J Korean Soc Food Sci Nutr
43(7), 980~988(2014)

한국식품영양과학회지
http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2014.43.7.980

승마갈근탕과 발효 승마갈근탕에 의한 항산화, 항미생물 및 항세포독성 효과

인재평[1] · 신정미[2] · 허선진[1] · 이시경[1]
[1]건국대학교 생명자원식품공학과
[2]원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과

Antioxidative, Antimicrobial and Anticytotoxic Activities of Seungmagalgeuntang and Fermented Seungmagalgeuntang

Jae Pyung In[1], Jung Mi Shin[2], Sun Jin Hur[1], and Si Kyung Lee[1]
[1]Dept. of Bioresources and Food Science, Konkuk University
[2]Dept. of Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University

ABSTRACT Seungmagalgeuntang (SG) is broadly used in traditional Oriental medicine especially in Korea, China, and Japan, for its many pharmacological effects. This study was carried out to investigate the antioxidative, antimicrobial, and anticytotoxic activities of SG and fermented seungmagalgeuntang (FSG). DPPH radical scavenging activities of SG and FSG were 70% and 74%, respectively, which increased slightly by fermentation. Nitrite scavenging activities were strongly altered at pH 1.2, (36.4% in SG and 38.3% in FSG) by addition of 200 μg/g. Superoxide dismutase-like activities were from 21.5% to 23.3% at a concentration of 0.4 mg/mL, and the highest value were observed in FSG. Total flavonoid contents of SG and FSG were 47.1 and 52.1 μg/L, respectively which shows an increase upon fermentation. In the antimicrobial activity test, MIC_{50} values of SG and FSG were 800 μg/mL for *Candida albicans* and 3,200 and 1,600 μg/mL for *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*, respectively. Antibacterial effects were higher in FSG compared to SG. Anticytotoxic cadmium toxicities ranged from 63.5% to 76.1% at 10 μg/mL of SG and FSG, and the highest value was observed in FSG. In the sensory evaluation, color, flavor, and overall preference values were higher in FSG.

Key words: seungmagalgeuntang, fermented seungmagalgeuntang, antioxidative, antimicrobial, anticytotoxic activity

서 론

현대에 이르러서 노화 및 다양한 질병에서 free radical과의 관련성이 대두되고 있다(1). Free radical은 생체막에 존재하는 불포화 지방산을 산화시켜 생체막의 유동성을 저하시키고 효소와 receptor의 활성을 손상시키며 막 단백질에 상해를 입혀 결국에는 세포의 불활성화를 일으키는 작용을 통하여 노화 및 각종 질병 발생에 기여하는 것으로 알려져 있다(2). 따라서 이러한 free radical의 발생을 억제하고 이들에 의한 산화 작용으로부터 생체를 보호하고 노화를 예방할 수 있는 항산화제의 개발이 매우 중요하다. 현재까지 한약재로 검증되어 사용 중인 생약 추출물을 항산화제 물질로 활용한 경우가 대부분을 차지하고 있다(3). 천연물에서 얻을 수 있는 항산화성 물질들은 대부분 flavonoid 계통과 phenol계 화합물로 밝혀져 있다(4). 합성 항산화제들 중에서 BHT와 BHA 등은 가격 대비 우수한 항산화 효과를 갖고 있지만, 과잉 섭취 시 다른 질병을 유발하는 등 안전성 상의 문제점들이 일부 보고된 바 있어(5), 현재는 사용량을 규제하고 있는 실정이다. 이러한 차원에서 볼 때 앞으로 천연물 소재를 이용한 항산화 효과 검증을 통한 새로운 물질 개발 분야의 지속적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

갈근에는 glucoside 계열의 daidzin, daidzein, puerarin 등 다량의 isoflavone 류 및 flavone 류와 sophoradiol, soyasapogenol A·B와 allantoin 등이 함유되어 있다(6). 또한 갈근의 약리 작용에 대한 연구도 활발히 진행되고 있으며 갈근은 심혈관계에 대한 작용으로 혈관 평활근의 이완에 의한 혈압 저하 작용, 혈소판 응집 억제 작용, 길항 작용 및 항부정맥 작용 등과 알코올 흡수억제 작용(7), 호르몬 및 대사기능에 대한 작용(8), 항암작용(9), 소화불량, 두통, 빈혈, 이질, 복통, 술독, 감기, 구토와 부인들의 하혈에 쓰이고 민간에서는 위장약으로 갈근을 이용한다(10). 감초(*Glycyrrhiza uralensis*)는 콩과에 속하는 다년생 본초로써 단맛 성분인 glycyrrhizin이 6~14% 함유되어 있어 맛이 달고 독이 없으며 따뜻한 기운을 가지고 있어 한약의 구성 재료로 많이 쓰이며 기관지염이나 결핵 치료에 효능이 있다고 알려져 있고, 해독 작용과 기침을 멈추게 하는 효능, 비위를 튼튼하게

Received 14 February 2014; Accepted 17 March 2014
Corresponding author: Si Kyung Lee, Dept. of Bioresources and Food Science, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea
E-mail: lesikyung@konkuk.ac.kr, Phone: +82-2-450-3759

하는 효능이 있는 것으로 알려져 있다(11). 감초의 주성분은 사포닌 계통의 glycyrrhizin이며 liquiritigenin, liquiritin 등의 flavonoid도 미량 존재한다. Glycyrrhizin은 항알레르기, 만성 간염 및 AIDS를 포함한 바이러스성 질환에 뛰어난 효과가 있는 것으로 증명되면서 의약품의 원료로 이용되고 있다(12). 작약(*Paeonia albiflora*)은 미나리아재비화인 작약의 뿌리를 말린 것, 또는 찐 것을 말린 것으로 겉껍질을 제거한 것을 백작약, 겉껍질을 제거하고 뜨거운 물에 데쳐서 말린 것을 적작약이라고 한다. 뿌리에는 배당체인 peaonuflarin이 함유되어 있고 미량 성분으로 benzoyl paeonicflorin, oxypaeoniflorin 등도 함유되어 높은 항균 효과를 가지고 있는 것으로 알려져 있다(13). 승마(*Cimicifuga heracleifolia* Komarov, 升摩)는 명의별록(名醫別錄)의 상품에 수재되어 있으며, 열해독(熱解毒), 승거양기약(升擧陽氣藥)으로 발진성열성 질환, 발열, 두통, 치질, 화농성 질환 등의 치료(14,15) 및 승마갈근탕(升摩葛根湯), 을우탕(乙宇湯) 등(16)의 처방에 배합되어 사용되는 중요한 약물 중의 하나이다. 따라서 본 연구에서는 콩과에 속한 다년생 칡의 뿌리를 건조한 갈근(*Puerairae radix*, 葛根), 백작약(白芍藥), 승마(升麻), 감초(甘草), 생강 등을 이용하여 승마갈근탕(升麻葛根湯)액을 EM(effective mcroorganisms) 복합균주로 발효시킨 발효 승마갈근탕액을 제조하여 항산화 효과와 세포독성경감 효과 및 병원성미생물에 대한 항균작용을 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

실험에 사용된 승마갈근탕액의 5가지 재료들(갈근, 작약, 감초, 승마, 생강)을 각각 서울(경동시장) 한약재 시장에서 구입 및 제공받아 실험에 사용하였다. 본 연구에 사용된 승마갈근탕 각각의 재료들은 세절 및 blender(Hanil Electric Co., Ltd., Seoul, Korea)로 분쇄·제조하여 각각의 시료로 사용하였다.

승마 갈근탕액 제조

본 실험에 사용한 승마갈근탕액은 화제국방(和劑局方)에 기록된 내용에 준하였으며 시료에 사용된 약재는 경동시장에서 구입하여 정제수로 세척하여 사용하였다. 승마갈근탕액 제조를 위한 재료는 갈근 24 g, 작약, 감초, 승마, 생강을 각각 12 g의 조성 비율로 하여, 증류수를 원료량 3배로 가한 후 85°C의 온도를 유지하면서 4시간 동안 열수 추출한 시료에서 추출 잔사를 Whatman No. 2(Whatman Japan K.K., Tokyo, Japan)로 제거한 추출원액을 증류수로 100 mL 부피로 맞추어 실험에서 사용한 승마갈근탕액으로 하였으며, 또한 제조된 승마갈근탕액을 dry oven(Vision Scientific Co., Deajeon, Korea)을 사용해서 85°C에서 건조하여 수분 20% 시료로 제조하였다.

발효 승마갈근탕액 제조

본 실험에 사용한 발효 승마갈근탕액은 화제국방에 기록된 내용에 준하였으며 시료에 사용된 약재는 경동시장에서 구입하여 정제수로 세척하여 사용하였다. 발효 승마갈근탕액 제조를 위한 재료는 갈근 24 g, 작약, 감초, 승마, 생강을 각각 12 g의 조성 비율로 하여, 증류수를 원료량의 1.5배로 가한 후 effective mcroorganisms인 유용미생물의 균주를 원료 대비 10%로 접종한 후 진탕 항온배양기(300 rpm)에서 32°C의 온도를 유지하면서 3일간 발효시켰다. 발효가 종료된 발효 승마갈근탕 원액은 80°C에서 5분간 가열하여 발효 미생물 및 효소를 불활성화 시킨 후 Whatman No. 2 여과지를 사용하여 발효 추출 잔사를 제거한 다음 전체 발효 추출원액을 100 mL 부피로 맞추어 실험에서 사용한 발효 승마갈근탕액으로 하였다. 이때 사용한 EM 복합 균주는 이엠생명과학연구원(Dajeon, Korea)에서 판매되는 것을 구입하여 사용하였다. 사용된 EM 복합균주는 *Lactobacillus acidophilus* MG501, *Lactobacillus lactis* MG530, *Paecilomyces japonicus* MG631, *Bacillus natto* MG410, *Rhizopus oryzae* MG680, *Bacillus subtilis* MG401, *Bacillus polyfermenticus* MG440, *Cordyceps militaris* MG611, *Lactobacillus sporogenes* MG520, *Leuconostoc mesenteroides* MG865, *Leuconostoc citreum* MG210, *Saccharomyces cerevisiae* MG111, *Lactobacillus brevis* MG19 등이 혼합되어진 시판용 균주를 사용하였다.

또한 제조된 발효 승마갈근탕액을 dry oven(Vision scientific Co.)을 사용해서 85°C에서 건조하여 수분 20% 시료로 제조하였다.

DPPH 라디칼 소거능

전자공여능은 Chen 등(17)의 방법에 따라 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능으로 측정하였다. 각각의 시료 2 mL에 0.2 mM의 DPPH 1 mL를 넣고 교반한 뒤 30분간 정치 반응시킨 후 517 nm에서 각각의 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 시료 첨가 시험구와 무첨가구 시험구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

DPPH 라디칼 소거능(%)=

$$\left(1-\frac{\text{시료첨가군 흡광도}}{\text{무첨가군 흡광도}}\right)\times 100$$

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정

Marklund와 Marklund의 방법(18)에 따라 각 농도 별 시료(0.2 mL)에 Tris-HCl buffer(50 mM tris[hydroxymethyl]-amino-methane containing 10 mM EDTA, pH 8.5, 3 mL)와 7.2 mM pyrogallol(0.2 mL)을 가하고 25°C에서 10분간 방치하였으며 1 N HCl(1 mL)로 반응을 정지시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 다음 식에 의해 나타내었다.

$$\text{SOD 유사활성}(\%)=\left(1-\frac{\text{시료첨가구 흡광도}}{\text{무첨가구 흡광도}}\right)\times 100$$

아질산염 소거능 측정

아질산염 소거능은 Kato 등(19)의 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. 1 mM의 $NaNO_2$ 용액 1 mL에 시료추출물 1 mL를 첨가하고, 여기에 0.1 N HCl(pH 1.2)과 0.1 M citrate buffer(pH 1.2, 3.0, 6.0)를 사용하여 반응 용액의 부피를 10 mL로 하였다. 이를 37°C에서 1시간 동안 반응시켜 얻은 반응액을 1 mL씩 취하고 여기에 2% acetic acid 5 mL와 Griess 시약 0.5 mL를 가하여 혼합시킨 후 실온에서 15분간 방치한 다음 분광 광도계(Agilent 8453, Agilent Technology Inc., Santa Clara, CA, USA)를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 아래와 같이 아질산염 소거능을 구하였다. 대조구는 Griess 시약 대신 증류수 0.5 mL를 가하여 상기와 동일한 방법으로 측정하여 추출물을 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우의 아질산염 소거율을 백분율(%)로 나타냈으며, BHT 처리구와 비교하였다.

$$\text{아질산염 소거능}(\%)=\left(1-\frac{A-C}{B}\right)\times 100$$

A: $NaNO_2$ 용액에 시료와 Griess를 첨가한 흡광도
B: $NaNO_2$ 용액에 Griess를 첨가한 흡광도
C: $NaNO_2$ 용액에 시료와 증류수를 첨가한 흡광도

총 플라보노이드 함량 측정

시료 중 총 플라보노이드 함량은 Zhishen 등(20)의 분광분석법을 이용하여 측정하였다. 증류수 4 mL와 시료 1 mL를 시험관에 가하고 5분이 경과한 다음 5% $NaNO_2$ 0.3 mL와 10% $AlCl_3$ 0.3 mL를 차례로 가하였다. 대조군은 시료 대신 증류수 1 mL를 첨가하였다. 6분이 경과한 후에 1 M NaOH 2 mL를 가한 후 증류수를 첨가하여 10 mL로 맞춘 다음 510 nm 파장에서 흡광도를 측정하였고, L당 catechin equivalent(CE) mg으로 환산하여 총 플라보노이드 함량을 계산하였다.

균주 및 배양 방법

항균 측정에 사용한 균주는 *Streptococcus mutans* JC-2, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213와 *Candida albicans* KCTC 1940를 사용하였다. 세균 배양용 배지로는 *S. mutans*, *S. epidermidis*와 *S. aureus*는 Brain Heart Infusion(BHI, BD Korea, Seoul, Korea)를 사용하였으며, *C. albicans*는 Sabouraud dextrose(증류수 1 L에 Bacto peptone 10 g, Bacto dextrose 40 g, BD Korea, Seoul, Korea)를 사용하였다.

항균 효과 측정

항균 효과를 조사하기 위한 최소억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC)를 측정하는 방법으로는 액체 배지 희석법을 이용하였으며, 96-microwell plate(Nunclon, Nalge Nunc International, Roskilde, Denmark)에 처리 농도를 최고 3,200 μg/mL에서 최저 농도 100 μg/mL까지 2배씩 연속적으로 희석하였다. 각 균주는 단일 콜로니 형태로 액체 배지에 접종하였고, 37°C 항온배양기에서 18시간 동안 배양한 균주(10^5 CFU/mL)를 접종하여 37°C 항온배양기에서 24시간 배양한 후 ELISA(Spectra Max 250, Molecular Devices Korea, Seoul, Korea)의 흡수파장 630 nm에서 흡광도를 측정하여 배지의 탁도를 확인하였고, 순수 배양액의 흡광도 값과 같은 결과를 얻은 것을 MIC로 결정하여 MIC의 수치가 낮은 시료를 항균 효과가 높은 것으로 판정하였다.

세포 배양

승마갈근탕액의 세포독성 억제 효과를 측정하기 위해서, 한국세포주은행(Seoul, Korea)에서 분양받은 NIH3T3 섬유 세포주는 RPMI 1640 배지에 10% heat-inactivated FBS, penicillin 100 units/mL와 streptomycin 100 μg/mL를 첨가하여 사용하였으며, 세포배양은 온도 37°C, 습도 95%, 5% CO_2배양기(Seoulinbioscience Co., Sungnam City, Korea)를 사용하였다. 배양한 flask의 세포주를 0.25 % trypsin으로 처리하여 Turk형 혈구 계산기를 이용하였다.

MTT 정량 분석법

Mosmann의 방법(21)에 의하여, NIH3T3 섬유모 세포를 각 배양용기에 2×10^4 cells/mL의 세포수를 넣고 24시간 배양 후 카드뮴 IC_{50} 농도의 세포독성에 대한 승마갈근탕액의 세포독성 억제 효과를 측정하기 위하여 농도별(0.01, 0.1, 1, 10 μg/mL)로 첨가한 후 48시간 동안 배양한 다음 분석 당일 조제한 MTT 50 μg/mL가 포함된 세포배양액을 배양 용기당 1 mL씩 넣고 3시간 배양 후 배양액을 버리고 DMSO를 2 mL/well씩 넣어 5분간 실온 방치 후 MTT formazan을 용해한 후 흡광도는 분광 광도계 ELISA Reader (Multiskan Ex, Komabiotech Co., Seoul, Korea)로 MTT의 흡광도(540 nm)를 측정하여 대조군과 비교 조사하였다.

IC_{50} 결정

IC_{50} 결정은 배양 중인 NIH3T3 섬유모 세포를 96 well plate에 2×10 cells/well씩 넣고 24시간 배양한 다음 0.01, 0.1, 1, 10 μg/mL 농도의 승마갈근탕액을 첨가하여 4시간 배양한 후 MTT 정량을 하여 이들 각각에 대한 50% 억제 농도인 IC_{50}을 회귀 직선식에 의해서 계산하였다.

폴리페놀성 물질 변화

승마갈근탕액 및 발효 탕액을 Whatman syringe filter(Spartan 13 mm Syringe Filter, regenerated cellulose, 0.45 μm, Whatman Japan K.K.)를 사용하여 전처리

후 HPLC(Ultimate 3000, Dionex Korea, Seoul, Korea)를 이용하여 분석하였다. 이때 flow는 0.8 mL/min, gradient는 buffer A(0.3% TFA), buffer B(acetonitrile)를 사용하였다. 각각의 buffer를 시간대 별로 유속량을 조절하였으며, 분석에 사용한 칼럼은 Agilent SB C-18 column(4.6×150, 5 μm)이었으며 측정 파장은 280 nm(190~700 nm DAD scanning)이었다.

관능검사

승마갈근탕액과 발효 승마갈근탕액에 대한 소비자의 관능검사는 25~50세로 구성된 20명의 패널을 통하여 각각의 탕액 상태로 실시하였다. 평가항목은 색, 냄새, 전체적인 기호도를 평가하였으며 5점 척도법을 이용하였다(1점: 매우 싫다, 3점: 보통이다, 5점: 매우 좋다).

통계처리

통계처리는 각각의 시료에 대해 Student's t-test를 사용하여 mean±SD로 계산하였으며 *P*-value를 구하여 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

DPPH 라디칼 소거능

갈근, 백작약, 승마, 감초, 생강 등 5가지 재료를 이용하여 제조한 승마갈근탕액과 발효 승마갈근탕액에 대한 free radical 소거능을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 승마갈근탕액 및 발효 승마갈근탕액에 대한 DPPH 라디칼 소거능은 처리 농도량 200 μg/mL에서 각각 70.2 및 74.3%로 발효 승마갈근탕액에서 다소 높은 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었고, 비교구인 Vit. C의 DPPH 라디칼 소거능은 91.9%로 나타났다. 이러한 결과는 발효 승마갈근탕액 제조에 사용된 원료들이 발효 과정에서 free radical 소거능에 효과가 있는 유효성분들에 대한 추출 및 전환이 승마갈근탕액에 비해서 높은 것에 기인하는 것으로 생각된다. Cha 등(15)은 양성 비교군으로 사용한 BHT 0.05% 처리농도에서 92%의 DPPH 라디칼 소거능을 보였으며, 0.05% 농도의 참당귀 뿌리 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 19%로 낮았으나, 참당귀 뿌리를 *A. oryzae*, *A. kwachii* 및 *M. purpureus* 균주로 발효시킨 발효 당귀에서는 DPPH 라디칼 소거능이 각각 46, 49 및 56%로 모두 발효에 의해서 라디칼 소거능이 높아졌다고 하였다. Kim 등(16)은 식물체 추출물에서 폴리페놀 화합물 및 플라보노이드 함량이 높아지면서 항산화 활성이 높은 상관성을 보였다고 하였고, Lee 등(22)도 발효시킨 흑마늘을 첨가한 발효주가 흑마늘을 첨가하지 않은 발효주보다 DPPH 라디칼 소거능이 증가하였으며, 흑마늘 첨가량이 증가할수록 DPPH 라디칼 소거능이 향상되었다고 하였다. 또한 Jeon 등(23)은 홍국균을 이용한 마 발효 추출물에서의 DPPH 라디칼 소거능이 대조구에 비해 높은 활성을 보였다고 하였으며, Park 등(24)은 홍삼 및 홍국발효 홍삼 추출물을 비교한 결과 홍국발효 홍삼 추출물의 DPPH radical 소거능이 다소 높았다고 하여 본 실험의 결과와 일치하였다. Park과 Kim(25)은 홍국쌀(RYRG) 처리 시 배양 시간에 따라 DPPH 라디칼 소거능이 증가하였으나 홍국 균주에 따라 DPPH 라디칼 소거능의 차이가 있었다고 하였으며, In(26)은 발효 갈근황련황금탕의 DPPH 라디칼 소거능이 발효시키지 않은 갈근황련황금탕에 비해 높았다고 하였다.

아질산염 소거작용

승마갈근탕액과 발효 승마갈근탕액의 pH 조건에 따른 아질산염 소거 작용을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 0.2 mg/mL 농도의 승마갈근탕액과 발효 승마갈근탕액의 아질산염 소거능은 pH 1.2 조건에서 각각 36.43 및 38.32%로 발효 승마갈근탕액이 승마갈근탕액보다 다소 높은 아질산염 소거능을 보였으나, 비교구인 BHT(71.31%)보다는 낮은 아질산염 소거능을 나타내었다. pH 3.0 조건에서도 25.34 및 27.23%로 발효 승마갈근탕액에서 다소 높은 아질산염

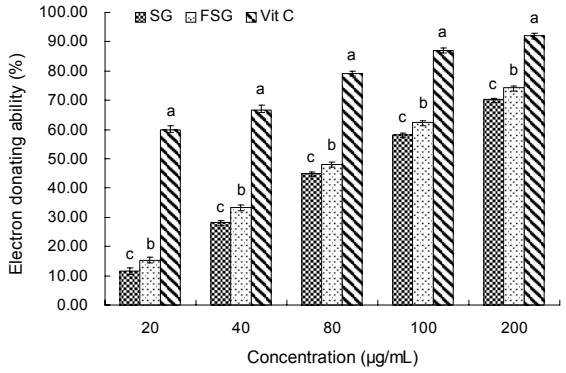

Fig. 1. Electron donating ability of seungmagalgeuntang and fermented seungmagalgeuntang. SG, seungmagalgenuntang; FSG, fermented seungmagalgeuntang; Vit. C, vitamin C. Each bar is the mean±SD. Means with different letters (a-c) in the same concentration are significantly different at *P*<0.05.

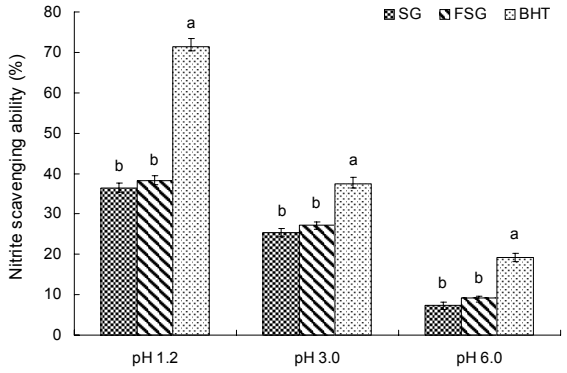

Fig. 2. Nitrite scavenging ability of seungmagalgeuntang and fermented seungmagalgeuntang. SG, seungmagalgeuntang; FSG, fermented seungmagalgeuntang, BHT: butylated hydroxyloluene. Each bar is the mean±SD. Means with different letters (a,b) in the same pH are significantly different at *P*<0.05.

소거능을 나타내었다. 또한 pH 6.0 조건에서는 전체적으로 7.41%와 9.12%로 가장 낮은 아질산염 소거능을 나타냈다. 이상의 실험에서 승마갈근탕액의 아질산염 소거능은 pH가 낮을수록(pH 1.2> pH 3.0> pH 6.0) 아질산염 소거능이 우수하다는 Bae 등(27)의 연구결과와 아질산염 소거능이 인체의 위액 pH 조건과 비슷한 pH 1.2에서 가장 높았다고 보고한 Lim 등(28)의 결과와도 일치하였다. Jung 등(29)은 머핀 제조 시 상황버섯 침지발아현미 첨가구에서 아질산염 소거능에 미치는 영향을 pH 별, 농도 별로 분석한 결과 상황버섯 침지발아현미 첨가구가 대조구 머핀보다 높은 경향을 보였으나 시료 간의 유의적인 차이는 크지 않았다고 하였다.

SOD 유사활성

승마갈근탕액과 발효 승마갈근탕액에 대한 superoxide (O_2^-) 산화 억제작용 활성을 확인하기 위해서 superoxide와 반응하여 갈변 물질을 나타내는 pyrogallol 자동산화 반응을 측정하여 SOD 유사활성을 조사한 결과는 Fig. 3과 같다. 승마갈근탕액과 발효 승마갈근탕액의 SOD 유사활성은 첨가농도 0.2 mg/mL에서는 유의적 차이가 없었으나, 0.4 mg/mL 농도에서는 각각 21.45±0.36%, 23.34±0.42%로 유의적으로(P<0.05) 차이를 보였다. In 등(26)은 발효 갈근황련황금탕액의 SOD 유사활성이 갈근황련황금탕액보다 높았다고 하였으며, Jung 등(29)도 상황버섯 침지발아현미를 첨가한 머핀과 대조구 머핀에 대한 SOD 유사활성을 비교 조사한 결과 상황버섯 침지발아현미 첨가 머핀에서 SOD 유사활성이 높게 나타났다고 보고하였다. Lee 등(30)은 녹차를 홍국으로 발효 시 녹차 추출물에서의 SOD 유사활성이 높았다고 하였으나 발효 기간이 증가함에 따라 SOD 유사활성이 감소하였다고 하였는데 이는 발효 과정에서 카테킨 및 생리활성물질이 산화과정에서 손상을 받는 것으로 보고하였다. Hwang 등(31)은 미생물 발효 영지버섯 추출물과 영지버섯 추출물 간의 SOD 유사활성을 비교한 결과 발효 영지버섯 추출물에서의 SOD 유사활성이 높았다고 하여, 본 실험의 결과와 같이 발효 처리 시 SOD 유사활성이 다소 증가하는 것으로 나타났다.

총 플라보노이드 함량

승마갈근탕액(SG)과 발효 승마갈근탕액(FSG)에 함유된 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과는 Fig. 4와 같다. 총 플라보노이드 함량은 각각 47.14±0.38 mg/g(SG), 52.11±0.74 mg/g(FSG)으로, 발효 승마갈근탕액에서 총 플라보노이드 함량이 유의적으로 높게 나타났다(P<0.05). Shin과 Yoo(32)는 금은화 추출물과 금은화 추출물 발효물에서의 총 플라보노이드 함량을 비교한 결과 금은화 추출물에서 20.93±1.8 mg/g이었으나, 추출물 발효물의 총 플라보노이드 함량은 38.17±3.18 mg/g으로 발효 전에 비해 82.3% 증가하였다고 보고하였다. 그러나 Han과 Lee(33)는 소청룡탕과 유산균으로 발효시킨 소청룡탕의 약리 효능 비교 연구에서 발효 전후의 총 플라보노이드 함량의 변화가 없었다고 하여 복합 한약재 추출물에서의 미생물 발효에 의한 생리활성물질의 변화가 없다고 하였다. Park과 Kim(25)은 red yeast rice 추출물의 발효 기간이 증가함에 따라 이에 함유된 총 페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량이 증가하였다고 보고하였는데, 이는 발효 과정에서 기질의 내부 성분이 용출이 용이한 페놀화합물로 전환된 것으로 추정된다고 하였다. 본 실험의 결과도 승마갈근탕의 주요 원료인 갈근, 승마, 작약, 감초, 생강에 포함되어 있는 이소플라본과 플라보노이드 성분들이 발효 과정에서 각각의 원료들이 분해되어 주요 성분들의 추출이 용이하게 변화되어 결과적으로 생리활성 물질 함량 및 항산화능이 증가된 것으로 생각된다.

승마갈근탕에 대한 항균 효과

승마갈근탕액과 발효 승마갈근탕액의 항균 효과를 조사하기 위하여 *Streptococcus mutans* JC-2, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213와 *Candida albicans* KCTC 1940 균주를 이

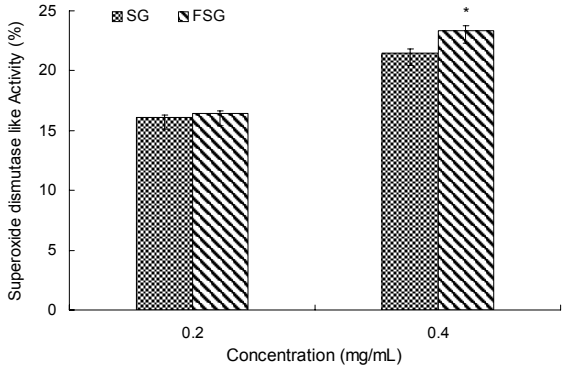

Fig. 3. Superoxide dismutase like activity of seungmagalgeuntang and fermented seungmagalgeuntang. SG, seungmagalgeuntang; FSG, fermented seungmagalgeuntang. Each bar is the mean±SD. *Significantly different from SG at P<0.05.

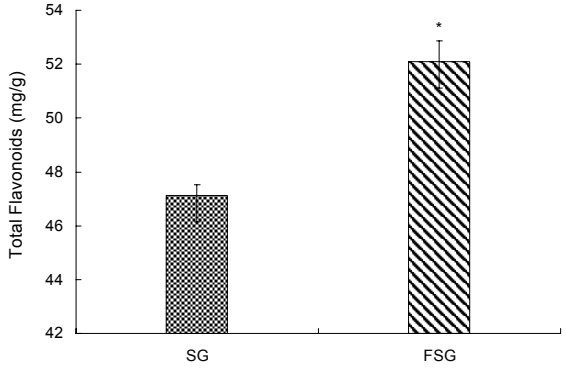

Fig. 4. Total flavonoid contents of the seungmagalgeuntang and fermented seungmagalgeuntang. SG, seungmagalgeuntang; FSG, fermented seungmagalgeuntang. Each bar is the mean±SD. *Significantly different from SG at P<0.05.

Table 1. Minimal inhibitory concentrations (MIC) of seungmagalgeuntang and fermented seungmagalgeuntang

Samples	MIC_{50} (μg/mL)			
	S. mutans	*S. epidermidis*	*S. aureus*	*C. albicans*
SG[1)]	1,600	3,200	3,200	800
FSG	1,600	1,600	1,600	800

[1)]SG: seungmagalgeuntang, FSG: fermented seungmagalgeuntang.

용하여 최소저해농도(MIC) 수준에서의 항균 효과를 확인한 결과는 Table 1과 같다. 표에서 보는 바와 같이 *C. albicans*에 대한 승마갈근탕액과 발효 승마갈근탕액의 항균 효과는 MIC_{50}이 800 μg/mL였으나, *S. mutans*, *S. epidermidis*, *S. aureus*에 대한 MIC_{50}은 1,600~3,200 μg/mL로 진균인 *C. albicans*에 대한 MIC_{50}이 낮게 나타나 항진균 효과가 세균에 대한 항균 효과보다 높았다. 이러한 결과는 발효 승마갈근탕액을 사용하는 경우 칸디다증을 완화시키는데 효과가 있을 것으로 기대된다. 또한 승마갈근탕의 *S. epidermidis*와 *S. aureus*에 대한 항균 효과는 최소억제농도(MIC_{50})가 3,200 μg/mL였으나 발효 승마갈근탕에 의한 두 균주에 대한 최소억제농도는 1,600 μg/mL로 발효 승마갈근탕에 의한 항균 효과가 높게 나타나, 한방에서 승마갈근탕의 주요 효과로 지목하는 피부병에 처방한다는 결과와도 일치하여 발효 승마갈근탕액에서의 피부질환 완화 효과가 기대된다. 이상의 실험에서 발효 승마갈근탕에 의한 세균에 대한 항균 효과가 승마갈근탕에 의한 항균 효과보다 높았다. 이러한 결과는 발효 처리 시 승마갈근탕에서 항균 효과를 갖는 물질이 발효과정에서 원료에서의 용출량이 증가되어 승마갈근탕보다 높은 항균 활성이 나타난 것으로 생각된다. Kim 등(34)은 포도 가공 부산물의 발효 전후의 항균 효과를 비교한 결과 대조구에서는 항균 활성이 보이지 않았으나 *L. casei*로 발효 처리한 포도박 발효물에서는 5 mg/disc의 농도에서 *B. cereus*, *B. subtillis*, *S. aureus*, *E. coli*, *E. cloacae*, *S. enterica*, *P. aeruginosa* 세균에 대한 항균 활성을 나타내었다고 하였다. Brown과 Wfight(35)는 중국의 한약재의 항균 효과에 대한 연구가 최근 진행되고 있으며, 위장 질환의 치료에 오랫동안 사용되어 왔던 essential oil과 같은 많은 향신료와 식물 약제 성분들이 antihelicobacter 효과가 있다고 하였다. Cho 등(36)도 *H. pylori* 액체배지에 균주를 분주하고 제균된 각 herb 추출물을 주입한 후 배양하여 균수를 측정한 결과, 검토된 26종의 herb 추출물에서 항균 효과가 확인되었으며 그중 가든 세이지가 63.42%, 예루살렘세이지 44.56%, 크리핑 로즈마리 51.36%, 로즈마리 78.23%, 체리세이지 66.05%, 오레가노 72.19% 및 화이트 페퍼가 47.24%로 높은 *H. pylori* 생육 저해 활성을 보였다고 하였다.

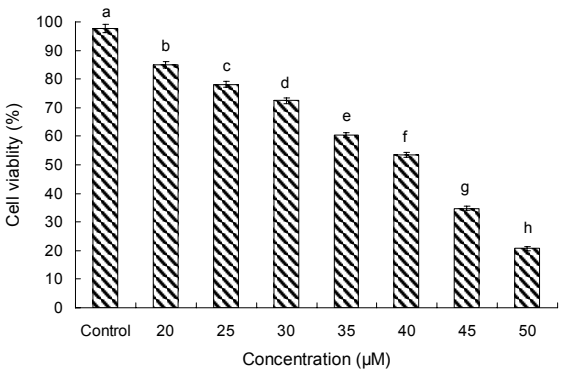

Fig. 5. Determination of cell viability against various cadmium concentrations on NIH3T3 fibroblasts**.** Each bar is the mean±SD. Means with different letters (a-h) above the bars are significantly different at $P<0.05$.

카드뮴 독성에 대한 승마갈근탕액과 발효 승마갈근탕액의 세포 보호 효과

카드뮴 농도에 따른 카드뮴독성에 대한 섬유소세포 50% 생존율을 조사한 결과는 Fig. 5와 같다. 카드뮴의 농도를 NIH3T3 섬유모세포에 농도 별로 적용한 후 세포 생존율을 확인할 수 있는 MTT 정량분석법으로 흡광도를 측정한 결과, 카드뮴의 처리 농도에 따라 NIH3T3 섬유모세포의 세포 생존율이 감소함을 확인하였으며 그림에서와 같이 섬유소세포 생존에 따른 흡광도 값의 감소는 카드뮴 처리 농도에 의존적으로 나타났다. 카드뮴 처리 농도가 증가함에 따라 섬유모세포의 생존율이 감소하였는데 카드뮴 농도가 35~40 μM 사이에서 IC_{50}이 나타남을 확인하였다. NIHT3 섬유모세포에 여러 농도의 카드뮴을 투여하면서, 세포독성을 조사하여 얻은 MTT_{50}량(IC_{50}=40.0 μM)을 바탕으로 본 실험에서 승마갈근탕액과 발효 승마갈근탕액에 대한 섬유모세포 보호 효과를 측정한 결과는 Fig. 6과 같다. 승마갈근탕액과 발효 승마갈근탕액에 다양한 농도별로 카드뮴을 처리한 후 MTT 흡광도를 측정한 값은 승마갈근탕액과 발효 승마갈

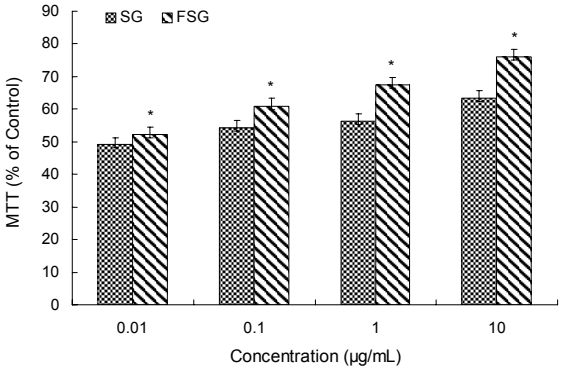

Fig. 6. The MTT absorbance of seungmagalgeuntang and fermented seungmagalgeuntang on NIH3T3 fibroblasts treated with cadmium. SG, seungmagalgeuntang; FSG, fermented seungmagalgeuntang. Each bar is the mean±SD. *Significantly different from SG at $P<0.05$.

근탕액에서의 MTT 흡광도 값은 처리 농도가 감소함에 따라 세포보호 효과가 감소함을 확인하였다. 승마갈근탕액과 발효 승마갈근탕액의 농도를 0.01, 0.1, 1, 10 μg/mL에서 조사한 결과 승마갈근탕액과 발효 승마갈근탕액의 모든 처리 농도 범위에서 통계적으로 유의성($P<0.05$) 있게 카드뮴 독성에 대한 NIH3T3 섬유모세포의 보호 효과를 확인하였으며, 승마갈근탕액을 10.0 μg/mL 농도에서 처리 시 카드뮴 독성에 대한 NIH3T3 섬유모세포 보호 효과는 63.46%이었으며, 발효 승마갈근탕액의 카드뮴 독성에 대한 NIH3T3 섬유모세포의 보호 효과는 76.12%로 높게 나타났다. 이상의 실험에서 발효 승마갈근탕액이 카드뮴 독성에 대한 세포 보호 효과가 승마갈근탕액보다 높았다. 이러한 결과는 승마갈근탕액에 함유된 생리활성물질들이 승마갈근탕액보다 발효 승마갈근탕액에서 좀 더 용출이 용이해졌으며, 또한 카드뮴과의 결합이 가능한 화합물들이 추출되어 이러한 생리활성물질들이 카드뮴 독성으로부터 NIH3T3 섬유모세포 보호 효과를 증가시킨 것으로 생각된다. Lee 등(37)은 카드뮴을 농도별로 섬유모세포 NIH3T3에 처리 시 어성초 추출물 처리 농도에 따라 MTT 측정값은 감소하는 경향을 보였으며, MTT_{50}은 33.04 μM로 보고하였다. 또한 어성초 추출물을 섬유모세포에 처리 시 세포수 및 세포재생 효과가 증가하였다고 하였다. Han 등(38)도 포공령 추출물을 섬유모세포 NIH3T3에 대해서 카드뮴을 농도 별로 처리 시 모든 포공령 처리 농도에서 카드뮴에 대한 섬유모세포 보호 효과를 확인하였으며 10^{-2} mg/mL 농도에서 높은 세포보호 효과가 있다고 하였다.

폴리페놀성 물질 변화

승마갈근탕 및 발효 승마갈근탕에서의 다양한 폴리 페놀성 물질들 중 주요 성분의 함량을 HPLC를 이용하여 분석한 결과는 Table 2와 같다. 승마갈근탕액과 발효 승마갈근탕액에 공통적으로 함유된 isoflavone 성분인 daidzin과 daidzein 성분이 검출되었으며, 발효 승마갈근탕액의 경우 daidzein 성분 함량이 승마갈근탕액에 비해 약 5배 정도 증가하는 경향을 보여 발효 처리 탕액에서의 물질 용출 및 전환율이 증가함을 확인하였다. 승마갈근탕과 발효 승마갈근탕에 함유된 주요 폴리페놀성 물질의 HPLC chromatogram은 Fig. 7과 같다. Walsh와 Failla(39)는 puerarin과 daidzin의 경우 장내 미생물에 의해 발효 과정을 거치는 동안 daidzein으로 전환된 후 β-glucosidase에 의해서 활성 형태인 dihydrodaidzein 및 equol로 다시 전환되어 환원될 수 있다고 하였다. Chien 등(40)은 isoflavone 함량 변화와 배당체의 활성은 두유 발효에 사용되는 유산균의 종류에 따라 다양하게 나타나며 *Streptococcus thermophilus*의 경우 다른 유산균에 비해서 aglycones 형태의 daidzein 함량이 발효가 진행될수록 증가함을 보였으며 이때 β-glucosidase의 활성이 높을수록 함량이 증가한다고 보고하였으며, 이러한 결과는 본 실험에서 daidzein 함량이 발효 승마갈근탕액에서 증가한 결과와도 일치하였다.

관능검사

승마갈근탕액과 발효 승마갈근탕액의 관능검사를 통해 색상, 향기, 전체적인 기호도를 조사한 결과는 Table 3과

Table 2. Comparative analysis of polyphenolic compounds in seungmagalgeuntang and fermented seungmagalgeuntang

Samples	Contents (μg/L)					
	Caffecic acid	Daidzin	Ferulic acid	Daidzein	Berberin	Baicalein
SG[1)]	ND[2)]	1,559	ND	12	ND	ND
FSG	ND	1,643	ND	63	ND	ND

[1)]SG: seungmagalgeuntang, FSG: fermented seungmagalgeuntang.
[2)]ND: not detected.

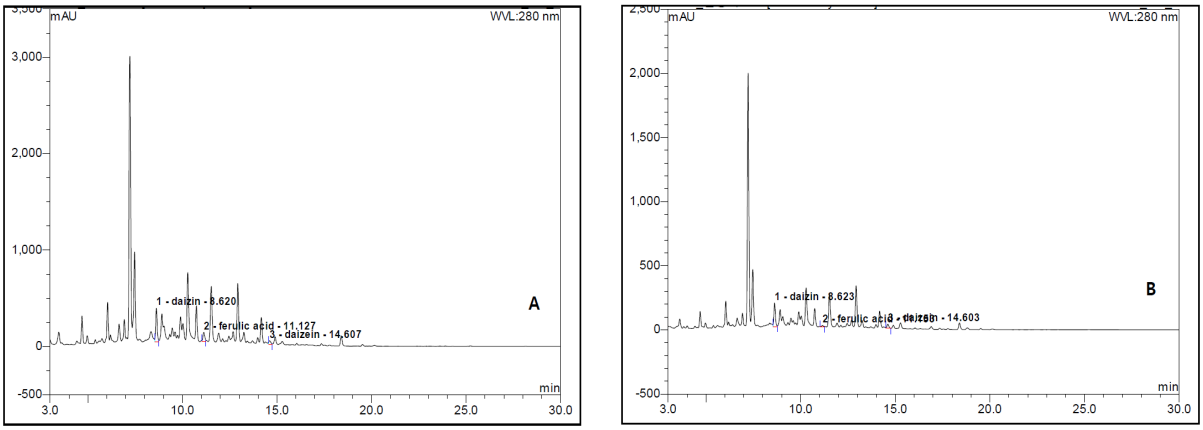

Fig. 7. HPLC chromatogram for the determination of polyphenol in seungmagalgeuntang and fermented seungmagalgeuntang. A: chromatogram of seungmagalgeuntang. B: chromatogram of fermented seungmagalgeuntang.

Table 3. Sensory evaluation of seungmagalgeuntang and fermented seungmagalgeuntang

Samples	Characteristics		
	Color	Flavor	Total acceptability
SG[1)]	2.7±0.5	2.8±0.4	2.7±0.6
FSG	3.4±0.5*	3.3±0.5*	3.3±0.5*

[1)]SG: seungmagalgeuntang, FSG: fermented seungmagalgeuntang.
*Significantly different from SG at $P<0.05$.

같다. 전체적인 기호도는 발효 승마갈근탕액(3.4)이 발효시키지 않은 승마갈근탕액(2.7)에 비해 높았으며 이는 $P<0.05$ 수준에서 유의적 차이가 있었다. 또한 발효 갈근탕액의 색상을 더 선호하였으며, 향기선호도도 발효 승마갈근탕액에서 높았다. 탕액의 색상은 발효 처리 시에 기존의 열수 추출방식에서 나타나는 어두운 갈색 및 특유의 한약냄새가 아닌 밝은 갈색(사진생략)과 한약특유의 냄새가 적게 나타난 결과로 생각된다. 이러한 결과는 승마갈근탕액이 미생물에 의해 발효과정을 거치면서 미생물의 생육과 이들이 생성하는 효소에 의한 유효성분의 변화로 인하여 색상과 향기에 대한 선호도를 향상시킴에 따라 전체적인 관능적 품질 특성이 향상된 것에 기인하는 것으로 생각된다. 탕액의 관능검사에 대한 연구결과가 없어 비교하기는 어려우나 이상의 관능검사 결과 승마갈근탕액보다는 발효 승마갈근탕액을 선호하는 것을 알 수 있었다. 이는 미생물 발효에 의해 향과 색상 및 기호도가 개선되었으며 이로 인해 발효 탕액을 섭취하기에 용이한 것에 기인하는 것으로 생각된다.

요 약

승마갈근탕액(SG)과 발효 승마갈근탕액(FSG)에 의한 항산화, 항균 및 세포독성에 대한 효과를 조사한 결과는 다음과 같다. SG와 FSG의 항산화 효과를 DPPH법을 이용하여 측정한 결과 200 μg/mL에서 70.2%, 74.3%로 FSG가 높았다. SG와 FSG에 의한 아질산염 소거능은 pH 1.2, 3.0, 6.0 조건에서 발효 승마갈근탕액의 아질산염 소거능이 높았으며, pH가 낮을수록 아질산염 소거능은 높았다. SG와 FSG의 SOD 유사활성은 발효 승마갈근탕액에서 증가하였다. SG와 FSG의 총 플라보노이드 함량은 각각 47.14 mg/g, 52.11 mg/g으로 발효 처리 시 총 플라보노이드 함량이 증가하였다. SG와 FSG의 항균 효과를 조사한 결과 효모형 진균인 *C. albicans*에 대한 최소억제농도(MIC_{50})가 800 μg/mL로 낮게 나타나 항진균 효과가 *S. mutans*, *S. epidermidis*와 *S. aureus*(MIC_{50}, 1,600~3,200)에 대한 항균 효과보다 높았다. SG의 *S. epdermidis*와 *S. aureus*에 대한 항균 효과는 MIC_{50}이 3,200 μg/mL였으나, FSG에 의한 MIC_{50}은 1,600 μg/mL였다. SG와 FSG의 카드뮴에 대한 섬유소세포 보호효과는 각각 10.0 μg/mL 처리 농도에서 64.36% 및 76.12%로 FSG의 세포보호 효과가 높게 나타났다. FSG의 폴리페놀성 물질 변화는 발효 처리 시 활성화된 daidzein 함량이 63 μg/L로 SG에 비해 약 5배 증가하였다. 승마갈근탕액을 발효 처리 시에 탕액의 색상이나 향기에 대한 선호도 및 전체적인 기호도가 증가하였다.

REFERENCES

1. Moon YG, Lee KJ, Heo MS. 2007. Characteristics of citrus by-product ferment using *Bacillus subtilis* as starter extracts. *Kor J Microbiol Biotechnol* 35: 142-149.
2. Kim KY, Chung DO, Chung HJ. 1997. Chemical composition and antimicrobial activities of *Houttuynia cordata* Thunb. *Korean J Food Sci Technol* 29: 400-406.
3. Young HT, Choi HJ, Baek SH. 2008. Inhibitory effects of leachianone A from *Sophora flavescens* Ait. against cadmium induced cytotoxicity. *Korean J Oriental Physiol Pathol* 22: 1163-1167.
4. Park SY, Baek JM, Baek SH. 2010. Cytoprotective effect of galgeuntang extract on cadmium induced cytotoxicity. *Yakhak Hoeji* 54: 151-156.
5. Kang JG, Kang HJ, Seo JH, Kim SO, Choi JH, Cho DY, Park CG, Lee HY. 2009. Effects of fermented turmeric (*Curcuma longa*) by *Bacillus natto* supplementation on liver function and serum lipid parameters in mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 430-435.
6. Han SH, Shin MK, Kim YW. 1999. Effects of Korea *Lycium chinense* Miller, *Schizandra chinensis* Baillon, *Pueraria thunbergiana* Benth, *Eucommia ulmoides* Oliv tea beverage on the removal of heavy metal. *J East Asian Dietary Life* 9: 363-369.
7. Compton DL, Kenar JA, Laszlo JA, Felker FC. 2007. Starch-encapsulated, soy-based, ultraviolet-absorbing composites with feruloylated monacyl- and diacylglycerol lipids. *Ind Crop Prod* 25: 17-23.
8. Pratt DE, Birac PM. 1979. Source of antioxidant activity of soybeans and soy products. *J Food Sci* 44: 1720-1722.
9. Choe SY, Yang KH. 1982. Toxicological studies of antioxidanats, butylated hydroxytoluene (BHT) and butylated hydroxyanisole (BHA). *Korean J Food Sci Technol* 14: 283-288.
10. McKersie BD, Murnaghan J, Jones KS, Bowley SR. 2000. Iron-superoxide dismutase expression in transgenic alfalfa increases winter survival without a detectable increase in photosynthetic oxidative stress tolerance. *Plant Physiol* 122: 1427-1437.
11. Donnelly JK, McLellan KM, Walker JL, Robinson DS. 1989. Superoxide dismutase in foods. *Food Chem* 33: 243-270.
12. Cho SY, Lee SH, Choi JY, Shin EM, Kang SS, Jeong JS, Jeong CS. 2007. Antigastritic effect of carbenoxolone disodium from *Glycyrrhizae radix*. *J Toxicol Pub Health* 23: 165-172.
13. Choo MK, Park EK, Yoon HK, Kim DH. 2003. Antithrombotic and antiallergic activities of daidzein, a metabolite of puerarin and daidzin produced by human intestinal microflora. *Biol Pharm Bull* 25: 1328-1332.
14. Wang X, Wu J, Chiba H, Umegaki K, Yamada K, Ishimi Y. 2003. *Puerariae radix* prevents bone loss in ovariectomized mice. *J Bone Miner Metab* 21: 268-275.
15. Cha JY, Kim HW, Heo JS, Ahn HY, Eom KE, Heo SJ, Cho YS. 2010. Ingredients analysis and biological activity of fermented *Angelica gigas* Nakai by mold. *J Life Sci* 20: 1385-1393.
16. Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR, Rhyu MR. 2004.

Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 36: 333-338.
17. Chen YC, Sugiyama Y, Abe N, Kuruto-Niwa R, Nozawa R, Hirota A. 2005. DPPH radical-scavenging compounds from dou-chi, a soybean fermented food. *Biosci Biotechnol Biochem* 69: 999-1006.
18. Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474.
19. Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidines. *Agric Biol Chem* 51: 1333-1338.
20. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 64: 555-559.
21. Mosmann T. 1983. Rapid colorimetric assays for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 65: 55-63.
22. Lee HH, Kim IJ, Kang ST, Kim YH, Lee JO, Ryu CH. 2010. Development of black garlic yakju and its antioxidant activity. *Korean J Food Sci Technol* 42: 69-74.
23. Jeon CP, Lee JB, Choi CS, Kwon GS. 2011. Biological activities of ethanol extracts from *Monascus*-fermented Chinese yam. *J Life Sci* 8: 1142-1148.
24. Park JC, Cha JY, Lee CH, Doh ES, Kang IH, Cho YS. 2009. Biological activities and chemical characteristics of *Monacus*-fermented Korean red ginseng. *J Life Sci* 11: 1553-1561.
25. Park HJ, Kim IS. 2011. Antioxidant activities and anticancer effects of red yeast rice grown in the medium containing garlic. *Food Sci Biotechnol* 20: 297-302.
26. In JP. 2013. Antioxidative, antibacterial and cytotoxicity activity of galgeuntang, seungmagalgeuntang and galgeunhwangeunhwangkeumtang and their fermented tang. *PhD Dissertation*. Konkuk University, Seoul, Korea.
27. Bae YI, Jeong CH, Shim KH. 2002. Nitrite-scavenging and antimutagenic effect of various solvent extract from different parts of loquat (*Eriobotrya japonica*, Lindl.). *Korean J Food Preserv* 9: 92-96.
28. Lim JA, Lee ES, Baek SH. 2008. Antioxidative activity and nitrite scavenging ability of ethanol extact from *Nelumbo nucifera* leaves. *Korean J Oriental Physiol Pathol* 22: 654-659.
29. Jung KI, Cho EK, Choi YJ. 2011. Food quality of muffin with germinated brown rice soaked in mycelial culture broth of *Phellinus linteus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 875-884.
30. Lee YK, Lee SI, Kim JS, Yang SH, Lee IA, Kim SD, Suh JW. 2012. Antioxidant activity of green tea fermented with *Monascus pilosus*. *J Appl Biol Chem* 55: 19-25.
31. Hwang YY, Chong MS, Kim HJ, Lee KN. 2007. Studies on the polysaccharide of *Ganoderma lucidium* extract by microorganism fermentation. *Korean J Oriental Physiol Pathol* 21: 1506-1512.
32. Shin JH, Yoo SK. 2012. Antioxidant properties in microbial fermentation products of *Lonicera japonica* Thunb. extract. *J East Asian Soc Diet Life* 22: 95-102.
33. Han JH, Lee SY. 2011. Comparing medical efficacy of socheongyong-tang with lactic acid bacteria fermented socheongyong-tang. *Korean J Oriental Physiol Pathol* 25: 246-256.
34. Kim KH, Yun YS, Chun SY, Yook HS. 2012. Antioxidant and antibacterial activities of grape pomace fermented by various microorganisms. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1049-1056.
35. Brown ED, Wfight GD. 2005. New targets and screening approaches in antimicrobial drug discovery. *Chem Rev* 105: 759-774.
36. Cho YJ, Chun SS, Yoon SJ, Kim JH, Kim TW, Choi UK. 2005. Screening of the antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* from herb plants. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 48: 161-165.
37. Lee JH, You IS, Kim JS, Lee KN, Chung WY, Han DS, Baek SH. 2000. The inhibitory effects of *Houttuynia cordata* Thunb against cadmium induced cytotoxicity (Ⅱ). *Yakkak Hoeji* 44: 432-439.
38. Han DS, Lee KN, Lee JS, Baek SH. 1998. The inhibitory effects of *Taraxaci Herba* against cadmium induced cytotoxicity. *Yakhak Hoeji* 42: 307-311.
39. Walsh KR, Failla ML. 2009. Transport and metabolism of equol by Caco-2 human intestinal cells. *J Agric Food Chem* 57: 8297-8302.
40. Chien HL, Huang HY, Chou CC. 2006. Transformation of isoflavone phytoestrogens during the fermentation of soymilk with lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Food Microbiol* 23: 772-778.