

한약재발효액의 항생제 다제내성균에 대한 항균활성 및 항산화활성

박영자¹, 강동희², 김현수^{2*}

Antibacterial Activities of Fermented Sayuksan Ingredient Extracts for Multidrug-resistant Strains

Young-Ja Park¹, Dong Hee Kang², and Hyun-Soo Kim^{2*}

접수: 2014년 5월 22일 / 게재승인: 2014년 6월 25일
© 2014 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: Sayuksan has been widely applied to treat a variety of diseases such as acute hepatitis, gastritis, and colitis. Sayuksan consists of medicinal herbs such as *Glycyrrhizae uralensis* Fischer, *Paeonia lactiflora* Pallas, *Bupleurum falcatum* Linne, and *Poncirus trifoliata* Rafinesq. Methanol extracts (1 mg/mL) from the four kinds of medicinal herbs did not show antibiotic activities against general test strains and multi-drug resistant strains. The antibacterial activity of fermented medicinal herbs extracts with *Lactobacillus* spp. strain was confirmed as Gram-positive bacteria which are higher than Gram-negative bacteria. Extracts of *Glycyrrhizae uralensis* Fischer fermented with *Lb. casei* KCTC 3109 displayed inhibitory diameters of 16 mm against *Pseudomonas aeruginosa* P01828. Superoxide dismutase (SOD)-like activity of the medicinal herb extracts was not determined, but the extract of *Paeonia lactiflora* Pallas fermented with six strains of *Lactobacillus* spp. had the highest antioxidant activity. SOD-like activity of *Paeonia lactiflora* Pallas extracts fermented by *Lb. brevis* KCTC 3498 was 41.4±0.8%, which was the highest antioxidant activity among the fermented extracts with the other medicinal herbs.

Keywords: Multi-drug resistance bacteria, *Lactobacillus* spp., Fermentation, Antibacterial activity, Antioxidant activity

1. INTRODUCTION

Alexander Fleming에 의해 penicillin이 발견된 이후 여러 종류의 항생제들이 개발되어 감염질환의 치료에 효과적으로 사용되었으나 [1], 항생제가 광범위하게 사용되면서 숙주의 변화, 새로운 균주의 출현과 균주의 항생제에 대한 내성 등은 다시 새로운 항생제의 개발을 요구하게 되었다 [2]. 항생제 내성균의 출현으로 인하여 환자의 치료가 어려워지고 있으며, 항생제 내성균 감염증의 경우 균의 종류에 따라 다르나 치사율이 2~13배 정도 증가하는 것으로 보고된 바 있다 [3].

Acinetobacter baumannii, *Pseudomonas aeruginosa*와 *Staphylococcus aureus*는 원내감염을 일으키는 주요 원인균으로 알려져 있다 [4-6]. 일반적으로 Gram 음성균은 Gram 양성균보다 건조한 환경에서 생존력이 약하지만 *Acinetobacter baumannii*는 Gram 음성균임에도 불구하고 병원환경에서 오랜 시간 서식하다가 주로 면역력이 약한 환자에게 폐렴, 패혈증, 요로감염, 심내막염 및 창상감염과 같은 다양한 감염증을 유발한다 [7]. *Pseudomonas aeruginosa*는 다수의 항생제에 내성을 보이는 다제내성 녹농균으로 폐렴이나 패혈증 등이 발생 시 치료가 힘든 내성균으로 분류되고 있다 [8,9]. *Staphylococcus aureus*는 피부의 화농성 감염, 기도 감염, 골수염을 유발시킨다 [10].

항생제 내성은 전 세계적인 문제로 확대되었으며, 아시아권은 다른 지역에 비해 월등히 높은 지역에 속하며, 한국의 항생제 내성률은 세계적으로 손꼽을 수 있을 정도로 높은 실

¹서라벌대학 임상병리과

¹Department of Clinical Pathology, Sorabol college, Gyeongju 780-711, Korea

²계명대학교 자연과학대학 미생물학과

²Department of Microbiology, College of Natural Science, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

Tel: +82-53-580-5284, Fax: +82-53-580-5284

e-mail: hskim@kmu.ac.kr

정이다 [11]. 국내 항생제 내성균의 모니터링을 위한 병원 네트워크인 Korean Nationwide Surveillance of Antimicrobial Resistance (KONSAR)의 발표된 자료에 따르면 국내 폐렴간균의 ceftazidime 내성률은 25~35%에 이르며, 대장균의 quinolone 내성률은 2002년까지 10% 이하로 유지되던 것이 2007년에는 27%에 이르렀다. *Pseudomonas aeruginosa*의 ceftazidime 내성률은 20%, piperacillin 내성률은 30~35%, quinolone 내성률은 40~50%, imipenem 내성률은 15~20%에 달했다. 국내에서 분리되는 *Acinetobacter*의 ceftazidime과 quinolone 내성률은 1997년부터 50% 이상으로 높게 보고되었다 [12,13].

현대과학의 발전에도 불구하고 많은 사람들이 한의학에 관심을 표명하고 있으며, 일부 한약제제의 경우 급성이 아닌 만성질환의 경우에 효과를 인정받고 있다. 오래전부터 지속적으로 이용되어 온 한약재들은 기본적으로 인체 안전성을 가지고 있고, 본질적으로 인체에 유용한 생리활성 유효성분이 있을 것으로 기대되기 때문에 한약재와 같은 천연 약물의 이용에 관심을 두고 있다 [14-17].

본 연구에서는 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* (VRE)와 최근 증가하고 있는 다제내성균인 multi drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*와 multi drug-resistant *Acinetobacter baumannii*에 대한 항생물질 개발을 목표로 하여 감초, 지실, 시호와 백작약 추출물의 유산균 발효를 통한 새로운 천연 항생제로서의 개발 가능성의 기초 자료로 활용하고자 감초, 지실, 시호와 백작약 추출물의 발효 전후의 항균활성 및 항산화활성을 비교하고자 한다.

2. MATERIALS AND METHOD

2.1. 한약재의 추출 및 농축

본 연구에 사용된 한약재는 Table 1에서 보는 바와 같이 감초, 지실, 시호와 백작약이며, 동국대학교 부속 한방병원에서 구입한 후 깨끗이 손질하여 사용하였다. 사역산의 구성 약재인 감초, 백작약, 시호와 지실은 동국대학교 부속 한방병원에서 구입하여 깨끗이 손질한 후 사용하였다. 한약재는 methanol 100 mL에 10 g을 첨가하여 28°C에서 24시간 동안 overnight 시켜 추출하였다. 추출물은 여과 (Whatman filter paper, GE Healthcare Co., U.K.)하여 rotary evaporator (EYELA, Tokyo Rikakikai Co., Japan)로 농축 후 4°C에 보관하면서 사용하였다.

2.2. 발효

2.2.1. 발효미생물의 선정 및 배양

본 연구에서 발효를 위해 사용한 미생물은 GRAS 미생물로서 Table 2에서 보는 바와 같이 유산균인 *Lactobacillus* 속 6균주를 사용하였다. 유산균은 lactobacilli MRS broth (proteose peptone No. 3 10 g, beef extract 10 g, yeast extract 5 g, dextrose

Table 1. List of medicinal herbs used for antimicrobial experiments

Korean medicine name	Scientific name	Effective Part
감초	<i>Glycyrrhizae uralensis</i> Fischer	Root
백작약	<i>Paeonia lactiflora</i> Palls	Root
시호	<i>Bupleurum falcatum</i> Linne	Root
지실	<i>Citrus aurantium</i> Linne	Fruit

Table 2. Used strains for fermentation

Strains	Sources
<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> KCTC 3108	Pickled cabbage
<i>Lactobacillus casei</i> KCTC 3109	Cheese
<i>Lactobacillus fermentum</i> KCTC 3112	Fermented beets
<i>Lactobacillus brevis</i> KCTC 3498	Human feces
<i>Lactobacillus helveticus</i> KCTC 3545	Emmental (Swiss) cheese
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> KCTC 3635	Bulgarian yogurt

20 g, polyoxyethylene sorbitan monooleate 1 g, ammonium citrate 2 g, maganesium sulfate 0.1 g, manganese sulfate 0.05 g, dipotassium phosphate 2 g, sodium acetate 5 g/L, pH 6.5, Difco Co., USA)에 계대배양한 후 균체를 20% glycerol이 포함된 저장액에 넣어 -70°C에 보관하였으며, 실험에 사용하기 전 계대 배양을 실시하였다.

2.2.2. 한약재 methanol 추출물의 첨가농도 선정

한약재 methanol 추출물은 0.1 mg/mL, 1 mg/mL, 2.5 mg/mL, 5 mg/mL와 10 mg/mL의 농도로 조정하여 희석하였다. 희석한 한약재 추출액은 paper disc (Ø = 6 mm, Whatman Co., USA)에 20 µL를 첨가하여 건조시킨 후 Gram 양성균인 *Bacillus subtilis* PCI 219와 Gram 음성균인 *Escherichia coli* KCTC 1682를 이용하여 agar diffusion 방법으로 항균활성을 확인 후 첨가농도를 결정하였다.

2.2.3. 한약재 추출액의 발효

한약재 추출물은 lactobacilli MRS broth에 1 mg/mL의 농도로 첨가하여 멸균하였다. 발효 시 사용한 *Lactobacillus* 속 6균주는 1×10⁸ CFU/mL의 농도로 조정하여 한약재 추출물을 첨가한 lactobacilli MRS broth에 0.2% (v/v)를 접종하였다. 배양 시 조건은 37°C에서 7일간 정치배양을 하였으며, 배양일수별로 sampling을 하였다. 배양액은 4°C, 3,000 rpm에서 10분 간 원심분리 후 상등액을 분리하여 실험에 사용하였다.

2.3. pH 측정

유산균 배양액, 한약재 추출액 및 발효액은 3,000 rpm에서 10분간 원심분리를 하였으며, 상등액은 pH meter (Mettler Toledo MP220, U.K.)를 사용하여 pH를 측정하였다.

2.4. 항균활성 측정

발효 전후 한약재 추출액의 항균활성은 agar diffusion 방법으로 측정하였다. 항균활성 측정에 사용된 일반시험균주는 Gram 양성균인 *Bacillus subtilis* PCI 219와 *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* KCCM 40510, Gram 음성균인 *Escherichia coli* KCTC 1682, *Shigella flexneri* KCTC 2517과 *Vibrio parahaemolyticus* KCTC 2471을 사용하였다. 또한 항생제 다제내성균인 MRSA (P01414, P01537), VRE (P01477, P01695), *P. aeruginosa* (P01827, P01828)와 *A. baumannii* P01128은 경북대병원 병원체자원은행에서, *A. baumannii* P01922는 경상대학교병원 병원체자원은행으로부터 제공받은 병원체자원을 이용하였다. *P. aeruginosa* (0225, 0254, 0347, 0826, 1113, 1378, 1731, 2492) 8균주는 대구가톨릭대학교병원 진단검사의학과 미생물부에서 제공받아 사용하였다.

E. coli KCTC 1682와 *S. flexneri* KCTC 2517은 LB 배지 (peptone 10 g, yeast extract 5 g, sodium chloride 5 g/L, pH 6.8), *A. baumannii* (P01128, P01922), *P. aeruginosa* (P01827, P01828), *S. aureus* subsp. *aureus* KCCM 40510과 *B. subtilis* PCI 219는 Nutrient 배지 (beef extract 3 g, peptone 5 g/L, pH 6.8, Difco Co., USA), *V. parahaemolyticus*는 Marin 배지 (peptone 5 g, yeast extract 1 g, Fe(III) citrate 0.1 g, NaCl 19.45 g, MgCl₂ 1.8 g, NaSO₄ 3.24 g, CaCl₂ 1.8 g, KCl 0.55 g, Na₂CO₃ 0.16 g, KBr 0.08 g, SrCl₂ 0.034 g, H₃BO₃ 0.022 g, Na-silicate 0.004 g, NaF 0.0024 g, (NH₄)NO₃ 0.0016 g, Na₂HPO₄ 0.008 g/L, pH 7.6), MRSA (P01414, P01537)는 BHI 배지 (brain heart infusion 37 g, casamino acid 1 g, MgSO₄·7H₂O 1 g, NaCl 29 g/L, pH 7.4), VRE (P01477, P01695)는 TSB배지 (pancreatic digest of casein 17 g, papaic digest of soybean 3.0 g, dextrose 2.5 g, sodium chloride 5.0 g, dipotassium phosphate 2.5 g, pH 7.3, Difco Co., USA)에 각각 접종하여 37°C, 170 rpm에서 24시간 계대배양을 하였다. 계대배양을 한 시험균주는 4°C에서 보관하면서 사용하였다. 항균활성은 발효 전후 한약재 추출액 20 µL를 각각 paper disc (Ø = 6 mm, Whatman Co., USA)에 첨가하여 건조시킨 후 시험균주가 함유된 평판배지 위에 얹고 37°C에서 1일간 배양하여 생성된 inhibitory zone의 유무 및 크기를 통해 판단하였다.

2.5. 항산화활성 측정

2.5.1. SOD 유사활성

SOD 유사활성은 Marklund 방법 [18]에 따라 실시하였다. 각

시료 용액 0.2 mL에 Tris-HCl 완충용액 (50 mM Tris, 10 mM EDTA, pH 8.5) 2.6 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL (Sigma Co., USA)를 가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후 1.0 N HCl 0.1 mL를 가하여 반응을 정지시키고 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양을 420 nm에서 측정하였다. SOD 유사활성은 시료용액의 실험구와 대조구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{SOD-like activity (\%)} = \left[1 - \frac{S}{C} \right] \times 100$$

C: Tris-HCl 완충용액 + pyrogallol + HCl의 흡광도

S: Tris-HCl 완충용액 + 시료 + pyrogallol + HCl의 흡광도

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. 한약재 추출액의 첨가농도 결정

Lactobacillus 속 6균주로 한약재 추출액 발효 시 첨가 농도는 한약재 추출물을 0.1 mg/mL, 1 mg/mL, 2.5 mg/mL, 5 mg/mL 와 10 mg/mL 농도로 희석하여 항균활성을 측정 후 결정하였다. 4가지 한약재 추출액은 Gram 양성균인 *B. subtilis* PCI 219와 Gram 음성균인 *E. coli* KCTC 1682를 이용하여 inhibitory zone의 유무와 크기를 확인한 결과 Table 3에서 보는 바와 같이 나타났다. 2.5 mg/mL 이상의 고농도인 지실 (2.5 mg/mL 이상)과 감초 추출액 (10 mg/mL 이상)은 *B. subtilis* PCI 219에 항균활성을 나타내었지만, *E. coli* KCTC 1682에 항균활성을 나타내지 않았다. 따라서 발효 시 한약재 추출액의 첨가농도는 4가지 한약재 추출액 모두 시험균주에 대해 항균활성을 나타내지 않는 1 mg/mL 농도로 결정하였다.

3.2. pH 측정

유산균 배양 중 pH가 급격히 감소하는 것은 유산균 발효과정에서 생성되는 유산 및 여러 가지 유기산의 생성에서 기인하는 것으로 알려져 있다 [19]. 배양액의 pH 측정은 *Lactobacillus* 속 6균주 배양액의 낮은 pH가 시험균주의 항균활성에 영향을 미치는지 확인하기 위해 배양일수별로 수행하였다. Fig. 1A에서 보는 바와 같이 *Lactobacillus* 속 6균주를 각각 lactobacilli MRS broth에 접종하여 배양 후 1일째 배양액의 pH는 3.90~5.28로 측정되었으며, 배양 시간이 지날수록 pH가 낮아져 7일째 배양액은 3.82~4.01로 측정되었다. *Lactobacillus* 속 6균주의 각 배양액은 일반시험균주 및 다제내성균에 항균활

Table 3. Antibacterial activity of medicinal herb extracts against *Bacillus subtilis* PCI 219

Medicinal herb extracts	Concentration (mg/mL)				
	10	5	2.5	1	0.1
	Inhibitory zone (Ø = 6 mm)				
<i>Poncirus trifoliata</i> Rafinesqu	13	11	6	-	-
<i>Glycyrrhizae uralensis</i> Fischer	9	-	-	-	-
<i>Bupleurum falcatum</i> Linne	-	-	-	-	-
<i>Paeoniae lactiflora</i> Pallas	-	-	-	-	-

-: No inhibition.

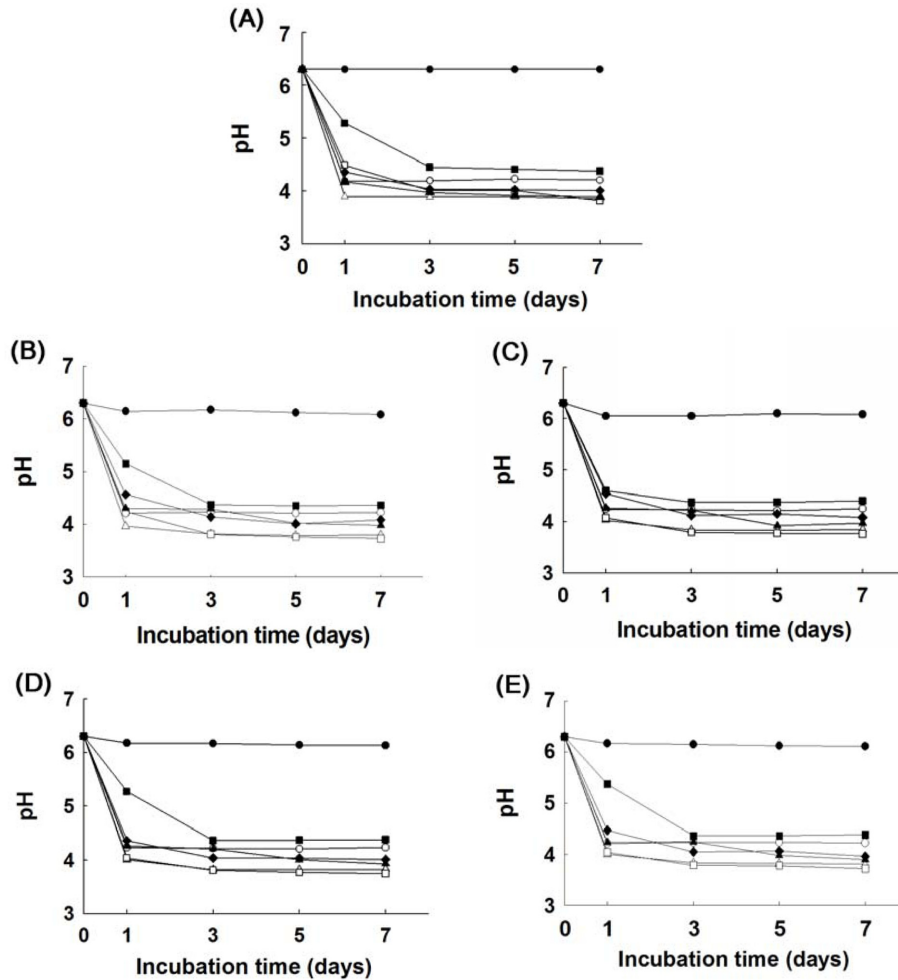


Fig. 1. Change of pH by *Lactobacillus* spp. strains in lactobacilli MRS broth and medicinal herb extracts. (A) lactobacilli MRS, (B) *Glycyrrhizae uralensis* Fischer, (C) *Paeoniae lactiflora* Pallas, (D) *Bupleurum falcatum* Linne, (E) *Poncirus trifoliata* Rafinesqu. ●: Control (medium only), △: *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108, □: *Lb. casei* KCTC 3109, ○: *Lb. fermentum* KCTC 3112, ■: *Lb. brevis* KCTC 3498, ◆: *Lb. helveticus* KCTC 3545, ▲: *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635.

성을 나타내지 않았다 (결과 미공개).

감초, 백작약, 시호와 지실 추출액을 *Lactobacillus* 속 6균주로 발효한 발효액의 pH는 Fig. 1B, 1C, 1D, 1E에서 보는 바와 같이 배양 1일째에 3.96~5.37로 측정되었으며, 배양 7일째에 3.72~4.40으로 측정되었다. Fig. 1의 결과에서와 같이 *Lactobacillus* 속 6균주의 배양액과 4가지 한약재 발효액의 pH는 거의 유사한 측정치를 나타내었다. 따라서 *Lactobacillus* 속 6균주는 한약재 발효과정에서 유산을 생산하며 증식하고 있다는 것을 확인하였다.

3.3. 항균활성

항균활성은 *Lactobacillus* 속 6균주 배양액, 한약재 추출액 및 한약재 발효액을 대상으로 측정하였으며, 발효를 통한 항균성 물질의 생성 증가를 검토하기 위해 수행하였다. 발효 전 한약재 추출액은 일반시험균주 및 다제내성균에 대해 항균활성을 나타내지 않았으며, 한약재 발효액은 높은 항균활성

을 나타내었다 (Table 4~7).

3.3.1. 감초 발효액

Table 4에서 보는 바와 같이 발효 전 감초 추출액은 일반시험균주 및 다제내성균에 대해 항균활성을 나타내지 않았지만, *Lactobacillus* 속 6균주로 발효시킨 감초 발효액은 일반시험균주 및 다제내성균에 대해 항균활성을 나타내었다. 일반시험균주에 대한 항균활성은 *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108과 *Lb. casei* KCTC 3109로 발효 시 Gram 음성균주보다 Gram 양성균주인 *S. aureus* subsp. *aureus* KCCM 40510과 *B. subtilis* PCI 219에 대해 높은 항균활성을 나타내었다. 이러한 결과는 한약재의 ethanol 추출물이 Gram 양성균에 대해 매우 강한 항균활성을 띄고 Gram 음성균에 대해서는 약한 항균활성을 보인다는 결과 [20,21]와 유사한 결과를 얻었다. *Lb. fermentum* KCTC 3112, *Lb. helveticus* KCTC 3545와 *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635로 발효 시 일반

Table 4. Antibacterial activity of fermented methanol extracts from *Glycyrrhizae uralensis* Fischer against general test strains and multi-drug resistant strains

Scientific name (Korean medicine name)	Test strains	Incubation time (days)	<i>Lactobacillus</i> spp. strains						
			C	a	b	c	d	e	f
<i>Glycyrrhizae uralensis</i> Fischer (감초)	<i>E. coli</i> KCTC 1682	5	-	7	7	-	-	7	7
		7	-	7	7	-	-	7	7
	<i>S. flexneri</i> KCTC 2517	5	-	9	9	-	-	-	-
		7	-	-	-	-	-	-	7
	<i>V. parahaemolyticus</i> KCTC 2471	5	-	11	11	9	9	9	10
		7	-	10	9	7	-	-	9
	<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i> KCCM 40510	5	-	11	11	-	-	9	9
		7	-	11	11	-	-	-	11
	<i>B. subtilis</i> PCI 219	5	-	9	13	12	-	12	12
		7	-	12	13	8	8	9	10
	<i>A. baumannii</i> P01128	5	-	9	10	6.5	6.5	6.5	6.5
		7	-	8	11	7	6.5	8	8
	<i>A. baumannii</i> P01922	5	-	9	8	6.5	-	7	7
		7	-	9	8	6.5	-	7	8
	<i>P. aeruginosa</i> P01827	5	-	9	12	8	8	11	9
		7	-	11	12	9	8	10	11
	<i>P. aeruginosa</i> P01828	5	-	11	16	-	8.5	9	11
		7	-	14	12	8	9	9	11
	<i>P. aeruginosa</i> 0347	5	-	8	10	-	-	-	8
		7	-	12	11	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> 1113	5	-	9	11	7	-	7	8	
	7	-	8	9	-	-	7	7	
<i>P. aeruginosa</i> 1378	5	-	9	11	-	-	7	8	
	7	-	10	11	-	-	-	10	
<i>P. aeruginosa</i> 2492	5	-	10	12	6.5	6.5	8	10	
	7	-	10	11	-	-	6.5	10	

C: lactobacilli MRS broth containing medicinal herb extracts (1 mg/mL), a: *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108, b: *Lactobacillus casei* KCTC 3109, c: *Lactobacillus fermentum* KCTC 3112, d: *Lactobacillus brevis* KCTC 3498, e: *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545, f: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635.

-: No inhibition.

시험균주 및 다제내성균에 대한 항균활성은 약하게 나타났다. 또한 다제내성균에 대한 감초 발효액의 항균활성은 *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108과 *Lb. casei* KCTC 3109로 발효시켰을 때 *A. baumannii*와 *P. aeruginosa*에 높게 나타났다. 특히 *P. aeruginosa* P01828에 대한 항균활성은 배양 5일째에 16 mm의 가장 강력하게 나타났다. *P. aeruginosa* 8균주에 대한 항균활성은 4균주에 대해 11 mm 이상으로 확인되었다. 이러한 결과는 발효가 진행되면서 새로운 항균성 물질을 생산해내는 것으로 사료된다.

MRSA (P01414, P01537)와 VRE (P01477, P01695)에 대한 항균활성은 모두 나타나지 않았다 (결과 미제재). 원내감염의 주요 원인균인 MRSA 및 VRE에 적절히 사용할 수 있는 항생물질이 부족한 실정이므로 이러한 다제내성균에 효과적으로 작용하는 천연 항생물질에 대한 연구가 추가적으로 필요할 것으로 판단된다.

3.3.2. 백작약 발효액

Table 5에서 보는 바와 같이 발효 전 백작약 추출액은 일반시

험균주 및 다제내성균에 대해 항균활성을 나타내지 않았다. 백작약 발효액의 일반시험균주 및 다제내성균에 대한 항균활성은 감초 발효액과 동일하게 6종의 유산균 중 *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108과 *Lb. casei* KCTC 3109로 발효시켰을 때 높은 항균활성을 나타내었다. *Lb. fermentum* KCTC 3112, *Lb. brevis* KCTC 3498, *Lb. helveticus* KCTC 3545와 *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635로 발효시킨 백작약 발효액은 약한 항균활성을 나타내었다. *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108과 *Lb. casei* KCTC 3109로 발효한 백작약 발효액은 일반시험균주인 *V. parahaemolyticus* KCTC 2471, *S. aureus* subsp. *aureus* KCCM 40510과 *B. subtilis* PCI 219에 대해 12 mm 이상의 항균활성을 나타내었다. 백작약 발효액의 일반시험균주에 대한 항균활성은 Gram 양성균주 뿐만 아니라 Gram 음성균주에서도 다소 높게 나타났다. 일반적으로 항균활성은 Gram 음성균주보다 Gram 양성균주에 대하여 정유 성분들이 민감하게 반응하여 훨씬 높았다고 보고 [22,23]되었으나, 본 실험에서 백작약 발효액은 Gram 음성균인 *V. parahaemolyticus* KCTC 2471에 대한 항균

Table 5. Antibacterial activity of fermented methanol extracts from *Paeonia lactiflora* Pallas against general test strains and multi-drug resistant strains

Scientific name (Korean medicine name)	Test strains	Incubation time (days)	<i>Lactobacillus</i> spp. strains						
			C	a	b	c	d	e	f
			Inhibitory zone (Ø = 6 mm)						
<i>Paeonia lactiflora</i> Pallas (백작약)	<i>E. coli</i> KCTC 1682	5	-	7	7	-	-	7	7
		7	-	8	8	-	-	8	8
	<i>S. flexneri</i> KCTC 2517	5	-	7	8	-	-	-	-
		7	-	10	8	-	-	8	9
	<i>V. parahaemolyticus</i> KCTC 2471	5	-	11	11	8	7	7	10
		7	-	12	12	8	7	8	9
	<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i> KCCM 40510	5	-	12	12	-	-	8	11
		7	-	11	13	-	-	10	11
	<i>B. subtilis</i> PCI 219	5	-	11	12	9	9	9	11
		7	-	12	13	8	7	9	12
	<i>A. baumannii</i> P01128	5	-	8	8	6.5	6.5	6.5	8
		7	-	8	10	6.5	-	8	9
	<i>A. baumannii</i> P01922	5	-	9	9	7	7	-	8
		7	-	9	9	6.5	6.5	6.5	8
	<i>P. aeruginosa</i> P01827	5	-	12	10	8	7	6.5	9
		7	-	12	12	10	8	11	11
	<i>P. aeruginosa</i> P01828	5	-	10.5	12.5	9	8.5	9	10
		7	-	13.5	12	8.5	10	10	10
	<i>P. aeruginosa</i> 0225	5	-	10	10	-	-	-	7
		7	-	9	10	-	-	7	7
<i>P. aeruginosa</i> 0347	5	-	10	11	-	-	-	10	
	7	-	9	9	-	-	-	-	
<i>P. aeruginosa</i> 1378	5	-	9	11	-	-	-	8	
	7	-	11	12	7	-	8	9	
<i>P. aeruginosa</i> 2492	5	-	10	12	7	-	8	10	
	7	-	12	11	6.5	-	8	9	

C: lactobacilli MRS broth containing medicinal herb extracts (1 mg/mL). a: *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108, b: *Lactobacillus casei* KCTC 3109, c: *Lactobacillus fermentum* KCTC 3112, d: *Lactobacillus brevis* KCTC 3498, e: *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545, f: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635.

-: No inhibition.

활성도 다소 높게 나타났다. 이는 백작약 ethyl acetate 추출물이 *B. subtilis*, *S. aureus*와 *V. parahaemolyticus*에 대해 항균활성이 뛰어났다는 연구결과 [24]와 유사한 결과를 얻었다. 다제내성균에 대한 항균활성은 *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108과 *Lb. casei* KCTC 3109로 발효 시 *A. baumannii*와 *P. aeruginosa*에서 높게 나타났으며, 7일째 배양액은 *P. aeruginosa* P01828에 13.5 mm의 항균활성을 나타내었다. *P. aeruginosa*에 대한 항균활성은 8균주 중 4균주에서 11 mm 이상의 항균활성을 나타내었다. 그러나 백작약 발효액의 MRSA (P01414, P01537)와 VRE (P01477, P01695)에 대한 항균활성은 모두 나타나지 않았다 (결과 미계재).

3.3.3. 시호 발효액

Table 6에서 보는 바와 같이 발효 전 시호 추출액은 일반시험균주 및 다제내성균에 대해 항균활성을 나타내지 않았다. 시호 발효액의 일반시험균주 및 다제내성균에 대한 항균활성은 6종의 유산균 중 *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108과 *Lb. casei* KCTC 3109로 발효시켰을 때 높은 항균활성

을 나타내었다. *Lb. fermentum* KCTC 3112, *Lb. brevis* KCTC 3498, *Lb. helveticus* KCTC 3545와 *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635로 발효시킨 시호 발효액은 약한 항균활성을 나타내었다. *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108과 *Lb. casei* KCTC 3109로 발효시킨 시호 발효액은 일반시험균주인 *V. parahaemolyticus* KCTC 2471과 *B. subtilis* PCI 219에 대해 12 mm 이상의 항균활성을 나타내었으며, 특히 *S. aureus* subsp. *aureus* KCCM 40510에 대한 항균활성은 15 mm로 높게 나타내었다. 다제내성균에 대한 항균활성은 *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108과 *Lb. casei* KCTC 3109로 발효 시 *P. aeruginosa* (P01827, P01828)에 대해 12 mm 이상의 항균활성을 나타내었다. *P. aeruginosa* 8균주에 대한 항균활성에서는 5균주에 대해 11 mm 이상의 항균활성을 나타내었다. 따라서 시호 추출액의 유산균 발효를 통한 bioconversion은 *P. aeruginosa*를 억제하는 새로운 항생물질의 생산가능성이 확인되었다. MRSA (P01414, P01537)와 VRE (P01477, P01695)에 대한 항균활성은 모두 나타나지 않았다 (결과 미계재).

Table 6. Antibacterial activity of fermented methanol extracts from *Bupleurum falcatum* Linne against general test strains and multi-drug resistant strains

Scientific name (Korean medicine name)	Test strains	Incubation time (days)	<i>Lactobacillus</i> spp. strains						
			C	a	b	c	d	e	f
			Inhibitory zone ($\varnothing = 6$ mm)						
<i>Bupleurum falcatum</i> Linne (시호)	<i>E. coli</i> KCTC 1682	5	5	-	7	7	-	-	7
		7	7	-	7	7	-	-	7
	<i>S. flexneri</i> KCTC 2517	5	5	-	9	10	-	-	9
		7	7	-	10	-	-	-	7
	<i>V. parahaemolyticus</i> KCTC 2471	5	5	-	10	12	9	9	-
		7	7	-	12	11	8	8	8
	<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i> KCCM 40510	5	-	13	13	-	-	9	10
		7	-	13	15	-	-	8	8
	<i>B. subtilis</i> PCI 219	5	-	13	12	9	8	9	10
		7	-	10	11	8	7	9	10
	<i>A. baumannii</i> P01128	5	-	9	9	6.5	7	8	8
		7	-	10	10	7	6.5	8	9
	<i>A. baumannii</i> P01922	5	-	8	8	7	6.5	7	8
		7	-	9	9	6.5	6.5	8	8
	<i>P. aeruginosa</i> P01827	5	-	9	10	7	-	8	8
		7	-	12	12	8	9	10	10
	<i>P. aeruginosa</i> P01828	5	-	10.5	12.5	10	9	10	11
		7	-	11	12	9	9.5	10	9.5
	<i>P. aeruginosa</i> 0347	5	-	-	8	-	-	-	-
		7	-	10	9	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> 0826	5	-	10	12	7	-	10	9	
	7	-	9	11	-	8	9	9	
<i>P. aeruginosa</i> 1113	5	-	11	11	7	-	7	10	
	7	-	9	9	7	-	8	9	
<i>P. aeruginosa</i> 1378	5	-	10	11	7	7	7	7	
	7	-	11	12	-	-	9	8	
<i>P. aeruginosa</i> 2492	5	-	11	13	9	-	11	10	
	7	-	10	10	6.5	-	8	8	

C: lactobacilli MRS broth containing medicinal herb extracts (1 mg/mL), a: *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108, b: *Lactobacillus casei* KCTC 3109, c: *Lactobacillus fermentum* KCTC 3112, d: *Lactobacillus brevis* KCTC 3498, e: *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545, f: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635.

-: No inhibition.

3.3.4. 지실 발효액

Table 7에서 보는 바와 같이 발효 전 지실 추출액은 일반시험균주 및 다제내성균에 대해 항균활성을 나타내지 않았다. *Lactobacillus* 속 6균주로 발효시킨 지실 발효액의 일반시험균주 및 다제내성균에 대한 항균활성은 *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108과 *Lb. casei* KCTC 3109로 발효 시 높은 항균활성을 나타내었다. *Lb. fermentum* KCTC 3112, *Lb. brevis* KCTC 3498, *Lb. helveticus* KCTC 3545와 *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635로 발효시킨 지실 발효액은 약한 항균활성을 나타내었다. *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108과 *Lb. casei* KCTC 3109로 발효시킨 지실 발효액은 일반시험균주인 *V. parahaemolyticus* KCTC 2471, *S. aureus* subsp. *aureus* KCCM 40510과 *B. subtilis* PCI 219에 대해 12 mm 이상의 항균활성을 나타내었다. 다제내성균에 대한 항균활성은 *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108과 *Lb. casei* KCTC 3109로 발효 시 *A. baumannii* P01128과 *P.*

aeruginosa (P01827, P01828)에 대해 11 mm 이상의 항균활성을 나타내었다. *P. aeruginosa* 8균주에 대한 항균활성은 4균주에서 11 mm 이상으로 나타났다. MRSA (P01414, P01537)와 VRE (P01477, P01695)에 대한 항균활성은 모두 나타나지 않았다 (결과 미공개).

3.4. SOD 유사활성

SOD는 생체에 매우 유해한 superoxide anion radical과 반응하여 H_2O_2 를 생성하는 항산화 효소로서, 산소를 소비하는 모든 생물종에 존재하여 생체 내에서 대표적인 활성산소 저해제이다. SOD 유사활성 물질은 효소는 아니지만 주로 phytochemical에 속하는 저분자 물질이 SOD와 유사한 역할을 하여 superoxide의 반응성을 억제하여 superoxide를 제거함으로써 노화 억제와 더불어 산화적 손상에 대한 방어효과를 가진다고 알려져 있다 [25].

항산화활성은 감초, 백작약, 시호와 지실 추출액을 *Lacto-*

Table 7. Antibacterial activity of fermented methanol extracts from *Poncirus trifoliata* Rafinesqu against general test strains and multi-drug resistant strains

Scientific name (Korean medicine name)	Test strains	Incubation time (days)	<i>Lactobacillus</i> spp. strains						
			C	a	b	c	d	e	f
			Inhibitory zone (Ø = 6 mm)						
<i>Poncirus trifoliata</i> Rafinesqu (지실)	<i>E. coli</i> KCTC 1682	5	-	7	7	-	-	7	7
		7	-	7	7	-	-	7	7
	<i>S. flexneri</i> KCTC 2517	5	-	9	9	-	-	8	8
		7	-	8	8	-	-	-	7
	<i>V. parahaemolyticus</i> KCTC 2471	5	-	10	10	6	-	-	9
		7	-	12	11	7	-	9	11
	<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i> KCCM 40510	5	-	9	9	-	-	7	7
		7	-	11	12	-	-	10	10
	<i>B. subtilis</i> PCI 219	5	-	13	12	9	8	9	10
		7	-	10	11	8	7	9	10
	<i>A. baumannii</i> P01128	5	-	11	9	7	6.5	7	9
		7	-	11	11	7	7	8	9
	<i>A. baumannii</i> P01922	5	-	8	9	6.5	-	8	8
		7	-	9	10	7	6.5	8	8
	<i>P. aeruginosa</i> P01827	5	-	10	10	7	-	8	9
		7	-	11	12	9	9	11	10
	<i>P. aeruginosa</i> P01828	5	-	12	11	9	8	11	10
		7	-	12	11	9	9	11.5	10
	<i>P. aeruginosa</i> 0826	5	-	11	10	-	-	8	8
		7	-	11	11	8	8	10	9
<i>P. aeruginosa</i> 1113	5	-	11	12	-	-	7	8	
	7	-	10	11	7	-	8	9	
<i>P. aeruginosa</i> 1378	5	-	8	8	-	-	-	9	
	7	-	11	10	-	-	8	8	
<i>P. aeruginosa</i> 2492	5	-	13	12	-	-	8	9	
	7	-	10	10	-	-	10	10	

C: lactobacilli MRS broth containing medicinal herb extracts (1 mg/mL), a: *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108, b: *Lactobacillus casei* KCTC 3109, c: *Lactobacillus fermentum* KCTC 3112, d: *Lactobacillus brevis* KCTC 3498, e: *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545, f: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635.

-: No inhibition.

bacillus 속 6균주로 발효하여 항산화활성의 변화를 검토하기 위해 수행하였다. 한약재 추출액 및 한약재 발효액의 SOD 유사활성을 검토한 결과 Fig. 2에서 보는 바와 같이 발효 전 한약재 추출액 (1 mg/mL)은 SOD 유사활성이 확인되지 않았다. 한약재 발효액은 발효 유산균에 따라 차이는 있지만 백작약, 감초, 시호와 지실의 순으로 항산화활성이 높게 나타났다. 감초 발효액의 SOD 유사활성은 *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108과 *Lb. casei* KCTC 3109로 발효하였을 때 높게 나타났으며 그 중에서도 *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108로 발효 시 발효 3일째에 40.4±0.9%의 항산화활성이 나타났다 (Fig. 2A). 백작약 발효액은 *Lb. brevis* KCTC 3498로 7일간 발효하였을 때 항산화활성이 41.4±0.8%로 가장 우수하였다 (Fig. 2B). 이는 한방생약재의 추출물과 발효액의 항산화활성을 비교한 결과에서 작약은 추출물보다는 버섯 균사체로 발효한 발효액의 항산화활성이 증가하였다는 보고와도 유사하다 [26]. 시호 발효액은 *Lb. casei* KCTC 3109로 7일간 발효하였을 때 항산화활성이 26.8±1.6%로 나타났으며 (Fig. 2C), 지실 발효액은 *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

KCTC 3635로 5일간 발효하였을 때 항산화활성이 22.3±1.9%로 나타났다 (Fig. 2D). 유산균으로 발효시킨 인삼열매 추출물의 SOD 유사활성은 발효 전 인삼열매 추출물보다 SOD 유사활성이 증가하였다는 보고 [27]와 유산균 발효를 통한 매자나무 수피 발효물이 매자나무 수피 추출물에 비해 SOD 유사활성이 6~11% 증가하였다는 보고 [28]에서와 같이 항산화활성은 유산균을 이용한 발효를 통해 약효성분의 상승효과에 의한 것으로 판단된다. 또한 발효물의 활성은 균주에 따른 증진되는 정도에 차이가 있는 것으로 나타났다.

4. CONCLUSION

오래전부터 지속적으로 이용되어온 한약재들은 기본적으로 인체 안전성을 가지고 있고, 본질적으로 인체에 유용한 생리활성 유효성분이 있을 것으로 기대되기 때문에 한약재와 같은 천연 약물의 이용에 관심을 두어 이를 이용한 다제내성균에 대한 항균 활성 물질의 개발을 목표로 하여 한약재 추출물

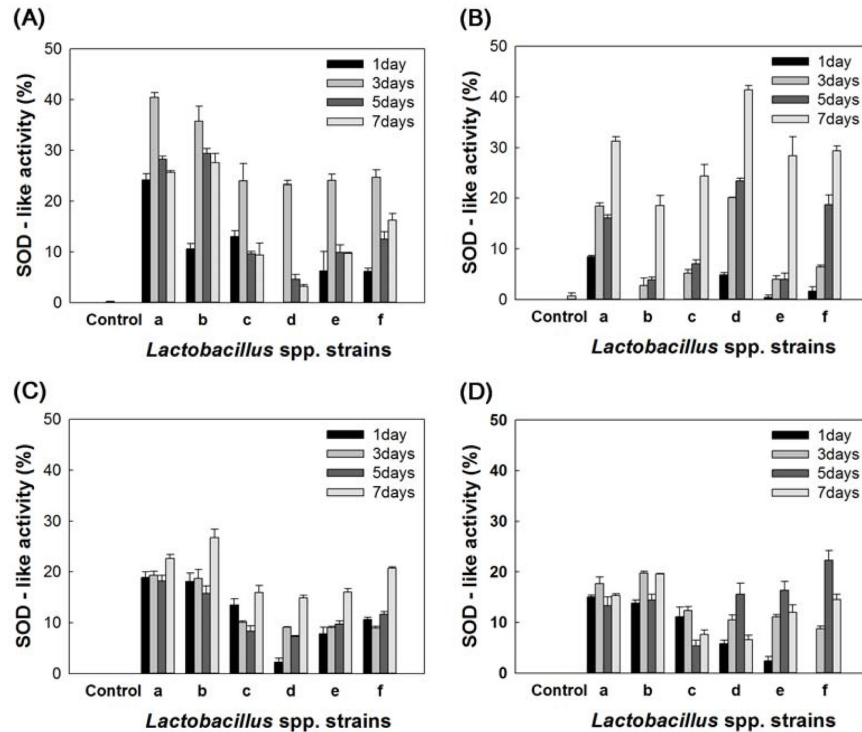


Fig. 2. SOD-like activity of fermented methanol extracts from medicinal herbs. (A) *Glycyrrhizae uralensis* Fischer, (B) *Paeonia lactiflora* Pallas, (C) *Bupleurum falcatum* Linne, (D) *Poncirus trifoliata* Rafinesqu. Control: lactobacilli MRS broth containing medicinal herbs (1 mg/mL), a: *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108, b: *Lactobacillus casei* KCTC 3109, c: *Lactobacillus fermentum* KTC 3112, d: *Lactobacillus brevis* KCTC 3498, e: *Lactobacillus helveticus* KCTC 3545, f: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* KCTC 3635. Data values were expressed as mean \pm SE.

의 유산균 발효를 통한 새로운 천연 항생제로서의 개발 가능성의 기초자료로 활용하고자 본 연구를 수행하였다. 발효 전 감초, 백작약, 시호와 지실 추출액은 일반시험균주 및 다제내성균에 대해 항균활성을 나타내지 않았으나, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* KCTC 3108과 *Lactobacillus casei* KCTC 3109로 발효한 한약재 발효액은 일반시험균주 및 다제내성균에 대해 높은 항균활성을 나타내었다. 감초, 백작약, 시호와 지실 발효액은 Gram 음성균보다 Gram 양성균에 대해 높은 항균활성을 나타내었다. *Lactobacillus casei* KCTC 3109로 발효한 감초 발효액은 다제내성균인 *Pseudomonas aeruginosa* P01828에 대해 강한 항균활성을 나타내었다. 한약재 추출액과 발효액의 항산화 활성은 SOD 유사활성을 측정하여 확인하였다. 한약재 추출액은 SOD 유사활성이 확인되지 않았으며, *Lactobacillus* 속 6균주로 발효한 한약재 발효액은 백작약, 감초, 시호와 지실 순으로 높게 나타났다. 특히 *Lactobacillus brevis* KCTC 3498로 발효한 백작약 발효액의 SOD 유사활성은 41.4 \pm 0.8%로 4가지 한약재 발효액 중 항산화활성이 가장 높게 나타났다. 감초, 백작약, 시호와 지실 추출액의 유산균 발효를 통한 bioconversion은 다제내성 균주를 억제하는 항생물질과 항산화 활성 물질의 생산을 통하여 새로운 천연 항생제 및 항산화제의 개발에 기초자료로 제공될 수 있을 것으로 사료된다.

REFERENCES

1. Wahdan, H. A. (1998) Causes of the antimicrobial activity of honey. *Infect* 26: 26-31.
2. Bello, H., G. Gonzalez, M. Dominguez, R. Zemelman, A. Garcia, and S. Mella (1997) Activity of selected β -lactams, ciprofloxacin, and amikacin against different *Acinetobacter baumannii* biotypes from Chilean hospitals. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 28: 183-186.
3. Roberts, R. R., B. Hota, I. Ahmad, R. D. Scott, S. D. Foster, F. Abbasi, S. Schabowski, L. M. Kampe, G. G. Giavarella, M. Supino, J. Naples, R. Cordell, S. B. Levy, and R. A. Weinstein (2009) Hospital and societal costs of antimicrobial-resistant infections in a Chicago teaching hospital: Implications for antibiotic stewardship. *Clin. Infect. Dis.* 49: 1175-1184.
4. Oh, S. J., S. U. Lee, H. Y. Hwang, I. K. Bae, H. S. Jo, B. H. Lee, and S. H. Jeong (2006) Prevalence of class A extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Kor. J. Lab. Med.* 26: 14-20.
5. Park, K. O., H. C. Son, I. K. Bae, and S. H. Jeong (2005) Molecular epidemiology of infection caused by OXA-23 or IMP-1 beta-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii*. *Kor. J. Clin. Microbiol.* 8: 121-129.
6. Ahn, J. Y., W. B. Kim, D. W. Lee, K. Lee, S. H. Choi, I. S. Kim, and C. H. Seo (1999) A study of the *mecl*, *mecA* and *femA* genes of methicillin-resistant Staphylococci. *Kor. J. Clin. Pathol.* 19: 62-69.

7. Lim, Y. M., T. S. Choi, and J. M. Kim (2006) Determination of genomospecies and characterization of antimicrobial resistance of multi-drug resistant *Acinetobacter* spp. isolates. *J. Bacteriol. Virol.* 36: 21-30.
8. Inglis, T. J., K. A. Benson, L. O'Reilly, R. Bradbury, M. Hodge, D. Speers, and C. H. Heath (2010) Emergence of multi-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a Western Australian hospital. *J. Hosp. Infect.* 76: 60-65.
9. Zaborina, O., J. E. Kohler, Y. Wang, C. Bethel, O. Shevchenko, L. Wu, J. R. Turner, and J. C. Alverdy (2006) Identification of multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates that are highly disruptive to the intestinal epithelial barrier. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 5: 1-14.
10. Ki V. and C. Rotstein (2008) Bacterial skin and soft tissue infections in adults: a review of their epidemiology, pathogenesis, diagnosis, treatment and site of care. *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.* 19:1 73-84.
11. Song, J. H., J. W. Yang, J. H. Joung, S. J. Kang, and N. Y. Lee (2000) Unique alterations in penicillin-binding protein 2B of multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae* from Korea. *Kor. J. Infect Di.* 32: 1-8.
12. Lee, K., C. H. Lim, J. H. Cho, W. G. Lee, Y. Uh, H. J. Kim, D. Yong, Y. Chong, and the KONSAR group (2006) High prevalence of ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* and increase of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. in Korea: a KONSAR pro-gram in 2004. *Yonsei Med. J.* 47: 634-645.
13. Lee, K., M. A. Lee, C. H. Lee, J. Lee, K. H. Roh, S. Kim, J. J. Kim, E. Koh, D. Yong, Y. Chong, and KONSAR group (2010) Increase of Ceftazidime- and Fluoroquinolone-Resistant *Klebsiella pneumoniae* and Imipenem-Resistant *Acinetobacter* spp. in Korea: Analysis of KONSAR Study Data from 2005 and 2007. *Yonsei Med. J.* 51: 901-911.
14. Oh, M. D., S. M. Kim, H. S. Shin, G. Y. Choi (1996) Antibacterial activity of traditional medicinal herb of Korea. *J. Kor. Soc. Chemotherapy* 14: 197-204.
15. Lee, J. W., Y. j. Ji, M. H. Yu, H. G. Im, M. H. Hwangbo, and I. S. Lee (2005) Antimicrobial effect of extract of *Glycyrrhiza uralensis* on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 37: 456-464.
16. Kim, N. Y., M. K. Jang, M. J. Jeon, D. G. Lee, H. J. Jang, S. W. Lee, M. Kim, S. G. Kim, and S. H. Lee (2010) Verification of antimicrobial activities of various pine needle extracts against antibiotic resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *J. Life science* 20: 589-596.
17. Choi, J. H., M. H. Yu, E. Y. Hwang, and I. S. Lee (2009) Effect of *Rosmarinus officinalis* L. fractions on antimicrobial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and resistant genes regulation. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 38: 541-547.
18. Marklund, S. and G. Marklund (1974) Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* 47: 469-474.
19. Park, S. J., D. H. Kim, N. S. Paek, and S. S. Kim (2006) Preparation and quality characteristics of the fermentation product of ginseng by lactic acid bacteria (FGL). *J. Ginseng Res.* 30: 88-94.
20. Choi, M. A., M. L. Kim, and C. S. Park (2008) The antibacterial and antioxidative activities of Samultang ingredient extracts. *Kor. J. Food Cookery Sci.* 24: 52-58.
21. Kim, S. J., J. Y. Shin, Y. M. Park, K. M. Chung, J. H. Lee, and D. H. Kweon (2006) Investigation of antimicrobial activity and stability of ethanol extracts of Licorice root (*Glycyrrhiza glabra*). *Kor. J. Food Sci. Technol.* 38: 241-248.
22. Farag, R. S., Z. Y. Daw, F. M. Hewedi, and G. S. A. El-Baroty (1989) Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *J. Food Prot.* 52: 665-667.
23. Lemos, T. L. G., F. J. A. Matos, J. W. Alencar, A. A. Craveiro, A. M. Clark, and J. D. McChesney (1990) Antimicrobial activity of essential oils of Brazilian plants. *Phytother. Res.* 4: 82-84.
24. Hwang, J. S., H. J. Chun, and Y. S. Han (2000) Isolation and identification of antimicrobial compound from Jakyak (*Paeonia japonica* var. *pilosa* NAKAI). *Kor. J. Soc. Food Sci.* 16: 445-452.
25. Kitani, K., C. Minami, T. Amamoto, S. Kanai, G. O. Ivy, and M. C. Carrillo (2002) Pharmacological interventions in aging and age-associated disorders potentials of propargylamines for human use. *Ann. NY Acad. Sci.* 959: 295-307.
26. Cha, J. Y., H. J. Yang, J. J. Jeong, W. S. Seo, J. S. Park, M. Ok, and Y. S. Cho (2010) Tyrosinase inhibition activity and antioxidant capacity by fermented products of some medicinal plants. *J. Life Sci.* 20: 940-947.
27. Jeon, J. M., S. K. Choi, Y. J. Kim, S. J. Jang, J. W. Cheon, and H. S. Lee (2011) Antioxidant and antiaging effect of ginseng berry extract fermented by lactic acid bacteria. *J. Soc. Cosmet. Sci. Kor.* 37: 75-81.
28. Ha, J. H., M. H. Jeong, Y. C. Seo, C. W. Young, J. S. Kim, H. H. Kim, J. H. Ahn, and H. Y. Lee (2010) Enhancement of antioxidant activities of bark of *Berberis Koreana* Palibin by lactic acid fermentation. *Kor. Med. Crop. Sci.* 18: 421-428.