

Deep eutectic solvent (DES)를 이용한 추출에서 물의 함량이 Phytochemicals의 추출효율에 미치는 영향

최재영^{*,‡} · 김선정^{**,‡} · 하성호^{**,†}

*한남대학교 화학과
34054 대전광역시 유성구 유성대로 1646
**한남대학교 화학공학과
34054 대전광역시 유성구 유성대로 1646
(2025년 5월 20일 접수, 2025년 6월 11일 수정본 접수, 2025년 6월 17일 채택)

Effect of Water Content in Deep Eutectic Solvent (DES)-based Extraction on the Extraction Efficiency of Phytochemicals

Jaeyeong Choi^{*,‡}, Seon Jeong Kim^{**,‡} and Sung Ho Ha^{**,†}

*Department of Chemistry, Hannam University, 1646, Yuseong-daero, Yuseong-gu, Daejeon, 34054, Korea
**Department of Chemical Engineering, Hannam University, 1646, Yuseong-daero, Yuseong-gu, Daejeon, 34054, Korea
(Received 20 May 2025; Received in revised from 11 June 2025; Accepted 17 June 2025)

요 약

본 연구는 병풀(*Centella asiatica*)에서 유래한 식물화학물질(phytochemicals)인 asiaticoside와 madecassoside의 추출 효율에 미치는 deep eutectic solvent(DES) 조성을 최적화하였다. Ethylene glycol (EG)과 choline chloride (ChCl)를 다양한 몰비로 조합한 DES에 물을 0~30%까지 첨가하여 추출하였으며, 그 추출물을 HPLC로 정량 분석하였다. 그 결과, EG:ChCl = 3:1, 물 20% 조건에서 두 화합물의 총 추출량이 21.5 ng/mg으로 가장 높았다. Asiaticoside는 상대적으로 조건 변화에 안정적이었으며, madecassoside는 특정 조건에서 민감한 반응을 보였다. 이러한 차이는 당 구성에 따른 친수성 차이에서 기인한 것으로 판단된다. 본 연구는 DES의 물 조성 및 HBD:HBA 비율 조절이 식물 유래 극성 화합물 추출의 주요 변수임을 입증하였으며, 친환경 천연물 추출 공정 설계에 기초자료로 활용될 수 있다.

Abstract – This study optimized the composition of deep eutectic solvents (DES) for the efficient extraction of the phytochemicals asiaticoside and madecassoside from *Centella asiatica*. DESs were prepared using ethylene glycol (EG) and choline chloride (ChCl) at varying molar ratios, with 0~30% water added. Extraction yields were quantified using HPLC system. The optimal condition (EG:ChCl = 3:1, 20% water) yielded a total of 21.5 ng/mg. Asiaticoside showed stable extraction across conditions, while madecassoside was more sensitive. These differences were attributed to the hydrophilicity of their sugar moieties. This work demonstrates that adjusting water content and HBD:HBA ratio is key to efficient DES-based extraction and offers a foundation for green extraction process development.

Key words: *Centella asiatica*, Deep eutectic solvent (DES), Phytochemicals, High-performance liquid chromatography liquid chromatography (HPLC)

1. 서 론

식물화학물질(phytochemicals)은 식물의 성장과 대사 과정에서 생성되는 다양한 화학물질로, 최근 연구를 통해 당뇨병, 비만, 암,

염증 등 다양한 질환의 예방에 효과적임이 입증되고 있다. 식물화학물질은 크게 폴리페놀(polyphenols), 테르페노이드(terpenoids), 황 함유 화합물(sulfur-containing compounds), 그리고 질소 함유 화합물(nitrogen-containing compounds)로 분류된다[1,2]. 이 중 테르페노이드는 식물에 주로 존재하는 천연 유기화합물로, 광범위한 구조적 다양성과 생물학적 활성을 바탕으로 식품 및 제약 산업에서 폭넓게 활용되고 있다[3,4]. 테르페노이드(terpenoid) 계열에 속하는 asiaticoside와 madecassoside는 병풀에서 추출되는 대표적인 성분으로, 항균 및 항진균 활성, 면역조절, 피부 재생 등 다양한 생리활성을 지니 식품, 의약품, 화장품 등 다양한 분야에서 활용되고 있다[5-7].

[†]To whom correspondence should be addressed.

[‡]Co-first authors: Jaeyeong Choi (feelcjy@hnu.kr) and Seon Jeong Kim (tjswjdgwhjd@naver.com) are equally contributed to this work.
E-mail: shha@hnu.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

이러한 식물화학물질, 특히 테르페노이드 계열을 식물로부터 추출하기 위해 일반적으로 알코올, 이온성 액체, 그리고 deep eutectic solvent (DES)를 이용한 용매 추출법이 활용되고 있다. 그러나 식품, 의약품, 화장품 등에 활용되는 식물화학물질의 추출에는 친환경적이고 인체에 무해한 용매 사용이 요구되므로, 병풀 추출물에 대한 국내외 연구에서는 주로 물(distilled water, DW), 에탄올(ethanol, EtOH), 메탄올(methanol, MeOH), 그리고 DES가 추출 용매로 사용되고 있다[5-10]. 이 중 DES는 비휘발성, 불연성 등의 특성으로 보관과 사용이 용이하며, 최근 다양한 분야에서 친환경 용매로 주목받고 있다[11]. 다만, DES는 점도가 높아 단독으로 활용하기에는 한계가 있으며, 이를 보완하기 위해 물 또는 알코올을 첨가하여 점도를 조절하는 방식이 적용되고 있다. 기존 연구에서는 DES와 물 또는 MeOH의 혼합 비율에 따라 최대 약 1.4배의 추출 효율 차이가 확인되었으나, 해당 연구는 물 첨가 비율을 0%, 30%, 100% 조건에서만 제한적으로 수행되었다[8].

본 연구는 기존 연구를 확장하여, 물의 첨가량을 0%, 10%, 20%, 30%로 보다 세분화하여 설정하고, DES를 이용한 병풀 내 식물화학물질 추출에서 물 함량이 추출 효율에 미치는 영향을 평가하는 것을 목적으로 수행되었다. 물 함량이 30%를 초과하는 조건은 포함하지 않았으며, 이는 DES 제조에 사용되는 수소결합 주개(hydrogen bond donor, HBD)와 수소결합 받개(hydrogen bond acceptor, HBA) 사이의 수소결합이 붕괴되어 DES의 고유 특성이 상실될 수 있기 때문이다[12].

2. 실험

2-1. 시약 및 기기

본 연구에서 사용한 병풀은 (썬허브마을 (Chengju, Korea)에서 구매하였으며, 정량분석을 위하여 표준물질 asiaticoside ($M=959$ g/mol, $\geq 98.5\%$, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)와 madecassoside ($M=975$ g/mol, $\geq 95\%$, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 구매하여 사용하였다. DES제조에는 choline chloride (ChCl, $\geq 98\%$, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)와 ethylene glycol (EG, $\geq 99.8\%$, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 구매하여 사용하였고, EG와 ChCl을 균일하게 혼합하기 위하여 핫 플레이트(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA USA)와 vortex mixer(Talboys, Standard Vortex Mixers Analog (Dial) Type, USA)를 사용하였다. 정량 및 정성분석을 위해서 Agilent 1260 Infinity series HPLC (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany)와 Symmetry C18 컬럼(Waters, 5 μ m, 4.6 \times 250 mm)을 사용했고 HPLC의 이동상으로 acetonitrile (ACN, $\geq 99.9\%$, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)과 물을 각각 사용했다. 모든 HPLC 분석은 결과의 재현성을 위해 3회 반복하였다.

2-2. DES제조

DES는 HBD로 EG와 HBA로 ChCl를 선택하였으며, 두 물질의 혼합 몰비(molar ratio, EG:ChCl)는 2, 3, 4 그리고 5로 제조하였고 각각 DES1, DES2, DES3, 그리고 DES4로 명명하였다. 각 DES의 제조에 필요한 EG와 ChCl 양을 계산한 후 250 mL 용매병에 넣어 주고, 핫 플레이트를 이용해 80 °C에서 800 rpm의 속도로 1시간 동안 교반 하여 투명한 상태의 DES 용매를 얻었다. 15-20 min 식힌 후 제조한 각각의 DES에 공기중 수분이 포함되는 것을 방지하기

Table 1. Sample names and estimated viscosity based on DES composition and water content. The viscosity values were estimated from literature data at 25 °C [13-15]

| Sample ID | HBD/HBA molar ratio (EG/ChCl) | DW% (v/v) | Estimated viscosity (mPa·s) |
|-----------|-------------------------------|-----------|-----------------------------|
| DES1-0 | 2 | 0 | 60 |
| DES2-0 | 3 | 0 | 40 |
| DES3-0 | 4 | 0 | 25 |
| DES4-0 | 5 | 0 | 15 |
| DES1-10 | 2 | 10 | 40 |
| DES2-10 | 3 | 10 | 25 |
| DES3-10 | 4 | 10 | 15 |
| DES4-10 | 5 | 10 | 10 |
| DES1-20 | 2 | 20 | 25 |
| DES2-20 | 3 | 20 | 12 |
| DES3-20 | 4 | 20 | 8 |
| DES4-20 | 5 | 20 | 5 |
| DES1-30 | 2 | 30 | 15 |
| DES2-30 | 3 | 30 | 7 |
| DES3-30 | 4 | 30 | 4 |
| DES4-30 | 5 | 30 | 3 |

위하여 parafilm으로 감싸 보관하였다. 이와 같이 제조된 각각의 DES에 선택한 물의 비율인 0, 10, 20 그리고 30% (v/v)에 맞춰 넣어준 뒤 충분히 섞일 수 있도록 충분한 시간동안 vortexing해주었다.

2-3. 추출

건조된 병풀 잎을 표면적을 높이기 위해 분쇄기(HMS-3250s, Hanil Electric, Bucheon, Korea)로 10분간 7,500 rpm으로 분쇄한 뒤 150 μ m 체눈크기의 sieve를 이용하여 150 μ m 크기 이하의 일정한 크기의 병풀 잎 가루만 사용하여 연구를 수행하였다. 걸러진 병풀은 10 mg/mL의 농도로 셰이커 (Vision Scientific, Mini Shaking Incubator, VS-101 Si DR)를 이용해 이전 연구에서 추출효율이 가장 높았던 조건으로 추출하였다(6시간, 300 rpm 그리고 상온). 추출 후 시료 준비도 동일한 방법으로 수행되었으며[8], 모든 추출은 재현성을 확인하기 위하여 3회 반복 추출하였다. 위의 방법으로 준비된 각각의 시료는 총 16개로 각각의 DES 조성과 물의 함량에 따라서 Table 1과 같이 명명하였다.

2-4. HPLC 분석 조건 및 검정곡선

병풀로부터 추출한 타겟 물질인 asiaticoside와 madecassoside의 정성 및 정량 분석을 위해 고성능 액체 크로마토그래피(high-performance liquid chromatography, HPLC)를 사용하였으며, 분석에 사용된 조건은 Table 2에서 보여주고 있다.

Asiaticoside 표준물질은 8개의 다른 농도로 madecassoside 표준물질은 6개의 다른 농도로 준비하여 Table 2의 HPLC분석조건과 동일한 상태에서 분석하였으며 각 표준물질의 UV/Vis peak area로 검정곡선을 그린 결과를 Fig. 1에 보여주고 있다.

Fig. 1에서 확인할 수 있듯이 asiaticoside 표준물질의 검정곡선은 $R^2=0.9991$ 그리고 madecassoside 표준물질의 검정곡선은 $R^2=0.9997$ 로 높은 선형성을 보였으며 각 표준물질의 검정곡선은 본 연구에서 병풀로부터 추출한 phytochemical내에 존재하는 asiaticoside와 madecassoside를 정량분석 하는데 사용되었다.

Table 2. HPLC conditions for analysis of phytochemical from *Centella asiatica*

| HPLC conditions | | | |
|--------------------|--|--------|---------|
| Instrument | Agilent Technologies 1260 Infinity series LC | | |
| Column | Waters symmetry C ₁₈ (Waters, 5 μm, 4.6 × 250 mm) | | |
| Column oven temp. | 40 °C | | |
| Wavelength | 205 nm | | |
| Flow rate | 1.0 mL/min | | |
| Injection volume | 10 μL | | |
| Gradient condition | Time (min) | DW (%) | ACN (%) |
| | 0 | 78 | 22 |
| | 5 | 78 | 22 |
| | 15 | 55 | 45 |
| | 20 | 20 | 80 |
| | 25 | 20 | 80 |
| | 30 | 78 | 22 |
| | 35 | 78 | 22 |
| | 40 | 78 | 22 |
| | 45 | 78 | 22 |
| 50 | 78 | 22 | |
| 55 | 78 | 22 | |

Table 3. Extracted mass of asiaticoside and madecassoside in phytochemical from *Centella asiatica* (n=3). Extracted mass was calculated by each calibration curve from Fig. 1

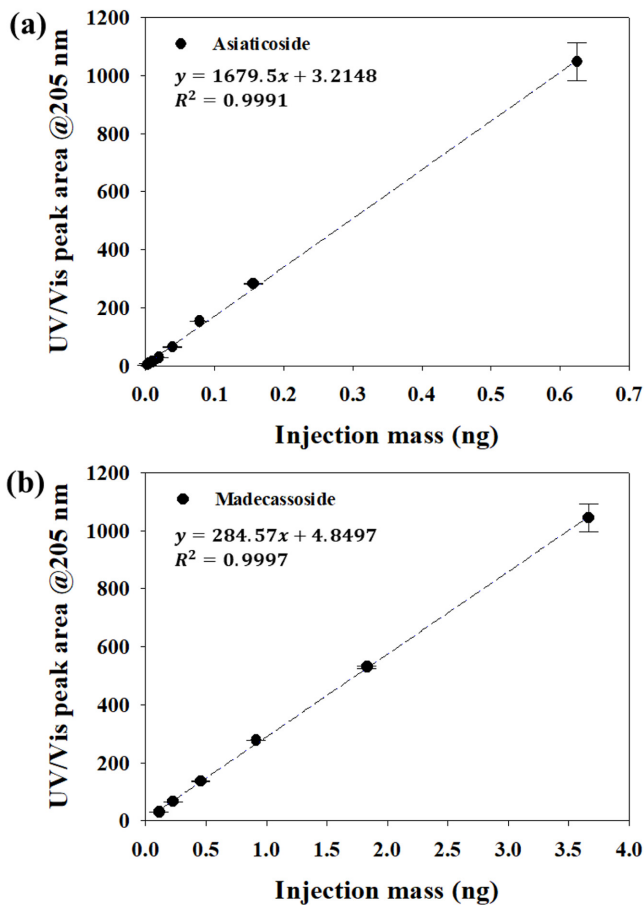
| Extraction solvents (DES-DW%) | Asiaticoside (ng/mg) | Madecassoside (ng/mg) |
|-------------------------------|----------------------|-----------------------|
| DES1-0 | 3.74 ± 0.02 | 14.84 ± 0.04 |
| DES2-0 | 3.80 ± 0.01 | 15.31 ± 0.06 |
| DES3-0 | 3.89 ± 0.01 | 15.74 ± 0.33 |
| DES4-0 | 4.07 ± 0.05 | 16.38 ± 0.11 |
| DES1-10 | 3.88 ± 0.01 | 15.40 ± 0.03 |
| DES2-10 | 4.06 ± 0.01 | 16.16 ± 0.11 |
| DES3-10 | 4.02 ± 0.02 | 16.02 ± 0.07 |
| DES4-10 | 4.04 ± 0.02 | 16.35 ± 0.05 |
| DES1-20 | 3.93 ± 0.01 | 15.79 ± 0.07 |
| DES2-20 | 4.12 ± 0.01 | 16.89 ± 0.06 |
| DES3-20 | 4.07 ± 0.02 | 16.15 ± 0.05 |
| DES4-20 | 4.10 ± 0.01 | 16.67 ± 0.30 |
| DES1-30 | 3.53 ± 0.02 | 15.39 ± 0.15 |
| DES2-30 | 3.69 ± 0.02 | 16.10 ± 0.19 |
| DES3-30 | 3.84 ± 0.01 | 16.70 ± 0.36 |
| DES4-30 | 3.66 ± 0.07 | 16.17 ± 0.17 |

3. 결과 및 고찰

본 연구에서는 물의 함량이 타겟 물질인 asiaticoside와 madecassoside 추출 효율에 미치는 영향을 알아보기 위하여 제조한 DES에 물을 0, 10, 20 그리고 30% (v/v)로 혼합한 후 준비된 150 μm 이하 크기의 병풀 잎 가루로 추출을 준비된 과정으로 진행하였다.

Table 3은 병풀로부터 추출된 phytochemical 중 asiaticoside와 madecassoside의 함량을 Table 1의 HPLC 조건으로 분석하고, Fig. 1의 각각의 표준물질 검정곡선으로 계산된 병풀 질량당(mg) 각 물질의 함량(ng)으로 나타낸 결과를 보여주고 있다. 또한 Fig. 2에서는 Table 3의 결과를 물과 DES 조성의 영향을 쉽게 확인하기 위하여 3차원 그래프로 보여주고 있다.

Fig. 2(a)는 asiaticoside의 추출량을 나타낸 그래프로, 최대 추출량은 약 4.2 ng/mg 수준이며, 전반적으로 추출량의 변화 폭이 작고 곡면이 완만하게 형성되어 있다. 이는 추출 조건이 일부 변화하더라도 asiaticoside의 추출량이 급격히 변하지 않고 비교적 안정적인 수치를 유지한다는 것을 의미한다. 특히, 물 함량이 20%일 때, 그리고 EC:ChCl 물비가 3 이상일 때 asiaticoside의 추출량이 다소 증가하는 양상을 보이고 있으며, 반대로 물의 함량이 30%일 때 모든 DES 조성에서 추출 효율이 낮아지는 경향을 보이고 있다. 반면 Fig. 2(b)는 madecassoside의 추출량을 나타낸 그래프로, 최대 추출량이 약 17.0 ng/mg으로 asiaticoside보다 훨씬 높은 수준이다. 이 그래프에서는 추출 조건에 따른 민감한 반응 양상이 뚜렷하게 나타난다. 물 20%와 EC:ChCl 물비가 3 이상일 때 madecassoside의 추출량이 급격히 증가하여 봉우리 형태를 형성하며, 이 조건을 벗어날 경우 추출량이 빠르게 감소하는 경향을 보인다. 이러한 특징은 madecassoside가 특정 조건에서 높은 용해도 또는 추출 친화도를 가지며, 그 외 조건에서는 상대적으로 추출 효율이 현저히 떨어진다는 것을 나타낸다. 또한, asiaticoside와 반대로 물의 함량이 0%일 때 모든 DES 조성에서 추출 효율이 낮아지는 경향을 보이는 것을 확인할 수 있다. 이와 같은 결과는 DES에 물을 첨가하는 이유와 밀

**Fig. 1. Calibration curve for asiaticoside (a) and madecassoside (b) determined by HPLC. Each sample was injected three times to confirm reproducibility (n=3).**

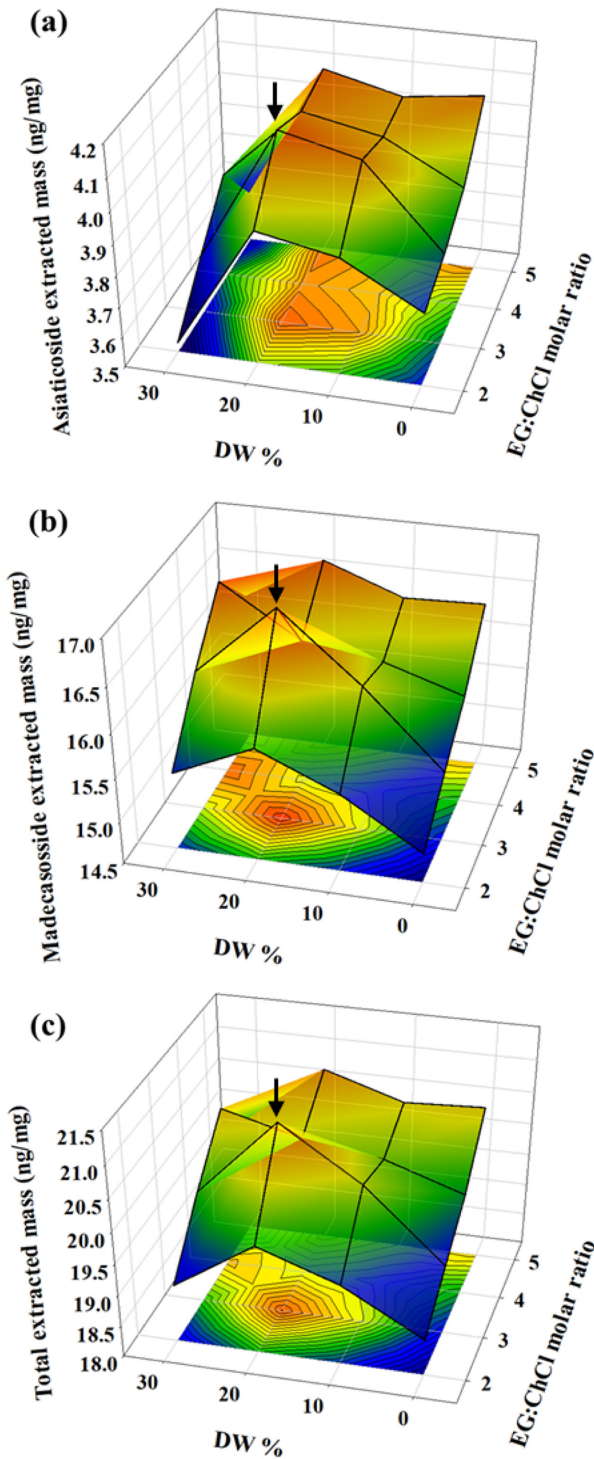


Fig. 2. 3D plots for extracted mass of asiaticoside, (a) madecassoside (b) and total (c) according to water content and DES composition (EG:ChCl molar ratio) in phytochemical from *1Centella asiatica* (n=3). The black arrow indicates the point of maximum extracted mass.

접한 관계가 있다. 물을 넣어주면 DES의 점도가 낮아지고, 그로 인하여 DES의 확산성과 극성이 높아지는 현상이 발생하고 이와 같은 현상으로 추출효율을 높이는 역할을 할 수 있기 때문이다[16,17]. 하지만, 본 결과에서 알 수 있듯이 물질의 종류에 따라서 많은 물의

함량은 오히려 추출효율을 낮추는 역효과를 나타낼 수 있다[16-20].

두 물질이 물의 함량에 따라서 추출 효율의 경향성이 반대로 나타나는 이유는 두 물질의 물리적 성질과 연관이 있을 것으로 판단된다. 타겟 물질인 asiaticoside와 madecassoside는 유사한 화학적 구조를 가지고 있지만, 구조를 이루고 있는 당의 backbone 구조가 다르다. 즉, madecassoside는 당 분자에 하이드록실기(-OH)를 더 많이 포함하고 있는 glucose + glucose결합으로 구성되어 극성도가 높아 친수성의 성질을 띄고 있으며, 반대로 asiaticoside는 glucose + rhamnose 결합으로 구성되어 madecassoside 보다 상대적으로 낮은 친수성(= 상대적으로 높은 소수성)을 띄고 있기 때문이다.

Fig. 2(c)는 (a)와 (b)의 결과의 합을 나타낸 것으로 총 추출량을 보여주고 있다. 종합적으로 병풀에서 asiaticoside와 madecassoside의 추출효율은 21.5 ng/mg이 추출된 조건인 EG:ChCl의 몰비가 3 그리고 물의 함량이 20% 일 때로 확인되었다. 이러한 조건은 식물 유래 성분의 고효율 추출을 위한 DES 조성 설계 시 유의미한 기준으로 활용될 수 있을 것으로 기대한다.

4. 결 론

본 연구에서는 병풀로부터 유래한 주요 phytochemical인 asiaticoside와 madecassoside의 추출 효율에 미치는 DES 조성과 물 함량의 영향을 정량적으로 분석하였다. HPLC 분석과 표준 검정곡선을 기반으로 한 정량 결과는 다음과 같은 결론을 도출하였다.

(1) DES에 물 20%를 첨가하고, EG:ChCl 몰비를 3 이상으로 설정한 조건에서 asiaticoside와 madecassoside 모두에서 가장 높은 추출 효율을 보였다. 이 조건에서 두 물질의 총 추출량은 21.5 ng/mg으로 확인되었다(약 12 mPa·s).

(2) Asiaticoside는 추출 조건 변화에 대해 비교적 완만한 반응 특성을 보이며, 물 30% 이상에서는 모든 DES 조성에서 추출량이 감소하는 경향을 나타냈다(상대적 소수성).

(3) Madecassoside는 물 0% 조건에서 추출량이 낮고, 물 20%, EG:ChCl 몰비 ≥ 3 조건에서 추출량이 급격히 증가하며, 봉우리형 peak가 형성되는 조건 민감성이 뚜렷하게 나타났다(상대적 친수성).

(4) 두 물질 간 추출 효율의 경향 차이는 구조적 차이, 특히 당 구성의 극성 차이(glucose-glucose vs. glucose-rhamnose)로 인한 친수성 차이에 기인하는 것으로 분석된다.

(5) 물의 첨가는 DES의 점도를 낮추고 극성과 확산성을 증가시켜 추출 효율 향상에 기여할 수 있지만, 과도한 첨가는 오히려 수소 결합 구조의 붕괴를 유발하여 추출 효율을 저하시킬 수 있음을 확인하였다.

결과적으로, 본 연구는 식물 유래 극성 화합물의 효율적인 추출을 위해 DES 조성 설계 시 물의 함량과 HBD:HBA의 몰비 조절이 핵심 변수임을 실험적으로 입증하였으며, EG:ChCl = 3:1 몰비, 물 20% 그리고 약 10-15 mPa·s에 해당되는 점도 조건은 asiaticoside 및 madecassoside의 동시 고효율 추출을 위한 최적 조건으로 제시될 수 있다. 이 결과는 향후 기능성 화합물 기반 천연물 제품 개발, 친환경 추출 공정 설계 등에 활용될 수 있을 것으로 기대되며 Fig. 3과 같이 최적의 DES 조성 설계를 위한 단계를 제시한다.

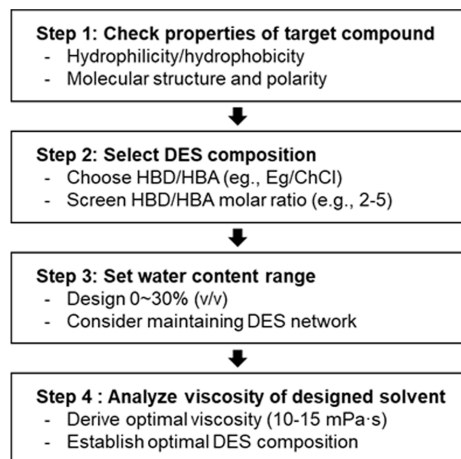


Fig. 3. Workflow for the optimization of deep eutectic solvent (DES) composition for extraction of phytochemicals.

감 사

이 논문은 2023학년도 한남대학교 학술연구비 지원에 의하여 연구되었습니다.

References

- Bolwell, G. P., "Biochemistry & Molecular Biology of Plants," *Phytochemistry*, **58**, 185-186(2001).
- Yang, Y. and Ling, W., "Health Benefits and Future Research of Phytochemicals: A Literature Review," *Journal of Nutrition*, **155**, 87-101(2025).
- Chen, Y., Hu, B., Xing, J. and Li, C., "Endophytes: the Novel Sources for Plant Terpenoid Biosynthesis," *Applied Microbiology and Biotechnology*, **105**, 4501-4513(2021).
- Wang, Q., Zhao, X., Jiang, Y., Jin, B. and Wang, L., "Functions of Representative Terpenoids and Their Biosynthesis Mechanisms in Medicinal Plants," *Biomolecules*, **13**, 1725(2023).
- Bylka, W., Znajdek-Awizeń, P., Studzińska-Sroka, E., Dańczak-Pazdrowska, A. and Brzezińska, M., "Centella asiatica in Dermatology: An Overview," *Phytotherapy Research*, **28**, 1117-1124 (2014).
- Sook Kil, Y., Mi Sin, S., Yeol Lee, D., Won Min, J., Jeung Yang, K., Lee, S., Kim, Y. and Goo, Y., "Analysis of Triterpene Glycoside Levels and Antioxidant Activity in the Different Shoot Tissues of Centella asiatica (L.) Urban," *Journal of Life Science*, **28**(8), 917-922(2018).
- Eom, H. J., Shin, H. Y., Park, H. J., Kim, K. H., Kim, J. H. and Yu, K. W., "Functional Components and Physiological Activity in Different Parts of Centella Asiatica," *Korean Journal of Food Preservation*, **29**(5), 749-761(2022).
- Choi, J., Jeon, Y. and Ha, S. H., "Effect of Deep Eutectic Solvent (DES) on the Extraction of Asiaticoside and Madecassoside from Centella asiatica," *Analytical Science & Technology*, **36**(3), 128-134(2023).
- Kalyniukova, A., Holuša, J., Musiolek, D., Sedlakova-Kadukova, J., Płotka-Wasyłka, J. and Andruch, V., "Application of Deep Eutectic Solvents for Separation and Determination of Bioactive Compounds in Medicinal Plants," *Industrial Crops and Products*, **172**, 114047(2021).
- Eom, H. J., Shin, H. Y., Ji, Y. M., Kwon, N. R., Yoon, H. S., Kim, I. J., Song, Y. and Yu, K. W., "Nutritional Components and Physiological Activity of Centella asiatica Cultured in Chungju by Drying Method," *The Korean Journal of Food And Nutrition*, **34**(2), 165-173(2021).
- Wardani, N. I., Samkumpim, T., Alahmad, W., King, A. W., Varanusupakul, P., Shishov, A., Yahaya, N. and Zain, N. N. M., "Recent Cutting-edge Approaches to the Integration of Solid-liquid Extraction with Deep Eutectic Solvents: Toward a Greener Procedure for Biomass Valorization," *Advances in Sample Preparation*, **10**, 100113(2024).
- Bildik, F., "Application of Choline Chloride as Natural Deep Eutectic Solvents for the Green Extraction of Phenolic Compounds from Rheum Ribes Leaves," *European Journal of Technic*, **11**(2), 140-143(2021).
- Abbott, A. P., Capper, G., Davies, D. L., Rasheed, R. K. and Tambyrajah, V., "Novel Solvent Properties of Choline Chloride/urea Mixtures," *Green Chemistry*, **5**, 135-139(2003).
- Francisco, M., van den Bruinhorst, A. and Kroon, M. C., "Low-transition-temperature Mixture (LTTMs): A New Generation of Designer Solvents," *Angewandte Chemie International Edition*, **52**, 3074-3085(2013).
- Hansen, B. B., Spittle, S., Chen, B., Poe, D., Zhang, Y., Klein, J. M., Horton, A., Adhikari, L., Zelovich, T., Doherty, W. B., Gurkan, B., Maginn, J. E., Ragauskas, A., Dadmun, M., Zawodzinski, A. T., Baker, A. G., Tuckerman, E. M., Savinell, F. R. and Sangoro, R. J., "Deep Eutectic Solvents: A Review of Fundamentals And applications," *Chemical Reviews*, **121**(3), 1232-1285(2021).
- Li, J., Guo, X., Wang, R., Geng, Z., Jia, J., Pang, S., Du, Y., Jia, S. and Cui, J., "Ultrasonic Assisted Extraction of Anthocyanins from Rose Flower Petal in DES System and Enzymatic Acylation," *LWT*, **180**, 114693(2023).
- Kaur, K., Schmitt-Kopplin, P. and Malik, A. K., "Green and Efficient Extraction of Phenolic Compounds from Neem Leaves Using Deep Eutectic Solvents Based Ultrasonic-assisted Extraction," *Food Chemistry*, **451**, 139500(2024).
- Benvenuti, L., Zielinski, A. A. F. and Ferreira, S. R. S., "Pressurized Aqueous Solutions of Deep Eutectic Solvent (DES): A Green Emergent Extraction of Anthocyanins from a Brazilian Berry Processing by-product," *Food Chemistry X*, **13**, (2022).
- Ruesgas-Ramón, M., Figueroa-Espinoza, M. C. and Durand, E., "Application of Deep Eutectic Solvents (DES) for Phenolic Compounds Extraction: Overview, Challenges, and Opportunities," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **65**(18), 3591-3601(2017).
- Park, Y. K., "Densities and Dynamic Viscosities of Methyltriphenylphosphonium Bromide-based Deep Eutectic Solvents and Excess Properties of Their Pseudo-binary Mixtures with Ethanol," *Korean Chemical Engineering Research*, **63**(1), 80-88 (2025).

Authors

Jaeyeong Choi: Research Professor, Department of Chemistry, Hannam University, Daejeon 34054, Korea; feelcjy@hnu.kr

Seon Jeong Kim: Undergraduate student, Department of Chemical Engineering, Hannam University, Daejeon 34054, Korea; tjswdghwd@naver.com

Sung Ho Ha: Professor, Department of Chemical Engineering, Hannam University, Daejeon 34054, Korea; shha@hnu.kr