Appl. Chem. Eng., Vol. 27, No. 3, June 2016, 280-284
http://dx.doi.org/10.14478/ace.2016.1032

Article

마이크로웨이브 에너지를 이용한 안젤리카로부터 유효성분의 추출

이승범 · 김훈기 · 전길송 · 홍인권†

단국대학교 화학공학과
(2016년 4월 5일 접수, 2016년 5월 5일 심사, 2016년 5월 15일 채택)

Extraction of Active Ingredient from Angelica Using Microwave Energy

Seung Bum Lee, Hoon Gi Kim, Gil Song Jeon, and In Kwon Hong†

Department of Chemical Engineering, Dankook University, Gyeonggi 16890, Korea
(Received April 5, 2016; Revised May 5, 2016; Accepted May 15, 2016)

초 록

본 연구에서는 안젤리카로부터 기능성 유효성분을 추출하기 위해 기존의 용매추출법과 마이크로웨이브 추출법을 이용하여 각 변수에 따른 추출량을 확인하였다. 또한 안젤리카로부터 추출된 유효성분의 항산화능 및 플라보노이드성분 함량, 총폴리페놀성분 함량 등을 측정함으로써 유효성분의 기능성을 평가하였다. 기존의 용매추출법의 최적조건인 추출시간(2 h), 주정/초순수의 부피비(60 vol%), 추출온도(60 ℃)에서 20.6 wt%의 유효성분이 추출되었다. 또한 마이크로웨이브 추출법의 최적조건인 마이크로웨이브 조사시간(6 min), 마이크로웨이브 세기(600 W), 주정/초순수의 부피비(60 vol%)의 조건에서 유효성분이 22.8 wt% 추출되어 기존의 용매추출법에 비해 빠른 시간에 추출이 완료됨을 알 수 있었다. 안젤리카로부터 추출된 유효성분의 추출량 유효성분의 항산화능은 DPPH radical scavening activity로 31.46%이었고, 플라보노이드성분 함량은 14.20 mg QE/mg dw, 그리고 총 폴리페놀 함량은 11.70 mg GAE/g으로 나타났다.

Abstract

In this study, the extractable content of each parameters from angelica was confirmed using conventional solvent extraction and microwave extraction in order to extract the functional active ingredient. In addition, the functionality of active ingredients was evaluated by measuring the antioxidant activity and the flavonoids and total polyphenols of the active ingredient extracted from angelica, For the conventional solvent extraction at optimal conditions of the extraction time (2 h), ethanol/pure water volume ratio (60%), the extraction temperature (60 ℃), 20.6 wt% of the active ingredient were extracted. Also, when using microwave extraction at optimal conditions of the microwave irradiation time (6 min), microwave intensity (600 W) and ethanol/pure water volume ratio (60 vol%) 22.8 wt% of the active ingredient were extracted. The microwave method required shorter time to complete extraction compared to that of using the conventional solvent extraction method. The antioxidant activity of active ingredients extracted from angelica was 31.46% of DPPH radical scavening activity. The flavonoid content was 14.20 mg QE/mg dw, and total polyphenol content was 11.70 mg GAE/g when using the microwave extraction process.

Keywords: *microwave energy, extraction, angelica, flavonoid content, total polyphenol content*

1. 서 론

최근 고령화 사회로의 진입이 가속화되면서 건강 수명을 늘리기 위한 방안에 대한 관심이 증가하고 있다. 이와 관련하여 우리 몸에서 항산화 작용을 하는 천연 물질에 대한 관심 역시 같이 증가하고 있는 추세이다. 현재 천연물에서 몸에 이로운 작용을 하는 유효성분을 추출하여 제품화 시키는 연구가 활발히 이루어지고 있으며, 그 규모는 더 증가할 것으로 예상된다[1-3]. 유효성분을 포함한 천연재료 중 안젤리카(*Angelica Archangelica*)는 높이 1~2 m 정도 자라는 2~3년초이며, 윗부분의 가지는 갈라지고 뿌리가 굵은 특징을 가지고 있다. 유럽 동부, 유럽 북부에서 중앙아시아에 이르기까지 넓게 퍼져 있는 허브 종류로써 10세기부터 약재 및 요리용으로 사용된다. 약해진 위장에 활력을 주며 소화 불량, 복통에 탁월한 효능을 보인다. 또한 빈혈에도 효과가 있는 것으로 알려져 있으며 항균작용과 항진균 작용을 하는 것으로 확인되었다. 이러한 효능과 재배가 수월하다는 장점 때문에 예전부터 민간요법에 널리 사용되어 왔다. 현재는 소화기 질환뿐만 아니라 감기, 류마티스, 비뇨기 질환 및 뇌 질환에까지 그 사용을 확장시키고 있다. 하지만 이런 유용물질 시장의 확대와는 맞지 않게 기존의 전통적 추출법의 획일적인 적용으로 추출효율이 저하되고 있다. 따라서 천연물 유효 성분 추출공정의 효용성 증대방법 개발이 필요하다[4-6]. 이에 기존 추출법의 단점을 보완할 수 있는 마이크로웨이브-용매 추출법을 적용하고자 하였다. 마이크로웨이브는 센티파라고도 하며, 파장이 센티미터 단위로 불리는 전자파의 일종이다. 마

† Corresponding Author: Dankook University,
Department of Chemical Engineering, Gyeonggi 16890, Korea
Tel: +82-31-8005-3544 e-mail: khong@dankook.ac.kr

pISSN: 1225-0112 eISSN: 2288-4505 @ 2016 The Korean Society of Industrial and Engineering Chemistry. All rights reserved.

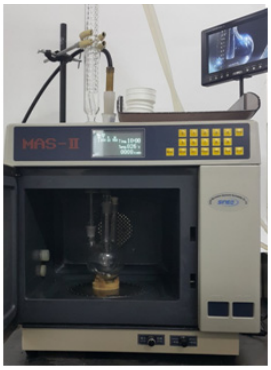

Figure 1. Picture of microwave energy induced apparatus.

이크로웨이브를 정확하게 구분하기는 힘들지만 대략적으로 1000 MHz에서 30 GHz까지의 전자파를 가리키며, 개방회로의 사용이 불가능하여 도파관을 통해서만 전달이 가능한 경우를 마이크로웨이브라 한다. 마이크로웨이브를 이용한 용매추출은 기존의 용매추출과도 유사하지만 가열방식이 마이크로웨이브에 의해 이루어진다. 용매추출 공정 중 혹은 공정 전에 마이크로웨이브를 이용하면 용매 안에서 시료가 직접 가열이 되고 또한 온도 변화가 급격히 일어난다. 특히 시료 내의 수분이 가열되어 수증기가 발생되며, 수증기 puffing 효과에 의하여 시료 내의 조직이 파열된다. 이와 같이 조직의 파괴에 의하여 용질의 이동거리가 짧아지고 확산저항이 감소하여 추출효율이 향상된다. 따라서 마이크로웨이브 용매추출의 장점으로는 용매 사용의 최소화, 에너지의 절약, 그리고 공정시간의 단축에 따른 시간의 절약 효과 등을 들 수 있다[7-10].

따라서 본 연구에서는 천연물질로 안젤리카를 선택하여 기존의 용매추출법의 단점을 마이크로웨이브 추출법을 이용하여 보완하고자 하였다. 이를 위해 용매추출법(시료의 양, 추출시간, 추출온도, 주정/초순수의 부피비 등)과 마이크로웨이브 추출법(마이크로웨이브 조사시간, 마이크로웨이브 세기, 주정/초순수의 부피비 등)의 다양한 변수를 이용하여 안젤리카로부터 유효성분을 추출하였으며, 각 조건에서의 추출량을 확인하였다. 또한 안젤리카로부터 추출된 유효성분의 항산화능 및 플라보노이드성분 함량, 총 폴리페놀성분 함량 등을 측정하였다.

2. 실험방법

2.1. 천연물의 최대흡수파장 결정

실험에 사용된 안젤리카는 푸드믹서로 분쇄한 후 초순수(Vivagenen EXL-Ⅲ, 초순수)와 주정(대한주정라이프, 95%)을 이용하여 유효성분을 추출하였다. 추출된 유효성분의 자외선 최대흡수파장(λ_{max})을 결정하기 위한 자외선 흡광특성 분석은 천연물 시료 10 g를 용매(초순수, 주정) 100 mL에 녹여 감압여과 및 원심분리 후에 syringe filter (25 mm, 0.45 μm)로 여과하여 최대흡수파장을 측정하였다.

2.2. 천연물의 추출특성

안젤리카로부터 유효성분을 추출하기 위해 용매 500 mL를 기준으로 분쇄된 시료의 양을 15~35 g으로 변화시키면서 실험을 수행하였다. 실험에 사용된 용매로는 초순수와 주정을 이용하였으며, 주정/초순수의 부피비(20~80 vol%), 추출온도(40~70 ℃), 추출시간(1~5 h) 등에 따라 추출된 유효성분을 정량하였다. 또한 마이크로웨이브 추출의 경우 Figure 1의 마이크로웨이브 조사장치(MARS-2, 1000 W, 2450 MHz, SINEO Microwave Chemistry Technology, China)를 이용하여 실험을 수행하였다. 마이크로웨이브 에너지를 이용한 추출의 경우 용매 250 mL를 기준으로 분쇄된 시료의 양을 12.5 g을 일정하게 추출하였다. 이때 주정/초순수의 부피비(20~80 vol%), 마이크로웨이브 세기(400~700 W), 추출시간(4~10 min)으로 변화시켰다.

추출된 유효성분의 정량방법은 냉동건조(freeze drying)와 고성능 액체크로마토그래피(high performance liquid chromatography)를 이용하였다. 냉동건조법은 우선 추출된 유효성분은 여과과정 후 진공증류를 통해 농축하였으며, -10 ℃로 6 h 동결한 후 냉동건조장치를 이용하여 0.9 bar, -20 ℃의 조건에서 24 h 건조하였다. 또한 고성능 액체크로마토그래피법은 각 물질의 자외선 최대흡수파장(λ_{max})에서 분석하여 냉동건조된 추출량과 비교하였다. 분석에 사용된 고성능 액체크로마토그래피의 컬럼은 SunFire®의 C18 (5 μm)를 사용하였고, 이동상은 acetonitrile과 초순수를 부피비로 6 : 4로, 이동상 속도는 1.0 mL/min로 하였다.

2.3. 유효성분의 항산화능, 플라보노이드성분 및 폴리페놀성분 함량 분석

안젤리카로부터 추출된 유효성분의 항산화 분석을 위해 DPPH radical scavening activity를 측정하였다. DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 측정은 Lu와 Foo의 방법에 따라 실시하였다[11]. 시료 용액 0.2 mL에 0.1 mL의 DPPH (15 mg/100 mL MeOH) 용액을 가하여 10 min간 상온에서 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 무첨가군과 비교하여 라디칼 소거 활성을 백분율(%)로 나타내었다. 또한 플라보노이드성분 함량분석은 자외선 분광광도계를 이용하여 측정하였다. 먼저 플라보노이드성분의 검정곡선을 작성하기 위해 표준물질로 quercetin (Sigma-Aldrich, Q4951)을 이용하였으며, 표준용액의 농도범위는 10~80 μL/mL이고, 자외선 파장은 415 nm에서 측정하였다[12]. 플라보노이드성분의 정량을 위해 냉동건조한 시료 1 mL (1 mg/mL)에 10% aluminum nitrate 0.1 mL와 1 M patassium acetate 0.1 mL를 혼합한 후 메탄올을 이용하여 총 부피를 5 mL로 제조하였다. 제조된 시료는 암실에서 40 min간 방치한 후 자외선 분광광도계를 이용하여 정량하였다. 측정된 흡광도는 검정곡선을 이용하여 quercetin equivalents (mg QE/mL dw)로 환산하였다.

안젤리카로부터 추출된 유효성분의 폴리페놀성분 함량분석은 자외선 분광광도계를 이용하여 측정하였다. 폴리페놀 함량분석은 Folin-Ciocalteau micro method에 의해 수행되었다[13]. 먼저 폴리페놀성분의 검정곡선을 작성하기 위해 표준물질로 gallic acid (Sigma-Aldrich, G7384)을 이용하였으며, 표준용액의 농도범위는 15~60 μL/mL이고, 자외선 파장은 765 nm에서 측정하였다. 폴리페놀성분의 정량을 위해 냉동건조한 시료 1 mL (1 mg/mL)에 20% sodium carbonate 0.4 mL와 1 M phenol reagent 1 mL를 혼합한 후 메탄올을 이용하여 총부피를 5 mL로 제조하였다. 제조된 시료는 암실에서 2 h간 방치한 후 자외선 분광광도계를 이용하여 정량하였다. 측정된 흡광도는 검정곡선을 이용하여 gallic acid equivalents (mg QE/mL dw)로 환산하였다[14].

3. 결과 및 고찰

3.1. 전통용매추출공정을 이용한 안젤리카로부터 유효성분의 추출

Figure 2는 안젤리카로부터 추출된 유효성분의 자외선 흡광특성을 나타낸 그림이다. 추출용매는 초순수와 주정을 이용하였다. 안젤리카로부터 추출된 유효성분의 자외선 최대흡수파장은 275 nm이었다. 따

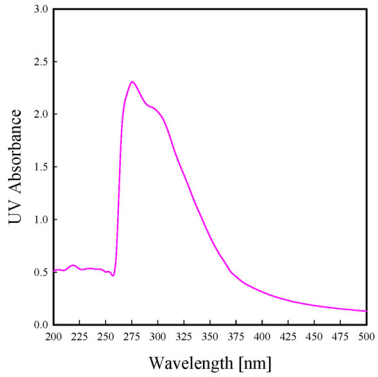

Figure 2. UV absorbance of active ingredients from the angelica.

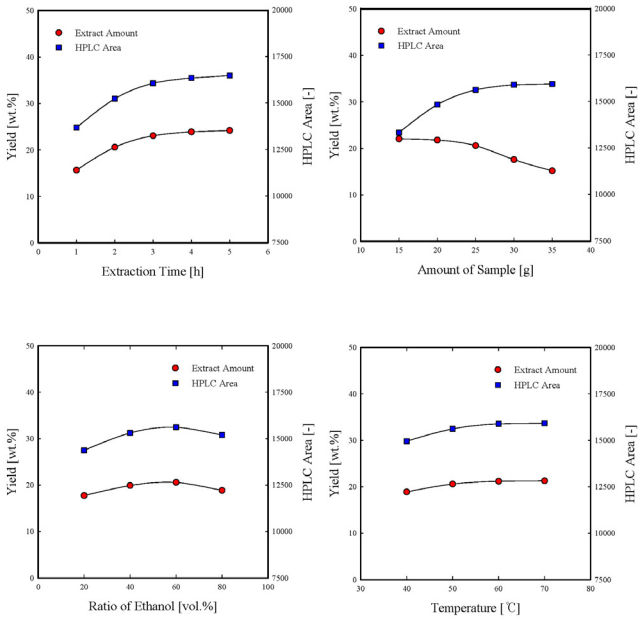

Figure 3. Extraction yield and HPLC area of active ingredient from the angelica.

라서 본 연구에서는 안젤리카의 최대흡수파장을 이용하여 액체크로마토그래피의 검출기 파장을 설정하였으며, 냉동건조 후 추출된 유효성분의 추출량과 비교하였다.

Figure 3은 안젤리카로부터 추출된 유효성분의 추출수율을 추출시간, 시료의 양, 주정/초순수의 부피비, 추출온도에 따라 측정한 그림이다. 본 연구에서는 냉동건조 유효성분의 질량과 액체크로마토그래피 피크 면적을 비교하여 추출량의 변화를 관찰하였다. 안젤리카로부터 유효성분을 추출하기 위한 기본 추출조건은 추출시간(2 h), 시료의 양(25 g), 주정/초순수의 부피비(60 vol%), 추출온도(50 ℃)로 설정하였다. 추출시간이 증가함에 따라 유효성분의 추출수율은 1 h (15.7%), 2 h (20.6 wt%), 3 h (23.1 wt%), 4 h (23.9 wt%), 5 h (24.2 wt%)으로 증가하는 경향을 나타내었으나 3 h 이상에서는 추출량의 변화가 거의 나타나지 않았다. 또한 시료의 양의 변화에 따른 유효성분의 추출량은 15 g (3.31 g), 20 g (4.36 g), 25 g (5.15 g), 30 g (5.29 g), 35 g (5.33 g)으로 증가하는 경향을 나타내지만 시료의 양을 고려한 추출수율의 경우에는 15 g (22.1 wt%), 20 g (21.8 wt%), 25 g (20.6 wt%), 30 g (17.6 wt%), 35 g (15.2 wt%)으로 최적 시료의 양은 용매 500 mL를 기준으로 25 g으로 설정하였다. 주정/초순수의 부피비의 경우에

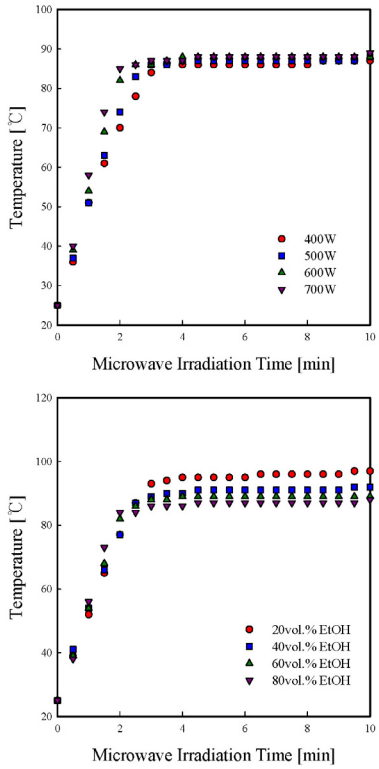

Figure 4. Variation of temperature with microwave irradiation time and ethanol/water volume ratio.

는 주정의 부피비가 증가함에 따라 20 vol% (17.8 wt%), 40 vol% (19.9 wt%), 60 vol% (20.6 wt%), 80 vol% (18.9 wt%)으로 안젤리카의 유효성분의 추출수율이 증가하다 감소하였으며, 추출온도의 경우에는 40 ℃ (18.9 wt%), 50 ℃ (20.6 wt%), 60 ℃ (21.2 wt%), 70 ℃ (21.3 wt%)으로 60 ℃ 이상의 온도에서는 유효성분의 추출수율이 크게 변화하지 않았다. 따라서 본 연구에서는 안젤리카로부터 유효성분을 추출하기 위한 최적조건으로 추출시간(2.5~3.5 h), 주정/초순수의 부피비(55~65 vol%), 추출온도(50~60 ℃)로 설정하였다. 이 경우 초기 안젤리카의 양 25 g을 기준으로 20.6 wt%의 유효성분이 추출되었다.

3.2. 마이크로웨이브 에너지를 이용한 안젤리카로부터 유효성분의 추출

마이크로웨이브 에너지를 이용한 안젤리카로부터 유효성분을 추출하기 위해 본 연구에서는 용매 250 mL를 기준으로 분쇄된 시료의 양을 12.5 g을 일정하게 추출하였으며, 주정/초순수의 부피비, 마이크로웨이브 세기, 추출시간 등을 변수로 실험을 수행하였다. Figure 4는 마이크로웨이브 세기에 따른 60 vol% 주정의 온도변화를 나타낸 그림이다. 마이크로웨이브 세기는 400~700 W로 조절하였고, 마이크로웨이브 조사시간은 10 min까지 측정하였다. 마이크로웨이브 세기에 관계없이 3~4 min만에 온도가 87~88 ℃까지 증가하는 것을 알 수 있었다. 또한 주정/초순수의 부피비에 따른 마이크로웨이브 에너지 효과를 확인한 결과 주정의 부피비와 관계없이 3~4 min만에 혼합용액의 끓는 점으로 온도가 상승하는 것을 알 수 있었다. 따라서 본 연구에서는 마이크로웨이브 조사시간을 4~10 min으로 설정하여 실험을 수행하였다.

Figure 5는 마이크로웨이브 에너지 조사시간에 따른 안젤리카로부터 추출된 유효성분의 추출량을 나타낸 그림이다. 주정/초순수의 부피

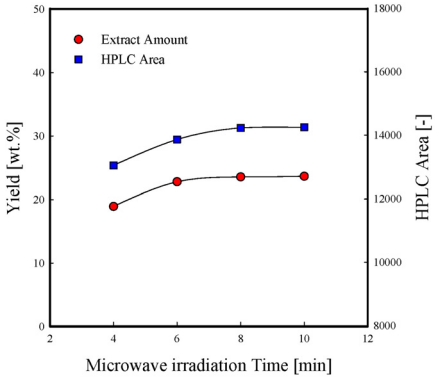

Figure 5. Effect of microwave irradiation time on MASE process.

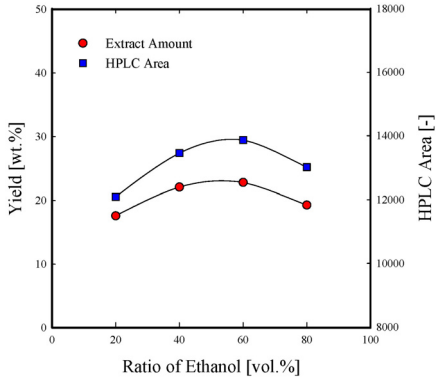

Figure 6. Effect of ethanol/water volume ratio on MASE process.

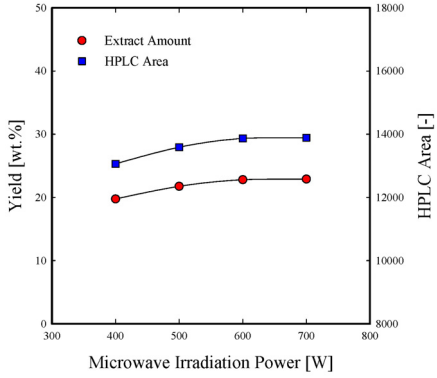

Figure 7. Effect of microwave irradiation power on MASE process.

비는 60 vol%이고 마이크로웨이브 세기는 600 W로 일정하게 유지하였다. 마이크로웨이브 에너지 조사시간이 증가함에 따라 추출수율은 4 min (19.0 wt%), 6 min (22.8 wt%), 8 min (23.6 wt%), 10 min (23.7 wt%)으로 증가하는 경향을 나타내었으나 조사시간 6 min 이상에서는 유효성분의 추출량의 변화가 크지 않았다. 초기 안젤리카 시료의 양 12.5 g을 기준으로 22.5 wt%의 유효성분이 추출됨으로써 전통적인 용매추출공정에 비해 약간 많은 양의 유효성분이 추출되었다. 이는 마이크로웨이브의 내부가열 효과로 전통적인 용매추출에 비해 빠른 시간 내에 추출과정이 완료되는 것으로 사료된다. 이는 Qi Cui와 William의 마이크로웨이브 추출공정 연구와도 유사한 경향성을 나타내었다 [15-16]. 따라서 본 연구에서는 안젤리카로부터 유효성분을 추출하기 위한 최적 마이크로웨이브 조사시간을 6~8 min으로 설정하였다.

Figure 6은 주정/초순수의 부피비에 따른 안젤리카로부터 유효성분의 추출량 변화를 나타낸 그림이다. 마이크로웨이브 세기는 600 W로 마이크로웨이브 에너지 조사시간은 6 min으로 고정하였다. 주정의 부피비가 증가함에 따라 추출수율은 20 vol% (17.6 wt%), 40 vol% (22.1 wt%), 60 vol% (22.8 wt%), 80 vol% (19.3 wt%)으로 추출량은 증가하다 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 순수한 초순수나 주정에 비해 혼합용매를 사용할 경우 안젤리카 내의 유효성분의 용해도가 증가하기 때문으로 사료된다. 따라서 본 연구에서는 최적 주정/초순수의 부피비를 55~65 vol%로 설정하였다.

Figure 7은 마이크로웨이브 세기에 따른 안젤리카로부터 추출된 유효성분의 추출량 변화를 나타낸 그림이다. 이때 용매로는 60 vol% 주정을 사용하였으며, 마이크로웨이브 에너지 조사시간은 6 min으로 일정하게 유지시켰다. 마이크로웨이브 세기가 증가함에 따라 유효성분의 추출수율은 400 W (19.8 wt%), 500 W (21.8 wt%), 600 W (22.8 wt%), 700 W (22.9 wt% g)으로 증가하는 경향을 나타내었으나 마이크로웨이브 세기가 600 W 이상으로 조사될 경우 유효성분의 추출량 변화는 거의 나타나지 않았다. 이는 Figure 4의 마이크로웨이브 세기에 따른 60 vol% 주정의 온도변화 결과에 보듯 마이크로웨이브 세기를 증가하더라도 마이크로웨이브 에너지가 3~4 min 이상 조사될 경우 용매의 온도가 동일하게 유지되므로 추출수율의 변화도 크지 않은 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서는 최적 마이크로웨이브 세기를 500~600 W로 설정하였다.

안젤리카로부터 추출된 유효성분의 추출량 유효성분의 추출량은 전통적인 용매추출공정에서는 20.6 wt%, 마이크로웨이브 추출공정에서는 22.8 wt%로 마이크로웨이브 추출공정에서의 추출수율이 조금 높게 측정되었다. 이는 마이크로웨이브 에너지가 추출공정에 적용될 경우 내부가열효과에 의해 안젤리카에 포함된 유효성분의 추출이 원활하게 진행되기 때문으로 사료된다. 또한 항산화능 분석인 DPPH radical scavening activity는 용매추출공정(31.89%), 마이크로웨이브 추출공정(31.46%)으로 유사한 결과를 나타내었으며, 플라보노이드성분 함량분석 결과 용매추출공정(12.96 mg QE/mg dw)과 마이크로웨이브 추출공정(14.20 mg QE/mg dw), 그리고 총 폴리페놀 함량분석 결과 용매추출공정(9.56 mg GAE/g)과 마이크로웨이브 추출공정(11.70 mg GAE/g)으로 유사한 결과를 나타내었다.

4. 결 론

본 연구에서는 안젤리카로부터 기능성 유효성분을 추출하기 위해 기존의 용매추출법과 마이크로웨이브 추출법을 이용하여 각 변수에 따른 추출량을 확인하였다. 또한 안젤리카로부터 추출된 유효성분의 항산화능 및 플라보노이드성분 함량, 총 폴리페놀성분 함량 등을 측정함으로써 유효성분의 기능성을 평가한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. 안젤리카로부터 유효성분을 추출하기 위한 기존의 용매추출법의 최적조건으로 추출시간(2.5~3.5 h), 주정/초순수의 부피비(55~65 vol%), 추출온도(50~60 ℃)로 설정하였다. 이 경우 초기 안젤리카의 양 25 g을 기준으로 20.6 wt%의 유효성분이 추출되었다.

2. 마이크로웨이브 추출법의 최적조건으로는 마이크로웨이브 조사시간(6~8 min), 마이크로웨이브 세기(500~600 W), 주정/초순수의 부피비(55~65 vol%)으로 설정하였다. 이 조건에서 안젤리카 시료의 양 12.5 g을 기준으로 22.5 wt%의 유효성분이 추출되어 기존의 용매추출법에 비해 빠른 시간에 추출이 완료됨을 알 수 있었다.

3. 마이크로웨이브 추출공정에서 안젤리카로부터 추출된 유효성분

의 추출량 유효성분의 항산화능인 DPPH radical scavening activity는 31.46%를 나타내었으며, 플라보노이드성분 함량분석 결과 14.20 mg QE/mg dw, 총 폴리페놀 함량분석 11.70 mg GAE/g으로 나타났다.

감 사

본 연구는 농림축산식품부 농림축산식품연구센터지원사업(714001-07)에 의해 이루어진 것임.

References

1. N. R. Im, H. S. Kim, J. H. Ha, G. Y. Noh, and S. N. Park, Antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of dicaffeoylquinic acid derivatives isolated from *Gnaphalium affine* D. DON, *Appl. Chem. Eng.*, **26**(4), 470-476 (2015).
2. H. S. Jeong and J. H. Lee, Effects of dietary fiber from *Mozuku* (*Cladosiphon novae-caledoniae kylin*) residue on antioxidant activity and anticancer in HT-29 human colon cancer cells according to extraction condition, *Appl. Chem. Eng.*, **25**(4), 363-367 (2014).
3. Y. S. Yun and K. S. Jeong, Polyphenol contents of *Rumex crispus* root extract with hot water and its antioxidative effect, *J. Environ. Sci.*, **21**(10), 1265-1274 (2012).
4. H. L. Jang and K. Y. Yoon, Biological activities and total phenolic content of ethanol extracts of white and flesh-colored *Solanum tuberosum L.* potatoes, *J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr.*, **41**(8), 1035-1040 (2012).
5. B. K. Ahn, R. Kim, D. B. Choi, and Y. S. Kim, Effect of salicornia bigelovii extract on the activities of whitening and anti-wrinkle, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **37**(2), 233-240 (2005).
6. J. E. Kim, A. R. Kim, M. J. Kim, and S. N. Park, Antibacterial, antioxidative and antiaging effects of allium cepa peel extracts, *Appl. Chem. Eng.*, **22**(2), 178-184 (2011).
7. Y. S. Kim, K. A. Cho, and D. B Choi, Effect of solvents of extraction on the biological activities of Phyllostachys Nigra Munro, *Appl. Chem. Eng.*, **21**(1), 6-10 (2010).
8. Y. S. Lee, E. Y. Joo, and N. W. Kim, Polyphenol contents and physiological activity of the Lespedeza bicolor Extracts, *Korean. J. Food Preserv.*, **13**(5), 616-622 (2006).
9. J. K. Sun, E. H. Um, and C. T. Lee, Electrochemical characteristics of the activated carbon electrode modified with the microwave radiation in the electric double layer capacitor, *Appl. Chem. Eng.*, **21**(1), 11-17 (2010).
10. H. Y. Kwon, E. H. Lim, S. K. Lee, and K. K. Lee, Synthesis and characterization of doped silicon nanoparticles by a solution route, *Appl. Chem. Eng.*, **21**(6), 694-696, (2010).
11. N. C. Cook and S. Samman, Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources, *J. Nutr. Biochem.*, **7**, 66-76 (1996).
12. Y. Lu and L. Y. Foo, Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols apple pomace, *Food Chem.*, **68**, 81-85 (2000).
13. M. S. Parco, Y. Wang, and E. A. Stephen, Apoptotic signaling induced by H_2O_2-mediated oxidative stress in differentiated C_2C_{12} myotubes, *Life Sci.*, **84**(13-14), 468-481 (2009).
14. A. H. Clifford and S. L. Cuppett, Anthocyanins-nature, occurrence and dietary burden, *J. Sci. Food Agric.*, **80**, 1063-1072 (2000).
15. Q. Cui, X. Peng, X. H. Yao, Z. F. Wei, M. Luo, W. Wang. C. J. Zhao, Y. J. Fu, and Y. G. Zu, Deep eutectic solvent-based microwave-assisted extraction of genistin, genistein and apigenin from pigeon pea roots, *Sep. Purif. Technol.*, **150**, 63-72 (2015).
16. A. M. William and M. W. Christian, Simplified ultrasonically- and microwave-assisted solvent extractions for the determination of ginsenosides in powdered Panax ginseng rhizomes using liquid chromatography with UV absorbance or electrospray mass spectrometric detection, *Anal. Bioanal. Chem.*, **405**, 4511-4522 (2013).