

발간등록번호

11-1543000-000448-01

근채류 더덕과 우영의 건강기능성 (항 비만) 규명 및
세계화를 위한 한식레시피 연구

(Investigation on the health benefits (anti-obesity effects) of
Korean root vegetables Deoduk and Woo-eung, and their
traditional recipes for the Korean food globalization)

농 립 축 산 식 품 부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “근채류 더덕과 우영의 건강기능성 (항 비만 효능) 규명 및 세계화를 위한 한식레시피 연구에 관한 연구”에 대한 최종보고서로 제출합니다.

2013년 12월 19일

경희대학교 산학협력단

연 구 진

연구기관명 : 경희대학교 산학협력단

연구책임자 : 정 자 용

책임연구원 : 정 자 용

연구보조원 : 김 은 혜

연구보조원 : 목 령

연구보조원 : 이 희 진

연구보조원 : 민 별 초 룡

연구보조원 : 신 필 경

연구기관명 : 경희대학교 산학협력단

책임연구원 : 한 명 주

연 구 원 : 장 서 영

연구보조원 : 장 세 은

연구보조원 : 오 유 리

연구보조원 : 송 지 혜

연구보조원 : 마 옥 결

보 조 원 : 최 예 지

요 약 문

I. 제 목

근채류 더덕과 우영의 건강기능성 (항 비만 효능) 규명 및 세계화를 위한 한식레시피 연구

II. 연구 개발의 목적 및 필요성

- 더덕, 우영은 우리나라 전통 밥상에서 자주 애용되는 근채종의 하나이며, 다양한 생리활성성분을 함유하고 있어 비만, 간 질환 등 각종 대사성 질환의 예방 및 개선 효과가 예상됨
- 현대인들의 생활습관병이 증가함에 따라 식약동원의 사찰음식이 건강식으로 인식되고 있으므로 근채류를 이용한 조리법을 체계적으로 표준화 하고 건강 기능성을 규명한다면 한식을 건강식으로서의 한식세계화에 기여할 수 있을 것임
- 더덕, 우영의 생리활성에 대한 단편적인 연구 보고만 있을 뿐, 구체적인 기능성 성분과의 관련성을 밝힌 체계적인 *in vivo* 연구는 매우 부족한 실정으로 이에 대한 연구가 요구됨
- 또한, 더덕과 우영을 이용한 우리 고유의 전통레시피를 발굴하고 활용 방안을 제시하여 한식 근채류의 세계화에 기여하고자 함

III. 연구 개발 내용 및 범위

1. 더덕과 우영의 항 비만 영향 및 작용 기전 규명

- 1) 더덕, 우영의 대사성 질환에 대한 예방 효과를 확인하고, 그 기능성 성분을 탐색하며, 분자 수준의 작용 기전을 규명
- 2) 고지방 식이로 유도된 비만 모델에서 항 비만 효능과 작용 기전을 규명
- 3) 더덕과 우영의 기능성 성분의 항 비만 효능에 대한 세포 실험을 통한 작용기전 규명

2. 더덕과 우영의 주요 기능성 성분 및 지표 성분의 탐색, 분리와 동정

- 1) 더덕과 우영 추출물 제조
- 2) 지표물질 탐색·분리 및 동정
- 3) 추출물 중의 지표물질 함량 정량 및 구성성분 분석

3. 더덕, 우영을 이용한 전통레시피 발굴

- 1) 고조리서와 사찰음식관련 조리서에서 더덕, 우영을 이용한 전통레시피 수집
- 2) 수집된 레시피를 기반으로 레시피 표준화
- 3) 표준화된 레시피로 조리된 더덕, 우영 이용 음식의 내·외국인을 대상으로 기호도 조사

IV. 연구 개발결과

1. 더덕과 우영의 항 비만 효과 및 작용 기전 규명

- 고지방식으로 유도된 비만 모델에서 더덕 에탄올 추출물을 투여한 결과, 체중 감소, 체지방량 감소, 혈중 중성지방 농도의 유의적인 감소를 확인할 수 있었음. 이러한 더덕의 항 비만 효과는 더덕으로부터 분리한 lancemaside A를 투여하였을 때도 동일하게 나타남. Lancemaside A는 간의 AMPK 인산화를 활성화 시키고, 지질 합성에 관여하는 유전자 발현을 유의적으로 낮추는 것으로 나타남. 또한, lancemaside A는 NF κ B의 활성을 억제하여 고지방식으로 증가된 염증 상태를 유의적으로 낮추었음
- 우영의 분리 성분인 arctiin은 고지방식이에 의한 체중 증가를 낮추는 효과가 있었으며, 지방 조직의 PPAR γ , CEBP α 및 FAS의 단백질 수준을 유의적으로 낮추었음
- Lancemaside A와 arctiin은 3T3-L1 세포의 지방세포로의 분화를 유의적으로 낮추었으며, 이 때 PPAR γ , CEBP α , SREBP-1c, FAS 등의 지질 합성에 관여하는 유전자 발현이 농도 의존적으로 감소함을 확인하였음

2. 더덕과 우영의 지표 성분의 분리·동정 및 함량 분석

- 건조 더덕과 우영의 추출 전처리 조건을 확립하였으며, 80 % 에탄올을 이용하여 동물 실험용 에탄올 추출물을 얻었음.

- 농축된 더덕 에탄올 엑스에서 n-BuOH 분획을 얻고 이후 silica gel column chromatography, MPLC 등을 이용하여 lancemaside A 성분을 분리하고, 이를 지표성분으로 하여 더덕에탄올 추출물 및 n-BuOH 분획물의 함량을 정량하였음
- 농축된 우영 또는 우방자 에탄올 엑스에서 EtOAc 분획 얻고 이후 silica gel column chromatography, MPLC 등을 이용하여 arctiin 성분을 분리하고, 이를 지표성분으로 이용하여 우영에탄올 추출물 및 EtOAc 분획물의 함량을 정량하였음
- 더덕과 우영/우방자에서 분리한 지표 성분인 lancemaside A와 arctiin은 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 등의 기기분석을 통해 동정하였음

3. 더덕, 우영을 이용한 전통레시피 발굴

- 고조리서와 사찰음식에 나타난 더덕, 우영의 전통 레시피를 수집한 후, 이를 활용하여 더덕과 우영을 이용한 12 가지 음식을 개발하였으며, 개발된 음식의 레시피를 표준화하고, 1 인 분량과 영양성분이 제시된 표준레시피를 국문과 영문으로 나타내었음
- 내·외국인을 대상으로 본 연구 결과 개발된 더덕과 우영 음식에 대한 관능 검사를 실시하여, 국가별 더덕과 우영의 선호도를 파악하였음
- 조선시대 고조리서에 나타난 산삼병의 조리법을 이용하여 개발한 더덕설기떡은 아프리카인, 일본인, 한국인의 선호도가 높았고 특히 더덕강정은 동남아시아를 제외한 외국인이 모두 선호하였고 썩산삼은 한국인과 외국인이 모두 선호하였음
- 우영버섯밥은 동남아시아와 일본이외의 국가에서 선호도가 높았고 사찰음식 조리법을 이용한 우영잡채는 일본인의 선호도가 보통으로 나타났지만 한국인과 외국인이 모두 선호하였고 우영칩은 유럽인과 미국인의 선호도가 높았음.
- 외국인들의 개발된 더덕과 우영음식의 선호도는 높았으나 더덕과 우영을 이용한 음식의 섭취경험과 건강에 대한 인식도는 낮았음

V. 연구 성과 및 성과 활용계획

- 더덕과 우영의 성분에 대한 *in vivo* 연구 자료 및 학문적 근거를 확보함으로써, 한식 근채류의 우수성을 부각시키고, 한식 세계화의 홍보 자료로 활용함

- 본 연구 결과 얻어진 더덕과 우영의 생리활성에 대한 전임상 연구 자료는 이후 임상 시험의 근거 자료 및 건강기능식품 개발의 기초 자료로 활용함
- 더덕과 우영 추출물의 지표 물질 및 이에 대한 정량법을 확보하여 더덕과 우영의 표준화를 위한 자료로 활용함
- 국가별 더덕과 우영 음식에 대한 선호도 조사 자료를 바탕으로 하여, 이들 음식의 국가별 진출 전략 수립의 근거 자료로 활용함
- 외국인들의 더덕과 우영에 대한 인지도가 낮은 것으로 나타나 전통음식소재의 건강기능성에 대한 적극적인 홍보가 필요함
- 더덕강정과 우영잡채는 외국의 베지테리언 시장, 우영칩은 패스트푸드 시장에 응용 가능하며 한식의 세계화를 위한 간편 건강식으로 개발 가능함

SUMMARY

(영문요약문)

The main objectives of the current study were as follows;

Specific aim 1: To investigate the anti-obesity effects of Korean root vegetables Deoduk and Woo-eung using high-fat diet induced animal models, and identify the molecular mechanisms for their biological activities using an in vitro models

Specific aim 2: To characterized the major marker compounds of Deoduk and Woo-eung and to develop an analytical method for the standardization and quality control of the extracts

Specific aim 3: To develop recipes using Deoduk and Woo-eung suitable for the globalization of Korean food

The major outcomes of the current study were as follows;

1. In the study using high-fat diet induced obese model, we found that Deoduck (*Codonopsis lanceolata*, CL) ethanol extracts significantly decreased body weight gain, body fat mass, and the hepatic TG concentrations. The anti-obesity effects of CL was associated with the activities of lancemaside A(LA) that were separated from CL ethanol extracts. LA treatment in mice also significantly decreased inflammation induced by high-fat diet feeding. Using in vitro study, we demonstrated that LA significantly inhibited the differentiation of 3T3-L1 cells into adipocytes, which were associated with changes in the expression of genes related with lipid metabolism (PPAR γ , CEBP α , SREBP-1c, FAS, etc.).

In the study to investigate the effects of Woo-eung (*Arctium lappa*, AL) on high-fat diet induced obesity, no changes were found in body weight gain, On the other hand, the treatment with arctiin, a component of AL, in high-fat diet fed mice, significantly decreased the body weight gain and fat mass. Arctiin also significantly inhibited the adipocyte differentiation from the 3T3-L1 cells, which were associated with decreases in the expression of genes related with lipogenesis.

2. We isolated the marker compounds for CL and AL and also identified the marker compounds as lancemaside A and arctiin, respectively, through $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ analyses. We also quantified the amounts of lancemaside A and arctiin in the CL and AL, respectively, using HPLC system.

3. We developed 14 different menus using CL and AL, and made the standardized recipes with nutritional information for these menus. The result of sensory test on the food using deoduk showed that 'Deoduk seolgidduk', which were developed by using a recipe of sansambyeong appeared in the cook book in the chosun dynasty, was preferred highly by Africans, Japanese and Koreans. In particular, all foreigners except Southeast Asians liked deoduk gangjeong, and both Koreans and foreigners liked seopsansam. People except Southeast Asia and Japan showed high preference for Woo-eung mushroom bap. The Japanese preference for woo-eung japchae using temple food recipe was normal, but both Koreans and other foreigners highly preferred it and woo-eung chip was highly preferred by Europeans and Americans. Deodeok gangjeong and woo-eung japchae are considered to be able to break into a vegetarian market along with Bibimbap that foreigners like. The Japanese preference for woo-eung chip using the similar recipe as potato chip was low, but Europeans and Americans have high preference of it. Therefore it could be applied to the fast food market and developed as a simple healthy food for globalization.

Our study findings provide strong scientific evidence for the health benefits (anti-obesity) of CL and AL, which will contribute to the propagation of the functionality and excellence of Korean foods. Further, the various standardized recipes using CL and AL developed from this study will stimulate the use of these root vegetables and Korean food, and promote the Korean food globalization.

국 문 목 차

제 1장 연구 개발의 목적 및 필요성	16
제 1절 연구 목적	16
제 2절 연구 개발의 중요성 및 필요성	16
제 2장 연구 개발 내용 및 범위	19
<제 1세부과제> 더덕, 우영의 건강기능성 (항 비만 효능)에 미치는 영향 및 작용 기전 규명	19
1. 더덕과 우영의 항 비만 효능에 대한 <i>in vivo</i> 실험	19
2. 더덕과 우영에서 분리된 기능성 성분들의 항 비만의 생리 활성화에 대한 <i>in vitro</i> 실험을 통한 작용 기전 연구	20
<제 2세부과제> 더덕, 우영의 지표 및 활성 성분의 분리·동정과 더덕, 우영을 이용한 전통레시피 발굴	20
1. 더덕, 우영의 지표 및 활성 성분의 분리·동정	20
2. 더덕, 우영을 이용한 전통레시피 발굴	21
제 3장 연구 개발 수행 내용 및 결과	23
<제 1세부과제> 더덕, 우영의 건강기능성 (항 비만 효능)에 미치는 영향 및 작용 기전 규명	23
제 1절 더덕의 항 비만 효능에 대한 <i>in vivo</i> 실험	23
제 2절 더덕에서 분리된 기능성 성분이 항 비만의 생리 활성화에 대한 <i>in vitro</i> 실험을 통한 작용 기전 연구	56
제 3절 우영의 항 비만 효능	66
<우영의 항 비만 효능에 대한 <i>in vivo</i> 실험>	66
<우영에서 분리된 기능성 성분이 항 비만의 생리 활성화에 대한 <i>in vitro</i> 실험을 통한 작용 기전 연구>	83
<제 2세부과제> 더덕, 우영의 지표 및 활성 성분의 분리·동정과 더덕, 우영을 이용한 전통레시피 발굴	89
제 1절 더덕의 지표 성분 분리·동정	89
제 2절 연구 결과	93
제 3절 우영의 지표 성분 분리·동정	104
제 4절 연구 결과	106
제 5절 우방자의 지표 성분 분리·동정	111

제 6절 연구 결과	115
제 7절 더덕, 우영의 전통레시피 발굴	123
1. 고조리서와 사찰음식 관련 조리서에서 더덕, 우영을 이용한 음식의 전통레시피	123
2. 더덕, 우영을 이용한 음식 레시피 표준화	136
3. 더덕, 우영을 이용한 음식 영양분석표	163
4. 내·외국인을 대상으로 더덕, 우영을 이용한 음식 시식회	165
5. 설문지	181
제 4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	189
제 5장 연구 성과 및 성과 활용 계획	190
제 1절 연구 성과	190
제 2절 연구 성과 및 성과 활용 계획	199
제 6장 참고문헌	201

CONTENTS

(영 문 목 차)

Chapter 1. Research purpose and necessity -----	16
Session 1. Research purpose -----	16
Session 2. The importance and necessity of the research -----	16
Chapter 2. The contents and scope of the research -----	19
<Study 1> Study on the Investigation on the health benefits (anti-obesity effects) of Korean root vegetables Deoduk and Woo-eung -----	19
1. Anti-obesity effects of Deoduk and Woo-eung <i>in vivo</i> experimental studies -----	19
2. Studies of functional components isolated from Deoduk and Woo-eung on the anti-obesity activities and associated biological mechanisms using <i>in vitro</i> studies -----	20
<Study 2> Study on the isolation and identification of active compounds and the development of recipe using Deoduk and Woo-eung -----	20
1. Study on the isolation and identification of active compounds from Deoduk and Woo-eung -----	20
2. The development of recipe using Deoduk and Woo-eung -----	21
Chapter 3. The contents and results of research -----	23
<Study 1> Investigation on the health benefits (anti-obesity effects) of Korean root vegetables Deoduk and Woo-eung -----	23
1. Studies on the anti-obesity effects of Deoduk using <i>in vivo</i> experimental models -----	23
2. Studies of functional components isolated from Deoduk on the anti-obesity activities and associated mechanisms using <i>in vitro</i> studies -----	56
3. Anti-obesity effects of Woo-eung -----	66
<Anti-obesity effects of Woo-eung <i>in vivo</i> experimental studies> -----	66
<Studies of functional components isolated from Woo-eung on the anti-obesity activities and associated biological mechanisms using <i>in vitro</i> studies> -----	83
<Study 2> Study on the isolation and identification of active compounds and the development of recipe using Deoduk and Woo-eung -----	89
Session 1. Isolation and identification of active compound from Deoduk -----	89

Session 2. Results	93
Session 3. Isolation and identification of active compound from Woo-eung	104
Session 4. Results	106
Session 5. Isolation and identification of active compound from Woobangj a	111
Session 6. Results	115
Session 7. The development of recipe using Deoduk and Woo-eung	123
1. Deoduk and Woo-eung recipe on the old cooking books	123
2. The recipe standardization of Deoduk and Woo-eung food	136
3. Nutritional composition table of Deoduk and Woo-eung food	163
4. Sensory evaluation of Deoduk and Woo-eung food	165
5. Questionnaire	181
Chapter 4. Achievement and contribution to the study field	189
Chapter 5. Research outcomes and applications	190
Session 1. Research outcomes	190
Session 2. Research applications	199
Chapter 6. References	201

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 근채류 더덕과 우영의 건강기능성 (항 비만 효능) 규명 및 세계화를 위한 한식레시피 연구 (영문) Investigation on the health benefits (anti-obesity effects) of Korean root vegetables Deoduk and Woo-eung, and their traditional recipes for the Korean food globalization		
연 구 기 관	경희대학교 산학협력단	연 책 임 자	(소속) 경희대학교 식품영양학과
참 여 기 관	경희대학교 산학협력단		(성명) 정 자 용
연 구 비	계	130,000,000원	총 연 구 기 간
참여연구원	13명 (연구책임자: 2 명, 책임연구원: 0 명, 연구원: 1 명, 연구보조원 9명, 보조원 1 명)		
<p>○ 연구개발 목표 및 내용</p> <p><1세부> 더덕, 우영의 건강기능성 (항 비만 효능)에 미치는 영향 및 작용기전 규명 <2세부> 더덕, 우영의 지표 및 활성 성분의 분리·동정 더덕, 우영을 이용한 전통레시피 발굴</p> <p>○ 연구결과</p> <p><1세부></p> <ul style="list-style-type: none"> - 고지방식이로 유도된 비만모델에서 더덕 에탄올 추출물의 항 비만 효과를 확인하였음 - Lancemaside A와 arctiin의 항 비만 효과를 <i>in vivo</i> 실험을 통해 확인하였으며, 또한, lancemaside A의 항 염증 효과를 밝힘 - Lancemaside A와 arctiin는 3T3-L1 지방전구세포에서 지방세포로의 분화를 농도의존적으로 억제함을 확인하였으며, 지질 대사 관련 유전자 (PPARγ, C/EBPα, FAS, SRBP-1c 등)의 발현을 변화시킴을 밝혀 관련 작용기전을 규명하였음 <p><2세부></p> <ul style="list-style-type: none"> - 더덕과 우영 지표물질의 분리하고 구조를 규명하였음 - 더덕과 우영 지표물질의 함량 분석을 위한 HPLC 분석조건 확립하고 함유량을 분석하였음 - 전통 레시피를 활용한 더덕과 우영 음식의 레시피 개발하고 이를 표준화하였으며, 국가별 기호도를 조사, 비교하였음 <p>○ 연구성과 및 성과활용 계획</p> <ul style="list-style-type: none"> - 더덕과 우영의 비만 개선, 항 염증 등의 효능에 대한 <i>in vivo</i> 연구 자료 및 학문적 근거를 확보함으로써 한식 근채류의 우수성을 부각시키고, 한식 세계화의 홍보 자료로 활용함 - 세계인의 입맛에 맞는 더덕과 우영의 이용 메뉴를 개발하여 관광 자원으로 상품화 할 수 있는 체계를 만들었으며, 전통 한식의 소재 발굴 및 세계화 전략에 있어 대표적 모델로 활용할 수 있는 토대를 마련함 			

제 1장 연구 개발의 목적 및 필요성

제 1절 연구 목적

- 한식 근채류 더덕과 우영의 대사성 질환에 대한 예방/개선 효과를 확인하고, 기능성 성분 탐색 및 작용 기전 규명을 통하여 한식 근채류의 건강기능성을 과학적으로 입증함
- 더덕과 우영을 이용한 우리 고유의 전통레시피를 발굴하고 활용 방안을 제시하여 한식 근채류의 세계화에 기여함

제 2절 연구 개발의 중요성 및 필요성

- 현대인의 질병은 대부분 환경과 생활습관의 변화로 인한 소위 “생활습관병 (lifestyle-related disease)”으로, 특히 비만은 심장병, 간질환, 당뇨, 암, 관절염 등이 각종 만성 질병의 유병율을 높이는 주요 위험 인자임
- 한식은 채식 위주의 식단으로 구성되며, 한식을 주로 섭취하는 한국인에서 식물성 식품의 섭취 비율은 전체 식품 섭취량의 80.5 %로 매우 높은 비율을 차지하고 있어 (2008 국민건강영양조사 보고서), 각종 생활습관병 예방과 치료에 우수한 식이로 인식되고 있음
- 실제로, 한국인의 1 인당 연간 채소 섭취량은 695 g 으로 미국 344 g, 독일 366 g, 브라질 126 g은 물론 일본 358 g에 비해서도 단연 높음 (농촌경제연구원, 식품수급표, 2009)
- 이와 같이 한식에서 채소는 주요 구성 요소이며, 특히 근채류는 오래전부터 식품소재로 많이 활용되어 오고 있음

- 더덕, 우영 등의 근채류는 다양한 생리활성 성분을 포함하고 있으므로, 현대인에게 흔하게 나타나는 비만 등의 생활습관병 예방과 치료에 있어 한식의 건강기능성을 입증하는 데에 매우 설득력이 강한 소재로 사료됨
- 더덕 (학명: *Codonopsis lanceolata*)은 초롱꽃과에 속하는 해발 2,000 m 이상의 고지의 활엽수목 하에서 자라는 덩굴성 다년초로 일명 사삼 (沙蔘)으로도 알려져 있으며, 주로 봄, 가을에 뿌리를 채취하여 사용함 (Won 등, 2007)
- 더덕의 특유의 맛과 향으로 인해 예로부터 여러 가지 조리 방법을 통하여 식용 및 약용으로 널리 이용되고 있고, 한방에서는 폐 기운을 돋워주고 가래를 없애주는 약재로 사용되어 강장, 해열, 거담, 해독 및 배농 등의 질병 치료의 목적으로 사용되고 있음
- 더덕은 다른 산채에 비해 단백질, 탄수화물이 많이 들어 있고, 칼슘, 인, 철분 등의 무기질과 비타민 B₁, 비타민 B₂가 풍부한 것으로 알려져 있음 (Lee, 1999)
- 또한, 사포닌, 폴리페놀, 알칼로이드, 스테롤, 탄닌, 정유 등 여러 생리활성 물질이 포함되어 있어, 최근에는 술, 차, 드링크 등의 건강식품 소재로 활용하기 위한 연구도 진행되고 있음 (Hong등, 2006)
- 우영 (학명: *Arctium lappa*)은 국화과에 속하는 2년생 초본으로 우리나라 전역에 분포하며 오래 전부터 한방에서 우영의 잎 (우방엽), 종자 (우방자), 뿌리 (우방근)을 약재로 사용하였고 식용으로는 특히 뿌리를 널리 사용하였음 (Lee, 2011)
- 우영의 종자 (우방자) 부위는 이뇨제, 해열제, 해독제로 민간요법에서 사용되었으며 성분으로 arctiin, arctigenin, arctianl, arctinol 등이 보고되고 있음 (Kim 등 2012)
- 《본초강목》에 우영은 “오장의 나쁜 사기를 제거하고 손발의 하약함을 치료하며 중풍, 각기, 머리에 나는 종기, 가래를 치료하고 하복부 내장의 통증을 치료한다.”

고 함

- 현대인들에게 우리 선조들이 오래 전부터 섭취하여 온 사찰음식은 웰빙 음식으로 알려지면서 사찰음식과 사찰음식 조리법에 관심이 증가함. 사찰음식은 거친 음식을 많이 이용하고 다양한 근채류를 식재료로 활용하고 있음
- 현대인들의 생활습관병이 증가함에 따라 식약동원의 사찰음식이 건강식으로 인식되고 있으므로 근채류를 이용한 조리법을 체계적으로 표준화 하고 건강 기능성을 규명한다면 한식을 건강식으로서의 한식세계화에 기여할 수 있을 것임
- 이와 같이 더덕, 우영은 우리나라 전통 밥상에서 자주 애용되는 근채종의 하나이며, 다양한 생리활성성분을 함유하고 있어 비만, 간 질환 등 각종 대사성 질환의 예방 및 개선 효과가 예상됨
- 하지만 더덕, 우영의 생리활성에 대한 단편적인 연구 보고만 있을 뿐, 구체적인 기능성 성분과의 관련성을 밝힌 체계적인 *in vivo* 연구는 매우 부족한 실정으로서 이에 대한 연구가 요구됨
- 특히, 한식 근채류에 대한 건강기능성 연구는 기존의 김치 및 장류로 대표되는 발효 식품의 건강 기능성과는 차별되는 새로운 측면의 한식의 건강기능성을 입증할 것으로 기대됨

제 2장 연구 개발 내용 및 범위

<제 1세부과제> 더덕, 우영의 건강기능성 (항 비만 효능)에 미치는 영향 및 작용 기전 규명

1. 더덕과 우영의 항 비만 효능에 대한 *in vivo* 실험

실험 설계:

- C57BL/6J mice에 고지방 식이를 공급하여 비만을 유도함
- 제 2세부 과제에서 제공된 표준화된 더덕과 우영 추출물을 실험 식이와 함께 12주간 공급함
- 또한 더덕과 우영에서 추출한 lancemaside A와 actiin을 실험 식이와 함께 12주간 공급함

측정 지표:

- 비만/고지혈증에 대한 효과 측정을 위해 체중, 부위별 지방 조직 무게 변화, 간 조직 등의 장기 무게 변화
- 간 조직과 혈액의 중성지방, 총 콜레스테롤 농도 측정
- 간과 지방 조직의 조직 병리학적 특성
- 간과 지방 조직의 AMPK 인산화 단백질 수준 변화 측정
- 간과 지방 조직의 NFκB signaling pathway 측정
- 간과 지방 조직의 지질 대사관련 (CPT1, MCAD, ACC, SREBP-1c, FAS, SCD1, PPARγ, C/EBPα 등) 유전자 발현 변화 측정
- 간과 지방 조직의 염증 관련 (leptin, adiponectin, TNF-a 등) 유전자 발현 정도 측정

2. 더덕과 우영에서 분리된 기능성 성분들의 항 비만의 생리 활성화에 대한 *in vitro* 실험을 통한 작용 기전 연구

실험 설계:

- 동물 실험에서 확인된 더덕과 우영의 생리 활성화에 대한 작용 기전에 대해 좀 더 직접적인 규명을 위해 추출물에서 분리된 성분에 대한 *in vitro* 세포실험을 수행함
- 더덕과 우영 추출물의 지방전구세포 (preadipocyte)를 지방세포 (adipocyte)로 분화시키는 효율을 3T3-L1 세포를 사용하여 Oil red O staining을 통해 측정함
- 지방 조직의 지질 대사관련 (CPT1, MCAD, ACC, SREBP-1c, FAS, SCD1, PPAR γ , C/EBP α , ATGL, HSL, LPL 등) 유전자 발현 변화 측정

<제 2세부과제> 더덕, 우영의 지표 및 활성화 성분의 분리·동정과 더덕, 우영을 이용한 전통레시피 발굴

1. 더덕, 우영의 지표 및 활성화 성분의 분리·동정

- 더덕 및 우영의 각종 대사성 질환 개선에 미치는 활성화 및 그 구성성분들의 효과를 알아보기 위하여 추출물 및 그 함유성분의 분리/구조 동정, 그 활성화성분을 지표성분으로 하여 함량 분석 및 HPLC 패턴을 분석함

1) 더덕, 우영 추출물 제조

- 추출 전처리 조건 확립
: 추출을 위한 더덕, 우영의 건조 및 분쇄조건 확립

2) 지표물질 및 활성화 성분의 분리 및 동정

- 지표물질 및 활성화 성분의 분리
: Column chromatography를 이용한 추출물 분획 제조, HPLC를 이용한 분획물들의 분석을 통해 지표물질 함유 분획물 확인, 실리카겔을 이용한 column chrom

atography를 이용한 지표물질 함유 분획물의 소분획 제조, MPLC를 이용하여 지표 물질 및 함유 성분의 분리

- NMR 등 각종 spectroscopy에 의한 구조규명
: ^1H 및 ^{13}C NMR 등을 이용한 구조분석

3) 추출물 중의 지표물질 함량 정량 및 구성 성분 분석

- 활성추출물 지표물질의 함량 분석을 위한 HPLC 분석조건 연구
: 지표성분 분석법의 검증을 위하여 정량 분석 직선성 (linearity), 일내 (intra-day)와 일간 (inter-day) 정밀도 (precision) 및 회수율에 의한 정확도 (accuracy)를 검증
- 추출물별 지표물질의 함량 분석을 통한 정량화
: 검증된 분석법을 이용하여 추출물별 지표물질의 함량 분석
- 구성성분의 HPLC pattern 분석에 의한 추출물별 profiling

2. 더덕, 우영을 이용한 전통레시피 발굴

1) 고조리서와 사찰음식관련 조리서에서 더덕, 우영을 이용한 전통레시피 수집

- 조선시대 고조리서에 수록된 더덕, 우영을 이용한 레시피 수집
- 사찰음식관련 조리서에 나타난 더덕, 우영을 이용한 레시피 수집

2) 수집된 레시피를 기반으로 레시피 표준화

- 고조리서와 사찰음식관련 조리서에서 수집한 자료를 활용하여 현대인의 입맛에 맞는 더덕, 우영을 이용한 다양한 조리법 개발
- 훈련된 평가원을 이용하여 레시피 표준화

2) 표준화된 레시피로 조리된 더덕, 우영 이용 음식의 기호도 조사

- 조사대상: 내국인, 외국인
- 조사방법: 맛, 질감, 풍미, 외관, 전반적인 선호도를 5 점 척도법 (1= 매우 싫다, 5 = 매우 좋다)을 이용하여 관능검사를 실시하여 국가 간의 더덕, 우영음식의 기호도 조사

제 3장 연구 개발 수행 내용 및 결과

<제 1세부과제> 더덕, 우영의 건강기능성 (항 비만 효능)에 미치는 영향 및 작용 기전 규명

제 1절 더덕의 항 비만 효능에 대한 *in vivo* 실험

1. 연구 방법

1) 실험 설계

더덕의 비만 억제 효능을 확인하기 위하여 고지방 식이로 유도된 비만 모델에 더덕 에탄올 추출물 혹은 더덕에서 분리한 lancemaside A를 경구 투여하여 체중 및 관련 대사 변화를 살펴보았다.

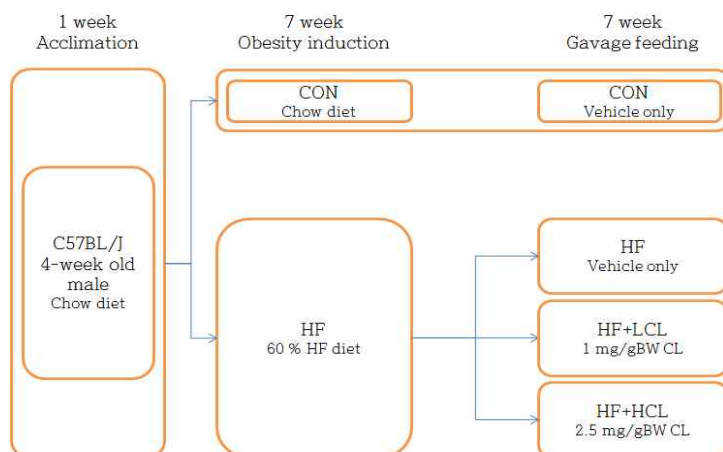
(1) 실험 1: 고지방식으로 유도된 비만 모델에서 더덕 에탄올 추출물의 경구 투여가 비만 억제에 미치는 영향

4 주령 수컷 C57BL/6J mice (Nara biotech, Korea) 총 24 마리를 온도 20 ± 2 °C, 습도 50 ± 10 %, 12 hr light/12 hr dark cycle의 조건 아래 chow diet (Purina, Korea)로 1 주일간 적응시킨 후, 2 그룹으로 나누어 7 주간 정상식이 (CON: 4.5 % kcal from fat) 혹은 고지방식이 (HF: 60 % kcal from fat)를 공급하였다. 이후, 고지방식이군을 3 그룹으로 나누어, 각각 고지방식이 (HF, n=6)군, 고지방식이+1 mg/gBW 더덕 에탄올 추출물 (HF+LCL, n=6), 고지방식이+2.5 mg/gBW 더덕 에탄올 추출물 (HF+HCL, n=6)을 7 주간 공급하였다. CON은 계속하여 같은 식이를 7 주간 공급하였다. 더덕 에탄올 추출물은 1 차 증류수에 녹여 경구투여 방법으로 제공하였으며, CON군과 HF군은 동일한 양의 1 차 증류수를 경구 투여로 공급하였다 (Figure 1A).

(2) 실험 2: 고지방식이로 유도된 비만 모델에서 더덕에서 추출된 lancemaside A의 경구 투여가 비만 억제에 미치는 영향

4 주령 수컷 C57BL/6J mice (Nara biotech) 총 36 마리를 온도 20 ± 2 °C, 습도 50 ± 10 %, 12 hr light/12 hr dark cycle의 조건 아래 chow diet (Purina)로 1 주일간 적응시킨 후, 2 그룹으로 나누어 8 주간 정상식이 (CON: 4.5 % kcal from fat) 혹은 고지방식이 (HF: 45 % kcal from fat)를 공급하였다. 그 다음 9 주간 4 그룹으로 나누어 정상식이 (CON, n=9), 고지방식이 (HF, n=9), 고지방식이+10 mg/kg BW lancemaside A (HF+LLA, n=9), 고지방식이+20 mg/kgBW lancemaside A (HF+HLA, n=9)를 공급하였다. Lancemaside A는 1 차 증류수에 녹여 경구투여 방법으로 제공하였으며, CON군과 HF군은 동일한 양의 1 차 증류수를 경구 투여로 공급하였다 (Figure 1B).

A.



B.

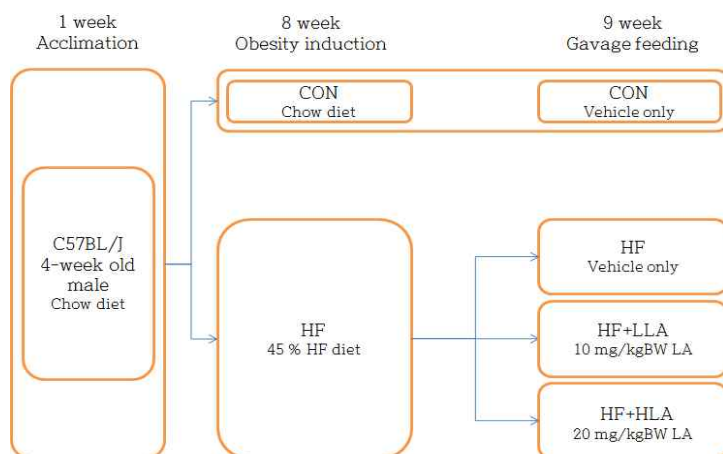


Figure 1. Animal groups and feeding for study 1 (A) and study 2 (B)

CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice, HF+LCL: high-fat diet induced obese mice fed with 1 mg/gBW *C. lanceolata* ethanol extract. HF+HCL: high-fat diet induced obese mice fed with 2.5 mg/gBW *C. lanceolata* ethanol extract, HF+LLA: high-fat diet induced obese mice fed with 10 mg/kgBW lancemaside A, HF+HLA: high-fat diet induced obese mice fed with 20 mg/kgBW lancemaside A

CL : *Codonopsis lanceolata* ethanol extracts, LA : lancemaside A

본 실험에 사용한 고지방 식이 (D12451, D12492, Research diets, INC., USA)의 성분 및 에너지 함량은 **Table 1**에 나타내었다.

Table 1. The content of ingredient and energy in high-fat diet

Ingredient	45 % high-fat diet (D12451)		60 % high-fat diet (D12492)	
	gm	Kcal	gm	Kcal
Protein (%)	24	20	26.2	20
Carbohydrate (%)	41	35	26.3	20
Fat (%)	24	45	34.9	60
Total		100		100
Kcal/gm	4.73		5.24	
Casein, 30 Mesh	200	800	200	800
L-Cystine	3	12	3	12
Corn Starch	72.8	291	0	0
Maltodextrin 10	100	400	125	500
Sucrose	172.8	691	68.8	275.2
Cellulose, BW200	50	0	50	0
Soybean Oil	25	225	25	225
Lard	177.5	1598	245	2205
Mineral Mix S10026	10	0	10	0
DiCalcium Phosphate	13	0	13	0
Calcium Carbonate	5.5	0	5.5	0
Potassium Citrate, 1 H ₂ O	16.5	0	16.5	0
Vitamin Mix V10001	10	40	10	40
Choline Bitartrate	2	0	2	0
FD&C Red Dye #40	0.05	0		
FD&C Blue Dye #1			0.05	0
Total	858.15	4057	773.85	4057

2) 측정 지표

(1) 체중 및 식이섭취량 측정

실험 기간 동안 체중 및 식이섭취 변화를 살펴보기 위해 일주일 2 번 일정한 시간에 체중 및 식이섭취량을 측정하였다. 또한, 각 그룹별 식이섭취량에 따른 체중 증가량 (food efficiency ratio, FER)을 아래와 같이 계산하여 비교하였다.

$$\text{FER} = \text{daily body weight gain (g/day)} / \text{daily food intake (g/day)}$$

(2) 부위별 지방 조직 및 간 등의 장기 무게 측정 및 혈액과 조직 샘플 채취

실험 종료 후 cardiac puncture에 의해 희생하여 부위별 지방 조직 - 피하 (subcutaneous fat, SF), 부고환 (epididymal fat, EF), 신장주변 (perirenal fat, PF), 장간막 (mesenteric fat, MF), 갈색지방조직 (brown adipose tissue, BAT) 및 간, 신장, 비장, 소장, 췌장, 근육 조직을 적출하였고, 소장과 근육을 제외한 모든 장기의 무게를 측정하였다. 체중 및 모든 조직의 무게는 GF-200 저울 (AND, Japan)로 측정하였다.

혈액에서 혈장 (plasma)을 분리하였고, 모든 조직 및 혈장을 추후 분석 전까지 -80 °C에 보관하였다. 일부 간 조직, 췌장 조직, 피하 지방 조직과 부고환 지방 조직은 조직 병리학적 변화를 관찰하기 위해 10 % PBS-buffered formalin에 고정하여 보관하였다.

(3) 간과 지방 조직의 병리학적 변화 측정

10 % PBS-buffered formalin에 고정한 간과 부고환 지방 조직을 파라핀에 고정 후 microtome을 이용하여 5 μ m두께로 절편을 만들어 슬라이드를 제작하였고 이를 harris hematoxylin과 eosin (H&E) 염색 용액을 이용하여 염색하였다. 간과 부고환 지방 조직의 병리학적 변화는 H&E staining한 슬라이드를 광학현미경으로 관찰하여 대식세포의 유무, 염증발생정도 등의 여부를 측정하였다. 객관적인 관찰을 위해 처리군에 blind 된 두 명 이상의 연구원이 슬라이드를 관찰하였다. 지방구 정도는 100 배율 상태에서 관찰 면적당 지방구의 크기 및 수를 관찰하였다.

(4) 간 조직의 중성지질 및 총 콜레스테롤 측정

① 간 조직의 중성지질 (TG)은 Danielle 등 (2007)의 방법을 이용하여 추출하였고, 중성지질 측정용 kit (ASAN PHARM. CO. LTD, Korea)를 사용하여 측정하였다. 간 조직 0.02 g을 PBS-10mM EDTA (pH 7.4) 용액 1 ml에 넣고 균질화 하였다. 희석한 간 균질액을 BCA법 (Thermo, USA)을 이용하여 단백질 정량 하였다. 미리 hexane으로 씻어 말려둔 시험관에 단백질이 50 μ l 당 200 μ g이 되도록 준비하였다. 여기에 2 ml isopropanol-hexane-water (80:20:2, v/v/v)를 넣고 30 초 이상 강하게 vortexing한 후 호일로 덮어 30 분간 상온에서 정치하였다. 그 다음 500 μ l의 hexan

e-diethyl ether (1:1, v/v)를 넣고 다시 30 초 이상 강하게 vortexing한 후 호일로 덮어 10 분간 상온에서 정치하였다. 1 ml의 3 차 증류수를 더 넣고 다시 강하게 vortexing한 후 호일로 덮어 20 분간 상온에서 정치하였다. 최종 상층액 약 700 μ l를 탄 후 미리 hexane으로 씻어 말려둔 시험관에 옮겨 담았다. 그 다음 N₂ gas를 이용하여 유기용매를 날렸다. 유기용매가 없어지면 시험관에 isopropanol을 20 μ l씩 넣고 vortexing하여 시험관 벽면에 묻은 지질을 충분히 녹였다. 20 μ l isopropanol을 넣은 시험관에 효소용액 1 ml를 넣고 vortexing하였다. Standard는 중성지질의 함량이 각각 0, 75, 150, 225, 300 mg/dl가 되도록 isopropanol에 녹였으며 이를 시험관에 20 μ l씩 넣고 시료와 동일하게 효소용액을 1 ml 넣었다. 37 °C water bath에서 10 분간 incubation하였다. 그 다음 96 well plate에 300 μ l씩 분주한 후 550 nm에서 흡광도를 측정하여 비색 정량하였다.

② 간 조직의 총 콜레스테롤은 Folch 등의 방법을 수정하여 지질을 추출한 뒤, 콜레스테롤 측정용 kit (ASAN PHARM. CO. LTD)를 사용하여 측정하였다. 간 조직 0.02 g을 PBS-10mM EDTA (pH 7.4) 용액 1 ml에 넣고 균질화 하였다. 간 균질액 250 μ l를 취해서 CM mix (chloroform:methanol=2:1)를 1.25 ml넣고 그 다음 2500 rpm에서 15 분간 원심 분리하였다. 원심분리 후 하층액을 시험관에 옮겼다. 그 다음 N₂ gas를 이용하여 유기용매를 날렸다. 여기에 99 % ethanol 100 μ l를 넣어 시험관 벽면에 묻은 콜레스테롤을 충분히 녹였다. 용액 중 40 μ l를 새로운 시험관에 취한 후 효소용액 1 ml를 넣고 vortexing하였다. Standard는 콜레스테롤의 함량이 각각 0, 50, 100, 200, 300 mg/dl이 되도록 99 % ethanol에 녹여 40 μ l를 사용하였다. 여기에 효소용액 1 ml를 넣고 vortexing하였다. 37 °C water bath에서 5 분간 incubation한 후 96 well plate에 300 μ l씩 분주하여 505 nm에서 흡광도를 측정하여 비색 정량하였다.

(5) 혈장 중성지질, 총 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤 및 글루코오스 측정

① 혈장 중성지질: 혈장 중성지질은 중성지질 측정용 kit (ASAN PHARM. CO. LTD)를 사용하여 측정하였다. 시험관에 효소용액 1.5 ml와 혈장 10 μ l를 넣은 뒤 vortexing하였다. Standard는 중성지질의 함량이 각각 0, 75, 150, 225, 300 mg/dl

가 되도록 하여 시료와 함께 37 °C water bath에서 10 분간 가온하였고 550 nm에서 흡광도를 측정하여 비색 정량하였다.

② 혈장 총 콜레스테롤: 혈장 총 콜레스테롤은 총 콜레스테롤 측정용 kit (ASAN PHARM. CO. LTD)를 사용하여 측정하였다. 시험관에 효소용액 1.5 ml와 혈장 10 μ l를 넣은 뒤 vortexing하였다. Standard는 cholesterol 함량이 각각 0, 75, 150, 225, 300 mg/dl가 되도록 하여 시료와 함께 37 °C water bath에서 10 분간 가온하였고 500 nm에서 흡광도를 측정하여 비색 정량하였다.

③ 혈장 HDL 콜레스테롤: 혈장 HDL 콜레스테롤은 HDL 콜레스테롤 측정용 kit (ASAN PHARM. CO. LTD)를 사용하여 측정하였다. 혈장 50 μ l에 침상시약 50 μ l를 넣은 뒤 vortexing하여 실온에서 10 분간 방치하였다. 그 다음, 3000 rpm에서 10 분간 원심분리하여 상층액 25 μ l를 취한 다음 효소용액 750 μ l를 넣고 vortexing하였다. Standard는 HDL cholesterol의 함량이 각각 0, 10, 20, 30, 40, 50 mg/dl가 되도록 하여 시료와 함께 37 °C water bath에서 5 분간 가온하였고 500 nm에서 흡광도를 측정하여 비색 정량하였다. 모든 측정은 샘플 당 duplicate으로 측정하였다.

④ 혈장 글루코오스: 혈장 글루코오스는 글루코오스 측정용 kit (ASAN PHARM. CO. LTD)를 사용하여 측정하였다. 혈장 5 μ l를 3 차 증류수 5 μ l로 희석한 뒤, 효소용액 1.5 ml를 넣고 vortexing하였다. Standard는 글루코오스의 함량이 각각 0, 50, 100, 150, 200 mg/dl가 되도록 하여 시료와 함께 37 °C water bath에서 5 분간 가온하였고 500 nm에서 흡광도를 측정하여 비색 정량하였다.

(6) OGTT (oral glucose tolerance test)

비만 유도 후, 8 주간 lancemaside A를 경구 투여한 뒤, oral glucose tolerance test를 실시하였다. 6 시간 fasting 후, glucose 2 g/kg (20 % glucose)를 경구 투여하였고, 0, 15, 30, 60, 90, 120 분 마다 쥐꼬리 채혈을 통해 glucose 농도를 측정하였다. OGTT를 하는 동안 실험동물에게 안정된 환경을 제공하였으며, 물은 자유롭게

게 섭취할 수 있도록 하였다. AUC (area under the glucose-time curve)은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{AUC} = [0.5 \cdot (0.5 \cdot C_0 + C_{15} + C_{30} + C_{60} + C_{90} + 0.5 \cdot C_{120})]$$

C = glucose concentration

(7) 간 손상 정도 - 혈장 ALT (alanine aminotransferase), AST (aspartate aminotransferase) 활성 측정

혈장 ALT와 AST는 ALT, AST kit (Bio Clinical System, Korea)를 사용하여 측정하였다. AST는 AST용 기질액 50 μ l를 시험관에 넣고 37 °C water bath에서 5 분간 가온한 후 혈장 10 μ l를 넣고 vortexing한 뒤, 다시 37 °C water bath에서 60 분간 반응시켰다. 반응이 끝나면 정색시약 50 μ l를 넣고 vortexing한 뒤, 실온에서 20 분간 방치하였다. 0.4 N NaOH 0.5 ml를 넣고 잘 혼합한 후 실온에서 10 분간 방치한 뒤, 60 분 이내에 505 nm에서 흡광도를 측정하여 비색 정량하였다. ALT는 ALT용 기질액 50 μ l를 시험관에 넣고 37 °C water bath에서 5 분간 가온한 후 혈장 10 μ l를 넣고 vortexing한 뒤, 다시 37 °C water bath에서 30 분간 반응시켰다. 반응이 끝나면 정색시약 50 μ l를 넣고 vortexing한 뒤, 실온에서 20 분간 방치하였다. 0.4 N NaOH 0.5 ml를 넣고 잘 혼합한 후 실온에서 10 분간 방치한 뒤, 60 분 이내에 505 nm에서 흡광도를 측정하여 비색 정량하였다. 모든 측정은 샘플 당 duplicate으로 측정하였다.

(8) 간 조직의 지질과산화 지표 MDA 측정

10 % (w/v)의 간 조직을 0.15 M KCl 용액에 넣고 균질화 하였다. 균질화한 간 용액에 8.1 % SDS 100 μ l를 넣고 vortexing한 뒤, 실온에서 약 13 분 방치하였다. 그 다음, 1.5 ml 의 20 % acetic acid-0.8 % TBA mixture를 넣고 충분히 vortexing한 뒤, 300 μ l의 증류수를 넣고 95 °C에서 60 분 동안 가열하였다. 60 분 뒤, 용액을 차갑게 식힌 후 500 μ l의 증류수를 가하여 충분히 vortexing하였다. 마지막으로 2.5 ml n-butanol-pyridine mixture (15:1, v/v)를 넣고 vortexing 하였다. 4000 rpm에서 10 분간 원심분리하여 300 μ l 상층액을 취한 뒤, 532 nm에서 흡광도를 측정하

였다. 반응에서 생성된 TBARS 함량을 standard TMP (1,1,3,3-tetramethoxypropane)의 흡광도와 비교하여 나타내었다.

(9) 간 및 부고환지방의 지질 및 염증대사 관련 signaling의 변화

간 및 부고환지방의 지질 및 염증대사 관련 signaling pathway의 변화를 관찰하기 위하여 관련 단백질의 antibody를 이용하여 western blot analysis를 수행하였다. 각 그룹의 조직을 각종 protease inhibitor tablet (Roche, USA)와 phosphatase inhibitor (Roche), phenylmethanesulfonylfluoride (PMSF)가 첨가된 RIPA buffer (50 mM Tris-HCl, pH 7.4, 1 % NP-40, 0.25 % Na-deoxycholate, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA)를 이용하여 homogenate를 만든 후, 14,000 rpm 에서 15 분씩 2 번 상층액을 분리하여 사용하였다. 각 homogenate의 단백질 농도는 pierce BCA protein assay reagent (Thermo scientific)를 이용하여 정량하였다. 단백질 분리를 위하여, 60 µg homogenate 용액을 2x loading buffer와 혼합하여 100 °C에서 5 분간 끓여준 후 10 % SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)로 분리하였다. 분리된 단백질은 PVDF membrane (Millipore, USA)로 transfer하였다. Membrane으로 단백질의 transfer가 잘 이루어졌는지 여부를 ponceau S (Sigma, USA) reagent를 이용하여 확인하였으며, gel에 남아있는 단백질 여부 또한 coomassie blue protein assay reagent (Thermo scientific)를 이용하여 한 번 더 확인하였다. 이 후, 5 % skim milk (Difco, france) in TBS-T buffer에 1 시간 30 분 blocking하였다. primary antibody는 peroxisome proliferator activated receptor-gamma (PPAR γ), CCAAT/enhancer-binding protein- α (C/EBP α), fatty acid synthase (FAS), phospho-AMP-activated protein kinase (p-AMPK), AMP-activated protein kinase (AMPK), phospho-acetyl-CoA carboxylase (p-ACC), acetyl-CoA carboxylase (ACC), phospho-IkappaB kinase (p-IKK), phospho-nuclear factor kappaB (p-NF κ B), nuclear factor kappaB (NF κ B), phospho-IkappaB (p-I κ B), IkappaB (I κ B), phospho-c-Jun N-terminal kinase (p-JNK), c-Jun N-terminal kinase (JNK) (이상 Cell Signaling, USA), tumor necrosis factor- α (TNF- α) (이상 Santa Cruz biotechnology, USA) 및 heme oxygenase-1 (HO-1) (이상 Enzo, USA) 등 antibodies을 이용하여, shaking 상태로 ove

night하였다. 이후 TBS-T buffer로 충분히 washing한 후 secondary antibody를 부착하였다. PPAR γ , C/EBP α , FAS, p-AMPK, AMPK, p-ACC, ACC, p-IKK, p-NF κ B, NF κ B, p-I κ B, I κ B, p-JNK, JNK, TNF- α 및 HO-1는 secondary antibody로 goat anti-rabbit IgG (H+L)-HRP conjugate (BIORAD)를 1:5000의 비율로 하였고, β -actin (Santa Cruz biotechnology)은 goat anti-mouse IgG (H+L)-HRP conjugate (BIORAD)를 1:5000의 비율로 하여 1 시간 30 분 부착하였다. 이후 TBS-T buffer로 충분히 washing한 후, ECL 용액 (Clarity western ECL substrate, BIORAD)을 이용하여 반응시킨 뒤, chemiluminescence (CLINK science instruments, USA)로 detection 하였다. 각 band의 density를 정량하였고, 각 단백질의 발현 수준은 β -actin으로 표준화 하였으며, 아무것도 처리하지 않은 control을 기준으로 하여 상대적인 값을 계산하였다.

(10) 지질 및 염증대사 관련 유전자 발현 정도 측정

간과 부고환지방 조직에서 total RNA를 추출 후, real-time RT-PCR 방법을 이용하여 지질 대사 및 염증 관련 유전자의 발현 정도를 측정하였다. 우선 Trizol (Invitrogen, USA) 용액을 이용하여 total RNA 추출을 하였다. Trizol 용액에 간 또는 지방 조직을 넣고 균질화한 후, 실온에서 5 분간 incubation 하였다. Chloroform을 넣고 다시 실온에서 3 분간 incubation 후 12,000 g로 4 °C에서 15 분간 원심 분리하였다. 원심분리 후, 상층액에 isopropyl alcohol를 넣고 다시 실온에서 10 분간 incubation 한 다음, 12,000 g로 4 °C에서 10 분간 원심분리 하였다. 원심분리 후, isopropyl alcohol을 버리고 가라앉은 RNA pellet에 75 % ethanol (Merck)를 넣고 약하게 vortexing한 뒤 7,500 g로 4 °C에서 5 분간 원심 분리하였다. 원심분리 후, ethanol을 버리고, 10~15 분간 ethanol이 남지 않게 완전히 말렸다. 다음 nuclease free water를 넣고 10 분간 55 °C heating block 에서 RNA pellet을 녹인 뒤 분석 전까지 -80 °C에 보관하였다. 추출한 total RNA는 0.1 % agarose gel에 loading 하여 상태를 확인하고, nanodrop (Thermo scientific)으로 흡광도를 측정하여 RNA 상태 및 농도를 확인하였다. Total 1 μ g RNA와 PrimeScript[™] RT reagent kit (Takara, Japan)를 이용하여 cDNA합성하였다. 이후, real-time RT-PCR (SYBR[®] Premix Ex Taq[™] assay) 분석 방법을 이용하여, GAPDH를 reference gene으로 하여

지질대사 관련 유전자인 PPAR γ , C/EBP α , sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c), FAS, fatty acid binding protein-4 (FABP4), ACC, stearyl-CoA desaturase-1 (SCD1), lipoprotein lipase (LPL), adipose triglyceride lipase (ATGL), hormone sensitive lipase (HSL), medium chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) 및 염증 관련 유전자인 adiponectin, leptin, TNF- α , Interleukin-6 (IL-6), monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), inducible nitric oxide synthase (iNOS)의 상대적인 발현 정도를 측정하였다. 해당 유전자 primer의 sequence는 Table 2에 나타내었다.

Table 2. The primer sequences of lipid and inflammation metabolism related gene

Gene	Primer Sequence	
	Forward	Reverse
PPARγ	5'-CCA GAG CAT GGT GCC TTC GCT-3'	5'-CAG CAA CCA TTG GGT CAG CTC-3'
C/EBPα	5'-GAA CAG CAA CGA GTA CCG GGT-3'	5'-GCC ATG GCC TTG ACC AAG GAG-3'
SREBP-1c	5'-CGC TAC CGG TCT TCT ATC ATT G-3'	5'-TTG CTT TTG TGT GCA CTT CG-3'
FAS	5'-GCT TTG CTG CCG TGT CCT TCT-3'	5'-TCT AGC CCT CCC GTA CAC TCA-3'
FABP4	5'-TCA CCT GGA AGA CAG CTC CT-3'	5'-AAT CCC CAT TTA CGC TGA TG-3'
ACC	5'-GGA CAG ACT GAT CGC AGA GAA AG-3'	5'-TGG AGA GCC CCA CAC ACA-3'
SCD1	5'-CCT ACG ACA AGA ACA TTC AAT C-3'	5'-TTC TCT TAA TCC TGG CTA AGA C-3'
LPL	5'-AGT AGA CTG GTT GTA TCG GG-3'	5'-AGC GTC ATC AGG AGA AAG G-3'
ATGL	5'-GAC CTG ATG ACC ACC CTT TC-3'	5'-TGC TAC CCG TCT GCT CTT T-3'
HSL	5'-GGT GAC ACT CGC AGA AGA CAA TA-3'	5'-GCC GCC GTG CTG TCT CT-3'
MCAD	5'-GAT CGC AAT GGG TGC TTT TGA TAG AA-3'	5'-AGC TGA TTG GCA ATG TCT CCA GCA AA-3'
Adiponectin	5'-GGG TCA GAG CAG GAG TGT TC-3'	5'-TAG CCA GCC TAT CTG CCC TA-3'
Leptin	5'-CTA TGC CAC CTT GGT CAC CT-3'	5'-ACC AAA CCA AGC ATT TTT GC-3'
TNF-α	5'-TAG CCA GGA GGG AGA ACA GA-3'	5'-TTT TCT GGA GGG AGA TGT GG-3'
IL-6	5'-TCC AGT TGC CTT CTT GGG AC-3'	5'-GTG TAA TTA AGC CTC CGA CTT G-3'
MCP-1	5'-TCA GCC AGA TGC AGT TAA CGC-3'	5'-TCT GGA CCC ATT CCT TCT TGG-3'
iNOS	5'-CAC CTT GGA GTT CAC CCA GT-3'	5'-ACC ACT CGT ACT TGG GAT GC-3'
GAPDH	5'-CAA CAG CAA CTC CCA CTC TTC-3'	5'-GGT CCA GGG TTT CTT ACT CCT T-3'

3) 통계 분석

모든 통계분석은 SAS 9.3 을 이용하여 수행하였다. 그룹 간의 차이는 one way ANOVA 분석으로 검증하였으며, 유의적인 차이가 있는 경우 duncan 사후 검정을 실시하였다. p<0.05 수준에서 유의성을 검증하였으며, 모든 결과는 평균과 표준오차로 나타내었다.

2. 연구 결과

1) 실험 1: 고지방식으로 유도된 비만 모델에서 더덕 에탄올 추출물의 경구 투여가 비만 억제에 미치는 영향

(1) 체중 변화 및 식이 섭취량

고지방식이에 더덕 에탄올 추출물을 두 가지 농도로 공급한 후, 각 그룹의 체중 변화 추이와 각 그룹별 체중변화 및 식이섭취를 관찰한 결과를 **Figure 2**와 **Table 3**에 나타내었다. 초기 체중은 네 그룹 간 유의적 차이가 존재하지 않았다. 더덕 에탄올 추출물을 공급한 군은 두 군 모두 고지방식이군에 비해 체중이 유의적으로 낮게 나타났다. 더덕 에탄올 추출물군은 고지방식이군과 비교하여 식이섭취량의 유의적 차이가 없었다.

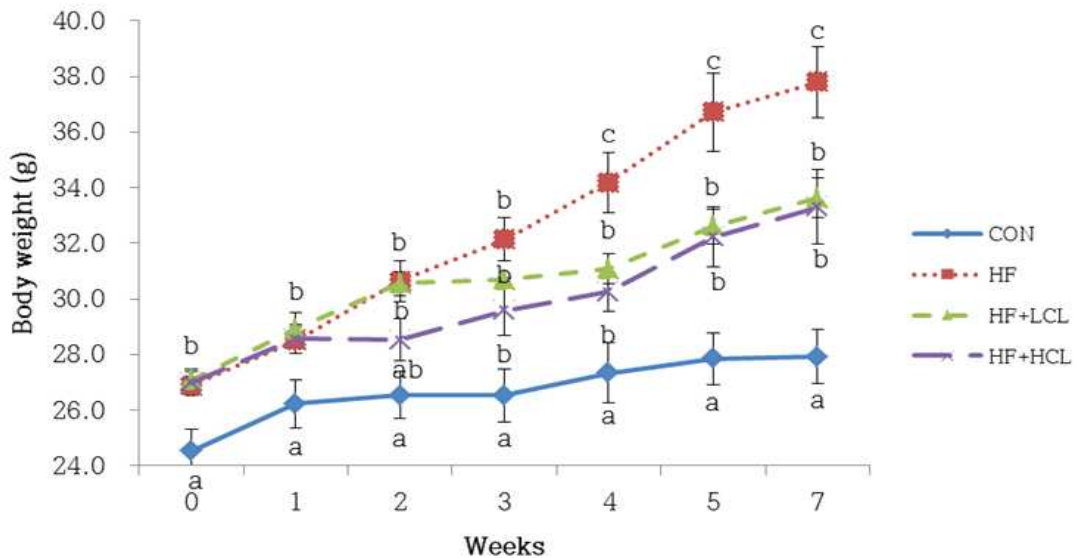


Figure 2. Effects of *C. lanceolata* ethanol extracts on body weight changes in high-fat diet induced obese mice (Exp 1.)

CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice, HF+LCL: high-fat diet induced obese mice fed with 1 mg/gBW *C. lanceolata* ethanol extract, HF+HCL: high-fat diet induced obese mice fed with 2.5 mg/gBW *C. lanceolata* ethanol extract

Table 3. Effects of *C. lanceolata* ethanol extracts on body weight changes and food intake in high-fat diet induced obese mice (Exp 1.)

	CON	HF	HF+LCL	HF+HCL
Initial body weight (g)	24.5 ± 0.8 ^a	26.9 ± 0.4 ^b	27.1 ± 0.4 ^b	27.0 ± 0.4 ^b
Final body weight (g)	27.3 ± 1.0 ^a	37.8 ± 1.3 ^c	33.6 ± 0.7 ^b	33.3 ± 1.3 ^b
Body weight gain (g)	4.1 ± 0.9 ^a	11.5 ± 1.1 ^b	7.3 ± 0.7 ^a	7.1 ± 1.7 ^a
Body weight gain (%)	16.6 ± 3.5 ^a	42.7 ± 3.6 ^b	27.0 ± 2.3 ^a	26.5 ± 6.3 ^a
Food intake (g)	4.1 ± 0.1 ^c	2.9 ± 0.01 ^{ab}	3.1 ± 0.1 ^b	2.9 ± 0.02 ^a

Data are means ± SEM, CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice, HF+LCL: high-fat diet induced obese mice fed with 1 mg/gBW *C. lanceolata* ethanol extract, HF+HCL: high-fat diet induced obese mice fed with 2.5 mg/gBW *C. lanceolata* ethanol extract

(2) 간 및 지방 조직의 무게 변화

간의 무게는 그룹 간 차이가 없었다. 한편, 피하지방 (SF), 부고환지방 (EF), 신장 주변지방 (PF), 장간막지방 (MF), 갈색지방조직 (BAT) 무게의 경우, 모든 부위에서 고지방식이군이 정상식이군에 비해 유의적으로 높게 나타났다. 또한, 더덕 에탄올 추출물군의 경우, 고지방식이군에 비해 지방 조직의 무게가 낮은 경향으로 나타났으나 유의적인 차이는 보이지 않았다 (Table 4).

Table 4. Effects of *C. lanceolata* ethanol extracts on liver and adipose tissue weights in high-fat diet induced obese mice (Exp 1.)

	CON	HF	HF+LCL	HF+HCL
Liver (g)	1.12 ± 0.04	1.22 ± 0.08	1.09 ± 0.05	1.13 ± 0.03
EF (g)	0.37 ± 0.04 ^a	2.00 ± 0.17 ^b	1.70 ± 0.17 ^b	1.68 ± 0.33 ^b
PF (g)	0.12 ± 0.02 ^a	0.93 ± 0.11 ^b	0.74 ± 0.09 ^b	0.75 ± 0.14 ^b
SF (g)	0.40 ± 0.03 ^a	2.16 ± 0.28 ^b	1.76 ± 0.30 ^b	1.66 ± 0.29 ^b
MF (g)	0.22 ± 0.03 ^a	0.71 ± 0.06 ^b	0.53 ± 0.10 ^b	0.49 ± 0.09 ^b
BAT (g)	0.09 ± 0.01 ^a	0.19 ± 0.02 ^b	0.18 ± 0.02 ^b	0.16 ± 0.02 ^b

Data are means ± SEM, CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice, HF+LCL: high-fat diet induced obese mice fed with 1 mg/gBW *C. lanceolata* ethanol extract, HF+HCL: high-fat diet induced obese mice fed with 2.5 mg/gBW *C. lanceolata* ethanol extract

(3) 간 및 지방 조직의 조직 병리학적 특성

간 조직의 조직 병리학적 특성을 현미경으로 관찰한 결과, 고지방식이군의 경우 많은 지방구가 보이는 반면, 더덕 에탄올 추출물 투여군에서는 지방구의 수가 현저히 감소한 것을 관찰 할 수 있었다. 또한, 부고환지방 조직에서의 지방세포 크기를 살펴본 결과, 고지방식이군에서 지방 세포의 크기는 정상식이군에 비해 크게 나타났다. 더덕 에탄올 추출물 투여군에서는 고지방식이군에 비해 지방 세포의 크기가 작아졌으며, 정상식이군과 비슷한 크기를 보였다 (Figure 3).

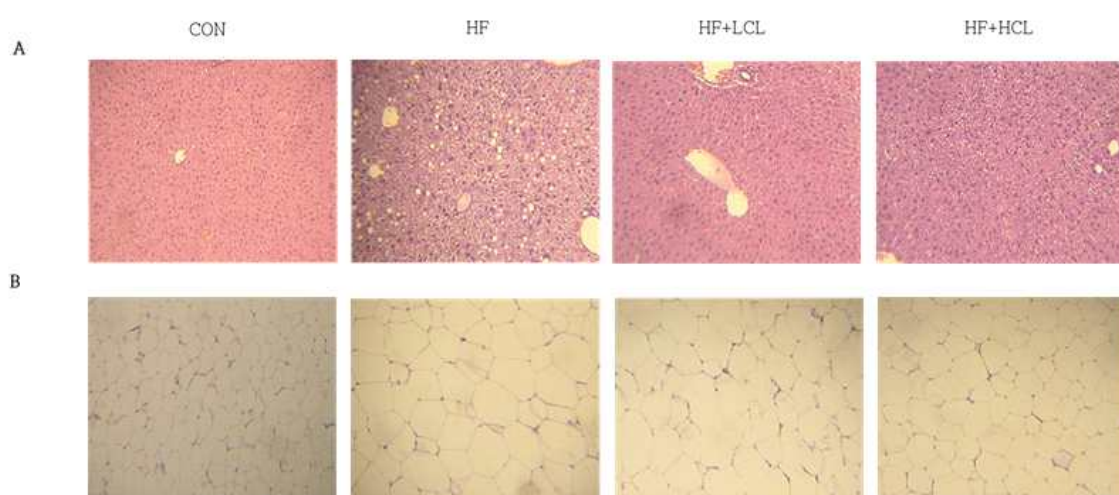


Figure 3. *C. lanceolata* decreased fat accumulation in liver and epididymal adipose tissue (Exp 1.)

A: Liver B: Epididymal adipose tissue, CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice, HF+LCL: high-fat diet induced obese mice fed with 1 mg/gBW *C. lanceolata* ethanol extract, HF+HCL: high-fat diet induced obese mice fed with 2.5 mg/gBW *C. lanceolata* ethanol extract

(4) 간 조직과 혈장의 TG, 총 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤 및 글루코오스 농도의 변화

간 조직의 TG 농도를 측정한 결과 (Table 5), 더덕 에탄올 추출물 투여군이 고지방식이군에서 TG 농도가 농도 의존적으로 낮아지는 경향을 보였으며, 특히, 높은 농도의 더덕 에탄올 추출물 투여군에서 고지방식이군에 비해 유의적으로 감소하였다. 간 조직과 혈중 총 콜레스테롤 및 HDL 콜레스테롤은 더덕 에탄올 추출물 투여에 의해 유의적인 변화가 나타나지 않았다. 한편, 혈중 글루코오스 농도는 고지방식이군이 정상식이군에 비해 유의적으로 높게 나타났으며 더덕 에탄올 추출물 공급 시 농도 의존적으로 낮아지는 경향을 보였다.

Table 5. Effects of *C. lanceolata* ethanol extracts on liver and plasma concentrations of biochemical parameters in high-fat diet induced obese mice (Exp 1.)

	CON	HF	HF+LCL	HF+HCL
Liver TG (mg/g liver)	13.0 ± 0.9 ^{ab}	17.3 ± 2.2 ^b	14.6 ± 3.4 ^b	7.4 ± 1.1 ^a
Liver cholesterol (mg/g liver)	1.9 ± 0.1	2.1 ± 0.2	2.1 ± 0.2	1.8 ± 0.2
Plasma TG (mg/dl)	61.0 ± 5.3	65.6 ± 13	49.5 ± 6.3	54.5 ± 8.9
Plasma cholesterol (mg/dl)	94.2 ± 4.9 ^a	138.6 ± 9.0 ^b	142.6 ± 8.6 ^b	148.1 ± 8.1 ^b
Plasma HDL (mg/dl)	56.5 ± 4.2 ^a	74.1 ± 6.7 ^b	76.1 ± 3.4 ^{ab}	77.6 ± 5.6 ^{ab}
Plasma glucose (mg/dl)	251 ± 13.0 ^a	302.6 ± 17.9 ^b	276.3 ± 3.3 ^{ab}	267.2 ± 9.5 ^{ab}

Data are means ± SEM, CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice, HF+LCL: high-fat diet induced obese mice fed with 1 mg/gBW *C. lanceolata* ethanol extract, HF+HCL: high-fat diet induced obese mice fed with 2.5 mg/gBW *C. lanceolata* ethanol extract

(5) 간 조직의 지방대사 관련 AMPK signaling 변화

고지방식이와 더덕 에탄올 추출물의 투여가 AMPK의 활성화 및 관련 signaling에 미치는 영향을 살펴보기 위해 간 조직의 phosphorylated-AMPK 와 phosphorylated-ACC의 단백질 수준을 western blot analysis로 측정하였다. p-AMPK의 수준을 보면 고지방식이군에 비해 낮은 농도의 더덕 투여군과 높은 농도의 더덕 투여군은 각 1.3 배, 1.7 배 수준으로 현저히 증가하였다. p-ACC 수준도 고지방식이군에 비해 낮은 농도의 더덕 투여군과 높은 농도의 더덕 투여군은 각 1.4 배, 1.7 배 수준으로 증가하였으나 통계적으로 유의적 차이는 없었다 (Figure 4).

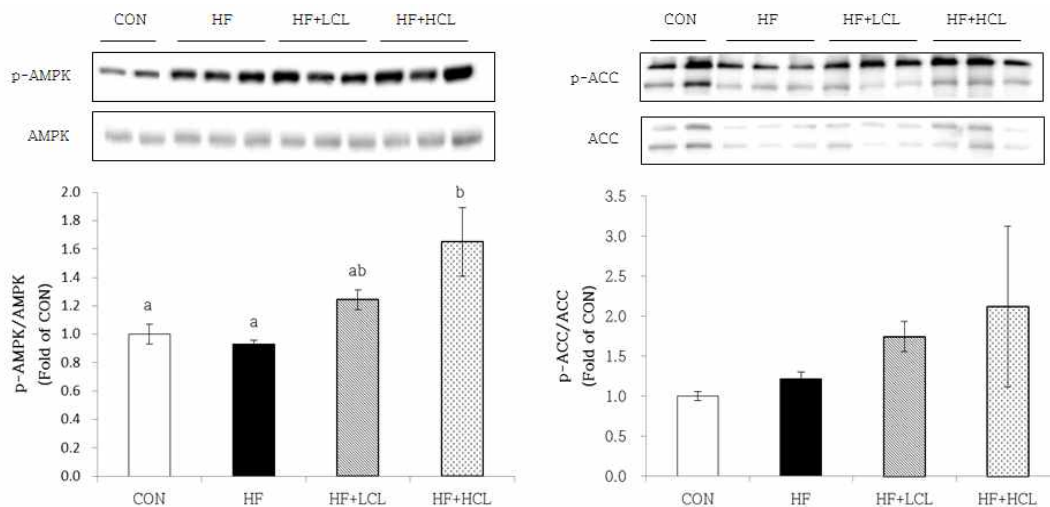


Figure 4. The protein levels of liver AMPK and ACC phosphorylation in high-fat diet induced obese mice

CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice, HF+LCL: high-fat diet induced obese mice fed with 1 mg/gBW *C. lanceolata* ethanol extract, HF+HCL: high-fat diet induced obese mice fed with 2.5 mg/gBW *C. lanceolata* ethanol extract

(6) 간 조직의 염증 관련 NFκB signaling 변화

고지방식이와 더덕 에탄올 추출물의 투여가 NFκB의 활성화 및 관련 signaling에 미치는 영향을 살펴보기 위하여, 간 조직의 phosphorylated-IKK와 phosphorylated-NFκB의 단백질 수준을 western blot analysis로 측정하였다. p-IKK의 수준을 보았을 때 낮은 농도의 더덕 투여군과 높은 농도의 더덕 투여군은 고지방식이군에 비해 각각 68.6 %, 47.9 % 수준으로 현저히 감소하였다. 또한 p-NFκB 수준을 보면 낮은 농도의 더덕 투여군과 높은 농도의 더덕 투여군은 고지방식이군에 비해 각각 35.7 %, 68.8 % 수준으로 현저히 감소하였다. 결과적으로 더덕 에탄올 추출물은 항비만 효과가 있을 뿐만 아니라 항염증 효과가 있는 것으로 나타났다 (Figure 5).

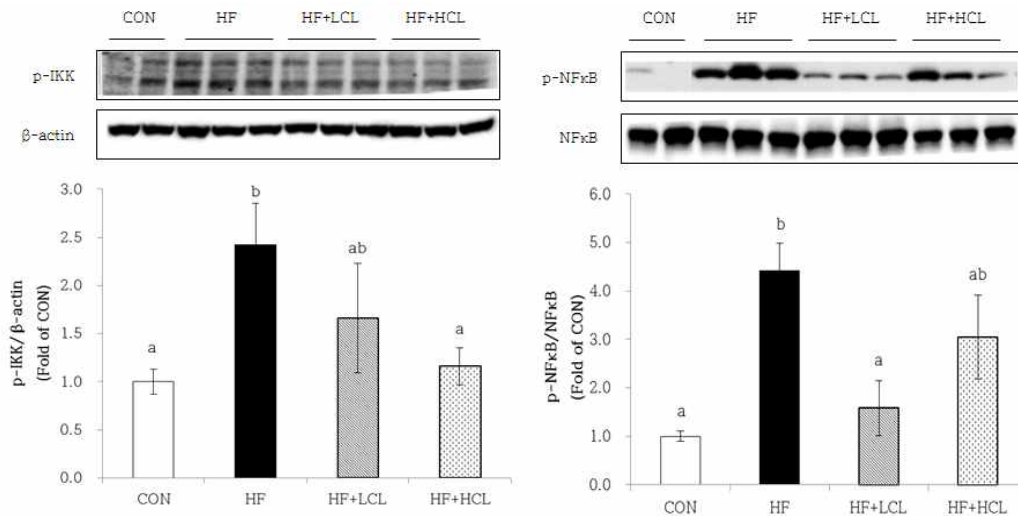


Figure 5. The protein levels of inflammatory signaling molecules in the livers of high-fat diet induced obese mice

CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice, HF+LCL: high-fat diet induced obese mice fed with 1 mg/gBW *C. lanceolata* ethanol extract, HF+HCL: high-fat diet induced obese mice fed with 2.5 mg/gBW *C. lanceolata* ethanol extract

2) 실험 2: 고지방식으로 유도된 비만 모델에서 더덕에서 추출한 lancemaside A의 경구 투여가 비만 억제에 미치는 영향

(1) 체중 변화 및 식이 섭취량

8 주 비만 유도 후, 고지방식과 함께 10 mg/kgBW 혹은 20 mg/kgBW의 lancemaside A를 경구 투여 한 후, 체중변화 및 식이섭취를 관찰한 결과를 Figure 6과 Table 6에 나타내었다.

초기 체중은 네 그룹 간 유의적인 차이가 없었으나, lancemaside A를 경구 투여한 결과, 두 가지 dose에서 모두 체중 증가가 고지방식이군에 비해 유의적으로 낮았다. 이 때, lancemaside A 투여군의 식이섭취량에 유의적인 변화를 주지 않았다. 따라서, 이들 군에서 체중증가의 감소는 식이섭취량 차이 때문이 아니었으며 lancemaside A는 식이효율을 유의적으로 감소시키는 것으로 나타났다.

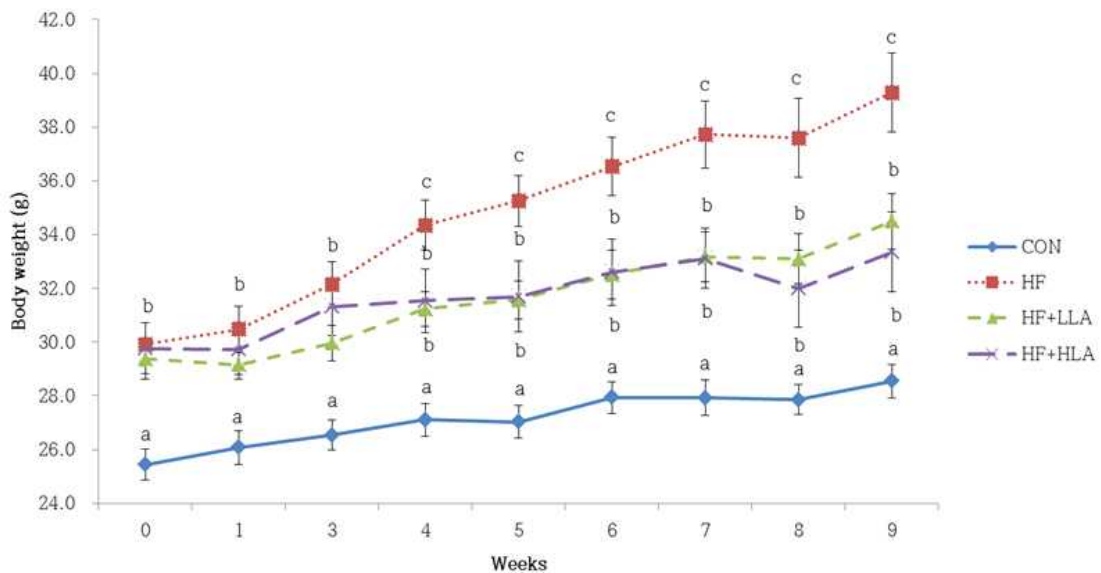


Figure 6. Effects of lancemaside A on body weight changes in high-fat diet induced obese mice (Exp 2.)

CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice. HF+LLA: high-fat diet induced obese mice fed with 10 mg/kgBW lancemaside A, HF+HLA: high-fat diet induced obese mice fed with 20 mg/kgBW lancemaside A

Table 6. Effects of lansemaside A on body weight changes and food intake in high-fat diet induced obese mice (Exp 2.)

	CON	HF	HF+LLA	HF+HLA
Initial body weight (g)	25.4 ± 0.6 ^a	29.9 ± 0.8 ^b	29.4 ± 0.8 ^b	29.8 ± 1.0 ^b
Final body weight (g)	28.5 ± 0.6 ^a	39.3 ± 1.5 ^c	34.5 ± 1.0 ^b	33.4 ± 1.5 ^b
Body weight gain (g)	3.1 ± 0.2 ^a	9.4 ± 0.8 ^b	5.1 ± 0.8 ^a	3.6 ± 1.0 ^a
Body weight gain (%)	12.2 ± 0.9 ^a	31.1 ± 2.1 ^b	17.6 ± 2.9 ^a	12.0 ± 3.3 ^a
Food intake (g)	3.6 ± 0.1 ^a	2.8 ± 0.1 ^{bc}	2.6 ± 0.1 ^c	2.9 ± 0.02 ^b
FER (g/g)	0.02 ± 0.001 ^b	0.06 ± 0.005 ^a	0.03 ± 0.007 ^b	0.02 ± 0.09 ^b

Data are means ± SEM, CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice. HF+LLA: high-fat diet induced obese mice fed with 10 mg/kgBW lansemaside A, HF+HLA: high-fat diet induced obese mice fed with 20 mg/kgBW lansemaside A

(2) 간 및 지방 조직의 무게 변화

간과 지방 조직의 무게 변화를 **Figure 7**에 나타내었다. 간 조직의 무게는 고지방식이군에 비해 lansemaside A 투여군에서 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다. 지방조직의 경우, 정상식이군에 비해 고지방식이군에서 유의적으로 높게 나타났으며, lansemaside A 투여 시 BAT를 제외한 모든 부위의 지방 조직에서 농도 의존적으로 지방 조직의 무게가 유의적으로 감소하였다.

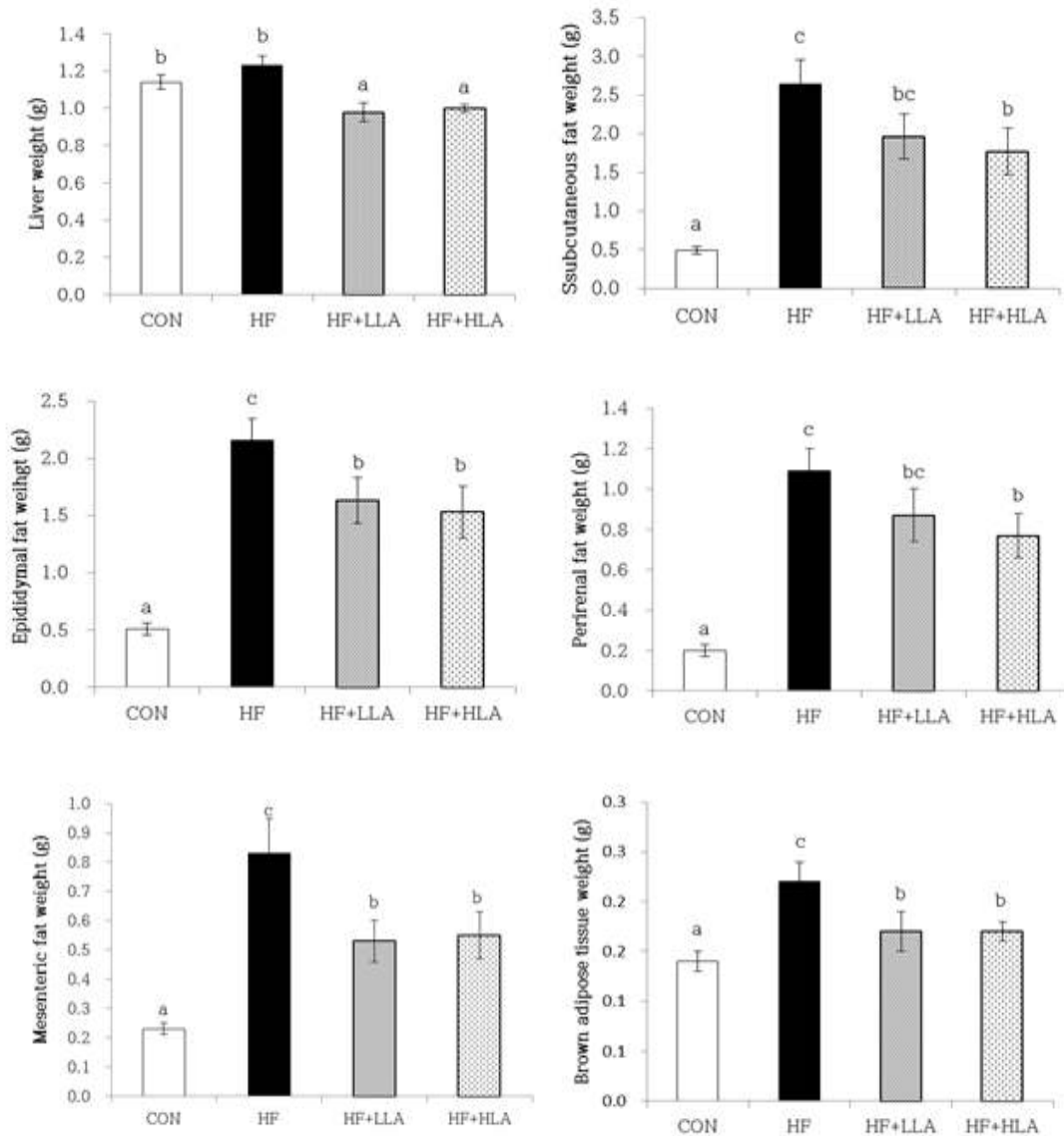


Figure 7. Effects of lancemaside A on liver and adipose tissue weights in high-fat diet induced obese mice (Exp 2.)

CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice. HF+LLA: high-fat diet induced obese mice fed with 10 mg/kgBW lancemaside A, HF+HLA: high-fat diet induced obese mice fed with 20 mg/kgBW lancemaside A

각 그룹의 부위별 지방 조직을 비교한 결과를 **Figure 8**에 나타내었다. 고지방식이 군에 비해 lancemaside A 투여군의 경우, 부위별 지방량이 현저히 적은 것을 육안으로도 확인할 수 있었다.

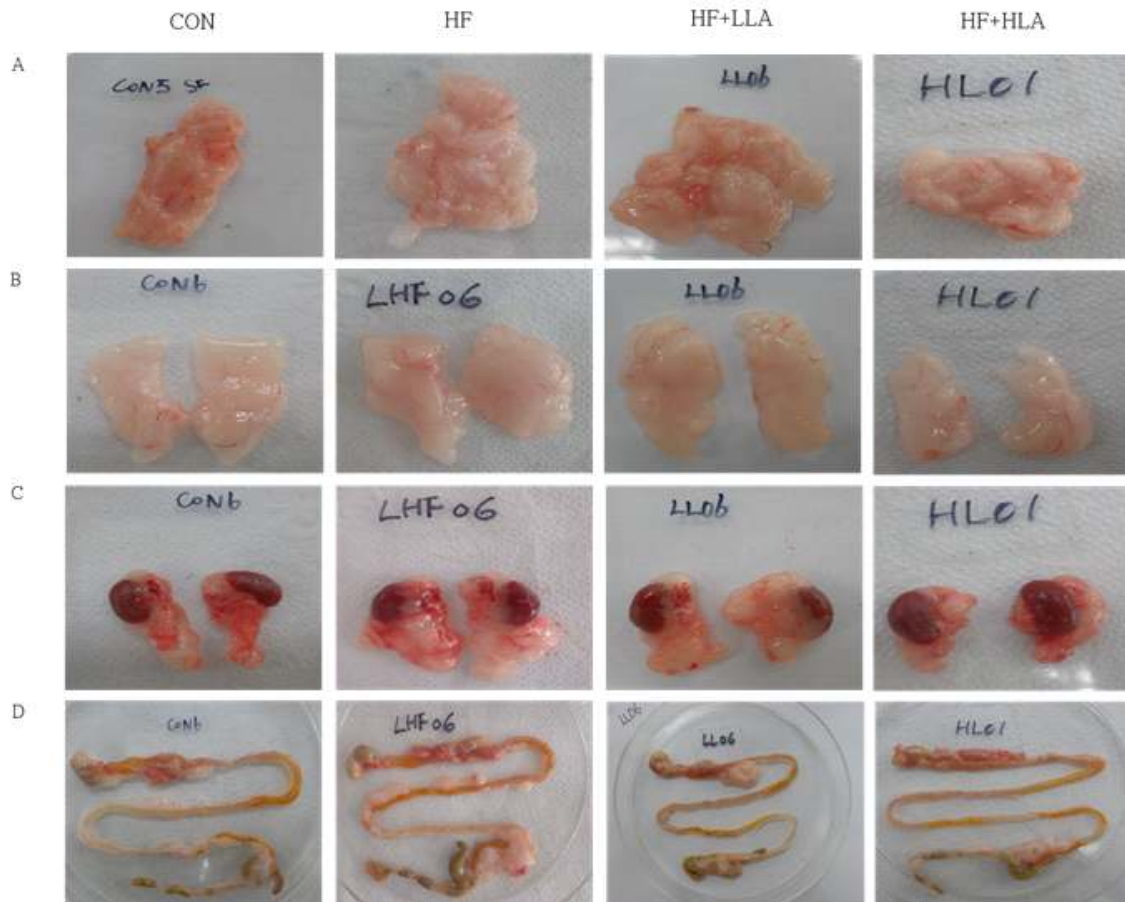


Figure 8. Representative adipose tissue samples from high-fat diet induced obese mice (Exp 2.)

A: Subcutaneous fat, B: Epididymal fat, C: Perirenal fat, D: Mesenteric fat, CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice. HF+LLA: high-fat diet induced obese mice fed with 10 mg/kgBW lancemaside A, HF+HLA: high-fat diet induced obese mice fed with 20 mg/kgBW lancemaside A

(3) 간 조직 및 지방 조직의 조직 병리학적 특성

고지방식이군에서 지방구가 많이 관찰 된 반면 lancemaside A 투여 군에서는 훨씬 적은 수의 지방구를 확인 할 수 있었다. 부고환 지방 조직에서의 지방세포 크기를 살펴본 결과 고지방식이군이 정상식이군에 비해 지방세포 크기가 크게 나타났다. lancemaside A 투여 군의 부고환 지방 조직에서는 지방 세포의 크기가 작아지는 경향을 보였다 (Figure 9). 또한 lancemaside A의 투여군의 경우, 부고환 조직의 대식세포의 수도 감소하는 것을 확인 할 수 있었다.

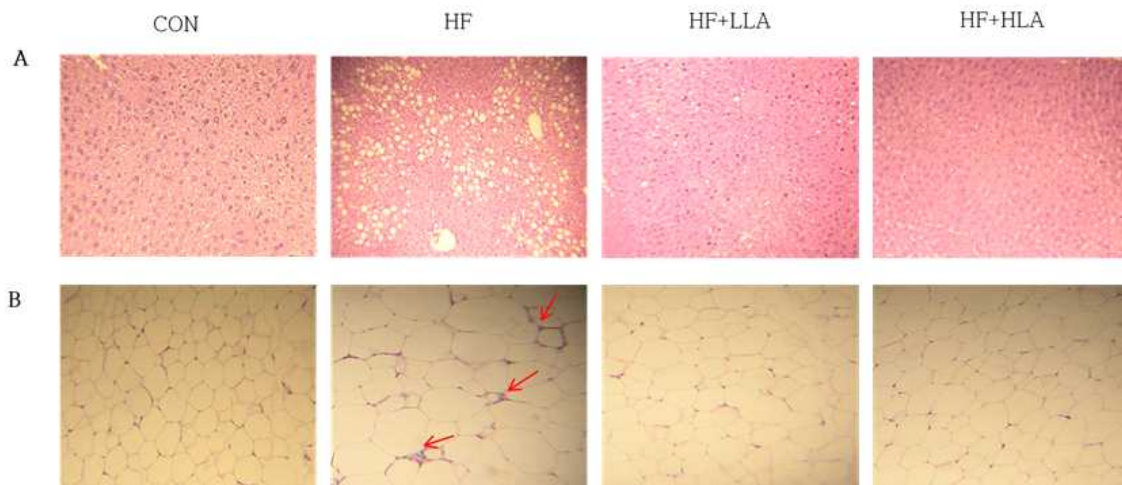


Figure 9. Lancemaside A decreased fat accumulation and macrophage infiltration in liver and epididymal adipose tissue (Exp 2.)

A: Liver B: Epididymal adipose tissue, CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice. HF+LLA: high-fat diet induced obese mice fed with 10 mg/kgBW lancemaside A, HF+HLA: high-fat diet induced obese mice fed with 20 mg/kgBW lancemaside A

(4) 간 조직과 혈장의 TG, 총 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤 농도의 변화

간조직의 TG 수준을 보면 정상식이군의 TG 농도가 고지방식이군 보다 유의적으로 감소하였고 lancemaside A 투여군 또한 고지방식이군보다 TG의 농도가 유의적으로 감소하였다. 마찬가지로, 혈장 TG 농도는 정상식이군과 lancemaside A 투여군의 TG 수준이 고지방식이군보다 유의적으로 감소하였다. 한편, 간 조직의 총 콜레스테롤 수준은 정상식이군이 고지방식이군보다 유의적으로 감소하였지만 lancemaside A 투여군과 고지방식이군 간의 총 콜레스테롤 수준은 유의적 차이가 나타나지 않았다. 혈장 콜레스테롤 농도도 간의 콜레스테롤 농도 변화와 비슷한 경향을 보였다 (Table 7).

Table 7. Effects of lancemaside A on liver and plasma concentrations of biochemical parameters in high-fat diet induced obese mice (Exp 2.)

	CON	HF	HF+LLA	HF+HLA
Liver TG (mg/g liver)	22.4 ± 2.4 ^a	38.0 ± 6.3 ^b	23.5 ± 4.8 ^a	14.3 ± 1.8 ^a
Liver cholesterol (mg/g liver)	1.7 ± 0.1 ^a	2.6 ± 0.3 ^b	2.5 ± 0.2 ^b	2.4 ± 0.2 ^b
Plasma TG (mg/dl)	59.7 ± 2.8 ^a	77.5 ± 5.4 ^b	53.2 ± 2.8 ^a	53.6 ± 3.5 ^a
Plasma cholesterol (mg/dl)	85.7 ± 3.3 ^a	164.4 ± 7.2 ^c	138.2 ± 12.5 ^b	146.4 ± 3.6 ^{bc}
Plasma HDL (mg/dl)	57.2 ± 3.0 ^b	94.9 ± 4.9 ^a	89.5 ± 7.8 ^a	94.6 ± 3.9 ^a

Data are means ± SEM, CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice. HF+LLA: high-fat diet induced obese mice fed with 10 mg/kgBW lancemaside A, HF+HLA: high-fat diet induced obese mice fed with 20 mg/kgBW lancemaside A

(5) 간 조직에서 ALT, AST, MDA 농도의 변화

간 조직이 손상될 경우 ALT와 AST 활성이 증가하는데, 고지방식이군에서 정상식이군에 비해 ALT 활성이 유의적으로 증가하였고 lancemaside A 투여군에서 ALT 효소의 활성이 유의적으로 감소하였다. AST 활성은 감소하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다 (Figure 10A and 10B).

간 조직 지질과산화 지표인 MDA를 측정한 결과, 고지방식이군에 비해 lancemaside A 투여군의 MDA 수준이 유의적으로 감소하였다 (Figure 10C).

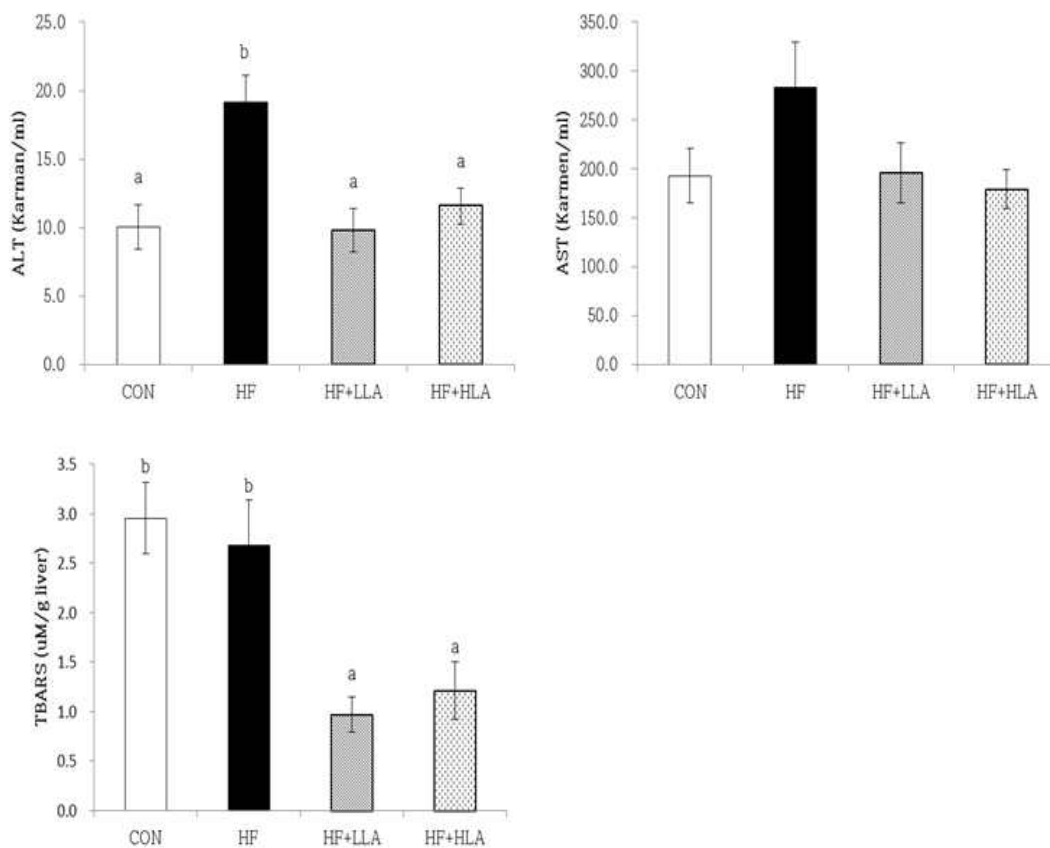


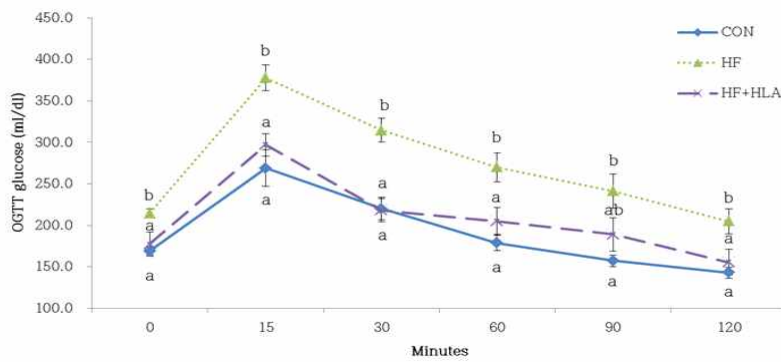
Figure 10. Effects of lancemaside A on ALT, AST and TBARS levels in high-fat diet induced obese mice (Exp 2.)

CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice. HF+LLA: high-fat diet induced obese mice fed with 10 mg/kgBW lancemaside A, HF+HLA: high-fat diet induced obese mice fed with 20 mg/kgBW lancemaside A

(6) OGTT

8 주간 lancemaside A 투여한 후 쥐에게 경구 내당능 실험을 실시하였다. 6 시간 fasting 후, lancemaside A 투여군은 고지방식이군에 비해 혈중 글루코오스가 17.3 % 감소하였다. 그 결과, glucose loading 후 lancemaside A군의 혈중 글루코오스 농도는 15 분, 30 분, 60 분, 120 분 경과 시에 모두 고지방식이군에 비해 유의적으로 감소하였다. 이로부터 계산한 AUC 역시, 고지방식이군이 정상식이군에 비해 유의적으로 높았고 고지방식이군에 비해 lancemaside A를 투여한 군에서 유의적으로 감소하였다 (Figure 11).

A.



B.

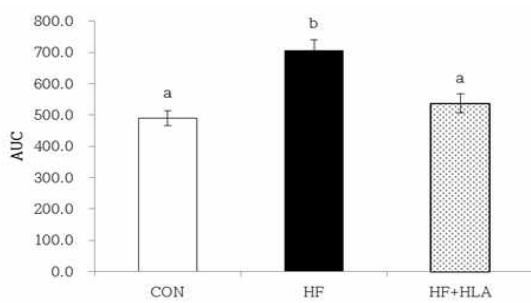


Figure 11. Effects of lancemaside A on oral glucose tolerance in the high-fat diet induced obese mice (Exp 2.)

A: Blood glucose levels at 0, 15, 30, 60, 90 and 120 min after intragastrically administration of 2 g of glucose/kgBW, B: Area under the curve (AUC) in the oral glucose tolerance test
CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice. HF+HLA: high-fat diet induced obese mice fed with 20 mg/kgBW lancemaside A

(7) 간 조직의 지방합성 관련 PPAR γ signaling의 변화

고지방식이와 lancemaside A의 투여가 지방합성 (lipogenesis) 관련 단백질의 활성 및 관련 signaling에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 간 조직의 PPAR γ , C/EBP α 및 FAS의 단백질 수준을 western blot analysis로 측정하였다. Lancemaside A 투여군의 PPAR γ , C/EBP α , FAS의 단백질 수준은 고지방식이군보다 유의적으로 감소하였으며 농도 의존적인 경향을 보였다 (Figure 12).

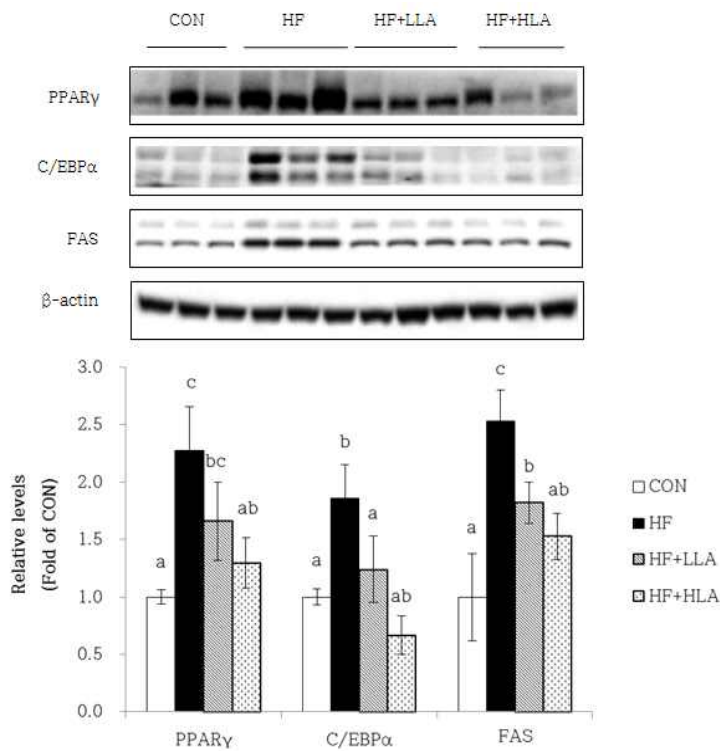


Figure 12. Effects of lancemaside A on lipid metabolism related protein levels in liver

CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice. HF+LLA: high-fat diet induced obese mice fed with 10 mg/kgBW lancemaside A, HF+HLA: high-fat diet induced obese mice fed with 20 mg/kgBW lancemaside A

또한, SREBP-1c의 mRNA 수준 역시 고지방식이군에 비해 lancemaside A 투여군에서 유의적으로 낮아지는 것으로 나타났다. 이 밖에, 지방합성 관련 유전자인 FABP4, ACC, SCD1, LPL의 발현수준이 고지방식이군보다 lancemaside A 투여군에서 유의적으로 감소하였다 (Figure 13A). 또한, 지방산 산화에 관여하는 HSL 발현수준은 고지방식이군보다 낮은 농도의 lancemaside A 투여군에서 유의적으로 증가하였다 (Figure 13B).

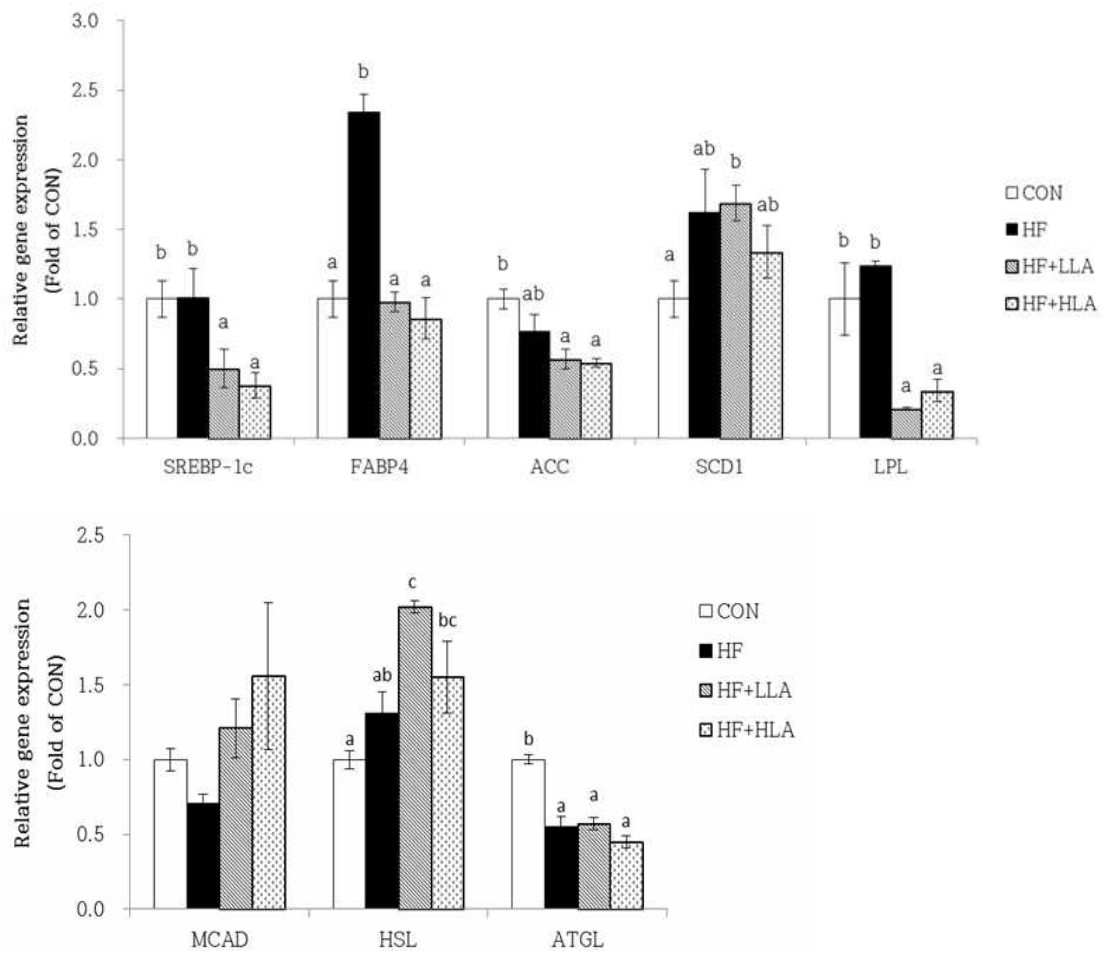


Figure 13. Effects of lancemaside A on the mRNA levels of genes associated with lipid metabolism in liver

CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice. HF+LLA: high-fat diet induced obese mice fed with 10 mg/kgBW lancemaside A, HF+HLA: high-fat diet induced obese mice fed with 20 mg/kgBW lancemaside A

한편, 간 조직에서 AMPK 활성을 비교한 결과, 고지방식이군에 비해 높은 농도의 lancemaside A의 투여군에서 p-AMPK 수준이 유의적으로 증가하였다 (Figure 14).

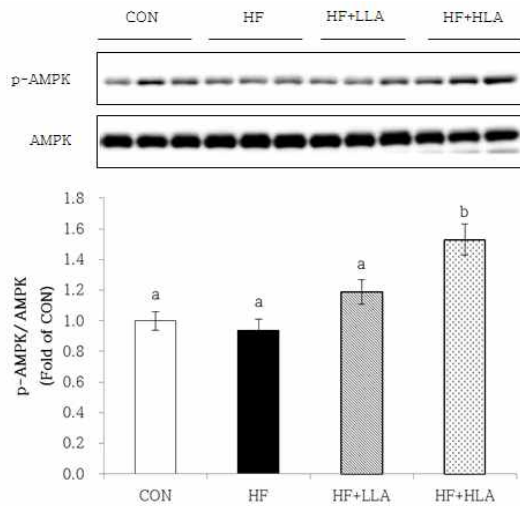


Figure 14. Effects of lancemaside A on phosphorylated-AMPK protein levels in liver

CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice. HF+LLA: high-fat diet induced obese mice fed with 10 mg/kgBW lancemaside A, HF+HLA: high-fat diet induced obese mice fed with 20 mg/kgBW lancemaside A

(8) 간 조직의 염증 관련 NFκB signaling의 변화

고지방식이와 lancemaside A의 투여가 염증 관련 NFκB signaling에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 간 조직의 p-IKK, p-IκB, p-NFκB, p-JNK 및 TNF-α의 단백질 수준을 western blot analysis로 측정하였다. p-IKK, p-IκB, p-NFκB 및 p-JNK의 단백질 수준은 고지방식이군 보다 lancemaside A 투여 군에서 농도 의존적으로 감소하였다 (Figure 15). 또한, TNF-α의 단백질 발현 및 mRNA 수준 역시 고지방식이군에 비해 lancemaside A 투여 군에서 유의적으로 감소하였다 (Figure 16).

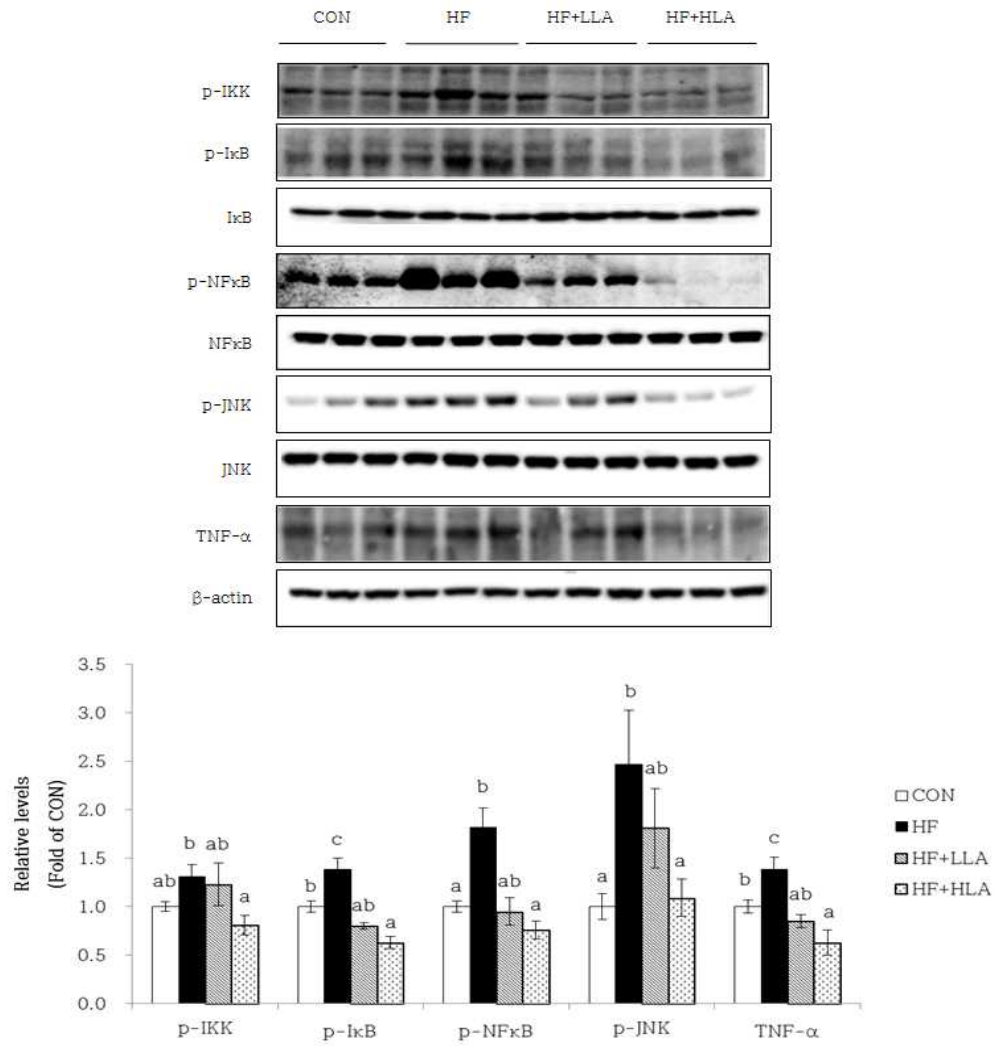


Figure 15. Effects of lancemaside A on inflammatory related protein levels in liver
 CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice. HF+LLA: high-fat diet induced obese mice fed with 10 mg/kgBW lancemaside A, HF+HLA: high-fat diet induced obese mice fed with 20 mg/kgBW lancemaside A

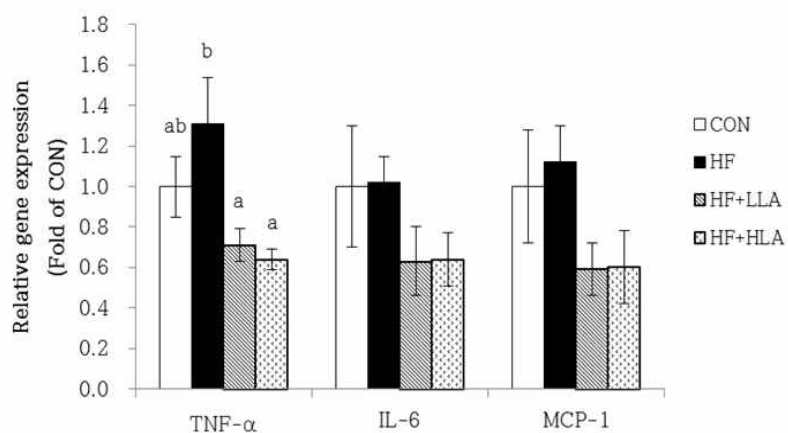


Figure 16. Effects of lancemaside A on inflammatory related mRNA expression in liver

CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice. HF+LLA: high-fat diet induced obese mice fed with 10 mg/kgBW lancemaside A, HF+HLA: high-fat diet induced obese mice fed with 20 mg/kgBW lancemaside A

(9) 부고환 지방조직의 지질대사 관련 유전자 발현 변화

부고환 지방조직의 지질 대사 관련 유전자의 mRNA 수준을 비교한 결과를 **Figure 17**에 나타내었다. 지방 합성에 관여하는 유전자인 PPAR γ , SREBP-1c, FAS, FABP4, ACC, SCD1, LPL의 수준을 보았을 때 고지방식이군에 비해 lancemaside A 투여 군에서 유의적으로 감소하였다. C/EBP α 의 발현수준 또한 고지방식이군보다 lancemaside A 투여 군에서 낮은 경향을 보였다.

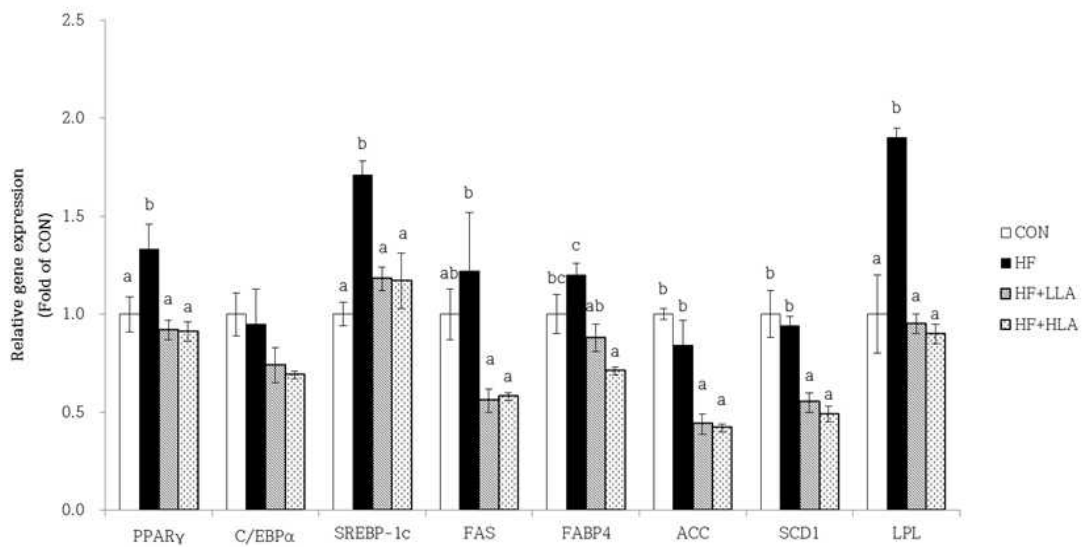


Figure 17. Effects of lancemaside A on lipid metabolism related mRNA expression in epididymal adipose tissue

CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice. HF+LLA: high-fat diet induced obese mice fed with 10 mg/kgBW lancemaside A, HF+HLA: high-fat diet induced obese mice fed with 20 mg/kgBW lancemaside A

(10) 부고환 지방조직의 염증 관련 유전자 발현 변화 및 NFκB signaling

Lancemaside A 의 항염증 효과를 관찰하기 위하여 부고환지방 조직의 total RNA 추출 후 real-time RT-PCR 방법을 이용하여 염증 대사 관련 유전자의 발현정도를 측정하였고 그 결과를 **Figure 18**에 나타내었다. TNF- α , MCP-1, iNOS의 유전자 발현 수준은 고지방식이군에 비해 lancemaside A 투여 군에서 유의적으로 감소하였다. IL-6의 경우 그룹 간 차이가 나타나지 않았다.

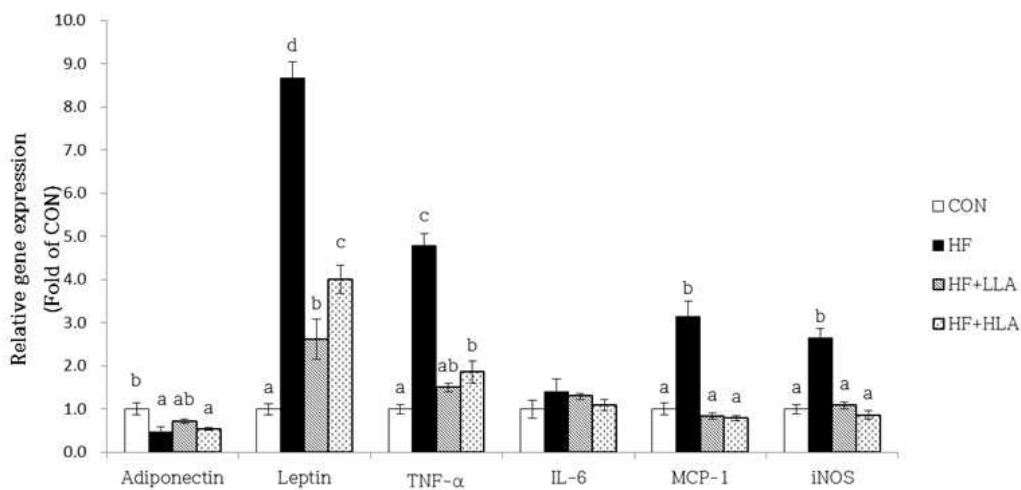


Figure 18. Effects of lancemaside A on inflammatory related mRNA expression in e pididymal adipose tissue

CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice. HF+LLA: high-fat diet induced obese mice fed with 10 mg/kgBW lancemaside A, HF+HLA: high-fat diet induced obese mice fed with 20 mg/kgBW lancemaside A

한편, NFκB signaling의 변화를 western blot analyses로 살펴본 결과, lancemaside A 투여군의 p-IKK, p-NFκB, HO-1의 단백질 수준이 고지방식이군보다 유의적으로 감소함을 확인하였다 (Figure 19).

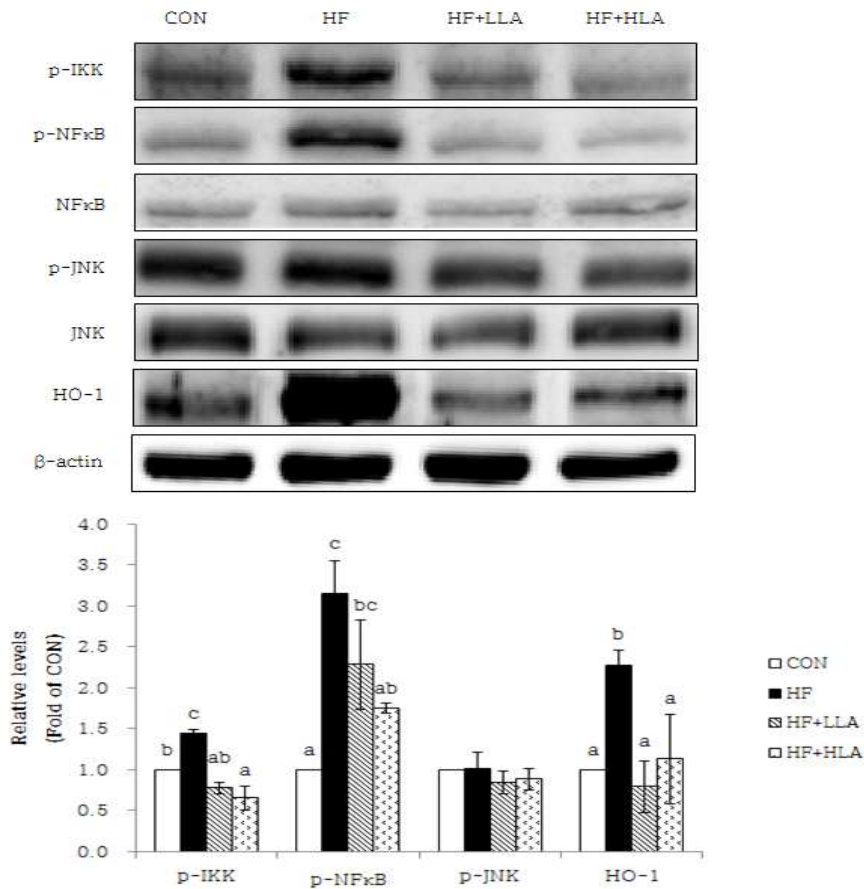


Figure 19. Effects of lancemaside A on inflammatory related protein levels in epididymal adipose tissue

CON: chow diet fed mice, HF: high-fat diet induced obese mice. HF+LLA: high-fat diet induced obese mice fed with 10 mg/kgBW lancemaside A, HF+HLA: high-fat diet induced obese mice fed with 20 mg/kgBW lancemaside A

제 2절 더덕에서 분리된 기능성 성분이 항 비만의 생리 활성화에 대한 *in vitro* 실험을 통한 작용 기전 연구

I. 연구 방법

더덕의 함유성분인 lancemaside A가 지방세포 분화에 미치는 영향을 측정하기 위하여 3T3-L1 cell을 이용하여 지방전구세포가 지방세포로 분화되는 정도를 측정하였다.

1) 실험 방법

(1) Cell culture

더덕에서 추출한 lancemaside A가 지방세포분화에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 지방세포로 분화가 가능한 3T3-L1 cell line을 한국세포주은행에서 분양받아 배양하였다. 3T3-L1 cell을 12 well plate에 2×10^4 cells/ml로 seeding하고 37 °C, 5 % CO₂ concentration로 맞춰진 incubator에서 배양시켰다. media는 2 일 마다 새로운 media로 바꿔주었는데 100 % confluency가 될 때까지 3T3-L1 complete media (DMEM/high glucose (Thermo scientific, USA), newborn calf serum (Thermo scientific), 1 % penicillin-streptomycin solution (Thermo scientific))로 배양하였다. 100 % confluency 2 일 후 MDI media (DMEM/high glucose, 10 % fetal bovine serum, 1 % penicillin-streptomycin solution, 0.5 mM 3-isobutyl 1-methylxanthine (Sigma, USA), 1 µM dexamethazone (Sigma), 5 µg/ml insulin, human recombinant (Gibco, USA)를 넣어주고 다시 2 일 후 differentiation media (DMEM/high glucose), 10 % fetal bovine serum, 1 % penicillin-streptomycin solution, 5 µg/ml insulin, human recombinant)을 넣어 지방세포로 분화시켰다. 이 후 4 일 동안 growth media (DMEM/high glucose, 10 % fetal bovine serum characterized, 1 % penicillin-streptomycin solution)를 넣어 지방분화를 완료시켰다. Lancemaside A는 dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma)를 용매로 하여 stock을 만들어 사용하였고 농도는 1.25 µM, 2.5 µM, 5 µM, 10 µM, 20 µM의 농도

로 만들어 사용하였다.

(2) 지방구 염색 (Oil Red O staining)

Lacemaside A가 지방세포 분화에 미치는 영향을 측정하기 위하여 지방구 (lipid droplets)에 특이적으로 반응하는 Oil Red O 염색법을 수행하여 축적된 지방의 양을 분석하였다. 지방세포 분화를 유도한 지 8 일째 되는 날 배양액 성분을 완전히 제거하기 위해 1x PBS로 3 번 washing 하고 10 % formalin (Sigma)으로 1 시간 처리하여 세포를 고정하였다. 500 mg/ml의 농도로 Oil Red O (Sigma)를 isopropanol (Sigma)에 녹여 stock solution을 만든 후 3 차 증류수와 Oil red O stock solution을 3:2의 비율로 배합한 working solution 제조하였다. 이 후 제조한 working solution으로 암실에서 30 분간 염색한 후 증류수로 세정한 뒤, 현미경으로 관찰하였다. 정량 분석을 위해 isopropanol을 첨가하여 Oil red O 용액을 녹여낸 뒤, 520 nm에서 흡광도를 측정하였다.

(3) 총 중성지질 측정

Lancemaside A가 지방세포 분화에 미치는 영향을 측정하기 위하여 총 중성지질을 측정하였다. 지방세포 분화를 유도한 지 8 일째 되는 날 배양액 성분을 완전히 제거하기 위해 1x PBS로 3 번 washing 하고 PBS-10mM EDTA (pH 7.4) 용액 0.5 ml를 넣고 균질화 하였다. 희석한 균질액을 BCA법 (Thermo scientific)을 이용하여 단백질 정량 하였다. 미리 hexane을 처리한 시험관에 단백질이 300 µl당 150 µg이 되도록 준비 한 후 2 ml isopropanol-hexane-water (80:20:2 v/v/v)를 넣고 30 초 이상 강하게 vortexing 하여 호일로 덮고 30 분간 상온에서 정치하였다. 그 다음 500 µl의 hexane-diethyl ether (1:1)를 넣고 다시 30 초 이상 강하게 vortexing한 후 호일로 덮어 10 분간 상온에서 정치하였다. 그 다음 1 ml의 3 차 증류수를 더 넣고 다시 강하게 vortexing한 후 호일로 덮어 20 분간 상온에서 정치하였다. 최종 상층액 약 900 µl를 탄 후 미리 hexane으로 씻어 말려둔 시험관에 옮겨 담았다. 그 후 N₂ gas를 이용하여 유기용매를 날린 후 isopropanol을 20 µl씩 넣고 vortexing하여 시험관 벽면에 묻은 지질을 충분히 녹였다. 중성지방 측정용 kit (Bio Clinical System, Korea)를 사용하여 중성지방을 측정하였다. 20 µl isopropanol을 넣은 시험관에

효소용액 3 ml를 넣고 vortexing하였다. Standard는 중성지질의 함량이 각각 0, 75, 150, 225, 300 mg/dl가 되도록 isopropanol에 녹였으며 이를 시험관에 20 μ l씩 넣고 시료와 동일하게 효소용액을 3 ml 넣었다. 37 °C water bath에서 10 분간 incubation한 후 96 well plate에 300 μ l씩 분주한 후 550 nm에서 흡광도를 측정하여 비색 정량하였다. 모든 측정은 샘플 당 duplicate로 측정하였고, 같은 조건으로 3 회 반복 시행하였다.

(4) 3T3-L1 adipocyte에서 지질대사 관련 단백질 변화

Adipocyte로 differentiation된 3T3-L1에서 지질대사와 관련하여 단백질 수준의 변화를 관찰하기 위하여 western blot analysis를 수행하였다. 지방세포로 분화를 유도한 지 8 일째 되는 날 0.2 % BSA를 첨가한 serum free media에 16 시간 배양한 후 lancemaside A를 각각 농도별로 24 시간 처리하였다. Protease inhibitor (phenylmethanesulfonylfluoride (PMSF), protease inhibitor tablet (Roche, USA))와 phosphatase inhibitor tablet (Roche)이 첨가된 RIPA buffer (50 mM Tris-HCl, pH7.4, 1 % NP-40, 0.25 % Na-deoxycholate, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA)를 이용하여 homogenate를 만든 후, 각 homogenate의 단백질 농도는 bradford법으로 coomassie blue protein assay reagent (Thermo scientific)를 이용하여 정량하였다. 단백질 분리를 위하여 protein 15 μ g에 해당하는 homogenate 용액을 2x lysis buffer와 혼합하여 95 °C에서 5 분간 끓여준 후 10 % SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)로 분리하였다. 분리된 단백질은 PVDF membrane (Millipore, USA)로 transfer하였고, membrane으로 단백질의 transfer가 잘 이루어졌는지 여부를 ponceau S reagent (Sigma)를 이용하여 확인하였으며, gel에 남아있는 단백질 여부 또한 coomassie blue protein assay reagent를 이용하여 한 번 더 확인하였다. 이 후, 5 % skim milk (Difco, france) in TB S-T buffer에 2 시간 이상 blocking하였다. 1 차 antibody는 peroxisome-proliferator activated receptor gamma (PPAR γ), CCAAT enhancer binding protein- α (C/EBP α), fatty acid synthase (FAS), phospho-AMP-activated protein kinase (p-AMPK), AMPK, phospho-acetyl CoA carboxylase (p-ACC) (이상 Cell Signaling)와 β -actin (Santa Cruz biotechnology)를 1:500의 비율로 희석하여 사용하였으

며, shaking 상태로 overnight 하였다. 이후 TBS-T buffer로 충분히 washing한 후 secondary antibody를 부착하였다. PPAR γ , C/EBP α , FAS, p-AMPK, AMPK, p-ACC는 goat anti rabbit IgG (H+L)-HRO conjugate (BIORAD, USA)를 1:5000의 비율로 희석하여 2 시간 부착하였고. β -actin은 goat anti-mouse IgG (H+L)-HRO conjugate (BIORAD)를 1:10000의 비율로 희석하여 2 시간 부착하였다. 이 후 TBS-T buffer로 충분히 washing한 후, ECL 용액 (Clarity western ECL substrate, BIORAD)을 이용하여 반응시킨 뒤, CLINX science instruments (USA)를 이용하여 detection 하였다. 감광된 specific band는 gel analysis V2.02 (CLINX science instruments)를 사용하여 band의 density를 정량하였다. 아무것도 처리하지 않은 control을 기준으로 상대적인 값으로 계산하였다.

(5) 지질대사 관련 유전자 발현 정도 측정

간 조직에서 total RNA 추출 후, real-time RT-PCR 방법을 이용하여 지질대사 관련 유전자의 발현 정도를 측정하였다. 우선 Trizol (Invitrogen, USA) 용액을 이용하여 total RNA 추출을 하였다. Trizol 용액에 간 조직을 넣고 균질화한 후, 실온에서 5 분간 incubation 하였다. Chloroform을 넣고 다시 실온에서 3 분간 incubation 후 12,000 g로 4 °C에서 15 분간 원심 분리하였다. 원심분리 후, 상층액에 isopropyl alcohol를 넣고 다시 실온에서 10 분간 incubation 한 다음, 12,000 g로 4 °C에서 10 분간 원심 분리하였다. 원심분리 후, isopropyl alcohol을 버리고 가라앉은 RNA pellet에 ethanol (99 % ethanol, Merck, GER)을 넣고 약하게 vortexing한 뒤 7,500 g로 4 °C에서 5 분간 원심 분리하였다. 원심분리 후, ethanol을 버리고, ethanol이 남지 않도록 10~15 분간 완전히 말렸다. 다음 nuclease free water를 넣고 10 분간 55 °C thermo block에서 RNA pellet을 녹인 뒤 분석 전까지 -80 °C에 보관하였다. 추출한 RNA는 0.1 % agarose gel에 loading 하여 RNA의 quality를 확인하고, nanodrop으로 흡광도를 측정하여 RNA quality 및 농도를 확인하였다. Total 1 μ g RNA와 PrimeScript™ RT reagent kit를 이용하여 cDNA 합성하였다. 이후, real-time PCR (SYBR® premix Ex Taq™ assay) 분석 방법을 이용하여, β -actin을 reference gene으로 하여 지질대사 관련 유전자인 PPAR γ , C/EBP α , SREBP-1c, FAS, FABP4, ACC, SCD1, LPL, ATGL, HSL, CPT1, Leptin의 상대적인 발현

정도를 측정하였다. 해당 유전자 primer의 sequence는 Table 8에 나타내었다.

Table 8. The primer sequences of lipid metabolism related gene

Gene	Primer Sequence	
	Forward	Reverse
PPARγ	5'-CCA GAG CAT GGT GCC TTC GCT-3'	5'-CAG CAA CCA TTG GGT CAG CTC-3'
C/EBPα	5'-GAA CAG CAA CGA GTA CCG GGT-3'	5'-GCC ATG GCC TTG ACC AAG GAG-3'
SREBP-1c	5'-CGC TAC CGG TCT TCT ATC ATT G-3'	5'-TTG CTT TTG TGT GCA CTT CG-3'
FAS	5'-GCT TTG CTG CCG TGT CCT TCT-3'	5'-TCT AGC CCT CCC GTA CAC TCA-3'
FABP4	5'-TCA CCT GGA AGA CAG CTC CT-3'	5'-AAT CCC CAT TTA CGC TGA TG-3'
ACC	5'-GGA CAG ACT GAT CGC AGA GAA AG-3'	5'-TGG AGA GCC CCA CAC ACA-3'
SCD1	5'-CCT ACG ACA AGA ACA TTC AAT C-3'	5'-TTC TCT TAA TCC TGG CTA AGA C-3'
LPL	5'-AGT AGA CTG GTT GTA TCG GG-3'	5'-AGC GTC ATC AGG AGA AAG G-3'
ATGL	5'-GAC CTG ATG ACC ACC CTT TC-3'	5'-TGC TAC CCG TCT GCT CTT T-3'
HSL	5'-GGT GAC ACT CGC AGA AGA CAA TA-3'	5'-GCC GCC GTG CTG TCT CT-3'
Leptin	5'-CTA TGC CAC CTT GGT CAC CT-3'	5'-ACC AAA CCA AGC ATT TTT GC-3'
CPT1	5'-GCA CTG CAG CTC GCA CAT TAC AA-3'	5'-CTC AGA CAG TAC CTC CTT CAT TAC AA-3'
MCAD	5'-GAT CGC AAT GGG TGC TTT TGA TAG AA-3'	5'-AGC TGA TTG GCA ATG TCT CCA GCA AA-3'
β-actin	5'-AGG CTG TGC TGT CCC TGT AT-3'	5'-ACC CAA GAA GGA AGG CTG GA-3'

2) 통계 분석

모든 통계분석은 SAS 9.3을 이용하여 수행하였다. 그룹 간의 차이는 one way ANOVA 분석으로 검증하였으며, 유의적인 차이가 있는 경우, duncan 사후 검정을 실시하였다. $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였으며, 모든 결과는 평균과 표준오차로 나타내었다.

2. 연구 결과

(1) Lancemaside A가 지방전구세포의 분화에 미치는 영향

Lancemaside A가 지방전구세포 분화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 3T3-L1 지방전구세포에 분화 유도 물질인 insulin을 첨가하여 지방세포 분화시키는 과정에서 lancemaside A를 다양한 농도로 처리해준 후, Oil red O staining과 total triglyceride concentration을 측정하였다. 그 결과, lancemaside A의 농도가 높아질수록 지방구 형성이 현저히 감소되었고, lancemaside A를 20 μ M 농도로 처리한 cell에서 중성지질의 양이 아무것도 처리하지 않은 대조군에 비해 약 42 %로 감소하여 지방 분화를 유의적으로 억제시키는 것으로 나타났다 (Figure 20).

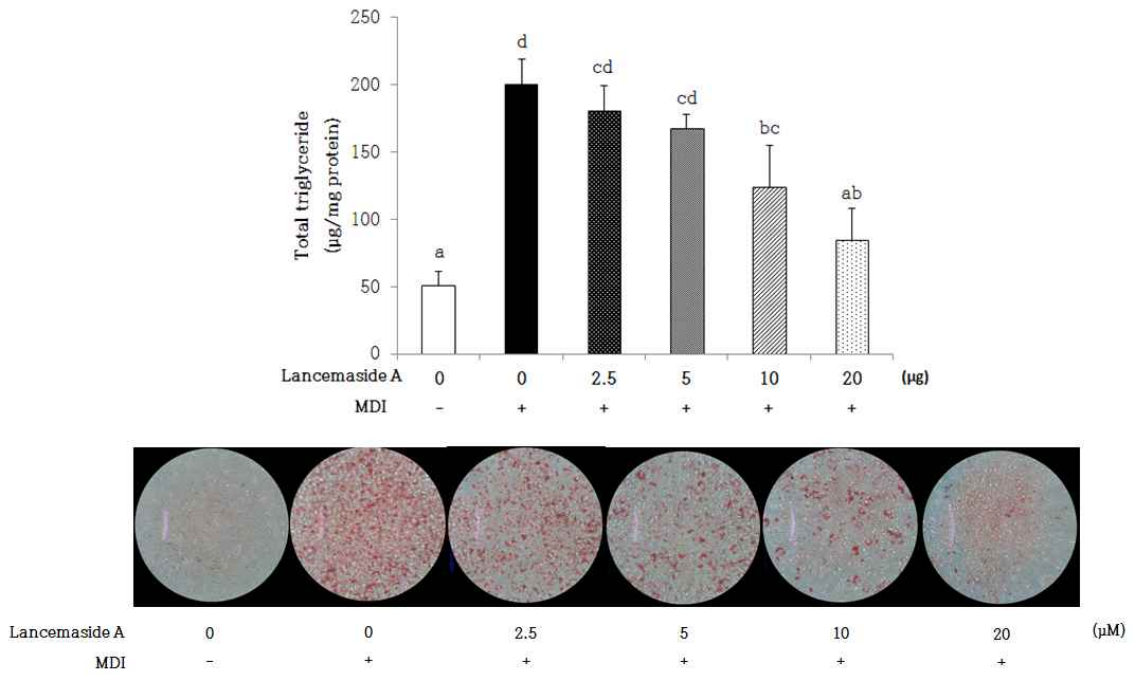


Figure 20. Effects of lancemaside A on adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells
Upper panel: The triglyceride concentration was quantified by measuring absorbance at 550 nm. Data are means \pm SEM. Lower panel: Oil red O-stained adipocytes were photographed at a 200x magnification

(2) 3T3-L1 adipocyte에서 지질대사 관련 단백질 발현의 변화

Adipocyte로 differentiation 한 3T3-L1에서 지질대사와 관련하여 단백질 발현의 변화를 살펴보기 위하여, 간 조직의 PPAR γ , C/EBP α , FAS, p-AMPK, p-ACC, CPT 1의 수준을 western blot analysis로 측정하였다. 그 결과, lancemaside A의 농도가 1.25에서 20 μ M로 높아질수록 p-AMPK의 수준이 유의적으로 증가하였고, 또한, p-AMPK의 downstream target 중의 하나인 p-ACC의 수준도 농도가 높아짐에 따라 발현수준이 증가하였다. 또한 지방합성 관련 유전자인 PPAR γ , C/EBP α , FAS의 수준은 농도가 높아질수록 유의적으로 감소하여 lancemaside A가 지방 합성을 억제하는 것으로 나타났다 (Figure 21).

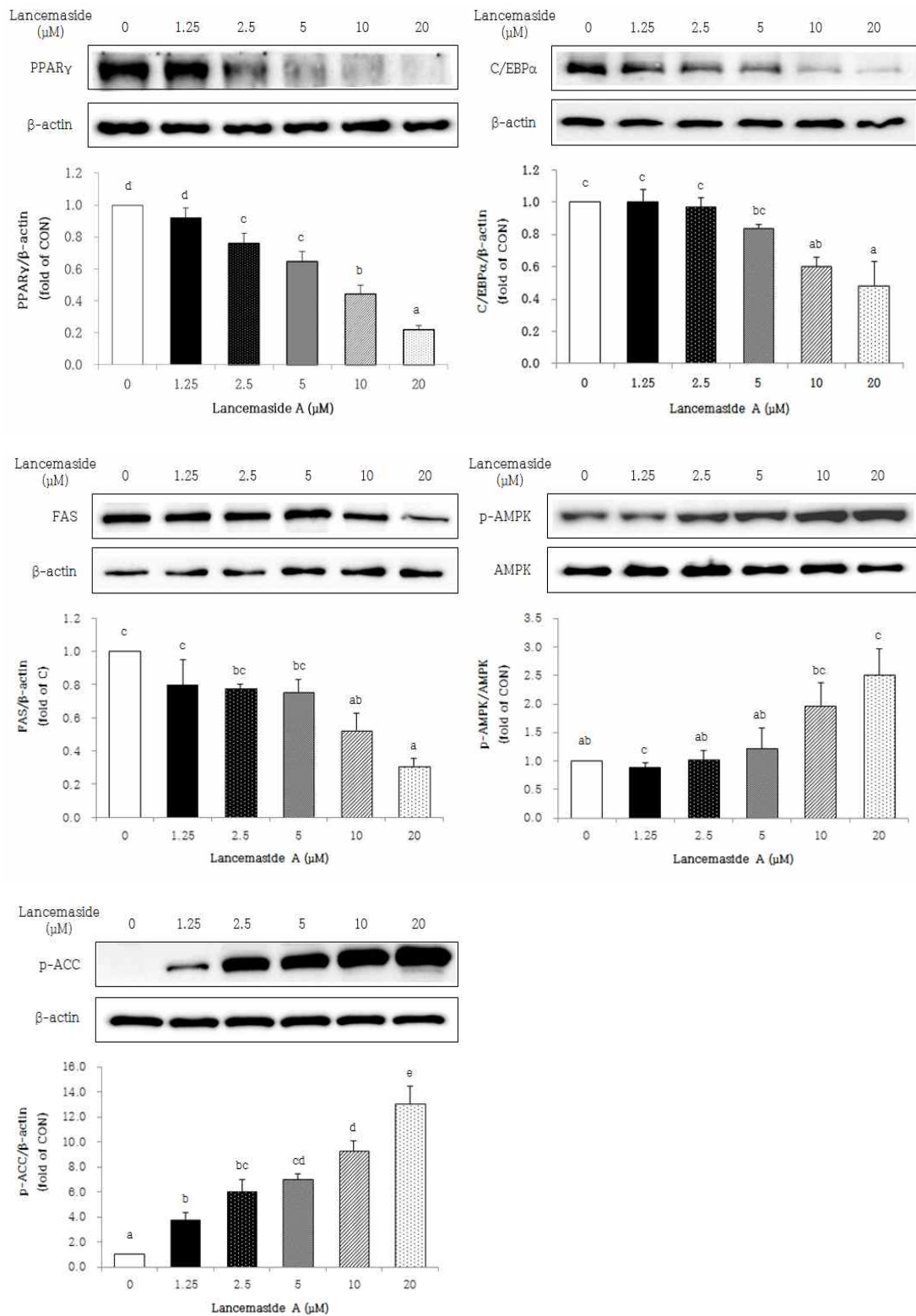
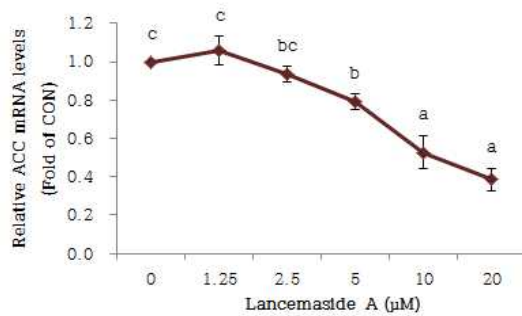
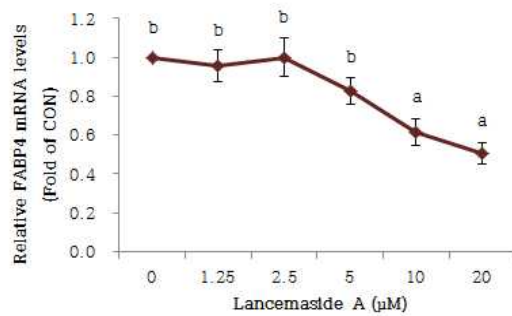
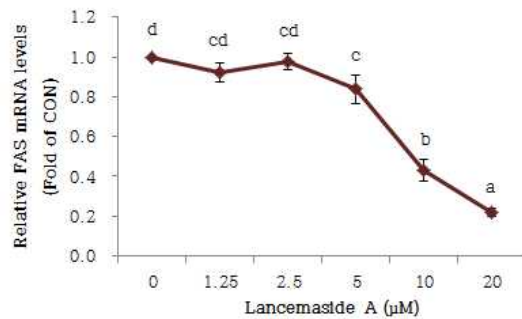
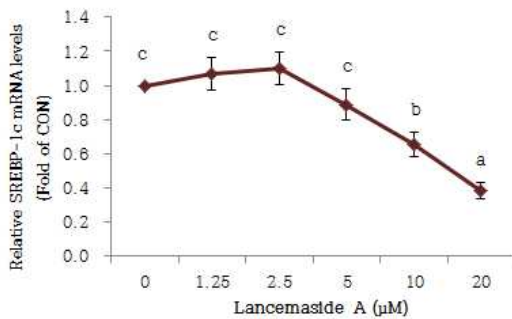
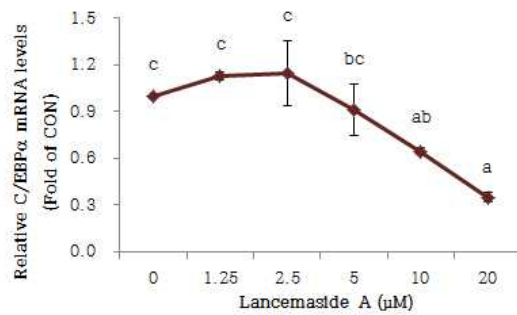
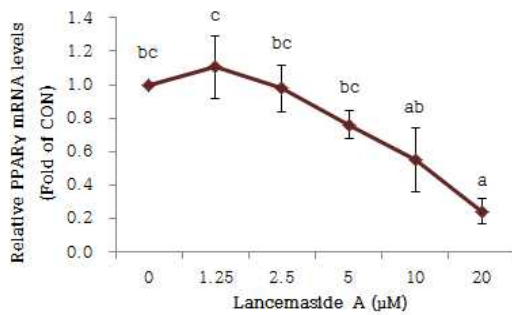


Figure 21. Effects of lancemaside A on the levels of protein associated with lipid metabolism in 3T3-L1 mature adipocyte

(3) 3T3-L1 adipocyte에서 지질대사 관련 유전자 발현의 변화

Adipocyte로 differentiation된 3T3-L1에서 지질대사와 관련하여 유전자 발현의 변화를 측정한 결과, lancemaside A의 농도가 1.25에서 20 μM 로 높아질수록 지방 합성 관련 유전자인 PPAR γ , C/EBP α , SREBP-1c, FAS, FABP4, ACC, SCD1, LPL, Leptin의 발현이 유의적으로 감소하였고, 지방 분해 관련 유전자인 CPT1은 유의적으로 증가하였다.



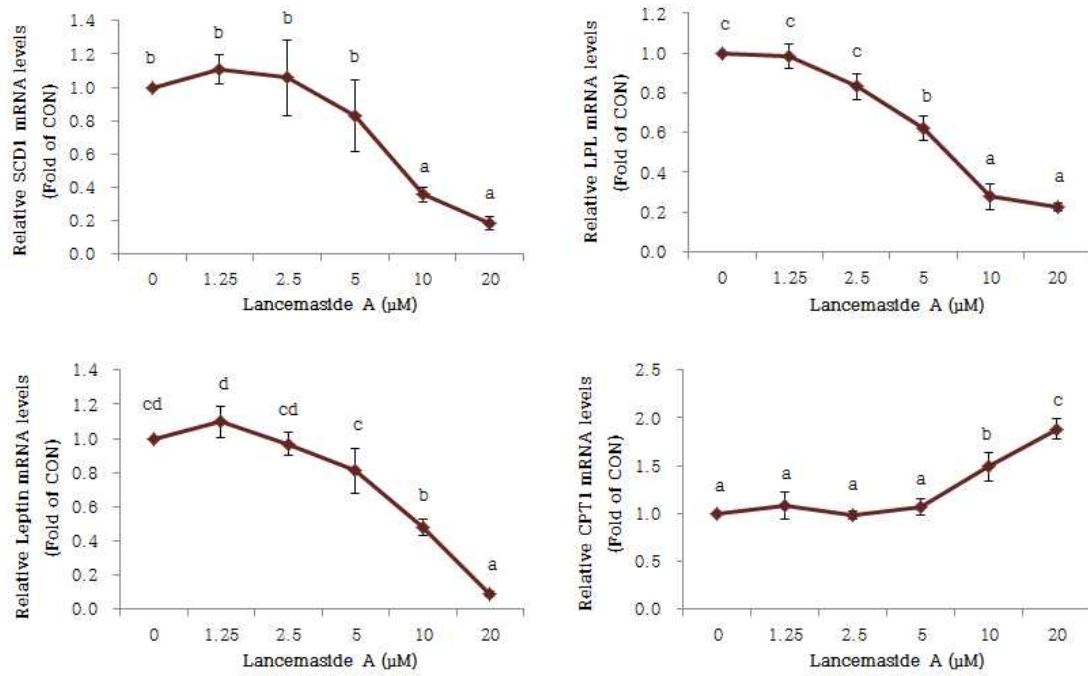


Figure 22. Effects of lancemaside A on the mRNA levels of genes associated with lipid metabolism in 3T3-L1 mature adipocyte

제 3절 우영의 항 비만 효능

<우영의 항 비만 효능에 대한 *in vivo* 실험>

1. 연구 방법

1) 실험 설계

우영의 비만 억제 효능 여부를 알아보기 위하여 고지방식을 이용하여 비만을 유도한 실험동물 모델에 우영 에탄올 추출물을 경구 투여하여 체중 변화 및 비만관련 지표 변화를 살펴보았다 (실험 1). 또한, 우영이 비만을 예방하는지 알아보기 위하여 고지방식으로 비만이 유도되는 과정에서 고지방식에 우영 에탄올 추출물을 첨가한 후, 체중 변화를 살펴보았다 (실험 2). 그 다음 우영 뿌리 및 우방자의 함유 물질인 *arctiin*의 비만 억제 효능을 살펴보았다 (실험 3). 각 실험에서의 식이 공급과 우영 공급 방법은 **Figure 1**에 나타내었다.

(1) 실험 1: 우영 에탄올 추출물의 경구 투여가 비만 억제에 미치는 영향

4 주령 수컷 C57BL/6J mice를 온도 20 ± 2 °C, 습도 50 ± 10 %, 12 hr light/12 hr dark cycle의 조건 아래 chow diet로 1 주간 적응시킨 후, 2 그룹으로 나누어 6 주간 정상식이 (CON: 10 % kcal from fat)와 고지방식이 (HF: 60 % kcal from fat)를 공급하였다. 이 후 고지방식이군을 3 그룹으로 나누어 0, 1, 2.5 g/kgBW 우영 에탄올 추출물을 8 주간 경구투여 하였다 (HF, HF+LAE, HF+HAE; n=6~7/group). 우영에탄올 추출물은 1 차 증류수에 녹여 공급하였고, 정상식이군과 고지방식이군은 동일한 양의 1 차 증류수를 경구 투여로 공급하였다 (**Figure 1A**).

(2) 실험 2: 우영 에탄올 추출물의 식이 첨가가 비만 유도에 미치는 영향

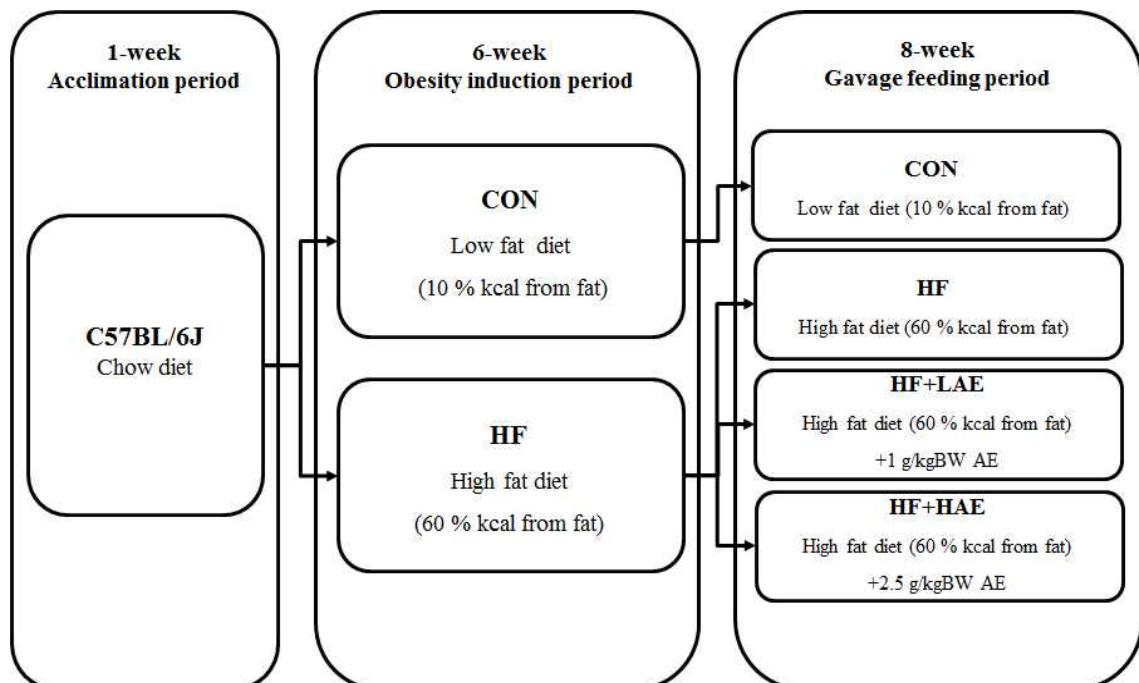
4 주령 수컷 C57BL/6J mice를 온도 20 ± 2 °C, 습도 50 ± 10 %, 12 hr light/12 hr dark cycle의 조건 아래 chow diet로 1 주간 적응시킨 후, 고지방식이 (HF: 60 % kcal from fat), 고지방식이+1 % 우영 에탄올 추출물 (HF+1 AE), 고지방식이+ 5 % 우영 에탄올 추출물 (HF+5 AE)을 총 3 그룹으로 나누어 3 주간 공급하였다 (**Figure**

re 1B).

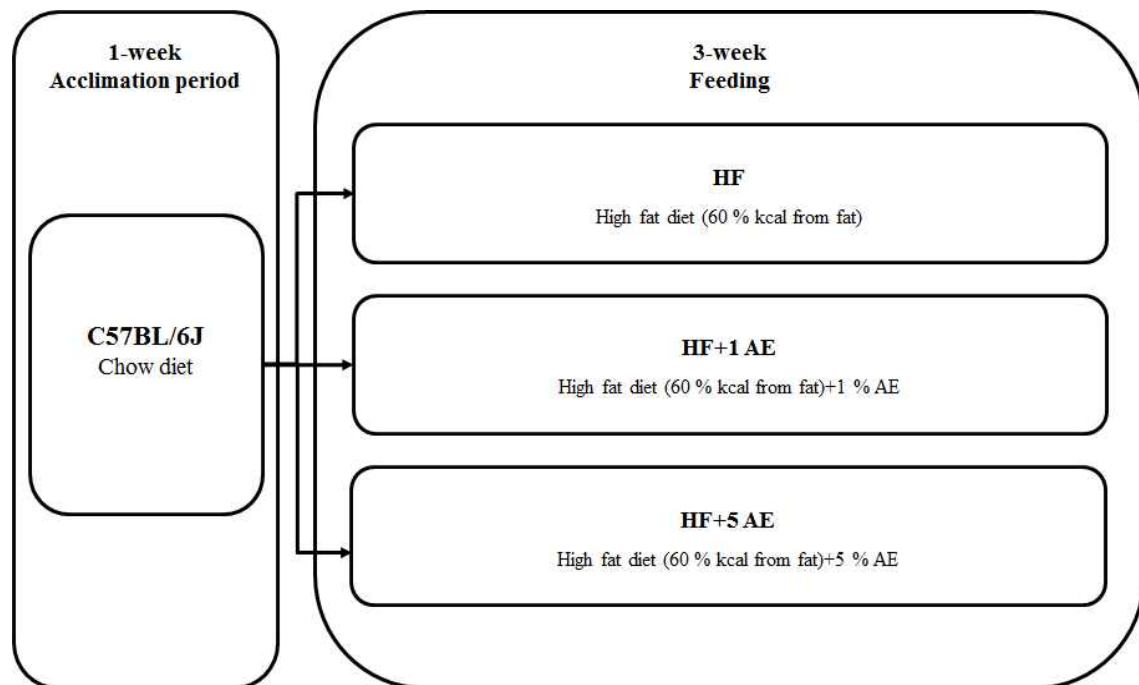
(3) 실험 3: 고지방식이로 유도된 비만 모델에서 arctiin의 경구투여가 비만 억제에 미치는 영향

4 주령 수컷 C57BL/6J mice를 온도 20 ± 2 °C, 습도 50 ± 10 %, 12 hr light/12 hr dark cycle의 조건 아래 chow diet로 1 주간 적응시킨 후, 2 그룹으로 나누어 11 주간 정상식이 (CON, n=6, 10 % kcal from fat)와 고지방식이 (HF, n=12, 60 % kcal from fat)를 공급하여 비만을 유도하였다. 이 후, 정상식이군은 계속 같은 식이를 공급하고, 고지방식이군은 2 그룹으로 나누어 0 혹은 500 mg/kgBW arctiin을 3 주간 공급하였다 (CON, HF, HF+AC; n=6/group) (Figure 1C). Arctiin은 1 차 증류수에 녹여 경구 투여하였으며, 정상식이군과 고지방식이군은 동일한 양의 1 차 증류수를 경구 투여로 공급하였다.

A.



B.



C.

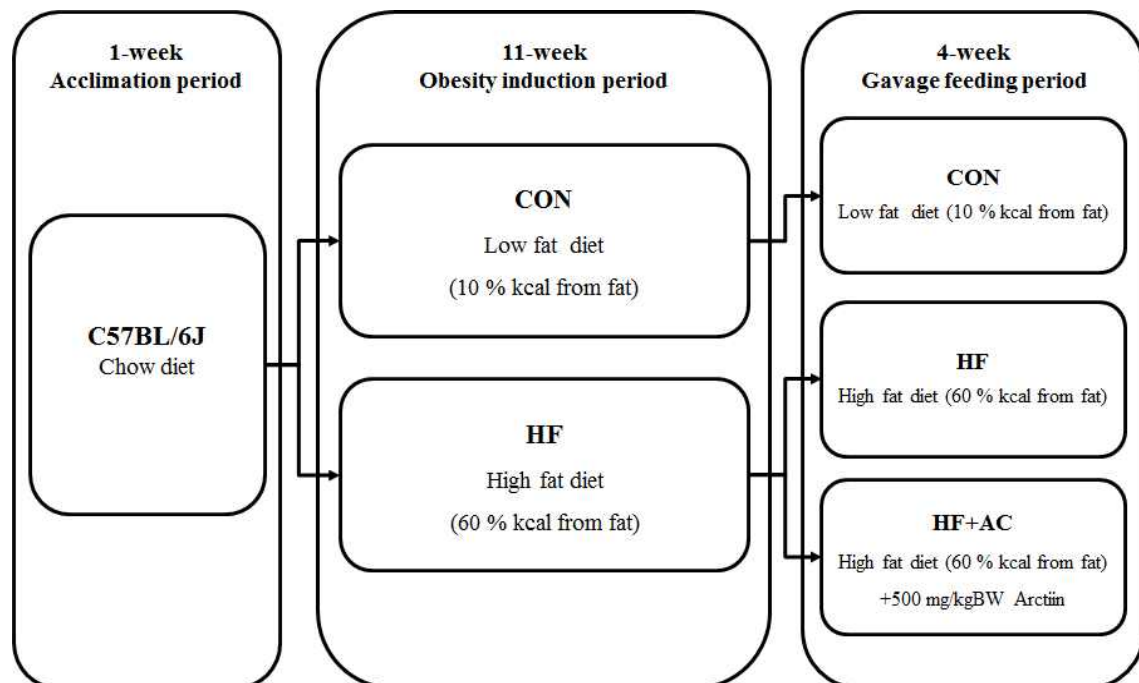


Figure 1. Study designs

A: Study 1, B: Study 2, C: Study 3

AE: *Arctium lappa* L. ethanol extracts

본 실험에 사용한 정상식이 (D12450B, Research diets, INC., USA) 및 고지방식이 (D12492, Research diets) 의 성분 및 에너지 함량은 **Table 1**에 나타내었다.

Table 1. The ingredients and energy contents of control and high-fat diet used in this study

Ingredient	CON (D12450B)		HF (D12492)	
	gm	Kcal	gm	Kcal
Protein(%)	19.2	20	26.2	20
Carbohydrate(%)	67.3	70	26.3	20
Fat(%)	4.3	10	34.9	60
Total		100		100
Kcal/gm	3.85		5.24	
Casein, 30 Mesh	200	800	200	800
L-Cystine	3	12	3	12
Corn Starch	315	1260	0	0
Maltodextrin 10	35	140	125	500
Sucrose	350	1400	68.8	275.2
Cellulose, BW200	50	0	50	0
Soybean Oil	25	225	25	225
Lard	20	180	245	2205
Mineral Mix S10026	10	0	10	0
DiCalcium Phosphate	13	0	13	0
Calcium Carbonate	5.5	0	5.5	0
Potassium Citrate, 1 H ₂ O	16.5	0	16.5	0
Vitamin Mix V10001	10	40	10	40
Choline Bitartrate	2	0	2	0
FD&C Yellow Dye #5	0.05	0		
FD&C Blue Dye #1			0.05	0
Total	1055.05	4057	773.85	4057

2) 측정 지표

본 실험에 사용한 측정 지표는 아래와 같으며, 구체적 실험 방법은 제 1절의 더덕의 항 비만 효과에서의 방법과 동일하다.

- 체중 및 식이섭취량 측정
- 부위별 지방 조직 및 간 등의 장기 무게 측정
- 간과 지방 조직의 조직 병리학적 변화 측정
- 간 조직의 TG 및 총 콜레스테롤 측정
- 혈장 TG, 총 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤 및 글루코오스 측정
- 간 조직의 AMPK signaling의 변화
- 지방 조직의 PPAR γ , C/EBP α , FAS 발현 변화

3) 통계 분석

모든 통계분석은 SAS 9.3 을 이용하여 수행하였다. 그룹간의 차이는 one way ANOVA를 사용하였으며, 사후검정은 duncan을 사용하였다. $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였으며, 모든 결과는 평균과 표준오차로 나타내었다.

2. 연구 결과

1) 실험 1: 우영 에탄올 추출물의 경구 투여가 비만 억제에 미치는 영향

(1) 체중 변화

C57BL/6J mice를 고지방식으로 비만 유도 후, 8 주간 우영 에탄올 추출물을 경구 투여하였을 때, 체중 변화를 **Figure 2**에 나타내었다. 초기 mice의 체중은 4 그룹 간의 유의적인 차이가 존재하지 않았으며, 8 주 후 고지방식이군의 체중이 정상식이군보다 유의적으로 증가하였다. 고지방 식이와 함께 우영 에탄올 추출물 경구 투여 시 고지방식이만 공급한 군과 비교하여 체중 증가 정도에 유의적인 차이가 없었다 (**Figure 2, Table 2**).

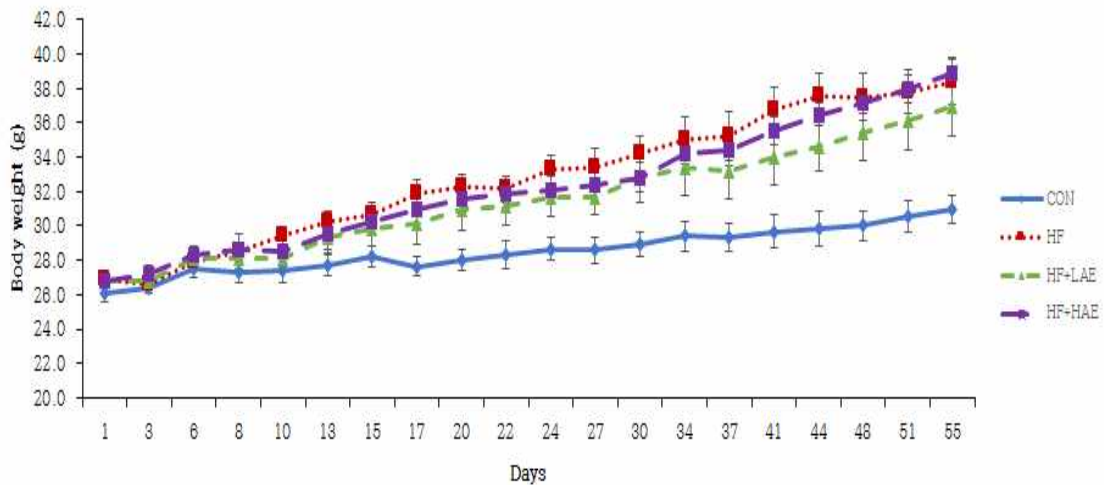


Figure 2. Effects of *arctium lappa* L. ethanol extracts on body weight changes in high-fat diet induced obese mice (Exp 1.)

CON: low-fat diet, HF: high-fat diet, HF+LAE: high-fat diet with 1 g/kgBW *arctium lappa* L. ethanol extracts, HF+HAE: high-fat diet with 2.5 g/kgBW *arctium lappa* L. ethanol extracts

Table 2. Effects of *arctium lappa* L. ethanol extracts on the body weight changes in high-fat diet induced obese mice (Exp 1.)

	CON	HF	HF+LAE	HF+HAE
Initial body weight (g)	26.1 ± 0.5	26.9 ± 0.3	26.8 ± 0.3	26.8 ± 0.4
Final body weight (g)	31.0 ± 0.9 ^a	38.4 ± 1.2 ^b	37.0 ± 1.5 ^b	38.9 ± 0.7 ^b
Body weight gain (g)	4.9 ± 0.5 ^a	11.5 ± 1.1 ^b	10.2 ± 1.5 ^b	12.1 ± 0.6 ^b
Body weight gain (%)	18.7 ± 1.7 ^a	42.7 ± 3.6 ^b	37.7 ± 5.5 ^b	45.1 ± 2.5 ^b

Data are means ± SEM

CON: low-fat diet, HF: high-fat diet, HF+LAE: high-fat diet with 1 g/kgBW *arctium lappa* L. ethanol extracts, HF+HAE: high-fat diet with 2.5 g/kgBW *arctium lappa* L. ethanol extracts

(2) 간 및 기타 조직의 무게 변화

간 및 기타 조직의 무게 변화를 **Table 3**에 나타내었다. 간 조직의 무게, 간 지수 (liver index)는 4 그룹 간 유의적인 차이가 없었다. 간 외 조직 무게의 경우 비장, 신장 역시 4 그룹 간의 차이를 보이지 않았다.

Table 3. Effects of *arctium lappa* L. ethanol extracts on organ weights in high-fat diet induced obese mice (Exp 1.)

	CON	HF	HF+LAE	HF+HAE
Liver (g)	1.07 ± 0.03 ^a	1.2 ± 0.1 ^{ab}	1.4 ± 0.1 ^b	1.2 ± 0.1 ^{ab}
Liver index (g/kgBW)	34.6 ± 1.0	31.7 ± 1.1	38.8 ± 4.1	30.7 ± 2.1
Spleen (g)	0.05 ± 0.002	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.05 ± 0.001
Kidney (g)	0.38 ± 0.01	0.41 ± 0.01	0.41 ± 0.03	0.41 ± 0.02

Data are means ± SEM

CON: low-fat diet, HF: high-fat diet, HF+LAE: high-fat diet with 1 g/kgBW *arctium lappa* L. ethanol extracts, HF+HAE: high-fat diet with 2.5 g/kgBW *arctium lappa* L. ethanol extracts

고지방식이군의 부위별 지방의 무게는 BAT를 제외하고 모든 부위에서 정상식이군에 비해 유의적으로 높게 나타났다. 그러나 우영 에탄올 추출물 경구 투여 시 본 실험에서 사용한 두 가지 농도 모두에서 부위별 지방 조직의 무게에 유의적인 차이가 나타나지 않았다 (**Table 4**).

Table 4. Effects of *arctium lappa* L. ethanol extracts on adipose tissue weight changes in high-fat diet induced obese mice (Exp 1.)

	CON	HF	HF+LAE	HF+HAE
Subcutaneous fat (g)	0.9 ± 0.1 ^a	2.2 ± 0.3 ^b	1.6 ± 0.4 ^b	2.2 ± 0.2 ^b
Epididymal fat (g)	0.8 ± 0.1 ^a	2.0 ± 0.2 ^b	1.6 ± 0.3 ^b	2.2 ± 0.2 ^b
Perirenal fat (g)	0.4 ± 0.1 ^a	0.9 ± 0.1 ^b	0.7 ± 0.2 ^b	1.0 ± 0.1 ^b
Mesenteric fat (g)	0.3 ± 0.04 ^a	0.7 ± 0.1 ^b	0.5 ± 0.1 ^b	0.7 ± 0.1 ^b
Brown adipose tissue (g)	0.17 ± 0.01	0.19 ± 0.02	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.01

Data are means ± SEM

CON: low-fat diet, HF: high-fat diet, HF+LAE: high-fat diet with 1 g/kgBW *arctium lappa* L. ethanol extracts, HF+HAE: high-fat diet with 2.5 g/kgBW *arctium lappa* L. ethanol extracts

(3) 간 조직과 혈장의 중성지질, 총 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤 및 글루코오스 농도의 변화

간 조직과 혈장에서 중성지질과 총 콜레스테롤 및 혈장 HDL 콜레스테롤과 글루코오스 농도의 변화를 살펴본 결과, 우영 에탄올 추출물은 혈중 지질 농도와 글루코오스에 유의적인 영향을 미치지 않았다 (Table 5).

Table 5. Effects of *arctium lappa* L. ethanol extracts on liver and plasma concentrations of biochemical parameters in high-fat diet induced obese mice (Exp 1.)

	HF	HF+LAE	HF+HAE
Liver			
TG (mg/g liver)	17.7 ± 2.7	15.9 ± 1.4	18.7 ± 2.8
Cholesterol (mg/g liver)	2.1 ± 0.5	1.6 ± 0.1	1.7 ± 0.1
Plasma			
TG (mg/dl)	66.2 ± 4.6	57.4 ± 2.7	58.6 ± 2.0
Cholesterol (mg/dl)	90.6 ± 3.5	91.3 ± 6.4	99.1 ± 3.5
HDL cholesterol (mg/dl)	55.1 ± 4.5	46.1 ± 3.0	57.2 ± 4.6
Glucose (mg/dl)	274.9 ± 20.4	273.8 ± 29.5	273.6 ± 23.9

Data are means ± SEM

CON: low-fat diet, HF: high-fat diet, HF+LAE: high-fat diet with 1 g/kgBW *arctium lappa* L. ethanol extracts, HF+HAE: high-fat diet with 2.5 g/kgBW *arctium lappa* L. ethanol extracts

2) 실험 2: 우영 에탄올 추출물 식이 첨가가 비만 유도에 미치는 영향

(1) 체중 변화

우영 에탄올 추출물이 고지방식이에 의한 비만 유도에 미치는 영향을 살펴보기 위하여, 고지방식이에 우영 에탄올 추출물을 1 % 혹은 5 % 첨가한 후, 체중 변화를 관찰하였다. 그 결과, 우영 에탄올 추출물의 식이 첨가는 고지방식이에 의한 체중 증가 정도를 거의 변화시키지 않는 것으로 나타났다 (Table 6, Figure 3). 이는 앞에서의 우영 에탄올 추출물의 경구 투여 시 비만 억제에 영향을 주지 않은 것과 비슷한 결과로 본 연구 모델에서는 우영 에탄올 추출물은 비만 유도 혹은 억제에 유의적인 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

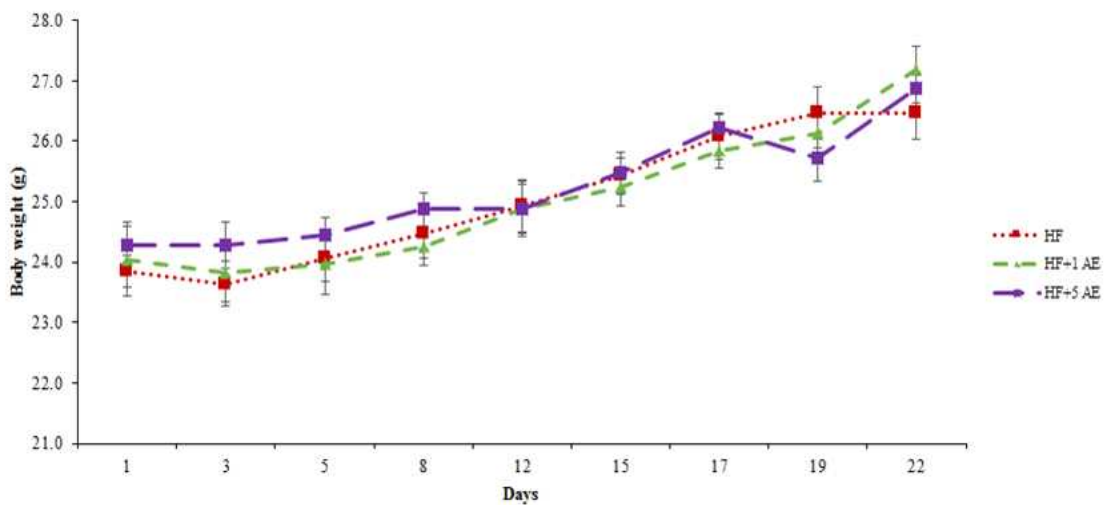


Figure 3. Effects of *arctium lappa* L. ethanol extracts on body weight changes in high-fat diet induced obese mice (Exp 2.)

HF: high-fat diet, HF+1 AE: high-fat diet with 1 % *arctium lappa* L. ethanol extracts, HF+5 AE: high-fat diet with 5 % *arctium lappa* L. ethanol extracts

Table 6. Effects of *arctium lappa* L. ethanol extracts on body weight changes in high-fat diet induced obese mice (Exp 2.)

	HF	HF+1 AE	HF+5 AE
Initial body weight (g)	23.7 ± 0.4	24.2 ± 0.3	23.8 ± 0.3
Final body weight (g)	26.5 ± 0.4	27.2 ± 0.4	26.9 ± 0.2
Body weight gain (g)	2.8 ± 0.4	3.0 ± 0.6	3.1 ± 0.5
Body weight gain (%)	11.8 ± 1.6	12.7 ± 2.7	13.2 ± 2.1

Data are means ± SEM

HF: high-fat diet, HF+1 AE: high-fat diet with 1 % *arctium lappa* L. ethanol extracts (AE),

HF+5 AE: high-fat diet with 5 % *arctium lappa* L. ethanol extracts (AE)

3) 실험 3: 고지방식이로 유도된 비만 모델에서 arctiin의 경구 투여가 비만 억제에 미치는 영향

(1) 체중 변화 및 식이 섭취량

고지방식이로 비만을 유도한 후, arctiin을 경구 투여하였을 때 체중 변화의 추이를 **Figure 4**에 나타내었다. Arctiin을 공급한 군은 고지방식이군에 비해 최종 체중이 유의적으로 낮게 나타났고, 체중 증가량은 유의적인 차이가 없었다 (**Table 7**). 각 그룹의 식이섭취량을 비교한 결과, 정상식이군에 비해 고지방식이군의 식이 섭취량이 유의적으로 낮았으나 고지방식이군과 arctiin 공급군에서는 식이 섭취량의 유의적인 차이가 없었다. 특히, arctiin군은 고지방식이군에 비해 식이섭취효율 (FER)이 유의적으로 낮았으며, 정상식이군과 비슷하거나 낮은 수준이었다.

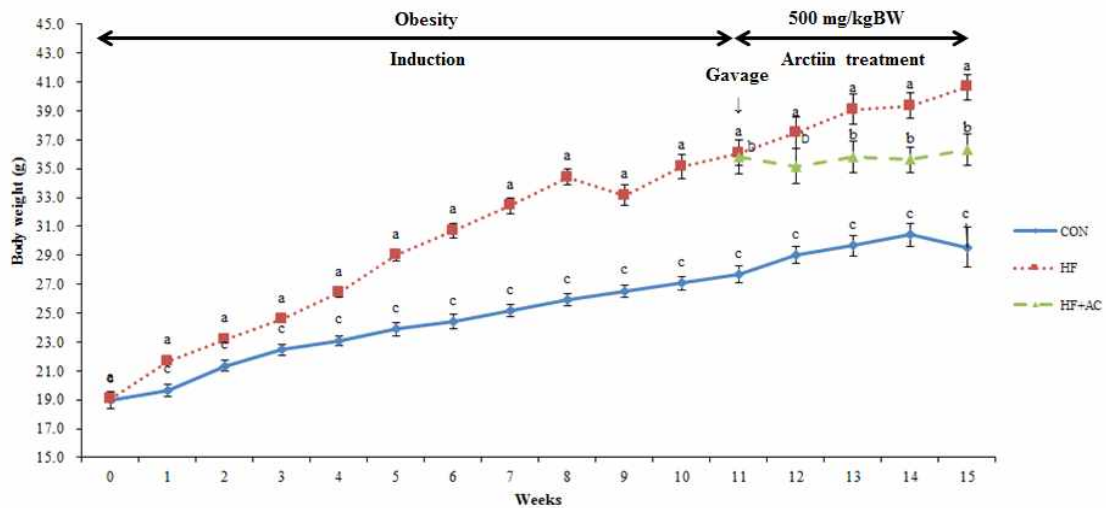


Figure 4. Effects of arctiin on body weight changes in high-fat diet induced obese mice (Exp 3.)

CON: low-fat diet, HF: high-fat diet, HF+AC: high-fat diet with 500 mg/kgBW arctiin

Table 7. Effects of arctiin on body weight changes, food intake and food efficiency ratio in high-fat diet induced obese mice (Exp 3.)

	CON		HF		HF+AC	
Initial body weight (g)	19.0	± 0.8	19.5	± 0.9	19.0	± 0.4
11 wk body weight (g)	27.7	± 1.2	36.1	± 0.9	35.8	± 1.1
Final body weight (g)	29.6	± 1.4 ^a	40.6	± 0.9 ^c	36.3	± 1.1 ^b
Body weight gain (g)	1.9	± 1.7	4.1	± 0.5	0.5	± 1.0
Body weight gain (%)	7.2	± 6.6	11.4	± 1.5	1.7	± 2.8
Food intake (g)	3.2	± 0.1 ^b	2.4	± 0.1 ^a	2.7	± 0.3 ^a
FER (g)	0.03	± 0.03 ^{ab}	0.05	± 0.01 ^b	0.01	± 0.01 ^a

Data are means ± SEM

CON: low-fat diet, HF: high-fat diet, HF+AC: high-fat diet with 500 mg/kgBW arctiin

(2) 간과 지방 조직의 무게 변화

간과 지방 조직의 무게 변화를 **Table 8**에 나타내었다. 간 조직의 무게는 정상식이군에 비해 고지방식이군의 간 조직의 무게가 유의적으로 높았고, arctiin군의 간 조직의 무게는 정상식이군과 비교하여 유의적인 차이가 없었다. 부위별 지방 조직의 무게를 비교한 결과, 모든 부위에서 고지방식이군이 정상식이군보다 높은 것으로 나타났다. Arctiin군은 고지방식이군에 비해 총 지방, 총 내장지방, 피하지방, 부고환지방, 신장 주변 지방에서 모두 유의적으로 낮게 나타났다.

Table 8. Effects of arctiin on liver and adipose tissue weights in high-fat diet induced obese mice (Exp 3.)

	CON		HF		HF+AC	
Liver (g)	1.01	± 0.05 ^a	1.17	± 0.04 ^b	1.05	± 0.04 ^{ab}
Total fat (g)	2.77	± 0.15 ^a	8.41	± 0.62 ^c	6.12	± 0.41 ^b
Visceral fat (g)	1.67	± 0.15 ^a	4.61	± 0.57 ^c	3.54	± 0.40 ^b
Subcutaneous fat (g)	0.95	± 0.08 ^a	3.59	± 0.28 ^c	2.40	± 0.31 ^b
Epididymal fat (g)	0.85	± 0.10 ^a	2.66	± 0.07 ^c	1.96	± 0.16 ^b
Perirenal fat (g)	0.45	± 0.06 ^a	1.10	± 0.04 ^c	0.91	± 0.10 ^b
Mesenteric fat (g)	0.37	± 0.05 ^a	0.85	± 0.1 ^b	0.67	± 0.08 ^b
Brown adipose tissue (g)	0.15	± 0.01	0.21	± 0.01	0.18	± 0.01

Data are means ± SEM

CON: low-fat diet, HF: high-fat diet, HF+AC: high-fat diet with 500 mg/kgBW arctiin

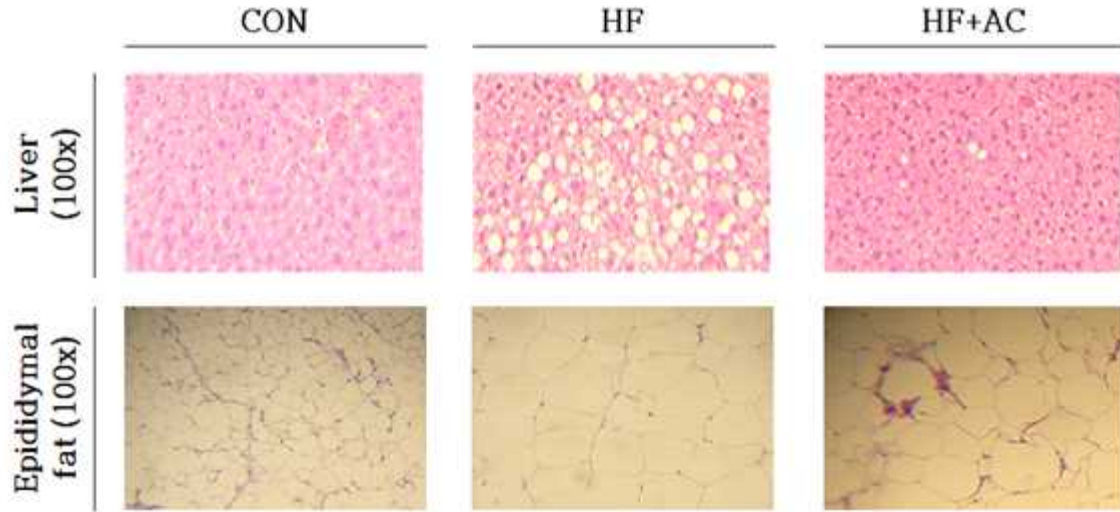
(3) 간과 지방 조직의 조직 병리학적 특성

간 조직의 병리학적 변화를 살피기 위하여, 포르말린에 고정된 간 조직으로부터 슬라이드를 제작하여 H&E staining을 실시한 후, 현미경으로 지방구 형성 정도를 관찰

하였다. 고지방식이군은 다수의 지방구를 나타내었으며 5 점 척도로 나타내었을 때 평균 4.7 점으로 정상식이군의 평균 1.3 점에 비해 유의적으로 높은 수치를 나타내었다. 한편, arctiin군에서의 지방구 형성 정도는 평균 1 점으로 고지방식이만을 공급한 군에 비해 유의적으로 낮아지는 것으로 나타났다.

후복막 지방 조직에서의 지방구 크기를 살펴본 결과, 고지방식이군에서의 지방구 크기가 정상식이군에 비해 크게 나타났다. 현미경으로 관찰시 한 field당 후복막 지방 세포의 수는 정상식이군에서 평균 142.7 개로 고지방식이군의 평균 32.7 개보다 유의적으로 많았다. Arctiin 투여 시 고지방식이군의 후복막 지방 조직에서 지방 세포 크기가 작아지는 경향을 보였다 (Figure 5).

A.



B.

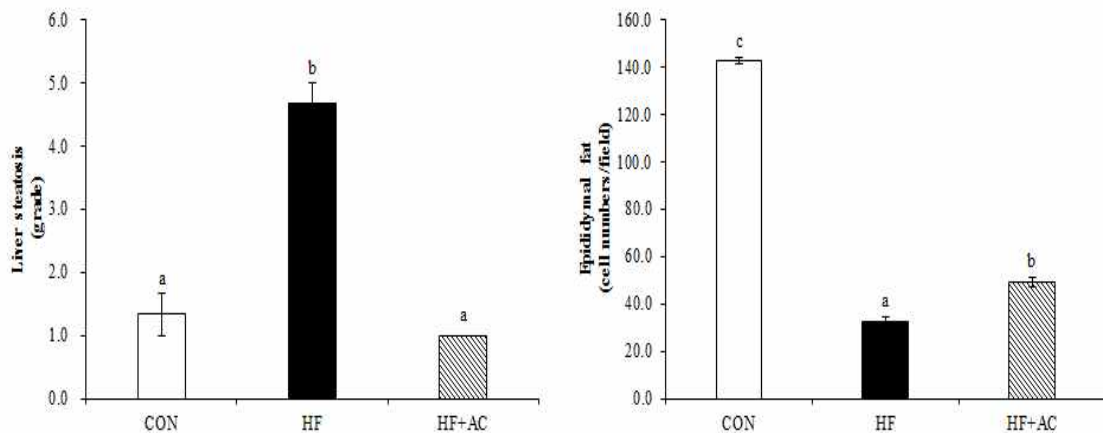


Figure 5. Histopathological examinations of liver and epididymal fat tissues in high-fat diet induced obese mice (Exp 3.)

A. Representative H&E stained tissues from liver tissues and epididymal fat tissues

B. Liver steatosis grade and number of fat cells in the epididymal fat tissue in high-fat diet induced obese mice

CON: low-fat diet, HF: high-fat diet, HF+AC: high-fat diet with 500 mg/kgBW arctiin

(4) 간 조직과 혈장의 중성지방, 총 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤 및 글루코오스 농도의 변화

고지방식이+500 mg/kgBW arctiin군의 경우, 간 조직의 중성 지방 농도가 15.8 mg/g liver로 고지방식이군 23.4 mg/g liver의 67.5 %의 수준으로 낮아졌으며, 간 조직의 총 콜레스테롤 농도는 1.6 mg/g liver로 고지방식이군 2.1 mg/g liver에 비해

유의적 수준으로 낮아졌다. 혈장 중성 지방 및 총 콜레스테롤 농도의 변화를 살펴본 결과, 혈장 중성지방 농도는 고지방식이+500 mg/kgBW arctiin군에서 정상식이군과 고지방식이군에 비해 낮았다. 혈장 총 콜레스테롤은 고지방식이군에 비해 정상식이군에서 유의적으로 낮았고, 고지방식이+500 mg/kgBW arctiin군에서도 낮았으나 유의적인 변화가 없었다. 그 외 글루코오스 및 HDL 콜레스테롤 농도는 유의적인 변화가 없었다 (Table 9).

Table 9. Effects of arctiin on liver and plasma concentrations of biochemical parameters in high-fat diet induced obese mice (Exp 3.)

	CON	HF	HF+AC
Liver			
TG (mg/g liver)	19.6 ± 3.2	23.4 ± 3.1	15.8 ± 2.4
Cholesterol (mg/g liver)	2.1 ± 0.12 ^b	2.1 ± 0.11 ^b	1.6 ± 0.05 ^a
Plasma			
TG (mg/dl)	72.8 ± 3.1 ^b	65.8 ± 3.3 ^{ab}	62.2 ± 2.5 ^a
Cholesterol (mg/dl)	132.4 ± 8.6 ^a	185.3 ± 5.7 ^b	162.8 ± 14.9 ^{ab}
HDL cholesterol (mg/dl)	76.4 ± 5.1 ^a	97.6 ± 4.2 ^b	91.7 ± 7.0 ^{ab}
Glucose (mg/dl)	200.1 ± 20.9	227.9 ± 9.9	240.6 ± 7.1

Data are means ± SEM

CON: low-fat diet, HF: high-fat diet, HF+AC: high-fat diet with 500 mg/kgBW arctiin

(5) 간 조직의 AMPK signaling의 변화

고지방식이와 arctiin의 투여가 AMPK의 활성화 및 관련 signaling에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 간 조직의 p-AMPK와 p-ACC 수준을 western blot analysis로 측정하였다. 그 결과, 고지방식이군은 정상식이군에 비해 p-AMPK의 수준이 낮은 것으로 나타났다. 이와 대조적으로, arctiin을 고지방식기와 함께 공급한 경우, 고지방식기에 의한 AMPK의 활성이 억제되는 것으로 나타났다. p-AMPK의 downstream target인 p-ACC의 수준을 측정한 결과 p-AMPK와 비슷하게 고지방식기에 의해 낮아졌으며 반대로 arctiin을 공급한 경우, p-ACC 수준이 회복됨을 알 수 있었다 (Figure 6). 한편, SIRT1은 세 군간 유의적인 차이가 없었다.

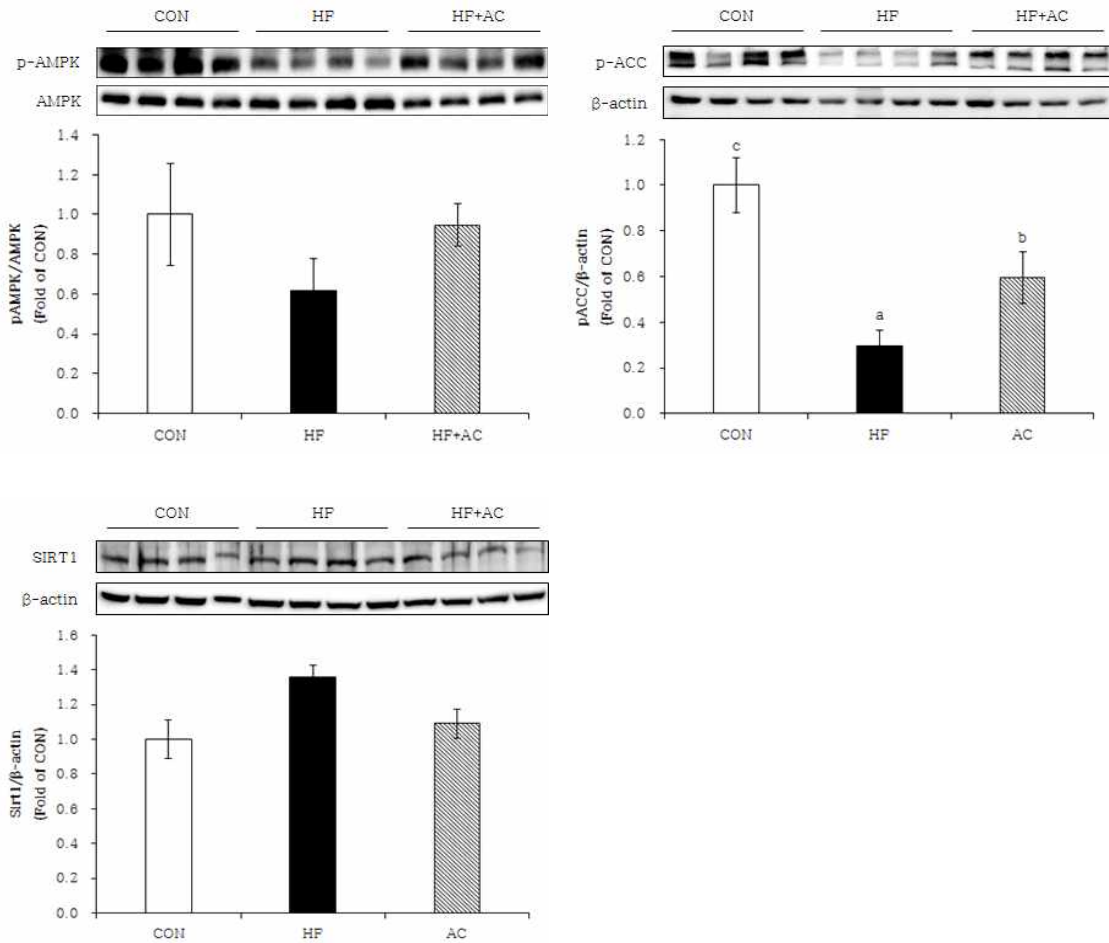


Figure 6. Effects of arctiin on the protein levels of p-AMPK, p-ACC and SIRT1 in the liver tissues from the high-fat diet induced obese mice (Exp3.)
 Upper panel: Representative blot, Lower panel: Densitometric analysis
 Data are means \pm SEM, CON: low-fat diet, HF: high-fat diet, HF+AC: high-fat diet with 500 mg/kgBW arctiin

(6) 지방 조직의 PPAR γ , C/EBP α , FAS 단백질 수준 변화

고지방식이와 arctiin의 투여가 PPAR γ 과 C/EBP α , FAS의 활성 및 관련 signaling에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 지방 조직의 PPAR γ , C/EBP α , FAS 수준을 western blot analysis로 측정하였다. 그 결과, PPAR γ 와 C/EBP α 의 수준은 고지방식이군에서 정상식이군에 비해 높은 것으로 나타났으며 고지방식이군에 비해 고지방식이+arctiin군에서 낮아졌다. 또한, 지방 합성에 관여하는 FAS의 수준은 arctiin군에서 고지방식이군에 비해 유의적으로 낮아졌다 (**Figure 7**).

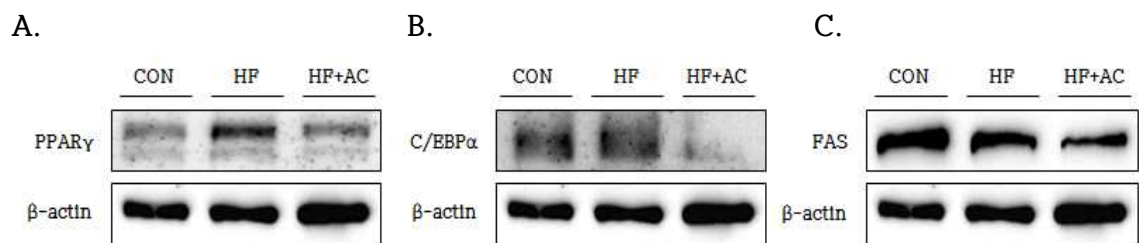


Figure 7. Effects of arctiin on the protein levels of PPAR γ , C/EBP α and FAS in the epididymal fat tissues from the high-fat diet induced obese mice (Exp3.)
 Data are means \pm SEM, CON: low-fat diet, HF: high-fat diet, HF+AC: high-fat diet with 500 mg/kgBW arctiin

<우영에서 분리된 기능성 성분이 항 비만의 생리 활성화에 대한 *in vitro* 실험을 통한 작용 기전 연구>

1. 연구 방법

Arctiin의 항 비만 효과에 대한 작용 기전을 살펴보기 위해, 3T3-L1 cell을 이용하여 지방 세포로의 분화에 미치는 영향과 지질 대사 관련 유전자 발현에 미치는 영향을 연구하였다.

주요 실험 내용 및 측정 지표는 다음과 같으며, 구체적인 실험 방법은 제 2절과 동일하다.

- Arctiin 처리가 지방전구세포가 지방세포로 분화되는 정도 (Oil red O staining과 TG 함량)에 미치는 영향
- 지방세포로의 분화 시 arctiin의 처리가 PPAR γ , C/EBP α , FAS 단백질 수준에 미치는 영향
- 지방세포로의 분화 시 arctiin의 처리가 지방 합성 관련 유전자 발현 (PPAR γ , C/EBP α , FAS, SREBP-1c, FABP4, leptin)에 미치는 영향
- 지방세포에서 arctiin 처리가 지방 산화 및 분해 관련 유전자 발현 (CPT1, MCAD, ATGL, HSL)에 미치는 영향

2. 연구 결과

(1) Arctiin의 세포독성 측정

Arctiin을 농도별로 (6.25, 12.5, 25, 50, 100 μ M) 3T3-L1세포에 처리한 후 cell의 생존율을 MTT assay로 측정하였다. 다양한 농도의 arctiin을 24 시간 혹은 최대 8 일 동안 처리 시, control에 비해 세포 생존율에는 모두 유의적인 차이가 없어, 본 실험에서 사용한 arctiin 처리 조건은 세포 생존에 영향을 미치지 않으며, 세포독성 효과가 없는 것으로 나타났다 (Figure 8).

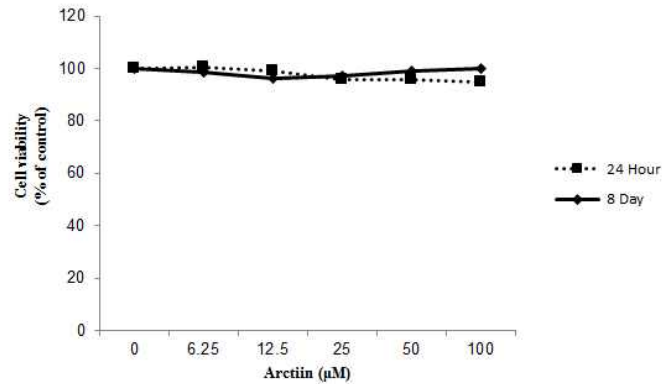


Figure 8. Effects of arctiin treatment on 3T3-L1 cell viability
Cell viability was tested by MTT assay and presented as % of control

(2) Arctiin이 지방세포 분화에 미치는 영향

3T3-L1 지방전구세포를 분화시키면서 arctiin을 처리하였을 때의 지방구 생성정도를 측정han 것으로 **Figure 9A**는 arctiin을 8 일 동안 처리하였을 때 Oil red O 시약을 이용하여 지방구가 염색된 정도를 정량한 것이고, **Figure 9B**는 중성지방 함량을 측정han 것이다. **Figure 9C**는 Oil red O 염색된 세포를 현미경으로 관찰하여 찍은 사진이다. 중성지방 측정과 지방구염색 결과를 보았을 때 control에 비해 arctiin을 처리한 군에서 지방구 형성이 농도 의존적으로 감소하였고 특히 50 μM 농도부터 유의적으로 감소하였다.

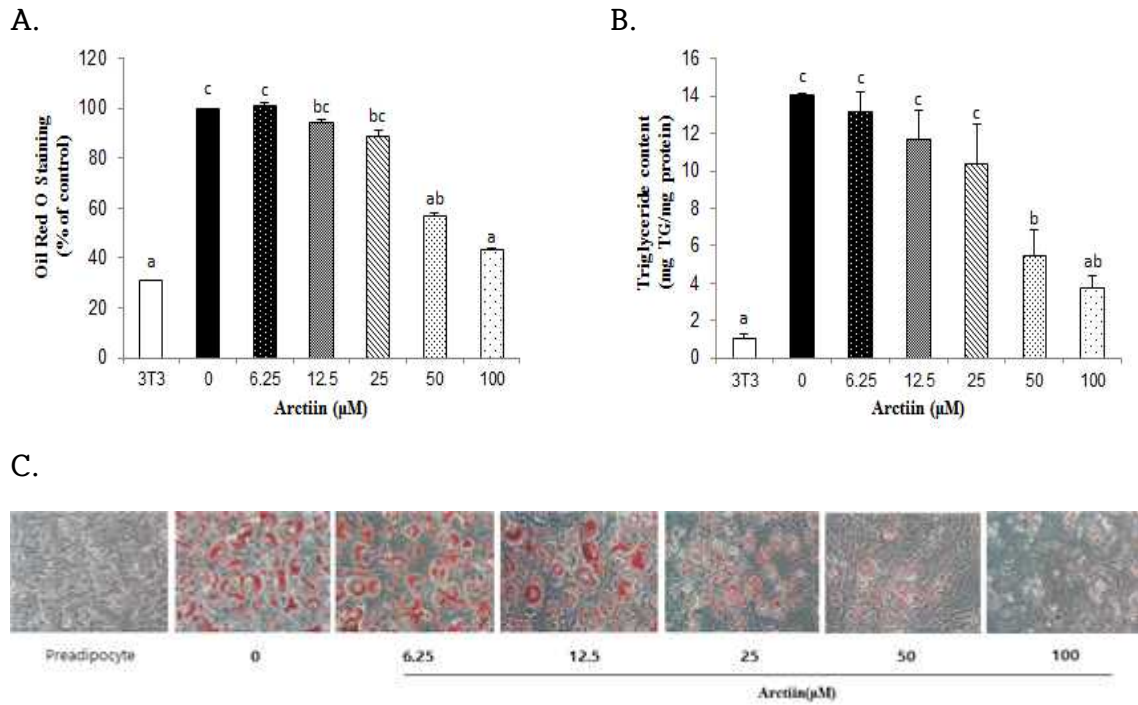


Figure 9. Arctiin inhibits lipid accumulation in 3T3-L1 cells
 A. 3T3-L1 cells were treated with arctiin during adipocyte differentiation for 8 days and the lipid accumulation was measured by Oil red O staining. The treatment concentration of arctiin was 6.25, 12.5, 25, 50 and 100 μM. B. TG contents were quantified. C. Oil red O-stained adipocytes were photographed at a 200x magnification

(3) 지방세포 분화과정에서 arctiin 처리가 PPAR γ , C/EBP α 및 FAS 단백질의 수준에 미치는 영향

지방 합성을 조절하는 주요 인자인 PPAR γ 와 C/EBP α 의 단백질 수준을 비교한 결과, PPAR γ 와 C/EBP α 모두 arctiin의 처리 농도에 의존적으로 감소하였다 (Figure 10). 이러한 경향과 비슷하게, 지방산 합성 효소인 FAS의 단백질 수준도 농도 의존적으로 감소하였으며, 특히 50 μM arctiin 처리 시 아무 것도 처리하지 않은 대조군의 30 % 수준으로 현저하게 감소하였다.

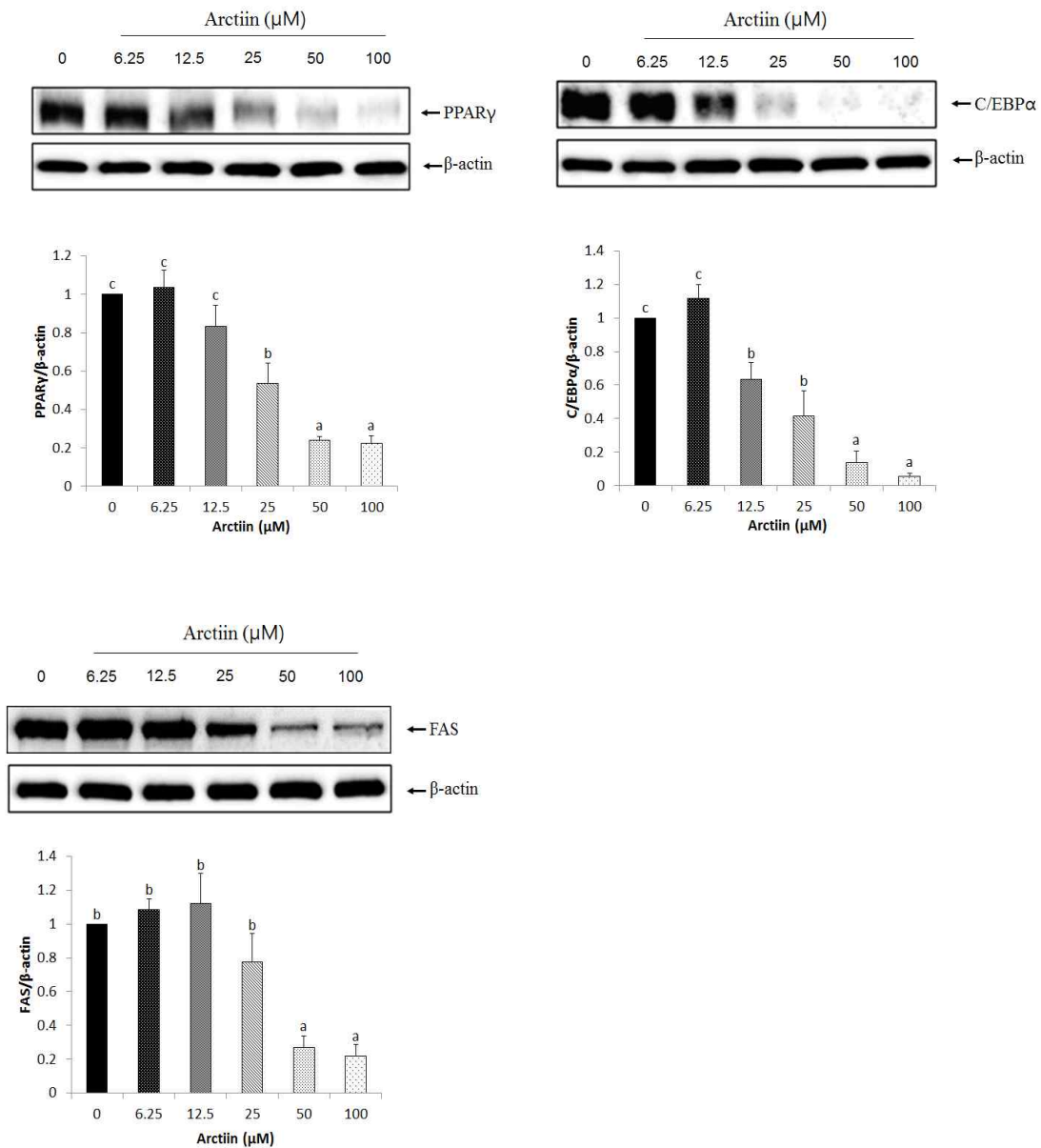


Figure 10. Effects of arctiin on protein levels of PPAR γ , C/EBP α and FAS in 3T3-L1 cells

3T3-L1 preadipocytes were treated with arctiin for 8 days during adipocyte differentiation

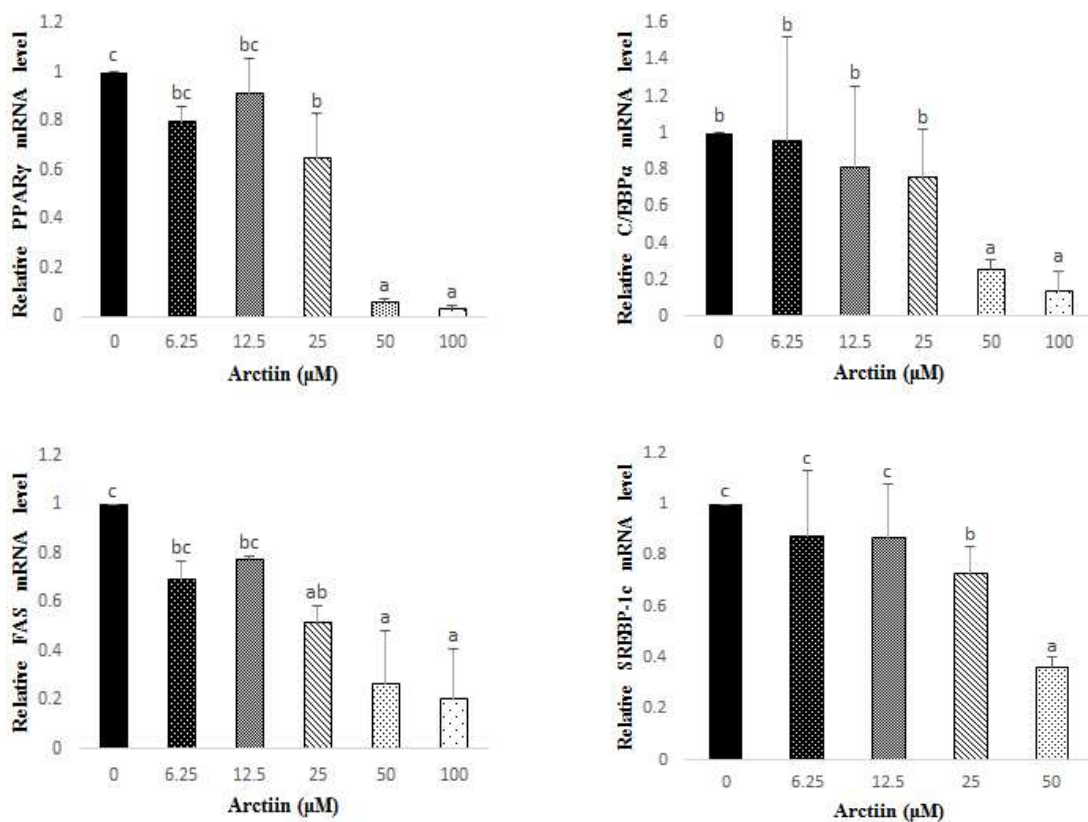
(4) 지방세포로의 분화 시 arctiin의 처리가 지방합성 관련 유전자 발현 (FAS, SREBP-1c, FABP4 등)에 미치는 영향

앞의 단백질 수준의 변화와 마찬가지로, 지방세포 분화과정에서 arctiin을 처리하였을 때, PPAR γ , C/EBP α , FAS의 mRNA 수준이 농도 의존적으로 감소하였다 (Figure 6). 이 밖에, SREBP-1c와 FABP4의 mRNA 수준도 arctiin 처리에 의해 유의적으로 감소하였으며, 특히 FABP4의 경우, 6.25 μ M의 낮은 농도로 처리했을 때부터 뚜

릿하게 감소하는 것으로 나타났다 (Figure 11).

(5) 지방세포에서 arctiin 처리가 지방산화 및 분해 관련 유전자 발현 (CPT1, MCAD, ATGL, HSL)에 미치는 영향

마지막으로, arctiin이 지방 산화 및 분해에 영향을 미치는지 살펴보기 위하여, 분화시킨 3T3-L1 지방세포에 arctiin을 다양한 농도로 24 시간 처리한 후, 지방 산화 및 분해 관련 유전자의 mRNA 수준 변화를 살펴보았다. 그 결과, arctiin 처리는 이들 유전자의 발현 수준에 전반적으로 거의 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다 (Figure 12).



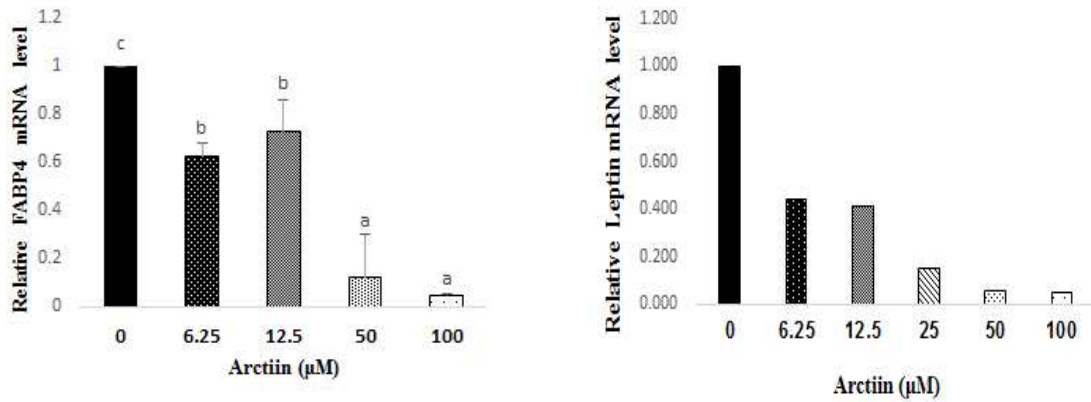


Figure 11. The mRNA levels of PPAR γ , C/EBP α , SREBP-1c, FAS, FABP4 and Leptin in 3T3-L1 cells

Cells were treated with arctiin treated during adipocyte differentiation for 8 days

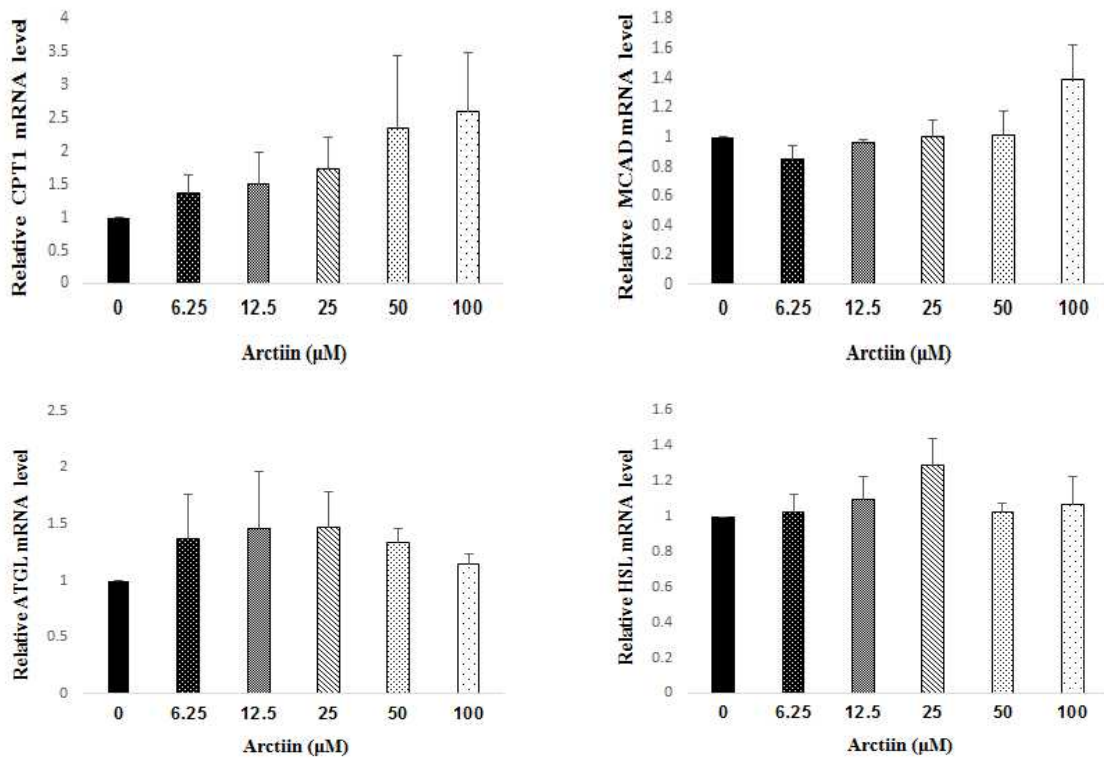


Figure 12. The mRNA levels of CPT1, MCAD, ATGL and HSL in mature 3T3-L1 adipocytes

Cells were treated with various concentrations of arctiin for 24 hr

<제 2세부과제> 더덕, 우영의 지표 및 활성 성분의 분리·동정과 더덕, 우영을 이용한 전통레시피 발굴

제 1절 더덕의 지표 성분 분리·동정

1. 더덕의 추출 및 분획

1) 재료

- 더덕은 황성 어답산 영농조합에서 구입하였으며, 껍질을 깨끗이 세척한 후 세로로 3 등분하여 실온 (25 °C)에서 7 일간 건조하였음

2) 더덕의 에탄올 추출

- 건조더덕 (3.5 kg)은 Fig. 1과 같이 EtOH 추출하고, 80 % EtOH 35 L를 가하여 90 °C에서 3 시간 동안 환류냉각법으로 추출하고 8 um 여과지 (whatman Maidstone, UK)를 이용하여 여과하여 추출액을 얻고, 남은 잔사에 다시 80 % EtOH 35 L를 가하여 90 °C에서 3 시간 동안 환류냉각법으로 추출하였음 (3 회 반복)
- 추출액은 합쳐서 회전감압농축기를 이용하여 농축함 (EtOH 엑스 263.54 g을 얻음)

3) 더덕의 부탄올 분획

- EtOH 엑스 (263.54 g)에 Fig. 1과 같이 증류수 0.4 L에 현탁하고, n-BuOH 2 L을 넣고 진탕/방치한 후 n-BuOH 분획을 모아서 농축함 (n-BuOH 분획 104.02 g을 얻음)

2. Silica gel column chromatography를 이용한 지표성분의 분리 및 동정

1) Silica gel column chromatography

- n-BuOH 분획 (104.02 g)을 CHCl₃ : MeOH : H₂O (120 : 35 : 10)와 CHCl₃ : M

eOH : H₂O (90 : 35 : 10)의 용출 용매로 silica gel column chromatography (Merck, 12x60, 0.063-0.200mm)를 실시하여 4 개의 소분획을 얻음

- 각 소분획은 전개용매 CHCl₃ : MeOH : H₂O (65 : 35 : 10)로 TLC (Thin layer chromatography, silica gel 60 F₂₅₄, Merck, Germany)를 통해 5 % 황산으로 발색시켜 자주색으로 반응하는 사포닌 (lancemaside A 등)으로 추정된 fraction IV (61.71 g)를 reverse silica gel column chromatography로 재컬럼하였음 (Fig. 1)

2) Reverse silica gel column chromatography

- Fraction IV 분획 (61.71 g)에 대하여 20 % MeOH 용출 용매로 reverse silica gel column chromatography (Merck, 7x40, 40-60 μm)를 실시하여 6 개의 소분획을 얻었음
- 각 분리된 소분획은 전개용매 MeOH : H₂O (7 : 3)로 reverse TLC (Thin layer chromatography, silica gel 60 RP-18 F₂₅₄, Merck, Germany)를 통해 5 % 황산으로 발색시켜 자주색으로 반응하는 것을 확인함 (fraction VI-5, 720 mg)을 얻음 (Fig. 1)

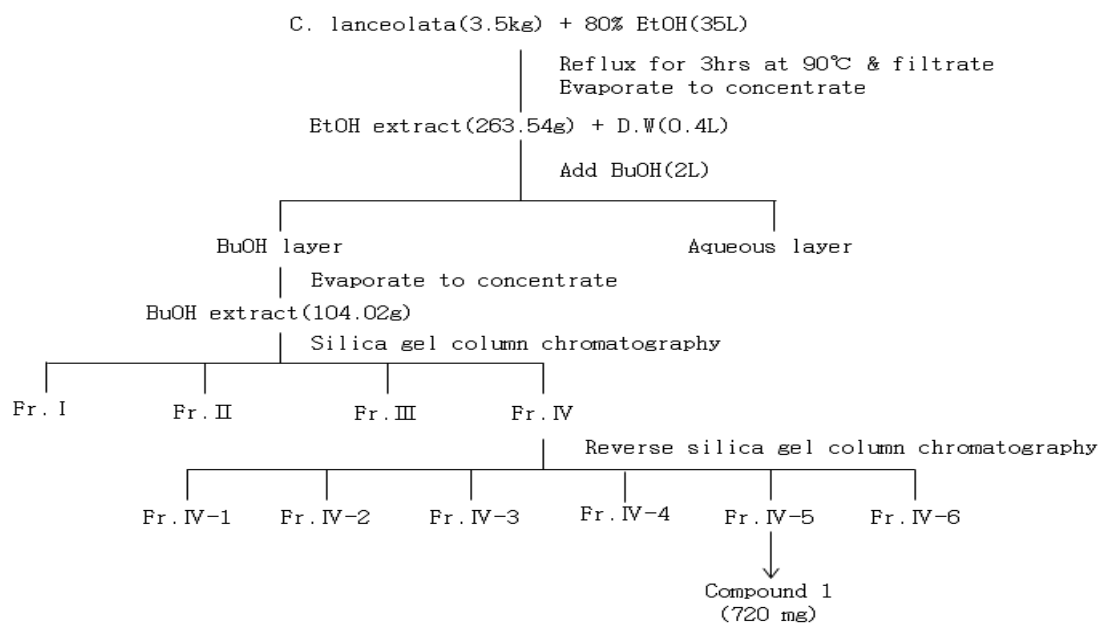


Figure 1. Fractionation and isolation procedure of lancemaside A from *C. lanceolata*

3. HPLC를 이용한 지표성분의 분리 및 동정

- 더덕의 주상분인 lancemaside A를 추출하기 위해 EtOH 엑스와 n-BuOH 분획을 MeOH 용액을 가하여 불용성 물질은 원심분리 (3,000 rpm, 5 분)하여 제거한 다음, 상등액을 syringe filter (0.2 µm, Waters, Milford, MA, USA)로 여과하여 HPLC 분석 시료로 사용함
- 더덕 지표성분 lancemaside A의 분석을 위해 사용된 기기는 HPLC (Young Lin Instrument Co. Anyang. Korea)로 분석 컬럼은 Hypersil ODS (4.6×100 mm I.d., 5 µm, Agilent)를 사용하였고, 이동상으로는 0.1 % formic acid 함유 27 % acetonitrile 액을 사용하여 유속은 1 mL/min로, 샘플주입량은 10 µL, 컬럼 온도는 25 °C, 자외선 검출기 흡광파장은 205 nm로 설정하여 분석하였음 (Table 1)

Table 1. Analytical condition of HPLC

Column	Hypersil ODS (4.6x100 mm)
Solvent system	A : 0.01 % trifluoroacetic acidwater + water 73 % B : acetonitrile 27 %
Flow time	30 min
Flow rate	1.0 mL/min
Temperature	25 °C
Detection	UV 205 nm
Injection	10 µL

1) HPLC 분석 방법의 검증 (Validation)

- HPLC 분석법의 정확도와 재현성을 검증하기 위해서 ICH (International Conference on Harmonization) guide line에 기초하여 표준용액의 제조, 직선성 평가, 반복 실험을 통한 정밀성, 그리고 회수율 시험을 통한 정확성 평가를 실시하였음

(1) 표준용액의 제조

- Lancemaside A 표준용액은 실험실에서 분리한 lancemaside A (순도 > 98 %)를 MeOH에 녹여 사용하였음

(2) 직선성 평가 (Linearity)

- 직선성 평가를 위한 검량선을 얻기 위해 표준물질을 1 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml로 만들어 HPLC 분석을 3 회 실시하였음
- Linear regression equation ($y = ax + b$, a는 직선의 기울기, b는 y절편, x는 시료 의 농도, y는 피크의 면적)을 계산하고 correlation coefficient (R^2)를 통해 직선성을 확인하였고 R^2 의 값이 0.99 이상인 경우 검량선으로 사용하였음

(3) 정밀성 평가 (Precision)

- 동일 시료에 대하여 실험 환경변동에 따른 결과의 변화 정도를 확인하기 위함으로 intraday variability는 직선성이 확인된 농도 구간 중 3 가지 농도를 기준으로 하여 시료를 3 회 반복 측정하여 상대표준편차로써 기준에 적합한지 평가하였음

(4) 회수율 시험 (Recovery)

- 정확성을 평가하기 위해 함량이 확인된 시료와 3 가지 지표 성분의 혼합표준용액의 농도를 달리하여 혼합한 후 3 회 측정하여 판단하였음

4. NMR 분석

- $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 은 SC205 (Varian Medical System, USA) 200 MHz NMR spectrometer를 이용하여 분리화합물의 구조를 동정함

제 2절 연구 결과

1. 더덕 에탄올 추출물과 부탄올 분획의 제조

- 더덕은 흐르는 물에 깨끗이 씻어 세로로 3 등분하여 실온 (25 °C)에서 7일간 건조시켰음 (수율 23.7 %)
- EtOH 추출물과 EtOAc 분획의 수율은 각각 7.53, 2.97 %였음 (Table 2, Fig. 2)

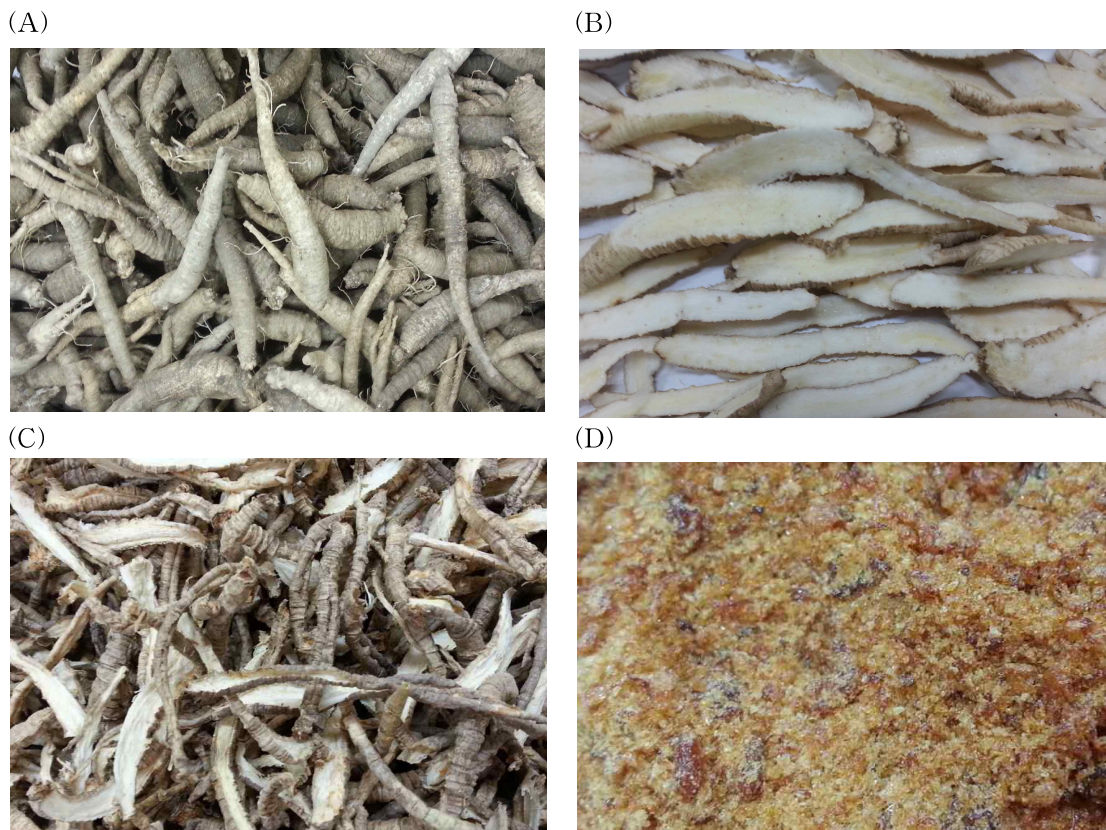


Figure 2. (A) *Codonopsis lanceolata*, (B) Before drying, (C) After drying, (D) After freeze drying (EtOH extract)

Table 2. Yield of the *C. lanceolata*

Yield (%)	Deoduk
80 % EtOH extract	7.53
n-BuOH fraction	2.97

2. Silica gel column chromatography를 이용한 지표성분의 분리 및 동정

- 더덕의 n-BuOH 분획에서 column chromatography를 이용하여 분리한 fraction IV-5를 MeOH로 재결정하여 갈색의 침상결정 compound I (720 mg)을 얻었음
- TLC로 EtOH 엑스, n-BuOH 분획, compound I 과 lancemaside A의 지표물질을 유사한 특성이었음 (Fig. 3): TLC의 전개용매를 세 가지로 달리하여 분석한 결과 ① 역상 TLC (용매 : MeOH : H₂O (7 : 3))는 모두 Rf 값이 0.29 로 자주색 band였고, ② 순상 TLC (용매 : CHCl₃ : MeOH : H₂O (50 : 35 : 10))는 Rf 값이 0.34 로 모두 자주색 band였고, ③ 순상 TLC (용매 EtOH : BuOH : H₂O (5 : 1 : 4))는 Rf 값이 0.07 로 모두 자주색 band였음
- EtOH 엑스, n-BuOH 분획에 lancemaside A를 함유하고 있는 것으로 추정할 수 있었으며, compound I도 lancemaside A로 추정되었음

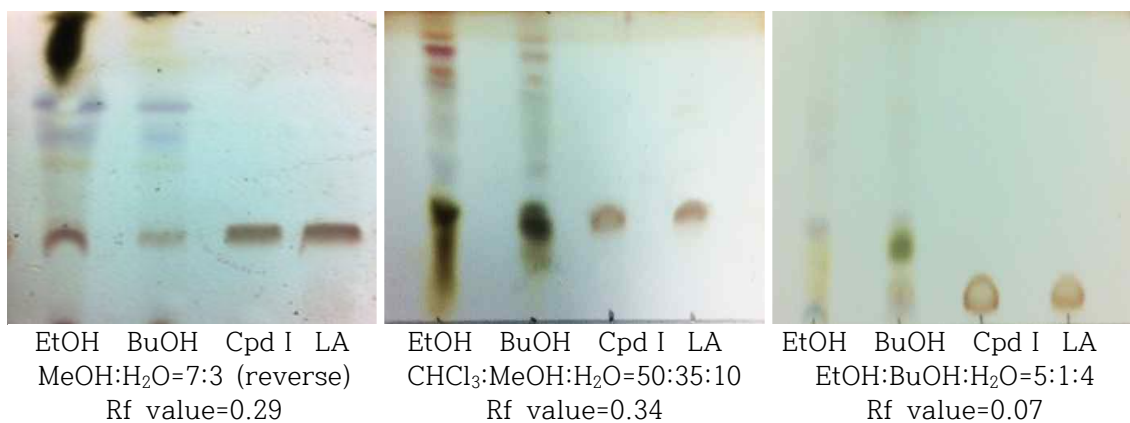


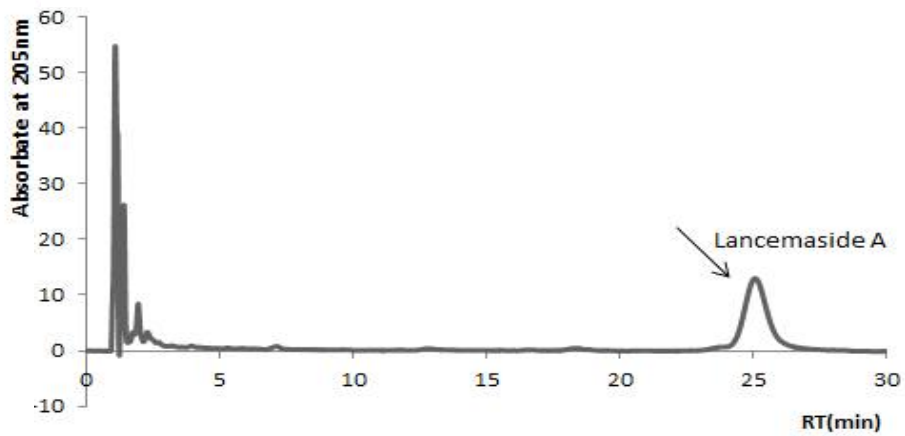
Figure 3. Thin layer chromatography of EtOH extract, n-BuOH fraction, compound I and lancemaside A standard (Standard)

3. HPLC를 이용한 지표성분의 분리 및 동정

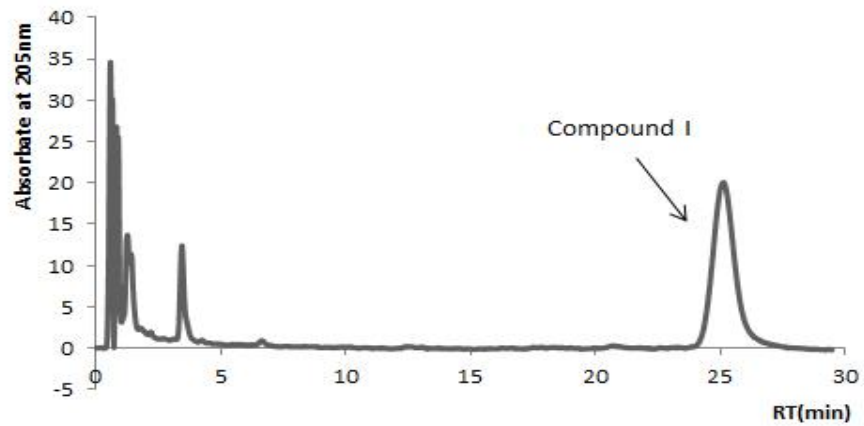
1) 분리

- HPLC를 이용하여 compound I 과 lancemaside A의 지표물질을 비교해본 결과 모두 동일하게 RT 25 분에 같은 peak가 확인되었고, EtOH 엑스, n-BuOH 분획에 lancemasdie A와 같은 피크가 있어 lancemaside A로 추정되었음 (Fig. 4)

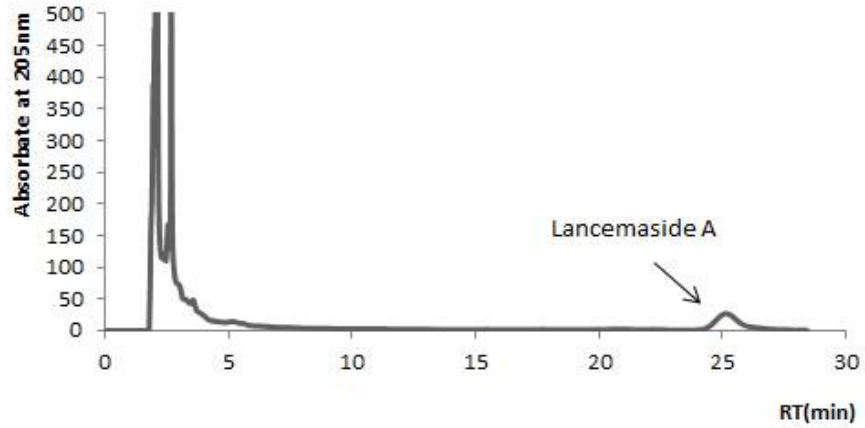
(A)



(B)



(C)



(D)

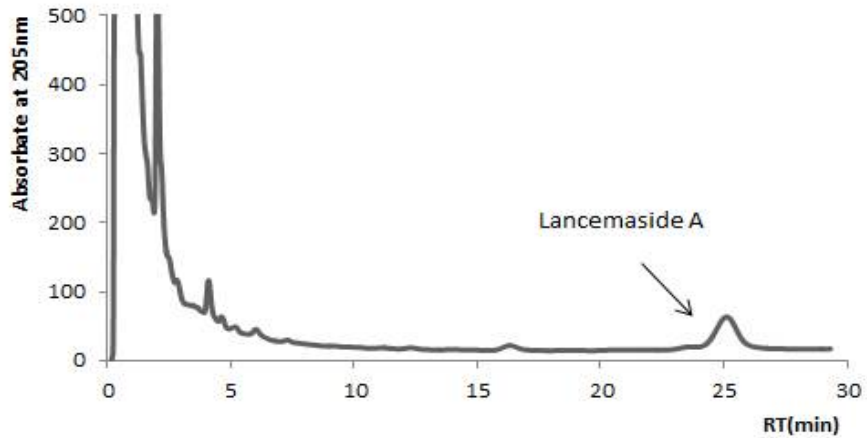


Figure 4. HPLC chromatograms of *C. lanceolata* (A) Standard 1 mg/ml, (B) Compound I (1 mg/ml), (C) EtOH extract (200 mg/ml), (D) n-BuOH fraction (5 mg/ml). Ten microliter of each sample was injected into HPLC.

2) 동정

(1) HPLC에 의하여 분리된 지표물질의 직선성 측정

- 지표물질 lancemaside A의 4 개 농도 (1 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml)를 사용하여 작성한 검량선의 선형회귀식 ($Y = Ax + B$, A는 검량선의 기울기, B는 검량선의 절편, x는 화합물의 농도, Y는 피크 면적)으로부터 계산된 수식은 직선성을 나타냈으며, 상관계수 (R^2)는 0.9987 였음 (Fig. 5, Fig. 6)

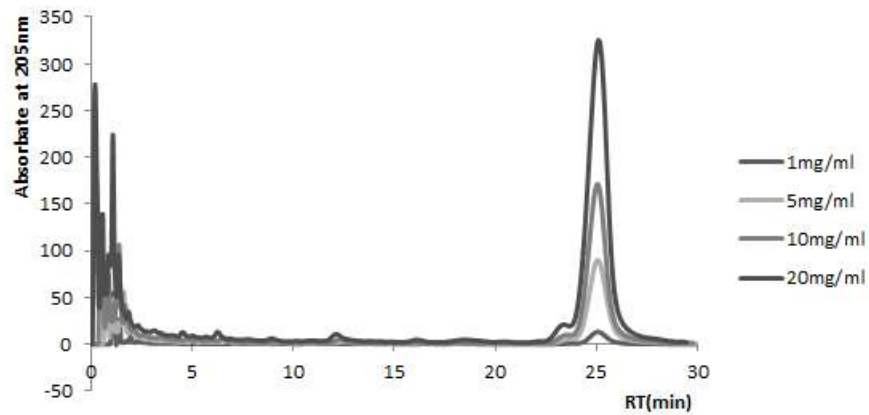


Figure 5. HPLC chromatogram of various concentrations of lancemaside A

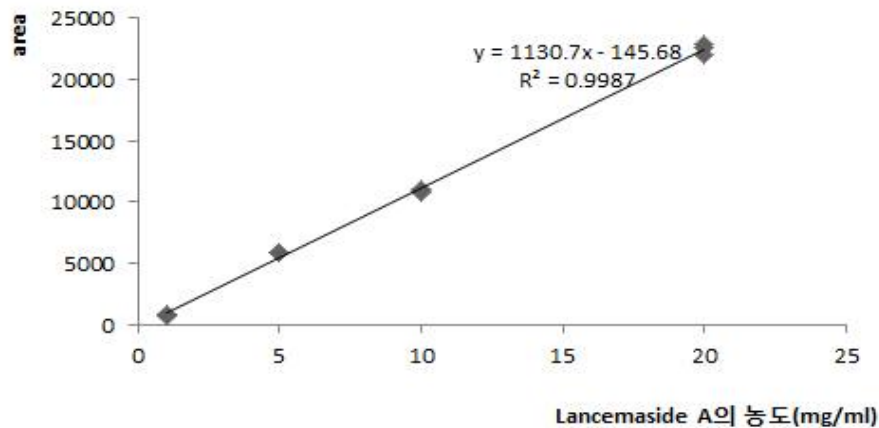


Figure 6. Standard curve of lancemaside A

(2) HPLC를 이용한 더덕 에탄올 추출물과 부탄올 분획물로부터 lancemaside A 정량

- 더덕 EtOH 추출물과 n-BuOH 분획물을 HPLC로 분석하였으며, lancemaside A의 함량은 표준물질의 검량선에 따라 계산한 결과, 더덕 EtOH 추출물은 28.30 ± 0.42 mg/g 이었으며, n-BuOH 분획물의 함량은 32.20 ± 0.41 mg/g이었음 (Table 3)
- 더덕 EtOH 추출물에 들어있는 lancemaside A 함량에 EtOH 추출물의 건조 더덕 대비 수율을 곱하여 건조 더덕에 들어있는 lancemaside A의 함량은 2.13 ± 0.04

mg/g이었음

- 더덕 n-BuOH 분획물에 들어있는 lancemaside A 함량에 BuOH 추출물의 건조 더덕 대비 수율을 곱하여 건조 더덕에 들어있는 lancemaside A의 함량은 0.96 ± 0.01 mg/g이었음

Table 3. Lancemaside A contents of *C. lanceolata*

	Lancemaside A content (mg/g)
<i>C. lanceolata</i> EtOH extract	2.13 ± 0.04
<i>C. lanceolata</i> n-BuOH fraction	0.96 ± 0.01

4. NMR 분석 결과

- 더덕의 n-BuOH 분획에서 column chromatography를 이용하여 분리한 fraction IV-5를 MeOH로 재결정하여 갈색의 침상결정 compound I (720 mg)을 얻었음
- 분리된 더덕 지표물질 compound I은 ^1H 와 ^{13}C -NMR spectrum으로부터 lancemaside A로 동정할 수 있었음 (Table 4, 5, Fig. 7)
- 기존에 보고된 ^1H 와 ^{13}C -NMR 데이터를 비교해도 잘 일치하였음 (Fig. 8, 9)
- 더덕 지표물질 : 갈색의 침상 결정
- ^1H -NMR (600 MHz, $\text{C}_{57}\text{H}_{90}\text{O}_{26}$) δ 5.37 s, 5.37 s, 5.36 s, 5.36 s, 5.35 s, 5.03 d (7.45), 4.8 s, 4.58 d (4.57), 4.52 s, 4.52 s, 4.50 s, 4.50 s, 4.51 s, 4.41 s, 4.39 s, 4.37 s, 4.31 s, 4.27 dd (2.65, 5.30), 4.21 s, 4.19 s, 4.16 s, 4.11 m, 4.02 m, 4.01 m, 4.01 m, 3.99 m, 3.92 d (3.84), 3.64 s, 3.54 m, 3.41 s, 3.05 dd (2.41, 2.03), 2.65 s, 2.30 s, 2.27 s, 2.24 s, 1.99 s, 1.93 s, 1.91 s, 1.89 s, 1.80 s, 1.79 s, 1.71 s, 1.68 s, 1.56 s, 1.42 s, 1.39 s, 1.39 s, 1.37 s, 1.36 s, 1.29 s, 1.28 s, 1.12 s, 1.03 s, 0.97 s, 0.96 s, 0.88 s, 0.80 s, 0.77 s.

- ^{13}C -NMR (150 MHz, $\text{C}_{57}\text{H}_{90}\text{O}_{26}$) δ 175.9, 175.8, 143, 122.4, 105.5, 105, 104.8, 99.9, 92.5, 89.7, 86.2, 82.2, 76.4, 76.3, 74.4, 73.8, 73.6, 73.2, 71.9, 71, 70.7, 70.5, 70, 69.7, 69.5, 68.3, 67.5, 62.3, 55.8, 48.9, 47.1, 46.8, 46.2, 41.3, 40.7, 38.6, 38.4, 37.4, 36.4, 35.6, 35.5, 35.3, 34.9, 32.9, 32, 30.5, 29.9, 27.1, 26, 25.7, 23.8, 23.1, 18, 16.9, 16.6, 15.7, 14.8 (Table 5, 6)

Table 4. ^1H - and ^{13}C -NMR spectroscopic data of the aglycone (echinocystic acid) of lancemaside A

Position	Lancemaside A	
	$\delta_{\text{C}}, ^{\text{a}}\text{mult.}$	$\delta_{\text{H}}, ^{\text{a}}\text{mult. (J in Hz)}$
1	38.6, CH ₂	0.88 <i>s</i> 1.39 <i>s</i>
2	25.7, CH ₂	2.24 <i>s</i> 1.89 <i>s</i>
3	89.7, CH	3.38 <i>s</i>
4	37.4, qC	
5	55.8, CH	0.77 <i>s</i>
6	18, CH ₂	1.42 <i>s</i> 1.36 <i>s</i>
7	32.9, CH ₂	1.56 <i>s</i> 1.39 <i>s</i>
8	40.7, qC	
9	46.8, CH	1.71 <i>s</i>
10	38.4, qC	
11	23.1, CH ₂	1.91 <i>s</i> 1.93 <i>s</i>
12	122.4, CH	5.36 <i>s</i>
13	143, qC	
14	46.2, qC	
15	36.4, CH ₂	1.79 <i>s</i> 2.27 <i>s</i>
16	71, CH	5.36 <i>s</i>
17	48.9, qC	
18	41.3, CH	3.54 <i>m</i>
19	47.1, CH ₂	3.05 <i>dd</i> (2.41, 2.03) 1.37 <i>s</i>
20	29.9, qC	
21	34.9, CH ₂	2.65 <i>s</i> 1.29 <i>s</i>
22	30.5, CH ₂	2.30 <i>s</i> 1.99 <i>s</i>
23	27.1, CH ₃	1.28 <i>s</i>
24	15.7, CH ₃	0.96 <i>s</i>
25	14.8, CH ₃	0.80 <i>s</i>
26	16.6, CH ₃	1.03 <i>s</i>
27	26, CH ₃	1.80 <i>s</i>
28	175.9, qC	
29	32, CH ₃	0.97 <i>s</i>
30	23.8, CH ₃	1.12 <i>s</i>

Table 5. ^1H - and ^{13}C -NMR spectroscopic data of sugar moieties of lancemaside A

Position	Lancemaside A	
	$\delta_{\text{C}},^{\text{a}}\text{mult.}$	$\delta_{\text{H}},^{\text{a}}\text{mult. (}J \text{ in Hz)}$
GlcA		
1	105.5, CH	5.03 <i>d</i> (7.45)
2	73.8, CH	4.11 <i>m</i>
3	76.3, $^{\text{b}}\text{CH}$	4.31 <i>s</i>
4	70.7, CH	4.58 <i>d</i> (4.57)
5	74.4, CH	4.8 <i>s</i>
6	175.8, qC	
Ara		
1	92.5, CH	5.37 <i>s</i>
2	73.2, CH	4.50 <i>s</i>
3	69.5, CH	4.52 <i>s</i>
4	35.3, CH	4.41 <i>s</i>
5	62.3, CH ₂	3.92 <i>d</i> (3.84) 4.51 <i>s</i>
Rha		
1	99.9, CH	5.37 <i>s</i>
2	70, CH	4.50 <i>s</i>
3	70.5, CH	4.52 <i>s</i>
4	82.2, CH	4.37 <i>s</i>
5	67.5, CH	4.39 <i>s</i>
6	16.9, CH ₃	1.68 <i>s</i>
Xyl		
1	105, CH	5.35 <i>s</i>
2	71.9, CH	3.99 <i>m</i>
3	86.2, CH	4.01 <i>m</i>
4	68.3, CH	4.02 <i>m</i>
5	35.5, CH ₂	3.41 <i>s</i> 4.21 <i>s</i>
Xyl		
1	104.8, CH	5.35 <i>s</i>
2	73.6, CH	4.01 <i>m</i>
3	76.4, CH	4.16 <i>s</i>
4	69.7, CH	4.19 <i>s</i>
5	35.6, CH ₂	3.64 <i>s</i> 4.27 <i>dd</i> (2.65, 5.39)

GlcA, D-Glucuronic acid; Ara, D-arabinose; Rha, L-rhamnose; Xyl, D-xylose

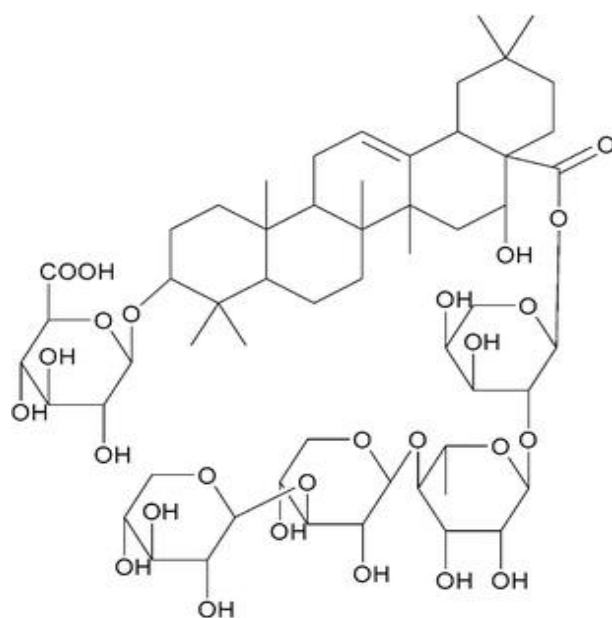


Figure 7. The structure of compound 1, lancemaside A, isolated from *C. lanceolata*

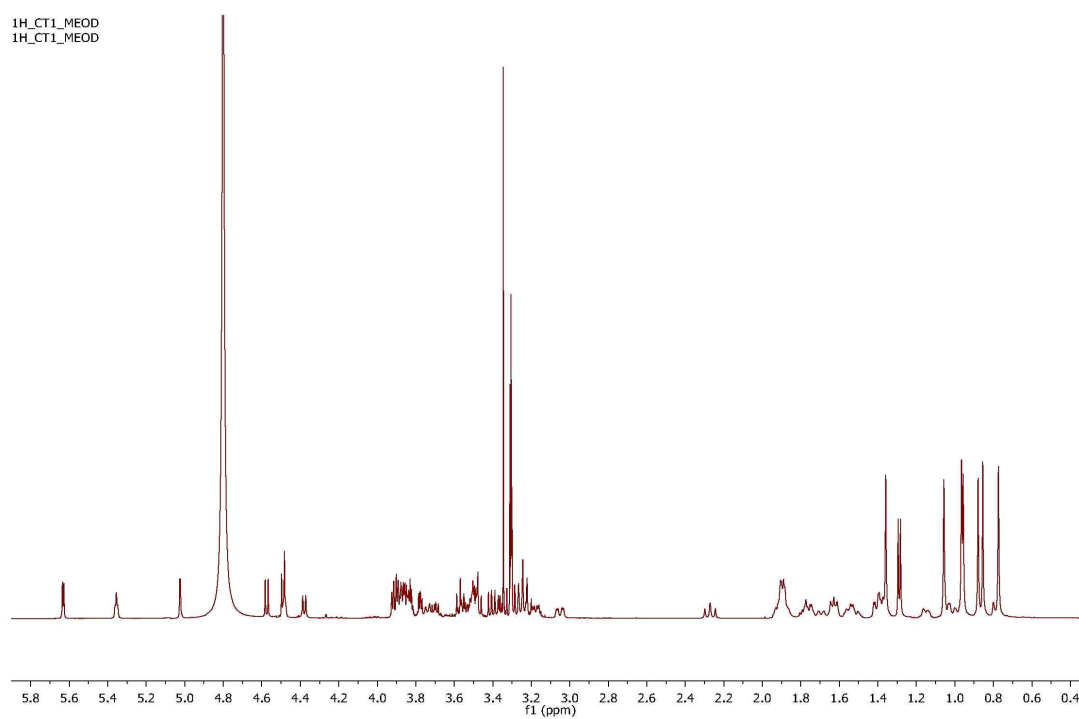


Figure 8. ^1H -NMR spectrum of compound 1 isolated from *C. lanceolata*

2012-04-05
Cl-1

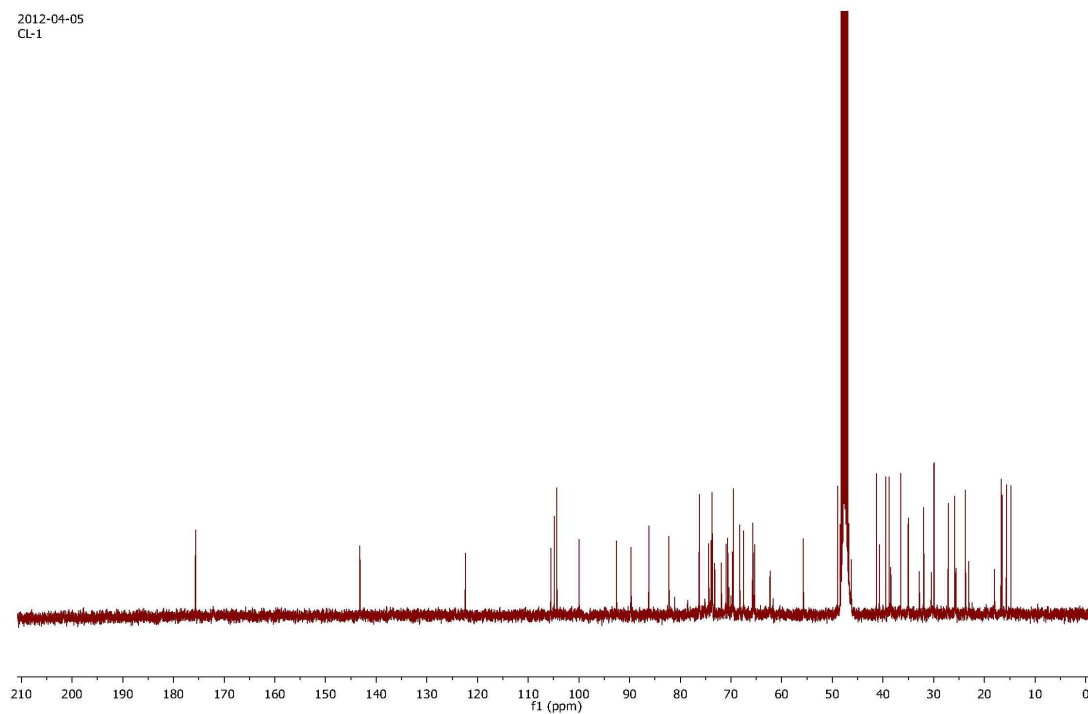


Figure 9. ^{13}C -NMR spectrum of compound 1 isolated from *C. lanceolata*

제 3절 우영의 지표 성분 분리·동정

1. 우영의 추출 및 분획

1) 재료

- 우영은 안동마부용 농산영농조합법인에서 구입하여 깨끗이 세척하고, 10 cm길이를 자르고 세로로 4 등분 하여 펼쳐서 실온 (25 °C)에서 5 일 간 건조시켰음

2) 우영의 에탄올 추출

- 건조우영 (3 kg)을 Fig. 8과 같이 80 % EtOH 30 L를 넣어 90 °C에서 4 시간 동안 환류냉각법으로 추출하고 8 µm 여과지 (whatman Maidstone, UK)를 이용하여 여과하여 추출액을 모으고, 남은잔사는 다시 같은 방법으로 반복하여 추출하여 (80 % EtOH 30 L), 990 g의 엑스를 얻음 (Fig. 10)

3) 우영의 에틸아세테이트 분획

- EtOH 엑스 (990 g)을 Fig. 8과 같이 증류수 2 L에 현탁하고 10 L의 EtOAC로 진탕 추출하고 EtOAC 분획을 농축하여 엑스를 27 g을 얻었음 (Fig. 10)

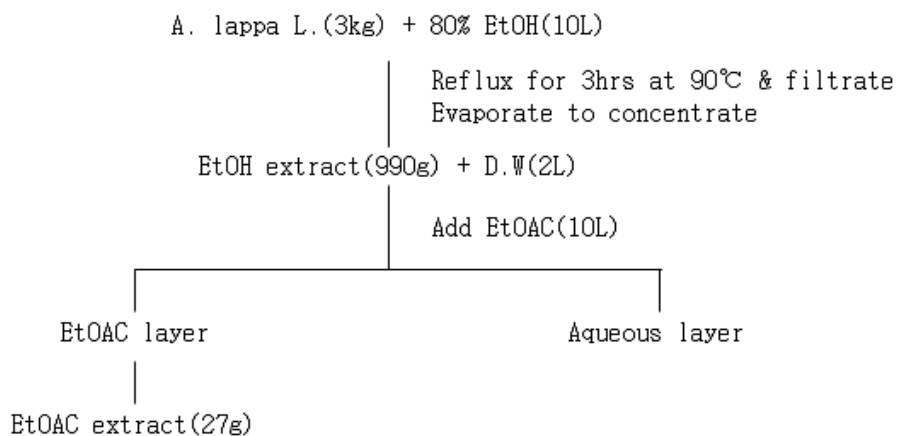


Figure 10. Fractionation of *A. Lappa L*

2. TLC를 이용한 지표성분 arctiin의 확인

- EtOH 엑스와 EtOAc 분획은 TLC [전개용매, CHCl₃ : MeOH (7 : 1)]를 수행하고 5 % 황산으로 발색시켜 자주색 밴드를 확인함

3. HPLC를 이용한 지표성분 arctiin 의 함량분석

- 우영에 함유된 지표성분 arctiin은 우영을 EtOH로 추출하고, 이의 EtOAc 분획을 농축하고, 이를 MeOH 녹여 HPLC로 분석함
- HPLC (Young Lin Instrument Co. Anyang, Korea) 분석 조건은 고정상으로 Hypersil ODS (4.6×100 mm I.d., 5 μm, Agilent)를 사용하였고, 주입량은 10 μL, 0.1 % formic acid 함유 17 % acetonitrile액을 유속은 1 mL/min, 컬럼온도는 25 °C, 자외선 검출기 흡광파장은 280 nm로 설정하여 분석하였음 (Table 6.)

Table 6. Analytical condition of HPLC

Column	Hypersil ODS (4.6x100 mm)
Solvent system	A : 0.01 % trifluoroacetic acid in water 83 % B : acetonitrile 17 %
Flow time	30 min
Flow rate	1.0 mL/min
Temperature	25 °C
Detection	UV 285 nm
Injection	10 μL

1) HPLC 분석 방법의 검증 (Validation)

- HPLC 분석법의 정확도와 재현성을 검증하기 위해서 ICH (International Conference on Harmonization) guide line에 기초하여 표준용액의 제조, 직선성 평가, 반복 실험을 통한 정밀성, 그리고 회수율 시험을 통한 정확성 평가를 실시하였음

(1) 표준용액의 제조

- 우방자에서 분리한 arctiin (순도 > 98 %)을 MeOH에 녹여 제조함

(2) 직선성 평가 (Linearity)

- Arctiin을 4 개 농도 (0.01 mg/ml, 0.1 mg/ml, 1 mg/ml, 10 mg/ml)를 만들어

HPLC로 3 회 분석함

- Linear regression equation ($y = ax + b$, a 는 직선의 기울기, b 는 y 절편, x 는 시료 의 농도, y 는 피크의 면적)을 계산하였을 때 R^2 의 값은 0.99 이상이였음

(3) 정밀성 평가 (Precision)

- 동일 시료에 대하여 실험 환경변동에 따른 결과의 변화 정도를 확인하기 위해 실험하여 계산한 intraday variability는 직선성이 확인된 농도 구간 중 3 가지 농도를 기준으로 하여 시료를 3 회 반복 측정하여 상대표준편차로써 기준에 적합한 지 평가하였음

(4) 회수율 시험 (Recovery)

- 정확성을 평가하기 위해 함량이 확인된 시료와 3 가지 지표 성분의 혼합표준용액의 농도를 달리하여 혼합한 후 3 회 측정하였음

제 4절 연구 결과

1. 동물실험용 우영 에탄올 추출물 제조

- 우영은 흐르는 물에 깨끗이 세척하고, 10 cm길이로 자르고 세로로 4 등분 하여 펼쳐서 실온 (25 °C)에서 5 일간 건조시켰음 (수율 24.2 %)
- EtOH 추출물과 EtOAc 분획물의 수율은 각각 24.2, 0.11 %였음 (Table 7, Fig. 11)



Figure 11. (A) *Arctium lappa* L., (B) Before drying, (C) After drying, (D) After freeze drying (EtOH extract)

Table 7. Yield of *Arctium lappa* extracts prepared by ethanol and ethylacetate

Yield (%)	Woo-eung
80 % EtOH extract	24.2
EtOAC fracton	0.11

2. TLC를 이용한 지표성분 확인

- TLC로 EtOH 엑스, EtOAC 분획을 arctiin의 지표물질과 함께 TLC 전개용매를 세 가지로 달리하여 분석한 결과 ① 역상 TLC [용매 : MeOH : H₂O (7 : 3)]는 모두 R_f 값이 0.61 자주색 밴드를 갖고 있었고, ② 순상 TLC [용매 : CHCl₃ : MeOH : H₂O (50 : 35 : 10)]는 R_f 값이 0.68 인 보라색 밴드를 모두 갖고 있었으

며, ③ 순상 TLC [용매 : CHCl₃ : MeOH(7 : 1)]는 Rf 값이 0.34 인 보라색 밴드를 모두 갖고 있어 EtOH 엑스와 EtOAC 분획물에 arctiin을 함유하고 있을 것으로 추정되었음

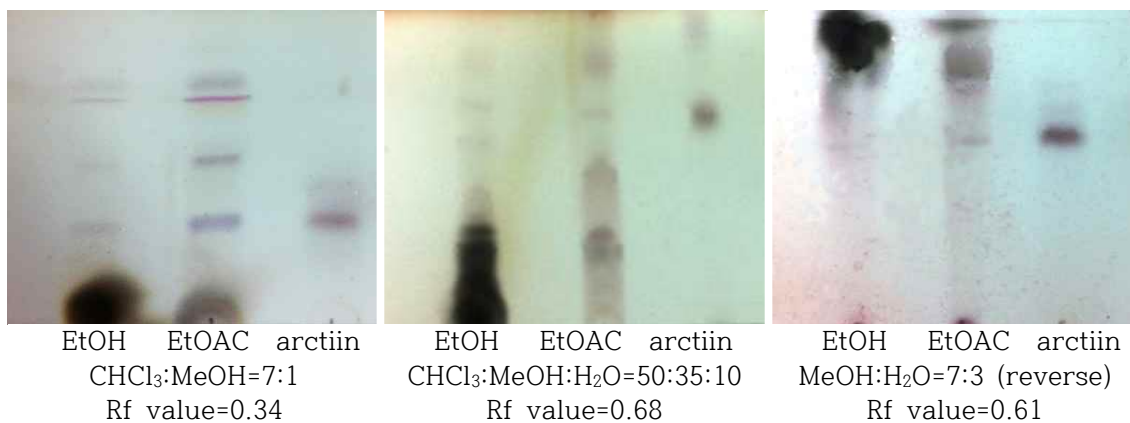


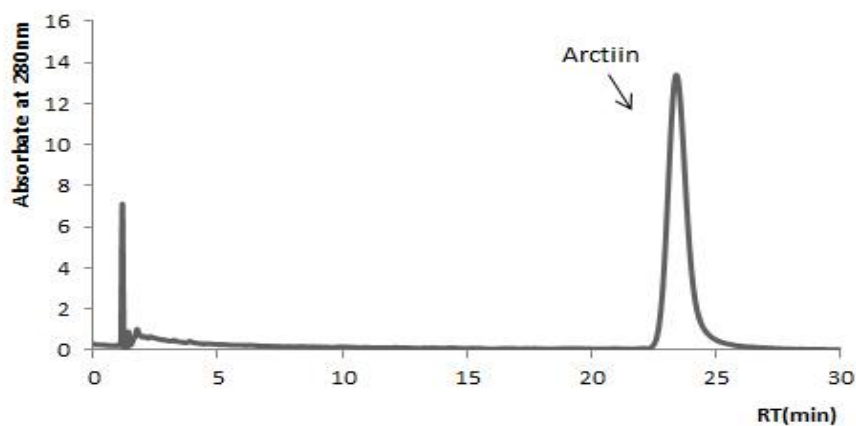
Figure 12. Thin layer chromatography of EtOH extract, EtOAC fraction and arctiin standard

3. HPLC를 이용한 지표성분의 함량분석

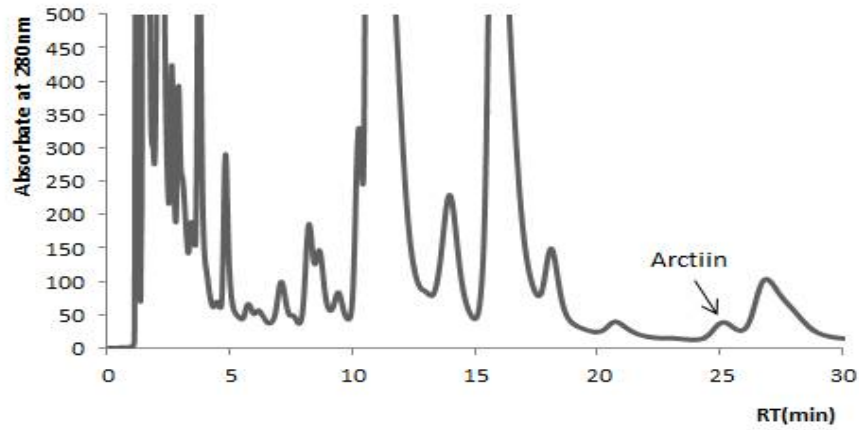
1) 분리

- HPLC를 이용하여 EtOH 엑스, EtOAC 분획에서 arctiin의 지표물질을 비교분석한 모두 RT 24.8 min에 peak가 확인되었음 (Fig. 13)

(A)



(B)



(C)

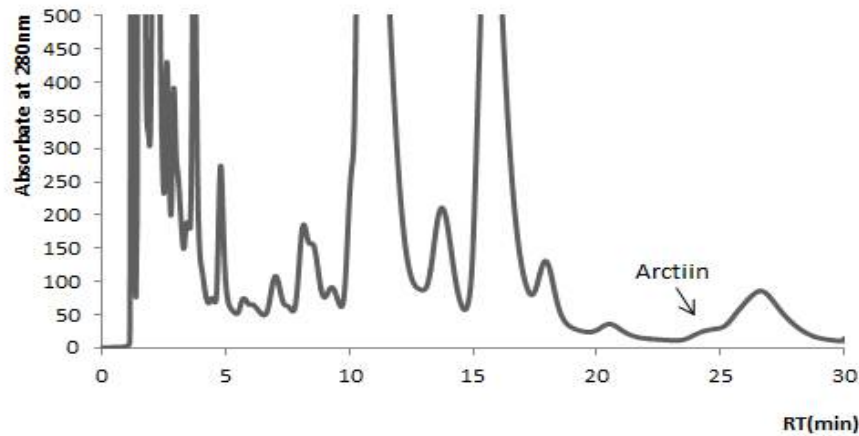


Figure 13. HPLC chromatograms of *Arctium lappa* extracts: (A) arctiin standard (0.1 mg/ml) (B) EtOH extract (500 mg/ml), (C) EtOAc fraction (50 mg/ml)

2) 동정

(1) HPLC에 의하여 분리된 지표물질의 직선성

- 지표물질을 메탄올에 녹여 4 농도 (0.01 mg/ml, 0.1 mg/ml, 1 mg/ml, 10 mg/ml)에 대해 HPLC로 분석하여 작성한 검량선의 상관계수 (R^2)는 0.9963 로 좋은 직선성을 보였음 (Fig. 14, 15)

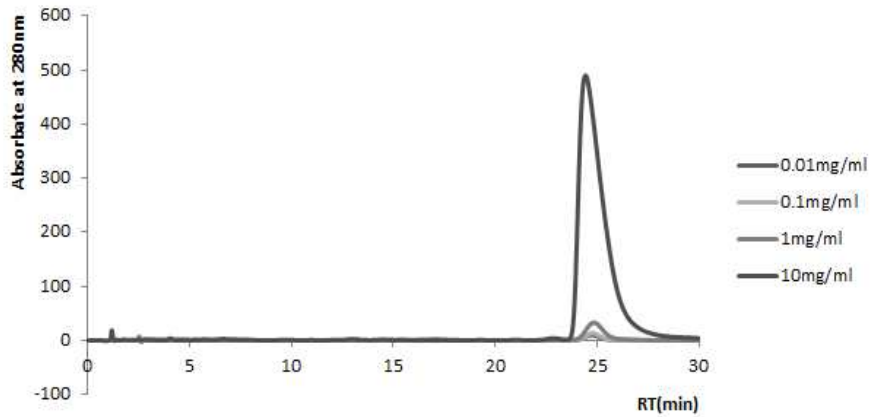


Figure 14. HPLC chromatograms of arctiin

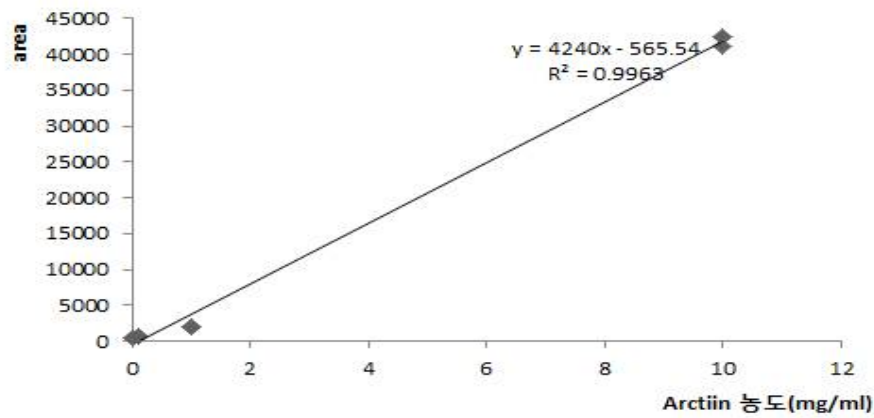


Figure 15. Standard curve of arctiin

(2) HPLC를 이용한 우영 에탄올 추출물과 에틸아세테이트 분획으로부터 arctiin 정량

- 우영의 EtOH 추출물과 그 EtOAC 분획물에서 활성성분을 분리하기 위해 TLC 등으로 분석하였으나, 대부분이 당류와 소량의 리그난계 화합물인 arctiin이 소량 검출되었음
- 우영 EtOH 추출물과 EtOAC 분획물을 HPLC로 분석하여 arctiin 함량은 각각 0.60 ± 0.03 mg/g, 11.44 ± 0.07 mg/g이었음
- 우영 EtOH 추출물에 들어있는 arctiin 함량에 EtOH 추출물의 건조 우영 대비 수율을 곱하여 계산한 건조 우영의 arctiin 함량은 각각 0.20 ± 0.01 mg/g, 0.10 ± 0.01 mg/g이었음 (Table 8)

Table 8. Arctiin content of *Arctium lappa* L.

	Arctiin content (mg/g)
<i>Arctium lappa</i> L. EtOH extract	0.20±0.01
<i>Arctium lappa</i> L. EtOAC fraction	0.10±0.01

- 우영의 arctiin과 당류 외의 타 성분을 분리를 시도하였으나, 거의 검출할 수 없어, 우영의 열매인 우방자에서 우영의 지표성분인 arctiin을 TLC로 확인한 결과 이의 유사물질이 다량 함유하고 있음을 확인함
- 그러므로 우영의 지표물질인 arctiin의 구조동정 및 동물실험용 시료를 확보하기 위해 이를 다량 함유하고 있는 우방자를 사용기로 함

제 5절 우방자의 지표 성분 분리·동정

1. 우방자의 추출 및 분획

1) 재료

- 우방자는 서울시 제기동 약령시장 정우당 약국에서 구입하였음

2) 우방자의 에탄올 추출

- 우방자 (5.4 kg)를 Fig. 16과 같이 동량 (v/v)의 n-hexane (5.4 L)를 넣어 진탕 방치하여 n-hexane과 수층을 분리하여 얻은 수층에 80 % EtOH 50 L를 가하여 90 °C에서 4 시간 동안 환류냉각법으로 추출하고 8 µm 여과지 (whatman Maids tone, UK)를 이용하여 여과하여 추출액을 얻고, 남은 잔사는 같은 3 회 반복하여 추출하고 농축하여 EtOH 엑스 533 g을 얻음

3) 우방자의 에틸아세테이트 분획

- EtOH 엑스 (533 g)을 Fig. 16과 같이 증류수 1 L에 현탁하고 5 L의 EtOAC를 가하여 진탕방치 한 후 수층은 제거하고 EtOAC 분획을 농축하여 EtOAC 분획 280.61 g을 얻음

2. Silica gel column chromatography를 이용한 지표성분의 분리 및 동정

1) Silica gel column chromatography

- EtOAc 분획 (280.61 g)을 CHCl_3 : MeOH (10 : 1)의 용출 용매로 silica gel column chromatography (7x40 cm)를 실시하여 5 개의 소분획을 얻고, 이 분획 중 fraction III (9.62 g)의 순도 98 % 이상의 compound 1을 얻었음 (Fig. 16)

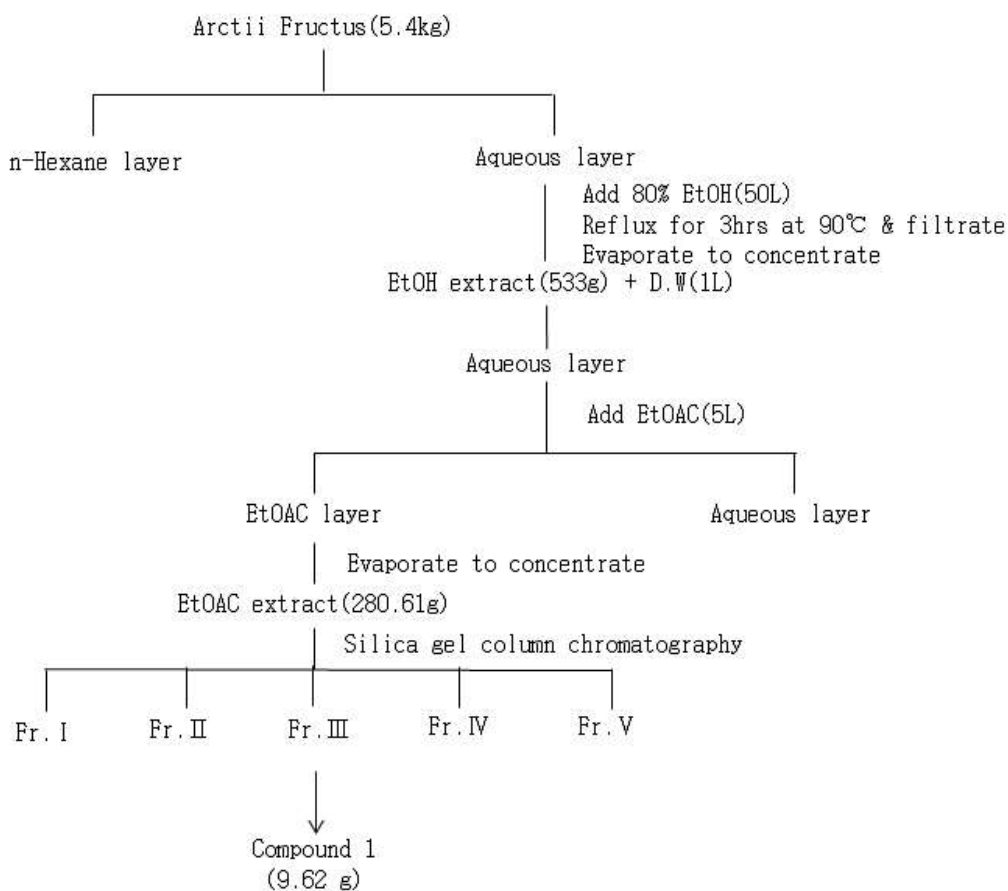


Figure 16. Fractionation and isolation procedure of compound 1 (Arctiin) from *Arctii Fructus*

3. HPLC를 이용한 지표성분의 분리 및 동정

- 우방자의 EtOH 엑스와 EtOAc 분획을 제조하여 HPLC 분석하였음: HPLC (Young Lin Instrument Co. Anyang, Korea)의 분석 컬럼은 Hypersil ODS (4.6×100 mm I.d., 5 μm, Agilent)를 사용하였고, 검체주입량은 10 μL, 0.1 % formic acid 함유 27 % acetonitrile 액을, 유속은 1 mL/min, 컬럼온도는 25 °C, 자외선 검출기 흡광파장은 280 nm로 설정함 (Table 9)

Table 9. Analytical condition of HPLC

Column	Hypersil ODS (4.6x100 mm)
Solvent system	A : 0.01 % trifluoroacetic acid in water 73 % B : acetonitrile 27 %
Flow time	10 min
Flow rate	1.0 mL/min
Temperature	25 °C
Detection	UV 280 nm
Injection	10 μL

1) HPLC 분석 방법의 검증 (Validation)

- HPLC 분석법의 정확도와 재현성을 검증하기 위해서 ICH (International Conference on Harmonization) guide line에 기초하여 표준용액의 제조, 직선성 평가, 반복 실험을 통한 정밀성, 그리고 회수율 시험을 통한 정확성 평가를 실시하였음

(1) 표준용액의 제조

- Arctiin (순도 > 98 %)을 MeOH에 녹여 사용함

(2) 직선성 평가 (Linearity)

- Arctiin을 4 개 농도 (0.01 mg/ml, 0.1 mg/ml, 1 mg/ml, 10 mg/ml)를 만들어 HPLC로 3 회 분석함
- Linear regression equation ($y = ax + b$, a는 직선의 기울기, b는 y절편, x는 시료 의 농도, y는 피크의 면적)을 계산하였을 때 R^2 의 값은 0.99 이상 이었음

(3) 정밀성 평가 (Precision)

- 동일 시료에 대하여 실험 환경변동에 따른 결과의 변화 정도를 확인하기 위해 실험하여 계산한 intraday variability는 직선성이 확인된 농도 구간 중 3 가지 농도를 기준으로 하여 시료를 3 회 반복 측정하여 상대표준편차로써 기준에 적합한 지 평가하였음

(4) 회수율 시험 (Recovery)

- 정확성을 평가하기 위해 함량이 확인된 시료와 3 가지 지표 성분의 혼합표준용액의 농도를 달리하여 혼합한 후 3 회 측정하였음

4. NMR 분석

- ^1H -NMR, ^{13}C -NMR은 SC205 (Varian Medical System, USA) 200 MHz NMR spectrometer를 이용하여 분리한 compound I의 구조를 동정하였음

제 6절 연구 결과

1. 우방자 에탄올 추출물과 에틸아세테이트 분획의 제조

- 우방자 EtOH 추출물과 EtOAC 분획물의 수율은 각각 9.87, 5.20 % 이었음 (Table 10)

Table 10. Yields of *Arctii Fructus* extracts prepared by ethanol and EtOAC

	Yield (%)
80 % EtOH extract	9.87
EtOAC fraction	5.20

2. Silica gel column chromatography를 이용한 지표성분의 분리 및 동정

- 우방자의 EtOAC 분획물로부터 silica gel column chromatography를 이용하여 분리한 fraction III을 MeOH로 재결정하여 흰색의 침상결정 compound I (9.62)을 얻었음
- TLC로 EtOH 엑스, EtOAC 분획, compound I 과 arctiin의 지표물질을 TLC의 전개용매를 세 가지로 달리하여 분석한 결과 ① 역상 TLC (용매: MeOH : H₂O (7 : 3))는 R_f 값이 0.77일 때 모두 보라색 밴드가 나타났으며, ② 순상 TLC (용매 : CHCl₃ : MeOH (7 : 1))는 R_f 값이 0.37 일 때 모두 보라색 밴드가 나타났으며, ③ 정방향 TLC (용매 : EtOH : BuOH : H₂O (5 : 1 : 4))는 R_f 값이 0.58 일 때 모두 보라색 밴드가 나타내, EtOH 엑스, EtOAC 분획에 arctiin이 들어있는 것을 확인하였으며, compound I 은 arctiin으로 추정되었음 (Fig 17)

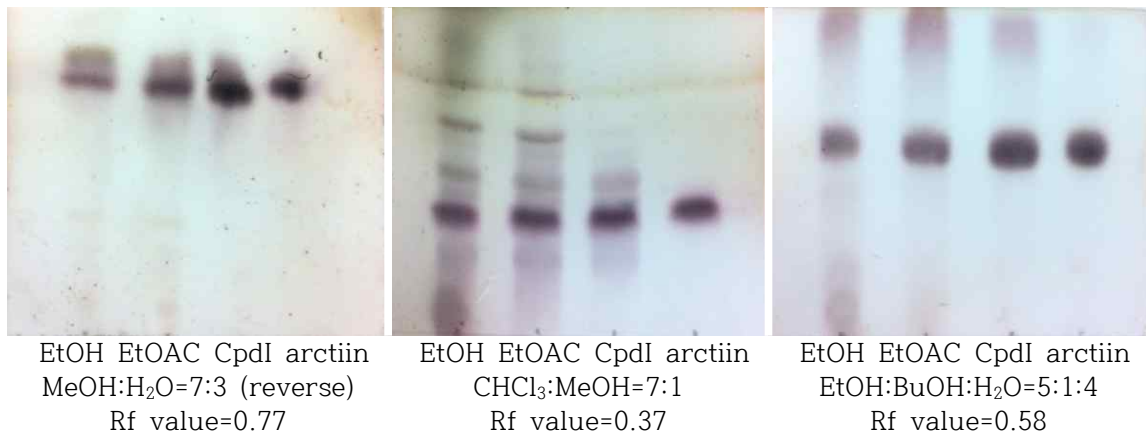


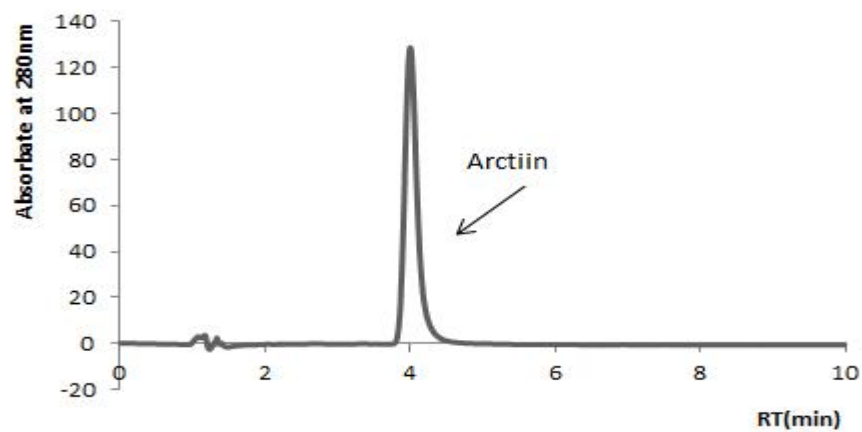
Figure 17. Thin layer chromatography of EtOH extract, EtOAC fraction, Compound I and arctiin (Standard)

3. HPLC를 이용한 지표성분의 분리 및 동정

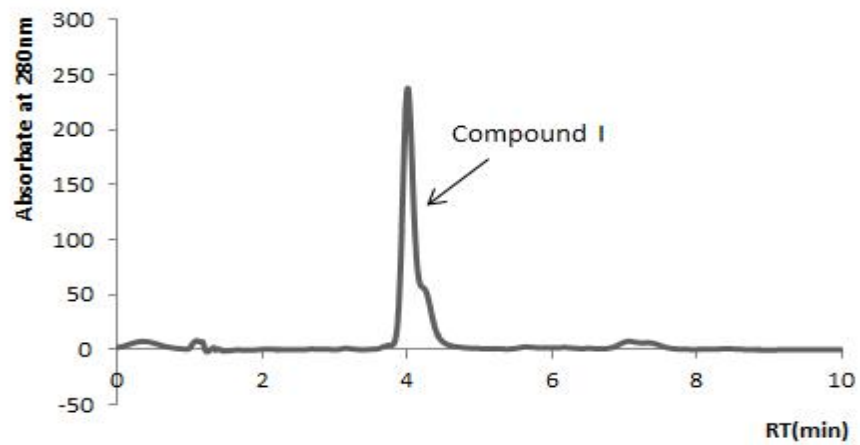
1) 분리

- HPLC를 이용하여 EtOH 엑스, EtOAC 분획, compound I 과 arctiin의 지표물질을 비교해본 결과 모두 동일하게 RT 4 분에 peak가 확인되어 EtOH 엑스, EtOAC 분획에 arctiin을 함유하고 있는 것으로 추정됨 (Fig. 18)

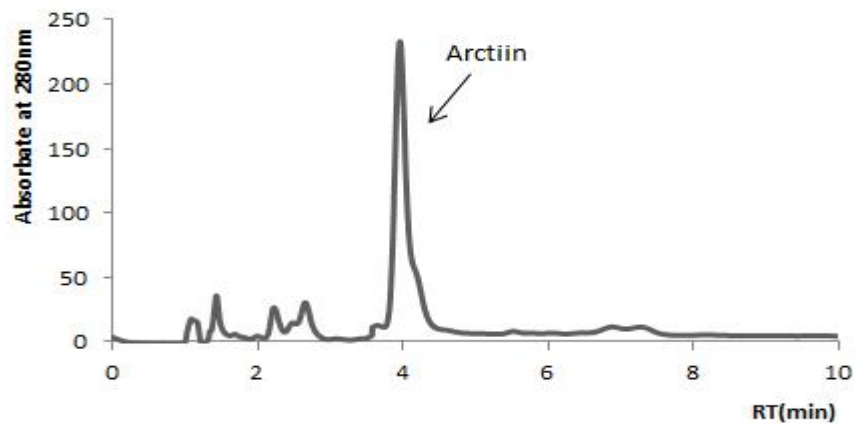
(A)



(B)



(C)



(D)

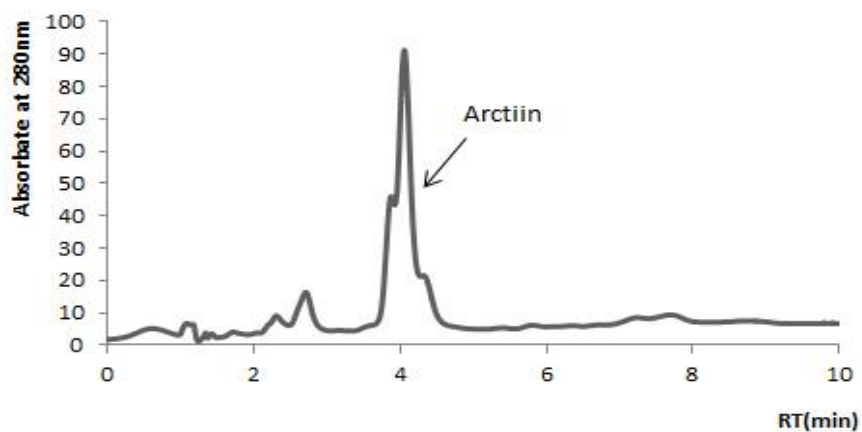


Figure 18. HPLC chromatograms of *Arctii Fructus*: (A) Arctiin (standard) (1 mg/ml), (B) Compound I (1 mg/ml), (C) EtOH extract (50 mg/ml), (D) EtOAC fraction (30 mg/ml)

2) 동정

(1) HPLC에 의하여 분리된 지표물질의 직선성 측정

- 지표물질을 메탄올에 희석하여 HPLC로 분석하여 작성한 검량선은 상관계수 (R^2)가 0.9937 로 직선성이 우수했음 (Fig. 19)

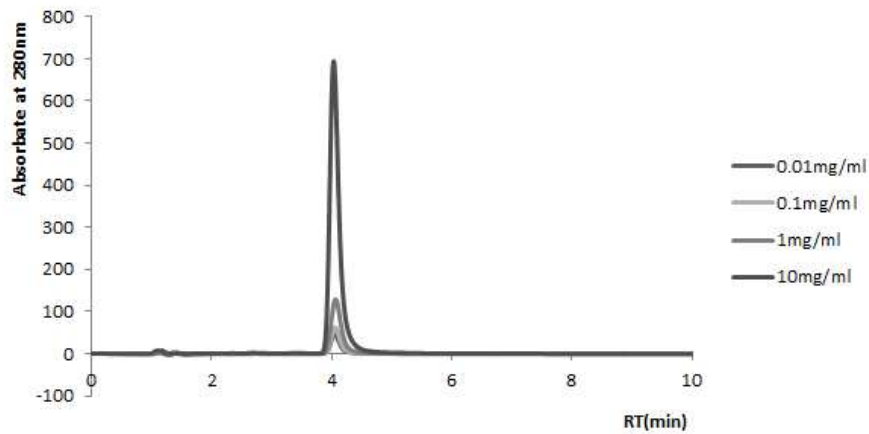


Figure 19. HPLC chromatograms of arctiin

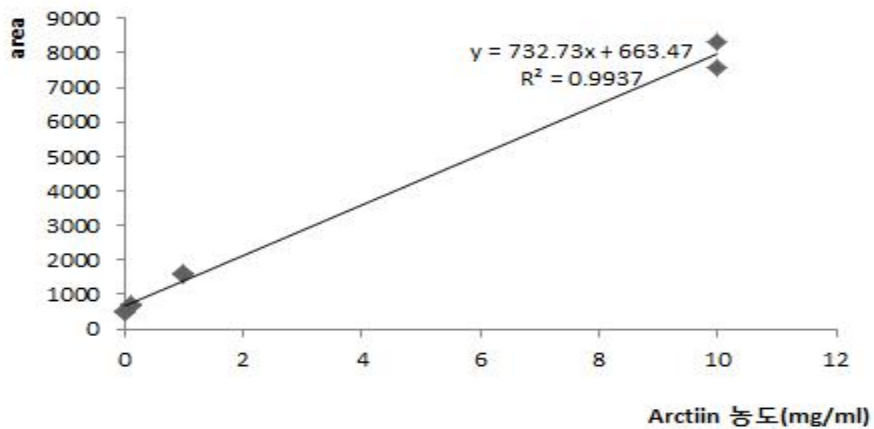


Figure 20. Standard curve of arctiin

(2) HPLC를 이용한 우방자 에탄올 추출물과 에틸아세테이트 분획으로부터 arctiin 정량

- 우방자 EtOH 추출물과 EtOAC 분획물을 HPLC로 분석한 arctiin의 함량은 각각 65.55 ± 0.53 mg/g, 88.71 ± 1.05 mg/g이였음 (Table 11)
- 우방자 EtOH 추출물에 들어있는 arctiin 함량에 EtOH 추출물의 건조 우방자 대

비 수율을 곱하여 건조 우방자에 들어있는 arctiin의 함량을 계산하면, 각각 6.47 ±0.05 mg/g, 4.61±0.05 mg/g이였음

Table 11. Arctiin content of *Arctii Fructus*

	Arctiin content (mg/g)
<i>Arctii Fructus</i> EtOH extract	6.47±0.05
<i>Arctii Fructus</i> EtOAC fraction	4.61±0.05

4. NMR 분석 결과

- 우방자의 EtOAC 분획물로부터 silica gel colum chromatography를 이용하여 분리한 fraction III을 MeOH로 재결정하여 흰색의 침상결정 compound I (9.6 2)을 얻었음
- 분리된 우방자 compound I의 ¹H-NMR, ¹³C-NMR spectrum 데이터를 분석하고 23), 참고문헌의 ¹H와 ¹³C-NMR 데이터를 비교하여 arctiin (Fig. 21, Fig. 22)으로 동정함
- 우방자 지표물질 : 흰색의 침상 결정
- ¹H-NMR (600mHz, C₂₇H₃₄O₁₁) δ 6.91*d* (15.44), 6.73*d* (16.50), 6.61 *s*, 6.58*d* (19.37), 6.54*d* (4.74), 6.49*d* (10.40), 4.81*d* (31.84), 4.10*t* (9.58, 9.08), 3.56-3.85 *m*, 3.84 *m*, 3.81 *s*, 3.77 *s*, 3.68 *s*, 2.83*t* (33.47, 26.12), 2.83 *s*, 2.64*dd* (10.91, 19.06), 2.55 *m*, 2.55 *m*, 2.45 *m*
- ¹³C-NMR (150mHz, C₂₇H₃₄O₁₁) δ 178.5, 149.3, 149.1, 147.9, 144.9, 132.9, 122.1, 120.9, 117.1, 113.2, 112.2, 111.7, 101.8, 76.1, 76.1, 75.9, 73.2, 71.2, 61.4, 55.9, 55.8, 55.8, 46.4, 41.2, 38.1, 34.4

Table 5. ^1H - and ^{13}C -NMR spectroscopic data of the aglycone (arctigenin) of arctiin

Position	Arctiin	
	$\delta_{\text{C}},^{\text{a}}\text{mult.}$	$\delta_{\text{H}},^{\text{a}}\text{mult.}(J \text{ in Hz})$
1	130.4	
2	111.7	6.61 <i>s</i>
3	149.1	
4	147.9	
5	113.2	6.73 <i>d</i> (16.59)
6	120.9	6.58 <i>d</i> (19.37)
7	38.1	2.64 <i>dd</i> (10.91, 19.06)
		2.45 <i>m</i>
8	41.2	2.55 <i>m</i>
9	71.2	4.1 <i>t</i> (9.58, 9.08)
		3.84 <i>m</i>
1'	132.9	
2'	112.2	6.49 <i>d</i> (10.40)
3'	149.3	
4'	144.9	
5'	117.1	6.91 <i>d</i> (15.44)
6'	122.1	6.54 <i>d</i> (4.74)
7'	34.4	2.83 <i>t</i> (33.47, 26.12)
		2.83 <i>s</i>
8'	46.4	2.55 <i>m</i>
9'	178.5	

Table 6. ^1H - and ^{13}C -NMR spectroscopic data for the sugar moiety of arctiin

Position	Lancemaside A	
	$\delta_{\text{C}},^{\text{a}}\text{mult.}$	$\delta_{\text{H}},^{\text{a}}\text{mult.}(J \text{ in Hz})$
Glu-1	101.8	4.81 <i>d</i> (31.84)
Glu-2	73.2	
Glu-3	76.1	
Glu-4	75.9	3.56-3.85 <i>m</i>
Glu-5	76.1	
Glu-6	61.4	
OCH ₃	55.8	3.81 <i>s</i>
OCH ₃	55.8	3.77 <i>s</i>
OCH ₃	55.9	3.68 <i>s</i>

Glu : Glucose

Arctin_1H_1D_fin
Arctin_1H_1D
2013-08-28

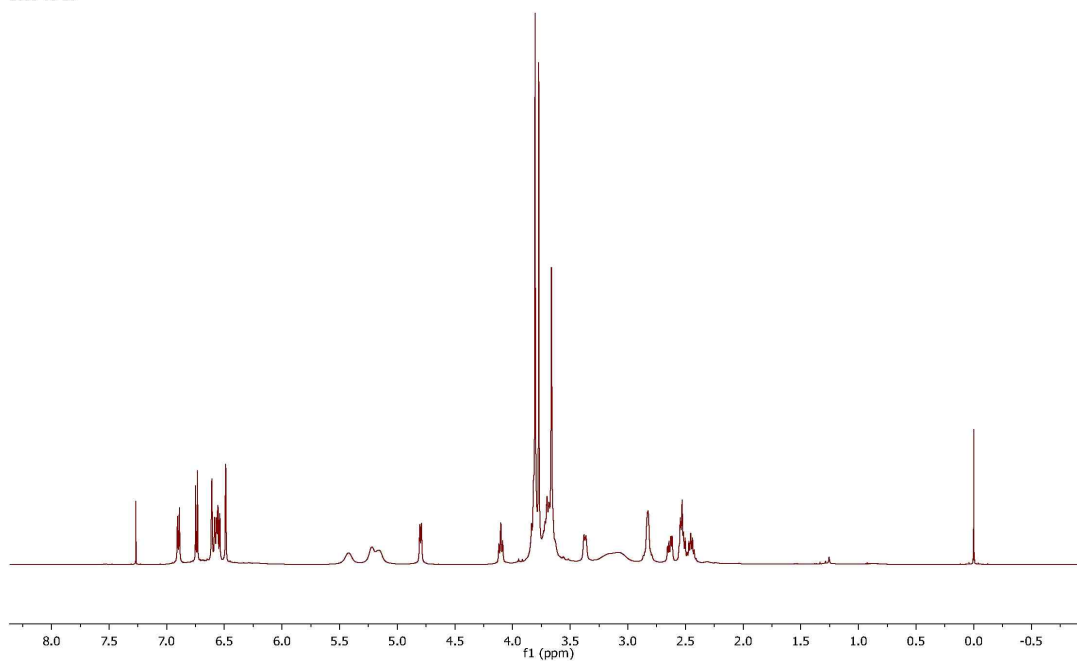


Figure 21. ¹H-NMR spectrum of compound I

Arctin_13C_1D_fin
Arctin_13C_1D
2013-08-28

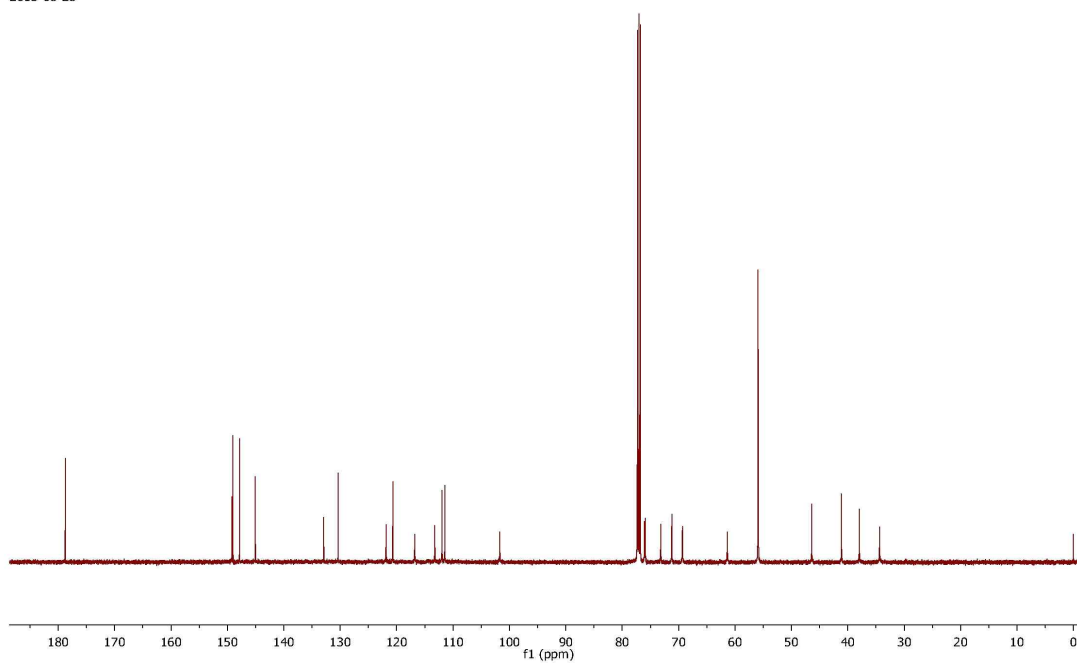


Figure 22. ¹³C-NMR spectrum of compound I

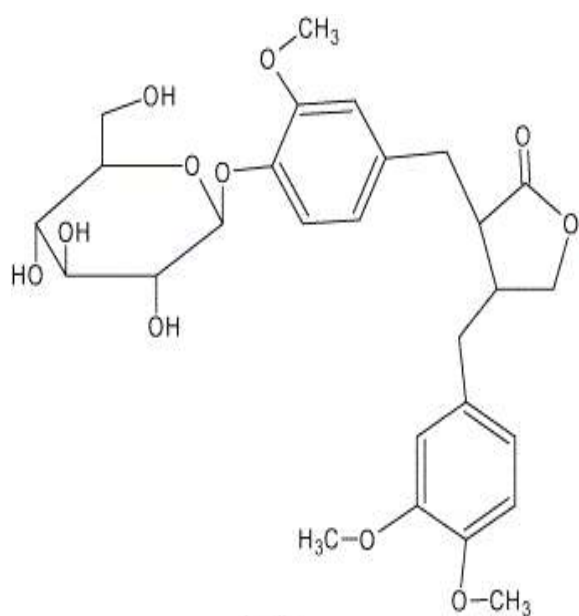


Figure 23. The structure of compound 1, arctiin, isolated from *Arctii Fructus*

제 7절 더덕, 우영의 전통레시피 발굴

1. 고조리서와 사찰음식 관련 조리서에서 더덕, 우영을 이용한 음식의 전통레시피

1) 고조리서에 더덕, 우영을 이용한 음식의 전통 레시피

- 조선시대 조리서로 수운잡방, 산가요록, 음식디미방에 나타난 조리법을 고찰하였고 더덕을 이용한 음식으로 수운잡방에 더덕좌반, 산가요록에 산삼병, 산삼좌반이 소개 되어 있음 (Table 7)
- 수운잡방에는 더덕을 찌서 말렸다 양념장을 묻혀 구워 먹는 더덕좌반의 조리법이 나타남
- 산가요록에는 더덕을 찢은 뒤 멥쌀가루에 싸서 시루에 찌 먹는 산삼병의 조리법, 더덕을 두드려 편으로 만든 후 말렸다가 양념을 기름에 섞어 굽거나 지지는 산삼좌반의 조리법이 나타남
- 음식디미방에는 더덕을 두드려 펴서 찹쌀가루를 묻혀 기름에 튀겨내는 섭산삼의 조리법 나타남
- 예로부터 더덕은 강원도 지역에 많이 나며, 이 지역의 백성들이 굶주림에서 벗어나기 위해 식량을 대신하여 기근을 해결할 수 있는 구황식으로 섭취함
- 최근에는 더덕에 사포닌, 폴리페놀, 알칼로이드, 스테롤, 탄닌, 정유 등 다양한 생리활성 물질 함유되어 있으므로 건강식품 소재로 활용하려는 연구가 활발히 진행되고 있음
- 우리 선조들이 오래 전부터 섭취하여 온 사찰음식에는 우영을 이용한 다양한 조리법이 소개되고 있으나 조선시대 고조리서에는 우영을 이용한 음식이 나타나지 않음
- 우영 (학명: *Arctium lappa*)은 국화과에 속하는 2년생 초본으로 우리나라 전역에 분포하며 오래 전부터 한방에서 우영의 잎 (우방엽), 종자 (우방자), 뿌리 (우방근)을 약재로 사용하였고 식용으로는 특히 뿌리를 널리 사용하였음
- 《본초강목》에 우영은 “오장의 나쁜 사기를 제거하고 손발의 하약함을 치료하며

중풍, 각기, 머리에 나는 종기, 가래를 치료하고 하복부 내장의 통증을 치료한다고 함

- 《식료본초》에 “우영의 뿌리를 잘게 썰어 가루를 만들어 밥을 지어 먹으면 창옹이 사라지고 줄기와 잎을 삶아 즙으로 옥탕을 하면 피부가 근질거리는 것이 없어진다”고 함

Table 7. Recipe using Deoduk shown in the chosun dynasty cook book

조리서	이름	주재료	만드는 방법
수운잡방 (1481-1552)	더덕좌반 (山蔘佐飯)	더덕3근, 소금1큰술, 간장1큰술, 참기름2큰술, 후춧가루적당 량	1. 더덕은 껍질을 벗겨 찢어 물에 담가 쓴맛을 제거한다. 2. 손질한 더덕을 찜통에 찌서 소금, 간장, 참기름을 넣고 자기 그릇에 담아 하룻밤 재운다. 3. 다음날 햇볕에 말려 후춧가루를 조금 뿌려 2의 양념장에 다시 담갔다가 말려 구워 먹는다.
산가요록 (1459)	산삼병 (山蔘餅:더덕)	더덕은 껍질을 벗기고 결 따라 크게 찢은 뒤 꿀물에 넣고 멍살 가루에 더덕을 손가락 크기로 싸서 시루에 넣고 찌서 먹게 한다.	
	산삼좌반 (山蔘佐飯:더덕좌반)	더덕을 삶아서 껍질을 벗기고 방망이로 두드려서 편을 만들어 간장에 담가 하룻밤을 지낸 뒤 꺼내어 말린다. 고기가루를 기름에 섞어서 발라 굽거나 지져서 쓴다. 밀가루를 넣어도 좋다.	
음식디미방 1598-1680	섭산삼	(4인분) 더덕100g 소금1작은술 찹쌀가루(젖은 것) 1컵 튀김기름 2컵 꿀 1/2컵	1. 더덕은 껍질을 벗기고 길이로 반 갈라서 방망이로 자근자근 두들겨 펴서 소금물에 담아 쓴맛을 우린다. 2. 더덕을 건져 물기를 없앤 후 찹쌀가루를 꼭꼭 누르면서 결 사이에까지 들도록 골고루 묻힌다. 3. 튀김 기름을 160°C로 데워서 찹쌀가루를 묻힌 더덕을 하나씩 넣어 노릇한 색이 나오면 바삭하게 될 때까지 서서히 튀긴다. 4. 튀긴 더덕을 그릇에 담고 꿀을 끼얹거나 먹을 때 찍어서 먹는다.

2) 사찰음식 관련 조리서에 소개된 더덕, 우엉을 이용한 음식레시피

- 사찰음식 관련 조리서에 나타난 더덕을 이용한 음식은 더덕밥, 더덕죽, 더덕жат소스구이, 더덕구이, 더덕양념구이, 더덕장아찌, 녹차더덕무침, 더덕샐러드, 더덕오이무침, 더덕겨자채, 더덕жат즙생채, 더덕밤채소박이 등이 나타남 (Table 8)
- 사찰음식 관련 조리서에는 다양한 더덕을 이용한 음식이 소개되어 있는데 현대인에게 흔하게 나타나는 비만 등의 생활습관병 예방과 치료목적으로 사찰음식은 현대인들이 건강식으로 인식하고 있음
- 더덕은 다른 산채에 비해 단백질, 탄수화물이 많이 들어 있고, 칼슘, 인, 철분 등의 무기질과 비타민 B₁, 비타민 B₂가 풍부한 것으로 알려져 있으며 더덕의 특유의 맛과 향으로 인해 예로부터 여러 가지 조리 방법을 통하여 식용 및 약용으로 널리 이용되고 있고, 한방에서는 폐 기운을 돋워주고 가래를 없애주는 약재로 사용되어 강장, 해열, 거담, 해독 및 배농 등의 질병 치료의 목적으로 사용됨

Table 8. Recipe using Deoduk shown in the cook book related temple food

음식명	재료	조리방법	참고문헌
더덕밥	더덕 300g, 쌀 2컵, 물 1/2컵	<ol style="list-style-type: none"> 1. 더덕은 껍질을 벗긴 후 반을 가르고 소금물에 담갔다가 꺼낸 다음 세로로 가늘게 찢는다. 2. 쌀은 깨끗이 씻어 물에 담가 충분히 불린 뒤 채어 건져 물기를 뺀다. 3. 더덕의 물기를 제거하고 쌀과 잘 섞어 물을 붓고 밥을 짓는다. 	건강 한그릇 채식밥
더덕죽	현미 찹쌀 1컵, 물 8컵, 더덕 100g, 소금약간	<ol style="list-style-type: none"> 1. 현미는 깨끗이 씻어 2~3시간 정도 물에 담가 둔다. 손질한 더덕은 방망이로 두드린 후 잘게 찢는다. 2. 불린 현미는 믹서에 물을 조금 넣고 간다. 현미 간것에 물을 붓고 끓인 후 죽이 거의 다 되었을 때 잘게 찢은 더덕을 넣고 소금으로 간한다. 	선재스님의 사찰음식
더덕잣소스구이	더덕 10뿌리, 잣 2큰술, 참기름 1큰술, 배 1큰술, 소금 1/2큰술	<ol style="list-style-type: none"> 1. 더덕은 껍질을 벗겨 손질한 뒤 반으로 갈라 도마 위에 올려놓고 나무 방망이로 두드리며 펴준다. 2. 잣을 절구에 넣고 가루가 될 정도로 곱게 빻는다. 그릇에 빻은잣, 참기름, 소금을 넣고 거품기를 이용해 한 방향으로 젓는다. 수분이 없으면 잘 저어지지 않으므로 배즙을 조금씩 첨가하며 젓는다. 3. 더덕에 잣소스를 손으로 바르면서 문힌 뒤 잣소스가 더덕에 배도록 30분 정도 재워둔다. 4. 중간 불에 팬을 올린 뒤 더덕을 굽는다. 이때 잣소스를 덧바르면서 구우면 소스가 잘 스며든다. 	열두달 절집 밥상
더덕구이	더덕 200g, 고추장 2큰술, 물 1큰술, 진간장 1큰술, 참기름 1큰술, 통깨 1작은술	<ol style="list-style-type: none"> 1. 더덕은 껍질을 까서 반으로 가른 다음 마른 수건위에 올려놓고 방망이로 두들려서 부드럽게 만든다. 2. 고추장에 진간장을 약간만 붓고 물엿, 참기름, 통깨를 넣고 양념장을 만든다. 3. 더덕에 양념장을 발라 석쇠에 살짝 구워서 상에 낸다.(프라이팬에 구워도 된다.) 	녹차와 채식
더덕양념구이	더덕 200g, 추장 2큰술, 깨 1작은술, 기름 1큰술	<ol style="list-style-type: none"> 1. 더덕은 깨끗이 씻어 껍질을 돌려가며 벗긴다. 마른행주 위에 놓고 방망이로 두들겨 부드럽게 만든다. 2. 팬에 들기름을 두르고 더덕을 굽는다. 구운 더덕에 고추장과 통깨를 넣고 무친 후 다시 한번 굽는다. 찹쌀가루를 무쳐 튀긴 후 꿀이나 고추장에 찍어 먹기도 한다. 	선재스님의 사찰음식

음식명	재료	조리방법	참고문헌
더덕 구이	더덕, 적파프리카, 황파프리카, 미나리, 고추장, 고춧가루, 조청, 생강즙, 배즙, 소금, 다진 잣, 들기름	<ol style="list-style-type: none"> 1. 더덕은 다듬어 얇게 두드린 후 배즙, 소금으로 양념한다. 2. 파프리카는 들기름에 볶고 미나리는 데쳐 소금으로 간한다. 3. 고추장, 고춧가루, 생강즙, 배즙, 조청으로 양념장을 만든다. 4. 구운 더덕에 양념장을 발라 들기름을 두르고 굽는다. 5. 더덕과 파프리카를 미나리로 묶어 준 후 잣을 뿌린다. 	스님의 비밀레시피
더덕장아찌	더덕2kg, 된장500g, 고추장1kg, 조청1/2컵	<ol style="list-style-type: none"> 1. 더덕은 껍질을 벗기고 흐르는 물에 가볍게 씻는다. 물에 담가 씻으면 더덕이 물을 흡수해서 맛과 향이 줄어든다. 2. 더덕은 채반에 담아 벌레에 꾸덕꾸덕하게 말린다. 겨울별에 2일정도 말리면 적당하다. 3. 말린 더덕을 된장에 박아 일주일동안 맛을 들인다. 된장에서 꺼낸 더덕은 된장을 훑은뒤 된장물을 손으로 짜낸다. 더덕을 박았던 된장을 쌈장으로 사용하면 더덕 향이 쌈장의 풍미를 더해준다. 4. 고추장과 조청을 섞어 장아찌 양념장을 만든다. 5. 양념장이 담긴 그릇에 된장에서 건진 더덕을 넣고 잘 버무린 뒤 단지에 꼭꼭 눌러 담는다. 입구를 봉한 뒤 3개월정도 숙성시킨다. 	열두달 절집 밥상
더덕장아찌	더덕400g, 고추장300g, 통깨, 참기름, 설탕	<ol style="list-style-type: none"> 1. 더덕은 껍질을 까서 꾸덕꾸덕하게 말린다. 2. 마른 더덕을 고추장에 켜켜로 넣는다. 	녹차와 채식
더덕된장장아찌	더덕10뿌리, 된장3컵, 조청1컵, 소금2큰술	<ol style="list-style-type: none"> 1. 더덕은 껍질을 벗기고 더덕이 잠길 정도의 물에 소금을 풀어 하룻밤 절인다. 2. 절인 더덕을 잘 씻어 채반에 널어 반나절 정도 말린다. 3. 더덕에 된장 1컵을 고루 버무린 후 밀폐용기에 담고 남은 된장으로 덮는다. 4. 된장 위에 조청을 붓고 1개월 정도 숙성시킨 후 먹는다. 	발효음식 상차림

음식명	재료	조리방법	참고문헌
더덕고추장장아찌	더덕300g, 고추장 (된장) 60g, 설탕, 깨소금, 참기름 적당히	<ol style="list-style-type: none"> 1. 통더덕을 준비하여 껍질을 벗긴 뒤 방망이로 자근자근 두드린다. 2. 더덕을 끓는 소금물에 데쳐 7cm 길이로 잘라 끝을 다듬은 뒤 채반에 펴서 꾸덕꾸덕하게 말린다. 3. 항아리에 고추장(된장)을 깔고 더덕과 고추장(된장)을 켜켜이 넣은 뒤 마지막에 고추장(된장)을 충분히 덮어 3개월 간 숙성시킨다. 4. 더덕에 장물이 배고 맛이 들면 항아리에서 꺼내어 고추장(된장)을 훑어낸 다음 길이대로 찢는다. 	자연의 깊은 맛 장아찌
녹차더덕무침	더덕200g, 녹차3g, 소금1큰술, 설탕1큰술, 깨소금1큰술	<ol style="list-style-type: none"> 1. 더덕은 흠을 깨끗이 씻어 물기를 빼고 껍질을 벗겨낸다. 2. 마른 행주를 깔고 더덕을 방망이로 자근자근 두드려 잘 펴서 물에 담가 쓴맛을 우려낸다. 3. 더덕을 물기가 없이 꼭 짜서 가늘고 길게 찢은 다음 살살 버무려 가면서 양념과 녹차를 넣고 간이 고루 배어들도록 무친다. 	녹차와 채식
더덕샐러드	더덕5뿌리, 상춧잎5장, 당근20g, 적채30g, 셀러리30g, 더덕잔뿌리20g, 배1/4개, 호두1개, 땅콩1큰술, 올리브유1큰술, 잣1/2큰술, 소금1작은술	<ol style="list-style-type: none"> 1. 더덕은 반으로 갈라 껍질을 벗기고 잔뿌리는 떼어서 따로 남겨둔다. 더덕을 방망이로 두들겨 넓게 편 뒤 세로결대로 잘게 찢는다. 2. 상추는 손으로 찢고, 당근, 적채, 셀러리는 5cm 길이로 곱게 채 썬다. 3. 믹서에 더덕잔뿌리, 배, 호두, 땅콩, 잣, 올리브유, 소금을 넣고 곱게 간다. 4. 잘게 찢은 더덕에 드레싱을 약간 넣고 조물락 조물락 무쳐 강한 맛을 부드럽게 만든다. 5. 샐러드볼에 드레싱에 살짝 무친 더덕과 채소를 넣고 드레싱을 더 뿌려 고루 버무린 뒤 그릇에 담아 낸다. 	열두달 절집 밥상
더덕오이무침	고추장, 배즙, 참기름, 소금, 깨소금	<ol style="list-style-type: none"> 1. 더덕은 두드려서 찢어지듯이 부드럽게 만든다. 2. 다듬은 더덕에 배즙1/2, 참기름, 깨소금을 넣고 고루 섞는다. 3. 오이는 반으로 갈라 어슷썰어 소금에 절인 다음 팬에 볶는다. 4. 고추장에 남은 배즙을 넣고 더덕과 버무린 후 접시에 담는다. 	스님의 비밀레시피

음식명	재료	조리방법	참고문헌
더덕겨 자채	더덕, 겨자, 소금, 식초, 꿀(배즙), 흑깨	<ol style="list-style-type: none"> 1. 더덕은 껍질을 벗긴 후 두드려 잘게 찢어 놓는다. 2. 찢은 더덕은 식초물에 5분 정도 담가 두었다가 건진다. 3. 겨자, 소금, 꿀(배즙)을 섞어 소스를 만든 후 더덕에 넣고 버무린다. 4. 그릇에 담고 흑깨를 뿌린다. 	스님의 비밀레시피
더덕잣 즙생채	더덕400g, 배 1/2개, 잣4큰술, 소금약간, 흑임자약간	<ol style="list-style-type: none"> 1. 더덕은 껍질을 돌려가며 벗기고 마른 행주 위에 놓고 방망이로 자근자근 두드린 후 잘게 찢는다. 2. 배는 강판에 간다. 믹서에 배즙과 잣을 넣고 간 후 소금으로 간한다. 잘게 찢은 더덕에 잣즙 소스(배1/2개, 잣4큰술, 소금약간) 골고루 버무린 후 흑임자를 뿌려낸다. 	선재스님의 사찰음식
더덕밤 채소박 이	더덕10뿌리, 깎밤8개, 대추3개, 불린석이버섯2장, 통잣2큰술, 쪽파5대, 더덕절임물(굵은소금2큰술, 물2컵), 김치양념(고춧가루1/2컵, 다시마우린물4큰술, 찹쌀풀3큰술, 멸치액젓3큰술, 굵은소금1큰술, 다진마늘2큰술, 생강즙1작은술, 통깨1큰술, 매실청약간)	<ol style="list-style-type: none"> 1. 더덕은 껍질을 살살 돌려 가며 벗겨 소금물에 3~4시간 절인다. 2. 더덕이 부드러워지면 물기를 없애고 방망이로 자근자근 두들긴 후 가운데에 칼집을 넣어 준다. 3. 밤과 대추, 불린 석이버섯은 곱게 채 썰고 쪽파는 송송썬다. 4. 잣은 재빨리 씻어 물기를 없애고 고깔을 제거한다. 5. 고춧가루를 다시마 우린 물과 찹쌀풀에 불린 후 나머지 김치 양념 재료와 섞어 김치 양념을 만든다. 6. 맛이 어우러진 양념에 준비한 밤채, 대추채, 석이버섯, 쪽파를 넣고 고루 버무린다. 7. 더덕의 칼집을 벌려 소를 채워 넣고 남은 양념을 더덕의 몸에 버무린 후 향아리나 밀폐용기에 눌러 담는다. 8. 냉장고에 넣어 두고 바로 먹거나 숙성시켜 먹는다. 	발효음식 상차림

- 웰빙음식으로 알려진 사찰음식은 거친음식을 많이 이용하고 있는데 특히 우영을 이용한 다양한 음식이 소개되고 있음
- 우영을 이용한 사찰음식 관련 조리서에는 우영탕, 우영두부김밥, 우영볶음, 우영조림, 우영양념찜, 우영고추장무침, 우영양념구이, 우영찹쌀구이, 우영칩, 우영피망튀김, 우영잡채, 우영김치 등이 나타남 (Table 9)

Table 9. Recipe using Woo-eung shown in the cook book related temple food

음식명	재료	조리방법	참고문헌
우영탕	<p>우 영 2 뿌 리 , 표 고 버 섯 5 개 , 무 50g, 애 호 박 30g, 청 양 고 추 1개, 홍 고 추 1 개, 들 기 림 3 큰 술, 맛 국 물(표 고 버 섯 10 개, 다 시 마 4 장, 집 간 장 3 큰 술, 물 4 컵) 4 1/2 컵, 쌀 뜨 물 적 당 히, 집 간 장 적 당 히, 고 춧 가 루 1 큰 술, 들 깨 가 루 1 큰 술</p>	<p>1. 우영은 칼로 살살 긁어 껍질을 벗겨 어슷썰기 한 뒤 쌀뜨물에 담가둔다. 2. 표고버섯은 저며 썰고, 무는 사방 2.5cm 크기의 정사각형으로 도톰하게 썬다. 애호박은 반달 썰기, 청양고추와 홍고추는 어슷 썰기한다. 3. 고춧가루, 들깨가루를 맛국물에 풀어 탕 양념을 만든다. 냄비에 들기름을 두르고 우영, 표고버섯, 무를 넣고 볶다가 맛국물을 붓는다. 국물이 끓으면 애호박, 청양고추, 홍고추를 넣고 탕 양념을 풀어 한 번 더 끓인다. 간은 집간장으로 맞춘다. *맛국물 1. 마른표고버섯은 먼지만 털어낸다는 느낌으로 흐르는 물에 한 번 행구고, 다시마는 물에 씻지 않고 마른 수건으로 먼지만 닦아낸다. 2. 냄비에 물을 붓고 마른 표고버섯과 다시마를 넣어 센 불에서 7분간 끓이다가 건더기를 건져내고 집간장을 넣고 한 번 더 끓여 끓어오르면 불을 끈다.</p>	열두달 절집 밥상
우영탕	<p>우 영 1 개, 표 고 버 섯 5 장, 두 부 1/2 모, 붉 은 고 추 1 개, 소 금 1/2 큰 술, 집 간 장 1/2 큰 술, 들 깨 가 루 반 컵</p>	<p>1. 우영은 씻어 껍질을 벗겨서 4cm길이로 토막 내어 3~4cm두께로 썬다. 2. 썬 우영은 맹물에 식초를 약간 탄 물에 잠시 담가둔다. 3. 표고버섯은 미리 불려서 손으로 먹기 좋은 크기로 찢어 놓는다. 4. 두부를 1cm두께로 썰어 소금을 약간 뿌려서 프라이팬에 노릇노릇하게 구워 식으면 한 입에 먹기 좋은 크기로 썬다. 5. 냄비를 달구어 들기름을 두르고 표고버섯과 우영을 볶는다. 센 불에 볶다가 거의 익을 때까지 중간불로 볶는다.(물기가 없으면 물을 조금씩 넣으면서 볶는다.) 6. 우영이 거의 다 익으면 표고버섯물을 자작하게 붓고 중간 불에서 끓인다. 7. 한소끔 끓으면 들깨를 걸러서 6에 넣고 어느 정도 끓으면 집간장과 소금으로 간을 하고 마지막으로 두부와 붉은 고추를 넣는다.</p>	녹차와 채식

음식명	재료	조리방법	참고문헌
우영탕	우영1대, 표고버섯 10장, 두부1/4모, 홍고추1개, 다시마(10cm)1장, 표고버섯 불린물2컵, 들깨즙1컵, 들기름 약간, 소금 약간	<ol style="list-style-type: none"> 1. 우영은 깨끗이 씻어 껍을 벗긴 후 3cm길이로 토막내어 3~4mm두께로 썬다. 표고버섯은 재빨리 씻어 물을 자작하게 부어 불으면 건져 먹기 좋은 크기로 손으로 찢는다. 표고버섯 불린 물은 따로 둔다. 2. 두부는 0.5cm 두께로 썰어 소금을 약간 뿌려 노릇노릇하게 구워 식으면 먹기 좋은 크기로 썬다. 홍고추는 손으로 비벼 꼭지를 떼서 씨만 털어내고 어슷썬다. 3. 잘 달군 냄비에 들기름을 두르고 표고버섯, 우영을 넣어 우영이 투명해질 때까지 충분히 볶다가 표고버섯 불린 물을 붓는다. 물을 많이 부으면 기름이 뜨므로 조금만 붓고 국물이 거의 졸아들 때까지 끓인다. 4. 뽀얗게 국물이 우러나면 나머지 표고버섯 불린 물과 다시마를 넣고 우영이 무를 때까지 푹 끓인 후 두부와 들깨즙을 넣는다. 들깨즙은 넘치기 쉬우므로 처음부터 큰 냄비를 사용해야 하며, 뚜껑을 연 채로 끓는 것을 지켜봐야 한다. 마지막으로 소금간한 후 한소끔 끓으면 어슷썬 홍고추를 넣고 불을 끈다. 다시마는 꺼내 적당한 크기로 썰어 넣거나, 건져 조림을 만든다. 	선재스님의 사찰음식
우영두부김밥	쌀3컵, 다시마(5cm)2장, 김10장, 두부1모, 우영1대, 당근1개, 오이1개, 시금치1단, 무장아찌 1/4개, 포도씨유2컵, 들기름2큰술, 집간장1큰술, 조청2큰술, 참기름2큰술, 소금약간, 통깨1큰술	<ol style="list-style-type: none"> 1. 두부는 굵고 길게 썰어 물기를 제거하고 노릇하게 두 번 튀긴다. 2. 채썬 우영은 들기름을 두르고 투명해질 때까지 볶다가 집간장과 조청을 넣어 조린다. 우영이 조려지면 우영은 건지고 팬에 집간장과 조청을 더 넣은 후 튀긴 두부를 넣어 조린다. 3. 당근은 채 썰고 오이는 길쭉하게 썰어 팬에 기름을 두르고 소금간 하여 살짝 볶는다. 4. 시금치는 끓는 물에 데친 뒤 찬물에 헹궈 소금, 참기름을 넣어 무치고, 무장아찌는 곱게 채 썰어 준비한다. 5. 쌀에 다시마를 넣고 밥을 지어 소금, 참기름, 통깨로 간을 해서 골고루 버무린 뒤 김 위에 얇게 펴고 두부를 놓고 채소를 듬뿍 넣어 김밥을 찐다. 	선재스님의 이야기로 버무린 사찰음식

음식명	재료	조리방법	참고문헌
우영볶음	우영1대, 들기름2큰술, 집간장1큰술, 조청2큰술	<ol style="list-style-type: none"> 1. 우영은 깨끗하게 씻어서 칼등으로 살살 껍질을 벗겨 연필 깎듯이 돌려 깎는다. 2. 팬에 들기름을 두르고 우영을 넣어 노릇노릇해질 때까지 볶는다. 3. 우영이 노릇하게 볶아지면 집간장과 조청을 넣고 윤기가 나게 조려준다. 	선재스님의 이야기로 버무린 사찰음식
우영조림	우영, 콩기름, 채수, 조림간장, 조청, 통깨	<ol style="list-style-type: none"> 1. 우영은 껍질을 벗겨 채썰거나 어슷썰기한다. 2. 팬을 달군 후 콩기름을 두르고 우영을 볶다가 채수, 조림간장, 조청을 넣고 조린다. 3. 우영이 투명해지고 아삭하게 익으면 불을 끄고 통깨를 뿌린다. 	스님의 비밀레시피
우영조림	우영200g, 진간장3큰술, 물엿2큰술, 통깨1큰술, 설탕1큰술, 식용유1큰술	<ol style="list-style-type: none"> 1. 우영은 껍질을 깨끗이 벗겨 5~6cm길이를 얇게 썰어 식초를 탄 물에 담근다. 2. 검은 물이 빠진 우영을 달구어진 프라이팬에 식용유를 넣고 살짝 볶는다. 3. 우영 색깔이 투명해진다 싶을 때 진간장, 물엿, 식용유를 넣고 약한 불에 서서히 졸인다. 4. 국물이 거의 없어질 때까지 졸이다가 설탕을 넣고 다시 번 살짝 졸인다. 5. 불을 끈 다음 통깨를 넣는다. 	녹차와 채식
우영양념찜	우영2개, 고춧가루1큰술, 고추장1큰술, 설탕1큰술, 진간장2큰술, 물엿2큰술, 깨소금1큰술, 참기름1큰술	<ol style="list-style-type: none"> 1. 우영은 껍질을 벗겨 반으로 갈라 찜기에 넣어 찜는다. 2. 너무 많이 익지 않도록 주의하며 다 찜진 우영은 도마에 펴놓은 다음 칼등으로 두드려 놓는다. 3. 진간장에 위의 양념을 다 넣어 양념장을 만든다.(너무 짜지 않게 한다.) 4. 두드려서 얇게 만들어 놓은 우영에 양념장을 펴서 바른다. 5. 양념장 바른 우영을 프라이팬에 살짝 구워 놓는다. 	녹차와 채식
우영고추장무침	우영1대, 고추장2큰술, 물2작은술, 참기름1/2큰술, 통깨약간	<ol style="list-style-type: none"> 1. 우영은 씻어 칼등으로 껍질을 벗긴 후 5~6cm길이를 곱게 채 썰어 소금물에 살짝 데쳐 소쿠리에 건져 물기를 뺀다. 2. 양념장(고추장2큰술, 물2작은술, 참기름1/2큰술, 통깨약간)을 만든 후 채 썬 우영에 버무려 낸다. 초고추장에 무쳐도 된다. 	선재스님의 사찰음식

음식명	재료	조리방법	참고문헌
우영양념구이	우영2대, 들기름약간, 집간장3큰술, 고춧가루1작은술, 통깨1작은술, 다진청고추1큰술, 다진홍고추1큰술	<ol style="list-style-type: none"> 1. 우영은 껍질을 벗겨 5cm길이로 잘라 반으로 가른다. 2. 김이 오른 찜통에 우영을 넣고 부드럽게 찐 후 반으로 자른 면이 위로 오게 도마 위에 놓고 방망이로 두드려 넓적하게 편다. 찜통에 남은 물에 집간장, 고춧가루, 통깨, 청고추, 홍고추를 넣고 양념장을 만든다. 3. 달궜진 팬에 들기름을 두르고 우영에 양념장을 발라준다. 양념이 스며들 정도로만 살짝 굽는다. 불이 세면 양념이 탈 수 있으므로 주의한다. 	선재스님의 사찰음식
우영찜쌀구이	우영2대, 찹쌀가루1컵, 소금약간, 식용유약간, 집간장3큰술, 풋고추2개, 흑임자1/2큰술	<ol style="list-style-type: none"> 1. 우영은 씻어 껍질을 벗기고 5cm길이로 토막내 반으로 썬다. 풋고추는 맵지 않은 것으로 골라 양 손바닥사이에 놓고 비벼 반으로 갈라 씨를 털고 다진다. 2. 우영을 김이 오른 찜통에 넣고 약한 불에서 약간 설렁거릴 정도로 찐다. 이때 찜통에 물이 적어야 우영이 맛있다. 찐 우영은 반으로 자른 쪽이 위로 가게 도마 위에 놓고 안쪽부터 방망이로 두들겨 넓적하게 편다. 3. 찹쌀가루에 소금과 물을 넣고 되직하게 반죽한다. 이때 찜통에 남은 물을 사용하면 더 맛있다. 4. 팬이 달궜지면 식용유를 두르고 2의 우영에 찹쌀반죽을 앞뒤로 문혀 노릇노릇하게 부친다. 분량의 재료를 섞어 양념장을 만들어 우영찜쌀구이에 뿌린 후 접식에 담아낸다. 	선재스님의 사찰음식
우영칩	우영100g, 식용유 적당히	<ol style="list-style-type: none"> 1. 우영 껍질을 벗겨 길게 저며서 물에 20분 정도 담가둔다. 우영을 물에서 건져 마른수건으로 닦아준다. 2. 180도의 기름에 우영을 넣고 1분정도 바삭 튀긴다. 	열두달 절집 밥상
우영피망튀김	우영1/2개, 청피망1개, 홍피망1개, 녹말가루2큰술, 밀가루1컵, 물, 소금, 간장, 식초	<ol style="list-style-type: none"> 1. 우영은 곱게 채 썰어 물에 잠깐 담가 놓았다가 소쿠리에 건져 놓는다. 2. 피망도 곱게 채 썬다. 3. 밀가루, 녹말가루, 소금, 물을 섞어 반죽을 한다. 여기에 피망, 우영을 넣는다. 4. 팬에 튀김 기름이 끓으면 3의 재료를 조금씩 떼어 넣어 튀겨낸다. 5. 취향에 맞는 식초간장을 만들어 곁들여 낸다. 	녹차와 채식

음식명	재료	조리방법	참고문헌
우영잡채	당면300g, 우영2대, 풋고추5개, 들기름3큰술, 진간장4큰술, 물엿1큰술, 다시마국물1컵, 흑설탕2큰술, 식용유약간, 참기름약간, 흑임자약간, 후춧가루약간	<ol style="list-style-type: none"> 1. 당면은 찬물에 가지런히 놓아 충분히 불려 적당한 길이로 자른다. 2. 우영은 물에 씻은 후 칼등으로 껍질을 벗겨 6cm길이로 곱게 채썬다. 풋고추는 반으로 갈라 채썰어 잘 달군 팬에 기름 두르고 살짝 볶아 식힌다. 3. 잘 달궈진 두꺼운 팬에 들기름을 넉넉히 두른다. 들기름과 식용유를 반씩 섞어도되는데 우영양의 1/5정도가 될 정도로 넉넉히 붓는다. 기름이 뜨거워지면 채썬 우영을 넣고 기름이 골고루 배도록 젓가락으로 헤쳐가며 충분히 볶는다. 4. 우영을 볶은 팬에 다시마 국물, 진간장 2큰술을 넣어 끓인다. 국물이 끓으면 흑설탕, 불린 당면 순으로 넣어 젓가락으로 골고루 저어가며 국물이 완전히 졸아들때까지 볶는다. 5. 조리된 우영을 넣고 살짝 볶은 후 불에서 내려 한김 나가면 참기름, 흑임자, 후춧가루, 풋고추 볶은 것을 넣고 잘 섞는다. 	선재스님의 사찰음식
우영김치	우영5대, 쪽파20대, 절임물(소금1컵, 물10컵), 양념재료(멸치액젓1컵, 조청1/2컵, 밀가루풀1컵, 고춧가루2/3컵, 다진마늘5큰술, 다진생강1큰술, 통깨2큰술)	<ol style="list-style-type: none"> 1. 우영은 5cm 길이로 자르고 반을 갈라 0.3cm 두께로 채 썬다. 2. 채 썬 우영을 10%의 소금물에 1시간 정도 담가 둔다. 3. 쪽파는 잘 씻어 5cm 길이로 썬다. 4. 고춧가루는 밀가루풀에 불렸다가 나머지 양념과 섞어 김치 양념을 만든다. 5. 1의 우영을 잘 씻어 헹군 후 양념에 버무린다. 쪽파를 넣고 고루 섞는다. 	발효음식상차림

2. 더덕, 우영을 이용한 음식 레시피 표준화

- 고조리서와 사찰음식 관련 조리서에 수록된 더덕, 우영을 이용한 음식을 참고로 하여 현대인의 입맛에 맞는 더덕을 이용한 음식 6 가지, 우영을 이용한 음식 6 가지를 선정함 (Table 10)

Table 10. The food using Deoduk and Woo-eung

	Food
Food using Deoduk	더덕밥 (Deoduk bap) 더덕 설기떡 (Deoduk seolgidduk) 섭산삼 Seopsansam (Fried Deoduk with glutinous rice flour) 더덕 강정 (Deoduk gangjeong) 더덕 고추장 구이 (Roasted Deoduk with red pepper paste) 더덕 잣즙생채 (Deoduk pine nut juice salad)
Food using Woo-eung	우영 버섯밥 (Woo-eung mushroom bap) 우영 찹쌀 구이 (Roasted Woo-eung with glutinous rice flour) 우영 잡채 (Woo-eung Japchae) 우영 고추장 구이 (Roasted Woo-eung with red pepper paste) 우영채소 튀김 (Fried Woo-eung with mixed vegetable) 우영칩 (Woo-eung chip)

- 더덕을 이용한 음식은 더덕밥, 더덕 설기떡, 섭산삼, 더덕강정, 더덕 고추장 구이, 더덕 잣즙생채를 선정하였음
- 더덕밥은 사찰음식 관련 레시피를 활용하여 더덕은 껍질을 벗긴 후 반을 가르고 소금물에 담갔다가 꺼낸 다음 세로로 가늘게 찢어 쌀과 섞어 물을 붓고 밥을 하였으나 더덕의 질감이 너무 부드러워 더덕을 밥을 뜸들일 때 넣고 음식의 색이 전체적으로 하얀색이므로 당근과 표고버섯을 가하여 다양한 색을 나타내고자함
- 더덕밥의 새로운 레시피는 다시마와 표고버섯을 가하여 천연조미료로 더덕밥에 구수한 맛을 가하였고 당근과 더덕은 각뚝 썰기를 하고 뜸을 들일 때 넣어서 더덕의 씹히는 맛을 살렸음

- 수운잡방에 나타난 ‘산삼병(더덕 떡)은 껍질을 벗기고 결 따라 크게 찢은 뒤 꿀물에 넣고 멍쌀가루에 더덕을 손가락 크기로 싸서 시루에 넣고 찌서 먹게 한다’고 기록되어 있으나 현대인이 먹기 좋은 백설기 형태의 더덕 설기떡을 개발하고자 하였음
- 더덕 설기떡은 더덕을 잘게 찢어 체에 내린 쌀가루와 섞어 백설기를 만들었으나 찌는 과정에 더덕의 질감이 너무 부드러워져서 대추채를 첨가하여 더덕 설기떡을 만들어 평가한 결과 더덕과 대추의 향이 어우러지고 대추의 씹히는 맛이 추가된 더덕 설기떡을 개발하였음
- 음식디미방에 나타난 섭산삼은 ‘더덕은 껍질을 벗기고 길이로 반 갈라서 방망이로 두들겨 펴서 소금물에 담아 쓴맛을 우린 후 물기를 제거하고 찹쌀가루를 꺾꺾 누르면서 결 사이에까지 들도록 골고루 문혀서 튀겨낸다’고 함
- 섭산삼을 만들 때 더덕을 찹쌀가루를 문혀서 튀긴 것보다 묽은 튀김옷(찹쌀과 물을 동량)을 입혀 튀긴 것이 튀긴 후 질감이 더 바삭거리며 찹쌀 튀김옷을 입히기로 함
- 더덕강정은 1차로 더덕에 녹말가루 튀김옷을 입혀 튀겨내었으나 딱딱하고 빨리 녹해지므로 2차 실험에서 찹쌀가루 튀김옷으로 튀긴 후 평가한 결과 부드럽고 바삭함이 오래 유지되었음
- 더덕강정소스는 고추장의 비율을 달리하여 최적의 고추장, 간장, 식초, 설탕의 비율을 결정함
- 우영을 이용한 음식은 우영 버섯밥, 우영 찹쌀 구이, 우영 잡채, 우영 고추장 구이, 우영채소 튀김, 우영칩을 선정하였음
- 우영 버섯밥은 사찰음식 관련 조리서에 나타난 우영밥을 참고하여 우영채에 표고버섯과 새송이버섯 넣고 볶은 후 불린 쌀을 넣고 다시마 물을 가하여 구수한 맛을 주었음
- 우영 버섯밥을 버섯에 수분이 많으므로 밥을 할 때 물의 양을 줄이는 것이 중요함
- 우영잡채는 우영채에 다양한 버섯과 빨강, 노랑 파프리카, 피망, 당근, 양파채를 넣어서 맛과 시각적인 효과를 증가시키고 당면을 가하여 현대인의 입맛에 어울리도록함
- 우영채소 튀김은 1차로 우영, 피망, 양파, 당근, 표고버섯을 채 썰어 밀가루와 갈

이 반죽하여 튀겨서 평가한 결과 피망의 색과 질감이 좋지 않아서 2차 실험에서 피망대신 청고추를 사용하고 밀가루 반죽의 양을 최소화하여 우영과 채소의 색과 질감을 살렸음

- 우영칩은 1차 실험에서 우영칩을 튀기기 전의 전처리로 자른 우영을 찜기에 2분간 찐 후 튀긴 칩과 생우영을 튀긴 칩을 비교한 결과 생우영을 튀긴 칩이 더 바삭 거렸고 2차 실험에서는 우영의 두께 (0.5, 1, 1.5 mm)를 달리하여 자른 우영을 튀긴 결과 두께를 얇게 (0.5mm)하여 튀긴 우영칩이 가장 바삭한 질감을 나타내었음
- 더덕과 우영을 이용한 12 가지 음식의 레시피 표준화를 4 인분을 기준으로 하였고 1 인 분량과 영양성분이 제시된 표준레시피를 국문과 영문으로 표기하였음

더덕밥



재 료 4인분 분량 840g

찹쌀 160g, 멥쌀 160g, 더덕 200g, 불린 표고버섯 60g, 당근 40g, 참기름 2ts,
다시마 우린 물
양념장 (청·홍고추 각 1개, 간장 2Ts, 참기름 1Ts, 통깨 1Ts)

만드는 법

- ① 쌀을 씻어서 불려 놓고 다시마 우린 물을 준비한다.
- ② 불린 표고버섯은 꼭지를 떼고 곱게 채썬다.
- ③ 당근 0.5x0.5x0.5cm 썰어 준비한다.
- ④ 더덕은 껍질을 벗기고 1x1x1cm 각둑 썰어 준비한다.
- ⑤ ②에 참기름 2 ts을 넣고 다시마 우린 물을 약간 부으면서 볶는다.
- ⑥ 볶은 버섯을 밑에 깔고 불린 쌀을 위에 얹고 다시마 우린 물을 쌀이 살짝 잠길 정도로 붓고 끓인다.
- ⑦ 밥이 끓으면 잘 섞어준 후 불을 줄이고 ③과 ④을 얹고 뜸을 들인다.
- ⑧ 양념장을 곁들여 낸다.



영양성분 - 1인분 분량 210g

에너지(Kcal)	탄수화물(g)	단백질(g)	지방(g)	비타민A(R.E.)	비타민B1(mg)
383.65	82.18	9.94	2.10	83.50	0.37
비타민B2(mg)	비타민C(mg)	칼슘(mg)	철분(mg)	나트륨(mg)	콜레스테롤(mg)
0.34	6.09	33.75	2.16	11.95	0

더덕 설기떡



재 료 4인분 분량 1120g(8개)

쌀가루 400g, 더덕 100g, 대추 24g, 꿀 1½Ts, 소금 약간

만드는 법

- ① 쌀은 깨끗이 씻어 12시간 물에 불린 뒤 체에 걸러 물기를 제거한 후 가루로 만들어 꿀, 소금을 넣고 체에 내린다.
- ② 더덕은 껍질을 벗기고 길이로 반 갈라서 방망이고 두들겨 퍼 놓는다.
- ③ ②를 소금물에 담아 쓴맛을 우린 후 잘게 찢는다.
- ④ 대추는 깨끗이 씻어 씨를 제거하고 곱게 채썬다.
- ⑤ ①에 꿀과 소금을 첨가한 뒤 체에 내린 후 ③과 ④를 섞는다.
- ⑥ 찜기에 넣고 약 15분간 찜 후 뜸을 들인다.



영양성분 - 1인분 분량 280g(2개)

에너지(Kcal)	탄수화물(g)	단백질(g)	지방(g)	비타민A(R.E.)	비타민B1(mg)
421.22	92.48	7.85	1.21	0	0.24
비타민B2(mg)	비타민C(mg)	칼슘(mg)	철분(mg)	나트륨(mg)	콜레스테롤(mg)
0.10	3.58	34.84	1.39	2.84	0

섭산삼



재 료 4인분 분량 280g(8개)

더덕 280g, 소금 1ts, 찹쌀가루 1C, 물 1C, 식용유 2C, 꿀 ½C

만드는 법

- ① 더덕은 껍질을 벗기고 길이로 반 갈라서 방망이로 두들겨 펴서 소금물에 담가 쓴맛을 우린다.
- ② 더덕을 건져 물기를 없앤 후 찹쌀반죽(찹쌀가루 1C, 물 1C)을 골고루 묻힌다.
- ③ 180°C로 가열한 기름에 ②를 넣고 바삭하게 튀겨낸다.
- ④ 꿀을 곁들여 낸다.



영양성분 - 1인분 분량 70g(2개)

에너지(Kcal)	탄수화물(g)	단백질(g)	지방(g)	비타민A(R.E.)	비타민B1(mg)
349.81	57.05	6.18	10.59	0	0.19
비타민B2(mg)	비타민C(mg)	칼슘(mg)	철분(mg)	나트륨(mg)	콜레스테롤(mg)
0.12	7.70	21.52	2.02	337.78	0

더덕 강정



재 료 4인분 분량 520g(16개)

더덕 280g, 찹쌀가루 1C, 물 1C

고추장 소스 (고추장 3Ts, 간장 1 ½Ts, 물 5Ts, 식초 3Ts, 설탕 4Ts)

만드는 법

- ① 더덕은 껍질을 벗기고 길이로 반 갈라서 1x3cm 직사각형 모양으로 썰어 놓는다.
- ② 더덕을 건져 물기를 없앤 후 찹쌀반죽(찹쌀가루 1C, 물 1C)을 골고루 묻힌다.
- ③ 튀김 기름에 ②를 넣고 바삭하게 튀겨 담아 놓는다.
- ④ 고추장, 간장, 물, 식초, 설탕을 넣고 고추장 소스를 만든다.
- ⑤ ④에 ③을 넣고 조린다.



영양성분 - 1인분 분량 130g(4개)

에너지(Kcal)	탄수화물(g)	단백질(g)	지방(g)	비타민A(R.E.)	비타민B1(mg)
482.05	76.59	7.22	15.97	36.34	0.22
비타민B2(mg)	비타민C(mg)	칼슘(mg)	철분(mg)	나트륨(mg)	콜레스테롤(mg)
0.16	7.70	28.81	2.37	523.54	0

더덕 고추장 구이



재 료 4인분 분량 320g(8개)

더덕 280g

고추장 양념 (고춧가루 1Ts, 고추장 2Ts, 깨소금 2Ts, 진간장 1Ts, 올리고당 2Ts, 참기름 1ts)

만드는 법

- ① 더덕은 껍질을 벗기고 5cm길이로 토막 내 반으로 썬다.
- ② 더덕을 도마에 놓고 방망이로 두드린다.
- ③ 고추장 양념 분량을 넣고 고추장 양념을 만든 후 한쪽 면에 양념장을 발라 층으로 재운다.
- ④ 프라이팬에 ③을 넣고 굽는다.



영양성분 - 1인분 분량 80g(2개)

에너지(Kcal)	탄수화물(g)	단백질(g)	지방(g)	비타민A(R.E.)	비타민B1(mg)
155.28	25.27	4.64	6.19	153.23	0.18
비타민B2(mg)	비타민C(mg)	칼슘(mg)	철분(mg)	나트륨(mg)	콜레스테롤(mg)
0.15	8.90	115.46	92.66	349.08	0.00

더덕 잣즙생채



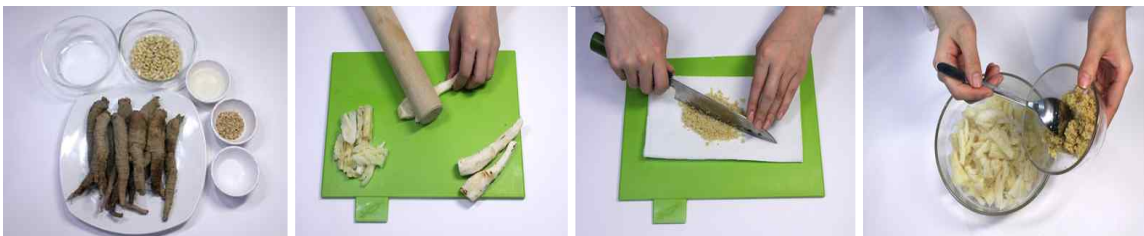
재 료 4인분 분량 320g

더덕 240g

잣즙 소스 (잣 4Ts, 식초 1 $\frac{1}{3}$ Ts, 설탕 1 $\frac{1}{3}$ Ts, 깨소금 1Ts, 소금 $\frac{1}{4}$ Ts)

만드는 법

- ① 더덕은 껍질을 벗기고 방망이로 두드린 후 찢는다.
- ② 더덕을 물에 5분간 담근 후 건져놓는다.
- ③ 잣즙 소스 양념 분량을 넣고 잣즙 소스를 만든다.
- ④ ③을 더덕에 넣고 골고루 버무린다.



영양성분 - 1인분 분량 80g

에너지(Kcal)	탄수화물(g)	단백질(g)	지방(g)	비타민A(R.E.)	비타민B1(mg)
185.48	19.99	4.73	11.41	0	0.2
비타민B2(mg)	비타민C(mg)	칼슘(mg)	철분(mg)	나트륨(mg)	콜레스테롤(mg)
0.08	6.60	64.04	4.02	317.42	0

우영 버섯밥



재 료 4인분 분량 720g

찰쌀 160g, 멥쌀 160g, 우영 100g, 불린 표고버섯 60g, 새송이 60g, 참기름 2ts,
다시마 우린 물
양념장 (청·홍고추 각 1개, 간장 2Ts, 참기름 1Ts, 통깨 1Ts)

만드는 법

- ① 쌀을 씻어서 불려 놓고 다시마 우린 물을 준비한다.
- ② 불린 표고버섯은 꼭지를 떼고 곱게 채 썰고, 새송이도 채 썬다.
- ③ 우영은 씻어 껍질을 칼등으로 벗겨서 5cm길이 사선으로 곱게 채 썬다.
- ④ ②와 ③에 참기름 2ts을 넣고 볶는다.
(다시마 물을 약간 넣고 기름이 겹돌지 않을 정도로 볶는다.)
- ⑤ 볶은 버섯과 우영을 밑에 깔고 불린 쌀을 위에 얹어 밥을 짓는다.
(다시마 물은 쌀이 살짝 잠길 정도로 넣고 중간에 2번 정도 뒤집어준다.)
- ⑥ 분량의 재료를 섞어 양념장을 만들고 곁들여 낸다.



영양성분 - 1인분 분량 180g

에너지(Kcal)	탄수화물(g)	단백질(g)	지방(g)	비타민A(R.E.)	비타민B1(mg)
342.92	69.36	7.49	4.19	0	0.25
비타민B2(mg)	비타민C(mg)	칼슘(mg)	철분(mg)	나트륨(mg)	콜레스테롤(mg)
0.13	0.75	30.57	1.28	3.83	0

우영 찹쌀 구이



재 료 4인분 분량 280g(16개)

우영 280g, 찹쌀가루 ¾C, 물 1C, 소금약간, 식용유, 유자청

만드는 법

- ① 우영은 씻어 껍질을 칼등으로 벗기고 5cm길이로 토막 내 반으로 썬다.
- ② 우영을 김이 오른 찜통에 넣고 10분간 찜다.
- ③ 찜 우영은 반으로 자른 쪽이 위로 가게 도마 위에 놓고 방망이로 두들겨 넓적하게 편다.
- ④ 찹쌀가루에 물과 약간의 소금을 넣고 반죽한다
- ⑤ 팬이 달궈지면 식용유를 두르고 ②의 우영에 찹쌀반죽을 앞뒤로 묻혀 노릇노릇하게 부친다.
- ⑥ 유자청을 곁들여 담아낸다.



영양성분 - 1인분 분량 70g(4개)

에너지(Kcal)	탄수화물(g)	단백질(g)	지방(g)	비타민A(R.E.)	비타민B1(mg)
261.65	43.4	5.28	7.07	0	0.09
비타민B2(mg)	비타민C(mg)	칼슘(mg)	철분(mg)	나트륨(mg)	콜레스테롤(mg)
0.07	2.10	42.41	1.36	4.32	0

우엉 잡채



재 료 4인분 분량 960g

우엉 160g, 당면 120g, 불린 표고버섯 60g, 목이버섯 60g, 느타리버섯 40g, 빨강 파프리카 40g, 노랑 파프리카 40g, 피망 40g, 양파 60g, 당근 60g, 식용유 2Ts

우엉 양념장 (다시마 우린 물 1 ½Cup, 간장 1½Ts, 올리고당 2Ts, 참기름 2ts,)

전체 양념장 (간장 2Ts, 올리고당 1½Ts, 마늘 1Ts, 참기름 1Ts)

만드는 법

- ① 우엉은 씻어 껍질을 칼등으로 벗기고 손가락 길이로 채썰어 소금물에 담근다.
- ② 표고, 목이, 느타리버섯, 파프리카, 피망, 양파, 당근 모두 채썰어 놓는다.
- ③ 팬에 식용유를 두르고 채 썰어 놓은 ②를 각각 볶는다.
- ④ 냄비에 우엉 양념장과 우엉을 넣고 조린다.
- ⑤ 당면을 삶아 찬물에 헹구어 놓는다.
- ⑥ ②③④⑤섞어 냄비에 전체 양념장을 넣고 볶은 후 깨를 넣어 마무리한다.



영양성분 - 1인분 분량 240g

에너지(Kcal)	탄수화물(g)	단백질(g)	지방(g)	비타민A(R.E.)	비타민B1(mg)
300.21	51.18	3.85	14.30	185.26	0.11
비타민B2(mg)	비타민C(mg)	칼슘(mg)	철분(mg)	나트륨(mg)	콜레스테롤(mg)
0.16	35.30	56.53	3.12	592.01	0

우엉 고추장 구이



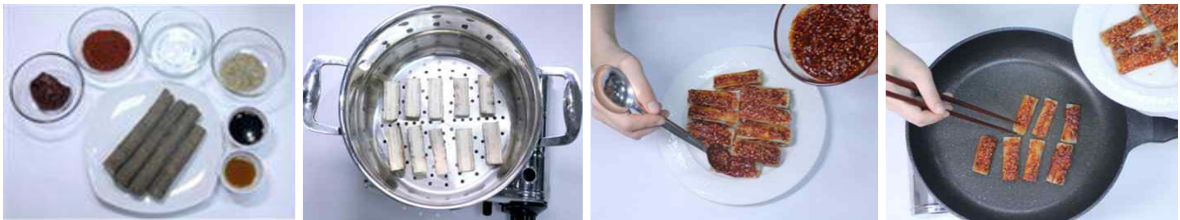
재 료 4인분 분량 280g(16개)

우엉 280g

고추장 양념 (고춧가루 1Ts, 고추장 2Ts, 깨소금 2Ts, 진간장 1Ts, 올리고당 2Ts, 참기름 1ts)

만드는 법

- ① 우엉은 씻어 껍질을 칼등으로 벗기고 5cm길이로 토막 내 반으로 썬다.
- ② 우엉을 깊이 오른 찜통에 넣고 약한 불에서 10분 정도로 찜다.
- ③ 우엉을 도마에 놓고 칼등으로 두드린다.
- ④ 분량의 양념장을 만든 후 우엉의 한쪽 면에 양념장을 발라 층으로 재운다.
- ⑤ ④를 팬에 구워낸다.



영양성분 - 1인분 분량 70g(4개)

에너지(Kcal)	탄수화물(g)	단백질(g)	지방(g)	비타민A(R.E.)	비타민B1(mg)
148.98	22.47	4.78	6.19	153.23	0.10
비타민B2(mg)	비타민C(mg)	칼슘(mg)	철분(mg)	나트륨(mg)	콜레스테롤(mg)
0.12	3.30	137.86	92.24	351.88	0

우영채소튀김



재 료 4인분 분량 480g(12개)

우영 80g, 청고추 50g, 양파 50g, 당근 50g, 불린 표고버섯 50g, 밀가루 1C, 물 1C, 달걀 1개(50g), 소금 ¼ts, 식용유

만드는 법

- ① 우영은 껍질은 칼등으로 벗기고, 채 썰어 물에 잠깐 담가 놓았다가 소쿠리에 건져 놓는다.
- ② 청고추, 양파, 당근, 표고버섯, 피망은 곱게 채 썬다.
- ③ 밀가루와 계란, 물을 섞은 후 ②를 넣고 반죽한다.
- ④ 180°C로 가열한 기름에 ③의 재료를 넣고 바삭 튀겨낸다.



영양성분 - 1인분 분량 120g(3개)

에너지(Kcal)	탄수화물(g)	단백질(g)	지방(g)	비타민A(R.E.)	비타민B1(mg)
379.45	51.76	11.90	15.18	126.13	0.24
비타민B2(mg)	비타민C(mg)	칼슘(mg)	철분(mg)	나트륨(mg)	콜레스테롤(mg)
0.43	2.34	50.31	1.99	57.50	0

우영칩



재 료 4인분 분량 240g

우영 240g, 식용유

만드는 법

- ① 우영은 껍질은 칼등으로 벗기고, 길게 어슷썰기 한다.
- ② 어슷 썬 우영은 물에 20분 정도 담가 둔다.
- ③ 우영을 물에서 건져 마른 수건으로 닦아 건조시킨다.
- ④ 170°C로 가열한 기름에 우영을 넣고 2분간 튀겨낸 후 다시 한 번 2분간 튀겨낸다.



영양성분 - 1인분 분량 70g

에너지(Kcal)	탄수화물(g)	단백질(g)	지방(g)	비타민A(R.E.)	비타민B1(mg)
151.92	9.30	1.86	12.06	0	0.03
비타민B2(mg)	비타민C(mg)	칼슘(mg)	철분(mg)	나트륨(mg)	콜레스테롤(mg)
0.06	1.80	33.96	6.56	3.12	0

2) 영문

Deoduk bap



Ingredients 4 servings 840g

Glutinous rice 160g, non-glutinous rice 160g, deoduk 200g, soaked shiitake mushroom 60g, carrot 40g, sesame oil 2ts, sea tangle stock

Seasoned soy sauce (each green and red hot pepper 1, soy sauce 2Ts, sesame oil 1Ts, sesame seed 1Ts)

Cooking method

- ① Wash rice and soak it in water. And prepare sea tangle stock.
- ② Tear off the stalk end of soaked shiitake mushroom and slice it.
- ③ Cut carrot into 0.5x0.5x0.5cm.
- ④ Peel deoduk and cut it 1x1x1cm.
- ⑤ Put 2ts sesame oil in ②, add a little bit of sea tangle stock and stir-fry them.
- ⑥ Put soaked rice on the top of stir-fried mushroom, pour sea tangle stock until it fills up to a little bit over the rice.
- ⑦ When the rice boil, turn down it, put ③ and ④ on the top of th rice, and let it simmering.
- ⑧ Use seasoned soy sauce as a side dish.



Nutritional Contents - 210g for one serving

Energy(Kcal)	Carbohydrate(g)	Protein(g)	Fat(g)	Vitamin A(R.E.)	VitaminB1(mg)
383.65	82.18	9.94	2.10	83.50	0.37
Vitamin B2(mg)	Vitamin C(mg)	Calcium(mg)	Iron(mg)	Natrium(mg)	Cholesterol(mg)
0.34	6.09	33.75	2.16	11.95	0

Deoduk seolgidduk (Deoduk steamed rice cake)



Ingredients 4 servings 1120g(8 pieces)

Rice flour 400g, deoduk 100g, jujube 24g, honey 1½Ts, salt

Cooking method

- ① Wash rice clean and soak it in water for 12 hrs. Strain it through a sieve, drain it, and grind it into powder.
- ② Peel deoduk and cut it in half lengthwise and spread it by beating it with a bat.
- ③ Soak a bitter taste out of deoduk by soak it in salt water and tear it off finely.
- ④ Wash jujube clean, remove seed, and slice it finely.
- ⑤ Add honey and salt in ①, sift it, and mix ①, ③ and ④.
- ⑥ Put it in a steamer, steam it for 15 min and then let it simmering.



Nutritional Contents - 120g for one serving(2 pieces)

Energy(Kcal)	Carbohydrate(g)	Protein(g)	Fat(g)	Vitamin A(R.E.)	VitaminB1(mg)
421.22	92.48	7.85	1.21	0	0.24
Vitamin B2(mg)	Vitamin C(mg)	Calcium(mg)	Iron(mg)	Natrium(mg)	Cholesterol(mg)
0.10	3.58	34.84	1.39	2.84	0

Deodeok roasted with seasoned red pepper Roasted paste



Ingredients 4 servings 320g(8 pieces)

Deoduk 280g

Seasoned red pepper paste (hot pepper powder 1Ts, red pepper paste 2Ts, sesame seed 2Ts, seasoned soy sauce 2Ts, oligosaccharide 2Ts, sesame oil 1ts)

Cooking method

- ① Peel deoduk and cut it 5cm long. And then cut in half.
- ② Put deoduk on a cutting board and beat it with a bat.
- ③ Make seasoned red pepper paste after putting it in a bowl and pile up deoduk by coating one side of deoduk with it.
- ④ Pan fry ③ in a the pan.



Nutritional Contents - 80g for one serving(2 pieces)

Energy(Kcal)	Carbohydrate(g)	Protein(g)	Fat(g)	Vitamin A(R.E.)	VitaminB1(mg)
155.28	25.27	4.64	6.19	153.23	0.18
Vitamin B2(mg)	Vitamin C(mg)	Calcium(mg)	Iron(mg)	Natrium(mg)	Cholesterol(mg)
0.15	8.90	115.46	92.66	349.08	0

Seopsansam(Fired Deoduk with glutinous rice flour)



Ingredients 4 servings 280g(8 pieces)

Deoduk 280g, salt 1ts, water 1cup, glutinous rice flour 1cup, frying oil 2cup, honey 1/2cup

Cooking method

- ① Peel deoduk and cut it in half lengthwise and spread it by beating it with a bat. And soak a bitter taste out of deoduk by soak it in salt water.
- ② Drain off the liquid from the soaked deoduk and coat it with glutinous rice flour batter
- ③ Put ② in oil of 180°C and fry it crisply.
- ④ Garnish with honey



Nutritional Contents - 70g for one serving(2 pieces)

Energy(Kcal)	Carbohydrate(g)	Protein(g)	Fat(g)	Vitamin A(R.E.)	VitaminB1(mg)
349.81	57.05	6.18	10.57	0	0.19
Vitamin B2(mg)	Vitamin C(mg)	Calcium(mg)	Iron(mg)	Natrium(mg)	Cholesterol(mg)
0.12	7.70	21.52	2.02	337.78	0

Deoduk gangjeong



Ingredients 4 servings 520g(16 pieces)

Deoduk 280g, glutinous rice flour 1C, water 1 C

Red pepper paste sauce (red pepper paste 3Ts, soy sauce 1½Ts, water 5Ts, vinegar 3Ts, sugar 4Ts)

Cooking method

- ① Peel deoduk and cut it in half lengthwise. And cut it into 1x3cm rectangles.
- ② Pick up deoduk soaked in the water and drain off water. Coat it with glutinous rice batter (glutinous rice flour 1 cup, water 1 cup) evenly.
- ③ Put ② in oil and fry it crisply.
- ④ Make red pepper paste sauce by putting red pepper paste, soy sauce, water, vinegar, and sugar in it.
- ⑤ Put ③ in ④ and stir-fry it down.



Nutritional Contents - 130g for one serving(4 pieces)

Energy(Kcal)	Carbohydrate(g)	Protein(g)	Fat(g)	Vitamin A(R.E.)	VitaminB1(mg)
482.05	76.59	7.22	15.97	36.34	0.22
Vitamin B2(mg)	Vitamin C(mg)	Calcium(mg)	Iron(mg)	Natrium(mg)	Cholesterol(mg)
0.16	7.70	28.81	2.37	523.54	0

Deoduk pine nut juice salad



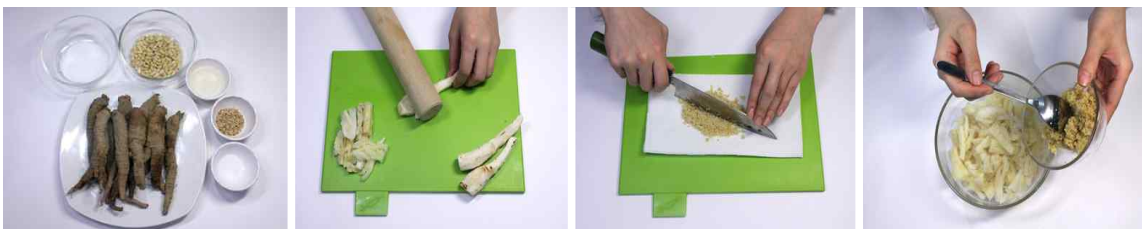
Ingredients 4 servings 320g

Deoduk 240g

Pine nut juice sauce(pine nut 4Ts, vinegar 1½ts, sugar 1½ts, sesame salt 1Ts, salt ¼Ts)

Cooking method

- ① Peel deoduk, beat it with a bat, and tear it off.
- ② Soak deoduk in water for 5 min and drain off water.
- ③ Make pine nut juice sauce by putting it a bowl.
- ④ Put ③ in deoduk and mix them.



Nutritional ntenents - 80g for one serving

Energy(Kcal)	Carbohydrate(g)	Protein(g)	Fat(g)	Vitamin A(R.E.)	VitaminB1(mg)
185.48	19.99	4.73	11.41	0	0.2
Vitamin B2(mg)	Vitamin C(mg)	Calcium(mg)	Iron(mg)	Natrium(mg)	Cholesterol(mg)
0.08	6.60	64.04	4.02	317.42	0

Woo-eung mushroom bap



Ingredients 4 servings 720g

Glutinous rice 160g, non-glutinous rice 160g, Woo-eung 100g, soaked shiitake mushroom 60g, pine mushroom 60g, sesame oil 2ts, sea tangle stock Seasoned soy sauce (each green and red hot pepper 1, soy sauce 2Ts, sesame oil 1Ts, sesame seed 1Ts)

Cooking method

- ① Wash rice and soak it in water. And prepare sea tangle stock.
- ② Tear off the stalk end of soaked shiitake mushroom and shred mushroom finely.
- ③ Wash Woo-eung and peel it with the back of a knife. And then slice it 5cm long, diagonally, and finely.
- ④ Put 2ts sesame oil in ② and ③ and stir-fry them.
(Add a little bit of sea tangle stock and stir-fry them to mix them with oil.)
- ⑤ Put soaked rice on a bed of stir-fried mushroom and Woo-eung, and cook rice.
(Pour sea tangle stock until it fills up to a little bit over the rice and turn it twice halfway.)
- ⑥ Use seasoned soy sauce as a side dish.



Nutritional Contents – 180g for one serving

Energy(Kcal)	Carbohydrate(g)	Protein(g)	Fat(g)	Vitamin A(R.E.)	VitaminB1(mg)
342.92	69.36	7.49	4.19	0	0.25
Vitamin B2(mg)	Vitamin C(mg)	Calcium(mg)	Iron(mg)	Natrium(mg)	Cholesterol(mg)
0.13	0.75	30.57	1.28	3.83	0

Roasted Woo-eung with glutinous rice flour



Ingredients 4 servings 320g(8 pieces)

Woo-eung 280g, glutinous rice flour $\frac{3}{4}$ cups, water 1 cups, a pinch of salt, (Seasoning) citron sweet sauce

Cooking method

- ① Wash Woo-eung and peel it with the back of a knife. And cut it 5cm long. And then cut it in half.
- ② Put Woo-eung in a steaming steamer and steam it for 10 min.
- ③ With the cut side on top, put steamed Woo-eung on a cutting board and spread it flatwise by beating it with a bat.
- ④ Add salt and water in glutinous rice flour and knead dough thickly.
- ⑤ When a fan is heated, oil it. Coat Woo-eung of ② with glutinous rice flour batter and griddle it to a brown.
- ⑥ Garnish with citron sweet sauce



Nutritional Contents – 70g for one serving(4 pieces)

Energy(Kcal)	Carbohydrate(g)	Protein(g)	Fat(g)	Vitamin A(R.E.)	VitaminB1(mg)
261.65	43.4	5.28	7.07	0	0.09
Vitamin B2(mg)	Vitamin C(mg)	Calcium(mg)	Iron(mg)	Natrium(mg)	Cholesterol(mg)
0.07	2.10	42.41	1.36	4.32	0

Woo-enug Japchae



Ingredients 4 servings 960g

Woo-eung 160g, cellophane noodle 120g, soaked shiitake mushroom 60g, black mushroom 60g, oyster mushroom 40g, red paprika 40g, yellow paprika 40g, bell pepper 40g, onion 60g, carrot 60g, oil 2Ts

Woo-eung seasoned soy sauce (sea tangle stock 1½Cup, soy sauce 1½Ts, oligosaccharide 2Ts, sesame oil 2ts,)

The whole seasoned soy sauce (soy sauce 2Ts, oligosaccharide 1½Ts, garlic 1Ts, sesame oil 1Ts)

Cooking method

- ① Wash Woo-eung and peel it with the back of a knife. And slice it and soak it in salt water.
- ② Slice soaked shiitake, black mushroom, oyster mushroom, paprika, bell pepper, onion, and carrot all.
- ③ Pour cooking oil in heated pan, stir fry the sliced vegetables of ② separately, and put them on a dish.
- ④ Put Woo-eung to seasoned soy sauce in a pot and boil them down.
- ⑤ Boil clear noodles and rinse them with cold water.
- ⑥ Put ②, ③, ④, and ⑤ in a pot and stir fry them by adding the whole seasoned soy sauce in them and finish it by putting sesame into it.



Nutritional Contents – 240g for one serving

Energy(Kcal)	Carbohydrate(g)	Protein(g)	Fat(g)	Vitamin A(R.E.)	VitaminB1(mg)
300.21	51.18	3.85	14.30	185.26	0.11
Vitamin B2(mg)	Vitamin C(mg)	Calcium(mg)	Iron(mg)	Natrium(mg)	Cholesterol(mg)
0.16	35.30	56.53	3.12	592.01	0

Roasted Woo-eung with red pepper paste



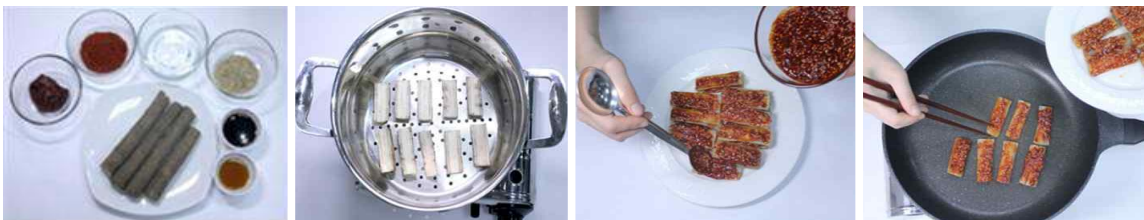
Ingredients 4 servings 280g(16 pieces)

Woo-eung 280g

Seasoned red pepper paste(hot pepper powder 1Ts, red pepper paste 2Ts, sesame seed 2Ts, soy sauce 1Ts, oligosaccharide 2Ts, sesame oil 1ts)

Cooking method

- ① Wash Woo-eung and peel it with the back of a knife. And cut it 5cm long. And then cut it in half.
- ② Put Woo-eung in a steaming steamer and steam it for 10 minutes.
- ③ Put Woo-eung on a cutting board and beat it with the back of the knife.
- ④ Make seasoned red pepper paste and pile up Woo-eung by coating one side of Woo-eung with it.
- ⑤ Pan fry ④ in a pan.



Nutritional Contents – 70g for one serving(4 pieces)

Energy(Kcal)	Carbohydrate(g)	Protein(g)	Fat(g)	Vitamin A(R.E.)	VitaminB1(mg)
148.98	22.47	4.79	6.19	153.23	0.1
Vitamin B2(mg)	Vitamin C(mg)	Calcium(mg)	Iron(mg)	Natrium(mg)	Cholesterol(mg)
0.12	3.3	137.86	92.24	351.88	0

Fried Woo-eung with mixed vegetable



Ingredients 4 servings 480g(12 pieces)

Woo-eung 80g, green pepper 50g, onion 50g, carrot 50g, soaked shiitake mushroom 50g, flour 1C, water 1 cup, egg 50g, salt ¼ts, frying oil

Cooking method

- ① Peel Woo-eung with the back of a knife. And slice it, soak it in water for a while, and put it on a basket.
- ② Slice green pepper, onion, carrot, soaked shiitake mushroom, and bell pepper finely.
- ③ Add flour, egg, and water to ① and ② and mix them
- ④ Put the mix of ③ in oil of 180°C and deep fry them.



Nutritional Contents – 120g for one serving(3 pieces)

Energy(Kcal)	Carbohydrate(g)	Protein(g)	Fat(g)	Vitamin A(R.E.)	VitaminB1(mg)
379.45	51.76	11.90	15.18	126.13	0.24
Vitamin B2(mg)	Vitamin C(mg)	Calcium(mg)	Iron(mg)	Natrium(mg)	Cholesterol(mg)
0.43	2.34	50.31	1.99	57.50	0

Woo-eung chip



Ingredients 4 servings 240g

Woo-eung 240g, frying oil

Cooking method

- ① Peel Woo-eung with the back of a knife and chop it into thin long slices.
- ② Soak Woo-eung in water for 20 min.
- ③ Dry soaked Woo-eung by wipe with a dry towel.
- ④ Put Woo-eung in oil of 170°C and fry it for 2 min. And then fry it for 2 min again.



Nutritional Contents – 60g for one serving

Energy(Kcal)	Carbohydrate(g)	Protein(g)	Fat(g)	Vitamin A(R.E.)	VitaminB1(mg)
151.92	9.30	1.86	12.06	0	0.03
Vitamin B2(mg)	Vitamin C(mg)	Calcium(mg)	Iron(mg)	Natrium(mg)	Cholesterol(mg)
0.06	1.80	33.96	6.56	3.12	0

3. 더덕, 우영을 이용한 음식 영양분석표

Table 11. Nutritional analysis table of food using Deoduk and Woo-eung

Food name	One serving	Nutritional Contents										
		Energy (Kcal)	Carbohydrate (g)	Protein (g)	Fat (g)	Vitamin A (R.E.)	Vitamin B1 (mg)	Vitamin B2 (mg)	Vitamin C (mg)	Calcium (mg)	Iron (mg)	Sodium (mg)
Deoduk bap	210g	383.65	82.18	9.94	2.10	83.5	0.37	0.34	6.09	33.75	2.16	11.95
Deoduk seolgidduk	120g (2pieces)	421.22	92.48	7.85	1.21	-	0.24	0.1	3.58	34.84	1.39	2.84
Seopsansa m(Fried Deoduk with glutinous rice flour)	70g (2pieces)	349.81	57.05	6.18	10.57	-	0.19	0.12	7.70	21.52	2.02	337.78
Deoduk gangjeong	130g (4pieces)	482.05	76.59	7.22	15.97	36.34	0.22	0.16	7.70	28.81	2.37	523.54
Roasted Deoduk with red pepper paste	80g (2pieces)	155.28	25.27	4.64	6.19	153.23	0.18	0.15	8.90	115.46	92.66	349.08
Deoduk pine nut juice salad	80g	185.48	19.99	4.73	11.41	-	0.2	0.08	6.60	64.04	4.02	317.42
Woo-eung mushroom bap	180g	342.92	69.36	7.49	4.19	-	0.25	0.13	0.75	30.57	1.28	3.83
Roasted Woo-eung with glutinous rice flour	70g (4pieces)	261.65	43.4	5.28	7.07	-	0.09	0.07	2.1	42.41	1.36	4.32
Woo-eung Japcha	240g	300.21	51.18	3.85	14.30	185.26	0.11	0.16	35.30	56.53	3.12	592.01

Food name	One serving	Nutritional Contents										
		Energy (Kcal)	Carbohydrate (g)	Protein (g)	Fat (g)	Vitamin A (R.E.)	Vitamin B1 (mg)	Vitamin B2 (mg)	Vitamin C (mg)	Calcium (mg)	Iron (mg)	Sodium (mg)
Roasted Woo-eung with red pepper paste	70g (4pieces)	148.98	22.47	4.78	6.19	153.23	0.10	0.12	3.30	137.86	92.24	351.88
Fried Woo-eung with mixed vegetable	120g (3pieces)	379.45	51.76	11.90	15.18	126.13	0.24	0.43	2.34	50.31	1.99	57.50
Woo-eung chip	60g	151.92	9.30	1.86	12.06	-	0.03	0.06	1.80	33.96	0.56	3.12

4. 내·외국인을 대상으로 더덕, 우영을 이용한 음식 시식회

- 본 연구에서 개발한 표준레시피를 사용하여 만든 12 가지 더덕과 우영을 이용한 음식을 5 점 척도법 (1= 매우 싫다, 5= 매우 좋다)으로 관능평가를 실시하였음
- 2013 년 7 월 4 일, 5 일 3 시부터 5 시까지 경희대학교 생활과학대학 103 호에 서 내·외국인을 대상으로 하였고 참여한 외국인은 74 명 (중국 37 명, 일본 10 명, 동남아시아 11 명, 유럽 및 미국 11 명, 아프리카 5 명)이었고 한국인은 71 명 (여자 38 명, 남자 33 명)이었음



- 더덕과 우영을 이용한 음식의 관능 평가와 설문에 참여한 외국인은 중국 37 명, 일본 10 명, 동남아시아 11 명, 유럽과 미국 11 명, 아프리카 5 명으로 나타났으며 총 74 명 중 여자 45 명, 남자 29 명이었음 (Table 11)

- 연령대는 21-30 세가 59.5 % (44 명)로 가장 많았으며 조사응답자의 97.3 % (72 명)가 학생이었음

Table 11. General characteristics of Foreigners

	Variables	N (%)
Gender	Male	29 (39.2)
	Female	45 (60.8)
Age (yr)	≤20	25 (33.8)
	21-30	44 (59.5)
	31≤	5 (6.7)
Period	≤6month	56 (75.7)
	6 - 12month	10 (13.5)
	2year≤	8 (10.8)
Occupation	Student	72 (97.3)
	Others	2 (2.7)
National	China	37 (50.0)
	Japan	10 (13.5)
	Southeast Asia	11 (14.9)
	Europe & USA	11 (14.9)
	Africa	5 (6.7)

더덕과 우영을 이용한 음식의 관능 평가와 설문예 참여한 한국인은 총 71 명이고 여자 38 명, 남자 33 명으로 나타났으며 21-30 세가 62 % (44 명)로 가장 많았고 학생 62.0 % (44 명), 기타 38.0 % (27 명)순으로 나타났음 (Table 12)

Table 12. General characteristics of Korean

	Variables	N (%)
Gender	Male	33 (46.5)
	Female	38 (53.5)
Age (yr)	≤20	6 (8.5)
	21-30	44 (62.0)
	31-40	8 (11.3)
	41-50	6 (8.5)
	51≤	7 (9.9)
Occupation	Student	44 (62.0)
	Others	27 (38.0)

- 더덕밥, 더덕설기떡, 더덕강정, 더덕고추장구이, 더덕잣즙생채의 선호도는 국가 간의 유의성이 나타났음 (Table 13)
- 더덕밥 (2.90-3.91)은 유럽인과 미국인 (3.91), 한국인 (3.75)의 선호도가 높았고, 일본인 (2.90)의 선호도가 가장 낮았음
- 더덕설기떡 (3.19-4.40)은 아프리카인 (4.40)의 선호도가 가장 높았고 일본인 (3.70), 한국인 (3.69), 동남아시아인 (3.46), 유럽인과 미국인 (3.36), 중국인 (3.19)로 나타났음
- 더덕강정 (3.00-4.60)은 아프리카인 (4.60)과 한국인 (4.18)의 선호도가 높았고, 동남아시아인 (3.00)의 선호도가 낮았음
- 더덕고추장구이 (2.73-4.20)는 아프리카인 (4.20)과 한국인 (4.08)의 선호도가 높았고 중국인 (2.89)과 동남아시아인 (2.73)의 선호도가 낮았음
- 더덕잣즙생채 (2.40-3.96)는 한국인 (3.96)과 아프리카인 (3.60)의 선호도가 높았고, 유럽인과 미국인 (3.00), 중국인 (2.65), 동남아시아인 (2.64), 일본인 (2.40)의 선호도가 낮았음
- 섭산삼 (3.19-3.81)은 국가 간에 유의성은 없었고 미국인과 유럽인 (3.82), 중국인 (3.81), 아프리카인 (3.80), 한국인 (3.73), 일본인 (3.50), 동남아시아인 (3.19)로 선호도가 높았음
- 조선시대 고조리서인 ‘산가요록’에 나타난 산삼병의 조리법인 더덕을 껍질을 벗기고 곁에 따라 찢은 뒤 꿀물을 넣고 멥쌀가루에 더덕을 손가락 크기로 싸서 시루에 넣고 찌는 조리법을 이용하여 현대인의 입맛에 맞게 더덕설기떡의 표준레시피를 개발함
- 더덕설기떡은 한국인 (3.69), 일본인 (3.70), 아프리카인 (4.40)의 선호도가 높은 음식임

- 조선시대 고조리서인 ‘음식디미방’에 나타난 쟈산삼의 조리법으로 더덕은 껍질을 벗기고 길이로 반 갈라서 방망이로 자근자근 두들겨 펴서 소금물에 담아 쓴맛을 우린 후 건져 물기를 없앤 후 찹쌀가루를 꼭꼭 누르면서 결 사이에까지 들도록 골고루 히고 노릇한 색이 나면서 바삭하게 될 때까지 서서히 튀겨서 꿀을 찍어 먹는 조리법을 이용하여 쟈산삼의 표준레시피를 개발함
- 쟈산삼 (3.19-3.81)은 한국인과 외국인이 모두 선호하는 음식으로 나타나 전통조리법을 활용하여 한식세계화시장을 확보할 수 있을 것으로 사료됨
- 고추장소스를 이용한 조리법인 더덕강정 (3.00-4.60)은 동남아시아인 (3.00)의 선호도가 보통으로 나타났지만 한국인과 외국인이 모두 좋아하였음
- 예로부터 더덕은 강원도 지역에 많이 나며, 이 지역의 백성들이 굶주림에서 벗어나기 위해 구황식으로 섭취하여 왔고 사포닌, 폴리페놀, 알칼로이드, 스테롤, 탄닌, 정유 등 다양한 생리활성 물질 함유된 건강식품 소재로 한식세계화를 위하여 더덕을 이용하여 다양한 음식의 개발이 가능 한 것으로 나타남
- 우영버섯밥, 우영찹쌀구이, 우영잡채의 선호도는 국가 간의 유의성이 나타났음 (Table 13)
- 우영버섯밥 (2.70-4.00)은 한국인 (4.00), 아프리카인 (3.80), 중국인 (3.32), 유럽인과 미국인 (3.18)로 선호도가 높았고 동남아시아인 (3.09), 일본인 (2.70)의 선호도가 낮았음
- 우영찹쌀구이 (2.27-3.65)는 한국인 (3.65)의 선호도가 높았고 중국인 (2.62), 일본인 (2.30), 동남아시아인 (2.82), 유럽인과 미국인 (2.27)의 선호도는 보통이하로 낮았음
- 우영잡채 (3.00-4.07)는 한국인 (4.07), 아프리카인 (3.80), 동남아시아인 (3.73), 유럽인과 미국인 (3.73), 중국인 (3.35)의 선호도가 높았으나 일본인 (3.00)의 선호

도는 낮음

- 우영고추장구이, 우영채소튀김, 우영칩의 선호도는 국가 간의 유의성은 나타나지 않았으나 전체적으로 보통이상의 선호도를 나타냄
- 우영고추장구이 (2.55-3.60)는 동남아시아인 (2.55)의 선호도는 낮았으나 중국인 (3.00), 일본인 (3.00), 유럽인과 미국인 (3.27), 한국인 (3.52), 아프리카인 (3.60)의 유의수준은 아니지만 전반적으로 높았음 ($p=0.0554$)
- 우영채소튀김 (3.30-3.90)의 선호도는 한국인 (3.90), 아프리카인 (3.60), 유럽인과 미국인 (3.55), 동남아시아인 (3.45), 중국인 (3.41), 일본인 (3.30)으로 한국인과 외국인이 모두 선호하는 음식으로 나타남
- 우영칩 (2.60-4.00)의 선호도는 국가 간의 유의성은 없었지만 일본인 (2.60)의 선호도가 낮았고 ($p=0.0608$) 중국인 (3.27), 동남아시아인 (3.36), 아프리카인 (3.40), 한국인 (3.51), 유럽인과 미국인 (4.00)의 선호도가 높았음
- 사찰음식의 레시피를 이용하여 개발한 우영잡채는 일본인 (3.00)의 선호도는 보통으로 나타났지만 한국인과 외국인이 모두 좋아하였음
- 그러므로 우리나라 전통사찰음식 조리방법으로 개발한 메뉴 중 외국인들이 선호도가 높은 메뉴를 활용하여 한식세계화 시장 확보할 수 있을 것으로 사료됨
- 특히 외국인들이 자주 접하는 조리방법인 포테이토칩과 같은 조리방법을 이용한 우영을 재료로 한 우영칩은 우영을 식재료로 자주 접하는 일본인의 선호도는 낮은 반면 유럽인과 미국인의 선호도가 높아 서양인을 위하여 개발 가능한 음식으로 사료됨

Table 13. Preferences of food using Deoduk and Woo-eung

Food	Preferences of food using Deoduk and Woo-eung						F-value
	Korea (n=71)	China (n=37)	Japan (n=10)	Southeast Asia (n=11)	Europe & USA (n=11)	Africa (n=5)	
Deoduk bap	3.75±0.79 ^a	3.43±0.83 ^{ab}	2.90±1.10 ^b	3.55±0.82 ^{ab}	3.91±0.70 ^a	3.20±1.48 ^{ab}	2.59 (p=0.0282)
Deoduk seolgidduk	3.69±0.80 ^{ab}	3.19±0.94 ^b	3.70±1.06 ^{ab}	3.46±1.04 ^b	3.36±0.92 ^b	4.40±0.55 ^a	2.72 (p=0.0222)
Seopsansam(Fried Deoduk with glutinous rice flour)	3.73±1.09	3.81±0.88	3.50±0.71	3.19±0.87	3.82±0.50	3.80±1.30	0.83 (p=0.5277)
Deoduk gangjeong	4.18±0.93 ^{ab}	3.43±1.24 ^{bc}	3.70±1.06 ^{bc}	3.00±1.00 ^c	3.55±0.93 ^{bc}	4.60±0.55 ^a	5.02 (p=0.0003)
Roasted Deoduk with red pepper paste	4.08±0.97 ^{ab}	2.89±1.13 ^c	3.30±1.25 ^{abc}	2.73±1.35 ^c	3.18±1.17 ^{bc}	4.20±0.84 ^a	8.35 (p<0.0001)
Deoduk pine nut juice salad	3.96±1.25 ^a	2.65±1.32 ^{bc}	2.40±1.27 ^c	2.64±1.21 ^{bc}	3.00±1.41 ^{abc}	3.60±1.67 ^{ab}	7.29 (p<0.0001)
Woo-eung mushroom bap	4.00±0.76 ^a	3.32±1.16 ^{abc}	2.70±1.16 ^c	3.09±1.04 ^{bc}	3.18±1.08 ^{abc}	3.80±1.30 ^{ab}	6.23 (p<0.0001)
Roasted Woo-eung with glutinous rice flour	3.65±1.01 ^a	2.62±1.21 ^b	2.30±1.06 ^b	2.82±1.08 ^b	2.27±1.01 ^b	3.00±1.58 ^{ab}	7.44 (p<0.0001)
Woo-eung japchae	4.07±0.78 ^a	3.35±1.06 ^{ab}	3.00±1.56 ^b	3.73±0.90 ^{ab}	3.73±0.90 ^{ab}	3.80±1.64 ^{ab}	3.96 (p=0.0022)
Roasted Woo-eung with red pepper paste	3.52±1.17	3.00±1.13	3.00±1.05	2.55±1.37	3.27±0.65	3.60±0.89	2.22 (p=0.0554)
Fried Woo-eung with mixed vegetable	3.90±0.86	3.41±1.04	3.30±0.67	3.45±1.29	3.55±1.13	3.60±1.14	1.81 (p=0.1149)
Woo-eung chip	3.51±0.98	3.27±1.04	2.60±1.17	3.36±1.21	4.00±0.77	3.40±1.67	2.71 (p=0.0608)

1) 1=dislike very much, 5=like very much

a,b,c Means in a row followed by different superscripts are significantly different at the p<0.05 level

- 외국인들이 한국 음식을 섭취하는 빈도는 국가 간의 유의성은 나타나지 않았고 ‘거의 모든 식사에서’ (50.0 %), ‘일주일에 3-5 회’ (20.8 %), ‘하루에 한번’ (16.7%)순 이었음 (Table 14)
- 중국인은 ‘거의 모든 식사에서’ (48.7 %)가 가장 높았으며 ‘하루에 한번’ (18.9 %), ‘일주일에 3-5 회’ (18.9 %)가 동일하게 나타났음
- 일본인은 ‘거의 모든 식사에서’ (50.0 %), ‘일주일에 3-5 회’ (30.0 %)가 높게 나타났으며, 동남아시아인은 ‘거의 모든 식사에서’ (54.5 %)가 높게 나타났으며 ‘일주일에 3-5 회’ (18.2 %)와 ‘한 달에 1-2 회’ (18.2 %)가 동일하게 나타났음
- 미국인과 유럽인은 ‘거의 모든 식사에서’ (54.5 %), ‘일주일에 3-5 회’ (18.2 %), ‘한달에 1-2 회’ (18.2 %)가 높게 나타났으며 아프리카인은 ‘하루에 한번’ (40.0 %)이 높게 나타났으며, ‘거의 모든 식사에서’ (20.0 %), ‘일주일에 3-5 회’ (20.0 %), ‘일주일에 1-2 회’ (20.0 %)가 동일하게 나타났음

Table 14. The most frequently eating often intake Korean food

Frequency	China	Japan	Southeast Asia	Europe & USA	Africa	Total
almost every meals	18 (48.7)	5 (50)	6 (54.5)	6 (54.5)	1 (20.0)	36 (50.0)
once a day	7 (18.9)	1 (10)	1 (9.1)	1 (9.1)	2 (40.0)	12 (16.7)
3-5 times/week	7 (18.9)	3 (30)	2 (18.2)	2 (18.2)	1 (20.0)	15 (20.8)
1-2 times/week	3 (8.1)	1 (10)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (20.0)	5 (6.9)
1-2 times/month	2 (5.4)	0 (0.0)	2 (18.2)	2 (18.2)	0 (0.0)	4 (5.6)
Almost not intaking	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Total	37 (50.0)	10 (13.5)	11 (14.9)	11 (14.9)	5 (6.7)	74 (100.0)
				DF=16	$\chi^2=11.93$	p=0.7486

- 한국음식을 선호하는 이유도 국가 간의 유의성이 나타나지 않았고 ‘맛이 좋아서’ (36.5 %), ‘건강에 좋아서’ (28.3 %), ‘메뉴가 다양해서’ (9.4 %), ‘밥과 반찬이 조화로워서’ (6.8 %), ‘합리적인 가격’ (5.4 %), ‘요리 방법이 독특해서’ (5.4 %), ‘양이 충분해서’ (4.1 %) 순 이었음 (Table 15)

Table 15. Reason to prefer Korean food

Reason	China	Japan	Southeast Asia	Europe & USA	Africa	Total
Taste good	16 (43.2)	7 (70.0)	2 (18.2)	1 (9.1)	1 (20.0)	27 (36.5)
Beneficial to one's health	9 (24.3)	1 (10.0)	5 (45.4)	5 (45.4)	1 (20.0)	20 (28.3)
Reasonable price	0 (0.0)	1 (10.0)	0 (0.0)	2 (18.2)	1 (20.0)	4 (5.4)
Diverse menu	1 (2.7)	0 (0.0)	2 (18.2)	3 (27.3)	1 (20.0)	7 (9.4)
Peculiar cooking method	2 (5.4)	0 (0.0)	1 (9.1)	0 (0.0)	1 (20.0)	4 (5.4)
The harmony of rice and side dishes	4 (10.8)	1 (10.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (6.8)
A large amount of food	2 (5.4)	0 (0.0)	1 (9.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (4.1)
Other	3 (8.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (4.1)
Total	37 (50.0)	10 (13.5)	11 (14.9)	11 (14.9)	5 (6.7)	74 (100.0)
				DF=28	$\chi^2=38.32$	p=0.0926

- 한국음식을 선호하지 않는 이유도 국가 간의 유의성이 나타나지 않았고 ‘너무 매워서’ (31.0 %), ‘자극적인 맛과 향’ (14.9 %), ‘가격이 비싸서’ (14.9 %), ‘메뉴가 단순해서’ (12.2 %), ‘불필요한 반찬이 너무 많아서’ (10.8 %), ‘음식준비가 깔끔하지 않아서’ (8.1 %)순이었음 (Table 16)

Table 16. Reason to not prefer Korean food

Reason	China	Japan	Southeast Asia	Europe & USA	Africa	Total
Stimulating taste	6 (16.2)	2 (20.0)	2 (18.1)	0	1 (20.0)	11 (14.9)
Too spicy	10 (27.0)	5 (50.0)	3 (27.3)	4 (36.3)	1 (20.0)	23 (31.0)
The price is too expensive	6 (16.2)	0 (0.0)	3 (27.3)	1 (9.1)	1 (20.0)	11 (14.9)
The menu is too simple	8 (21.6)	0 (0.0)	1 (9.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	9 (12.2)
Too many unnecessary side dishes	4 (10.8)	0 (0.0)	1 (9.1)	2 (18.2)	1 (20.0)	8 (10.8)
Preparation of food is often not neat and clean	0 (0.0)	2 (20.0)	0 (0.0)	3 (27.3)	1 (20.0)	6 (8.1)
One can have hard time digesting Korean food	1 (2.7)	1 (10.0)	1 (9.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (4.0)
Other	2 (5.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (9.1)	0 (0.0)	3 (4.0)
Total	37 (50.0)	10 (13.5)	11 (14.9)	11 (14.9)	5 (6.7)	74 (100.0)
				DF=28	$\chi^2=30.53$	p=0.3384

- 외국인들이 외식 시 자주 먹는 음식은 국가간의 유의성이 나타났고 중국인은 중국 음식 (62.2 %), 한국음식 (16.2 %) 순이었고, 일본인은 한국음식 (70.0 %), 일본음식 (30.0 %) 순으로 나타나 자국 음식에 대한 선호도가 높은 것으로 나타났음 (Table 17)
- 동남아시아인은 한국음식 (45.4 %), 서양음식 (36.4 %), 유럽인과 미국인은 한국음식 (81.8 %), 중국음식 (18.2 %), 아프리카인은 한국음식 (40.0 %), 중국음식 (20.0 %), 서양음식 (20.0 %)을 섭취하였음

Table 17. The most frequently eating food when dining out

Variable	China	Japan	Southeast Asia	Europe & USA	Africa	Total
Korean food	6 (16.2)	7 (70.0)	5 (45.4)	9 (81.8)	2 (40.0)	27 (39.2)
Chinese food	23 (62.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (18.2)	1 (20.0)	26 (35.1)
Japanese food	2 (5.4)	3 (30.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (6.7)
Western food	3 (8.1)	0 (0.0)	4 (36.4)	0 (0.0)	1 (20.0)	8 (10.8)
Fast food	3 (8.1)	0 (0.0)	2 (18.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (6.8)
Other	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (20.0)	1 (1.4)
Total	37 (50.0)	10 (13.5)	11 (14.9)	11 (14.9)	5 (6.7)	74 (100.0)
				DF=20	$\chi^2=66.17$	p<0.0001

- 외국인들이 더덕 음식을 먹어본 경험은 ‘예’가 31.1 %, ‘아니오’가 68.9 %로 먹어본 경험이 별로 없는 것으로 나타났지만 일본인 (60.0 %)은 더덕 음식을 먹어본 경험이 많은 것으로 나타났음 (Table 18)

Table 18. Have you ever tried eating that food using Deoduk

Variable	China	Japan	Southeast Asia	Europe & USA	Africa	Total
Yes	10 (27.0)	6 (60.0)	3 (27.0)	2 (18.2)	2 (40.0)	23 (31.1)
No	27 (73.0)	4 (40.0)	8 (73.0)	9 (81.2)	3 (60.0)	51 (68.9)
Total	37 (50.0)	10 (13.5)	11 (14.9)	11 (14.9)	5 (6.7)	74 (100.0)
				DF=4	$\chi^2=5.30$	p=0.2576

- 더덕을 먹어본 경험이 있는 외국인들 중에 더덕 음식의 섭취빈도는 국가 간의 유의성이 나타났으며 ‘하루에 한번’ (34.8 %), ‘거의 먹지 않는다’ (21.7 %), ‘일주일에 3-5 회’ (17.4 %) 순이었음 (Table 19)
- 중국인은 ‘하루에 한번’ (30.0 %), ‘일주일에 3-5 회’ (30.0 %), ‘한달에 1-2 회’ (30.0 %), 일본인은 ‘하루에 한번’ (50.0 %), ‘거의 모든 식사에서’ (33.3 %), 동남아시아인은 ‘일주일에 3-5 회’ (33.3%), ‘한달에 1-2 회’ (33.3 %), ‘거의 먹지 않는다’ (33.3 %), 유럽인과 미국인은 ‘한달에 1-2 회 (100 %), 아프리카인은 ‘하루

에 한번' (100.0 %) 섭취하였음

Table 19. How often do you eat that food using Deoduk

Frequency	China	Japan	Southeast Asia	Europe & USA	Africa	Total
almost every meals	1 (10.0)	2 (33.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (13.0)
once a day	3 (30.0)	3 (50.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	8 (34.8)
3-5 times/week	3 (30.0)	0 (0.0)	1 (33.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (17.4)
1-2 times/week	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
1-2 times/month	3 (30.0)	1 (16.7)	1 (33.3)	2 (100)	0 (0.0)	3 (13.0)
Almost not intaking	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (33.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (21.7)
Total	10 (43.5)	6 (26.1)	3 (13.0)	2 (8.7)	2 (8.7)	23 (100.0)
				DF=16	$\chi^2=26.95$	p=0.0421

- 외국인들에게 '더덕을 이용한 음식이 건강에 좋다고 생각합니까?'에 대한 응답 결과 '예'라고 답한 사람이 43.2 %, '아니오'라고 답한 사람이 5.4 %, '모르겠다'라고 답한 사람이 51.4 %로 나타났고 국가 간의 유의성은 없었음 (Table 20)
- 더덕음식이 건강에 좋다고 인식하고 있는 외국인이 43.2 %로 나타났는데 전통음식소재의 건강기능성에 대한 적극적인 홍보와 외국인의 입맛에 맞는 다양한 메뉴를 개발하는 것이 중요한 것으로 사료됨

Table 20. The food using Deoduk is good for health

Variable	China	Japan	Southeast Asia	Europe & USA	Africa	Total
Yes	15 (40.5)	6 (60.0)	4 (36.4)	6 (54.6)	1 (20.0)	32 (43.2)
no	3 (8.1)	1 (10.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (5.4)
Don't know	19 (51.4)	3 (30.0)	7 (63.6)	5 (45.4)	4 (80.0)	36 (51.4)
Total	37 (50.0)	10 (13.5)	11 (14.9)	11 (14.9)	5 (6.7)	74 (100.0)
				DF=8	$\chi^2=6.22$	p=0.6230

- 외국인들이 우영 음식을 먹어본 경험은 국가 간의 유의성은 없었고 '예'가 29.2 %, '아니오'가 70.8 %로 먹어본 경험이 없는 비율이 높았음 (Table 21)

- 일본이 우영을 많이 섭취하는 국가이지만 일본인의 우영음식 섭취경험이 60 %로 나타났는데 이는 조사대상자의 연령이 낮으므로 서구식 식생활로 변화된 결과로 사료됨

Table 21. Have you ever tried eating that food using Woo-eung

Variable	China	Japan	Southeast Asia	Europe & USA	Africa	Total
Yes	9 (24.3)	6 (60.0)	3 (27.3)	1 (9.1)	2 (50.0)	21 (29.2)
No	28 (75.7)	4 (40.0)	8 (72.7)	10 (90.9)	2 (50.0)	51 (70.8)
Total	37 (50.0)	10 (13.5)	11 (14.9)	11 (14.9)	5 (6.7)	74 (100.0)
				DF=4	$\chi^2=7.57$	p=0.1086

- 우영을 먹어본 경험이 있는 외국인들 중에 우영 음식을 먹는 빈도수는 국가 간의 유의성이 없었고 ‘한달에 1-2 회’ (33.3 %), ‘일주일에 1-2 회’ (28.6 %), ‘거의 모든 식사에서’ (14.3 %), ‘하루에 한번’ (9.5 %)로 나타났음 (Table 22)

Table 22. How often do you eat that food using Woo-eung

Frequency	China	Japan	Southeast Asia	Europe & USA	Africa	Total
almost every meals	1 (11.1)	2 (33.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (14.3)
once a day	2 (22.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (9.5)
3-5 times/week	1 (11.1)	1 (16.7)	0 (0.0)	1 (100.0)	0 (0.0)	3 (14.3)
1-2 times/week	2 (22.2)	1 (16.7)	2 (66.7)	0 (0.0)	1 (50.0)	6 (28.6)
1-2 times/month	3 (33.3)	2 (33.3)	1 (33.3)	0 (0.0)	1 (50.0)	7 (33.3)
Almost not intake	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Total	9 (42.9)	6 (28.6)	3 (14.3)	1 (4.7)	2 (9.5)	21 (100.0)
				DF=16	$\chi^2=14.88$	p=0.5338

- 외국인들에게 ‘우영을 이용한 음식이 건강에 좋다고 생각합니까?’에 대한 응답 결과 국가 간의 유의성이 없었고 ‘모르겠다’라고 답한 사람이 56.7 %, ‘예’라고 답한 사람이 41.9 %, ‘아니오’라고 답한 사람이 1.4 % 로 나타남 (Table 23)

- 대부분의 외국인이 우영을 이용한 음식이 건강에 좋은지 모르겠다고 응답하였는데 우리나라는 다양한 우영을 이용한 음식을 오래전부터 섭취하였고 이를 현대인의 입맛에 맞게 조리법을 개발하는 것 뿐 아니라 우영의 건강기능성을 알리는 것도 중요할 것으로 사료됨

Table 23. Food using Woo-eung is good for health

Variable	China	Japan	Southeast Asia	Europe USA	Africa	Total
Yes	13 (35.1)	7 (70.0)	5 (45.4)	5 (45.5)	1 (20.0)	31 (41.9)
No	0 (0.0)	1 (10.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.4)
Don't know	24 (64.9)	2 (20.0)	6 (54.6)	6 (54.5)	4 (80.0)	42 (56.7)
Total	37 (50.0)	10 (13.5)	11 (14.9)	11 (14.9)	5 (6.7)	74 (100.0)
				DF=8	$\chi^2=12.63$	p=0.1252

- 한국인들이 더덕 음식을 먹어본 경험은 ‘예’가 97.2 %, ‘아니오’가 2.8 %로 먹어본 경험이 많은 것으로 나타났음 (Table 24)
- 더덕 음식을 먹어본 경험이 있는 한국인들 중에 더덕 음식을 먹는 빈도수는 ‘한달에 1-2 회’ (50.7 %), ‘거의 먹지 않는다’ (46.4 %), ‘일주일에 1-2 회’ (2.9 %) 순으로 나타났으며 한국인들에게 ‘더덕을 이용한 음식이 건강에 좋다고 생각하니까?’에 대해 물어본 결과 ‘예’가 98.6 %, ‘아니오’가 0.0 %, ‘모르겠다’가 1.4 %로 대체로 건강에 좋다고 생각하는 것으로 나타났다 (Table 24).

Table 24. Perception of Korean about food using Deoduk

Variables		N (%)
Experience to eat Deoduk	Yes	69 (97.2)
	No	2 (2.8)
How often do you eat food using Deoduk	almost every meals	0 (0.0)
	once a day	0 (0.0)
	3-5 times/week	0 (0.0)
	1-2 times/week	2 (2.9)
	1-2 times/month	35 (50.7)
	Almost not intake	32 (46.4)
How do you think the food using Deoduk is good for health	Yes	70 (98.6)
	No	0 (0.0)
	Don't know	1 (1.4)
Total		69 (100.0)

- 한국인들이 우영 음식을 먹어본 경험은 ‘예’가 91.6 %, ‘아니오’가 8.4 %로 먹어본 경험이 많은 것으로 나타났음 (Table 25)
- 우영 음식을 먹어본 경험이 있는 한국인들 중에 우영 음식을 먹는 빈도수는 ‘한달에 1-2 회’ (52.3 %), ‘거의 먹지 않는다’ (38.5 %), ‘일주일에 1-2 회’ (4.6 %) 순으로 나타났으며 한국인들에게 ‘우영을 이용한 음식이 건강에 좋다고 생각합니까?’에 대해 물어본 결과 ‘예’가 94.4 %, ‘아니오’가 1.4 %, ‘모르겠다’가 4.2 %로 대체로 건강에 좋다고 생각하는 것으로 나타났음

Table 25. Perception of Korean about food using Woo-eung

Variables		N (%)
Experience to eat food using Woo-eung	Yes	65 (91.6)
	No	6 (8.4)
How often do you eat food using Woo-eung	almost every meals	1 (1.5)
	once a day	0 (0.0)
	3-5 times/week	2 (3.1)
	1-2 times/week	3 (4.6)
	1-2 times/month	34 (52.3)
	Almost not intake	25 (38.5)
Food using Woo-eung is good for health	Yes	67 (94.4)
	No	1 (1.4)
	Don't know	3 (4.2)
Total		71 (100.0)

- 이상의 결과를 볼 때 더덕 우영 음식 선호도 조사에서 4 점 이상을 나타낸 메뉴는 더덕 설기떡, 더덕강정, 더덕고추장양념구이, 우영잡채, 우영칩이었음
- 더덕 설기떡은 떡을 선호하는 일본인과 동남아시아인을 위해 개발 가능하고 더덕 강정과 더덕고추장양념구이, 우영잡채는 외국인이 선호하는 비빔밥과 함께 베지테리언 시장을 개척 할 수 있을 것으로 생각됨
- 더덕강정과 더덕고추장장구이는 외국인들이 좋아하는 한국적인 소스와 양념으로 고추장을 이용하여 한식의 세계화에 어울리는 맛이라고 사료됨
- 또한 우영칩은 포테이토칩과 같은 메뉴로 현재 패스트푸드 시장에 응용가능하며, 한식의 세계화를 위한 간편 건강식으로 개발 가능할 것으로 사료됨
- 더덕과 우영에 대한 설문조사 결과 외국인들이 더덕을 먹어본 경험이 있는 사람이 31 %로 대부분의 외국인이 먹어본 경험이 별로 없는 것으로 나타났으나 일본인의 60 %는 우영을 먹어본 경험이 있었음

- 더덕과 우영이 건강에 좋을 것 같은가에 대한 설문에서는 일본을 제외한 외국인들은 잘 모르겠다고 응답하여 더덕과 우영에 대한 인지도가 낮고 건강에도 좋을지 잘 모르는 것으로 나타남
- 대부분의 외국인이 우영을 이용한 음식이 건강에 좋은지 모르겠다고 응답하였는데 우리나라는 다양한 우영을 이용한 음식을 오래전부터 섭취하였고 이를 현대인의 입맛에 맞게 조리법을 개발하는 것 뿐 아니라 우영의 건강기능성을 알리는 것이 중요함
- 일본인과 한국인들 대부분은 더덕과 우영을 먹어본 경험이 있기에 이러한 재료들이 건강에 좋을 것 같다는 의견을 가지지만 외국인들에게는 더덕과 우영을 이용한 음식과 이들의 건강에 좋은 점을 알리는 것이 우선인 것으로 사료됨
- 본 연구에서 개발된 더덕과 우영을 이용한 음식의 표준레시피를 학회지에 투고하고 국문과 영문 표준레시피를 한식재단 사이트에 등재하여 외국인을 위한 한식 개발의 자료로 활용할 수 있을 것임

5. 설문지

Sensory evaluation of food using Deoduk and Woo-eung

Hello!

This survey was designed to collect basic data required for exploring effective methods for globalization of Korean food. The survey attempts to examine foreigners' preferences on various Deoduk and Woo-eung food and their evaluations on such food.

The collected answers to the survey questions will only be used for research purpose. Please thoroughly read through the contents of the survey questions; then, make ✓ marks or directly put the numbers to your answer choices.

Your responses to the survey questions will become valuable data for academic research.

Thank you!

2013. 7

Dept. of Food and Nutrition, Kyunghee University

Detailed Project Research Director Myung Joo Han















Deoduk (*Codonopsis lanceolata*)



Woo-eung (*Arctium lappa*)

1. What is your gender? Male _____ Female _____
2. What is your year of birth? _____
3. Which country did you come from? _____
4. How long have you stayed in Korea? _____year _____month
5. What is your occupation? ① Student ② Other_____

6. Please make ✓marks on choices that demonstrates your level of preference.

			Dislike extrem ely	Dislike modera tely	So-so	Like modera tely	Like extrem ely
(1)	Deoduk bap						
2	Deoduk seolgidduk						
3	Seopsansam (Fried Deoduk with glutinous rice flour)						
4	Deoduk gangjeong						
5	Roasted Deoduk with red pepper paste						
6	Deoduk pine nut juice salad						
(7)	Woo-eung mushroom bap						
8	Roasted Woo-eung with glutinous rice flour						
(9)	Woo-eung Japchae						
10	Roasted Woo-eung with red pepper paste						
11	Fried Woo-eung with mixed vegetable						
12	Woo-eung chip						

7. How often intake Korean food?

- ① almost every meals/day ② once a day ③ 3-5 times/week
④ 1-2 times/week ⑤ 1-2 times/month ⑥ Almost not intaking

8. What is the reason that you prefer Korean food?

- ① Taste good
② Beneficial to one`s health
③ Reasonable prices
④ Diverse menu
⑤ Peculiar cooking method
⑥ The harmony of rice and side dishes
⑦ A large amount of food
⑧ Other_____

9. What is the reason you prefer not to Korean food?

- ① Stimulating taste and flavor
② Too spicy
③ The price is too expensive
④ The menu is too simple
⑤ Too many unnecessary side dishes
⑥ Preparation of food is often not neat and clean.
⑦ One can have hard time digesting Korean food
⑧ Other_____

10. When you eat out, what is most frequently chosen food type?

- ① Korean food ② Chinese food ③ Japanese food
④ Western food ⑤ Fast food ⑥ Other_____

11. Have you ever tried eating that food using Deoduk?

- ① Yes (go to #12) ② No (go to #13)

12. How often do you eat that food using Deoduk?

- ① almost every meals/day ② once a day ③ 1-2 times/week
④ 3-5 times/week ⑤ 1-2 times/month ⑥ Almost not intaking

13. How do you think the food using Deoduk is good for health?

- ① Yes ② No ③ Don't know

14. Have you ever tried eating that food using Woo-eung?

- ① Yes (go to #15) ② No (go to #16)

15. How often do you eat that food using Woo-eung?

- ① almost every meals/day ② once a day ③ 1-2 times/week

- ④ 3-5 times/week ⑤ 1-2 times/month ⑥ Almost not intaking

16. How do you think the food using Woo-eung is good for health?

- ① Yes ② No ③ Don't know

더덕, 우엉 음식에 대한 선호도 조사

안녕하십니까?

본 설문은 귀하의 더덕, 우엉음식에 대한 선호도를 파악하여 더덕, 우엉 음식에 대한 평가를 한국 음식의 세계화 방안을 모색하는데 필요한 기초 자료로 활용하고자 합니다.

귀하께서 답변하시는 내용은 연구 이외의 다른 용도로는 사용하지 않을 것입니다. 질문 내용을 숙지하시고 해당되는 사항에 √표를 해주시거나 직접 기입해 주시기 바랍니다.

본 설문지에 대한 응답하신 내용은 학술연구에 더없이 귀중한 자료가 될 것입니다.

감사합니다.

2013. 7

경희대학교 식품영양학과

제 2세부 연구책임자 한 명 주

1. 다음 항목에 제시된 더덕, 우엉 음식을 얼마나 좋아하는지 또는 싫어하는지 해당 칸에 √ 표로 표시해 주세요.

		매우 싫다	보 통 으 싫 다	그 저 그 렇 다	보 통 으 좋 다	매 우 좋 다
더덕밥						
더덕설기떡						
섬산삼						
더덕강정						
더덕고추장양념 구이						
더덕жат슴생채						
우엉 버섯밥						
우엉참쌀구이						
우엉참채						
우엉고추장구이						
우엉채소튀김						
우엉칩						

제 4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

	목표	연구개발 수행내용	달성도 (%)	평가의 착안점
1세부	<p>더덕, 우영의 비만 억제에 미치는 영향 및 관련 작용기전 규명을 통해 더덕과 우영의 건강기능성에 대한 실증적 자료를 제시함.</p>	<ul style="list-style-type: none"> 고지방 식이로 유도된 비만 모델에서 더덕과 우영의 항비만 효능과 작용기전 연구 더덕과 우영의 기능성 성분에 대한 항비만생리 활성 및 작용 기전을 <i>in vitro</i> 실험을 통해 연구 	100	<ul style="list-style-type: none"> 고지방 식이로 유도된 비만 모델에서 더덕 에탄올 추출물의 비만 억제와 항염증 효능 확인 및 작용 기전 규명함 Lancemaside A 및 arctiin의 비만 억제 효능의 <i>in vivo</i> 확인 및 관련 작용 기전 규명함 3T3-L1 세포주에서 lancemaside A와 arctiin의 항비만 생리활성에 대한 작용 기전 규명
2세부	<ul style="list-style-type: none"> 더덕·우영 활성추출물을 규격화하고 주요 기능성 성분을 확인하기 위해, 지표성분 또는 활성성분의 함량분석, 지표물질의 분리, 구조 규명 및 분석 조건을 확립함 더덕·우영 이용한 전통 레시피를 토대로 현대인에게 적합한 다양한 레시피를 개발하고, 국가간의 선호도를 측정하여 세계인의 입맛에 맞는 음식을 보급하여 한식의 세계화에 기여함 	<ul style="list-style-type: none"> 더덕·우영 추출물 제조 지표물질 탐색·분리 및 동정 활성추출물 지표물질의 함량 분석을 위한 HPLC 분석조건 연구 추출물별 지표물질의 함량 분석을 통한 정량화 더덕·우영을 이용한 음식, 민간요법, 관련풍습 자료 수집 더덕·우영을 이용한 음식의 조리법을 체계화 및 표준화 인종에 따른 더덕·우영 이용음식에 대한 기호도 조사 더덕·우영 이용한 음식의 시식회 개최 	100	<ul style="list-style-type: none"> 동물실험용 더덕·우영 추출물 제조 완료 지표물질 분리 및 동정 완료 HPLC 분석조건 확립 및 validation 완료 동물실험용 더덕·우영 추출물의 함량 분석 수행 더덕·우영을 이용한 표준레시피 개발하여 관능평가로 내·외국인 기호도 조사 완료 한식의 세계화를 위하여 더덕·우영 음식의 건강기능성과 우수성을 적극적으로 홍보해야함

제 5장 연구 성과 및 성과 활용 계획

제 1절 연구 성과

	발표연도	논문명	발표기관	국내·외 구분
학술 대회 발표	2013.11	Anti-obesity and Anti-inflammatory Effects of Lancemaside A in High Fat Diet-Induced Obese Mice	한국영양학회 추계학술대회	국내
	2013.11	<i>Codonopsis Lanceolata</i> Inhibits Adipogenesis in 3T3-L1 Cells and in High Fat Diet-Induced Obese Mice	KFN international symposium and annual meeting	국제
	2013.11	Arctiin Regulates Lipid Metabolism via AMP-activated Protein Kinase Signaling Pathways in 3T3-L1 adipocytes	KFN international symposium and annual meeting	국제
	2013.11	Separation of Lancemaside A from <i>Codonopsis lanceolata</i>	KFN international symposium and annual meeting	국제
	2013.11	Analysis on the content of Arctiin in root(burdock) and fruit of <i>Arctium lappa</i>	KFN international symposium and annual meeting	국제
수상	2013.11	Anti-obesity and Anti-inflammatory Effects of Lancemaside A in High Fat Diet-Induced Obese Mice	한국영양학회 우수초록발표상	국내
논문 발표	2013.12	더덕을 이용한 전통레시피 개발과 내·외국인의 선호도조사	식생활문화학회	국내
	2013.12 (in preparation)	Anti-obesity and anti-inflammatory effects of lancemaside	JOURNAL OF AGRICULTURAL	국제

		A in high fat diet-induced obese mice	AND FOOD CHEMISTRY	
	2013.12 (in preparation)	Arctiin inhibits adipogenesis in 3T3-L1 cells and in high fat diet-induced obese mice	JOURNAL OF MEDICINAL FOOD	국제

2013
한국영양학회 추계학술대회
및 제48차 정기총회

염증과 영양

Inflammation and Nutrition


일 시

2013. 11. 8.(금) 09:00~17:30

장 소

밀레니움서울힐튼호텔, 그랜드볼룸(B1)



| 주최 |  (사) 한국영양학회
| 후원 | 한국과학기술단체총연합회
| 협찬 | 캘리포니아 아몬드협회, 캘리포니아 호두협회, 원더풀 피스타치오, (주)담터, 한국암웨이(주),
(주)한국아쿠르트, (주)휴롬, CJ제일제당, 남양유업(주), 영광군농업기술센터/전남보리산학협력단

Anti-obesity and Anti-inflammatory Effects of Lancemaside A in High Fat Diet-Induced Obese Mice

Ling Mu, Phil Kyung Shin, Jayong Chung. Department of Food and Nutrition, College of Human Ecology, Kyung Hee University, Seoul, 130-701 Korea

Lancemaside A, one of major saponins found in *Codonopsis lanceolata*, has been shown to have various biological activities. The purpose of this study was to evaluate whether lancemaside A could prevent the development of obesity and inflammation state in high fat diet-induced obese mice. C57BL/6J mice fed either a control diet (CON, 4.5% kcal from fat) or a high-fat diet (HF, 45% kcal from fat), After inducing obesity for 8 weeks, HF mice were divided into three groups and then supplemented with either two doses of lancemaside A (HF+LL, 10mg/kgBW; HF+HL, 20 mg/kgBW) or vehicle (distilled water, HF) for additional 9 weeks. The final body weight and the weight of adipose tissue in HF+LL and HF+HL group were significantly lower than those in HF group ($p<.0001$). The concentrations of hepatic TG ($p=0.0001$), plasma TG ($p=0.001$), and plasma cholesterol ($p<.0001$), plasma GPT ($p=0.002$) and hepatic TBARS ($p=0.001$) in the HF+LL and HF+HL group were significantly lower than those in HF group. Lancemaside A supplementation at both doses significantly decreased the hepatic protein levels of fatty acid synthase ($p=0.001$) and PPAR γ ($p=0.001$), compared to HF group. As for the inflammatory marker, lancemaside A treatment significantly decreased the hepatic protein levels of p-P65 ($p=0.01$), p-IKK ($p=0.07$), p-JNK ($p=0.03$), p-I κ B ($p<.0001$), and TNF- α ($p=0.001$) in a dose-dependent manner compared with HF group. In summary, these results suggest that dietary lancemaside A has anti-obesity and anti-inflammation effect on diet-induced obesity. (This research was supported by grants from the Globalization of Korean Foods R&D program, funded by the Ministry of Food, Agriculture, Forestry and Fisheries, Grant no. 912023-1)

[P4-15] Changes in the content of chlorogenic acid and anti-inflammatory effects of *Ligularia fischeri* under different cooking methods
Hee-Sook Park, Hye-Young Choi and Gun-Hee Park

[P4-16] 김치 및 주재료인 배추의 항균활성 및 항산화효과
박혜진, 장미란, 김건희

[P4-17] Neuroprotective effects of *Cheonggukjang* on hydrogen peroxide-induced apoptosis in U-87 MG cells
Jung-A Shin, Joo Hyun Park, Sun Hee Kim, Kyung-Hoon Han and Kwan-Young Song

[P4-18] 오미자차와 건강차의 물 추출 방법에 따른 생리활성 물질 함량 비교
김희순, 문현경, 이정숙, 김옥희, 황광호, 이춘영, 유인실, 정권

[P4-19] Loganin attenuates pro-inflammatory action in the lipopolysaccharide-stimulated SH-SY5Y neuroblastoma cells
Sun Hee Kim, Jung-A Shin, Joo Hyun Park and Kwan-Young Song

[P4-20] Anti-obesity and Anti-inflammation Effects of Lancemaside A in High-fat diet Induced Obesity Mice
Ling Mu, Phil Kyung Shin, Byulchorong Min and Jayong Chung.

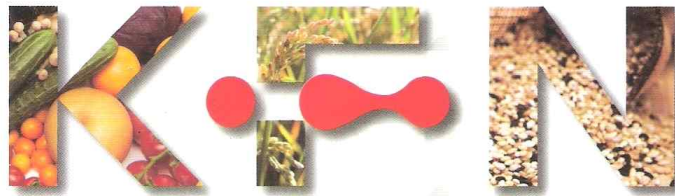
[P4-21] Anti-obesity and anti-insulin resistant effects of tomato vinegar beverage in high-fat diet-induced obese mice
Kwon-IL Seo, Jin Lee, Ra-Young Choi, Hae-In Lee, Ju-Hye Lee, Yong-Ki Jeong, Myung-Joo Kim and Mi-Kyung Lee

2013 KFN International Symposium and Annual Meeting

Food Safety for the Food Industry

Nov. 13 ~ Nov. 15, 2013

Kimdaejeung Convention Center, Gwangju, Korea



KFN The Korean Society of Food Science and Nutrition **ROA** 농촌진흥청

Sponsored by



***Codonopsis Lanceolata* Inhibits Adipogenesis in 3T3-L1 Cells and in High Fat Diet-Induced Obese Mice**

Eun-hye Kim, Byulchorong Min* Mu ling, Jayong Chung

Department of Food and Nutrition, Kyung Hee University, Seoul, 130-701, Korea

Codonopsis lanceolata (Deo-duck), of which major saponin component is lancemaside A, has long been used in traditional foods as well as in herbal medicines. The aim of this study was to investigate the effect of *Codonopsis lanceolata* ethanol extract (CLE) and lancemaside A on adipogenesis in high fat diet-induced obese mice and in 3T3-L1 adipocytes. C57BL/6 mice were fed a high-fat diet supplemented with 0, 1 or 2.5 mg/gBW CLE for 2 months. CLE supplementation in high-fat diet mice significantly decreased body weight gain and adipose tissue weight in a dose-dependent manner. The high-dose of CLE supplementation also significantly decreased the levels of serum TG and hepatic TG. In 3T3-L1 cells, treatment with lancemaside A at a dose of 1.25 to 20 µM markedly suppressed adipocyte differentiation in a dose-dependent manner. Further, lancemaside A significantly decreased the protein levels of PPARγ, while increased the phosphorylation of AMP-activated protein kinase and the phosphorylation of acetyl CoA carboxylase in 3T3-L1 adipocytes. In addition, lancemaside A significantly decreased the mRNA levels of acetyl CoA carboxylase 1, fatty acid synthase, sterol coenzyme A desaturase 1, and sterol regulatory element-binding protein 1c. In conclusion, our findings suggest that dietary , and leptin. In (SREBP1c), leptin and increased carnitine palmitoyltransferase 1 (CPT1). In summary, our findings indicate that *Codonopsis lanceolata* and its component lancemaside A have a strong anti-obesity effect *via* inhibiting adipogenesis.

<p>P09-117 Effects of steamed <i>Codonopsis lanceolata</i> extracts inhibit 3T3-L1 adipocytes differentiation and decrease production of reactive oxygen species Young-Eun Jeon, Xing Fu Yin, Byeong Kyu Choi, DaWoon Jung, IL Jun Kang, Dept. of Food Science and Nutrition, Hallym University, Chuncheon, Gangwon-Do 200-702, Korea</p> <p>P09-118 Inhibitory Effects of <i>Agrimonia pilosa</i> Ledebour against α-Glucosidase and on the Formation of Advanced Glycation Endproducts Xing Fu Yin*, Young-Eun Jeon, Gil Hee Jang, Yu Hua Huang, IL Jun Kang, Dept. of Food Science and Nutrition, Hallym University, Chuncheon, Gangwon-Do 200-702, Korea</p> <p>P09-119 Artepillin C Suppresses Angiogenesis by Inhibiting Tube-Formation and Inducing Apoptosis of Endothelial Cells Seon-Il Park*, Mok-Ryeon Ahn, Dept. of Food Science and Nutrition, Dong-A University, Busan 604-714, Korea</p> <p>P09-120 Study of Angiogenesis Inhibition by Korean Propolis Using the Chorioallantoic Membrane (CAM) Assay Seon-Il Park*, Jin Hee Kang, Hwi Jeong Kim, Hyun Ju Kim, Mira Jun, Mok-Ryeon Ahn, Dept. of Food Science and Nutrition, Dong-A University, Busan 604-714, Korea</p> <p>P09-121 미역포자엽에서 추출한 Fucoxanthin의 기초 특성 및 안정성 평가 Soon-Jae Kwon*, Ju-Hye Lee, Kwang-Dog Moon, Il-Yun Jeong*, Dong-UK Ahn*, Mi-Kyung Lee*, Ji-Won Noh*, Kyoung-Lee Kang*, Kwon-Il Seo*, Dept. of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu, Korea, *Dept. of Food and Nutrition, Suncheon National University, 413 Jungangno, Suncheon, Jeonnam, Korea, *Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongeup, Jeonbuk, 580-185, Korea, *Dept. of Animal Science, Iowa State University, Ames, IA 50011-3150, USA</p>	<p>P09-127 Methoxyflavones from <i>Kaempferia parviflora</i> as Potent and Selective β-Secretase (BACE1) Inhibitors Kumju Youn* and Mira Jun, Dept. of Food Science & Nutrition, Dong-A University, Busan 604-714, Korea</p> <p>P09-128 The verification of in vitro efficacy of immune activation and function with Yuzu (<i>Citrus junos</i>) extracts Soo-Yeon Park*, Hyelin Jeon*, Hyo-Kyung Choi*, Jae-Sung Seo*, Kyung-Chul Choi*, Ho-Geun Yoon*, Dept. of Biochemistry and Molecular Biology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea, *Dept. of Biomedical Sciences, University of Ulsan College of Medicine, Seoul, Korea</p> <p>P09-129 Arctiin Regulates Lipid Metabolism <i>via</i> AMP-activated Protein Kinase Signaling Pathways in 3T3-L1 adipocytes Byulchorong Min*, Philkyung Shin, Sukyung Chun, Jayong Chung, Dept. of Food & Nutrition, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea</p> <p>P09-130 <i>Codonopsis Lanceolata</i> Inhibits Adipogenesis in 3T3-L1 Cells and in High Fat Diet-Induced Obese Mice. Eun-hye Kim, Byulchorong Min*, Mu ling, Jayong Chung, Dept. of Food and Nutrition, Kyung Hee University, Seoul, 130-701, Korea</p> <p>P09-131 The Effect of Kochujang pill on in hyperlipidemia Subjects: A 12-week, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Clinical Trial Ji-Hee Lim¹, Mi-Ra Oh¹, Soo-Hyun Park¹, Eun-Ock Park¹, Eun-Soo Jung¹, Yoon-Jin Jang¹, Soo-Young Jung¹, Eun-Kyung Choi¹, Do-Yeoun Jeong¹, Seung-Wha Jo¹, Soo-Wan Chae^{1,2}, ¹Clinical Trial Center for Functional Foods, Chonbuk National University Hospital, Jeonju, Korea, ²Dept. of Pharmacology, Chonbuk National University, Medical School, Jeonju, Korea, ³Sunchang Research Center for Fermentation Microbes, 850-17, Sunchang-eup, Sunchang-gun, Jeonbuk 595-804, Korea</p>
--	---

Arctiin Regulates Lipid Metabolism *via* AMP-activated Protein Kinase Signaling Pathways in 3T3-L1 adipocytes

Byulchorong Min*, Sukyung Chun, Philkyung Shin Jayong Chung

Department of Food & Nutrition, Kyung Hee University, Seoul, KOREA 130-701

Adipocyte differentiation and increased fat accumulation are key features in obesity. The objective of this study was to determine the effect of arctiin, a phytoestrogen lignan found in *Arctium lappa* (burdock), on adipocyte differentiation and lipid metabolism in 3T3-L1 cells. 3T3-L1 cells were treated with arctiin (6.25 to 100 μ M) during differentiation for 8 days. Then, the effects of arctiin on adipocyte differentiation were measured by Oil red O staining as well as by measuring triglyceride contents after lipid extraction. Also, to investigate the effects of arctiin on the activity of AMP-activated protein kinase (AMPK) and the expression of genes associated with lipid metabolism, various concentration of arctiin (6.25 to 100 μ M) were treated to 3T3-L1 adipocytes for 24 hours. The protein levels of phosphorylated-AMPK, phosphorylated-actyl CoA carboxylase (ACC), and fatty acid synthase (FAS) were measured by Western blot analyses. Results showed that arctiin treatment at 50 and 100 μ M significantly suppressed the adipocyte differentiation in a dose-dependent manner. Further, arctiin treatment greatly increased the phosphorylation of AMPK and the phosphorylation of its downstream target ACC. The protein levels of FAS were also significantly decreased by arctiin treatment. In summary, our data suggest that arctiin suppresses adipocyte differentiation and fat accumulation in adipocytes through the activation of AMPK signaling pathways.

- SOON-JAE KWON¹, JU-HYE LEE², KWANG-DEOG MOON¹, IL-YUN JEONG³, DONG-UK AHN⁴, MI-KYUNG LEE⁵, JI-WON NOH⁶, KYOUNG-LEE KANG⁷, KWON-IL SEO⁸, ¹Dept. of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu, Korea, ²Dept. of Food and Nutrition, Suncheon National University, 413 Jungangno, Suncheon, Jeonnam, Korea, ³Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongseup, Jeonbuk, 580-185, Korea, ⁴Dept. of Animal Science, Iowa State University, Ames, IA 50011-3150, USA
- P09-117 **Effects of steamed *Codonopsis lanceolata* extracts inhibit 3T3-L1 adipocytes differentiation and decrease production of reactive oxygen species**
Young-Eun Jeon¹, Xing Fu Yin², Byeong Kyu Choi³, DaWoon Jung⁴, IL-Jun Kang⁵, Dept. of Food Science and Nutrition, Hallym University, Chuncheon, Gangwon-Do 200-702, Korea
- P09-118 **Inhibitory Effects of *Agrimonia pilosa* Ledebour against α -Glucosidase and on the Formation of Advanced Glycation Endproducts**
Xing Fu Yin¹, Young-Eun Jeon², Gil Hee Jang³, Yu Hua Huang⁴, IL-Jun Kang⁵, Dept. of Food Science and Nutrition, Hallym University, Chuncheon, Gangwon-Do 200-702, Korea
- P09-119 **Artepillin C Suppresses Angiogenesis by Inhibiting Tube-Formation and Inducing Apoptosis of Endothelial Cells**
Seon-Il Park¹, Mok-Ryeon Ahn², Dept. of Food Science and Nutrition, Dong-A University, Busan 604-714, Korea
- P09-120 **Study of Angiogenesis Inhibition by Korean Propolis Using the Chorioallantoic Membrane (CAM) Assay**
Seon-Il Park¹, Jin Hee Kang², Hwi Jeong Kim³, Hyun Ju Kim⁴, Mira Jun⁵, Mok-Ryeon Ahn⁶, Dept. of Food Science and Nutrition, Dong-A University, Busan 604-714, Korea
- P09-121 **미역포자엽에서 추출한 Fucoxanthin의 기초 특성 및 안정성 평가**
- NAUDURE UNIVERSITY, JIQU 3000 101, INDORE
- P09-127 **Methoxyflavones from *Kaempferia parviflora* as Potent and Selective β -Secretase (BACE1) Inhibitors**
Kunju Youn¹ and Mira Jun², Dept. of Food Science & Nutrition, Dong-A University, Busan 604-714, Korea
- P09-128 **The verification of in vitro efficacy of immune activation and function with Yuzu (*Citrus junos*) extracts**
Soo-Yeon Park¹, Hyelin Jeon², Hyo-Kyoung Choi¹, Jae-Sung Seo³, Kyung-Chul Choi², Ho-Geun Yoon¹, ¹Dept. of Biochemistry and Molecular Biology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea, ²Dept. of Biomedical Sciences, University of Ulsan College of Medicine, Seoul, Korea
- P09-129 **Arctiin Regulates Lipid Metabolism *via* AMP-activated Protein Kinase Signaling Pathways in 3T3-L1 adipocytes.**
Byulchorong Min¹, Philkyung Shin², Sukyung Chun³, Jayong Chung⁴, Dept. of Food & Nutrition, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea
- P09-130 ***Codonopsis Lanceolata* Inhibits Adipogenesis in 3T3-L1 Cells and in High Fat Diet-Induced Obese Mice.**
Eun-hye Kim, Byulchorong Min¹, Mu ling, Jayong Chung, Dept. of Food and Nutrition, Kyung Hee University, Seoul, 130-701, Korea
- P09-131 **The Effect of Kochujang pill on in hyperlipidemia Subjects: A 12-week, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Clinical Trial**
Ji-Hee Lim¹, Mi-Ra Oh¹, Soo-Hyun Park¹, Eun-Ock Park¹, Eun-Soo Jung¹, Yoon-Jin Jang¹, Soo-Young Jung¹, Eun-Kyung Choi¹, Do-Yeoun Jeong¹, Seung-Wha Jo¹, Soo-Wan Chae^{1,2}, ¹Clinical Trial Center for Functional Foods, Chonbuk National University Hospital, Jeonju, Korea, ²Dept. of Pharmacology, Chonbuk National University, Medical School, Jeonju, Korea, ³Sunchang Research Center for Fermentation Microbes, 850-17, Sunchang-eup, Sunchang-gun, Jeonbuk 595-804, Korea

Separation of Lancemaside A from *Codonopsis lanceolata*

Yu Ri Oh^{1*}, Na Young Kim², Myung Joo Han¹

¹Department of Food and Nutrition, Kyunghee University, ²Department of Hotel Food Service and Culinary Arts, Songho College

Reflux extraction of dried *Codonopsis lanceolata*(3.5kg) is done at 90°C by applying 35L of 80% EtOH and then EtOH extract (63.54g) was gotten after concentrating it. n-BuOH fraction(104.02g) was gotten from the concentrated EtOH extract. And 4 small fractions were gotten by carrying out silica gel column chromatography. The separated fractions have found to be changed to purple which is estimated to be Lancemaside by 5% sulfuric acid after TLC was carried out. And Fraction IV(61.71g) was gotten. 6 small fractions were gotten from Fraction IV by carrying out reverse silica gel column chromatography with elution solvent of 20% MeOH. Each small fraction has found to be changed to purple as reverse TLC was carried out by development solvent of MeOH : H₂O(7 : 3) and color formation is done by 5% sulfuric acid. And then Fraction VI-5(720mg) which is estimated to be Lancemaside A fraction was gotten. As the peak was checked at RT 25min in the result which analyzed Fraction VI-5 and Lancemaside A(standard) by using HPLC, Fraction VI-5 was estimated to be Lancemaside A. The result which analyzed EtOH extract of *Codonopsis lanceolata* with HPLC has found that the content of Lancemaside A in EtOH extract was 28.30 mg/g. And dried *Codonopsis lanceolata* was estimated to contain Lancemaside A of 2.13mg/g. This research was supported by grants from the Globalization of Korean Foods R&D program(Grant No.912023-1), funded by the Ministry of Food, Agriculture, Forestry and Fisheries, Republic of Korea.

■ 식품분석/품질 분야

- P02-01 **Change of Antioxidant Compounds and Activity of Soybean with Different Drainage Methods in Sloping Paddy Field**
Koan Sik Woo^{*}, Ki Yuol Jung, Jee Yeon Ko, Jae Saeng Lee, Eul Soo Yun, Chang Yeong Park, Jae Bog Hwang, Young Dae Choi, Seuk Bo Song, Jung In Kim, Ki Young Kim, Tae Wook Jung, Jae Min Cho, Jong Nae Hyun, and In Seok Oh. Department of Functional Crop, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Gyeongnam 627-803, Korea
- P02-02 **조(*Setaria italica* Beauv.) 품종과 첨가비율에 따른 오메가 지방의 이화학적 특성**
고지연^{*}, 우관식, 이재생, 송석보, 김정인, 정미선, 윤동경, 김기영, 정태욱, 오인석. 농촌진흥청 국립식량과학원 기능성작물부
- P02-03 **Separation of Lancemaside A from *Codonopsis lanceolata***
Yu Ri Oh^{1*}, Na Young Kim², Myung Joo Han¹. ¹Department of Food and Nutrition, Kyunghee University, ²Department of Hotel Food Service and Culinary Arts, Songho College
- P02-04 **Analysis on the content of Arctiin in root(burdock) and fruit of *Arctium lappa***
Ji Hye Song^{*}, Myung Joo Han. Department of Food and Nutrition of Kyunghee University
- P02-05 **Effect of Various High Hydrostatic Pressure Treatment on Whey Protein Denaturation in Whey Beverage**
Dong Hwa Shin^{*}, Ye Seo Lim, Sung Su Ha, Shin Ho Kang, Seung Yeop Lee, Yong Kook Shin. R&D Center, Seoul Dairy Cooperative

Analysis on the content of Actiin in root(burdock) and fruit of *Arctium lappa*

Ji Hye Song*, Myung Joo Han

Department of Food and Nutrition of Kyunghee University

Reflux extraction of dried burdock(3kg) is done at 90°C by applying 30L of 80% EtOH and then EtOH extract (990g) was gotten after concentrating it. And EtOAC fraction(27g) was gotten from the concentrated EtOH extract. By comparing TLC, they contain Arctiin as purple bands in EtOH extract and EtOAC fraction at the same RF value with Arctiin. The result which analyzed the EtOH extract and EtOAC fraction by HPLC has found that dried burdock contains Arctiin of 0.20mg/g. *Arctium lappa* fruit (5.4kg) was shaken by applying n-hexane(5.4L) and removed n-hexane. Reflux extraction is done at 90°C by applying 80% EtOH(50L) And then EtOH extract(533g) was gotten after concentrating it. EtOH extract was suspended distilled water(1L) and EtOAC fraction(280.61g) was obtained by applying EtOAC(5L) to it. Silica gel column chromatography was carried out in EtOAC fraction and separated into 4 small fractions. Fraction III(9.62g) which is estimated to be the violet arctiin fraction was gotten in the TLC result. The result which analyzed Fraction III and Arctiin(std) by using HPLC has found that the peak is checked at RT 4 min. The result which analyzed EtOH extract and EtOAC fraction by HPLC has found that the dried *Arctium lappa* fruit contain Arctiin of 6.47mg/g. This research was supported by grants from the Globalization of Korean Foods R&D program(Grant No.912023-1), funded by the Ministry of Food, Agriculture, Forestry and Fisheries, Republic of Korea.

■ 식품분석/품질 분야

- P02-01 **Change of Antioxidant Compounds and Activity of Soybean with Different Drainage Methods in Sloping Paddy Field**
Koan Sik Woo¹, Ki Yuol Jung, Jee Yeon Ko, Jae Saeng Lee, Eul Soo Yun, Chang Yeong Park, Jae Bog Hwang, Young Dae Choi, Seuk Bo Song, Jung In Kim, Ki Young Kim, Tae Wook Jung, Jae Min Cho, Jong Nae Hyun, and In Seok Oh. Department of Functional Crop, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Gyeongnam 627-803, Korea
- P02-02 **조(*Setaria italica* Beauv.) 품종과 철기비에 따른 오메가 지방산 함량의 변화 특성**
고지연¹, 우관식, 이재생, 송석보, 김정인, 정미선, 윤동경, 김기영, 정태욱, 오인석. 농촌진흥청 국립식량과학원 기능성작물부
- P02-03 **Separation of Lancemaside A from *Codonopsis lanceolata***
Yu Ri Oh¹, Na Young Kim², Myung Joo Han¹. ¹Department of Food and Nutrition, Kyunghee University, ²Department of Hotel Food Service and Culinary Arts, Songho College
- P02-04 **Analysis on the content of Arctiin in root(burdock) and fruit of *Arctium lappa***
Ji Hye Song*, Myung Joo Han. Department of Food and Nutrition of Kyunghee University
- P02-05 **Effect of Various High Hydrostatic Pressure Treatment on Whey Protein Denaturation in Whey Beverage**
Dong Hwa Shin¹, Ye Seo Lim, Sung Su Ha, Shin Ho Kang, Seung Yeop Lee, Yong Kook Shin. R&D Center, Seoul Dairy Cooperative

제 2절 연구 개발 성과 활용 계획

- 더덕과 우엉 성분의 비만 개선 효능에 대한 *in vivo* 연구 자료 및 학문적 근거를 확보함으로써, 한식 근채류의 우수성을 부각시키고, 한식 세계화의 홍보 자료로 활용함
- 기존의 김치 및 장류로 대표되는 발효 식품의 건강 기능성과는 차별되는 새로운 측면의 한식의 우수성을 입증하는 자료로, 한식 세계화의 영양 확대의 근거 자료로 활용함
- 건강기능식품 개발의 근거 자료로 활용함 - 본 연구 결과를 통해 규명된 더덕의 기능성 및 지표 물질의 확인은 인체적용시험 가능성을 제공하였으며, 이후 건강기능식품 개발에 있어 기초 자료로 활용할 수 있음
- 더덕의 기능성 성분 분석, *in vivo*, *in vitro* 실험에 의한 생리 활성을 규명한 연구 결과를 국제 공인 우수 저널에 발표하여, 한식의 우수성과 인지도 제고를 위한 언론 홍보 자료로 활용함
- 더덕 및 우엉을 활용한 레시피 개발 및 표준화 과정을 학술지 논문에 발표하고, 이들 레시피에 대한 홍보자료를 제작하고 배포함으로써, 보다 많은 사람들이 한식 고유 재료를 이용한 건강식을 실천할 수 있도록 함
- 예로부터 더덕은 강원도 지역에 많이 나며, 이 지역의 백성들이 굶주림에서 벗어나기 위해 구황식으로 섭취하여 왔고 사포닌, 폴리페놀, 알칼로이드, 스테롤, 탄닌, 정유 등 다양한 생리활성 물질 함유된 건강식품 소재로 한식세계화를 위하여 더덕을 이용하여 다양한 음식의 개발이 가능 한 것으로 나타남
- 특히, 섭산삼은 한국인과 외국인이 모두 선호하는 음식으로 나타나 전통조리법을 활용하여 한식세계화시장을 확보할 수 있을 것으로 사료되며, 더덕설기떡은 떡을 선호하는 일본인을 위해 개발 가능할 것임
- 더덕강정과 더덕고추장구이는 외국인들이 좋아하는 한국적인 소스와 양념으로 고추장을 이용하여 한식의 세계화에 어울리는 맛이라고 사료됨
- 사찰음식의 레시피를 이용하여 개발한 우엉잡채는 일본인의 선호도는 보통으로 나타났지만 한국인과 외국인이 모두 좋아하였으므로 우리나라 전통사찰음식 조리방법으로 개발한 메뉴 중 외국인들이 선호도가 높은 메뉴를 활용하여 한식세계화 시장 확보할 수 있을 것임

- 외국인들이 자주 접하는 조리방법인 포테이토칩과 같은 조리방법을 이용한 우영칩은 우영을 식재료로 자주 접하는 일본인의 선호도는 낮은 반면 유럽인과 미국인의 선호도가 높아 서양인을 위하여 개발 가능한 음식으로 사료됨
- 우영칩은 포테이토칩과 같은 메뉴로 현재 패스트푸드 시장에 응용가능하며, 한식의 세계화를 위한 간편 건강식으로 개발 가능할 것임
- 더덕강정, 더덕고추장양념구이, 우영잡채, 우영칩은 외국인이 선호하는 비빔밥과 함께 외국인들을 위한 베지테리언 시장을 개척 할 수 있을 것으로 사료됨
- 대부분의 외국인이 더덕과 우영을 이용한 음식이 건강에 좋은지 모르겠다고 응답하였는데 오래전부터 섭취하여온 더덕과 우영을 이용한 음식을 현대인의 입맛에 맞게 조리법을 개발하는 것 뿐 아니라 더덕과 우영의 건강기능성과 우수성을 발굴함으로 국가 이미지향상에 기여할 수 있을 것임

제 6장 참고문헌

- 김수 저, 윤숙자 역. 2006. 1500년대 한국전통음식 수운잡방. 질시루
한복려. 2011. 다시 보고 배우는 산가요록. 궁중음식연구원
안동장씨 저, 한복려, 한복선, 한복진 역. 2010. 음식디미방. 궁중음식연구원
강남문화재단. 건강 한 그릇 채식밥. 2013. BOOK21. p48
선재스님. 2000. 선재스님의 사찰 음식. 디자인하우스. pp52-145
대안스님. 2010. 열두 달 절집 밥상. 리빙하우스. pp111-242
홍승스님. 2007. 녹차와 채식. 우리출판사. pp 42-159
일운스님. 2011. 불영이 감춘 스님의 비밀레시피. 담앤북스. pp106-214
김영빈. 2010. 절이고 삭히는 발효음식 상차림. 살림 Life. pp35-50
김정숙, 한도연. 2011. 자연의 깊은 맛 장아찌. 아카데미북. p92
선재스님. 2011. 선재 스님의 이야기로 버무린 사찰음식. 불광출판사. pp114-115
이보은, 최수연, 손정연. 2012. 영양 만점 콩요리. 농민신문사.
정연숙, 최수연, 이승진. 2012. 추위도 이기고 감기도 물리치는 몸을 따뜻하게 하는
음식. 농민신문사
Byeon S, Choi W, Hong E, Lee J. 2009. Inhibitory effect of saponin fraction from *Codonopsis lanceolata* on immune cell-mediated inflammatory responses. Arch. Pharm. Res. 32:813-822
Han EG, Sung IS, Moon HG, Cho SY. 1998. Effect of *Codonopsis lanceolata* a water extract on the levels of lipid in rats fed high fat diet. J Korean Soc Food Sci Nutr. 27(5):940-944
Hong WS, Lee JS, Ko SY, Choi YS. 2006. A study on the perception of *Codonopsis lanceolata* dishes and the development of *Codonopsis lanceolata* dishes. Korean J. Food Cookery Sci. 22(2):181-192
Jin TY, Lee WG, Lee IS, Yang MH. 2008. Changes of physicochemical, sensory and antioxidant activity characteristics in rice wine, *Yakju* added with different ratios of *Codonopsis lanceolata*. Korean J. Food Sci Technol. 40(2):201-206
Jin TY, Wang MH. 2013. Quality characteristics of *Codonopsis lanceolata* tea manufactured with sugar. J Korean Soc Food Sci Nutr. 42(5):753-758
Kim MH, Chae HS. 2011. A Study of the quality characteristics of Yanggaeng supplemented with *Codonopsis lanceolata* trout (Benth et Hook). J East Asian Soc Dietary Life. 21(2): 228~234
Kim NY, Chae HS, Lee IS, Kim DS, Seo KT, Park SJ. 2010. Analysis of che

- mical composition and antioxidant activity of *Codonopsis lanceolata* skin. J Korean Soc Food Sci Nutr. 39(11):1627-1633
- Kim MS, Oh OH. 2008. An investigative analysis of recognition and uses for the *Codonopsis lanceolata* in Seoul and Kyunggido area, J Korean Home Eco Soc 46: 27-35.
- Kwon DJ, Choi SY. 2007. The Effect of *Deodeok* contents on the quality of *Deodeok* wine. Korean J. Food Preserv. 14(4):414-418
- Shim KS, Park GH, Choi CJ, Na CS. 2004. Decreased triglyceride and cholesterol levels in serum, liver and breast muscle in broiler by the supplementation of dietary *Codonopsis lanceolata* Root. Aust. J. Anim. Sci. 17(4):511-513
- Lee SK. 1999. The volatile flavor components of wild and cultivated *Codonopsis lanceolata* by instrumental and sensory analysis. Master degree thesis. Duksung Woman's Univ.
- Lee JH. 2002B. Immunostimulative effect of hot-water extract from *Codonopsis lanceolata* on lymphocyte and clonal macrophage. Korean J. Food Sci Technol. 34(4): 732-736
- Lee KT, Choi JW, Jung WT, Nam JH, Jung HJ, Park HJ. 2002A. Structure of new echinocystic acid bisdesmoside isolated from *Codonopsis lanceolata* roots and the cytotoxic activity of prosapogenins. J. Agric. Food Chem. 50: 4190-4193
- Maeng YS, Park HK. 1991. Antioxidant activity of ethanol extract from *Dodok*(*Codonopsis lanceolata*). Korean J. Food Sci. Technol. 23(3):311-316
- Shin ME, Cho MN, Kim YS, Lee KH. 2012. The cooking efficiency and qualities of *Deodeok-gui* from optimized pre-processing of *Codonopsis lanceolata*. J East Asian Soc Dietary Life. 22(6):860-867
- Sung JM, Kim OS, Ryu HS. 2011. Changes in enzyme activity and sensory characteristics of Kochujang with different ratios of added Deoduk (*Codonopsis lanceolata*) root powder. J Korean Soc Food Sci Nutr. 40(8):1150-1156
- Won HR, Oh HS. 2007. Antioxidative activity and lipid composition from different part and supplement of *Codonopsis lanceolata* in rat. J Korean Soc Food Sci Nutr. 36(9):1128-1133