

## 초음파 및 침적방법을 이용한 강황 (*Curcuma longa*)으로부터 Curcuminoids의 확인

이광진<sup>1</sup>, 마진열<sup>1</sup>, 김영식<sup>2\*</sup>

### Identification of Curcuminoids from Turmeric (*Curcuma longa*) Using Ultrasonic Wave and Dipping Method

Kwang Jin Lee<sup>1</sup>, Jin Yeul Ma<sup>1</sup>, and Young Sik Kim<sup>2\*</sup>

접수: 2011년 9월 18일 / 게재승인: 2012년 2월 21일  
© 2012 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

**Abstract:** In this study three major curcuminoids in turmeric curcumin (1), demethoxycurcumin (2) and bismethoxycurcumin (3) were efficiently extracted by optimizing extraction condition and simultaneously identified using a fast and reliable RP-HPLC-UV-MS and TLC method. The analysis by the C<sub>18</sub> column was performed and the UV wavelength was fixed at 425 nm. In this result, the total extraction yield of turmeric (*Curcuma longa*) was increased with extraction time from 1 to 7 h. So, optimum extraction time is 4 h. Also, the highest yield of extraction amount 0.433g 8.66% was obtained by ultrasonic waves with quarter frequency kHz and an extraction time of 7 h. The experiment method was consistent with theoretical Value  $r^2 = 0.987$  (1),  $0.997$  (2) and  $0.998$  (3). Moreover, LC-MS analysis provided efficiently molecular weight information of three major curcuminoids in turmeric extracts and high purity (~95%) of the curcuminoids were obtained. This work offers would be useful for chemical and biological studies of natural plants and its products.

**Keywords:** Analysis, *Curcuma longa*, Curcuminoids, HPLC,

Separation, Isolation

#### 1. 서론

전 세계적으로 환경오염 및 서구적 식생활 문화에 의한 성인 병 발생이 증가함에 따라 질병의 예방과 건강에 대한 관심이 높아지고 있다. 각 나라는 오래전부터 전통 식물로부터 전해오는 경험을 통해 질환 치료와 삶에 의존도를 개선시켜 왔으며 [1], 국내·외 연구자들은 과학적인 방법으로 효율적인 삶의 질을 찾기 위해 노력하고 있다 [2]. 최근에는 한약재 및 천연물의 관심이 제재 개발에 있어 중요한 척도로 자리잡고 있으며 저해물질을 탐색하고 분리 및 정제함으로써 구조를 규명하고 활성에 대한 저해기작뿐만 아니라 [3,4], 의약품, 기능성 식품, 화장품 및 소재의 다양한 확보로 인해 제품개발은 급속도로 발전되어 지고 있다. 그 중에서 난치성 질병을 치료하기위한 광범위한 질환 연구가 주목받고 있다 [5].

한약재로 널리 이용되고 식품첨가물로 잘 알려진 강황 (turmeric; *Curcuma longa*)은 생강과에 속하는 다년생 초본으로 카레의 주원료인 노란색을 나타내는 향신료의 성분이며 [6,7], 아시아 국가에서 넓게 재배되고 있고 전세계적으로 잘 알려져 있다 [8]. 상업적으로 이용되는 표준시료는 curcumin (~77%), demethoxycurcumin (DMC, (~18%)), bisdemethoxycurcumin (BDMC, (~5%))로 함유되어 있고 [9], 전통적으로 염증치료에 탁월하고 항산화작용, 항돌연변이성, 간 해독, 항암 및 혈소판 응집억제 등의 효능이 보고되었다 [10-12]. 특히 curcuminoids의 curcumin, DMC, BDMC가 주된 생물활성 물질로 보고되었다 [13]. 이러한 강황으로

<sup>1</sup>한국한의학연구원, 한의신약연구그룹

<sup>1</sup>TKM-Based Herbal Drug Research Group, KIOM, 1672 Yuseongdae-ro, Yuseong-gu, Daejeon 305-811, Korea

<sup>2</sup>강원대학교 삼척캠퍼스, 화학공학과

<sup>2</sup>Department of Chemical Engineering, Kangwon National University, 346 Joongang-ro, Samcheok, Gangwon-do 245-711, Korea  
Tel: +82-33-570-6542, Fax: +82-33-570-6535  
e-mail: jameskim@kangwon.ac.kr

부터 유용성분을 효율적으로 얻기 위한 추출방법으로는 전형적인 용매추출법이 있으며 생리활성물질 추출분야의 산업적 응용을 위한 물리적 가공법을 이용한 물질 특성을 비교한 연구는 미흡한 실정이다 [14]. 추출용매는 수용성 메탄올, 에탄올 및 물을 기반으로 하는 용매가 많이 사용되고 증류, 열 및 교반 추출의 적용은 낮은 추출 효율과 오랜 추출 시간이 소요된다. 따라서 추출시간을 단축하기 위하여 마이크로웨이브, 초음파에너지를 이용한 추출공정이 소개되고 있다 [14-16]. 이 중에서 초음파 추출공정은 고주파와 저주파의 사용에 따라 cavitation (공동화)의 강도는 달라지며 미세한 공동화 현상인 cavity (공동)이 발생되어 시료에 미세부분의 조직까지 쉽게 침투하여 추출효과를 향상시킬 수 있다 [17,18]. 또한 정량 및 정성 분석방법으로 LC-MS, GC-MS, HPLC 및 GC가 널리 사용되고, 특히 thin-layer chromatography (TLC)는 쉽게 접근하여 빠르게 분석 및 정제를 할 수 있다 [19-21]. 따라서 본 연구에서는 한약재로 널리 이용되고 식품소재로 잘 알려진 강황으로부터 초음파 및 침적방법을 이용한 curcuminoids의 curcumin (MW=368), DMC (MW=338) 및 BDMC (MW=308)을 추출하여 추출량의 최적조건을 제시하였으며 효율적인 활성소재 확보를 위한 선택적추출 가능성을 검토하고 TLC, RP-HPLC 및 LC-MS를 이용하여 추출량을 실험적으로 구하여 비교하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 실험재료 및 시약

본 연구에 사용된 강황 시료는 중국 지방에서 재배되었으며, 한국한의학연구원 한의신약연구그룹에서 처리된 시료를 사용하였다. 표준시료인 curcumin은 Sigma co. (제조국: 중국, 순도: 80%)에서 구입하였다. 시료의 균일성을 위하여 수분 조절 용기 (desiccator)에 보관하여 사용하였고, 모든 시료들은 주입하기 전에 막 여과지 (PVDF 0.2  $\mu\text{m}$ , Waters co)를 이용하여 여과를 하였다. 용매는 HPLC급 (99.9%)으로 메탄올, 아세트나이트릴, 아세트산은 J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, U.S.A.) 그리고 물은 2차 증류수 (Division of Millipore, Waters, Milford, MA, USA)를 사용하였다.

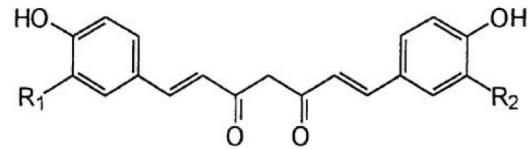
### 2.2. 강황의 표준시료

Curcumin의 표준시료 (순도: 80%) 4 mg을 고순도 메탄올 20 mL 취하여 200 ppm의 표준원액을 제조하였다.

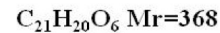
### 2.3. 용매추출방법

추출은 일정한 상온에서 수행 하였으며, 건조 분쇄된 시료는 입자를 체 거름 (30  $\mu\text{m}$ )으로 분별하여 시료로 사용하였고 수분 함유량은 11.2%였다. 이후 강황분말 5 g을 500 mL 비이커에 추출용매 메탄올 100% 200 mL을 첨가하여 초음파 및 침적방법을 이용하여 추출 (시간 1~7 h) 하였다. 침적 방법은 상온 (23°C  $\pm$  1)에서 수행, 초음파 방법은 bath type의 (Branson ultrasonic Co., Model No: 5510R-MTH, Overall size: W 16 mm  $\times$  L 15.5 mm  $\times$  H 14.5 mm, Reactor size: W

11.5 mm  $\times$  L 9.5 mm  $\times$  H 6 mm, Frequency: 40 kHz, Intensity: 135 Watt, Input solvent : water 9.5 L)로 반응기내 물의 초기 온도 (19°C  $\pm$  1)에서 시작하여 최대 (49°C  $\pm$  1)까지 증가하였다. 추출물에는 많은 양의 불순물들이 포함되어 있기 때문에 용매 추출 후 여지필터 (pore size: 5  $\mu\text{m}$ )에서 감압 여과하여 시료 잔유물과 분리시켜 감압 농축후 (10 mL) 동결건조 (refrigerated vapor trap)를 하여 전체 추출 수율을 계산하였다. 다시 각각의 시료는 메탄올 100%로 녹여 시료를 멤브레인 필터 (FH-0.2  $\mu\text{m}$  Waters Milford MA USA)로 여과하여 시험용액으로 사용하였다. Fig. 1에서는 curcumin (1), DMC (2) 및 BDMC (3)의 구조식을 정리하여 놓았다.



Curcumin : R1=R2=OMe



Demethoxycurcumin : R1= OMe, R2= H, Mr= 338

Bisdemethoxycurcumin : R1=R2=H, Mr=308

Fig. 1. Chemical structures of curcuminoids in turmeric.

### 2.4. 추출수율

초음파 및 침적방법의 각각의 추출물은 회전식 감압 농축 및 동결건조 (refrigerated vapor trap)를 48 h 동안 진행되었고 2차 반복 실험의 평균값을 적용하여 아래 보여지는 계산식을 사용하였다.

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

### 2.5. 기기 및 HPLC, LC-MS 분석조건

HPLC급 시약과 추출된 시료를 농축하기 위해서 회전식 증발기 (LABO-THERM SW 200, Resona Technics co., Japan)를 사용하였다. HPLC시스템으로는 Dionex co.의 3000 pump 와 injector에는 10  $\mu\text{L}$  sample loop (Dionex, ID  $\times$  L 0.18  $\times$  550 mm Viper 550 mm USA)가 연결되었고 데이터 처리는 Dionex co.의 PC에 설치된 Chromeleon data acquisition system (Dionex version 7.0.1.272)과 HPLC-DAD를 사용하였다. 또한 표준시료는 LC-MS (Varian: 500-MS IT Mass Spectrometer)를 사용하여 정량 및 정성분석을 하였다. 분석에 사용된 컬럼은 5  $\mu\text{m}$  물질이 충전된 분석용 역상 컬럼 Knauer Eurospher RP-column (250  $\times$  3.0 mm, 5  $\mu\text{m}$ , C<sub>18</sub> Germany)의 사용과 유속은 1.0 mL/min, 주입부피는 10  $\mu\text{L}$ , 컬럼온도 40°C로 고정하였다. UV detector는 DAD의 파장범위를 200~500 nm로 하였고, 크로마토그래피는 425 nm로 나타내었다. 이동상은 이성분계 A: Water/acetic acid (99.9/0.1, vol.%), B: Acetonitrile/acetic acid (99.9/0.1, vol.%)을 사용하여 (A: 60/B: 40 vol.%)까지 30 min 동안 일정용매 용출법으로 실험하였다. Table 1에서는 HPLC

의 분석조건을 보여주고 있다. 또한 silica XHL TLC plates glass (5 × 10 cm, 250 μm, Sorbent Tec., USA)를 사용하여 확인하였다.

**Table 1.** HPLC operating conditions for the analysis in turmeric

HPLC System	Conditions
RP Column	Knauer Eurospher 100-7 C <sub>18</sub>
UV wavelength	UV 425 nm
Mobile phase (RP Isocratic elution)	A: Water 99.9 vol.% + acetic acid 0.1 vol.% B: Acetonitrile 99.9 vol.% + acetic acid 0.1 vol.% (A: 60/B: 40 vol.%)
Flow rate	1.0 mL/min
Run time	30 min
Injection volume	10 μL
Column oven temperature	40°C

### 3. 결과 및 고찰

본 연구에서는 기능성 물질 탐색 및 소재개발의 생산성 활용에 적용하기 위해 강황에 포함된 curcumanoids의 curcumin (1), DMC (2) 및 BDMC (3)의 추출량을 실험적으로 고찰하고 TLC, LC-MS 및 RP-HPLC로 분석하여 추출량과 수치 계산에 의해 순수 물질분리를 하였다.

#### 3.1. 최적 추출 및 UV, HPLC 분석

강황으로부터 초음파 및 침적방법에 의해 추출된 curcumin (1), DMC (2) 및 BDMC (3)의 체류시간 ( $t_R$  (min)) 피크 면적 (mAU × mim) 및 수율 %을 Table 2에 비교하여 나타내었고 Fig. 2에서는 강황으로부터 curcumanoids의 추출 및 정제 공정을 나타내었다. 이 실험조건에서 침적추출은 (23°C ± 1)에서 초음파추출은 (frequency 40 kHz, intensity 135 watt, input solvent: water 9.5 L)로써 반응기 내 초기 온도조건은 (19°C ± 1) 에서 (추출시간: 1 h : 10, 2 h : 8,

3 h : 6, 4 h : 3, 5 h : 2, 6 h : 1 및 7 h 0°C ± 1)로 최대 (49°C ± 1)까지 약 (30°C ± 1)의 온도가 증가되었고 curcumin (1), DMC (2) 및 BDMC (3)의 체류시간은 각각 17, 15, 및 13 min이었다. 추출수율 (%)은 침적방법에서 (1~7 h: 6.48~7.89로 12.2% 증가)와 초음파방법에서 (1~7 h: 7.00~8.71로 12.5% 증가)로 두 추출방법의 비교 결과 1 h에서는 10.8% 7 h에서는 11%의 차이가 있었다. 또한 curcuminoids 3가지 전체합량 (mAU × min)은 침적방법에서 (1~7 h: 4442.834~5913.632로 33.1% 증가)와 초음파방법에서 (1~7 h: 6396.107~8083.192로 26.4% 증가)로 1 h에서는 44%와 7 h에서는 37%의 추출 효율을 보였다. 이러한 초음파추출은 저주파 (40 kHz 이하)의 강한 cavitation (공동화)의 영향에 따라 짧은 시간 동안에 높은 추출효율을 보여주는 추출 패턴이 [17,18], 시료의 조직에 따라 파장의 침투력이 추출효과를 결정 짓는 변수 중 하나로 사료되며, 초음파에너지가 증가하면 액의 분자간 응집력이 파괴되고 미세한 cavitation (기포가 생성되는 현상)인 cavity (공동)이 발생되며 [22], 이러한 충격파에 의해서 단시간 내에 물질의 내부까지 강력한 에너지가 전파되며 추출되어 진다 [23]. 이러한 에너지 세기는 강황에서도 용이하게 추출되었고 4 h 일 때 최적의 추출시간으로 판단되어 진다 (Fig. 3). Fig. 4에서는 추출방법에 따른 크로마토그램을 보여주고 있다. 전처리한 강황추출물을 분석용 컬럼을 사용하여 이동상 1.0 mL/min 주입부피 10 μL와 425 nm의 실험조건에서 분석하여 확인하였다. 여기에서 침적추출은 초음파추출에 비해 낮은 intensity의 크로마토그램을 보이고 있으며 시료 중의 각 성분인 curcumin (1), DMC (2) 및 BDMC (3)은 안정된 intensity에 의해 최적의 분리 효율을 볼 수 있었다. 또한 초음파 7 h에서 3가지 성분은 8083.192 (mAU × min)로 추출되었고 전체 추출 함량은 0.433 g으로 (침적 7 h 0.393 g) 보다 12% 높았다. 이러한 결과는 일반적으로 추출시간이 길고 에너지의 세기가 강해지면 유용성분의 구조들이 쉽게 분해 (파괴)되어 목적의 유효성분이 일정부분 증가 또는 급격히 감소되는 경우가 많이 보고되고 있다 [17,23]. 따라서

**Table 2.** Content of curcuminoids from turmeric (*Curcuma longa*) by dipping and ultrasonic wave

Extraction method	Extraction time (h)	$t_R$ (min) (#1)	$t_R$ (min) (#2)	$t_R$ (min) (#3)	Peak area mAU × mim (#1)	Peak area mAU × mim (#2)	Peak area mAU × mim (#3)	Total peak area mAU × mim (#1,2,3)	Total amount (g)	Yield (%)
Dipping	1	18.413	16.047	14.100	2425.527	1039.110	978.197	4442.834	0.322	6.44
	2	18.263	16.010	14.077	2552.626	1066.575	1013.736	4632.937	0.357	7.14
	3	18.090	16.047	14.030	2736.326	1120.341	1068.382	4925.049	0.372	7.43
	4	17.990	15.903	13.910	2914.744	1175.646	1111.313	5201.703	0.386	7.72
	5	17.947	15.857	13.970	3168.774	1181.988	1125.140	5475.902	0.389	7.77
	6	17.883	15.835	13.963	3236.153	1393.169	1284.310	5913.632	0.390	7.80
	7	17.887	15.827	13.957	3335.393	1386.445	1244.260	5966.098	0.394	7.89
Ultrasonic wave	1	18.340	16.103	14.137	3502.759	1465.047	1428.301	6396.107	0.350	7.00
	2	18.897	16.017	14.087	3968.485	1615.897	1539.787	7124.169	0.390	7.78
	3	17.973	15.933	13.891	3995.024	1653.182	1589.695	7237.901	0.395	7.97
	4	17.913	15.873	13.990	4381.475	1686.446	1580.359	7648.280	0.413	8.27
	5	17.753	15.820	13.953	4664.532	1712.976	1608.836	7986.344	0.433	8.66
	6	17.807	15.810	13.953	4675.508	1746.883	1643.309	8065.700	0.434	8.67
	7	17.763	15.793	13.940	4603.603	1799.377	1680.212	8083.192	0.436	8.71

(yield (%) average error : ± 0.5~1)

실제적인 천연물 추출공정에서도 유용성분의 초음파 추출은 많은 실험을 통하여 확인해야 할 것이며 frequency (kHz) intensity (watt) 시간 (min)과 온도 (°C) 그리고 시료의 조직 형태에 따라 추출 효율 및 유용성분의 영향은 다양한 변수에 의하여 편차가 클 것으로 사료된다. Fig. 5에서는 UV detector (DAD)의 curcumin (1), DMC (2) 및 BDMC (3)의 스펙트럼을 보여주고 있다. 파장의 범위는 200~500 nm로 하였고 크로마토그래피는 425 nm로 나타내었다. 이때 curcumin (1), DMC (2) 및 BDMC (3)은 각각 425, 420 및 418로 확인되었고 선행연구에서 보고된 결과와 일치하였다 [1].

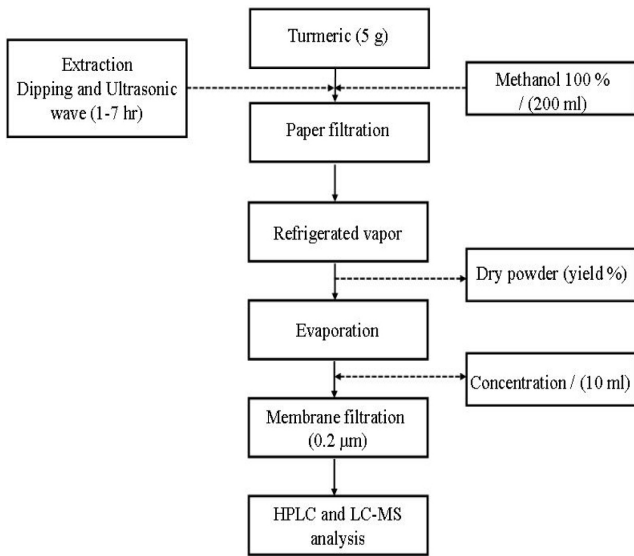


Fig. 2. Extraction and purification process.

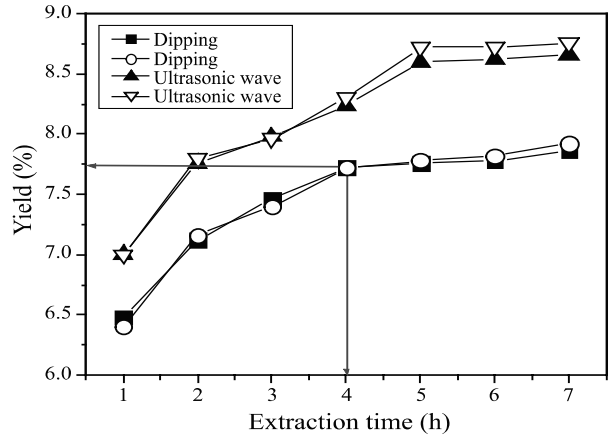


Fig. 3. Comparison of the turmeric yield with extraction time by dipping and ultrasonic wave.

3.2. 수치분석 및 LC-MS 분석

크로마토그래피의 분리정제에 있어서 정량 및 정성분석은 최적의 분리시간과 분리도 예측은 이동상의 조성과 유속 및 주입량에 따라 그리고 물질에 따라 다르게 정의되며 모든 조건을 실험적으로 확인하여 최적조건의 상관도를 정하기가 어렵다. 여기에서는 주입량에 따른 분리도를 실험상관식으로 예측하였다. 표준물질 200 ppm을 이용한 유속 1.0 mL/min에서 주입부피 2, 4, 6, 8, 10 및 15 μL를 증가시켜 실험값과 이론값을 비교하여 나타내었다 (Fig. 6). 이때 피크면적은 일정하게 증가하였고 (Fig. 6 (a)). 실험에서의 매개변수는 선형방정식 Eq.1에 의하여 계산 할 수 있었다.

$$y = ax + b \tag{1}$$

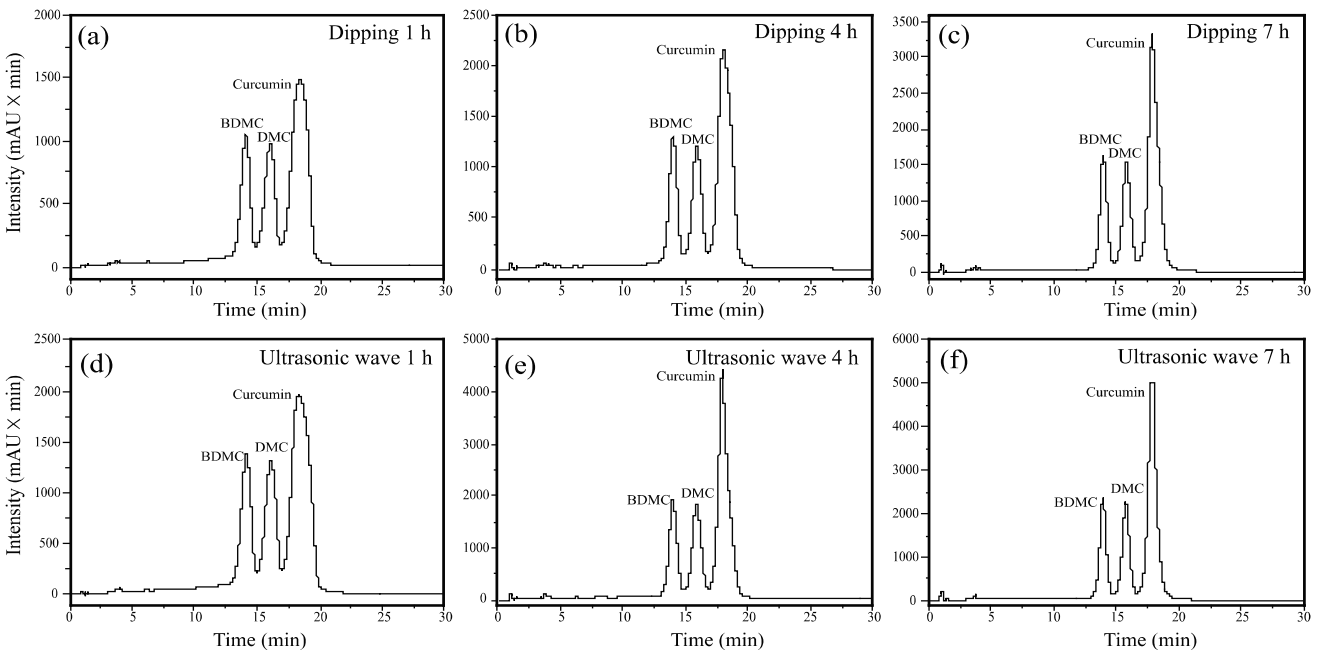


Fig. 4. Extraction efficiency of curcuminodis with dipping and ultrasonic wave using RP-HPLC. (mobile phase A : Water 99.9 vol.% + acetic acid 0.1 vol. %, B : Acetonitrile 99.9 vol.% + acetic acid 0.1 vol.%, isocratic elution B: 40%, run time: 30 min, flow rate: 1.0 mL/min, injection volume: 10 μL, wavelength: 425 nm).

$$r^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_1 - y(x_i))^2}{\sum_{i=1}^n (y_1 - \langle y_i \rangle)^2} \quad (2)$$

여기에서 a, b는 독립변수이고,  $r^2$ 는 Eq. 2에 의해 상관도를 나타낼 수 있었다. 따라서 X는 피크면적 (mAU × min)이며, Y는 함량 (mg, ug)으로 나타낼 수 있다. 그 결과 curcumin (1), DMC (2) 및 BDMC (3)의 실험값은 각각 0.987, 0.997 및 0.998로 이론값과 매우 잘 일치 하였다.

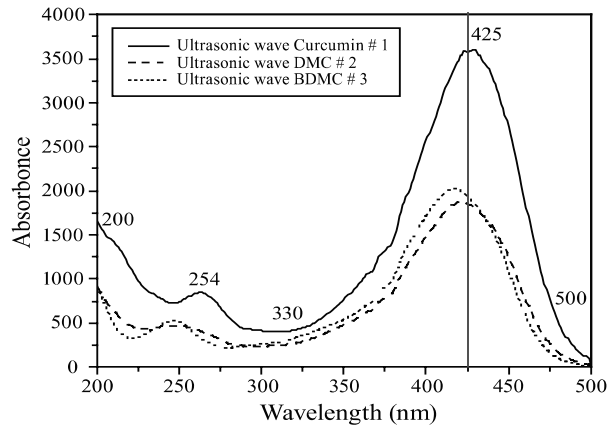


Fig. 5. UV Spectrophotometer spectrum of curcumin, DMC and BDMC.

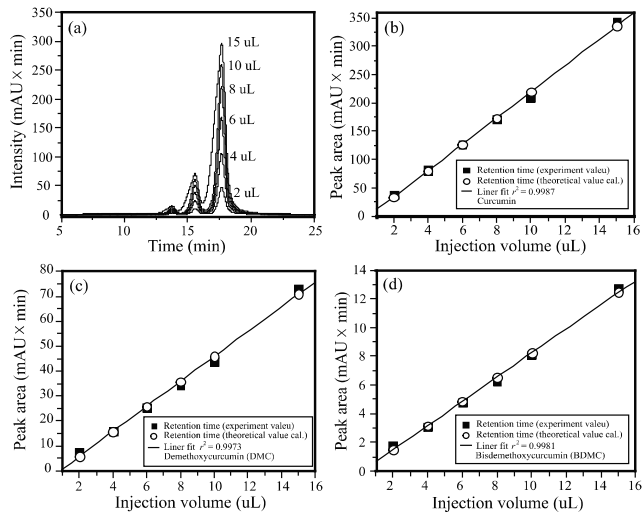


Fig. 6. Comparison of experimental and theoretical value of standard solution with injection volume. (a: injection volume : 2, 4, 6, 8, 10, 15 µL, b : curcumin, c: DMC, d: BDMC.

Fig. 7에서는 최적 추출조건인 (초음파 4 h)의 추출물을 분석한 크로마토그램을 보여주고 있다. 이 결과 이동상 조성, 컬럼온도 및 주입량에 따른 분리능은 우수하였고 이동상에 따른 주입량의 실험상관식을 신뢰할 수 있었다. Fig. 8에서는 curcuminoids 각 성분을 표준물질의 체류시간 으로부터 확인된 추출물의 크로마토그램이다 (Fig. 7 분취;

약 30 mL의 순수한 양). 각각의 체류시간은 (분취 # 1) : 17.824, (분취 # 2) : 15.735, (분취 # 3) : 13.869 min이며 표준물질의 체류시간과 비교되었다. 또한 연속분석 방법에서 LC-MS 분석은 curcumin (1), DMC (2) 및 BDMC (3)에 대하여 분자량은  $[M+H]^+$ , m/z 369.3, 339.3 및 309.3을 명확히 보여주고 있다 (Fig. 9). 따라서 본 연구에서 수행된 연구 결과는 사실을 실험적으로 입증하는 기초자료로 이용될 수 있다.

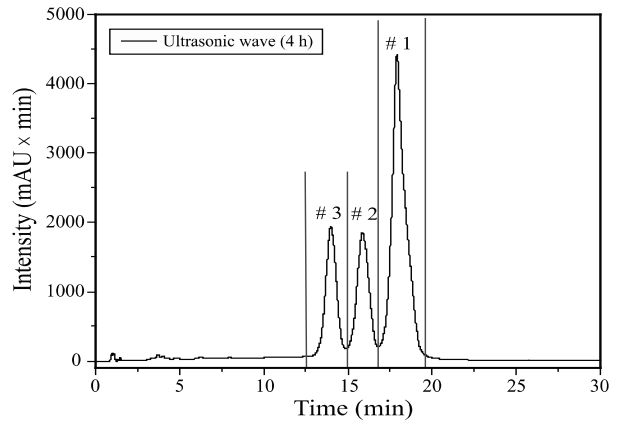


Fig. 7. Chromatogram of fraction collected (# 1, # 2 and # 3) with curcuminoids from turmeric by Ultrasonic wave at 4 h. (mobile phase A: Water 99.9 vol.% + acetic acid 0.1 vol.%, B: Acetonitrile 99.9 vol.% + acetic acid 0.1 vol.%, isocratic elution B: 40%, run time: 30 min, flow rate: 1.0 mL/min, injection volume: 10 µL, wavelength: 425 nm).

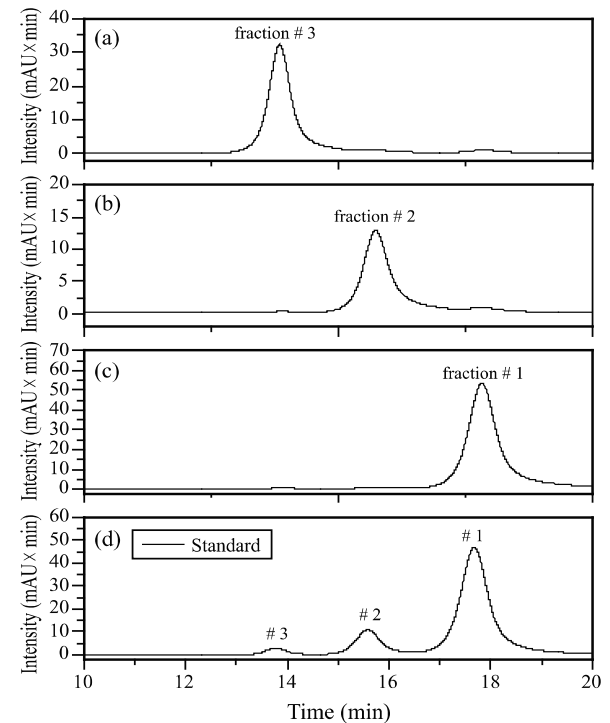


Fig. 8. HPLC chromatograms of pure curcumin (a), pure DMC (b), pure BDMC (c) and curcuminoids showing peaks (d): curcumin (1); DMC (2); BDMC (3) elution monitored at 425 nm.

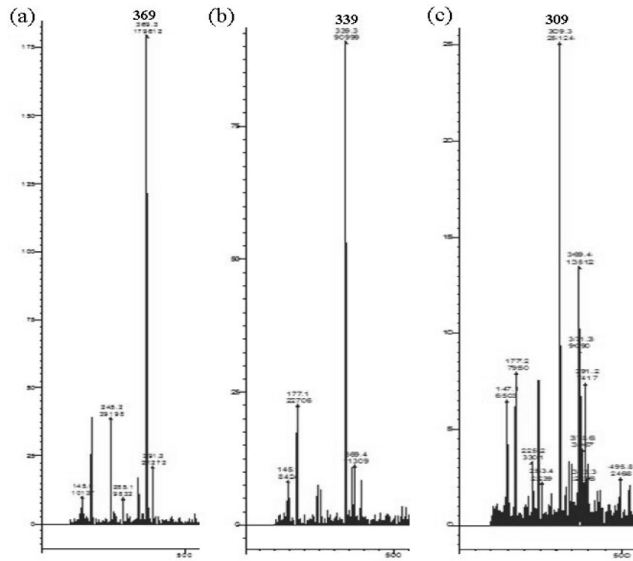


Fig. 9. MS spectra profile of the commercially available standard curcumin (80%). (Shown the fig. 8. standard samples)

#### 4. 결론

강황으로부터 생물활성 물질인 curcuminoids의 curcumin (1), DMC (2) 및 BDMC (3)의 효율적인 활성소재 확보를 위한 선택적 추출은 C<sub>18</sub> 컬럼 사용과 유속은 1.0 mL/min, 주입부피는 10  $\mu$ L, 컬럼오븐 온도 (40°C, UV 파장 425 nm)를 고정시켜 전 처리한 추출액에 포함된 유용성분을 일정 용매 용출법으로 분석하고 추출조건을 실험적으로 모색하여 최적조건을 제시하였다. 또한 초음파 및 침적방법을 추출 시간 (1~7 h)의 변화에 따라 RP-HPLC-UV, TLC, LC-MS를 연속적으로 확인하여 정성 및 정량을 할 수 있었다. 위 연구결과에 의하면 초음파 7 h에서 0.433 g 8.66%으로 추출 효율이 가장 우수하였고 최적의 추출조건은 4 h이다. 수치분석 상관도는 curcumin (1), DMC (2) 및 BDMC (3)은 200 ppm에서 각각  $r^2 = 0.987, 0.997$  및  $0.999$ 로 이론값과 매우 잘 일치 하였고 고순도 (95% >) curcuminoids의 화합물을 얻을 수 있었다. 이것은 강황의 추출가공 연구시 기초 자료로 충분한 가치가 있다고 판단된다.

#### References

- Lee, J. H. and M. G. Choung (2011) Determination of curcuminoid colouring principles in commercial foods by HPLC. *Food Chem.* 124: 1217-1222.
- Naik, S. R., V. N. Thakare, and S. R. Patil (2011) Protective effect of curcumin on experimentally induced inflammation, hepatotoxicity and cardiotoxicity in rats: Evidence of its antioxidant property. *Experi. Toxi. Pathology.* 63: 419-431.
- Jayaprakasha, G. K., L. J. Mohan Rao, and K. K. Sakariah (2005) Chemistry and biological activities of *C. longa*. *T. Food Sci. & Technol.* 16: 533-548.
- Singh, R. K., D. Rai, D. Yadav, A. Bhargava, J. Balzarini, and E. D. Clercq (2010) Synthesis, antibacterial and antiviral properties of curcumin bioconjugates bearing dipeptide, fatty acids and folic acid. *E. J. Med. Chem.* 45: 1078-1086.
- Jain, V., V. Prasad, R. Pal, and S. Singh (2007) Standardization and stability studies of neuroprotective lipid soluble fraction obtained from *Curcuma longa*. *J. Pharm. Biomed. Analysis.* 44: 1079-1086.
- Choi, H. Y. (2009) Isolation and Identification of Antimicrobial Compound from UlGeum (*Curcuma longa* L.). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38: 1202-1209.
- Oh, S. W., J. Y. Cha, J. E. Jung, B. C. Chang, H. J. Kwon, B. R. Lee, and D. Y. Kim (2011) Curcumin attenuates allergic airway inflammation and hyper-responsiveness in mice through NF- $\kappa$ B inhibition. *J. Ethnopharmacol.* 136: 414-421.
- Kim, J. K., C. Jo, H. J. Hwang, H. J. Park, Y. J. Kim, and M. W. Byun (2006) Color improvement by irradiation of *Curcuma aromatica* extract for industrial application. *Rad. Phys. Chem.* 75: 449-452.
- Gilda, S., M. Kanitkar, R. Bhonde, and A. Paradkar (2010) Activity of water-soluble turmeric extract using hydrophilic excipients. *LWT-Food Sci. Techn.* 43: 59-66.
- Zhao, X. C., L. Zhang, H. X. Yu, Z. Sun, X. F. Lin, C. Tan, and R. R. Lu (2011) Curcumin protects mouse neuroblastoma Neuro-2A cells against hydrogen-peroxide-induced oxidative stress. *Food Chem.* 129: 387-394.
- Singh, G., I. P. S. Kapoor, P. Singh, C. S. Heluani, M. P. Lampasona, and C. A. N. Catalan (2010) Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of fresh and dry rhizomes of turmeric (*Curcuma longa* Linn.). *Food and Chem. Toxicol.* 48: 1026-1031.
- He, X. G., L. Z. Lin, L. Z. Lian, and M. Lindenmaier (1998) Liquid chromatography-electrospray mass spectrometric analysis of curcuminoids and sesquiterpenoids in turmeric (*Curcuma longa*). *J. Chromatogr. A.* 818: 127-132.
- Li, R., C. Xiang, M. Ye, H. F. Li, X. Zhang, and D. A. Guo (2011) Qualitative and quantitative analysis of curcuminoids in herbal medicines derived from *Curcuma species*. *Food Chem.* 126: 1890-1895.
- Wakte, P. S., B. S. Sachin, A. A. Patil, D. M. Mohato, T. H. Band, and D. B. Shinde (2011) Optimization of microwave, ultrasonic and supercritical carbon dioxide assisted extraction techniques for curcumin from *Curcuma longa*. *Sep. Purif. Technol.* 79: 50-55.
- Zhan, P. Y., X. H. Zeng, H. M. Zhang, and H. H. Li (2011) High-efficient column chromatographic extraction of curcumin from *Curcuma longa*. *Food Chem.* 129: 700-703.
- Mandal, V., Y. Mohan, and S. Hemalatha (2008) Microwave assisted extraction of curcumin by sample-solvent dual heating mechanism using Taguchi L9 orthogonal design. *J. Pharma. Biomed. Anal.* 46: 322-327.
- Alexei, M., G. Christian, and D. Bertrand (2005) Ultrasonic cavitation in thin liquid layers. *Ultrasonics Sonochem.* 12: 415-422.
- Vilkhu, K., R. Mawson, L. Simons, and D. Bates (2007) Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry. *I. Food Sci. Emer. Technol.* 9: 161-169.
- Jiang, H., B. N. Timmermann, and D. R. Gang (2006) Use of liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry to identify diarylheptanoids in turmeric (*Curcuma longa* L.) rhizome. *J. Chromatogr. A.* 1111: 21-31.
- Jang, H. D., K. S. Chang, Y. S. Huang, C. L. Hsu, S. H. Lee, and M.

- S. Su (2007) Principal phenolic phytochemicals and antioxidant activities of three Chinese medicinal plants. *Food Chem.* 103: 749-756.
21. Hou, X. L., K. Takahashi, K. Tanaka, K. Tougou, F. Qiu, K. Komatsu, K. Takahashi, and J. Azuma (2008) *Curcuma* drugs and curcumin regulate the expression and function of P-gp in Caco-2 cells in completely opposite ways. *Inter. J. Pharma.* 358: 224-229.
22. Lee, K. J. and B. H. Um (2008) Extraction of useful component from natural plants using ultrasound system. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 23: 101-108.
23. Kim, Y. S. and K. J. Lee (2009) Extraction of genistein and formononetin from *sophoraflavescens* aiton using ultrasonic wave. *Korean Chem. Eng. Resear.* 47: 258-261.