

# 천연방부제 개발을 위한 자원식물을 활용한 발효 전·후 물질 변화와 항균활성 비교

## Comparison of Substance Change and Antibacterial Activity Before and After Fermentation Using Resource Plants for The Development of Natural Preservatives

정서아<sup>1</sup>

Seo A Jung  
수이케이  
바이오랩 연구소<sup>1</sup>

정연옥<sup>1</sup>

Youn Ok Jung  
수이케이  
바이오랩 연구소<sup>1</sup>

송가현<sup>1</sup>

Ga Hyeon Song  
수이케이  
바이오랩 연구소<sup>1</sup>

박노복<sup>2\*</sup>

No Bok Park  
국립한국농수산대학교  
원예학부<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Sooy-K Bio Lab, Research and Development, Seongnam 13216, Korea

<sup>2</sup> Department of Floriculture, Korea National College of Agriculture and Fisheries, Jeonju 54874, Korea

### ABSTRACT

Chemical preservatives have a good effect on antibacterial activity, but many side effects on the human body have been reported. Recently, the development of natural preservatives that are harmless to the human body and have preservative functions and self-efficacy is active. In addition, in order to increase the absorption rate of natural products by the human body, the method of fermentation using strains is also increasing. Therefore, this study selected varieties that are harmless to the human body and have good antibacterial activity.

1. The yield of origin, thickness and solvent was investigated. *Scutellaria baicalensis* Georgi was made in China and received a yield of 21.88% from 50% ethyl alcohol extract. *Salvia miltiorrhiza* Bunge was made in Korea and received a yield of 25.62% from 50% ethyl alcohol extract. *Dryopteris crassirhizoma* Nakai was made in China and received a yield of 6.50% from 70% ethyl alcohol extract.

2. The solid fermentation with the *S. baicalensis* and *S. miltiorrhiza* with *B. Subtilis* yield gained 24.40%, 39.30%, and *D. crassirhizoma* obtained 11.10% yield when fermented with *L. casei*.

3. After the liquid fermentation, a clear zone of 9mm was identified for the *S. aureus* strain in the *S. baicalensis*, and the antibacterial activity was not confirmed in *S. miltiorrhiza* and *D. crassirhizoma*.

4. When the *S. baicalensis* was fermented with *L. Casei*, it showed high antibacterial activity in *C. albicans* and *S. aureus*. *S. miltiorrhiza* showed antibacterial activity in *S. aureus* when it was solid with *S. cerevisiae*. When the spectators were solid with *L. casei* and *S. cerevisiae*, antibacterial activity was high in *E. coli* and *S. aureus*. Overall, the antibacterial activity after fermentation was much higher than when fermented.

5. The change in active ingredients was baicalin 101.57, baicalein 28.26, and wogonin 5.33mg/g in the *S. baicalensis* that did not ferment solid. When solid fermentation with *S. cerevisiae*, the content of baicalinin with baicalin 94.31, baicalein 30.41, and wogonin 3.57mg/g was found to have increased. *S. miltiorrhiza* that was not fermented, salvianolic acid A was 1.82mg/g, and when fermented with *S. cerevisiae*, it increased to 5.70mg/g. The active ingredients of the spectators were flavaspidic acid AP, flavaspidic acid PB, flavaspidic acid AB, and flavaspidic acid BB.

**Key Words :** *Scutellaria baicalensis* GEORGE, Fermentation, Antibacterial activity, Natural preservative, Clear zone

Received Feb. 23, 2023  
Revised Mar. 8, 2023  
Accept Mar. 24, 2023

\*Correspondence

No Bok Park  
noubogpark@naver.com



## 서론

화장품 방부제로 사용되는 화학 방부제의 종류는 파라벤류, 클로로페네신, 페녹시에탄올 등이 사용되며, 이런 화학 방부제들의 특성은 미생물 성장을 억제해서 상품의 안정성을 주지만 일부 피부 알러지 유발, 환경호르몬 생성 및 피부 자극을 유발 시키는 원인이 되기도 한다(Rehn, D., et al., 1980; Soni MG, et al., 2005). 따라서 화장품 업계에서는 화학 방부제를 일체 사용하지 않은 preservative-free균제품을 연구하고 있으며, 원료 자체가 방부 기능이 있는 self-preserving에 많은 관심을 가지고 있다(Shigeru Abe et al., 2003).

발효(fermentation)는 식생활의 다양화와 그 기능으로 오랫동안 동·서양을 막론하고 가공 또는 식품 보존용으로 다양한 분야에서 이용해 왔으며 수요는 여러 분야에서 증가하는 추세이다(김동신, 1998; Lee 등 2001). 특히 한약재는 발효하는 것은 약리작용 상승과 소화 촉진을 높이는 방향으로 연구가 이루어지고 있다(Kim 등 2014.).

인위적으로 발효 시킬 때 이용되는 미생물의 종류는 주로 세균, 곰팡이, 유산균, 효모 등이고 이중 발효에 이용되는 균주는 유산균이다. 식물을 발효한 후 이를 화장품 원료로 이용하기 위한 DPPH, ABTS radical 소거능과 tyrosinase, elastase 저해활성에 관한 연구는 꾸준히 증가하고 있다. *Lactobacillus plantarum*을 이용해 황칠나무(*Dendropanax morbiferus* H.Lev.) 잎을 발효하였고(Im과 Lee, 2016), *Lactobacillus rhamnosus*로 갈대(*Phragmites communis* Trin.) 뿌리를 발효전과 발효 후로 비교하였으며(Kang 등, 2016), *lactic acid bacteria*로 인삼(*Panax ginseng* C. A. Mey.) 열매를 발효 한 후 ginsenoside Re, Rc 및 Rb1의 함량을 조사하였다(Jeon 등, 2012). *Streptococcus thermophilus*로 오미자, 울무, 당귀, 고삼 발효하여 항염증 및 미백효과에 관한 복합적인 연구를 하였다(Choi 등, 2015). 이렇게 유산균을 이용해 항염증 효과, 미백 개선 효과 및 항산화 효과 등에 긍정적인 영향을 미치는 연구가 활발하게 진행되고 있다.

황금(*Scutellaria baicalensis* Georgi)은 중국이 원산지이며 약용식물로 도입되어 전국에서 재배되고 있는 다년생 초본이다. 키는 약 60cm이고, 잎은 길이 약 4.5cm, 폭 약 0.8cm지만 위로 갈수록 작아지고 보죽하며 마주난다. 꽃은 자색으로 원줄기 끝과 가지 끝에 뭉쳐서 달린다(정연옥 등, 2019).

황금에 대한 발효는 대식세포를 감소시키고(Yang 등, 2013), *Lactobacillus mesenteroides*로 발효 과정을 통해 baicalein의 함량이 증가하여 melanin 생성을 억제하고(Um 등, 2017), *Lactobacillus rhamnosus*로 발효한 후

70% 에탄올추출에서 항염증과 관련된 물질이 더 많이 나왔으며(Choi 등, 2013), 일반 추출에서는 용출되지 않았던 생리활성 물질 및 유효 성분 등이 추출되었고(Park 등, 2006), 홍경천, 마늘과 황금을 발효해 쥐를 통해 신경세포 손상 억제와 신경가소성을 향상시켜 기억력 및 학습장애를 향상에 기여한다고 하였다(장소용, 2020).

단삼(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)은 잎은 마주나기하고 단엽 또는 이회깃모양겹잎이고 달걀모양으로 뒷면에 털이 밀생한다. 꽃은 5-6월에 피며 자주색이고 줄기 끝에 층층으로 달리며 축에 샘털이 밀생하고 포는 선형 또는 피침형이며 꽃자루보다 짧다(국가생물종지식정보시스템 www.nature.go.kr/).

단삼을 일반 추출물과 *Aspergillus oryzae*로 발효한 후 총폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 비교한 결과 발효추출물에서 약 1.2~1.3배 증가하였고, 항균 활성도 2배 높았다(Moon and Cha, 2020). 유효성분인 tanshinones 및 phenolic acid는 8종의 박테리아와 1종의 진균에 대한 활성의 광범위한 항균 스펙트럼을 나타냈다고 하였다(Jianglin Zhao et al., 2011).

관중(*Dryopteris crassirhizoma* Nakai)은 우리나라 각처의 산지에서 나는 속근성 양치류이다. 키는 50~100cm이고, 잎은 길이가 약 1m 내외, 폭이 약 25cm 정도이며 뿌리에서 나온다. 줄기에는 광택이 많이 나고 황갈색 혹은 흑갈색의 비늘과 같은 것이 있다. 뿌리를 포함한 전초는 약용으로 쓰인다(정연옥 등, 2019).

관중은 암과 비만 치료(Na et al., 2006), 생쥐에서 HCl/EtOH에 의해 자극된 위염 증상을 개선((Yang 등, 2013), 위 자극 부작용이 없는 항염제 개발(Earnest et al., 2019)을 위한 연구 등이 이루어졌다.

이에 우리나라에 자생하거나 재배되는 식물 중 각종 질환에 약재로 사용되어 온 황금, 단삼, 관중을 선정하여 일반 화학 방부제를 대체할 수 있는 천연방부제에 대한 기초를 마련하고자 본 연구를 실시하였다.

## 연구 방법

### 황금, 단삼, 관중의 추출

실험에 사용한 국내산 황금 뿌리와 단삼 뿌리는 '전남생약농업협동조합'에서 구입하여 사용하였다. 국내산 관중 뿌리는 '(주)허브마을'에서 구입하였다. 중국산 황금 뿌리와 단삼 뿌리는 '동광한방물'에서 구입하였다. 중국산 관중 뿌리는 '(주)자연에바이오텍'에서 구입하였으며, 구매한 한약재는

실온에서 보관하여 실험에 사용하였다.

추출은 각 원물을 중질(2,800 $\mu$ m)과 미세말(75 $\mu$ m)로 분쇄하여 크기별로 분쇄된 원료 500g에 5배의 50% ethanol과 70% ethanol을 각각 첨가하여 상온에서 48시간 동안 추출하였다. 추출액은 여과하여 rotary vacuum evaporator (Rotavapor R-215, BUCHI, Germany)를 이용하여 45 $^{\circ}$ C에서 농축하였으며, 농축 분말은 -70 $^{\circ}$ C에 보관하여 실험에 사용하였다. 농축 분말의 수율은 다음의 식으로 계산하였다.

$$\text{수율 (\%)} = \frac{\text{투입 원물량(g)}}{\text{건조 분말량(g)}} \times 100$$

## 실험균주 및 사용 배지

### 발효 균주

실험에 사용한 발효 균주는 Table 1에서 보는 바와 같이 *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae*를 수원대학교에서 양도받아 실험에 사용하였다. *Aspergillus oryzae*는 누룩에서 분리하여 한국미생물보존센터에서 18S rRNA 분석 의뢰 하여 동정된 균주이다. *B. subtilis*는 nutrient agar (Difco Co., USA), *L. casei*는

MRS agar (Difco Co., USA), *S. cerevisiae*는 Yeast Malt agar (Difco Co., USA), *Asp. oryzae*는 Potato Dextrose agar (Difco Co., USA)에 각각 배양하여 실험에 사용하였다.

**Table 1. Strains used for fermentation**

Strains	Sources
<i>Bacillus subtilis</i>	doenjang
<i>Lactobacillus casei</i>	cheese
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	grapes
<i>Aspergillus oryzae</i>	fermented soybeans

### 항균활성 균주

실험에 사용한 방부력 시험 표준 균주 중 4종은 KCTC (Korean Collection for Type Cultures)에서 *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* KCTC 3881, *Escherichia coli* KCTC 2571, *Pseudomonas aeruginosa* KCTC 1750, *Candida albicans* KCTC 7965을 분양 받아 사용하였다. *S. aureus* KCTC 3881와 *E. coli* KCTC 2571는 Tryptic soy agar (Difco Co., USA) 37 $^{\circ}$ C, *P. aeruginosa*는 nutrient agar (Difco Co., USA) 37 $^{\circ}$ C, *C. albicans*는 Yeast Malt agar (Difco Co., USA) 30 $^{\circ}$ C의 온도에서 배양하였다(Table 2).

**Table 2. Strains used for anti-microbial activity**

Strains	Temperature ( $^{\circ}$ C)	Medium
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> KCTC 3881	37	Tryptic soy agar
<i>Escherichia coli</i> KCTC 2571	37	Tryptic soy agar
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KCTC 1750	37	nutrient agar
<i>Candida albicans</i> KCTC 7965	30	Yeast Malt agar

## 황금, 단삼, 관중의 발효 추출물 제조

### 발효 균주 생육 최적 조건 선정

황금, 단삼, 관중의 발효 진행 전 발효 균주 배양을 최적화하여 효율적인 발효의 최적 배양 조건을 선정하기 위하여 실험을 수행하였다. 각 발효 균주의 최적 생육 배지는 pH 5, 6, 7로 조정하여 멸균한 후 배지에 활성화한 균주 200 $\mu$ L를 접종하였다. 배양은 30 $^{\circ}$ C, 37 $^{\circ}$ C에서 각각 1일, 2일, 4일 동안 배양하여 세포 밀도를 spread plating method를 통해 확인하였고, microplate reader (SpectraMax id3, Molecular devices, U.S.A)를 사용하여 600nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

### 발효 조건 및 발효 추출물 제조

액체 발효는 각 균주의 최적생육배지 100mL에 황금, 단삼, 관중 5g을 첨가하여 멸균한 후 균 배양액 1%(v/v)를 접종하여 발효 온도는 30 $^{\circ}$ C, 발효 일수는 1일과 2일의 조건으로 각각 발효하였다. 황금, 단삼, 관중 발효물은 50 $^{\circ}$ C 건조기에서 2일간 건조 후 20배의 70% ethanol을 첨가하여 상온에서 48시간 동안 추출하였다. 대조구로 발효하지 않은 황금, 단삼, 관중의 20배에 해당하는 70% ethanol을 가하여 상온에서 48시간동안 추출하였다.

고체 발효는 황금, 단삼, 관중 각각 10g에 초기 수분 첨가량 50% 또는 60% 조건으로 하여 발효 원물을 멸균하였다.

멸균한 원물은 상온에서 방냉한 후 발효 균주를 1mL씩 고르게 분주하여 발효 온도는 30°C와 37°C의 조건으로 발효하였다. 발효 후 10배의 70% ethanol을 첨가하여 상온에서 48시간 동안 추출하였다. 대조구로 발효하지 않은 황금, 단삼, 관중의 10배에 해당하는 70% ethanol을 가하여 상온에서 48시간 동안 추출하였다. 추출한 액체 발효와 고체 발효 추출액은 여과하여 rotary vacuum evaporator (Rotavapor R-215, BUCHI, Germany)를 이용하여 45°C에서 농축하였으며, 농축 분말은 -70°C에 보관하여 실험에 사용하였다.

### 항균성 물질의 항균활성 측정

추출물의 항균활성은 각 생육 배지를 혼합 평판법으로 제조하여 paper disc를 이용한 agar diffusion method로 확인하였다. 각 추출물은 멸균수를 이용하여 3%로 제조한 후 syringe filter (0.4µm, ADVANTEC, Toyo Roshi Kaisha, Ltd, Japan)로 여과하여 실험에 사용하였다. 균주는 각 최적 생육 배지에 혼합 평판법으로 제조하여 추출물은 paper disc (8mm, ADVANTEC, Toyo Roshi Kaisha, Ltd, Japan)에 40µL 분주하여 흡수시켰다. 최적 생육 온도에서 24시간 배양 후 clear zone의 유무 및 크기를 통해 항균력을 확인하였다.

### High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

황금, 단삼, 관중의 발효 추출물 중 4종의 균주에 대하여 항균활성을 나타내는 추출물의 유효성분은 HPLC를 사용하여 분석하였다. 농축분말 시료 10mg 또는 표준품 5mg은 50% ethanol 1mL에 용해 후 0.45µm Syringe filter (13mm, PVDF, Hyundai micro, Korea)로 여과하여 사용하였다. 표준품은 baicalin, baicalin, wogonin, salvianolic acid A (Sigma, USA)를 구입하였고, 용해 후 농도별로 희석하여 표준 곡선을 얻어 실험에 사용하였다. HPLC 분석은 Shim-pack VP-ODS column (4.6mm x 250mm(5µm), Shimadzu, Japan)을 이용한 HPLC(Alliance e2695, Waters, UK)를 사용하였다. 0.1% formic acid in water (A)와 0.1% formic acid in acetonitrile (B)을 이동상으로 이용하여 유속을 0.8mL/min로 조정 후 10µL를 주입하여 gradient elution에 의하여 분리하였다. Column 온도는 40°C로 유지하였으며 280nm에서 측정하여 분석하였다(Table 3).

### 통계분석

모든 실험은 3회 반복하였으며, 본 실험의 모든 데이터 결과는 EXCEL 2013(Microsoft, USA)으로 통계처리 하였다. Error bar는 표준편차 값을 표시하였으며 p<0.05인 경우 통계적으로 유의하다 판정하였다.

Table 3. HPLC analysis condition

Instruments	Condition	
Column	Shim-pack VP-ODS, 4.6mm I.D. x250mm.	
Solvent A	0.1% formic acid in water	
Solvent B	0.1% formic acid in ACN	
Gradient	Time(min)	Sol. B (%)
	2	0
	45	50
	50	95
	55	95
	55.1	0
	60	0
Detector	280 nm	
Flow rate	0.8 mL/min	
Column temp.	40°C	
Injection volume	10 µL	

## 결과 및 고찰

### 추출물의 수율

#### 용매 추출물의 수율

수율은 대량 생산을 위한 기초적인 자료로 활용된다. 원물의 분쇄 정도, 추출 용매의 농도별에 따른 수율을 확인한 결과는 Table 4와 같다. 황금 중국산 증절 50% ethyl alcohol 추출물은 21.88%, 단삼 국내산 증절 50% ethyl alcohol 추출물

은 25.62%, 관중 중국산 증절 70% ethyl alcohol 추출물은 6.50%로 각각 원물의 분쇄 정도 및 용매의 농도별로 추출하였을 때 가장 높은 수율을 확인하였다. 천연물의 경우 분쇄 정도와 추출 용매 조건에 따라 차이가 나타남을 확인하였다.

황금 열수 추출물 수율은 18.5%, 에탄올 추출물은 20.7%로 에탄올에서 추출 수율이 높았다고 하였다(Choi et al., 2013). 본 실험에서는 분말정도와 에탄올의 농도에 따른 실험을 한 결과 국내산은 70% 에탄올에서 23.2%, 중국산은 21.9%의 수율을 얻어 유사한 결과를 보였다.

**Table 4.** Yield according to powder size and extraction solvent concentration of *S. baicalensis*, *S. miltiorrhiza* and *D. crassirhizoma*

Plants	Origin	Samples	Extract yields (% w/w)	
			50% EtOH	70% EtOH
<i>S. baicalensis</i>	Korea	2,800 $\mu$ m powder extract	17.46 $\pm$ 0.05	13.06 $\pm$ 0.06
		75 $\mu$ m powder extract	12.34 $\pm$ 0.05	12.18 $\pm$ 0.07
	China	2,800 $\mu$ m powder extract	21.88 $\pm$ 0.06	17.72 $\pm$ 0.03
		75 $\mu$ m powder extract	14.10 $\pm$ 0.02	15.34 $\pm$ 0.04
<i>S. miltiorrhiza</i>	Korea	2,800 $\mu$ m powder extract	25.62 $\pm$ 0.03	23.16 $\pm$ 0.02
		75 $\mu$ m powder extract	23.66 $\pm$ 0.05	18.52 $\pm$ 0.01
	China	2,800 $\mu$ m powder extract	21.24 $\pm$ 0.11	21.88 $\pm$ 0.04
		75 $\mu$ m powder extract	7.96 $\pm$ 0.09	7.86 $\pm$ 0.05
<i>D. crassirhizoma</i>	Korea	2,800 $\mu$ m powder extract	0.80 $\pm$ 0.07	1.00 $\pm$ 0.11
		75 $\mu$ m powder extract	1.70 $\pm$ 0.07	2.10 $\pm$ 0.09
	China	2,800 $\mu$ m powder extract	5.06 $\pm$ 0.12	6.50 $\pm$ 0.05
		75 $\mu$ m powder extract	3.12 $\pm$ 0.08	2.98 $\pm$ 0.06

#### 발효 추출물의 수율

##### (가) 액체발효 추출물의 수율

황금, 단삼, 관중의 액체발효 추출물은 발효 균주 및 배양 일수 별로 발효하여 70% ethanol을 이용하여 추출 및 농축 후 분말화하여 수율을 확인하였다. 결과는 Table 5와 같이 황금, 단삼, 관중의 *L. casei* 1일 발효 추출물은 각각 66.8%, 84.8%, 73.0%의 수율이 확인되었으며, 발효하지 않은 대조구와 각각 4.3배, 2.1배, 2.1배의 수율이 증가함을 확인하였다. 액체발효에서 수율은 다른 추출조건에 비해 월등히 높은 수율을 나타냈다. 이렇게 높은 추출 수율을 보이는 유사한 결과가 아직 보고된 내용이 없어 정확한 판단은 어려우나 이는 *L. rhamnosus* 유산균으로 발효했을 때 일반 추출 방법에서 추출되지 않았던 각종 유효성분 등이 용출되었고, 이렇게 발효 후 병행추출을 했을 때 열수 및 에탄올 단독 조건 추출보다는 높은 수율을 보인다고 하였다(Park 등, 2006)고 한 내용을 참고로 했을 때 가능하리라 본다. 추후 이 부분에 관한 연구는 더 진행하여 이유를 밝혀야 할 것으로 사료된다.

##### (나) 고체발효 추출물의 수율

황금, 단삼, 관중의 고체발효는 발효 균주, 발효 온도 및 원물 수분 함량 별로 발효하여 70% ethanol을 이용하여 추출 및 농축 후 분말화하여 수율을 확인하였다. 그 결과는 Table 6과 같다. 황금 *B. subtilis* 37 $^{\circ}$ C 60% 발효 추출물은 24.40%, 단삼 *B. subtilis* 37 $^{\circ}$ C 60% 발효 추출물은 39.30%, 관중 *L. casei* 30 $^{\circ}$ C 50% 발효 추출물은 11.10%로 각각의 원물 고체발효 하였을 때 가장 높은 수율을 확인하였다.

발효 후 추출물 수율은 열수 추출물 24.8%, 발효 후 추출물 수율인 25.9%였다고 하였다. 또한 이렇게 발효전과 후의 수율이 차이를 보이는 것은 유산균 발효가 1차적으로 세포 외부조직을 파괴하고, 2차적으로 에탄올 추출로 활성물질이 일반 추출로 용출하기 어려웠던 성분이 추출 가능했다고 하였다(이호, 2009; Choi 등, 2013).



**Table 5.** Yields of 70% ethanol extract after liquid fermentation of *S. baicalensis*, *S. miltiorrhiza* and *D. crassirhizoma*

Plants	Strains	Fermentation time (days)	Extract yield (% w/w)
<i>S. baicalensis</i>	Control	-	15.20±0.23
	<i>B. subtilis</i>	1	56.40±0.12
		2	60.40±0.12
	<i>L. casei</i>	1	59.40±0.07
		2	66.80±0.04
	<i>S. cerevisiae</i>	1	34.40±0.11
2		28.20±0.06	
<i>S. miltiorrhiza</i>	Control	-	40.00±0.17
	<i>B. subtilis</i>	1	75.60±0.10
		2	60.00±0.09
	<i>L. casei</i>	1	84.80±0.16
		2	79.80±0.11
	<i>S. cerevisiae</i>	1	18.40±0.04
2		20.20±0.05	
<i>D. crassirhizoma</i>	Control	-	10.20±0.13
	<i>B. subtilis</i>	1	35.20±0.01
		2	37.80±0.21
	<i>L. casei</i>	1	73.00±0.06
		2	67.20±0.03
	<i>S. cerevisiae</i>	1	9.60±0.11
2		2.40±0.05	

**Table 6.** Yields of 70% ethanol extract after solid fermentation of *S. baicalensis*, *S. miltiorrhiza* and *D. crassirhizoma*

Plants	Strains	Temperature (°C)	moisture content (%)	Extract yields (% w/w)				
<i>S. baicalensis</i>	Control	-	40	21.00±0.05				
			50	21.40±0.03				
			60	22.50±0.05				
	<i>B. subtilis</i>	30	37	50	20.20±0.07			
				60	22.60±0.12			
				50	21.70±0.11			
				60	24.40±0.11			
				<i>L. casei</i>	30	37	50	20.80±0.08
							60	20.40±0.09
	50	22.80±0.08						
	60	22.50±0.14						
	<i>S. cerevisiae</i>	30	37				50	19.50±0.11
							60	15.10±0.11
				50	16.50±0.23			
				60	17.10±0.05			
				<i>Asp. oryzae</i>	25	30	40	12.80±0.09
							50	13.70±0.03
	40	13.00±0.06						
50	10.50±0.17							

<i>S. miltiorrhiza</i>	Control	-	40	31.20±0.11
			50	33.70±0.14
			60	24.40±0.05
	<i>B. subtilis</i>	30	50	34.20±0.11
			60	35.90±0.12
		37	50	35.70±0.09
			60	39.30±0.06
	<i>L. casei</i>	30	50	38.60±0.07
			60	39.10±0.11
		37	50	34.20±0.14
			60	39.00±0.13
	<i>S. cerevisiae</i>	30	50	11.80±0.09
			60	10.80±0.11
		37	50	11.80±0.06
			60	15.20±0.05
<i>Asp. oryzae</i>	25	40	12.40±0.08	
		50	6.60±0.23	
	30	40	19.40±0.05	
		50	13.70±0.08	
<i>D. crassirhizoma</i>	Control	-	40	5.00±0.11
			50	2.60±0.19
			60	5.70±0.08
	<i>B. subtilis</i>	30	50	9.60±0.06
			60	6.30±0.05
		37	50	7.80±0.07
			60	4.40±0.08
	<i>L. casei</i>	30	50	11.10±0.06
			60	7.20±0.07
		37	50	7.30±0.04
			60	1.40±0.04
	<i>S. cerevisiae</i>	30	50	5.00±0.11
			60	5.90±0.04
		37	50	5.60±0.06
			60	4.60±0.08
<i>Asp. oryzae</i>	25	40	8.30±0.15	
		50	8.30±0.11	
	30	40	5.50±0.11	
		50	8.80±0.08	

## 발효 균주의 배양 조건 확립

발효 균주의 배양은 배양 온도, pH 및 시간에 따라 생육 및 활성에 차이가 있다. 따라서 본 실험에서는 발효 균주의 효율적인 발효 조건을 확립하고자 조건을 달리하여 균주의 세포 밀도를 비교하였다. *B. subtilis*는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 초기에는 pH 5~6에서 가장 활발하게 성장하는 것을 확인할 수 있으나 그 차이가 미미하며, pH6에서 균체 농도의 증가 비율이 가장 높은 것을 확인할 수 있었다. 따라서 *B. subtilis*의

배양 조건은 pH 6, 30°C 조건을 선정하였다. *L. casei*는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 pH7과 pH6 사이에 균체 밀도 격차는 미미하나 초기 pH7에서 증가량이 우세한 경향을 나타내어 pH7, 30°C 조건을 선정하였다. 세포 활동을 통해 산을 분비하는 미생물로 배양 기간에 따라 pH가 지속적으로 낮아지는 특징이 있어 낮은 pH에서 배양을 진행하였을 때 균체의 수가 적게 나타나는 특성을 보인 것으로 판단된다. *S. cerevisiae*의 배양 결과는 Fig. 3에 나타내었다. *S. cerevisiae*는 pH6에서 활발하게 성장하는 것을 확인하여 pH6, 30°C 조건을 선정하였다.

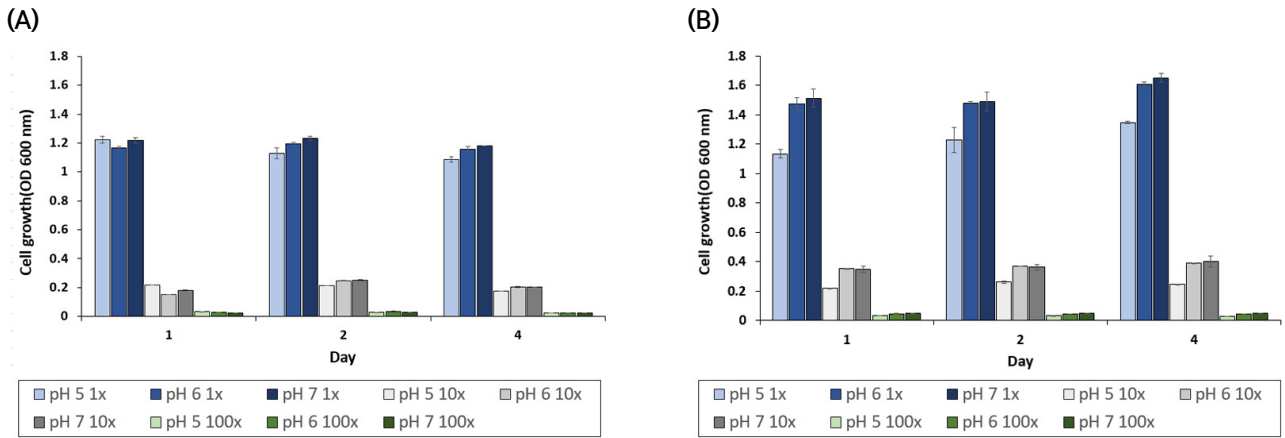


Fig. 1. Growth of *B. subtilis* according to incubation temperature and incubation period. (A) 30°C, (B) 37°C.

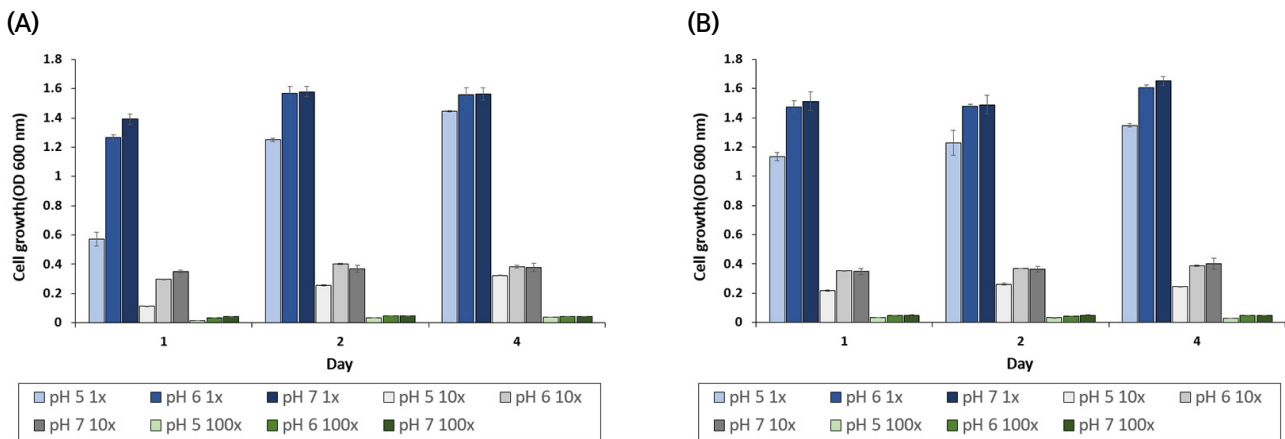


Fig. 2. Growth of *L. casei* according to incubation temperature and incubation period. (A) 30°C, (B) 37°C.

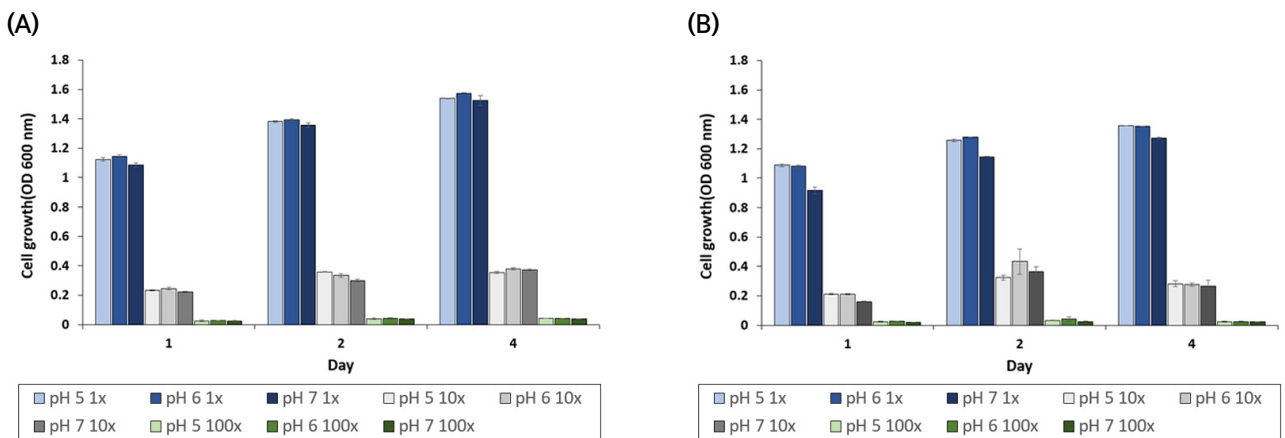


Fig. 3. Growth of *S. cerevisiae* according to incubation temperature and incubation period. (A) 30°C, (B) 37°C.



황금, 단삼, 관중의 발효 방법, 조건 별 *C. albicans*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* 균주에 대한 억제력을 탐색하기 위하여 항균활성을 수행하였다.

액체발효 추출물의 항균활성 결과 황금에서 *S. aureus* 균주에 대하여 9mm 정도의 clear zone이 확인되었고, 단삼과 관중에서는 항균력이 확인되지 않았다(결과 미공개).

고체발효 추출물의 항균활성 결과는 clear zone의 크기를 측정하여 Table 7에 나타내었다. 황금을 유산균인 *L. casei* 37°C 60% 고체발효 후 EtOH 추출물의 항균활성 결과 *C. albicans*에서 15mm, *S. aureus*에서 13mm의 clear zone이 확인되었으며, *S. cerevisiae* 37°C 50% 고체발효 후 EtOH 추출물은 *C. albicans*에서 14mm, *S. aureus*에서 13mm의 clear zone이 확인되었다. 이는 발효하지 않은 대조구 보다 항균력이 우수한 것을 확인할 수 있었다. 이는 황금을 에탄올 추출물로 *S. aureus*, *P. aeruginosa* 및 *C. albicans*를 99.9% 이상 사멸율을 보였다고 하여 항균력이 있다(Hwang과 Park, 2009)고 한 내용과는 다소 차이가 있었다. 하지만 *L. plantarum* EJ43으로 발효한 것에서 *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *M. haemolytica* 등 병원성 박테리아의 항균 활성이 높게 나타났다(Marbut 등, 2016)고 한 것과는 유사한 결과를 보였다.

이는 발효를 하면 황금의 세포막의 수송 저해를 통해 비가역적 항균활성을 나타내고 세포벽수송 저해 기전을 가지는 물질과 병용했을 때 항균활성 병용 시너지 효과가 뚜렷하고 이런 결과는 주사전자현미경으로 세포벽이 뒤튼린 것을 확인한 결과(이호, 2009)라고 하여 일반 추출보다는 발효 후 추출했을 때 항균활성이 좋아진다고 한 결과와 동일하였다.

단삼 *S. cerevisiae* 30°C 50% 고체발효 EtOH 추출물과 단삼 *S. cerevisiae* 37°C 50% 고체발효 EtOH 추출물은 *S. aureus*에서 12mm의 clear zone이 확인되었으며, 대조구 보다 높은 항균력을 확인하였다.

단삼을 에탄올 추출물은 간성상세포의 활성과 증식을 억제(Choi 등, 2008)하였으며, 중추신경 손상 시 신경 재생을 촉진시킬 수 있었고(Shim 등, 2008), *S. epidermidis*에 *S. pyogenes*에 대해 높은 항균활성을 보였다(Han, 2004)고 하였다. 이는 본 연구에서도 *S. aureus*에 대해 항균활성을 보여 *Staphylococcus*에 대해 항균활성을 보이는 것은 동일하였다.

관중 *L. casei* 30°C 60% 고체발효 EtOH 추출물과 관중 *S. cerevisiae* 30°C 60% 고체발효 EtOH 추출물은 *E. coli*에서 13mm, *S. aureus*에서 11mm의 clear zone이 확인되었다. *E. coli*에서는 대조구 보다 높은 항균력이 나타났으며, 대조구에서는 확인되지 않은 *S. aureus*의 항균력이 확인되었다.

**Table 7.** Antimicrobial activity of solid fermented extracts of *S. baicalensis*, *S. miltiorrhiza* and *D. crassirhizoma*

Plants	Strains	Temperature (°C)	moisture content (%)	KCTC	KCTC	KCTC	KCTC
				3881	2571	1750	7965
				Clear zone (mm, Ø)			
<i>S. baicalensis</i>	Control	-	40	11±0.3	-	-	13±0.0
			50	13±0.0	-	-	13±0.5
			60	13±0.1	-	-	13±0.0
	<i>B. subtilis</i>	30	50	-	-	-	13±0.0
			60	-	-	-	13±0.0
			50	-	-	-	13±0.0
			60	-	-	-	13±0.3
	<i>L. casei</i>	30	50	-	-	-	13±0.1
			60	13±0.3	-	-	13±0.2
		37	50	13±0.0	-	-	-
			60	13±0.5	-	-	15±0.3
		<i>S. cerevisiae</i>	30	50	13±0.3	-	-
60				13±0.0	-	-	13±0.0
37	50		13±0.0	-	-	14±0.0	
	60		13±0.0	-	-	13±0.3	
<i>Asp. oryzae</i>	25	40	13±0.0	-	-	-	
		50	-	-	-	-	
	30	40	-	-	-	13±0.0	
		50	11±0.0	-	-	-	

<i>S. miltiorrhiza</i>	Control	-	40	-	-	-	-	
		-	50	11±0.3	-	-	-	
		-	60	11±0.1	-	-	-	
	<i>B. subtilis</i>	30	-	50	11±0.5	-	-	-
			-	60	-	-	-	-
		37	-	50	-	-	-	-
			-	60	-	-	-	-
	<i>L. casei</i>	30	-	50	-	-	-	-
			-	60	-	-	-	-
		37	-	50	-	-	-	-
			-	60	11±0.5	-	-	-
	<i>S. cerevisiae</i>	30	-	50	12±0.3	-	-	-
			-	60	11±0.1	-	-	-
		37	-	50	12±0.1	-	-	-
			-	60	-	-	-	-
	<i>Asp. oryzae</i>	25	-	40	-	-	-	-
			-	50	11±0.1	-	-	-
		30	-	40	11±0.5	-	-	-
-			50	-	-	-	-	
<i>D. crassirhizoma</i>	Control	-	40	-	11±0.1	-	-	
		-	50	-	11±0.1	-	-	
		-	60	-	11±0.3	-	-	
	<i>B. subtilis</i>	30	-	50	-	11±0.1	-	-
			-	60	-	11±0.5	-	-
		37	-	50	-	11±0.2	-	-
			-	60	-	11±0.1	-	-
	<i>L. casei</i>	30	-	50	11±0.0	11±0.1	-	-
			-	60	11±0.0	13±0.0	-	-
		37	-	50	11±0.3	11±0.2	-	-
			-	60	11±0.0	-	-	-
	<i>S. cerevisiae</i>	30	-	50	-	-	-	-
			-	60	11±0.1	13±0.1	-	-
		37	-	50	-	-	-	-
			-	60	-	-	-	-
	<i>Asp. oryzae</i>	25	-	40	11±0.3	-	-	-
			-	50	-	-	-	-
		30	-	40	-	-	-	-
		-	50	-	-	-	-	

KCTC 3881: *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*, KCTC 2571: *Escherichia coli*, KCTC 1750: *Pseudomonas aeruginosa*, KCTC 7965: *Candida albicans*.

관중 추출물을 분획 후 Hexane fraction + Ampicillin 혹은 Oxacillin으로 조합했을 때 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA)를 억제하였고(이효정, 2008), *S. mutans* OMZ176(도동선, 1993), *P. acnes*(Kim 등, 2006), *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis*, *P. fluorescence*에 대해서 높은 항균활성을 보였다고 하였다(Kwak et al.,

2000). 본 연구에서는 에탄올 추출에서는 항균활성이 높지 않았거나 미미했지만 발효했을 때는 *E. coli*와 *S. aureus*에서 높은 항균활성이 확인되어 항균활성은 확인하였고, 향후 추출 조건을 달리하여 실험을 진행해 다른 균주들에 대한 항균 활성도 확인해야 할 것으로 본다.

## High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

항균활성을 나타낸 황금 *L. casei* 37°C 60% 고체발효 EtOH 추출물, 황금 *S. cerevisiae* 37°C 50% 고체발효 EtOH 추출물, 단삼 *S. cerevisiae* 30°C 50% 고체발효 EtOH 추출물, 단삼 *S. cerevisiae* 37°C 50% 고체발효 EtOH 추출물, 관중 *L. casei* 30°C 60% 고체발효 EtOH 추출물, *S. cerevisiae* 30°C 60% 고체발효 EtOH 추출물은 유효성분 함량 변화를 확인하기 위하여 HPLC를 분석하였다. 표준품의 baicalin, baicalein, wogonin, salvianolic acid A의 retention time(R<sub>t</sub>) 분석결과는 Fig. 4와 Table 8에 나타내었다. Baicalin은 R<sub>t</sub> 33.582 min, salvianolic acid A는 R<sub>t</sub> 34.199min, baicalein은 R<sub>t</sub> 42.286min, wogonin은 R<sub>t</sub> 48.948min에 확인되었다. 황금의 유효성분인 baicalin, baicalein, wogonin의 함량을 확인 한 결과는 Fig. 5와 같다. 황금 추출물은 baicalin 101.57mg/g, baicalein 28.26mg/g, wogonin 5.33mg/g으로 확인되었다. 황금 *L. casei* 37°C 60% 고체발효 EtOH 추출물은 baicalin 88.62mg/g, baicalein 25.36mg/g, wogonin 2.44mg/g으로 확인되었으며, 황금 *S. cerevisiae* 37°C 50% 고체발효 EtOH 추출물은 baicalin 94.31mg/g, baicalein 30.41mg/g, wogonin 3.57mg/g으로 확인되

었다. 대조구인 황금 추출물보다 황금 *S. cerevisiae* 37°C 50% 고체발효 EtOH 추출물의 baicalin 함량이 증가한 것을 확인하였으며, 배당체 형태인 baicalin의 포도당 한 분자가 발효 과정에서 가수분해되면서 baicalein으로 생물전환된 것으로 판단된다. 황금 뿌리를 70% 에탄올로 추출해서 근적외선분광분석기로 함량분석을 한 결과 baicalin 97.9mg/g, baicalein 20.9mg/g, wogonin 0.51mg/g 이라고 한 보고(Kim 등, 2014)와 같이 baicalin>baicalein>wogonin으로 동일한 경향을 보였지만 함량 차이는 wogonin이 가장 많은 차이를 보였다.

단삼의 유효성분인 salvianolic acid A의 분석 결과는 Fig. 6과 같다. 단삼 추출물에서는 1.82mg/g으로 확인되었으며, 단삼 *S. cerevisiae* 37°C 50% 고체발효 EtOH 추출물은 5.70mg/g, 단삼 *S. cerevisiae* 30°C 50% 고체발효 EtOH 추출물은 1.41mg/g으로 확인되었다. 발효 온도 조건에 따라 37°C에서 발효한 추출물은 유효성분이 감소하였으나, 30°C에서 발효한 추출물은 약 24.7% 증가함을 확인하였다. 단삼을 에탄올로 추출 후 silica gel column chromatography로 fraction한 후 동정된 성분은 cryptotanshinone과 dihydrotanshinone I이라고(Han, 2004) 하였고, tanshinone I, tanshinone II, miltirone 및 salvianolic acid 등을 함유하고 있다(Bao-Qing, 2010)고 하여 본 연구 결과와

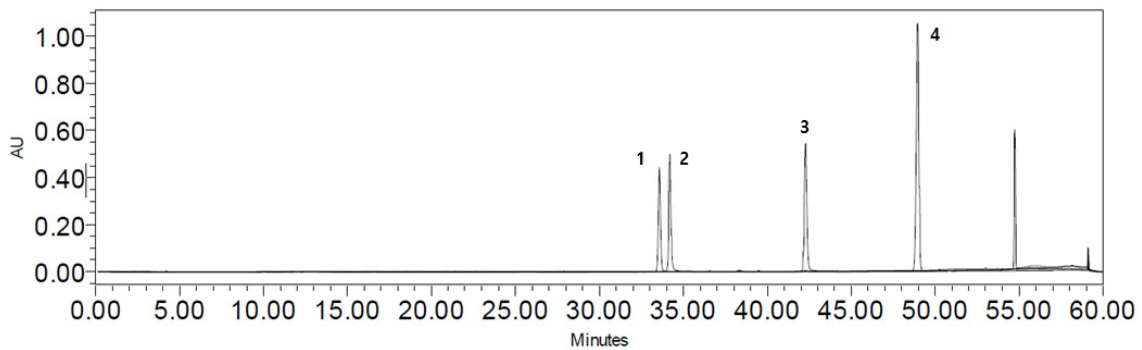


Fig. 4. HPLC analysis of baicalin(1), salvianolic acid A(2), baicalein(3), wogonin(4). Column; Shim-pack VP-ODS 5 micron, 4.6 mm x 250 mm, Mobile phase; water (0.1% formic acid) and acetonitrile (0.1% formic acid), Flow ratel 0.8 mL/min, Detection; 280 nm, Injection; 10  $\mu$ L.

Table 8. Retention time of baicalin, baicalein, wogonin, salvianolic acid A analyzed by HPLC

Compound	Retention time (min)
Baicalin	33.582
Salvianolic acid A	34.199
Baicalein	42.286
Wogonin	48.948

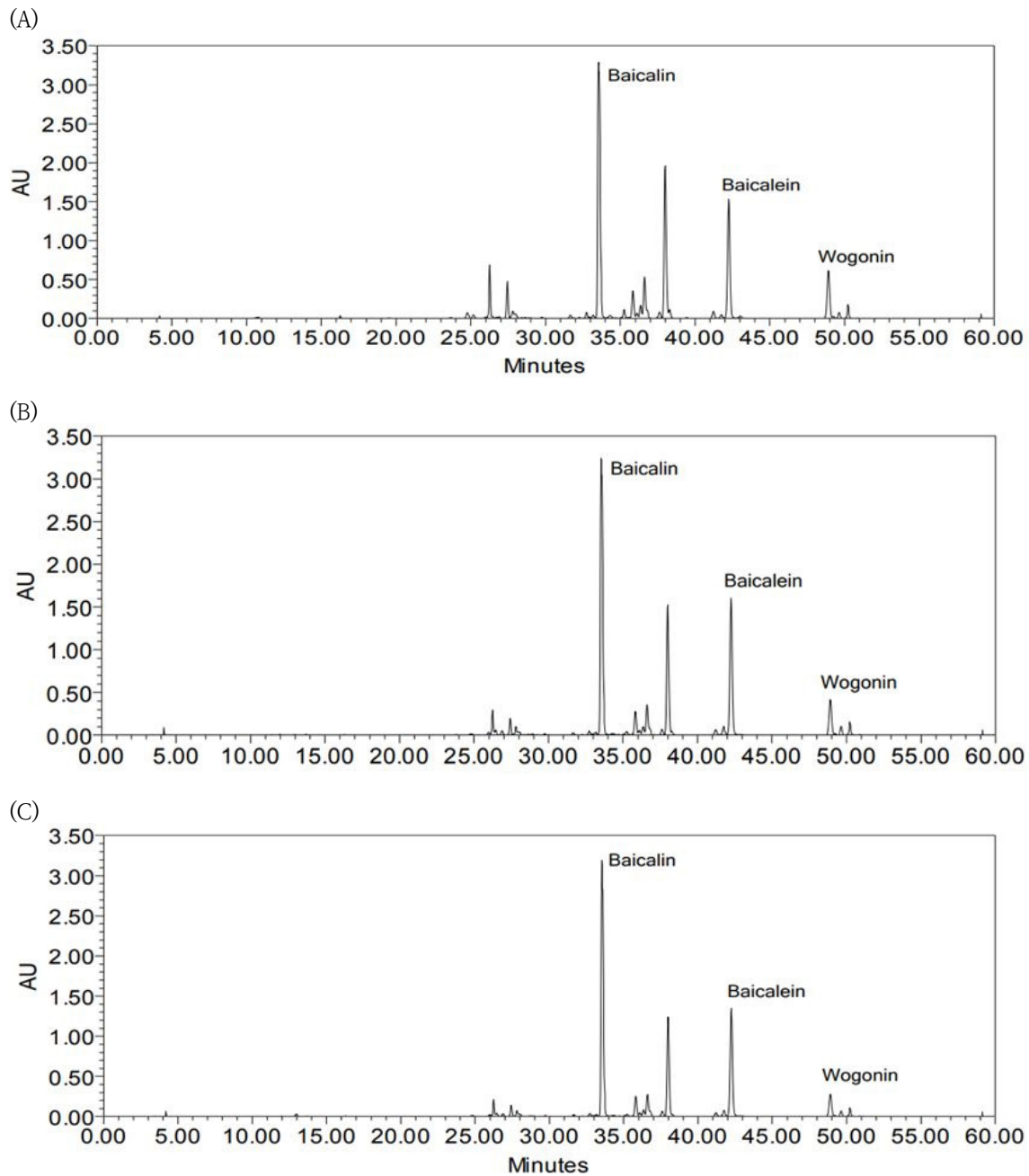


Fig. 5. HPLC analysis of *S. baicalensis* extracts. Column: Shim-pack VP-ODS 5 micron, 4.6 mm x 250 mm, Mobile phase: water (0.1% formic acid) and acetonitrile (0.1% formic acid), Flow ratel 0.8 mL/min, Detection: 280 nm, Injection: 10 $\mu$ L. (A) 70% ethanol extract, (B) extract fermented with *S. cerevisiae*, 37 $^{\circ}$ C and 50% (C) extract fermented with *L. casei*, 37 $^{\circ}$ C and 60%.

유사하였다.

관중의 유효성분은 Table 9와 같이 flavaspidic acid AP, flavaspidic acid PB, flavaspidic acid AB, flavaspidic acid BB로 나타났다. Flavaspidic acid PB,

flavaspidic acid AB는 충치원 세균에 대해 강한 항균력을 보인다(도동선, 1993)고 2가지 물질을 검출하였지만 본 연구에서는 모두 4가지가 검출되어 추후 이 물질들과 관련된 실험이 추가되어야 할 것으로 판단된다.

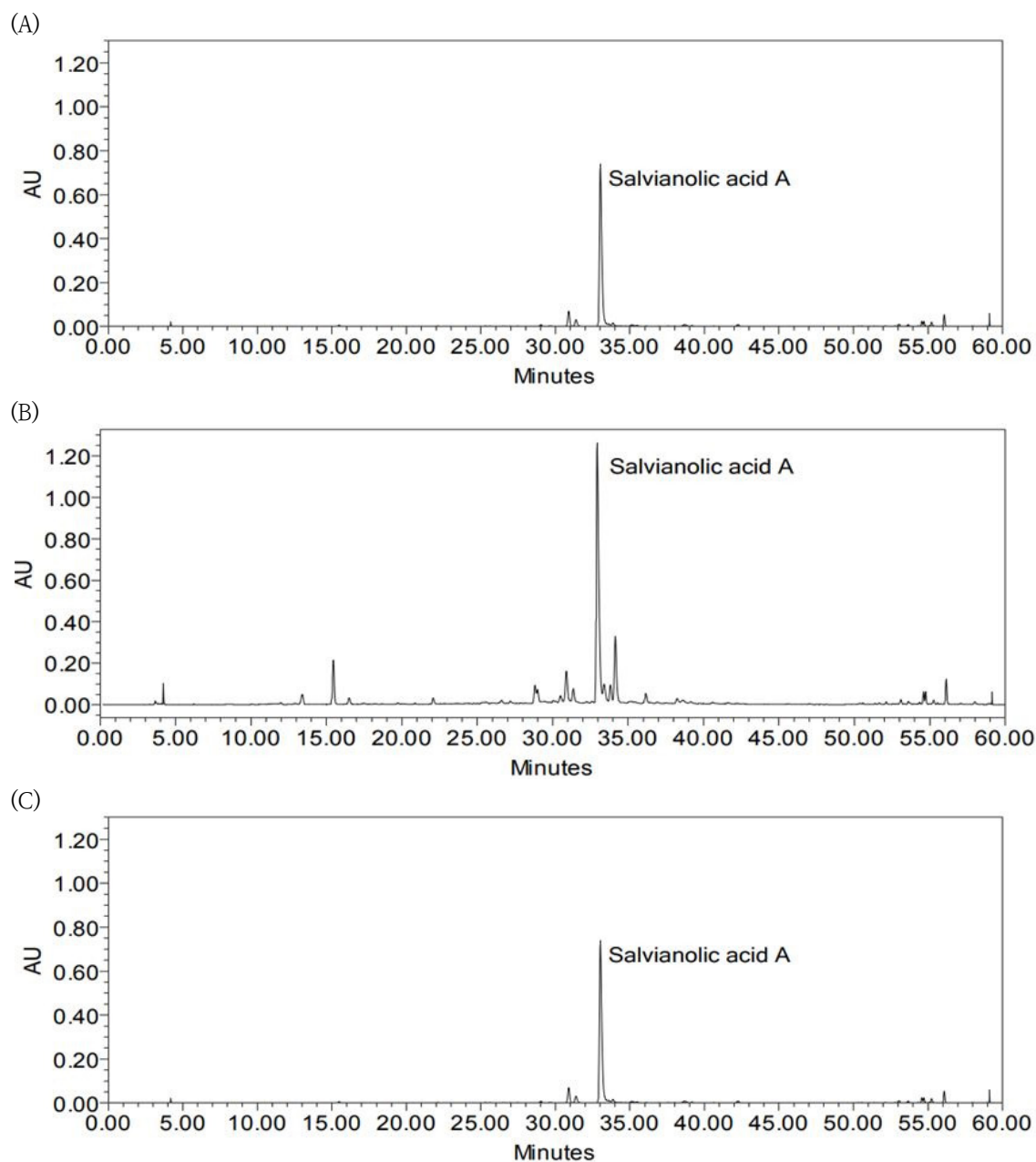


Fig. 6. HPLC analysis of *S. miltiorrhiza* extracts. Column; Shim-pack VP-ODS 5 micron, 4.6 mm x 250 mm, Mobile phase; water (0.1% formic acid) and acetonitrile (0.1% formic acid), Flow ratel 0.8 mL/min, Detection; 280 nm, Injection; 10 $\mu$ L. (A) 70% ethanol extract, (B) extract fermented with *S. cerevisiae*, 30°C and 50% (C) extract fermented with *S. cerevisiae*, 37°C and 50%.

Table 9. Efficacy and molecular weight of *D. crassirhizoma*

Compound	chemical formula	molecular weight	
phloroglucinol	Flavaspidic acid AP	C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> O <sub>8</sub>	404
	Flavaspidic acid PB	C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> O <sub>8</sub>	432
	Flavaspidic acid AB	C <sub>22</sub> H <sub>26</sub> O <sub>8</sub>	418
	Flavaspidic acid BB	C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> O <sub>8</sub>	446

## 적 요

화학방부제는 항균활성은 좋지만 많은 부작용이 보고되고 있어 최근에는 인체에 해가 없으며 방부 기능과 자체 효능이 있는 천연방부제의 개발이 활발하다. 또한 천연물의 흡수율을 높이기 위한 방법으로 분자량이 커서 인체에 잘 흡수되지 않아 저분자화를 시키기 위한 방법으로 균주를 이용하여 발효하는 것도 늘어나고 있는 추세이다. 이에 천연방부제가 방부 효과는 지속되어야 하고 첨가했을 때 품질에 손상을 주지 않아야 하며, 향, 색과 성분에 영향을 끼치지 않아야 한다는 요건들을 충족시켜야 한다.

따라서 본 연구는 인체에 해가 없으며 항균활성이 좋은 황금, 단삼, 관중을 선정하였다. 식물은 모두 에탄올로 추출하였고, 발효균주로는 *B. subtilis*, *L. casei*, *S. cerevisiae*와 누룩에서 분리한 *Asp. oryzae*로 액체와 고체발효를 하여 발효 전과 발효 후의 유효성분의 함량을 비교하였다. 항균활성을 알아보기 위해 *C. albicans*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* 세균 3종과 진균은 *E. coli*로 억제력을 탐색하였다. 천연방부제 개발로 사용하기 위해서는 항균활성이 있고 이러한 실험을 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 원산지, 굵기와 용매에 따른 수율은 황금은 중국산이며 굵기는 2,800 $\mu$ m로 50% ethyl alcohol 추출물에서 21.88%, 단삼은 국내산으로 굵기는 2,800 $\mu$ m이며 50% ethyl alcohol 추출물에서 25.62%, 관중은 중국산으로 굵기는 2,800 $\mu$ m, 70% ethyl alcohol 추출물에서 6.50%의 수율을 얻었다.
2. *L. casei*로 1일 액체 발효했을 때 수율은 황금 66.8%, 단삼 84.8%, 관중 73.0%였다. *B. subtilis*로 고체발효한 황금과 단삼은 24.40%, 39.30%, 관중은 *L. casei*로 발효했을 때 11.10%의 수율을 얻었다.
3. 액체발효 후 황금에서 *S. aureus* 균주에 대하여 9mm 정도의 clear zone이 확인되었고, 단삼과 관중 발효에서는 항균력이 확인되지 않았다.
4. 황금을 *L. casei*로 고체발효했을 때 *C. albicans*와 *S. aureus*에서 높은 항균활성을 보였다. 단삼은 *S. cerevisiae*로 고체발효했을 때 *S. aureus*에서 항균활성을 보였다. 관중은 *L. casei*, *S. cerevisiae*로 고체발효했을 때 *E. coli*와 *S. aureus*에서 항균활성이 높게 나타났다. 발효하지 않았을 때보다 발효 후의 항균활성이 매우 높았다.
5. 유효성분의 변화는 고체발효하지 않은 황금에서는 baicalin 101.57, baicalein 28.26, wogonin 5.33mg/g 이었고, *S. cerevisiae*로 고체발효했을 때는 baicalin 94.31, baicalein 30.41, wogonin 3.57mg/g로 baicalein의

함량은 증가된 것으로 확인되었다. 발효하지 않은 단삼에서는 salvanolic acid A가 1.82mg/g 이었으며, *S. cerevisiae*로 고체발효했을 때는 5.70mg/g으로 증가하였다. 관중의 유효성분은 flavaspidic acid AP, flavaspidic acid PB, flavaspidic acid AB, flavaspidic acid BB로 나타났다.

## 참고문헌

1. 국가생물종지식정보시스템 www.nature.go.kr/
2. 김동신. 1998. 식품발효미생물학. 서울:유한문화사.
3. 도동선. 1993. 충치원생 세균에 대한 관중의 항균활성 성분, 충남대학교 대학원, 석사학위.
4. 이호. 2009. 발효 황금 추출물의 항균작용 및 적용, 충남대학교 대학원, 박사학위.
5. 이효정. 2008. Methicillin 에 저항력이 있는 *Staphylococcus aureus*에 대한 관중의 항균활성. 원광대학교대학원 석사학위.
6. 장소용. 2020. 혈관성 치매 설치류 모델에서 산화질소 대사체 함유 마늘발효액, 발효황금 및 홍경천 혼합물이 신경 가스성에 미치는 영향, 원광대학교 대학원 박사학위.
7. 정연옥, 김용문, 정재한. 2019. 야생 약초 도감, 푸른행복.
8. Bao-Qing Wang. 2010. *Salvia miltiorrhiza*: Chemical and pharmacological review of a medicinal plant, Journal of Medicinal Plants Research, vol. 4(25): 2813-2820.
9. Choi EK, Lee JH, Kim YC, Woo HJ, 2008. Inhibitory Effect of *Salvia Miltiorrhiza* on Fibrogenesis in Rat Hepatic Stellate Cells, Korean J. Orient. Int. Med., vol.29(2) : 299-310.
10. Choi HJ, Lee JH, Yun MY, and Lee JS, 2015. Anti-Inflammatory and Whitening Effect of the Lyophilized Powder of Oriental Plant Extracts Fermented with *Streptococcus thermophiles*, J. Soc. Cosmet. Sci. Korea, vol. 41(2): 159-164.
11. Choi WS, Kwon HS, No RH, Choi GP, and Lee HY, 2013. Enhancement of Anti-inflammatory Activities of Fermented *Scutellaria baicalensis* Extracts using *Lactobacillus rhamnosus*, J. Soc. Cosmet. Scientists Korea, vol. 39(4): 303-311.
12. Earnest Oghenesuvwe Erhirhie, Chika Ndubuisi Emeghebo, Emmanuel Emeka Ilodigwe, Daniel Lotanna Ajaghaku, Blessing Ogechukwu Umeokoli, Peter Maduabuchi Eze, Kenneth Gerald Ngwoke,



- and Festus Basden Gerald Chiedu Okoye, 2019. *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott ethanolic leaf extract and fractions exhibited profound anti-inflammatory activity Avicenna J Phytomed, vol. 9(4): 396-409.
13. Han WS, 2004. Isolation of Antimicrobial Compounds from *Salvia miltiorrhiza* Bunge, Korean J. Medicinal Crop Sci. vol.12(3) : 179-182.
  14. Hwang SH. and Park, C. H., 2009. Preservation of Cosmetics by Ethanol Extract of *Scutellaria baicalensis* GEORGE. KSBB Journal, vol. 24(4); 347-352.
  15. Im DY, and Lee KL, 2016. Melanin Production Inhibitory Activity of the *Dendropanax morbifera* Leaf Extract Fermented by *Lactobacillus plantarum*, Korean J. Pharmacogn., vol. 47(1); 18-23.
  16. Jeon JM, Choi SK, Kim UJ, Jang SJ, Cheon JW, and Lee JS, 2012. Antioxidant and Antiaging Effect of Ginseng Berry Extract Fermented by Lactic Acid Bacteria, J. Soc. Cosmet. Sci. Korea, vol. 37(1); 75-81.
  17. Jianglin Zhao, Jingfeng Lou, Yan Mou, Peiqin Li, Jianyong Wu and Ligang Zhou, 2011, Diterpenoid Tanshinones and Phenolic Acids from Cultured Hairy Roots of *Salvia miltiorrhiza* Bunge and Their Antimicrobial Activities, Molecules, vol. 16(3); 2259-2267.
  18. Kang CH, Kim SC, Jeong SC, Han W, Lee SY, Yu SM, Jin HM, and Kim YS, 2016. Physicochemical Characteristics of Fermented *Phragmites communis* Extract and Its Biological Activity, Kor. J. Pharmacogn., vol. 47(3); 273-279.
  19. Kim HJ, Kim SY, Lee YS and Kim YH, 2014. Determination of Baicalin and Baicalein Contents in *Scutellaria baicalensis* by NIRS, Korean J. Plant Res. vol. 27(4): 286-292.
  20. Kim HJ, Lim SW, Choi SW and Yoon CS, 2006. Effect of Methanol Extract of *Dryopteris Crassirhizoma* in Human Oral Cancer Cells, J. Soc. Cosmet. Scientists Korea vol. 32(3): 201-208.
  21. Kim HY, Choi BH, Hwang HJ, Kim H, Lee KM, Hahm DH, Shim IS, Lee HJ, 2004. Effect of the New Diabetic Formula on Streptozotocin-induced Diabetic Rats, Korean J. Oriental Physiology & Pathology in Medicine, vol. 18(5): 1331-1336.
  22. Kwak YS, Kim MJ, Ahn DJ and Lee JC, 2000. Antimicrobial Activity of *Dryopteris rhizoma* against Some Food Spoilage Microorganisms, J. Fd Hy. safety vol. 15(1): 36-40.
  23. Lee JS, Lee KS, and Song BK, 2001, Experimental studies on the effect of Samul - Tang and Samul - Tang Gagambang aqua - acupuncture, J. Oriental Obstet. Gynecol., vol. 14(1); 1-26.
  24. Marbun, Tabita Dameria, Song JY, Lee KH, Kim SY, Kang JH, Lee SM, Choi YM, Cho SB, Bae GS, Chang MB, Kim EJ, 2016. Analysis of Antibacterial, Antioxidant, and *In Vitro* Methane Mitigation Activities of Fermented *Scutellaria baicalensis* Georgi Extract, Korean J. Org. Agric. vol. 24(4): 735-746.
  25. Moon KO, and Cha JH, 2020. Enhancement of Antioxidant and Antibacterial Activities of *Salvia miltiorrhiza* Roots Fermented with *Aspergillus oryzae*, Foods 2020, vol. 9(1); 34.
  26. Na MK, Jang JP, Min BS, Lee SJ, Lee MS, Kim BY, Oh WK, Ahn JS, 2006. Fatty acid synthase inhibitory activity of acylphloroglucinols isolated from *Dryopteris crassirhizoma*, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, vol.16(18); 4738-4742.
  27. Park JH, Lee HS, Mun HC, Kim DH, Seong NS, Jung HG, Bang JK, and Lee HY, 2006. Effect of Ultrasonification Process on Enhancement of Immuno-stimulatory Activity of Ephedra sinica Stapf and *Rubus coreanus* Miq., Korean Journal of Biotechnology and Bioengineering, vol. 19(2); 113-117.
  28. Rehn, D., Groenewegen and D., Schenkenberg, D., 1980. Cosmetic preservatives. Part 1, Journal of the Society of Cosmetic Chemists, vol. Soc; 253-267..
  29. Shigeru Abe, Yuichi Sato, Shigeharu Inoue, Hiroko Ishibashi, Naruyama, Toshio Takizawa, Haruyuki Oshima, Hideyo Yamaguchi, 2003. "Anti-*Candida albicans* Activity of essential Oils Including Lemongrass Oil and its Component", Citral. Jpn J. Med. Myeol., vol. 44: 119-124.
  30. Shim HN, Seong KM, Moon SJ, Lee SH, Yang JH,

- Song BK, 2008. The Effect of the *Salvia miltiorrhiza* on Axon Regeneration Following Central Nervous System Injury, J. Korean Oriental Med., vol.29(2): 47-59.
31. Soni MG, Carabin IG, Burdock GA, 2005. "Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens)", Food Chem. Toxicol., vol.43: 985-1015.
32. Um JN, Min JW, Joo KS, and Kang HC, 2017. Enhancement of Antioxidant and Whitening Effect of Fermented Extracts of *Scutellariae baicalensis*, J. Soc. Cosmet. Sci. Korea vol. 43(3); 201-210.
33. Yang HJ, Han HS, Lee YJ, 2013. Effect of Fermented *Scutellariae Radix* Extract on Production of Inflammatory Mediator in LPS-stimulated Mouse Macrophages, Kor. J. Herbology vol. 28(5); 45-52.
34. Yang YY, Lee GJ, Yoon DH, Yu Tao, Oh JU, Jeong DO, Lee JS, Kim SH, Kim TW, Cho JY, 2013. ERK1 and TBK1-targeted anti-inflammatory activity of an ethanol extract of *Dryopteris crassirhizoma*, Journal of Ethnopharmacology, vol. 145(2); 499-508.

## 감사의 글

본 연구는 2022년도 바이오융합소재 상용화 지원사업 (R&D) 지원에 의하여 이루어진 것임. 이에 감사드립니다.