

고비의 항산화활성 증가를 위한 효율적인 추출조건 탐색

신소림, 이철희*

충북대학교 응용생명환경학부 원예과학과

Screening of Effective Extraction Conditions for Increasing Antioxidant Activities from Fronds of *Osmunda japonica*

So Lim Shin and Cheol Hee Lee*

Department of Horticultural Science, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

Abstract - This study was conducted to investigate the optimum condition of extraction from fronds of *Osmunda japonica* to increase antioxidant compounds and antioxidant activity. Powder (1 g) of lyophilized fronds were mixed with three different solvents (MeOH, 80% EtOH and water). Extraction was carried out using not only by immersion (room temp.), heating (60°C) and stirring (200 rpm) for 6 h, but also by sonication in 42 kHz ultrasonic bath for 15, 30 and 45 min. Extracts were filtered, and adjusted up to 50 mL to determine contents of soluble solids, total polyphenols and total flavonoids. Antioxidant capacity was measured by radical scavenging activity of 0.15 mM DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and 7.4 mM ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] radical. Among the solvents, MeOH and 80% EtOH appeared to be effective for extraction. Extract obtained from sonication in MeOH for 15 min resulted high polyphenol contents (45.15 mg · g⁻¹ db) and DPPH radical scavenging activity (RC₅₀= 0.35 mg · mL⁻¹). The highest flavonoid contents was obtained from immersion or heating extraction with MeOH (38.10~38.10 mg · g⁻¹ db). ABTS radical scavenging was high in same extraction with 80% EtOH (RC₅₀= 0.21~0.22 mg · mL⁻¹). Altogether, our results indicate that the extraction using ultrasonic bath with MeOH as a solvent (for 15~30 minutes) was the most effective way not only for increasing various antioxidant activities but also for saving labor and time in case of fronds of *Osmunda japonica*.

Key words - ABTS radical, DPPH radical, Flavonoid, Ultrasonic, Polyphenol

서 언

식물의 2차 대사산물은 종류가 많고 구조적 특징이 다양하므로 추출용매에 따라 용해도가 각기 다르다(Cowan, 1999). 일반적으로 목표로 하는 유효성분이 명확할 때에는 친화력이 높은 용매를 선택하여 추출하지만, 식물 내에는 다양한 2차 대사산물이 함유되어 있으므로 특정 식물의 생리활성을 분석할 때에는 다량의 유효성분이 추출될 것으로 기대되는 용매로 추출하여 생리활성을 분석한다. 가격이 저렴하고 쉽게 구할 수 있는 물과 알코올이 추출용매로 자주 사용되는데, 알코올은 세포막을 파괴하여 세포내의 성분을 추출할 수 있으며, 물보다 끓는점이 낮은 장점이 있으므로 사용 빈도가 매우 높으며 경우에 따라 물과 섞어 사용

하기도 한다(Cha *et al.*, 2009). 또한 알코올 중 메탄올은 물과 같은 극성용매에 잘 용출되는 물질과 ether, CH₂Cl₂ 및 CHCl₃ 등과 같은 비극성 용매에서 잘 용출되는 물질 모두가 용출되는 등 용해도가 크고 가격이 저렴하며 추출 조작이 편리하여 식물 추출 용매로 자주 사용된다(Woo, 2001; Kim *et al.*, 2003).

동일한 추출용매에서도 추출방법에 따라 추출되는 유효성분의 종류 및 양이 달라진다. 가장 일반적으로 사용되는 열 추출법은 고분자물질을 저분자로 유리시켜 추출효율을 증가시킬 수 있는 장점이 있다. 그러나 열에 의한 유효성분 파괴, 단백질 변이, 가용성분 위주의 추출, 장시간의 추출 시간 및 낮은 추출효율로 인한 에너지 소비 등의 단점이 있다(Kwon, 2002; Park *et al.*, 2004). 최근 사용이 증가되고 있는 초음파추출은 열에 의한 성분 파괴 및 추출시간을

*교신저자(E-mail) : leech@chungbuk.ac.kr

줄일 수 있으며, 초음파 조사에 의한 공동현상(cavitation)에 따른 압력증가로 세포 내부 조직이 파괴되어 확산이 용이하게 되고, 파장의 침투력으로 인하여 용매가 미세부분의 조직까지 쉽게 침투하여 추출효과를 향상시키는 등의 장점이 있다(Park *et al.*, 2004; Pan *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2007). 그러나 용매의 종류에 따라 cavitation으로 인하여 수용성 radical이 형성되어 추출물의 생리활성에 영향을 줄 수 있으며, 초음파 조사시간이 길어질수록 온도가 상승하며, pH에 민감하다는 단점이 있다(Paniwnyk *et al.*, 2001; Park *et al.*, 2004).

본 연구는 새순은 식용하며, 새순과 성엽에 항암 및 항산화활성이 우수한 것으로 알려져 있는(Heo *et al.*, 2009; Jeong *et al.*, 2007) 고비의 성엽을 대상으로 추출용매와 추출방법에 따른 고비 성엽의 항산화활성을 비교하여 천연 항산화소재로 개발하기 위한 적정 추출조건을 구명하기 위하여 시행하였으며, 전문 초음파 추출장비에 비하여 가격이 저렴한 초음파 수조를 이용하여 경제적으로 추출효율을 높일 수 있는 방법을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

재료수집 및 추출

충북 청원군에서 수집하여 충북 청주시에 소재한 무가온 온실에서 재배하던 고비의 지상부를 2007년 6월 25일에 수확하여 수세한 다음 동결건조하고 분쇄하여 사용하였다. 추출용매는 물(deionized water; nano pure grade), 80% 에탄올(Ethanol, Jin chemical pharmaceut., Korea), 100% 메탄올(Methanol, Merck, Germany)을 사용하였다. 상온 침지추출은 분쇄시료와 용매를 삼각플라스크에 담아 혼합한 다음 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 의 실온에서 6시간 동안 추출하였으며, 열추출은 분쇄시료와 용매를 둥근바닥플라스크에 담아 혼합한 다음 water bath의 온도를 60°C 로 설정한 냉각관이 부착

된 환류냉각추출장치(Chang Shin, Co., Korea)에서 6시간 동안 시행하였다. 상온교반추출은 분쇄시료와 용매를 삼각플라스크에 담은 후 magnetic bar(4.0×0.7 cm)를 넣어 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 의 실온에서 magnetic stirrer(Wise stir MSH-200, Daihan Scientific, Korea)를 이용하여 200 rpm의 속도로 교반하여 6시간 동안 추출하였다. 초음파추출은 $30 \times 24 \times 14.5$ cm 크기의 초음파 수조(5510-DTH, Branson, USA)를 이용하였으며, 초음파 수조 크기의 아크릴판에 유리병 뚜껑을 부착하여 유리병이 초음파 수조의 하단에 직접 닿지 않도록 하였다(Fig. 1). 건조시료와 용매를 유리병에 넣어 혼합한 후 아크릴판에 부착하였으며 초음파수조 내부에 5 L의 물을 넣은 다음 15, 30, 45분 동안 추출하였다. 추출 당시 초음파 수조 내 수온은 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 였으며, 추출 시간에 따라 각 $1.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$, $2.5 \pm 0.8^\circ\text{C}$, $3.6 \pm 0.7^\circ\text{C}$ 가 상승하였다. 모든 추출물은 잔사를 재추출하지 않고 1회 추출하였으며, 분쇄시료를 동일한 방법으로 2회 이상 추출하였다. 추출한 다음 여과지(Advantec No. 2, Toyo Roshi Kaisha Ltd., Japan)를 사용하여 vacuum pump(GAST)로 감압여과하였으며, 여과된 추출물의 일부를 증발접시에 담아 $60 \pm 2^\circ\text{C}$ 의 dry oven(KPI-507L, Korea Power Ind. Co. Ltd, Korea)에서 2일 이상 건조시킨 후 데시케이터에서 수분을 제거하여 각 추출물의 가용성 고형분($\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, db) 함량을 구하였다.

페놀성 물질의 함량 측정

총 폴리페놀의 함량은 Folin-Denis의 방법을 응용하여 측정하였다(Velioglu 등, 1998). 추출물 0.1 mL와 2%의 Na_2CO_3 (Sodium carbonate, Sigma, USA) 용액 2 mL를 혼합한 다음 3분 후 1 N의 Folin-Ciocalteu's phenol reagent(F9252, Sigma, China) 0.1 mL를 첨가하여 혼합한 다음 실온에서 30분 동안 반응시켰다. 반응물은 UV/Visible spectrophotometer로 750 nm에서 흡광도를 측

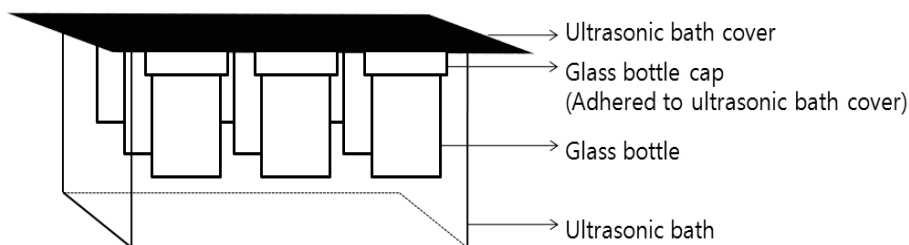


Fig. 1. Ultrasonic bath and bottles used in this study.

정하였으며, tannic acid(T0200, Sigma, China)를 표준물질로 작성한 검량선을 이용하여 건조시료 당 총 폴리페놀의 함량을 구하였다.

총 플라보노이드의 함량은 diethylene glycol 비색법으로 측정하였다(NFRI, 1990). 추출물 0.2 mL, diethylene glycol(H26456, Sigma, USA) 2 mL, 1N NaOH(Sodium hydroxide solution, Samchun, Korea) 2 mL를 혼합한 다음, 37 ± 2°C의 water bath에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응물은 UV/Visible spectrophotometer로 420 nm에서 흡광도를 측정하였으며, Naringin(N1376, Sigma, USA)을 표준물질로 작성한 검량선에 대입하여 건조시료 당 총 플라보노이드의 함량을 구하였다.

DPPH 및 ABTS radical 소거활성

각 추출물의 DPPH radical 소거활성은 Blois(1958)의 방법으로 측정하였다. 0.15 mM의 DPPH 용액 0.8 mL에 4단계로 희석한 각 추출물을 0.2 mL 첨가하여 암실에서 30분 동안 반응시킨 후, UV/Visible spectrophotometer (Ultrospec 4000, Pharmacia Biotech., Germany)로 517 nm에서 흡광도를 조사한 다음 아래의 식을 이용하여 각 추출물의 소거활성을 구하였으며, 이를 이용하여 단순회귀분석으로 추출물 대신 용매를 첨가한 대조구의 radical 소거활성을 50% 감소시키는데 필요한 시료의 농도(RC₅₀, mg · mL⁻¹)를 구하였다.

ABTS radical 소거능을 측정하기 위하여 7.4 mM의 ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid); A9941, Sigma, USA]를 2.6 mM의 potassium persulfate(P5592, Sigma, USA)에 녹인 다음 실온암소에서 24시간 동안 방치하여 radical을 형성시켰으며, 실험 직전에 732 nm에서 흡광도 값이 0.7 ± 0.02(mean ± SE)가 되도록 phosphate-buffered saline(pH 7.4)으로 희석하여 사용하였다. 4단계로 희석한 농도별 추출물 50 µL에 7.4 mM ABTS 용액 950 µL를 첨가한 다음 암소에서 10분 동안 반응시켰으며, UV/Visible spectrophotometer로 732 nm에서 흡광도를 측정하였다(Re *et al.*, 1999). 추출물의 ABTS radical 소거활성은 DPPH radical 소거능과 동일한 방법으로 계산하여 RC₅₀으로 나타내었다.

각 추출물의 radical 소거활성을 비교하기 위한 양성 대조구로는 천연 항산화제인 ascorbic acid(A5960, Sigma, China)와 합성 항산화제인 BHT(2,6-Di-tert-butyl-4-

methylphenol; B1378, Sigma, Germany)를 사용하였다.

$$\text{Radical scavenging activity(\%)} = (1 - A / B) \times 100$$

A : 추출물을 넣었을 때의 흡광도

B : 추출물 대신 동량의 용매를 첨가했을 때의 흡광도

통계분석

모든 실험은 3반복을 1회로 하여 3회 반복 실험하였으며, SAS version 9.1(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 $p < 0.05$ 의 유의수준에서 Tukey's studentized range test를 이용하여 통계분석 하였다.

결과 및 고찰

용매 및 추출방법에 따른 추출수율의 변화

용매와 추출방법을 달리하여 추출한 고비 성엽 추출물은 80% 에탄올을 용매로 45분 동안 초음파추출 했을 때 추출수율이 가장 높았고, 15분 동안 초음파 추출했을 때 추출수율이 가장 낮았다(Table 1). 추출용매에 따른 수율을 비교한 결과, 대체로 80% 에탄올 > 메탄올 > 물 순으로 수율이 높은 경향을 보였다. 이는 물과 유기용매가 혼합된 용매에서 시료 내 다양한 화합물들의 용매 친화력이 증가되었기 때문으로 생각된다.

추출방법별로는 초음파 45분 추출물의 추출수율이 높은 경향을 보였는데, Woo *et al.* (2009) 또한 환류냉각추출보다 초음파추출이 추출수율이 높았다고 하였다. 이는 초음파 추출시 초음파 에너지로 인한 상호탈기작용으로 인하여 짧은 시간 동안에 건조시료의 유용 물질이 빠르게 용출되었기 때문으로 생각된다(Park *et al.*, 2004).

용매 및 추출방법에 따른 페놀성 물질의 함량 측정

용매와 추출방법을 달리하여 추출한 결과, 총 폴리페놀의 함량은 메탄올을 용매로 15분 동안 초음파추출 했을 때, 총 플라보노이드 함량은 상온침지 또는 환류냉각추출 했을 때 가장 많았다(Table 2). 메탄올과 80% 에탄올은 고비의 성엽으로부터 페놀성 물질을 추출하는 데 큰 차이가 없었으며, 메탄올과 80% 에탄올을 용매로 사용한 경우에는 추출방법에 따른 차이도 크지 않았다. 그러나 물 추출물에서는 페놀성 물질의 함량이 현저히 낮았으며, 특히 교반추출물에서는 추출된 페놀성 물질이 극히 적었다. 용매와 추출

Table 1. Change of extraction yield of *Osmunda japonica* depending on extraction solvent and methods

Solvent	Method	Conditions	Time	Soluble solids
			(min)	(g · g ⁻¹ db)
MeOH	Immersion	25°C	360	0.311 fg ^z
		60°C	360	0.318 def
	Stirring	200 RPM	360	0.324 cde
		Sonication	42 kHz	15
	30			0.318 def
	45			0.327 cd
	80% EtOH	Immersion	25°C	360
60°C			360	0.343 ab
Stirring		200 RPM	360	0.333 bc
		Sonication	42 kHz	15
30				0.313 efg
45				0.355 a
Deionized water		Immersion	25°C	360
	60°C		360	0.316 def
	Stirring	200 RPM	360	0.295 hi
		Sonication	42 kHz	15
	30			0.310 fg
	45			0.310 fg

^zMean separation within columns by Tukey's studentized range test at $p < 0.05$.

Table 2. Change of total polyphenol and flavonoid contents in extracts obtained from *Osmunda japonica* depending on extraction solvent and methods

Solvent	Method	Conditions	Time	Total polyphenol ^z	Total flavonoid ^y
			(min)	(mg · g ⁻¹ db)	(mg · g ⁻¹ db)
MeOH	Immersion	25°C	360	41.49 abc ^x	38.11 a
		60°C	360	39.66 c	38.10 a
	Stirring	200 RPM	360	40.49 bc	37.52 ab
			Sonication	42 kHz	15
	30	45.00 a			35.71 a-d
	45	43.56 abc			31.97 def
	80% EtOH	Immersion	25°C	360	41.19 abc
60°C			360	43.30 abc	30.98 ef
Stirring		200 RPM	360	42.43 abc	33.71 b-e
			Sonication	42 kHz	15
30		39.59 c			29.96 ef
45		44.03 ab			28.99 f
Deionized water		Immersion	25°C	360	20.89 e
	60°C		360	21.86 e	10.11 g
	Stirring	200 RPM	360	15.68 f	6.73 g
			Sonication	42 kHz	15
	30	22.14 e			8.86 g
	45	24.46 e			9.85 g

^zMilligrams of total polyphenol contents per gram of dried samples based on tannic acid as standard.

^yMilligrams of total flavonoid contents per gram of dried samples based on naringin as standard.

^xMean separation within columns by Tukey's studentized range test at $p < 0.05$.

방법에 따른 페놀성 물질의 추출수율을 비교한 결과, 총 폴리페놀의 함량은 메탄올을 용매로 15분 동안 초음파추출한 추출물과 물을 용매로 교반추출한 추출물에서 2.9배, 총 플라보노이드의 함량은 메탄올을 용매로 침지추출한 추출물과 물을 용매로 교반추출한 추출물에서 5.7배의 함량차를 보였다.

한편 초음파 추출시간의 증가와 페놀성 물질 함량이 반드시 비례하지는 않았는데, 이는 추출용매에 따라 추출 중 발생하는 cavitation으로 인하여 형성된 hydroxy radical이 추출물의 생리활성물질에 영향을 줄 수 있기 때문으로 생각되었다(Paniwnyk *et al.*, 2001).

용매 및 추출방법에 따른 DPPH 및 ABTS radical 소거 활성 변화

고비의 성엽 추출물의 DPPH radical 소거활성은 메탄올을 용매로 초음파 15분 추출했을 때 가장 우수하였으며, ABTS radical 소거활성은 80% 에탄올을 용매로 환류냉각 추출 했을 때 가장 우수하였다(Table 3). 메탄올과 80% 에탄올 용매 추출물의 radical 소거활성은 용매 및 추출조건에 따른 영향이 크지 않았으나, 물 추출물의 알코올 추출물

에 비하여 radical 소거활성은 현저히 낮았다. 이는 물 추출물에는 항산화효과가 있는 페놀성 물질이 적게 용출되었기 때문으로 생각된다.

한편 고비의 80% 에탄올과 물 추출물은 초음파 추출시간이 길어질수록 총 폴리페놀의 함량이 증가하였으나(Table 2), 용출된 폴리페놀의 증가와 추출물의 DPPH radical 소거활성 증가가 반드시 일치하지는 않았다(Table 3). 일반적으로 총 폴리페놀의 함량이 높을수록 DPPH radical 소거능도 증가하는 것으로 알려져 있으나(Kim *et al.*, 2004; Choi *et al.*, 2005), Paniwnyk *et al.* (2001)과 Woo *et al.* (2009)의 연구에서와 같이 물을 용매로 초음파 추출하였을 때에는 용매로 사용한 물로 인하여 추출물 내 수산기 radical이 형성되어 추출물의 항산화 활성이 저하되는 경우가 있다. 본 연구에서도 용매에 포함된 물로 인하여 초음파 추출 중 radical 소거활성에 관여되는 물질이 일부 파괴된 것으로 생각되며, 이 물질은 페놀성 물질이 아닌 다른 물질일 것으로 추측된다. 따라서 차후 이에 관한 연구가 필요한 것으로 생각된다.

이상으로 추출용매 및 추출방법을 달리하여 추출한 고비 성엽 추출물의 추출수율, 페놀성 물질(총 폴리페놀과 총 플

Table 3. Change of DPPH radical and ABTS radical scavenging in extracts obtained from *Osmunda japonica* depending on extraction solvent and methods

Solvent	Method	Conditions	Time	DPPH [•]	ABTS ^{•+}
			(min)	(RC ₅₀ = mg · mL ⁻¹)	(RC ₅₀ = mg · mL ⁻¹)
MeOH	Immersion	25°C	360	0.42 c ^z	0.28 ab
			360	0.43 c	0.30 ab
	Heating	60°C	360	0.42 c	0.32 ab
			360	0.35 a	0.27 ab
	Stirring	200 RPM	15	0.37 ab	0.28 ab
			30	0.40 bc	0.29 ab
			45	0.40 bc	0.29 ab
80% EtOH	Immersion	25°C	360	0.43 c	0.22 a
			360	0.37 ab	0.21 a
	Heating	60°C	360	0.41 bc	0.27 ab
			360	0.42 c	0.27 ab
	Stirring	200 RPM	15	0.43 c	0.29 ab
			30	0.43 c	0.29 ab
			45	0.39 abc	0.39 b
Deionized water	Immersion	25°C	360	1.08 d	1.02 e
			360	1.29 e	0.69 cd
	Heating	60°C	360	1.98 h	0.93 e
			360	1.26 e	0.58 c
	Stirring	200 RPM	15	1.34 f	0.70 cd
			30	1.34 f	0.70 cd
			45	1.43 g	0.72 d

^zMean separation within columns by Tukey's studentized range test at *p*<0.05.

라보노이드)의 함량, DPPH 및 ABTS radical 소거능을 분석한 결과, 추출용매와 추출방법에 따라 추출물의 추출수율 및 생리활성 물질의 용출 정도에 차이가 있는 것으로 나타났다. 목표로 하는 생리활성물질 및 생리활성에 따라 가장 적합한 추출용매 및 추출방법은 각기 다르게 나타났으나, 대체로 메탄올을 용매로 초음파수조에서 15~30분 동안 추출하는 것이 고비 성엽의 항산화 활성을 증가시키는데 효과적인 것으로 나타났다. 본 연구에서 사용된 초음파수조를 이용한 초음파 추출은 30분의 짧은 추출시간으로도 추출효율을 상승시킬 수 있고, 장비 비용이 비교적 저렴하며 다양도로 사용 가능한 세척용 초음파수조로도 충분한 효과를 볼 수 있을 뿐 아니라, 1번에 여러 개의 시료를 추출할 수 있으므로 시료의 항산화활성을 간단하게 증가시킬 수 있는 매우 경제적인 추출법으로 생각되었다.

적 요

본 연구는 고비의 성엽으로부터 항산화 물질 추출과 항산화 활성을 증가시키기 위한 적정 추출 조건을 구명하기 위하여 시행하였다. 동결건조 한 다음 분쇄한 고비 성엽 1g을 메탄올, 80% 에탄올, 물 등 3종류의 용매와 혼합한 다음 상온에서 침지, 60°C의 항온 수조에서 가열, 200 rpm에서 교반하여 6시간동안 추출하거나 42 kHz의 초음파 수조에서 15, 30, 45분 동안 추출하였다. 추출물은 여과한 다음 최종 볼륨을 50 mL로 정량하여 가용성고형분, 총 폴리페놀 및 총 플라보노의 함량을 구하였으며, 항산화활성은 0.15 mM의 DPPH와 7.4 mM의 ABTS radical 소거능으로 측정하였다. 고비 성엽 추출물의 항산화 효과를 증가시키기 위해서는 메탄올과 80% 에탄올을 용매로 사용하는 것이 효과적인 것으로 나타났다. 메탄올을 용매로 초음파 수조에서 15분 동안 추출했을 때 총 폴리페놀의 함량(45.15 mg · g⁻¹ db)과 DPPH radical 소거활성(RC₅₀=0.35 mg · mL⁻¹)이 가장 우수하였으며, 총 플라보노이드의 함량은 메탄올을 용매로 상온침지 또는 가열추출하였을 때(38.10~38.10 mg · g⁻¹ db), ABTS radical 소거활성은 80% 에탄올을 용매로 상온침지 또는 가열추출하였을 때 가장 우수하였다(RC₅₀=0.21~0.22 mg · mL⁻¹). 연구의 결과, 초음파 수조를 이용한 추출은 노력과 시간을 절감할 수 있는 효율적인 추출방법으로 생각되었으며, 고비의 성엽은 메탄올을 용매로 15~30분 동안 초음파 수조에서 추출하는 것

이 추출물의 다양한 항산화활성을 증가시키는데 가장 적합한 것으로 나타났다.

인용문헌

- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26:1199-1204.
- Cha, W.S., I.S. Ju, D.H. Yun, S.S. Chun, J.H. Kim and Y.J. Cho. 2009. Biological activity of extracts from cherry sage (*Salvia officinalis* L.). *J. Life Sci.* 19:390-396 (in Korean).
- Choi, S.Y., S.H. Lim., J.S. Kim, T.Y. Ha., S.R. Kim, K.S. Kang and I.K. Hwang. 2005. Evaluation of the estrogenic and antioxidant activity of some edible and medicinal plants. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 37:549-556 (in Korean).
- Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12:564-582.
- Heo, B.G., S.U. Chon, Y.J. Park, J.H. Bae, S.M. Park, Y.S. Park, H.G. Jang and S. Gorinstein. 2009. Antiproliferative activity of Korean wild vegetables on different human tumor cell lines. *Plant foods Hum. Nutr.* 64:257-263.
- Jeong, J.A., S.H. Kwon and C.H. Lee. 2007. Screening for antioxidative activities of extracts from aerial and underground parts of some edible and medicinal ferns. *Kor. J. Plant Res.* 20:185-192 (in Korean).
- Kim, C.M., J.K. Lee, S.P. Hong, J.W. Kim, S.W. Shin, Y.M. Han, J.H. Jeong, S.Y. Lee, D.S. Im, H.J. Park, S.S. Kang, J.W. Kim, K.N. Lee, K.S. Yang, J.C. Park, S.H. Lee, J.P. Im, D.K. Kim, Y.C. Kim, E.K. Seo, C.G. Sung, I.S. Lee, E.R. Woo, M.W. Lee, K.H. Bae, Y.H. Kim, J.S. Noh and B.Y. Hwang. 2003. Natural product chemistry. Younglimsa, Seoul, Korea (in Korean).
- Kim, E.Y., I.H. Baik, J.H. Kim, S.R. Kim and M.R. Rhyu. 2004. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 36:333-338.
- Kwon, Y.J., K.H. Kim and H.K. Kim. 2002. Changes of total polyphenol content and antioxidant activity of *Ligularia fischeri* extracts with different microwave-assisted extraction conditions. *Kor. J. Food Preserv.* 9:332-337 (in Korean).
- NFRI. 1990. Manuals of quality characteristic analysis for food quality evaluation (2). National Food Research Institute, Skuba. Japan (in Japanese).
- Pan, X., G. Niu and H. Liu. 2002. Comparison of microwave-assisted extraction and conventional extraction techniques for the extraction of tanshinones from *Salvia miltiorrhiza*

- Bunge with analysis by high-performance liquid chromatography. *Biochem. Eng. J.* 12:71-77.
- Paniwnyk, L., E. Beaufoy, J.P. Lorimer and T.J. Mason, 2001. The extraction of rutin from flower buds of *Sophora japonica*. *Ultrason. Sonochem.* 8:299-301.
- Park, J.H., H.S. Lee, H.C. Mun, D.H. Kim, N.S. Seoung, H.G. Jung, J.K. Bang and H.Y. Lee. 2004. Effect of ultrasonification process on enhancement of immunostimulatory activity of *Ephedra sinica* Stapf and *Rubus coreanus* Miq.. *Kor. J. Biotechnol, Bioeng.* 19:113-117 (in Korean).
- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C. Rice-Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.* 26:1231-1237.
- Velioglu, Y.S., G. Mazza, L. Cao and B.D. Oomah. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem.* 46: 4113-4117.
- Woo, W.S. 2001. *Methods for natural chemical analysis.* Publishing department in Seoul national university publications, Seoul, Korea (in Korean).
- Woo, J.H., S.L. Shin, Y.D. Chang and C.H. Lee. 2009. Comparison of antioxidant effects by different extraction methods in flowers of *Aster scaber*, *Aster maackii*, *Coreopsis lanceolata* and *Coreopsis tinctoria*. *Kor. J. Plant Res.* 22:381-388 (in Korean).
- Yang, Q., X.I. Zhang, X.Y. Li, W.K. Tang, J.X. Zhang, C.X. Fang and C.Y. Zheng. 2007. Coupling continuous ultrasound assisted extraction with ultrasonic probe, solid phase extraction and high performance liquid chromatography for the determination of sodium Danshensu and four tanshinones in *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Analyt. Chim. Acta.* 589:231-238.

(접수일 2010.8.11; 수락일 2011.2.7)