

방사선 조사 인삼이 랫드의 태자와 신생자의 발달 및 모체기능에 미치는 영향에 관한 연구

박귀례* · 한순영 · 김판기¹ · 신재호 · 장성재
식품의약품안전청 국립독성연구소 독성부, ¹용인대학교

Evaluation of Peri- and Postnatal Toxicity of Gamma-Irradiated Korean Ginseng in Rats

Kui Lea Park*, Soon-Young Han, Pan Gyi Kim¹, Jae-Ho Shin and Seung Jae Jang

Department of Toxicology, National Institute of Toxicological Research, Korea FDA, Seoul 122-704, Korea

¹Yongin University, Kyunggido, 449-714, Korea

(Received February 7, 2001)

(Accepted March 5, 2001)

ABSTRACT : Korean ginseng products have been fumigated with ethylene oxide (EO) for sterilization and prolongation of storage periods. However, there had been controversies indicating that consumption of EO treated foods might cause harmful effects in human. In Korea, the use EO gas for sterilization of food was banned in 1991. Since then, irradiation technique has been developed as an alternative. This study was carried out to evaluate the safety of irradiated ginseng on peri- and postnatal developmental toxicity in rats. Either EO gas fumigated or gamma-irradiated ginseng was administered to pregnant Wistar rats by oral gavage from gestational day 16 to postnatal day 21. The amount of irradiation used in this study was 5, 10 and 30 kGy, respectively. There were no treatment related changes of dams in deaths, clinical signs, and parturition. No treatment related changes in food consumption, body/organ weight and lactation of dams were observed. Also, no F1 fetuses in external abnormality, physical development, reflex/sensory functions and behavioral development were found. The results of this study showed that gamma-irradiated ginseng, up to 30 kGy, has no adverse effects on the peri- and postnatal development of rats.

Key Words : Peri- and postnatal study, Korean ginseng, Gamma-irradiation, Rat

I. 서 론

한국산 인삼은 예로부터 의약품으로 뿐만 아니라 건강 식품으로서 세계적으로 품질이 우수한 것으로 평가되어 수요가 증가하고 있으며, 인삼 및 인삼제품은 수출 전략 상품의 하나로 소비자 기호가 다양화됨에 따라 제품의 종류도 많아지고 질도 고급화하는 추세다. 따라서 제품의 고급화 및 수요의 다양화는 보관 및 저장성을 위한 살균방법의 중요성이 강조되고 있다. 인삼제품의 살균방법으로 에틸렌옥사이드(ethylene oxide : EO)가스훈증법이 이용되어 왔으나, 잔류시 인체에 대한 잠재독성(potential toxicity)과 환경공해 유발 및 오존층의 파괴에 대한 우려 때문에 우리나라에서도 식품에 대한 EO 가스훈증처리방법의 사

용이 금지되었다(보사부고시 제91-25호). 식품에서 EO 가스 훈증법의 대체방법으로 여러 종류의 처리법이 있을 수 있으나, 방사선을 일정선량 이하로 조사하면 제품의 성분, 효능 및 안전성은 유지되고 저장수명 연장, 살균 및 살충의 효과가 좋은 것으로 알려져 방사선조사처리가 식품보존 및 가공법으로 농산물 특히 마늘, 양파등 향신료를 중심으로 사용되고 있다. 세계적으로도 이미 10 kGy 이하의 방사선 조사선량에서는 독성학적, 미생물학적, 영양학적으로 안전하다고 인정되어 방사선조사 식품의 안전성이 국제기관에 의하여 공인, 허가되고 있다(Ahmed, 1991; WHO, 1981). 현재 국내에서도 인삼, 홍삼을 포함한 인삼제품류, 식품의 발아억제, 살충, 살균 및 속도조절의 목적에 한하여 7 kGy 이하의 범위에서 ⁶⁰Co의 감마선의 방사선조사가 허용되고 있다(식품공전, 식품의약품안전청, 2000). 특히 인삼의 경우 방사선조사가 국민의 정

*To whom correspondence should be addressed

서, 보건, 경제적 측면의 과급효과가 크므로, WHO의 개괄적인 안전성 확인에도 불구하고 수출 전략상품으로서 방사선조사 인삼의 안전성에 대하여 현재 설정된 조사선량을 기초로 하여 동물실험을 통해 재확인할 필요가 있었다.

따라서 본 연구에서는 방사선 조사 인삼에 대한 안전성에 대한 과학적 근거를 마련하기 위한 생식·발생독성평가 방법의 하나로써, 방사선 조사 인삼을 랫드의 주산·수유기(임신 16일~분만후 21일)에 투여하여 모체의 임신, 분만 및 포육, 차산자의 성장, 발육 및 기능발달에 미치는 영향을 '의약품등의 독성시험기준(국립보건안전연구원, 1988)' 및 '독성시험표준작업지침서(국립보건안전연구원, 1993)'에 따라 시험, 평가하고자 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험물질

본 실험에 사용된 인삼분말은 금산산 4년근 수삼을 자연 건조한 후 분쇄하여 70~80 mesh 이하의 분말로 하여 사용하였다. 인삼분말의 살균을 위한 EO 가스 훈증처치는 녹십자의료공업(주)에 의뢰하여 국내에서 상업적으로 가장 많이 이용되고 있는 조건인 가스 혼합비 EO:CO₂ = 3:7 (w/w%), 온도 55°C, 상대습도 40~50%, 압력 0.8 kg/cm², 가스밀도 1.77 kg/m²의 조건하에서 10시간 훈증한 후 탈기하였다. 시료의 방사선조사는 한국원자력연구소에 소재하는 Co⁶⁰ 감마선원을 이용하여 완전 포장된 시료에 대하여 실온에서 5, 10, 30 KGy의 총 흡수선량을 연도록 조사하였으며, 이때의 흡수선량은 free radical dosimeter와 ceric cerous dosimeter를 이용하여 확인을 하였다. 모든 시료는 무색 또는 옅은 미황색의 분말로서 2~8°C에서 냉장보관하면서 사용하였다.

2. 실험동물 및 사육조건

실험동물은 국립독성연구소 실험동물자원실에서 번식 사육하는 특정병원체부재(SPF) Wistar 11주령 랫드를 공급받아 청정 사육장에서 1주 이상 순화 사육한 후 건강한 동물만을 선발하여 실험에 사용하였다. 실험동물은 폴리카보네이트 사육상자에 순화기간 및 임신 20일째까지는 1 케이지 당 3수씩을, 임신 20일 이후, 분만 및 수유기간에는 1수씩 넣어 사육하였다. 사육실의 사육조건은 온도 23±2°C, 상대습도 55±5%, 환기회수 15회/hr, 명암교대 약 12시간(조명 07:00~19:00)으로 하였다. 실험동물용 고형 사료(신촌사료주식회사)와 수돗물은 자유롭게 섭취케 하였다.

3. 교배 및 임신동물

임신동물을 얻기 위한 교배는 순화기간이 지난 후, 건강한 동물을 통상의 방법대로 암수 비율 2:1로 오후 5시 이후에 교배시켜 다음날 아침 암컷 동물의 질전(copulatory plug)이 확인되거나 질내에 정자가 확인된 동물을 실험에 이용하였으며, 교배가 확인된 날을 임신 0일로 하였다. 임신모체의 최종확인인 자연분만군에서 태자의 출산을 관찰하거나, 미분만군은 교배후 26일째 부검을 실시하여 자궁내 착상흔적이 관찰된 모체를 최종적으로 임신동물로 판단하였다.

4. 시험군 설정, 용량 및 투여

임신된 동물의 군분리는 무작위추출법으로 총 6군으로 분리하였으며, 1군당 최소 동물수를 20마리 이상으로 배정하였다. 처치군은 EO 가스 훈증처리 인삼투여군(EO인삼군)과 방사선을 조사한 인삼투여군(5 kGy, 10 kGy, 30 kGy 인삼군), 대조군으로 용매로 사용한 증류수만을 투여한 용매대조군과 아무런 처치를 하지 않은 인삼을 투여한 인삼대조군의 2군을 두었다. 투여시작시의 동물 체중은 각 군이 모두 평균 체중 5% 이내가 되도록 하였다. 투여기간은 '의약품 등의 독성시험법기준'의 생식독성시험 중 주산·수유기 시험법에 따라, 임신 16일부터 분만후 21일까지 매일 오전에 강제 경구투여하였다. 투여량은 랫드를 이용한 아급성시험과 임신 랫드를 이용한 예비시험 결과를 기준으로 하여, 인삼의 성장 및 랫드에서의 투여 가능한 최대용량 등을 고려하여 인삼분말을 4 g/kg의 용량으로 결정하였다. 투여직전에 인삼에 증류수를 조금씩 가하면서 유발과 유봉으로 미세하고 균질한 상태가 되도록 현탁시킨 후, 임신기간 및 수유기간 중 투여일과 가장 가까운 체중 측정일의 체중을 기준으로 10 ml/kg의 용량으로 투여하였다.

5. 관찰항목 및 방법

1) 모체에 미치는 영향

투여기간을 제외한 시험기간 중에는 1일 1회, 투여기간 중에는 투여 전후 1일 2회 동물의 일반상태, 중독증상 및 사망유무 등에 대해 관찰하였다. 또한 분만 전후에는 1일 3회 분만유무 및 분만 중의 이상여부를 관찰하였다. 임신 0, 7, 14, 16, 17, 18, 19, 20일, 분만일, 분만후 4, 7, 14, 21일에 각각 모체의 체중을 측정하였다. 사료섭취량은 임신 0, 7, 14, 16, 18, 20일 및 분만후 7, 14, 21일에 사료의 급여량 및 잔량을 측정하여, 전회의 급여량에서 잔량을 뺀 후 1일당 사료섭취량을 산출하여 잔여사료 측정일까지

의 평균사료섭취량을 비교하였다.

수유로 유선에 수유흔적이 인정되었을 때를 분만완료로 판정하였다. 오후 5시까지 분만을 완료한 모체는 당일 분만으로 하였고 이를 분만 0일로 산정하였다. 출산율 및 분만율은 다음과 같이 산출하였다.

○ 출산율(delivery rate) = (생존자 출산 암컷수/임신 암컷수)×100

○ 분만율(implantation rate) = (출산자수/임신모체의 착상수)×100

분만 후 21일째에 모체를 안락사시킨 후, 개복하여 자궁을 떼어내 착상흔을 세었고, 모든 장기를 육안적으로 관찰하였다. 분만후 21일 이전에 태자가 모두 사망한 모체와 임신확인일로부터 26일째까지 분만이 인정되지 않은 모체는 부검하여 자궁 내부를 관찰하였다. 이상이 인정된 장기 및 태자는 필요한 경우 10% 중성포르말린에 고정하여 병리조직학적 검사를 실시하였다.

2) 출산자에 대한 영향

출산일에 분만된 모든 출산자수를 셈하고, 생사여부, 성별 및 외형이상의 유무를 관찰하였다. 매일 1회 이상 일반상태를 관찰하였으며, 체중은 생후 0, 4, 7, 14, 21, 28, 35, 42일에 측정하였다. 산자수를 출생후 4일째에 모체당 8수로 조정하였으며, 원칙적으로 암·수 동수를 무작위로 선발하였다. 산자수가 8수에 미달되는 경우에는 출산자 전부를 생존시켰으며, 생후 21일 이유시에는 모체당 암·수 각 4수로 재조정하였다. 생후 4일까지의 생존율과 이유시까지의 생존율은 다음과 같이 구하였다.

○ 생후 4일까지의 생존율(%) = (생후 4일의 생존자 수/생존출산자수)×100

○ 이유시까지의 생존율(%) = (출산후 22일의 생존자수/생후 4일의 조정직후 생존자수)×100

생존 출산자 전부에 대하여 발육분화 및 반사기능검사를 실시하였다. 관찰항목 및 관찰기준일은 '독성시험표준작업지침서(국립보건안전연구원, 1993)'에 따라 실시하였다. 출산자의 이개개전 여부는 생후 4일령에 평가하였으며, 양쪽 컷바퀴가 모두 측두면의 피부로부터 떨어져 있으면 양성으로 하였다. 치아맹출 여부는 생후 13일령에 육안적으로 아랫니(절치)가 보이는 것을 양성으로 하였다. 안검개열 여부는 생후 18일령에 평가하였으며, 양쪽 눈을 모두 떴으면 양성으로 하였다. 정소하강 여부는 생후 28일령에 관찰하였으며, 정소가 하강되어 음낭이 형성되었는지를 육안적으로 확인하였다. 질개구 여부는 생후 35일령에 관찰하여 질 부위가 열려있는지 여부를 확인하였다. 정항반사는 생후 9일령에 실시하였으며, 수평면에 신생자를 뒤집어 등부위를 평면에 두고 5초 이내에 일어나 사지가 표면에 닿으면 양성으로 기록하였다. 5초 이내에 일어나지 않으면

연속 재실험하며 2회 추가 실시하여 30초까지 관찰한 기록을 기재하였다. 부주지성은 생후 14일령에 평가하였다. 경사각 30°의 판상에 출산자의 머리부위를 아래쪽으로 향하도록 놓고, 180° 회전을 완료할 때까지의 시간을 측정하여 15초 이내에 완료하면 양성으로 하였다. 측정시간은 60초를 한정하며, 60초 이내에 180° 회전하지 못하면 60초 이상으로 기록하였다. 동공반사는 생후 35일령의 출산자를 암실에서 충분히 적응시킨 후, 좌우 눈에 안과용 후레쉬를 각각 비추어 양쪽눈의 동공 수축이 모두 확인되면 양성으로 하였다. 청각검사 및 핫 플레이트검사는 모든 출산자를 대상으로 실시하였고, 로타로드, 자발운동량, 수동회피반응 및 수미로 검사는 모체당 암·수 각 1수를 무작위로 선택하여 실시하였다. 청각검사 및 로타로드 검사는 모두 생후 28일령의 출산자를 이용하여 평가하였다. 청각검사는 청각기능측정기(Startle responder, Columbus Instrument)를 이용하여 주파수 20 KHz, 음압 100 dB의 순음에 폭로시켰을 때 양쪽 컷바퀴가 움직이는 이개반사가 인정된 것을 양성으로 하였다. 로타로드 검사는 로타로드검사기(Rota-rod treadmill for rats, Kal Kolb Scientific Technical Supplies, GmbH)를 이용하여 실시하였으며 6회/분의 속도로 회전하는 봉에 동물을 적응시킨 후 낙하할 때까지의 시간을 측정하였다. 최장 관찰시간은 1분으로 하고 3회 시행하여 3회째의 성적을 기록하였다. 5초 이상이면 양성으로 하였다. 자발운동량검사는 생후 35일령의 출산자를 대상으로 간접조명하에서 자유롭게 운동케 하여 자발운동량측정기(Optovarimax animal activity meter, Columbus Instrument)로 총 이동거리를 3분간 측정하였으며, 이동거리는 cm로 기록하였다. 핫 플레이트 검사는 42일령에 평가하였으며, 플레이트 바닥을 55°C로 유지시킨 후 플레이트 바닥에 랫드 발바닥이 모두 닿은 시점부터 25 cm 높이의 벽 위로 완전히 올라가 네 개의 모든 발바닥이 플레이트 바닥에서 떨어질 때까지의 시간을 측정하여 30초 이내에 탈출에 성공하면 양성으로 하였다. 수동회피반응검사는 생후 42일령에 수동회피반응 검사기(Reflex-16/32 system, Columbus Instrument)로 측정하였다. 측정은 간접조명하에서 실시하였으며, 소음으로 인한 오차를 줄이기 위해 방음이 이루어지는 차폐시설 내에서 실험을 실시하였다. 시험은 시험시작 20초 후에 램프가 10초간 켜지고, 약 50 dB의 소리가 10초간 계속된 후 전기자극(약 3 mA)이 5초간 주었다. 이때 동물이 피하는 시간을 측정하였으며, 연속해서 10회 실시한 평균성적을 집계하였다. 수미로 검사는 출산자 생후 70일령에 실시하였으며, 수온을 23±2°C로 조절된 수미로(Water T-maze)에 동물을 각각 처음 1일 동안 3회 적응시켰다. 그 후 3일간(1일 3회; 총 4일간) 계속 수미로시험을 실시하여 목표지점까지의 도달시간을 측정하여 평균을 산출하였다.

4일령 도태 산자는 에테르를 흡입시켜 안락사 시킨 후 Bouin 고정액에 고정 보존하였다. 이유시의 도태산자와 청각검사 및 로타로드검사, 자발운동량검사, 수동회피반응검사, 수미로검사를 끝낸 출산자는 경추달골 후 도태하여 각 장기의 육안적 이상 유무를 관찰하였다. 이상이 인정된 장기는 필요한 경우 10% 중성 포르말린액에 고정하여 조직학적 검사를 시행할 수 있도록 하였다.

3) 통계처리

본시험의 통계처리는 대조군과 각 투여군간의 차이를 비교하였으며 유의수준 5%로 검정하였다.

가. t-test with F-test for homogeneity of variance : 체중, 사료섭취량, 황체수, 착상수, 생존태지수, 출생지수, 로타로드 검사치, 자발운동량 검사치, 핫플레이트 검사치, 수동회피반응 검사치, 수미로 검사치

나. Fisher-Irwin test : 성주기, 교미율, 수태율, 발육분화의 제 시험항목

다. Pitman test using exact generalization of the Fisher

Irwin test for z×k table : 착상율, 태자사망율, 외형이상발현율, 출산율, 출생율, 사산자율, 4일 생존율, 이유율

라. t-test with analysis of variance for nested design : 태자체중, 출산자체중

III. 결 과

1. 임신 모체에 대한 영향

임신기간 및 분만, 수유기간을 포함한 전 실험기간 동안 용매대조군 및 인삼투여군에서 사망동물은 관찰되지 않았으며, 모든 시험군에서 투여와 관련한 어떠한 임상증상도 관찰되지 않았다. 모체의 임신 및 수유기간 동안의 투여군의 체중변화는 대조군과 유사한 증가추이를 보였으며 (Table 1), 방사선 조사 인삼 투여가 체중에 미치는 영향은 실험 전기간에 걸쳐 인정되지 않았다. 사료섭취량에 대한 변화는 Table 2와 같다. 투여기간중의 사료섭취량의 변화는 5 kGy 인삼군의 경우 임신 18~19일 및 분만후 1~13일

Table 1. Body weight changes of dams (F0) administered orally with γ -irradiated or EO treated ginseng during peri- and postnatal period

Day	Vehicle control	Ginseng					
		Control	EO	5 kGy	10 kGy	30 kGy	
Gestational day	0	210.8±20.24 ^a	208.8±17.20	208.1±24.58	206.8±19.60	209.0±17.60	211.0±18.11
	7	238.3±22.71	237.7±23.39	237.8±27.86	243.5±23.15	244.7±19.55	246.8±18.67
	14	272.1±31.53	277.9±25.56	278.8±30.39	281.2±23.22	280.8±20.36	286.9±20.81
	16	301.3±17.42	297.3±26.26	291.6±27.56	294.2±25.60	294.0±24.55	300.9±21.82
	17	299.0±31.51	309.9±26.31	300.1±25.72	304.8±26.74	309.0±24.58	313.4±22.05
	18	312.8±28.02	320.8±24.79	321.7±29.01	318.1±26.70	322.2±25.71	327.3±22.33
	19	326.9±33.24	342.2±26.57	335.7±28.13	330.4±28.51	336.2±28.69	341.2±21.56
Postpartum day	20	342.9±31.52	350.6±29.25	351.2±27.15	342.0±27.12	348.7±33.50	355.2±24.65
	0	280.4±22.25	280.3±28.82	279.3±30.41	282.0±25.30	273.8±23.48	281.1±23.75
	4	294.9±20.47	291.0±27.42	286.3±26.55	281.8±20.04	287.5±20.16	291.1±24.07
	7	301.3±21.06	293.1±24.75	293.3±27.21	289.2±24.33	292.4±20.32	294.5±21.77
	14	304.0±28.08	308.6±23.36	293.4±31.24	296.4±23.95	300.0±18.20	301.8±24.53
21	285.6±19.55	287.1±19.16	283.6±21.40	284.3±18.76	285.2±19.43	283.1±26.37	

^aValues are mean(g)±SD.

Table 2. Food consumption of dams (F0) administered orally with γ -irradiated or EO treated ginseng during peri- and postnatal period

Day	Vehicle control	Ginseng					
		Control	EO	5 kGy	10 kGy	30 kGy	
Gestational day	0~6	18.1±1.91 ^a	18.3±2.29	19.2±2.38*	19.6±1.22 [†]	19.7±1.27 [†]	19.9±1.23 [†]
	7~13	22.2±2.60	21.7±1.78	22.8±2.65	22.8±2.01	23.0±1.94	23.2±2.17 [†]
	14~15	22.2±4.34	23.3±2.78	23.5±3.08	24.5±2.66*	23.4±1.08	23.7±3.04
	16~17	25.9±3.57	27.0±3.62	26.6±5.54	24.9±5.31	26.2±4.61	27.1±4.06
	18~19	25.7±5.01	24.8±2.52	24.6±4.07	22.3±3.77*	25.2±3.87	24.3±3.18
Postpartum day	1~6	35.3±5.69	34.8±8.09	32.6±4.76	30.0±5.41 [†]	31.8±7.31	32.9±5.36
	7~13	52.3±5.30	48.3±8.71	49.6±5.95	45.2±8.59*	48.6±7.30	51.6±7.25
	14~20	60.6±7.56	60.5±8.02	61.1±7.33	56.5±7.69	61.1±7.84	60.0±8.16

^aValues are mean(g)±SD.

*Statistically different from vehicle control group (P<0.05).

[†]Statistically different from control group (P<0.05).

Table 3. Finding on delivery of dams (F0) administered orally with γ -irradiated or EO treated ginseng during peri- and postnatal period

	Vehicle control		Ginseng				
		Control	EO	5 kGy	10 kGy	30 kGy	
No. of pregnant animals	23	20	18	21	20	20	
No. of animals delivered normally	21	20	18	20	19	19	
Delivery rate (%)	91.3	100.0	100.0	95.2	95.0	95.0	
No. of animals delivered on gestational day	21	3	0	4	3	1	2
	22	14	16	12	15	16	16
	23	4	4	2	1	1	1
	24	0	0	0	1	1	0
Gestation length (Day)	22.0±0.59 ^a	22.2±0.41	21.9±0.58	22.0±0.65	22.1±0.55	22.0±0.34	

^aValues are mean±SD.

Table 4. Absolute and relative organ weight of dams (F0) administered orally with γ -irradiated or EO treated ginseng during peri- and postnatal period

	Vehicle control		Ginseng			
		Control	EO	5 kGy	10 kGy	30 kGy
Liver (g)	14.38±1.716 ^a	14.85±2.061	15.28±1.881	14.13±1.685	15.23±1.977	15.01±1.831
(%)	5.04±0.563	5.22±0.824	5.40±0.630	4.98±0.540	5.31±0.606	5.32±0.597
Right kidney (g)	1.09±0.111	1.11±0.090	1.08±0.126	1.05±0.106	1.14±0.204	1.13±0.130
(%)	0.38±0.030	0.39±0.038	0.38±0.052	0.37±0.035	0.38±0.023	0.40±0.041
Left kidney (g)	1.05±0.092	1.08±0.100	1.07±0.117	1.04±0.123	1.04±0.116	1.11±0.082
(%)	0.37±0.027	0.38±0.043	0.38±0.036	0.37±0.039	0.36±0.034	0.39±0.042 [*]

^aValues are mean(g)±SD.

^{*}Statistically different from vehicle control group (P<0.05).

에 유의적으로 감소하였으나, 그 후 회복 추세를 보였다.

본 연구에서는 교미 확인된 모체 중 정상분만이 되지 않은 모체가 용매대조군에서 2수, 5 kGy 인삼군에서 1수, 10 kGy 인삼군에서 1수, 30 kGy 인삼군에서 1수가 관찰되었다. 용매대조군의 경우, 1수는 분만직전에 자궁과외로 인한 출혈과다로 사망하였으며, 또 다른 1수는 자궁내 모든 태자가 초기흡수된 모체이었다. 5 kGy 인삼군의 경우 부검하여 관찰한 결과, 모체의 왼쪽 자궁각이 폐쇄되어 있었으며 오른쪽 자궁각 내에는 기형태자가 존재하였다. 10 kGy 인삼군에서 자궁내 사망태자 2수가 있는 모체가 1수 있었으며, 30 kGy 인삼군 중 1수는 자궁염증으로 분만하지 못하였다. 임신 모체는 대부분 정상분만 예정일인 교배 후 21일부터 23일 이내에 분만하였고, 각 군의 출산율

및 모체 당 분만까지 걸린 평균 임신기간은 용매대조군 및 투여군에서 유의적인 차이를 보이지 않았다(Table 3). 모체의 포육상태 또한 용매대조군 및 투여군에서 특별한 변화가 관찰되지 않았다.

이유 후 차산자를 모체와 분리 사육시키고 모체를 부검하여 관찰한 결과, 방사선 조사인삼 투여와 관련한 병리해부학적 소견이 관찰되지 않았다. 이유후 부검한 어미동물의 절대 및 상대중량을 관찰한 결과(Table 4), 30 kGy 인삼투여군의 좌측 신장의 절대 및 상대중량이 용매대조군에 비해 유의적인 차이를 보였으나, 이외의 군에서 다른 장기의 유의한 절대 및 상대중량의 변화는 인정되지 않았다. 이유모체의 자궁을 적출하여 착상수를 관찰한 결과, 용매대조군과 투여군에서 유의한 차를 나타내지 않았다

Table 5. Reproductive performance of dams (F0) administered orally with γ -irradiated or EO treated ginseng during peri- and postnatal period

	Vehicle control		Ginseng			
		Control	EO	5 kGy	10 kGy	30 kGy
No. of implantations	11.6±2.96 ^a	11.6±3.82	12.2±2.39	11.2±3.59	11.4±3.10	12.1±3.16
No. of live fetuses	10.8±3.11	10.9±3.92	11.7±2.49	10.3±3.75	11.3±2.70	11.6±3.20
Implantation rate (%)	93.1	93.9	95.9	91.9	99.1	95.9
M/F ratio	0.88	0.80	0.80	0.83	0.99	1.12
(Male/Female)	(106/121)	(97/122)	(94/117)	(94/113)	(107/108)	(116/104)

^aValues are mean±SD.

Table 6. Body weight of F1 rats obtained from dams administered orally with γ -irradiated or EO treated ginseng during peri- and postnatal period

Sex	Day	Vehicle control	Ginseng				
			Control	EO	5 kGy	10 kGy	30 kGy
Male	0	6.6±0.68 ^a	6.5±0.27	6.4±0.67	6.6±0.72	6.7±0.57	6.5±0.55
	4	11.7±1.75	11.1±0.67	10.9±1.65	11.9±2.15	11.9±1.27	11.1±1.08
	7	18.0±2.23	17.2±1.83	16.9±2.45	17.8±2.87	18.0±2.20	17.3±1.51
	14	36.1±3.81	36.0±3.14	33.9±4.20	34.8±4.46	36.6±3.03	35.9±2.52
	21	61.9±6.38	61.7±4.30	58.0±7.86	60.0±7.86	62.2±4.60	61.7±3.57
	28	107.0±10.0	105.8±5.9	102.1±10.9	103.0±14.1	106.7±9.8	105.1±4.8
	35	165.7±11.6	165.5±7.9	160.4±15.3	163.0±16.7	166.5±11.0	163.3±10.0
	42	226.1±21.1	221.6±21.4	222.6±20.6	220.5±17.6	221.8±17.2	219.3±14.1
Female	0	6.22±0.62	6.13±0.32	6.11±0.56	6.14±0.59	6.35±0.54	6.14±0.59
	4	11.1±1.55	10.6±0.81	10.6±1.67	11.0±1.68	11.4±1.22	10.4±1.11
	7	17.1±2.23	16.7±2.20	16.5±2.55	16.7±2.39	17.4±2.09	16.6±1.76
	14	34.7±3.70	35.0±3.85	32.4±4.30 [*]	33.2±3.62	35.3±3.11	35.2±3.20
	21	58.3±5.52	59.1±5.11	56.4±7.52	56.5±6.50	59.2±5.13	58.1±2.95
	28	95.5±9.6	95.6±6.8	92.8±11.1	91.6±12.1	96.5±6.9	94.9±5.7
	35	140.4±10.3	139.7±8.2	135.9±12.7	136.1±13.0	139.2±9.3	140.3±8.6
	42	171.2±12.5	168.8±10.5	169.2±14.8	167.6±16.5	169.7±10.9	173.4±15.5

^aValues are mean(g)±SD.

(Table 5).

2. 신생자에 미치는 영향

각 군에서 분만된 출산자수 및 생존출산자수, 착상율, 성비는 Table 5와 같다. 각군의 모체당 평균 출산자 및 생존출산자수를 비교시, 각 구간 유의한 인정되지 않았다. 정상 분만한 출산자 중 분만시 외형이상을 보인 개체는 없었으며, 포유에 이상이 있는 개체는 모든 실험군에서 발견되지 않았다. 생후 4일의 동복자 조정 전까지와 조정후 이 유기까지 모든 실험군의 각 생존율을 비교한 결과, 용매대조군과 각 투여군간에 유의한 차가 인정되지 않았다(data

not shown).

출생부터 생후 6주째 까지 암·수 차산자의 체중변화는 Table 6과 같다. EO 인삼군의 암컷 차산자가 14일째 체중이 유의하게 감소한 경우를 제외하고는 각 군 모두 용매대조군에 비하여 유의한 체중변화는 인정되지 않아 분만일의 암수 출산자를 비롯한 모든 차산자의 체중에 미치는 영향은 인정되지 않았다.

생존태자에 대해 발육분화 검사를 실시하여 얻은 결과, 용매대조군과 비교할 때 이개개전, 치아맹출, 안검개열, 정소하강 및 질개구에 미치는 영향은 관찰되지 않았다(Table 7). 신생자를 이용한 태자의 반사기능시험 결과는 Table 8과 같다. 전 출산자를 대상으로 한 정향반사, 부주지성, 청

Table 7. Physical development of F1 rats obtained from dams administered orally with γ -irradiated or EO treated ginseng during peri- and postnatal period

		Vehicle control	Ginseng				
			Control	EO	5 kGy	10 kGy	30 kGy
Auricle detachment	male	67/67 ^a	70/70	60/60	59/59	70/70	72/72
	female	82/82	74/74	77/77	74/74	73/73	74/74
	total	149/149	144/144	137/137	133/133	143/143	146/146
Incisor eruption	male	67/67	70/70	60/60	59/59	70/70	72/72
	female	82/82	74/74	77/77	74/74	73/73	74/74
	total	149/149	144/144	137/137	133/133	143/143	146/146
EyeOpening	male	67/67	70/70	60/60	59/59	70/70	72/72
	female	82/82	74/74	77/77	74/74	73/73	74/74
	total	149/149	144/144	137/137	133/133	143/143	146/146
Testes descending		63/63	60/60	49/49	57/57	45/45	53/53
Vagina opening		42/42	40/40	35/35	37/37	29/29	36/36

^aNo. of animals developed normally/No. of total animals examined.

Table 8. Reflex test of F1 rats obtained from dams administered orally with γ -irradiated or EO treated ginseng during peri- and postnatal period

		Vehicle control	Ginseng				
			Control	EO	5 kGy	10 kGy	30 kGy
Surface righting reflex	male	67/67 ^a	70/70	60/60	59/59	70/70	72/72
	female	82/82	74/74	77/77	74/74	73/73	74/74
	total	149/149	144/144	137/137	133/133	143/143	146/146
Nagative geotaxis	male	67/67	70/70	60/60	59/59	70/70	72/72
	female	82/82	74/74	77/77	74/74	73/73	74/74
	total	149/149	144/144	137/137	133/133	143/143	146/146
Acoustic reflex	male	67/67	70/70	60/60	59/59	70/70	72/72
	female	82/82	74/74	77/77	74/74	73/73	74/74
	total	149/149	144/144	137/137	133/133	143/143	146/146
Iris reflex	male	42/42	40/40	34/34	35/35	26/26	35/35
	female	42/42	40/40	35/35	37/37	29/29	36/36
	total	82/82	80/80	69/69	72/72	55/55	71/71

^aNo. of animals developed normally/ No. of total animals examined.

각검사, 동공반사 기능 검사시 용매대조군과 비교할 때 유의한 차이가 관찰되지 않았다.

분당 6회전하는 봉 위에 동물을 적응시킨 후 로타로드 검사를 실시하여 낙하할 때까지의 시간을 측정하여 5초 이상을 양성으로 할 때 용매대조군이 68.2%, 대조인삼군이 76.7%, EO 인삼군이 64.3%, 5 kGy, 10 kGy, 30 kGy 인삼군이 각각 76.6%, 68.8%, 65.4%로 나타났으나, 각 군간에 통계적으로 유의한 차이는 인정되지 않았다(Table 9). 자발운동량은 암실 환경에 적응시킨 동물의 3분간 총 이동거리로 측정하였으며, 암컷의 이동거리가 수컷보다 많았으며 인삼투여군이 용매대조군에 비해 증가추세를 보였

Table 9. Rotarod test results of F1 rats obtained from dams administered orally with γ -irradiated or EO treated ginseng during peri- and postnatal period

	Vehicle control	Ginseng				
		Control	EO	5 kGy	10 kGy	30 kGy
male	34/63 ^a	44/60	24/49	41/57	26/45	35/53
female	52/63	48/60	39/49	44/54	38/48	35/54
total	86/126	92/120	63/98	85/111	64/93	70/107
(%)	(68.2)	(76.7)	(64.3)	(76.6)	(68.8)	(65.4)

^aNo. of animals showing positive response/ No. of total animals examined.

Table 10. Total distance traveled in activity monitoring system of F1 rats obtained from dams administered orally with γ -irradiated or EO treated ginseng during peri- and postnatal period

	Vehicle control	Ginseng				
		Control	EO	5 kGy	10 kGy	30 kGy
male	1130±382.4 ^a	1218±431.6	1429±294.3*	1368±543.3	1326±488.1	1439±339.2*
female	1322±311.3	1556±238.7	1597±565.6	1460±524.5	1712±555.7	1757±465.5*
total	1226±357.9	1387±384.3	1516±456.1*	1414±528.8	1513±549.2*	1550±488.8*

^aValues are mean(cm)±SD.

*Statistically different from vehicle control group (P<0.05).

Table 11. Hot plate test of F1 rats obtained from dams administered orally with γ -irradiated or EO treated ginseng during peri- and postnatal period

	Vehicle control	Ginseng				
		Control	EO	5 kGy	10 kGy	30 kGy
male	21/21 ^a	19/19	17/17	18/19	11/16	18/18
female	20/21	17/19	16/18	13/19	9/15	14/18
total	41/42	36/38	33/35	31/38	20/31	32/36
(%)	(97.6)	(94.7)	(94.2)	(81.6)	(64.5)	(88.9)

^aNo. of animals showing positive response/ No. of total animals examined.

다. 용매대조군의 평균운동량에 비해 EO 인삼군, 10 kGy 인삼군, 30 kGy 인삼군의 운동거리가 유의하게 증가하였다(Table 10). 핫플레이트 시험 결과, 용매대조군은 97.6%의 양성율을 나타내었으며 인삼대조군과 EO 인삼군이 각각 94.7%, 94.2%로 용매대조군수준의 양성율을 보였다. 그러나, 5 kGy, 10 kGy, 30 kGy 인삼군은 조사량에 따라 각각 81.6%, 64.5%, 88.9%의 양성율을 보여 용매대조군에 비해 다소 저하된 경향을 나타내었고, 10 kGy 인삼군의 경우 용매대조군에 비해 유의적인 차이를 보였다(Table 11). 수동회피반응검사를 실시하여 시작시점 또는 소리 자극 개시 이후 동물이 회피할 때까지 측정된 시간을 비교

Table 12. Passive avoidance test in shuttle reflex system of F1 rats obtained from dams administered orally with γ -irradiated or EO treated ginseng during peri- and postnatal period

	Vehicle control	Ginseng				
		Control	EO	5 kGy	10 kGy	30 kGy
from start	23.1±21.46 ^a	26.1±31.23	21.1±7.35	19.7±5.23	19.1±6.83	20.9±7.45
from light	13.7±7.48	15.8±12.58	13.6±7.10	11.2±4.25 [†]	9.9±5.40 [†]	15.3±11.13
from sound	5.8±4.14	7.0±4.98	6.6±4.76	5.8±3.87	5.3±4.54	6.1±4.73
from shock	1.7±1.65	2.4±2.20	2.0±1.88	2.6±2.75	2.1±2.30	3.0±4.04 [*]

^aValues are mean(second)±SD.

^{*}Statistically different from vehicle control group (P<0.05).

[†]Statistically different from control group (P<0.05).

Table 13. Water T maze performance time of F1 rats obtained from dams administered orally with γ -irradiated or EO treated ginseng during peri- and postnatal period

		Vehicle control	Ginseng				
			Control	EO	5 kGy	10 kGy	30 kGy
1st day	male	20±8.5	34±20.9 [*]	19±7.3	17±10.1	15±6.8	15±9.0
	female	19±6.0	17±11.0	13±10.3	18±12.8	17±9.2	18±11.2
	total	19±7.2	26±18.4	16±9.1 [†]	18±11.2 [†]	16±8.0 [†]	16±10.1 [†]
2nd day	male	20±11.6 [†]	36±22.6 ^{*†}	26±15.8	21±14.1 [†]	24±12.4	21±11.5 [†]
	female	21±9.9	36±21.4 [*]	21±20.3	13±7.4	19±9.6	17±14.7
	total	21±10.5	36±21.5 [*]	23±17.9	19±11.0	22±11.1	19±13.0
3rd day	male	20±10.8 [†]	36±18.7 [*]	21±15.9	19±16.1 [†]	27±18.3	20±10.5
	female	31±23.7	30±13.3	26±22.1	13±7.4 ^{*†}	19±13.6	21±13.8
	total	25±18.8	33±16.1	24±18.9	16±12.5 [†]	23±16.2	21±11.9 [†]
4th day	male	20±7.7	35±17.0 [*]	22±11.0	19±11.4	22±11.3	19±8.3
	female	24±9.1	28±13.4	20±14.4	16±6.8 [†]	18±7.0	19±9.1
	total	22±8.4	31±15.4 [*]	21±12.5	17±9.2	20±9.3	19±8.5

^aValues are mean(second)±SD.

^{*}Statistically different from vehicle control group (P<0.05).

[†]Statistically different from control group (P<0.05).

한 결과(Table 12), 용매대조군과 인삼대조군과의 유의적인 차이를 보이지 않았다. 빛자극에 대한 수동회피반응시간은 5 kGy, 10 kGy 인삼군에서 용매대조군에 비해 유의적으로 감소하였으며, 전기자극에 대한 수동회피반응시간은 30 kGy 인삼군에서 용매대조군에 비해 유의적으로 증가하였다. 수미로시험을 총 4일간 실시하여 목표지점까지 도달한 시간을 측정하여 일별로 Table 13에 표시하였다. 목표지점을 찾아내어 탈출하는데 소요된 시간이 인삼대조군의 경우, 적응기인 1일째부터 4일째까지 계속해서 용매대조군보다 유의하게 늦은 성적을 보였으나, EO 인삼군 및 방사선조사인삼군의 경우 용매대조군에 비해 유의한 차이를 보이지 않았다.

생후 4일째 산자조정시 또는 생후 21일째 이유 후 도태산자, 청각검사 및 로타로드검사(생후 28일령), 동공반사 및 자발운동량검사(생후 35일령), 핫플레이트검사 및 수동회피반응검사(생후 42일령), 수미로 검사(생후 70일령)가 끝난 차산자를 부검한 결과 인삼투여군에서 약물에 대한 영향으로 인정되는 병리·해부학적 소견이 관찰되지 않

았다.

IV. 고 찰

방사선조사 인삼을 Wistar계 랫드 임신모체에 임신 17일부터 분만후 21일까지 방사선조사량별로(5 kGy, 10 kGy, 30 kGy) 강제경구투여하여 방사선조사 인삼투여가 모체의 임신기간, 분만, 포육행동 및 차산자의 성장, 발육, 기능발달 등에 미치는 영향을 검토하였다.

모체동물의 일반증상, 임신기간, 체중, 사료섭취량, 부검소견, 절대 및 상대 장기중량에 있어서 시험물질 투여에 기인한 것으로 사료되는 변화는 일어나지 않았다. 교미확인된 모체 중 정상분만이 되지 않은 모체가 용매대조군, 5 kGy 인삼군, 10 kGy 인삼군, 30 kGy 인삼군에서 각 2, 1, 1, 1수가 관찰되었으나, 분만하지 않은 모체의 발현율이 낮아 자연적인 발생을 범위로 생각되며, 용량상관성이 관찰되지 않아 방사선조사 인삼의 영향으로는 판단되지 않았다. 사료섭취량은 임신기간 중에는 EO군이 임신 0~6

일, 5 kGy 인삼군이 임신 0~6, 14~15, 10 kGy 인삼군이 임신 0~6일, 30 kGy 인삼군이 0~13일에 사료섭취량이 유의적으로 증가하였으나, 전부 투여 시작(임신 16일)전에 증가한 군으로 투여와는 관련이 없는 일시적인 증가로 사료되었다. 5 kGy 인삼군이 임신 18~19일, 분만후 1~13일에 유의적으로 감소하였으나, 사료섭취량의 변화와 관련하여 체중 변화가 관찰되지 않았고, 방사선량이 큰 10, 30 kGy 인삼군에서도 사료섭취량의 유의적 감소가 나타나지 않았고, 분만후 14일 이후부터는 회복되는 추세를 보여 방사선 조사인삼의 투여에 의한 영향이 아닌 일시적인 변화로 사료되었다. 이유 후 모체 부검시, 30 kGy 인삼군의 좌측 신장의 절대 및 상대중량이 용매대조군에 비해 유의적인 차이를 보였으나, 이외의 군에서 다른 장기의 유의한 절대 및 상대중량의 변화는 인정되지 않았으며, 방사선 조사인삼 투여와 관련한 병리해부학적 소견이 관찰되지 않아 약물투여와 관련이 없는 것으로 판단된다. 다른 생식독성시험에서 나타난 결과와 비교할 때 좌측신장의 절대 및 상대중량 증가 원인에 대해서는 알 수 없었지만 유의할 만한 의미는 없는 것으로 생각된다.

차산자의 분만시 및 발육기간동안 약물 투여와 관련한 외형이상 및 일반증상은 관찰되지 않았다. 차산자의 신체 발육변화(이개기전, 안검개역, 절치맹출, 정소하강, 질개구), 반사기능(정향반사, 부주지성, 청각검사, 동공반사), 로타로드 검사 및 수미로 검사 결과, 용매대조군과 유의적인 차이를 보이지 않아 방사선조사 인삼투여가 영향을 미치지 않는 것으로 사료되었다. 자발운동량 측정 결과, 용매대조군의 평균 운동거리에 비해 EO 인삼군, 10 kGy 인삼군, 30 kGy 인삼군이 유의하게 증가하였다. 인삼대조군을 포함한 모든 인삼투여군의 자발운동량이 전반적으로 증가하여 방사선조사나 EO 처리에 의한 영향으로는 사료되지는 않으나 인삼투여에 의한 영향인지는 계속적으로 조사할 필요성이 있는 것으로 생각된다. 핫플레이트 검사시 용매대조군에 비해 양성율이 10 kGy 인삼군의 경우 유의적으로 감소하였으나, 30 kGy 인삼군에서 회복되는 등 용량 의존성이 관찰되지 않아 방사선조사 인삼 투여에 의한 것

으로는 판단되지 않았다. 수동회피반응시험에서 빛 자극에 대한 회피반응이 인삼대조군에 비해 5 kGy, 10 kGy 인삼군이 유의적으로 빠르게 나타났으나, 최고 방사선조사선량인 30 kGy 인삼군의 경우 인삼대조군과 유의한 차이를 보이지 않아 방사선 조사선량에 의한 영향으로는 판단되지 않았다. 전기충격 자극에 의한 수동회피반응시 용매대조군에 비해 30 kGy 인삼군이 유의적으로 빠르게 반응하였으나, 동물의 개체차가 커 정확한 비교가 되지 않았으나 유의할 만한 의미는 없는 것으로 판단된다.

본 연구에서는 방사선조사 인삼의 안전성을 확보하기 위하여 특정 병원체 부재(SPF) Wistar계 랫드를 이용하여 방사선 5 kGy, 10 kGy, 30 kGy 조사한 인삼과 EO 훈증처리한 인삼을 암컷의 임신 후기를 포함한 주산·수유기간(임신 16일부터 분만후 21일까지)동안 투여하여, 모체의 체중, 사료섭취량, 분만, 수유에 미치는 영향과 차산자의 신체발육, 반사기능 및 감각 정동성, 운동성, 학습기능검사 등의 행동발달에 미친 영향을 검색한 결과, 방사선 조사인삼투여에 의한 영향으로 사료되는 이상이 관찰되지 않았다.

감사의 글

본 연구는 과학기술처에서 시행한 특정연구개발사업의 연구비로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Ahmed, M. (1991): Food irradiation. "Up-to-date status". Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture, IAEA 666F, Vienna.
- WHO (1981): Wholesomeness of irradiated food. A report of joint FAO/ IAEA/WHO expert committee, Technical Report Series-659, 7.
- 국립보건안전연구원 (1988): 의약품등의 독성시험기준.
- 국립보건안전연구원 (1993): 독성시험표준작업지침서.
- 식품의약품안전청 (2000): 식품공전.