



## 더덕 추출물이 마크로파지 활성과 발효 중 젖산균 성장에 미치는 영향

임상동\* · 김기성 · 도정룡  
한국식품연구원

### Effects of Extracts of *Codonopsis lanceolata* on Macrophage Activity and on the Growth of Lactic Starter Culture during Fermentation

Sang-Dong Lim\*, Kee-Sung Kim, and Jung-Ryong Do  
Korea Food Research Institute

#### Abstract

We examined the macrophage activity of *Codonopsis lanceolata* and its effect on the growth of lactic starter culture when it was added to fermented milk. Nitric oxide(NO) and interleukin-1  $\alpha$  (IL-1  $\alpha$ ) were increased significantly ( $p < 0.05$ ) by addition of *Codonopsis lanceolata* water extract at 1,000  $\mu\text{g/mL}$ . Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) was increased significantly ( $p < 0.05$ ) by addition of *Codonopsis lanceolata* water extract or 70% ethanol extract at 1,000  $\mu\text{g/mL}$ . Water extract of *Codonopsis lanceolata* showed higher macrophage activity than 70% ethanol extract. Growth of lactic starter culture was inhibited by the increased addition of *Codonopsis lanceolata* water extract, resulting in less decrease in pH. A stirred type or drink type fermentation process seemed more suitable than a set type in proper production of *Codonopsis lanceolata* extract added fermented milk.

Key words : *Codonopsis lanceolata*, macrophage activity, growth, lactic starter culture

#### 서론

더덕(*Codonopsis lanceolata* Bentham et Hooker)은 도라지과(*Companulaceae*)에 속하는 다년생 초본으로서 한국, 중국 등지에 분포하고 있으며, 한방에서는 진해, 거담, 해독, 천식, 폐결핵, 위양, 편도선염 등에 효과가 있어서 예로부터 사삼이라 하여 인삼 대용으로 널리 사용되어 왔으며, 독특한 풍미로 인해 식용으로도 널리 이용되어 왔다(Jang, 2001). 더덕의 성분으로는 sterol, triterpenoid(Han *et al.*, 1976; Yang *et al.*, 1975), cycloartenol(Chung and Im, 1976), N-formylharman, 1- carbomethoxy- $\beta$ -carboline, perloynine, norharman(Chang *et al.*, 1986) 등이 있고, 휘발성 향기성분으로는 *trans*-2-hexenal, *cis*-3-hexen-1-ol, *trans*-2-hexen-1-ol, hexanol, 1-octen-3-ol 및

amyl propionate를 비롯한 다수의 에스터 화합물들이 있다(Kim *et al.*, 1992). 기능적 효과로는 혈청 지질의 감소(Park *et al.*, 1989), 항산화 효과(Han and Cho, 1997; Lee and Kim, 1993; Maeng and Park, 1991) 및 중성지질과 콜레스테롤 축적을 억제하는 효과(Han *et al.*, 1998) 등의 약리 작용이 있는 것으로 보고되어 있다. Suh(1996)는 더덕 물 추출물이 면역세포에 미치는 영향에 관한 연구보고에서 마우스에 경구투여한 경우 흉선세포의 증식을 촉진하였으나, 흉선세포에 직접 처리한 경우는 그다지 영향을 주지 않았다고 하였다. 또한  $T_H$  세포가 활성화되었으며 복강 마크로파지의 NO 생성이 억제되었고, 사람 PMN 세포의 식작용을 증가시켜 생체 내에서 면역작용을 증강시킬 수 있음을 시사하였다.

최근, 소비자의 식품에 대한 욕구가 높은 기호도와 함께 건강 지향적, 기능 지향적으로 패턴이 변화됨에 따라 보다 검증된 면역 활성 여부를 확인하고, 기능성 식품 소재로서 가공식품 개발에 관한 필요성이 대두되고 있는 실정이다.

이에 본 연구에서는 더덕의 마크로파지 활성 효과를 평가

\* Corresponding author : Sang Dong Lim, Korea Food Research Institute, 46-1 Baekhyun-dong, Bundang-ku, Sungnam city, Kyunggi-do 463-746, Korea, Tel: 82-31-780-9082, Fax: 82-31-780-9160, E-mail : limsd@kfri.re.kr

하고, 발효유에 첨가할 경우 젖산균 성장에 미치는 영향에 대하여 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 재 료

본 실험에 사용한 더덕은 서울 경동시장에서 구입하여 사용하였다.

### 사용 세포주

세포 배양 실험에 이용된 cell line인 RAW264.7(monocyte; macrophage, mouse)은 한국 세포주 은행에서 분양받아 사용하였다.

### 사용 균주

본 실험에 사용된 균주는 시중 유업체에서 발효유에 사용하는 상업용 균주로서 ABT-L(*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus thermophilus*로 구성된 혼합균주, Groupe Rhone-poulence, USA), ABT-C(*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus thermophilus*로 구성된 혼합균주, Groupe Rhone-poulence, USA)와 ABT-L 및 ABT-C 혼합균주에 사용된 단일균주인 *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus thermophilus* 등 5종의 동결 건조된 균주를 사용하였다.

### 더덕의 수율 및 가용성고형물 조사

건조된 더덕을 중량비로 1 : 5로 가수하여 heating mantle에서 환류냉각관을 부착하여 3시간 동안 추출하여 여과포로 여과(Brix측정)한 후 여액 1 g을 해서 15 g이 있는 항량 캔에 넣어 105℃에서 항량이 될 때까지 측정하였고 전체 중량만큼을 환산하여 곱해 주었다.

$$\text{추출 수율} (\%, w/wDMbasis) = \frac{(c \times b)}{a} \times 100$$

a: 시료건물량, b: 추출액 총량, c: 추출액 1g에 대한 잔사량

### 세포 배양

세포 배양시 사용된 배지는 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium, with or without phenol red, Gibco)을 사용하였다. 배양 플라스크, 피펫, microplate (96-well) 등은 멸균된 제품들을 이용하였으며, 배양병 등 초자 기구들은 autoclave에서 121℃, 15 lb에서 15분간 가압 멸균한 후 사용하였다. 배지는 3차 증류수로 용해한 후 sterilized filter(0.22 μm pore

size)로 여과하여 멸균한 다음 10% heat inactivated fetal bovine serum(Sigma, USA)과 1% streptomycin-penicilline을 첨가하여 이용하였으며, 세포 세척 및 계대 배양시 37℃를 유지하면서 사용하였다.

세포는 배양 플라스크 바닥에 confluent하게 자랐을 때 부착된 세포를 분리하여 이용하였다. DMEM이 담긴 배양 플라스크에 세포를 각각 37℃, 5% CO<sub>2</sub>를 유지하면서 CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. Anchorage-dependent한 세포는 배양접시에서 떼어내기 위해서 배지를 제거한 다음 Trysin-EDTA(0.05% trypsin, 0.53mM EDTA · 4Na)를 가하여 37℃에서 5분간 처리하였다. 떼어낸 세포를 분리한 후, 1,000 rpm에서 5분간 원심분리한 다음 상정액을 제거하고 다시 배지를 넣어 원심분리하는 과정을 3회 반복하였다. 이렇게 얻어진 세포를 배지에 분산시킨 후 일정한 세포수로 분주하여 사용하였다. 세포는 freezing용 배지를 첨가하여 액체 질소통에 보관하였고 사용 직전에 해동하여 수회 계대배양 한 다음 실험에 사용하였다.

### NO 분비능

96-well plate에 시료 20 μL 및 RAW264.7(2×10<sup>5</sup>/well) 100 μL를 넣고 48시간 동안 CO<sub>2</sub> incubator에서 37℃를 유지하면서 배양하였다. 배양액 중의 NO 농도는 microplate assay를 이용하여 측정하였다. 먼저 48시간 동안 배양한 후 상정액 50 μL aliquots를 취하여 같은 용량의 Griess 시약 (1% sulfanilamide/0.1% naphthylethylene diamine dihydrochloride in 2.5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)을 넣고 실온에서 10분간 반응시켰다. 이 때 ELISA reader(Molecular Device, USA)로 540 nm에서의 흡광도를 측정하였다. NO의 표준물질로는 sodium nitrite를 사용하였다.

### IL-1α의 분비능

RAW264.7(2×10<sup>5</sup>/well) 100 μL와 시료 20 μL를 96-well plate에 넣어 37℃, 5%의 CO<sub>2</sub> incubator에서 48시간 동안 배양한 후 상정액을 취해 대식세포가 분비하는 Interleukin-1α (IL-1α)을 enzyme-linked immuno-sorbent assay(ELISA)를 이용하여 측정하였다. 즉, anti-mIL-1α 단일 클론 항체가 코팅된 microtiter plate(Mouse IL-1α ELISA, Pierce Endogen, USA)에 항체의 비특이적인 반응을 방지하기 위하여 blocking 시약(3% BSA용액, w/v)을 가한 다음 Tween 20이 0.05%(v/v) 함유된 0.01M PBS(PBST, pH 7.4) 세척용 완충액으로 3회 세척하였다. 세척한 plate에 biotinylated anti-mIL-1α 항체를 50 μL씩 넣고, 표준 IL-1α 또는 배양한 시료액을 50 μL씩 well에 주입하고, 25℃에서 2시간 배양하였다. 배양한 plate를 세척용 완충액으로 다시 3회 세척하고, 1.5 μg/mL 농도의 streptavidin-conjugated horse reddish peroxidase 100

$\mu\text{L}$ 씩 가한 다음  $25^\circ\text{C}$ 에서 30분 반응시킨 후 세척용 완충액으로 3회 세척하였다. 여기에 발색 기질 용액(3,3', 5,5'-tetramethyl benzidine)을  $100\ \mu\text{L}$  첨가하여  $25^\circ\text{C}$ 에서 30분간 발색 반응을 시킨 후 1.0N sulfuric acid를  $100\ \mu\text{L}$ 씩 가해 반응을 정지시켰다. 이것을 ELISA reader(Molecular device, USA)로  $450\text{nm}$ 에서 흡광도를 측정하여 작성한 표준곡선에서 IL-1 $\alpha$  함량을 계산하였다.

### TNF- $\alpha$ 의 분비능

Microtiter plate(Mouse TNF- $\alpha$  ELISA, Pierce Endogen, USA)에 표준 TNF- $\alpha$  또는 배양한 시료액 및 biotinylated anti-mTNF을  $50\ \mu\text{L}$ 씩 well에 주입하고  $25^\circ\text{C}$ 에서 2시간 배양하였다. 배양한 plate를 세척용 완충액으로 다시 5회 세척하고 HRP-conjugated anti-mTNF를  $100\ \mu\text{L}$ 씩 넣어  $25^\circ\text{C}$ 에서 30분 배양한 다음 세척용 완충액으로 5회 세척하였다. 여기에 기질(3,3', 5,5'-tetramethyl benzidine)을  $100\ \mu\text{L}$  첨가하여  $25^\circ\text{C}$ 에서 30분간 발색반응을 시킨 후 1.0N sulfuric acid를  $100\ \mu\text{L}$ 씩 가해 반응을 정지시킨 다음 ELISA reader로  $450\ \text{nm}$ 에서 흡광도를 측정하여 작성한 표준곡선에서 TNF- $\alpha$  함량을 계산하였다.

### 젖산균의 생장

더덕을 약탕기에 1 : 5 비율로 넣고  $100^\circ\text{C}$ 에서 2.5시간 동안 가열 추출시켜 얻은 액을 여과지로 여과하고 진공농축기에서 농축시킨 다음 동결 건조시켰다. MRS 배지에 더덕을 건물량 기준으로 0%, 0.1%, 0.5%, 1.0%, 2% 수준으로 첨가하여 멸균한 다음 상업용 젖산균 5종을 희석하여 각각 배지에  $10^4$  CFU/mL 되게 접종하였다.  $37^\circ\text{C}$ 에서 3시간 간격으로 배양하면서 O.D값( $620\ \text{nm}$ )과 pH를 측정하였다. 이때 O.D 값은 증류수로 4배 희석하여 spectrophotometer(CEC/L, CE 4004, England)로 측정하였으며, pH는 pH meter (Corning model 440, USA)로 측정하였다.

### 젖산균수

시료 11 g을 무균적으로 채취하여 99 mL 펩톤 용액에 넣어 7초 동안 30 cm 간격으로 25회 세계 흔들어 준 후 침진법으로 희석하고 BCP(Bromocresol purple) 평판측정용 배지에 희석시료를 넣어  $35^\circ\text{C}$ 에서 48시간 배양한 다음 발생한 황색의 집락을 젖산균의 집락으로 계측하였다.

### 저장 중의 젖산균 변화

$65^\circ\text{C}$ 로 가온한 원유 96.15%에 탈지분유 3.85%를 첨가하고 완전히 녹인 후  $90^\circ\text{C}$ 에서 30분간 살균하고,  $40^\circ\text{C}$ 로 냉각시킨 다음 ABT-C를 0.2%(w/w)접종하며, pH 4.3까지 배양하

였다. 여기에 더덕 추출액을 10%(w/w) 첨가하여 호상발효유를 제조한 다음  $5^\circ\text{C}$ 와  $10^\circ\text{C}$ 에서 18일간 저장하면서 젖산균수를 측정하였다.

### 통계분석

통계분석은 SAS program(1996)의 GLM(General Linear Model) Procedure를 통하여 분석하였고, 처리구간의 평균간 비교는 Duncan의 다중검정방법으로 5% 수준에서 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 더덕의 수율 및 가용성 고형물 조사

가수량을 중량비 1 : 5의 비율로  $100^\circ\text{C}$ 에서 1, 2, 3시간별로 추출한 결과 Table 1에서 보는 바와 같이 1시간 열수로 추출할 경우 6 Brix를, 2~3시간 열수로 추출할 경우 9 Brix를 나타내었고, 이때의 수율은 13.67%이었다.

### NO 분비능

마크로파지는 Th1세포에서 생산되는 interferon- $\gamma$ 에 의한 활성화와 interferon- $\gamma$ 에 의해 활성화된 마크로파지가 세균을 탐식하여 생산한 TNF- $\alpha$ 에 의해서 마크로파지 내의 inducible NO synthase(iNOS)를 활성화하게 된다. iNOS는 L-arginine의 guanidine nitrogen과 산소를 결합하여 NO를 생산하며, NO는 세균과 종양세포를 살해하는 기능이 있다. 이러한 경로를 통해서 활성화된 마크로파지에 의해서 생산되는 NO는 nitrogen oxide로 산화되고, 다시 nitrite와 nitrate로 더 산화되어 배양액에 축적된다. 배양액 중 nitrite는 축적된 산화물의 대부분을 차지하므로 이를 Griess reagent에 의해 쉽게 정량할 수 있으므로 더덕추출물에 의한 대식세포의 NO 분비능을 실험한 결과는 Table 2와 같다.

대식세포가 생성하는 NO의 농도는 대조구인 PBS가  $12.58\ \mu\text{M}$ 이었으며, 더덕 추출물을  $1\sim 10\ \mu\text{g/mL}$ 의 농도로 첨가하였을 때는 검출되지 않았지만  $1,000\ \mu\text{g/mL}$ 에서는  $56.76\ \mu\text{M}$ 이 검출되어 유의하게( $p < 0.05$ ) 증가하였다. 반면 70% 알콜 추출물에서는 열수 추출물과는 달리 첨가농도가  $1\ \mu\text{g/mL}$  이상에서 검출되었고, 첨가농도가 증가할수록 더 많은 NO를 생산하였지만  $1,000\ \mu\text{g/mL}$  농도에서는 열수 추출물보다 분비능이 약간 낮은 결과를 보였다.

Table 1. Soluble solid and yield of water extract of *Codopsis lanceolatae* by extraction time

Extraction time	1 hr	2 hr	3 hr
Soluble solid	6 Brix	9 Brix	9 Brix
Yield	-	-	13.67%

**Table 2. Macrophage activity of extracts of *Codonopsis lanceolata* with hot water or 70% ethanol**

Solvent	Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	IL-1 $\alpha$ (pg/mL)	NO ( $\mu\text{M}/2 \times 10^5 \text{ cell}$ )	TNF- $\alpha$ (pg/mL)
Water	0	ND <sup>1)</sup>	12.58 $\pm$ 3.72 <sup>c</sup>	32.42 $\pm$ 3.75 <sup>c</sup>
	1	ND	ND	ND
	10	ND	ND	ND
	100	27.93 $\pm$ 3.79 <sup>2b</sup>	16.33 $\pm$ 1.68 <sup>c</sup>	ND
	1000	33.22 $\pm$ 1.83 <sup>a</sup>	56.76 $\pm$ 19.51 <sup>a</sup>	>2,450 <sup>a</sup>
70% ethanol	1	ND	21.20 $\pm$ 4.44 <sup>c</sup>	ND
	10	ND	25.21 $\pm$ 3.57 <sup>bc</sup>	289.23 $\pm$ 13.79 <sup>c</sup>
	100	ND	29.32 $\pm$ 0.12 <sup>bc</sup>	355.77 $\pm$ 11.81 <sup>b</sup>
	1000	16.30 $\pm$ 1.08 <sup>c</sup>	38.86 $\pm$ 2.74 <sup>b</sup>	>2,450 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> N.D : Not detected.

<sup>2)</sup> Values are mean $\pm$ S.D., n=3.

<sup>a-c</sup> : Means with different superscript in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ).

**IL-1 $\alpha$ 의 분비능**

IL-1 $\alpha$ 는 주로 마크로파지에서 생산되는 cytokine으로서 림프구와 마크로파지를 활성화하는 면역조절물질이다. *In vitro* 조건하에서 더덕 추출물의 대식세포 활성화 능력을 실험하기 위해서 1~1,000  $\mu\text{g/mL}$  농도로 처리한 다음 나타난 결과는 Table 2와 같다.

대조구에서는 IL-1 $\alpha$ 가 검출되지 않았고, 열수 추출에 의한 더덕 추출액은 각각 1과 10  $\mu\text{g/mL}$ 에서도 역시 검출되지 않았다. 그러나 더덕 추출액 100과 1,000  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 각각 32.49 pg/mL과 39.69 pg/mL로서 유의하게( $p < 0.05$ ) 증가하였다. 70% 알콜 더덕추출물은 더덕 추출액 농도 100  $\mu\text{g/mL}$  이하에서 검출되지 않았으며, 1,000  $\mu\text{g/mL}$  이하에서만 48.66 pg/mL로 나타났다. 이러한 결과는 IL-1 $\alpha$ 는 아니지만 Ha 등(2003)이 가시오가피 줄기에서 추출한 시료 농도 5  $\mu\text{g/mL}$ 에서의 IL-1 $\beta$  값이 7.3pg/mL라고 하였고, 이(2002)가 더덕 열수 추출물을 25  $\mu\text{g/mL}$  첨가시 대조구에 비해 약 10배의 IL-6 생산을 촉진하였다고 한 보고에 비해 다소 결과의 차이는 있었지만 본 연구에서는 더덕 열수 추출물이 대식세포를 직접 자극하여 IL-1 $\alpha$ 의 생산을 증가시켰을 것으로 생각된다.

**TNF- $\alpha$ 의 분비능**

Tumor necrosis factor(TNF- $\alpha$  및  $\beta$ )는 염증 및 암 등의 질환에서 면역기능이나 대사조절에 중요한 역할을 하는 cytokine으로서 외부에서 침입한 세균 등에 의해 대식세포가 활성화되면 다량의 TNF- $\alpha$ 를 분비하는 것으로 알려져 있다. TNF- $\alpha$ 에 의한 항암작용도 대부분 TNF- $\alpha$  자체의 독성에 의

한 것으로 추측하기 보다는 TNF- $\alpha$ 에 의해 이동된 활성화된 대식세포, cytotoxic T cell 및 natural killer cell 등이 생산하는 NO나 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>들이 암세포를 살해하는 것으로 추측되고 있다(Urban *et. al*, 1986). *In vitro* 조건하에서 더덕 추출물의 대식세포 활성화 능력에 관한 시험 결과는 Table 2와 같다.

대조구의 TNF- $\alpha$  농도는 32.42 pg/mL이었으나 열수 더덕 추출액의 농도 1~100  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 검출되지 않았다. 그러나 시료농도 1,000  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 2,450 pg/mL 이상으로 유의하게( $p < 0.05$ ) 증가하였다. 70% 알콜 추출 더덕 추출액의 경우 1  $\mu\text{g/mL}$  농도에서는 검출되지 않았지만 10  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 289.23 pg/mL의 TNF- $\alpha$ 가 생성되었고, 특히 1,000  $\mu\text{g/mL}$  첨가시에는 2,450 pg/mL 이상으로 나타났다. 이러한 결과는 Ha 등(2003)이 가시오가피 줄기에서 추출한 시료농도 5  $\mu\text{g/mL}$ 에서의 TNF- $\alpha$  값이 1,716 pg/mL 라고 하였고, 이(2002)가 더덕 열수 추출물 1  $\mu\text{g/mL}$  첨가시 대식세포의 TNF- $\alpha$  생산능력이 대조구에 비해 12.6배, 5  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 42.7배, 25  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 67.8배 촉진된다고 한 보고에 비해 다소 결과의 차이는 있었지만 더덕 열수 추출물이 마크로파지를 직접 자극하여 TNF- $\alpha$ 를 생산하는 것으로 생각된다.

**더덕 추출물이 젖산균 성장에 미치는 영향**

더덕 추출물이 젖산균 생육에 미치는 영향을 조사하기 위해서 더덕 추출물을 건물 기준으로 0%, 0.5%, 1%, 2%의 수준으로 MRS 배지에 첨가하여, 5종의 젖산균을 접종한 후 O.D값과 pH를 측정된 결과는 Fig. 1과 Table 3과 같다.

*Streptococcus thermophilus*는 더덕을 첨가하지 않은 대조구에서 6시간 이후 지수성장기를 보였으나 더덕을 첨가한 처

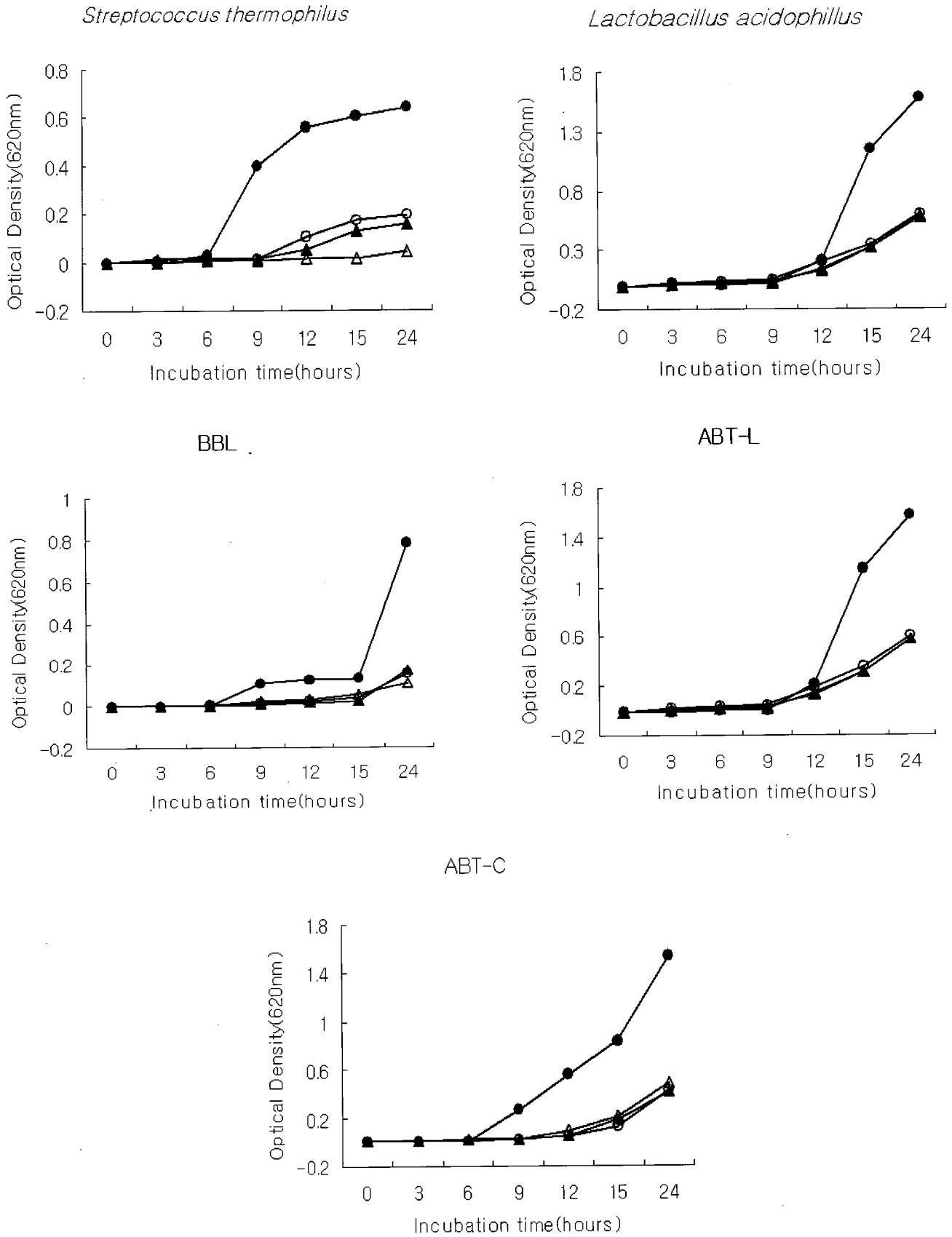


Fig. 1. Effect of water extract of *Codonopsis lanceolata* on the growth of lactic acid bacteria in MRS broth.  
 ●-; 0%, -○-; 0.5%, -▲-; 1.0%, -△-; 2.0% *Codonopsis lanceolata*.

**Table 3. Changes in pH of MRS broth containing of water extract of *Codonopsis lanceolata* during lactic fermentation**

Strains	<i>Codonopsis lanceolata</i> extract(%)	Fermentation time (hours)						
		0	3	6	9	12	15	24
----- pH -----								
<i>Streptococcus thermophilus</i>	0	6.41	6.37	6.27	5.23	4.79	4.63	4.37
	0.5	6.42	6.35	6.34	5.95	5.42	4.99	4.61
	1.0	6.28	6.23	6.23	6.20	5.64	5.10	4.63
	2.0	6.03	5.97	5.97	5.96	5.92	5.88	5.30
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	0	6.41	6.39	6.39	6.33	5.74	4.66	3.93
	0.5	6.38	6.35	6.35	6.32	6.28	6.09	4.21
	1.0	6.23	6.22	6.21	6.21	6.16	6.02	4.25
	2.0	5.99	5.99	5.98	5.97	5.95	5.80	4.29
<i>Bifidobacterium longum</i>	0	6.39	6.37	6.36	6.33	6.29	6.20	4.70
	0.5	6.30	6.28	6.28	6.28	6.28	6.28	5.09
	1.0	6.22	6.21	6.20	6.20	6.19	6.19	5.69
	2.0	5.97	5.97	5.97	5.96	5.96	5.95	5.68
ABT-L <sup>1)</sup>	0	6.41	6.39	6.37	5.54	4.86	4.56	3.99
	0.5	6.36	6.34	6.33	6.33	5.51	5.03	4.29
	1.0	6.23	6.20	6.20	6.18	5.82	5.17	4.31
	2.0	5.99	5.96	5.96	5.96	5.93	5.86	4.30
ABT-C <sup>2)</sup>	0	6.39	6.37	6.34	5.64	5.03	4.66	4.00
	0.5	6.34	6.34	6.33	6.31	5.83	5.23	4.31
	1.0	6.21	6.20	6.18	6.18	5.96	5.34	4.36
	2.0	5.97	5.97	5.96	5.96	5.95	5.87	4.36

ABT-L<sup>1)</sup> : Commercial mixed culture composed of *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus thermophilus* (Groupe Rhone-poulence)

ABT-C<sup>2)</sup> : Commercial mixed culture composed of *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus thermophilus* (Groupe Rhone-poulence)

리구는 첨가량이 증가할수록 성장이 억제되었다. *Lactobacillus acidophilus*는 12시간 이후 지수성장기를 보였으나, 더덕 첨가구는 첨가량에 상관없이 성장이 억제되는 것으로 보아 0.5%에서도 성장 억제에 영향을 미치는 것으로 나타났다. *Bifidobacterium longum*은 15시간 이후 지수성장기를 보였으나, *Lactobacillus acidophilus*와 같은 경향을 보였다. 혼합균주를 보면, ABT-L은 12시간 이후에 지수성장기를 보인 반면, ABT-C는 6시간 이후로서 ABT-C가 균 성장속도가 빠른 것으로 나타났다. 그러나 더덕 처리구에서는 ABT-L이 약간 ABT-C보다 성장이 높은 결과를 얻었다.

이러한 결과는 더덕 첨가량이 증가할수록 젖산균 성장이

억제되었고, pH는 완만히 감소됨에 따라 발효유에 더덕 열수 추출물을 첨가할 경우 Set type보다는 Stirred type이나 Drink type으로 해야 발효유 제조에 적합할 것으로 보인다. 이는 컵 충전기에 더덕 추출물과 배양할 원료유를 미리 넣은 다음 젖산균 스타터를 접종, 배양시키는 Set type의 경우 더덕 추출물이 젖산균의 성장을 억제하므로, 미리 원료유에 젖산균을 접종하여 배양탱크에 넣고 배양한 후 더덕 추출물을 별도로 넣고 혼합하는 방식인 Stirred type이나 Drink type으로 해야 젖산균 성장에 영향을 받지 않을 것으로 사료된다.

더덕 추출물 첨가 발효유의 저장 중 젖산균 변화

**Table 4. Counts of lactic acid bacteria of ABT-C culture in fermented milk containing water extract of *Codonopsis lanceolata* during storage**

Storage period		2 days	4 days	6 days	10 days	14 days	18 days
Storage temp.							
Control	5°C	$1.5 \times 10^9$	$1.5 \times 10^9$	$1.0 \times 10^9$	$9.8 \times 10^8$	$8.6 \times 10^8$	$1.1 \times 10^9$
	10°C	$1.1 \times 10^9$	$1.7 \times 10^9$	$1.8 \times 10^9$	$8.0 \times 10^8$	$8.8 \times 10^8$	$2.5 \times 10^9$
<i>Codonopsis lanceolata</i>	5°C	$1.1 \times 10^9$	$1.1 \times 10^9$	$1.1 \times 10^9$	$1.3 \times 10^9$	$1.0 \times 10^9$	$1.1 \times 10^9$
	10°C	$9.5 \times 10^8$	$2.3 \times 10^9$	$2.3 \times 10^9$	$9.4 \times 10^8$	$6.8 \times 10^8$	$1.4 \times 10^9$

0 day : Control,  $1.7 \times 10^9$  cfu/mL ; *Codonopsis lanceolata*,  $1.5 \times 10^9$  cfu/mL.

원유에 탈지분유를 첨가한 원료유에 ABT-C 혼합스타터를 첨가하여 배양이 완료된 후 더덕 추출액을 첨가하고 발효유를 제조함으로써 배양 중의 소재에 의한 젖산균의 성장에 미치는 영향이 배제된 상태에서 저장 중 소재에 의한 젖산균의 성장에 미치는 영향을 5°C와 10°C 별로 소재 무첨가구인 대조구와 비교한 결과는 다음 Table 4와 같다.

표의 결과를 보면 18일간 5°C에서는 무첨가군이  $8.6 \times 10^8$  CFU/mL 이상, 더덕 추출물 첨가군이  $1.0 \times 10^9$  CFU/mL 이상이었으며, 10°C에서는 무첨가군이  $8.0 \times 10^8$  CFU/mL 이상, 더덕추출물 첨가군이  $6.8 \times 10^8$  CFU/mL 이상으로 나타나 각 저장온도에서 유통기한 내에 축산물의 가공기준 및 성분규격(2005)에서 정한 젖산균 수 이상으로 안정하게 유지할 수 있는 것으로 나타났다.

## 요 약

더덕의 마크로파지 활성 효과를 평가하고, 발효유에 첨가할 경우 젖산균 성장에 미치는 영향에 대하여 실시하였다. NO 분비능과 IL-1 $\alpha$ 는 더덕 열수 추출물을 1,000  $\mu$ g/mL 첨가하였을 때 유의성 있게 증가하였다. TNF- $\alpha$ 는 더덕 열수 추출물 및 알콜 추출물 공히 1,000  $\mu$ g/mL 첨가하였을 때 유의성 있게 증가하였다. 마크로파지 활성은 더덕 알콜 추출물보다 열수 추출물이 더 높았다. 더덕 열수 추출물이 젖산균에 미치는 영향을 조사한 결과, 더덕 첨가량이 증가할수록 젖산균 성장이 억제되었고, pH는 완만히 감소됨에 따라 발효유에 더덕 열수 추출물을 첨가할 경우 Set type보다는 Stirred type이나 Drink type으로 해야 발효유 제조에 적합할 것으로 보인다.

## 참고문헌

- Chang, Y. K., Kim, S. Y., and Han, B. H. (1986) Chemical studies on the alkaloidal constituents of *Codonopsis lanceolata*. *Yakhak Hoeji*. **30(1)**, 1-7.
- Chung, B. S. and Im, D. S. (1976) On the composition of *Codonopsis lanceolata* Benth et Hook. Program the 25th annual convention of the Pharmaceutical Society of Korea. 26.
- Ha, E. S., Hwang, S. H., Shin, K. S., Yu, K. W., Lee, K. H., Choi, J. S., Park, W. M., and Yoon, T. J. (2003) Competitive ELISA for the Measurement of Glycoprotein Purified from *Acanthopanax senticosus*. **35(4)**, 1209-1215.
- Han, B. H., Kang, S. S., and Woo, W. S. (1976) Triterpenoid from *Codonopsis lanceolata*. *J. Pharm. Soc. Korea*. **20(3)**, 145-148.
- Han, E. G. and Cho, S. Y. (1997) Effects of *Codonopsis lanceolata* water extract on the activities of antioxidative enzymes in carbon tetrachloride treated rats. *Korean J. Soc. Food Sci. Nutr.* **26**, 1181-1186.
- Han, E. G., Sung, I. S., Moon, H. G., and Cho, S. Y. (1998) Effects of *Codonopsis lanceolata* water extract on the level of lipid in rats fed high fat diet. *Korean J. Soc. Food Sci. Nutr.* **27**, 940-944.
- Jang, J. G. (2001) Sanyacho Dongeubogam. Academy Press, Seoul, pp. 156-157.
- Kim, J. H., Kim, K. R., Kim, J. J., and Oh, C. H. (1992) Comparative sampling procedures for the volatile flavor components of *Codonopsis lanceolata*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **24(2)**, 171-176.
- Lee, J. H. (2002) Immunostimulative effect of hot-water extract from *Codonopsis lanceolata* on lymphocyte and clonal macrophage. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34(4)**, 732-736.
- Lee, Y. S. and Kim, C. M. (1993) Effect of dietary *Codonopsis lanceolata* on lipid composition in rat serum. 韓國飲食文化研究論叢. pp. 245.
- Maeng, Y. S. and Park, H. K. (1991) Antioxidant activity of ethanol extract from Dodok(*Codonopsis lanceolata*).

- Korean J. Food Sci. Technol.* **23(3)**, 311-316.
12. Park, J. Y., Kim, Y. H., Kim, K. S., and Kwang, J. (1989) Volatile flavor components of *Codonopsis lanceolata* Traut.(Benth. et Hook). *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **32(4)**, 338-343.
  13. SAS (1996) SAS/STAT Software for PC. Release 6.11, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
  14. Suh, J. S. (1996) Effect of *Codonopsis lanceolatae* Radix water extract on immunocytes. *Korean J. Food & Nutr.* **9(4)**, 379-384.
  15. Urban, J. L., Shepard, H. M., Rothstein, J. L., and Sugarman, B. J. (1986) Tumor necrosis factor : A potent effector molecule for tumor cell killing by activated macrophages. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 5233.
  16. Yang, H. S., Choi, S. S., Han, B. H., Kang, S. S., and Woo, W. S. (1975) Sterols and tripenoids from *Codonopsis lanceolata*. *J. Pharm. Soc. Korea.* **19(3)**, 209-213.
  17. 축산물의 가공기준 및 성분규격(2005) 국립수의과학검역원 고시 제 2005-2호. pp. 21.
- 
- (2005. 11. 30. 접수 ; 2006. 3. 6. 채택)