

폴리페놀 함량과 항산화력에 따른 로즈마리의 최적 추출조건 확립

이창용 · 김기명¹ · 손홍석^{2*}

CJ 제일제당, ¹호남대학교 식품영양학과, ²동신대학교 식품영양학과

Optimal Extraction Conditions to Produce Rosemary Extracts with Higher Phenolic Content and Antioxidant Activity

Chang-Yong Lee, Ki-Myeong Kim¹, and Hong-Seok Son^{2*}

CJ Cheiljedang

¹Department of Food and Nutrition, Honam University

²Department of Food and Nutrition, Dongshin University

Abstract We evaluated the effects of temperature, time, solvent type, and solvent concentration on the phenolic content and antioxidant activity of rosemary extracts. The antioxidant capacity of rosemary extracts was demonstrated by their ability to scavenge stable free radicals, and the phenolic content of the extracts was determined using the Folin Ciocalteu method. The highest values were obtained by water-based extraction at 90°C for 30 min, a 75% methanol solution at 60°C for 30 min, and a 50% ethanol solution at 70°C for 10 min. The aqueous solution of 75% methanol, extraction temperature of 60°C, and extraction time of 30 min were the most efficient parameters for the extraction of polyphenols from dry rosemary.

Keywords: rosemary, herb, extraction, antioxidant activity, total phenol

서 론

인간은 오래 전부터 주변의 식물을 채취하여 식용이나 의약품으로 널리 사용하여 왔고, 그 중 약초, 향신료로 이용되는 식물을 허브라고 부르며 다양한 형태와 용도로 이용되고 있다(1). parsley, chive, chervil 등의 허브가 샐러드나 스프 등에 신선한 형태(fresh herb)로 첨가되는 것처럼 많은 허브가 가공되지 않은 채 이용되고 있지만, 신선한 허브는 저장성과 향을 오래 보존할 수 없기 때문에 허브를 건조하여 사용하기도 한다. 건조허브(dry herb)는 생 허브에 비해 품질적으로 안정하고 수송이 편리하며 보존성도 우수하기 때문에 대량으로 저장이 가능한 이점이 있으며, 오랜 시간 끓여 우려내는 음식이나 허브티, 술 등에 폭넓게 이용되고 있다. 건조허브는 알코올, 물 등의 용매로 추출한 허브추출액의 형태로 사탕이나 차, 음료, 술 등과 같이 향미를 증시킨 식품들에 첨가되고 있다(1-3).

허브 식물에 함유되어 있는 주요 성분들은 탄수화물, 단백질, 지방, 무기질(칼륨, 칼슘), 비타민 등과 특수 성분인 사포닌, 탄닌, 알카로이드, 정유, 배당체, 테르펜과 수지, 펙틴 등이 알려져 있다(4). 허브는 천연 항산화제로서 폴리페놀 성분을 다량 함유하고 있으며 다양한 항산화 활성이 보고되고 있다(5-8). 허브의 항산화 물질은 용매를 통해 추출되며, 용매에 대한 용해도는 용매

의 극성에 따라 다르다. 물 이외에 사용하는 용매로는 hexane, ether, chloroform, benzene, ethanol, methanol 등이 있지만 공정과 식품의 안정성을 고려하여 선택하여야 한다.

로즈마리(*Rosmarinus officinalis* L.)는 꿀풀과(Labiatae)에 속하는 상록성 다년초이며 지중해 지역이 그 원산지로서 lavender와 함께 선호도가 좋은 허브로서, 식용은 물론 약용, 미용, 향료 및 관상용 등으로 널리 이용되고 있다(9). 로즈마리의 주요 성분으로는 α -pinene, apigenin, β -carotene, β -sitosterol, betulinic acid, borneol, rosmanol, rosmarinic acid, 1-8 cineol, carnosol, carnosic acid, tannin, limonene, camphor, camphene 등이 알려져 있으며(10), 항산화능과 항균활성(11-14), 지질산화 억제(15) 등의 효과가 보고되고 있다.

로즈마리 추출물이 가지는 항산화성은 대부분 폴리페놀에서 비롯된다. 폴리페놀은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서, 식물이 광합성 과정에서의 스트레스 및 크고 작은 상처와 초식동물로부터 자신을 보호하는 과정에서 형성된다(16). 폴리페놀은 한 개 또는 두 개 이상의 수산기로 치환된 방향족환을 가지고 있으며, 이들은 활성 자유라디칼(reactive free radical)에 수소원자를 제공하여 안정한 비 라디칼(non-radical)을 만들어 줌으로써 활성산소를 제거하여 항산화 효과를 나타낸다(17). 로즈마리는 독특한 향을 가질 뿐만 아니라 높은 항산화성을 보이므로 이를 활용하여 식품의 가공 및 저장 등 다양한 분야에 응용될 수 있다.

이처럼 로즈마리는 폴리페놀 성분을 다량 함유하고, 천연 항산화제로서의 기능이 알려져 있지만, 항산화 물질인 폴리페놀 함량의 추출 최적화 연구는 보고되지 않았다. 로즈마리의 추출조건에 영향을 주는 주요인자는 용매의 종류와 농도, 추출시간 및 추출 온도이며, 이들은 추출 수율을 얻거나 경제성을 검토하는데 있어

*Corresponding author: Hong-Seok Son, Department of Food and Nutrition, Dongshin University, Naju, Jeonnam 520-714, Korea
Tel: 82-61-330-3225
Fax: 82-61-330-3227
E-mail: hsson@dshu.ac.kr
Received April 30, 2013; revised May 31, 2013;
accepted June 2, 2013

Table 1. The extraction conditions of rosemary

| Solvent | Concentrations (%) | Temperature (°C) | Time (min) |
|----------|--------------------|----------------------------|------------------|
| Water | - | 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 | 1, 5, 10, 30, 60 |
| Ethanol | 25, 50, 75, 100 | 30, 40, 50, 60, 70 | 1, 5, 10, 30, 60 |
| Methanol | 25, 50, 75, 100 | 30, 40, 50, 60 | 1, 5, 10, 30, 60 |

매우 중요하기 때문에 최적화 조건을 확립할 필요성이 있다. 본 연구에서는 건조 로즈마리를 사용하여 추출용매(water, ethanol, methanol)의 종류와 농도, 추출시간과 추출온도를 달리하여 추출 실험을 실시하였고, 이들의 항산화력과 총 폴리페놀 함량의 측정을 통하여 로즈마리의 최적 추출조건을 확립하였다.

재료 및 방법

로즈마리의 추출 조건

경기도 포천시 광릉생명과학연구소에서 재배된 로즈마리(*Rosmarinus officinalis* L.)를 연구에 사용하였다. 로즈마리를 강제순환 건조기(OF-22GW, Jeitech, Daejeon, Korea)에 넣고 40°C에서 24 시간 건조한 후 mixer (HANIL Food Mixer, Hanil, Gangneung, Korea)로 분쇄하고 이물질을 제거하였다. 건조된 로즈마리의 유효 성분을 추출하고자 conical tube에 건조 로즈마리 2g과 추출용매 40 mL을 넣고 여러 추출 조건에 따라 shaking water bath (KMC-1205SW1, Vision, Daejeon, Korea)에서 추출하였으며, 로즈마리 추출액은 filter paper (Advantec 5A, 150 mm)를 이용하여 여과하였다. 각각의 추출조건은 Table 1과 같으며 로즈마리 여과액은 추출 용매로 10배 희석한 후 항산화력과 총 폴리페놀 함량을 측정하였다.

항산화력 측정

로즈마리의 항산화력 측정은 추출 시료의 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical 소거활성을 측정하는 Blois의 방법을 응용하여 실시하였다(18). 추출한 로즈마리 샘플시료 25 µL에 0.1 mM DPPH 975 µL를 첨가하여 상온에서 20분간 발색시킨 후 UV spectrophotometer (UV-1700, Shimadzu, Tokyo, Japan)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도를 0.920-0.950으로 일정하게 한 후 아래의 식과 같이 free radical 소거활성을 백분율로 나타내었다.

$$AOA\% = \left\{ \frac{\text{Control Abs} - \text{Sample Abs}}{\text{Control Abs}} \right\} \times 100$$

총 폴리페놀 함량 측정

로즈마리 추출물의 총 폴리페놀 함량은 Folin Denis 방법으로 측정하였다(19). 추출한 로즈마리 샘플시료 0.1 mL를 취하여 2 N Folin-Ciocalteu's reagent 0.2 mL와 증류수 2 mL를 첨가한 후 상온에서 3분간 반응시켰다. 그 후 20% Na₂CO₃ 2 mL를 첨가하고 이 혼합액을 교반한 뒤 실온에서 1시간 동안 발색시킨 후 UV spectrophotometer (UV-1700)를 사용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 총 폴리페놀의 함량은 0-500 ppm 농도의 gallic acid 표준곡선으로 계산하였다. 표준 곡선식은 $y = 0.0027x - 0.0351$ ($r^2 = 0.997$) 이며 총 폴리페놀 함량은 mg GAE/g dry matter (DM)로 나타내었다. DPPH (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO,

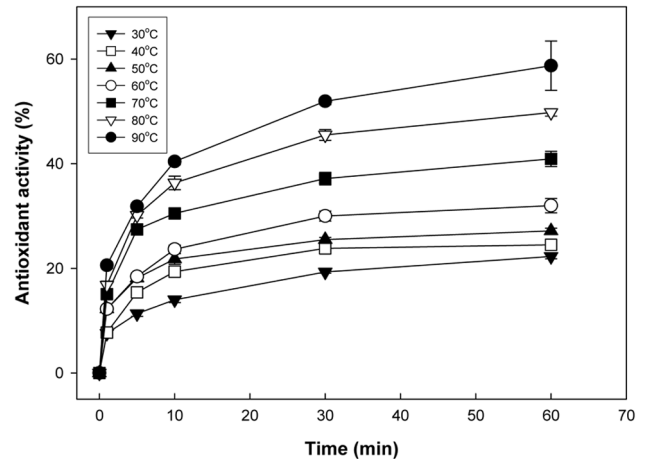


Fig. 1. Antioxidant activities of rosemary water extracts with various times at different temperature.

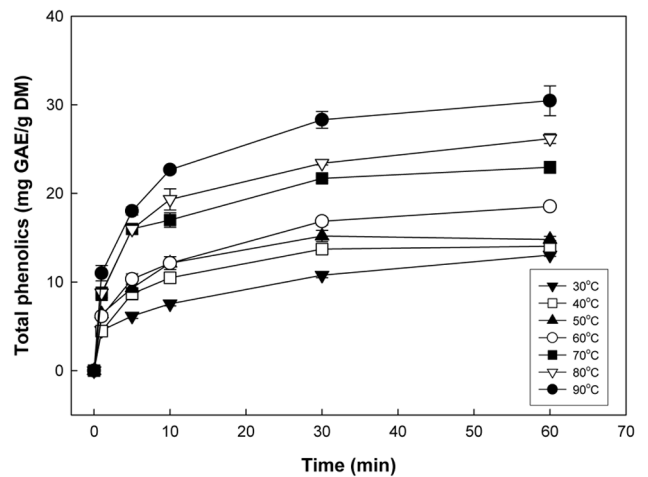


Fig. 2. Total phenolic contents of rosemary water extracts with various times at different temperature.

USA) 등 실험에 사용한 시약은 일급 이상의 등급을 사용하였다.

IC₅₀ (50% inhibition at concentration)

건조 로즈마리 2g과 추출용매 40 mL을 넣고 추출한 로즈마리 추출액을 추출용매를 사용하여 10, 20, 25, 40, 50배로 추가로 희석한 후 항산화력을 측정하고, X축에는 로즈마리 추출 시료의 농도를 Y축에는 free radical 소거활성을 백분율로 표시하여 상관관계식을 얻었다. 전자공여효과 50%(Y값)에 상응하는 추출시료의 농도(X값)를 구하고 로즈마리의 건조무게(g DM/L)로 환산하여 항산화력을 비교하였다. IC₅₀ 값이 낮을수록 높은 항산화력을 나타낸다.

통계처리

모든 실험은 3회 반복으로 실시하였으며 결과는 평균에 대한 표준편차로 나타내었다. 유의성 검정은 SPSS 12.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 통계 프로그램을 이용하여 분산분석(ANOVA test)을 실시하고 Duncan의 다중검정(Duncan's multiple range test)을 통해 95% 신뢰 수준에서 나타내었다.

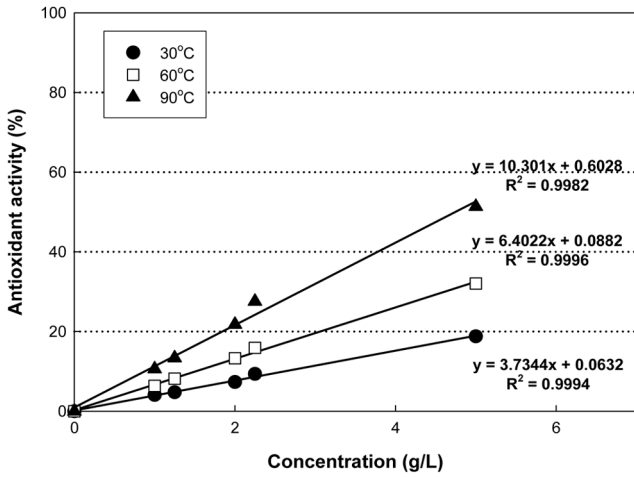


Fig. 3. Antioxidant activities of rosemary water extracts at various concentrations. Samples were extracted with water at 30, 60, and 90°C during 30 min.

결과 및 고찰

열수 추출

Fig. 1과 2는 온도와 시간에 따른 건조 로즈마리 열수추출물의 항산화력과 총 폴리페놀 함량을 보여주고 있다. 온도가 증가함에 따라 항산화력과 총 폴리페놀 함량이 증가하였으나, 30분 이후에

는 큰 변화를 보이지 않았다. Fig. 1과 2의 실험 결과를 바탕으로 30, 60, 90°C에서 30분간 추출한 로즈마리 열수추출물을 농도별로 희석한 후 항산화력을 측정하였다(Fig. 3). 로즈마리 열수추출물은 농도의존적인 항산화성을 보였으며, 같은 희석비율에서는 추출온도가 높을수록 높은 항산화력을 나타내었다. 90°C에서 30분간 추출한 경우에 IC₅₀ 값(4.49 g DM/L)은 60°C나 30°C에서 30분간 추출한 경우의 IC₅₀ 값(각각 7.30 g DM/L, 12.53 g DM/L)보다 낮았다. 일반적으로 추출온도가 높고 추출시간이 길어질수록 수율이 증가하지만(20), 경제성을 고려하여 추출조건을 결정하여야 한다. 이것으로 열수 추출의 최적 추출 조건을 90°C, 30분으로 결정하였다.

에탄올 추출

에탄올 농도(25, 50, 75, 100%), 온도, 시간에 따른 항산화력과 총 폴리페놀 함량을 비교한 결과를 Fig. 4와 5에 나타내었다. 모든 추출농도에서 온도가 증가할수록 항산화력과 총 폴리페놀 함량이 증가하였지만, 추출시간 10분 이후에는 큰 변화를 보이지 않았다. 또한 다른 추출농도보다 에탄올 50, 75%가 높은 항산화력과 총 폴리페놀 함량을 나타내었다. Choi 등(21)은 포도잎을 80% 에탄올로 추출한 경우 열수추출보다 총 페놀 및 항산화력이 높다고 보고하였고, Lee 등(22)은 산수유를 용매별로 추출한 경우 30%에탄올>60%에탄올>물>90%에탄올의 순으로 페놀 함량이 높다고 보고하였으며 Min 등(23)은 대추잎 에탄올 추출의 최적 조건을 에탄올 농도 45%로 결정하였다. 재료나 조건에 따라 차이가 있기는 하지만 중간 에탄올 농도에서 페놀의 추출이

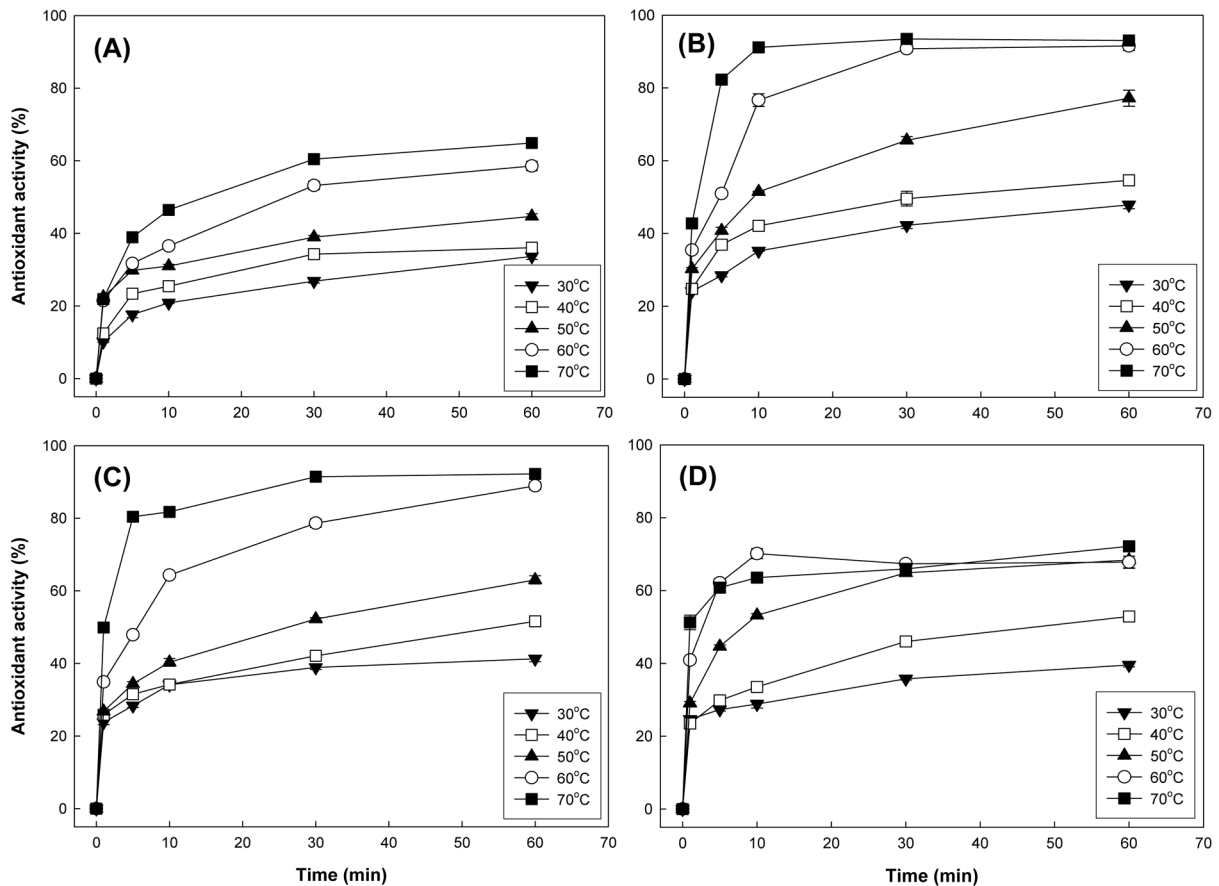


Fig. 4. Antioxidant activities of rosemary ethanol extracts with various times at different temperature. Samples were extracted with 25% (A), 50% (B), 75% (C), 100% (D) ethanol.

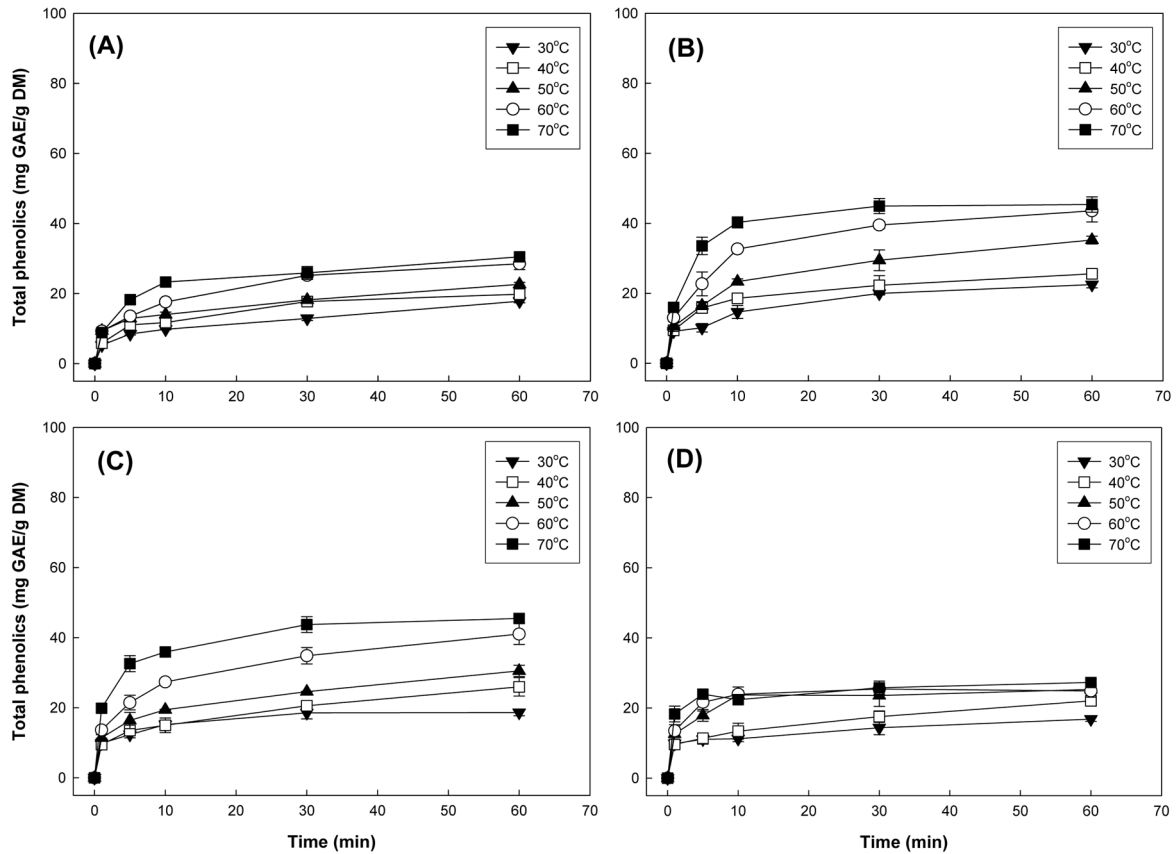


Fig. 5. Total phenolic contents of rosemary ethanol extracts with various times at different temperature. Samples were extracted with 25% (A), 50% (B), 75% (C), 100% (D) ethanol.

Table 2. IC₅₀ values of rosemary extracts in relation to DPPH inhibition at various concentrations of solvent

| Solvent ¹⁾ | IC ₅₀ ²⁾ (g DM/L) | | | |
|-----------------------|---|------|------|------|
| | 25% | 50% | 75% | 100% |
| Ethanol | 4.45 | 2.60 | 2.59 | 3.35 |
| Methanol | 3.26 | 2.36 | 2.31 | 3.29 |

¹⁾Samples were extracted with ethanol at 70°C during 10 min and methanol at 60°C during 30 min.

²⁾IC₅₀ values indicate the concentration of the sample leading to 50% reduction of DPPH radical.

효과적이었으며 이는 본 실험결과와 유사하다.

실험 결과를 바탕으로 에탄올 농도(25, 50, 75, 100%)에 따라 70°C, 10분에서 로즈마리를 추출한 후 농도별로 회석하여 각각의 항산화력을 측정하였다(Table 2). 에탄올 농도 50%와 75% 추출의 경우 IC₅₀ 값이 각각 2.60 g DM/L, 2.59 g DM/L로, 에탄올 농도 25%와 100% 추출의 경우(각각 4.45 g DM/L, 3.35 g DM/L)보다 낮았으며 이는 항산화력이 높음을 의미한다. 에탄올 농도 50%와 75% 추출의 경우 IC₅₀ 값이 비슷했지만 총 폴리페놀 함량은 차이를 보였다. 에탄올 농도 50% 추출의 경우 총 폴리페놀 함량이 40.28 mg GAE/g DM이고 에탄올 농도 75% 추출의 경우에는 총 폴리페놀의 함량이 35.91 mg GAE/g DM이기 때문에, 에탄올 50%, 70°C, 10분의 추출조건을 로즈마리의 에탄올 최적 추출 조건으로 결정하였다.

메탄올 추출

메탄올 농도(25, 50, 75, 100%), 온도, 시간에 따른 항산화력과 총 폴리페놀 함량을 비교한 결과를 Fig. 6과 7에 나타내었다. 다른 추출의 경우와 마찬가지로 모든 추출농도에서 온도가 증가할 수록 항산화력과 총 폴리페놀 함량이 증가하였지만, 추출시간 30분 이후에는 큰 변화를 보이지 않았다. 또한 에탄올 추출과 유사하게 다른 추출농도보다 메탄올 50%와 75%가 높은 항산화력과 총 폴리페놀 함량을 나타내었다. 위의 실험 결과를 바탕으로 메탄올 농도(25, 50, 75, 100%)에 따라 60°C에서 30분간 추출한 로즈마리 추출물을 농도별로 회석하여 각각의 항산화력을 측정하였다(Table 2). 메탄올 농도 50%와 75% 추출의 경우, IC₅₀ 값이 각각 2.36 g DM/L, 2.31 g DM/L로 메탄올 농도 25%와 100% 추출의 경우(각각 3.26 g DM/L, 3.29 g DM/L)보다 낮았으며 이는 항산화력이 높음을 의미한다. 메탄올 농도 50% 추출의 경우 총 폴리페놀 함량이 52.20 mg GAE/g DM이고 메탄올 농도 75% 추출의 경우에는 총 폴리페놀 함량이 57.22 mg GAE/g DM이므로, 메탄올 75%, 60°C, 30분의 추출조건을 로즈마리의 메탄올 최적의 추출 조건으로 결정하였다.

추출용매에 따른 항산화성

각각의 용매별로 항산화성이 높았던 추출방법간의 비교실험을 진행하였다. 열수 추출(90°C, 30분), 에탄올 추출(50%, 70°C, 10분), 메탄올 추출(75%, 60°C, 30분)의 추출 조건으로 추출 용매별 항산화력을 비교하였다(Fig. 8). 메탄올 추출의 경우 IC₅₀ 값이 2.31 g DM/L으로 에탄올 추출(2.59 g DM/L)과 열수 추출(4.49 g

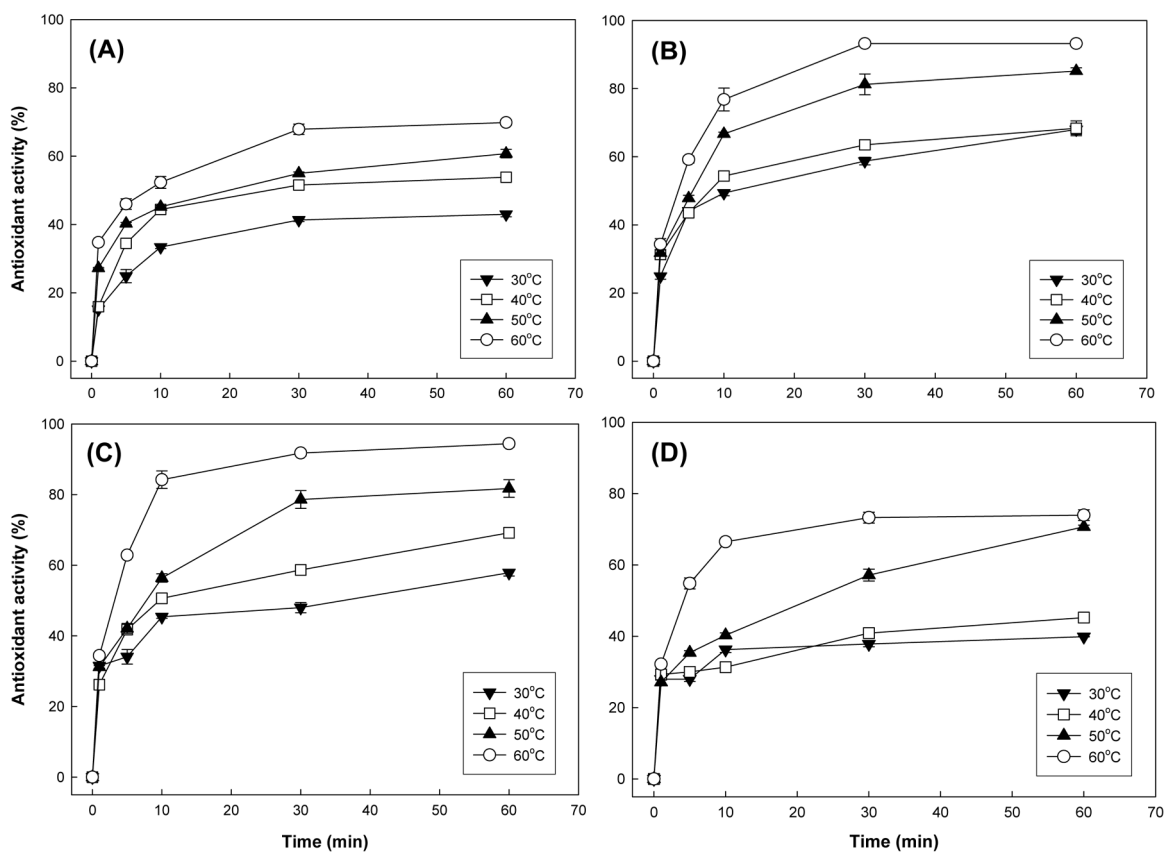


Fig. 6. Antioxidant activities of rosemary methanol extracts with various times at different temperature. Samples were extracted with 25% (A), 50% (B), 75% (C), 100% (D) methanol.

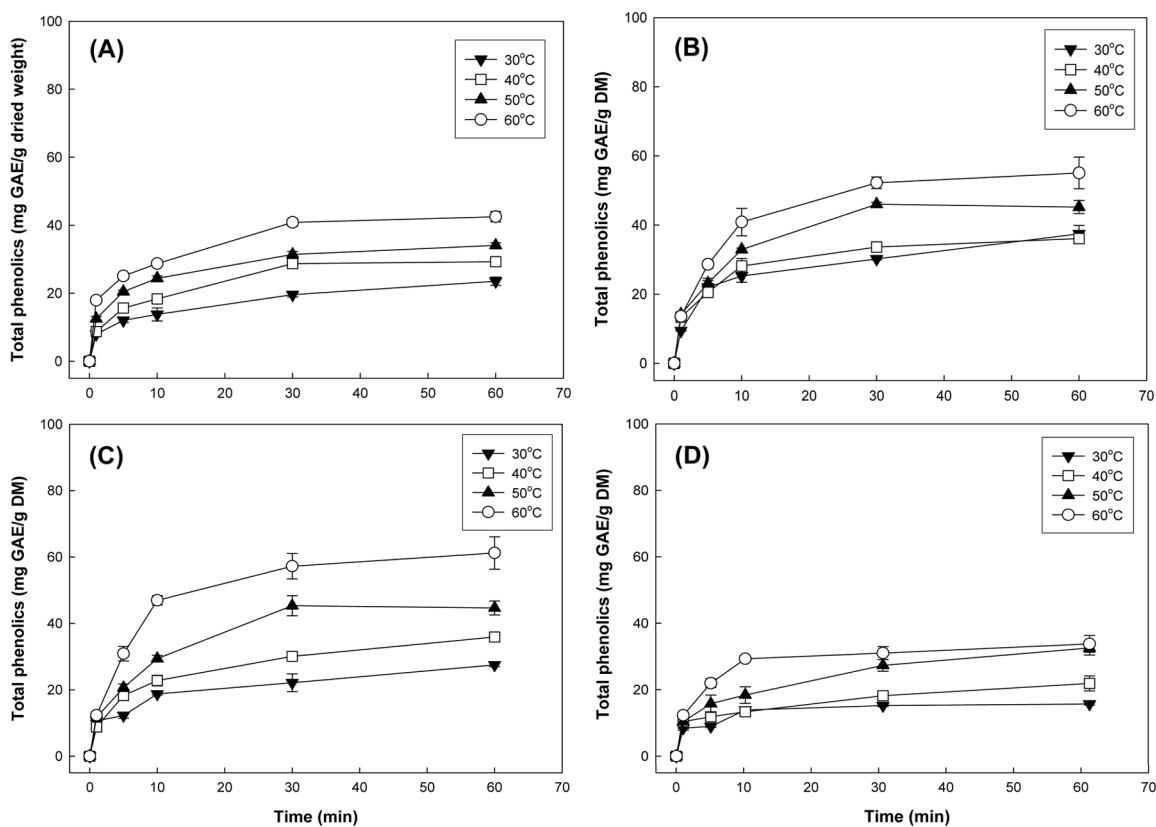


Fig. 7. Total phenolic contents of rosemary methanol extracts with various times at different temperature. Samples were extracted with 25% (A), 50% (B), 75% (C), 100% (D) methanol.

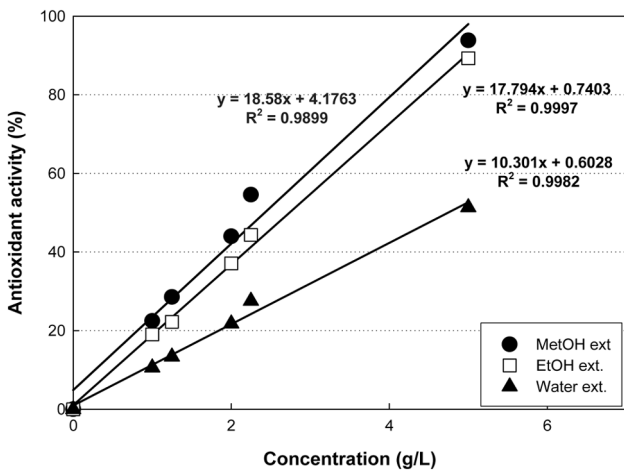


Fig 8. Antioxidant activities of rosemary extracts at various concentrations. Samples were extracted with methanol (75%, 60°C, 30 min), ethanol (50%, 70°C, 10 min) and water (90°C, 30 min).

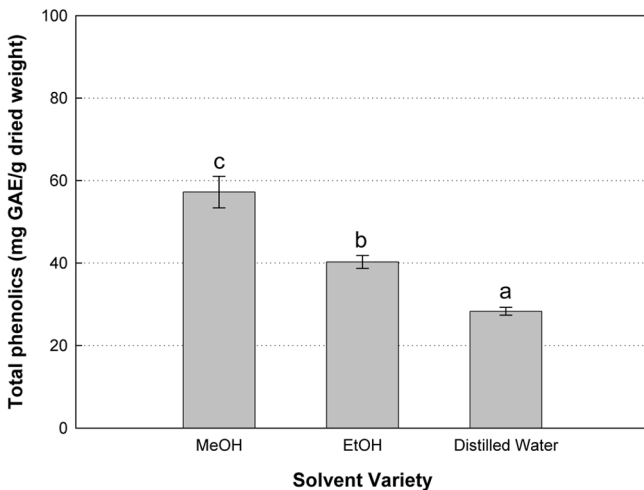


Fig 9. Total phenolic contents of rosemary extracts. Samples were extracted with methanol (75%, 60°C, 30 min), ethanol (50%, 70°C, 10 min) and water (90°C, 30 min). Letters with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ levels by Duncan's multiple range tests.

DM/L)의 IC_{50} 값보다 낮았으며, 이는 높은 항산화력을 의미한다. 총 폴리페놀 함량의 실험에서도 다른 추출 조건보다 메탄올 추출이 높은 폴리페놀 함량을 가지는 것으로 나타났다(Fig. 9). 따라서 추출 용매에 따른 항산화력 및 총 폴리페놀 함량을 비교해보면 메탄올 75%, 60°C, 30분 추출이 본 실험에서는 로즈마리의 최적 추출 조건으로 사료된다. Choi 등(24)은 오가피를 이용하여 용매별(증류수, 에탄올, 메탄올, 50% 에탄올 및 50% 메탄올) 지표성분(eleutheroside E)의 추출률을 비교했을 때 50% 메탄올을 추출 최적 조건으로 결정하였고, Perez 등(25)은 로즈마리의 열수 추출보다 에탄올과 메탄올 추출의 경우에 높은 항산화력을 보이며 총 폴리페놀의 함량이 높다고 보고하였으며 이는 본 실험결과와 일치한다. 일반적으로 식물류의 에탄올 추출물에서는 에탄올의 농도비가 높을수록 추출물 중의 페놀 및 플라보노이드 물질의 함량이 증가되며 이에 따른 전자공여 활성도가 상승된다고 알려져 있지만(26), 에탄올 농도 100%까지 추출효율이 증가하는

것은 아니다. Lee 등(27)은 홍삼의 추출 시 총 페놀 함량이 에탄올 농도비가 60%까지는 증가되었으나, 80% 이상의 에탄올 농도에서는 오히려 감소된다고 보고하고 있다. 100% 에탄올이나 메탄올 용매보다 물과 혼합한 알코올의 경우 추출용매의 극성을 변화시키며, 이는 폴리페놀의 수산화그룹(hydroxyl group)이나 분자량, 탄화수소의 길이에 따라 차이는 있지만, 일반적으로 추출용매에 대한 폴리페놀의 용해도를 증가시킨다(28). Shin 등(29)은 100% 메탄올 조건보다 80% 에탄올 조건에서 총 페놀과 플라보노이드의 함량이 높다고 보고하고 있으며, 이는 물과 유기용매가 혼합되어 있는 경우가 페놀성 물질의 용출이 용이하기 때문이다. Jeon 등(30)은 반응표면분석법을 이용하여 양파껍질로부터 flavonoid 물질의 추출 최적화 조건으로 에탄올 70%로 결정하였다. 에탄올과 메탄올의 경우 열수 추출보다 많은 항산화 물질을 추출할 수 있지만, 안전성이나 경제성 등을 고려하여 사용목적에 따른 추출용매를 결정할 필요가 있다.

본 연구에서는 로즈마리의 항산화 물질을 최대 추출할 수 있는 최적의 추출 조건을 확립하였다. 총 폴리페놀 함량을 고려한 항산화력을 비교한 결과 메탄올 75%, 60°C, 30분 추출이 로즈마리의 최적 추출 조건으로 결정되었다. 본 연구는 로즈마리 허브만을 대상으로 연구를 진행하였기 때문에 향후 다른 허브 추출물과의 항산화력 비교 검증이 필요하다고 사료된다.

요 약

본 연구에서는 로즈마리의 항산화 물질을 최대 추출할 수 있는 최적의 추출 조건을 확립하였다. 열수 추출의 경우에는 90°C, 30분 추출할 경우 항산화력(IC_{50} 값이 4.49 g DM/L)과 총 페놀함량(28.30 mg GAE/g DM)이 다른 온도와 시간보다 높은 수치를 나타내었다. 에탄올 추출의 경우에는 50% 에탄올, 70°C, 10분의 경우가 항산화력(IC_{50} 값이 2.60 g DM/L), 총 페놀함량(40.28 mg GAE/g DM)이 다른 농도와 온도, 시간보다 높은 결과를 나타내었다. 메탄올 추출 결과는 75% 메탄올, 60°C, 30분의 경우가 항산화력(IC_{50} 값이 2.31 g DM/L), 총 페놀함량(57.22 GAE/g DM)이 다른 농도와 온도, 시간보다 높은 수치를 나타내었다.

References

- Marcus AW, Kathryn H. The Herb and Spice Companion: A Connoisseur's Guide. Running Press, Philadelphia, PA, USA. pp. 3-10 (2007)
- Brown D. Encyclopedia of Herbs & Their Uses. Dorling Kindersley, London, UK. pp. 1-55 (1995)
- Craig WJ. Health-promoting properties of common herbs. Am. J. Clin. Nutr. 70: 491S-499S (1999)
- Sun WS, Roh JS, Oh SU, Lee JI, Oh WT, Kim JH. Screening of antioxidants from Indonesian medical plants. Food Sci. Biotechnol. 8: 93-96 (1999)
- Choi OB, Yoo GS, Park KH. Antioxidants and antimicrobial effects with *Castanea crenata* leaf tea. Korean J. Food Sci. Technol. 31: 1128-1131 (1999)
- Kim MH, Kim MC, Park JS, Kim JW, Lee JO. The antioxidative effects of the water-soluble extracts of plants used as tea materials. Korean J. Food Sci. Technol. 33: 12-18 (2001)
- Vekiar SA, Oreopoulou V, Tzia C, Thomopoulos CD. Oregano flavonoids as lipid antioxidants. J. Am. Oil Chem. Soc. 70: 483-487 (1993)
- Cavelier ME, Berset C, Richard H. Antioxidant constituents in Sage (*Salvia officinalis*). J. Agr. Food Chem. 42: 665-669 (1994)
- Yoon SJ, Kim JS, Jo BS, Kim JH, Lee SH, Ahn BJ, Cho YJ. Isolation and identification of antimicrobial compounds against *Helicobacter pylori* from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.)

- extracts. *J. Appl. Biol. Chem.* 54: 159-165 (2011)
10. Duke JA. *The Green Pharmacy*. Rodale Press, New York, NY, USA. pp. 6-23 (1997)
 11. Yu MH, Chae IG, Jung YT, Jeong YS, Kim HI, Lee IS. Antioxidative and antimicrobial activities of methanol extract from *Rosmarinus officinalis* L. and their fractions. *J. Life Sci.* 21: 375-384 (2011)
 12. Chae IG, Kim HI, Yu MH, Kim HI, Lee IS. Antioxidant and antibacterial activity of commercially available herbs in Korean markets. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 1411-1417 (2010)
 13. Choi IY, Song YJ, Lee WH. DPPH radical scavenging effect and antimicrobial activities of some herbal extracts. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 28: 871-876 (2010)
 14. Woo JH, Mok MG, Han KW, Lee SY, Park KW. Aroma components and antioxidant activities of pure rosemary essential oil goods produced in different countries. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 28: 696-700 (2010)
 15. Chen Q, Shi H, Ho CT. Effects of rosemary extracts and major constituents on lipid oxidation and soybean lipoxygenase activity. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69: 999-1002 (1992)
 16. King A, Young G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *J. Am. Diet. Assoc.* 99: 213-218 (1999)
 17. Lee SG, Lee EJ, Park WD, Kim JB, Choi SW. Antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts from Korean traditional medicinal prescriptions. *Korean J. Food Sci. Technol.* 43: 624-632 (2011)
 18. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200 (1958)
 19. Folin O, Denis W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J. Biol. Chem.* 12: 239-243 (1912)
 20. Kang JR, Lee SJ, Kwon HJ, Kwon MH, Sung NJ. Establishment of extraction conditions for the optimization of the black garlic antioxidant activity using the response surface methodology. *Korean J. Food Preserv.* 19: 577-585 (2012)
 21. Choi SK, Yu QM, Lim EJ, Seo JS. The effects of extraction conditions on the antioxidative effects of extracts from campbell early and muscat bailey a grapevine leaves. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 42: 168-174 (2013)
 22. Lee HJ, Do JR, Kwon JH, Kim HK. Physiological properties of *Corni fructus* extracts based on their extraction condition. *Korean J. Food Preserv.* 19: 271-277 (2012)
 23. Min DL, Lim SW, Ahn JB, Choi YJ. Optimization of ethanol extraction conditions for antioxidants from *Zizyphus jujube* Mill. leaves using response surface methodology. *Korean J. Food Sci. Technol.* 42: 733-738 (2010)
 24. Choi JM, Kim KY, Lee SH, Ahn JB. Functional properties of water extracts from different parts of *Acanthopanax sessiliflorus*. *Food Eng. Prog.* 15: 130-135 (2011)
 25. Perez MB, Calderon NL, Croci CA. Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Food Chem.* 104: 585-592 (2007)
 26. Jeong JE, Shim SP, Jeong YS, Jung HK, Kim YC, Hong JH. Optimization of extraction conditions for ethanol extracts from *Citrus unshiu* peel by response surface methodology. *Korean J. Food Preserv.* 18: 755-763 (2011)
 27. Lee JW, Do JH, Lee SK, Yang JW. Determination of total phenolic compounds from Korean red ginseng, and their extraction conditions. *J. Ginseng Res.* 24: 64-67 (2000)
 28. Mohammedi Z, Atik F. Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) karst. *Int. J. Pharma Bio Sci.* 2: 609-615 (2011)
 29. Shin SL, Lee CH. Antioxidant activities of ostrich fern by different extraction methods and solvents. *J. Life Sci.* 21: 56-61 (2011)
 30. Jeon SY, Baek JH, Jeong EJ, Cha YJ. Optimal extraction conditions of flavonoids from onion peels via response surface methodology. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 41: 695-699 (2012)