



Research Article

Effect of cultivation conditions, maturity stage, and harvest time on ergothioneine content of *Gastrodia elata* rhizome

천마의 재배조건, 성숙단계 및 수확 시기가 ergothioneine 함량에 미치는 영향

Hyun Jin Choi¹, Ye Seul Kwon^{1,2}, Ji Su Lee², Young-Hoi Kim², Yong-Suk Kim¹, Chang Su Kim³, Han-Seok Choi^{2*}

최현진¹ · 권예슬^{1,2} · 이지수² · 김영화² · 김용석¹ · 김창수³ · 최한석^{2*}

¹Department of Food Science and Technology, Jeonbuk National University, Jeonju 54896, Korea

²Major of Agriculture and Fisheries FoodTech, Korea National University of Agriculture and Fisheries, Jeonju 54784, Korea

³Jeonbuk State Agriculture Resarch & Extention Services, Iksan 54591, Korea

¹전북대학교 식품공학과, ²한국농수산대학교 농수산푸드테크전공, ³전북특별자치도농업기술원

Abstract This study aimed to develop a robust analytical method for quantifying ergothioneine (ERG) in the rhizome of *Gastrodia elata* using high-performance liquid chromatography with a photodiode array detector (HPLC-PDA) and to evaluate the effects of the extraction method, cultivation type, maturity stage, and harvest time on ERG content. The method exhibited excellent linearity over the range of 1.953-250 µg/mL, with limits of detection (LOD) and quantitation (LOQ) of 4.12 and 12.48 µg/mL, respectively. ERG levels were consistently higher in rhizomes cultivated in indoor facilities compared with outdoor fields, regardless of maturity stage. Among plant parts, the flower bud contained significantly greater ERG concentrations than the cortex or epidermis, indicating a distinct distribution pattern. Seasonal variation was also evident; autumn (October)-harvested samples (0.40±0.03 mg/g DW) contained approximately 1.6-fold higher ERG than those harvested in spring (April) (0.25±0.04 mg/g DW). These findings demonstrate that cultivation under controlled indoor conditions and harvesting in autumn can substantially enhance ERG level in *G. elata* rhizome. The established HPLC-PDA method provides a sensitive and reliable approach for ERG quantification and can serve as a valuable tool for quality control, functional food development, and the optimization of cultivation practices aimed at maximize ERG content.

Keywords *Gastrodia elata* rhizome, ergothioneine, HPLC-PDA, cultivation condition, harvest time



OPEN ACCESS

Citation: Choi HJ, Kwon YS, Lee JS, Kim YH, Kim YS, Kim CS, Choi HS. Effect of cultivation conditions, maturity stage, and harvest time on ergothioneine content of *Gastrodia elata* rhizome. Food Sci. Preserv., 33(2), 293-302 (2026)

Received: September 03, 2025

Revised: October 01, 2025

Accepted: October 03, 2025

***Corresponding author**

Han-Seok Choi

Tel: +82-63-238-9321

E-mail: coldstone@korea.kr

Copyright © 2026 The Korean Society of Food Preservation. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. 서론

에르고티오네인(L-ergothioneine, ERG)은 필수 아미노산류 중의 하나인 히스티딘에서 유래하는 함황 아미노산(2-mercaptohistidine trimethylbetaine)으로서 1909년에 맥각균(*Claviceps purpurea*)에서 처음으로 발견되었다(Borodina 등, 2020). 천연에서 발견된 이후로 이 아미노산의 생리적 활성 및 인체 생리·대사에 미치는 영향에 관한 많은 연구가 수행되었으며, 대표적인 생리활성은 항산화 활성으로 체내에서 활성산소를 제거하여 세포의 손상을 방지하는 효과이다. 이외에도 에너지 대사 촉진, 백내장 예방, 항염증, 해독, 뇌 기능 개선 및 인지기능 저하 억제, 피부 개선 효과 등 다양한 생리활성을 지닌 것으로 알려져 있다(Fu와 Shen, 2022; Halliwell 등, 2023; Park 등, 2010; Tsai와 Shen, 2019; Wu 등, 2023; Zhong 등, 2025). ERG는 인체나 동물 자체적으로 생합성 하지 못하고

외부로부터 공급받아야 하는 아미노산으로, 다양한 건강 효과를 지니고 있다는 것이 밝혀져 현재 건강보조식품 및 화장품 첨가제로 널리 이용되고 있다(Zhang 등, 2025).

한편, 식물체에도 미량이지만 ERG가 함유되어 있으며 그 중에서도 천마(*Gastrodia elata* Blume)의 근경에 다량 함유된 것으로 알려져 있는데(Kim과 Park, 2013; Park 등, 2010), 천마는 난초과(Orchidaceae)에 속하는 음지성 식물로, 비록 고등 식물이지만 엽록소가 없기 때문에 광합성을 하지 못하므로 뽕나무버섯균과 공생하면서 그로부터 영양분을 공급받아 성장한다(Liu 등, 2024; Park 등, 2010; Wu 등, 2023). 천마 근경은 한국과 중국에서 전통적으로 고혈압, 두통, 현기증, 경련, 진통, 진정 및 뇌전증과 같은 뇌 신경성 질환 치료 및 개선을 위한 생약재로 이용되어 왔다(Jang 등, 2015; Matias 등, 2016; Tsai 등, 2011; Wu 등, 2023). 최근의 임상 연구결과에서도 천마 근경이 강한 항산화 활성(Cheah와 Halliwell, 2012; Kim 등, 2014; Wijesekara 등, 2024; Wu 등, 2023; Zhong 등, 2025), 알츠하이머, 간질, 경련, 뇌경색증, 고혈압, 치매 등 뇌신경 보호 및 뇌 기능 개선 효과(Ahn 등, 2007; Matias 등, 2016; Zhan 등, 2016; Zhong 등, 2025) 뿐만 아니라 항불안, 기억력 향상 및 항치매 효과(Chen과 Sheen, 2011; Huh 등, 1998; Jung 등, 2007; Zhong 등, 2025)를 지니고 있다는 것이 밝혀졌다. 천마의 다양한 생리활성은 이 식물에만 특징적으로 존재하거나 다른 식물에 비해 함량이 높은 생리활성 성분과 밀접하게 관련되며, 대표적인 성분으로 gastrodigenin이라고도 하는 4-hydroxybenzyl alcohol (4-HBA)와 4-HBA의 배당체인 parishin A (tris[4-(β-D-glucopyranosyloxy)benzyl]citrate), B, C, D, E, gastrodin [4-(β-D-glucopyranosyloxy)benzyl alcohol] 이외에도 ERG 및 vanillyl alcohol 등이 있다(Chen 등, 2016; Lin 등, 1996; Matias 등, 2016; Taguchi 등, 1981; Wang 등, 2007; Zhan 등, 2016). 특히 ERG는 천마의 주요 생리활성 성분 중 하나이며, 이는 천마 자체에서 생합성되는 2차 대사산물이 아니라 천마와 공생관계에 있는 뽕나무버섯균에서 생성되어 천마로 전이되는 것으로 알려져 있다(Park 등, 2010). 따라서 천마의 ERG 함량은 공생관계에 있는 뽕나무버섯균의 생육 상태나 천마의 생육환경, 수확 시기 등에 따라 많은 영향을 받는다(Jiang 등, 2025; Kim과 Park, 2013; Kim 등, 2018; Kim 등, 2025). 국내에서 생산된 천마의 ERG 함량과 관련하여 Park 등(2010)은 한국 3개 지역에서 수집된 천마의 ERG 함량을 조사한 결과, 생산 지역에 따라 많은 차이가 있었다고 보고하였고 Kim과 Park (2013)도 생산지역 뿐만 아니라 근경의 크기에 따라 ERG 함량 차이가 있었다고 보고하였다.

천마는 원래 자연에서 자생하는 것을 채취하여 이용하여 왔으나, 최근 생육환경 변화와 과도한 채취로 인해 자연산은 거의 자취를 감추었다. 이후 인공재배 기술이 개발되어 농가에 보급되었으며, 현재 시판 천마의 대부분은 노지(outdoor field)에서

재배한 것이다. 그러나 기상환경 변화와 무성 번식에 따른 종균의 퇴화, 연작 장애로 인한 수량 감소 및 품질 저하로 인해 새로운 천마 재배기술 개발의 필요성이 대두되어 왔다. 이에 따라 최근에는 천마의 안정적 생산 및 품질향상을 위하여 생육환경을 적정조건으로 조절할 수 있는 시설재배법(indoor facility)이 개발되어 농가에 보급되고 있으나, 시설재배와 노지재배 천마의 생리활성 성분 조성 및 생리활성 차이에 대한 정보는 매우 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 천마에서 HPLC법에 의한 ERG의 분석법을 설정하고 ERG의 추출방법, 재배방식(노지 및 시설재배), 생육기간(maturity stage) 및 부위별로 구분하여 ERG 함량을 분석한 다음 이를 토대로 천마 재배법의 개선과 건강기능식품 원료로서의 활용 증대를 위한 기초자료를 제공하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 천마시료의 생산

천마의 시설재배는 2022년부터 2025년까지 전북특별자치도 농업기술원 자원식물연구소(전북 진안군 진안읍)에서 수행하였고 노지재배는 전북 무주군 안성면에서 수행하였다. 시설재배 천마는 2022년 4월에 정식하여 2024년 봄철(4월)과 가을철(10월)에 수확하였고 2023년 4월에 정식한 개체는 2년 경과 후인 2025년 4월에 수확하였다. 노지재배는 무주군 안성면의 3개 농가에서 2023년 4월에 정식하였으며, 동일하게 2년 경과 후인 2025년 4월에 수확하였다. 2025년 4월에 수확한 시설재배 및 노지재배 천마는 근경의 크기와 꽃눈(화아)의 생성 여부에 따라 성마(mature rhizome)와 자마(immature rhizome)로 구분하였다(Kim 등, 2018). 성마는 Fig. 1에서와 같이 꽃눈이 형성되어 있고 평균 무게는 약 60.5±8.3 g(길이 13.2 cm×직경 3.2 cm)이었으며, 자마는 꽃눈이 형성되지 않은 것으로서 무게는 16.2±5.2 g(길이 9.1 cm×직경 1.7 cm)이었으며, 본 연구에 사용된 시료의 세부 명세는 Table 1과 같다.

시설재배 실험을 위하여 비가림 시설(폭 4.8 m×길이 7.5 m×높이 5.5 m)을 설치한 다음 0.1 mm 두께의 polyethylene (PE) 필름으로 피복하였고 6월 하순부터 9월 하순까지 햇빛을 차단할 수 있는 차광막(95% 차광)을 설치하였다. 천마 정식은 일정 크기(폭 32 cm×길이 44 cm×높이 18 cm)의 상자에 5개의 배수 구멍(30 cm)을 뚫어 사용하였다. 재배원목은 건조한 참나무(직경 10-12 cm×길이 20 cm)를 상자당 2개씩을 넣고 한병당(1 L) 8조각으로 절단한 뽕나무버섯 종균을 상자당 4 조각씩 접종한 후에 배양토를 10 cm 두께로 복토하였다. 배양토는 피트모스와 펄라이트를 7:3(v/v) 비율로 혼합하여 사용하였고, 복토 후 포화관수하였다. 배양토 수분관리는 괴경형성기에는 -30 kPa, 괴경비대기는 -50 kPa로 유지하였고 재배시설내 온도는 균사 활착기(20±1°C), 괴경형성기(25±1°C), 괴경비대기(15±1°C) 및

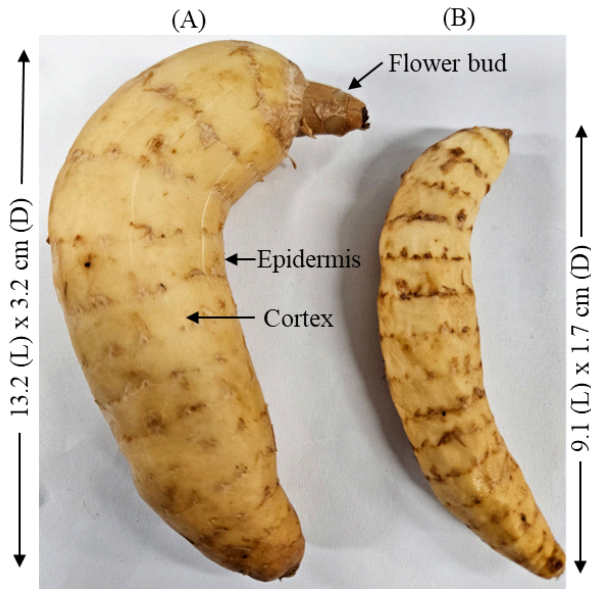


Fig. 1. Morphology of mature (A) and immature (B) rhizomes of *G. elata*. Average weight per piece: A, 60.5±8.3 g (n=10); B, 16.2±5.2 g (n=10).

휴면기(5±1°C)로 구분하여 조절하였다. 노지재배는 2022년 상반기에서 2025년 상반기까지 전북 무주군 안성면의 무작위로 선정한 3개 농가에서 수행하였다. 천마의 종마는 2023년 4월에 정식하여 이듬해 10월에 수확하는 방식으로 하여 재배지는 이랑 폭 100 cm, 두둑 높이 50 cm, 고랑 폭은 90 cm로 하였다. 정식을 위한 종마(개당 10-20 g)는 무주군 안성면의 농가에서 재배한 것을 선별하여 단위(10 a)당 120-150 kg씩 정식하였다.

재배 원목은 건조한 참나무(직경 12-15 cm×길이 30-35 cm)를 절단하여 두둑 당 5줄로, 단위(10 a)당 4,500-4,800개를 사용하였다. 뽕나무버섯 종균은 시설재배에 사용한 것과 동일한 것을 사용하였고 종균(*A. galica*)은 충청북도 옥천군 소재의 버섯 전문 연구소에서 입수하여 사용하였다. 노지재배지 실험을 위하여 선정한 3개 지역의 토성은 모두 사양토로서 유기물의 함량은 약 0.5%의 수준이었고 토양산도는 pH 5-6 범위이었다. 또한 노지재배 지역(무주)의 여름철 평균온도(6-8월)는 29.9°C, 겨울철 온도(12-2월)는 -13.9°C 및 생육기 평균온도(4-11월)는 17.6°C이었다(Tak 등, 2025). 기타 재배지 관리는 이미 보고된 방법(Kim 등, 2017; Kim 등, 2018)에 준하여 실시하였다.

2.2. 시료 준비

수확한 각각의 시료는 외부 상처나 부패 부위가 없는 것만을 골라 충분히 세척 후 -80°C의 냉동실에서 보관하면서 분석용 시료로 사용하였으며, 2025년도에 수확한 성마의 일부는 부위별 ERG의 함량을 조사하기 위하여 Fig. 1과 같이 뇌두(shoot), 외피(epidermis) 및 몸통 부위(cortex)로 구분하였다(Betekhtina 등, 2023). 모든 시료는 적당한 크기로 절단하여 동결건조(FD5508, IlshinBioBase Co., Dongducheon, Korea)한 다음 분쇄기(SFM-555SP, Shinil Industrial Co. Ltd., Eumseong, Korea)로 분쇄하여 -20°C의 냉동실에 보관하면서 사용하였다.

2.3. 시약

L-(+)-Ergothioneine (≥98.0%)은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)를 사용하였고, HPLC급의 methanol 및 acetonitrile은 Avantor Performance Materials Korea Limited (Suwon,

Table 1. List of *G. alata* rhizomes used in this study

No	Harvest year	Cultivation region	Cultivation method	Harvest time	Growth stage
1	2024	Jinan ¹⁾	Indoor facility	Spring	Mature
2	2024	Jinan	Indoor facility	Autumn	Mature
3	2025	Jinan	Indoor facility	Spring	Mature
4	2025	Muju ²⁾	Outdoor field-Y ³⁾	Spring	Mature
5	2025	Muju	Outdoor field-L	Spring	Mature
6	2025	Muju	Outdoor field-K	Spring	Mature
7	2025	Jinan	Indoor facility	Spring	Immature
8	2025	Muju	Outdoor field-Y	Spring	Immature
9	2025	Muju	Outdoor field-L	Spring	Immature
10	2025	Muju	Outdoor field-K	Spring	Immature

¹⁾Medicinal Resource Research Institute under Jeonbuk Agricultural Research and Extension Services, Jinan-gun, Jeonbuk.

²⁾Ansung-myun, Muju-gun, Jeonbuk.

³⁾Outdoor field Y, L and K are symbols for each farm.

Korea)에서 구입하여 사용하였다. Deionized water는 Human water purification system type II (Seoul, Korea)로 제조하여 사용하였고 기타 시약은 대한과학(Wonju, Korea)에서 구입한 분석용 시약급을 사용하였다.

2.4. 추출

동결건조 분말 시료 0.2 g에 70% methanol 수용액 5 mL를 가하고 상온에서 30분씩 2회 초음파 처리한 다음 원심분리기 (CR22N, Eppendorf Himac Technologies Co., Ltd., Tokyo, Japan)로 원심분리(5,000 ×g, 15분)하였다. 이어서 상등액의 일부를 0.45 μm microsyringe filter (nylon, Sartorius AG, Gottingen, Germany)로 여과한 후 high-performance liquid chromatography (HPLC)법으로 분석하였다. 또한 추출용매의 영향을 조사하기 위하여 시료에 물, 에탄올 또는 농도를 달리한 에탄올 수용액(30-70%)을 25배씩 가하고 위에서와 같은 방법으로 추출하여 분석에 사용하였다.

2.5. HPLC 분석

HPLC 분석은 Waters 2690 separation module, Waters 996 photodiode array detector (PDA)로 구성된 HPLC system (Waters, Milford, MA, USA)을 사용하였다. 분석용 column은 Gemini C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 3 μm, 110 Å; Phenomenex, Inc., Torrance, CA, USA)을 사용하였고, Kalaras등(2017)의 방법을 참고하여 이동상 A 용매는 0.1% triethanolamine과 3% acetonitrile을 함유하는 50 mM sodium phosphate (dibasic) 용액, B는 acetonitrile 그리고 C는 deionized water를 사용하였고 이동상 구배는 A:B:C=0:15:85(% , v/v, 0분), 5:15:80(0-5분), 0:10:90(5-6분), 0:3:97(6-8분), 0:3:97(8-15분)으로 하였다. 또한 ERG의 peak는 photodiode array detector (PDA)를 사용하여 254 nm에서 검출하였다.

2.6. 분석법 검증

HPLC에 의한 천마에서 ERG의 분석법 검증을 위하여 ICH 가이드라인(ICH, 2023)에 따라 직선성(linearity), 검출한계(LOD), 정량한계(LOQ), 회수율(recovery), 일내(intra-day) 및 일간정밀도(inter-day precision)를 측정하였다. ERG의 검량선 작성을 위하여 먼저 표준품을 사용하여 stock solution (1,000 μg/mL)을 조제한 다음 이를 사용하여 연속희석법(serial dilution method)으로 0.9766 μg/mL까지 희석하여 분석하였으며 표준 물질의 peak area와 농도를 변수로 검량선을 작성하고 직선성의 결과는 결정계수(coefficient of determination, R²)로 표현하였다. 검출한계는 3.3×σ/s, 정량한계는 10×σ/s (σ: standard deviation, s: slope) 식을 이용하여 계산하였다. 또한 일내 및 일간 정밀도 시험은 동일 농도(125 μg/mL)의 ERG를 사용하여

수행하였으며, 일내 정밀도는 하루 5회 반복 측정한 결과이고 일간 정밀도는 5일 동안 하루에 5회 반복 측정한 결과의 상대 표준편차(relative standard deviation, RSD %)를 측정하여 평가하였다. 회수율 시험은 ERG 용액(1,000 μg/mL)을 사용하여 시료 0.2 g에 대하여 50, 100 및 200 μg (250, 500, 1000 μg/g DW)의 농도가 되도록 각각 첨가하고 5 mL가 되도록 70% 메탄올 수용액을 추가한 후 위와 동일한 방법으로 추출한 다음 HPLC로 분석하였으며 별도의 언급이 없는 한 모든 실험은 3회 반복의 평균값±표준편차(mean±standard deviation, SD)로 표시하였다.

2.7. 통계분석

통계분석은 SPSS software (ver. 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 사용하여 수행하였다. 두 그룹 간 비교는 Student's t-test를 이용하였고, 세 그룹 이상 간의 비교는 일원분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였으며, 유의한 차이가 나타난 경우 Duncan's multiple range test를 적용하여 p<0.05 수준에서 유의성을 검정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. HPLC-PDA법에 의한 ERG 분석법 검토

ERG는 분자구조 내에 carboxyl기와 thiol기를 지니고 있어 강한 극성을 나타내는 화합물로서 천연물 중에서는 버섯류의 균사체에 많이 함유되어 있다(Dubost 등, 2007; Halliwell 등, 2023; Tsiantas 등, 2012; Sapozhnikova 등, 2014). 동물은 이 아미노산을 생합성하지 못하기 때문에 동물 조직에서 발견되는 ERG는 식이를 통해 흡수된 것으로 알려져 있다(Amaranthus, 2023; Liu 등, 2023). 곡류나 야채류 및 과일류에서도 ERG가 미량 함유되어 있지만, 그중에서도 양적으로 많이 함유된 식물체는 천마의 근경이다. 천마에 존재하는 ERG 역시 자가합성이 아니라 공생관계에 있는 뿌나무버섯균으로부터 전이된 것으로 알려져 있다(Kim과 Park, 2013; Park 등, 2010). 그러나 버섯류에서 ERG의 분석법이나 함량 분석에 관한 연구결과는 다수 보고되어 있지만 천마에서 ERG 함량에 대한 보고는 매우 드문 편이다. 본 실험에서 HPLC-PDA법에 의한 천마에서 ERG의 분석을 위해 문헌에 보고된 여러 가지 분석조건(컬럼 및 이동상의 종류, 이동상의 구배조건 등)을 검토한 결과 천연물에서 성분분석 시에 많이 사용되는 입자크기가 5 μm인 역상(C₁₈) 컬럼보다는 동일한 길이와 내경(460 mm×4.6 mm)이면서 입자크기가 3 μm인 컬럼을 사용하고, 재료 및 방법에서와 같이 3 용매계를 적용하였을 때 ERG와 함께 검출되는 다른 성분(matrix)에 의한 간섭을 최소화하면서 ERG를 검출할 수 있었다. 이 조건에서 천마 70% 메탄올 추출물에서는 ERG 표준품과 머무름시

간이 일치하는 peak가 검출되었으며, UV profile에서도 각각 λ_{\max} 257.1 nm로 표준품 ERG와 흡수 파장이 일치하였다(Fig. 2). 분석법의 유효성을 검증하기 위하여 ERG 표준품을 사용하여 검량선을 작성하였을 때 회귀식은 $y=55237x-21674$ 로 나타났고 R^2 값은 0.9998로서 우수한 직선성을 보였으며 직선범위(linear range)는 1.953-250 $\mu\text{g/mL}$ 이었다(Table 2). 또한 검출한계(LOD)와 정량한계(LOQ)는 각각 4.12 $\mu\text{g/mL}$ 및 12.48 $\mu\text{g/mL}$ 이었고 일내시험(intra-day)과 일간시험(inter-day) 결과에서는 각각 2.00 $\mu\text{g/mL}$ 과 1.68 $\mu\text{g/mL}$ 으로서 5% 이내의 상대표준편차(RSD %) 값을 나타내어 우수한 정밀성을 나타내었다. 정확성 검증을 위하여 시료에 ERG 표준품을 각각 250, 500 및 1,000 $\mu\text{g/g}$ 을 첨가한 후 분석한 결과 회수율은 98.23-102.95% 범위 이었고 상대표준편차는 5% 이하였다.

3.2. 추출용매의 영향

천마에서 ERG의 추출 효율을 비교하기 위해 물, 물-에탄올의 혼합액 및 70% 메탄올을 사용하여 건조한 천마를 추출한 결과는 Fig. 3과 같다. 추출용매 중에서는 70% 메탄올 추출물에서 ERG의 함량이 0.37 ± 0.02 mg/g DW로 가장 높았으며, 물 추출물에서는 0.34 ± 0.02 mg/g, 30-70%의 에탄올 수용액에서는 0.29 ± 0.02 - 0.32 ± 0.01 mg/g DW 그리고 100% 에탄올 추출물에서는 0.20 ± 0.01 mg/g이었다. 그러나 천마를 식품이나 약용으로 활용할 추출물을 제조하는 데 있어 메탄올은 사용할 수 없으므로, 실제 적용을 고려하면 물 및 에탄올(주정) 추출만이 가능하다. 이 경우 물과 30-50% 범위의 에탄올에 의한 추출물($0.32\pm$

Table 2. Validation parameters of HPLC-PDA for analysis of ergothioneine in *G. elata* rhizome

Parameter	Value
Regression equation	$y=55237x-21674$
Coefficient of determination (R^2)	0.9998
Linear range ($\mu\text{g/mL}$)	1.953-250
LOD ¹⁾ ($\mu\text{g/mL}$)	4.12
LOQ ²⁾ ($\mu\text{g/mL}$)	12.48
Precision	SD (RSD%)
Intra-day	2.00 (1.64)
Inter-day	1.68 (1.37)
Spike amount ($\mu\text{g/g DW}^3$)	Recovery (%), Mean \pm SD)
1,000	98.23 \pm 2.58
500	99.68 \pm 2.68
250	102.97 \pm 2.48

¹⁾LOD, limit of detection; $\text{LOD}=3.3\times\text{standard deviation/slope}$.

²⁾LOQ, limit of quantitation; $\text{LOQ}=10\times\text{standard deviation/slope}$.

³⁾DW, distilled water.

0.01 - 0.33 ± 0.01 mg/g DW)에서는 유의적인 차이가 없었고, 70%-100% 에탄올 추출물은 추출 수율이 더 낮게 나타났다. 천마에서 추출용매에 따른 ERG의 추출율을 비교한 연구결과는 지금까지 보고된 바 없으나, Nguyen 등(2012)은 팽이버섯에서 ERG 추출에 대한 용매의 효과를 비교하였을 때 물이나 아세트

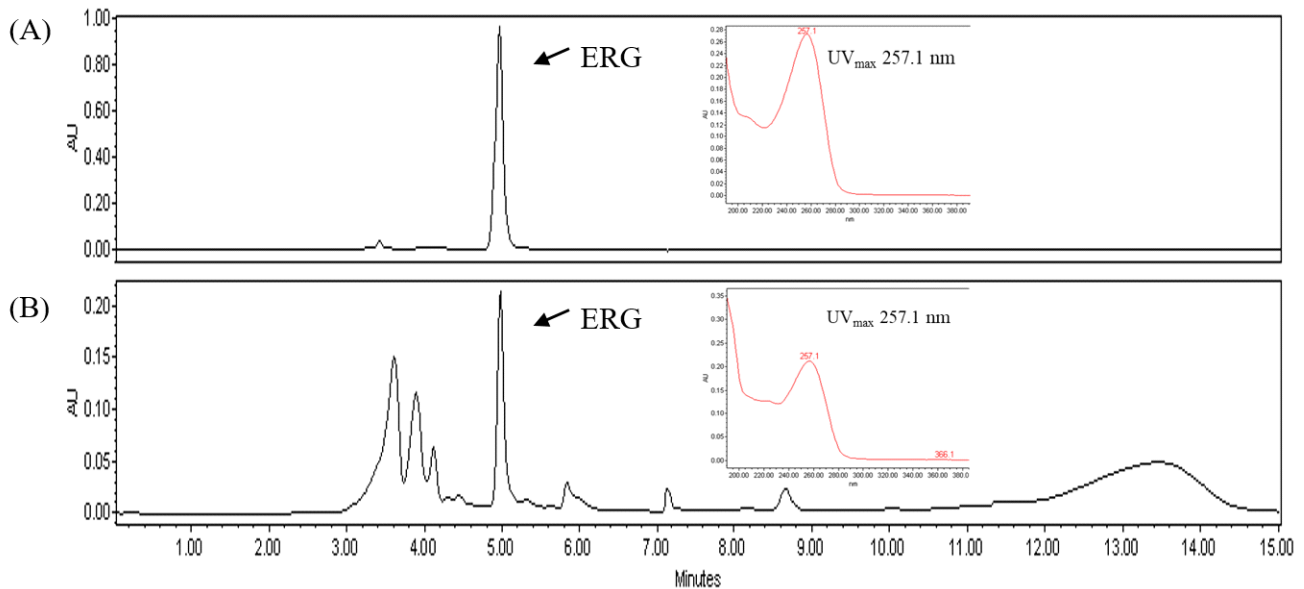


Fig. 2. Comparison of HPLC chromatogram (left) and UV profiles (right) with authentic ergothioneine and compound detected in *G. elata*. (A), standard ergothioneine; (B), 70% methanol extract of mature *G. elata* rhizome.

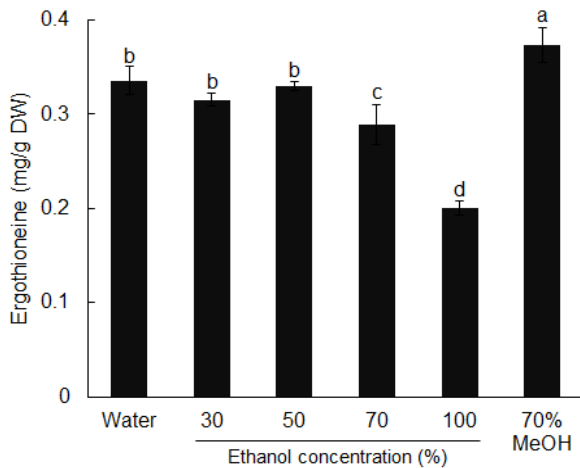


Fig. 3. Effect of different solvent extracts on ergothioneine content of *G. elata*. Values are mean±SD (n=3). Different superscript letters (a-d) on the bar indicate significant differences by Duncan’s multiple range test (p<0.05).

보다 에탄올 및 메탄올 추출이 효과적이며, 2종의 용매 모두 50-70% 수용액을 사용하는 것이 효과적이었다고 보고된 바 있고, Yen 등(2018)은 건조한 큰느타리버섯(*Pleurotus eryngii*)과 노랑느타리버섯(*P. citrinopileatus*)에서 사용 용매 및 추출방법에 따른 ERG의 추출효과를 비교하였을 때 열수(hot water)와 70% 에탄올로 추출하는 것이 가장 효과적이었으며, 추출방법으로서 마이크로파(microwave), 초음파(ultrasonic) 또는 고온증기(autoclaving)에 의한 추출방법보다 열수 또는 70% 에탄올로 추출하는 것이 효과적이라고 보고한 바 있다. 본 결과에서도 역시 이와 유사한 경향으로서 50-70% 에탄올로 추출하는 것이 효과적이었으나 천마를 열수로 추출하였을 때에는 시료에 함유된 전분이 호화되어 ERG의 추출을 방해하는 경향을 보였다.

3.3. 재배방식의 영향

천마는 엽록소가 없어 광합성을 하지 못하기 때문에 뿌나무버섯과 공생관계를 통해 영양분을 공급받는다. 따라서 천마의 ERG 함량은 공생균의 특성, 균사의 번식 정도, 재배방식 및 재배환경에 영향을 받을 수 있다. 이에 본 실험에서는 재배방식과 성숙 단계가 천마의 ERG 함량에 미치는 영향을 조사하였다. Fig. 4에서 보이는 바와 같이, 성마(성숙한 천마)의 경우 시설재배 천마에서 ERG 함량은 0.36±0.02 mg/g DW로 나타났으며, 3개 농가에서 재배한 노지재배 천마는 0.16±0.00-0.33±0.03 mg/g DW 범위이었다. 자마(미성숙한 천마) 역시 시설재배 (0.25±0.01 mg/g DW)가 노지재배(0.14±0.00-0.19±0.01 mg/g DW)보다 높았다. 본 실험에서 ERG의 검출한계(LOD)는 4.12 µg/mL(시료로 환산 시 0.10 mg/g)이고 정량한계(LOQ)는 12.48 µg/mL (0.31 mg/g DW)임을 감안할 때 대부분 시료의 분석값은

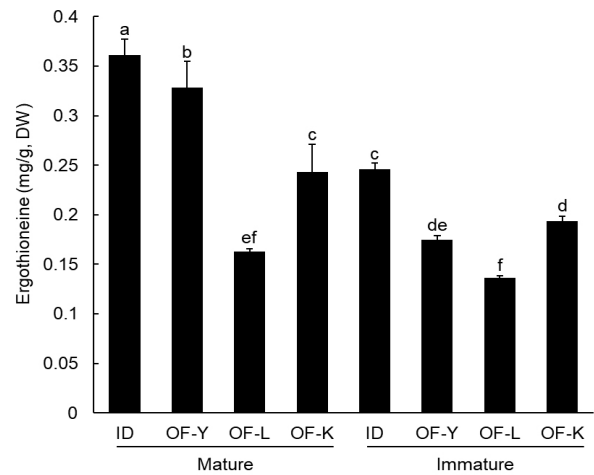


Fig. 4. Comparison of ergothioneine content in mature and immature *G. elata* cultivated in indoor facility and outdoor field. Values are mean±SD (n=3). Different superscript letters (a-f) on the bar indicate significant differences by Duncan’s multiple range test (p<0.05). ID, *G. elata* cultivated in indoor facility; OF-Y, L and K, *G. elata* cultivated in outdoor field (farms-Y, L and K).

검출한계 이상이었으나 일부 시료에서 분석값이 정량한계(LOQ)보다 낮았다. 이러한 원인은 시료의 실제 농도가 정량한계(LOQ)보다 낮거나 분석과정에서 발생한 노이즈(noise)가 분석값에 영향을 미치기 때문일 것으로 판단된다. 따라서 이에 대한 원인을 구명하기 위하여 시료와 용매 비율을 줄여 추출물 중의 ERG 농도를 높여 분석하는 등 추가 연구가 필요한 것으로 판단된다. 재배방식과 관련하여 Kim과 Park(2013)은 일반 노지재배와 비가림 시설에서 재배한 시료 간에 ERG 함량에서 유의적인 차이가 없었다고 보고하였으나 Kim 등(2017)은 노지재배보다 비가림 시설에서 재배한 천마에서 gastrodin과 vanillyl alcohol의 함량이 유의적으로 높았고 유의적인 차이는 아니지만 ERG의 함량도 비가림 시설에서 재배한 천마에서 높았다고 보고하였다. 동일 지역에서 재배된 노지 천마 간의 ERG 함량 차이는 기상 환경보다는 재배지역의 토양환경이나 토양 비옥도, 천마 근경에 뿌나무버섯균 균사체의 활착 정도의 차이(Carrara 등, 2023)에 기인했을 가능성이 크다. 또한 천마의 성마 및 자마에서 공통적으로 노지재배보다는 시설재배에서 ERG 함량이 높은 것은 시설재배가 해가림과 비가림을 통해 적정 온습도 및 토양조건을 조성하여 공생균인 뿌나무버섯균의 활착을 촉진함으로써 ERG가 천마 조직 내로 원활히 전이되었기 때문으로 생각된다.

3.4. 부위별 비교

천마는 2년의 생활주기를 가지고 있어 정식 후 2년이 경과하였을 때, 성마로 성장하여 근경 끝에 꽃눈을 형성하고 5-6월경

에는 꽃대가 나오게 되며 전통 한방에서는 천마의 지상부 역시 약용으로 이용되어 왔다(Wu 등, 2023). 식재 후 2년이 경과한 봄철에 수확한 성마를 피층(cortex), 표피(epidermis) 및 줄기로 성장하는 꽃눈 부위로 분리하여 ERG 함량을 분석한 결과, 시설재배 성마에서는 꽃눈 부위에서 0.53 ± 0.01 mg/g DW로 가장 높았으며, 표피(0.26 ± 0.02 mg/g DW), 피층(0.21 ± 0.03 mg/g DW)의 순이었다(Fig. 5). 또한 노지재배 시료의 경우 3개 농가 중 2개(outdoor-Y, outdoor-K)는 꽃눈, 피층, 표피의 순으로 나타났으나, 1개 시료(outdoor-L)는 피층에서 가장 높은 함량을 보였다.

천마 근경의 부위별 ERG 함량 차이에 대해서는 아직 보고된 바가 없으므로 직접적인 비교는 어려우나, 인삼의 경우 동체(main root)보다는 뇌두(rhizome) 부위에서 사포닌의 함량이 높은 것으로 알려져 있다(Ahn 등, 2008). 이러한 점을 고려할 때, 꽃눈 부위는 향후 유식물로 성장을 위해 필요한 영양소와 생리활성 성분을 축적하는 저장소로서 역할을 하기 때문일 것으로 판단된다.

3.5. 수확 시기별 비교

천마의 주요 생리활성물질인 4-HBA, gastrodin 및 parishin 유도체는 계절과 성장단계에 따라 조성 및 함량 차이를 보이는 것으로 알려져 있으며(Duan 등, 2025), ERG 역시 수확 시기에 따라 변동이 있을 가능성이 있다. 이를 확인하기 위해 동일한 시설에서 재배한 성마를 봄(4월)과 가을(10월)에 수확하여 ERG 함량을 분석한 결과, 봄철에는 0.25 ± 0.04 mg/g DW, 가을철에는 0.40 ± 0.03 mg/g DW로 가을 수확 시료에서 약 1.6배 높은

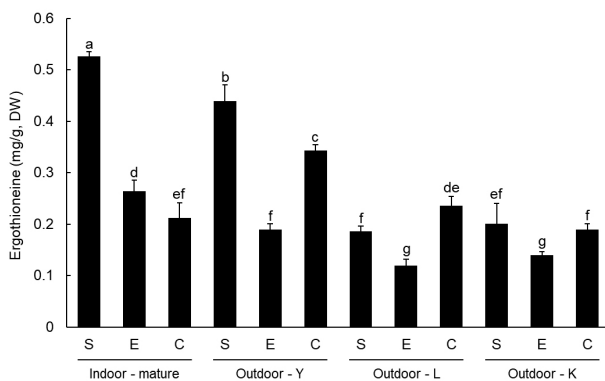


Fig. 5. Comparison of ergothioneine content in the different parts of mature *G. elata* cultivated in indoor facility and outdoor field. Values are mean \pm SD (n=3). Different superscript letters (a-g) on the bar indicate significant differences by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). Indoor-mature, shoot, epidermis and cortex parts of mature *G. elata* cultivated in indoor facility; Outdoor - Y, L, K, shoot, epidermis and cortex parts of mature *G. elata* cultivated in outdoor field (farms 1-3).

함량을 보였다(Fig. 6). Kim과 Park(2013)은 노지재배 천마를 대상으로 조사한 결과, 오히려 봄에 수확한 천마가 가을에 수확한 천마보다 1.7배 높은 ERG 함량을 나타내었다고 보고한 바 있다. 이는 ERG가 공생균인 뽕나무버섯 균사체에서 합성되어 천마로 전이되는 특성과 관련이 있으며, 균사의 생장이 활발한 여름과 가을에는 버섯으로부터 ERG 공급이 줄고, 균사 생장이 정지되는 겨울 동안 균사에 축적된 ERG가 봄에 천마로 이동했을 가능성을 제시하였다. 본 연구에서는 이와 다른 경향이 관찰되었는데, 이는 천마가 공생균과 복잡한 상호작용을 하며 환경 요인에도 민감하게 반응하는 특성에 영향을 받기 때문으로 판단된다. 특히 본 연구에서 수확 시기별 시료는 시설재배한 것이고 Kim과 Park(2013)의 시료는 노지재배한 것이었다는 점에서 재배방식의 차이가 결과 차이에 영향을 미쳤을 가능성이 있다. 따라서 ERG 함량의 수확 시기별 변동에 대해서는 공생균의 생육 상태, 기상 및 토양 환경, 재배방식 등을 종합적으로 고려한 추가 검토가 필요하다고 생각된다.

4. 요약

ERG는 천마 근경에 존재하는 아미노산으로, 공생균인 뽕나무버섯에서 합성되어 천마로 전달되는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 재배방식, 부위별, 수확 시기 등이 천마 근경의 ERG 함량에 미치는 영향을 분석하였다. 그 결과, 성마와 자마 모두에서 시설재배 시료가 노지재배 시료보다 유의적으로 높은 ERG 함량을 보였으며, 성마가 자마보다 더 높은 수치를 나타냈다. 동일 지역에서 재배한 노지 시료 간에도 차이가 확인되었는데, 이는 기상 조건보다는 재배 관리상의 차이에 기인한 것으로 판단된다. 부위별 비교에서는 꽃눈(화아)이 피층 및 표피보다 높은 함량을 보였고, 특히 시설재배에서 그 경향이 두드러졌다. 또한

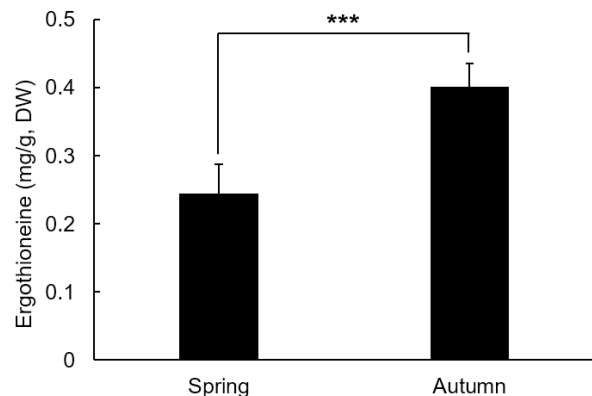


Fig. 6. Effect of harvest time on ergothioneine content of *G. elata* cultivated in indoor facility. Values are mean \pm SD (n=6). Statistically significant differences by Student's t-test (***) ($p < 0.001$).

수확 시기에 따른 차이도 뚜렷하게 나타나 가을 수확 시료에서 봄보다 높은 ERG 함량이 확인되었다($p < 0.001$). 이러한 결과는 시설재배가 공생균과 천마 생육에 적합한 환경을 제공하여 ERG 축적을 촉진할 수 있음을 시사한다. 또한, 천마 추출물은 최근 식품의약품안전처로부터 인지기능 개선에 도움을 주는 기능성 원료로 인정된 만큼, 본 연구는 안정적 생산과 기능성 소재 개발을 뒷받침하는 기초 자료로 활용될 수 있다. 그러나 연구 지역과 조건이 제한적이라는 점에서 다양한 재배 환경과 공생균 기작을 포함한 추가적인 연구가 필요할 것으로 예상된다.

Funding

This study was carried out with the support of the research program for “Development of regionally specialized crop technology” of Rural Development Administration, Republic of Korea (Project No.: RS-2025-05192968).

Acknowledgements

None.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflicts of interest.

Author contributions

Conceptualization: Kim CS, Choi HS. Methodology; Kim CS. Formal analysis: Choi HJ, Kwon YS, Lee JS, Kim YH. Writing - original draft: Choi HJ, Kim YH. Writing - review & editing: Kim YS, Choi HS.

Ethics approval

This article does not require IRB/IACUC approval because there are no human and animal participants.

ORCID

Hyun Jin Choi (First author)

<https://orcid.org/0000-0001-9586-0270>

Ye Seul Kwon

<https://orcid.org/0000-0002-2608-5108>

Ji Su Lee

<https://orcid.org/0009-0001-6286-5048>

Young-Hoi Kim

<https://orcid.org/0000-0001-6094-559X>

Yong-Suk Kim

<https://orcid.org/0000-0003-1331-4175>

Chang Su Kim

<https://orcid.org/0000-0002-0574-045X>

Han-Seok Choi (Corresponding author)

<https://orcid.org/0000-0001-6792-5620>

References

- Ahn EK, Jeon HJ, Lim EJ, Jung HJ, Park EH. Anti-inflammatory and anti-angiogenic activities of *Gastrodia elata* Blume. *J Ethnopharmacol*, 110, 476-482 (2007)
- Ahn IO, Lee SS, Lee JH, Lee MJ, Jo BG. Comparison of ginsenoside contents and pattern similarity between root parts of new cultivars in *Panax ginseng* C.A. Meyer. *J Ginseng Res*, 32, 15-18 (2008)
- Amaranthus MA. Mushroom-derived compound that could change your life: Ergothioneine. *Food Nutr J*, 8, 282 (2023)
- Betekhtina AA, Tukova DE, Veselkin DV. Root structure syndromes of four families of monocots in the Middle Urals. *Plant Diversity*, 45, 722-731 (2023)
- Borodina I, Kenny LC, McCarthy CM, Paramasivan K, Pretorius E, Roberts TJ, van der Hoek SA, Kell DB. The biology of ergothioneine, an antioxidant nutraceutical. *Nutr Res Rev*, 33, 190-217 (2020)
- Carrara JE, Lehotay SJ, Lightfield AR, Sun D, Richie JP, Smith AH, Heller WP. Linking soil health to human health: Arbuscular mycorrhizae play a key role in plant uptake of the antioxidant ergothioneine from soils. *Plants People Planet*, 5, 449-458 (2023)
- Cheah IK, Halliwell B. Ergothioneine; antioxidant potential, physiological function and role in disease. *Biochim Biophys Acta*, 1822, 784-793 (2012)
- Chen PJ, Sheen LY. *Gastrodiae* Rhizoma (tiān má): A review of biological activity and antidepressant mechanisms. *J Tradit Complement Med*, 1, 31-40 (2011)
- Chen S, Liu JQ, Xiao H, Zhang J, Liu A. Simultaneous qualitative assessment and quantitative analysis of metabolites (phenolics, nucleosides and amino acids) from the roots of fresh *Gastrodia elata* using UPLC-ESI-triple quadrupole ion MS and ESI-linear ion trap high-resolution MS. *PLoS One*, 11, e0150647 (2016)
- Duan M, Bao L, Dong L, He H, Cheng L, Shi Z, Liu H, Yang S. Accumulation of gastrodin, *p*-hydroxybenzyl alcohol, and parishin in *Gastrodia elata* during growth. *J Food Quality*, 1, 2555655 (2025)
- Dubost NJ, Ou B, Beelman RB. Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. *Food Chem*, 105, 727-735 (2007)
- Fu TT, Shen L. Ergothioneine as a natural antioxidant against oxidative stress-related diseases. *Front Pharmacol*, 13, 850813 (2022)

- Halliwell B, Tang RM, Cheah IK. Diet-derived antioxidants: The special case of ergothioneine. *Annu Rev Food Sci Technol*, 14, 323-345 (2023)
- Huh K, Kim JS, Kwon TH, Kim JA, Yong CS, Ha JH, Lee DU. The mechanism of anticonvulsive effect of the rhizoma of *Gastrodia elata* in pentylenetetrazole treated rats. *Yakhak Hoeji*, 42, 330-335 (1998)
- ICH. Validation of Analytical Procedures: Q2(R2). International Council for Harmonisation, Geneva, Switzerland, p 9-13 (2023)
- Jang JH, Son YH, Kang SS, Bae CS, Kim JC, Kim SH, Shin TY, Moon CJ. Neuropharmacological potential of *Gastrodia elata* Blume and its components. *Evid-based Complement Alter Med*, 2015, 309261 (2015)
- Jiang X, Dai J, Huang Y, Zhao D, Yin Y, Lin Q, Hou M, Jin H. Comprehensive quantitative evaluation and mechanism analysis of influencing factors on yield and quality of cultivated *Gastrodia elata* Blume. *Sci Rep*, 15, 18457 (2025)
- Jung TY, Suh SI, Lee H, Kim IS, Kim HJ, Yoo HS, Lee SR. Protective effects of several components of *Gastrodia elata* on lipid peroxidation in gerbil brain homogenates. *Phytother Res*, 21, 960-964 (2007)
- Kalaras MD, Richie JP, Calcagnotto A, Beelman RB. Mushrooms: A rich source of the antioxidants ergothioneine and glutathione. *Food Chem*, 233, 429-433 (2017)
- Kim CS, Kim HJ, Seo SY, Kim HJ, Lee WH. The optimum temperatures during cultivation period of *Gastrodia elata* according to growth stages. *J Mushrooms*, 16, 90-95 (2018)
- Kim CS, Lee ES, Jeong HS, Yu JH, Kim JH. Optimal growth medium composition and its effects on the facility cultivation of *Gastrodia elata*. *J Pract Agric Fish Res*, 27, 19-25 (2025)
- Kim CS, Yu IY, Kim DW, Kim JY, Kim JM, Lee WH. Effect of yield and quality for cultivation type and mulching materials on *Gastrodia elata* Blume. *Korean J Plant Res*, 30, 78-87 (2017)
- Kim HT, Park EJ. Change of major functional components of *Gastrodia elata* Blume with cultivation conditions and harvest times. *Korean J Med Crop Sci*, 21, 282-288 (2013)
- Kim MH, Kim JG, Choi JH. Antioxidant activity and changes in major functional components of fermented *Gastrodia elata* Blume. *Korean J Food Nutr*, 27, 684-691 (2014)
- Lin JH, YC Liu, JP Hau, Wen KC. Parishins B and C from rhizomes of *Gastrodia elata*. *Phytochemistry*, 42, 549-551 (1996)
- Liu HM, Tang W, Wang XY, Jiang JJ, Zhang W, Wang W. Safe and effective antioxidant: The biological mechanism and potential pathways of ergothioneine in the skin. *Molecules*, 28, 1648 (2023)
- Liu JJ, Yang XQ, Li ZY, Miao JY, Li SB, Zhang WP, Lin YC, Lin LB. The role of symbiotic fungi in the life cycle of *Gastrodia elata* Blume (Orchidaceae): a comprehensive review. *Front Plant Sci*, 14, 1309038 (2024)
- Matias M, Silvestre S, Falcão A, Alves G. *Gastrodia elata* and epilepsy: Rationale and therapeutic potential. *Phytomedicine*, 23, 1511-1526 (2016)
- Nguyen TH, Nagasaka R, Ohshima T. Effects of extraction solvents, cooking procedures and storage conditions on the contents of ergothioneine and phenolic compounds and antioxidative capacity of the cultivated mushroom *Flammulina velutipes*. *Inter J Food Sci Technol*, 47, 1193-1205 (2012)
- Park EJ, Lee WY, Kim ST, Ahn JK, Bae EK. Ergothioneine accumulation in a medicinal plant *Gastrodia elata*. *J Med Plants Res*, 4, 1141-1147 (2010)
- Sapozhnikova Y, Byrdwell WC, Lobato A, Romig B. Effects of UV-B radiation levels on concentrations of phytosterols, ergothioneine, and polyphenolic compounds in mushroom powders used as dietary supplements. *J Agric Food Chem*, 62, 3034-3042 (2014)
- Taguchi H, Yosioka I, Yamasaki K, Kim IH. Studies on the constituents of *Gastrodia elata* Blume. *Chem Pharm Bull*, 29, 55-62 (1981)
- Tak GM, Lee CK, Jeong SH, Lee SH, Ko BJ, Kim H. Analysis of suitable cultivation sites for *Gastrodia elata* using GIS: A comparison of various classification methods. *Appl Sci*, 15, 1511 (2025)
- Tsai CF, Huang CL, Lind YL, Lee YC, Yang YC, Huang NK. The neuroprotective effects of an extract of *Gastrodia elata*. *J Ethnopharmacol*, 138, 119-125 (2011)
- Tsai SY, Chen ZY. Influence of cold storage and processing of edible mushroom on ergothioneine concentration. *Int J Food Eng*, 5, 159-163 (2019)
- Tsiantas K, Tsiaka T, Koutrotsios G, Siapi E, Zervakis GI, Kalogeropoulos N, Zoumpoulakis P. On the identification and quantification of ergothioneine and lovastatin in various mushroom species: Assets and challenges of different analytical approaches. *Molecules*, 26, 1832 (2012)
- Wang L, Xiao H, Liang X, Wei L. Identification of phenolics and nucleotide derivatives in *Gastrodia elata* by HPLC-UV-MS. *J Sep Sci*, 30, 1488-1495 (2007)
- Wijesekera T, Xu B. Occurrence, dietary sources, quantification and bioactivities of natural antioxidant ergothioneine - A longevity vitamin? *Int J Food Sci Tech*, 59, 5951-5963 (2024)
- Wu YN, Wen SH, Zhang W, Yu SS, Yang K, Liu D, Zhao CB, Sun J. *Gastrodia elata* Bl.: A comprehensive review of its traditional use, botany, phytochemistry,

- pharmacology, and pharmacokinetics. Evid-Based Complement Alter Med, 2023, 5606021 (2023)
- Yen MT, Chang YH, Huang SJ, Cheng MC, Mau JL. Extraction of ergothioneine from *Pleurotus eryngii* and *P. citrinopileatus* (Agaricomycetes) and preparation of its product. Inter J Med Mushroom, 20, 381-392 (2018)
- Zhan HD, Zhou HY, Sui YP, Du XL, Wang WH, Dai L, Sui F, Huo HR, Jiang TL. The rhizome of *Gastrodia elata* Blume - An ethnopharmacological review. J Ethnopharmacol, 189, 361-385 (2016)
- Zhang H, Liu Z, Wang Z, Lei Z, Jia Y, Chen W, Shi R, Wang C. A review of novel antioxidant ergothioneine: biosynthesis pathways, production, function and food applications. Foods, 14, 1588 (2025)
- Zhong Y, Li J, Liu H, Wang Y. The traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Gastrodia elata* Blume: A comprehensive review. Arabian J Chem, 18, 106086 (2025)