

최 종
연구보고서

국내 자생약초 마타리 계통선발, 재배기술 및
건강식품 개발 연구

Line Selection, Studies on the Cultural Practices and
Health Food Development in *Patrinia scabiosaefolia*

연구기관
작물시험장
(주) 메드빌

농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “국내 자생약초 마타리 계통선발, 재배기술 및 건강식품 개발 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2003년 12월 일

주관연구기관명 : 작물시험장

총괄연구책임자 : 박 희 운

세부연구책임자 : 박 희 운

연 구 원 : 박 충 헌

연 구 원 : 박 춘 근

연 구 원 : 유 흥 섭

연 구 원 : 김 영 국

연 구 원 : 성 정 숙

협동연구기관명 : (주)메드빌

협동연구책임자 : 홍 은 경

연 구 원 : 이 장 하

연 구 원 : 권 상 혁

연 구 원 : 최 선 아

연 구 원 : 이 인 경

요 약 문

I. 제 목 : 국내 자생약초 마타리 계통선발, 재배기술 및 건강식품 개발 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

마타리는 우리나라 전역에 널리 분포하는 야생 약용식물로 마타리과의 다년생 초본 식물이다. 생약재 공정서인 대한약전의한약(생약)규격집에는 폐장으로 수재되어 있으며 뿌리를 약용하는데, 敗醬이란 한약명의 어원은 간장과 흡사한 강한 냄새가 나는데서 유래하였다.

중국과 일본의 약전에는 수재되지 않고 있어 사용이 적은 것으로 생각되나, 우리나라에서는 예로부터 한방이나 민간에서는 간염치료에 처방하였으므로 임상효과가 검증되었으며, 현대과학에 의해 성분이 밝혀지고 약리작용이 구명되고 있다. 임상실험에서 간염치료와 손상된 간세포 재생촉진효과가 보고되고 있다. 또한 어린잎을 삶아서 나물로 식용하므로 지방명으로는 개암취라하며, 식품공전에는 식품원료로 사용할 수 있는 야생식물로 분류되어 안전성도 입증된 식물이다.

이와 같이 우리나라에서는 마타리를 한약재와 나물로 이용하여 왔으므로 오랫동안 간염 치료효과와 독성에 대한 안전성이 검증된 식물이며, 이를 이용한 간기능 개선을 위한 건강기능성 식품이나 치료제의 개발도 가능하다고 생각된다.

우리나라는 인구의 약 17%가 B형 및 C형 간염 보균자인 것으로 나타나고 있고, 간염 같은 질환은 세계적으로도 문제가 되고 있으나 효과적인 치료제는 개발되지 않고 있다. 2003년 간질환 개선제 및 치료제의 국내 시장규모는 1,900억, 세계시장은 10조원을 넘을 것으로 추정하고 있어 시장성이 대단히 크다 (산업기술정보원).

마타리는 우리나라에는 흔하게 자생하고 있어 야생채취에 의존하여 왔으나 최근 약초 캐는 사람이 거의 없고 가격도 낮아 최근에는 수입에 의존하고 있다. 야생채취의 경우 남획에 의한 자원고갈이 문제이며, 전량 수입에 의존할 경우 수급의 불안정이 우려된다.

자생식물인 마타리를 이용한 기능성 식품을 개발하여 부가가치 높은 제품을 생산하고, 원료공급을 위한 재배생산기술을 개발함으로써 산업화자원화가 이루어질 수 있다. 이 같은 배경에서 야생의 마타리에서 품종을 육성하기 위하여 모집단을 양성하고 우량 개체를 선발하여 수량 관련 형질과 생산력의 검정을 거쳐 우수한 계통을 육성하고자 한다. 마타리의 안전

재배생산을 위하여 육묘방법, 적정 재식밀도, 정식적기, 시비량 등 표준재배기술의 확립하고, 번식방법, 생력수확, 건조방법을 개발하고자 한다.

한편 마타리의 부가가치를 높이고 수요를 창출하여 고부가가치 산업으로 육성하기 위하여 마타리의 유효성분을 구명하고, 재배생산에서의 품질의 향상 및 품질유지를 위한 성분평가 연구를 목적으로 한다. 간기능 개선 식품을 연구하고 제품생산 공정을 개발하여 산업화를 위한 연구를 목적으로 한다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 세부과제 1 : 마타리 재배생산기술 개발 및 우량 계통선발

제1세부과제 “마타리 재배생산기술 개발 및 우량 계통선발”에서는 마타리의 유전자원을 수집 분류하고, 마타리 수집종을 평가하였다. 실생집단에서 우량 개체를 선발하여 계통을 육성하였으며 생산력이 높고 재배적 특성이 우수한 계통을 선발함으로써 신품종육성 재료로 활용할 수 있다.

또한 마타리 안전다수확 재배기술개발을 위하여 발아온도 구명, 육묘방법 연구, 과중기 및 정식기 구명 및 적정 재식밀도를 연구하고, 시비량을 구명하였다. 영양계 선발육종에 의한 품종육성 연한을 단축하고 증식방법으로 이용하기 위하여 영양번식 방법을 연구하였다. 또한 추대로 인한 뿌리 수량감소를 적게 하는 수단으로 꽃대제거효과를 구명하였으며, 연생별 수량 및 성분함량의 차이를 밝히는 한편, 생력화 수확 및 건조방법을 연구하였다.

2. 세부과제 2 : 마타리 추출물의 성분평가 및 건강식품개발 연구

마타리 추출물의 성분평가 및 품질관리기준 확립연구에서는 추출물의 제조 방법의 표준화, 추출물의 품질관리를 위한 일반 성분분석 및 TLC 방법에 의한 추출물의 성분을 확인하였고, 지표물질을 설정하였다. 또한 HPLC를 이용한 성분평가 방법을 확립하고, 재배환경 및 식물체부위별 성분 차이를 구명하였다.

마타리 추출물의 기능성 연구를 위하여 간 기능의 개선효능 구명을 위한 세포실험 모델 및 동물모델을 확립하였다. 세포 및 동물 모델에서 마타리 추출물의 기능성의 평가가 이루어졌다.

마타리 추출물의 제품화 연구에서는 마타리 추출물의 활성을 이용한 건강식품 개발, 제품의 생산방안 확립 및 제형이 결정되었고, 제품의 바람직한 formula를 확정하는 한편, 대량 생산공정을 위하여 Pilot scale의 공정을 개발하였다. 마지막으로 시제품을 생산하여 효능을 평가하였다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발 결과

가. 마타리 재배 생산기술 개발 및 우량 계통선발

1) 마타리 자원수집 분류

국내 자생 *partinia*속 식물은 마타리(*P. scabiosaefolia*), 금마타리(*P. saniculaefolia*), 돌마타리(*P. rupestris*) 및 뚝갈(*P. villosa*)이 분포하는 것으로 조사되었다. 마타리와 뚝갈은 국내 전역에 분포하며, 돌마타리는 석회암지대의 바위틈에 분포하고 금마타리는 오대산일대에서 발견되었다.

강원, 충북, 전북 등 산줄기의 끝자락에 주로 많이 군락을 보이는 마타리 외에 돌마타리 2점, 금마타리 1점 및 뚝갈 5점을 포함하여 모두 20여점의 자원을 수집하였다.

2) 우량 계통선발 및 생산력검정

실생 모집단을 양성하여 우량계체를 선발하였으며 근경을 분주하는 영양번식을 이용하여 영양계통을 하였다. 이들 영양에 대한 생산력검정을 실시한 결과 PS 0202, PS 0204, PS 0209, PS 0212 등이 유망한 계통으로 평가되었다.

3) 마타리 안전다수확 재배기술 개발

마타리의 발아 최저온도는 15℃였으며 최적온도는 25~30℃이었다. 육묘이식 재배를 위하여 온실조건에서 육묘시 파종후 30~40일에 지상부의 급격한 신장을 보였고 근부는 40~50일에 생장율이 컸다.

2년생 근수량을 기준으로 볼 때 30일 묘가 좋았으나 1년생은 40일 묘에서 근수량이 많았다. 포장에 직파재배하는 경우 입모상태가 불균일하여 차이를 인정할 수 없었으나 5월하순이 다소 높은 수량을 보였다. 육묘이식재배의 경우 1, 2년생 묘주 5월상~중순 정식이 좋았다.

재식밀도는 1년생에서는 50×25cm로 소식했을 때 지상부생육과 근수량면에서 좋았으나 2년생의 경우는 50×10 또는 50×15cm로 밀식했을 때 수량이 높았다. 마타리는 야생식물이므로 시비반응이 다소 둔감한 편이었으나 1년생과 2년생 모두 10a당 질소 15kg 수준까지 증가하였다. 2년생 이후 추대 개화하는데 꽃대제거에 의한 수량증대 효과가 현저하였다.

마타리의 엽병이나 줄기는 삼목시 발근하지 않았으며 지하경에 의한 분주방법으로 번식할 때 12배의 증식이 가능하였다.

4) 수확 및 건조

실생을 재배하면 2년생부터 개화하며 생육연수가 경과할수록 근장과 근수가 많아지고 뿌리수량이 증가하였다. 뿌리의 성분 변화를 조사한 결과 3, 4-DHBA는 3년생, caffeic acid는 2년생, chlorogenic acid는 1년생에 많이 함유하였다.

기계화 수확의 생력효과는 경운기 부착 진동굴취기 이용시 63%, 트랙터부착 다목적 근수확기는 70%였다. 생근의 건조는 원적외선 건조시 건조가 빨랐으며 수분함량 30%로 건조하는데 열풍건조는 15일이 소요되었다.

나. 마타리 추출물의 성분평가 및 건강식품 개발 연구

1) 마타리 추출물의 성분평가 및 품질관리

가) 마타리 추출물의 성분평가 기준 확립

마타리 추출물의 성분평가를 위한 지표물질을 확립하기 위하여 마타리 추출물에 대한 TLC를 실시한 결과 마타리 추출물에는 phenolic compound와 saponin 계통의 물질이 많이 포함되어 있는 것으로 확인되었다.

마타리 추출물을 용매추출 방법에 의해 dichloromethane층, ethylacetate층, butanol 층으로 나누고 용매추출 결과 나온 분획들을 silica gel과 sephadex LH-20을 충전한 column을 사용하여 chromatography를 실시한 결과 얻어진 분획들을 대상으로 preparative HPLC를 실시하여 물질을 분리하였다. 분리된 물질을 대상으로 TLC 및 HPLC 등을 활용하여 대조물질과 비교 분석한 결과 마타리 추출물에는 3,4-dihydroxybenzoic acid, caffeic acid와 chlorogenic acid 등의 물질이 상당량 함유되어 있는 것이 확인되었다.

여러 종류의 마타리 추출물에서 HPLC 및 TLC 분석을 실시하여 그 성분을 비교하면서 함량이 적절하고 효능에 영향을 줄 수 있는 성분을 검색한 결과 chlorogenic acid와 caffeic acid가 품질관리에 가장 적절한 것으로 평가되었다. 따라서 지표물질을 chlorogenic acid와 caffeic acid로 결정하였다.

나) 생육환경 및 식물체 부위별 성분차이

마타리를 1년생, 2년생, 3년생으로 나누어 봄과 가을에 수확하여 건조한 뿌리의 추출물을 농축하고 동결 건조한 다음 모든 시료를 대상으로 HPLC를 이용하여 지표물질의 함량을 비교한 결과 다년생 초본인 마타리는 1년생이나 2년생에서 활성에 영향을 주는 caffeic acid와

chlorogenic acid의 함량이 높은 것을 확인하였다. 특히 chlorogenic acid는 봄에 채취하는 것보다 가을에 채취하는 원료에서 함량이 높았다. 따라서 마타리는 1년생이나 2년생을 가을에 채취하여 원료로 사용하는 것이 가장 바람직하다는 결론을 얻었다.

마타리를 잎, 줄기, 뿌리 등으로 나누어 추출한 후 성분을 분석한 결과 chlorogenic acid의 경우 특히 줄기에서 함량이 낮았으며, caffeic acid는 뿌리에서 함량이 높았다. 따라서 마타리는 뿌리가 우수한 원료임을 알 수 있었다.

마타리를 강원도 홍천과 태백 부근에서 채취한 것을 대상으로 지표성분의 함량을 비교하였다. 3, 4-dihydroxybenzoic acid 및 chlorogenic acid의 함량 차이는 별로 없었으나 caffeic acid의 함량은 0.5% 정도의 차이를 보였다. 이러한 차이는 샘플채취시 Pool의 개념으로 극복될 수 있다고 판단되며, 지표물질이 확립되었으므로 추출물의 품질을 관리하는데 기초적인 자료가 될 것으로 생각된다.

이상의 분석결과를 토대로 할 때 마타리는 생육조건이나 생육단계에 따라 지표성분의 편차가 큰 것으로 확인되었다. 따라서 제품화를 위해서는 가급적 pool 개념을 도입하여 원료를 확보하고 추출물을 제조하는 것이 바람직하다고 판단된다.

2) 마타리 추출물의 기능성 연구

마타리 추출물의 기능을 규명하기 위하여 여러 가지 문헌과 예비실험들을 통하여 검토한 결과 간기능 개선효과 쪽에 초점을 맞추어 연구하게 되었다.

마타리 추출물의 기능을 규명하기 위하여 간기능 개선효과를 조사하기 위한 세포모델과 동물모델을 확립하였다.

확립된 세포모델과 동물모델에서 마타리 추출물의 효능을 조사한 결과 마타리 추출물이 간의 경화와 관련된 단백질의 발현을 억제하여 간의 경화를 막는다는 사실을 규명하였다.

3) 마타리 추출물의 활성을 이용한 건강식품 개발

마타리 추출물의 안전성을 조사하기 위하여 중금속함량을 조사한 결과 식품공전에서 규제하는 납(Pb)은 1ppm 수준으로 허용치인 2.0mg보다 낮아 안전함이 확인되었다.

마타리 추출물을 활용한 간기능 개선용 건강식품을 생산하기 위한 대량생산공정과정을 연구하여 품질유지를 위한 개별 공정의 최적 조건을 확립하였다. 이러한 조건하에서의 생산수율은 10.9%였다.

마타리 추출물의 기능을 강화하기 위하여 여러 부재료를 이용하여 성능을 개선한 결과 가

장 좋은 formula를 확립하였다.

제품의 생산방안을 수립하기 위해 노력한 결과, 제형은 정제 type으로 하기로 결정하고 포장은 PTP포장이 습기를 막는데 합리적이라는 결론을 얻었다.

동물실험 결과 임상에서의 하루 섭취량은 2,000mg 수준으로 1회 2정씩 (500mg × 2정) 2회를 복용하는 것이 바람직할 것으로 판단된다.

위의 연구 결과들에 따라 마타리 추출물을 핵심원료로 하는 건강보조식품의 조성을 결정하였고 시제품을 OEM 방식으로 생산하였다.

2. 연구개발결과 활용에 대한 건의

선발계통은 영양게이프로 증식하여 품종보급이 가능하며 이식재배를 위한 육묘방법, 적정 육묘일수, 정식시기, 재식밀도, 시비량 등 재배법은 금후 재배농가에 지도 보급이 가능하며 분주방법은 육종품종 증식에 응용될 수 있습니다.

본 연구를 통하여 기 출원한 국내특허를 등록하였고 2002년 하반기에 중국과 일본에 특허를 출원하였다. 이 기술의 사업화를 위하여 참여기업인 (주)메드빌에서 건강기능성 식품으로 등록을 추진하고 내년 상반기에 제품을 출시할 예정이다.

SUMMARY

Title : Line Selection, Studies on the Cultural Practices and Health Food Development in *Patrinia scabiosaefolia*

Subtitle : Studies on the Cultural Practices and High Yielding Line Selection of *Patrinia scabiosaefolia*

Patrinia scabiosaefolia is a wild medicinal plant distributed in whole region of Korea. It was investigated that the extract of the plant have good liver protective effect in the pre-experiment. This study was performed to establish the cultural practices and develop the high yielding line, so as to contribute to produce the row material for the health food.

1. It was investigated that partinia species distributed in Korea were *P. scabiosaefolia*, *P. saniculaefolia*, *P. rupestris* and *P. villosa*. The two species *P. scabiosaefolia* and *P. villosa* were distributed in all the area, but *P. rupestris* was distributed at gaps of limestone and *P. scabiosaefolia* was discovered at Odae mountainous area.

Twenty collections of *Patrinia*, including two of *P. rupestris*, one of *P. saniculaefolia* and five of *P. villosa* were collected for plant resources in Kangwon, Chungbuk and Chunbuk province.

2. Superior lines were selected from the seedling population of gene pool and made the cloned lines using vegetative propagation. The result of yielding ability test, PS 0202, PS0204, PS 0209 and PS 0212 were estimated as superior lines.

3. Minimum and optimum temperatures for germination were at 15°C and 25~30°C, respectively. In case of raising seedling under greenhouse cultivation, aerial part was grown rapidly ranged from 30 days to 40 days after sowing and underground part showed great growth rate ranged from 40 days to 50 days.

On the basis of two years old, 30 days seeding had better root yield, but 40 days

seedling was preferable root yield in case of one year old. There was no difference because condition of establishment seedling showed inequality in case of direct sowing culture at field, but a little showed high yielding toward the end of May. In case of transplanting cultivation of raising seedling, transplanting time was suitable for ranging from the beginning of May to the middle of May in one year old or two years old seedlings.

The appropriate planting density was observed by 50×25cm distance in one year old plant but two years old one was showed by 50×15 or 50×20cm distance. The species is because of native plant, fertilizing response was somewhat insensible but growth and root yield was increased by nitrogen level up to 15kg per 10a in one year old and two years old plant. So as the *Patrinia* comes into bloom from the second years, it was effective of yielding increase by elimination of floral axis. Petiole and stem of *Patrinia* did not root up, but was possible to propagate about ten fold by dividing method of underground root.

4. When it is cultivated with seedling, it comes into bloom from the second years, with the progress of the cultural periods, the length, the number, and the yields of the roots are enlarged. As investigating the changes of the chemical compositions in the roots, 3, 4-DHBA is highest in the root cultivated for three years, furthermore, caffeic acid and chlorogenic acid highest in that of second year and first year of the cultivation, respectively. Labor saving effect of the mechanical harvesting was 63% in utilization of shaker-digger attaching to cultivator and 70% in multi-purpose root harvester attaching to the tractor. Far infrared radiation drying was faster to dry roots compared to hot air-drying methods which takes for 15 days to dry at 30% of moisture contents in roots.

Subtitle : Development of the method for the quality control and of the nutraceutical products using the extract from *Patrinia scabiosaefolia*

The purpose of this study was to analyse the chemical components and to examine the bio-function of *Patrinia scabiosaefolia* extract using the advanced scientific research tools, which can be used for the manufacturing of the health food. Especially the target of the health food using *Patrinia scabiosaefolia* extract is for the improvement of liver function.

1. Chemical analysis of the extracts revealed that phenolic compounds and saponins were major components in their quantity and the major phenolic compounds were chlorogenic acid (CLA), caffeic acid (CFA) and 3, 4-dihydro-benzoic acid (DHBA).

2. The amounts of phenolic compounds in the leaves and roots showed higher than branches. There was no significant difference in the quantities of phenolic compounds between the places and harvest period.

3. Caffeic acid and chlorogenic acid were determined as a component for quality control on the bases of the results from the TLC and HPLC analysis in the relationship with the bio-functions.

4. The extracts were prepared in bench scale was analyzed in heavy metals. In results, and the amounts of heavy metals including Pb were in the safe ranges, much less than maximum recommendation.

5. From the repeated analysis of the various extract of *Patrinia scabiosaefolia*, it was verified that the extraction method in bench scales were well established.

6. Liver protective activity (anti-fibrosis activity) of the extract were investigated in the cell system and animal model. In addition, when the extract was administered to the DMN-induced liver damaged rats and galactosamine-induced model for 2 weeks, the liver damage was reduced in some how. Thus, the same conclusions in the bio-functions were made from in vitro and animal experiments. Thus, the scientific and technical bases for the bio-functions might be enough to entering the market for product and promising the successful manufacturing and marketing.

7. The fractions extracted with organic solvents were chemically analyzed and examined of their bio-functions. Then, it was found that the dichloromethane and ethylacetate fraction had prominent anti-fibrosis activity than butanol fraction and water soluble residue.

8. From the searches on the size and characteristics of markets, it was realized that the population of the liver disease is more than 10% of the population, but the effective medicine or the health food against liver disease have not been well developed yet. Thus, a large niche market has been formed for the venture company.

9. In order to establish the proper manufacturing process the extraction method in bench scale were applied to the pilot scale. Then, the production yield of the extract was 10.9%.

10. Based on the above results, the extract could constitute as a major component of the food supplement (HepaPro). The remaining components were formulated on according to the product concept.

11. When HepaPro was administered to the galactosamine-induced liver damaged rats for 14 days, the GOT and GPT levels with the oral force feeding of HepaPro at the dose of 500mg/kg decreased to about 80% compared to the liver damaged rats.

12. It is expected that the manufacturing products of health food introduce to the market by Medvill Co., Ltd. in the next year.

CONTENTS

Chapter 1.	Background of the Project	-----	17
Chapter 2.	Research and development trends in and out of Korea	--	22
Chapter 3.	Experimental design, results and discussion	-----	25
Pharagraph 1.	Studies on the Cultural Practices and Line Selection of <i>Patrinia scabiosafolia</i>	-----	25
1)	Materials and methods	-----	25
2)	Results and discussion	-----	28
3)	Summary	-----	48
Pharagraph 2.	Development of the method for the quality control and of the nutraceutical products using the extract from <i>Patrinia scabiosafolia</i>	-----	51
1)	Materials and methods	-----	51
2)	Results and discussion	-----	60
3)	Summary	-----	84
Chapter 4.	Degree of achievement to the research gaol for the project and distribution to the related field	-----	86
Chapter 5.	Future planning and practice for the related area using the project results	-----	90
Chapter 6.	References	-----	92

목 차

제1장	연구개발과제의 개요 -----	17
1.	연구개발의 필요성 -----	17
2.	연구목적 -----	18
3.	연구개발 내용 및 범위 -----	20
제2장	국내외 기술개발 현황 -----	22
제3장	연구개발 수행내용 및 결과 -----	25
제1절	마타리 재배생산기술 개발 및 우량 계통선발 -----	25
1.	시험재료 및 방법 -----	25
가.	마타리 자원 수집 -----	25
나.	실생 집단양성 및 우량계통 선발 -----	25
다.	재배기술 개발 -----	25
라.	수확 및 건조 -----	27
2.	시험연구결과 및 고찰 -----	28
가.	마타리 자원 수집 분류 -----	28
나.	실생 모집단 양성 및 우량계통 선발 -----	32
다.	안전 다수확 재배기술 개발 -----	36
라.	수확 및 건조 -----	46
3.	적 요 -----	48
제2절	마타리 추출물의 성분평가 및 건강식품 개발 연구 -----	51
1.	시험연구 수행방법 -----	51
가.	마타리 추출물의 성분평가 및 품질관리 -----	51
나.	마타리 추출물의 생리활성연구 -----	55
다.	마타리 추출물의 제품화 연구 -----	59
2.	시험연구결과 및 고찰 -----	60
가.	마타리 추출물의 성분평가 및 품질관리 -----	60
나.	마타리 추출물의 생리활성연구 -----	69
다.	마타리 추출물의 제품화 연구 -----	75
3.	적 요 -----	84

제4장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	86
1.	목표 달성도	86
가.	마타리 재배생산기술 개발 및 우량 계통선발	86
나.	마타리 추출물의 성분평가 및 건강식품 개발 연구	87
2.	관련분야의 기여도	88
가.	품종개발 및 재배기술 보급에 의한 효과와 부산물 이용	88
나.	마타리의 기능성 및 제품화의 기여도	88
다.	소득효과 분석	89
제5장	연구개발 결과의 활용계획	90
1.	연구개발 결과의 활용	90
가.	품종개발 및 재배기술 보급	90
나.	마타리 추출물의 특허출원 및 건강식품 생산판매	90
2.	추가연구의 필요성	91
제6장	참 고 문 헌	92

제1장 연구개발과제의 개요

1. 연구개발의 필요성

세계무역기구(WTO)는 자유무역에 의한 무한경쟁을 통하여 생산성 증대를 유도하고 있으나, 이 과정에서 상대적으로 기술과 자본이 열세한 나라는 시장개방 압력을 거세게 받고 있다. 우리나라의 경우도 특히 농업부분의 경쟁력이 떨어지며 값싼 노동력을 가진 중국이나 미국 등 대규모 기계화로 생산비를 낮춘 선진 농업국의 농산물에 비해 국내산의 가격경쟁력이 현저히 낮아 우리 농산품이 설자리를 잃고 있어 농업의 기반마저 위태롭게 하고 있다.

더욱이 쌀을 제외한 식량작물은 생산성, 품질 및 생산비 측면에서 선진농업국에 뒤떨어지며 후발 농업국에 비해서는 가격 경쟁력이 떨어지고 있어 상대적으로 소득이 높은 원예작물이나 약용작물 재배가 늘고 있다. 이들 작물에 있어서도 품질의 차별화를 위하여 기술집약적인 정밀농업과 특정 기후 토양에 알맞은 지역특산 농산품으로 육성하기 위해 부단한 개발 노력이 필요하다. 따라서 앞으로 우리나라의 농업은 다품목 소면적 특산화 추세로 발전할 것이며, 다른 한편으로는 새로운 소득작물의 개발에 보다 많은 투자가 필요하게 될 것이다.

식량작물이나 원예작물과 같이 직접 이용이 가능하거나 생산자나 소비자가 단순 가공하여 이용할 수 있는 작물의 경우 소비자 기호 그리고 재배기술과 생산성에 의해 작물개발의 성공여부가 결정된다. 그러나 특용작물의 경우에는 반드시 가공 상품이 우선되어야 수요가 창출되고 작물로 개발할 수 있기 때문에 재배기술에 가공기술을 더한 package화된 종합기술이 요구된다. 1960~'70년대의 섬유작물의 퇴조와 이후 많은 특용작물이 사라진 것도 가공산업이 뒷받침해 주지 못한데 원인이 있다.

최근 들어 많은 농산품이 건강식품 또는 기능성식품으로 개발되고 있는 것도, 근본적으로 농산품의 소비확대와 부가가치를 창출하고, 경쟁력을 키워 살아남기 위한 수단이다. 신약의 개발은 장기간의 연구와 투자가 필요하므로 기술과 자본력이 있는 선진국이 주도하고 있는데 의약품의 경우 독성이 없어야 하므로 화학물질의 합성보다 천연물의 혼합이나 정제합성으로 성공한 예가 많다. 우리나라는 한의학의 오랜 전통을 자랑하고 있으며 많은 한방 임상 경험과 지식을 축적하고 있으므로 이 기술을 활용하면 의약품개발에 있어서 발전 가능성이 매우 크다고 할 수 있다.

우리나라의 건강보조 식품은 1980년대 초의 효소제품을 효시로 20년의 짧은 역사를 가지고 있지만 1990년대 초부터는 그 시장규모가 급성장하여 연 20~40%의 성장률로 1996년에

는 1조원에 달하였다(노 등, 1999). 이렇게 시장의 규모가 성장하는 중요한 이유는 빠른 경제 성장으로 인한 생활습관과 식습관의 변화로 불균형 영양섭취, 농약과 화학비료에 의존한 현대농법에 의한 작물재배, 환경오염 물질의 농산물 집적 및 공기오염, 또 식품첨가제 및 방부제 등을 함유하고 있는 수입농산물의 소비, 운동부족 및 스트레스 등으로 건강에 위협을 받기 때문이다.

건강보조식품의 원료 중 80% 이상이 미국, 일본, 중국, 호주 등에서 수입하고 있으며 알로에, 정제 어유, 효소 등 일부 원료를 제외하고는 전량 수입에 의존하고 있어 이에 대한 국내 자원의 개발 및 제품개발이 시급히 이루어져야 할 것으로 생각된다.

마타리는 우리나라 자생 식물로 한방에서는 장염, 이질, 충수염, 간염치료약으로 이용하며, 민간에서는 뿌리를 달여 위장염, 적리 등에 쓰고, 어린잎은 나물로 식용한다. 따라서 간질환 치료효과가 검증된 생약이기 때문에 치료약으로 개발 가능성이 크다.

마타리는 대한약전의한약(생약)규격집에 폐장으로 수재된 한약재이나 국내에서는 이용이 적기 때문에 재배되지 않는 약용식물이며, 현재는 야생 채취와 수입으로(2002, 3,732kg) 수요를 충당하고 있다. 마타리를 이용한 건강보조식품이나 의약품을 개발하여 생산할 경우는 원료의 안전공급이 보장되어야 하며 원료의 성분이나 함량이 균일하여야 제품의 규격이나 약효의 균일성이 보장될 수 있다.

야생채취의 경우 무분별한 남획에 의한 자원 고갈이 우려되며, 외국산을 수입할 경우 외화 낭비와 원료의 안정적 공급도 어렵다. 따라서 농가와 계약을 통한 재배생산이 가장 안전하고 농가소득도 기대므로, 재배생산을 위한 작물화 기술개발이 필요하다.

또한 전통 한약재와 나물로 이용되고 있는 야생 약초를 이용한 건강기능성 식품을 개발하고 제품화할 경우 부가가치 높은 새로운 수요를 창출하게 이에 따라 농가 소득 작물로 개발이 가능할 것이다.

2. 연구목적

지적 소유권이 강화되면서 의약품원료의 개발은 고부가가치 산업으로 발전하고 있으며 천연물을 이용하여 독성 없는 원료약품을 개발하기 위한 노력이 계속되고 있다.

오랜 한방의 전통을 가진 우리나라에서는 임상적으로 효능이 입증된 천연물을 이용한 약제의 개발이 점차 활성화되고 있으며, 이 분야의 발전 가능성은 매우 크다고 할 수 있다. 효과적인 B형, C형 간염치료제 및 간경화 치료제가 없는 현상황에서 마타리의 약리성분과 효

능을 검증함으로써 간질환 치료제 개발의 가능성을 기대할 수 있다.

또한 국내 자생 부존자원의 활용을 위한 작물화 기술을 개발하여 농가에 보급함으로써, 이미 개발된 건강식품 및 간염치료제 생산원료 공급을 원활히 하고 고품질 원료를 생산 공급할 수 있을 것이다. 또한 부가적으로 마타리를 山菜 및 절화용 화훼작물로 활용할 수 있을 것으로 기대 된다.

본 연구는 규격화한 마타리 원료생산을 위한 기초 재배기술을 개발하며, 품질이 우수하며 균일한 제품원료 생산을 위한 우량계통을 선발 보급하는데 목적을 두고 있다. 아울러 추출물을 이용한 건강식품을 개발하여 제품화하기 위하여 성분 및 기능성에 대한 연구와 제품생산 공정 개발 및 품질유지 방안 등의 연구를 목적으로 하고 있다.

3. 연구개발의 범위

1. 마타리 재배생산기술 개발 및 우량 계통선발

가. 마타리의 유전자원 수집분류

- 1) 국내외 유전자원 수집 분류
- 2) 수집종의 순계분리 및 특성조사

나. 마타리 수집종의 생산력 검정 및 우량계통 선발 보급

- 1) 순계 또는 영양계의 특성 및 생산력 검정
- 2) 우량계통 선발, 종묘증식 및 보급

다. 마타리 안전다수확 재배기술개발

- 1) 육묘방법 연구
- 2) 과중기 및 정식기 구명
- 3) 재식밀도 연구
- 4) 시비량 구명
- 5) 영양계번식 방법
- 6) 꽃대제거효과 구명

라. 수확 및 조제관리 기술

- 1) 연생별 수량 및 성분함량
- 2) 생력화 수확 및 건조방법 연구

2. 마타리 추출물의 성분평가 및 건강식품개발 연구

가. 마타리 추출물의 성분평가 및 품질관리기준 확립

- 1) 추출물의 제조방법의 표준화
- 2) 추출물의 품질관리를 위한 일반 성분분석
- 3) TLC에 의한 추출물의 성분확인
- 4) 지표물질 설정
- 5) HPLC를 이용한 성분평가방법 확립

6) 재배환경 및 식물체부위별 성분 차이

나. 마타리추출물의 기능성 연구

- 1) 간 기능의 개선 효능 구명을 위한 세포실험 모델 확립
- 2) 간 기능 개선 효능 확인을 위한 동물모델 확립
- 3) 세포 및 동물 모델에서 마타리 추출물의 기능성 평가

다. 마타리 추출물의 제품화 연구

- 1) 마타리 추출물의 활성을 이용한 건강식품 개발
- 2) 제품의 생산방안 확립: 제형 결정
- 3) 제품의 바람직한 formula 확립
- 4) 대량 생산공정 확립 (pilot scale)
- 5) 시제품 생산

제2장 국내외 기술개발 현황

마타리속 (*patrinia*) 식물은 중국, 한반도, 일본에 분포하는데 국내에는 마타리, 딱갈, 돌마타리, 금마타리, 가는잎마타리, 흰마타리가 보고되어 있으며 생약재로는 마타리와 딱갈을 주로 이용하며 돌마타리도 유사한 약효가 있다. 금마타리 (*P. saniculaefolia*)는 한국특산 식물로 기록되고 있다.

본초학에서는 마타리가 淸熱, 解毒, 排膿 효과가 있다고 하며 임상결과 간염치료와 간세포 재생촉진 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 마타리의 주성분은 사포닌 성분인 patrinoside로 사포닌과 마찬가지로 용혈작용, 극소자극 작용이 있으며, 마타리 총배당체는 진정, 혈압강화, 강심작용이 있는 것으로 알려졌다.

同屬 식물인 딱갈 (*P. villosa*), 돌마타리 (*P. rupestris*)의 전초는 간염치료 효과가 있다. 딱갈은 또한, 항균작용이 있으며, 바이러스에 대한 억제력과 간세포 재생촉진, 간세포의 변질, 괴사를 방지하는 작용이 확인되었다.

국내에서는 마타리 추출물을 이용한 건강식품 및 간염치료제 개발을 위하여 마타리 추출물의 독성 및 약리시험을 실시하였다. 급성독성시험에서 임상증상의 이상이 없었고 병리조직 검사에도 이상이 관찰되지 않았다. 쥐를 대상으로 4주간 반복 투여한 아독성시험에서도 임상적 이상 증후와 조직학적 이상이 없었으며 체중, 혈청, 뇨검사 등 병리검사에서 유의적 차이를 보이지 않았다. LD₅₀은 쥐에서 15g/kg 이상 최고 무해용량은 500mg/kg 이상으로 장기복용시에도 안정성이 높았다.

변이원성을 검정하기 위하여 *Salmonella typhimurum* 균주, 5종을 이용한 복귀돌연변이시험, 시험쥐 골수를 이용한 소핵시험, 직접법과 대사활성법에 의한 염색체 이상 시험결과 모두 안전하였다.

일반 약리시험에서 실험쥐의 약효를 나타내는 용량의 10배량을 경구투여한 결과 중추신경계, 소화기계, 자율신경계, 심혈관계 및 호흡계에 부작용이 없었으며 다만 소화액분비를 촉진하는 현상을 보였다.

간질환은 현대인에게 발병율이 높고 치료도 어려운 질병으로 지방간, 간염, 간경화, 간암이 있으며 바이러스, 알콜 그리고 생활이 복잡한 현대인의 스트레스 등이 원인이다. 간염바이러스는 A형, B형, C형간염 바이러스가 있으며 B형간염 환자는 우리나라를 비롯한 동남아인에 많고 C형간염 환자는 미국, 유럽, 일본 등 선진국에 많다. B형간염 치료는 대증요법에

의존하고 있고, B형 만성간염은 Adenine arabinoside (ara-A), acydovir, inteferon 등 항바이러스제 또는 면역증강제제 및 스테로이드 등이 처방되고 있으나 부작용이 있고 효과도 적다. C형 간염의 경우 ribavirin은 효과가 불완전하고, 간의 섬유화와 같은 심각한 부작용을 동반한다.

마타리 뿌리의 주성분은 saponin으로 (Sidorovich, 1966) 알려졌으며, 또한 마타리, 똑갈 (Taguchi 등, 1973; 1974) 및 *P. scabra*에서 (Kouno 등, 1994; 1995) Iridoide glucoside 계열의 partinoside가 밝혀졌다.

Nakanishi 등 (1993)은 마타리 종자에 ursolic acid, oleanolic acide glucoside를 함유한다고 보고하였고, *P. gibbosa* 뿌리에서 gibboside가 밝혀진 바 있으며 (Uesato 등, 1987), 마타리 경엽에서 kalopanax saponin B, triterpenoide saponin H3를 추출하였다 (강삼식 등, 1997).

마타리는 우리전통 한방과 중의학에서 간염치료에 처방하였으며 항균 및 virus 억제력이 있고 간세포 변질 피사를 방지하는 작용이 인정되며, 급성 및 아급성 시험결과 임상 및 병리적 이상이 없고, 일반 약리시험에서 부작용이 없는 것으로 나타났다. 또한 C형 간염환자에 투약한 결과 탁월한 치료효과를 보였다.

뿌리를 말리면 간장 썩은 냄새가 나기 때문에 한방에서는 敗醬이라 하며, 어린순은 산채로 식용하므로 개암취라 불리며, 식품공전에는 야생식물류로 분류되는 식품원료이다. 따라서 약효가 인정되고, 독성에 대한 안전성도 인정되는 식물이다.

그러므로 마타리 추출물을 이용하여 개발한 건강식품이 현대인에 흔하게 나타나고 치료가 어려운 간질환에 효과가 있을 것이 확실하며, 앞으로 의약품으로 개발이 가능할 것으로 전망된다. 참여기업에서는 본 제품생산 원료공급을 위하여 재배자와 계약을 통하여 재배생산을 계획 중이므로, 야생식물인 마타리를 재배하기 위한 기초재배 및 종묘생산기술 그리고, 고품질 마타리 생산을 위한 우량품종의 선발, 보급이 시급하다.

작물시험장에서 예비 시험한 결과로는 포복경과 종자번식이 가능하고 재배가 용이하여 재배생산에 어려움이 없을 것으로 판단되며 채소로 개발 가능성도 크다. 마타리의 발아율은 10%이하로 낮으며, 24~30℃의 변온에서 발아가 양호하다고 하였으며, 중국에서는 춘파와 추파를 하는데 남부지방(사천성)에서는 9~10월에 추파하며, 북방에서는 3~4월에 춘파하며, 추파는 25cm, 춘파는 30cm 간격으로 조파한다 (진영, 1999).

4~5월에 분주하여 번식하고 재식거리 30×30~25cm, 주당 2~3주를 심으며, 분주하면 식재당년 7~8월에 개화하므로 전초를 이용할 경우 개화 전에 採根한다 (중국의과학원 약용자원개발연구소, 1991).

꽃은 작고 산방화로서 7월부터 9월초까지 2개월 이상 오래 피어 있어 일본 등 외국에서는 화훼식물로 이용하고 있어 화단용 화초 또는, 절화용으로 서도 개발 가능성이 있다. 절화용 마타리 재배에서 적심이 화경을 적게 하고 경수의 증가에 영향을 주었다고 하였다 (권 등, 1996).

제3장 연구개발 수행내용 및 결과

제1절 마타리 재배생산기술 개발 및 우량 계통선발

1. 시험재료 및 방법

가. 마타리 자원 수집

국내에 자생하는 마타리 및 동속 식물자원을 수집하기 위하여 2001년부터 강원도, 충북, 전북 등지의 평야 및 야산의 도로면 절토지에 분포하는 식물의 영양체를 채집하여 작물시험장 포장에 순화재배를 거쳐 영양번식을 하였다.

나. 실생 집단양성 및 우량 계통선발

1) 개체선발

수집한 마타리 자원포장에서 자연 채종한 종자를 2001년도에 연결포트에 파종하여 실생묘를 양성하였다. 실생 30일 묘를 5월 중순에 포장에 검은 비닐피복하고 50×20cm로 정식하였다. 시비는 퇴비 1,000kg/10a기준으로 사용하고 화학비료는 사용하지 않았다.

실생 집단에서 외관상 우수개체를 선발하였다. 이듬해 선발개체를 포장에 다시 정식하고 2년생을 2차 선발하여 특성조사하고 무가온 비닐하우스에 월동하였다. 2003년에 추가 선발을 실시하였다.

2) 우량계통 생산력검정

2003년 5월 선발한 2년생을 다시 캐서 분주하여 영양계를 양성하였다. 영양계는 검은 비닐은 피복하고 50×20cm로 포장에 정식하였다. 시비는 10a당 퇴비 1,000kg를 전량 기비로 사용하였다. 잡초관리는 손제초 하였으며 11월초에 인력으로 수확하여 특성 및 생근수량을 조사하였다.

다. 재배기술 개발

1) 공시재료

본시험에 공시한 재료는 1999년 강원도 홍천군 내면 일대 야산에서 자생하는 마타리를 채집하여 수원시 서둔동 소재 작물시험장 약용작물포장에 정식하고 매년 종자를 채종하여 시

험재료로 사용하였다.

원식물은 식물기원을 확인하고 작물시험장 약용식물자원 표본실에 보존하고 있다.

2) 발아시험

전년도에 채종한 종자를 상온에 보관하였다가 정선하고 육안으로 판별하여 잘 익은 종자를 골라 시험재료로 사용하였다. 선별된 종자를 일반 수돗물에 1일정도 침지한 후 샬레에 흡습지를 깔고 200립씩 치상하였다. 광조건과 암조건에서 처리온도를 각각 15, 20, 25, 30℃로 하였다.

3) 육묘방법

과종기 시험을 제외한 재배기술연구의 포장시험은 육묘 이식하였다. 육묘는 연결포트 54×29cm) 406공에 일반 상토를 넣고 파종하였다. 육묘는 주20/야15℃ 이상유지 또는 온실에서 수행하였다. 파공마다 점파한 다음 출아 후 수시로 습음하여 1분씩을 육묘하여 시험재료로 이용하였다.

4) 기초 재배기술 연구

육묘일수 시험은 5월 9일 정식을 기준하여 30, 40, 50, 60일 묘를 생산하기 위하여 3월 6일 파종 (60일 묘), 3월 16일 파종 (50일 묘), 3월 26일 파종 (40일 묘), 4월 6일 파종 (30일 묘)한 후 정식 전에 묘소질을 조사하였다.

과종적기를 구명하기 위하여 4월 20일부터 10일 간격으로 6월 10일까지 5회 파종하였다. 파종은 정지후 0.02mm 검은 비닐을 피복하고 파공을 만들고 10여립을 점파한 후 출아 후 습음하였다.

실생묘 정식적기 구명시험은 406공 연결포트에 파종하여 온실에서 육묘한 50일묘를 이용하여 4월 15일부터 10일 간격으로 5회 정식하였다.

재식밀도 시험은 열간거리를 50cm로 고정하고 주간거리를 각 10, 15, 20, 25, 30cm로 하여 5월 12일에 50일 묘를 정식하였다.

질소시비적량 구명을 위하여 질소수준을 10a당 0, 5, 10, 15, 20kg 수준을 두고 요소비료를 기비로 시용하였고 인산과 가리는 5kg로 고정하여 용성인비와 염화가리를 기비로 시비하였다. 50일묘를 정식하였다.

포장시험은 2001~2003년에 실시하였으며 시비량은 10a당 퇴비 1,000kg은 기비로 시용하

였으며, 포장정지 후 검은 비닐 (0.02mm)를 피복하였으며 재식거리는 50×20cm로 하였다. 제초제는 처리하지 않고 수시로 손제초 하였으며 수확은 11월초에 인력으로 수확하였다.

각 시험은 난피법 3반복으로 배치하였으며 시험구 크기는 3.6 × 4.8m로 하였다.

5) 번식방법 시험

삼목시험은 2001년 6월말 엽병 및 줄기를 5cm 길이로 잘라 삼수를 만들어 삼목하였다. 상토는 모래, 질석, 진흙을 사용하였고, 삼수 하단을 물에 적신 후 발근제인 루톤분제 (0.4%)를 분의 처리하였다. 삼목상은 그늘진 곳에 비닐터널을 설치하여 공기습도를 포화상태로 유지하면서 삼목 후 40일까지 관찰하였다.

분주시험은 2년생 실생의 근경을 맹아가 가능하도록 절단하여 분주묘로 이용하였으며 실생 30일 묘를 대조로 하였다. 시험구는 난피법 3반복으로 실시하였다.

라. 수확 및 건조

마타리 연생별 생육 및 수량성 비교는 재배기술 연구에서와 같은 방법으로 재배하여 생육 및 근수량 관련 특성과 수량성을 비교하였다.

수확의 생력화를 위하여 인력수확을 대조구로 하여 경운기부착 전동수확기 및 트랙터부탁 다목적굴취기를 이용하여 2003년에 2년생을 수확하였다. 재배법은 재배기술 연구에서와 같은 방법으로 하였으나 기계화작업 위하여 비닐피복은하지 않았다. 시험면적은 100m²로 하였다. 수확손실은 인력수확을 기준으로 기계수확과의 차이를 이용하여 추정하였다.

건조방법 비교 시험은 2003년 11월 초에 수확한 생근을 세척하고 물기가 없도록 한다음 처리별로 2kg의 시료를 취하여 양건, 비가림 하우스 건조, 열풍건조 (40℃) 및 원적외선 건조기에 건조하였으며, 처리 후 경시적으로 무게를 평량하여 수분함량을 조사하였다.

2. 시험연구 결과 및 고찰

가. 마타리 자원 수집 분류

1) 마타리의 종의 분류 및 분포

마타리는 마타리과 (valerianaceae) 마타리 (patrinia)속 식물이며 우리나라에 분포하는 마타리속 식물은 마타리 (*P. scabiosaefolia* Fish.), 금마타리 (*P. saniculaefolia* Hemsl.), 돌마타리 (*P. rupestris* Juss.), 뚝갈(*P. villosa* (Thunb.) Juss.)가 있으며 (이창복, 1980), 그외 가는잎마타리 (*P. intermedia* Roem. et. Schu.), 흰마타리 (*P. scabiosaefolia* Fish. var. *albus* C. T. Song)에 대한 보고가 있다 (송주택, 1983).



사진 1. 마타리 꽃과 자생지 환경

중국에는 패장 (*P. scabiosaefolia* Fish ex Link), 苦齊公 (*P. billosa* Juss), 巖패장 (*P. rupestris* Juss), 백화패장 (*P. sinensis* (Levl.) Koidz), 墓頭回 (*P. heterophylla* Bunge), 糙

葉패장 (*P. scabra* Bunge), 西伯利亞패장 (*P. sibirica* (L.) Juss) 등이 보고되고 있으며 (중국 본초도록, 1991), 일본에는 *P. villosa*, *P. scabiosaefolia*, *P. angustifolia* (原色和漢藥圖鑑)이 보고되고 있다.

마타리는 줄기가 곧추 서고 키가 1~2m되며, 윗부분에서 가지치고 하부에 다소 거친 털이 있으며 지하경이 옆으로 뻗어 새싹을 낸다. 근엽은 잎자루(엽병)가 길며 경엽은 잎자루(엽병)가 위로 갈수록 없어지며 두대우상(頭大羽狀)으로 갈라지고 열편은 긴 타원형 또는 선형이며 밑으로 갈수록 작아지고 끝은 뾰족하며 가장자리는 밋밋하거나 거친 톱니가 있다. 근엽은 총생하며, 경엽은 대생한다.

꽃은 7월~8월에 피고 무한화서로 개화기간이 2개월 이상 지속한다. 꽃은 가지와 줄기 끝에 산방상으로 달린다. 화관은 5갈래지며 노란색이고 지름 3~4mm이다. 수술 4개, 암술 1개이며 자방 하위로 3실(室)이고 그중 1실(室)만이 열매를 맺는다. 돌마타리는 키가 20~60 cm로 작고 털이 거의 없고 줄기는 곧추서며 모여나고 다소 늘어지며, 자색을 띤다. 잎은 우상으로 깊게 갈라지며 열편은 긴 타원형 또는 피침형이고 밑으로 갈수록 작아지며 끝은 뾰족하고 가장자리는 밋밋하거나 톱니가 약간 있으며 표면에는 유두상의 낮은 돌기가 있고 가장자리에 위를 향한 짧은 털이 있으며 뒷면 맥 위에 약간 털이 있거나 없다.



사진 2. 마타리의 총생엽



사진 3. 금마타리(좌)와 돌마타리(우)

금마타리는 키가 20~30cm로 가장 작고 줄기는 곧추 서고 대생엽 사이에 털이 밀생한 줄이 있다. 근엽은 잎자루가 길고 둥글며 5~7개로 손바닥 모양으로 갈라지며 열편은 다시 3개 또는 톱니처럼 갈라지고 끝은 다소 둔하며 맥 위를 따라 연모가 있다. 경엽은 잎자루가 극히 짧으며 손바닥 모양 또는 우산 모양으로 깊게 갈라지고 표면 기부에는 털이 밀생하나 뒷면은 털이 거의 없다. 개화가 6월~7월로 다른 종보다 빠르다.

뚝갈은 키가 150cm 내외이며, 전체에 짧은 털이 밀생하고 줄기는 곧추 서며 지하경이 옆으로 뻗어 번식한다. 잎은 엽병은 있으나 위로 갈수록 없어지며 단엽이거나 또는 전열하거나 두대우상으로 깊이 갈라지고 열편의 끝은 뾰족하며 가장자리에 톱니가 있고 뒷면은 흰빛이 돈다. 꽃색은 백색이다.

마타리는 우리나라 전역에 분포하며 높은 산의 끝자락에 나무가 적어 햇볕이 잘 드는 곳으로 특히 절개지에 많이 분포하며, 배수가 양호한 토양에 잘 자라나 습하거나 건조한 곳에서도 비교적 잘 견디는 것으로 관찰되었다. 근경에 의한 영양번식과 종자번식을 하므로 주로 소군락을 형성한다.

뚝갈은 꽃이 희고 잎 뒷면에 흰빛이 나는 털이 밀생하여 마타리 보다 다소 거칠은 감이 있고 근경의 번식력이 마타리 보다 낮아 군락형성이 빈약하고 따라서 분포도 적은 것으로 관찰되었다. 한편 돌마타리와 금마타리는 분포지역이 제한적이며 돌마타리는 주로 석회암의 바위틈에 자생하며, 금마타리는 능선의 바위사이에 자생한다.



사진 4. 뚝갈의 꽃과 전초

2) 마타리 자원 수집

마타리 유전자원을 수집하기 위하여 전국 자생지를 찾아서 수집을 한 결과 현재 옥천 등지에서 21점을 수집하였다. 수집내역은 마타리 13, 딱갈 5, 돌마타리 2, 금마타리 1점이며, 금수집한 식물체는 온실에서 순화시켜 재배시험포장에 정식하였다. 정식한 식물체는 활착과정에서 고사하거나 추대 후 뿌리가 부패하여 사멸하는 것도 있어 특성조사가 곤란한 경우가 생겨서 수집을 계속하고 있다. 수집지역 및 수집종은 표 1과 같다.

표 1. 마타리 자원 수집

	구 분	수 집 지 역	비 고
1	마타리	작물시험장 보존포	대엽형
2		평창 산채시험장	
3		강원 홍천 정완규 농가	
4		충북 옥천 가산면	
5		충남 무주군 싸리재	
6		전북 진안 약초시험장	
7		전북 진안 덕태산	
8		전북 무주군 부남면	
9		경기 양평군 용문사 입구	
10		강원 홍천 남면 머느리고개	
11		강원 인제 남천리 소양댐 주변	
12		강원 양양 서면 송천리 구령령	
13		강원 평창 평창 강변	
14	돌마타리	강원 평창 노동리 아랫질거리	
15	돌마타리	강원 영월 동강 어라이언 당화교	
16	딱갈	평창 산채시험장	
17	딱갈	충북 옥천 안내 답양리	
18	딱갈	전북 진안 덕태산	
19	딱갈	무주 - 금산 국도변	
20	딱갈	설악산 흔들바위 주변	
21	금마타리	강원도 평창 오대산	

나. 실생 모집단 양성 및 우량계통 선발

1) 실생 모집단육성 및 개체 선발

2001년 실생 모집단에서 달관적으로 우수한 500개체를 포장선발한 후 선발개체의 포기를 캐서 뿌리특성을 조사하여 최종 선발하였다 (표 2).

선발된 개체는 근부 형질이 다수성 관련 특성을 가지고 있거나 초형이 우수하였다. 선발개체의 특성을 보면, 근장은 최저 29cm에서 최고 40cm였으며, 근수는 7.0~14.2개의 범위에 분포하였고, 개체당 생근중은 93.0~510g으로 변이가 대단히 컸는데, 그 원인은 개체별로 생육 환경이 다소 영향을 미친 것으로 생각된다. 생근중이 300g 이상 되는 개체는 PS 0201 313.3g, PS 0205 395g, PS 0207 510g, PS 0211 470g, PS 0212 312.9g 등 5개체였다.

PS 0203은 근중은 적었으나 세엽형이며, 잎 주연이 결각이 큰 특성이 있고, PS 0206, PS 0213, PS 0214는 직립형으로 수광초형으로 평가되었다.

선발된 우량개체의 근경을 분주하여 영양계를 양성하고 2003년에 계통별로 단반복으로 생산력을 검정하였다. 11월초 수확전에 조사한 지상부 생육특성은 표 3과 같다. 총생엽 초장은 최저 18cm에서 최고 45cm로 변이가 컸고, 총생엽수는 주당 6.9~19엽의 범위에 분포하였다. 주당 생경엽중은 계통간에 큰 차이를 보였는데 PS 0206은 148g으로 초대형이었다. PS 0209 및 PS 0214도 지상부 생육이 왕성한 특성을 보였다.

근경을 분주한 영양계이므로 개체간 변이가 다소 있으나 계통간에 추대율의 차이를 보였다. 대체로 20%정도 였으나 35%이상 되는 계통은 PS 0205, PS 0211, PS 0214 였다. PS 0214는 67%로 가장 높은 추대율을 보였으며, 이로 인해 근수량이 낮았을 것으로 생각된다.

한편 근부 수량 관련 특성으로서 근장은 18.3~24.9cm로 큰 변이를 보이지 않았으나 주당 근수는 6.5~11.9개였고, 근직경은 5.1~10.9mm의 변이폭을 보였다. 주당생근중은 최소 55.5g에서 최고 138.5g으로 변이가 컸다. 10a당 생근수량을 계산한 결과 PS 0202는 360kg, PS 0204 357kg, PS 0209은 410kg, PS 0212는 413kg으로 다수성을 보였다.

PS 0202는 잎이 적색을 띠며, PS 0204는 결각이 깊고, PS 0209는 뿌리가 길고 굵어서 다수성을 보였으며 잎은 장타원형이었다. PS 0212도 근수가 많고 결각형 잎을 가지고 있다. 이러한 계통들은 곧바로 영양번식으로 증식하면 균일성이 높은 계통으로 보급도 가능하다.

2003년에 실생 모집단에서 추가로 선발한 개체의 특성은 표 5, 표 6과 같다. PS 0306은 지상부 생육이 왕성하고, 주당 근중이 무거웠으며, PS 0302, PS 0304, PS 0305도 개체당 뿌

리무게가 무거운 다수성 특성을 가지고 있어 육종재료로 활용할 수 있을 것이다. 그러므로 특성 평가와 선발을 위한 시험연구가 계속 이루어져야 할 것이므로 금후 기본연구과제로 수행할 계획이다.

표 2. 마타리 선발개체의 지하부 생육특성 (2002)

계 통	근장 (cm)	근수 (개/주)	근직경 (mm)	생근중 (g/주)	선발특성
PS 0201	30.3	13.0	10.2	313.3	다수성
PS 0202	34.2	13.8	10.1	210.0	적색엽
PS 0203	29.0	7.0	8.9	93.0	세엽병, 결각심함
PS 0204	31.7	8.3	10.4	128.3	장엽형
PS 0205	32.0	17.0	14.2	395.0	다수성
PS 0206	32.5	14.8	9.2	183.8	직근성, 직립형
PS 0207	40.0	22.0	14.3	510.0	다수성
PS 0208	35.0	10.0	11.3	249.0	내도복
PS 0209	35.4	12.9	9.7	267.1	내도복
PS 0210	39.0	15.8	9.1	251.3	내도복
PS 0211	35.3	14.7	13.2	470.0	다수성
PS 0212	34.0	12.3	10.9	312.9	다수성
PS 0213	32.0	11.5	10.0	257.5	직립형
PS 0214	32.2	10.2	9.0	178.3	직립형
평 균	33.8	13.1	10.8	272.8	

표 3. 우량 계통(영양계)의 지상부 생육특성 (2003)

계통번호	초장 (cm)	엽수 (매/주)	엽폭 (cm)	경수 (개/주)	생경엽중 (g/주)	추대율 (%)	병해정도 (0-9)
PS 0201	36.6	6.9	7.6	2.3	40	19	1
PS 0202	35.2	7.0	6.4	2.0	38	25	3
PS 0203	39.9	9.2	7.7	2.2	59	23	3
PS 0204	33.6	12.0	7.3	3.0	59	22	1
PS 0205	18.0	8.0	6.0	3.0	20	35	1
PS 0206	39.3	19.0	9.0	2.1	148	21	3
PS 0207	38.1	10.6	7.1	2.7	75	24	3
PS 0208	46.0	10.8	6.6	1.9	90	19	1
PS 0209	41.1	13.6	6.8	1.9	106	29	3
PS 0210	35.8	7.8	6.2	1.0	39	23	3
PS 0211	34.6	8.1	7.6	1.6	41	45	3
PS 0212	32.1	8.3	6.3	1.5	52	18	1
PS 0213	39.4	10.3	6.9	1.1	84	19	1
PS 0214	27.3	10.3	6.0	1.0	44	67	1
평 균	35.5	10.1	6.96	1.95	63.92	27.8	2.0

표 4. 우량 계통의 근부 특성 및 수량 (2003)

계통번호	근장 (cm)	근수 (개/주)	근직경 (mm)	근중 (g/주)	생근수량 (kg/10a)	주요특성
PS 0201	23.3	6.8	6.4	81.7	280	장타원엽, 중간형 적색엽
PS 0202	22.1	8.4	5.9	112.0	360	
PS 0203	21.6	8.0	6.0	137.5	237	장타원엽, 직립형
PS 0204	23.3	9.0	5.8	88.5	357	결각엽, 중간형
PS 0205	22.0	6.0	8.4	105	227	결각엽, 포복형
PS 0206	24.3	7.0	6.8	138.5	250	직근성, 직립형
PS 0207	22.7	9.0	6.3	137.0	343	다수성
PS 0208	23.9	8.1	6.2	85.5	222	결각엽, 중간형
PS 0209	24.9	10.6	10.9	106.7	410	장타원엽, 중간형
PS 0210	24.7	7.2	5.1	55.5	285	내도복, 다수성
PS 0211	18.3	8.9	5.8	72.0	123	장타원엽, 포복형
PS 0212	22.1	11.2	5.5	79.0	413	결각엽, 직립형
PS 0213	20.7	6.5	6.0	65.5	194	장타원엽, 직립형
PS 0214	20.3	7.0	6.0	95.7	124	결각엽, 직립형
평 균	22.4	8.1	6.5	97.2	273.2	

표 5. 마타리 선발개체의 생육특성 (2003)

계 통	초장 (cm)	엽수 (매/주)	엽폭 (cm)	엽중 (g/주)	경수 (개/주)	초형특성
PS 0301	42.5	10.6	11.4	54.5	1.5	총상엽
PS 0302	35.9	13.7	7.3	64.0	1.9	직립, 밀식형
PS 0304	34.1	9.6	6.4	63.0	1.5	후기낙체형
PS 0305	36.5	18.4	9.3	130.0	2.6	십자대칭형
PS 0306	37.0	26.0	6.0	215.0	2.0	등근엽형
PS 0307	45.4	16.8	8.5	112.5	1.5	무결각형
PS 0310	37.8	9.4	7.4	48.5	1.2	직립형
PS 0312	39.8	10.0	10.1	66.0	1.1	중간형
평 균	38.6	14.3	8.3	94.2	1.7	

표 6. 마타리 선발개체의 근부 생육 특성 (2003)

계통번호	근장 (cm)	근수 (개/주)	근경 (mm)	근중 (g/주)
PS 0301	21.2	9.3	5.7	84.5
PS 0302	23.8	12.4	6.6	127.0
PS 0304	23.9	10.2	5.4	134.5
PS 0305	26.5	13.4	6.5	132.5
PS 0306	26.0	18.0	8.3	190.0
PS 0307	22.8	10.8	6.9	95.0
PS 0310	24.0	12.6	4.8	108.5
PS 0312	25.5	12.0	6.7	91.0
평 균	24.2	12.3	6.4	120.4

다. 안전 다수확 재배기술 개발

1) 육묘기술

가) 발아온도

마타리는 종자의 길이가 2.4~3.9mm, 두께가 1.5~2.0mm이고, 1,000립중이 0.7g 정도의 미세종자이며 등숙이 고르지 않아 발아율이 아주 낮은 식물로 알려 졌으며, 변온에서 발아율이 다소 높다 (진영, 1999).

본 연구에서는 실생 육묘기술개발을 위하여 발아상을 이용하여 15, 20, 25, 30℃에서 발아온도를 조사한 결과 15℃에서는 거의 발아되지 않았고, 20℃ 6.1%로 낮은 발아율을 보였으며 25℃에서 50.3%로 발아율이 크게 증가하였으며, 30℃에서는 차이가 없었다. 따라서 마타리의 발아최저온도는 15℃이었고, 25~30℃에서 발아가 양호하였다. 암조건보다는 광조건에서 발아가 다소 양호한 편이었으나 유의적인 차이는 없었다.

진영(1999)은 마타리 발아율이 10%이하로 낮다고 하였는데, 성숙된 종자를 잘 선별하면 50%정도로 발아율을 높일 수 있어 환경이나 유전적 변이가 있는 것으로 생각된다.

실제로 시험포장에서 파종시기별로 4월 중순부터 직파시험을 예비 검토한 결과 대체로 발아율은 5% 이하로 아주 저조하였으며, 파종시기에 관계없이 외기 온도가 25℃정도 되는 6월 상순경부터 발아되기 시작하였다.

발아율이 저조한 또 다른 이유는 마타리가 미세종자이므로 거칠은 포장의 정지상태나 파종기의 가뭄이 발아를 어렵게 하며, 파종심도도 중요한 요인으로 생각된다. 그러므로 파종 후 적당한 수분 유지와 알맞은 복토가 반드시 필요한 것으로 여겨진다.

따라서 직파재배는 어려운 것으로 생각되며 육묘의 생장이 늦고 초세도 약하여 직파시에는 잡초와의 경합이 문제될 것이나, 적당한 제초제를 이용하는 것도 어려워 육묘이식재배가 바람직 할 것으로 생각된다.

표 7 . 온도에 따른 마타리 종자의 발아율

구 분	발아특성	15℃	20℃	25℃	30℃
암조건	발아율(%)	1.0	6.1	50.3	49.5
	평균발아일수	-	6.8	4.1	3.2
광조건	발아율(%)	0.6	10.2	51.2	52.0
	평균발아일수	-	6.6	3.8	3.4

나) 육묘일수

마타리는 종자가 미세하여 직파가 어려운 것으로 판단되므로 육묘이식재배를 위한 육묘일수구명 시험을 수행하였다. 온실에서 연결포트를 이용하여 30, 40, 50일 60일 간 육묘한 묘의 묘소질을 조사하였다.

육묘기간이 길어질수록 초장, 엽장이 증가하였고 생엽중의 증가를 보였는데 초장, 엽장 및 생엽중은 30일~40일 사이에 급격한 증가를 보였다. 초장은 30일묘 3.4cm에 40일묘 5.5cm로 10일 동안 61.8%의 성장을 보였으며, 엽장도 30일묘 2.9cm에서 40일묘 5.7cm로 약 2배의 빠른 성장을 하였으나 이후 성장속도가 낮아졌고 50~60일 사이에 다시 다소 성장속도가 증가하였다. 엽중은 30일묘 3.0g에서 40일묘 6.0g으로 2배의 증가를 보였고 50일묘 8.0g으로 성장속도는 다소 낮아졌다.

표 8. 육묘기간별 마타리 묘소질

구 분	초장 (cm)	엽수 (개)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	근장 (cm)	근경 (mm)
30일묘	3.4	4.0	2.9	1.0	7.0	1.0
40일묘	5.5	4.5	5.7	1.6	6.8	1.1
50일묘	5.7	5.1	5.2	1.8	8.0	1.1
60일묘	6.7	5.2	6.0	1.9	7.6	1.3

엽수, 엽폭, 근장, 근경은 30일묘의 생장이 급격히 이루어지고 이후 60일 이후 서서히 증가하는 경향을 보였다. 근장은 30~60일 사이에 계속 성장하는 양상을 보였다. 근중은 30일 묘 2g에서 40일묘 4g으로 2배의 성장을 보였고 50일묘는 7g까지 신장이 이루어지고 60일묘는 7.5g으로 성장속도가 낮아졌다.

30일, 40일, 50일, 60일묘의 육묘이식 1, 2년차의 생육과 수량을 조사한 결과 1년생의 초장은 30, 40일 묘에서 증가하였으며 생엽중과 생근중은 40일 묘에서 차이를 보였고 근수량도 높았다. 그 외 특성은 처리간에 차이가 인정되지 않았다.

육묘기간은 단축될수록 관리비 및 생산비를 절감할 수 있는데 1년차 결과와는 달리 2년생은 30일 묘 정식구에서 근수량이 높게 나타났다. 뿌리수량 관련 특성에 유의적인 상관성이 적은 것으로 생각되나 2년차에서는 30일 묘의 근장이 다소 길은 것을 볼 수 있었다.

포장이식 작업의 용이성 측면에서는 50일 묘가 알맞은 것으로 생각되나 근수량은 30일 묘에서 증가를 보였다. 따라서 육묘기간은 30~40일이면 정식에 적당한 것으로 판단되었다. 마타리는 다년생 숙근초로서 1년생은 잎이 총생하며 개화하지 않으나, 2년생부터 뿌리 발육이 왕성해지고 지하경이 생기며 생육이 왕성하여 추대, 개화한다. 그러므로 2년생 이상을 수확하게 된다.

본 시험에서 1년생의 수량성과 2년생의 수량의 경향이 다른 것은 이 같은 마타리의 특성 때문인 것으로 생각된다. 2년생의 수량성으로 볼 때, 1년생의 생육 및 수량과는 달리 30일묘가 높은 수량을 보였으며, 육묘일수를 짧게 할 경우 육묘노력을 절감할 수 있어 경제적이므로 마타리의 육묘기간은 30일 정도가 적당한 것으로 사료된다.

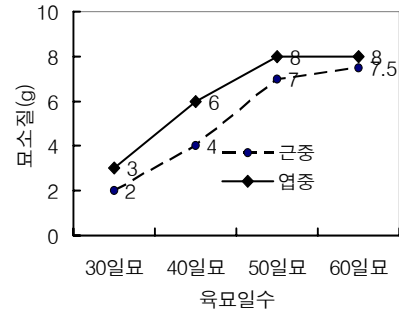


그림 1. 육묘일수별 묘소질 변화

표 9. 육묘일수에 따른 생육특성 (1년생, 2001)

육묘일수	초장 (cm)	경직경 (mm)	경수 (개)	엽수 (매)	생엽중 (g)	근장 (cm)	근직경 (mm)	생근중 (g)	생근수량 (kg/10a)
30일	44.9	13.4	3.7	13.9	121.0	36.0	13.6	52.7	216
40일	43.0	13.7	4.8	16.0	153.9	35.1	15.8	73.4	272
50일	40.8	13.7	3.9	16.3	141.0	38.4	12.4	60.9	234
60일	42.2	13.8	4.3	14.1	145.1	38.9	13.7	55.2	236

표 10. 육묘일수별 지하부 생육 특성 (2년생, 2002)

육묘일수	입모율 (%)	근장 (cm)	근수 (개/주)	근경 (mm)	생근중 (g/주)	생근수량 (kg/10a)
30	68.3	32.3	11.1	8.6	174.5	535.3
40	58.3	31.3	11.9	9.8	189.2	451.4
50	67.2	30.1	11.2	8.9	180.2	475.1
60	76.1	30.8	10.0	9.2	149.8	413.8
CV(%)						12.83
LSD(5%)						128.29

2) 파종적기 구명

마타리는 종자가 미세하고 비교적 발아온도가 높은 식물이므로 (표 7 참조) 직파재배가 용이하지는 않은 것으로 생각된다. 1년생의 경우 파종기간에 생육차이가 뚜렷하지 않아 수량도 대체로 낮았다. 초장, 경수, 엽수, 생엽중 등 지상부 생육은 4월 중, 하순에 일찍 파종하였을 때 높은 생육을 보였으나 생근수량은 5월 하순에 늦게 파종한 것이 증가를 보였다.

마타리는 숙근성 식물이므로 1년생의 생육정도가 월동후 이듬해 생육에도 영향을 미칠 것이라 생각되는데 2년근의 지하부 생육은 처리간에 차이가 적었다. 생근수량은 1년생의 경우와 비슷하여 5월 하순 파종구에서 많았다.

이러한 결과는 월동전의 입모상체에 의한 영향도 컸을 것으로 사료된다. 발아율이나 작업을 고려할 때 파종은 다소 늦은 것이 좋을 것으로 생각된다.

미세종자인 마타리는 포장조건이 불량하면 입모율이 낮고 초기생육이 느리기 때문에 유효기간 동안의 수분 및 잡초관리가 어렵고, 입모를 확보하기 위해서 파종량을 늘리고 출아 후에는 여러 번의 솟음관리가 요구되므로 적용하기 어려울 것으로 생각된다.

표 11 . 마타리 파종기에 따른 생육 (1년생, 2001)

파종기	초장 (cm)	경직경 (mm)	경수 (개/주)	엽수 (매/주)	생엽중 (g/주)	근장 (cm)	근직경 (mm)	세근수 (개/주)	생근중 (g/주)	생근수량 (kg/10a)
4월중순	41.2	11.7	3.0	12.4	104.1	38.5	11.0	17.3	44.5	203
4월하순	37.2	14.1	3.1	12.4	100.7	34.1	11.1	14.2	39.8	177
5월상순	38.6	10.1	2.9	12.5	93.6	34.2	10.8	14.7	43.4	194
5월중순	38.0	11.8	2.8	11.4	88.5	33.4	9.8	15.8	44.4	205
5월하순	39.2	10.0	2.7	11.1	97.4	36.2	9.7	16.7	45.0	232

표 12. 파종기별 지하부 생육 특성 (2년생, 2002)

파종기	입모율 (%)	근장 (cm)	근수 (개/주)	근경 (mm)	근중 (g/주)	생근수량 (kg/10a)
4월 중순	67.4	30.9	10.1	8.2	162.5	466.6
4월 하순	55.6	31.4	11.0	9.4	164.3	360.7
5월 상순	69.2	30.9	10.6	8.4	167.0	433.7
5월 중순	63.3	32.6	9.6	8.8	164.5	424.4
5월 하순	67.0	33.5	10.3	9.3	186.0	482.3
CV(%)						12.6
LSD(5%)						107.8

중국에서는 춘파와 추파를 하는데 남부지방 (사천성)에서는 9~10월에 추파하며, 북방에서는 3~4월에 춘파한다고 하는데 (진영, 1999) 우리나라에서도 남부지역에서의 추파가능성은 별도의 연구검토가 필요한 것으로 생각된다.

3) 정식적기 구명

육묘한 묘의 적정 정식시기를 구명하고자 4월 하순, 5월 상순, 5월 중순, 5월 하순, 6월 상순 동계에 50일간 육묘한 묘를 50×20cm로 정식한 후 1, 2년차의 생육특성을 조사한 결과 5월 상, 중순 정식처리구가 생근수량이 많았다.

정식을 일찍 하는 것이 1년생에서 초장, 경직경, 엽장이 커서 왕성한 생육을 보여 지상부 생체중이 무거웠으며 경수, 근장, 세근수, 주당 근중은 5월상, 중순 정식에서 많았다. 생근수량에 있어서도 5월 상순 정식에서 높았다. 2년생의 경우도 지하부 생육은 처리간에 일정한 경향을 보이지 않았으나 생근수량은 5월상, 중순에 높았다. 따라서 묘를 50일 묘를 정식할 때는 5월상~중순이 적기로 나타났다.

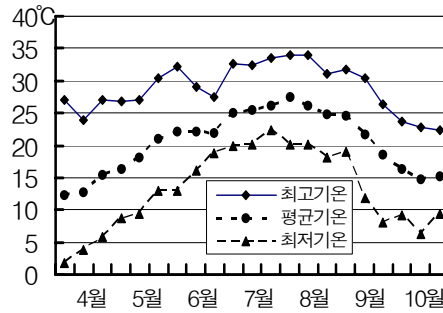


그림 2. 수원지방의 기온 (2001)

육묘시험결과 30~40일묘가 묘소질이나 포장정식에 적당한 것으로 나타났다. 5월 상순에 30일묘를 생산하려면 4월 상순에 파종하게 된다. 마타리의 발아온도가 25°C 정도 이며, 중부지방의 4월 초순 평균기온 12°C, 최고기온 25°C 정도이므로 4월 상순에 비닐하우스에서는 무가온 조건으로도 육묘가 가능할 것으로 생각된다.

표 13. 정식시기별 생육특성 (1년생, 2001)

정식시기	초장 (cm)	경직경 (mm)	경수 (개/주)	엽수 (매/주)	엽장 (cm)	생엽중 (g/주)	근장 (cm)	근직경 (mm)	세근수 (개/주)	근중 (g/주)	생근수량 (kg/10a)
4월하순	44.6	15.1	4.3	14.9	37.0	185.1	34.9	15.2	20.8	65.9	241
5월상순	46.3	14.7	5.5	13.8	36.9	190.8	37.3	15.0	26.0	76.8	289
5월중순	43.9	13.6	5.0	15.4	34.3	173.6	37.2	13.8	26.0	69.0	276
5월하순	40.8	12.6	4.1	13.9	30.9	135.9	33.2	12.5	25.8	53.6	223
6월상순	41.4	11.7	3.8	13.1	30.0	114.7	33.5	11.8	24.5	49.3	206

본시험에서는 온실조건에서 육묘한 묘를 사용하였으므로 이 같은 추정에 다소 어려움은 있겠으나 주간에 충분한 온도를 유지하고 야간에 묘가 상해를 입지 않을 정도로 관리하면 묘생산에 크게 지장이 없을 것으로 생각된다.

이와 같은 일련의 결과를 가지고 판단해 볼 때 5월 상, 중순에 30~40일묘를 육묘하여 정식하는 데에 무리가 없을 것으로 생각된다. 따라서 마타리의 적정 육묘일수는 30~40일, 정식 적기는 5월 상~중순인 것으로 판단하게 되었다.

표 14. 정식시기별 생육특성 (2년생, 2002)

정식기	입모율 (%)	근장 (cm)	근수 (개/주)	근직경 (mm)	근중 (g/주)	생근수량 (kg/10a)
4월하순	32.6	26.5	7.2	8.1	158.7	262.0
5월상순	53.3	29.2	9.2	8.0	153.7	355.9
5월중순	44.4	30.0	10.0	8.4	167.5	358.8
5월하순	53.3	31.5	10.6	9.6	187.2	310.6
6월상순	50.0	31.5	12.0	8.0	140.5	322.2
CV(%)						
LSD(5%)						

4) 재식거리 구명

마타리 재배의 재식밀도 구명 연구는 동계온실에서 50일간 육묘한 묘를 5월 상순에 조건 50cm에 주간을 각 10, 15, 20, 25, 30cm 정식 한 후 재식밀도별 생육을 조사하였다. 표 15, 16에서와 같이 밀식구 보다 소식구가 주당 근중은 증가하는 경향이었으나 단위면적당 재식주수를 고려할 때 마타리 적정 재식밀도는 50×15~50×20cm가 적정 재식밀도인 것으로 나타났다.



사진 5. 마타리 재배포장

재식 1년에는 소식구에서 주당 경엽중과 근중이 증가하는 경향이였다. 한편 주당 생경엽중은 주간거리 10cm에서 102.3g, 20cm

에서 133.2g 이었고, 25cm에서는 148.4g으로 증가하였다. 주당 근중은 주간거리 10cm에서 49.6g, 20cm에서 58.2g, 25cm에서는 82.7g으로 크게 증가하였다. 생근수량은 소식구에서 증수를 보여 50×25cm에서 289kg/10h 가장 높았고 50×30cm 구에서는 감소를 보였다.

한편 2년생의 경우 지하부 생육특성은 밀도간에 차이가 인정되지 않았다. 수량성은 1년생과 다른 경향을 보였는데 밀식보다는 소식구에서 증수를 보여 50×15cm에서 가장 높은 수량을 기록하여 652kg/10a였고, 50×25cm에서는 406.6kg/10a로 낮아졌다.

소식구에서 수량성이 크게 낮아진 것은 월동 전후에 병해로 인한 결주가 많았던 것이 원인으로 생각된다.

표 15 . 재식거리별 생육 특성 (1년생)

재식거리 (cm)	초장 (cm)	경직경 (mm)	경수 (개/주)	엽수 (매/주)	생엽중 (g/주)	근장 (cm)	근직경 (mm)	세근수 (개/주)	근중 (g/주)	생근수량 (kg/10a)
50×10	40.9	12.8	4.9	12.5	102.3	34.7	12.5	15.5	49.6	201
50×15	38.5	11.8	4.5	11.4	88.5	33.8	11.7	15.0	50.2	199
50×20	42.8	12.4	5.0	14.7	133.2	34.0	14.5	20.3	58.2	231
50×25	40.5	13.6	4.8	14.2	148.4	37.2	13.9	21.7	71.0	289
50×30	38.6	12.9	5.7	12.2	140.1	38.4	13.8	19.1	69.0	274

표 16 . 재식거리에 따른 지하부 생육 특성 (2년생)

재식거리 (cm)	입모율 (%)	근장 (cm)	근수 (개/주)	근경 (mm)	근중 (g/주)	생근수량 (kg/10a)
50×10	85.9	30.9	8.7	9.8	190.7	621.9
50×15	89.3	34.4	11.5	9.2	216.3	652.0
50×20	82.2	32.0	10.2	9.6	195.0	600.0
50×25	65.4	30.6	11.4	9.4	214.5	406.6
50×30	37.8	31.7	8.8	8.9	215.7	304.4
CV(%)						9.0
LSD(5%)						87.6

5) 질소시비 반응 구명

시험포장의 시험전과 시험후의 토양의 이화학적 특성은 표 17과 같았다.

질소 시비량 연구는 질소시비수준을 0, 5, 10, 15, 20 kg/10a를 사용한 포장에 동계 50일간 육묘한 묘를 5월 상순에 조간 50cm에 주간 20cm로 정식하여 질소시비수준별 생육을 조사한 결과 질소 시비수준별로 생육은 무시비구와는 차이가 있었으나 시비수준 간에는 생육의 차이가 없었다.

질소성분의 증가에 따라서 지상부의 생장이 왕성하고 생경엽중이 증가하는 추세이나 지하부의 생근수량은 질소비료의 증가에 따라서 증가하다가 15kg을 초과하면 감소하는 것으로 나타났다. 즉 질소비료의 증가에 따라 지상부의 생장은 왕성하였지만 지하부의 생장은 일정 한계에 이르면 오히려 감소하였다.

표 17. 시험포의 토양 이화학적 특성

구 분	pH	유기물 (%)	유효인산 (ppm)	치환성 양이온(me/100g)			CEC (me/100g)
				Ca	Mg	K	
시험전	5.56	1.7	241	4.35	0.6	0.46	10.5
시험후	5.47	1.8	256	4.63	0.5	0.84	10.7

표 18. 질소시비수준별 생육특성 (1년생)

시 비 량 (kg/10a)	초장 (cm)	경 직경 (mm)	경수 (개/주)	엽수 (매/주)	엽장 (cm)	생경엽중 (g/주)	근장 (cm)	근 직경 (mm)	세근수 (개/주)	근중 (g/주)	생근수량 (kg/10a)
0	48.1	15.3	5.0	15.6	38.9	220.1	38.9	14.7	18.4	75.4	333
5	51.5	15.0	3.7	16.7	40.4	266.0	41.2	14.9	18.6	87.8	354
10	51.9	14.5	3.9	16.2	38.7	262.8	39.3	14.5	19.8	88.2	366
15	54.5	14.6	4.3	16.1	41.6	284.3	38.3	14.7	19.0	86.8	343
20	51.8	14.9	4.5	15.7	40.7	281.4	36.9	14.7	22.6	87.8	317

1년생의 주당 생경엽중은 질소 5kg/10에서 266g이었고 15kg/10a일 때는 284.3g으로 증가하였으나, 주당 근중은 질소 10kg/10a일 때 88.2이었고 15kg/10a에서는 86.8g으로 감소하였다. 한편 생근수량은 10kg/10a에서 366kg/10a로 가장 높았으며, 20kg/10a에서는 317kg/10a

로 가장 낮은 결과를 나타냈다.

2년생의 경우 1년생보다는 질소 수준이 다소 높은 15kg/10a에서 최고의 수량성을 보였다. 본 시험결과로는 질소 시비는 15kg을 초과하지 않는 것이 적정 수준일 것으로 생각된다.

표 19. 질소 시비수준에 따른 마타리 지하부 생육 (2년생, 2002)

질소시비량 (kg)	입모율 (%)	근장 (cm)	근수 (개/주)	근경 (mm)	근중 (g/주)	생근수량 (kg/10a)
0	47.2	29.4	9.9	9.8	81.5	434.0
5	32.8	27.6	9.5	9.8	160.1	477.4
10	47.8	29.4	9.6	9.7	175.1	468.8
15	45.6	36.1	13.0	10.4	213.0	659.7
20	46.7	30.4	9.0	10.3	165.5	329.9
CV(%)						13
LSD(5%)						116

6) 꽃대제거 효과

식물은 일정기간의 영양생장과정을 거쳐 영양물질을 축적한 후, 생식생장단계에 비축하였던 영양분을 생식생장에 이용하는 것이 일반적인 현상이다. 사진에서 보는 바와 같이 마타리는 파종 당년에는 잎이 총생하고 추대하지 않으며 (사진 5), 2년생부터 추대, 개화한다 (사진 6). 식물은 자손의 번식수단으로 꽃을 피우고 종자를 맺기 위하여 영양분을 소모하게 되므로 영양체인 뿌리를 이용하는 식물에서는 수량을 낮아지게 하는 원인이 되므로 바람직하지 못한 현상이다. 본 시험에서도 추대부를 제거하여 줌으로서 식물체의 양



사진 6. 마타리 재배포장의 개화장면

분이 불필요하게 지상부로 이동하는 것을 방지하여 지하부에 충분한 양분이 공급되며, 따라서 뿌리의 성장을 좋게 하므로서 생근수량이 645.8kg/10a로 크게 증가한 것으로 나타났다.

권 등(1996)은 절화용 마타리 재배에서 적심이 화경을 적게 하고 경수의 증가에 영향을

주었다고 하였다. 따라서 마타리는 뿌리의 약재생산을 위해서나 절화재배에서도 꽃대 제거 또는 적심이 반드시 필요한 것으로 생각된다.

표 20. 꽃대 제거에 따른 지하부 생육특성 및 수량

구 분	입모율 (%)	근 장 (cm)	근 수 (개/주)	근 경 (mm)	근 중 (g/주)	생근수량 (kg/10a)
추대부 제거	30.0	31.0	8.2	8.7	174.0	645.8**
추대부무제거	27.0	32.3	9.4	9.5	149.0	434.0

7) 번식방법시험

마타리는 종자번식이 가능하나 본 연구에서는 영양계번식에 의한 계통육성을 이용하여 단기간에 품종을 육성하는 목적을 가지고 삼목시험을 시도하였다. 마타리는 화아분화 이전에는 비교적 장대한 잎이 총생하는 숙근성 초본이다. 추대기에 엽병과 줄기를 5cm 길이로 잘라 모래 등 상토에 삼목하였다.

그 결과 엽병과 줄기 모두 발근하지 않아서 삼목에 의한 영양번식은 성공하지 못하였으므로 근경을 이용한 번식방법을 이용하기로 하였다.

마타리는 근경이 옆으로 뻗는데 이 근경의 부정아에서 맹아하여 잎이 나고 줄기가 발생한다. 따라서 근경을 잘라서 분주하면 영양번식이 가능하다. 지하경을 이용한 번식방법 시험을 위하여 분주묘와 실생묘의 생육특성을 비교한 결과는 표 21과 같다.

표 21. 마타리 삼목시험 결과

삼목부위	발근반응			비 고
	모래	질석	진흙	
엽병	-	-	-	발근하지 않음
줄기	-	-	+	발근하지 않음

분주묘는 모체의 영향을 받아 당년에 추대되는 비율이 높았다. 초장, 엽수가 적고 지상부는 번무하지 않으나 뿌리발달은 실생묘 보다 왕성하여 근수량이 월등히 높았다. 4~5월에 분주하여 번식하면 식재당년 7~8월에 개화하므로 전초를 이용할 경우 개화 전에 採根한다고 하였다 (중국의학과학원 약용자원개발연구소). 본 연구에서는 뿌리수량이 분주묘가 실생

1년보다 높고 실생 2년 정도의 수량에 달하는 결과를 보였다.

한편 주당 분주가능 주수도 12개 정도로 비교적 많은 것으로 생각되어 영양계 선발 육종에 이용이 가능한 것으로 판단되며 분주묘를 이용한 재배생산도 가능할 것으로 생각된다. 분주묘를 번식수단으로 하여 재배할 경우는 근두의 부정아가 있는 부분을 종근으로 이용하고 밑부분을 약재로 쓸 수 있어 효과적이다.

표 22. 마타리 분주묘 및 실생묘의 생육차이

구 분	활착율 (%)	묘수	추대율 (%)	초장 (cm)	엽수 (매/주)	생경엽중 (g/주)	근장 (cm)	근수 (개/주)	근직경 (mm)	생근중 (g/주)	생근수량 (kg/10a)
분주묘	74.6	12	27.7	35.5	10.1	113.9	22.4	8.1	15.5	97.1	273
실생묘 (40일)	68.3	-	0.6	45.0	13.9	121.0	36.0	15.7	13.6	52.7	206

라. 수확 및 건조

1) 생육연수와 수량성 및 성분

마타리는 실생 2년부터 추대 개화하며 근수량도 높아진다, 중국에서는 2~3년생을 수확한다고 하는데 본시험에서는 연수가 지날수록 뿌리가 길어지며 근수량도 증가하였다. 실생 1년생은 추대하지 않았으므로 초장이 43cm이었으나 2년생은 추대 개화하였으므로 경장이 258cm에 달하였다. 추대율은 2년생이 61%이었으며, 3년생은 전체가 개화하였다. 생경엽중도 2년생에서 현저히 증가하였으며, 뿌리의 생장은 계속하여 2년생과 3년생의 주당 근중의 증가를 보였다.

생근수량은 1년생이 242kg/10a인데 비해 2년생은 300kg, 3년생은 469kg으로 증가를 보였다. 2년생 이후 꽃대를 제거할 경우 뿌리생육 향상시켜 수량이 증대되면 (표 20 참조) 결과가 달라 질 수 있을 것이다.

표 23. 연생별 생육 및 수량

연생	초장 (cm)	추대율 (%)	직경 (mm)	경수 (개/주)	생경중 (g/주)	근장 (cm)	근직경 (mm)	세근수 (개/주)	생근중 (g/주)	생근수량 (kg/10a)
1년생	43	0	13.7	4.2	145	37	14.6	20.3	60	242
2년생	258	61	14.0	5.1	584	35.8	16.2	21.3	157	300
3년생	190	100	12.6	12.7	509	41.3	14.0	28.9	247	469

연생별 화학성분 함량의 변화를 볼 수 있었는데 약효성분으로 판단된 (제2세부과제) 3, 4-DHBA (3, 4-dihydroxy benzoic acid) 함량은 3년생이 높았고 caffeic acid는 1년생이 118 mg이었으나 2, 3 년생으로 갈수록 함량이 77, 55mg로 낮아졌다. chlorogenic acid는 1, 2년생이 3년생 보다 월등히 높았다.

표 24. 연생별 주요 성분차이

연생	3, 4-DHBA (mg/g)	Caffeic acid (mg/g)	Chlorogenic acid(mg/g)	채취시기
1년생	-	118	840	가 을
2년생	23	77	704	
3년생	33	55	202	

2) 기계수확의 생력효과

마타리 생력화 수확방법 연구는 인력수확, 경운기부착 진동굴취기, 트랙터 부착 다목적 근수확기를 이용하여 지상부 예취, 굴취 등 수확단계별 소요시간 및 손실을 등을 비교한 결과는 표 25와 같다.

수확방법별 생력효과는 인력수확 114시간/10a에 비교하여 경운기부착 진동굴취기 68%, 다목적 근수확기가 70%의 생력효과가 있었으나, 손실율은 경운기부착 진동굴취기 13.5%로 다목적 근수확기보다 효율성이 낮았다.

표 25. 수확방법별 생력효과

수확방법	수확시간 (10a 당)				생력효과	수확손실 (%)
	지상부예취	굴취	수확	계		
인력수확	-	-	114.0	114.0	0	-
경운기부착진동굴취기	2.1	1.8	38.5	42.4	63	13.5
다목적 근수확기	1.9	0.6	31.6	34.1	70	2

3) 건조방법

건조감량은 건조조건에 따라 차이를 보였는데, 원적외선 건조의 경우 6일 이내에 30%내외로 가장 빨랐으며 열풍건조도 같은 경향으로 급격한 중량감소를 보였다. 천일건조와 하우스내 건조처리는 15일까지도 50%정도로 자연 건조되었다.

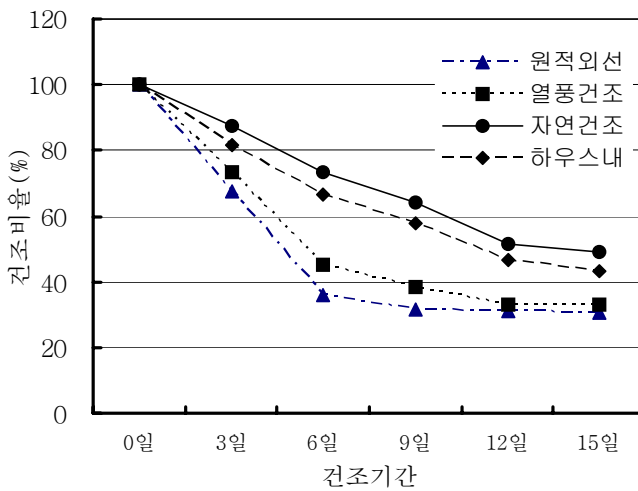


그림 3. 건조방법에 따른 건조비율 변화

3. 적 요

1) 국내 자생 partinia속 식물은 마타리 (*P. scabiosaefolia*), 금마타리 (*P. saniculaefolia*), 돌마타리 (*P. rupestris*) 및 뚝갈 (*P. villosa*)가 분포하는 것으로 조사되었다. 마타리와 뚝갈은 국내 전역에 분포하며, 돌마타리는 석회암지대의 바위틈에 분포하고, 금마타리는 오대산 일대에서 발견되었다. 강원, 충북, 전북 등지에서 마타리 13점, 돌마타리 2점, 금마타리 1점 및 뚝갈 5점을 자원으로 수집하였다.

2) 실생 모집단을 양성하여 우량계통을 선발하였으며 근경을 분주하는 영양번식을 이용하여 영양계통을 양성하였다. 이들 영양에 대한 생산력검정을 실시한 결과 PS 0202, PS 0204, PS 0209, PS 0212 등이 유망한 계통으로 평가되었다.

3) 마타리의 발아 최저온도는 15℃이었으며 최적온도는 25~30℃이었다. 온실조건에서 육묘할 때는 파종 후 30~40일에 지상부의 급격한 신장을 보였고 근부는 40~50일에 생장율이 높았다.

2년생 근수량을 기준으로 볼 때 30일 묘가 좋았으나 1년생은 40일 묘에서 근수량이 많았다. 포장에 직파 재배하는 경우 입모상태가 불균일하여 차이를 인정할 수 없었으나 5월하순이 다소 높은 수량을 보였다. 육묘이식재배의 경우 1, 2년생 묘주 5월상~중순 정식이 좋았다.

재식밀도는 1년생에서는 50×25cm로 소식했을 때 지상부생육과 근수량면에서 좋았으나 2년생의 경우는 50×15 또는 50×20cm로 밀식했을 때 수량이 높았다. 마타리는 야생식물이므로 시비반응이 다소 둔감한 편이었으나 1년생과 2년생 모두 10a당 질소 15kg 수준까지 증가하였다. 2년생이후 추대 개화하는데 꽃대제거에 의한 수량증대 효과가 현저하였다.

마타리의 엽병이나 줄기는 삼목시 발근하지 않았으며 지하경에 의한 분주 번식시 12배의 증식이 가능하였다.

4) 실생재배시 2년생부터 개화하며 생육연수가 경과할수록 근장과 근수가 많아지고 근수량이 증가하였다. 뿌리중의 화학성분 변화는 3, 4-DHBA는 3년생, caffeic acid는 2년생, chlorogenic acid는 1년생에 많이 함유하였다.

기계화 수확의 생력효과는 경운기 부착 진동굴취기 이용시 63%, 트랙터부착 다목적 근수확기는 70%였다. 생근의 건조는 원적외선 건조시 건조가 빨랐으며 수분함량 30%로 건조하는데 열풍건조는 15일이 소요되었다.

제2절 마타리 추출물의 성분평가 및 건강식품개발 연구

1. 연구 수행방법

가. 마타리 추출물의 성분평가 및 품질관리

1) 추출물의 제조 방법의 표준화

가) 추출물의 원료

실험에 이용한 마타리 식물체 시료는 작물시험장 시험포장에서 재배하였다. pilot 규모의 산업적 추출 규격에 관한 실험을 위하여 재배시험에서 생산된 마타리 뿌리를 원료로 이용하였다. 생육 시기별로 성분을 비교하기 위하여 마타리를 1년생, 2년생, 3년으로 나누어 채취하고 추출하여 분석하였다. 식물 부위별 연구를 위해서는 3년생의 잎, 줄기, 뿌리 부분으로 나누어 연구하였다. 또한 산지별 비교를 위해서는 홍천과 태백지역에서 채취한 마타리를 사용하였다.

나) 추출방법의 표준화

추출시 첨가하는 물의 양, 추출 시간 등을 달리하여 추출한 후 성분의 변화를 비교하여 가장 수율이 좋은 방법을 확립하였다.

2) 추출물의 일반 성분 분석

작물시험장의 포장에서 재배한 마타리를 채취하여 추출한 추출물에 대해 무기이온과 중금속 함량 및 아미노산의 함량을 기초과학지원센터에 의뢰하여 분석하였다.

가) 무기이온 및 중금속 측정

무기이온의 조성은 20종의 이온의 표준조성의 범위를 설정하여 ICP/AES 및 ICP/MASS를 사용하여 측정하였다.

무기이온 측정을 위한 전처리로서 시료 0.2g을 teflon digestion vessel에 넣고, 진한 HNO₃ 2mℓ를 가하고 상온에서 하루동안 방치한다. Hot plate에서 약 6시간 가온한 후, 건조한다. 이 조작을 한 번 더 반복하고 건조물을 HClO₄ 0.2mℓ에 녹인 후 최종적으로 진한 HNO₃로 희석하여 다음 조건 하에서 측정하였다.

표 26. ICP/AES와 ICP/MASS의 측정조건

ICP/AES (Model SHIMADZU ICPS-1000III)

Instrument setting

Forward power/W 1200

Cool gas flow/min 14

Aux gas flow/min 0.4

Neb gas flow/min 0.8

Sample uptake rate/ml min 0.6

Spray chamber : glass, water cooled, 0°C

Nebulizer : Meinhard concentric

Major elements (100ppm이상인 원소)

ICP/MASS (Model Fisons PQ3 STEI)

Instrument setting

Forward power/W 1200

Cool gas flow/min 14

Aux gas flow/min 0.4

Neb gas flow/min 0.8

Sample uptake rate/mlmin 0.6

Spray chamber : glass, water cooled, 0°C

Nebulizer : Meinhard concentric

Peak jumping acquisition parameters

Point per peak : 3

Dwell time/ms 10.24

Detector mode PC

Trace elements (100ppm 이하인 원소)

나) 유리아미노산의 측정

마타리 추출물을 대상으로 총아미노산량을 측정하였다. 각각의 시료 100 μ g을 취하여 Pico-tag 방법을 이용하여 HIC에 의한 hydrolysis를 하고, 유리된 아미노산을 PITC(Phenyl Isothiocyanate)로 labeling하였다. 이 시료 400 μ l 중 50 μ l를 HPLC system에 주입하였다. 역상 ODS column에서 분리되어 나오는 아미노산의 함량을 UV 254nm에서 측정하여 표준품과 비교하여 정량하였다.

3) 추출물의 성분 확인 (TLC)

마타리 추출물의 성분평가를 위한 지표물질을 확립하기 위하여 마타리 추출물에 대한 TLC를 실시하였다. TLC sheet (20 \times 20 cm, Silica gel 60F₂₅₄; MERCK)에 추출물을 점적하고 phenolic compounds, flavonoids, triterpenes, alkaloids, sugars 등의 물질을 전개하는데 적합한 이동상을 사용하여 전개한 후 UV light (254nm, 366nm)에서 관찰하였다 (강, 1996).

4) 지표물질 설정

TLC결과를 토대로 하여 마타리 추출물을 용매의 극성에 따른 용매추출 방법에 의해 dichloromethane층, ethylacetate층, butanol층으로 나누고 용매추출 결과 나온 분획들을 silica gel과 sephadex LH-20을 충전한 column을 사용하여 chromatography를 실시하였다.

이동상은 물과 메탄올의 구배 시스템을 이용하여 column으로부터 얻은 물질들을 TLC를 이용하여 여러 분획으로 나누었다. 나누어진 주요 분획들을 대상으로 preparative HPLC (Gilson)를 이용하여 물과 메탄올의 구배 시스템 하에서 다시 분리하여 phenolic compounds를 분리하였다.

5) HPLC를 이용한 성분 평가 방법 확립

마타리 추출물의 지표물질을 결정하였으므로 마타리 추출물을 분석하기 위한 HPLC 분석조건을 확립하였다. Phenols 물질에 초점을 맞추어 HPLC 분석을 실시하였다. HPLC profile에 재현성을 나타내며 추출물의 peaks을 효과적으로 분리할 수 있는 조건을 이동상 및 column을 조절하면서 확립하였다 (우, 1997).

마타리 추출물을 HPLC로 분리하기 위하여 추출물을 10 mg/ml의 농도로 물에 녹였다. 용해된 추출물 용액 10 μ l를 취하여 HPLC (HP 1090)를 사용하여 분석하였다. Phenolic

compounds의 분석은 다음의 조건 하에서 실시하였다.

용매추출 방법에 의해 얻은 마타리 추출물의 dichloromethane 층, ethylacetate 층, butanol 층을 대상으로 지표성분의 함량을 조사하였다.

표 31 표 27. HPLC 분석조건

칼 럼 : Luna 5u C18 ; 4.6 mm i.d. x 250 mm L (Phenomenex)

이동상 : 2% acetic acid : MeOH = 10 : 0 ---> 5 : 5 (30min)

온 도 : 40℃

검 출 : 254, 366nm (photodioid array detector)

유 속 : 1ml/min

6) 품질관리를 위한 기초 연구

가) 산지별 성분 비교분석

산지에 따라 채취한 마타리 추출물을 제조하여 지표물질을 기준으로 HPLC를 이용하여 성분을 분석하였다.

나) 식물체 부위별 변이

마타리를 채취하여 잎, 줄기, 뿌리 부분으로 나누어 지표물질의 함량을 HPLC로 조사하였다. 잎, 줄기, 뿌리 부분을 잘게 분쇄하여 각각 물로 추출하되 실험할 수 있는 충분한 양을 확보하였다. Batch 마다, TLC와 HPLC를 수행하여 Profile의 재현성 및 정확성을 확보하였다.

다) 생육단계에 따른 성분 변화

마타리를 1년생, 2년생, 3년생으로 나누어 봄과 가을에 채취하여 44℃에서 2일간 건조한 후 추출하였다. 추출한 후 농축하고 동결 건조하여 수율을 비교하였다. 모든 시료를 대상으로 지표물질의 함량을 본 연구에서 확립된 HPLC방법으로 분석하였다. 위의 결과들을 비교하고 품질관리를 위한 기초 자료로 삼았다.

나. 마타리 추출물의 생리활성 연구

1) 간 기능의 개선효능 구명을 위한 세포실험 모델 확립

간기능의 개선 가능성 확인을 위한 세포 모델을 확립하여 효능을 조사하였다. 세포에서 간경화 현상을 연구하는 방법으로는 간조직을 적출하여 stellate cell (lipocyte)를 분리·배양하는 것이 최선의 방법이지만 기술적인 문제가 있어 세포주를 사용하는 방법이 많이 사용되고 있다. Fibroblast cell과 Hepatoma cell을 함께 배양하면 간의 손상에 따라 초기에 합성이 증가하는 proteins 중 α -smooth muscle actin (α -SMA) 발현이 현저히 증가하므로 α -SMA의 발현을 western blotting 방법으로 측정하면서 개발물질의 억제효과를 관찰하였다.

세포실험에서는 Human normal fibroblast인 Hel299세포와 Human hepatoblastoma인 HepG2 세포를 RPMI 1640 배지 (Gibco)에서 37°C (5% CO₂, 95% air)에서 배양하고, Transwell plate (Costar)를 이용한 co-culture system에서 Hel299와 HepG2를 8일간 배양하면서 개발물질의 효과를 조사하였다.

24mm Transwell

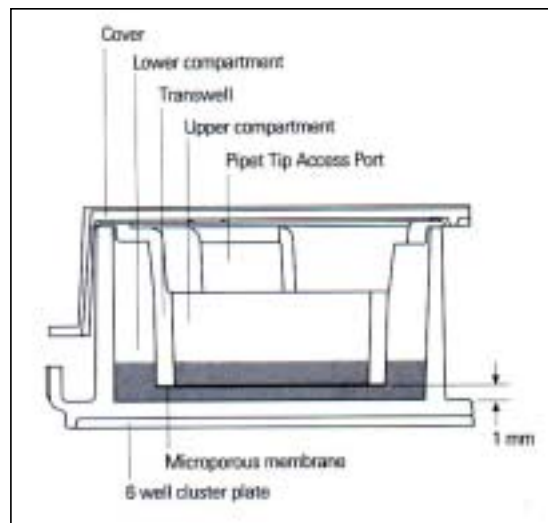


그림 4. Transwell plate (Costar)

가) Cell Lines 및 Co-culture

Human normal fibroblast인 Hel299세포와 Human hepatoblastoma인 HepG2세포를 fetal bovine serum (FBS, Gibco)과 100units/ml penicillin, 100 μ g/ml streptomycin이 첨가된 RPMI 1640 배지 (Gibco)에서 37 $^{\circ}$ C (5% CO₂, 95% air) incubator에서 배양하였다.

Transwell plate (그림 5)를 이용한 co-culture system에서 plate에는 Hel299를 3 \times 10⁴ cells/well로 seeding 하여 주고 transwell에는 HepG2를 5 \times 10⁴cells/well이 되게 seeding하여 8일 동안 배양하였다.

Hel299와 HepG2를 contact하게 배양하는 co-culture system에서는 6 well plate에 각 세포를 1.2 \times 10⁵, 2.0 \times 10⁵cells/well로 seeding하여 8일 동안 배양하였다.

나) 전기영동 및 western blotting

세포에서 lysis buffer [120mM NaCl, 40mM Tris (pH 8.0), 0.1% NP40]로 1시간 동안 처리하여 단백질을 추출한 다음, 595nm 파장에서 Bio-Rad protein assay kit (Bio-Rad) 로 농도를 측정하였고, 30 μ g 단백질을 loading하여 SDS-PAGE에서 분리한 후 transfer buffer [25mM Tris, 192mM Glycine, 20%(v/v) methanol (pH 8.3)]에서 nitro-cellulose membrane (Amersham)으로 이동시켜 western blotting analysis를 실시하였다.

0.1% ponceau S (Sigma)로 염색하여 단백질의 전기영동 상태를 관찰하였고, PBS (phosphate buffered saline (pH 8.0))으로 여러 번 씻어 ponceau S를 제거하였다. Membrane을 5% non fat dry skim milk이 포함된 PBS-T (PBS에 0.2% tween-20 첨가)의 Blocking buffer에 넣어 1시간 동안 반응시켰다.

α -SMA (smooth muscle actine) 발현을 알아보기 위해 monoclonal anti-mouse α -SMA antibody (DAKO)를 1 : 500으로 희석하여 4시간 반응시킨 다음, PBS-T로 20분씩 세 번 세척하고, 1:1,000으로 희석한 secondary antibody (DAKO)와 1시간 반응시킨 후 BCIP/NBT color development substrate system을 이용하여 발현된 단백질을 가시화하였다.

다) MTT assay

약물의 cell viability를 알아보기 위해 MTS/PMS (Sigma)을 사용하여 24시간, 48시간, 72시간, 시간별로 측정하였다. 3 \times 10³cells/well로 seeding된 96 well plates에 MTS/LPS를 20 μ l

씩 처리, 4시간 동안 반응시킨 후, DMSO 50 μ l를 넣어 발색시킨 다음 Enzyme-Linked Immucosorbent Assay reader로 490nm에서 흡광도 (OD)를 측정하였다.

2) 간 기능 개선 효능 확인을 위한 동물 모델 확립

가) 추출물의 생리활성 검증을 위한 간손상 동물모델 확립하였다. 간 손상의 원인 물질로 사염화탄소나 Alcohol을 이용하기도 하지만 최근의 보고에 의하면 Dimethyl-nitrosamine (DMN)을 투여할 때, 좀 더 인간의 간경화와 유사한 조직 변화를 초래하는 것으로 보고되어, 여러 가지 용량이나 스케줄을 이용하여 DMN으로 흰쥐에서 간 손상을 유도하는 실험을 수행한 결과 DMN으로 간의 섬유화를 유도하였다. DMN의 용량 및 투여 스케줄에 따라 간경화의 양상이 달라질 것을 고려하여 DMN의 용량별 그리고 스케줄에 따른 실험을 수행하였다.

나) DMN을 10mg/kg 용량으로 일주일에 3일 연속으로 1주, 2주, 3주, 4주, 또는 6주를 복강으로 투여하고 조직 및 혈청에서의 생화학적인 검사와 혈액의 혈구세포수의 변화를 관찰하였다. 또, DMN을 40 mg/kg 용량으로 1회 복강으로 주사한 후, 2주 후에 조직 및 혈청 검사를 실시하였다. 간의 섬유화 정도를 측정하기 위하여, 적출한 간조직을 4% paraformaldehyde에 고정시킨 후, paraffin block을 제작하고 각 조직 당 5개의 슬라이드를 만들어, 유리질변성 (hyaline degeneration), 섬유소 (fibrin) 등과 같은 병적 산물을 염색하는 Azan-Mallory 시약으로 간 조직을 염색하고 현미경을 통하여 조직을 관찰하였다.

다) Azan-Mallory 염색을 좀더 자세히 설명하면, 먼저 매염제 (mordant : 10% potassium dichromate[K₂Cr₂O₇] 수용액 50ml + 10% 트리클로로아세트산[CCl₃COOH]수용액 50ml)에 담갔다가 Azocarmine 용액으로 고온에서 처리하였다. 염색 후 식혀서 아닐린-알코올로 핵이 뚜렷이 구별될 때까지 분별하고 아세틱-알코올로 정지시켰다. Aniline blue-Orange G 용액으로 처리한 후 100% 에탄올로 분별 및 탈수시키고 봉입하여 슬라이드를 완성하였다.

3) 세포 및 동물 모델에서 마타리 추출물의 기능성 조사

가) 세포실험

위에서 확립된 세포 모델에서 마타리 추출물을 투여하고 간의 손상 회복에 대한 활성을 측정하였다.

① 마타리 추출물의 효과 검색

마타리 추출물의 활성검증을 위하여 negative control로 PEL을, positive control로 RIP를 사용하였고, 10mg/ml이 되도록 media RPMI 1640에 녹인 후 각각 희석하여 각각 0.02, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0mg/ml 농도로 cell seeding 이틀 후, 이틀에 한번씩 6일 동안 처리하고 α -SMA의 발현을 관찰하였다.

② 마타리 추출물의 분획의 효과 검색

마타리 추출물의 분획 중 Butanol Fraction은 10mg/ml이 되도록 media에 녹인 후 0.5, 0.25mg/ml로 희석하고, CH₂Cl₂ 층과 Ethylacetate 층은 1/10 DMSO에 먼저 녹인 후 9/10 media로 10mg/ml이 되도록 하여 0.5, 0.25mg/ml로 희석하여 이틀에 한번씩 6일 동안 처리하였다.

③ phenolic compound의 효과 검색

마타리 추출물에 함유되어있는 caffeic acid, chlorogenic acid, ferulic acid는 1/10 DMSO에 먼저 녹인 후 9/10 media로 1.0mg/ml이 되도록 하였다.

세포독성을 함께 조사하여 세포독성의 영향을 받지 않도록 caffeic acid는 0.002, 0.01, 0.02, 0.05mg/ml로, chlorogenic acid는 0.01, 0.02, 0.05, 0.1mg/ml로, ferulic은 0.02, 0.05, 0.1, 0.2mg/ml이 되도록 처리하였다.

나) 동물 실험

① DMN을 40mg/kg 용량으로 1회 복강으로 주사한 후, 다음 날부터 마타리 추출물을 150 mg/kg와 300mg/kg로 매일 경구투여하고, 2주 후에 조직 및 혈청 검사를 실시하였다.

간의 섬유화 정도를 측정하기 위하여, 적출한 간조직을 4% paraformaldehyde에 고정시킨 후, paraffin을 제작하고 각 조직 당 5개의 슬라이드를 만들어, 유리질 변성 (hyaline degeneration), 섬유소 (fibrin) 등과 같은 병적 산물에 염색되는 Azan-Mallory 시약으로 간 조직을 염색하

고 현미경을 통하여 조직을 관찰하였다.

② 다음의 연구 결과에 나타난 바와 같이 DMN모델은 동물모델의 확립이 성공적으로 이루어졌고 여러 차례의 실험에서 마타리 추출물이 간의 섬유화를 억제하는 효과가 뚜렷한 것을 확인하였으나, DMN모델은 간의 손상정도가 심해 건강기능식품으로 개발하는 경우 좀더 mild한 동물모델이 필요하다고 판단되어 galactosamine으로 간염을 유발하는 모델을 추가로 확립하였다. Galactosamine 모델에서는 간에 일어나는 염증의 결과로 인해 혈액내의 GOT, GPT level이 함께 상승하는데 마타리 추출물에 의해 GOT, GPT level이 감소하는 좋은 결과를 얻었다.

③ 따라서 개발된 간기능 개선용 건강식품의 효능을 검증하기 위한 동물실험은 galactosamine 모델을 활용하여 진행하였다. Galactosamine 모델은 추출물을 6일 동안 1일 1회씩 경구투여 (총 6회)후 3시간에 D-galactosamine 500mg/kg 용량을 ip 투여하고 48시간 후에 도살하여 혈액을 채취하여 GOT와 GPT를 측정하는 방법이다.

다. 마타리 추출물의 제품화 연구

Pilot 규모의 산업적 추출 조건 확립하기 위하여 한국식품개발연구원에서 pilot 실험을 위한 기계를 임대하여 산업적 추출조건 확립을 위한 실험을 2회에 걸쳐 실시하였다.

1) 1차 실험

진 처리, 추출, 압착, 농축, 여과, 냉각 및 건조의 방법 중 진 처리 단계에서 절단, 분쇄방법을 비교하고, 추출시의 물의 비율을 결정하기 위한 실험을 실시하였다.

2) 2차 실험

1차 실험의 결과에 따라 전처리 공정을 확정하고 추출시의 물의 비율도 결정하였다. 결정된 추출공정 과정에 준하여 대량생산성을 타진하였다. Pilot 규모의 추출물 생산조건 확립을 위한 위의 실험을 수행함에 있어서 bench scale에서 확립된 방법에 준하여 실험을 실시하였고, 단계별 효율성을 산출함으로써 각 단계별 방법을 비교하였다.

2. 연구결과 및 고찰

가. 마타리 추출물의 성분평가 및 품질관리 기준 확립

1) 추출물의 제조 방법의 표준화

가) 추출조건 확립

추출물 제조시 물을 각각 시료 600g당 3ℓ, 4ℓ, 6ℓ, 8ℓ 첨가하여 추출하여 수율을 비교한 결과 6ℓ 첨가시 수율이 가장 높은 것을 확인하였다. 또한 유효성분의 함량도 6ℓ 첨가시 가장 높은 것을 확인하였다.

추출시간은 30분, 45분, 60분, 90분 동안 추출한 것을 비교하였는데 60분에서 수율이 가장 좋았고 유효성분의 함량도 가장 높았다.

따라서 추출물 제조시 가장 좋은 추출방법은 시료 600g 당 6ℓ를 첨가하고 60분간 추출하는 것이 가장 바람직한 것을 확인하였다.

나) 표준화된 추출물 제조방법

마타리의 원료를 잘게 썰어 100g의 원료 당 1000ml의 물을 가하여 고압 열탕으로 1시간 동안 추출하고 추출여액만을 분리하여 용량이 반으로 줄도록 가열 농축한다. 여과 과정을 거쳐 정제하고 정제된 액체를 동결 건조한다. 이 방법은 HPLC 분석을 통하여 추출방법의 재현성과 안정성을 확인하였다.

2) 추출물의 일반 성분 분석

가) 마타리 추출물의 무기이온 및 중금속 함량

표 28에서 보는 바와 같이 추출물의 중금속 함량은 동물실험에 투여할 수 있으며, 인체에도 무해할 것으로 생각된다. 마타리 추출물에서 비교적 함량이 높은 무기이온은 칼슘 (Ca) 과 칼륨 (K)으로서 Ca은 1.05%, K는 1.95% 함유되어 있었다. 중금속 중에서는 납 (Pb)의 함량이 1.07ppm이었고 카드뮴 (Cd)은 0.03ppm, 크롬 (Cr)은 1.44ppm으로서 식품공전의 기준으로 볼 때 본 마타리 추출물이 안전함을 나타내고 있다.

표 28. 마타리 추출물의 무기이온 및 중금속 함량

성 분	마타리 추출물	단위
Mg	0.53	%
Ca	1.05	%
P	0.21	%
S	0.21	%
K	1.95	%
Na	53	ppm
Mn	51	ppm
Fe	124	ppm
Zn	3	ppm
Sr	90	ppm
Ba	72	ppm
Cr	1.44	ppm
Co	0.31	ppm
Ni	2.51	ppm
Cu	7.23	ppm
As	1.05	ppm
Cd	0.03	ppm
La	0.06	ppm
Pb	1.07	ppm
U	0.25	ppm

나) 마타리 추출물의 유리 아미노산 함량

추출물의 아미노산 함량은 지표물질 이외에 각 시료에 대한 표준화를 위한 기초 자료로서의 의미가 있으며 원료의 종류나 추출과정의 조건 변화에 따라 값이 달라질 수 있으므로 품질관리의 기준으로서 모니터링이 가능하다.

18종의 아미노산 함량을 조사한 결과 아래 표 29에서 나타난 바와 같이 threonine과 glutamic acid의 양이 가장 많이 함유되어 있었다. 그 다음으로 aspartic acid와 alanine의 함량이 높았다.

표 29. 마타리 추출물의 유리 아미노산 함량

아미노산	마타리 추출물	Ret. time
Asp	1030.2	3.6
Glu	1878.1	4.0
Ser	65.0	7.6
Gly	445.1	8.3
His	273.4	8.8
Arg	621.1	9.1
Thr	1969.9	9.3
Ala	917.2	9.7
Pro	622.3	9.8
Tyr	28.9	12.2
Val	141.2	12.9
Met	67.7	13.7
Cys	43.1	14.7
Ile	48.9	15.3
Leu	78.6	15.6
Phe	35.6	17.4
Trp	36.8	18.1
Lys	10.7	19.5

※ 각 아미노산의 함량은 시료 12.5 μ g에 대한 량임

3) 추출물의 성분 확인 (TLC)

마타리 추출물에 대하여 TLC를 실시하고 spraying system을 사용하여 각각의 물질들을 검출한 결과 마타리 추출물에는 phenolic compounds와 saponins 계통의 물질이 많이 포함되어 있는 것으로 확인되었다.

마타리 추출물을 용매의 극성에 따른 용매추출 방법에 의해서 dichloromethane 층, ethylacetate 층, butanol 층으로 나누어 얻은 분획에서도 유사한 결과를 얻었다. 문헌조사 결과 마타리에 함유된 물질로 알려진 scopoletin, esculetin, ursolic acid, oleanolic acid 등에 대하여 TLC를 실시한 결과 본 추출물에는 거의 함유되어있지 않은 것으로 나타났다.

TLC 분석 결과에서 나타난 phenolic compounds 중에서 여러 가지 표준품과 비교한 결과

3, 4-dihydroxybenzoic acid, caffeic acid, chlorogenic acid 등의 함량이 비교적 높은 것으로 확인되었다. 따라서 지표물질로 상기 3종의 페놀 물질이 적절할 것으로 판단하고 HPLC 방법으로 확인하였으며 각 지표물질의 함량을 결정하였다.

4) 지표물질 설정

분리된 물질을 대상으로 TLC 및 HPLC 등을 활용하여 대조물질과 비교 분석한 결과 마타리 추출물에는 3, 4-dihydroxybenzoic acid, caffeic acid와 chlorogenic acid 등의 물질 상당량 함유되어 있는 것이 확인되었다.

여러 종류의 마타리 추출물에서 HPLC 및 TLC 분석을 실시하여 그 성분을 비교하면서 함량이 적절하고 효능에 영향을 줄 수 있는 성분을 검색한 결과 chlorogenic acid와 caffeic acid가 기능면과 함량을 고려해 볼 때 품질관리에 가장 적절한 것으로 평가되었다. 따라서 지표물질을 chlorogenic acid와 caffeic acid로 결정하였다.

5) HPLC를 이용한 성분평가 방법 확립

가) 마타리 함유 지표물질 확인

그림 5과 6은 마타리 추출물에서 3, 4-dihydroxy benzoic acid, caffeic acid, chlorogenic acid의 피크를 보여주고 있다.

나) 마타리 추출물의 지표성분의 함량

표 30에서 나타난 바와 같이 마타리 추출물에서 3, 4-dihydroxy benzoic acid는 11.082분대에서 검출되었고, caffeic acid는 18.924분대에서 검출되었으며, chlorogenic acid는 17.037분대에서 검출되었다. 여러 가지 phenolic compounds 중에서 chlorogenic acid의 함량이 가장 높아 1% 정도를 차지하였다.

표 30. 마타리 추출물 중의 phenolic compound의 함량

성분	3,4-Dihydroxy-benzoic acid	Chlorogenic acid	Caffeic acid
RT (분)	11.082	17.037	18.924
Peak area	801.5	4824.0	935.8
함량(%)	0.060	1.079	0.251

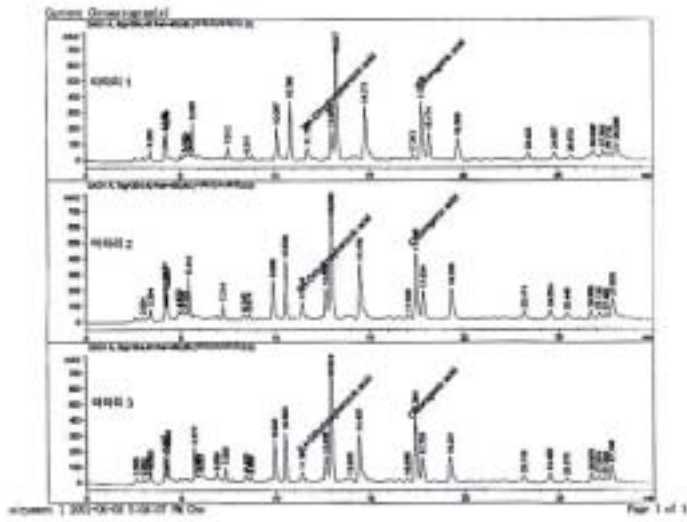


그림 5. 마타리 추출물의 3,4-dihydroxy benzoic acid와 chlorogenic acid의 HPLC profile.

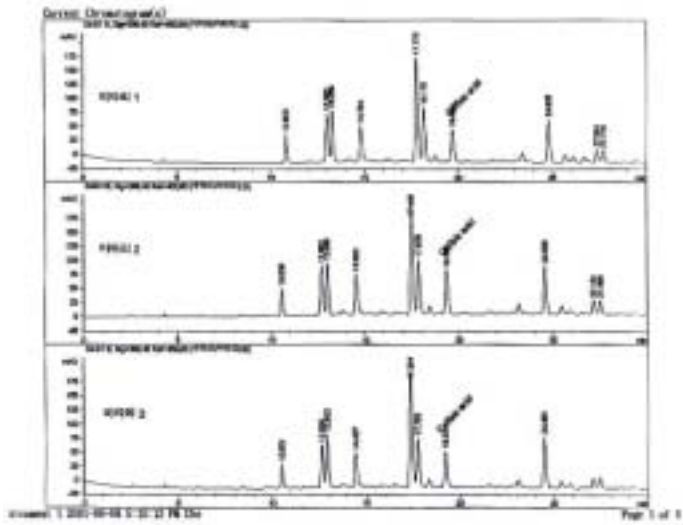


그림 6. 마타리 추출물에 포함된 caffeic acid의 HPLC profile.

다.) 각 분획의 지표물질 함량

그림 7과 같이 용매의 극성에 따라 용매 추출법에 의해 마타리 추출물을 분획하였다.

Solvent extraction 결과 나누어진 dichloromethane 층, ethylacetate 층, butanol 층을 대상으로 HPLC를 실시하여 지표물질의 함량을 조사한 결과를 표 31에 나타내었다. 표에 나타난 바와 같이 3, 4-dihydroxy benzoic acid와 caffeic acid는 ethylacetate 층에서 검출되었으나 chlorogenic acid는 butanol 층에서 검출되었다. 각각의 분획에 포함되어 있는 지표물질들의 함량은 표 31에 나타난 바와 같다.

표 31. 마타리 추출물의 각 분획에서의 지표물질의 함량 (%)

구 분	지표물질 함량 (%)		
	3, 4-DHBA	Caffeic acid	Chlorogenic acid
마타리 추출물	0.060	1.079	0.251
Dichloromethane 층	-	-	-
Ethylacetate 층	0.545	0.366	-
Butanol 층	-	-	0.7

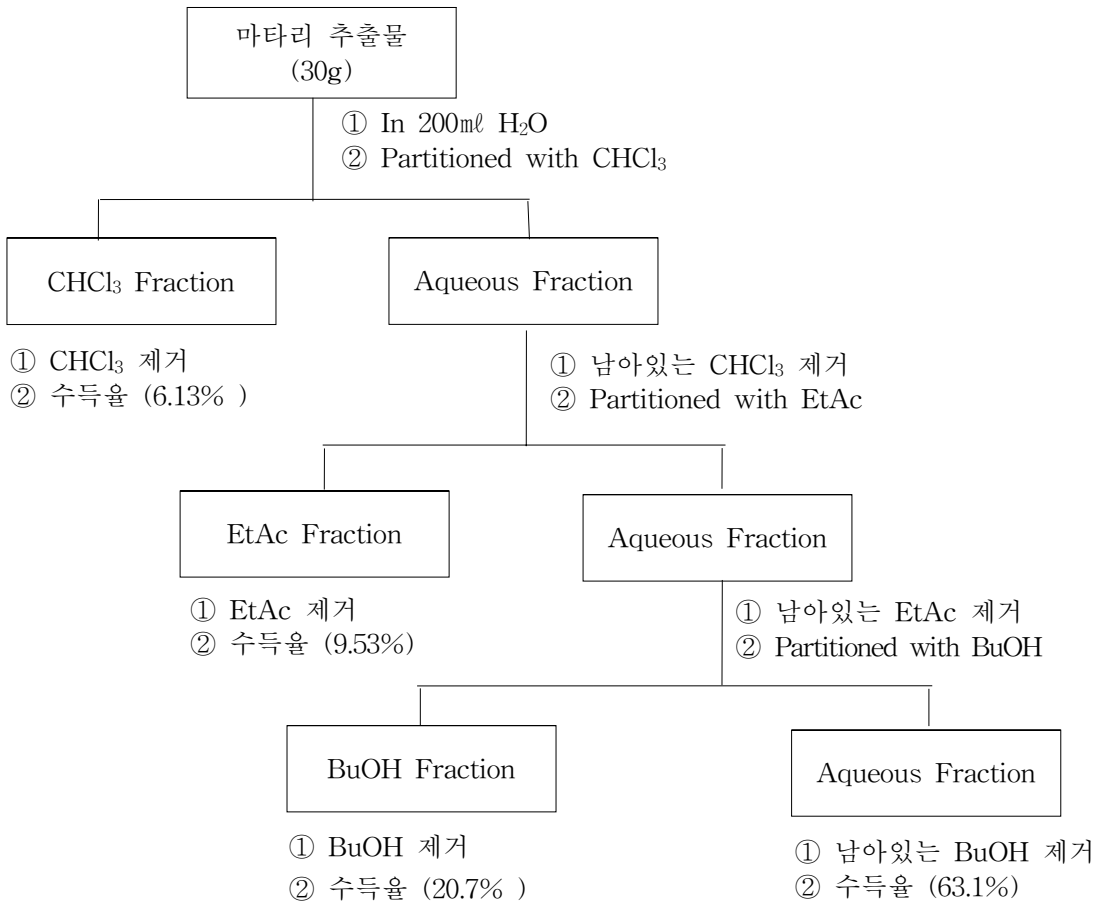


그림 7. 마타리 추출물의 용매 추출법에 의한 분획 제조도

6) 품질관리를 위한 기초연구 - 산지별 및 부위별 추출물 분석

가) 마타리 추출물에서 생육단계별 지표성분의 변화

마타리를 1년생, 2년생, 3년생으로 나누어 봄과 가을에 채취하여 건조한 후 추출하여 농축하고, 동결 건조한 다음 모든 시료를 대상으로 HPLC를 이용하여 지표물질의 함량을 분석하여 비교한 결과는 표 32 및 그림 8과 같다.

분석 결과 다년생 초본인 마타리는 1년생이나 2년생에서 활성에 영향을 주는 caffeic acid와 chlorogenic acid의 함량이 높은 것을 확인하였다. 특히 chlorogenic acid는 봄에 채취하는 것보다 가을에 채취한 원료에서 함량이 높았다. 따라서 마타리는 1년생이나 2년생을 가을에 채취하여 원료로 사용하는 것이 가장 바람직하다는 결론을 얻었다.

표 32. 마타리의 생육단계 및 채취시기에 따른 지표물질의 함량 변화

생육단계	채취시기	3, 4-DHBA		Caffeic acid		Chlorogenic acid	
		RT(분)	함량(%)	RT(분)	함량(%)	RT(분)	함량(%)
마타리 1년생	봄	11.564	0.03	19.529	0.039	17.704	0.111
	가을	-	-	19.287	0.118	17.431	0.84
마타리 2년생	봄	11.414	0.019	19.367	0.129	17.507	0.384
	가을	11.763	0.023	19.71	0.077	17.786	0.704
마타리 3년생	봄	11.40	0.037	19.347	0.066	17.49	0.266
	가을	11.393	0.033	19.342	0.055	17.499	0.202

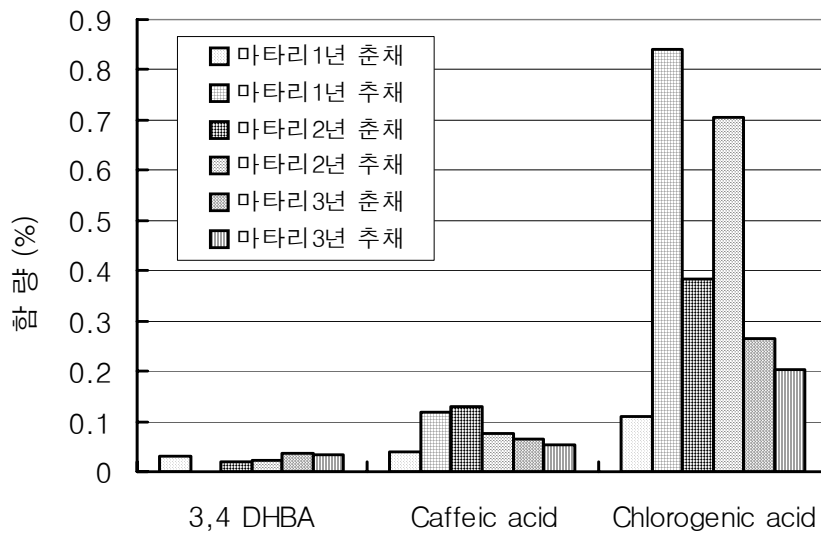


그림 8. 마타리 연생 및 채취시기에 따른 지표물질 함량 변화

나) 마타리의 식물체 부위에 따른 지표성분의 변화

마타리를 잎, 줄기, 뿌리 등으로 나누어 추출한 후 성분을 분석한 결과 표 33에 나타난 바와 같이 chlorogenic acid의 경우 특히 줄기에서 함량이 낮았으며, caffeic acid는 뿌리에서 함량이 높았다. 따라서 마타리는 뿌리가 우수한 원료임을 알 수 있었다.

표 33. 마타리의 부위별 지표물질의 함량 차이

부위	지표물질 함량 (%)		
	3, 4-DHBA	Chlorogenic acid	Caffeic acid
잎	0.076	2.372	0.062
뿌리	0.038	2.379	0.103
줄기	0.070	0.408	0.032

다) 마타리 추출물의 산지별 지표성분의 함량 차이

마타리를 강원도 홍천과 태백 부근에서 채취한 것을 대상으로 지표성분의 함량을 비교하였다. 그 결과 표 34에 나타난 바와 같이 3, 4-dihydroxybenzoic acid 및 chlorogenic acid의 함량 차이는 별로 없었으나 caffeic acid의 함량은 0.5% 정도의 차이를 보였다. 이러한 차이는 샘플 채취시 Pool의 개념으로 극복될 수 있다고 판단되며, 지표물질이 확립되었으므로 추출물의 품질을 관리하는데 기초적인 자료가 될 것으로 생각된다.

표 34. 마타리의 산지별 지표물질의 함량비교

산지	지표물질 함량 (%)		
	3, 4-DHBA	Chlorogenic acid	Caffeic acid
홍천산	0.020	0.229	0.080
태백산	0.024	0.246	0.134
평균	0.022	0.237	0.107

이상의 분석결과를 토대로 할 때 마타리는 생육조건이나 생육단계에 따라 지표성분의 편차가 큰 것으로 확인되었다. 따라서 제품화를 위해서는 가급적 pool 개념을 도입하여 원료를 확보하고 추출물을 제조하는 것이 바람직하다고 판단된다.

나. 마타리 추출물의 생리활성 연구

마타리 추출물의 기능을 규명하기 위하여 여러 가지 문헌과 예비실험들을 통하여 검토한 결과 간기능 개선효과 쪽에 초점을 맞추어 연구하게 되었다. 마타리 추출물의 기능을 규명하기 위하여 간기능 개선 효과를 조사하기 위한 세포모델과 동물모델을 확립하였다.

마타리 추출물의 생리활성 중에서 간 손상시 합성이 증가하는 α -smooth muscle actin (α -SMA)의 발현에 미치는 영향을 조사함으로써 마타리 추출물이 간의 손상을 막아주는 효능이 있음을 입증하였다.

쥐를 이용한 실험에서는 galactosamine으로 간의 손상(염증)을 유도한 모델에서 마타리 추출물의 생리활성을 입증하였다.

1) 간 기능의 개선효능 규명을 위한 세포실험 모델 확립

가) Hel299와 HepG2를 각각 배양하였을 경우, HepG2는 α -SMA를 발현하지 않았고 Hel299 세포는 소량의 α -SMA를 발현하였다.

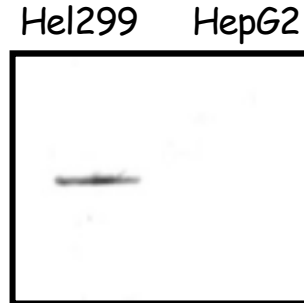


그림 9. Hel 299와 HepG2에서의 α -SMA 발현

나) 배양시간에 따른 Hel299의 α -SMA의 발현은 일정하였으나, Hel299와 HepG2와 HepG2를 함께 배양하였을 경우 (co-culture) 8일간 배양할 때 가장 큰 증가를 나타내었다 (그림 10). 따라서 α -SMA의 발현에 미치는 약물의 효과를 관찰하기 위하여 Hel299와 HepG2와의 co-culture 시간을 8일로 결정하였다.

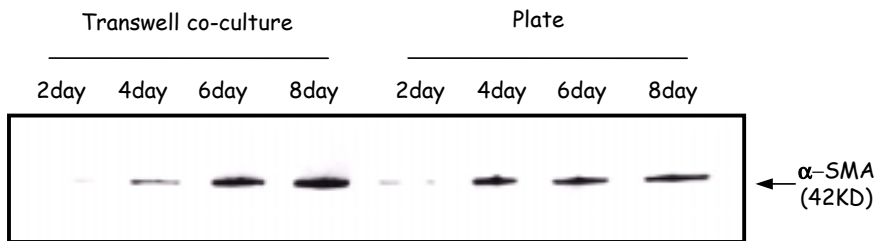


그림 10. Co-culture (Hel299 & HepG2)

2) 간 기능 개선효능 확인을 위한 동물모델 확립

가) DMN을 10mg/kg 용량으로 주당 3일 연속 투여했을 때, 4주와 6주에서 간세포의 섬유화 현상을 관찰할 수 있었다. Central vein (중심 정맥)이 한쪽으로 치우치거나 작아지는 형태를 보였으며, Glisson capsule (섬유피막)에 hepatic lobule (간소엽)을 경계 지우는 대신 광범위하게 간문맥 주위로 섬유조직이 증식되어 본래의 간소엽이 변형되고 다수의 위소엽 (micronodule, or pseudolobule)을 형성하였다.

나) 4주와 6주 투여의 차이는 크게 나타나지 않았다. DMN을 40mg/kg 용량으로 1회 투여했을 때에도, 간 조직 검사결과 간조직의 섬유화 현상이 유사하게 관찰되었다. 즉, 위소엽들이 많이 형성되었고 이웃의 간문맥들의 거리가 가깝게 위치해 있었으며 간문맥의 섬유화 및 많은 수의 림프구가 침윤되었다.

다) 혈액 수치보다는 조직 검사 결과에 따라서, DMN을 40mg/kg 용량으로 1회 투여하는 방법을 동물모델로 사용하기로 결정하고 이 모델을 이용해 실험을 수행하였다.

라) 간기능의 지표로 혈액의 GPT, GOT를 함께 분석하여 관찰하였으나 DMN을 주사한 초기에는 GOT, GPT의 수치가 증가하나 간경화가 유발되어 염증이 만성화가 되면 GOT, GPT의 수치가 낮아지므로 간경화 억제를 평가하기 위한 지표로는 적당하지 않았다.

3) 세포 및 동물 모델에서 마타리 추출물의 기능성 조사

가) 세포모델에서 마타리 추출물의 효과

① 마타리 추출물의 효과는 western blotting 방법으로 확인하였고 추출물의 세포에 대한 독성은 시간별로 MTT assay를 이용하여 조사하였다. 마타리 추출물 (PSF)의 활성검증을 위하여 negative control로 PEL을, positive control로 RIP를 사용하였다.

② 마타리 추출물과 대조물질을 0.5 mg/ml 농도로 투여하여 8일간 배양한 결과, Hel299 세포는 α -SMA의 발현이 적었고 반면 HepG2와 co-culture시에는 α -SMA 발현이 증가하였다.

③ co-culture 배양액에 마타리 추출물을 첨가했을 때, α -SMA의 발현이 억제되었는데, positive control인 RIP보다 현저한 억제 효과를 보였다 (그림 11).

④ 마타리 추출물의 독성은 Hel299와 HepG2에 대해 MTT assay를 실시한 결과 48시간 처리시 cell viability가 50%가 되는 농도는 각각 0.2296, 0.6404mg/ml이었다 (그림 12). 따라서 α -SMA의 발현억제효과를 보인 마타리 추출물의 용량은 0.02mg/ml로서 cell viability가 80% 이상되는 용량이었으므로, α -SMA의 발현억제 효과는 세포 독성효과와는 별개로 나타난 효과임을 확인하였다.

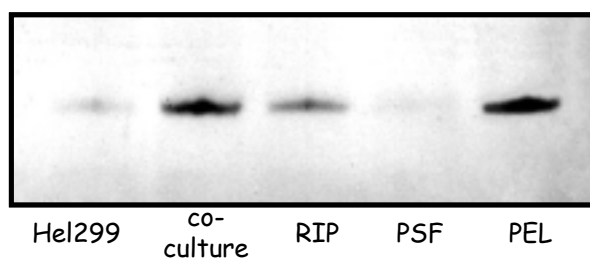


그림 11. 마타리 추출물(PSF)과 대조 물질 (RIP, PEL) 첨가시의 α -SMA의 발현

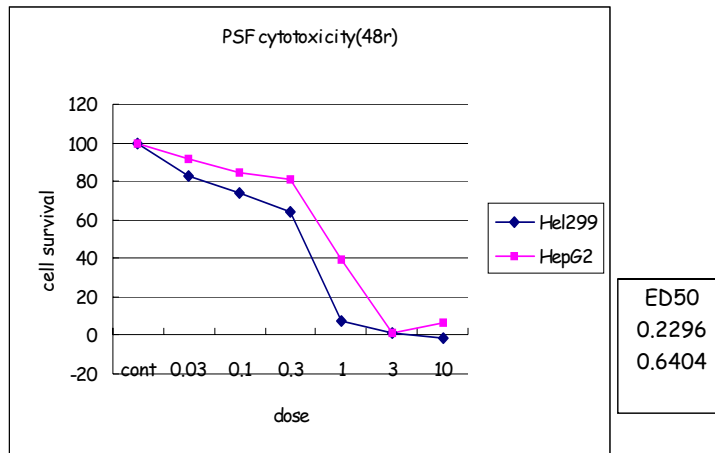


그림 12. 마타리 추출물의 세포독성 효과

나) 마타리 추출물의 용량에 따른 활성 변화

Hel299와 HepG2를 contact하게 하여 co-culture를 한 후, 마타리 추출물 (PSF)를 dose 별로 처리하였을 때 α -SMA의 발현을 살펴본 결과, 0.02mg/ml에서부터 dose dependent하게 감소함을 보여주었다 (그림 13).

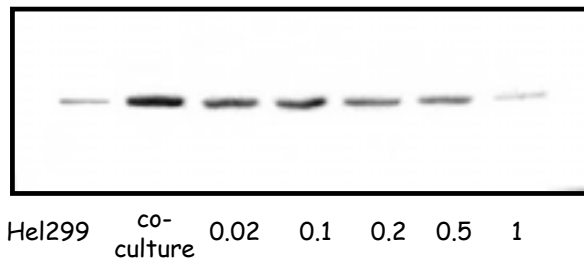


그림 13. 마타리 추출물의 용량 (mg/ml)에 따른 α -SMA expression에 미치는 효과

다) 마타리 추출물 분획의 효과

마타리 추출물 (PSF)의 분획인 Butanol, Dichloromethane (CH_2Cl_2), Ethylacetate 분획 중 어느 분획이 α -SMA의 발현에 관여하는지 알아보기 위해 Hel299와 HepG2를 contact하게

하여 co-culture를 한 후, 각각 0.5, 0.25mg/ml로 처리하여 α -SMA의 발현을 살펴보았다. 그림 14에 나타난 바와 같이 Butanol 분획을 처리한 sample에서는 차이가 없었고, CH_2Cl_2 와 Ethylacetate 분획에서는 현저한 감소를 나타냈다.

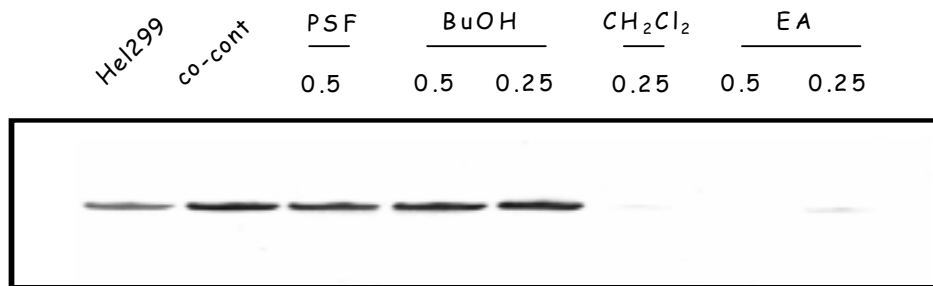


그림 14. 마타리추출물 (PSF)의 fraction의 효과 (contact)

라) 마타리 추출물에 함유되어 있는 phenolic compound의 효과

Hel299와 HepG2를 contact하게 하여 co-culture한 후, 마타리 추출물에 함유되어 있는 single compound인 chlorogenic acid, ferulic acid, caffeic acid를 dose별로 처리하였을 때 α -SMA의 발현을 살펴보았다. 그림 15에 나타난 바와 같이 chlorogenic acid와 caffeic acid는 용량 의존적으로 감소하였고, caffeic acid와 구조가 유사한 ferulic acid는 효과가 없었다. 따라서 마타리 추출물의 지표성분으로 선정된 chlorogenic acid와 caffeic acid가 유효 성분임을 확인하였다.

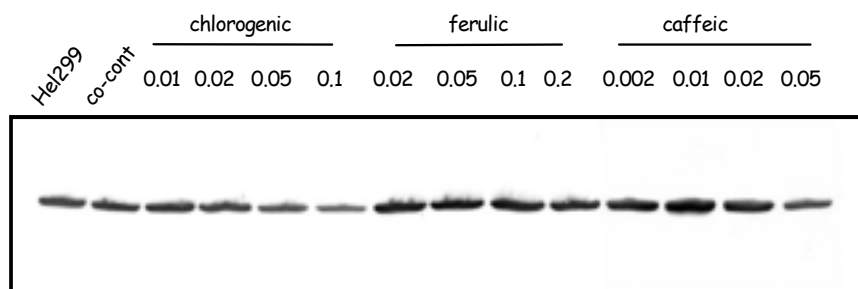


그림 15. Chlorogenic acid, caffeic acid, ferulic acid의 효과

마) 동물모델에서 마타리 추출물의 효과

① 동물에서의 간기능의 개선 가능성 확인은 DMN으로 간의 섬유화를 유발하는 동물실험 모델을 이용하여 확인하였다.

② DMN으로 간의 섬유화를 유도한 후 2주 동안 마타리 추출물을 경구투여한 결과 정상 동물의 간 (그림 16A)에서는 볼 수 없었던 섬유화 현상이 DMN으로 처리한 쥐에서는 발견되었다. 중심정맥들의 불규칙적인 배열상태, 간문맥주위의 섬유화 및 간문맥의 확장, 그리고 위소엽들이 관찰되었다 (그림 16B).

③ 마타리 추출물을 투여하였을 때, 위소엽과 섬유화 증식은 감소되었으나 여전히 문맥주위의 섬유화와 불규칙적인 중심정맥들의 배열이 관찰되었고 (그림 16C, 16D), 용량에 따른 차이는 크지 않았다. 본 연구 결과는 마타리 추출물이 DMN으로 처리한 쥐의 간이 섬유화 되는 것을 억제하여 간을 보호한다는 결론에 도달하였다. 마타리 추출물의 투여기간을 늘리면 섬유화 증식 효과를 더 분명히 확인할 수 있을 것으로 사료된다.

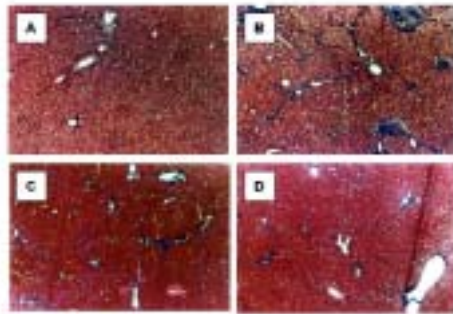


그림 16. DMN으로 간섬유화가 일어난 동물에서의 마타리 추출물의 효과

④ 본 연구진은 DMN 모델이 간의 섬유화를 유도하는 좋은 모델이지만 건강식품으로 개발하는 과정에서는 좀 더 mild한 모델이 필요함을 느끼고 추가로 DMN보다 mild한 간 손상을 유발하는 galactosamine 모델을 확립하여 연구하였다.

⑤ 표 35에 나타난 바와 같이, 간기능의 GOT, GPT가, D-galactosamine으로 급성간염을

유발한 군에서 급격히 증가하였으나 마타리 추출물 투여군에서는 대조군과 유사한 값으로 간염이 호전되었음을 나타내었다. 간 조직 검사에서는, D-galactosamine에 의해 간염이 유발된 경우 중정도의 염증세포의 침윤과 간세포 파괴현상을 관찰할 수 있었고, 마타리 추출물을 투여한 군에서는 경미한 염증상태 및 간세포의 개선효과를 관찰할 수 있었다.

표 35. D-galactosamine으로 간 손상을 유도한 rat에서 마타리 추출물의 효과

	Control	D-galactosamine 투여군	마타리 추출물 300mg/kg
GOT(u/l)	63	184	74
GPT(u/l)	137	911.5	233
AL-P(u/l)	342.5	438.0	401.0
Cholesterol(mg/dl)	97.5	28.0	92.0

다. 마타리 추출물의 제품화 연구

1) 간 기능개선 제품의 시장성

가) 시장 현황

간기능 개선용 건강식품의 소비행동 측면에서 살펴볼 때, 간질환과 관계가 없는 일반소비자가 이 제품을 구입한다고 보기는 어렵고 본 제품의 소비자는 당연히 간질환자에 국한될 수밖에 없다. 즉 제품의 형태가 행정 또는 산업분류상 건강식품산업에 속한다 하더라도 이러한 분류가 중요한 것이 아니라 실질적으로 소비자가 제품을 구입·사용하는 동기를 살펴 보아야 한다. 소비자들이 본 제품을 구입하는 동기는 간질환에 대한 효능을 기대하기 때문 이라고 보아야 한다. 결국 본 제품의 목표시장은 간질환이 진행되고 있거나 또는 간질환의 발병을 우려하는 감염환자 (보균자)라고 보는 것이 합리적일 것이다. 이에 따라 본 제품의 시장범위는 간질환의 예방과 치료에 관심이 있는 간질환자를 대상으로 하는 시장이 될 것이다.

유통상의 특징은 치료제의 경우는 의약분업이 실시되고 있는 국가에서는 의사의 처방에

따른 약국판매가 대부분을 차지하고 있으나 건강식품으로 판매되는 경우에는 건강식품체인 점이나 다단계 판매 그리고 대형 할인점의 비율이 높은 편이고 최근 들어와 케이블 TV나 인터넷쇼핑 등의 비중이 늘어나고 있는 추세이다.

간기능 개선 제품들은 의약품과 건강식품이 혼재되어 있는 시장을 형성하고 있다. 이것은 간질환에 대한 특효약이 없고 대부분이 간기능 개선 내지는 간보호제 군으로 되어있기 때문인 것으로 판단된다. 실제로 간질환은 바이러스, 알코올, 과로, 스트레스 등 다양한 원인에 따라 발생하기 때문이기도 하고 각각의 원인에 대한 치료대책이 뚜렷하지 않기 때문에 치료에 어려움이 많다. 현재의 간질환 치료제 (건강식품, 의약품 포함) 시장의 현황은 대략 다음의 표 36과 같다.

나) 본 연구결과물을 활용한 건강기능 식품의 사업화 가능성

아래의 표 36에 나타난 바와 같이 간기능 개선을 비롯한 간질환을 타겟으로 하는 제품의 시장은 지속적으로 성장하고 있다. 특히 우리나라의 간염환자는 B형간염 환자가 보균자를 포함하여 전인구의 10%에 육박하고 예방백신이나 치료제가 전무한 C형간염은 7%수준에 달하고 있다. 이외에도 알코올 섭취에 따른 알코올성 간염, 지방간 등 간질환자 수는 지속적으로 증가하고 있는 추세이다. 따라서 이제까지의 연구결과로 볼 때 마타리가 이제까지 활용된 적이 없는 새로운 소재인 점을 부각시키며 임상시험을 통한 효능을 입증한다면 충분한 사업성이 있다고 판단된다.

2002년 8월에 건강기능성 식품에 관한 법률이 통과되었고 시행령이 곧 발효될 예정이다. 따라서 본 사에서는 본 연구과제의 결과물을 활용하여 본 제품이 건강기능식품으로 인정받을 수 있도록 노력할 것이다.

제품을 판매하기 위해서는 임상시험이 필수적이라고 판단되므로 이 부분에 대한 재원을 확보하여 본 과제가 완료 되는대로 임상시험을 실시할 예정이다. 본 제품은 OEM 방식으로 생산하여 판매할 계획이므로 판매망을 확보하는데 주력하고 있다. 현재 이를 위한 인력을 3명 확보한 상태이며 판매회사들을 섭외하고 있다.

표 36. 간기능 개선 및 간질환 치료제 관련 시장규모 (산업기술정보원)

시장현황 및 특성	- 시장규모 (단위: 백만원)				
	구 분	직전년도	당해년도	차기년도	차차기년도
	세계시장	8,000,000	10,500,000	12,000,000	13,000,000
	국내시장	176,000	190,000	230,000	250,000
	* 작성근거 : 세계시장 : 간질환 치료제로 분류된 시장이 없음 국내시장 : 의약품등 생산실적표				
	- 시장특성 (향후 3년간 자료로 판단)				
	구 분	국 내	국 외		
	시장상태 (독점/경쟁)	경쟁	경쟁		
	안 전 성	유	유		
	지 속 성	유	유		
	성 장 성	고	고		
경쟁업체 현황	- 국내시장				
	성분	업체명	제품명		
	Silymarin	부광약품 건일제약 경동제약	레가론 가이바 시럽, 실리박 연질캡셀 시리콤포 캡셀		
	Glycyrrhizine	제일약품	네오미노화젠, 미노젠		
	Biphenyl dimethyl dicarboxylate	동일신약 태림제약 대웅제약 신일제약 태평양제약 경동제약 대화제약	가네마 정 닛셀 정 디디비 캡셀 레오빌 정 리비탈 정 리헬 정 비디카 정		
	여우구슬(진주초)	원광대	해파가드		
	헛개나무추출물	생명의 나무	HD		
	- 국외시장 Merck & Co. : Cuprimine Capsules Du Pont Pharma : Narcan Injection Roche Laboratory : Romazicon				

2) 제품의 제형 결정

- OEM업체를 섭외하여 자문을 받아 여러 가지 제형을 검토하였다.
- 제품의 생산 방안을 수립하기 위해 노력한 결과, 제형은 정제 type으로 하기로 결정하고 포장은 PTP포장이 습기를 막는데 합리적이라는 결론을 얻었다.

3) 제품의 formula 확립

마타리 추출물의 생리활성 실험 결과에 따라 target 기능을 설정하고 관련 질환군을 조사하여 제품의 concept을 설정하였다.

제품의 concept (HepaPro) : 간기능 개선 보조식품

마타리 추출물 이외에 concept에 부합되는 물질들을 함께 조사하여 건강기능성 식품으로서의 formulation을 완성하였다.

동물실험 결과 임상에서의 하루 섭취량은 2,000mg 수준으로 1회 2정씩 (500mg×2정), 2회 복용하는 것이 바람직할 것으로 판단된다.

마타리 추출물을 핵심물질로 하여 건강보조식품의 formula를 결정하였다. Formula에 사용된 원료들은 모두 식품원료로서 마타리 추출물과 적절한 비율로 배합한 결과 시중에 유통되고 있는 소시오탕에 비해 더 우수한 작용을 나타내었다.

그림 17는 마타리 추출물을 핵심물질로 하여 결정된 건강보조식품의 formula에 대한 효능 검증 결과를 나타낸 것이다. 그림에서와 같이 galactosamine 모델에서 본 제품의 formula는 시중에서 많이 팔리고 있는 소시오탕에 비해 훨씬 더 우수한 간보호 작용을 나타내었다.

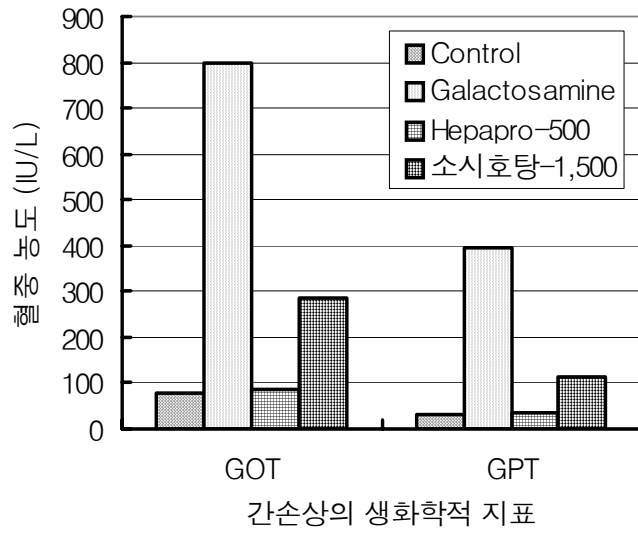


그림 17. 마타리 추출물을 핵심물질로 한 formula의 효능

4) 대량 생산공정 확립 (Pilot scale)

마타리 추출물을 활용한 건강기능성 식품을 생산하기 위한 대량 생산공정을 연구하여 품질유지를 위한 개별 공정의 최적 조건을 확립하였다. 이러한 조건 하에서의 생산수율은 10.9%이었다.

가) 고 찰

① 분쇄시료의 크기는 제품의 생산시 수율에 영향을 주었다. 두 가지 전처리 방법 중 hammer mill 분쇄시의 수율이 높았기 때문에 전처리 공정은 hammer mill 분쇄로 결정하였다.

② 추출공정에서 레토르트와 이중솥의 적용가능성은 단시간에서 높은 추출효율을 보인 레토르트가 이중솥보다 우수하였다. 이러한 결과는 고온, 고압의 환경에서 추출 시간을 단축할 수 있다는 사실을 암시한다.

③ 농축공정에서 직화방식이며 개방형으로 수분이 잘 제거될 수 있는 이중솥이 뛰어난 농축효과를 나타내었다.

④ 여과공정은 이물질을 제거하기 위한 필수적인 공정으로 50, 100, 150mesh로 여과한 결과 100mesh에서 대부분의 이물질이 제거되었으며 150mesh에서도 약간의 이물질이 발견 되었으므로 좋은 품질의 제품을 생산하기 위해서는 100mesh 이하의 여과공정이 필요하다.

나) 최적 공정도

적정 최적공정은 mill 분쇄로 분쇄율을 높여 고온 고압에서 추출하여 수분이 쉽게 제거될 수 있는 환경을 이용하여 농축하고 분무건조로 시간당 생산량을 높이는 것이 품질의 변화를 최소화하면서 생산량을 높일 수 있는 최적 공정으로 평가된다.

표 37. Pilot상에서 산업적 추출 조건 확립

가) 실험재료

- 시 료 명 : 마타리 (*Patrinia scabrisfolia*)
- 생 산 지 : 작물시험장 (경기도 수원)
- 채취시기 : 9월 ~ 10월
- 수분함량 : 14.87 %
- 저장조건 : 서늘한 곳

나) 시료조제

① cutter 분쇄

- 설 비 명 : cutter
- 분쇄조건 : 수동식 약재 절단기
- 분쇄시간 : 1 kg/h

② hammer mill 분쇄

- 설 비 명 : hammer mill
- 분쇄조건 : 8mm hole screen 과 디스크에 핀을 이용한 분쇄, 7.5마력, 1750rpm
- 분쇄시간 : 100kg/h
- 특기사항 : 분쇄효율을 높이기 위하여 뒷개부분에 wave를 주어 가공적성을 높임.

다) 추출공정:

① 레토르트 추출

- 추출조건 : 121℃, 2.2기압
- 추출시간 : 30분
- 추출방법 : steam 방식 (고온고압)

② 이중솥 추출

- 추출조건 : 95℃, 0.4~1.4kfg/cm²
- 추출시간 : 1~2h
- 추출방법 : steam 방식

라) 농축공정

① 이중솥 농축

- 농축조건 : 95℃, 0.4~1.4kfg/cm²
- 농축시간 : 2~4h
- 농축방법 : steam 가열 방식
- 농축brix : 10brix
- 여 과 : 100mesh

마) 건조공정 (대형분무건조기 이용)

- 건조조건 : inlet 150℃, outlet 110℃
 - 건조시간 : 1.2kg/h
 - 건조방식 : 아토마이저
 - 운전조건 : pump press : 3
-

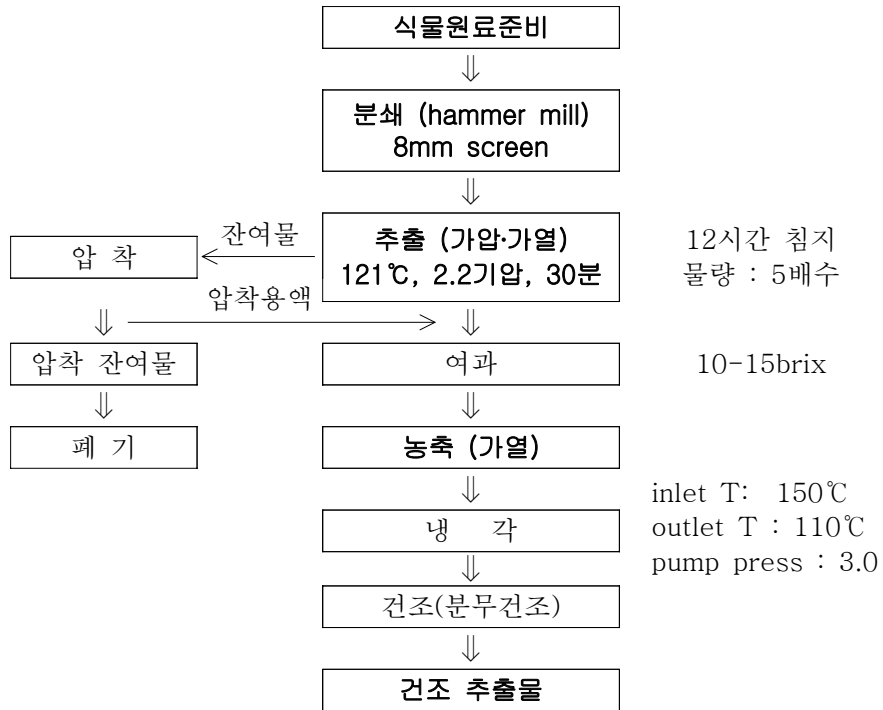


그림 18. Pilot 규모 생산 공정도 요약

5) 시제품 생산

- 본 연구 결과들에 따라 마타리 추출물을 핵심원료로 하는 건강보조식품의 조성을 결정하였고 시제품을 OEM 방식으로 생산하였다.
- 본 시제품 생산을 위하여 OEM 공장 (풍림무약)을 연결하여 capsule 제제와 정제 (tablet) 제제를 각각 시도하였고, 위에서 제시한 간기능 개선 건강식품의 formulation을 완성하여 시제품을 제조하였다 (사진 7).



Tablet 제제, PTP 포장



Capsule 제제

사진 7. 시제품

4. 적 요

1) 마타리 추출물의 성분평가 및 품질관리 방안

가) 마타리 추출물의 성분 평가기준 확립

마타리 추출물에 대한 TLC를 실시한 결과 마타리 추출물에는 phenolic compounds와 saponin 계통의 물질이 많이 함유되어 있는 것으로 확인되었다.

마타리 추출물을 dichloromethane 층, ethylacetat 층, butanol 층으로 분리 추출하여 silica gel과 sephadex LH-20을 충전한 column에 의한 분획을 TLC 및 HPLC로 분석한 결과 3, 4-dihydroxybenzoic acid, caffeic acid와 chlorogenic acid 등의 물질이 상당량 함유되어 있는 것이 확인되었다. 그 중에서 chlorogenic acid와 caffeic acid가 품질관리에 가장 적절한 것으로 평가되어 지표물질로 결정하였다.

나) 생육환경 및 식물체 부위별 성분차이

마타리는 1년생이나 2년생에서 간기능 개선에 영향을 주는 caffeic acid와 chlorogenic acid의 함량이 높은 것을 확인하였다. 특히 chlorogenic acid는 봄에 채취하는 것보다 가을에 채취한 것에서 함량이 높았다. 산지별로 3, 4-dihydroxybenzoic acid 및 chlorogenic acid의 함량 차이는 별로 없었으나 caffeic acid의 함량은 0.5% 정도의 차이를 보였다.

마타리를 잎, 줄기, 뿌리로 나누어 성분을 분석한 결과 chlorogenic acid의 경우 특히 줄기에서 함량이 낮았으며, caffeic acid는 뿌리에서 함량이 높았다.

2) 마타리 추출물의 기능성 연구

마타리 추출물의 기능을 규명하기 위하여 여러 가지 문헌과 예비실험들을 통하여 검토한 결과 간기능 개선효과 쪽에 초점을 맞추어 연구하게 되었다.

마타리 추출물의 기능을 규명하기 위하여 간기능 개선효과를 조사하기 위한 세포모델과 동물모델을 확립하였다.

확립된 세포모델과 동물모델에서 마타리 추출물의 효능을 조사한 결과 마타리 추출물이 간의 경화와 관련된 단백질의 발현을 억제하여 간의 경화를 막는다는 사실을 규명하였다.

3) 마타리 추출물의 활성을 이용한 건강식품 개발

마타리 추출물을 활용한 간기능 개선용 건강식품을 생산하기 위한 대량생산공정과정을 연구하여 품질유지를 위한 개별 공정의 최적조건을 확립하였다. 이러한 조건하에서의 생산 수

율은 10.9%였다.

마타리 추출물의 기능을 강화하기 위하여 여러 부재료를 이용하여 성능을 개선한 결과 가장 좋은 formula를 확립하였다. 제품의 생산 방안을 수립하기 위해 노력한 결과, 제형은 정제 type으로 하기로 결정하고 포장은 PTP포장이 습기를 막는데 합리적이라는 결론을 얻었다.

동물실험 결과 임상에서의 하루 섭취량은 2,000mg 수준으로 1회 2정씩 (500mg × 2정), 2회 복용하는 것이 적당한 것으로 판단된다.

위의 연구 결과들에 따라 마타리 추출물을 핵심원료로 하는 건강보조식품의 조성을 결정하였고 시제품을 OEM 방식으로 생산하였다.

제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

1. 목표 달성도

가. 마타리 재배생산기술 개발 및 우량 계통선발

연구목표	연구내용	목표달성도
○유전자원의 수집	- 마타리속 식물의 국내 분포 조사 및 자원 수집	- 국내 분포 중 모두 수집 · 국내종 21점 수집 · 마타리, 뚜갈, 돌마타리, 금마타리
○우량계통선발 및 특성검정	- 우량 계통선발 및 생산력 검정	- 다수성 영양계 계통선발 · 우량계통 14계통 선발(영양계) · 생산성(1년생) : 300kg/10a 이상 · 선발 및 중요증식(기본과제 수행) - 우량 개체 선발 (2003년 추가)
○마타리 재배기술 개발	- 야생식물의 순화를 위한 기초 재배기술 확립 · 육묘이식 재배기술(적정 육묘일수, 정식기, 재식 밀도 등) · 파종적기 구명 · 질소 시비량 구명 - 분주법에 의한 영양번식 기술 개발 - 기계수확 및 건조법 개발	- 마타리 표준 재배법 확립 · 수량성 600kg/10a · 분주법 증식율 : 12배 · 생력화율 : 70% - 새로운 자원식물로 재배하는데 필요한 기술개발 완료

나. 마타리 추출물의 성분평가 및 건강식품 개발 연구

연구목표	연구 내용	목표 달성도
○ 마타리 추출물의 성분평가 기준 확립	<ul style="list-style-type: none"> - 추출물의 제조방법의 표준화 - 추출물의 일반 성분 분석 - 추출물의 물질 확인 - 지표물질 설정 - 성분평가 방법 확립 	<ul style="list-style-type: none"> - 마타리 물질 추출 방법 확립 · 물의 비율, 추출시간 등 결정 - 품질의 향상 및 균일화 연구 · 수확시기, 산지, 부위별 성분차이구명 · 무기이온 및 중금속 분석 - 지표물질 확인 : chlorogenic acid, caffeic acid
○ 마타리 추출물의 기능성 평가	<ul style="list-style-type: none"> - 간 손상 동물 또는 세포검정 모델 설정 - 추출물의 효능 평가 	<ul style="list-style-type: none"> - 세포모델을 확립 - 동물실험모델을 확립 - 마타리 추출물의 기능성 검정 · 간경화 단백질 발현억제 효과 구명 · 특허출원 : 국내 및 국외(일본, 중국)
○ 마타리 추출물의 건강식품 제품화	<ul style="list-style-type: none"> - 제품의 제형 결정 - 제품의 형태 결정 - 대량생산 공정의 확립 - 시제품 생산 	<ul style="list-style-type: none"> - 제형 : 정제 type - 간기능 개선 보조식품(HepaPro) - 대량생산 최적 공정 결정 · 제품수율 : 10.9% - Tablet 및 Capsule 제품 생산

2. 관련분야의 기여도

가. 품종개발 및 재배기술 보급에 의한 효과와 부산물 이용

선발된 우량계통은 앞으로 선발을 계속하고 특성 평가를 거쳐 신품종으로 개발될 것이며, 품종개발의 육종재료로 이용될 수 있다. 수집된 식물자원은 약용식물원에 보존하여 부존자원으로 활용가치가 있다.

마타리의 표준재배 기술은 야생채취를 지양하고 한약재용 패장을 재배생산하는 기술로 보급하므로써 농가 소득을 기대할 수 있고, 앞으로 마타리를 이용한 건강 기능성 식품의 생산 판매 시에는 원료생산 기술로 이용될 수 있다.

한편 마타리는 꽃의 지속기간이 길어 화단조경 및 절화용 화훼로 이용할 수 있으며, 예로부터 어린잎을 이용하였으므로 산채로 개발이 가능하여 부산물로 활용이 가능하다.

나. 마타리의 기능성 및 제품화의 기여도

건강식품 원료 수입이 약 80%에 이르고 있는 현 상황에서 수입 대체효과도 얻을 수 있으며 본 기술이 건강식품의 사업화로 연결되었을 때, 기업의 매출 증대 및 산업발전 효과를 기대하고 있다.

본 연구를 통하여 기 출원한 국내특허를 등록하였고 2002년 하반기에 중국과 일본에 특허를 출원하였다. 이 기술의 사업화를 위하여 참여기업인 (주)메드빌에서 내년 상반기에 제품을 출시할 예정이므로 관련업에 기여할 것이다.

따라서 한국 고유 농산물의 식품산업을 특성화하고 세계화하는데 영향할 수 있고, 기능성 식품의 수입대체 및 수출 효과가 기대되며, 국제 특허권 획득에 의한 지적 재산권의 해외 수출도 가능하다. 제품을 이용하는 간염환자의 질병치료에 따른 건강한 사회를 만드는데 일조할 것이다.

제품 생산으로 관련 산업의 기반을 다지고, 제품의 수요에 따라 부가가치가 높은 식품을 생산함으로써 고소득 작물로 개발하고, 안전성이 높은 생리활성 물질의 보급으로 국민보건에 기여하는 다자산업의 연계모델로 그 파급 효과가 클 것으로 평가된다.

다. 소득효과 분석

1) 마타리 재배시 기대 소득(10a 기준, 단위 : 천원)

조수입 = 생근수량 600kg × 건조비율 0.35 × 7,000원/600g = 2,450,000원

생산비 = 1,396,116원 (당귀소득분석 적용)

소 득 = 조수입-생산비 = 1,053.884원

2) 농가 소득 분석

우리나라 간염환자 50만명 추정

약제생산에 필요한 건재원료 150톤

원료생산 소요면적 714ha

농가소득은 75억원

제5장 연구개발결과의 활용계획

1. 연구결과의 활용

가. 품종개발 및 재배기술 보급

수집한 마타리속 식물자원을 작물시험장 약용식물원에 보존하고 연구 및 관람인에 대한 교육 자료로 활용될 것이다. 육성한 우량 계통은 영양변식을 통하여 유전형질의 고정이 가능하므로 증식을 거쳐 수요처에 보급가능하다.

재배기술 및 연구결과는 재배생산 시에 지도기술 지침으로 응용하고 연구의 기초 자료로 이용될 것이다.

나. 마타리 추출물의 특허출원 및 건강식품 생산판매

본 연구의 결과를 크게 세 가지 방향으로 활용하려고 한다. 첫째, 특허 출원 및 등록을 통한 지적 소유권을 통해 특허물질에 대한 경쟁력을 확보한다. 둘째, 본 연구의 결과에 따른 마타리 추출물의 신기능성을 활용하여 제품(건강기능식품 등)을 생산하는 데 활용할 수 있으며 셋째, 우수 품종 및 마타리 원료의 대량 생산 연구의 결과에 따라, 농촌의 소득을 증대시키기 위해 아래의 전략을 추진할 것이다.

1) 연구개발결과의 활용 방안

가) 지적 소유권 확보

마타리 추출물의 용도(기능성) 특허를 국내에 출원하였고 2002년 등록되었다. 2002년 하반기에 일본과 중국에 특허를 출원하였다.

나) 건강보조식품 생산 판매

국내 자생식물 추출물을 원료로 하여 건강식품 개발에 활용한다. 본 제품은 제품의 특성 면에서 건강식품으로 개발되어 판매되는 것이 경쟁력이 있을 것으로 판단되며 부가적으로 숙취해소 음료를 개발하여 시장에 진입하는 것이 바람직할 것으로 본다.

개발제품의 경쟁력

- 식품원료로 사용되는 천연물로서 안전성 확보
- 경구투여 가능하며, 독성이 적어 장기투여도 가능함
- 항바이러스작용과 항염작용, 섬유화 억제작용을 복합하고 있어 간염 및 기타 간질환의 보조제로 적합함
- 여러 가지 성분이 함유되어 있어 내성이 없음

현재 간질환에 효능이 있다고 주장하는 여러 가지 건강식품들과는 기능면에서 차별화 되고, 그에 대한 과학적인 근거를 제공함으로써 소비자의 신뢰를 향상시킬 수 있다.

특히, 기존 치료제와 병용하는 것이 가능하다고 판단되며 이를 통해 간질환자의 회복에 크게 기여할 수 있을 것으로 생각된다. 본 연구를 성공적으로 수행함에 따라 건강보조식품의 시제품을 생산하였다 (연구결과에 시제품 제시).

새로운 건강기능식품법이 발효됨에 따라 건강기능식품에도 적응증 및 효능을 기재하고 광고하도록 규정하고 있기 때문에 본 연구의 성과물로서 개발된 제품을 간질환에 사용할 수 있는 건강기능식품으로 허가 받는 것이 필요하다. 건강기능식품으로 허가를 받기 위해서 임상시험이 필수적임으로 이에 대한 준비를 하고 있다.

2) 참여기업 메드빌의 사업화 추진방안

참여기업인 (주)메드빌은 본 기술을 사업화하기 위해서 2004년에 OEM생산 방식에 의해 생산하여 건강식품으로 기존 영업망을 이용하여 판매하는 계획을 수립하고 이를 성사시키기 위해 노력하고 있다.

2. 추가연구의 필요성

- 병해가 적고, 비교적 재배가 용이하므로 채소 및 화훼용으로 품종개량 및 부산물 이용 기술 개발이 필요함
- 뿌리 등에 불쾌한 냄새가 있어 껍질로 불리는 식물이며, 방향성 정유를 함유하고 있어 정유의 기능 및 향의 개발연구 필요
- 건강 기능성 식품 등록을 위해서는 “건강기능성 식품에 관한 법률”에 정한 요건을 갖추어야하며 이에 필요한 임상시험이 필수적임

제7장 참 고 문 헌

1. 강삼식. 1996. 사포닌, 서울대학교 출판부.
2. 권영림, 정중섭. 1996. 마타리의 적십이 생육특성에 미치는 영향. 한국원예학회지 14(2) : 542-525
3. 김순동, 이신호, 한준표, 노홍균, 윤광섭, 강명수, 정용진, 이진만. 1999. 현대인과 건강식품, 학문사.
4. 노완섭, 허석현. 1999. 건강보조식품과 기능성식품, 효일문화사
5. 문관심. 1984. 약초의 성분과 이용. 과학백과사전 출판사. 평양. pp 415~417
6. 백희영, 김교정, 김영옥, 문현경, 오세영, 이순영, 이심열, 정효지, Dwyer J. 1997. 한국인의 건강영양조사의 필요성, in 한국인의 건강영양조사, 서울대학교 출판부
7. 徐國鈞. 1990. 중초약채색도보. 복건과학기술출판사. 복주
8. 송주택. 1983. 한국자원식물. 한국자원식물연구소. 서울
9. 식품의약품안전청. 2002. 대한약전(8개정). 식품의약품안전청 고시 제2002-73호. 2002
10. 식품의약품안전청. 2002. 한약전외한약(생약)규격집. 식품의약품안전청 고시 제2002-72호
11. 식품의약품안전청. 2002. 식품공전
12. 안덕균. 1998. 한국본초도감. 교학사. pp 720
13. 우원식 저. 1997. 천연물화학 연구법. 서울대학교 출판부
14. 육창수. 1981. 한국약품식물자원도감. 진명출판사. p 272
14. 이창복. 1980. 대한식물도감. 향문사. 서울
15. 중국의학과학원 약용자원개발연구소. 1991. 중국약용식물 재배학. 농업출판사. 북경
16. 정보섭, 신민균. 1990. 도해 향약(생약) 대사전. 영림사. 서울
17. 薺培根. 1991. 중국본초도록. 상무인세관. 홍콩
18. 陣瑛(主編). 實用中藥種子技術手冊. 인민위생출판사. pp. 548~549.
19. 陳在仁. 1984. 도설 한방의약 대사전 (중약한 대사전 한국어판). 동도문화사
20. 통계청. 1991. 사망원인 특별조사 보고서
21. 한영복, 김정룡, 경홍기, 김춘원, 김종배, 홍은경, 최희숙, 이치호. 마타리과 식물의 출물을 함유하는 간기능개선 및 간염 치료용 의약조성물. 출원번호 : 94-35685

22. 한영복 외. 황백피와 마타리 식물의 혼합 수추출물을 함유하는 후천성 면역결핍증 치료제 조성물. 특허 등록 번호 : 193216
23. Born, G. V. R. 1962. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphated and its reversal. Nature. 194 : 927~929
24. Fantone, J. C, and P. A. Ward. 1982. Role of oxygen~derived free radicals and metabolites in leukocyte~dependent inflammatory reactions. Am. J. Pathol. 107 : 395~418
25. Hepatology, J. and S. Ichiro. 2000. Current status of treatment of hepatobiliary disorders in japan. Gastroenterology. 15(S) : 84~90
26. Hepatology, J., and S. Faouzi. 1999. Myobibroblasts are responsible for collagen synthesis in the stroma of human hepatocellular carcinoma; an in vivo and in vitro study. 30 : 275~284
27. Hirano, N, K. Fugiwara, S. Hino and M. Matsumoto. 1974. Replication and plaque formation of mouse hepatitis virus (MHV-2) in mouse cell line DBT culture. Arch. Gesamte. Virusforsch. 44 : 298~302
28. Holme, J. A, E. Soderlund and E. Dybing. 1983. Drug metabolism activity of isolated hepatocytes in monolayer culture, Acta Pharmacol. Toxicol. 52 : 348~356
29. Hosoki, T, and T. Sakamoto. 1995. Mass propagation of patrinia (*Patrinia scabiosaefolia* Fisch. ex Link.) by repeated shoot~sectioning and division of axillary shoots. Environment Control in Biology. 33(4) : 299~303
30. Kang, S. S, J. S. Kim, Y. H. Kim, and J. S. Choi. 1997. A triterpenoid saponin from *Patrinia scabiosaefolia*. J. Nat. Prod. Downers Grove, Ill. : American Society of Pharmacognosy. 60(10) : 1060~1062
31. Kouno, I, I. Koyama, J. Z. Hong, T. Tanaka, and Y. D. Ming. 1995. Patrinioside, an esterified monocyclic iridoid glucoside from *Patrinia scabra*. Phytochemistry. 40(5) : 1567~1568
32. Kouno, I, I. Yasuda, H. Mizoshiri, T. Tanaka, N. Marubayashi and D. M. Yang. 1994. Two new iridolactones and their glycosides from the roots of *Patrinia scabra*. Phytochemistry. 37(2) : 467~472
33. Lapik, A. S, V. G. Bukharov, V. A. Talan and V. V Karlin. 1968. Effect of triterpene

- glycosides of *Patrinia intermedia* Roem. et Schult on the central nervous system. Farmakol Toksikol. 31(6) : 650~652
34. Malmsten, C. L. 1986. Prostaglandins, thromboxanes and leukotriens in inflammation. Am. J. Med. 80 (suppl. 4B) : 11~17
35. Michalopoulos, G. K. and M. C. De Frances. 199. Liver regeneration. Science. 276 : 60~66.
36. Patrick, P. M and I. K. Ho. 1994. Cell culture in neurotoxicology. *In* : Principle methods of toxicology 3rd edition (A Wallace Hayes, ed) New York, Raven Press. pp 1316~1324
37. Sidorovichi, T. N. 1967. Study of the tincture of *Patrinia scabiosifolia*. Farmatsiia. 16(4) : 35~36
38. Sidorovich, T. N. 1966. Saponins of *Patrinia scabiosifolia*. Aptechn-Delo. 15(6) : 38~42
39. Taguchi, H and T. Endo. 1974. Letter : Patrinoside, a new iridoid glycoside from *Patrinia scabiosaefolia*. Chem. Pharm. Bull (Tokyo) 122(8) : 1935~1937
40. Taguchi, H, Y. Yokokawa and T. Endo. 1973. Studies on the constituents of *Patrinia villosa* Juss. Yakugaku Zasshi. 93(5) : 607~611
41. Xie, S, S. Uesato, T. Fujita and H. Inouye. 1989. Biosynthesis of iridoid glucosides in *Patrinia gibbosa*. Journal of Natural Products 52(4) : 701~705

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.