J. Fd Hyg. Safety
Vol. 22, No. 4, pp. 359~364 (2007)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

Icariin 함량에 따른 삼지구엽초 추출물의 추출조건 및 항산화 효과

김서진 · 오덕환*
강원대학교 생명공학부 식품생명공학전공

Free Radical Scavenging Effect and Extraction Condition of Ethanol Extracts of *Epimedium koreanum* Nakai Containing Different Icariin Quantity

Seo-Jin Kim and Deog-Hwan Oh*
Department of Food Science and Biotechnology, College of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea
(Received November 21, 2007/Accepted December 19, 2007)

ABSTRACT – This study was conducted to determine the optimum condition of extraction and antioxidant activity of ethanol extracts of *Epimedium koreanum* Nakai based on the icariin quantity. Also, further organic solvent fractions of hexane, chloroform, ethyl acetate and butanol were obtained from the ethanol extract of *Epimedium koreanum* Nakai at different temperatures. Total ethanol extraction yield of wild grape seed ranged from 11.8% to 39.3% depending on the concentration of icariin as well as different ethanol concentration, extraction temperature and time condition. Among different extraction temperatures and time, the highest extraction yield of 39.3% was obtained at 70% ethanol for 3 hour at 50°C in the sample containing the 0.596% icariin (KE9412). In the meantime, the strongest free radical scavenging effect (RC_{50}) with 18.9 μg/mL in the KE9412 sample was observed in 70% ethanol extract of *Epimedium koreanum* Nakai extracted for 7 hour at 70°C, while RC_{50} with 35.2 μg/mL was observed in the KE9405 (0.20% icariin content) sample at same condition. Also, antioxidant activity of ethanol extracts of *Epimedium koreanum* Nakai increased as icariin concentration increased. Among each fraction obtained from organic solvents, butanol fraction was found to have the strongest RC_{50} (39.2 μg/mL) and followed by ethylacetate (49.0 μg/mL), water (118.8 μg/mL), ethylacetate (119.8 μg/mL), and chloroform fraction (138.5 μg/mL) respectively.

Key words: *Epimedium koreanum* Nakai, free radical scavenging, icariin

삼지구엽초(*Epimedium koreanium* Nakai)는 매자나무과에 속하는 다년생초본식물로서 주로 경기, 강원 중북부지역을 중심으로 자생하고 있으며 초장은 30 cm 내외로 줄기의 가지가 세 개로 1가지에 3개의 잎이 달려 삼지(三枝)구엽(九葉)초라 한다.[1] 잎은 잎자루가 길고 난형이고 끝이 뾰족하며 밑부분이 심장형으로서 가장자리에 털같은 잔톱니가 있다.[2] 삼지구엽초의 주성분은 flavonoid인 icariin,[3,4] epimedoside A등으로 밝혀졌으며,[5] 이중 icariin은 삼지구엽초의 주 약효성분으로 고혈압에 효과를 나타내는 보고와[6] 간독성을 억제한다는 보고가 있으며,[7] flavonoid glycoside인 epimedin A, B 및 C가 추가로 보고되었다.[8] 또한 삼지구엽초 지상부를 건조한 것을 음양곽(淫羊)이라 하는데 한방에서는 강정, 항암, 항바이러스, 이뇨 등에 효능이 있는 것으로 알려지고 있다.[9,10]

식품의 가공 또는 저장 중에 있어서 품질을 저하시키는 화학적 원인 중의 하나는 지질의 산화이며 이를 방지하기 위한 항산화제의 첨가방법이 널리 이용되어 왔다. 그러나 그간 가장 널리 이용되어온 tocopherol류는 효과가 비교적 낮은 편이고 BHA와 BHT는 효과는 뛰어나지만 최근 변이원성 및 독성이 지적되면서 보다 안전하고 효력이 강한 천연 항산화제의 개발이 요청되기에 이르렀다. 천연물의 추출조건에 대한 연구로는 추출조건에 따른 삼백초 추출물의 항산화 활성 및 성분변화,[11] 추출조건에 따른 우롱차의 이화학적 품질특성에 관한 연구,[12] 쌍화추출물의 추출조건에 따른 품질특성에 관한 연구,[13] 용매와 추출조건이 계피추출액의 항산화성에 미치는 영향 등 다양한 천연물의 추출조건에 대한 연구들이 보고되었다.[14] 한편, 싸리,[15]

*Correspondence to: Deog-Hwan Oh, Department of Food Science and Biotechnology, College of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National University, Chunchon, 200-701, Korea. Tel: 82-33-250-250-6457, Fax: 82-33-250-250-6457, E-mail: deoghwa@kangwon.ac.kr

천마,[16] 오미자,[17] 산수유,[18] 국내산 생약추출물[19] 및 한약재[20] 등의 추출물에 대한 항산화 활성에 대한 연구가 보고되었지만 삼지구엽초에 대한 추출조건 및 삼지구엽초 주성분인 icariin 함량별 추출조건에 대한 연구는 전혀 보고되지 않았다. 따라서, 본 연구에서는 icariin 함량별 삼지구엽초를 이용하여 물과 에탄올로 추출시간, 추출농도 및 추출온도를 달리하여 icariin 함량별 최적의 추출조건 및 항산화 활성을 검토하였다.

재료 및 방법

시료

본 실험에 사용한 삼지구엽초(*Epimedium koreanium* Nakai)는 경기도 농업기술원에서 재배되고 있는 삼지구엽초를 icariin 함량의 차이에 따라 KE9405(icariin 함량 0.20%)와 KE9412(icariin 함량 0.59%) 품종을 제공받아 본 실험에 사용하였다[21].

추출, 수율 및 분획

건조된 삼지구엽초를 마쇄하여 분말화 한 후 시료중량 10배의 증류수를 사용하여 열수 추출에서는 70ºC・90ºC에서 3, 7시간 동안 2회 환류 추출하였고, 에탄올 추출은 (50%, 70%, 95%) 각각 50ºC・70ºC에서 3과 7시간 동안 2회 환류 추출하여 감압여과 장치에서 뜨거운 상태로 여과한 다음 감압농축기를 사용하여 농축 후 동결건조기로 건조시킨 다음 본 실험에 사용하였다. 각 조건에서 얻어진 삼지구엽초 추출물의 총 추출수율은 초기 시료량에 대한 고형분의 양을 백분율로 계산하였다. 한편, 70% 에탄올로 70ºC에서 7시간 추출하여 얻은 각 시료의 농축물을 용매의 극성에 따라 분별분리를 행하여 hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol 및 물층으로 극성의 차이에 의해 순차적으로 용매 분획 한 다음 각 분획물을 농축하여 동결건조 하였다. 또한, 각 분획물의 수율은 ethanol 추출물의 동결건조 중량에 대한 각 유기용매 추출물의 동결건조량의 조성비로 각각 나타내었다.

DPPH free radical 소거법을 이용한 항산화 효과

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)를 이용한 항산화 활성 검정법으로 여러 농도의 시료를 4 mL의 메탄올에 녹여 1.5×10^{-4} M DPPH methanol 용액 1 mL를 첨가한 후 30분간 실온에 방치하여 517 nm에서 흡광도를 3회 반복하여 측정한 뒤 평균을 내어 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도를 1/2로 감소시키는데 필요한 시료의 양(μg)을 reduction concentration(RC_{50})으로 나타냈으며, 기존의 항산화제인 α-tocopherol과 ascorbic acid를 비교하였다.

통계처리

본 실험은 3회 반복실시 하였고 그 값을 SPSS Ver. 10.0 package program[22]을 이용하여 각 시험구의 평균과 표준편차를 산출한 후 각 시험구간의 차이 유무를 ANOVA로 분석한 뒤 a=0.05에서 유의적 차이를 Turkey법으로 검증하였다[23].

결과 및 고찰

추출 조건별 수율 측정

삼지구엽초의 icariin 함량에 대하여 추출용매, 추출온도, 추출시간 등의 추출조건에 따른 수율을 측정한 결과는 Table 1 및 2와 같다. 열수추출의 경우(Table 1), icariin 함량별로 나타난 결과 KE9412에서 추출수율이 가장 높았으며, 추출온도는 70ºC보다 90ºC에서 수율이 높게 측정되었고, 추출시간은 3시간보다 7시간 추출했을 때 더 높게 나타났다. 삼지구엽초의 icariin 함량에 따른 추출조건은 KE9405와 KE9412 모두 90ºC에서 7시간 추출 시 22.0% 및 27.5%로 추출온도가 높아질수록, 추출시간이 길어질수록 수율이 높게 나타났다. 에탄올 추출(Table 2)도 열수추출과 마찬가지로 KE9412에서 가장 높은 추출수율을 나타났다. 에탄올 농도별로는 70% 에탄올에서 KE9405와 KE9412 모두 30.1%와 39.3%로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 100%에서는 11.8%와 18.5%로 가장 낮은 수율을 나타내었다. 이러한 결과는 삼백초, 결명자를 이용한 추출수율조건에 대한 연구에서 50~70% 에탄올 농도에서 높은 함량을 나타내었다는 결과와 유사하였다.[11,24] 에탄올 추출물은 열수 추출물과 달리 온도와 시간은 고형분의 함량에 크게 영향을 주지 않았으나 에탄올 농도에는 많은 영향을 받는 것으로 나타났다. 100% 에탄올에서는 50%와 70% 에탄올 보다 현저하게 수율이 감소된 것으로 나타났는데 이는 Kim 등[25]의 계피 추출액의 유효성분과 가용성 고형분의 용출량에 미치는 추출용매 및 추출시간 등의 추출조건을 연구한 결과에서 100% 에탄올로 추출한 것 보다는 70% 에탄올로 추출한 추출액의 가용성 고형분 함량이 더 높은 수치를 나타냈다는 결과와 일치하였다. 열수추출보다 에탄올 추출에서 더 많은 수율이 측정된 것은 삼지구

Table 1. The water extraction yields of *Epimedium koreanum* Nakai

Condition	Yields(%)			
Tem. (ºC)	70		90	
Time (h)	3	7	3	7
L*	18.0±0.17$^{b1,2)}$	19.8±0.11^{a}	18.4±0.07^{a}	22.0±0.21^{a}
H*	16.9±0.08^{a}	23.4±0.39^{b}	26.9±0.14^{b}	27.5±0.09^{b}

[1)] Means with different letters in the same column are significantly different ($p<0.05$).
[2)] Value=mean±S.D.

Table 2. The ethanol extraction yields of *Epimedium koreanum* Nakai

Condition	Yields(%)											
EtOH (%)	50				70				100			
Tem. (°C)	50		70		50		70		50		70	
Time (h)	3	7	3	7	3	7	3	7	3	7	3	7
KE9405	29.1±0.09[a1,2)]	22.2±0.21[a]	25.4±0.26[a]	28.3±0.17[b]	28.4±0.06[a]	23.5±0.17[a]	22.1±0.21[a]	30.1±0.12[a]	12.8±0.08[a]	18.5±0.06[a]	17.4±0.17[b]	11.8±0.10[a]
KE9412	35.5±0.26[b]	27.5±0.14[b]	37.3±0.09[b]	26.3±0.33[a]	39.3±0.08[b]	28.1±0.17[b]	35.2±0.07[b]	33.5±0.15[b]	18.5±0.09[b]	22.7±0.14[b]	16.6±0.21[a]	19.5±0.09[b]

[1)] Means with different letters in the same column are significantly different ($p<0.05$).
[2)] Value=mean±S.D.

엽초 추출물 중 친수성 물질보다 소수성물질이 더 많이 함유되어 있는 것으로 사료되어진다.

DPPH free radical 소거법을 이용한 항산화 활성

일반적으로 특정 물질에 대한 항산화 활성을 측정하는 것은 여러 방법이 있으나 spectrophotometer를 이용한 DPPH radical 소거 활성법이 간단하며 대량으로 측정이 가능하여 널리 이용되고 있다. 이 물질은 radical을 갖는 물질 중에서 비교적 안정한 화합물로 MeOH 용액에서는 보라색으로 발색된다. 그러나 항산화 활성을 갖는 물질을 만나면 항산화 활성물질이 DPPH radical을 포획하기 때문에 보라색이 소실된다. 따라서 미지의 식물추출물의 항산화 활성을 쉽게 측정할 수 있으며 실제 항산화 활성과도 연관성이 매우 높은 장점이 있다.

Icarrin 함량별 삼지구엽초의 각 추출물의 free radical 소거능 RC_{50}(산화를 50% 억제시키는데 요구되는 시료의 양)은 그 수치가 낮을수록 free radical 소거능(항산화 활성)이 좋으며 그 결과는 Table 3 및 4와 같다. Icariin 함량별 열수추출물의 항산화 활성은 온도에 의한 영향은 대체로 70°C보다 90°C에서 더 높게 나타났으며, 시간에 의한 영향은 온도에 따라 다르게 나타났는데 70°C에서는 7시간 추출물에서 항산화 활성이 좋았고 90°C에서는 3시간 추출물에서 항산화 활성이 좋게 나타나 장시간 추출할 때는 낮은 온도에서, 단시간 추출할 때는 높은 온도에서 추출하는 것이 더 바람직한 것으로 나타났다(Table 3). 한편, Icariin 함량에 따른 항산화 활성을 비교해 보면 KE9412가 70°C7시간에서 34.9(μg/mL), 90°C3시간에서 28.4(μg/mL)로 같은 추출조건에서 KE9405의 114.3(μg/mL)및 83.1(μg/mL)에 비하여 각각 3.2배와 2.3배 높은 항산화활성을 나타내었다.

Table 3. Free radical scavenging effect of water extracts of *Epimedium koreanum* Nakai at various temperatures and hours

Condition	RC_{50}(μg/mL)			
Temperature(°C)	70		90	
Time (h)	3	7	3	7
KE9405	54.3±0.55[a1,2)]	114.3±0.33[b]	83.1±0.14[c]	561.2±0.21[c]
KE9412	57.2±0.39[b]	34.9±0.26[a]	28.4±0.10[b]	39.1±0.17[b]
Ascorbic acid			19.5±0.09[a]	19.5±0.09[a]
α-Tocopherol			18.2±0.08[a]	18.2±0.08[a]

[1)] Means with different letters in the same column are significantly different ($p<0.05$).
[2)] Value=mean±S.D.

Table 4. Free radical scavenging effect of ethanol extracts of *Epimedium koreanum* Nakai at various temperatures and hours

Condition	RC_{50}(μg/mL)											
EtoH(%)	50				70				100			
Tem. (°C)	50		70		50		70		50		70	
Time (h)	3	7	3	7	3	7	3	7	3	7	3	7
KE9405	43.2±0.13[c1,2)]	44.1±0.08[c]	70.1±0.10[c]	36.3±0.25[c]	93.4±0.17[c]	32.1±0.05[c]	35.3±0.19[c]	36.2±0.36[b]	87.4±0.28[c]	42.1±0.55[c]	168.1±0.25[c]	58.1±0.20[c]
KE9412	22.3±0.16[b]	22.2±0.05[b]	29.2±0.09[b]	22.1±0.18[b]	23.2±0.19[b]	22.0±0.10[b]	27.1±0.28[b]	18.9±0.12[a]	30.2±0.13[b]	23.0±0.23[b]	26.2±0.21[b]	26.4±0.10[b]
1Ascorbic acid	19.5±0.09[a]											
α-tocopherol	18.2±0.08[a]											

[1)] Means with different letters in the same column are significantly different ($p<0.05$).
[2)] Value=mean±S.D.

에탄올 추출물의 항산화 활성은 에탄올 농도가 추출온도 및 추출시간보다 더 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다(Table 4). KE9405와 KE9412 모두 70% 에탄올농도에서 각각 32.1(μg/mL)와 18.9(μg/mL)로 강한 항산화 활성을 나타냈다. 이러한 결과는 Lee 등[26]의 천년초 선인장 추출물의 항산화 효과연구에서 70% 에탄올 추출물에서의 항산화 활성(49.5μg/mL) 보다 높은 결과이며, Lee 등[27]의 시판 한약재애 대한 항산화 활성 연구에서 항산화 활성이 높게 측정된 복분자(15.26μg/mL), 초두구(16.15μg/mL)와 비슷한 결과를 보이고 있다. Icariin 함량과 에탄올 농도와의 항산화 활성과의 관계를 보면 KE9412가 에탄올 농도 50%, 70%, 100% 모두 KE9405보다 높은 항산화 활성을 나타낸 결과를 근거로 볼 때 icariin의 항산화 활성은 농도 의존성인 것으로 보인다. 또한, 기존 천연 항산화제로 알려진 ascorbic acid(19.5 μg/mL)나 α-tocopherol(18.2 μg/mL)와 비교해도 항산화 활성이 큰 차이를 나타내지 않아 삼지구엽초 추출물을 이용한 천연 항산화제의 개발에도 많은 도움이 될 것이라 사료된다. 한편, 삼지구엽초의 항산화 활성에 관여하는 물질을 탐색하기 위한 기초자료를 얻기 위하여 최적조건을 나타낸 70% 에탄올 70ºC 7시간 추출물로부터 유기 용매별로 순차적으로 분획한 결과는 Table 5와 같다. 추출수율은 KE9405와 KE9412 모두 butanol 분획층에서 각각 36.2%와 42%로 가장 높았으며, 물 분획층, ethylacetate 분획층의 순으로 높게 나타났으며, hexane과 chloroform 분획층이 각 9.3%와 5.8%로 지용성 물질이 많이 추출되는 비극성 용매계에서의 수율은 상대적으로 적은 편이었다. 한편, 삼지구엽초 분획물의 항산화 활성은 butanol 분획층에서 39.2 μg으로 가장 높았으며, ethylacetate(49.0 μg), 물(118.8 μg), heaxane(119.8 μg), chloroform(138.5 μg)층으로 나타났다. 반면에, 에탄올 추출물은 KE9405와 KE9412에서 각각 34.9 μg과 18.8 μg을 나타내어 추출물을 더 정제할수록 오히려 항산화 활성은 저하되는 것으로 나타나 삼지구엽초의 경우 기능성 식품을 개발할 때 정제물질 보다는 추출물을 이용하는 것이 여러 가지 측면에서 더 바람직한 것으로 나타났다. 한편, Noh 등[28]은 삼지구엽초의 경우 증류수나 100% 에탄올보다 70% 에탄올에서 더 높은 항산화 활성을 나타내었다고 보고하였는데 이는 본 연구결과와 일치하며 삼지구엽초의 항산화 활성을 나타내는 물질로 Kim [29]은 에탄올 추출물에 DPPH와 반응하기 적합한 입체구조를 가지는 flavonoid 물질이 존재하기 때문으로 사료된다고 보고하였다. 또한, Iinuma 등[30]은 삼지구엽초의 주성분인 icariin과 epimedin이 생쥐에서 간의 Kupffer cell에 의한 탐식작용을 활성화시킨다고 하였으며, Liu 등[31]은 삼지구엽초의 메탄올 추출물이 생명력이 결핍된 환자에 있어서 백혈구 수를 유의하게 증가시켜 면역능을 촉진시킨다고 보고하였다. 삼지구엽초 추출물의 성분이 대부분 flavonoid계 물질로 분석된 것으로 보아 추후 이와 관련된 연구가 더 심도있게 검토되어야 하며 삼지구엽초 추출물을 이용한 새로운 기능성 식품의 개발이 매우 필요한 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 Icariin 함량별로 재배된 삼지구엽초의 추출조건 및 항산화 활성을 비교하기 위하여 수행하였다. 추출 수율은 열수 추출에서는 90ºC에서 7시간, 에탄올 추출에서는 70%와 50ºC에서 3시간 추출한 경우 가장 높은 수율을 나타내었다. 열수추출보다 에탄올 추출이 높은 수율을 나타내었으며 에탄올 추출농도는 100%(추출수율 22.7%)보다는 50%와 70% 농도에서 각각 추출수율이 각각 37.3%와 39.3%로 높게 나타났다. 또한, 에탄올 추출시 추출시간과 추출온도 보다는 추출 용매농도가 추출 수율에 더 많은 영향을 미치는 것으로 나타났다. Icariin 함량별 추출수율은 열수 추출과 에탄올 추출 모두 icariin 함량 0.5~0.6%인 대에서 우수하게 나타났으며 icariin 함량에 따른 항산화 활성은 KE9412가 70ºC·7시간에서 34.9(μg/mL), 90ºC·

Table 5. DPPH free radical scavenging activities of each fraction *Epimedium koreanum* Nakai

Extraction solvant	Yield(%)		RC_{50}(μg/mL)	
	KE9405	KE9412	KE9405	KE9412
Hexane	9.3±0.08[b1,2)]	10.8±0.19[b]	228.3±0.09	119.8±0.19
Chloroform	5.8±0.26[a]	6.6±0.10[a]	470.3±0.20	138.5±0.16
Ethyl acetate	13.2±0.20[c]	15.5±0.05	60.4±0.21[b]	49.0±0.07
Butanol	36.2±0.19[e]	42.0±0.34	88.0±0.21	39.2±0.11[b]
Water	18.4±0.09[d]	23.0±0.08	70.7±0.12	122.0±0.15
Ascorbic acid			19.5±0.09[a]	19.5±0.09[a]
α-Tocopherol			18.2±0.08[a]	18.2±0.08[a]

[1)] Means with different letters in the same column are significantly different ($p<0.05$)
[2)] Value=mean±S.D.

3시간에서 28.4(μg/mL)로 같은 추출조건에서 KE9405의 114.3(μg/mL) 및 83.1(μg/mL)에 비하여 각각 3.2배와 2.3배 높은 항산화활성을 나타내었다. 한편, 70% 에탄올 70°C 7시간 추출물로부터 유기 용매별로 순차적으로 분획한 결과, 추출수율은 KE9405와 KE9412 모두 butanol 분획층에서 각각 36.2%와 42%로 가장 높았고 항산화 활성도 butanol 분획층에서 39.2 μg으로 가장 높았으며, ethylacetate(49.0 μg), 물(118.8 μg), heaxane(119.8 μg), chloroform(138.5 μg)층으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 경기도 농업기술원의 연구비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Lee, Y.G., Sohn, H.O., Lee, D.W., and Lim, H.B. : The effect of water-extract of Epimedium koreanum Nakai on age-ralated change of the xenobiotic matabolizing enzyme system in the liver of rats. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **10**, 29-36 (2002)
2. Noh, J.H., Kim, Y.J., Choi, K.J., Kim, S.W., Kim, S.K., and Kim, J.H. : Characteristics of seeding and rhizome propagation in *Epimedium koreanum* NAKAI. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **11(2)**, 155-160 (2003)
3. Kang, S.S., Shin, K.H., Chung, S.G., and Cho, E.H. : Flavonoids from Epimedium koreanum. *Kor. J. Pharmacogn.* **19**, 93-98 (1998)
4. Xu, G.W., Xu, B.J., and Wang, M.T. : Isolation and identification of icariin and icariside I. *Chin. Pharm. Bull.* **22**, 129-132 (1987)
5. Xu, S.C., Wang, Z.X., Wu, L.J.. Wang, N.B., and Chen, Y.J. : Isolation and identification do icariin and epimedoside A. *Chin. Tard. Herb Drugs.* **13**, 9-15 (1982)
6. Hong, H. : *Oriental materica medica. Oriental Healing Arts Institute*, Taiwan, pp. 563 (1986)
7. Lee, M.K., Choi, Y.J., Sung, S.H., Shin, D.I., Kim, J.W., and Kim, Y.C. : Antihepatotoxic activity of icariin, a major constituent of *Epimedium koreanum. Planta Med*. 61, 523-526 (1995)
8. Miyase, T., Ueno, A., Takizawa, N., Kobayashi, H., and Oguchi, H. : Studies on the glycosides of *Epimedium grandiflorum* (II). *Chem. Pharm. Bull.* **35**, 3713-3716 (1987)
9. Shin, K.H., Lim, S.S., Ahn, S.D., Kim, S.K., and Park, K.Y. : Difference in components of *Epimedium koreanum* in compliance with seasons and places of collection. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **4**, 321-328 (1996)
10. Han, Y.H., Choi, B.R., Soh, H.S., Lee, S.J., Choi, Y.J., and Kim, S.Y. : In vitro plant regeneration for mass propagation of *Epimedium koreanum* Nakai. Korean *J. Hort. Sci. & Technol*. **18**, 834-838 (2000)
11. Kim, S.K., Ban, S.Y., Kim, J.S., and Chung, S.K. : Change of antioxidant activity and antioxidant compounds in *Saururus chinensis* by extraction conditions. *J. Korean Soc*. **48**, 89-22 (2005)
12. Park, S.K., Kim, J.K., Kim, J.H., Moon, K.D., and Oh, S.L. : Study on the characteristic of physicochemical quality of oolong herbs tea by extraction conditions. *Korean J. Dietary Culture* **9**, 411-417 (1994)
13. Park, S.S., Lee, K.B., and Han, M.K. : Quality Characteristics of ssangwha extraction according to extraction conditions. *Korean J. Food & Nutr.* **17**, 368-373 (2004)
14. Kim, N.M., Soon, H.S., and Kim, W.J. : Effect of Solvents and some extraction conditions on antioxidant activity in cinnamon extracts. *Korean J. Food Sci. Technolol.* **25**, 204-209 (1993)
15. Lee, Y.S., Joo, E.Y., and Kim, N.W. : Antioxidant activity of extracts from *Lespedeza bicolor. Korean J. Food Preserv.* **12**, 75-79 (2005)
16. Heo, J.C., Park, J.Y., An, S.M., Lee, J.M., Yun, C.Y., Shin, H.M., Kwon, T.K., and Lee, S.H. : Anti-oxidant and anti-tumor activities of crude extracts by *Gastrodia elata* Blume. *Korean J. Food Preserv.* **13**, 83-87 (2006)
17. Jang, E.H., Pyo, Y.H., and Ahn, M.S. : Antioxidant effect of Omija (*Schizandra Chinesis Baillon*) extracts. *Korean J. Food Sci.* **12**, 372-376 (1996)
18. Seo, K.I., Lee, S.W., and Yang, K.H. : Antimicrobial and antioxidative activities of *Corni Fructus* extracts. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.* **6**, 99-103 (1999)
19. Kim, H.K., Kim, Y.E., Do, J.R., Lee, Y.C., and Lee, B.Y. : Antioxidative activity and physiological activity of some korean medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**, 80-85 (1995)
20. Nam, S.H. and Kang, M.Y. : Screening of antioxidative activity of hot-water extracts from medicinal plants. *J. Korean Agric. Chem. Biotechnol.* **43**, 141-147 (2000)
21. 강승원, 최병렬, 박경열, 강창성, 안상득 : 삼지구엽초(음양곽) 양질다수성 품종육성. *시험연구보고서.* 378-381 (1997)
22. SPSS. Statistical PaCkage for Social Sciences for Windows. Rel. 10.0. SPSS Inc., Chicago, IL, USA (1999)
23. Jung, C.Y. and Choi, L.G.: SPSSWIN for Statistics Analysis, Ver. 10.0, 4th ed. Muyok Publishing Co., Seoul, Korea, 276-283 (2002)
24. Kim, I.T., Kim, H.T., and Hwang, S.M. : Instant tea Preparation from *Cassia tora* seeds. *Korean J. Food Sci. Technol.* **22**, 241-247 (1990)
25. Kim, N.M., Ko, S.R., Choi, K.J., and Kim, W.J. :Effect of some factors on extraction of effectual components in cinnamon extracts. *J. Korean Agric. Chem. Soc*. **36**,17-22 (1993)
26. Lee, K.S., Oh, C.S., and Lee, K.Y. : Antioxidative effect of the fraction extracted from a cactus *Cheonnyuncho* (*Opuntia humifusa*). *Korean J. Food Sci. Technol.* **37**, 474-478 (2005)
27. Lee, S.E., Seong, N.S., Park, C.G., and Seong, J.S. : Screening for antioxidative of oriental medicinal plant materials. *Korean J. Medicinal Crop Sci*. **10**, 171-176 (2002)

28. Noh, J.H., Kim, Y.J., Kim, S.W., Lee, J.H., and Lee, H.Y. : Comparison of biological of *Epimedium koreanum* Nakai produced in Korea and China. *Korean J. Medicinal Crop Sci*. **11**, 195-200 (2003)
29. Kim, S.Y., Kim, J.H., and Kim, S.K. : Isolation and characterization of antioxidant components in *Epimedium koreanum* NAKAI extract. *Korean J. Food Sci. Technol.* **24**, 535-540 (1992)
30. Iinum, M., Tanaka, T., Sakakibara, N., Mizuno, M., Matsda, H., Shiomoto, H., and Kubo, M. : Phagocytic activity of leaves of system. *Yakugaku Zasshi* **110**, 179-185 (1990)
31. Liu, F.C., Liu, J.X., Ding, G.X., Zhang, J.Y., Zhou, S.H., Guo, F., Wu, T.C., and Hu, T.H. : Correction between trace elements and immunological function in patients with vital energy deficiency. *J Trad Chin Med.* **26**, 856-857 (1985)