

TNBS에 의해 유도된 마우스 대장염모델에서 유산균 발효 마의 항염효과

현미선 · 허정무*

종근당건강(주) 연구소

Lactic Acid Fermentation of *Dioscorea batatas* and Its Anti-Inflammatory Effects on TNBS-induced Colitis Model

Mee-Sun Hyun and Jung-Mu Hur*

Chong Kun Dang Healthcare Crop. Research Center, Dangjin-gun, Chungnam 343-827, Republic of Korea

Received January 14, 2011; Accepted March 22, 2011

To develop a health-aid preparation of *Dioscorea batatas* (DB), lactic acid fermentation was attempted using a mixed starter comprising of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium longum*. The anaerobic fermentation of a 10% DB flour suspension gave a uniform suspension of pH 3.65, containing 8×10^6 CFU/mL lactic acid bacteria. During the administration of the lactic acid fermented DB (FDB) and DB to trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis mouse model, histological lesions, morphological damage, and myeloperoxidase activity were significantly reduced at a dosage of 200 and 400 mg/kg/day. Dose-response (200 and 400 mg/kg/day) studies revealed that FDB pre-treatment of mice significantly ameliorated the appearance of diarrhoea and the disruption of colonic architecture. In FDB-pretreated mice, there was a significant reduction in the degree of both neutrophil infiltration (measured as decrease in myeloperoxidase activity) and weight loss rates. These findings suggest that FDB exerts beneficial effects in experimental colitis and may be useful in the treatment of inflammatory bowel disease.

Key words: anti-inflammation, colitis, *Dioscorea*, fermentation, lactic acid microbial

서 론

마(*Dioscorea batatas* Decne)는 우리나라에서는 산약이라 불리우며, 전통적인 의약소재로 유용하게 쓰이는 소재이다. 특히 신경성 식욕부진, 만성 설변, 당뇨, 건위 등 다양한 효능을 가지고 있다[Yang 등, 2009]. 최근 연구보고에 의하면, *Dioscorea* rhizomes가 면역증강의 효과[Choi 등, 2004; Zhao 등, 2005], 항염효과[Kim 등, 2004b], 항암[Hu 등, 2003a; 2003b] 그리고 골다골증을 예방하는 효과가 있는 것으로 알려져 있다[Yin 등, 2004]. 또한, 마를 복용시 신진대사 장애 개선효과[McAnuff 등, 2005]와 항비만[Kwon 등, 2003], 위장장애 개선[Chen 등, 2003] 등 많은 연구가 보고되어 있다.

유산균은 식품의 소화력, 비타민류, 미네랄, 젖산 유용성, 소화기관내의 감염에 대한 생리활성을 증진시키며, 암 억제, 혈액

내 콜레스테롤 조절, 면역력 증진 및 혈압조절 등 다양한 효과를 나타낸다[Gilliland 등, 1990; Gorbach 등, 1990; Carr 등, 2002; Yoo 등, 2005]. 아시아 국가에서는 예로부터 야채 및 고기, 생선 등의 저장성을 늘리기 위해서, 유산균을 이용한 발효(lactic acid fermentation, LAF)를 다양한 식품소재에 적용시켜왔다[Lee, 1997; Yoon 등, 2004]. 최근에는 천연물에 LAF를 이용하여 다양한 생리활성의 효과를 증진시키는 연구가 보고되어지고 있다[Hsu 등, 2007].

대장염은 최근 우리나라의 생활이 서구화되면서, 그 환자 수가 급증하고 있다. 대장염은 질환발현양상에 따라 크론씨병과 염증성 대장염으로 구분하고 있지만, 이들에 정확한 발병원인은 아직까지 밝혀지지 않고 있다. 이러한 이유로 대장염에 대한 정확한 치료가 어려울뿐더러 약물치료에 의한 완치가 어려운 실정이다. 최근에는 대장염 치료제의 시도가 약물의 부작용 및 화학약품 독성의 위해에서 벗어나고자 천연물 소재에 대한 연구조사가 활발하게 진행되고 있다[Ukil 등, 2003].

본 연구에서, 마에 유산균 발효물이 대장염에 대한 치료보조제 및 예방제로서의 가치를 평가를 하고자 대장염 유발 마우스 모델에서의 항염효과를 조사하였다.

*Corresponding author

Phone: +82-41-357-6699; Fax: +82-41-357-6474

E-mail: freeminde@paran.com

재료 및 방법

실험재료. 본 실험에 사용된 마분말은 금마농협협동조합에서 구입하여 사용하였으며, 대장염을 유발하기 위한 trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)는 Sigma 제품(St. Louis, MO, USA)을 구입하여 사용하였다. 마우스는 Balb/c 종의 수컷을 사용하였으며 연령은 5주령으로 20~25 g의 무게인 것을 사용하였다. 실험에 사용된 마우스는 오리엔트 바이오(주)로부터 공급받았으며 멸균된 깔집과 사료를 사용하였다. 실험에 사용되어진 미생물은 한국미생물보존센터에서 분양 받았다.

발효방법. 미생물은 MRS배지에 한국미생물보존센터에서 분양받은 *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium longum*을 2세대 배양하여, 배양된 각각의 균들을 원심분리를 이용하여 균체를 얻었다. 얻어진 균체의 무게비율로 1:1:1로 혼합하였다. 마분말 250 g에 DW를 1.5 L 넣은 후 95°C에서 1시간동안 살균하였다. 살균 후 발효하는 균에 세가지 발효균주 혼합물을 총용량에 4% (8×10^6 CFU/mL)가 되도록 첨가하였다. 발효는 37°C에서 진행하며 발효 시작 이후, 매일 pH 및 산도를 측정하였다. 3일간 발효된 마를 동결건조하여 분말화시킨 후 -20°C에서 보관하여 사용하였다.

대장염 유발과 실험 계획. 마우스에 대장염을 유발하기 위해 존대를 사용하여 50% 에탄올에 녹인 5% TNBS를 항문으로부터 3 cm 깊이로 주입하였다. 1회 주입시 0.1 mL의 TNBS를 주입하였으며 주입 후 1분간 꼬리를 위로 세워서 정지시켰다. TNBS의 주입시기는 1일과 7일째 날이며, 이때 TNBS를 주입하지 않은 군에는 50% 에탄올을 주입하였다. 발효마의 효과를 살펴보기 위해서 발효마(200, 400 mg/kg)와 발효시키지 않은 마(400 mg/kg)를 TNBS 1차 주입하기 일주일 전부터 실험종료일까지 매일 경구투여 하였으며, 비처리군에는 0.85% 생리식염수를 동량 주입하였다. 모든 마우스들은 매일 몸무게를 측정하고 외관상의 설변과 혈변유무, 행동의 변화를 살펴보았으며 TNBS 주입 후 9일째에 희생하여 대장을 적출한 다음 육안적 관찰과 조직학적 관찰 그리고 myeloperoxidase (MPO) 활성을 측정하였다.

육안 및 조직학적 관찰. 비처리군, 5% TNBS를 단독처리한 군 및 발효마를 같이 처리한 군을 9일째에 희생하여 대장의 말단에서 5 cm 정도 길이로 절제하고 각각의 처리조건에 따른 손상정도를 측정하였다. 육안적 관찰 후 항문에서부터 5 cm까지의 대장에 대한 무게를 측정하고 각각의 대장의 항문부위를 1 cm 절제하여 4% paraformaldehyde에 고정시켰다. 고정된 조직은 microtome으로 5 μ m 두께로 절편한 후 슬라이드 위에 놓은 다음 H&E염색(Hematoxylin and Eosin stain)을 시행하였다.

Myeloperoxidase (MPO) 활성도 측정. 마우스를 희생한 즉시 항문에서 1 cm 부위를 적출하여 차가운 PBS(pH 7.4)에서 혈액과 불순물들을 제거한 후 무게를 측정하였다. 대장의 15~30 mg의 조직을 0.5% hexadecyltrimethyl-ammonium bromide가 첨가된 50 mM phosphate buffer (pH 6.0)에 넣고 homogenizer (OMNI GLH-2017; Yamato Scientific Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 30초씩 3회 분쇄하였다. 분쇄가 끝나면 -70°C에 3시간 냉동시킨 후 다시 37°C에서 해동하고, 이 과정을 3회 반

복시행 하였다. 냉동과 해동과정을 거친 후 초음파를 이용하여 다시 한 번 분쇄한 후 12,000xg에서 15분간 원심분리하여 상등액을 얻었다. 상등액으로 MPO 활성을 측정하기 위해서 0.2 mg/mL o-dianisidine hydrochloride가 첨가된 60 mM phosphate buffer (pH 6.0) 2.4 mL에 0.1 mL의 상등액을 혼합한 후 10분 동안 25°C에서 반응시켰다. 반응이 끝나면 0.1% sodium azide 0.5 mL을 넣어 반응을 멈추게 한 후 흡광도를 측정하였다. 흡광도는 분광광도계(Du-640; Beckman Instruments, Inc., Fullerton, CA)를 이용하여 460 nm에서 측정하였다. MPO 활성 1 unit는 25°C에서 1분간 물에서 과산화수소 1 μ M을 환원되는 수치를 의미하며 이것을 대장조직의 무게로 환산하여 계산하였다.

통계적 분석 방법. 모든 실험의 표시된 결과는 3회 수행하였으며, 통계분석은 mean \pm SD로 표시하였고, ANOVA에 의해 분석하였다. 통계적 유의성은 $p \leq 0.05$ 로 판정하였다.

결 과

유산균 발효에 의한 마의 산도 변화. 유산균 발효를 위하여 3가지의 미생물을 동등한 비율로 배합한 후, 4%를 접종하여 4일간 발효 후 pH 및 산도 그리고 유산균수를 측정하였다(Table 1). 초기 pH 5.80에서 발효시작부터 급격하게 낮아져 4일째에는 pH 3.68에 이르렀다. 산도는 발효 후 4일째에 1.37 \pm 0.21%, 유산균수는 8.16 \pm 0.18로 측정되었다.

마우스 대장염 모델에 FDB투여에 의한 체중변화. FDB를 대장염 유발 일주일 전부터 매일 투여하며 체중의 변화를 측정할 결과, TNBS로 염증을 유발한 마우스는 체중의 변화가 급격하게 감소하는 반면, DB를 투여한 군에서는 체중의 감소가 염증이 유발된 마우스에 비하여 덜 감소하였다. FDB를 200 mg/kg을 투여한 마우스는 체중의 감소가 7.4 \pm 3.8%였으나, 400 mg/kg을 투여한 처리군에서는 3.4 \pm 2.8%의 체중감소가 유발되었다. 염증성대장염에 의한 체중의 감소를 FDB 처리군에서 현저하게 억제하였다(Fig. 1).

육안 및 임상학적 관찰. FDB 및 DB를 투여하는 동안 마우스의 설변 정도를 측정한 결과, TNBS 단독 처리군에서는 TNBS 처리 1일째부터 설변 증상이 나타났으나, DB를 처리한 군에서 TNBS 처리 3일째부터 호전되어지는 것이 관찰되었다. 또한 FDB를 투여한 군에서는 TNBS 처리 2일째부터 설변 증상이 보이지 않았다. 털의 윤기 및 행동성을 측정한 결과에서, TNBS 단독처리군에서는 털이 윤기상태가 극심하게 좋지 않았으며, 행동의 둔화가 관찰되었다. DB 및 FDB 투여군에서는 털의 윤기상태가 양호하였으며, 행동의 둔화도 관찰되지 않았다(Table 2).

대장의 육안 및 염증 손상정도 측정. TNBS 투여 후 9일째

Table 1. Lactic acid fermentation of *D. batatas*

	pH	Titratable acidity (% lactic acid)	No. of lactic acid bacteria (log CFU/mL)
DB	5.80 \pm 0.12	N.D.	N.D.
FDB	3.83 \pm 0.10	1.37 \pm 0.21	8.16 \pm 0.18

DB: non fermented *D. batatas*, FDB: Fermented *D. batatas*.

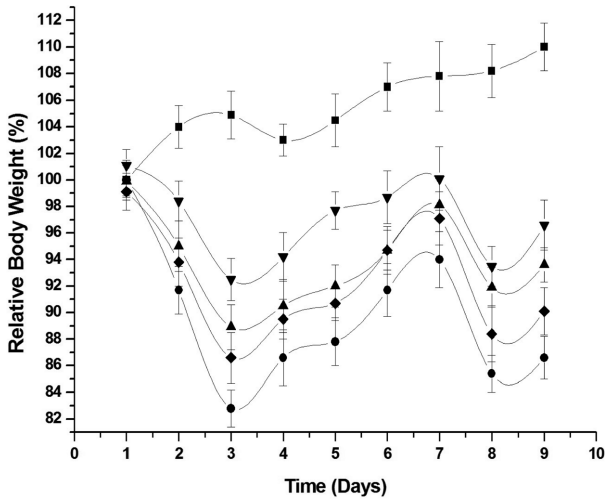


Fig. 1. Effects of lactic acid fermented *D. batatas* on body weight of TNBS-induced colitis mice from 1 day to 9 day. The body weight is expressed as the percentage of weight on the day before TNBS treatment. Pretreatment of FDB and DB significantly prevented the loss in body weight. ■: control, ●: TNBS, ▼: TNBS+FDB (400 mg/kg), ▲: TNBS+FDB (200 mg/kg), ◆: TNBS+DB (400 mg/kg). DB: non fermented *D. batatas*, FDB: Fermented *D. batatas*. Data represent mean±SD (n=5).

Table 2. Effect of FDB on physical examinations for inflammatory colon induced by TNBS

	Degree of Clinical Damage				
	N/C	TNBS	TNBS+FDB (400 mg/kg)	TNBS+FDB (200 mg/kg)	TNBS+DB (400 mg/kg)
Demafecia	-	++	-	-	-
Diarrhea	-	++	-	+	+
Adhesion	-	++	-	-	+
Edema	-	++	-	+	+

++: severe to symptom +: mild to symptom -: negative to symptom

마우스를 희생시켜 대장을 적출하였다. 적출된 대장의 부종 정도를 관찰한 결과, TNBS를 단독처리한 군에서는 전반적인 부종이 관찰되었으나, DB를 투여한 군에서는 약간의 부종이 관찰되었다(Fig. 2). FDB 200 mg/kg을 투여한 군에서는 부종이 약하게 나타났으나, 400 mg/kg을 투여한 군에서는 부종이 현상이 관찰되지 않았다. 또한 장의 무게를 측정된 결과, 대조군은 0.26±0.09 g, TNBS 단독처리군은 0.98±0.16 g, DB 처리군은 0.60±0.02 g, FDB 200 mg/kg 처리군은 0.58±0.02 g, FDB 400 mg/kg 처리군은 0.24±0.03 g으로 관찰되었다(Table 3).

조직학 및 MPO 활성에 FDB의 효과. 조직학적 소견을 살펴보기 위해서 각 처리군의 9일째에 적출한 장의 말단 부분 1 cm를 잘라내어 H&E 염색을 통하여 살펴 본 결과, TNBS 단독 처리군에서 염증세포의 침윤이 전반적으로 관찰되었다. 반면에 FDB를 처리한 군에서는 대조군 수준으로 염증세포를 거의 찾아 볼 수 없었다(Fig. 3). 장염증에 대한 지표로서 염증세포의 침윤정도를 알아보기 위하여 장점막에서 MPO 활성을 측정하였다. TNBS에 의해 유도된 염증성 장점막의 MPO 활성은 정상점막보다 약 4.5배 증가하여 호중구와 같은 염증세포의 침윤이 증가하였으나, FDB를 처리한 군에서 MPO 활성을 억제



Fig. 2. Macroscopic changes of colons in TNBS and FDB treated mice. Photographs of dissected large intestine of (A) normal Balb/c control mouse treated with 50% ethanol, (B) appearance of colons of mice with TNBS-induced colitis on 9 day after intrarectal administration, mice were treated by intrarectal daily administration of (C) 400 mg/kg of FDB, (D) 200 mg/kg of FDB, and (E) 400 mg/kg of DB on TNBS application. DB: non fermented *D. batatas*, FDB: Fermented *D. batatas*.

Table 3. Effects of DB and FDB on wet weight of colon and intestinal wall thickness and length

	Thickness (μm)	Length (mm)	Wet weight (g/cm)
Control	2.2±0.2	109.7±0.1	0.26±0.09
TNBS	10.2±0.4	84.2±2.4	0.98±0.16
FDB (200 mg/kg)	4.1±0.1	90.2±4.7	0.58±0.02
FDB (400 mg/kg)	2.8±0.2	110.4±1.9	0.24±0.03
DB (400 mg/kg)	4.9±0.4	90.4±4.6	0.64±0.02

Vasules are means±SD of 5 mice for each group. DB and FDB decreased the wet weight of colon and intestinal wall thickening on day 9 compared with TNBS group.

하는 경향을 보였다(Fig. 4).

고 찰

마의 주요 활성으로 콜레스테롤 저하효과, 항당뇨, 혈당 강화, 항산화, 항비만 등의 다양한 약리작용이 알려져 있다[Kim 등 2004a; 2004b; Kang 등, 2008a; 2008b]. 마속식물의 대부분은 당단백질, 점액성 다당류, 및 폴리페놀계 화합물을 함유하고 있으며, 이들 성분에 의해 생리 활성을 보인다[Han 등, 1990; Hironaka 등, 1990]. 최근 연구보고에 의하면, 추출물에 따라 이들 생리활성은 서로 다른 경향을 나타낸다. 특히, 메탄올 추출물의 경우 항염 및 항산화 및 항혈전 활성에 물 추출물에 비하여 높게 나오는 것으로 알려져 있다.

최근 발효식품의 기능성에 대한 관심이 높아짐에 따라 젯산/유산균 등의 기능성과 이들을 이용한 발효를 통하여 새로운 건강 지향성식품 개발에 많은 연구가 진행되고 있다. 마에서도 유산균을 이용한 발효 마 등 다양한 형태의 식품으로 연구개발이

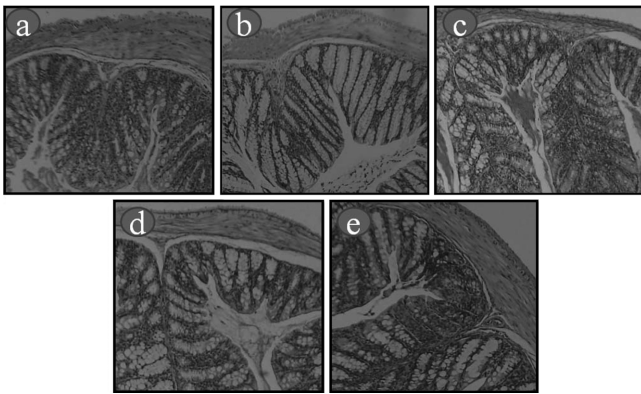


Fig. 3. Effect of FDB and DB on colon injury. (a) Mucosal from control mice did not show any histological modifications, (b) TNBS-induced mucosal injury (at 9 days) associated with transmural necrosis and oedema and submucosal infiltration of inflammatory cells and pretreatment with (c) 200 mg/kg of FDB, (d) 400 mg/kg of FDB, and (e) 400 mg/kg of DB prevented the disturbances in morphology associated with TNBS treatment. Original magnification: $\times 500$.

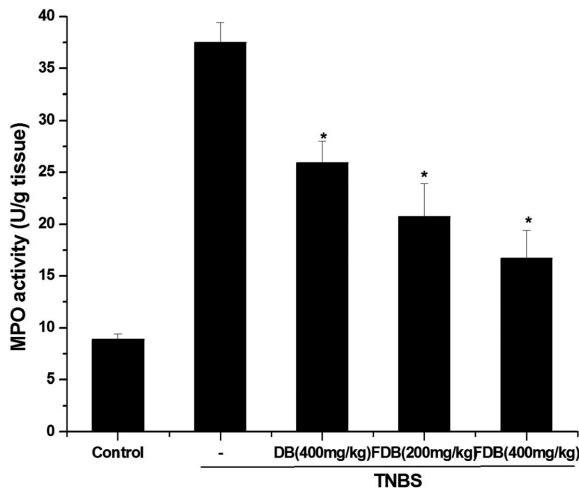


Fig. 4. Effect of FDB and DB on neutrophil infiltration. The levels of myeloperoxidase activity were significantly increased in TNBS-treated mice in comparison to control. FDB and DB pretreatment showed a significant reduction of MPO activity. Values are means \pm SD of 5 mice for each group. * $p < 0.05$ vs TNBS.

진행되고 있다[Shin 등, 2006]. 유산균은 젖산발효에 의해 생성되는 유산에 의해서 병원균과 유해세균의 생육이 저지되는 특성을 이용하여 식품제조에 이용된다. *L. acidophilus* 혹은 *Bifidobacterium bifidum*을 이용한 발효유를 사람이 섭취하였을 때, 특별한 림프세포의 변화 없이 백혈구의 대장균 포식활성이 증가되며[Schiffirin 등, 1995], *L. plantarum*으로 발효시킨 겨우살이는 체액성 및 세포성면역체계를 자극하여 면역을 증강시키는 효과가 있다고 보고되었다[Fischer 등, 1997]. 본 연구에서, 마를 유산균으로 발효하였을 경우, pH가 4.0 이하로 감소하였으며 또한 산약 고유의 특성인 점액성 물질의 물리화학적 변화로 점성이 감소하였다. 이는 Shin 등이 보고한, 3개의 균주(*L. acidophilus*, *S. thermophilus*, *B. bifidus*) 발효를 시켰을 경우 pH가 4.35였으며, 관능이 좋아진다는 보고가 있어, 본 연구에서의 유산균 조건과는 약간 차이가 있지만, 유산균발효가 마

의 물리화학적 변화를 유도하는 것을 알 수 있었다[Shin 등, 2006].

마에 대한 다양한 생리활성에 관한 연구가 진행되었으나, 대장염에 관한 항염 및 예방효과에 관한 연구는 거의 없었다. 또한, 최근 연구보고에서, super oxide dismutase나 catalase를 생산하는 유산균이 대장염 마우스 모델에서 항염효과를 나타내는 것으로 보고되어있다[Daniel 등, 2006; LeBlanc 등, 2008]. 본 연구에서 사람장내 유래 유산균을 이용한 발효 마와 일반마를 이용하여 대장염 마우스 모델에서의 항염효과를 조사하였다. 그 결과, 마에서 대장염의 염증발현을 억제시켰으며, 마를 유산균 발효를 통하여 대장염 유발을 더 효과적으로 억제시킴을 알 수 있었다. 본 연구 결과를 통하여 유산균 발효에 의한 마의 항염 효과가 더욱 증대되는 것을 알 수 있다.

향후 마의 생리활성 물질에서 유산균 발효에 의한 항염효과 증대에 미치는 지표성분 및 그 기전에 관한 규명을 통해서 기능성 식품 및 소재로의 개발이 필요할 것으로 사료된다.

초 록

마(*Dioscorea batatas*)의 건강보조제로의 개발을 위해, 3가지 유산균, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum* 그리고 *Bifidobacterium longum* 균주를 이용하여 발효를 하였다. 발효물은 10% 발효물 수용액으로 pH 측정결과 3.83, 총 유산균수는 8×10^6 CFU/mL로 표준화 하였다. TNBS-로 유도된 대장염 마우스 모델에 일반 마(400 mg/kg)와 발효된 마(200, 400 mg/kg)를 섭취한 결과, 조직학 및 형태학적 손상정도 그리고 MPO 활성 등이 비발효 마처리군에 비하여 발효된 마를 처리한 군에서 현저하게 감소되는 것을 확인하였다. 농도별로는 발효된 마가 200 mg/kg으로 처리된 군보다 400 mg/kg으로 처리된 마에서 설변이나 조직의 붕괴 현상을 현저하게 억제시키는 것을 알 수 있었다. 유산균 발효 마를 투여한 대장염 마우스에서는 체중감소 및 염증세포의 침윤을 효과적으로 억제하였다. 이러한 결과를 통하여, 유산균 발효물이 대장염 모델에서 매우 효과적으로 항염효과를 보였으며, 대장염 치료 및 예방에 매우 유용한 자료로 활용될 것으로 사료된다.

Key words: 발효, 대장염, 항염, 산약, 유산균

참고문헌

- Carr FJ, Chill D, and Maida N (2002) The lactic acid bacteria: a literature survey. *Crit Rev Microbiol* **28**, 281-370.
- Chen HL, Wang CH, Chang CT, and Wang TC (2003) Effects of Taiwanese yam (*Dioscorea japonica* Thunb var. *pseudojaponica* Yamamoto) on upper gut function and lipid metabolism in Balb/c mice. *Nutrition* **19**, 646-651.
- Choi EM, Koo SJ, and Hwang JK (2004) Immune cell stimulating activity of mucopolysaccharide isolated from yam (*Dioscorea batatas*). *J Ethnopharmacol* **91**, 1-6.
- Daniel C, Poiret S, Goudercourt D, Dennin V, Leyer G, and Pot B (2006) Selecting lactic acid bacteria for their safety and functionality by use of a mouse colitis model. *Appl Environ*

- Microbiol* **72**, 5799-5805.
- Fischer S, Scheffler A, and Kabelitz D (1997) Stimulation of the specific immune system by mistletoe extracts. *Anti-Cancer Drugs* **8**, S33-S37.
- Gilliland SE (1990) Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Rev* **7**, 175-188.
- Gorbach SL (1990) Lactic acid bacteria and human health. *Ann Med* **22**, 37-41.
- Han YN, Hahn SH, and Lee IR (1990) Purification of mucilages from *Dioscorea batatas* and *D. japonica* and their content analysis. *Kor J Pharmacog* **21**, 274-283.
- Hironaka K, Takada K, and Ishihashi K (1990) Chemical composition of mucilage of chinese yam. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* **37**, 48-51.
- Hsu FL, Yang LM, Chang SF, Wang LH, Hsu CY, Liu PC, and Lin SJ (2007) Biotransformation of gallic acid by *Beauveria sulfurescens* ATCC 7159. *Appl Microbiol Biotechnol* **74**, 659-666.
- Hu K and Yao X (2003a) The cytotoxicity of methyl protoneogracillin (NSC-698793) and gracillin (NSC-698787), two steroidal saponins from the rhizomes of *Dioscorea collettii* var. *hypoglauca*, against human cancer cells in vitro. *Phytother Res* **17**, 620-626.
- Hu K and Yao X (2003b) The cytotoxicity of methyl protodioscin against human cancer cell lines in vitro. *Cancer Invest* **21**, 389-393.
- Kang TH, Choi S, Lee T, Son M, and Kim SY (2008a) Characteristics of antidiabetic effect of *Dioscorea rhizoma*-Hypoglycemic effect. *Kor J Food Nutr* **21**, 425-429.
- Kang TH, Choi S, Lee T, Son M, Park J, and Kim SY (2008b) Characteristics of antidiabetic effect of *Dioscorea rhizoma* - prevention of diabetic neuropathy by NGF induction. *Kor J Food Nutr* **21**, 430-435.
- Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR, and Rhyu MR (2004a) Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Kor J Food Sci Technol* **36**, 333-338.
- Kim MJ, Kim HN, Kang KS, Baek NI, Kim DK, Kim YS, Jeon BH, and Kim SH (2004b) Methanol extract of *Dioscorea Rhizoma* inhibits proinflammatory cytokines and mediators in the synoviocytes of rheumatoid arthritis. *Int Immunopharmacol* **4**, 1489-1497.
- Kwon CS, Sohn HY, Kim SH, Kim JH, Son KH, Lee JS, Lim JK, and Kim JS (2003) Antiobesity effect of *Dioscorea nipponica* Makino with lipaseinhibitory activity in rodents. *Biosci Biotechnol Biochem* **67**, 1451-1456.
- LeBlanc JG, Ledue-Clier F, Bensaada M, Giori GS, Guerekobaya T, Sesma F, Juillard V, Rabot S, and Piard JC (2008) Ability of *Lactobacillus fermentum* to overcome host alpha-galactosidase deficiency, as evidenced by reduction of hydrogen excretion in rats consuming soya alpha-galacto-oligosaccharides. *BMC Microbiol* **8**, 1-9.
- Lee CH (1997) Lactic acid fermented foods and their benefits in Asia. *Food Control* **8**, 259-269.
- McAnuff MA, Harding WW, Omoruyi FO, Jacobs H, Morrison EY, and Asemota HN (2005) Hypo glycemic effects of steroidal saponins isolated from Jamaican bitter yam, *Dioscorea polygonoides*. *Food Chem Toxicol* **43**, 1667-1672.
- Schiffirin EJ, Rochat F, Link-Amster H, Aeschlimann JM, and Donnet-Hughes A (1995) Immunomodulation of human blood cells following ingestion of lactic acid bacteria. *J Dairy Sci (USA)* **78**, 491-497.
- Shin KO, Jeon JR, Lee JS, Kim JY, Lee CH, Kim SD, Yu YS, and Nam DH (2006) Lactic acid fermentation of chinese yam (*Dioscorea batatas* Decne) flour and its pharmacological effect on gastrointestinal function in rat model. *Biotechnol Bioprocess Eng* **11**, 240-244.
- Ukil A, Maity S, Karmakar S, Datta N, Vedasiromoni JR, and Das PK (2003) Curcumin, the major component of food flavour turmeric, reduces mucosal injury in trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis. *British J Pharma* **139**, 209-218.
- Yang MH, Yoon KD, Chin YW, and Kim JW (2009) Phytochemical and pharmacological profiles of *Dioscorea* species in Korea, China and Japan. *Kor J Pharmacog* **40**, 257-279.
- Yin J, Tezuka U, Kouda K, Tran QL, Miyahara T, Chen Y, and Kadota S (2004) Antiosteoporotic activity of the water extract of *Dioscorea spongiosa*. *Biol Pharm Bull* **27**, 583-586.
- Yoo EJ, Lim HS, Park KO, and Choi MR (2005) Cytotoxic, antioxidative, and ACE inhibiting activities of Dolsan leaf mustard juice (DLMJ) treated with lactic acid bacteria. *Biotechnol Bioprocess Eng* **10**, 60-66.
- Yoon KY, Woodams EE, and Hang YD (2004) Probiotication of tomato juice by lactic acid bacteria. *J Microbiol* **42**, 315-318.
- Zhao G, Kan J, Li Z, and Chen Z (2005) Structural features and immunological activity of a polysaccharide from *Dioscorea opposita* Thunb roots. *Carbohydr Polym* **61**, 125-131.