

최 종  
연구보고서

두릅을 이용한 신기능 식품소재 및  
제품개발 연구

Studies on the development of new  
functional materials and nutraceutical products  
using *Aralia elata*

(주)메드빌

농 립 부

# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “두릅을 이용한 신기능 식품소재 및 제품개발 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2003년 7월 30일

주관연구기관명 : (주)메드빌

총괄연구책임자 : 정 영 신

세부연구책임자 : 정 영 신

연 구 원 : 홍 은 경

연 구 원 : 이 장 하

연 구 원 : 최 선 아

협동연구기관명 : 강원도 농업기술원 산채시험장

협동연구책임자 : 김 재 록

# 요 약 문

## I. 제 목

### “ 두릅을 이용한 신기능 식품소재 및 제품개발 연구 ”

주관연구 : 두릅 추출물의 품질관리 및 제품개발 연구

협동연구 : 두릅의 신제품 육성 및 대량증식 재배기술 개발

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

현대 선진 사회에서 식생활의 의미는 영양소를 공급하는 일차적인 기능에서 벗어나 식품 중에 함유되어 있는 생리활성 성분을 통하여 삶의 질을 향상시키려는 국민 보건적 가치를 포함한다.

미국의 경우 1991년 국립보건원 내에 대체의학국이 신설되었을 당시만 해도 식물추출물이나 기능성 식품이 신뢰를 얻지 못하였으나, 지금은 대체의학국의 연간 예산이 2백만 달러에서 5천만 달러로 기하급수적으로 증가하는 추세이다. 또한 1994년 Dietary Supplement Health & Education Act가 제정됨에 따라, 기능성 건강보조식품의 규제가 완화되어 기능성 식품산업에 대한 활발한 투자가 이루어지고 있다.

우리 나라의 건강보조 식품은 80년대 초의 효소 제품을 효시로 20년의 짧은 역사를 가지고 있지만 90년대 초부터는 그 시장규모가 급성장하여 연 20-40%의 성장률로 96년에는 1조원에 달하였다. 이렇게 시장의 규모가 성장하는 중요한 이유는 빠른 경제 성장으로 인한 생활 습관과 식 습관의 변화로 인한 불균형 영양섭취, 화학 농법에 의한 작물재배, 환경 오염으로 인한 작물의 손상 및 공기 오염, 또 농약 및 방부제 등을 다량함유하고 있는 수입 작물의 소비, 운동 부족 및 스트레스 등으로 건강에 위협을 받기 때문이다.

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

본 과제에서 연구하려고 하는 두릅은 특유의 맛과 향이 뛰어난 고급 산채로서 국민소득이 증가하고 식생활이 향상됨에 따라 수요가 크게 증가하고 가격도 매년 상승 추세에 있어 농가의 중요 소득원으로서 부상되고 있다. 두릅나무와 뿌리의 껍질은 한방에서 총목피라고 하여 당뇨병에 사용하였고, 두통, 산통, 관절염, 위궤양, 강장약으로도 활용되었으며, 민

간에서는 전초를 위장질병에 썼다. 따라서 두릅나무는 그 활용도가 크에도 불구하고 같은 두릅나무과(Araliaceae)의 다른 나무들(읍나무, 오갈피나무, 인삼등)에 비하여 연구 자료가 충분히 뒷받침되고 있지 못하다.

또한, 산야의 자생 두릅은 잡목에 의한 피압과 채취 남획으로 자원이 고갈되어가고 있고, 일손부족과 인건비 상승으로 채취량이 감소됨에 따라 재배면적이 증가하면서 병해충의 발생이 점증되고 있는 실정이다. 따라서 농가의 재배 안전성을 위해서는 국내에 자생하는 두릅의 유전자원을 수집·보존하면서 특성조사와 육종적 노력을 통해 내병 다수성 신품종의 육성이 시급한 과제이며, 신품종을 신속히 대량 증식하여 보급할 수 있는 손쉽고 경제적인 번식방법도 개발되어야 한다. 두릅순의 가격은 자연산이 출하되는 시기에 낮게 형성되므로 겨울 축성재배의 생산성을 향상시키고 노지재배의 생산시기를 연장하여 공급기간 확대를 통해 농가소득을 향상시켜야 하며, 이를 위해서는 조·만생 품종의 육성과 재배작형에 따른 생산방법 조절이 필요하다. 또한 최근 전국적으로 산지를 활용하여 낮은 생산비로 자연산과 유사한 고품질, 저공해 두릅을 생산하고, 자연자원도 보존할 수 있는 산림농법이 시도되고 있으나 아직 초보적인 단계로 식재방법, 재배관리방법 등 기술적인 체계가 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구는 전통의학과 민간에서 사용해 왔던 두릅나무를 과학적으로 분석하고 생리활성을 연구함으로써 건강식품으로 제품화 할 수 있는 방안을 마련하고 제품 생산을 위한 연구를 수행하며, 또 한편으로는, 경제적인 재배법을 활용한 고품질의 두릅을 생산하기 위한 새로운 품종 육성, 묘목 대량증식 및 재배작형별 경제적 생산 방법 실증, 산지재배 식재기술을 개발하기 위한 목적으로 수행하였다.

### Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

#### 1. 두릅 추출물의 품질관리 및 제품개발 연구

가. 두릅나무의 성분 분석 및 품질관리

- 1) 두릅 추출물의 실험실적 제조법
- 2) 두릅 추출물의 일반 성분 분석
- 3) 두릅 추출물의 품질관리

나. 두릅 추출물의 기능성 연구

- 1) in vitro 항산화 및 aldose reductase 활성 억제 실험
- 2) ex vivo 렌즈 배양 실험
- 3) in vivo streptozotocin 유발 당뇨성 백내장 동물 실험
- 4) in vivo 당뇨성 막망증 억제 동물 실험

5) 시제품의 항당뇨 효과 검증(in vivo streptozotocin 유발 당뇨 동물 실험)

다. 두릅 추출물의 제품화 연구

- 1) 시장성 및 사업성 연구
- 2) pilot 규모 산업적 추출 방법 연구
- 3) 제품화를 위한 concept 및 formulation 연구(시제품 생산)
- 4) 두릅 추출물의 독성 연구

## 2. 두릅의 신제품 육성 및 대량증식 재배기술 개발

가. 유전자원 수집 및 우량품종 선발

- 1) 두릅 유전자원 수집
- 2) 특성조사 및 우량계통 선발
- 3) 선발된 계통의 형질평가

나. 대량증식기술 개발

- 1) 종자발아율 향상 방법
- 2) 뿌리삽목율 향상 방법

다. 대량생산 재배기술 종합실증 연구

- 1) 재배작형별 생산성 및 경제성 검토
- 2) 산지를 활용한 대량생산 기술개발

## IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

### 1. 두릅 추출물의 품질관리 및 제품 개발 연구

- 실험실적 방법으로 부위별·품종별 추출물을 제조하여 일반 성분을 분석한 결과 부위별 미네랄 함량의 차이는 있었으나, 식품공전에 기재된 중금속인 Pb는 거의 검출되지 않았고 Cr의 함량도 안전한 수준이었다.
- 추출물의 화학적 특성을 규명하기 위하여 성분 분석을 실시하였다. 그 결과 TLC 상에서 phenolic compound와 saponin 계통의 물질이 다량 함유되어있음이 확인되었다. Phenolic compound 중에 chlorogenic acid(CLA), caffeic acid(CFA), 3,4-dihydroxy benzoic acid(DHBA)의 함량이 높은 것을 확인하였다.
- 신초나, 뿌리 추출물에서 보다 가지부위에서 phenolic compounds의 함량이 높음을 알 수 있었고 품종(가시의 많고 적음)에 관한 차이는 많지 않았다. 춘채와 추채의 비교에서는 함량의 유의적인 변화를 관찰하였는데, DHBA의 함량이 춘채에서 2배 가량 적었다. 두릅나무의 성장년도(1년, 2년, 3년생)에 따른 추출물의 분석에서는 성장년수가 늘

어남에 따라 DHBA의 함량이 증가함을 관찰하였고 선발된 6종의 우수품종의 추출물의 분석에서는 한 품종을 제외하고는 대부분 적정 수준의 DHBA를 함유하고 있었으며, 자생종과 유사한 함량임을 확인하였다. 따라서 제품을 위한 추출물의 원료로 두릅의 가지 부위와 적어도 2년 이상 된 그리고 병충해가 없는 것이 타당할 것으로 평가되었다.

- 여러 종류의 두릅 추출물에서 HPLC 및 TLC 분석을 실시하여 그 성분을 비교하면서 함량이 적절하고 효능에 어느 정도 의미를 줄 수 있는 성분을 검색한 결과 DHBA가 품질관리에 가장 적절한 것으로 평가되었다. 또한, 제품화를 위한 추출물은 적어도 1.10% 이상의 DHBA를 함유하도록 기준을 정하였다.
- 다양한 시료의 반복 분석을 통하여 추출방법의 타당성을 검토한 결과 본 연구에서 사용된 추출물의 제조방법이 안정화되었음을 확인하였다.
- 여러 종류의 추출물을 사용하여 항산화효과 및 aldose reductase(AR) 활성을 조사하였다. 대체적으로 항산화효과에 있어서는 ascorbate 수준의 효과를 보였고 AR 억제 효과도 탁월하게 나타났다. 단지 춘채에서 항산화 효과가 월등히 낮은 것으로 나타났고 분석 결과에서도 phenolic 물질의 함량이 적은 것으로 보아 원료로 타당치 않은 것으로 사료된다.
- 렌즈배양 실험을 통하여 당뇨성 백내장 생성 억제 효능을 조사한 결과, 추출물의 백내장 생성이 25% 정도 억제되었다. STZ로 당뇨를 유도한 랫드에 10주 동안 두릅 추출물을 경구투여 했을 때, 당뇨쥐에 비하여 유의적으로 백내장 생성이 억제 되었음을 관찰할 수 있었다. 따라서 두릅의 추출물은 in vitro(항산화, AR), ex vivo(렌즈배양), in vivo(동물실험) 생리활성 실험에서 모두 당뇨성 백내장 생성을 억제하였으므로 경쟁력 있는 건강보조식품으로 시장에 진입할 수 있는 기술력을 갖추었다고 하겠다.
- 두릅 추출물을 유기용매를 사용하여 분획으로 나누었고 유기용매 분획에서 분석 및 기능을 검색하였다. 클로로포름 층 및 에틸아세테이트 층에서 탁월한 항산화 효과 및 AR 억제 효과를 관찰할 수 있었고 렌즈 배양실험에서는 클로로포름 층이 가장 좋은 효능(28% 억제)을 나타냈다. 클로로포름 층으로 컬럼 분획을 만들어 백내장 생성 억제 효능을 dose dependent하게 다시 확인할 수 있었다.
- 시장 규모 및 시장 특성 조사 : 해마다 노인 인구, 당뇨병 및 백내장의 유병인구가 증가하고 있으나, 당뇨병의 합병증에 좋은 효과를 지닌 의약품 및 건강기능식품의 부재로 인하여 벤처기업에서 전략적으로 접근할 수 있는 규모가 큰 틈새시장이 형성되어 있음을 확인하였다.
- 당뇨성 백내장의 건강보조식품으로 진입할 수 있는 효능 즉 항산화 효과 및 aldose reductase 억제 기능을 target으로 하였기에 당뇨성 백내장 예방물질 및 치료제로 가능

성이 큼.

- Bench scale의 방법을 적용하여 pilot 산업적 추출방법을 확립하였고 bench scale과 유사한 수득률(6-7%)을 얻었다.
- 암수랫드를 사용하여 1회 경구 투여 급성독성 시험을 실시한 결과 최대 투여 용량인 2000 mg/kg에서 독성이 나타나지 않았으므로 안전한 추출물임이 확인되었다.
- 위의 연구 결과들에 따라 두릅 추출물을 핵심원료로 하는 건강보조식품 및 특수영양식품의 concept 및 조성을 결정하였고 시제품을 OEM 방식으로 생산하였다.
- 특수영양식품(Diapro)의 혈당강하 효능을 확인하기 위하여 STZ 유도 당뇨 랫드에서 동물실험을 수행하였다. 12일 경구 투여 후 Diapro를 투여한 랫드에서 혈당이 32% 감소하는 탁월한 효과를 관찰하였다.
- 본 연구를 통하여 기 출원한 국내특허를 등록하였고 2002년 하반기에 미국특허를 출원하였다. 또, 본 기술의 사업화를 위하여 (주)GY인텍에 국내특허 실시권을 성공적으로 이전하였고 올 하반기에는 본 연구의 결과들을 토대로 하여 제품이 출시될 예정이다.

## 2. 두릅의 신품종 육성 및 대량증식 재배기술 개발

- 국내 중북부의 자생종 성목 71계통과 종자 16계통을 수집, 포장식재후 특성검정을 실시하여 우량형질을 보유하고 있는 성목 48계통과 유목 152개체를 1차 선발하여 유전자원으로 보존하면서 '02년 우량계통 최종 선발에 공시하였음
- 나무 및 가지의 생육 및 특성조사, 병해검정을 통해 수세가 양호하고 입고역병과 더텡이병에 내병성이며 재배적으로 유리한 형질을 보유한 성목 4계통, 유목 4계통 6개체 등 총 10개체를 선발하여 후대 증식중에 있음
- 가을 종자과종은 채종 즉시 과피를 제거하고 저온처리(4℃, 2주)후 온실에 과종하면 발아율이 관행 대비 31% 증가되어 동계에 건묘육성이 가능하였음
- 봄 종자과종을 위해서는 종자 조제후 젖은 모래와 1:3으로 혼합하여 저온저장시 (상온 기건저장은 전혀 발아 안됨) 발아율이 85.7%였음
- 뿌리번식을 위해서는 가을에 10~15mm 굵기의 뿌리를 채취, 15cm 길이로 절단하여 토중저장후 이른 봄 짜개포트 A형에 육묘하는 것이 단위면적당 육묘 생산 효율성이 높았음
- 우량품종 선발 후 신속한 대량증식방법을 검토한 바, 실생 유성번식은 증식효율은 높으나 타가수정에 의해 유전형질의 분리가 일어나 우수계통의 형질을 고정시킬 수가 없으므로 증식효율은 다소 낮더라도 근맹아 무성번식에 의한 후대증식이 필요함
- 겨울철 축성재배는 자연산 두릅이 출하되기 전에 생산할 수 있어 노지재배 보다 농가 경영상 유리하였으며, 정아삽은 품질이 우수하여 1아삽 대비 소득이 18%(20평당 262만원) 높았음

- 정아삽 축성재배는 삽수굵기가 2cm 이상이고 길이가 70cm에서 가장 수량이 많았으며, GA<sub>3</sub> 50ppm을 삽수 선단의 정아 및 측아에 분무시 무처리 대비 11일 빨리 수확할 수 있었음
- 노지재배시 두릅나무 선단부위에 폭 6cm, 길이 20cm의 투명 또는 흑색비닐튜브를 씌우면 무처리 대비 7일 빨리 수확할 수 있었으나, 흑색비닐튜브 캡핑시 두릅순의 조직이 연하고 색깔이 황녹색으로 품질과 기호도가 낮았음
- 산지재배시 묘목을 식재하는 것이 균락을 조성하는 데는 가장 빨랐으나 종묘비, 식재 인건비 등 경영비가 많이 소요되고, 경사지 등 열악한 노동조건으로 근삽하는 것이 유리한 것으로 판단됨
- 산지재배시 근삽은 가을에 2년생 정도의 어린나무에서 1cm 굵기의 뿌리를 채취하여 길이 15cm로 절단후 양지바른곳에 식재하였을 때 생존율이 67%로 가장 높았음
- 두릅은 '종자산업법'에 의거 2007년부터 품종보호가 가능하므로, 육성된 우량계통은 '03~'04년에는 후대 증식(계통화)과 생산력 검정시험을 실시하고, '05~'07에는 지역적응성을 검정하여 우수계통은 품종보호를 출원하고 '08년부터 농가에 종묘를 보급하고 육종가들에게 유전자원을 분양하며, 개발된 대량증식 및 생산 재배기술은 영농활용자료로 활용할 계획임



# SUMMARY

## I. Subject

**Title : “ Studies on the development of new functional materials and nutraceutical products using *Aralia elata* ”**

### Subtitles

1. Development of the method for the quality control and of the nutraceutical products using the extract from *Aralia elata*
2. Breeding and development of cultivation techniques for mass propagation of *Aralia elata*

## II. Objectives and necessity of the study project

Recently, in the developed country the concept of "Food" pursues more meaning including not only the primary function of nutrient supporters but also the supply of physiologically active components in order to achieve the quality of the life and public health.

In 1991, NIH (National Institute of Health) in America opened the new department of Alternative medicine. However, the functional food had not been approved as a therapeutic alternative. Nowadays the budget for the department of alternative medicine have increased to 5,000 million dollar from 200 million dollar. In addition, Dietary Supplement Health & Education Act had been revised and proclaimed in 1994 toward to the alleviating the health food regulation and to the encouraging the active investment to the food company.

In Korea, the food supplements have been developed for the last twenty years since the early 1980s. However, the growth rate of the food supplements markets increases to the additional 20-40% every year. The reason of these steep growth are due to the threatened life from the changes in the unbalanced life and food habits, the preventive chemicals for the planting, the pollution of the environment and air, the harmful preservative in imported crops, the lack of exercise, and the stressful modernized life.

Nowadays, the development of the national resources from the natural plants and the

production of the health food using those national resources might be urgently achieved since the over 80% of the raw materials to health food production have been imported from America, Japan, China, and Newzeland and Aloe, the purified fish oil, enzyme and so on totally dependent to the import.

*Aralia elata* SEEM, the this study material, has unique taste and flavor and is one of the high quality wild vegetables. As citizen's diet improved and national income increased, its demand rose remarkably and its price also did so as a result. For that reasons, *Aralia elata* SEEM. is considered as one of the critical income origins.

In addtion, the bark and root cortex of *Aralia elata* named as "Chomokpee", have been used as a anti-diabetic, headache-relief, baby bearing pain-relief, anti-arthritis, anti-ulcer, tonic agent in traditional medicine and total brances used for stomach disease in folk. However, the bio-activities and its active components of *Aralia elata* preparation have not been well known and studied yet in the comparison with the other medicinal plants(*Acanthopanax sessiliflorum*, *Kalopanax pictum*, *Panax gingseng* etc.) in the same *Araliaceae*.

In the wild, population of *Aralia elata* SEEM. have been decreased by a biological depression and an illegal gathering. Because of decrease of gathering, its cultivation area is increasing but damages by blight and harmful insects are also increasing. For stability of cultivation, it is strongly needed to collect and preserve a largy variety of wild *Aralia elata* SEEM., and also to breed new cultivars having high yield and disease tolerance. Also easy and economic method to propagation is necessary for mass propagation and supply. Because the price of sprout of *Aralia elata* SEEM. is comparatively low when gatherings are sold, it is needed to breed early season or late maturing cultivars and to increase the produce term with forcing culture and advanced outdoor culture for higher income. Recently, there are some attempts to cultivate on mountainous district which have advantages such as low cost, high quality, chemical free product, preservation of natural resources. But those still have many problems about methods of planting, management of culture, etc.

Therefore, the purpose of this study was to analyse the chemical components and to examine the bio-function of *Aralia elata* preparation using the advanced scientific research tools, which can be used for the manufacturing of the health food. In addition, this study was conducted to produce economically better quality sprouts with breeding of new cultivate, propagating mass amount, economical producing method with different

cultivation methods, and method of planting on mountainous district. nomically better quality sprouts with breeding of new cultivate, and to develop the cultivation techniques for mass propagation of *Aralia elata*.

### **III. Study contents and extent**

#### **1. Development of the method for the quality control and of the nutraceutical products using the extract from *Aralia elata***

- A. Chemical analysis of the components and quality control of the extract
  - 1) Extraction method and preparation of the extract
  - 2) General analysis of the preparation
  - 3) Quality control of the preparation
- B. Study on the bio-functions of the preparation
  - 1) Anti-oxidant effects and inhibitory activity to aldose reductase in vitro system
  - 2) Anti-cataract efficacy in lens culture in the media
  - 3) Anti-cataract effects to STZ-induced diabetci rats
  - 4) Inhibitory effects on the retinopathy in STZ-induced diabetic rats
  - 5) Effects of the manufacturing sample(DiaPro) on the blood glucose of STZ-induced diabetic rats
- C. Study on the manufacturing-related processes
  - 1) Characteristics and size estimation of markets
  - 2) Study on the accomplishment of the proper and economical manufacturing processes in pilot scale
  - 3) Study on the concept and formulation of components for the health food
  - 4) A single dose toxicity of the extract

#### **2. Breeding and development of cultivation techniques for mass propagation of *Aralia elata* SEEM.**

- A. Collection of nationwide genetic resources and selection for high quality lines
  - 1) Collection of wild varieties of *Aralia elata* SEEM.
  - 2) Testing specific characteristics and selection for high quality lines
  - 3) Testing characteristics of selected lines
- B. Development of methods for mass propagation

- 1) Method for seed germination improvement
  - 2) Method for root cutting improvement
- C. Strategy for mass propagation and study for establishment of methods of cultivation
- 1) Test of productivity and economical efficiency with different cultivation methods
  - 2) Development of method for mass propagation on mountainous district

#### IV. Study results and application

##### 1. Development of the method for quality control and of the nutraceutical products of the extract from *Aralia elata*

○ The extracts were prepared in bench scale from the different raw materials; different parts of the plants or different species and analyzed in general nutrients and heavy metals. In results, the differences in general nutrients the were found among the sprout, the branches and the roots and the amounts of heavy metals including Pb and Cr were in the safe ranges, much less than maximum recommendation.

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

○ The amounts of phenolic compounds in the branches showed higher than those in the roots or new branches. There was no significant difference in the quantities of phenolic compounds between the species with or without the thorns. However, the branches collected in the spring showed the lower levels of phenolic compounds compared with those in the fall. The amount of DHBA in the fall was 2 times higher than that in the spring. The older age of the plant contained the more amount of DHBA. And the analysis of six species based on the disease tolerance and on the growth condition demonstrated that there were no significant differences in phenolic compounds except one species and the levels were comparable with those of naturally grown plants. Thus, it may be suggested that the best raw materials for the extract 藥 health food could be the branches, the two years grown, and with disease tolerance.

○ DHBA was conducted as a component for quality control on the bases of the results from the TLC and HPLC analysis in the relationship with the bio-functions. It was concluded that the quantity of DHBA should be over 1.10% to maintain the good quality of the products.

- From the repeated analysis of the various extract of *Aralia elata*, it was verified that the extraction method in bench scales were well established.
- From determining the inhibitory effects on the aldose reductase activity and the antioxidant activity, it was demonstrated that the antioxidant activity of the extract were prominent as that of ascorbate and AR inhibitory activity were dominant. Only the extract from raw materials collected in the spring represented the low anti-oxidant activity. This result seems to be accordant to the analytical result of phenolic components. Thus the spring collected material may be not proper to the health food.
- Anti-cataract effects of the extracts were confirmed using the lens culture system. In addition, when the extract was administered to the STZ-induced diabetic rats for 10 weeks, the cataract formation was inhibited in some how. Thus, the same conclusions in the bio-functions were made from in vitro, ex vivo, and animal experiments. Thus, the scientific and technical bases for the bio-functions might be enough to entering the market for product and promising the successful manufacturing and marketing.
- The fractions extracted with organic solvents were chemically analyzed and examined of their bio-functions. Then, it was found that the chloroform and ethyl acetate fraction had prominent antioxidant activity and inhibitory activity of AR compared with butanol fraction and water soluble residue. From the lens culture experiments, the chloroform fraction showed more effective on the inhibition of cataract formation. The effective chloroform fraction was applied to the Silica gel chromatograph and the collected fractions showed the inhibitory effect on the cataract in the dose dependent manner.
- From the searches on the size and characteristics of markets, it was realized that the population of the elderly and the incidences of diabetes and cataract increase every year, but the effective medicine or the health food against diabetes complications have not been well developed yet. Thus, a large niche market has been formed for the venture company.
- In order to establish the proper manufacturing process the extraction method in bench scale were applied to the pilot scale. Then, the production yield of the extract were 7% in both scales.
- When a single dose toxicity test was performed to the rats (female and male), the LD50 were estimated over 2000 mg/kg body weight. It was concluded that the extract was very safe to the life in terms of toxicity.

○ Based on the above results, the extract could constitute as a major component of the food supplement(EyePro) or special nutrient supplement(DiaPro). The remaining components were formulated on according to the product concept.

○ When DiaPro were administered to the STZ-induced diabetic rats for 12 days, the blood glucose levels with the oral force feeding of DiaPro at the dose of 600 mg/kg decreased to 32% compared to the diabetic rats.

○ As a product of this study, patent related to *Aralia elata* were registrated in Korea and the right of patent practice have been successfully transferred to GYintec Co., Ltd. It is expected that the manufacturing products of health food introduce to the market in the next season of the year.

## **2. Breeding and development of cultivation techniques for mass propagation of *Aralia elata* SEEM.**

○ We had collected 87 lines of *Aralia elata* SEEM., mature trees and seeds, all over the country. After testing of specific characteristic, 200 individuals which have high quality characteristic were selected by primary selection. We have preserved them as germplasm and used them as testing materials in variety selection in 2002.

○ 4 individuals of mature tree and 6 individuals of young tree through 4 lines which have vigorous tree and disease tolerance to *Phytophthora cactorum* and *Elsinoe araliae* were selected with results of examination about growth condition and specific characteristic on trunk and branch.

○ For seedling in fall, seed coat were immediately removed after seed harvesting. Seedling in the greenhouse after chilling treatment (4°C, 2 weeks) caused 31% increasing of sprouting ratio than conventional seedling. That result can makes steady seedling in winter.

○ For seedling in spring, seeds mixed with wet sands(seeds:sands=1:3) represented 85.7% sprouting ratio after low temperature : there is no sprouting after room temperature.

○ For propagation with roots, 10~15mm thickness roots were gathered and cut as 15cm in length. After storage under soil, seedling with A-type plug represented best efficiency per area at early spring.

○ For rapid mass propagation after selection, propagation by asexual propagation with

root sprouting (slightly low propagation efficiency) is more proper than sexual propagation with seedling (high propagation efficiency, but cannot fix superior characteristics gained by breeding)

- Forcing culture in winter had more advantage because of early shipment than regular shipment. Apical bud cutting represented so high quality that its price is 18% higher than others.

- Forcing culture after apical bud cutting represented best result at the condition of over 2cm thickness and 70cm in length. Treatment of GA<sub>3</sub> 50 ppm at apical and lateral bud can make early harvest (about 11 days) than control.

- For outdoor culture, the capping at tip with transparent or opaque vinyl tube (6cm×20cm) makes about a week early harvest than control but have low quality and preference because of its flabby tissue and yellow color.

- For cultivation on mountainous district, planting seedlings rapidly make a stock but need high cost for seedlings, labors, and management. Root cutting is more proper because of bad condition to work as slant.

- For cultivation on mountainous district, root cutting represented 67% survival rate when 1cm thickness and 15cm in length root from 2-year-old young tree at fall was planted at the sunny spot.

- Because cultivars of *Aralia elata* SEEM. can be protected by 'Seed Industry Law' from 2007, selected superior lines after breeding will propagate and test yield from 2003 to 2004, test regional adaptation apply for a patent from 2005 to 2007, supply seedlings for the farmers, share germplasm with the breeders, make the best use of developed method of mass propagation and cultivation as farming apply materials.

## CONTENTS

Chapter 1. Purpose, necessity and contents of the project -----	17
Chapter 2. Background of the project related technology in and out of Korea -----	22
Chapter 3. Study design, results and discussion -----	30
Chapter 4. Degree of achievement in the project performance and propagation in the related research field -----	116
Chapter 5. Future planning and practice for the related area using the project results -----	121
Chapter 6. Scientific and technological knowledge obtained from the project performance -----	124
Chapter 7. References -----	126



# 목 차

<b>제 1 장</b>	<b>연구개발과제의 개요</b>	-----	17
제 1 절	연구개발의 목적 및 필요성	-----	17
제 2 절	연구개발의 내용 및 범위	-----	21
<b>제 2 장</b>	<b>국내외 기술개발 현황</b>	-----	22
제 1 절	두릅나무 기능성 및 기능 성분에 관한 연구	-----	22
제 2 절	당뇨성 백내장 연구와 치료 물질 소재 및 제품	-----	23
제 3 절	두릅의 신품종 육성 및 대량증식 재배기술 개발	-----	27
<b>제 3 장</b>	<b>연구개발수행 내용 및 결과</b>	-----	30
제 1 절	두릅 추출물의 품질관리 및 제품 개발 연구	-----	30
1.	두릅나무의 성분 분석 및 품질관리	-----	30
2.	두릅 추출물의 기능성 연구	-----	42
3.	두릅 추출물의 제품화 연구	-----	54
제 2 절	두릅의 신품종 육성 및 대량증식 재배 기술 개발	-----	92
1.	유전자원 수집 및 우량품종 선발	-----	92
2.	대량증식기술 개발	-----	101
3.	대량생산 재배기술 종합실증 연구	-----	106
<b>제 4 장</b>	<b>목표달성도 및 관련분야에의 기여도</b>	-----	116
제 1 절	연도별 연구목표 및 평가착안점에 입각한 연구개발목표의 달성도	-----	116
제 2 절	관련분야의 기술발전예의 기여도	-----	119
<b>제 5 장</b>	<b>연구개발결과의 활용계획</b>	-----	121
제 1 절	연구개발결과의 활용 방안	-----	121
제 2 절	메드빌의 사업화 추진방안	-----	123
<b>제 6 장</b>	<b>연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보</b>	-----	124
<b>제 7 장</b>	<b>참고문헌</b>	-----	126

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성

### 1. 식품의 신 개념 도입 및 건강보조식품의 시장 규모 급증

현대 선진 사회에서 식생활의 의미가 영양소를 공급하는 일차적인 기능에서 벗어나 식품 중에 함유되어 있는 생리활성 성분을 통하여 삶의 질을 향상시키려는 국민 보건적 가치를 포함하게 되면서 안전성이 확보된 보조식품에 대한 관심이 증가하고 있다(김, 이 등. 1999).

미국의 경우 1991년 국립보건원 내에 대체의학국이 신설되었을 당시만 해도 식물추출물이나 기능성 식품이 신뢰를 얻지 못하였으나, 7년이 지난 지금에는, 대체의학국의 연간 예산이 2백만 달러에서 5천만 달러로 기하급수적으로 증가하는 추세이다. 또한 1994년 Dietary Supplement Health & Education Act가 제정됨에 따라, 기능성 건강보조식품의 규제가 완화되어 기능성 식품산업에 대한 활발한 투자가 이루어지고 있다.

우리나라의 건강보조 식품은 80년대 초의 효소 제품을 효시로 20년의 짧은 역사를 가지고 있지만 90년대 초부터는 그 시장규모가 급성장하여 연 20-40%의 성장률로 96년에는 1조원에 달하였다(노 등. 1999). 이렇게 시장의 규모가 성장

하는 중요한 이유는 빠른 경제 성장으로 인한 생활 습관과 식 습관의 변화로 인한 불균형 영양섭취, 화학 농법에 의한 작물재배, 환경오염으로 인한 작물의 손상 및 공기 오염, 또 농약 및 방부제 등을 다량함유하고 있는 수입작물의 소비, 운동 부족 및 스트레스 등으로 건강에 위협을 받기 때문이다.

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



최근 한국식품의약품안전청(KFDA)은 천연물 촉진법을 승인하여 이에 의한 천연물 신약 개발을 활발히 진행하고 있으며, 외국의 다국적 제약기업이 독점하고 있는 의약품 개발에 대응하고 있다. 국내 제약업계에서도 많은 비용과 시간이 필요한 의약품 개발에 대응하기 위해 이미 국내에서 사용하여 안전성을 확보한 천연물을 이용하여 의약품, 건강식품 등의 기능성 소재를 활발히 연구 개발하고 있다.

따라서 안전성이 있는 천연물의 활성을 검색 유효 성분만을 분리·정제하여 규명하고 동물실험 및 임상시험을 통해 유효성을 밝혀 의약품, 기능성식품 등을 개발할 수 있는 충분한 인프라는 갖추어져 있다. 그러나 의약품은 허가받기 위해 기능성식품에 비해 더 많은 안전성(독성)과 유효성 및 임상시험 자료를 필요로 하기 때문에 더 많은 시간과 비용이 요구되는 반면 천연물 소재는 식품원료로서 인체에 대한 안전성이 확보되어 있으므로 기능성식품으로 개발하는 것이 훨씬 용이하다.

한편 농업분야도 이제까지 생산성 향상 위주로 품종개량 및 분자 육종 연구가 대부분이었으나 현재는 식품의 기능성이 강조되고 품질의 안전성을 증진시키는 농수산물의 수요에 부응하는 방향으로 변환이 일어나고 있다.

## 2. 천연물의 기능성 소재 개발에 대한 선행 연구 업적의 축적

주관기관인 본 기업(메드빌)은 천연물을 활용하여 생리활성 소재를 개발하는 연구를 지난 40여년 넘게 수행한 연구개발 벤처로서 천연물 연구에 대한 know-how를 축적하고 있으며, 국가 연구사업에도 참여하여 전립선비대 치료제, 간염 및 간경화 치료제, 항암제 및 항암보조제 등을 개발하기 위한 천연물 연구를 수행하였고, 자체 연구를 통하여도 항산화 물질, 골다공증, 고혈압 치료제등의 연구를 진행하고 있다. 천연물 연구를 수행할 수 있는 분석 장비 및 세포 실험, 동물 실험 등을 위한 다양한 장비를 갖추고 있다.

또한, 최근 연구결과 따라 두릅 추출물에서 당뇨성 합병증인 당뇨성 백내장을 억제할 수 있는 기능성을 관찰한 바 있으므로(서 등. 1997, Kim 등. 1998, Lee 등. 1999) 당뇨성 백내장의 원인이 되는 산화적 스트레스 및 안구의 당대사에 중요한 aldose reductase 활성에 초점을 맞추어 연구를 진행하였다.

## 3. 두릅의 신제품 육성 및 대량증식 재배기술 개발이 시급

두릅(*Araria elata* SEEM.)은 두릅나무과 두릅나무속에 속하는 낙엽 활엽 관목으로 지리적으로는 한국, 일본, 중국 등 동아시아와 오스트레일리아, 북미 등에 분포되어 있으며, 평지로부터 표고 1,500m 이상의 산지에도 자생하고 있다. 우리나라에는 전지역에 자생하고

있으며, 근연종으로는 잎이 둥근 형태를 가진 둥근잎두릅나무(*Araria elata* var. *roundata*)와 잎의 뒷면에 회색 또는 황색 밀모가 있는 애기두릅나무(*Araria elata* var. *canescens*) 등이 혼재되어 있다. 또한 꽃이 복층상화서로 양성이거나 수꽃이 섞여 있고 타화수정식물이어서 자생지에는 자연교잡에 의한 실생 유성번식으로 개체간 각 부위별 색깔, 절간의 장단, 가시의 대소 등 특성이 다양하다. 보통 어린나무의 가지에는 가시가 있는데, 성장하면서 종류에 따라 가시가 많거나 적은 것이 있으며 없는 것도 발견된다. 따라서 다양한 유전자원을 수집, 탐색하여 목표로 하는 형질을 보유한 개체를 분리육종 또는 교잡육종의 재료로 이용할 필요가 있다.

두릅나무의 순은 예로부터 봄철의 고급산채로 주로 자연산을 채취하여 이용해 왔으며 근래에는 약리적 효능이 있는 무공해 자연식품으로 각광을 받으면서 수요가 급증하고 있다. 그러나 자연산 두릅순은 일부 등산객과 산채 채취인에 의해 무분별하게 남획되고 있고 관목성인 두릅나무는 야생상태에서 교목수종의 생장으로 인해 피압 고사되어 산야의 자생지가 점차 소멸되고 있으며, 인건비 상승에 따른 채취 인력 부족으로 채취량은 줄어들었고 점차 농가에서의 재배면적(2002년 207농가 45ha)이 확대되고 있는 실정이다. 최근에는 비닐하우스를 이용하여 자연산 출하시기 이전인 1~3월에 수확할 수 있는 겨울 축성재배 면적도 증가하고 있다.

이렇게 두릅의 재배면적이 증가하면서 입고역병, 더텅이병 등의 병해 발생이 매년 점증되고 있어 재배의 안전성을 위한 내병성 품종의 육성이 필요하며, 뿌리의 상처나 절단면을 통해 전염되는 입고역병을 회피할 수 있는 번식방법도 개발할 필요가 있다. 겨울 축성재배 및 봄 노지재배의 두릅순 생산시기를 연장하여 공급기간을 확대하기 위한 조·만생종 품종의 육성과 재배작형별 안정적인 생산기술의 정립도 절실히 요구된다. 지금까지의 두릅품종으로는 국내 선발종인 금마, 부곡, 일본 도입 선발종인 신구, 기타 일본 도입종으로 정강, 춘풍 등이 있으나(정, 1991), 두릅나무의 품종 특성을 유지하면서 증식하기 위해서는 근삽 또는 체세포 배양 등 무성 영양번식을 해야하는 어려움 때문에(문 등, 1998., 장, 1996) 관리 소홀로 선발이후 사라진 품종들이 다수 있었다. 따라서 우수형질을 보유한 품종의 신속한 대량증식 기술도 함께 개발되어야 할 필요가 있다.

한편 지금까지의 무분별한 자연산 채취나 단순재배에만 의존하는 생산방식으로는 다양한 소비자의 기호에 부응하기 어려울 뿐만 아니라 시장에 무분별하게 반입되고 있는 값싸고 저급한 중국산 두릅에 대한 경쟁력을 갖기도 어렵게 되었다. 또한 축성재배 두릅은 산야에 자생할 때와는 달리 향기나 맛 등에서 품질이 떨어져 소비자들은 더 비싼 값을 주고서라도 야생두릅을 선호하고 있어 청정성과 자연 그대로의 성분이 들어있는 고품질 두릅의 생산이 무엇보다도 중요한 과제가 되었다.

우리나라는 임야면적이 전국토의 약 61%를 차지하고 있으며, 최근 산림을 단기 소득화

시키고, 두릅의 집약적 재배의 문제점인 품질저하, 토양미생물 및 병해충 증가, 향취미 감소, 재배환경 조절 등을 보완하기 위하여 자생지인 산지에서 시장경쟁력이 있는 고품질의 청정 두릅을 조방적으로 생산할 수 있는 산지재배가 전국적으로 시도되고 있으나 아직 초보적인 단계이다. 지금까지는 단기 임산 소득원 개발을 위해 산림청 임업연구원을 중심으로 뿌리 이용 산채와 약용작물에 대한 이식재배 위주의 재식방법이 연구되었으나(신, 1998., 이 등, 1996., 이, 1998., 임 등, 1998), 두릅의 경우 경사가 심한 산지에 가시가 많은 묘를 운반하고 식재하는 노력이 많이 소요되고 식재후 한발에 따른 생존율도 낮아 안정적이고 생력적인 식재방법과 관리방법 등 재배기술의 정립이 요구되고 있는 실정이다.

#### 4. 본 연구의 목적

따라서, 본 연구는 두릅나무를 이용하여 생리활성을 증강시키는 신기능 식품소재를 개발하고 사업화로 연결시키기 위한 기초 연구를 수행하며 원료 자급을 위한 국내 자생 두릅의 품종 및 생산 기법을 연구하여 제품생산에 기여할 뿐 아니라, 원료작물인 두릅나무를 신 소득작물로 육성 보급하여 농가의 소득을 증대시키고 식품소재를 활용한 건강보조식품을 생산하여 국민 보건에 기여하는 데 목적을 두고 있다.

본 연구의 목적에 따라, 주관연구기관인 본 기업에서는 두릅나무 추출물의 생리활성을 연구한 선행 연구 경험 및 자생식물들을 소재로 한 연구 기반이 이 있고 두릅나무 추출물에 대한 연구도 축적되어 있어 두릅나무 추출물을 제품화로 연결시킬 수 있는 신기능 소재에 쉽게 접근할 수 있었다. 즉, 두릅나무 추출물의 항산화 효과 및 당 대사 효소(폴리올 환원 효소)의 억제 효과를 검색하고 추출물의 품질관리를 위한 화학적 분석을 수행하며 제품 생산을 위한 시장성 조사 및 pilot 규모의 생산제법을 확립하고 원료의 식품으로서의 안전성을 확보하기 위한 급성독성 시험을 수행하였다. 제품생산에 본 연구의 기여도를 높이기 위하여 두릅나무 추출물을 활용한 건강보조식품의 조성을 결정하고 시제품을 생산하였다.

또한, 건강보조식품의 생산 시 필요한 원료를 국내에서 자급하기 위하여 작물재배 분야와 연계하여 연구를 수행하였다. 국내 기후와 토질에 적응하고 있는 자생종 두릅을 수집하여 내병성, 조만성 등의 특성검정을 통해 우량형질을 보유한 개체를 선발하여 품종으로 육성하고, 선발된 품종을 신속히 대량 증식할 수 있는 무성 영양번식 기술과 일반농가에서 입고역병을 회피하여 재배할 수 있는 유성 실생번식 기술을 개발하고, 고품질 수요와 기능성 가공식품의 원료 공급을 위한 재배작형별 생산성 및 경제성 검정, 산지재배를 통한 대량생산 기술을 개발하였다.

## 제 2 절 연구개발의 내용 및 범위

### 1. 두릅 추출물의 품질관리 및 제품 개발 연구

가. 두릅나무의 성분 분석 및 품질관리

- 1) 두릅 추출물의 실험실적 제조법
- 2) 두릅 추출물의 일반 성분 분석
- 3) 두릅 추출물의 품질관리

나. 두릅 추출물의 기능성 연구

- 1) in vitro 항산화 및 aldose reductase 활성 억제 실험
- 2) ex vivo 렌즈 배양 실험
- 3) in vivo streptozotocin 유발 당뇨병 백내장 동물 실험
- 4) in vivo 당뇨병 막망증 억제 동물 실험
- 5) in vivo streptozotocin 유발 당뇨 동물 실험

다. 두릅 추출물의 제품화 연구

- 1) 시장성 및 사업성 연구
- 2) pilot 규모 산업적 추출 방법 연구
- 3) 제품화를 위한 concept 및 formulation 연구(시제품 생산)
- 4) 두릅 추출물의 급성독성 연구

### 2. 두릅의 신품종 육성 및 대량증식 재배 기술 개발

가. 유전자원 수집 및 우량품종 선발

- 1) 두릅 유전자원 수집
- 2) 특성조사 및 우량계통 선발
- 3) 선발된 계통의 형질평가

나. 대량증식기술 개발

- 1) 종자발아율 향상 방법
- 2) 뿌리삽목율 향상 방법

다. 대량생산 재배기술 종합실증 연구

- 1) 재배작형별 생산성 및 경제성 검정
- 2) 산지를 활용한 대량생산 기술개발

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

두릅나무의 순은 그 향기와 맛을 즐기는 기호식품으로 애용되어 왔으며 수출 상품으로도 그 수요를 따라가기 어려운 현황이다. 두릅나무의 수피, 근피, 뿌리 및 과실도 기능성 및 약리효과가 인정되어 한국, 일본, 중국 등지에서 민간 또는 전통 의학에서 오랫동안 사용되어 왔으나, 그 성분 및 기능성에 관한 연구는 같은 과(Araliaceae)에 속하는 다른 약용식물(음나무, 오갈피나무, 인삼등) 만큼 축적되어 있지 않다.

본 과제와 관련된 국내외 기술개발 현황을 다음과 같은 순서로 기술하려 한다. 먼저 두릅나무의 기능성 및 기능 성분에 관한 연구를 요약하고 당뇨병 및 당뇨병 백내장 연구와 관련된 소재 및 제품을 소개하고 끝으로 두릅나무의 품종 및 대량생산 기술에 관한 국내외 기술개발 현황을 제시한다.

### 제 1 절 두릅나무 기능성 및 기능 성분에 관한 연구

#### 1. 민간의약 및 전통의학에서의 기능성

한방에서는 뿌리, 과실, 수피 등을 당뇨병, 신장병, 급성간염, 류마치스성 관절염, 위암, 위장장애 등에 사용해 왔다. 특히 동의보감에는 뿌리 껍질을 벗겨 말린 것을 총목피라고 하여 당뇨병에 사용하였고, 두통, 산통, 대장염, 위궤양, 강장약으로도 활용되었으며, 민간에서는 전초를 위장질병에 썼다(문. 1984, 안. 1998, 육. 1981, 이. 1985).

일본 민간 의약에서도 당뇨를 치료할 때 사용하였고(Kochetkov 등. 1963, Masayuki 등. 1993), 중국의 전통의학에서도 강장, 관절염과 당뇨 치료제로 사용되었다는 보고가 있다(Jiangsuxinyixue Y 등. 1977).

이러한 고전에 기록을 근거로 최근 성분 및 기능성에 관한 과학적인 연구가 진행되어 보고 되었다.

#### 2. 두릅의 기능성 및 성분에 관한 최근 연구 결과

두릅의 껍질에는 saponin을 포함한 여러종류의 triterpenoids가 있는 것으로 알려져 있다(Yoshikawa 등 1996, Hai-Xue. 1996). 이 나무의 수피에는 혈당강하 효과가 있는 elatoside

E(Masayuki 등, 1994)를 포함해 elatoside F와 oleanolic acid glycosides 등 몇 가지의 glycoside가 함유되어 있으며(Masayuki 등, 1995) 에탄올 흡수를 저해하는 elatoside A와 B도 포함되어 있다(Masayuki 등, 1995). Saponin의 일종인 oleanolic acid는 여러 화학물질에 의한 급성 간 손상을 막아주는 역할을 하며(Saito 등, 1990), PI<sub>3</sub>-kinase와 ERK<sub>2</sub>를 자극하여 간에서 glycogen 함량을 증가시킨다고 보고된 바 있다 (Kim 등, 1998).

민간이나 한방에서는 두릅나무의 수피 등을 해소, 위암, 당뇨병 및 위장장애 등에 이용하고 있다. 두릅나무의 근피 추출물에 의한 당뇨병 치료 효과는 쥐에게 두릅나무의 잎에서 분리한 triterpenoid glycoside를 먹이고 포도당을 임의 투여시 저혈당 작용과 혈액β-lipoprotein 수준을 감소시킨다고 보고하였고, alloxan으로 유발된 당뇨 토끼에게 두릅나무 추출물을 투여시 혈당 강하 작용이 있음을 보고하였다(이 등, 1998). 또한 이 등(1993)도 두릅나무 추출물이 당뇨병에 효과가 있음을, 김 등(1993, 1999)은 두릅나무 근피의 ethyl acetate 추출물에서 혈당을 강하시키는 화합물로 oleanolic acid 28-O-β-D-glucopyranoside를 보고한 바 있으며, Masayuki 등(1996)도 elatoside 들 중에 혈당강하 효과는 oleanolic acid 구조와 유사함을 보고하였다.

Streptozotocin으로 당뇨를 유발시킨 쥐에서 두릅 추출물이 혈액의 콜레스테롤과 중성지방(triglyceride)을 감소시키며 신장에서 thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)와 carbonylated protein을 감소시키고(서 등, 1997), GST/GSSG의 비율을 증가시키는 것으로 평가되었다 (Lee 등, 1999). 또한 두릅 추출물은 항피로 작용이 있으며 면역기능항진, 중추신경 흥분, 혈압강하 등의 작용도 가지고 있는 것으로 알려져 있다 (안, 1998). 본 연구소의 최근 연구 결과에 따르면 두릅추출물이 당뇨성 백내장의 발생을 억제하는 작용이 있는 것으로 확인되었다.

## 제 2 절 당뇨병 백내장 연구와 치료 물질 소재 및 제품

### 1. 당뇨병 백내장의 역학조사

노인성 백내장은 60세가 지나면서 급격하게 나타나기 시작하나, 당뇨환자의 경우에는 백내장이 일찍 시작되어 40-50대에 나타나기 시작하며, 또한 빨리 악화하여 시력이 급속히 떨어진다. 이외에도 개인에 따라서는 20-30대의 청년기에 나타나는 경우도 있다. 당뇨병에 걸리면 수정체의 불투명 현상이 촉진되고, 체내의 여러 조직이나 기관에 노화현상이 가속적으로 발생하게 되는 것이다 (당뇨병 및 당뇨병 백내장에 관한 역학조사는 연구결과의 시장성 조사에서 밝혔다)(고 등, 1991, 백 등, 1997., 이, 1995, 통계청 1992).



## 2. 당뇨병 백내장의 기전 연구

당뇨성 백내장의 기전은 폴리올(polyol) 경로와 산화적 스트레스가 증가한 것이다 (Chylack 등. 1969, Beyer 등. 1986, Spector 등. 1981). 수정체에서 폴리올 경로는 당뇨에 의한 혈당증가로 방수의 당 농도가 증가하면 방수의 당은 수정체로 빠르게 흡수된다. 수정체 안에 들어온 당은 aldose 환원효소에 의해 대사된다(Hayman. 1965). 당 aldehyde를 대응하는 알코올(sorbitol, galactitol)로 전환시키는 이 효소의 활성도는 당뇨병에서 증가되고 sorbitol 탈수소효소는 저하하여 폴리올(sorbitol)을 생성하는 경로가 활성화된다. 따라서 폴리올 전환이 증가하면 폴리올이 축적되고 조직의 산화도가 증가하여 활성산소가 증가한다. 이에 따라 수정체 내의 삼투압이 증가하고 수정체를 구성하는 세포들의 세포막에 변화가 야기되면서 백내장이 촉진된다. 따라서 당뇨병에서 대사이상 특히 폴리올 경로의 항진에 대해 aldose 환원효소 저해제가 대사개선제로 개발되어 응용되고 있고(Poiter. 1997), 혈당조절이 좋지 않은 증상에 유효성이 높다.

또한, 폴리올 경로가 증가하면 이에 상응하여 NADPH가 소모되어 산화된 글루타치온(GSSG)이 환원형(GSH)이 되기 위해 필요한 NADPH가 상대적으로 부족하게 되어 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 H<sub>2</sub>O로 환원시키는 GSH의 부족으로 OH 라디칼 형성이 증가되고 이로 인해 산화적 스트레스가 관여된다. 따라서 free radical scavenger 활성을 나타내는 항산화제로서 야채 과일 등에 포함되어 있는 카로티노이드, 비타민C, 비타민E, 비타민A 등의 성분이 유효함이 밝혀지고 있다.

## 3. 당뇨병 백내장의 치료제 개발 현황

폴리올 경로에서 폴리올의 생성을 억제하는 aldose 환원효소 저해제는 효과가 기대되어 quercetin, quercitrin, sorbinil, AL1576, TMG, statil, tolrestat 외에 aporphine 계, benzyloquinoline 계, berberine 계 등이 알려져 있으나 부작용 때문에 사용되지 못하였다. aldose 환원효소 저해제는 부작용을 극복하고 약효가 좋은 당뇨병 합병증 치료제로 개발하기 위해 구조활성-상관을 통해 연구되고 있다.

따라서, 보다 안전성이 높은 식물 추출물을 활용하려는 연구가 국내외에서 진행되었고 다음과 같이 요약할 수 있다. 국내의 본 기술 관련연구로는 특허로도 공지된 바 있는 황금(생약학회지 25(1) 41-6, 1994) 및 백지(*Angelica dahyrica*)의 후라노쿠마린(byakangelicin) 성분(Arch. Pharmacol. Res., 17(5) 331-6, 1994)이 aldose 환원효소 억제제로서 백내장에 효과가 있음이 밝혀졌다. 이 외에 양파 농축 건조물(식품산업, (181) 143-7, 1998) 및 마늘 와

인(식품산업 (189) 153-9, 1998)의 항산화 성분이 백내장 등 시력을 개선하고 당뇨병 합병증을 예방한다고 보고되었다.

당뇨병과 관련된 백내장에 유효한 천연물(식물)의 이용에 관한 해외의 연구 및 개발현황은 미국 의학협회에서 제공하는 MEDLINE (1962~2002)에서 조사하였다. 본 기술의 작용 기전이기도 하는 aldose 환원효소를 저해하여 백내장의 형성을 억제하는 작용을 가지는 천연물에 대한 연구는 표 2-2-1에 나타내었다. 당뇨 합병증에 관여하는 aldose 환원효소에 대한 억제는 소엽, 밀몽화, 현호색, 단삼 등의 천연물을 이용한 연구가 보고되었다.

표 2-2-1. Aldose 환원효소 저해로 백내장 방어효과를 가지는 천연물

연구기관	식물명	참지명
일본 Osaka대학	소엽( <i>Perilla frutescens</i> ) 모노테르펜(perillosideA & C)성분	Chem. Pharm. Bull. 43(6) 920-6 1995
일본 Kinki대학	밀몽화 ( <i>Buddleja officinalis</i> ) 후라보놀(luteolin) 성분	Biol. Pharm. Chem. 18(3) 463-6, 1995
일본 Kinki대학	현호색( <i>Corydalis turtschaninovii</i> )의 tuber dehydrocorydaline 성분	Biol. Pharm. Chem. 17(3) 458-9, 1994
일본	단삼( <i>Salvia miltiorrhiza</i> )	和漢의약학잡지 13(4) 458-9, 1996

이 밖에도 천연물 점안제(*Carum copticum*, *Terminalia belirica* 등 함유)는 백내장 수술 후 염증 및 眼장해에 효과를(Phytother. Res., 15(7) 618-20, 2001), 혈당강하작용이 있는 고과(*Momordica charantia*)는 당뇨병성 백내장진행 억제효과를(Pharmacol. Res. Commun., 20(3) 201-9, 1988) 나타내었고, 또한 천연물 한방약 Goshajinki-gan은 노인성 당뇨병성 백내장에(Am. J. Chin. Med., 19(3-4) 259-63, 1991), Hachimijio-gan(지황: *Rehmannia glutinosa* 함유)은 galactosemic 백내장에 효과를 나타내어 당뇨병성 백내장과(J. Ocul. Pharmacol., 3(3) 239-48, 1987) 지질 및 글루타치온 대사를 증가시켜 노인성 백내장에(Am. J. Chin. Med., 14(1-2) 59-67, 1986) 효과를 나타내어 예방·치료제로 제시되었다.

또한 항산화작용을 통해 백내장을 방어 또는 보호하는 효과를 가지는 것은 토마토의 카로티노이드계(리코펜)는 활성산소를 소거하는 항산화작용을 나타내어 백내장 형성을 지연시키고, 블루베리 엑기스의 안토시아닌 배당체(델피니딘, 시아니딘, 페츠니딘 등)가 항산화

작용을 통해 노인성 백내장을 억제함도 보고되었다. 이 밖에 항산화작용에 의한 백내장 방어효과를 가지는 천연물에 대한 연구를 표 2-2-2에 나타내었다.

표 2-2-2. 항산화작용에 의한 백내장 방어효과를 가지는 천연물

천연물	작용 성분	잡지명
포도씨	포도씨 procyanidin 성분의 항산화 작용	J. Agric.Food.Chem 50(17), 4983-8, 2002
	lutein, zeaxanthine의 노인성 백내장 보호	J. Nutr, 132(3) 518S-24S, 2002
녹차 및 black tea	백내장 진행 지연	Exp. Eye Res., 73(3), 393-401, 2001
식물	삼환계질소복화합물( $\beta$ -carboline) 형성억제	J. Biol. Chem., 275(4), 2455-62, 2000
토마토	카로티노이드계(lycopene)의 백내장형성지연	J. Agri. Food Chem 47(12), 5122-6, 1999 일본식품과학공학지,24(9), 716-21, 2000
시금치, 브로콜리	카로티노이드계 의 노인성 백내장	Am. J. Clin. Nutr. 70(4), 517-24, 1999
블루베리	안토시아닌계(텔피니딘, 시아니딘)	New Food Ind., 40(12), 6-10, 1998 식품공업, 40(16), 47-55, 1997

카로티노이드와 비타민A에 의한 백내장 보호(Am. J. Clin. Nutr., 70(4) 509-16 및 517-24, 1999) 및 비타민C의 항산화효과에 의한 노인병 예방(Int. J. Vitamin Nutr. Res., 69(3), 146-9, 1999 및 Japan Food Sci., 35(3) 55-60, 1996) 및 비타민E(알파토코페롤)의 지질산화억제로 인한 백내장 보호(Am. J. Clin. Nutr., 69(2) 272-7, 1999 및 Annals Nutr. Metab., 43(5) 286-9, 1999)와 같이 비타민류가 이용된 연구들이 보고된 바 있다. 즉 항산화작용을 나타내는 비타민C, 비타민E 및 베타-카로틴을 다량 함유하고 있는 야채나 과일을 많이 섭취하는 것은 당뇨병이나 백내장 등의 만성질환에 유효함이 밝혀졌다(Am. J. Clin. Nutr., 53(1) 352S-5S, 1991 및 Arch. Ophthalmol., 119(10) 1439- 52, 2001)

일본 아키다현 종합식품연구소의 시바모토 연구진에 의해 두충차에 포함된 폴리페놀류인 클로로겐산메틸이 당뇨병의 합병증을 유발하는 aldose 환원효소의 작용을 저해함을 밝힘으

로써 강장·진통 등의 효과가 있어 차로 마셔왔던 두충차가 당뇨병 합병증을 억제하는 기능성식품으로 활용될 전망이다. 클로로겐산메틸은 생체를 노화시키는 활성산소를 제거하는 작용이 있음도 이미 밝혀진 바 있다.

한편, 호르몬 대체요법제를 투약하는 요법이 폐경기 후 여성들의 백내장 발병률을 낮추는 효능을 보인 것으로 미국 볼티모어의 윌머 眼연구소의 셸리아 웨스트 박사 연구진에 의해 발표되었다. 에스트로겐의 백내장 억제효과(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96(16), 9328-32, 1999)를 뒷받침하는 증거의 하나로 수정체 안에 있는 에스트로겐 수용체 전달자 RNA의 존재가 제시되었고, 에스트로겐 투약 여부가 후낭하 백내장 발병률의 감소와 밀접한 상관성이 있다.

### 제 3 절 두릅의 신품종 육성 및 대량증식 재배기술 개발

#### 1. 유전자원 수집 및 우량품종 선발

두릅나무는 대부분의 농가 주변에 몇 그루씩 무리지어 심겨져 있는 것을 볼 수 있는데, 이 나무들은 그 지역의 산야에서 대체로 두릅순이 크거나 병에 걸리지 않는 등 생육이 왕성하거나 키가 작거나 가시가 적어 재배관리가 편리한 개체들을 발견하여 캐어다가 심어 놓은 것들로, 우리의 선조들은 인식하고 있지는 못했지만 이미 예전부터 좋은 유전자원을 수집하고 또 선발하는 등 우수한 품종을 육성하고자 노력하고 있었음을 알 수 있다.

학문적인 체계를 갖춘 본격적인 두릅 품종의 육성은 1980년대에 들어 두릅의 재배면적이 증가하면서 많은 연구원들(조 등. 1988, 홍 등. 1992, 박 등. 1997)이 다수성, 조만성, 재배편리성 등을 목표로 우리나라 각지의 유전자원을 수집하여 다양한 우량계통들을 선발하였다. 그러나 두릅은 품종의 특성을 유지·보존하면서 대량 증식하여 농가에 보급하기 위해서는 분주, 근삽, 체세포 배양 등 무성 영양번식(Hartman 등. 1983, Kaimori. 1986)을 해야하는데, 대부분 후대관리에 소홀하여 몇 년 지나지 않아 그 존재가 없어진 품종들이 많았다.

현재 재배되고 있는 두릅품종으로는 국내 선발종인 금마, 부곡, 일본 도입 선발종인 신구, 기타 일본 도입종으로 정강, 춘풍 등이 있으나(정, 1991), 일본에서 도입된 품종들의 경우 환경적응범위가 적어서 중북부 지역에서는 겨울철 동해가 심하고 병의 발생이 많아 재배가 곤란하다. 아직까지도 노지재배를 하는 대부분의 농가에서는 지역 자생종을 굴취하여 심거나 종묘상에서 근원없이 증식한 묘목을 구입하여 심고 있어 입고역병, 더듬이병 등의 발생

도 많고 수량성도 낮은 실정이다.

## 2. 대량증식 기술개발

식물의 후대를 가장 쉽게 경제적으로 대량 증식시키는 방법은 실생 종자번식이지만 두릅의 종자는 상온에서 기건저장을 하면 전혀 발아가 되지 않기 때문에(한. 1976, Nagayama. 1980), 일반 수목종자처럼 노천매장을 하여 50% 내외로 발아시킬 수 있었다(한. 1976). 또한 노천매장후 파종전 전처리로서 온도처리(민. 1965, 김. 1989), GA<sub>3</sub> 처리(박 등. 1997)를 하거나 저온저장(최. 1987)을 하여 발아율을 향상시키기 위한 연구가 수행되었다. 그러나 두릅은 꽃이 복층상화서로 양성이거나 수꽃이 섞여 있어 자연교잡에 의한 실생 유성번식시 수확까지 4년이나 소요되고 후대에서 다시 유전적 특성이 분리되므로 우수한 품종의 특성을 그대로 유지한 채 보존·증식시키기 위해서는 영양번식을 시켜야 한다.

두릅의 무성 영양번식은 모주로부터의 분주, 뿌리의 부정아를 촉진시키는 근삽, 캘루스로부터의 부정아 또는 부정배 형성에 의한 증식도 가능하다. 분주법은 증식효율이 매우 낮으며, 근삽법은 아직까지 최야 가능한 뿌리의 채취시기가 초봄의 1~2개월로 국한되어 있고 뿌리 절단시 두릅에 치명적인 입고역병의 병원균이 전염되기도 하는 문제점이 있다(박 등. 1997). 한편 두릅나무의 체세포배양에 의한 번식은 엽병 또는 엽육 캘루스로부터 부정아(Kaimori. 1986) 또는 부정배(Amermiya 등. 1990, Jhang 등. 1993)의 형성을 통하여 가능한 것으로 보고되고 있으나 배양효율의 제고, 배양묘의 순화, 배양기술의 안정성 등 해결해야 할 문제가 많다.

조직배양 기술을 이용한 묘목생산은 배양시설의 설비에 많은 비용이 필요하고 노동집약적인 기술로서 여러 단계의 배양과정을 거치기 때문에 실생번식이나 근삽묘 등 전통적인 방법으로 육성하는 묘목보다 일반적으로 가격이 비싸 두릅을 위한 번식방법으로 실용화되지 못하고 있는 실정이다.

## 3. 대량생산 재배기술 종합실증 연구

예로부터 나무두릅은 산채중에서 가장 진귀하게 이용해 오고 있으며 근래에는 국민들의 식생활 수준의 향상으로 자연, 건강식품에 대한 관심이 높아지면서 두릅의 소비가 급증하고 있으나 자연산 채취만으로는 수요를 감당할 수 없어 인공재배(2002년 207농가 45ha)가 늘어나고 있고 심지어 중국산 저품질 두릅까지 수입되고 있는 실정이다. 일반 노지재배는 자연 야생두릅과 출하시기가 비슷하여 가격이 낮게 형성되므로 조기 수확을 위해 나무의 정아 부위에 비닐을 씌우거나 GA<sub>3</sub>를 처리하기도 하였다(이 등. 1992). 겨울철 비닐하우스에

최소 가온만을 하여 두릅순을 단경기에 생산할 수 있는 축성재배는 1962년 가평군 서상철씨가 처음 시도하였고, 정아삽 축성재배에 관한 지속적인 보완 연구(강 등. 1996, 박 등. 1997)를 통해 제주, 충남까지 재배가 확대되었으나 삽수 구득이 어려워 중국산 삽수를 수입하는 등 생산에 어려움을 겪고 있다. 이를 해결하기 위한 방편으로 최근 국내 일부지역의 축성재배 농가에 두릅 삽수의 활용가치를 높이고 생산비를 절감할 수 있는 1아삽 재배기술(전. 1998)이 보급되었지만 정아에서 생산된 두릅의 품질을 따라갈 수 없어 시장가격이 매우 낮아 재배면적이 확대되지 못하고 있다.

우리나라는 임야면적이 전국토의 약 61%를 차지하고 있으며, 최근 산림을 단기 소득화시키고 산약초의 집약적 재배의 문제점인 품질저하, 토양미생물 및 병해충 증가, 향취미 감소, 재배환경 조절 등을 보완하기 위하여 자생지인 산지에서 시장경쟁력이 있는 고품질의 청정 산약초를 조방적으로 생산할 수 있는 산지재배('98년 348ha →'00년 1,865ha)가 전국적으로 시도되고 있으나 아직 초보적인 단계이다(조, 1999). 지금까지는 단기 임산 소득원 개발을 위해 산림청 임업연구원을 중심으로 주로 뿌리 이용 산채와 약용작물에 대한 이식 재배 위주의 식재방법이 연구되었다(임. 1984, 이 등. 1996, 이. 1998, 임 등. 1998). 두릅의 산지재배에 관한 연구는 자생지 환경 및 식생조사, 묘목 식재방법(Nagayama. 1989, 심 등. 1995) 등으로 가시가 많은 두릅묘를 경사가 심한 산지에 운반하고 식재하는 악성 노력이 많이 소요되고 식재후 한발에 따른 생존율도 낮아 안정적이고 생력적인 식재방법, 관리방법 등 재배기술의 정립이 요구되고 있는 실정이다.

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 제 1 절 두릅 추출물의 품질관리 및 제품화 연구

#### 1. 두릅 추출물의 성분 분석 및 품질관리

##### 가. 연구방법

##### 1) 추출물 제조

##### 가) 추출물 제조를 위한 원료

두릅나무의 원료는 신초, 신초 건물, 가지, 뿌리, 춘채와 추채, 가시의 많고 적은 두릅, 성장년수에 따른 두릅 등을 산채시험장으로 부터 제공받았고 우수품종의 원료와 pilot 규모의 산업적 추출 규격에 관한 실험을 위하여도 원료를 산채시험장에서 공급받았다. 따라서, 본 연구에서 사용한 두릅 원료는 한 지역(강원도 평창)에서 자생 또는 재배, 선발 재배된 것을 사용하였다.

##### 나) 실험실적 추출방법

원료를 잘게 썰어 100 g의 원료 당 1000 ml의 물을 가하여 고압 열탕으로 1시간 동안 추출하였고 추출여액 만을 분리하여 용량이 반으로 줄도록 가열농축 하였다. 원심분리 및 여과 과정을 거쳐 정제하였고 정제된 액체를 동결건조 하였다. 이미 이 방법은 메드빌에서 확립된 방법으로 특허를 출원한 바 있고 HPLC 분석을 통하여 추출방법의 안정성을 확인하였다.

##### 2) 일반성분 분석

##### 가) 무기이온 분석

한국기초과학지원연구원에 의뢰하여 ICP-MS방법으로 조사하였다.

##### 나) 중금속 분석

한국기초과학지원연구원에 의뢰하여 다음과 같은 ICP-AES방법으로 조사하였다.

#### ICP-AES의 조건

Model: Jobin Yvon 138 Ultrace  
Source: Argon plasma (6000K)  
Spectral range: 160-800 nm  
Resolution: 0.005nm(UV) and 0.05nm(Visible)  
detection limit: 수 ppb- 수백 ppb

다) 영양소 분석

한국보건산업진흥원에 의뢰하여 분석하였다.

3) 품질관리

가) TLC 분석

TLC sheet <20 × 20 cm, Silica gel 60F<sub>254</sub> (MERCK)>를 사용하여 추출물을 점적하고 적합한 이동상을 사용하여 전개한 후 UV light (254 nm 366 nm)하에서 관하였다(강, 1996).

나) HPLC 분석

Phenol 성 물질 분석에 초점을 맞추어 문헌을 조사하여 적절한 컬럼 및 이동상에 대한 정보를 확보하고 HPLC 분석을 실시하였다. HPLC profile에 재현성을 나타내며 추출물의 peaks를 효과적으로 분리할 수 있는 조건을 이동상 및 column을 조절하면서 확립하였다(우 1997).

다) 품질관리를 위한 기초 자료 축적

줄기, 껍질, 뿌리, 잎, 및 순을 채취하고 잘게 분쇄하여 각각 물추출물을 제조하되 여러 번 반복 추출하여 실험할 수 있는 충분한 양을 확보하였다. Batch 마다, TLC와 HPLC를 수행하여 Profile의 재현성 및 정확성을 확보하였다.

품종에 따른 TLC와 HPLC 분석을 수행하였다. 가시가 적고 많음, 봄철 채취(춘채)와 가을철 채취(추채), 파종 후 성장년도에 따라 원료를 공급받아 두릅나무 종류에 따른 성분을 비교하고 품질관리를 위한 기초 자료로 삼았다.

라) 유기용매 분획 및 분획의 성분 분석

두릅 추출물을 비극성 정도가 큰 용매의 순서(chloroform, ethyl acetate, butanol)로 두릅 추출물의 분획을 나누었다. TLC 및 HPLC 분석을 실시하여 추출물 분획의 성분 분석을 수행하였다.

나. 연구 결과 및 고찰

1) 두릅나무의 추출물 생산

연구방법에서 제시한 대로 두릅을 신초 (1년 이내에 자란 부분), 나무, 뿌리 부분으로 나누어 잘게 분쇄한 후 수용성 물질을 추출하였고 TLC 및 HPLC를 사용하여 분석한 결과 안전성 있는 추출물을 생산할 수 있었다. 따라서, 본 기업에서 표준화된 실험실적인 가압 열탕 추출 방법이 비교적 표준화되어있음을 확인할 수 있었고 두릅 추출물의 수득율은 6 - 7% 로 다른 자생식물과 비교해 볼 때, 수득률이 낮았다. 두릅나무의 목질부위가 다공성



형태이므로 수득률이 낮은 것으로 평가되었다.

2) 무기이온 분석

두릅추출물의 품질관리 기준 확립하기 위하여 일반적인 무기이온의 함량 분석을 한국기초과학지원연구원에 의뢰하여 ICP-MS 방법으로 조사한 결과를 표 3-1-1에 나타내었다.

표 3-1-1. 두릅 추출물에서 무기이온 성분의 함량

	두릅 추출물 1 (ppb)	두릅 추출물 2 (ppb)
P	7287.114	2338.145
Fe	52.092	97.949
Mg	2917.909	2539.755
Ca	3651.040	4236.649
Al	21.474	117.427
Sr	16.802	44.754
Na	348.040	138.557
K	66680.600	30264.472

\* ICP-MS 에 의한 trace elements 분석, 함량이 평균값으로 표시됨.

분석 결과 위의 표 3-1-1에서 보는 바와 같이 두릅의 신초 말린 것(두릅 추출물 1)에서는 뿌리(두릅 추출물 2)에 비하여 P의 함량이 3배나 되고, Na는 2.5배, K는 약 2.2배 많았으며 뿌리에는 신초에 비하여 Fe는 약 2배, Al은 약 5.6배나 많이 함유되어 있는 것으로 나타났다.

3) 중금속 분석

중금속에 관한 분석을 한국기초과학지원연구원에 의뢰하여 ICP- AES방법으로 조사하였다. 그 결과를 표 3-1-2에 나타내었다. 두릅추출물의 부위 중에서 뿌리에는 건신초와 가지에 비하여 Mn이 2 ~ 2.5배, Zn이 1.7배, Ba는 월등히 많이 함유되었고 건신초에 비하여 Co가 약 2배, Cu는 약 2배 많이 함유되어 있었다. 가지부위에는 건신초나 뿌리에 비하여 Cr과 Ni의 함량이 다소 높았다. 그러나 식품공전에서 제한하고 있는 Cd, Pb, U은 대체적으로 아주 적은 량, 측정하기 어려운 정도로 함유하고 있고 중금속 원소 모두가 기준치 이하

이므로 안전한 물질임이 확인되었다.

표 3-1-2. 두릅 추출물에서 중금속 성분의 함량

Element	건신초 (ppm)	가지 (ppm)	뿌리 (ppb)
V	< 0.2	< 0.2	< 0.2
Cr	0.70 ± 0.00	4.49 ± 0.13	0.50 ± 0.01
Mn	63.04 ± 1.13	85.96 ± 1.19	158.86 ± 3.10
Co	0.14 ± 0.00	< 0.2	0.29 ± 0.00
Ni	4.85 ± 0.06	8.87 ± 0.04	3.95 ± 0.01
Zn	26.68 ± 0.37	27.75 ± 0.82	44.39 ± 1.96
Cu	5.24 ± 0.04	9.30 ± 0.16	11.04 ± 0.03
As	0.42 ± 0.00	< 0.2	0.21 ± 0.00
Mo	0.87 ± 0.01	< 0.2	< 0.2
<b>Cd</b>	<b>&lt; 0.2</b>	<b>&lt; 0.2</b>	<b>&lt; 0.2</b>
Ba	16.61 ± 0.57	20.69 ± 0.15	125.63 ± 2.17
La	< 0.2	< 0.2	< 0.2
Ce	< 0.2	< 0.2	< 0.2
<b>Pb</b>	<b>0.49 ± 0.00</b>	<b>&lt; 0.2</b>	<b>0.47 ± 0.01</b>
U	< 0.2	< 0.2	< 0.2

All samples were analyzed three times and data presented in mean ± stdev.

#### 4) 영양소 분석

한국보건산업진흥원에서 두릅 추출물에서 영양성분을 분석한 결과 다음의 표 3-1-3의 결과를 얻었다. 지방은 거의 함유되어있지 않았으며 탄수화물 함량이 76.8% 이었고 단백질은 9.9%를 차지하였다. 철분과 나트륨의 량은 각각 7.1과 70.2 mg/100g을 함유하고 있는 것으로 나타났다.

표 3-1-3. 두릅 추출물에서 일반 영양소 성분의 함량

성분(단위)	함량	비고
수분(%)	4.4	
조지방(%)	0.4	
조단백질(%)	9.9	질소계수 6.25 세미마이크로킬달법
탄수화물(%)	76.8	
열량(kcal)	350.4	
철분(mg/100g)	7.10	I.C.P 법
나트륨(mg/100g)	70.2	I.C.P 법

5) 추출물의 품질 관리

가) 품질관리 기준 확립

(1) TLC 분석

TLC 분석 방법에 따라 두릅 추출물을 분석한 결과 phenol성 물질과 saponin 계통의 물질이 많은 것으로 관찰되었다. Phenol 성 물질들 중에서는 3,4-dihydroxybenzoic acid(DHBA)와 caffeic acid(CFA), chlorogenic acid(CLA), ferulic acid(FRA) 등의 함량이 높게 나타났다. 이것은 문헌에서 보고 된 결과들과 일치한다. 따라서, phenol성 물질들의 표준 품을 준비하여 HPLC를 이용한 분석 조건을 확립하였다.

(2) Phenol 성 물질의 HPLC 분석 조건 확립

각각의 추출물을 HPLC로 분리하기 위하여 10 mg/ml의 농도로 물에 녹였다. 용해된 추출물 용액 10  $\mu$ l를 취하여 HPLC(HP1090)를 사용하여 분석하였고 분석 조건은 다음과 같았다. 그 결과, phenol 성 물질들이 위의 조건에서 단일 peak로 잘 분리되었다. DHBA는 254 nm의 파장에서 peak로 분리되어 검색되었고 retention time 은 11분대였으며, CLA도 254 nm의 파장에서 감지되었고 retention time은 17분대인 것으로 관찰되었다. 반면, 366 nm에서 CFA의 peak이 잘 분리되어 검색되었는데, retention time은 19분대인 것으로 관찰되었고 아래 그림에서 HPLC profile을 볼 수 있다. 동일한 조건으로 두릅 추출물을 분석한 결과, phenol 성 물질들이 두릅 추출물에서도 잘 분리되어 단일 peak로 관찰되었고 DHBA, CLA, CFA등이 함유되어 있음을 확인하였다(그림 3-1-1, 1-2 참조).

항 목	분 석 조 건
칼럼	Luna 5u C18; 4.6 mm i.d. × 250 mm L (Phenomenex)
이동상	2% 아세트산과 메탄올의 구배 시스템
유속	1 ml/min
검출	photodioid array detector로 254 nm, 366 nm에서 측정

그림 3-1-1. 두릅 추출물의 HPLC profile(at 254nm wave length)

그림 3-1-2. 두릅 추출물의 HPLC profile(at 366nm wave length)

나) 품질관리를 위한 기초 자료 축적 : 두릅나무의 종류에 따른 성분의 변화

(1) 두릅나무의 부위에 따른 추출물의 phenol 성 성분 조사

두릅나무 자생 종의 신초(1년 이내에 자란 부분, 생것과 마른 것), 가지부위 및 뿌리에서 추출물을 제조하여 phenol 성 성분을 HPLC를 사용하여 분석하였다. 표 3-1-4에서 부위별 추출물의 분석 결과는, DHBA, CFA, CLA의 함량이 높았고, 부위에 따라 성분의 함량이 차이가 있었다. 가지부위에 phenol성 성분 함량이 높았다.

시료를 건조한 것과 건조하지 않은 것의 성분을 비교한 결과 건조하는 과정에서 caffeic acid와 chlorogenic acid의 함량이 감소하고 ferulic acid가 생성되는 것을 관찰하였다. 건조 과정에서 phenol성 물질의 구조에 변화가 생긴 것으로 사료된다.

표 3-1-4. 두릅나무의 부위별 추출물의 phenol 성 성분 함량

	3,4 DHBA		Caffeic acid		Chlorogenic acid		Ferulic acid	
	RT	%	RT	%	RT	%	RT	%
신초 (생것)	13.071	0.024	20.873	0.107	18.685	1.802	-	-
신초 (말린것)	11.936	0.047	-	-	17.968	0.856	26.481	0.074
나무	11.848	1.437	19.930	0.110	17.948	1.330	-	-
뿌리	11.829	0.075	19.822	0.041	17.846	1.287	-	-

(2) 두릅나무의 종류에 따른 추출물의 phenol 성 성분 분석

두릅나무의 종류 중 가시가 많은 것과 적은 것, 봄에 채취한 것(춘채)과 가을에 채취한 것(추채), 파종 후 성장했수에 따라 그리고 산채시험장에서 연구하여 선발한 우수 품종에서 각각 추출물을 제조하여 phenol 성 성분의 함량을 분석하였다.

그 결과, 두릅나무의 가시 많은 품종에서 phenol성 성분의 함량이 약간 높았으나 전체적으로 큰 차이는 없었다(표 3-1-5). 또, 춘채보다는 추채에서 phenol 성 성분, 특히 DHBA와 CLA의 함량이 2배 가량 높았다(표 3-1-5).

표 3-1-5. 두릅나무의 가시 많은 품종과 가시 적은 품종의 추출물에서 phenol성 물질의 함량 비교

	3,4 DHBA		Caffeic acid		Chlorogenic acid		Ferulic acid	
	RT	%	RT	%	RT	%	RT	%
가시 적은 품종(춘채)	11.300	0.749	19.232	0.135	17.382	0.294	—	—
가시 많은 품종(춘채)	11.201	0.893	19.106	0.163	17.270	0.427	—	—
가시 많은 품종(추채)	11.848	1.437	19.930	0.110	17.948	1.330	-	-
비교나무1	11.152	0.736	19.033	0.229	17.210	1.381	—	—
비교나무2	11.106	0.114	18.950	0.184	17.162	0.834	25.765	0.035

표 3-1-6에 성장헛수에 따른 추출물의 phenol 성 성분 분석 결과를 제시하였다. 년수가 많아짐에 따라 DHBA의 함량이 증가하는 것을 관찰하였고, CFA와 CLA의 함량에는 변화가 없었다. 가시의 많고 적음에 따른 성분의 차이가 없음을 다시 한번 확인하였다.

표 3-1-6. 두릅나무의 성장 년도에 따른 phenol성 물질의 함량 비교

	3,4 DHBA		Caffeic acid		Chlorogenic acid		Ferulic acid	
	RT	%	RT	%	RT	%	RT	%
가시 많은 것(3년생)	11.5	1.856	19.2	0.214	17.6	1.183	—	—
가시 적은 것(1년생)	11.4	0.996	19.2	0.152	17.5	1.646	—	—
가시 적은 것(2년생)	11.6	1.157	19.4	0.178	17.6	1.977	-	-
가시 적은 것(3년생)	11.6	2.183	19.3	0.161	17.6	1.469	—	—

강원도 농업기술원 산채시험장의 1, 2 차년도 연구 결과에 따라 선발된 6종의 우수품종의 가지 부분 원료를 공급 받아 추출물을 제조하여 phenol 성 성분을 비교 분석하였다. 표 3-1-7에서와 같이, 34번 선발 품종에서 DHBA의 함량이 낮았고 62번 선발품종의 DHBA의 함량이 다소 높았으나 품종에 따른 성분의 차이는 미미한 것으로 평가된다. CLA의 함량도 6종의 선발품종에서 크게 차이가 없는 것으로 나타났다.

표 3-1-7. 두릅나무의 우수품종에 따른 phenol성 물질의 함량 비교

선발품종 번호	3,4 DHBA		Caffeic acid		Chlorogenic acid		Ferulic acid	
	RT	%	RT	%	RT	%	RT	%
34	11.6	0.750			17.6	1.316	—	—
41	11.4	1.335	19.1	0.104	17.5	1.143	—	—
47	11.5	1.773			17.6	1.614	-	-
56	11.5	1.854			17.6	1.494	—	—
62	11.5	2.439	19.2	0.125	17.6	1.637		
69	11.5	1.680	19.2	0.127	17.6	1.590		

다) 두릅추출물의 분획에 관한 연구

두릅의 추출물(가지부위)을 용매 추출법에 의하여 Chloroform층, Ethyl acetate층, Butanol층, 물층의 4가지 분획으로 나누어 조사하였다.

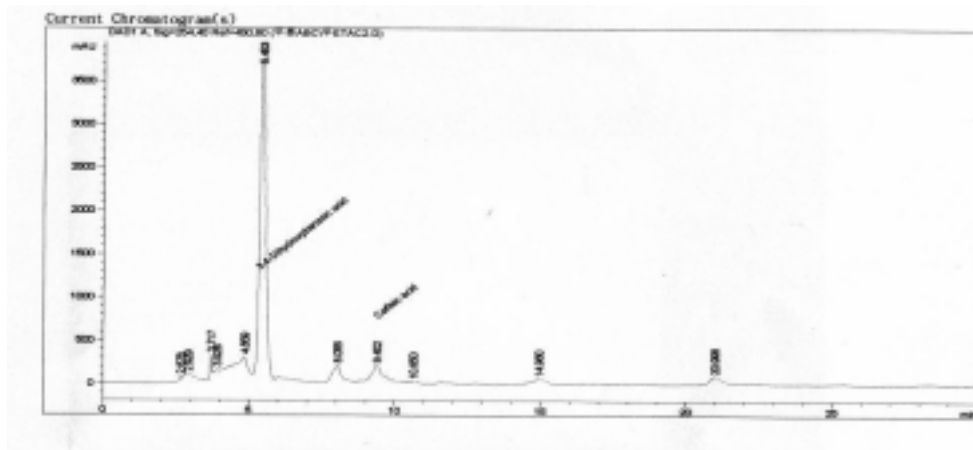
(1) Chloroform 층 분석

두릅의 Chloroform층을 대상으로 TLC를 실시한 결과 ferulic acid와 유사한 물질이 포함되어 있는 것으로 확인되었다. 두릅의 Chloroform층은 백내장에 대한 활성이 가장 좋은 것으로 확인되었으므로 Column Chromatography방법을 이용하여 2개의 층으로 분리하였고 TLC 분석을 통하여 phenol 성 물질, 약간의 flavonoid 물질 그리고 sapogenin 성분이 함유되어 있음을 확인하였다.

표 3-1-8. 두릅 추출물 ethylacetate 층의 phenol성 성분 함량

	3,4-DHBA		Caffeic acid	
	RT	%	RT	%
두릅 EtoAc층	5.453	16.44	9.402	1.21

그림 3-1-3. 두릅 추출물 ethylacetate 층의 PHLC profile



(2) Ethylactate 층 분석

두릅의 Ethylacetate층을 HPLC로 다음과 같은 조건하에서 분석한 결과 DHBA의 함량이 16%이상임을 확인하였다(위의 표 3-1-8, 그림 3-1-3).

HPLC조건

이동상 : ACN/H<sub>2</sub>O (15:85)--->ACN/H<sub>2</sub>O (80:20)(70min)



column :  $\mu$ bondapak C<sub>18</sub> (3.9×300mm) / 40°C

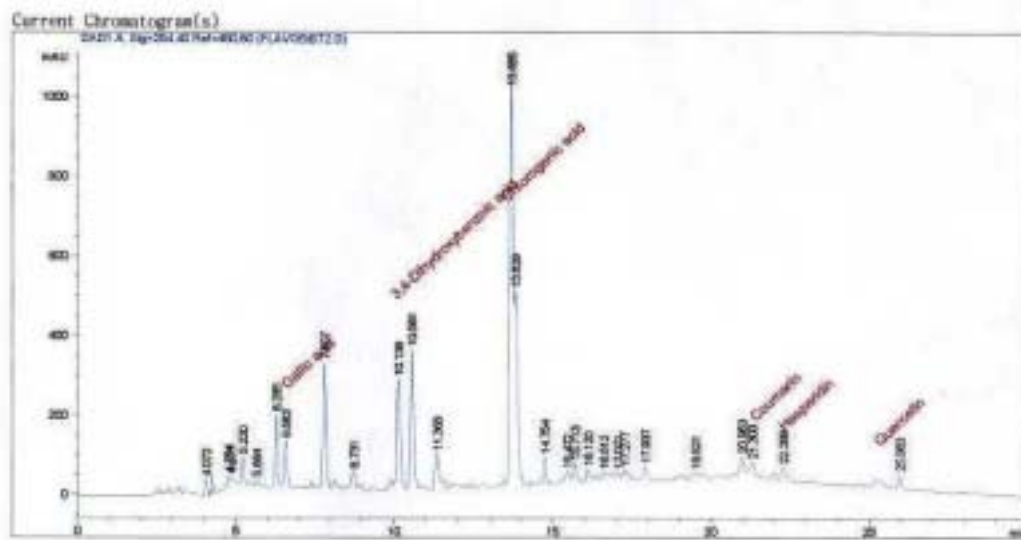
검출 : UV, Vis 254, 366nm

Flow rate : 1 ml/min

표 3-1-9. 두릅 추출물 butanol 층의 phenol성 성분 함량

	Gallic acid		3,4-DHBA		Chlorogenic acid		Coumarin		Hesperidin		Quercetin	
	RT	%	RT	%	RT	%	RT	%	RT	%	RT	%
두릅 BuOH 층	6.58	0.44	10.14	0.17	13.69	1.78	21.30	0.06	22.29	0.15	25.96	0.07

그림 3-1-4. 두릅 추출물 butanol 층의 PHLC profile



### (3) 두릅의 Butanol 층 분석

TLC와 HPLC로 분석한 결과, 위의 표 3-1-9와 그림 3-1-4에 나타난 바와 같이 DHBA, CLA, gallic acid, coumarin과 같은 페놀성 물질이 검출되었다. 두릅의 Butanol층에는 chlorogenic acid가 가장 함량이 높았다 (1.78%).

HPLC 분석조건은 다음과 같다.

이동상 : 2%acetic acid : MeOH = 10 : 0 ---> 2 : 8 (30min)

column:  $\mu$ bondapak C<sub>18</sub> (3.9×300mm) / 40°C

검출: UV.Vis 254, 366nm

Flow rate : 1 ml/min

(4) 두릅의 Butanol층

두릅의 Butanol층에는 항산화 효능이 강한 것으로 알려져 있는 chlorogenic acid를 비롯하여 hesperidin이나 quercetin과 같은 flavonoids가 일부 함유되어 있다. 이러한 성분들은 일반적으로 항산화력이 우수한 물질들로 알려져 있다.

(5) 기타

그 외에도 두릅의 Butanol층에 함유되어 있는 것으로 관찰된 saponin성분을 분리하기 위하여 Column Chromatography 방법 (silica gel column 이용, 이동상: CHCl<sub>3</sub>:MeOH:H<sub>2</sub>O = 52:28:8)을 이용하여 실시하였다. 그 결과 두릅의 Butanol층을 세 개의 분획으로 나누는데 성공하였고 그 중에서 첫 번째 분획에 saponin이 함유되어 있는 것을 TLC로 확인하였다.

라) 품질관리를 위한 지표물질의 설정

(1) 추출물의 분석 특성

추출물의 특성을 규명하기 위해 TLC를 이용하여 분석한 결과 페놀성 물질이 다량 함유되어 있고 소량의 flavonoids가 함유되어 있으며 saponin성분도 함유되어 있는 것으로 조사되었다.

(2) 품질관리를 위한 페놀성 물질의 HPLC 분석

페놀성 물질의 분석조건은 HPLC에서 다음과 같이 확립되었다.

**HPLC 분석조건**

이동상 : 2% 아세트산과 메탄올의 구배 시스템

칼럼 :  $\mu$ bondapak C<sub>18</sub> (3.9×300mm) / 40°C

유속 : 1 ml/min

검출 : 254 nm, 366nm (photodioid array detector)

(3) 지표물질 설정

그 결과 추출물에는 3,4-dihydroxy benzoic acid, caffeic acid, chlorogenic acid등과 같은 페놀성 물질이 함유되어 있고 추출물 상태로 HPLC에서 검출이 용이하므로 **두릅추출물의 지표성분으로 3,4-dihydroxybenzoic acid (3,4-DHBA)를 설정**하였고 다양한 샘플에서

phenolic compounds 분석을 통하여 data base를 축적하고 DHBA의 최소량을 설정하여 지표 물질의 함량 기준으로 삼았다.

따라서, 춘채의 DHBA의 함량을 부적절한 것으로 판정하고 춘채의 샘플로만 data base를 구축하여 항산화효과 및 aldose reductase 억제 활성을 보이는 샘플들 중에서 최소 DHBA의 함량을 기준으로 설정하였고, 그 함량은 HPLC 분석에 의하여 DHBA로 1.100%였다.

## 2. 두릅 추출물의 기능성 연구

### 가. 연구방법

#### 1) in vitro aldose reductase inhibitor 활성 측정

두릅추출물의 aldose reductase에 대한 IC<sub>50</sub>(효소의 활성을 50% 억제시키는 농도) 값을 측정하였다. Aldose reductase 효소원의 조제는 Hayman(1965)등이 사용한 방법을 따라 쥐의 렌즈를 적출하여 균질화 한 후 균질액을 4 °C, 10,000 rpm에서 20분간 원심분리 한 상등액으로 하였고, 효소를 포함하고 있는 상등액을 즉시 실험에 사용하거나 -70 °C에 보관하여 사용하였다.

Aldose reductase 활성은 Das(1985) 등의 방법을 따라 수행하였는데, 위에서 분리한 효소원과 10mM DL-glyceraldehyde, 0.16 mM NADPH를 0.1 M phosphate buffer에 용해하여 340 nm에서 5분간 1분 간격으로 흡광도의 감소율을 측정하여 대조군의 효소활성으로 하였고, 추출물의 농도를 달리하여 첨가하였때 효소의 활성과 비교하였다. 지용성인 추출물은 총 반응액의 1% 이내가 되도록 DMSO에 녹여 사용하였다.

#### 2) in vitro 항산화 활성 측정

추출물의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 산화반응을 억제하는 정도를 화학 발광체(ABEI)를 사용하여 관찰하였다. Birks 등(1989)의 방법에 따라 Chemiluminescence를 이용해 측정하였다. 0.6uM ABEI와 추출물 200 μl를 polystyrene tube에 넣고 35% hydroperoxide와 10 mg/ml microperoxidase를 각각 1:100으로 희석하여 luminometer에 자동 주입하였다. 화학반응에 의한 빛의 강도는 Berthold luminometer(LB9501, Clilumat, Germany)에 의해 감지되었다. 추출물의 여러 농도를 사용하여 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 산화반응을 50 % 억제하는 농도를 구하였고 양성대조물질로 ascorbate를 사용하였다.

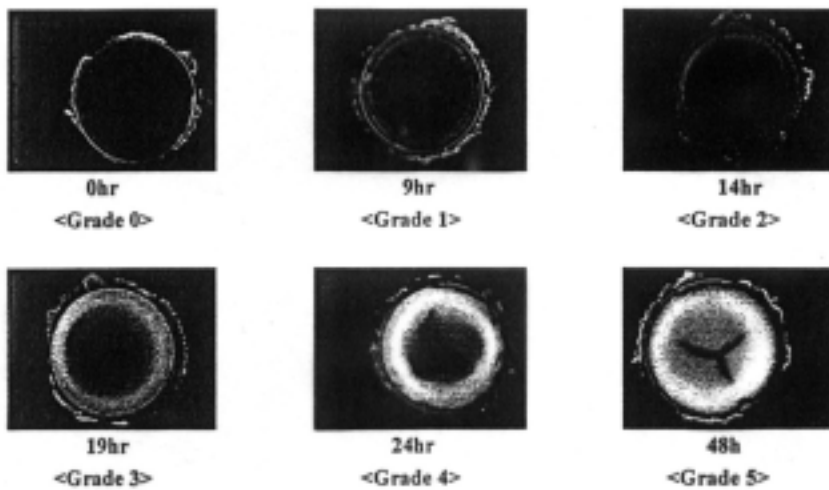
#### 3) ex vivo 렌즈 배양실험

180-200g 인 수컷 생쥐(SD-rats)를 CO<sub>2</sub> gas로 희생시킨 후 바로 안구를 적출해 요오드 용액에 넣어 잠시 소독 후 posterior approach 법(Spector 등, 1993)을 이용해 실제 현미경

하에서 렌즈만을 적출 하였다. M199배지에 넣고 세포 배양기에서 배양하면서 처음 24시간 동안 손상되지 않은 수정체를 선별하기 위하여 Tumminia 등(1994)의 방법에 따라 배지의 단백질 농도(Lawery, 1951)를 측정하였고 이때 7  $\mu\text{g/ml}$  이상인 수정체는 사용하지 않았다. 배지에 20 mM xylose를 넣어 배양하면 9 시간에 백태가 생기기 시작하여 24시간에는 뚜렷한 백내장 형성을 관찰할 수 있었고 48시간에는 렌즈의 전반구 전면에 백내장이 형성되었다 (그림 3-1-5). Image pro-plus 4.0 소프트웨어가 실린 영상 분석기를 이용해 CCD camera에 의해 찍힌 수정체의 혼탁밀도를 픽셀당 임의 단위 값으로 구하여 백내장 생성 정도를 나타내었다. 추출물의 백내장 억제 정도를 조사하기 위하여는 자일로즈와 함께 각 추출물을 배지에 넣고 배양하면서 위의 동일한 방법으로 백내장 생성 정도를 측정하고 비교하였다.

### 그림 3-1-5. 렌즈의 ex vivo 배양

M199 media에 20mM xylose를 첨가하고 선별된 렌즈를 48시간 동안 하면서 생성되는 당뇨성 백내장을 시간별로 관찰한 것



#### 4) in vivo 당뇨성 백내장 유발 동물실험

6주령의 Sprague Dowley 랫드를 바이오제노믹스사(경기도, 대한민국)에서 수령하여 적응시킨 후 Streptozotocin을 60 mg/ml 용량으로 1회 복강 주사하고 5일을 경과한 후 꼬리 정맥에서 혈액을 채취하여 혈당을 측정하였다. 이때 300 mg/dl 이상의 고혈당을 일으킨 쥐만을 선택하여 3 groups을 조성하였고 각각 다음과 같이 추출물을 투여하였다. 대조군은 당

노가 유발된 쥐에 생리식염수를, 실험 1군은 당뇨유발 후 두릅 추출물 200 mg/kg의 용량을, 실험 2군은 당뇨유발 후 두릅 추출물 400 mg/kg의 용량을 경구로 매일 투여하면서 주당 1회씩 몸무게와 혈당을 관찰하였고 10 ~ 12 주 후에 랫드를 마취제로 마취한 후 안구를 적출하고 ex vivo 실험에 기술된 방법에 따라 렌즈를 취하여 현미경으로 백태가 생긴 정도를 관찰하였다.

#### 5) in vivo 당뇨성 망막증 유발 동물실험

위의 동물실험에서와 동일한 방법으로 동물실험을 실시하였으며, 6주 동안 두릅 추출물을 300 mg/kg와 600 mg/kg로 투여한 후 안구에서 망막을 다음과 같은 방법으로 얻어 실험하였다.

##### 가) 망막의 추출

조직학 실험을 위하여 쥐의 안구를 신속히 적출하고, 각막과 렌즈를 제거한 후, 망막을 얻어내었다. 망막은 6시간동안 4%의 parapormaldehyde 용액에서 고정하였고, 30% sucrose 용액을 밤새 침투시켰다. 물기를 깨끗이 제거한 후, O.C.T compound에 조심스럽게 망막조직을 심고, isopentane과 액체 질소를 이용하여 급냉 처리한 후, 각 12  $\mu$ m로 cryosection 하여  $-70^{\circ}\text{C}$ 에 보관하였다.

##### 나) Hematoxylin & Eosine staining

당뇨와 약물처리에 따른 망막의 일반형태학적 변화분석을 위하여 냉동 보관된 각 그룹의 망막조직을 꺼내어 상온에서 2시간동안 air-dry 한 후, 수습분에 걸친 수세과정을 통해 망막주변의 이물질을 제거하였다. 먼저 hematoxyline 용액에서 2분간 염색하고, 다시 약 1시간정도 수세한 후, eosine 용액에서 1분간 염색하였다. 현미경을 통하여 염색정도를 확인한 후, 알콜 탈수화, xylene 투명화 과정을 차례로 거친 후, mounting 하였고, 적절한 부위를 선택하여 사진작업을 실시하였다.

#### 6) 당뇨병 예방 제품의 항당뇨 효과 검증 실험

6주령의 Spraque Dowley 랫드를 바이오제노믹스사(경기도, 대한민국)에서 수령하여 적응시킨 후 Streptozotocin을 45 mg/ml 용량으로 1회 복강 주사하고 5일을 경과한 후 꼬리 정맥에서 혈액을 채취하여 혈당을 측정하였다. 이때 300 mg/dl 이상의 고혈당을 일으킨 쥐만을 선택하여 3 groups을 구성하였고 각각 다음과 같이 추출물을 투여하였다. 대조군은 당뇨가 유발된 쥐에 생리식염수를, 실험 1군은 당뇨유발 후 두릅 추출물 300 mg/kg의 용량을, 실험 2군은 당뇨유발 후 두릅 추출물 600 mg/kg의 용량을 경구로 매일 10 ~ 20일 동안 투여한 후 꼬리 정맥에서 혈당을 측정하였다.

## 나. 연구결과 및 고찰

두릅나무의 혈당 저하 효과가 보고 된 바 있으나, 본 연구진에 의하여, 두릅 추출물이 혈당 저하 효과보다는 당뇨의 합병증으로 야기 될 수 있는 안구의 백내장을 억제할 가능성이 확인 된 바 있어, 당뇨 및 당뇨로 인한 안구질환에 초점을 맞추어 건강보조식품을 위한 신소재를 개발하고 자 하였다. 따라서, 고혈당 유발 시 안구 세포의 항산화력과 당 대사에 중요한 aldose reductase(폴리올 환원효소) 활성을 in vitro에서 탐색하였고 ex vivo인 렌즈배양에서 그리고 in vivo 동물실험에 각각 관련된 기능성을 확인하였다.

### 1) in vitro에서 부위별 두릅 추출물의 생리활성 검증

두릅추출물의 항산화 활성을 측정함에 있어서 micro-peroxidase가 chemiluminol을 산화시키면서 발생하는 빛의 정도를 chemiluminometer를 사용하여 측정하였고, 이때 두릅나무의 부위 따라(신초 생것, 신초 말린 것, 가지부위, 뿌리) 제조한 추출물을 농도별로 첨가하면서 억제되는 빛의 발생정도를 측정하여 50%를 차단할 수 있는 농도(IC<sub>50</sub>)를 산출하였다. 표 3-1-10에 그 결과를 나타내었다. IC<sub>50</sub> 값이 작을 수록 억제 활성 즉 항산화력이 큰 것임을 감안 할 때, 모든 부위의 추출물이 어느 정도의 항산화 활성을 가지고 있으나, 건 신초와 가지 부위 추출물에서 단일 물질인 ascorbic acid 정도(36.6 µg/ml)의 높은 항산화력을 관찰하였다.

표 3-1-10. 부위별 두릅 추출물의 생리활성 (IC<sub>50</sub> 값)  
aldose reductase 억제 활성 및 항산화 활성

추출물의 종류	항산화 활성 (µg/ml)	Aldose reductase 억제 활성 (µg/ml)
신초 생것	56.1	34.6
신초 말린것	18.3	22.2
나무	25.1	31.7
뿌리	105.3	31.7

또한, Sprague-Dawley 랫드의 안구를 적출 하여 균질화 한 후 일정 안구 균질액에서 aldose reductase의 활성을 측정하고 두릅나무의 부위별 추출물을 농도 별로 첨가하면서 aldose reductase 활성의 50%를 억제하는 추출물의 농도(IC<sub>50</sub>)를 산출하였다. 그 결과, 표 3-1-11에서 볼 수 있듯이, 모든 부위에서 aldose reductase 억제 효과가 뚜렷하게 나타났

으며 부위에 따라서는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

위의 두릅 부위별 연구 결과(분석표, 표 3-1-4)에 따라, 가지부위에 phenol성 성분 함량이 높고, 생리활성 효과 면에서도 우수한 기능성(항산화력과 aldose reductase 활성 억제력)을 보이므로 가지 부위를 건강기능식품 원료로 사용하는 것이 타당할 것으로 사료된다. 더욱이 두릅의 순은 채소로 이용가치가 높고 수요가 많지만 반면 두릅나무의 가지는 현재 활용되고 있지 않으므로 지속적이고 안정적인 원료 공급 차원에서도 가지 부위의 활용이 적절할 것으로 판단되므로 이후의 생리활성 관련 실험들을 수행하는데 에도 가지 부위의 추출물을 사용하였다.

## 2) in vitro에서 두릅의 품종별 생리활성 검증

두릅나무 가지의 추출물을 사용하여 두릅나무 종류에 따른 in vitro 생리활성 실험을 수행하였다. 첫째, 나무에 가시가 적은 품종과 가시가 많은 품종을 비교하였고 둘째, 봄에 채취한 두릅나무(춘채)와 가을에 채취한 두릅나무(추채)를 비교하였으며 셋째, 과중 후 성장했수에 따른 비교실험을 수행하였다. 마지막으로 산채시험장에서 선발하고 있는 우수 품종을 사용하여 생리활성을 조사하였고 그 결과를 아래의 표에 나타내었다.

### 가) 가시의 정도 및 채취시기에 따른 생리 활성

표 3-1-11에서 가시의 많고 적음에 따른 품종의 차이와 가지 채취시기에 따른 활성의 차이를 관찰 할 수 있다. Aldose reductase 활성 억제력은 가시의 많고 적음이나 채취시기에 따라, 그 차이가 미미하였고, 항산화력에 있어서는 가시의 많고 적음보다는 채취시기에 따른 차이가 큰 것으로 나타났다. 두릅나무과(Araliaceae)에 속하는 다른 종류의 식물 추출물을 제조하여 동일한 활성 실험을 수행한 결과, aldose reductase 활성 억제력은 두릅나무 추출물과 유사한 수준으로 나타났고 항산화력에 있어서는 두릅나무 추출물이 월등히 강한 것으로 관찰되었다. 이러한 결과는 성분 분석에서 관찰한 내용과 유사하였다. 성분 분석 실험 결과(표 3-1-5)에서 가시 없는 품종과 가시 있는 품종의 phenol 성 성분의 차이가 미미하였던 것처럼 생리 활성 면에서도 별 차이가 없는 것으로 나타났다. 그러나 춘채와 추채를 비교하였을 때, 추채에서 phenol성 성분이 2배가량 높았던 결과와 유사하게 항산화 효과에서도 월등히 (20배 이상) 높은 활성을 보였다.

춘채와 추채의 항산화 활성에서의 차이는 겨울을 지낸 가지에서 봄에 있을 땀 때, 식물 생리에 변화를 겪게 되면서 항산화 물질의 생성이 감소되었거나, aldose reductase의 활성과는 별개로 항산화력을 방해하는 어떠한 물질이 많이 생성되어 질 수 있음을 시사한다. 따라서 춘채 보다는 추채를 사용하는 것이 항산화력을 유지하는 방법으로 평가된다.

표 3-1-11. 품종별 두릅 추출물의 생리활성 (IC<sub>50</sub> 값)  
aldose reductase 억제 활성 및 항산화 활성

추출물의 종류	항산화 활성 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Aldose reductase 억제 활성( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )
가시 적은 품종(춘채)	795.6	23.6
가시 많은 품종(춘채)	1507	21.4
가시 많은 품종(추채)	25.1	31.7
비교 나무 1	387.3	17.0
비교 나무 2	>1000	34.2

나) 성장헛수에 다른 생리활성

1, 2, 3년생 구분없이 항산화력은 탁월했으며, aldose reductase 활성억제력도 강한 것으로 나타났다(표 3-1-12).

표 3-1-12. 성장헛수에 따른 두릅 추출물의 생리활성 (IC<sub>50</sub> 값)  
aldose reductase 억제 활성 및 항산화 활성

추출물의 종류	항산화 활성 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Aldose reductase 억제 활성( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )
가시많은것	17.5	36.7
가시적은것(1년생)	16.2	17.7
가시적은것(2년생)	23.3	10.0
가시적은것(3년생)	15.5	39.0

다) 우수품종의 생리활성

산채시험장에서 선택 개발한 6종의 우량계통 두릅나무를 원료로 하여 추출물을 제조하고 in vitro 생리활성을 조사하였다. 표 3-1-13의 결과에서와 같이 6품종의 추출물에서 모두 생리활성(항산화력과 aldose reductase 활성 억제력)이 탁월하게 나타났으며 품종 간에 유의성 있는 차이를 관찰할 수 없었고, 위에서 본 바와 같이 자생 두릅의 생리활성과도 유사하였다. 병충해를 입은 두릅 품종에서 비교 분석하지는 않았지만, 병충해에 강하다면 생리활성을 위한 추출물의 원료로 사용할 수 있을 것으로 판단된다. 다시 말하면, 우수품종의 선발을 위하여 생리활성을 항상 측정해야할 필요는 없는 것으로 사료되며 오히려 병충해에



강한 것 그리고 번식력이 강한 것등의 조건을 사용하는 것이 타당할 것으로 판단된다.

표 3-1-13. 두릅나무 선발 우수 품종의 생리활성 (IC<sub>50</sub> 값)  
aldose reductase 억제 활성 및 항산화 활성

우수품종의 종류	항산화 활성 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Aldose reductase 억제 활성( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )
34	15.4	31.8
41	9.4	25.2
47	12.6	25.4
56	15.7	25.2
62	14.2	24.7
69	10.6	30.3

3) in vitro에서 추출물 유기용매 분획의 생리활성 검증

두릅의 추출물(가지부위 추출물)을 유기용매의 극성을 활용하여 chloroform층, ethyl acetate층, butanol층, 물층의 4가지 분획으로 나누고 각각의 분획에 대하여 항산화력과 aldose reductase 억제력을 조사한 결과는 아래의 표 3-1-14와 같았다. 분획 중 chloroform과 ethyl acetate 분획에서 강한 항산화력이 관찰되었고, aldose reductase 억제 활성도 chloroform 층과 ethyl acetate 층에서 강하게 나타났다.

Chloroform층에는 CLA가, ethyl acetate 층에는 DHBA와 CFA가 그리고 butanol층에 gallic acid가 많이 함유되었던 phenol 성 성분이었고, 따라서 항산화 효과는 분획에서 대부분 높게 나타났다.

표 3-1-14. 품종별 두릅 추출물의 생리활성 (IC<sub>50</sub> 값)  
aldose reductase 억제 활성 및 항산화 활성

추출물의 종류	항산화 활성 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Aldose reductase 억제 활성( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )
chloroform	6.3	12.9
ethylacetate	7.2	29.2
butanol	40.2	52.1
water fraction	96.6	44.1

4) ex vivo 렌즈 배양실험에서 두릅 추출물의 당뇨성 백내장 관련 생리활성 연구

가) 두릅 추출물 및 분획의 당뇨성 백내장 억제 효과

ex vivo 렌즈 배양 실험을 통하여 두릅나무 추출물과 chloroform층, ethylacetate층, butanol층, 물층의 4가지 분획의 백내장 형성 억제 효과를 측정하였다. 현미경에서 관찰된 이미지를 컴퓨터의 이미지 분석 프로그램을 사용하여 분석하므로 렌즈의 백내장 형성으로 인한 혼탁밀도를 측정하고 계산한 결과, 백내장 형성 지연 효과는 추출물에서 25% 정도였으며, 분획의 실험에서는 chloroform 층의 백내장 형성 지연효과가 28% 정도로 가장 효과적이었다(표 3-1-15 참조). Ethyl acetate 층에서도 백내장 형성의 지연효과가 다소 관찰이 되었으나, 얼마 후 오히려 steroid 성 백내장이 형성됨을 관찰하였다. 항산화효과가 탁월하고 aldose reductase 효과가 뚜렷했던 ethyl acetate 층에는 백내장 형성을 지연시키는 물질이 적정량 함유되어있으나 steroid 성 물질이 함께 들어있는 것으로 판단되었다.

나) 따라서 두릅의 Chloroform층을 column chromatography방법 (Silica gel column 이용, 이동상 : CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH= 7:3) 으로 2개 층(C-1, C-2)으로 나누어 활성을 조사하였다. 그 결과, 두 개의 분획 중에서 1번 분획이 0.25 mg/ml 농도에서 36%까지 혼탁도를 감소시켰다 (아래 표 3-1-16 참조). 또한, 용량의존적인 효과는 chloroform층의 백내장 억제 효과를 확인시키는 결과라 하겠다.

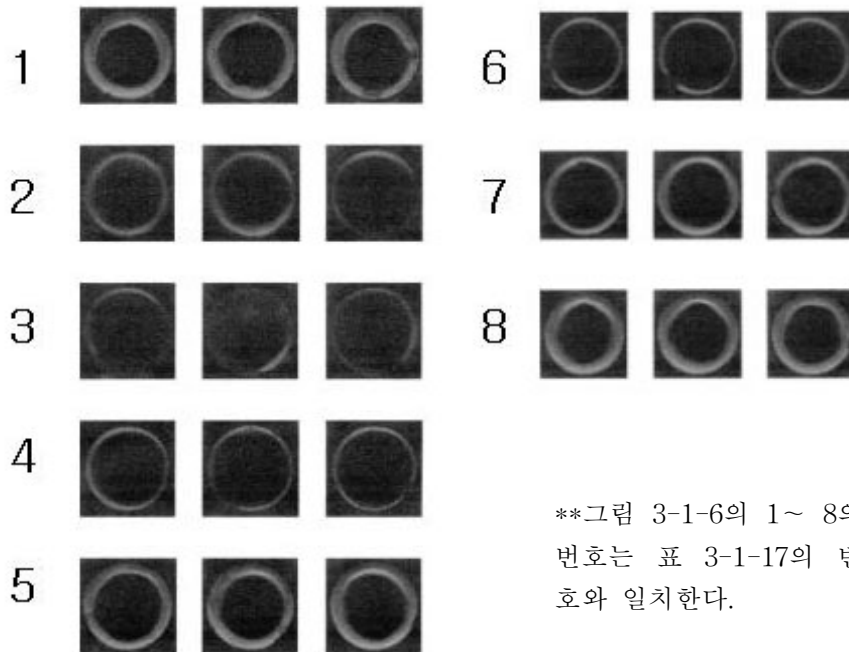
표 3-1-15. 두릅 추출물과 분획의 ex vivo 렌즈 배양 실험에서 xylose로 유발된 백내장 렌즈의 혼탁 밀도

1mg/ml concentration	혼탁도	percentage of control
Xylose	58.7	100
Xylose + 추출물	44.25	75.4
Xylose + Chloroform 층	42.1	71.7
Xylose + Ethylacetate 층	60.9	103.7
Xylose + Butanol 층	61.7	105.1
Xylose + 용매추출여액	53.4	91

표 3-1-16. 추출물 클로로포름층의 컬럼 분획의 ex vivo 렌즈 배양 실험에서 xylose로 유발된 백내장 렌즈의 혼탁 밀도

농도(mg/ml)	혼탁도	percentage of control
1. Xylose	75.3	100
2. Xylose + Chloroform 층, 0.5	61.1	81.1
3. Xylose + C-1, 0.5	64.9	86.2
4. Xylose + C-1, 0.25	48.1	63.9
5. Xylose + C-1, 0.1	77.2	102.5
6. Xylose + C-2, 0.5	57.4	76.2
7. Xylose + C-2, 0.25	68.5	90.1
8. Xylose + C-2, 0.1	78.1	103.7

그림 3-1-6. 추출물 클로로포름층 및 컬럼 분획의 당뇨성 백내장 형성 지연 효과

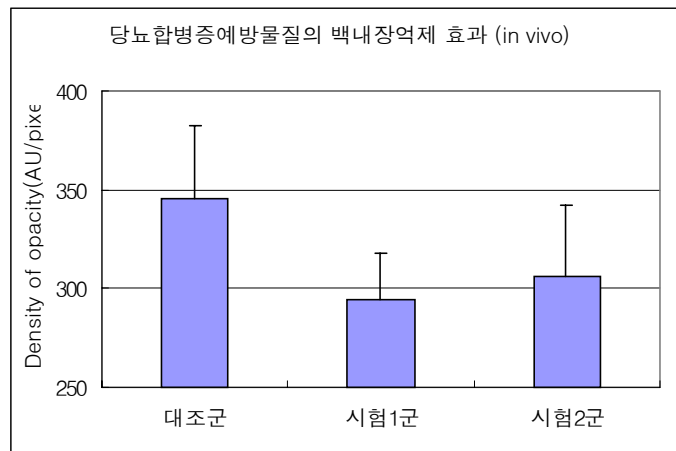


\*\*그림 3-1-6의 1~ 8의 번호는 표 3-1-17의 번호와 일치한다.

6) in vivo 동물실험에서 당뇨병 백내장 관련 생리활성 연구

Streptozotocin으로 당뇨가 유발된 SD 랫드(300 mg/dl 정도의 고혈당)에 두릅 추출물을 경구로 10주 동안 투여하고 마취제로 마취 후 렌즈를 적출하여 백내장 유도 정도 및 백내장 생성 억제 정도를 관찰하였다. 그 결과는 다음(그림 3-1-7)과 같다. 두릅을 먹이지 않은 랫드는 대부분이 렌즈 전체가 혼탁한 심한 정도의 백내장이 야기되었고 두릅을 경구 투여한 랫드에서는 렌즈의 혼탁도가 낮아졌다. 두릅을 200 mg/kg 경구투여한 시험군 1에서 통계적으로 유의한 정도( $p < 0.05$ )로 백내장 형성이 억제 되었고 400 mg/kg 경구투여한 시험군 2에서도 다소 백내장 형성이 지연된 것을 관찰하였다.

그림 3-1-7. in vivo STZ 유발 당뇨 랫드에서 두릅 추출물의 백내장 형성 억제 효과



7) in vivo 동물실험에서 당뇨병 망막증 관련 생리활성 연구

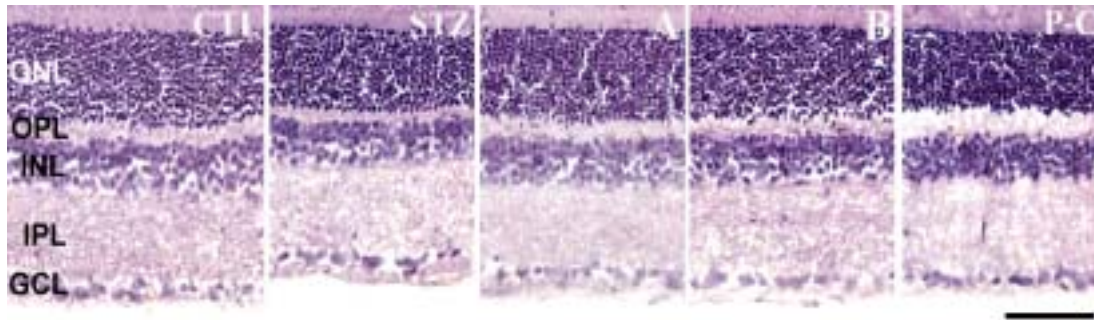
당뇨병의 합병증에 발병률이 잦은 것 중에 하나가 망막증이므로 두릅의 생리활성을 확대하기 위하여 망막증에 효과를 관찰하였다.

STZ로 당뇨가 유발된 SD 랫드(300 mg/dl 정도의 고혈당)에서 두릅 추출물(300 mg/kg, 600 mg/kg)을 경구로 6주 동안 투여하고 망막을 적출하여 고정시킨 후 조직 슬라이드를 제작하여 H & E 염색을 실시한 결과는 다음의 그림 3-1-8과 같다.

망막층 두께변화에 대한 일차적 소견은 망막의 손상정도를 파악하는데 도움을 주고 CTL에 표시한 바와 같이 ONL(outer nuclear layer), OPL(outer plexiform layer), INL(inner nuclear layer), IPL(inner plexiform layer), GCL(ganglion cell layer)의 5부위를 집중적으로 비교분석 하고자 하였다. 실험결과 CTL에 비하여 STZ 당뇨군의 망막의 두께가 감소하였고, 나머지 A, B, P-C 군은 STZ 당뇨군에 비해서 덜 감소된 경향으로 나타났다.

따라서, 약물 A(두릅 추출물 300 mg/kg), B(600 mg/kg)가 당뇨망막의 훼손을 막는데 다소 효과가 있을 것으로 생각되며 positive control(기존약물) 군 역시 약간의 효과가 있을 것으로 보인다. 그러나, 개체간 variation이 다소 있는 편이므로 보충실험이 요구된다. (Scale bar=50  $\mu$ m)

그림 3-1-8. in vivo STZ 유발 당뇨 랫드에서 두릅 추출물의 막망증 억제 효과



#### 8) 당뇨병 예방 제품의 항당뇨 효과 검증 실험

두릅 추출물을 핵심물질로 하여 건강보조식품을 2가지 고안하였다. 다음의 제품화 연구에서 건강보조식품으로서의 concept과 formulation을 제시하였다. 한가지는 두릅의 혈당강하 효과를 강조한 당뇨병 치료 보조 및 합병증 예방을 위한 건강식품이며 또 한가지는 안구의 기능을 유지시키는 특수영양식품이다.

두릅의 당뇨성 백내장 억제 효과를 실험적으로 입증하였듯이 본 연구 결과로 제시된 건강보조식품 Diapro의 혈당강하 효과를 검증하기 위하여 두릅을 포함한 구성 성분들을 함유하는 추출물을 제조하여 시제품을 만들었고(아래의 결과) 이에 따라 혈당강하 효과를 측정하였다. 연구방법에 제시되어 있는 방법에 따라 STZ를 랫드에 주사하여 당뇨를 유발하였고 시제품을 구강투여한 결과를 **그림 3-1-9A와 B**로 나타냈다.

정상쥐와 비교하였을 때, STZ로 혈당을 유발한 세 그룹, 당뇨군, Diapro 투여군 1 & 2의 초기 혈당은 460 ~ 500 mg/dl 로 그룹간에 유의한 차이가 없었으나, 12일간 Diapro를 구강으로 투여한 후의 혈당은 Diapro 600 mg/kg에서  $342 \pm 113$  mg/dl 로 당뇨군( $501 \pm 152$  mg/dl)에 비하여 월등히 낮은 혈당을 유지하였다(**그림 3-1-9A**). Diapro 600 mg/kg을 투여한 군에서 모든 개체(랫드)의 혈당이 낮아지는 좋은 결과를 얻었다(**그림 3-1-9B**).

그림 3-1-9 (A) Diapro의 혈당강하 효과 (그룹별 비교)

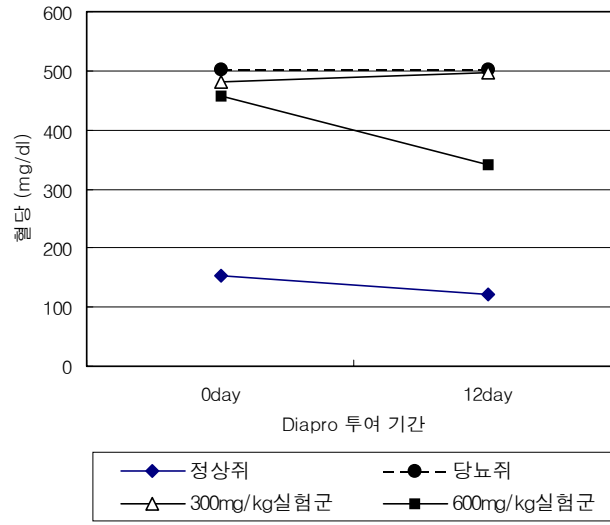
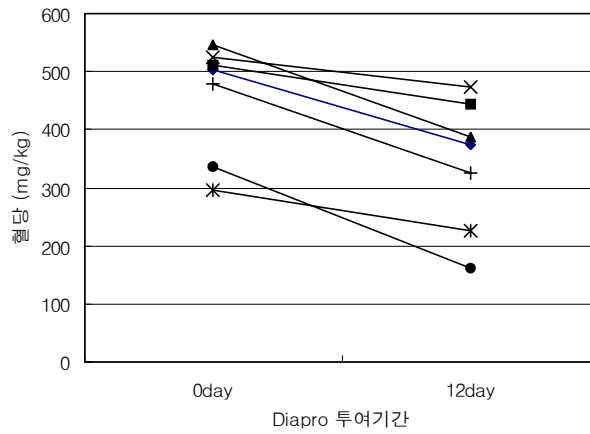


그림 3-1-9 (B) Diapro의 혈당강하 효과 (개체별 비교)



### 3. 두릅 추출물의 제품화 연구

#### 가. 연구방법

##### 1) 시장성 및 산업의 특성 연구

한국기술거래소에 의뢰하여 시장성을 검토하였다. 당뇨병과 당뇨 합병증, 당뇨성 백내장과 노인성 백내장 등의 역학조사(발병률)를 국내외 별로 실시하였고, 국민건강관리공단의 보험관련 자료, 보건, 제약 자료들을 통하여 시장의 규모를 조사하였다. 이에 따른 산업의 특성을 분석하여 사업화 타당성을 제시하였다.

##### 2) pilot 규모의 산업적 추출 조건 확립

한국식품연구소에서 pilot 실험을 위한 기계를 임대하여 산업적 추출 조건 확립을 위한 실험을 3회에 걸쳐 실시하였다.

##### 가) 1차 실험

전 처리, 추출, 압착, 농축, 여과, 냉각 및 건조의 방법 중, 전 처리 단계에서 절단, 분쇄 및 수피 제거 등의 세 가지 방법을 비교하였고 마지막 단계에서 동결 건조와 분무건조의 효율을 비교하였다.

##### 나) 2차 실험

1차 실험의 결과에 따라 분쇄 및 절단에 따른 추출 및 농축 방법을 다양화하여 공정과정의 효율성 및 타당성을 비교 분석하였다.

##### 다) 3차 실험

두 차례에 걸쳐 결정된 추출공정 과정에 준하여 대량생산성을 타진하였다. Pilot 규모의 추출물 생산 조건 확립을 위한 위의 실험을 수행함에 있어서 bench scale에서 확립된 방법에 준하여 실험을 실시하였고, 단계별 QC(HPLC) 및 효율성을 산출함으로써 각 단계별 방법을 비교하였다.

##### 3) 제품의 concept 및 formulation

두릅 추출물의 생리활성 실험 결과에 따라 target 기능성을 설정하고 관련 질환군을 조사하여 제품의 concept을 설정하였다. 두릅 추출물 이외에 concept에 부합되는 물질들을 함께 조사하여 건강기능성식품으로서의 formulation을 완성하였다.

##### 4) 급성독성 시험

경구투여 급성독성시험을 한국화학연구소 내 안전성평가연구소에 의뢰하여 수행하였다. 연구결과에 급성독성시험의 보고서를 기재하였다.

## 나. 연구결과 및 고찰

### 1) 시장성 및 산업의 특성 연구

#### 가) 산업특성

##### (1) 산업의 개요

본 물질인 두릅나무 추출물은 aldose 환원효소의 활성을 억제하고 항산화작용이 있다고 밝혀졌으며 이러한 성질은 당뇨병의 합병증과 노화방지에 대한 적응증에 응용할 수 있는 것이다. 따라서 동 물질은 당뇨병성 백내장에 대한 효능과 함께 노화의 원인이라고 알려져 있는 항산화제로서의 효능을 기대할 수 있게 한다.

본 제품의 시장을 어떻게 정의하느냐 하는 문제는 시장규모를 추정하는데 있어서 매우 중요하다. 일반적으로 시장을 정의할 때에는 용도와 경쟁관계를 고려한 해당 제품의 잠재적 적용가능성과 대체 가능성을 감안하여야 한다. 따라서 당뇨병성 백내장 예방 및 치료용 건강식품의 시장을 정의하는데 있어서는, 본 제품이 건강식품군에 속해 있다는 이유로 건강식품 일반의 시장규모를 말하여서는 안된다. 즉 당뇨병성 백내장 예방 및 치료용 건강식품은 일반 건강식품과는 경쟁관계를 형성하지 않는다.

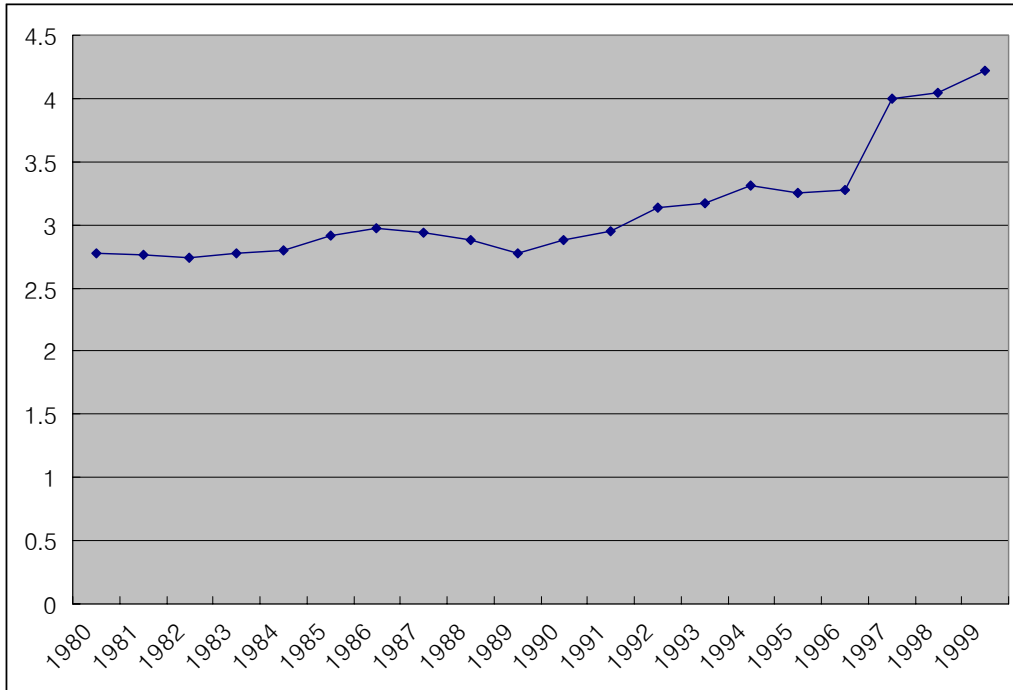
당뇨병성 백내장 예방 및 치료용 건강식품을 소비자행동이라는 측면에서 살펴볼 때, 당뇨병과 관계가 없는 일반소비자가 이 제품을 구입한다고 보기는 어렵고 본 제품의 소비자는 당연히 당뇨병환자 및 노인성 백내장 환자에 국한되어야 한다. 즉 제품의 형태가 행정 또는 산업분류상 건강식품산업에 속한다 하더라도 이러한 분류가 중요한 것이 아니라 실질적으로 소비자가 제품을 구입·사용하는 동기를 살펴보아야 한다. 소비자들이 본 제품을 구입하는 동기는 당뇨병의 합병증 예방과 치료 그리고 노인성백내장에 대한 효능을 기대하기 때문이라고 보아야 한다. 결국 본 제품의 목표시장은 백내장이 진행되고 있거나 또는 백내장의 발병을 우려하는 당뇨병환자 그리고 노인성 백내장환자라고 보는 것이 합리적일 것이다. 이에 따라 본 제품의 시장범위는 당뇨병의 합병증 예방과 치료에 관심이 있는 당뇨병환자 그리고 노인성백내장환자를 대상으로 하는 시장이 될 것이다.

당뇨병은 고혈당과 같은 만성적인 대사장애에 의해 지속적인 혈관손상을 일으켜 백내장 뿐만 아니라 망막증, 신장증, 신경증과 함께 심장의 관상동맥, 뇌동맥, 하지동맥의 동맥경화증 등 각종 치명적인 당뇨병성 합병증을 일으키게 되는 무서운 질병이다. 당뇨병의 발생비율은 세계적으로 증가하고 있는 추세이며 특히 노령화사회가 진전될수록 당뇨병 및 그 합병증은 심각한 사회적 문제가 될 것으로 보인다. 예를 들어 미국의 경우 총인구에서 차지하는 당뇨병환자의 비율은 **그림 3-1-10**에서 보는 바와 같이 해마다 증가하여 1980년의 2.77%이던 것이 90년대에 들어와 그 비율이 급격히 높아져 1999년에는 인구의 4.22%가 당뇨병환자로 파악되고 있는 실정이다.



그림 3-1-10. 미국의 인구 100명당 당뇨병환자 발생 추이

단위: %



자료 : 미국질병통제센터 [www.cdc.gov/diabetes/statistics/prev/national/table8.htm](http://www.cdc.gov/diabetes/statistics/prev/national/table8.htm)

일본의 경우 2000년(인구 1억 2774만 6000명) 당뇨병환자에게 지출한 진료비는 1조 1,155 억엔에 달하며 백내장 환자에 지출한 비용은 3,798억엔에 달한다.

우리나라의 경우 보건복지부가 발행한 1998년 국민건강·영양실태조사보고서에 의하면 건강검진 대상자중 당뇨병 치료제를 복용하는 비율은 남자가 1.74%, 여자가 2.44%이었으며, 또 공복시 혈당수치에 의한 당뇨병 유병율을 조사하였더니 표 3-1-17에서 보는 바와 같이 30세이상의 인구 중 10.67%가 새로 강화된 당뇨병 판정기준인 공복시 혈당치 126 mg/dl 이상으로 조사되었으며 과거의 당뇨병 판정기준인 공복시 혈당치 140 mg/dl 이상을 적용 하더라도 30세 이상의 인구 중 6.74%가 당뇨병환자로 조사되었다. 이 조사에서도 알 수 있듯이 당뇨병을 갖고 있는 10세 이상의 환자(공복시 혈당치 140 mg/dl 이상) 중 적극적으로 치료를 받고 있는 사람은 약 31.7%(여자)~37.0%(남자)에 지나지 않음을 알 수 있다.

한편 당뇨병성 백내장 예방 및 치료용 건강식품의 수요에 영향을 미치는 요소는 현재의 당뇨병환자의 수, 새로 발병하는 환자의 비율, 노인인구의 수 및 증가율, 기존의 치료제 또는 건강식품의 존재유무와 효능 그리고 상대가격 등이 될 것이다. 또 공급측면에서는 당뇨

병관련 시장이 매우 크고 세분화되어 있어 세계적인 다국적 제약회사들과 건강식품회사들 그리고 바이오벤처회사들이 다양한 종류의 당뇨병 및 그 합병증 시장에 진출하여 치열한 경쟁을 벌이고 있으나 아직까지 당뇨병의 모든 증상에 효과가 탁월한 치료제가 있는 것은 아니다. 특히 당뇨병성 백내장을 위한 치료제가 시판되고 있기는 하지만 약효면에서 만족스럽지 못한 것으로 알려져 있다.

표 3-1-17. 성별, 연령별 당뇨병 유병율 (1998년도 기준)

단위 : %

	전 체		남 자		여 자	
	공복혈당 ≥140mg/dl	공복혈당 ≥126mg/dl	공복혈당 ≥140mg/dl	공복혈당 ≥126mg/dl	공복혈당 ≥140mg/dl	공복혈당 ≥126mg/dl
10세이상	4.70	7.70	5.20	8.43	4.13	6.85
30세이상	6.74	10.67	7.54	11.78	5.79	9.38
10-19세	0.55	1.56	0.56	1.71	0.55	1.37
20-29세	1.96	3.77	2.05	4.05	1.87	3.49
30-39세	3.81	6.46	4.50	7.76	2.68	4.02
40-49세	5.09	7.85	5.94	8.81	3.64	6.49
50-59세	11.46	17.54	13.15	19.92	9.13	14.37
60-69세	9.94	16.26	9.41	16.06	10.34	16.42
70세이상	10.34	15.72	12.07	15.80	9.20	15.68

자료 : 보건복지부, 1998 국민건강·영양실태조사보고서, 1998. 12

(2) 산업의 특성

세계 당뇨병 합병증의 예방 및 치료제 산업은 소수의 시장지배자와 전문화된 제약업체들이 세계시장을 지배하고 있다. 여기서 소수의 시장지배자들이란 세계적 다국적 기업인 Pfizer, Eli Lilly, Bristol-Myers Squibb 등을 말하며 이들은 막강한 연구개발 능력과 전세계의 마케팅채널 등을 이용하여 세계시장을 지배하고 있다. 전문화된 제약업체의 예로는 NovoNordisk 등이 있으며 이러한 시장 지배구조에 지금까지와는 다른 새로운 방법에 기초한 전문적 연구를 통해 도전하는 R&D중심의 신생 바이오벤처 업체들이 있다. 이 벤처기업들의 대표적인 예로는 Calyx, Diabetogen, Mitokor 등이 있다. 최근 제약기업 메이저들은 시장지배를 지속적으로 유지하기 위해 기술개발을 위한 내부 연구활동을 강화하는 한편 이들 신생 바이오벤처 기업들의 기술을 활용하기 위해 파트너십을 맺는 전략을 취하기도 한다.

Kalorama Information Inc, USA(“Diabetes and Diabetic Complication in key world markets“, 2002)의 보고에 따르면, 산업조직 측면에서 소수의 시장지배자의 힘이 크에도 불

구하고 지금까지 당뇨병 합병증에 대한 치료제는 실질적으로 고객을 만족시켜 오지 못했다. 이에 따라 당뇨병 합병증의 증세에 따른 틈새시장을 노리는 수많은 전문 R&D기업들이 시장에 진출하게 되어 시장에서의 경쟁이 이전에 비해 심화되었다. 이와 같이 당뇨병 합병증에 대한 예방 및 치료제 시장에 전문 R&D기업들의 진출이 가능하게 된 이유는 기본적으로 지금까지의 치료약이 별효과를 보지 못했었기 때문이며 이와 함께 관련시장은 아직도 시장규모가 충분히 큰 시장이며 소비자의 욕구를 충족시키지 못하고 있는 세분화된 시장이 존재한다는 것을 의미하고 또 한편으로는 투자수익률이 매우 높기 때문으로 해석된다.

당뇨병 합병증에 대한 예방 및 치료제 시장의 시장진입장벽은 그다지 높지 않으나 경쟁자가 많아졌고 또 세분화된 시장에서 일정한 시장점유율을 높이기 위해 이전에 비해 비용이 더 많이 들게 되었다. 이에 따라 최근에는 새로이 시장에 진입하는 신제품인 경우 대형제품(blockbuster)만이 시장에서 살아 남을 확률이 높아지는 경향이 있다.

산업내의 경쟁관계는 브랜드의 충성도가 높아 Pfizer社 등과 같은 다국적 제약업체들의 경쟁력이 높으나 특정 분야에서는 기술을 앞세운 바이오벤처 기업들의 시장점유율도 점차 높아지고 있다.

유통상의 특징은, 치료제의 경우는 의약분업이 실시되고 있는 국가에서는 의사의 처방에 따른 약국판매가 대부분을 차지하고 있으나 건강식품으로 판매되는 경우에는 건강식품체인 점이나 다단계판매 그리고 대형할인점의 비율이 높은 편이고 최근 들어와 케이블TV나 인터넷쇼핑 등의 비중이 늘어나고 있는 추세이다.

국내시장의 경우 당뇨병관련 건강식품은 건조 누에가루, 달걀비플, 인삼, 달맞이꽃, 결명자, 구기자, 우엉, 메밀 등 거의 1백20여종에 이르는 소재가 민간요법으로 이용되고 있는데 민간요법과 관련한 한국경제신문이 조사한 (“당뇨병에 관한 잘못된 상식 5가지”, 2002. 7.29) 것에 따르면 성인 당뇨병환자의 74% 가량이 한차례이상 민간요법을 시도했으나 이중 약 80%는 효과가 없었고 약 12%는 오히려 악화되었다고 한다고 보고하였다. 이 밖에 삼천당제약을 비롯한 국내 제약업체들도 생약 등 천연물질을 이용한 당뇨병 치료제를 개발하고 있다.

당뇨병환자 수의 증가로 당뇨병 치료제와 건강식품에 대한 수요는 지속적으로 증가하고 있으나 아직까지 당뇨병의 여러 합병증에 따른 전문 치료제가 존재하지 않고 기술적으로도 가야할 길이 먼 것으로 보인다. 따라서 당뇨병 합병증에 대한 예방 및 치료제로서의 본 제품은 산업특성상 세분화된 시장에서 강력한 경쟁자가 아직까지는 존재하지 않기 때문에 가능성이 강조된 건강식품으로서 유리한 측면이 많다고 할 수 있다.

나) 시장환경

본 기술의 시장환경에 영향을 미치는 요소들은 당뇨병환자의 수, 당뇨병 유병율, 노령인구의 수와 비율 등이 있다. 또 임상실험의 결과, Pfizer사를 비롯한 다국적 기업들의 연구성과, 새로운 제품이나 기술의 출현 등은 제품의 출시 가능성과 경쟁관계에서 중요한 시장환경변수가 될 것이다.

(1) 기회요인

본 기술의 기회요인으로서 무엇보다도 중요한 것은 현재까지 당뇨병성 백내장을 위한 치료제가 시장에 없다는 사실이다. 현재 시장에는 백내장 억제제는 약의 효능 면에서 만족한 결과를 얻지 못하고 있으며 또 장기간 투여에 있어서도 안전성이 확보되어 있는지는 알 수 없다. 이에 비해 본 제품은 천연물에서 추출하여 현재까지 동물실험에서 당뇨병성 백내장의 억제효과와 항산화작용의 우수성이 뚜렷이 밝혀졌고 또 독성실험에서도 문제가 없었다. 따라서 본 제품이 출시될 경우 시장에서 강력한 시장지배력을 행사할 수 있을 것이며 또 건강식품으로서 외국에 수출도 가능할 것으로 보인다.

우리나라가 인구 구성적인 측면에서 노령화사회로 접어들고 있으며 또 국민들의 식생활 습관이 점차 서구화되고 있다는 점도 본 제품에게는 유리한 국면으로 작용하게 될 것으로 보인다. 표 3-1-18에서 보면 우리나라의 65세 이상의 노령인구가 2001년 총인구의 7.56%인 것이 빠른 속도로 늘어나 2020년에는 현재의 노령인구의 2배인 13.2%로 늘어나게 된다.

이러한 사실은 그림 3-1-11에서 볼 수 있듯이 노인성 백내장환자가 크게 증가할 가능성이 있음을 암시하고 있다. 이는 미국의 경우 65세 이상 인구의 절반 이상이 백내장환자라는 미국질병통제센터 CDC (“Trends in Vision and Hearing among Older Americans”)의 보고에서도 뒷받침될 수 있는 것이다. 한편 국민들의 식생활 습관이 영양을 과다하게 섭취하고 특히 육류 및 인스턴트식품의 소비비중이 증가함에 따라 균형을 잃어가고 있다는 점도 당뇨병환자의 증가와 관계가 있다.

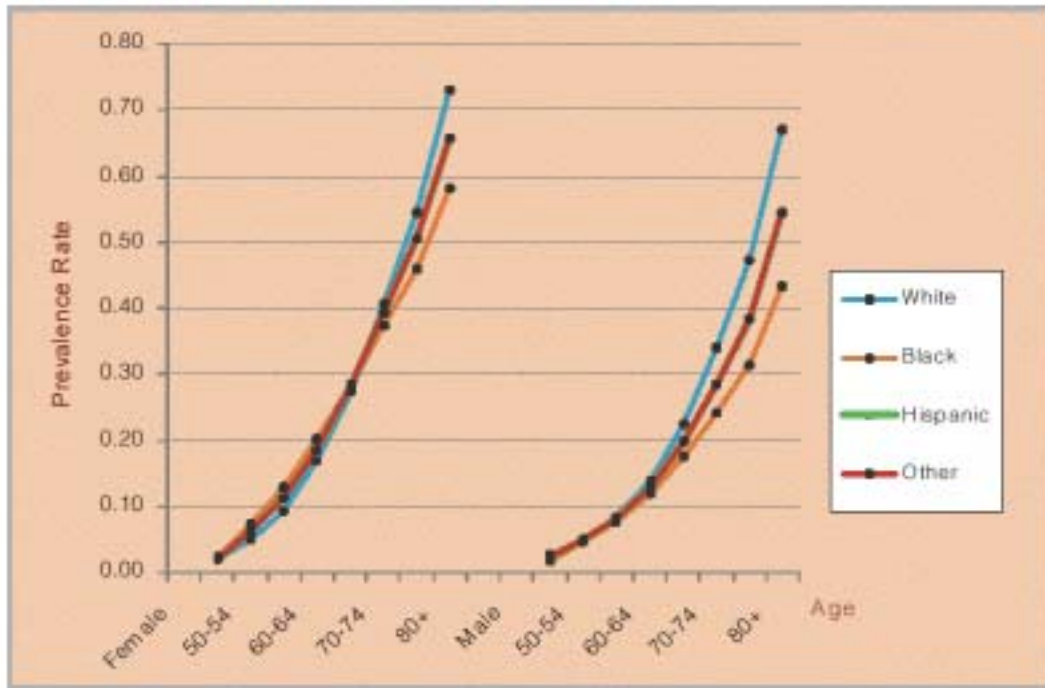
표 3-1-18. 우리나라 65세 이상 노령인구추이 단위 : 천명

연도	총인구	65세이상	구성비(%)
2001	47,342	3,579	7.56
2005	49,123	4,253	8.7
2010	50,618	5,032	10.0
2020	52,358	6,899	13.2
2022	52,536	7,527	14.3
2030	52,744	10,165	19.3

자료 : 통계청, “장래인구추계“, 1996

그림 3-1-11. 미국의 성별·연령별 백내장 유병률 추이

Estimated Specific Prevalence Rates for Cataract



자료 : 미국 질병통제센터 CDC, "Trends in Vision and Hearing Among Older Americans", [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

당뇨병성 백내장 예방 및 치료용 건강식품인 본 제품은 aldose 환원 효소 억제제로서 당뇨병성 백내장과 노인성 백내장뿐만 아니라 향후 연구결과에 따라 병리적인 측면에서 당뇨병성 백내장과 유사한 망막증, 당뇨병성 신경증 그리고 당뇨병성 신증에 대한 효능도 기대해 볼 수 있는 것이다.

(2) 위험요인

본 기술은 현재 독성실험과 동물실험을 끝낸 단계이며 아직까지는 인체에 대한 효과와 부작용이 검증된 제품이 아니다. 따라서 건강식품으로서도 아직은 이론적인 단계에 머물러 있으며 생산 시설에 있어서도 파일럿 단계에 머물러 있을 뿐이다.

한편 Pfizer社는 연간 50억달러의 R&D 예산을 쓰고 있는 세계적인 기업이지만 2000년 10월 당뇨병성 신경증 치료제로 개발중인 aldose 환원효소 억제제인 zenarestat의 개발을 중지시켰는데 그 이유는 당뇨병성 신경증에 대한 안전성 문제로 즉 임상2상까지 효능을 확

인하였지만 임상3상에서 신독성이 문제가 되어 중단되었다. Pfizer社 이외의 다른 많은 기업들도 aldose 환원효소 억제제의 용도에 오랫동안 관심을 갖고 있었으며 여러 해 동안 많은 분석과 평가를 해 왔으나 지금까지 어떤 기업도 이렇다 할 제품을 시장에 내놓지 못했다.

향후 본 기술에 실질적으로 가장 위협적인 요인은 다국적 제약업체에 의한 새로운 제품이나 기술의 출현이라 할 수 있다. 당뇨병 치료제의 시장규모가 거대하고 또 니즈가 아직까지 충족되지 않았기 때문에 이들 다국적 기업들은 기술적 우위를 확보하고 시장을 선점하기 위해 지속적인 연구개발투자를 멈추지 않을 것이기 때문이다.

#### 다) 향후 발전전망

수요측면에서 볼 때, 우리나라는 향후 노령인구의 빠른 증가와 식생활의 서구화에 따른 당뇨병 유발인자의 증가로 노인성 백내장 및 당뇨병 합병증 환자의 자연스런 증가를 가져올 것으로 보인다.

공급측면에서 보면, 건강식품산업은 제약산업과 때로는 경쟁관계, 또 때로는 보조적 관계를 맺으면서 발전해 오고 있다. 최근 선진국들을 중심으로 제약산업의 구조적 변화가 뚜렷하게 나타나고 있는데 하나는 게놈프로젝트로 대표되는 유전자치료에 의한 접근과 또 하나는 천연물 또는 생약을 이용한 제약업체들의 건강보조식품산업에의 진출이다.

이러한 구조적 변화는 신약을 개발하는데 엄청난 개발비용과 기간 및 리스크를 감안할 때 당연한 추세이기도 하다. 따라서 앞으로 건강식품산업은 건강보조식품업체들과 제약업체들간의 경쟁을 통해 제품이 좀더 과학화 내지는 품질의 신뢰성을 확보할 수 있게 될 것이고 그렇지 못한 제품들은 시장에서 점차 퇴출될 것으로 보인다.

제도적 측면에서는, 최근 정부의 기능성 건강식품에 대한 정책에 의하면, 건강식품의 기능성을 표시하려고 할 경우 우수약품제조설비(GMP) 등 일정 수준의 생산설비를 갖추어야하고 또 기능성을 입증할 수 있는 객관적 데이터를 요구하는 기능성 건강식품에 관한 법률(2003년 7월 1일 시행)안을 입법 예고하고 있다. 이와 같은 산업환경의 변화는 기업의 원가상승 요인이 될 것이며 또 일부 영세기업에 대한 퇴출압력으로 작용한다는 측면에서는 기업활동을 규제하는 것이다.

그러나 건강식품산업의 건전한 경쟁을 유도하고 건강식품에 대한 소비자의 인식제고를 통해 건강식품시장이 확대될 것이라는 긍정적 요인으로 작용하는 측면도 있다. 따라서 건강식품산업은 향후 영세규모의 기업비중은 점차 감소하고 대규모 제약업체나 R&D중심의 바이오벤처기업 그리고 외국계 건강식품업체들을 중심으로 산업이 서서히 재편될 것으로 보인다.

## 라) 시장현황

### (1) 시장특성

본 제품의 소비자는 주로 당뇨병성 백내장 환자와 노인성 백내장 환자가 될 것이다. 본 제품이 건강식품으로 판매될 경우에는 일반 건강식품의 유통경로와 마찬가지로 건강식품 전문점이나 다단계판매 그리고 케이블TV와 인터넷으로 판매될 것으로 보이지만 인체에 대한 약효가 입증될 경우 약국이나 의사의 추천에 의한 판매도 커다란 영향을 줄 것으로 판단된다. 당뇨병성 백내장과 노인성백내장 시장에 대한 시장진입장벽은 높지 않을 것이며 시장에서는 위협적인 경쟁자가 없기 때문에 시장점유율이 빠른 속도로 높아질 것으로 예상된다.

수요측면에서는 지금까지 시장에 특효약이 없어서 치료를 제대로 받지 못하고 있던 백내장 환자들로부터 적극적인 구매욕구가 나타날 것이며 이들은 안정적인 구매자로서 구전효과에 의한 시장확대에 기여할 것이다. 분명한 것은 현재 당뇨병성 백내장 시장과 노인성 백내장 시장에서 소비자들의 욕구가 충족되고 있지 못하다는 사실이다.

공급측면에서는 현재 국내시장에 백내장 치료제가 시판되고 있으나 의약품시장의 특성상 가격보다는 효능이 중요시되고 있어 본 제품이 효능면에서 우수성이 입증되면 시장지배자로서 가격 결정자로서의 역할도 할 수 있을 것으로 예상된다. 가격면에서도 본 제품이 건강식품으로 출시될 경우 생산 및 관리비용측면에서 유리할 것이다. 다만 다단계 방문판매에 의한 방식에 의존하여 마케팅채널을 구축할 경우에는 유통단계상의 지나친 마진으로 가격경쟁력이 역전될 가능성도 남아 있다.

### (2) 시장규모

백내장은 원인에 따라서 노인성, 외상성, 합병성, 후발성, 선천성, 당뇨병성, 중독성 등으로 구분되지만, 그 중에서도 노인성 백내장이 가장 흔하다. 이러한 백내장의 발생기전은 수정체의 신진대사, 산소공급의 장애 때문에 수정체 단백질의 변화를 일으켜 혼탁이 나타난다.

당뇨병성 백내장과 노인성 백내장의 예방과 치료용 건강식품의 시장규모를 파악하기 위해서는 먼저 당뇨병 환자와 백내장환자의 수를 파악해야 한다. 그러나 백내장환자의 통계는 정확하게 발표되는 것이 없어 추정에 의존하지 않으면 안될 것이다.

미국의 경우 40세 이상의 백내장환자는 약 2,050만 명에 달하고 있는데 이는 같은 연령대의 인구 중 17.15%에 해당하는 것이고 80세 이상의 절반 이상이 백내장환자인 것으로 나타났다. 남자(13.92%)보다는 여자(19.97%)의 유병율이 높고 또 백인여성의 경우 40세 이상 인구의 20.31%가 백내장환자인 것으로 나타났다. 아시안과 기타 인종의 경우는 여러 인종 중에서 백내장 유병율이 가장 낮게 나타났다(표 3-1-19).

표 3-1-19. 미국의 40세이상 인종별·성별 백내장환자수와 유병율

단위 : 명, %

	진 체			남 자			여 자		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
백인	97,749,123	17,179,612	17.58	45,808,944	6,632,845	14.48	51,940,179	10,546,767	20.31
흑인	11,974,126	1,524,064	12.73	5,285,707	457,906	8.66	6,688,419	1,066,158	15.94
히스패닉	8,884,286	1,041,740	11.73	4,259,927	387,466	9.10	4,624,359	654,274	14.15
아시아인 기타	7,959,549	730,624	9.18	3,770,841	273,344	7.25	4,188,713	457,280	10.92
계	119,386,252	20,476,040	17.15	55,681,313	7,751,561	13.92	63,704,939	12,724,479	19.97

자료 : 미국 Census 2000과 Prevent Blindness America자료(2000년도 기준)를 근거로 작성.

주1) : A는 40세이상 인구, B는 40세 이상 백내장환자의 수, C는 (B/A)\*100로 유병율 (%)

2) : 기타에는 아메리칸인디언, 하와이원주민, 폴리네시아인, 알래스카원주민 등 포함하며 그 합계는 아시아인의 합계와 비슷함

보건사회연구원의 “노인생활실태조사”(1999. 2.9)에 의하면 우리나라 65세 이상 노인중 백내장 유병율은 10.6%에 달하는 것으로 조사되었다. 이를 근거로 우리나라 40세 이상 인구의 백내장 환자수를 추정해 보면 2001년도의 경우 약 150만명이 백내장을 앓고 있는 것으로 추정된다(표 3-1-20). 그런데 표 3-1-21에서 보면 노인성 백내장에 대한 의료비청구건수가 병원과 약국을 합하여 351,428건에 불과하다. 즉 노인성 백내장환자 중 병원이나 약국을 연중 한번이라도 이용한 환자는 많아야 23.35%에 지나지 않는다.

따라서 적어도 약 115만명 이상의 환자는 한번도 병원이나 약국을 이용하지 않았다는 것을 알 수 있으며, 만일 동일한 환자가 1년에 평균 2회 이상의 의료보험 요양청구비를 신청하도록 하였다면 적극적인 환자수는 약 17.5만명에 지나지 않는다. 그런데 이들 적극적인 환자들이 모두 본 제품을 구매하여 복용한다고 가정할 경우에는 2001년도 기준으로 본 제품의 잠재적 시장은 약 181억원(142원/캡슐× 2캡슐/일× 365일× 17.5만명=181억원) 규모가 된다.

한편 표 3-1-21에서 노인성 백내장에 대한 요양급여비용은 약 1,140억원에 달하고 있다. 그런데 노인성 백내장의 경우 병원에 입원하여 진료를 받는 경우 청구 건수당 평균 급여비용은 979,700원에 달하고 약국에 지불한 급여비용은 청구 건수당 평균 16,500원에 불과해 노인성 백내장에 대한 치료는 대부분 수술에 의존하고 있음을 알 수 있다. 따라서 본 제품이 치료효과가 인정될 경우 노인성 백내장에 대한 치료제시장은 181억원이 될 것으로 추정된다.



표 3-1-20. 우리나라 40세 이상 성별·연령군별 백내장 환자수 추정

단위 : 명, %

	전 체			남 성			여 성		
	인구	환자수	유병율	인구	환자수	유병율	인구	환자수	유병율
40-64세	13,055,930	1,146,343	8.78	6,506,901	450,808	6.93	6,549,029	696,535	10.64
65세이상	3,373,674	357,609	10.60	1,288,549	106,977	8.30	2,085,125	250,632	12.02
계	16,429,604	1,504,952	9.16	7,795,450	557,785	7.16	8,634,154	947,167	10.97

자료: KTTC 추정

주 : 유병율은 미국의 아시안계 유병율 감안

표 3-1-21. 2001년 노인성 백내장 및 당뇨병관련 요양급여실적

단위 : 건, 일, 천원

	기관	청구건수	진료일수	평균진료일수	요양급여비용	평균급여비용	보험급여비
노인성 백내장	병원	112,334	393,331	3.50	110,053,606	979.7	91,593,202
	약국	239,094	1,184,029	4.95	3,962,351	16.5	2,943,115
인슐린	입원	40,882	965,005	23.79	37,424,238	915.4	29,799,071
비의존성 당뇨병	외래	4,259,809	15,970,908	3.75	102,080,541	24.0	63,460,383
	약국	1,233,428	10,200,604	8.27	16,939,953	13.7	11,927,874
소갈	한방	67	934	13.94	26,809	400	21,448
계		11,771,228	28,714,811	2.44	270,487,498	23.0	199,745,093

자료 : 국민건강보험심사평가원, “2001의료보험요양급여실적“, 2002

또한 국내 당뇨병 치료제 시장규모를 추정하기 위해 먼저 표 3-1-22에서 우리나라 당뇨병환자수를 추정해 보았으며 30세 이상의 당뇨병환자는 2001년 현재 약 277만 명으로 추정되었다. 그런데 표 3-1-21에서 보면 당뇨병환자의 병원과 약국을 합하여 의료보험 청구건수가 약 123만 건이고, 청구 건수당 평균 8.27일의 진료일을 기록하고 있으며 또 평균 요양급여비용은 약 13,700원에 달한다.

따라서 잠재적인 당뇨병환자이면서 적극적으로 당뇨병 치료제를 사용하지 않은 사람은 적어도 150만명 이상이 된다고 볼 수 있다. 만일 병원과 약국을 적극적으로 이용한 환자들이 연간 평균 3회라고 가정하면 실제 본 제품을 적극적으로 구매할 수 있는 적극적인 환자는 약 40만명 정도가 될 것이다. 이들 적극적인 당뇨병환자들이 모두 본 제품을 구입하여 1년동안 복용할 경우 본 제품의 당뇨병 관련 잠재적 시장규모는 2001년 기준으로 약 413억원(142원/캡슐× 2캡슐/일× 365일× 40만명=413억원)에 이를 것으로 추정된다.

표 3-1-22. 2001년도 당뇨병환자수 추정

연령	인구	공복혈당 $\geq 126$ mg/dl 기준	
		유병율(%)	추정 당뇨병환자수
10세 이상	40,645,909	7.70	3,184,943
30세이상	25,623,373	10.67	2,771,952
10-19세	6,785,783	1.56	105,858
20-29세	8,146,753	3.77	307,133
30-39세	8,540,066	6.46	551,688
40-49세	7,252,187	7.85	569,297
50-59세	4,428,742	17.54	776,801
60-69세	3,332,497	16.26	541,864
70세이상	2,113,881	15.72	332,302

자료 : 통계청, “연령 및 성별 인구(2001)”, 2002 와 국민건강보험공단, “1998국민건강·영양실태조사보고서”, 1998, 12을 이용하여 추정

표 3-1-22에서 나타내었듯이 2001년도 국민건강보험공단이 2001년도에 당뇨병과 관련 지출한 요양 급여비는 약 1,565억 원이다. 그러나 우리나라 당뇨병환자들은 합병증이 악화되기 전에는 대부분 식이요법이나 운동요법과 함께 건강식품에 의존하여 자가치료하고 있기 때문에 여기에는 당뇨병환자를 위한 건강식품 시장이 포함되어 있지 않다. 따라서 당뇨병관련 건강식품까지 포함하면 당뇨병관련 치료제시장은 더욱 커질 것으로 짐작된다.

### (3) 시장동향 및 전망

2001년 현재 당뇨병성 합병증과 노인성 백내장 치료제시장은 각각 약 620억원과 181억원 정도의 규모로 추정되지만 향후 이 시장은 비교적 빠른 속도로 성장할 것으로 보인다. 이는 노령인구의 증가와 함께 잠재적 건강에 대한 국민들의 의식이 높아져 당뇨병과 백내장을 적극적으로 관리하려는 욕구가 높아질 것이기 때문이다.

향후 다국적 제약회사들에 의한 새로운 기술과 제품이 치료제로서 출시될 가능성은 있지만 본 제품은 건강식품의 형태로 판매될 것이므로 이들 치료제와의 직접적인 경쟁을 피할 수 있을 것으로 예상된다.

현재 당뇨병성 백내장 및 노인성 백내장과 관련된 제품은 시장에서 네덜란드 Royal Numico & Rexall Co.社의 Vision Complete, 그리고 삼천당제약의 DiaCare 등이 있고 혈당 완화를 통한 합병증 완화제 건강식품으로서 키토산, 알로에, 가시오가피, 누에가루 등이 나와 있으나 아직까지 과학적으로 효능이 인정되는 것은 없는 실정이다. 즉 시장에서의 우월적 지배자는 존재하지 않으며 여러 제품들이 경쟁을 하고 있는 상황이다.

향후 본 제품이 시장에 출시될 경우에는 시장은 크게 변화할 것인데 이는 아직까지 백내장과 당뇨합병증에 대한 전문 치료제가 존재하지 않고 있어 소비자의 욕구가 충족되지 못한 상태이기 때문이다. 본 제품과 관련된 시장은 시장이 성숙될 때까지는 당뇨병관련 치료제로는 23.2% 정도의 높은 신장율을 유지할 것으로 보이고 노인성백내장과 관련해서는 25.2%의 신장율을 유지할 것으로 보인다. 따라서 본 제품의 시장점유율은 더 빠른 속도로 증가할 것으로 예상된다.

표 3-1-23. 당뇨병합병증과 노인성백내장 예방 및 치료제 시장규모 전망

단위 : 억원, %

		2001	2003	2004	2005	2010	CAGR, %
당뇨병 치료제	잠재시장규모	413	498	547	600	958	9.8
	시장점유율	-	3%	4%	5%	10%	
	매출가능규모	-	15	22	30	96	22.9
노인성 백내장 치료제	잠재시장규모	181	201	212	223	289	5.3
	시장점유율	-	3%	4%	5%	10%	
	매출가능규모	-	6	8	11	29	25.2

자료 : KTTC추정

주 : 전체시장은 모든 의료비용을 포함한 시장이고, 잠재시장규모는 경쟁대상인 의약품 또는 건강식품을 포함한 시장규모를 말하며 또 시장점유율은 신청제품의 예상 시장점유율을 말함

2001년 기준 본 제품의 잠재시장규모는 당뇨병합병증의 경우 413억원, 노인성 백내장시장이 181억원 정도에 이를 것으로 추정하고 있으며 2005년에는 이들 시장이 각각 600억 원과 223억 원으로 각각 늘어날 전망이다.

당뇨병 합병증시장과 노인성 백내장시장을 비교해 보면 당뇨병 합병증시장은 병원보다는 약이나 건강식품의 비중이 높은 반면, 노인성 백내장시장은 병원 수술의 비중이 여전히 높을 전망이다. 또 본 제품의 시장점유율은 지속적으로 확대되어 2010년도에는 약 10%까지 차지할 것으로 보인다(표 3-1-23).

#### (4) 국내외 제조업체 현황

현재 백내장치료를 위해 혼탁한 수정체를 개선하여 투명화 하는 치료제는 없다. 다만 국제약품의 벤다라인 점안액과 경구용제제가 시장에서 판매되고 있으나 그 효과는 만족스럽지 못하다. 또 aldose 환원효소의 활성억제와 혈관보호효과를 보이고 있는 솔비톨 형성억제제인 삼일제약의 후루다랜, 수정체의 단백질 응집억제제인 수도약품의 tiopronin정, 단백질의 변형물질인 퀴노이드억제제인 태준제약의 피레녹신 점안액 등이 있다.

한편 aldose 환원효소 억제제인 sorbinil, tolrestat, epaalrestat, zenarestat, zopolrestat 등이 당뇨병성 합병증 치료제로 사용되고 있으나 당뇨병성 백내장에는 특별한 효과를 보이지 않는 것으로 알려져 있다.

#### 마) 시장 경쟁력

본 제품의 목표시장은 일차적으로 당뇨병성 백내장과 노인성 백내장의 예방 및 치료를 위한 건강식품시장이라 할 수 있다. 이는 본 제품의 실험결과 aldose 환원효소의 억제효과가 동물실험에서 확인되었고 또 활성산소를 억제하는 것으로 실험결과가 나왔기 때문이다. 향후 연구의 심화에 따라 의약품으로서 발전할 수도 있으며 또 해외시장에 대한 수출도 시장확대에 기여할 것으로 보인다.

당뇨병 합병증과 노인성백내장 시장의 경쟁력에 영향을 주는 요인으로는 제품의 약리 효과가 가장 중요하다. 환자에게는 질병을 치료하고 고통을 완화시키는 것이 가장 중요하기 때문에 가격경쟁력은 그다지 문제되지 않는다. 다만 시장에 진입하여 일정 수준의 점유율을 올리기 위해서는 홍보와 마케팅능력도 제품인지도라는 측면에서 중요한 것은 물론이다.

본 제품이 건강식품으로 시장에 진입하는 데는 식약청으로부터 허가를 받는 것 이외에는 형식적인 진입장벽이 없다. 그러나 본 제품이 당뇨병 합병증과 노인성 백내장에 대한 예방과 치료기능을 소비자에게 홍보해야하므로 진입장벽은 규제 및 제도적인 측면에서 존재한다고 할 수 있다.

품질과 가격경쟁력이라는 측면에서는 본 제품이 객관적인 약리 효과를 인정받을 경우 시장지배자적인 위치를 확보할 수 있을 것이지만 제품의 기능성을 공식적으로 인정받지 못할 경우에는 소비자들의 건강식품에 대한 낮은 신뢰도 때문에 시장에서의 치료제와의 경쟁에서 어려움을 맞이할 수도 있을 것이다.

대체제의 출현가능성은 장기적으로 볼 때 다국적기업의 연구개발 성과가 나타날 가능성이 높다 할 것이다. 그러나 현재는 시장에서 고객을 만족시킬 수 있는 제품이 없기 때문에 당분간은 시장에서 우월적 지위를 형성할 수도 있을 것으로 보인다.

## 2) Bench 및 pilot상에서 산업적 추출 조건확립

### 가) 실험재료

- 시 료 명 : 두릅 (Aralia elata)
- 생 산 지 : 강원도

- 채취시기 : 9월 ~ 10월
- 수분함량 : 24%
- 저장조건 : -20℃

나) 시료조제

(1) Cutter 분쇄

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

(2) Hammer mil 분쇄

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

표 3-1-24. 분쇄조건 의한 수율변화

분쇄방법	분쇄전 무게(kg)	분쇄후 무게(kg)	수율(%)
CUT	12	11.85	98.75
HM	12	11.75	97.91

HM : Hammer Mill분쇄

다) 수분함량 측정

- Mw(습량기준 수분함량) =  $W_t - W_d / W_t$
- Md(건량기준 수분함량) =  $W_t - W_d / W_d$

단  $W_t$ : 습한 고체의 총무게 (kg)

$W_d$ : 건물의 무게(kg)

표 3-1-25. 분쇄시료의 수분함량

sample	tray	sample	before (tray+sample)	after	moisture contents(%)	average (%)
분쇄시료 (HM)	10.1379	1.5226	11.6605	11.3020	23.545	23.527 ±0.097
	10.3065	1.5563	11.8628	11.4953	23.614	
	10.2504	1.5452	11.7956	11.4337	23.421	

라) 추출공정

(1) 추출방법

(가) 레토르트

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

(나) 이중솔

- 추출조건 : 95℃, 0.4~1.4kfg/cm<sup>2</sup>
- 추출시간 : 1~2h
- 추출방법 : steam 방식

(2) 공정결과

표 3-1-26. 추출방법에 따른 수율비교

시 료	추출 방법	추출 효율	추출 수율	비 고
Cutter	이 중 솔	62.08 %	71.80 %	④
	레토르트	76.83 %	87.40 %	②
HM	이 중 솔	71.50 %	79.90 %	③
	레토르트	80.10 %	88.40 %	①

(3) 고찰

- ① 분쇄시료의 크기는 제품의 생산량이나 품질에 큰 영향을 끼치지 않았으며 건조 방법에 따른 차이는 함량에 변화를 주지 못했다
- ② 추출공정에서 레토르트와 이중솔의 적용가능성은 단시간에서 높은 추출효율을 보인 레토르트가 이중솔보다 우수하였다. 이러한 결과는 고온, 고압의 환경하에서 추출 시간을 단축할 수 있다는 사실을 암시한다.

표 3-1-27. 추출공정별 수율과 효율

시 료	추출 효율	추출 수율	비 고
HM	92 %	69 %	③
HM(17h침지)	86 %	84 %	②
HM(재당)	65 %	67 %	④
HM(5배수)	84 %	94 %	①

마) 농축공정

(1) 농축방법

(가) 이중솔

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

(나) 레토르트

- 추출조건 : 121℃, 2.2기압
- 추출시간 : 30 min
- 추출방법 : steam 방식 (고온고압)
- 농축효율이 떨어져서 이중솔으로 대체하여 실험진행

(다) RO (역삼투공정)

- 농축시간 : 1h
- 농축방법 : 역삼투 방식
- 농축brix : 8

(2) 공정결과

표 3-1-28. 농축방법에 따른 농축효율과 수율

	추출 방법	농축 방법	농축 효율	농축 수율	비고
Cutter	이 중 솔	이 중 솔	26 %	11.7 %	⑤
		레토르트	28 %	10.4 %	
	레토르트	이 중 솔	16 %	21.3 %	①
		레토르트	27 %	10.6 %	
HM	이 중 솔	이 중 솔	36 %	7.4 %	
		레토르트	24 %	13.2 %	②
	레토르트	이 중 솔	26 %	12.6 %	③
		레토르트	25 %	12.4 %	④
		데 칸 터	6 %	71.1 %	

표 3-1-29. 역삼투 공정

	추출량	brix	농축량	brix	여과수	brix	건조량	비고
HM(5kg) 55kg+10kg	25.65kg (이중순)	2	3.95kg (RO)	8	21.1kg	0	3.95kg (대형분무)	

표 3-1-30. 역삼투 공정단계별 수율

	추출수율	농축수율	건조수율	분 무	비고
HM	46 %	13 %	56 %	대 형	

표 3-1-31. 농축공정

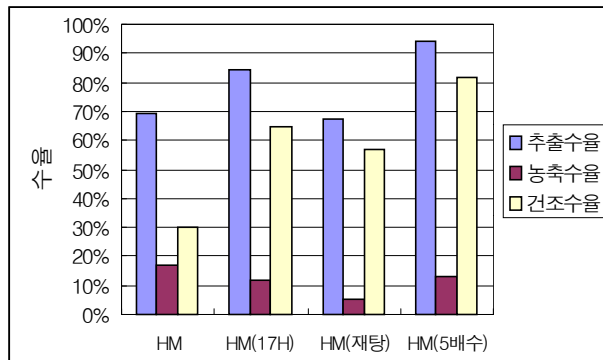
	추출량	brix	농축량	brix	소요시간	비고
HM	117.40kg	2	19.90kg	10	4h	
HM(17h 침지)	10 kg	1.4	1.2kg	10	1h	10kg filter
HM(재탕)	24.30kg	0.8	1.25kg	9	2h	
HM(5배수)	11.65kg	3.4	1.5kg	15	1h	

표 3-1-32. 농축공정에 따른 효율과 수율

	농축효율	농축수율	비 고
HM	83 %	17 %	①
HM(17h침지)	88 %	12 %	③
HM(재탕)	94 %	5 %	④
HM(5배수)	87 %	13 %	②



그림 3-1-12. 공정별 수율변화



(3) 고 찰

① 농축공정에서 레토르트는 수분제거과정으로 적당하지 않았으며 직화방식인 이중슬은 뛰어난 농축효과를 나타내었다. 이러한 결과는 농축과정에서는 고온, 고압의 밀폐된 방식보다는 개방형으로 수분이 잘 제거될 수 있는 농축환경이 중요하다는 것을 알 수 있다.

② 여과공정은 이물질을 제거하기 위한 필수적인 공정으로 50, 100, 150 mesh로 여과한 결과 100 mesh에서 대부분의 이물질이 제거되었으며 150 mesh에서도 약간의 이물질이 발견 되었으므로 좋은 품질의 제품을 생산하기 위해서는 100 mesh 이하의 여과공정이 필요하다.

③ 역삼투방식을 농축공정으로 적용한 결과 유의성있는 결과를 보여주었으며 품질에서도 우수하였다.

바) 건조공정

(1) 건조방법

	소형분무건조기	대형분무건조기
건조조건	Inlet 145℃, Outlet 77~80℃	Inlet 150℃, Outlet 110℃
건조시간	200 ml/h	1.2 kg/h
건조방식	노즐방식	아토마이저
운전조건	pump con : 1 aspirator con : 20 heating con : 7 pump press : 5	pump press : 3

(2) 공정결과

표 3-1-33. 건조수율과 건조효율

시 료	추출 방법	농축 방법	건조 효율	건조 수율	비고
Cutter (수동절단)	이 중 솔	이 중 솔	77 %	1.6 %	
		레토르트	91 %	2.7 %	
	레토르트	이 중 솔	81 %	4.0 %	①
		레토르트	93 %	2.8 %	⑤
HM (Hammer Mill분쇄)	이 중 솔	이 중 솔	77 %	1.5 %	
		레토르트	92 %	2.8 %	④
	레토르트	이 중 솔	79 %	3.1 %	③
		레토르트	84 %	3.3 %	②
		데 칸 터	96 %	3.8 %	

표 3-1-34. 분쇄공정이 건조공정에 미치는 영향과 소요시간

시 료	농축량	brix	건조량	구 분	소요시간	비고
HM	19.90kg	10	600g	대형분무	4h	
HM(17h침지)	1.2kg	10	80g	소형분무	6h	
HM(재탕)	1.25kg	9	71g	소형분무	6h	
HM(5배수)	1.5kg	15	185g	소형분무	7h	

표 3-1-35. 건조공정별 색상과 수율

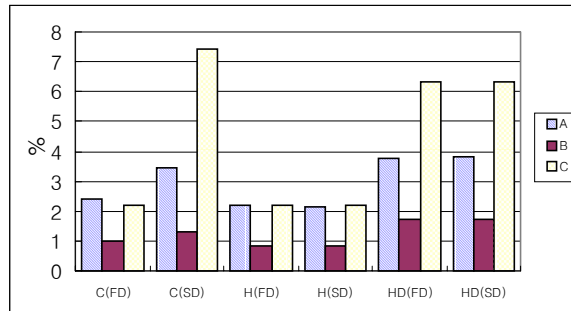
시 료	건조색상	건조수율	비 고
HM	갈색	30 %	④
HM(17h침지)	연한갈색	65 %	②
HM(재탕)	연한갈색	57 %	③
HM(5배수)	연한갈색	82 %	①

(3) 함량변화

표 3-1-36. 건조방법에 따른 함량변화

시료	농도	A(DHBA)			B(CFA)			C(CLA)			비고
		RT	Area	함량(%)	RT	Area	함량(%)	RT	Area	함량(%)	
C(FD)	10mg/ml	11.3	32304	2.43	19.3	3626	0.97	17.6	22602	5.05	동결(cutter)
C(SD)	10mg/ml	11.2	45000	3.45	19.1	4874	1.30	17.4	33103	7.4	분무(cutter)
H(FD)	10mg/ml	11.3	28962	2.17	19.2	3189	0.86	17.5	9710	2.17	동결(mill)
H(SD)	10mg/ml	11.8	28605	2.14	19.7	3064	0.82	18.1	9782	2.18	분무(mill)
HD(FD)	10mg/ml	11.2	50542	3.79	19.1	6540	1.75	17.4	28371	6.34	동결(껍질)
HD(SD)	10mg/ml	11.2	50869	3.82	19.1	6500	1.74	17.3	28337	6.34	분무(껍질)

그림 3-1-13. 건조방법에 따른 함량변화



(3) 고찰

① 분쇄시료의 크기는 제품의 생산량이나 품질에 큰 영향을 끼치지 않았으며 건조 방법에 따른 차이는 함량에 변화를 주지 못했다

② 추출공정에서 레토르트와 이중슬의 적용가능성은 단시간에서 높은 추출효율을 보인 레토르트가 이중슬보다 우수하였다. 이러한 결과는 고온, 고압의 환경하에서 추출 시간을 단축할 수 있다는 사실을 암시한다.

(4) 수분함량

표 3-1-37. 건조 샘플에서의 수분함량

sample	tray	sample	before (tray+sample)	after	moisture contents(%)	average (%)	비고
건조 powder	9.8736	1.0297	10.9033	10.8331	6.818	6.951 ±0.12	
	10.2201	1.0762	11.2963	11.2206	7.034		
	8.4615	1.0027	9.4642	9.3940	7.001		

(5) 고 찰

① 건조공정은 시간당 생산량과 생산비가 적은 분무건조가 동결건조보다 우수하였으며 색상이나 조직의 크기 모두 제품화에 적당하였다.

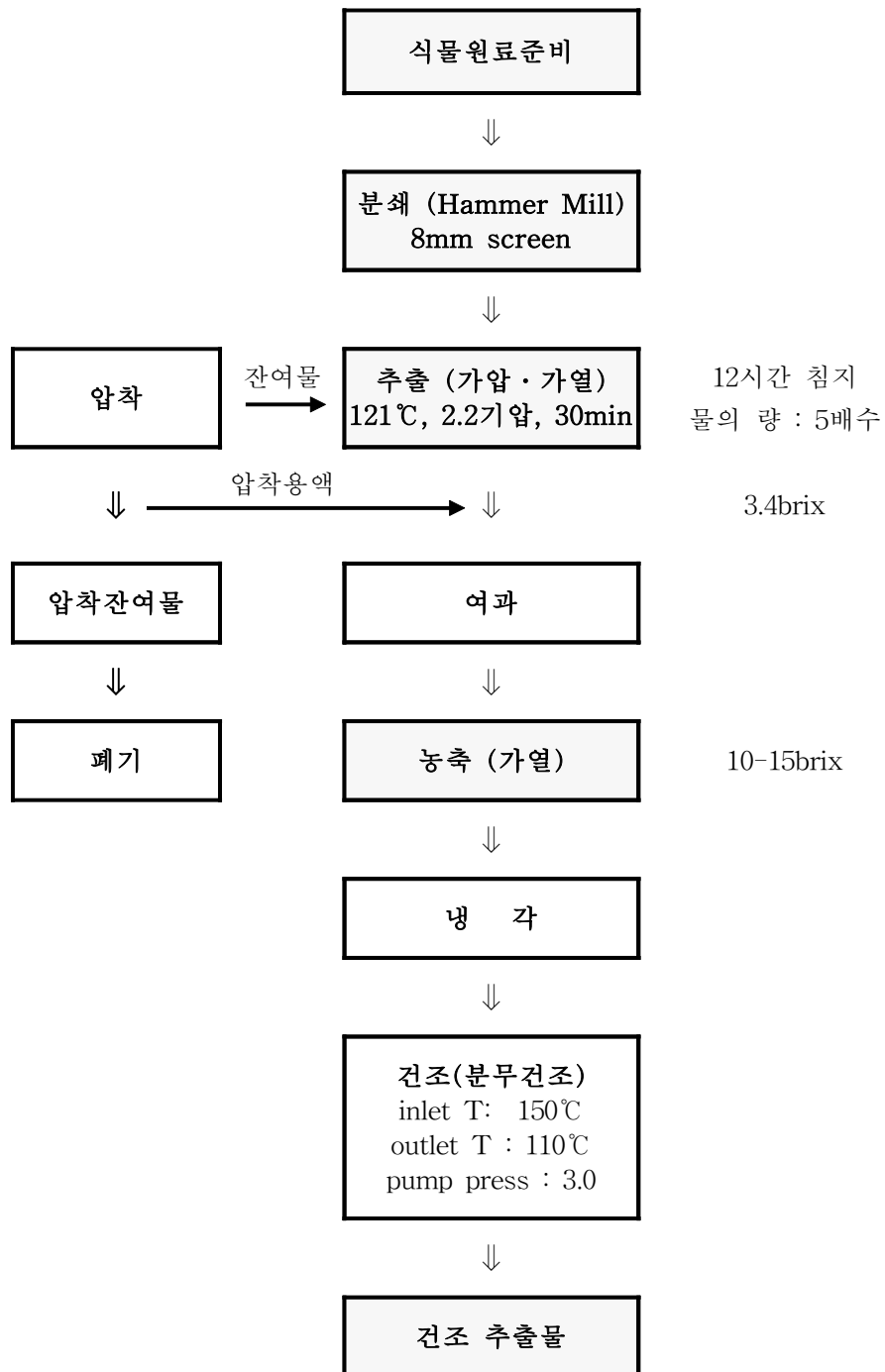
② 각 공정단계를 HPLC로 품질을 분석한 결과 함량의 변화는 없었으므로 공정단계별 품질은 우수한 것으로 평가된다.

③ 제품의 수분함유율은 6.9%로 밀가루의 14.5%보다 적었다. 이러한 사실은 제품의 저장성과 수송비의 절감을 통한 재가공 조작의 용이성을 보여준다

사) 최적 공정도

적정 최적공정은 Mill분쇄로 분쇄율을 높여 고온고압에서 추출하여 수분이 쉽게 제거될 수 있는 환경을 이용하여 농축하고 분무건조로 시간당 생산량을 높이는 것이 품질의 변화를 최소화하면서 생산량을 높일수 있는 최적공정으로 평가된다.

그림 3-1-14. Pilot 규모 생산 공정도 요약



### 3) 제형결정 및 시제품 생산

#### 가) 건강보조식품

건강보조식품군 중 시력을 돕는 영양소 베타카로틴 식품군으로 하여 본 실험에서 도출된 두릅 추출물을 첨가하는 제품을 생산하는 것이 타당한 것으로 검토됨.

**제품의 concept (Eyepro) :** 백내장 예방 물질 함유 베타카로틴 식품

- ① 망막 활성화 : 두릅 추출물, bilberry, luteine, anthocyanin 등
- ② 시력 보호 : 베타카로틴
- ③ 세포막 보호 :  $\omega$ -3, DHA

#### 나) 특수영양식품

두릅은 백내장 억제 효과를 본 연구에서 제시한 바 있고 국내외 논문들의 보고에 의하면 혈당을 낮추는 효과도 탁월하므로 당뇨병에도 보조 식품으로 사용할 수 있다. 당뇨병의 발병시 항산화력이 저하되는 것에 착안하여 항산화 영양소와 함께 특수 영양식품을 개발할 수 있을 것으로 검토됨.

**제품의 concept (Diapro) :** 당뇨시에 사용이 가능한 항산화 영양소 보충 특수 영양식품

- ① 지질 저하 :  $\delta$ -oryzanol, lecithin
- ② 당 저하 : 두릅추출물, 알로데, 누에분말 등
- ③ 눈 신장 합병예방 : 두릅추출물, luteine, carotene
- ④ 말초혈액순환개선 :  $\delta$ -linolenic acid,  $\omega$ -3

#### 다) 시제품 생산

시제품 생산을 위하여 OEM 공장을 연결하여 capsule(캡슐) 제제와 tablet(정제) 제제를 각각 시도하였고, 위에서 제시한 Eyepro와 Diapro의 formulation을 완성하여 시제품을 제조하였다. OEM 공장인 풍림무약에서 시제품을 제조하였다(그림 3-1-15).

그림 3-1-15. 시제품



Tablet 제제, PTP 포장



Capsule 제제



Capsule 제제, bottle 포장

#### 4) 급성독성시험

두릅 추출물의 안전성을 평가하기 위하여 독성시험의 GLP 시험기관인 화학연구소내 안전성평가연구원에 의뢰하여 독성시험을 수행하였고 그 결과 보고서를 아래에 첨부하였다. 암수 랫드에 2000 mg/kg로 1회 경구투여한 후 급성독성여부를 시험하는 것으로, 시험결과에 따라 2000 mg/kg 용량에서도 안전한 추출물임이 입증되었다.

## 진 술 서

시험번호 : G02129

시험제목 : 두릅추출물의 랫드를 이용한 단회 경구투여 독성시험

상기 시험은 식품의약품안전청 고시 제1999-61호 (1999년 12월 22일) '의약품등의 독성시험 기준'과 식품의약품안전청고시 제 2000-63호 (2000년 12월 11일) '비임상시험관리기준 및 OECD Principles of Good Laboratory Practice(1997)에 준하여 실시하였다.

년 월 일

한국화학연구원 부설 안전성평가연구소  
운영책임자 정 문 구 (인)



시험제목 : 두릅추출물의 랫드를 이용한 단회 경구투여 독성시험

시험번호 : G02129

### 시험목적

두릅추출물의 랫드에 대한 경구투여 급성독성시험의 정보를 얻기 위하여 실시하였다.

### 시험방법

식품의약품안전청고시 제1999-61호 (1999년 12월 22일) '의약품등의독성시험기준'에 준하여 실시하였다.

### 시험일정

- 1) 시험계획서 승인일 : 2002년 12월 12일
- 2) 실험개시일(동물입수일) : 2002년 12월 26일
- 3) 검역·순화기간 : 2002년 12월 26일 ~ 2003년 1월 2일
- 4) 투여일 : 2003년 1월 3일
- 5) 부검일(실험종료일) : 2003년 1월 17일
- 6) 최종보고서(안) 제출일 : 2003년 2월 25일
- 7) 최종보고서 제출일 :

### 시험의뢰자

명 칭 : (주) 메드빌  
소재지 : 서울시 종로구 평창동 432-10  
대표자 : 홍 은 경  
의뢰책임자 : 정 영 신  
연락처 : Tel; (02) 379-8844, Fax; (02) 379-6152

### 시험기관

명 칭 : 한국화학연구원 부설 안전성평가연구소  
소재지 : 대전광역시 유성구 장동 100번지  
소 장 : 한 상 섭  
운영책임자 : 정 문 구  
연락처 : Tel; (042) 610-8080, Fax; (042) 610-8085

동물사육실 : BS-1동 9호실

**시험물질의 보관**

본 시험에 사용한 시험물질은 한국화학연구원 부설 안전성평가연구소 시험물질조제분석실의 시험물질보관고 [보관고번호 : KIT-401(22)]에 의뢰자가 요청한 보관상 유의사항에 따라 보관하였으며 시험기관내 코드번호(K-1560)를 부여하였다.

**시험자료의 보관**

본 시험기간중 작성된 모든 기록에 관해서는 해당물질의 관리당국에 의한 시험성적서와 신뢰성 평가가 가능한 기간동안 자료보관실에 따로 규정이 없는한 3년간 한국화학연구원 부설 안전성평가연구소의 자료보관실에 보관한다.

시험기초자료 (문서류, 디스켓류) : 자료보관실 2실

시험계획서, 최종보고서 (원본) : 자료보관실 2실

**시험관계자**

부 문	책임자	시험담당자
동 물 시 험	임광현	이상준, 양병철, 이갑수, 이희복, 차경수
조 제 분 석	이중화	이정숙, 우영아
병 리	하창수	김용범, 임완중
전산·통계	서정은	한명욱, 박진수
신뢰성보증	신천철	최재분, 김웅수, 김원진
자 료 보 관	정문구	이태희

본 시험은 시험책임자의 책임하에 위의 각 부문별 책임자 및 시험담당자들이 협력하여 식품의약품안전청고시 제2000-63호 (2000년 12월 11일) ‘비임상시험관리기준’ 및 OECD Principles of Good Laboratory Practice (1997)의 규정에 따라 수행하였고, 시험성적의 종합평가는 시험책임자가 중심이 되어 관련 책임자들과 함께 실시하였다.

시험책임자 :                                 (인)   년    월    일

주 소 : 대전광역시 유성구 장동 100 번지 한국화학연구원 부설 안전성평가연구소

연락처 : Tel; (042) 610-8052, Fax; (042) 610-8085

## 1. 요약

시험물질 두릅추출물의 경구투여에 의한 급성독성을 조사하기 위하여 SD 계통의 랫드에 암수 각각 5마리씩 0 및 2000mg/kg의 용량으로 1회 경구투여한 후 14일간의 사망률, 일반증상, 체중변화 및 부검소견을 관찰하였다. 시험한 결과는 다음과 같다.

- (1) 시험기간 중 사망동물은 암수 모든 시험군에서 관찰되지 않았다.
- (2) 일반증상의 경우 암수의 모든 시험군에서 시험기간 동안 어떠한 이상 증상도 관찰되지 않았다.
- (3) 체중변화의 경우 암수 모든 시험군에서 정상적인 체중증가를 나타내었다.
- (4) 부검소견에서도 암수 모든 시험군에서 어떠한 육안적 이상소견도 관찰되지 않았다.

이상의 결과로 보아 암수 랫드에 있어서 두릅추출물의 1회 경구투여는 사망률, 일반증상, 체중변화, 부검소견에 어떠한 독성소견도 나타나지 않는 것으로 판단되고, 암수 랫드에 있어서 경구투여에 의한 본 시험물질의 LD50값은 2000mg/kg을 상회하는 것으로 사료된다.

## 2. 시험물질 및 부형제

### (1) 시험물질 (첨부자료 No. 1)

- 1) 명 칭 : 두릅추출물
- 2) 시험기관내 코드번호 : K-1560
- 3) 로트번호 : MV021102
- 4) 입 수 일 : 2002년 11월 12일
- 5) 입 수 량 : 10 g
- 6) 외관 및 성상 : 갈색분말
- 7) 보관조건 : 냉장보관 [보관고번호: KIT-401(22)]
- 8) 공 급 처 : (주) 메드빌

### (2) 부형제

- 1) 명 칭 : 주사용 멸균증류수
- 2) 공 급 처 : (주) 중외제약

## 3. 재료 및 방법

### (1) 시험계

#### 1) 종 및 계통

SD 계통의 특정병원체부재(SPF) 랫드

#### 2) 공급원

(주) 대한바이오링크

주 소 : 충청북도 음성군 삼성면 대야리 113번지

#### 3) 시험계의 선택이유

랫드는 독성시험에 적당한 실험동물로서 독성시험에 널리 사용되고 있다. 본 계통의 랫드는 풍부한 시험기초자료가 축적되어 있어서 시험결과의 해석 및 평가시에 이러한 자료를 이용하는 것이 용이하다.

#### 4) 주령 및 체중범위

- ▶ 수 컷 . 입수시 주령 : 4주령
- . 입수시 동물수 : 12마리
- . 입수시 체중 : 104.7~110.6 g
- . 투여개시시 주령 : 5주령
- . 투여개시시 동물수 : 10마리
- . 투여개시시 체중 : 141.3~156.4 g

- ▶ 암 컷 . 입수시 주령 : 4주령
- . 입수시 동물수 : 12마리
- . 입수시 체중 : 94.9~101.7 g
- . 투여개시시 주령 : 5주령
- . 투여개시시 동물수 : 10마리
- . 투여개시시 체중 : 118.0~130.2 g

5) 검역 및 순화 (첨부자료 No. 2)

동물을 입수할 때에 외관을 육안적으로 검사한 후 8일간 시험을 실시하는 동물실에서 순화시키면서 일반증상을 관찰하여 건강한 동물만을 시험에 제공하였다.

(2) 사육환경

1) 환경조건

본 시험은 온도 23±3℃, 상대습도 50±10%, 조명시간 12시간 (08:00점등~20:00 소등), 환기횟수 10~20회/hr. 및 조도 150~300 Lux로 설정된 한국화학연구원 부설 안전성평가연구소 BS-1동의 3호실에서 실시하였다. 시험담당자들은 고압증기멸균 (121℃, 20분)된 작업복, 두건, 마스크 및 장갑등을 착용하고 작업을 실시하였다. 본 시험은 실험동물의 관리 및 사용에 적용할 수 있는 모든 규정을 준수하여 실시하였으며 (AAALAC International 인증 획득, 1998), 한국화학연구원 부설 안전성평가연구소의 동물관리사용위원회 (IACUC)에 의해 검토되었다.

2) 사육환경모니터링 (첨부자료 No. 3)

시험기간 중 동물실의 온·습도는 자동 온습도측정기에 의하여 매시간마다 측정되었으며, 조도 등의 환경조건은 정기적으로 측정되었다. 동물실의 환경측정 결과 시험에 영향을 미칠 것으로 사료되는 변동은 없었다.

3) 사육상자, 사육밀도 및 사육상자의 식별

순화, 검역기간 및 투여, 관찰기간 동안 스테인레스제 망사육상자 (220W × 410L × 200H mm)에 사육상자당 5마리 이하로 수용하였다. 시험기간 중 사육상자는 시험번호 및 동물번호를 기입한 개체식별카드를 붙여 식별하였다.

4) 사료 및 물

㉠ 사료의 급여방법 및 오염물질의 확인 (첨부자료 No. 4~5)

사료는 실험동물용 고품사료 ((주) 제일사료: 대전광역시 대덕구 대화동 40-36번지)를 방사선 (25 kGy)멸균하여 자유섭취시켰다. 또한 한국화학연구원 부설 안전성평가연구소 검역실에서 미생물검사와 사료공급처에서 오염물질을 확인한 바, 본 시험에 영향을 미칠만한 요인은 발견되지 않았다.

㉔ 물의 급여방법 및 오염물질의 확인 (첨부자료 No. 6)

물은 미세여과기와 자외선유수살균기를 통과시켜 살균, 소독한 상수도수를 자유섭취시켰다. 물에 대하여는 급여 전에 미리 대전광역시 보건환경연구원 (대전광역시 유성구 구성동 21-1 번지)에 의뢰하여 일반수질검사를 실시하였다. 물 중의 오염물질 분석에 있어서 시험에 영향을 미칠만한 요인은 발견되지 않았다.

(3) 투여량 및 시험군의 구성

1) 투여량 설정

본 시험물질이 식용식물로서 독성이 미약할것으로 사료되어 한계용량시험의 일환으로 2000mg/kg을 투여하는 시험물질 투여군과 부형제를 투여하는 부형제대조군을 설정하였다.

2) 시험군의 구성, 투여액량 및 투여량

시험군	성별	동물수 (마리)	동물번호	투여액량 (ml/kg)	투여량 (mg/kg)
Vehicle control	Male	5	1~ 5	10	0
	Female	5	11~15	10	0
T1	Male	5	6~10	10	2000
	Female	5	16~20	10	2000

3) 군분리 및 동물식별

동물의 군분리는 다음과 같이 실시하였다. 우선, 순화기간 중 건강하다고 판정된 동물의 체중을 측정후 5g 간격으로 구분하여 각각의 평균체중에 가까운 동물들을 암수 각 10마리씩 선택하였다. 이렇게 선택된 암수 각각 10마리를 각 군에 5마리씩 균등한 체중으로 분배되도록 순위화한 체중과 난수표를 이용한 무작위법으로 분배하였다. 동물의 개체식별은 포화피크린산 용액을 이용한 피모색소표시법 및 개체식별카드 표시법으로 실시하였다.

(4) 시험물질의 투여

1) 투여액의 조제법

시험물질을 칭량하여 부형제인 멸균증류수에 용해하여 투여할 시험물질을 조제하였다. 부형제대조군은 시험물질 용해시 사용하는 멸균증류수를 이용하였다.

2) 투여부위 및 투여방법

동물을 경배부 피부를 이용한 고정법으로 고정하고 경구투여용 금속제 존데와 주사기를 이용하여 위내에 강제 경구투여하였다. 동물은 투여 전에 하룻밤 절식시켜 투

여하였으며 투여후 3~4시간 후에 사료를 급여하였다.

3) 투여경로 선택이유

사람에 대한 노출경로 중의 하나로서 경구투여를 선택하였다.

4) 투여횟수 및 투여기간

투여당일에 개체별로 1회 투여하였다.

5) 투여액량 계산

투여 당일의 절식된 체중을 기준으로 하여 각각의 군별 투여량에 맞게 투여액량을 계산하였다. 투여액량은 급성독성시험용 Labcat program (Innovative Programming Associates Inc., New Jersey, USA)에서 체중 kg당 10 ml로 계산하여 출력된 것을 사용하였다.

**(5) 관찰 및 검사항목**

1) 일반증상 및 사망동물의 관찰

투여당일에는 투여후 1시간부터 6시간까지 매시간마다, 투여의일부터 14일까지는 매일 1회 이상씩 일반증상의 변화, 독성증상 및 사망동물의 유무를 관찰하였다.

2) 체중측정

시험에 사용된 모든 동물에 대하여 투여개시전과 투여후 1, 4, 7 및 14일에 체중을 측정하였다.

3) 부검소견

투여후 14일째에 모든 생존동물을 CO<sub>2</sub> 마취 하에서 개복한 후에 복대동맥을 절단 하여 방혈치사 시킨 후 육안적으로 모든 내부장기의 이상유무를 관찰하였다.

**(6) 통계학적 방법**

시험기간중의 일반증상과 체중의 변화는 한국화학연구원 부설 안전성평가연구소의 표준작업수순서에 따라 Labcat program을 이용하여 정리하였고, 본 시험에서는 사망동물이 관찰되지 않아 LD50값 계산을 위한 통계처리는 실시하지 않았다.

#### 4. 결 과

##### (1) 사망률 및 LD50값 (Tables 1, 2, Appendices 1, 2)

시험기간 동안 사망동물은 암수 모든 시험군에서 관찰되지 않았다. 따라서 랫드에 대한 본 시험물질의 LD50값은 암수 모두 2500mg/kg을 상회할 것으로 사료된다.

##### (2) 일반증상 (Table 3, Appendices 1, 2)

암수 모든 시험군에서 시험기간 동안 이상증상은 관찰되지 않았다.

##### (3) 체중변화 (Tables 4, 5, Appendices 1, 2)

체중측정시 암수 모든 시험군에서 시험기간 동안 정상적인 체중의 증가가 관찰되었다.

##### (4) 부검소견 (Tables 6, 7, Appendices 1, 2)

부검소견에서도 암수 모든 시험군에서 육안적으로 이상이 있는 소견은 관찰되지 않았다.

#### 5. 고찰 및 결론

시험물질 두릅추출물의 랫드에 대한 경구투여에 따른 급성독성을 조사하기 위하여 SD 계통의 랫드 암수를 이용하여 0 및 2000mg/kg의 용량으로 1회 경구투여한 후 14일간의 사망률, 일반증상, 체중의 변화 및 부검소견을 관찰하였다.

시험 결과 시험물질 투여와 관련되어 사망률, 일반증상, 체중변화 및 부검소견은 관찰되지 않았다.

따라서 암수 랫드에 대한 본 시험물질의 경구투여에 의한 급성독성은 2000mg/kg 용량에서 어떠한 독성소견도 나타나지 않는 것으로 판단되고, 경구투여에 의한 본 시험물질의 LD50값은 암수 모두 2000mg/kg을 상회하는 것으로 판단된다.

#### 6. 참고문헌

(1) OECD(1997) : OECD Guidelines for Testing of Chemicals NO. 401: Acute Oral Toxicity. Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development.

(2) 식품의약품안전청(1999) : 식품의약품안전청고시 제1999-61호(1999년 12월 22일) '의약품 등의독성시험기준'.



Table 1. Mortality of males (group summary)

MORTALITY SUMMARY REPORT																
LIMIT TEST																
STUDY : G02129																
MALE																
		NUMBER OF DEATHS DAYS AFTER DOSING														
DOSE (mg/kg)	NO. DEAD/ NO. DOSED	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
0	0/5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2000	0/5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 2. Mortality of females (group summary)

MORTALITY SUMMARY REPORT																
LIMIT TEST																
STUDY : G02129																
FEMALE																
		NUMBER OF DEATHS DAYS AFTER DOSING														
DOSE (mg/kg)	NO. DEAD/ NO. DOSED	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
0	0/5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2000	0/5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

**Table 3. Incidence of clinical signs of males and females  
(group summary)**

INCIDENCE OF CLINICAL SIGNS REPORT					
LIMIT TEST					
STUDY : G02129					
SEX :		MALE		FEMALE	
SIGNS OBSERVED	DOSE LEVEL(mg/kg) :	0	2000	0	2000
APPEARS NORMAL		5/5*	5/5	5/5	5/5

\* : No. of animals with the sign/No. of animals examined

**Table 4. Body weights of males (group summary)**

BODY WEIGHTS SUMMARY REPORT							
LIMIT TEST							
STUDY : G02129							
MALE							
DOSE (mg/kg)	ANIMAL NUMBER	BODY WT. (G)					
		DAY0	DAY1	DAY4	DAY7	DAY14	Gain
0	1	153.5	176.1	208.8	232.4	280.2	126.7
	2	150.7	178.5	203.8	228.6	283.8	133.1
	3	142.8	164.3	191.2	209.6	254.2	111.4
	4	147.8	174.4	199.6	220.8	276.8	129.0
	5	144.9	175.8	202.8	229.2	283.0	138.1
	MEAN	147.9	173.8	201.2	224.1	275.6	127.7
	SD	4.31	5.52	6.51	9.17	12.27	10.07
	N	5	5	5	5	5	5
2000	6	148.0	168.9	201.0	227.2	286.6	138.6
	7	156.4	180.1	208.6	231.8	287.6	131.2
	8	141.3	163.8	192.2	213.8	269.8	128.5
	9	149.1	171.9	201.6	221.8	284.0	134.9
	10	147.2	172.4	200.2	219.6	284.8	137.6
	MEAN	148.4	171.4	200.7	222.8	282.6	134.2
	SD	5.40	5.94	5.83	6.94	7.27	4.27
	N	5	5	5	5	5	5

Table 5. Body weights of females (group summary)

BODY WEIGHTS SUMMARY REPORT							
LIMIT TEST							
STUDY : G02129							
FEMALE							
DOSE (mg/kg)	ANIMAL NUMBER	BODY WT. (G)					
		DAY0	DAY1	DAY4	DAY7	DAY14	Gain
0	11	123.2	143.7	160.9	174.9	196.9	73.7
	12	127.1	149.9	167.6	180.8	208.2	81.1
	13	125.1	143.0	159.2	174.7	195.9	70.8
	14	125.3	144.9	159.9	167.6	194.8	69.5
	15	130.2	151.2	168.4	175.6	192.2	62.0
	MEAN	126.2	146.5	163.2	174.7	197.6	71.4
	SD	2.64	3.75	4.43	4.70	6.18	6.92
	N	5	5	5	5	5	5
2000	16	125.3	142.3	154.8	165.4	191.0	65.7
	17	128.9	149.6	166.2	175.7	206.6	77.7
	18	124.3	138.9	157.6	169.5	187.7	63.4
	19	124.5	142.6	158.8	169.4	184.7	60.2
	20	118.0	139.5	159.6	172.1	194.9	76.9
	MEAN	124.2	142.6	159.4	170.4	193.0	68.8
	SD	3.93	4.25	4.21	3.80	8.51	8.02
	N	5	5	5	5	5	5

Table 6. Gross findings of males (group summary)

GROSS NECROPSY SUMMARY REPORT				
LIMIT TEST				
STUDY : G02129				
MALE				
DOSE(mg/kg)	GROSS OBSERVATION		FREQUENCY	
	LOCATION	OBSERVATION	DECEDENTS	SURVIVORS
0	<NO GROSS FINDINGS>		0/0*	5/5
2000	<NO GROSS FINDINGS>		0/0	5/5

\* : No. of animals with the sign/No. of animals examined

Table 7. Gross findings of females (group summary)

GROSS NECROPSY SUMMARY REPORT				
LIMIT TEST				
STUDY : G02129				
FEMALE				
DOSE(mg/kg)	GROSS OBSERVATION		FREQUENCY	
	LOCATION	OBSERVATION	DECEDENTS	SURVIVORS
0	<NO GROSS FINDINGS>		0/0*	5/5
2000	<NO GROSS FINDINGS>		0/0	5/5

\* : No. of animals with the sign/No. of animals examined

## 제 3절 두릅의 신품종 육성 및 대량증식 재배기술 개발

### 1. 유전자원 수집 및 우량품종 선발

#### 가. 연구방법

##### 1) 유전자원의 수집

내한성을 고려하여 국내 중북부 일원에 자생하는 우량한 두릅나무를 수집, 품종화하기 위하여 위도, 고도 또는 지리상 격리된 자생지(강원, 경기, 충북)와 예로부터 우량한 두릅순을 생산하는 지역의 농가 수집 재래종 중에서 우량형질을 지닌 지역품종의 두릅나무 1~2년생 자묘('00~'01년) 71계통과 종자(1999) 16계통을 수집하여 특성검정과 선발을 실시하였다.

##### 2) 재배방법

두릅나무는 가을 낙엽후에 굴취하여 비닐하우스에 가식하였다가 봄에 정식하거나 또는 이른봄 해동 즉시 굴취하여 100×100cm(1,000본/10a) 간격으로 정식하였다. 시비량(N-P-K-퇴비)은 10a에 18-21-21-1,500kg을 살포하였다.

종자는 과피의 색이 녹색에서 자주색으로 변하는 시기를 기점으로 자연 낙과되기 전인 9~10월에 채취하여 과육을 제거하고 물에 담그어 가라앉는 것만 선종한 후 젖은 모래와 섞어 4℃에 냉장보관하였다. 4월 상순 비가림하우스내에 폭 1.2m 묘상을 만든 후 20cm 간격으로 조파하였다. 이듬해(2년차) 봄에 40×25cm(10,000본/10a), 3년차에 100×100cm(1,000본/10a)로 정식하였다.

##### 3) 육종목표와 선발형질별 특성검정

###### 가) 육종목표와 선발형질

- (1) 내병성 : 입고역병, 더텡이병 저항성, 기타 병해 복합저항성
- (2) 다수성 : 당년지의 수와 굵기, 정아 또는 측아의 수와 크기
- (3) 재배 편리성 : 수고, 가지 유무와 크기
- (4) 수확기 분산 : 조·중·만

###### 나) 선발형질별 특성검정

###### (1) 내병성

두릅의 재배가 증가되면서 농가포장에 입고역병과 더텡이병의 발병이 심하고 아직 등록 약제가 없어 실패하는 사례가 많아 제일 중요한 목표로 삼았다. 입고역병은 뿌리에 발생하며 신초가 시들기 시작하면 수일내에 잎이 위조되고 나무전체가 말라 죽는다. 더텡이병은 줄기, 엽병, 잎을 침해하며 갈색 병반이 코르크화되어 회갈색으로 변색되고 심하면 연한 줄

기와 엽병이 뒤틀리거나 잎이 위축되고 기형이 된다. 공시개체들을 식재후 병든 식물체의 이병엽을 살포하여 포장저항성을 검정하였다.

#### (2) 당년지의 수와 굵기

삽수 채취 후 또는 자연산 두릅순 채취 후 당년지의 수가 많으면 다음해 삽수 채취나 두릅순 채취에 유리하다. 삽수 또는 자연산 두릅순 채취 후 남아 있는 측아, 기부의 휴면아와 잠아가 측지로 발달하는데 정아우세 현상에 의하여 먼저 발달한 측지가 발아가 늦은 휴면아 또는 잠아가 발달하는 것을 억제한다. 다수의 휴면아 또는 잠아가 발아하여 당년지의 수가 너무 많아지면 당년지의 길이와 직경이 작아져서 그 다음해 굵은 두릅순을 생산할 수 없다.

#### (3) 정아 또는 측아의 수

정아와 측아의 수가 많으면 두릅순을 많이 생산할 수 있어 유리하다. 봄철 정아에서 두릅순을 채취한 후 정아우세 현상으로 다음의 측아가 성장하여 2~3차로 두릅순을 채취할 수 있다. 자연산 두릅순을 일정 기간동안 채취한 후 측아로 부터 당년지가 생성되는데 이 경우에도 측아수가 많으면 유리하다.

#### (4) 정아 또는 측아의 크기

휴면이 늦는 경우 정아의 분화가 계속되어 동아의 크기가 작아지는 경향이 있다. 동아의 크기가 작으면 다음해 발생하는 두릅순의 크기가 작았다. 수고생장이 빠른 품종에서는 가지 기부에 측아가 발달하지 않거나 측아의 크기가 작은 경향이 있다.

#### (5) 수고

나무의 키가 너무 크면 삽수채취가 어렵고 나무의 키가 너무 작으면 피압당하기 쉽다. 동일한 품종에서 수고는 토양수분과 양분, 식재거리에 영향을 받지만 유전적으로 왜성인 품종이 있다. 수고는 근원부 지면에서 정아까지의 길이로 측정하였다.

#### (6) 가지 유무와 크기

자연에서 두릅순을 채취하거나 온실에서 조기에 두릅순을 생산할 때 가시는 작업상 불편을 주기 때문에 재배농가는 가시가 없는 두릅나무를 선호하며, 지금까지의 두릅나무 육종목표도 주로 가시없는 품종의 육성이었다. 두릅나무의 가시는 유성(幼性)형질이므로 수령이 많은 나무의 당년지에는 품종에 따라 가시가 없는 것들도 발견된다. 이 나무의 근삽묘를 재배할 경우 1~3년생에서는 줄기와 잎에 다시 가시가 출현했다가 성장하면 없어지게 된다.

### 나. 연구결과 및 고찰

#### 1) 성목에 대한 선발 및 우량계통의 특성

##### 가) 수집 및 선발내역

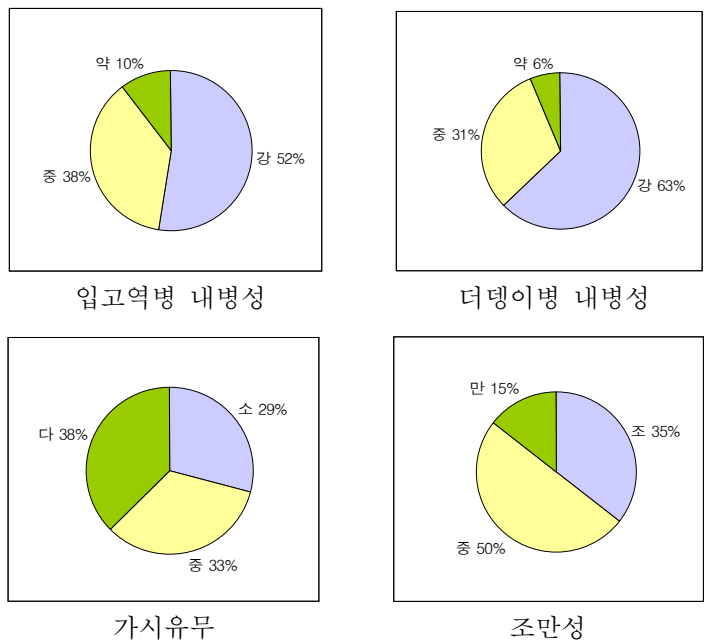
중북부 일원에 자생하는 우량한 두릅나무의 자묘(1~2년생)를 2000년에 12계통, 2001년

에 59계통 총71계통을 수집하여 식재한 후 내병성·조만성·기타 양적 및 질적 특성을 검정하여 육종소재로 이용가치가 있는 형질을 지닌 48계통을 선발하여 보존하는 한편, 근삼을 통한 영양번식 후대의 특성을 검정하여 우량형질을 안정적으로 유지하고 있는 4계통을 선발하였다.

나) 보존개체의 특성분포

육종소재로 이용할 가치가 있는 우량형질을 보유한 48계통의 특성을 분석하여 보면, 입고역병에 내병성인 것이 52%, 더덩이병에 내병성인 것이 63%로 비교적 높은 분포를 보였는데 이것은 유전자원을 수집하면서 가장 중점을 두었기 때문으로 사료된다. 가시유무는 다·중·소 비율이 비슷하였으며, 가시가 적은 것들이 29% 정도 였다. 조만성에서는 중생종이 50% 정도 였으며, 수확기 연장을 위한 조생종 35%, 만생종 15%의 분포를 보였다.

그림 3-2-1. 우량형질 보유 성목 계통들의 특성분포



다) 우량계통의 생육 및 특성

수집 보존종인 48계통중 내병성이면서 가시가 적고 기타 재배적으로 우수한 형질을 보유하여 품종으로 육성할 가치가 있는 우량한 4계통을 최종 선발하였다. GA47은 조생종으로 당년지가 굵어 두릅순이 크고 굵으며, 전년지의 휴면아가 크게 돌출되어 있어 두릅순 수확후 새로운 가지의 발생이 왕성하다. GA56은 만생종으로 당년지의 가지가 6개로 많아 새순 수확에 유리하였으며, GA69는 조생종으로 당년지의 절간길이에 대한 직경이 0.83으로 가장 굵었다.

표 3-2-1. 우량 성목의 생육 및 특성

NO.	수고 (cm)	근원경 (cm)	수확기 조만성	내 병 성			가 시	
				입고역병	더덩이병	기타 병	유무	크기
GA 47	292	6.8	조	강	강	강	소	소
GA 56	210	5.6	만	강	강	강	소	소
GA 62	187	4.5	중	강	강	강	소	소
GA 69	233	6.8	조	강	강	강	소	소

※ GA : Gangwon Aralia

※※ 가시유무 : 다, 중, 소, 가시크기 : 대, 중, 소

표 3-2-2. 우량 성목 가지의 생육 및 특성

NO.	당년지(헛가지)						전 년 지	
	가지수 (개)	길이 (cm)	직경 (cm)	마디수 (개)	절간길이 (cm)	직경/ 절간길이	길이 (cm)	휴면아 (개)
GA 47	1	91	3.8	18	5.1	0.75	96	16 ↓
GA 56	6	61	2.9	14	4.4	0.66	64	9
GA 62	2	81	3.1	17	4.8	0.65	81	16
GA 69	2	95	4.0	20	4.8	0.83	78	13

↓ 휴면아 크게 돌출

## 2) 유목에 대한 선발 및 우량계통의 특성

### 가) 수집 및 선발내역

1999년 가을 우량한 두릅나무의 종자 16계통을 수집하여 2000년 봄에 과중 1년간 육묘하여 2001년 시험포장에 10,660본을 정식하였다. 농가재배시 가장 문제가 되고있는 입고역병과 더덩이병에 저항성인 개체 선발을 위해 이병엽을 세절하여 재배포에 살포한 결과 병이 만연하여 대부분 고사하고 1,294개체(12%)만이 생존하였다. 그 중에서도 고도의 저항성을 보인 11계통 152개체를 선발하여 육종소재로 보존하면서 생육특성을 검정하였고, 재배적으로 우수한 형질을 보유한 4계통 6개체를 선발하였다.

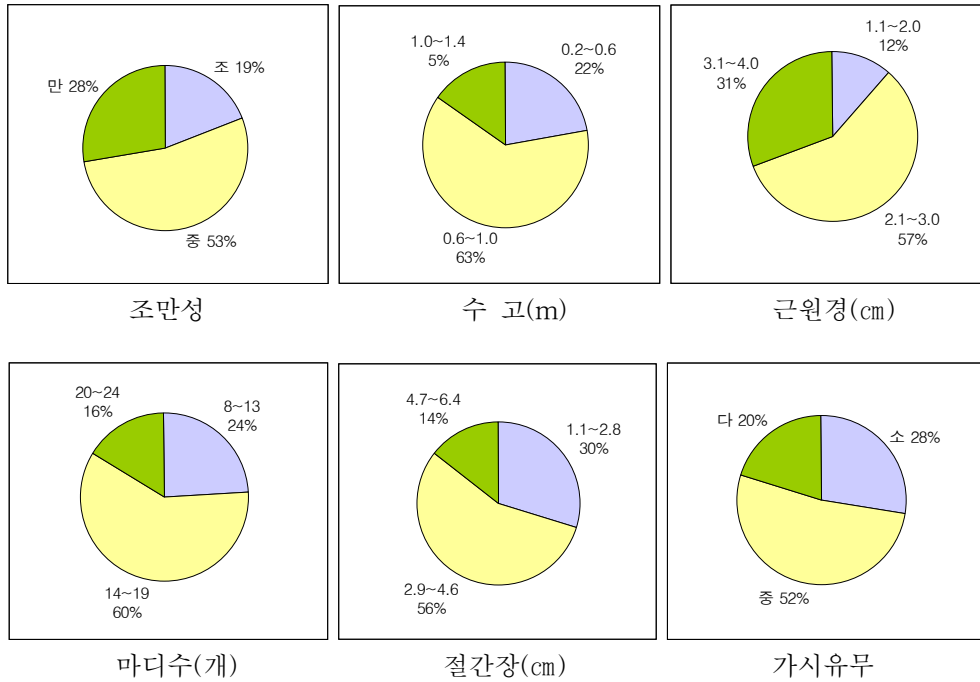
### 나) 보존개체의 특성분포

육종소재로 이용할 가치가 있는 우량형질을 보유한 152개체의 특성을 분석하여 보면, 주요 병(입고역병, 더덩이병)에 강한 것들을 선발하였기 때문에 내병성에서는 모두 중강 이상의 저항성을 보였다. 조만성에서는 중생종이 53% 정도 였으며, 조생종이 19%, 만생종이 28%의 분포를 보였다.



다. 나무의 키가 0.6~1m에 해당하는 적당한 크기는 63% 였으며, 근원경이 굵은 것(3.1~4mm)은 31% 정도 분포하였다. 마디수가 20~24개로 많은 것은 16% 였고, 절간장이 짧은 것(1.1~2.8cm)은 30%였다. 대부분 가시가 있었으며 작은 가시가 적게 있는 개체들이 28% 정도 분포하였다.

그림 3-2-2. 우량형질 보유 유목 개체들의 특성분포



다) 우량개체의 생육 및 특성

수집 보존종인 152개체중 내병성이면서 가시가 적고 기타 재배적으로 우수한 형질을 보유하여 품종으로 육성할 가치가 있는 우량한 6개체를 선발하였다. 조생종이 3개체였고 만생종은 1개체였다. GA99는 근원경이 굵고 당년지의 길이와 굵기가 커서 신장세가 왕성하였고, GA162는 근원경이 굵고 신장세가 왕성하였으며 휴면아가 많아서 수확후 새로운 가지 확보가 유리하였다. GA200은 당년지의 마디수가 많고 절간길이에 대한 직경의 비가 1.13으로 굵은 새순을 생산할 수 있을것으로 사료된다.

표 3-2-3. 우량 유목의 생육 및 특성

NO.	수고 (cm)	근원경 (cm)	수확기 조만성	내 병 성			가 시	
				입고역병	더덩이병	기타 병	유무	크기
GA 94	91	2.8	조	강	강	강	소	중
GA 99	118	3.8	조	강	강	강	소	중
GA 120	53	3.3	조	강	강	강	소	중
GA 144	95	2.6	중	강	강	강	소	소
GA 162	135	4.0	만	강	강	강	소	중
GA 200	79	3.0	중	강	강	강	소	중

※ GA : Gangwon Aralia

※※ 가시유무 : 다, 중, 소, 가시크기 : 대, 중, 소

표 3-2-4. 우량 유목 가지의 생육 및 특성

NO.	당년지(헛가지)						전 년 지	
	가지수 (개)	길이 (cm)	직경 (cm)	마디수 (개)	절간길이 (cm)	직경/ 절간길이	길이 (cm)	휴면아 (개)
GA 94	1	67	2.6	20	3.4	0.76	24	5
GA 99	1	84	3.0	17	4.9	0.61	34	7
GA 120	1	46	2.6	14	3.3	0.79	7	7
GA 144	1	42	2.2	18	2.3	0.96	53	11
GA 162	1	90	3.1	19	4.7	0.66	45	11
GA 200	1	54	2.6	24	2.3	1.13	25	8

### 3) 선발된 우량개체의 후대증식 및 품종화 계획

재배적인 특성이 우수한 것으로 인정되어 선발된 성목 4개체는 '02년 가을 종자와 근맹아를, 유목 6개체는 근맹아를 채취하여 '03년 봄 육묘포에서 후대를 양성하면서 계통화 시키고 있으며, 두릅은 종자산업법에 의거 2007년부터 품종보호가 가능하므로 '04년 내병성, 조만성, 수량성 등 생산력 검정시험을 실시하고, '05~'07년 3년간 지역적응성을 검정하여 우수계통은 품종보호를 출원하고 '08년부터 농가에 종묘를 보급하고 육종가들에게 유전자원을 분양할 계획이다.

그림 3-2-3. 성목 우수개체 및 포장전경



선발포장 전경



우수개체(GA69)



가시적은 개체(GA56)



휴면아 큰 개체(GA47)



입고역병 이병주



더뎡이병 이병엽(우)

그림 3-2-4. 유목 우수개체 및 포장전경



선발포장 전경



우수개체(GA144)



우수개체(GA200)



가시적이고 마디 짧음(GA200)



입고역병 이병주



더뎡이병 이병주

## 2. 대량증식 기술개발

### 가. 연구방법

#### 1) 종자발아율 향상 방법

##### 가) 종자채취 및 조제

'01년 10월 9일 까맣게 익은 종자를 채취하여 종자량의 1/2은 과피제거하고 1/2은 과피를 제거하지 않았는데, 과피제거는 하루동안 흐르는 물에 침중하여 과육을 불린 후 손으로 비벼서 제거후 물에 가라앉은 종자만 체로 정선하여 베노람(수) 5%액에 24시간 침지소독하였다.

##### 나) 휴면타파를 위한 전처리

두릅종자는 휴면이 있어 가을과종을 위해서 휴면타파를 위한 전처리를 하였다. 전처리 온도가 발아에 미치는 영향을 알아보기 위하여 과육을 제거하여 습윤상태인 종자를 수분 70% 정도의 모래에 종자를 3:1로 섞어 망자루에 넣고 수분이 마르지 않으면서도 산소가 공급되도록 비닐로 가볍게 싼 후 냉장고의 냉장실(3~5℃)과 냉동실(-5~-10℃)에서 저온과 냉동 처리를 2주일간 실시하였다. GA<sub>3</sub> 처리는 500ppm 수용액에 24시간 침지한 후 음건하였으며, 상온(10~15℃)에 보관한 종자를 대비로 하였다

##### 다) 종자저장

###### (1) 건조저장

과육을 제거한 후 음지에서 2~3일 건조시켜 상온에서 기건저장하였다.

###### (2) 노천매장

과육을 제거하여 습윤상태인 종자를 수분 70% 정도의 모래에 종자를 3:1로 섞어 망자루에 넣고 배수가 잘되는 양지바른 곳에 지하 20cm 깊이로 묻어 놓았다.

###### (3) 저온 및 냉동저장

과육을 제거하여 습윤상태인 종자를 수분 70% 정도의 모래에 종자를 3:1로 섞어 망자루에 넣고 수분이 마르지 않으면서도 산소가 공급되도록 비닐로 가볍게 싼 후 냉장고의 냉장실(3~5℃)과 냉동실(-5~-10℃)에 각각 저장하였다.

##### 라) 과종 및 발아율 조사

육묘상자에 바이오3호 상토를 넣고 가을과종은 전처리된 종자를 '01년 10월 26일 온실과 노지에, 봄과종은 02년 4월 8일에 저장 중이던 종자를 꺼내어 자연해동 즉시 산파하였다. 발아기는 과종된 종자의 50%가 발아된 날로 하였으며, 발아율과 발아개체들에 대해서 육묘포 이식전 생육정도를 조사하였다.

표 3-2-5. 종자발아율 향상 연구방법

구분	과피제거 여부	저장방법	전처리(2주)
가을파종	과피제거, 무처리	-	저온(3~5℃), 냉동(-5~-10℃), GA <sub>3</sub> 500ppm, 상온(대비)
봄파종	과피제거, 무처리	저온저장, 냉동저장, 노천매장, 상온 기건저장(대비)	-

2) 뿌리삽목을 향상 방법

가) 종근채취 및 저장

종근채취는 수액의 이동이 적은 시기에 하는 것이 바람직하므로 늦가을 낙엽 후('01년 10월 28일)와 이른봄 해동직후('02년 3월 23일) 뿌리가 상처 나지 않게 굴취하여 가을절단 시료를 조제한 후, 배수가 잘되는 양지바른 곳에 지하 20cm 깊이로 노천매장하여 저장 및 부정아 발생을 유도하였다.

나) 종근절단 및 삽근

가을과 봄에 종근절단을 실시하여 채취 시기별로 어느 시기에 절단하는 것이 부정아 발생 유도에 유리한지를 조사하였으며, 절단후 토양전염 병해방지를 위해 리도밀엠지(수) 500배액에 1~2분 침지하여 음건후 삽근하였다. 뿌리굵기에 따른 효율성을 검토하기 위해 길이 10cm의 뿌리를 5mm이하, 5~10mm 등 4수준을 공시하였고, 뿌리길이에 따른 효율성을 검토하기 위해 굵기 10mm의 뿌리를 5cm, 10cm 등 4수준을 공시하여 부정아 발생 정도를 조사하였다.

다) 근삽용기 선발

근삽이 품종 고유의 형질을 유지보존하면서 대량증식할 수 있는 효율적인 방법으로 인식되어서, 득묘율이 양호한 근삽용기를 선발하기 위하여 짜개포트 2종, 원형포트, 육묘상자를 공시, 노지와 대비하여 출아율과 출아개체들에 대해서 육묘포 이식전 생육정도를 조사하였다.

표 3-2-6. 뿌리삽목을 향상 연구방법

종근 채취시기	종근 절단시기	뿌리 크기		근삽용기
		굵 기(mm)	길 이(cm)	
가을채취	가을, 봄	5 이하, 5~10, 10~15, 15 이상	5, 10, 15, 20	짜개포트A, B형
봄채취	봄	"	"	원형포트, 삽목상자, 노지(대비)

※ 근삽을 위한 삽목용기의 세부내역

- 짜개포트 A형(6공) : 가로 2.5×세로 2.5×높이 15cm
- 짜개포트 B형(5공) : 가로 4.5×세로 3.5×높이 10cm
- 원형포트 : 지름 13×높이 11cm
- 삼목상자 : 가로 36×세로 52×높이 9.3cm
- 노지(대비) : 20×20cm 재식

## 나. 연구결과 및 고찰

### 1) 종자발아율 향상 방법

#### 가) 종자 특성

시험전 두릅종자의 품질을 조사한 결과, 1ℓ에 31만립으로 매우 작았으며, 성숙되는 시기가 균일하지 않아 순량율이 93%였고 용적중이 221.64g이었다.

표 3-2-7. 두릅 종자의 특성조사

순량율 (%)	용적중 (g)	실 중 (g)	종자 립수	
			ℓ 당	kg당
93	221.64	0.706	313,500	1,387,500

#### 나) 전처리 효과

두릅종자는 휴면 때문에 채취한 후 가을에 바로 파종하게 되면 발아율이 온실 21~노지 40% 정도에 불과하여 발아율 향상을 위해 파종전에 온도조건과 GA<sub>3</sub>를 처리하여 시험한 결과, 종자채취 즉시 과피를 제거하고 냉장고의 냉장실에서 적절한 습도를 유지하면서 2주일간 저온(3~5℃)처리를 하고 파종한 처리에서 온실 79%, 노지 83%로 발아율이 향상되었다.

이 결과로 육묘가 시급한 경우에는 겨울에 온실에 파종하여 최소 가운으로 육묘하여 봄에 육묘포를 조성할 수 있으며, 가을에 두릅종자를 채취한 후 저장조건이 불리할 경우 과피를 제거후 노지에 바로 파종을 해놓고 월동을 하여도 이듬해 안전하게 묘를 확보할 수 있게 되었다. 냉동처리시 과피제거 종자는 전혀 발아가 되지 않았는데, 이는 자연해동시 급격한 환경변화에 따라 세포조직에 물리적인 상해가 있었던 것으로 사료된다. GA<sub>3</sub>는 생리적 휴면성과 온도휴면성을 포함하는 여러 형태의 휴면타파에 효과적이고(이 등. 1980), 종자대사에 관여하는 효소활성을 높여 발아를 촉진(Chrispeals 등. 1967, Hartman 등. 1983)하는 것으로 알려져 있으나 본 시험에서는 저온처리 보다 발아율이 낮았다.



표 3-2-8. 전처리에 따른 가을파종 발아율

구 분	종자조제	파종전 처리별 발아율(%)			
		저 온	냉 동	GA <sub>3</sub>	상온(대비)
온실파종	과피제거	78.7	0	72.3	47.3
	무 처 리	64.0	1.0	53.0	21.3
노지파종	과피제거	82.7	0	67.0	68.7
	무 처 리	70.5	21.6	59.7	40.0

다) 종자 저장방법

두릅종자를 봄에 파종하기 위해서는 적절한 저장이 필수적인데 상온에서 건조하여 저장하게 되면 전혀 발아가 되지 않았으며, 노천매장을 해도 과피를 제거하지 않으면 발아율이 41%에 불과하였다. 종자채취 즉시 과피를 제거하고 냉장고의 냉장실에서 적절한 습도를 유지하면서 저온(3~5℃)저장을 하고 파종한 처리에서 발아율이 86%로 가장 양호하였다.

표 3-2-9. 종자 저장방법에 따른 봄파종 발아율

종자조제	저장방법별 발아율(%)			
	저온저장	냉동저장	노천매장	건조저장(대비)
과피제거	85.7	0.3	78.1	0
무 처 리	42.5	0.5	40.6	0

라) 파종시기별 생육

두릅 재배포장을 조성하기 위해서는 300평당 1,000~1,500주가 필요한데, 묘목을 직접 조기에 육묘하기 위해서는 종자를 채종·조제하여 휴면타파후 가을에 온실에 파종하게 되면 엽수가 4매 이상되는 5월 중순 이후에는 육묘포에 이식할 수가 있어서 봄에 파종하여 육묘하는 것보다 묘목을 1년 단축하여 생산할 수 있을 것으로 판단된다.

표 3-2-10. 파종시기별 묘 생육상황

구 분	파종기 (년. 월. 일)	발아기 (년. 월. 일)	이식시 묘 생육(5월 31일)	
			경장(cm)	엽수(매/주)
가을 온실파종	'01. 10. 26	'02. 1. 18	9.2	5.4
가을 노지파종	'01. 10. 26	'02. 4. 28	0.8	1.0
봄 노지파종	'02. 4. 8	'02. 4. 18	2.9	1.0

2) 뿌리삽목을 향상 방법

가) 적정 근삽굵기

근삽은 1년 만에 묘목을 양성할 수 있고, 우수한 품종의 특성을 유지하는 가장 능률적인 방법이다. 가을 낙엽진 후 두릅뿌리를 상처나지 않도록 채취하여 10~15mm 굵기의 것을 골라 전정가위로 절단하여 노천매장을 한 처리에서 부정아 발생이 2.6개로 가장 많았다. 그러나 가을에 채취한 뿌리는 소독을 소홀히 하거나 배수가 불량한 곳에 저장할 경우 부패가 심하게 되므로 이른봄 해토되는 즉시 뿌리를 채취하여 10~15cm로 절단후 흠속에 저장하고 부직포를 덮어 수분증발을 막아주면 10일 이후 부정아 발생이 2.3개 정도 발생되어 가장 안정적으로 육묘할 수 있는 방법으로 사료된다. 일단 출현된 나무는 뿌리가 굵을수록 줄기도 굵고 수세도 양호하지만 뿌리활력이 약하여 부정아 발생이 적어 육묘에는 불리하였다.

표 3-2-11. 뿌리굵기에 따른 부정아 발생수

채취시기	절단시기	뿌리굵기(mm)			
		5 이하	5~10	10~15	15 이상
가을 채취	가을	1.2	2.0	2.6	1.5
	봄	1.3	1.7	2.2	1.1
봄 채취	봄	1.2	1.6	2.3	1.0

※ 뿌리길이 : 10cm

나) 적정 근삽길이

뿌리길이는 가을에 채취하여 10mm 굵기의 뿌리를 가을에 20cm로 절단하였을 경우 부정아 발생이 3.6개로 가장 많았으나 종근 소요량이 많이 소요되므로, 안정적으로 육묘할 수 있는 부정아 2개 정도 확보할 수 있는 10~15cm가 적당할 것으로 판단된다.

표 3-2-12. 뿌리길이에 따른 부정아 발생수

채취시기	절단시기	뿌리길이(cm)			
		5	10	15	20
가을 채취	가을	1.8	2.2	2.5	3.6
	봄	1.4	1.8	2.3	3.3
봄 채취	봄	1.3	1.8	2.2	3.2

※ 뿌리굵기 : 10mm

다) 근삽용기 선발

근삽을 하여 육묘 효율성이 좋은 용기를 선발하고자 봄에 10mm 굵기의 뿌리를 채취, 10cm

길이를 절단하여 4월 24일 삼목한 결과, 출아율은 모두 95% 이상으로 양호하였다. 묘 생육정도는 m<sup>2</sup>당 본수가 가장 적어 양분경합이 적었던 노지에서 가장 양호하였으나, 묘목으로서 적절한 생육을 유지하면서 단위면적당 육묘본수가 많아 일시에 많은 묘목을 생산할 수 있는 짜개포트 A형이 가장 유리한 것으로 판단되었다.

표 3-2-13. 삼목용기별 출아 및 생육상황

구 분	m <sup>2</sup> 당 본수	출아율(%)	생육상황(5월 31일)	
			초장(cm)	엽수(매/주)
짜개포트 A형	591	95	6.0	2.5
짜개포트 B형	277	96	6.5	2.5
원 형 포 트	64	98	7.0	2.5
삼 목 상 자	53	97	9.6	3.0
노 지(대 비)	25	98	10.6	3.0

### 3. 대량생산 재배기술 종합실증 연구

#### 가. 연구방법

##### 1) 재배작형별 생산성 및 경제성 검정

###### 가) 축성재배

삼수는 '02년 11월 26일 채취하였다. 두릅나무를 삼수재배할 경우 1월 중순 이후에나 휴면이 타파되므로 그 이후에 채취를 해야 하나 혹한기이고 눈이 쌓여 있는 경우가 많아, 채취후 삼수가 마르지 않도록 물을 축여 그늘진 노천에 보관하였다. '03년 2월 7일 삼수를 조제하여 치상하고 물재배하였다. 재배상의 환경은 최저기온 10℃, 공중습도 80% 이상 유지되도록 관리하였다.

###### (1) 정아삼재배

정아삼수의 굵기와 길이에 따른 두릅순의 생육과 수량성을 검토하기 위하여 2월 7일 삼수를 굵기 2cm 이상과 이하로 분류한 후 길이를 30, 50, 70cm로 절단하여 평당 3,000본을 입상하여 물재배 하였다. GA<sub>3</sub> 처리에 따른 두릅순의 생육촉진효과를 검토하기 위하여 굵기가 2cm 이상되는 것을 골라 50cm로 절단한 후 정아 부분에 지베렐린 수용제를 25, 50, 75, 100ppm 분무하여 치상하였다.

###### (2) 1아삼재배

1아삼재배는 두릅나무 가지를 한마디씩 잘라 재배하는 것으로 육묘상자 하나에 200~250

개 정도 치상할 수 있다. 배지종류를 선별하기 위하여 물, 모래, 톱밥에 치상하였다. 물은 2 cm 깊이로 하였고, 모래와 톱밥은 5~6cm 높이로 깔고 삽수를 3~4cm 깊이로 곧게 꼽아 평당 4,000본을 치상하였다. GA<sub>3</sub> 처리에 따른 두릅순의 생육촉진효과를 검토하기 위하여 정아 또는 측아 부분에 지베렐린 수용제를 25, 50, 75, 100ppm 분무하여 치상하였다.

### (3) 정아삽과 1아삽의 경제성 분석

재배작형별 수확량에 따른 kg당 농가 판매단가를 조사하여 조수입으로 하고, 경영비에는 삽수채취부터 재배관리 및 수확, 포장 및 출하까지의 삽수구입비, 광열비, 제재료비를 계상하였다. 소득은 조수입에서 경영비를 제하여 산출하였다.

#### 나) 노지재배

노지재배는 산야의 자연산 두릅과 출하시기가 비슷하여 농가 수취가격이 낮아 조기에 생산할 수 있는 방법을 구명하기 위해 '03년 3월 10일 3년생 두릅나무(재식거리 1.5×0.6m)의 정아 부분에 투명 또는 흑색비닐튜브(폭 6×길이 20cm, 두께 0.05mm)를 씌우거나 GA 2% 수용액을 분무하는 처리를 하였다. 처리내용별 경제성을 분석하고, 주요 처리별 식미검사를 하였다.

### 2) 산지를 활용한 대량생산 기술개발

#### 가) 산지재배포 조성

두릅의 산지재배 시험은 '02년 10월 황성군 둔내면 삽교리의 균유림(해발 680m, 당초 임목도 5)을 침엽수림하 음지시험지는 나무를 그대로 두고, 침·활엽수 혼합림하 양지시험지는 시험에 적당하도록 나무를 벌채하여 임목도가 1 정도 되도록 조성하였고, 입지환경과 식생분포를 조사하고 시험전 토양시료를 채취하여 분석하였다.

#### 나) 식재방법 및 조사

두릅 산지재배의 적지를 선정하기 위해 침·활엽수 혼합림하 양지와 침엽수림하 음지 2 지점에서 시험을 수행하였고, 적정 식재시기를 구명하기 위해 '02년 가을(10월 30일)과 '03년 봄(4월 15일) 2회 식재하였다.

종자 파종시험은 '02년 9월 24일 채종 즉시 조제후 파종전까지 냉장처리(3~5℃)를 하였다가 산지에 50×50cm 간격으로 5~10립씩 점파하였다. 근삽 식재시험은 두릅나무 낙엽후 2년생 유목과 5년생 성목에서 뿌리를 채취('02년 10월 29일)하여 굵기를 대(1~2cm)와 소(1cm)로 구분하고 15cm 길이로 절단하여 소독후 90×90cm 거리로 식재하고, 봄재배는 양지바른 곳에 노천매장 하였다가 이용하였다. 묘목 식재시험은 낙엽후 2년생을 굴취('02년 10월 28일)하여 수간이 50, 30, 20, 10cm인 것을 구분하여 180×180cm 거리로 이식하고, 봄재배는 양지바른 곳에 가식하였다가 이용하였다.

종자 파종후 출현율과 생육정도를, 근삽과 묘목식재는 생존율과 생육정도를 조사하였으며 기타 식재된 유식물들이 산지의 잡초군락에 피압당하지 않도록 5월 중순에 예취기로 식물체 주변을 하에작업하여 주었다.

## 나. 연구결과 및 고찰

### 1) 재배작형별 생산성 및 경제성 검토

#### 가) 축성재배

축성재배기술 실증을 위해 정아삼과 1아삼재배를 같은 재배상에서 수행하였고, 두릅순이 길고 빨리 경화되지 않도록 차광망으로 50% 차광하여 재배하였다. 시험기간중 재배상내의 환경을 살펴보면 주야간 모두 공중습도가 80% 이상 유지되었고, 최저온도 10℃ 이상 최고 온도 25℃ 이하로 유지되었다.

표 3-2-14. 시험기간중 재배상내 환경

구분	주간	야간	비고
온도(℃)	15~25	10~18	50% 차광
습도(%)	90	80	

#### (1) 정아삼재배

정아삼 재배용 수목의 굵기와 길이는 두릅순의 상품성과 밀접한 관계가 있다. 삼수의 굵기가 2cm 이상에서는 삼수의 길이가 50cm 이상에서 두릅순이 12cm 이상, 개당 무게가 8g 이상되는 상품을 생산할 수 있었고, 삼수의 굵기가 2cm 이하에서는 길이가 70cm에서도 두릅순의 길이는 12cm 이상이였으나 개당 무게가 5.8g에 불과하여 상품성이 중 정도였다. 삼수가 굵고 길을 때 상품성이 좋은 두릅순을 생산할 수 있는데, 이것은 삼수 자체의 양분만으로 싹을 키우기 때문으로 사료된다. 그러나 70cm 이상의 삼수를 구하기에는 어려움이 따르므로, 알맞은 삼수의 규격은 굵기 2cm이상이고 길이가 50cm 정도인 것으로 판단된다.

표 3-2-15. 삼수굵기와 길이에 따른 두릅순의 생육 및 수량

삼수굵기	삼수길이	순길이 (cm)	순굵기 (cm)	순무게 ♪ (g/개)	평당 수량 (kg)	상품성
2cm 이상	30cm	11.5	1.5	5.9b	15.0	중
	50	12.6	1.7	7.9a	20.1	상
	70	13.0	1.8	8.5a	21.7	상
2cm 이하	30cm	10.8	1.3	4.9b	12.5	하
	50	11.7	1.4	5.2b	13.3	중
	70	12.2	1.4	5.8b	14.8	중

※ 치상일 : 2월 7일, 평당 3,000본 입상

♪ DMRT level 5%

삼수의 정아에 지베렐린 처리가 두릅순의 생육촉진효과를 검토한 결과, 50ppm 처리에서 출현시작이 무처리에 비하여 1주일 정도 빨랐으며, 수확일수가 11일 단축되었다. 두릅순의 길이나 무게는 무처리에 비하여 다소 양호하였고 조기수확에 따른 수취가격도 높아 경제성이 있는 것으로 사료된다.

표 3-2-16. GA<sub>3</sub> 처리에 따른 두릅순의 생육촉진효과

처리농도	출현 시작일수 (일)	수확일수 (일)	순 길이 (cm)	순 무게 ♪ (g/개)
100ppm	7	24	13.9	9.3a
75	7	24	13.6	9.0ab
50	8	24	13.5	8.8ab
25	10	28	13.3	8.2b
무처리	14	35	12.6	7.9b

※ GA<sub>3</sub> 처리 및 치상일 : 2월 7일, 배지종류 : 수경재배 ♪ DMRT level 5%  
 ※ 삼수규격 : 굵기 2cm 이상, 길이 50cm

(2) 1아삼재배

삼수를 한 마디씩 잘라서 재배하는 1아삼의 적절한 배지를 검토한 결과, 물재배에서 수확일수가 27일로 가장 빨랐으며, 두릅순도 커서 개당 무게가 2.8g 정도 였고 상품율도 높았다. 삼수는 휴면이 깨지고 물을 흡수하면서 두릅순의 생장이 시작되고 줄기에 있는 양분으로 자라게 되므로, 톱밥은 건조가 잘되어 삼수의 수분흡수가 늦어져 출현도 늦고 생육도 저조한 것으로 판단되었다.

표 3-2-17. 배지종류에 따른 두릅순의 생육 및 수량성

배지종류	수확일수 (일)	순 길이 (cm)	순 굵기 (cm)	순 무게 ♪ (g/개)	상품율 (%)	평당 수량 (kg)
물	27	8.0	1.1	2.8a	85	9.5
모래	29	6.9	1.0	2.2b	81	7.1
톱밥	35	6.6	1.0	2.0b	74	5.9

※ 치상일 : 2월 7일, 평당 4,000본 입상 ♪ DMRT level 5%

1아삼수의 정아 또는 측아에 지베렐린 처리시 두릅순의 생육촉진효과를 검토한 결과, 50ppm 처리에서 출현시작이 무처리에 비하여 6일 정도 빨랐으며, 수확일수도 6일 단축되었다. 두릅순의 길이나 무게도 무처리에 비하여 양호하여서 조기수확에 따른 수취가격의 상승까지 고려하면 경제성이 높은 것으로 판단된다. GA<sub>3</sub> 처리효과가 정아삼 보다 뚜렷한 것

은 삽수가 작아서 나무의 양분으로 나타날 수 있는 생육차이 상쇄 범위 이상이었던 것으로 사료된다.

표 3-2-18. GA<sub>3</sub> 처리에 따른 두릅순의 생육촉진효과

처리농도	출현 시작일수 (일)	수확일수 (일)	순 길이 (cm)	순 무게 ♪ (g/개)
100ppm	10	21	10.5	3.5a
75	10	21	10.2	3.3ab
50	10	21	10.1	3.3ab
25	13	22	9.3	3.0b
무처리	16	27	8.0	2.8b

※ 치상 및 GA<sub>3</sub>처리일 : 2월 7일, 배지종류 : 수경재배

♪ DMRT level 5%

(3) 정아삽과 1아삽과의 경제성 비교

정아삽과 1아삽재배간에는 재배적, 경영적인 장단점이 있다. 정아삽은 두릅순이 12cm 이상되는 상품을 생산하여 농가 수취가격이 높지만 삽수길이가 50cm는 되어야 상품을 생산할 수 있어 나무 한그루에서 3~5개 밖에 채취할 수가 없기 때문에, 채취노력이 많이 들고 거래가격(85원/개)도 비싸 경영비 상승요인이 되고 있으며, 그나마도 자생지도 남획되어서 구하기도 어려운 실정이다. 따라서 우리나라 축성재배 두릅순의 70% 정도를 생산하고 있는 경기도 가평군에서는 삽수를 중국에서 수입하여 이용하고 있다.

따라서 삽수 구득의 어려움을 해결하기 위해 신구, 금마 등 마디가 많고 굵은 품종들을 노지포장에 재배하여 1마디씩 절단하여 측아를 이용한 두릅순을 생산하고 있으나 정아의 싹 보다는 품질이 떨어져 수취가격이 낮고 별도의 재배포장의 생산성도 생산비 상승요인이 되며, 적응 품종들도 내한성이 약하여 중북부 지역에서는 재배가 곤란하다.

정아삽과 1아삽과의 경제성을 분석한 결과, 정아삽재배시 삽수구입비가 많이 소요되어 경영비는 많이 들지만 두릅순의 품질이 우수하여 높은 수취가격으로 조수입이 많아 20평당 소득이 262만원으로 1아삽재배에 비하여 18% 증가하였다.

표 3-2-19. 정아삽과 1아삽과의 경제성 비교

(천원/20평)

구 분	수 량(본)	조수입	경영비	소 득	소득지수
정아삽	51,000	8,415	5,797	2,618	118
1아삽	68,000	5,100	2,887	2,213	100

나) 노지재배

예전부터 두릅나무는 경사지, 자갈밭 등 일반 작물들을 재배하기 어려운 폐경지에 재배하였으나, 두릅순 수요가 증가하면서 쇠퇴작목의 대체작목으로 일반 경작지나 유휴지에 재배하는 면적이 증가하였다. 그러나 일반 노지재배는 생산시기가 자연산 두릅순 출하시기와 큰 차이가 없어 경제성이 낮아 최근에는 특성재배용 삼수생산에 목적을 두는 경우가 많다.

(1) 노지 조기생산을 위한 처리별 효과

노지에 재배되고 있는 두릅나무에서 두릅순을 조기에 생산하기 위해 시험한 결과, 정아 부분에 투명 또는 흑색비닐 캡핑시 무처리에 비하여 수확일을 1주일 단축시킬 수 있었으며, 두릅순의 길이와 굵기가 커져 수량이 증가하였다. 그러나 흑색비닐을 씌우게 되면 차광에 따른 연화재배로 두릅순의 색깔이 황녹색이고 조직이 연하여 우리나라 소비자의 기호에는 맞지 않는 것으로 사료된다. GA<sub>3</sub> 분무 단독처리시에는 효과가 인정되지 않았으며, GA<sub>3</sub> 분무 + 투명 또는 흑색비닐 캡핑 중복 처리구에서도 비닐피복 단독처리 효과만 인정되었다.

표 3-2-20. 조기생산을 위한 처리별 생육비교

처 리	수 확 일 (월·일)	순 길이 (cm)	순 굵기 (cm)	순 무게 <sup>♪</sup> (g/주)	순 색깔
투명비닐 캡핑	4. 26	15.0	2.3	17.8a	녹 색
흑색비닐 캡핑	4. 26	16.4	2.0	18.4a	황녹색
GA <sub>3</sub> 분무	5. 1	14.5	2.1	17.5ab	녹 색
GA <sub>3</sub> + 투명비닐	4. 25	15.2	2.2	17.9a	녹 색
GA <sub>3</sub> + 흑색비닐	4. 26	16.0	2.0	18.2a	황녹색
무처리(일반재배)	5. 3	13.8	2.1	16.8b	녹 색

※ 처리일 : 3월 10일

♪ DMRT level 5%

(2) 노지 조기생산을 위한 처리별 경제성 분석

노지재배 두릅순의 조기 생산을 위한 처리별 경제성 분석을 한 결과 소득은 무처리에 비하여 모두 높은 것으로 나타났고 흑색비닐 캡핑시 가장 높았으나, 이는 차광에 의한 도장으로 수량이 많고 황녹색 두릅순의 거래사례가 없어 판매가격을 일반 녹색두릅의 가격과 같이 계산하였기 때문으로 실제적으로는 판매가 불가능할 것으로 사료된다. 가장 효율적인 처리는 투명비닐 캡핑으로서 일반 노지재배 보다 두릅순도 커서 수량도 많고 품질도 양호하며, 조기수확으로 판매가격이 kg당 869원 더 높아 소득이 75만원으로 무처리에 비하여 42%가 증가되었다.



표 3-2-21. 조기생산을 위한 처리별 경제성 분석

(천원/10a)

처 리	수량(kg)	조수입	경영비	소 득	소득지수
투명비닐 캐핑	294	1,500	747	753	142
흑색비닐 캐핑	304	1,551	747	804	151
GA <sub>3</sub> 분무	289	1,223	670	553	104
GA <sub>3</sub> + 투명비닐	295	1,505	750	755	142
GA <sub>3</sub> + 흑색비닐	300	1,530	750	780	147
무처리(일반재배)	277	1,172	640	532	100

(3) 노지 조기생산을 위한 처리별 식미검사

조기생산을 위한 주요 처리별 식미검사 결과 투명비닐을 캐핑하여 생산한 두릅순은 일반 노지재배산과 같은 식미를 보였으나, 흑색비닐을 캐핑하여 생산한 두릅순은 크기는 좋으나 색택, 향, 질감, 맛 등 모든 요인들에서 낮게 평가되어 품질이 낮은 것으로 판단되었다.

표 3-2-22. 조기생산을 위한 주요 처리별 식미검사

처 리	크기	색택	향	질감	맛	종합
투명비닐 캐핑	5	5	3	4	4	4.2
흑색비닐 캐핑	5	2	3	3	3	3.2
무 처 리	4	5	4	4	4	4.2

※ 5 : 아주 좋음, 4 : 좋음, 3 : 보통, 2 : 나쁨, 1 : 아주 나쁨

2) 산지를 활용한 대량생산 기술개발

가) 산지재배 시험지의 환경개요

산지재배 시험지의 입지환경을 조사한 결과, 표고 680~685m 동남향으로 양지에는 자작나무, 참나무 등 활엽수림 밑에 참취, 수리취, 더덕, 망초 등이 자생하고 있었고, 음지에는 낙엽송, 소나무 등 침엽수와 자작나무, 느릅나무 등 활엽수가 혼재된 혼합림 밑에 고사리, 개미취, 미역취 등 산채류들이 자생하고 있었으며 초충이 단순하고 발생개체도 적었다. 당초 산지재배 시험 후보지의 입목도는 5 정도로서 차광정도가 70~80% 정도로서 음지상태 이어서 양지시험을 위하여 나무를 베어내어 입목도를 1 정도로 조정하여 시험지의 조건을 조성하였다.

표 3-2-23. 시험지의 입지환경 조사

구분	표고	방위	경사	입목도 J	차광율	식 생 분 포
양지	680m	동남향	7~15% (4~8°)	1	20~30%	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 목본류 : 자작나무, 참나무, 단풍나무, 물푸레나무 등(활엽수)</li> <li>◦ 초본류 : 참취, 수리취, 개미취, 더덕, 망초 등</li> </ul>
음지	685m	동남향	7~15% (4~8°)	5	70~80%	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 목본류 : 낙엽송, 소나무, 자작나무, 느릅나무 등(침·활엽수 혼합림)</li> <li>◦ 초본류 : 고사리, 참취, 개미취, 미역취, 산딸기 등</li> </ul>

J 입목도 : 0~10으로 구분(10=3,000본/ha, 1본/평)

시험전 산지의 양지 및 음지시험지의 토양을 분석한 결과, 양지시험지는 음지에 비하여 pH가 낮고, 유기물 함량은 다소 적었다. 치환성 염기가 다소 높은 상태였으며, 유효인산이 다소 적었고 석회요구도는 418kg/10a로 높았다.

표 3-2-24. 시험전 토양의 이화학적 특성

구 분	pH (1:5)	유기물 (%)	유효인산 (ppm)	치환성 염기			석회요구도 (kg/10a)
				K	Ca	Mg	
양 지	4.5	7.6	19	0.45	4.91	0.70	418
음 지	4.7	10.1	22	0.44	3.02	0.43	398

나) 종자파종시험

산지재배시 종자파종은 가을 보다는 봄에, 음지 보다는 양지에 하는 것이 입모율이 높았으며, 묘 생육도 양지의 것들이 양호하였다. 이른봄에 양지에 종자를 파종하는 것이 입모율이 83%로 높고 파종지점당 5~8주가 출현하여 잡초와의 경합에서 생존할 수 있는 가능성이 있는 것으로 판단되었다. 현재까지는 가을에 양지에 파종한 것이 생육정도가 가장 우수하였다. 출현개체들이 자연적으로 군락을 조성할 때까지는 키가 큰 잡초에 의한 피압으로부터 두릅을 보호하기 위해 주변의 풀을 베어주는 등 관리에 주의를 기울여야 할 것으로 사료된다.

표 3-2-25. 종자 파종후 입모 및 생육상황

파종시기	양 지				음 지			
	입모율 (%)	지점당 입모개체	초 장 (cm)	엽 수 (매/주)	입모율 (%)	지점당 입모개체	초 장 (cm)	엽 수 (매/주)
'02 가을	56	1~3	3.8	1.9	15	0~1	2.3	1.0
'03 봄	83	5~8	3.3	1.6	62	1~3	2.5	1.3

※ 채종일 : '02. 9. 24, 파종일 : 가을 - 2002. 10. 30, 봄 - 2003. 4. 15

※ 파종방법 : 50×50cm 점파

다) 근삽식재시험

산지재배시 근삽식재는 양지에는 가을에, 음지에는 봄에 하는 것이 생존율이 높았으며, 2년생 유목의 가는 뿌리(굵기 1cm 이하, 길이 15cm)에서 활력이 좋아 생존율도 높았다. 출현개체의 생육은 경장은 음지에서, 근원경은 양지에서 양호했는데 이는 음지에서는 수광율이 낮아 연약하게 도장하는 경향을 보인 것으로 사료된다. 일단 현재까지 생존하고 있는 개체는 종근에 남아 있는 양분으로 잡초와의 경쟁에서도 우세하므로, 산지 근삽식재시에는 생존율과 생육정도로 보아 가을철에 2년생 유목의 굵은 뿌리를 삽목하는 것이 유리할 것으로 판단된다.

표 3-2-26. 근삽 식재후 생존 및 생육상황

파종시기	구 분	양 지			음 지		
		생존율 (%)	경 장 (cm)	근원경 (mm)	생존율 (%)	경 장 (cm)	근원경 (mm)
'02 가을	성목근 대	40	4.5	1.5	13	6.0	1.3
	" 소	47	4.0	1.1	27	5.8	1.0
	유목근 대	53	4.0	2.5	40	5.8	2.3
	" 소	67	3.8	1.8	47	4.9	1.7
'03 봄	성목근 대	23	4.0	2.0	17	5.0	1.8
	" 소	33	3.6	1.2	27	4.3	1.2
	유목근 대	47	3.8	2.2	43	4.9	2.2
	" 소	53	3.4	1.6	50	4.4	1.4

※ 근삽 시료규격 : 길이 - 15cm, 굵기 - 대(1~2cm), 소(1cm 이하)

※ 재식거리 : 90×90cm (12,000주/10a)

라) 묘목이식시험

산지재배시 묘목이식은 가을 보다는 봄에, 음지 보다는 가을에 하는 것이 생존율이 높았

으며, 크기가 작은 묘목 일수록 생존율이 높았다. 묘목의 생육은 가을에 양지에 심은 것이 가장 양호하였다. 그러나 가을식재는 이른봄 새순이 돋자마자 토끼, 노루 등 산짐승들의 피해를 받아 정아는 피해를 입고 측아가 돌아나와서 생장을 하게 되므로 재배시 회피할 수 있는 방법이 미리 마련되어야 할 것이다. 일단 현재까지 생존하고 있는 묘목은 생육정도가 양호하여 잡초와의 경합이 전혀 우려되지 않으므로, 산지 묘목식재시에는 생존율과 생육정도로 보아 이른봄에 20~30cm 크기의 묘목을 심는 것이 유리할 것으로 판단된다.

표 3-2-27. 묘목 식재후 생존 및 생육상황

과종시기	묘목크기 (cm)	양 지			음 지		
		생존율 (%)	경 장 (cm)	근원경 (mm)	생존율 (%)	경 장 (cm)	근원경 (mm)
'02 가을	50	79	57.5	12.9	67	53.8	11.9
	30	93	43.5	9.7	80	34.4	8.5
	20	86	33.2	8.4	93	20.0	6.8
	10	93	22.5	7.5	90	13.1	6.4
'03 봄	50	90	51.7	12.4	88	45.0	11.6
	30	90	33.8	8.8	100	29.3	6.9
	20	100	26.4	7.0	94	19.0	5.7
	10	100	19.4	7.0	100	9.4	5.4

※ 재식거리 : 180×180cm(3,000주/10a)

마) 산지재배 경영분석

두릅의 산지식재 시험포는 이제 포장이 조성된 상태이므로, 1999년부터 1ha의 산지에 두릅을 재배하고 있는 홍천군 내면 자운1리의 이진수씨 산지재배포를 경영분석하였다. 1년생 묘목을 식재하였는데, 심던 해에 묘목비와 노력비를 제외하고는 이듬해 부터는 하예작업 외에는 노력이나 비용이 크게 소요되지 않았으나 활착과 생육이 저조하여 3년째부터 수확이 가능하였다. 현재는 연평균 소득이 36만원 수준으로 낮은 상태이나, 고사개체가 많아 생존 밀도가 낮은 곳에는 보식을 하고 6년째 부터는 수확도 정상적으로 가능할 것으로 기대하고 있어 소득은 해가 지날수록 증가할 것으로 기대하고 있었다. 수확기간이 짧으므로 다른 산채류를 두릅나무 아래 식재하여 관광농업과 연계하여 소득화할 계획을 가지고 있었다.

표 3-2-28. 두릅의 산지재배농가의 수익성 (5년, 천원/10a)

구 분	수량(kg)	조수입	경영비	소 득	연평균소득
산지재배	609	2,577	775	1,802	360
밭 재 배	1,385	5,862	3,200	2,662	532

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 제 1 절 목표 달성도

3년간 연구계획에 따라 (주)메드빌은 주관연구기관으로서 강원도 농업기술원 산채시험장의 연구팀과 협력하여 아래와 같이 연차별로 목표를 달성함으로써 성공적(100%달성)인 연구를 수행하였다.

#### 1. 1차년도 연구개발목표의 달성도

연구 내용	목 표	평가착안점에 따른 목표 달성도
<b>&lt;주관연구&gt;</b> ○ 부위별·품종별에 따른 추출물의 제조 및 추출물의 특성 조사  ○ 추출물의 신기능 발굴	○ 추출물을 표준화 된 방법으로 제조하고 TLC 및 HPLC를 통해 추출물의 성분에 대한 기초 자료 확보  ○ 항산화 기능 조사 ○ Aldose reductase 억제 기능 조사	1. 부위별로 4가지, 품종별로 2가지 그리고 춘채와 추채의 <b>추출물을 제조</b> 하여 실험에 사용하였다. 2. TLC 및 HPLC 분석 자료를 확보하였다. Phenol성 물질을 분석하였다. 3. 부위별, 품종별 그리고 표준 물질(4가지)에 대하여 <b>항산화 기능 및 aldose reductase 억제 기능</b> 을 조사하였다.
<b>&lt;협동연구&gt;</b> ○ 유전자원 수집  ○ 특성조사  ○ 품종 선발	○ 전국 자생종 수집  ○ 성목에 대한 생육 및 특성검정  ○ 내병, 생산시기 (조, 만생중)별 품종 선발	1. <b>성목 및 종자 101계통 수집</b> - 성목 71계통 - 1년생 유묘 16계통 3,376개체 - 종자 14계통(실생유묘중) 2. <b>생육조사</b> : 출엽기, 신초수확기 등 13항목 조사 3. <b>특성검정</b> : 수피색, 가시유무, 내병성등 9항목 조사 4. 우수한 17계통 선발 후대검정 중

2. 2차년도 연구개발목표의 달성도

연구 목표	연구 내용	평가착안점에 따른 목표 달성도
<p>&lt;주관연구&gt;</p> <p>○ 선정된 우수 품종 및 부위의 추출물의 품질 관리 방안 확립</p>	<p>○ 무기이온 및 중금속 분석</p> <p>○ 두릅추출물의 분획에 관한 연구</p> <p>○ 품질관리를 위한 지표물질의 설정</p> <p>○ 생리 활성에 관한 연구</p>	<p>1. 무기이온 및 중금속분석을 수행함.</p> <p>2. chloroform, ethylacetate, butanol, 물층으로 추출물 분획을 제조하였음.</p> <p>3. 추출물의 분획에 대하여 TLC 및 HPLC 분석하였음.</p> <p>4. DHBA로 <b>지표물질을 설정</b>하였음.</p> <p>5. 1, 2, 3년생 두릅의 추체를 채취하여 추출물제조하고 분석하였음.</p> <p>6. 여러 batch의 추출물의 분석결과를 통해 <b>추출방법이 표준화</b> 되었음을 확인함.</p> <p>7. 생리활성조사를 위해 <b>AR 및 CL(항산화실험)실험 및 Lens 실험</b>을 수행하였음(ex-vivo 효능검증)</p>
<p>&lt;협동연구&gt;</p> <p>○ 우량계통 및 후대 선발</p> <p>○ 종자발아율 향상 연구</p> <p>○ 뿌리삽목을 향상 연구</p>	<p>○ 두릅의 신품종 육성</p> <p>○ 실생 유성번식에 의한 후대증식법 확립</p> <p>○ 근맹아 무성번식에 의한 후대증식법 확립</p>	<p>1. <b>우량계통 선발 및 특성조사</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 우량 성목 6계통 선발 및 특성조사, 실생후대 육묘중(선발 계획)</li> <li>- 우량 유목(1년생) 4계통 20개체 선발 및 특성조사</li> </ul> <p>2. <b>종자발아율 향상 기술 개발</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 전처리(과피제거 및 저온저장)에 의한 발아율 향상 효과 구명</li> <li>- 적정 파종시기(가을파종), 봄파종시 종자 저장조건(저온저장) 구명</li> </ul> <p>3. <b>뿌리삽목을 향상 기술 개발</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 적정 뿌리굵기(5~15mm), 길이(10~15cm) 구명</li> <li>- 적정 삽목방법(가을채취-절단후 토중저장-봄 짜개포트 A형 육묘) 구명</li> </ul>

3. 3차년도 연구개발목표의 달성도

연구 목표	연구 내용	평가착안점에 따른 목표 달성도
<p>&lt;주관연구&gt;</p> <p>○ 두릅 추출물의 활성을 이용한 제품 개발 연구</p>	<p>○ 분석 및 생리활성 비교 (우량계통, 분획, 유통, 저장)</p> <p>○ pilot scale의 산업적 추출 방법 확립</p> <p>○ 제품 개발 연구</p> <p>○ 독성시험</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 선발된 우량계통의 성분 분석 및 생리 활성을 비교하였음. 분획의 분석 및 생리활성 비교 수행하였음.</li> <li>2. 기능성을 확인하기 위해 동물시험을 수행하였음.</li> <li>3. 산업적 추출방법을 확립하기 위해 세단계의 실험을 수행하였음.</li> <li>4. 그 결과 <b>pilot scale의 최적 공정</b>도를 확립하였음.</li> <li>5. 제품 개발을 위한 <b>시장규모 및 시장 특성을 조사</b>하였음.</li> <li>6. 두릅추출물의 신 기능성을 활용하여 제품화를 위한 방향을 설정함.</li> <li>7. 건강보조식품 및 특수영양식품의 <b>concept을 확립하고 formulation</b>을 완성함.</li> <li>8. <b>제형을 결정하고 시제품</b>을 생산하였음.</li> <li>9. 시제품으로 동물실험을 수행하여 기능성을 확인하였음.</li> <li>10. <b>급성독성 시험</b>을 통해 두릅추출물의 안전성을 확보하였음.</li> </ol>
<p>&lt;협동연구&gt;</p> <p>○ 대량생산을 위한 전략 및 재배기술 종합 실증 연구</p>	<p>○ 재배양식별 생산성 검정</p> <p>○ 재배양식별 조기생산방법 구명</p> <p>○ 산지활용 대량 생산기술 개발</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. <b>축성재배(정아삽, 1아삽재배)의 생산성 및 경제성</b>을 검토하였음.</li> <li>2. 노지재배시 <b>조기재배를 위한 처리 방법</b>에 따라 생육을 비교하고 식미검사를 실시함.</li> <li>3. <b>산지의 재배포의 환경</b>을 분석하여 조성하고 종자파종, 근삽식재, 묘목이식등의 방법으로 식재하여 발재배와 비교 분석하였음.</li> </ol>

## 제 2 절 관련분야의 기여도

### 1. 두릅의 기능성 및 제품화의 기여도

본 기술의 두릅나무는 식품으로 사용되고 있는 인체에 안전한 천연물 소재로서 독성시험을 통해 안전성을 확보하였으며, aldose 환원효소 억제와 항산화효과를 세포실험과 동물실험을 통해 확인하여 백내장에 유효함이 인정되었다.

당뇨병성 백내장에 유효한 조성물과 관련된 국내 및 해외의 공지기술이 없으며, 따라서 본 기술은 신규성과 독창성이 인정된다.

본 기술을 이용한 건강식품은 당뇨병으로 인한 합병증의 예방효과가 있어 경제적 · 산업적 측면에서 다음과 같은 효과가 있다.

- 한국 고유 농수산물의 세계화 식품 산업 특성에 영향
- 기능성 식품의 수입대체 및 수출 효과
- 국제 특허권 획득에 의한 기술 수출 효과
- 질병 예방에 의한 의료비 감소

현재 당뇨병성 백내장에 대한 약효가 뚜렷한 치료제가 없으므로 이를 대처할 예방 · 치료제로서 국내 · 외의 시장을 선점하고, 항산화성 식품 및 노화방지 등의 적응증을 늘려 시장을 확대할 수 있다.

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

본 기업은 기존의 실험 결과를 근거로 다양한 제품으로 활용할 수 있는 방안을 모색하여 마련함으로써 다사간(多社間)의 협력시스템과 자체개발 신소재 상품화의 모델로 삼고, 나아가 국민보건 및 국가경제에 기여하려 한다.



## 2. 유전자원 수집 및 우량품종 선발

국내 중복부의 두릅 자생종을 200종 수집하여 양적·질적 유전특성을 검정하여 보존하고 있어, 국내 육종가들의 품종 육성 재료로 분양하여 다양한 두릅 품종의 개발에 활용될 것이다.

또한 재배적으로 유리한 형질을 보유한 10개체를 선발하여 후대증식을 통한 계통화 단계에 있으며, 앞으로 지속적으로 생산력과 지역적응성 검정을 거쳐 품종으로 육성하고 종묘를 증식·재배농가에 보급하여 안정적이고 경제적인 재배를 통하여 농가소득 증대에 기여할 것으로 기대된다.

## 3. 대량증식기술 개발

종자 채종후 저온처리에 의해 휴면을 타파하여 가을에 온실에 파종하여 겨울동안 육묘를 하게되면 육묘기간을 1년 단축할 수가 있어 단기간에 재배면적을 확대하려는 농가경영에 유리할 것으로 판단된다. 종자 전처리 및 저장방법 개발로 가을에는 전처리후 파종하고, 봄에는 냉장저장 하였다가 파종할 경우 86% 까지 안정적으로 발아시킬 수가 있어서 농가의 시설, 영농계획 등 실정에 맞게 시기를 선택할 수 있게 되었다.

근삽에 의한 번식기술을 개발하여 품종육성시험에서 선발된 개체의 후대를 증식하고 있으며, 출아율이 95%로 높고 단위면적당 육묘효율이 기존의 번식방법 보다 23배 높은 근삽용기를 선발하여 농가에서 활용시 조기에 같은 유전형질을 보유한 개체를 대량 증식할 수 있어 농가소득 향상이 기대된다.

## 4. 대량생산 재배기술 종합실증 연구

겨울철 농한기에 유희노동력과 시설을 이용하여 축성재배를 할 수 있는 정아삽재배와 1아삽재배의 경제성 분석을 통해 농가에서 자기 실정에 맞는 유리한 재배방법을 선택할 수 있는 폭을 넓혔고, 일반 노지재배에 간단한 처리로 수확일수를 일주일 단축시켜 농가수취가격을 높일 수 있는 기술을 실증하였다.

두릅의 산지재배시에 활용할 수 있는 식재방법별 재식적기, 식재종류별 적정 재식방법 등의 재배기술 개발로 산림을 단기 소득화 시키고, 대량생산을 통하여 두릅을 이용한 식품가공 및 기능성 식품의 원료 공급에 의한 부가가치 향상으로 두릅이 새로운 농가 소득원으로 기대된다. 또한 잡목에 의한 피압과 채취 남획으로 고갈되어 가고 있는 자생지 복원에도 기여할 것이다.

## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

본 연구의 결과를 크게 세 가지 방향으로 활용하려고 한다. 첫째, 특허 출원 및 등록을 통한 지적 소유권을 통해 특허물질에 대한 경쟁력을 확보한다. 둘째, 본 연구의 결과에 따른 두릅 추출물의 신기능성을 활용하여 제품(건강보조식품, 특수영양식품, 건강기능식품, 의약품등)을 생산하는 데 활용할 수 있으며 셋째, 우수품종 및 두릅 원료의 대량 생산 방안 연구의 결과에 따라, 농촌의 소득을 증대시키기 위한 아래의 활용 방안을 추진할 것이다.

제품 생산으로 산업 기반을 다지고, 제품의 수요에 따라 부가가치가 높은 식물을 생산하게 되므로 서 국내 영농활용 기반을 확충하며, 안전성이 높은 생리활성 물질의 보급으로 국민보건 기반에 기여하는 다자산업의 연계모델로 그 파급 효과가 클 것으로 평가된다.

### 제 1 절 연구개발결과의 활용 방안

#### 1. 지적 소유권 확보

두릅 추출물의 용도(기능성) 특허를 국내에 출원하였고 2002년 등록되었다. 2002년 하반기에 미국특허를 출원하여 등록을 위한 절차를 진행 중에 있다.

#### 2. 건강보조식품 및 특수영양식품

국내 자생식물 추출물을 원료로 하여 건강식품 및 기능성 음료 개발에 활용한다. 본 제품은 제품의 특성 면에서 일차적으로 건강식품으로 개발되어 판매되는 것이 경쟁력이 있을 것이며, 이차적으로는 좀더 대중적인 접근인 건강음료 시장으로의 진입이 바람직하다. 현재 당뇨병에 효능이 있다고 주장하는 여러 가지 건강식품들과는 기능면에서 차별화 되고, 그에 대한 과학적인 근거를 제공함으로써 소비자의 신뢰를 향상시킬 수 있다.

특히, 예방 차원에서 기능성식품으로 복용함으로써 백내장의 발병을 지연 및 완화시킬 수 있으며 기존 치료제와 병용하는 것이 사용 가능하다고 판단된다. 특히 개발 물질의 항산화 효과는 백내장 예방뿐만 아니라 전체적으로 노화를 억제하는 중요한 효능을 가지며, 이를 통해 노령층 인구의 삶의 질 향상에 크게 기여할 수 있을 것으로 생각된다.

본 연구를 성공적으로 수행함에 따라 건강보조식품 및 특수영양식품의 시제품을 생산하였다(연구결과에 시제품 제시).

### 3. 건강기능식품으로의 응용

2002년 8월에 새로운 건강기능식품법이 개정되었고 이에 따른 시행령이 2003년 8월 27일 실시되면서 건강기능식품에도 적응증 및 효능을 기재하고 광고할 수 있도록 되기 때문에, 본 연구의 성과물로서 시제품으로 제조한 건강보조식품 및 특수영양식품을 건강기능식품으로 허가를 받는 것이 필요하겠다. 건강기능식품으로 허가를 받기 위하여는 동물실험이 보완되어야 하며, 임상시험이 실시되어야 하나, 본 연구에 따라 개발된 신소재의 용량을 증가시킬 수 있어서 제품화할 수 있는 건강기능식품의 concept 및 formulation에 있어서도 다양한 변화를 줄 수 있을 것이다.

또한, 제형에 있어서도 다양화 할 수 있게 되어 좀더 적극적인 제품 개발이 이루어질 것으로 평가된다.

### 4. 의약품으로의 응용

탁월한 약리작용을 나타내는 분획을 중심으로 효능 성분을 분리·정제한다면 효과적인 의약품이 될 수 있을 것으로 사료된다. 이때에 i) 유기용매 분획에 따른 HPLC 분석 및 효능 검증(ex vivo 방법사용), ii) 컬럼을 사용하여 HPLC peak를 분리하고 효능 검증을 수행함, iii) prep-LC를 통하여 pure fraction을 모아서 NMR을 통해 구조규명 등의 연구가 더 필요할 것으로 평가된다.

### 5. 농가에 품종 보급 및 소득 증대를 위한 활용 방안

두릅은 '종자산업법'에 의거 2007년부터 품종보호가 가능하므로, 육성된 우량계통은 '03~'04년에는 후대 증식(계통화)과 생산력 검정시험을 실시하고, '05~'07년에는 지역적응성을 검정하여 우수계통은 품종보호를 출원하고 '08년부터 농가에 종묘를 보급하고 육종가들에게 유전자원을 분양할 계획이며, 개발된 다음의 대량증식 및 생산 재배기술은 '04년부터 영농활용자료로 활용할 계획이다.

- 가. 두릅 종자의 저온처리에 의한 휴면타파 효과(가을과중)
- 나. 두릅 종자의 저온저장방법(봄과중)
- 다. 짜개포트를 이용한 두릅 근삽 육묘방법
- 라. 두릅 축성재배시 재배방법별 경제성 비교
- 마. 두릅의 산지재배 식재방법

## 제 2 절 메드빌의 사업화 추진방안

본 기술을 사업화하기 위해서 두 가지 안을 검토 하였다. 제1안은 2003년 말까지 백내장과 망막증에 대한 효능시험을 보완하고 제품의 대량생산 방안을 확립하여 OEM생산 방식에 의해 생산하여 건강식품으로 기존 영업망을 이용하여 판매하는 계획이다. 제2안은 2003년 9월말까지 기술이전을 완료하는 방안이다.

위의 두 가지 안을 가지고 사업화의 방안을 모색 중에 본 연구와 관련 특허기술의 실시권을 이전하는 성과를 올렸다. 실시권 이전 대상 기업은 GY인텍(주)이며 기술 실시권의 이전에 따라 참여 기업과 주관책임자 간의 기술이전료 이행 계약을 체결할 계획이다.

특허기술의 실시권을 이전함에 따라서, 실시권을 이전 받은 기업에서 이미 본 과제의 결과에서 기술한 대로 건강보조식품 및 특수영양식품으로 사업화를 추진 중에 있으며 pilot scale에서 대량생산을 위한 연구 그리고 원가 절감을 위한 연구 등을 수행 중에 있으므로 2003년 내로 제품이 출시 될 예정에 있다.

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

### 제 1 절 두릅나무를 활용한 제품에 대한 일본 정보

연구개발과정에서 두릅나무를 활용하여 출시한 제품들에 대한 다음의 정보를 수집하였다. 두릅나무 줄기나 뿌리의 껍질을 잘게 썰어 차를 끓이거나 우려내서 마실 수 있도록 원료를 그대로 제품화한 한 것이 대부분이며, 알코올에 넣어 숙성시켜 두릅주를 제품화한 한 것도 조사되었다. 따라서 일본의 원료 제품화와 비교해 볼 때, 본 연구로 인해 개발된 두릅추출물의 제품 개발 기술이 조금 더 앞선 기술임을 시사한다 하겠다.

#### 1. 다라노기(두릅나무)차

사포닌 성분이 많이 함유되어 있는 두릅나무차는 당뇨병에 효과가 높다고 알려져 있다.

가 격 : 500g ¥2,700

판매처 : 통신판매 光露園 (kyoto.e-machi.ne.jp/201599)

일본 京都 繼喜郡 宇治田原町 立川段橋46

TEL : 0774-88-2035 / FAX : 0774-88-3721

宇治田原 光露園(www.kouroen.co.jp/item.html)

#### 2. 두릅나무(다라노기)차

효과가 높은 두릅나무의 표피만은 1봉지(500g)에 ¥2,500(사진)

두릅나무의 껍질은 11월~2월경 순이 나오기전의 품질이 가장 좋다고 하며, 당뇨·혈압 요모기는 혈행이나 이뇨작용·다른 여러 가지 건강잡지에도 게재되고 있다.

달이는 방법

1L의 물을 넣고 한번 끓이고 난 다음, 불을 작게 줄여 30분간 더 달인다.

색깔도 그다지 나오지않고 처음에는 나무를 마시는 그런 느낌이지만 곧 익숙해진다. 언제든지 마시는 차와 같이 마시세요.

그 효과는 당뇨·뇌경색으로 쓰러져 일시적인 반신불수로 휠체어생활을 한 남편에서 입증되었다. 두릅나무차 건강차는 특허로도 인정되었다.

상표 30類, 등록번호: 3347188호

판매처 : 小川商事 (www.biwa.ne.jp/~karpon/puchi-tab/kosei/kutuki.htm)

대표 小川利勝  
TEL・FAX : 0740-38-2380  
滋賀縣 高島郡 朽木村

### 3. 다라노葉茶로 당뇨병 개선

두릅나무의 사포닌이 과혈당을 억제  
고대부터 일본이나 중국에서 당뇨병에 유효하다고 한 「두릅나무」를 완전 무농약으로  
배하고 그 엽을 건조한 「다라노葉茶」이다.  
두릅나무에 함유된 사포닌이 과혈당을 억제하는 것은 이미 실험으로 증명되어있다.

이 사포닌 효과는 3~4시간이라고 한다. 따라서 식후 또는 식간에 차로 마심으로써 당  
뇨병 예방효과를 기대할 수 있다. 100g 500ㄲ

판매처 : M&G (www.waribashi.co.jp/taracha.htm)  
兵庫縣 氷上郡 山南町 南中  
대표 前川進吉

### 4. 두릅나무차

일본TV 계열에서 방송한 「오모이끼리TV」에 海士町の <두릅나무차> 등장!

마시는 방법 : 보리차를 만드는 요령으로 사용하여 주십시오.

먼저 주전자에 물과 두릅나무차를 넣고, 끓인 다음 5분정도  
우려내고 나서 마십시오.

차게 하여 냉차로 하여도 맛있게 마실 수 있다.

기타 마시는 방법 : 두릅나무차는 자연 식물이기 때문에 많이 달여 마셔도  
해는 없습니다.

문의처 : 킨나모나 센터/산업과  
(www.oki-ama.ne.jp/daisuki/topics/ntv-fukugi.htm)  
TEL : 08514-2-1824, 1832  
FAX : 08514-2-0358

海士町役場  
島根縣 隱岐郡 海士町 大字海士 1490  
TEL : 08514-2-0111  
FAX : 08514-2-0208

## 제 7 장 참고문헌

- 강삼식 저. 1996. 사포닌, 서울대학교 출판부.
- 고정수, 오태근, 김철희, 박경수, 이문규, 김성연. 1991. 한국인 인슐린 비의존형 당뇨병 합병증에 관한 연구, 당뇨병 15:257.
- 김순동, 이신호, 한준표, 노홍균, 윤광섭, 강명수, 정용진, 이진만. 1999. 현대인과 건강식품, 학문사.
- 김영희, 임정교. 1999. 두릅추출물이 정상쥐 및 당뇨쥐에 미치는 영향. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 28(4):912-916
- 김옥경, 이은방. 1993. 두릅나무 근피 추출물의 약물학적 연구. 생약학회지. 24:213
- 김옥경, 이은방, 강삼식. 1993. 두릅나무 근피의 혈당강하 성분에 관한 연구(II). 생약학회지. 24(3):219-222
- 노완섭, 허석현. 1999. 건강보조식품과 기능성식품, 효일문화사.
- 문관심. 1984. 약초의 성분과 이용, 과학, 백과사전 출판사, pp 415-417.
- 백희영, 김교정, 김영옥, 문현경, 오세영, 이순영, 이십열, 정효지, Dwyer J. 1997. 한국인의 건강영양조사의 필요성, in:한국인의 건강영양조사, 서울대학교 출판부.
- 서소영, 김해리. 1997. Streptozotocin으로 당뇨를 유도한 생쥐의 간과 췌장에서 황백피와 두릅나무 추출물이 지질 과산화물 생성과 글루타티온 의존성 효소의 활성화에 미치는 효과. 한국식품영양과학회지 26(4), 689~696.
- 안덕균. 1998. 한국본초도감, 교학사, pp 720.
- 우원식 저. 1997. 천연물화학 연구법. 서울대학교 출판부.
- 육창수. 1981. 한국약품식물자원도감. 진명출판사. 272
- 이명렬, 이장순, 서화중. 1998. 두릅나무 추출물이 Alloxan으로 유발된 가토의 고혈당에 미치는 영향. 한국영양식량학회지. 17:57
- 이은방, 정춘식. 1993. 두릅나무 근피 추출물의 약물학적 연구. 약학회지. 37:581
- 이창복. 1985. 대한식물보감. 향문사. 575
- 이흥규. 1995. 당뇨병의 역학 ; 예방을 위한 기본, 당뇨병 19(3) : 5-14.
- 통계청. 1991. 사망원인 특별조사 보고서.

Beyer TA and Hutson NJ. 1986. Introduction: Evidence for the role of the polyol pathway in the pathophysiology of diabetic complications. Metabolism 35:1-3.

- Birks. J.W. 1989.** Chemiluminescence and photochemical reaction detection. In: Chromatography. VCH Publisher, pp:10-13.
- Chylack LT and Kinoshita JH. 1969.** A Biochemical evaluation of a cataract induced in a high-glucose medium. Invest. Ophthalmol. 8:401-406.
- Das B. and Srivastava S.K. 1985.** Purification and properties of aldose reductase and aldehyde reductase II from human erythrocyte. anal. Biochem. Biophys. 238 (2) 670-677.
- Hai-Xue K., Hui S., Ning Z., Yoshihito O., and Toru O. 1996.** Two New Saponins, Congmuyenosides A and B, from the Leaves of *Aralia elata* Collected in Heilongjiang, China. Chem. Pharm. Bull. 44(11):2183-2185.
- Hayman S. and Kinoshita J. H. 1965.** Isolucine and properties of lens aldose reductase. J. Biol. Chem. 240(5):877-882.
- Jiangsuxinyixue Y. 1977.** Zhong Tao Da Ci Dian Shang Hai People's publisher, Shanghai:2583-2584
- Kim, S.J., Kim, Y.Y., Ko, K.H. et al. 1998.** Butanol extract of 1:1 mixture of Phellodendron cortex and Aralia cortex stimulates PI3-kinase and ERK2 with increase of glycogen levels in HepG2 cells, *Phytother Res.*, 12, 1-6.
- Kochetkov N.K., Khorlin A.Y. 1963.** Dokl. Akad. Nauk. 150:1289-1292
- Lee Y, Harrit Kim, Hee-sook Choi, Bu-hyun Kang, Young-Bok Han and Sung-Jin Kim. 1999.** Effects of water Extract of 1:1 mixture of phellodendron cortex and Aralia Cortex on polyol pathway and oxidative damage in Lenses of Diabetic Rats, *Phytotherapy Research*, 13 :555-560, John Wiley & Sons.
- Lowery O.H 1951.** Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent, *J.Biol.Chem* 193:265-275.
- Masayuki Y., Emiko H., Hisashi M., Toshiyuki M., Johji Y., and Nobutoshi M. 1993.** Elatoside A and B, Potent Inhibitors of Ethanol Absorbance in Rats from the Bark of *Aralia elata* SEEM.: The Structure Activity Relationships of Oleanolic Acid Oligoglycosides. Chem. Pharm. Bull. 41(11):2069-2071
- Masayuki Y., Hisashi M., Emiko H., Toshiyuki M., Noriko W., Johji Y., and Nobutoshi M. 1994.** Elatoside E, a New Hypoglycemic Principle from the Root Cortex of *Aralia elata* SEEM.: Structure Related Hypoglycemic Activity of Oleanolic Acid Glycosides. Chem. Pharm. Bull. 42(6):1354-1356
- Masayuki Y., Satoshi Y., Takahiro U., Hisashi M., Toshiyuki M., Johji Y., and**



- Nobutoshi M.** 1995. Medical Foodstuffs. I. Hypoglycemic Constituents from a Garnish Foodstuff "Taranome," the Young Shoot of *Aralia elata* SEEM.: Elatosides G, H, I, J, and K. Chem. Pharm. Bull. 43(11):1878-1882
- Masayuki Y., Toshiyuki M., Emiko H., Nobutoshi M., Johji Y., and Hisashi M.** 1996. Bioactive Saponins and Glycosides. VII. On the Hypoglycemic Principles from the Root Cortex of *Aralia elata* SEEM.: Structure Related Hypoglycemic Activity of Oleanolic Acid Oligoglycoside. Chem. Pharm. Bull. 44(10):1923-1927
- NIH; statistics on blindness in the model reporting area. 1969-1970. US. DHEW Publication No. 73-427.
- Poiter N., Barth P., Tritsch D., Biellmann J-F. and Van Doesselaer A.** 1997. Study of non-covalent enzyme inhibitor complex of aldose reductase by electrosprary mass spectrometry. Eur. J. Biochem 243:274-282.
- Saito S., Sumita S., Tamura N., Nagamura Y., Nishida K., Ito M., Ishiguro I.** 1990. Chem. Pharm. Bull. 38:411-414
- Spector A, Wang G and Wang R.** 1993. Hydrogen peroxide and human cataract. Exp. Eye Res. 33:673-681.
- Tumminia SJ, Qin C, Zigler JS and Russel P.** 1994. The integrity of mammalian lenses in organ culture. Exp. Eye Res. 58:367-374.
- Yoshikawa M, Harada E, Matsuda H, Murakami T, Yamahara J and Murakami H.** 1993. Elatosides A and B, potent inhibitors of ethanol absorption in rats from the bark of *Aralia elata* Seem.: the structure-activity relationships of oleanolic acid oligoglycosides. Chem. Pharm. Bull. 4:2069-2071.
- Kaimori N.** 1986. Mass propagation of Japanese Angelica tree(*Aralia elata* S.) through biotechnology. Agri. Horti. 61:75~77
- 강창성, 이용선, 이영상.** 1996. 단경기 생산을 위한 나무두릅 삽수 저장온도 및 출하시기 구명. 경기도농업기술원 시험연구보고서 774~777
- 김갑태.** 1989. 종자의 전처리가 포장발아율에 미치는 영향. 한국임학회지 44:26~29
- 中山.** 1980. 두릅의 재배법. 농경과 원예 44(12):69~75
- 中山.** 1989. 두릅 재배를 통한 산간농업 활성화. 농경과 원예 53:55~57
- 문홍규, 윤양, 이재선.** 1998. 10년생 두릅나무 동아를 이용한 체세포배 발생, 식물체 재생 및 포지이식. 한국임학회지 87:57~61

- Moon HK and Youn Y. 1999.** Somatic embryogenesis from winter buds of 10-year-old *Aralia elata*. In Jain SM, Gupta PK, Newton RJ(eds.), Somatic Embryogenesis in Woody Plants, Vol 5, pp 129~134. Kluwer Academic Pub.
- Moon HK, Hong YP, Kim YW and Lee JS. 2001.** Genotype effect on somatic embryogenesis and plant regeneration of 15 *Aralia elata*. Kor. J. Plant Tiss. Cult. 28:129~134
- 민두식. 1965.** 수목종자의 발아에 미치는 온도효과. 한국임학회지 4:42~45
- Park YG and Kim JH. 1992.** Tissue culture in forest plant biotechnology. In JD Chung. Kyungbuk Nat. Uni. Press, Taegu. pp451~502
- 박철하, 김덕식, 송인수, 주영구. 1997.** 두릅나무 재배 및 선발. 충청북도산림환경사업소 연구보고서 17~50
- 박철호, 이근수. 1994.** 산지를 활용한 산채재배 전망. 강원도농업기술원 심포지엄자료집 3~18
- Park CH, Lee YS, Jhang HH, Kim NS and Shin YB. 1994.** Effects of media and plant growth regulators on germination of somatic embryos of *Aralia elata* S. Kor. J. Med. Crop Sci. 2:241~245
- 북제주군농업기술센터. 2000.** 잔대의 임간재배를 위한 적정 재식방법. 북제주군농업기술센터
- 성문현. 1998.** 고급 산채류 재배지역의 토양특성 및 무기성분 함량. 연구와 지도 39(5):45~48
- 심동로 등 16명. 1995.** 단기 임산 신소득원 개발Ⅱ. 산림청 임업연구원
- Amerniya K, Fujiki T. and Hyuga S. 1990.** Mass propagation by tissue culture in Japanese Angelica tree(*Aralia elata* S.). Annual Report of Yamanasi Agricultural Experiment Station 5:11~22
- 이건상 등 15명. 1997.** 산림 유용식물 대량재배 경영모델 개발. 산림청 임업연구원
- 이근수. 1998.** 임산 식·약용식물 산지재배시험. 산림청 임업연구원보고서 43~56
- 이동아. 1977.** 두릅 번식에 관한 시험. 농촌진흥청 원예시험장 시험연구보고서 305~310
- 이한범, 홍대기, 김인종, 김정옥, 홍정기. 1992.** 피대재료가 두릅의 신초생장 및 품질에 미치는 영향. 강원도농업기술원 시험연구보고서 431~433
- 이홍찬, 김연태, 강길남. 1996.** 단기 임산 신소득원 개발. 산림청 임업연구원보고서 11~16
- 임종택, 최재식. 1984.** 산지 식용식물 재배시험. 산림청 임업연구원 경남지원
- 임주락, 김종엽, 강찬호, 최동근, 신영환. 1998.** 약초 임간재배에 관한 시험. 전라북도농업기술원 시험연구보고서 866~882
- 장철수 등 6명. 1999.** 임산 약용자원을 활용한 농산촌지역 소득증대 방안연구. 농촌경제연구원

- Jhang HH, Park CH, Cho DH and Shin YB. 1993.** Callus induction and plant regeneration from leaf tissue culture of *Aralia elata* S. Kor. J. Crop Sci. 38:366~370
- Jhang HH, Park CH, Lee YS and Shin YB. 1994.** Somatic embryogenesis and plant regeneration in suspension cultures of *Araria elata*. Kor. J. Plant Tiss. Cult. 21:167~171
- 장한호. 1996.** 두릅 캘러스의 현탁배양에서 체세포배 발생과 식물체 재분화. 식물조직배양학회지 21권
- 전준현. 1998.** 두릅 축성재배의 기술 및 재배사례. 산림 385:142~152
- 정혜웅. 1991.** 한국산 나무두릅의 번식에 관한 연구. 건국대 농축개발대학원 석사학위 논문
- 조남상. 1999.** 산더덕 재배를 통한 산지의 복합영농사례. 강원도농업기술원 심포지엄자료집 71~76
- 조진태, 박종천, 권규철, 박상근. 1988.** 가시없는 두릅 신계통의 특성. 한국원예학회지 29(2):71~74
- 최규동. 1987.** 참두릅 실생번식 기술. 전라북도농업기술원 연구보고서 197~200
- 최민휴 등 29명. 1992.** 단기 임산 신소득원 개발 I. 산림청 임업연구원
- Chrispeals M. J. and J. E. Varner. 1967.** Hormonal control enzyme synthesis on the mode of action of gibberellic acid abscisin. in aleurone layers of barfley.
- Hartman H. T. and D. E. Kester. 1983.** Plant propagation. Englewood cliffs. N. T. : Prentice - Hall. Inc. : 138~142
- 한영창. 1976.** Lespedeza속의 종자 저장시기별 발아시험. 한국임학회지 31:30~36
- 홍대기, 김인중. 1992.** 두릅의 특성검정에 의한 계통분류 조사. 강원도농업기술원 시험연구 보고서 420~421

## 주 의

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