

Aeration 공정 처리가 홍삼분말 추출물의 프로사포게닌의 함량 변화와 항산화 활성에 미치는 영향

류희정¹ · 정철종¹ · 서정균¹ · 이 선¹ · 유영은¹ · 백경연^{1,*}
¹(주)옥천당 기업부설연구소

Effect of aeration process on changes of prosapogenin content and antioxidant activity of red ginseng powder extract

Hee-Jeong Ryu¹, Chul-Jong Jung¹, Jeong-Gyun Seo¹, Xian Li¹, Yeong-Eun Yu¹, and Gyung-Yun Beik^{1,*}

¹Department of Okchundang Research institute

Abstract The effect of aeration process in causing changes in the prosapogenin content and the antioxidant activity of red ginseng powder extracts was investigated. With respect to the color change of the extracts, the L-value and b-value decreased significantly with the lapse of extraction time both with and without the aeration process. The a-value increased with the lapse of the extraction time in the non-aeration process but decreased in the aeration process. This result suggests that when the aeration process was performed, the lightness, yellowness, and redness decreased with the lapse of the extraction time, resulting in a darker color. The total polyphenolic and total flavonoid contents were the highest at 0.84 and 0.96 mg Gallic Acid Equivalent (GAE)/mL, 21.77 and 21.93 mg GAE/mL at 24 h and 36 h, respectively for the aerated red ginseng powder extracts. The DPPH, ABTS, H₂O₂ scavenging activity, and reducing power were measured to confirm the antioxidant effects of red ginseng powder extracts after the aeration process. Thus, the antioxidant activity was increased in the aerated red ginseng powder extracts. In addition, when comparing the contents of Rb1, Rg1, and Rg3, the content of Rg3 was significantly different, and it was confirmed that a large amount was produced in the aerated red ginseng extracts. These results indicate that the red ginseng extracts subjected to the aeration process are superior than the ones processed by the non-aeration process.

Keywords: red ginseng, aeration, prosapogenin, ginsenoside, antioxidant

서 론

인삼은 오랜 세월 동안 사용되어진 약용식물로서 이를 100°C에서 증숙하여 건조시킨 홍삼은 증숙 과정으로 인해 진세노사이드가 화학적 구조 변화를 일으켜 백삼보다 약리활성이 높은 것으로 보고되었다(Kim 등, 2000; Kong 등, 2009; Lee 등, 2000; Park 등, 2012; Takaku 등, 1990).

홍삼은 기본적으로 증삼 과정에서 산소와 열 그리고 유기산 성분을 촉매로 하여 sapogenin의 글라이코시드 결합을 가수분해시키고 수산기의 에피머화에 의하여 ginsenoside Rg2, Rg3, Rh1, Rh2 등 홍삼 특유 성분이 얻어진다(Kitagawa 등, 1983; Shin 등, 2010). 이러한 홍삼의 활성 성분은 탁월한 약리 및 효능을 기대할 수 있는 것으로 알려져 혈압조절, 패혈성 쇼크 예방, 면역조절작용, 항암, 항치매 등에 대한 많은 연구가 이루어지고 있다(Keum 등, 2000; Kim 등, 2009; Park 등, 2012). Ginsenoside에 대한 다양한 효능이 밝혀짐에 따라 ginsenoside의 추출 수율을 증

가시키기 위한 연구가 주목되어져 왔으며, ginsenoside를 효율적으로 추출하기 위한 방법으로 홍삼의 입자크기에 따른 추출, 추출횟수, 추출온도, 초고압추출 등 다양한 추출방법에 따른 사포닌 함량 변화에 대해 보고되고 있다(Kim 등, 2013; Kong 등, 2009; Li 등, 2009).

홍삼 추출물에서 에탄올을 추출용매로 사용하였을 경우에 농도가 증가할수록 사포닌 함량은 증가하나, 엑기스 제조 수율은 감소하고, 제조경비 및 에탄올의 잔류로 인한 안전성 문제가 발생하고 또한 추출물의 향미가 좋지 않은 단점이 있고 흙냄새 등이취미가 강하여 구수한 향미가 약화된다고(Kim 등, 1998). 반면에, 열수추출은 안전한 추출 용매로 수율이 높고, 고온에서 장시간 추출 시 총 당 함량과 당도 증가로 맛을 증진시킴으로써 홍삼 추출액 및 엑기스 제조에 보편적으로 이용되고 있다. 그러나 고온 장시간 추출로 인한 생산성의 저하, 사포닌 함량의 감소 등의 문제를 내포하고 있어 이를 해결하기 위해 효과적이며 경제적이고 안전한 추출 방법에 대한 연구의 필요성이 요구되고 있다(Lee 등, 2008; Li 등, 2009).

홍삼의 유효 성분 추출 방법에 대한 연구로는 팽화와 압출성형으로 전분의 팽윤, 분자간 결합 및 조직화, 효소의 불활성화, 조직 팽창 및 단백질 변성, 수분 제거 및 다공성 구조 유도 등의 변화를 이용하여 홍삼의 특유성분인 Rg3, Rh1, Rh2 등의 ginsenoside의 전환시키는 연구(Jeong, 2005)와 산 처리를 통해 Rg3의 함량을 증가시키는 방법(Ko, 2005)이 소개되었으며, 열처리 공

*Corresponding author: Gyung-Yun Beik, Okchundang Research institute, Daegu 41059, Korea
E-mail : backbg@hanmail.net
Tel: +82-53-950-0025
Fax: +82-53-965-9551
Received September 30, 2019; revised November 15, 2019;
accepted November 18, 2019

정에서는 고온처리로 인해 탄화되는 경우가 발생하고 산 처리 공정을 거치면 최종산물의 식초 맛을 완전히 제거하기가 불가능하다는 문제점이 제기되고 있다(In 등 2006; Kwon, 2006). 경제적으로 ginsenoside 함량을 강화시킬 수 있는 방법으로 오존을 이용한 공정(Jeong 등, 2012), 열이나 압력과 같은 물리적인 방법(Kwon 등, 2001)과 효소를 이용한 생화학적 방법(Hasegawa 등, 1996; Hasegawa 등, 1997) 등에 의해서 고농도 prosapogenin 제제가 현재 개발되고 있기는 하나 거의 전무한 실정이다. 본 연구에서 실행한 aeration process는 산소의 산화력을 이용하여 prosapogenin의 함량을 증진시키는 것을 목적으로 하였으며 기능성이 차별화된 홍삼 제품을 개발하고자 prosapogenin 함량의 변화와 유효성분을 측정하고 항산화활성에 대한 생리활성을 평가하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용된 홍삼분말(6년근)은 영천에 소재하고 있는 (주)옥천당 영천지점에서 구입하여 사용하였다. 분석용 시약 및 유기용매는 Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였고 항산화 실험에 사용되는 표준품은 L-ascorbic acid (Bio Basic Inc., Ontario, Canada)와 gallic acid (Sigma-Aldrich Co.)를 이용하였으며, high performance liquid chromatography (Alliance e2695, Waters Co., Milford, MA, USA) 분석을 위한 ginsenoside 표준시약은 ginsenoside Rg1 (99.55%, biopurify phytochemicals Ltd., Chengdu, China), ginsenoside Rb1 (99.26%), ginsenoside Rg3 (99.87%)이며, acetonitrile과 methanol (J.T.Baker Philipsburg, NJ, USA)은 HPLC급으로 사용하였다.

홍삼 추출액 제조

홍삼 분말 100 g 당 15 배량(w/v)의 증류수를 첨가하여 추출온도를 80°C로 유지한 환류냉각추출장치를 사용하였고, 환류냉각추출에 미세기포 발생기를 설치하여 10, 12, 24, 36시간 동안 산소를 공급하여 홍삼분말이 혼합된 추출액을 제조하였다. 미세기포 발생장치는 가압된 순환수를 보내는 가압펌프, 공기를 용해하는 가압탱크, 공기원이 공급되는 컴프레서, 가압용해수를 대기 개방하는 감압밸브로 구성하였으며, 산소 70-90% (v/v) 포함하는 기체로 생성한 미세기포를 2-5 Bar 압력으로 분사시켜 공급하였다. 각 시간별로 홍삼 추출액을 채취하였으며, 시료는 냉각한 후 저온저장고에 보관하면서 항산화 효능 및 성분분석에 사용하였다.

색차분석

홍삼분말 추출액의 색 변화를 살펴보기 위하여 색차계(CR200, Konica minolta Co., Tokyo, Japan)로 측정하여 Hunter system의 명도를 나타내는 L (lightness) 값, 적색도의 정도를 나타내는 a (redness) 값, 황색도의 정도를 나타내는 b (yellowness) 값으로 나타내었다(Hong과 Oh, 1996). 이때 사용한 표준백판은 L=90.35, a=0.4, b=3.5였다. 색차는 ΔE 값으로 환산하여 나타내었다. 모든 시료는 5회 이상 반복 측정하였고 ΔE 값은 다음 식으로부터 산출하였다(Jeong과 Sim, 2006).

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Dewanto 등(2002)법을 응용하여 확인하였

고 10, 12, 24, 36시간 동안 aeration 공정을 처리한 홍삼 추출액을 증류수에 희석 후, 희석한 샘플을 60 μ L씩 96 well-plate에 분주하였다. 2배 희석한 Folin-Ciocalteu reagent 60 μ L을 첨가하고 3분간 방치한 후 10% sodium carbonate 60 μ L을 넣고 1시간 반응시켜 microplate spectro photometer (EnSpire 2300, Perkin Elmer Co., Waltham, MA, USA)를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 Nieva Moreno 등(2000)의 방법에 따라 시료를 80% ethanol을 이용하여 희석 후 100 μ L를 80% ethanol 860 μ L가 담긴 micro-tube에 첨가하여 혼합하였다. 다음에 10% aluminium nitrate와 1 M potassium acetate 20 μ L 씩 분주하여 실온에서 40분 방치하였고 96 well-plate에 200 μ L를 분주 후, microplate spectrophotometer를 이용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 두 가지 측정법은 gallic acid로 표준 검량 곡선을 작성하여 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

DPPH 라디칼 소거활성 측정

DPPH 라디칼 소거활성은 Ham 등(2015)의 방법을 변형하여 DPPH에 대한 환원력을 측정한 것으로 시료를 200 μ L를 micro-tube에 분주 후 methanol에 녹인 0.2 mM DPPH 용액 800 μ L를 시료가 첨가된 tube에 넣고 실온에 10분간 방치하였다. 이후 96 well-plate에 100 μ L 분주하고 microplate spectrophotometer를 이용하여 517 nm에서 흡광도로 측정하였다. 이때 활성비교를 위한 양성대조군으로는 1% L-ascorbic acid를 사용하였다.

DPPH radical scavenging activity (%)

$$= \{1 - (\text{sample absorbance} / \text{control absorbance})\} \times 100$$

ABTS 라디칼 소거활성 측정

ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) 라디칼 소거활성 측정은 Dudonne 등(2009)의 방법을 변형하여 측정하였다. 최종 농도가 7 mM인 ABTS와 140 mM potassium persulfate를 각각 혼합한 후 실온인 암소에서 12-16시간 동안 방치하여 라디칼을 형성시킨 후 ABTS 용액의 농도는 사용하기 직전에 734 nm에서 흡광도 값이 0.70±0.02가 되도록 50% EtOH로 희석하였다. 희석된 ABTS용액 100 μ L에 시료 100 μ L를 가하여 7분 동안 실온에 방치한 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였고 이때 활성비교를 위한 양성대조군으로 1% L-ascorbic acid를 사용하였다.

ABTS radical scavenging activity (%)

$$= \{1 - (\text{sample absorbance} / \text{control absorbance})\} \times 100$$

Hydrogen peroxide (H₂O₂) 소거활성 측정

H₂O₂ 소거활성 측정은 Yu 등(2017)의 방법에 따라 증류수에 농도별로 희석한 시료 20 μ L, PBS 100 μ L, 1 mM H₂O₂ 20 μ L를 96 well plate에 가한 후 37°C incubator에서 5분간 반응시켰다. 이후 1.25 mM ABTS 30 μ L와 1 Unit/mL peroxidase 30 μ L를 가하고 37°C에서 10분간 반응시킨 후, microplate spectrophotometer를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 활성비교를 위한 양성대조군으로 1% L-ascorbic acid를 사용하였다.

Hydrogen peroxide scavenging activity (%)

$$= \{1 - (\text{sample absorbance} / \text{control absorbance})\} \times 100$$

환원력 측정

Reducing power는 Oyaizu(1986)의 방법을 변형하여 측정하였다.

Table 1. Operating condition of HPLC for ginsenosides analysis

Parameter	Condition		
	Time (min)	Water (%)	Acetonitrile (%)
Column	SunFire C ₁₈ column (4.6×250 mm, 5 μm)		
Mobile phase	0	80	20
	5	80	20
	20	78	22
	30	72	28
	32	68	32
	45	68	32
	50	50	50
	60	50	50
	65	80	20
	75	80	20
Column flow rate	1.0 mL/min		
Injection volume	10 μL		
Column temperature	25°C		
UV wavelength	203 nm		

시료 1 mL에 200 mM sodium phosphate buffer (pH 6.6) 250 μL, 1% potassium ferricyanide 250 μL를 각각 혼합하여 50°C에서 20분 동안 반응시킨 후 10% trichloroacetic acid 250 μL를 가하였다. 위 반응액을 3,000 rpm에서 10분 동안 원심분리하여 상층액 500 μL에 증류수 500 μL, 1% ferric chloride 100 μL를 가하여 혼합한 반응액의 흡광도 값을 700 nm에서 측정하였다. 이때 활성비교를 위한 양성대조군으로 1% L-ascorbic acid를 이용하였다.

진세노사이드 조성 분석

홍삼 추출액을 70% methanol로 희석하여 membrane syringe filter (DOUBLE 0.45 m, Chromdisc Co., Daegu, Korea)로 여과하였고, 10 μL 주입하여 HPLC로 분석하였다. 분석에 사용한 컬럼은 SunFire C₁₈ column (4.6×250 mm, 5 μm)이었고, 컬럼 온도는 25°C, 유량은 1.0 mL/min이었다. 이동상은 water와 acetonitrile로 농도구배를 주어 설정하였다. UV detector를 이용하여 203 nm

에서 ginsenoside Rg1, Rb1, Rg3를 확인하였으며, 분석결과의 데이터처리는 Empower 3 (Waters Co.) 소프트웨어를 사용하였다 (Table 1).

통계분석

실험결과는 SPSS 17.0 (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software를 이용하여 분산분석을 실시하였으며, 평균과 표준오차(mean±SE)로 나타내었다. 또한 그룹 간의 유의성 검증은 Duncan's multiple range test로 $p < 0.05$ 수준에서 실시하였다.

결과 및 고찰

Aeration 처리에 따른 홍삼 추출액의 색상변화

산화된 지질과 단백질 및 인지질에 함유된 아민기간의 반응에 의해 생성되는 갈변 물질의 중간 생성물은 melanoidin을 형성하여 갈색을 띤다. 이러한 갈변 물질은 생리기능적 특성을 띤다고 알려져 있어 aeration 처리 공정에 따른 홍삼 추출액의 색상을 분석하고 추출 시간에 따른 산화력 및 갈색화 반응의 변화를 확인하고자 하였다(Lee 등, 1999). Hunter's value인 L, a 및 b 값은 Table 2와 같은 결과를 얻었다.

Aeration 공정을 거친 홍삼추출액의 L값은 추출시간이 경과함에 따라 38.73±0.02, 38.65±0.05, 35.14±0.02, 34.02±0.09으로 유의적으로 감소되었으며, b값 또한 6.48±0.02, 5.63±0.11, 2.62±0.02, 1.84±0.02로 나타났으며, a값 또한 동일한 경향으로 공정시간이 경과함에 따라서 2.42±0.02, 2.47±0.01, 1.86±0.02, 1.72±0.02으로 감소됨을 확인하였다.

이에 반하여 non-aeration의 추출액에서 L값은 추출 시간이 경과할수록 38.48±0.03, 37.77±0.19, 37.17±0.03, 36.30±0.02으로 감소하였으며, b값 또한 7.18±0.04, 6.31±0.03, 5.94±0.09, 5.61±0.02으로 유의적으로 감소하였으며, a값은 오히려 2.10±0.04, 2.75±0.01, 3.07±0.02, 3.04±0.01으로 증가함을 알 수 있었다. 특히 aeration 공정 36시간 홍삼추출액에서 명도와 황색도가 가장 낮은 것으로 확인되었다. 또한 적색도를 나타내는 a값의 경우, non-aeration 처리 추출액은 공정시간이 경과함에 따라 수치가 높아졌으나, aeration 공정을 거친 추출액은 유의적으로 낮은 값을 보였다. 이와 같은

Table 2. Hunter's color value of red ginseng powder extracts processed with aeration

Treatment	Time (h)	Hunter's color values			Color difference (ΔE) ⁷⁾
		L ¹⁾	a ²⁾	b ³⁾	
Non-aeration extracts ⁵⁾	10	38.48±0.03 ^{b4)}	2.10±0.04 ^e	7.18±0.04 ^a	51.97±0.03 ^f
	12	37.77±0.19 ^c	2.75±0.01 ^b	6.31±0.03 ^c	52.71±0.19 ^e
	24	37.17±0.03 ^d	3.07±0.02 ^a	5.94±0.09 ^d	53.27±0.01 ^d
	36	36.30±0.02 ^e	3.04±0.01 ^a	5.61±0.02 ^e	54.16±0.03 ^c
Aeration extracts ⁶⁾	10	38.73±0.02 ^a	2.42±0.02 ^d	6.48±0.02 ^b	51.75±0.02 ^g
	12	38.65±0.05 ^a	2.47±0.01 ^c	5.63±0.11 ^e	51.80±0.05 ^{fg}
	24	35.14±0.02 ^f	1.86±0.02 ^f	2.62±0.02 ^f	55.24±0.02 ^b
	36	34.02±0.09 ^g	1.72±0.02 ^g	1.84±0.02 ^g	56.32±0.08 ^a

¹⁾Degree of whiteness (white +100 ↔ 0 black)

²⁾Degree of redness (red +100 ↔ -80 green)

³⁾Degree of yellowness (yellow +70 ↔ -80 blue)

⁴⁾Each value is mean±SE (n≥3) and different superscripts (a-g) in the same column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

⁵⁾Red ginseng extracts processed with aeration

⁶⁾Red ginseng extracts processed without aeration

⁷⁾ $\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$

Table 3. Total polyphenol and total flavonoid contents of red ginseng powder extracts processed with aeration

Treatment	Time (h)	Total phenolic compounds	
		Total polyphenol (mg GAE ¹⁾ /mL)	Total flavonoid (mg GAE/mL)
Non-aeration extracts ³⁾	10	0.62±0.03 ^{d2)}	14.19±0.22 ^c
	12	0.67±0.03 ^d	16.21±0.86 ^{bc}
	24	0.72±0.04 ^{cd}	21.39±0.32 ^a
	36	0.79±0.05 ^{bc}	19.49±2.61 ^{ab}
Aeration extracts ⁴⁾	10	0.62±0.01 ^d	17.44±0.30 ^{bc}
	12	0.70±0.03 ^{cd}	17.62±0.20 ^{bc}
	24	0.84±0.02 ^b	21.77±1.32 ^a
	36	0.96±0.03 ^a	21.93±0.50 ^a

¹⁾Gallic acid equivalent²⁾Each value is mean±SE (n≥3) and different superscripts (a-d) in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test³⁾Red ginseng powder extracts processed with aeration⁴⁾Red ginseng powder extracts processed without aeration

결과는 aeration 공정 시간이 경과함에 따라 홍삼추출액이 진해지는 것이라 할 수 있다. Kim 등(2009)의 연구에 따르면 산을 처리한 홍삼의 경우 산을 처리하지 않은 홍삼보다 색이 진해진다고 보고하였다. 이는 산 처리에 의한 홍삼의 산화반응과 관련이 있다고 설명하였고 Lee 등(1999)의 결과에서는 홍삼추출액으로부터 분리한 갈변물질이 항산화 활성을 나타낸다고 보고하였다. 따라서 본 실험에서 나타나는 색차의 변화에도 aeration 공정 중 산소 공급에 의한 산화반응이 일어나 홍삼 분말의 아미노산과 당의 변화에 갈색화 반응이 더욱 진행되어 색택이 더 짙어진 것으로 추측된다.

총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량

페놀계 화합물은 식물의 대표적인 2차 대사산물로 식물체에 널리 분포되어 있으며, phenolic hydroxyl (-OH) 그룹 때문에 단백질, 효소 단백질 또는 기타 거대분자와 결합하는 성질을 가지고 있어 항균, 항산화, 항암 및 항 알레르기 효과 등 다양한 생리활성을 나타내는 물질로 알려져 있다(Park 등, 2003; Kim 등, 2005b). Aeration 처리 공정에 따른 홍삼분말 추출액의 페놀성 화합물인 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량 변화를 확인하였다(Table 3).

총 폴리페놀 함량에서 대조구인 non-aeration 홍삼분말 추출액은 추출시간에 따라 0.62, 0.67, 0.72, 0.79 mg GAE/mL로 나타났으며 aeration 공정을 거친 홍삼분말 추출액은 0.62, 0.70, 0.84, 0.96 mg GAE/mL로 처리시간에 따라 유의적으로 크게 증가하는 것을 확인하였다. Kim 등(2016)의 연구 결과에 따르면 홍삼의 초음파 추출의 경우 총 폴리페놀 함량이 89.09 mg/100 g으로 보고하여 초음파 추출보다 36시간 aeration 공정을 거친 홍삼분말 추출액의 총 폴리페놀 함량이 높은 것을 알 수 있었다. 총 플라보노이드 함량은 non-aeration과 aeration 추출액 각각 14.19-21.39 및 17.44-21.93 mg GAE/mL로 나타났다. 그러나 non-aeration 공정을 거친 추출물에서는 공정시간에 따라서 유의적인 증가를 보이다가 36시간 이후에는 유의적으로 감소하였는데 이는 Kim 등(2005a)의 삼백초의 추출시간에 따른 플라보노이드 함량의 변화의 결과에 의하면 4시간 이후에서 가장 높은 함량을 보여, 홍삼추출액의 추출시간에 따른 플라보노이드 함량의 변화와는 다른 경향을 보였다. Cho 등(2018), Kim 등(2013)은 산 가수분해와 고온고압의 열처리, 가수분해효소 처리에 의해 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드의 함량이 증가한다고 보고하였다. 이는 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량의 변화가 고분자의 페놀성 화합물 및 단백질에 결합한 페놀성 화합물이 공급된 산소 및 열에 의해 가수분해되어 저분자의 페놀성 화합물로 전환되었기 때문으로 판단된다.

진세노사이드 함량

Aeration 공정에 따른 홍삼분말 추출액의 진세노사이드 함량 변화를 분석하기 위해 aeration 공정을 10, 12, 24, 36시간 동안 처리한 홍삼분말 추출액과 aeration을 처리하지 않은 non-aeration 추출액으로 나누어 aeration 처리 유무 및 처리 시간에 따른 결과를 비교하였다(Table 4).

홍삼의 지표성분인 Rg1, Rb1, Rg3를 분석하였을 때, 추출 시간이 경과함에 따라 non-aeration에서 Rg1은 185.51, 177.49, 4.94 µg/mL, aeration 처리구에서는 131.40, 101.35, 3.98 µg/mL로 나타났다. 36시간 추출한 홍삼분말 추출액에서는 Rg1이 검출이 되지 않았다. 또한 Rb1의 함량은 non-aeration에서 710.47, 736.51, 84.58, 12.08 µg/mL, aeration 처리구는 632.35, 549.51, 74.44, 8.47 µg/mL로 확인되어 Rg1과 Rb1은 추출 시간이 늘어남에 따라 함량이 감소되는 것을 알 수 있었다. 홍삼의 특유성분으로 알려진 Rg3의 경우에는 non-aeration에서 47.84, 81.36, 492.19, 526.38 µg/mL, aeration 처리구에서 166.55, 219.71, 526.67, 581.13 µg/mL로 점차 증가하는 경향을 보였다. Aeration 공정을 처리한 홍

Table 4. Ginsenoside composition of red ginseng powder extracts processed with aeration

Treatment	Time (h)	Ginsenosides (µg/mL)			Total
		Rg1	Rb1	Rg3	
Non-aeration extracts ³⁾	10	185.51±1.27 ^{a1)}	710.47±1.19 ^b	47.84±0.27 ^e	943.82±2.52 ^f
	12	177.49±1.49 ^b	736.51±0.20 ^a	81.36±1.37 ^f	995.36±0.93 ^g
	24	4.94±0.09 ^c	84.58±0.64 ^c	492.19±2.61 ^c	581.71±3.45 ^b
	36	ND ²⁾	12.08±0.33 ^e	526.38±3.63 ^b	538.46±0.88 ^a
Aeration extracts ⁴⁾	10	131.40±3.12 ^c	632.35±1.66 ^c	166.55±2.17 ^e	930.30±3.57 ^e
	12	101.35±1.41 ^d	549.51±4.61 ^d	219.71±1.38 ^d	870.57±6.58 ^d
	24	3.98±0.20 ^e	74.44±0.53 ^f	526.67±2.06 ^b	605.09±2.87 ^e
	36	ND	8.47±0.39 ^e	581.13±2.42 ^a	589.60±1.97 ^b

¹⁾Each value is mean±SE (n≥3) and different superscripts (a-g) in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test²⁾ND; Not detected³⁾Red ginseng extracts processed with aeration⁴⁾Red ginseng extracts processed without aeration

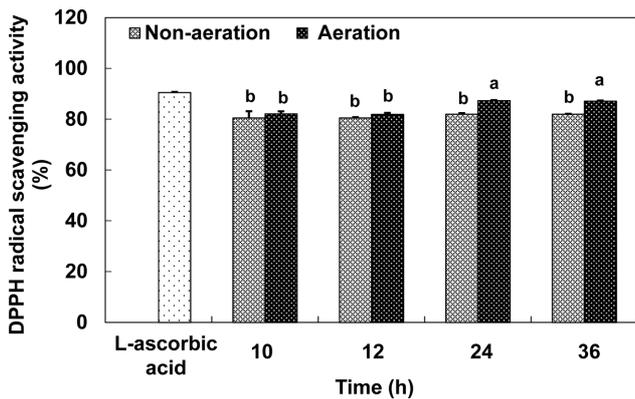


Fig. 1. DPPH radical scavenging activities of the extracts from red ginseng with aeration process. Each value is mean \pm SE (n \geq 3) and different superscripts (a,b) are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

삼 추출액으로부터 얻어진 진세노사이드의 함량은 non-aeration과 비교했을 때 Rg3에서 현저히 차이가 나며, 특히 저분자 진세노사이드 Rg3의 양이 aeration 공정에서 얻은 홍삼 추출액이 non-aeration 보다 유의적으로 많은 양이 생성되는 것을 확인 할 수 있었다. 위 결과들은 Kong 등(2009)의 산 처리에 의한 홍삼의 진세노사이드 함량 변화와 유사한 경향을 보였다. 이러한 현상은 열 안정성이 낮은 일부 진세노사이드가 홍삼에서 용출된 유기산에 의해 C-20위치의 glucoside 결합이 가수분해되면서 prosapogenin 형태의 진세노사이드 Rg3로 구조전환이 되었기 때문인 것으로 사료된다(Kim 등, 1998). 또한 Wei 등(2012)의 ginsenoside Rg3가 산화적 스트레스를 억제시키며 높은 항산화 활성을 갖는다는 보고와 같이 aeration 공정을 통해 얻은 홍삼 추출액의 우수한 항산화 활성은 Rg3와 관련이 있는 것으로 판단된다.

DPPH 라디칼의 소거활성

DPPH 라디칼을 이용한 소거활성 측정은 안정한 라디칼인 DPPH를 소거하는 항산화물질 활성을 측정하는 것으로 항산화 물질이 수소원자나 전자를 공여할 수 있는 능력을 평가할 때 사용되는 방법이다(Ancerewicz 등, 1998; Ham 등, 2015).

Aeration 공정에 따른 홍삼 추출액과 항산화제인 L-ascorbic acid의 DPPH 라디칼 소거능에 대한 항산화 효과를 측정된 결과(Fig. 1), 10, 12, 24, 36시간 동안 non-aeration 홍삼 추출액은 80.50, 80.50, 82.00, 82.00% 확인 되었으며 aeration 공정을 거친 홍삼추출액의 라디칼 소거능이 82.10, 81.90, 87.30, 87.10%로 나타내었다. 특히, 24, 36시간 동안 aeration 공정을 거친 홍삼추출액은 1% L-ascorbic acid 90.50%와 비슷한 소거활성을 보였으며, aeration 처리 시간이 증가할수록 라디칼 소거능이 높은 활성을 보였다. 이는 총 페놀성 함량 결과에서 24, 36시간 동안 aeration 공정을 거친 홍삼추출액이 non-aeration 추출액에 비하여 유의적으로 함량이 높았던 것과 유사한 경향을 보이며, Jang 등(2016)의 보고와 같이 페놀 함량과 항산화 활성과는 매우 깊은 연관이 있음을 알 수 있었다.

ABTS 라디칼의 소거활성

ABTS 라디칼 소거활성 측정 방법은 측정이 빠르고 pH 변화에 다소 민감하지 않다는 장점이 있어 *in vitro*에서 항산화능을 측정하기 위한 방법으로 널리 이용되고 있다. ABTS와 potassium persulfate의 24시간 반응으로부터 생성된 ABTS 라디칼이 항산화

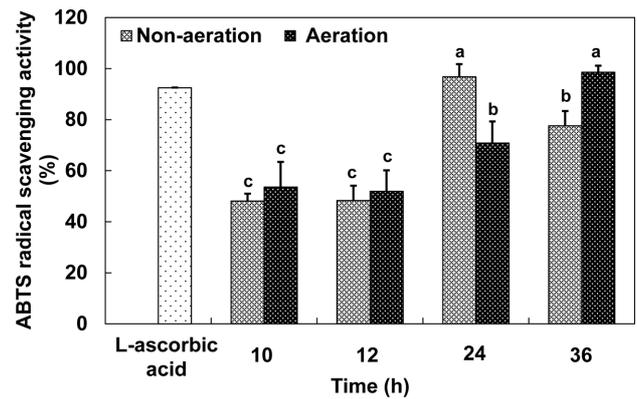


Fig. 2. ABTS radical scavenging activities of the extracts from red ginseng with aeration process. Each value is mean \pm SE (n \geq 3) and different superscripts (a-c) are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

물질에 의해 제거되면서 라디칼의 짙은 청록색이 무색으로 탈색되는 원리를 이용한 항산화 활성 측정법이다.

Aeration 공정에 따른 홍삼추출액에 대한 ABTS 라디칼 소거능 측정 결과를 Fig. 2에 나타내었으며, non-aeration 홍삼추출액은 10, 12, 24, 36시간 동안 추출함에 따라 라디칼 소거능이 48.10, 48.30, 96.80, 77.60%로 24시간까지 증가하다가 36시간에서는 감소하는 경향을 보였다. 또한 aeration 공정시간이 경과함에 따라서 소거능이 53.57, 51.90, 70.86, 98.60%로 확인되었다. Non-aeration 추출액보다 aeration 공정을 거친 홍삼 추출액에서 추출 시간에 따라 유의적으로 ABTS 라디칼 소거활성이 증가하였으며, 36시간 동안 aeration 공정을 처리했을 때 1% L-ascorbic acid 92.50%의 소거활성보다 더 높은 활성을 나타내었다. Kim 등(2011)은 피부직삼에서 구중구포의 방식으로 증포희수에 따른 ABTS 라디칼 소거능을 검토한 결과 100 mg/mL의 농도에서 1, 3, 7, 9회 증포 시 소거능이 69.34, 83.01, 84.49, 84.13%로 유의적으로 증가하는 것을 보고하였다. 본 실험에서의 aeration 공정을 36시간 처리한 홍삼추출액의 ABTS 라디칼 소거활성에는 미치지 못한 결과로 구중구포한 홍삼보다 aeration 공정을 거친 홍삼추출액이 우수하였다. 또한 Shin 등(2013)에 따르면 10배 희석한 29종의 한약재 추출액의 ABTS 라디칼 소거능을 측정된 결과, 대조구인 L-ascorbic acid는 100 μ g/mL에서 95.66%의 활성을 보였고 가장 높은 활성을 보인 황금 추출액과 목련로 추출액은 99.50% 및 97.84%로 보고 하였다. 이는 36시간 동안 aeration 공정을 거친 홍삼추출액이 희석배수가 높음에도 불구하고 ABTS 라디칼 소거활성이 유사한 것으로 확인 되었다. 24시간에서 ABTS 라디칼 소거활성은 앞선 DPPH 라디칼 소거활성에 대한 결과와 비교 하였을 때, aeration 공정을 거친 홍삼추출액이 보다 낮은 활성을 보였지만 추출 시간이 경과함에 따라 라디칼 소거율이 유사하게 증가되는 경향을 보였다. 항산화 활성은 측정 방법에 따라 차이가 있다는 보고(Pihlanto, 2006)를 토대로 추가 연구를 시행하였고 이를 통해 홍삼 추출액의 전반적인 항산화력을 평가하고자 하였다.

Hydrogen peroxide (H₂O₂) 소거활성 측정

Hydrogen peroxide는 산소의 환원 대사물질로서 반응성이 매우 강하여 생체 산화에 주된 역할을 하며, DNA 및 단백질 손상을 유발하여 암, 심장질환, 동맥경화, 소화기질환, 자기면역질환 등의 각종 질병과 노화를 일으키는 것으로 알려져 있다(Ames 등, 1993; Chung 등, 1997; Martindale과 Holbrook, 2002). Peroxi-

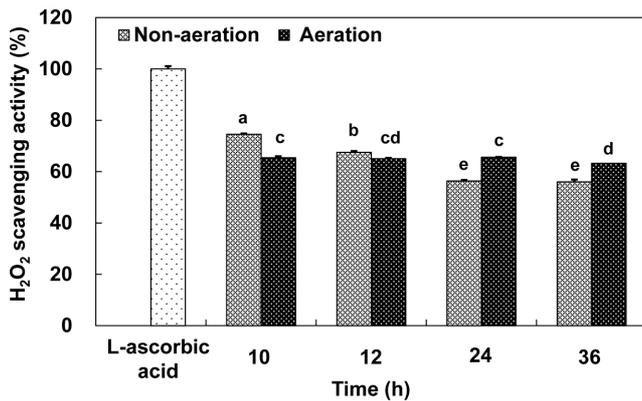


Fig. 3. Hydrogen peroxide (H_2O_2) radical scavenging activities of the extracts from red ginseng with aeration process. Each value is mean \pm SE ($n\geq 3$) and different superscripts (a-e) are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

dase의 기질인 ABTS를 이용하여 각 시료의 H_2O_2 에 대한 소거활성을 측정하였다(Fig. 3). Non-aeration 홍삼추출액은 추출 시간(10, 12, 24, 36시간)에 따라 74.54, 57.49, 56.38, 56.03%로 유의적으로 감소하는 수치를 보였으며, aeration 홍삼추출액의 소거활성은 65.40, 65.03, 65.61, 63.26%로 추출 시간에 따라 거의 비슷한 소거율을 나타냈다. Non-aeration 및 aeration 홍삼추출액의 H_2O_2 소거활성은 1% L-ascorbic acid (100%) 보다 낮은 소거율을 보였지만, 24시간과 36시간 추출한 홍삼추출액에서 non-aeration에 비해 aeration 추출액의 H_2O_2 소거활성이 뛰어난 것을 알 수 있었다. Ko 등(2010)의 보고에서는 갈조류에 속하는 큰잎모자반의 단백질 분해효소와 당 분해효소 추출액에서 약 40-60%의 소거활성을 보인 것으로 보아 비교적 aeration 공정을 거친 홍삼 추출액이 우수한 항산화력을 가지고 있는 것으로 사료된다.

환원력 측정

일반적으로 라디칼을 소거하는 활성은 수소이온 및 전자 전이 활성을 통해 이루어지며 다양한 항산화 분석법은 이 화학적 기전에 근거(Shon 등, 2013)하고 있어 본 실험에서는 aeration 공정에 따른 홍삼 추출액의 전자 전이활성을 평가하기 위하여 환원력을 알아보려고 하였다. 시료의 환원력을 측정한 결과는 Fig. 4와 같다. Non-aeration 홍삼 추출액의 경우 추출 시간(10, 12, 24, 36시간)이 경과함에 따라 1.04, 1.05, 0.82, 0.84로 감소하는 경향을 나타내었으나 aeration 공정을 처리한 추출액의 경우 0.87, 0.99, 1.04, 0.99로 환원력이 유의적으로 증가되는 것을 확인하였다. 뿐만 아니라 aeration 공정을 12시간 이상 처리했을 때, 1% L-ascorbic acid (0.91)보다 더 높은 환원력을 보였다. 홍삼 추출액의 환원력은 DPPH, ABTS라디칼 소거활성의 결과와 유사하게 aeration 공정을 거침으로서 항산화능이 우수한 경향을 나타냈으며, 이는 Shackelford 등(2000)의 보고와 같이 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성이 환원력과 밀접한 관계가 있다는 것으로 보여진다. 본 연구에서 분석 방법에 따라 홍삼 추출액의 항산화능이 약간씩 차이를 보였으며, 이는 항산화 물질의 작용이 연쇄 반응 개시의 방해, 전이 금속 물질의 결합, 과산화물의 분해, 라디칼 소거 등의 여러 기작과 연관이 있기 때문이다(Diplock, 1997).

요 약

본 연구에서는 aeration 공정을 거친 홍삼 추출액의 유효성분

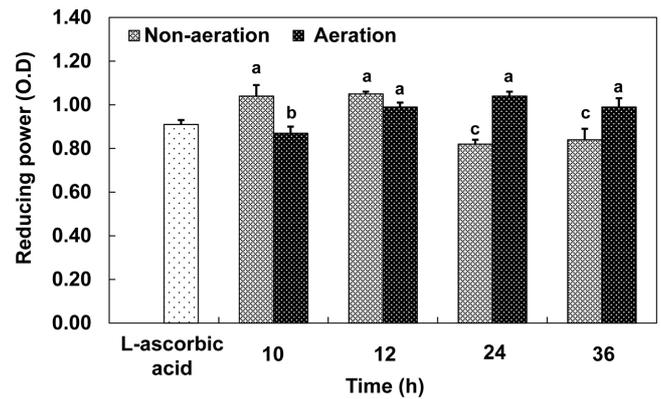


Fig. 4. Reducing power activities of the extracts from red ginseng with aeration process. Each value is mean \pm SE ($n\geq 3$) and different superscripts (a-c) are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

함량을 확인하고 항산화 활성에 미치는 영향을 알아보려고 하였다. Aeration 처리 유무에 따른 추출액의 색상 변화에서는 aeration 공정처리를 하지 않은 추출액과 aeration 공정처리 한 추출액 모두 추출시간이 경과함에 따라서 L값과 b값이 유의적으로 감소하였고, aeration 공정 처리 36시간 추출액에서 명도와 황색도가 가장 낮은 결과를 얻었다. a값은 non-aeration 처리에서는 추출시간이 경과함에 따라서 증가하였으나 aeration 처리할 경우에는 적색도가 감소되는 것을 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과는 aeration 공정 처리를 할 경우에는 추출시간이 경과함에 따라 명도, 황색도, 적색도 모두가 감소되면서 갈색도가 증가하는 것을 의미하는 결과라고 할 수 있다. 총 폴리페놀 함량에서 non-aeration 홍삼추출액은 추출시간에 따라 0.62, 0.67, 0.72, 0.79 mg GAE/mL로 나타났으며 aeration 공정을 거친 추출액은 0.62, 0.70, 0.84, 0.96 mg GAE/mL로 추출시간에 따라 유의적으로 크게 증가하는 것을 확인하였다. 또한, 총 플라보노이드 함량은 aeration 공정을 거친 24, 36시간 추출액에서 21.77, 21.93 mg GAE/mL의 최고의 함량을 나타내었다. DPPH 라디칼 소거활성은 non-aeration 홍삼 추출액은 80.50-82.00% 범위에서 확인되었으며 aeration 공정을 거친 홍삼 추출액의 라디칼 소거능은 추출 시간에 따라 82.10, 81.90, 87.30, 87.10%로 나타났다. 이는 DPPH 라디칼 소거활성이 aeration 공정을 거침에 따라 활성이 증가한다는 것을 시사하는 결과이다. ABTS 라디칼 소거능은 24, 36시간에서 non-aeration 추출액이 96.80, 77.60%로 라디칼 소거활성이 떨어졌으나 aeration 공정을 거친 홍삼 추출액은 70.86, 98.60%로 추출 시간에 따라 유의적으로 소거활성이 증가하는 것으로 나타났다. 또한 10, 12, 24, 36시간 동안 aeration 공정을 거친 홍삼 추출액은 65.40, 65.03, 65.61, 63.26%의 hydrogen peroxidase 소거율을 보였고, 또한 0.87, 0.99, 1.04, 0.99로 환원력이 유의적으로 증가하는 것을 확인하였다. 이러한 결과들은 DPPH, ABTS의 경향과 유사하게 aeration 공정을 거침으로서 non-aeration보다 항산화능이 우수하다는 것을 나타냈다. Aeration 공정을 처리한 홍삼추출액으로부터 얻어진 진세노사이드의 함량은 non-aeration과 비교했을 때 Rg3에서 현저히 차이가 나며, 저분자 진세노사이드 Rg3의 함량이 aeration 공정을 처리한 홍삼추출액에서 166.55, 219.71, 526.67, 581.13 μ g/mL로 non-aeration 보다 많은 양이 생성되는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과들은 aeration 공정을 거친 홍삼추출액이 전반적으로 우수한 항산화 활성을 나타내었으며 향후 특정유효성분을 강화시킬 수 있는 새로운 공정방법으로 활용될 수 있을 것이라 사료된다.

References

- Ames BM, Shigena MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90: 7915-7922 (1993)
- Ancerevic J, Migliavacca E, Carrupt PA, Testa B, Bree F, Zini R, Tillement JP, Labidalle S, Guyot D, Chauvet-Monges AM, Crevat A, Le Ridant A. Structure-property relationships of trimetazidine derivatives and model compounds as potential antioxidants. *Free Radic. Biol. Med.* 25: 113-120 (1998)
- Cho DH, Kim MJ, Sim EY, Jeong YH, Lee CK, Woo KS. Effect of carbohydrase treatments on phenolics content and antioxidant activity of maize flour. *Korean J. Food Sci. Technol.* 50: 132-137 (2018)
- Chung YC, Huang C, Tseng CP. Removal of hydrogen sulfide by immobilized thiobacillus sp. strain CH11 in a biofilter. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 69: 58-62 (1997)
- Dewanto V, Xianzhang W, Liu RH. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 50: 4959-4964 (2002)
- Diplock AT. Will the 'good fairies' please prove to us that vitamin E lessens human degenerative disease. *Free Radic. Res.* 26: 565-583 (1997)
- Dudonne S, Vitac X, Coutiere P, Woillez M, Merillon JM. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assay. *J. Agric. Food Chem.* 57: 1768-1774 (2009)
- Ham H, Woo KS, Lee B, Park JY, Sim EY, Kim BJ, Lee CW, Kim SJ, Kim WH, Lee JS, Lee YY. Antioxidant compounds and activities of methanolic extracts from oat cultivars. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 44: 1660-1665 (2015)
- Hasegawa H, Sung JH, Matsumiya S, Uchiyama M. Main ginseng saponin metabolites formed by intestinal bacteria. *Planta Med.* 62: 453-457 (1996)
- Hasegawa H, Sung JH, Matsumiya S, Uchiyama M. Role of human intestinal prevotella oris in hydrolyzing ginseng saponins. *Planta Med.* 63: 436-440 (1997)
- Hong H, Oh S. Diversity and function of pigments in colored rice. *Korean J. Crop. Sci.* 41: 1-9 (1996)
- In JG, Lee BS, Kim EJ, Park MH, Yang DC. Increase of functional saponin by acidic treatment and temperature of red ginseng extract. *Korean J. Plant Res.* 19: 139-143 (2006)
- Jang AY, Sueng YC, Ji JG. The comparative study on physiological activity of white ginseng, red ginseng, black ginseng extract. *J. Digit. Converg.* 14: 459-471 (2016)
- Jeong MJ. Studies on the manufacture and quality characteristics of red ginseng extracts by extrusion process. MS thesis, University of Joongbu, Gyeonggi-do, Korea (2005)
- Jeong JJ, Ku SK, Seong SH, Jeong HJ, Yoon CS. Methods for enrichment of ginsenosides. Korea patent 10-2011-0054692 (2012)
- Jeong JH, Sim SH. A study of optics and color difference of various photochromic lenses by UV lamp. *Korean J. Vis. Sci.* 8: 29-36 (2006)
- Keum YS, Park KK, Lee JM, Chun KS, Park JH, Lee SK, Kwon HJ, Surh YJ. Antioxidant and anti-tumor promoting activities of the methanol extract of heat processed ginseng. *Cancer Lett.* 150: 41-48 (2000)
- Kim SK, Ban SY, Kim JS, Chung SK. Change of antioxidant activity and antioxidant compounds in saururus chinensis by extraction conditions. *Appl. Biol. Chem.* 48: 89-92 (2005a)
- Kim CS, Choi KJ, Kim SC, Ko SY, Sung HS, Lee YG. Controls of the hydrolysis of ginseng saponins by neutralization of organic acids in red ginseng extract preparations. *J. Ginseng Res.* 22: 205-210 (1998)
- Kim WY, Kim JM, Han SB, Lee SK, Kim ND, Park MN, Kim CK, Park JH. Steaming of ginseng at high temperature enhances biological activity. *J. Nat. Prod.* 63: 1702-1704 (2000)
- Kim HJ, Kwak IA, Kim HJ, Ahn JS, Son YB. A study on the amendment scheme of ginsenoside content standard regulation for red ginseng products in Korea. *J. Food Hyg. Saf.* 28: 24-30 (2013)
- Kim MH, Lee YC, Choi SY, Cho CW, Rho CJ. Characteristics of acid pre-treated red ginseng and its decoction. *J. Ginseng Res.* 33: 343-348 (2009)
- Kim MY, Lee SH, Jang GY, Kim HY, Woo KS, Hwang IG, Lee JS, Jeong HS. Effects of heat treatment on antioxidant activity of hydrolyzed mung beans. *Korean J. Food Sci. Technol.* 45: 34-39 (2013)
- Kim HJ, Lee JY, You BR, Kim HR, Choi JE. Antioxidant activities of ethanol extracts from black ginseng prepared by steaming-drying cycles. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 40: 156-162 (2011)
- Kim JS, Park SW, Ham YS, Jung SK, Lee SH, Chung SK. Antimicrobial activities and phenolic compounds of pyroligneous liquor. *Korean J. Food Preserv.* 12: 470-475 (2005b)
- Kim EO, Xu JL, Um BH. Optimization of extraction of marker compounds from red ginsengs by accelerated solvent extraction using response surface methodology. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 45: 1162-1169 (2016)
- Kitagawa I, Yoshikawa M, Yoshihara M, Hayashi T, Taniyama T. Chemical studies on crude drug precession. I. on the constituents of ginseng radix rubra. *J. Pharm. Soc. Jpn.* 103: 612-622 (1983)
- Ko SK. A ginseng preparation using vinegar and process for thereof. U.S. patent WO2005016362A1 (2005)
- Ko SC, Kang SM, Ahn GN, Yang HP, Kim KN, Jeon YJ. Antioxidant activity of enzymatic extracts from sargassum coreanum. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 494-499 (2010)
- Kong YH, Rho JH, Cho CW, Kim MH, Lee YC, Kim SS, Lee PJ, Choi SY. Variation of phenolic ingredient and ginsenoside content in red ginseng extract by acid treatment. *J. Ginseng Res.* 33: 194-198 (2009)
- Kwon JR. A black ginseng having excel content of ginsenoside Rg3 ingredient and the concentrate of black ginseng. Korea patent 10-2006-0005237 (2006)
- Kwon SW, Han SB, Park IH, Kim JM, Park MK, Park JH. Liquid chromatographic determination of less polar ginsenosides in processed ginseng. *J. Chromatogr. A* 921: 335-339 (2001)
- Lee SW, Choi HG, Park JH, Kim CK. Preparation and evaluation of dry alcohol containing red ginseng extract. *J. Ginseng Res.* 24: 23-28 (2000)
- Lee JW, Do JH, Shim KH. Antioxidant activity of the water soluble browning reaction products isolated from Korean red ginseng 1. DPPH radical and hydrogen peroxide scavenging. *J. Ginseng Res.* 23: 176-181 (1999)
- Lee SH, Kang JI, Lee SY. Saponin composition and physicochemical properties of Korean red ginseng extract as affected by extract as affected by extracting conditions. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37: 256-260 (2008)
- Li XG, Han JS, Park YJ, Kang SJ, Kim JS, Nam KY, Lee KT, Choi JE. Extracting conditions for promoting ginsenoside contents and taste of red ginseng water extract. *Korean J. Crop. Sci.* 54: 287-293 (2009)
- Martindale JL, Holbrook NJ. Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival. *J. Cell Physiol.* 192: 1-15 (2002)
- Nieva Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J. Ethnopharmacol.* 71: 109-114 (2000)
- Oyaizu M. Studies on products of browning reactions. *Jap. J. Nutr. Diet.* 44: 307-315 (1986)
- Ozgen M, Resse RN, Tulio AZ, Scheerens JC, Miller AR. Modified 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods. *J. Agric. Food Chem.* 54: 1151-1157 (2006)
- Park CK, Jeon BS, Yang JW. The chemical components of Korean ginseng. *Korean J. Food Industry Nutr.* 8: 10-23 (2003)
- Park YC, Lim JD, Kim JB, Lee S. Review of red ginseng in terms of mechanisms for pharmacodynamics and toxicity. *J. Korean Oriental Med.* 33: 200-230 (2012)
- Pihlanto A. Antioxidant peptides derived from milk proteins. *Int. Dairy J.* 16: 1306-1314 (2006)
- Shackelford RE, Kaufmann WK, Paules RS. Oxidative stress and cell

- cycle checkpoint function. *Free Radic. Biol. Med.* 28: 1387-1404 (2000)
- Shin CS, Lee DH, Kim SH, Shin MH, Jeong CH, Shim KH. Ginsenoside contents and antioxidative activities from red ginseng treated with high hydrostatic pressure. *J. Agric. Life Sci.* 44: 133-140 (2010)
- Shin YJ, Hwang JM, Lee SC. Antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of hot water extracts of medicinal herbs. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 42: 1712-1716 (2013)
- Shon MS, Song JH, Kim JS, Jang HD, Kim GN. Antioxidant activity of oil extracted from korean red ginseng and its moisturizing function. *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.* 11: 489-494 (2013)
- Takaku T, Kameda K, Matsuura Y, Sekiya K and Okuda, H. Studies on insulin-like substance in korean red ginseng. *Planta Med.* 56: 27-30 (1990)
- Wei X, Su F, Su X, Hu T, Hu S. Stereospecific antioxidant effects of ginsenoside Rg3 on oxidative stress induced by cyclophosphamide in mice. *Fitoterapia* 83: 636-642 (2012)
- Yu MH, Lee HS, Cho HR, Lee SO. Enzymatic preparation and antioxidant activities of protein hydrolysates from tenebrio molitor larvae (mealworm). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 46: 435-441 (2017)