

세신 정유추출물의 목재부후균과 궤련벌레에 대한 항진균 및 살충활성

강소영 | 정용재* | 임진아¹

국립문화재연구소 보존과학연구실, *한국전통문화대학교 보존과학과

Antifungal and Insecticidal Activity of Essential Oil from *Asarum sieboldii* against Wood Contaminant Fungi and *Lasioderma serricorne* L.

Soyeong Kang | Yong Jae Chung* | Jin A Lim¹

Conservation Science Division, National Research Institute of Cultural Heritage, Daejeon, 305-380, Korea

*Department of Conservation Science, Korea National University Cultural Heritage, Buyeo, 323-812, Korea

¹Corresponding Author: lja75@hanmail.net, +82-42-629-8712

초록 정유 상태의 세신(*Asarum sieboldii*) 추출물이 유기질 문화재 보존을 위한 천연 살생물제로써의 적합성 여부를 탐색하기 위하여 목재부후균과 궤련벌레에 대한 항진균활성 및 살충활성을 조사하였다. 목재부후균 4종에 대한 세신 정유추출물의 항진균활성(IC₅₀)을 측정한 결과 1.50~2.84 µl/disc으로 나타났으며, 이 중 *L. lepideus*에서 활성이 가장 우수하였다. 궤련벌레 성충에서는 50%(v/w)과 100%(v/w)의 농도로 처리했을 때 약 90% 이상의 살충활성을 보였다. 가스크로마토그래피-질량분석기를 이용하여 정유추출물의 성분을 분석한 결과 총 35종의 화학성분이 검출되었으며, 주성분은 methyleugenol(56.32%), eucarvone(11.53%), safrole(5.79%), δ-3-carene(2.09%) 순으로 나타났다. 따라서 세신 정유추출물은 목재부후균과 궤련벌레 등 곤충에 의해 야기되는 생물학적 열화로부터 유기질 문화재를 보존할 수 있는 천연 살생물제로써 활용 가능성을 확인하였다.

중심어: 세신, 정유, 항진균 활성, 살충 활성, 생물학적 열화, 유기질 문화재 보존

ABSTRACT To investigate bioactive materials for development of natural conservative agent on organic cultural heritage, essential oil from *Asarum sieboldii* was screened for antifungal and insecticidal activity against 4 wood rotting fungi and adult of *Lasioderma serricorne*. Antifungal activity of essential oil was tested by using paper disc soaking method. Antifungal activity expressed as IC₅₀ value showed 1.50~2.84 µl/disc range and the most significant antifungal activity was observed in *Lentinus lepideus*. The insecticidal activity of essential oil was examined by topical application method against *L. serricorne* adults. 50% and 100% of essential oil gave 98.3% and 100% mortality for 24 hours, respectively. The major components of the essential oil were methyl eugenol (56.32%), eucarvone (11.53%), safrole (5.79%), δ-3-carene (2.09%), which were identified by gas chromatography-mass spectrometry. From these results, essential oil from *A. sieboldii* could be useful for conservation of organic cultural heritage against biological deterioration by insect and wood rotting fungi.

Key Words: *Asarum sieboldii*, Essential oil, Antifungal activity, Insecticidal activity, Biological deterioration, Conservation of organic cultural heritage

1. 서 론

우리나라의 국가지정문화재 중 유기질 문화재는 비교적 높은 비중을 차지하고 있다. 그러나 해충이나 미생물 등 생물열화원으로부터 유기물 문화재를 보존하기 위해 적용할 수 있는 처리제의 종류는 제한적이다¹. 목조 문화재는 다양한 부후균에 의해 조직의 건조, 부패, 균열, 스펀지화, 솜털화, 분말화, 변색 등 심각한 손상을 입는다^{2,3}. 또한 목재, 지류, 섬유 등에 가해를 입히는 흰개미(*Reticulitermes speratus*)와 썩은곰팡이(*Lasioderma serricorne* L.)는 유기질 문화재에 서식하면서 손상을 유발하는 문화재 주요 가해 해충이다^{4,5}.

유기질 문화재의 생물학적 열화원에 의한 피해를 방지하기 위한 화학 처리제로는 메틸브로마이드(methyl bromide), 설퍼릴플루오라이드(sulfuryl fluoride)와 같은 살충용 훈증가스, 에틸렌옥사이드(ethylene oxide), 프로필렌옥사이드(propylene oxide)와 같은 살균용 훈증가스, 메틸브로마이드와 에틸렌옥사이드를 혼합한 살충·살균용 훈증가스, 파라디클로로벤젠(*p*-dichlorobenzene), 디클로로보스(dichlorvos) 등이 있다⁶. 그러나 일반적으로 이용되고 있는 화학적 약제의 문화재 재질과 인체에 대한 유해성이 지적되면서⁷ 천연물로부터 유래한 보존처리제 개발에 대한 요구가 증가되고 있다.

몇몇 식물들은 전통적으로 저장물품의 보호를 위해 이용되었으며, 광범위한 해충에 대한 훈증 및 접촉 독성이 우수한 것으로 보고되고 있다^{8,9}. 식물 추출물에 포함되어 있는 다양한 천연 성분은 미생물에 대한 항균활성 뿐만 아니라 살충 활성을 가지고 있는 것으로 알려져 있으며¹⁰⁻¹⁷ 현재 장뇌, 정향에서 추출한 천연 살생물제가 승화성 살충·방충제로서 문화재에 적용되고 있다⁶. 불복장유물에서 유래된 정향, 유향, 광향, 청목향, 침향 등 오향(五香)의 추출물이 유기질 문화재 손상에 관여하는 미생물과 곤충에 대해 항균 및 살충 효과를 나타낸다고 보고되었다^{18,19}. 또한 황백나무(*Phellodendron amurense*) 추출물은 목재부후균과 썩은곰팡이에 대한 항진균 및 살충활성을 나타내는 것으로 보고된 바 있다²⁰. 그러나 국내에서 유기질 문화재에 직접 활용되고 있는 천연 살생물제로는 정향과 팔각회향 혼합물이 거의 유일하며, 화학 처리제를 대체할 수 있는 다양한 천연 살생물제 개발을 위한 연구가 필요한 실정이다.

세신 추출물은 진균에 대한 항균 효과를 나타내며²¹, 특

히 정유 추출물은 저장해충인 쌀바구미(*Sitophilus oryzae* L.)에 훈증 독성 효과가 높은 것으로 알려져 있다¹⁷. 본 연구에서는 동시증류추출법(simultaneous steam distillation and solvent extraction, SDE)을 이용하여 세신(*Asarum sieboldii*)의 정유추출물을 확보하고 성분을 분석하였으며 목재 부후균과 썩은곰팡이를 대상으로 항진균 및 살충활성을 확인하였다. 이 결과를 바탕으로 세신이 유기질 문화재의 생물학적 열화원에 적용할 수 있는 천연 살생물제로서의 활용 가능성을 탐색하였다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 시료 및 정유의 추출

세신은 2008년 4월 제천약초에서 구입하였으며 추출 전까지 냉동 보관하였다. 정유(essential oil) 추출물은 메틸렌클로라이드(methylene chloride)와 3차 증류수를 사용하여 동시증류추출법으로 추출하였다. 세신 100g을 미리 가열한 3차 증류수 2L에 첨가하여 장치에 연결한 후 2-3시간 동안 반응하였다. 발생된 정유는 냉각관에서 응축된 후 수용기에서 증류수층과 정유층으로 분류되었다. 정유만을 따로 수집하기 위해 정유층을 황산나트륨(sodium sulfate) 처리를 하였다. 추출된 정유는 성분 분석 시까지 냉장 보관하였다.

2.2. 정유추출물 분석

추출된 세신 정유는 질량분석기(5973 inert, Agilent)가 연결된 기체 크로마토그래피(6890, Agilent)를 이용하여 분석하였다. 컬럼은 HP-5MS(30m×0.25mm i.d.×0.25 μ m film thickness, J&W Scientific)를 사용하였다. 시료 주입부(injector)와 검출부(detector)의 온도는 각각 250 $^{\circ}$ C와 280 $^{\circ}$ C로 설정하였으며 이온화 에너지는 70eV이었다. 운반 가스는 헬륨을 사용하였고(1ml/min) split ratio는 1:30이다. 분석 시료는 아세톤으로 1%(w/v)이 되도록 희석하였으며 최종적으로 1 μ l를 주입하였다. 오븐 온도는 50 $^{\circ}$ C에서 시작하여 분당 4 $^{\circ}$ C씩 증가하였고(4 $^{\circ}$ C/min) 최종 온도를 250 $^{\circ}$ C로 설정하였다. 정유추출물의 구성성분은 Willey 7과 NIST 98 spectrum library의 mass spectrum data를 이용하여 비교분석하였다.

2.3. 실험균주 및 곤충

항진균력 실험에 사용된 목재부후균은 갈색부후균 3종 [*Coniophora puteana*(KCTC6720), *Lentinus lepideus*(KCTC26228), *Postia placenta*(KCTC6671)]과 백색부후균 1종 [*Trametes versicolor*(KCTC16781)] 등 총 4종으로 한국생명공학연구원 생물자원센터에서 분양받아 사용하였다. 살충력 확인을 위한 공시충은 한국담배인삼공사(KT&G)에서 사육된 께련벌레를 사용하였다.

2.4. 항진균 활성 측정

세신 정유추출물의 목재부후균에 대한 항진균 활성 측정을 위해 paper disc soaking 방법을 응용하여 사용하였다. Potato Dextrose Agar(Difco)배지에 항생물질 검정용 여지(\varnothing 8mm, Adventec)를 올린 후 정유 추출물을 농도별로 흡수시켰다. 목재부후균은 콜크 보러(\varnothing 8 mm)로 균사의 선단부에서 disc를 취한 뒤 여지 위에 올려 각 균주를 접종하였다. 접종된 균주는 26°C에서 7~10일 동안 배양된 후 균사의 직경을 측정하였으며, 항진균 활성은 50% 저해농도(IC₅₀; 50% inhibition concentration, μ l/disc)로 나타났다. 대조군으로 α -pinene(Sigma)를 사용하였다.

2.5. 살충활성 측정

세신 정유 추출물의 께련벌레에 대한 살충활성은 topical application 방법²³에 의해 측정되었다. 께련벌레 성충의 복부에 정유추출물을 농도별로 처리하고 12시간 주기로 명암이 조절되는 항온항습기(28°C, 70~75% RH)에서 배양한 후 육안과 실체현미경(Stemi-2000C, Zeiss)으로 관찰하여 치사율(mortality)을 측정하였다. 대조군으로 hinokitol(Sigma)을 사용하였다.

3. 실험결과 및 고찰

3.1. 세신 정유 추출

동시증류추출법을 이용하여 세신 약제로부터 정유 성분을 추출하였다. 동시증류추출법은 휘발성 성분을 추출하는데 이용되는 대표적인 방법으로 추출과 농축에 의해 정유 성분을 포집한다. 추출 시 가열을 하므로 열에 약한 성분의 경우 변화가 일어날 수 있다.

3.2. 세신 정유추출물의 성분분석

세신 정유를 가스크로마토그래피가 부착된 질량분석기(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)로 분석한 결과는 Table 1과 같다. 총 35종의 화학성분이 확인되었으며, 종류와 함량은 monoterpene hydrocarbons 10종(5.4%), oxygenated monoterpenes 11종(14.2%), sesquiterpene hydrocarbons 2종(0.3%), phenylpropanoid 8종(70.4%), 기타 4종(9.9%)으로 분류되었다. 정유추출물의 주성분으로는 methyl eugenol(56.3%), eucarvone(11.5%), safrole(5.8%), δ -3-carene (2.1%) 순으로 나타났다.

기존에 연구된 세신 정유추출물의 주성분은 methyl eugenol(42.4%), safrole(12.0%), eucarvone(9.8%)으로 보고되어 있다²⁴. 이는 정유추출물의 성분과 함량은 식물의 생장 조건에 따라 다양하게 나타날 수 있으며²⁵, GC-MS 분석 시 사용하는 컬럼의 성격에 따라 검출되는 성분의 함량 차이를 보일 수 있다. 본 연구결과 또한 성분 함량에 약간 차이가 있지만 정유의 주성분이 본 연구결과와 일치하는 것으로 나타났다. 또한 기존에 알려진 천연 살생물제의 주요 활성 성분과 비교했을 때 정향과 팔각회향은 anethole과 eugenol이며¹⁸, 황벽나무는 berberine으로 세신 정유추출물과 차이를 보였다²⁰.

3.3. 세신 정유추출물의 항진균 활성

목재부후균 4종을 대상으로 측정한 세신 정유추출물의 항진균 활성은 아래 결과와 같다. IC₅₀(50% of inhibition concentration)은 디스크 당 1.50-2.84 μ l의 분포를 보였으며 그 중 백색부후균인 *L. lepideus*에 대한 활성 억제 효과가 가장 우수한 것이 관찰되었다. 또한 갈색부후균 중 *T. Versicolor*에 대한 항진균 활성이 가장 우수한 것으로 확인되었다. 세신 정유추출물의 주성분인 methyl eugenol은 다수의 정유와 과일에 존재하는 자연성분으로 *Aspergillus flavus* 등 다양한 균류에 대해 우수한 항진균 활성이 보고되고 있다^{22,26}. 본 연구에서 세신 정유추출물의 분석 결과, phenylpropanoids 중의 methyl eugenol이 56.3%로 나타나 세신 정유의 목재부후균에 대한 항진균 활성은 주성분인 methyl eugenol로부터 기인한 것으로 사료된다.

3.4. 세신 정유추출물의 살충활성

께련벌레에 대한 세신 정유추출물의 살충활성 측정결과

Table 1. Chemical composition (%) of essential oil from *A. sieboldii*.

No.	Compound	Retention Time (min)	Area (%)
Monoterpene hydrocarbons			(5.3608)
1	δ -3-Carene	8.5629	2.088
2	α -Phellandrene	8.3858	0.6999
3	α -Terpinolene	11.0718	0.7619
4	<i>p</i> -Cymene	9.0115	0.4134
5	β -Pinene	7.5829	0.3937
6	Limonene	9.1414	0.3356
7	Myrcene	7.9784	0.2700
8	<i>cis</i> -Ocimene	9.4247	0.1571
9	γ -Terpinene	10.1036	0.1407
10	α -Pinene	6.4023	0.1005
Oxygenated monoterpenes			(14.1461)
11	Eucarvone	13.2265	11.5344
12	Borneol	13.6633	0.6513
13	Car-3-en-2-one	16.5737	0.3086
14	1,8-Cineole	9.2181	0.2929
15	4-Terpineol	14.0588	0.2663
16	α -Terpineol	14.5075	0.254
17	Thymol	17.9255	0.2064
18	Verbenol	12.8428	0.1749
19	<i>p</i> -Cymen-7-ol	14.3186	0.1693
20	Thymol methyl ester	16.001	0.1518
21	Camphor	12.9549	0.1362
Sesquiterpene hydrocarbons			(0.2797)
22	(<i>E</i>)- β -Farnesene	23.1558	0.1445
23	Sativene	22.7662	0.1352
Phenylpropanoid			(70.3536)
24	Methyl eugenol	21.6859	56.3179
25	Safrole	17.8074	5.7942
26	3,5-Dimethoxytoluene	17.0636	5.6193
27	2,3,5-Trimethoxytoluene	21.8158	1.4923
28	Myristicin	23.2798	0.5982
29	4-Allylanisole	14.7791	0.2700
30	Elemicin	26.137	0.1564
31	Asarone	26.6506	0.1053
Others			(9.8596)
32	<i>trans</i> -Isocroweacin	24.4014	8.6627
33	Cyclopentadecane	24.0413	0.5284
34	Cyclohepta[de]naphthalen-7(8H)-one	28.3625	0.5267
35	1,1-Dicyano-2-methyl-4-(<i>p</i> -cyanophenyl)propene	24.1771	0.1418
Not identified			(0.0002)
Total identified			99.9998

Table 2. Antifungal activity of essential oil from *A. sieboldii* against wood-rotting fungi.

IC ₅₀ value (μl/disc)	Brown rot			White rot
	<i>C. puteana</i>	<i>T. versicolor</i>	<i>F. pinicola</i>	<i>L. lepideus</i>
<i>A. sieboldii</i>	2.3	2.8	2.4	1.5
Hinokitol	30.2	139.8	109.0	24.6

Table 3. Insecticidal activity of essential oil from *A. sieboldii* against adults of *L. serricornis* F.

Samples	Dose	Mortality (mean ± S.E., %)				
		3h	6h	12h	24h	48h
Not-treated		1.7 ± 2.9	1.7 ± 2.9	1.7 ± 2.9	1.7 ± 2.9	3.3 ± 5.8
Acetone		0	0	0	1.7 ± 2.9	1.7 ± 2.9
α-Pinene	50 μg	0	1.7 ± 2.9	1.7 ± 2.9	1.7 ± 2.9	1.7 ± 2.9
	100 μg	23.3 ± 22.5	23.3 ± 27.5	53.3 ± 28.9	56.7 ± 27.5	61.7 ± 27.5
<i>A. sieboldii</i>	50 %	75.0 ± 15.0	75.0 ± 10.4	90.0 ± 8.7	98.3 ± 2.9	100 ± 0
	100 %	96.7 ± 2.9	97.6 ± 2.9	98.3 ± 2.9	100 ± 0	100 ± 0

는 다음과 같았다. 킨벌레 성충의 복부에 100%(v/w) 세신 정유를 처리하고 6, 12, 24시간 후에 관찰했을 때 각각 97.6%, 98.3%, 100%의 살충활성을 나타내었다. 동일한 방법으로 50%(v/w) 세신 정유를 처리하여 관찰한 결과 각 시간별로 75.0%, 90.0%, 98.3%의 살충활성을 보였으며 48시간 후 100%의 치사율을 나타냈다(Table 3). 최근 세신의 뿌리에서 추출한 정유 성분이 쌀바구미(*Sitophilus oryzae* L.)에 대해 혼충활성이 있으며, 특히 주성분 중 eucarvone(17.28%)와 safrole(2.79%)이 우수한 활성을 나타낸다고 보고하였다²⁷. 또한 safrole의 어리쌀바구미(*Sitophilus zeamais*)와 거릿쌀도둑거저리(*Tribolium castaneum*)에 대한 접촉, 혼충독성은 이미 보고된 바 있으며²⁸ phenylpropanoids 중 safrole과 methyl eugenol은 킨벌레에 대해 살충활성이 있다고 보고되고 있다²⁹. 따라서 동시증류추출법으로 추출된 세신 정유의 주성분을 구성하고 있는 eucarvone(11.5%)과 safrole(5.8%)에 의해 킨벌레에 대한 살충활성이 우수하게 관찰된 것으로 사료된다.

4. 결론

세신의 정유는 동시증류추출법으로 추출하여 GC-MS로 성분 분석을 하였으며, 목재부후균과 킨벌레에 대한 항진균 및 살충활성을 조사하였다. 항진균 활성에 사용된 목재부후균은 4종(갈색부후균 3종, 백색부후균 1종)이며, paper disc soaking 방법으로 측정되었다. 살충활성은 킨벌레 성충을 대상으로 topical application 방법에 의해 측정

되었다. 실험결과는 다음과 같다.

1. 세신 정유추출물의 성분분석 결과, 총 35종의 화학성분이 확인되었으며, 주성분은 methyleugenol(56.32%), eucarvone(11.53%), safrole(5.79%), δ-3-carene(2.09%) 순으로 나타났다.

2. 목재부후균에 대한 항진균 활성(IC₅₀) 측정 결과, 4종의 부후균에 대해 1.50-2.84 μl/disc으로 나타났으며, 특히 *L. lepideus*에서 가장 우수한 항진균활성을 보였다.

3. 킨벌레 성충에 대한 살충활성 측정 결과, 50%, 100%(v/w)의 세신 정유를 처리한 뒤 각각 6, 12, 24시간 후 관찰했을 때 75.0%, 90.0%, 98.3% 그리고 97.6%, 98.3%, 100%의 치사율을 보여 매우 우수한 살충활성을 나타냈다.

위 결과로부터 세신 정유추출물은 목재부후균과 저장해충에 대해 효과적인 항진균 및 살충 활성을 갖고 있는 것으로 확인되었으며, 유기질 문화재의 생물학적 열화원을 제어하기 위한 천연 소재로서의 가능성을 확인하였다. 따라서 향후 문화재에 적용하기 위한 안정성 실험을 거쳐 세신 정유추출물이 유기질 문화재의 생물피해 방지를 위한 보다 안정적이고 효율적인 새로운 천연 보존처리제 개발에 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

사 사

본 연구는 국립문화재연구소 박사후·인턴연구원 연수과정 지원사업에 의해 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Han, S.H., Lee, K.S. and Chung, Y.J., "Research reports for conservation conditions of National paper cultural heritage (Nokgwon)". *Conservation Studies*, **18**, p3-25, (1997).
2. Kim, G.H., Kim, J.J. and Kim, H.J., "Remedial treatment of decayed wood using borate rod". *Journal of conservation Science*, **8**, p23-27, (1999).
3. Savluchinske-Feio, S., Nunes, L., Pereira, P.T., Silva, A.M., Roseiro, J.C., Gigante, B. and Curto, M.J.M., "Activity of dehydroabietic acid derivatives against wood contaminant fungi". *Journal of Microbiological Methods*, **70**, p465-470, (2007).
4. Dobie, P., "Insect and arachnids of tropical stored products: their biology and identification: a training manual". Natural Resources Institute, London, (1991).
5. Han, S.H. and Lee, K.S., "About insect damages of cultural properties". *Conservation Studies*, **11**, p106-123, (1990).
6. Oh, J.S., "The effects of various vegetable pesticides on materials of cultural property -Dyed and undyed silk fabric, cotton fabrics and Korean papers, undyed ramie fabric, pigments, painted plates-". *Journal of conservation Science*, **20**, p9-22, (2007).
7. Kim, Y.S., "Trends on works of biodeterioration performed at both domestic and international museums". *Journal of conservation science*, **5**, p65-79, (1996).
8. Isman, M.B., "Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world". *Annual Review of Entomology*, **51**, p45-46, (2006).
9. Isman, M.B., "Plant essential oils for pest and disease management". *Crop Protect*, **19**, p603-608, (2000).
10. Cammae, B.P.A., DeBolle, M.F.C., Terras, F.R.G., Proostost, P., Damme, J.V., Rees, S.B., Vanderleyden, J. and Brekaert, W.F., "Isolate and characterization of a novel class of plant antimicrobial peptides from *Mirabilis jalapa* seeds". *The Journal of Biological Chemistry*, **267**, p2228-2233, (1992).
11. Dixshit, A., Singh, R.D., Tripathi, R.D. and Dixit, S.N., "Fungitoxic and phytotoxic studies of some essential oils". *Biological Bulletin of India*, **1**, p45-51, (1979).
12. Grayer, R.I. and Kokubun, T., "Plant-fungal interactions: the search for phytoalexins and other antifungal compounds from higher plants". *Phytochemistry*, **56**, p253-263, (2001).
13. Mayer, A.M., "Plant-fungal interactions: A plant psychologist's view point". *Phytochemistry*, **28**, p311-317, (1989).
14. Rice, E.L., "Allelopathy-An update". *The Botanical Review*, **45**, p15-109, (1979).
15. Vaughn, S.F. and Spencer, G.F., "Volatile monoterpenes as potential parent structures for new herbicides". *Weed Science*, **41**, p114-119, (1993).
16. Yun, K.W., Kil, B.S. and Han, D.M., "Phytotoxic and antimicrobial activity of volatile constituents of *Artemisia princeps* var. *orientalis*". *Journal of Chemical Ecology*, **19**, p2757-2766, (1993).
17. Kim, J. and Park, I.K., "Fumigant toxicity of Korean medicinal plant essential oils and components from *Asiasarum sieboldi* root against *Sitophilus oryzae* L.". *Flavour and Fragrance Journal*, **23**, p79-83, (2008).
18. Chung, Y.J., Lee, K.S., Han, S.H., Kang, D.I. and Lee, M.H., "Antifungal and Insecticidal Activity of Ohyang (Five Medicinal Plants)". *Journal of conservation Science*, **10**, p21-30, (2001).
19. Chung, Y.J., Lee, K.S., Han, S.H., Kang, D.I. and Lee, M.H., "Utilization of fungicide and insecticide from medicinal plants for conservation of cultural properties". *Conservation Studies*, **22**, p5-26, (2001).
20. Lim, J.A., Choi, Y.A., Jung, M.H., Kang, S. and Chung, Y.J., "Antifungal and Insecticidal Activity of Methanol Extract from 11 Korean Wood Species". *Journal of conservation Science*, **23**, p5-14, (2008).
21. Han, K.H., "Antifungal Activity of Essential Oil from *Asarum sieboldii* against Epidermal and Opportunistic Pathogenic Fungi". *The Korean Journal of Mycology*, **35**, p58-60, (2007).
22. Kim, Y.G., "Studies on the Antimicrobial Activities of the Extractives from *Magnolia* (*Magnolia kobus* DC. var. *borealis* Sarg.)". *Mokchaekonghak*, **27**, p105-114, (1999).
23. Miyazawa, M., Fujioka, J. and Ishikawa, Y., "Insecticidal compounds from *Phellodendron amurense* active against *Drosophila melanogaster*". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **82**, p830-833, (2002).
24. Zhu, Y.P., "Chinese Materia Medica - Chemistry, Pharmacology and Applications". Harwood Academic, Amsterdam, (1998).

25. Ogiwara, Y. and Takeda, T. "The chemistry and pharmacology of Asari rhizome". *International journal of oriental medicine*, **15**, p199-204, (1990).
 26. Meepagala, K.M., Sturtz, G. and Wedge, D.E., "Antifungal constituents of the essential oil fraction of *Artemisia dracunculus* L. Var. *dracunculus*". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, p6989-6992, (2002).
 27. Sudhakar, P., Latha, P., Sreenivasulu, Y., Bhaskar Reddy, B.V., Hemalatha, T.M., Balakrishna, M. and Raga Reddy, K., "Inhibition of *Aspergillus flavus* colonization and aflatoxin (AflB1) in peanut by methyleugenol". *Indian Journal of Experimental Biology*, **47**, p63-67, (2009).
 28. Huang, Y., Ho, S.H. and Kini, R.M., "Bioactivities of saffrole and isosaffrole on *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae)". *Journal of Economic Entomology*, **92**, p676-683, (1999).
 29. Bhardwaj, A., Tewary, D.K., Kumar, R., Kumar, V., Sinha, A.K. and Shanker, A., "Larvicidal and structure-activity studies of natural phenylpropanoids and their semisynthetic derivatives against the tobacco armyworm *Spodoptera litura* (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae)". *Chemistry and Biodiversity*, **7**, p168-177, (2010).
-