

<http://dx.doi.org/10.17703/JCCT.2022.8.6.935>

JCCT 2022-11-116

홍삼함유 과채류 복합 추출물의 증숙열처리 및 유산균 발효에 의한 장관면역 활성화

Evaluation of Intestinal Immunity Activity by Steam-Heat Treatment and Fermentation of Lactic Acid Bacteria of Fruit and Vegetable Complex Extracts containing Red Ginseng

김현경*

Hyun Kyoung Kim*

요약 본 연구의 목적은 과채류 복합추출물에 소량의 홍삼을 첨가하여 증숙가열 및 유산균 발효에 의한 진세노사이드 대사산물의 활성 증가와 장관면역 활성이 현저히 개선되는지를 알아보고자 하였다. 홍삼 단독 추출물 또는 과채류 복합추출물에 비해 홍삼을 함유한 과채류 복합추출물에서 시너지 효과에 의한 장관면역 활성의 증가가 관찰됨을 확인하였다. 다음으로 홍삼을 함량별로 첨가하여 유산균 발효에 따른 시너지 효과를 얻을 수 있는 홍삼의 농도를 결정하였다. 그 결과, 홍삼을 과채류 혼합물 질량에 대하여 3~10%의 질량비로 혼합하여 증숙 및 유산균 발효 추출하였을 때 시너지 효과가 나타나는 것을 확인하였다. 또한 홍삼을 함유한 과채류 복합추출물은 200 μ g/ml의 농도로 처리하였을 때 홍삼이 함유되지 않은 과채류 복합추출물에 비해 NO 생성을 약 60% 억제하였으며, IL-1 β 의 발현은 63%, IL-6의 발현 69%, TNF- α 의 발현 76% 수준으로 억제하여 장관면역 활성이 크게 향상되었음을 확인하였다.

주요어 : 진세노사이드, 과채류 복합추출물, 장관면역 활성화, 유산균발효, 사이토카인

Abstract The purpose of this study was to investigate whether the activity of ginsenoside metabolites and the intestinal immunity antioxidant activity were remarkably improved by lactic acid bacteria fermentation by adding a small amount of ginsenoside to the complex extracts of fruits and vegetables. It was confirmed that the increase in intestinal immunity antioxidant activity due to synergistic effect was observed in the fruit-vegetable extract containing ginsenoside compared to the ginsenoside-only extract or the fruit-vegetable extract. Then, by adding ginsenosides by content, the concentration of ginsenosides that can obtain a synergistic effect according to the fermentation of lactic acid bacteria was determined. As a result, it was confirmed that a synergistic effect was exhibited when lactic acid bacteria were fermented and extracted by mixing ginsenosides in a mass ratio of 3 to 10% with respect to the mass of the fruit-vegetable mixture. As a result, when treated at a concentration of 200 μ g/ml, the fruit-vegetable complex extract containing ginsenoside metabolites inhibited the generation of NO by about 60% compared to the complex extract containing no ginsenoside, The expression of IL-1 β was suppressed by 63%, the expression of IL-6 by 69%, and the expression of TNF- α by 76%, confirming that the intestinal immune antioxidant properties were significantly improved.

Key words : Ginsenosides, Fruit and Vegetable Complex Extract, Intestinal Immunity Activity, Lactic acid Bacterial Fermentation

*정희원, 서원대학교 식품공학과 조교수 (단독저자)
접수일: 2022년 10월 31일, 수정완료일: 2022년 11월 6일
게재확정일: 2022년 11월 9일

Received: October 31, 2022 / Revised: November 6, 2022
Accepted: November 9, 2022

*Corresponding Author: Kimhk4@seowon.ac.kr
Dept. of Food Science and Engineering, Seowon Univ, Korea

I. 서 론

식물 속에는 파이토케미컬(phytochemical)로 불리는 생리활성을 나타내는 다양한 물질들이 함유되어 있으며, 이 중에는 장내면역 항산화성을 나타내는 물질 또한 포함되어 있다[1,2]. 파이토케미컬은 예를 들어 빨간색, 보라색, 초록색, 노란색, 흰색 등 주로 과일과 야채의 색을 나타내는 성분과 관련되어 있으며, 따라서 다양한 색의 과일과 야채를 섭취하는 것이 중요하다. 특히 과일과 야채는 오랜 기간 동안 식품으로서 섭취되어 안전성이 확립되어 있으므로 안심하고 사용할 수 있으며, 다양한 과일과 야채의 복합 추출물은 항산화성 뿐 아니라 각 재료가 가지고 있는 해독작용, 면역기능, 항균작용, 호르몬 작용과 같은 다른 유익한 생리활성을 나타내는 성분을 동시에 섭취할 수 있는 장점이 있다. 특히 과일과 야채에는 식이섬유가 다량 함유되어 있어 장대사에도 효능이 우수하다. 또한, 기본적으로 과일이나 야채에 함유되어 있는 항산화 물질에 의한 장내면역 항산화성보다 더 높은 장관면역 항산화성을 나타낼 수 있도록 가공할 수 있다면, 더 유용하게 사용될 수 있을 것으로 기대된다[3, 4].

한편, 수삼을 증숙과 건조를 반복하여 가공한 홍삼은 가공 과정에서 수삼에는 없거나 미량으로 함유되어 있던 진세노사이드 성분이 새로 생기거나 함유량이 크게 증가하여 수삼에 비해 약리작용이 강화된 특징을 갖는다[5- 7]. 수삼은 최소 3년 이상은 재배하여야 하므로 그 자체로도 가격이 높으며, 홍삼 제조를 위한 추가의 공정에 의해 홍삼은 상당히 고가의 소재이다. 홍삼 추출물의 농도가 높을수록 홍삼의 유익한 효능을 효과적으로 발휘할 수 있으나[8-10]. 홍삼의 농도가 높아질수록 제품의 가격 역시 높아지기 때문에 접근성이 떨어진 다. 또한 홍삼은 특유의 쓴맛으로 인하여 함유 농도가 높아지면 관능성이 저하되어 어린이나 젊은 세대들은 선호하지 않는 문제도 있다.

따라서 본 연구에서는 식재료로서의 안전성이 확립되고 유익한 생리활성을 나타내는 성분을 동시에 섭취할 수 있는 다양한 색상의 과일 및 야채의 복합 추출물을 장내면역 항산화 활성이 더욱 증가하도록 증숙 가열 및 유산균 발효로 홍삼 함유 과채류 복합추출물의 장내면역 활성 효능 평가를 확인 하고자 하였다.

II. 연구재료 및 방법

2.1. 시약 및 기기

사용된 시약은 dulbecco's phosphate buffered saline (D-PBS: Welgene, Korea), Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM : Gibco BRL Co., U.S.A.), 우태아혈청 (fetal bovine serum: FBS, Invitrogen Co., U.S.A.), trypan blue (Sigma Co., U.S.A.), CCK-8 assay kit (Dojindo, Korea), IL-1 β , IL-6 및 TNF- α ELISA kit (Invitrogen, USA) 등을 사용하였다.

사용된 기기는 clean bench (Vision scientific Co., Korea), autoclave (Sanyo Co., Japan), vortex mixer (Vision scientific Co., Korea), centrifuge (Sigma Co., U.S.A.), freeze dryer (EYELA FDU-540 Co., Japan), deep-freezer (Sanyo Co., Japan), ELISA reader (Molecular Devices Co., U.S.A.) 등을 사용하였다.

2.2. 과채류 복합 추출물 재료

본 실험에 사용한 과채류 복합 추출물 재료는 선행 문헌조사, 향미 평가 및 연중 재료의 입수 용이성과 함께 사전시험에서의 장내면역 항산화성 효능을 고려하여 사과, 배, 무, 양배추, 브로콜리, 양파, 당근, 토란대를 재료로 선정하였다. 사과, 배, 무, 양배추, 브로콜리, 양파, 당근은 약 5 cm 두께로 잘라 사용하였고, 토란대는 약 5 cm 길이로 잘라 사용하였다. 홍삼은 1 cm 두께로 편으로 썰어 사용하였다.

2.3. 홍삼 함유 과채류 복합 추출물

본 실험에 선정한 과일과 야채의 각 재료 600 g 씩 총 4,800 g과 홍삼 300 g을 추출 여과용 부직포에 넣은 상태로 1.2배(v/w), 6,120 mL의 정제수가 담긴 용기에 넣고 90°C에서 3시간 추출하고, 이어서 100°C에서 1시간 추출하여 총 4시간 추출하였다. 추출액을 실온으로 식힌 다음 분할하여 회전식감압농축기(Elela N-2110, 5,000ml)로 추출액의 농도가 약 5 Brix(Refractometer, ATAGO MASTER-53M)가 되도록 묽은농도로 농축한 다음 합하여 총 열수추출액의 부피가 5,100ml가 되도록 정용하였다. 총 추출액에서 1,000ml를 취하여 여과지 (ADVANTEC 2)로 여과한 다음 여액을 냉동건조하여 39.5g의 추출물을 얻었다.

2.4. 홍삼 함유 과채류 복합추출물의 유산균 발효물

홍삼 함유 과채류 복합 추출물에서 최종 5,100 g으로 정용된 열수추출액에서 1,000 g을 취하여 발효용 용기에 담아서 오토클레이브에 넣고 90°C에서 1시간 멸균한 후 크린벤치에서 실온으로 냉각하였다. 여기에 유산균배양 starter(메디오젠, 8종알파유산균-엘 <L> 2: *L-Lactobacillus plantarum* 등 8종 유산균 복합혼합물, 식약처 건강기능식품 품목제조신고 제품)을 2%(w/v)의 농도로 첨가하여 37°C에서 48시간 배양하였다. 해당 배양액을 여과지로 여과한 다음 여액을 냉동건조하여 46.8g의 유산균 발효물을 얻었다.

2.5. 세포독성 평가

RAW 264.7 세포를 10% fetal bovine serum (FBS) 과 1% penicillin으로 조성된 DMEM 배지(Gibco BRL Co., USA) 1 ml에 넣어 부유시켰다. 100 mm dish에 9 ml의 배지를 넣고, 세포를 부유시켜 세포배양기(37°C, 5% CO₂)에서 배양하였다. RAW 264.7 세포는 96 well plate에 2×10⁴ cells/well로 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 배양액을 신선한 배양액으로 교체한 후, 증숙 열처리된 과일-야채의 복합추출물 및 증숙 열처리된 과일-야채 복합추출물의 유산균 발효물의 시료 또는 과일-야채의 복합추출물 및 과일-야채 복합추출물의 유산균 발효물의 시료를 각각 50, 100, 200, 500, 또는 1,000 (μg/ml)의 농도로 처리하여 다시 24시간 동안 배양하였다. 대조군으로 사용하기 위하여 시료를 첨가하지 않은 실험군을 동일한 조건에서 배양하였다. 배양 후 10 μl의 CCK-8(Cell Count Kit-8, Dojindo, Korea) 용액을 첨가하여 세포배양기 (37°C, 5% CO₂)에서 30분간 반응시켰다. 반응 후 450 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 세포 생존율을 대조군에 대한 백분율로 계산하였다.

2.6. Nitric Oxide 생성에 추출물이 미치는 영향 평가

NO의 농도는 배양액 내의 nitric oxide 농도를 griess reagent system을 이용하여 측정하였다. 구체적으로 RAW 264.7 세포를 96 well plate에 2×10⁴ cells/well로 분주하여 24시간 동안 배양 하였다. 배양액을 신선한 배양액으로 교체한 후, LPS 1 μg/ml와 함께 증숙 열처리된 과일-야채의 복합추출물 및 증숙 열처리된 과일-야채 복합추출물의 유산균 발효물의 시료 또는 과일-야채의 복합추출물 및 과일-야채 복합추출물의 유산균

발효물의 시료를 각각 50, 100 또는 200 μg/ml의 농도로 처리하여 추가로 24시간 동안 배양하였다. 음성대조군(NC)은 LPS와 시료를 모두 처리하지 않았으며, 양성대조군(PC)은 LPS만을 처리하여 동일한 조건으로 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 N1 buffer 50 μl를 각 well에 처리하여 10분간 상온에서 반응한 후, N2 buffer 50 μl를 가하여 추가로 10분간 반응시켰다. 반응이 완료되면 540 nm에서 반응액의 흡광도를 측정하고 Nitrite standard의 농도별 표준곡선을 이용하여 배양액의 NO 농도를 결정하였다.

2.7. 염증성 사이토카인의 발현에 과채류 복합추출물이 미치는 영향 평가

48-well plate에 2×10⁵ cells/well의 농도로 RAW 264.7 세포를 분주하고 37 °C, 5% CO₂ 조건 하에서 18 hr 배양 후 배지를 제거하였다. 1 μg/ml의 LPS를 포함하는 배지로 교환 후, 시료를 농도별로 각각 첨가하여 24 hr 배양하였다. 음성대조군(NC)은 LPS와 시료를 모두 처리하지 않았으며, 양성대조군(PC)은 LPS만을 처리하여 동일한 조건으로 24시간 동안 배양하였다. 이후 세포배양 상등액의 사이토카인 생성 함량을 IL-1β, IL-6 및 TNF-α ELISA kit(Invitrogen, USA)를 사용하여 정량하였다.

III. 연구결과

3.1. RAW 264.7 세포에서의 세포생존율

유산균 발효물인 증숙 열처리된 과일-야채 복합추출물의 유산균 발효물과 과일-야채 복합추출물의 유산균 발효물의 시료는 모든 농도에서 80% 이상의 세포생존율을 나타내어 모든 농도에서 세포독성이 없음을 알 수 있었다. 그러나 증숙 열처리된 과일-야채의 복합추출물의 시료는 1,000 μg/mL의 농도에서, 과일-야채의 복합추출물의 시료는 500 μg/mL 이상의 농도에서 세포 생존율이 80% 이하로 세포독성이 있는 것으로 확인되었다. 이는 추출물 중 세포독성을 나타내는 물질이 사전 열처리 공정 및 또는 유산균 발효 공정을 거치면서 다른 물질로 전환되어 제거 또는 그 양이 감소하거나, 혹은 공정에서 새로 생성된 물질이 세포독성을 나타내는 물질의 독성을 완화하기 때문인 것으로 추측할 수 있었다(Table 1, Figure 1).

표 1. Raw 264,7세포에서 24시간 동안 8가지 복합추출물의 세포독성 평가
Table 1. Cell Viability by 8 Types of Sample for 24 hr in RAW 264.7 cells

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Normal	Sample name							
		1	2	3	4	A	B	C	D
50	100.0 \pm 0.9	99.1 \pm 0.8	98.9 \pm 0.4	98.2 \pm 0.5	99.4 \pm 0.7	100.0 \pm 2.0	99.1 \pm 0.7	99.8 \pm 1.0	99.4 \pm 0.8
100		98.5 \pm 2.5	92.8 \pm 1.3	97.5 \pm 2.7	97.6 \pm 1.6	97.3 \pm 2.4	98.5 \pm 1.2	97.9 \pm 0.6	97.2 \pm 0.3
200		95.9 \pm 2.9	92.7 \pm 1.6	93.7 \pm 2.7	94.5 \pm 1.8	93.3 \pm 0.1	94.4 \pm 1.7	96.5 \pm 1.9	95.3 \pm 0.4
500		87.3 \pm 1.6	79.4 \pm 1.9	89.5 \pm 2.7	81.7 \pm 2.1	90.6 \pm 1.9	85.6 \pm 3.5	85.5 \pm 2.3	78.8 \pm 1.4
1000		76.2 \pm 2.1	64.0 \pm 2.3	79.1 \pm 1.9	65.6 \pm 2.6	82.6 \pm 1.4	81.6 \pm 2.0	77.0 \pm 1.0	67.3 \pm 1.4

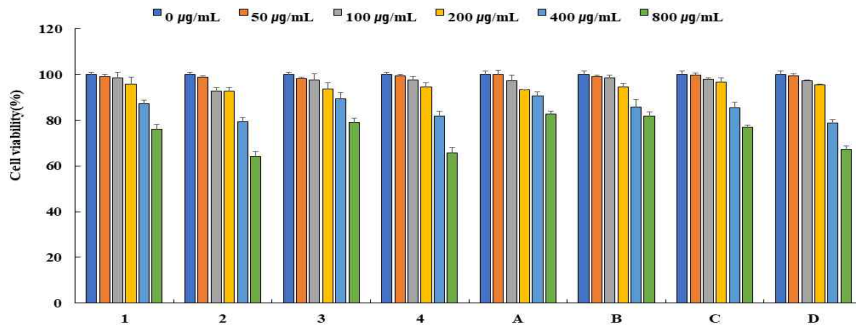


그림 1. 조성물의 세포독성 평가

Figure 1. Cell viability by 8 types of sample for 24 h in RAW 264.7 cells. Cell viability were determined by 8 types of sample at 50, 100, 200, 400 and 800 $\mu\text{g/mL}$ for 24 h in RAW 264.7 cells. The results were presented by the mean \pm standard deviation. 0 : Non treated RAW264.7 cells

1 : Extract of a mixture of 8 fresh samples, 2 : Extract after steaming 8 fresh sample mixture, 3 : Add 1% of red ginseng extract to the fresh sample extract, 4 : Add 1% of red ginseng extract to the steamed sample extract, A: Lactobacillus fermentation (LAB/F+) with the fresh sample extract, B : LAB/F+ with the steamed sample extract, C : LAB/F+ with 1% red ginseng extract added to the fresh sample extract, D : LAB/F+ with 1% red ginseng extract added to the steamed sample extract.

3.2. Nitric Oxide 생성에 추출물이 미치는 영향 평가

RAW 264.7 세포에서 LPS 자극에 의해 증가되는 NO 생성량에 대한 시료 8종에 의한 조절 효과는 Table 2와 같다. 무처리구는 28.7 \pm 0.4%, LPS 처리구는 100.0 \pm 1.1%를 나타낸 반면, 각각의 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g/mL}$ 의 처리 농도에서 모든 시료는 농도 의존적으로 NO 생성량이 감소시키는 것으로 확인되었다. 증숙 열처리된 과채류 복합추출물과 증숙 열처리된 복합 추출물의 유산균 발효물의 추출물은 LPS 처리에 의해 증가된 NO의 생성을 농도 의존적으로 억제하며 특히 증숙 열처리된 복합추출물의 유산균 발효물의 추출물의 억제효과가 현저함을 보여준다. 이에 비해, 과채류 복합추출물은 NO의 생성 억제에 거의 영향을 미치지 않았으며, 과채류복합추출물의 유산균 발효물의 추출물 역시 미미한 효과를 나타내었다(Table 2, Figure 2).

3.3. 염증성 사이토카인의 발현에 추출물이 미치는 영향 평가

염증성 사이토카인 중 IL-1 β 의 발현량을 정량한 것으로, 모든 8가지 복합추출물의 시료가 LPS 자극에 의해 증가된 IL-1 β 의 발현을 농도 의존적으로 억제함을 보여주었다. 과채류 복합추출물과 증숙열처리된 복합추출물을 비교하면, 추출 전 증숙열처리 공정에 의해 과일-야채 복합 추출물의 IL-1 β 발현 억제능의 향상되었음을 보여주며, 증숙 열처리된 복합추출물과 증숙 열처리된 복합추출물의 유산균발효물의 비교로부터 유산균 발효는 추출물의 IL-1 β 발현 억제능을 추가로 더욱 향상시킴을 알 수 있다. 증숙 열처리 공정을 거치지 않은 과채류 복합추출물을 유산균 발효하는 경우에도 IL-1 β 발현 억제능이 향상되었으나, 증숙 열처리된 복합추출물의 유산균 발효물 시료에 비해서는 항상 효과가 적었다(Table 3, Figure 3).

표 2. NO 생성에 미치는 영향

Table 2. Regulation of NO Production by 8 Types of Sample in LPS-stimulated RAW 264.7 cells

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Sample name production(%)									
	NC	PC	1	2	3	4	A	B	C	D
50			99.9 \pm 1.5	99.7 \pm 2.1	69.6 \pm 1.1	73.8 \pm 2.6	96.7 \pm 1.6	75.9 \pm 1.3	56.8 \pm 2.7	61.8 \pm 1.4
100	28.7 \pm 0.4	100.0 \pm 1.1	99.8 \pm 1.3	99.6 \pm 1.8	65.1 \pm 0.6	66.9 \pm 1.3	96.6 \pm 2.3	68.8 \pm 2.3	55.0 \pm 1.2	56.6 \pm 1.4
200			99.4 \pm 2.6	87.0 \pm 1.9	59.2 \pm 2.0	64.7 \pm 1.0	96.0 \pm 2.5	68.2 \pm 2.7	53.8 \pm 1.3	54.8 \pm 0.6

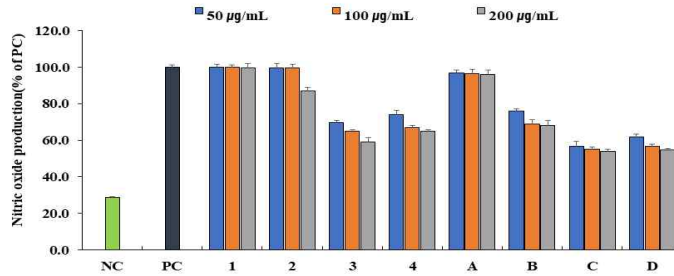


그림 2. LPS 자극에 의한 Raw 264.7 세포에서의 8가지 시료처리구의 NO 함량증 조절

Figure 2. Regulation of NO production by 8 types of sample in LPS-stimulated RAW 264.7 cells.

NO production were measured by 8 types of sample at 50, 100 and 200 $\mu\text{g/mL}$ for 24 hr in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. The results were presented by the mean \pm standard deviation.

NC : Non treated in RAW264.7 cells

PC : RAW264.7 cells were treated LPS (1 $\mu\text{g/mL}$)

1 : Extract of a mixture of 8 fresh samples, 2 : Extract after steaming 8 fresh sample mixture, 3 : Add 1% of red ginseng extract to the fresh sample extract, 4 : Add 1% of red ginseng extract to the steamed sample extract, A: Lactobacillus fermentation (LAB/F⁺) with the fresh sample extract, B : LAB/F⁺ with the steamed sample extract, C : LAB/F⁺ with 1% red ginseng extract added to the fresh sample extract, D : LAB/F⁺ with 1% red ginseng extract added to the steamed sample extract.

표 3. IL-1 발현에 미치는 영향

Table 3. Effect of 8 Types of Sample on production of IL-1 β in LPS-induced RAW 264.7 cells

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Sample name IL-1 β production(%)									
	NC	PC	1	2	3	4	A	B	C	D
50			465.7 \pm 17.4	428.0 \pm 9.4	337.3 \pm 27.6	376.7 \pm 16.6	380.8 \pm 22.1	343.6 \pm 21.8	267.8 \pm 20.0	266.2 \pm 16.0
100	50.0 \pm 3.5	560.5 \pm 19.3	380.9 \pm 12.1	351.2 \pm 19.8	330.3 \pm 5.8	337.7 \pm 33.7	340.1 \pm 14.1	318.5 \pm 17.7	170.5 \pm 21.7	187.9 \pm 16.0
200			315.3 \pm 22.8	262.2 \pm 19.2	197.3 \pm 18.0	265.5 \pm 7.8	304.2 \pm 26.2	224.3 \pm 10.9	133.7 \pm 15.4	168.0 \pm 17.8

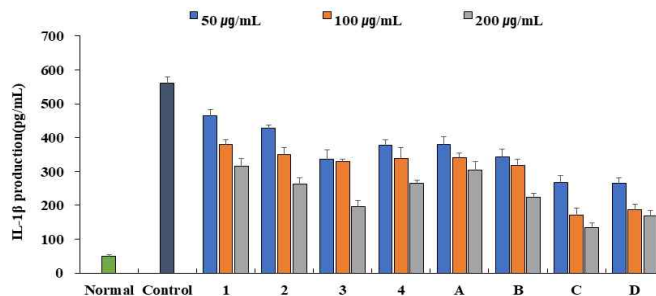


그림 3. LPS 자극에 의한 Raw 264.7 세포에서의 8가지 시료처리구의 IL-1 β 함량증 효과

Figure 3. Effect of 8 Types of Sample on production of IL-1 β in LPS-induced RAW 264.7 cells. The cells were stimulated with 1 $\mu\text{g/mL}$ of LPS only, or with LPS plus 8 Types of Sample for 24 hr. IL-1 β produced and released into the culture medium was assayed using the ELISA method. The data represent the mean \pm SD of triplicate experiments.

표 4. IL-6 발현에 미치는 영향

Table 4. Effect of 8 Types of Sample on production of IL-6 in LPS-induced RAW 264.7 cells

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Sample name									
	NC	PC	1	2	3	4	A	B	C	D
50			884.1 \pm 20.8	732.7 \pm 10.3	585.8 \pm 22.0	628.8 \pm 9.5	817.7 \pm 20.0	680.9 \pm 26.7	497.2 \pm 20.9	533.4 \pm 22.9
100	17.5 \pm 2.1	1039 \pm 37.0	730.7 \pm 16.4	621.8 \pm 11.4	515.5 \pm 18.8	605.5 \pm 19.8	615.4 \pm 19.5	568.9 \pm 26.8	399.0 \pm 18.1	580.5 \pm 8.2
200			705.4 \pm 6.6	604.8 \pm 11.3	488.3 \pm 21.4	571.6 \pm 24.8	572.1 \pm 23.0	559.2 \pm 29.3	349.1 \pm 15.6	561.6 \pm 17.2

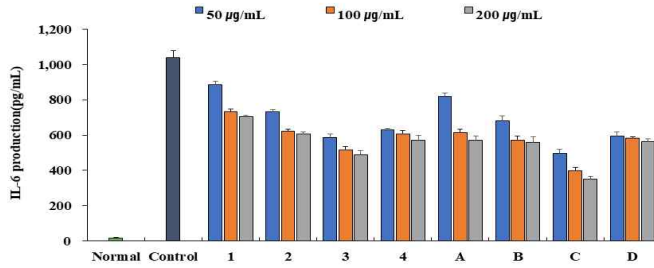


그림 4. LPS 자극에 의한 Raw 264.7 세포에서의 8가지 시료처리구의 IL-6 함량증 효과

Figure 4. Effect of 8 Types of Sample on production of IL-6 in LPS-induced RAW 264.7 cells. The cells were stimulated with 1 $\mu\text{g/mL}$ of LPS only, or with LPS plus 8 Types of Sample for 24 hr. IL-6 produced and released into the culture medium was assayed using the ELISA method. The data represent the mean \pm SD of triplicate experiments.

표 5. TNF- α 발현에 미치는 영향

Table 5. Effect of 8 Types of Sample on production of TNF- α in LPS-induced RAW 264.7 cells

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Sample name									
	NC	PC	1	2	3	4	A	B	C	D
50			1100.5 \pm 18.5	1093.3 \pm 26.0	947.5 \pm 15.6	951.1 \pm 20.3	906.7 \pm 27.3	862.2 \pm 5.7	671.1 \pm 6.6	838.1 \pm 11.4
100	63.4 \pm 2.9	1168.7 \pm 13.4	1074.0 \pm 15.1	1045.9 \pm 26.0	812.5 \pm 7.4	922.7 \pm 21.8	820.4 \pm 3.2	851.5 \pm 15.5	662.7 \pm 11.2	715.9 \pm 3.8
200			993.7 \pm 4.5	964.9 \pm 22.7	752.8 \pm 28.2	814.0 \pm 23.6	812.0 \pm 30.5	790.7 \pm 14.8	628.1 \pm 5.4	652.4 \pm 19.9

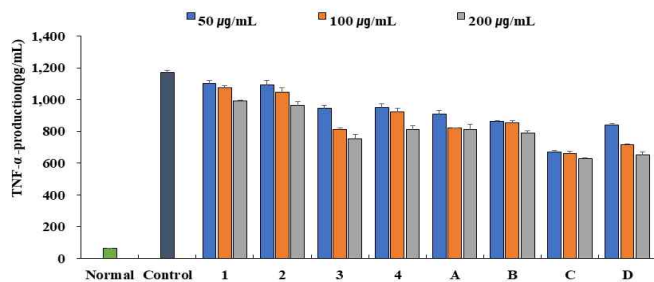


그림 5. LPS 자극에 의한 Raw 264.7 세포에서의 8가지 TNF- α 함량증 효과

Figure 5. Effect of 8 Types of Sample on production of TNF- α in LPS-induced RAW 264.7 cells. The cells were stimulated with 1 $\mu\text{g/mL}$ of LPS only, or with LPS plus 8 Types of Sample for 24 hr. TNF- α produced and released into the culture medium was assayed using the ELISA method. The data represent the mean \pm SD of triplicate experiments.

각 실험군에서의 IL-6의 발현량은 IL-1 β 에 대한 결과와 마찬가지로 모든 8가지 복합추출물의 시료가 LPS 자극에 의해 증가된 IL-6의 발현을 농도 의존적으로 억제함을 보여주는 결과를 확인하였다.

과채류 복합추출물과 증숙 열처리된 과채류 복합추출물을 비교하면, 추출 전 증숙 열처리 공정에 의해 과일-야채 복합 추출물의 IL-6 발현 억제능의 향상되었음을 보여주며, 증숙 열처리된 과채류 복합추출물과 증숙

열처리된 과채류복합추출물의 유산균 발효물의 비교로부터 유산균 발효는 추출물의 IL-6 발현 억제능을 추가로 더욱 향상시킴을 알 수 있다(Table 4, Figur 4).

TNF- α 의 발현량 측정 결과에서는 모든 시료에서 농도 의존적으로 LPS 처리에 의한 TNF- α 의 발현량 증가를 억제하였다. 특징적으로, 유산균 발효 공정은 TNF- α 의 발현 억제에 유의미한 영향을 미쳤으나, 증숙 열처리 공정은 TNF- α 의 발현 억제에는 영향이 미미하였다(Table 5, Figure 5).

V. 결 론

본 연구의 목적은 과채류 복합추출물에 소량의 홍삼을 첨가하여 증숙가열 및 유산균 발효에 의해 장내 면역항산화 활성이 현저하게 향상되는지 알아보려고 하였다. 그 결과 홍삼 단독 추출물 또는 과채류 추출물에 비해 홍삼을 함유한 과채류 추출물에서 시너지 효과에 의한 장내 면역 항산화 활성의 증가가 관찰됨을 확인하였다. 다음으로 홍삼을 함량별로 첨가하여 유산균 발효에 따른 시너지 효과를 얻을 수 있는 진세노사이드의 농도를 결정하였다. 그 결과, 홍삼을 과채류 혼합물 질량에 대하여 3~10%의 질량비로 혼합하여 유산균을 발효 및 추출하였을 때 시너지 효과가 나타나는 것을 확인하였다. 또한홍삼을 함유한 과일류 복합추출물은 200 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리하였을 때 홍삼이 함유되지 않은 복합추출물에 비해 NO 생성을 약 60% 억제하였고, IL-1 β 의 발현을 억제하였다. 63%, IL-6의 발현 69%, TNF- α 의 발현 76%로 장 내 면역 항산화 특성이 크게 개선되었음을 확인하였다.

References

[1] H. K. Kim, "Antioxidant activity evaluation of vegetable complex extract of pre-heat treatment process," *The Journal of the Convergence on Culture Technology*, Vol. 8(2), pp. 409-416, 2022. <http://dx.doi.org/10.17703/JCCT.2022.8.2.409>.

[2] H. K. Kim, "The functional effects of anti-microbial activity and anti-inflammatory seaweed polysaccharide extracts," *The Journal of the Convergence on Culture Technology*, Vol. 4(2), pp. 155-163, 2018. <http://dx.doi.org/10.17703/JCCT.2018.4.2.155>.

[3] J. W. Lee, and J. H. Do, "Current studies on browning reaction products and acidic polysaccharide in Korean red ginseng," *Journal of Ginseng Research*, Vol. 30(1), pp. 41-48, 2006. <http://dx.doi.org/10.5142/JGR.2006.30.1.041>.

[4] J. D. Park, "Recent studies on the chemical constituents of Korean ginseng(Panax ginseng C.A. Meyer)," *Journal of Ginseng Research*, Vol. 20(4), pp. 389-415. 1996. <http://dx.doi.org/10.5142/JGR.1996.20.4.389>.

[5] S. M. Lee, B. S. Bae, H. W. Park, N. G. Ahn, B. G. Cho, Y. L. Cho and Y. S. Kwak, "Characterization of Korean red ginseng(Panax ginseng Meyer): History, preparation method and chemical composition," *Journal of Ginseng Research*, Vol. 39(4), pp. 384-391. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/J.jgr.2015.04.009>.

[6] J. W. Lee, S. Ho and J. H. Do, "Function of the water soluble browning reaction products isolated from Korean red ginseng," *Journal of Ginseng Research*, Vol. 24(1), pp. 35-40. 2000. <http://dx.doi.org/10.5142/JGR.2000.24.1.035>.

[7] S. Y. Yoon, J. Y. Park, J. B. Lee, et al, "Ginsenoside Rg3 regulates S-nitrosylation of the NLRP3 inflammasome via suppression of iNOS," *Biochemical and Biophysical Research Communication*, Vol. 463(4), pp. 1184-1189, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/J.bbrc.2015.06.080>.

[8] H. S. Sung, S. K. Yoon, W. J. Kim, C. B. Yang, "Relationship between chemical components and theirields of red ginseng extract by various extracting conditions," *Journal of Ginseng Research*, Vol. 9(2), pp. 170-175. 1998. <http://dx.doi.org/10.5142/JGR.1998.09.2.170>.

[9] Y. J. Ha, S. K. Kim, S. E. Yoon, and S. K. Yoo, "Separation and purification of antioxidant activity acidic polysaccharide from red ginseng marc," *Journal of oil and applied science*, Vol.34(4). pp. 915-923. 2017. <http://dx.doi.org/10.12925/jkocs.2017.34.4.915>.

[10] Y. H. Moon and I. C. Jung, "physicochemical characteristics of Korean black cattle-fed mugwort," *Journal of life Science*, Vol. 22(5), pp.587-594, 2012. <http://dx.doi.org/10.5352/JLS.2012.22.5.587>.

※ 본 연구는 중소벤처기업부의 Collabo R&D 사업화(S3301480)의 지원으로 수행하였으며 이에 감사 드립니다.