



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0113533
(43) 공개일자 2015년10월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A01N 65/10 (2009.01) A01P 17/00 (2006.01)

C11B 1/10 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-0037601

(22) 출원일자 2014년03월31일

심사청구일자 2014년03월31일

(71) 출원인

계명대학교 산학협력단

대구광역시 달서구 달구벌대로 1095 (신당동)

(72) 발명자

이삼빈

대구광역시 달서구 선원로 171, 102동 306호

김준태

대구광역시 달서구 신당로 55, 209동 1307호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

양부현

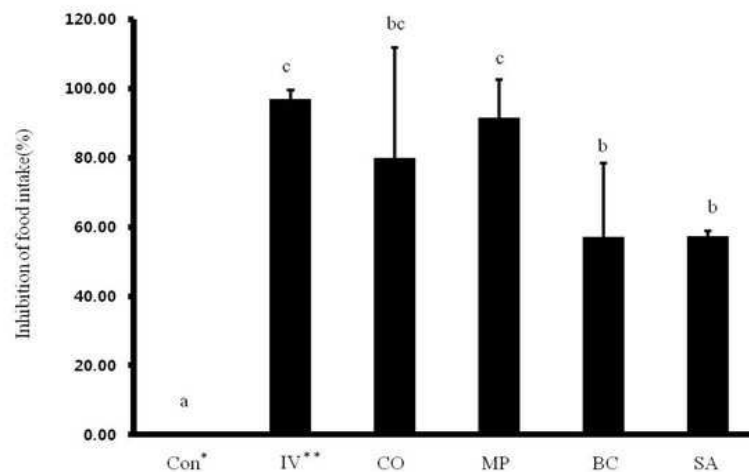
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 팔각회향 추출물을 유효성분으로 포함하는 설치류 기피용 조성물

(57) 요약

본 발명은 팔각회향 추출물을 유효성분으로 포함하는 설치류 기피용 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 설치류 기피용 조성물은 다른 천연물 추출 오일과 비교하여 매우 우수한 설치류 기피 활성을 나타낸다. 또한, 본 발명의 설치류 기피용 조성물은 천연 식물성 물질인 팔각회향 추출물을 활성물질로 사용하고 있으므로, 종래의 합성 화합물을 기피제로 사용하는 경우에 대비하여 환경오염의 문제 및 다른 동물의 사망 위험성을 줄일 수 있다. 따라서, 본 발명의 조성물은 전염병 전파, 식품 오염 및 농작물과 과수의 성장 방해 원인이 되는 설치류에 대한 새로운 기피제로 개발될 수 있다.

대표도 - 도2



(72) 발명자

박성진

대구광역시 달성군 다사읍 대실역북로 38, 105동 1605호

임지연

대구광역시 달서구 달서대로 719, 110동 103호

임종순

경상북도 의성군 봉양면 도원길 2

이은지

대구광역시 달서구 장기로 127, 305동 1603호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2011H1B8A2003327

부처명 교육과학기술부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 지역혁신인력양성사업

연구과제명 유해 생물 기피용 친환경 바이오 신소재 개발 및 상품화

기 여 율 1/1

주관기관 계명대학교 산학협력단

연구기간 2013.04.01 ~ 2014.03.31

명세서

청구범위

청구항 1

팔각회향(*Illicium verum*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 설치류 기피용 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 팔각회향 추출물은 팔각회향의 초임계 추출물 또는 증류 추출물인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

제 2 항에 있어서, 상기 팔각회향의 초임계 추출물은 이산화탄소를 초임계 유체로 사용한 초임계 추출법에 의해 얻은 것임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 4

제 3 항에 있어서, 상기 초임계 추출법은 에탄올, 메탄올, 아세톤, 헥산, 에틸아세테이트 또는 메틸렌클로라이드를 보조용매로 사용한 것임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 5

제 1 항에 있어서, 상기 팔각회향 추출물은 전체 조성물에 대해 0.01 - 30 중량%의 농도로 포함되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 6

제 1 항에 있어서, 상기 설치류는 쥐, 다람쥐, 등줄쥐, 대륙밭쥐, 곰쥐, 집쥐 또는 야생생쥐인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 7

아네톨(anethole)을 유효성분으로 포함하는 설치류 기피용 조성물.

청구항 8

제 7 항에 있어서, 상기 아네톨은 전체 조성물에 대해 0.01 - 30 중량%의 농도로 포함되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 9

제 7 항에 있어서, 상기 설치류는 쥐, 다람쥐, 등줄쥐, 대륙밭쥐, 곰쥐, 집쥐 또는 야생생쥐인 것을 특징으로

하는 조성물.

청구항 10

제 1 항 또는 제 7 항 기재의 조성물을 살포하는 단계를 포함하는 설치류를 퇴치하는 방법.

청구항 11

제 10 항에 있어서, 상기 설치류는 쥐, 다람쥐, 등줄쥐, 대륙밭쥐, 곰쥐, 집쥐 또는 야생생쥐인 것을 특징으로 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 팔각회향 추출물을 유효성분으로 포함하는 설치류 기피용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

정유(essential oil)은 단일 식물로부터 얻을 수 있는 향이 독특한 식물 원료로서 물리적인 방법에 의해 얻어진 휘발성 물질을 말한다. 식물로부터 얻어진 오일은 독특한 향기 성분을 오래 전부터 유용하게 사용되어 왔고, 최근에는 방향제, 식품, 화장품 등의 다양한 용도로 사용되고 있다. 또한 건강식품에 대한 관심이 급증하면서 천연물에 대한 관심이 집중되면서 식물오일에 함유된 성분들에 대한 생리활성 및 기능성에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다. 식물의 경우 이러한 오일에 함유된 성분을 이용하여 생존에 이용하고 있다. 식물은 생존에는 영양분의 흡수와 보존 이외에 환경적으로 다양한 생리활성 물질을 내부에 가지고 있으며, 이러한 물질에는 인간의 건강에 유익한 성분들을 다량 함유하고 있다. 이러한 식물의 생리활성에 관심이 증가하고 있으며, 이에 대한 이용에 다양한 추출방법이 이용되고 있다. 대표적인 추출방법에는 가열, 냉각추출, 유기용매, 열수 추출이 사용되고, 이러한 추출방법은 추출 시 가해지는 가열에 의하여 불안정하고 복잡한 식물성분의 추출이 어렵고 또한 명확한 가용성분의 추출이 매우 불리하다. 특히, 식물 속의 정유성분의 경우 용해성 유기화합물로서 추출하는데 유기용매를 사용하거나 여과의 방법을 주로 이용하였다. 대표적인 방법이 속슬레(soxhlet) 추출이다. 속슬레(soxhlet) 추출은 가열이 장시간 요구되어 천연 정유 속의 유용성분의 손실이 많고, 용질 분리에 유기용매가 많이 사용되는 단점이 있다. 식물에는 함유된 유용성분은 대부분 복잡하고 불안정한 구조의 성분이 함유되어 있으며, 이러한 성분의 분리 및 이용을 위해 수증기 증류법, 유기용매 추출법, 압착법이 현재까지 많이 이용되고 있다. 하지만 추출과정에서 고온의 사용은 성분의 파괴와 변성이 될 수 있고, 추출효율이 낮고, 석유 에테르, 헥산, 메탄올의 유기용매가 사용되므로 추출 후 남게 되는 유기용매의 제거와 환경오염의 문제와 독성으로 인한 문제들이 있다.

[0003]

최근에는 이런 문제점을 해결할 수 있는 환경 친화적인 대체 추출 기술로서 초임계 유체 추출공정에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있으며, 유효성분 회수를 위한 초임계 유체 추출에 대한 연구가 심도 있게 진행되고 있다. 초임계 상태에서는 액체와 기체의 중간 특성을 나타내며 밀도를 연속적으로 변화시킬 수 있기 때문에 용해도, 점도, 확산계수 등의 상태를 쉽게 조절할 수 있다. 낮은 표면장력 및 높은 확산계수의 성질로 인하여 효율적인 이동성을 나타내기 때문에 추출물질 내부로 침투가 가능하기 때문에 천연물의 복잡하고 불안정한 성분의 추출에 용이하다. 초임계 유체 추출은 유기용매 추출보다 짧은 시간 내에 높은 추출 수율을 얻을 수 있다. 초임계 유체 이산화탄소의 경우 임계점이 31.1℃, 73.8 bar로 낮은 온도에서 이용이 가능하며, 불연성, 무독성이며 재활용이 가능하고, 추출물과 반응성이 적고, 부식성이 없고 가격이 비교적 저렴하다.

[0004]

팔각회향(*Illicium verum*)은 붓순나무과(Illiciaceae)에 속하는 열매로서 별 모양의 과육을 가진다. 대부분이 중국과 베트남에서 자생하며, 중국의 전통약재로서 매우 널리 사용되어졌다. 팔각회향은 향신료로서 매우 널리 이용되고 있으며 이런 향의 대부분은 휘발성 오일에 함유되어 있다. 팔각회향의 열매의 구성성분으로는 (E)-아네톨(anethole)이 70-94%, 에스트라골(estragole), 리모넨(limonene), (Z)-아네톨(anethole), 피넨(pinene), β-펠란드렌(phellandrene) 그리고 α-테르피네올(terpineol) 등이 있다. 특히 팔각회향은 오일 성분에 유용 물

질이 많이 함유되어 있고, 항곰팡이 활성(antifungal activity)가 많이 보고되어 있으며, 오일의 주요 성분인 아네톨(anethole)에 대한 연구도 진행되고 있다. 또한 팔각회향과 아네톨(anethole)은 항산화 활성, 진통제, 진정제, 발작진정 등의 용도로 이용되고 있다. 팔각회향 오일은 다양한 유용성분을 가진 물질로서 다양한 방면에 연구가 필요하다.

[0005]

쥐는 인류의 발달과 생활 구조 및 환경의 변화에 적절히 진화하여 전세계적으로 1,800 종이 분포하고 있으며, 가장 성공적으로 번식하고 있는 위생동물이다. 이 들은 농업과 건설구조물, 인류건강에 심각한 문제들을 발생시키는 원인이다. 쥐는 전세계 모든 대륙에서 작물, 사탕수수, 과수원 등에서 작물의 식물성장에 근간이 되는 줄기와 뿌리를 갉아 먹으면서 성장을 방해한다. 또한 도시나 마을에는 곰쥐(Rattus rattus), 집쥐(Rattus norvegicus), 야생생쥐(Mus musculus)등의 설치류가 집이나, 회사, 식당 등에서 인간의 생활환경 주변에서 서식하며, 식품의 오염, 건물이나 구조물의 손상, 살모넬라와 페스트 등의 질병 전파, 전선피복 손상에 의한 화재 등 다양한 피해를 미친다. 미국에서 경제적으로 연간 190억 달러 이상의 피해를 미치고 인도에서는 설치류에 의한 농작물, 과수의 경우 피해범위는 총 생산량의 2 - 15%이고, 국가적으로는 거의 모든 지역이 극심한 피해를 입고 있다. 쥐의 몸에는 수많은 세균과 바이러스를 포함하고 있고, 쥐의 폭발적인 번식력에 의한 개체는 흑사병(plague), 아레나바이러스(arena viruses), 한타바이러스(hanta viruses), 쥐 티푸스(rat typhus), 폐선충(lungworms), 랩토스피라증(leptospirosis) 등의 전염성 질병을 매개한다. 국내에서도 쥐에 의해 전파되는 유행성 출혈열(hemorrhagic fever with renal syndrome, HFRS)은 한타바이러스(Hantaan virus)가 병원체로 1976년 이 등에 의해 최초로 분리 되었으며, 국내에서도 다양한 설치류에 의해 잠재되어 있다. 살서제(rodenticides)가 쥐의 방제를 위하여 이용되지만, 쥐에게 내성을 길러주며, 사용 후 잔류물질이 남아 사람에게 영향을 미칠 수 있다. 또한 목표동물 이외에 다른 동물을 죽게 하거나, 유기합성물질로서 환경오염에 악영향을 미친다. 따라서 새로운 형태의 안전하고 친환경적인 설치류 기피제의 개발이 필요하다.

[0006]

본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007]

(특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-1339366호

(특허문헌 0002) 대한민국 등록특허 제10-1071684호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008]

본 발명자들은 사람이나 환경에 악영향을 미치지 않으며 설치류에 대해 높은 기피 활성을 갖는 활성물질을 천연물로부터 발굴하기 위해 연구노력하였다. 그 결과, 팔각회향(*Illicium verum*) 추출물이 설치류에 대해 매우 높은 기피 활성을 갖는다는 사실을 실험적으로 증명하여 본 발명을 완성하였다.

[0009]

따라서, 본 발명의 목적은 설치류 기피용 조성물을 제공하는데 있다.

[0010]

본 발명의 다른 목적은 상기 설치류 기피용 조성물을 사용하여 설치류를 퇴치하는 방법을 제공하는데 있다.

[0011]

본 발명의 목적 및 장점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구의 범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

과제의 해결 수단

- [0012] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 팔각회향(*Illicium verum*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 설치류 기피용 조성물을 제공한다.
- [0013] 본 발명에서 팔각회향 추출물은 천연물로부터 추출물을 추출하는 당업계의 공지된 통상적인 방법에 따라, 즉, 통상적인 온도, 압력의 조건 하에서 통상적인 용매를 사용하여 추출할 수 있다.
- [0014] 본 발명에서 사용되는 팔각회향 추출물은 팔각회향 전체의 추출물, 또는 줄기, 뿌리, 잎, 꽃, 열매, 및 씨앗으로 구성된 군에서 선택된 일부분의 추출물이다.
- [0015] 본 발명에서 팔각회향 추출물을 얻기 위해 사용할 수 있는 추출용매는 천연물 추출 공정에서 일반적으로 사용할 수 있는 용매이며, 둘 이상의 서로 다른 용매를 혼합하여 사용하거나 순차적으로 사용할 수도 있다. 바람직하게는, 본 발명의 추출용매는 물, 탄소수 1-4개의 무수 또는 함수 저급 알코올(메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올), 아세톤, 에틸아세테이트, 부틸아세테이트, 디클로로메탄(CH_2Cl_2), 클로로포름, 헥산(Hexane) 및 1,3-부틸렌 글리콜로 구성된 군으로부터 선택되는 용매를 사용할 수 있다. 한편, 본 발명의 추출물은 상기한 추출용매에 의해 얻은 추출물 뿐만 아니라, 다른 추출 용매를 이용하여 얻은 추출물도 실질적으로 동일한 효과를 나타낸다는 것은 당업자에게 자명하다. 추출공정은 추출용매를 부분적으로 또는 완전히 제거하는 단계를 통해 완성되며, 부분적 제거는 상당한 양의 유기용매가 없는 수성 농축물이 얻어질 때까지 농축하는 것을 의미하며, 완전한 제거에 의해서는 건조 잔류물을 얻을 수 있다.
- [0016] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상기 팔각회향 추출물은 팔각회향의 초임계 추출물 또는 증류 추출물이다.
- [0017] 본 명세서에서 용어 "초임계 추출법"은 임계온도 및 경계압력을 초과하는 상태의 유체인 초임계유체를 사용하여 추출하는 방법을 의미한다. 기체는 임계온도이하에서는 어떤 압력을 초과하면 액화되지만 임계온도 이상에서는 저압에서 고압까지 연속한 상(相)상태를 나타내고 기체와 액체의 성질을 구별할 수 없게 된다. 따라서, 초임계유체는 높은 밀도가 있으면서 낮은 점성과 액체의 백 배가량이나 큰 확산능력이 있기 때문에 초임계유체를 이용한 초임계 추출법은 액체추출법에 비교하면 효율이 높은 추출법이다. 상기 초임계 추출법에 사용되는 초임계유체는 이산화탄소 또는 물을 사용할 수 있다.
- [0018] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상기 팔각회향의 초임계 추출물은 이산화탄소를 초임계 유체로 사용한 초임계 추출법에 의해 얻은 것이다.
- [0019] 상기 초임계유체와 함께 사용되는 보조용매(co-solvent)는 당업계에서 통상적으로 이용되는 극성 용매를 포함하며, 바람직하게는 알코올, 물, 에틸렌 글라이콜, 폴리에틸렌글라이콜, 프로필렌카보네이트, 포름산, 아세트산, 아세토니트릴, 클로로디프루오로메탄 또는 이의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되며, 보다 바람직하게는 메탄올, 에탄올, 프로판올, 1-헥사놀, 2-메톡시에탄올 및 그의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 알코올이고, 보다 더 바람직하게는 메탄올 또는 에탄올이며, 가장 바람직하게는 에탄올이다.
- [0020] 본 발명에서 초임계 추출시의 전체 유체의 유속은 10-100 g/min의 범위내에서 적합한 유속을 선택할 수 있으며, 초임계유체와 보조용매의 유속을 상기 전체 유속의 범위내에서 적합하게 선택할 수 있다.
- [0021] 본 발명에서 팔각회향의 초임계 추출은 100-500 bar의 압력과 20℃-50℃의 온도 하에서 행하며, 보다 바람직하게는 100-400 bar의 압력과 25℃-45℃의 온도 하에서, 보다 더 바람직하게는 100-300 bar의 압력과 30℃-40℃의 온도 하에서 행한다.
- [0022] 본 명세서에서 용어 "증류 추출물"은 물 또는 수증기를 추출용매로 사용한 추출 방법에 의해 얻은 추출물로서, 물증류법(water distillation), 증기증류법(steam distillation), 또는 수분확산법(hydro diffusion)에 의해 얻은 추출물을 포함하는 의미이다. 상기 물 증류법은 식물 원료를 물에 담근 상태에서 이를 직접 끓여서 생성되는 증기를 액화시켜 얻는 방법이고, 상기 증기 증류법은 물을 끓여 생성된 수증기를 식물 원료에 분사하여 추출하는 방법이며, 상기 수분 확산법은 상기 증기 증류법과 같이 수증기를 식물 원료에 분사하는 방법이나 수증기를 위에서 아래로 주입하여 추출하는 방법이다. 본 발명의 증류 추출물은 상기 설명된 물 증류법, 증기 증류법 또는 수분 확산법을 조합하거나 추출공정을 2회 이상 반복하여 얻을 수도 있다.
- [0023] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상기 팔각회향 추출물은 전체 조성물에 대해 0.01 - 30 중량%의 농도로 포함된다.
- [0024] 본 명세서에서 용어 "오일" 또는 "정유(essential oil)"은 식물 추출물의 개념에 포함되는 것으로서, 특히 식물

유래 휘발성 물질을 다량으로 포함한 추출물을 의미한다.

- [0025] 본 명세서에서 용어 "설치류"는 쥐목 포유류를 총칭하는 의미이며, 대표적으로 다람쥐, 비버, 쥐, 호저, 카피바라, 집쥐, 생쥐, 햄스터, 레밍, 하늘다람쥐, 날다람쥐, 청서, 프레리도그, 기니피그, 사향뒤쥐를 비롯하여 약 1,730여종의 알려진 설치류 동물을 포함한다.
- [0026] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상기 설치류는 쥐, 다람쥐, 등줄쥐, 대륙발쥐, 곰쥐, 집쥐 또는 야생생쥐를 포함한다.
- [0027] 본 발명의 다른 일 양태에 따르면, 본 발명은 아네톨(anethole)을 유효성분으로 포함하는 설치류 기피용 조성물을 제공한다.
- [0028] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상기 아네톨은 팔각회향 추출물로부터 분리된 것이다.
- [0029] 본 발명의 다른 바람직한 구현예에 따르면, 상기 아네톨은 전체 조성물에 대해 0.01 - 30 중량%의 농도로 포함된다.
- [0030] 본 발명의 다른 바람직한 구현예에 따르면, 상기 설치류는 쥐, 다람쥐, 등줄쥐, 대륙발쥐, 곰쥐, 집쥐 또는 야생생쥐를 포함한다.
- [0031] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 상기 설명된 설치류 기피용 조성물을 살포하는 단계를 포함하는 설치류를 퇴치하는 방법을 제공한다.
- [0032] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상기 설치류를 퇴치하는 방법에서 상기 설치류는 쥐, 다람쥐, 등줄쥐, 대륙발쥐, 곰쥐, 집쥐 또는 야생생쥐를 포함한다.

발명의 효과

- [0033] 본 발명은 팔각회향 추출물을 유효성분으로 포함하는 설치류 기피용 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 설치류 기피용 조성물은 다른 천연물 추출 오일과 비교하여 매우 우수한 설치류 기피 활성을 나타낸다. 또한, 본 발명의 설치류 기피용 조성물은 천연 식물성 물질인 팔각회향 추출물을 활성물질로 사용하고 있으므로, 종래의 합성 화합물을 기피제로 사용하는 경우에 대비하여 환경오염의 문제 및 다른 동물의 사망 위험성을 줄일 수 있다. 따라서, 본 발명의 조성물은 전염병 전파, 식품 오염 및 농작물과 과수의 성장 방해 원인이 되는 설치류에 대한 새로운 기피제로 개발될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0034] 도 1은 랫드의 천연오일에 대한 섭취 저해율 및 굵기 활성을 평가하기 위한 케이지 구조를 보여준다.
- 도 2는 랫드의 천연오일의 섭취 저해율을 측정한 결과이다. Con: 대조군으로서 식용유(soybean oil), IV: 팔각회향(*Illicium verum*)오일, CO: 편백나무(*Chamaecyparis obtusa*)오일, MP: 페퍼민트(*Mentha piperita*)오일, BC: 프랑켄센스(*Boswellia carteri*)오일, SA: 클로버(*Syzygium aromaticum*)오일. Duncan's multiple range test 방법을 이용하여 평균값 간의 차이를 유의수준 $p < 0.05$ 에서 유의성을 검정하였다.
- 도 3은 추출방법을 달리하여 추출한 팔각회향 추출물에 대해 랫드의 먹이 섭취 저해율을 측정한 결과이다. Con: 대조군 식용유(soybean oil), IV: 팔각회향(*Illicium verum*)의 증류추출 오일, ET: 팔각회향의 80% 에탄올 추출 오일, 팔각회향의 초임계 추출 오일. Duncan's multiple range test 방법을 이용하여 평균값 간의 차이를 유의수준 $p < 0.05$ 에서 유의성을 검정하였다.
- 도 4는 팔각회향의 초임계 추출 오일과 트랜스-아네톨(trans-anethole)에 대해 랫드의 섭취 저해율을 측정한 결과이다. SFO: 팔각회향의 초임계 추출 오일.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0035] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는

것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0036] 실시예

[0037] 실험 재료 및 실험 방법

[0038] 1. 실험재료

[0039] 실험에 사용된 식물정유는 팔각회향(*Illicium verum*, IV), 편백나무(*Chamaecyparis obtusa*, CO), 페퍼민트(*Mentha piperita*, MP), 프랑켄센스(*Boswellia carteri*, BC), 클로버(*Syzygium aromaticum*, SA)를 증류 추출법으로 추출한 오일을 (주)구월(Goowr1 Co., Deagu, Korea)에서 구입하여 사용하였고, 트랜스-아네톨(trans-anethole)은 Sigma-Aldrich (Sigma Aldrich Co, St Louis, Mo, USA)에서 구입하여 사용하였다.

[0040] 2. 초임계 팔각회향 오일의 제조

[0041] 초임계 추출 장치는 Waters AD-RC 08 (Waters CO., Milford, MA, USA)를 사용하였다. 분말화된 팔각회향을 추출 용기에 300g을 넣어 CO₂ 유속(flow rate) : 공용매(co-solvent) 유속을 47.5 g/min : 2.5 g/min으로 하여 전체 유속(total flow rate) (CO₂ 유속 + 공용매 유속)를 50 g/min의 속도로 흘려주었고, 공용매로는 HPLC급 에틸알코올(JT Baker Co., Phillipsburg, NJ, USA)를 사용하였다. 추출 온도는 35℃, 압력은 150 bar의 조건하에서 30분씩 4회 반복하여 총 120분 추출하였다.

[0042] 3. GC/MS를 이용한 초임계 팔각회향 오일의 성분 분석

[0043] GC/MS(Gas chromatograph Mass spectrometer)를 이용하여 정유 성분을 확인하였다. GC/MS 시스템은 HP 190914-433 모델(Paloalto, California, USA)이며, 컬럼은 HP-5MS(30 m x 0.255 mm, 0.25 μm)를 사용하였다. 검출기(detector)는 질량분광기(Mass spectrometer)를 이용하였고, ESI 모드에서 70 eV의 에너지로 이온화하여 TIC의 SCAN 모델에서 이온의 질량범위를 10 - 800 으로 설정하여 물질을 확인하였다. 주입기 온도(injector temperature)는 260℃, 검출기 온도(detector temperature)는 280℃으로 설정하였고, 캐리어 가스(carrier gas)는 헬륨을 사용하였으며, 오븐(oven)의 온도는 50℃ 에서 5분간 유지하였고, 4℃/min 속도로 200℃까지 상승시키고, 200℃에서 20℃/min 속도로 280℃까지 온도를 상승시킨 후, 20분간 유지하였다. 각 초임계 추출오일은 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과하여 HPLC급 에틸 알코올(JT Baker Co., Phillipsburg, NJ, USA)에 희석하여 사용하였다.

[0044] 4. 실험동물

[0045] 실험에 사용된 동물은 6-8주령 이상의 숫컷 SD (Sprague??Dawley)계 랫드(rat)로 평균 무게 400g 이상을 (주)오리엔트(Orient Co., Seongnam, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 사육실의 환경은 온도 25±2℃, 습도 60±5%, 명암주기 12시간으로 일정하게 유지하였고, 1주일간 랫드용 고형사료와 물을 충분히 공급하였다. 사용된 사료는 Labdiet 5L79, 깔짚은 Aspen shaving을 각각 (주)오리엔트에서 구입하여 사용하였다.

[0046] 5. 사료 섭취(Feed intake) 실험

[0047] 랫드에 대한 기피효과는 전선 침지법을 응용하여 사료에 오일을 도포하여 사용하였다. 총 다섯 그룹으로 나누어 천연오일 원액을 식용유에 10 배 희석하여 사료를 1시간 동안 침지하고 12시간 건조하였다. 24시간 절식시킨 랫드에게 3 종류의 다른 오일이 도말된 사료를 15-20g 씩 공급하고 24시간 후 감기 활성을 평가하였다(도 1 참조). 대조구로는 희석에 사용된 식용유를 사용하였다. 케이지(cage)의 커버(cover)는 세 종류의 사료와 물을 동시에 공급할 수 있도록 제작하여 사용하였다. 랫드의 스트레스 및 오일향의 적응을 최소화하기 위해 암실에서 통풍이 원활하게 하여 실험을 진행하였으며, 실험 때마다 각각 다른 오일이 도말 된 사료를 공급하였다. 사료 섭취 저해율은 24 시간 후에 남은 사료 무게를 오일이 도말된 사료의 무게로 나누어 계산하였다. 사료 섭취 저

해율(%) = (24시간 후 남은 사료무게 / 오일 도말 된 사료 무게).

6. 통계처리

자료의 통계처리는 SPSS version 17.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) 프로그램에 의해 one-way ANOVA 검정과 Duncan's multiple range test 방법을 이용하여 평균값 간의 차이를 유의수준 $p < 0.05$ 에서 유의성을 검정하였다.

실험결과

1. 초임계 추출한 팔각회향오일 성분의 GC/MS 분석

하기 표 1에는 팔각회향(*Illicium verum*)을 초임계 추출법으로 추출한 정유 성분을 GC/MS 분석법으로 분석한 결과를 보여준다. 즉, 팔각회향을 추출 온도는 35℃, 압력 150 bar 조건에서 30분씩 4회 반복하여 총 120분간 초임계 추출한 추출물에 대해 GC/MS 분석법으로 분석하여 전체 피크(peak)에서 질(quality)이 90% 이상이고, 영역(area)이 1.0 이상의 피크만을 하기 표 1에 표시하였다. 그 결과, 아네톨(anethole)이 68.15%로 가장 높게 포함된 것으로 확인되었다. 일반적으로 용해성 유기화합물의 비용해성 물질로부터의 추출은 용매로 시료를 진탕하거나 여과하는 방법이 이용되고 있고, 대표적인 방법이 속슬레(soxhlet) 추출이다. 속슬레(soxhlet) 추출의 가장 큰 단점은 지속적인 가열이 필요하기 때문에 천연물에 포함된 유용물질의 파괴할 수 있고, 많은 양의 용매를 사용하기 때문에 이상적인 방법이 되지 못하고, 계피의 경우 휘발성분을 유기용매 추출법과 초임계 추출을 비교하였을 때, 계피의 주요 휘발성분인 신남알데하이드(cinnamaldehyde)의 함량이 초임계 추출이 80% 메탄올 추출물보다 30배 이상 많다고 보고하였다.

표 1

피크 No.	RT	영역(%)	화합물	질(quality)
1	12.085	3.58	Benzaldehyde	96
2	31.898	68.15	Anethole	99
3	34.449	4.81	Chavicol	90
4	49.321	3.42	Palmitic acid	99
5	57.316	5.14	Linoleic acid	99

2. 천연오일에 대한 설치류 섭취 저해율 측정

천연오일 성분을 사료에 도말하여 사료 섭취율을 확인한 결과는 도 2에 나타내었다. 천연오일을 사료에 도말하여 설치류 기피 평가를 할 때, 대조구로 일반 식용유를 사용하였다. 실험결과, 대조구에서는 실험동물이 10회 모두 100% 사료를 섭취하였으나, 천연오일인 팔각회향, 편백나무, 페퍼민트, 프랑켄센스, 클로버 오일을 도말한 사료 조건에서는 모두 50% 이상의 섭취 기피 효과를 확인할 수 있었으며, 팔각회향 오일에서 가장 높은 기피 활성이 확인되었다.

3. 다양한 추출방법으로 추출한 팔각회향 오일에 대한 설치류의 섭취 저해율 측정

먹이 섭취 기피 효과가 가장 우수한 팔각회향에 대해 증류 추출법, 80% 에탄올 추출법, 초임계 추출법으로 얻은 추출물(오일)에 대해 기피 실험을 진행하였으며, 그 결과는 도 3에 나타내었다. 도 3의 결과에서 알 수 있는 바와 같이, 80% 에탄올 추출물보다 오일성분이 많이 함유된 증류추출 오일과 초임계 추출 오일에서 높은 기피활성을 보였다. 이러한 결과로부터 향을 나타내는 성분을 더욱 많이 포함할 수 있는 추출방법이 더욱 높은 기피활성을 보이는 것을 알 수 있었다.

4. 팔각회향 초임계 추출 오일과 트랜스-아네톨(trans-anethole)을 이용한 설치류의 섭취 저해율 측정

팔각회향 초임계 추출 오일과 팔각회향 오일의 주성분인 트랜스-아네톨(trans-anethole)의 농도에 따른 먹이 섭취 기피 효과를 확인하였으며, 그 결과는 도 4에 나타내었다. 오일성분이 복합적으로 추출되어 있는 초임계 추

출 오일의 경우 5%의 농도에서 기피력이 약간 감소하는 것으로 나타났고, 트랜스-아네틀만을 사용하였을 때는 기피력이 농도 의존적으로 증가하는 것을 알 수 있었다.

[0060]

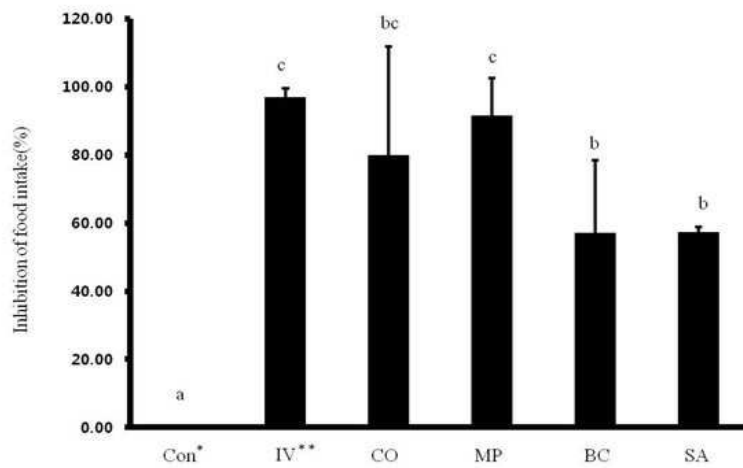
이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

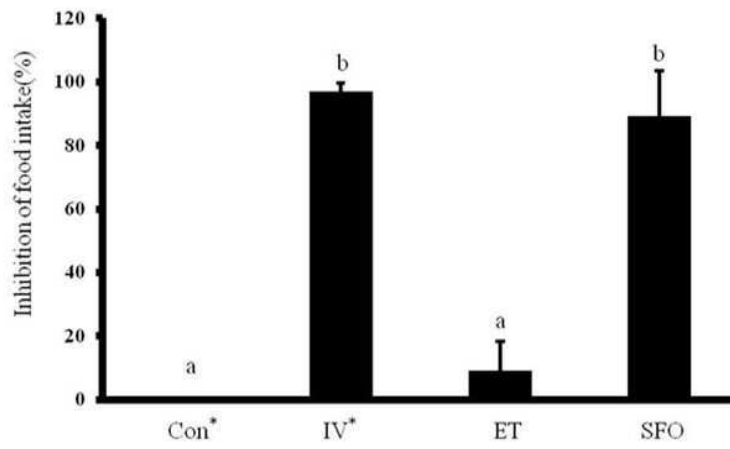
도면1



도면2



도면3



도면4

