치유의 기능식품 - Wellbeing Food</p> <p><b>3. “내 몸을 맑게하다”</b></p> <p>예로부터 단삼은 혈액순환을 돕고, 여성의 신진대사 및 생리통을 치료한다고 널리 알려진 식품으로 현대 여성들의 몸을 맑게 해주는 건강기능성 식품으로서의 역할을 제시.</p>										
<p>Brand &amp; Package Design Development      디자인 전략</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p>Keyword 1</p> <p>단아한 한국의 미</p>  <p>한국의 이미지를 도드라지게 표현 단아한 이미지를 부각시킬 수 있는-</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>Keyword 2</p> <p>붉은 단삼의 색</p>  <p>붉은색을 강조하여 단삼의 특성을 부각시킬 수 있는-</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>Keyword 3</p> <p>건강한 기능성 식품</p>  <p>여성들을 위한 음료로서 여성 건강 증진을 위한 이미지 부각.</p> </div> </div> <p style="text-align: center; margin-top: 20px;">↓</p> <p style="text-align: center; background-color: #f0f0f0; padding: 5px;"><b>“단아한 여성”들을 위한 건강음료</b></p>	<p>Brand &amp; Package Design Development      네이밍 전략</p> <p>네이밍 가이드라인 - Naming Guideline</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20%;">네임 위상</td> <td>제품의 차별적 정체성을 확보 할 수 있는 브랜드 네임</td> </tr> <tr> <td>네이밍 컨셉</td> <td>제품의 기능적 속성 외에 제 2의 의미를 부여 할 수 있는 감성네임</td> </tr> <tr> <td>표현유형 및 난이도</td> <td>제품의 속성과 연계되어 컨셉이 보여지는 브랜드 네임</td> </tr> <tr> <td>네임 언어권 음절 수</td> <td>전문적, 기능적 특징과 발음과 기억하기 쉬운 2~4음절 위주</td> </tr> <tr> <td>네이밍 이미지</td> <td>쉽게 접근이 용이한 친근한 이미지</td> </tr> </table>	네임 위상	제품의 차별적 정체성을 확보 할 수 있는 브랜드 네임	네이밍 컨셉	제품의 기능적 속성 외에 제 2의 의미를 부여 할 수 있는 감성네임	표현유형 및 난이도	제품의 속성과 연계되어 컨셉이 보여지는 브랜드 네임	네임 언어권 음절 수	전문적, 기능적 특징과 발음과 기억하기 쉬운 2~4음절 위주	네이밍 이미지	쉽게 접근이 용이한 친근한 이미지
네임 위상	제품의 차별적 정체성을 확보 할 수 있는 브랜드 네임										
네이밍 컨셉	제품의 기능적 속성 외에 제 2의 의미를 부여 할 수 있는 감성네임										
표현유형 및 난이도	제품의 속성과 연계되어 컨셉이 보여지는 브랜드 네임										
네임 언어권 음절 수	전문적, 기능적 특징과 발음과 기억하기 쉬운 2~4음절 위주										
네이밍 이미지	쉽게 접근이 용이한 친근한 이미지										

**Brand & Package Design Development 네이밍 전략**

네이밍 키워드 - Naming Keyword  
감수성, 적용성, 기억성, 의미성, 시각적 매력성, 길어와 장단, 소리/느낌의 현대성을 고려한 네이밍 키워드

단상	채움	생기	물	시간	훌륭한	완득
여성	붉은색	즐거움	노출	흐름	자연	물결
건강	오리엔탈	생동감	깨끗함	생명	이야기	정직
순돈	조화	가능성	부여	친환경	바람	느낌
강성	여유	활력	단아	특별한	동양	작용
물	홍차	기운	계한	아마니	순수	아름다움

**Brand & Package Design Development 네이밍 전략**

시안 1

# 단아진

**단아 + 붉은 비단 [진]**

단상을 붉은 비단에 빚대어 표현하여 여성을 위한 단상 식품의 단아하고 부드러운 이미지를 담고있는 네이밍 시안



**Brand & Package Design Development 네이밍 전략**

시안 2

# 단아후

**단아한 황후의 기쁨**

단상 + 아름다움 = 황후의 합성어로 단상이 여성의 내적인 기쁨을 강화하고 더불어 외적인 부분도 향상시켜 몇 여인들을 위한 단상이었던 황후처럼 단아한 여성이 될 수 있다는 의미



**Brand & Package Design Development 네이밍 전략**

시안 3

# 미휘단

**아름다운 여성을 위한 단상**

미휘단 [미] + 휘날 [휘] = 꽃을 [단]을 합성하여 만든 네이밍으로 휘날는 아름다움을 위한 단상이라는 뜻을 내포하고 있다.



**Brand & Package Design Development 네이밍 전략**

시안 4

# 여우지기

**여성의 건강을 지키는 붉은 여우**

여우는 흔히 여성을 상징하기도 하고, 단상의 특징인 붉은 색상과도 연결되어 2중적인 의미를 가질 수 있으며 소비자의 호기심을 불러일으킬 수 있는 스토리텔링이 가능한 시안



**Brand & Package Design Development 네이밍 전략**

시안 5

# 하늘여우

**"내 몸을 맑게 채우다"**

단상을 상징하는 [여우]와 맑고 가벼운 느낌의 채움의 성격을 반영한 [하늘]을 조합하여 스토리 전개가 가능한 전략의 네이밍 시안



**Brand & Package Design Development 네이밍 전략**

시안 6

# 청초담

**청초하다+ 담(談)/맑고 아름다움을 담은 이야기**

하루하루 잊으면서도 맑고 깨끗한 아름다움을 지나가라는 뜻을 가진 청초라는 단어와 담 (談)을 조합하여 단상으로 만든 제품이 맑은 기운과 아름다움을 표현한 후보안.

공유가능성 50%



**Brand & Package Design Development 네이밍 전략**

시안 7

# 미채움

**아름다움 미(美) + 채움**

단상이 여성의 건강과 아름다움을 채워준다는 뜻을 내포하고 있는 네이밍안.

공유가능성 50%



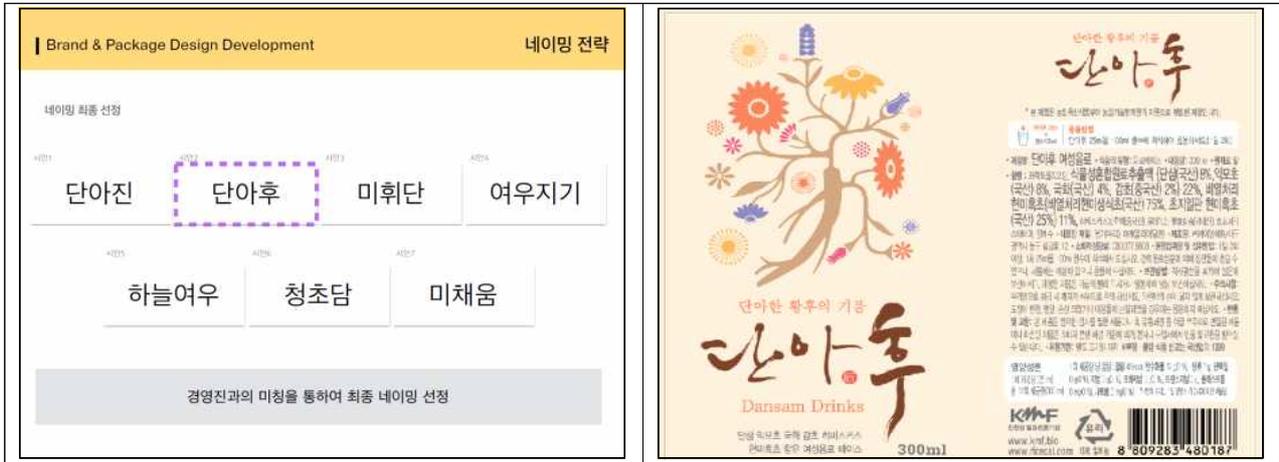


Fig. 20. Concept of utilizing *Salvia miltiorrhiza* Bunge products

## <제 1협동과제: 기능성 식품원료 활용을 위한 가공적성 우수 단삼 생산기술 개발(봉화 약초시험장)>

### 1. 재료 및 방법

#### 가. 재배방법

2013년도 수확한 단삼종자를 트레이상토에 파종하여 온실에서 2개월간 육묘한 모종을 수확 시기 구명, 파종방법, 재식거리 시험에 사용을 하였다. 수확시기 구명을 위한 단삼 재배는 경북 영양군 일월면 도곡리 농가 포장에서 재배시험을 수행하였는데 2014년 3월 하순에 모종을 포장에 정식하여 비닐피복 재배를 하였다. 수확시기별 단삼의 생육, 수량 및 성분함량 분석을 위하여 2014년 11월 10일, 11월 20일, 11월 30일과 2015년 3월 10일, 3월 20일 등 5회에 걸쳐 단삼을 수확하여 조사를 하였다. 파종방법별 단삼의 생육, 수량 및 품질에 미치는 영향을 조사하기 위하여 트레이포트에 육묘한 묘와 산파, 점파 등 3처리의 효과를 봉화약초시험장 시험포장에서 비교시험을 수행하였다. 단삼은 2015년 3월 하순에 파종하고 10월 하순에 수확을 한 후 생육, 수량 및 품질분석을 실시하였다. 재식거리에 따른 가공적성 평가를 위하여 봉화약초시험장 시험포장에서 시험을 수행하였으며, 육묘한 단삼 묘를 30 × 5 cm, 30 × 10 cm, 30 × 20 cm 간격으로 식재하고 처리효과를 구명하였다. 재배년수별 단삼의 품질평가를 위하여 경북 영양군 일월면 도곡리 농가 포장에서 재배되고 있는 1년생, 2년생, 3년생 단삼을 10월 하순에 수확하여 처리별 비교를 실시하였다.

#### 나. Salvianolic acid 및 tanshinone 화합물 분석

분석용 시료는 단삼을 40℃에서 열풍건조한 후 절단, 분쇄하여 사용하였다. 건조분말 0.3 g에 75% methanol 50 mL를 가한 후 30분 동안 초음파 추출하였다.

추출물은 Whatman NO. 1 여과지 및 0.45 μm membrane filter로 여과하여 분석용 시료로 사용하였다. 단삼의 유효 성분인 salvianolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1, tanshinone 2A는 HPLC (1260 Infinity Quaternary LC System, Agilent Technologies, Waldbronn, Germany)를 이용하였으며 분석칼럼은 ODS-H80(ODS-H80, 4.6×250 mm, YMC CO., LTD., Kyoto, Japan)을 사용하였고, 이동상은 1% formic acid 용액(A)과 Acetonitrile:methanol(75:25)용액을 사용하여 Gradient 조건에서 분석하였고 Table 1과 같다. Salvianolic acid 및 tanshinone 함량은 Sigma-Aldrich (St. Louis, Mo., USA)의 salvianolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1, tanshinone 2A를 이용하여 작성한 검량선의 회귀식으로부터 구하였다.

**Table 1. HPLC conditions for the assay of *Salvia miltiorrhizae* Bunge**

Time (min)	Mobile phase A	Mobile phase B
0	75	25
1	60	40
14	60	40
22	40	60
23	11	89
45	11	89
50	75	25

Mobile phase A	1% formic acid in H <sub>2</sub> O
Mobile phase B	1% formic acid in acetonitrile : methanol = 75:25
Detector	UV (280 nm)
Column	YMC ODS-H80 (250 X 4.6 mm, 4 μm)
Flow rate	0.5 mL/min
Column temp.	20°C
Injection volume	5 μL

#### 다. 광합성 및 엽록소 형광특성 분석

2013년도 수확한 단삼종자를 트레이상토에 파종하여 온실에서 2개월간 육묘한 모종을 직경 36 cm × 높이 44 cm 플라스틱 포트에 이식하여 재배하면서 온도에 따른 단삼의 광합성, 증산율, 엽록소 형광특성을 조사하였다. 단삼을 식물생장상(JSPC-420C2, JSResearch Inc., Gongju, Korea)에서 상대습도 65%, 광량 800 μmol m<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>의 조건을 유지하면서 온도에 따른 광합성, 증산율, 엽록소 형광반응을 측정하였다. 순광합성율과 증산율은 광합성측정기(LI-6400XT, Licor Inc., Lincoln, USA)를 이용하여 중간부위에 위치하는 만개한 잎을 공기유량 250 μmol/s, 온도 20±2°C에서 오전 9시에서 오후 1시까지 3반복으로 측정하였다. 광합성측정기의 광량조절은 LED light source를 이용하여 0, 25, 50, 75, 100, 250, 500, 750, 1000, 1500 μmol/m<sup>2</sup>/s의 단계로 조절하였다. 광-광합선 곡선을 측정하여 광보상점(Light compensation point), 암호흡(Dark respiration), 순양자수율(Net apparent quantum yield), 최대광합성속도(Maximum photosynthesis rate)을 구하였다. 엽록소 형광반응 측정기 (FluorPen FP100 Fluorimeter, Photon System Instrument, Drasov, Czechia)를 사용한 OJIP 분석은 20분간 암상태에 적응시킨 잎에 1,500 μmol/m<sup>2</sup>/s의 광을 1초간 조사하고 50 μs(O 단계), 2 ms(J 단계), 30 ms(I 단계), 300 ms(P 단계)의 엽록소 형광밀도를 3반복으로 측정하여 구하였다. OJIP 분석을 통해 단삼 잎의 생체물리학적 변수 (V<sub>j</sub>, V<sub>i</sub>, F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>, ABS/RC, ETo/RC, DIo/RC)를 산출하였다.

## 라. 생육조사

본 연구의 모든 실험은 3반복하여 측정된 평균을 나타내었다. 지상부 및 지하부 생육은 반복 당 10주를 조사하였으며, 수량은 20주를 조사하였다. 지상부는 초장, 경경, 엽수, 엽폭, 분지수, 절수를 조사하였다. 지하부는 근두부 직경, 주근장, 주근직경, 지근수, 생근중, 건근 수량을 조사하였으며 건조중량은 열풍건조기를 이용하여 80℃에서 48시간 동안 건조시켜 완전히 건조된 단삼의 무게를 측정하였다.

## 마. 통계처리

각 실험결과에 대한 통계분석은 SAS(9.13, SAS Institute Stat. Anal. System, Cary, NC, USA) 프로그램을 이용하였으며 처리군 간의 유의성 검정은 일원배치 분산분석법(One-way Analysis of Variance)을 시행하였고, Duncan's multiple range test로 처리 평균간의 유의적 차이를 검증하였다( $P < 0.05$ ).

## 2. 연구개발 수행결과

### 가. 유효성분 강화 고랭지 단삼 재배 기술 개발

#### (1) 온도에 따른 단삼의 광합성, 증산율 및 엽록소 형광반응

##### (가) 단삼의 광합성

온도와 광의 세기가 단삼의 광합성에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 광의 세기가 증가할수록 광합성율은 증가하는 경향을 나타내었는데 광의 세기가  $750 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  까지 증가한 후 이후에는 일정한 수준을 유지하였다. 재배온도에 따른 광합성율은 20℃, 25℃, 30℃의 순으로 조사되었다. 자연환경의 일상적인 조건에서 광의 세기가  $1,000 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  이상인 것으로 고려할 때 일사량 보다는 재배기간 중 온도조건이 큰 영향을 미치는 것으로 조사되었다.

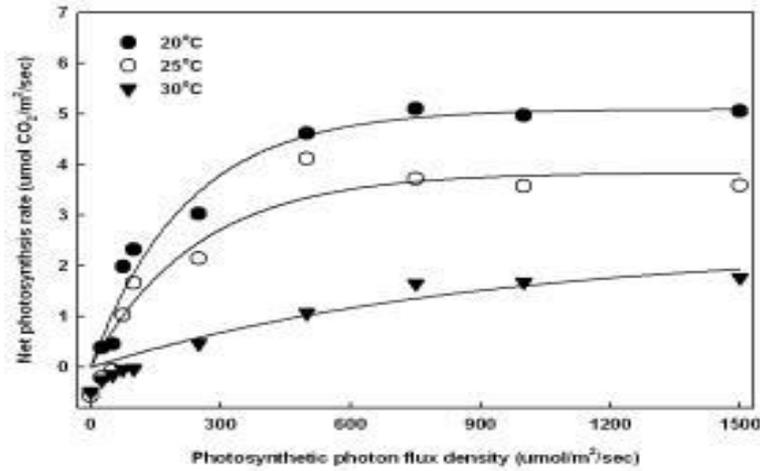


Fig. 1. Effect of temperature on net photosynthesis rate depending upon photon flux density in *Salvia miltiorrhiza* Bunge.

약광조건인  $100 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  이하에서 광도와 광합성의 관계는 직선적이므로 직선 회귀식을 이용하여 광보상점, 암상태의 호흡속도, 최대 광합성 속도, 순양자 수율을 산출하였다(Table 2).  $20^\circ\text{C}$ 에서 광보상점은  $18.487 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 로 가장 낮아 약광조건에서도 광합성 효율이 높았으며, 최대 광합성 속도 또한  $5.102 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ 로 가장 높았으며 순양자 수율도  $0.147 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ 로  $25^\circ\text{C}$ 와  $30^\circ\text{C}$ 에 비해 2.7~3.1배 높았다. 특히 순양자 수율은 약광조건에서 광합성능력의 지표로 빛 에너지를 화학 에너지로 변환시키는 광화학계의 활성을 나타내는데, 외부의 스트레스를 받지 않는 조건에서 대략  $0.04\sim 0.06 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ 을 나타내며  $0.04 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$  이하인 경우 광화학계가 손상을 받은 것으로 보고하고 있다. 본 연구에서는  $25^\circ\text{C}$ ,  $30^\circ\text{C}$ 에서 순양자수율이  $0.048\sim 0.054 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$  범위를 나타내어 광화학계의 손상은 발생하지 않았지만 온도에 따른 광합성율과 광합성 특성의 저하를 나타내었다.

Table 2. Effect of temperature on photosynthetic parameters in *Salvia miltiorrhiza* Bunge

Temperature (°C)	LCP <sup>1)</sup> ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ )	DR ( $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ )	MPR ( $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ )	NAQY ( $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ )
20	18.487 c <sup>2)</sup>	0.540 b	5.102 a	0.029 a
25	33.913 b	0.776 a	4.113 b	0.023 b
30	92.480 a	0.422 c	1.766 c	0.004 c

<sup>1)</sup>LCP: Light compensation point, DR: Dark respiration, MPR: Maximum photosynthesis rate, NAQY: Net apparent quantum yield.

<sup>2)</sup>Values are means $\pm$ SD (n=3). Means with different letters are significantly different at  $p<0.05$  probability level by duncan's multiple range test.

### (나) 단삼의 증산율 특성

온도에 따른 단삼의 증산율을 조사한 결과는 Table 3에 나타내었다. 잎의 기공 전도도는 20°C에서 가장 높았고 증산율은 0.698 mmol H<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup>/s로 25°C 다음으로 높았다. 식물체내에서 대기 중으로 수분의 확산을 의미하는 증산은 주로 기공에서 이루어지며 기공이 폐쇄될 경우 수분과 CO<sub>2</sub>의 교환에 영향을 미쳐 광합성 속도의 감소를 초래하게 된다. 수분 부족, 고온 및 저온 등 환경 스트레스를 받는 조건에서 광반응에 이용되는 빛 에너지에 의해 광합성 저해가 일어나는데 포도의 경우 침수에 의해 뿌리로 부터 수분흡수 저해에 따른 잎의 기공 전도도가 감소하여 증산율이 떨어져서 증산작용에 의한 엽온 조절기능이 교란되고 일사에 의한 광에너지 방출이 원활하지 못하므로 엽온도 상승, 정상적인 광합성이 억제되어 잎의 광계 II의 광수확 복합체(LHC II)의 광수확 안테나가 닫히고 막 단백질이 변형되어 광에너지가 광합성에 효율적으로 쓰이지 못하고 비광화학적 에너지 방출이 증가한다고 보고하였다. 20°C에서 기공 전도도가 높지만 증산율이 25°C 보다 낮은 원인은 대기 수증기압 차이(vapor pressure deficit)가 낮기 때문이며 뿌리로부터 수분의 흡수가 원활하지 못한 조건에서 대기 수증기압 차이가 클 때에는 잎의 기저부 또는 말단부위의 위조현상 등 수분 스트레스를 유발할 수 있다. 온도 조건에 따른 수분 이용효율은 20°C에서 가장 높으므로 단삼의 수분생리에도 상대적으로 낮은 온도에서 유리한 편이었다.

**Table 3. Effect of temperature on stomatal conductance, transpiration rate, vapor pressure deficit of leaf-air and water use efficiency in *Salvia miltiorrhiza* Bunge at 1,000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  of photosynthetic photon density, 400 ppm CO<sub>2</sub>**

Temperature (°C)	Stomatal conductance (mmol/m <sup>2</sup> /s)	Transpiration rate (mmol H <sub>2</sub> O/m <sup>2</sup> /s)	Vapor pressure deficit (kPa)	Water use efficiency ( $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$ )
20	0.035 a <sup>1)</sup>	0.698 b	1.918 c	7.108 a
25	0.024 b	0.720 a	2.848 b	4.955 b
30	0.012 c	0.507 c	4.023 a	3.311 b

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3). Means with different letters are significantly different at p<0.05 probability level by duncan's multiple range test.

(다) 단삼의 엽록소 형광반응

OJIP 분석법에 의한 엽록소 형광반응의 가장 초기에 O-J 구간은 광계 II의 반응중심에  $Q_A$ 의 환원( $Q_A^-$ )을 나타내고 J-I 구간은  $Q_A^-$ 의 환원과 재산화간 불균형, I-P 구간은 플라스토퀴논 (Plastoquinone)의 급격한 환원을 의미한다. 온도에 따른 엽록소 형광분석 결과는 Table 4에 나타내었다. 20°C에서는  $V_j$ ,  $V_i$ 가 높아서  $Q_A^-$ 의 재산화를 감소로 전자전달이 다소 낮아지는 편이었으나 초기 광화학 반응에서 최대 양자수율을 나타내는  $F_v/F_m$ 은 20°C, 25°C에서 높았고, 반응중심당 에너지 흐름의 변화를 나타내는 ABS/RC는 20°C에서 가장 낮은 값을 나타내어 25°C, 30°C에 비해 반응중심의 활성도가 유의하게 증가하는 것을 알 수 있었다.  $DI_o/RC$ 는 30°C에서 가장 높아 활성상태의 반응중심이 감소되어 반응중심에 에너지와 열의 방출이 증가하는 것으로 나타났다. 따라서 고온조건에서 광화학 반응에 이용되는 에너지가 줄어들고 전자전달에 이용되지 못하는 에너지가 증가하여 광계 II의 활성이 감소하며 과도한 여기 에너지로 인하여 광산화를 막기 위한 환원상태의 반응중심과 비광화학적 에너지의 소실을 증가시키는 반응을 나타낸 것으로 사료된다.

**Table 4. Effect of temperature on characteristics of chlorophyll fluorescence in *Salvia miltiorrhiza* Bunge at 1,000  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  of photosynthetic photon density, 400 ppm of  $\text{CO}_2$**

Temperature (°C)	$V_j$ <sup>1)</sup>	$V_i$	$F_v/F_m$	ABS/RC	$DI_o/RC$
20	0.447 a <sup>2)</sup>	0.737 a	0.813 a	2.049 c	0.383 b
25	0.401 b	0.703 b	0.815 a	2.177 b	0.402 b
30	0.375 c	0.693 b	0.808 b	2.317 a	0.445 a

<sup>1)</sup> $V_j$ , relative variable fluorescence at 2 ms time;  $V_i$ , relative variable fluorescence at 30 ms time;  $F_v/F_m$ , maximum quantum yield of PS II photochemistry in the dark adapted state; ABS/RC, absorption flux per reaction center;  $ET_o/RC$ , electron flux per reaction center beyond  $Q_A^-$ ;  $DI_o/RC$ , energy dissipation flux per reaction center.

<sup>2)</sup>Values are means±SD (n=3). Means with different letters are significantly different at  $p<0.05$  probability level by duncan's multiple range test.

## 나. 재배방법에 따른 생육, 수량 및 품질

### (1) 수확시기 구명

단삼의 수확시기에 따른 생육 및 수량은 Table 5에 나타내었다. 2014년 11월 10일부터 2015년 3월 30일까지 수확한 시료의 근장, 근직경, 지근수 및 건근 중의 차이는 없었다.

**Table 5. Effect of harvesting time on root growth characteristics and yield in *Salvia miltiorrhiza* Bunge**

Harvesting time	Root length (cm)	Root diameter (mm)	Lateral root (Number/plant)	Dry weight (g/plant)
10 Nov.	35.53 a <sup>1)</sup>	38.00 a	18.33 a	32.73 a
20 Nov.	33.90 a	37.83 a	18.00 a	32.97 a
30 Nov.	35.43 a	36.73 a	18.36 a	33.57 a
10 Mar.	35.30 a	36.97 a	18.24 a	34.01 a
20 Mar.	36.07 a	36.77 a	18.42 a	34.13 a

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3). Means with different letters are significantly different at p<0.05 probability level by duncan's multiple range test.

수확시기별 단삼에 함유된 salvianolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1 및 tanshinone 2A을 HPLC를 이용하여 분석한 결과는 Fig. 2에 나타내었다. Salvianolic acid B는 10.177분, cryptotanshinone은 35.653분, tanshinone 1은 35.827분, tanshinone 2A는 40.044분에 검출되었다.

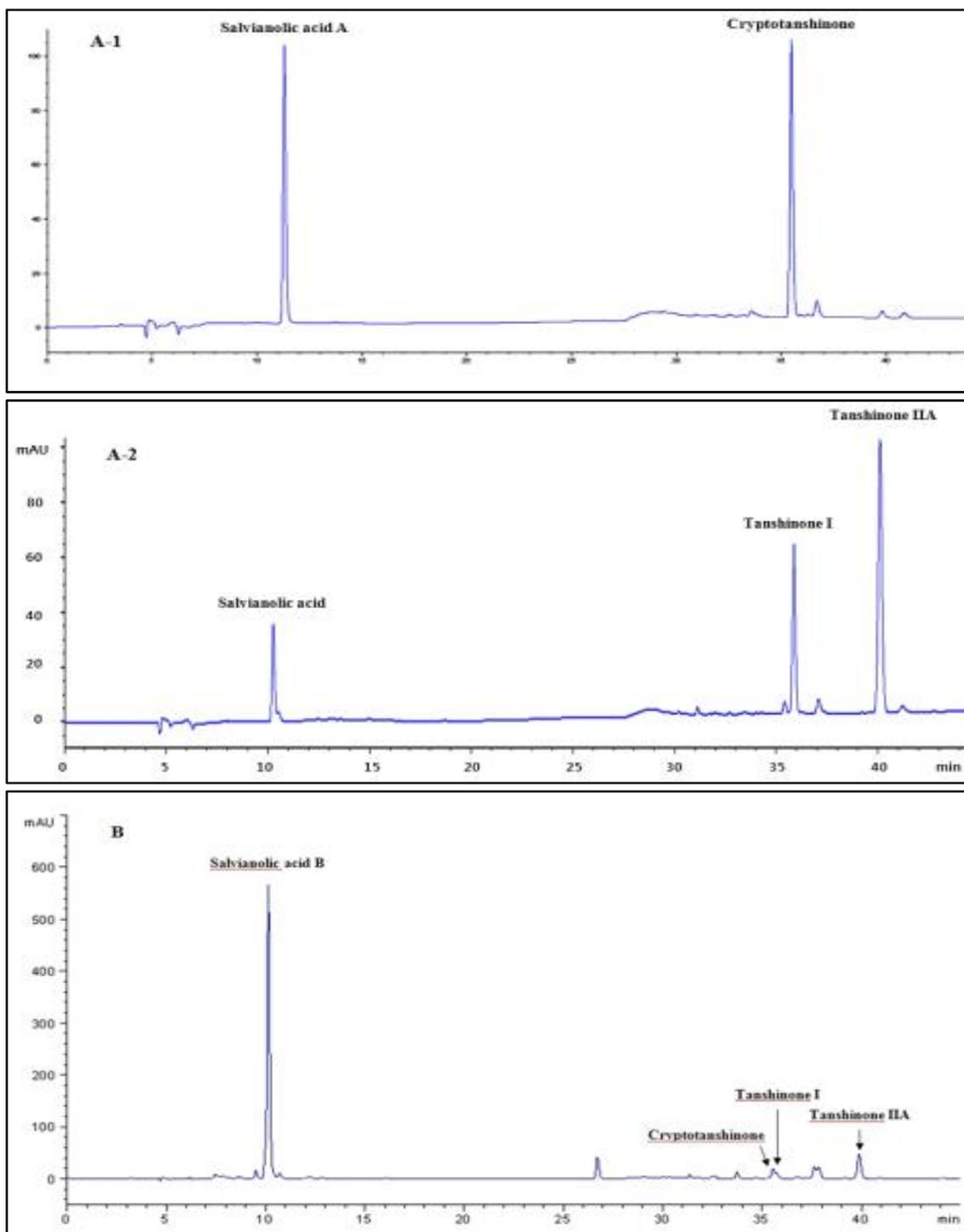
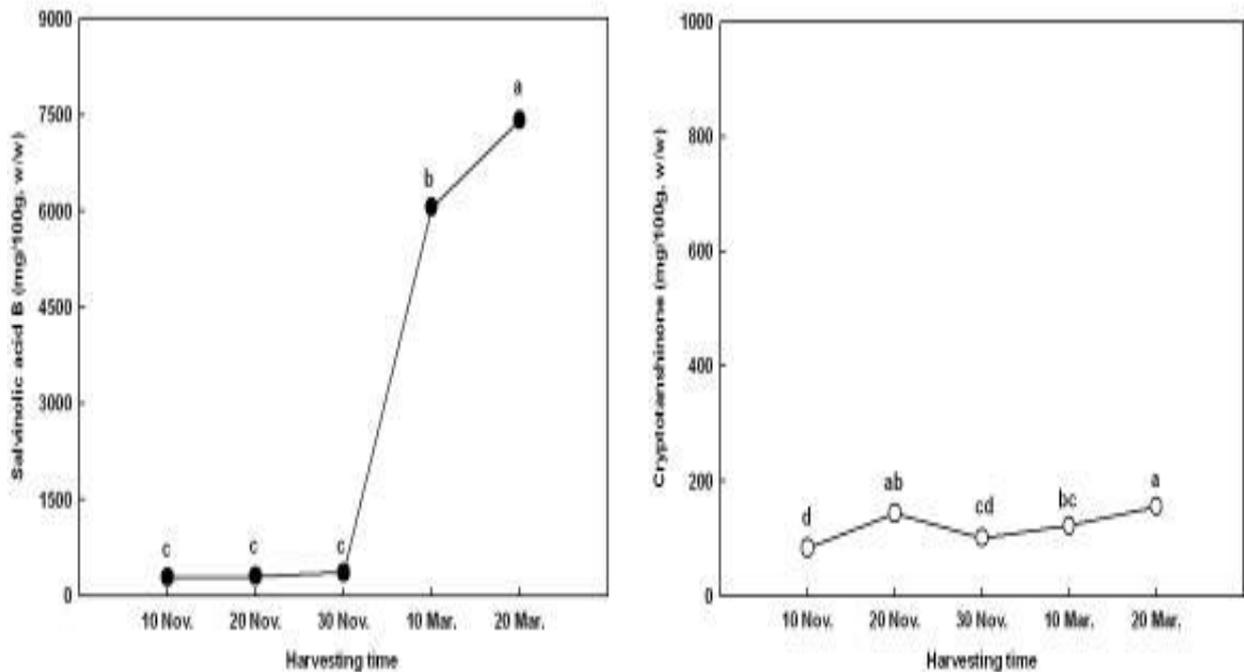


Fig. 2. HPLC chromatograms of standards(A) and root sample(B) extracted by methanol in *Salvia miltiorrhiza* Bunge.

수확시기별 함량을 분석한 결과는 Fig. 3에 나타내었다. Salvianolic acid B 함량은 수확시기가 늦을수록 유의하게 증가하는 경향을 보였으며 2015년 3월 20일에 수확한 단삼이 7,417.8 mg/100g로 가장 높았고 다음은 2015년 3월 10일 시료로 6,058.8 mg/100g이었으며 2014년 11월 수확한 시료는 291.0~363.6 mg/100g로 11월 상순에 비해 이듬해 3월 20일 수확한 시료가 약 25.5배 정도 함량이 증가하였다.

Cryptotanshinone 함량은 2015년 3월 20일 수확한 시료가 156.4 mg/100g로 2014년 11월 10일 수확시료의 83.6 mg/100g보다 유의한 증가를 나타내었다. tanshinone 1 함량도 수확시기가 늦어짐에 따라 증가하는 경향을 나타내었으며 2015년 3월 20일 시료는 393.9 mg/100g로 2014년 11월 10일 시료보다 2.1배 증가하였다. tanshinone 2A 함량도 같은 경향을 나타내었는데 2014년 11월 10일 시료보다 2015년 3월 20일 시료가 823.2 mg/100g으로 2.8배 증가하였다. 수확시기에 따른 단삼뿌리의 생육 및 수량은 큰 차이가 없었으나 salvianolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1 및 tanshinone 2A의 함량은 수확시기가 늦을수록 유의하게 증가하였으며 salvianolic acid B 함량이 가장 많았으며 수확시기별로는 11월 상순에 비해 이듬해 3월 중순 이후에 수확시료에서 약 25.5배 증가하였다. cryptotanshinone, tanshinone 1 및 tanshinone 2A 함량 또한 2015년 3월 20일 수확한 시료에서 가장 높은 함량을 나타내었다. 따라서 고품질 단삼 유통을 위한 적정 수확시기는 단삼을 과중한 다음 해 3월 중순 이후에 수확을 하는 것이 합리적인 것으로 사료된다.



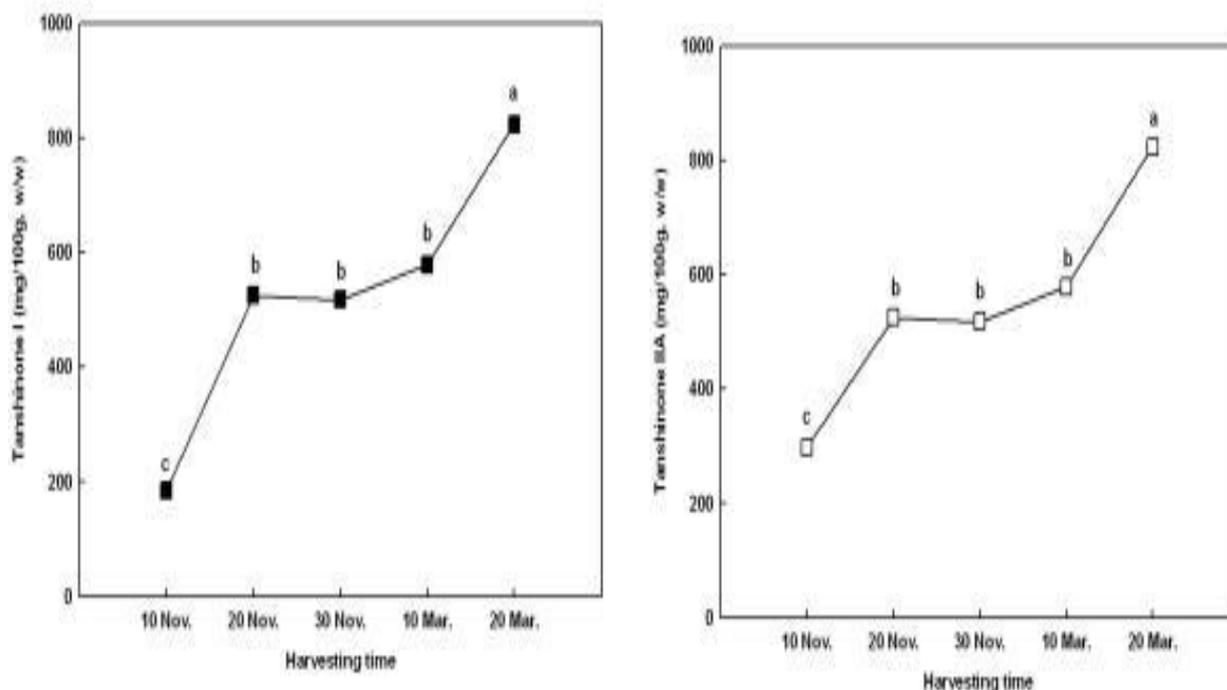


Fig. 3. Effects of harvesting time on content of salviaolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1 and tanshinone 2A in *Salvia miltiorrhiza* Bunge. Values are means±SD (n=3). <sup>1)</sup>Means with different letters are significantly different at p<0.05 probability level by duncan's multiple range test.

## (2) 재배년수에 따른 생육, 수량 및 품질 구명

단삼의 재배년수에 따른 지상부 생육은 Table 6에 나타내었다. 초장은 1년생보다 2년생, 3년생에서 길었고, 잎 수는 1년생, 2년생보다 3년생에서 많았다. 하지만 경경, 엽장, 엽폭, 절수는 처리간 차이가 없었다. 따라서 재배년수에 따른 단삼의 지상부 생육의 차이는 없는 것으로 나타났다.

Table 6. Effect of cultivation periods on shoot growth characteristics in *Salvia miltiorrhiza* Bunge

Cultivation periods	Plant height (cm)	Stem diameter (mm)	Leaf number (No/branch)	Leaf length (mm)	Leaf diameter (mm)	Node number (No/plant)
One year	60.0 b <sup>1)</sup>	6.7 a	18.1 b	11.5 a	7.2 a	5.0 a
Two years	98.1 a	8.2 a	16.3 b	14.3 a	6.6 a	4.8 a
Three years	103.6 a	8.1 a	25.3 a	14.2 a	6.4 a	5.0 a

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3) Means with different letters are significantly different at p<0.05 probability level by duncan's multiple range test.

단삼의 재배년수에 따른 지하부 생육 및 건근수량은 Table 7에 나타내었다. 근두부직경은 1년생 보다 2년생, 3년생에서 높았고, 주근직경도 1년생, 2년생 보다 3년생에서 높았다. 지근의 수는 3년생이 가장 적었으며 생근중은 1년생이 가장 낮았다. 따라서 재배년수가 길어질수록 주근의 비대가 촉진되는 쪽으로 진행되며 지근보다는 주근의 발달이 우세한 것으로 나타났다. 따라서 수량도 1년생이 가장 낮았고 2년생과 3년생은 처리간 차이가 없었다. 재배년수에 따른 salvianolic acid B의 함량은 차이가 없었으며 cryptotanshinone, tanshinone 1, tanshinone 2A 함량은 1년생에서 높았다. 이러한 이유는 1년생에서 주근직경이 적고 길이는 길어서 상대적으로 뿌리의 표피 붉은 부분에 많이 함유된 tanshinone 계열의 물질이 많이 포함되었기 때문으로 사료된다.

**Table 7. Effect of cultivation periods on root growth characteristics and yield in *Salvia miltiorrhiza* Bunge**

Cultivation periods	Root head diameter (cm)	Root diameter (mm)	Root length (cm)	Lateral root number (No/branch)	Fresh weight (g/plant)	Yield (D.W. kg/10a)
One year	30.5 b <sup>1)</sup>	11.1 b	52.9 a	40.8 ab	308.3 b	210 b
Two years	51.2 a	12.9 b	42.2 ab	49.2 a	417.0 a	322 a
Three years	53.3 a	24.4 a	37.4 b	34.8 b	385.0 ab	315 a

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3). Means with different letters are significantly different at p<0.05 probability level by duncan's multiple range test.

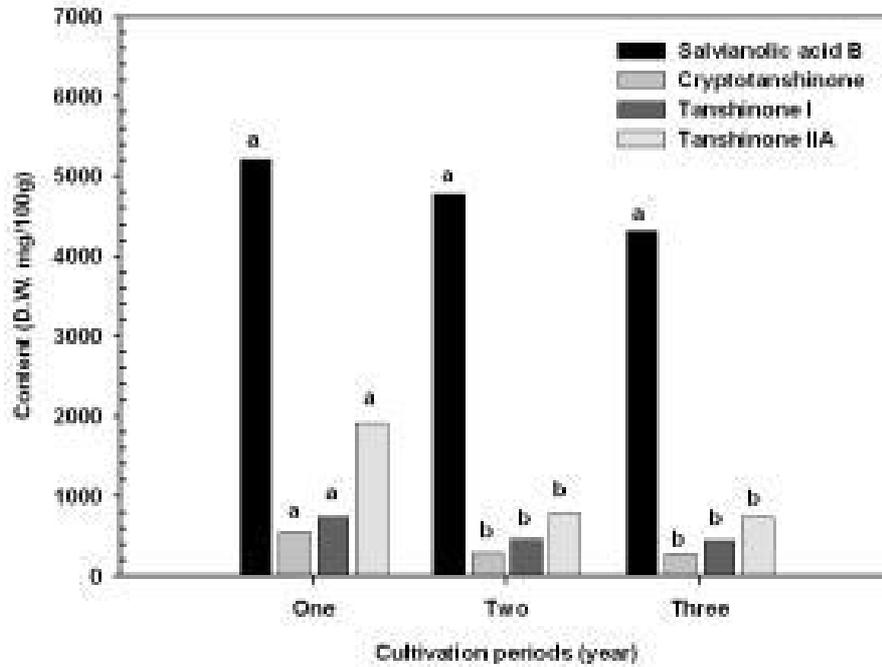


Fig. 4. Effects of cultivation periods on content of salviolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1 and tanshinone 2A in *Salvia miltiorrhiza* Bunge. Values are means±SD (n=3). <sup>1)</sup>Means with different letters are significantly different at p<0.05 probability level by duncan's multiple range test.

### (3) 재식거리에 따른 생육, 수량 및 품질 구명

단삼의 재배거리에 따른 지상부 생육은 Table 8에 나타내었다. 심는 거리가 좁을수록 초장은 작았으며 잎 수도 동일한 경향을 보였다. 그 외 처리는 재식거리에 따른 차이는 없었다.

Table 8. Effect of planting density on shoot growth characteristics in *Salvia miltiorrhiza* Bunge

Planting density	Plant height (cm)	Stem diameter (mm)	Leaf number (No/branch)	Leaf length (mm)	Leaf diameter (mm)	Node number (No/plant)
30×20cm	60.9 ab <sup>1)</sup>	6.9 a	14.5 a	9.7 a	6.3 a	4.7 a
30×10cm	65.0 a	7.0 a	13.6 ab	10.3 a	6.2 a	4.7 a
30×5cm	58.1 b	6.4 a	13.0 b	10.4 a	6.7 a	4.9 a

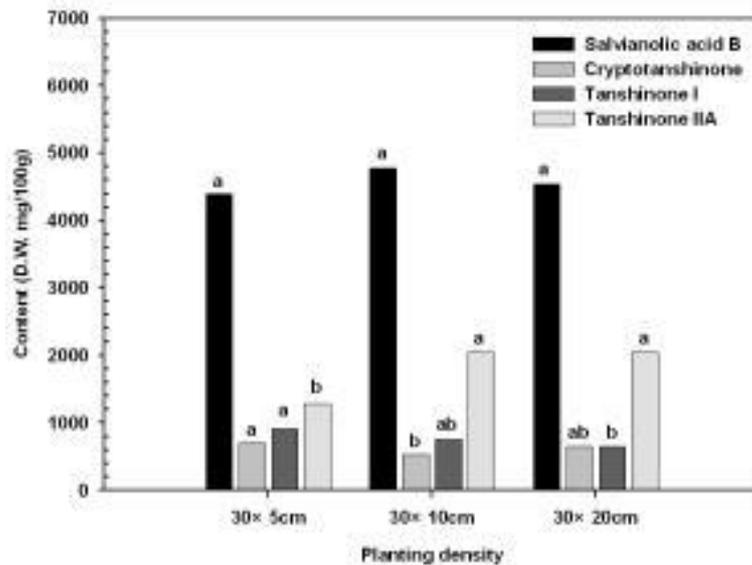
<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3). Means with different letters are significantly different at p<0.05 probability level by duncan's multiple range test.

단삼의 재식거리에 따른 지하부 생육 및 건근수량은 Table 9에 나타내었다. 재식거리에 따라서 뿌리의 생육차이는 없었으며, 생근중은 심는 거리가 좁을수록 작았으며 수량은 30×5cm에서 식재주수가 많아 유의하게 높았으며 30×10cm, 30×10cm에서는 처리간 차이는 없었다. 재식거리에 따른 Salvianolic acid B의 함량은 차이가 없었으며 Cryptotanshinone, tanshinone 1의 함량은 30×5cm로 좁게 심을수록 높은 경향을 보였으며, tanshinone 2A 함량은 낮았다. 30×5cm에서 Cryptotanshinone, tanshinone 1의 함량이 높은 것은 주근직경이 적어 상대적으로 주근과 지근의 비율이 증가하는 효과가 있기 때문인 것으로 사료되나, tanshinone 2A 함량의 함량은 상대적으로 낮아 이에 대한 추가적인 원인분석이 필요한 것으로 사료된다.

**Table 9. Effect of planting density on root growth characteristics and yield in *Salvia miltiorrhiza* Bunge**

Planting density	Root head diameter (cm)	Root diameter (mm)	Root length (cm)	Lateral root number (No/branch)	Fresh weight (g/plant)	Yield (D.W. kg/10a)
30×20cm	32.2 a <sup>1)</sup>	12.3 a	39.7 a	26.0 a	257.1 a	159 b
30×10cm	31.5 a	11.7 a	37.3 a	27.5 a	246.4 ab	191 b
30×5cm	28.4 a	11.1 a	36.5 a	21.5 a	192.0 b	506 a

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3). Means with different letters are significantly different at p<0.05 probability level by duncan's multiple range test.



**Fig. 5. Effects of planting density on content of salvianolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1 and tanshinone 2A in *Salvia miltiorrhiza* Bunge.** Values are means±SD (n=3). <sup>1)</sup>Means with different letters are significantly different at p<0.05 probability level by duncan's multiple range test..

#### (4) 파종방법별 생육, 수량 및 품질 구명

단삼의 파종방법에 따른 지상부 생육은 Table 10에 나타내었다. 파종방법별 생육은 처리간 차이가 없었으나, 폭은 활착율이 비교적 우수한 트레이육묘 처리에서 높게 나타났다.

**Table 10. Effect of planting method on shoot growth characteristics in *Salvia miltiorrhiza* Bunge**

Planting method	Plant height (cm)	Stem diameter (mm)	Leaf number (No/branch)	Leaf length (mm)	Leaf diameter (mm)	Node number (No/plant)
Tray seeded	58.0 a <sup>1)</sup>	6.6 a	17.1 a	10.7 a	6.2 a	5.1 a
Drilling seeded	55.0 a	6.5 a	17.7 a	9.6 a	4.2 ab	5.0 a
Hilled seeded	54.1 a	6.2 a	19.6 a	8.9 a	3.6 b	4.9 a

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3). Means with different letters are significantly different at p<0.05 probability level by duncan's multiple range test.

단삼의 파종방법에 따른 지하부 생육 및 건근수량은 Table 11에 나타내었다. 파종방법에 따라서 뿌리의 생육차이는 없었으나, 트레이 육묘처리구에서 지근수가 많았고 생근중과 수량도 유의하게 높았다. 그림 6에서 보는 것과 같이 트레이 육묘처리구가 잔뿌리의 발생이 많아 활착율이 높고 초기생육이 우수하여 일과 의 근 비대가 다소 유리하기 때문인 것으로 판단된다.

**Table 11. Effect of planting method on root growth characteristics and yield in *Salvia miltiorrhiza* Bunge**

Planting method	Root head diameter (cm)	Root diameter (mm)	Root length (cm)	Lateral root number (No/branch)	Fresh weight (g/plant)	Yield (D.W. kg/10a)
Tray seeded	29.1 a <sup>1)</sup>	11.1 a	48.6 a	37.2 a	302.1 a	213 a
Drilling seeded	24.5 ab	13.2 a	40.1 a	18.0 b	129.2 b	75 b
Hilled seeded	22.7 b	13.0 a	56.4 a	16.5 b	185.4 b	110 b

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3). Means with different letters are significantly different at p<0.05 probability level by duncan's multiple range test.



Fig. 6. Effects of planting density on content of salvianolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1 and tanshinone 2A in *Salvia miltiorrhiza* Bunge. Values are means±SD (n=3). <sup>1)</sup>Means with different letters are significantly different at  $p<0.05$  probability level by duncan's multiple range test..

파종방법에 따른 salvianolic acid B의 함량은 트레이 육묘처리구에서 높았고 조파, 점파처리구에서는 차이가 없었다. Cryptotanshinone함량도 트레이 육묘처리구에서 높았으나, tanshinone 1의 함량은 처리간 차이가 없었으며 tanshinone 2A 함량은 점파 처리구에서 가장 높고 트레이 육묘 처리구, 산파 처리구 순이었다. 이러한 이유는 추가적인 연구가 필요한 것으로 사료된다.

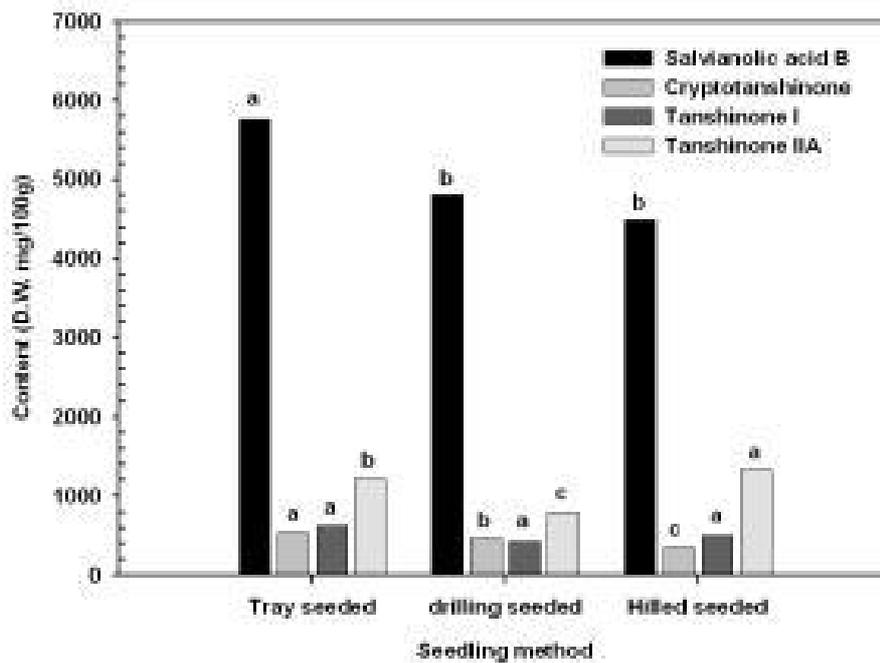


Fig. 7. Effects of planting method on content of salvianolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1 and tanshinone 2A in *Salvia miltiorrhiza* Bunge. Values are means±SD (n=3). <sup>1)</sup>Means with different letters are significantly different at  $p<0.05$  probability level by duncan's multiple range test..

(5) 파종방법별 생육, 수량 및 품질 구명

단삼의 파종시기별 지상부 생육은 Table 12에 나타내었다.. 4월 하순에 파종 처리구는 초장이 큰 편이었고 잎 수는 적은 경향이였다. 그 외 조사항목은 처리간 차이가 없었다.

**Table 12. Effect of planting method on shoot growth characteristics in *Salvia miltiorrhiza* Bunge**

Planting time	Plant height (cm)	Stem diameter (mm)	Leaf number (No/branch)	Leaf length (mm)	Leaf diameter (mm)	Node number (No/plant)
April 20	68.7 a <sup>1)</sup>	6.9 a	13.5 b	9.9 a	6.8 a	5.1 a
March 10	51.9 b	6.6 a	19.7 a	8.7 a	5.7 a	4.7 a

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3). Means with different letters are significantly different at p<0.05 probability level by duncan's multiple range test.

단삼의 파종시기에 따른 지하부 생육 및 건근수량은 Table 13에 나타내었다. 4월 하순에 파종한 구는 주근직경이 굵은 편이었으며 주근 길이는 5월 상순에 처리구가 긴 편이었다. 따라서 단삼 수확시에 뿌리의 굵기가 굵은 것이 노동력의 절감이 가능하고 가공적성이 우수하므로 가급적 일찍 식재하는 것이 유리할 것으로 사료된다.

**Table 13. Effect of planting method on root growth characteristics and yield in *Salvia miltiorrhiza* Bunge**

Planting time	Root head diameter (cm)	Root diameter (mm)	Root length (cm)	Lateral root number (No/branch)	Fresh weight (g/plant)	Yield (D.W. kg/10a)
April 20	31.3 a <sup>1)</sup>	12.9 a	34.3 b	30.2 a	245.3 a	160 a
March 10	32.3 a	11.0 b	52.2 a	36.7 a	247.8 a	155 a

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3). Means with different letters are significantly different at p<0.05 probability level by duncan's multiple range test.

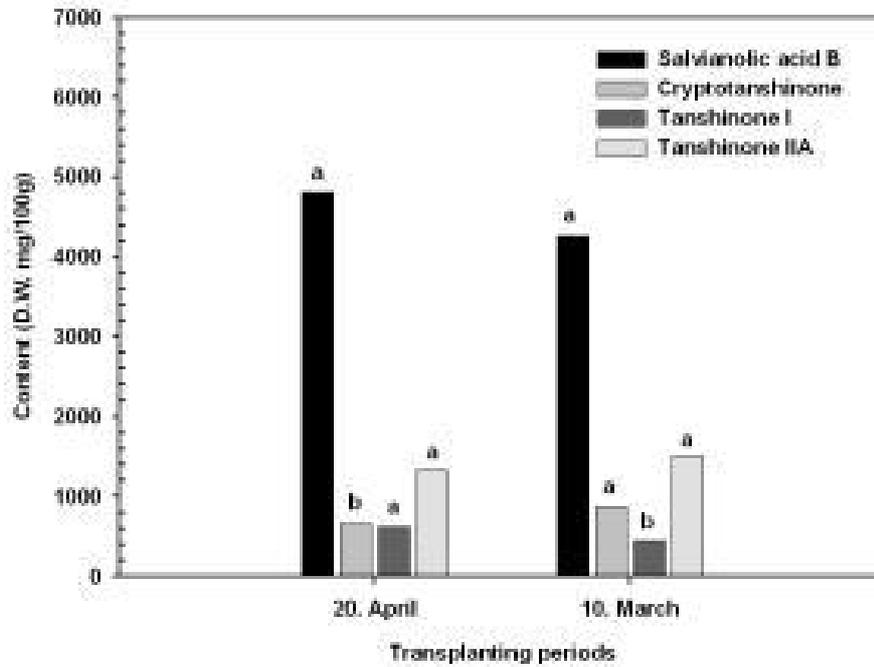


Fig. 8. Effects of planting method on content of salviaolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1 and tanshinone 2A in *Salvia miltiorrhiza* Bunge. Values are means±SD (n=3). <sup>1)</sup>Means with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  probability level by duncan's multiple range test.

파종방법에 따른 salviaolic acid B와 tanshinone 2A 함량은 처리간 차이가 없었으며 cryptotanshinone 함량은 5월 상순이 높았고 tanshinone 1의 함량은 4월 하순이 높았는데 이와 같은 원인에 대한 구명을 위해 추가적인 연구가 필요하다.



Fig. 9. Photos of roots harvested by cultivation periods, planting method, planting density and planting time in *Salvia miltiorrhiza* Bunge.

단삼을 약재나 식품원료 소재로 유통할 시에 유효성분에 대한 품질규격이 균일하게 보증하는 것이 가장 중요하다. 단삼은 약전에 salvianolic acid B의 함량이 4.1% 이상인 것으로 규정하고 있다. 이상의 연구결과를 종합할 때 단삼의 유효성분 함량에 영향을 미치는 것은 수확시기에 가장 큰 영향을 받는 것으로 조사되었다.

따라서 단삼재배에 적합한 온도는 20℃ 전후가 적절한 것으로 사료되며 상대적으로 고온조건인 30℃에서 광합성율, 증산율, 엽록소 형광반응이 크게 저하되므로 서늘한 기후조건인 준고랭지 이상의 지역에서 단삼을 재배하는 것이 유리할 것으로 판단된다. 또한 고품질 단삼 유통을 위한 적정 수확시기는 단삼을 파종한 다음 해 3월 중순 이후에 수확을 하는 것이 합리적인 것으로 사료된다.

## <위탁과제: 단삼 및 가공제품의 유효성분의 변화 분석(경북대학교)>

### 1. 재료 및 방법

#### 가. 실험 재료

본 실험에 사용한 단삼 (*Salviae Miltiorrhizae* Bunge)은 경북 봉화약초시험장에서 재배한 품종을 제공받아 사용하였으며, 수입산 시료는 대구 약령시에서 3가지 제품을 구입하여 사용하였다. 분석용 시료는 단삼을 자연건조하고 분쇄(60 mesh), 선별하여 제조하였다. 부위별 단삼 시료는 주근과 지근을 분리하여 분말화한 것을 시료로 사용하였다. 유효 성분 및 활성 분석에는 분말 시료 0.3 g에 80% 메탄올 50 mL를 가하여 30분 동안 초음파 추출하고 여과한 것을 분석용 시료로 사용하였다. 단삼의 가공 시제품은 (주)KMF로부터 제공받아 유효성분 함량을 분석하였다.

#### 나. 시약 및 기기

실험에 사용한 salvianolic acid A, salvianolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1, tanshinone 2A, gallic acid, trolox, (±)-catechin, α,α-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), 2,4,6-tris(2-pyridyl)-1,3,5-triazine(TPTZ), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)(ABTS), 2,2'-azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride(AAPH), Folin-Ciocalteu reagent, sodium carbonate, sodium nitrate, aluminium chloride, sodium hydroxide, ferric chloride, potassium persulphate, fluorescein은 Sigma사(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였고, 그 외 추출용매 및 시약은 분석용 특급 시약 (Duksan Co., Seoul, Korea)을 사용하였다. 항산화 활성 및 성분 측정을 위하여 ultraviolet - visible (UV - Vis) spectrophotometer (UV 1601 PC, Shimadzu Co., Kyoto, Japan), microplate reader (Emax Precision Microplate Reader, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA), multi-label plate counter (Victor 3 1420, PerkinElmer Inc., Boston, MA, USA), High performance liquid chromatography (HPLC, 1260 Infinity Quaternary LC System, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)를 분석용 기기로 사용하였다.

#### 다. 단삼 유효성분 분석법 개발

##### (1) HPLC 분석 조건 확립

단삼의 지표성분은 표준품을 이용하여 HPLC로 분석하였다. HPLC (1260 Infinity Quaternary LC System, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)에 C18 column (YMC-Pack J'sphere ODS-H80, 4.6×250 mm, 4 μm, YMC, Tokyo, Japan)을 사용하여 280 nm에서 분석하였다. 분석 조건은 Table 1에 나타내었다. Injection volume은 5 μL, 유속은 0.5

mL/min으로 이동상 용매 A (0.1% formic acid in water), B (0.1% formic acid in acetonitrile:methanol (75:25, v/v))를 사용하여 gradient 조건으로 분석하였다: 75% A/25% B at zero min, 60% A/40% B at 1 min, 60% A/40% B at 14 min, 40% A/60% B at 22 min, 11% A/89% B at 23 min, 11% A/89% B at 45 min and 75% A/25% B at 50 min. 지표성분의 함량은 salvianolic acid A, salvianolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1, tanshinone 2A을 이용하여 작성한 검량선의 회귀식으로부터 구하여, mg/100 g dry weight basis로 나타내었다.

**Table 1. HPLC analysis condition**

Time (min)	Mobile phase A	Mobile phase B
0	75	25
1	60	40
14	60	40
22	40	60
23	11	89
45	11	89
50	75	25

Mobile phase A	1% formic acid in H <sub>2</sub> O
Mobile phase B	1% formic acid in acetonitrile : methanol = 75:25
Detector	UV (280 nm)
Column	YMC ODS-H80 (250 X 4.6 mm, 4 μm)
Flow rate	0.5 mL/min
Column temp.	20°C
Injection volume	5 μL

## (2) HPLC 분석법 검증

단삼 지표성분의 표준품은 0.05~100 μg/mL의 농도에서 HPLC로 분석하였다. 회귀식은  $y=ax+b$ 의 형태로 계산되었으며, y는 피크 면적, x는 표준품의 농도에 해당한다. 검출한계 (limit of detection, LOD)와 정량한계 (limit of quantification, LOQ)는 다음과 같이 계산하였다.

$$LOD = 3.3 \times \frac{\text{Standard deviation of low concentration}}{\text{Slope of the calibration}}$$

$$LOQ = 10 \times \frac{\text{Standard deviation of low concentration}}{\text{Slope of the calibration}}$$

HPLC 정확도 검증을 위해 일중(Intraday) 변동과 일간(interday) 변동을 분석하였다.

Salvianolic acid A, tanshinone 1, tanshinone 2A 표준품은 50~200 µg/mL, salvianolic acid B, cryptotanshinone 표준품은 25~100 µg/mL의 농도에서 HPLC로 분석하여, 농도별로 interday, intraday의 상대표준편차값 (relative standard deviation, %RSD)을 구하였다. 상대표준편차는 다음과 같이 계산하였다.

$$\%RSD = \frac{\text{standard deviation}}{\text{Average}} \times 100$$

## 라. 단삼의 항산화 성분 함량

### (1) 총 페놀성 화합물 함량

총 페놀성 화합물 함량은 페놀성 물질이 Folin-Ciocalteu reagent와 반응하여 청색으로 발색되는 원리를 이용하여 측정하였다. 단삼 추출물 100 µL에 2 N Folin-Ciocalteu reagent 50 µL를 가하여 실온에서 4분간 반응시키고, 20% sodium carbonate 300 µL를 가하여 암실에서 15분간 정치한 후 증류수 1 mL를 첨가하여 10,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 상등액의 흡광도를 725 nm에서 측정하여, 표준물질로 gallic acid를 사용하여 작성한 검량선의 회귀식으로부터 시료의 총 페놀 함량을 구하여 g gallic acid equivalent/100 g dry weight basis로 나타내었다.

### (2) 총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 Jia 등의 방법을 변용하여 측정하였다. 단삼 추출물 70 µL에 50% 에탄올 430 µL, 5% sodium nitrate 50 µL를 가한 후 1시간동안 실온에서 정치하였다. 10% aluminium chloride 50 µL를 넣고 실온에서 6분간 반응시킨 후 1 N sodium hydroxide 500 µL를 넣고 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 (±)-catechin을 사용하여 작성한 검량선의 회귀식으로부터 총 플라보노이드 함량을 구하여 g catechin equivalent/100 g dry weight basis로 나타내었다.

## 마. 단삼의 항산화 활성 측정

### (1) DPPH 라디칼 소거 활성

단삼 추출물의 전자공여능을 DPPH 라디칼 소거 활성법으로 측정하였다. 단삼 추출물 100 µL와 DPPH 용액 900 µL를 혼합하여, 암실에서 30분간 정치한 후 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 활성은 표준물질로 사용한 gallic acid의 검량선의 회귀식을 이용하여 gallic acid equivalent (GAE)로 환산하여 나타내었다.

### (2) Ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay

FRAP 활성은 Benzie의 방법을 이용하여 측정하였다. FRAP 시약은 acetate buffer (pH 3.6,

300 mM), 10 mM TPTZ 및 20 mM ferric chloride를 10:1:1(v/v/v)의 비율로 혼합하여 제조하였다. 단삼 추출물 25 µL와 FRAP 시약 175 µL를 96 well plate에 넣고 혼합하여 암실에서 30 분간 정치한 후 650 nm에서 흡광도를 측정하였다. 활성은 표준물질로 사용한 trolox의 검량의 회귀식을 이용하여 trolox equivalent (TE)로 환산하여 나타내었다.

### (3) Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay

TEAC 활성은 ABTS 라디칼 소거법으로 측정하였다. 7 mM ABTS 용액과 2.45 mM potassium persulphate를 1:1(v/v)의 비율로 혼합하여 하루 동안 암실에서 ABTS<sup>•+</sup>을 형성시킨 후, 734 nm에서 흡광도 값이 1.0이 되도록 메탄올을 사용하여 희석하였다. 단삼 추출물 20 µL와 희석된 ABTS<sup>•+</sup> 용액 980 µL를 혼합하여 734 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다. 활성은 표준물질로 사용한 trolox의 검량선의 회귀식을 이용하여 trolox equivalent (TE)로 환산하여 나타내었다.

### (4) Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay

ORAC 활성은 Cao 등의 방법을 변용하여 측정하였다. 단삼 추출물 20 µL와 0.2 mM fluorescein 용액 120 µL를 96 well plate에 넣고 37°C에서 10분간 정치한 후 200 mM AAPH 60 µL를 넣고 120분 동안 5분 간격으로 excitation 485 nm, emission 530 nm에서 형광을 측정하였다. 대조구는 시료 대신 phosphate buffer를 사용하였으며, 형광감쇄곡선 (fluorescein decay curve)을 작성하여 반응시간에 따른 형광감쇄곡선의 면적 (area under the fluorescein decay curve, AUC)을 아래의 식을 이용하여 구하였다. 항산화 활성은 표준물질인 trolox를 사용하여 검량선의 회귀식을 이용하여 trolox equivalent (TE)로 환산하여 나타내었다.

$$AUC = (0.5 + \sum_{i=1}^{i=120} f_i/f_0) \times 5 \quad \Delta AUC = AUC_{sample} - AUC_{blank}$$

f<sub>0</sub> = initial fluorescence at 0 min, f<sub>i</sub> = fluorescence at i min

### 바. 통계처리

모든 실험은 3회 반복하여 실시하여, 결과값은 평균과 표준편차 (mean±standard deviation)로 표시하였고, 분산분석 (ANOVA)과 Duncan의 다중범위검정 (Duncan's multiple range test)을 실시하여 시료간의 유의차를 p<0.05 수준으로 비교 분석하였다. 통계분석은 statistical analysis system (SAS, Institute Inc, Cary, NC, USA)를 이용하였다.

## 2. 연구개발 수행결과

### 가. 단삼 유효성분 분석법 개발

#### (1) 단삼의 유효성분

단삼에는 다양한 생리활성을 가지는 활성 성분들이 다양하게 분포되어있다. Salvianolic acid A, salvianolic acid B, caffeic acid, protocatechuic aldehyde, protocatechuic acid, lithospermic acid, lithospermic acid B와 같은 친수성 성분과 cryptotanshinone, tanshinone 1, tanshinone 2A, dihydrotanshinone 1, isotanshinone 2A와 같은 친유성 성분이 단삼 및 그 가공품의 품질 평가를 위한 화학적 지표로서 사용되어왔다. 그 중에서 salvianolic acid A, salvianolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1, tanshinone 2A는 단삼에 풍부하게 함유된 주요 유효 성분이다. 단삼의 주요 유효 성분의 화학적 구조는 Fig. 3과 같다. 3,4-hydroxybenzyl-lactic acid 유도체인 salvianolic acids는 풍부한 hydroxyl group이 특징이고, 이는 강력한 항산화 작용에 기여한다. Phenanthrene-quinone 유도체인 tanshinone류는 항혈전, 간 손상 저해, 항암 등의 활성이 보고되어있다. 본 연구에서는 단삼 유효 성분의 검출 및 정량을 위해 5가지 주요 유효 성분의 표준품과 HPLC 분석법을 이용하였다. 단삼의 유효성분은 Fig. 1에 나타내었으며, 다양한 극성 범위를 가진다.

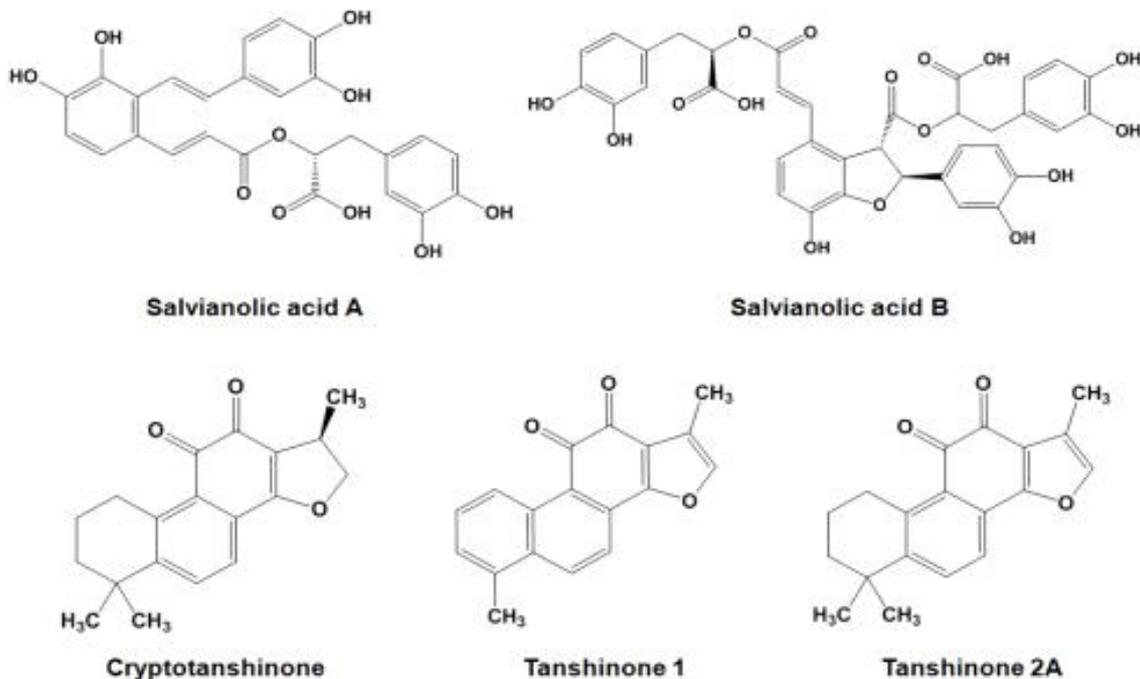


Fig. 1. Active compounds of *Salvia miltiorrhiza* Bunge.

따라서 HPLC 분석은 이동상 용매 A (0.1% formic acid in water), B (0.1% formic acid in acetonitrile:methanol(75:25, v/v))를 사용하여 gradient 조건으로 분석하였다. HPLC 분석에서 단삼 표준품은 salvianolic acid B, salvianolic acid A, cryptotanshinone, tanshinone 1,

tanshinone 2A 순으로 분석되었으며, 분석에 사용한 C18 column (YMC-Pack J'sphere ODS-H80, 4.6×250 mm, 4 μm, YMC, Tokyo, Japan)은 45분 이내의 분석 시간으로 우수한 분리능을 나타내었다(Fig. 2A). 페놀산 및 tanshinone류의 UV 흡수 특성에 기초하여 280 nm에서 측정하였고, 칼럼 온도는 20℃로 유지할 때 최적의 분리능을 나타내었다. 단삼 시료의 HPLC 크로마토그램에서는 salvianolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1, tanshinone 2A가 검출되었으며, savianolic acid A는 검출되지 않았다(Fig. 2B). Salvianolic acid A는 심근경색이나 관상심장질환의 치료에 효과적인 것으로 알려진 단삼의 주요 유효성분이지만 그 함량은 아주 낮으며, 단삼의 고온 고압 처리시 salvianolic acid B가 salvianolic acid A로 전환되는 특성이 있다. 따라서 본 연구에서도 검출되지 않은 것으로 판단된다. 유효성분의 함량은 각각 표준품의 검량선을 작성하고, 회귀식을 이용하여 분말 시료일 경우는 mg/100 g dwb (dry weight basis), 액체 시료일 경우는 mg/100 mL로 환산하여 나타내었다.

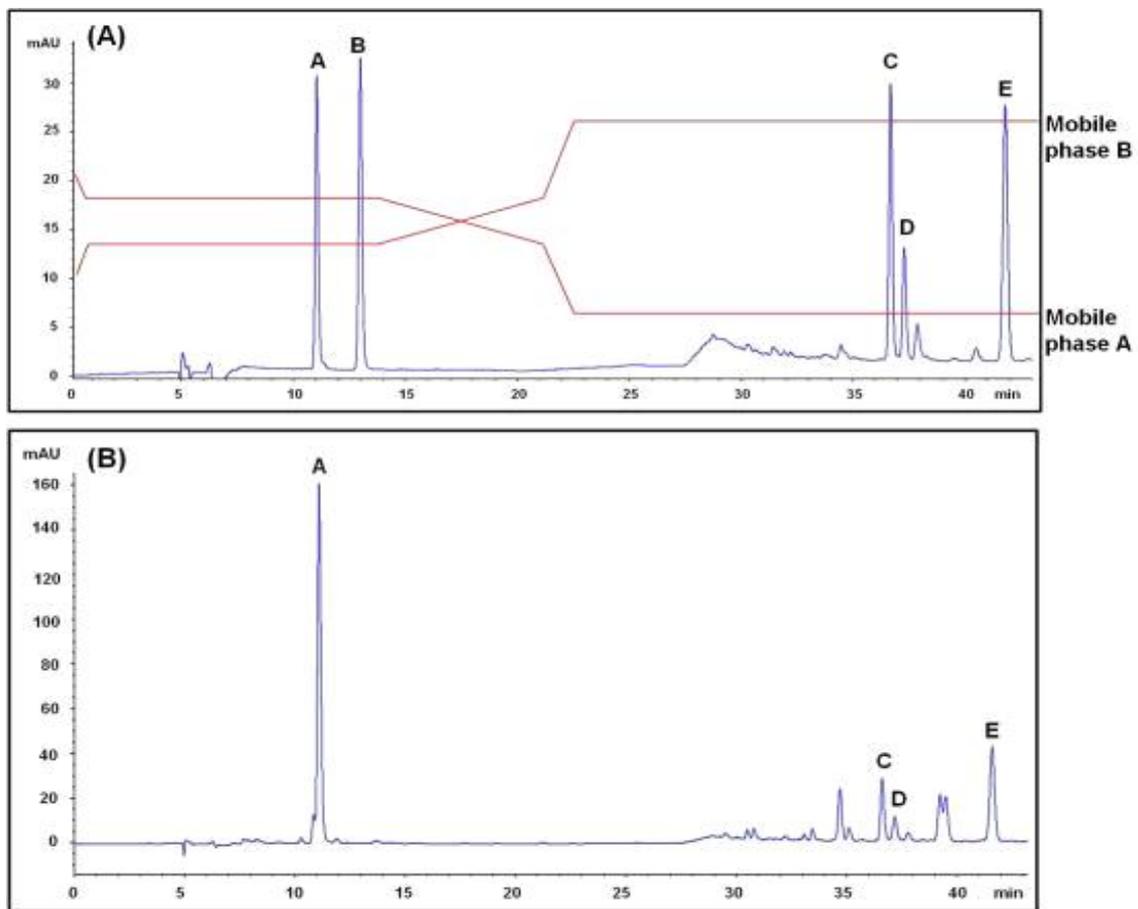


Fig. 2. HPLC chromatograms of standard compounds and *Salvia miltiorrhiza* Bunge extract. A, salvianolic acid B; B, salvianolic acid A; C, cryptotanshinone; D, tanshinone 1; E, tanshinone 2A.

## (2) HPLC 분석법 검증

HPLC 분석법 검증을 위해 표준품을 사용하여 각각의 검량선의 회귀식, 검출한계 (LOD), 정량한계 (LOQ), 일중 (Intraday) 및 일간 (Interday) 변동을 분석하였다. 각각의 표준품은 검량선 작성을 위해 0.05~200 µg/mL의 농도로 희석하여 분석하였다. 검량선의 회귀식은 표준품 농도 대비 peak 면적으로 구하였고, 실험된 범위에서 모든 표준품의 검량선은 좋은 선형회귀를 나타내었다 ( $r \geq 0.997$ ; Fig. ).

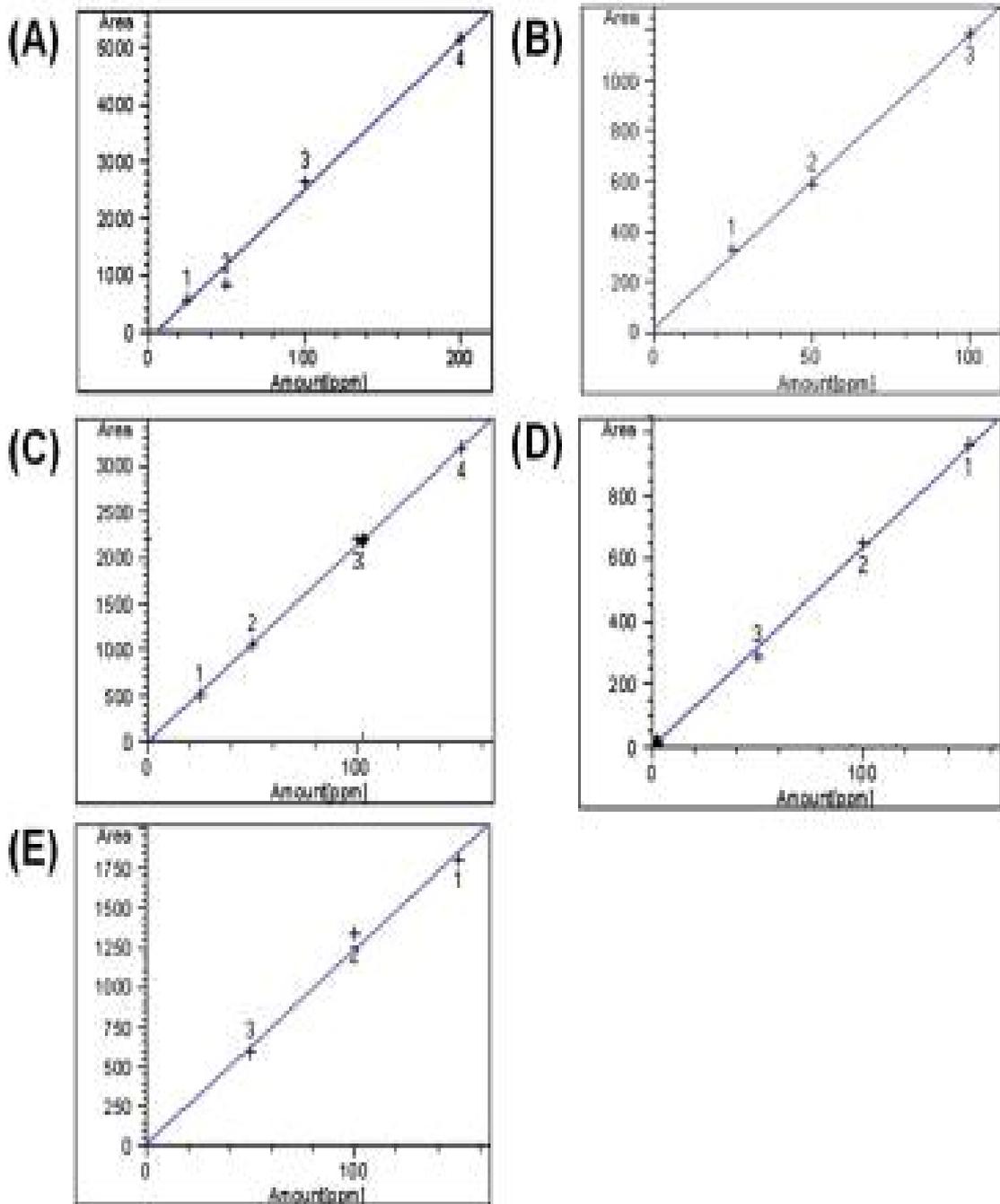


Fig. 3. Calibration curves of standard compounds depending on the different concentration. A, salvianolic acid A; B, salvianolic acid B; C, cryptotanshinone; D, tanshinone 1; E, tanshinone 2A.

검출한계와 정량한계는 Table 2에 나타내었다. 표준품은 0.05~100 µg/mL의 농도 범위에서 분석되었고, 5가지 표준품의 검출한계 범위는 0.028~0.880 µg/mL, 정량한계 범위는 0.085~2.667 µg/mL를 나타내었다. 표준품 간의 차이는 tanshinone 2A, cryptotanshinone, salvianolic acid B, tanshinone 1, salvianolic acid A의 순으로 우수한 검출 및 정량한계를 나타내었다.

**Table 2. Calibration curves, LODs and LOQs of the standard compounds.**

Standard	Calibration curve <sup>1)</sup>	<i>r</i>	Test range (µg/mL)	LOD <sup>2)</sup> (µg/mL)	LOQ <sup>3)</sup> (µg/mL)
Salvianolic acid A	$y=24.654x+214.72$	0.9998	0.05-100	0.880	2.667
Salvianolic acid B	$y=11.245x+31.383$	0.9997	0.05-100	0.315	0.956
Cryptotanshinone	$y=19.322x+62.867$	0.9992	0.05-100	0.116	0.351
Tanshinone 1	$y=8.7822x+16.133$	0.9979	0.05-100	0.563	1.706
Tanshinone 2A	$y=17.388x+31.200$	0.9999	0.05-100	0.028	0.085

<sup>1)</sup>*y*, peak area; *x*, concentration of the analyte (µg/mL).

<sup>2)</sup>Limit of detection.

<sup>3)</sup>Limit of quantification.

HPLC 분석의 정밀도는 intraday와 interday 변동으로 확인하였다. Intraday 정밀도는 하루내에서 각각의 표준품을 3가지 농도로 3반복하여 실험하였고, interday 정밀도는 3일 동안 연속 측정하여 구하였다. Intraday와 interday 변동은 모든 시료에서 각각 0.06~4.56%, 0.44~7.45%의 범위로 나타났으며, intraday 변동이 interday 변동에 비해 낮은 것으로 확인되었다. 검출 및 정량한계와 같이 tanshinone 2A, cryptotanshinone, salvianolic acid B, tanshinone 1, salvianolic acid A순으로 정밀도를 나타내었다. Salvianolic acid A를 제외한 표준품에서 상대 표준편차가 전체적으로 4%내로 우수한 정밀도를 나타내었고, 이는 Chen 등과 Marahatta 등의 결과와 유사한 값이었다.

**Table 3. Precisions of the standard compounds.**

Standards	Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	Precision	
		Intraday ( $n=3$ )	Interday ( $n=3$ )
		RSD (%)	RSD (%)
Salvianolic acid A	50	1.06	6.38
	100	4.56	7.45
	200	4.27	7.42
Salvianolic acid B	25	3.02	3.72
	50	0.64	3.93
	100	1.73	3.51
Cryptotanshinone	25	3.00	3.62
	50	0.39	5.95
	100	0.81	6.82
Tanshinone 1	50	3.77	2.39
	100	1.89	0.47
	200	1.20	0.48
Tanshinone 2A	50	0.21	1.43
	100	0.14	1.91
	200	0.06	0.44

#### 나. 단삼 개발 품종의 유효성분 함량 분석

##### (1) 국내산 및 중국산 단삼 시료

실험에 사용한 국내산 단삼은 봉화약초시험장에서 재배된 단삼을 제공받아 사용하였으며, 그 형태는 Fig. 4에 나타내었다. 단삼은 인삼의 형태를 닮고, 색이 붉어서 단삼이라고 하며, 적삼, 자단삼, 대홍포, 활혈근, 극선초, 목양유, 분마초, 홍근이라고도 부른다. 단삼의 뿌리는 긴 원통형으로 여러 개로 갈라져 있으며, 길이는 10~20 cm, 지름은 0.3~1.5 cm이다. 전체적으로 적갈색을 띄며, 굵고 적색이 강한 주근(Fig. 4B)과 가늘고 수염 모양의 지근(Fig. 4C)으로 이루어져 있다. 중국산 단삼 시료는 대구 약령시에서 원산지가 중국인 제품 3종류를 구입하여 실험에 사용하였고, 그 형태는 Fig 5와 같다. 중국산 시료는 모두 주근 부위였으며, 국내산 단삼보다 붉은 색이 덜하였다.

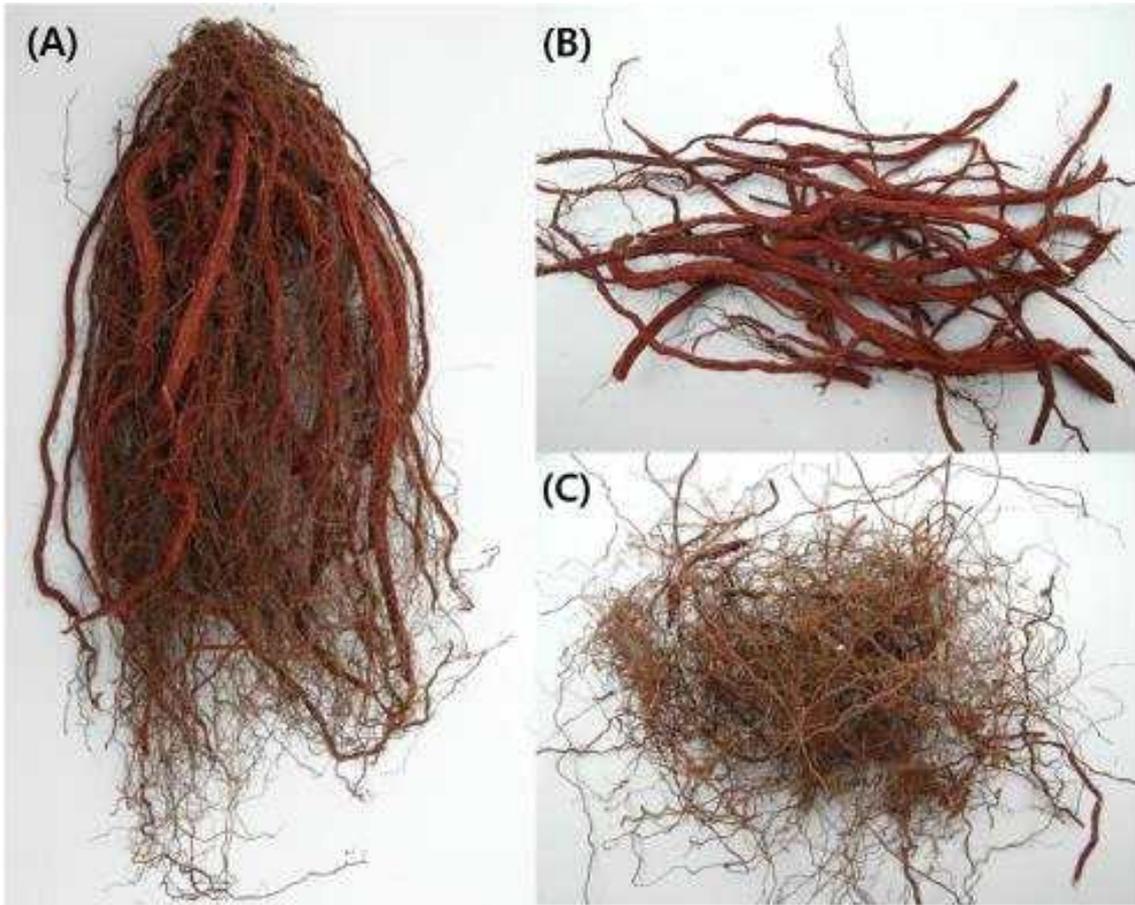


Fig. 4. Photograph of *Salvia miltiorrhiza* Bunge cultivated from Korea. A, total root; B, main root; C, supporting root.

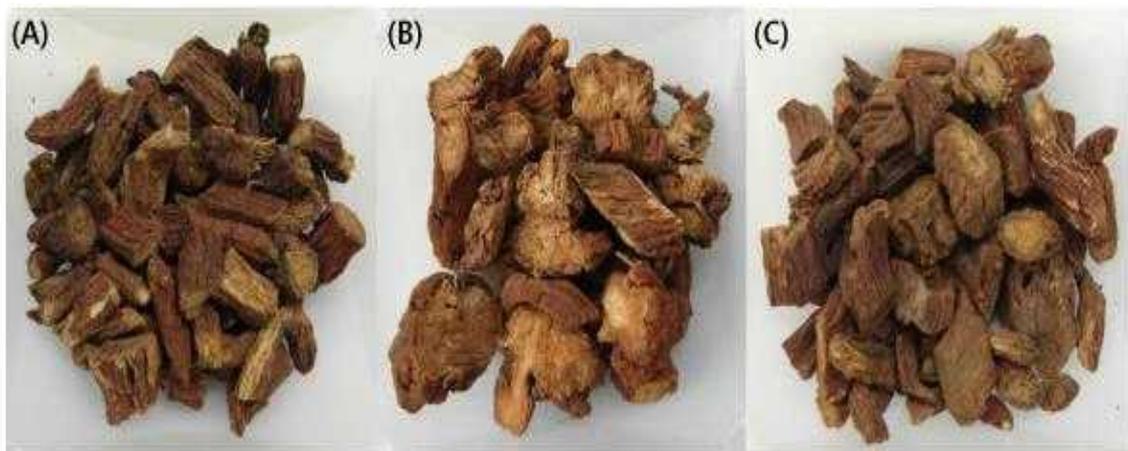


Fig. 5. Photograph of *Salvia miltiorrhiza* Bunge cultivated from China. A, China A sample; B, China B sample; C, China C sample.

## (2) 국내산 및 중국산 단삼의 유효성분 함량

국내산과 중국산 단삼의 유효성분 함량의 차이를 조사하기 위하여 국내산 단삼 1종과 중국산 단삼 3종을 비교하였고, 그 결과는 Table 4에 나타내었다. 국내산 및 중국산 단삼에서 공통적으로 salvianolic acid B의 함량이 가장 높게 나타났으며, salvianolic acid B를 제외한 성분은 China B 시료에서 가장 높게 나타났다. China A와 C 시료는 전반적으로 국내산 단삼보다 낮은 함량을 나타내었다. 따라서 전체적인 경향은 중국산 단삼에서는 tanshinone 1이 국내산 단삼에서는 tanshinone 2A의 함량이 높은 것으로 나타났다.

**Table 4. Active compounds of *Salvia miltiorrhiza* Bunge cultivated from Korea and China**

Samples	Salvianolic acid B	Cryptotanshinone	Tanshinone 1	Tanshinone 2A
Korea	4619.19±89.50 <sup>a1)</sup>	78.60±2.41 <sup>b</sup>	283.35±5.65 <sup>b</sup>	370.98±3.03 <sup>b</sup>
China A	4348.73±94.72 <sup>b</sup>	31.70±1.37 <sup>c</sup>	267.47±8.00 <sup>c</sup>	133.99±4.64 <sup>c</sup>
China B	3679.05±197.41 <sup>c</sup>	96.17±7.02 <sup>a</sup>	567.44±17.76 <sup>a</sup>	392.42±15.9 <sup>a</sup>
China C	4417.64±109.93 <sup>b</sup>	12.44±0.64 <sup>d</sup>	190.24±5.98 <sup>d</sup>	6.90±3.50 <sup>d</sup>

The values were determined at the mg/100 g dwb (dry weight basis) level.

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3). Data with same superscript letters in the same column are not significantly different ( $p<0.05$ ).

## 다. 단삼 전처리 및 수확시기에 따른 유효성분 함량 분석

### (1) 부위별 단삼 분말시료의 외관 특성

단삼 시료는 분석을 위하여 분쇄, 선별되었으며, 60 mesh의 체를 통과한 것을 분석용 시료로 사용하였다. 부위별 특성을 조사하기 위해 주근과 지근으로 나뉘었고, 그 형태와 색차는 Fig. 6과 Table 5에 나타내었다. 각각의 분말 시료는 전체적으로 갈색을 띠었으며, 주근의 경우 다른 시료에 비해 연한 갈색을 띠어 적색이 감소된 것을 확인할 수 있었다. 이는 뿌리 표면만 진한 적갈색을 띠고 안쪽은 하얀색인 단삼의 특징으로 인한 것으로 판단된다.



Fig. 6. Powders of different parts of *Salvia miltiorrhiza* Bunge. A, total root; B, main root; C, supporting root.

Table 5. Hunter color values of different parts of *Salviae miltiorrhizae* Radix

Samples	L	a	b
Total root	62.18±0.74 <sup>b1)</sup>	8.8±0.22 <sup>a</sup>	15.24±0.30 <sup>a</sup>
Main root	71.16±0.27 <sup>a</sup>	5.81±0.07 <sup>c</sup>	15.30±0.15 <sup>a</sup>
Supporting root	60.71±0.50 <sup>c</sup>	8.61±0.17 <sup>b</sup>	14.41±0.19 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3). Data with same superscript letters in the same column are not significantly different ( $p < 0.05$ ).

## (2) 부위별 단삼의 유효성분 함량

부위별 단삼의 유효성분의 차이는 주근에서는 salvianolic acid B와 tanshinone 1이 높게 나타났고, 지근에서는 cryptotanshinone과 tanshinone 2A가 높은 함량을 나타내었다. 특히, cryptotanshinone은 3배, tanshinone 2A는 5배 정도 함량이 높게 나타나, 주근과 지근의 뚜렷한 유효성분의 차이를 보여주었다. 따라서, 사용 목적에 따라 부위를 달리하여 활용이 가능할 것으로 판단된다.

**Table 6. Active compounds of *Salvia miltiorrhiza* Bunge depending on the each part**

Samples	Salvianolic acid B	Cryptotanshinone	Tanshinone 1	Tanshinone 2A
Total root	4619.19±89.50 <sup>a1)</sup>	78.60±2.41 <sup>b</sup>	283.35±5.65 <sup>b</sup>	370.98±3.03 <sup>b</sup>
Main root	4490.28±218.92 <sup>ab</sup>	33.41±3.44 <sup>c</sup>	322.25±21.46 <sup>a</sup>	97.85±8.59 <sup>c</sup>
Supporting root	3391.72±208.77 <sup>c</sup>	103.95±10.19 <sup>a</sup>	208.67±16.67 <sup>c</sup>	510.93±34.59 <sup>a</sup>

The values were determined at the mg/100 g dwb (dry weight basis) level.

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3). Data with same superscript letters in the same column are not significantly different ( $p<0.05$ ).

### (3) 수확 시기별 단삼의 유효성분 함량

단삼의 최적 수확시기 결정을 위해, 수확시기별 단삼의 유효성분의 차이를 분석하였고, 그 결과를 Table 7에 나타내었다. 단삼은 4월에 파종 후 11월 초순, 중순, 하순, 다음해 3월 초순 및 중순에 수확하여 수확시기별 유효성분을 조사하였다. 전체적인 유효성분의 함량은 수확시기가 늦을수록 증가하였으며, cryptotanshinone, tanshinone 1, tanshinone 2A의 경우 완만한 증가를 보인 반면에, salvianolic acid B의 경우 3월에 수확한 시료가 11월에 수확한 것보다 20 배 이상 함량이 증가되는 것으로 나타났다. 3월에 수확한 시료의 결과는 Fang 등이 사용한 시료와 유사한 값을 나타내었고, 따라서 4월 파종 후 1년여의 생육 기간을 거쳐 3월에 수확하는 것이 최적 수확시기임을 확인하였다.

**Table 7. Active compounds of *Salvia miltiorrhiza* Bunge depending on the harvest time**

Samples	Salvianolic acid B	Cryptotanshinone	Tanshinone 1	Tanshinone 2A
Harvest A <sup>1)</sup>	291.01±1.36 <sup>e2)</sup>	83.58±28.93 <sup>cd</sup>	184.75±66.42 <sup>d</sup>	297.55±26.58 <sup>d</sup>
Harvest B	310.16±6.11 <sup>d</sup>	144.37±17.67 <sup>a</sup>	303.50±3.76 <sup>b</sup>	524.67±55.66 <sup>c</sup>
Harvest C	363.56±3.30 <sup>c</sup>	101.39±6.23 <sup>c</sup>	287.94±0.49 <sup>c</sup>	517.16±38.80 <sup>c</sup>
Harvest D	6058.81±97.22 <sup>b</sup>	122.54±3.47 <sup>b</sup>	301.04±4.61 <sup>b</sup>	578.05±26.20 <sup>b</sup>
Harvest E	7417.75±142.72 <sup>a</sup>	156.42±3.97 <sup>a</sup>	393.91±2.52 <sup>a</sup>	823.15±21.62 <sup>a</sup>

The values were determined at the mg/100 g dwb (dry weight basis) level.

<sup>1)</sup>Harvest A, harvest at beginning of Nov.; Harvest B, harvest at middle of Nov.; Harvest C, harvest at end of Nov.; Harvest D, harvest at beginning of Mar.; Harvest E, harvest at middle of Mar.

<sup>2)</sup>Values are means±SD (n=3). Data with same superscript letters in the same column are not significantly different ( $p<0.05$ ).

#### (4) 부위별 단삼 유효성분의 추출 함량 및 수율 분석

단삼의 부위별 유효성분 함량을 조사한 결과는 Table 8에 나타내었다. 단삼에서 주근과 지근의 비율은 각각 76%, 23% 정도로 주근이 더 많은 부분을 차지하는 것으로 나타났다. 분말화 시 각 부위별 분말의 수율은 77~89%의 범위로 지근에서 89% 정도로 가장 높았으며, 추출시에는 57~83%의 범위로 주근의 추출 수율이 83%로 가장 높게 나타났다.

**Table 8. Yields of pulverization and extraction of *Salvia miltiorrhiza* Bunge**

Samples	Distribution ratio (%)	Pulverization yields (%)	Extraction yields (%)
Total root	100	81.34±1.75 <sup>1)</sup>	57.51±6.92
Main root	76.53	77.77±1.16	83.84±12.57
Supporting root	23.47	89.44±1.82	68.38±13.78

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3).

## 라. 단삼의 항산화 성분 함량 및 활성

### (1) 단삼의 항산화 성분 함량

식물에서 페놀성 화합물은 페놀산과 플라보노이드 및 그 외 단순 페놀 물질을 총칭하는 것으로, 최소한 하나의 aromatic ring과 하나 또는 그 이상의 hydroxyl group을 가지는 물질이다. 페놀성 화합물은 활성산소를 소거하는 강한 항산화 활성을 가지며, 지질 산화를 저해한다. 총 페놀 함량 분석은 사람이 섭취하였을 때, 혈장이나 조직 중으로 흡수되어 대사되면서 생체 중의 지질, 단백질 및 핵산 등 성분의 산화를 방지할 수 있는 페놀성 화합물을 신속, 간단하게 측정할 수 있는 방법이다. 세계적으로 과채류나 그 가공품의 건강 기능성 성분의 지표로 검정하는 방법으로 널리 이용되고 있다. 페놀성 화합물에 속하는 플라보노이드는 식물의 이차 대사산물로서 항산화, 항염증, 항암, 항박테리아 활성 등 다양한 생리활성을 가진다. 따라서 총 플라보노이드 함량 측정은 총 페놀 함량과 함께 식품의 기능성 성분을 검정하는 방법으로 널리 이용되고 있다. 수확시기별, 부위별, 국내산과 중국산 단삼의 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과는 Table 9에 나타내었다. 수확시기별 단삼의 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 각각 0.26~7.20, 0.32~5.86 g/100 g의 범위를 나타내었으며, 유효성분 함량의 결과와 같이 수확시기가 늦을수록 함량이 증가하는 경향을 보였다. 특히, 3월 중순 수확시가 11월 수확보다 총 페놀 함량은 최대 27배, 총 플라보노이드 함량은 최대 18배가 증가되었다. 부위별 항산화 성분 함량은 전체적으로 주근이 높은 함량을 나타내었고, 국내산 단삼이 중국산 단삼에 비해 높은 항산화 성분 함량을 나타내었다.

**Table 9. Antioxidant contents of *Salvia miltiorrhiza* Bunge**

Samples		Total phenolics content (g GAE/100 g dwb)	Total flavonoid content (g CE/100 g dwb)
Harvest time	Harvest A <sup>1)</sup>	0.26±0.07 <sup>i2)</sup>	0.32±0.01 <sup>f</sup>
	Harvest B	0.40±0.01 <sup>h</sup>	0.39±0.02 <sup>f</sup>
	Harvest C	0.44±0.03 <sup>h</sup>	0.42±0.02 <sup>f</sup>
	Harvest D	6.01±0.07 <sup>c</sup>	4.59±0.21 <sup>c</sup>
	Harvest E	7.20±0.03 <sup>a</sup>	5.86±0.19 <sup>a</sup>
Korea	Total root	5.35±0.05 <sup>e</sup>	4.26±0.05 <sup>d</sup>
	Main root	6.15±0.05 <sup>b</sup>	4.84±0.11 <sup>b</sup>
	Supporting root	5.17±0.02 <sup>f</sup>	3.67±0.14 <sup>e</sup>
China	China A	4.96±0.10 <sup>g</sup>	3.60±0.05 <sup>e</sup>
	China B	5.44±0.09 <sup>e</sup>	3.79±0.05 <sup>e</sup>
	China C	5.88±0.01 <sup>d</sup>	4.27±0.08 <sup>d</sup>

The values were determined at the g/100 g dwb (dry weight basis) level.

<sup>1)</sup>Harvest A, harvest at beginning of Nov.; Harvest B, harvest at middle of Nov.; Harvest C, harvest at end of Nov.; Harvest D, harvest at beginning of Mar.; Harvest E, harvest at middle of Mar.

<sup>2)</sup>Values are means±SD (n=3). Data with same superscript letters in the same column are not significantly different (p<0.05).

## (2) 단삼의 항산화 활성

항산화 활성을 측정하는 일반적인 방법은 전자화학반응에 기초한 방법이다. 전자전이 또는 수소원자전이 반응을 측정하여 항산화능이라 할 수 있는 전자 공여능을 측정하는 것이다. 이러한 원리를 이용한 측정법에는 DPPH 라디칼 소거 활성법, TEAC 및 ORAC 등이 있다. DPPH 라디칼 소거 활성법은 라디칼 양이온의 색깔 반응을 이용하여 Blois에 의해 처음 연구되어, 천연물의 항산화 활성을 측정하는데 널리 이용되고 있다. DPPH는 화학적으로 안정화된 프리 라디칼을 가지고 있는 수용성 물질로 항산화제와 반응 시 전자를 내어주면서 라디칼이 소거되고 색깔이 변한다 (보라색→노란색). 화학적으로 안정성이 있는 DPPH 라디칼 반응 원리를 이용하여 여러 항산화 성분이 함유된 천연물 및 그 추출물, 순수 페놀화합물 등의 항산화 효과를 분석할 수 있다. TEAC 분석법은 ABTS의 색을 띠는 양이온 라디칼이 항산화제에 의해 감소하는 원리를 이용한 항산화 활성 측정법이다. ORAC 분석법은 라디칼이 존재하는 상황에서 형광물

질이 항산화제에 의해 장시간 형광을 유지하는 원리를 이용한 측정법이다. 일반적인 항산화 활성 측정법은 짧은 시간 존재하는 라디칼에 대한 항산화 반응을 검정하지만, ORAC 분석법의 경우 최소 1시간 이상의 반응을 통해 얻어진 형광감쇄곡선의 면적으로부터 항산화 활성을 구한다. 따라서 ORAC 분석법은 다양한 천연물 및 식품의 정확한 항산화 활성을 측정하는 방법으로 널리 이용되고 있다. FRAP 분석법은 전자전이 반응 메카니즘과 다른 항산화 활성 측정법으로 산화 및 환원 반응에 의한 항산화제의 환원력을 측정하는 방법이다. 즉, ferric tripyridyltriazine 복합체가 항산화제에 의해 파란색의 ferrous tripyridyltriazine 복합체로 될 때 흡광도를 측정하여 환원력을 측정함으로써 항산화 활성을 평가할 수 있다. 따라서 FRAP 방법과 전술한 전자전이 반응에 의한 활성 측정법은 시료 중의 주된 항산화 물질의 생화학적 특징에 따라 결과값이 다르게 나타날 수 있으므로 시료의 항산화 활성을 평가하는데 필수적인 방법들이다.

수확시기별, 부위별, 국내산과 중국산 단삼의 항산화 활성은 DPPH, FRAP, TEAC, ORAC 분석법으로 측정하였고, 그 결과는 Table 10에 나타내었다. 전체적인 결과는 유효성분 및 항산화 성분 함량과 유사한 결과를 나타내었다. 수확시기별 단삼의 항산화 활성은 모든 분석법에서 수확시기가 늦을수록 증가하였고, 이는 salvianolic acid B의 함량과 정의 상관성을 나타내었다 ( $r=0.9944$ ). 부위별 단삼의 항산화 활성 차이에서는 주근이 지근보다 전반적인 항산화 활성에서 모두 높은 값을 나타내었다. 국내산과 중국산 단삼의 항산화 활성 차이에서도 항산화 성분 함량의 결과와 같이 국내산 단삼이 중국산보다 높은 항산화 활성을 나타내었다.

**Table 10. Antioxidant activities of *Salvia miltiorrhiza* Bunge**

Samples		DPPH (mM GAE)	FRAP (mM TE)	TEAC (mM TE)	ORAC (mM TE)
Harvest time	Harvest A <sup>1)</sup>	0.11±0.03 <sup>g2)</sup>	0.47±0.01 <sup>e</sup>	0.51±0.02 <sup>d</sup>	3.79±0.20 <sup>c</sup>
	Harvest B	0.41±0.08 <sup>gf</sup>	0.65±0.01 <sup>e</sup>	0.80±0.06 <sup>d</sup>	5.00±0.23 <sup>c</sup>
	Harvest C	0.52±0.11 <sup>f</sup>	0.70±0.01 <sup>e</sup>	0.86±0.04 <sup>d</sup>	5.30±0.25 <sup>c</sup>
	Harvest D	8.63±0.30 <sup>b</sup>	15.24±0.37 <sup>b</sup>	15.15±1.19 <sup>b</sup>	37.21±2.07 <sup>ab</sup>
	Harvest E	9.41±0.05 <sup>a</sup>	17.93±0.12 <sup>a</sup>	19.32±1.79 <sup>a</sup>	38.93±3.41 <sup>a</sup>
Korea	Total root	7.29±0.22 <sup>d</sup>	13.56±0.66 <sup>c</sup>	13.36±2.24 <sup>bc</sup>	32.95±1.93 <sup>b</sup>
	Primary root	8.48±0.20 <sup>b</sup>	15.57±0.15 <sup>b</sup>	15.28±1.12 <sup>b</sup>	34.58±4.30 <sup>ab</sup>
	Supporting root	6.65±0.24 <sup>e</sup>	12.90±0.09 <sup>d</sup>	13.38±2.58 <sup>bc</sup>	33.45±3.65 <sup>ab</sup>
China	China A	6.68±0.24 <sup>e</sup>	12.40±0.43 <sup>d</sup>	11.99±1.22 <sup>c</sup>	33.07±5.06 <sup>b</sup>
	China B	7.58±0.32 <sup>d</sup>	13.99±0.65 <sup>c</sup>	13.91±2.34 <sup>bc</sup>	35.48±2.78 <sup>ab</sup>
	China C	8.02±0.27 <sup>c</sup>	15.60±0.37 <sup>b</sup>	15.00±1.29 <sup>b</sup>	36.18±3.70 <sup>ab</sup>

DPPH, α,α-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity; FRAP, ferric ion reducing antioxidant power; TEAC, trolox equivalent antioxidant capacity; ORAC, oxygen radical absorbance capacity

<sup>1)</sup>Harvest A, harvest at beginning of Nov.; Harvest B, harvest at middle of Nov.; Harvest C, harvest at end of Nov.; Harvest D, harvest at beginning of Mar.; Harvest E, harvest at middle of Mar.

<sup>2)</sup>Values are means±SD (n=3). Data with same superscript letters in the same column are not significantly different (p<0.05).

#### 마. 단삼 시제품의 유효성분 함량 분석

##### (1) 봉화약초시험장 시료의 유효성분 함량 분석

재배년수에 따른 단삼의 유효성분 함량 차이를 조사하기 위해 2015년 10월 하순에 수확한 1년생, 2년생, 3년생 단삼을 실험에 사용하여 단삼의 유효성분을 조사한 결과는 Table 11에 나타내었다. 단삼의 유효성분은 재배년 수가 증가함에 따라 감소하는 것으로 나타났다. 특히 3년생에서 salvianolic acid B를 제외한 모든 성분이 1년생에 비해 함량이 반으로 감소한 것으로 나타났다. 이는 앞서 실험한 수확시기별 단삼의 유효성분에서는 1년정도 생육한 단삼에서 최적의 유효성분 함량이 나타난 것과 일치하는 결과이다. 따라서 단삼의 유효성분의 효율적인 이용에는 1년생 단삼이 적합한 것으로 나타났다.

**Table 11. Active compounds contents of Bonghwa samples**

(mg/100g)				
Samples	Salvianolic acid B	Cryptotanshinone	Tanshinone 1	Tanshinone 2A
One year	5201.55±185.33 <sup>a1)</sup>	555.38±11.55 <sup>a</sup>	739.75±43.43 <sup>a</sup>	1920.69±65.52 <sup>a</sup>
Two years	4778.93±970.00 <sup>b</sup>	293.23±64.20 <sup>b</sup>	463.03±149.33 <sup>b</sup>	801.12±197.85 <sup>b</sup>
Three years	4316.14±118.72 <sup>b</sup>	275.94±15.84 <sup>b</sup>	453.37±107.73 <sup>b</sup>	737.27±29.45 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3). Data with same superscript letters in the same column are not significantly different (p<0.05).

과중시기에 따른 단삼의 유효성분 함량 차이를 조사하기 위해 2015년 4월 하순 및 5월 상순에 과중한 단삼을 2015년 10월 하순에 수확하여 실험에 사용하였으며 그 결과는 Table 12에 나타내었다. 전체적인 유효성분의 함량은 4월 하순에 과중한 단삼에서 높게 나타났으며, 특히 salvianolic acid와 tanshinone 1의 함량이 높게 나타났다. 따라서 단삼의 과중 시기는 4월 하순 및 그 이전에 과중하는 것이 적합한 것으로 판단된다.

**Table 12. Active compounds contents of Bonghwa samples**

(mg/100g)				
Samples	Salvianolic acid B	Cryptotanshinone	Tanshinone 1	Tanshinone 2A
April 20	4820.39±412.77 <sup>a1)</sup>	667.76±51.68 <sup>b</sup>	623.05±45.89 <sup>a</sup>	1336.40±107.97 <sup>ab</sup>
March 10	4266.63±459.00 <sup>b</sup>	870.23±99.12 <sup>a</sup>	452.71±41.79 <sup>b</sup>	1509.73±174.05 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3). Data with same superscript letters in the same column are not significantly different (p<0.05).

과중방법에 따른 단삼의 유효성분 함량 차이를 조사하기 위해 트레이포트에 육묘한 묘와 조파, 점파의 방법을 비교하여 조사한 결과는 Table 13에 나타내었다. 전반적인 유효성분의 함량은 육묘이식 시료에서 높게 나타났으나, 단삼에 가장 많이 함유된 salvianolic acid B의 경우 점파법에서 가장 높게 나타났고, 육묘이식에서 다른 시료에 비해 낮게 나타났다.

**Table 13. Active compounds contents of Bonghwa samples**

(mg/100g)				
Samples	Salvianolic acid B	Cryptotanshinone	Tanshinone 1	Tanshinone 2A
육묘이식	4491.05±54.97 <sup>c1)</sup>	543.06±22.93 <sup>a</sup>	620.59±166.03 <sup>a</sup>	1222.08±12.85 <sup>b</sup>
조파	4801.54±178.73 <sup>b</sup>	466.07±19.77 <sup>b</sup>	428.14±64.12 <sup>c</sup>	790.15±52.76 <sup>c</sup>
점파	5770.29±333.82 <sup>a</sup>	350.44±16.84 <sup>c</sup>	506.76±7.09 <sup>b</sup>	1329.95±66.84 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3). Data with same superscript letters in the same column are not significantly different (p<0.05).

재식거리에 따른 단삼의 유효성분 함량 차이를 조사하기 위해서는 육묘한 단삼 묘를 30 × 5 cm, 30 × 10 cm, 30 × 20 cm 간격으로 식재하여 그 효과를 분석한 결과는 Table 14에 나타내었다. 전반적으로 30 × 5 cm 간격으로 식재한 시료에서 높은 유효성분의 함량을 나타내었으나, salvianolic acid B의 함량은 다른 시료에 비해 낮게 나타났다. 30 × 10 cm 간격으로 식재한 시료는 가장 높은 salvianolic acid B 함량을 나타내었지만, 그 외 성분들에서는 가장 낮은 값을 나타내었다. 30 × 20 cm 간격으로 식재한 시료는 모든 성분에서 다른 시료에 비해 중간 값을 나타내었다.

**Table 14. Active compounds contents of Bonghwa samples**

(mg/100g)				
Samples	Salvianolic acid B	Cryptotanshinone	Tanshinone 1	Tanshinone 2A
30×5cm	4391.69±346.86 <sup>bc1)</sup>	704.83±67.80 <sup>a</sup>	909.68±140.32 <sup>a</sup>	2047.23±185.66 <sup>a</sup>
30×10cm	4782.06±709.54 <sup>a</sup>	535.94±84.14 <sup>c</sup>	648.85±81.65 <sup>bc</sup>	1279.70±221.00 <sup>b</sup>
30×20cm	4544.58±333.91 <sup>ab</sup>	647.28±45.99 <sup>ab</sup>	751.62±122.01 <sup>b</sup>	2043.08±169.04 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Values are means±SD (n=3). Data with same superscript letters in the same column are not significantly different (p<0.05).

## (2) KMF 시료의 유효성분 함량 분석

KMF로부터 제공받은 시료의 유효성분 함량 분석 결과는 Table 15에 나타내었다. 단삼을 100°C에서 30분간 전처리 후 amylase계 효소를 사용하여 60°C에서 4시간 열수 추출하여 실험에 사용하였다. 메탄올 추출물과 다르게 유효성분으로 tanshinone 2A를 제외한 salvianolic acid B, cryptotanshinone, tanshinone 1이 검출되었고, 수용성 성분인 salvianolic acid B가 다른 성분들에 비해 월등히 많은 양이 검출되었다. 전반적으로 효소 처리구에서 유효성분의 함량이 증가하는 경향을 나타내었고, salvianolic acid B는 최대 1.3배, cryptotanshinone은 1.4배, tanshinone 1은 1.2배 정도 증가하는 것으로 나타났다.

Table 15. Active compounds contents of KMF samples

Samples	(mg/100ml)		
	Salvianolic acid B	Cryptotanshinone	Tanshinone 1
C-1 <sup>1)</sup>	332.08±29.15 <sup>2)</sup>	0.5±0.05	1.08±0.04
C-2	337.70±22.03	0.47±0.02	1.20±0.09
A-1	444.12±7.00	0.46±0.02	1.12±0.04
A-2	424.52±17.92	0.63±0.06	0.90±0.00
A-3	381.57±24.63	0.68±0.05	1.36±0.17
A-4	372.13±17.91	0.56±0.03	1.36±0.03
A-5	386.49±26.58	0.64±0.11	0.12±0.07

<sup>1)</sup>C-1, C-2, non-enzymatic treatment; A-1~A-5, enzymatic treatment.

<sup>2)</sup>Values are means±SD (n=3).

그리고, 선정된 적정의 배합비율로 대량 추출시 유효성분 함량 분석 결과는 Table 16과 같다. 대량 추출시 tanshinone 2A가 추가적으로 검출되었고(Fig. 7), 전반적인 유효성분의 함량이 증가하는 것으로 나타났다. 3반복 실험결과 각 구간마다 유사한 함량을 나타내어 실험에 재현성이 있는 것으로 나타났다.

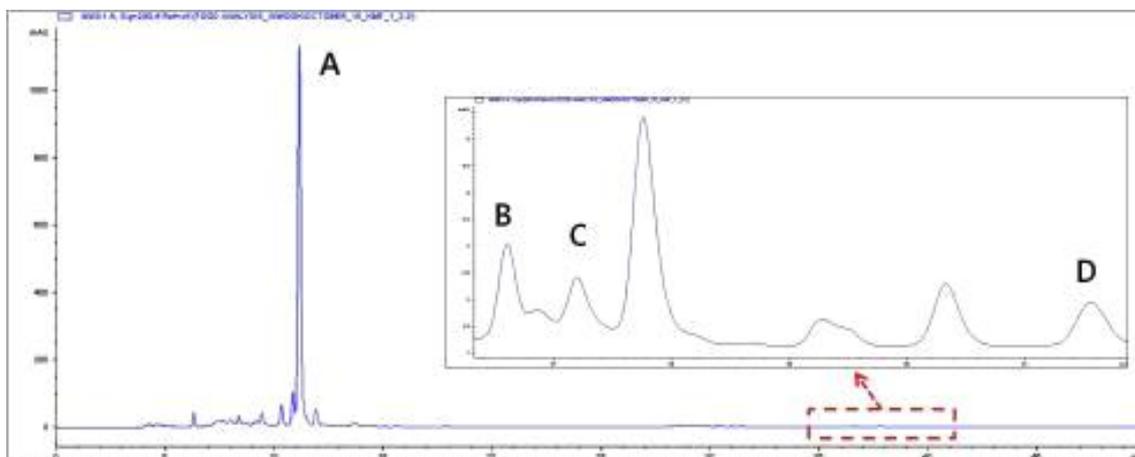


Fig. 7. HPLC chromatogram of KMF sample. A, salvianolic acid; B, cryptotanshinone; C, tanshinone 1; D, tanshinone 2A.

**Table 16. Active compounds contents of KMF samples**

Samples	(mg/100ml)			
	Salvianolic acid B	Cryptotanshinone	Tanshinone 1	Tanshinone 2A
1 <sup>1)</sup>	426.84±10.38 <sup>2)</sup>	0.39±0.03	1.25±0.01	0.09±0.03
2	540.38±20.99	0.76±0.04	1.80±0.38	0.12±0.05
3	466.99±16.92	0.36±0.04	1.42±0.08	0.12±0.04

<sup>1)</sup>1-3, *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts of pilot scale production

<sup>2)</sup>Values are means±SD (n=3).

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여

연구개발 목표	달성도 (%)	관련분야 기술발전의 기여도
단삼의 가공적성 개발	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 온도에 따른 추출조건 조사                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 중·저온에서의 추출이 적합</li> </ul> </li> <li>○ 효소 처리 추출조건 조사                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- amylase 효소 처리가 적합</li> </ul> </li> <li>○ 효소 처리 추출물의 기능성 특성 조사                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 항산화활성이 높음</li> </ul> </li> <li>○ SCALE-UP 추출공정 표준화                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 대량 생산에도 유효성분함량이 높음</li> </ul> </li> </ul>
단삼을 활용한 제품화 기반 구축	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 단삼 추출물을 이용한 기능성 음료 개발</li> <li>○ 단삼 추출물을 이용한 제품 개발</li> <li>○ 단삼 이용한 침출차 개발</li> <li>○ 단삼 원형 보존 침출 제품 개발</li> <li>○ 단삼 가공제품의 유효성분 함량 조사</li> </ul>
유효성분 증대기술 개발	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 유효성분 고함유 수확시기 결정                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- salvianolic acid, tanshinone 함량을 고려한 수확시기 설정</li> </ul> </li> <li>○ 재배년수별 생육, 유효성분 함량 평가                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 재배년수별 차이가 없음</li> </ul> </li> <li>○ 기후생리 특성을 고려한 재배적지 설정                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 20℃ 정도 고랭지 재배에 적합</li> </ul> </li> </ul>
가공제품별 단삼 생산 조건 확립	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 세근생산 정식기 구명                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 5월 상순 정식이 세근생산에 적합</li> </ul> </li> <li>○ 세근생산 재식거리 구명                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 재식거리에 따른 뿌리의 품위 차이는 없으며</li> <li>- 밀식처리에서 수량이 높음</li> </ul> </li> <li>○ 세근 생산을 위한 파종방법 구명                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 트레이 육묘처리가 수량성, salvianolic acid B 함량이 높음</li> </ul> </li> </ul>
단삼 유효성분 분석법 개발	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 국내 약용 작물 분석 기술 향상</li> </ul>
단삼 유효성분 함량 분석	100	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 유효성분 고함량 품종 개발</li> <li>○ 유효성분 소실 최소화 처리 기술개발</li> <li>○ 적정 추출 방법 개발</li> <li>○ 유효성분 고함량 가공 기술 및 제품 개발</li> </ul>

# 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

## 제 1절 연구개발 성과목표 대비 실적

성과목표	사업화지표							연구기반지표									
	지식재산권		기술이전	사업화				기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책활용·홍보		기타(타연구활동)	
	출원	등록		제품화	기술창업	매출창출	고용창출		투자유치	논문				학술발표	정책활용		홍보진시
			SCI					비SCI									
최종목표				3					1	2	2	4			2	2	
연구기간 내 달성 실적	목표	0		1						1	1	2			1	1	
	실적	1								2	4	3			1	3	
달성율(%)										200	400	150			100	300	

## 제 2절 연구개발 성과목록

### 1. 지식재산권

지식재산권(발명특허, 실용실안, 외장, 상표, 규격), **신품종**, **프로그램개발** 등으로 구분하고, 세부적으로 전분 기록하며, 국외인 경우 반드시 국명을 기록합니다.

구분	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원			기타
			출원인	출원일	출원번호	
특허	저온 효소추출법을 이용한 단삼 추출물 및 그 제조방법	대한민국	김미연, 정용진, 김선화	2015.10.27	10-2015-0149201	

### 2. 논문게재 및 학술회의 발표

논문(국내외 전문학술지) 게재							
번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부(SCI/비SCI)
1	효소 처리에 따른 단삼 추출물의 이화학적 특성	한국식품저장유통학회지	김선화	22(5)	대한민국	한국식품저장유통학회	비SCI
2	온도에 따른 단삼의 광합성 특성 및 수확시기가 품질에 미치는 영향	한국식품저장유통학회지	서영진	22(6) 예정	대한민국	한국식품저장유통학회	비SCI

국내 및 국제 학술회의 발표 (학술회의명을 세부적으로 전부(건별로) 기록하고, 국외인 경우 반드시 국명을 기록. - 본 연구과제의 수행결과로 발표한 것만 기재합니다.)					
번호	회의명칭	발표자	발표일시	장소	국명
1	2015 한국식품과학회 정기학술대회 효소를 이용한 단삼의 비열 처리 추출조건 설정	김선화, 전미나, 서영진, 김중수, 성기운, 정신교, 정용진, 김미연	2015.06.04	부산 백스코	대한민국
2	한국약용작물학회 춘계 심포지움 수확시기별 단삼의 유효성분 함량 비교	서영진, 김중수, 김선화, 정용진, 김미연, 성기운, 정신교	2015.05.08	서울 건국대학교	대한민국
3	한국약용작물학회 추계 심포지움 온도에 따른 단삼의 광합성 반응	서영진, 김중수, 김선화, 정용진, 김미연, 성기운, 정신교	2015.10.16	완주 국립원예특작과학 원	대한민국
4	2015 KFN International Symposium and Annual Meeting 국내산 단삼의 수확시기에 따른 지표 성분 과 향산화능	황인옥, 성기운, 김보민, 서영진, 김미연, 정신교	2015.08.24	평창 알펜시아 컨벤션 센터	대한민국

### 3. 정책활용내역

정책활용 내역(농정시책 반영 및 정책건의)				
번호	정책활용상태	주관부처	시책추진실적 및 계획	활용년도
1	단삼 산업화 정책지 원 협의회 개최	영양군 농업기술 센터	-약전에 단삼은 살비아논산 B의 함량이 4.1% 이상인 것으로 규정 -품질 표준화된 단삼 유통을 위해 수확시기 를 익년 3월 중순 이후로 유통지도 실시	2015

### 4. 교육 및 지도 활용

교육 및 지도활용 내역				
번호	교육명	교재명	주요내용	활용년도
1	단삼재배관리 전반교육	현장교육	-단삼 재배과리 전반교육:과종, 본포관리, 수확 및 품질 특성 - 생육불량, 재배, 포장 원인분석 컨설팅 - 현장애로해결과제발굴	2015
2.	단삼 증식, 재배법	동영상 교육자료 제작 및 보급	단삼 증식, 재배법	2015
3	단삼 육묘	동영상 교육자료 제작 및 보급	단삼 육묘	2015

## 5. 홍보/전시

### (1) 홍보실적

홍보실적(신문, 방송, 저널)				
번호	홍보유형	매체명	제목	일시
1	방송	TV	고품질 단삼 생산기술 개발	1월 12일
2	보도	신문보도	경북도농기원, 고품질 '단삼' 생산기술 개발	11월 5일

### (2) 전시회 등 참여

전시회 등 참여(전시회, 박람회, 제품설명회 등)					
번호	유형	행사명	전시품목	장소	활용년도
1	박람회 참가	2015 서울국제 식품산업대전	단아후(단삼음료)	서울 코엑스	2015

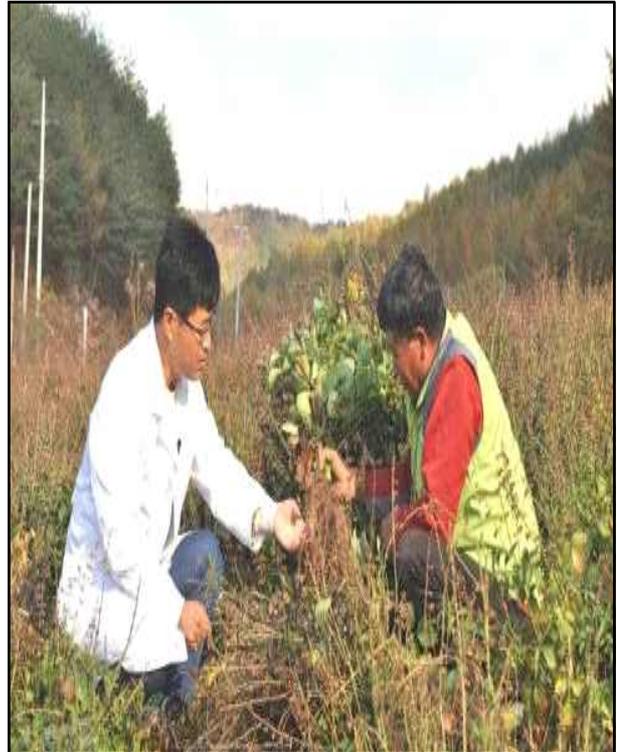
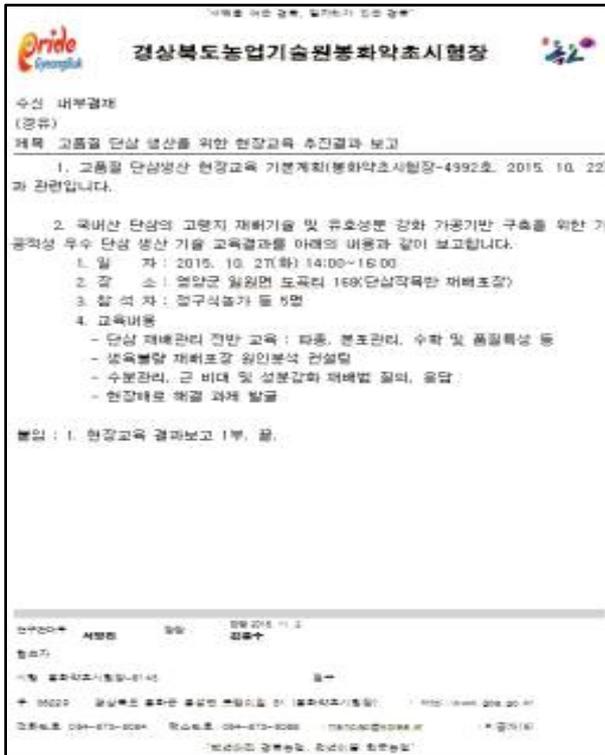
## 6. 연구 성과물

### ○ 논문게재 및 학술발표 (6건)





○ 교육지도 (3회)



교육지도 (3회): 2015년 10월 27일 14:00~(경북 영양군 일월면 도곡리 정구식 농가)

○ 동영상 교육자료 제작, 보급 (2회)



<단삼 증식, 재배법><단삼 육묘>

○ 홍보 전시 (3건)



<TV 보도>

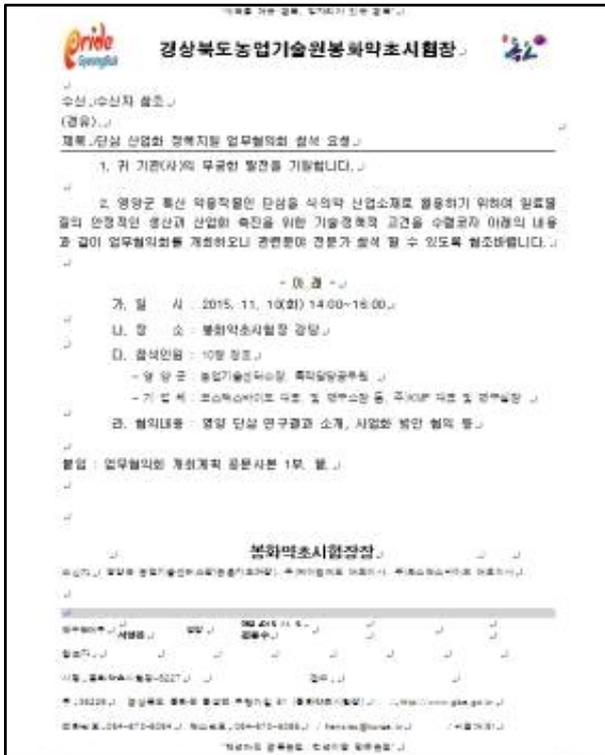


<신문보도>

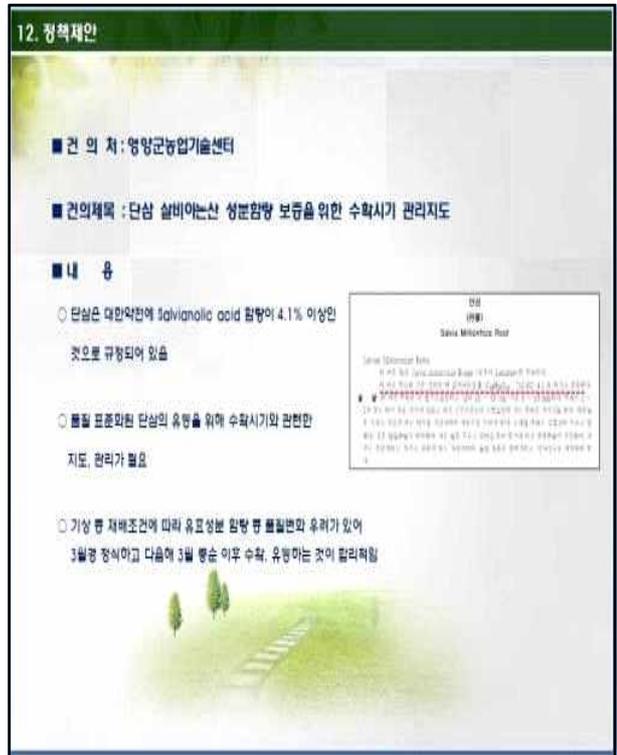


2015 식품 대전 참가 및 전시

○ 정책활용 (1회)



<정책협의회 공문>



<정책협의회 자료>

○ 특허 출원(1건)



### 제 3절 추가 연구 및 연구에 활용 계획

- 본 연구 사업을 통한 국내산 단삼을 활용한 기능성 식품으로의 표준화 및 제품화 추진 중
- 선행연구 결과, 세근 생산에 따른 가공적성별 맞춤형 단삼 재배기술을 확립하였으나 세근의 분포가 많을시 분체 제조 등의 어려움이 있어, 뿌리의 굵기가 굵은 단삼이 가공적성이 우수하므로 근 비대 기술개발을 추진 계획
- 선행연구 결과, 단삼은 20℃ 정도의 서늘한 기후조건에서 광합성 및 증산율 등 생리특성이 우수하므로 고온 등 기후변화에 대응하는 안정생산 기술 개발의 기초자료로 활용할 계획임

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

해당사항 없음

## 제 7 장 연구시설·장비 현황

해당사항 없음

## 제 8 장 연구실 안전관리 이행실적

<경북대학교>

가. 연구실 안전 점검 체계 및 실시

(1) 실험실 안전점검 체계 및 실시

- 일상점검 : 연구 활동 종사자가 매일 연구개발 활동을 하기 전에 연구개발 활동에 사용되는 기계·기구·전기·가스 등의 실험기자재와 약품·병원체 등 실험재료의 이상 유무와 보호 장비의 관리실태 등을 점검하고 그 결과를 기록·유지

- 정기점검 : 연구개발 활동에 사용되는 기계·기구·전기·가스 등의 설비기능의 이상 유무와 보호 장비의 성능유지 여부 등을 장비를 이용하여 매년 1회 이상 세부적으로 점검을 실시하고 그 결과를 기록·유지

## (2) 실험실 정밀안전진단 체계 및 실시

- 해당법 시행령 제11조 별표 3의 점검장비 중 해당 분야의 장비를 이용하여 세부적으로 실시

## 나. 교육 훈련

(1) 개요 : 연구실 안전환경 조성에 관한 법률 제18조, 동법 시행령 제17조 및 동법 시행규칙 제9조에 따라 연구활동종사자들의 안전의식 제고와 실험실 사고 예방을 위하여 안전교육을 의무적으로 수강

(2) 교육 대상 : 본 실험실 소속 연구원/대학생/대학원생 및 연구보조원 등

### (3) 안전 교육 실시 방법

사이버안전교육 : 연구실안전관리시스템에서 제공하는 사이버안전교육

\* 경북대학교 연구실 안전관리시스템 <http://safe.knu.ac.kr/>

자체안전교육 : 연구실험실에서 자체적으로 실시하는 교육으로, 실시 후 『안전교육일지』를 연구실안전관리시스템에 등록하고 있음

### (4) 안전 교육 시간

연구 활동 종사자는 반기별 6 시간 이상 정기 교육·훈련을 받으며 신규 채용 시 2 시간 이상, 특별한 경우에 안전 교육을 2 시간 이상 매 년 수강하고 있음.

## 다. 보험 가입 현황

경북대학교 과학기술분야 연구 활동 종사자 중 연구원/연구보조원/기타 등으로 현재 경북대학교 재학생이 아닌 자 및 보험 미 가입자와 과학기술분야 재학생(대학생, 대학원생, 수료 후 등록생)은 교무처 학사과 자료를 참고하여 시설과 에서 가입 관리하고 있음.

### (1) 보험 내용

- 보험명 : 『연구실 안전공제』

- 보상금액

: 사망 1인당 1억원, 후유장애 시 급수에 따라 1억~625만원 보상

: 부상의 경우, 1,000만원 한도로 상해 등급별 정액 및 실손 보상

: 적용대상 : 경북대학교 연구 활동 종사자

- 보상내용

: 연구 활동 종사자가 연구실에서 발생한 사고로 부상/질병/신체장해/사망 등 생명 및 신체상의 손해를 입었을 때

: 과실이 있고 없음을 가리지 않고 자기 또는 다른 대학·연구기관 등에서 연구 활동 등에서 연구 활동 중에 급격하고도 우연한 외래의 사고로 신체에 상해를 입거나 그 상해가 원인이 되어 질병에 걸렸을 때

## 제 9 장 참고문헌

### <1세부>

1. Kim KS, Kim SG, Chae SK, Kim BS (2013) Analysis on patent trends in nonthermal processing technologies for medicinal herbs. Korean J Oriental Physiol Pathol, 27, 367-373
2. King MB, Bott TR (1993) Extraction of natural products using near-critical solvent. Chapman & Hall, London, p 21
3. Park SH, Hwang HS, Han JH (2004) Development of drink from composition with medicinal plants and evaluation of its physiological function. Korean Nutr Soc, 37, 364-372
4. Sung NS, Jung HY, Choi JH, Lee SC, Choi BH, Park SS (2014) Preparation of functional healthy drinks by *Acanthopanax senticosus* extracts. J Life Sci, 24, 959-966
5. Lee SJ, Kim EH, Lee HG (2008) Development of rice wines using *Cornus Offinalis* and *Scutellaria Baicalensis* by antioxidant activity tests. Korean J Food Sci Technol, 40, 21-30
6. Lee JM, Lee HN, Chang YH (2013) Quality characteristics of *Makgeolli* using *Angelica gigas* Nakai water extracts. J East Asian Soc Dietary Life, 23, 332-340
7. Lee JS (2009) Physicochemical properties of *Angelica gigas* N. and qualitative characteristics of Korea rice cake added with *Angelica gigas* N. Ph D Thesis. Sejong University, Seoul, Korea
8. Park GS, An SH (2012) Quality characteristics of pound cake added with *Angelica gigas* Nakai powder. Korean J Food Cookery Sci, 28, 463-471
9. Kang CS, Lee MJ, Park CB, Bang IS (2012) Study on the antioxidative and physiological activities of *Saururus chinensis* extract. J Life Sci, 22, 807-814
10. Yang MO (2013) Antioxidant and sensory properties of hot water extract of *Liriope Tubers* treated at various preprocess. J East Asian Soc Dietary Life, 23, 645-653
11. Ryu HY, Kim YK, Kwun IS, Kwon CS, Jin IN, Sohn HY (2007) Thrombin inhibition activity of fructus extract of *Crataegus pinnatifida* Bunge. J Life Sci, 17, 535-539
12. Kim DH, Park JH, Kim JH, Kim CH, You JH, Kwon MC, Lee HY (2005) Enhancement of immune activities of *Ephedrae Herba* and *Rubi Fructus* at low temperature extraction. Korean J Medicinal Crop Sci, 13, 81-86
13. Lee HJ, Jeong HS, Park CG, Lee JH, Park CB, Kim CT, Choi AJ (2014) A study on isolation of polysaccharides from *Angelica gigas* Nakai by enzyme treatments. Food Eng Prog, 18, 406-412
14. Kwon SC, Choi GH, Hwang JH, Lee KH (2010) Physicochemical property and

- antioxidative activity of hot-water extracts from enzyme hydrolysate of *Astragalus membranaceus*. J Korean Soc Food Sci Nutr, 39, 406-413
15. Yeo IH (2012) Effects of *Salviae Miltiorrhizae* Radix hat aqueous extract on No, PGE<sub>2</sub>, production and DPPH radical scavenging in macrophage. MS Thesis. Semyung University, Chungbuk, Korea
  16. Han WS, Jeong SI (2000) Studies on the constituents of *Salvia miltiorrhiza* Bunge. J Mokwon Institute Natural Science, 9, 11-14
  17. Kim JK (1989) Illustrated natural drugs encycckopedia, Namsandong Publishers, Seoul, Korea, p 160
  18. Food Code (2011), Ministry of Food and Drug Safety, p. 1122
  19. Fugh-Berman A (2000) Herbs and dietary supplements in the prevention and treatment of cardiovascular disease. Prev Cardiol, 3, 24-32
  20. Mok JS, Park UY, Kim YM, Chang DS (1994) Effects of solvents and extracting condition on the antimicrobial activity of *Salviae miltiorrhizae* radix (*Salvia miltiorrhiza*) extract. J Korean Soc Food Nutr, 23, 1001-1007
  21. Shon YH, Cho HJ, Chang HW, Son KH, Nam KS (2006) Chemopreventive potential of *Salviae Miltiorrhizae* fraction extracts. J Life Sci, 16, 369-374
  22. Jeon SJ (2007) Studies on the chemical analysis and anti-inflammatory acitivities of the components isolated from the *Salvia miltiorrhiza* Bunge. Ph D Thesis. Andong National University, Gyeongbuk, Korea
  23. Yun HJ, Heo SK, Park WH (2007) Anti-inflammatory effect of *Salviae Miltiorrhizae* Radix. Korean J Herbol, 22, 65-73
  24. Kim CW (2009) Crytotanshinone, a lipophilic compound of *Salvia miltiorrhiza* root, inhibits TNF- $\alpha$ -induced expression of adhesion molecules in HUVEC and attenuates rat myocardial ischemia/reperfusion injury *in vivo*. MS Thesis. Gyeongsang National University, Gyeongnam, Korea
  25. Yang, WH (2012) Cytotoxic effect of the *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts on the cancer cell lines. MS Thesis. Dongshin University, Jeonnam, Korea
  26. Lee HJ, Cho JY, Lee SH, Jeon TI, Park KH, Moon JH (2012) Chemical conversion pattern of *Salvianolic acid* B in aqueous solution under different decoction conditions. Korean J Food Sci Technol, 44, 692-698
  27. Lee SE, Cho SI (2015) Anti-inflammatory effects of *Salviae Miltiorrhizae* Radix extract on RAW 264.7 cell via anti-oxidative activites. Korean J Herbol, 30, 89-94
  28. Kwon JH, Belanger JMR, Pare JRJ (2003) Optimization of microwave assisted extraction (MAP) for ginseng components by response surface methodology. J Agric

Food Chem, 51, 1807–1810

29. Blois MS (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199–1200
30. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTs radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Ned*, 26, 1231–1237
31. Boo HO, Lee HH, Lee JW, Hwang SJ, Park SU (2009) Different of total phenolics and flavonoids, radical scavenging activities and nitrite scavenging effects of *Momordica charantia* L. according to cultivars. *Korean J med Crop Sci*, 17, 15–20
32. Lee SH, Kim KN, Cha SH, Ahn GN, Jeon YJ (2006) Comparison of antioxidant activities of enzymatic and methanolic extracts from *Ecklonia cava* stem and leave. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 35, 1139–1145
33. Lee JW, Park CK, Do JH (2005) Antioxidative activity of the water soluble browning reaction products isolated from Korean Red Ginseng. *J Ginseng Res*, 29, 44–48
34. Chaudicre J, Ferrari-Iliou R (1999) Intracellular antioxidants : from chemical to biochemical mechanisms. *Food Chem Toxicol* 37, 949–962
35. Kim SK, Ban SY, Kim JS, Chung SK (2005) Change of antioxidant activity and antioxidant compounds in *Saururus chinensis* by extraction conditions. *J Korean Soc Appl Biol Chem*, 48, 89–92
36. Kim HK (2009) Anti-inflammatory effect of *Liriopsis tuber* water extract. Ph D Thesis. Kyungwon University, Gyeongbuk, Korea
37. Yang SJ, Woo KS, Yoo JS, Kang TS, Noh YH, Lee JS, Jeong HS (2006) Changes of Korean ginseng components with high temperature and pressure treatment. *Korean J Food Sci Technol*, 38, 521–525
38. Kim JH, Kang Ym, Eum GS, Ko YM, Kim TY (2003) Antioxidative activity and antimicrobial activity of extracts from medicinal plants (*Akebia quinata* Decaisn, *Scirusluviatilis* A. Gray, *Gradenia jasminoides* for. *grandiflora* Makino). *J Agric Life Sci*, 37, 69–75
39. Lee HJ, Cho JY, Moon JH (2012) Chemical conversions of Salvianolic acid B by decoction in aqueous solution. *Fitoterapia*, 83, 1196–1204
41. Kim SJ, Bab SY, Kim JS, Chung SK (2005) Change of antioxidant activity and antioxidant compins in *Saururus chinensis* by extraction conditions. *J Korean Soc Appl Biol Chem*, 48, 89–92

## <1협동>

1. Mok JS, Kim YM, Kim SH, Chang DS (1995) Antimicrobial properties of the ethanol extract from *Salvia miltiorrhiza*. J of Food Hygie and Safety, 10, 23-28
2. Kim JK (1989) Illustrated natural drugs encyclopedia. Namsandang Publishers, Seoul, Korea, p 160
3. Lee YJ, Lee SY (1992) Pharmacognocny. DongmyeungSa, Seoul, Korea, p 131-137
4. Fang ZY, Lin R, Yuan BX, Yang GD, Liu Y, Zhang H (2008) Tanshinone IIA down-regulates the CD40 expression and decreases MMP-2 activity on atherosclerosis induced by high fatty diet in rabbit. J of Ethnopharma, 115, 217-222
5. Ji W, Gong BQ (2008) Hypolipidemic activity and mechanism of purified herbal extract of *Salvia miltiorrhiza* in hyperlipidemic rats. J of Ethnopharma, 119, 291-298
6. Zhang F, Zheng W, Pi R, Mei Z, Bao Y, Gao J, Tang W, Chen S, Liu P (2009) Cryptotanshinone protects primary rat cortical neurons from glutamate induced neurotoxicity via the activation of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway. Experi Brain Res, 193, 109-118
7. Kim JY, Kang HS, Choi JS, Yokozawa T, Chung HY (2008) Antioxidant potential of dimethyl lithospermate isolated from *Salvia miltiorrhiza* (red sage) against peroxytrile. J of Med Food, 11, 21-28
8. Yin HQ, Choi YJ, Kim YC, Sohn DH, Ryu SY, Lee BH (2009) *Salvia miltiorrhiza* Bunge and its active component cryptotanshinone protects primary cultured rat hepatocytes form acute ethanol induced cytotoxicity abd fatty infiltration. Food and Chem Toxicol, 47, 98-103
9. Choi HY, Han YS (2003) Isolation and identification of antimicrobial compound from Dansam (*Salvia miltiorrhiza* Bunge). J of Korean Soc of Food Sci and Nutri, 32, 22-28
10. Han WS (2004) Isolation of antimicrobial compounds from *Salvia miltiorrhiza* Bunge. Korean J of Med Crop Sci, 12, 179-182
11. Yang SA, Im NK, Lee IS (2007) Effect of methanolic extract from *Salvia miltiorrhiza* Bunge on in vitro antithrombotic and antioxidative activities. Korean J of Food Sci and Technol, 39, 83-87
12. Yang BJ, Huang XL, Jhou QR (1984) The structures of four minor diterpenquinones przewaquinones C, D, E and F from the root of *Salvia przewalskii* Maxim var. *mandarinorum* (Diels) Stib. Acta Pharma Sinica, 19, 294-298

13. Cheng GC, Lee JY, Kim DC, Suh SO, Hwang WI (2000) Inhibitory effect of *Salvia miltiorrhiza* extract on growth of some cancer cells. J of the Korean Soc of Food and Nutri, 29, 726-731
14. Kim OH, Chung SY, Park MK, Rhee HM, Yang JS (1999) Anticancer activity of natural products including *Salvia miltiorrhiza*. J of Appl Pharmacol, 7, 29-34
15. Fugh-Berman A (2000) Herbs and dietary supplements in the prevention and treatments of cardiovascular disease. Preven Cardiol, 3, 24-32
16. Wang XH, Morris-Natschke SL, Lee KH (2007) New developments in the chemistry and biology of bioactive constituents of Tanshen. Med Res Rev, 27, 133-148
17. Zhou L (2005) Danshen : an overview of its chemistry, pharmacology, pharmacokinetics and clinical use. J of Clin Pharmacol, 45, 1345-1359
18. Laule O, Furholz A, Chang HS, Zhu T, Wang X, Heifetz PB, Gruissem W, Lange BM (2003) Crosstalk between cytosolic and plastidal pathways of isoprenoid biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. Proc Nat. Acad Sci USA, 100, 6866-6871
19. Lichtenhaler HK (2000) Non-mevalonate isoprenoid biosynthesis : enzyme, genes and inhibitors. Biochem Soc Trans, 28, 785-789
20. Petersen M (1997) Cytochrome P450-dependent hydroxylation in the biosynthesis of rosmarinic acid in *Coleus*. Phytochem, 45, 1165-1172
21. Petersen M, Simmonds MSJ (2003) Rosemarinic acid. Phytochem, 62, 121-125
22. Petersen M, Abdullah Y, Benner J, Eberle D, Gehlen K, Hücherig S, Janiak V, Kim KH, Sander M, Weitzel C, Wolters S (2009) Evolution of rosmarinic acid biosynthesis. Phytochem, 70, 15-16
23. Seong NS, Lee SW, Kim KS, Lee ST (1993) Environmental variation of decursine content in *Angelica gigas*. Korean J of Med Crop Sci, 1, 60-65
24. Kim YK, Ahn YS, An TJ, Yeo JH, Park CB, Park HK (2009) Effect of yield and decursin content according to the accumulative temperature and seedling size in cultivation area of *Angelica gigas* Nakai. Korean J of Med Crop Sci, 17, 458-463
25. Jin YX, Cho YS, Choi YM (2014) Nutritional quality of *Peucedanum japonicum* Thunb. leaves in relation to ripening time, growing condition and blanching. The Korean Soc of Food Preserv, 21, 784-789
26. Kim YK, Lee SH, Han SH, Kang YG, Ahn YS, Park CB (2010) Characteristics of flowering and seed setting of *Salvia miltiorrhiza* Bunge. Paper presented at 2010

Annual Meeting of Korean J of Med Crop Sci, October 12, Jecheon, Korea

27. Kim YK, Lee SH, Han SH, Kang YG, Lee YS, Ahn YS, Park CB (2011) Effect of fertilizer amount on growth and root yield in *Salvia miltiorrhiza* Bunge. Paper presented at 2011 Annual Meeting of Korean J of Med Crop Sci, April 28, Jeju, Korea
28. Lee SH, Kim YK, Han SH, Lee YS, Han NH, Kim SS, Song BH, Park CB (2012) Effect of biodegradable mulching on the weed management and growth characteristics in *Salvia miltiorrhiza* Bunge. Paper presented at 2012 Annual Meeting of Korean J of Med Crop Sci, May 3, Cheongju, Korea
28. Kim PG, Lee E.J (2001) Ecophysiology of photosynthesis : Effect of light intensity and intercellular CO<sub>2</sub> pressure on photosynthesis. Korean J of Agri and Forest Meteor, 3, 126-133
29. Kim PG, Lee KY, Kim SH, Han SS (1999) Foliar characteristics and photosynthetic efficiency of three species of Schizandracea trees distributed in Korea. Korean J of Agri and Forest Meteor, 1, 90-96
30. Strasser RJ, Srivastava A, Tsimilli-Michael M (2000) The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic sample. In Yunus M. et al., (eds.) Probing photosynthesis : Mechanism, regulation and adaptation. Taylor and Francis, New York, NY, USA, p 445-483
31. Evans JR (1987) The dependence of quantum yield on wavelength and growth irradiance. Australian J of Plant Physiol, 14, 445-483
32. Kang SB, Jang HI, Lee IB, Park JM, Moon DK (2007) Changes in photosynthesis and chlorophyll fluorescence of 'Cambell Early' and 'Kyoho' grapevine cultivars under long-term waterlogging condition. Korean J Hort Sci Technology, 25, 1-8
33. Oh SJ, Zhin KL, Koh SC (2009) Characterization of Chl a fluorescence of hydrophytes under cadmium stress. Environ Sci, 18, 1361-1368

#### <위탁과제>

1. Chang BY, Oh BR, Sohn DH, Kim SY (2008) Single Oral Toxicity Study on the Standardized Extract of *Salvia miltiorrhiza*. Korean J Pharmacog, 39(4), 352-356.
2. Mok JS, Park UY, Kim YM, Chang DS (1994) Effects of solvents and extracting condition on the antimicrobial activity of *Salviae miltiorrhizae Radix* (*Salvia miltiorrhiza*) extract. J Korean Soc Food Nutr, 23, 1001-1007.

3. Choi HS, Cho DI, Choi HK, Im SY, Ryu SY, Kim KM (2004) Molecular mechanisms of inhibitory activities of tanshinones on lipopolysaccharide-induced nitric oxide generation in RAW 264.7 cells. *Arch Pharm Res*, 27, 1233-1237.
4. Kang BY, Chung SW, Kim SH, Ryu SY, Kim TS (2000) Inhibition of interleukin-12 and interferon-gamma production in immune cells by tanshinones from *Salvia miltiorrhiza*. *Immunopharmacol.* 49, 355-361.
5. Li HY, Li Y, Yan CH, Li LN, Chen XG (2002) Inhibition of tumor growth by S-3-1, a synthetic intermediate of salvianolic acid A. *J Asian Nat Prod Res*, 4, 271-280.
6. Kim OH, Chung SY, Park MK, Rheu HM, Yang JS (1999) Anticancer activity of natural products including *Salvia miltiorrhiza*. *J Appl Pharmacol*, 7, 29-34.
7. Park HJ, Ahn SG, Kim JS (2007) Antitumor Activity of *Salvia miltiorrhiza* Herbal Extract in Rat Tumor Model. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 36(4), 400-404.
8. Tang MK, Ren DC, Zhang JT, Du, GH (2002) Effect of salvianolic acids from *Radix Salviae Miltiorrhizae* on regional cerebral blood flow and platelet aggregation in rats. *Phytomed*, 9, 405-409.
9. Yang SA, Im NK, Lee IS (2007) Effects of methanolic extract from *Salvia miltiorrhiza* Bunge on in vitro antithrombotic and antioxidative activities. *Korean J Food Sci Technol*, 39(1), 83-87.
10. Mok JS, Kim YM, Kim SH, Chang DS (1995) Antimicrobial property of the ethanol extract from *salvia miltiorrhiza*. *J Food Hyg Safety*, 10(1), 23-28.
11. Kwag JS, Baek SH (2003) Cytotoxicity and antimicrobial effects of extracts from *Salvia miltiorrhiza*. *Korean J Pharmacog*, 34(4), 293-296.
12. Yuan SL, Wei YQ, Wang XJ, Xiao F, Li SF, Zhang J (2004) Growth inhibition and apoptosis induction of tanshinone II-A on human hepatocellular carcinoma cells. *World J Gastroenterol*, 10(14), 2024-2028.
13. Fugh Berman A (2000) Herbs and dietary supplements in the prevention and treatment of cardiovascular disease. *Preventive Cardiology*, 3(1), 24-32.
14. Hu P, Liang QL, Luo GA, Zhao ZZ, Jiang ZH (2005) Multi-component HPLC fingerprinting of *Radix Salviae Miltiorrhizae* and its LC-MS-MS identification. *Chem Pharm Bull*, 53(6), 677-683.
15. Pan XJ, Niu GG, Liu HZ (2001) Microwave-assisted extraction of tanshinones from *Salvia miltiorrhiza bunge* with analysis by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A*, 922(1), 371-375.
16. Chen AJ, Zhang JY, Li CH, Chen XF, Hu ZD, Chen XG (2004) Separation and determination of active components in *Radix Salviae miltiorrhizae* and its medicinal preparations by nonaqueous capillary electrophoresis. *J Sep Sci*, 27(7-8), 569-575.
17. Duda-Chodak A, Tarko T, Tuszyński T (2011) Antioxidant activity of apples an impact

- of maturity stage and fruit part. *Acta Sci Pol Technol Aliment*, 10(4), 443-454.
18. Shrivastava A, Gupta VB (2011) Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chronicles of Young Scientists*, 2(1), 21-25.
  19. Singleton VL, Rossi Jr JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*, 16, 144-158.
  20. Jia Z, Tang M, Wu J (1999) The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*, 64(4), 555 - 559.
  21. Blois MS (1958) Antioxidants determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181, 1199-1200.
  22. Benzie IFF, Strain JJ (1996) The ferric reducing ability of plasma as a measure of antioxidant power, the FRAP assay. *Anal Biochem* 239, 70-76.
  23. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26(9), 1231-1237.
  24. Cao G, Alessio H M, Culter R G (1993) Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidant. *Free Radic Biol Med*, 14, 303 - 311.
  25. Zhou L, Chow M, Zuo Z (2006) Improved quality control method for Danshen products consideration of both hydrophilic and lipophilic active components. *J Pharm Biomed Anal*, 41(3), 744-750.
  26. Shi Z, He J, Yao T, Chang W, Zhao M (2005) Simultaneous determination of cryptotanshinone, tanshinone I and tanshinone IIA in traditional Chinese medicinal preparations containing *Radix salvia miltiorrhiza* by HPLC. *J Pharm Biomed Anal*, 37(3), 481-486.
  27. Liu AH, Li L, Xu M, Lin YH, Guo HZ, Guo DA (2006) Simultaneous quantification of six major phenolic acids in the roots of *Salvia miltiorrhiza* and four related traditional Chinese medicinal preparations by HPLC - DAD method. *J Pharm Biomed Anal*, 41(1), 48-56.
  28. Li XB, Xie XM, Pei WZ, Chen JK, Song Y, Yang H, Zhou TS (2009) Improved LC method for the simultaneous determination of five active components in Danshen and its preparations. *Chromatog*, 69(5-6), 543-548.
  29. Nan JX, Park EJ, Kang HC, Park PH, Kim JY, Sohn DH (2001) Anti-fibrotic effects of hot water extract from *Salvia miltiorrhiza* roots on liver fibrosis induced by biliary obstruction in rats. *J Pharm Pharmacol*, 52, 197 - 204.
  30. Qi XG (1991) Protective mechanism of *Salvia miltiorrhiza* and *Paeonia lactiflora* for experimental liver damage. *Chin. J Integr Trad West Med*, 11, 102 - 104.

31. Wu WL, Chang WL, Chen CF (1991) Cytotoxic activities of tanshinones against human carcinoma cell lines. *Amer J Chin Med*, 19, 207 - 216.
32. Kim JY, Kim KM, Nan JX, Zhao YZ, Park PH, Lee SJ, Sohn DH (2003). Induction of apoptosis by tanshinone I via cytochrome c release in activated hepatic stellate cells. *Pharmacol Toxicol*, 92(4), 195-200.
33. Xia H, Sun L, Lou H, Rahman MM (2014) Conversion of salvianolic acid B into salvianolic acid A in tissues of *Radix Salviae Miltiorrhizae* using high temperature, high pressure and high humidity. *Phytomed*, 21(6), 906-911.
34. Kan S, Chen Z, Shao L, Li JA (2014) Transformation of salvianolic acid B to salvianolic acid a in aqueous solution and the in vitro liver protective effect of the main products. *J Food Sci*, 79(4), C499-C504.
35. Chen X, Deng Y, Xue Y, Liang J (2012) Screening of bioactive compounds in *Radix Salviae Miltiorrhizae* with liposomes and cell membranes using HPLC. *J Pharm Biomed Anal*, 70, 194-201.
36. Marahatta A, Kim DS, Kim HK, Kim HR, Chae HJ (2012) Isolation of tanshinone IIA and cryptotanshinone in *Salvia miltiorrhiza* using two conventional extraction techniques and quantification by validated HPLC method. *Int J Pharm Pharm Sci*, 4(1), 627-631.
37. Fang Z, Moon DC, Son KH, Son JK, Min BS, Woo MH (2010) Quantitative analyses for the quality evaluation of *Salviae miltiorrhizae radix* by HPLC. *Nat Prod Sci*, 16(4), 251-258.
38. Hounsome N, Hounsome B, Tomos D, Edwards-Jones G (2008) Plant metabolites and nutritional quality of vegetables. *J Food Sci*, 73(4), R48 - 65.
39. Cheng J, Dai F, Zhou B, Yang L, Liu Z (2007) Antioxidant activity of hydroxycinnamic acid derivatives in human low density lipoprotein: Mechanism and structure - activity relationship. *Food Chem*, 104(1),132 - 139.
40. Sroka Z, Cisowski W (2003) Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 41(6),753 - 8.
41. Middleton E, Kandaswami C, Theoharides TC (2000) The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev*, 52(4), 673 - 751.
42. Hagerman AE, Riedl KM, Jones GA, Sovik KN, Ritchard NT, Hartzfeld PW, Riechel TL (1998) High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *J Agric Food Chem*, 46(5), 1887-1892.
43. Espín JC, Soler-Rivas C, Wichers HJ (2000) Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,

2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *J Agric Food Chem*, 48(3), 648-656.

44. Prior RL, Wu X, Schaich K (2005) Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem*, 53(10), 4290 - 302.
45. Liu TZ, Chin N, Kiser M, Bigler W (1982) Specific spectrophotometry of ascorbic acid in serum or plasma by use of ascorbate oxidase. *Clinic Chem*, 28(11), 2225-2228.

<첨부> 특허, 논문 및 시장분석 보고서

## 특허, 논문, 제품(시장) 분석보고서

<b>신청과제명</b>	단삼의 유효성분 강화 재배기술 및 가공적성 기반구축		
<b>주관연구책임자</b>	김 미 연	<b>주관기관</b>	(주)케이엠에프

### 1. 본 연구관련 국내의 기술수준 비교

개발기술명	관련기술 최고보유국	현재 기술수준		기술개발 목표수준	비고
		우리나라	연구신청팀		
효소 처리를 통한 차별화 단삼 추출물 제조 기술	중국	20	40	60	

### 2. 특허분석

#### 가. 특허분석 범위

<b>대상국가</b>	국내, 국외(미국, 일본, 유럽)
<b>특허 DB</b>	특허정보원 DB(www.kipris.or.kr), Aureka DB
<b>검색기간</b>	최근 5년간
<b>검색범위</b>	제목 및 초록

#### 나. 특허분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명	효소 처리를 통한 차별화 단삼 추출물 제조 기술	
Keyword	단삼, 추출물, 효소, 가수분해	
검색건수	국내(391), 일본(174)	
유효특허건수	0	
핵심특허 및 관련성	특허명	-
	보유국	-
	등록년도	-
	관련성(%)	-
	유사점	-
	차이점	-

### 3. 논문분석

#### 가. 논문분석 범위

<b>대상국가</b>	미국, 일본, 유럽
<b>논문 DB</b>	Aureka DB, pubmed DB(www.ncbi.nlm.nih.gov), 국회도서관(www.nanet.go.kr)
<b>검색기간</b>	최근 5년간
<b>검색범위</b>	제목, 초록 및 키워드

## 나. 논문분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명		효소 처리를 통한 차별화 단삼 추출물 제조 기술
Keyword		효소, 단삼, 가수분해
검색건수		3(국내), 국외(501)
유효논문건수		1
핵심논문 및 관련성	논문명	Study on effective constituents extracted from fibrous roots of <i>Salvia miltiorrhiza</i> with degrading multi-enzymes from taishan <i>Ganoderma lucidum</i>
	학술지명	China journal of Chinese materia medica
	저 자	Li YL1, Xin XM, Miao ZM, Shi RJ, Hao GP.
	게재년도	2013
	관련성(%)	50
	유사점	중국 태산의 영지에서 추출한 효소를 이용하여 tanshinone와 salvianolic acids의 추출함량을 높인점. 유용성분만 추출, 정제
	차이점	효소의 종류 및 처리 조건 다름. 단삼 원산지가 다름. 추출물 제조

## 4. 제품 및 시장 분석

### 가. 생산 및 시장현황

#### 1) 국내 제품생산 및 시장 현황

단삼은 전량 수입의존 작물로 2009년 100톤(약 1억 5천만원)이 수입되었으며, 주요 수입국은 중국임. 국내에서 수입대체 약용작물로 선정되어 경상북도 봉화과 영양군에서 대량 재배를 시작함. 영양군의 단삼 생산량은 2011년 10톤, 2012년 36톤, 2013년 60톤, 2014년 75톤으로 매년 생산량이 증대되고 있음. 현재 국내산 단삼의 대부분은 원물로 거래되고 있으며, 일부 가공제품(파우치 등)과 건조제품으로 일부 사용되고 있으나 판매가 원활하지 않음. 시판 단삼제품은 한약재료로 중국산 단삼건조물이 대부분이며, 환제품 및 다류제품의 원료(중국산)로 일부 사용되고 있음.

\* 출처 : 경북봉화약초시험장, 중국의 중약자원 관리 현황과 세계화 전략(대외경제정책연구원, 2013)

#### 2) 국외 제품생산 및 시장 현황

중국의 단삼 가공 제품으로는 관상동맥심질환, 뇌경색 및 혈액순환 등과 관련된 캡슐, 환, 타블렛, 차, 주사용 등의 다양한 제형들의 제품이 판매되고 있음. 또한 단삼의 유효성분인 Salvianolic acid B와 Tanshinone II A를 추출, 정제하여 제품화함.

## 나. 개발기술의 산업화 방향 및 기대효과

### 1) 산업화 방향(제품의 특징, 대상 등)

○ 단삼은 제한적 식품원료

- 배합수를 제외하고 50%미만만 혼합할 수 있어 첨가량이 높은 식품유형으로 제품 개발

- 다류, 음료류, 주류 및 향신료 제품에는 단삼이 식품에 사용할 수 원료로 인정됨
- 차별화 단삼 추출물을 이용한 단삼 제품화 기반 구축
  - 유효성분과 관능적 특성이 향상된 단삼 추출물 복합 기능성 음료 개발.
  - 저장 및 유통이 편리한 농축액 형태의 음료와 roasting 처리를 한 침출차 개발.
  - 원료의 원형을 활용한 식초 및 주정(알콜) 활용 원형 보존 침출제품을 개발함.

## 2) 산업화를 통한 기대효과

(단위 : 백만원)

항 목 \ 산업화 기준	1차년도	2차년도	3차년도	4차년도	5차년도	계
직접 경제효과	0	50	150	200	300	700
경제적 파급효과	0	50	150	300	300	800
부가가치 창출액	0	100	200	300	400	1,000
합 계	0	200	500	800	1,000	2,500

## 5. 3P(특허, 논문, 제품)분석을 통한 연구추진계획

### 가. 분석결과 향후 연구계획(특허, 논문, 제품 측면에서 연구방향 제시)

#### 1) 특허분석 측면

- 기존 특허는 단삼을 추출효율이 높은 용매를 이용하여 단순 추출하고 유효성분을 정제하는 연구분야에 치중되어 있으므로, 본 연구과제에서는 국내산 단삼의 식품으로의 활용성을 높이기 위한 가공공정 개발을 위해 효소적 가수분해 조건(효소종류, 처리시간, 온도 등)을 조사하여 유효성분의 함량이 높은 추출물 제조 연구를 추진하여 기능적으로 차별화된 단삼 추출물 제조 원천기술 특허 등을 국내에 출원

#### 2) 논문분석 측면

- 기존 논문은 단삼의 생리활성, 항균성, 병리적 기능 검증 분야에 치중되어 있으므로, 본 연구과제에서는 단삼을 이용한 제품화 기반구축을 위하여 단삼의 가공공정 개발을 위해 효소적 가수분해 조건 설정을 통해 추출물을 제조하는 방향으로 연구를 추진하여 효소 처리에 따른 단삼 추출물의 품질특성 연구 논문 등을 국내외 저명 학술지 등에 게재

#### 3) 제품 및 시장분석 측면

- 국내 및 국외시장 분석결과 국내는 대부분 중국산 단삼을 사용하고 있으며, 국내산 단삼은 원물과 건조물의 형태로 판매되고 있음. 일부 가공제품이 있으나 단순 추출 또는 첨가형태의 제품 수준임. 중국은 원물 및 캡슐, 환, 타블렛, 차, 주사용 등 다양한 가공제품들이 판매되고 있는 상황으로, 본 연구과제에서는 효소 추출법을 활용하여 차별화 단삼 추출물을 개발하는 방향으로 연구를 추진함. 추출수율 및 유효성분 함량이 높은 단삼 추출물을 확보하여 국내산 단삼의 제품화 기반을 구축할 수 있으며, 향후 시장성이 높은 제품을 상품화하여 국내 및 국외에 판매 계획

별첨.

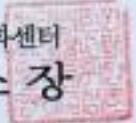
1. 시험 분석 성적서



 경북테크노파크 대구한의대 특화센터 식품위생검사소

검사 책임자	정 오 민 석
전화번호	053-819-1497


 (재)경북테크노파크 대구한의대특화센터  
**식품 위 생 검 사 소**  
 경북 경산시 유곡동 290번지 <http://cccho.dhu.ac.kr>  
 Tel : (053)819-1495,1497 Fax : (053)819-1496

검 사 성 적 서				
발급번호		참고 2015-0887	검수번호 0887	
제품명	단삼 A (11월산)	제조일자나 유통기한 또는 제조번호		
의뢰인	업소명	(주)케이엠에프	성 명	정 용 진
	소재지	대구광역시 동구 을암로 12		
접수년월일	2015. 04. 27.	검사완료일	2015. 05. 08.	
식품유형(재질)	뿌리	검사목적	참고용	
시험항목 및 결과				
시험항목	기준	결과(단위)	%영양소기준치	항목판정
수분	-	6.83%	-	확인
단백질	-	9(g/100g)	16 %	확인
지방	-	0(g/100g)	0 %	확인
회분	-	4.1%	-	확인
판정 : 확인				
비고 : 상기 판정은 의뢰된 시험항목에 한함.				
위와 같이 검사성적서를 발급합니다. 2015년 05월 08일				
(재)경북테크노파크 대구한의대특화센터 <b>식품 위 생 검 사 소 장</b> 				

검사 책임자	정 조 언 의 부 임 영 민
전화번호	053-819-1497



(재)경북테크노파크 대구한의대특화센터  
**식품 위 생 검 사 소**  
 경북 경산시 유곡동 290번지 http://techno.dhu.ac.kr  
 Tel : (053)819-1495,1497 Fax : (053)819-1496

**검 사 성 적 서**

발급번호 참고 2015-0888

접수번호 0888

제품명	단삼 B (3월산)	제조일자나 유통기한 또는 제조번호		
의뢰인	업소명	(주)케이엠에프	성 명	정 용 진
	소재지	대구광역시 동구 율암로 12		
접수년월일	2015. 04. 27.	검사완료일	2015. 05. 08.	
식품유형(재질)	뿌리	검사목적	참고용	
시험항목 및 결과				
시험항목	기준	결과(단위)	%영양소기준치	항목판정
수분	-	3.50%	-	확인
단백질	-	13(g/100g)	24 %	확인
지방	-	0.6(g/100g)	1 %	확인
회분	-	5.7%	-	확인
판정 : 확인				
비고 : 상기 판정은 의뢰된 시험항목에 한함.				
위와 같이 검사성적서를 발급합니다. 2015년 05월 08일				
(재)경북테크노파크 대구한의대특화센터 <b>식품 위 생 검 사 소 장</b>				

검사 책임자	정 조 민 부 임 영 민
전화번호	053-819-1497



(재)경북테크노파크 대구한의대특화센터  
**식품위생검사소**

경북 경산시 유곡동 290번지 <http://techno.dhu.ac.kr>  
Tel : (053)819-1495,1497 Fax : (053)819-1496

**검사성적서**

발급번호 참고 2015-2526

접수번호 2526

제품명	단아후	제조일자나 유통기한 또는 제조번호		
의뢰인	업소명 (주)케이엘에프	성 명	정 용 건	
	소재지	대구광역시 동구 용암로 12		
접수년월일	2015. 10. 30.	검사완료일	2015. 11. 12.	
식품유형(재질)		검사목적	참고용	
시험항목 및 결과				
시험항목	기준	결과(단위)	%영양소기준치	합목판정
열량	-	160(kcal/100g)		확인
탄수화물	-	38(g/100g)	12%	확인
당류	-	23(g/100g)	-	확인
단백질	-	1g미만(g/100g)	1%	확인
지방	-	0(g/100g)	0%	확인
포화지방	-	0(g/100g)	0%	확인
트랜스지방	-	0(g/100g)	-	확인
콜레스테롤	-	0(mg/100g)	0%	확인
나트륨	-	10(mg/100g)	1%	확인
판정 : 확인				
비고 : 상기 판정은 의뢰된 시험항목에 한함.				
위의 값이 검사성적서를 발급합니다. 2015년 11월 12일 (재)경북테크노파크 대구한의대특화센터 <b>식품위생검사소장</b>				



## 주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농림축산식품기술료사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농림축산식품기술료사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.