

물리적 가공법을 이용한 강황으로부터 Curcuminoid의 고체상추출

이광진 · 양혜진 · 정상원 · 마진열*

한국한의학연구원 한의신약연구그룹

Solid-Phase Extraction of Curcuminoid from Turmeric Using Physical Process Method

Kwang Jin Lee, Hye Jin Yang, Sang Won Jeong and Jin Yeul Ma*

KM-Based Herbal Drug Research Group, Korea Institute of Oriental Medicine,
1672 Yuseongdae-ro, Yuseong-gu, Daejeon, 305-811, Korea

Abstract – In order to extract the curcuminoid such as curcumin, demethoxycurcumin (DMC), and bisdemethoxycurcumin (BDMC) in turmeric (*Curcuma longa*), solvent extraction methods (dipping and ultrasonic extraction method) and solid-phase extraction (SPE) were used. RP-HPLC (reverse-phase high-performance liquid chromatography) and TLC (thin-layer chromatography) were used for identification and analysis the three curcuminoid. From the experimental results, it is evident that the percentage of curcuminoid extracted from turmeric by ultrasonic extraction method was higher than dipping method. The percentage of curcumin extracted from turmeric by pure methanol was higher than any aqueous methanolic composition. Moreover, the total peak area of three curcuminoid was above 92% in RP-HPLC using solid-phase extraction. These results will form a database for investigating the constituents of natural products and the resources of pharmaceutical, nutrition, and cosmetic products.

Key words – Turmeric, Curcuminoid, Solid-Phase Extraction, Ultrasonic wave

국민건강 증진의 윤택한 삶을 유지하기 위해 급격하게 웰빙산업이 발전하고 있다. 산업사회의 발달로 생활이 윤택해지고 기호가 다양해짐으로써 건강에 대한 관심이 증대하고 있으며, 난치성 질병을 치료하기 위한 연구가 광범위하게 진행되었다. 또한 천연물로부터 바이오 활성 물질의 관심이 지속적으로 높아지고 의약품만 아니라 다양한 기능성소재들이 소개되고 있으며 천연물에서 추출한 유효성분은 제품으로서의 확실한 효과와 안정성으로 주목 받고 있다.¹⁾ 이중에서 강황은 열대 지방 및 중국의 남부지방에 자생, 재배하는 생강과의 다년생 초본으로, 본초학에서는 강황을 생약으로 사용할 때 성질이 따뜻해서 혈액순환을 촉진시키고 통증을 제거하는 효과가 탁월하다고 알려져 있다.²⁾ 또한, 강황은 상처를 아물게 하고, 소화를 촉진시키고, 항암, 항염, 항박테리아 및 항산화효과가 있으며, 간을 보호하는 작용을 가지고 있다.³⁻⁵⁾ 강황의 이러한 생리활성 효과는 강황에 포함된 에센스 오일과 curcuminoid의 색소성분의 작용에

의한 것으로 그 중에서도 curcuminoid의 약리효과가 뚜렷하며, 의학 분야를 중심으로 각종 염증, 혈중지질 강하, 항돌연변이, 항종양 등에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다.^{6,7)} Curcuminoid는 주로 curcumin (diferuloylmethane), demethoxycurcumin (p-hydroxycinnamoylferuloy-methane) 및 bisdemethoxycurcumin (di-p-hydroxycinnamoylmethane) 등 세 가지 화합물로 구성되어 있다.⁸⁻¹⁰⁾ 그 중에서도 curcumin (1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione)은 황색색소로서 각종 약리적 활성을 가지고 있다.^{11,12)} 이러한 생리활성물질을 얻기 위한 방법으로 전형적인 용매추출법이 주로 사용되고 있다.¹³⁾ 따라서 제한된 기술과 맞춤형 고순도, 중순도, 저순도의 기술적 조절이 가능해져야 할 것이며, 이에 분리기술의 중요성을 더 주목 받고 있다.¹⁴⁾ 생물분리기술은 혼합물을 고순도로 정제하는 기술뿐만 아니라 생산을 위한 제조용 공정에도 많이 사용되며 신속하고 탁월한 분리 능을 갖고 있다.¹⁵⁾ 2000년대 국내 바이오산업은 한방 및 바이오 산업체 원료 및 제품 품질검사, 제품개발(제제 개발, 시범생산) 활성화, 천연물소재 정보제공 및

*교신저자(E-mail): jyma@kiom.re.kr
(Tel): +82-42-868-9466

효능탐색, 기업과의 공동 연구개발을 통한 천연물 연구가 활발히 이루어지고 있다. 따라서 기능성 식품, 의약품 및 기능성소재 개발을 위한 관능적으로 우수한 표준화된 추출법 개발과 생리적 특성 비교를 통해 대량생산을 위한 벨리데 이션의 원천기술 확보가 필요하다.¹⁶⁾ 일반적인 추출방법으로 열수추출법, Soxhlet법, 고온용매추출법, 기계적 압착법 등의 전통적인 방법과,^{17,18)} 추출효율을 증대시키기 위한 초임계 유체법, 초고압처리법, 초음파추출 기술이 많이 이용되고 있다. 이중에서도 초음파 추출은 천연물 산업의 적용에 매우 효율적이다.¹⁹⁾ 초음파 추출공정은 추출시간이 매우 중요하며,²⁰⁾ 시료물질에 미치는 영향은 고주파와 저주파의 사용에 따라 캐비테이션의 강도, 즉 기포(bubble)의 크기 및 에너지의 세기가 달라지며,²¹⁾ 파장의 침투력이 미세부분의 조직까지 쉽게 침투하여 추출효과를 향상 시킬 수 있다.^{22,23)} 또한, 고체상추출은 정제방법 중 하나로 사용되고 있으며, 일반적으로 사용되는 액체-액체 추출보다 추출시간이 짧고, 회수율이 높으며, 유기용매의 필요량이 적고, 정밀도와 정확성이 높고, 조작이 간편하다는 장점을 가지고 있기에 분석방법 중 하나로 일반적으로 사용되고 있다.²⁴⁾

본 연구에서는 한약재로 널리 이용되고 식품소재로 잘 알려진 강황으로부터 curcuminoid를 얻기 위한 정량 및 정성 분석방법으로 RP-HPLC 및 TLC를 쉽게 접근하여 빠르게 분석 및 정제하고,²⁵⁾ 용매 침지(dipping) 추출방법과 초음파 추출법을 비교하여 이용하여 강황에서 curcumin, DMC 및 BDMC를 추출하여 추출량의 최적조건을 제시하였다. 뿐만 아니라, 고체상추출을 적용하여 세 가지 curcuminoid의 분리 및 분석효과를 향상시켜, 효율적인 활성소재 확보를 위한 선택적 추출의 가능성을 검토하였고, 주요 성분인 curcumin의 고순도 분리를 통해 상용공정의 기초데이터를 실험적으로 구하여 비교하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약 – 본 연구에 사용된 강황(*Curcuma longa* 이하 Turmeric) 시료는 중국 지방에서 재배되었으며, 2011년 3월 (주)서룡상사/영천현대약업사에서 수입 및 구매하여 한국한의학연구원 한의신약연구그룹에서 2011년 5월 처리된 시료를 사용하였다(Color and appearance specification/results: dark yellow powder, formononetin content: NLT 0.2%/0.25%, loss on drying: NMT 8%/5%, total heavy metals (As, Pd, Cd, Hg): NMT 10 ppm/1 ppm, total coliforms: not detected). 표준시료인 curcumin은 Sigma 사 (Shanghai, China)에서 구입하였다. 시료의 균일성을 위하여 수분조절 용기(desiccator)에 보관하여 사용하였고, 모든 시료들은 주입하기 전에 막 여과지(PVDF 0.2 μm, Waters co.)를 이용하여 여과를 하였다. 용매는 HPLC급(99.9%)으로 메

탄올, 아세토나이트릴, 아세트산은 J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, U.S.A.)에서 구입하였으며, 물은 2차 종류수(Division of Millipore, Waters, Milford, MA, USA)를 사용하였다. Curcumin의 표준시료(순도: 80%) 4 mg을 고순도 메탄올 20 ml를 취하여 200 ppm의 표준원액을 제조하였다.

HPLC 분석조건 및 기기 – HPLC급 시약과 추출된 시료를 농축하기 위해서 회전식 증발기(Heidolph Instruments Laborata 4000 efficient, Germany)를 사용하였다. HPLC 시스템으로는 Dionex 사의 3000 pump와 injector에는 10 μl sample loop (Dionex, ID × L 0.18 × 550 mm Viper 550 mm, USA)가 연결되었고, 데이터 처리는 Dionex 사의 PC에 설치된 Chromeleon data acquisition system (Dionex version 7.0.1.272)과 HPLC-DAD를 사용하여 정량 및 정성분석을 하였다. 컬럼은 5 μm 물질이 충전된 분석용 역상 컬럼인 Knauer RP-column (250 × 3.0 mm, 5 μm, C₁₈, Germany)의 사용과 유속은 1.0 ml/min, 주입부피는 10 μl, 컬럼오븐 온도는 40°C로 고정하였다. UV detector는 DAD의 파장범위를 200~500 nm로 하였고, 크로마토그램은 425 nm에서 나타내었다. 이동상은 이성분계 A: 물/아세트산(99.9/0.1, vol.-%), B: 아세토나이트릴/아세트산(99.9/0.1, vol.-%)을 사용하여 A와 B를 60:40 (vol.-%) 비율로 30분 동안 일정용매 조성법으로 실험하였다.

용매추출법 – 추출은 일정한 상온에서 수행하였으며, 건조 분쇄된 시료는 입자를 채 거름(30 μm)으로 분별하여 시료로 사용하였고 수분 함유량은 11.2%이었다. 이후, 강황분말 1 g을 100 ml 비이커에 추출용매 100% 물, 100% 메탄올, 60% 수용성메탄올을 각각 50 ml씩 첨가하여 초음파 및 침지 추출방법을 이용하여 4시간 동안 추출하였다. 또한, 추출법에서의 침지 추출방법은 일정 온도(23±1°C)에서, 초음파 방법은 bath type (Branson ultrasonic Co., Model No: 5510R-MTH, Overall size: W 16 mm × L 15.5 mm × H 14.5 mm, Reactor size: W 11.5 mm × L 9.5 mm × H 6 mm, Frequency: 40 kHz, Intensity: 135 Watt, Input solvent: water 9.5 L)으로 반응기 내 물의 초기온도(19±1°C)에서 시작하여 최대(49±1°C) 까지 증가하였다. 추출물에는 많은 양의 불순물들이 포함되어 있기 때문에 용매 추출 후 여지필터(pore size: 5 μm)에서 감압 여과하여 시료 잔류물과 분리시켰고 이후, 감압 농축 후(10 ml) 동결건조(refrigerated vapor trap)를 하여 전체 추출 수율을 계산하였다. 다시 각각의 시료는 2차 반복 추출 후 시험용액으로 사용하였다.

추출수율 – 초음파 및 침지 추출방법의 각각의 추출물은 회전식 감압 농축 및 동결건조를 48시간 동안 진행되었고, 2차 반복 실험의 평균값을 적용하여 아래의 식에 대입하여 계산하였다.

$$\text{Extraction yield (\%, wt/wt)} = \frac{\text{Extracts dry weight}}{\text{Sample dry weight}} \times 100 \quad (1)$$

고체상추출(SPE) – 고체상추출은 빠른 시료의 제조와 분석이 가능하며 물질에 따라 선택적 추출이 가능하다. 따라서 상용공정의 가능성을 확인하기 위하여 추출방법에 따른 고체상추출 사용 전·후를 비교하였다. 고체상추출(Solid-Phase Extraction, 이하 SPE)을 하기 위해서 역상 SPE 컬럼(Prep Sep-C₁₈ Octadecyl cartridge, Fisher Scientific Co., USA)을 사용하였다. 강황 분말 1 g을 100 ml 비이커에 추출용매 100% 물과 100% 메탄올 50 ml을 각각 초음파 및 침지 추출방법을 이용하여 추출(4시간 동안) 하였다. 이후, 동결 건조된 시료 70 mg을 용매 100% MeOH, 10 ml에 녹여 용출시켰으며, 다시 맴브레인 필터(FH-0.2 μm, Waters, Milford, MA, USA)로 여과하여 시험용액으로 사용하였다.

결과 및 고찰

강황에서 curcuminoid를 추출하기 위하여 초음파 추출 및 침지 추출방법을 적용하였으며, 고체상추출을 이용하여 정제하고, 역상 액체 크로마토그래피 및 박막 크로마토그래피를 이용하여 세 가지 성분을 정성 및 정량 분석하였다.

추출효과 – 강황에서 curcuminoid를 추출하고, 그 추출효율에 관한 용매의 영향을 고찰하기 위하여 물, 메탄올 및 메탄올 수용액(60%)을 사용하였으며, 정제 과정을 Fig. 1에 나타내었다. 침지 추출방법과 초음파 추출방법을 비교해 볼

때, 초음파 추출을 이용한 추출효과가 침지 추출방법을 이용한 것보다 높다는 것을 알 수 있다(Table I). 이것은 초음파 에너지가 더욱 증가하면 액의 분자간 응집력이 파괴되고 미세한 케비테이션(기포가 생성되는 현상)인 공동(cavity)이 발생되며, 이 공동이 폭발하면서 발생하는 강력한 에너지 방출에 의한 것으로 알 수 있다. 주파수의 변화에 따라 발생된 기포가 터질 때의 압력과 기포 안의 방전 때문에 초음파를 받은 물질이 기계적인 작용을 받거나 화학 변화를 일으킴으로써 유용성분의 추출이 용이하게 되는 것이다.²⁰⁻²²⁾ 또한 초음파에너지가 저주파일 때 케비테이션의 진동이 매우 크고 주변 작업장 소리도 매우 크게 들리며 에너지 파장의 진달 폭이 매우 크다. 반대로 고주파일 때는 케비테이션의 진동이 매우 작고 주변 작업장 소리는 매우 작게 들리며 에너지 파장의 진달 폭이 직진형이다. 이러한 기계적 에너지의 변화에 따라 천연물에서의 저주파의 적용은 조직이 세밀하고 밀도가 큰 것이 적절하다고 판단되며, 고주파의 적용은 조직이 부드럽고 밀도가 작은 것에 용이하다고 판단된다²³⁾. 또한, 서로 다른 용매를 사용함에 따라 세 가지 화합물의 피크 면적이 서로 다르며, 세 가지 화합물(curcumin, demethoxycurcumin (DMC), bisdemethoxycurcumin (BDMC))의 피크면적이 제일 큰 것은 메탄올 용액을 사용하였을 때이다(Table I). 이것은 curcuminoid에 포함되는 성분들이 물 혹은 메탄올 수용액보다 메탄올 등 유기용매에서 더 높은

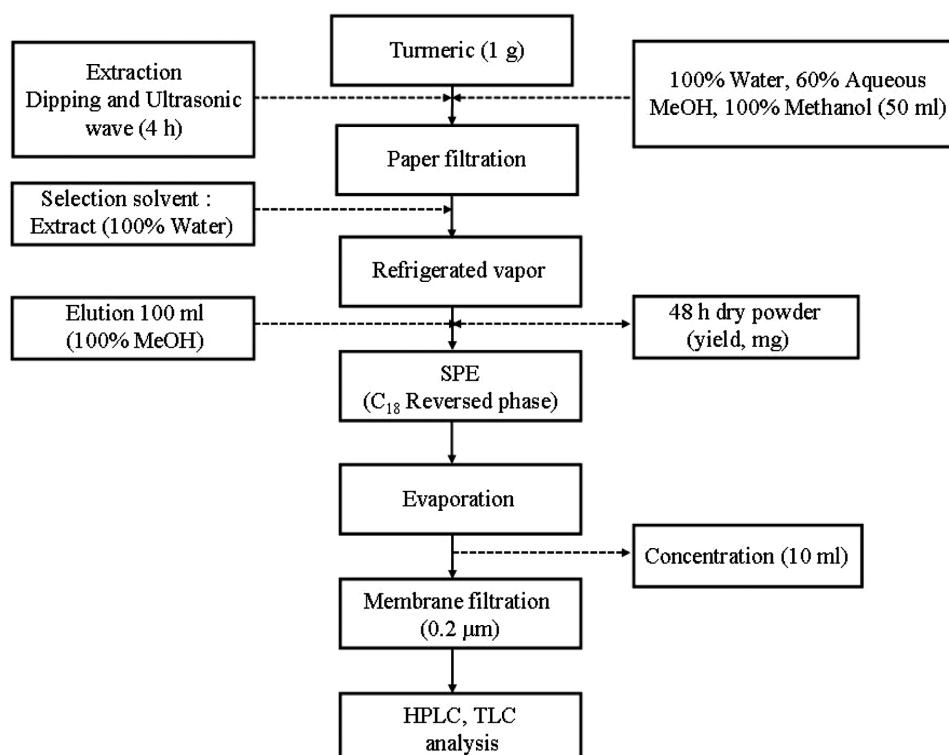
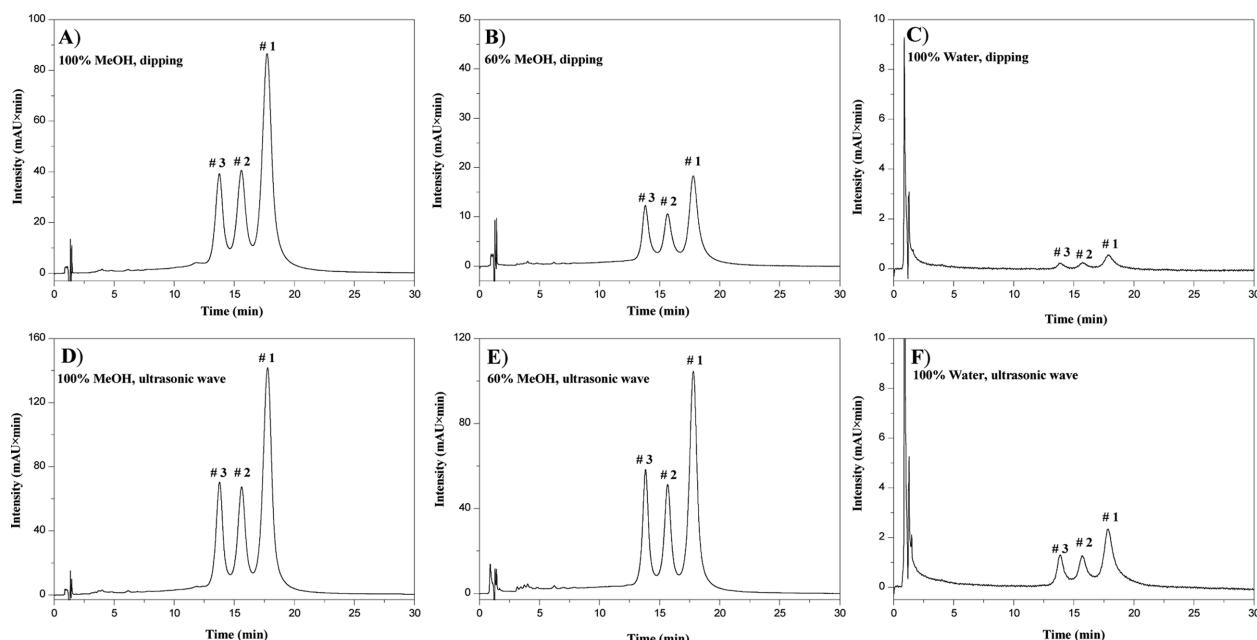


Fig. 1. Scheme of the extraction procedure for turmeric.

Table I. Content of curcuminoid from turmeric by dipping and ultrasonic wave

Extraction method	Extraction Solvent	Peak area (%), #1	Peak area (%), #2	Peak area (%), #3	Three Peak area (%)	Peak area mAU×mim (#1)	Peak area mAU×mim (#2)	Peak area mAU×mim (#3)	Total peak area (# 1,2,3)	
Dipping	100% Water	16.35	11.86	4.66	32.87	0.53	0.37	0.14	1.04	
	60% MeOH	47.41	20.36	19.20	86.97	46.23	20.39	19.81	86.43	
	100% MeOH	49.69	21.90	18.59	90.18	88.08	35.27	29.94	153.28	
Ultrasonic wave	100% Water	43.39	21.46	22.24	87.09	2.43	1.39	1.73	5.54	
	60% MeOH	51.74	20.83	21.62	94.19	95.64	40.06	41.65	177.30	
	100% MeOH	54.13	19.82	22.23	96.18	143.39	59.02	61.72	264.13	
Using SPE C ₁₈	Dipping	100% Water	55.21	18.90	18.55	92.66	5.57	2.36	2.05	7.62
	Ultrasonic wave	Dry powder (70 mg)	57.55	19.96	20.02	97.53	60.65	24.08	24.16	108.89

(Extraction time: 4 hr, and temperature: 23°C)

**Fig. 2.** Extraction efficiency of curcuminoid with dipping and ultrasonic wave using RP-HPLC. (Isocratic elution B: 40%, run time: 30 min, flow rate: 1.0 ml/min, injection volume: 10 µl, wavelength: 425 nm)

추출효율을 가진다는 것을 알 수 있다. 이러한 결과는 Fig. 2에서도 보여주고 있다. 침지 추출방법을 사용하든 초음파 추출을 사용하든, 메탄올 용액을 사용하였을 때, 물 혹은 메탄올 수용액을 사용하였을 때보다 더 높은 intensity를 가지며, 피크높이 및 피크면적이 더 크다는 것을 알 수 있다. 그러므로 고체상추출 및 크로마토그래피를 사용함에 있어서 메탄올 용액을 사용하면 더 좋은 분석 및 분리효과를 나타낼 수 있다는 것을 알 수 있다. 이상의 결론으로부터 본 연구에서는 고체상추출을 적용함에 있어서 추출용액을 메탄올 용액으로 정하여 사용하였다.

고체상추출 – 고체상추출은 물질의 정제방법으로서 일반적으로 사용되고 있으며, 본 연구에서는 역상 C₁₈ 고체상추

출방법을 적용하였다. Curcumin, DMC, BDMC 등 세 가지 curcuminoid 화합물이 메탄올에 잘 용해되는 점을 고려하여 역상 고체상추출방법이 적합할 것이라고 판단되어 물과 메탄올을 용출용매로 사용하였다. Fig. 3에서는 고체상추출을 적용하지 않았을 때와 고체상추출을 적용하였을 때의 세 가지 curcuminoid 화합물의 크로마토그래피를 나타내었다. 침지 추출방법을 적용한 후 크로마토그래피 분석을 하였을 때, 동일한 intensity에서 고체상추출을 적용함으로써 피크높이 및 피크면적이 현저히 늘어난 것을 알 수 있다(Fig. 3(A)와 (C) 및 Table I). 이러한 결과는 초음파 추출을 적용한 후, 크로마토그래피 분석을 하였을 때도 같은 경향을 보인다.

Fig. 4에서는 세 가지 curcuminoid 화합물의 정석 및 정

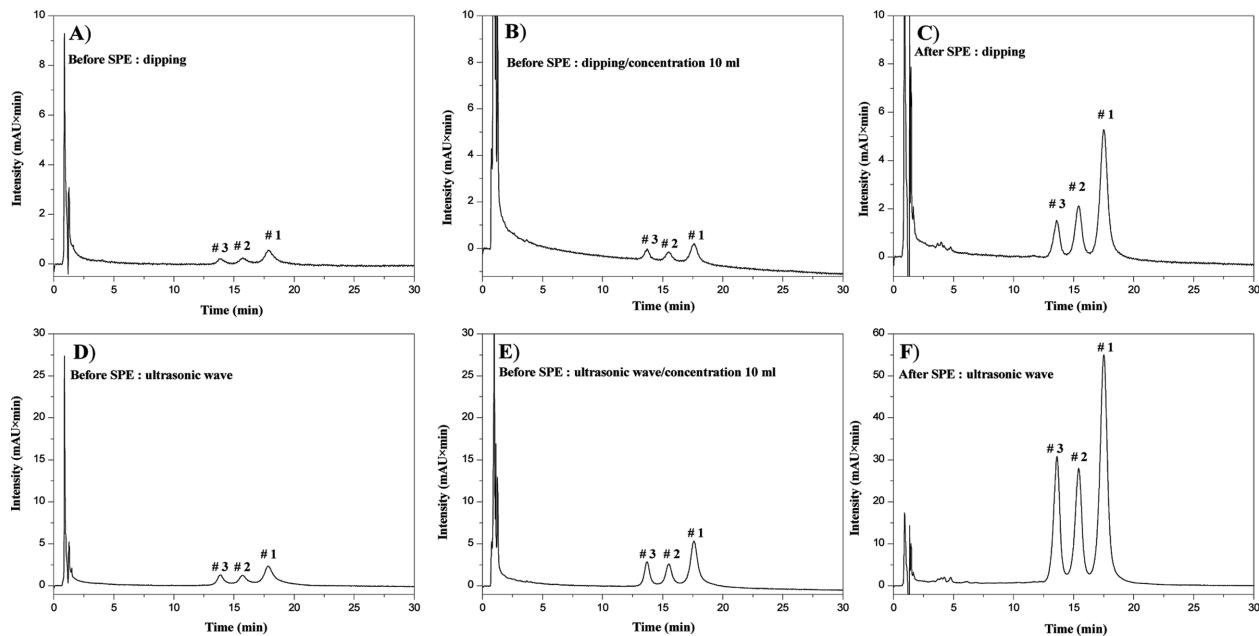


Fig. 3. Chromatogram of SPE before and after different extraction process. (A) Before SPE; dipping. (B) Before SPE; dipping concentration 10 ml. (C) After SPE; dipping concentration 10 ml. (D) Before SPE; ultrasonic wave. (E) Before SPE; ultrasonic wave concentration 10 ml. (F) After SPE; ultrasonic wave concentration 10 ml.

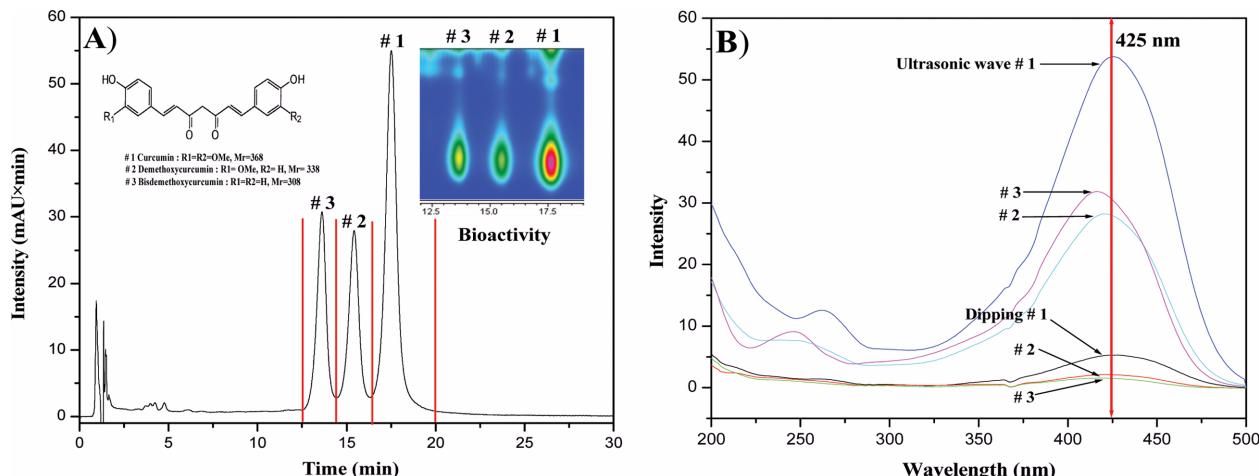


Fig. 4. Chromatogram of fraction collected (# 1, # 2 and # 3) with ultrasonic wave using SPE. (A) fraction time 13 to 20 min and extraction time 4 h. (B) UVspectrophotometer spectrum. (Isocratic elution B: 40%, run time: 30 min, flow rate: 1.0 ml/min, injection volume: 10 μ l, wavelength: 425 nm)

량분석을 함께 있어서 보여주는 크로마토그래피이다. Fig. 4(A)는 역상 액체 크로마토그래피 및 박막 크로마토그래피를 이용한 크로마토그램을 나타낸 것이고, Fig. 4(B)는 초음파 추출 및 침지 추출방법을 적용하여 추출한 용액의 UV 흡수파장을 표준물질 및 피크 #1, #2, #3과 비교하여 나타낸 그림이다. 초음파 추출 및 침지 추출방법을 적용한 추출 용액 및 피크 #1, #2, #3의 최대 흡수파장은 425 nm였으며, 크로마토그래피 분석에서도 이 파장을 사용하였다. 이상의

결과로부터 피크 #1, #2, #3이 각각 curcumin, DMC, BDMC라는 것을 알 수 있다. 또한, curcumin, DMC, BDMC의 분자량이 각각 368, 338, 308으로서 분자량 순서에 따라 용출되는 크로마토그래피의 일반적인 성질에 적합하다. Fig. 5와 Fig. 6에서도 각각 표준물질과 피크 #1, #2, #3의 박막 크로마토그래피 및 역상 액체 크로마토그래피를 이용한 분석결과를 나타낸 것이다. 이상의 결과로부터, 강황에서 curcumin, DMC, BDMC 등 세 가지 curcuminoid

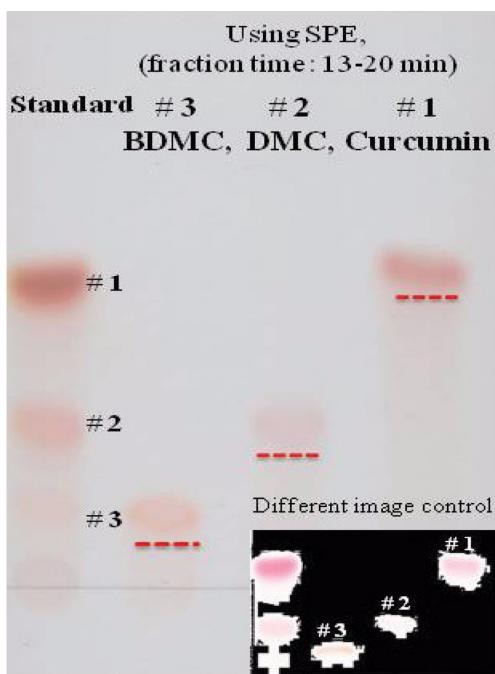


Fig. 5. TLC analysis of each sample fraction collected showing bands; curcumin (1), demethoxycurcumin (2), and bisdemethoxycurcumin (3). (Shown Fig. 4 fractions # 1, # 2, and # 3, elution: dichloromethane: methanol (97:3 vol. %))

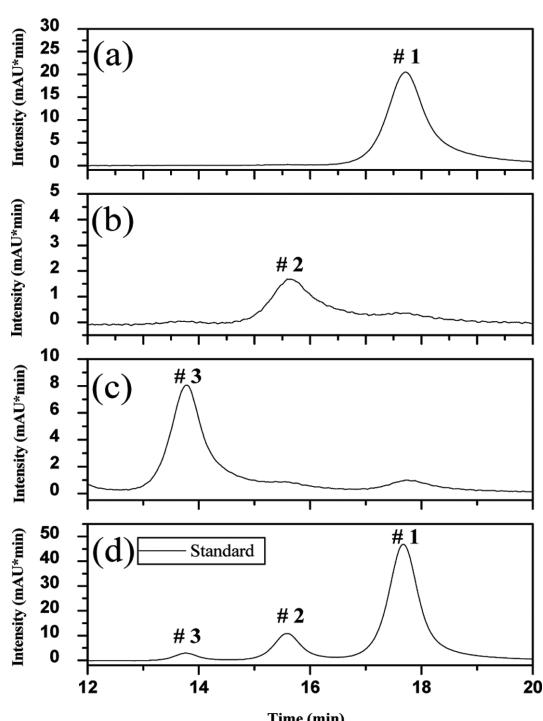


Fig. 6. Isolation analysis of pure curcumin (a), pure demethoxycurcumin (b), pure bisdemethoxycurcumin (c), and standard sample showing peaks (d). curcumin (1), demethoxycurcumin (2), and bisdemethoxycurcumin (3); elution monitored at 425 nm.

화합물을 추출하였으며, 고체상추출은 분석효과를 향상할 수 있다는 것을 알 수 있다.

결 론

강황에서 curcumin, demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin 등 세 가지 curcuminoid 화합물을 추출하기 위하여 초음파 추출 및 침지 추출방법을 적용하였으며, 고체상 추출을 통하여 정제하였고, 역상 액체크로마토그래피 및 박막 크로마토그래피를 이용하여 정성 및 정량 분석을 수행하였다. 초음파 추출은 침지 추출방법보다 추출효율이 높고, 메탄올 용액에서 세 가지 curcuminoid 화합물의 추출효과가 높았으며, 고체상추출을 통합으로 하여 정제효과가 뚜렷하였다. 따라서 본 연구의 결과는 항산화, 혈압 조절 및 항피로제의 기초연구로써 활용될 것이며, 강황을 비롯한 천연물의 기초자료로 널리 응용될 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 한국한의학연구원 한의신약연구그룹의 연구지원(K12050)에 의해 수행되었으며, 이에 감사 드립니다.

인 용 문 헌

- Jin, Y., Cheng, Y. D., Lee, K. J., Jung, Y. A. and Row, K. H. (2011) Effects of Ethanol Extract of the *Rhodiola Sachalinensis* for Anti-oxidation and Blood Pressure and Skeletal Muscles Contractility in Rat. *KSBB Journal*. **26**: 211-216.
- Lim, Y. S., Park, K. N. and Lee, S. H. (2007) Effects of Turmeric (*Curcuma aromatica* Salab.) Extract on Shelf Life of Cooked Rice. *Korean J. Food preserv.* **14**: 445-450.
- Kim, J. K., Jo, C., Hwang, H. J., Park, H. J., Kim, Y. J. and Byun, M. W. (2006) Color improvement by irradiation of *Curcuma aromatica* extract for industrial application. *Rad. Phys. Chem.* **75**: 449-452.
- Hou, X. L., Takahashi, K., Tanaka, K., Tougou, K., Qiu, F., Komatsu, K., Takahashi, K. and Azuma, J. (2008) Curcuma drugs and curcumin regulate the expression and function of P-gp in Caco-2 cells in completely opposite ways. *Int. J. Pharm.* **358**: 224-229.
- Araujo, C. A. C. and Leon, L. L. (2001) Biological Activities of *Curcuma longa* L. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. **96**: 723-728.
- He, X. G., Lin, L. Z., Lian, L. Z. and Lindenmaier, M. (1998) Liquid chromatography-electrospray mass spectrometric analysis of curcuminoid and sesquiterpenoids in turmeric (*Curcuma longa*). *J. Chromatogr. A*. **818**: 127-132.
- Apisariyakul, A., Vanittanakom, N. and Buddhasukh, D. (1995) Antifungal activity of turmeric oil extracted from *Curcuma longa* (Zingiberaceae). *J. Ethnopharm.* **49**: 163-169.

8. Anand, P., Thomas, S. G., Kunnumakkara, A. B., Sundaram, C., Harikumar, K. B., Sung, B., Tharakan, S. T., Misra, K., Priyadarsini, I. K., Rajasekharan, K. N. and Aggarwal, B. B. (2008) Biological activities of curcumin and its analogues (Congeners) made by man and Mother Nature. *Biochem. Pharm.* **76**: 1590-1611.
9. Soudamini, K. K. and Kuttan, R. (1988) Cytotoxic and tumour reducing properties of curcumin. *Indian J. Pharmacol.* **20**: 95-101.
10. Srivastava, R. M., Singh, S., Dubey, S. K., Misra, K. and Khar, A. (2011) Immunomodulatory and therapeutic activity of curcumin. *International Immunopharm.* **11**: 331-341.
11. Sandur, S. K., Ichikawa, H., Pandey, M. K., Kunnumakkara, A. B., Sung, B., Sethi, G. and Aggarwal, B. B. (2007) Role of pro-oxidants and antioxidants in the anti-inflammatory and apoptotic effects of curcumin (diferuloylmethane). *Free Radical Biology and Medicine*. **43**: 568-580.
12. Priyadarsini, K. I., Maity, D. K., Naik, G. H., Kumar, M. S., Unnikrishnan, M. K., Satav, J. G. and Mohan, H. (2003) Role of phenolic O-H and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin. *Free Radical Biology and Medicine* **35**: 475-484.
13. Wakte, P. S., Sachin, B. S., Patil, A. A., Mohato, D. M., Band, T. H. and Shinde, D. B. (2011) Optimization of microwave, ultra-sonic and supercritical carbon dioxide assisted extraction techniques for curcumin from *Curcuma longa*. *Sep. Purif. Technol.* **79**: 50-55.
14. Jin, C. H., Lee, J. W. and Row, K. H. (2006) Optimum Condition of Mobile Phase Composition for Purine Compounds by HCl Program. *J. Korean Ind. & Eng. Chem.* **17**: 317-320.
15. Row, K. H. (1995) Separation of Two Components in the Case of Large Difference in Concentration by Chromatography. *J. Korean Ind. & Eng. Chem.* **6**: 193-199.
16. Jung, S. H., Chang, K. S. and Ko, K. H. (2004) Physiological Effects of Curcumin Extracted by Supercritical Fluid from Turmeric (*Curcuma longa* L.). *Korean J. Food Sci. Technol.* **36**: 317-320.
17. Cushnie, T. T. P. and Lamb, A. J. (2005) Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. **26**: 343-356.
18. Knorr, D., Zenker, M., Heinz, V. and Lee, D. U. (2004) Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends in Food Science & Technology* **15**: 261-266.
19. Lee, K. J. and Row, K. H. (2006) Enhanced extraction of isoflavones from Korean soybean by ultrasonic wave. *Korean J. Chem. Eng.* **23**: 779-783.
20. Rezić, I., Horvat, A. J. M., Babić, S. and Kačetelan-Macan, M. (2005) Determination of pesticides in honey by ultrasonic solvent extraction and thin-layer chromatography. *Ultrasonics Sonochemistry* **12**: 477-481.
21. Jerković, I., Mastelić, J., Marijanović, Z., Klein, Ž. and Jelić, M. (2007) Comparison of hydrodistillation and ultrasonic solvent extraction for the isolation of volatile compounds from two unifloral honeys of *robinia pseudoacacia* L. and *castanea sativa* L. *Ultrasonics Sonochemistry* **14**: 750-756.
22. Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L. and Bates, D. (2008) Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry A Review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **9**: 161-169.
23. Lee, K. J. and Um, B. H. (2008) Extraction of useful component from natural plants using ultrasound system. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **23**: 101-108.
24. Caroline, E. G. and Michael, H. A. (2000) Investigation into the effects of temperature and stirring rate on the solid-phase extraction of diuron from water using a C₁₈ extraction disk. *J. Chromatogr. A*. **885**: 41-49.
25. Zhang, J. S., Guan, J., Yang, F. Q., Liu, H. G., Cheng, X. J. and Li, S. P. (2008) Qualitative and quantitative analysis of four species of Curcuma rhizomes using twice development thin layer chromatography. *J. Pharm. Bio. Anal.* **48**: 1024-1028.

(2012. 6. 13 접수; 2012. 8. 10 심사; 2012. 9. 3 게재확정)