

홍삼발효 추출물의 생리활성 및 streptozotocin으로 유발된 당뇨쥐의 혈당강하에 미치는 영향

김혜자¹ · 서명효² · 이은경² · 조화은¹ · 최윤희¹ · 이기남^{1,3} · 정명수^{2,3*}

1: 원광대학교 한의학전문대학원, 2: 원광대학교 한의과대학, 3: 원광대학교 한국전통의학연구소

Effect of Fermented Red Ginseng Extracts on Physiological Activity and Blood Glucose Level in Streptozotocin Induced Diabetic Rats

Hae Ja Kim¹, Myeong Hyo Seo², Eun Kyoung Lee², Hwa Eun Cho¹, Yun Hee Choi¹, Ki Nam Lee^{1,3}, Myong Soo Chong^{2,3*}

1: Professional Graduate School of Oriental Medicine, 2: College of Oriental Medicine, 3: Research Center of Traditional Korean Medicine, Wonkwang University

The purpose of this study was investigated hypoglycemic effects of fermented red ginseng extracts. We prepared non-fermented red ginseng extracts(R), fermented with *Lactobacillus plantarum*(RL) extracts, *Saccharomycescerevisiae*(RS) extracts, and *L. plantarum* mixed *S. cerevisiae*(RLS) extracts, examined composition of ginsenosides, SOD-like activity, and α -glucosidase inhibitory activity. Ginsenoside Re was highest contents in all extracts, second was ginsenoside Rc and then ginsenoside Rb1. Concentration of these ginsenoside was showed higher in RS than in other extracts. SOD-like activity and α -glucosidase inhibitory activity were shown higher in fermented red ginseng extracts than non fermented extracts. And activities of mixed fermentation extracts(RLS) higher than single fermentation extracts(RL, RS). Effects of blood glucose level, serum lipid profile and metabolic variables were evaluated in streptozotocin(STZ) induced diabetic rat. Experimental group was divided into 7 groups: normal control group(hereafter NC group), diabetes control group(DC group), positive control group treated with 50 mg/kg body weight of acarbose(PC group), treated with 300 mg/kg body weight of R, RL, RS and RLS extracts groups, respectively. Blood glucose level of DC group was maintained high level in all experimental period, but treated with red ginseng extracts groups was reduced the glucose level by R group 18.00%, RL group 28.07%, RS group 29.03%, RLS group 42.42%, respectively. The concentration of total cholesterol and triglyceride of fermented red ginseng extracts treated groups (RL, RS, RLS) was lower than non- fermented extracts group(R) DC and PC groups. The activity of ALT, AST in RLS treated groups were lower than other groups.

Key words : red ginseng, fermentation, diabetes mellitus, blood glucose

서 론

발효(fermentation)는 미생물의 활동으로 유기화합물이 분해되면서 알코올, 유기산, 탄산가스 등 분해산물을 생성하는 작용으로, 미생물의 실체가 밝혀지고 그 생리 및 유전적 특성이 규명되면서 미생물을 이용하여 백신이나 효소, 에탄올, lactic acid 등과 steroids 등의 생물전환반응 제품 및 유전자 조작을 통한 새로

운 단백질 등 다양하고 유용한 물질을 생산하게 되었다¹⁾. 최근에는 세계 각국의 전통식품 중 발효식품의 기능성에 대한 관심이 증가되면서 기존의 발효식품에 대한 연구 뿐 아니라 유산균과 효모 등 발효에 이용되었던 미생물을 이용한 기능성 발효식품 등의 개발²⁻¹²⁾ 및 생약재의 발효에 대해서도 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 홍삼은 인삼을 열을 가해 찌낸 후 건조한 것을 말하며 동양에서 大補元氣하여¹³⁾ 消穀善飢하고 渴而多飲하는 증상을 특징을 가진 消渴의 치료에 頻用되어온 생약재로 다양한 약리 작용 및 임상효과가 발표되었으나^{14,15)} 주요유효성분으로 알려진 사포닌이 배당체가 당성분이 혼합된 구조로 극성이 높아 위장이

* 교신저자 : 정명수, 익산시 신용동 원광대학교 한의과대학 예방의학교실

· E-mail : neurokid@wku.ac.kr, · Tel : 063-850-6912

· 접수 : 2009/09/20 · 수정 : 2009/09/30 · 채택 : 2009/10/10

나 십이지장에서 소화가 잘 안되고 주로 소장에서 장내의 유산균 등의 대사작용을 통해서 극성이 낮은 대사체의 형태로 흡수됨으로써 그 효능을 증강시킬 수 있다고 알려져 최근에는 발효를 통한 인삼 및 홍삼의 효능을 증강시키고자 하는 연구가 진행되고 있다¹⁶⁻¹⁹⁾. 그러나 대부분의 연구가 발효방법에 있어 유산균을 이용한 발효로 국한되어 있어 본 연구에서는 유산균과 효모를 각각 이용한 것과 두 가지를 혼합한 발효방법을 이용해 홍삼을 발효시킨 후 이 추출물의 인삼사포닌 조성과 및 streptozotocin(STZ)으로 유발된 당뇨쥐의 혈당에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 홍삼의 발효 및 추출

본 실험에 사용된 홍삼은 금산에서 재배가공된 것(6년근)을 구입하여 정선하였으며, 발효에 사용한 유산균(*Lactobacillus plantarum* 3108)과 효모(*Saccharomyces cerevisiae* 7268)는 한국생명공학연구원에서 분양받아 실험에 사용하였다. 조분쇄한 홍삼에 20배의 50% 에탄올을 가한 후 90℃에서 4시간 환류냉각 추출하여 여과한 추출물을 감압농축한 후 동결 건조한 시료를 비발효 홍삼추출물(non fermented red ginseng extracts; R)이라 하였다. 홍삼의 발효추출물의 제조는 조분쇄한 홍삼을 3개의 배양통에 동량으로 나누어 넣고 10배의 증류수를 가해 121℃에서 15분간 멸균한 후 하나는 2%의 유산균(*Lactobacillus plantarum*)을, 하나는 2%의 효모(*Saccharomyces cerevisiae*)를, 나머지 하나는 1%의 유산균과 1%의 효모를 혼합하여 각각 접종한 후 30℃에서 36시간 발효하였다. 발효 종료 후 각각에 10배의 에탄올(99%)을 가해 90℃에서 4시간 환류냉각 추출하였다. 이 추출물들을 여과하여 감압농축한 후 동결건조하여 각각 유산균발효홍삼추출물(red ginseng extracts fermented with *Lactobacillus plantarum*; RL)과 효모발효홍삼추출물(red ginseng extracts fermented with *Saccharomyces cerevisiae*; RS) 및 유산균, 효모 혼합발효 홍삼추출물(red ginseng extracts fermented with *L. plantarum* and *S. cerevisiae*; RLS)이라 명명하였다.

2. Ginsenoside 분석

동결건조하여 얻어진 각각의 시료에 메탄올 50 ml를 가하여 완전히 섞이도록 shaking한 후 sonicator를 이용, 60℃에서 30분간 추출하였다. 이것을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액을 농축수기에 수집하였다. 상층액을 취하고 난 나머지에 다시 메탄올 50 ml를 가하고 위 과정을 2회 반복하여 상층액을 수집하였으며 3회에 걸쳐 수집된 상층액을 감압농축하여 수분을 완전히 제거하였다. 전처리하여 얻은 조사포닌에 메탄올 10 ml를 가해 sonication 한 후 0.45 μm syringe filter로 여과하였다. 이 여과액과 여과액을 10배, 100배 희석한 시료를 HPLC를 이용하여 ginsenoside 분리정량에 사용하였다. 이때 분석조건으로 컬럼은 Xterra®MS C18을 사용하였으며, 검출기는 분자량 측정기, 이동상으로는 18% acetonitrile과 80% acetonitrile을 이용하였으

며, 이동상 유량속도는 0.25 ml/min, 시료주입량은 5 μl이었다²⁰⁾.

3. SOD 유사활성 분석

SOD 유사활성(SOD-like activity) 측정은 Dojindo사(Dojindo Molecular Technologies, Inc., U.S.A)의 SOD assay kit를 이용하여 superoxide anion radical(O₂⁻)의 소거 활성을 측정하였다. 증류수에 농도별로 희석한 동결건조시료 20 μl를 WST-1용액 200 μl, enzyme 용액 20 μl와 반응시키고, blank는 시료 대신 증류수를 첨가하여 37℃에서 20분간 반응시킨 후 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 홍삼발효추출물에 대한 양성대조군으로는 BHT(butylated hydroxy toluene)를 사용하였다.

4. α-glucosidase 저해활성 분석

α-glucosidase 저해활성 측정은 동결건조한 각 시료를 50 μg/ml 농도로 50% 에탄올에 희석 후 1.0 unit/ml의 α-glucosidase(Sigma, Co, U.S.A) 효소액 50 μl, 200 mM potassium phosphate buffer(pH 7.4) 50 μl에 넣고 혼합하여 37℃에서 15분간 반응시킨 후 3 mM pNPG(Sigma, Co, U.S.A)를 가하여 37℃에서 10분간 반응시켰다. 0.1 M Na₂CO₃를 가하여 반응을 정지시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정하여 저해율을 계산하였다. 홍삼발효추출물에 대한 양성 대조군으로는 acarbose를 사용하였다.

5. 실험동물의 당뇨유발

실험동물은 6주령의 Sprague Dawley 계의 雌性 흰쥐를(주)오리엔트에서 분양받아 실험실 환경(온도 22±2℃, 습도 50±5%)에서 한 마리씩 stainless cage에 넣어 일주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 당뇨유발은 실험동물을 16시간 절식시킨 후 췌장의 β-세포에만 특이적으로 작용하여 다른 기관에 영향을 미치지 않는다고 알려진 streptozotocin (STZ, Sigma, Co, U.S.A)을 0.01 M citrate buffer (pH 4.5)에 50 mg/kg body weight 농도로 녹여 복강에 투여하여 유도하였다. 정상군은 동일한 스트레스를 주기 위해 동량의 citrate buffer 용액을 주사하였다. 당뇨병의 유발확인 24시간 후 꼬리정맥에서 혈액을 채취하여 비공복시 혈당농도가 300 mg/dl 이상인 것을 당뇨가 유발된 것으로 간주하여 실험에 사용하였다. 실험군의 분류는 먼저 정상대조군(normal control group; NC)과 당뇨유발군으로 분류하였으며 당뇨유발군은 다시 당뇨대조군(diabetic control group; DC)과 acarbose를 투여한 양성대조군(positive control group; PC), 발효하지 않은 홍삼추출물 투여군(non fermented red ginseng extracts group; R), 유산균발효홍삼추출물 투여군(red ginseng extracts fermented with *Lactobacillus plantarum* group; RL)과 효모발효홍삼추출물 투여군(red ginseng extracts fermented with *Saccharomyces cerevisiae* group; RS) 및 유산균, 효모 혼합발효 홍삼추출물 투여군(red ginseng extracts fermented with *L. plantarum* and *S. cerevisiae* group; RLS) 등 총 7군으로 나누었다. 정상대조군과 당뇨대조군은 0.9% 식염수를, 양성대조군은 acarbose를 50 mg/kg body weight 농도로, 각 추출물은 식염수에 300 mg/kg body weight 농도로 희석하여 1일 1회 일정시간에

경구 투여하였으며 사료와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다.

6. 혈당측정, 체중 증가량, 식이섭취량 및 식이효율의 측정

혈당측정은 3일 간격으로 일정시간에 꼬리정맥에서 채혈하여 혈당측정기(Accucheck Active, Roche Diagnostics GmbH, Germany)를 이용하여 측정하였다. 실험기간 동안의 식이섭취량은 매일, 체중은 3일 간격으로 일정시간에 측정하였으며 식이효율(food efficiency ratio, FER)은 전 체중증가량을 같은 기간 동안의 식이섭취량으로부터 계산하였다.

7. 혈액 및 조직의 채취

실험동물의 혈액을 채취하기 위해 실험종료 후 12시간 절식시킨 후 ether로 마취하여 개복한 후 심장에서 혈액을 취하였다. 채취한 혈액은 2시간 방치한 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈청을 분리하여 분석시료로 사용하였다. 채혈 후 즉시 간장, 신장, 고환, 췌장을 분리 적출하여 생리식염수로 세척한 후 거즈로 수분을 제거하였고 각각의 무게를 측정하였으며 체중 100 g 당 장기무게로 환산하였다.

8. 혈청의 지질과 metabolic variables 측정

혈청중의 ALT(alanine aminotransferase)와 AST(aspartate aminotransferase), 총 콜레스테롤, 중성지질의 농도는 각각의 측정용 kit(Bayer, USA)를 이용하여 자동분석기(Advia 1650, Japan)로 측정하였다.

9. 통계처리

모든 자료의 통계분석은 SPSS program(ver. 12.0)을 이용하여 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)으로 검정하여 평균±표준오차로 나타내었으며, 유의성은 Duncan's multiple range test에 따라 p<0.05 수준에서 검정하였다.

결 과

1. Ginsenoside 조성

발효방법을 달리한 홍삼발효추출물에서 인삼의 주요 유효성분으로 알려진 사포닌의 ginsenoside 구성과 함량을 HPLC를 이용하여 분석한 결과는 Table 1과 같다. ginsenoside 함량은 RS, R, RL, RLS 순으로 높게 나타났으나 홍삼제조과정에서 특유하게 나타나는 ginsenoside로 알려진 Rg3의 경우 R이 1.801 mg/g, RL 5.751 mg/g, RS 3.316 mg/g, RLS 3.259 mg/g 으로 RL이 가장 높게 나타났다. 각각의 ginsenoside 중에서는 모든 추출물이 ginsenoside Re가 각각 12.174 mg/g, 5.865 mg/g, 15.50 mg/g, 5.560 mg/g로 가장 높게 나타났고, 그 다음이 ginsenoside Rc, ginsenoside Rb1 순으로 나타났으나 RL의 경우 ginsenoside Rc 보다 ginsenoside Rg3의 함량이 높은 것으로 나타났다.

2. SOD 유사활성

홍삼발효추출물들에 대한 농도별 SOD 유사활성을 측정한

결과는 Fig. 1과 같다. 모든 시료가 농도의존적으로 활성이 높아지는 경향을 나타내었으나 양성대조군인 BHT에 비해서 활성이 낮게 나타났으며 추출물간에는 R의 SOD유사활성이 가장 낮고 RLS의 유사활성이 가장 높은 것으로 나타났다. 10 mg/ml 농도에서는 BHT를 제외한 각 추출물간의 유의적 차이를 나타내지 않았으나 낮은 농도인 1 mg/ml 농도에서는 R 0.34%, RL 9.32%, RS 10.31%, RLS 16.76%로 각각 나타나 RLS의 활성이 가장 높게 나타났다.

Table 1. Composition of ginsenosides of fermented red ginseng extracts(mg/g)

	R	RL	RS	RLS
Rb1	9.979±3.26	4.407±0.03	13.331±5.12	4.121±0.59
Rb2	6.151±0.25 ^b	3.839±0.19 ^a	7.258±0.65 ^b	3.888±0.12 ^a
Rc	11.281±3.68	5.222±0.26	15.499±5.21	5.395±0.63
Rd	7.338±1.37 ^{ab}	4.351±0.13 ^{ab}	8.757±1.64 ^b	3.632±0.49 ^a
Rh2	0.002±0.00	0.004±0.00	0.003±0.00	0.002±0.00
Re	12.174±3.86	5.865±0.37	15.50±5.21	5.56±1.10
Rg1	1.004±0.19 ^a	0.815±0.00 ^a	1.627±0.18 ^b	0.745±0.12 ^a
Rg2	2.892±0.28 ^c	4.197±0.02 ^b	4.694±0.31 ^a	2.99±0.08 ^a
Rg3	1.801±0.12 ^a	5.751±0.82 ^a	3.316±0.00 ^a	3.259±0.20 ^a
Rh1	0.129±0.01 ^a	0.305±0.06 ^b	0.338±0.03 ^{ab}	0.284±0.06 ^{ab}

All values are mean±S.E. Means with different superscripts within a column are significant different at p<0.05 by Duncan's multiple range test. R: non fermented red ginseng extracts; RL: red ginseng extracts fermented with *Lactobacillus plantarum*; RS: red ginseng extracts fermented with *Saccharomyces cerevisiae*; RLS: red ginseng extracts fermented with *L. plantarum* and *S. cerevisiae*.

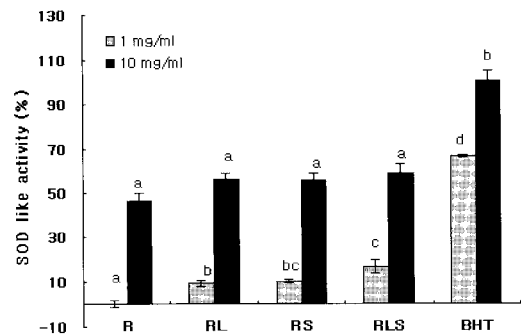


Fig. 1. SOD-like activity of fermented red ginseng extracts. R: non fermented red ginseng extracts; RL: red ginseng extracts fermented with *Lactobacillus plantarum*; RS: red ginseng extracts fermented with *Saccharomyces cerevisiae*; RLS: red ginseng extracts fermented with *L. plantarum* and *S. cerevisiae*; BHT: butylated hydroxy toluene (synthetic phenolic antioxidant) was be a positive control. All values are means±S.E. Means with different superscripts within a given column are significant at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

3. α-glucosidase 저해활성

홍삼발효추출물에 대한 α-glucosidase저해활성을 경구용 혈당강하제인 acarbose와 비교, 측정하였으며 그 결과는 Fig. 2와 같다. 50 μg/ml 농도에서 양성대조군인 acarbose는 44.53%, R 30.22%, RL 43.93%, RS 49.42%, RLS 55.39%로 나타나 R이 가장 낮게 나타났으며 RL은 acarbose와 동일한 수준으로 RS와 RLS는 acarbose 보다도 활성이 높게 나타났다. 각 추출물 중에서는 RLS의 활성이 가장 높게 나타났다.

4. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

실험기간 동안 실험동물의 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율의 변화는 Table 2와 같다. 2주간의 체중 증가량은 NC군에서는 4.83 g/day로 체중이 증가한 반면 DC군 -1.93 g/day로 감소한 것으로 나타났으며 PC군은 0.05 g/day, R군 -0.45 g/day, RL군 -1.00 g/day, RS군 0.04 g/day, RLS군 0.30 g/day으로 각각 나타나 DC군의 체중감량이 가장 높게 나타났고, RS군과 RLS군의 경우 NC군 PC군과 함께 체중이 증가한 것으로 나타났다. 식이섭취량은 NC군이 20.19 g/day, DC군 23.46 g/day, PC군 21.06 g/day, R군 24.37 g/day, RL군 25.22 g/day, RS군 25.67 g/day, RLS군 19.42 g/day으로 각각 나타나 RLS군의 식이섭취량이 가장 낮게 나타났고 R, RL, RS군은 DC군 보다 높게 나타났다. 식이효율에 있어서는 DC군이 -8.57%로 식이섭취량에 비해 체중감소가 많았던 것으로 나타났으나 PC군이 0.51%, R군 -1.84%, RL군 -4.03%, RS군 0.38%, RLS군 3.21%로 각각 나타나 체중증가가 나타난 RS군과 RLS군의 식이효율이 역시 높았으며 그 중에서 RLS군은 PC군보다 식이효율이 높은 것으로 나타났다.

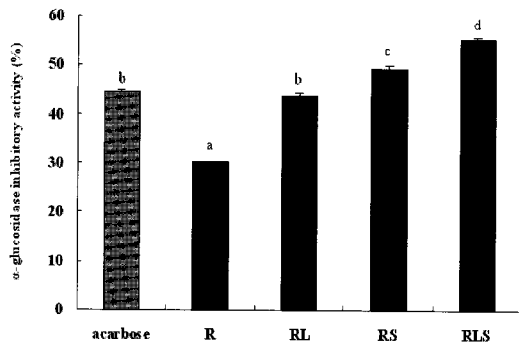


Fig. 2. α-glucosidase inhibitory activities of fermented red ginseng extract. Measured concentration was 50 ug/ml, acarbose was be a positive control. R: non fermented red ginseng extracts; RL: red ginseng extracts fermented with *Lactobacillus plantarum*; RS: red ginseng extracts fermented with *Saccharomyces cerevisiae*; RLS: red ginseng extracts fermented with *L. plantarum* and *S. cerevisiae*. All values are means±S.E. Means with different superscripts within a given column are significant at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

Table 2. Effects of fermented red ginseng extracts on body weight gain, food intake and food efficiency ratio in rats

Group	Body weight gain (g/day)	Food intake (g/day)	FER (%)
NC	4.83±0.37 ^b	20.19±0.64 ^{ab}	23.83±1.06 ^b
DC	-1.93±0.64 ^a	23.46±1.60 ^{bcd}	-8.57±2.86 ^a
PC	0.05±0.85 ^a	21.06±1.40 ^{abc}	0.51±3.93 ^a
R	-0.45±0.87 ^a	24.37±0.70 ^{cd}	-1.84±3.60 ^a
RL	-1.00±0.75 ^a	25.22±0.87 ^d	-4.03±3.00 ^a
RS	0.04±0.70 ^a	25.68±1.18 ^d	0.38±2.72 ^a
RLS	0.30±1.87 ^a	19.42±1.63 ^a	3.21±9.76 ^a

All values are mean±S.E. Alphabet: Different superscripts indicate significant difference by Duncan's multiple range test(p<0.05). FER(Food efficiency ratio) = (body weight gain/food intake)×100 Abbreviated words of experimental groups are same as table 1.

5. 장기무게의 변화

각 군의 장기무게 변화는 체중 100 g당 무게로 환산하여 나타내었으며 Table 3과 같다. 간, 신장 및 고환의 무게는 모든 실험군이 NC군보다 높게 나타났으며 간 무게에 있어서는 DC군이 4.60 g/100 g body weight로 가장 높고, PC군이 3.68 g/100 g body weight로 R군 4.34 g/100 g body weight, RL군 4.01 g/100

g body weight, RS군 4.33 g/100 g body weight, RLS군 4.14 g/100 g body weight에 비해 낮게 나타났다. 신장과 고환의 무게에 있어서는 NC군을 제외한 나머지군 간의 유의적 차이 (p<0.05)는 나타나지 않았다.

Table 3. Effects of fermented red ginseng extracts on organ weight in rats (g/100 g body weight)

	Liver	Kidney	Testis
NC	3.05±0.10 ^a	0.69±0.01 ^a	0.88±0.04 ^a
DC	4.60±0.25 ^c	1.29±0.09 ^b	1.49±0.08 ^b
PC	3.68±0.19 ^{ab}	1.05±0.06 ^b	1.26±0.10 ^b
R	4.34±0.25 ^{bc}	1.18±0.08 ^b	1.33±0.07 ^b
RL	4.01±0.16 ^{bc}	1.19±0.04 ^b	1.37±0.06 ^b
RS	4.33±0.13 ^{bc}	1.12 ±0.04 ^b	1.23±0.07 ^b
RLS	4.14±0.34 ^{bc}	1.04±0.17 ^b	1.35±0.16 ^b

All values are mean±S.E. Alphabet: Different superscripts indicate significant difference by Duncan's multiple range test(p<0.05). Abbreviated words of experimental groups are same as table 1.

6. 혈당에 미치는 영향

각각의 추출물 투여에 따른 혈당 농도를 3일 간격으로 측정 한 결과는 Fig. 3과 같다. 실험 기간 중 DC군은 지속적으로 고혈당을 유지한 반면 15일 간의 추출물투여완료 후 혈당이 초기혈당 대비 PC군이 4.08%, R군 18.0%, RL군 28.07%, RS군 29.03%, RLS군 42.42%로 각각 나타나 홍삼발효추출물들의 혈당강하폭이 acarbose 투여군인 PC군에 비해 많게는 10배 높게 나타났다. 치료 간에는 발효하지 않은 R군의 혈당강하폭이 발효시료들에 비해 낮게 나타났으며 발효한 시료들 중에서는 RLS군의 혈당강하 폭이 가장 높게 나타났으며 최종 혈당도 가장 낮게 나타났다. 혈당강하 경향에 있어서는 RLS군이 지속적으로 혈당이 낮아지는 경향을 나타내었다.

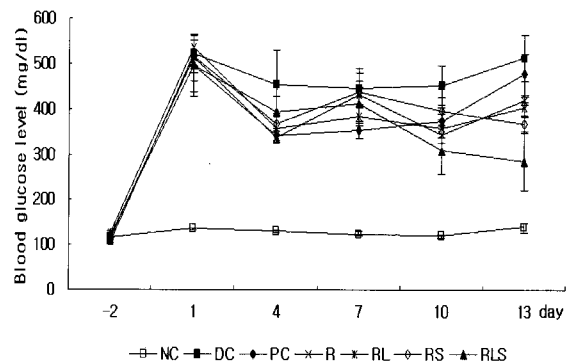


Fig. 3. Effects of fermented red ginseng extracts on blood glucose levels in rats. non fasted blood glucose levels were measured blood sample collected from the tail vein with blood glucose test meter every 3 days on a fixed time. NC: normal control group; DC: diabetes control group; PC: positive control group treated with acarbose; R: non fermented red ginseng extracts; RL: red ginseng extracts fermented with *Lactobacillus plantarum*; RS: red ginseng extracts fermented with *Saccharomyces cerevisiae*; RLS: red ginseng extracts fermented with *L. plantarum* and *S. cerevisiae*. All values are means±S.E.

7. 혈청지질의 변화

추출물의 투여에 따른 각 실험군의 혈청지질 농도는 Table 4와 같다. 실험군들의 총 콜레스테롤 농도는 NC군 62.00 mg/dl, DC군 44.33 mg/dl, PC군 59.50 mg/dl, R군 43.00 mg/dl RL군

33.00 mg/dl, RS군 45.50 mg/dl, RLS군 54.25 mg/dl로 각각 나타났다. 중성지질은 NC군 51.40 mg/dl, DC군 45.33 mg/dl, PC군 39.17 mg/dl, R군 64.75 mg/dl, RL군 31.33 mg/dl, RS군 36.00 mg/dl, RLS군 40.25 mg/dl로 각각 나타났다. HDL 콜레스테롤의 경우 NC군 20.20 mg/dl, DC군 16.17 mg/dl, PC군 21.83 mg/dl, R군 15.50 mg/dl, RL군 12.67 mg/dl, RS군 17.75 mg/dl, RLS군 17.00 mg/dl로 나타났다. 이 결과를 토대로 산출한 동맥경화지수 AI는 NC군 2.04, DC군 1.80, PC군 1.71, R군 1.84, RL군 1.61, RS군 1.56, RLS군 2.12로 나타났으며 심장병 위험지수인 CRF는 각각 NC군 3.04, DC군 2.80, PC군 2.70, R군 2.84, RL군 2.61, RS군 2.56, RLS군 3.13으로 나타났다.

Table 4. Effects of fermented red ginseng extracts on serum lipid level (mg/dl)

	Total cholesterol	Triglyceride	HDL cholesterol	AI	CRF
NC	62.00±6.10 ^b	51.40±9.07 ^{ab}	20.20±1.39 ^{ab}	2.04±0.11 ^{bc}	3.04±0.11 ^{bc}
DC	44.33±6.96 ^{ab}	45.33±5.62 ^{ab}	16.17±2.79 ^{ab}	1.80±0.13 ^{abc}	2.80±0.13 ^{abc}
PC	59.50±7.78 ^b	39.17±4.94 ^{ab}	21.83±2.40 ^a	1.71±0.13 ^{abc}	2.70±0.13 ^{abc}
R	43.00±8.78 ^{ab}	64.75±15.01 ^a	15.50±3.57 ^{ab}	1.84±0.14 ^{abc}	2.84±0.14 ^{abc}
RL	33.00±6.02 ^a	31.33±5.46 ^a	12.67±2.33 ^a	1.61±0.04 ^{ab}	2.61±0.04 ^{ab}
RS	45.50±5.23 ^{ab}	36.00±9.24 ^a	17.75±1.84 ^{ab}	1.56±0.10 ^a	2.56±0.10 ^a
RLS	54.25±10.20 ^{ab}	40.25±7.46 ^{ab}	17.00±2.08 ^{ab}	2.12±0.21 ^c	3.13±0.21 ^c

All values are mean±S.E. Alphabet: Different superscripts in the table indicate significant difference by Duncan's multiple range test(p<0.05). Abbreviated words of experimental groups are same as table 1. AI(Atherogenic index) = (total cholesterol/HDL cholesterol)/HDL cholesterol CRF(cardiac disease risk factor) = total cholesterol/HDL cholesterol

Table 5. Effects of fermented red ginseng extracts on serum AST, ALT, creatinine and BUN activities in rats

	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	Creatinine (mg/dl)	BUN (mg/dl)
NC	122.20±19.93	28.00±2.93	0.52±0.02	8.74±0.96 ^e
DC	275.00±86.08	75.33±22.06	0.57±0.03	24.05±3.20 ^f
PC	194.17±82.03	88.50±42.95	0.60±0.02	16.37±2.07 ^{cd}
R	159.00±37.59	57.50±11.05	0.57±0.02	16.82±2.63 ^{cd}
RL	139.00±27.79	51.67±13.69	0.57±0.03	16.37±2.82 ^{cd}
RS	128.50±14.91	46.00±6.10	0.60±0.08	17.95±1.38 ^{cd}
RLS	109.00±9.60	43.75±6.75	0.57±0.02	17.95±5.19 ^{cd}

All values are mean±S.E. Alphabet: Different superscripts in the table indicate significant difference by Duncan's multiple range test(p<0.05). Abbreviated words of experimental groups are same as table 1.

8. 혈청 중 metabolic variables의 변화

혈청의 대사 지표 물질들의 농도는 Table 5와 같다. 간 기능의 지표인 AST는 NC군이 122.20 IU/L, DC군 275.00 IU/L, PC군 194.17 IU/L, R군 159.00 IU/L, RL군 139.00 IU/L, RS군 128.50 IU/L, RLS군 109.50 IU/L으로 당뇨대조군인 DC군이 가장 높게 나타났고 RLS군이 가장 낮게 나타났다. 추출물투여군 중에서는 R군이 가장 높게 나타났으나 양성대조군인 PC군에 비해서는 낮게 나타났고 가장 낮은 RLS군의 경우 정상대조군인 NC군보다 낮게 나타났다. ALT의 경우 NC군이 28.00 IU/L, DC군 75.33 IU/L, PC군 88.50 IU/L, R군 57.50 IU/L, RL군 51.67 IU/L, RS군 46.00 IU/L, RLS군 43.75 IU/L으로 양성대조군인 PC군이 가장 높게 나타났고 정상대조군인 NC군이 가장 낮게 나타났다. 추출물투여군 중에서는 AST와 동일하게 RLS군이 가장 낮

게, R군이 가장 높게 나타났으며 R군의 경우 당뇨대조군인 DC군이나 양성대조군인 PC군에 비해 낮게 나타났다. 혈중 creatinine은 각 군 간의 유의적인 차이가 나타나지 않았고, BUN의 경우 NC군 8.74 mg/dl, DC군 24.05 mg/dl, PC군 16.37 mg/dl, R군 16.82 mg/dl, RL군 16.37 mg/dl, RS군 17.95 mg/dl, RLS군 17.95 mg/dl로 추출물투여군이 NC군 보다는 높게 나타났으나 DC군보다 낮았고 추출물군 간의 유의적 차이는 나타나지 않았다.

고 찰

인삼 사포닌은 그 화학구조에 따라 열, 산 또는 알칼리에 불안정하여 추출조건에 따라 가공방법에 따라 비당부분의 구조에 변화가 일어난다고 알려져 있어 홍삼발효추출물들의 ginsenoside 함량을 분석하여 발효에 따른 ginsenoside 함량과 구성에 변화가 있는지를 HPLC를 이용해 분석하였으며 그 결과 효모를 이용해 발효한 RS의 함량이 가장 높게 나타났고 그 다음이 발효를 하지 않은 R에서 높게 나타났으며 RL과 RLS는 다른 두 군에 비해 그 함량이 낮은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 ginsenoside의 추출시 에탄올의 함량이 수율과 관계가 있다는 Sung 등²¹⁾의 연구결과에 비추어 볼 때 효모 발효로 인해 발생되는 알코올성분으로 ginsenoside의 추출이 용이해진 결과일 것으로 추정된다. 혈당강하작용을 가진다고 알려진 Rb2와 Re, Rh1의 경우^{22,23)}에도 동일한 경향으로 나타났으나 홍삼의 특유의 성분으로 항암활성을 가지고 있다고 알려진 ginsenoside Rg3²⁴⁾의 경우에는 유산균을 이용해 발효한 RL이 가장 높게, 그 다음이 RS와 RLS로 각각 나타났으며 발효하지 않은 R의 함량이 가장 낮게 나타남으로써 발효공정이 그 함량을 높일 수 있을 것으로 보이며 발효 중에서는 유산균을 이용한 발효가 효과적인 것으로 사료된다. Rg2는 유산균 혹은 효모의 단독 발효가 그 함량을 높이는 것으로 나타났고 혼합발효 시에는 그 함량이 발효하지 않은 것과 차이가 나지 않는 것으로 나타났다. ginsenoside의 구성에 있어서는 ginsenoside Re가 가장 높게 나타났고, 그 다음이 Rc, Rb1 순으로 나타났다. SOD 유사활성을 인공항산화제인 BHT를 양성대조군으로 측정한 결과 발효하지 않은 R의 SOD 유사활성이 가장 낮은 것으로 나타났으며 유산균과 효모를 이용해 혼합발효한 RLS의 유사활성이 가장 높은 것으로 나타났다. 인삼은 주요 유효성분이 사포닌임이 제시된 이후 사포닌 중심으로 많은 연구들이 이루어졌으나 인삼에서 분리한 순수 사포닌에 대해서는 항산화효과가 나타나지 않거나 미약한 것으로 보고되어 있으나 본 실험에서는 발효 후 SOD 유사활성이 발효 전에 비해 일정정도 상승하는 것으로 나타났다²⁵⁾. 이는 Choi 등²⁶⁾의 백삼의 에스테르형과 페놀산 분획물의 SOD 유사활성이 10 mg/ml에서 각각 10.0%, 6.7%로 나타난 것에 비해 매우 높은 결과로 보인다. α-glucosidase²⁷⁾는 소장 상피세포 내막에 위치한 탄수화물 분해효소로 이당류나 다당류를 단당류로 가수분해 효소로 α-glucosidase 활성 저해제는 식후 다당류의 흡수를 지연시켜 혈당 증가를 현저하게 감소시킴으로서 점차적으로 공복 시 혈당을 감소시키는 효과를 가져오게 된다. 이에 홍삼발효추출물들의 혈

당강하능을 알아보고자 대표적인 α -glucosidase 저해제인 acarbose를 대조군으로 측정한 결과, acarbose가 44.53%의 저해 활성을 나타내는데 비해 R 30.22%, RL 43.93%, RS 49.42%, RLS 55.39%로 나타나 추출물 중에서는 발효하지 않은 R의 활성이 가장 낮게 나타났으며 효모를 이용해 발효한 RS와 효모와 유산균을 혼합발효한 RLS의 경우 acarbose보다 각각 10.98%, 24.38% 이상의 높은 활성을 나타냈다. 이러한 결과는 발효를 통해 홍삼의 α -glucosidase 저해활성을 증강시킬 수 있으며 발효에 있어서는 유산균보다는 효모에 의한 발효가 또 단일균주를 이용한 발효보다는 효모와 유산균의 혼합발효가 더 효과적이라는 결론을 얻을 수 있었다. 실험기간동안 실험동물의 2주간의 식이섭취량은 정상대조군인 NC군에 비해 PC군을 비롯한 당뇨대조군들의 섭취량이 다소 높았으나 RLS군의 경우 당뇨유발군임에도 불구하고 NC군보다 낮게 나타났다. 이는 RLS의 투여가 혈당조절에 긍정적인 영향을 끼친 결과로 보여지며 이는 다시 공복감을 줄여 多食으로 인한 고혈당의 유발과 이로 인한 인슐린의 혈당조절능력의 저하를 줄여줄 수 있을 것으로 추정된다. 체중 증가량은 NC군에서는 4.83 g/day로 체중이 증가했으나 DC군은 -1.93 g/day로 가장 많이 감소했으며, 추출물투여군 간에서는 R군과 RL군은 체중의 감소가 나타났으나 DC군에 비해서는 낮게 나타났고, RS군과 RLS군은 체중이 증가한 것으로 나타났다. 특히 RLS군은 식이섭취량에 이어 체중 증가량에 있어서도 다른 추출물 투여군보다 높게 나타나 결과적으로 식이효율에 있어서 NC군을 제외한 다른 군들에 비해서도 가장 양호한 결과를 나타내었다. 간, 신장, 고환의 무게는 모든 당뇨유발군이 NC군보다 높게 나타났으나 추출물투여군의 장기 무게는 당뇨대조군인 DC군에 비해서는 유의적으로 낮게 나타났으며 신장과 고환무게의 경우 NC군을 제외한 모든 실험군이 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 당뇨병의 치료 목적은 당뇨병성 합병증의 발생을 예방 또는 지연시키는 것이며 이는 엄격한 혈당조절에 의해서 효과적으로 달성될 수 있음이 Diabetes Control and Complication Trial(DCCT)²⁸⁾, Kumamoto Study²⁹⁾, United Kingdom Prospective Diabetes Study(UKPADS)등³⁰⁾의 대규모 임상시험 결과로부터 입증되었다. 이에 홍삼발효 추출물 투여로 인한 혈당조절효능을 보기위해 혈당 농도의 변화를 3일 간격으로 측정하여 살펴보았다. 실험 기간 중 DC군은 지속적으로 고혈당을 유지한 반면 15일 간의 시료투여완료 후 혈당이 초기혈당 대비 PC군이 4.08%, R군 18.0%, RL군 28.07%, RS군 29.03%, RLS군 42.42%로 각각 나타나 홍삼발효추출물들의 혈당강하폭이 acarbose 투여군인 PC군에 비해 많게는 10배가량 높게 나타났다. 시료 간에는 발효하지 않은 R군의 혈당강하폭이 발효시료들에 비해 낮게 나타났고 발효한 시료들 중에서는 효모와 유산균을 혼합발효한 RLS군의 혈당강하효능이 가장 높게 나타났으며 최종 혈당도 가장 낮게 나타났다. 혈당강하경향에 있어서도 RLS군이 지속적으로 혈당이 낮아지는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 최근 Waki 등³¹⁾과 Sievepiper 등³²⁾, Sotaniemi 등³³⁾의 인슐린비존형당뇨에서의 홍삼의 혈당강하효능과 인슐린조절 작용에 대한 보고와 홍삼의 주요 사포닌 성분인 ginsenoside Rh2 가 인슐린분비를 증

가시킨다는 Lee 등의 보고³⁴⁾, Rb2 가 혈당강하 성분이라는 Yokozawa 등의 보고²²⁾, STZ로 유발된 당뇨쥐에서 ginsenoside Re가 혈당저하작용을 한다는 Cho 등의 보고³⁵⁾와 일치하는 결과로 보인다. 그러나 본 실험의 ginsenoside 분석결과를 살펴볼 때 위에서 언급한 ginsenoside Rh2의 경우 모든 추출물에서 그 함량이 낮게 나타났으며 그 중 효모를 이용해 발효한 RS군의 함량이 가장 높았고, ginsenoside Re도 RS군이 가장 높게 그 다음이 발효하지 않은 R군으로 나타났으며, Rb2 또한 동일하게 나타났다. 홍삼제작과정에서 특이적으로 발생되며 발효홍삼에 대한 Trinh 등의 연구³⁶⁾에서 혈당강하 효능이 있다고 언급된 ginsenoside Rg3의 경우에도 효모를 이용해 발효한 RS군이 가장 높게 나타남으로써 혈당강하효능이 가장 높은 RLS군과는 큰 연관성을 갖지 않았다. 이는 발효홍삼에 대한 Trinh 등의 연구³⁶⁾에서도 ginsenoside 만을 투여한 그룹보다는 발효한 홍삼의 다당체(polysaccharide)를 투여한 군의 혈당강하가 가장 높게 나타난 결과와 비교해 볼 때 혈당강하기전이 단순히 특정 ginsenoside의 함량과 상관관계를 가지기 보다는 발효를 통해 얻어진 대사산물의 복합적인 작용의 결과로 보여진다. 또한 혈당강하기전 중의 하나인 α -glucosidase 저해활성이 RLS군에서 가장 높았던 점으로 보아 홍삼의 발효추출물의 경우 그 혈당강하가 당의 흡수를 지연시키는 것과 관계있을 것으로 사료된다.

본 연구에서는 당뇨유발군들이 정상인 NC군보다 오히려 총콜레스테롤과 중성지질 모두 유의적으로 낮게 나타났으며 지속적으로 고혈당을 유지한 DC군의 경우 총콜레스테롤 함량이 혈당조절이 가장 양호했던 RLS군보다도 낮게 나타났다. 이러한 결과는 DC군의 체중감소가 다른 군들에 비해 두드러져 상대적으로 혈중 지질 농도가 저하된 것으로 사료되며 이는 체중증가가 가장 높았던 NC군과 당뇨유발군 중 체중증가량이 높았던 RLS군의 총콜레스테롤 함량이 높은 것과 일정한 상관관계를 가진 것으로도 알 수 있다. 그러나 유산균을 이용해 발효한 RL군의 경우 추출물투여군 중 체중감량이 가장 많기는 했으나 DC군에 비해서는 체중감소가 적었는데도 불구하고 총콜레스테롤과 중성지질이 모두 다른 실험군에 비해 낮게 나타난 것은 체중감량 이외에 다른 변수가 작용했을 것으로 사료되며 이에 대해서는 혈중 지질저하 기전 및 관련유효성분에 대한 심도 있는 연구가 수반되어야 할 것으로 사료된다. 본 연구에서 AST의 경우 당뇨대조군인 DC군은 정상대조군인 NC군에 비해 2배 이상 높게 나타났는데 이는 STZ로 유발된 당뇨에 의한 간손상으로 보인다. 통계적으로 유의적인 차이가 나지는 않았으나 추출물투여군들이 DC군과 PC군 보다 낮게 나타난 것은 동일하게 STZ로 당뇨가 유발됐음에도 DC군과 PC군 보다는 그 손상의 적었거나 간손상이 일정부분 회복된 것으로 추정된다. ALT의 경우 또한 정상대조군인 NC군보다 당뇨유발군들의 값이 모두 높게 나타나 AST와 유사한 결과로 사료된다. 추출물투여군 간에는 ALT, AST 모두 R, RL, RS, RLS군 순으로, 혈당강하폭이 클수록 낮게 나타남에 따라 혈당조절과 일정한 관계가 있을 것으로 사료된다. 이러한 결과는 향후 홍삼의 발효 뿐 아니라 한약재의 발효방법에 대한 연구의 기초자료로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

결 론

효모와 유산균을 이용한 홍삼의 발효가 생리활성과 혈당강하에 어떤 영향을 미치는지 탐색하고자 추출물의 생리활성을 분석하고, 흰쥐에 STZ로 당뇨를 유발한 후 혈당과 혈액검사 및 장기에 미치는 영향을 조사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

발효한 홍삼추출물의 ginsenoside 조성은 ginsenoside Re가 가장 높게 나타났고, 그 다음이 Rc, Rb1 순으로 나타났으며 추출물간에서의 측정된 ginsenoside함량은 RS가 가장 높게 나타났고 RLS의 함량이 가장 낮게 나타났으나 조사포넌 함량에서는 큰 차이가 나지 않았다. SOD유사활성은 RLS가 가장 높게 나타났으며, α -glucosidase 저해활성은 R이 가장 낮게 나타났고, RL은 양성대조군인 acarbose와 동일한 수준으로 RS와 RLS는 acarbose보다 각각 10.98%, 24.38% 이상 높은 것으로 나타났다. STZ로 유발된 당뇨쥐의 혈당은 당뇨유발 15일째 DC군은 지속적으로 고혈당을 유지한 데 비해 다른 군들의 경우 초기 혈당 대비 PC군 4.08%, R군 18.0%, RL군 28.07%, RS군 29.03%, RLS군 42.42% 감소하였다. 혈중지질에 있어서 RL군의 총콜레스테롤과 중성지질 모두 가장 낮게 나타났다. 총 콜레스테롤은 RLS군이 가장 높게 나타났고, 중성지질은 R 군이 가장 높게 나타났다. ALT, AST는 RLS군의 농도가 가장 낮은 것으로 나타났고 creatinine은 군간 차이가 나타나지 않았으며 BUN은 DC군 보다는 낮게 나타났으나 추출물간의 유의적 차이는 나타나지 않았다.

이상의 실험결과 주요 ginsenoside 함량은 RS가 가장 높게 나타났으며, SOD유사활성과 α -glucosidase 저해활성은 발효한 추출물들의 활성이 비발효 추출물보다 높게 나타났고 그 중에서 RLS가 가장 높게 나타났다. 동물실험에 있어서는 혈당강하작용은 발효한 추출물들이 발효하지 않은 추출물보다 우수한 것으로 나타났고 발효에 있어서는 효모와 유산균을 혼합발효한 RLS군이 가장 우수하게 나타났다. 혈중지질에 있어서는 RL군의 총콜레스테롤과 중성지질 함량이 가장 낮았고 ALT, AST는 RLS군의 농도가 가장 낮게 나타났다. 이러한 결과는 향후 홍삼을 비롯한 한약재의 발효에 대한 연구의 유용한 자료로 이용될 수 있을 것으로 판단되며 전통적으로 消渴에 이용되어 온 홍삼이 발효를 통해 혈당강하 효과가 증가되는 것으로 나타남에 따라 향후 이를 이용한 당뇨예방 및 치료의 기능성소재로의 개발이 가능할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 이계준. 발효미생물학, 서울, 라이프사이언스, p 3, 2002.
2. Shah, N.P. Functional foods from probiotics and prebiotics, Food Technol, 55: 46-53, 2005.
3. Kim, N.Y., Han, M.J. Development of Ginseng yoghurt fermented by Bifidobacterium spp, Korean J Food Cookery Sci, 21: 575-584, 2005.
4. Lee, I.S., Paek, K.Y. Preparation and quality characteristics of yoghurt added with cultured ginseng, Korean J Food

- Sci Technol, 35: 235-241, 2003.
5. Goh, J.S., Chae, Y.S., Gang, C.G., Kwon, I.K., Choi, M., Park, H. Effect of ginseng extract on the acid production by lactic acid bacteria and the distribution of intestinal microflora of mouse, J Dairy Sci, 15: 216-225, 1996.
6. Koo, H.H., Chung, S.H. Effects of Panax ginseng and Ganoderma lucidum extract on the growth of lactic acid bacteria, J Korean Soc Food Sic Nutr, 7: 45-50, 1994.
7. Hong, O.S., Ko, Y.T. Study on preparation of yogurt from milk and rice, Korean J Food Sci Technol, 23: 587-592, 1991.
8. Yoon, K.Y., Wooddams, E.E., Hang, Y.D. Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria, Bioresource Technol, 97: 1427-1430, 2006.
9. Lee, E.H., Nam, E.S., Park, S.L. Characteristics of curd yogurt from milk added with Maesil (Pruns mume), Korean J Food Sci Technol, 34: 419-424, 2002.
10. Lee, I.S., Lee, S.O., Kim, H.S. Preparation and quality characteristics of yoghurt added with Saururus chinensis (Lour.)bail. J Korean Soc Food Nutr, 31: 411-416, 2002.
11. Han, M.J., Lee, Y.K. Development of yogurt containing pumpkin. Kor J Food Sci Technol, 35: 173-175, 1993.
12. Jung, Y.J., Han, D.H., Choi, B.H., Park, C., Lee, H., Kim, S.H., Hahm, D.H. Effect of fermented herbal extracts, HP-1 on enzyme activities and gene expressions related to alcohol metabolism in ethanol-loaded rats, Korean Journal of Oriental Physiology and Pathology, 21: 387-391, 2007.
13. 전국한의학대학 공동교재편찬위원회. 본초학, 서울, 영림사, p 576, 2004.
14. Nam, K.Y. Clinical Applications and Efficacy of Korean Ginseng (Panax ginseng C.A. Meyer), J Ginseng Res, 26(3):111-131, 2002.
15. Park, J.D. Recent studies on the chemical constituents of Korea ginseng, Korean J Ginseng Sci, 20: 389-415, 1996.
16. 고인호, 장재철, 고정삼. 방사선이 조사된 생쥐 간에서 백삼과 발효인삼추출물이 단백질 및 지질과산화에 미치는 효과, 대한방사선기술학회지 27: 1226-2854, 2004.
17. 김동현. 인삼과 건강, 서울, 도서출판 효일, pp 31-33, 2005.
18. Han, J.Y., Goo, D.H., Han, M.S., Ryu, G.H. Comparison of fermentability and characteristics of fermented broth for white ginseng, red ginseng and extruded white ginseng. Food Engineering Progress, 11: 119-126, 2007.
19. Park, S.J., Kim, D.H., Paek, N.S., Kim, S.S. Preparation and quality characteristics of the fermentation product of ginseng by lactic acid bacteria (FGL), Korean J Ginseng Sci, 30(2):88-94, 2006.
20. Lau, A.J., Woo, S.O., Koh, H.L. Analysis of saponins in raw and steamed Panax notoginseng using high-performance

- liquid chromatography with diode array detection, *J Chromatogr A*, 1011: 77-87, 2003.
21. Sung, H.S., Yang, C.B. Effect of ethanol concentration on saponin composition of red ginseng extract, *Korean Journal of Food Science and Technology*, 17: 227-231, 1985.
 22. Yokozawa Kobayashi, T., Oura, H., Kawashima, Y. Studies on the mechanism of the hypoglycemic activity of ginsenoside-Rb2 in streptozotocin-diabetic rats, *Chem Pharm Bull*, 33: 869-872, 1985.
 23. Attele, A.S., Zhou, Y.P., Xie, J.T., Wu, J.A., Zhang, L., Dey, L., Pugh, W., Rue, P.A., Polonsky, K.S., Yuan, C.S. Antidiabetic effects of Panax ginseng berry extract and the identification of an effective component, *Diabetes*, 51(6):1851-1858, 2002.
 24. Mochizuki, M., Yoo, Y.C., Matsuzawa, K., Sato, K., Saiki, I., Tono-Oka, S., Samukawa, K.I., Azuma, I. Inhibitory effect of tumor metastasis in mice by saponins, ginsenoside-Rb2, 20(R)-and 20(S)-ginsenoside-Rg3, of red ginseng, *Biol Pharm Bull*, 18: 1197-1202, 1995.
 25. Han, B.H., Park, M.H., Han, Y.N., Shin, C.S. Studies on the antioxidant components of Korean ginseng (IV) antifatigue active components, *Yakhak Hoeji*, 28: 231-235, 1984.
 26. Choi, C.S., Kim, K.I., Hong, H.D., Choi, S.Y., Lee, Y.C. Phenolic acid composition and antioxidative of white ginseng, *J Ginseng Res*, 30: 22-30, 2006.
 27. Gua, J., Jin, Y.S., Han, W., Shim, T.H., Sa, J.H., Wang, M.H. Studies for component analysis, antioxidative activity and α -glucosidase inhibitory activity from *equisetum arvense*, *J Kor Soc Appl Biol Chem*, 49(1):77-81, 2006.
 28. The Diabetes Control and Complication Trial (DCCT) Research Group : Effects of intensive treatment of long-term complication in insulin-dependent diabetes mellitus, *N Eng J Med*, 329: 977-986, 1993.
 29. Shichiri, M. Long term results of the Gumamoto study on optimal diabetes control in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care Suppl*, 2: B21-29, 2000.
 30. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group : Intensive blood-glucose control with control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33), *Lancet*, 352: 837-853, 1998.
 31. Waki, I., Kyo, H., Yasuda, M., Kimura, M. Effects of a hypoglycemic component of ginseng radix on insulin biosynthesis in normal and diabetic animals, *J Pharmacobiodyn*, 5: 547-554, 1982.
 32. Sievenpiper, J.L., Sung, M.K., Di Buono, M., Lee, K.S., Nam, K.Y., Arnason, J.T., Leiter, L.A., Vuksan, V. Korean red ginseng rootlets decrease acute postprandial glycemia: Results from sequential preparation-and dose-finding studies, *J Am Coll Nutr*, 25: 100-107, 2006.
 33. Sotaniemi, E.A., Haapakoski, E., Rautio, A. Ginseng therapy in non-insulin-dependent diabetic patients, *Diabetes Care*, 18: 1373-1375, 1995.
 34. Lee, W.K., Kao, S.T., Liu, I.M., Cheng, J.T. Increase of insulin secretion by ginsenoside Rh2 to lower plasma glucose in Wistar rats, *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 33: 27-32, 2006.
 35. Cho, W.C., Chung, W.S., Lee, S.K., Leung, A.W., Cheng, C.H., Yue, K.K. Ginsenoside Re of Panax ginseng possesses significant antioxidant and antihyperlipidemic efficacies in streptozotocin-induced diabetic rats, *Eur J Pharmacol*, 550(1-3):173-179, 2006.
 36. Trinh, H.T., Han, S.J., Kim, S.W., Lee, Y.C., Kim, D.H. Bifidus fermentation increases hypolipidemic and hypoglycemic effects of red ginseng, *J Microbiol Biotechnol*, 17(7):1127-1133, 2007.