천연약재로부터 문화재보존용 방충방균제 개발연구

The utilization of fungicide and insecticide from medicinal plants for conservation of cultural properties

鄭容在 · 李奎植 · 韓成熙[1] · 姜大一 · 李命憙[2]

Yong Jae Chung, Kyu Shik Lee, Sung Hee Han, Dai Ill Kang and Myeong Hui Lee

ABSTRACT

The germicidal and insecticidal properties of volatile components extracted from star anise(Illicium verum Hooker filius) and clove (Eugenia caryophyllata THUNBERG) were evaluated against five microorganisms and three insects for the purpose of developing biocidal active substances from medicinal plants. The volatile components of star anise and clove showed strong antimicrobial effect against Aspergillus niger, Penicillium funiculosum, Mucor hiemalis, Trichoderma viride, and Aureobasidium pullulans. The extracts of each medicine also showed insecticidal effects against Sitophilus oryzae L., Lyctus linearis GOZE, and Reticulitermes spertus kyushuensis Morimoto. Fumigant toxicities to adult insects were determined. In the case of fumigant toxicity, the extract of star anise showed 100% mortality against R. spertus, S. oryzae, and L. linearis at rates of 2.5μℓ, 50μℓ, 250μℓ/filter paper, respectively but showed no killing effects by clove. The volatile components of star anise and clove were investigated by means of GC/MS. The main constitute, anethole among 20 components from star anise and eugenol among 9 components from clove were identified. The mixture of star anise and clove as the volume ratio of 2 : 1 showed higher properties for antimicrobial and insecticidal effect than each volatile component. A. niger was inhibited by the mixture(125㎖/㎥) for up to 10 days of exposure. Also, from the result of observing state change of organic materials by

1) 국립현대미술관 학예연구실(Curatorial Office, National Museum of Contemporary Art)

2) 국립해양유물전시관(The Korean National Maritime Museum)

volatile extracts of star anise and clove, volatile extracts effects have no effect on natural organic materials of organic cultural properties and can be used as biological control agent. As research contents as above, the insecticidal and germicidal agents from star anise and clove and the mixture of them were more efficient and high level to prevent biological damage for conservation of organic cultural properties. So they may be used in new development of biological insecticidal and germicidal agents for conservation of cultural properties.

Ⅰ. 서론

우리 선조들은 생물적 피해로부터 문화재의 손상을 방지하기 위해서 천연식물들을 이용하여 왔다. 먼저 식품을 오래 저장하기 위해서 육계, 정향, 팔각회향이 고대로부터 사용되어져 왔고, 책을 보호하기 위해서 석창포, 천궁, 운향, 연초, 쑥, 장뇌 등을 이용하였고 황련, 상치, 촉산 등의 염색을 통해서 의류의 충해를 방지해 왔다. 또한 복장유물에 첨가된 식물체, 오향(청목향, 정향, 곽향, 침향, 유향), 오곡(보리, 기장, 벼, 녹두, 삼씨), 오약(인삼, 감초, 계심, 아리, 부자) 등은 단지 주술적, 밀교적 의미 외에도 다른 한편으론 불상내부의 생물학적피해(곤충, 곰팡이등)에 대한 복장유물의 보존환경에 기여할 것으로 생각된다[1].

이에 천연물질로부터 문화재 보존용 살충 · 살균물질을 탐색하기 위해서 방충 · 방부제로 고대로부터 우리나라에서 사용되어진 천연약재 및 향신료들 중 복장유물에 첨가된 정향과 식품의 향식료로 사용되는 팔각회향으로 부터 휘발성 물질을 추출하여 살충 · 살균력을 확인하였다. 그리고 이들 각 향추출물을 가스크로마토그래피와 질량분석기로 성분을 분석하였고 생리활성물질을 탐색하였다. 또한 천연약재의 향성분에 의한 지류 및 섬유 재질의 상태 변화를 관찰하기 위해서 지류의 물리적 성질 변화 즉 백색도, 산성도, 내절강도를 그리고 섬유의 물리적 성질 변화를 알아보기 위해서 실인장 강도를 측정하여 유기질 문화재의 재질에 영향을 주지 않고 생물적 방제제로써 사용될 수 있는 천연물질을 탐색하였기에 이에 보고

한다.

Ⅱ. 실험재료 및 방법

1. 추출시료

생약재 팔각회향(*Illicium verum* Hooker filius)과 정향(Eugenia caryophyllata THUNBERG)을 구입하여 수분함량을 10% 내외로 건조시킨 후 제반실험에 사용하였다.

2. 실험균주 및 곤충

항균력 확인을 위한 실험균주는 지류 및 섬유류에 발생하여 유기질 문화재의 손상에 관여하는 미생물 총 4균주를 한국미생물 보존센터(KCCM)로부터 분양 받아 사용하였다(Table 1)[2]. 살충력 확인을 위한 공시충은 국립문화재연구소에서 사육해 온 목재가해 곤충인 넓적나무좀(Lyctus linearis GOEZE)과 흰개미(Reticulitermes speratus kyushuensis Morimoto) 그리고 농약의 살충력 확인에 이용되는 쌀바구미(Sitophilus oryzae L.) 등을 사용하였다(Table 2).

3. 시료의 추출 및 농축

각 생약재 100g을 증류법으로 SDE(Simultaneous steam distillation and solvent extraction) 장치에서 재증류한 메틸렌클로라이드(CH_2Cl_2) 125ml을 사용하여 3시간동안 환류 추출하였다. 이 추출액은 무수 Na_2SO_4를 첨가하여 수분을 제거하고 질소가스(N_2) 기류하에서 각각 2ml까지 농축하여 항균력 및 살충력 실험에 사용하였고 GC/MS의 분석시료로 사용하였다.

4. 항균활성 측정

항균활성은 멸균된 각각의 생육배지를 페트리디쉬(Φ80mm)에 15ml씩 분주하여 응고시키고, 중층용 배지를 각각 5ml씩 시험관에 분주하여 멸균한 후, 50℃

Table 1. List of strains used for antimicrobial activity test

Microorganism tested		Incubation temp.(℃)
Mucor hiemalis	(KCCM 11826)	
Trichoderma viride	(KCCM 11246)	
Aspergillus niger	(KCCM 11239)	28
Penicillium funiculosum	(KCCM 12040)	
Aureobasidium pullulans	(KCCM 11869)	

Table 2. List of insects used for insecticidal experiment

Insect tested	Incubation condition	
	Temp.(℃)	R.H.(%)
Lyctus linearis GOEZE	29	60
Reticulitermes speratus Kyushuensis Morimoto	26	
Sitophilus oryzae L.	29	

수욕상에서 보관하였다. 그리고 전배양한 각종 시험균액을 무균적으로 첨가하여 잘 혼합한 다음 기층용 배지 위에 분주하여 2중의 평판배지를 만들었다. 항균활성은 paper disc susceptibility 측정 방법을 사용하여 추출물을 멸균된 페이퍼 디스크에 50μℓ씩 흡수시킨 후 시험용 평판배지에 직접 닿지 않게 페트리디쉬 뚜껑에 올려놓은 다음 밀봉테이프로 밀봉시킨 후 28℃에서 3일간 배양하였다[3]. 항균활성은 디스크 주변의 생육 저해환(mm)을 측정하여 확인하였다. 이때 모든 시험은 용매자체의 항균력을 배제하기 위해서 처리농도와 동일하게 첨가된 대조군을 설정하였다.

5. 살충활성 측정

흰개미 등 3종의 곤충에 대한 살충활성은 Ahn(1992), Ahn과 Cho 등(1992)의 방법에 따라 처리하였으며, 모든 측정값은 3회 반복 실험하여 그 평균값을 구하였다[4),5)]. 추출물을 페이퍼 디스크에 일정농도로 흡수시킨 후 충분히 추출용매를 휘발시킨 다음, 페트리디쉬에 실험곤충과 직접적인 접촉을 차단시켜 설치하였다. 흰개미는 여과지 0.5g을 먹이로 제공하여 일개미 20마리를 추출물이 처리된 페트리디쉬에 넣고, 온도 26℃, 상대습도 60% 항온기에서 사육하면서 24시간마다

2일간 사충수를 조사하였다. 쌀바구미는 성충 20마리를 현미 10g으로 채워진 페트리디쉬에 넣고 위의 실험과 동일하게 추출물을 처리한 후, 온도 29℃, 상대습도 60% 항온기에서 사육하면서 24시간마다 5일간 사충수를 조사하였다. 넓적나무좀은 성충 20마리를 톱밥 4g으로 채워진 페트리디쉬에 넣고 페이퍼 디스크에 추출물 0.2ml을 흡수시킨 후, 위의 실험과 동일하게 처리한 다음 온도 29℃, 상대습도 60% 항온기에서 24시간마다 5일간 사충수를 조사하였다. 이때 첨가되는 용매 자체의 살충활성을 배제하기 위하여 모든 실험은 처리농도와 동일하게 첨가한 대조군을 설정하였다.

6. GC와 GC/MS에 의한 성분분석 및 생리활성 물질 탐색

휘발성 추출물에 대한 성분분석은 gas chromatography(GC)와 gas chromatography/mass spectrometry(GC/MS)를 이용하였다. 기기는 autospec(Micromass, UK)을 이용하였으며, column(DB-5)은 fused silica capillary column(30m×0.25㎜)을 사용하였다. Column 온도는 60 280℃까지 15℃/min로 프로그램하였다. 생리활성 물질에 대한 탐색은 서울대학교 천연물과학연구소의 전통 동양약물 데이터베이스인 TradiMed(1999)를 이용하였다[6].

7. 상승효과

팔각회향과 정향 휘발성 추출물을 혼합하여 항균력의 상승효과를 관찰하였다. 팔각회향과 정향 추출물을 부피비 1:1(A), 2:1(B), 3:1(C), 4:1(D)로 제조하고 위의 휘발성 추출물에 대한 항균력 실험과 동일한 방법으로 실험균주 A. niger에 대한 항균효과를 측정하였다.

⑴ 항균 활성

혼합물에 의한 항균활성은 paper disc susceptibility 측정 방법과 동일한 방법으로 균주 A. niger에 대해서 디스크 주변의 생육 저해환(mm)을 측정하여 확인하였다.

⑵ 유효성

각 휘발성 추출물과 혼합물의 적정 밀도에 따른 항균력을 확인하기 위해서 밀폐용기(2×10^3㎤) 내에 PDA 배지를 무균적으로 제조하고 균주 A. niger 0.3ml(5×10^4 cfu/ml)를 접종하였다. 그리고 추출물 및 혼합물을 각각 100㎕, 250㎕, 500㎕, 1,000㎕를 여과지에 흡수시킨 다음 배지에 직접 닿지 않게 뚜껑에 부착시켜 3일간 배양 후, 균주의 성장정도를 비교하였다.

⑶ 지속성

각 휘발성 추출물과 혼합물의 방향처리에 따른 항균력의 지속성을 측정하기 위해서 각 시료를 페이퍼 디스크에 50㎕씩 흡수시키고 실온에서 20일간 방치시켰다. 48시간 간격으로 페이퍼 디스크를 취하여 위의 휘발성 추출물에 대한 항균력 측정과 동일한 방법으로 균주 A. niger에 대한 항균력을 측정하였다.

⑷ 살충력

혼합물의 살충활성을 확인하기 위해서 훈증독성 실험과 동일한 방법으로 쌀바구미에 대한 살충력을 측정하였다.

8. 유기물 재질에 대한 영향

⑴ 측정 시료

휘발성 추출물질이 유기질 재질에 미치는 영향을 관찰하였다. 지류문화재에 대한 손상정도의 측정을 위해 한지와 보존복사용지 2종, 그리고 신문용지를 사용하였고, 섬유문화재에 대한 손상정도를 측정하기 위해 면사, 견사 그리고 자수사를 구입해 제반실험에 사용하였다.

⑵ 종이 및 섬유 시편 제조

3종의 종이 시편을 가로 15mm, 세로 110mm로 15편씩 총 45편(종이 3종× 시

편 15편)을 제조하였고, 3종의 섬유사 시편을 길이 30cm로 30편씩 총 90편(섬유사 3종×시편 30편)을 제조하였다.

⑶ 시편의 전처리

준비된 종이와 섬유시편을 질산암모늄(NH_4NO_3) 240g을 증류수 100ml에 가열용해시켜 습도 60%를 유지시킨 밀폐용기 내에서 전처리 하였다. 이때 팔각회향 및 정향 천연약재 4g 그리고 팔각회향과 정향 휘발성 추출물질을 0.5ml씩 흡수시킨 여과지(2g)를 종이와 섬유시편에 직접 닿지 않게 각각 넣고 온도 80℃에서 90일간 유지시킨 후, 각 조건에 따라 시료를 채취하여 재질상태를 측정하였다.

⑷ 재질상태조사

가. 색차

종이재질의 색변화를 관찰하기 위해서 색도계(Minolta CR-200, Japan)를 사용하여 측정하였고 색상의 변화를 KS A 0063의 규정에 의거하여 L* a* b* 표색계의 색차(ΔE)로 표시하였다.

나. 산성도

종이재질의 손상정도를 측정하기 위하여 재질의 산성도를 측정하였다. 산성도는 KS M 7053에 의거하여 pH 측정기(Hanna Hi 9024C, USA)로 종이표면의 산성도를 측정하였으며 각각 평균을 내어 표시하였다.

다. 내절강도

종이재질의 경화 및 이완 등으로 인한 물리적 상태를 파악하여 재질의 상태 및 노화도를 측정하기 위해서 내절강도를 측정하였다. 내절강도는 KS M 7065에 의거하여 500g 하중 하에서 내절강도기(Toyoseiki MIT-S, Japan)로 측정하여 측정값을 각각 평균을 내어 표시하였다. 시험편은 폭 15mm, 길이110mm로 재단하여

각각 15매를 측정하였다.

라. 실 인장강도

섬유의 상태 및 손상정도를 측정하기 위해서 섬유사에 대한 실 인장강도를 측정하였다. 실 인장강도는 KS K 0323에 의거하여 초하중(kgf)을 걸어 실 인장강도기(대경테크, Korea)로 측정한 값을 각각 평균 내어 표시하였다. 시험편은 길이 30cm로 재단하여 각각 30매를 측정하였다.

마. 이온크로마토그래피(Ion chromatography)

휘발성 추출물질에 의한 종이재질의 화학적 성분변화를 측정하기 위해서 이온크로마토그래피(Dionex CD20, IP20, USA)를 이용하여 음이온의 변화도를 측정하였다. 팔각회향과 정향 휘발성 추출물질로 온도 80℃에서 30일간 전처리된 각 3종의 종이시편 0.2g씩 넣은 50ml 삼각플라스크 5개에 3차 증류수 14ml를 넣고 1시간동안 60℃에서 중탕하여 종이 내의 이온을 용출시켰다. 용출된 각 용액의 부유된 종이섬유를 제거하기 위해 에펜돌프 튜브에 분주한 후, 10,000rpm으로 10분간 원심분리(Jouan MR1822, USA)하고 상층액을 수집하여 음이온 농도를 측정한 값을 각각 평균 내어 표시하였다.

III. 실험결과

1. 팔각회향과 정향 추출물의 항균효과

제반 실험에 사용된 팔각회향과 정향의 약재(2g)에서 발산되는 향기성분에 의한 훈증처리에 따른 항균력을 확인한 결과, 팔각회향은 균주 A. niger, P. funiculosum, M. hiemalis, T. viride, A. pullulans가 접종된 시험용 평판배지에서 균의 성장을 거의 억제하였고, 정향은 각각 34mm, 80mm, 28mm, 42mm, 80mm의 생육 저해환을 형성하여, 팔각회향과 정향의 향성분은 진균류 5종에 대한 강한 항균력을 보였다(Fig. 1).

SDE(Simultaneous steam distillation and solvent extraction)장치를 이용해 각 천연약재로부터 추출된 휘발성 물질을 멸균된 페이퍼 디스크에 각 농도로 흡수시킨 다음, 훈증에 의한 항균력을 측정하였다. 팔각회향 추출물은 25㎕ 농도에서 P. funiculosum, T. viride, A. pullulans 균주를 그리고 50㎕ 농도에서 A. niger, M. hiemalis 균주의 성장을 100% 억제하여 진균류에 대한 높은 항균력을 나타내었다. 세균류에 대해서는 S. aureus에 대해 항균력을 보이지 않았고, E. coli는 25㎕ 농도에서 11mm의 생육 저해환을 나타내었다. 정향 휘발성 추출물은 모든 농도(5㎕ 50㎕)에서 실험균주에 대한 광범위한 항균력을 나타내었고, 특히 진균류에 대해서 50㎕농도의 항균력과 비교하여 저농도인 5㎕에서도 75%(A. niger) 이상의 높은 항균력을 나타내었다(Table 3).

Table 3. Comparison of the inhibition zone(mm) caused by volatile component extracted from medicinal plants

Microorganism	Inhibition zone(mm)			
	5*	10	25	50
Illicium verum Hook. fil.				
Aspergillus niger (KCCM 11239)	-[a]	-	28	80[b]
Penicillium funiculosum (KCCM 12040)	-	-	80	80
Mucor hiemalis (KCCM 11826)	-	-	72	80
Trichoderma viride (KCCM 11246)	-	-	80	80
Aureobasidium pullulans (KCCM 11869)	-	22	80	80
Eugenia caryophyllata THUNBERG				
Aspergillus niger (KCCM 11239)	42	48	52	56
Penicillium funiculosum (KCCM 12040)56	80	80	80	80
Mucor hiemalis (KCCM 11826)	40	44	60	60
Trichoderma viride(KCCM 11246)	50	54	58	80
Aureobasidium pullulans(KCCM 11869)	46	60	80	80

* : Amount of the added extract(㎕)
[a] : No inhibition(<9mm diameter)
[b] : 100% inhibition(>80mm diameter)

2. 팔각회향과 정향 추출물의 살충효과

팔각회향과 정향 휘발성 추출물의 훈증독성에 의한 공시충의 살충활성을 확인하였다. 흰개미에 대한 훈증독성을 측정한 결과, 팔각회향 추출물은 2.5㎕, 5.0㎕, 10㎕의 접종 농도에서 100%의 살충력을 나타내었으며, 0.5㎕에서는 살충력을

보이지 않았다. 정향 추출물은 5.0μℓ, 10μℓ에서 100%의 살충력을, 그리고 2.5μℓ에서 44.6%의 살충력을 나타내었고, 0.5μℓ에서는 살충력을 나타내지 않았다. 이상의 결과로 팔각회향과 정향 휘발성 추출물은 각각 2.5μℓ와 5.0μℓ 이상의 농도에서 훈증독성에 의한 살충력이 나타나는 것을 확인할 수 있었다(Table 4).

Table 4. Fumigant toxicity of volatile components to Reticulitermes speratus kyushuensis Morimoto

Amount of the extract[a] (μℓ)	Mortality(%)	
	24*	48
Illicium verum Hook. fil.		
0.5	0	0
2.5	85.3	100
5.0	100	-
10	100	-
Eugenia caryophyllata THUNBERG		
0.5	0	0
2.5	0	44.6
5.0	0	100
10	0	100

[a] : Volatile components extracted from Illicium verum Hook. fil. and Eugenia caryophyllata THUNBERG

*: Treatment time(hours)

쌀바구미에 대한 훈증독성을 측정한 결과, 팔각회향 추출물은 모든 접종농도에서 100%의 살충력을 나타내었고, 250μℓ 이상의 접종농도에서는 3일 내에 100% 사충되는 것이 확인되었다. 정향 추출물은 250μℓ, 500μℓ에서 각각 90.4%와 90.6%의 살충력을 나타내었고, 100μℓ, 50μℓ에서 각각 62.1%와 38.4%의 살충력을 보여, 250μℓ이상의 농도에서 훈증독성에 의한 살충력이 확인되었다. 팔각회향과 정향 추출물에 대한 사육시간 4일 때의 살충력을 비교한 결과, 팔각회향 추출물이 50μℓ의 접종농도에서 3.9배, 100μℓ의 접종농도에서 1.9배의 높은 살충력을 보였다. 또한 250μℓ의 농도에서 팔각회향 추출물이 3일 내에 100% 그리고 정향 추출물은 5일 내에 평균 90.5%의 살충력을 나타냄에 따라, 팔각회향 추출물이 정향보다 훈증독성에 의한 높은 살충활성을 나타내는 것을 확인할 수 있었다(Table 5).

넓적나무좀에 대한 훈증독성에 의한 살충활성을 측정한 결과, 250μℓ 농도에서

Table 5.
Fumigant toxicity of volatile components to Sitophilus oryzae L.

Amount of the extract[a] (μℓ)	Mortality(%)				
	1*	2	3	4	5
Illicium verum Hook. fil.					
50	0	3.5	63.4	94.2	100
100	0	13.4	73.8	100	-
250	0	29.4	100	-	-
500	0	51.2	100	-	-
Eugenia caryophyllata THUNBERG					
50	0	7.9	24.2	24.3	38.4
100	0	3.8	32.9	53.2	62.1
250	0	17.4	41.8	83.2	90.4
500	0	25.1	43.9	89.4	90.6

[a] : Volatile components extracted from Illicium verum Hook. fil. and Eugenia caryophyllata THUNBERG
*: Treatment time(day)

팔각회향의 휘발성 추출물은 5일 후 100%의 살충력을 나타내었으나 정향 추출물은 살충력을 보이지 않았다(Table 6). 이상의 결과로 팔각회향의 휘발성 추출물은 흰개미, 쌀바구미, 넓적나무좀에 대해서 각각 2.5μℓ, 50μℓ, 250μℓ 이상의 농도에서 훈증독성에 의한 살충력이 확인되었다. 그리고 정향의 휘발성 추출물은 흰개미와 쌀바구미의 경우, 5.0μℓ와 500μℓ의 농도에서 각각 100%, 90.4%의 살충력을 나타내었으나 넓적나무좀에 대해서 살충력을 보이지 않아서 훈증독성에 의한 살충활성은 팔각회향의 추출물이 정향보다 매우 높은 것을 확인할 수 있었다.

3. 휘발성 추출물의 GC 및 GC/MS에 의한 성분분석

살균력과 살충력이 높게 나타난 휘발성 추출물을 GC와 GC/MS에 의하여 성분을 분석하였다. 팔각회향 추출물에 대한 성분분석 결과, monoterpenoid류인 α-pinene, δ-3-carene, limonene 등 20개의 성분이 검출되었고, 이 중 가장 많은 농도(80%)로 존재하는 성분은 페놀성 화합물인 anethole로서 살균(fungicidal)과 살충(insecticidal) 활성 물질임이 확인되었다. 정향 추출물에 대한 성분분석 결과, phenylpropanoid류인 chavicol, eugenol 등 9개의 휘발성 성분이 검출되었

Table 6. Fumigant toxicity of volatile components to Lyctus linearis GOEZE

Amount of the extract[a] (μℓ)	Mortality(%)				
	1*	2	3	4	5
Illicium verum Hook. fil.					
250	0	0	34.7	53.9	100
Eugenia caryophyllata THUNBERG					
250	0	0	0	0	0

[a] : Volatile components extracted from Illicium verum Hook. fil. and Eugenia caryophyllata THUNBERG

*: Treatment time(day)

고, 이 중 가장 많은 농도(92%)로 존재하는 성분은 페놀성 화합물인 eugenol로서 항균물질임이 확인되었다(Table 7).

4. 휘발성 추출물 혼합물의 상승효과

살균력과 살충력이 높게 나타난 팔각회향과 정향 휘발성 추출물의 혼합물에 대한 항균력의 상승효과를 측정하였다. 실험균주 중 A. niger에 대한 훈증에 의한 생육 저해환을 측정한 결과, 25μℓ 농도의 경우, 저해환의 차이(<3mm)가 크게 나타나지 않았으나 10μℓ에서 팔각회향과 정향의 부피비 2:1(B), 3:1(C), 1:1(A), 4:1(D)로 제조된 혼합물 순으로 65mm, 32mm, 28mm, 12mm의 생육 저해환의 크기가 측정되었다(Fig. 2).

부피비 2:1(B)인 혼합물 B의 상승효과를 관찰하기 위해서, 팔각회향과 정향의 휘발성 추출물 그리고 혼합물 B를 각각 멸균된 페이퍼 디스크에 10μℓ 농도로 흡수시키고 위의 실험과 동일하게 훈증에 의한 항균력을 측정한 결과, 생육 저해환의 크기가 각각 0mm, 48mm, 65mm로 측정되어 혼합물 B는 팔각회향과 정향 추출물의 항균력에 비해 100%, 26.2%의 높은 항균력을 보였다. 특히 혼합물 B는 평판배지 전체에 걸쳐 육안 상으로 균의 성장을 90%이상 억제한 것이 관찰되어 팔각회향 및 정향 추출물과 비교하여 혼합물 B의 항균력의 상승 효과가 확인되었다(Fig. 3).

Table 7.
Volatile components detected in medicinal plants by GC and GC/MS

R.T.*	Compound	Medicinal plants	
		Ⅳ	EC
5:25	α-Pinene	+	-
7:34	δ-3-Carene	+	-
8:13	Limonene	+	-
10:07	α-Terpinene	+	-
10:33	Linalool	+	-
13:40	α-Terpineol	+	-
13:43	Benzoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester	-	+
13:57	Estragole	+	-
16:12	chavicol	-	+
17:50	Anethole	+	-
19:23	Eugenol	-	+
20:21	p-Methoxyphenylacetone	+	-
20:02	Methyl-4-methoxybenzoate	+	-
21:22	trans-Caryophyllene	-	+
22:25	Bergamotene	+	-
22:42	α-Humulene	-	+
22:43	1-(4-methoxyphenyl)-1-Propanone	+	-
23:56	trans-Methyl isoeugenol	+	-
25:57	Nerolidol	+	-
26:20	Spathulenol	+	-
26:33	2-(1-Cyclopentenyl) furan	+	-
26.42	Caryophyllene oxide	-	+
27:38	β-Eudesmol	-	+
28:10	Caryophylla-4(12),8(13)-dien-5β-ol	-	+
28:18	critonic acid, o-benzaldehydoseste	+	-
28:34	α-Cadinol	+	-
29:17	Feniculin	+	-
31:41	Benzylbenzoate	-	+
43:41	2-(p-anisyl) -5-methyl-1-hexene	-	-

Ⅳ : Illicium verum Hook. fil., EC : Eugenia caryophyllata THUNBERG
+ : present
- : not present
* : retention time

(1) 항균력

휘발성 추출물의 항균력 측정방법과 동일하게 혼합물 B의 훈증에 의한 생육 저해환을 측정한 결과, 25μℓ의 농도에서 M. hiemalis를 제외한 모든 진균류를 100%(80mm) 억제시켰다(Table 8). 이는 팔각회향과 정향 추출물 25μℓ의 경우, A. niger에 대해 28mm와 52mm의 생육 저해환을 나타낸 결과(Table 4)와 비교하여 65%와 35%의 항균력 상승효과를 보였으나, M. hiemalis의 경우, 정향의 휘발성 추출물의 60mm의 생육 저해환보다 34% 감소한 40mm의 생육 저해환을 나타내었다. 한편 세균류에 대한 항균력 측정 결과, 50μℓ의 접종 농도에서 S. aureus의 경

Table 8. Comparison of the inhibition zone(mm) caused by the mixture B

Microorganism	Inhibition zone(mm)			
	5*	10	25	50
Aspergillus niger(KCCM 11239)	37	65	80[a]	80
Penicillium funiculosum(KCCM 12040)	45	55	80	80
Mucor hiemalis(KCCM 11826)	15	23	40	40
Trichoderma viride(KCCM 11246)	38	50	80	80
Aureobasidium pullulans(KCCM 11869)	40	54	80	80

*: Amount of the added mixture B(μℓ)
[a] : 100% inhibition(>80mm diameter)

우, 11mm 그리고 E. coli에 대해 24mm의 생육 저해환을 형성하여 팔각회향의 추출물의 경우, S. aureus에 대한 항균력이 없었던 결과와 달리 항균력을 나타내었으나 17mm의 생육 저해환을 형성하였던 정향 추출물에 비해 다소 낮은 항균력을 보였다. 이와 같이 혼합물 B는 팔각회향과 정향 추출물에 비해 10μℓ이상의 농도에서 M. hiemalis를 제외한 진균류에 대해 높은 항균력을 나타내었으며, 세균류에 대해서는 정향 추출의 항균력과 거의 동일한 항균력을 보였다.

⑵ 유효성

팔각회향 및 정향 휘발성 추출물과 혼합물 B의 공기중 적정 밀도에 따른 항균력을 확인한 결과, 밀폐용기(2×10^3㎤) 내에서 팔각회향 추출물은 1,000μℓ 농도에서 A. niger의 성장을 100% 억제하였고, 정향 추출물은 1,000μℓ에서 완전히 억제시키지 않았으나 90% 이상의 성장을 억제시켰다. 혼합물 B는 250μℓ에서 A. niger의 성장을 100% 억제하여 팔각회향과 정향 추출물에 비해 4배의 높은 항균력을 나타내었으며, 혼합물 B의 진균류의 성장 억제를 위한 방향처리에 따른 적정 밀도는 125ml/㎥로 확인되었다(Table 9).

⑶ 지속성

혼합물 B와 팔각회향 및 정향 휘발성 추출물의 방향처리에 따른 항균력의 지속성을 실험균주 A. niger에 대해서 측정한 결과, 혼합물 B는 10일까지 36mm의 생

(A) (B)

Fig. 1.
Inhibitory effect of volatile component from medicinal plants on the growth of A. niger.
(A) Illicium verum Hook. fl.
(B) Eugenia caryophyllata THUNBERG.

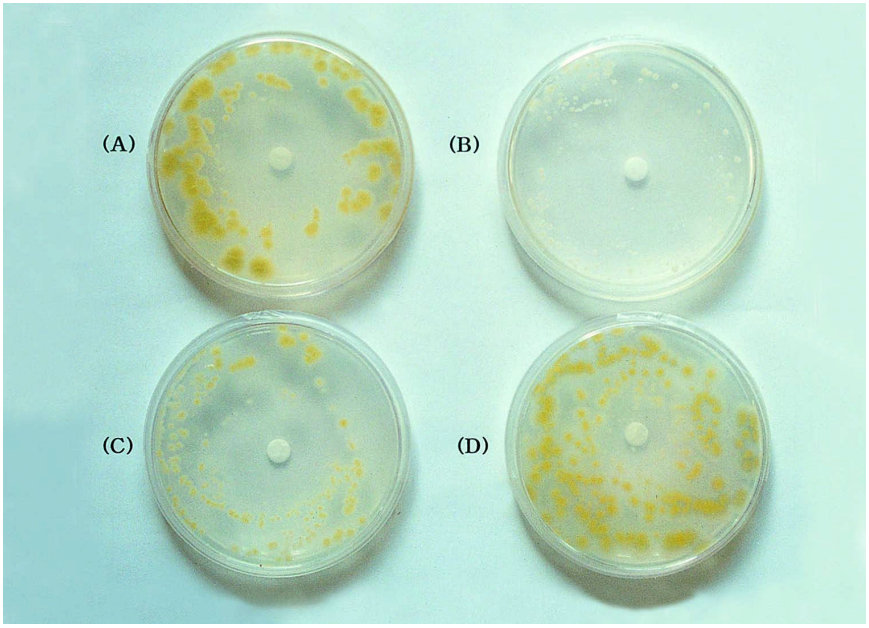
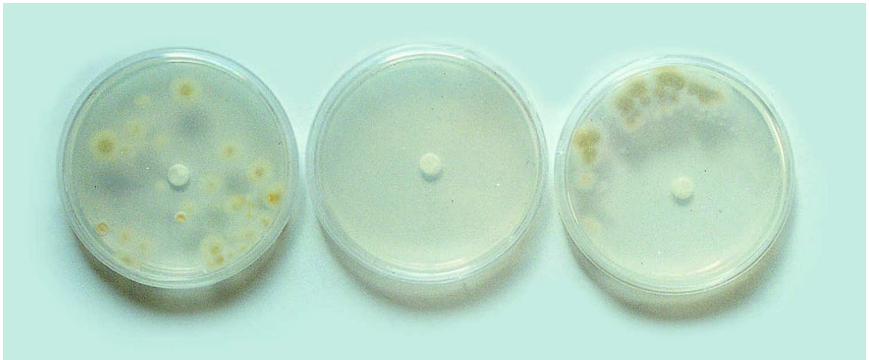


Fig. 2.
Comparison of the inhibition zone(mm) caused by the mixture as the volume ratio of volatile components extracted from Illicium verum Hook, fl. to Eugenia caryophyllata THUNBERG against A. niger.
(A) 1 : 1 (B) 1 : 2
(C) 1 : 3 (D) 1 : 4



(A) (B) (C)

Fig. 3.
Comparison of the inhibition zone(mm) caused by volatile component of the mixture B on the growth of A. niger.
(A) extract of Illicium verum Hook. fl.
(B) Mixture B.
(C) extract of Eugenia caryophyllata THUNBERG.

Table 9. Inhibitory effect of volatile component from each extraction the growth of A. niger in the place of 2×10^3㎤

Volatile component	Inhibition(%)			
	100*	250	500	1000
Eugenia caryophyllata THUNBERG	+	+	+	+
Illicium verum Hook. fil.	+	+	+	-
Mixture B	+	-	-	-

* : Amount of the added extract(㎕)
+ : No inhibition of growth
- : 100% inhibition of growth of tested microorganism

육 저해환을 형성하였으며, 팔각회향은 4일까지 80mm를, 그리고 정향은 20일까지 12mm의 생육 저해환을 형성하였다. 이상의 결과로 정향은 항균력의 지속력이 매우 우수하며, 팔각회향은 낮은 것이 확인되었고 혼합물 B는 240시간(10일)까지 항균력이 지속되는 것이 확인되었다.

(4) 살충력

혼합물 B의 살충활성을 확인하기 위해서 쌀바구미에 대한 훈증독성에 의한 사충수를 측정한 결과, 50㎕의 접종농도에서 5일 내에 100%의 살충력을 나타내었으며 500㎕에서는 72시간 내에 100%의 살충력을 나타내는 등 혼합물 B는 훈증독성에 의한 매우 높은 살충력이 확인되었다. 이는 팔각회향 및 정향 휘발성 추출물의 훈증독성에 의한 살충활성 실험결과(Table 6)와 비교할 때 팔각회향의 살충력과 동일한 활성을 나타내었으며, 정향의 살충력에 비교하여 매우 높은 활성을 보임에 따라 혼합물 B의 살충활성은 팔각회향과는 동일하고, 정향보다는 매우 강한 살충력을 나타내는 것을 확인할 수 있었다(Table 10).

Table 10. Fumigant toxicity of the mixture B to Sitophilus oryzae L.

Mixture B[a]	Mortality(%)				
	1*	2	3	4	5
50	0	0	16.5	71.8	100
100	0	4.8	68.8	94.8	100
250	0	18.4	87.9	100	-
500	0	28.9	100	-	-

[a] : Amount of the added mixture B(㎕)
* : Treatment time(day)

5. 유기물 재질에 대한 영향

(1) 천연약재에 의한 영향

가. 종이에 대한 영향

천연약재의 향 성분에 의한 종이의 물성변화를 확인한 결과는 Table 11과 같다. 보정용 백색판의 측정치를 100%로 하여 각 종이시편에 대한 색차(ΔE)를 측정한 결과, 팔각회향과 정향으로 전처리된 한지의 색차 값이 17.71과 16.35로 대조군의 측정값 17.01과 ±0.7 이하의 차이를 보였다. 그리고 모든 종이시편의 색차 값이 대조군의 측정값과 ±1.0 미만의 차이를 나타내어 향에 의한 색도 변화가 없는 것이 확인되었다.

Table 11. Comparison of the deterioration of papers caused by volatile component of medicinal plants

Medicinal plants	Kinds of tested papers*	
	Print paper	Korean paper
Color difference(ΔE)		
Control	11.72	17.01
Illicium verum Hook. fil.	12.11	17.71
Eugenia caryophyllata THUNBERG	12.32	16.36
Acidity(pH)		
Control	7.5	6.4
Illicium verum Hook. fil.	7.7	6.4
Eugenia caryophyllata THUNBERG	7.5	6.4
Folding endurance(Count)		
Control	427.4	91.2
Illicium verum Hook. fil.	487.7	86.4
Eugenia caryophyllata THUNBERG	376.1	80.7

*: treated with flavor of medicinal plants at 80°C for 90 days

종이의 산성도 변화를 확인하기 위해서 전처리된 종이시편의 산성도(pH)를 측정한 결과, 팔각회향, 정향으로 전처리된 한지시편 모두, pH 6.4로 대조군의 측정값과 동일하여 산성도의 변화를 보이지 않았다. 또한 종이의 노화도를 확인하기 위해 내절강도를 측정한 결과, 모든 종이시편이 대조군 대비 ±15% 내의 내절

강도 수치를 나타냄에 따라 향기에 의한 뚜렷한 내절강도의 변화를 보이지 않았다.

나. 섬유에 대한 영향

천연약재의 향기에 의한 섬유의 상태 및 손상정도를 측정하기 위해 견사에 대한 실 인장강도를 측정한 결과, 팔각회향과 정향으로 전처리된 견사의 실 인장강도 평균값이 0.65g, 0.67g으로 대조군의 0.68g의 측정값과 ±0.03g의 차이를 보여 견사의 실 인장강도의 변화를 관찰할 수 없었다.

⑵ 휘발성 추출물에 의한 영향

가. 종이에 대한 영향

휘발성 추출물에 의한 종이의 물성변화를 확인한 결과는 Table 12와 같다. 휘발성 추출물에 의한 색변화를 측정한 결과, 팔각회향과 정향 추출물로 전처리된 한지시편의 경우, 색차(ΔE) 값이 20.19, 20.21로 대조군의 측정값 19.72와 0.5미만의 색차를 나타내었다. 그리고 모든 종이시편에서 최대 0.75(팔각회향 추출물로 전처리된 보존복사용지) 이하의 색차를 나타내는 등 대조군 대비 ±1.0 미만의 색차를 나타내어 색변화가 없는 것을 확인하였다. 종이시편의 pH 변화는 최대 0.3의 pH차이(정향 추출물로 전처리된 보존복사용지)를 나타내어 휘발성 추출물에 의한 산성도 차이가 없는 것을 확인하였다. 또한 내절강도 측정 결과, 꺽임 횟수(count)의 차이가 대조군 대비 최고 14.7%(팔각회향 추출물로 전처리된 신문용지)로 모든 종이시편에서 ±15% 내의 내절강도 차이를 보여 휘발성 추출물에 의한 뚜렷한 내절강도의 변화를 확인할 수 없었다.

휘발성 추출물질의 향 성분에 의한 종이재질의 화학적 성분변화를 측정한 결과, 팔각회향 휘발성 추출물로 전처리된 한지의 음이온의 Cl^{-}, $NO3^{-2}$, $PO4^{-3}$, $SO4^{-2}$의 농도가 16.38ppm, 1.60ppm, 2.82ppm, 7.23ppm으로 대조군의 17.80ppm, 1.09ppm, 3.58ppm, 6.61ppm의 측정값과 비슷한 측정치를 보였고, 다른 종이시편에 대해서도 대조군과 화학적 성분 및 농도 차이가 나타나지 않아, 휘발성 추출물에 의한 음이온의

화학적 성분 변화가 없는 것이 확인되었다(Table 13).

Table 12.
Comparison of the deterioration of paper treated with volatile component extracted from Illicium verum Hook. fil. and Eugenia caryophyllata THUNBERG

Volatile component	Kinds of tested papers*		
	Copying paper	News paper	Korean paper
Color difference(ΔE)			
Control[a]	11.64	18.93	19.72
Illicium verum Hook. fil.	10.89	18.22	20.21
Eugenia caryophyllata THUNBERG	12.28	19.41	20.19
Acidity(pH)			
Control	7.5	6.9	6.6
Illicium verum Hook. fil.	7.6	6.8	6.7
Eugenia caryophyllata THUNBERG	7.8	6.8	6.4
Folding endurance(Count)			
Control	473.9	40.4	116.4
Illicium verum Hook. fil.	491.9	34.5	124.1
Eugenia caryophyllata THUNBERG	501.8	42.7	99.4

*: treated with volatile component extracted from medicinal plants at 80°C for 90 days

[a] : treated with CH_2Cl_2

Table 13.
Comparison of the change of an ions from papers treated with volatile component extracted from Illicium verum Hook. fil. and Eugenia caryophyllata THUNBERG

Volatile component	Concentration(ppm)						
	F^-	Cl^-	NO_2^-	Br^-	NO_3^{-2}	PO_4^{-3}	SO_4^{-2}
Copying Paper							
Control[a]	0	26.68	0	0	0.68	0	14.05
Star-anise[b]	0	27.18	0	0	0.51	0	13.86
Clove[c]	0	28.62	0	0	0.44	0	14.34
News paper							
Control	0	2.67	0	0	0.78	0.01	39.57
Star-anise	0	2.57	0	0	1	0.04	32.18
Clove	0	3.11	0	0	0.64	0.04	40.36
Korean paper							
Control	0	17.80	0	0	1.09	3.58	6.61
Star-anise	0	16.38	0	0	1.60	2.82	7.23
Clove	0	15.50	0	0	1	2.55	7.51

[a] : treated with CH_2Cl_2

[b] : Illicium verum Hook. fil.

[c] : Eugenia caryophyllata THUNBERG

나. 섬유에 대한 영향

휘발성 추출물의 향 성분에 의한 섬유의 상태 및 손상정도를 측정한 결과, 대조군과 비교하여 팔각회향과 정향 추출물로 전처리된 모든 섬유들의 실 인장강도(kgf) 값은 최대 0.02g으로 큰 차이가 나타나지 않아 휘발성 추출물에 의한 실 인장강도의 변화가 없는 것을 확인하였다(Table 14).

Table 14. Comparison of the tensile strength of textile fibres treated with each volatile component

Volatile component	Tensile strength(kgf)		
	Cotton	Silk	Viscose rayon
Control[a]	0.60	0.89	0.30
Illicium verum Hook. fil.	0.58	0.87	0.51
Eugenia caryophyllata THUNBERG	0.58	0.89	0.50

[a] : treated with CH_2Cl_2

이와 같이 휘발성 추출물의 향기성분이 종이 및 섬유류 재질에 미치는 영향을 조사한 결과, 팔각회향 및 정향 추출물의 향 성분은 3종의 종이시편에 대해서 색차, 산성도 및 내절강도에서 대조군과 큰 차이가 없었으며, 이온크로마토그래피를 이용한 음이온 7종의 농도를 측정한 결과, 성분 및 농도에서 차이가 나타나지 않았다. 또한 3종의 섬유사에 대한 실 인장강도 값은 대조군과 큰 차이가(<0.02g) 나타나지 않은 것으로 볼 때, 팔각회향과 정향 휘발성 추출물의 향 성분은 종이 및 섬유류 재질에 손상을 주지 않는 것을 확인할 수 있었다.

Ⅳ. 결론

팔각회향 및 정향으로부터 추출된 휘발성 물질은 높은 살균력과 살충력을 가지고 있으며, 특히 훈증처리에 의한 살균력 및 살충력을 나타내었다. 그리고 추출된 휘발성 성분에 의해서 유기질 재질의 변화가 발생되지 않고, 두 물질을 혼합한 혼합물 B는 각 추출물에 비해 살균력과 살충력의 증진되었고, 방향처리에 따른 지속력이 우수하며 공간 유효성이 좋아 유기질 문화재를 보존하기 위한 효율적인

살충 및 살균제로 이용되어질 수 있을 것으로 기대된다.

특히 이들 물질의 높은 휘발성은 지금까지 외부공기를 통한 전시공간 내에 미생물 및 곤충의 유입을 차단하기 위한 필터설치 등의 물리적인 방법 이외에 유기질 문화재의 곤충과 미생물의 손상에 대한 지속적이고 체계적인 예방관리를 할 수 있고, 팔각회향 및 정향의 향성분의 인체에 대한 안정성은 기존의 화학적 방충방균제에 비하여 문화재의 생물 피해 및 보존관리 측면에서 더 안전하고 효과적인 방제방법으로 활용될 수 있을 것으로 기대된다[7].

그리고 식물에서 추출한 flavonoid계 유기화합물은 ammonia gas(NH_3)의 소취제로서 널리 이용되며, A. absinthium으로부터 얻은 테르펜 화합물인 thujone과 박하정유나 수종의 테르펜 화합물과 알콜류가 설치류에 강력한 기피작용을 나타낸다는 보고를 통해서, 천연물로부터 얻어진 이러한 정유성분들은 악취를 제거하는 소취제 및 쥐 등의 동물에 의한 문화재 손상 방지에도 적용될 수 있을 것으로 기대된다[8),9)]. 앞으로 anethole과 eugenol의 살균 및 살충기작에 대한 분자생물학적인 연구와 분석된 다른 성분들의 생리활성에 대한 연구를 통해서 보다 효율적인 천연 살생물제 개발에 이용될 수 있을 것으로 생각되어진다.