

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(43) 국제공개일
2012년 5월 3일 (03.05.2012)

PCT

(10) 국제공개번호
WO 2012/057575 A2

(51) 국제특허분류:

A61K 36/9066 (2006.01) A61P 31/12 (2006.01)
A61K 36/28 (2006.01)

(21) 국제출원번호:

PCT/KR2011/008155

(22) 국제출원일:

2011년 10월 28일 (28.10.2011)

(25) 출원언어:

한국어

(26) 공개언어:

한국어

(30) 우선권정보:

10-2010-0106307 2010년 10월 28일 (28.10.2010) KR

(71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): 한국생명공학연구원 (KOREA RESEARCH INSTITUTE OF BIOSCIENCE AND BIOTECHNOLOGY) [KR/KR]; 대전광역시 유성구 어은동 52번지, 305-806 Daejeon (KR).

(72) 발명자: 곽

(75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): 이우송 (LEE, Woo Song) [KR/KR]; 대전광역시 유성구 어은동 52번지, 305-806 Daejeon (KR). 노문철 (RHO, Mun Chul) [KR/KR]; 대전광역시 유성구 어은동 52번지, 305-806 Daejeon (KR). 류영배 (RYU, Young Bae) [KR/KR]; 대전광역시 유성구 어은동 52번지, 305-806 Daejeon (KR). 박수진 (PARK, Su Jin) [KR/KR]; 대전광역시 유성구 어은동 52번지, 305-806 Daejeon (KR). 장종선

(CHANG, Jong Sun) [KR/KR]; 대전광역시 유성구 어은동 52번지, 305-806 Daejeon (KR). 정형재 (JUNG, Hyung Jae) [KR/KR]; 대전광역시 유성구 어은동 52번지, 305-806 Daejeon (KR). 김영민 (KIM, Young Min) [KR/KR]; 대전광역시 유성구 어은동 52번지, 305-806 Daejeon (KR).

(74) 대리인: 손민 (SON, Min); 서울 강남구 삼성동 159-9 도심공향타워 6층 한얼국제특허사무소, 135-973 Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

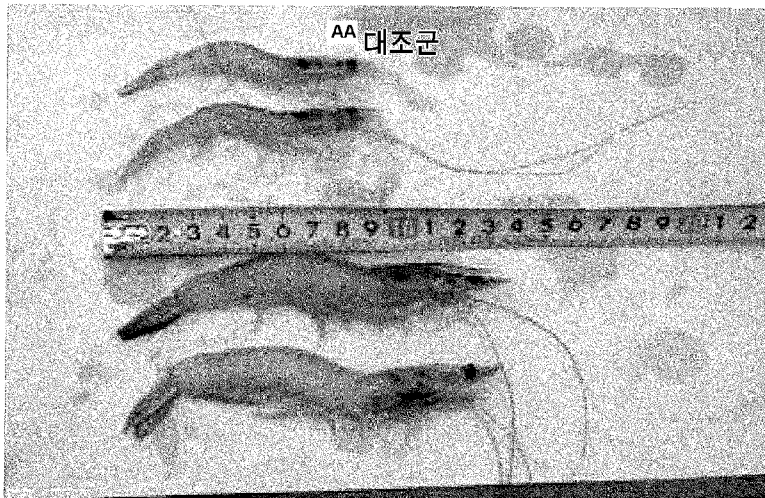
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU,

[다음 쪽 계속]

(54) Title: FEED ADDITIVE COMPOSITION CONTAINING TURMERIC EXTRACTS AND STEVIA EXTRACTS AS ACTIVE INGREDIENTS FOR INCREASING RESISTANCE TO WHITE SPOT SYNDROME VIRUSES, AND FEED COMPOSITION COMPRISING SAME

(54) 발명의 명칭: 울금 추출물 및 스테비아 추출물을 유효성분으로 포함하는 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성 증강용 사료 첨가제 조성물 및 이를 포함하는 사료 조성물

[Fig. 3]



AA ... Control group

(57) Abstract: The present invention relates to feed additives containing turmeric extracts or dried turmeric powder and stevia extracts or steviosides as active ingredients for increasing resistance to white spot syndrome viruses, to a feed composition comprising the feed additives, to a method for preventing or treating white spot syndrome viruses by injecting the composition to an individual, and to the use of the composition. According to the present invention, the feed additive composition and the feed composition comprising the feed additive composition may remarkably increase resistance to white spot syndrome viruses to reduce the occurrence of disease, increase the level of immunity to diseases in order to increase survival rate, and promote the growth of an entity during culturing, and therefore are effective in increasing resistance to white spot syndrome viruses.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]



LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, **공개:**
SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, —
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를
별도 공개함 (규칙 48.2(g))

본 발명은 울금 추출물 또는 울금 건조 분말, 및 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드를 유효성분으로 포함하는 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성 증강용 사료 첨가제, 이를 포함하는 사료 조성물, 상기 조성물을 개체에 투여하여 흰점 증후군 바이러스를 예방 또는 치료하는 방법, 및 상기 조성물의 용도에 관한 것이다. 본 발명에 의하면, 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성을 현저히 증가시켜 질병의 발생을 저하시키고 질병에 대한 면역력 증가로 인해 양식에 있어서 개체의 생존율을 증가시키고 성장을 촉진시키는 효과를 나타내어 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성 증강용으로 효과적인 사료 첨가제 조성물 및 이를 포함하는 사료 조성물을 제공할 수 있는 효과가 있다.

명세서

발명의 명칭: 울금 추출물 및 스테비아 추출물을 유효성분으로 포함하는 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성 증강용 사료 첨가제 조성물 및 이를 포함하는 사료 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 울금 추출물 또는 울금 건조 분말, 및 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드를 유효성분으로 포함하는 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성 증강용 사료 첨가제 조성물, 이를 포함하는 사료 조성물, 상기 조성물을 개체에 투여하여 흰점 증후군 바이러스를 예방 또는 치료하는 방법, 및 상기 조성물의 용도에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 흰점 증후군 바이러스(White Spot Syndrome Virus, WSSV)는 전 세계적으로 아시아 및 북아메리카의 연안에서 양식되는 새우에 감염하여 대량 폐사를 일으키는 전염성이 강한 바이러스다. 상기 바이러스는 림프기관, 조혈기 조직, 아가미, 중앙신경 조직에 감염하여 새우의 갑피(carapace), 외지(appendage) 및 큐티클에 반점이 나타나게 하고, 새우의 간 췌장(hepatopancreas)에 붉은색이 나타나게 하며, 감염 강도에 따라 3~10일 이내에 80~100%의 새우가 폐사되게 하여 최근 새우양식에 가장 큰 걸림돌이 되고 있다(Lightner, (editor), *World Aquaculture Society*, Baton Rouge, LA, USA, 160, 1996). WSSV는 1992년 중국에서 최초로 발생하여 새우양식에 대한 대량 폐사가 보고되었다(Inouye et al., *Fish Pathol.* 29, 149, 1994). 그 이후 WSSV는 태국, 인도 일본 등 아시아 전지역으로 확산되어 새우양식 산업에 막대한 피해를 가져왔다(Huang et al., *Marine Fisher. Res.* 16, 1, 1995; Krishna et al., *World Aquacult.* 14, 1997; Park et al., *Dis. Aquat. Org.* 34, 71, 1998).
- [3] WSSV는 290~305 kb의 크기를 가지는 난형 바이러스로 이중나선의 DNA를 가지고 있으며 길이는 275 nm, 직경은 약 120 nm이며 비리온(Virion)과 피막(envelope)을 가지고 있는 막대모양 형태이다. 또한 15-28 kDa의 크기를 가지는 5개의 주요 단백질이 있는데 피막에는 VP19 및 VP28이 존재하고, 뉴클레오캡시드에는 VP26, VP24, VP12가 존재한다. 이것은 바이러스 표면에 위치하여 WSSV 감염에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(van hulten MC. et al., *Virol.* 1, 7, 2001; Marielle et al. *Journal of General Virology* 83, 257, 2002).
- [4] 우리나라에서도 WSSV에 대한 질병의 피해가 1993년 충남과 전북의 일부 새우양식장에서 나타난 이후, 매년 증가하여 1996년도에는 새우의 생산량이 지역에 따라 30~75% 감소하는 피해를 가져 왔으며 그 후 매년 평균 68%의 폐사율을 보여 새우양식에 막대한 경제적 피해를 주고 있다(해양수산청, 2001). 이 질병에 대한 예방법이나 치료법에 대해서는 아직 개발이 되지 않아

세계적으로 WSSV에 의한 질병에 대한책이 없다. 현재까지 WSSV에 의한 질병으로부터 피해를 줄이기 위해서 흰점 증후군 바이러스에 감염되지 않은 모하만을 이용해 종묘를 생산하여 양식을 하는 기술을 사용하고 있으나 순환여과방식을 이용해야 하기 때문에 시설비가 많이 들고, 단지 사육시설의 소독과 청결, 사육수위 관리에만 최선을 다하고 있는 실정이다. 최근 WSSV에 대한 면역증강제에 대한 연구가 β -글루칸, 리포폴리사카라이드, 푸코이단, 한약재, 갈조류 추출물을 대상으로 활발히 이루어지고 있지만, 아직까지 효과적으로 제어할 수 있는 물질은 발표되지 않았다(Chang et al., *Dis. Aquat. Org.* 36, 163, 1999; Chang et al., *Fish & Shellfish Immun.* 10, 505, 2000; Itami et al., *Aquaculture* 164, 277, 1998).

- [5] 이에, 본 발명자들은 상기와 같은 점을 감안하여 연구하던 중 울금 추출물 또는 울금 건조 분말, 및 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드를 일정한 비율로 포함하는 사료첨가제로서 사용함으로써, 동물 특히 새우의 흰점 증후군 바이러스 감염에 대한 우수한 저해 활성을 가지는 사료 조성물을 제공할 수 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

[6]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [7] 본 발명의 목적은 울금 추출물 또는 울금 건조 분말, 및 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드를 유효성분으로 포함하는 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성 증강용 사료 첨가제 조성물을 제공하고자 하는 것이다.
- [8] 본 발명의 다른 목적은 상기 사료 첨가제 조성물을 포함하는 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성 증강용 사료 조성물을 제공하고자 하는 것이다.
- [9] 본 발명의 또 다른 목적은 울금 추출물 또는 울금 건조 분말, 및 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드를 개체에 투여하여 흰점 증후군 바이러스를 예방 또는 치료하는 방법을 제공하고자 하는 것이다.
- [10] 본 발명의 또 다른 목적은 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성 증강용 사료 조성물의 제조에 있어서, 울금 추출물 또는 울금 건조 분말, 및 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드를 포함하는 조성물의 용도를 제공하고자 하는 것이다.

과제 해결 수단

- [11] 하나의 양태로서, 본 발명은 울금 추출물 또는 울금 건조 분말, 및 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드를 유효성분으로 포함하는 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성 증강용 사료 첨가제 조성물을 제공한다.
- [12] 바람직한 양태로서, 본 발명의 사료 첨가제 조성물은 울금 추출물 또는 울금 건조 분말, 및 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드를 전체 조성물 중 20 내지 50 중량%의 비율로 포함한다.
- [13] 또한, 상기 사료 첨가제 조성물은 울금 추출물 또는 울금 건조 분말: 스테비아

추출물 또는 스테비오사이드가 1:100 내지 100:1의 조성 비율로 포함된 것이 바람직하며, 보다 바람직하게는 울금 추출물 또는 울금 건조 분말: 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드가 1:2 내지 2:1의 조성 비율로 포함된 것이다.

- [14] 본 발명의 사료 첨가제 조성물은 새우 등에 감염되는 흰점 증후군 바이러스(White Spot Syndrome Virus, WSSV)에 대한 질병의 발생을 저하시키고 질병에 대한 면역력을 증가시켜 양식에 있어서 개체의 생존율을 증가시키고 성장을 촉진시키는 효과를 갖는다.
- [15] 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 상기 사료 첨가제 조성물을 포함하는 사료 조성물을 제공한다.
- [16] 바람직한 양태로서, 본 발명의 사료 조성물은 상기 사료 첨가제 조성물을 전체 조성물 중 0.01 내지 50 중량%, 바람직하기로는 1 내지 20 중량%, 가장 바람직하기로는 10 중량%의 비율로 포함한다.
- [17] 또 다른 양태로서, 본 발명은 울금 추출물 또는 울금 건조 분말, 및 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드를 개체에 투여하여 흰점 증후군 바이러스를 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.
- [18] 또 다른 양태로서, 본 발명은 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성 증강용 사료 조성물의 제조에 있어서, 울금 추출물 또는 울금 건조 분말, 및 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드를 포함하는 조성물의 용도를 제공한다.
- [19]
- [20] 이하, 본 발명을 자세히 설명한다.
- [21] 본 발명은 울금 추출물 또는 울금 건조 분말, 및 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드를 유효성분으로 포함하는 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성 증강용 사료 첨가제 조성물에 관한 것이다.
- [22]
- [23] 본 발명에서 사용하는 용어 "울금(Turmeric)"은, 커큐마속(*Curcuma* sp.)에 속하는 식물의 덩이뿌리 부분을 의미하는 것으로, 상기 커큐마속(*Curcuma* sp.)에 속하는 식물에는 온울금(*Curcuma wenyujin*, Y. H. Chen et C. Ling), 가을울금(황울금)(*Curcuma longa* Linne), 봄울금(*Curcuma longa* Salisb.), 보라색울금(*Curcuma zedoaria*), 광서아출(계울금)(*Curcuma kwansiensis*, S. G. Lee et C. F. Liang), 아출(녹사울금) (*Curcuma aeruginosa*), 봉아출 [*Curcuma phaeocaulis* Val. (생강과 Zingiberaceae)] 또는 커큐마 도메스티카 (*Curcuma domestica*) 등이 있으며, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다.
- [24] 본 발명에서 울금은 상업적으로 판매되는 것을 구입하여 사용하거나, 자연에서 채취 또는 재배된 것을 사용할 수 있다.
- [25] 본 발명에서 울금은 그대로 사용하거나, 또는 이를 그대로 말려 건조된 형태로 사용하거나, 또는 이의 주피를 제거하고 찌서 말린 건조된 형태로 사용할 수도 있으며, 건조된 울금은 분말화하여 분말 형태로 사용할 수도 있다.
- [26] 본 발명에서, 울금 추출물은 물, C₁ 내지 C₄의 저급알콜 또는 이들의 혼합용매로

추출하여 얻을 수 있다. 구체적으로, 울금 중량의 약 2~10배, 바람직하게는 2~5배의 부피의 물, 에탄올, 메탄올과 같은 저급 알코올로, 바람직하게는 에탄올로 20~50°C, 바람직하게는 25~30°C에서 교반 추출, 초음파 추출, 100°C에서 열수 추출방법으로 2~3회 연속 추출하여 수득한 후, 여지로 여과하고 여과액을 회전식 감압 농축기로 제거한 후 잔사를 진공 동결건조, 열풍건조를 통하여 울금 추출물을 얻을 수 있다.

- [27] 또한, 본 발명의 상기 울금 추출물은 추출처리에 의해 얻어지는 추출액, 추출액의 희석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물 및 이들 조정제물 또는 정제물 중 어느 하나 이상을 포함할 수 있다.
- [28] 본 발명에서 사용하는 용어 "스테비아(*Stevia rebaudiana Bertoni*)"는, 쌍떡잎식물 초롱꽃목 국화과 숙근(宿根) 다년초 여러해살이풀로서 남미 파라과이, 아르헨티나, 브라질 등의 국경산간지 하천, 습지대주변에 서식하며 허브차, 음료, 한약조제, 천연감미료, 당뇨, 다이어트, 건강보조식품 등에 사용한다.
- [29] 스테비아 잎에는 스테비오사이드(stevioside)와 레바우디오사이드 단성분이 있는데 이는 설탕의 약 200~300배 당도가 높고 쓴맛이 없으며, 칼로리는 설탕의 90분의 1로 낮아 약용, 한약조제, 차, 간장, 고추장 등에 천연 감미료로 다양하게 사용된다. 최근 인공합성 감미료 섭취로 발암의 원인이 되고 또한 칼로리 과다로 각종 성인병의 원인이 되어 천연 당류물질인 스테비아가 주목받고 있다.
- [30] 본 발명에서 스테비아는 상업적으로 판매되는 것을 구입하여 사용하거나, 자연에서 채취 또는 재배된 것을 사용할 수 있다.
- [31] 본 발명에서 스테비아는 잎 부위를 사용하는 것이 바람직하나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [32] 본 발명에서 스테비아는 그대로 사용하거나, 또는 이를 그대로 말린 건조된 형태로 사용하거나, 또는 이를 찌서 말린 건조된 형태로 사용할 수도 있으며, 건조된 스테비아는 분말화하여 분말 형태로 사용할 수도 있다.
- [33] 본 발명에서, 스테비아 추출물은 물, C₁ 내지 C₄의 저급알콜 또는 이들의 혼합용매로 추출하여 얻을 수 있다. 구체적으로, 스테비아 중량의 약 2~10배, 바람직하게는 2~5배의 부피의 물, 에탄올, 메탄올과 같은 저급 알코올로, 바람직하게는 에탄올로 20~50°C, 바람직하게는 25~30°C에서 교반 추출, 초음파 추출, 100°C에서 열수 추출방법으로 2~3회 연속 추출하여 수득한 후, 여지로 여과하고 여과액을 회전식 감압 농축기로 제거한 후 잔사를 진공 동결건조, 열풍건조를 통하여 스테비아 추출물을 얻을 수 있다.
- [34] 또한, 본 발명의 상기 스테비아 추출물은 추출처리에 의해 얻어지는 추출액, 추출액의 희석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물 및 이들 조정제물 또는 정제물 중 어느 하나 이상을 포함할 수 있다.
- [35] 본 발명에서 사용하는 용어 "스테비오사이드(stevioside)"는, 상기한 바와 같이 스테비아 잎에 함유되어 있는 설탕의 300배 당도를 가지는 천연 다당류

물질이다.

[36] 스테비오사이드는 스테비오사이드A1, A2, 스테비올1,2,3, 돌코사이드, 르바우디오사이드 a,b,c,e,f 등 다양한 당으로 구성되어 있고, 혈당이나 비만 등에 영향을 주지 않으며, 또한 충치 균도 억제한다.

[37] 본 발명에서 스테비오사이드는 상업적으로 판매되는 것을 구입하여 사용하거나, 자연에서 채취 또는 재배된 스테비아로부터 추출 분리된 것을 사용할 수 있다. 이때 스테비오사이드의 추출 분리 방법은 공지된 방법을 사용할 수 있다.

[38]

[39] 본 발명에서, 울금 추출물 또는 울금 건조 분말과 스테비아 추출물을 사용할 경우 이들의 조성 비율은 임의로 선택할 수 있으며, 바람직하기로는 울금 추출물: 스테비아 추출물이 1:100 내지 100:1, 더욱 바람직하기로는 1:10 내지 10:1, 가장 바람직하기로는 1:2 내지 2:1의 비율로 조성물에 포함될 수 있다.

[40] 본 발명에서, 울금 추출물 또는 울금 건조 분말과 스테비오사이드를 사용할 경우 이들의 조성 비율은 임의로 선택할 수 있으며, 바람직하기로는 울금 추출물: 스테비오사이드가 1:1000 내지 1000:1, 더욱 바람직하기로는 1:100 내지 100:1, 가장 바람직하기로는 1:10 내지 10:1의 비율로 조성물에 포함될 수 있다.

[41] 본 발명의 일 실시예에서는 울금 추출물: 스테비아 추출물이 1:1 내지 2:1의 비율로 조성된 사료 첨가제 조성물을 사용하였다.

[42] 상기 조성물에서 울금 추출물 또는 울금 건조 분말과 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드는 혼합물의 형태일 수 있다.

[43] 본 발명의 실험예에서, 울금 추출물 및 스테비아 추출물을 포함하는 사료 첨가제를 급이한 새우에서 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성이 현저히 증가함을 확인하였다. 또한, 본 발명의 사료 첨가제에서 급성 독성이 나타나지 않음을 확인하였고, 상기 사료 첨가제를 급이하였을 때 생육 기간이 늘어날수록 새우의 크기와 무게가 증가하여 우수한 성장 효과를 보임을 확인하였다.

[44]

[45] 본 발명의 사료 첨가제 조성물은, 투여를 위해서 상기 기재한 성분 이외에 추가로 구연산, 후말산, 아디픽산, 젖산 등의 유기산이나 인산칼륨, 인산나트륨, 중합 인산염 등의 인산염이나 폴리페놀, 카테킨, 토코페롤, 비타민 C, 녹차 추출물, 키토산, 탄닌산 등의 천연 항산화제 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항인플루엔자제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화 할 수 있다.

[46] 또한, 본 발명의 사료 첨가제 조성물 및 이를 포함하는 사료 조성물은 보조성분으로 아미노산, 무기염류, 비타민, 항산화, 항곰팡이, 미생물 제제 등과 같은 각종 보조제 및 분쇄 또는 파쇄된 밀, 보리, 옥수수 등의 식물성 단백질사료,

혈분, 육분, 생선분 등의 동물성 단백질 사료, 동물성 지방 및 식물성 지방 같은 주성분 이외에도 영양 보충제, 성장 촉진제, 소화 흡수 촉진제, 질병 예방제와 함께 사용될 수 있다.

[47] 상기 동물 사료용 사료 첨가제는 새우 등의 동물의 사료에 직접 혼합하거나 사료와 별도로 단독으로 경구 제형, 주사 또는 경피로 다른 성분과 조합하여 쉽게 투여 할 수 있다. 투여량은 새우 등의 동물의 체중, 건강상태, 식이, 투여방법 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다. 당 업계에서 잘 알려진 바와 같이 일일 투여량은 약 0.1~10mg/g, 바람직하게는 0.05~1mg/g이며, 하루 일회 내지 수회에 나누어 투여하는 것이 더욱 바람직하다.

[48] 본 발명의 사료 첨가제는 흰점 증후군 바이러스 질환에 대한 내성 증강을 목적으로 사료에 첨가될 수 있다. 본 발명의 사료 첨가제를 사료 첨가물로 사용할 경우, 상기 사료 첨가제를 그대로 첨가하거나 다른 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 사료 첨가제의 투여 형태는 비독성 제약상 허용 가능한 담체와 조합하여 즉시 방출 또는 서방성 제형으로 제조 할 수 있다. 이러한 식용 담체는 옥수수 전분, 락토스, 수크로스와 콩 플레이트 프로필렌 글리콜일 수 있다. 고체 담체의 경우에는 정제, 산제, 토로키제로 사용될 수 있으며 액체형 담체의 경우 시럽제, 액체 현탁액제, 에멀전제, 용액제 투여 형태일 수 있다. 또한, 투여제는 보존제, 운화제, 용액 촉진제, 안정화제를 함유할 수 있으며 다른 염증 질환 개선제 및 바이러스 예방상 유용한 물질을 함유 할 수도 있다.

[49] 본 발명의 사료 첨가제 조성물은 포유류, 가금류, 어류 및 갑각류를 포함하는 다수의 동물 식이 즉, 사료에 적용할 수 있다. 상업용으로 중요한 돼지, 소, 염소 등의 포유류, 코끼리, 낙타 등의 동물원 동물, 개, 고양이 등의 가축에게 사용할 수 있다. 상업적으로 중요한 가금류에는 닭, 오리, 거위 등이 포함되며 송어와 새우와 같은 상업적으로 사육되는 어류 및 갑각류를 포함 할 수 있다.

[50] 본 발명에 따른 사료 첨가제 조성물을 포함하는 동물용 사료 배합 방법은 사료 첨가제 조성물을 동물사료에 건조 중량 기준으로 1kg 당 약 10g 내지 500g, 바람직하기로는 10g 내지 100g의 양으로 혼합하는 것이다. 또한 사료 혼합물을 완전히 혼합한 후, 매쉬로 공급하거나, 추가가공 공정을 통하여 펠렛화, 팽창화, 압출 공정을 거치는 것이 바람직하다.

[51]

[52] 다른 양태로서, 본 발명은 상기 설명한 사료 첨가제 조성물을 함유하는 사료 조성물에 관한 것이다.

[53] 본 발명의 사료 조성물은 상기 설명한 사료첨가제를 다양한 동물의 사료나 음수의 원료 및 첨가제로 사용할 수 있다.

[54] 본 발명의 사료 조성물은 상기 사료 첨가제 조성물을 전체 조성물 중 0.01 내지 50 중량%, 바람직하기로는 1 내지 20 중량%, 가장 바람직하기로는 10 중량%의 비율로 포함한다.

[55]

[56] 또 다른 양태로서, 본 발명은 울금 추출물 또는 울금 건조 분말, 및 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드를 개체에 투여하여 흰점 증후군 바이러스를 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.

[57] 본 발명에서 용어, "예방"이란 울금 추출물 또는 울금 건조 분말, 및 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드의 투여에 의해 흰점 증후군 바이러스 감염을 억제시키거나 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[58] 본 발명에서 용어, "치료"란 울금 추출물 또는 울금 건조 분말, 및 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드의 투여에 의해 흰점 증후군 바이러스 감염에 의한 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.

[59] 본 발명에서 용어, "개체"란 흰점 증후군 바이러스에 이미 감염되었거나 감염될 수 있는 모든 동물을 의미하고 본 발명의 울금 추출물 또는 울금 건조 분말, 및 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드를 개체에게 투여함으로써, 상기 질환을 효과적으로 예방 및 치료할 수 있다. 특히, 상기 개체는 가금류, 어류 및 갑각류를 포함하는 다수의 동물일 수 있으며, 상업적으로 중요한 돼지, 소, 염소 등의 포유류, 코끼리, 낙타 등의 동물원 동물, 개, 고양이 등의 가축에게 사용할 수 있다. 상업적으로 중요한 가금류에는 닭, 오리, 거위 등이 포함되며 송어와 새우와 같은 상업적으로 사육되는 어류 및 갑각류를 포함 할 수 있다.

[60] 상기 개체에 투여되는 울금 추출물 또는 울금 건조 분말, 및 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드는 조성물 또는 혼합물의 형태로 투여될 수 있으며, 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다.

[61] 상기 투여되는 조성물에는 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다.

[62]

[63] 또 다른 양태로서, 본 발명은 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성 증강용 사료 조성물의 제조에 있어서, 울금 추출물 또는 울금 건조 분말, 및 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드를 포함하는 조성물의 용도를 제공한다.

[64]

발명의 효과

[65] 본 발명은 울금 추출물 또는 울금 건조 분말, 및 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드를 유효성분으로 포함하여 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성을 현저히 증가시켜 질병의 발생을 저하시키고, 질병에 대한 면역력 증가로 인해 양식에 있어서 개체의 생존율을 증가시키고 성장을 촉진시키는 효과를 나타내는 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성 증강용 사료 첨가제 조성물 및 이를 포함하는 사료 조성물을 제공할 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[66] 도 1은 수족관 내에서 본 발명의 사료 첨가제 조성물의 첨가에 의한 동물의 성장 효과를 조사한 결과를 나타내는 사진도이다.

[67] 도 2는 13주 동안 본 발명의 사료 첨가제 조성물을 급이한 새우의 크기와 무게 변화를 확인해 본 결과를 나타내는 사진도이다.

[68] 도 3은 11주 이후에 본 발명의 사료 첨가제 조성물을 첨가한 사료를 급이한 실험군과 본 발명의 사료 첨가제 조성물을 첨가하지 않은 사료를 급이한 대조구를 비교한 결과를 나타내는 사진도이다.

[69] 도 4는 대조구로서 유통되고 있는 시판용 새우(4월 10일 입식, 사육기간 18주)와, 실험군으로서 본 발명의 사료 첨가제를 급이한 실험용 새우(5월 25일 입식, 생육기간 15주)의 발육 상태를 비교해 본 결과를 나타내는 사진도이다.

[70]

발명의 실시를 위한 형태

[71] 이하, 실시예를 통해 본 발명의 구성 및 효과를 보다 더 구체적으로 설명하고자 하나, 이들 실시예는 본 발명의 예시적인 기재일뿐 본 발명의 범위가 이들 실시예에만 한정되는 것은 아니다.

[72]

제조예 1: 울금 추출물의 제조

[74] 건조된 울금(중국산) 2.0 kg에 100% 에탄올(EtOH) 18 ℓ를 가하여 실온에서 2주 동안 방치시킨 후, 여과지로 여과하고 농축하여 울금 조추출물인 유성물질 165 g을 얻었다.

[75]

제조예 2: 스테비아 추출물의 제조

[77] 건조된 스테비아 잎(정읍, 대한민국) 2.0 kg에 100% 에탄올(EtOH) 18 ℓ를 가하여 실온에서 2주 동안 방치시킨 후, 여과지로 여과하고 농축하여 스테비아 조추출물인 유성물질 187 g을 얻었다.

[78]

실시예 1~4: 본 발명의 사료 첨가제 조성물의 제조

[80] 상기 제조예 1 및 2에서 얻은 울금 추출물 및 스테비아 추출물을 하기 표 1과 같은 비율로 혼합하여 본 발명의 사료 첨가제 조성물을 제조하였다. 이를 이후 실험예의 시료로 사용하였다.

[81] 표 1

[Table 1]

구분	울금 추출물(중량부)	스테비아 추출물(중량부)	사료 중 첨가제 배합비(사료/사료첨가제; 중량%)
실시예 1	1	1	90/10
실시예 2	2	1	90/10
실시예 3	1	0	90/10
실시예 4	0	1	90/10

[82]

[83] **실험예 1: 본 발명 사료 첨가제 조성물의 급성 독성 실험**

[84] 본 발명의 사료 첨가제 조성물에 대한 급성 독성을 알아보기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[85] 먼저, 새우 400마리를 수족관에 투하하고, 상기 실시예 1 내지 4에서 제조한 사료 첨가제 조성물을 5일 동안 투여하여 독성 평가를 실시하였다.

[86] 구체적으로, 생육 20일 (1~ 1.5 cm)의 새우 종묘를 구입하여 2주 동안, 수온 21± 2°C, 조명 12L/12D의 수족관(120×40×40 cm)에서 양식하였다. 새우는 실험에 사용되기 전 2주일 정도 순화시켰다. 실험동물용 사료(새우용, (주)우성양어사료, 서울, 대한민국)를 사용하고 수족관 정화 필터를 사용하여 공급하였다. 실험에 사용된 새우 개체수는 수족관당 400마리였다. 일반 사료 100g 당 10g의 사료 첨가제 조성물을 첨가하여 실험용 사료를 제조하였고, 매일 두차례 40g씩 사료를 투여 하였으며 대조군으로는 일반 사료만 급이하였다.

[87] 그 결과를 하기 표 2에 나타내었다.

[88] 표 2

[Table 2]

구분	1일 투여량(g)	생존율
실시예 1	80	350 마리 (87%)
실시예 2	80	320 마리 (80%)
실시예 3	80	330 마리 (82%)
실시예 4	80	320 마리 (80%)

[89]

[90] 상기 표 2를 통해 알 수 있는 바와 같이, 사료 첨가제 조성물을 사료에 10 중량% 첨가하였을 경우 5일 동안 생존율은 80% 이상이였다. 또한, 사료 첨가제 조성물만 투여하였을 경우에도 높은 생존율을 보여, 본 발명의 사료 첨가제 조성물은 독성이 거의 없는 것으로 나타났다. 가장 높은 생존율을 보이는 것은

주원료와 부원료의 비율 즉, 울금 추출물과 스테비아 추출물의 비율이 1:1인 실시예1의 사료 첨가제 조성물인 것으로 나타났다.

[91]

[92]

[93]

실험예 2: 본 발명의 사료 첨가제 조성물이 동물의 성장에 미치는 영향 조사
먼저, 수족관 내에서 본 발명의 사료 첨가제 조성물의 첨가에 의한 동물의 성장
효과를 조사하였다. 이를 위해 생육 20일(1~ 1.5 cm)의 새우 종묘를 구입한 후
2주 동안, 수온 21± 3°C, 조명 12L/12D의 수족관(120×40×40 cm)에서 양식하였다.
대조군과 실험군의 새우는 실험에 사용되기 전 2주일 정도 순화시켰다. 사료
첨가제 조성물로서 실험예 1의 수족관 실험을 통해 독성이 가장 적은 것으로
나타난 실시예 1의 사료 첨가제 조성물을 첨가한 사료를 급이하면서 사육한 후,
8주 후 체장의 길이를 비교하였다. 또한, 대조군로는 일반 사료만 급이하고
비교하였다.

[94]

[95]

그 결과를 하기 표 3 및 도 1에 나타내었다.

표 3

[Table 3]

기간	대조군(cm)	실험군(cm)
4주	0.8±0.2	0.8±0.4
6주	1.6±0.3	1.7±0.2
8주	4.8±0.4	5.1±0.4

[96]

[97]

상기 표 3과 도 1을 통해 알 수 있듯이, 8주 후에는 본 발명의 사료 첨가제
조성물을 첨가하지 않은 일반사료를 급이한 대조군보다 실험군의 발육이 점차
호전되는 성장 효과를 보였으나 유의한 성장은 보여주지 못했다.

[98]

[99]

이에, 본 발명의 사료 첨가제 조성물이 포함된 사료를 사용하여 동물을 장기간
사육시, 동물의 성장 효과에 어떤 영향을 미치는지 확인하였다. 양식장 내에서
본 발명의 사료 첨가제 조성물의 첨가에 의한 동물의 성장 효과를 13주 동안
조사하였다. 이를 위해 실험예 1의 수족관 실험을 통해 독성이 가장 적은 것으로
나타난 실시예 1의 사료 첨가제 조성물을 선정하고, 이를 사료에 첨가하여
사료를 조제하였다. 새우 양식장(5000평)에 13주 동안 본 발명의 사료 첨가제
조성물을 첨가한 사료를 급이하였다. 환경적 변화 요인을 살펴보면 수온은 27±
3°C, 염도는 13.0±1.0, 산성도는 7.0±1.0로 나타났다(표 4).

[100]

표 4

[Table 4]

날짜	수온(°C)	pH	염도
2주	22	6	13
4주	25	7	13
6주	26	7	13
8주	27	7	14
10주	30	8	14
11주	30	8	14
12주	30	7	13

[101]

[102] 13주 동안 본 발명의 사료 첨가제 조성물을 급이한 새우의 크기와 무게 변화를 확인해 본 결과를 하기 표 5와 도 2에 나타내었다.

[103] 표 5

[Table 5]

기간	무게	크기	비고
7월 20일(8주)	4.89±0.5	8.5±2.3	
8월 2일	6.01±0.5	11.2±1.2	
8월 5일	7.37±1.1	11.5±2.1	
8월 6일	7.73±0.2	12.2±0.5	
8월 7일	8.38±1.24	12.5±0.7	
8월 10일	11.91±3.71	13.0±1.2	
8월 11일	14.34±2.02	13.8±1.5	
8월 25일(13주)	15.67±2.17	14.5±1.2	1kg(70마리)

[104]

[105] 상기 표 5와 도 2를 통해 확인할 수 있듯이, 본 발명의 사료 첨가제 조성물을 첨가한 사료를 급이한 실험군에서는 생육기간이 늘어날수록 크기와 무게가 증가함을 알 수 있었다.

[106]

[107] 11주 이후에 본 발명의 사료 첨가제 조성물을 첨가한 사료를 급이한 실험군과 본 발명의 사료 첨가제 조성물을 첨가하지 않은 사료를 급이한 대조군을 비교한 결과를 하기 표 6 및 도 3에 나타내었다.

[108] 표 6

[Table 6]

기간	크기(cm)		무게(g)	
	대조군	실험군	대조군	실험군
8월 11일(11주)	8.5±0.5	13.8±1.5	8.4±0.5	14.34±2.02

[109]

[110] 상기 표 6 및 도 3을 통해 확인할 수 있듯이, 실험군의 평균 크기가 13.8±1.5cm, 무게가 14.3±2.0g으로 나타났고, 대조군에서는 평균 크기가 8.5±0.5cm, 무게가 8.4±0.5g으로 나타났으므로, 본 발명의 사료 첨가제 조성물을 첨가한 사료를 급이한 실험군에서 우수한 성장 효과를 보임을 알 수 있었다.

[111]

[112] 더 나아가, 대조군로서 유통되고 있는 시판용 새우(4월 10일 입식, 사육기간 18주)와, 실험군으로서 본 발명의 사료 첨가제를 급이한 실험용 새우(5월 25일 입식, 생육기간 15주)의 발육 상태를 비교해 본 결과 하기 표 7 및 도 4와 같이 나타났다.

[113]

표 7

[Table 7]

기간	크기(cm)		무게(g)	
	대조군	실험군	대조군	실험군
9월 6일(15주)	13.5±0.5	14.5±0.5	17.5±2.0	21.5±2.1
대조군(시판중인 새우):마리당 17.5g, 1kg당 57마리, 사육기간 18주 실험군(실험용 새우): 최대 27g, 평균 20g, 1kg당 50마리, 사육기간 15주				

[114]

[115] 상기 표 7 및 도 4를 통해 확인할 수 있듯이, 실험용 새우의 가장 큰 경우는 27.0g이었으며 1kg 당 마리수는 실험군이 50마리, 대조군이 57마리 이었다. 또한 무게별 사육기간을 비교해보면 실험군이 매우 월등히 뛰어나다는 것을 알 수 있었다(도 4).

[116]

[117] **실험예 3:** 본 발명의 사료 첨가제 조성물의 WSSV에 대한 내성 증강 효과 조사

[118] 수족관 (120×40×40 cm)을 이용하여 새우를 각각 10마리씩 각각 수용하여 2개의 실험군을 선정하였다. 이중 실험군은 실시예 1의 사료 첨가제 조성물이 첨가된 사료를 급이 하였고, 대조군은 실시예 1의 사료 첨가제 조성물이 첨가되어 있지 않은 사료를 급이하여 비교 관찰을 하였다. 모든군에 흰점 바이러스가 걸린 양식수를 가하여 그후 10일 동안 사육 실험을 하여 생존율에 대한 변화를 관찰 하였다.

[119] 그 결과, 대조군에서는 3일만에 100% 폐사율을 보였으나, 실험군에서는 3일 동안은 생존율이 100%이었으며 7일후 80% 10일 후에는 70%의 생존율을 보여주었다.

[120] 따라서, 상기 결과를 통해 본 발명의 사료 첨가제가 동물의 흰점 증후군 바이러스(WSSV) 감염에 대한 내성을 증가시킬 수 있으며, 이를 이용하여 흰점 증후군 바이러스 감염의 치료 또는 예방용 사료 조성물을 제공할 수 있음을 알 수 있었다.

[121]

산업상 이용가능성

[122] 본 발명은 개체의 생존율을 증가시키고 성장을 촉진시키며, 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성을 증강시킬 수 있는 사료 첨가제 조성물 또는, 이를 포함하는 사료 조성물로 유용히 사용할 수 있다.

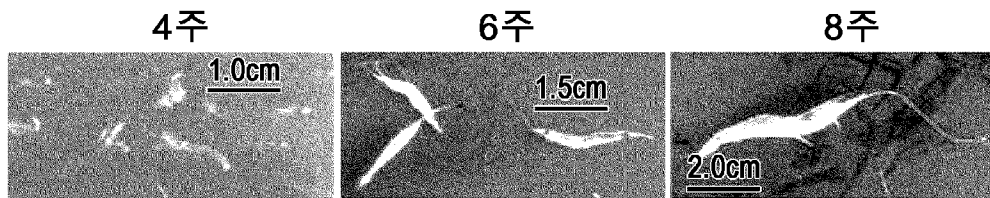
[123]

[124]

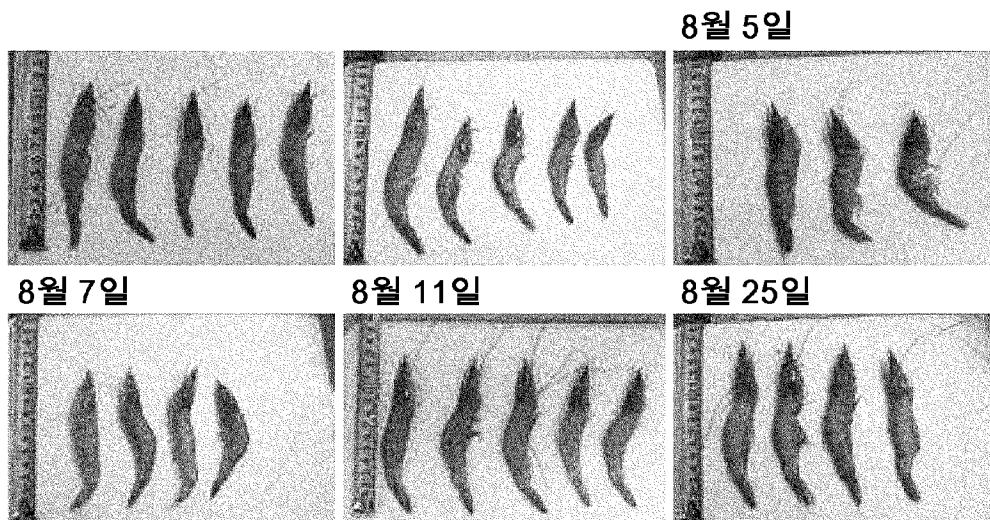
청구범위

- [청구항 1] 울금 추출물 또는 울금 건조 분말, 및 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드를 유효성분으로 포함하는 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성 증강용 사료 첨가제 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 사료 첨가제 조성물은 울금 추출물 또는 울금 건조 분말, 및 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드를 전체 조성물 중 20 내지 50 중량%의 비율로 포함하는 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성 증강용 사료 첨가제 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 울금 추출물 또는 스테비아 추출물은 각각 독립적으로 물, C₁ 내지 C₄의 저급알콜 또는 이들의 혼합용매로 추출하여 얻은 것인, 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성 증강용 사료 첨가제 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 사료 첨가제 조성물은 울금 추출물 또는 울금 건조 분말: 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드가 1:100 내지 100:1의 조성 비율로 포함된 것인, 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성 증강용 사료 첨가제 조성물.
- [청구항 5] 제4항에 있어서, 상기 사료 첨가제 조성물은 울금 추출물 또는 울금 건조 분말: 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드가 1:2 내지 2:1의 조성 비율로 포함된 것인, 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성 증강용 사료 첨가제 조성물.
- [청구항 6] 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 사료 첨가제 조성물을 함유하는 사료 조성물.
- [청구항 7] 제6항에 있어서, 상기 사료 조성물은 사료 첨가제 조성물을 전체 조성물 중 0.01 내지 50 중량%의 비율로 포함하는 사료 조성물.
- [청구항 8] 제6항에 있어서, 상기 사료 조성물은 포유류, 가금류, 어류 또는 갑각류용인, 사료 조성물.
- [청구항 9] 제8항에 있어서, 상기 사료 조성물은 새우용인, 사료 조성물.
- [청구항 10] 울금 추출물 또는 울금 건조 분말, 및 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드를 개체에 투여하여 흰점 증후군 바이러스를 예방 또는 치료하는 방법.
- [청구항 11] 제10항에 있어서, 상기 개체는 포유류, 가금류, 어류 또는 갑각류인 것인 방법.
- [청구항 12] 흰점 증후군 바이러스에 대한 내성 증강용 사료 조성물의 제조에 있어서, 울금 추출물 또는 울금 건조 분말, 및 스테비아 추출물 또는 스테비오사이드를 포함하는 조성물의 용도.

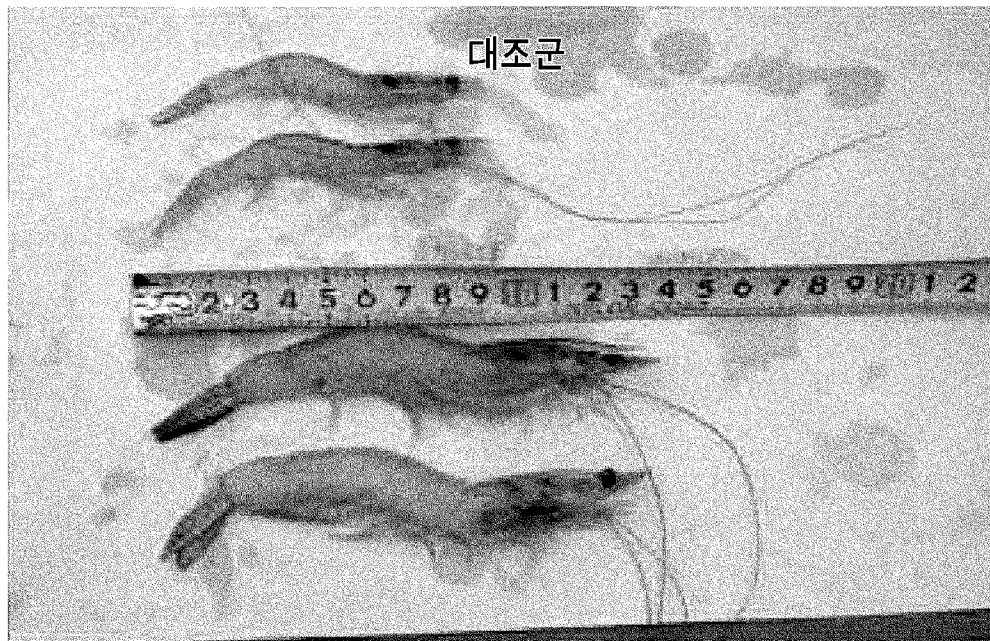
[Fig. 1]



[Fig. 2]



[Fig. 3]



[Fig. 4]

시판용 새우(대조군)

실험용 새우

