

## Analysis of Bioconverted-components in Fermented Jaeumganghwa-tang by *Lactobacillus*

Kwang Jin Lee · Na-Young Song · Joo-Hwan Roh · Chun Liang · Jin Yeul Ma\*

### *Lactobacillus*로 발효한 자음강화탕의 생물전환 성분분석

이광진 · 송나영 · 노주환 · 량춘 · 마진열\*

Received: 26 March 2013 / Accepted: 25 April 2013 / Published Online: 30 September 2013  
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2013

**Abstract** Jaeumganghwa-tang (JGT) is a traditional herbal medicine used for chronic bronchitis and inflammatory diseases. The variation in the amount of bioactive components of JGT and its fermentation JGT with ten species of microorganism was investigated via high performance liquid chromatography coupled with diode array detection (HPLC-DAD). Simultaneous qualitative and quantitative analysis of eight bioactive compounds; 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF), paeoniflorin, nodakenin, hesperidin, nodakenetin, palmatine, berberine and glycyrrhizin were achieved by comparing their retention times ( $t_R$ ) and UV spectra with those of the standard compounds. In the result, the paeoniflorin amount was 6.95 mg/g that as a main compound in JGT. The amount of nodakenetin was the highest in the fermented-JGT with *Lactobacillus fermentum* KFRI 145 ( $0.47 \pm 0.01$  mg/g), which was increased by 2,250% compared to that in non-fermented JGT ( $0.02 \pm 0.00$  mg/g). In the fermented JGT using *Lactobacillus acidophilus* KFRI 162, most components were increased than non-fermented JGT, except paeoniflorin and hesperidin.

**Keywords** bioconversion · fermentation · herbal medicine · high performance liquid chromatography coupled with diode array detection · Jaeumganghwa-tang

## 서론

동양에서는 수 천 년에 걸쳐 다양한 질병을 치료하고 예방하기 위한 목적으로 전통의약인 한방처방을 사용해 왔다(Liu 등, 2008). 일반적으로 한방처방은 천연으로부터 얻어지는 여러 종류의 생약 제제로 구성되었고 성분이 다양하며 복합적인 효능과 부작용이 적다(Zhang 등, 2004). 이러한 전통의약은 오늘날 체내 흡수율 및 약리 효능이 증가되고 새로운 약효를 발현시킬 수 있는 발효된 한방처방에 대한 관심이 증가되고 있다(Jung 등, 2007; Lee 등, 2010; 2011). 이처럼 바이오 산업에서의 급부상 중인 발효공정은 미생물이 자신의 효소를 이용하여 유기물을 분해하고 변화시키는 현상으로 한방처방의 발효는 활성 성분의 생물전환을 일으키고 배당체 성분을 비 배당체로 변화시켜 체내 흡수율과 생체 이용률이 강화되도록 만든다(Bae 등, 2004; Cho 등, 2006). 최근에는 장내 미생물을 이용하여 한약의 효능을 증가시키거나 새로운 효능을 도출하는 연구가 많이 진행되고 있다(Kim 등, 2012)

이 중에서 전통 한방처방의 하나인 자음강화탕(Jaeumganghwa-tang, JGT)은 <東醫寶鑑>에 陰虛火動의 “潮熱盜汗”에 사용한다고 되어있으며(허준, 2005) 최근 임상에서는 급만성 기관지염, 상기도염, 폐결핵, 기타 기관지천식 등에 유용하게 사용되고 있다(Shin 등, 2012). 자음강화탕의 장내 흡수율을 높이고 한방처방으로서의 약효를 최적화 하기 위하여 본 연구에서는 10종의 다른 미생물을 이용하여 발효 자음강화탕을 제조하고 발효 전후의 자음강화탕의 성분변화를 관찰함으로써 향후 발효 한약으로서의 자음강화탕의 가치를 평가하고자 하였다.

## 재료 및 방법

**재료 및 시약.** 본 실험에 사용된 자음강화탕 시료는 2012년 6월에 한국한의학연구원으로부터 확보하여 사용하였다. 지표물질

K. J. Lee · N. -Y. Song · J. -H. Roh · C. Liang · J. Y. Ma  
KM-Based Herbal Drug Research Group, Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 305-811, Republic of Korea

\*Corresponding author (J. Y. Ma: jyama@kiom.re.kr)

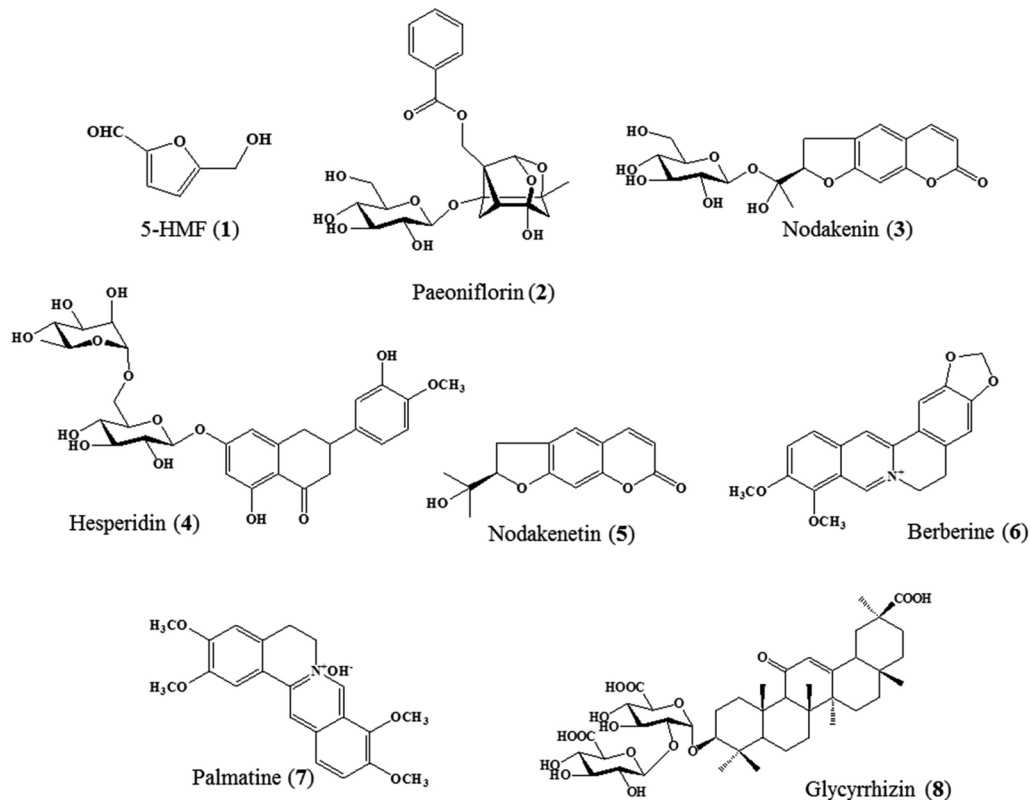


Fig. 1 Chemical structures of components of Jaemganghwa-tang.

로 사용된 화합물 5-HMF은 Sigma-Aldrich (St Louis, USA), nodakenin, nodakenetin, palmatine과 berberine은 Faces Biochemical Co., Ltd. (China), paeoniflorin과 glycyrrhizin은 Tokyo Chemical Industry Co., Ltd. (Japan), hesperidin은 ICN Biomedicals (USA)에서 구입하였으며 각 성분의 순도는 98% 이상이였다 (Fig. 1). High performance liquid chromatography (HPLC) 이동상으로 acetonitrile (HPLC grade, J.T. Barker, Phillipsburg, USA)과 분석용(99.9%) 등급의 trifluoroacetic acid (TFA, Sigma-Aldrich) 수용액을 사용하였으며, 물은 3차 증류수 (ADVANTEC, Japan)를 사용하였다.

**약제 추출.** 자음강화탕의 구성 한약재는 영천현대약업사(Korea)와 허브팜(Korea)에서 구입하였으며 대한약전 및 대한약전 외 생약규격집의 각 약재 항목에 기술된 적합한 것을 엄선하여 사용하였다. 초고속 진공 저온 약탕기(Gyeongseo, Cosmos-660, Korea)에 한약재와 10배 부피의 증류수를 넣고 열수 추출법으로 100°C에서 3시간 열탕 추출한 다음 standard testing sieves (150  $\mu$ m, Retsch, Germany)를 이용해 탕액을 여과하였다.

**발효 조건.** 발효에 사용된 10종의 미생물은(*Lactobacillus casei* KFRI 127, *Lactobacillus plantarum* KFRI 144, *Lactobacillus fermentum* KFRI 145, *Lactobacillus amylophilus* KFRI 161, *Lactobacillus acidophilus* KFRI 162, *Lactobacillus curvatus* KFRI 166, *Lactobacillus confuses* KFRI 227, *Lactobacillus*

*hilgardii* KFRI 229, *Lactobacillus amylophilus* KFRI 238, *Lactobacillus acidophilus* KFRI 341) 한국식품연구원(Korea Food Research Institute, KFRI, Korea) 식품미생물 유전자은행에서 분양 받아 사용하였다. *Lactobacillus* spp.는 MRS broth (Difco, TM Lactobacilli MRS Broth, Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA)에서 계대배양한 후 초기균수를 1–5 $\times$ 10<sup>7</sup> CFU/mL로 조절하여 집중물로 사용하였다. 1 M NaOH를 이용하여 여과한 자음강화탕의 pH를 7.0으로 조정한 후 121°C, 1.5 기압에서 15분간 기압 멸균하였다. 상온까지 냉각시킨 후, 750 mL의 자음강화탕에 7.5 mL의 *Lactobacillus*를 접종하고 37°C의 항온배양기에서 48시간 동안 정치 배양을 한 후 pH의 변화를 관찰하였다. 발효된 자음강화탕은 60  $\mu$ m nylon net filter (Millipore, Billerica, USA)로 여과하고 동결 건조하여 분석에 사용하였다.

**표준 용액 및 샘플의 제조.** 실험에 사용된 지표성분인 5-HMF, paeoniflorin, nodakenin, hesperidin, nodakenetin, palmatine, berberine, glycyrrhizin은 각각 2 mg씩 정확히 칭량하고 고순도 methanol 10 mL에 녹여 200 ppm의 표준원액으로 제조하였다. 미생물을 이용하여 발효한 자음강화탕 시료는 각각 100 mg을 1 mL의 100% methanol에 녹인 후 0.2  $\mu$ m membrane filter로 여과하여 시험용액으로 사용하였다.

**HPLC 분석 조건.** HPLC는 Waters사의 Alliance 2695

separations module 시스템(Waters, Milford, USA)을 사용하였으며 pump, auto sampler, column oven, photodiode array UV/VIS detector Waters 996로 구성되어 있고 Empower software program을 사용하였다. 분석에 사용된 컬럼은 Optimapak C<sub>18</sub> column (4.6×250 mm, 5 μm, RS Tech, Korea)이며, 컬럼 온도는 40°C를 유지하였다. 이동상의 조성은 A: water/trifluoroacetic acid (99.9/0.1, vol/vol)과 B: acetonitrile을 사용하였고, A용매를 50분까지 90%에서 60%로 감소시키고, 60분까지 60%로 유지하고 65분까지 다시 90%로 증가시킨 뒤 70분까지 유지하도록 기울기를 주었으며 유속은 1 mL/min로 설정하였다. 각 표준 용액과 샘플의 주입량은 10 μL로 정하여 각 지표 성분의 UV spectrum를 통하여 최대 UV 흡수 파장을 확립하여 측정하였다. 최대 UV 흡수 파장은 5-HMF는 283 nm, paeoniflorin은 230 nm, nodakenin은 335 nm, hesperidin은 283 nm, nodakenetin은 335 nm, palmatine은 344 nm, berberine은 345 nm, glycyrrhizin은 250 nm로 설정하고 각 파장에서의 피크 면적을 측정하여 정량 및 정성분석을 수행하였다.

**자음강화탕의 발효 전, 후 생물전환 성분 함량분석.** 자음강화탕과 발효 자음강화탕의 정량분석은 본 연구의 동시분석법을 이용하여 분석하였다. 검량선을 얻기 위하여 200 ppm 농도의 각 표준 용액을 2, 5, 10, 15, 20 μL의 양으로 주입하고 각 균주별 자음강화탕 시료의 농도는 100 mg/mL로 하여 HPLC 분석을 3회 반복 시행한 후 표준 용액의 주입량과 피크 면적 사이의 상관관계를 도출하여 검량선을 작성하고 함량을 계산하였다.

**결과 및 고찰**

**제조된 발효 자음 강화탕의 품질 특성.** 자음강화탕에서 높은 증식 활성을 보인 10종의 유산 균주 *Lactobacillus casei* KFRI 127, *Lactobacillus plantarum* KFRI 144, *Lactobacillus fermentum* KFRI 145, *Lactobacillus amylophilus* KFRI 161, *Lactobacillus acidophilus* KFRI 162, *Lactobacillus curvatus* KFRI 166, *Lactobacillus confuses* KFRI 227, *Lactobacillus hilgardii* KFRI 229, *Lactobacillus amylophilus* KFRI 238, *Lactobacillus acidophilus* KFRI 341을 이용하여 분석용 발효 자음강화탕을 제조하였다. 제조된 발효 자음강화탕의 발효 정도를 확인하기 위하여 발효 자음강화탕의 pH변화를 관찰하였다 (Table 1). 그 결과 10종의 균주들이 자음강화탕의 pH를 4 이하로 저하시키는 것을 확인 할 수 있었으며 이 10종의 균주들이 활발한 산 생성 능력을 갖고 있음을 보여준다. 따라서 자음강화탕은 10종의 유산 균주들에 의해 충분한 발효가 진행되었음을 확인 할 수 있었다. 또한 autoclave로 처리된 자음강화탕은 원탕에 비해 pH가 1.55 낮아졌는데 이것은 121°C에서 15분간 멸균되는 고온, 고압 조건에서 한방처방에 존재하는 식이섬유 등의 성분들이 일부 유기산으로 분해되어 pH가 저하 된 것으로 추정된다.

**HPLC 분석조건 확립.** 자음강화탕에서 발효 균주에 따른 발효 전, 후의 추출물 비교를 위해 역상 액체 크로마토그래피를 이용한 8가지 지표 성분에 대하여 정성 및 정량분석을 수행하였다. 각 조성의 생약 지표성분은 백작약의 paeoniflorin, 당귀의 nodakenin과 nodakenetin, 숙지황의 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF), 진피의 hesperidin, 황백의 palmatine과 berberine, 감초의 glycyrrhizin으로 선정하여 동시분석법을 수행 하였고 각 화

**Table 1** pH in Jaemganghwa-tang fermented with lactic acid bacteria at 37°C for 48 h

| Sample        | pH        |
|---------------|-----------|
| JGT           | 7.0±0.00  |
| JGT autoclave | 5.45±0.01 |
| L. 127        | 3.75±0.01 |
| L. 144        | 3.69±0.01 |
| L. 145        | 3.70±0.01 |
| L. 161        | 3.78±0.00 |
| L. 162        | 3.80±0.01 |
| L. 166        | 3.72±0.01 |
| L. 227        | 3.79±0.00 |
| L. 229        | 3.81±0.01 |
| L. 238        | 3.77±0.01 |
| L. 341        | 3.78±0.01 |

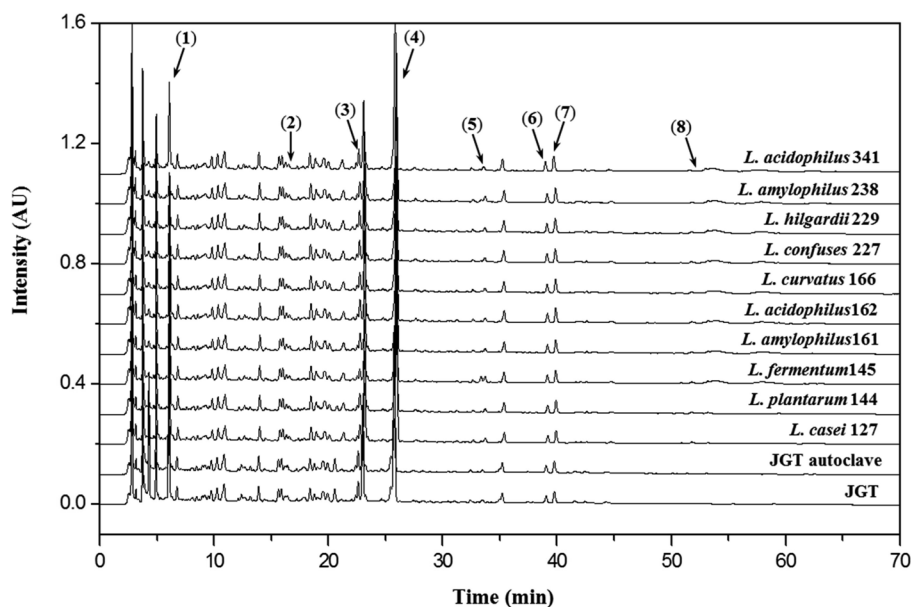
**Table 2** The linearity, regression equation and correlation coefficient (r<sup>2</sup>) of calibration curve of components

| Component    | Regression equation <sup>a</sup> | r <sup>2</sup> (n=3) |
|--------------|----------------------------------|----------------------|
| 5-HMF        | Y = 1445540x + 25561             | 0.9995               |
| Paeoniflorin | Y = 323127x + 3409               | 0.9998               |
| Nodakenin    | Y = 763739x + 15468              | 0.9994               |
| Hesperidin   | Y = 501672x + 7074               | 0.9997               |
| Nodakenetin  | Y = 600791x + 8974               | 0.9997               |
| Palmatine    | Y = 812559x + 22062              | 0.9989               |
| Berberine    | Y = 176653x + 2561               | 1.0000               |
| Glycyrrhizin | Y = 241409x + 877                | 0.9999               |

<sup>a</sup> Y: peak area, x: injection volume (μL)

합물의 체류시간(t<sub>R</sub>)과 UV 흡광도(nm)를 비교하여 일치함을 확인하였다. 이 결과 각 지표 성분에서의 정성 및 정량분석을 위한 최적의 동시분석법이 확립되었고 피크가 서로 영향을 받지 않고 분석이 가능하였다. 이때 각 성분의 체류시간은 5-HMF는 6분, paeoniflorin은 16분, nodakenin은 22분, hesperidin은 26분, nodakenetin은 33분, palmatine은 38분, berberine은 39분, glycyrrhizin은 53분에서 검출되었다(Fig. 2).

**자음강화탕 발효 전, 후 생물전환 성분 확인 및 분석.** 자음강화탕과 발효 자음강화탕 시료에서 총 8종의 성분을 확인 하였다 (Fig. 2). 지표 성분의 정량적 분석을 위한 검량선의 상관관계는 정량분석에 적합한 좋은 직선성(r<sup>2</sup>>0.99) 을 보였으며 이 결과를 Table 2에 정리하여 나타내었다. 또한 각 지표 성분의 피크 면적을 검량선에 대입하여 발효 전, 후 자음강화탕의 생물전환 성분의 함량을 계산하였다(Table 3). 분석 결과, 발효 전 자음강화탕에서 paeoniflorin이 6.95 mg/g으로서 가장 높은 함량을 나타내었으며 hesperidin이 2.69 mg/g으로 비교적 높은 함량을 나타내어 자음강화탕 내 지표성분 중 주요 성분임을 확인할 수 있다. 그 외에 nodakenin은 0.80 mg/g, glycyrrhizin은 0.45 mg/g, 5-HMF는 0.40 mg/g, palmatine은 0.14 mg/g, berberine은 0.11 mg/g, nodakenetin은 0.02 mg/g으로 미량이 검출되었다. 발효 균주별 함량변화의 결과를 보면 nodakenin 함량이 감소함에 따라 aglycone인 nodakenetin 함량은 반비례하여 증가함이 관찰되었다. Nodakenetin 함량에 있어서 100% 이상으로 뚜렷한 증가를 가져온 균주들로는 *L. fermentum* KFRI 145와 *L.*



**Fig. 2** The HPLC chromatograms of Jaeumganghwa-tang and fermented Jaeumganghwa-tang at 280 nm. 5-HMF (1), paeoniflorin (2), nodakenin (3), hesperidin (4), nodakenetin (5), berberine (6), palmatine (7) and glycyrrhizin (8) were detected in Jaeumganghwa-tang and fermented Jaeumganghwa-tang.

*amylophilus* KFR1 238이었다. 가장 많은 함량 변화를 가져온 균주는 *L. fermentum* KFR1 145로 발효한 자음강화탕의 nodakenin 함량은  $0.47 \pm 0.00$  mg/g으로 발효전  $0.80 \pm 0.00$  mg/g과 비교하여 41%가 감소한 반면, nodakenitin 함량은  $0.47 \pm 0.01$  mg/g로서 발효전  $0.02 \pm 0.00$  mg/g과 비교하여 2,250% 증가하였다. 따라서 *L. fermentum* KFR1 145는 nodakenin을 그의 aglycon인 nodakenitine으로 전환시키는데 강력한 작용균주로 평가할 수 있을 것이다. 또한 glycyrrhizin의 함량은 10종의 균주로 발효한 자음강화탕에서  $0.49 \pm 0.01$ – $0.59 \pm 0.00$  mg/g으로 발효 전과 비교하여 8.9–31.1%의 증가율을 보여주었다(Table 3). 이는 glycyrrhizin의 구조특성상 갖고 있는  $-\text{COOH}$ 에 의하여 약산성을 나타내는 물질로서 발효과정중 유산균에 의한 pH 감소에 따른 추출효율의 증가로 사료된다. 이 외에도 *L. acidophilus* KFR1 162로 발효한 자음강화탕에서는 paeoniflorin과 hesperidin을 제외한 모든 성분이 오차범위 내에서 미미한 증가폭을 보였으며 10종의 균주로 발효된 자음강화탕에서 paeoniflorin, nodakenin 및 hesperidin은 함량이 모두 감소됨을 확인하였고

palmatine과 berberine의 함량은 발효 전, 후 특별한 변화폭을 보이지 않았다.

## 결론

본 연구에서는 자음강화탕의 장내 흡수율을 높이고 한방처방으로서의 약효를 최적화하기 위하여 10종의 유산 균주를 이용하여 자음강화탕을 발효 하였으며 pH 변화를 관찰함으로써 발효 정도를 확인 하였다. 결과 10종의 유산 균주에 의하여 자음강화탕의 pH가 4 이하로 저하됨을 확인하여 발효가 충분히 진행되었음을 확인하였다. 그리고 자음강화탕의 발효 전, 후 생물전환 성분의 함량을 비교하기 위하여 5-HMF, paeoniflorin, nodakenin, hesperidin, nodakenetin, palmatine, berberine 및 glycyrrhizin을 지표 성분으로 설정하고 HPLC-DAD의 동시분석법을 확립하였다. 이 결과 발효 전, 후 자음강화탕에서 8종의 지표성분을 모두 확인 할 수 있었고 발효 전 탕재에서는

**Table 3** Amount of components from Jaeumganghwa-tang and fermented Jaeumganghwa-tang

| Component    | JGT con (mg/g)    | JGT autoclave (mg/g) | <i>L. 127</i> (mg/g) | <i>L. 144</i> (mg/g) | <i>L. 145</i> (mg/g) | <i>L. 161</i> (mg/g) | <i>L. 162</i> (mg/g) | <i>L. 166</i> (mg/g) | <i>L. 227</i> (mg/g) | <i>L. 229</i> (mg/g) | <i>L. 238</i> (mg/g) | <i>L. 341</i> (mg/g) |
|--------------|-------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| 5-HMF        | $0.40 \pm 0.00^a$ | $0.39 \pm 0.05$      | $0.22 \pm 0.01$      | $0.24 \pm 0.18$      | $0.29 \pm 0.01$      | $0.32 \pm 0.01$      | $0.43 \pm 0.00$      | $0.32 \pm 0.01$      | $0.14 \pm 0.00$      | $0.11 \pm 0.00$      | $0.06 \pm 0.00$      | $0.23 \pm 0.01$      |
| Paeoniflorin | $6.95 \pm 0.06$   | $1.88 \pm 0.00$      | $1.88 \pm 0.15$      | $1.93 \pm 0.03$      | $1.97 \pm 0.01$      | $1.97 \pm 0.07$      | $2.27 \pm 0.07$      | $2.00 \pm 0.04$      | $2.02 \pm 0.01$      | $1.99 \pm 0.01$      | $2.06 \pm 0.02$      | $1.85 \pm 0.04$      |
| Nodakenin    | $0.80 \pm 0.00$   | $0.72 \pm 0.01$      | $0.69 \pm 0.00$      | $0.75 \pm 0.01$      | $0.47 \pm 0.00$      | $0.75 \pm 0.00$      | $0.85 \pm 0.00$      | $0.76 \pm 0.00$      | $0.74 \pm 0.01$      | $0.74 \pm 0.01$      | $0.70 \pm 0.01$      | $0.74 \pm 0.01$      |
| Hesperidin   | $2.69 \pm 0.01$   | $1.98 \pm 0.04$      | $2.12 \pm 0.00$      | $2.16 \pm 0.02$      | $2.16 \pm 0.01$      | $2.18 \pm 0.01$      | $2.49 \pm 0.01$      | $2.21 \pm 0.01$      | $2.18 \pm 0.03$      | $2.19 \pm 0.01$      | $2.24 \pm 0.02$      | $2.17 \pm 0.02$      |
| Nodakenetin  | $0.02 \pm 0.00$   | $0.03 \pm 0.03$      | $0.06 \pm 0.00$      | $0.03 \pm 0.00$      | $0.47 \pm 0.01$      | $0.03 \pm 0.00$      | $0.04 \pm 0.00$      | $0.03 \pm 0.00$      | $0.04 \pm 0.00$      | $0.05 \pm 0.01$      | $0.14 \pm 0.00$      | $0.04 \pm 0.00$      |
| Palmatine    | $0.14 \pm 0.00$   | $0.12 \pm 0.01$      | $0.13 \pm 0.00$      | $0.13 \pm 0.00$      | $0.13 \pm 0.00$      | $0.14 \pm 0.00$      | $0.15 \pm 0.00$      | $0.14 \pm 0.00$      | $0.13 \pm 0.00$      | $0.13 \pm 0.00$      | $0.13 \pm 0.00$      | $0.13 \pm 0.00$      |
| Berberine    | $0.11 \pm 0.00$   | $0.08 \pm 0.00$      | $0.10 \pm 0.00$      | $0.10 \pm 0.00$      | $0.10 \pm 0.00$      | $0.10 \pm 0.00$      | $0.12 \pm 0.00$      | $0.11 \pm 0.00$      | $0.10 \pm 0.00$      | $0.10 \pm 0.00$      | $0.11 \pm 0.00$      | $0.11 \pm 0.00$      |
| Glycyrrhizin | $0.45 \pm 0.00$   | $0.29 \pm 0.00$      | $0.50 \pm 0.00$      | $0.56 \pm 0.01$      | $0.53 \pm 0.00$      | $0.54 \pm 0.02$      | $0.59 \pm 0.00$      | $0.57 \pm 0.01$      | $0.52 \pm 0.01$      | $0.53 \pm 0.00$      | $0.49 \pm 0.01$      | $0.55 \pm 0.01$      |

<sup>a</sup>Data expressed mean  $\pm$  SD (n=3)

paeoniflorin이 6.95 mg/g으로서 자음강화탕 내 지표성분 중 주요 성분임을 확인할 수 있었다. 또한 발효 후 특정 균주 및 성분 에 따라 *L. fermentum* KFRI 145로 발효한 자음강화탕의 nodakenin 함량은 발효전과 비교하여 41%가 감소한 반면, nodakenitin 함량은 2,250% 증가함을 확인하였다. 따라서 *L. fermentum* KFRI 145는 nodakenin을 그의 aglycon인 nodakenitine으로 전환시키는데 강력한 작용 균주로 평가할 수 있을 것이다. 뿐만 아니라 glycyrrhizin의 함량은 10종의 균주로 발효한 자음강화탕에서 모두 증가하였는데 이것은 발효과정중 유산균에 의한 pH 감소에 따른 추출효율의 증가로 사료된다. 이 외에 *L. acidophilus* KFRI 162 균주로 발효한 탕재 대부분의 성분이 오차범위 내에서 미미한 증가폭을 보여주었다. 따라서 본 연구를 기초로 선택적 미생물과 발효공정 조건을 제시함으로써 효능이 증가된 자음강화탕을 개발하고 효율적인 품질 관리가 가능하게 될 것이다.

## 초 록

자음강화탕(Jaeumgangwha-tang, JGT)은 전통적인 한방처방으로, 만성 기관지염과 염증 질환 등을 치료하는데 사용된다. 자음강화탕을 10종의 균주로 발효한 후, HPLC-DAD를 이용하여 발효 전, 후의 자음강화탕에서 생물활성을 가지는 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF), paeoniflorin, nodakenin, hesperidin, nodakenetin, palmatine, berberine, glycyrrhizin을 지표성분으로 설정하고 변화를 관찰하였다. 8종의 지표성분에 대하여 정성, 정량적인 동시분석을 수행하였고 머무름 시간( $t_R$ )과 UV 최대 흡수파장을 비교하였다. 이 결과 paeoniflorin이 6.95 mg/g으로 자음강화탕의 주성분으로 확인되었다. *Lactobacillus fermentum* KFRI 145으로 발효된 자음강화탕에서 nodakenetin의 함량이  $0.47 \pm 0.01$  mg/g으로 관측되어 nodakenetin이 발효 후의 자음강화탕에서 발효 전보다 2,250% 증가한 것을 확인하였다. 또한 *Lactobacillus acidophilus* KFRI 162으로 발효된 자음강화탕에서 paeoniflorin과 hesperidin을 제외한 가장 많은 화합물들이 증가하는 것을 확인하였다.

**Keywords** 고성능액체크로마토그래피 · 발효 · 생물변환 · 자음강화탕

**감사의 글** 본 연구는 한국한의학연구원의 연구지원(K13050)에 의하여 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

## References

- Bae EA, Han MJ, Kim EJ, Kim EJ, and Kim DH (2004) Transformation of ginseng saponins to ginsenoside Rh2 by acids and human intestinal bacteria and biological activities of their transformants. *Arch Pharm Res* **27**, 61–7.
- Cho SI, Kim HW, and Lee GJ (2006) Biological activities of extracts of fermented *Camellia japonica* leaf and flower. *Korean J Herbology* **21**, 55–62.
- Heo Jun (2005) Dong-eui-bo-gam, Gyeongnam. Dong-eui-bo-gam publisher, Korea
- Jung YJ, Han DO, Choi BH, Park C, Lee HJ, Kim SH et al. (2007) Effect of fermented herbal extracts, HP-1 on enzyme activities and gene expressions related to alcohol metabolism in ethanol-loaded rats. *Korean J Orient Physiol Pharm* **21**, 387–91.
- Kim D-S, Roh J-H, Cho C-W, and Ma JY (2012) Analysis of nodakenetin from Samultangs fermented by Lactose bacteria Strains. *Korean J Herbology* **27**, 35–9.
- Lee JS, Hwang Y-H, Lee J-H, Oh SY, Kim T, and Ma JY (2011) Acute toxicity study on Socheongryong-Tang and fermented Socheongryong-Tang extracts in mice. *Korean J Herbology* **26**, 101–7.
- Lee J-Y, Lee Y-J, and Park W-S (2010) Anti-inflammatory effects of fermented *Houttuynia herba* water extract on LPS-induced mouse macrophage. *Korean J Herbology* **25**, 27–34.
- Liu S, Yi LZ, and Liang YZ (2008) Traditional Chinese medicine and separation science. *J Sep Sci* **31**, 2113–37.
- Shin IS, Lee MY, Lim HS, Seo CS, Ha HK, and Shin HK (2012) Jaeumgangwha-tang, a traditional herbal formula inhibits the development of benign prostatic hyperplasia in rats. *J Korean Soc Appl Biol Chem* **55**, 205–12.
- Zhang H, Shen P, and Cheng Y (2004) Identification and determination of the major constituents in traditional Chinese medicine Si-Wu-Tang by HPLC coupled with DAD and ESI-MS. *J Pharm Biomed Anal* **34**, 705–13.