

천연 추출물을 이용한 항균지의 제조 및 특성

김강재 · 정진동 · 안은별 · 엄태진^{†1}

접수일(2015년 1월 13일), 수정일(2015년 2월 10일), 채택일(2015년 2월 17일)

Preparation and Characteristics of Anti-Fungal Paper with Natural Extractives

Kang-Jae Kim, Jin-Dong Jung, Eun-Byeoul Ahn and Tae-Jin Eom^{†1}

Received January, 13, 2015; Received in revised form February 10, 2015; Accepted February 17, 2015

ABSTRACT

The anti-fungal activity of plant extractives was investigated and the lacquer extractives were selected. The lacquer extractives were coated on anti-fungal paper and confirmed its effect. Water repellency, tensile index and brightness of anti-fungal paper treated with natural extractives were similar to commercial pesticide-treated paper. The incidence of *Fusicladium leuieri* MAGNUS of commercial pesticide-treated paper and anti-fungal paper treated with lacquer were similar but, the incidence of *Botryosphaeria dothidea* (Moug.) Ces & De Not and *Gloeodes pomigena* of those were increased 10 - 60 % than commercial pesticide-treated paper.

Keywords: lacquer extractives, anti-fungal paper, disease incidence, *Botryosphaeria dothidea* (Moug.) Ces & De Not, *Fusicladium leuieri* MAGNUS, *Gloeodes pomigena*

1. 서론

과수재배기술의 핵심은 병해충과의 전쟁이라고 할 수 있을 만큼 과수 재배 기간 동안 많은 농약을 사용하게 된다. 이에 과일봉지와 같은 농업용 항균지는 과실에 직접 접촉되는 농약은 방지할 수 있으나 과실을 병해충으로부터 보호하기 위하여 과일봉지 제조에 있어

서 농약을 원지에 도포하였다. 과일봉지에의 농약 도포는 지금까지는 문제되지 않았지만 과일봉지에 도포된 농약이 과실에서 검출될 가능성을 전혀 배제할 수는 없는 상황이다. 이러한 문제점을 근본적으로 해결하기 위해서는 과일봉지와 같은 농업용 항균지 생산에 있어서 농약의 효능을 대체할 수 있는 친환경적인 천연 대체물의 모색이 시급하다고 할 수 있다. 농업용 항균지

• 경북대학교 농업생명과학대학 임산공학과(Dept. of Wood and Paper Science, College of Agriculture and Life Science, Kyungpook National University, Daegu, 702-701, Korea)

† 교신저자(corresponding author): E-mail: tjeom@knu.ac.kr

에 있어서 농약의 기능은 항균지 자체를 곰팡이로부터 보호하고 특히, 내부의 과실에 병해충이 전이되는 것을 방지하는 것이다. 병원균으로부터 과실을 보호하기 위해서 사용한 것이 농약이며 구체적으로는 방부제로서의 기능^{1,2)}을 기대하는 것이라고 할 수 있다.

지금까지 알려진 천연 방부제 중에 인체 독성이 낮고 방부효과가 우수한 것으로 알려진 것을 살펴보면 다음의 몇 가지를 들 수 있다.

송진은 소나무과의 나무가 손상을 입었을 때 분비되는 발삼으로 깨끗한 것은 무색·투명한 액체이나 시간이 지나면 희뿌옇고 끈적거리는 성질이 생긴다. 채취 방법은 나무에 상처를 내어 거기서 나오는 송진을 컵 등으로 받는데, 상처에 황산을 뿌리면 수취량이 증가한다. 주로 비누, 살충제, 인쇄잉크, 제지용 첨가약품 및 의약품에 이용³⁾된다.

계피는 중국 남부 및 북 베트남에서 주로 많이 생산되는 식물로써 과거부터 한방과 민간요법에 널리 사용되고 있다. 주요 성분은 cinnamadehyde이며 그 외에도 다양한 성분과 정류 등이 존재한다. 익히 알려진 약리 작용으로는 혈압 강하, 혈액순환 등이 있고 감기 또는 진통에 효능^{4,5)}이 있는 것으로 알려져 있다.

웃은 옷나무로부터 채취되는 것으로 오래전부터 한국에서 천연도료로 사용되어 왔다. 또한 혈액순환개선, 살충 및 살균제로 많이 사용되고 있다. 최근 들어 옷의 효능에 관련된 연구가 많이 이루어지고 있는데 옷의 주요 성분인 플라보노이드(flavonoid) 성분의 항산화 기능에 관련된 연구, 알레르기 반응을 일으키는 우루시올(urushiol) 성분의 강력한 항산화력 및 항균력에 관련된 연구 및 우루시올의 항암제로써의 가능성에 관한 연구 등⁶⁻⁹⁾이 주를 이루고 있다.

이상의 3가지 천연물은 주로 고등식물의 2차대사물로 발견되는 것들이다. 따라서 본 연구는 상기의 천연 추출물의 항균성을 조사하여 최적 추출물을 선별한 후 이를 농업용 항균원지에 도포하여 그 효과를 검증함으로써 농약을 대체할 가능성 물질로써의 가능성을 모색하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 천연 추출물

소나무, 계피 및 옷나무 300 g을 물 500 ml에 첨가한 후 약 3시간 동안 가열하면서 환류 냉각시키고 감압기를 사용하여 여과 및 농축 과정을 반복하여 천연추출물을 제조하였다. 농축이 용이하게 되지 않는 시료의 경우 에탄올 1 l에 침전시켜 상등액을 제거하고 남은 잔사를 취합하여 다시 여과, 농축 과정을 반복하였다. 최종적으로 추출된 시료는 송진(Pine resin), 계피 추출물(Cinnamon) 및 옷 추출물(Lacquer)이다.

2.2 대조구

상기 3종의 천연 추출물과의 비교를 위하여 기존 농업용 항균지에 사용되는 2종의 농약을 대조구로 사용하였다. 두 종류 농약의 기본적인 특성을 Table 1에 나타냈다. 두 농약은 우리나라 과수농가는 물론 일반 농가에서도 널리 사용하는 것으로 과수작물이 생장할 때 방해가 되는 병원균(탄저병, 그을음병, 겹무늬썩음병, 흑성병 등)을 차단하는 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 특히 C pesticide는 사과와 포도에 주로 사용을 하고 D pesticide는 사과, 배, 복숭아 및 포도 등 다양한 과일의 재배에 적용이 된다.

2.3 PDA 배지 제조

Potato extract 4 g + Dextrose 20 g + Agar 15 g을 증류수 1 l와 함께 교반기를 사용하여 충분히 혼합시킨 후, 이를 고압멸균기(Autoclave, HST 506-6, HanBaek ST, Korea)에서 120℃, 20분간 멸균하였다. 멸균 후 온도가 약 70℃가 되었을 때 멸균된 무균실험대(clean bench)에서 살레에 PDA 멸균액을 40 ml씩 나누어 담았다.

2.4 균 현탁액

일반적으로 과실을 부패시키는 병원균으로 잘 알려진 겹무늬썩음병(*Botryosphaeria dothidea* (Moug.) Ces & De Not)을 사과시험장 환경연구실로부터 제공받았다. 겹무늬썩음병의 일부를 PDA배지에 올려놓고 증

Table 1. Various agricultural chemicals for pesticides

Product name	Use	Manufacturer
C pesticide	germicide	N Chemical
D pesticide	insecticide	S Chemical

류수 1 ml를 적하시킨 후 5일간 30℃의 항온배양기(Incubator)에서 성장시켜 병균을 배양시켰다. 배양된 균은 와이어를 이용해서 긁어내어 시험관에 넣고 증류수 10 ml에 고르게 분쇄·분산시킨 후 멸균 glass wool을 통과시켜 이물질을 제거하였다. 이물질이 제거된 포자 현탁액을 5,000 rpm으로 10분 동안 원심분리하고 침전된 포자를 멸균수에 분산시켜 다시 원심분리하는 과정을 3회 반복하였다. 원심분리에 의하여 얻어진 포자를 10 ml의 증류수에 분산시켜 포자 현탁액을 제조하였다.

2.5 항균시험

3종의 천연 추출물과 대조구로서 농약 2종을 에탄올 용액에 희석하여 paper disk에 50 μ l를 적정하여 항균시험을 실시하였다. 실제로 농업용 항균지 제조공정에서 사용되는 농약의 양이 paper disk의 일정 면적(0.5 cm²)당 50 μ l가 투입되므로 이를 기준으로 사용하였다. 적정한 시료를 5일간 30℃의 항온배양기에서 관찰하였다.

2.6 측정

항균시험을 통해 선별된 최적의 천연 추출물을 기존의 농약과 동일한 농도로 희석한 후 항균 원지(포도봉지용 원지, 32.5 g/m²)에 도포하여 평균 도포량이 1.52 - 1.59 g/m²가 되도록 제조하였다. 제조된 항균지를 발수도, 인장강도 및 백색도를 측정하였으며 30일간 80℃, 65%RH에서 습식열화를 진행시켰다. 또한 field test를 거친 다음 과실에서 많이 발생하는 병원균의 발병 개수를 측정하여 발병률을 계산하였다. Table 2에는 측정 방법 및 기준을 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

3.1 항균시험

Fig. 1은 0.5 cm²의 paper disk에 천연 추출물과 농약을 50 μ l씩 적하시켜 항균시험을 실시한 결과를 나타낸 것이다. 기존의 농약(C와 D 농약)은 실제 공정에 투입되는 함량만큼 처리하였으나 항균성을 보이고 있지는 않았다. 천연 추출물 증 및 추출물만이 paper disk 주변으로 균사가 접근하지 못하여 뛰어난 항균성을 지닌 것으로 나타났다. 이는 옷에서 추출한 우루시올(urushiol)을 대상으로 실험한 결과^{6,9)}와 같이 우루시올이 다양한 균주에 대하여 강력한 항진균력을 가지고 있기 때문이다.

그러나 송진은 보통 인체에 유해한 대장균이나 녹농균을 저하시키는 역할¹⁰⁾을 한다고 알려져 있다. 하지만 과실의 균에 대해서는 효과가 나타나지 않는 것으로 나타났다.

계피의 경우, cinnamaldehyde가 식중독균에 대하여 항균성 혹은 항산화성을 지닌다는 연구는 많이 보고되고 있다.^{4,10,11)} 하지만 겉무늬썩음병, 흑성병 및 그을음병과 같은 과실의 병원균에는 항균효과를 보인다는 연구는 없으며 본 연구에서도 이 겉무늬썩음병에 대한 항균효과는 발현되지 않았다.

3.2 항균지의 특성

상기의 항균시험에서 우수한 것으로 나타난 옷 추출액을 이용하여 항균원지에 적용 시험을 실시하였다. 이 때 대조구로서 기존의 농업용 항균지에 사용되는 C pesticide를 사용하였으며 옷 추출액의 투입량은 C pesticide의 투입량과 동일한 양으로 조절하여 본 연구에 적용하였다. 본 연구에서 80℃ 65%RH의 습식열화 10일은 노지에서 약 15일 변화와 비슷하고 30일의 열화는 노지에서 약 70일 노출과 유사한 결과를 보이는 결과를 얻어 이를 바탕으로 실험을 실시하였다.

Fig. 2는 습식 열화 시간에 따른 기존 농약 처리 항균지와 옷 추출물 항균지의 발수도 변화를 측정하는 것이다. 농약 성분이나 옷 성분이 들어감으로 인해 열화에 따른 발수도 변화는 크게 없었으며 실제 노지에서 처리

Table 2. TAPPI Standards for mechanical properties measurement of anti-fungal paper

Property	Standard	Unit	Measurement
Water repellency	UM 579	Rf	Yoshimitsu No367(Japan)
Tensile index	T 494 om-01	N·m/g	Hounsfield H5000M(England)
Brightness	T 452 om-08	ISO %	JX777(Japan)
Disease incidence	-	%	-

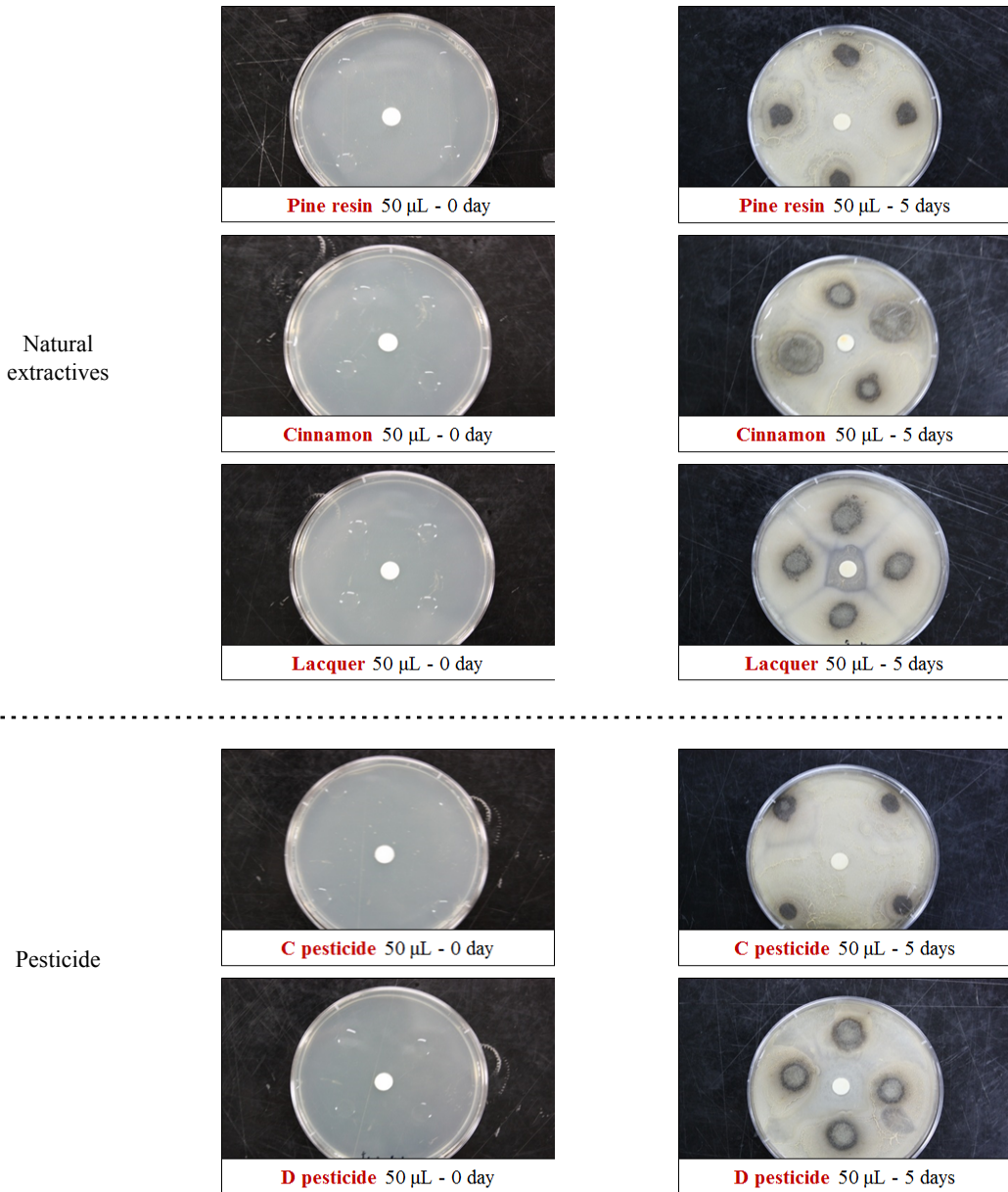


Fig. 1. Culture test of natural extractives and agricultural chemicals during 5 days by *Gloeodes pomigena* (Schweints) Colby.

되는 시간과 유사한 30일의 열화에서도 기존의 농업용 항균지와 발수도가 비슷하게 나타났다. 이것으로 봤을 때 천연 추출물이 기존의 농업용 항균지에 처리되어도 발수도의 변화에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

한편, Fig. 3은 열화 시간에 따른 농업용 항균지의 인장지수를 측정된 그래프이다. 인장지수는 발수도의 결과와 비슷한 결과를 보였는데 전체적으로 시간 경과에 따라 강도의 감소가 선형으로 나타났으며 감소폭 또한 농약을 처리한 항균지와 유사한 결과를 보여 강도 또한

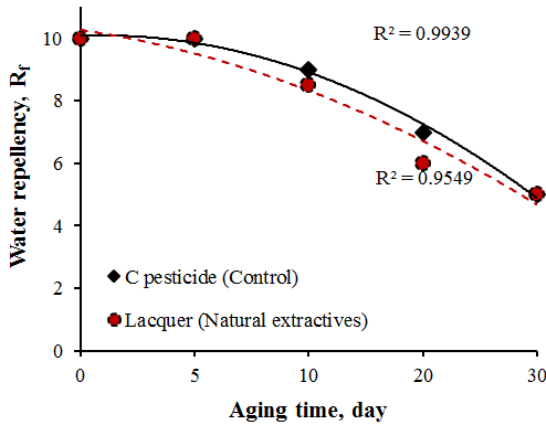


Fig. 2. Water repellency of anti-fungal papers depending on aging time.

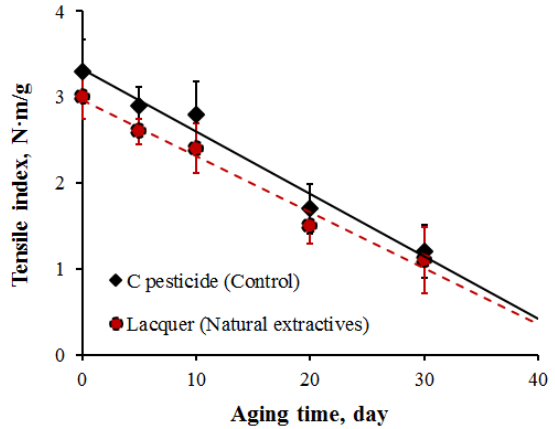


Fig. 3. Tensile index of anti-fungal papers depending on aging time.

항균성분의 종류에 따른 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

Fig. 4는 열화 시간에 대한 두 종류 항균지의 백색도 변화를 관찰한 것이다. 본 연구에 사용된 항균원지는 회색빛을 띠는 것으로 초기 백색도가 31 - 33 ISO%를 보인 것을 사용하였다. 열화시간이 경과함에 따라 회색빛을 띠는 항균지의 색이 점점 희게 변화하고 있었으며 기존의 농약 항균지와 비교하여 천연 추출물을 첨가한 항균지의 백색도 변화는 유사하게 측정되었다. 이상의 몇 가지 특성들을 관찰한 결과, 천연 추출물을 항균지에 처리함으로써 기존의 항균지와 비교하여 큰 변화가 관찰되지 않아 기존의 농약 물질을 대체할 수 있을 것으로 판단되었다.

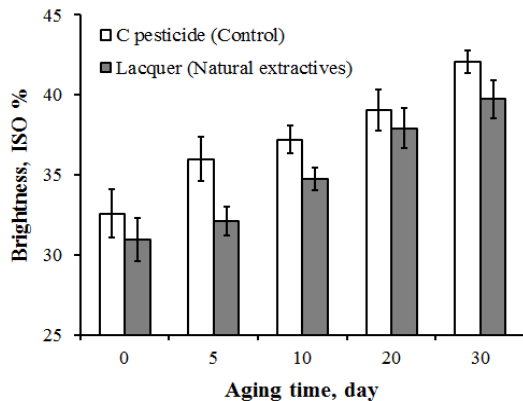


Fig. 4. Brightness of anti-fungal papers depending on aging time.

3.3 병원균 발병률

본 연구에서는 과실에서 주로 발병되는 3종류의 병원균의 발병률을 측정하기 위하여 실제 노지에서 시험을 거친 과실을 무작위로 수거하여 300여개 이상의 과실을 대상으로 측정된 결과이다. 이 실험에서 확인된 병원균은 겹무늬썩음병, 흑성병 및 그늘음병이며 그 특징은 아래와 같았다.

겹무늬썩음병(*Botryosphaeria dothidea* (Moug.) Ces & De Not)은 사과와 과실, 가지에 주로 발생한다. 과실에는 처음 황갈색의 작은 반점이 생기고, 점차 확대되어 운문상의 큰 병반이 형성되고, 심하면 물이 흐르고, 과일 전체가 부패, 낙과한다. 중앙에 까만 소흑점(병자각)이 형성되고, 과일을 쪼개보면 심부까지 부패

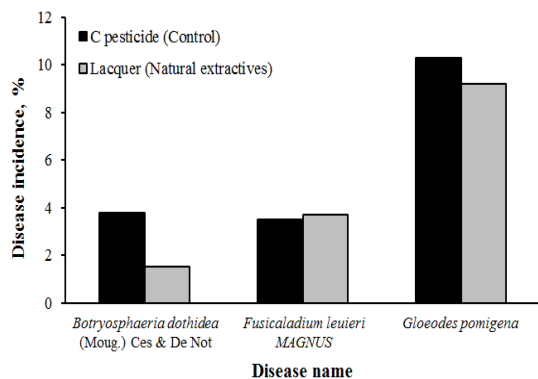


Fig. 5. Disease incidence of 3 pathogenic bacterium on fruits after field test.

하며, 병반이 함몰되지 않는 것이 특징이다.¹²⁾

흑성병 (검은별무늬병, *Fusicladium leuieri* MAGNUS)은 사과나무나 배나무에 주로 발생하는 병으로 냉습한 5-6월 및 9월에 걸쳐 많이 발생한다. 과실에는 콩알만할 때부터 검은색의 부정형 점무늬가 생겨서 여기에 포자(孢子)가 형성된다. 열매가 커짐에 따라 병무늬 부분이 자라지 않고 오목해지며 틈이 생긴다.¹³⁾

그을음병(*Gloeodes pomigena*)은 잎·열매·가지의 표면에 그을음을 바른 것 같은 현상으로서 사과나무, 감귤나무, 동백나무, 감나무 등에 주로 발생한다. 과실 표면에 흑녹색 내지 흑색의 그을음증상이 부정형으로 나타나고 표면에만 기생하며, 조직내부에 침입, 피해를 주지는 않으나 발생하면 상품가치가 떨어진다. 나뭇가지에도 그을음 증상이 나타나나 큰 피해는 주지 않는다.¹³⁾

Fig. 5는 이상의 3가지 병원균의 발병률을 측정한 것이다. 기존에 사용하는 농약과 비교하여 흑성병은 거의 비슷한 수준으로 나타났으나 검무늬썩음병과 그을음병의 발병률은 농약을 사용하였을 때보다 최대 10-60%의 병원균 감소효과를 확인할 수 있었다. 따라서 과실에 독성이 미치지 않으며 농약을 대체할 수 있는 천연 천연물로 옷 추출액이 적합할 것으로 판단되었다.

4. 결론

천연 추출물의 항균성을 조사하여 최적 추출물을 선발한 후 이를 농업용 항균지에 도포하여 그 효과를 검증함으로써 농약을 대체할 기능성 물질로서의 가능성을 모색한 결과는 다음과 같았다.

1. 기존에 사용되는 농약과 송진 및 계피 추출물은 검무늬썩음병원균에 대한 항균성을 보이지 않았으며 옷 추출물에서만 병원균에 대한 항균성을 나타내었다.
2. 천연 추출물을 처리한 항균지의 발수도, 인장지수 및 백색도 모두 기존의 농약을 처리한 항균지와 유사한 변화 경향을 보였다.
3. 기존에 사용하는 농약 처리 항균지에서 수거한 과실과 옷 추출물을 처리한 항균지에서 수거한 과실에서 흑성병의 발병률은 효과가 없었다. 그러나 검무늬썩

음병과 그을음병의 발병률은 기존보다 10-60%의 병원균 감소효과를 보였다.

Literature cited

1. Kim, K. J., Park, S. B. and Eom, T. J., Properties of current fruiting bag preparation water repelling fruiting bag with wax emulsion, J. Korea TAPPI 40(2): 23-28 (2008).
2. 서무룡 외, 기능성 물질을 이용한 환경 친화적 차폐, 방수 및 항균 포장기법 개발, 포장기술개발지원사업 결과보고서, 1-5 (2002).
3. 서영아, 송지의 항염증 및 진통작용과 Streptococcus mutants에 대한 효과, 대구가톨릭대학교 박사학위 논문, 18-23 (2004).
4. Park, S. J., Yu, M. H., Kim, J. E., Lee, S. P. and Lee, I. S., Comparison of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Supercritical Fluid Extracts and Marc Extracts from *Cinnamomum verum*, J. Life Science 22(3): 373-379 (2012).
5. Yuan, A. X., Qin, L. and Jiang, D. G., Studies on chemical constituents of Cinnamum cassia, Chinese Pharmaceutical Bulletin 16: 631 (1981).
6. 김진철, 안정근, 고수영, 최영훈, 김도현, 이태용, 우루시올 및 우루시올 유도체의 항균 활성, 청정기술 13(1): 22-27 (2007).
7. 정형진, 김은희 이건주, 정규영, 임종국, 유정민, 심영은, 박재호, 옷나무류의 항산화력 및 항산화 효소 활성, 한국자원식물학회지 14(3): 220-228 (2001).
8. 박희준, 이경태, 박건영, 한갑이, 정민화, 최종원, 간섭유화 동물에서 옷나무 목부로부터 분리한 flavonoids의 독성 검감기전, 생명공학 12(3): 332-339 (2002).
9. Kim, M. J., Kim, C. J. and Kwak, S. S., Antifungal activity of urushiol components in the sap of Korean lacquer tree(*Rhus vernicifera* Stokes), Korean J. Plant Res. 10(3): 231-234 (1997).
10. 이학섭, 천연재료를 이용한 기능성 베게, 대한민국 공개특허 10-2010-0004100.
11. Gurdi, S., Sumitra, M., Delampasona, M. P. and Cesar, A. N., A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresin and their constituent. Food

- Chem. Toxicol. 45: 1650-1661 (200).
12. 홍연규, 예완해, 김충희, 조의규, 이은중, *Botryosphaeria dothidea*에 의한 사과나무 사마귀 형성의 병원학 및 병태조직학적 고찰, 한국식물병리학회지 5(2): 151-160(1989).
13. <http://npms.rda.go.kr/>, 농촌진흥청 국가농작물병