

## 수목 추출성분을 이용한 식품포장용 골판지 천연 방충처리제 개발<sup>1</sup>

배영수<sup>2</sup>

## A Study on the Natural Insectifuge for Food Wrapping Corrugated Board Using Tree Extractives<sup>1</sup>

Young-Soo Bae<sup>2</sup>

### 요 약

본 연구는 식품포장용 골판지에 사용되는 유기합성 구충제를 대체할 수 있는 천연 구충물질을 탐색하기 위하여 수목의 잎이나 수피 또는 목질부에서 화학성분을 추출하고 그 추출물에 대하여 화랑곡나방 유충을 이용한 기피시험을 수행하였다. 아까시나무 목질부와 현사시나무, 수양버들 및 버드나무 수피, 그리고 주목과 비자나무의 잎을 채취하여 아세톤-물(7:3)의 혼합액으로 추출하고 hexane, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, ethylacetate(EtOAc)와 물로 분획하여 동결 건조한 후 Sephadex LH-20 칼럼에서 크로마토그래피를 수행하였으며 단리된 물질들은 NMR 및 MS 분석에 의하여 그 구조를 결정하였다. 각 수종의 EtOAc 또는 수용성 분획은 2% 또는 3% 농도로 인쇄용 잉크에 혼합되어 상업용 골판지에 인쇄하고 이를 기피시험을 위한 재료로 사용하였다. 아까시나무 EtOAc용성 분획에서는 robtin과 dihydrorobinetin이, 수용성 분획에서는 leucorobinetinidin이 단리되었으며 현사시나무 수피의 EtOAc용성 분획은 (+)-catechin, naringenin, aromadendrin, eriodictyol, sakuranetin 및 그 배당체, taxifolin, neosaturanin, *p*-coumaric acid 및 salireposide 그리고 수용성 분획에서는 aesculin을 단리하였다. 버드나무 수피의 EtOAc용성 분획에서는 다량의 (+)-catechin 이외에 (+)-gallocatechin 및 *p*-coumaric acid가 분리되었으며 수양버들 수피의 EtOAc용성 분획에서도 (+)-catechin, (+)-gallocatechin, dihydromyricetin 및 myricetin등이 단리되었다. 주목 잎의 EtOAc용성 분획에서는 다량의 (+)-catechin 이외에 (-)-epicatechin, quercetin 및 kaempferol과 그 배당체가 분리되었다. 비자나무 잎의 EtOAc용성 분획은 대부분이 flavan-3-ol 화합물로서 (+)-catechin 및 (-)-epicatechin과 그 메틸화합물 그리고 (+)-gallocatechin, (-)-epigallocatechin 이외에 소량의 protocatechuic acid를 포함하고 있었다.

화랑곡나방 유충에 대한 기피시험에서는 비자나무의 추출물이 가장 우수한 효과를 나타내었으며 주목의 추출성분도 좋은 결과를 보였으나 다른 수종의 추출성분들은 기피효과가 미약하거나 없는 것으로 나타났다. 따라서 flavan-3-ol 화합물이 다른 종류의 flavonoid 화합물보다 화랑곡나

1. 접수 2001년 11월 2일 Received on November 2, 2001

이 논문은 1999년 한국학술진흥재단 선도연구자 지원사업 연구비에 의하여 연구되었음.

2. 강원대학교 산림과학대학 College of Forest Sciences, Kangwon Nat'l Univ., Chunchon 200-701

방 유충에 대한 기피효과가 매우 탁월함을 알 수 있었다.

## ABSTRACT

This study was carried out to investigate natural insectifuge materials from tree extractives in order to substitute for organic synthetic insecticides for food wrapping corrugated board. Tree samples were collected, extracted, fractionated with hexane,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , ethylacetate(EtOAc) and  $\text{H}_2\text{O}$ , and then freeze dried for further study. EtOAc or  $\text{H}_2\text{O}$  fractions were chromatographed on a Sephadex LH-20 column for isolation and purification, and the isolated compounds were characterized by spectroscopic tools such as NMR and MS. Crude extractives of EtOAc and  $\text{H}_2\text{O}$  fractions were added to the printing ink for corrugated board with the concentration of 2% or 3% based on the weight of the ink, then the prepared ink was printed on the corrugated board to be used for evasion test using larva of indian meal moth(*Plodia interpunctella*(Hubner)). Robtin, dihydrorobinetin and leucorobinetinidin were isolated from the wood extractives of black locust(*Robinia pseudoacacia*) and the bark of poplar(*Populus alba* x *glandulosa*) contained many kinds of compounds such as (+)-catechin, naringenin, aromadendrin, eriodictyol, sakuranetin and its glycoside, taxifolin, neosaturanin, salireposide, p-coumaric acid and aesculin. Much of (+)-catechin was isolated from the bark extractives of willow(*Salix koreensis*) in addition to (+)-galocatechin and p-coumaric acid and the bark of weeping willow(*Salix babylonica*) also contained (+)-catechin, (+)-galocatechin, dihydromyricetin and myricetin. The yew(*Taxus cuspidata*) needles contained a big amount of (+)-catechin in addition to (-)-epicatechin, kaempferol and its glycoside, and quercetin. The torreyia (*Torreya nucifera*) needles also contained many kinds of flavan-3-ol compounds such as (+)-catechin, (-)-epicatechin and their methylated ones including (+)-galocatechin, (-)-epigallocatechin and protocatechuic acid. The evasion test on the larva of indian meal moth indicated that the extractives of torreyia needles shows the best activity and the next is the extractives of yew needles. However, the extractives of the other trees did not indicate any positive activity on the test. This fact means that the high activity of the torreyia and yew needle extractives on the evasion test may be attributed to the high concentration of flavan-3-ol compounds in the extractives.

**Keywords** : Natural insectifuge, extractive, chromatograph, evasion test, larva, indian meal moth, ethylacetate, fraction, flavan, torreyia, yew

## 1. 서 론

오늘날 생활수준 향상으로 가공식품 및 패스트푸드의 수요가 급격히 증가하고 있으나 첨가

제에 기인한 질병유발의 가능성이 상존하며 유통과정 중 미생물 및 해충의 증식과 번식에 의한 부패, 변질의 우려가 매우 큰 실정이다. 유통기간을 연장하기 위하여 각종 방부, 방충제를 포함한 보존제의 사용이 일반화되어 있으나

대부분이 유기합성 보존제로서 안전성 문제가 심각하게 대두되고 있다.

따라서 최근에는 독성이 거의 없으며 안전성이 큰 천연물질을 이용한 보존제의 연구개발에 많은 관심이 집중되고 있으며 수목의 추출성분 중 방향족 화합물로 구성되는 후라보노이드 등의 화합물에 많은 관심이 집중되고 있다

국내에서는 최근 수목의 정유성분을 이용한 천연 향균, 항충성 분부제 등이 개발되어 이용되고 있으나 이들 천연물을 이용한 보존제의 개발에 관한 관심이 아직 미흡한 실정이다.

식품, 청과물 및 생활용품 등의 포장재로 가장 많이 사용되는 골판지 제품은 강도 및 내구성 증진을 위하여 양쪽 liner 사이에 골심지를 삽입하여 공간을 남겨 두는데 이들 공극에 끈충이나 나방들이 산란하여 부화된 유충들이 골판지를 영양원으로 갉아먹거나 구멍을 내는 등의 피해를 주게 되어 저장, 유통 중에 위생 및 식품 안전상 문제를 야기하게 된다. 특히 화랑곡나방이 산란하여 부화된 유충의 피해가 가장 빈번하여 가공식품의 저장, 유통 중 많은 문제를 야기하고 있다.

이들을 구제하는 간단한 방법은 독성 및 효력이 큰 유기합성 약제를 유충이 발생한 골판지 포장재에 살포하거나 표면에 도포하는 것이다. 그러나 이러한 방제법은 식료품 및 청과물 등에 사용되는 포장재의 경우 인체에 치명적인 피해를 주거나 환경 호르몬 등에 의한 문제를 야기시키므로 법률적으로 사용을 규제하고 있다.

따라서 본 연구에서는 유기합성 보존제를 대체할 수 있는 천연 방충물질을 탐색하기 위하여 산림의 주 자원인 수목 및 잎에서 추출성분을 분리하고 이들을 이용한 화랑곡나방 유충의 기피실험을 수행하여 이들 유충을 방제할 수 있는 천연물질을 탐색하고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 2.1. 공시재료

국내에 널리 분포하여 성장하고 있는 활엽수종인 아까시(*Robinia pseudoacacia*), 현사시(*Populus alba* × *glandulosa*), 수양버들(*Salix babylonica*) 및 버드나무(*Salix koreensis*)와 침엽수로 제주도 등지의 중부 이남지역에 주로 분포하고 있는 비자나무(*Torreya nucifera*) 및 고산지대에서 자라는 주목(*Taxus cuspidata*)의 잎을 채취하여 실험재료로 사용하였다. 아까시, 현사시 및 수양버들은 1998년 강원대학교 구내림에서 자라는 생장이 양호한 수목을 선정하여 벌채하였으며 아까시나무의 수령은 20년, 현사시는 18년 그리고 수양버들은 23년이였다. 분버들은 1998년 강원도 인제군 북면 한계령 계곡에서 수령 25년의 수목을 벌채하여 사용하였으며 주목은 1997년 강원도 평창군 소재 발왕산에서 자생하는 주목의 깨끗한 잎을 채취하여 사용하였으며 비자나무 잎은 1997년 경남 남해군 이동면에서 채취하였다. 한편 기피실험에 사용된 화랑곡나방의 유충은 울촌화학(주) 실험실에서 사육한 것을 분양 받아 사용하였다.

### 2.2. 추출물의 조제

공시 활엽수종은 벌채한 후 즉시 박피하고 수피와 목질부를 실험실에서 2주정도 건조한 다음 분쇄하여 추출용 시료로 사용하였으며 비자나무와 주목 잎도 실험실에서 2주간 음건한 다음 분쇄하여 사용하였다. 각각의 분쇄된 추출시료를 10ℓ의 유리용기에 약 1~2kg씩 넣고 아세톤-물(7:3)의 추출용매로 약 3일간 추출하여 추출액을 여과한 후 농축하였다. 충분한 추출물의 양을 얻기 위하여 이러한 과정을 2-3회 반복하였다.

농축된 추출물은 분획 깔때기를 이용하여 hexane, methylene chloride(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), ethylacetate (EtOAc) 그리고 수용성 부분으로 순차적으로 분획한 후 농축, 동결건조하여 분말로 저장하였다. 각 시료의 분획별 추출수율은 표 1과 같다.

Table 1. Yields of each fraction extracted from the experimental samples (Unit : g)

Tree species	Sample weight (kg)	Hexane soluble fraction	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> soluble fraction	EtOAc soluble fraction	H <sub>2</sub> O soluble fraction	Residue	Total
<i>R. pseudoacacia</i> (W)	1.5	-	9.0	31.7	43.7	-	84.4
<i>P. alba</i> × <i>glandulosa</i> (B)	1.5	1.1	10.5	27.4	140.8	71.0	250.8
<i>S. babylonica</i> (B)	1.5	5.2	6.5	21.8	80.6	17.4	131.5
<i>S. koreensis</i> (B)	2.3	5.2	1.9	14.8	274.2	16.4	312.5
<i>T. cuspidata</i> (N)	1.0	-	-	27.6	171.6	-	199.2
<i>T. nucifera</i> (N)	1.5	-	53.3	8.8	132.5	4.9	199.5

W = wood, B = bark, N = needle

### 2.3 칼럼크로마토그래피

EtOAc용성 또는 수용성 분획으로부터 화합물을 분리하기 위하여 여러 가지 길이 및 직경을 가지는 유리 칼럼을 이용하여 크로마토그래피를 수행하였으며 충전물질로는 Sephadex LH-20을 사용하였고 용리용매로는 에탄올 및 메탄올 수용액, 그리고 에탄올-헥산 혼합액을 사용하였다. 칼럼으로부터 떨어지는 용출액은 fraction collector(Gilson FC204)를 이용하여 순차적으로 시험관에 받았으며 화합물의 분리여부는 셀룰로오스 박층크로마토그래피(TLC)로 확인하였다. 각 수종의 EtOAc 또는 수용성 분획은 아래와 같은 과정을 통하여 순수한 화합물을 분리하였다.

#### 2.3.1 아까시나무 목질부 추출성분

아까시나무 목질부 에틸아세테이트용성 분획 추출물 20g을 에탄올-헥산(2:1)을 용리용매로 사용하여 칼럼크로마토그래피를 실시하고 3개의 분획으로 구분하여 E-1 2.59g, E-2 14.38g 및 E-3 0.45g을 얻었으며 E-2를 메탄올-물(1:1)로 재크로마토그래피를 수행하여 robtin(152mg)과 dihydrorobinetin(2.59g)을 분리하였다.

한편 수용성 분획 15g을 먼저 메탄올-물(1:1)을 용리용매로 크로마토그래피를 실시하여 4개의 분획으로 구분하여 W-1 8.01g, W-2 4.27g, W-3 0.3g 및 W-4 0.8g을 얻었으며 W-2에 대하여 에탄올-헥산(4:1)과 물로 재크로마토그래

피를 수행하여 적갈색 분말의 leucorobinetinidin 722mg을 얻을 수 있었다.

#### 2.3.2 현사시나무 수피 추출성분

현사시나무 수피 에틸아세테이트용성 분획 추출물 60.13g을 메탄올-물(5:1)의 용매를 사용하여 칼럼크로마토그래피를 실시하여 4개의 분획으로 나누었으며, 각 분획은 HBE로 명명하였고 동결건조 하여 얻은 추출물의 양은 HBE 1은 2.47g, HBE 2는 31.00g, HBE 3은 18.39g 그리고 HBE 4는 0.71g 이었다.

또한 수용성 분획 추출물 22.80g을 메탄올-물(1:3)의 용리용매로 칼럼크로마토그래피를 수행하여 3개의 분획으로 분리하였고 HBW로 표시하였으며 HBW 1은 4.93g, HBW 2는 16.69g 그리고 HBW 3은 0.76g을 각각 얻었다.

각 부분에 대하여 계속적인 칼럼크로마토그래피를 실시하여 에틸아세테이트용성 분획에서는 (+)-catechin(30mg), naringenin(123mg), eriodictyol(20mg), sakuranetin(287mg), aromadendrin(207mg), taxifolin(56mg), sakuranetin-5-O-β-D-glucopyranoside(194mg), neosaturanin(73mg), p-coumaric acid(68mg), salireposide(1.85g)를 분리하였고 수용성 분획에서는 aesculin(35mg)를 분리하였다.

#### 2.3.3 버드나무 수피 추출성분

버드나무 수피 에틸아세테이트용성 분획 추출물 14.80g을 메탄올-물(4:1)의 용리용매로 칼

럼크로마토그래피를 수행하였고 4개의 분획으로 분리하였다. 각 분획은 BBE로 표시하였으며 BBE 1은 2.34g, BBE 2는 10.30g, BBE 3은 0.61g 그리고 BBE 4는 1.03g을 얻을 수 있었다.

각 부분들에 대한 계속적인 칼럼크로마토그래피로 (+)-catechin(4.09g), (+)-gallocatechin(102mg)와 *p*-coumaric acid(25mg)을 단리하였다.

### 2.3.4 수양버들 수피 추출성분

수양버들 수피의 에틸아세테이트용성 분획 추출물 20.67g을 메탄올-물(4:1)의 용리용매로 칼럼크로마토그래피를 수행하였고 5개의 분획으로 분리하였다. 각 분획은 SBE로 표시하였으며 SBE 1은 4.40g, SBE 2는 12.83g, SBE 3은 1.19g, SBE 4는 1.05g 그리고 SBE 5는 0.01g을 얻었다.

각 분획에 대한 계속적인 칼럼크로마토그래피로 화합물 (+)-catechin(426mg), (+)-gallocatechin(39mg), dihydromyricetin (970mg)과 myricetin(225mg)를 단리하였다.

### 2.3.5 주목 잎 추출성분

에틸아세테이트용성 추출물 17g을 메탄올-물(1:1)의 혼합액으로 칼럼 크로마토그래피를 실시하여 T1, T2와 T3인 세 개의 분획으로 나누었으며 이중 T1과 T2에서 다량의 침전물이 형성되어 물을 이용한 재결정법으로 (+)-catechin 3.8g을 얻을 수 있었다. 또한 나머지 분획에 대하여 에탄올-hexan(2:1 및 4:1)으로 재크로마토그래피를 실시하여 소량의 (-)-epicatechin을 분리하였다.

한편 수용성 분획 67g을 메탄올-물(1:1)로 크로마토그래피를 실시하여 TW-1(52.5g), TW-2(8.9g), TW-3(0.9g), TW-4(0.2g) 및 TW-5(1.3g)로 분리한 후 에탄올-hexan(2:1)의 혼합액으로 재크로마토그래피를 실시하여 quercetin 및 kaempferol 배당체 화합물인 quercetin-3-O-arabinopyranosyl-(1''→6'')-glucoside와 kaempferol-3-O-arabinopyranosyl-(1''→6'')-glucoside를 단리하였다.

### 2.3.6 비자나무 잎 추출성분

에틸아세테이트용성 분획 추출물 8.4g을 메탄올-물(2:1, v/v) 혼합액으로 칼럼크로마토그래피를 실시하여 6개의 fraction으로 분리하여 각 분획을 JE로 명명하였으며 동결건조하여 얻은 추출물의 양은 JE-1 0.21g, JE-2 0.54g, JE-3 1.20g, JE-4 3.51g, JE-5 1.60g, JE-6 1.01g 이었다. 이후 JE-4에 대한 연속적인 재크로마토그래피를 수행하여 JE-412에서 (+)-catechin(178mg), JE-411222에서 (-)-epicatechin(132mg), JE-411231에서 (+)-gallocatechin(21mg)과 (-)-epicatechin(34mg) 그리고 JE-411221에서 3'-O-methyl-(+)-catechin(6mg)과 3'-O-methyl-(-)-epicatechin(12mg)을 얻었으며 JE-4111에서 메탄올-물(1:5, v/v)에 1시간 정치시킨 후 얻은 노란색 결정을 정제하여 benzoic acid계의 화합물 protocatechuic acid(41mg)을 얻었다.

## 2.4 화합물의 구조 결정

분리된 화합물의 단리여부를 확인하기 위하여 셀룰로오스 박층크로마토그래피(TLC)를 사용하였으며 전개용매의 이동거리에 대한 화합물의 이동거리로 화학적 이동값 R<sub>f</sub>를 구하였다.

전개용매로 t-butanol-초산-물(3:1:1, v/v/v)을 사용하였고 이것을 solvent A로 하였으며 6% 초산을 solvent B로 하였다. 또한 UV 램프(ENF-240C, 254nm 및 365nm)하에서 전개용매에 전개시킨 TLC 판을 관찰하여 화합물의 존재를 확인하였으며 발색반응 관찰을 위하여 vanillin-HCl용액을 발색제로 사용하였다.

단리된 화합물들의 구조결정을 위하여 Bruker 400MHz NMR spectrometer를 사용하여 <sup>1</sup>H-NMR과 <sup>13</sup>C-NMR을 측정하였고 분석용매로는 methanol-d<sub>4</sub>를 사용하였다. 분리된 화합물의 분자량은 Micromass사의 Autospec M363 질량분석기기를 사용하여 positive FAB-MS 스펙트럼으로 확인하였다.

2.5. 기피실험

2.5.1. 기피실험용 시료의 제조

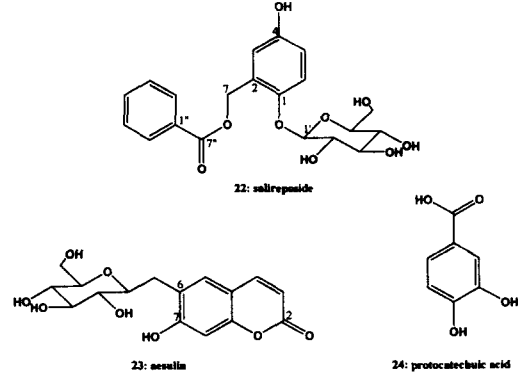
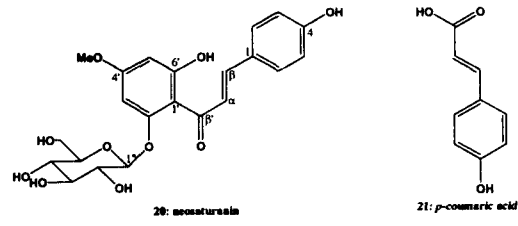
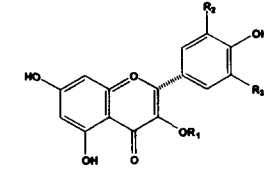
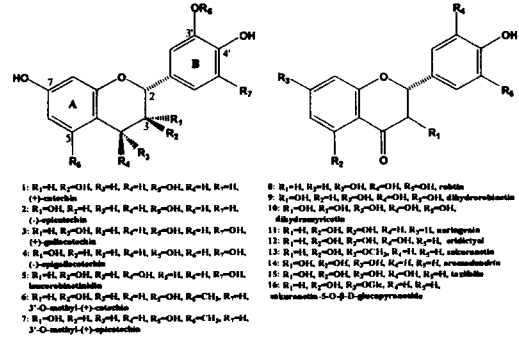
분말상태로 만들어진 각 추출물을 유기용매 또는 증류수에 녹여 골판지 인쇄에 사용되는 잉크에 2% 또는 3%로 혼합하여 상업용 골판지에 인쇄하였다. 추출물이 함유되어 인쇄된 판지를 가로 세로 약 3~5cm 정도의 작은 조각으로 자른 후 라면 부스러기와 함께 혼합하여 사래에 담고, 무처리 잉크로 인쇄된 골판지를 사용하여 동일한 조건으로 다른 사래에 담았다.

2.5.2. 화랑곡나방 유충을 이용한 기피실험

기피실험에 사용된 chamber는 일정한 온도(30℃)와 습도(75%)가 유지되도록 조절되는 직경 30cm 이상의 유리용기를 사용하였고 한쪽 구석에 기피실험에 사용되는 사래 시료를 놓고, 다른 한쪽에는 무처리 잉크로 인쇄된 시료를 놓았다.

실험실에서 부화시켜 성장한 화랑곡나방의 유충(*Plodia interpunctella*(Hubner)) 20~30마리를 가운데 배치하여 유충들이 시료를 찾아 갈 수 있도록 하였다. 기피실험의 분석은 화랑곡나방의 유충이 먹이를 찾아 이동해 갈 수 있도록 24시간 동안 방치한 후 각각의 시료로 이동해 간 유충의 수를 파악하였다.

EtOAc 및 물 분획으로 화랑곡나방의 유충을 이용한 기피실험을 수행하여 이 분획이 가지는 기피효과를 측정하였다.



III. 결과 및 고찰

아까시나무 목질부와 현사시나무, 버드나무 및 수양버들 수피 그리고 주목과 비자나무의 잎으로부터 추출성분을 추출하고 hexane, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, EtOAc 및 물 등의 용매로 분획한 후 그 중 EtOAc 및 물 분획에 대한 칼럼크로마토 그래피를 수행하여 각 성분을 분리하고 NMR 분석을 실시하여 분리된 화합물의 구조를 동정하였다. 그리고 각 수종의 추출 분획 중

3.1. 추출성분의 구조결정

3.1.1. 아까시나무 목질부 추출성분

아까시나무 목질부의 EtOAc용성 분획으로부터 flavanone 화합물인 robtin(8)과 dihydro-robinetin(9)을 분리하여 그 구조를 규명하였다. 아까시나무 목질부 추출성분중 가장 많은 함유량을 나타내는 것은 robinetin과 dihydro-robinetin으로서 본 실험에서도 dihydro-robinetin이 가장 많은 양으로 단리되어 Roux와 Paulus(1962)에 의하여 보고된 결과와 유사하였다. 또한 화합물 8과 9의 화학적 이동값(Rf)과 NMR 및 MS data는 다른 연구자들에 의하여 이미 보고된 결과와 동일하였다(Agrawal, 1989; Roux와 Paulua, 1962; Roux 등, 1976). 한편 수용성 분획에서는 flavan-3,4-diol 화합물인 leucorobinetinidin(5)을 단리하고 이 화합물에 대하여 김(1999) 및 배와 함(2000)등에 의하여 보고된 NMR 및 MS data와 비교하여 동일한 구조임을 확인하였다.

3.1.2. 현사시나무 수피 추출성분

현사시나무 수피의 EtOAc용성 분획에서는 여러 가지 종류의 화합물들이 단리되어 그 구조가 규명되었다. 먼저 flavan-3-ol 화합물인 (+)-catechin(1)이 미량으로 존재하고 있었으며 naringenin(11), eriodictyol(12), sakuranetin(13), aromadendrin(14) 및 taxifolin(15)등 여러 가지 종류의 flavanone 화합물이 단리되었다. 본 실험을 통하여 단리된 flavanone 화합물들은 이미 많은 연구자들에 의해 그 구조가 밝혀진 바 있으며 국내에서도 Ham과 Bae(1995)에 의해 이들 화합물에 대한 NMR 및 MS 분석을 통한 구조 규명이 이루어진 바 있다. 아울러 flavanone 배당체 화합물인 sakuranetin-5-O-β-D-glucopyranoside(16)도 NMR 및 MS 분석에 의하여 그 구조가 확인되었다. 이들 화합물 이외에 chalcone 화합물인 neosaturanin(20), salicin 유도체 화합물인 salireposide(22) 그리고 유기산의 일종인 p-coumaric acid(21)등도

추출성분에 포함되어 있었으며 기존의 연구에 의하여 그 구조가 밝혀진 화합물들이다(Erickson, 1970; 배와 함, 2000). 사시나무속 수종 수피의 추출성분에 살리신산 및 그 유도체들이 다량으로 포함되어 있다는 보고(Pearl, 1969)와 같이 salireposide가 가장 많은 양으로 단리되어 본 연구 결과도 이러한 사실과 일치하고 있음을 알 수 있었다. 한편 수용성 분획에서는 사시나무속 수종에서는 보고된 바 없는 coumarin 배당체 화합물인 aesculin(23)이 소량 단리되었다(Matsuda와 Kikuchi, 1995).

3.1.3. 버드나무 수피 추출성분

버드나무 수피의 EtOAc용성 추출물에 대한 칼럼 크로마토그래피를 통하여 축합탄닌의 최소단위를 구성하는 flavan-3-ol 화합물인 (+)-catechin(1)이 다량으로 분리되었으며 또한 (+)-gallocatechin(3)도 분리되어 그 구조를 규명하였다. 이들 화합물 이외에 유기산의 일종인 p-coumaric acid(21)가 소량으로 단리되어 구조가 확인되었다(함, 2000).

3.1.4. 수양버들 수피 추출성분

수양버들 수피의 EtOAc용성 추출물로부터 flavan-3-ol 화합물인 (+)-catechin(1)과 (+)-gallocatechin(3)을 단리하여 구조를 확인하였으며 그 이외에 flavanone 화합물인 dihydro-myricetin(10)과 flavone 화합물인 myricetin(19)을 분리하여 그 구조를 규명하였다(함, 2000).

3.1.5. 주목 잎 추출성분

주목 잎의 추출성분중 EtOAc용성 분획에 대한 칼럼 크로마토그래피를 실시하여 flavan-3-ol 화합물인 (+)-catechin(1)을 다량으로 분리하였으며 그 이외에 소량의 (-)-epicatechin(2)도 함께 단리되었다. 또한 수용성 분획에서는 flavone 배당체 화합물인 quercetin-3-O-arabinopyranosyl-(1'''-6'')-glucoside(17)와 kaempferol-3-O-arabinopyranosyl-(1'''-6'')-glucoside(18)가 단리되었으며 Ham 등(1997)에 의

하여 보고된 NMR data와 동일한 값을 나타내고 있었다.

### 3.1.6. 비자나무 잎 추출성분

비자나무 잎의 EtOAc용성 추출성분으로부터 다량의 flavan-3-ol 화합물들이 분리되어 구조가 결정되었다. 먼저 (+)-catechin(1)이 가장 많은 양으로 존재하고 있었으며 (-)-epicatechin(2)도 비슷한 양으로 분리되었다. 또한 flavan 구조의 B환에 세 개의 OH group이 치환되어 있는 구조를 가지는 (+)-gallocatechin(3)과 (-)-epigallocatechin(4)도 함께 단리되어 Foo 등(1997)이 초본식물에서 분리한 화합물 1, 2, 3, 및 4와 동일한 NMR data를 나타내고 있었다. 또한 (+)-catechin과 (-)-epicatechin의 OH에 CH<sub>3</sub> group이 치환된 3'-O-methyl-(+)-catechin(6)과 3'-O-methyl-(-)-epicatechin(7) 화합물도 함께 분리되었으며 이들은 Morimoto 등(1985)이 보고한 NMR data와 동일한 값을 나타내었다. 이들 flavan 화합물들은 축합형 탄닌의 기본단위로서 단량체로 존재하거나 2량체나 3량체 또는 그보다 큰 단위로 결합하여 procyanidin 화합물을 구성하고 있다(Peterit, 1991). 따라서 본 실험에 의하여 비자나무 잎의 EtOAc용성 추출성분은 대부분 flavan-3-ol 및 그 유도체로 구성되어 있음을 알 수 있었으며 이와 같은 결과는 목본식물에서는 매우 이례적인 추출성분 조성을 나타내고 있는 것이다. 한편 수용성 분획에서는 benzoic acid 계통의 유기산인 protocatechuic acid(24)가 소량으로 단리된 것 이외에는 다른 화합물들은 분리되지 않았다.

## 3.2. 화랑곡나방 유충을 이용한 기피시험

### 3.2.1. 아까시나무 목질부 및 현사시나무 수피부 수용성 추출물

아까시나무 목질부 수용성 및 현사시나무 수피부 수용성 2% 추출물을 인쇄용 잉크에 첨가하여 골판지를 제조한 후 동일한 chamber에서

동시에 기피실험을 한 결과 표 2에서 보는 바와 같이 화랑곡나방 유충에 대한 기피효과가 없는 것으로 나타났으며 오히려 무처리 시료보다도 많은 유충들이 모여들었다.

수용성 추출물은 많은 양의 탄수화물과 그 유도체를 포함하고 있으며 이들이 화랑곡나방 유충들에 대해 기피효과를 나타내기보다는 오히려 유인효과를 유발하는 것으로 생각된다.

더욱이 아까시나무 수용성 추출성분인 화합물 5와 현사시나무 수피의 수용성 성분인 화합물 23은 항균성이 없는 물질로 두 수종의 수용성 분획의 주요한 성분인 이들이 화랑곡나방의 유충에 대하여 기피효과를 나타내기 어려운 것으로 생각된다. 그러나 버드나무 및 사시나무 속의 수종들은 그 추출성분 중 많은 양의 살리실산 및 그 유도체 화합물을 포함하고 있으며(Pearl, 1969) 이들은 의약품으로의 이용 가능성이 매우 큰 화합물로서 높은 항균성을 지니고 있는 것으로 알려져 있다(김, 1997). 또한 이와 김(1990)은 현사시나무 수피의 열수 추출물이 소나무의 리지나 뿌리썩음병을 방제하는데 탁월한 효과가 있음을 보고한 바 있으나 현사시나무 수피의 추출성분은 화랑곡나방의 유충에는 뚜렷한 억제효과를 나타내지 못하는 것으로 생각된다.

### 3.2.2. 아까시나무 목질부 및 현사시나무 수피부 EtOAc용성 추출물

아까시나무 목질부 및 현사시나무 수피 EtOAc용성 2% 추출물을 인쇄 잉크에 첨가하여 인쇄된 골판지에 대한 기피실험 결과는 표 2에서 보는 바와 같이 아까시나무 목질부 EtOAc용성 추출물은 화랑곡나방 유충에 대한 기피효과가 없었으며, 현사시나무 수피 EtOAc용성 분획은 미세한 기피효과를 나타내었으며 이를 확인하기 위하여 재실험을 실시하였으나 표 2에 나타난 바와 같이 무처리 시료보다 많은 유충들이 모여들어 기피효과가 없는 것으로 판단되었다. 그러나 아까시나무는 목재의 부후균에 대한 내후성이 매우 큰 수종으로 심재부



Table 2. Results of the evasion test on EtOAc and H<sub>2</sub>O soluble fractions obtained from the extractives of samples trees

Fractions		Number of larva	Replication				Total
			1st	2nd	3rd	4th	
H <sub>2</sub> O Soluble	<i>R. Pseudoacacia</i> (W)(2%)		9	11	12		32
	<i>P. alba</i> × <i>glandulosa</i> (B)(2%)		7	8	9		24
	Control		4	4	5		13
EtOAc Soluble	<i>R. Pseudoacacia</i> (W)(2%)		16	6	14		36
	<i>P. alba</i> × <i>glandulosa</i> (B)(2%)		7	2	9		18
	Control		7	12	11		30
	<i>S. babylonica</i> (B)(3%)		2	2	3	5	12
	<i>T. nucifera</i> (N)(3%)		2	0	0	1	3
	Control		4	5	4	12	25
	<i>T. cuspidata</i> (N)(3%)		1	7	2	3	13
	<i>S. Korensis</i> (B)(3%)		10	15	10	12	47
	Control		8	15	5	6	34

W = wood, B = bark, N = needle

의 주요한 추출성분으로 알려져 있는 robinetin 과 dihydrorobinetin의 높은 함량에 기인하는 것으로 보고되고 있다(Hart, 1989; Schultz, 1995). 또한 현사시나무의 EtOAc용성 분획에 포함되어 있는 화합물들도 높은 항균 활성을 지니고 있는 것으로 알려져 있으나 이러한 추출성분이 화랑곡나방의 유충에 대해서는 충분한 기피효과를 나타내지 못하는 것으로 여겨진다.

3.2.3. 수양버들 수피 및 비자나무 잎 EtOAc 용성 추출물

수양버들 수피 및 비자나무 잎의 EtOAc용성 추출물을 3% 농도로 인쇄 잉크에 첨가한 후 실시한 기피실험은 표 2에서 보는 바와 같이 수양버들 수피 추출물은 약간의 기피효과를 나타내었으나 비자나무 잎 추출물은 유충이 거의 없는 우수한 기피효과를 나타냈다. 이를 확인하기 위하여 재실험을 실시하였으며 표 2에서 보는 바와 같이 무처리 시료보다 우수한 기피효과를 나타냈다. 수양버들도 버드나무 속 수종의 하나로 항균성이 큰 살리실산 및 그 유도체 화합물을 많이 포함하고 있으나(Pearl, 1969)

현사시나무와 마찬가지로 이들 성분이 화랑곡나방의 유충에 대한 기피효과를 나타내지 못하는 것으로 생각된다. 한편 비자나무 EtOAc용성 추출물은 소량의 protocatechuic acid를 제외하고 대부분이 flavan-3-ol 및 그 유도체 화합물로 구성되어 있는 바 이들이 화랑곡나방 유충이 기피하는 물질임을 추정할 수 있었다. 더욱이 수양버들 수피의 EtOAc용성 분획도 약간의 기피효과를 가지고 있었으며 이 분획에서도(+)-catechin과 (+)-galocatechin이 단리되어 이 화합물들이 화랑곡나방의 유충이 기피하는 성분임을 확인할 수 있다.

3.2.4. 주목 잎 및 버드나무 수피의 EtOAc 용성 추출물

주목 잎 및 버드나무 수피의 EtOAc용성 추출물을 3% 농도로 인쇄 잉크에 첨가하여 실시한 기피효과 실험은 표 2와 같이 버드나무 수피의 EtOAc용성 분획은 기피효과 보다는 유인효과가 더 큰 것으로 나타났으나 주목 잎의 EtOAc용성 분획의 기피효과는 우수함을 알 수 있었다. 버드나무의 수피는 주목, 비자나무 및 수양버들의 추출성분에 포함되어 있는

(+)-catechin을 다량으로 함유하고 있으며 그 이외에 소량의 (+)-gallocatechin도 포함하고 있었다. 그러나 이 수종의 추출물은 이미 언급한 세 수종과 달리 유충에 대한 기피효과를 전혀 나타내지 못하고 있어 아직 규명되지 않은 다른 성분들이 유충을 유인하는 특성을 지니고 있는 것으로 사료된다. 한편 주목 잎도 다량의 flavan-3-ol 화합물을 함유하고 있어서 비자나무의 경우와 같이 우수한 기피효과를 나타내고 있었다

### III. 결 론

식품 포장용 골판지를 가해하여 피해를 주는 화랑곡나방 및 그 유충을 구제하기 위한 방어의 하나로 수목의 잎이나 수피 또는 목질부에서 추출성분을 단리하여 그 구조를 규명하고 이들을 이용하여 화랑곡나방 유충의 기피효과를 측정할 결과는 다음과 같다.

1. 아까시나무 목질부의 EtOAc용성 분획에서 robtin과 dihydrorobinetin을 단리하였으며 수용성 분획에서는 leucorobinetinidin이 추출되었다.
2. 현사시나무 수피의 EtOAc용성 분획으로부터 flavan-3-ol 화합물인 (+)-catechin과 flavanone 화합물인 taxifolin, naringenin, aromadendrin, eriodictyol, 그리고 sakuranetin과 그 배당체 화합물, 그 이외에 neosaturanin, salireposide 및 *p*-coumaric acid가 단리되었으며 수용성 분획에서는 소량의 aesculin이 추출되었다.
3. 버드나무 수피의 EtOAc용성 분획에서는 flavan-3-ol 화합물인 (+)-catechin과 (+)-gallocatechin이 단리되었으며 소량의 *p*-coumaric acid도 포함되어 있었다.
4. 수양버들 수피의 EtOAc용성 분획에도 flavan-3-ol 화합물인 (+)-catechin과 (+)-gallocatechin이 포함되어 있었으며 그

이외에 dihydromyricetin과 myricetin을 함유하고 있었다.

5. 주목 잎의 EtOAc용성 분획에서 (+)-catechin과 (-)-epicatechin이 단리되었으며 수용성 분획에는 quercetin, kaempferol 및 그들의 배당체 화합물이 포함되어 있었다.
6. 비자나무 잎의 EtOAc용성 분획은 소량의 protocatechuic acid를 제외하고는 모두 flavan-3-ol 화합물과 그들의 메틸화합물로 구성되어 있었다.
7. 화랑곡나방의 유충을 이용한 기피실험에서는 비자나무 잎의 추출성분이 가장 우수한 결과를 나타내었으며 다음으로는 주목 잎의 추출성분이 우수한 기피효과를 보였다. 다른 수종들은 기피효과가 미약하거나 없었으며 내후성이 우수한 아까시나무의 추출성분도 기피효과를 나타내지 않았다.
8. 비자나무와 주목 잎의 추출성분이 화랑곡나방의 유충을 이용한 기피시험에서 가장 우수한 효과를 나타내고 있는 것은 이들 수종의 추출물에 포함된 높은 함량의 flavan-3-ol 화합물에 기인하는 것으로 생각된다.

### 참고문헌

1. Agrawal, P. K. 1989. Carbon-13 NMR of flavonoids. Elsevier.
2. Erickson, R. L., I. A. Pearl and S. F. Darling. 1970. Populoside and grandidentoside from the bark of *Populus Grandidentata*. *Phytochemistry*. 18(9): 857-863.
3. Foo, L. Y., Y. Lu, W. C. Mcnabb, G. Waghorn and M. J. Ulyatt. 1997. Proanthocyanidins from *Lotus pedunculatus*. *Phytochemistry*. 45(8):1689- 1696.
4. Ham, Y. H., W. G Park, S. S. Han and Y. S. Bae. 1997. Flavonoid glycosides

- from needles of *Taxus cuspidata*(Taxaceae). Mokchaekonghak. 25(2):45-51.
5. Ham, Y. H. and Y. S. Bae. 1995. Flavonoid extractives of *Populus albaglandulosa*. Mokchaekonghak. 23(2):94- 99.
  6. Hart, J. H. 1989. The role of Wood Exudates and Extractives in Protecting Wood from Decay : In Natural Products of Woody Plants II (Rowe J.W.(ed.)). 869.
  7. Matsuda, N. and M. Kikuchi. 1995. A Coumarin glycoside from *Lonicera gracilipes* var. *glandulosa*. Phytochemistry. 38(3):803-804.
  8. Morimoto, S., G. Nonaka, I. Nishioka, N. Ezaki and N. Takizawa. 1985. Tannins and Related Compounds. XXI. Seven New Methyl Derivatives of Flavan-3-ols and a 1,3-Diarylpropan-2-ol from *Cinnamomum cassia*, *C. obtusifolium* and *Lindera umbellata* var. *membranacea*. Chem. Pharm. Bull. 33(6):2281-2286.
  9. Pearl, I. A. 1969. Water extractives of American *Populus* pulpwood species barks - a review. Tappi. 52(3):428-431.
  10. Petereit, F., H. Kolodziej and A. Nahrstedt. 1991. Flavan-3-ols and proanthocyanidins from *Cistus incanns*. Phytochemistry. 30(3):981-985.
  11. Roux D. G., D. Ferreira, and J. J. Botha. 1976. Heartwood Extracts The Black Wattle (*Acacia Mearnsii*) As a Possible Source of Resorcinol. Applied Polymer Symposium. 28:1365-1376.
  12. Roux D. G. and E. Paulus. 1962. Condensed tannins : 12 Polymeric leucofisetinidin tannins from the heartwood of *Acacia Mearnsii*. Biochem. J. 28:320.
  13. Schultz, T. P., W. B. Harms, T. H. Fisher, K. D. McMurtrey, J. Minn and D. D. Nicholas. 1995. Durability of Angiosperm Heartwood : The Importance of Extractives. *Holzforschung* 49(1):20-34.
  14. 김병희. 1997. 성문 이화학사전. 한국사전연구사. 576.
  15. 김진규. 1999. 아까시나무의 추출성분. 강원대학교 석사학위 논문.
  16. 배영수, 함연호. 2000. 내후성 활엽수종인 아까시나무 목질부와 현사시나무 수피의 추출성분. 목재공학. 28(3):52-61.
  17. 이상용, 김완규. 1990. 소나무 리지나뿌리썩음병에 관한 연구. 한국임학회지 79(3): 322-329.
  18. 함연호. 2000. 사시나무속과 버드나무속 주요 수종 수피의 추출성분에 관한 연구. 강원대학교 박사학위 논문.