

포공영(민들레)의 동치미 발효에 의한 간세포 보호 및 면역증진 효과

최복수[†] · 김혜자*

경기대학교 대체의학대학원

Effects of fermented *Taraxacum mongolicum* by *Dongchimi* on protection of liver cell and immune activity

Bog-Soo Choi[†] & Hye-Ja Kim*

Graduate School Alternative Medicine, Kyonggi University

Abstract

Objective : This study set out to combine the treatment efficacy of *Taraxacum* with *Dongchimi* fermentation and investigate *Taraxacum*'s effects on protection of liver cell and controlling nitric oxide(NO) through experiments, thus checking whether it had values as a physiological active matter. The experimental materials include *Taraxacum Dongchimi*(TD) and *Taraxacum* fermented by *Dongchimi*(TDF). As for methodology, experiments were carried out to compare TD and TDF in components, protection effects for liver cells, anti-cancer effects on liver cells, and protection effects for brain cells in the aspects of liver function and immunity enhancement.

Method : The experimental materials include *Taraxacum Dongchimi*(TD) and *Taraxacum* fermented by *Dongchimi*(TDF). As for methodology, experiments were carried out to compare TD and TDF in components, protection effects for liver cells, anti-cancer effects on liver cells, and protection effects for brain cells in the aspects of liver function and immunity enhancement.

Results : As shown in the chromatogram results, each valid component content increased in *Taraxacum* fermented by *Dongchimi*(TDF) for each time section. Of them, the valid component content at 36,80 minutes was approximately 2.7 times higher in TDF at 21,8% than in *Taraxacum Dongchimi*(TD) at 8,28%. TDF generated more excellent protection effects against the toxicity that caused oxidative damage to the liver cell(HepG2) with t-BHP than TD. The survival rate was low in TD of 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and increased to 23,3% in TDF of 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$. The survival rate was the highest at 300 μM with a significant difference of 68,1%($P<0,05$). Both TD and TDF showed effects of controlling nitric oxide production according to concentration with TDF recording a higher rate of controlling nitric oxide production than TD. There were significant differences($P<0,05$) in the effects of controlling nitric oxide production at 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ in both groups. Especially the result TDF of 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ was thus similar to those of butein, the positive control group.

Conclusion : The result of this studies is that *Taraxacum* fermented by *Dongchimi*(TDF) increased the valid component content compared with the simple mixture(TD). The findings clearly show that it is a material

• 접수 : 2014년 3월 17일 • 수정접수 : 2014년 4월 2일 • 채택 : 2014년 4월 17일

* 교신저자 : 김혜자, 서울 서대문구 경기대로 9길 63 경기대학교 대체의학대학원

전화 : 02-390-5012, 전자우편 : kimhj0517@hanmail.net

† 공동주저자임

with the effects of improving immunity and liver cell protection. If fermentation methods are further developed to use it as a functional material, it will be subject to more opportunities of being used in other functional foods and make a contribution to integrated medicinal food development.

Key words: *Taraxacum*, *Dongchimi*, fermentatin, liver cell protection, immune activity

I. 서론

민들레(*Taraxacum mongolicum*)는 국화과(*Compositae*)에 속하는 다년생의 초목인 민들레 및 동속 근연식물의 대근 전초이다.¹⁾ 우리나라에서 구황식물과 약용식물로도 사용되고 있으며 여러해살이로 전국각지에 걸쳐 야생하고 있고, 전 세계 400 여종이 분포하고 있다. 노란색 민들레는 귀화종인 서양 민들레이며 재래종 민들레도 역시 꽃은 황색이나 외포 면은 굽히거나 구부리지 않고 곧게 서며 작은 빨 돌기가 있다.²⁾ 민들레의 어린순과 뿌리는 나물, 국, 구황식물로 이용되어져 왔으며 서양에서는 잎은 샐러드용으로 뿌리는 커피 대용으로, 꽃은 와인 재료로 이용되어 왔으며 비타민과 무기질이 많고 지방과 칼로리가 낮아 대사성 질환 치료에도 이용되고 있다.³⁾ 동의보감에서는 성평(性平), 미감(味甘)하여 부인의 유종을 치유하고 방약합편에서는 무독하며 태음경인 비, 양명경인 위에 작용한다고 되어 있다.⁴⁾ 본초학에서는 청열해독(淸熱解毒), 소옹산결(消癰散結), 이습통림(利濕通淋) 등의 효능이 있어 옹종창상, 나력, 유옹, 폐옹, 장옹, 후비, 목적종통, 습열, 황달, 간염, 담낭염, 열립 등의 병증을 치료한다고 되어 있다.⁵⁾ 서양에서는 담즙분비 촉진, 항 류마티스, 이노 작용약제로 사용되어 왔으며, 최근에는 약리 작용에 관한 연구도 활발하게 이루어져 항균작용, 항암작용, 항 종양활성, 항산화 활성에 대한 연구가 보고되고 있다. 줄기를 꺾으면 흰색의 액체가 나오는데 이는 숲속의 음이온인 피톤치드의 주성분이며 항균, 항염, 항바이러스, 항암 효과 등 면역 효과가 있다.⁵⁾ 미국의 영양 학자인 Roy Vatabedian은 채소 영양평가 프로그램에서 3000가지 채소 가운데 가장 우수한 다섯 가지 중 하나로 민들레를 꼽았으며 고대 로마 시대부터 민들레는 훌륭한 간장 치료제로 사용되어 왔다.⁶⁾ 민들레처럼 천연물 의약품은 합성 의약품보다 상대적으로 부작용이 적고, 과거 우리 선조들이 축적해 왔던 경험을 토대로 장기간 복용이 가능하다.⁷⁾

현대인들의 잘못된 식생활에 대한 자성과 유산균 발효식품이 건강 장수식품으로 인식되면서 발효식품에 대한 관심이 높아가고 있다. 우리나라의 대표적인 전통발효식품인 김치, 청국장 등은 식이섬유소, 비타민, 무기질 등을 공급해주는 우수한 건강식품이며, 그 속에는 유산균을 비롯한 여러가지 유익한 미생물들이 존재하는데, 체내에 유익한 미생물을 probiotics라 일컫는다.⁸⁾

동치미는 무를 주원료로 한 발효식품으로 예로부터 배추김치 다음으로 겨울철에 많이 섭취하는 김치류로 부재료를 적게 사용하고, 고춧가루를 쓰지 않으며 국물이 많은 것이 배추김치와 다른 점이다. 동치미에 대한 연구는 배추김치에 비하여 많이 이루어져 있지 않다. 발표된 동치미의 연구로는, 동치미의 발효과정 중 pH, 일반성분 및 당분의 변화, 산화환원 전위의 변화, 비휘발성 유기산의 분석과 숙성온도에 따른 변화, 열처리와 염 첨가의 저장성 효과, 열수 담금 및 염 혼합물 첨가의 병용효과, 동치미의 맛 성분, 동치미의 발효 중 물리적, 화학적, 관능적 성질의 변화, 숙성 세균의 분리 동정 등이다.⁹⁾ 동치미 발효 유산균에 대한 연구로는, 유산균의 총 균수가 발효 4일째 8×10^7 cfu/ml로 최대를 나타내었고 온도가 높아질수록 유산균 총 균수도 높게 나타났다고 하였으며,¹⁰⁾ 유산균의 종류는 유일하게 동치미 미생물을 분리 동정한 연구로서, 동치미 숙성 과정 중 초기 호기성균인 *Pseudomonas* 속, 통성혐기성 세균인 *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus pentosaceus*가 나타나고, 중기에는 *Leuconostoc mesenteroides*와 *Pseudomonas denitrificans*가 우세하며, 비타민B₁₂ 생산성이 있는 것으로 인정 되었다고 보고하였다.¹¹⁾ 그 후 동치미에서 젖산균을 분리하였는데, 분리 동정한 젖산균은 5개 종으로 *Leu. mesenteroides*, *Lac. plantarum*, *Lac. brevis*, *Ped. pentosaceus*, *Streptococcus faecalis*였다.^{12,13)} 이들 결과로 볼 때 김치종류에 따른 유산균의 차이는 크지 않은 것으로 나타났다.

아울러 발효식품의 생리활성 작용이 보고됨에 따라

probiotics를 이용한 면역기능 강화, 장기능 개선, 생리 조절작용, 새로운 항 미생물질 생성 등과 관련된 여러 유익한 효능에 더욱 관심을 갖는 추세이다.¹⁴⁾ Probiotics로 이용되는 미생물은 유산균(*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* sp.), 세균(*Bacillus*, *Clostridium* sp.), 효모(*Saccharomyces*, *Torulopsis* sp.), 곰팡이(*Aspergillus* sp.) 등이 있다.⁸⁾

유산균 발효를 이용하여 제조된 제품은 원료 자체의 영양적 효과와 발효 생성물로 인한 효과가 복합적으로 이루어져 사람이나 가축의 건강증진에 기여하여 최근에 probiotics로 특히 유산균이 널리 이용되고 있다.^{15,16)}

이러한 경향에 비추어 본 연구는 발효 민들레의 효능을 보고자 함이며, 발효 매개체로 균주를 직접 이용하지 않고 probiotics 유산균을 함유한 전통발효식품인 동치미로 발효를 시도하였다. 아울러 예비실험에서 장기 복용시의 거부감 해소를 위해 민들레에 동치미를 혼합하여 제공하였을 때 다른 형태와 비교하여 선호도가 매우 높게 나타나 향후 임상실험의 연계성을 고려하여 민들레와 동치미를 단순 혼합한 실험군과 민들레를 동치미로 발효한 실험군의 두 실험군을 최종 선정하여 발

효 민들레의 유효성분의 증가를 규명하고, 세포실험을 통해 간세포 보호 및 면역증진 효과를 알아보고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 민들레 분말 및 동치미의 제조

실험에 사용한 민들레 분말은 유기농 농산물 생산업체인 (주)한농으로부터 건조된 민들레 전초를 구입하여 미세한 분말로 만들었다. 동치미 원료인 무는 길이 30cm, 중량 1.8kg의 제주산으로 안산 제이씨마드에서 구입하였다. 동치미 제조는 조선시대 동치미 명칭이 나오는 대표 문헌인 규합총서(閔閣叢書)의 전통 동치미 담그는 방법을 기초로 하였으며, 주 재료인 무 이외의 부재료를 최소화하여 제조하였다.

생수 30 l(약 73.7%)에 깍둑썰기한 무 10kg(약 25%), 천일염 0.5kg(약 1.21%), 설탕 26.5g(약 0.07%), 프락토올리고당 26.5g(약 0.07%)을 혼합하여 제조하였다. 동치미 초기 pH는 6.62를 나타내었다.

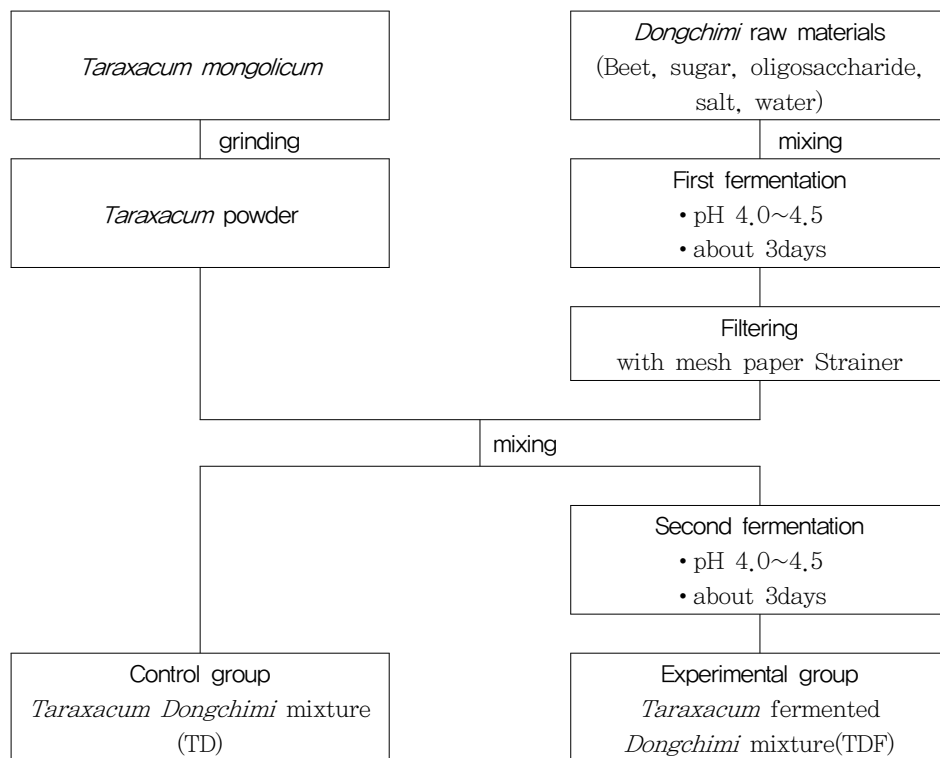


Fig. 1. Processing of *Taraxacum* *Dongchimi* mixture and *Taraxacum* fermented *Dongchimi* mixture

2. 민들레 분말과 동치미 혼합물 및 발효 혼합물의 제조

실험에 사용한 민들레 분말 동치미 혼합물(*Taraxacum Dongchimi mixture*, TD)과 민들레 분말 동치미 발효 혼합물(*Taraxacum fermented Dongchimi mixture*, TDF)의 제조방법은 Fig.1과 같다. 1차 발효한 동치미를 메시 여과망(제조사: 대흥 공업사, 스테인레스 스틸 원채망 특대 직경 32.5cm 평직: 200메시)에 흰색 한지를 깔고 여과한 액에 민들레 분말을 혼합한 것을 대조군(TD)으로 하였으며, 그 혼합물을 1차 발효와 동일한 조건으로 2차 발효한 발효물을 실험군(TDF)으로 정하였다.

3. 시약 및 기기

시료의 성분 분석에 사용한 HPLC 장치는 YL9100 HPLC system(Younglin, Korea)이며, 컬럼은 YMC-Triart C18(4.6×150m, 5 μ m)을 사용하였다. 이동상은 water, MeOH을 사용하였으며, 크로마토그램은 Sykam S3200 UV/VIS Detector(Sykam, 독일)를 이용하여 254nm에서 검출하였다.

간세포, 뇌세포 보호효과 및 항암실험에 사용한 시약 및 기기는 RPMI 배지와 DMEM 배지, trypsin-ethylenediamine-tetraacetic acid(EDTA), fetal bovine serum(FBS)는 Gibco Laboratories사에서 구입하였고, Lipopolysaccharide (LPS)와 3'-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2, t-BHP, Curcumine, (-)-epigallocatechin, gallate(EGCG), L-glutamate, Trolox, 5-diphenyltertrazoli-um bromide(MTT)는 Singma사에서 구입하였다. 96-Well tissue culture plates와 기타 tissue culture dishes는 Falcon사 제품을 이용하였다. TLC plate는 Merck사의 Silica gel 60 F254 plate를 이용하였다. 흡광도는 BioRad사의 Microplate Reader를 이용하여 측정하였다. 세포배양에서 RAW264.7 대식세포는 ATCC에서 동결상태로 구입하였으며, HT22 세포와 HepG2 세포 주는 American Type Culture Collection에서 분양 받아 사용하였다.

4. 민들레 분말의 동치미 발효물 성분분석 실험

본 연구에 사용한 민들레 분말과 동치미 혼합물(TD),

민들레 분말 동치미 발효 혼합물(TDF) 각각의 시료 50 ml에 에탄올 100 ml를 넣고 소니케이션 1 시간 처리 후에 여과한 다음 농축한 각각의 시료를 HPLC를 사용하여 함유성분의 패턴을 분석하였다.

사용한 HPLC 장치는 YL9100 HPLC system(Younglin, Korea)이며, 컬럼은 YMC-Triart C18(4.6×150m, 5 μ m)을 사용하였다. 이동상은 water, MeOH을 사용하였으며, 온도는 실온이었으며, 유속은 분당 1 ml이었다. 크로마토그램은 Sykam S3200 UV/VIS Detector(Sykam, Germany)를 이용하여 254 nm에서 검출하였다.

5. 간세포 보호효과 실험

간세포 보호효과는 HepG2 세포(2×10^4 cells/well)를 10% heatinactivated FBS, penicillin G(100 IU/ml)와 streptomycin(100 μ g/ml)을 함유한 RPMI 배지에 분주하고 5% CO₂ 배양기 내에서 37 $^{\circ}$ C에서 12시간 배양한 다음, 시료 용액(100, 300mg/ml)과 100 μ M t-BHP을 처리한 후 24, 4 시간 동안 5% CO₂ 배양기 내에서 배양하였다. 세포생존율은 MTT법을 활용하여 측정하였고, 양성대조약물로는 curcumin(20 μ g/ml)을 사용하였다. 모든 실험치는 대조군에 대한 세포 보호율을 평균치로 표시하였으며, 각각 3회 반복 실험치를 이용하여 계산하였다.

6. 간세포 항암효과 실험

간세포 항암효과는 HepG2 세포(2×10^4 cells/well)를 10% eatinactivated FBS, penicillin G(100 IU/ml)와 streptomycin(100 μ g/ml)을 함유한 RPMI 배지에 분주하고 5% CO₂배양기 내에서 37 $^{\circ}$ C에서 12시간 배양한 다음, 시료 용액(100, 200, 400, 800 mg/ml)을 처리한 후 각각 24시간 동안 5% CO₂배양기 내에서 배양하였다. 세포생존율은 MTT법을 활용하여 측정하였다. 모든 실험치는 대조군에 대한 세포 보호율을 평균치로 표시하였으며, 각각 3회 반복 실험치를 이용하여 계산하였다.

7. 뇌세포 보호효과 실험

HT22 세포(1×10^4 cells/well)를 10% heat-inacti-

vated FBS, penicillin G(100 IU/ml)와 streptomycin (100 µg/ml)을 함유한 DMEM 배지에 분주하고 5% CO₂배양기 내에서 37°C에서 24시간 배양한 다음, 다양한 농도(3,125, 6,25, 12,5, 25, 50, 100, 200, 400 µg/ml)의 각각의 시료와 5 mM 글루타메이트를 처리한 후 12시간 동안 5% CO₂배양기 내에서 배양하였으며, 세포생존율은 MTT법을 활용하여 측정하였고, 양성대조 약물로는 trolox(50 µM)를 사용하였다. 또한 모든 실험치는 대조군에 대한 세포 보호율을 평균치로 표시하였으며, 각각 3회 반복 실험치를 이용하여 계산하였다.

8. Nitric Oxide(NO) 생성 억제효과 실험

NO 생성 억제효과 실험을 위해 RAW264.7 대식세포는 FBS(10%)과 penicillin(100 U/ml)와 streptomycin sulfate(100 µg/ml)가 함유된 DMEM 배지에서 습한 조건의 37°C, 5% CO₂배양기에서 배양하였다. 본 실험에서 RAW264.7 대식세포에 대한 세포독성 및 실험시 처리 농도를 결정하고, 민들레 분말 동치미 혼합물(TD)과 민들레 분말 동치미 발효 혼합물(TDF)의 세포독성을 측정하기 위해 MTT assay를 사용하였다.

96 well plate에 1×10⁴ cells/well로 동일하게 분주하고 24시간 동안 배양하였다. 기존의 배지를 제거하고 새로운 배지를 넣어준 후 DMSO에 녹인 시료를 다양한 농도(12.5, 25, 50, 100, 200, 400 µg/ml)로 DMEM 배지에 희석하여 첨가하였다. DMSO의 처리 농도는 배지 대비 0.1% 이하가 되도록 하였다. 이를 다시 24시간 배양한 후에 배지를 제거하고 MTT시약(5 mg/ml)을 넣고, 4시간 동안 방치한 후 상등액을 제거

하였다. 형성된 formazan의 각 well에 butein 10µl를 첨가한 후 orbital shaker를 이용하여 녹이고, 30분 후 NO양을 측정했다. 실험은 3회 반복 실시하여 평균값을 구하였으며, control의 흡광도 값을 기준으로 세포 생존율을 비교하였다.

9. 통계처리

본 실험의 통계처리는 GraphPad Prism, version 3.03(GraphPad Software Inc., San Diego, CA)을 사용하였다. 실험군과 대조군의 결과는 평균치와 표준오차로 나타내었으며, 각 실험군 간의 결과는 T-test를 사용하여 분석하고 유의적인 차이가 있는 항목에 대해서만 검정하였다. 실험군과 대조군의 차이는 95% 수준(P<0.05)에서 유의성 있는 것으로 하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 민들레 분말의 동치미 발효물 성분분석

실험에 사용한 민들레 분말 동치미 혼합물(TD)과 민들레 분말 동치미 발효 혼합물(TDF)의 성분분석 결과는 Fig. 2-1~2와 같다. 그 중 TD의 성분은 Fig.2-1과 같고, TDF의 성분은 Fig.2-2와 같다. 본 실험에서는 시간대별 성분 종류는 규명되지 않았지만 HPLC system에 의한 시간대별 각 성분의 함량변화 비교는 가능하도록 검출되었다. Chromatogram에 나타난 것과 같이 주요한 메인 성분(Rt = 22.2 min)의 함량은 TD

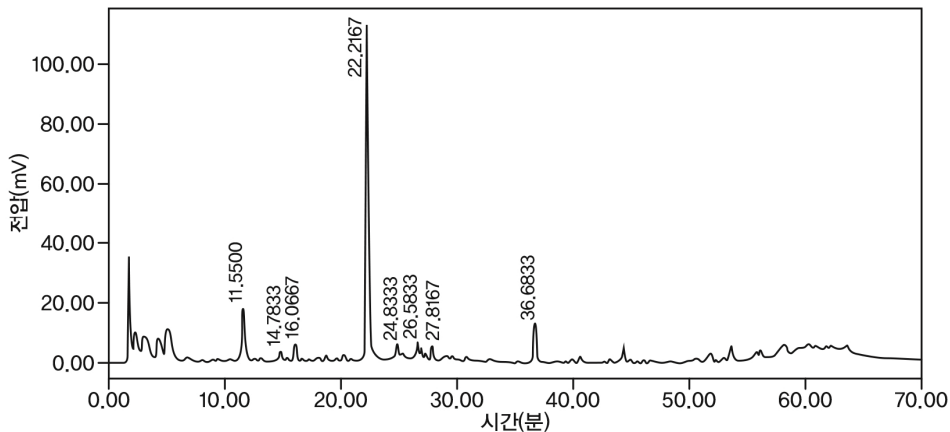


Fig. 2-1. HPLC chromatogram of *Taraxacum Dongchimi*

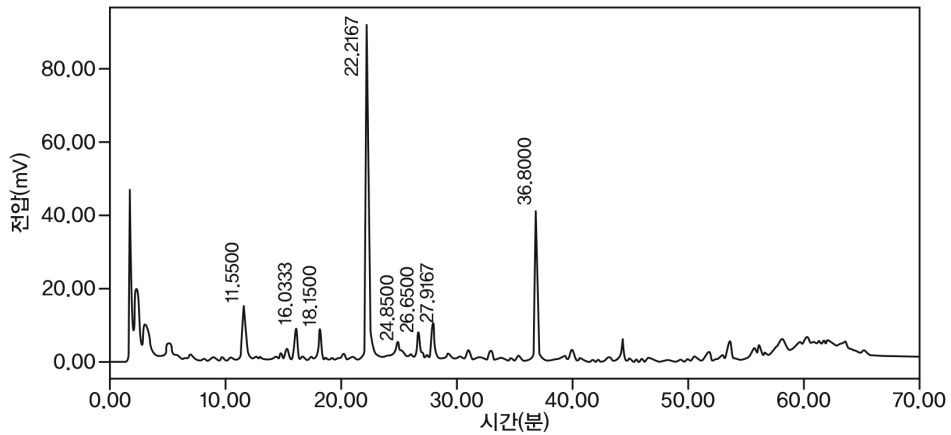


Fig. 2-2. HPLC chromatogram of *Taraxacum* fermented *Dongchimi* mixture

가 67.94%, TDF가 51.48%로 비슷하게 나왔으나, 두 번째 메인 성분(Rt = 36.8 min)의 함량은 TD의 8.28%보다 TDF가 21.81%로 약 2.7배 정도 증가되어 있음을 알 수 있었다.

선행연구에 의하면 민들레 추출물의 일반성분은 유리아미노산과 그 유도체, 구성 총아미노산, 유리당, 지방산, 무기질로 밝혀져 있고,¹⁷⁾ 동치미 발효에 의한 성분분석 결과는 전무한 편이며 향후 이들 유효 성분에 관한 규명이 필요할 것으로 판단된다.

2. 간세포 보호효과

T-BHP(tert-Butyl hydroperoxide)는 인체에 과도하게 유입되면 폐혈증을 일으키는 유기 과산화물이다. 본 실험은 시료와 T-BHP를 사람의 간암세포 유래

의 HepG2 세포주에 처리한 후 세포생존율을 증가시키는 정도를 검색하였다. 세포 생존은 MTT assay를 이용하여 세포생존율을 간접적으로 측정하였으며 그 결과는 Fig 3-1~2와 같다. 대조군은 HepG2에 T-BHP와 강한 항산화 물질인 강황성분(curcumine)을 처리하여 사용하였고 그 생존율은 69%이다. 민들레 분말 동치미 혼합물(TD)에서는 100 $\mu\text{g/ml}$ 과 300 $\mu\text{g/ml}$ 에서 낮은 생존율을 보인 반면, 민들레 분말 동치미 발효 혼합물(TDF)에서는 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서 23.3%로 나타났고 300 $\mu\text{g/ml}$ 에서 68.1%로 유의적인 차이($P < 0.05$)로 가장 높은 생존율을 보였다. 이는 민들레 추출물이 알코올로 유도되는 간의 기능을 보호하고 숙취 해소에 다소 효과가 있고,¹⁸⁾ 사염화탄소로 유도된 간 장애 동물 모델에서 함염증, 항산화 효과를 보고한 선행 연구들¹⁹⁾과 일치된 결과를 보여주고 있다.

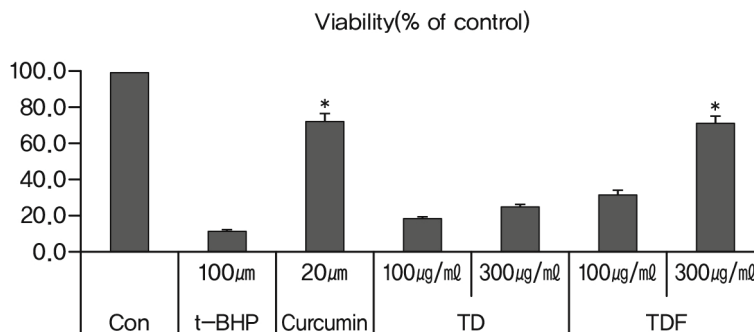


Fig. 3-1. Cell viability of TD and TDF

TD : *Taraxacum Dongchimi* mixture

TDF : *Taraxacum* fermented *Dongchimi* mixture

* values are Means \pm SD

Significantly different from each group. t-test; $p < 0.05$

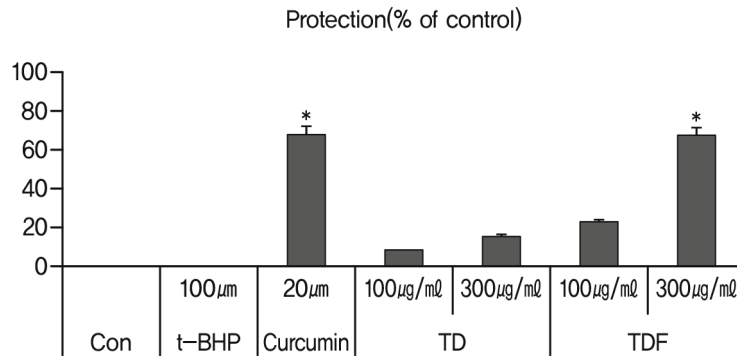


Fig. 3-2. Cell protection of TD and TDF

TD : *Taraxacum Dongchimi* mixture

TDF : *Taraxacum* fermented *Dongchimi* mixture

* values are Means ± SD

Significantly different from each group. t-test; p<0.05

3. 간세포의 항암효과

사람의 간암세포 유래의 HepG2 세포주는 일부 정상 세포의 역할을 하기 때문에 정상세포 보호실험과 항암 실험 모두 사용된다. 본 연구에서는 HepG2 세포주에 시료를 처리하고 24시간 후 세포 사멸률의 정도를 검색하였으며, 항암효과는 Fig. 4와 같다.

민들레 분말 동치미 혼합물 100 µg/ml, 200 µg/ml, 400 µg/ml, 800 µg/ml의 각각의 농도에서 각각 95.8%, 95.5%, 105.9%, 123.9%로 나타나 고농도로 갈수록 오히려 생존율이 증가하였다. 민들레 분말 동치미 발효

혼합물(TDF)은 100 µg/ml, 200 µg/ml, 400 µg/ml, 800 µg/ml 농도에서 각각 94.6%, 104.1%, 112.2%, 107.7%로 생존율의 큰 증가는 보이지 않았으나 사멸률은 없는 것으로 나타났다.

4. 뇌세포 보호효과

글루타메이트는 잘 알려진 신경전달 물질의 하나로서 과다 분비될 경우 신경흥분독성과 산화적 스트레스로 인해 뇌 세포 손상을 초래하게 된다. 생쥐의 해마유래 세포주인 HT22 세포주는 글루타메이트 수용체가

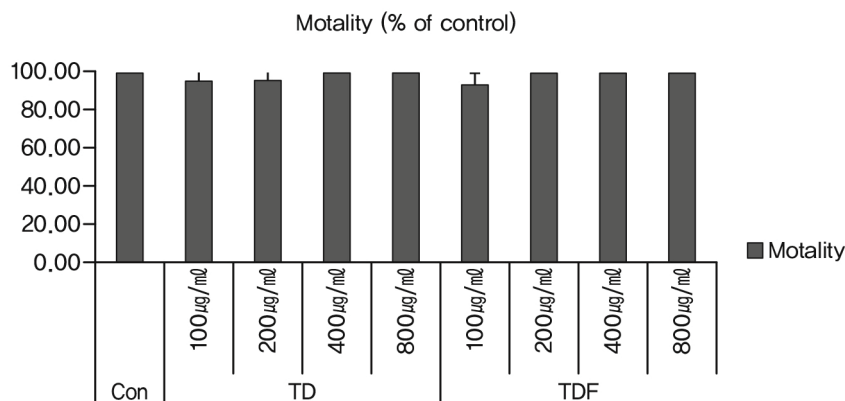


Fig. 4. Antitumor effect of TD and TDF in HepG2 cell

TD : *Taraxacum Dongchimi* mixture

TDF : *Taraxacum* fermented *Dongchimi* mixture

* values are Means ± SD

Significantly different from each group. t-test; p<0.05

없는 세포주로서 글루타메이트와 함께 처리할 때 신경 흥분독성이 아닌 산화적 스트레스로 인하여 세포가 손상을 받으며, 산화적 스트레스로 인한 퇴행성 뇌질환 연구에 있어서 유용한 실험 모델 중의 하나로 알려져 있다. 본 연구에서는 글루타메이트로 독성을 유발한 생쥐의 해마 유래 세포주인 HT22 세포주를 대상으로 민들레 분말 동치미 혼합물(TD)과 민들레 분말 동치미

발효 혼합물(TDF)의 세포생존율에 대한 증가 여부를 관찰하여 뇌 세포 보호 활성을 평가한 결과는 Fig. 5-1~2와 같다. 전반적으로 TD와 TDF 모두 유효한 효과는 없었지만 TD 보다는 TDF의 생존율이 다소 높았다. 민들레의 뇌세포 보호효과에 대한 선행연구는 아직 이루어지지 않고 있으며 추후 재실험이 필요하다고 판단된다.

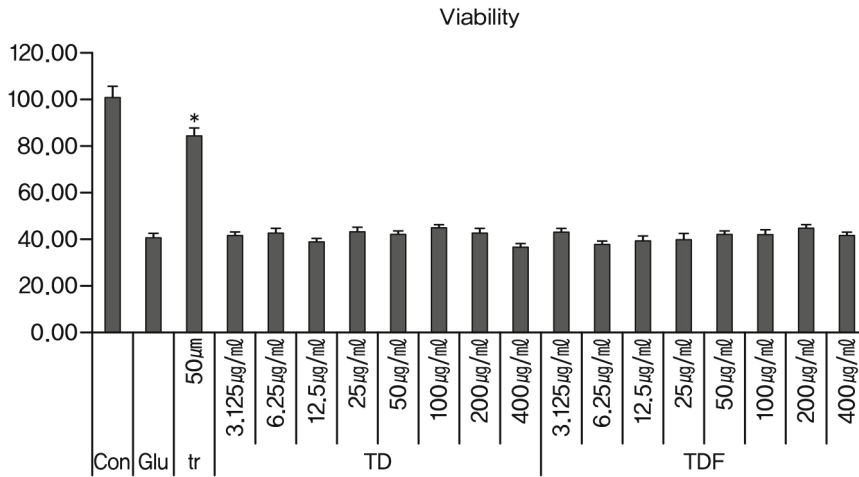


Fig. 5-1. Viability of TD and TDF in HT22 cell

TD : *Taraxacum Dongchimi* mixture

TDF : *Taraxacum* fermented *Dongchimi* mixture

* values are Means ± SD

Significantly different from each group, t-test; p<0.05

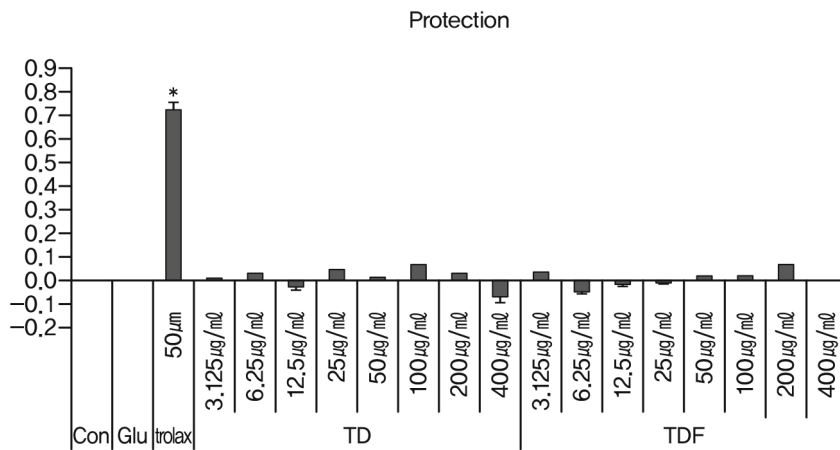


Fig. 5-2. Protection effects of TD and TDF in HT22 cell

TD : *Taraxacum Dongchimi* mixture

TDF : *Taraxacum* fermented *Dongchimi* mixture

* values are Means ± SD

Significantly different from each group, t-test; p<0.05

5. Nitric Oxide 생성 억제효과

마우스 유래 대식세포(RAW264.7)에서 LPS(Lipo-polysaccharide)로 유발한 Nitric Oxide(NO) 생성 억제효과는 Fig. 6과 같다. 대조군의 NO는 1.475 uM이며 butein을 사용한 양성 대조군의 NO는 2.047 uM로 나타났다. 민들레 분말 동치미 혼합물(TD)은 12.5 ug/ml에서 400 ug/ml로 고농도로 갈수록 NO의 생성량은 9.19±0.113 uM에서 4.99±0.126 uM으로 적어짐을 알 수 있었다.

또한 민들레 분말 동치미 발효 혼합물(TDF)은 12.5 ug/ml에서 400 ug/ml의 고농도로 갈수록 8.254 uM에서 3.666 uM로 NO 생성량이 억제되어 양성대조군인 butein과 비슷한 결과를 나타내었다. TD와 TDF 모두 농도가 증가할수록 NO 억제효과가 증가하였으며, TD보다는 TDF에서 좀 더 높은 NO 생성 억제율을 보였고, 특히 200 ug/ml과 400 ug/ml 농도에서는 두 실험군 모두에서 유의적인 차이(P<0.05)로 NO 생성 억제효과가 있었다.

선행연구에서 민들레의 모든 추출물에서 농도 의존적인 NO 생성 저해활성이 있음을 보고 하였는데,²⁰⁾ 본 연구결과에서는 특히 TDF에서 농도 의존적으로 NO 생성 억제효과가 있음을 알 수 있었다.

IV. 결론

본 연구는 발효 민들레의 효능을 보고자 함이며, 발효 매개체로 probiotics 유산균을 함유한 전통발효식품인 동치미로 발효를 시도하여 민들레의 유효성분의 함량변화, 간세포 보호효과, 항암효과, 뇌세포 보호효과 및 항염증 효과 등의 실험을 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

민들레 분말 동치미 혼합물(*Taraxacum Dongchimi*, TD)과 민들레 분말 동치미 발효 혼합물(*Taraxacum fermented Dongchimi*, TDF)의 성분분석 결과, 본 연구에서는 시간대별 성분 종류는 규명되지 않았지만 HPLC system에 의한 각성분의 함량 비교는 가능하도록 검출되었다. Chromatogram에 나타난 유효성분 함량 분석 결과 주요한 메인 성분(Rt = 22.2 min)의 함량은 TD 67.94%, TDF 51.48%로 유사하게 나타났으나, 두 번째 메인 성분(Rt = 36.8 min)의 함량은 TD 8.28% 보다 TDF 21.81%로 약 2.7배 정도 증가되었음을 알 수 있었다.

간 세포(HepG2) 독성에 대한 보호효과는 TD에서는 낮은 생존율을 보인 반면, TDF에서는 100 ug/ml에서 23.3%로 나타났고, 300 ug/ml에서 68.1%로 유의적인 차이(P<0.05)로 가장 높은 생존율을 보였다.

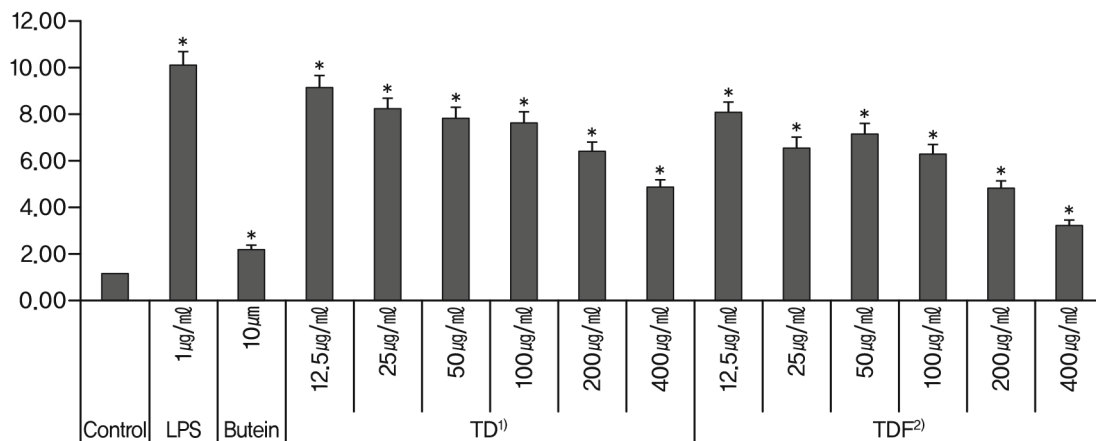


Fig. 6. NO inhibition in RAW264.7 cell treated with TD. and TDF

TD : *Taraxacum Dongchimi* mixture

TDF : *Taraxacum fermented Dongchimi* mixture

* values are Means ± SD

Significantly different from each group, t-test;p<0.05

간세포(HpeG2)의 항암 효과는 TD와 TDF 두 시료 모두 세포 사멸률이 미미한 것으로 나타났고 뇌세포(HT22)에서 글루타메이트(glutamate)로 유발한 산화적 손상에 대한 보호 효과는 TD와 TDF 모두 유효한 효과는 없었다.

Nitric Oxide(NO) 생성 억제효과는 두 시료 모두 고농도에서 NO 감소효과가 있었으며, TDF에서 고농도로 갈수록 NO 억제 효과가 증가하였고, 200 ug/ml 과 400 ug/ml 농도에서는 두 실험군 모두에서 유의적인 차이(P<0.05)로 NO 생성 억제 효과가 있었다. 특히 TDF 400 ug/ml 농도에서는 양성대조군인 butein 과 비슷한 효과의 결과를 나타내었다.

본 연구결과, 민들레 분말 동치미 혼합물(TD)에 비해 민들레 분말 동치미 발효 혼합물(TDF)에서 유효성분이 증가되었을 뿐만 아니라 면역력 증진효과와 간 세포 보호효과가 입증된 바 향후 식품치료용 기능성 소재로 활용할 수 있음을 확인하였다.

참고문헌

1. 심민교. 정화 임상본초학(精華 臨床本草學). 영림사. 2010; pp. 458
2. Hyeong Woo Park, In Gun Park, Dandelion diffusion in western area of Kyunggi province. *J ecology and environment*. 1997; 11: 2-4
3. Hee Don Choi, Yun Joung Koh, Yun Suk Kim, In Wuk Choi, Dong Soo Cha, Changes in Physiochemical and Sensory Characteristics of Dandelion(*Taraxacum officinale*) Leaves by Roasting Treatment. *Korean J. Food Sci. Technol.* 2007; 39: 515-520
4. Seok Jin Kim, Fatty liver and probiotics. *J Complement Altern Med Sci.* 2012; 2:53-59
5. 농림축산 식품부 식품 분석표. 농림축산부. 2012; pp. 2-4
6. 성상권(양구토종 민들레영농조합법인). 민들레 건강법. 더어울림. 2010; pp 34-35, pp 89-99
7. Kyung Min Kim, Study of biological activities in the fermented dandelion(*Taraxacum officinale*) extracts with raw sugar content. Department

- of biology graduate school of Kangwon university. 2012; pp. 2-7
8. 문기원, 김혜자. Effects of Zymolysis-Diet Therapy on Intestinal Micro Flora and Autoimmune disease. *J. Complement. Altern. Med. Sci.*, 2011; 1:25-40
9. Seong Won Moon, Effect of Salt Concentration on Dongchimi Fermentation. Department of food and nutrition graduate school of Dankook university. 1995; pp. 5-12
10. Jae Sik Park, The study for manufacture of quick fermented *Dongchimi* Department of animal science graduate school of Kangwon university. 2008; pp. 4-11
11. Kyu Chan Hwang, Bacterial florae ageing fermented vegetables and productivity of vitamin B₁₂. Department of food science graduate school of Kyunghee university. 1983; pp. 5-12
12. Chung Kyu Oh, Effect of salt on probiotics isolated form Kimchi. Department of graduate school of Kyunghee university. 1986; pp. 5-15
13. Sook Ja An, The effect of Salt and Food Preservatives on the Growth of Lactic acid bacteria isolated from Kimchi. *Koran society of food and cookery science*. 1988; 4: 39
14. Ji Hye Ha, Myoung Hoon Jeong, Yong Chang Seo, Woon Yong Choi, Ji Seon Kim, Haeng Hoon Kim, Ju Hee Ahn, Hyeon Yong Lee. Enhancement of antioxidant activities of bark of *Berberis koreana* Palibin by lactic acid fermentation. *Korean J Medical crop Sci.* 2010;18: 421-428
15. 차성관. 프로바이오틱 미생물과 유산균 식품. 미생물산업, 한국미생물학회. 2000;26: 13-21
16. 박병두, 김혜자. 유산균을 이용한 대두 발효 추출물이 면역계 활성화에 미치는 영향. 대한예방의학회지. 2012; 16: 139-153
17. 강미정, 서영호, 김종배, 신승렬, 김광수. 한국산 서양민들레(*Taraxacum officinale*)의 화학적 조성. *Korean J. Soc. Food Sci.* 2000; 16: 2
18. Kyung Hee Roh, Jin Joo Kim, Young Seon Song, Effect on liver protection of Dandelion extract.

- Korean society of food science and nutrition*, 2007; 10: 1
19. Choong Moo Park, Molecular mechanisms of anti-inflammation and hepatoprotection by *Taraxacum officinale* leaves, Department of food science graduate school of Injae university, 2011; pp. 21
20. Do Youn Im, Kyoung-In Lee, Nitric Oxide Production Inhibitory and Scavenging Activity and Tyrosinase Inhibitory Activity of Extracts from *Taraxacum officinale* and *Taraxacum coreanum*, *Korean J Medical Crop Sci*, 2011; 19: 362-367