

화랑곡나방 유충 방제를 위한 회향오일 기반 방충향낭 개발

이수현¹ · 조현주² · 이윤정² · 한재준^{1,*}

¹고려대학교 생명과학대학 식품공학과

²성균관대학교 생명공학대학 식품생명공학과

Development of a Fennel (*Foeniculum vulgare*) Oil-based Anti-insect Satchet to Prevent the Indian Meal Moth (*Plodia interpunctella*)

Soo-Hyun Lee¹, Heon-Joo Jo², Yun-Jeong Lee² and Jaejoon Han^{1,*}

¹Department of Food Bioscience and Technology, Korea University, Seoul 136-701, Korea

²Department of Food Science and Biotechnology, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea

Abstract The stored-product insects have been a serious problem during the entire process of distribution on the food industry. Especially, the Indian meal moth (*Plodia interpunctella*) is one of stored-product insects which causes harm through penetrating into the food packaging. The objective of this study was to develop the anti-insect packaging material with fennel (*Foeniculum vulgare*) oil (FO). The FO has been selected for insecticidal substance against *P. interpunctella*, which was tested by fumigant toxicity assay. An anti-insect sachet was prepared by FO and filterpaper placed in a small paper bag. Repellent test was performed to evaluate the repellent activity of anti-insect sachet. In addition, the controlled release of FO from the anti-insect sachet was determined at 28°C by gas chromatography (GC). It was demonstrated that FO was an effective substance against *P. interpunctella*. The mortality of FO was 56% at 800 mg/0.5 L in 120 h. In repellent test, the FO sachet showed effective repellency against *P. interpunctella*. The developed anti-insect sachet could be a promising source for insect repellent materials in food packaging.

Keywords Indian meal moth, Fennel oil, Sachet, Anti-insect packaging

서 론

저장 식품에서 곤충이나 벌레의 혼입은 식품의 품질을 저하시킬 뿐만 아니라 생산 기업의 이미지를 실추시켜 경제적 손실을 입히며 소비자의 식품에 대한 불신을 초래한다¹⁾. 이와 관련한 2010년 식품의약품 안전처에서 발표한 식품의 이물, 신고 보고 현황에서 벌레에 의한 이물 신고가 전체의 46.4%로 가장 높은 것으로 알려졌다²⁾. 식품에 침입하여 해를 입히는 해충의 종류는 매우 다양하지만 저장 곡류에서는 화랑곡나방(*Plodia interpunctella*), 어리쌀바구미(*Sitophilus zeamais*), 거릿쌀도둑거저리(*Tribolium castaneum*)가 피해의

50% 이상을 차지했으며³⁾, 가공식품에서는 과자류, 초콜릿류, 라면류에 해충의 유입이 잦았고, 대부분 화랑곡나방 유충(larva)의 침입(66.7%)에 의해 피해가 발생했다⁴⁾.

화랑곡나방은 나비목 명나방과의 곤충으로 세계적으로 분포하며 저장곡류, 건조채소, 가공식품 등에 피해를 주는 해충이다. 화랑곡나방은 알(eggs), 유충(larvae), 번데기(pupae), 성충(adults)인 네 단계의 생활사를 갖는데 이 중 가장 문제가 되는 시기는 유충 시기이다. 유충은 날카롭게 발달된 갈고리 모양의 턱 구조를 가지고 있어서 쉽게 식품 포장재를 뚫고 안으로 침투하는데 핀홀(Pin-hole)이 있는 식품포장재 또는 구겨진 포장재 등에 갈고리 모양의 턱을 걸어 뜯어내거나 갇아내는 형태로 식품포장재를 뚫고 침입한다. 갓 부화한 유충은 빠르게 먹이를 탐색하여 흠어지는 경향이 있으며 1령(stadium) 유충은 0.39-0.45 mm의 핀홀이 있는 알루미늄 캔까지도 뚫고 들어간다⁵⁾. 화랑곡나방 유충은 성장하면서 입에서 많은 흰색 실을 배출하여 쌀이나 식품

*Corresponding Author : Jaejoon Han
Department of Food Bioscience and Technology, Korea University,
Seoul 136-701, Korea
Tel : +82-2-3290-3022, Fax : +82-2-953-0737
E-mail : jjhan@korea.ac.kr

을 엮어 매며, 유충이 고밀도로 존재할 경우 실로 먹이를 감싸는 것 이외에도 먹이 전체에 고치를 지은 것과 같은 형태로 실을 배출한다. 비록 성충은 식품포장재 내부로 침입할 수는 없지만 주변의 산란된 알에서 부화한 유충은 특유의 턱 구조를 이용하여 포장재를 뚫고 내부로 침입한 후 그 속에서 성장하는 경우가 발생하여 심각한 문제를 일으킨다. 따라서 직접적으로 포장재 내부로 침투하는 유충뿐만 아니라 식품 주위에서 산란하여 간접적인 피해를 입히는 성충에 대한 방제 대책도 필요하다고 할 수 있다.

해충의 방제는 크게 화학적 방제(chemical control), 물리적 방제(physical control), 생물학적 방제(biological control)로 나뉜다. 화학적 방제는 방충물질을 이용하여 주로 저장해충 방제에 이용되는 훈증(fumigation) 처리법에 의한 후각성 기피제와 접촉 독성(contact insecticides) 원리를 이용한 접촉성 기피제를 칭한다. 물리적 방제의 경우 식품 제조 공정 중 저온 저장, 방사선 처리 등을 말하며 천적을 이용한 생물학적 방제법도 이용되고 있다⁶⁾. 화학적 방제법에 이용되는 기피 물질은 크게 합성 기피제와 천연 기피제로 나뉜다. 2000년대까지는 합성기피제로서 메틸브로마이드(methyl bromide)가 다양한 범위에서 쓰였으나, 오존층 파괴 문제와 식품 내 축적 문제로 현재는 그 사용이 점점 제한되고 있다⁷⁾. 이렇듯 화학합성 기피제가 가지는 부작용 및 환경오염에 대한 우려로 인하여 독성이 적은 새로운 천연기피제를 개발하려는 노력이 지속되고 있는데, 그 중 식물로부터 추출한 에센셜오일(essential oil)은 포유류에 독성이 적고 그 효과가 기존의 훈증제와 유사하여 화학합성 기피제의 대체 물질로 급부상하고 있다⁸⁾. 식물유래 추출물을 기반으로 한 훈증제들에는 살란성(ovicidal), 기피제(repellent), 섭식저해 물질(antifeedant), 살균(sterilization), 독성(toxic) 등이 있어서 타깃 해충들에게 휘발성 성분 또는 가스 상태로 작용하며^{9,10)}, 화학 기피제인 메틸브로마이드나 설퍼릴플루오라이드(sulfuryl fluoride)처럼 끓는 점이 낮은 편이다¹¹⁾.

회향(*Foeniculum vulgare*)은 산형과의 다년생 식물로서 그 특유의 향으로 인해 고대시대로부터 약재 및 향신료로 이용되었으며 현재까지도 착향료, 제과 산업 및 화장품, 제약 등 다양한 분야에 이용되고 있는 식용 가능 소재이다. 회향 에센셜오일(FO)의 성분은 *trans*-anethole 72.86%, fenchone 12.93%, limonene 6.37%, estragol 3.41%, α -pinene 1.22%, camphene 0.19%인데, 그 중 *trans*-anethole은 회향의 주요 성분으로 해충에 대한 살충능력 및 기피효과도 많은 연구에서 밝혀진 바 있다¹²⁾.

최근 식품 포장 분야는 다양한 기능성을 갖춘 액티브 패키징(active packaging) 연구에 초점이 맞춰지고 있다. 방충포장이라 함은 근본적으로 식품을 해충의 침입과 이로 인한 피해를 최소화하는 방충 기능성 액티브 패키징으로 볼 수 있다. 식품 내 해충침입이 발생할 경우 소비자에게 상당

한 불쾌감뿐만 아니라 뚫린 포장재 구멍으로 인한 각종 미생물 및 다른 해충의 번식에 대한 우려를 배제할 수 없다. 또한 수분과 산소의 높은 투과로 인한 부패, 변질 등 식품의 저장성 및 안전성을 위협할 위험성도 높아진다¹³⁾. 따라서 식품 포장소재 자체에 천연방충물질을 적용하여 개발한 기능성 포장재를 통하여 유통부터 소비단계까지 전반적으로 해충으로 인한 피해를 방제할 수 있는 방충포장 소재의 개발이 절실한 실정이다.

본 연구의 목적은 방충효과가 알려진 FO의 화랑곡나방 유충에 대한 사멸효과를 알아보고, FO를 이용한 향낭(FO sachet)의 형태로 방충소재를 제작하여 화랑곡나방 유충에 대한 기피효과 및 방출 경향을 확인하는 데 있다.

재료 및 방법

1. 화랑곡나방의 배양

실험에 사용된 해충인 화랑곡나방의 유충은 배양기(incubator)를 사용하여 27~28°C, 상대습도 70~80%를 일정하게 유지하여 배양하였으며 3령 유충을 실험에 이용하였다.

2. 훈증실험

실험에서 사용된 회향오일(fennel oil, FO)은 Sentpia (Gyeonggido, Korea)에서 구입하였다. 훈증테스트(fumigation test)는 FO의 사멸 효과를 확인하기 위해 필터페이퍼 확산법을 변형하여 실험하였다¹⁴⁾. FO는 80 mg, 100 mg, 400 mg, 800 mg씩 각각 지름이 70 mm인 No. 2 Whatman filter paper (Whatman Inc., Clifton, NJ, USA)에 흡수시켜 0.5 L 폴리에틸렌 용기의 뚜껑 안쪽에 부착하였다. 또한 화랑곡나방 3령 유충은 20개의 유리병(지름 1.5 cm, 높이 4.5 cm)에 한 마리씩 현미 3알과 함께 넣어 동충포식(cannibalism) 및 아사(starvation; 餓死)의 위험을 예방하였다. 그리고 각각의 유리병에는 옥양목을 씌운 뒤 지름 1.1 cm의 구멍을 뚫은 뚜껑으로 닫아 공기의 순환을 유도하였으며, 이를 모두 0.5 L의 폴리에틸렌 용기 안에 적재한 후 뚜껑을 닫아 28°C 암실에 두어 24시간과 120시간에 각각 사멸률을 관찰하였다. 각각의 대조구 및 실험군은 9반복으로 실험하였다.

3. 방충향낭의 제조

향낭은 한쪽 면이 폴리에틸렌으로 코팅 처리된 roll paper를 이용하여 4 cm × 4.5 cm의 크기로 제작하였고, 열접합기(SK-310, Chueng-II Co., Seoul, Korea)를 이용하여 밀봉하였다. FO 향낭은 No.2 Whatman filterpaper를 3 cm × 3.5 cm 크기로 만들어 0.1 g의 오일을 흡수시켜 향낭에 담아 밀봉하여 제작하였다.

4. 기피테스트

기피테스트(repellent test)는 개발된 향낭의 기피 효과를 알아보기 위한 실험으로서 지름 5 cm, 길이 37 cm의 유리 실린더를 이용하였다. 유리 실린더 안쪽(A 구역)에 향낭을 위치시키고, 중앙부(B 구역)에 화랑곡나방 유충 30마리를 위치시킨 뒤 실린더의 입구 부분(C 구역)은 옥양목으로 막아 공기는 출입시키되 유충의 이탈 및 오일의 포화를 방지하였다. 기피력을 알아보기 위한 유충의 위치는 12, 24, 36, 48시간 후에 측정하였다. 기피테스트는 28°C에서 10반복으로 진행되었다.

5. 방출경향 분석

상대습도 50%, 온도 28°C의 일정한 방출 환경을 위해 향온습습기(Sejong Scientific Co., Korea)를 이용하였다. 향낭을 100 mL injection vial에 넣어 rubber stopper와 aluminum cap을 이용하여 주요 활성성분이 손실되지 않도록 밀봉한 뒤 0, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 96시간 후에 방출 경향을 측정하였다. 온도조건이 28°C인 waterbath에 향낭이 담긴 injection vial을 넣고 headspace 상의 휘발성 활성성분을 75- μ m 170 carboxen/polydimethylsiloxane (CAR/PDMS) coating SPME fiber를 이용하여 20분간 포집하였다. 이렇게 포집된 주요 활성성분 분석은 flame ionization detector (FID)가 부착된 5890A gas chromatography (GC) system (Agilent tech, Palo Alto, CA, USA)를 이용하여 분석하였다. 주입구와 검출부의 온도는 각각 250°C와 280°C였고, 컬럼은 DB-5(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m)가 장착되었다. 오븐 온도는 55°C에서 2분간 정지(holding) 후 2°C/min의 속도로 65°C에 도달하였으며(3분간 정지), 다시 20°C/min의 속도로 280°C까지 도달 후 10분간 정지하였다. Carrier gas로는 헬륨이 사용되었다.

6. 통계 분석

실험의 반복수는 실험방법에 기술된 반복수로 시행하였고, 실험 데이터는 Statistical Analysis System (SAS) software, version 9.3 (SAS Institute, Cary, NC, USA)의 분산분석(ANOVA)를 이용하여 Student-Newman-Keuls test 사후검정 방법으로 처리하여, 평균값 유의차($p \leq 0.05$)를 검증하였다.

결과 및 고찰

1. FO의 혼증 사멸률 실험

혼증제는 기체상의 방충물질이 대상 해충에 작용하여 살충능력을 나타내는 것을 말한다¹⁵⁾. 에센셜오일은 대부분 phenolic류, monoterpene류로 구성되며, 특히 monoterpene류는 곤충의 아세틸콜린 가수분해효소(acetylcholinesterase)를 억제하여 신경계에 교란을 일으키는 기작으로 살충효과를 나

타낸다¹⁶⁾. 또한 FO를 구성하는 주요한 활성 성분은 *trans-anethole*이며 화랑곡나방에 대해 효과적인 혼증 살충 능력을 갖는 것으로 알려져 있다¹⁷⁾.

동종포식(cannibalism)이란 먹이가 부족하고 개체의 밀도가 높은 극한 환경에서 동족을 잡아먹는 현상을 말하며 유충의 사멸률에 영향을 끼치는 요인들 중 하나이다¹⁸⁾. 하지만 동종포식의 위험을 제거하지 않은 실험결과(data not shown)에서는 동종포식으로 인한 사멸로 인해 방충물질만의 혼증 사멸률을 측정할 수 없기 때문에 먹이 및 유충 각각을 격리시켜서 아사 및 동종포식의 위험을 배제하여 실험을 설계하였고, FO에 대한 화랑곡나방 유충의 혼증 사멸률 측정 결과는 다음과 같다(Fig. 1). 즉, 24시간 후에 측정된 혼증 사멸률은 무처리구와 실험군에서 유의적 차이 없이 사멸이 거의 일어나지 않았고, 120시간이 지난 후에야 무처리구와 실험군 사이에 사멸률의 차이를 보였다. 이러한 혼증 사멸의 원리는 앞서 언급하였듯이 에센셜오일의 구성성분과 관계가 있는데, FO의 주요 활성 성분들이 화랑곡나방 유충의 호흡기를 통하여 유충 안으로 침투하여 신경계의 아세틸콜린 가수분해 효소를 억제하여 사멸에 이르게 하는 것으로 보인다. 다른 연구에서도 FO의 활성 성분인 *trans-anethole*이 시간과 농도가 증가함에 따라 어리쌀도둑거저리(*Tribolium confusum*), 쌀바구미(*Sitophilus oryzae*), 지중해 밀가루 명나방(*Ephesia kuehniella*)에 대한 혼증 사멸효과가 있었다는 결과가 보고되어 있다¹⁹⁾.

2. FO 향낭의 기피효과

FO 향낭을 기피제로 하여 화랑곡나방 유충에 대한 기피테스트 실험을 하였다. 향낭과 가까운 구역(A 구역), 중간 구

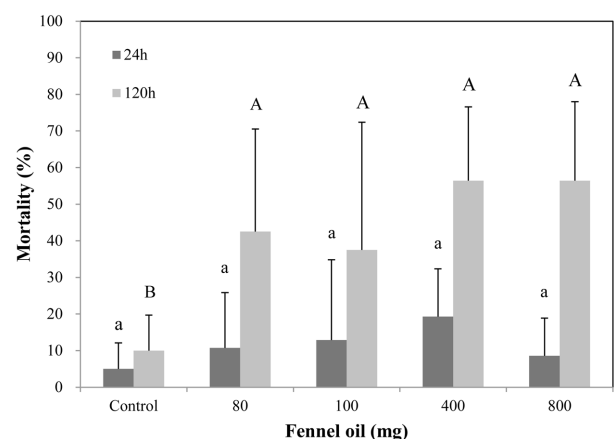


Fig. 1. Mortality of *P. interpunctella* treated with FO at 0, 80, 100, 400 and 800 mg/0.5 L air.

^aRepresents no significant difference between the control and treated groups in 24 h ($p > 0.05$).

^{A,B}Represents significant differences between control and treated groups in 120 h ($p \leq 0.05$).

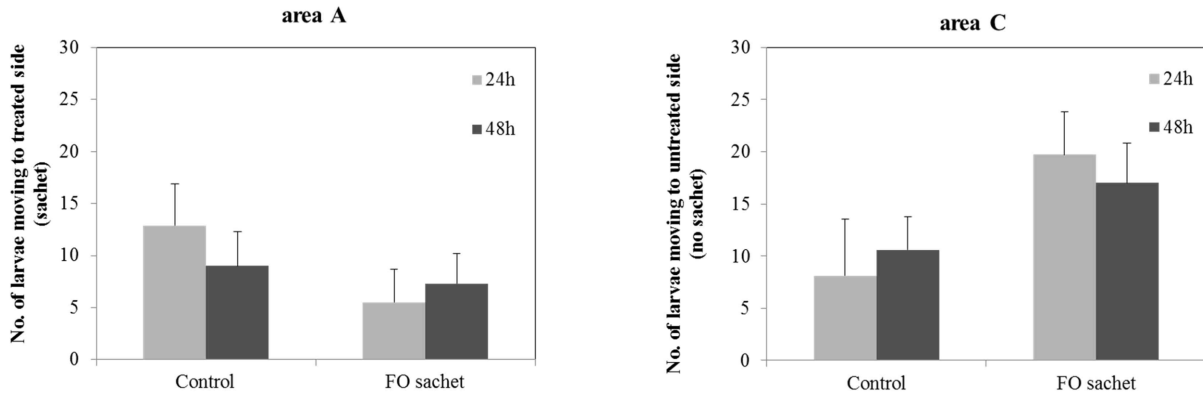


Fig. 2. Repellent activities of FO sachet to *P. interpunctella*.

역(B 구역), 향낭과 먼 구역(C 구역)인 세 구역으로 나누어 시간에 따른 유충의 이동 경향을 관찰하였다. FO 자체의 기피력을 알아보기 위한 FO 향낭의 기피테스트의 결과는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 A 구역과 C 구역을 비교하였을 때, 무처리구에서는 A 구역과 C 구역으로 이동한 화랑곡나방 유충의 수의 차이가 없었지만 실험군의 경우 FO 향낭과 가까운 A 구역에 존재하는 유충 수는 상대적으로 적었고 C 구역에 존재하는 유충 수는 많았다. 즉, FO와 거리가 가장 먼 통기구 근처로 유충이 이동하는 경향을 보였기 때문에 FO가 화랑곡나방 유충에 대하여 기피력을 가진다고 판단하였다. 시간에 따른 기피력을 보면, 24시간과 48시간에서 이동한 유충 수는 A 구역에서나 C 구역에서 모두 시간이 지나도 뚜렷한 차이는 보이지 않았다. 에센셜오일인 FO은 휘발력이 강한 특성을 지닌 것으로 알려져 있지만 위 실험을 설계한 48시간 내에서는 기피력에 큰 영향을 미치지 않고 충분히 화랑곡나방 유충의 기피를 유도하는 것으로 보인다.

3. 방출경향 분석

FO 향낭으로부터 주요 활성물질의 방출 지속성 및 방출량

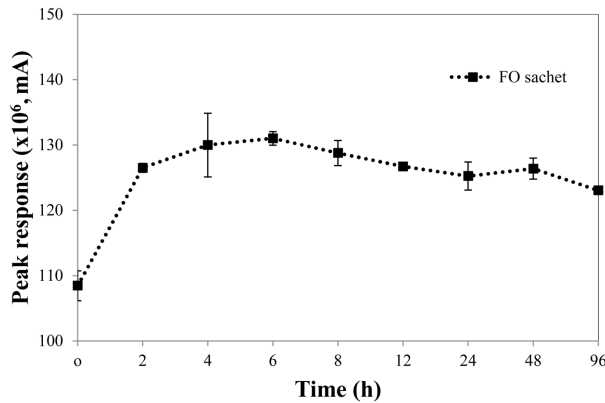


Fig. 3. Release characteristic of active compounds from FO sachet at 28°C, RH 50% for 96 h.

을 분석하고, FO의 주요 방출효과를 나타내는 *trans*-anethole 을 표준물질로 사용하여 GC를 이용한 방출경향을 분석하였다. 먼저 FO 향낭의 방출 지속성 및 방출량의 결과(Fig. 3)를 보면, FO 향낭의 방출량은 6시간까지 증가하다가 이후 일정하게 유지되는 것을 볼 수 있다. Fig. 4에서는 FO의 실질적 살충 작용을 나타낸다고 알려진 *trans*-anethole의 FO 향낭 내 함량을 나타내었다. FO 향낭에서 방출된 향미성분 중 *trans*-anethole의 함량을 나타낸 그래프에서도 약 6시간 후 약 4.5 mM까지 증가했던 *trans*-anethole의 양이 실험을 진행한 96시간 후에도 약 4.2 mM의 방출량을 보여 그 양이 비교적 일정하게 유지되었다.

위와 같은 방출 경향은 앞서 실험한 훈증 사멸 실험과 기피실험의 결과를 뒷받침해주는데, 훈증 사멸 실험에서는 실험 특성상 공기의 출입을 막아 폴리에틸렌 용기 내부에서 휘발하는 FO 양에 비해 외부로 소실되는 FO의 양이 거의 없어 시간이 지남에 따라 폴리에틸렌 용기 내부에 휘발된 FO의 농도가 증가하여 훈증 사멸률이 증가하는 결과를 보였지만, 기피 실험의 경우 구역에 따른 농도 차이를 두기 위해 통기구를 설치하였기 때문에 휘발된 FO이 실린더 외부로 손실되어 24시간과 48시간에서 화랑곡나방 유충에 대

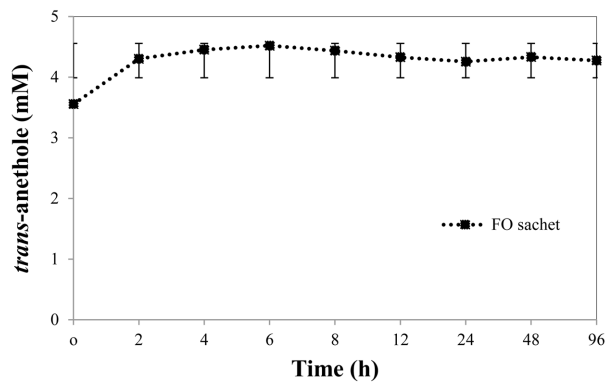


Fig. 4. The headspace concentration of *trans*-anethole over FO sachet for 96 h.

한 기피력이 차이가 거의 없었던 것으로 분석된다. 또한 방출경향으로 보아 적어도 96시간 이상 화랑곡나방 유충에 대한 기피력이 유지될 것으로 유추된다.

요 약

본 연구의 목적은 식품 포장재를 뚫고 침입하여 식품에 큰 피해를 입히는 화랑곡나방 유충의 유입을 방지하기 위한 방충향낭을 개발하는 것이다. 방충 물질로는 해충에 대해 살충 및 기피력을 가지는 것으로 알려진 회향의 에센셜오일인 회향오일(FO)을 선정하였다. 혼증테스트를 통하여 화랑곡나방 유충에 대해 FO의 혼증사멸 효과를 관찰하였고 120시간 후 FO은 약 56%의 사멸률을 보였다. 이 후 포장기법 중 하나인 향낭 기법을 사용하여 FO 향낭을 제조하여 기피효과를 측정하였다. 그 결과, FO 향낭은 무처리군과 비교하여 유의적인 기피효과를 보였다. 하지만 휘발성이 강한 에센셜오일의 특성으로 인해 48시간에서의 기피력이 24시간이 지난 향낭의 기피력보다 낮은 것을 볼 수 있었다. Gas chromatography를 이용한 FO 향낭의 방출 경향 분석에 따르면 오일의 총 방출량 및 *trans*-aenthole의 함량이 일정 시간 이후 점차 방출량이 줄어드는 경향을 보였다. 따라서 FO 향낭은 방충력을 가지는 것으로 분석되지만 높은 휘발성으로 인해 기피력은 시간이 지날수록 감소할 것으로 보인다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(과제번호: PJ009793)의 지원에 의해 이루어진 것임.

참고문헌

- Phillips, T.W., Berberet, R.C., and Cuperus, G.W. 2000. Post-harvest integrated pest management. The Wiley Encyclopedia of Food Science Technology, 2nd Edition. John Wiley and Sons, New York: 2690-701.
2011. Consumers guides for the corresponding foreign matter. Korea Food and Drug Administration.
- Han, M.-J., Choi, J.-Y., Kim, H.-Y., Lee, G.-S., and Han, E.-J. 2006. Suvey of stored grain insects. Rural Development Administration.
- Kim, J.-N. 2009. A study on safety management of packaging for antiinsect. Korea Food and Drug Administration.
- Tsuji H. 1998. Experimental invasion of a food container by first-instar larvae of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* Hübner, through pinholes. Medical Entomology and Zoology 49: 99-104.
- Valladares, G.R. and Salvo, A. 1999. Insect Plant Food Webs Could Provide New Clues for Pest Management. Environmental entomology 28(4): 539-44.
- Fields, P.G. and White, N.D. 2002. Alternatives to Methyl Bromide Treatments for Stored-Product and Quarantine Insects I. Annual Review of Entomology 47(1): 331-359.
- Subramanyam, B. and Hagstrum, D.W. 2000. Alternatives to pesticides in stored-product IPM: Kluwer Academic Publishers.
- Isman, M.B. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annu. Rev. Entomol. 51: 45-66.
- Nawrot, J. and Harmatha, J. 1994. Natural products as anti-feedants against stored products insects. Postharvest News and Information 5(2).
- Frear DEH. 1948. Chemistry of Insecticides, Fungicides and Herbicides. Chemistry of Insecticides, Fungicides and Herbicides. (2nd edn).
- Padilha de Paula, J., Gomes-Carneiro, M.R., and Paumgarten, F.J. 2003. Chemical composition, toxicity and mosquito repellency of *Ocimum selloi* oil. Journal of ethnopharmacology 88(2): 253-260.
- Riudavets, J., Salas, I., and Pons, M. 2007. Damage characteristics produced by insect pests in packaging film. Journal of Stored Products Research 43(4): 564-570.
- Zoubiri, S. and Baaliouamer, A. 2011. Chemical composition and insecticidal properties of some aromatic herbs essential oils from Algeria. Food Chemistry 129(1): 179-182.
- Rajendran, S. and Sriranjini, V. 2008. Plant products as fumigants for stored-product insect control. Journal of Stored Products Research 44(2): 126-135.
- Houghton, P.J., Ren, Y., and Howes, M.-J. 2006. Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. Natural product reports 23(2): 181-199.
- Kim, D.H. and Ahn, Y.J. 2001. Contact and fumigant activities of constituents of *Foeniculum vulgare* fruit against three coleopteran stored-product insects. Pest Management Science 57 (3): 301-306.
- Fox, L.R. 1975. Cannibalism in natural populations. Annual Review of Ecology and Systematics 6: 87-106.
- Tunç, I., Erler, F., Adler, C., and Schoeller, M. 2000. Fumigant activity of anethole, a major component of essential oil of anise *Pimpinella anisum* L. IOBC WPRS BULLETIN 23(10): 221-226.