

최 종  
연구보고서

산림식물을 이용한 약제, 건강음료 및  
분재용 수목 개발에 관한 연구

Studies on Development of Medicine, Health Drink, and  
Potted Plant through the Utilization of the Forest Plants

연구기관  
강원대학교

농 립 부



## 최종보고서

1995년도 농림개발사업에 의하여 완료한 산림식물을 이용한 약제, 건강음료 및 분재용 수목 개발에 관한 연구의 최종보고서를 별첨과 같이 제출합니다.

첨부 : 1. 최종보고서 10부

2. 최종보고서 디스켓 1매

2000. 12. 15

주관연구기관 : 강원대학교

총괄연구책임자 : 한 상 섭 (인)

주관연구기관장 :

농림부장관귀하

# 제 출 문

농림부장관 귀하

본 보고서를 “산림식물을 이용한 약제, 건강음료 및 분재용 수목 개발에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2000. 12. 15

주관연구기관명	:	강원대학교
총괄연구책임자	:	한 상 섭
세부연구책임자	:	이 재 선
세부연구책임자	:	배 영 수
세부연구책임자	:	박 완 근
연 구 원	:	최 용 순
연 구 원	:	이 명 종
연 구 원	:	전 상 근
연 구 원	:	신 관 석
연 구 원	:	최 문 길
연 구 원	:	박 문 한
연 구 원	:	문 홍 규
연 구 원	:	전 두 식
연 구 원	:	김 하 선
연 구 원	:	송 정 호
연 구 원	:	송 재 모
연 구 원	:	최 재 우
연 구 원	:	홍 동 일
연 구 원	:	안 치 호
연 구 원	:	배 찬 호
연 구 원	:	유 석 인
연 구 원	:	한 상 균

# 요 약 문

## I. 제 목

### 산림식물을 이용한 약제, 건강음료 및 분재용 수목 개발에 관한 연구

## II. 연구의 배경 및 필요성

산림내에는 아직까지 자원으로서의 그 기능이 밝혀지지 않은 주목 잎, 가시오갈피, 암대극 및 두메닥나무 등의 식물이 많다. 그러므로 산림내에 분포하는 이들 식물을 대상으로 그 식물들의 특성을 최대한으로 이용한 용도를 개발하고자 본 연구를 수행하였다.

## III. 연구의 범위 및 내용

본 연구는 주목, 암대극, 가시오갈피 및 두메닥나무에 대하여 각각의 특성에 맞는 이용, 개발을 수행하는 것이다.

따라서 본 연구의 전체적인 추진전략은 ① 식물채집 및 서식지 생육환경조사, ② 생육환경조사 및 증식실험, ③ 이식 및 증식실험, ④ 적응시험, ⑤ 이용개발(상품화)이라는 과정으로 수행되고 있다.

## IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

### 1. 주목의 잎을 이용한 건강음료 개발

이미 오래전부터 국내외적으로 유용한 식물을 이용하여 약제 개발, 건강 음료 개발 등이 추진되어 왔으며 관심도 점점 크게 증가하고 있다. 본 연구는 주목 잎의 추출성분을 이용하여 약용 및 건강음료로의 이용·개발하고자 추출성분을 분석하여 그 가능성을 탐색하였다.

주목 잎은 아세톤-물(7:3)의 추출용매로 추출한 후 감압농축하여 유기용매를 모두 제거한 후에 분획갈때기로 옮겨놓고 클로로포름, 헥산, 부탄올, 에틸아세테이트로 분리하여 냉동시킨 후에 동결건조하여 분말로 조제하였다. 주목 잎의 추출물 중 60g은 일반분석을 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

온수 추출물에서는 무기염류 성분이 유기용매 추출물 보다 현저히 높게 나타나고 있으며 지방성분은 매우 적게 나타나고 있다. 비타민 C는 검출되지 않았다. 또한 미네랄 성분 중 가장 많이 함유되어 있는 것은 칼륨이며 유기용매 추출물(595.41mg/100g)보다 온수추출물(3164.27mg/100g)에서 현저히 많은 함량을 나타내고 있다. 전반적인 무기물의 함량은 온수추출물이 높게 나타났다.

에틸아세테이트용성에서 단리된 주목 잎의 화합물은 (+)-Catechin, (-)-Epicatechin이며, 수용에서 단리된 화합물은 Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside과 Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside (rutin)이다.

주목 잎의 추출성분은 다량의 (+)-catechin과 (-)-epicatechin을 포함하고 있으며, 이들 성분들이 여러 가지 약리작용을 지니고 있어서 주목 잎을 이용한 기능성 건강 보조식품의 개발 가능성이 매우 높다. 더욱이 수용성은 후라보노이드 배당체 화합물이 주로 포함되어 있으며 이러한 배당체 화합물

들은 약리기능 및 생리활성 기능이 매우 큰 것으로 보고되고 있으므로 탄수화물을 다량 함유하고 있는 주목의 수용성 추출물을 이용한 기능성 차류의 가공 가능성이 매우 높은 것으로 사료된다.

또한 건강식품으로서의 자원으로 가치를 평가하기 위하여 주목추출물을 함유한 음료의 관능검사 및 *in vitro* 항산화효과를 검토하였다. 향을 달리하는 주목음료는 2.4%와 2.8% 수준으로 추출물이 첨가되었다. 관능검사는 hedonic scale로 이루어졌다. 덧붙여 껌을 제외하고는 생산품을 이용하여 DPPH를 이용하여 항산화효과를 측정하였다. 문헌상으로 볼 때, 주목추출물은 그 독성 때문에 건강식품으로 적용될 수는 없는 상황이다.

## 2. 암대극을 이용한 약제 및 건강음료 개발

암대극은 발아 적정 토양을 알아내기 위한 온실 실험에서 파종 5개월 후 버미큘라이트 만으로 된 토양에서 50%의 가장 높은 발아율을 보였으며, 다른 토양은 적합하지 않은 것으로 나타났다. 모든 발아된 묘목은 포지에 이식 후 정상 묘목으로 성장하였다.

이 연구는 아직까지 그 기능이 잘 알려지지 않은 암대극을 대상으로 생리적기능을 평가하고, 사람의 건강증진을 위한 기능성자원으로 활용이 가능한지를 검토하기 위하여 시도되었다. 강원대학교 한상섭 박사로부터 제공된 각 뿌리는 건조한 후 열수 또는 에탄올로 추출하여 건조된 후 동결건조되었다.

처음에는 항산화효과, ACE 저해효과 및 HMG-CoA reductase 저해효과가 *in vitro*로 평가되었다. 이들 추출물은 DPPH 제거제나 마이크로솜을 이용한 항산화실험계에서 ascorbic acid 보다 더 강력한 항산화효과를 발휘하였다. 그 정도는 암대극 추출물이 더욱 컸다.

Mouse를 이용한 실험에서 각 군은 0.5% 수준으로 추출물을 투여하였다.

다른 한편으로, 암대극을 섭취한 흰쥐의 30%는 실험기간(28일)이 끝나기 전 죽어, 독성이 있음을 보여주었다. 따라서 본 암대극의 기능성 음료 혹은 약제로의 개발은 현재로서는 매우 어려운 실정이다. 그러므로 암대극은 우리나라의 미개척된 중요한 유전자원으로 생각하여 장기적인 측면에서 연구가 계속 수행되어야 할 것으로 사료된다.

### 3. 가시오갈피를 이용한 약제 및 건강음료 개발

가시오갈피 발아 최적 조건 구명 시험에서 매우 낮은 발아율은 미숙배 때문인 것으로 나타났으며, 건전하고 충실한 종자는 75%의 발아율을 보였다. 자생지가 파괴되어 집단의 크기가 작아짐으로써 충실한 종자를 생산하지 못함으로 무성번식의 필요가 있어 가지삽을 실시한 바, 춘기의 숙지삽의 경우 IBA(300~500mg/L)가 53~60%의 발근율을 보여 다른 생장조절물질(IAA, NAA, kinetin, routone)보다 우수한 것으로 나타났고, 근삽의 경우는 카이네틴이 33%의 묘목 생성율을 보여 가장 효과적으로 나타났는데, 특히 극성이 유지되도록 하는 것이 매우 중요하며, 근의 직경은 10mm 이상의 것을 사용하는 것이 바람직하였다. 가지삽으로 육성된 묘목이 근삽묘보다 신장생장과 뿌리 발달에 있어 훨씬 유리하였다. 온실에서 육성된 묘목을 포트에 옮겨 45일간 비음하에 경화시킨 후 임내에 이식하면 7월 중순인 경우도 57%의 개체가 생존하여 포트 삽목묘의 양성과 이러한 방법에 의한 증식이 바람직한 것으로 기대된다.

시베리아와 북해도 산의 종자의 배를 이용하여 체세포배 유도가 가능하였으나, 얻어진 체세포배의 성장이 이루어지지 못하였다. 체세포배의 정상적 발아를 위한 정밀한 연구가 계속 요구된다.

조립 적지 선정을 위한 자생지 조사에서, 자생지는 대체로 해발 1,100m 부근의 북동 사면의 산복 또는 계곡 주변 완경사(5도~20도)의 전석지에 분



포하고 있었으며, 균락지의 상대조도는 25~50%로 임관이 밀폐된 곳이었다.

또한 이 연구는 아직 그 기능이 잘 알려지지 않은 가시오갈피를 대상으로 생리적기능을 평가하고, 사람의 건강증진을 위한 기능성자원으로 활용이 가능한지를 검토하기 위하여 시도되었다. 강원대학교 한상섭 박사로부터 제공된 각 잎과 줄기는 건조한 후 열수 또는 에탄올로 추출하여 건조된 후 동결 건조되었다.

처음에는 항산화효과, ACE 저해효과 및 HMG-CoA reductase 저해효과가 *in vitro*로 평가되었다. 이들 추출물은 DPPH 제거제나 마이크로솜을 이용한 항산화실험계에서 ascorbic acid 보다 더 강력한 항산화효과를 발휘하였다. 그 정도는 암대극 추출물보다 낮게 나타났다. 가시오갈피 추출물은 ACE 활성을 저해하였으며, 그 정도는 암대극보다 강력하였다.

Mouse를 이용한 실험에서 각 군은 0.5% 수준으로 추출물을 투여하였다. 가시오갈피추출물은 대조군에 비하여 혈당을 50% 감소시켰으며, 혈청 GPT 활성을 감소시켜, 간장보호기능이 있음을 시사하였다. 이러한 효과는 가시오갈피의 줄기추출물이 더욱 강력하였다. 이러한 결과는 가시오갈피 특히 그 줄기는 기능성식품이나 의약품을 개발하기 위한 자원으로 유용할 것임을 시사한다.

또한 건강식품으로서의 자원으로 가치를 평가하기 위하여 가시오갈피추출물을 함유한 음료, 캔디 또는 껌의 관능검사 및 *in vitro* 항산화효과를 검토하였다. 향을 달리하는 가시오갈피음료는 0.3% 수준으로 추출물이 첨가되었다. 캔디는 두 가지의 향을 사용하였으며, 추출물은 0.1, 0.2 또는 0.3%수준으로 첨가되었다. 한편, 껌은 은단껌을 base로 하여 0.1%, 0.2, 0.3%의 추출물이 첨가되었다. 관능검사는 hedonic scale로 이루어졌다. 덧붙여 껌을 제외하고는 생산품을 이용하여 DPPH를 이용하여 항산화효과를 측정하였다. 음료에 있어서 유자향의 음료가 모과향 또는 바카스향보다 높은 선호도를

보여주었다. 캔디에 있어서 Herb 향은 계피향보다 선호도가 높았으며, 0.15 수준의 첨가가 높은 hedonic 점수를 얻었다. 껌에서는 0.1% 추출물첨가가 높은 선호도를 나타내었다. 가시오갈피추출물의 첨가는 항산화효과를 더욱 향상시켰다. 이러한 결과는 가시오갈피추출물은 건강식품의 자원으로 이용할 수 있음을 시사하는 것이다.

#### 4. 두메닥나무를 이용한 분재용 수목 개발

우리 나라의 극히 제한된 지역에만 분포하고 있을 뿐만 아니라, 지금까지 연구·보고되어진 바가 없는 두메닥나무를 대상으로 증식법을 확립함과 동시에 분재용 수목으로 개발하고자 본 연구가 수행되었다.

두메닥나무는 해발 750-1250m 사이에 주로 분포하며, 남사면을 중심으로 남서와 남동사면의 산복에 주로 출현하는 것으로 나타났다. 상대조도는 11-27%로 상당히 피음이 되는 곳에 자생하는 것으로 밝혀졌다. 따라서 두메닥나무의 분재용 수목을 개발할 경우에는 피도 관리가 매우 중요하며 배수가 양호한 적습의 토양에서 관리되어야 할 것이다.

두메닥나무의 삽목 활착율은 거친 모래에서만 55%의 활착율을 나타냈으며, 세사, 자생지 토양, 버뮤클라이트상의 조건에서는 각각 5%의 매우 저조한 활착율을 나타냈기 때문에 삽목으로의 번식보다는 종자 확보를 통한 종자번식으로 증식시키는 것이 바람직하다. 한편, 본 수종의 대량 생산을 위해서 종자를 자극하여 파종하였을 경우에는 당년 발아가 가능하였으며, 자생지 토양과 인공토양에서는 80% 이상의 발아율을 나타내 종자에 의한 대량 생산이 가능한 것으로 나타났다. 또한 두메닥나무의 이식 활착율은 89.5%로 임간재배 및 포지재배가 충분히 가능한 것으로 판단되었다. 또한 두메닥나무의 어린 묘목은 시비를 하여 빠른 성장을 기대할 수 있는 것으로 나타났다.

두메닥나무는 회소성의 가치 및 관상 가치가 매우 높아 분재용 수목으로의 개발은 가능성이 매우 크다고 판단된다. 그러나 화분에 식재하였을 경우에는 두메닥나무의 활력이 약화되는 현상을 나타내므로 포지에서 뿌리의 세력을 왕성하게 한 후 화분에 옮겨 분재용으로 생산해야 할 것으로 판단된다.

두메닥나무는 목질부 및 수피가 매우 부드러워 수형 잡기에는 매우 적합한 수종이다. 그러나 불행하게도 쉽게 수형을 변형할 수 있는 이 나무는 목질부와 수피부가 이탈되어 결국에는 수분 및 양분의 이동에 지장을 가져와 대부분 고사되는 경향을 나타냈다. 그러므로 이 두메닥나무의 수형을 만들 경우에는 세심한 주의를 기울여 철사 걸치기를 실시한 후 수형을 조절해야 할 것이다.

# SUMMARY

## I . Subject

Studies on development of medicine, health drink, and potted plant through the utilization of the forest plants

## II . Purpose and Importance of the Research

Many plants in the forest, *Taxus cuspidata*, *Acanthopanax senticosus*, *Euphorbia jolkini*, and *Daphne kamtschatica* etc. which is not well known were used. Thus this study was performed to evaluate possible biological utilization for the characteristics of some plants.

## III. Contents and Scope of the Research

This study was carried forward a scheme for the objective plant, *Taxus cuspidata*, *Euphorbia jolkini*, *Acanthopanax senticosus*, *Daphane kamtschatica*, respectively. ; ① Plant collection and survey of habitat, ② Survey of habitat and experiment of propagation, ③ Experiment of transplantation and propagation, ④ Experiment of adaptation, ⑤ Development of products, utilizable experiment for health foods and medicine.

## IV. Results and Suggestion

### 1. Studies on development of medicine or health drink through the utilization of *Taxus cuspidata* S. et Z.

This study was carried out to screen possibility of development for any functional beverage and natural medicine from the extractives of *Taxus cuspidata* needles.

Collected materials for experiments, *Taxus cuspidata* needles(953g) was dried in laboratory for three weeks and were prepared to fine particles by a grinding mill. The ground samples were extracted with acetone-water(7:3) three times at room temperature for three days in a glass jar. Also *Taxus cuspidata* needles(500g) were extracted with hot water(100°C) for genera analysis. The crude extracts were combined together and then concentrated on a rotary vacuum evaporator.

The mixtures were fractionated with chloroform, hexane, butanol, ethylacetate and water on separatory funnel and concentrtrd and freeze dried. Each portions was column chromatographed with Sephadex LH-20 eluting on aqueous methanol, ethanol and ethanol-hexane mixture. Predetermination was performed with thin layer chromatography using precoated cellulose F and TBA(*t*-butanol-acetic acid-H<sub>2</sub>O, 3:1:1) and 6% acetic acid as developing solvents. Visualization was done by illuminating ultraviolet light or by spraying vanillin-hydrochloric acid-ethanol (60:0.15:6, w/v/v) followed by heating.

The structure determination for isolated compounds was done by interpretation of <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR obtained from Bruker DPX 400MHz

spectrometer and FAB-MASS spectra.

The isolated compounds were as follows:

*Taxus cuspidata* needles ; (+)-Catechin, (-)-Epicatechin, Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside, and Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside(rutin).

The results of general analysis for *Taxus cuspidata* needles were as follows: Generally, Crude lipid of chemical composition was better acetone-water extracts than hot water extracts. Potassium of mineral contents was better hot water extracts than acetone-water extracts.

The sensory analysis and *in vitro* antioxidant activity of drinks containing the extracts of *Taxus cuspidata* was evaluated to ascertain the values as a possible ingredient of health food. Two of drinks containing 2.4% and 2.8% level of *Taxus cuspidata* extract fortified with different flavors. Sensory analysis of the products were evaluated by hedonic scale.

In addition, the antioxidant activities of the products except for gum were determined by the method of free radical scavenging system using DPPH. Antioxidant activities of the products determined were improved by the addition of the extracts. Judged from the references, the extract of *Taxus cuspidata* cannot be approved as ingredients of health food because of its toxicity.

## **2. Studies on development of medicine or health drink through the utilization of the *Euphorbia jolkini* Boiss.**

In *Euphorbia jolkini* Boiss., in the study to find out optimal seed

germination soil medium 50% of seeds germinated in vermiculite within 5 months and other soil media did not seem appropriate. All germinated seedlings showed normal, vigorous growth after transferred to the field.

This study was performed to evaluate possible biological action of some medicinal plants and to ascertain whether they can be used as biofunctional resources for human health. As a materials, *Euphorbia jolkini* which is not well known were used. Roots provided from Dr. Han Sang Sup, Kangwon National University, were dried and extracted with hot water or ethanol, and the resultant extracts were dried and lyophilized.

First, *in vitro* biological activities regarding to antioxidation, ACE activity suppression, HMG-CoA reductase inhibition were evaluated. The extracts showed the antioxidant activities in the model of DPPH scavenging system and microsomal lipid peroxidation system. The antioxidant activities were higher than that of ascorbic acid especially in *Euphorbia jolkini*.

In *in vivo* experiment using mouse, powders (extract) each were given to mouse at the 0.5% level of diets. On the other hand, one third of mouse given to *Euphorbia jolkini* were died before the end of feeding period showing the toxicity of it.

### 3. Studies on development of medicine or health drink through the utilization of the *Acanthopanax senticosus* Harms

In *Acanthopanax senticosus* Harms, immature embryos were found to inhibit successful germination in the study to promote adequate

germination. Well-developed, sound seeds showed 75% germination rate. For rooted cutting propagation, IBA, showing 53 to 60% of rooting rate with hardwood in spring, was better than IAA, NAA, kinetin, and routone in the range of 500 to 300mg/L, while for root cuttings kinetin was better than any other regulator. In root cuttings polarity should be maintained and roots be used with diameter bigger than 10mm. Rooted cuttings were far better in shoot growth and root development than root cuttings. Rooted cuttings were successfully transferred to the field even in the midsummer when they were hardened for one and half months under the shade. From embryos of seeds originated from Siberia and Hokkaido, embryogenic calli were induced, but further development was not observed. Further study for detailed procedure and treatment is required for the germination of normal embryos.

In the natural population study to find out proper ecological and silvicultural conditions for artificial plantation establishment, it was found out that the natural places are located higher than 1,100m at the northeast and/or north hillside or valley including a lot of stone under the relatively heavy over-story.

This study was performed to evaluate possible biological action of some medicinal plants and to ascertain whether they can be used as biofunctional resources for human health. As a materials, *Acanthopanax senticosus* is not well known were used. Each leaves or stems provided from Dr. Han Sang Sup, Kangwon National University, were dried and extracted with hot water or ethanol, and the resultant extracts were dried and lyophilized.



First, *in vitro* biological activities regarding to antioxidation, ACE activity suppression, HMG-CoA reductase inhibition were evaluated. The extracts showed the antioxidant activities in the model of DPPH scavenging system and microsomal lipid peroxidation system. The antioxidant activities of *Acanthopanax senticosus* were lower than that of ascorbic acid especially in *Euphorbia jolkini*. The action of *Acanthopanax senticosus* inhibiting the activities of ACE was more effective than the extract of *Euphorbia jolkini*.

In *in vivo* experiment using mouse, powders (extract) each were given to mouse at the 0.5% level of diets. The extracts of *Acanthopanax senticosus* decreased markedly the blood glucose level to 50% of the control groups. Furthermore, it lowered the serum GPT activities indicating protective effects of liver function. These effects were higher in extracts of stems than roots of *Acanthopanax senticosus*. The results suggest that *Acanthopanax senticosus*, especially stems, may be used as plant resources for human health to providing functional foods or medicine.

The sensory analysis and *in vitro* antioxidant activity of drinks, candy and gum containing the extracts of *Acanthopanax senticosus* was evaluated to ascertain the values as a possible ingredient of health food. Three of drinks containing 0.3% level of *Acanthopanax senticosus* extract fortified with different flavors of the extract powder were prepared. Two kinds of candies containing 0.1, 0.2 or 0.3 % level of *Acanthopanax senticosus* fortified with different flavors were prepared. Gums containing 0.1, 0.2 or 0.3 % level of *Acanthopanax senticosus* were also prepared.

Sensory analysis of the products were evaluated by hedonic scale. In addition, the antioxidant activities of the products except for gum were determined by the method of free radical scavenging system using DPPH. In drinks, citron flavors were higher than Chinese quince and bacchus flavors in hedonic score. In candies, herb flavor was higher than cinamon flavor in preference and the addition of 0.1% extracts produced the highst hedonic score. In gum, the addition of 0.1% extract was higher than 0.2% or 0.3 % addition in hedonic score. Antioxidant activities of the products determined were improved by the addition of the extracts. The results showed that *Acanthopanax senticosus* extracts can be used as an ingredient of health food.

#### **4. Studies on development of potted plant for the *Daphne kamtschatica* Maxim.**

This study was performed to establish of propagation methods and to develop for potted plant of *Daphne kamtschatica* Maxim..

*Daphne kamtschatica* was distributed from 750m to 1,250m altitude of high mountain and showed south, southwest, and southeast slope of the mountain. Habitat of this species was shaded place with 11-27% of relative light illuminance. Therefore, potted plant of *Daphne kamtschatica* must be planted shaded place and humid soils.

For successful rooted cuttings, coarse sand medium was recommendable, which showed 55% of rooting ratio. But fine sand, habitat soils, and vermiculite medium showed 5% rooting ratio. In *Daphne kamtschatica* 80% of the stimulated seeds by seedcoat treatment

germinated within one year in experiments to develop proper seed treatment methods for sound seedling production, although usual seeds showed only 21% of germination rate. Therefore, seed propagation proper methods rather than cutting propagation for the seedling mass production. 89.5% of the seedlings were transferred to the field successfully.

Especially, *Daphne kamtschatica* suitable tree species to transform of tree form with the well curved character of trunk and twig. But, the transform of the tree form must be carefully, because the bark of this species was easy to separated from the woody tissue.

# CONTENTS

SUMMARY(in KOREA) .....	1
SUMMARY .....	8
CONTENTS .....	16
CONTENTS(in KOREA) .....	18
TABLE .....	20
FIGURE .....	22
PHOTO .....	25

## Chapter 1. Introduction

1. Purpose and range of the research .....	26
2. Contents of the research .....	30

## Chapter 2. Studies on development of health drink through the utilization of *Taxus cuspidata* leaves

1. Introduction .....	41
2. Materials and Methods .....	43
3. Results and Discussion .....	46
4. References .....	81

**Chapter 3. Studies on development of medicine and/or health drink through the utilization of *Euphorbia jolkini***

1. Introduction .....	86
2. Materials and Methods .....	88
3. Results and Discussion .....	91
4. References .....	118

**Chapter 4. Studies on development of health drink through the utilization of *Acanthopanax senticosus***

1. Introduction .....	120
2. Materials and Methods .....	122
3. Results and Discussion .....	125
4. References .....	219

**Chapter 5. Studies on development of potted plant through the utilization of *Daphne kamtschatica***

1. Introduction .....	223
2. Materials and Methods .....	226
3. Results and Discussion .....	229
4. References .....	261

# 목 차

요 약 문 .....	1
SUMMARY .....	8
CONTENTS .....	16
목 차 .....	18
표 목 차 .....	20
그 립 목 차 .....	22
사 진 목 차 .....	25

## 제1장 서 론

제1절 연구개발의 목적과 범위 .....	26
제2절 세부과제별 연구개발 내용 .....	30

## 제2장 주목속 식물의 잎을 이용한 건강음료 개발

제1절 서론 .....	41
제2절 재료 및 방법 .....	43
제3절 결과 및 고찰 .....	46
제4절 참고문헌 .....	81

## 제3장 대극속 식물을 이용한 약제 및 건강음료 개발

제1절 서론 .....	86
제2절 재료 및 방법 .....	88

제3절 결과 및 고찰 .....	91
제4절 참고문헌 .....	118

## **제4장 오갈피속 식물을 이용한 건강음료 개발**

제1절 서론 .....	120
제2절 재료 및 방법 .....	122
제3절 결과 및 고찰 .....	125
제4절 참고문헌 .....	219

## **제5장 팔꽃나무속 식물을 이용한 분재용 수목 개발**

제1절 서론 .....	223
제2절 재료 및 방법 .....	226
제3절 결과 및 고찰 .....	229
제4절 참고문헌 .....	261

## 표 목 차

<표 2-1> 주목의 비타민 C와 조성분 분석 .....	58
<표 2-2> 주목의 미네랄 함량 .....	59
<표 2-3> 주목음료의 배합비율 .....	75
<표 2-4> 주목음료의 관능 검사결과 .....	77
<표 3-1> 암대극의 종자 파종 .....	93
<표 3-2> 암대극의 종자 파종 및 발아율 .....	95
<표 3-3> 암대극의 생육 환경 조사 .....	98
<표 3-4> 암대극 종자의 발아율 .....	99
<표 3-5> 암대극 종자 발아에 의해 증식된 개체의 이식 장소별 활착율 및 생장량 .....	107
<표 3-6> 시료의 추출수율 .....	108
<표 3-7> Mice의 체중 및 사료섭취량 .....	112
<표 3-8> Mice의 혈청 GOT 및 GPT의 활성 .....	113
<표 3-9> Mice의 혈청지질 및 글루코스농도 .....	113
<표 3-10> Mice의 간장지질농도 .....	114
<표 3-11> Mice의 간장 및 혈청의 과산화지질농도 .....	115
<표 4-1> 줄기삽의 시험구 배치 .....	126
<표 4-2> 근삽의 시험구 배치 .....	128
<표 4-3> 오갈피류 삽목의 각 처리별 발근율 .....	131
<표 4-4> 가시오갈피의 생육환경 조사 .....	139
<표 4-5> 줄기삽의 생존율, 발근율, 평균 발근수 .....	141
<표 4-6> 8월에 근삽한 실험구의 생존율, 발근율, 평균 발근수 .....	144
<표 4-7> 10월에 근삽한 실험구의 생존율, 발근율, 평균 발근수 .....	147



<표 4-8> 극삼의 극성별 생존율, 발근율, 평균 발근수 .....	149
<표 4-9> 근삼의 근경별 생존율, 발근율, 평균 발근수 .....	151
<표 4-10> 가시오갈피 자생지 식생구조 .....	162
<표 4-11> 후기 숙지삼의 생존율, pot이식율, 포지 적응율 .....	167
<표 4-12> 춘기 녹지삼의 생존율 .....	170
<표 4-13> 하기 녹지삼의 생존율 .....	171
<표 4-14> 3년생 가시오갈피 정아조직의 줄기증식 .....	174
<표 4-15> MS 배지에서 성장조절물질에 따른 캘러스 유도율 .....	178
<표 4-16> 시료의 추출수율 .....	181
<표 4-17> Mice의 체중 및 사료섭취량 .....	186
<표 4-18> Mice의 혈청 GOT 및 GPT의 활성 .....	187
<표 4-19> Mice의 혈청지질 및 글루코스농도 .....	188
<표 4-20> Mice의 간장지질농도 .....	189
<표 4-21> Mice의 간장 및 혈청의 과산화 지질농도 .....	189
<표 4-22> 가시오갈피음료의 배합비율 .....	191
<표 4-23> 캔디의 원료배합비율 .....	192
<표 4-24> 가시오갈피 껌의 원료배합비율 .....	193
<표 4-25> 가시오갈피 음료의 관능검사결과 .....	194
<표 4-26> 가시오갈피캔디의 관능검사결과 .....	195
<표 4-27> 가시오갈피 껌의 관능검사결과 .....	195
<표 4-28> 흰쥐간장의 aldehyde dehydrogenase 활성에 미치는 가시오갈피 추출물의 효과 .....	199
<표 4-29> 후기 숙지삼의 발근율 .....	209
<표 4-30> 춘기 숙지삼의 발근율 .....	210
<표 5-1> 두메닥나무 자생지 생육환경 및 식생 .....	231

<표 5-2> 두메닥나무 잎의 외부형태학적 특징 .....	233
<표 5-3> 두메닥나무의 이식활착율 .....	234
<표 5-4> 두메닥나무의 종자 발아율 .....	235
<표 5-5> 두메닥나무의 삼목번식 활착율 .....	235
<표 5-6> 두메닥나무의 꽃의 외부형태학적 특징 .....	236
<표 5-7> 두메닥나무의 종자 및 과실의 외부형태학적 특징 .....	240
<표 5-8> 두메닥나무의 이식활착율 .....	241
<표 5-9> 두메닥나무의 종자 발아율 .....	242
<표 5-10> 기존 도감류와 본연구의 생태 및 형태학적 특징의 비교 .....	243
<표 5-11> 두메닥나무 자생지 식생구조 .....	246
<표 5-12> 시비에 따른 두메닥나무의 연년생장량 .....	249
<표 5-13> 두메닥나무 종자 발아에 의해 증식된 개체의 이식 장소에 대한 활착율 및 생장량 .....	250

## 그림 목 차

<그림 2-1> TLC(박층크로마토그래피)에 의한 물질의 분리 .....	66
<그림 2-2> 주목 잎으로부터 단리한 화합물 .....	74
<그림 2-3> 주목 음료의 항산화 억제능력 .....	78
<그림 3-1> 대극으로부터 단리한 화합물 .....	102
<그림 3-2> <sup>1</sup> H NMR spectrum of ellagic acid .....	103
<그림 3-3> <sup>13</sup> C-NMR spectrum of ellagic acid .....	104
<그림 3-4> Positive FAB-MS spectrum of ellagic acid .....	105
<그림 3-5> 암대극의 DPPH 소거효과 .....	108
<그림 3-6> Fe <sup>2+</sup> -ascorbic acid system에서의 암대극 추출물의 항산화 효과 .....	109
<그림 3-7> 추출물의 사람 LDL의 항산화효과 .....	110
<그림 3-8> 암대극 추출물의 ACE 저해효과 .....	111
<그림 4-1> 오갈피 수종의 몇가지 주요한 화합물 .....	137
<그림 4-2> 줄기삽의 생존율 .....	142
<그림 4-3> 줄기삽의 발근율 .....	142
<그림 4-4> 줄기삽의 평균 발근수 .....	143
<그림 4-5> 8월에 근삽한 시료의 생존율 .....	145
<그림 4-6> 8월에 근삽한 시료의 발근율 .....	145
<그림 4-7> 8월에 근삽한 시료의 평균 발근수 .....	146
<그림 4-8> 10월에 근삽한 시료의 생존율 .....	148
<그림 4-9> 10월에 근삽한 시료의 발근율 .....	148
<그림 4-10> 10월에 근삽한 시료의 평균 발근수 .....	149
<그림 4-11> 극성에 따른 생존율, 발근율, 평균 발근수 .....	150

<그림 4-12> 근경에 따른 근삽의 생존율, 발근율, 평균 발근수 .....	151
<그림 4-13> 가시오갈피로부터 단리된 화합물 .....	156
<그림 4-14> $^1\text{H}$ NMR spectrum of caffeic acid .....	157
<그림 4-15> $^{13}\text{C}$ NMR spectrum of caffeic acid .....	158
<그림 4-16> $^1\text{H}$ NMR spectrum of chlorogenic acid .....	159
<그림 4-17> $^{13}\text{C}$ NMR spectrum of chlorogenic acid .....	160
<그림 4-18> Positive FAB-MS spectrum of chlorogenic acid .....	161
<그림 4-19> 가시오갈피추출물의 DPPH 소거효과 .....	182
<그림 4-20> $\text{Fe}^{2+}$ -ascorbic acid system에서의 가시오갈피추출물의 항산화 효과 .....	183
<그림 4-21> 추출물의 사람 LDL의 항산화효과 .....	184
<그림 4-22> 가시오갈피추출물의 ACE 효소활성저해효과 .....	185
<그림 4-23> 가시오갈피음료의 항산화억제능력 .....	196
<그림 4-24> 모과향의 가시오갈피 음료의 항산화능력 .....	197
<그림 4-25> 가시오갈피 캔디의 항산화억제능력 .....	197
<그림 4-26> 가시오갈피 잎의 조사부 .....	203
<그림 4-27> 신장 성장 .....	204
<그림 4-28> 복엽수의 변화 .....	204
<그림 4-29> 엽병의 성장 .....	205
<그림 4-30> 엽신의 성장 .....	205
<그림 4-31> 엽폭의 성장 .....	206
<그림 5-1> 두메닥나무의 성숙개체와 꽃의 구조 .....	238
<그림 5-2> 두메닥나무의 자생지 .....	245

## 사 진 목 차

<사진 3-1> 암대극의 포지 재배 현황 .....	107
<사진 4-1> 가시오갈피 삼목 증식 .....	169
<사진 4-2> 하기 녹지삽의 생존개체 .....	171
<사진 4-3> 아배양 .....	175
<사진 4-4> 배배양 .....	177
<사진 4-5> 삼목번식한 개체 .....	202
<사진 4-6> 분근번식한 개체 .....	202
<사진 4-7> 임내에 이식된 가시오갈피 .....	212
<사진 5-1> 두메닥나무의 자가 수분 조사 .....	239
<사진 5-2> 두메닥나무의 포지 재배 현황 .....	250
<사진 5-3> 자생지 생육 현황(꽃을 피우고 있는 두메닥나무) .....	253
<사진 5-4> 자생지 생육 현황(열매를 달고 있는 두메닥나무) .....	253
<사진 5-5> 두메닥나무로부터 수집한 종자의 발아 .....	254
<사진 5-6> 발아된 두메닥나무 어린 묘목의 온실 적응시험 .....	254
<사진 5-7> 성숙한 개체의 철사 걸치기를 통한 분재 수목 개발(겨울) ·	256
<사진 5-8> 성숙한 개체의 모아심기 분재 수목 개발(겨울) .....	256
<사진 5-9> 성숙한 개체의 철사 걸치기를 통한 분재 수목 개발(겨울) ·	257
<사진 5-10> 성숙한 개체의 철사 걸치기를 통한 분재 수목 개발(가을) .....	257
<사진 5-11> 성숙한 개체의 수형조절을 통한 분재 수목 개발(여름) ···	258
<사진 5-12> 성숙한 개체의 수형조절을 통한 분재 수목 개발(가을) ···	258
<사진 5-13> 두메닥나무의 수형조절을 통한 분재 수목 개발 현황 .....	259

# 제1장 서론

## 제1절 연구개발의 목적과 범위

### 1. 연구개발의 목적

산림 속의 식물들은 이미 오래 전부터 민간요법으로 이용되어 여러 가지 약효가 인정되고 있는 식물이 많다. 이 식물들 가운데는 각종 질병 및 암을 치료할 수 있는 항암 효과가 있는 식물도 많다. 특히 주목科 주목屬의 식물, 대극科 대극屬의 식물 및 두릅나무科 오갈피屬의 식물들은 민간전래로서 항암 효과가 있다거나 기타 여러 가지 질병 치료에 약효가 있는 것으로 전해지고 있다. 팔꽃나무屬 식물 가운데 두메다나무는 그윽한 꽃의 향기를 발산할 뿐만 아니라, 늦가을까지 붉은 열매를 달고 있어 관상적 가치도 매우 높다. 그러나 이 식물들의 특성과 성분은 아직 명확하게 밝혀져 있지 않아 상세한 생태습성 및 성분규명이 요구된다. 또한 이러한 식물들이 항암 효과 또는 기타 약효가 있는 것으로 밝혀진다면 이들을 대량으로 증식시켜 이용 개발하는 것이 요구된다.

본 연구에서는 ① 주목屬 식물의 잎을 이용한 건강음료의 개발, ② 대극屬 식물을 이용한 약제 및 건강음료 개발, ③ 오갈피屬 식물을 이용한 건강음료 개발, ④ 팔꽃나무屬 식물을 이용한 분재용 수목 개발 등을 연구하여 농·산촌 소득, 특히 산주 소득을 증대하고자 한다.

지금까지 주목에 대해서는 Wani 등(1971)이 태평양주목(*Taxus brevifolia*)으로부터 처음 탁술을 발견한 이래 주로 여러 가지 주목屬 식물들을 대상으로 항암 효과가 있다고 하는 탁술을 주 대상 연구로 하여 왔다. 본 연구에

서는 주목의 잎에 대하여 성분분석을 수행하고 있다. 지금까지의 연구 결과에 의하면 우리 나라 자연산 주목의 잎은 기능성 음료개발의 가능성이 충분한 것으로 판단된다. 따라서 앞으로는 대량생산이 가능한 인공 식재지의 주목 잎을 대상으로 상세한 성분분석을 수행하여 건강음료 개발에 연구의 중점을 두고자 한다. 또한 대극屬의 식물들은 열대의 유용식물로서 많이 알려져 있으나, 우리 나라에서는 민간에서 항암제 및 기타 약효가 전해질 뿐 과학적으로 전혀 연구되지 않은 식물이다. 그래서 본 연구에서는 암대극에 대하여 증식법을 확립 중에 있으며, 성분을 명확히 밝혀 약제로서의 이용 가능성을 검증하여 농·산촌 주민의 소득 향상에 기여하고자 한다. 오갈피屬 식물들에 대해서는 1970년대 구 소련의 브레크만 박사의 성분분석 이후 계속된 약효성분이 입증되고 있다. 그러나 약효의 검증만이 이루어지고 있을 뿐 식물체의 대량생산 등이 수반되지 못하여 實用化가 이루어지지 못하고 있는 실정이다. 따라서 본 연구는 오갈피 및 가시오갈피의 자생지 생육조건 등 생태특성을 명확히 밝히고, 삼목(녹지삼, 근삼) 및 종자번식 등의 실험을 통하여 대량증식 방법을 밝혀 인간 재배화를 실시하며, 성분분석을 통하여 약제 및 건강 음료 개발에 중점을 두어 농·산촌 주민들의 고부가 소득 식물로 개발하고자 한다. 그리고 팔꽃나무屬 두메닥나무는 관상가치가 매우 큼에도 불구하고 생육특성, 증식기술 및 이용 개발 등이 전혀 연구되지 않았다. 따라서 이미 두메닥나무의 증식법을 확립 중에 있으며, 생육특성의 규명과 대량증식을 통하여 약제 및 분재용 수목의 개발을 추진한다. 즉, 과거로부터 민간에서 항암 효과 및 기타 약효가 있다고 전해오고 있는 식물들 가운데 특히 개발이 요구되는 주목, 암대극, 가시오갈피, 두메닥나무에 대하여 지금까지 밝혀진 결과를 바탕으로 증식방법, 약효성분분석, 산지재배법, 음료개발, 약제개발 등에 관한 연구를 계속 추진하고자 한다.

#### 가. 기술적 측면

지금까지 우리 나라에서는 산림식물을 이용한 연구가 매우 적다. 본 연구는 산림자원의 이용·개발하기 위한 기초 연구로서 특히 농·산촌 소득 증대에 필요한 새로운 기술을 개발하고자 한다. 산림식물자원을 이용하는데 있어서 우선 인간 생활에 유익하고 경제적 가치가 있는 식물 즉 주목속의 주목, 오갈피속의 가시오갈피, 오갈피, 대극속의 압대극, 팔꽃나무속의 두메다나무를 대상으로 생태특성, 증식법, 약효성분분석, 이용개발 등에 관하여 집중 연구할 필요성이 있다.

#### 나. 경제·산업적 측면

국제화, 개방화 추세에 앞장서기 위해서는 질 좋은 우리 상품의 개발이 무엇보다도 필요하다. 지금도 조그만 사업을 하고 있는 일부의 사업가들은 외국의 물품 가운데 몸에 좋다고 하는 약품을 가져와서 우리 시장에 팔고 있는 것을 자주 볼 수 있다. 이러한 현상이 나타나는 것은 우리의 귀중한 자원을 지금까지는 소홀히 해 왔기 때문이다. 따라서 본 연구가 성공리에 수행된다면 우리 나라의 산림자원을 이용·개발하고 상품화시켜 농·산촌 주민들의 소득 향상은 물론 외국으로의 수출을 통하여 외화획득의 일익을 담당할 수 있으므로 반드시 필요한 연구이다.

#### 다. 사회·문화적 측면

지금까지 산림은 일반 시민들로부터 무시당해 왔다. 그러나 본 연구를 통해 산림이 갖고 있는 여러 가지 기능을 인식하게 될 뿐만 아니라 산림 속의 조그만 생물이 우리에게 무한한 경제적 부를 가져다주는 산림자원의 혜택을 다시 평가하게 될 것이다. 지금까지 산림식물의 이용·개발에 관한 연구들은 무시되고 소외되어 왔지만 이제부터는 산림의 경영 및 관리에 활력을 불



어놓을 것이다. 따라서 이와 같은 연구는 우리 나라 임업의 활성화를 위해서 반드시 필요한 연구이다.

## 제2절 세부과제별 연구개발 내용

### 1. 제1세부과제 : 주목속 식물의 잎을 이용한 건강음료 개발

본 연구는 주목속 식물을 대상으로 식물의 수집, 성분분석, 개체증식, 적응시험을 수행하여, 최종적으로는 이들 식물체를 이용하여 약용 또는 건강음료를 개발하는 것이다.

1차년도 : 식물체의 채집 및 예비분석 (자생지로부터 식물을 채집, 예비 실험으로 성분분석)

2차년도 : 식물체의 증식실험 및 성분분석 (식물체 대량증식 및 성분분석)

3차년도 : 식물체의 성분분석 (대상 식물의 성분분석 완료)

4차년도 : 기능성 음료개발 (유효성분함량과 생리활성검증을 통한 기능성 음료 가능성 파악)

5차년도 : 식물체의 이용개발 (식재지로부터 대량 채취하여 약제 또는 건강음료로 상품화)

### 2. 제2세부과제 : 대극속 식물을 이용한 약제 및 건강음료 개발

본 연구는 대극속 식물을 대상으로 식물의 수집, 성분분석, 개체증식, 적응시험을 수행하며, 최종적으로는 이들 식물체를 이용하여 약용 또는 건강음료를 개발하는 것이다.

1차년도 : 식물체의 채집 및 예비분석 (자생지로부터 식물을 채집, 예비 실험으로 성분분석)

2차년도 : 식물체의 증식실험 및 성분분석 (식물체 대량증식 및 성분분석)

3차년도 : 식물체의 성분분석 및 개체증식 (대상 식물의 성분분석 완료)

및 대량증식실험)

4차년도 : 식물체의 적응 시험 및 음료개발 (생태습성 등에 입각하여 적응시험을 행하고, 대량증식하여 임간 재배화, 유효성분함량과 생리활성검증)

5차년도 : 식물체의 이용개발 (식재지로부터 대량 채취하여 약제 또는 건강음료로 상품화)

### 3. 제3세부과제 : 오갈피속 식물을 이용한 건강음료 개발

본 연구는 오갈피속 식물을 대상으로 식물의 수집, 성분분석, 개체증식, 적응시험을 수행하며, 최종적으로는 이들 식물체를 이용하여 약용 또는 건강음료를 개발하는 것이다.

1차년도 : 식물체의 채집 및 예비분석 (자생지로부터 식물을 채집, 예비실험으로 성분분석)

2차년도 : 식물체의 증식실험 및 성분분석 (식물체 대량증식 및 성분분석)

3차년도 : 식물체의 성분분석 및 개체증식 (대상 식물의 성분분석 완료 및 대량증식실험)

4차년도 : 식물체의 적응 시험 및 음료개발 (생태습성 등에 입각하여 적응시험을 행하고, 대량 증식하여 임간 재배화, 유효성분함량과 생리활성검증)

5차년도 : 식물체의 이용개발 (식재지로부터 대량 채취하여 약제 또는 건강음료로 상품화)

### 4. 제4세부과제 : 팔꽃나무속 식물을 이용한 분재용 수목 개발

본 연구는 팔꽃나무속의 특정한 식물을 대상으로 식물의 수집, 개체증식, 적응시험을 수행하여, 최종적으로는 이들 식물을 분재용 수목으로 이용·개발하는 것이다.

1차년도 : 식물체의 채집 및 생태조사 (식물의 채집 및 생태조사)

2차년도 : 식물체의 증식실험 (식물체 대량증식)

3차년도 : 식물체의 개체증식 (대상 식물의 대량증식실험)

4차년도 : 식물체의 적응 시험 및 분재용 수목 개발 (생태습성 등에 입각하여 적응시험을 행하고, 대량증식하여 임간 재배화하여 분재용 수목의 확보)

5차년도 : 식물체의 이용개발 (식재지로부터 수집하여 분재용 수목으로 상품화)

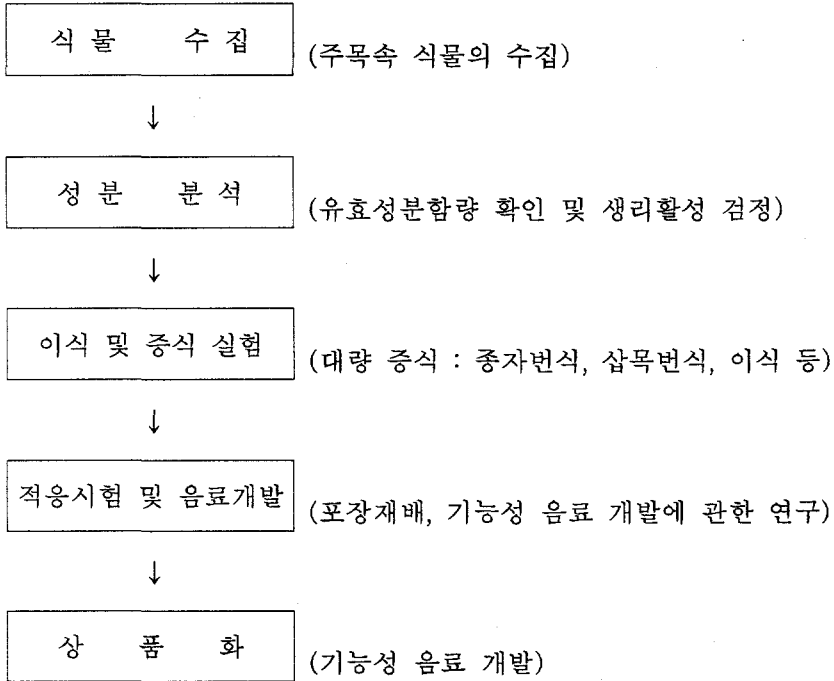
## 5. 연구개발의 범위

### 가. 연구개발의 체계

#### (1) 제1세부과제 : 주목속 식물의 잎을 이용한 건강음료 개발

주목의 성분에 대해서는 1960년대 말 유럽과 일본에서 연구가 행해져 타키신의 정체를 분명히 하였으며, 1964년 미국의 National Cancer Institute(NCI)는 항암제 발견을 위한 연구에서 주목屬의 식물들이 가장 강한 항암성을 지닌 것으로 밝혀 냈으며, 그후 Borman(1991)은 이 화합물의 구조를 밝혀 주목의 屬名을 따서 탁솔이라 명명하였으며, 이를 기초로 하여 항암제의 개발에 박차를 가하고 있다. 그러나 본 연구는 아직까지 연구되지 않고 있는 주목屬 식물의 잎을 이용하여 성분을 규명하고 추출하여 기능성 음료로 개발하고자 한다.

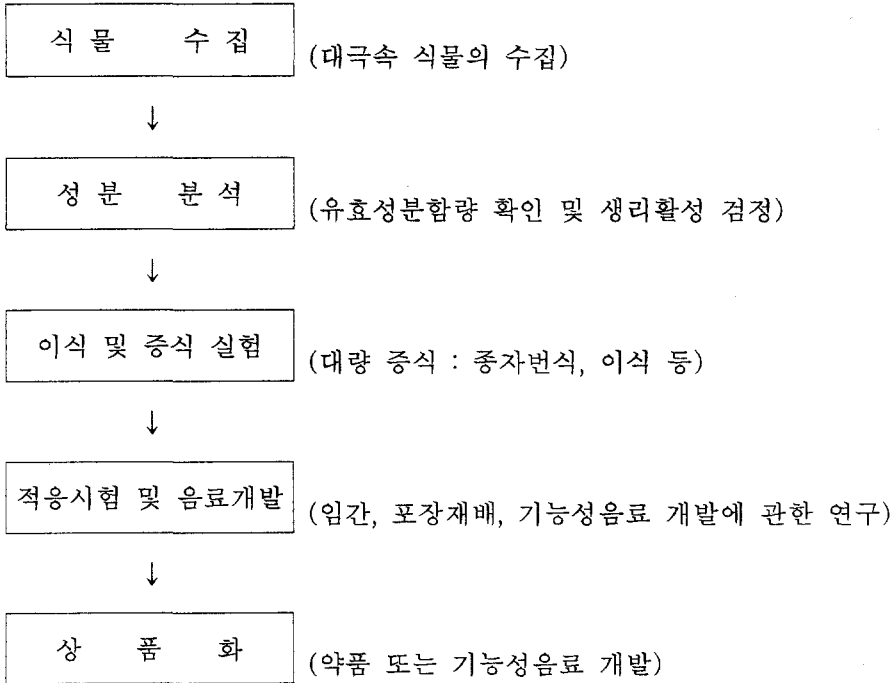
연구개발은 다음과 같이 추진한다.



(2) 제2세부과제 : 대극속 식물을 이용한 약제 및 건강음료 개발

대극屬의 식물에 대해서는 생육습성 및 성분분석이 전혀 연구된 바 없다. 지금까지 본 연구진에 의하여 수행된 연구된 결과, 암대극은 성분 분석 및 생리활성의 검정 결과 독성이 매우 강한 것으로 나타나 음료 또는 약제로의 개발이 어려운 것으로 판명되었다. 따라서 암대극은 종의 유전자 자원 확보 수준인 증식법의 확립 단계에서 연구를 마무리하고자 한다.

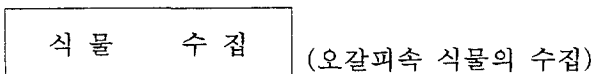
연구개발은 다음과 같이 추진한다.

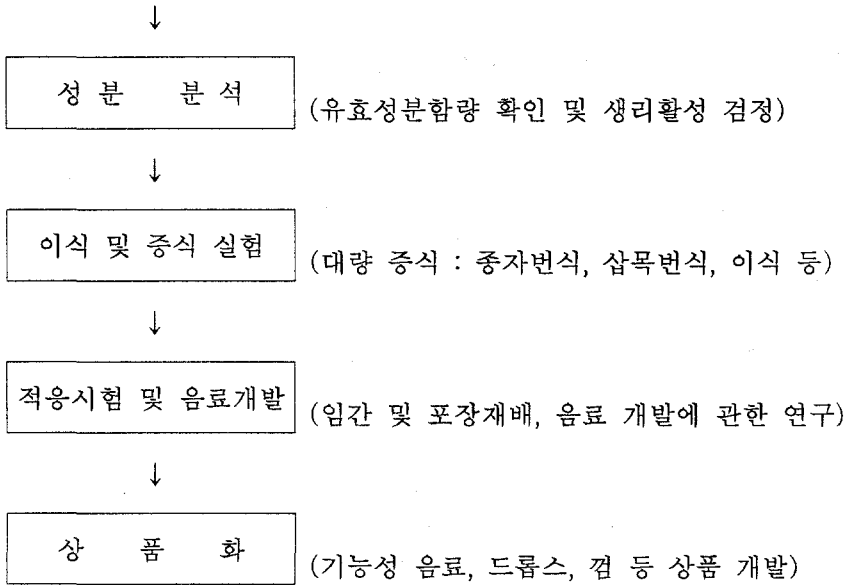


(3) 제3세부과제 : 오갈피속 식물을 이용한 건강음료 개발

오갈피屬의 식물에 대해서는 1970년대 구 소련 과학아카데미의 브레크만 박사가 성분을 분석한 바 있으며, 일본에서는 두릅나무科의 몇몇 種에서 추출된 성분을 갖고 상품화 단계에 들어가고 있다. 특히 오갈피屬 식물들은 약효가 인정되고 있으면서도 실용화 단계에 못 미치고 있다. 그러므로 오갈피 및 가시오갈피의 성분분석 및 증식방법 개발을 통한 대량 생산화를 도모해 기능성 음료 및 드롭스 개발 등으로 실용화한다.

연구개발은 다음과 같이 추진한다.

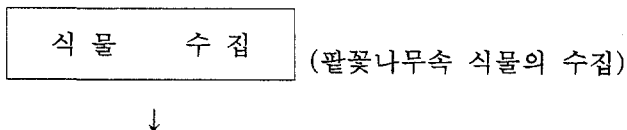


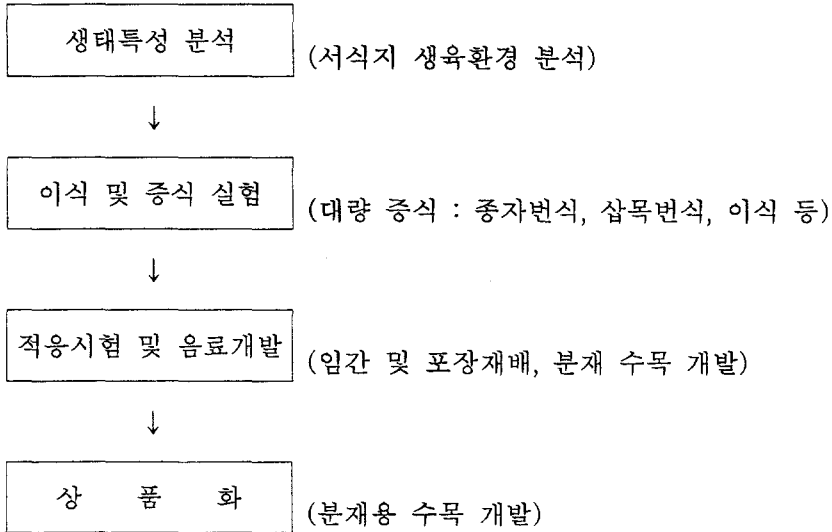


(4) 제4세부과제 : 팔꽃나무속 식물을 이용한 분재용 수목 개발

팔꽃나무屬 식물들에 대해서는 생육습성 및 성분분석이 전혀 연구된 바 없다. 두메덩나무는 본 연구진에 의하여 지금까지 밝혀진 연구 결과를 바탕으로 지속적인 공급을 위해 개체를 증식하며, 대량생산을 위한 임간재배 및 포장재배 등에 관한 연구를 수행한다. 또한 분재용 수목 개발을 위한 분재용 수목개발을 위해 수형 만들기(전지, 철사걸치기 등) 및 뿌리의 활력 제고에 관한 연구를 수행하여 분재로의 상품화를 통한 농·산촌의 고부가 소득 식물로 이용하고자 한다.

연구개발은 다음과 같이 추진한다.





#### 나. 연도별 연구수행 내용

##### (1) 1차년도 연구내용

- 주목속 식물의 수집 및 예비성분분석 (식물체의 채집 및 예비성분의 분석 ; 자생지로부터 식물 채집, 일반성분분석, 식품영양학적 및 특수 성분분석)
- 대극속 식물의 수집 및 예비성분분석 (식물체의 채집 및 예비성분의 분석 ; 자생지로부터 식물 채집, 일반성분분석, 식품영양학적 및 특수 성분분석)
- 오갈피나무속 식물의 수집 및 예비성분분석 (식물체의 채집 및 예비성분의 분석 ; 자생지로부터 식물 채집, 일반성분분석, 식품영양학적 및 특수성분분석)
- 팔꽃나무속 식물의 수집 (자생지로부터 식물 채집 및 생태조사)



(2) 2차년도 연구내용

- 주목속 식물의 대량증식 및 성분분석 (식물체의 대량증식 ; 종자번식), (유효성분의 분석; 일반성분분석, 식품영양학적 및 특수성분분석)
- 대극속 암대극의 대량증식 및 성분분석 (대량증식 ; 종자번식 및 이식 실험), (유효성분의 분석 ; 일반성분분석, 식품영양학적 및 특수성분 분석)
- 오갈피나무속 식물의 대량증식 및 약효 성분분석 (대량증식 ; 삼목, 종자번식 및 이식실험), (유효성분의 분석 ; 일반성분분석, 식품영양학적 및 특수성분분석)
- 팔꽃나무속 식물의 대량증식 (대량증식 ; 삼목, 종자번식 및 이식실험), (분재용수목 개발 ; 화분식재 및 수형 조절을 통한 활착율 조사)

(3) 3차년도 연구내용

- 주목 잎의 성분분석 (충분한 양의 주목 ; 자생 및 인공 식재된 개체의 잎을 수집하여 성분분석을 명확히 밝히며, 건강음료로의 개발에 착수)
- 암대극의 성분분석 및 증식체계확립 (충분한 양의 암대극 개체를 수집하여 성분분석을 명확히 밝히며, 약제 개발에 필요한 암대극의 대량생산을 위한 증식방법의 체계 확립 ; 종자번식, 이식을 통한 개체 번식)
- 오갈피 및 가시오갈피의 성분분석 및 증식체계 확립 (충분한 양의 오갈피 및 가시오갈피 개체를 수집하여 성분분석을 명확히 밝히며, 약제 및 건강음료 개발에 필요한 가시오갈피의 대량생산을 위한 증식방법의 체계 확립 ; 종자번식, 삼목번식, 이식실험)
- 두메닥나무의 증식체계확립 (분재용 수목 개발을 위해 충분한 양의 두메닥나무의 대량생산을 위한 증식방법의 체계 확립 ; 종자번식, 삼목번식, 이식실험)

#### (4) 4차년도 연구내용

- 주목 속의 건강음료 개발 가능성 파악 (충분한 양의 주목; 자생 및 인공 식재된 개체의 잎을 확보), (열수추출과 알콜추출 등의 방법으로 식물체로부터 음료원료를 추출), (spectrophotometer를 이용하여 OD를 측정, 건조 dry up하여 고형물량을 측정하여 추출율을 계산), (TLC를 통하여 유효성분함량을 확인하며, scanner를 통하여 정량화), (적절한 가미제 첨가와 살균과정을 실시하여 기능성 음료의 개발에 대한 연구를 수행)
- 암대극의 적용 시험 및 음료개발 가능성 파악 (암대극 종자의 수집 및 증식된 개체에 대한 적지 선정, 공한지재배 및 임간재배 등에 관한 연구를 수행), (수집된 식물체로부터 열수추출과 알콜추출 등의 방법을 적용하여 원료를 추출), (spectrophotometer를 이용하여 OD를 측정, 건조 dry up하여 고형물량을 측정하여 추출율을 계산), (TLC를 통하여 유효성분함량을 확인하며, scanner를 통하여 정량화), (추출된 원료를 시료로 하여 in vitro 실험을 행하여 항산화효과, 동맥경화발생 억제에 관한 효과, 간장보호기능검정 등의 생리활성을 검정)
- 오갈피나무류의 적용 시험 및 건강음료개발 가능성 파악 (현재까지 밝혀진 생육환경 및 증식방법에 따라 충분한 양의 오갈피 및 가시오갈피 개체를 증식), (대량생산을 위한 적지 선정 및 임간재배에 관한 연구를 수행), (열수추출과 알콜추출 등의 방법으로 추출된 원료를 시료로 하여 in vitro 실험을 행하여 생리활성을 검정), (추출된 원료를 시료로 하여 in vitro 실험을 행하여 항산화효과, 동맥경화발생 억제에 관한 효과, 간장보호기능검정 등의 생리활성을 검정), (적절한 가미제 첨가와 살균과정을 실시하여 기능성 음료의 개발에 대한 연구를 수행)

- 두메닥나무의 적응 시험 및 분재 수목 개발 (현재까지 밝혀진 생육환경 및 증식방법에 따라 두메닥나무 개체를 증식), (대량생산을 위한 적지선정, 임간재배 및 포장재배 등에 관한 연구를 수행), (분재용 수목 개발을 위해 수형 만들기(전지, 철사걸치기 등) 및 뿌리의 활력 제고에 관한 연구를 수행), (상품화를 위해 화분과의 미적 조화를 고려한 화분식재를 실시)

(5) 5차년도 연구내용

- 주목속 식물의 잎을 이용한 기능성음료 개발 (충분한 양의 주목 잎을 수집한 후 추출물을 이용하여 기능성 음료의 개발 및 상품화에 대한 연구 수행), (충분한 양의 주목 ; 자생 및 인공 식재된 개체 잎을 확보), (열수추출과 알콜추출 등의 방법으로 식물체로부터 음료원료를 추출), (적절한 가미제 첨가와 살균과정을 실시하여 기능성 음료의 개발에 대한 연구를 수행)
- 대극속 식물을 이용한 약제 및 기능성음료 개발 (대극속 식물의 대량생산과 함께 기능성 음료의 개발 및 상품화에 대한 연구), (암대극 종자의 수집을 실시하여 유전자 자원의 확보를 위한 증식체계를 확립)

지금까지 본 연구에 따르면 암대극은 성분 분석 및 생리활성의 검정 결과 독성이 매우 강한 것으로 나타나 음료 또는 약제로의 개발이 어려운 것으로 판명되었다. 따라서 암대극은 종의 유전자 자원 확보 수준인 증식체계의 확립 단계에서 연구를 마무리하고자 한다.

- 오갈피속 식물을 이용한 건강음료 개발 (오갈피속 식물의 대량생산과 함께 기능성 음료의 개발 및 상품화에 대한 연구 수행), (현재까지 밝혀진 생육환경 및 증식방법에 따라 충분한 양의 오갈피 및 가시오갈피

- 개체를 증식), (대량공급을 위한 충분한 양의 오갈피 및 가시오갈피를 확보), (열수추출과 알콜추출 등의 방법으로 식물체로부터 음료원료를 추출), (적절한 가미제 첨가와 살균과정을 실시하여 기능성 음료의 개발에 대한 연구를 수행),
- 팔꽃나무속 식물을 이용한 분재용 수목 개발 (필요한 개체의 대량생산 및 분재 개발을 통한 상품화), (현재까지 밝혀진 생육환경 및 증식방법에 따라 두메다나무 개체를 증식), (대량생산을 위한 임간재배 및 포장재배 등에 관한 연구를 수행), (분재용 수목개발을 위해 수형 만들기 ; 전지, 철사걸치기 등), (뿌리의 활력 제고에 관한 연구를 수행), (상품화를 위해 화분과의 미적조화를 고려한 화분 식재를 실시)

## 제2장 주목속 식물의 잎을 이용한 건강음료 개발

### 제1절 서 론

주목과의 주목은 민간약으로서 利尿, 通經, 糖尿病, 驅蟲藥, 鎮咳, 下痢 등에 이용되어 왔다. Wani 등(1971)은 태평양주목(*Taxus brevifolia*)에서 처음으로 탁솔을 발견하였다. 그후 Gueritte-Voegelein(1987)등은 여러 가지 주목屬 식물로부터 수십여종의 taxane 유도체들을 발견하였다. 이러한 연구를 바탕으로 하여 Krajick(1993)은 탁솔이 난소암에 항암효과가 크다고 하였으며, McGuire(1992), Holmes 등(1992), Fisherman 등(1992)도 자궁암, 유방암 및 폐암 등에 항암성을 보인다고 하였다. 또한 Wheeler 등(1992)은 탁솔의 함량이 주목의 생육집단과 각 종에서 유의적인 차이를 나타낸다고 하였다. 이러한 연구를 기초로 하여 이용욱과 이경준(1994)은 우리 나라에 자생하는 주목屬의 식물들에 대한 집단 및 채취부위에 따른 탁솔의 함량을 조사하였는데 한라산의 주목집단이 가장 많은 탁솔을 함유하며, 부위별로는 수피에서 가장 높은 함량을 나타낸다고 밝히고 있으며, 선발육종이나 조직배양을 통하여 상업용 탁솔생산의 가능성을 제시하였다. 한편 임목육종연구소의 손성호 등(1995)도 신문지상을 통하여 탁솔의 대량증식 기술을 밝히고 있는데, 이 주목의 탁솔은 주로 약제로서의 연구만이 이루어지고 있는 실정이다.

그러나 본 연구에서는 주목 잎의 약효성분을 적절하게 이용한 기능성음료의 개발이다. 따라서 일반 시민들은 스스로의 건강을 대비하여 언제나 값싸고 손쉽게 기능성음료를 접할 수 있도록 하는데 그 목적이 있다.

현재 우리 나라는 산림식물을 이용한 약제 개발에 있어서 가장 문제점으로 대두되고 있는 것은 임업관련분야에서는 약효성분을 분석할 수 있는 分析機器를 보유하고 있지 못하고 있는 점이다. 반대로 약학관련분야에서는 초본류는 어느 정도 알고 있지만, 수목은 알지 못하고 있는 점이다. 일반적으로 초본류에 대해서는 오랜 과거로부터 약효가 인정되었으며, 실용화 단계에 있는 것이 많다. 그러나 초본류를 연구하는 연구자들은 수목을 잘 알지 못하여 목본류를 이용한 약제개발에는 기피현상을 나타내고 있으며, 또한 초본류보다는 시간이 오래 걸리는 단점도 있다. 따라서 수목을 알고 있는 임업관련대학 또는 연구소에 分析用機器가 갖추어 진다면 산림식물의 이용·개발에 관한 연구는 임업인의 여러 가지 아이디어를 통하여 충분히 발전될 수 있다. 이와 함께 수목의 특성 즉, 생태습성이나 분포상황, 적지 등을 명확히 규명하고, 나아가서는 다양한 증식방법의 규명이 요구되고 있는 실정이다.

## 제2절 재료 및 방법

본 연구에는 국내의 대학 교수진 및 관련 연구기관의 연구자 5명이 연구를 수행하고 있으며, 연구에 필요한 정보는 공동연구가 수행되고 있는 다른 세부과제의 17명의 연구진과 협력해 나가면서 연구를 수행한다.

본 연구의 전체적인 추진전략은 ① 식물채집 및 예비성분분석, ② 생육습성 및 성분 분석, ③ 이식 및 증식실험, ④ 적응시험 및 음료개발, ⑤ 이용개발(상품화)이라는 과정으로 수행되고 있다.

### 1. 1차년도

강원도 내의 주목 자생지(오대산, 청옥산, 발왕산 등)를 대상으로 식물채집 및 생육 환경 조사를 수행한다.

### 2. 2차년도

연구개시 2차년도 연구수행 내용은 식물체의 대량증식 및 약효 성분분석이다.

- 대상 식물의 유효성분 예비분석 (일반성분 분석 ; 추출물의 수분, 회분, 리그닌, 섬유소, 펜토산, 유기용매추출물, 수용성추출물, pH), (식품영양학적 및 특수 성분분석 ; 용매추출물과 수용성추출물의 분획물에 대한 각종 성분분석)
- 연구 대상 식물의 대량 증식  
(종자 번식 ; 마사토, 모래, 자생지토양, 인공토 등에 파종을 통한 종자 발아율)

### 3. 3차년도

연구개시 3차년도 연구수행 내용은 식물체의 성분분석 및 증식체계의 확립이다.

- 목표 : 주목 잎의 성분분석

- 내용 : 충분한 양의 주목(자생 및 인공 식재된 개체) 잎을 수집하여 성분분석을 명확히 밝히며, 건강음료로의 개발에 착수

#### 4. 4차년도

연구개시 4차년도에는 적응시험 및 음료개발이 주된 목표로서 지금까지 수행된 연구 결과를 기초로 하여 추출물학, 식품공학, 약학 관련 연구자들을 참여시켜 기능성 음료 개발에 관한 연구를 각 수행한다.

- 자생지 및 인공 식재된 개체들로부터 충분한 양의 주목 잎을 확보
- 음료원료 확보를 위해 수집된 식물체에 대해 열수추출과 알콜추출 등의 방법을 통해 원료를 추출
- spectrophotometer를 이용하여 OD를 측정하고, 건고 dry up하여 고형물량을 측정하여 추출율을 계산
- TLC를 통하여 유효성분함량을 확인하며, scanner를 통하여 정량화
- 항산화효과, 동맥경화 발생억제에 관한 효과 및 간장보호 등의 효과를 검정
- 적절한 가미제 첨가와 살균과정을 실시하여 기능성 음료의 개발에 대한 연구를 수행

#### 5. 5차년도

연구개시 5차년도에는 이용 개발이 주된 목표로서 생태학, 육종학, 식품공학, 약학 관련 연구자들의 참여로 시료의 대량 공급을 위한 방안을 확립하며, 기능성 음료에 관한 상품화 연구를 추진한다.

- 충분한 양의 주목(자생 및 인공 식재된 개체) 잎을 확보
- 열수추출과 알콜추출 등의 방법으로 식물체로부터 음료원료를 추출
- 적절한 가미제 첨가와 살균과정을 실시하여 기능성 음료의 개발에 대한 연구를 수행
- 주목속 식물의 음료 제조 공정도



주목 원료(생체) ⇒ 착즙 ⇒ 원심분리기(5,000rpm) ⇒ 멸균(멸균기에서 30분) ⇒ 여과(꺼즈로 여과) ⇒ 여과(Whatman No. 2) ⇒ 혼합(설탕의 첨가물 6종) ⇒ 향기물 첨가 ⇒ 멸균(70℃, 20분) ⇒ 음료 제품

※ 첨가물 : 사과즙, 텍스트린, 솔비톨, 아스파탐, 올리고당, 구연산, 탄산나트륨, 비타민C, 액상과당, 물 등을 적절한 비율로 혼합하여 시제품을 제작하여 맛과 향기, 색깔 등의 관능검사를 수행한 후 상품화

## 제3절 결과 및 고찰

### 1. 1차년도 : 주목의 수집과 예비 성분분석

주목 잎을 이용한 건강음료 개발을 위한 예비 성분분석에 필요한 시료 확보를 위해 자생지인 강원도 평창군 도암면 발왕산 정상부로부터 3회(1996. 2. 9~2. 11, 5. 2~5. 4, 9. 12~9.14)에 걸쳐 조사 및 수집을 행하였다. 또한 약제 및 건강음료 개발의 가능성을 파악하기 위하여 주목 잎을 대상으로 약효성분 규명을 위한 예비 성분분석을 행하였다.

예비 성분분석을 통한 약제 및 건강음료 개발의 가능성을 파악하기 위한 자생지 조사 및 식물 수집은 충분히 그 목적을 달성하였다. 1차년도에 수행된 예비 성분분석 결과는 다음과 같다.

#### 가. 주목 잎의 추출물에 관한 연구

주목은 성분분석에 필요한 충분한 양을 충분히 확보하여 물로 깨끗이 세척한 후 실험실에서 약 2주간 건조하여 분쇄기로 곱게 분쇄하여 현재까지 다음과 같은 결과를 확인하였다.

##### (1) 시료채취

1996년 2월과 4월 2회에 걸쳐 강원도 평창군 발왕산 정상부에 자생하는 생장이 양호한 주목으로부터 잎이 많은 잔가지를 채취하였다.

##### (2) 건조 및 분쇄

채취한 주목 잎은 물로 깨끗이 세척한 후 실험실에서 약 2주간 건조를 하였으며 나무줄기로부터 잎만을 모아 분쇄기로 분쇄하였다. 분쇄된 잎중 약 10g 정도를 채취하여 기건함수율을 측정하였다. 이때 측정된 기건함수율( $M.C = [(W_a - W_o) / W_o] \times 100$ )은 5.8%였다.

### (3) 추출물의 조제

분쇄된 주목 잎 시료 953g을 10ℓ의 유리용기에 넣은 후에 아세톤-물 (7:3)의 추출용매를 약 7ℓ 가량 섞었다. 잘 흔들어 준 다음 실험실에서 약 3일간 침적해 두었다. 필터를 이용하여 추출액 만을 뽑아내고 다시 추출용매를 부어 침적하였다. 이 조작을 3회 반복하여 추출물을 얻었다. 추출액은 다시 evaporator를 이용 감압농축하여 유기용매를 모두 제거한 후에 추출물의 체적을 약 600ml 정도로 줄였고 분획갈때기로 옮겨놓고 1차적으로 클로로포름을 적당량 혼합하여 클로로필 등의 화합물을 제거하였다. 2차적으로는 칼럼분석에 방해할 일으키는 왁스나 수지산 등을 제거하기 위하여 헥산을 넣고 잘 흔들어 층 분리가 완전히 이루어진 다음 헥산용성물질을 분리하였다. 이렇게 칼럼분석에 방해할 일으키는 물질을 제거한 후에는 에틸아세테이트를 이용 수용성과 에틸아세테이트용성 화합물로 분리하였다. 일반적으로 에틸아세테이트에는 저분자량의 후라보노이드류의 화합물이 그리고 수용성에는 탄수화물 혹은 고분자량이나 탄수화물이 결합된 후라보노이드류의 화합물이 주로 존재하게 된다. 헥산용성화합물과 클로로포름용성화합물은 완전히 농축시킨 상태로 보관하였다. 그리고 에틸아세테이트용성과 수용성 화합물은 냉동을 시킨 후에 동결건조하여 수율을 측정하였다.

### (4) 추출물의 수율(%), 추출물 중량(g)/주목잎의 기건중량(g)×100)

에틸아세테이트용성 화합물 : 2.9%(28g)

수용성 화합물 : 18%(171.6g)

클로로포름용성 화합물과 헥산용성 화합물은 동결건조가 잘 되지 않는 관계로 농축시킨 상태에서 보관하였다.

### (5) 칼럼크로마토그래피

칼럼 충전물질로는 Sephadex LH-20를 사용하였으며 칼럼의 크기는 내경 3cm, 길이 60cm였다. 세척용매로는 수용성 및 에틸아세테이트용성 화합물에 모두 메탄올-물(1:1)을 사용하였다. 세척용매로 혼합물을 녹인 후에 칼럼에 주입하였고 세척용매를 계속적으로 공급해주며 칼럼을 통과해서 나오는 용액은 Fraction collector를 이용하여 일정량씩 시험관에 차례로 모았다.

#### (6) 에틸아세테이트용성 화합물

칼럼 주입량은 17.3g이었으며 셀룰로오스 TLC 상에서 3개의 부분으로 분리하였다. TE1은 8g, TE2는 1.6g 그리고 TE3은 6.2g을 얻었다.

##### ○ (+)-catechin

Sephadex LH-20 칼럼상에서 세척용매 메탄올-물(1:1)로 크로마토그래피를 수행함으로써 얻은 첫 번째 부분에 대해 메탄올수용액을 이용하여 재결정을 하였다. 약간 미색을 띠는 결정성의 순수한 화합물을 얻을 수 있었다. 수율은 약 6g정도였다.

##### ○ (-)-epicatechin

(+)-Catechin의 결정을 만들고 남은 부분과 두 번째, 세 번째 부분을 모두 합친 후에 재크로마토그래피를 하여 미색의 (-)-epicatechin 4g을 단리하였다.

○ 고분자성 화합물이 포함되어 있으나 보다 상세한 분석이 요구된다.

#### (7) 수용성 화합물

1차 예비 분리를 실시하였으며 박층크로마토그래피 분석결과 많은 종류의 화합물이 포함되어 있다. 칼럼 주입량은 32.5g 이었으며 5개의 셀룰로오스 TLC 상에서 5개의 부분으로 나뉘어졌다. 첫 번째는 22.8g, 두 번째는 7.8g, 세 번째는 0.5g, 네 번째는 0.2g 그리고 마지막부분은 0.48g을 얻었다.

#### (8) 셀룰로오스 TLC

박층크로마토그래피(TLC)에 사용된 박판은 셀룰로오스를 입힌 플라스틱 판을 사용하였다. 전개용매로는 *t*-BuOH-HOAc-H<sub>2</sub>O(3:1:1, Solvent A)과 6% 초산(Solvent B)를 사용하였다. 또한 발색반응을 시험하기 위해서 바닐린-염산 발색제를 사용하였다. 칼럼을 통해 분리된 물질의 분리를 위하여 1차원 TLC를 이용하여 적외선 램프(254nm와 365nm)를 쬐어 관찰한 후 발색제를 뿌려 반응색을 관찰하였다. 단일물질의 확인을 위해서는 2차원 TLC를 사용하였다.

##### ○ (+)-catechin

셀룰로오스 TLC 상에서 발색제에 매우 강한 적색으로 반응을 하였으며 이때의 R<sub>f</sub>는 TBA에서 0.52, 6% 초산에서는 0.44를 나타내었다.

##### ○ (-)-epicatechin

셀룰로오스 TLC 상에서 발색제에 대하여 (+)-catechin과 비슷하게 강한 적색으로 반응을 하였으며 이때의 R<sub>f</sub>는 TBA에서 0.39, 6% 초산에서는 0.31을 나타내었다.

#### (9) NMR spectrum

구조를 규명하기 위해서 <sup>13</sup>C-NMR 과 <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼을 분석하였으며 이들 스펙트럼을 이미 알려진 표준 스펙트럼과 비교하여 이들이 순수한 (+)-catechin과 (-)-epicatechin임을 확인할 수 있었다. 두 화합물에 대한 NMR 스펙트럼은 다음과 같다.

##### ○ (+)-catechin

$^{13}\text{C}$ -NMR(ppm, Acetone- $d_6$ ): 28.5(C-4), 68.9(C-3), 82.9(C-2), 95.6(C-8), 96.4(C-6), 100.9(C-10), 115.4(C-2'), 116.2(C-5'), 120.2(C-6'), 132.4(C-1'), 146.4(C-3'), 146.4 (C-4'), 157.1(C-7), 157.8(C-5), 158.0(C-9).

$^1\text{H}$ -NMR( $\delta$ , MeOH- $d_4$ ): 2.5(dd,  $J=8.2\text{Hz}$ , 16.1Hz, 1H), 2.85(dd,  $J=5.4\text{Hz}$ , 16.2Hz, 1H), 3.95(m, 1H), 4.55(d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 1H), 5.85(d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H), 5.92(d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H) 6.8(m, 3H).

○ (-)-epicatechin

$^{13}\text{C}$ -NMR(ppm, Acetone- $d_6$ ): 29.0(C-4), 67.3(C-3), 79.7(C-2), 95.7(C-8), 96.3(C-6), 99.9(C-10), 115.2(C-2'), 115.8(C-5'), 119.3(C-6'), 132.2(C-1'), 145.7 (C-3'), 145.8 (C-4'), 157.3(C-7), 157.6(C-5), 157.9(C-9).

$^1\text{H}$ -NMR( $\delta$ , MeOH- $d_4$ ): 2.71(d,  $J=16.7\text{Hz}$ , 1H), 2.88(dd,  $J=4.1\text{Hz}$ , 16.3Hz, 1H), 4.19(s, 1H), 4.82(s, 1H), 5.93(d,  $J=2.2\text{Hz}$ , 1H), 5.96(s, 1H) 6.8(m, 3H).

(10) 화합물의 특성 및 약리효과

○ (+)-Catechin

이 화합물은 많은 식물체에 존재하며 함량도 매우 다양하다. 특히 이 물질은 녹차의 주성분으로 많이 알려져 있다. 다른 수목의 추출성분과는 달리 주목 잎의 추출 성분 중에 다량으로 함유되어 있으며 이 성분이 주목 잎 추출물의 약리 작용에 큰 영향을 미칠 수 있다. 따라서 주목 잎을 이용한 기능성 음료 및 식품 제조에 큰 가능성을 보이고 있다. 과민증 억제, 혈액응고억제, 항간독성제, 혈소판 응집 억제, 세로토닌 분비 억제 등의 약리 효과가 있음이 보고되었다

○ (-)-epicatechin

이 화합물은 (+)-catechin과 동일한 분자량을 가지고 있으며 단지 3번 탄소의 결합형태가 다른 이성체로서 식물계에 많이 존재하는 것으로 알려지고 있다. 또한 (+)-Catechin과 분리하는 것이 매우 어렵기 때문에 표준화합물 시약으로서 매우 비싼 가격에 팔리고 있다.

알려진 약리 효과는 다음과 같다. 과민증 억제, 혈당과당중 억제, 염증 억제, 항돌연변이, 항산화 효과, 근육수축효과 등이 있는 것으로 보고되었다.

## 2. 2차년도 : 주목의 대량증식 및 성분분석

연구개시 1차년도에 수행한 주목 잎에 대한 예비성분분석에서 주목 잎은 기능성 차류의 가공 가능성이 매우 높은 것으로 판명되었기에 수용성 추출물의 차류 가공을 위한 연구에 주력하고 있으며, 주목 잎에 대한 유기용매 추출물과 온수추출물의 성분 및 기능성, 그리고 독성물질의 검출여부 등을 집중 연구하고 있다. 2차년도의 연구 결과를 요약하면 다음과 같다.

강원도 평창군 발왕산에 자생하는 주목으로부터 잎이 많은 잔가지를 채취하였고, 채취한 주목 잎은 물로 깨끗이 세척한 후 실험실에서 약 2주간 건조를 하였으며, 나무줄기로부터 잎만을 모아 분쇄기로 곱게 분쇄하였다. 분쇄된 잎중 약 10g 정도를 채취하여 기건함수율을 측정하였다. 이때 측정된 기건함수율( $M.C = [(W_a - W_o) / W_o] \times 100$ )은 5.8%였다.

추출물의 조제를 위하여 분쇄된 주목 잎 시료 953g을 10ℓ의 유리용기에 넣은 후에 아세톤-물(7:3)의 추출용매를 약 7ℓ 가량 섞었다. 잘 흔들어 준 다음 실험실에서 약 3일간 침적해 두었다. 필터를 이용하여 추출액만을 뽑아내고 다시 추출용매를 부어 침적하였다. 이 조작을 3회 반복하여 추출물

을 얻었다. 추출액은 다시 evaporator를 이용 감압농축하여 유기용매를 모두 제거한 후에 추출물의 체적을 약 600ml 정도로 줄였고 분획깔때기로 옮겨놓고 1차적으로 클로로포름을 적당량 혼합하여 클로로필 등의 화합물을 제거하였다. 2차적으로는 칼럼분석에 방해할 일으키는 왁스나 수지산 등을 제거하기 위하여 헥산을 넣고 잘 흔들어 층 분리가 완전히 이루어진 다음 헥산용성물질을 분리하였다. 이렇게 칼럼분석에 방해할 일으키는 물질을 제거한 후에는 에틸아세테이트를 이용 수용성과 에틸아세테이트용성 화합물로 분리하였다. 일반적으로 에틸아세테이트에는 저분자량의 후라보노이드류의 화합물이 그리고 수용성에는 탄수화물 혹은 고분자량이나 탄수화물이 결합된 후라보노이드류의 화합물이 주로 존재하게 된다. 헥산용성화합물과 클로로포름용성화합물은 완전히 농축시킨 상태로 보관하였다. 그리고 에틸아세테이트용성과 수용성화합물은 냉동을 시킨 후에 동결건조하여 수율을 측정하였다.

추출물의 수율(%), 추출물(g)/주목 잎의 기건중량(g) $\times$ 100은 에틸아세테이트용성 화합물 : 2.9%(28g)과 수용성 화합물 : 18%(171.6g)로 구성되어 있으며, 클로로포름용성 화합물과 헥산용성 화합물은 동결건조가 잘 되지 않는 관계로 농축시킨 상태에서 보관하고 있다.

칼럼 충전물질로는 Sephadex LH-20를 사용하였으며, 맨 처음 칼럼의 크기는 내경 3cm, 길이 60cm였다. 세척용매로는 수용성 및 에틸아세테이트용성 화합물에 모두 메탄올-물(1:1)을 사용하였다. 세척용매로 혼합물을 녹인 후에 칼럼에 주입하였고 세척용매를 계속적으로 공급해주며 칼럼을 통과해서 나오는 용액은 Fraction collector를 이용하여 일정량씩 시험관에 차례로 모았다.

#### (1) 에틸아세테이트용성 화합물

칼럼 주입량은 17.3g 이었으며 셀룰로오스 TLC 상에서 3개의 부분으로



분리하였다. 첫 번째 부분은 8g, 두 번째 부분은 1.6g, 세 번째 부분은 6.2g을 얻었다.

○ (+)-catechin

Sephadex LH-20 칼럼 상에서 세척용매 메탄올-물(1:1)로 크로마토그래피를 수행함으로써 얻은 첫 번째 부분에 대해 에탄올수용액을 이용하여 재결정을 하였다. 약간 미색을 띄는 결정성의 순수한 화합물을 얻을 수 있었다. 수율은 약 6g정도였다.

○ (-)-epicatechin

(+)-Catechin의 결정을 만들고 남은 부분과 두 번째, 세 번째 부분을 모두 합친 후에 재크로마토그래피를하여 미색의 (-)-epicatechin 4g을 분리하였다.

○ 세 번째 부분으로부터 flavan 유도체 화합물을 분리하였으나 보다 더 정확한 구조분석을 위하여 현재 정제를 실시하고 있다.

(2) 수용성 화합물

Sephadex LH-20 칼럼 크로마토그래피상에서 메탄올-물(1:1)을 이용하여 1차 예비 분리를 실시하였으며 박층크로마토그래피 분석결과 많은 종류의 화합물이 포함되어 있었다. 칼럼 주입량은 32.5g이었으며 셀룰로오스 TLC 상에서 5개의 부분으로 나뉘어졌다. 첫 번째 부분인 TW1은 22.8g, 두 번째인 TW2는 7.8g, 세 번째인 TW3는 0.5g, 네 번째인 TW4는 0.2g 그리고 마지막부분인 TW5는 0.48g을 얻었다.

○ Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1'' $\rightarrow$ 6'')-D-glucopyranoside

두 번째 부분인 TW2(7.8g)을 Sephadex LH-20 칼럼 상에서 ethanol-hexane(4:1 and 2:1, v/v)을 이용하여 반복적으로 크로마토그래피를 실시한 후에 재결정법으로 얻은 노란색의 결정들을 얻을 수 있었다. NMR 스펙트럼을

이용하여 분석한 결과 후라보노이드에 두 개의 배당체가 결합되어 있는 quercetin-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyrasyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside(250mg)였다.

○ Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside(rutin)

두 번째 부분인 TW2(7.8g)을 Sephadex LH-20 칼럼 상에서 ethanol-hexane(4:1 and 2:1, v/v)을 이용하여 반복적으로 크로마토그래피를 실시한 후에 quercetin-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyrasyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside와 분리할 수 있었고 재결정법으로 순수한 연한 노란색의 결정들을 얻을 수 있었다. NMR 스펙트럼을 이용하여 분석한 결과 후라보노이드 배당체 화합물로 quercetin-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyrasyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside와 비슷한 구조인 quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside(30mg)였다.

(3) 박층크로마토그래피(TLC) : 박층크로마토그래피(TLC)에 사용된 박판은 셀룰로오스를 입힌 플라스틱판을 사용하였다. 전개용매로는 *t*-BuOH-HOAc-H<sub>2</sub>O(3:1:1, Solvent A)과 6% 초산(Solvent B)를 사용하였다. 또한 발색반응을 시험하기 위해서 바닐린-염산 발색제를 사용하였다. 칼럼을 통해 분리된 물질의 분리를 위하여 1차원 TLC를 이용하여 적외선 램프(254nm와 365nm)를 쬐어 관찰한 후 발색제를 뿌려 반응색을 관찰하였다. 단일물질의 확인을 위해서는 2차원 TLC를 사용하였다.

○ (+)-catechin 과 (-)-epicatechin는 1차년도 결과에서 밝혀졌으며, 1997년도에 다음의 사실을 새롭게 규명하였다.

○ Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside

셀룰로오스 박층크로마토그래피 상에서 노란색을 띠었고 R<sub>f</sub> 값은 0.50(solvent

A)과 0.26(solvent B) 이었다.

○ Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D  
-glucopyranoside(rutin)

셀룰로오스 박층크로마토그래피 상에서  $R_f$  값은 0.53(solvent A)과 0.28(solvent B) 이었고 역시 노란색으로 보였다.

#### (4) NMR spectrum

구조를 규명하기 위해서  $^{13}\text{C}$ -NMR 과  $^1\text{H}$ -NMR 스펙트럼을 분석하였으며 이들 스펙트럼을 이미 알려진 표준 스펙트럼과 비교하여 이들이 순수한 (+)-catechin과 (-)-epicatechin임을 확인할 수 있었다. 두 화합물에 대한 NMR 스펙트럼은 다음과 같다.

○ (+)-catechin과 (-)-epicatechin은 1차년도 결과에서 밝혀졌으며, 1997년도에는 추가로 다음의 두가지가 새롭게 규명되었다.

○ Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D  
-glucopyranoside

$^{13}\text{C}$ -NMR(400MHz, ppm, MeOH- $d_4$ ): 158.74(C-2), 135.4(C-3), 179.25(C-4), 162.41(C-5), 100.39(C-6), 166.74(C-7), 95.37(C-8), 158.41(C-9), 105.37(C-10), 122.97(C-1'), 116.35(C-2'), 145.76(C-3'), 149.27(C-4'), 117.43(C-5'), 123.65(C-6'), 103.58(C-1''), 75.36(C-2''), 77.94(C-3''), 71.05(C-4''), 77.52(C-5''), 69.40(C-6''), 104.68(C-1'''), 73.75(C-2'''), 72.11(C-3'''), 68.97(C-4'''), 66.74(C-5''').

$^1\text{H}$ -NMR(400MHz,  $\delta$ , MeOH- $d_4$ ): 3.3-4.1(11H, br m, sugar protons), 5.17(1H, d,  $J=7.24\text{Hz}$ , H-1''(glc)), 6.20(1H, d,  $J=2.07\text{Hz}$ , H-6), 6.41(1H, d,  $J=1.93\text{Hz}$ , H-8), 6.89(1H, d,  $J=8.27\text{Hz}$ , H-5'), 7.68(2H, m, H-2', 6').

○ Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D  
-glucopyranoside(rutin)

$^{13}\text{C}$ -NMR(400MHz, ppm, MeOH- $d_4$ ): 159.33(C-2), 135.66(C-3), 179.39(C-4), 162.97(C-5), 99.96(C-6), 166.05(C-7), 94.89(C-8), 158.49(C-9), 105.61(C-10), 123.10(C-1'), 116.06(C-2'), 145.84(C-3'), 149.83(C-4'), 117.71(C-5'), 123.59(C-6'), 102.44(C-1''), 75.74(C-2''), 78.17(C-3''), 71.38(C-4''), 77.19(C-5''), 68.56(C-6''), 104.77(C-1'''), 72.23(C-2'''), 71.38(C-3'''), 73.94(C-4'''), 69.73(C-5'''), 17.92(C-6''').

$^1\text{H}$ -NMR(400MHz,  $\delta$ , MeOH- $d_4$ ): 1.12(3H, d,  $J=5.96$ , H-6'''(rha), 3.26-3.81(10H, br m, sugar protons), 4.52(1H, br s, H-1'''(rha)), 5.11(1H, d,  $J=7.42\text{Hz}$ , H-1''(glc)), 6.19(1H, br s, H-6), 6.38(1H, br s, H-8), 6.87(1H, d,  $J=8.36\text{Hz}$ , H-5'), 7.66(2H, br m, H-2', 6').

#### (5) 화합물의 특성 및 약리효과

##### ○ (+)-Catechin

이 화합물은 많은 식물체에 존재하며 함량도 매우 다양하다. 특히 이 물질은 녹차의 주성분으로 많이 알려져 있다. 다른 수목의 추출성분과는 달리 주목 잎의 추출 성분 중에 다량으로 함유되어 있으며 이 성분이 주목잎 추출물의 약리 작용에 큰 영향을 미칠 수 있다. 따라서 주목 잎을 이용한 기능성 음료 및 식품 제조에 큰 가능성을 보이고 있다.

과민증 억제, 혈액응고억제, 항간독성제, 혈소판 응집 억제, 세로토닌 분비 억제 등의 약리 효과가 있음이 보고되었다.

##### ○ (-)-epicatechin

이 화합물은 (+)-catechin과 동일한 분자량을 가지고 있으며 단지 3번 탄소의 결합형태가 다른 이성체로서 식물계에 많이 존재하는 것으로 알려져 있다. 또한 (+)-Catechin과 분리하는 것이 매우 어렵기 때문에 표준화합물 시약으로서 매우 비싼 가격에 팔리고 있다.

알려진 약리 효과는 다음과 같다.

과민증 억제, 혈당과당중 억제, 염증억제, 항돌연변이, 항산화 효과, 근육수축효과 등이 있는 것으로 보고되었다.

(6) 주목잎 은수 및 유기용매 추출물의 일반분석

(가) 유기용매 추출물의 조제

○ 추출물의 조제 : 건조되어 분쇄된 주목잎 시료 500g을 10 l의 유리용기에 넣은 후에 아세톤-물(7:3)의 추출용매를 약 4 l 가량 섞었다. 잘 흔들어 준 다음 실험실에서 약 3일간 침적해 두었다. 필터를 이용하여 추출액을 뽑아내고 다시 추출용매를 부어 침적하였다. 이 조작을 3회 반복하여 추출물을 얻었다. 추출액은 다시 evaporator를 이용 감압농축하여 유기용매를 모두 제거한 후에 추출물의 체적을 약 600ml 정도로 줄였고 플라스크에 나누어 냉동을 시킨 후에 동결 건조하여 수율을 측정하였다. 전체 추출물의 양은 165g 이었다.

○ 추출물의 분석 : 동결 건조되어 얻어진 추출물 중 60g 정도가 일반분석을 위하여 사용되었다. 일반분석은 강원도 환경연구원에 의뢰하여 실험을 실시하였으며 실험의 정확도를 기하기 위하여 5회 반복하여 실시하였다.

(나) 은수추출물의 조제

○ 추출물의 조제 : 건조되어 분쇄된 주목잎 시료 500g을 두 개의 삼각플라스크(2 l)에 넣은 후에 증류수를 약 1.5 l 가량 섞었다. 잘 흔들어 준 다음 환류냉각을 장착하여 90℃로 조정된 항온수조에서 6시간 동안 은수 추출을 실시하였다. 필터를 이용하여 추출액만을 뽑아내고 다시 증류수를 부어 4시간 동안 은수추출을 다시 실시하였다. 추출액은 다시 evaporator를 이용 감압농축하였고 플라스크에 나누어 냉동을 시킨 후에 동결 건조하여 수율을 측정하였다. 전체 추출물의 양은 236g 이었다.

○ 추출물의 분석 : 동결건조되어 얻어진 추출물 중 60g 정도가 일반분석

을 위하여 사용되었다. 일반분석은 강원도 환경연구원에 의뢰하여 실험을 실시하였으며 실험의 정확도를 기하기 위하여 5회 반복하여 실시하였다.

(다) 일반분석 결과

○ 화학적 조성 및 영양 분석

표 2-1. 주목의 비타민 C와 조성분 분석 (단위 중량 %)

	Moisture	Ash	Crude Lipid	Crude Protein	Vitamin C (mg/100g)
유기용매 추출물	6.85	0.93	19.91	4.15	ND
온수 추출물	9.32	4.36	0.71	4.54	ND

\* ND : 불검출

위의 구성물질을 제외한 나머지는 탄수화물로 간주한다. 온수 추출물에서는 무기염류 성분이 유기용매 추출물 보다 현저히 높게 나타나고 있으며 지방성분은 매우 적게 나타나고 있다.

○ 미네랄 분석

표 2-2. 주목의 미네랄 함량(단위 mg/100g)

구 분	K	Ca	Na	Mg	Fe	P
유기용매 추출물	595.41	14.62	7.48	34.03	10.55	109.10
온수 추출물	3164.27	256.27	15.28	172.40	10.34	210.72
구 분	Mn	Zn	Pb	Cd	Cu	Hg
유기용매 추출물	13.89	2.60	0.01	0.01	0.31	0.000
온수 추출물	88.67	12.60	0.12	0.01	0.17	0.001

미네랄 성분 중 가장 많이 함유되어 있는 것은 칼륨이며 유기용매 추출물 보다 온수추출물에서 현저히 많은 함량을 나타내고 있다. 전반적인 무기물의 함량은 온수추출물이 높게 나타났다.

### 3. 3차년도 : 주목잎의 성분분석 및 증식체계확립

지금까지 주목 잎에 대한 예비성분분석에서 기능성 차류의 가공 가능성이 매우 높은 것으로 판명되었기에 수용성 추출물의 차류 가공을 위한 유기용매 추출물과 온수추출물의 성분 및 기능성, 그리고 독성물질의 검출여부 등을 집중 연구하고 있다.

지금까지의 연구 결과를 요약하면 다음과 같다.

강원도 평창군 발왕산에 자생하는 주목으로부터 잎이 많은 잔가지를 채취하였고, 채취한 주목 잎은 물로 깨끗이 세척한 후 실험실에서 약 2주간 건조를 하였으며 나무줄기로부터 잎만을 모아 분쇄기로 곱게 분쇄하였다. 분쇄된 잎중 약 10g 정도를 채취하여 기건함수율을 측정하였다. 이때 측정된 기건함수율( $M.C=[(W_a-W_o)/W_o] \times 100$ )은 5.8% 였다.

추출물의 조제를 위하여 분쇄된 주목잎 시료 953g을 10 l의 유리용기에 넣은 후에 아세톤-물(7:3)의 추출용매를 약 7 l 가량 섞었다. 잘 흔들어 준

다음 실험실에서 약 3일간 침적해 두었다. 필터를 이용하여 추출액 만을 뽑아내고 다시 추출용매를 부어 침적하였다. 이 조작을 3회 반복하여 추출물을 얻었다. 추출액은 다시 evaporator를 이용 감압농축하여 유기용매를 모두 제거한 후에 추출물의 체적을 약 600ml 정도로 줄였고 분획갈때기로 옮겨놓고 1차 적으로 클로로포름을 적당량 혼합하여 클로로필 등의 화합물을 제거하였다. 2차 적으로는 칼럼분석에 방해할 일으키는 왁스나 수지산 등을 제거하기 위하여 헥산을 넣고 잘 흔들어 층 분리가 완전히 이루어진 다음 헥산용성 물질을 분리하였다. 이렇게 칼럼분석에 방해할 일으키는 물질을 제거한 후에는 에틸아세테이트를 이용 수용성과 에틸아세테이트용성 화합물로 분리하였다. 일반적으로 에틸아세테이트에는 저분자량의 후라보노이드류의 화합물이 그리고 수용성에는 탄수화물 혹은 고분자량이나 탄수화물이 결합된 후라보노이드류의 화합물이 주로 존재하게 된다. 헥산용성화합물과 클로로포름용성화합물은 완전히 농축시킨 상태로 보관하였다. 그리고 에틸아세테이트용성과 수용성화합물은 냉동을 시킨 후에 동결 건조하여 수율을 측정하였다.

추출물의 수율(%), 추출물(g)/주목잎의 기건중량(g)×100은 에틸아세테이트용성 화합물 : 2.9%(28g)과 수용성 화합물 : 18%(171.6g)로 구성되어 있으며, 클로로포름용성 화합물과 헥산용성 화합물은 동결건조가 잘 되지 않는 관계로 농축시킨 상태에서 보관하고 있다.

칼럼 충전물질로는 Sephadex LH-20를 사용하였으며 맨 처음 칼럼의 크기는 내경 3cm, 길이 60cm 였다. 세척용매로는 수용성 및 에틸아세테이트용성 화합물에 모두 메탄올-물(1:1)을 사용하였다. 세척용매로 혼합물을 녹인 후에 칼럼에 주입하였고 세척용매를 계속적으로 공급해주며 칼럼을 통과해서 나오는 용액은 Fraction collector를 이용하여 일정량씩 시험관에 차례로 모았다.



(1) 에틸아세테이트용성 화합물

칼럼 주입량은 17.3g 이었으며 셀룰로오스 TLC 상에서 3개의 부분으로 분리하였다. 첫 번째 부분은 8g, 두 번째 부분은 1.6g, 세 번째 부분은 6.2g 을 얻었다.

○ (+)-catechin

Sephadex LH-20 칼럼 상에서 세척용매 메탄올-물(1:1)로 크로마토그래피를 수행함으로써 얻은 첫 번째 부분에 대해 에탄올수용액을 이용하여 재결정을 하였다. 약간 미색을 띄는 결정성의 순수한 화합물을 얻을 수 있었다. 수율은 약 6g정도 였다.

○ (-)-epicatechin

(+)-Catechin의 결정을 만들고 남은 부분과 두 번째, 세 번째 부분을 모두 합친 후에 재크로마토그래피를하여 미색의 (-)-epicatechin 4g을 단리하였다.

○ 세 번째 부분으로부터 flavan 유도체 화합물을 단리하였으나 보다 더 정확한 구조분석을 위하여 현재 정제를 실시하고 있다.

(2) 수용성 화합물

Sephadex LH-20 칼럼 크로마토그래피상에서 메탄올-물(1:1)을 이용하여 1차 예비 분리를 실시하였으며 박층크로마토그래피 분석결과 많은 종류의 화합물이 포함되어 있었다. 칼럼 주입량은 32.5g 이었으며 셀룰로오스 TLC 상에서 5개의 부분으로 나뉘어졌다. 첫 번째 부분인 TW1은 22.8g, 두 번째인 TW2는 7.8g, 세 번째인 TW3는 0.5g, 네 번째인 TW4는 0.2g 그리고 마지막부분인 TW5는 0.48g을 얻었다.

○ Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside

두 번째 부분인 TW2(7.8g)을 Sephadex LH-20 칼럼 상에서 ethanol-hexane(4:1 and 2:1, v/v)을 이용하여 반복적으로 크로마토그래피를 실시한 후에 재결정법으로 연한 노란색의 결정들을 얻을 수 있었다. NMR 스펙트럼을 이용하여 분석한 결과 후라보노이드에 두 개의 배당체가 결합되어 있는 quercetin-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyrasyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside(250mg)였다.

○ Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside (rutin)

두 번째 부분인 TW2(7.8g)을 Sephadex LH-20 칼럼 상에서 ethanol-hexane(4:1 and 2:1, v/v)을 이용하여 반복적으로 크로마토그래피를 실시한 후에 quercetin-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyrasyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside와 분리할 수 있었고 재결정법으로 순수한 연한 노란색의 결정들을 얻을 수 있었다. NMR 스펙트럼을 이용하여 분석한 결과 후라보노이드 배당체 화합물로 quercetin-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyrasyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside와 비슷한 구조인 quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside(30mg)였다.

(3) 박층크로마토그래피(TLC) : 박층크로마토그래피(TLC)에 사용된 박판은 셀룰로오스를 입힌 플라스틱판을 사용하였다. 전개용매로는 *t*-BuOH-HOAc-H<sub>2</sub>O(3:1:1, Solvent A)과 6% 초산(Solvent B)를 사용하였다. 또한 발색반응을 시험하기 위해서 바닐린-염산 발색제를 사용하였다. 칼럼을 통해 분리된 물질의 분리를 위하여 1차원 TLC를 이용하여 적외선 램프(254nm와 365nm)를 쬐어 관찰한 후 발색제를 뿌려 반응색을 관찰하였다. 단일물질의 확인을 위해서는 2차원 TLC를 사용하였다.

○ (+)-catechin

셀룰로오스 TLC 상에서 발색제에 매우 강한 적색으로 반응을 하였으며

이때의  $R_f$  값은 0.52 (Solvent A), 0.44(Solvent B)를 나타내었다.

○ (-)-epicatechin

셀룰로오스 TLC 상에서 발색제에 대하여 (+)-catechin과 비슷하게 강한 적색으로 반응을 하였으며 이때의  $R_f$ 는 0.39(Solvent A), 0.31(Solvent B)을 나타내었다.

○ Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside

셀룰로오스 박층크로마토그래피 상에서 노란색을 띠었고  $R_f$  값은 0.50(solvent A)과 0.26(solvent B) 이었다.

○ Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside (rutin)

셀룰로오스 박층크로마토그래피 상에서  $R_f$  값은 0.53(solvent A)과 0.28(solvent B) 이었고 역시 노란색으로 보였다.

(4) NMR spectrum

구조를 규명하기 위해서  $^{13}\text{C}$ -NMR 과  $^1\text{H}$ -NMR 스펙트럼을 분석하였으며 이들 스펙트럼을 이미 알려진 표준 스펙트럼과 비교하여 이들이 순수한 (+)-catechin과 (-)-epicatechin 임을 확인할 수 있었다. 4 화합물에 대한 NMR 스펙트럼은 다음과 같으며, TLC에 의한 물질을 분리하였다.

○ (+)-catechin

$^{13}\text{C}$ -NMR(ppm, Acetone- $d_6$ ): 28.5(C-4), 68.9(C-3), 82.9(C-2), 95.6 (C-8), 96.4(C-6), 100.9(C-10), 115.4(C-2'), 116.2(C-5'), 120.2(C-6'), 132.4 (C-1'), 146.4(C-3'), 146.4 (C-4'), 157.1(C-7), 157.8(C-5), 158.0(C-9).

$^1\text{H}$ -NMR( $\delta$ , MeOH- $d_4$ ): 2.5(dd,  $J=8.2\text{Hz}$ , 16.1Hz, 1H), 2.85(dd,  $J= 5.4\text{Hz}$ , 16.2Hz, 1H), 3.95(m, 1H), 4.55(d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 1H), 5.85(d,  $J= 2.4\text{Hz}$ , 1H), 5.92(d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H) 6.8(m, 3H).

○ (-)-epicatechin

<sup>13</sup>C-NMR(ppm, Acetone-d<sub>6</sub>): 29.0(C-4), 67.3(C-3), 79.7(C-2), 95.7 (C-8), 96.3(C-6), 99.9(C-10), 115.2(C-2'), 115.8(C-5'), 119.3(C-6'), 132.2 (C-1'), 145.7(C-3'), 145.8 (C-4'), 157.3(C-7), 157.6(C-5), 157.9(C-9).

<sup>1</sup>H-NMR(δ, MeOH-d<sub>4</sub>): 2.71(d, *J*=16.7Hz, 1H), 2.88(dd, *J*=4.1Hz, 16.3Hz, 1H), 4.19(s, 1H), 4.82(s, 1H), 5.93(d, *J*=2.2Hz, 1H), 5.96(s, 1H) 6.8(m, 3H).

○ Quercetin-3-O- α -L-arabinopyranosyl-(1'''→6'')- β -D-glucopyranoside

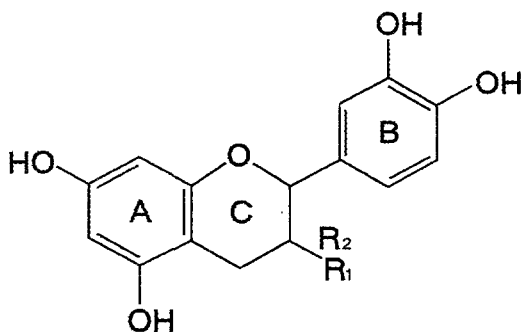
<sup>13</sup>C-NMR(400MHz, ppm, MeOH-d<sub>4</sub>): 158.74(C-2), 135.4(C-3), 179.25 (C-4), 162.41(C-5), 100.39(C-6), 166.74(C-7), 95.37(C-8), 158.41 (C-9), 105.37 (C-10), 122.97(C-1'), 116.35(C-2'), 145.76(C-3'), 149.27(C-4'), 117.43(C-5'), 123.65(C-6'), 103.58(C-1''), 75.36(C-2''), 77.94(C-3''), 71.05(C-4''), 77.52 (C-5''), 69.40(C-6''), 104.68(C-1'''), 73.75(C-2'''), 72.11(C-3'''), 68.97(C-4'''), 66.74(C-5''').

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz, δ, MeOH-d<sub>4</sub>): 3.3-4.1(11H, br m, sugar protons), 5.17(1H, d, *J*=7.24Hz, H-1''(glc)), 6.20(1H, d, *J*=2.07Hz, H-6), 6.41 (1H, d, *J*=1.93Hz, H-8), 6.89(1H, d, *J*=8.27Hz, H-5'), 7.68(2H, m, H-2', 6').

○ Quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1'''→6'')- β -D-glucopyranoside (rutin)

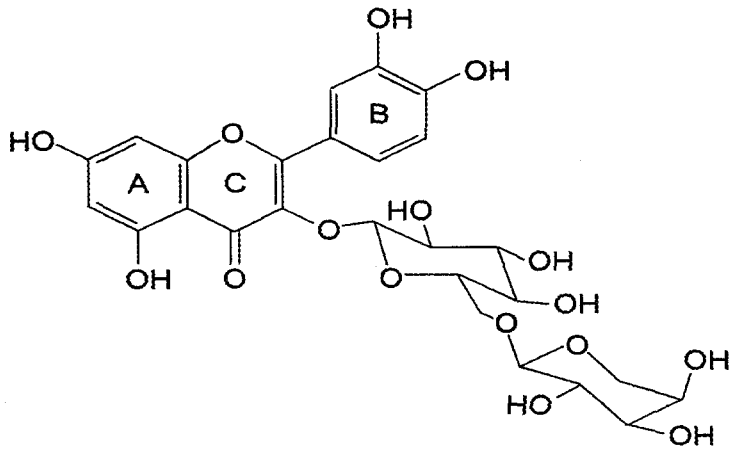
<sup>13</sup>C-NMR(400MHz, ppm, MeOH-d<sub>4</sub>): 159.33(C-2), 135.66(C-3), 179.39(C-4), 162.97(C-5), 99.96(C-6), 166.05(C-7), 94.89(C-8), 158.49(C-9), 105.61 (C-10), 123.10(C-1'), 116.06(C-2'), 145.84(C-3'), 149.83(C-4'), 117.71(C-5'), 123.59(C-6'), 102.44(C-1''), 75.74(C-2''), 78.17(C-3''), 71.38(C-4''), 77.19 (C-5''), 68.56(C-6''), 104.77(C-1'''), 72.23(C-2'''), 71.38(C-3'''), 73.94(C-4'''), 69.73(C-5'''), 17.92(C-6''').

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz,  $\delta$ , MeOH- $d_4$ ): 1.12(3H, d,  $J=5.96$ , H-6'''), 3.26-3.81(10H, br m, sugar protons), 4.52(1H, br s, H-1'''), 5.11(1H, d,  $J=7.42\text{Hz}$ , H-1''(glc)), 6.19(1H, br s, H-6), 6.38(1H, br s, H-8), 6.87(1H, d,  $J=8.36\text{Hz}$ , H-5'), 7.66(2H, br m, H-2', 6').

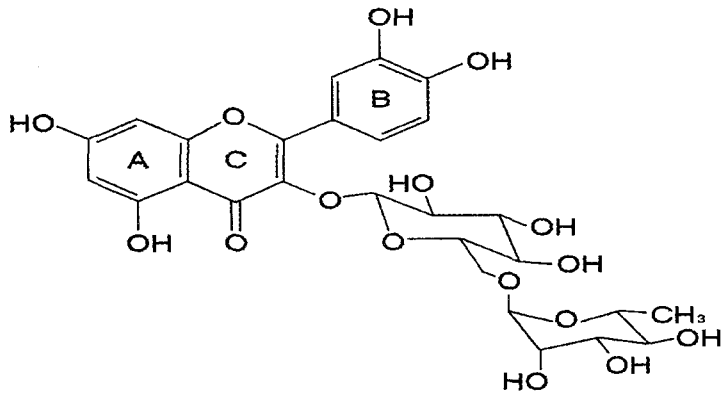


(21) R<sub>1</sub>=OH, R<sub>2</sub>=H, (+)-catechin

(2) R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=OH, (-)-epicatechin



(3) Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl  
(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside



(4) Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl  
(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside(rutin)

그림 2-1. TLC(박층크로마토그래프)에 의한 물질의 분리

#### 4. 4차년도 : 주목의 적응시험 및 음료개발

##### 가. 일반 성분분석 및 생리활성 검정

지금까지의 연구를 통해 주목 잎은 기능성 차류 또는 음료로의 가공 가능성이 매우 높은 것으로 판명되었기에 수용성 추출물의 차류 가공을 위한 연구에 주력하고 있으며, 특히 유기용매 추출물과 온수추출물의 성분 및 기능성, 그리고 생리활성 검정을 통한 독성물질의 검출여부 등을 집중 연구하고 있다.

지금까지의 연구 결과를 정리하면 다음과 같다.

강원도 평창군 발왕산에 자생하는 주목으로부터 잎이 많은 잔가지를 채취하였고, 채취한 주목잎은 물로 깨끗이 세척한 후 실험실에서 약 2주간 건조를 하였으며 나무줄기로부터 잎만을 모아 분쇄기로 곱게 분쇄하였다. 분쇄된 잎중 약 10g 정도를 채취하여 기건함수율을 측정하였다. 이때 측정된 기건함수율( $M.C = [(W_a - W_o) / W_o] \times 100$ )은 5.8% 였다.

추출물의 조제를 위하여 분쇄된 주목잎 시료 953g을 10ℓ의 유리용기에 넣은 후에 아세톤-물(7:3)의 추출용매를 약 7ℓ 가량 섞었다. 잘 흔들어 준 다음 실험실에서 약 3일간 침적해 두었다. 필터를 이용하여 추출액만을 뽑아내고 다시 추출용매를 부어 침적하였다. 이 조작을 3회 반복하여 추출물을 얻었다. 추출액은 다시 evaporator를 이용 감압농축하여 유기용매를 모두 제거한 후에 추출물의 체적을 약 600ml 정도로 줄였고 분획갈때기로 옮겨놓고 1차적으로 클로로포름을 적당량 혼합하여 클로로 필 등의 화합물을 제거하였다. 2차적으로는 칼럼분석에 방해할 일으키는 왁스나 수지산 등을 제거하기 위하여 헥산을 넣고 잘 흔들어 층 분리가 완전히 이루어진 다음 헥산용성물질을 분리하였다. 이렇게 칼럼분석에 방해할 일으키는 물질을 제거한 후에는 에틸아세테이트를 이용 수용성과 에틸아세테이트용성 화합물로 분리

하였다. 일반적으로 에틸아세테이트에는 저분자량의 후라보노이드류의 화합물이 그리고 수용성에는 탄수화물 혹은 고분자량이나 탄수화물이 결합된 후라보노이드류의 화합물이 주로 존재하게 된다. 헥산용성화합물과 클로로포름용성화합물은 완전히 농축시킨 상태로 보관하였다. 그리고 에틸아세테이트용성과 수용성화합물은 냉동을 시킨 후에 동결 건조하여 수율을 측정하였다.

추출물의 수율(%), 추출물(g)/주목 잎의 기건중량(g)×100은 에틸아세테이트용성 화합물 : 2.9%(28g)과 수용성 화합물 : 18%(171.6g)로 구성되어 있으며, 클로로포름용성 화합물과 헥산용성 화합물은 동결건조가 잘 되지 않는 관계로 농축시킨 상태에서 보관하고 있다.

칼럼 충전 물질로는 Sephadex LH-20를 사용하였으며 맨 처음 칼럼의 크기는 내경 3cm, 길이 60cm였다. 세척용매로는 수용성 및 에틸아세테이트용성 화합물에 모두 메탄올-물(1:1)을 사용하였다. 세척용매로 혼합물을 녹인 후에 칼럼에 주입하였고 세척용매를 계속적으로 공급해주며 칼럼을 통과해서 나오는 용액은 Fraction collector를 이용하여 일정량씩 시험관에 차례로 모았다.

#### (1) 에틸아세테이트용성 화합물

칼럼 주입량은 17.3g 이었으며 셀룰로오스 TLC 상에서 3개의 부분으로 분리하였다. 첫 번째 부분은 8g, 두 번째 부분은 1.6g, 세 번째 부분은 6.2g을 얻었다.

##### ○ (+)-catechin

Sephadex LH-20 칼럼 상에서 세척용매 메탄올-물(1:1)로 크로마토그래피를 수행함으로써 얻은 첫 번째 부분에 대해 에탄올수용액을 이용하여 재결정을 하였다. 약간 미색을 띠는 결정성의 순수한 화합물을 얻을 수 있었다. 수율은 약 6g정도였다.



○ (-)-epicatechin

(+)-Catechin의 결정을 만들고 남은 부분과 두 번째, 세 번째 부분을 모두 합친 후에 재크로마토그래피를하여 미색의 (-)-epicatechin 4g을 단리하였다.

○ 세 번째 부분으로부터 flavan 유도체 화합물을 단리하였으나 보다 더 정확한 구조분석을 위하여 현재 정제를 실시하고 있다.

(2) 수용성 화합물

Sephadex LH-20 칼럼 크로마토그래피상에서 메탄올-물(1:1)을 이용하여 1차 예비 분리를 실시하였으며 박층크로마토그래피 분석결과 많은 종류의 화합물이 포함되어 있었다. 칼럼 주입량은 32.5g 이었으며 셀룰로오스 TLC 상에서 5개의 부분으로 나뉘어졌다. 첫 번째 부분인 TW1은 22.8g, 두 번째인 TW2는 7.8g, 세 번째인 TW3는 0.5g, 네 번째인 TW4는 0.2g 그리고 마지막부분인 TW5는 0.48g을 얻었다.

○ Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside

두 번째 부분인 TW2(7.8g)을 Sephadex LH-20 칼럼 상에서 ethanol-hexane(4:1 and 2:1, v/v)을 이용하여 반복적으로 크로마토그래피를 실시한 후에 재결정법으로 얻은 노란색의 결정들을 얻을 수 있었다. NMR 스펙트럼을 이용하여 분석한 결과 후라보노이드에 두 개의 배당체가 결합되어 있는 quercetin-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside(250mg)였다.

○ Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside (rutin)

두 번째 부분인 TW2(7.8g)을 Sephadex LH-20 칼럼 상에서 ethanol-hexane(4:1 and 2:1, v/v)을 이용하여 반복적으로 크로마토그래피를 실시한 후

에 quercetin-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyrasyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside와 분리할 수 있었고 재결정법으로 순수한 연한 노란색의 결정들을 얻을 수 있었다. NMR 스펙트럼을 이용하여 분석한 결과 후라보노이드 배당체 화합물로 quercetin-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyrasyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside와 비슷한 구조인 quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside(30mg)였다.

(3) 박층크로마토그래피(TLC) : 박층크로마토그래피(TLC)에 사용된 박판은 셀룰로오스를 입힌 플라스틱판을 사용하였다. 전개용매로는 *t*-BuOH-HOAc-H<sub>2</sub>O(3:1:1, Solvent A)과 6% 초산(Solvent B)를 사용하였다. 또한 발색반응을 시험하기 위해서 바닐린-염산 발색제를 사용하였다. 칼럼을 통해 분리된 물질의 분리를 위하여 1차원 TLC를 이용하여 적외선 램프(254nm와 365nm)를 쬐어 관찰한 후 발색제를 뿌려 반응색을 관찰하였다. 단일물질의 확인을 위해서는 2차원 TLC를 사용하였다.

○ (+)-catechin

셀룰로오스 TLC 상에서 발색제에 매우 강한 적색으로 반응을 하였으며 이때의 R<sub>f</sub> 값은 0.52 (Solvent A), 0.44(Solvent B)를 나타내었다.

○ (-)-epicatechin

셀룰로오스 TLC 상에서 발색제에 대하여 (+)-catechin과 비슷하게 강한 적색으로 반응을 하였으며 이때의 R<sub>f</sub>는 0.39(Solvent A), 0.31(Solvent B)을 나타내었다.

○ Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside

셀룰로오스 박층크로마토그래피 상에서 노란색을 띠었고 R<sub>f</sub> 값은 0.50(solvent A)과 0.26(solvent B) 이었다.

○ Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-

glucopyranoside (rutin)

셀룰로오스 박층크로마토그래피 상에서  $R_f$  값은 0.53(solvent A)과 0.28(solvent B) 이었고 역시 노란색으로 보였다.

(4) NMR spectrum

구조를 규명하기 위해서  $^{13}\text{C-NMR}$  과  $^1\text{H-NMR}$  스펙트럼을 분석하였으며 이들 스펙트럼을 이미 알려진 표준 스펙트럼과 비교하여 이들이 순수한 (+)-catechin과 (-)-epicatechin 임을 확인할 수 있었다. 두 화합물에 대한 NMR 스펙트럼은 다음과 같다.

○ (+)-catechin

$^{13}\text{C-NMR}$ (ppm, Acetone- $d_6$ ): 28.5(C-4), 68.9(C-3), 82.9(C-2), 95.6 (C-8), 96.4(C-6), 100.9(C-10), 115.4(C-2'), 116.2(C-5'), 120.2(C-6'), 132.4 (C-1'), 146.4(C-3'), 146.4 (C-4'), 157.1(C-7), 157.8(C-5), 158.0(C-9).

$^1\text{H-NMR}$ ( $\delta$ , MeOH- $d_4$ ): 2.5(dd,  $J=8.2\text{Hz}$ , 16.1Hz, 1H), 2.85(dd,  $J= 5.4\text{Hz}$ , 16.2Hz, 1H), 3.95(m, 1H), 4.55(d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 1H), 5.85(d,  $J= 2.4\text{Hz}$ , 1H), 5.92(d,  $J=2.4\text{Hz}$ , 1H) 6.8(m, 3H).

○ (-)-epicatechin

$^{13}\text{C-NMR}$ (ppm, Acetone- $d_6$ ): 29.0(C-4), 67.3(C-3), 79.7(C-2), 95.7 (C-8), 96.3(C-6), 99.9(C-10), 115.2(C-2'), 115.8(C-5'), 119.3(C-6'), 132.2 (C-1'), 145.7(C-3'), 145.8 (C-4'), 157.3(C-7), 157.6(C-5), 157.9(C-9).

$^1\text{H-NMR}$ ( $\delta$ , MeOH- $d_4$ ): 2.71(d,  $J=16.7\text{Hz}$ , 1H), 2.88(dd,  $J=4.1\text{Hz}$ , 16.3Hz, 1H), 4.19(s, 1H), 4.82(s, 1H), 5.93(d,  $J=2.2\text{Hz}$ , 1H), 5.96(s, 1H) 6.8(m, 3H).

○ Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside

$^{13}\text{C-NMR}$ (400MHz, ppm, MeOH- $d_4$ ): 158.74(C-2), 135.4(C-3), 179.25 (C-4), 162.41(C-5), 100.39(C-6), 166.74(C-7), 95.37(C-8), 158.41 (C-9),

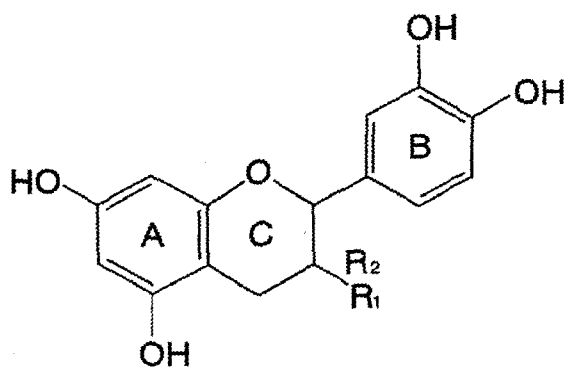
105.37 (C-10), 122.97(C-1'), 116.35(C-2'), 145.76(C-3'), 149.27(C-4'), 117.43(C-5'), 123.65(C-6'), 103.58(C-1''), 75.36(C-2''), 77.94(C-3''), 71.05(C-4''), 77.52 (C-5''), 69.40(C-6''), 104.68(C-1'''), 73.75(C-2'''), 72.11(C-3'''), 68.97(C-4'''), 66.74(C-5''').

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,  $\delta$ , MeOH-d<sub>4</sub>): 3.3-4.1(11H, br m, sugar protons), 5.17(1H, d,  $J=7.24$ Hz, H-1''(glc)), 6.20(1H, d,  $J=2.07$ Hz, H-6), 6.41 (1H, d,  $J=1.93$ Hz, H-8), 6.89(1H, d,  $J=8.27$ Hz, H-5'), 7.68(2H, m, H-2', 6').

○ Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside (rutin)

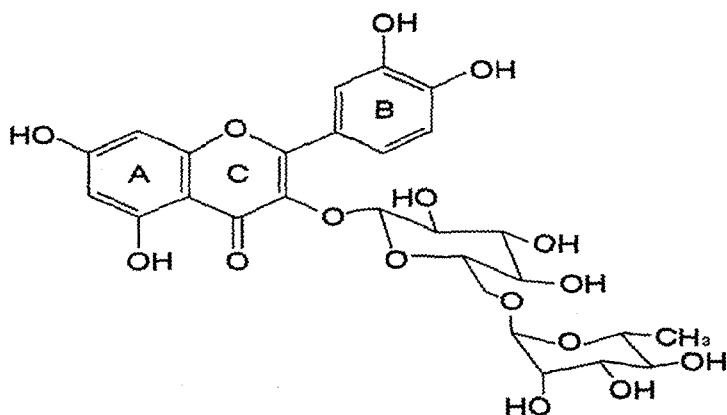
<sup>13</sup>C-NMR(400MHz, ppm, MeOH-d<sub>4</sub>): 159.33(C-2), 135.66(C-3), 179.39(C-4), 162.97(C-5), 99.96(C-6), 166.05(C-7), 94.89(C-8), 158.49(C-9), 105.61 (C-10), 123.10(C-1'), 116.06(C-2'), 145.84(C-3'), 149.83(C-4'), 117.71(C-5'), 123.59(C-6'), 102.44(C-1''), 75.74(C-2''), 78.17(C-3''), 71.38(C-4''), 77.19 (C-5''), 68.56(C-6''), 104.77(C-1'''), 72.23(C-2'''), 71.38(C-3'''), 73.94(C-4'''), 69.73(C-5'''), 17.92(C-6''').

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz,  $\delta$ , MeOH-d<sub>4</sub>): 1.12(3H, d,  $J=5.96$ , H-6'''(rha), 3.26-3.81(10H, br m, sugar protons), 4.52(1H, br s, H-1'''(rha)), 5.11(1H, d,  $J=7.42$ Hz, H-1''(glc)), 6.19(1H, br s, H-6), 6.38(1H, br s, H-8), 6.87(1H, d,  $J=8.36$ Hz, H-5'), 7.66(2H, br m, H-2', 6').

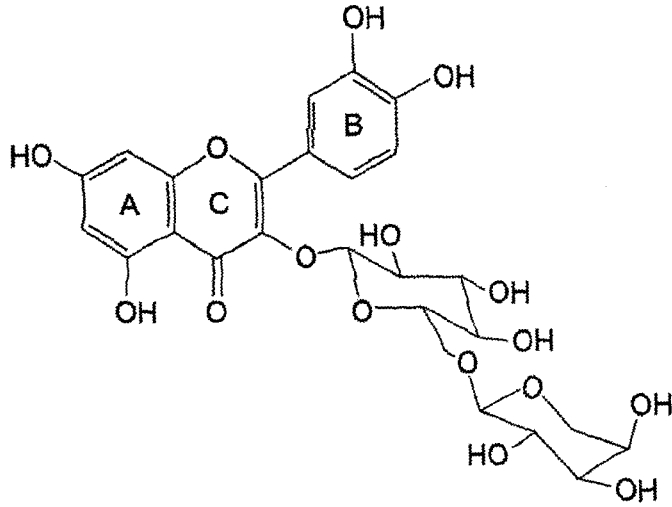


(2a)  $R_1=OH$ ,  $R_2=H$ , (+)-catechin

(2b)  $R_1=H$ ,  $R_2=OH$ , (-)-epicatechin



(3) Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside



(4) Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranos  
(1''' $\rightarrow$ 6'')- $\beta$ -D-glucopyranoside(rutin)

그림 2-2. 주목 속으로부터 단리한 화합물

### 5. 5차년도 : 기능성 음료 개발

주목 잎에 대한 예비성분분석을 통하여 기능성 차류 또는 음료로의 가공 가능성이 매우 높은 것으로 판명되어, 유기용매 추출물과 온수추출물의 성분 및 기능성, 그리고 생리활성 검정을 통한 독성물질의 검출여부 등을 연구하여 왔다. 본 연구에서는 지금까지 기능이 검증된 자원을 이용하여 다수의 국민이 특정한 목적의 건강을 유지하도록 쉽게 이용할 수 있도록 가능한 식품을 만들고자 하였다. 특히 주목은 항암제를 위한 taxol의 공급원으로 알려져 있으나 그 독성 또한 매우 강한 것으로 알려져 있어, 그 사용은 매우 제한적이고, 식품으로 사용되어서는 아니 되나, 본 연구에서는 실험적으로

음료수로서 그 추출물을 이용하고자 하였다.

아울러 음료수에 대한 관능검사 및 free radical 소거능력을 검토하였다.

## 가. 재료 및 방법

### (1) 제품제조

#### ○ 음료 제조 공정

주목 음료를 제조하기 위하여 표 2-3에 나타난 성분배합비율에 따라 혼합하여 조제하였다. 혼합 후 약 90℃에서 30분간 멸균 한 다음 병에 충전하였다.

표 2-3. 주목음료의 배합비율

Ingredients	Control	Sample B	Sample A
주목추출분말	0	2.8	2.4
대추추출물	2	1	2
매실추출물	3	2	2
올리고당	13	16	14
꿀	3	4	6
배과즙	6	9	10
구연산	0.01	0.012	0.01
비타민 B6	0.01	0.012	0.01
보존료	0.06	0.06	0.06
정제수	72.92	65.2	63.6
합 계	100	100	100

### (2) 관능 검사

제조된 제품에 대하여 숙련된 15명의 pannel을 통하여 관능 검사를 hedonic scale로 행하였다.

### (3) Free radical 소거능력

Free radical 소거실험은 DPPH를 이용하여 측정하였다. 0.035% DPPH 0.1 ml에 sample를 첨가하고 methanol로 1.0ml 되게 채운다. 균일하게 혼합하여 실온에서 10분간 방치한 후 517nm에서 methanol을 대조로 하여 흡광도를 측정하였다

### (4) Acetaldehyde dehydrogenase 활성측정

SD rats (7주령)의 간장을 취해 상법에 따라 간장을 취하여 homogenize를 한 후 초 원심분리를 통하여 cytosol을 얻었다. 얻어진 ctosol에 대하여 propionyl aldehyde를 기질로 하여 340nm에서 생성되는 NADH량을 측정하였다. aldehyde 한 분자가 acetate로 전환할 때 한 분자의 NADH가 생성되어진다. 추출물은 물에 녹여 사용하였다.

## 나. 결 과

### (1) 관능검사

#### ○ 주목음료

표 2-4에서 보는 바와 같이 음료의 색깔에서는 제품간 유의차는 없었다. 향기에서는 주목 추출액을 첨가한 제품 A와 B에 비하여 첨가하지 않은 대조구가 좋은 것으로 나타났으며, 이와 같은 결과는 주목 추출물의 향기는 음료로서 좋지 않은 것으로 판정되었다. 음료의 맛에 있어서는 주목 추출액을 24% 첨가한 제품이 28% 첨가한 음료보다 맛에서 우수한 것으로 보여진다. 이러한 결과는 2항 향기에서와 같이 음료의 향기가 맛을 주도하는 중



요한 인자임을 시사한다. 음료의 혼탁도에 있어서는 제품 A, B, C 모두 같은 수준으로 평가되었으며 부유물 또는 침전물은 없는 것으로 판정되었다. 음료 제품의 전체적인 만족도에서는 A제품이 우수한 것으로 판정되었으며 주목 음료 제품을 개발할 경우 주목 추출분말의 농도를 2.0~2.5% 범위로 조정하는 것이 이상적이라 생각된다.

표 2-4. 주목음료의 관능 검사결과

Items	Control	A	B
Color	3.36	3.00	3.00
Flavor	3.36	3.18	2.55
Taste	2.55	3.09	2.18
Clearance	3.36	3.46	3.00
Total	2.91	3.55	2.64

## (2) Free radical 소거능력

### ○ 주목음료

생산된 제품을 이용하여 이차년도 기능성의 marker로 분석하였던 이들 제품의 free radical 소거능력을 검토하였다. 주목추출물과는 다른 부수적인 재료에 의한 산화억제능력의 가능성을 배제하기 위하여, 추출물을 제외한 모든 첨가물을 넣은 대조군을 만들어 실험하였다. 실험에 있어서 시료는 생산한 원액을 그대로 사용하였다. 그림 2-3은 동일한 조건에서 항산화능력을 나타낸 것이다. 이 그림은 주목 추출물에 의해 현저한 free radical 소거능력을 보여주고 있으나 주목 추출물이 포함된 제품간에는 커다란 차이를 보이지 않고 있다. 이러한 결과로부터 주목 추출물이 함유된 음료는 2.4% 수준으로 유효한 효과를 기대할 수 있을 것으로 사료된다. 본 제품에서 A

제품의 50% 항산화억제력은  $28.2\mu\text{l}$ 이었으며, B 제품은  $24.0\mu\text{l}$ 로 측정되었다. 즉, 본 음료의 항산화억제능력은 주목 추출물에 의해 크게 기인되고 있음을 보여주고 있다.

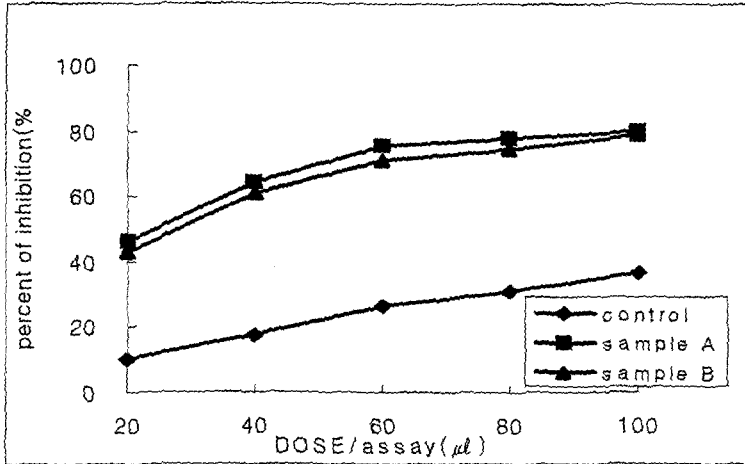


그림 2-3. 주목음료의 항산화억제능력

최근, 국내의 경제산업의 발전으로 노년층의 인구가 증가하고 있으며, 이에 따라 의료비의 상승요인으로 작용하고 있다. 더불어 노년층의 건강유지를 위한 기대와 대응방안이 요구되고 있다. 이를 위한 하나의 방안으로 삶의 질을 유지하고 질병의 예방을 통한 적극적인 방법의 하나로서 건강식품 또는 기능성식품의 개발에 많은 관심이 주어졌다.

본 연구는 이러한 기능성식품의 소재의 생산과 기능성확인 및 기능성식품의 개발에 이르기까지의 연구를 종합적으로 수행한 연구 중 본 연구는 기능성과 가공에 대하여 다루고 있다.

주목잎의 기능성 음료개발을 위해 잎에 대한 성분을 분석한 결과, 주목의 잎에는 다량의 (+)-Catechin과 (-)-epicatechin을 포함하고 있으며 이들 성

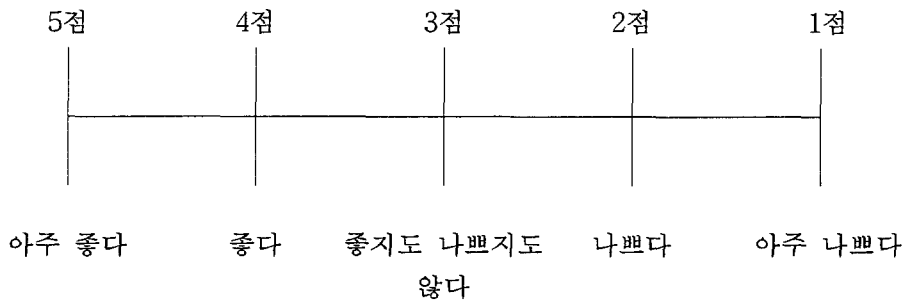
분들이 여러 가지 약리 작용을 지니고 있어서 주목 잎을 이용한 기능성 건강 보조식품의 개발 가능성이 매우 높다. 더우기 수용성 부분은 후라보노이드와 탄수화물이 두 개씩 결합한 여러 종류의 배당체 화합물이 포함되어 있으며, 이러한 후라보노이드 화합물들에 대한 많은 연구 결과들이 순수한 후라보노이드에 비하여 이들의 약리 기능 및 생리활성기능이 매우 큰 것으로 보고되고 있으므로 주목의 수용성 추출물을 이용한 기능성 차류의 가공 가능성도 매우 높은 것으로 생각된다.

최근, 주목은 항암제로서 주목의 한 성분인 taxol 의 가치가 잘 알려져 왔다. 그러나 주목의 추출물은 taxol 성분 이외의 많은 독성의 알카로이드성분을 갖고 있으며, 이들의 독성은 수 천년부터 잘 알려져 왔다. 예를 들면, 사람이 주목 잎(바늘)을 50-100개정도 먹었을 때, 심장이나 호흡기기능의 저하로 사망할 수 있다고 보고되고 있으며, taxol의 LD<sub>50</sub> (50% 치사율의 섭취량)은 개에서 9.0mg/Kg으로 알려져 있다. 실제로 항암제로 taxol을 이용하는 데는 세포독성을 극소화하기 위해 분자 변형을 시킨 소위 Anortaxol 이 이용되고 있다. 이러한 측면에서, 주목 잎을 그대로 식품의 재료로 사용하는 것은 위험한 결과를 초래할 수 있으며, 식품소재로 적합하지 않음을 알 수 있다. 그러나, 본 연구에서는 시험용으로 주목 잎을 이용하여 음료수를 만들었으며, 결과적으로는 주목추출물의 함량이 낮은 경우 기호도가 높아짐을 볼 수 있었다.

<별첨 1. 주목음료의 관능검사표>

주목 Ex.를 이용하여 제조한 음료입니다. 각 음료의 색깔, 향기, 맛, 혼탁도 및 전체적인 만족도에 대하여 아래 기준에 따라 다음 항목에 대해 평가하여 주시기 바랍니다.

- 채점기준 -



	항 목	A	B	C
시 료				
	색    깔			
	향    기			
	맛			
	혼 탁 도			
	전체적인 만족도			

## 제4절 참고문헌

1. 박상수, 최명석, 박용구, 고경수, 유종신, 유장렬. 1995. 제주도 주목 (*Taxus cuspidata*)의 Taxol 및 cephalomannine의 함량분석. 생약학회지 26 : 116-121
2. 김갑태. 1989. 종자의 전처리가 몇 수종의 포장 발아율에 미치는 영향. 한림지 78(1) : 26-29
3. 김창민, 강삼식, 박영순, 김은영. 1988. 국산 피나무속 식물의 성분연구(I) -찰피나무 수피의 성분-. 생약학회지 19(3) : 174-176
4. 김창호. 1985. 몇 발근환경인자가 주목삼수 발근에 미치는 효과. 한국임학회지 70 : 1-6
5. 구관효, 이강녕, 윤기식, 권영한. 1990. 주목삼수의 모수령 및 아조형태가 발근과 묘형에 미치는 영향. 한국임학회지 79(4) : 359-366
6. 도상학. 1988. 한국의 약용식물자원. 천연물과학. 서울대출판부
7. 문관심. 1984. 약초의 성분과 이용. 과학백과사전출판사. 일월서각
8. 백광욱. 1968. 柏子實 성분에 관한 연구. 춘천농대 연구논문집 2 : 4-44
9. 산림청 임목육종연구소. 항암제 택솔 기술이전 설명자료. 86pp.
10. 산림청 임업연구원. 1987. 한국수목도감. 임업연구원. 392-397
11. 이경준, 박종영, 박관화, 박훈. 1995. 고로쇠나무 수액의 화학적 성분, 영양가치와 사포닌 함유 여부에 관한 연구. 한국임학회지 84(4) : 415-423
12. 이숙희. 한국산 잣의 지질성분 분석 및 지방산 조성에 관한 연구. 부산대학교 석사학위논문. 33pp.
13. 이용욱, 이경준. 1994. 한국자생 주목, 설악눈주목, 회솔나무의 집단 및 채취부위에 따른 택솔함량의 변이. 한국임학회지 83(3) : 365-371
14. 이정환, 김삼식, 박광우. 1988. 한국산 약용식물의 분포(I). 경상대학교 농

업자원이용연구보고 22(2) : 85-105

15. 이창복. 1969. 우리나라 식물자원. 서울대 논문집 20(농생계) : 89-228
16. 이창복. 1969. 자원식물. 한림지 8 : 27-139
17. 이창복. 1979. 대한식물도감. 791pp.
18. 이학주. 1995. 수목의 생리활성 물질의 이용. 임업정보. 34-35
19. 임경빈. 1983. 특용수재배학. 향문사. 495pp.
20. 정동호. 1981. 生物化學 -단백질과 아미노산-. 선진문화사. p. 84-91
21. 정삼택. 1985. 종자휴면과 발아의 생리생화학. 대한교과서주식회사. 620pp.
22. 정태현. 1957. 한국식물도감(상권 목본부). 507pp.
23. 정필근. 1994. 생약초. 홍신문화사. 262pp.
24. 정현배. 1974. 강원도산 유용식물조사 연구. 식물분류지 Vol. 5 : 13-22
25. 최명석, 광상수, 박용구, 유장렬. 1994. 울릉도 자생주목(*Taxus cuspidata* var. *latifolia*)의 Taxol 및 관련화합물의 함량분석. 한국생물공학회지 9 : 186-190
26. 한국화학연구소. 1988. 한국유용식물자원연구 총람
27. 한상섭. 황병호. 1990. 잣 종자의 아미노산, 지방산, 비타민 분석. 한국임학회지 79 : 345-351
28. 황병호. 1983. 표고버섯의 아미노산 및 비타민 분석. 한국목재공학회지 11 : 18-24
29. 황진성. 1968. 지리산 지역의 약용식물에 관한 조사 보고 제1보(초본편). 진주농전논문집 2 : 49-56
30. 황진성. 1970. 지리산 지역의 약용식물에 관한 조사 보고 제2보(목본편). 진주농전논문집 4 : 29-34
31. Choi MS, Kwak SS, Liu JR, Park YG, Lee MK and Ahn YH. 1995.

- Taxol and related compounds in Korean native yews(*Taxus cuspidata*). *Planta Medica* 61 : 264-266
32. Cragg GM, Schepartz SA, Suffness M and Grever MR. 1993. The taxol supply crisis. New NCI policies for handling the large-scale production of novel natural product anticancer and anti-HIV agent. *J. Nat. Prod.* 56 : 1657-1663
  33. Denis JM, Greene AE, Guenard D, Gueritte D, Voegelein F, Mangatal L, and Doiter P. 1988. Highly efficient, practical approach to natural taxol. *J. Am. Chem. Soc.* 110 : 5917-5919
  34. Gueritte-Voegelein, F., D. Guenard, and P. Poiter. 1987. Taxol and derivatives : A biogenetic hypothesis. *J. Nat. Prod.* 50(1) : 9-18
  35. Ham, YH, Park WG, Han SS, and Bae YS. 1997. Flavonoid glycosides from needles of *Taxus cuspidata*(Taxaceae). *J. Kor. Wood Sci. and Technology* 25(2) : 45-51
  36. Howard, W. D., and S. N. Timasheff. 1988. Linkages between the effects of taxol, colchicine, and GTP on tubulin polymerization. *J. Biol. Chem.* 263(3) : 1342-1346
  37. Keith, M., K. M. Witherup, S. Look, M W. Stasko, T. G. McCloud, L. J. Issaq, and G.M. Muschik. 1989. High performance liquid chromatographic separation of taxol and related compounds from *Taxus brevifolia*. *J. Liquid Chromatography* 12(11) : 2133-2143
  38. Kwak SS, Choi MS, Lee MK, Park YG and Liu JR. 1995. Taxol contents in the seeds of *Taxus* spp. *Phytochemistry* 40 : 29-32
  39. Minoru Terazawa, Hiroshi Okuyama, and Moto Miyake. Phenolic compounds in living tissue of woods I. -Phenolic  $\beta$ -glucosides of

- 4-hydroxycinnamyl alcohol derivatives in the cambial sap of woods-.  
Mokuzai Gakkaishi 30 : 322-328
40. Park, W. C. and S. T. Lee. 1989. A palynotaxonomic study of the Korean Araliaceae. Kor. J. Plant. Tax. 19 : 103-121
  41. Satoo, S. 1956. Anatomical studies on the rooting of cuttings in coniferous species. Bull. Tokyo univ. Forests No. 51 : 109-158
  42. Snyder, W. E. 1955. Effects of photoperiod on cuttings of *Taxus cuspidata* while in the propagation bench and during the first growing season. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 66 : 397-401
  43. Stierle A, Strobel G. and Stierle D. 1993. Taxol, and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew. Science 260 : 214-216
  44. Vidensek, N., P. Lim, A. Campbell, and C. Carison. 1990. Taxol content in bark, wood, root, leaf, twig, and seedling from several *Taxus* species. J. Nat. Prod. 53(6) : 1609-1610
  45. Wani, M. C., H. L. Taylor, M. E. Wall, P. Coggon, and A. T. Mcphail. 1971. Plant antitumor agents. VI. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. J. Am. Chem. Soc. 93(9) : 2325-2326
  46. Wells, J. S. 1956. Problems in the rooting of *Taxus*. Amer. Nursery 104(7) : 15-16
  47. Wheeler, N. C., K. Jech, S. Masters, S. W. Brost, A. B. Alvarado, A. J. Hoover, and K. M. Snader. 1992. Effects of genetic, epigenetic, and environmental factors on taxol content in *Taxus brevifolia* and related species. J. Nat. Prod. 55(4) : 432-440



48. Witherup, K. M., S. A. Look, M. W. Stasko, T. J. Ghiorzi, and G. M. Muschik. 1990. *Taxus* spp. needles contain amounts of taxol comparable to the bark of *Taxus brevifolia* : Analysis and isolation. J. Nat. Prod. 53(5) : 1249-1255
49. 沼田眞. 1992. 植物生態の観察と研究. 東海大學出版會. 275pp.
50. 向井讓. 横山敏孝. 1985. キハダネの發芽に對する冷濕處理の效果. 日本林學會誌 67(3) : 103-104

## 제3장 대극속 식물을 이용한 약제 및 건강음 료 개발

### 제1절 서론

대극속 식물들의 용도에 대해서는 열대의 중요한 유용식물을 많이 포함하고 있는 것으로 알려져 있으며, 染料와 觀賞用으로 이용되고 있는 種도 상당히 많다. 또한 가솔린의 성분에 가까운 물질을 유액으로 포함하고 있는 식물도 있어 석유자원으로서 기대되는가 하면 발암물질을 포함하는 種도 있으며, 항암물질을 포함하고 있는 種도 많아 최근 대극속의 식물들은 전세계적으로 관심을 집중시키고 있다(大場, 1995). 우리 나라에서는 대극속의 식물 가운데 등대풀과 예덕나무가 항암효과가 있다고 민간요법으로 전해지고 있으며(張俊根, 1994), 그밖에 대극屬의 식물들은 利尿劑, 胸痛, 咳嗽, 水腫, 淋巴腺炎, 腫毒 등에 藥效가 있다고 전하고 있다(陸昌洙, 1989 ; 농촌진흥청, 1989). 또한 북한에서 발간한 동의학사전(김동일 등, 1990)에서도 등대풀과 흰대극이 항암작용을 하는 식물이라고 전하고 있을 뿐이다. 따라서 본 연구에서는 암대극의 약제 개발을 위해 대량생산이 가능한 증식법 및 성분분석을 수행하고 있다.

현재 우리 나라는 산림식물을 이용한 약제 개발에 있어서 가장 문제점으로 대두되고 있는 것은 임업관련분야에서는 약효성분을 분석할 수 있는 分析機器를 보유하고 있지 못하고 있는 점이다. 일반적으로 초본류의 대부분은 오랜 과거로부터 약효가 인정되어 민간약으로 구전되거나 과학적으로 약효가 입증되어 실용화 단계에 있는 것이 많다. 그러나 이 암대극은 매우 제

한된 분포를 하며 또한 개체수가 매우 적기 때문에 많은 연구가 이루어지지 못하였다. 따라서 산림을 대상으로 연구를 수행하는 임업관련대학 또는 연구소에 分析用機器가 갖추어 진다면, 산림 속에 매우 희소적으로 분포하는 이들 산림식물의 이용·개발에 관한 연구는 임업인의 여러 가지 아이디어를 통하여 충분히 발전될 수 있다. 이와 함께 이들 희소성 있는 암대극의 특성 즉, 생태습성이나 분포상황, 적지 등을 명확히 규명하고, 나아가서는 다양한 증식방법의 규명을 통한 종의 보전 및 유전자원 확보가 요구되고 있는 실정이다.

## 제2절 재료 및 방법

본 연구에는 국내의 대학 교수진 및 관련 연구기관의 연구자 6명이 연구를 수행하고 있으며, 연구에 필요한 정보는 공동연구가 수행되고 있는 다른 세부과제의 16명의 연구진과 협력해 나가면서 연구를 수행한다.

본 연구의 전체적인 추진전략은 ① 식물채집 및 예비성분분석, ② 생육습성 및 성분 분석, ③ 이식 및 증식실험, ④ 적응시험 및 음료개발, ⑤ 이용개발(상품화)이라는 과정으로 수행되고 있다.

### 1. 1차년도

강원도내의 암대극 자생지(설악산, 만덕봉 등)를 대상으로 식물채집 및 생육 환경조사를 수행한다.

### 2. 2차년도

연구개시 2차년도의 연구수행 내용은 식물체의 대량증식 및 약효 성분분석이다.

- 대상 식물의 유효성분 예비분석 (일반성분 분석 ; 추출물의 수분, 회분, 리그닌, 섬유소, 펜토산, 유기용매추출물, 수용성추출물, pH), (식품영양학적 및 특수 성분분석 ; 용매추출물과 수용성추출물의 분획물에 대한 각종 성분분석)
- 연구 대상 식물의 대량 증식 (종자 번식 ; 마사토, 모래, 자생지토양, 인공토 등에 파종을 통한 종자 발아율), (이식 실험 ; 자생지와 유사한 입지, 인공토 등에 이식을 통한 이식 활착율 조사)

### 3. 3차년도

연구개시 3차년도의 연구수행 내용은 식물체의 성분분석 및 증식체계의 확립이다.

- 목표 : 암대극의 성분분석 및 증식체계확립

- 내용 : 충분한 양의 암대극 개체를 수집하여 성분분석을 명확히 밝히며, 약제 개발에 필요한 암대극의 대량생산을 위한 증식방법의 체계 확립(종자번식 및 이식을 통한 개체 번식)

#### 4. 4차년도

연구개시 4차년도에는 적응시험, 그리고 약제 및 기능성 음료 개발이 주된 목표로서 지금까지 수행된 연구 결과를 기초로 하여 번식학, 추출물학, 식품공학, 약학 관련 연구자들과 함께 임간재배 및 포장재배, 기능성 음료 개발 등에 관한 연구를 각 수행한다.

- 암대극 종자의 수집을 실시하여 시료의 대량확보를 위한 증식시험을 계속적으로 수행
- 지금까지 수행된 연구 결과를 바탕으로 증식된 개체에 대한 적지를 선정하며, 공한지재배 및 임간재배 등의 가능성에 관한 연구를 수행
- 수집된 식물체로부터 열수추출과 알콜추출 등의 방법을 적용하여 약제 및 음료원료를 추출
- spectrophotometer를 이용하여 OD를 측정, 건조 dry up하여 고형물량을 측정하여 추출율을 계산
- TLC를 통하여 유효성분함량을 확인하며, scanner를 통하여 정량화
- 추출된 원료를 시료로 하여 in vitro 실험을 행하여 항산화효과, 동맥경화발생억제에 관한 효과, 간장보호기능검정 등의 생리활성을 검정

#### 5. 5차년도

연구개시 5차년도에는 음료와 약제개발에 관한 상품화로의 이용 개발이 주된 목표이었으나, 지금까지 암대극에 대한 성분 분석 및 생리활성의 검정 결과 독성이 매우 강한 것으로 나타나 음료 또는 약제로의 개발이 어려운 것으로 판명되었다. 따라서 암대극은 다음과 같은 종의 유전자 자원 확보 수준인 증식법의 확립 단계에서 연구를 마무리하고자 한다.

- 암대극 종자의 수집을 실시하여 유전자 자원의 확보를 위한 증식체계를 확립

## 제3절 결과 및 고찰

### 1. 1차년도 : 암대극의 추출물에 관한 연구

1차 년도에는 연구 대상 식물의 수집과 예비성분 분석을 수행하였다. 암대극을 이용한 약제 또는 기능성음료 개발을 위한 예비 성분분석에 필요한 시료 확보를 위해 자생지인 강원도 강릉시 만덕봉(1996. 4. 20~4. 24, 1996. 7. 25~7.27)과 강원도 양양군 외설악(1996. 4. 20~4. 24)에서 3회에 걸쳐 조사 및 수집을 행하였다. 또한 약제 및 건강음료 개발의 가능성을 파악하기 위하여 암대극의 잎과 줄기를 수집하여 약효성분 규명을 위한 예비 성분분석을 행하였다. 예비 성분분석을 통한 약제 및 기능성음료 개발의 가능성을 파악하기 위한 자생지 조사 및 식물 수집은 충분히 그 목적을 달성하였다. 1차 년도에 수행된 예비 성분분석 결과는 다음과 같다.

#### 가. 암대극의 예비 성분분석

##### (1) 시료채취

1996년 5월 강원도 강릉시 만덕봉에 자생하는 암대극의 잎과 뿌리를 채취하였다.

##### (2) 건조 및 분쇄

채취한 대극은 뿌리와 줄기를 따로 분리하고 뿌리는 물로 깨끗이 세척한 후 실험실에서 약 4주간 건조를 하였으며 작은 조각으로 자른 후에 분쇄기로 분쇄하였다.

##### (3) 추출물의 조제

분쇄된 대극 뿌리 1.5kg을 10ℓ의 유리용기에 넣은 후에 아세톤-물(7:3)의 추출용매를 약 6ℓ 가량 섞었다. 잘 흔들어 준 다음 실험실에서 약 3일간

침적해 두었다. 필터를 이용하여 추출액 만을 뽑아내고 다시 추출용매를 부어 침적하였다. 이 조작을 3회 반복하여 추출물을 얻었다. 추출액은 다시 evaporator를 이용 감압 농축하여 유기용매를 모두 제거한 후에 추출물의 부피를 줄였고 분획깔때기로 옮겨놓고 에틸아세테이트를 이용 수용성과 에틸아세테이트용성 화합물로 분리하였다. 헥산에 녹는량이 미량이어서 헥산 분리는 시행하지 않았다.

일반적으로 에틸아세테이트에는 저분자량의 후라보노이드류의 화합물이 그리고 수용성에는 탄수화물 혹은 고분자량이나 탄수화물이 결합된 후라보노이드류의 화합물이 주로 존재하게 된다. 헥산용성화합물과 클로로포름용성화합물은 완전히 농축시킨 상태로 보관하였다. 그리고 에틸아세테이트용성과 수용성화합물은 냉동을 시킨 후에 동결 건조하여 수율을 측정하였다.

(4) 추출물의 수율(%), 추출물(g)/대극뿌리의 기건중량(g)×100)

에틸아세테이트용성 화합물 : 3%(45g)

수용성 화합물 : 8.9%(134g)

(5) 칼럼크로마토그래피

칼럼 충전물질로는 Sephadex LH-20를 사용하였으며 맨 처음 칼럼의 크기는 내경 3cm, 길이 60cm였다. 세척용매로는 에탄올-물(1:1)을 사용하였다. 셀룰로오스 TLC를 이용하여 3개의 fraction으로 분리하였다. 분리된 부분들은 현재 동결건조 중에 있으며 수용성 부분은 칼럼크로마토그래피를 위한 준비 단계에 있다.

나. 암대극의 증식

암대극의 대량증식을 위하여 다음과 같이 자생지로부터 종자를 수집(1996년 6월 5일)하여 2,200립을 다음과 같이 파종하여 종자발아의 관계를 조사중에 있다. 또한 개체 이식을 통한 증식 가능성을 확인하기 위하여 일부 개체



는 자생지와 유사한 입지를 강원대학교 부속 연습림 내에 선정하여 이식실험 중에 있다.

표 3-1. 암대극의 종자 파종

종자 파종일	파종상	파종립수
1996. 6. 12	모래상(직파 : 습적발아)	200 : 200
	버뮤클라이트상(직파 : 습적발아)	200 : 200
	자생지 토양상(직파 : 습적발아)	200 : 200
1996. 7. 26	자생지와 유사한 입지(5지점)	1,000

## 2. 2차년도 : 암대극의 대량증식 및 약효성분분석

연구 1차년도에는 암대극 뿌리에 대한 예비성분분석이 일부 진행되었으나, 약제 또는 기능성 음료로의 개발 가능성 진단이 어려웠다. 따라서 암대극의 뿌리 등에 대한 약효성분 규명을 위한 성분분석이 계속 수행하고 있다.

또한 암대극의 대량 증식을 위하여, 본 연구 대상식물들의 자생지인 강릉시 만덕봉, 양양군 설악산 등으로부터 암대극의 종자, 성숙 개체 등을 각각 4회 수집하여 증식법에 관한 연구를 수행하고 있다. 1차년도에 수집한 종자와 금년도에도 추가로 종자를 수집하여, 종자를 파종하고 종자발아에 의한 증식방법을 수행하고 있으며, 또한 성숙 개체를 소량 이식하여 현지에서의 종자 산포에 의한 대량증식법을 파악한다.

그 결과를 정리하면 다음과 같다.

암대극의 성분분석 : 채취한 대극은 뿌리와 줄기를 따로 분리하고 뿌리는 물로 깨끗이 세척한 후 실험실에서 약 4주간 건조를 하였으며 작은 조각으

로 자른 후에 분쇄기로 분쇄하였다. 그리고 분쇄된 대극 부리 1.5kg을 10 l의 유리용기에 넣은 후에 아세톤-물(7:3)의 추출용매를 약 6 l 가량 섞었다. 잘 흔들어 준 다음 실험실에서 약 3일간 침적해 두었다. 필터를 이용하여 추출액만을 뽑아내고 다시 추출용매를 부어 침적하였다. 이 조작을 3회 반복하여 추출물을 얻었다. 추출액은 다시 evaporator를 이용 감압 농축하여 유기용매를 모두 제거한 후에 추출물의 부피를 줄였고 분획깔때기로 옮겨놓고 에틸아세테이트를 이용 수용성과 에틸아세테이트용성 화합물로 분리하였다. 헥산에 녹는 양이 미량이어서 헥산 분리는 시행하지 않았다.

일반적으로 에틸아세테이트에는 저분자량의 후라보노이드류의 화합물이 그리고 수용성에는 탄수화물 혹은 고분자량이나 탄수화물이 결합된 후라보노이드류의 화합물이 주로 존재하게 된다. 헥산용성화합물과 클로로포름용성화합물은 완전히 농축시킨 상태로 보관하였다. 그리고 에틸아세테이트용성과 수용성화합물은 냉동을 시킨 후에 동결 건조하여 수율을 측정하였다.

추출물의 수율(%), 추출물(g)/대극뿌리의 기건중량(g)×100은 에틸아세테이트용성 화합물 : 3%(45g)와 수용성 화합물 : 8.9%(134g)로 구성되어 있다.

칼럼 충전물질로는 Sephadex LH-20를 사용하였으며 맨 처음 칼럼의 크기는 내경 3cm, 길이 60cm였다. 세척용매로는 에탄올-물(1:1)을 사용하였다. 셀룰로오스 TLC를 이용하여 3개의 fraction으로 분리하였다. 분리된 부분들은 현재 동결건조 중에 있으며 수용성 부분은 칼럼크로마토그래피를 위한 준비 단계에 있다.

일본에서 많은 연구들이 이루어지고 있으며 그 주요성분들은 주로 수용성 탄닌들과 그 유도체들로 구성되어 있는 것으로 알려져 있다. 약리효과 실험도 상당부분 이루어져 있으며 항암 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 따라서 보다 상세한 분석 후 이들 화합물을 이용한 약리효과 측정을 실시하고자 한다.

한편 암대극의 대량증식을 위한 연구 결과는 다음과 같다.

지난해 이식 및 종자 수집을 실시하였으며, 금년도에는 종자를 파종하여 종자발아에 의한 증식방법을 수행하고 있으며, 또한 성숙 개체를 소량 이식하여 현지에서의 종자산포에 의한 대량증식법을 수행하고 있다. 이식한 개체는 100% 활착하는 결과를 나타냈으며, 종자파종은 모래, 버뮤클라이트 및 자생지 토양의 3가지 종류의 파종상 및 자생지와 유사한 입지에 파종한 결과 버뮤클라이트상에서 약 50% 전후의 발아율을 나타냈고 모래 상에서 22~28%의 발아율을 나타낸 반면 자생지 토양에서는 10% 전후의 저조한 발아율을 나타냈다. 따라서 암대극의 증식은 종자발아를 통한 이식으로 대량 생산하는 것이 바람직하다고 생각된다.

표 3-2. 암대극의 종자 파종 및 발아율

구 분	모래상		버뮤클라이트		자생지 토양		자생지와 유사한 입지
	직 파	습적처리	직 파	습적처리	직 파	습적처리	
파종 립수	200	200	200	200	200	200	1000
발아율(%)	22	28	56	48	8	14	0

### 3. 3차년도 : 암대극의 성분분석 및 증식체계 확립

지금까지 암대극의 뿌리에 대한 예비성분분석에서 밝혀진 성분을 기초로 하여 유기용매 추출물과 온수추출물의 성분 및 기능성, 그리고 독성물질의 검출여부 등을 집중 연구하고 있다.

또한 1, 2차년도에 수집한 종자를 파종하여 종자발아에 의한 증식방법을 수행하고 있으며, 금년도에는 이미 수행된 방법 가운데 양호한 방법을 적용

하여 증식을 수행 중에 있으며, 또한 성숙 개체를 유사한 입지에 소량 이식한 후 현지에서의 종자산포에 의한 대량증식법을 수행하고 있다. 그 결과를 정리하면 다음과 같다.

#### (1) 시료채취

1996-1997년 5월에 강원도 강릉시 왕산면 만덕봉에서 자생하는 생장이 양호한 대극을 채취하였다.

#### (2) 건조 및 분쇄

채취한 대극은 뿌리와 줄기를 따로 분리하고 뿌리는 물로 깨끗이 세척한 후 실험실에서 약 4주간 음건한 후 작은 조각으로 자른 후에 분쇄기로 분쇄하였다.

#### (3) 추출물의 조제

분쇄된 대극 뿌리 1.5kg을 26 l의 유리용기에 넣은 후에 아세톤-물(7:3)의 추출용매를 약 6 l 가량 섞었다. 잘 흔들어 준 다음 실험실에서 약 3일간 침적해 두었다. 필터를 이용하여 추출액만을 뽑아내고 다시 추출용매를 부어 침적하였다. 이 조작을 3회 반복하여 추출물을 얻었다. 추출액은 다시 Vacuum evaporator를 이용 감압, 농축하여 유기용매를 모두 제거한 후에 추출물의 부피를 줄인 다음 분획 깔때기로 옮겨놓고 먼저 클로로포름용성 화합물을 분리하였고, 에틸아세테이트를 첨가하여 수용성과 에틸아세테이트 용성 혼합물로 분리하였다. 헥산용성 혼합물은 매우 미량이어서 헥산 분리하는 시행하지 않았다.

일반적으로 에틸아세테이트에는 저분자량의 후라보노이드류 화합물, 수용성에는 탄수화물 혹은 고분자량이나 탄수화물이 결합된 후라보노이드류의 화합물이 주로 존재하게 된다. 클로로포름용성화합물은 동결건조가 되지 않

고 끈적끈적한 상태로 되어 완전히 농축시킨 상태로 보관하였다. 그리고 에틸아세테이트용성과 수용성 혼합물은 냉동을 시킨 후에 동결 건조하여 수율을 측정하였다.

(4) 추출물의 수율(%), 추출물(g)/대극뿌리의 기건중량(g)×100)

클로로포름용성 화합물 : 3%(46g)

에틸아세테이트용성 화합물 : 3%(45g)

수용성 화합물 : 8.9%(134g)

(5) 칼럼 크로마토그래피, 박층 크로마토그래피 및 NMR 분석

칼럼 층진물질로는 Sephadex LH-20를 사용하였으며 최초 분리용 칼럼의 크기는 내경 3cm, 길이 60cm였으며, 에틸아세테이트용성 부분을 먼저 분리하였다. 세척용매로는 에탄올-물(1:1)을 사용하였다. 셀룰로오스 박층 크로마토그래피를 이용하여 3개의 Fraction으로 분리하였다. 분리된 부분들은 동결건조를 시키려하였으나 첫 번째 부분과 세 번째 부분은 분말상태로 동결건조되지 않아 농축하여 보관하였으며 두 번째 부분은 분말로 0.54g을 얻었다.

한편, 암대극의 대량증식을 위해 자생지의 생육환경을 조사한 결과, 암대극은 해발 580-650m 사이에 주로 분포하는 것으로 나타났으며, 분포하는 사면은 남사면으로부터 남서 사면 계곡부의 전석지로 상대조도 약 10% 전후의 장소에 분포하고 있었다(표 3-3). 상층목은 가래나무가 우점하며, 아교목층과 관목층에는 층층나무, 느릅나무, 오미자, 고추나무, 누리장나무 등이 우점하며, 하층의 초본식생으로는 암대극, 피나무, 넓은잎의잎썩, 벌개덩굴 등이 주로 분포하는 것으로 나타났다. 따라서 암대극의 대량증식을 위해서는 피도가 높고 다소 습한 계곡부에 종자파종을 통한 증식이 요구된다.

표 3-3. 암대극의 생육 환경 조사

조사지		강릉시 왕산면 만덕봉							
방위	SW 23.3	해발고(m)	585-640						
조도	상대조도(%) : 10.4								
식물군락	우점종	식피율 (%)	높이(m)	총고려경 (cm)	종수				
교목층(8 < )	가래나무	75	17	35	1				
아교목층(2 - 8)	층층, 느릅나무	85	7.5	24	5				
관목층(0.8 - 2)	고추나무, 오미자	85	2.0	4	11				
초본층(0.1 - 0.8)	암대극	70	0.8		16				
아끼층( < 0.1)									
1998年 6月 23日 調査者 :									
	Species(상층)	No. S	Species(중층)	No. S	Species(하층)	No. S	Species(초본)	No. S	
1	가래나무	4	층층나무	3	오미자	20	암대극		
2			느릅나무	3	고추나무	8	피나무		
3			가래나무	2	누리장나무	6	벌개덩굴		
4			고로쇠나무	1	광대싸리	3	넓은잎의잎속		
5			산뽕나무	2	병조희풀	3	단풍마		
6					물푸레나무	2	물봉선		
7					고로쇠나무	2	고려엉겅퀴		
8					박쥐나무	2	방아풀		
9					다래	2	통둥굴레		
10					까치박달	1	참취		
11					줄말기	1	동근털제비꽃		
12							알록제비꽃		
13							개미취		
14							털고사리		
15							노랑물봉선		
16							큰조롱		
비 고		10 × 10 m							

또한 대량증식을 위해 지난해 이식 및 종자 수집을 실시하였으며, 금년도에는 종자를 파종하여 종자발아에 의한 증식방법을 수행하고 있으며, 또한 성숙 개체를 소량 이식하여 현지에서의 종자산포에 의한 대량증식법을 수행하고 있다. 이식한 개체는 100% 활착하는 결과를 나타냈으며, 종자파종은 모래, 배양토 및 자생지 토양의 3가지 종류의 파종상 및 자생지와 유사한 입지에 파종한 결과 배양토 상에서 약 50% 전후의 발아율을 나타냈고 모래 상에서 22~28%의 발아율을 나타낸 반면, 자생지 토양에서는 10% 전후의 저조한 발아율을 나타냈다. 이와 같은 결과는 암대극이 자생하는 곳에서 극히 제한된 분포를 하는 것으로 미루어 현지에서의 발아율이 매우 낮은 것으로 판단된다. 따라서 암대극의 증식을 위해서는 종자발아가 적당한 것으로 사료되나, 지속적인 연구가 이루어져야 할 것으로 판단된다.

표 3-4. 암대극 종자의 발아율

구 분	모래상		배 양 토		자생지 토양		자생지와 유사한 입지
	직 파	습적처리	직 파	습적처리	직 파	습적처리	
발아율(%)	22	28	56	48	8	14	0

#### 4. 4차년도 : 암대극의 적응시험 및 기능성 음료 개발

##### 가. 일반 성분분석 및 생리활성 검정

지금까지 암대극의 뿌리에 대한 예비성분분석이 완료되었으며, 생리활성 검정을 통한 독성물질의 검출여부 등을 집중 연구하고 있다.

또한 1996년과 1997년도에 자생지로부터 수집한 종자를 파종하여 종자발아에 의한 증식방법을 수행하고 있으며, 금년도에는 이미 수행된 방법 가운데

양호한 방법을 적용하여 증식을 수행 중에 있으며, 또한 성숙 개체를 유사한 입지에 소량 이식한 후 현지에서의 종자산포에 의한 대량증식법을 수행하고 있다.

암대극에 관한 성분분석은 지난해 시료 채취로부터 칼럼크로마로그래피까지 수행된 결과와 새롭게 밝혀진 단지화합물의 구조는 다음과 같다.

#### (1) 시료채취

2차 시료채취는 1999년 5월 1차 채취장소와 동일한 지역에서 자생하는 생장이 양호한 암대극을 사용하였다.

#### (2) 건조 및 분쇄

채취한 암대극은 뿌리와 줄기를 따로 분리하고 뿌리는 물로 깨끗이 세척한 후 40℃의 건조기에서 약1간 건조를 실시하여 반 건조 상태로 만든 후 소편으로 분쇄하여 추출을 실시하였다.

#### (3) 추출물의 조제

분쇄된 암대극 뿌리 2.65kg을 10 l의 유리용기에 넣은 후에 아세톤-물 (7:3)의 추출용매를 약 6 l 가량 섞었다. 잘 흔들어 준 다음 실험실에서 약 3일간 침적해 두었다. 필터를 이용하여 추출액만을 뽑아내고 다시 추출용매를 부어 침적하였다. 이 조작을 3회 반복하여 추출물을 얻었다. 추출액은 다시 evaporator를 이용, 감압 농축하여 유기용매를 모두 제거한 후에 추출물의 부피를 줄였고 분획갈때기로 옮겨놓고 먼저 클로로포름용성 분획물을 분리하였고, 에틸아세테이트를 물과 혼합하여 수용성 및 에틸아세테이트용성 분획으로 분리하였다. 암대극 뿌리의 조추출물은 1차 추출시험에서는 헥산용성 화합물이 미량 포함되어 있어서 헥산용성 화합물의 분획은 실시하지 않았으나 2차 추출시험에서는 헥산용성 화합물의 분획을 실시하였다.



상기와 같은 분획을 실시하여 에틸아세테이트용성 분획은 저분자량의 페놀성 화합물이 용해되며 수용성 분획에는 저분자량 및 고분자량의 탄수화물과 페놀성 화합물의 배당체들이 용해됨을 확인하였다. 클로로포름용성 화합물은 감압 농축후 동결건조에 의하여 분말상 화합물로 건조되지 않고 끈적 끈적한 젤리상 화합물로 존재하여 농축시킨 상태로 보관하였다. 에틸아세테이트용성 및 수용성 화합물은 동결건조기로 건조한 후 분말 상으로 조제하여 보관하고 성분분석 실험에 사용하였다.

#### (4) 추출물의 수율

추출물의 수율은 1차 추출시험에서는 [조추출물의 중량(g)/암대극 뿌리의 기건중량(g)] x 100(%) 로 계산하였으며 1.5kg의 기건시료를 이용하여 클로로포름용성 분획 46g, 에틸아세테이트용성 분획 45g 및 수용성 분획 134g을 얻어 15%의 수율을 얻었으며 2차 추출시험에서는 [조추출물의 중량(g)/암대극 뿌리의 반건조 중량(g)] x 100(%) 로 계산하여 2.65kg의 시료에서 클로로포름용성 분획 27.8g, 에틸아세테이트용성 분획 2.207g, 헥산용성 분획 4.236g 및 수용성 분획 173.637g을 획득하여 7.8%의 수율을 얻었다. 이와같은 결과로 볼 때 암대극 뿌리의 조추출물 수율은 기건상태로 건조된 시료를 사용할 경우 약 15% 내외의 추출 수율을 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

#### (5) 칼럼크로마토그래피

내경 3cm, 길이 60cm의 유리칼럼을 사용하여 크로마토그래피 분석을 실시하였으며 칼럼 충전 물질로는 Sephadex LH-20를 사용하였다. 먼저 에틸아세테이트용성 및 수용성 분획에 대한 분리를 수행하였으며 클로로포름용성에 대한 분리를 수행중이다. 칼럼의 세척용매로는 에탄올-물(1:1)을 사용하였다. 에틸아세테이트용성 분획에 대한 분리를 수행한 후 셀룰로오스 박

층 크로마토그래피법을 적용하여 2개의 fraction으로 분리하였다. 두 번째 fraction으로부터 침전물이 형성되었으며 이를 재결정법으로 정제하여 357 mg의 순수한 화합물을 단리하였다. 한편 수용성 분획은 NMR 분석에 의하여 대부분이 탄수화물로 규명되어 대극 뿌리 추출물이 다량의 탄수화물을 포함하고 있음을 알 수 있었다.

(6) 단리 화합물 분석

재결정법으로 단리된 357mg의 순수한 화합물에 대하여 강원대학교 공동실험실습관의 Bruker 400MHz NMR 분석기를 이용하여  $^1\text{H}$ - 및  $^{13}\text{C}$ -NMR 분석을 실시하였으며 화합물의 정확한 분자량을 분석하기 위하여 강원대학교 공동실험실습관의 Micromass사 Autospec M363 질량분석기를 사용하여 FAB MS 분석을 실시하였다(그림 3-1).

(7) 단리 화합물의 구조

NMR 스펙트럼과 질량분석 스펙트럼에 의하여 동정된 화합물의 구조는 ellagic acid로서 아래와 같은 구조를 가지고 있으며 이 화합물의  $^1\text{H}$ - 및  $^{13}\text{C}$ -NMR 스펙트럼은 그림 3-2 및 3-3과 같으며 positive FAB-MS 스펙트럼은 그림 3-4에 나타난 바와 같이  $[\text{M}+\text{H}]^+$  값이 303으로 분자량 302에 수소원소가 한 개 결합된 값을 나타내고 있다.

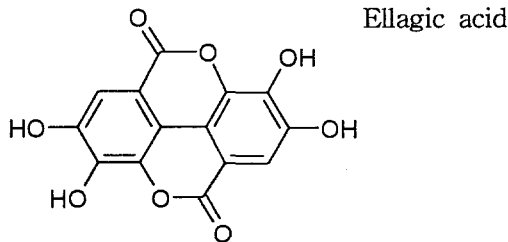


그림 3-1. 대극으로부터 단리한 화합물

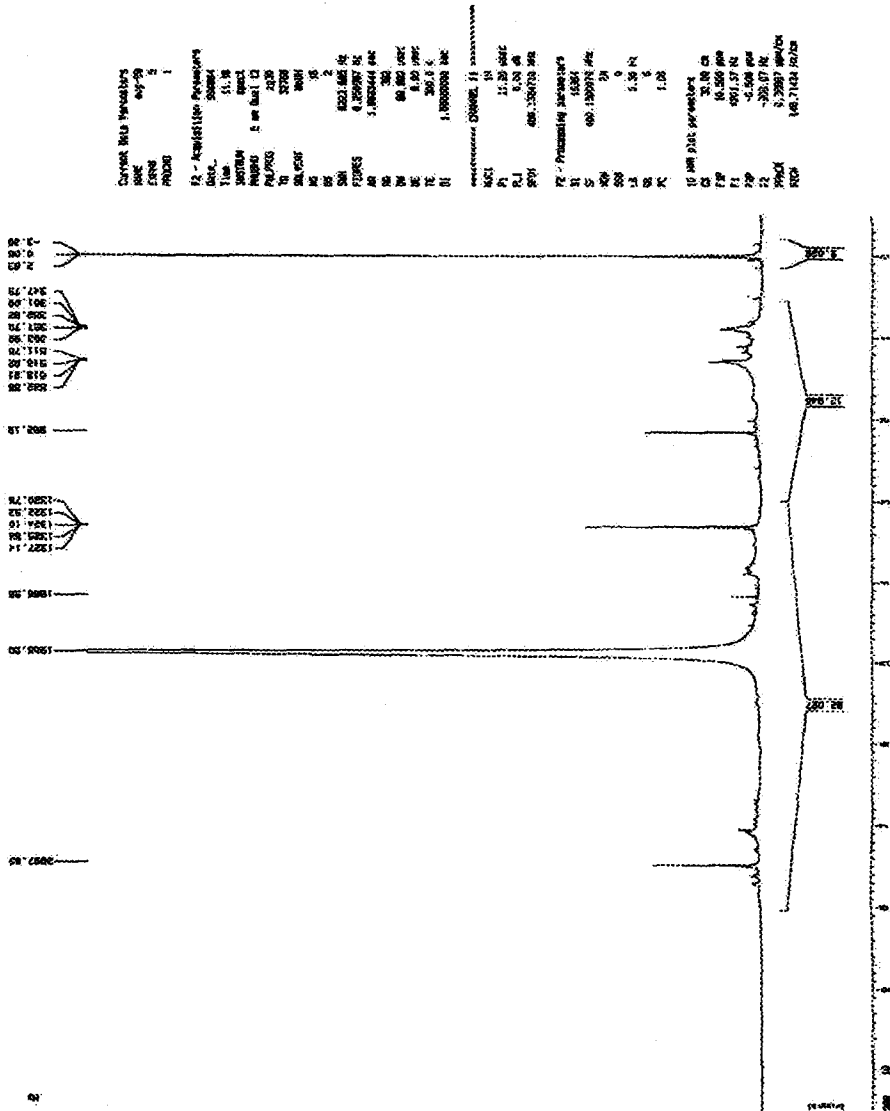


그림 3-2. <sup>1</sup>H NMR spectrum of ellagic acid.

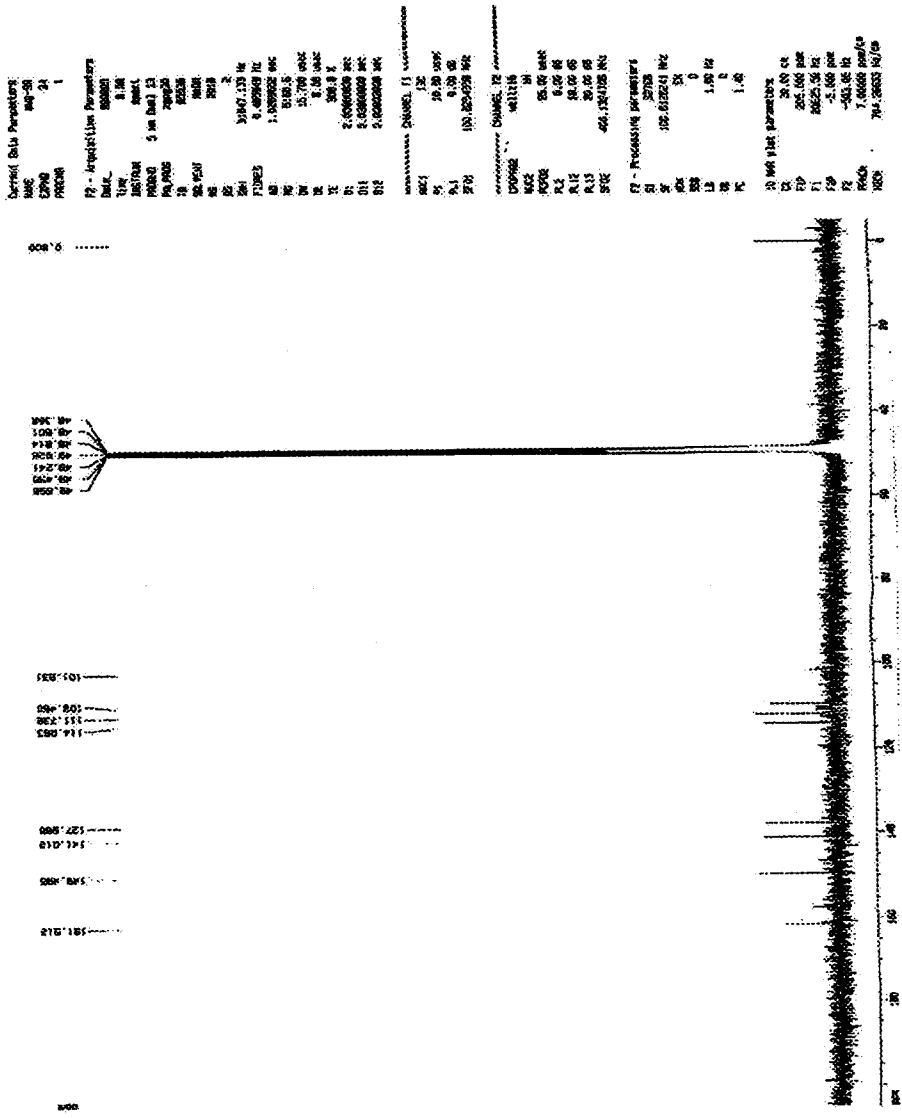


그림 3-3.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of ellagic acid.

File: KYSUI Ident: 222-227-398-400 Acq: 2-SEP-1999 15:51:04 +9:02 Cal: KYSUI  
 AutoSpec FAB+ Magnet\_BpI: 5357 TIC: 615315

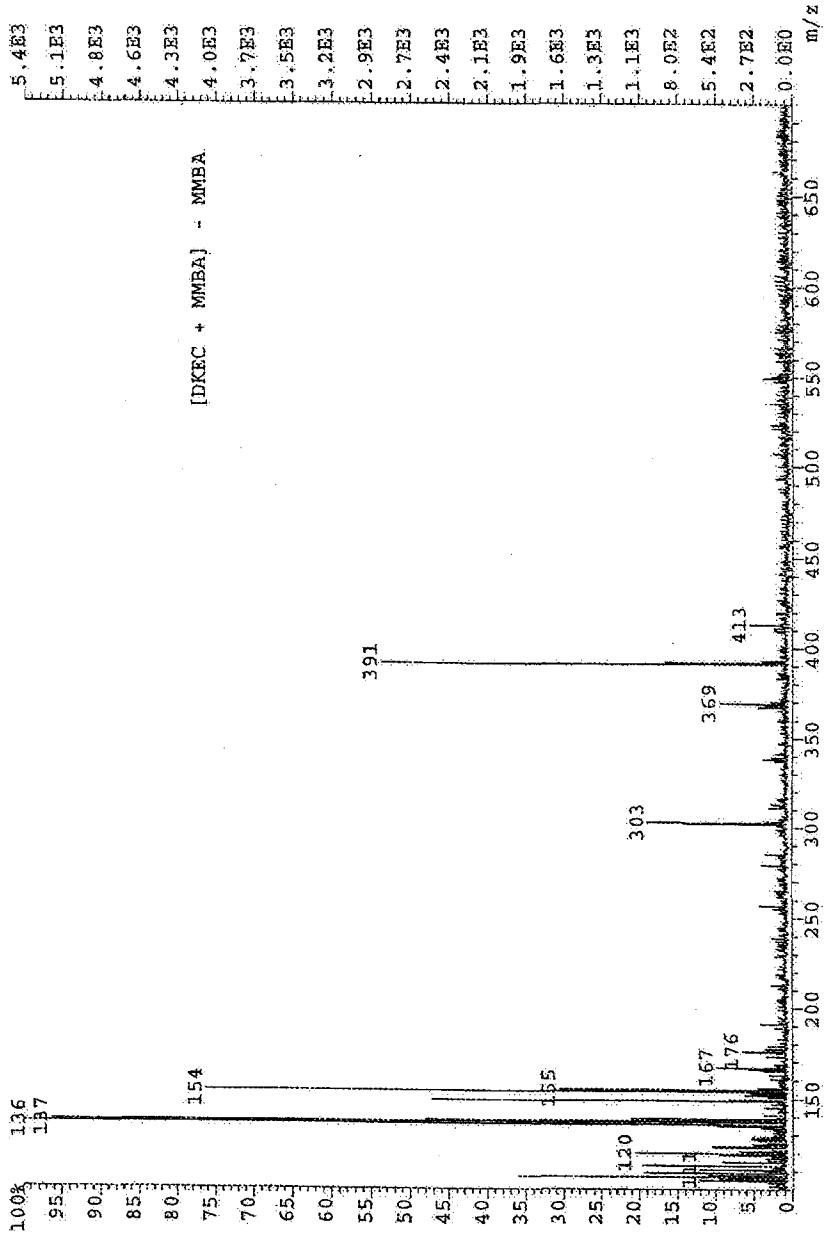


Figure 3-4. Positive FAB-MS Spectrum of ellagid acid

#### 나. 연구 대상 식물의 생육환경 및 대량증식

본 연구 대상식물들의 자생지인 삼척군 노곡면, 삼척군 하장면, 삼척군 청옥산, 평창군 발왕산, 강릉시 만덕봉, 양양군 설악산 등으로부터 암대극의 생태조사 및 종자, 뿌리 등을 각각 4-6회 수집하여 대량생산을 위한 종자파종, 녹지삽목, 근삽 등의 증식방법을 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

암대극은 해발 580-650m 사이에 주로 분포하는 것으로 나타났으며, 분포하는 사면은 남사면으로부터 남서 사면 계곡부의 전석지로 상대조도 약 10% 전후의 장소에 분포하고 있었다. 상층목은 가래나무가 우점하며, 아교목층과 관목층에는 층층나무, 느릅나무, 오미자, 고추나무, 누리장나무 등이 우점종으로 나타났으며, 하층의 초본식생으로는 암대극, 피나무, 넓은잎의잎쭈, 별개덩굴 등이 주로 분포하는 것으로 나타났다. 따라서 암대극의 대량증식을 위해서는 피도가 높고 다소 습한 계곡부에 종자파종을 통한 증식이 바람직한 것으로 나타났다.

지난해의 연구 결과 암대극의 종자는 약 50% 정도의 발아율을 나타냈으나, 묘상에서 성장하는 과정 중 도태되는 개체가 많았다. 금년도에는 일부 활착된 암대극 개체들을 대상으로 포지와 산지 2지역에 이식하여 활착 상황 및 성장 관계를 조사하고 있는데, 포지에 이식한 개체의 활착율은 68%를 나타낸 반면 자생지와 유사한 산지에 이식한 개체들은 86%가 활착하여 매우 양호한 활착을 보였다. 따라서 암대극은 자생지 생육환경과 유사한 입지에 이식할 경우에는 전혀 문제없이 잘 생육하는 것으로 밝혀졌다. 또한 생장에 있어서도 포지의 22.7cm의 평균 성장량 보다 산지의 성장량이 양호한 것으로 나타나 암대극의 활용가치가 명백히 밝혀진다면 공한지재배나 산지의 입간재배가 충분히 가능한 것으로 나타났다.

표 3-5. 암대극 종자 발아에 의해 증식된 개체의 이식 장소별 활착율 및 생장량

종 류	이식 장소	이식 개체수	건전 개체수	고사 개체수	활 착 율 (%)	평균 생장량 (cm)
암대극	포 지	25	17	8	68.0	22.7
	산 지	50	43	7	86.0	27.5

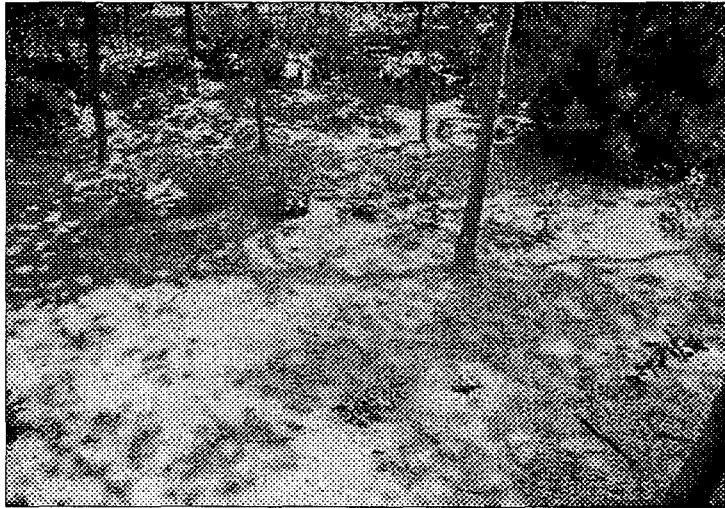


사진 3-1. 암대극의 포지 재배 현황

#### 다. 암대극의 생리활성검증

한편 생리활성검증은 다음과 같이 수행되었다.

##### (1) 시료의 추출

암대극의 추출효율은 열수추출에서 높았다. 암대극의 열수추출물은 알콜

추출물보다 약 2배이상 효율을 보였으며, 열수추출의 경우 약 45% 추출효율을 나타내어 극성물질이 풍부함을 알 수 있었다(표 3-6).

표 3-6. 시료의 추출수율 (% w/w)

Samples	Parts	Ethanol	Hot Water
<i>Euphorbia jolkini</i>	Stems	22.62	42.24
	Roots	21.99	47.63

(2) 암대극의 항산화효과

그림 3-5는 암대극 추출물의 DPPH 소거작용을 나타내고 있다. 암대극의 효과는 뿌리 알콜추출물이 높았으며, 줄기 열수추출물은 항산화능력이 낮았다 (뿌리-EtOH (0.0625mg/assay) > 줄기-EtOH=뿌리-hot>줄기-Hot). 이 효과는 오갈피추출물 보다는 약한 활성이다

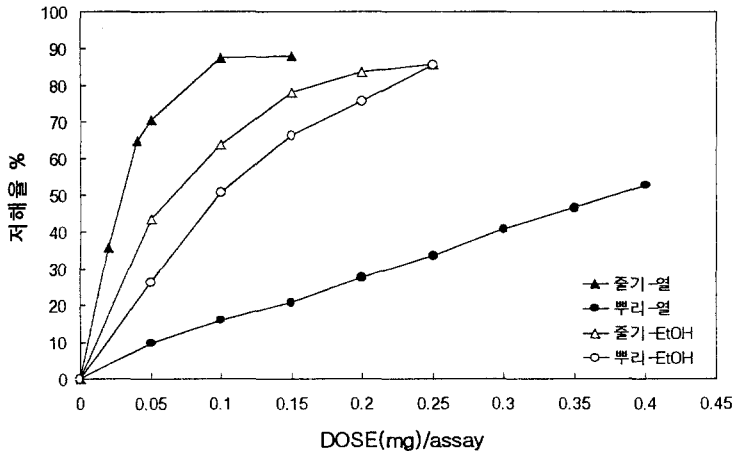


그림 3-5. 암대극의 DPPH 소거효과



한편, 그림 3-6은 암대극 추출물이 hydroxyl radical 제거효과를 측정 한 것이다. 항산화능력은 DPPH에서와 비슷한 패턴을 보인다. 그러나 뿌리-EtOH의 경우 강력한 항산화능력을 나타내고 있다. 즉, 50% 저해율은 뿌리 추출물의 경우 약 8.0 ug/assay를 나타내어, 비타민보다 효율이 높은 것으로 나타났다.

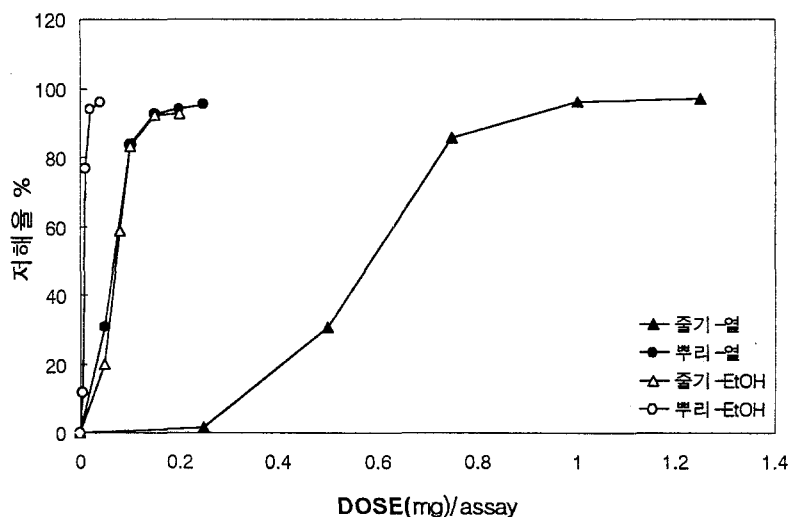


그림 3-6.  $Fe^{2+}$ -ascorbic acid system에서의 암대극 추출물의 항산화효과

이러한 결과를 배경으로 하여, 혈액내에서의 low density lipoprotein (LDL)의 산화는 동맥경화를 발생시키는 주요한 원인으로 보고되어 있으므로, 효력이 우수한 것으로 판명된, 가시오갈피의 뿌리와 줄기의 알콜추출물과 암대극 뿌리 알콜추출물을 시료로 하여 LDL 항산화효과를 측정하였으며, 그 결과는 그림 3-7에 나타내고 있다.

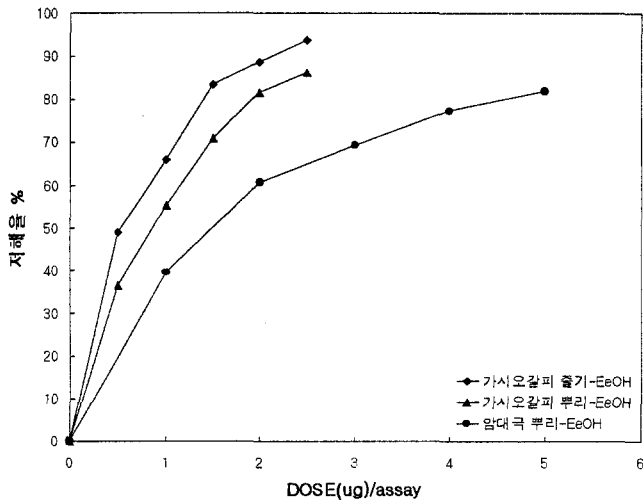


그림 3-7. 추출물의 사람 LDL의 항산화효과

LDL의 항산화효과는 가시오갈피 줄기 추출물이 가장 높았으며, 뿌리는 줄기의 약 60% 효과를 나타내었다. 암대극 추출물의 경우 in vitro system에서는 강력한 효력을 발휘하였으나, LSL의 항산화효과는 가시오갈피 줄기의 30% 수준인 것으로 나타났다. 그러므로 암대극의 알콜추출물은 가시오갈피에 비해 항산화능력이 매우 낮은 것으로 판정되었다.

### (3) Angiotensin Converting Enzyme 및 HMG-CoA reductase 활성저해효과

Angiotensin Converting enzyme은 Angiotensinogen에서 유래하는 Angiotensin I을 angiotensin II로 전환하여 혈관을 수축을 유도한다. 또한 동시에 이 효소는 혈관의 확장을 유도하는 bradykinin을 불활성화시키는 역할을 한다. 그러므로 ACE inhibitor는 bradykinin 분해를 억제하고,

Angiotensin II의 생합성을 억제함으로써 고혈압을 억제할 수 있다.

그림 3-8은 암대극추출물이 ACE 효소에 미치는 효과를 나타낸 것이다. 그림과 같이 줄기 열수추출물에서 높았으나 50% 저해율은 0.9 mg/assay 정도였다. 기타 추출물은 훨씬 높은 양으로도 저해하는 성질은 나타나지 않았다. 그러므로 반드시 항산화물질이 ACE 효소활성을 저해하지 않는다는 것을 보여준 결과라 하겠다.

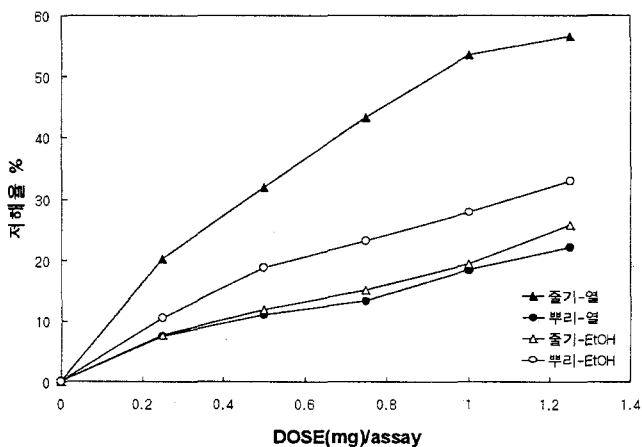


그림 3-8. 암대극 추출물의 ACE 저해효과

#### (4) 추출물의 투여효과

실험기간동안 체중상승은 암대극 투여군을 제외하고 비슷하였다. 그러나 암대극 추출물 투여군은 현저한 체중증가의 감소를 나타내었다. 이는 현저한 식이섭취량의 감소에도 기인되는 듯하였다. 간장 무게(/100 body weight)는 콜레스테롤 투여에 의해 현저하게 증가하였으나, 암대극 추출물은 현저하게 상대적의 간장무게의 증가를 가져왔다(표 3-7).

표 3-7. Mice의 체중 및 사료섭취량

Group	Initial body weight (g)	Weight gain (g/25day)	Feed intake (g/day)	Liver weight (g/100g B.W)
Basal	30.2±0.38	36.3±0.98	22.1±1.38	5.0±0.49
CON	30.1±0.36	34.9±0.80	21.0±1.33	6.8±0.20
A. Stems	30.7±0.71	34.3±0.98	20.7±1.65	6.9±0.42
A. Roots	28.7±0.62	34.9±0.57	21.3±0.69	6.6±0.21
E. Roots	30.0±0.72	24.2±0.84	11.9±1.60	7.9±0.10

Mean±S.E of 6 mouse

본 실험에서는 group당 6마리로 실험을 시작하였으나, 실험기간에 암대극군의 두 마리가 죽었다. 죽은 이유는 확실히 알 수 없으나, 현저한 체중증가와 섭취감소에도 관련되는 듯하였다. 따라서 암대극 추출물은 일단 동일한 농도에서 독성을 갖는 것으로 판단되었다. 일반적으로 대극과는 독성이 높은 것으로 알려져 있으며, 일부 성분은 강력한 발암제로 알려져 있어 이에 대한 신중한 검토가 요구되어진다.

표 3-8은 혈청의 GPT 및 GOT 효소활성을 보여주고 있다. 혈청중 이 효소는 간조직의 손상에 따라 유출되어 그 활성이 증가하는 것으로 보는 바와 같이 효소활성에 군간 차이 특히 암대극 추출물의 경우 control군과 큰 차이는 없었다. 그러나 가시오갈피 뿌리추출물은 GPT효소활성을 현저하게 감소시키고 있어 간장보호효과가 인정된다. 한편, 암대극 추출물 투여시 GPT 및 GOT 활성은 Basal 군보다도 낮은 활성을 보였다. 이는 부분적으로 간장에서의 효소유출의 감소에도 기인될 것으로 보여지나, 근원적으로 효소의

불활성에 또는 생성억제에 의한 낮은 활성을 보일 수 있는 것으로 생각된다. 그러므로 암대극은 간장대사에 심각한 영향을 주고 있음을 알 수 있었다.

표 3-8. Mice의 혈청 GOT 및 GPT의 활성

Group	GOT (Karmen)	GPT (Karmen)
Basal	101.7 ± 5.10	60.7 ± 11.06
CON	113.8 ± 10.24	86.3 ± 10.19 <sup>b</sup>
A.-Stems	118.7 ± 10.84	76.7 ± 9.93 <sup>ab</sup>
A.-Roots	101.1 ± 5.79	57.5 ± 7.71 <sup>a</sup>
Er-Roots	97.5 ± 15.78	51.5 ± 13.94 <sup>a</sup>

Mean ± SE of six mice.

<sup>ab</sup>Significant differences at P<0.05

표 3-9. Mice의 혈청지질 및 글루코스농도 (mg/dl serum)

Groups	Total cholesterol	Triacylglycerol	Glucose
Basal	180 ± 9.0	83.7 ± 8.27	243 ± 48.2
Control	192 ± 9.9	77.0 ± 12.4	249 ± 30.4
A-Stems	229 ± 25.8	67.1 ± 14.0	125 ± 24.8
A-Roots	184 ± 6.8	50.0 ± 5.8	219 ± 37.1
Er-Roots	152 ± 11.4	37.9 ± 4.69	183 ± 29.7

Mean ± SE of six mice.

<sup>ab</sup>Significant differences at P<0.05

표 3-9는 추출물 투여시 혈청지질농도 및 글루코스농도를 나타낸 것이다. 보는바와 같이 혈청콜레스테롤농도는 가시오갈피 투여에 의해 유의한 차이를 보이고 있지 않았으나, 암대극 추출물은 현저한 감소를 나타냈다. 이와 같은 경향은 중성지질농도에서도 유사하게 나타났다.

표 3-10은 추출물 투여시 간장지질농도를 보여주고 있다. 간장콜레스테롤농도는 콜레스테롤투여에 의해 현저하게 상승하였다. 가시오갈피의 줄기추출물은 콜레스테롤투여에 의한 간장콜레스테롤농도의 상승을 현저하게 억제하는 효과를 보였으나, 뿌리추출물은 어떠한 영향도 미치지 못하였다. 이는 암대극 추출물의 경우도 비슷한 결과를 보이고 있다. 한편, 중성지질농도에 있어서 암대극 추출물은 간장중성지질농도를 현저하게 감소시키는 효과를 보였다.

표 3-10. Mice의 간장지질농도 (mg/g liver)

Groups	Cholesterol	Triacylglycerol
Basal	2.15±0.42	15.0±6.44
Control	61.4±2.13	31.2±2.97
A-Stems	54.5±2.42	23.2±4.04
A-Roots	66.9±4.67	35.7±3.63
Er-Roots	60.5±4.80	13.2±2.55

Mean ± SE of six mice.

<sup>ab</sup>Significant differences at P<0.05

표 3-11은 추출물 투여시 간장 및 혈청의 과산화지질농도를 나타내고 있다. 가시오갈피의 줄기추출물이 효과적으로 간장과산화지질농도를 감소시키고 있다. 혈청과산화지질의 대부분은 간장으로부터 유래하는 것으로 알려져 있

으며, 이러한 경우 간장과산화지질의 감소는 궁극적으로 혈청과산화지질농도의 감소를 유도할 것으로 예상된다.

표 3-11. Mice의 간장 및 혈청의 과산화지질농도

Groups	Serum(nmol/ml)	Liver (nmol/g)
Basal	7.2±0.30	218± 9.6
Control	6.3±0.30	205±10.7
A-Stems	6.6±0.47	181± 9.8
A-Roots	6.1±0.36	200± 6.5
Er-Roots	5.2±0.18	201± 6.2

Mean ± SE of six mice.

<sup>ab</sup>Significant differences at P<0.05

대극에 관해서는 일본에서 많은 연구들이 이루어지고 있으며, 그 주요 추출성분들은 주로 가수분해형 탄닌과 그 유도체 및 배당체 화합물로 구성되어 있는 것으로 보고되어 있다. 약리 효과 실험도 상당부분 이루어져 있으며 항암등의 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 에틸아세테이트 및 수용성 혼합물에 대한 보다 상세한 분리를 계속 수행하고 있으며 1차적인 NMR 분석 결과에 의하면 우리 나라에 자생하고 있는 대극과의 다년생 식물도 이미 보고된 다른 대극과의 식물과 마찬가지로 가수분해형 탄닌을 다량 포함하고 있는 것으로 생각되며 보다 상세한 분리실험을 통하여 이들 화합물을 단리한 후 일부 물질에 대한 구조를 규명하고자 하였다. 그러

나 앞으로도 지속적인 성분규명과 함께 새로운 신물질을 밝혀 자원화 하는 것이 요구된다.

지금까지 우리 나라에는 대극, 암대극, 노랑대극 및 흰대극 등 4종류가 있으며, 이들은 모두 독성 식물로 분류되어 있다. 이중에서 대극은 접촉시 피부염을 유발하며 과량으로 복용하면 구토, 복통, 설사 등의 증상이 나타나며 심할 경우 탈수에 의한 허탈상태에 이르게 된다. 유독 성분이 흡수되면 혼미와 경련에 의해 호흡마비로 사망에 이르게 된다고 알려져 있다. 따라서 이들을 이용한 음료 등의 제조는 유독 성분의 제거에 많은 어려움이 있으므로 가능성이 적은 것으로 생각되나 이들의 추출성분을 이용한 기능성 약제 등의 제조는 가능성이 클 것으로 생각된다. 본 실험에서 얻어진 ellagic acid는 저혈압 및 고혈압 치료제로 사용될 수 있으며 수면기능을 강화하고 종양이나 갑상선 기능 항진을 억제하며 치질치료제나 진통제로 이용될 수 있으므로 이들을 이용한 고기능성 약제 제조의 전망이 클 것으로 사료된다.

한편 암대극은 아직까지 그 생리작용이 알려져 있지 않다. 무엇보다도 암대극 추출물은 동물 투여시 투여기간 중 (23일) 33%의 mice가 죽은 결과로 나타나 독성이 높은 것으로 판정되어, 식품으로의 개발은 어려울 것으로 보여진다. 그러나 비교된 가시오갈피 추출물은 간장보호효과도 관찰되어 식품소재로서 유망할 것으로 보여진다.

본 연구에서는 각 부위별로 ethanol과 열수로 추출하여 실험관내 또는 동물실험을 통하여 생리활성을 검토하였다. 추출효율은 열수추출이 ethanol추출보다 약 2배 이상 높았으며, 암대극 추출효율은 가시오갈피보다 2배 이상 높았다.

각 추출물의 free radical 소거효과는 특히 암대극 열수추출물이 높았다. 즉, 가시오갈피 줄기, 뿌리 ethanol추출물과 암대극줄기 열수추출물은 BHT의 각각 41, 33, 67%의 억제효과를 보였다. TBA생성억제를 이용한 실험에



서도 항산화능력은 BHT보다는 낮았으나, ascorbic acid 보다는 3-28배이상으로 높은 활성을 보였다. 그러나, 가시오갈피 추출물과는 달리 암대극 추출물을 mouse에 투여시 33%의 생쥐가 죽음으로써 추출물의 독성이 매우 강함을 알 수 있었다. 나아가, 암대극 추출물은 식품의 재료로 적절하지 않은 것으로 판단되었다.

## 제4절 참고문헌

1. 김갑태. 1989. 종자의 전처리가 몇 수종의 포장 발아율에 미치는 영향. 한림지 78(1) : 26-29
2. 김창민. 강삼식. 박영순. 김은영. 1988. 국산 피나무속 식물의 성분연구(I) -찰피나무 수피의 성분-. 생약학회지 19(3) : 174-176
3. 김창호. 1985. 몇 발근환경인자가 주목삼수 발근에 미치는 효과. 한국임학회지 70 : 1-6
4. 도상학. 1988. 한국의 약용식물자원. 천연물과학. 서울대출판부
5. 문관심. 1984. 약초의 성분과 이용. 과학백과사전출판사. 일월서각
6. 백광욱. 1968. 柏子實 성분에 관한 연구. 춘천농대 연구논문집 2 : 4-44
7. 이시진. 1974. 본초강목. 고문사. 1204pp.
8. 이정환. 김삼식. 박광우. 1988. 한국산 약용식물의 분포(I). 경상대학교 농업자원이용연구보고 22(2) : 85-105
9. 이창복. 1969. 우리나라 식물자원. 서울대 논문집 20(농생계) : 89-228
10. 이창복. 1969. 자원식물. 한림지 8 : 27-139
11. 이창복. 1979. 대한식물도감. 791pp.
12. 이학주. 1995. 수목의 생리활성 물질의 이용 임업정보. 34-35
13. 정동효. 1981. 생물화학 -단백질과 아미노산-. 선진문화사. p. 84-91
14. 정삼택. 1985. 종자휴면과 발아의 생리생화학. 대한교과서주식회사. 620pp.
15. 정연강, 백홍근. 1991. 기능화시대를 맞는 식품산업. 신한종합연구소, 7
16. 정필근. 1994. 생약초. 홍신문화사. 262pp.
17. 정현배. 1974. 강원도산 유용식물조사 연구. 식물분류지 Vol. 5 : 13-22
18. 한국화학연구소. 1988. 한국유용식물자원연구 총람

19. 한상섭. 황병호. 1990. 잣 종자의 아미노산, 지방산, 비타민 분석. 한국임학회지 79 : 345-351
20. 황병호. 1983. 표고버섯의 아미노산 및 비타민 분석. 한국목재공학회지 11 : 18-24
21. Cushman DW. and Cheung, HS. 1980. Biochem. Phamacol, 20, 1637-1648
22. Folch, J., Lees, M., and Sloane-Stanly, G.H. 1957. Biol. Chem., 226, 497
23. Moskowitz, HR. and Jacobs, BE. 1988. Applied sensory analysis of Foods, CRC Press, NY, 193
24. 沼田眞. 1992. 植物生態の觀察と研究. 東海大學出版會. 275pp.
25. 向井讓. 横山敏孝. 1985. キハダネの發芽に對する冷濕處理の效果. 日本林學會誌 67(3) : 103-104

# 제4장 오갈피속 식물을 이용한 건강음료 개발

## 제1절 서 론

두릅나무科 식물들의 용도에 대해서는 학술적으로 연구된 것은 1970년대 구 소련의 브레크만 박사가 오갈피류의 성분을 분석하여 인삼과 같은 Saponin외에 Syringaresinol의 배당체와 Coumalin 배당체인 Eleutheroside가 포함되어 약효는 이들 성분이 복합작용하며 고려인삼을 능가하는 약효가 있다고 발표하였다. 일본에서도 두릅나무科의 두릅나무와 오갈피屬 식물들의 약효성분에 대하여 계속 연구중이며(加藤, 1994), 이들 역시 Saponin을 많이 함유하고 있다고 밝히고 있다. 그리고 몇몇 種에 대해서는 이들 성분을 이용하여 청량음료, 드롭스, 건조분말품 등 상품화 단계에 있다. 그러나 우리나라에서는 이 科에 속한 식물들의 일부가 식용되고 있으며, 최근에는 음나무의 껍질을 닭과 함께 삶아 먹는 음나무 닭이 유행하고 있다. 또한 독활은 오래 전부터 한방에서 이용되고 있으나 오갈피屬의 식물에 대해서는 그다지 이용되고 있지 않은 실정이다. 최근 들어 국내의 몇몇 연구가(韓德龍, 陸昌洙, 趙善行, 1995)들은 이 오갈피屬의 몇몇 식물들이 항피로, 항스트레스, 중추신경 흥분, 대사촉진, 근육강화, 항염, 항암, 해독작용 등의 효과가 있다고 밝히고 있으나, 식물체의 증식 및 이용개발 전략은 아직 밝혀지지 않고 있다. 따라서 오갈피 및 가시오갈피의 대량생산을 위한 증식법과 성분분석을 통한 건강음료의 개발에 중점을 두고 있다.

현재 우리 나라는 산림식물을 이용한 약제 개발에 있어서 가장 문제점으

로 대두되고 있는 것은 임업관련분야에서는 약효성분을 분석할 수 있는 分析機器를 보유하고 있지 못하고 있는 점이다. 반대로 약학관련분야에서는 초본류는 어느 정도 알고 있지만, 수목은 알지 못하고 있는 점이다. 일반적으로 초본류에 대해서는 오랜 과거로부터 약효가 인정되었으며, 실용화 단계에 있는 것이 많다. 그러나 초본류를 연구하는 연구자들은 수목을 잘 알지 못하여 목본류를 이용한 약제개발에는 기피현상을 나타내고 있으며, 또한 초본류 보다는 시간이 오래 걸리는 단점도 있다. 따라서 수목을 알고 있는 임업관련대학 또는 연구소에 分析用機器가 갖추어 진다면 산림식물의 이용·개발에 관한 연구는 임업인의 여러 가지 아이디어를 통하여 충분히 발전될 수 있다. 이와 함께 수목의 특성 즉, 생태습성이나 분포상황, 적지 등을 명확히 규명하고, 나아가서는 다양한 증식방법의 규명을 통한 종의 보전 및 유전자원 확보가 요구되고 있는 실정이다.

## 제2절 재료 및 방법

본 연구에는 국내의 대학 교수진 및 관련 연구기관의 연구자 6명이 연구를 수행하고 있으며, 연구에 필요한 정보는 공동연구가 수행되고 있는 다른 세부과제의 16명의 연구진과 협력해 나가면서 연구를 수행한다.

본 연구의 전체적인 추진전략은 ① 식물채집 및 예비성분분석, ② 생육습성 및 성분 분석, ③ 이식 및 증식실험, ④ 적응시험 및 음료개발, ⑤ 이용개발(상품화)이라는 과정으로 수행되고 있다.

### 1. 1차년도

가시오갈피 자생지로부터, 식물체의 수집 및 생육특성 파악.

### 2. 2차년도

연구개시 2차년도의 연구수행 내용은 식물체의 대량증식 및 약효 성분분석이다.

- 대상 식물의 유효성분 예비분석 (일반성분 분석 ; 추출물의 수분, 회분, 리그닌, 섬유소, 펜토산, 유기용매추출물, 수용성추출물, pH), (식품영양학적 및 특수 성분분석 ; 용매추출물과 수용성추출물의 분획물에 대한 각종 성분분석)
- 연구 대상 식물의 대량 증식 (삼목 번식 ; 마사토, 모래, 자생지토양, 인공토 등에 각각 IAA, IBA, Kinetin 처리 후 삼목을 통한 삼목의 발근 및 활착율 조사), (종자 번식 ; 마사토, 모래, 자생지토양, 인공토 등에 파종을 통한 종자 발아율), (이식 실험 ; 자생지와 유사한 입지, 인공토 등에 이식을 통한 이식 활착율 조사)

### 3. 3차년도

연구개시 3차년도의 연구수행 내용은 식물체의 성분분석 및 증식체계의 확립이다.

- 목표 : 오갈피 및 가시오갈피의 성분분석 및 증식체계확립
- 내용 : 충분한 양의 오갈피 및 가시오갈피 개체를 수집하여 성분분석을 명확히 밝히며, 약제 및 건강음료 개발에 필요한 가시오갈피의 대량생산을 위한 증식방법의 체계 확립(종자번식, 삽목번식, 이식실험)

#### 4. 4차년도

연구개시 4차년도에는 적용시험, 그리고 약제 및 기능성 음료 개발이 주된 목표로서 지금까지 수행된 연구 결과를 기초로 하여 번식학, 추출물학, 식품공학, 약학 관련 연구자들과 함께 임간재배 및 포장재배, 기능성 음료 개발 등에 관한 연구를 각 수행한다.

- 현재까지 밝혀진 생육환경 및 증식방법에 따라 충분한 양의 오갈피 및 가시오갈피 개체를 증식
- 대량생산을 위한 적지를 선정하며, 임간재배 가능성에 관한 연구를 수행
- 열수추출과 알콜추출 등의 방법으로 추출된 원료를 시료로 하여 in vitro 실험을 행하여 생리활성을 검정
- 추출된 원료를 시료로 하여 in vitro 실험을 행하여 항산화효과, 동맥경화발생억제에 관한 효과, 간장보호기능검정 등의 생리활성을 검정
- 적절한 가미제 첨가와 살균과정을 실시하여 기능성 음료의 개발에 대한 연구를 수행

#### 5. 5차년도

연구개시 5차년도에는 이용 개발이 주된 목표로서 생태학, 육종학, 식품공학, 약학 관련 연구자들의 참여로 시료의 대량 공급을 위한 방안을 확립하며, 기능성 음료에 관한 상품화 연구를 추진한다.

- 대량공급을 위한 충분한 양의 오갈피 및 가시오갈피 개체를 증식체계 확립

- 기능성 음료 생산을 위한 충분한 양의 오갈피 및 가시오갈피를 확보
- 열수추출과 알콜추출 등의 방법으로 식물체로부터 음료원료를 추출
- 적절한 가미제 첨가와 살균과정을 실시하여 기능성 음료의 개발에 대한 연구를 수행
- 오갈피속 식물의 음료 제조 공정도

오갈피속 식물 원료(생체) ⇒ 착즙 ⇒ 원심분리기(5,000rpm) ⇒ 멸균  
 (멸균기에서 30분) ⇒ 여과(꺼즈로 여과) ⇒ 여과(Whatman No. 2) ⇒  
 혼합(설탕외 첨가물 6종) ⇒ 향기물 첨가 ⇒ 멸균(70℃, 20분) ⇒ 음료  
 제품

※ 첨가물 : 사과즙, 텍스트린, 솔비톨, 아스파탐, 올리고당, 구연산, 탄산나  
 트륨, 비타민C, 액상과당, 물 등을 적절한 비율로 혼합하여 시제품을 제작하  
 여 맛과 향기, 색깔 등의 관능검사를 수행한 후 상품화



## 제3절 결과 및 고찰

### 1. 1차년도 : 오갈피의 수집 및 생육특성 파악

1차년도에는 연구 대상 식물의 수집과 예비성분 분석을 수행하였다. 가시오갈피를 이용한 약제 또는 기능성음료 개발을 위한 예비 성분분석에 필요한 시료 확보를 위해 자생지인 강원도 평창군 도암면 발왕산 지역(1996. 2. 9~2. 11, 5. 2~5. 4, 9. 12~9.14)과 강원도 홍천군 북방면 강원대학교 연습림지역(1996. 8. 1)에서 4회에 걸쳐 조사 및 수집을 행하였다. 또한 약제 및 기능성음료 개발의 가능성을 파악하기 위하여 가시오갈피의 잎과 줄기를 대상으로 약효성분 규명을 위한 예비 성분분석을 수행하고자 하였다.

예비 성분분석을 통한 약제 및 기능성음료 개발의 가능성을 파악하기 위한 자생지 조사 및 식물 수집은 충분히 그 목적을 달성하였다. 1차 년도에 수행된 예비 성분분석 결과는 다음과 같다.

#### 가. 가시오갈피의 예비 성분분석

또한 가시오갈피에 대해서도 성분분석을 수행하고자 하였으나 성분분석에 요구되는 시료의 양이 부족하여 우선 대량증식에 비중을 두고 이식 및 증식 실험을 수행하고 있다. 그러나 가시오갈피의 군락지를 확보하고 있으므로 차 년도부터는 예비 성분분석이 수행될 것이다.

#### 나. 가시오갈피의 증식

가시오갈피 증식을 위하여 이식 및 삼목 실험을 수행하였으나(표@@), 이식장소가 부적합한 관계로 이식 개체가 모두 고사하였으며, 삼목실험 역시 실패하였다. 따라서 연구 차 년도에는 온실을 구비하여, 자생지와 유사한 여

러 가지 환경에 이식, 삼목실험 및 조직배양을 통한 증식 방법을 수행하고자 한다.

(1) 줄기삽

1997년 7월 10일에 강원대학교 연습림에서 채취한 줄기를 길이 30cm로 잘라 표 4-1.과 같이 IAA (3-indole acetic acid), IBA (indolebutyric acid), Kinetin 2000ppm에 각 5초간 순간 침지한 후, 무처리구와 함께 양토와 마사토에 각 30本, 세사토에 각 20本을 삼목하였다.

삼목상이 설치된 비닐하우스는 차광막을 설치하여 직사광선을 차단하였으며, 급수는 하절기에 일 2회, 춘추기에 일 1회, 동절기에 주 1회 실시하였다.

성적조사는 2달 후인 1997년 9월 10일에 실시하였으며, 상토 종류와 성장조절 호르몬의 처리구와 무처리구에 대하여 생존율, 발근율, 평균 발근수를 조사하였다.

표 4-1. 줄기삽의 시험구 배치

상 토	처 리	개 체 수
양 토	무 처 리	30본
	I A A	30본
	I B A	30본
	Kinetin	30본
세 사 토	무 처 리	30본
	I A A	30본
	I B A	30본
	Kinetin	30본
마 사 토	무 처 리	30본
	I A A	30본
	I B A	30본
	Kinetin	30본

## (2) 근삽

1997년도 8월 1일에 강원대학교 연습림에서 채취한 뿌리와 10월 3일에 오대산에서 채취한 뿌리를 길이 15cm로 잘라 표 4-2.에서 보는 바와 같이 IAA, IBA, Kinetin, GA<sub>3</sub>(gibberelline), 2000ppm에 각 5초간 순간 침지한 후, 무처리구와 함께 세사토와 마사토에 莖極을 上向으로 15本, 根極을 上向으로 15本씩 근삽하였다. 단 10월에 채취한 재료중 세사토에 한하여 根極을 上向으로 한 개체가 없이 莖極을 위로 하여 21本씩 근삽하였다. 삽목상은 줄기삽과 동일한 비닐하우스에 설치하여 함께 급수하였다.

성적조사는 1998년 5월 18일에 실시하였으며, 상토 종류, 성장조절 호르몬의 처리구와 무처리구, 극성, 근삽시기, 근경에 대하여 생존율, 발근율, 평균 발근수를 조사하였다.

표 4-2. 근삼의 시험구 배치

시 기	상 토	처 리	극 성	개 체 수
8월	세 사 토	무 처 리	경 극	15본
		I A A	근 극	15본
		I B A	경 극	15본
		GA <sub>3</sub>	근 극	15본
		Kinetin	경 극	15본
	마 사 토	무 처 리	경 극	15본
		I A A	근 극	15본
		I B A	경 극	15본
		GA <sub>3</sub>	근 극	15본
		Kinetin	경 극	15본
10월	세 사 토	무 처 리	경 극	21본
		I A A	경 극	21본
		I B A	경 극	21본
		GA <sub>3</sub>	경 극	21본
		Kinetin	경 극	21본
	마 사 토	무 처 리	경 극	15본
		I A A	근 극	15본
		I B A	경 극	15본
		GA <sub>3</sub>	근 극	15본
		Kinetin	경 극	15본

## 2. 2차년도 : 가시오갈피의 대량증식 및 약효 성분분석

연구 1차 년도에 수행 예정이던 예비 성분분석이 시료의 부족으로 수행되지 못하였으나, 시료의 추가 확보가 이루어져 예비성분분석이 수행 중에 있다.

또한 지난해 개체수의 부족으로 인하여 수행하지 못한 가시오갈피의 대량생산 증식법을 수행하기 위하여 금년 6월 녹지삽수와 뿌리삽수를 채취하여 각각 IAA, Kinetin, IBA 등의 처리를 한 후 삼목방법에 의한 대량증식방법을 수행하여 현지도양, 마사토, 모래에서 각각 발근율을 조사하며, 금년 9월과 10월에 자생지로부터 종자수집을 실시하여 노천매장 중에 있으며, 뿌리를 채집하여 근삽을 수행 중에 있다.

연구 결과를 정리하면 다음과 같다.

### 가. 가시오갈피의 예비 성분분석

지난해 개체수 및 시료의 부족으로 인하여 수행하지 못한 가시오갈피의 성분분석에 관한 연구는 금년도 자생지의 추가 확보를 통한 개체로부터 시료를 채취하여 현재 성분분석을 수행 중에 있다.

(1) 추출물의 조제 : 건조된 가시오갈피(오갈피 포함)는 분쇄기로 분쇄하였고, 분쇄된 오갈피류 시료 1.25kg을 10ℓ의 유리용기에 넣은 후에 아세트-물(7:3)의 추출용매를 약 7ℓ 가량 섞었다. 잘 흔들어 준 다음 실험실에서 약 3일간 침적해 두었다. 종이필터를 이용하여 추출액 만을 뽑아내고 난 다음 용기에 다시 추출용매를 부어 침적하였다. 이 조작을 4회 반복하여 추출물을 얻었다. 추출액은 다시 evaporator를 이용 감압 농축하여 유기용매를 모두 제거한 후에 추출물의 체적을 약 600ml 정도로 줄였고 분획깔때기로 옮겨놓고 1차 적으로 클로로포름을 적당량 혼합하여 클로로포름에 녹는 부분을 분리하였다. 이후 헥산을 이용하여 칼럼분석에 방해를 일으키는 왁스

나 수지산 등을 제거하기 위하여 핵산용성물질을 분리하였다. 최종적으로 에틸아세테이트를 이용 수용성과 에틸아세테이트용성 화합물로 분리하였다.

각각의 부분들은 냉동을 시킨 후에 동결 건조하였으며 칼럼분석을 하기 위하여 분말로 저장하였다.

(2) 추출물의 수율 : 대체적으로 다른 수종들의 추출물의 양에 비하여 오갈피류의 추출물 양은 매우 적은 편으로 나타났으며 아직 동결건조 중에 있으므로 정확한 수율은 알 수 없다. 따라서 더 연구가 진행되어야 그 결과를 알 수 있을 것이며 금년도내에 일반적인 성분분석이 완료될 수 있다고 판단됨.

#### 나. 가시오갈피의 대량증식

한편, 지난해 개체수 및 시료의 부족으로 인하여 수행하지 못한 가시오갈피의 대량증식에 관한 연구는 금년도 자생지의 추가 확보를 통한 개체들로부터 시료를 확보하여 녹지삽목(1997. 7. 10)을 IAA, IBA, Kinetin 및 무처리구(각 30개씩)로 나누어 실시하였다. 모두 2000mg/L의 농도로 처리하여 발근율을 조사한 결과(1997. 9. 10) 마사토에서 약간 양호하였는데, 그중 무처리와 IAA, IBA처리구에서 약 30%의 전후의 발근율을 나타낸 반면 그 밖의 조사구에서는 10% 전후의 낮은 발근율을 나타내 대량생산을 위한 여타 방법의 조사가 수행되어야 할 것으로 판단되었다. 또한 9월 하순과 10월 초순에 근삽을 실시 중에 있으나, 발근율과 활착율 등의 결과는 내년 초에 나타날 것이다. 또한, 종자결실이 매우 열악한 편이나 일부 수집된 종자를 냉습처리 중에 있어 내년에 파종하여 그 결과가 나올 것으로 판단된다.

표 4-3. 오갈피류 삼목의 각 처리별 발근율

	처리(mg/L)	발근율(%)
현지토양	무처리	3.3
	IAA 2000	0.0
	IBA 2000	9.4
	Kinetin 2000	12.5
마 사 토	무처리	30.0
	IAA 2000	26.7
	IBA 2000	30.0
	Kinetin 2000	16.7
모 래	무처리	0.0
	IAA 2000	0.0
	IBA 2000	18.2
	Kinetin 2000	9.5

### 3. 3차년도 : 가시오갈피의 성분분석 및 대량생산 증식방법

지금까지 가시오갈피의 뿌리에 대한 예비성분분석에서 특히 주목 있는 기능성 차류의 가공 가능성이 매우 높은 것으로 판명되었기에 수용성 추출물의 차류 가공을 위한 연구에 주력하고 있으며, 특히 가시오갈피에 대한 유용매 추출물과 성분 및 기능성 등을 집중 연구하고 있다.

또한 가시오갈피의 대량증식을 위해 1997년 6월부터 10월에 걸쳐 가시오갈피 자생지로부터 녹지삽수와 뿌리삽수를 채취하여 각각 IAA, Kinetin, IBA, GA<sub>3</sub> 처리를 한 후 삼목에 의한 대량증식방법을 규명하기 위하여 현지 토양, 마사토, 모래에서 각각 발근율을 조사하였으며, 금년도 9월 하순부터 10월 초순에는 이미 얻어진 결과 가운데 가장 양호한 배지를 선정된 후,

NAA, IAA, GA<sub>3</sub>, Kinetin, IBA의 농도를 달리하여 대량증식방법을 수행 중에 있으며, 동아를 채취하여 조직배양에 의한 증식법을 수행 중에 있다. 또한 종자번식은 약 2년에 걸쳐 발아하는 특성을 갖고 있으므로 지난해 수집한 약간의 종자는 아직 결과를 파악할 수 없었으며, 금년도 9월 하순부터 10월 초순에 걸쳐 자생지로부터 종자수집을 실시하였으나 화기의 집중강우로 인한 종자결실이 불량하여 종자 채취가 불가능하였다. 연구 결과를 정리하면 다음과 같다.

#### 가. 가시오갈피의 성분분석

지난해 개체수 및 시료의 부족으로 인하여 수행하지 못한 가시오갈피의 성분분석에 관한 연구는 금년도 자생지의 수량 확보를 통한 개체로부터 시료를 확보하여 현재 성분분석을 수행 중에 있다.

#### (1) 공시재료

1997-1998년에 걸쳐 홍천군 내면 오대산과 홍천군 강원대학교 부속 연습림에서 채취한 3kg의 가시오갈피를 약 3주간 실험실에서 음건한 후 수피부와 목질부의 구분 없이 200mesh 정도의 크기로 분쇄하여 유기용매 추출용 시료로 사용하였다.

#### (2) 추출물의 조제

분쇄된 시료 3kg을 26L 크기의 유리용기에 넣고 실온에서 아세톤-물(7:3)의 혼합용액에 3일간 침적하여 추출물이 혼합된 유기용액을 분리, 회수하였으며 충분한 추출물의 양을 확보하기 위하여 이 과정을 5회 반복하여 수행하였다. 회수된 추출용액은 Vacuum Evaporator를 사용하여 35℃에서 감압, 탈수하여 농축한 후 동결건조기로 건조하여 암갈색의 분말상 시료 약 82g을



얻었다.

동결 건조된 시료는 다시 물에 용해시킨 다음 분획 깔때기에서 클로로포름과 혼합하여 먼저 클로로포름용성 추출성분을 분리하였으며 이어서 헥산을 혼합하여 헥산용성 추출물을 분획하였다. 이후 부탄올과 에틸아세테이트를 순차적으로 혼합하여 각각 부탄올용성 및 에틸아세테이트용성 추출성분을 분리하고 이들을 다시 감압, 농축하여 동결건조 시킨 후 분말상 시료로 조제하여 다음의 실험을 위하여 냉장고에 보관하였다.

위와 같은 과정에 의하여 조제된 분말상 시료는 클로로포름용성 6.3g, 헥산용성 11.5g, 부탄올용성 15.3g, 에틸아세테이트용성 9.0g 및 수용성 추출물 40g 이었다.

### (3) 칼럼크로마토그래피 분석

여러 가지 유기용매로 분획된 가시오갈피 추출성분을 단리하고 단일 화합물로 정제하기 위하여 직경 1-5cm, 길이 60cm 정도의 유리칼럼을 수지상 물질인 Sephadex LH-20로 충전하였다. 먼저 부탄올용성 추출성분 15.3g을 칼럼에 주입한 후 메탄올-물(1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 3:1 및 5:1)의 혼합용액을 사용하여 혼합물을 세척하였다. 칼럼을 통과하여 떨어지는 세척용매는 Fraction collector를 이용하여 시험관에 모으고 세척용매가 거의 무색으로 변할 때까지 세척을 계속하였다. 시험관에 모아진 용매는 박층 크로마토그래피로 분석하여 같은 종류의 화합물을 함께 모았다. 1차적인 분리에서 혼합물을 구성하고 있는 화합물의 종류에 따라서 몇 개의 fraction으로 구분하고 각 fraction을 감압, 농축하여 동결건조 한 후 분말상 시료의 양을 측정하였다. 이와 같은 방법에 의하여 분획된 부탄올용성 추출성분은 모두 7개의 fraction을 주었다. 이들을 각각 F1(2.62g), F2(9.18g), F3(2.12g), F4(0.4g), F5(25mg), F6(31mg), 및 F7(8.5mg)으로 명명하였으며 각 fraction

은 다시 순수한 화합물을 얻기 위하여 계속적인 분리를 수행하였다. 혼합물의 분리가 완료된 칼럼은 아세톤-물(1:1)의 혼합액으로 세척하고 다음 실험을 위하여 사용하였다.

에틸아세테이트용성 혼합물(9.0g)도 상기의 부탄올용성 화합물과 동일한 과정을 통하여 분리를 수행하고 있으며 다른 분획물도 동일한 방법으로 계속하여 시험을 수행할 예정이다.

#### (4) 박층 크로마토그래피

분리된 혼합물의 순수도 여부를 확인하기 위하여 셀룰로스 박층 크로마토그래피를 사용하였다. 1차 분리 단계에서는 1차원 박층 크로마토그래피를 수행하였으며 분리된 화합물의 순수성 여부를 확인하기 위해서는 2차원 박층 크로마토그래피를 실시하였다. 본 실험에 사용된 셀룰로스 박판은 MERCK사의 DC-Plastikfolien Cellulose F를 사용하였으며 박판의 전개용매는 3° 부탄올-초산-물(3:1:1)과 초산-물(3:47)을 각각 1차원 및 2차원 전개용매로 사용하였다. 용매의 전개를 완료한 박판은 드라이어로 건조한 후 UV 램프(254 및 365nm) 하에서 혼합물의 분리 정도를 관찰한 다음 바닐린-염산-에탄올(60:0.15:6) 혼합액으로 구성된 발색제를 분무하고 가열, 건조하여 변화되는 색을 관찰하였다. 박층 크로마토그래피에서 화합물의 이동값(Rf)은 다음의 방법으로 계산한다.

$$\text{화합물의 이동값(Rf)} = \frac{\text{화합물의 이동거리(cm)}}{\text{전개용매의 이동거리(cm)}}$$

#### (5) 핵자기공명(NMR) 분광분석

분리된 화합물의 정확한 구조를 분석하기 위하여 핵자기공명 분광분석을 실시하였다. 분석에 사용된 기기는 강원대학교 공동 실험실습관에 설치된 400MHz 핵자기공명 분광분석기를 이용하였으며  $^1\text{H}$  및  $^{13}\text{C}$ -NMR 분석을 실시하여 분리된 화합물의 구조를 규명하였다.

#### (6) 결 과

##### ○ 추출물의 조제

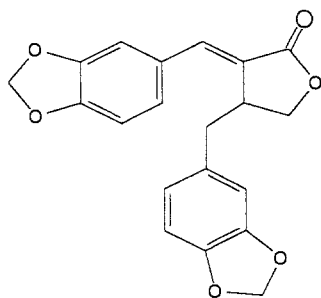
가시오갈피 유기용매 추출물은 다른 목재 수종의 추출물 수율에 비하여 매우 낮은 수치를 나타내고 있다. 수종에 따라 다르지만 일반적으로 수피의 추출물 수율은 수피 기건중량을 기준으로 15-20%, 목질부의 수율은 기건중량을 기준하여 10-15%가 평균적이다. 그러나 가시오갈피는 수피와 목질부를 혼합하여 2.73%의 평균 추출물 수율을 나타내고 있어 목재수종 평균의 1/7-1/5 정도의 낮은 수치를 보이고 있다. 따라서 온수 또는 열수추출등 추출물의 수율을 높이기 위한 방안이 강구되어야 할 것으로 생각된다.

##### ○ 추출 혼합물의 분리

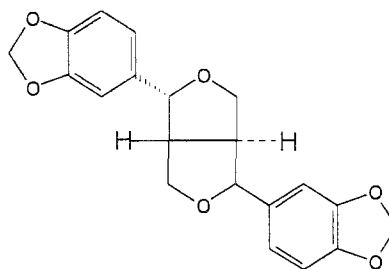
가시오갈피 추출 혼합물은 유기용매를 이용한 분획법에 의하여 클로로포름용성, 헥산용성, 부탄올용성, 에틸아세테이트용성 및 수용성으로 분리되었다. 다른 연구자들의 보고에 의하면 부탄올용성 혼합물은 주로 사포닌계 화합물로 구성되어 있으며 클로로포름 분획은 극성이 매우 낮은 화합물을 포함하며 헥산은 주로 왁스 및 수지상 물질을 포함하는 것으로 알려져 있다. 또한 에틸아세테이트 분획은 저분자량의 방향족 화합물이나 리그난 화합물을 포함하며 수용성 부분은 탄수화물 및 여러 가지 종류의 배당체 화합물로 구성되어 있는 것으로 보고되고 있다. 지금까지 보고된 오갈피 수종들에 포함되어 있는 화합물의 종류는 Sesamin, Savinin, Syringaresinol, 및

Acanthoside B 와 같은 리그난 계통의 화합물과 Daucosterol 및 Diosgenin 과 같은 사포닌과 그 배당체 화합물들이 알려져 있다. 이들의 화학구조는 그림 4-1에 나타나 있다.

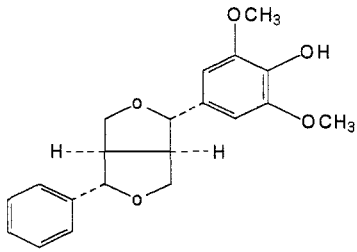
본 연구에서는 부탄올용성 혼합물(15.3g)과 에틸아세테이트용성 혼합물 (9.0g)을 칼럼 크로마토그래피 및 박층 크로마토그래피를 이용하여 분리 시험을 수행하고 있으며 아직 순수한 화합물이 분리되지 않고 있으나 NMR 예비분석에 따르면 리그난 및 사포닌 계통의 화합물들이 혼합되어 있는 것으로 나타났다. 따라서 이들을 순수한 단일 화합물로 분리하기 위한 실험을 계속하여 수행할 계획이며 이들 이외에 클로로포름용성, 헥산용성 및 수용성 혼합물에 대한 분리 실험과 가시오갈피 추출 혼합물에 대한 일반성분 분석도 실시할 예정이다.



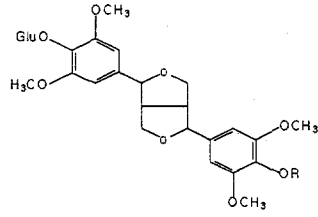
Savinin



Sesamin

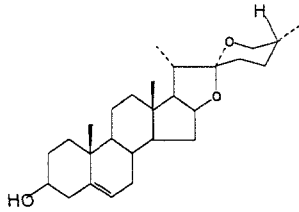


Syringaresinol

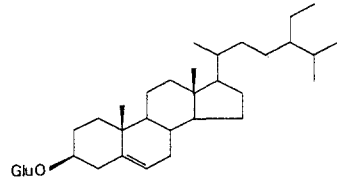


R=H Acanthoside B

R=Glc Acanthoside D



Diosgenin



Daucosterol

그림 4-1. 오갈피 수종의 몇가지 주요한 화합물.

이상과 같이 가시오갈피 줄기와 잎의 성분분석을 수행하여 약용 또는 건강음료로의 개발 가능성이 높은 것으로 밝혀졌으며, 약제로의 개발가능성이 높은 것으로 판단되었다.

#### 나. 가시오갈피의 생육환경 및 대량증식

1차년도에 자생지 파악의 부족으로 인하여 수행되지 못한 생육환경을 조사하였다.

가시오갈피는 해발 1000m 전후의 고산지역에 주로 분포하는 것으로 나타났다으며, 분포하는 사면은 계곡부의 북동사면에 출현하는 것으로 나타났다(표 4-4). 또한 상대조도는 29-50%로 약간 피음되는 곳에 자생하는 것으로 밝혀졌다. 또한 식생 구조를 살펴보면, 상층 식생으로는 층층나무, 물황철나무, 음나무 등이 주로 분포하며, 아교목층과 관목층에는 물푸레나무, 함박꽃나무, 참회나무, 물참대, 명자순 그리고 하층식생으로는 도깨비부채, 십자고사리, 관중, 뱀고사리 등이 주로 분포하는 곳으로 다소 습하며, 부식질이 풍부한 토양을 선호하는 것으로 나타났다. 따라서 가시오갈피의 대량증식을 위해서는 습도 관리가 매우 중요하며 적습한 토양에서 관리되어야 한다고 사료된다.

표 4-4. 가시오갈피의 생육환경 조사

조사지		강원도 홍천군 내면 오대산					
방위	NE 57°		해발고	1010m			
조건	상대조건 : 29 - 50% (평균 36%)						
식물군락	우점종	식피종	높이	흥고직경	증수		
교목층(8 < )	층층나무						
아교목층(2 - 8)	물푸레나무						
관목층(0.8 - 2)	가시오갈피						
초본층(0.1 - 0.8)	도깨비부채						
이끼층( < 0.1)							
1998年 5月 9日 調査者 :							
Species(상층)	N.S	Species(중층)	N.S	Species(하층)	N.S	Species(초본)	N.S
층층나무	3	물푸레나무	1	산겨릅나무	1	송마	1
물향찰나무	1	참회나무	2	괴불나무	5	도깨비부채	21
응나무	1	복장나무	1	붉은병꽃나무	3	노루오줌	4
할박꽃나무	1			물참대	6	관중	14
				두릅나무	3	방아풀	1
				고로쇠나무	2	십자고사리	15
				꽃개회나무	1	박새	1
				가시오갈피	21	땀고사리	6
				명자순	5	현호색	2
						개미취	1
						너도바람꽃	1
						괭이눈	2
						민박쥐나무	1
						백작약	3
						귀박쥐나무	1
비 고		10 × 10m					

1차년도에 개체수 및 시료의 부족으로 인하여 수행하지 못한 대량증식에 관한 연구는 2, 3차년도에 추가적으로 자생지 확보가 이루어졌으며, 그 자생지의 개체로부터 시료를 확보하여 녹지삽목을 IAA, IBA, Kinetin 및 무처리구로 나누어 실시하여 발근율을 조사하였다.

#### (1) 줄기삽

줄기삽에 대한 성적조사는 1997년 9월 10일에 실시하였으며, 新梢가 발생한 것과 발근된 것을 생존한 것으로 간주하여 생존율, 발근율, 평균 발근수를 조사하였다. 생존율은 전체 삽수의 개체수에 대한 생존 삽수의 개체수로 계산하였고, 발근율은 전체 개체수에 대한 발근된 삽수의 개체수로 계산하였으며, 평균 발근수는 발근된 개체들의 평균으로 나타내었다.

표 4-5와 그림 4-2, 4-3, 4-4에서 보는 바와 같이 생존율은 양토의 무처리구에서 26.7%, IAA에서 13.3%, IBA처리구에서 46.7%, Kinetin처리구에서 33.3%를 나타냈고, 세사토의 무처리구에서 5.0%, IAA처리구에서 10.0%, IBA처리구에서 35.0%, Kinetin처리구에서 10.0%를 나타냈었으며, 마사토의 무처리구에서 70.0%, IAA처리구에서 40.0%, IBA처리구에서 33.3%, Kinetin처리구에서 33.3%를 나타내어 마사토의 IBA처리구에서 높았다.

발근율은 양토의 무처리구에서 3.3%, IBA처리구에서 10.0%, Kinetin 처리구에서 13.3%를 나타내었으며 IAA처리구에서는 발근된 개체가 나타나지 않았고, 세사토의 무처리구에서는 IBA처리구에서 20.0%, Kinetin처리구에서 10.0%를 나타냈고 무처리구와 IAA처리구에서는 발근된 개체가 나타나지 않았으며, 마사토의 무처리구에서 30.0%, IAA처리구에서는 26.7%, IBA처리구에서는 30.0%, Kinetin처리구에서는 16.7%를 나타내어 마사토의 무처리구와 IBA처리구에서 높았다.

평균 발근수는 양토의 무처리구에서 2.0개, IBA처리구에서 5.7개, Kinetin



처리구에서 1.8개를 나타내었고, 세사토의 IBA처리구에서 19.5개, Kinetin처리구에서 3.0개를 나타내었으며, 마사토의 무처리구에서 4.8개, IAA처리구에서 1.8개, IBA처리구에서 5.2개, Kinetin처리구에서 4.8개를 나타내어 마사토의 IBA처리구에서 발근수가 많았다(이상 발근촉진제 농도는 모두 2000mg/L).

타 연구에서는 9월에 2-3년생 삼수로 마사토와 모래의 혼합상토에 IBA 100ppm을 18에서 24시간 침지하여 녹지삽목을 하면 생존율이 평균 63%에 달하는 것으로 나타났다(임종택, 1995).

표 4-5. 줄기삽의 생존율, 발근율, 평균 발근수

토 양	처리(mg/L)	생존율(%)	발근율(%)	평균 발근수(개)
양 토	무 처 리	26.7	3.3	2.0
	IAA 2000	13.3	0	-
	IBA 2000	46.7	10.0	5.7
	Kinetin 2000	33.3	13.3	1.75
세 사 토	무 처 리	5.0	0	-
	IAA 2000	10.0	0	-
	IBA 2000	35.0	20.0	19.5
	Kinetin 2000	10.0	10.0	3.0
마 사 토	무 처 리	70.0	30.0	4.8
	IAA 2000	40.0	26.7	1.8
	IBA 2000	33.3	30.0	5.2
	Kinetin 2000	33.3	16.7	4.8

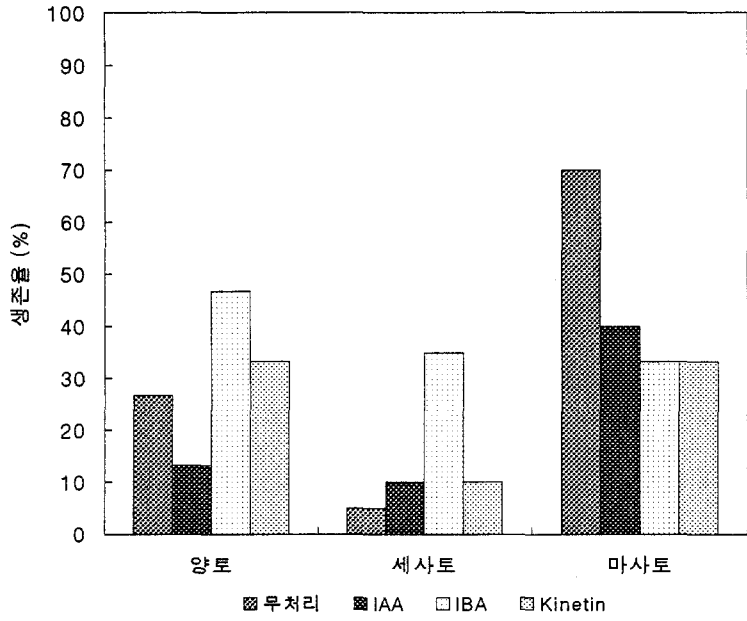


그림 4-2. 줄기삽의 생존율

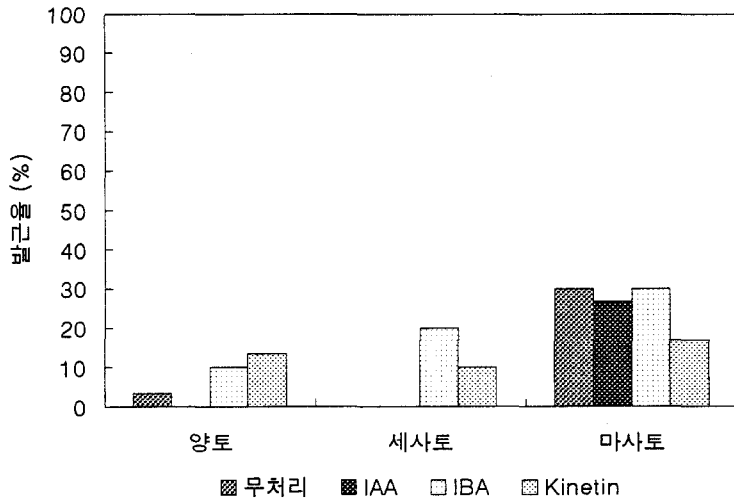


그림 4-3. 줄기삽의 발근율

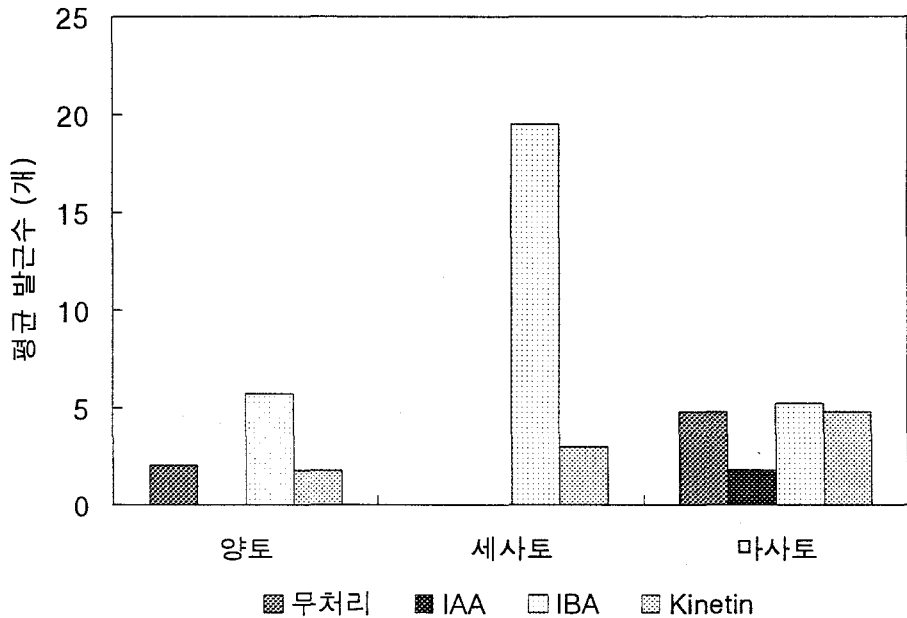


그림 4-4. 줄기삽의 평균 발근수

## (2) 근삽

근삽에 대한 성적조사는 1998년 5월 18일에 실시하였으며, 新梢가 발생한 것과 발근된 것을 생존한 것으로 간주하여 생존율, 발근율, 평균 발근수를 조사하였다. 생존율은 전체 삽수의 개체수에 대한 생존 삽수의 개체수로 계산하였고, 발근율은 전체 삽수에 대한 발근된 삽수의 개체수로 계산하였으며, 평균 발근수는 발근된 개체들의 평균으로 나타내었다. 근경별 발근율은 시료의 근경을 5mm미만, 5mm이상에서 10mm미만, 10mm이상의 3가지로 구분하여 조사하였다.

표 4-6.과 그림 4-5, 4-6, 4-7에서 보는 바와 같이 8월에 근삽한 시료의 생존율은 세사토의 무처리구에서 10.0%, IAA처리구에서 10.0%, IBA처리구

에서 30.0%, GA<sub>3</sub>처리구에서 6.7%, Kinetin처리구에서 30.0%를 나타냈고, 마사토의 무처리구에서는 생존한 개체가 나타나지 않았고, IAA처리구에서 16.7%, IBA처리구에서 30.0%, GA<sub>3</sub>처리구에서 6.7%, Kinetin처리구에서 36.7%를 나타내 마사토의 Kinetin처리구에서 높았다.

발근율은 세사토의 무처리구에서 10.0%, IAA처리구에서 10.0%, IBA처리구에서 13.3%, GA<sub>3</sub>처리구에서 6.7%, Kinetin처리구에서 30.0%를 나타냈으며, 마사토의 무처리구에서는 발근된 개체가 나타나지 않았고, IAA처리구에서 16.7%, IBA처리구에서 30.0%, GA<sub>3</sub>처리구에서 6.7%, kinetin처리구에서 33.3%를 나타내어 마사토의 Kinetin처리구에서 높게 나타났다.

평균 발근수는 세사토의 무처리구에서 3.7개, IAA처리구에서 4.3개, IBA처리구에서 2.8개, GA<sub>3</sub>처리구에서 1.5개, Kinetin처리구에서 11.2개를 나타냈으며, 마사토의 IAA처리구에서 2.9개, IBA처리구에서 3.4개, GA<sub>3</sub>처리구에서 2.5개, Kinetin처리구에서 5.8개를 나타내어 세사토의 Kinetin처리구에서 높게 나타났다(이상 발근촉진제 농도는 모두 2000mg/L).

표 4-6. 8월에 근삼한 실험구의 생존율, 발근율, 평균 발근수

토 양	처리(mg/L)	생존율(%)	발근율(%)	평균 발근수(개)
세 사 토	무처리	10.0	10.0	3.7
	IAA 2000	10.0	10.0	4.3
	IBA 2000	13.3	13.3	2.8
	GA <sub>3</sub> 2000	6.7	6.7	1.5
	Kinetin 2000	30.0	30.0	11.2
마 사 토	무처리	0.0	0.0	-
	IAA 2000	16.7	13.3	2.9
	IBA 2000	30.0	30.0	3.4
	GA <sub>3</sub> 2000	6.7	6.7	2.5
	Kinetin 2000	36.7	33.3	5.8

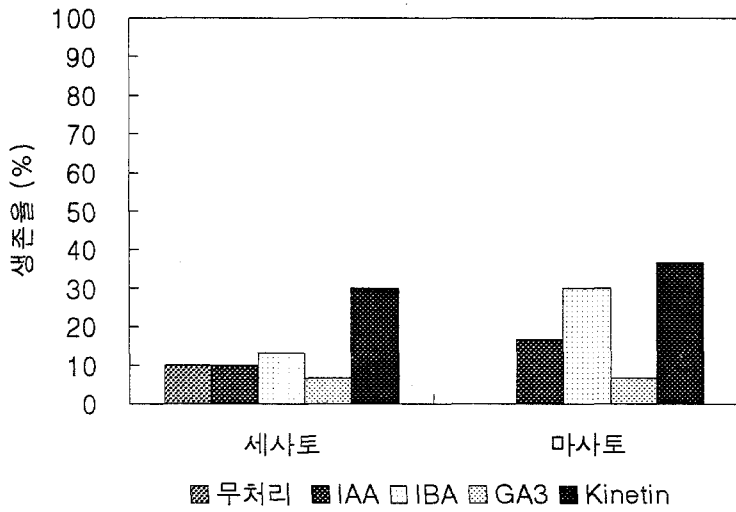


그림 4-5. 8월에 근삼한 시료의 생존율

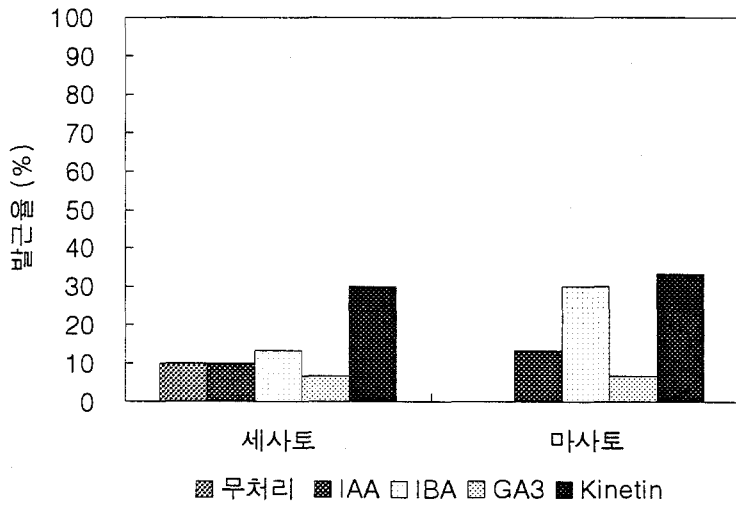


그림 4-6. 8월에 근삼한 시료의 발근율

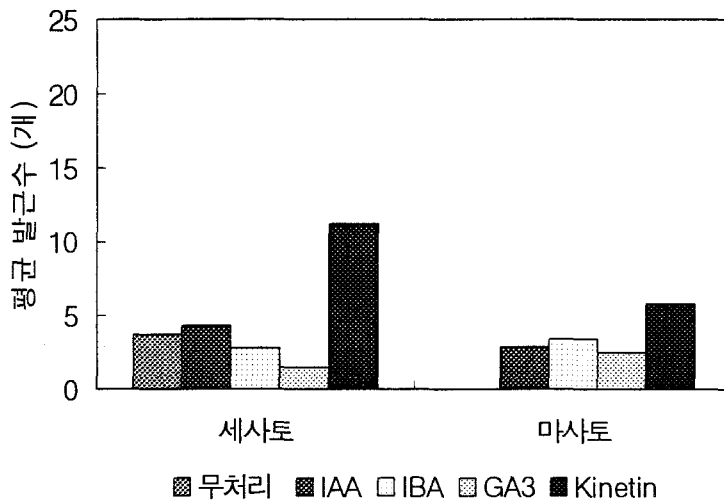


그림 4-7. 8월에 근삽한 시료의 평균 발근수

표 4-7과 그림 4-8, 4-9, 4-10에서 보는 바와 같이 10월에 근삽한 시료의 생존율은 세사토의 무처리구에서 4.8%, IAA처리구에서 9.5%, IBA처리구에서 9.5%, GA<sub>3</sub>처리구에서는 생존한 개체가 나타나지 않고, Kinetin처리구에서 19.0%로 나타났으며, 마사토의 무처리구에서 10.0%, IAA처리구에서 13.3%, IBA처리구에서는 생존한 개체가 나타나지 않고, GA<sub>3</sub>처리구에서 10.0%, Kinetin처리구에서는 생존한 개체가 나타나지 않아 세사토의 Kinetin처리구에서 높게 나타났다.

발근율은 세사토의 무처리구에서 4.8%, IAA처리구에서 9.5%, IBA처리구에서 9.5%, GA<sub>3</sub>처리구에서는 발근한 개체가 나타나지 않고, Kinetin처리구에서 19.0%를 나타내었으며, 마사토의 무처리구에서 6.7%, IAA처리구에서 13.3%, IBA처리구에서는 발근한 개체가 나타나지 않았고, GA<sub>3</sub>처리구에서 10.0%, Kinetin처리구에서는 발근한 개체가 나타나지 않아 세사토의 Kinetin처리구에서 높게 나타났다. 평균 발근수는 세사토의 무처리구에서 6.0개,

IAA처리구에서 2.0개, IBA처리구에서 3.5개, Kinetin처리구에서 4.0개를 나타내었으며, 마사토의 무처리구에서 9.0개, IAA처리구에서 2.8개, GA<sub>3</sub>처리구에서 1.5개를 나타내어 마사토의 무처리구에서 많았다.

8월에 근삽한 시험구와 10월에 근삽한 시험구 공통적으로 마사토의 생존율과 Kinetin처리구의 생존율이 높은 경향을 보였다. 8월의 평균 생존율은 16.0%, 10월의 평균 생존율은 7.5%로 8월에 근삽한 시험구에서 생존율이 높았다(이상 발근촉진제 농도는 모두 2000mg/L).

표 4-7. 10월에 근삽한 실험구의 생존율, 발근율, 평균 발근수

토 양	처리(mg/L)	생존율(%)	발근율(%)	평균 발근수(개)
세 사 토	무처리	4.8	4.8	6.0
	IAA 2000	9.5	9.5	2.0
	IBA 2000	9.5	9.5	3.5
	GA <sub>3</sub> 2000	0.0	0.0	-
	Kinetin 2000	19.0	19.0	4.0
마 사 토	무처리	10.0	6.7	9.0
	IAA 2000	13.3	13.3	2.8
	IBA 2000	0.0	0.0	-
	GA <sub>3</sub> 2000	10.0	10.0	1.5
	Kinetin 2000	0.0	0.0	-

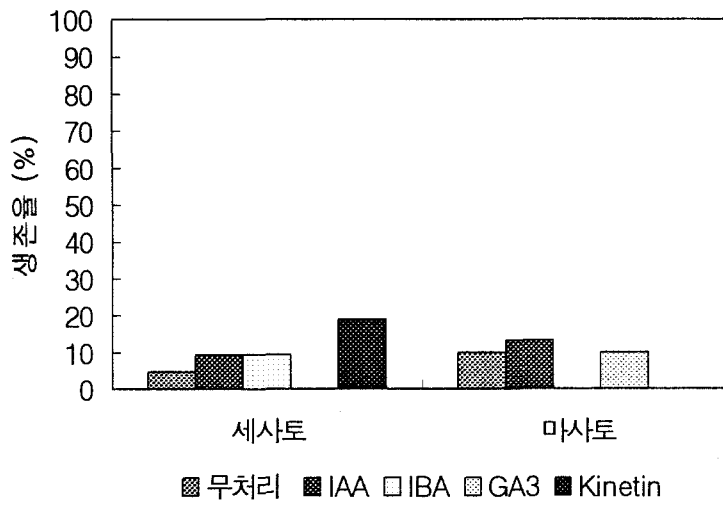


그림 4-8. 10월에 근삼한 시료의 생존율

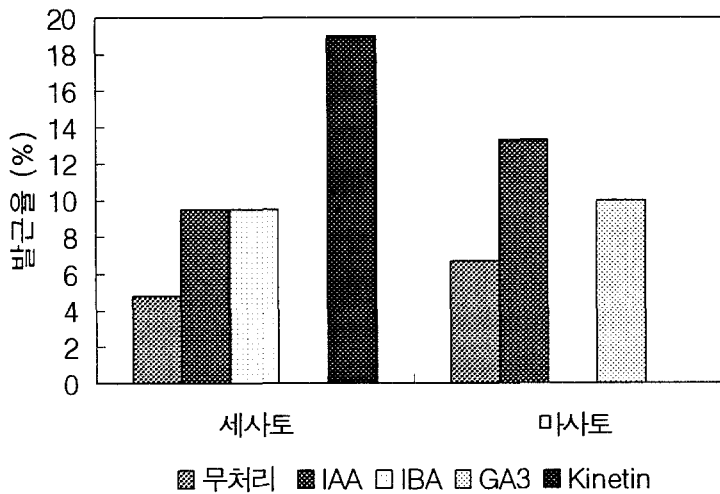


그림 4-9. 10월에 근삼한 시료의 발근율



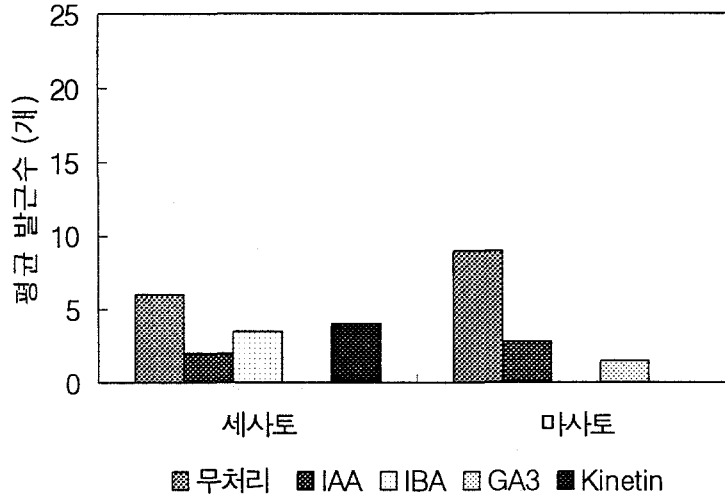


그림 4-10. 10월에 근삽한 시료의 평균 발근수

근삽의 極性別 생존율은 莖極을 上向으로 한 처리구에서 8.2%, 根極을 上向으로 한 처리구에서 17.8%를 나타내어 根極을 上向으로 한 처리구에서 생존율이 높게 나타났다. 발근율은 莖極을 上向으로 한 처리구에서 7.6%, 根極을 上向으로 한 처리구에서 16.9%를 나타내어 根極을 上向으로 한 처리구에서 높게 나타났다. 평균 발근수는 莖極을 上向으로 한 처리구에서 5.1개, 根極을 上向으로 한 처리구에서 4.8개를 나타내어 큰 차이를 보이지 않았다.

표 4-8. 근삽의 극성별 생존율, 발근율, 평균 발근수

극 성	생 존 율(%)	발 근 율(%)	평균 발근수(개)
莖極을 위로	8.2	7.6	5.1
根極을 위로	17.8	16.9	4.8

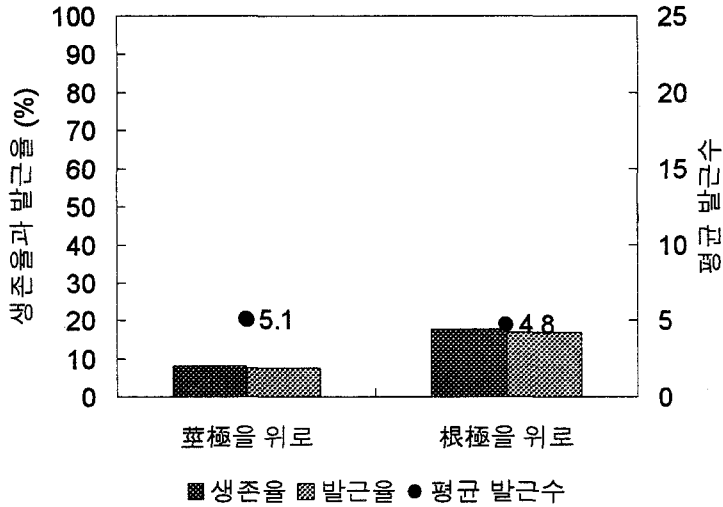


그림 4-11. 극성에 따른 생존율, 발근율, 평균 발근수

근경에 따른 근삽의 생존율은 5mm미만의 개체들에서 8.5%, 5mm이상 10mm미만의 개체들에서 18.5%, 10mm이상의 개체들에서 24.6%를 나타내어 10mm이상의 개체들에서 생존율이 높게 나타났다.

발근율은 5mm미만의 개체들에서 8.2%, 5mm이상 10mm미만의 개체들에서 17.7%, 10mm이상의 개체들에서 21.3%를 나타내어 10mm이상의 개체들에서 높게 나타났다.

평균 발근수는 5mm미만의 개체들에서 3.0개, 5mm이상 10mm미만의 개체들에서 5.1개, 10mm이상의 개체들에서 9.0개를 나타내어 10mm이상의 개체들에서 높게 나타났다.

표 4-9. 근삽의 근경별 생존율, 발근율, 평균 발근수

근경	생존율(%)	발근율(%)	평균 발근수(개)
5mm미만	8.5	8.2	3.0
5-10mm	18.5	17.7	5.1
10mm이상	24.6	21.3	9.0

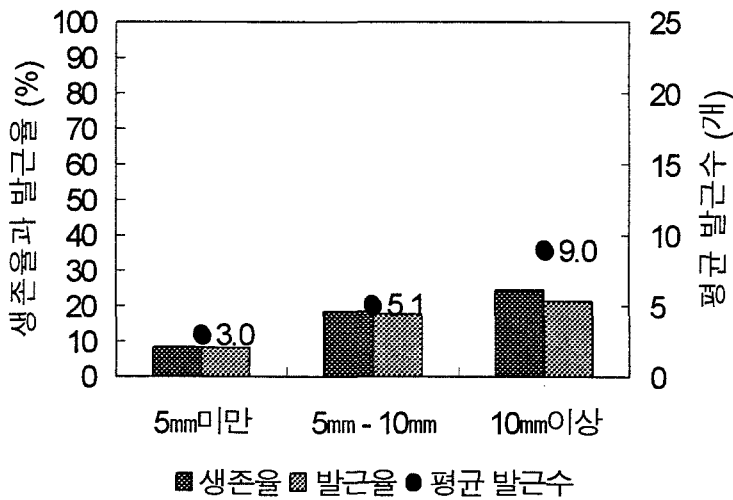


그림 4-12. 근경에 따른 근삽의 생존율, 발근율, 평균 발근수

이상의 대량 증식을 위한 연구 결과를 종합하면 다음과 같다.

- 줄기삽의 생존율은 마사토의 무처리구에서 70%로 가장 높게 나타났다. 토양별 평균으로는 마사토에서 44.2%, 성장조절 호르몬별 평균으로는 IBA 처리구에서 36.3%로 높은 경향을 보였다.
- 줄기삽의 발근율은 마사토의 무처리구와 IBA처리구에서 30.0%로 높게 나타났다. 토양별 평균으로는 마사토에서 34.4%, 성장조절 호르몬별 평균으로는 IBA처리구에서 17.8%로 높은 경향을 보였다.

- 줄기삽의 평균 발근수는 세사토의 IBA처리구에서 19.5개로 많았다. 토양별 평균으로는 세사토에서 7.0개, 성장조절 호르몬별 평균으로는 IBA에서 11.1개로 많은 경향을 보였다.
- 근삽의 생존율은 8월에 근삽한 마사토의 Kinetin처리구에서 36.7%로 높게 나타났다. 토양별 평균으로는 세사토와 마사토에서 각각 11.8%, 12.3%로 큰 차이를 보이지 않았고, 성장조절 호르몬별 평균으로는 Kinetin이 14.0%로 높은 경향을 보였다.
- 근삽의 발근율은 8월에 근삽한 마사토의 Kinetin처리구에서 33.3%로 높게 나타났다. 토양별 평균은 세사토와 마사토에서 각각 11.8%, 11.0%로 큰 차이를 보이지 않았으며, 성장조절호르몬별 평균으로는 Kinetin처리구에서 13.5%로 높은 경향을 보였다.
- 근삽의 평균 발근수는 8월에 근삽한 세사토의 Kinetin처리구에서 11.2개로 높게 나타났다. 토양별평균으로는 세사토와 마사토가 각각 5.5개, 4.1개로 세사토가 약간 높았으며, 성장조절 호르몬별 평균으로는 GA<sub>3</sub>와 Kinetin에서 7.6개로 높은 경향을 보였다.
- 근삽의 시기별 생존율은 8월이 16.0%, 10월이 7.5%로 8월에 근삽한 시험구의 생존율이 높게 나타났다.
- 근삽의 極性別 생존율은 根極을 위로 한 처리구에서 17.8%로 높게 나타났고, 발근율은 根極을 위로 한 처리구에서 16.9%로 높았으며, 평균 발근수는 큰 차이를 보이지 않았다.
- 근삽의 근경별 생존율은 10mm이상의 개체들에서 24.6%로 높았고, 발근율은 10mm이상의 개체들에서 21.3%로 높았으며, 평균 발근수는 10mm이상에서 9.0개로 많았다.
- 줄기삽은 평균 29.5%의 생존율을 보였으며, 마사토에서 IBA처리를 하면 생존율이 증가할 것으로 사료되었다. 근삽은 평균 12.1%의 생존율을 보였으

며, 8월에 근경이 5mm이상되는 굵은 시료를 Kinetin으로 처리한 후에, 根極을 위로하여 근삽하면 생존율이 증가할 것으로 사료되었다.

○ 평균적으로 줄기삽이 근삽에 비하여 발근율이 높게 나타나 줄기삽 증식 방법이 좋을 것으로 사료되며, 계속 새로운 실험법을 개발하여 발근율을 높여 나갈 예정이다.

#### 4. 4차년도 : 가시오갈피의 적응시험 및 기능성 음료개발

##### 가. 일반 성분분석 및 생리활성 검정

현재까지 가시오갈피의 잎과 줄기에 대한 예비성분분석을 통하여 기능성 차류 또는 음료로의 가공 가능성이 매우 높은 것으로 판명되었기에 수용성 추출물의 차류 가공을 위한 연구에 주력하고 있으며, 특히 생리활성 검정을 통한 독성물질의 검출여부 등을 집중 연구하고 있다.

지금까지 가시오갈피의 성분분석을 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

##### (1) 공시재료

1997-1999년에 걸쳐 홍천군 내면 오대산과 홍천군 강원대학교 부속 연습림 및 삼척군 노곡면 재배농가에서 가시오갈피를 채취하여 실험실에서 약 3주간 건조한 후 건조된 시료는 수피와 목질부의 구분없이 분쇄기로 분쇄하여 분말상으로 제조한 다음 추출용시료로 사용하였다.

##### (2) 추출물의 제조

분쇄된 시료 3kg을 10ℓ의 유리용기에 넣어 아세톤:물(7:3)의 혼합용액에 침적하여 3일간 추출을 실시하였으며 추출액을 따로 모으고 이 과정을 3회 반복하여 실시하였다. 추출액은 감압농축기로 농축하였고 농축액은 다시 분획할때기 상에서 클로로포름용성, 헥산용성, 부탄올용성, 에틸아세테이트용성 및 수용성으로 분리하였다. 분리된 각각의 분획용액들은 동결건조기로

농축하였고 동결건조기로 동결건조 시켰다.

동결건조된 각각의 화합물들은 클로로포름용성 6.3g, hexan 용성 11.5g, 부탄올용성 15.3g, 에틸아세테이트용성 9g 및 수용성 40g으로 얻어졌으며, 동일한 양을 추출하였을 때 다른 수목들의 추출물 보다 비교적 적은 량으로 얻어졌다.

### (3) 칼럼크로마토그래피

여러 종류의 직경과 길이로 구성된 유리 칼럼에 Sephadex LH-20을 충전하여 칼럼크로마토그래피 분석을 수행하였다. 칼럼의 세척용매는 메탄올, 에탄올 및 그들의 수용액을 이용하였으며 분리가 수행된 분획에 대하여 박층크로마토그래피법을 적용하여 분리된 화합물의 확인을 실시하였다.

### (4) 부탄올용성 화합물

우선적으로 부탄올용성(15.3g)에 대하여 Sephadex LH-20 칼럼에 메탄올-물(7:3)의 용매로 칼럼크로마토그래피를 실시하였다. 1차 분리는 7개의 부분으로 분리하였고 각 부분별로는 F1 2.62g, F2 9.18g, F3 2.12g, F4 0.4g, F5 25mg, F6 31.2 mg, F7 8.4mg을 얻었다. 이후 F1, F2, F3를 중심으로 메탄올-물(3:1, 2:1, 1:1, 1:2 등)의 용매체계를 이용하여 분리를 계속 진행하였으나 단일물로 분리하기가 어려웠다. 이후 모든 부탄올용성 분리화합물을 다시 모은 7.3g의 추출물을 메탄올-물(2:1)의 용매로 재칼럼크로마토그래피를 실시하였다.

F'1은 756mg, F'2는 2.7g, F'3는 2.9g, F'4는 113mg, F'5는 145mg, F'6는 80mg의 수율을 얻을 수 있었다. F'5에서 미색 결정성의 침전물을 얻을 수 있었고 재결정법으로 순수한 단일 화합물인 caffeic acid 62mg을 단리하였다. F'2와 F'3 부분을 중심으로 계속적인 칼럼크로마토 그래피를 실시하고 있다.

### (5) 에틸아세테이트용성 화합물

가시오갈피 에틸아세테이트용성 화합물 3.673g을 Sephadex LH-20 칼럼에 메탄올-물 (3:1)를 적용하여 최초 분리를 실시하였다. 5개의 부분으로 분리하였으며 fraction 1은 1.5g, F2는 1.47g, F3은 375mg, F4는 39mg을 얻었다. F3 375mg을 메탄올-물(1:2)로 재크로마토그래피를 실시하였으며 미색의 결정성 침전물인 caffeic acid 28mg을 얻을 수 있었다. 각 부분별로 계속적인 칼럼 크로마토그래피를 진행하고 있다.

#### (6) 수용성 화합물

가시오갈피 수용성 화합물 39.27g을 Sephadex LH-20 칼럼에 메탄올-물 (3:1)를 적용하여 최초 분리를 실시하여 두 개의 부분으로 분리하였다. Fraction1은 4.5g, F2는 32.3g을 얻을 수 있었다. 이후 F1과 F2는 용리용매로 메탄올-물(1:1, 1:2, 1:3)을 이용하여 연속적인 분리를 실시하였다. F2를 연속적인 칼럼크로마토그래피를 실시하여 caffeic acid에 quinic acid가 결합된 chlorogenic acid 341mg을 단리하였다. 수용성 화합물은 소량의 페놀성 화합물 이외에 거의 대부분의 저분자 및 고분자량의 탄수화물로 구성되어 있어 수용성 분획의 대부분은 탄수화물임을 확인할 수 있었다.

#### (7) 단리 화합물의 구조분석

단리된 화합물의 구조를 규명하기 위하여 Bruker 400MHz NMR 분석기를 이용하여  $^1\text{H}$ - 및  $^{13}\text{C}$ -NMR 스펙트럼을 얻었으며 분자량 측정을 위해서는 FAB-MS 분석을 실시하였다. 현재까지 주로 가시오갈피의 근피에 관한 연구들이 많이 진행되어 왔으며 여러 가지 화합물들이 많이 존재하고 있는 것으로 밝혀지고 있는데 주로 정유 성분들과 sesamin, savinin, syringaresinol, scanthoside B 등의 리그난류들이 함유되어 있으며, daucosterol 및 사포닌과 그 배당체 화합물들이 다량 들어 있는 것으로 알려지고 있다.

본 실험에서는 커피에 주로 많이 함유되어 있는 것으로 밝혀진 리그난류

의 페놀성 화합물로 caffeic acid와 chlorogenic acid가 분리 되었다. Caffeic acid는 항박테리아, 항곰팡이, 항간독성, 항산화 및 항히스타민 제제로 이용될 수 있으며 그 외에 위궤양 치료나 항바이러스성 약제로 이용되는 등의 여러 가지 효과가 있는 것으로 알려져 있다. Chlorogenic acid는 항돌연변이 제제, 항산화제 및 종양억제제로 이용될 수 있으며 항바이러스성 약제 및 유전자 변이억제 효과 등을 가지고 있는 것으로 알려지고 있다.

본 연구에서 분리된 화합물의 구조는 아래와 같으며(그림 4-13), caffeic acid는 그림 4-14 및 4-15와 같이  $^1\text{H}$ - 및  $^{13}\text{C}$ -NMR 스펙트럼에 의해 그 구조를 동정하였으며 chlorogenic acid는 그림 4-16 및 4-17의  $^1\text{H}$ - 및  $^{13}\text{C}$ -NMR 스펙트럼을 이용하여 구조를 규명하였고 그림 4-18과 같이 이 화합물의 positive FAB-MS 값은 355로서 원래 분자량 354에 수소원소가 결합된  $[\text{M}+\text{H}]^+$  값 355를 주어 정확한 분자량 값을 주고 있다.

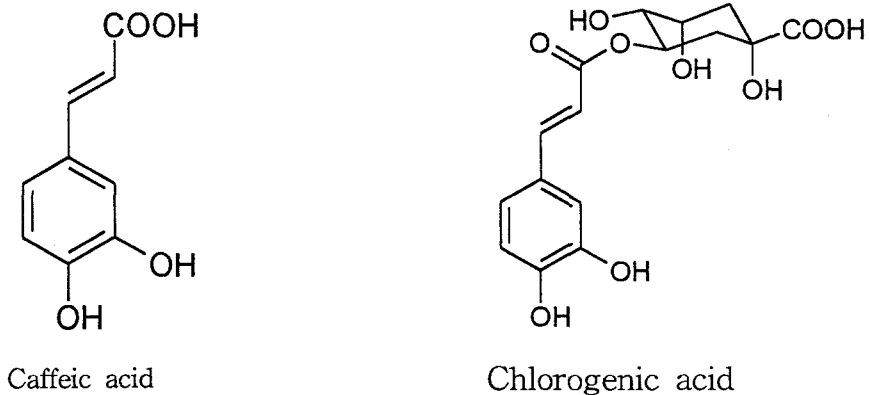


그림 4-13. 가시오갈피로부터 분리된 화합물







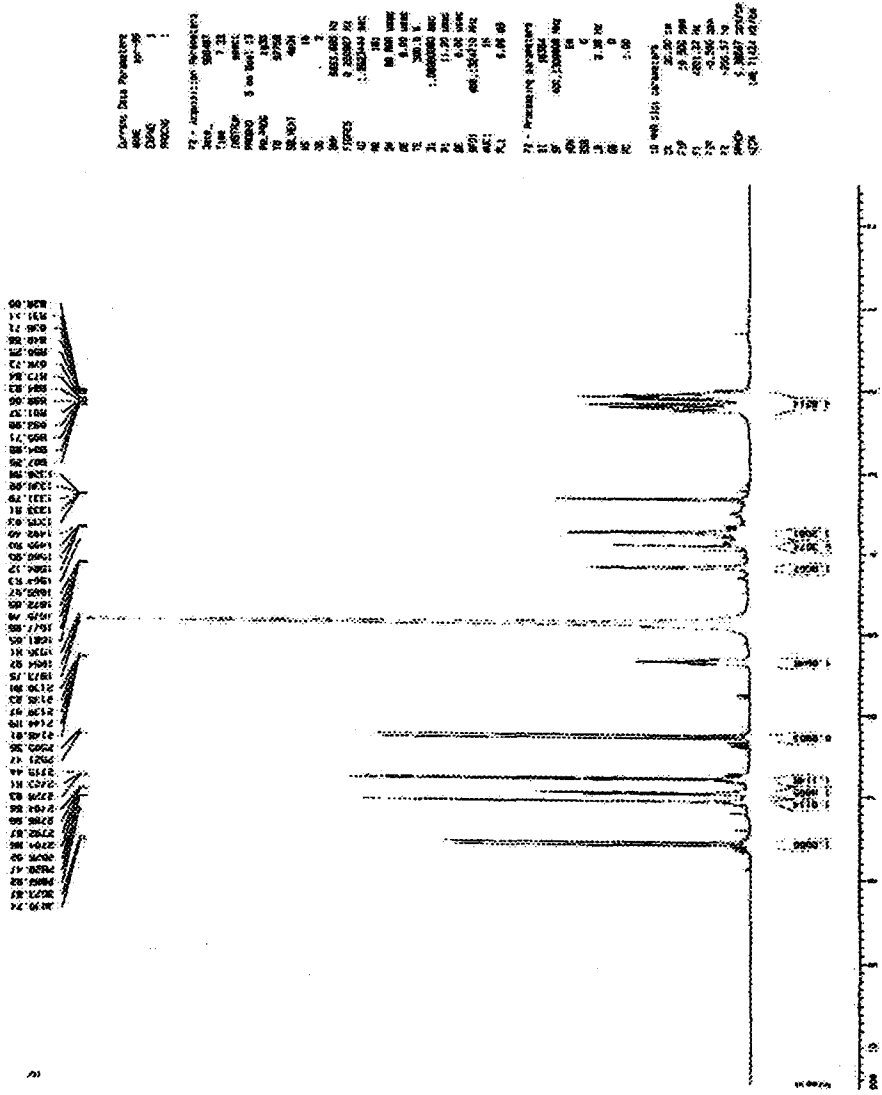


그림 4-16. <sup>1</sup>H NMR spectrum of chlorogenic acid.



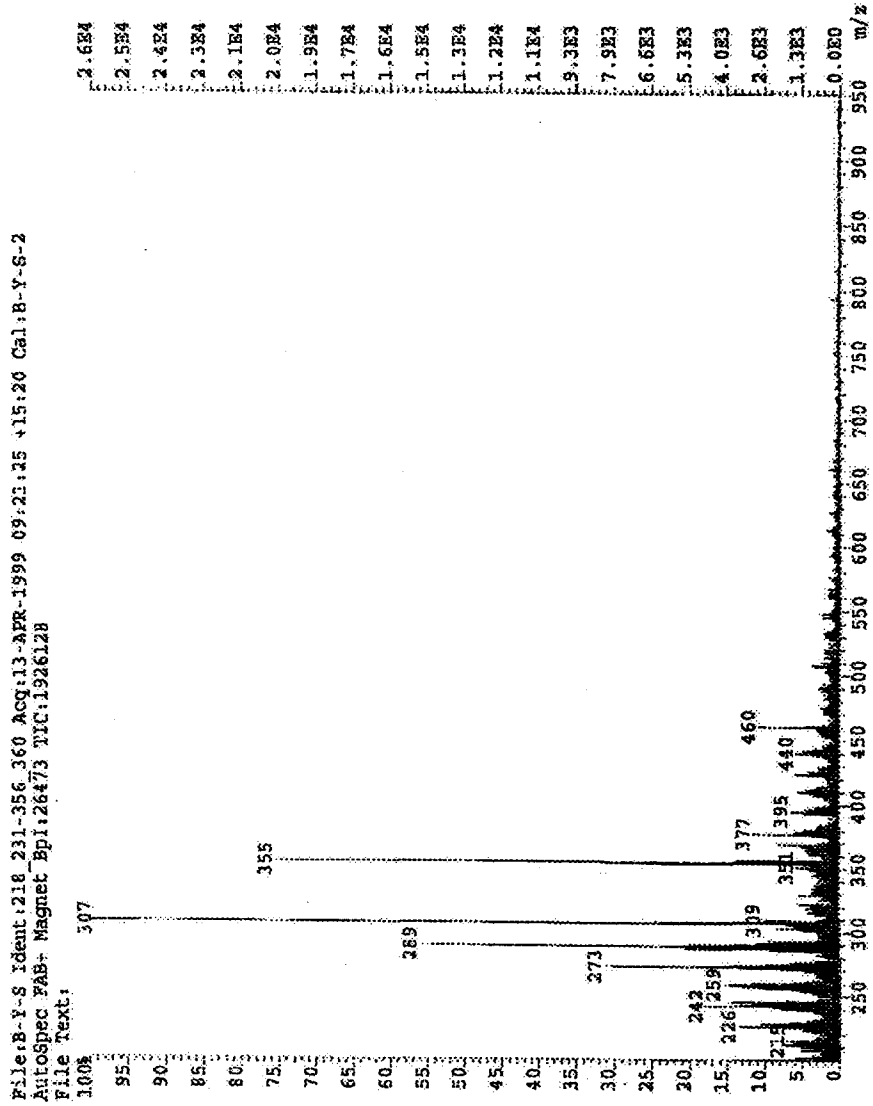


그림 4-18. Positive FAB-MS Spectrum of chlorogenic acid.

나. 대상식물의 생태규명 및 대량증식

표 4-10. 가시오갈피 자생지 식생구조

조사지	대덕산1	대덕산2	대덕산3	연습림	오대산	
해발고(m)	950	980	980	445	1,100	
방위	N32° W	N30° W	N72° W	N33° E	N53° E	
경사(°)	28	30	30	22	20	
지형	계곡부	사면하부	사면하부	계곡부	계곡부	
조사면적(m × m)	10×10	10×10	10×10	10×10	10×10	
교목층(%)	70	75	70	95	55	
아교목층(%)	30	25	20	25	40	
관목층(%)	70	65	55	45	40	
초본층(%)	60	65	65	35	40	
출현종수	25	38	31	29	29	출현횟수
물참대	1.1	1.2	1	1.2	1.2	5
당단풍	1.2	3	1.2			4
울개암나무	1	1.2	1.2	1.2		4
뱅고사리		1.2	r	1.2	1.2	4
노랑물봉선	4.5	+	+	1		4
노루오줌	+	+		+	1	4
등칠향	1	1.2	1			3
물푸레나무	3	2			2.2	3
고로쇠나무	1.1	2			2	3
괴불나무	1			1.1	1.1	3
국수나무	1	1.2		1.2		3
다래		1.2	3	2		3
산딸기	1.1	1.2	2			3
조릿대	3	2.2	3			3
명자순			1		1	2
물봉선		1.2		2.1		2
방아풀				r	r	2
복자기		2	3.3			2
산겨릅나무		2			1.1	2
고추나무		r	+			2
꼭두서니		1.2	r			2
꽃개회나무		2			1.2	2

넓은잎외잎속		r	r			2
노린재나무		1	1.2			2
산뽕나무			2	4.5		2
생강나무		1.2	2			2
호랑버들		3	2.1			2
십자고사리				3	1	2
응나무				1	2	2
참회나무			1.2		1.1	2
태백제비꽃	r	r				2
피나무	3.2	1.2				2
할미밀망	+		+			2
함박꽃나무			1.2		1	2
황고사리	r			r		2
두릅나무					1.1	1
두메약나무		1.1				1
동굴래				r		1
떡총나무	1					1
떡갈나무			1.2			1
물향찰나무					2	1
미역줄나무			1.1			1
민박쥐나무					+	1
바위떡풀				r		1
박새					+	1
백당나무		1				1
백작약					+	1
벌개미취				r		1
벌개덩굴				1.2		1
복장나무					1.2	1
붉은병꽃나무					1.1	1
산거울		+				1
개다래	1.2					1
개머루		1.2				1
개미취					r	1
개살구				2		1
고광나무				2		1
고려영경취			+			1
고사리	+					1
고추나무				2.1		1

관중					2	1
괭이눈					+	1
구절초			r			1
귀룽나무	2.1					1
귀박쥐나물					+	1
금강제비꽃		r				1
김의털				1		1
까치박달		1.2				1
너도바람꽃					r	1
노루귀	r					1
단풍마		+				1
달맞이꽃		+				1
담쟁이덩굴		+				1
산괴불주머니				1.2		1
산씀바귀		r				1
속단			r			1
송나물		r				1
송마					1	1
신갈나무		2				1
야광나무	1.2					1
오갈피				1.2		1
오리방울		r				1
오미자			1.2			1
일본잎갈나무			3			1
조팝나무			2.1			1
줄방제비꽃			r			1
진범				r		1
참반디				r		1
참취	1.2					1
천남성	+					1
총총나무					1.2	1
큰개별꽃				1		1
큰네잎갈퀴	r					1
큰참나물				1.2		1
파리풀				r		1
현호색					r	1
화살나무			1.2			1



가시오갈피의 자생지와 재배 농가로부터 3차 년도인 1998년 9월 26일 4차년도인 1999년 10월 3일에 걸쳐 녹지삽, 반숙지삽, 숙지삽으로 구분하여 채취한 삽수와 뿌리를 채취하여 각각 IAA, Kinetin, IBA, NAA, GA<sub>3</sub>, 루톤 등의 성장조절물질을 농도를 다르게 처리하여 삽목에 의한 대량증식방법을 규명하기 위하여 현지도양, 마사토, 모래에서 각각 발근율을 조사하였으며, 동아를 채취하여 조직배양에 의한 증식법을 수행 중에 있다. 또한 종자번식은 약 2년에 걸쳐 발아하는 특성을 갖고 있으므로 지난해 수집한 약간의 종자는 아직 결과를 파악할 수 없었으며, 금년도 9월 하순부터 10월 초순에 걸쳐 자생지로부터 종자수집을 실시하였으나 화기의 집중강우로 인한 종자결실이 불량하여 종자 채취가 불가능하였다.

한편, 현재까지 수행된 연구보다 더 양호한 결과를 얻기 위하여 다음과 같은 증식 방법을 수행하였다.

#### (1) 줄기삽목

○ 秋期숙지삽 : 1998년 9월 26일 강원도 홍천군 내면 오대산에서 채취한 시료를 저온상에 보관하였다가 동년 9월 27일에 삽목하였다. 성장조절물질 처리는 IAA, IBA, Kinetin, NAA를 각 500, 1000, 2000mg/l에 침적하여 사용하였다. 침적시간은 500mg/l가 20초, 1000, 2000mg/l에는 10초간 침적하였다. 삽수는 액아를 1-2개 포함하도록 조제하였으며, 상기의 처리구 각각에 22개, 무처리 60개의 삽수로 총 324개의 삽수가 삽목되었다. 삽목상은 온실 내에 모래를 상토로 하였으며, 관수는 추기에 1일 1회, 동기에 1주 2회정도 실시하였다.

○ 春期숙지삽 : 1999년 3월 6일에 강원도 삼척시 노곡면 중마읍리의 재배농가에서 제공받은 시료를 저온 상에 보관하였다가 동년 3월 17일에 삽목하였으며, 성장조절물질 처리는 IAA, IBA, NAA 및 루톤을 사용하였다. 농도는 추기 숙지삽에서의와 같다. 삽수는 액아를 1-2개 포함하도록 조제하였다.

각 처리구당 삽수의 수는 10개씩 3반복으로 총 330개의 삽수가 사용되었으며, 삽목상은 온실에 설치하고, 30% 차광의 커튼을 사용하였으며, 상토는 모래를 사용하였고, 관수는 춘기 1일 1회, 하절기 1일 2회 실시하였다.

○ 夏期 녹지삽 : 1999년 6월 19일에 강원도 삼척시 노곡면 중마읍리의 재배농가에서 제공받은 삽수를 시료로, 동년 6월 23일에 삽목하였다. 성장조절물질 처리는 IAA, IBA, Kinetin, NAA와 루톤을 사용하였으며, 농도는 상기 춘기, 춘기 숙지삽에서와 같다. 삽수는 액아를 1-2개 포함하도록 조제하였으며, 상부의 엽을 1-2개 남기고 각 소엽의 1/2가량 절단하여 조제하였다. 처리구당 삽수의 수는 각각의 성장조절 물질 처리에 대하여 10개체씩 3반복하였으며, 단 Kinetin 2000mg/l 는 5개체씩 3반복으로 총 405개의 삽수가 사용되었다. 관수는 1일 2회 실시하였다.

○ 秋期 반숙지삽 : 1999년 10월 3일에 강원도 삼척시 노곡면 중마읍리 재배농가에서 제공받은 시료를 10월 4일에 삽목하여 현재 실시중이다. 성장조절물질 처리는 IAA, IBA, Kinetin, NAA와 루톤을 사용하였으며, 농도는 상기 춘기, 추기 숙지삽 및 하기 녹지삽에서와 같다. 삽수는 액아를 1-2개씩 포함하도록 조제하였으며, 엽은 엽병 하단부에서 1.5cm부위를 남기고 절단하였다. 처리구당 삽수의 수는 10개씩 3반복으로 총 420개를 사용하였다. 관수는 1일 1회 실시하고 있다.

줄기삽에 대한 성적조사는 新梢가 발생한 것과 발근된 것을 생존한 것으로 간주하여 생존율, 발근율, 평균 발근수를 조사하였다. 생존율은 전체 삽수의 개체수에 대한 생존 삽수의 개체수로 계산하였고, 발근율은 전체 개체수에 대한 발근된 삽수의 개체수로 계산하였으며, 평균 발근수는 발근된 개체들의 평균으로 나타내었다.

## (2) 줄기삽목 결과

### ○ 추기 숙지삽

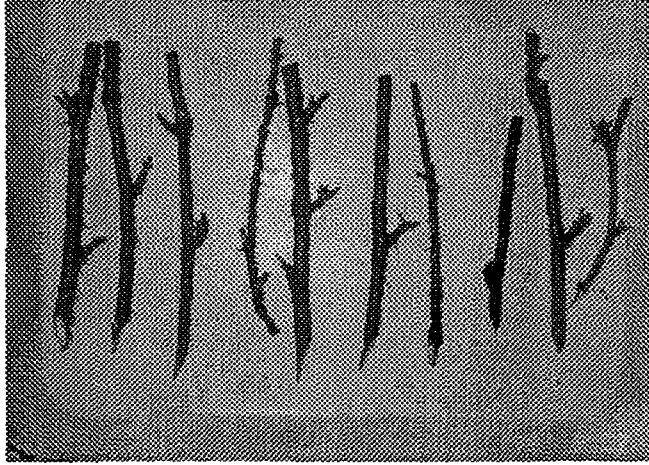
표 4-11. 추기 숙지삽의 생존율, pot이식율, 포지 적응율

생장조절물질(mg/l)	생존율(%)*	이식율(%)**	적응율(%)**
IAA 500	27.27	9.09	33.33
IAA 1000	54.55	27.27	33.33
IAA 2000	45.45	36.36	0.00
IBA 500	68.18	31.82	83.33
IBA 1000	77.27	68.18	20.00
IBA 2000	81.82	18.18	33.33
Kinetin 500	23.81	38.10	77.78
Kinetin 1000	18.18	45.45	36.36
Kinetin 2000	27.27	54.55	13.33
NAA 500	45.45	22.73	16.67
NAA 1000	50.00	31.82	42.86
NAA 2000	31.82	22.73	33.33
무처리	36.67	40.00	50.00
평균	44.27	34.98	37.29

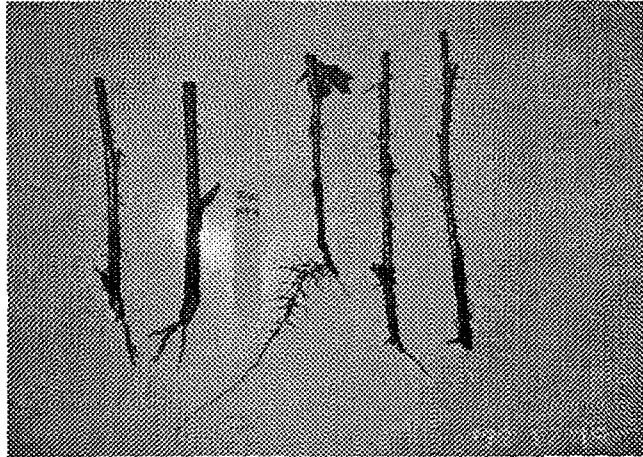
\* 삽목상에서의 생존율 - 조사일 1998. 12. 19

\*\* pot로 이식하여 월동한 후의 생존율 - 조사일 1999. 5. 1

\*\*\* 포지에서의 적응율 - 조사일 1999. 6. 10



준비된 삼수



생존한 개체들



pot에 이식된 개체들



포지에 이식되어 적응중인 삼수  
사진 4-1. 가시오갈피 삼목 증식

○ 춘기 숙지삼

표 4-12. 춘기 녹지삼의 생존율

생장조절물질(mg/L)	삽수의 갯수	발근	근장(cm)	발근율(%)
IAA 500	30	0	-	0.0
IAA 1000	30	0	-	0.0
IAA 2000	30	1	3.7	3.3
IBA 500	30	0	-	0.0
IBA 1000	30	1	3.0	3.3
IBA 2000	30	2	5.0	6.7
NAA 500	30	2	2.4	6.7
NAA 1000	30	0	-	0.0
NAA 2000	30	1	9.4	3.3
루톤	30	0	-	0.0
무처리	30	2	7.0	6.7
계	330	9	2.14	2.73

○ 夏期 녹지삼

표 4-13. 하기 녹지삼의 생존율

생장조절물질(mg/l)	삼수의 갯수	발근	근장(cm)	생존율(%)
IAA 500	30	-	-	-
IAA 1000	30	-	-	-
IAA 2000	30	-	-	-
IBA 500	30	6	11.18	20
IBA 1000	30	-	-	-
IBA 2000	30	-	-	-
Kinetin 500	30	-	-	-
Kinetin 1000	30	-	-	-
Kinetin 2000	30	1	19	3.3
NAA 500	30	1	14	3.3
NAA 1000	30	-	-	-
NAA 2000	15	-	-	-
루톤	30	-	-	-
무처리	30	-	-	-
계	405	8	12.5	1.97

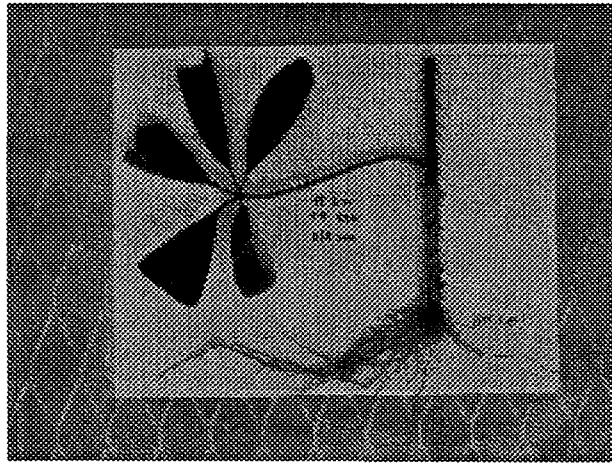


사진 4-2. 하기 녹지삼의 생존개체

가시오갈피의 삼목 시기별로는 추기의 숙지삽이 평균 44.2%로 비교적 높았으며, IBA의 사용이 효과적으로 나타났다. 그러나 실제로 이식율과 적응율을 감안하면 삽수의 5.7%만이 적응하여 생존하게 된다. 이러한 낮은 생존율은 가시오갈피의 줄기 구조중에서 髓(pith)가 차지하는 비율이 높아 삼목 기간 동안의 수분손실과 부패에 약한 것에서 기인하는 것으로 사료된다.

### (3) 조직배양

#### ○ 아배양

약 3년생 되는 가시오갈피의 겨울눈(冬芽)을 시료로 하였다. 절편은 정아가 볼도록 2-3cm 길이로 절단하여 삼각후라스크에서 표면살균하였다. 절편은 tween 20을 두세방울 첨가하여 거품을 낸 후 수돗물로 수차례 씻어내었다. 다음 무균상에서 70% 에탄올로 3분, 2% 차아염소산 나트륨 (NaClO)으로 20분간 살균하고 멸균된 증류수로 5회 정도 씻어 내었다. 살균 후 멸균수에 30분 정도 침지하고 예리한 해부용 칼로 동아의 인편을 조심스럽게 벗긴 다음 준비된 배지에 치상하였다. 배지는 MS (Murashige and Skoog, 1962) 기본배지에 sucrose 3% 첨가하고, 0.3% gelrite로 경화하여 사용했다. 치상 2주 후 오염이 안된 절편을 선별하여 증식배지(표 4-14)에 계대하여 줄기의 증식을 도모하였다. 배양은 1일 16시간 조명 (약 3,000~5,000 Lux)되고,  $25 \pm 2$  °C로 유지되는 배양실에서 배양하였다.

#### ○ 종자 배배양

종자 후숙이 끝난 종자를 재료로 상기의 방법으로 표면살균하였다. 다음 해부용 칼로 종피를 제거하고 종자를 꺼내어 준비된 배지에 치상하였다. 배지는 1/2 MS 배지에 IBA 0.5 mg/L 첨가하고, sucrose 2%, gelrite 0.3%로 경화하여 1회용 샐레 당 25 ml 씩 분주하여 사용했다. 종자는 샐레 당 약 30개씩 배양하고 3주 후에 오염이 안된 종자는 다시 동일한 배지로 계대배양하였다. 배양은 약 3,000 Lux로 1일 16시간 조명되고, 온도는  $25 \pm 2$  °C로



유지되는 배양실에서 배양하였다.

#### ○ 캘러스 배양

상기 실험 1의 아배양의 방법으로 표면살균된 동아조직을 시료로 인편을 벗긴 다음 어린 유엽을 절편으로 캘러스 배양을 실시했다. 배지는 MS배지를 기본으로 2,4-D 단독처리 혹은 2,4-D와 BA의 공조처리로 8가지 조합의 호르몬을 처리했다(표 4-15). 배지는 1회용 샬레에 25씩 분주하였고, 절편은 어린 유조직을 2~4mm로 절단하여 샬레당 3~5개의 절편을 치상하였다. 배양은 500 Lux 이하의 산광하에서 배양했다.

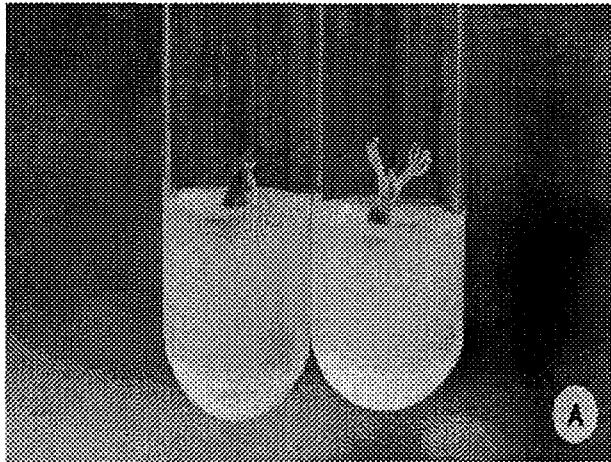
#### (4)조직배양 결과

##### ○ 아배양

배양 2 주 후 오염율은 약 55%에 달했다. 오염이 안된 절편은 잎이 전개되며 반응을 보이고 (그림 4-3, A), 녹색화되었다. 오염이 안된 절편을 시료로 증식시험을 실시한 결과는 표 4-14와 같다. 증식배지에서 잎은 완전히 전개되고 줄기의 자람이 시작되었다. 그러나 배양 4주 후에도 줄기의 자람은 매우 느렸다. 대부분의 절편기부에는 캘러스가 부풀어오르는 형태로 형성되었고 호르몬 농도가 높아질수록 크게 형성되었다. 줄기는 절편에 따라 2-3개의 줄기로 자라기도 하였으나 생장은 불량했다(그림 4-3, B). 호르몬의 처리에 따른 줄기생장은 처리간에 큰 차이를 보이지 않았지만 10mg/l GA<sub>3</sub> 처리구에서는 3cm 이상 자라는 절편도 관찰되었다 (그림 4-3, C). 줄기는 현재 저온처리 및 암처리 배양을 통하여 증식을 도모하고 있다.

표 4-14. 3 년생 가시오갈피 정아조직의 줄기증식

생장조절물질(mg/l)	차상점수	중식줄기수	기부 캘러스 생장
GA <sub>3</sub> 1.0	15	19	+
GA <sub>3</sub> 3.0	15	20	++
GA <sub>3</sub> 5.0	10	15	+++
GA <sub>3</sub> 10.0	10	16	+++



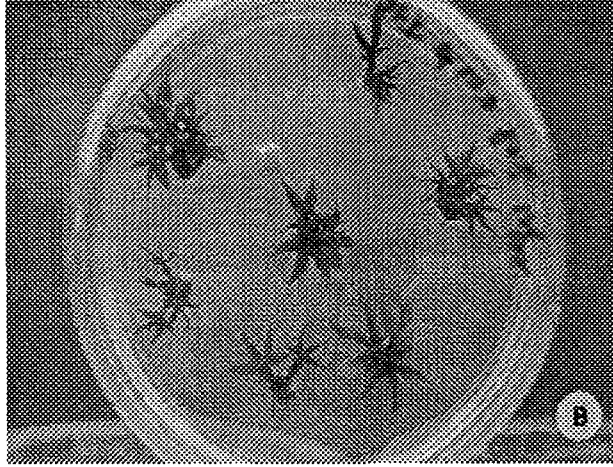


사진 4-3. 아배양 (A : 시험관에 치상된 동아, B : 페트리 디쉬에 치상된 동아, C : 미오염 개체를 선별하여 계대배양 한 것)

### ○ 종자 배배양

종자의 발아는 1% 미만으로 매우 저조하였다(데이터 미제시). 발아되는 종자는 유근이 먼저 내리고 다음 자엽이 나오는 형태로 정상 발아되었다. 발아된 식물체의 생장은 개체에 따라 매우 달랐다. 길이는 0.5 - 3cm의 길이로 자랐다. 발아된 종자는 다시 동일한 배지로 배양했을 때 거의 모든 식물체에서 배축을 중심으로 체세포배가 형성되었다. 체세포배는 상배축과 자엽을 중심으로 절편의 상부에서 주로 형성되었고 길게 부정근이 내리기도 하였다(그림 4-4, A). 한편 체세포배는 대부분 기형으로 형성되었으며 절편에서 분리하기가 어려웠다. 그러나 체세포배에 따라서는 절편에서 쉽게 분리되어 식물체로 재분화되기도 하였다. 대부분의 체세포배는 자엽이 붙어 있거나 나팔형의 체세포 배로 형성되어 정상적으로 발아되지 못했다. 현재 이러한 체세포 배는 분리하여 발아 및 성장시험 중에 있으며 아울러 현탁배양을 통한 배발생 캘러스의 증식 및 재분화를 시험중에 있다. 아배양에서 줄기의 생장이 매우 느리고 다경줄기 형성이 저조한 것을 감안하면 체세포 배 유도를 통한 이 수종의 증식은 가능한 방법으로 생각된다. 앞으로 이에 대한 계속된 실험이 요구된다.

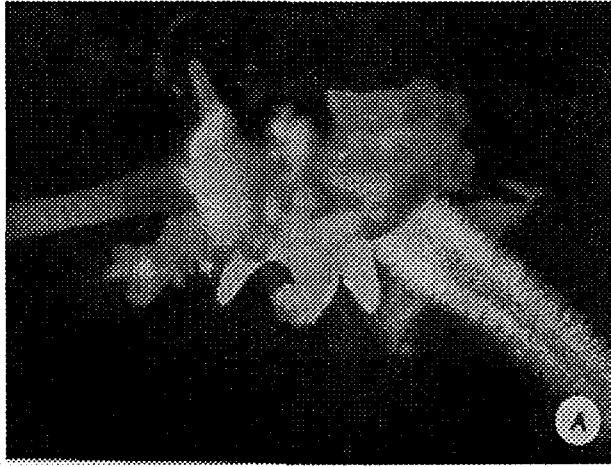


사진 4-4. 배배양

(A : 체세포배의 생성 B : 캘러스로부터 부정근의 형성)

○ 켈러스 배양

배양 3주 후의 오염율이 모든 처리구에서 40~90%로 심하였다(표 4-15). 켈러스는 오염이 안된 절편에서 모두 형성되어 처리에 따른 효과는 없는 것으로 나타났다. 켈러스는 절단면을 중심으로 형성되었고, 주로 담황색을 띠었다(그림 4-4, B). 켈러스의 생장은 매우 느리게 이루어 졌고, 배양 4주 후에도 3-5mm 크기로만 자랐다. 켈러스는 4주 후에 동일한 배지로 계대하였을 때에도 생장은 매우 저조하였고 점차 갈변화 되었다. 이러한 켈러스는 암상태로 배양하였을 때 다시 생장이 시작되는 것이 관찰되었으나 대부분의 켈러스는 점차 갈변화되어 고사하였다. 본 실험 조건하에서 오갈피나무의 켈러스 배양은 매우 부적절하여 금후 배지와 성장조절물질을 달리하여 실험을 수행 할 예정이다. 아울러 초대배양 후 오염율을 방지하기 위하여 예비 실험으로 삼목 후 자란 신초지를 이용하여 배양한 결과 오염율을 10% 미만으로 줄일 수 있어 앞으로는 온실에서 멩아지를 유도한 다음 시료로 사용함이 좋을 것이다.

표 4-15. MS 배지에서 성장조절물질에 따른 켈러스 유도율

배지 및 성장조절물질(mg/ℓ)	치상점수	오염율(%)	켈러스 형성율(%)
Control	15	80.0	20.0
2,4-D 0.5	13	61.5	38.5
2,4-D 1.0	24	79.2	20.8
2,4-D 3.0	13	92.3	7.7
2,4-D 0.5 + BA 0.1	25	56.0	44.0
2,4-D 1.0 + BA 0.1	27	63.0	37.0
2,4-D 3.0 + BA 0.1	7	57.2	42.8
2,4-D 1.0 + KN 0.1	10	40.0	60.0

이상과 같이 증식방법을 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

가시오갈피의 삼목은 다른 시기에 비하여 추기의 숙지삼이 평균 44.2%로 비교적 높은 생존율을 보였다. 그러나 이식율과 적응율을 감안하면 실제 삼수의 5.8%만이 포지에서 적응하여 생존한다.

가시오갈피의 조직배양은 현재 적정 배지 조건 및 배양 조건을 찾지 못하였으며, 치상시까지의 오염율을 저하시키는 연구가 필요하다.

가시오갈피는 대체로 해발 1,100m 부근의 북동사면의 산복 또는 계곡주변 환경사(5° -20°)의 전석지에 주로 분포하고 있었으며, 군락지의 상대조도는 25%-50%로 나타났다.

가시오갈피는 계곡부의 습하고 상대조도가 낮은 지역에 주로 분포하나, 강원도 삼척시의 재배농가의 경우 농작물을 경작하는 밭과 같은 조건에서도 왕성하게 성장하고 있다. 이는 지역적인 특성의 영향으로 사료되며, 번식과 재배에 있어서 이러한 조건을 갖춘 지역의 탐색이 우선되어야 할 것이다.

오갈피류의 종자는 미숙배에 의하여 발아가 방해되는 것으로 조사되었으며, 가시오갈피의 이식활착율은 42.5%에서 78.9%에 이르고, 녹지삼목의 활착율은 마사토에서 50.6%로 나타났고, 뿌리삼목의 활착율은 16.7%, 휴면지삼목의 활착율은 13.9%로 나타났다. 종자발아율은 12월 파종구에서 74.6%로 나타났다. 다른 연구에서는 추기 녹지삼목에서 평균 62.8%의 발근율을 보였다.

가시오갈피의 배를 이용한 조직배양이 시도되었으며, 종자는 시베리아와 일본 북해도산이 사용되었고 60일에서 90일간 후숙처리를 한 후에 사용되었다. 배에 상처를 주어 배양할 경우 체세포배의 생성율이 77.8%에 이르렀으며 유근에서의 체세포배 발생율이 높았다. 캘러스 생성은 B<sub>5</sub>배지에서 2,4-D 2mg/l + TDZ 0.7mg/l 에서 100%의 생성율을 보였다.

근삽의 생존율은 8월에 근삽한 마사토의 Kinetin처리구에서 36.7%로 높게

나타났다. 토양별 평균으로는 세사토와 마사토에서 각각 11.8%, 12.3%로 큰 차이를 보이지 않았고, 성장조절 호르몬별 평균으로는 Kinetin이 14.0%로 높은 경향을 보였다. 또한 근삽의 발근율은 8월에 근삽한 마사토의 Kinetin 처리구에서 33.3%로 높게 나타났다. 토양별 평균은 세사토와 마사토에서 각각 11.8%, 11.0%로 큰 차이를 보이지 않았으며, 성장조절호르몬별 평균으로는 Kinetin처리구에서 13.5%로 높은 경향을 보였다. 근삽의 평균 발근수는 8월에 근삽한 세사토의 Kinetin처리구에서 11.2개로 높게 나타났다. 토양별 평균으로는 세사토와 마사토가 각각 5.5개, 4.1개로 세사토가 약간 높았으며, 성장조절 호르몬별 평균으로는 GA<sub>3</sub>와 Kinetin에서 7.6개로 높은 경향을 보였다. 근삽의 시기별 생존율은 8월이 16.0%, 10월이 7.5%로 8월에 근삽한 시험구의 생존율이 높게 나타났다. 근삽의 極性別 생존율은 根極을 위로 한 처리구에서 17.8%로 높게 나타났고, 발근율은 根極을 위로 한 처리구에서 16.9%로 높았으며, 평균 발근수는 큰 차이를 보이지 않았다. 근삽의 근경별 생존율은 10mm 이상의 개체들에서 24.6%로 높았고, 발근율은 10mm 이상의 개체들에서 21.3%로 높았으며, 평균 발근수는 10mm 이상에서 9.0개로 많았다. 한편 기능성음료 개발을 위한 가능성을 파악하기 위하여 다음과 같이 생리활성검증을 실시하였다.

#### 다. 가시오갈피의 생리활성검증

##### (1) 시료의 추출

가시오갈피의 추출효율은 열수추출에서 높았으며, 알콜추출물의 경우 줄기와 뿌리사이에 큰 차이는 나타내지 않았으나, 열수추출시 뿌리에서는 약 20% 이상 추출효율을 나타냈다(표 4-16).



표 4-16. 시료의 추출수율 (% w/w)

Samples	Parts	Ethanol	Hot Water
<i>Acanthopanax senticosus</i>	Stems	4.02	9.43
	Roots	6.13	22.22
	Mixed	5.53	21.68

(2) 가시오갈피 추출물의 항산화효과

그림 4-19는 추출물을 농도별로 하여 DPPH 소거효과를 측정한 것이다. 보는 바와 같이 알콜추출물이 열수추출물보다 높은 DPPH 소거효과를 나타내고 있다. 본 실험은 과산화가 일어나는 단계에서 superradical을 제거하는 능력을 측정하는 방법이다. 항산화효과는 농도에 의존하는 pattern을 보여주고 있다. 결과적으로 알콜추출물이 열수추출물보다 항산화력이 높은 것을 알 수 있었다. 따라서 50% 저해율로 표시할 때, 줄기 알콜추출물 (0.048 mg) > 뿌리알콜추출물(0.0625 mg) > 줄기물추출물(0.083 mg) 순이었으며, 뿌리열추출물이 가장 낮았다 (0.1125 mg/assay). 이 때 항산화제로 잘알려진 vitamin C는 25  $\mu$ g/assay를 보였다. 그러므로 vitamin C의 약 50%에 해당하는 항산화 활성이 뿌리 알콜추출물에서 확인된 것이다. 그러나 BHT의 50% 저해농도는 2.5  $\mu$ g/assay 수준이었다.

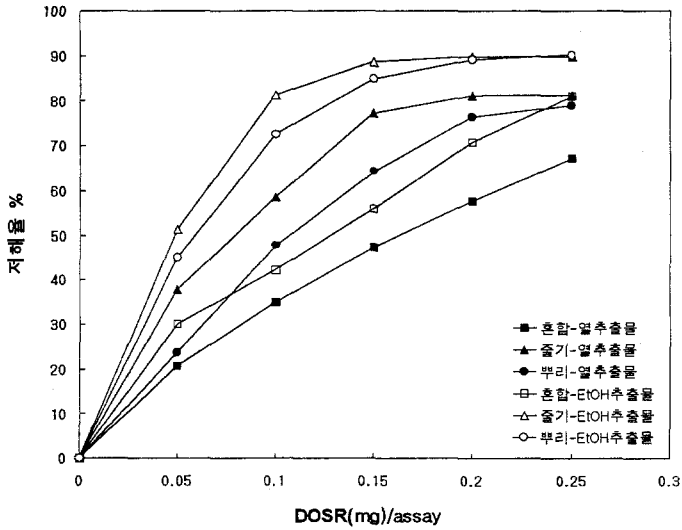


그림 4-19. 가시오갈피추출물의 DPPH 소거효과

한편, 그림 4-20은 hydroxyl radical 소거능력을 측정된 것이다. 이 경우에도 알콜추출물이 열수추출물보다 높은 항산화효과를 발휘하였다. 50% 저해율로 표시할 때, 뿌리 알콜추출물 (0.072 mg) > 줄기 알콜추출물(0.081 mg) > 줄기 물추출물(0.284 mg) 순이었으며, 뿌리추출물이 가장 낮았다 (0.516 mg/assay). 이 때 항산화제로 잘 알려진 vitamin C는 20  $\mu$ g/assay 를 보였다. 그러므로 vitamin C의 약 30% 에 해당하는 항산화 활성이 뿌리 알콜추출물에서 확인된 것이다. 따라서 *in vitro*의 경우 알콜추출물이 열수 추출물보다 항산화활성이 높은 것을 알 수 있었다. 그러나 추출효율로 계산 하면 효율성이 변화하게 되므로 제품 제조시에는 추출효율을 고려하여야 할 것이다.

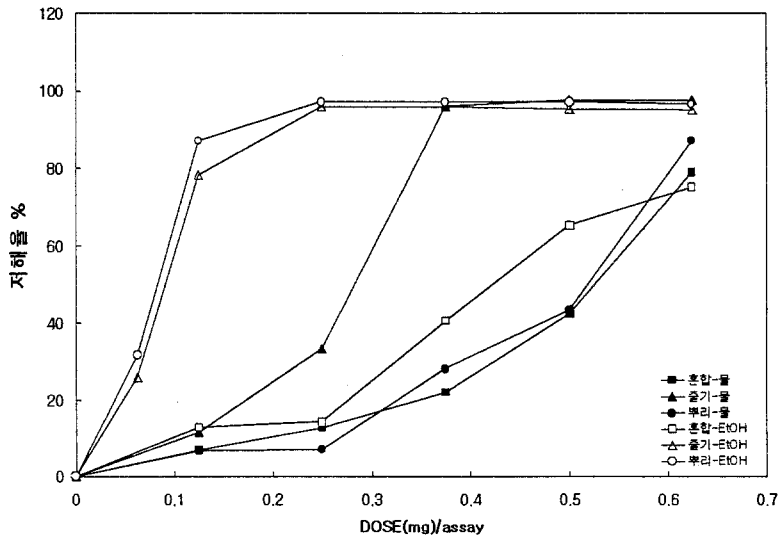


그림 4-20.  $Fe^{2+}$ -ascorbic acid system에서의 가시오갈피추출물의 항산화효과

이러한 결과를 배경으로 하여, 혈액 내에서의 low density lipoprotein (LDL)의 산화는 동맥경화를 발생시키는 주요한 원인으로 보고되어 있으므로, 효력이 우수한 것으로 판명된, 가시오갈피의 뿌리와 줄기의 알콜추출물과 암대극 뿌리 알콜추출물을 시료로 하여 LDL 항산화효과를 측정하였으며, 그 결과는 그림 4-21에 나타내고 있다.

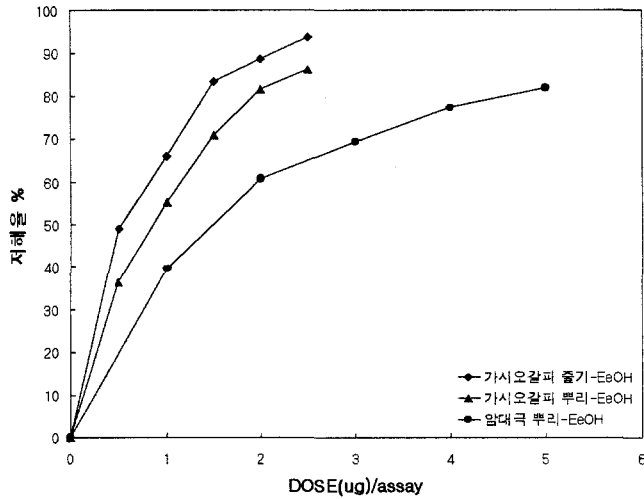


그림 4-21. 추출물의 사람 LDL의 항산화효과

LDL의 항산화효과는 가시오갈피 줄기추출물이 가장 높았으며, 뿌리는 줄기의 약 60% 효과를 나타내었다. 암대극 추출물의 경우 in vitro system에서는 강력한 효력을 발휘하였으나, LSL의 항산화효과는 가시오갈피 줄기의 30% 수준이었다. 이러한 결과로부터 가시오갈피줄기의 알콜추출물은 항산화능력이 매우 뛰어난 것으로 판정되었다.

### (3) Angiotensin Converting Enzyme 및 HMG-CoA reductase 활성저해효과

Angiotensin Converting enzyme은 Angiotensinogen에서 유래하는 Angiotensin I을 angiotensin II로 전환하여 혈관을 수축을 유도한다. 또한 동시에 이 효소는 혈관의 확장을 유도하는 bradykinin을 불활성화시키는 역할을 한다. 그러므로 ACE inhibitor 는 bradykinin 분해를 억제하고,

Angiotensin II의 생합성을 억제함으로써 고혈압을 억제할 수 있다.

그림 4-22는 가시오갈피추출물의 ACE 저해효과를 나타낸 것이다. 보는 바와 같이 저해율은 줄기-열수추출물(0.4 mg/assay) > 줄기-알콜추출물(0.5mg/assay) 순으로 높았으며, 뿌리추출물이 가장 낮았다. 이러한 효과는 항산화효과에서 관찰되는 결과와 유사하다.

한편 HMG-CoA reductase 활성저해정도는 가시오갈피보다 암대극이 높았으며, 가시오갈피의 뿌리보다는 줄기가 강하였다. Assay 당 추출물을 100  $\mu$ g 첨가시 각각 65% (줄기), 33% (뿌리)였으며, 암대극추출물은 100%가까운 저해도를 나타내었다.

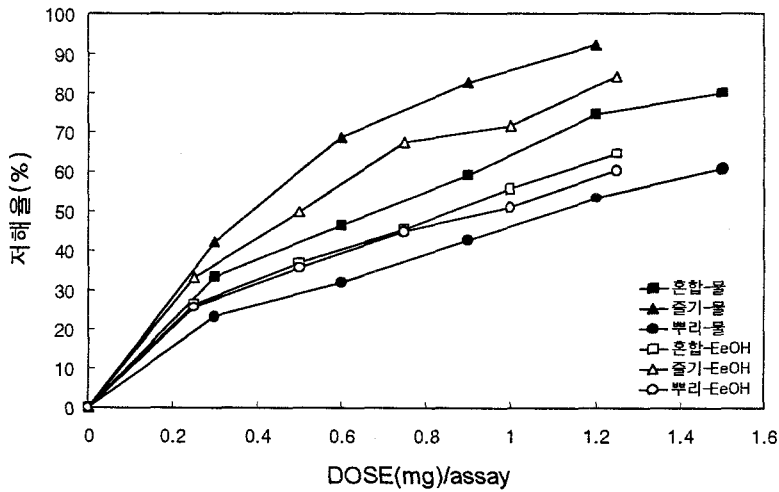


그림 4-22. 가시오갈피추출물의 ACE 효소활성저해효과

(5) 추출물의 투여효과

실험기간동안 체중상승은 암대극 투여군을 제외하고 비슷하였다. 그러나 암대극 추출물 투여군은 현저한 체중증가의 감소를 나타내었다. 이는 현저

한 식이섭취량의 감소에도 기인되는 듯하였다. 간장 무게(/100 body weight) 는 콜레스테롤투여에 의해 현저하게 증가하였으나, 암대극 추출물은 현저하게 상대적인 간장무게의 증가를 가져왔다(표 4-17).

표 4-17. Mice의 체중 및 사료섭취량

Group	Initial body weight (g)	Weight gain (g/25day)	Feed intake (g/day)	Liver weight (g/100g B.W)
Basal	30.2±0.38	36.3±0.98	22.1±1.38	5.0±0.49
CON	30.1±0.36	34.9±0.80	21.0±1.33	6.8±0.20
A. Stems	30.7±0.71	34.3±0.98	20.7±1.65	6.9±0.42
A. Roots	28.7±0.62	34.9±0.57	21.3±0.69	6.6±0.21
E. Roots	30.0±0.72	24.2±0.84	11.9±1.60	7.9±0.10

Mean±S.E of 6 mouse

본 실험에서는 group당 6마리로 실험을 시작하였으나, 실험기간에 암대극군의 두 마리가 죽었다. 죽은 이유는 확실히 알 수 없으나, 현저한 체중증가와 섭취감소에도 관련되는 듯하였다. 따라서 암대극 추출물은 일단 동일한 농도에서 독성을 갖는 것으로 판단되었다. 일반적으로 대극과는 독성이 높은 것으로 알려져 있으며, 일부 성분은 강력한 발암제로 알려져 있어 이에 대한 신중한 검토가 요구되어진다.

표 4-18은 혈청의 GPT 및 GOT 효소활성을 보여주고 있다. 혈청중 이 효소는 간조직의 손상에 따라 유출되어 그 활성이 증가하는 것으로 보는 바와 같이 효소활성에 구간 차이 특히 암대극 추출물의 경우 control군과 큰

차이는 없었다. 그러나 가시오갈피 뿌리추출물은 GPT효소활성을 현저하게 감소시키고 있어 간장보호효과가 인정된다. 한편, 암대극 추출물 투여시 GPT 및 GOT 활성은 Basal 군보다도 낮은 활성을 보였다. 이는 부분적으로 간장에서의 효소유출의 감소에도 기인될 것으로 보여지나, 근원적으로 효소의 불활성에 또는 생성억제에 의한 낮은 활성을 보일 수 있는 것으로 생각된다. 그러므로 암대극은 간장대사에 심각한 영향을 주고 있음을 알 수 있었다.

표 4-18. Mice의 혈청 GOT 및 GPT의 활성

Group	GOT (Karmen)	GPT (Karmen)
Basal	101.7± 5.10	60.7±11.06
CON	113.8±10.24	86.3±10.19 <sup>b</sup>
A.-Stems	118.7±10.84	76.7± 9.93 <sup>ab</sup>
A.-Roots	101.1± 5.79	57.5± 7.71 <sup>a</sup>
Er-Roots	97.5±15.78	51.5±13.94 <sup>a</sup>

Mean ± SE of six mice.

<sup>ab</sup>Significant differences at P<0.05

표 4-19는 추출물투여시 혈청지질농도 및 글루코스농도를 나타낸 것이다. 보는바와 같이 혈청콜레스테롤농도는 가시오갈피투여에 의해 유의한 차이를 보이고 있지 않았다. 반면 암대극추출물은 현저한 혈청콜레스테롤농도를 감소시켰다. 이와 같은 경향은 중성지질농도에서도 유사하게 나타났다. 반면 글루코스농도는 가시오갈피 줄기추출물에 의해 현저하게 감소하는 결과를 보여, 같은 가시오갈피라 하더라도 그 부위에 따라 효능이 달라짐을 알 수

있었다. 이러한 결과로부터 가시오갈피추출물은 혈청지질농도보다는 혈당조절을 위한 기능성소재가 될 수 있음을 잘 시사하고 있다. 나아가 이미 보고된 송 등의 연구결과와 일치하고 있음을 알 수 있었다.

표 4-19. Mice의 혈청지질 및 글루코스농도 (mg/dl serum)

Groups	Total cholesterol	Triacylglycerol	Glucose
Basal	180 ± 9.0	83.7 ± 8.27	243 ± 48.2
Control	192 ± 9.9	77.0 ± 12.4	249 ± 30.4
A-Stems	229 ± 25.8	67.1 ± 14.0	125 ± 24.8
A-Roots	184 ± 6.8	50.0 ± 5.80	219 ± 37.1
Er-Roots	152 ± 11.4	37.9 ± 4.69	183 ± 29.7

Mean ± SE of six mice.

<sup>ab</sup>Significant differences at P<0.05

표 4-20은 추출물투여시 간장지질농도를 보여주고 있다. 간장콜레스테롤농도는 콜레스테롤투여에 의해 현저하게 상승하였다. 가시오갈피의 줄기추출물은 콜레스테롤투여에 의한 간장콜레스테롤농도의 상승을 현저하게 억제하는 효과를 보였으나, 뿌리추출물은 어떠한 영향도 미치지 못하였다. 이는 암대극추출물의 경우도 비슷한 결과를 보이고 있다. 한편, 중성지질농도에 있어서 암대극추출물은 간장중성지질농도를 현저하게 감소시키는 효과를 보였다.



표 4-20. Mice의 간장지질농도 (mg/g liver)

Groups	Cholesterol	Triacylglycerol
Basal	2.15±0.42	15.0±6.44
Control	61.4±2.13	31.2±2.97
A-Stems	54.5±2.42	23.2±4.04
A-Roots	66.9±4.67	35.7±3.63
Er-Roots	60.5±4.80	13.2±2.55

Mean ± SE of six mice.

<sup>ab</sup>Significant differences at P<0.05

표 4-21은 추출물투여시 간장 및 혈청의 과산화지질농도를 나타내고 있다. 가시오갈피의 줄기추출물이 효과적으로 간장과산화지질농도를 감소시키고 있다. 혈청과산화지질의 대부분은 간장으로부터 유래하는 것으로 알려져 있으며, 이러한 경우 간장과산화지질의 감소는 궁극적으로 혈청과산화지질농도의 감소를 유도할 것으로 예상된다.

표 4-21. Mice의 간장 및 혈청의 과산화지질농도

Groups	Serum(nmol/ml)	Liver (nmol/g)
Basal	7.2±0.30	218± 9.6
Control	6.3±0.30	205±10.7
A-Stems	6.6±0.47	181± 9.8
A-Roots	6.1±0.36	200± 6.5
Er-Roots	5.2±0.18	201± 6.2

Mean  $\pm$  SE of six mice.

<sup>ab</sup>Significant differences at  $P < 0.05$

## 5. 5차년도 : 가시오갈피의 대량공급 및 기능성 음료의 개발

### 가. 가시오갈피의 기능성 음료 개발

가시오갈피의 줄기에 대한 예비성분분석을 통해 기능성 차류 또는 음료로의 가공 가능성이 매우 높은 것으로 판명되었다. 따라서 가시오갈피 줄기에 대한 유기용매 추출물과 온수추출물의 성분 및 기능성, 그리고 생리활성 검정을 통한 독성물질의 검출여부 등을 연구하여 왔다. 본 연구에서는 지금까지 기능이 검정된 자원을 이용하여 다수의 국민이 특정한 목적의 건강을 유지하도록 쉽게 이용할 수 있도록 가능한 식품을 만들고자 하였다. 특히 가시오갈피는 식품재료로 활용할 수 있도록 이미 보건복지부에서 허가되어 있어 즉시 활용할 수 있는 장점을 갖고 있다. 본 연구에서는 실험적으로 음료수로서 그 추출물을 이용하고자 하였다.

또한 가시오갈피의 추출물을 음료수뿐만 아니라, 캔디 및 껌의 제조에도 이용하여 이에 대한 관능검사 및 free radical 소거능력을 검토하였다.

우선 기능성 음료 등 상품화에 관한 결과를 정리하면 다음과 같다.

#### (1) 재료 및 방법

##### ○ 음료 제조 공정

가시오갈피 음료를 제조하기 위하여 표 4-22에 나타난 성분배합비율에 따라 혼합하여 조제하였다. 혼합후 약 90℃에서 30분간 멸균 한 다음 병에 충전하였다.

표 4-22. 가시오갈피음료의 배합비율

원 재 료 명	유자맛 (%)	모과맛 (%)	박카스맛 (%)
액상과당	6.000	6.000	6.000
올리고당	3.000	3.000	3.000
정백당	3.000	3.000	3.000
사과농축액(72 Brix)	1.389	1.389	1.389
무수구연산	0.300	0.300	0.300
스테비오사이드	1.389	1.389	1.389
비타민 C	0.300	0.300	0.300
글루타민산나트륨	0.010	0.010	0.010
알라닌	0.150	0.150	0.150
비타민 B <sub>2</sub> 염산염	0.010	0.010	0.010
안식향산나트륨	0.002	0.002	0.002
구연산나트륨	0.050	0.050	0.050
가시오갈피 물추출물 (동결건조물)	0.300	0.300	0.300
Lemon ess(유자)1148	0.050		
모과향 20380		0.080	
DRINK-FL. 98416			0.100
합 계 (첨가수 제외)	15.95	15.98	16.00

○ 캔디제조공정

표 4-23은 가시오갈피를 이용한 캔디제조시의 원료합량비율을 보이고 있다. 제품생산은 해태제과에서 생산하는 상법에 따라 제조하였다.

표 4-23. 캔디의 원료배합비율

원 재료 명	허브류 (%)	계피캔디 (%)	비 고
설탕	50.492	49.70	
물엿	48.472	49.70	
계피향	-	0.30	
백년초 농축액	0.208		
맥아엑기스	0.189		
허브엑기스	0.151		
유카민트	0.128		
블루베리향	0.110		
페파민트향	0.091		
멘톨	0.064		
크란베리향	0.055		
마운틴플랜트향	0.037		
식용색소 적색2호	0.002	색소미첨가	
식용색소 적색40호	0.002		
가시오갈피 추출물 (동결건조)	0.300	0.30	대조구/0.1/0.3/0.5%
합 계	100.00	100.00	

○ 껌제조공정

가시오갈피 함유껌은 기본향을 해태제과생산품의 은단껌을 하였다. 본 제품에 대하여 추출물을 0~0.3%까지 첨가한 후 표 4-24와 같은 원료배합비율로 하여 제품을 생산하였다. 본 제품에 대한 항산화억제능력은 실험하지 못했다. 그 이유로서는 껌 베이스로부터 추출물을 용해하는 것이 어렵기 때문이었다.

표 4-24. 가시오갈피검의 원료배합비율

원 재료 명	배 합 비 (%)	비 고
검 베이스	25.60	
설탕	45.58	
함수결정포도당	21.00	
자일리톨	2.10	
솔피톨	1.10	
물엿	2.10	
인삼정	0.21	
멘톨	0.55	
은단향	0.86	
페파민트향	0.60	
가시오갈피 물추출물(동결건조)	0.30	대조구/0.1%/0.2%/0.3%
합 계	100.00	

○ 관능 검사

제조된 제품에 대하여 숙련된 15명의 pannel을 통하여 관능 검사를 hedonic scale로 행하였다.

○ Free radical 소거능력

Free radical 소거실험은 DPPH를 이용하여 측정하였다. 0.035% DPPH 0.1 ml에 sample를 첨가하고 methanol로 1.0 ml 되게 채운다. 균일하게 혼합하여 실온에서 10분간 방치한 후 517nm에서 methanol을 대조로 하여 흡광도를 측정하였다

○ Acetaldehyde dehydrogenase 활성측정

SD rats (7주령)의 간장을 취해 상법에 따라 간장을 취하여 homogenize를 한 후 초원심분리를 통하여 cytosol을 얻었다. 얻어진 cytosol에 대하여 propionyl aldehyde를 기질로 하여 340nm에서 생성되는 NADH량을 측정하였다. aldehyde 한분자가 acetate로 전환할 때 한분자의 NADH가 생성되어진다. 추출물은 물에 녹여 사용하였다.

## (2) 결 과

### (가) 관능검사

#### ○ 가시오갈피 음료

표 4-25는 각 제품에 대한 기호도 결과를 보이고 있으며, 종합적으로 유자향을 base로 한 음료의 기호성이 높았으며, 모과향, 박카스향의 순으로 나타났다. 추출물의 함량은 0.3%에서 가장 높은 선호도를 보여 주었다.

표 4-25. 가시오갈피 음료의 관능검사결과

Sample	단 맛	신 맛	청량감	향	기호도
유자맛	8.50	8.50	8.42	9.85	9.21
모과맛	7.14	7.43	7.36	7.71	7.64
박카스맛	7.00	6.79	6.71	7.07	7.00

#### ○ 캔디

종합적으로 허브향의 선호도가 높았으며, 허브향을 base로 하여 가시오갈피 추출물의 첨가량을 조절하여 선호도 조사를 하였다. 가시오갈피 첨가량은 0.1~0.3%로 하였다. 표 4-26은 허브 base의 가시오갈피 추출물첨가 캔디의 선호도를 보이고 있으며, 전체적으로 0.1% 첨가시 좋은 선호도를 나타냈다.

표 4-26. 가시오갈피캔디의 관능검사결과

첨가량(%)	선호도	단맛	청량감	이미이취
0.1	3.6	3.2	3.8	3.5
0.2	3.5	3.3	3.7	3.3
0.3	2.5	3.2	3.4	2.4

○ 껌

종합적으로 가시오갈피 추출물의 첨가량을 조절하여 선호도 조사를 하였다. 가시오갈피 첨가량은 0.1~0.3%로 하였다. 표 4-27은 인단향을 기본향으로 하여 가시오갈피 추출물첨가 껌의 선호도를 보이고 있으며, 전체적으로 0.1% 첨가시 좋은 선호도를 나타냈다. 이러한 결과로부터 최종제품은 0.1%의 가시오갈피 추출물을 함유한 껌을 제조하였다.

표 4-27. 가시오갈피 껌의 관능검사결과

첨가량 (%)	선호도	조적감	이물감	씹는 촉감
0.1	3.0	3.2	3.8	3.5
0.2	3.1	3.3	3.7	3.5
0.3	2.5	3.0	2.5	2.8

(나) Free radical 소거능력

○ 가시오갈피음료

그림 4-23은 이들 3가지 제품이 나타내는 항산화억제능력을 나타낸 것이다. 각 제품간 나타나는 항산화억제능력의 차이는 가시오갈피 이외의 성분에 의해 발현되는 것으로 확인되었다. 그러나 본 실험에서 항산화능력은 유자향

에서 낮게 나타나나, 기호도를 고려하여 관능검사에서 우수한 점수를 보인 유자향으로 제품을 만들었다.

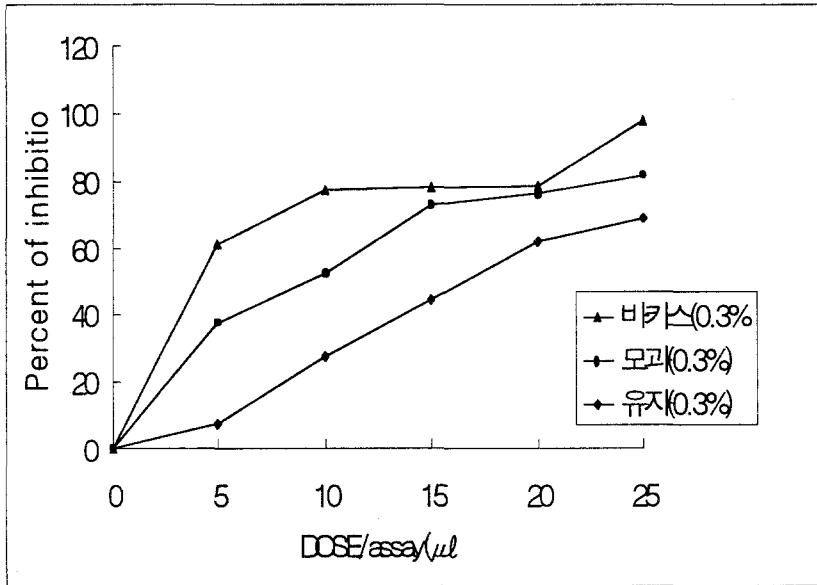


그림 4-23. 가시오갈피음료의 항산화억제능력

그림 4-24는 모과향을 갖는 음료에서 가시오갈피가 함유시와 비함유시 항산화억제능력의 차이를 보이고 있으며, 가시오갈피 추출물에 의해 그 능력이 향상됨을 알 수 있었다. 이들 음료의 50% 항산화억제능력은 박카스향 4.0 μl, 모과향 9.2 μl, 유자향 16.5 μl로 나타났다. 이들 음료의 전반적인 생리적 기능에 대해서는 더욱 연구되어야 할 것이다.



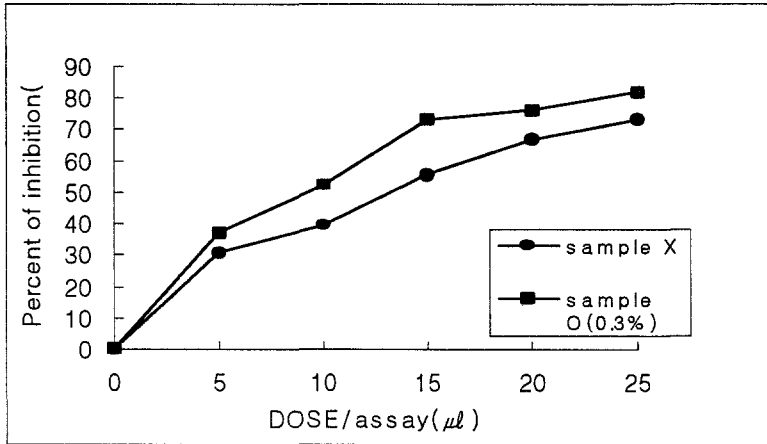


그림 4-24. 모과향의 가시오갈피 음료의 항산화능력

○ 캔디

캔디제품에 대하여 항산화억제능력을 측정하였다. 항산화능력은 계피향보다 허브향을 갖는 캔디가 우수한 능력을 나타냈다. 그림 4-25는 가시오갈피 추출물을 함유한 캔디의 항산화억제능력을 잘 보여주고 있다.

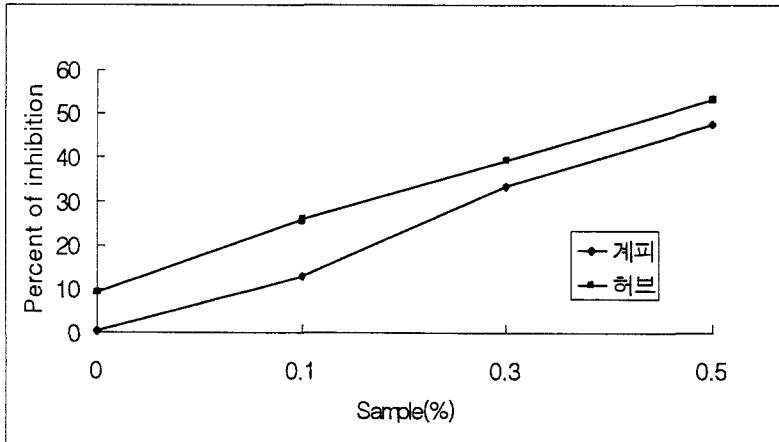


그림 4-25. 가시오갈피캔디의 항산화억제능력

(다) 알콜분해효소의 활성화에 미치는 추출물의 효과

실험초기에 시제품이 만들어지는 단계에서, 물추출물을 가시오갈피 물추출물이 알콜대사에 미치는 효과를 in vitro 상에서 aldehyde dehydrogenase 활성화에 미치는 효과를 검토하였다. 에탄올은 간장에서  $\text{NAD}^+$  조효소의 도움으로 alcohol dehydrogenase(ADH) 에 의해 acetaldehyde 로 전환되며, acetaldehyde 는  $\text{NAD}^+$  조효소와 aldehyde dehydrogenase 에 의해 acetic acid 로 전환되어 citric acid cycle로 들어간다. 알콜은 이대사계에 의해 섭취한 알콜의 약 90%이상을 분해시키는 것으로 알려져 있다. 알콜분해의 율속단계는 alcohol dehydrogenase로 알려져 있다.

한편, 음주후 나타나는 얼굴의 붉어짐, 숙취의 원인은 acetaldehyde로 알려져 있으며, 알콜의 독성은 주로 acetaldehyde에 기인된다. 그러므로 빠른 시간내에 acetaldehyde 체내로부터 제거하는 방법으로 aldehyde dehydrogenase(ALDH) 활성화를 기대할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 실제로 시제품생산에 이용되는 물추출물을 이용하여 acetaldehyde dehydrogenase의 활성화를 측정하였으며 그 결과는 표 8 에 나타내고 있다.

표 4-28에서 보는 바와 같이 추출물은 ALDH의 효소활성을 in vitro에서 활성화시킴으로서 가시오갈피추출물은 술에 의한 숙취제거제로서 그 가능성이 확인되었다. 특히, ALDH의 활성화에는 뿌리의 효과가 높음을 알 수 있었다.

표 4-28. 흰쥐간장의 aldehyde dehydrogenase 활성에 미치는 가시오갈피추출물의 효과

Samples	Amounts (mg/assay)	Relative activities (%)
Control	-	100
Roots	0.05	121
	0.10	152
	0.25	193
	0.50	216
Stems	0.05	152
	0.10	152
	0.50	140
Mixed	0.05	142
	0.10	132
	0.50	115

#### 나. 가시오갈피의 증식체계 확립

또한 가시오갈피의 증식체계를 확립하기 위하여 삼척군과 임계면에서 제 공받은 삼목 번식묘와 분근 번식묘를 가지고 성장 특성을 파악하여 효율적인 번식 방법을 파악하였다. 그리고 가시오갈피의 약제 및 건강음료 개발을 위하여 자생지인 강원도의 오대산, 삼척군 대덕산, 태백시 검룡소, 정선군 노곡면, 홍천군 강원대학교 연습림지역에서 총 15회에 걸쳐 생육 환경 조사와 줄기, 뿌리 및 종자 수집을 실시하였다. 이들의 대량증식체계 확립을 위해 줄기삽목을 시기별로 수행하여 증식 가능성을 파악하였다. 그러나 종자는 결실율이 매우 저조하여 종자를 다량 확보하는 것이 어려울 뿐만 아니라, 발아기간이 2년 이상 걸리므로 가시오갈피의 증식은 삼목에 의하는 것이 바람직한 것으로 판명되었다.

한편, 가시오갈피의 증식체계 확립에 관한 연구 결과를 정리하면 다음과 같다.

#### (1) 가시오갈피의 생육환경

가시오갈피는 해발 1000m 전후의 고산지역에 주로 분포하는 것으로 나타났다. 분포하는 사면은 계곡부의 북동사면에 출현하는 것으로 나타났다. 또한 상대조도는 29-50%로 약간 피음되는 곳에 자생하는 것으로 밝혀졌다. 또한 식생구조를 살펴보면, 상층식생으로는 층층나무, 물황철나무, 음나무 등이 주로 분포하며, 아교목층과 관목층에는 물푸레나무, 함박꽃나무, 참회나무, 물참대, 명자순 그리고 하층식생으로는 도깨비부채, 십자고사리, 관중, 뱀고사리 등이 주로 분포하는 곳으로 다소 습하며, 부식질이 풍부한 토양을 선호하는 것으로 나타났다. 따라서 가시오갈피의 대량증식을 위해서는 습도 관리가 매우 중요하며 적습한 토양에서 관리되어야 한다고 사료된다.

#### (2) 대상식물의 대량증식

본 연구 대상식물들의 자생지인 삼척군 하장면, 삼척군 청옥산, 대덕산, 태백시 검룡소 및 정선군 노곡면 재배농가, 평창군 발왕산, 강릉시 만덕봉, 양양군 설악산, 홍천군 오대산, 홍천군 북방면, 인제군 향로봉 등으로부터 가시오갈피의 종자, 뿌리, 녹지, 숙지 등을 수집하여 대량생산을 위한 증식법의 연구를 수행하고 있다.

삼척군과 임계면에서 제공받은 삼목번식묘와 분근번식묘로 성장 특성을 파악하여 효율적인 번식 방법을 파악하였다. 4차년도인 1999년 10월 3일, 5차년도인 2000년 10월 14일에 걸쳐 숙지삽을 실시하였다. 각각 IAA, Kinetin, IBA, NAA 및 루틴 등의 성장조절물질을 농도를 다르게 처리하여 삼목에 의한 대량증식방법을 규명하기 위하여 모래, 인공 상토에서 각각 발근율을 조사하였으며, 동아를 채취하여 조직배양에 의한 증식법을 수행중에

있다. 또한 종자번식은 약 2년에 걸쳐 발아하는 특성을 갖고 있으므로 지난해 수집한 약간의 종자는 아직 결과를 파악할 수 없었으며, 금년도 9월 하순부터 10월 초순에 걸쳐 자생지로부터 종자수집을 실시하였으나 화기의 집중강우로 인한 종자결실이 불량하여 종자 채취가 불가능하였다.

(가) 번식 방법에 따른 묘목의 성장특성

○ 번식방법

삽목번식(사진 4-5) : 1999년 여름에 강원도 삼척시 노곡면 중마읍리 농가에 서 삽목번식한 것을 2000년 3월 4일 제공받아 익일에 묘포에 이식하여 사용.

분근번식(사진 4-6) : 1999년에 강원도 정선군 임계면 재배농가에서 분근번식한 것을 2000년 3월 25일에 제공받아 익일에 묘포에 이식하여 사용.

차광율 70%의 차광막을 설치하고 봄, 가을에는 1일 1회 여름에는 1일 2-3회 관수하였다. 6월 6일부터 10월 23일까지 2주에 한번씩 신장성장, 복엽수, 엽병, 엽신 및 엽폭(그림 4-26)의 길이를 조사하여 성장량을 파악하였다. 잎은 동일한 잎을 측정하였으며, 잎이 떨어진 경우는 유사한 크기와 모양의 잎을 조사하였다.

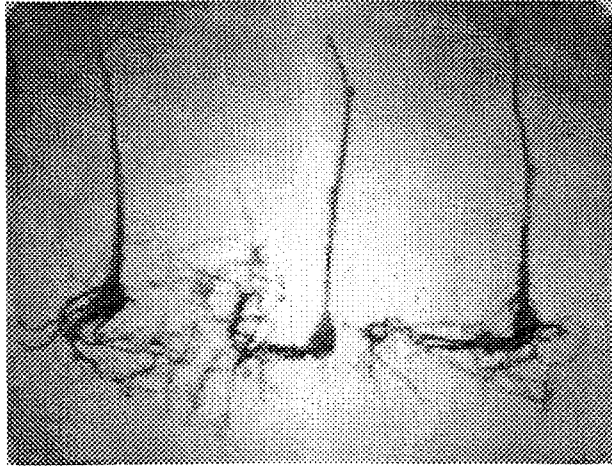


사진 4-5. 삼목번식한 개체

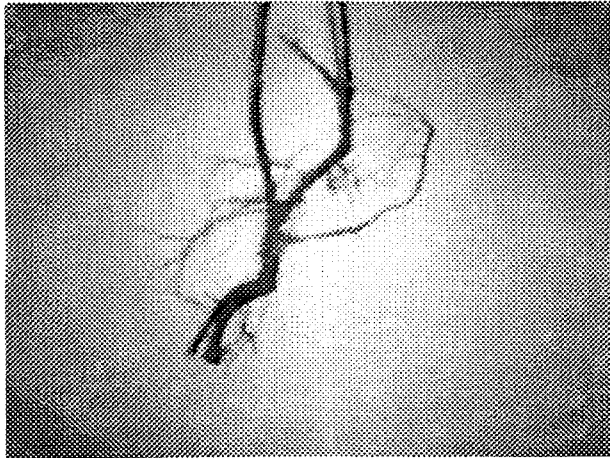


사진 4-6. 분근번식한 개체

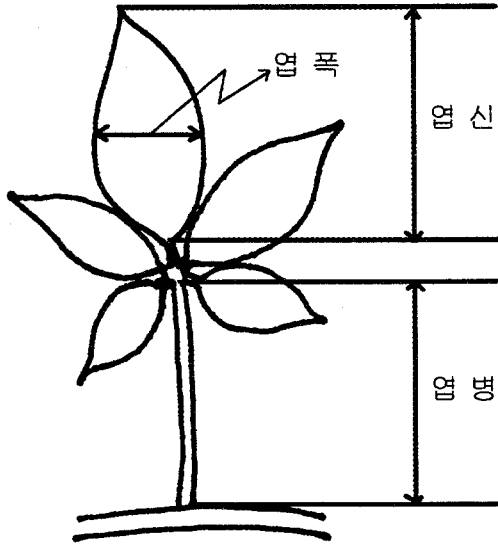


그림 4-26. 가시오갈피 잎의 조사부

(나) 번식 방법에 따른 묘목의 성장특성 조사 결과

○ 신장 성장

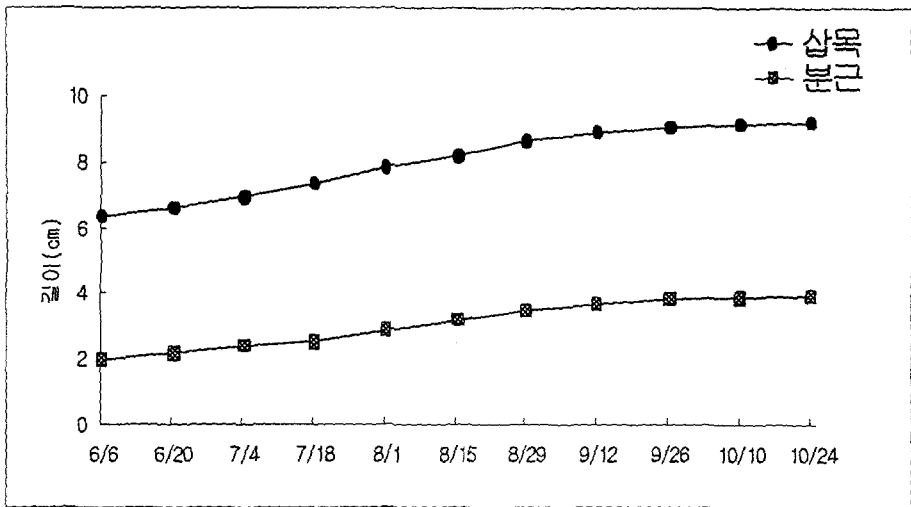


그림 4-27. 신장 성장

○ 복엽수의 변화

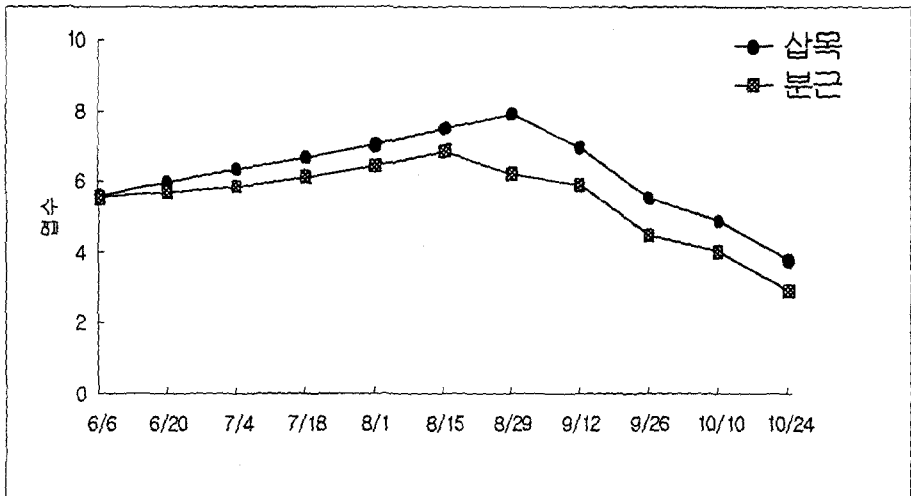


그림 4-28. 복엽수의 변화



○ 엽병의 성장

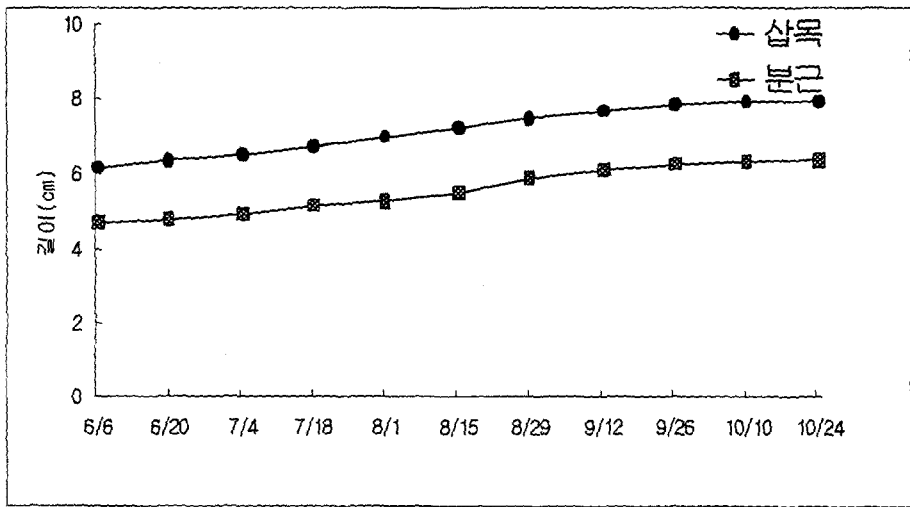


그림 4-29. 엽병의 성장

○ 엽신의 성장

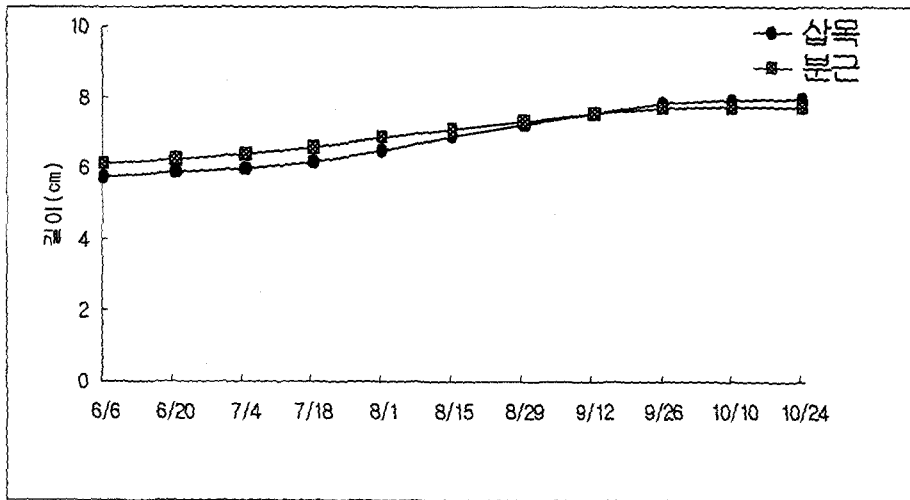


그림 4-30. 엽신의 성장

○ 엽폭의 성장

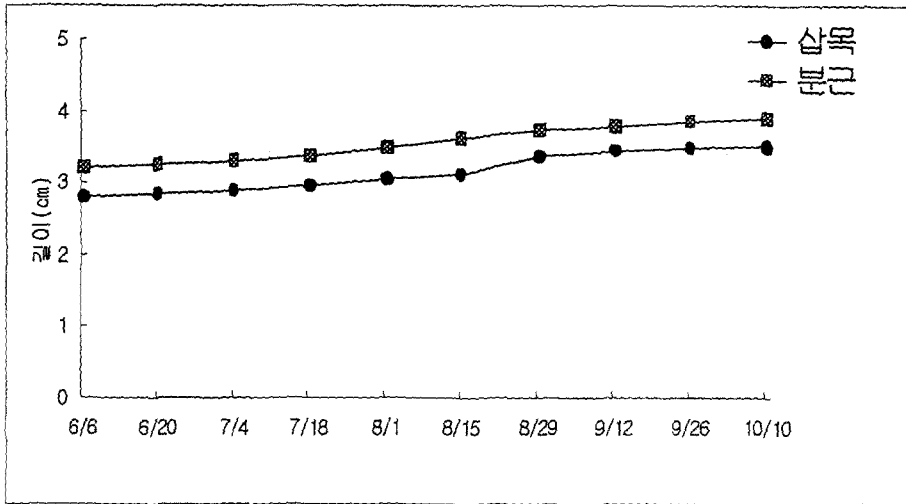


그림 4-31. 엽폭의 성장

엽폭을 제외한 신장 성장, 엽수, 엽병 및 엽신에서 삼목묘의 성장이 분근묘 보다 높게 나타났고, 특히 1년간의 신장성장에서 삼목묘(9.19cm)가 분근묘(3.91cm)보다 높은 성장을 보였다. 이는 삼목묘가 분근묘에 비해 세근이 왕성하게 발달되어 수분흡수 및 양분흡수에 유리하여 작용한 것으로 사료된다. 그림 과 은 삼목묘와 분근묘의 세근의 발달을 보여주고있다. 따라서 성공적 무성번식을 위해서는 분근묘보다는 성장이 우수한 삼목묘를 활용하는 것이 유리할 것으로 사료된다.

(다) 줄기삼목

○ 秋期 숙지삽 : 1999년 10월 3일에 강원도 삼척시 노곡면 중마읍리 재배농가에서 제공받은 시료를 10월 4일에 삼목하여 현재 실시중이다. 성장조절물질 처리는 IAA, IBA, Kinetin, NAA와 루톤을 사용하였으며, 농도는

500, 1000, 2000mg/l에 침적하여 사용하였다. 침적시간은 500mg/l가 20초, 1000, 2000mg/l에는 10초간 침적하였다. 삽수는 액아를 1-2개씩 포함하도록 조제하였으며, 엽은 엽병 하단부에서 1.5cm부위를 남기고 절단하였다. 처리구당 삽수의 수는 10개씩 3반복으로 총 420개를 사용하였다. 관수는 1일 1회 실시하고 있다.

○ 春期 숙지삽 : 2000년 3월 5일에 강원도 삼척시 노곡면 중마읍리의 재배농가에서 제공받은 삽수를 시료로, 동년 3월 5일에 삽목하였다. 생장조절물질 처리는 IBA, Kinetin을 사용하였으며, 농도는 IBA는 300, 500, 1000, 2000, 3000mg/l, Kinetin은 1000, 2000, 3000mg/l에 침적하여 사용하였다. 침적시간은 300, 500mg/l가 20초, 1000, 2000, 3000mg/l에는 5초간 침적하였다. 삽수는 액아를 1-2개 포함하도록 조제하였으며, 각 처리구에 10개씩 3반복으로 30개씩 총 240개를 모래상에 삽목하였다. 관수는 1일 1회 실시하였다. 성적조사 후에 임내(잣나무림)에 이식하여 성장특성을 조사할 예정이다.

○ 秋期 반숙지삽 : 2000년 10월 14일에 강원도 삼척시 노곡면 중마읍리 재배농가에서 제공받은 시료를 10월 14일에 삽목하여 현재 실시중이다. 생장조절물질 처리는 IBA만을 사용하였으며, 농도는 100, 200, 300, 500, 1000, 2000, 3000mg/l에 침적하여 사용하였다. 침적시간은 100, 200, 300, 500mg/l가 60초, 1000, 2000, 3000mg/l에는 5초간 침적하였다. 삽수는 액아를 1-2개씩 포함하도록 조제하였으며, 처리구당 삽수의 수는 20개씩 3반복으로 총 480개를 모래상(모래 : 펄라이트 = 1 : 1)에 삽목하였다. 관수는 1일 1회 실시하고 있다. 또한, 비닐포트를 만들어 포트 하단부 1/2은 상토\*와 보습효과를 높이기 위한 펄라이트를 1 : 1의 비율로 섞어 채우고 나머지 상단부 1/2

은 모래로 채워 각 10개씩 3반복 총 240개를 삼목하였다. 성장조절물질과 농도 및 조제는 모래상과 같은 방법으로 하였다. 성적조사는 2001년 1월 14일 실시할 예정이다.

(\* 상토 - 바이오상토 + TKS-2 상토 + 펄라이트 = 1 : 1 : 1)

<바이오 상토>

- 주재료: 피트모스, 코코피트, 제올라이트 #1, 질석 #1 첨가제
- 이화학성: pH 5.5-6.5, EC(ms/cm):  $0.9 \pm 0.5$ (1.5, v/v)
- 특성 : 유기물 원료, 피트모스와 코코피트를 혼합 사용함으로 완충력이 높다.

양분을 잡을 수 있는 능력(NHC)을 높여 영양분 용탈을 최소화.

육묘 중반까지 작물에게 필요한 영양소가 풍부.

<TKS-2(원예용 상토) 상토>

- 특징 : 염선된 화이트 피트를 사용.  
보수성, 발근력, 통기성이 우수.  
특수가공으로 살균, 살충이 되어있어 별도의 토양소독이 필요 없다.
- 성적 분석표

N	330mg/L
P	220mg/L
K	400mg/L
pH	5.5-6.5
용적비 염류용도	1.9g/L

줄기삽에 대한 성적조사는 발근율, 발근한 삽수의 개수, 근장을 조사하였

다. 발근율은 전체 개체수에 대한 발근된 삽수의 개체수로 계산하였다.

(라) 줄기 삽목결과

○ 추기 숙지삽

표 4-29. 추기 숙지삽의 발근율

생장조절물질 (mg/l)	삽수의 갯수	발근한 삽수의 개수	근장(cm)	발근율(%)
IAA 500	30	1	0.2	3.3
IAA 1000	30	-	-	
IAA 2000	30	1	1.1	3.3
IBA 500	30	6	2.4	20.0
IBA 1000	30	5	1.0	16.7
IBA 2000	30	5	1.3	16.7
Kinetin 500	30	1	6.0	3.3
Kinetin 1000	30	-	-	
Kinetin 2000	30	-	-	
NAA 500	30	3	1.7	10.0
NAA 1000	30	1	4.7	3.3
NAA 2000	30	2	2.7	6.7
루 톤	30	3	3.0	10.0
무처리	30	-	-	
계	420	28	2.8	6.7

○ 春期숙지삽

표 4-30. 춘기 숙지삽의 발근율

생장조절물질 (mg/l)	삽수의 갯수	발근한 삽수의 갯수	근장(cm)	발근율(%)
무처리	30	6	2.7	20
IBA 300	30	18	4.3	60
IBA 500	30	16	6.0	53
IBA 1000	30	14	6.2	47
IBA 2000	30	8	3.6	27
IBA 3000	30	13	3.0	43
kinetin 1000	30	15	2.8	50
kinetin 2000	30	5	3.4	17
kinetin 3000	30	2	1.5	7
계	270	97	3.7	36

○ 秋期숙지삽

가시오갈피의 삽목 시기별로는 春期 숙지삽이 평균 36.0%로 비교적 높았으며, 성장조절물질별로는 春期 숙지삽의 IBA 300mg/l, IBA 500mg/l 가 각각 60.0%, 53.0%로 높게 나타났다. 이로서 저농도의 IBA의 사용이 효과적으로 나타났다. 가시오갈피의 낮은 발근율은 가시오갈피의 줄기 구조중에서 髓(pith)가 차지하는 비율이 높아 삽목기간 동안의 수분손실과 부패에 약한 것에서 기인하는 것으로 사료된다. 이를 해결할 방법으로는 삽수의 절단 부위에 도포제(본 실험은 톱실피스트를 사용)를 발라주어 가시오갈피 줄기의 높은 수(髓, pith)의 비율로 인한 수분 손실과 부패를 방지하고 발근율을 높이는 방법이 있으나 도포제가 관수시 점차 물에 용해되어 없어지므로 2-3번의 도포를 더 시행하여야한다.

(마) 임간 재배 기초 연구

2000년 3월 춘기 삼목에서 발근된 줄기 삼목묘를 모래 : 펄라이트 : 피트모스 = 1 : 1 : 1로 조합된 상토의 포트에 심어 약 45일 간 70% 차광된 비음하에서 적응시킨 후 잣나무림 내에 2000년 7월 22일 식재 하였다(사진 4-7). 50~70본으로 나누어진 2집단에서 8월 22일 조사하여 평균 57%의 생존율을 확인하였다. 이것은 하기 한여름에 식재하여 얻은 활착율로 시기를 바꾸어 춘기나 추기에 임지에 낸다면 더 높은 활착율을 얻을 수 있음을 시사한다. 2000년 10월 잎이 지기 전의 확인한 활착율도 8월 22일 보다 각 3%와 5% 낮아졌다. 신초의 성장은 묘포의 성장시험보다 열등하였으나, 대상지가 자생지와 유사한 조건(습하고 비옥하나 돌이 많음)이므로 2001년부터는 정상적인 성장이 이루어질 것으로 기대된다. 따라서 춘기와 추기에 삼목묘에 의한 1년 내내의 번식이 가능하며 성장 상태에 따라 춘기~추기까지 임내 이식이 가능할 것으로 사료된다. 그러나, 기간이 짧아 잣나무 임내에서의 성장과 산지 현지에서의 성장을 비교할 수 없어 아쉽다.





사진 4-7. 임내에 이식된 가시오갈피

이상의 결과를 종합하면 다음과 같다.

삼목묘와 분근묘의 성장 특성을 조사한 결과 엽폭을 제외한 신장 성장, 엽수, 엽병 및 엽신에서 삼목묘의 성장이 분근묘 보다 높게 나타났고, 특히 1년간의 신장성장에서 삼목묘(9.19cm)가 분근묘(3.91cm)보다 높은 성장을 보였다. 이는 삼목묘가 분근묘에 비해 세근이 왕성하게 발달되어 수분흡수 및 양분흡수에 유리하여 작용한 것으로 사료된다. 따라서 성공적 무성번식을 위해서는 분근묘보다는 성장이 우수한 삼목묘를 활용하는 것이 유리할 것으로 사료된다.

가시오갈피의 줄기 삼목은 春期 숙지삼이 평균 36.0%로 비교적 높았으며, 성장조절물질별로는 春期 숙지삼의 IBA 300mg/l, IBA 500mg/l 가 각각 60.0%, 53.0%로 높게 나타났다. 이로서 저농도의 IBA의 사용이 효과적으로 나타났다.

춘기 숙지삼에서 발근한 묘목을 70% 차광하에서 포트묘로 45일간 성장시



킨 후 7월 하순에 잣나무 임내에 이식하여 1개월 후 약 57%의 개체가 생존하였고, 2개월 후에도 유사한 수의 개체가 생존하였다. 이와 같이 풋트묘로 성장 후 임내에 이식한다면 춘기~추기 어느때나 가능할 것으로 판단된다.

최근, 국내의 경제산업의 발전으로 노년층의 인구가 증가하고 있으며, 이에 따라 의료비의 상승요인으로 작용하고 있다. 더불어 노년층의 건강유지를 위한 기대와 대응방안이 요구되고 있다. 이를 위한 하나의 방안으로 삶의 질을 유지하고 질병의 예방을 통한 적극적인 방법의 하나로서 건강식품 또는 기능성식품의 개발에 많은 관심이 주어졌다.

본 연구는 이러한 기능성식품의 소재의 생산과 기능성확인 및 기능성식품의 개발에 이르기까지의 연구를 종합적으로 수행한 연구중 본 연구는 기능성과 가공에 대하여 다루고 있다.

가시오갈피는 식물분류학상 인삼과 같이 오갈피과에 속하는 다년생 관목으로 오갈피에 비해 가지에 가시가 많이 있는 특징을 갖고 있다. 가시오갈피는 한국의 전역에 분포하며, 러시아, 중국, 일본에도 상당수 분포하는 것으로 알려져 있다. 가시오갈피를 비롯한 오갈피과는 한국에서 특히 오갈피주라고 하는 술로서 그 소비가 있어 왔다. 신농본초경이나 본초강목에 오갈피는 강장, 강정, 신경통, 중풍, 당뇨등의 치료에 이용된다 하였으며, 동의보감에는 성분이 따뜻하고 독이 없다고 하였다.

가시오갈피는 한국에서 자생하며 한방이나 민방으로 이용되어 온 약용식물이다. 가시오갈피 추출물은 간장보호효과도 관찰되어 식품소재로서 유망할 것으로 보여진다.

본 연구에서는 각 부위별로 ethanol과 열수로 추출하여 실험관내 또는 동물실험을 통하여 생리활성을 검토하였다. 추출효율은 열수추출이 ethanol추출보다 약 2배 이상 높았다.

각 추출물의 free radical 소거효과는 특히 암대극 열수추출물이 높았다.

즉, 가시오갈피 줄기, 뿌리 ethanol 추출물은 BHT의 각각 41, 33%의 억제효과를 보였다. 가시오갈피 추출물은 고혈압의 한 원인이 되는 ACE 활성을 효과적으로 억제하는 결과를 보이고 있으며, 콜레스테롤합성에 있어 율속단계에 관여하는 HMG-CoA reductase 활성을 감소시킴으로서 가시오갈피추출물은 혈관계질환의 예방이나 치료에 이용될 수 있는 가능성을 보여주었다.

한편 동물에 가시오갈피추출물 특히 줄기추출물은 투여시 현저한 혈당의 감소, 혈청 GPT 활성의 감소, 중성지방의 감소를 유도함으로서, 지질대사 개선제, 혈당강하제로 활용할 수 있는 가능성을 보여주었다. 나아가 간장과 산화지질농도를 감소시킴으로서 혈청과산화지질농도의 상승을 억제할 수 있는 가능성을 강하게 시사한다.

이러한 결과로부터 가시오갈피 줄기의 추출물은 기능성식품의 소재로서 그 유용가치가 높을 것으로 판단되었다.

가시오갈피 성분에 대한 과학적인 접근으로 Brekhmen과 Shih 등은 가시오갈피의 근피와 수피에서 isofraxidin, sesamin, friedelin, eleutherosides A, B, C, D, E 등의 성분을 규명하였다. 가시오갈피의 약리작용의 주요성분으로 eleutheroside류가 알피로작용과 항스트레스작용을 갖고 있는 것으로 보고되었다.

지금까지 보고된 연구로 황등은 mouse에서 가시오갈피 추출물의 항산화 효과와 혈당강하효과를 보고한 바 있다. 본 연구에서는 가시오갈피의 추출물이 항산화효과 및 ACE활성억제효과와 콜레스테롤합성억제효과가 있음을 보여주고 있으며, in vivo 실험에서도 지질저하효과가 관찰된 바 있다.

본 연구에서는 가시오갈피의 추출물을 이용하여 음료, 껌 및 캔디를 제조하였다. 이 과정에서 알콜추출물은 가공시 특유의 풀냄새를 나타내어 모든 제품은 열수추출물을 이용하였다. 추출효율에 있어서 열수가 알콜보다

높기 때문에 이런면에서도 가공적 특성으로는 알콜추출물보다 열수추출물이 좋을 것으로 판단된다.

가시오갈피를 함유한 제품중 기호도 검사에서는 음료> 캔디>껌의 순서로 나타났다. 한편 음료에서는 가시오갈피 음료를 만들 때 동시에 첨가되는 향료에 크게 기호도가 영향을 받고 있는 것으로 판단되었다. 왜냐하면 가시오갈피의 고유한 맛은 향료에 비해 매우 약하기 때문이었다. 그러나 음료수에 있어서 가시오갈피 첨가에 의해 향산화효과는 base보다 높게 나타나 추출물의 효과는 충분히 기대할 수 있었다. 가시오갈피의 함량에 있어서는 대략 0.3% 내외가 적절한 것으로 판단되었으며, 향기로는 유자>모과>박카스 향순이었다. 한편 캔디로는 0.1%정도의 첨가정도가 적절할 것으로 판단되어진다.

<별첨 4-1. 가시오갈피음료 관능검사지>

다음의 Sample은 (가시오갈피를) 소재로 한 음료제품으로서 소비자의 기호도를 평가하기 위하여 준비되었으니 아래항목에 해당하는 점수와 의견을 제시해 주시기 바랍니다.

▷ 실험 방법

1. 매 sample을 평가시 먼저 준비된 물로 입안을 헹구시오
2. 한 sample에 대해 여러 번의 향과 맛을 보시오

Sample 명	단 맛	신 맛	청량 감	향	종합적 기호도
9000-1					
9000-2					
9000-3					

(평가방법 → 아주 좋다 : 10점, 좋다 : 8점, 보통 : 6점, 나쁘다 : 4점, 매우 나쁘다 : 2점)

<별첨 4-2. 가시오갈피 함유 캔디 및 껌의 의 관능검사지>

1. 제품을 구성하고 있는 아래의 속성들에 대하여 어느정도 좋아하는지, 좋아하는 정도를 표시해 주십시오. 단, 감미, 시원함, 여러분이 느끼는 강도에 따라서 선호도가 달라질 것이므로 느끼시는 강도에 대한 선호도를 표시해 주시기 바랍니다.

sample 1을 드신 후 아래 질문에 답해 주세요

<선호도와 강도에 모두 표시>	강 도		선 호 도							
	아주약함	적당	아주강함	매우나쁨	보통	아주좋음				
제품의 전체적인 맛				1	2	3	4	5		
감미의 정도	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
시원한 정도	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
이미이취 정도	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5

sample 2를 드신 후 아래 질문에 답해 주세요

<선호도와 강도에 모두 표시>	강 도		선 호 도							
	아주약함	적당	아주강함	매우나쁨	보통	아주좋음				
제품의 전체적인 맛				1	2	3	4	5		
감미의 정도	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
시원한 정도	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
이미이취 정도	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5

sample 3을 드신 후 아래 질문에 답해 주세요

<선호도와 강도에 모두 표시>	강 도			선 호 도						
	아주약함	적당	아주강함	매우나쁨	보통	아주좋음				
제품의 전체적인 맛				1	2	3	4	5		
감미의 정도	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
시원한 정도	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
이미이취 정도	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5

2. 세 제품 중 한 가지를 선택하신다면 어떤 제품입니까? (sample번호로 기입하세요)

(                    )

3. 가시오갈피를 어떤 제품에 적용한다면 적당할까요?

(                    )

## 제4절 참고문헌

1. 권오웅, 송원섭, 박형순, 박용길, 1987. 주요조립수종의 Juvenile Cutting 에 관한 연구. 임목육종연구보고 23 : 30-33
2. 김갑태, 1989. 종자의 전처리가 몇 수종의 포장 발아율에 미치는 영향. 한림지 78(1) : 26-29
3. 김기영, 김선, 1997. 야생 및 수입대체 약용식물 재배가능 기술연구(가시오갈피 종자채종에 관한 연구), 농촌진흥청 호남농업시험장 시험연구보고서 (1996:전작과 목포시험장편) : 489-498
4. 김선, 박문수, 박호기, 김영진, 장영선, 1996. 야생 및 수입대체 약용식물 재배가능 기술연구(가시오갈피 접목방법에 의한 묘목 대량생산 연구), 농촌진흥청 호남농업시험장 시험연구보고서 (1995:전작과 목포시험장편) : 294-299
5. 김선, 1997. 야생 및 수입대체 약용식물 재배가능 기술연구(가시오갈피 접목방법에 의한 생육량 증대연구), 농촌진흥청호남농업시험장 시험연구보고서 (1996:전작과 목포시험장편) : 478-482
6. 김승경, 노준현, 윤희정, 최강준, 김상수, 1998. 가시오갈피 분말차 제조 기술 개발에 관한 연구. 농촌진흥청 농업특정연구과제 결과요약집 : 86
7. 김영진, 박문수, 박호기, 김선, 장영선, 성충기, 1996. 야생 및 수입대체 약용식물 재배가능 기술연구(오갈피속 식물의 외부형태 및 해부학적 특성조사). 농촌진흥청호남농업시험장 시험연구보고서 (1995:전작과목포시험장) : 304-308
8. 김영진, 박문수, 박호기, 김선, 성충기, 1997. 오갈피속 식물의 Eleutheroside E 함량. 한국약용작물학회지 4(4) : 333-339
9. 김영진, 박호기, 박문수, 김선, 최경구, 1997. 오갈피속 식물의 형태 및

- 해부학적 특성 비교. 한국육종학회지 29(1) : 56-63
10. 김창민, 강삼식, 박영순, 김은영. 1988. 국산 피나무속 식물의 성분연구(I) -찰피나무 수피의 성분-. 생약학회지 19(3) : 174-176
  11. 도상학. 1988. 한국의 약용식물자원. 천연물과학. 서울대출판부
  12. 문관심. 1984. 약초의 성분과 이용. 과학백과사전출판사. 일월서각
  13. 박문수, 김영진, 박호기, 장영선, 이중호. 1995. 기온과 일조시간 분석에 의한 가시오가피 채종적지 선정. 한국작물학회지 40(4) : 444-450
  14. 박문수, 김영진, 박호기, 김선, 김규성, 장영선. 1996. 덕유산 가시오가피 자생지의 생육환경. 한국작물학회지 41(6) : 710-717
  15. 백광욱. 1968. 柏子實 성분에 관한 연구. 춘천농대 연구논문집 2 : 4-44
  16. 소용영, 선병윤, 김철환. 1988. 한국산 두릅나무과 식물의 염색체수. 식물분류학회지 18 : 291-296
  17. 안진권, 이위영, 오성진, 박유현, 허성두, 최명석. 2000. 가시오갈피나무의 Eleutheroside E 및 Chlorogenic acid 성분함량. 한국임학회지 89 : 216-222
  18. 유창연, 김재광, 안상득. 1997. 가시오갈피 미숙배 배양으로부터 callus 형성 및 식물체 재분화. 한국약용작물학회지 5(1) : 49-55
  19. 옥창수, 노영수, 서성훈, 임재윤, 한덕용. 1996. 개오가피의 성분 및 항암 효과. 약학회지 40(3) : 251-261
  20. 이경준, 박종영, 박관화, 박훈. 1995. 고로쇠나무 수액의 화학적 성분, 영양가치와 사포닌 함유 여부에 관한 연구. 한국임학회지 84(4) : 415-423
  21. 이숙희. 한국산 잣의 지질성분 분획 및 지방산 조성에 관한 연구. 부산대학교 석사학위논문. 33pp.
  22. 이시진. 1974. 본초강목. 고문사. 1204pp.
  23. 이정환, 김삼식, 박광우. 1988. 한국산 약용식물의 분포(I). 경상대학교 농



업자원이용연구보고 22(2) : 85-105

24. 이창복. 1969. 우리나라 식물자원. 서울대 논문집 20(농생계) : 89-228
25. 이창복. 1969. 자원식물. 한림지 8 : 27-139
26. 이창복. 1979. 대한식물도감. 향문사. 791pp.
27. 이학주. 1995. 수목의 생리활성 물질의 이용. 임업정보. 34-35
28. 임경빈. 1983. 특용수재배학. 향문사. 495pp.
29. 임종택. 1995. 가시오갈피나무의 삼목번식에 관한 연구. 건국대학교 농축대학원 석사학위논문 1-31
30. 정동효. 1981. 生物化學 -단백질과 아미노산-. 선진문화사. p. 84-91
31. 정삼택. 1985. 종자휴면과 발아의 생리생화학. 대한교과서주식회사. 620pp.
32. 정연강. 백홍근. 1991. 기능화시대를 맞는 식품산업. 신한종합연구소, 7
33. 정태현. 1957. 한국식물도감(상권 목본부). 507pp.
34. 정현배. 1974. 강원도산 유용식물조사 연구. 식물분류지 Vol. 5 : 13-22  
한국화학연구소. 1988. 한국유용식물자원연구 총람
35. 한덕룡. 1983. 국산오갈피류의 자원화. 동양의학연구소 논문집 1079
36. 한상섭. 황병호. 1990. 잣 종자의 아미노산, 지방산, 비타민 분석. 한국임학회지 79 : 345-351
37. 황병호. 1983. 표고버섯의 아미노산 및 비타민 분석. 한국목재공학회지 11 : 18-24
38. 황완규. 최수부. 김일혁. 1996. 가시오갈피 및 두충 혼합엑스의 생리활성. 생약학회지 27(1) : 65-74
39. 황진성. 1970. 지리산 지역의 약용식물에 관한 조사 보고 제2보(목본편). 진주농전논문집 4 : 29-34
40. Cushman DW and Cheung, HS. 1980. Biochem. Pharmacol, 20,

1637-1648

41. Folch, J., Lees, M., and Sloane-Stanly, G.H. 1957. Biol. Chem., 226, 497
42. Minoru Terazawa, Hiroshi Okuyama, and Moto Miyake. Phenolic compounds in living tissue of woods I. -Phenolic  $\beta$ -glucosides of 4-hydroxycinnamyl alcohol derivatives in the cambial sap of woods-. Mokuzaigakkaishi 30 : 322-328
43. Moskowitz, HR and Jacobs, BE. 1988. Applied sensory analysis of Foods, CRC Press, NY, 193
44. Park, W. C. and S. T. Lee. 1989. A palynotaxonomic study of the Korean Araliaceae. Kor. J. Plant. Tax. 19 : 103-121
45. 沼田眞. 1992. 植物生態の観察と研究. 東海大學出版會. 275pp.
46. 向井讓. 横山敏孝. 1985. キハダネの發芽に對する冷濕處理の效果. 日本林學會誌 67(3) : 103-104
47. 林彌榮. 1969. 有用樹木圖說(林木編). 誠文堂新光社 395-400
48. 八田洋章. 1995. 植物の世界. 週刊 朝日百科 29 : 130-143

# 제5장 팔꽃나무속 식물을 이용한 분재용 수목 개발

## 제1절 서론

우리 나라의 많은 식물가운데 꽃잎이 없고 꽃받침이 꽃잎처럼 생겼으며, 상위자방으로 1실 1배주의 특성을 갖는 도금양목(Myrtales)에는 팔꽃나무과(Thymelaeaceae), 보리수나무과(Elaeagnaceae), 해상나무과(Sonneratiaceae), 도금양과(Myrtaceae), 홍수과(Rhizophoraceae), 기름나무과(Lecythidaceae), 석류나무과(Punicaceae), 사군자과(Combretaceae) 등이 있지만, 팔꽃나무과와 보리수나무과를 제외하고는 우리 나라에 자생하지 않는 열대 또는 아열대에 분포하는 분류군이다.

팔꽃나무과에는 전세계적으로 약 50속 500여종이 주로 오스트레일리아와 열대아프리카에 분포하고 있으나, 우리 나라에는 산닥나무속(Wikstroemia), 팔꽃나무속(Daphne), 피뿌리풀속(Stellera), 아마풀속(Diarthron), 삼지닥나무속(Edgeworthia)의 5속 식물만이 분포하고 있다(고경식, 1991).

우리나라에는 팔꽃나무과 팔꽃나무속에 속하는 식물로서 백서향(*Daphne kiusiana* Miq.), 두메닥나무(*D. kamtschatica* Max.), 팔꽃나무(*D. genkwa* S. et Z.)가 자생하고 있으며, 중국원산의 서향(*D. odora* Thunb.)이 관상수로 식재되어 있다(이창복, 1980). 이 가운데 두메닥나무는 잎이 호생하는 특징에 의해 팔꽃나무와 구별되며, 잎이 낙엽성인 특징에 의해 상록성인 백서향, 서향과 구별된다.

두메닥나무의 분포는 지리적으로 일본, 아무루, 우수리에 분포하며, 우리

나라에는 한라산, 지리산, 태백산 및 강원도 일대의 고산지대에 자생하는 낙엽관목으로 강한 음지를 좋아하며 부식질이 풍부하고 습기가 적당하며, 배수가 잘 되는 토양에서 생육이 왕성하다. 또한 추위에는 매우 강하고 건조한 곳에서도 잘 견디는 것으로 알려졌다(산림청, 1992).

지금까지 두메닥나무에 관한 연구는 Murata(1989)에 의한 형태학적 연구와 Yamazaki(1989)에 의한 생태학적 연구만이 수행되었을 뿐 자생지 식생과 외부형태에 관한 분류학적인 연구는 국내에서 아직까지 연구·보고되어진 바가 없다. 또한 용도에 대해서는 전혀 연구된 바가 없다.

따라서, 본 연구는 두메닥나무의 생태학적 특징 및 분류학적 특징을 규명하며, 또한 이 식물을 이용, 개발하는 방안을 강구하는데 그 목적을 두고 있다.

이 종의 식물들은 가지를 꺾어도 수피가 잘리지 않을 정도로 강인한 인피섬유를 많이 갖고 있어 종이와 테이프의 원료로 되는 식물로 유명하다(清水, 1995). 특히 두메닥나무는 추운 계절인 2-4월에 꽃을 피우며, 아주 멀리까지 방향을 내며, 꽃이 진 후 늦가을까지 붉은 열매를 달고 있어 관상적 가치가 높다(中井, 1930 ; 임업연구원, 1987) 분재용 수목으로서의 장점을 가지고 있다. 그러나 우리 나라에서는 이 두메닥나무의 특성규명도 완전히 이루어져 있지 않으며, 그 자생지의 분포를 파악하고 있는 것도 본 연구진 이외에는 거의 없다. 그 뿐만 아니라 이 식물들의 약효에 대해서는 利尿, 瀉下藥, 水腫, 腎臟炎, 濕性氣管支炎, 咳嗽, 止血劑, 百日咳, 強心劑, 감기 후유증, 神經痛, 嘔吐 등에 효과가 있다고 민간요법으로 전해오고 있으며(宋柱澤 등, 1983), 그 이상 상세한 연구는 아직 이루어지지 않고 있기 때문에 증식법의 확립과 분재용 수목으로의 개발에 중점을 두고 연구를 수행한다.

현재 우리 나라에는 독특한 특성을 지닌 고유의 자생 식물들이 많다. 그럼에도 불구하고 우리 나라의 조경인이나 원예인은 대부분 외래식물을 선호

하고 있으며, 실제로 시공되는 현장에서도 대부분 외래식물들로 조성되고 있는 실정이다. 따라서 산림식물을 잘 알고 있는 임업관련대학 또는 연구소에서 산림내 식물을 대상으로 여러 가지 아이디어를 활용한다면 우리의 훌륭한 산림자원은 충분히 이용되고 개발될 수 있다. 두메닥나무와 같이 희소성 있고 독특한 수종은 조경 소재뿐만 아니라, 분재용 수목 등으로 개발하는 것이 필요하지만 아직 실용화되지 않고 있는 실정이다. 또한 이 수종의 특성 즉, 생태습성이나 분포상황, 적지 등을 명확히 규명하고, 다양한 증식 기술을 개발한다면 종의 보전 및 유전자원 확보에 매우 중요한 역할을 할 뿐만 아니라 농산촌 주민들의 소득향상에도 기여할 것이다.

## 제2절 재료 및 방법

본 연구에는 국내의 대학 교수진 및 관련 연구기관의 연구자 5명이 연구를 수행하고 있으며, 연구에 필요한 정보는 공동연구가 수행되고 있는 다른 세부과제의 17명의 연구진과 협력해 나가면서 연구를 수행한다.

본 연구의 전체적인 추진전략은 ① 식물채집 및 서식지 생육환경조사, ② 생육환경조사 및 증식실험, ③ 이식 및 증식실험, ④ 적응시험, ⑤ 이용개발(상품화)이라는 과정으로 수행되고 있다.

### 1. 1차년도

연구개시 1차년도의 연구수행 내용은 식물 채집 및 서식지 생육환경조사이다.

- 두메덩나무의 자생지를 확보
- 현지조사를 통하여 생육환경을 조사
- 분류학적 특성 규명을 위한 외부 형태학적인 특징 조사(생체표본과 석엽표본을 대상으로 생식기관과 영양기관의 각 형질 조사).
- 예비적인 증식실험을 위한 삽수, 종자 등을 확보

### 2. 2차년도

연구개시 2차년도의 연구수행 내용은 식물체의 대량증식 및 분재용 수목 개발이다.

- 연구 대상 식물의 대량 증식(삽목 번식 ; 마사토, 모래, 자생지토양, 인공토 등에 각각 IAA, IBA, Kinetin 처리 후 삽목을 통한 삽목의 발근 및 활착율 조사), (종자 번식 ; 마사토, 모래, 자생지토양, 인공토 등에 파종을 통한 종자 발아율), (이식 실험 ; 자생지와 유사한 입지, 인공토 등에 이식을 통한 이식 활착율 조사)
- 분재용 수목 개발
  - 공시재료 : 두메덩나무

- 실험방법 : 화분에 식재한 후 철사감기 등으로 수형 조정
- 조사항목 : 상품가치 및 활착율

### 3. 3차년도

연구개시 3차년도의 연구수행 내용은 식물체의 성분분석 및 증식체계의 확립이다.

- 목표 : 두메다나무의 증식체계 확립
- 내용 : 두메다나무의 분재용 수목 개발을 위해 대량생산을 위한 증식 방법의 체계 확립(종자번식, 삽목번식, 이식실험)

### 4. 4차년도

연구개시 4차년도에는 적용시험이 주된 목표로서 지금까지 수행된 연구 결과를 기초로 하여 번식학 및 수목학 관련 연구자들과 함께 입간재배 및 포장재배, 분재형 수목 개발 등에 관한 연구를 각 수행한다.

- 현재까지 밝혀진 생육환경 및 증식방법에 따라 두메다나무 개체를 계속적으로 증식
- 대량생산을 위한 적지를 선정하며, 입간재배 및 포장재배 등에 관한 연구를 수행
- 분재용 수목개발을 위해 수형 만들기(전지, 철사걸치기 등) 및 뿌리의 활력 제고에 관한 연구를 수행
- 상품화를 위해 화분과의 미적조화를 고려한 화분 식재를 실시

### 5. 5차년도

연구개시 5차년도에는 이용 개발이 주된 목표로서 생태학, 육종학, 수목학 관련 연구자들의 참여로 시료의 대량 공급을 위한 방안을 확립하며, 분재에 관한 상품화 연구를 추진한다.

- 지속적인 공급을 위해 현재까지 밝혀진 생육환경 및 증식방법으로 두메다나무 개체를 증식

- 대량생산을 위한 임간재배 및 포장재배 등에 관한 연구를 수행
- 분재용 수목개발을 위해 수형 만들기(전지, 철사결치기 등) 및 뿌리의 활력 제고에 관한 연구를 수행
- 화분과의 미적조화를 고려한 화분 식재를 실시하여 분재 상품을 생산



## 제3절 결과 및 고찰

### 1. 1차년도 : 두메닥나무의 채집 및 생육환경조사

1차년도에는 연구 대상 식물의 수집과 예비성분 분석을 수행하였다.

두메닥나무를 이용한 분재용 수목 개발을 위해 자생지인 강원도 동해시 두타산(1996. 1. 8~1. 10), 삼척군 하장면 역둔리(1996. 1. 8~1. 10), 강원도 평창군 도암면 발왕산(1996. 2. 9~2. 11, 5. 2~5. 4, 9. 12~9.14)에서 4회에 걸쳐 조사 및 수집을 행하였다. 이와 함께 분류학적 특성을 조사하였다. 또한 분재용 수목 개발의 가능성을 파악하기 위하여 두메닥나무의 성숙 개체를 채취하여 이식실험을 수행하였다.

분재용 수목 개발의 가능성을 파악하기 위한 자생지 조사 및 식물 수집은 충분히 수행되었으며, 그 결과는 다음과 같다.

#### 가. 두메닥나무 서식지의 생태학적 특성 및 분류학적 연구

##### (1) 두메닥나무의 생육환경

두메닥나무는 희소성의 가치 및 관상 가치가 매우 높아 분재용 수목으로의 개발은 가능성이 매우 크다. 그러나 이러한 수종도 자생지의 특성 규명 등이 수반되어야만 본 연구가 원만히 수행되어 상품 개발을 위한 개체증식 시 실패할 우려가 적다. 두메닥나무가 서식하는 4개 지역에 대한 생육특성을 조사한 결과는 다음과 같다. 두메닥나무는 해발 750-1250m 사이에 주로 분포하는 것으로 나타났으며, 분포하는 사면은 남사면을 중심으로 남서와 남동사면의 산복에 주로 출현하는 것으로 나타났다(표 5-1). 또한 상대조도는 11-27%로 상당히 피음이 되는 곳에 자생하는 것으로 밝혀졌다. 또한 식생구조를 살펴보면, 상층식생으로는 고로쇠나무, 층층나무, 난티나무 등이

주로 분포하며, 아교목층과 관목층에는 물푸레나무, 까치박달, 당단풍, 고광나무, 물참대, 다래 그리고 하층식생으로는 노루귀, 뱀고사리, 송마, 방아풀 등이 주로 분포하는 곳으로 배수가 양호하며 다소 습한 토양을 선호하는 것으로 나타났다. 따라서 두메다나무의 분재용 수목을 개발할 경우에는 피도 관리가 매우 중요하며 배수가 양호한 적습의 토양에서 관리되어야 한다고 사료된다.

표 5-1. 두메다나무 자생지 생육환경 및 식생

원번호	1	2	3	4
조사번호	1	2	3	4
해발(m)	1150	1235	790	765
방위	SW	SW	S	SE
경사				
지형				
조사면적	10×10	10×10	10×10	10×10
교목층(%)	70	80	65	70
최대목흉고직경 (cm)	24	18	20	20
아교목층(%)	30	50	45	20
관목층(%)	85	90	90	80
초본층(%)	65	70	80	75
이기층(%)				
출현종수	17	23	24	19
난티나무	3	1		
층층나무		1	2	1
까치박달	1	4		1
고로쇠나무	1	1	2	
물푸레나무	1		2	2
찰피나무			3	
당단풍	3	1	6	1
고광나무	1	1	2	
물참대	1	1	2	1
꽃개회나무	4	1		
쪽동백나무			1	
명자순		1		
참조팝나무		1		
복장나무		1		
국수나무			7	

고추나무			6	2
참회나무		1	1	
두메덩나무	33	17	6	6
노린재나무			1	
산딸기				3
미역줄나무				1
다래	1	2	2	
오미자				1
방아풀	5	4		
승마	9	8		
노루귀	2	3	2	
뱀고사리	1		9	5
오리방풀	7			
큰개별꽃	2		2	
십자고사리	1		2	
병조희풀		1		
용등굴래		1		
고려엉겅퀴		1		
풀솥대		1		
관중		1		3
새			11	
고사리			2	
파리풀			3	
짚신나물			2	
알록제비꽃			6	
천남성		1	1	
단풍취				2
큰참나물				6
애기나리				3
우산나물				3
대사초				11
금강제비꽃				3
노루오줌				1

또한, 외부 형태학적 특성 가운데 영양기관의 잎, 줄기와 뿌리의 특성을 조사한 결과는 다음과 같다

(2) 잎

한국수목도감(1992)에 의하면 잎은 호생하고 긴 도란형, 도피침형이고 예두 둔두이며 길이는 4.0~8.5cm이다. 잎표면은 청록색이고 뒷면은 약간 분백색이 들며 가장자리는 밋밋하고 엽병의 길이는 5~7mm이라고 기록되어 있으며, 또한 한국식물도감(1996)에는 잎자루가 짧다고 기록되어 있다.

표 5-2. 두메닥나무 잎의 외부형태학적 특징

식물명		두메닥나무
형질		
엽신의 길이(cm)		5.5 - 7.5 -11.3
엽신의 폭 (cm)		1.3 - 2.3 - 3.0
털의 유무	앞	없음
	뒤	없음
엽형		도란형, 도피침형
엽서		호생
엽선		예두
엽병		거의 없고, 날개가 발달
엽연		밋밋하고, 거치가 전혀 없다.

그러나, 본 연구에서 관찰된 두메닥나무 엽신의 길이는 5.5~11.3cm, 평균은 7.5cm이고, 폭은 1.3~3.0cm, 평균은 2.3cm로 기존의 도감류의 기록보다 큰 것으로 나타났다. 잎은 호생하며 표면과 이면에는 털이 전혀 없고 잎의 모양은 도란형 혹은 도피침형이고, 엽선은 예두로 기존의 도감류에 기

재된 둔두는 거의 찾아 볼 수가 없었다. 또한 기존 도감류의 기재와는 달리 엽병은 거의 발달하지 않았으며, 날개가 발달되어 있다. 앞 가장자리는 밋밋하고 거치가 전혀 없었음을 확인할 수 있었다.

### (3) 줄기와 뿌리

한국수목도감(1992)에서 줄기는 회백색으로 가지가 별로 없다 라고만 기재되어 있을 뿐 다른 기록은 찾아 볼 수가 없었다.

본 연구에서 관찰된 두메닥나무의 줄기는 회백색으로 어린 개체는 가지가 별로 없으며 직간성으로 분지하지 않고, 성숙한 30~40cm이상의 수목에서는 줄기가 여러 갈래로 갈라지고, 뿌리는 지하부의 80~120%까지 신장하며 단근성으로 유연했다. 또한 잔뿌리가 거의 발달하지 않으나, 뿌리신장이 저해될 경우 잔뿌리를 많이 발생시키는 경우가 있다.

### 나. 두메닥나무의 증식에 관한 연구

대량증식을 위하여 현재까지 이식 및 증식실험을 수행한 결과는 다음과 같다.

○ 이식실험 : 임목육종연구소 동부육종장 은실 및 묘포장에 이식하여 이식율을 조사한 바 다음 표와 같다.

표 5-3. 두메닥나무의 이식활착율

구 분	건 전	불 량	고 사	합 계
이식 개체수	102	32	6	140
활착율(%)	72.86	22.86	4.29	100

○ 증식실험 : 1995년 10월에 수집한 종자의 발아 시험을 임학과 실험실에

서 수행중이며, 1996년 5월에 수집한 삼목과 근삼에 대하여 처리별로 삼목 실험을 수행하고 있다. 두메덩나무의 종자 발아율 및 삼목번식 결과는 다음과 같다.

표 5-4. 두메덩나무의 종자 발아율

구 분	합 계	1년발아	무변화	고 사	발아율(%)
과종 립수	194	41	142	11	21.13

표 5-5. 두메덩나무의 삼목번식 활착율

구 분	합 계	건 전	고 사	활착율(%)
조 사	20	11	9	55
세 사	20	1	19	5
자생지 토양	20	1	19	5
버뮤클라이트상	20	1	19	5

두메덩나무는 회소성의 가치 및 관상 가치가 매우 높아 분재용 수목으로의 개발은 가능성이 매우 크다. 그러나 위의 결과로 볼 때, 삼목 활착률이 거친 모래에서만 55%의 활착율을 나타냈으며, 그 밖의 조건에서는 각각 5%의 매우 저조한 활착율을 나타냈기 때문에 삼목으로의 번식보다는 종자 확보를 통한 종자번식으로 증식시키는 것이 바람직하다고 사료된다.

## 2. 2차년도 : 두메덩나무의 대량증식 및 분재용 수목개발

### 가. 두메덩나무의 분류학적 특성

지난해 두메다나무 분류학적 특성 규명과 함께 자생지로부터 수확한 종자와 금년도 수집한 삽수를 이용하여 종자번식과 삽목번식을 통한 대량생산화를 도모하고 있으며, 또한 증식된 개체들을 화분에 옮겨 심어 분재 개발을 위한 연구를 수행하고 있다. 또한 금년도 10월중으로 종자수집을 실시하여 묘목의 대량생산을 도모한다. 그 결과를 정리하면 다음과 같다.

외부 형태학적 특성 가운데 영양기관의 꽃과 열매의 특성을 조사한 결과는 다음과 같다.

(1) 꽃

표 5-6. 두메다나무 꽃의 외부형태학적 특징

식물명		두메다나무	
형질			
꽃받침	꽃받침통(mm)	7.0 - 7.36 - 8.0	
	화병(mm)	0.2 - 0.27 - 0.4	
	꽃받침조각(mm)	2.0 - 2.35 - 2.9	
암술	자방병(mm)	0.2 - 0.2 - 0.2	
	자방(mm)	2.0 - 2.23 - 2.5	
	화주(mm)	0.3 - 0.36 - 0.5	
	주두(mm)	0.1 - 0.1 - 0.1	
수술	화사(mm)	대	3.7 - 4.43 - 4.8
		소	2.7 - 3.41 - 3.6
	약(mm)	0.5 - 0.5 - 0.5	
자방위치		상위자방	
암술, 수술의 위치		자웅동주(양성화)	
꽃차례		액생두상화서	
꽃의 모양		종모양의 십자형	
꽃의 색깔		흰색	
화기		전년도 11월에 꽃봉우리 발달 이듬해 봄에 꽃받침 열개	



이창복(1993)에 의하면 꽃은 총상화서로 전년도 끝의 엽액에 발달하여 2~5개가 달리고 자웅이주로서 4~5월에 황색으로 피는데 암꽃이 다소 작으며 꽃받침은 황색이고 난형 또는 피침형으로 첨두이며 수술은 8개라고 기록되어 있다.

본 연구에서 관찰된 두메닥나무의 꽃받침통은 그 길이가 7.0~8.0mm, 평균은 7.36mm이고 화병은 0.2~0.4mm, 평균은 0.27mm, 꽃받침조각은 2.0~2.9mm, 평균 2.35mm이며 암술부분에서 자방병은 0.2mm, 자방의 길이는 2.0~2.5mm, 평균은 2.23mm, 화주의 길이는 0.3~0.5mm, 평균 0.36mm, 주두는 0.1mm이다. 그리고 수술은 8개가 있는데, 그 가운데 4개의 크기가 큰 화사의 길이는 3.7~4.8mm 이고 크기가 작은 4개의 화사의 길이는 2.7~3.6mm, 평균은 3.41mm이고, 약의 크기는 0.5mm이다. 자방은 상위자방이고 지금까지의 기록과는 달리 암술과 수술은 모두 갖춘 자웅동주인 양성화이며(그림 5-1, 사진 5-1), 꽃받침은 종모양의 십자형으로 색은 이전 기록인 황색이라기 보다는 흰색에 가까웠고, 암술은 1개이고 수술은 8개이다.

한편, 기존의 도감류에서는 개화기가 4~5월이며, 총상화서라고 기재하고 있는데, 꽃은 전년도 11월경부터 피어 있으며 꽃받침조각이 벌어지지 않은 상태로 겨울을 난 후 이듬해 봄에 꽃받침조각이 벌어져 꽃이 개화된 것처럼 보이므로 개화기가 4~5월이라는 기록은 잘못된 것이라고 생각되며, 화서는 엽액에 모여나므로 액생하는 두상화서로 기재하는 것이 옳다고 사료된다.

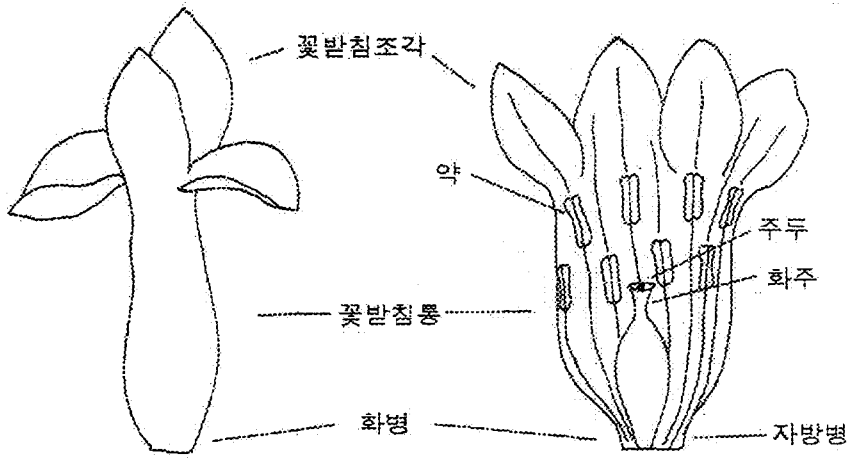


그림 5-1. 두메덩나무의 성숙개체와 꽃의 구조

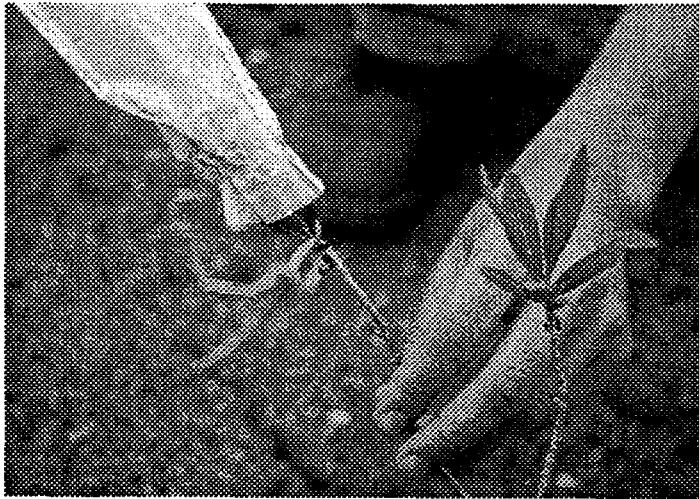


사진 5-1. 두메닥나무의 자가 수분 조사

(2) 종자 및 과실

한국수목도감(1992)에 종자에 관한 기록은 열매는 장과이고 구형, 또는 타원형으로 가을에 홍색으로 익고 가지에 2~3개씩 달린다고 기재되어 있고, 한국식물도감(1996)에는 결실기가 10월이라는 기록이 덧붙여져 있을 뿐 종자에 대한 기록은 매우 미흡하다. 따라서 과실 및 종자에 대한 형질을 명확히 밝힐 필요가 있다.

표 5-7. 두메닥나무 종자 및 과실의 외부형태학적 특징

	종 자	과 실
길이(mm)	6.0 - 7.0 - 7.8	9.1 - 11.3 - 13.0
폭(mm)	4.6 - 5.1 - 6.5	7.5 - 9.0 - 11.2
색 갈	회갈색	적색
모 양	타원형	타원형

본 연구에서 관찰된 두메닥나무의 과실은 크기가 9.1~13.0mm로 평균 11.3mm이고, 폭은 7.5~11.2mm로 평균 9.0mm이며, 타원형의 형태를 취하며, 과육을 제거한 종자는 길이 6.0~7.8mm로 평균 7.0mm이며, 폭은 4.6~6.5mm로 평균 5.1mm이며, 과실과 마찬가지로 타원형의 형태를 취하는 것으로 나타났다.

과실은 5월 꽃이 떨어진 자리에서 자방이 성장하여 바로 형성되는 장과이며, 8월 하순부터 9월 중순에 걸쳐 적색으로 익기 시작하여 10월 하순까지 가지에 달려있다. 또한 종자는 회갈색으로 매끄럽고 매우 단단한 껍질로 이루어져 있으며, 끝이 갑자기 좁아지는 예두이다.

나. 두메닥나무의 대량증식

한편, 본 수종에 대한 연구로는 분재수목 개발이 목적이므로 성분분석은

행하지 않고 이식실험을 수행하며, 또한 지난해 수확한 종자와 삼수를 이용하여 종자번식과 삼목번식을 통한 대량생산화를 도모한다. 종자의 양호한 발아를 위하여 자극처리를 실시한 결과 종자는 당년 발아가 가능하였으며, 자생지 토양과 인공토양에서는 80% 이상의 발아율을 나타내 종자에 의한 대량생산이 가능한 것으로 나타났다. 또한 삼목번식은 거친모래에서만 55%의 발근율을 나타냈으며, 그밖의 조건에서는 각각 5%의 저조한 발근율을 나타내어 삼목 증식이 매우 어려운 것으로 나타났다. 또한 증식된 개체들을 화분에 옮겨 심어 분재 개발을 위한 연구를 수행하고 있다. 또한 증식된 개체들을 화분에 옮겨 심어 분재 개발을 위한 연구를 수행하고 있다. 또한 금년도 10월중으로 종자수집을 실시하며, 종자 발아를 통한 묘목의 대량생산을 도모한다.

○ 이식실험 : 임목육종연구소 동부육종장 온실 및 묘포장에 이식하여 이식율을 조사한 바 다음 표와 같다.

표 5-8. 두메닥나무의 이식활착율

구 분	개체수	건전	불량	고사·유실	이식성공율(%)
양 토	140	102	32	6	72.9
인공토 I	135	111	4	20	82.2
인공토 II	86	80	2	4	93.0

○ 증식실험 : 1995년 10월에 수집한 종자의 발아 시험을 임학과 실험실에서 수행중이며, 1996년 5월에 수집한 삼목과 근삼에 대하여 처리별로 삼목 실험을 수행하고 있다. 지금까지의 연구에 추가적으로 수행된 두메닥나무의 종자 발아율은 다음과 같다.

표 5-9. 두메닥나무의 종자 발아율

구 분	파종립수	1년발아	무변화	고 사	발아율(%)
세 사	194	41	142	11	21.1
조 사	43	0	43	0	0
자생지토양	17	14	2	1	82.4
인 공 토	10	10	0	0	100.0

종자의 양호한 발아를 위하여 종자의 자극처리를 실시한 결과, 종자는 당년발아가 가능하였으며 자생지 토양과 인공토양에서는 80% 이상의 발아율을 나타내 종자에 의한 대량생산이 가능한 것으로 나타났다. 이렇게 증식된 개체들을 화분에 옮겨 심어 분재 개발을 위한 연구를 수행하고 있는데 두메닥나무는 회소성의 가치 및 관상 가치가 매우 높아 분재용 수목으로의 개발은 가능성이 매우 크다고 판단된다. 그러나 현재까지의 연구 결과로 볼 때, 종자 발아는 양호하지만, 삼목 활착율은 매우 낮다. 그러므로 삼목으로의 번식보다는 종자 확보를 통한 종자번식으로 증식시키는 것이 바람직하다고 사료된다.

### 3. 3차년도 : 두메닥나무의 증식체계의 확립

분류학적 특성을 규명하기 위해 본 연구에서 조사된 특성과 기존 도감류에 있어서의 생태 및 형태학적 특징의 비교하였다.

본 연구에서 조사된 바에 의하면 서식범위는 655~1300m로 기존의 도감류에 기록된 700~800m보다 수직적으로 넓은 범위에서 분포하였으며, 잎의 크기는 5.5~11.3cm로 기존 도감류의 기록보다 큰 것으로 나타났다. 엽병은 거의 없거나 날개가 발달한 유저의 형태를 나타냈으며 엽선은 예두로 기존

의 도감류에 기록된 둔두는 거의 찾아 볼 수가 없었다. 꽃색은 흰색이고 개화기는 전년도 11월에 발달하여 이듬해 봄에 꽃받침이 열개하는 것으로 나타났다. 화서는 액생두상화서로 조사되었으며, 과실과 종자에 관한 기록은 미흡하였으나, 조사결과 과실은 회갈색의 타원형, 종자는 적색의 타원형으로 조사되었다(표 5-10).

표 5-10. 기존 도감류와 본연구의 생태 및 형태학적 특징의 비교

	기존의 도감류	본 연구
서식 범위	700~800m	655~1300m
잎의 크기	4.0~8.5cm	5.5~11.3cm
엽 병	5~7mm	거의없음. 날개가 발달한 유저
엽 선	둔 두	예두
꽃 색	황 색	흰색
개화기	4~5월	전년도 11월에 발달하여 이듬해 봄에 꽃받침 열개
화 서	총상화서	액생두상화서
과 실	기록 미흡	회갈색, 타원형
종 자	기록 미흡	적색, 타원형

한편, 본 연구진에 의해 파악된 두메닥나무의 분포현황은 다음 그림과 같이 개체수는 매우 적지만 태백산맥을 중심으로 고산지역에 분포하는 것으로 확인되었다. 그중 두메닥나무가 서식하는 4개 지역 즉, 인제군 설악산 2곳과 태백시 대덕산, 평창군 오대산에 대한 생육특성을 조사한 결과는 다음과 같다.

두메닥나무는 해발 650-1250m 사이에 주로 분포하는 것으로 나타났으며, 남사면과 북사면에 주로 분포하는 경향을 나타냈다. 또한 환경사지역인 오

대산 지역을 제외하고는 대부분 사면 경사 22~30도 정도의 사면 상부에 출현하는 것으로 나타났다(표 5-11). 또한 상대조도는 11-27%로 상당히 피음이 되는 곳에 자생하는 것으로 밝혀졌다. 또한 식생구조를 살펴보면, 상층식생으로는 고로쇠나무, 물푸레나무 등이 주로 분포하며, 아교목층에는 당단풍 그리고 하층식생으로는 방아풀 등이 주로 군집을 이루고 있는 특성을 나타내며, 특히 설악산 지역의 군락은 고로쇠나무, 물푸레나무와 함께 피나무, 난티나무, 읍나무 등이 상층을 이루는 군락으로 특징 지워지고 있다. 또한 두메닥나무가 분포하는 곳은 일반적으로 배수가 양호하며 다소 습한 토양을 선호하는 것으로 나타났다. 따라서 두메닥나무의 분재용 수목을 개발할 경우에는 피도 관리가 매우 중요할 뿐만 아니라, 적절한 배수가 이루어지는 적습한 토양에서 관리되어야 한다고 사료된다.



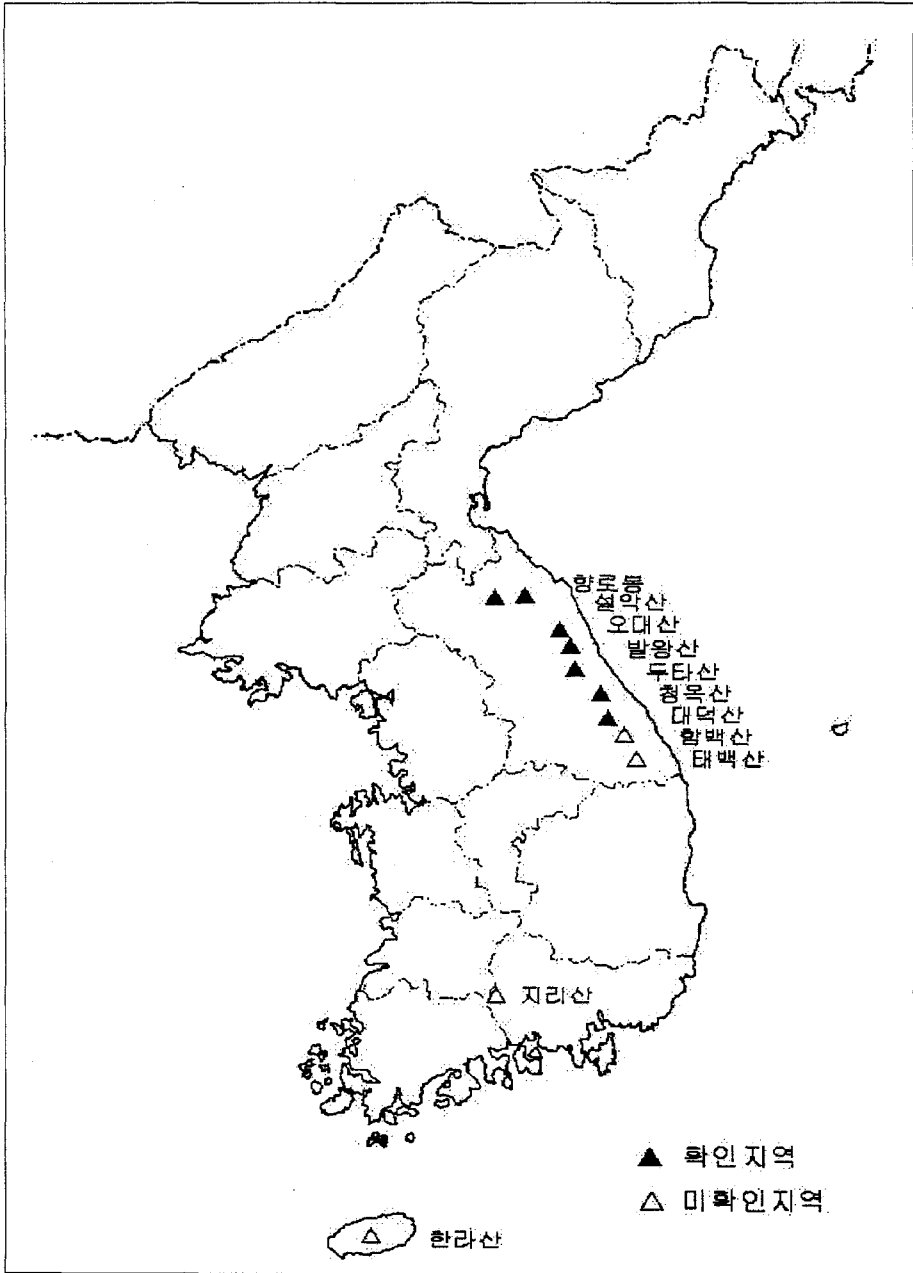


그림 5-2. 두메닥나무의 자생지

표 5-11. 두메덩나무 자생지 식생구조

조사지	실악산1	실악산2	대덕산	오대산	
해발고(m)	1,110	1,235	950	655	
방위	S18° W	S27° W	N32° W	N17° W	
경사(° )	22	25	30	8	
지형	사면상부	사면상부	사면중부	사면하부	
조사면적 (m×m)	15×15	15×15	15×15	15×15	
교목층(%)	40	25	75	95	
아교목층(%)	20	20	30	20	
관목층(%)	20	20	60	30	
초본층(%)	60	65	80	85	
출현종수	32	32	35	39	출현횟수
고로쇠나무	2	2.2	1.2	2.3	4
물푸레나무	2	2	2	1.1	4
당단풍	2.2	2	2.1	2.3	4
오리방울	3.3	3.5	2	2	4
신갈나무	1.2	1.3	1.2		3
다래	+	1.2		1.2	3
노린재나무	1.2		2	1	3
피나무	2	2.2	1		3
방아풀	3	2.2		1.2	3
대사초	1.2	1.2		1.2	3
새	1	1.1		2	3
개별꽃	+	+		+	3
노루오줌	r		+	1.1	3
노루삼	r	r	r		3
관중	r	r	r		3
천남성	r	r		+	3
난티나무	2.2	1.1			2
꽃개회나무	1	1.2			2
읍나무	1.1	1.2			2
복자기			2	1.2	2
단풍마			1	1	2
산거울			2	3	2
미역줄나무	1.1			+	2

까치박달		2	2		2
태백제비꽃		+	+		2
물참대	r		r		2
꼭두서니			1	+	2
십자고사리	1.2		1		2
참나물	r		+		2
잣나무	2				1
박달나무	1.2				1
마가목	1.1				1
고광나무	1				1
두릅나무	1.1				1
등축			2.2		1
가시오갈피			2.1		1
물개암나무			1.1		1
까치고들빼기	r				1
산수국	+				1
물박달나무	1				1
철쭉	1.2				1
소나무	1				1
층층나무	1.2				1
지리대사초	+				1
병조희풀	r				1
나도송이풀	+				1
참취	+				1
노루귀	r				1
참당귀	+				1
산딸기		r			1
산겨릅나무		2.1			1
호랑버들		2.1			1
백당나무		1.1			1
국수나무		1.1			1
조릿대			+		1
담쟁이덩굴			+		1
금강제비꽃			r		1
고추나물			r		1
산씀바귀			r		1
넓은잎외잎쭈			r		1
개머루			+		1

달맞이꽃			r		1
숨나물			r		1
노랑물봉선			r		1
시닥나무				1.1	1
고추나무				1.2	1
산뽕나무				2	1
개웃나무				1.2	1
오갈피				1.1	1
줄딸기				+	1
흰진범				1.2	1
파리풀				+	1
당개지치				+	1
청가시덩굴				+	1
개시호				+	1
흰물봉선				1.2	1
물봉선				+	1
꽃쥐손이				r	1
윤판나물				r	1
깊신나물				+	1

한편 두메닥나무의 분류 생태학적 특성 규명과 함께 자생지로부터 1997년에 채집한 종자와 당년도에 채취한 삽수를 이용한 증식체계를 밝혔으며, 또한 증식된 개체들을 포장에 이식하여 뿌리의 활성을 도모하고 있으며, 일부는 화분에 옮겨 심어 분재 개발을 위한 연구를 수행하고 있다. 또한 금년도 9월 하순에 종자수집을 실시하였으며 종자번식에 의한 대량생산을 도모하고 있다.

#### 4. 4차년도 : 두메닥나무의 적응시험 및 분재용 수목 개발

##### 가. 두메닥나무의 성장 특성

두메닥나무의 성장 특성을 파악하기 위하여 종자를 발아시켜 얻은 묘목을 대상으로 복합비료의 시비구와 비시비구로 구분하여 이들의 성장특성을 조

사하였다. 그 결과, 시비 직전의 성장량은 시비구에 있어서는 평균 묘고 1.66cm를 나타냈고, 비시비구도 이와 비슷한 1.72cm의 묘고를 나타냈다. 그러나 시비를 한 후, 1년째에 가서는 시비구의 평균 묘고는 3.66cm로 나타난 반면, 비시비구에서는 이보다 작은 3.13cm의 묘고를 나타냈다. 이와 같은 결과는 시비구의 성장량은 1년에 평균 2.0cm 정도 성장한 반면, 비시비구에서는 1년에 평균 1.4cm 정도밖에 자라지 않아 시비를 적용함에 따라 빠른 성장을 기대할 수 있는 것으로 나타났다.

따라서 두메닥나무 종자로부터 분재용 수목으로 개발하는 데에는 상당한 기간이 요구된다고 할 수 있다.

표 5-12. 시비에 따른 두메닥나무의 연년생장량

시 비 구	비 시 비 구
연년생장량 (cm)	연년생장량 (cm)
0.1 - (2.0) - 3.6	0.0 - (1.4) - 4.7

#### 나. 두메닥나무의 대량증식

두메닥나무는 2, 3차년도에 수집한 종자를 이용한 종자번식을 통한 증식체계를 밝혔으며, 또한 증식된 개체들을 포장에 이식하여 뿌리의 활성을 도모하고 있으며, 일부는 화분에 옮겨 심어 분재 개발을 위한 연구를 수행하고 있다.

지금까지의 연구 결과를 정리하면 다음과 같다.

두메닥나무의 적응시험을 위해 본 강원대학교 임학과 묘포장에 이식하여 활착 상황 및 성장관계를 조사한 결과, 종자 발아에 의해 증식된 개체의 이식 활착율은 89.5%로 매우 양호하여 임간재배 및 포지재배가 충분히 가능한 것으로 판단되었다.

표 5-13. 두메닥나무 종자 발아에 의해 증식된 개체의 이식 장소에 대한 활착율 및 성장량

이식 장소	이식 개체수	건진 개체수	고사 개체수	활착율 (%)	평균 성장량 (cm)
포지	124	111	13	89.5	1.3

두메닥나무 어린 묘목의 연년생장량을 조사한 결과, 발아한 후 6월 초순 현재, 성장량은 평균 1.3cm 정도 성장하였으나, 가장 잘 적응한 개체는 최대 4.3cm까지 성장하였으며, 잘 적응하지 못한 개체는 최소 0.2cm 정도밖에 성장하지 못한 것으로 나타났다. 따라서 본 두메닥나무의 유지 생장은 다른 수종에 비하여 매우 늦은 것으로 판단되어 분재용 수목으로의 개발에는 장시간의 기간이 요구된다고 사료된다.

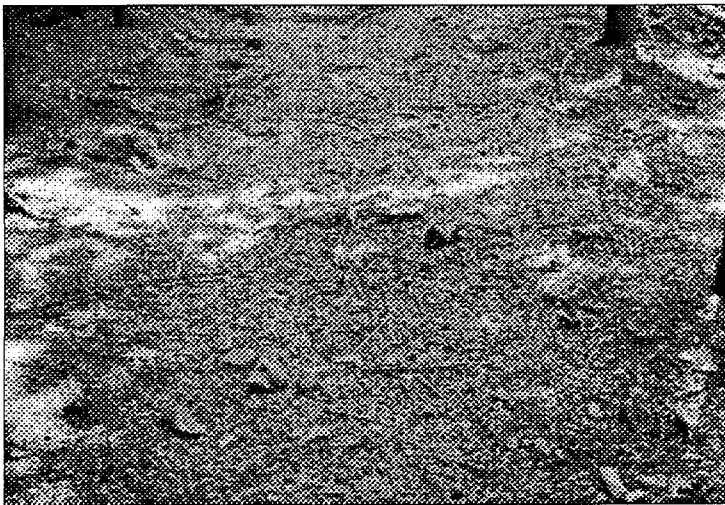


사진 5-2. 두메닥나무의 포지 재배 현황

또한 지금까지 본 연구결과 두메닥나무의 발아율이 가장 높았던 종자의 종피자극에 의한 증식법을 적용하여 대량생산을 위한 증식을 계속 수행중에 있으며, 일부 종자는 노천매장법을 적용한 후 파종하여 발아율을 파악중에 있다. 그러나 두메닥나무는 자생지가 제한되어 있을 뿐 아니라, 자생지로부터 종자를 대량으로 확보하는 것이 매우 어려운 실정이다.

그리고 금년도 두메닥나무 자생지 조사에서 밝혀진 사실은 1998년부터 IMF영향으로 실직자를 숲 가꾸기 공공근로사업에 투입하여 숲을 가꾸고 있어 목재생산을 위한 인공조림지나 천연림내의 교목성 수종들로 구성된 산림들은 외국과 같이 비교적 잘 가꾸어진 숲으로 변모하고 있으나, 두메닥나무와 같이 관목류로 자라는 희귀식물들은 자원의 중요성을 인식하지 못한 근로자들에 의해 자생지가 마구 파괴되고 있어 종보전 및 유전자원의 확보와 관리에 대책을 강구하여야 할 것으로 판단되었다.

## 5. 5차년도 : 두메닥나무의 대량공급과 분재용수목의 개발

### 가. 분재용 수목의 개발

본 수종에 대한 연구로는 분재용 수목 개발이 목적이므로 성분분석은 행하지 않고 지난해 수확한 종자와 삼수 및 성숙한 개체의 이식을 통하여 대량생산체계를 확립하였으며, 종자의 종피 상처에 의해 당년발아가 가능하도록 하였으며, 발아율은 자생지 토양과 인공토양에서 각각 82.4%와 100% 발아하는 것으로 나타나 종자에 의한 대량생산이 가능한 것으로 밝혀졌다. 또한 삼목번식은 거친 모래에서만 55%의 발근율을 나타냈으며, 그밖의 조건에서는 각각 5%의 저조한 발근율을 나타내어 삼목 증식이 매우 어려운 것으로 나타났다. 이와 같이 증식된 개체들은 묘포장으로 이식하여 생장 및 뿌리의 활력을 도모하고 있으며, 일부 개체들은 화분에 옮겨져 분재 개발을

위한 연구를 수행하고 있는데 두메덩나무는 회소성의 가치 및 관상 가치가 매우 높아 분재용 수목으로의 개발은 가능성이 매우 크다고 판단된다. 그러나 위의 결과로 볼 때, 삼목 활착률이 매우 낮아 삼목으로의 번식보다는 많은 종자의 확보를 통해 종자번식으로 증식시키는 것이 바람직하며, 화분에 식재하였을 경우에는 두메덩나무의 활력이 약화되는 현상을 나타내므로 포지에서 뿌리의 세력을 왕성하게 한 후 화분에 옮겨 분재용으로 생산해야만 할 것으로 판단된다.

두메덩나무의 분재용 수목 개발을 위해 산야에 자생하는 것을 채취하여 분재용 수목으로 개발하는 것은 오늘날 자연보호의 입장에서는 매우 곤란한 실정이다. 그러므로 산림내에 자생하는 식물로부터 종자를 채취하여 대량으로 증식하는 방법은 시간상 많은 노력이 요구되지만, 종보전의 측면과 자연보호의 측면에서는 바람직한 일이라 할 수 있다. 따라서 본 연구는 두메덩나무의 자생지 확보를 통해 매년 종자를 수집하며, 종자의 증식방법을 개량하여 분재용 수목을 확보하는 것이다. 그러나 부득이 성숙한 개체를 채취하여 이식 및 삼목 증식을 위한 연구를 병행하여 수행한다.

지금까지의 연구 결과, 삼목증식은 1, 2차년도 연구 결과에서 알 수 있듯이 매우 어려운 것으로 판명되었다. 그러나 성숙 개체의 이식 활착율은 매우 양호한 것으로 판명되어 부득이 성숙 개체를 이용한 분재용 수목을 개발하고자 할 경우에는 이식을 통한 분재 개발이 충분히 가능한 것으로 판명되었다. 그러나 대량으로 분재용 수목을 개발하는 방법은 자생지의 성숙한 개체로부터 매년 종자를 수집하여 개체수를 늘려 나가는 것이 가장 바람직한 것으로 나타났다.

만약 성숙한 개체를 산지에서 채취하여 분재용 수목으로 개발하고자 할 경우에는 이 나무를 활착시키는 것이 첫째 조건이므로 뿌리를 소중히 다루어야 하며, 야생 상태에서는 특히 잔뿌리가 적으므로 손상을 입지 않도록 유



의해야 한다. 그러므로 상처를 내거나 나무를 잡아 뽑는 것은 절대 금물이다. 또한 이식시에는 잎을 적당히 잘라주어 뿌리와 적당히 균형을 취하는 것도 중요하다. 이러한 방법을 사진으로 나타내면 다음과 같다.

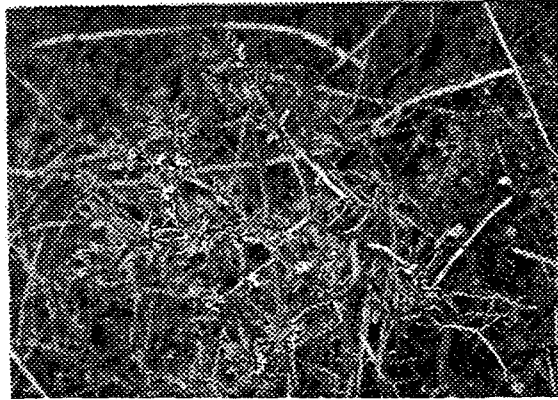


사진 5-3. 자생지 생육 현황(꽃을 피우고 있는 두메닥나무)



사진 5-4. 자생지 생육 현황(잎매를 달고 있는 두메닥나무)

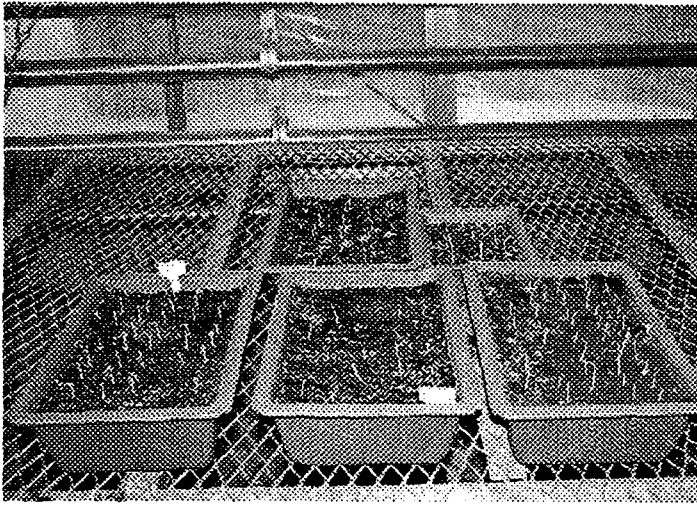


사진 5-5. 두메닥나무로부터 수집한 종자의 발아

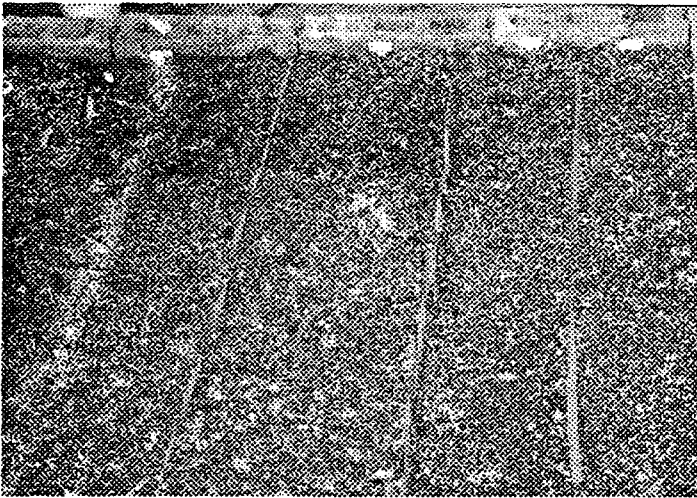


사진 5-6. 발아된 두메닥나무 어린 묘목의 은실 적용시험

## 나. 수형 만들기

철사 걸치기는 인공을 가하여 나무의 모양을 바로잡는 것이다. 즉 분재 가꾸기에 있어서 최대의 과제인 것이다.

먼저 지금까지의 연구를 통해 파악한 이 식물의 특성을 이해하고 그 특징에 맞추는 것이다. 지나친 정형이나 무리는 인공적인 흔적을 오래도록 남기게 되며, 오히려 자연의 운치를 손상하게 되는 것이다. 특히 철사 걸치기는 아직 수형의 골격을 갖추지 못한 어린 나무에 행하는 경우에 매우 중요한 작업이다. 이러한 작업은 분재로서의 자세를 잡아 주는 것이므로 줄기나 가지를 필요에 따라서는 강하게 수형을 변형시킬 수밖에 없는 것이다. 즉 골격을 이루는 줄기나 가지를 이상적인 모양이나 각도로 구부려 주기도 하고 흉하게 구부러진 것은 바로잡아 주기도 해야 하는 것이다. 봉 연구 대상인 두메덩나무는 목질부 및 수피가 매우 부드러워 수형 잡기에는 매우 적합한 수종으로 지금까지의 연구를 통하여 알 수 있었다. 그러나 불행하게도 쉽게 수형을 변형할 수 있는 이 나무는 목질부와 수피부가 이탈되어 결국에는 수분 및 양분의 이동에 지장을 가져와 대부분 고사되는 경향을 나타냈다. 그러므로 이 두메덩나무의 수형을 만들 경우에는 세심한 주의를 기울여 철사 걸치기를 실시한 후 수형을 조절해야 할 것이다. 다음 사진들은 철사 걸치기를 실시한 후 수형 조절을 실시하여 분재용 수목을 개발한 것이다.

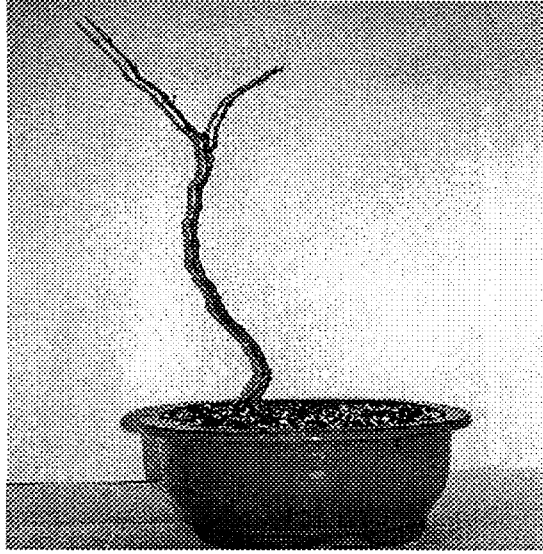


사진 5-7. 성숙한 개체의 철사 걸치기를 통한 분재 수목 개발(겨울)

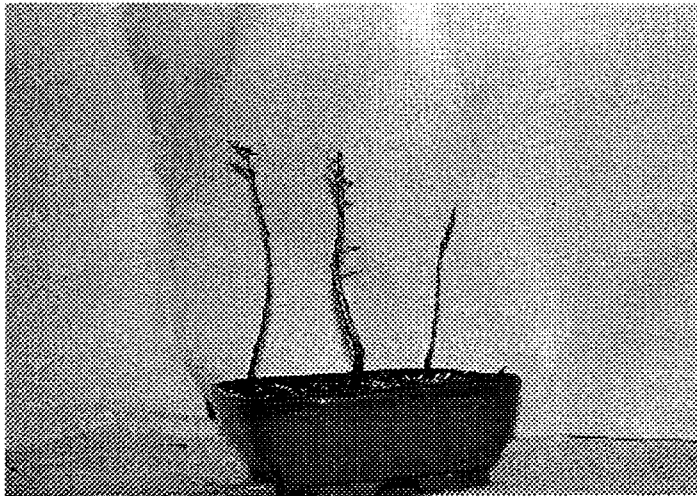


사진 5-8. 성숙한 개체의 모아심기 분재 수목 개발(겨울)

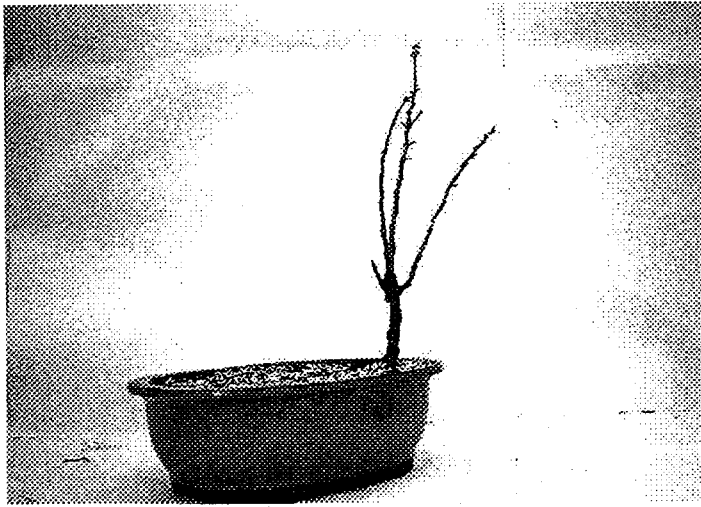


사진 5-9. 성숙한 개체의 철사 걸치기를 통한 분재 수목 개발(겨울)

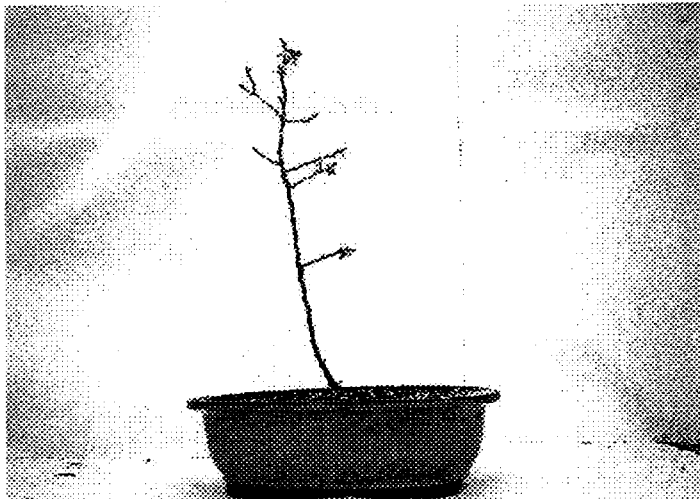


사진 5-10. 성숙한 개체의 철사 걸치기를 통한 분재 수목 개발(가을)

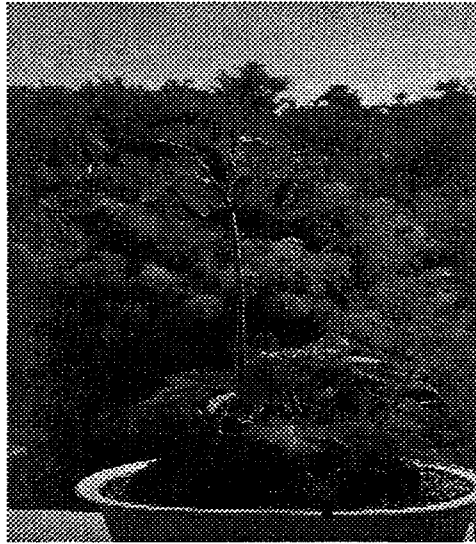


사진 5-11. 성숙한 개체의 수형조절을 통한 분재 수목 개발(여름)

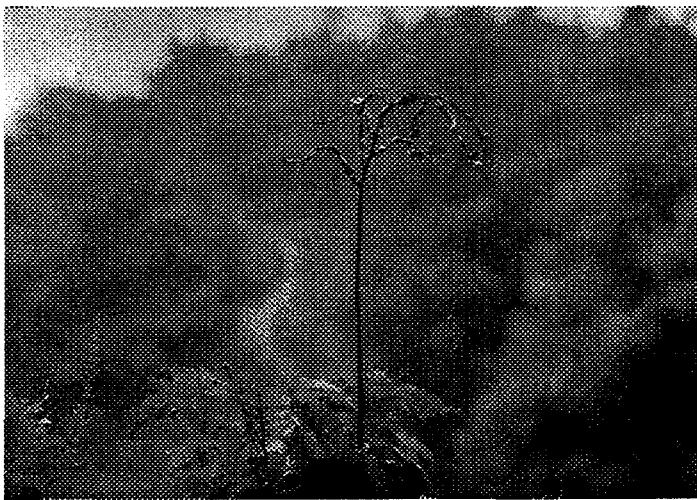


사진 5-12. 성숙한 개체의 수형조절을 통한 분재 수목 개발(가을)



사진 5-13. 두메닥나무의 수형조절을 통한 분재 수목 개발 현황

분재라는 취미에서 가장 즐거운 것은 거의 모든 사람들이 자기가 뜻하는 대로 수형을 만드는 것이라 할 것이다. 수형을 조절한 분재는 꽃이 화려하지 않아도 좋고, 회귀목이 아니라도 좋으며, 고가의 나무가 아니라도 좋다. 물론 자연의 수목이 모두 다 아름다울 수는 없겠지만 하나 하나의 수종마다 그 나름대로의 특성이 있으므로, 이 특성을 무시한 인공은 있을 수가 없다. 다행하게도 본 수종은 우리가 쉽게 접할 수 없는 희소성의 수목만으로서도 분재용 수목으로 충분한 가치를 갖는다고 볼 수 있다. 그러므로 본 수종은 과도한 수형 조절을 실시하여 목질부와 수피부가 이탈되어 결국에는 고사시키는 것보다는 수형 조절을 약하게 실시하거나 혹은 자연의 운치를 그대로 반영하는 분재용 수목으로 개발하는 것이 바람직할 것으로 판단된다.



## 제4절 참고문헌

1. 권오웅, 송원섭, 박형순, 박용길. 1987. 주요조립수종의 Juvenile Cutting에 관한 연구. 임목육종연구보고 23 : 30-33
2. 김갑태. 1989. 종자의 전처리가 몇 수종의 포장 발아율에 미치는 영향. 한림지 78(1) : 26-29
3. 김창호. 1985. 몇 발근환경인자가 주목삼수 발근에 미치는 효과. 한국임학회지 70 : 1-6
4. 산림청 임업연구원. 1987. 한국수목도감. 임업연구원. 392-397
5. 이근수. 1995. 분재백과. 전원문화사. 381pp.
6. 이창복. 1969. 우리나라 식물자원. 서울대 논문집 20(농생계) : 89-228
7. 이창복. 1969. 자원식물. 한림지 8 : 27-139
8. 이창복. 1979. 대한식물도감. 791pp.
9. 임경빈. 1983. 특용수재배학. 향문사. 495pp.
10. 임종택. 1995. 가시오갈피나무의 삼목번식에 관한 연구. 건국대학교 농축대학원 석사학위논문 1-31
11. 정삼택. 1985. 종자휴면과 발아의 생리생화학. 대한교과서주식회사. 620pp.
12. 정태현. 1957. 한국식물도감(상권 목본부). 507pp.
13. 정현배. 1974. 강원도산 유용식물조사 연구. 식물분류지 Vol. 5 : 13-22
14. 황진성. 1970. 지리산 지역의 약용식물에 관한 조사 보고 제2보(목본편). 진주농전논문집 4 : 29-34
15. Nakai, T. 1930. Daphnaceae In : Flora Sylvatica Koreana 17 ; 37-51
16. Satoo, S. 1956. Anatomical studies on the rooting of cuttings in coniferous species. Bull. Tokyo univ. Forests No. 51 : 109-158
17. 上原敬二. 1959. 樹木大圖說 III. 有明書房. 193-208

18. 清水建美. 1995. 植物の世界 43號, 週刊 朝日百科, 4-215
19. 濱谷稔夫. 1989. 日本の野生植物(木本II). 平凡社. p. 76-78.
20. 沼田眞. 1992. 植物生態の觀察と研究. 東海大學出版會. 275pp.
21. 向井讓. 横山敏孝. 1985. キハダネの發芽に對する冷濕處理の效果. 日本林學會誌 67(3) : 103-104