

## 전통적 탁주증자법으로 처리한 홍삼의 일부 항산화 및 항암효과

예은주<sup>†</sup> · 김수정 · 박창호 · 배만중

대구한의대학교 한방바이오 식품과학과

### Antioxidant and Anticancer Activities of Ginseng Treated with Traditional Rice Wine Steam Process Method

Eun-Ju Ye<sup>†</sup>, Soo-Jung Kim, Chang-Ho Park and Man-Jong Bae

Dept. of Oriental Medicine Biofood Science, Daegu Haany University, Gyeongsan 712-715, Korea

#### Abstract

The aim of this study was to develop the new processing method for ginseng. To investigate the efficacy of the new product (the traditional rice wine steamed-red ginseng: RWS-RGS), antioxidant and anticancer effects of RWS-RGS were examined. The DPPH radical scavenging effect of RWS-RGS extracted with ethanol was increased in dose-dependent manner. Especially, A3 (3<sup>rd</sup> traditional rice wine steamed-red ginsengs) exhibited effective DPPH radical scavenging activity. Nitrite scavenging effect of white ginseng (W.G), red ginseng (R.G) and RWS-RGS (A1~A9: 1<sup>st</sup> traditional rice wine steamed-red ginseng~9<sup>th</sup> traditional rice wine steamed-red ginseng) were  $25.9 \pm 4.4\%$ ,  $12.9 \pm 1.1\%$  and  $26.2 \pm 0.1 \sim 56.1 \pm 0.6\%$  at pH 1.2, respectively. The antitumor effects of W.G, R.G and RWS-RGS (A9) were examined in Hep3B cancer cells. Their growth inhibition against Hep3B cancer cells showed  $19.6 \pm 4.5\%$ ,  $54.5 \pm 6.1\%$ ,  $96.3 \pm 2.4\%$  at 5,000 ppm, respectively. These result suggest that the traditional rice wine steamed ginseng will be useful product with antioxidant and antitumor effect

**Key words:** red ginseng, processing methods, antioxidant, anticancer

#### 서 론

인삼은 식물학적으로 오가과(Araliaceae), 인삼속(*Panax*)에 속하는 식물을 말하며 뿌리를 약용으로 이용한다. 여기서 "Panax"란 어원은 희랍어로 Pan(稔, 汎: all)과 Axos(치료: cure)의 복합어로 만병을 치료한다는 뜻이다(1). 인삼의 주된 효능은 간 보호 및 해독(2), 항피로(3), 항스트레스(4), 면역증진(5,6), 중추신경 흥분작용(7), 항암(8), 항산화(9), 동맥경화 예방(10), 물질대사 및 내분비계, 신경계, 순환기계, 소화기계 등에 약리작용이 있다고 보고되었다. 그 중 인삼의 항암 작용에 관한 연구는 그 동안 여러 연구자들의 연구를 광범위하게 추진되었다. 인삼은 암 발생을 억제하는 항암 작용이 있음이 보고되었고, 인삼에서 암세포 증식억제와 항종양 효과를 나타내는 성분분석, 암에 대한 숙주의 방어력을 증강시키는 효과 및 면역 증강에 관한 많은 결과들이 보고되었다(11-13).

최근 백삼에는 확인되지 않고 홍삼에만 있는 홍삼특이성분인 ginsenoside-Rg<sub>3</sub>는 다른 인삼사포닌보다 혈관확장작용, 혈소판응집억제활성이 강함이 보고되었으며(14-16), ginsenoside-Rg<sub>5</sub>, ginsenoside-Rs<sub>3</sub>, ginsenoside-Rs<sub>4</sub> 등은 항암활성이 강한 것으로 보고되었다(17-19). Kim 등(20)은 수

삼의 열처리 조건에 의한 홍삼 엑스의 수율 및 물리성 변화를 연구하였으며, Park 등(21)은 찌는 것과 삶는 것의 차이에 관한 연구에서 일정 온도에서 가열시간을 달리하여 제조한 각각의 추출물에 대하여 그 색깔과 라디칼 소거활성의 차이를 검토하였다. 그리고 Kim 등(22)은 ginsenoside의 온도 처리에 의한 영향에 관한 연구 결과를 보고하였다.

보통 한약재의 경우 1차 가공공정을 거쳐서 사용되는데 숙지황의 경우 탁주를 이용하여 지황을 증자함에 있어 그 증자 횟수가 증가할수록 숙지황의 특이성분인 5-히드록시메칠-2-푸르알데히드(C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>:126.11, 5-HMF)가 증가함이 보고되었다(23,24). 또한 Lee 등은 증자하는 횟수에 따른 5-HMF의 함량 변화를 특정하여 우수한 품질의 숙지황 제조 방법을 제시하였다(25).

그러나 탁주로 증자한 인삼에 관한 연구나, 증자에 따른 조사포닌의 변화와 갈색도 및 항산화효과 비교에 관한 연구는 전무하였다. 따라서 숙지황의 품질을 높이는 점에 착안하여 본 실험을 시도하였으며, Park 등(26), Lee 등(27)의 숙지황 가공법을 응용하여 인삼의 새로운 가공방법을 개발하고자 일반 인삼 및 홍삼과 인삼을 탁주로 증자한 홍삼의 항산화 및 아질산염 소거능과 인체유래 간암세포주(Hep3B)

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: lion-ye@hanmail.net  
Phone: 82-53-770-2253. Fax: 82-53-762-1263

에 대한 항암효과를 비교해 보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시료제조

수삼(6년근, 금산지역)을 수세하여 50°C의 열풍건조기에 서 24시간 건조하여 1차 건조 과정을 거친 후 사용하였다. 증류수 대신 시중에 유통되는 탁주(6%, 이동주조(주))를 사용하여 1차 건조된 인삼을 고압증기 멸균기(121°C, 15분)를 이용하여 증자하였다. 건조는 45°C에서 48시간 하였다. 증자와 건조 과정을 9회 반복하였고, 찌고 말린 횡수 별로 1회~9회(이하 A1~A9)의 각 과정에서 선별된 홍삼을 시료로 사용하였다. 백삼(6년근, 금산지역(이하 W.G)), 홍삼(6년근, 한국인삼공사(이하 R.G))을 비교 시료로 사용하였다. 찌고 말린 과정을 1회, 3회, 5회, 7회, 9회를 한 단계의 홍삼시료와 일반백삼 및 홍삼은 수분 8% 이하로 건조 후 60 mesh로 분말화하여 사용했다. 물 추출물은 각 시료 분말에 증류수를 10배량을 넣었고, 에탄올 추출물은 각 시료 분말에 60% 에탄올을 10배량을 가하여 환류냉각관을 이용하여 80°C에서 8시간 동안 2회 반복 추출하였다. 추출액은 Whatman No.5로 여과한 후 진공농축기(EYELA, Japan)로 10배 농축시켜 동결건조기(FD5510SPT, ILshin, Korea)를 사용하여 동결 건조한 분말을 시료별 물 추출물, 에탄올 추출물로 사용하였다.

DPPH( $\alpha$ ,  $\alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picryldrazyl)를 이용한 유리 라디칼 소거 효과

산화적 스트레스의 원인이 되는 유리기 소거효과를 확인하기 위하여 유리기인 DPPH 라디칼에 대한 홍삼 에탄올 추출물의 전자공여능(electron-donating ability) 또는 라디칼 소거능(radical-scavenging activity)을 Blois의 방법(28, 29)으로 측정하였다. 각 시료의 에탄올 추출분말을 3차 증류수에 50, 100, 300, 500, 1,000 ppm 농도로 녹여 실험에 사용하였다. 농도별 시료 1 mL에 0.4 mM DPPH 용액 1.6 mL를 가하고, 10초간 vortex mixing 후 37°C에서 30분간 반응시킨 다음 이 반응액을 분광광도계를 사용해서 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 소거능은 517 nm에서 대조구와 처리구의 흡광도차를 대조구구의 흡광도로써 나눈 값을 백분율로 하여 나타내었다. 대조구는 시료 용액 대신 시료를 녹인 용매를 가하여 흡광도를 측정하였다. 실험 측정은 세 번 반복 실험하여 평균값을 사용하였다.

### 아질산염 분해 작용

각 시료의 홍삼 에탄올 추출물의 아질산염 분해 작용은 Kato 등(30-32)의 방법에 따라 측정하였다. 각 시료의 에탄올 추출분말을 3차 증류수에 1,000 ppm 농도로 녹여 실험에 사용하였다. 1 mM의 NaNO<sub>2</sub>용액 1 mL에 시료 1 mL를 첨가하고 여기에 pH 1.2, 3.0, 6.0 buffer를 넣어 최종 부피를 10 mL로 하였다. 그리고 37°C에서 1시간동안 반응시켜 얻은

반응액을 1 mL씩 취하고 여기에 2% 초산용액 5 mL를 첨가한 다음 30% 초산용액으로 용해한 Griess reagent(1% sulfanilic acid : 1% naphthylamine = 1 : 1) 0.4 mL를 가하여 혼합시켜 실온에서 15분간 방치시킨 후 흡수 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 공시험은 Griess 시약 대신 증류수 0.4 mL를 가하여 같은 방법으로 행하였다. 아질산염 소거능은 520 nm에서 대조구와 처리구의 흡광도차를 대조구구의 흡광도로써 나눈 값을 백분율로 하여 나타내었다. 대조구는 시료 용액 대신 시료를 녹인 용매를 가하여 흡광도를 측정하였다. 실험 측정은 세 번 반복 실험하여 평균값을 사용하였다.

### 간암세포(Hep3B) 증식 억제능

본 실험에서 사용 인체유래 간암세포주인 Hep3B(KCLB 58064)는 한국세포주은행에서 분양 받아 사용하였다. 시료는 유리라디칼 소거 효과와 아질산염 분해 작용의 결과 효과가 가장 높게 나온 A9와 W.G, R.G를 사용하였다. 각 시료의 물 추출물 분말과 에탄올 추출분말을 증류수에 각각 2,500 ppm, 5,000 ppm 농도로 만든 후 syringe filter(Advantec, pore size 0.2  $\mu$ m)로 제균 후 사용하였다. 암 세포주 배양에 사용한 DMEM(High glucose, 13.5 g/pkg, Gibco) 배지는 1 L당 Sodium bicarbonate(Sigma, USA) 3.7 g을 첨가하여 pH 7.2~7.4로 맞춘 후 pore size가 0.2  $\mu$ m 인 filter를 이용하여 제균시켜 사용하였다. 10X antibiotic-antimycotic(Gibco)을 1%, FBS(fetal bovine serum, promega, USA) 10%를 첨가하여 사용하였다. 증식 억제율은 cell culture plate (NUNC, 35 mm)에  $5 \times 10^5$  cells를 항온기(37°C, 5% CO<sub>2</sub>)에서 24시간 배양한 후 각 시료 추출물을 최종 농도가 1,000, 2,500, 5,000 ppm이 되도록 첨가하여 24시간 동안 다시 배양시켰다. 배양된 세포는 광학현미경(NICON TMS, Japan)으로 100배 확대하여 관찰하였으며, 0.4% trypan blue로 염색한 후 세포 증식 억제율을 계산하였다.

## 결과 및 고찰

### 전자공여능 측정

인삼을 탁주로 증자하여 증자 횟수에 따른 홍삼의 DPPH 라디칼 소거 효과를 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. 1,000 ppm에서 R.G는  $25.2 \pm 2.7\%$ , W.G는  $42.2 \pm 2.7\%$ , A1~A9는  $48.8 \pm 1.0 \sim 86.4 \pm 4.6\%$ 를 나타내었으며, 특히 증자 횟수가 3회 일 때 항산화도가 뚜렷하게 증가하는 경향을 나타내었다.

인삼갈변물질의 항산화 효과에 대해서는 많은 보고가 있는데, model system 즉, glucose와 glycine을 수용액 중에서 가열해서 생성된 melanoidin 분자 중에는 비교적 안정한 유리기(free radical)가 존재하며, 산화방지제의 항산화능은 이러한 유리기와 항산화능과의 관계가 있다고 하였다(33). 한편 Do 등(34)은 백삼의 처리 온도도 처리시간에 따른 항산화력을 조사한 결과 온도가 높고, 처리시간이 길어질수록

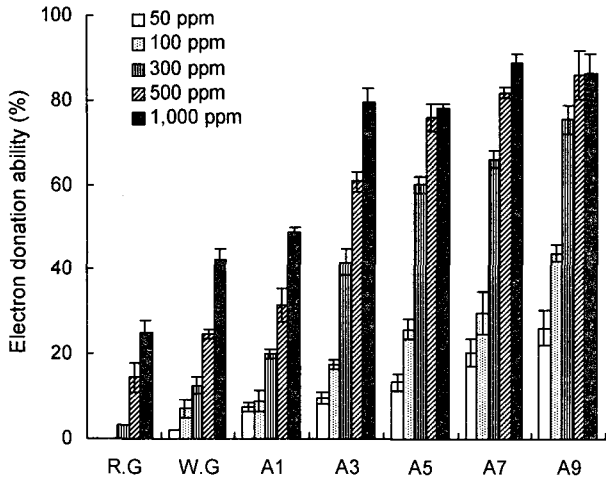


Fig. 1. Electron donating activity of 60% ethanol extracts from various ginsengs.

R.G: Red ginseng, W.G: White ginseng, A1: 1<sup>st</sup> traditional rice wine steamed-red ginseng, A3: 3<sup>rd</sup> traditional rice wine steamed-red ginseng, A5: 5<sup>th</sup> traditional rice wine steamed-red ginseng, A7: 7<sup>th</sup> traditional rice wine steamed-red ginseng, A9: 9<sup>th</sup> traditional rice wine steamed-red ginseng.

Data were presented as means±SD (n=3).

수소공여능이 증가하였다고 보고하였는데, 이 결과는 갈색도의 증가에 따른 항산화도가 증가한 결과와 유사하였다.

아질산염 소거작용

아질산염은 단백질 식품이나 의약품 및 잔류농약 등에 함유되어 있는 2급 및 3급 아민류와 반응하여 발암성 니트로사민을 생성하는 것으로 알려져 있다(35). 각 시료 1,000 ppm에서의 아질산염 소거 유무를 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. pH 1.2에서 W.G는 25.9±4.4%, R.G는 12.9±1.1%, A1~A9에서는 26.2±0.1~56.1±0.6%로 증가 횟수가 많을수록 높은 아질산염 소거능이 증가됨이 관찰되었다. 그러나 pH 3.0에서는 대부분의 시료에서 20% 이하의 낮은 아질산염 소거능을 나타냈으며, pH 6.0에서는 대부분의 시료에서 아질산염 소거능이 거의 나타나지 않았다. Kim 등(36)의 glucose-아미노계 maillard 반응 생성물의 아질산염 소거효과를 조사한 결과, 아질산염 소거효과를 갖는 물질은 melanoidin이라고 보고하였다. 이번 연구에서 증가 횟수가 증가할수록 갈색도가 증가하였는데 이는 증가 횟수가 증가하면서 melanoidin의 생성이 많아져 아질산염 소거능이 증가한 것으로 생각된다.

간암세포(Hep3B)의 형태 및 증식억제 효과

간암세포주 성장에 대한 홍삼 가공법에 따른 억제효과를 측정하기 위하여 효과가 가장 높은 결과를 얻은 A9를 처리하여 간암 세포주에 미치는 효과를 관찰한 결과는 Fig. 3~8과 같다. A9에 있어 W.G, R.G를 비교군으로 관찰해 보았다. W.G, R.G, A9의 물 추출물 2,500 ppm에서는 대조군과 비교해서 세포형태변화 및 세포수의 변화를 관찰할 수 없었다. 물 추출물 5,000 ppm으로 처리한 Fig. 4에서는 W.G의 경우

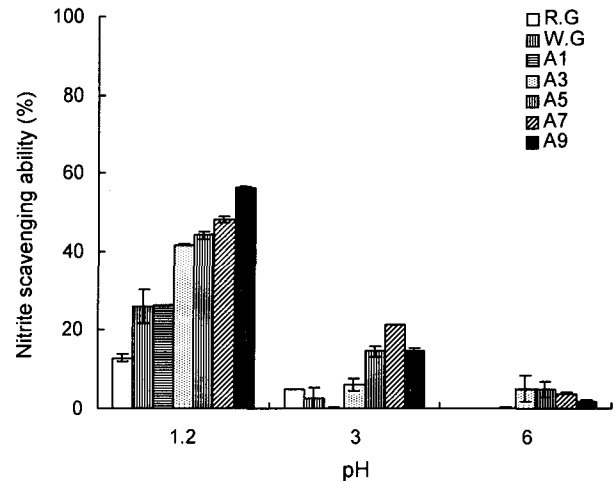


Fig. 2. Nitrite scavenging ability of 60% ethanol extracts from various processed ginsengs at 1,000 ppm.

Samples are the same as Fig. 1.

Data were presented as means±SD (n=3).

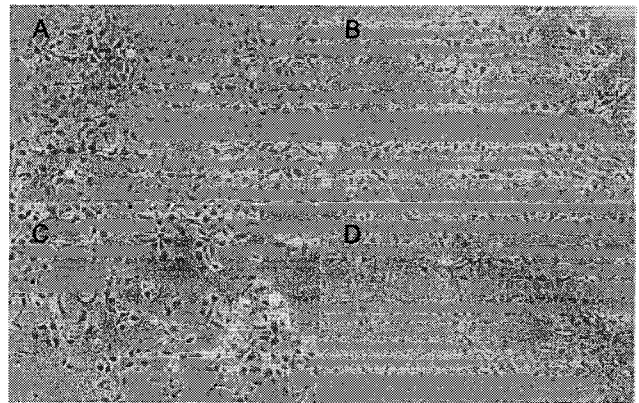
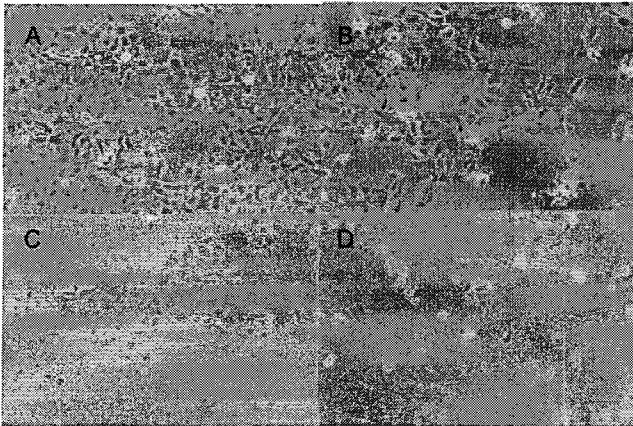


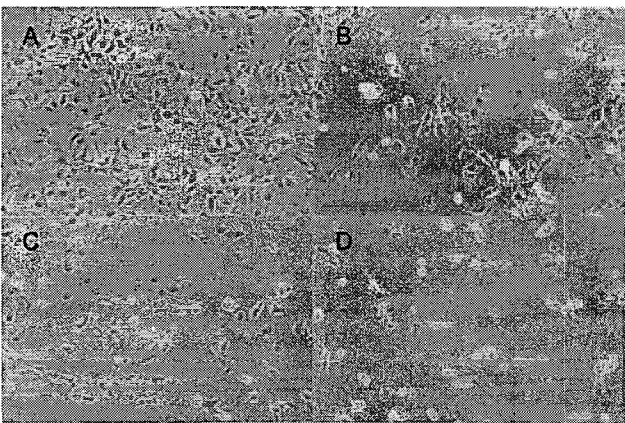
Fig. 3. Morphological changes of the Hep3B cells treated with water extract from processed ginsengs at 2,500 ppm. A: Hep3B control, B: White ginseng, C: Red ginseng, D: A9 (9<sup>th</sup> traditional rice wine steamed-red ginseng).

특이할 만한 변화가 보이지 않았으나, R.G, A9에서는 간암 세포 수 자체가 줄어들고 특히 A9에서 배지위로 부유되는 경향을 띠며 심한 형태 변화가 나타났다. 에탄올 추출물의 경우 2,500 ppm, 5,000 ppm으로 처리하였을 경우 W.G, R.G, A9군 모두 농도 의존적으로 세포의 심한 형태 변화가 있었고, 특히 A9에서 세포 부유현상이 가장 심하게 나타난 것을 관찰할 수 있었다. A9를 고농도 5,000 ppm으로 처리했을 때 거의 모든 세포가 사멸 할 때 나타나는 부유형태가 가장 심한 것으로 나타났다. 대체적으로 W.G, R.G, A9군 모두 에탄올 추출물이 물 추출물보다 Hep3B cell의 형태 변화에 더 많은 영향을 준 것으로 관찰되었다. W.G, R.G, A9군을 비교했을 때 A9가 Hep3B cell의 형태 변화에 가장 많은 영향을 주는 결과를 얻을 수 있었다.

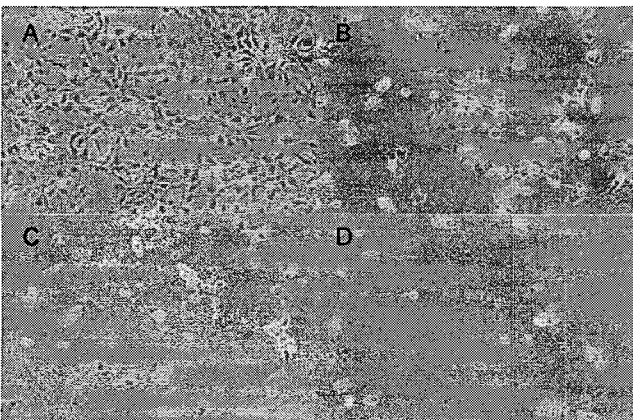
간암세포의 형태변화를 현미경상에서 관찰 후 각 시료의 항암효과를 알아보기 위해 증식 억제율을 계산했다. 5,000



**Fig. 4. Morphological changes of the Hep3B cells treated with water extract from processed ginsengs at 5,000 ppm.** A: Hep3B control, B: White ginseng, C: Red ginseng, D: A9 (9<sup>th</sup> traditional rice wine steamed-red ginseng).



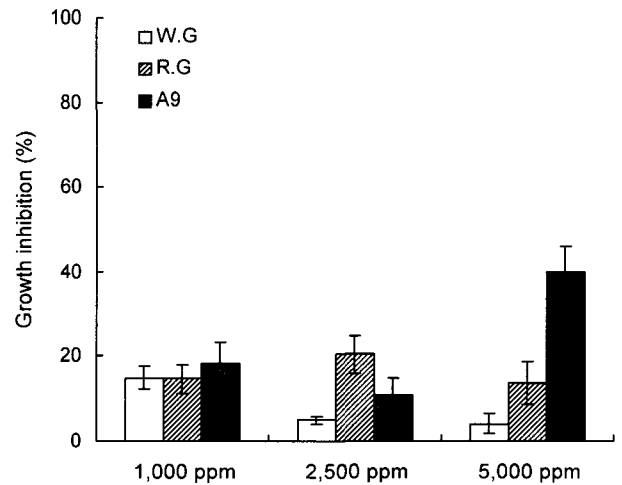
**Fig. 5. Morphological changes of the Hep3B cells treated with 60% ethanol extract from processed ginsengs at 2,500 ppm.** A: Hep3B control, B: White ginseng, C: Red ginseng, D: A9 (9<sup>th</sup> traditional rice wine steamed-red ginseng).



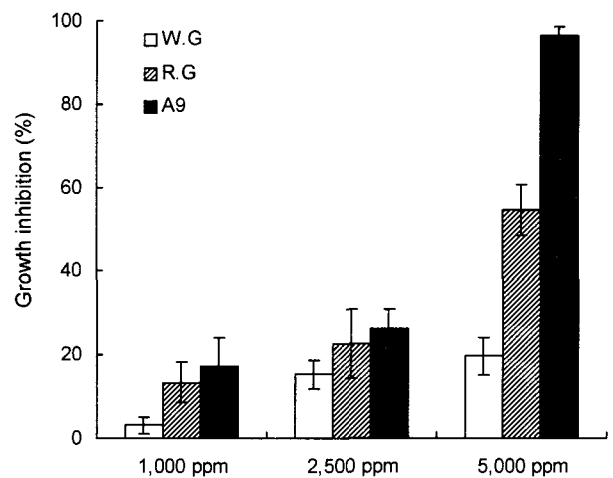
**Fig. 6. Morphological changes of the Hep3B cells treated with 60% ethanol extract from processed ginsengs at 5,000 ppm.** A: Hep3B control, B: White ginseng, C: Red ginseng, D: A9 (9<sup>th</sup> traditional rice wine steamed-red ginseng).

ppm의 고농도에서 물 추출물을 처리한 것보다 에탄올 추출물을 처리한 군에서 암세포 증식 억제율이 높은 것으로 나타났다. Fig. 8에서 보는 것과 같이 각 시료의 에탄올 추출물을 5,000 ppm으로 처리했을 때 W.G는 19.6±4.5%. R.G는 54.5±6.12%, A9는 96.3±2.4%로 세포 증식억제 효과가 가장 높음을 확인할 수 있었다.

W.G의 경우 물 추출물과 에탄올 추출물 모두 세포증식 억제율이 미미하였고, R.G는 에탄올 추출물 5,000 ppm에서 뚜렷한 증식억제 효과를 보였다. A9를 5,000 ppm으로 처리했을 때 에탄올 추출물이 물 추출물에 비하여 56.3% 세포 증식 억제 효과가 더 높았다. 각 시료 5,000 ppm에서 A9가 R.G보다 41.8%, W.G보다 76.7% 더 높은 증식 억제 효과가 관찰되었다.



**Fig. 7. Growth inhibition effect on cell survival of various ginseng water extracts on Hep3B cell.** W.G: White ginseng, R.G: Red ginseng, A9: 9<sup>th</sup> traditional rice wine steamed-red ginseng. Data were presented as means±SD (n=3).



**Fig. 8. Growth inhibition effect on cell survival of various ginseng 60% ethanol extracts on Hep3B cell.** W.G: White ginseng, R.G: Red ginseng, A9: 9<sup>th</sup> traditional rice wine steamed-red ginseng. Data were presented as means±SD (n=3).

이러한 결과는 Choi(37)의 연구에서 귀전우(*Euonymus alatus*(Thunb.) Sied)의 추출물을 Hep3B cell에 10,000 ppm 농도로 처리했을 때 25.7%의 세포독성을 나타낸 것보다 강함을 알 수 있으며, A9가 Hep3B 인체 간암 세포주에 대해서 백삼과 홍삼의 추출물보다 증식억제 효과가 있음을 나타낸다.

이상의 연구를 통해서 볼 때 탁주를 이용하여 증자한 홍삼을 일반 홍삼과 비교했을 때 특유의 풍미를 관찰할 수 있었으며 앞으로 이 점을 객관적인 관능검사를 통한 과학적인 자료가 필요할 것으로 생각된다. 또한 탁주의 알콜 성분이 인삼을 찌고 말리는 과정을 반복했을 때 미치는 영향을 보다 구체적인 과학적 규명이 필요하며 이러한 결과를 응용하여 인삼제품을 개발한다면 고부가가치의 인삼제품이 생산될 가능성이 있을 것으로 기대된다.

요 약

본 연구는 인삼의 가공방법을 개발하고 제품을 다양화하기 위해 우리나라의 전통주인 탁주로 인삼을 증자한 후 홍삼의 항산화성 및 아질산염 소거능, 항암효과를 비교 연구하였다. A1~A9시료의 60% 에탄올 추출물에서의 DPPH 라디칼 소거효과는 1,000 ppm에서 인삼의 증자 횟수와 비례하여 증가하였고, 특히 A3에서 79.5±3.3%로 라디칼 소거율이 뚜렷하게 증가함을 보였다. 아질산염 소거능은 pH 1.2에서 W.G는 25.9±4.4%, R.G는 12.9±1.1%, A1~A9는 26.2±0.1~56.1±0.6%로 증자 횟수가 증가할수록 높은 아질산염 소거능을 나타냈다. 인체유래 간암세포(Hep3B)에서의 항암효과로 실험에서 W.G는 에탄올 추출물 5,000 ppm으로 처리했을 때, 19.6±4.5%로 나타나 증식 억제율이 미미하였으나, R.G는 에탄올 추출물 5,000 ppm으로 처리했을 때 54.5±6.1%를 나타냈으며, A9에서는 96.3±2.4%로 높은 항암효과가 관찰되었다. 이상의 결과로 볼 때 탁주를 이용한 증자홍삼이 일반 홍삼 및 백삼보다 본 실험의 항산화 및 항암 system(in vitro)을 이용하여 실험한 결과 더 높은 항암 및 항산화 효과를 나타내었다.

문 헌

1. Hu SY. 1976. The genus *Panax* (Ginseng) in Chinese medicine. *Economic Botany* 30: 11-28.
2. Kwak HS, Joo CN. 1980. Effect of ginseng saponin fraction on ethanol metabolism in rat liver. *Korean J Ginseng Sci* 12: 76-81.
3. Takagi K. 1974. Pharmacological studies in ginseng. Proc. 1st Intl. Ginseng Symp. Seoul, Korea. p 119-127.
4. Kim ND, Han BH, Lee EB, Kong JY. 1979. Studies on ginseng on antistress effects. *Korean J Pharmacog* 10: 61-65.
5. Kim MJ, Jung NP. 1987. The effect of ginseng saponin fractions on mouse immune system. *Korean J Ginseng Sci* 11: 130-135.
6. Park HW, Kim SC, Jung NP. 1988. The effect of ginseng saponin factions on humoral immunity of mouse. *Korean*

- J Ginseng Sci* 12: 63-68.
7. Saito H, Lee YM. 1978. Pharmacological properties of panax ginseng root. Proc. 2nd Intl. Ginseng Symp. Seoul, Korea. p 109-114.
8. Park MG. 1996. Korean ginseng. Korea ginseng and tobacco research institute, Daejeon, Korea.
9. Han BH, Park MW, Woo LK, Woo WS, Han YN. 1978. Studies on the antioxidant components of Korean ginseng. Proc. 2nd Intl. Ginseng Symp., Seoul, Korea. p 13-15.
10. Yammamoto M, Hyashi Y, Kumagai A. 1980. Lipid metabolism and several saponin principles. Proc. 3rd Intl. Ginseng Symp., Seoul, Korea. p 115-116.
11. Shin HR. 2000. The cancer-preventive potential of *Panax ginseng* a review of human and experimental evidence. *Cancer Causes and Control* 11: 565-576.
12. Yun TK. 1996. Experimental and epidemiological evidence of the cancer-preventive effects of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Nutr Rev* 54: S71-81.
13. Chen X, Liu H, Lei X, Fu Z, Li Y, Tao L, Han R. 1998. Cancer chemopreventive and therapeutic activities of red ginseng. *J Ethnopharmacol* 60: 71-78.
14. Kim ND, Kang SY, Park JH, Schini-Kerth VB. 1999. Ginsenoside Rg<sub>3</sub> mediates endothelium-dependent relation in response to ginsenosides in rat aorta: role of K<sup>+</sup> channels. *Eur J Pharmacology* 367: 41-49.
15. Kim ND, Kang SY, Kim MJ, Park JH, Schini-Kerth VB. 1999. The ginsenoside Rg<sub>3</sub> evokes endothelium-independent relaxation in rat aortic rings: role of K<sup>+</sup> channels. *Eur J Pharmacology* 367: 51-57.
16. Lee SR, Park JH, Choi KJ, Kim ND. 1997. Inhibitory effects of ginsenoside Rg<sub>3</sub> on platelet aggregation and its mechanism of action. *Korean J Ginseng Sci* 21: 132-140.
17. Lee KY, Lee YH, Kim SI, Park JH, Lee SK. 1997. Ginsenoside Rg<sub>5</sub> suppresses cyclin E-dependent protein kinase activity via up-regulating p21 cip/WAF and down-regulating cyclin E in sk-Hep-1 cells. *Anticancer Research* 17: 1067-1072.
18. Kim SE, Lee YH, Park JH, Lee SK. 1999. Ginsenoside Rs<sub>4</sub>, a new type of ginseng saponin concurrently induces apoptosis and selectively elevates protein levels of p53 and p21 WAF1 in human hepatoma sk-Hep-1 cells. *Eur J Cancer* 35: 507-511.
19. Kim SE, Lee YH, Park JH, Lee SK. 1999. Ginsenoside Rs<sub>3</sub>, a new diol-type ginseng saponin, selectively elevates protein levels of p53 and p21 WAF1 leading to introduction of apoptosis sk-Hep-1 cells. *Anticancer Research* 19: 487-492.
20. Kim CS, Choi KJ, Yang JW, Kim SB. 2000. Effect of preheating condition of raw ginseng on the yeild and physical property of Korean red ginseng extract. *Korean J Medicinal Crop Sci* 8: 146-150.
21. Park SY, Jung I, Kang TL, Park MK. 2001. Difference between steaming and decocting ginseng. *J Ginseng Res* 25: 37-40.
22. Kim WY, Kim JM, Han SB, Lee SK, Kim ND, Park MK, Kim CK, Park JH. 2000. Steaming of ginseng at high temperature enhances biological activity. *J Nat Prod* 63: 1702-1704.
23. Ro JS, Hwang SY, Hwang BH. 2001. Quantitative determination of 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde in the *Rehmanniae Radix Preparata* samples at various processing stages. *Kor J Pharmacogn* 32: 116-120.
24. Lee KS, Ze KR, Hong SY. 1990. Studies on the extraction quantity of the specific components of crude drug preparation based on prescription. *National Institute of Health*

- 27: 326-331.
26. Park NK, Kim SL, Hur HS, Park CH. 2002. Development of *R. Radix preparata* with new variety "Jiwhang 1". *Kor J Intl Agri* 14: 34-39.
  27. Lee JH, Koh JA, Hwang EY. 2002. Quantitative determination of 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde from *Rehmanniae Radix Preparata* according to various processings. *Kor J Herbology* 17: 145-149.
  28. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1198.
  29. Choi JH, Oh SK. 1983. Studies on the anti-aging action of Korean ginseng. *Korean J Food Nutr* 12: 323-335.
  30. Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric Biol Chem* 51: 1333-1338.
  31. Kim DS, Ahn BW, Teum DM, Lee DH, Kim SB, Park YH. 1987. Degradation of carcinogenic nitrosamine formation factor by natural food components: Nitrite-scavenging effects of vegetable extracts. *Bull Korean Fish Soc* 20: 463-468.
  32. Kim DC, Chang SM, Choi J. 1995. Variation of effective constituents contents, physical properties and color intensities of extracts from white ginseng roots of different cultivating years. *Agric Chem Biotechnol* 38: 67-71.
  33. 中林敏朗, 木村進, 加藤博通. 1967. 食品の變色とその化學. 光琳書院, 東京. p 223-289.
  34. Do JH, Kim KH, Jang JG, Yang JW, Lee KS. 1989. Changes in color intensity and components during browning reaction of white ginseng water extract. *Korean J Food Sci Technol* 21: 480-485.
  35. Shank RC. 1975. Toxicology of N-nitro compounds. *Toxicol Appl Pharmacol* 31: 361-368.
  36. Kim SB, Lee DH, Yeum DJ, Park JW, Park YH. 1988. Nitrite scavenging effect of maillard reaction products derived from glucose-amino acids. *Korean J Food Sci Technol* 20: 453-458.
  37. Choi DY. 1999. Effect of growth inhibition in Hep3B cell and HeLa cell by treatment of *Euonymus alatus* (Thunb.) Sieb extracts. *Dongguk J Institute of Oriental Medicine* 7: 155-162.

(2004년 12월 22일 접수; 2005년 5월 30일 채택)