

## 생더덕과 발효더덕의 유용생리활성 비교

김승섭\* · 하지혜\* · 정명훈\* · 안주희\* · 윤원병\*\* · 박성진\*\*\* · 성동호\*\*\*\* · 이현용\*\*\*\*\*†

\*강원대학교 BT특성화학부대학 생물소재공학과, \*\*강원대학교 BT특성화학부대학 식품생명공학과  
\*\*\*한림성심대학 관광외식조리과, \*\*\*\*(주)유영제약, \*\*\*\*\*강원대학교 생명공학연구소

### Comparison of Biological Activities of Fermented *Codonopsis lanceolata* and Fresh *Codonopsis lanceolata*

Seung Seop Kim\*, Ji Hye Ha\*, Myoung Hoon Jeong\*, Ju Hee Ahn\*, Won Byung Yoon\*\*,  
Sung Jin Park\*\*\*, Dong Ho Seong\*\*\*\*, and Hyeon Yong Lee\*\*\*\*\*†

\*Department of Biomaterials Engineering, College of Bioscience & Biotechnology, Kangwon National Univ.,  
Chuncheon 200-701, Korea.

\*\*Department of Food Science and Biotechnology, College of Bioscience & Biotechnology, Kangwon National Univ.,  
Chuncheon 200-701, Korea.

\*\*\*Department of Tourism Food Service Cuisine, Hallym College, Chuncheon 200-711, Korea.

\*\*\*\*Yooyoung Pharmaceutical Co., Seoul 110-799, Korea.

\*\*\*\*\*Research Institute of Bioscience & Biotechnology, Kangwon National Univ., Chuncheon 200-701, Korea.

**ABSTRACT :** Both fresh *Codonopsis lanceolata* and lactic acid bacteria fermented *Codonopsis lanceolata* were extracted with water at 100 °C, and tested for anticancer activity using several human cancer cell lines. The fermented extracts inhibited the growth of hepatocellular carcinoma cells up to 90%, compared to 75% for fresh *Codonopsis lanceolata*. The extracts of cytotoxicity on human normal lung cells (HEK293) were as low as 15%. Especially, human hepatocellular carcinoma cell were more efficiently inhibited than other cells. This extract also inhibited α-glucosidase activity up to 60% at 1.0 mg/ml. This fermented extracts showed the inhibition potency on tyrosinase by 25% at 1.0 mg/ml. From the results, the fermented *Codonopsis lanceolata* enhanced several biological activities up to 20~30%, compared to those from fresh *Codonopsis lanceolata*. It implies that fermentation process could be one of useful methods of utilizing low quality *Codonopsis lanceolata*. Because this process could yield high amounts of biologically active compounds by the help of microbial growth.

**Key Words :** Fermented and fresh *Codonopsis lanceolata*, Anti-Cancer Activities, α-Glucosidase Inhibition, Tyrosinase Inhibition

## 서 언

최근 한국인은 서구화된 식생활로 불균형한 영양섭취와 고 열량의 식이를 섭취하고 공해와 과도한 스트레스를 받는 환경 하에서 생활하고 있다. 이로 인한 인체면역력의 저하는 각종 질병을 유발시키고, 성인병 및 암 등의 발병률을 증가시키는 원인으로 작용하고 있다 (Shim *et al.*, 2001; Kang *et al.*, 2004). 따라서 이를 해결하기 위해 면역력을 증진시키려는 연구가 진행되고 있으며, 특히, 천연물질의 탐색이나 생약제 추출물에 대한 관심이 높아지고 있다. 이는 합성의약품에 비해 부작용이 적고 안정성이 높기 때문이며, 이를 이용한 기능성 식품 및 신약개발에 대한 연구가 이루어지고 있다 (Kwon *et*

*al.*, 2007).

더덕 (*Codonopsis lanceolata*)은 초롱꽃과에 속하는 다년생 초본으로 백삼, 사삼, 행엽, 가덕, 지취 등 여러 가지 이름으로 불리우며, 한국, 중국 (만주지방), 일본의 산간지방에서 자생한다 (Choi *et al.*, 2006). 최근에는 널리 재배 생산되고 있으며 특히, triterpenoid계 saponin과 당질 및 섬유질을 함유하고 있으며 한방에서는 거담, 배농, 진해약, 편도선염, 최유 등에 사용되었고 신 농본초경에서는 감기, 기침, 천식, 폐결핵에 거담제로서 유용하고 녹막염에 효과가 있다고 하였다 (Kim *et al.*, 1993). 이러한 생더덕과는 달리 발효더덕의 생리활성에 관한 연구는 아직 거의 이루어지지 않고 있는 실정이다. 하지만, 현재 발효음식에 대한 장점이 사람들에게 널리 알려져 있다. 특

†Corresponding author: (Phone) +82-33-250-6455 (E-mail) hyeonl@kangwon.ac.kr  
Received 2009 June 3 / Revised 2009 July 31 / Accepted 2009 August 6

히, 발효과정에서 유용성분의 증가와 소화력, 흡수율이 증가되고 잔류농약이 미생물의 작용으로 유기물질로 분해되며, 유익한 세균을 증가시켜 건강을 유지하는데 큰 도움을 준다 (Heo, 1998).

이런 이유로 본 연구에서는 발효더덕의 생리활성 탐색을 통해 더덕에 대한 본격적인 연구를 진행하고자 하며 저가의 더덕을 발효시켜 유용생리활성 성분의 증대를 꾀하여 고부가가치성이 높은 산채류로서 나아가 인삼과 함께 한국이 자랑할 수 있는 특화작물로서 개발하기 위하여 본 실험을 수행하였다. 특히, 이번 실험에서는 일반더덕과 발효더덕의 정상세포에서의 세포독성, 항암효과와  $\alpha$ -glucosidase, tyrosinase의 효소 억제능을 살펴보았다. 특히, 더덕에 존재하는 조사포닌 성분이 비만억제효과 및 당뇨 등에 관계가 있기 때문에 이 외의 활성 확인을 위해  $\alpha$ -glucosidase, tyrosinase의 생리활성을 이용하였다 (Kim *et al.*, 2009).

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료 및 추출방법

본 실험에 사용된 시료는 2008년도 국내산 더덕으로 경동시장에서 구입하여 사용하였다. 더덕은 깨끗이 세정하여 물기를 제거한 다음 온풍건조기에서 충분히 건조시켰고, 발효 더덕은 수세한 후 온풍 건조하여 건체중량 대비 5%의 *Leuconostoc mesenteroides*를 접종하여 30°C, 습도 75%를 유지하며 7일간 발효한 후 20°C에서 7일간 숙성하여 얻었다. 두 시료는 각각 100 g에 10 배수의 증류수를 넣고 24시간 환류 냉각 열수 추출기에서 추출하고, 감압여과 및 농축 후, 동결 건조시켜 분말상태로 만들어 냉장 보관하면서 실험에 이용하였다.

### 2. 세포주 및 세포 생육 배지

본 실험에 사용된 세포주는 암세포로 인간 폐암세포 A549 (Lung carcinoma, human), 인간 위암세포 AGS (Stomach adenocarcinoma, human), 인간 간암세포 Hep3B (Hepatocellular carcinoma, human), 인간 유방암세포 MCF-7 (Breast adenocarcinoma, human)가 이용되었고, 정상세포로는 인간 신장세포인 HEK293 (Kidney normal, human)을 Korea Cell Line Bank로부터 구입하여 본 실험실에서 배양하면서 실험에 사용하였다. A549와 AGS 세포주는 RPMI Medium 1640 복합배지 (1 L 멸균 3차수에 RPMI 1640 1 pack, sodium bicarbonate 2 g, hepes buffer 2 g, gentamicin sulfate 54.47 mg을 녹인 것)를, Hep3B, MCF-7, 및 HEK293 세포주는 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium, 1 L 멸균 3차수에 DMEM 1 pack, sodium bicarbonate 3.7 g, hepes buffer 2 g, gentamicin sulfate 54.47 mg을 녹인 것)배지를 이

용하여 10% 우태아 혈청을 첨가하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에 적응시켜 각각 배양시켰다.

### 3. 세포 독성실험 및 암세포의 생육 저해 효과 측정

SRB (sulforhodamine B) assay (Kim *et al.*, 2005)는 세포 단백질을 염색하여 세포의 증식이나 독성을 측정하는 방법으로 실험에 사용된 세포주로는 인간 정상 신장세포인 HEK293를 이용하여 세포독성을 측정하였고, 인간폐암세포인 A549와 인간 위암세포인 AGS, 인간 간암세포인 Hep3B와 인간 유방암세포인 MCF-7를 이용하여 항암 활성을 측정하였다. 실험 대상 세포의 농도를  $5 \times 10^4$  cells/ml로 96 well plate의 각 well에 100  $\mu$ l 씩 첨가하여 24시간 동안 배양 (37°C, 5%, CO<sub>2</sub>)한 후, 각 추출물을 0.1 M DMSO로 녹인 시료를 최종농도 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg/ml로 100  $\mu$ l 씩 첨가하여 48시간 배양하였다. 배양이 완료된 후에 상등액을 조심스럽게 aspirator로 제거하고 냉장 보관한 10% (w/v) trichloroacetic acid (TCA) 100  $\mu$ l를 가하여 4°C에서 1시간 동안 방치한 후 증류수로 4회 세척하여 TCA간 배양하고 실온에서 Plate를 건조한 뒤 각 well에 1% (v/v) acetic acid에 녹인 0.4% (w/v) SRB 용액을 100  $\mu$ l 씩 첨가하고 상온에서 30분 동안 염색시켰다. 결합되지 않은 SRB 염색약은 1% acetic acid로 45회 정도 세척, 건조시킨 후에 10 mM Tris buffer 100  $\mu$ l를 첨가하여 염색약을 녹여낸 후 540 nm에서 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 또한, 각 시료 농축물 농도에서 세포독성에 대한 암세포 생육억제 활성의 비로 selectivity를 계산하였다.

$$\text{Selectivity} = \frac{\text{암세포 생육억제 활성}}{\text{정상 세포의 세포 독성}}$$

### 4. $\alpha$ -glucosidase 억제활성

효소를 10 mM PIPES buffer에 용해시켜 효소액을 제조하고 20 mM maltose와 각 추출물을 농도별로 혼합한 후 37°C에서 20분간 배양한다. 반응액 60  $\mu$ l에 1 ml DNS 시약을 첨가하고 100°C 물에서 열탕 처리 (10 min)하여 반응을 정지시킨 후에 550 nm에서 흡광도를 측정하여 효소반응으로 생성된 환원당을 정량하여 각 추출물을 처리하지 않은 대조구와 비교하여 효소활성 저해율을 계산하였다.

### 5. Tyrosinase 억제활성

Tyrosinase 억제효과는 dopachrome방법 (Pomerantz, 1963)을 이용하여 측정하였다. 150  $\mu$ l의 mushroom tyrosinase-150 unit (Sigma Chemical Co.), 225  $\mu$ l (2.5  $\mu$ M)의 L-tyrosine, 225  $\mu$ l의 0.4 M HEPES buffer (pH 6.8), 그리고 300  $\mu$ l의 ethanol 용액 혹은 시료 (1 mg/ml)용액을 섞은 후 배양전과 15분간 배양을 한 후 475 nm에서 흡광도를 각각 측정하였다.

Tyrosinase 억제율은 다음과 같이 측정하였다.

$$\text{Tyrosinase inhibition (\%)} = (D - C) - (B - A) / (D - C) \times 100$$

A와 B는 각각 시료를 가지는 용액의 배양 전과 배양 후의 흡광도이며, C와 D는 각각 시료를 넣지 않은 용액의 배양 전과 배양 후의 흡광도이다. tyrosinase 억제효과는 100으로 나타낼 때 완전한 억제를 의미하고, 0일 때 억제를 하지 못하는 것을 의미한다.

## 6. SEM(Scanning electron microscope) Image

LVSEM (low level scanning electron microscope)을 통한 관찰로 image를 찍어 생터덕과 발효터덕의 조직적 차이를 비교하였다. 각각의 터덕을 500배율로 관찰하였으며, 터덕의 표면 미세구조 관찰은 한국 기초 과학지원 연구원 춘천분소의 저진공 주사 전자현미경 (LVSEM, Hitachi S-3500N)을 사용하였다. 생물 시료를 주사전자현미경으로 관찰하기 위해 먼저, 3% glutaraldehyde 용액으로 실온에서 3시간 동안 전고정한 후, 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 6.87.2)로 15분씩 3회 세척하였다. 세척된 시료는 2% aqueous osmium tetroxide에 의해 4°C에서 26시간 후고정 (postfixation) 처리되어 다시 0.1 M sodium phosphate buffer로 세척되었다 (15분 3회). 이어 30% acetone을 시작으로 10%씩 상승된 graded acetone series 탈수과정을 거치고, 탈수된 시료들은 isoamyl acetate에 34회 교체된 후 4°C에서 냉장 보관되었다. 이후 이들 시료는 Hitachi HCP-2 critical point dryer를 이용하여 liquid CO<sub>2</sub>에 의한 임계점 건조과정 (critical point drying, CPD)을 거쳐 Hitachi E-1030 putter 장치로 약 10 nm 두께의 금속피막 (Au gold coating)을 입힌 후 LVSEM Hitachi S-

3500N 저진공 주사 전자현미경으로 관찰하여 수집된 image data는 file에 저장된 후 출력되어 각각의 조직상태를 비교 하였다 (Kim and Lee, 2005).

## 7. 통계처리

데이터의 통계처리는 각 시료를 3회 반복으로 행해졌으며, 실험값의 통계는 SAS 9.1 프로그램을 사용하여 평균과 표준 오차를 구하여 처리하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 정상세포 및 암세포에 대한 독성 측정

본 실험에 이용된 터덕 시료를 농도별로 0.21.0 mg/ml를 처리하여 정상세포와 암세포에서의 독성을 측정 후 각 농도에서의 세포독성에 대한 생육억제 활성의 비율인 selectivity를 Table 1에 나타냈다. Fig. 1에서는 인간 정상 세포 HEK293에 대한 독성을 나타낸 것이다. 정상세포에 대한 세포독성은 생터덕과 발효터덕 모두에서 농도가 높아질수록 증가하였고, 1.0 mg/ml에서 생터덕이 24.01%로 21.45%인 발효터덕에 비하여 세포독성이 조금 더 높게 측정되었지만 25% 미만의 낮은 독성으로 세포수준에서 유의할 만한 독성은 아닌 것으로 확인되었다. 이를 암세포주와 비교해 보기위해 암세포주에 대한 실험을 수행하였고, 그 결과를 Table 1에 나타내었다. Table 1에서 보이듯이 간암세포에서의 생터덕과 발효터덕의 저해율은 추출물의 농도와 비례하여 증가함을 볼 수 있었다. 추출물의 농도가 1.0 mg/ml 일 때 저해율은 발효터덕이 89.44%로 생터덕의 저해율 71.46%보다 높았으며, 세포의 선택적 사멸도인 selectivity 또한 비교적 저농도에서도 두 시료 모두 1.5 이상

**Table 1.** Inhibitory effect of *Codonopsis lanceolata* on the growth of four difference cancer cell lines and the selective toxicity.

Sample	Con. (mg/ml)	Inhibition ratio <sup>†</sup> (%)				Selectivity <sup>‡</sup>			
		Hep3B <sup>§</sup>	AGS	MCF-7	A549	Hep3B	AGS	MCF-7	A549
Fresh <i>Codonopsis lanceolata</i>	0.2	45.77±4.0 <sup>c</sup>	46.08±2.0 <sup>b</sup>	29.41±3.0 <sup>a</sup>	15.40±2.0 <sup>a</sup>	3.93±0.21 <sup>c</sup>	3.95±0.10 <sup>c</sup>	2.52±0.22 <sup>b</sup>	1.32±0.10 <sup>a</sup>
	0.4	48.59±3.0 <sup>b</sup>	49.02±4.0 <sup>b</sup>	54.90±3.5 <sup>b</sup>	23.51±2.0 <sup>b</sup>	3.53±0.31 <sup>b</sup>	3.56±0.14 <sup>b</sup>	3.99±0.12 <sup>b</sup>	1.71±0.12 <sup>b</sup>
	0.6	54.23±2.5 <sup>c</sup>	50.49±1.5 <sup>c</sup>	61.76±4.1 <sup>c</sup>	28.31±2.2 <sup>c</sup>	3.52±0.26 <sup>b</sup>	3.28±0.16 <sup>c</sup>	4.01±0.10 <sup>b</sup>	1.84±0.14 <sup>c</sup>
	0.8	71.13±2.7 <sup>c</sup>	65.69±1.7 <sup>b</sup>	69.61±2.2 <sup>c</sup>	24.83±2.6 <sup>c</sup>	4.24±0.10 <sup>c</sup>	3.91±0.18 <sup>a</sup>	4.15±0.13 <sup>c</sup>	1.48±0.11 <sup>b</sup>
	1.0	77.46±2.3 <sup>c</sup>	74.51±1.0 <sup>c</sup>	77.45±3.1 <sup>b</sup>	35.10±2.4 <sup>a</sup>	3.61±0.20 <sup>c</sup>	3.47±0.11 <sup>c</sup>	3.61±0.15 <sup>b</sup>	1.64±0.10 <sup>b</sup>
Fermented <i>Codonopsis lanceolata</i>	0.2	70.92±3.0 <sup>c</sup>	18.14±3.2 <sup>a</sup>	13.73±2.5 <sup>a</sup>	15.73±2.5 <sup>a</sup>	4.41±0.20 <sup>a</sup>	1.13±0.12 <sup>b</sup>	0.85±0.14 <sup>c</sup>	2.50±0.13 <sup>b</sup>
	0.4	78.87±2.5 <sup>b</sup>	29.41±2.1 <sup>b</sup>	37.25±4.0 <sup>b</sup>	42.05±1.5 <sup>b</sup>	4.70±0.15 <sup>b</sup>	1.75±0.13 <sup>b</sup>	2.22±0.16 <sup>b</sup>	2.51±0.12 <sup>a</sup>
	0.6	82.39±3.0 <sup>c</sup>	36.76±2.5 <sup>c</sup>	51.96±3.2 <sup>c</sup>	45.03±2.5 <sup>c</sup>	4.65±0.22 <sup>b</sup>	2.08±0.10 <sup>c</sup>	2.93±0.14 <sup>c</sup>	2.54±0.12 <sup>a</sup>
	0.8	86.62±3.1 <sup>c</sup>	46.08±2.4 <sup>b</sup>	61.76±2.3 <sup>a</sup>	49.34±2.6 <sup>a</sup>	4.53±0.30 <sup>c</sup>	2.41±0.15 <sup>c</sup>	3.23±0.17 <sup>c</sup>	2.58±0.10 <sup>b</sup>
	1.0	89.44±2.5 <sup>a</sup>	52.94±1.4 <sup>c</sup>	67.65±2.8 <sup>b</sup>	53.31±1.3 <sup>b</sup>	3.73±0.17 <sup>b</sup>	2.20±0.10 <sup>b</sup>	2.82±0.15 <sup>b</sup>	2.22±0.10 <sup>c</sup>

<sup>†</sup>{1 - (sample)O.D. / (control)O.D.} × 100

<sup>‡</sup>(cancer cell cytotoxicity)/(normal cell cytotoxicity)

<sup>§</sup> Hep3B; human hepatocellular carcinoma cell, AGS; human stomach adenocarcinoma cell, MCF-7; human breast adenocarcinoma cell, A549; human lung carcinoma cell

<sup>a-c</sup> Values with different superscripts within the group are significantly different by ANOVA

생더덕과 발효더덕의 유용생리활성 비교

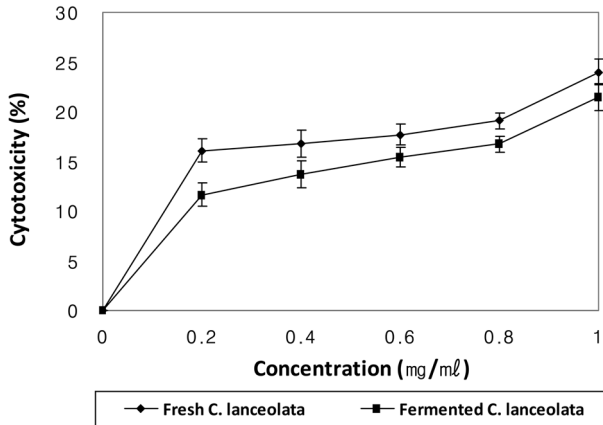


Fig. 1. Inhibition ratio of fresh *C. lanceolata* and fermented *C. lanceolata* extract on the growth of human normal lung cell line, HEK293.

의 선택적 사멸도를 나타내었다. 그 밖의 다른 여러 암세포에 대한 결과는 Table 1에 나타내었다. A549인 인간 폐암세포에 대한 억제율과 selectivity는 간암세포에서와 같이 높지는 않았지만, 최고 농도 1.0 mg/ml에서 발효더덕이 53.3%, 생더덕이 35.1%로 억제율이 나타나 두 시료 모두 폐암세포를 억제할 수 있는 것으로 확인되었다. 또한, 발효더덕은 생더덕 보다 더 높은 비율로 간암세포와 폐암세포를 억제할 수 있는 것을 알 수 있었다. 다음으로 AGS인 인간 위암세포에 대한 두 시료의 억제율과 선택적 사멸도를 알아본 결과 위암세포에 대해서도 두 시료 모두 저해율을 보였으며 특히, 발효더덕 보다는 생더덕의 억제율이 최고 농도 1.0 mg/ml에서 74.51%로 발효더덕의 억제율 51.94%보다 높게 나타났다. Selectivity 또한 두 시료 모두 0.4 mg/ml 이상의 농도에서 1.5보다 높은 선택적 사멸도를 나타내었고, 발효더덕 보다는 생더덕에서 높은 수치를 보여 주었다. MCF-7이라는 인간 유방암세포도 마찬가지로 저농도부터 최종 농도 1.0 mg/ml까지 억제율과 선택적 사멸도를 알아보았는데 유방암세포에서도 생더덕의 억제율과 선택적 사멸도는 최고 농도 1.0 mg/ml에서 77.4%와 3.6으로 나타났고, 발효더덕의 억제율과 선택적 사멸도는 67.6%, 2.8로 나타났다. 즉, 유방암세포에 대해서는 생더덕 추출물이 발효더덕 추출물보다 억제율과 선택적 사멸도가 높음을 확인하였다. 이와 같은 결과로서 생더덕과 발효더덕 추출물의 농도를 증가시키에 따라 암세포 억제율이 유의적으로 증가함을 확인할 수 있었고 특히, 간암과 폐암세포에 대해서는 발효더덕의 억제율과 선택적 사멸도가 생더덕에 비해 높으며, 위암과 유방암세포에 대해서는 발효더덕보다는 생더덕의 억제율과 선택적 사멸도가 높음을 알 수 있었다. 이러한 결과로 볼 때 생더덕은 주로 순환기나 소화기 계통의 기관에 작용하여 높은 항암 활성능을 보였고, 발효더덕은 폐와 같은 호흡기계통의 기관에 작용하여 높은 항암활성을 나타내어 기관 특이적으로 암세포에 대한 부

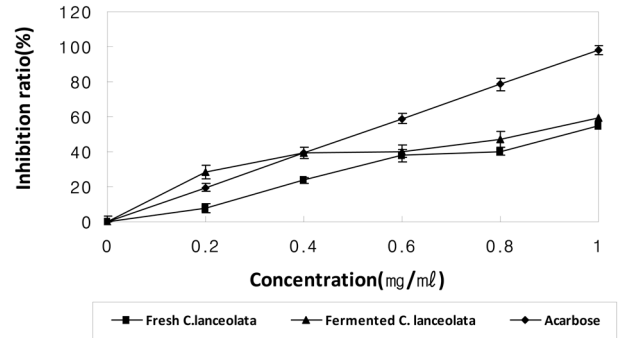


Fig. 2. The effect of inhibition  $\alpha$ -glucosidase activity of fermented *C. lanceolata* and fresh *C. lanceolata*.

위별 억제능이 있는 것으로 사료된다. 그리고, 위 실험을 통해 확인한 암세포에 대한 높은 저해능은 시료인 각 추출물 내의 triterpenoid saponins 성분에 의해 암세포에 특이적인 억제능 (Shibata, 2001; Lee *et al.*, 2002)을 보이는 것이라 생각되며 홍경천의 항암활성 (Kim *et al.*, 2007)과 비교하여 볼 때 간암세포 Hep3B에 대해서는 같은 농도 1.0 mg/ml에서 홍경천의 억제능  $69.3 \pm 3.6$ 에 비해  $89.4 \pm 2.5$ 로 발효더덕의 억제능이 약 20% 높은 억제능을 보인 것으로 *in vivo* 실험을 통해 억제 기작을 규명할 수 있다면, 기능성 의약품으로 잠재적 가능성을 제시할 수 있을 것이라 사료된다.

2.  $\alpha$ -glucosidase 억제 활성

$\alpha$ -glucosidase는 소장 상피세포의 brush-border membrane에 존재하는 효소로서 이당류나 다당류를 탄수화물이 소화 흡수되기 위한 상태인 단당류로 가수분해하는 역할을 한다.  $\alpha$ -glucosidase에 대한 저해능은 탄수화물 식이 후 혈당상승을 억제할 수 있어 항당뇨 활성 측정법으로 이용된다 (Gua *et al.*, 2006). Saponin계 성분이 비만을 억제한다고 (Kim *et al.*, 2009) 하였고 이에 따라  $\alpha$ -glucosidase 억제 활성 실험을 함께 하였다. 그 결과  $\alpha$ -glucosidase 억제 활성 실험은 Fig. 2에서 보여지듯이 생더덕 추출물은 0.2 mg/ml, 0.4 mg/ml, 0.6 mg/ml, 0.8 mg/ml, 1.0 mg/ml의 농도에 대하여 7.8%, 23.6%, 37.7%, 40.1%, 55.1%로 유의하게 억제하였다 ( $p < 0.05$ ). 발효더덕 추출물은 0.2 mg/ml, 0.4 mg/ml, 0.6 mg/ml, 0.8 mg/ml, 1.0 mg/ml의 농도에 대하여 28.3%, 39.3%, 40.1%, 47.2%, 55.1%로 유의하게 억제하였다 ( $p < 0.05$ ). 최고 농도 1.0 mg/ml에서는 생더덕의 억제활성이 55%, 발효더덕의 억제활성이 59%로 비슷한 저해능을 나타냈지만 발효더덕의 억제활성이 약간 높음을 알 수 있었다. 이 결과는 제비꽃 열수 추출물 (Lee *et al.*, 2008)의  $\alpha$ -glucosidase 억제능 64.59%와 acarbose (Kim *et al.*, 2001)의 98.04%에는 못 미치지만, 더덕 열수추출물 (Oh and Kim, 2007)의  $\alpha$ -glucosidase 억제능 25%에 대해서는 2배 이상의 억제능을 나타낸 것으로 측정되

었다. 이를 통해 더덕의  $\alpha$ -glucosidase 억제능이 존재함을 확인할 수 있었으며, 특히, 발효더덕의  $\alpha$ -glucosidase 억제활성을 확인하고 생더덕 보다 억제능이 상승한다는 것을 확인할 수 있었다. 이는 발효를 통해 칼로리가 적고 소화흡수율이 높은 유리당의 증가 (Park *et al.*, 2009) 및 유용성분의 변화, 유용성분 용출에 있어서의 변화로 인해  $\alpha$ -glucosidase 억제활성이 증가된 것으로 사료된다.

### 3. Tyrosinase 억제활성

Tyrosinase 억제활성은 최근 미백효과를 갖은 기능성 화장품에 대한 관심이 높아지면서 그 가치가 상승하고 있다. 이에 따라,  $\alpha$ -glucosidase 억제 활성 실험과 함께 tyrosinase 억제활성도 함께 측정하였다. 기미, 주근깨 등의 색소침착에 관여하는 멜라닌 색소는 tyrosine으로부터 tyrosinase에 의해 dopachrome으로 되고 자동산화반응을 거쳐 생성된다. 이와 같은 멜라닌 색소를 억제하기 위해서 중간단계인 tyrosinase의 활성을 억제하는 것이 필요하다. 이에 따라 tyrosinase 억제활성을 알아본 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 그 결과 시료농도 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg/ml 까지 생더덕의 tyrosinase 억제율

이 20.7, 22.5, 23.1, 24.2, 26.9% 로 발효더덕의 억제율 9.9, 10.9, 18.0, 23.4, 24.4% 로 유의한 tyrosinase 억제활성을 보였으며 생더덕이 발효더덕보다 약간 높음을 알 수 있었다 ( $p < 0.05$ ). 이 수치는 콜라겐의 72%의 저해율 (Kwon *et al.*, 2008) 보다는 낮은 수치이지만, 연꽃 열수추출물 (Chang *et al.*, 2007) 1.0 mg/ml 농도에서의 tyrosinase 억제능인 27.25%와 비슷한 수치를 나타낸 것이다. 그 외에도 tyrosinase 억제능을 살펴본 kojic acid (Jung *et al.*, 2009)는 50  $\mu$ l/ml, 100  $\mu$ l/ml, 200  $\mu$ l/ml, 500  $\mu$ l/ml 에서 각각 22%, 33%, 51%, 79%의 높은 억제율을 나타내었다. 이러한 tyrosinase 억제능 활성을 높이기 위해서는 농도를 높이거나 다른 추출공정을 통하여 유용성분의 효과적인 용출을 유도하는 다각적인 방법이 모색되어야 할 것이라 사료된다.

### 4. SEM(Scanning electron microscope) Image

SEM (scanning electron microscope)은 주사 전자 현미경으로 전자현미경의 전자총에서 나오는 전자선이 충돌하여 방출되는 것으로 화상을 얻기 때문에 금속성 물질과는 달리 생물 시료를 그대로 관찰할 수는 없고 반드시 금, 백금, 금합금, 백금합금 등 작은 크기의 입자를 3~4 mm 정도 얇게 증착하여 전도성을 획득하고 2차 전자 방출 유도과 전자선으로부터 시료를 보호하여야 하는 전처리 과정을 거쳐야 한다 (Chae, 1996). 전처리 과정을 통해 이온 코팅된 시료는 진공관 안에서 전자를 주사하여 선명한 이미지를 관찰하는데 이용된다. 앞서 측정된 생리활성 결과와 더불어 발효가 됨에 따라 조직적으로 어떠한 변화가 이루어졌는지를 SEM을 통해 관찰하였다. Fig. 4에서 A는 생더덕의 SEM 이미지이고, B는 발효더덕의 SEM 이미지이다. 그림에서 보이듯이 생더덕은 조직이 사각형 위주의 다각형을 갖은 것에 대조적으로 발효더덕의 조직은 동그랗고 더 넓은 모양이다. 이것으로 더덕은 발효를 통해 조직과 조직 사이가 벌어져 세포벽의 파괴뿐만 아니라 다공성 조직체화를 형성하고, 발효더덕에서의 발효성 미생물의 역할로

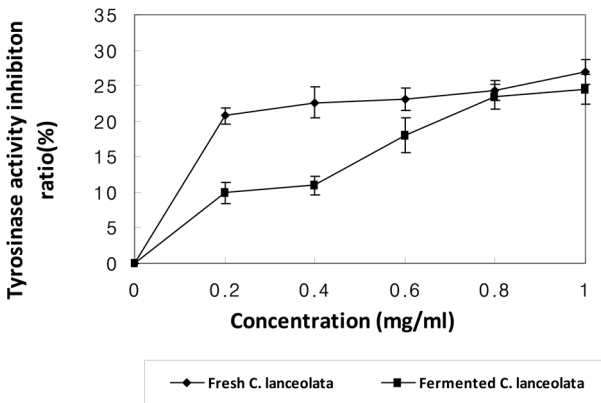


Fig. 3. Inhibition of tyrosinase activity of fermented *C. lanceolata* and fresh *C. lanceolata*.

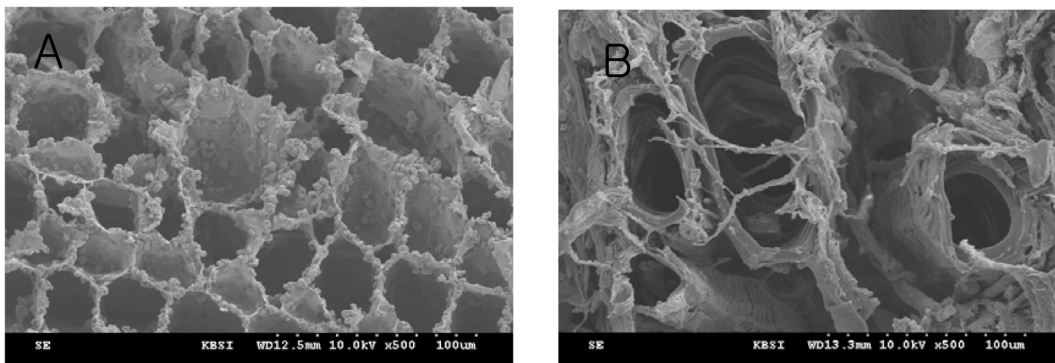


Fig. 4. Scanning electron microscope (SEM) image of a representative portion of *Codonopsis lanceolata* (A: Fresh *Codonopsis lanceolata*, B: Fermented *Codonopsis lanceolata*).

유용성분이 더 잘 용출될 수 있는 것이다. 또한, 앞의 발효물에서 전반적으로 활성이 높았기 때문에 발효에 따라 실제 미생물의 영향으로 유용성분의 용출이 증가된 것이라 생각할 수 있어 향후에 이러한 미생물과 발효된 물질을 더 연구하여야 할 것이라 사료된다.

### 감사의 글

본 논문은 농촌진흥청의 농업연구개발사업 (과제번호: 200901AFT143782462)의 지원에 의한 연구결과의 일부로 이에 감사드립니다.

### LITERATURE CITED

- Chae JM.** (1996). Maceration methods for SEM observation. *Keimyung Medical Journal*. 15:75-85.
- Chang MS, Kim HM, Yang WM, Kim DR, Park EH, Ko EB, Choi MJ, Kim HY, Oh JH, Shim KJ, Yoon JW and Park SK.** (2007). Inhibitory effects of *Nelumbo nucifera* on tyrosinase activity and melanogenesis in clone M-3 melanocyte of cultivated *Codonopsis lanceolata*, stored at various storage conditions. *The Plant Resources Society of Korea*. 19:59-67.
- Choi MY, Oh HS and Kim JH.** (2006). Changes of physico-chemical properties of cultivated *Codonopsis lanceolata* stored at Various storage conditions. *The Plant Resources Society of Korea*. 19:59-67.
- Gua J, Jin YS, Han W, Shim TH, Sa JH and Wang MH.** (2006). Studies for component analysis, antioxidative activity and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity from *Equisetum arvense*. *Agriculture Chemistry and Biotechnology*. 49:77-81.
- Heo YH.** (1998). Studies on the fermentable properties of isolated *B. subtilis* from fermented soybean. *Annual Bulletin Seoul Health*. 18:181-192.
- Jung SH, Ku MJ, Moon HJ, Yu BC, Jeon MJ and Lee YH.** (2009). Inhibitory effects of fucoidan on melanin synthesis and tyrosinase activity. *Journal of Life Science*. 19:75-80.
- Kang HI, Kim JY, Moon KD, Seo KI, Cho YS, Lee SD and Yee ST.** (2004). Effect of the crude polysaccharide of *Pleurotus eryngii* on the activation of immune cells. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 33:1092-1097.
- Kim CH, Kwon MC, Qadir SA, Hwang B, Nam JH and Lee HY.** (2007). Toxicity reduction and improvement of anticancer activities from *Rhodiola sachalinensis* A. Bor for ultra high pressure extracts process, *Korean Journal of Medical crop science*. 15:411-416.
- Kim IS and Lee SH.** (2005). Trichome type and development in leaves of *Althaea rosea*. *Korean Journal of Microscopy*. 32:97-104.
- Kim MJ, Ahn YJ, Kim MK, Kim HY and Lee HS.** (2001). Rat intestinal  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of leguminous seed extracts. *Agricultural Chemistry and Biotechnology*. 44:1-5.
- Kim SM, Seo KI, Park KW, Jeong YK, Cho YS, Kim MJ, Kim EJ and Lee MK.** (2009). Effect of crude saponins from soybean cake on body weight and glucose tolerance in high-fat diet induced obese mice. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 38:39-46.
- Kim SY, Kim HS, Su IS, Yi HS, Kim HS and Chung SY.** (1993). Effects of the feeding *Platycodon grandiflorum* and *Codonopsis lanceolata* on the lipid components of serum and liver in rats. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 22:517-523.
- Kwon MC, Qadir SA, Kim HS, Ahn JH, Cho NH and Lee HY.** (2008). UV protection and whitening effects of collagen isolated from outer layer of the squid *Todarodes pacificus*. *Journal of the Korean Fisheries Society*. 41:7-12.
- Kwon OW, Kim CH, Kim HS, Kwon MC, Ahn JH, Lee HJ, Kang HY and Lee HY.** (2007). Comparison of immunomodulatory and anticancer activities according to the parts of the *Styrax japonica* Sieb. et Zucc. *Korean Journal of Medical Crop Science*. 15:170-176.
- Lee BB, Park SR, Han CS, Han DY, Park EJ, Park HR and Lee SC.** (2008). Antioxidant activity and inhibition activity against  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase of *Viola mandshurica* extracts. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 37:405-409.
- Lee KT, Choi JW, Jung WT, Nam JH, Jung HJ and Park HJ.** (2002). Structure of a new echinocystic acid bisdesmoside isolated from *Codonopsis lanceolata* roots and the cytotoxic activity of prosapogenins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50:4190-4193.
- Oh HS and Kim JH.** (2007). Physiological functionalities of hot water extract of *Codonopsis lanceolata* and some medicinal materials, and their mixtures. *The Korean Journal of Community Living Science*. 18:407-415.
- Park SJ, Seong DH, Park DS, Kim SS, Gou J, Ahn JH, Yoon WB and Lee HY.** (2009). Chemical compositions of fermented *Codonopsis lanceolata*. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 38:396-400.
- Pomerantz SH.** (1963). Separation, purification and properties of two tyrosinases from hamster melanoma. *The Journal of Biological Chemistry*. 238:2351-2357.
- Shibata S.** (2001). Chemistry and cancer preventing activities of ginseng saponins and some related triterpenoid compounds. *Journal of Korean Medical Science*. 16:28-37.
- Shim MS, Choi SW and Bea SJ.** (2001). Effects of *Punica granatum* L. fractions on quinone reductase induction and growth inhibition on several cancer cells. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 30:80-85.