

추출용매에 따른 팔각회향의 주성분 함량비교

이아영[#], 김효선, 최고야, 천진미, 문병철, 김호경^{*}

한국한의학연구원 한약자원그룹

Comparison of Major Compounds in *Illicii Veri Fructus* by Extraction Solvents

A Yeong Lee[#], Hyo Seon Kim, Goya Choi,
Jin Mi Chun, Byeong Cheol Moon, Ho Kyoung Kim^{*}

Herbal Medicine Resources Group, Herbal Medicine Research Division, Korea Institute of Oriental Medicine, 1672,
Yuseongdae-ro, Daejeon 305-811, Republic of Korea

ABSTRACT

Objectives : The *Illicii Veri Fructus* was not only traditional medicine but also food in Asia. The aim of this study was selection of optimum solvent in the fruit of *Illicii Veri Fructus* because an appropriate solvent affect a medicinal effect.

Methods : *Illicii Veri Fructus* was carried out ultrasonic-assisted extraction as various solvents. Two main compounds, *p*-anisaldehyde and anethole, were successfully analyzed by high performance liquid chromatography-photodiode array detector (HPLC-PDA) and carried out method validation according to ICH guideline. The optimum solvent selected by comparing with yields of two main ingredients.

Results : The *p*-anisaldehyde and anethole were detected at approximately 8.0 min and 19.8 min, respectively. It was all below 5.0% that RSD of retention time and peak area for two main peaks. Calibration curves of two compounds were good linearity as $R^2 > 0.9999$. All of the precisions and accuracy were good intra-day and inter-day as below 5.0% RSD. Limited of detection (LOD) of *p*-anisaldehyde and anethole were analyzed as 0.134 $\mu\text{g/mL}$ and 4.286 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Limited of quantification (LOQ) of two compounds were 0.407 $\mu\text{g/mL}$ and 12.989 $\mu\text{g/mL}$, respectively. As a result of this study, *p*-anisaldehyde was detected as 0.209 ~ 0.467%, however anethole was not detected in the distilled water.

Conclusions : Anethole was main component as 5.329 ~ 6.815% except for water extraction. Methanol extraction among various solvents was detected the highest contents of *p*-anisaldehyde and anethole as 0.467(± 0.008)% and 6.815(± 0.220)%, respectively.

Key words : *Illicii Veri Fructus*, anethole, *p*-anisaldehyde, HPLC-PDA

서론

Illicium 속은 미국, 멕시코, 동아시아 등지에서 40여 종이 있으며 몇 종은 류마티즘, 피부염증, 거담제, 위장질환 등의 치료를 위하여 전통의약으로 사용되었다^{1,2)}. 그 중 팔각회향은 별모양과 아니스향의 열매로 중국 및 베트남에서 주로 자라며 아시아에서는 향신료로, 라틴아메리카에서는 차로 사용

되고 있다^{3,4)}. 팔각회향(*Illicii Veri Fructus*)은 붓순나무과 (*Illiciaceae*)에 속한 팔각회향 *Illicium verum* Hook. fil.의 열매로서 그대로 또는 끓는 물에 데쳐서 말린 것이며 대회향 등으로도 불린다⁵⁾.

팔각회향의 성분은 정유, sesquiterpenes, phenylpropanoids, liganan 등으로 구성되어 있으며, 특히 정유성분에는 *trans*-anethole, anisaldehyde, limonene, estragole, anisyl

*교신저자 : 김호경, 대전 유성구 유성대로 1672 한국한의학연구원 한약자원그룹

· Tel : 042-868-9502 · E-mail : hkkim@kiom.re.kr

#제1저자 : 이아영, 대전 유성구 유성대로 1672 한국한의학연구원 한약자원그룹

· Tel : 042-868-9521 · E-mail : lay7709@kiom.re.kr

· 접수 : 2013년 10월 28일 · 수정 : 2013년 11월 04일 · 채택 : 2013년 11월 05일

acetate, feniculin, linalool, A-*trans*-bergamotene, 등이 포함되어 있고 *trans*-anethole이 86~93%가량 포함되어 있다. Sesquiterpene류로 veranisations A, B, C, anisatin, meoanisatin 등이 있으며, phenylpropanoids 및 lignan으로는 verimols A, B, C, D, E, F, K 등이 보고되어 있다⁴⁻⁶⁾. *trans*-Anethole은 정유 중 가장 많이 포함되어 있는 성분으로 항산화제, 항염증 치료제, 항발암성 치료제, 마취제 등으로 사용된다⁷⁾. *p*-Anisaldehyde는 식품 향료로 쓰이는 물질로 항진균효과 및 살비효과가 있는 것으로 보고되었다^{8,9)}.

정유를 추출하는 방법으로는 가장 전통적인 증류가 있으며, 최근에는 ultrasonic-assisted extraction (UAE), microwave-assisted extraction (MAE), solid-phase extraction (SPE), solid-phase microextraction (SPME), single-drop microextraction (SDME) 등이 있다¹⁰⁾. 특히 초음파 추출법은 짧은 추출시간, 적은 용매의 사용 등으로 친환경적인 추출법으로 각광받고 있으며, 공정은 식물의 추출에 적용하여 생리활성 및 수율 증진 효과가 있다고 보고되어 있다^{11,12)}.

본 실험에서는 HPLC를 이용하여 팔각회향의 추출 용매에 따른 주성분인 *trans*-anethole과 *p*-anisaldehyde의 함량을 비교하였다. 이는 식물체 내에 존재하는 성분들의 효율에 영향을 미치는 요인으로는 식물 부위, 추출용매의 종류, 용매의 혼합 비율, 추출온도, 등이 있으며, 이는 효능에도 영향을 주는 것으로 알려져 있어¹³⁾, 팔각회향의 최적의 추출 용매를 선정하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료 및 시약

본 실험의 재료는 2012년 1월 대전지역의 한약방인 백제당에서 중국산 유통품을 구입하여 사용하였다(Fig. 1). 시료 구입 후 한국한의학연구원 최고야 박사가 약재 감별을 실시하였고 시료는 한약자원연구그룹 약재 저장실에 보관되어 있다. 분석에 사용한 팔각회향의 표준품인 *p*-anisaldehyde와 anethole은 Wako Pure Chemical 사(Osaka, Japan)와 Sigma-Aldrich 사(St Louis, MO, USA)제품을 구입하여 사용하였고, 추출 용매인 n-hexane, chloroform, ethyl acetate, acetonitrile, acetone, methanol, ethanol, 2-propanol, 1-butanol, distilled water는 J. T. Baker사(Phillipsburg, USA)의 HPLC용 용매를 구입하여 사용하였다.



Fig. 1. Photograph of Illicii Veri Fructus

2. 시료 추출

팔각회향 50 mg을 정확히 측정하여 추출용매 10 mL에

넣고 1분간 흔들어 섞어 초음파 추출기(44 kHz, Branson Co., Danbury, CT, USA)에서 30분간 추출한 후, 15분간 3,000 rpm의 속도로 원심분리하였다. 원심분리 후 상층액 2 mL만 취하여 0.2 μ m의 syringe filter를 통과시켜 HPLC분석에 사용하였다. 모든 분석은 5회 반복 실험 하였다.

3. HPLC 분석

팔각회향의 HPLC분석은 on-line degasser, auto-sampler, quaternary pump로 이루어진 Waters Alliance 2695 system 및 2699 photodiode array detector(Milford, MA, USA)로 이루어진 HPLC를 사용하였다. 분석 후 크로마토그램분석은 Empower software (Waters, Milford, MA, USA)를 사용하여 UV spectra와 머무름 시간을 비교하여 함량분석을 실시하였다. 분석 컬럼은 Luna 5 μ C18(2) 100A (4.6 \times 250 mm, 5 μ m particle size, Phenomenex Inc., Torrance, CA, USA)를 사용하였다. 시료는 3 μ L를 주입하였고, 분석용매로 A는 distilled water, B는 methanol을 사용하여, 0~12분 동안 60~75% B, 12~14분 동안 75~90% B, 14~20분 동안 90~100% B, 20~25분 동안 100%로 분석하였다. 유속은 0.7 mL/min, 분석 파장 범위는 190~500 nm로 각 성분의 최적 파장은 anethole이 254 nm, *p*-anisaldehyde가 280 nm이었다.

4. 분석법 validation

분석법 validation은 ICH 가이드라인에 준하여 직선성, 정확성, 정밀성, 검출한계, 정량한계, 회수율에 대하여 실험을 실시하였다. 세 농도의 표준품을 3회 반복하여 측정하여 면적비에 대한 calibration curve를 작성하여 직선성을 확인하였고, 분석한계와 정량한계 값은 각각 $3.3 \times (\text{SD of response/slope of the calibration curve})$, $10 \times (\text{SD of response/slope of the calibration curve})$ 로 계산하였다. 정밀성과 정확성은 서로 다른 3개의 농도에 대하여 하루 3회 반복측정, 3일간 반복 측정을 통하여 계산하였고, 회수율은 3회 반복한 표준품 첨가법을 통하여 계산하였다.

5. 통계분석

용매별 함량분석 비교를 위한 통계분석 프로그램은 Minitab 16(Minitab Inc., Pennsylvania, USA)으로 일원분산 분석을 사용하였고, 사후 검정은 Turkey 검정방법을 사용하였다.

결 과

1. 분석법 validation

팔각회향의 표준품인 *p*-anisaldehyde은 10.1, 20.2, 30.3 μ g/mL로 조제하였고, anethole은 217, 310, 542.5 μ g/mL로 조제하여 검량선을 작성하여 농도를 계산하였다. *p*-Anisaldehyde는 280 nm에서 최대 흡수파장을 나타내었고, anethole은 254 nm에서 최대 흡수파장을 나타내었다.

표준품 및 팔각회향의 HPLC chromatogram은 Fig. 2와 같이 나타났고, *p*-anisaldehyde는 약 8.0분에서, anethole은 19.8분대에서 검출되었으며, retention time 및 피크 면적에 대한 상대표준편차는 두 성분 모두 5%미만이였다.

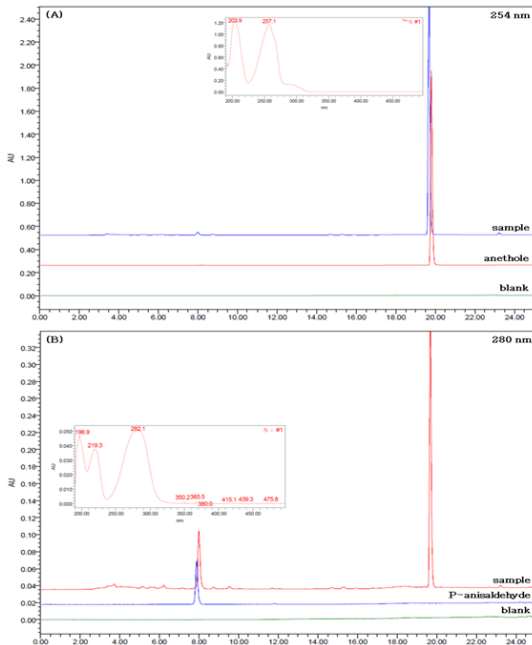


Fig. 2. Chromatogram of Illicium Veri Fructus sample at 254 nm (A) and 280 nm (B)

p-Anisaldehyde와 anethole의 회귀방정식은 각각 $Y = 20,792,805X - 7,258,556$, $Y = 28,799,135X - 1,878,847,786$ 이었고, 회귀계수는 두 성분 모두 1.000이어서 직선성을 만족하였다. 분석한계와 정량한계는 $3.3\sigma/S$, $10\sigma/S$ 법으로 계산하였으며, 여기서 σ 는 분석값의 표준편차, S는 직선방정식의 기울기를 의미한다¹⁴⁾. 직선성, 분석한계, 정량한계에 대한 값은 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Calibration curves, LOD, and LOQ for the *p*-anisaldehyde and anethole

Analyte	Calibration curve	R ²	Linear range (µg/mL)	LOD [*] (µg/mL)	LOQ [†] (µg/mL)
<i>p</i> -Anisaldehyde	$Y = 20,792,805X - 7,258,556$	1.000	10.1-30.3	0.134	0.407
Anethole	$Y = 38,799,135X - 1,878,847,786$	1.000	217-542.5	4,286	12,989

*LOD : abbreviation of limit of detection, $3.3 \times (\text{SD of the response/slope of the calibration curve})$

†LOQ : abbreviation of limit of quantification, $10 \times (\text{SD of the response/slope of the calibration curve})$

정확성과 정밀성은 한 시료 당 3농도로 하루 3회씩 3일간에 걸쳐서 실험을 실시하였다. *p*-Anisaldehyde의 intra-day 정확성은 99.685 ~ 102.003%, inter-day 정확성은 100.658 ~ 101.725%로 계산되었고, intra-day 정밀성은 0.127 ~ 0.391%, inter-day 정밀성은 0.835 ~ 0.997%로 5%의 상대표준편차를 나타내어 정확성과 정밀성이 높음을 알 수 있었다. Anethole의 intra-day 정확성은 98.000 ~ 101.019%, inter-day 정확성은 99.133 ~ 101.605%로 나

타났고, intra-day 정밀성은 0.132 ~ 0.527%, inter-day 정밀성은 0.693 ~ 1.575%의 상대표준편차를 보여 5%이내의 정확성과 정밀성을 나타내었다(Table 2). 회수율은 표준품을 주입하여 회수되는 비율을 계산하였으며, *p*-anisaldehyde는 100.546 ~ 101.955%, anethole은 101.459 ~ 103.898%의 상대표준편차 5% 이내로 높은 회수율을 보였다(Table 3).

Table 2. Intra-day and inter-day precision and accuracy

Analytes	Concentration (µg/mL)	Intra-day (n=3)			Inter-day (n=3)		
		Found (µg/mL)	RSD [†] (%)	Accuracy [‡] (%)	Found (µg/mL)	RSD (%)	Accuracy (%)
<i>p</i> -Anisaldehyde	10.1	10,287	0.127	102,003	10,274	0.939	101,725
	20.2	20,196	0.391	99,685	20,333	0.835	100,658
	30.3	30,513	0.137	100,580	30,822	0.997	101,724
Anethole	217.0	219,211	0.234	101,019	220,482	0.693	101,605
	310.0	308,385	0.132	99,479	311,542	1.036	100,497
	542.5	531,651	0.530	98,000	537,795	1.575	99,133

*RSD : abbreviation of relative standard deviation, $\text{SD}/\text{mean} \times 100$

†Accuracy(%)=[1-(nominal concentrate-mean of concentrate)/nominal concentrate]×100

Table 3. Recovery of *p*-anisaldehyde and anethole by standard addition methode (n=3)

Analytes	Original amounts (µg/mL)	Added amounts (µg/mL)	Detected amounts (µg/mL)	RSD (%)	Recovery [*] (%)
<i>p</i> -Anisaldehyde	13,716	5,178	19,214(±0,365)	1,898	101,696
	13,716	10,241	24,426(±0,125)	0,513	101,955
	13,716	15,538	29,414(±0,148)	0,502	100,546
Anethole	218,326	111,196	335,018(±1,912)	0,571	101,668
	218,326	157,811	390,800(±1,476)	0,378	103,898
	218,326	274,268	499,779(±3,605)	0,721	101,459

*Recovery(%)=[detected amount/(original amount+added amount)]×100

2. 팔각회향의 함량분석

p-Anisaldehyde의 용매별 함량은 0.209 ~ 0.467%로, Table 4에 나타낸 바와 같으며 상대표준편차는 모두 5%이하로 나타났다. Tukey검정법을 사용한 결과, 총 여섯 그룹으로 나뉘었으며 이들 문자를 공유하지 않는 값들은 서로 유의하다.

Anethole의 용매별 함량은 물 추출물에서 거의 검출되지 않은 반면 그 외의 유기 용매 추출물에서 5.329 ~ 6.815%로 주성분으로 검출되었다(Table 4). 검출된 함량의 상대표준편차는 모두 5%이하로 나타났다. 이는 수증기 증류한 팔각회향 추출물에서의 주성분이 anethole이라는 이전의 연구결과와 유사하였다⁴⁾. 이들 용매별 그룹화를 Tukey검정법으로 분석한 결과, 총 네 개의 그룹으로 나뉘었으며, 이들 그룹들의 값은 서로 유의하게 나타났다. 두 성분이 검출되는 용매는 차이가 있었으나, alcohol류에서 비교적 많이 용출되는 경향을 나타냈고, 특히 메탄올에서 가장 높은 함량이 검출되었다.

Table 4. Contents of *p*-anisaldehyde and anethole according to various extraction solvents

Solvents	<i>p</i> -Anisaldehyde		Anethole	
	Mean±SD (n=5)	Post-hoc*	Mean±SD (n=5)	Post-hoc
n-Hexane	0.223(±0.007)	EF	6.012(±0.180)	B
Chloroform	0.209(±0.003)	F	5.933(±0.127)	B
Ethyl acetate	0.231(±0.003)	E	6.135(±0.173)	B
Acetonitrile	0.363(±0.015)	B	5.329(±0.098)	C
Acetone	0.294(±0.002)	D	6.675(±0.134)	A
Distilled water	0.335(±0.009)	C	tr [†]	D
Methanol	0.467(±0.008)	A	6.815(±0.220)	A
Ethanol	0.326(±0.009)	C	6.532(±0.189)	A
2-Propanol	0.465(±0.003)	A	6.716(±0.101)	A
1-Butanol	0.213(±0.007)	F	6.068(±0.250)	B

*Post-hoc by Tukey, p)0.001

†Abbreviation of trace

고찰

Essential oil의 효능에 대한 다양한 논문이 보고되었는데, Chen 등¹⁶⁾은 몰약과 유향으로부터 얻은 essential oil의 항암효능을 밝혔고, Naveed 등¹⁷⁾은 파키스탄에서 사용하는 4종의 향식료에서 얻은 essential oil에서 항균물질을 GC-MS로 분석하였다. 본 연구에서 사용한 팔각회향은 향신료 및 차로 음용 가능한 약재³⁾로 주성분은 anethole로 알려져 있다⁴⁾. Anethole에 대한 약리학적 연구는 다양하게 보고되었으며, Senatore 등¹⁸⁾은 회향 잎에서 anethole이 풍부한 essential oil이 높은 항산화 및 항바이러스 효능을 보이고, Domiciano 등¹⁹⁾은 anethole이 항염증효능을 나타낸다고 보고하였다. Zhai 등¹⁵⁾은 팔각회향의 essential oil을 GC-MS로 분석하였고, Whang 등⁴⁾은 증류법으로 star anise oil을 추출한 결과 86.0 ~ 93.0%가 (E)-anethole이며, 이 essential oil을 분석하는데 GC-MS가 적합한 방법이라는 논문을 인용하여 보고한 바 있다. 팔각회향과 같이 향신료, 화장품 향기성분 및 치료용 목적 등으로 다양하게 활용^{3,4)}되는 재료의 경우, 활용 목적에 따라 추출방법 및 추출용매를 달리하여 활용성을 극대화 할 수 있다. Whang 등⁴⁾의 논문은 일반적인 정유추출방법인 수증기 증류법을 이용하였으나, 본 연구에서는 환경친화적이며, 시간 및 용매의 사용을 단축²⁰⁾시켜 최근 한약재 및 식품의 추출법으로 각광받고 있는 초음파 추출법을 활용하였다. 분석법도 기존의 연구는 대부분 정유성분 분석에 활용하였던 GC를 활용한 반면, 본 연구에서는 HPLC를 이용하였다. 기존 GC는 일반적으로 극성이 낮은 용매추출이 대부분인 반면 HPLC는 용매의 극성폭이 넓어²¹⁾ 활용성면에서 가장 많이 사용되고 있는 방법이므로 본 연구에서는 다양한 용매에서 추출되는 주성분의 함량 분석을 위하여 HPLC를 선정하였다. 실험결과, 팔각회향의 주성분이며, 다양한 효능을 나타내는 anethole과 anethole의 산화물질인 *p*-anisaldehyde의 함량을 HPLC로 분석한 결과, anethole은 물 추출물에서는 분석되지 않았으나, 그 외의 용매에서는 5.329 ~ 6.815%가 검출되었다. HPLC로 검출된 각 피크들의 면적 합을 100으로 보았을 때 물을 제외한 대부분의 유기용매 추출물에서 90% 이상의 면적을 나타내어 Whang 등이 보고한 팔각회향의

review논문의 내용과 일치함을 알 수 있었다.

결론

본 실험은 팔각회향의 주성분인 anethole뿐만 아니라 *p*-anisaldehyde를 최적의 용매로 추출한 후 HPLC-PDA를 이용하여 동시에 분석 할 수 있는 조건을 탐색하여 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. 팔각회향의 정유성분인 *p*-anisaldehyde와 anethole은 GC뿐만 아니라 HPLC로 분석이 가능하며 이들의 최대파장은 각각 280 nm이었고, anethole은 254 nm였다.
2. *p*-Anisaldehyde는 추출용매에 따라 0.209 ~ 0.467%로 검출되었으며, methanol과 2-propanol에서 높은 함량을 나타내었다.
3. Anethole은 물에서는 거의 추출에 되지 않았으며, 그 외의 용매에서는 5.329 ~ 6.815%로 검출되었으며, methanol, 2-propanol, acetone, ethanol에서 가장 높은 함량을 나타내었다.

위의 결과를 토대로 팔각회향의 용매의 추출효율 비교를 위하여 다양한 유기용매를 이용하여 주성분의 함량을 비교한 결과, 팔각회향의 주성분의 함량극대화를 위한 추출법 개발 시, 물을 이용한 추출물의 제조보다는 알콜류를 이용한 추출물의 제조가 효율을 극대화 시킬 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 한국한의학연구원 '한의본초 활용기반 구축사업 (K12020)'의 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

1. De M, De AK, Sen P, Banerjee AB. Antimicrobial properties of Star Anise (*Illicium verum* Hook f). *Phytotherapy Research*, 2002 ; 16 : 94-5.
2. Liu YN, Su XH, Huo CH, Zhang XP, Shi QW, Gu YC. Chemical constituents of plants from the genus *Illicium*. *Chemistry & Biodiversity*, 2009 ; 6 : 963-89.
3. Shen Y, van Beek TA, Claassen FW, Zuilhof H, Chen B, Nielen MWF. Rapid control of Chinese star anise fruits and teas for neurotoxic anisatin by Direct Analysis in Real Time (DART) high resolution mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 2012 ; 1259 : 179-86.
4. Wang GW, Hu WT, Huang BK, Qin LP. *Illicium verum*: A review on its botany, tradition use,

- chemistry and pharmacology. *J Ethnopharmacol*, 2011 ; 136(1) : 10–20.
5. Chung WJ. Anti-inflammatory effect of *Illicium Veri* Fructus water extraction lipopolysaccharide-activated RAW 264,7 macrophages. Kyungwon Univ, 2011.
 6. Lee SO, Park IK, Choi GJ, Lim HK, Jang KS, Cho KY, Shin SC, Kim JC. Fumigant activity of essential oils and components of *Illicium verum* and *Schizonepeta tenuifolia* against *Botrytis cinerea* and *Colletotrichum gloeosporioides*. *J Microbiol Biotechnol*, 2007 ; 17(9) : 1568–72.
 7. Ghasemi Z, Hassanpour-Ezatti M, Kamalinejad M, Janahmadi M. Functional involvement of Ca^{2+} and Ca^{2+} -activated K^+ channels in anethol-induced changes in Ca^{2+} dependent excitability of F1 neurons in *Helix aspersa*. *Fitoterapia*, 2011 ; 82 : 750–6.
 8. Lee HS. *p*-Anisaldehyde: acaricidal component of *Pimpinella anisum* seed oil against the house dust mites *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Planta Med*, 2004 ; 70 : 279–81.
 9. Shreaz S, Bhatia R, Khan N, Muralidhar S, Basir SF, Manzoor N, Khan LA. Exposure of *Candida* to *p*-anisaldehyde inhibits its growth and ergosterol biosynthesis. *J Gen Appl Microbiol*, 2011 ; 57 : 129–36.
 10. Wang L, Liang Y, Wang Z, Qu C, Li D, Shi Y, Zhang H. Ultrasonic nebulization extraction coupled with on-line gas chromatography for determination of *trans*-anethole in spices. *Talanta*, 2009 ; 80 : 864–9.
 11. Kim CH, Kwon MC, Han JG, Ha JH, Jeong HS, Choi GP, Park UY, Nam JH, Hwang B, Lee HY. Immune activities of *Phodiola sachalinensis* A. Bor extracts isolated with various extraction process. *Korean J Medicinal Crop Sci*, 2008 ; 16 : 383–9.
 12. Xia EQ, Ai XX, Zang SY, Guan TT, Xu XR, Li HB. Ultrasound-assisted extraction of phillyrin from *Forsythia suspensa*. *Ultrason Sonochem*, 2011 ; 18(2) : 549–52.
 13. Kim MO, Kim JS, Sa YJ, Jeong HJ, Chun WJ, Kwon YS, Kim TY, Choi HS, Yu CY, Kim MJ. Screening of extraction solvent condition of fermented *Rhus verniciflua* stem bark by antioxidant activities. *Korean J Medicinal Crop Sci*, 2010 ; 18 : 217–23.
 14. Weon JB, Park H, Yang HJ, Ma JY, Ma CJ. Simultaneous quantification of marker components in Ojeok-san by HPLC-DAD. *J Nat Med*, 2011 ; 35 : 375–80.
 15. Zhai Y, Sun S, Wang Z, Cheng J, Sun Y, Wang L, Zhang Y, Zhang H, Yu A. Microwave extraction of essential oils from dried fruits of *Illicium verum* Hook.f. and *Cuminum cyminum* L. using ionic liquid as the microwave absorption medium. *J Sep Sci*, 2009 ; 32 : 3544–9.
 16. Chen Y, Zhou C, Ge Z, Liu Y, Feng W, Li S, Chen G, Wei T. Composition and potential anticancer activities of essential oils obtained from myrrh and frankincense. *Oncol Lett*, 2013 ; 6(4) : 1140–6.
 17. Naveed R, Hussain I, Tawab A, Tariq M, Rahman M, Hameed S, Mahmood MS, Siddique AB, Iqbal M. Antimicrobial activity of the bioactive components of essential oils from Pakistani spices against *Salmonella* and other multi-drug resistant bacteria. *BMC Complement Altern Med*, 2013 ; 13(1) : 265.
 18. Senatore F, Oliviero F, Scandolera E, Tagliatalata-Scafati O, Roscigno G, Zaccardelli M, De Falco E. Chemical composition antimicrobial and antioxidant activities of anethole-rich oil from leaves of selected varieties of fennel [*Foeniculum vulgare* Mill. *ssp. vulgare* var. *azoricum* (Mill.) Thell.]. *Fitoterapia* 2013 ; 90 : 214–9.
 19. Domicano TP, Dalaio MM, Silva EL, Ritter AM, Estevão-Silva CF, Ramos FS, Caparroz-Asset SM, Cuman RK, Bersani-Amado CA. Inhibitory effect of anethole in nonimmune acute inflammation. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2013 ; 386(4) : 331–8.
 20. Tabaraki R, Nateghi A. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of natural antioxidants from rice bran using response surface methodology. *Ultrason Sonochem*, 2011 ; 18(6) : 1279–86.
 21. KIM(fallendog), photolog, Compared of GC and LC. [cited 2007 August 04] ; Available from URL : <http://blog.naver.com/fallendog?Redirect=Log&logNo=50020512828>.