

최 종  
연구보고서

편백 및 측백나무를 이용한 신기능성  
바이오 소재 개발

Development of new functional biomaterials  
using *Chamaecyparis obtusa* and *Thuja  
orientalis*

전 북 대 학 교

농 립 부

# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “**편백 및 측백나무를 이용한 신기능성 바이오 소재 개발에 관한 연구**” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2005년 8월 12일

주관연구기관명 : 전북대학교

총괄연구책임자 : 이 상 현

세부연구책임자 : 이 회 선

연 구 원 : 김 동 혁

연 구 원 : 김 현

연 구 원 : 지 경 진

연 구 원 : 정 은 영

연 구 원 : 김 영 상

연 구 원 : 전 주 현

연 구 원 : 조 장 희

연 구 원 : 성 보 경

연 구 원 : 이 치 훈

# 요 약 문

## I. 제 목

편백 및 측백나무를 이용한 신기능성 바이오 소재 개발에 관한 연구

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

현대 산업사회에서 산림의 다 기능적 이용을 최대화하기 위한 지속 가능한 산림생태계 경영은 모든 국가의 산림정책에서 기본원칙이 되고 있다. 더구나 재생 가능한 자원의 보고로 알려진 산림에 대한 국민적 인식은 날로 높아지고 그 효용 가치에 대한 요구도 다양화되고 있는 실정이다. 이러한 시점에서 산림환경 및 경제적 가치의 극대화가 절실히 요구되며, 이를 위한 산림의 생태학적 분야 및 산림자원의 다각적 이용분야는 더욱더 심도 있는 연구가 필요하다. 산림분야의 많은 종류 식물은 오랜 동안 건강식품 및 약용으로서 널리 사용되고 있는데, 최근 선진국들은 식물의 신약 및 농약의 자원적 가치에 대한 인식이 전 세계적으로 증대됨으로서 유용식물자원에 보존 및 활용에 연구노력이 집중되고 있다. 본 연구는 선진국이 선점하고 있는 의약 및 농약 시장의 전략적 틈새시장인 위생해충 방제제 (모기유충 살충제, 집먼지진드기 살비제) 분야를 편백 및 측백나무 부산물을 통하여 개발하고, 신기능성 바이오 소재를 지닌 편백 및 측백나무의 성장정보를 제공함으로써 산림분야의 국제경쟁력을 높이려 한다.

### (1) 기술적 측면

- 산림은 목재생산이라는 고유의 경제적 기능과 환경적 요소를 반영하는 공익적 기능을 담당하고 환경 친화적인 목재 및 생물학적 생산물을 창출하는 산업 활동으로서 기후 온난화에 따른 수목 성장저하와 산림 생태계의 변화

등에 따른 관심이 증대되고 있는 시점에서 산림은 각기 다른 목적과 기능에 따라 경영이 이루어져야 하며 이를 위해서는 산림 생장에 대한 정보가 필요하다.

- 편백·측백나무 부산물들(잎, 줄기, 열매, 씨앗)의 우수 바이오 소재개발을 통하여 효율적인 편백·측백나무 수종의 생태학적 정보 인프라 구축 및 생태모델을 확립하여 임업분야의 경쟁력을 증가시키는 것이 절실히 요구된다.
- 측백나무과에 속하는 편백(*Chamaecyparis obtusa*) 및 측백나무(*Thuja orientalis*)에는 지사약, 자궁출혈, 치출혈등의 지혈제, 음 등에 유효한 고부가가치의 약리성분이 존재한다고 한방에서는 소개되고 있다. 최근 10~20년간의 문헌고찰에 의하면 측백나무과의 유효성분인 thujone,  $\alpha$ -cuparenone, juniperic acid 및 sabinic acid는 하혈, 대장의 출혈의 지혈효과, 고혈압과 중풍을 예방효과, 불면증과 신경쇠약 치료효과 및 자양강장제 등의 생리활성에 효과가 있다는 과학적 근거가 보고되고 있다.
- 최근 전 세계적으로 극심한 환경오염과 지구 온난화 현상으로 평균기온 2℃ 상승시에 전세계 거주 지역의 약 46%인 말라리아 유행지역이 60%로 증가함으로써 심각하게 발생되고 있는 위생해충(모기, 집먼지진드기)의 피해는 인류의 활동과 보건에 큰 위협요인으로 작용하고 있어 이들 위생해충에 대한 친환경적인 천연 집먼지진드기 살비제 및 모기유충 살충제에 대한 수요가 급격히 증가하였으나 방제를 위한 천연 위생해충 방제제의 생리활성에 대한 체계적인 연구가 미비한 실정이다.
- 모기성충방제는 효율성과 대기오염에 문제점이 있어 최근에 방역당국에서는 선진국과 같이 모기유충을 대상으로 방제하려는 시도를 꺾하고 있지만 천연 모기유충 살충제의 개발은 미비한 실정이다.
- 현재 사용되는 모기유충 합성살충제 및 집먼지진드기 합성살비제(상품명: 애경진드기킬러)는 일반적으로 부작용 및 독작용이 문제시되고 있어 비교적 부작용이 적은 천연물 유래의 살충제 및 살비제 개발이 절실히 요구되며 특히 모기유충방제의 경우 물속에는 수서동물들이 많이 살고 있기 때문에 환경오염의 우려가 없는 매우 안전한 친환경적 살충제의 개발은 필수적이다.

- 전 세계적으로 집먼지진드기는 최근에 중앙난방의 증가, 2층창의 구조, 침대, 카펫의 사용으로 급격한 주거 환경변화로 인하여 급격히 증가하고 있다. 최근 일반가정에서 먼지 1 g당 1,000개체 이상의 집먼지진드기가 발견되고 있으며, 같은 양의 먼지에서 250,000개의 진드기 배설물이 발견된다. 진드기의 수는 일본 1,100개체, 영국 2,568개체, 인도 107개체, 영국 2,568개체, 덴마크 1,530개체이고 국내에서는 1,700개체 이상이 조사되고 있다.
- 이러한 집먼지진드기(house dust mite)가 인간에게 알레르기의 유발인자라는 점, 소아천식 환자의 80%이상이 집먼지진드기 배설물이 주요인자라는 점, 비염 알레르기의 91.3%가 집먼지진드기가 항원이라는 점등의 문제에 근거를 두고, 최근 호흡기 알레르기 질환에 대한 발생 및 질병치료에만 초점이 맞춰지고 있는 선진국 및 국내연구의 미흡한 연구를 보완하기 위하여 직접적인 원인이 되는 집먼지진드기의 천연 살비제 개발이 시급한 실정이다.
- 본 연구결과 도출될 편백 및 측백나무의 유효성분에 대한 생리활성 검색 및 생산기술, 제조기술은 다른 임목의 유효성분 탐색 및 이용을 위한 선행 연구로서의 의미도 있으므로 본 연구개발의 기술적 측면의 필요성은 매우 심대할 것이다.

## (2) 경제·산업적 측면

- 1995년부터 WTO체제가 성립되어 국제간의 농산물 교역이 자유화됨에 따라 임업산물을 고부가치화하여 국제경쟁력 및 임업자원의 산업적 이용을 극대화시킬 수 있다.
- 임업은 친환경적 소재인 목재 및 바이오 관련 제품을 생산할 수 있는 중요한 산업으로서 고부가가치성 측백 및 편백나무의 생장 특성을 파악하여 생장자료를구축함으로써 이들의 효율적 이용기초자료를 제공 할 수 있다.
- 편백 및 측백나무 부산물의 유효성분에 대한 효율적 정제기술이 개발되면 고순도 정제품의 외국으로의 안정적인 수출도 가능할 것으로 기대되며, 성장시기별 유효성분 함량 변화와 유효성분 함량과 생리활성간의 상관관계가 구명되면 이를 활용하여 임업소득의 증대효과가 기대된다.
- 국내 위생해충 시장이 급격한 증가 추세를 보이고 있으며, 세계 위생해충 시장 규모는 100억불에나 된다.

- 선진국은 지적소유권 확대로 생리활성물질개발 기술이전을 회피하고 있는 실정이다.
- 선진국이 대부분을 선점하고 있는 의약품 및 농약 시장보다는 틈새시장인 의약도 아니고 농약도 아닌 선진국에서 미약한 천연 위생해충 방제제의 연구 개발을 통하여 기능성 신소재 개발국으로서 막대한 Royalty를 확보할 수 있다.
- 천연 위생해충 방제제 개발을 통한 국내 관련 산업의 활성화를 기대할 수 있다.

### (3) 사회·문화적 측면

- 고도 경제성장에 따른 이농현상의 증대와 도시로의 집중유입은 적잖은 인구 문제·환경오염 증대 등이 커다란 사회적 문제로 인식되는 현실에서 고부가가치성 유용 임업자원의 재배에 의한 임가 소득증대는 도시와 농·산촌간 소득격차감소에 기여함으로써 산림 및 농·산촌의 가치 향상된다.
- 고도 경제성장에 따른 국민소득 증가로 환경오염 물질에 대한 국민적 관심이 제고되고 있고, UR에 따른 외국산 농산물의 수입량 증가에 대응하여 국내산업의 국제경쟁력 제고를 위하여 임목작물에 잠재하는 생리활성물질을 발굴하고 재배관리, 가공기술 개발을 통하여 부가가치를 증대하는 사회적 필요성이 제기되고 있다.
- 최근 국내·외 관련기술의 현황을 보게 되면 선진국들은 최근 지구온난화 현상 및 환경오염 등의 문제로 야기되는 위생해충 및 관련 질환의 증가에 대처하여 오래전부터 천연 생리활성물질 개발에 많은 투자를 하고 있다.
- 모기의 경우 모기성충보다는 유충방제 시스템으로 전환하면서 천연 모기유충 살충제에 관련된 바이오 생리활성물질을 개발, 산업화하고 있을 뿐만 아니라, 인축 및 환경에 부작용이 적은 식물기원의 천연활성성분의 탐색과 개발에 박차를 가하여 이들을 토대로 하여 실용화에 이르고 있다.
- 미국 등의 선진국(미국의 National Institute of Health과 National Cancer Institute, 일본의 후생성등)은 국가차원의 사업으로 추진하고 있으며, 또한 실용화된 식물의 생리활성물질로서는 피레스린과  $\beta$ -thujaplicine 등이 개발되었으며, 이들 천연물 유래의 활성성분을 모핵화합물로 하여 위생해충 살

충제가 개발되었다.

- 사회·문화적 문명병(소아천식, 비염, 호흡기 알레르기 질환)의 증가로 집먼지진드기와 같은 위생해충에 대한 기능성 신소재의 수요가 급증된다.
- 특히 인간에게 알레르기를 유발시키는 위생해충의 일종인 집먼지진드기는 질병의 원인이 될 뿐만 아니라, 과(科)가 서로 다른 진드기간에도 강한 교차 반응을 일으키기 때문에 사육이 어려울 뿐만 아니라 본 연구실이 소유한 특수 Bioassay 기법을 사용하지 않고는 생리활성을 검증하기 어려운 상황이다.
- 국내에서는 천연물에서 유래된 모기유충 미생물살충제인 *Bacillus thuringiensis*이 개발되어 실용화되었을 뿐 식물에서는 전무한 실정이며, 집먼지진드기 방제제는 국내기업(애경)에서 생산하는 합성 살비제 이외는 전무한 상태임. 의약 및 약학 분야에서는 집먼지진드기가 알레르기의 유발인자라는 점에 집중하여 호흡기 알레르기 질환에 대한 발생 및 질병치료에만 초점이 맞춰지고 있을 뿐 직접적 원인이 되는 집먼지진드기의 천연 살비제 개발은 미비한 실정이며, 모기유충 및 집먼지진드기 살비제는 의약품 및 농약으로 분류되지 않아 위생해충의 사각지대로 남아 있는 실정이어서 아직 기초단계에 있다.
- 이처럼 위생해충 증가에 따라 관련 질환이 급증하는 실정이므로 측백나무과 및 이들 부산물로부터 유효소재물질을 정제·동정하고 그 효율적 이용방안을 도출하면 이로 인한 사회적 파급효과가 클 것으로 예상된다.
- 그러나 우리나라에서 편백·측백나무 수종에 대한 인식은 지금까지 편백 및 측백나무에 대한 목재 생산적 가치나 조경용 가치에 국한된 연구들과 일부 약리활성에 대한 연구결과가 대부분이고 그들 수종의 생장에 관한 연구는 미미한 상태이다.
- 편백 및 측백나무 부산물의 우수한 약리활성을 제시한 연구결과는 많으나, 위생해충의 방제제로서의 연구결과는 과학적인 증거가 별로 이루어지지 않아 산림자원의 경쟁력 약화가 가속화 되고 있다.
- 따라서 편백 및 측백나무 부산물의 바이오 소재기능에 대해 과학적인 해석과 이들의 기능을 적절히 이용함으로써 합성 모기유충 살충제 및 진드기 살비제의 부작용을 억제하는 정신적 부담을 경감시킨다.

- 본 연구는 편백·측백나무에 대한 성장정보를 제공함으로써 임업소득자원 식물증식 및 산림자원의 관리방향에 대한 지침서로 활용가치가 매우 높으며, 국내 산림자원 업계의 국내외 시장경쟁력을 부여함으로써 고부가가치성 산림자원 이용의 다양화를 통한 임가소득 증대를 도모하는 것을 목적으로 하고 있다.
- 또한 편백 및 측백나무 부산물로부터 천연 모기유충 살충 및 집먼지진드기 살비효과를 규명하여 합성 모기유충 살충제 및 집먼지진드기 살비제의 환경오염 등의 부작용 때문에 부작용이 적고, 저렴한 방제효과가 있는 방제제의 개발이 시급하며, 이들 약제에 대한 시장의 수요도 지속적인 증가 추세에 있어 천연물에서의 부작용과 독작용이 적고 효력이 우수한 방제제가 개발된다면 경제적, 산업적 측면에서 많은 부가가치를 유발한다.
- 산림자원을 활용한 위생해충에 대한 바이오소재 활성의 방제기능을 과학적으로 명확히 하여 개발하고, 이를 적절히 활용하여 기술을 개발한다면 의약품과 농약의 중간형태인 새로운 개념의 기능성 바이오소재 시장 형성과 동시에 그 수요는 급증할 것으로 전망된다.

### Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

#### ● 제1세부 연구과제

##### 1. 편백 및 측백나무의 성장특성 조사

###### 가. 자료 수집 및 분석

- 1) 연구대상지 선정은 자료의 합리성을 위하여 지역적으로 변이가 존재하는 지역으로 구분하여 임시 표본지를 선정하였다.
- 2) 각 지역별 표본지에서 표준목을 선정하여 벌채하고 환경인자인 고도, 방위, 경사 등을 조사 하였다.

###### 나. 성장자료 측정

- 1) 임시표본점에서 표준목을 0.2m 지점에서 벌채하여 Huber식에 의한 구분



구적법(Sectional measurement)을 사용하여 원판을 채취 하였다.

- 2) 입목을 벌채 할 수 없는 경우는 생장추를 이용하여 흉고에서 목편(core)을 추출하여 생장 정보를 파악하였다.
- 3) 정밀한 반경 측정을 위하여 디지털 연륜측정기 (Digital positiometer)를 사용하여 채취된 원판의 4방향에서 1/100 mm 단위까지 측정을 시도하였다.
- 4) 측정된 수간석해 자료는 수간석해 프로그램에서 각종생장자료의 파악이 이루어졌다.
  - 수고생장 특성 파악
  - 직경생장 파악
  - 재적생장 파악
- 5) 임분 조사를 수행하여 임분의 생장 관계 파악을 시도하였다.
- 6) 편백 임분의 간벌 강도별 임분생장량 및 하층식생 양상을 파악하여 합리적인 관리를 위한 적정 간벌 방법을 모색하였다.

## 2. 생장함수 추정

- 가. 측백 임분의 기본 데이터를 가지고 대수차분 방정식 (algebraic difference equation)을 이용한 생장함수 전개를 이루어 미래의 생장 패턴 파악을 시도 하였다.
- 나. 통계학적 및 생물학적으로 합리성을 수반한 생장함수를 유도하였다.

## ● 제2세부 연구과제

1. 편백 및 측백나무 부산물의 집먼지진드기에 대한 살비효과검정 및 생리활성 물질 분리·정제
  - 가. 편백 및 측백나무 부산물들의 추출물을 활용한 집먼지진드기(우점종: 큰 다리집먼지진드기, 세로무늬집먼지진드기)에 대한 살비활성 검정
  - 나. 선택된 우수시료에서 각종 크로마토그래피로 살비활성소재의 분리 및 정제
  - 다. 집먼지진드기에 대한 우수 살비활성 신소재를 각종 기기분석(GC-Mass, NMR, IR)을 통하여 구조 동정

2. 편백 및 측백나무 부산물의 모기유충에 대한 살충활성검정 및 활성물질 분리·정제
  - 가. 편백·측백나무 부산물(줄기, 잎, 열매, 씨앗)들의 추출물을 활용한 모기유충(빨간집모기, 애집트숲모기)에 대한 살충활성검정
  - 나. 선택된 우수시료에서 각종 크로마토그래피로 살비활성소재의 분리 및 정제
  - 다. 모기유충에 대한 살충활성소재를 각종 기기분석을 통한 구조 동정
  
3. 편백 및 측백나무 부산물중에 집먼지진드기 및 모기유충에 생리활성이 우수한 부산물의 연령급별 GC-Mass에 의한 성분분석 비교
  - 가. 우수한 부산물의 연령급별 I 영급(0-10년), II 영급 (11-20년), III 영급 (21-30년) 우수 생리활성 부산물 수집
  - 나. 집먼지진드기에 우수 생리활성을 갖는 부산물의 영급별[I 영급(0-10년), II 영급 (11-20년), III 영급 (21-30년)]로 GC-Mass에 의한 성분 비교분석
  - 다. 모기유충에 우수 생리활성을 갖는 부산물의 영급별[I 영급(0-10년), II 영급 (11-20년), III 영급 (21-30년)]로 GC-Mass에 의한 성분 비교분석
  
4. 생리활성물질의 독성 및 안정성 검정
  - 가. 문헌검색, 인터넷 및 도서관을 통하여 독성 및 안정성자료 검색
  
5. 공시약제와 비교분석 및 특허출원
  - 가. 집먼지진드기 방제용 국외살비제 benzyl benzoate 및 dibutyl phthalate, 국내살비제 진드기킬러(상품명)를 공시약제 대조구로 사용하여 비교분석
  - 나. 모기유충 방제제인 DEET를 공시약제로 사용하여 비교분석
  - 다. 특허출원 및 제품화

## IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

“편백 및 측백나무를 이용한 신기능성 바이오 소재 개발”에 대한 연구는 3개의 세부과제로 이루어 졌으며 각 과제별 연구결과를 구분하여 요약하였다.

### 1. 연구개발 결과

#### ● 제1세부 연구과제

##### 편백 및 측백나무의 성장 특성 조사

###### 1. 성장특성 조사

고창 지역 편백 수고성장량의 경우 10-15년 사이 그리고 20-25년 사이에 총평균성장량이 0.67m으로 가장 높은 성장을 보였고, 성장률은 20년까지는 1.45% 이상의 성장을 보였으나 20년 이후로는 1.45% 미만의 낮은 성장률을 나타내었다. 순천 지역 편백 수고성장량의 경우 25~30년 사이에 총평균성장량이 2.31m으로 가장 높은 성장을 보였고 성장률은 20년까지는 2.31% 이상의 성장을 보였으나, 20년 이후로는 2.31% 미만의 낮은 성장률을 나타내었다.

직경 성장량의 경우 고창 편백 연년성장량은 10-15년 사이에 0.91cm의 성장을 보였고 최근까지도 지속적인 성장을 보이고 있다. 성장률은 10년까지는 6.77%이상의 급속한 증가를 보였으나 10년 이후로는 6.77%미만의 성장률을 보였다. 순천 편백 직경 성장량의 경우 연년성장량은 25-28년 사이에 0.95cm의 성장을 보였고, 최근까지도 지속적인 성장을 보이고 있다. 성장률은 15년까지는 20.00%이상의 급속한 증가를 보였으나 15년 이후로는 20.00%미만의 성장률을 나타내었다.

재적성장량은 고창 편백림의 경우 15-20년까지는 5%이상의 양호한 성장을 보이고 있으며 20-25년 사이의 연년성장량이 0.0089m<sup>3</sup>으로 우수한 것으로 나

타났다. 또한 재적성장률은 30년까지 2%이상의 성장률을 나타내었다. 순천 편백림 재적성장량의 경우 20-25년 사이의 연년성장률이 0.0040m<sup>3</sup>으로 나타났다. 또한 재적성장률은 28년까지 3%에 가까운 성장률을 보였다.

### 2. 간벌강도에 따른 편백림의 성장 및 하층식생의 변화

대조구와 각 간벌 처리구별 임분 재적성장률을 비교해보면 대조구의 재적성장률 4.88%에 비해 적정간벌 및 강도간벌처리구의 재적성장률은 각각 6.77%와 7.79%로 비교적 높은 재적성장률을 보였다. 하층식생의 변화 양상은 피복율에 있어서 무간벌지에서는 평균피복율이 6.7%로서 매우 낮았지만, 약도간벌에서 극강도간벌로 갈수록 45.0%에서 83.3%까지 계속해서 증가하는 경향을 나타내었다. 하층 우점식생으로 공통 출현한 수종으로는 감태나무, 비목나무, 개머루 및 편백 치수 등이었으며, 수리딸기는 간벌지의 모든 조사구에서 상대우점치가 가장 높은 우점종으로 출현하였다. 따라서 유령편백 임분의 건전한 하층식생유도와 우량 대경재로 키워낼 수 있는 적정 간벌강도는 강도간벌과 적정간벌이 유효한 것으로 파악되었다.

### 3. 측백림의 직경 및 흉고단면적 성장 모형 추정

측백림의 흉고직경 및 흉고단면적 성장식을 두 측정 인터벌을 기본으로 한 대수차분 방정식을 이용하여 추정하였다. 동형 및 다형 대수차분 방정식을 적합한 결과 일반적으로 다형방정식이 동형방정식 보다 적합성이 뛰어난 것을 보였고, 다형 방정식 중 Schumacher 다형 방정식인  $Y_2 = \exp(\ln(Y_1)(T_1/T_2)^\beta + \alpha(1 - (T_1/T_2)^\beta))$ 가 가장 우수한 식으로 판명되었다. 본 연구에서 제시된 측백림 직경 및 흉고단면적 성장 추정식은 독립된 데이터를 가지고 모형 검증을 바탕으로 측백림의 성장 추정과 경영에 필요한 정보로 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

## ● 제2세부 연구과제

### 가. 편백 및 측백나무를 이용한 신기능성 집먼지진드기 살비제 개발

본 연구는 편백 및 측백나무 부산물을 활용하여 천식, 비염, 습진 및 아토피성 피부질환을 유발하는 직접적인 원인인자인 집먼지진드기에 대한 살비활성물질을 분리/정제·동정하여 집먼지진드기에 대한 신기능성 바이오소재 개발에 관한 것이다.

편백 및 측백나무 부산물(잎, 줄기, 열매, 씨앗)을 수집하여, 메탄올 추출물들의 활성을 검정하였다. 편백나무는 4가지의 부산물들 중 잎의 경우에 큰다리먼지진드기와 세로무늬먼지진드기에 대하여 우수한 생리활성을 보였기 때문에 이를 영급별로 분류/수집하여 메탄올을 이용하여 추출하여 전세계적으로 미국과 유럽에서 우점종인 두 종의 집먼지진드기에 대하여 생리활성실험을 통하여 검정한 결과 편백나무의 II 영급의 시료가 우수한 생리활성을 나타냈다. 따라서 편백나무 II 영급 잎에서 살비활성물질의 분리 및 정제를 위해 용매를 이용한 순차적 분획과 HPLC를 이용하여 분리·정제 및 각종 기기분석 (MS, NMR, UV)등을 이용하여 살비활성 물질의 구조를 동정한 결과, 분리한 물질이 hinokitiol 이었음을 알 수 있었다. 본 실험에서 분리·동정된 살비성 단일물질의 이화학적 구조특성 연구 및 국내의 집먼지진드기 살비제인 진드기킬러 (회사: 애경)를 활용하여 집먼지진드기에 대하여 생물검정을 실시하고 이들의 결과를 비교 분석하였다. 집먼지진드기에 대해 분리·동정한 물질의 살비활성 검정 실험을 수행한 결과 큰다리먼지진드기의 LD<sub>50</sub> 값이 7.25  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 이었으며 세로무늬먼지진드기의 LD<sub>50</sub> 값은 6.22  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 이었다. 그리고 국내의 집먼지진드기 살비제인 진드기킬러 (회사: 애경)의 LD<sub>50</sub> 값이 900  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 을 나타내어 본 연구팀의 활성물질과 비교해 볼 때 강력한 활성을 보였음을 알 수 있었다. 따라서 본 연구는 선진국 및 국내연구에서 미흡한 천연물 유래 집먼지진드기 살비제에 대한 기초 및 응용연구의 수준을 끌어올림과 동시에 타 살비제 개발에 귀중한 자료를 제공함으로써 학술적 차원의 폭을 넓힐 수 있는 계기가 될 것이며, 집먼지진드기에 기인하는 각종 알레르기성 질환의 연구에도 크게 공헌할 수 있을 것으로 기대된다.

#### 나. 편백 및 측백나무를 이용한 신기능성 모기유충살충제 개발

편백 및 측백나무를 이용한 신기능성 바이오 소재를 개발하기 위해 천연물 유래 살충제의 활용을 통해 모기에 대한 효율적인 방제법 모색 및 인체 위해성을 감소시킬 수 있는 활성물질을 밝혀 천연 위생살충제를 개발하는데 연구목표를 두었다.

편백 및 측백나무 부산물 (잎, 줄기, 열매, 씨앗)을 수집하고 연속 수증기증류장치를 이용하여 정유성분을 추출하여 에집트숲모기와 빨간집모기 및 중국얼룩날개모기 유충에 대하여 생물검정을 실시하였다. 이 중 편백나무의 잎이 이들 모기유충에 대해서 뛰어난 생리활성을 보였기 때문에 이를 영급별로 분류/수집하여 헥산을 이용한 수증기증류추출법으로 식물정유를 추출하여 에집트숲모기와 빨간집모기 및 중국얼룩날개모기 유충에 대하여 생리활성 검정실험을 실시한 결과 편백나무 잎의 II 영급 시료가 우수한 살충활성을 나타냈다. 따라서 편백나무 잎의 정유는 살충활성 물질의 분리·정제를 위해 실리카겔 크로마토그래피, Prep. HPLC 크로마토그래피를 반복하여 생물검정을 병행하면서 순차적으로 시행되었으며, 활성물질의 구조동정은 NMR, UV, EI-MS 등의 기기분석법을 통해 hinokitiol과 limonene을 규명하였다. 본 실험에서 분리·동정된 살비성 단일물질의 이화학적 구조특성 연구 및 국내 살충제로서 공시약제인 pirimiphos-methyl과 비교하여 에집트숲모기와 빨간집모기 및 중국얼룩날개모기에 대하여 생물검정을 실시하고 이들의 살충활성을 비교 분석한 결과 국내의 모기유충 살충제로 사용되는 pirimiphos-methyl은 에집트숲모기, 빨간집모기 및 중국얼룩날개모기에 대하여 LC<sub>50</sub> 값이 각각 0.16 ppm, 0.14 ppm, 0.19 ppm 을 나타내었으며, 편백나무 II 영급 잎 추출물로부터 분리·동정한 hinokitiol은 각각 2.91 ppm, 1.33 ppm, 3.15 ppm의 LC<sub>50</sub> 값을, limonene은 각각 3.19 ppm, 2.08 ppm, 3.48 ppm을 나타내어 공시약제보다 약한 활성을 보였지만 편백나무 잎에서 유래된 천연살충물질과 독성 데이터를 살펴본 결과 이들을 사용함에 있어서 인간에게 큰 위해가 없을 것으로 판단되어지며, 식물추출 물질을 개발하여 환경오염이 낮은 선택적인 천연살충제 개발에도 큰 도움을 줄 것으로 기대된다.

## 2. 연구개발 결과의 활용에 대한 건의

### 1). 활용방안

- 편백·측백나무에 대한 생장정보를 제공함으로써 임업소득자원 식물증식 및 산림자원의 관리방향에 대한 지침서로 활용가치가 매우 높을 것으로 판단된다.
- 국내 산림자원 업계의 국내외 시장경쟁력을 부여함으로써 고부가가치성 산림자원을 집단 재배하여 임가소득 증대를 도모할 수 있다.
- 편백 및 측백나무 부산물로부터 천연 모기유충 살충 및 집먼지진드기 살비효과를 규명하여 새로운 형태의 위생해충 방제제로서 기반 기술에 응용하여 제품다양화에 기여할 수 있을 것이다.
- 합성 모기유충 살충제 및 집먼지진드기 살비제의 환경오염 등의 부작용 때문에 부작용이 적고, 저렴한 방제효과가 있는 방제제의 개발이 시급하며, 이들 약제에 대한 시장의 수요도 지속적인 증가 추세에 있어 천연물에서의 부작용과 독작용이 적고 효력이 우수한 방제제가 개발된다면 경제적, 산업적 측면에서 많은 부가가치를 유발할 것이다.
- 전체적으로 경제 여건과 생활환경이 좋아짐에 따라서 위생해충으로부터 관련된 질환의 예방 및 치료효과를 초래할 수 있어 의료비의 절감효과 및 국민건강 증진에 이바지 할 것이다.
- 특히 국내 산림자원을 원료로 폭넓게 이용함으로써 원료 생산과 소비를 촉진할 수 있고, 새로운 위생해충시장을 개척하여 원료 생산자 보호 및 관련 산업육성의 효과를 거둘 수 있다.

### 2). 학술지, 특허출원 및 관련 홍보매체에 게재

교육인적자원부 농수산분야 최우수논문상, 2004 자원식물개발 우수과학기술발표회 및 전시회 발표, SCI급 논문 3편 및 국내 학술잡지에 5편 게재 및 특허출원 1편과 포스터 발표 8개 발표.

가. 논문 발표

- 1) 이치훈, 김영상, 이희선. 2003. 천연성분의 집먼지진드기에 대한 살비활성물질 개발: 교육인적자원부 28회 전국대학생 논문경진 대회, 농수산해양부 분 최우수 논문상.



- 2) Bo-Kyung Sung, Moo-Key Kim, Sang-Hyun Lee, Jae-Gwon Son, and Hoi-Seon Lee. 2004. Acaricidal Activity of Essential Oils Derived from 10 Cupressaceae Species against Stored Food and House Dust Mites. Food Science and Technology. 13(3): 376-380
- 3) 이희선. 2004. 편백 및 측백나무를 이용한 신기능성 바이오 소재 개발. 2004 자원식물개발 우수과학기술발표회 및 전시회. 주최: 농림기술관리센터 및 국립산림과학원. 32-38
- 4) Young-Su Jang, Chi-Hoon Lee, Moo-Key Kim, Jeong-Hak Kim, Sang-Hyun Lee, and Hoi-Seon Lee. 2005. Acaricidal Activity of Active Constituent Isolated in *Chamaecyparis obtusa* Leaves against *Dermatophagoides* spp. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53(6): 1934-1937
- 5) Ju-Hyun Jeon, Sang-Hyun Lee, Moo-Key Kim, and Hoi-Seon Lee. 2005. Larvicidal Activity of *Chamaecyparis obtusa* and *Thuja orientalis* Leaf Oils against Two Mosquito Species. Agric. Chem. Biotechnol. 48(1): 26-28
- 6) Young-Su Jang, Ju-Hyun Jeon, and Hoi-Seon Lee. Mosquito Larvicidal



Activity of Active Constituent Derived from *Chamaecyparis obtusa* Leaves against Three Mosquito Species. 2005. In press

- 7). 이상현 외 6명. 2004. Growth and Ground Vegetation Changes of *Chamaecyparis obtusa* Stand by Thinning Intensity. Korean Journal of Forest Measurements. 7(1) 1-9.
- 8) 이상현 외 3명. 2005. Estimation of Diameter Growth Pattern for *Thuja orientalis*. Korean Journal of Forest Measurements. (Processing)

#### 나. 특허출원

- 1) 국내특허 출원번호: 제 2004-0087878호  
명칭: 차메시파리스 옅투사로부터 분리된 살비활성의 정유화합물

#### 다. 포스터발표

- 1) Chi-Hoon Lee, and Hoi-Seon Lee. 2004. Antimite Effect of Active Constituent Isolated from *Chamaecyparis obtusa* Leaves against *Dermatophagoides* spp. 한국응용생명화학회 추계학술대회, pp 191, NC-13
- 2) Bo-Kyung Sung, and Hoi-Seon Lee. 2004. Mite-Control Activities of Essential Oils Derived from Plants against Stored Food Mite. 한국응용생명화학회 추계학술대회, pp 193, NC-18
- 3) Bo-Kyung Sung, Hoi-Seon Lee. 2004. Mite-Control Activity of Essential Oils of Various Plant Species. 한국식품과학회 71차 학술대회, pp. 263 P7-006
- 4) Bo-Kyung Sung, Hoi-Seon Lee. 2005. Mite-control of Active Constituent Isolated in *Chamaecyparis obtusa* against *Dermatophagoides farinae* and *D. pteronyssinus*. 한국생물공학회, pp 450-451, P813
- 5) Ju-Hyun Jeon, Hoi-Seon Lee. 2005 Potential House Dust Mite Control Agent Isolated from *Chamaecyparis obtusa*. 한국응용생명화학회 춘계학술대회, pp 176, NF-35

- 6) Chi-Hoon Lee, Ju-Hyun Jeon, and Hoi-Seon Lee. 2005. Larvicidal Agent Derived from *Chamaecyparis obtusa* Leaves against Three Mosquito Larvae. 한국생물공학회, pp 454, P814
- 7) Chi-Hoon Lee, Hoi-Seon Lee. 2005. Potential Mosquito Larval Control Agents against *Aedes aegypti*, *Aedes togoi*, and *Culex pipiens pallens* 한국응용생명화학회 춘계학술대회, pp 175 NF-34
- 8) 이상현, 김현, 김동혁. 2005. 측백림의 흉고직경 성장추정. 한국임학회 하계 총회 및 학술연구발표회 pp. 370-371

## SUMMARY

### I. Title of Research

Development of new functional biomaterials using  
*Chamaecyparis obtusa* and *Thuja orientalis*

### II. Results of research

#### ● Sub-subject: 1

Investigation of growth characteristics for *Chamaecyparis obtusa*  
and *Thuja orientalis*

#### 1. Investigation of growth characteristics

It showed higher height growth rate of 1.45% till 20 years in Gochang *Chamaecyparis obtusa* stand, while there was height growth rate of 2.31% till 20 years in Suncheon region. It was, hence, observed that the height growth rate had continuously increased to about 20 years. In case of diameter growth, the highest growth rate existed between 10 and 15 years both Gochang and Suncheon regions. There was fine growth with above 5% till 20 years, while the best annual growth amount existed between 20 and 25 years, which was 0.0089m<sup>3</sup> in volume growth of Gochang. It was appeared good growth rate of volume with above 2% till 30 years in Suncheon region.

## 2. Growth and ground vegetation changes of *Chamaecyparis obtusa* stand by thinning intensity

Comparison of volume growth between control site, which is non-thinned site and each treated site by thinning intensity showed that the growth ratio of control site was 4.88%, while that of normal and heavy sites was 6.77 and 7.79%, respectively. Average coverage ratio of ground vegetation in non-thinned site was quite low as 6.7%, but this ratio had a tendency to be increased by moving from light to heavy thinning site as from 45% to 83.3%, respectively. *Lindera glauca*, *L. erythrovarpa*, *Ampelopsis heterophylla*, and *Chamaecyparis obtusa* seedling were dominant species that appeared in every thinned site in common, and *Rubus corchorifolius* was found as a dominant species that had the highest importance value in each thinned site. Normal and heavy thinning, therefore, were found as the appropriate thinning intensities for induction soundness ground vegetation and production high-grade wood in early aged *Chamaecyparis obtusa* stand.

## 3. Development of diameter and basal area equations for *Thuja orientalis*

Diameter and basal area growth pattern were estimated using non-linear algebraic difference equation, which requires two-measurement times  $T_1$  and  $T_2$ . In results, of the algebraic difference equations applied, polymorphic equation showed higher precision of the fitting than anamorphic equation. And the Schumacher polymorphic equations of  $Y_2 = \exp(\ln(Y_1)(T_1/T_2)^\beta + \alpha(1 - (T_1/T_2)^\beta))$  showed the highest precision of the fitting among them for diameter and basal area growth patterns. In order to allow more precise estimation of growth than the basic Schumacher equation, further refinement that combine biological

realism as input the equation would be necessary. This equation could be available as basic information for estimation of growth and management of *Thuja orientalis* stand.

● Sub-subject: 2

**A. Development of bioacaricidal agents against house dust mite using *Chamaecyparis obtusa* and *Thuja orientalis***

The acaricidal activities of the essential oils obtained from 10 Cupressaceae species against *Dermatophagoides farinae*, *D. pteronyssinus*, and *Tyrophagus putrescentiae* were bioassayed by the direct contact method, and compared with that of *N,N*-diethyl-*m*-toluamide. The commonly used *N,N*-diethyl-*m*-toluamide served as positive control. Responses varied according to plant species and the specific dust mite. Titration studies were performed at 80, 60, 40, 30, 20, and 10  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ . In the study of house dust mites, the plant oil most toxic against *D. farinae* adults was *Chamaecyparis obtusa* (15.8  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) followed by *Thuja orientalis* (19.4  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), *Juniperus chinensis* var. *globosa* Horn. (25.3  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), *Juniperus chinensis* var. *aureo-variegata* Rehder (27.2  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), *Chamaecyparis pisifera* Endl. (28.9  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), *Juniperus virginiana* L. (31.9  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), *Juniperus chinensis* L. (33.8  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), *Chamaecyparis pisifera* var. *filifera* Beiss et Hort. (41.3  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), *Juniperus chinensis* var. *kaizuka* Hort. (62.4  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), and *Juniperus chinensis* var. *sargentii* Henry (63.2  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). The oils of *C. obtusa* and *T. orientalis* was about 2.3 and 1.9 times more toxic than *N,N*-diethyl-*m*-toluamide (36.8  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), respectively. The acaricidal activity of *J. chinensis* var. *globosa* Horn., *J. chinensis* var. *aureo-variegata* Rehder, *C. pisifera* Endl., *J. virginiana* L., *J. chinensis* L., and *C. pisifera* var. *filifera* Beiss et Hort. was comparable to that of *N,N*-diethyl-*m*-toluamide.

On the basis of LD<sub>50</sub> values against *D. pteronyssinus* adults, the most toxicant plant oil was *C. obtusa* (14.1 µg/cm<sup>2</sup>) followed by *T. orientalis* (18.9 µg/cm<sup>2</sup>), *C. pisifera* Endl. (26.7 µg/cm<sup>2</sup>), *J. chinensis* var. *globosa* Horn. (27.1 µg/cm<sup>2</sup>), *J. virginiana* L. (29.7 µg/cm<sup>2</sup>), *J. chinensis* var. *aureo-variegata* Rehder (31.5 µg/cm<sup>2</sup>), *J. chinensis* L. (32.1 µg/cm<sup>2</sup>), *C. pisifera* var. *filifera* Beiss et Hort. (40.5 µg/cm<sup>2</sup>), *J. chienesis* var. *sargentii* Henry (49.8 µg/cm<sup>2</sup>), and *J. chinensis* var. *kaizuka* Hort. (65.9 µg/cm<sup>2</sup>). The oil of *C. obtusa* was about 1.5 times more toxic than *N,N*-diethyl-*m*-toluamide (20.9 µg/cm<sup>2</sup>). The acaricidal activity of *T. orientalis*, *C. pisifera* Endl., *J. chinensis* var. *globosa* Horn., *J. virginiana* L., *J. chinensis* var. *aureo-variegata* Rehder, and *J. chinensis* L. was comparable to that of *N,N*-diethyl-*m*-toluamide. These results suggest that *D. pteronyssinus* may be controlled more effectively by the application of the oils of *C. pisifera* var. *filifera* Beiss et Hort., *C. obtusa* S. et Z., *C. pisifera* Endl., *J. chinensis* L., *J. chienesis* var. *sargentii* Henry, *J. virginiana* L., and *T. orientalis* L. than *D. farinae*. However, *D. farinae* may be controlled more effectively by the application of the oils of *J. chinensis* var. *aureo-variegata* Rehder, *J. chinensis* var. *globosa* Horn., and *J. chinensis* var. *kaizuka* Hort. than *D. pteronyssinus*. In comparison with *N,N*-diethyl-*m*-toluamide as synthetic acaricide, acaricidal activities of the essential oils of *C. obtusa* S. et Z. and *T. orientalis* L. were more effective than that of *N,N*-diethyl-*m*-toluamide.

In the study of stored food mite such as *T. putrescentiae*, only the oils of *C. pisifera* var. *filifera*, *J. virginiana* L., and *T. orientalis* L. showed strong activity. On the basis of LD<sub>50</sub> values, the most toxicant plant oil was *T. orientalis* L. (22.8 µg/cm<sup>2</sup>) followed by *C. pisifera* var. *filifera* (25.8 µg/cm<sup>2</sup>), and *J. virginiana* L. (38.9 µg/cm<sup>2</sup>). The acaricidal activity of *C. pisifera* var. *filifera*, *J. virginiana* L., and *T. orientalis* L. was comparable to that of *N,N*-diethyl-*m*-toluamide (18.9 µg/cm<sup>2</sup>).

Because of the high acaricidal activity of the essential oils extracted

from *C. obtusa* S. et Z. and *T. orientalis* L., the test was performed according to plant parts of *C. obtusa* S. et Z., and *T. orientalis* L. to investigate which parts have the most strong activity. The LD<sub>50</sub> value of the essential oils extracted from leaves, fruits, and branches of *C. obtusa* S. et Z. was 12.9, 42.1, and 20.3 µg/cm<sup>2</sup> against *D. farinae*, 13.9, 39.7, and 23.4 µg/cm<sup>2</sup> against *D. pteronyssinus*, and 39.7, 19.8, and 0 µg/cm<sup>2</sup> against *T. putrescentiae*, respectively. The LD<sub>50</sub> value of the essential oil extracted from leaves, fruits, and branches of *T. orientalis* L. was 19.9, 0, and 29.5 µg/cm<sup>2</sup> against *D. farinae*, 17.4, 0, and 26.9 µg/cm<sup>2</sup> against *D. pteronyssinus*, and 38.7, 0, and 19.2 µg/cm<sup>2</sup> against *T. putrescentiae*. In this study, the acaricidal activity of the leaf oils extracted from *C. obtusa* S. et Z. and *T. orientalis* L. was significantly higher than those of leaf and branch oils against *D. farinae* and *D. pteronyssinus*. These results suggest that the leaf oil has more plentiful active components than branch and fruit oils. However, the results of *T. putrescentiae* were different from those of *D. farinae* and *D. pteronyssinus*. These results suggest that active components of *C. obtusa* S. et Z. and *T. orientalis* L. oils against *D. farinae* and *D. pteronyssinus* may be different from those of *C. obtusa* S. et Z., *C. pisifera* oils against *T. putrescentiae*.

When the methanolic extract of *C. obtusa* leaves was bioassayed by the dry film method, acaricidal activity was observed against *D. farinae* and *D. pteronyssinus*. The dust mite species were equally susceptible, and the extract of *C. obtusa* leaves showed a clear dose-response relationship for both species. Concentrations of 800 mg/m<sup>2</sup> or greater caused complete mortality in both species. The acaricidal activity of the methanolic extract was compared with those of benzyl benzoate and DEET against *D. farinae* and *D. pteronyssinus* adults. The commonly used synthetic acaricides, benzyl benzoate and DEET, served as positive controls for acaricidal activity. LC<sub>50</sub> values of the methanolic extract and hexane fraction of *C. obtusa* leaves were 231 and 192 mg/m<sup>2</sup> against *D. farinae*

adults and 209 and 171 mg/m<sup>2</sup> against *D. pteronyssinus* adults, respectively. On the basis of LC<sub>50</sub> values, the hexane fraction derived from the methanolic extract of *C. obtusa* leaves was comparable to that of DEET and was about 0.5 and 0.4 times less toxic than benzyl benzoate against *D. farinae* and *D. pteronyssinus* adults, respectively. There was no mortality in the untreated controls. This study is the first to report the acaricidal function of *C. obtusa* leaf-derived materials against *D. farinae* and *D. pteronyssinus* adults. Very little work has been done with respect to managing arthropod pests including house dust mite.

The substances identified by GC-MS in the hexane fraction derived from the *C. obtusa* leaves are presented. Analysis led to identification of 16 volatiles from the hexane fraction of the *C. obtusa* leaves. The main constituents were  $\alpha$ -thujene (relative percent=1.4%),  $\alpha$ -pinene (3.7%),  $\beta$ -phelladrene (21.8%), myrcene (9.0%),  $\alpha$ -terpinene (4.3%), limonene (4.2%),  $\gamma$ -terpinene (7.9%), 2-carene (4.3%), terpinen-4-ol (17.8%), bornyl acetate (3.6%), camphene (3.7%),  $\beta$ -caryophyllene (2.9%),  $\beta$ -thujaplicin (6.7%), germacrene D (0.9%), elemol (1.4%), and  $\alpha$ -cedrol (2.3%). Together,  $\beta$ -phelladrene, myrcene,  $\gamma$ -terpinene, terpinen-4-ol, and  $\beta$ -thujaplicin made up 63.2% of the oil. The native *C. obtusa*, one of the Cupressaceae, which has been generally recognized as kiso-Hinoki, has been preserved as a valuable wood for the building materials of such nationally important buildings as the empire palace and famous shrines and temples and for general use in hygienic woodenware, such as counter or tabletops in sushi bars.

Because of the strong activity of the hexane fraction, the isolation of the biologically active component was pursued. Dry film method-guided fractionation of *C. obtusa* afforded an active constituent identified by spectroscopic analyses, including MS and NMR, and by direct comparison with authentic compound. The biologically active constituent was characterized as  $\beta$ -thujaplicin. This compound was identified on the basis



of the following evidence.  $\beta$ -Thujaplicin (hinokitiol, 2-hydroxy-4-isopropyl-2,4,6-cycloheptatrien-1-one): (C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>, MW= 164.2); EI-MS (70 eV) *m/z* (% relative intensity): M<sup>+</sup> 164 (76), 149 (4), 136 (12), 121 (100), 103 (11), 91 (15), 77 (17), 65 (8), 51 (5) <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD); 7.44 (1H, *t*, *J*= 21.2 Hz), 7.31 (1H, *d*, *J*= 1.7 Hz), 7.22 (1H, *t*, *J*= 10.7 Hz), 7.08 (1H, *m*, *J*= 11.7 Hz), 2.96 (1H, *m*, *J*= 41.2 Hz), 1.26 (3H, *d*, *J*= 3.4 Hz), 1.26 (3H, *d*, *J*= 3.4 Hz); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD) 173.0, 172.6, 161.8, 138.9, 129.1, 125.0, 124.1, 40.0, 23.6, 23.6.

The acaricidal activity of *C. obtusa* leaf-derived compounds against *D. farinae* and *D. pteronyssinus* adults was examined. Responses varied according to compound and dose. On the basis of LC<sub>50</sub> values, the compound most toxic against *D. farinae* was  $\beta$ -thujaplicin (72.2 mg/m<sup>2</sup>) followed by benzyl benzoate (89.9 mg/m<sup>2</sup>),  $\alpha$ -cedrol (98.8 mg/m<sup>2</sup>), DEET (377 mg/m<sup>2</sup>), and 2-carene (397 mg/m<sup>2</sup>). Against *D. pteronyssinus*,  $\beta$ -thujaplicin (62.1 mg/m<sup>2</sup>) was more effective than benzyl benzoate (72.4 mg/m<sup>2</sup>),  $\alpha$ -cedrol (85.9 mg/m<sup>2</sup>), DEET (193 mg/m<sup>2</sup>), and 2-carene (375 mg/m<sup>2</sup>). Additionally, there was no significant difference in toxicity of  $\beta$ -thujaplicin between *D. farine* and *D. pteronyssinus*. However, no activity was observed for bornyl acetate, camphene,  $\beta$ -caryophyllene, *p*-cymene, limonene, myrcene,  $\alpha$ -pinene,  $\alpha$ -terpinene,  $\gamma$ -terpinene, terpinen-4-ol, or  $\alpha$ -thujene at 800 mg/m<sup>2</sup>. These results indicate that the acaricidal activity of the oil of *C. obtusa* leaves can be mostly attributed to  $\beta$ -thujaplicin.  $\beta$ -Thujaplicin was about 1.3 and 1.2 times more toxic than benzyl benzoate and 5.2 and 3.1 times more toxic than DEET against *D. farinae* and *D. pteronyssinus*, respectively.  $\beta$ -Thujaplicin merits further study as a potential dust mite control agents or as lead compounds.

## B. Development of larvicidal agents against mosquito species using *Chamaecyparis obtusa* and *Thuja orientalis*

During the first experiment, we observed that the essential oils extracted from *C. obtusa* and *T. orientalis* possess mosquito larvicidal activity against *Ae. aegypti* and *Cx. pipiens pallens*, producing 100% mortality at 500 ppm. Therefore, bioassays were performed on various parts of *C. obtusa* and *T. orientalis* to determine plant parts having strong activities. Essential oils extracted from both leaves and stems of *C. obtusa* gave 100% mortality against *Ae. aegypti* and *Cx. pipiens pallens* at 400 ppm. At 200 ppm *C. obtusa* leaves and stems, 100 and 68.2% larvicidal activities were observed against *Ae. Aegypti*, and 100 and 34.5% against *Cx. pipiens pallens*, respectively. In addition, the essential oils extracted from leaves and fruits of *T. orientalis* at 400 ppm exhibited 100 and 71.6% mortalities against *Ae. Aegypti*, and 100 and 53.1% against *Cx. pipiens pallens*. However, the essential oils of *T. orientalis* stems and seeds showed no mortality at 400 ppm. The essential oils of *T. orientalis* leaves and fruits exhibited 100 and 18.7% mortalities against *Ae. Aegypti*, and 92.1 and 18.7% against *Cx. pipiens pallens* at 200 ppm. Furthermore, the larvicidal activity of the leaf oils was significantly higher than those of stem, fruit, and seed oils against *Ae. aegypti* and *Cx. pipiens pallens*. These results suggest that the leaf oils may have higher concentrations of active components than stem, fruit, and seed oils.

The larvicidal activities of the leaf oils derived from various age classes (I–III) of *C. obtusa* and *T. orientalis* were examined at various concentrations. In the case of age class I, the leaf oils of *C. obtusa* exhibited 91.3, 72.8, and 42.2% mortalities against *Ae. Aegypti*, and 84.2, 59.6, and 31.2% against *Cx. pipiens pallens* at 100, 50, and 25 ppm, respectively. In the age class II, the leaf oils of *C. obtusa* exhibited 100, 87.4, and 62.7% mortalities against *Ae. Aegypti*, and 100, 78.6, and 51.5% against *Cx. pipiens pallens* at 100, 50, and 25 ppm, respectively. However, weak larvicidal activity was observed with the age class III against *Ae. aegypti* and *Cx. pipiens pallens*. Furthermore, the leaf oils of the age class

I from *T. orientalis* exhibited 79.6, 48.6, and 22.5% mortalities against *Ae. Aegypti*, and 56.5, 31.2, and 0% against *Cx. pipiens pallens* at 100, 50, and 25 ppm, respectively. In the age class II, the leaf oils of *T. orientalis* exhibited 91.5, 74.5, and 37.8% mortalities against *Ae. Aegypti*, and 83.9, 57.9, and 29.6% against *Cx. pipiens pallens* at 100, 50, and 25 ppm, respectively. However, weak larvicidal activity was observed with the age class III against *Ae. aegypti* and *Cx. pipiens pallens*. These results suggest that the age class II of *C. obtusa* and *T. orientalis* may control *Ae. aegypti* and *Cx. pipiens pallens* more effectively than the age classes I and III. Furthermore, the active components of the age class II of *C. obtusa* and *T. orientalis* might be different from those of age classes I and III. The exact roles of the essential oils of *C. obtusa* and *T. orientalis* or their modes of action have not yet been clarified. However, our study shows the great opportunity for the control of *Ae. aegypti* and *Cx. pipiens pallens* using the leaf oils of *C. obtusa* and *T. orientalis*.

When fractions obtained from the methanol extract of the *C. obtusa* leaves were assayed in the laboratory, significant differences were observed in the larvicidal activity against *Ae. aegypti*, *Oc. togoi*, and *Cx. pipiens pallens* larvae. The methanolic extract of *C. obtusa* leaves caused 43.2, 38.3, and 50.3% mortality at 50 ppm against *Ae. aegypti*, *Oc. togoi*, and *Cx. pipiens pallens* larvae, respectively, while 100% larval mortality was observed for all 3 species at 100 and 200 ppm. There was no mortality in the untreated controls. At a dose of 100 ppm, the hexane fraction obtained with a methanolic extract of *C. obtusa* leaves showed 100% mortality against larvae of *Ae. aegypti*, *Ae. togoi*, and *Cx. pipiens pallens*. However, no larvicidal activity was observed with the chloroform and water soluble fractions.

Because of the strong activity of the hexane fraction, purification of the biologically active constituents from the hexane fraction was achieved with silica gel column and Prep. HPLC. Bioassay-guided fractionation of the *C.*

*obtusa* extract afforded an active constituent identified by spectroscopic analysis, including MS and NMR, and by direct comparison with authentic reference compound. The active constituent was characterized as the  $\beta$ -thujaplicin. This compound was identified on the basis of the following evidence.  $\beta$ -Thujaplicin (2-hydroxy-4-isopropyl-2,4,6-cycloheptatrien-1-one), (C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>, MW: 164.2); EI-MS (70 eV) m/z (% relative intensity): M<sup>+</sup> 164 (76), 149 (4), 136 (12), 121 (100), 103 (11), 91 (15), 77 (17), 65 (8), 51 (5) <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD); 7.44 (1H, *t*, *J* = 21.2 Hz), 7.31 (1H, *d*, *J* = 1.7 Hz), 7.22 (1H, *t*, *J* = 10.7 Hz), 7.08 (1H, *m*, *J* = 11.7 Hz), 2.96 (1H, *m*, *J* = 41.2 Hz), 1.26 (3H, *d*, *J* = 3.4 Hz), 1.26 (3H, *d*, *J* = 3.4 Hz); <sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD); 173.0, 172.6, 161.8, 138.9, 129.1, 125.0, 124.1, 40.0, 23.6, 23.6.

The larvicidal activity of  $\beta$ -thujaplicin against *Ae. aegypti*, *Oc. togoi*, and *Cx. pipiens pallens* larvae was compared with that of pirimiphos-methyl, a commonly used synthetic larvicide.  $\beta$ -thujaplicin yielded LC<sub>50</sub> values of approximately 2.91, 2.60, and 1.33 ppm against *Ae. aegypti*, *Oc. togoi*, and *Cx. pipiens pallens* larvae, respectively. In comparison with mosquito larvicidal activity of  $\beta$ -thujaplicin, commercially available synthetic larvicide, pirimiphos-methyl, was tested against *Ae. aegypti*, *Oc. togoi*, and *Cx. pipiens pallens* larvae. Pirimiphos-methyl has LC<sub>50</sub> values of approximately 0.16, 0.22, and 0.14 ppm against *Ae. aegypti*, *Oc. togoi*, and *Cx. pipiens pallens* larvae, respectively. Mosquito larvicidal activity of  $\beta$ -thujaplicin was approximately 18.2, 11.8, and 9.5 times lower than that of pirimiphos-methyl against *Ae. aegypti*, *Oc. togoi*, and *Cx. pipiens pallens* larvae, respectively. In this regard,  $\beta$ -thujaplicin could be useful for managing field populations of *Cx. pipiens pallens*, *Ae. aegypti*, and *Oc. togoi*. Recently, previous reports showed that emodin isolated from *Cassia obtusifolia* and *Cassia tora* extract had strong larvicidal effects against the larvae of *Ae. aegypti*, *Oc. togoi*, and *Cx. pipiens pallens*. The LC<sub>50</sub> value of emodin was 1.4, 1.9, and 2.2 mg/l against *Cx. pipiens pallens*, *Ae. aegypti*, and *Oc. togoi*. Further studies on the larvicidal mode of action

of the *C. obtusa* leaf-derived materials, their effects on nontarget organisms and the environment, and formulations for improving the insecticidal potency and stability are needed for their practical use as a naturally occurring mosquito larval control agent.

# CONTENTS

Presentation note .....	1
Abstract(in Korean) .....	2
Summary(in English) .....	18
Contents(in English) .....	29
Contents(in Korean) .....	31
<b>Investigation of growth characteristics for <i>Chamaecyparis obtusa</i> and <i>Thuja orientalis</i> .....</b>	<b>33</b>
Chapter 1. Research summary .....	34
Chapter 2. Internal and external situation .....	37
Chapter 3. Results of study .....	38
Chapter 4. Achievement of study and contribution .....	90
Chapter 5. Application plan of research results .....	93
Chapter 6. Collected by the foreign science & technology .....	95
Chapter 7. Reference .....	96
<b>Development of bioacaricidal agents against house dust mite using <i>Chamaecyparis obtusa</i> and <i>Thuja orientalis</i> .....</b>	<b>98</b>
Chapter 1. Research summary .....	99
Chapter 2. Internal and external situation .....	104
Chapter 3. Results of study .....	106

Chapter 4. Achievement of study and contribution .....	128
Chapter 5. Application plan of research results .....	135
Chapter 6. Collected by the foreign science & technology .....	138
Chapter 7. Reference .....	139

**Development of larvicidal agents against mosquito species using  
*Chamaecyparis obtusa* and *Thuja orientalis* ..... 143**

Chapter 1. Research summary .....	144
Chapter 2. Internal and external situation .....	151
Chapter 3. Results of study .....	153
Chapter 4. Achievement of study and contribution .....	173
Chapter 5. Application plan of research results .....	178
Chapter 6. Collected by the foreign science & technology .....	181
Chapter 7. Reference .....	182

## 목 차

제 출 문 .....	1
요 약 문 .....	2
영문요약 .....	18
영문목차 .....	29
목 차 .....	31
<b>편백 및 측백나무의 생장특성 조사 .....</b>	<b>33</b>
제 1 장. 연구개발과제의 개요 .....	34
제 2 장. 국내외 기술개발현황 .....	37
제 3 장. 연구개발수행 내용 및 결과 .....	38
제 4 장. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....	90
제 5 장. 연구개발 결과의 기대효과 및 활용방안 .....	93
제 6 장. 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	95
제 7 장. 참고문헌 .....	96
<b>편백 및 측백나무를 이용한 신기능성 집먼지진드기 살비제 개발 .....</b>	<b>98</b>
제 1 장. 연구개발과제의 개요 .....	99
제 2 장. 국내외 기술개발현황 .....	104
제 3 장. 연구개발수행 내용 및 결과 .....	106
제 4 장. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....	128



제 5 장. 연구개발 결과의 기대효과 및 활용방안 .....	135
제 6 장. 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	138
제 7 장. 참고문헌 .....	139
<b>편백 및 측백나무를 이용한 신기능성 모기유충살충제 개발 .....</b>	<b>143</b>
제 1 장. 연구개발과제의 개요 .....	144
제 2 장. 국내외 기술개발현황 .....	151
제 3 장. 연구개발수행 내용 및 결과 .....	153
제 4 장. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....	173
제 5 장. 연구개발 결과의 기대효과 및 활용방안 .....	178
제 6 장. 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	181
제 7 장. 참고문헌 .....	182

## 편백 및 측백나무의 생장특성 조사

연구 기관: 전북대학교

연구책임자: 이 상 현

연구 원: 김 현

김 동 혁

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 제 1절 연구개발의 목적 및 필요성

현대 산업사회에서 산림의 다 기능적 이용을 최대화하기 위한 지속 가능한 산림생태계 경영은 모든 국가의 산림정책에서 기본원칙이 되고 있다. 더구나 재생 가능한 자원의 보고로 알려진 산림에 대한 국민적 인식은 날로 높아지고 그 효용가치에 대한 요구도 다양화되고 있는 실정이다. 이러한 시점에서 산림환경 및 경제적 가치의 극대화가 절실히 요구되며, 이를 위한 산림의 생태학적 분야 및 산림자원의 다각적 이용분야는 더욱더 심도 있는 연구가 필요하다. 산림분야의 많은 종류 식물은 오랜 동안 건강식품 및 약용으로서 널리 사용되고 있는데, 최근 선진국들은 식물의 신약 및 농약의 자원적 가치에 대한 인식이 전 세계적으로 증대됨으로서 유용식물자원에 보존 및 활용에 연구노력이 집중되고 있다. 본 연구는 선진국이 선점하고 있는 의약 및 농약 시장의 전략적 틈새시장인 위생해충 방제제(모기유충 살충제, 집먼지진드기 살비제) 분야를 편백 및 측백나무 부산물을 통하여 개발하는데 필요한, 편백 및 측백나무의 성장정보를 제공함으로써 산림분야 이용의 다양화라는 측면에서 접근하였다.

산림은 목재생산이라는 고유의 경제적 기능과 환경적 요소를 반영하는 공익적 기능을 담당하고 환경 친화적인 목재 및 생물학적 생산물을 창출하는 산업 활동으로서 기후 온난화에 따른 수목 성장저하와 산림 생태계의 변화 등에 따른 관심이 증대되고 있는 시점에서 산림은 각기 다른 목적과 기능에 따라 경영이 이루어져야 하며 이를 위해서는 산림 성장에 대한 정보가 필수적이라 할 수 있다.

산림은 장기적이고 지속적으로 변화를 하는 생물학적 특징을 가지고 있어 합리적인 경영을 위한 성장정보 획득 및 성장 모형은 필수적이라 할 수 있다. 산림성장 정보 및 모형은 산림의 동적인 변화를 파악함으로써 미래의 수확 예측 및 의사결정을 위한 필수 도구로서의 역할을 담당한다. 산림성장 정보 및 모형의 범위는 개체목에서부터 전체 임분까지 다를 수 있으며 임목의 변수인 직경, 수고, 단면적 및 재적뿐만 아니라 생물학적 변수까지를 포함하기도 한다.

따라서 본 연구는 친환경적 소재인 목재 및 바이오 관련 제품을 생산할 수 있는 중요한 산업으로서 임업의 가치를 향상시킬 수 있는 고부가가치성 편백 및 측백나무의 성장 특성을 파악하여 성장 자료를 구축함으로써 이들의 효율적 이용에 기여 할 수 있는 기초 자료를 제공하기 위하여 실시하였다.

## 제 2절 연구개발의 내용 및 범위

### 1. 편백 및 측백나무의 성장특성 조사

#### 가. 자료 수집 및 분석

- 연구대상지 선정은 자료의 합리성을 위하여 지역적으로 변이가 존재하는 지역으로 구분하여 임시 표본지를 선정 하였다.
- 각 지역별 표본지에서 표준목을 선정하여 벌채하고 환경인자인 고도, 방위, 경사 등을 조사 하였다.

#### 나. 성장자료 측정

- 임시표본점에서 표준목을 0.2m 지점에서 벌채하여 Huber식에 의한 구분구적법 (Sectional measurement)을 사용하여 원판을 채취 하였다.
- 입목을 벌채 할 수 없는 경우는 성장추를 이용하여 흉고에서 목편(core)을 추출하여 성장 정보를 파악하였다.
- 정밀한 반경 측정을 위하여 디지털 연륜측정기 (Digital positiometer)를 사용하여 채취된 원판의 4방향에서 1/100 mm 단위까지 측정을 시도하였다.
- 측정된 수간석해 자료는 수간석해 프로그램에서 각종성장자료의 파악이 이루어졌다.
  - 수고성장 특성 파악
  - 직경성장 파악
  - 재적성장 파악

- 임분 조사를 수행하여 임분의 생장 관계 파악을 시도 하였다.
- 편백 임분의 간벌 강도별 임분생장량 및 하층식생 양상을 파악하여 합리적인 관리를 위한 적정간벌 방법을 모색하였다.

## 2. 생장함수 추정

- 측백 임분의 기본 데이터를 가지고 대수차분 방정식(algebraic difference equation)을 이용한 생장함수 전개를 이루어 미래의 생장 상태 파악을 시도 하였다.
- 통계학적 및 생물학적으로 합리성을 수반한 생장함수를 유도하였다.

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

- 우리 나라에서 편백·측백나무 수종에 대한 인식은 지금까지 편백 및 측백 나무에 대한 목재 생산적 가치나 조경용 가치에 국한된 연구들과 일부 약리활성에 대한 연구결과가 대부분이고 이들 수종의 생장에 관한 연구는 미미한 상태로 파악되고 있다.
- 성장정보 및 모형은 현재 세계적으로 각국의 현실에 맞게 조정하여 입지 생산력 추정 및 평가, 미래수확의 추정, 조림 및 육림방법에 따른 성장 및 수확 예측, 조건에 따른 경영 시스템 분석 등에 이용하고 있다.
- 세계적인 추세는 성장정보 이용면에서 산림 내 각종 변수인 생태적 환경, 입목간 경쟁관계, 기후, 시업 등을 포함한 변화와 성장 및 수확을 예측하는 동적인 모형의 전개로 발전을 하고 있다.

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 제1절 편백의 생장관계

#### 1. 연구내용

##### 가. 편백의 생장특성 조사

임시표본점에서 표준 0.2m 지점에서 벌채하여 Huber식에 의한 구분구적법 (Sectional measurement) (김갑덕, 1998)을 사용하여 원판을 채취 한 후 정밀한 반경측정을 위하여 디지털 연륜측정기 (Digital positioner)를 사용하여 채취된 원판의 4방향에서 1/100 mm 단위까지 측정 하였다. 측정된 수간석해 자료는 수간석해 프로그램에서 수고생장, 직경생장 및 재적생장 등 각종생장자료를 파악하였다. 임분생장측정은 20 X 20 m(0.04ha)의 표준지를 설정하고 매 목조사를 실시하여 각 직경급별로 생장추로 수피 하(下)1cm 내의 연륜수를 측정하여 Pressler식을 이용하여 생장률과 생장량을 추정하였다.

##### 나. 편백림의 하층식생조사

하층식생은 편백림에 4m×4m(16m<sup>2</sup>) 크기의 조사구(Quadrat)를 설치하여 조사구내에 출현하는 하층식생을 조사하였다. 식생조사법으로는 하층식생의 피도를 중심으로 Braun-Blanquet의 서열법에서 세분되어 응용되고 있는 5% 단계법(+, 1%, 2%, 5%, 10%, -----, 90%, 95%, 100%)을 적용 하였다.

#### 2. 연구결과

##### 가. 편백의 생장량 조사

##### 1) 연구방법

조사 지역인 전북 고창 지역 내에 위치한 문수산과 전남 순천 주암 지역의

편백림에서 임분의 표준목을 선정하여 지상부 0.2m에서 벌채하여 일정한 간격을 두고 원판(Disk)을 채취하였다. 단판 채취 방법은 Huber식의 구분구적법(Sectional measurement)에 따라서 단판 채취 간격을 1/2l, 1, 1, 1, …… 1은 2m으로 하였다. 이는 그림 1-1에서 보는 바와 같이 지상 0.2m, 1.2m, 3.2m, 5.2m ……같이 흉고(Breast height) 이상은 2m마다 원판을 채취하여 최후의 것은 1m가 되도록 하였다.

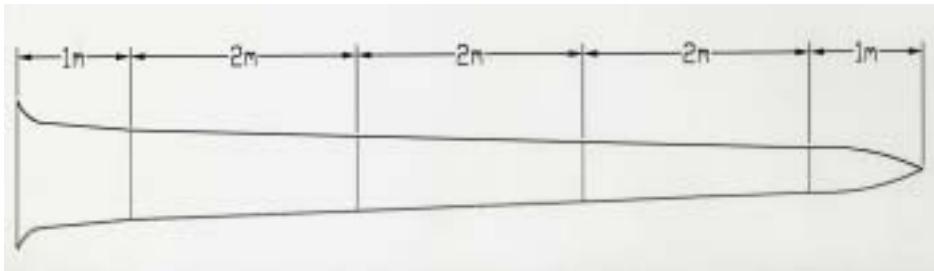


그림 5-1. 단판 채취방법

## 2). 결과 및 고찰

### 가) 고창 문수산 편백림

#### (1) 직경 및 단면적 측정

고창 문수산 편백림에서 평균목을 선정 후 수간석해를 실시하여 원판(disk)을 채취하여 반경을 측정하였다. 반경은 연년 측정하여도 무방하지만 그 값이 대단히 작기 때문에 5년 단위로 측정하였다. 따라서 반경은 5의 배수가 되는 연륜까지, 즉 직경이 35, 30, 25, ……년 같이 원판의 외부에서 내부로 측정하였다.

표 1-1은 흉고(1.2m)에서 채취한 원판의 직경 측정 데이터를 나타내고 있다.

#### 표 1-1. 원판의 측정



연령	반경 1	반경 2	반경 3	반경 4	합계 (cm)	평균 반경	평균 직경	단면적 (m <sup>2</sup> )
30(皮府)	8.3	9.1	9.0	8.5	34.9	8.7	17.5	0.0239
30	8.1	8.9	8.7	8.3	34.0	8.5	17.0	0.0227
25	6.9	7.3	7.1	6.9	28.2	7.0	14.1	0.0156
20	5.9	6.3	6.2	5.8	24.2	6.0	12.1	0.0115
15	4.3	4.7	4.7	4.3	18.0	4.5	9.0	0.0064
10	2.2	2.2	2.4	2.1	8.9	2.2	4.5	0.0016
心材	4.6	5.2	5.1	4.9	19.8	5.0	9.9	0.0077

원판번호 : 1    지상고 : 1.2m    연륜수 : 25

표 1-1의 데이터에서 보이는 각각의 값들은 4방향의 반경을 측정한 후 평균 반경을 얻고 이를 2배하여 직경을 추정하였고 단면적은 아래의 식으로 추정하였다.

$$BA = \frac{\pi}{4} d^2$$

d : 직경

## (2) 수고 측정

각 단면에 나타난 연륜(annual ring)수를 빼면 그 단면을 채취한 높이까지 성장하는데 소요된 연수(year)가 얻어진다. 즉 표 1-2에서 보는 바와 같이 0.2m 단면의 연륜수가 28이고 임령이 30년이라면 0.2m 성장하는데 30-28=2, 즉 2년이 소요된 것이다. 이와 같이 생장에 도달한 연수를 측정한 후 x축에 임령(tree year), y축에 수고를 표시하여 graph로 도식한(그림 1-2) 후 5년, 10년에 대한 수고를 추정하였다.

표 1-2. 단면고 및 연륜수

단면 번호	단면고 (m)	연륜수
0	0.2	28
1	1.2	25
2	3.2	21
3	5.2	18
4	7.2	15
5	9.2	11
6	11.2	8
7	13.2	5
8	14.2	3

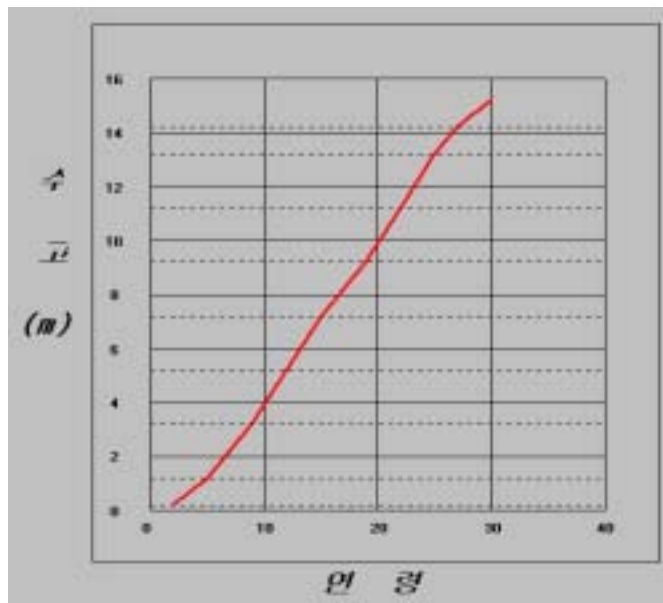


그림 1-2. 수고 곡선

### (3) 재적계산

재적계산은 단면적과 그림 1-3의 수간석해도에 의하여 표 1-3과 같은 재적계산표를 만들었다. 재적계산은 결정간재적, 소두부재적, 근주재적의 3부분으로 나누어 계산한 후 이들의 합으로 구하였다. 표 1-3의 재적표는 Huber식을 이용하여 계산한 재적표로서 각종 계산은 아래의 방법으로 하였다.

(가) 단면적합계는 단면적 1.2 m 이상의 것을 합계

(나) 수고는 수간석해도에서 영급별로 측정

(다) 결정간재적은 단면적 합계에서 수고 2 m을 곱함

(라) 소두부 재적은 수간석해도에서 직경과 수고를 측정하여 원추의 재적공식에 의함

(마) 근주재적은 단면고 0.0m과 0.2m의 영급별 단면적 평균치에 0.2m을 곱함

따라서 재적 합계는 간재적, 소두부재적, 그리고 근주재적을 합계한 것이다.

표 1-3. 재적표

단면고 (m)	연륜수 (개)	도달 연령 (년)	5년 (m <sup>3</sup> )	10년 (m <sup>3</sup> )	15년 (m <sup>3</sup> )	20년 (m <sup>3</sup> )	25년 (m <sup>3</sup> )	30년 (m <sup>3</sup> )	30년 (皮付) (m <sup>3</sup> )	心材 (m <sup>3</sup> )
0.0	30	0	0.00086	0.00375	0.01368	0.02227	0.02700	0.03631	0.03826	0.00199
0.2	28	2	0.00059	0.00332	0.01227	0.02023	0.02488	0.03382	0.03563	0.01744
1.2	25	5		0.00156	0.00636	0.01150	0.01561	0.02270	0.02392	0.00770
3.2	21	9		0.00027	0.00396	0.00899	0.01327	0.01948	0.02074	0.00701
5.2	18	12			0.00123	0.00561	0.00985	0.01573	0.01686	0.00548
7.2	15	15				0.00251	0.00679	0.01277	0.01410	0.00342
9.2	11	19				0.00040	0.00385	0.00874	0.00968	0.00204
11.2	8	22					0.00123	0.00528	0.00594	0.00066
13.2	5	25						0.00159	0.00192	0.00002
14.2	3	27						0.00062	0.00071	0.00000
수	고 (m)		1.20	3.87	7.20	9.87	13.20	15.20	15.20	15.00
Huber	단면적합계 (m <sup>3</sup> )		0.00000	0.00156	0.01155	0.02861	0.05061	0.08629	0.09316	0.02633
결정	간재적 (m <sup>3</sup> )		0.00000	0.00311	0.02309	0.05721	0.10121	0.17257	0.18632	0.05266
초단기부	직경 (cm)		2.75000	2.78125	1.97500	3.53125	1.97500	2.80000	3.00000	0.20000
동(同)	단면적 (m <sup>2</sup> )		0.00059	0.00061	0.00031	0.00098	0.00031	0.00062	0.00071	0.00000
초단부	길이 (m)		1.00000	1.66667	1.00000	1.66667	1.00000	1.00000	1.00000	0.80000
초단부	재적 (m <sup>3</sup> )		0.00020	0.00034	0.00010	0.00054	0.00010	0.00021	0.00024	0.00000
근주	재적 (m <sup>3</sup> )		0.00020	0.00080	0.00288	0.00467	0.00562	0.00752	0.00792	0.02227
간재적	합계 (m <sup>3</sup> )		0.00040	0.00425	0.02607	0.06242	0.10693	0.18030	0.19448	0.07493

<30년생(15.2m)>

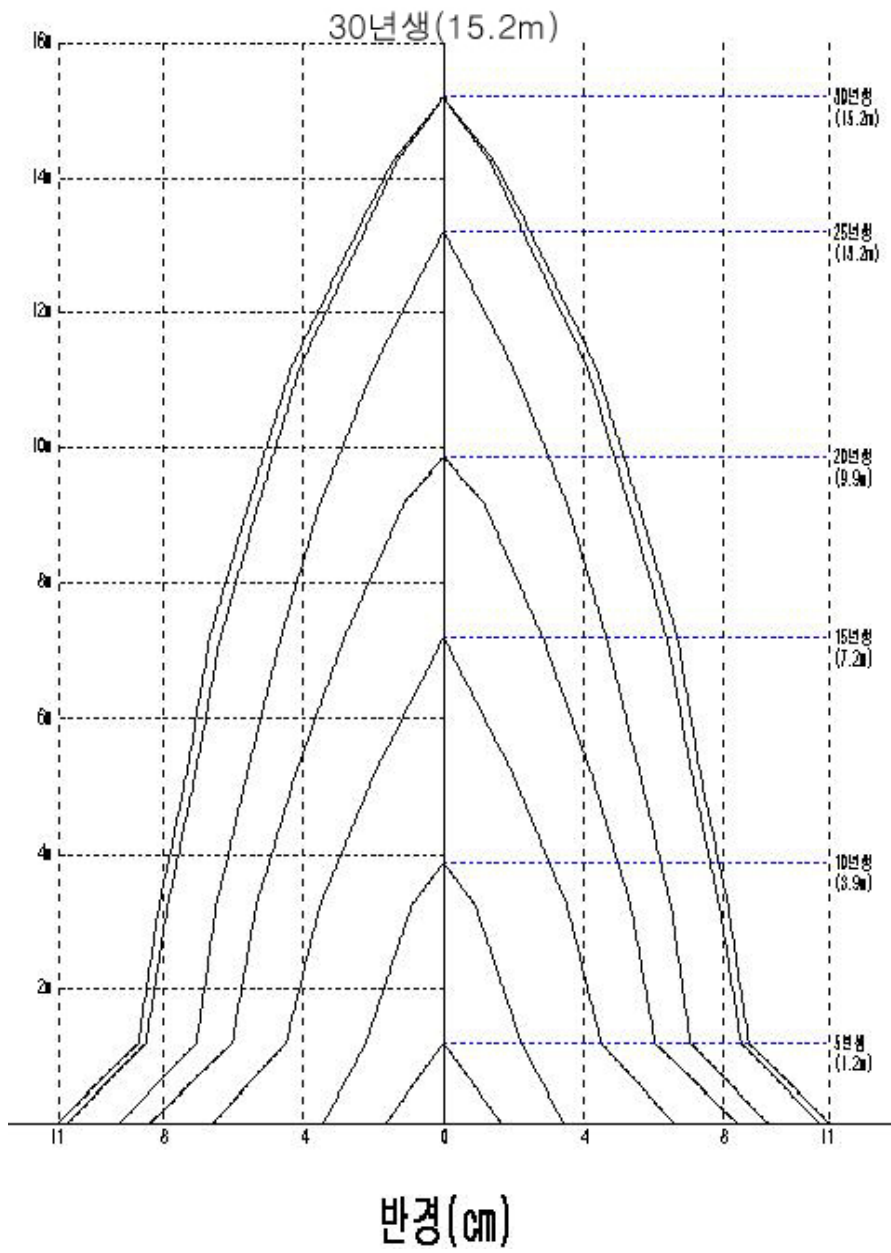


그림 1-3. 수간석해도

(4) 성장량 계산

재적계산 후 재적표를 이용하여 수고, 흉고 그리고 재적 등의 성장량을 계산하였다. 수고성장량의 경우 10~15년 사이 그리고 20~25년 사이에 총평균성장량이 0.67m으로 가장 높은 성장을 보였고 성장률은 20년까지는 1.45% 이상의 성장을 보였으나 20년 이후로는 1.45% 미만의 낮은 성장률을 나타내었다(표 1-4, 그림 1-4~1-5).

표 1-4 수고성장량(m)

연령(년)	총성장량	연년성장량	총평균성장량	성장률(%)
5	1.20		0.240	
		0.533		21.05
10	3.87		0.387	
		0.667		06.02
15	7.20		0.480	
		0.553		02.08
20	9.87		0.493	
		0.667		01.45
25	13.20		0.528	
		0.400		00.56
30	15.20		0.507	

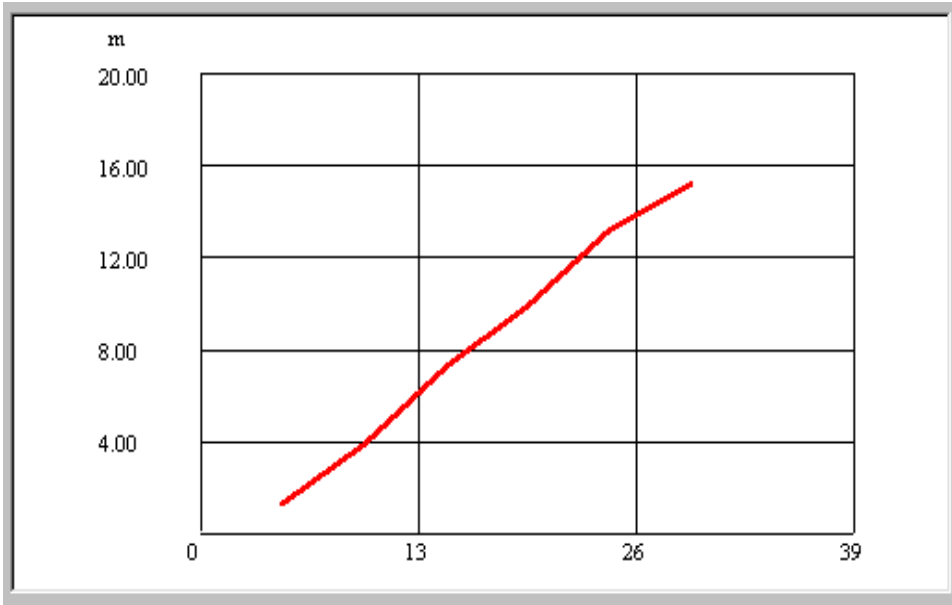


그림 1-4. 총성장량-수고곡선

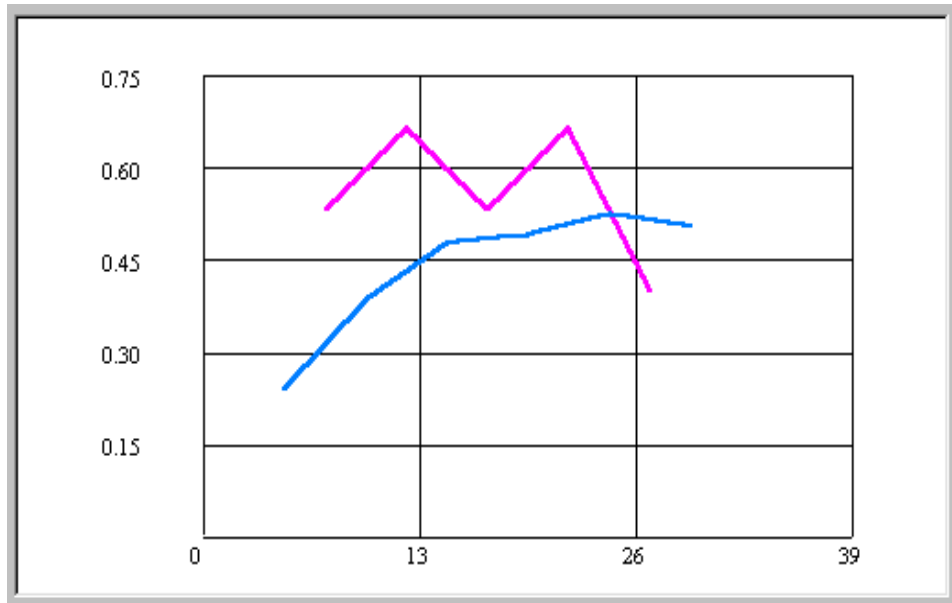


그림 1-5. 연년성장량과 총평균성장량

직경 성장량의 경우 연년성장량은 10~15년 사이에 0.91cm의 성장을 보였고 최근까지도 지속적인 성장을 보였다. 성장률은 10년까지는 6.77%이상의 급속한 증가를 보였으나 10년 이후로는 6.77%미만의 성장률을 나타내었다(표 1-5, 그림 1-6~1-7).

표 1-5. 흉고직경성장량(cm)

연령(년)	총성장량	연년성장량	총평균성장량	성장률(%)
5	1.20		0.240	
		0.533		21.05
10	4.45		0.445	
		0.910		06.77
15	9.00		0.600	
		0.620		01.96
20	12.10		0.605	
		0.400		00.76
25	14.10		0.564	
		0.580		00.75
30	17.00		0.567	



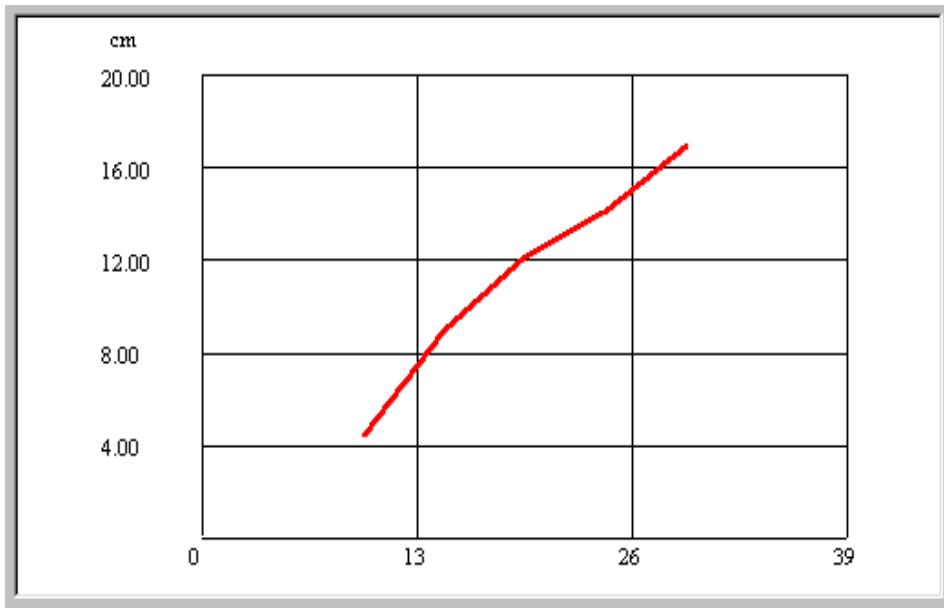


그림 1-6. 총성장량-흉고직경성장량

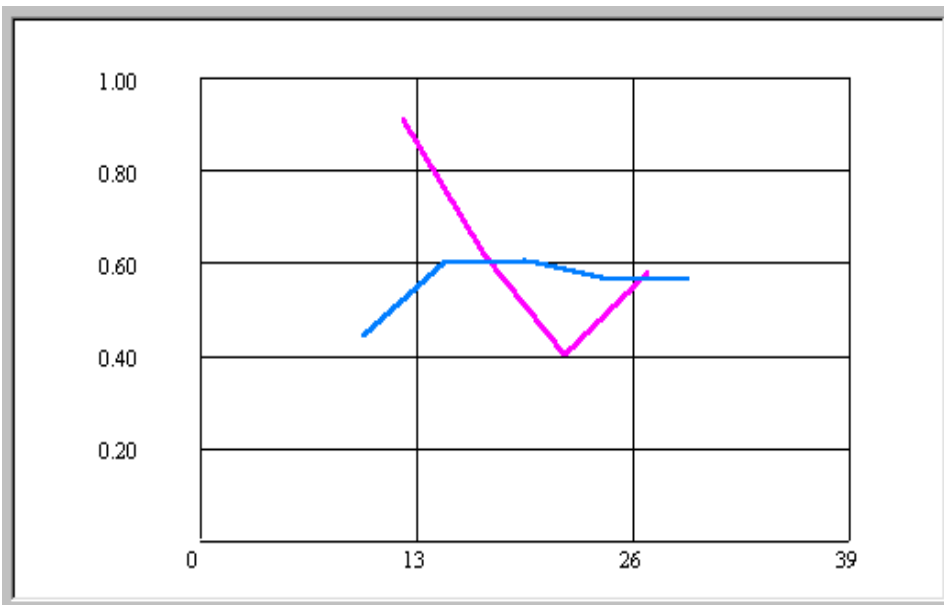


그림 1-7. 연년성장량과 총평균성장량

재적성장량의 경우 15~20년까지는 5%이상의 양호한 성장을 보였으며, 20~25년 사이의 연년성장량이 0.0089m<sup>3</sup>으로 우수한 것으로 나타났다. 또한 재적성장률은 30년까지 2%이상의 성장률을 보였다(표 1-6, 그림 1-8~ 1-9).

표 1-6. 재적성장량(m<sup>3</sup>)

연령(년)	총성장량	연년성장량	총평균성장량	성장률(%)	홍고형수
5	0.0004		0.00008		
		0.0008		33.12	
10	0.0042		0.00042		0.707
		0.0044		14.39	
15	0.0261		0.00174		0.569
		0.0073		05.48	
20	0.0624		0.00312		0.550
		0.0089		02.63	
25	0.1069		0.00428		0.519
		0.0147		02.04	
30	0.1803		0.00601		0.523

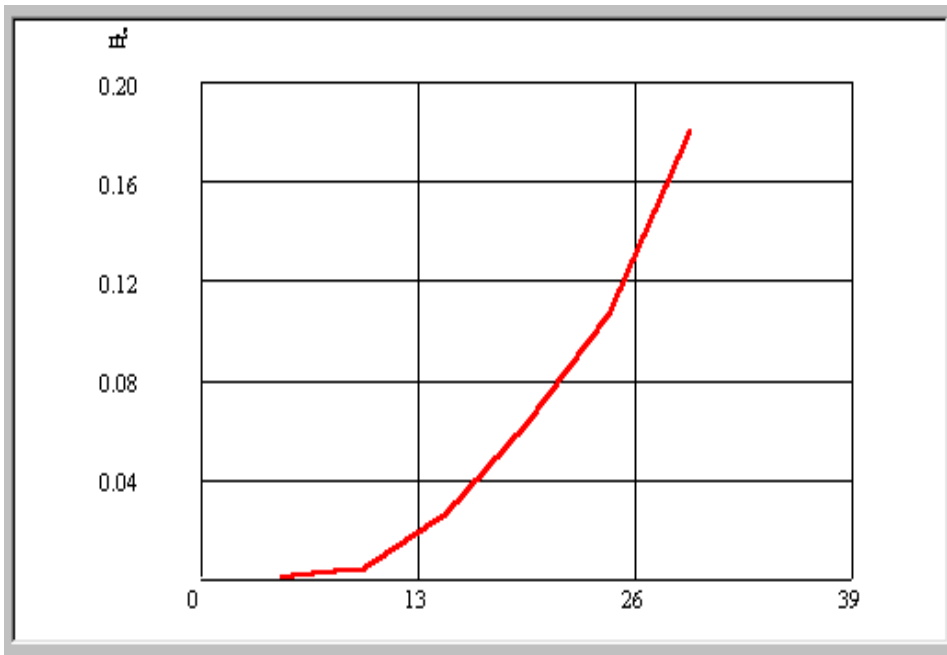


그림 1-8. 총성장률-재적성장률

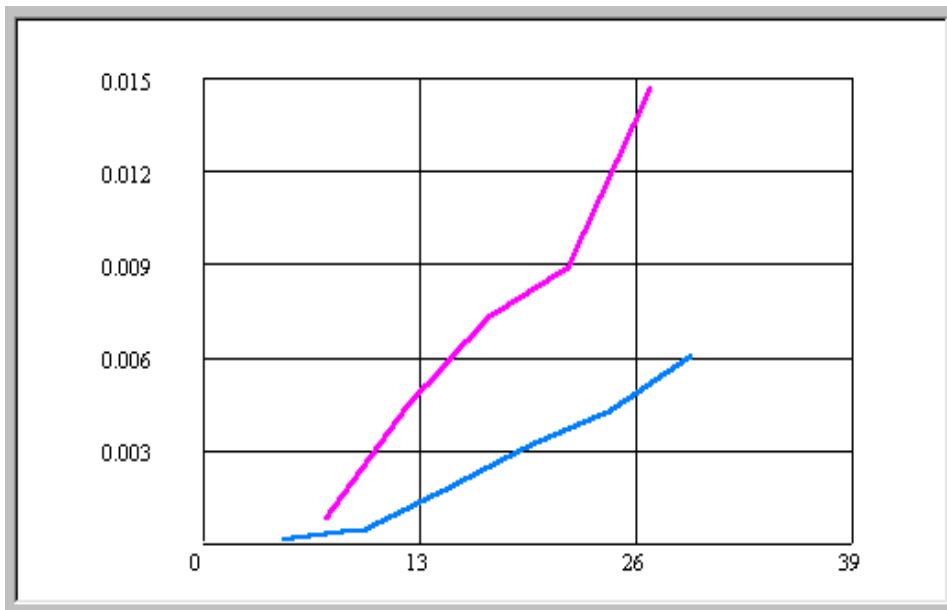


그림 1-9. 연년성장률과 총평균성장률

나) 전남 순천 주암 편백림

(1) 직경 및 단면적 측정

전남 순천 주암지역의 편백림도 위의 방법과 같이 평균목을 선정 한 후 수간 석해를 실시하여 원판(disk)을 채취하여 반경을 측정하였다. 반경 또한 5의 배수가 되는 연륜까지, 즉 직경이 35, 30, 25, ……년 같이 원판의 외부에서 내부로 측정하였다. 표 2-1은 흉고(1.2m)에서 채취한 원판의 직경 측정 데이터를 나타내고 있다.

표 2-1. 원판의 측정

연령	반경 1	반경 2	반경 3	반경 4	합계 (cm)	평균 반경	평균 직경	단면적 (㎡)
28(皮府)	6.6	7.8	7.1	6.7	28.2	7.1	14.1	0.0156
28	6.3	7.4	6.7	6.4	26.8	6.7	13.4	0.0141
25	5.0	5.6	5.4	5.1	21.1	5.3	10.6	0.0087
20	2.6	3.5	3.1	2.9	12.1	3.0	6.0	0.0029
15	1.6	2.0	1.9	1.8	7.3	1.8	3.7	0.0010
心材	3.8	4.6	4.1	3.9	16.4	4.1	8.2	0.0053

원판번호 : 1    지상고 : 1.2m    연륜수 : 18

위에서 사용한 동일한 방법으로 표 2-1의 데이터에서 보이는 각각의 값들은 4방향의 반경을 측정한 후 평균반경을 얻고 이를 2배하여 직경을 추정하였고 단면적은 아래의 식으로 추정하였다.

$$BA = \frac{\pi}{4} d^2$$

d : 직경

(2) 수고 측정

각 단면에 나타난 연륜(annual ring)수를 빼면 그 단면을 채취한 높이까지 성장하는데 소요된 연수(year)가 얻어진다. 즉, 표 2-2에서 보는 바와 같이 0.2m 단면의 연륜수가 28이고 임령이 30년이라면 0.2m 성장하는데 30-28=2, 즉 2년이 소요된 것이다. 이와 같이 성장에 도달한 연수를 측정한 후 x축에 임령(tree year), y축에 수고를 표시하여 graph로 도식한(그림 2-1) 후 5년, 10

년에 대한 수고를 추정하였다.

표 2-2. 단면적 및 연륜수

단면 번호	단면고 (m)	연륜수	도달년수 (년)
0	0.2	26	2
1	1.2	18	10
2	3.2	14	14
3	5.2	7	21
4	7.2	5	23
5	8.2	2	26

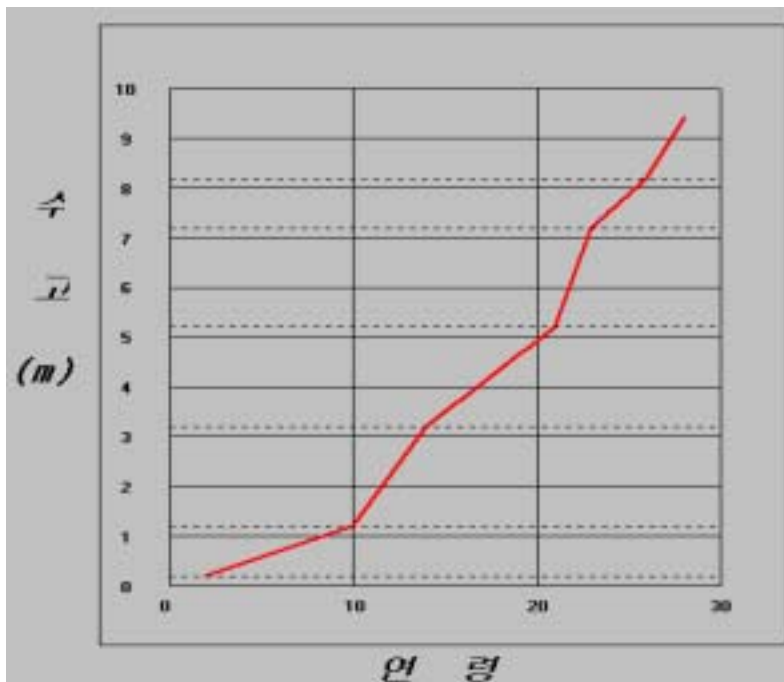


그림 2-1. 수고 곡선

### (3) 재적계산

마찬가지로 재적계산은 단면적과 그림 2-2의 수간석해도에 의하여 표 2-3과 같은 재적계산표를 만들었다. 재적계산은 결정간재적, 소두부재적, 근주재적의 3부분으로 나누어 계산한 후 이들의 합으로 구하였다. 표 2-3의 재적표는 Huber식을 이용하여 계산한 재적표로서 각종 계산은 아래의 방법으로 하였다.

(가) 단면적합계는 단면적 1.2m 이상의 것을 합계

(나) 수고는 수간석해도에서 영급별로 측정

(다) 결정간재적은 단면적 합계에서 수고 2m를 곱함

(라) 소두부 재적은 수간석해도에서 직경과 수고를 측정하여 원추의 재적공식에 의함

(마) 근주재적은 단면고 0.0m과 0.2m의 영급별 단면적 평균치에 0.2m를 곱함

따라서 재적 합계는 간재적, 소두부재적, 그리고 근주재적을 합계한 것이다.

표 2-3. 재적표

단면고 (m)	연륜수 (개)	도달 연령 (년)	5년 (m <sup>2</sup> )	10년 (m <sup>2</sup> )	15년 (m <sup>2</sup> )	20년 (m <sup>2</sup> )	25년 (m <sup>2</sup> )	28년 (m <sup>2</sup> )	28년 (皮付) (m <sup>2</sup> )	心材 (m <sup>2</sup> )
0.0	28	0	0.00063	0.00250	0.00477	0.00998	0.01695	0.02567	0.02788	0.00147
0.2	26	2	0.00027	0.00173	0.00396	0.00849	0.01539	0.02351	0.02559	0.01277
1.2	18	10			0.00105	0.00287	0.00874	0.01410	0.01561	0.00528
3.2	14	14			0.00005	0.00156	0.00396	0.01021	0.01169	0.00312
5.2	7	21					0.00088	0.00460	0.00528	0.00099
7.2	5	23					0.00043	0.00129	0.00152	0.00064
8.2	2	26						0.00027	0.00033	0.00002
수	고 (m)		0.58	1.20	3.49	4.91	7.87	9.39	9.40	8.39
Huber	단면적합계 (m <sup>2</sup> )		0.00000	0.00000	0.00105	0.00443	0.01358	0.03019	0.03411	0.01003
결정	간재적 (m <sup>3</sup> )		0.00000	0.00000	0.00209	0.00886	0.02716	0.06039	0.06821	0.02005
초단부	직경 (cm)		1.85000	4.70000	2.05312	1.85417	2.09375	1.85000	2.05000	0.45000
동(同)	단면적 (m <sup>2</sup> )		0.00027	0.00173	0.00033	0.00027	0.00034	0.00027	0.00033	0.00002
초단부	길이 (m)		0.37500	1.00000	1.28571	0.71429	1.66667	1.19075	1.20000	0.18750
초단부	재적 (m <sup>3</sup> )		0.00003	0.00058	0.00014	0.00006	0.00019	0.00011	0.00013	0.00000
근주	재적 (m <sup>3</sup> )		0.00017	0.00059	0.00104	0.00215	0.00355	0.00536	0.00581	0.01358
간재적	합계 (m <sup>3</sup> )		0.00020	0.00117	0.00327	0.01107	0.03090	0.06586	0.07415	0.03363

# 28년생(9.4m)

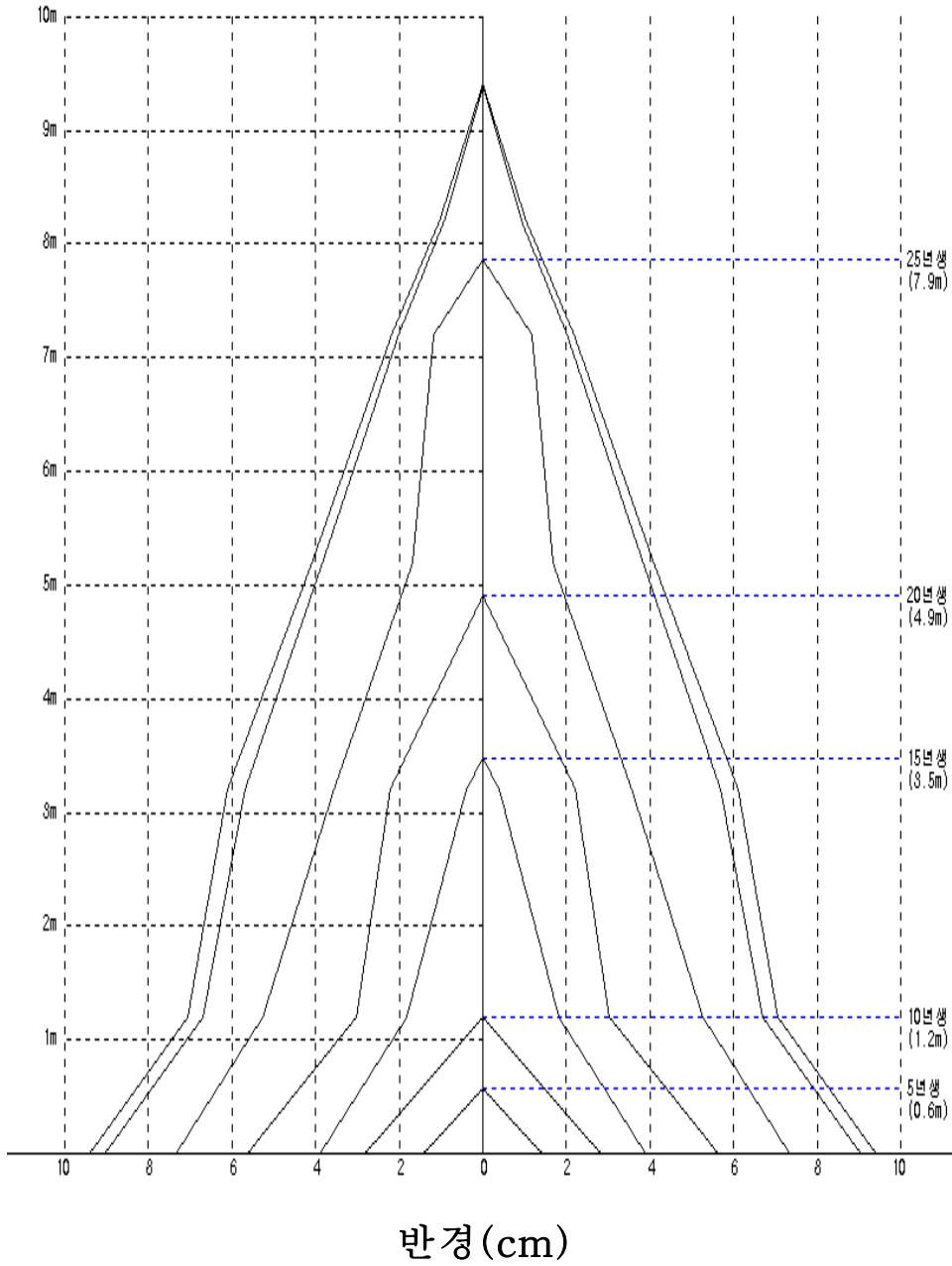


그림 2-2. 수간석해도



(4) 성장량 계산

재적계산 후 재적표를 이용하여 수고, 흉고 그리고 재적 등의 성장량을 계산하였다. 수고성장량의 경우 25~30년 사이에 총평균성장량이 2.31m으로 가장 높은 성장을 보였고 성장률은 20년까지는 2.31% 이상의 성장을 보였으나 20년 이후로는 2.31% 미만의 낮은 성장률을 나타내었다(표 2-4, 그림 2-3~2-4).

표 2-4. 수고성장량(m)

연령(년)	총성장량	연년성장량	총평균성장량	성장률(%)
5	0.58		0.115	
		0.125		14.08
10	1.20		0.120	
		0.457		09.76
15	3.49		0.232	
		0.286		02.27
20	4.91		0.246	
		0.590		02.31
25	7.87		0.315	
		0.508		00.71
28	9.39		0.335	

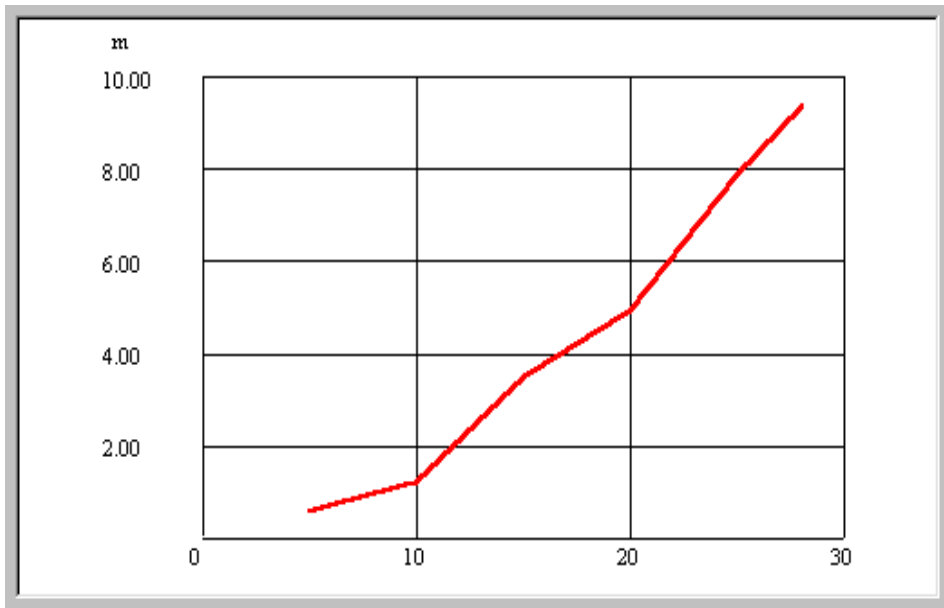


그림 2-3. 총성장량-수고곡선

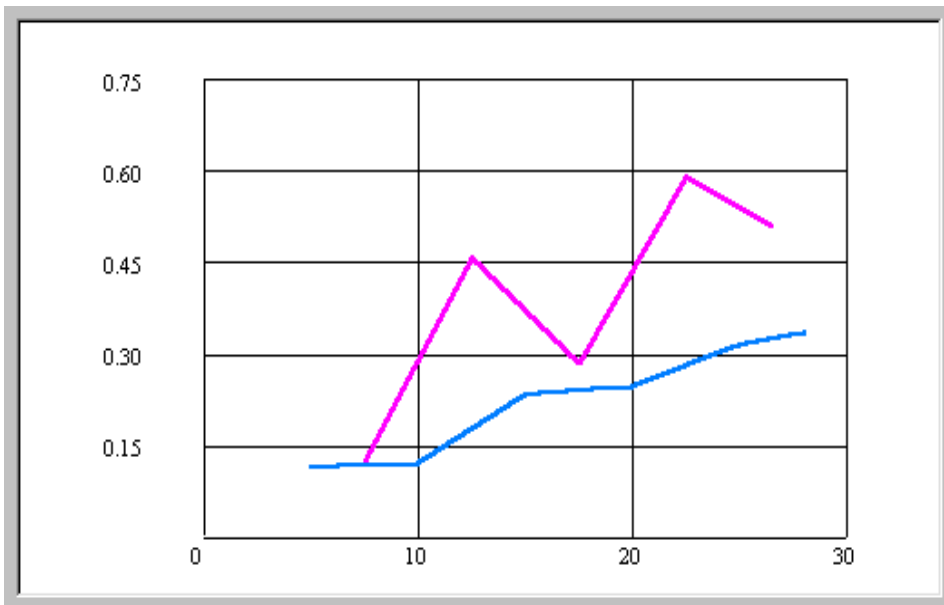


그림 2-4. 연년성장량과 총평균성장량

직경 성장량의 경우 연년성장량은 25~28년 사이에 0.95cm의 성장을 보였고 최근까지도 지속적인 성장을 보이고 있다. 성장률은 15년까지는 20.00%이상의 급속한 증가를 보였으나 15년 이후로는 20.00%미만의 성장률을 보였다(표 2-5, 그림 2-5~2-6).

표 2-5. 흉고직경성장량(cm)

연령(년)	총성장량	연년성장량	총평균성장량	성장률(%)
5	0.58		0.115	
		0.125		14.08
10	0.00		0.000	
		0.730		20.00
15	3.65		0.243	
		0.480		03.30
20	6.05		0.302	
		0.900		02.71
25	10.55		0.422	
		0.950		00.95
28	13.40		0.479	

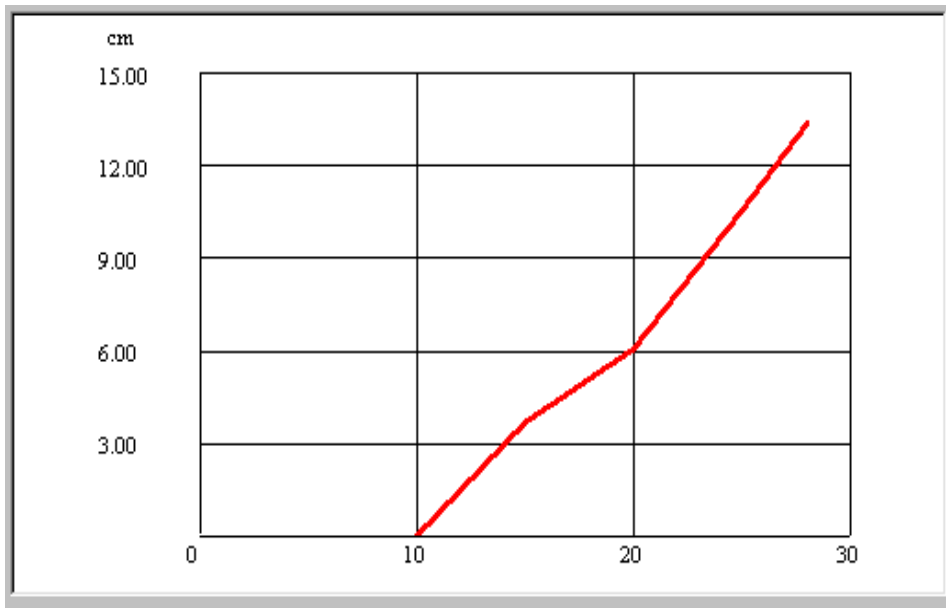


그림 2-5. 총성장량-흉고직경성장량

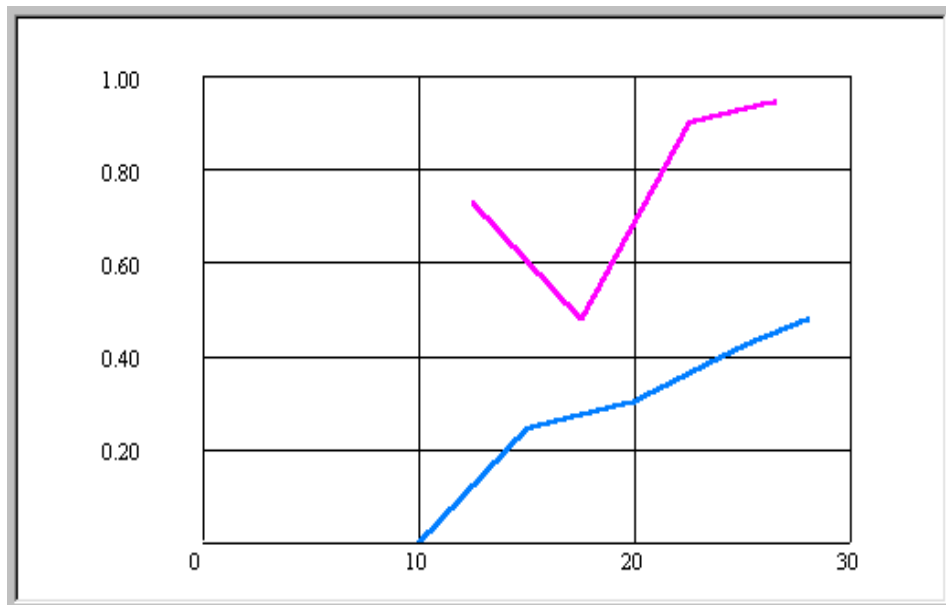


그림 2-6. 연년성장량과 총평균성장량

재적성장량의 경우 20~25년 사이의 연년성장량이 0.0040m<sup>3</sup>으로 나타났다. 또한 재적성장률은 28년까지 3%에 가까운 성장률을 보였다(표 2-6, 그림 2-7~2-8).

표 2-6. 재적성장량(m<sup>3</sup>)

연령(년)	총성장량	연년성장량	총평균성장량	성장률(%)	홍고형수
5	0.0002		0.00004		
		0.0002		28.32	
10	0.0012		0.00012		0.000
		0.0004		09.46	
15	0.0033		0.00022		0.897
		0.0016		07.25	
20	0.0111		0.00055		0.784
		0.0040		04.72	
25	0.0309		0.00124		0.449
		0.0117		02.89	
28	0.0659		0.00235		0.497

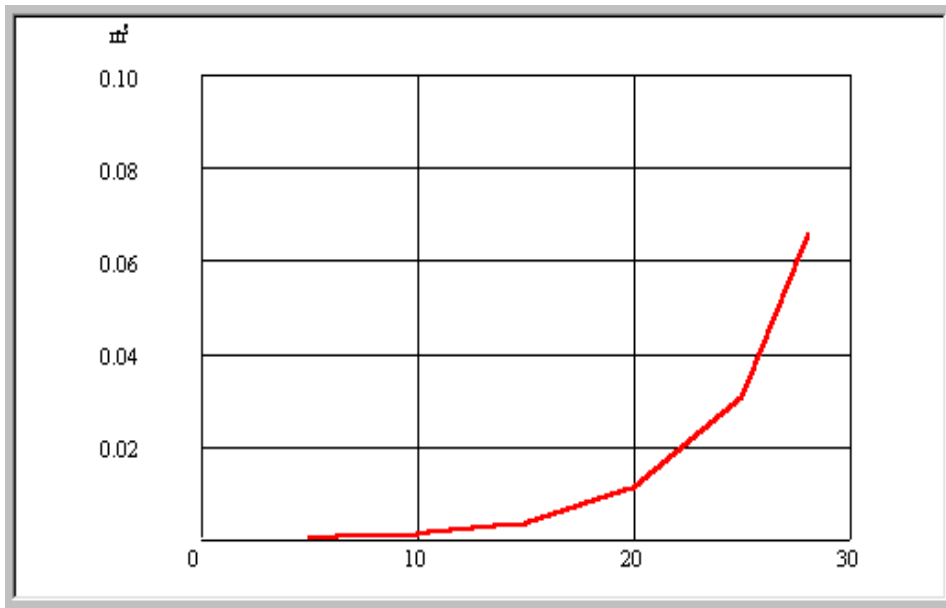


그림 2-7. 총성장률-재적성장률

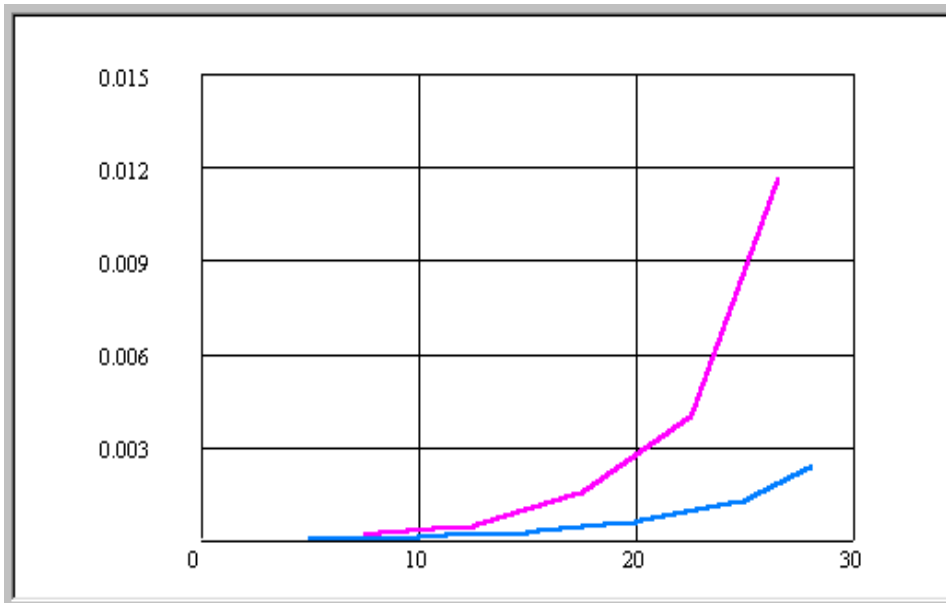


그림 2-8. 연년성장률과 총평균성장률

다) 고창 문수산 편백림 임분조사

(1) 간벌강도별 재적생장량

편백림에 대한 간벌 강도별 성장변화 및 하층식생에 관한 연구는 성장 변화를 추정하는데 유익한 정보를 제공한다. 특히 하층식생은 숲의 습도를 유지시키며 임지의 노출을 방지하고 미래목의 생육에 큰 도움을 줄 뿐만 아니라 종(species)의 보존 측면에서 가치 있는 수종들이 많아 종다양성 유지에도 기여한다. 그리고 간벌지에서 하층식생의 변화 양상은 간벌 전 임분의 식생구조(vegetation structure)비교와 임분을 구성하는 수종의 성장 특성 및 재적생장량 등을 파악하는데 간접적으로 영향을 미친다. 또한, 향후 간벌지 임분의 보다 안정된 산림 식생천이(vegetation succession)를 파악함으로써 건전한 숲을 조성하는데 도움을 줄 수 있을 것이다. 따라서 간벌 강도에 따른 임분의 재적생장을 비교하여 하층식생의 구조를 분석하여 대경재 용재생산과 생태적 다양성이 연계된 편백림의 합리적 경영을 위한 기초 자료를 제공하기 위하여 연구를 수행하였다.

간벌 시험구는 전체 면적 3.5ha로서 2000년도에 하층간벌을 실시하였으며 간벌 강도 및 ha당 잔존본수는 표 3-1과 같다.

표 3-1. 조사지의 간벌강도에 따른 ha당 본수

Thinning Intensity	Remaining Stem/ha
Control (Non-thinning)	3,200
Light thinning.	2,100
Normal thinning.	1,700
Heavy thinning.	1,500
Super Heavy thinning.	1,150

일반적인 임분생장 측정 방법은 영구표본점을 통하여 일정한 기간 동안의 생장량을 측정하여 구하지만 기간을 두고 측정 자료를 얻기 어려울 때는 1회 측정의 결과로 생장량 추정이 이루어진다(이여하, 1995). 본 연구에서는 간벌강도 처리구별로 20 X 20 m (0.04ha)의 표준지를 설정하고 매목조사를 실시하여 각 직경급별로 생장추로 수피 하(下) 1cm 내의 연륜수를 측정하여(표 3-2) 아래의 Pressler식(식 1)을 이용하여 생장률과 생장량을 추정하였다.

$$P = \frac{V-v}{V+v} \times \frac{200}{n} \quad (1)$$

- 여기서 P : 생장률,  
 V : 현재의 단목재적,  
 v : V보다 1영급 낮은 경급의 단목재적,  
 n : 최근 성장한 1cm내의 연륜수를 나타낸다.

표 3-2. 경급별 연륜분포표

흉고직경 (cm)	최근반경 1cm내의 연륜수										
	3	4	5	6	7	8	9	10	평균수	수정치	200/n
10					1	4	6	3	8.8	8.8	
12				5	7	4			6.9	7.4	27.1
14			5	14	12	3			6.4	6.2	32.4
16	1	7	10	15					5.2	5.2	38.7
18	5	4	4						3.9	4.1	48.6
20	3	1							3.3	3.4	59.0
22	1								3.0	3.0	66.7
계	10	12	19	34	20	11	6	3			



하층식생은 편백림의 무간벌지(대조구) 및 간벌지(4개소)를 대상으로 각 지역에 4m×4m(16m<sup>2</sup>) 크기의 조사구(Quadrat) 3개씩, 총 15개를 설치하여 조사구 내에 출현하는 하층식생을 조사하였다. 식생조사법으로는 하층식생의 피도를 중심으로 Braun-Blanquet(1964)의 서열법에서 세분되어 응용되고 있는 5% 단계법(+. 1%, 2%, 5%, 10%, -----, 90%, 95%, 100%)을 적용하였으며(Dierschke, 1994; Pfadenhauer, 1993), 상대우점치(I.V.: Importance Value) 분석에는 피복율을 기준으로 산출하였으며(Curtis & McIntosh, 1951), 그에 따른 피복율 산출은 (방형구 한 식물종의 피복율/방형구 전체 식물종의 피복율 합계)×100(%)를 사용하였다.

(2) 간벌강도 처리구별 성장량 및 하층식생

(가) 대조구

입목본수가 3200/ha인 편백임분의 재적성장률은 표 3-3에 의해 다음과 같은 결과를 나타냈다.

$$P = \frac{0.548}{11.215} \times 100 = 4.89(\%)$$

그리고 ha 당 성장량 및 재적은 각각 13.7m<sup>3</sup>과 280.37m<sup>3</sup>으로 나타났다.

표 3-3. Pressler식에 의한 대조구의 성장률 추정

Tree								Growth		Growth	
DBH	HT	volume	V-v	V+v	$\frac{V-v}{V+v}$	$\frac{200}{n}$	$\frac{V-v}{V+v} \times \frac{200}{n}$	rate	Stem	Volume	amount/
(cm)	(m)	(m <sup>3</sup> )						(%)	No.	(m <sup>3</sup> )	yr
											(m <sup>3</sup> )
10	13	0.052									
12	13	0.072	0.020	0.124	0.158	27.1	4.27	4.8	16	1.152	0.055
14	13	0.094	0.022	0.166	0.131	32.4	4.24	4.4	34	3.186	0.141
16	13	0.120	0.027	0.214	0.124	38.7	4.81	4.8	33	3.970	0.190
18	13	0.150	0.030	0.270	0.110	48.6	5.34	5.4	13	1.950	0.105
20	13	0.184	0.034	0.334	0.103	59.0	6.05	5.8	4	0.737	0.042
22	13	0.220	0.036	0.404	0.088	66.7	5.89	5.7	1	0.220	0.013
Total									101	11.215	0.548

편백림 무간벌지(대조구) 하층식생의 평균피복율은 6.7%로서 편백 상층 수관부에 의하여 강하게 피음되고 있으며, 조사구 전체 하층식생의 식물종은 모두 18종류(taxa)가 출현하였지만 평균적으로는 10종류에 불과하다. 이 중 각종 고사리류가 19%의 상대우점치로서 가장 높은 우점을 하고 있으며, 그 다음으로 감태나무, 고비, 그늘사초가 각각 11%로서 세력을 유지하고 있었다.

(나) 약도 간벌구

입목본수가 2100/ha인 편백임분의 재적생장률은 표 3-4에 의하여  $P = (0.325/5.027) \times 100$  으로서 6.47% 이었고 ha 당 성장량 및 재적은 각각 8.13m<sup>3</sup>과 125.68m<sup>3</sup>으로 나타났다. 약도간벌 하층식생의 평균피복율은 45.0%로서 무간벌지(6.7%)에 비해 매우 높게 나타났으며, 이는 간벌로 인한 임지에 도달하는 광량이 상대적으로 많았음을 알 수 있다. 조사구내 하층식생은 평균적으로 16종류이었지만 전체적으로는 28종류가 조사되어 무간벌지(18종류)에 비해 다양한 종들이 출현하였다. 주요 수종으로는 수리딸기(*Rubus corchorifolius*)가 21%의 상대우점치로서 단연 우세하였으며, 상층 수관을 구성하는 편백 종자들에 의해 천연하층갱신된 치수들이 12%의 상대우점치로서 높게 나타났다. 한편, 초본식물로는 주름조개풀(*Oplismenus undulatifolius*)이 13%의 상대우점치로 가장 높았으며, 고사리류(9%)와 그늘사초(8%)도 함께 출현하였다.

표 3-4. Pressler식에 의한 약도간벌구의 성장률 추정

DBH (cm)	HT (m)	Tree volume (m <sup>3</sup> )	V-v	V+v	$\frac{V-v}{V+v} \times \frac{200}{n}$	$\frac{200}{n}$	$\frac{V-v}{V+v}$	Growth rate (%)	Stem No.	Volume (m <sup>3</sup> )	Growth amount/ yr (m <sup>3</sup> )
8	12	0.032									
10	12	0.049	0.016	0.081	0.201	27.6	5.56	6.5	7	0.340	0.022
12	13	0.072	0.023	0.121	0.194	32.7	6.34	6.1	27	1.944	0.119
14	14	0.100	0.028	0.172	0.163	39.7	6.48	6.2	21	2.102	0.130
18	14	0.129	0.028	0.229	0.124	45.6	5.67	6.5	10	1.285	0.083
18	15	0.170	0.042	0.299	0.140	51.9	7.28	6.9	7	1.193	0.082
20	16	0.224	0.053	0.394	0.135	57.1	7.71	6.8	2	0.447	0.030
Total									74	5.027	0.325

(다) 적정 간벌구

입목본수가 1700/ha인 편백임분의 재적생장률은 표 3-5에 의하여  $P = (0.412/6.089) \times 100$  으로서 6.77% 이었고 ha 당 성장량 및 재적은 각각 10.3m<sup>3</sup>과 152.22m<sup>3</sup>을 보였다. 하층식생의 평균피복율은 68.3%로서 약도간벌(45.0%)에 비해 다소 높게 나타났으나, 출현 종수에 있어서는 31종류로 28종류가 출현한 약도간벌과 거의 비슷한 경향을 나타냈다. 주요 우점 식물종으로는 약도간벌과 마찬가지로 수리딸기와 편백 치수들이 각각 26%, 15%의 상대우점치로 높게 나타났으며, 그 외에 산딸기, 개머루, 비목나무, 조록싸리, 산초나무 등이 함께 출현하였다. 초본식물로는 산거울(*Carex humilis*)이 13%의 상대우점치로 가장 우세하였으며, 그 밖에 그늘사초, 주름조개풀, 까치수영 등이 주로 출현하였다.

표 3-5. Pressler식에 의한 적정 간벌구의 성장량 추정

DBH (cm)	HT (m)	Tree volume (m <sup>3</sup> )	V-v	V+v	$\frac{V-v}{V+v}$	$\frac{200}{n}$	$\frac{V-v}{V+v} \times \frac{200}{n}$	Growth rate (%)	Stem No.	Volume (m <sup>3</sup> )	Growth amount /yr (m <sup>3</sup> )
10	12	0.049									
12	12	0.067	0.018	0.116	0.158	37.0	5.86	6.9	18	1.204	0.083
14	13	0.094	0.027	0.161	0.167	44.0	7.34	6.5	22	2.061	0.134
16	13	0.120	0.027	0.214	0.124	50.1	6.23	6.6	11	1.323	0.088
18	13	0.150	0.030	0.270	0.110	57.2	6.29	7.0	7	1.050	0.074
20	14	0.197	0.047	0.347	0.136	62.7	8.55	7.7	1	0.197	0.015
22	15	0.253	0.055	0.450	0.122	66.7	8.17	7.6	1	0.253	0.019
Total									60	6.089	0.412

(라) 강도 간벌구

입목본수가 1500/ha인 편백임분의 재적생장률은 표 3-6에 의하여 7.79% 이었고 ha 당 성장량 및 재적은 각각 11.2m<sup>3</sup>과 143.7m<sup>3</sup>으로 나타났다. 강도간벌 하층식생의 평균피복율은 71.7%로서 적정간벌시(68.3%)와 차이가 거의 없었으며, 출현종에 있어서도 31종류로서 약도(28종류) 및 적정간벌(31종류)과 비슷한 경향이였다. 그러나 본 간벌지에서는 상기 조사구들과 달리 목본성 우점식생인 수리딸기, 비목나무, 산딸기 등이 수고 1m 이상을 유지하며 관목성으로 자라는 경향을 나타냈다. 주요 출현 수종으로는 수리딸기가 26%, 편백 치수가 12%의 상대우점치로 우점을 하고 있었으며, 그 밖에 산딸기, 국수나무, 대팻집나무, 비목나무, 사위질빵, 산초나무, 작살나무, 감태나무 등의 다양한 수종들이 함께 출현하였다. 초본식물로는 산거울, 고사리류, 양지꽃, 주름조개풀, 그늘사초 등이 고루 나타나고 있었다.

표 3-6. Pressler식에 의한 강도 간벌구의 성장량 추정

DBH (cm)	HT (m)	Tree volume (m <sup>3</sup> )	V-v	V+v	$\frac{V-v}{V+V}$	$\frac{200}{n}$	$\frac{V-v}{V+V}$ $\times \frac{200}{n}$	Growth rate (%)	Stem No.	Volume (m <sup>3</sup> )	Growth amount /yr (m <sup>3</sup> )
10	12	0.049									
12	12	0.067	0.018	0.116	0.158	31.9	5.05	7.0	16	1.070	0.075
14	13	0.094	0.027	0.161	0.167	41.9	6.88	6.6	20	1.874	0.123
16	14	0.129	0.035	0.222	0.157	49.8	7.80	7.9	16	2.056	0.163
18	15	0.170	0.042	0.299	0.140	64.9	9.10	11.6	3	0.511	0.060
20	17	0.237	0.066	0.407	0.162	111.0	18.03	11.5	1	0.237	0.027
Total									56	5.748	0.448

(마) 극강도 간벌구

입목본수가 1150/ha인 편백임분의 재적생장률은 표 3-7에 의하여 6.89% 이었고 ha 당 성장량 및 재적은 각각 8.5m<sup>3</sup>과 123.4m<sup>3</sup>으로 나타났다. 극강도간벌 하층식생의 평균피복율은 83.3%로서 다른 편백림 간벌지(45.0~71.7%)에 비해 현저히 높은 것으로 나타났으며, 조사구 전체 출현종에 있어서도 34종류로서 가장 다양한 식물들이 출현하였다. 반면 조사구 평균 출현종에 있어서는 19종류로서 약도간벌(16종류), 적정간벌(18종류) 및 강도간벌(19종류)과 비교해 거의 차이가 없었다. 주요 수종으로는 수리딸기, 산딸기, 편백이 각각 18%, 15%, 9%의 상대우점치를 나타냈지만, 이는 약도·적정 및 강도간벌과는 달리 수리딸기와 편백 치수의 상대우점치가 크게 감소하는 양상을 보여주었다. 특히, 비목나무, 산초나무, 수리딸기, 감태나무, 산딸기 등은 1~2m의 높은 수고를 유지하며 생육하고 있었다. 초본식생으로는 산겨울이 12%의 상대우점치로 가장 우세한 세력을 유지하였으며, 그 외에 고사리류, 그늘사초, 주름조개풀, 큰피막이 등이 주로 출현하였다.

표 3-7. Pressler식에 의한 극강도 간벌구의 성장률 추정

DBH (cm)	HT (m)	Tree volume (m <sup>3</sup> )	V-v	V+v	$\frac{V-v}{V+V}$	$\frac{200}{n}$	$\frac{V-v}{V+V} \times \frac{200}{n}$	Growth rate (%)	Stem No.	Volume (m <sup>3</sup> )	Growth amount /yr (m <sup>3</sup> )
12	12	0.067									
14	13	0.094	0.027	0.161	0.167	43.7	7.29	7.4	11	1.031	0.076
16	13	0.120	0.027	0.214	0.124	48.7	6.05	7.0	10	1.203	0.085
18	14	0.160	0.040	0.281	0.142	54.4	7.74	6.7	7	1.121	0.075
20	14	0.197	0.037	0.358	0.104	6.30	6.30	6.6	8	1.579	0.104
Total									36	4.934	0.340

(2) 간벌강도별 성장 및 하층식생의 특징

2000년에 편백 조림지를 시험구로 선정·간벌하여 3년이라는 짧은 기간이 지났기 때문에 간벌 효과의 일정한 패턴은 파악할 수 없었으나 성장 차이는 어느 정도 나타났으며 그 결과는 다음과 같다.

첫째, 극강도간벌 시험지를 제외한 나머지 처리구에서 흉고직경 18cm-20cm 인 임목의 성장률이 가장 높게 나타났다(그림 3-1).

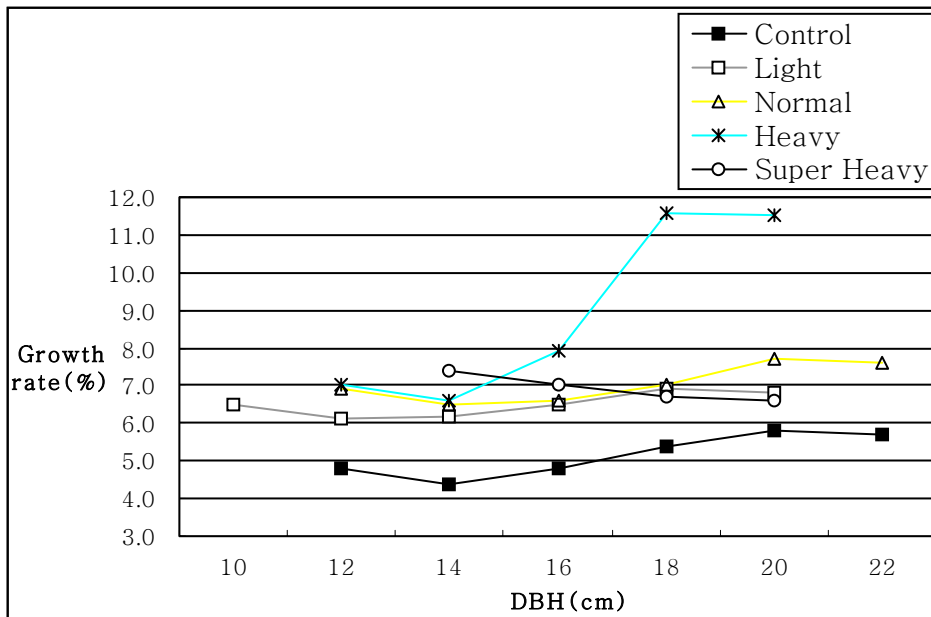


그림 3-1. 흉고직경별 성장률 비교

둘째, 대조구와 각 간벌 강도별 처리구별 ha당 재적을 비교해 보면 대조구의 ha당 재적 280.37m<sup>3</sup>에 비해 약도간벌 처리구는 ha당 재적이 125.68m<sup>3</sup>, 극강도간벌 처리구는 123.36m<sup>3</sup>으로 현저하게 낮았다. 반면에 강도간벌 처리구의 ha당 재적은 위의 처리구보다 많은 143.70m<sup>3</sup>으로 조사되었고, 적정간벌 처리구에서는 152.22m<sup>3</sup>으로 가장 많은 ha당 재적을 보였다(그림 3-2).

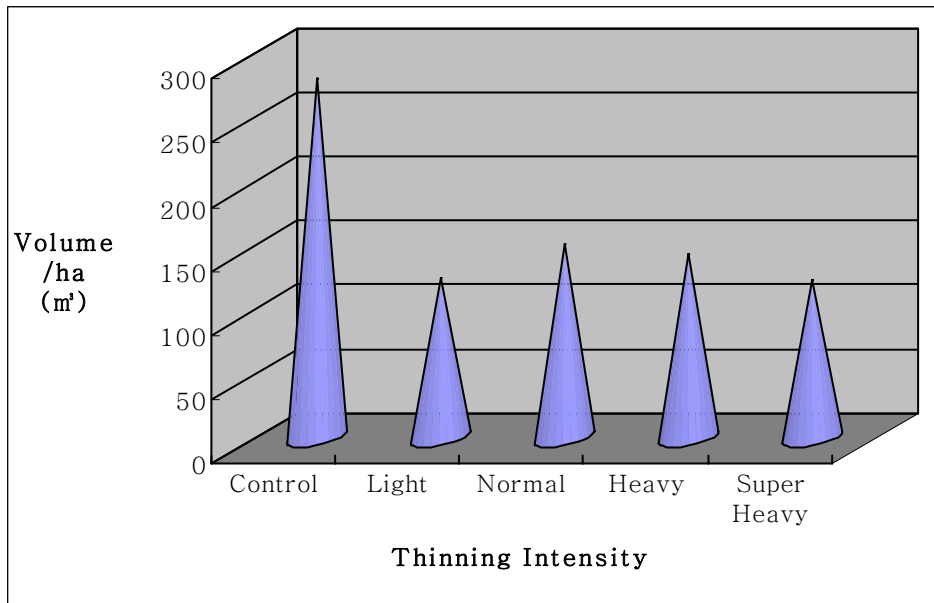


그림 3-2. 간벌 강도별 ha당 재적 비교



셋째, 대조구와 각 간벌 처리구별 임분 재적생장률을 비교해보면 대조구의 재적 성장률 4.88%에 비해 약도간벌 처리구는 성장률이 6.44%이었고, 극강도 간벌 처리구는 6.89%로 비교적 높게 나타났다. 반면에 적정간벌 처리구의 재적생장률은 6.77%로 비교적 높은 수치를 보였으며, 강도간벌 처리구에서는 7.79%의 재적생장률을 보였다(그림 3-3).

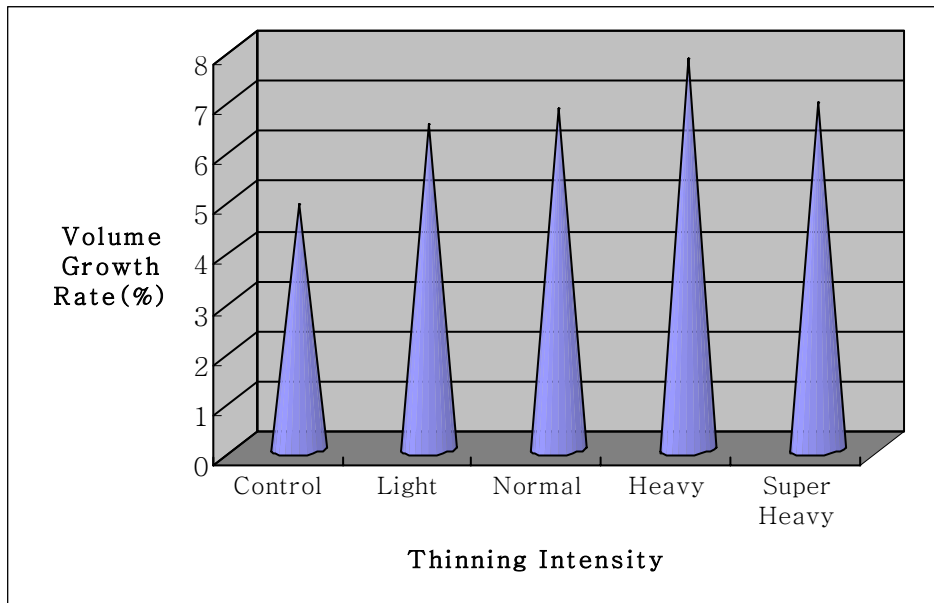


그림 3-3. 간벌 강도별 재적 성장률 비교

### (3) 고창 문수산 편백림 임분 하층식생

문수산 인공 편백림의 무간벌지(대조구) 및 간벌지 강도별(4개소) 하층식생의 변화 양상은 표 3-8에 나타난 바와 같다. 편백림에서 하층식생(low vegetation)의 변화 양상은 피복율(coverage ratio)에 있어서 무간벌지에서는 평균피복율(average coverage ratio)이 6.7%로서 매우 낮았지만, 약도간벌에서 극강도간벌로 갈수록 45.0%에서 83.3%까지 계속해서 증가하는 경향을 나타냈다. 출현 식물종(plant species)은 조사구(Quadrat) 전체적으로는 무간벌지와 극강도간벌지에서 각각 18종류(taxa)와 34종류(taxa)로 많은 차이를 나타냈지만, 평균적으로는 무간벌지에서 10종류(taxa)로 가장 적은 반면 간벌지에서는 16~19종류(taxa)로서 거의 차이를 보이지 않았다.

편백림의 하층우점식생(low dominant vegetation)으로 공통 출현하는 수종(tree species)으로는 감태나무(*Lindera glauca*), 비목나무(*L. erythrovarpa*), 개머루(*Ampelopsis heterophylla*) 및 편백(*Chamaecyparis obtusa*) 치수(seedling) 등이며, 초본식물(herbaceous plants)로는 그늘사초(*Carex lanceolata*), 주름조개풀(*Oplismenus undulatifolius*), 고사리류(ferns spp.) 등이었다. 한편, 편백림 간벌지에서 수리딸기(*Rubus corchorifolius*)는 상대우점치(importance value)가 18~26%까지 모든 조사구(Quadrat)에서 가장 높은 비율(ratio)로서 출현한 우점종(dominant species)이었으며, 그 외에 산딸기(*Rubus crataegifolius*), 사위질빵(*Clematis apiifolia*), 까치수영(*Lysimachia barystachys*), 제비꽃(*Viola mandshurica*) 등도 출현 빈도(frequency)가 높은 식물종(plant species)으로 조사되었다.

본 연구의 조사지는 임령이 낮은 유령임분으로서 강도간벌 시험구가 약도간벌 시험구보다 비교적 높은 생장을 보이고 있다. 이러한 결과는 유령림에서 실시되는 강도간벌은 재적생장을 촉진하는 일반적인 간벌 효과와 동일한 것으로 나타났다. 위의 결과에서 알 수 있듯이 현재의 문수산 일대 편백림의 건전한 하층식생의 발생 유도 및 우량 대경재로 키워낼 수 있는 간벌강도는 강도간벌과 적정간벌이 유효한 것으로 나타났다. 그러나 이 임분이 성숙함에 따라 중령림과 노령림에 도달했을 때의 강도간벌은 생장손실을 나타낼 가능성이 있으므로 차후에 계획하는 간벌강도는 이러한 생장을 바탕으로 이루어져야 할 것이다.

표 3-8. 편백림의 하층식생 양상

Taxa	Control (non-thinning)		Light thinning		Normal thinning		Heavy thinning		Super heavy thinning	
	coverage ratio(%)	I.V.	coverage ratio(%)	I.V.	coverage ratio(%)	I.V.	coverage ratio(%)	I.V.	coverage ratio(%)	I.V.
<i>Zanthoxylum schinifolium</i> *					7	0.01	15	0.02	25	0.03
<i>Cryptomeria japonica</i> *	2	0.02					5	0.01	1	0.001
<i>Lindera obtusiloba</i> *									5	0.01
<i>Smilax nipponica</i>	4	0.04	2	0.01						
<i>Potentilla freyniana</i>			5	0.01	10	0.02				
<i>Rubus corchorifolius</i> *			80	0.21	160	0.26	180	0.26	145	0.18
<i>Rumex acetosa</i>							5	0.01		
<i>Calamagrostis arundinacea</i>									5	0.01
<i>Lespedeza bicolor</i> *							5	0.01	10	0.01
<i>Potentilla fragariooides</i> var. <i>major</i>							25	0.04	10	0.01
<i>Cirsium japonicum</i> var. <i>ussuriense</i>					2	0.003	4	0.01	2	0.002
<i>Akebia quinata</i> *			2	0.01						
<i>Youngia denticulata</i>	1	0.01	4	0.01	1	0.002			7	0.01
<i>Phytolacca americana</i>					5	0.01			10	0.01
<i>Callicarpa japonica</i> *			2	0.01			25	0.04	15	0.02
<i>Dennstaedtia hirsuta</i>			5	0.01	5	0.01	5	0.01	2	0.002
<i>Vaccinium oldhami</i> *	5	0.05								
<i>Viola mandshurica</i>			2	0.01	2	0.003	5	0.01	1	0.001
<i>Lespedeza maximowiczii</i> *					10	0.02				
<i>Oplismenus undulatifolius</i>	3	0.03	50	0.13	25	0.04	30	0.04	25	0.03
<i>Rhododendron mucronulatum</i> *	5	0.05			2	0.003				
<i>Smilax sieboldii</i> *	2	0.02	12	0.03	7	0.01				
<i>Smilax china</i> *	7	0.07					7	0.01	2	0.002
<i>Pueraria thunbergiana</i> *	2	0.02								
<i>Chamaecyparis obtusa</i> *	6	0.06	45	0.12	95	0.15	85	0.12	75	0.09
<i>Hydrocotyle ramiflora</i>					10	0.02	2	0.00	25	0.03
<i>Meliosma oldhamii</i> *					2	0.003		3	2	0.002
Total apperence species (average)	18 (10)		28 (16)		31 (18)		31 (19)		34 (19)	
Average coverage ratio	6.7%		45.0%		68.3%		71.7%		83.3%	

\* woody plants

## 제2절 측백의 성장관계

### 1. 연구내용

#### 가. 성장자료 파악

표본지는 천연기념물 62호인 충북 단양군 매포읍 영천리의 측백림 54,347㎡에서 20m×20m의 정방형 15plot을 설정하였다. 각 plot에서 흉고직경별 표준목을 각각 3본씩 설정한 후 성장추를 이용하여 지상부 1.2m 높이에서 목편을 채취하였다. 채취한 목편은 코어측정기를 이용하여 흉고직경 성장 데이터를 획득하는데 사용하였다. 이렇게 얻어진 흉고직경 성장 데이터를 수간석해 프로그램을 응용하여 흉고직경 및 흉고단면적의 성장자료를 파악하였다.

### 2. 연구결과

#### 가. 측백림의 성장 모형 개발

##### 1) 연구 방법

조사 지역은 충북 단양군 매포읍 영천리 측백림에서 이루어졌다. 이 측백림은 천연기념물(62호)이라는 상황에 놓여 있었기 때문에 벌채를 하여 원판(disk)을 채취할 수는 없었다. 따라서 임분의 표본지를 설정하고 표준목을 선정하여 지상부 1.2m(흉고)에서 성장추를 이용하여 목편(core)을 채취한 후 흉고직경과 흉고단면적 데이터를 얻었다. 얻어진 데이터베이스는 non-overlapping 데이터와 overlapping 데이터의 2종류로 변환을 하였다. 이렇게 얻어진 데이터는 다양한 동형과 다형 함수식에 적합하여 측백림의 흉고직경과 흉고단면적의 성장을 예측할 수 있는 성장 모형(growth model)을 도출하였다. 본 연구에 사용된 성장 예측모형은 성장 및 수확 모형 연구에서 폭넓게 이용되는 대수차분 방정식(algebraic difference equation)으로써(Clutter et al., 1983; Borders et al., 1984; Lee, 2000, 2001) 대수차분 방정식의 기본 형태는 식 (2)과 같다.

$$Y_2 = f(Y_1, T_1, T_2, \theta, MR) \quad (2)$$

여기서,  $Y_2$  = 후기 측정  $T_2$  시점의 임목 또는 임분의 변수 측정값,  
 $Y_1$  = 초기 측정  $T_1$  시점의 임목 또는 임분의 변수 측정값,  
 $T_1$  = 초기 측정 시점의 임목 또는 임분의 연령,  
 $T_2$  = 후기 측정 시점의 임목 또는 임분의 연령,  
 $\theta$  = 방정식의 모수(母數), 그리고  
 $MR$  = 경영관리 형태이다.

위의 식 (2)에서 후기 측정시기  $T_2$  때 측정된 종속변수(dependent variable)  $Y_2$  는 초기 측정값  $Y_1$  과 측정시점 때의 임령  $T_1, T_2$  의 함수관계로 표현된다. 변수  $Y_1, Y_2$  는 흉고직경(diameters of breast height: DBH), 수고(height), 흉고단면적(basal area) 그리고 ha당 임목 본수(stem per hectare) 등 어떠한 임분의 변수라도 사용 가능하다.

임목의 성장 형태를 정확하게 추정하기 위하여 Schumacher(Schumacher, 1939; Woollons, 1988; Clutter and Jones, 1980), Hossfeld(Woollons et al., 1990), Chapman-Richards(Pienaar and Turnbull, 1973; Goulding, 1979) 그리고 Gompertz(Whyte and Woollons, 1990) 등의 동형(anamorphic)과 다형(polymorphic)의 다양한 S자형 대수차분 방정식을 이용하여 성장모형을 전개하였다(표 4-1, 4-2).

표 4-1. 성장 추정에 사용되는 일반적인 동형 방정식들

Equation name	Equation Forms*
Schumacher	$Y_2 = Y_1 \exp(-\beta(1/T_2^\gamma - 1/T_1^\gamma))$
Hossfeld	$Y_2 = 1/((1/Y_1) - \beta(1/T_2^\gamma - 1/T_1^\gamma))$
Chapman-Richards	$Y_2 = Y_1((1 - \exp(-\beta T_1))/(1 - \exp(-\beta T_2)))^\gamma$
Gompertz	$Y_2 = Y_1 \exp(-\beta(\exp(\psi T_2) - \exp(\psi T_1)))$

\*  $Y_1$  = diameter, basal area and height of trees at age  $T_1$ ,  
 $Y_2$  = diameter, basal area and height of trees at age  $T_2$ ,  
 exp = exponential function,  
 ln = natural logarithm, and  
 $\alpha, \beta, \gamma$  are coefficients to be estimated.

표 4-2. 성장 추정에 사용되는 일반적인 다형 방정식들

Equation name	Equation forms*
Schumacher	$Y_2 = \exp(\ln(Y_1)(T_1/T_2)^\beta + \alpha(1 - (T_1/T_2)^\beta))$
Hossfeld	$Y_2 = 1/((1/Y_1)(T_1/T_2)^\gamma + (1/\alpha)(1 - (T_1/T_2)^\gamma))$
Chapman-Richards	$Y_2 = (\alpha/\psi)^{1/(1-\beta)} (1 - (1 - (\psi/\alpha)Y_1^{(1-\beta)})) / (T_2 - T_1)^{[-\psi(1-\beta)](1/(1-\beta))}$
Gompertz	$Y_2 = \exp(\ln(Y_1) \exp(-\beta(T_2 - T_1) + \psi(T_2^2 - T_1^2)) + \alpha(1 - \exp(-\beta(T_2 - T_1) + \psi(T_2^2 - T_1^2))))$

\*  $Y_1$  = diameter, basal area and height of trees at age  $T_1$ ,  
 $Y_2$  = diameter, basal area and height of trees at age  $T_2$ ,  
 exp = exponential function,  
 ln = natural logarithm, and  
 $\alpha, \beta, \psi$  are coefficients to be estimated.

최적 모형의 도출을 위한 통계는 통계 프로그램인 SAS 6.12 버전을 사용하였고, 주된 통계 방법은 PROC NLIN 프로시저에서 비선형 최소자승 회귀(non-linear least squares regression)를 이용하였다. 성장추정에 가장 적합한 모형을 도출하기 위한 주된 통계 방법은 모형의 추정편의(estimation bias of model), 정도(precision), 실측치에 대한 추정치 잔차 평균 제곱(mean square error), 모형의 타당성 검증을 위한 도식화를 통한 잔차 패턴 분석 그리고 평균편차 등이다. 더불어 PROC UNIVARIATE 프로시저를 통하여 잔차통계량도 참조하였다.

2) 결과 및 고찰

가) 흉고직경 성장모형

(1) 흉고직경 non-overlapping data를 이용한 성장모형

성장추정에 이용되는 대수차분 방정식 중 먼저 동형(anamorphic) 방정식을 흉고직경 non-overlapping data에 적합하였다. 그 결과 Schumacher 방정식이 다른 방정식들보다 낮은 MSE값(0.076)과 상대적으로 우수한 잔차에 대한 통계와 산포형태를 보이고 있으나, 전체적으로 동형 방정식들은 모형의 정확성을 보이지 않아 직경 성장 예측에 부적합한 것으로 판명되었다. 이들 동형 방정식에 대한 잔차의 통계는 표 4-3과 같다.

표 4-3. non-overlapping 흉고직경 데이터에 동형 방정식을 적합한 결과의 잔차 통계

Equation name	MSE	Mean of residuals	Skewness	Kurtosis
Schumacher	0.076	0.031	0.269	0.692
Chapman-Richards	0.078	0.033	0.316	0.783
Hossfeld	0.186	0.219	-0.346	1.769
Gompertz	0.086	0.045	0.312	0.956

다음으로 다형 방정식을 데이터에 적합한 결과 Chapman-Richard 방정식은 주어진 데이터에 적합성(fitting)을 보이지 않았다. 그러나 나머지 방정식에서는 실측값에 대한 추정값들의 잔차 형태가 이분산성이 없는 균일한 분포(homogeneous distribution)를 나타내어 적합성이 우수함을 알 수 있었다. 우수한 적합성을 판단하는데 기준으로 쓰이는 평균자승잔차(MSE)는 Schumacher(0.334) > Gompertz(0.389) > Hossfeld(0.396) 방정식의 순으로 작은 값을 보였다. 따라서 잔차분포 형태와 MSE를 비교해 볼 때 Schumacher 다형 방정식(식 3)이 다른 다형 방정식들보다 적합성이 우수한 것으로 나타났



다.

$$Y_2 = \exp(\ln(Y_1)(T_1/T_2)^\beta + \alpha(1 - (T_1/T_2)^\beta)) \quad (3)$$

식 (3)에 의한 잔차와 예상치에 대한 그래프를 확인해본 결과 균일한 분포를 나타내었다(그림 4-1).

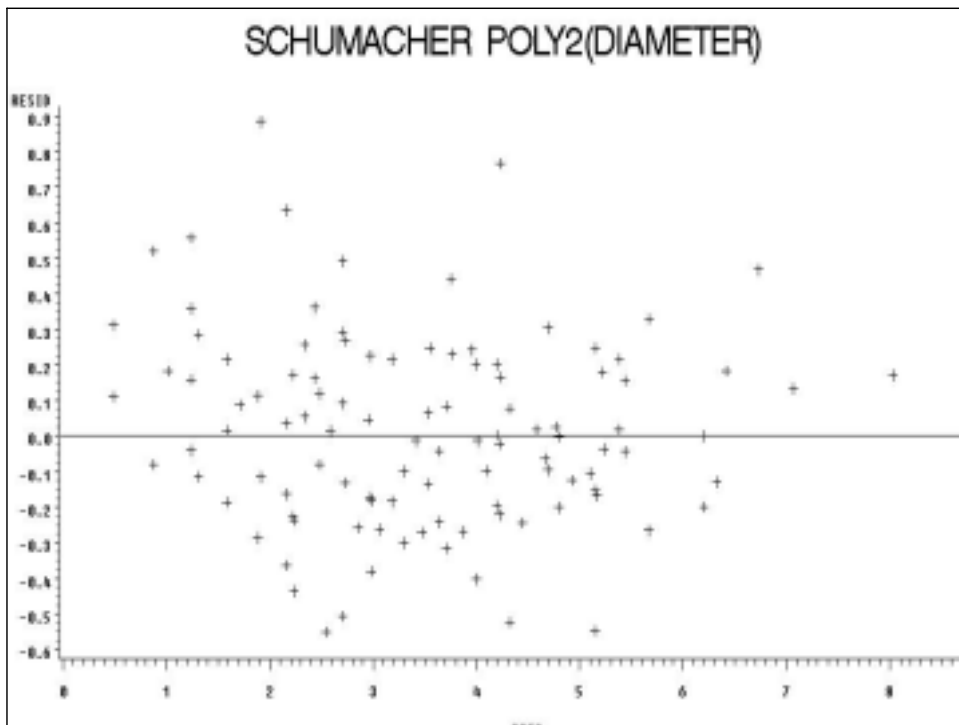


그림 4-1. non-overlapping 흉고직경 Schumacher 동형 방정식에 대한 잔차와 추정치 그래프

PROC NLIN 프로시저를 이용하여 데이터에 적합한 각각의 다형 방정식의 추정된 계수와 MSE는 표 4-4와 같으며, PROC UNIVARIATE를 이용한 정규성 검정 결과(그림 4-2) 정규확률분포선(+표시)과 실제확률분포선(\*)의 괴리가 크지 않은 정규분포를 나타내었다.

표 4-4. non-overlapping 흉고직경 데이터를 다형 방정식에 적합한 결과에 대한 계수

Equation name	Coefficient			MSE
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	
Schumacher	4.3387	0.4004	-	0.068
Hossfeld	16.0839	-	1.639	0.075
Gompertz	3.0444	0.0499	0.0004	0.083

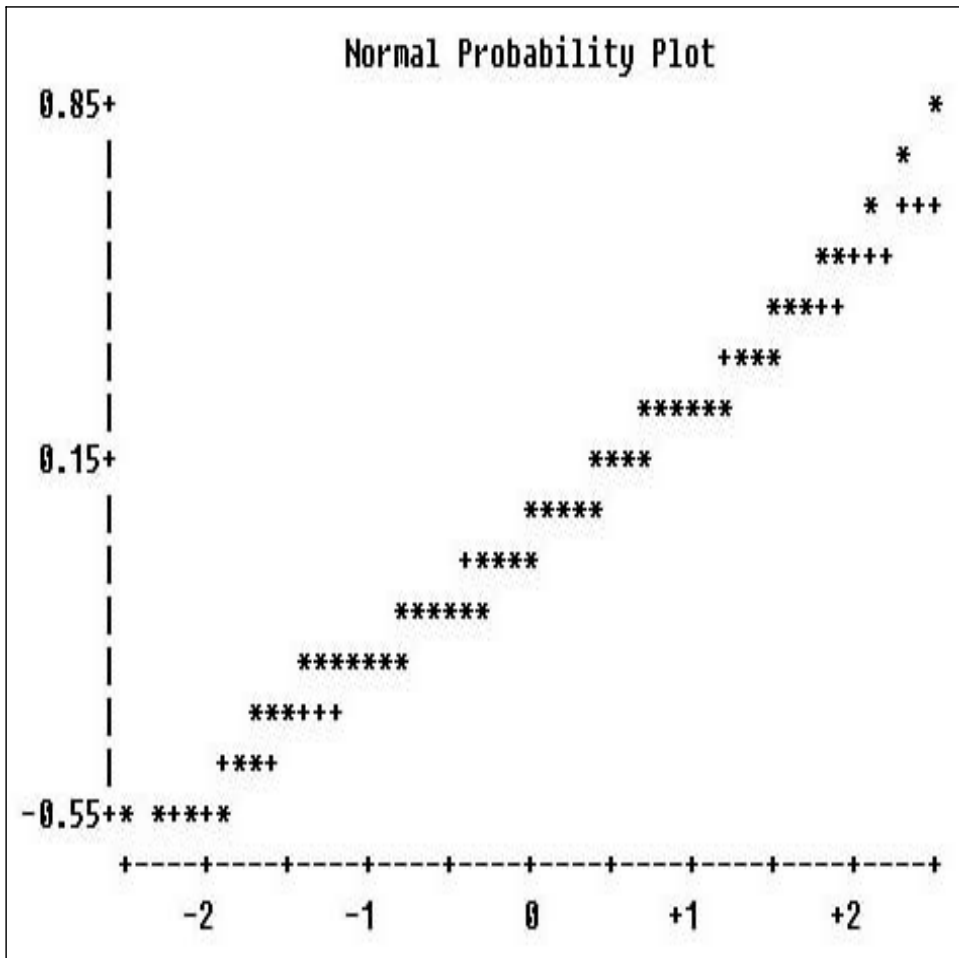


그림 4-2. non-overlapping 흉고직경 Schumacher 다형 방정식에 대한 정규 분포 그림

(2) 흉고직경 overlapping data를 이용한 성장모형

흉고직경 기본 데이터를 모수 추정 능력을 높이기 위하여 모든 가능한 성장 측정기간을 포함하는 데이터(overlapping data)를 이용하여 성장 함수식을 추정하였다. 동형 방정식을 데이터에 적합한 결과 전체적으로 적합된 동형 방정식들에 의하여 예측된 추정값들에 대한 잔차분포 패턴은 우하향 하는 편향(bias)을 보였다. 적합된 동형 방정식 중 Schumacher 방정식이 다른 성장식들보다 우수한 잔차에 대한 통계와 산포 형태를 보였다. 그러나 동형 방정식들은 전체적으로 모형이 정확성을 보이지 않아 직경 성장 예측에 부적합한 것으로 판명되었다. 이들 동형 방정식에 대한 잔차의 통계는 표 4-5와 같다.

표 4-5. overlapping 흉고직경 데이터를 동형 방정식에 적합한 결과의 잔차 통계

Equation name	MSE	Mean of residuals	Skewness	Kurtosis
Schumacher	0.499	0.110	0.650	2.407
Chapman-Richards	0.503	0.106	0.680	2.466
Hossfeld	2.254	0.898	0.736	1.168
Gompertz	2.195	0.718	-0.098	0.895

다형 방정식을 데이터에 적합한 결과 Chapman-Richard 방정식은 주어진 데이터에서는 적합성(fitting)을 보이지 않았다. 그러나 나머지 방정식에서는 실측값에 대한 추정값들의 잔차 형태가 이분산성이 없는 균일한 분포(homogeneous distribution)를 나타내어 적합성이 우수함을 알 수 있었다. 우수한 적합성을 판단하는데 기준으로 쓰이는 평균자승잔차(MSE)는 Schumacher(0.334) > Gompertz(0.389) > Hossfeld(0.396) 방정식의 순으로 작은 값을 보였다. 따라서 잔차분포 형태와 MSE를 비교해 볼 때 Schumacher 다형 방정식(식 4)이 다른 다형 방정식들보다 적합성이 우수한 것으로 나타났다.

$$Y_2 = \exp(\ln(Y_1)(T_1/T_2)^\beta + \alpha(1 - (T_1/T_2)^\beta)) \quad (4)$$

식 (4)에 의한 잔차와 예상치에 대한 그래프를 확인해본 결과 균일한 분포를 나타내었다(그림 4-3).

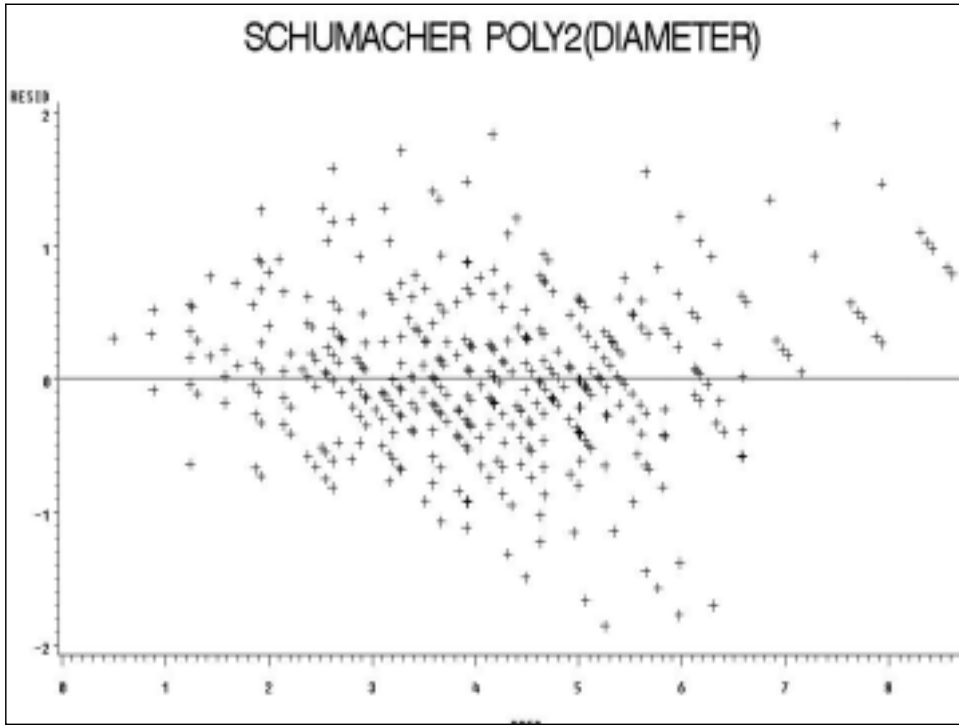


그림 4-3. overlapping Schumacher 흉고직경 다형 방정식에 대한 잔차와 추정치 그래프

PROC NLIN 프로시저를 이용하여 데이터에 적합한 각각의 다형 방정식의 추정된 계수와 MSE는 표 4-6과 같으며, PROC UNIVARIATE를 이용한 정규성 검정 결과(그림 4-4) 정규선(+표시)과 실제선(\*)의 괴리가 크지 않은 정규 분포를 나타내었다.

표 4-6. overlapping 흉고직경 데이터를 다형 방정식에 적합한 결과에 대한 계수

Equation name	Coefficient			MSE
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	
Schumacher	3.8535	0.4495	-	0.334
Hossfeld	12.318	-	1.7133	0.396
Gompertz	3.1812	0.0457	0.0004	0.389

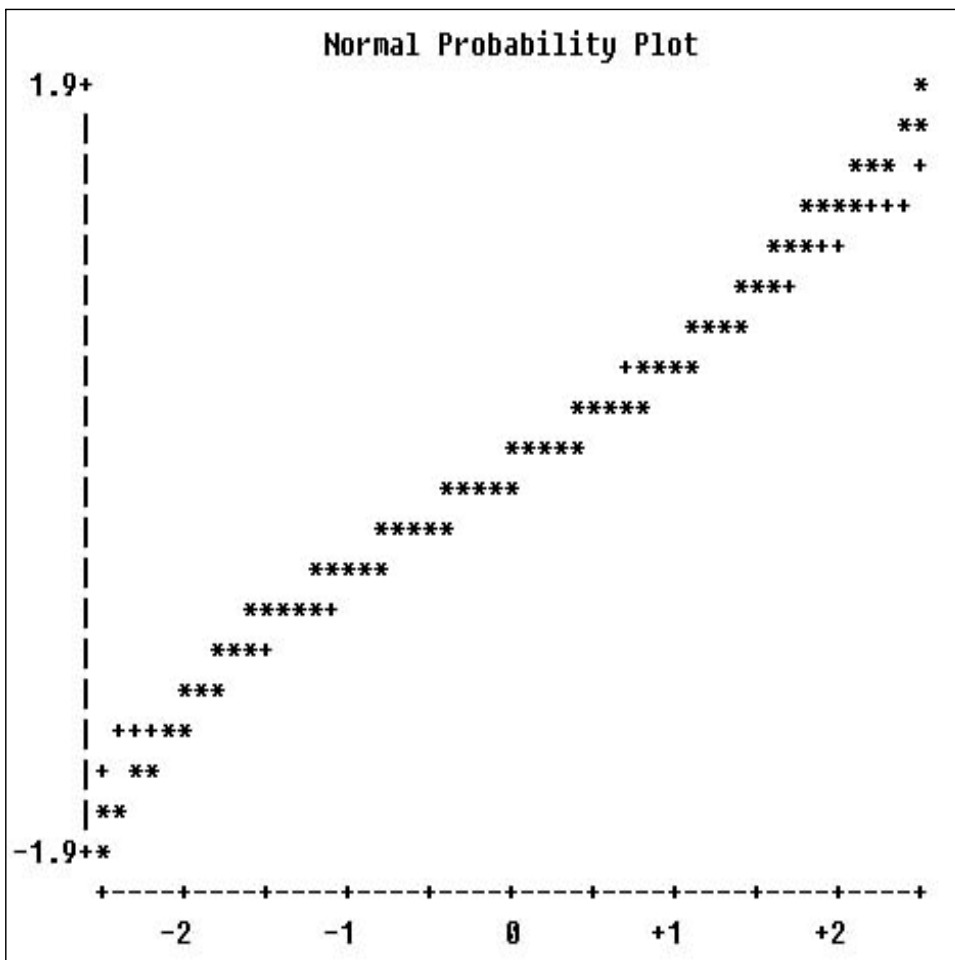


그림 4-4. overlapping 흉고직경 Schumacher 다형 방정식에 대한 정규 분포 그림

나) 흉고 단면적 성장모형

(1) 흉고 단면적 non-overlapping data를 이용한 성장모형

흉고 단면적 non-overlapping data를 동형(anamorphic)과 다형(polymorphic) 방정식에 적합하였다. 동형 방정식들을 데이터에 적합한 결과 Schumacher, Chapman-Richard 방정식은 모수 추정치의 95% 신뢰구간(95% Confidence Interval)에서 '0'을 포함하고 있어 모형추정에 부적합한 것으로 나타났다. 반면에, Gompertz 방정식이 다른 방정식들보다 낮은 MSE값(0.0000000258)과 상대적으로 우수한 잔차에 대한 통계와 산포 형태를 보이고 있으나 전체적으로 동형 방정식들은 모형의 정확성을 보이지 않아 직경 성장 예측에 부적합한 것으로 판명되었다. 이들 동형 방정식에 대한 잔차의 통계는 표 5-1과 같다.

표 5-1. non-overlapping 흉고단면적 데이터에 동형 방정식을 적합한 결과의 잔차 통계

Equation name	MSE	Mean of residuals	Skewness	Kurtosis
Schumacher	0.0000000239	0.000019	0.034	1.940
Chapman-Richards	0.0000000240	0.000020	0.020	1.933
Hossfeld	0.0000000832	0.000210	-0.825	5.876
Gompertz	0.0000000258	0.000026	-0.037	1.832

다음으로 다형 방정식들을 데이터에 적합하였다. 그 결과 Schumacher, Gompertz, Hossfeld 방정식은 모수 추정치의 95% 신뢰구간에서 모두 '0'을 포함하고 있어 추정식에 부적합한 것으로 나타났다. 또한 Chapman-Richard 방정식은 주어진 데이터에서는 적합성을 보이지 않았다. 따라서 흉고 단면적 non-overlapping data와 다형 방정식을 이용한 흉고 단면적 추정모형의 개발은 불확실한 것으로 나타났다.

(2) 흉고 단면적 overlapping data를 이용한 성장모형

모수 추정 능력을 높이기 위한 모든 가능한 성장 측정기간을 포함하는 데이터(overlapping data)를 흉고 단면적 기본 데이터를 이용하여 조합한 후 성장 함수식을 추정하였다. 동형 방정식을 데이터에 적합한 결과 Schumacher와 Hossfeld 방정식은 주어진 데이터에서는 적합성(fitting)을 보이지 않았다. 그리고 Chapman-Richard 방정식은 모수 추정치의 95% 신뢰구간에서 '0'을 포함하고 있어 성장추정에 부적합한 것으로 나타났다. 오직 Gompertz 방정식만이 모수 추정치의 95% 신뢰구간에서 '0'을 포함하지 않았고 주어진 데이터에도 적합 되었다. 그러나 적합된 방정식에 의하여 예측된 추정값들에 대한 잔차분포 패턴은 우하향하는 편의(bias)를 보였다. 따라서 Gompertz 동형 방정식은 모형의 정확성을 보이지 않아 흉고 단면적 성장 예측에 부적합한 것으로 판명되었다.

다형 방정식을 데이터에 적합한 결과 Chapman-Richard 방정식은 주어진 데이터에서는 적합성을 보이지 않았다. 그리고 Gompertz 방정식은 모수 추정치의 95% 신뢰구간에서 '0'을 포함하고 있어 성장추정에 부적합한 것으로 나타났다. 그러나 Schumacher 방정식과 Hossfeld 방정식에서는 실측값에 대한 추정값들의 잔차 형태가 이분산성이 없는 균일한 분포(homogeneous distribution)를 나타내어 적합성이 우수함을 알 수 있었다. 평균자승잔차(MSE)는 Schumacher(0.000000135) > Gompertz(0.000000140) 방정식의 순으로 작은 값을 보였다. 따라서 잔차분포 형태와 MSE를 비교해 볼 때 Schumacher 다형 방정식(식 5)이 다른 다형 방정식들보다 적합성이 우수한 것으로 나타났다.

$$Y_2 = \exp(\ln(Y_1)(T_1/T_2)^\beta + \alpha(1 - (T_1/T_2)^\beta)) \quad (5)$$

식 (5)에 의한 잔차와 예상치에 대한 그래프를 확인해본 결과 균일한 분포를 나타내었다(그림 5-1).



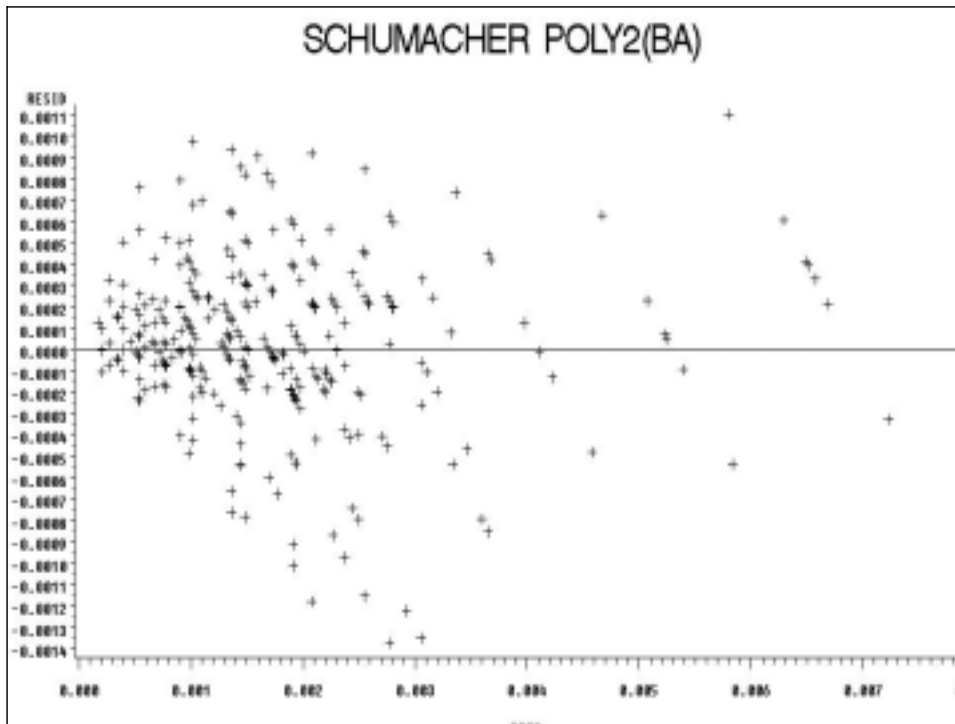


그림 5-1. overlapping 흉고단면적 Schumacher 다형 방정식에 대한 잔차와 추정치 그래프

PROC NLIN 프로시저를 이용하여 데이터에 적합한 각각의 다형 방정식의 추정된 계수와 MSE는 표 5-2와 같으며, PROC UNIVARIATE를 이용한 정규성 검정 결과(그림 5-2) 정규확률분포선(+표시)과 실제확률분포선(\*)의 괴리가 크지 않은 정규분포를 나타내었다.

표 5-2. overlapping 흉고단면적 데이터를 다형 방정식에 적합한 결과에 대한 계수

Equation name	Coefficient			MSE
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	
Schumacher	11.3793	0.1235	-	0.000000135
Hossfeld	0.0377	-	2.3526	0.000000140

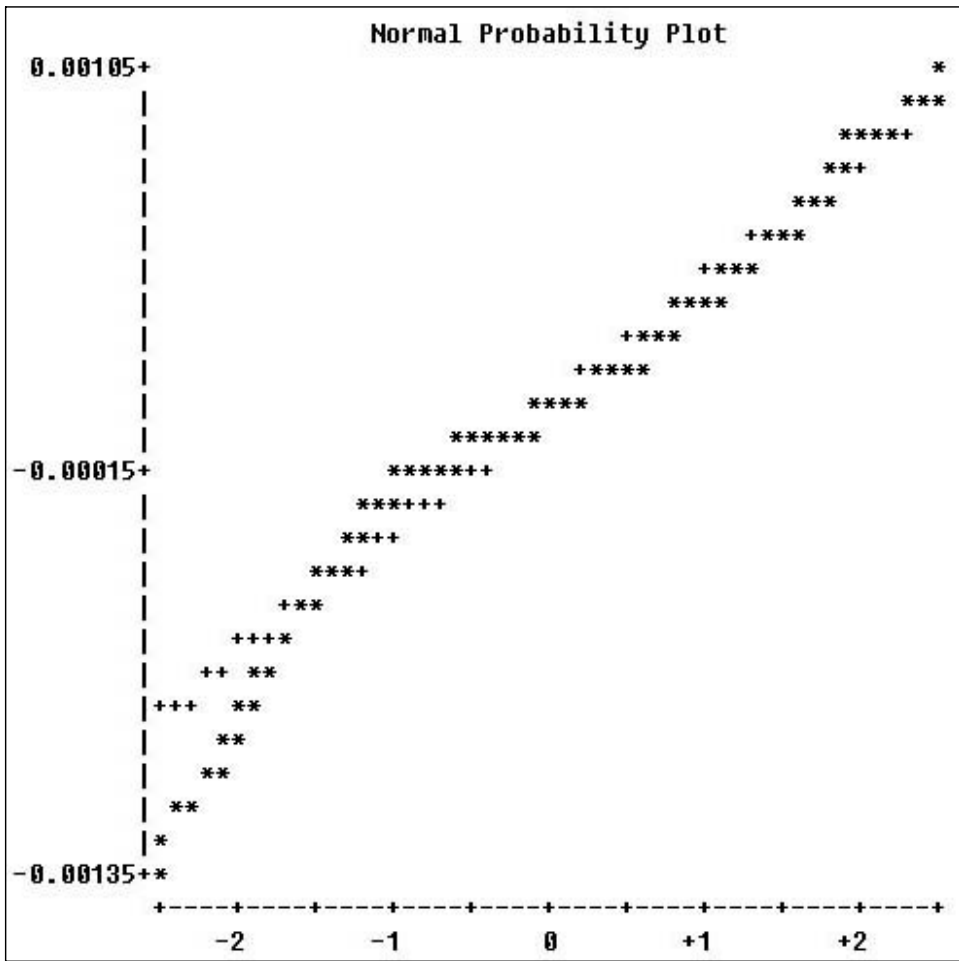


그림 5-2. overlapping 흉고단면적 Schumacher 다형 방정식에 대한 정규 분포 그림

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 제 1 절 연구 개발 목표 달성도

#### 1. 성장관련 자료 데이터 구축 기반 마련

연구표본점이 부족한 우리나라의 산림조사 현황에서 성장관계를 규명하기 위한 데이터 수득 방법에서 수간석해를 통하여 기본 데이터를 획득 한 후 성장 관계를 규명뿐만 아니라 성장 모형을 합리적으로 전개 할 수 있는 데이터 베이스 구축방법인 overlapping data를 형성하여 측백의 흉고직경 및 단면적 성장 모형 추정에 이용하였다. 이는 편백 및 측백나무뿐만 아니라 다른 수종의 성장관계를 위한 합리적인 데이터 형성에 이용 될 수 있을 것으로 판단된다.

#### 2. 편백나무의 성장 특성조사

지역별로 환경적 변이로 인한 성장특성이 상이 할 것으로 판단하여 지역별로 생육하고 있는 편백나무의 직경, 수고 및 재적의 각종 성장량 및 성장률을 파악하였고 또한 pressler식을 이용하여 임분 전체의 성장관계를 파악 하였다.

#### 3. 간벌 강도에 따른 편백림의 성장 및 하층식생 변화

간벌 강도별 성장 변화 및 하층식생에 관한 연구는 성장변화를 추정하는데 유익한 정보를 제공할 수 있다. 간벌 강도에 따른 임분의 재적 성장을 비교 및 하층식생의 구조를 분석하여 편백림의 합리적 경영을 위한 자료를 제공 하였다.

#### 4. 측백나무의 성장 모형 전개

측백나무의 생육 조건상 측백의 성장 모형에 대한 연구가 미비한 현실에서 본 연구는 기본데이터를 획득 한 후 데이터 변형(modification)을 통하여 직경 및 흉고단면적의 성장 모형을 전개 하였다. 성장모형의 전개 방법 중 다형(polymorphic) 함수식이 동형(anamorphic) 방정식 보다 효과적이고 정도가 높은 모형을 전개 할 수 있음을 파악 하였다.

따라서 본 연구는 편백 및 측백림의 산림성장 정보를 제공하여 이를 이용한 생물산업의 부가가치 제고에 기여 할 수 있는 것으로 판단된다.

## 제 2 절 대외기여도

### 1. 학술분야

#### 가. 논문 발표

- 1) 이상현 외 6명. 2004. Growth and Ground Vegetation Changes of *Chamaecyparis obtusa* Stand by Thinning Intensity. Korean Journal of Forest Measurements. 7(1) 1-9.
- 2) 이상현 외 3명. 2005. Estimation of Diameter Growth Pattern for *Thuja orientalis*. Korean Journal of Forest Measurements. (Processing)

#### 나. 포스터 발표

- 1) 이상현, 김현, 김동혁. 2005. 측백림의 흉고직경 성장추정. 한국임학회 하계 총회 및 학술연구발표회 pp. 370-371

## 제 5 장 연구개발 결과의 기대효과 및 활용방안

### 제 1절 기대효과

#### 1. 기술적 측면

- 가. 편백 및 측백나무과의 주요 자원수종에 대한 생장 및 수확론적 정보 인프라를 구축 할 수 있는 기초 형성 및 합리적인 경영을 위한 생장정보를 제공 할 수 있을 것으로 판단된다.
- 나. 생장모형을 위한 다량의 데이터는 필수적이거나 데이터의 양이 충분하지 않을 때 최소의 데이터를 이용한 생장 모형을 전개 할 수 있는 방법론을 이용 할 수 있을 것으로 판단된다.

#### 2. 경제 · 산업적 측면

- 가. 합리적인 산림생장을 파악할 수 있어 측백 및 편백을 이용한 생물산업에 필요한 자원의 효율적 경영의 극대화를 가능하게 할 수 있다.
- 나. 편백 및 측백나무의 산림생장 정보를 제공하여 이를 이용한 생물산업의 부가가치 제고 할 수 있을 것으로 기대된다.

## 제 2절 활용방안

1. 편백 및 측백에 대한 성장정보 제공을 위한 기초를 구축함으로써 임업 소득자원 식물의 증식 및 산림자원의 관리 방향에 대한 참고 자료로 활용이 가능 할 것이다.
2. 다양한 형태의 산림성장 예측 모형의 실용화 방안에 이용 할 수 있고 합리적인 산림관리를 위한 의사결정 도구로서 활용이 가능 할 것이다.

## 제 6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

해당사항 없음.



## 제 7장 참고문헌

1. 김갑덕, 1998, 삼림측정학, 향문사, pp. 282.
2. Border, B.E., R.L. Bailey and K.D. Ware. 1984. Slash pine index from a polymorphic model joining(splining) non-polynomial segments with an algebraic difference method. Forest Science 30(2): 411-423pp.
3. Braun-Blanquet, J. 1964. Pflanzensoziologie, Grundzüge einer Vegetationskunde. Springer, Auflage, Wien, 865pp.
4. Clutter, J.L., and Jones, E.P., 1980. Prediction of growth after thinning in old-field slash pine plantations. USDP, For. Serv. Res. Pap. SE-217pp.
5. Curtis, J.T. and R.P. McIntosh, 1951. An upland forest continuum in the prairie-forest border region of Wisconsin. Ecology 32: 476-496.
6. Dierschke, H. 1994. Pflanzensoziologie -Grundlagen und Methoden-. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart. 683pp.
7. Gadow, K.V. and HUI, G. 1999. Modelling Forest Development. Kluwer Academic Publishers. 9-53pp.
8. Lee, S.H. 2000. Prediction of height growth and derivation site index equation. Korean Journal of Forest Measurements 3(1): 29-34pp.
9. Lee, S.H. 2001. Estimation diameter and height growth for *Pinus densiflora* S. et Z. using non-linear algebraic difference equation. Journal of Korean Forestry Society 90(2): 210-216pp.
10. Pfadenhauer, J. 1993. Vegetations kologie -Ein Skriptum-. IHW-Verlag. 301pp.

11. Pienaar, L.V., and Turnbull, K.J., 1973. The Chapman-richards generalization of von Bertalanffy's model for basal area growth and yield in even-aged stands. *For. Sci.* 19:2-22.
12. Schumacher, F.X., 1939. A new growth curve and its application to timber-yield studies. *J. For.* 37: 819-820pp.
13. Whyte, A.G.D., and Woollons, R.C., 1990. Modelling stand growth of radiata pine thinned to varying densities. *Can. J. For. Res.* 20: 1069-1076pp.
14. Woollons, R.C., Whyte, A.G.D., and Liu Xu., 1990. The Hossfeld function: and alternative model for depiction stand growth. *Japanese Journal of Forestry* 15: 25-35pp.
15. Woollons, R.C., 1988. Analysis and interpretation of forest fertilizer experiments. Ph.D. Thesis. School of Forestry, University of Canterbury, New Zealand. 256pp.

편백 및 측백나무를 이용한 신기능성  
집먼지진드기 살비제 개발

연구 기관: 전북대학교

연구책임자: 이 회 선

연구 원: 지 경 진

정 은 영

김 영 상

전 주 현

조 장 희

성 보 경

이 치 훈

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성

과학이 급속도로 발전해 가고 있는 현대에 들어와서도 후진국은 물론 미국과 같은 선진국에서도 위생해충에 대한 피해가 남아 있을 뿐만 아니라, 극심한 환경 변화와 지구 온난화 현상으로 심각하게 발생되고 있는 위생해충의 피해는 인류의 활동과 보건위생에 큰 위해 요인으로 작용하고 있다. 특히, 20세기의 생명공학의 눈부신 발전 속에서 모든 생명현상과 인류의 질병을 분자나 유전공학적 연구를 통해서 해결하려는 움직임이 유행처럼 번져왔으나 일부는 환경의 혼란을 예상하면서도 괄목할 만한 성과를 이루지 못한 상황이다.

집먼지진드기(House dust mite)는 인간의 거주지에 함께 서식하면서 인간에게 알레르기를 유발시키는 위험한 위생해충 중의 하나로서 집먼지 내에서 검출되는 진드기를 총칭하여 집먼지 진드기라 한다. 이러한 집먼지진드기는 집먼지진드기과(Pyroglyphidae)에 속하는 진드기 수종이 주로 알레르기를 일으키지만 지역에 따라서는 다른 과(科)에 속하는 진드기도 질병의 원인이 될 뿐만 아니라, 과(科)가 서로 다른 진드기간에도 강한 교차 반응을 일으키기 때문에 최근 사회적 문제로 대두가 되고 있는 상황이다. 이러한 집먼지진드기는 실내 먼지에 서식하고 있을 뿐만 아니라 종류도 다양하여 우리나라의 경우 15속 34여종이 기록되고 있고, 그 중에 큰다리 집먼지진드기(*Dermatophagoides farinae*)와 세로무늬 집먼지진드기(*Dermatophagoides pteronyssinus*)의 2종이 전 세계 뿐만 아니라 우리나라 역시 절대 다수를 차지하고 있다. 또한 식품 저장소나 헛간, 곡물 저장소나 이동소, 건조 및 곡물 가루 내에 다량 분포하고 있는 것으로 알려진 저장진드기는 농촌 지역이나 곡물 취급자에 있어 기관지 천식의 중요한 알레르겐으로 알려졌고, 가옥 내 집먼지 내에서 긴털가루 진드기(*Tyrophagus putrescentiae*)가 9.6%나 발견되었다는 보고가 있어 쌀통이 어느 집이나 있는 우리나라 환경상 저장 진드기의 알

레르겐으로의 중요성을 시사한다. 최근에는 중앙난방의 증가, 2층창의 구조, 침대, 카펫의 사용 등으로 주거 환경이 많이 바뀌고 있어, 이들 환경변화로 인하여 진드기가 서식하기에 적당한 환경으로 바뀐으로서 그 수가 급격히 증가하고 있어서, 최근에는 일반가정에서 먼지 1 g당 1,000개체 이상의 집먼지진드기가 발견되고 있으며, 같은 양의 먼지에서 250,000개의 진드기 배설물이 발견되는데, 집먼지진드기의 수는 일본 1,100개체, 영국 2,568개체, 인도 107개체, 영국 2,568개체, 덴마크 1,530개체이고 국내에서는 최근에 급격히 개체수가 증가되어 1,500개체 이상이 조사되고 있다. 본 연구의 집먼지진드기에 대한 연구핵심은 집먼지진드기의 배설물이 알레르기를 유발시킨다는 점, 소아천식 환자의 80%이상이 집먼지진드기 배설물이 주요인자라는 점, 비염 알레르기의 91.3%가 집먼지진드기가 항원이라는 점등의 문제에 근거를 두고, 호흡기 알레르기 질환에 대한 발생 및 질병치료에만 초점이 맞춰지고 있는 선진국 및 국내연구의 미흡한 연구를 보완하기 위하여 직접적인 원인이 되는 집먼지진드기의 살비제 개발에 관한 것이다.

본 연구는 연구팀에서 실시한 예비실험을 근거로 종래의 국내기업에서 생산하는 유일의 합성살비제 (상품명: 진드기킬러)의 단점인 약한 살비성, 합성살비제 및 국내 유일의 진드기 살비제라는 점을 극복할 수 있는 새로운 타입의 친환경적, 강한 살비성, 독성을 갖지 않는 방향성 식물체를 이용한 살비제 개발을 위한 활성물질의 정제 및 동정을 수행할 예정이다. 이를 근간으로 식물체에서 유래된 살비화합물의 화학적 구조분석을 통하여 우수한 활성이 예측되는 알려진 기존의 단일물질을 Sigma, Fluka 및 Merck 등의 회사에서 구입하여 활성탐색, 앞선 연구결과를 근간으로 집먼지진드기에 대한 살비활성물질의 화학적 구조분석, 살비화합물의 진드기에 대한 변화탐색, 돌연변이성 검증, 독성자료 수집 및 제형화를 통한 산업화연구에 관한 것이다. 본 연구는 선진국 및 국내연구에서 미흡한 천연물 유래 집먼지진드기 살비제에 대한 기초 및 응용연구의 수준을 끌어올림과 동시에 타 살비제 개발에 귀중한 자료를 제공함으로써 학술적 차원의 폭을 넓일 수 있는 계기가 될 것이며, 집먼지진드기에 기인하는 각종 알레르기성 질환의 연구에도 크게 공헌할 수 있을 것

으로 기대된다. 또한 우리농업이 21세기 생물산업의 발전에 선도적 역할을 할 수 있는 계기를 만들 수 있게 될 것이다.

## 제 2 절 연구개발의 내용 및 범위

### 1. 편백 및 측백나무 부산물(줄기, 잎, 열매)의 추출

편백 및 측백나무 부산물(줄기, 잎, 열매)을 수집하고, 다양한 용매를 이용하여 물질을 추출하여 우수 추출용매로서 메탄올을 선정하였으며, 편백 및 측백나무 부산물 중에 본 연구실에서 예비실험에 사용한 8종의 시료와 다른 종류 12종 이상의 시료를 통합하여 20종의 시료를 채집하고, 이를 음지에서 건조시켜 세절하여 메탄올로 추출한 추출액을 40℃에서 감압 농축한 추출물을 밀봉하여 냉동 보관하였다.

### 2. 집먼지진드기에 대한 시료의 활성 검정

집먼지진드기의 두 종, 큰다리먼지진드기와 세로무늬먼지진드기에 대하여 편백 및 측백나무의 부산물(잎, 줄기, 열매, 씨앗)의 추출물들의 활성을 검정하였다. 편백나무는 4가지 부산물들 중 잎의 경우에 큰다리먼지진드기와 세로무늬먼지진드기에 대하여 강한 활성을 보였으며, 그 다음으로 줄기와 열매 추출물은 두 집먼지진드기에 대하여 비슷하게 약한 정도의 활성을 보였으며, 씨앗에서는 활성이 전혀 없었다. 측백나무도 4가지 부산물들 중 잎 추출물이 큰다리먼지진드기와 세로무늬먼지진드기에 강한 활성을 보였고, 줄기 추출물은 약한 활성을 보였지만 열매와 씨앗 추출물에서는 거의 살비활성이 없었다. 전체적으로 편백나무에서 측백나무보다 더욱 강한 활성을 보였다.

### 3. I 영급(1-10년), II 영급 (11-20년), III 영급 (21-30년) 우수 생리활성 부산물 수집

집먼지진드기에 우수한 생리활성을 보인 편백나무 잎과 측백나무 잎을 I 영급(0-10년), II 영급(11-20년), III 영급(21-30년) 으로 분류, 수집하여 메탄올을 이용하여 추출하였으며, 추출물을 두 종의 집먼지진드기에 대하여 활성 검정 실험을 수행하였다. 편백나무 잎 추출물의 경우 두 종의 집먼지진드기에 대해 II 영급의 시료가 우수한 생리활성을 보였으며 I 영급과 III 영급은 그보다 약한 활성을 보였음. 측백나무 잎 추출물에서도 마찬가지로 두 종의 집먼지진드기에 대하여 II 영급의 시료가 우수한 활성을 보였으나, 편백나무 잎과 비교하여 약한 활성을 보였고, 측백나무 잎의 III 영급 시료는 매우 약한 활성을 보였으며, I 영급 시료는 활성을 보이지 않아 실험을 완료.

### 4. 크로마토그래피에 의한 물질 분리정제

두종의 집먼지진드기, 큰다리먼지진드기와 세로무늬먼지진드기에 대한 강한 활성을 가지는 것은 편백 및 측백나무의 부산물들(잎, 줄기, 열매)중 편백나무 잎의 메탄올 추출물이었으며, 편백나무 II 영급의 잎 메탄올 추출물을 hexane, chloroform, 물 순으로 분획하여 각 획분의 농축한 시료를 집먼지진드기에 대하여 활성 검정 실험을 수행한 결과, hexane 획분이 강한 활성을 보였고 chloroform과 물의 획분은 활성이 없어 hexane 획분을 두 번의 silicagel 크로마토그래피를 거쳐 H<sub>222</sub>를 얻었으며, 이를 HPLC를 이용해 분리한 물질들 중 가장 활성이 뛰어난 H<sub>222</sub>를 얻어 크로마토그래피에 의한 분리를 완료하였다.

### 5. 기기분석에 의한 살비활성물질 구조 동정

H<sub>222</sub>를 UV, Mass spectrum, <sup>1</sup>H- 및 <sup>13</sup>C-NMR spectrum 및 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY

spectrum 등을 이용하여 살비활성 물질의 구조를 동정한 결과, 분리한 물질이 hinokitiol 이었다.

## 6. 집먼지진드기에 우수 생리활성을 갖는 부산물의 영급별 GC-Mass에 의한 성분 비교분석

집먼지진드기에 우수한 살비활성을 갖는 II 영급 편백나무의 잎, 줄기 및 열매를 수집하여 수증기증류추출법을 이용하여 부산물별 정유성분을 준비하였다. 이들을 GC-Mass를 통해 분석하였으며, 이들 3개의 편백나무 부산물에서 추출한 정유성분의 구성 성분을 분석하여, 본 실험에서 분리·동정한 편백나무 잎에서 유래한 hinokitiol, 국내의 집먼지진드기 살비제인 진드기킬러(회사: 애경)를 활용하여 집먼지진드기에 대하여 생물검정을 실시하고 이들의 결과를 비교 분석하였다.

## 7. 분리·동정한 물질의 공시약제와 비교 실험

집먼지진드기에 대해 분리 동정한 물질의 살비활성 검정 실험을 수행한 결과, 큰다리먼지진드기의 LD<sub>50</sub> 값이 7.25 µg/cm<sup>2</sup>이었으며 세로무늬먼지진드기의 LD<sub>50</sub> 값은 6.22 µg/cm<sup>2</sup>이었다. 그리고 국내의 집먼지진드기 살비제인 진드기킬러(회사: 애경)의 LD<sub>50</sub> 값이 900 µg/cm<sup>2</sup>을 나타내어 본 연구팀의 활성물질과 비교해 볼 때 강력한 활성을 보여 실험을 완료하였다.



## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 1. 국내외 관련분야의 환경변화

- 최근 선진국들은 지구온난화현상 및 환경오염으로 평균기온 2℃ 상승시에 전세계 거주 지역의 약 46%인 말라리아 유행지역이 60%로 증가함으로서 야기되는 위생해충 및 관련 질환의 증가에 대처하여 오래전부터 천연 생리활성물질 개발에 많은 투자를 하고 있으며, 미국 등의 선진국(미국의 National Institute of Health과 National Cancer Institute, 일본의 후생성 등)은 국가차원의 사업으로 추진하고 있다. 더구나 선진국들은 모기성충보다는 유충방제 시스템으로 전환하면서 천연 모기유충 살충제 및 집먼지진드기 방제에 관련된 바이오 생리활성물질을 개발, 산업화하고 있을 뿐만 아니라, 인축 및 환경에 부작용이 적은 식물기원의 천연활성성분의 탐색과 개발에 박차를 가하여 이들을 토대로 하여 실용화에 이르고 있다. 예를 들면, 실용화된 식물의 생리활성물질로서는 피레스린과  $\beta$ -thujaplicine 등이 개발되었으며, 이들 천연물 유래의 활성성분을 모핵화합물로 하여 위생해충 살충제가 개발하였음.
- 국내의 집먼지진드기 방제제는 국내기업(애경)에서 생산하는 합성 살비제 이외는 전무한 상태임.
- 의약 및 약학 분야에서는 집먼지진드기가 알레르기의 유발인자라는 점에 집중하여 호흡기 알레르기 질환에 대한 발생 및 질병치료에만 초점이 맞춰지고 있을 뿐 직접적 원인이 되는 집먼지진드기의 천연 살비제 개발은 미비한 실정임.
- 집먼지진드기 살비제는 의약품 및 농약으로 분류되지 않아 위생해충의 사각지대로 남아 있는 실정이어서 아직 기초단계에 있음.
- 편백 및 측백나무 부산물의 우수한 약리활성을 제시한 연구결과는 많으

나, 위생해충의 방제제로서의 결과는 없음.

- 집먼지진드기에서 유발되는 관련 질환은 인간의 건강에 직·간접적으로 관여하고 있어 선진국에서는 이들 관련 질환의 직접적인 유발인자인 집먼지진드기의 천연 방제제 개발에 진력하고 있으나 국내의 경우 위생해충 생물검정법의 미비로 기초 수준에 머물러서 서울대학교 안용준교수 연구팀 이외에는 전무한 상태임.
- 우리나라에서 편백·측백나무 수종에 대한 인식은 지금까지 편백 및 측백나무에 대한 목재 생산적 가치나 조경용 가치에 국한된 연구들과 일부 약리활성에 대한 연구결과가 대부분이고 그들 수종의 생장에 관한 연구는 미미한 상태임.

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 제 1 절 편백 및 측백나무 부산물의 수집 및 추출

편백 및 측백나무 부산물을 잎, 줄기, 열매, 씨앗으로 분류하여 수집하고, 다양한 용매를 이용하여 물질을 추출하여 우수 추출용매로 메탄올을 선정하였다. 편백 및 측백나무 부산물 중에 본 연구실에서 예비실험에 사용한 8종의 시료와 다른 종류 12종 이상의 시료를 통합하여 20종의 시료를 채집하고, 이를 음지에서 건조시켜 세절하여 선정된 우수 추출용매인 메탄올을 이용하여 실온에서 추출하고 나서 여지로 여과한 후 여과액을 40℃에서 감압 농축하여 얻은 추출물은 밀봉하여 집먼지진드기의 살비활성 실험을 위하여 냉동 보관하였다.

## 제 2 절 편백 및 측백나무 부산물의 추출물의 집먼지진드기에 대한 생리활성검정 실험

### 1. 집먼지진드기 2종, 큰다리먼지진드기와 세로무늬먼지진드기의 살비활성을 비교 분석

표1. 집먼지진드기에 대한 편백 및 측백나무 부산물의 메탄올 추출물 살비효과

Sample		Mortality (mean $\pm$ SE, %) <sup>a</sup>			
		큰다리먼지진드기 ( <i>Dermatophagoides farinae</i> )		세로무늬먼지진드기 ( <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> )	
		2 mg/cm <sup>2</sup>	1 mg/cm <sup>2</sup>	2 mg/cm <sup>2</sup>	1 mg/cm <sup>2</sup>
잎		100	100	100	100
편백 나무	줄기	69.5 $\pm$ 1.8	22.3 $\pm$ 3.2	72.3 $\pm$ 2.2	30.7 $\pm$ 2.4
	열매	73.2 $\pm$ 3.4	40.2 $\pm$ 1.0	70.9 $\pm$ 9.2	47.5 $\pm$ 3.4
	씨앗	0	0	0	0
측백 나무	잎	100	37.7 $\pm$ 3.2	100	42.6 $\pm$ 1.9
	줄기	54.3 $\pm$ 1.8	13.8 $\pm$ 2.4	62.3 $\pm$ 2.2	22.9 $\pm$ 1.8
	열매	18.5 $\pm$ 3.4	0	23.1 $\pm$ 9.2	0
	씨앗	0	0	0	0

<sup>a</sup>Means within a column followed by the same letter are not significantly different ( $P = 0.05$ , Scheffe's test) (20 adults per replicate; 3 replicates per treatment;  $n = 60$ .) Mortalities were transformed to arcsine square-root before ANOVA. Means ( $\pm$  SE) of untransformed data are reported.

비교 시험에서는 본 연구실이 소유한 특수한 집먼지진드기 생리활성 검정법을 이용하여 편백 및 측백나무 부산물의 추출물에 존재하는 활성인자 탐지를 위한 농도 2 mg/cm<sup>2</sup> 및 1 mg/cm<sup>2</sup>를 사용하였다. 비교분석한 시험결과는 표 1에 나타내었다. 표 1에서는 집먼지진드기는 미국과 유럽에서 우점종을 차지하는 큰다리먼지진드기와 세로무늬먼지진드기가 최근에 우리나라의 환경변화에 따라 우점종을 차지하고 있어서 본 연구에 사용되었다. 사용된 시료 중에 편백나무와 측백나무 씨앗의 추출물 시료가 활성을 나타내지 않은 것 이외에 6가지의 편백 및 측백나무의 부산물의 추출물 시료가 크고 작은 살비활성을 나타내었다. 시료의 2 mg/cm<sup>2</sup>농도의 경우, 큰다리먼지진드기에 편백 및 측백나무의 잎 추출물이 우수한 살비활성(100%)을 나타내었으며, 그 다음으로 편백나무의 열매 및 줄기 추출물과 측백나무의 줄기 및 열매 순으로 활성을 보였다. 세로무늬먼지진드기에 대해서도 편백 및 측백나무 잎 추출물이 뛰어난 살비활성(100%)을 보였으며, 편백나무의 줄기, 열매, 측백나무의 줄기, 열매 순으로 활성을 나타내었다. 시료 1 mg/cm<sup>2</sup> 농도 실험의 경우, 큰다리먼지진드기에 대해서 편백나무의 잎 추출물만이 100%의 살비활성을 보였으며, 측백나무의 잎(37.7%) 추출물은 그 농도가 줄어들어 활성이 많이 감소하였다. 세로무늬먼지진드기에 대해서도 큰다리먼지진드기와 비슷하게 편백나무의 잎 추출물만이 100%의 살비활성을 보였으며, 편백나무 줄기(22.8%)와 측백나무 잎(42.6%) 추출물은 농도가 줄어들어 활성이 많이 감소하였다. 본 연구에서는 편백 및 측백나무 부산물 중에 집먼지진드기에 대한 살비활성에 대한 예비적인 살충활성을 분석을 통하여 사용된 모든 부산물 중에 잎, 줄기, 열매, 씨앗의 4가지 부산물 추출물 중에 잎 추출물이 가장 우수한 활성을 나타내었다.

### 제 3 절 집먼지진드기에 대한 우수시료의 선정 및 영급별 수집, 추출 및 살비활성 검정

우수활성시료로 선정된 편백 및 측백나무의 잎을 영급별로, I 영급(0-10년), II 영급(11-20년), III 영급(21-30년)의 편백 및 측백나무의 잎으로 분류하여 수집하였다. 영급별 실험에서는 처음 실험에서와 마찬가지로 메탄올로 추출하고 추출액을 감압 농축하여 6개의 시료를 준비하고 집먼지진드기 살비활성 검정을 2 mg/cm<sup>2</sup>과 1 mg/cm<sup>2</sup>의 농도로 실시하였다.

표2. 편백 및 측백나무 잎의 영급별 추출물의 집먼지진드기 살비활성검정

Sample	Mortality (mean ± SE, %) <sup>a</sup>				
	큰다리먼지진드기 ( <i>Dermatophagoides farinae</i> )		세로무늬먼지진드기 ( <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> )		
	2 mg/cm <sup>2</sup>	1 mg/cm <sup>2</sup>	2 mg/cm <sup>2</sup>	1 mg/cm <sup>2</sup>	
편백 나무	I 영급	100	89.1 ± 4.8	100	84.3 ± 1.9
	II 영급	100	100	100	100
	III 영급	100	85.2 ± 3.2	100	79.5 ± 6.3
측백 나무	I 영급	39.8 ± 3.2	0	28.5 ± 2.5	0
	II 영급	100	30.7 ± 3.2	100	38.6 ± 1.9
	III 영급	74.3 ± 2.4	25.2 ± 1.0	61.3 ± 1.3	21.5 ± 3.2

<sup>a</sup>Means within a column followed by the same letter are not significantly different ( $P = 0.05$ , Scheffe's test) (20 adults per replicate; 3 replicates per treatment;  $n = 60$ .) Mortalities were transformed to arcsine square-root before ANOVA. Means ( $\pm$  SE) of untransformed data are reported.

위의 표에서 편백 및 측백나무 잎의 영급별 추출물의 집먼지진드기 살비활성은 편백 및 측백나무의 II 영급 잎 추출물에서 그 활성이 우수하였다. 시료 2 mg/cm<sup>2</sup>의 농도에서, 큰다리먼지진드기와 세로무늬먼지진드기에 편백나무 잎 추출물은 모든 영급에서, 측백나무 잎 추출물은 II 영급에서 100%의 살비활성을 나타내었으며, 1 mg/cm<sup>2</sup>의 농도에서는 큰다리먼지진드기와 세로무늬먼지진드기에 편백나무 II 영급의 잎 추출물이 100%의 활성을 보였다. 또한 편백나무 잎 추출물은 I 영급과 III 영급의 경우, 큰다리먼지진드기에 89.1%와 85.2%, 세로무늬먼지진드기에 84.3%와 79.5%의 활성을 나타냈다. 이에 반해 측백나무 잎 추출물은 II 영급의 경우, 큰다리먼지진드기에 30.7%, 세로무늬먼지진드기에 38.6%의 살비활성을 나타내어 2 mg/cm<sup>2</sup>의 농도에 비해 1 mg/cm<sup>2</sup>의 농도에서 급격한 살비활성 감소를 나타냈다. 본 연구결과를 근거로 생리활성 분리정제를 위한 실험에서 최종적으로 편백나무 II 영급 잎 추출물을 우수 시료로 선정하였다.

## 제 4 절 우수한 집먼지진드기 살비활성 물질의 분리 · 동정

집먼지진드기에 가장 우수한 살비활성을 나타낸 편백나무의 II 영급 잎 추출물을 분리 · 동정하기 위해, 메탄올 추출물을 hexane, chloroform 및 물을 순차로 분획하여 각 획분을 생물검정을 행하였다 (그림 1).

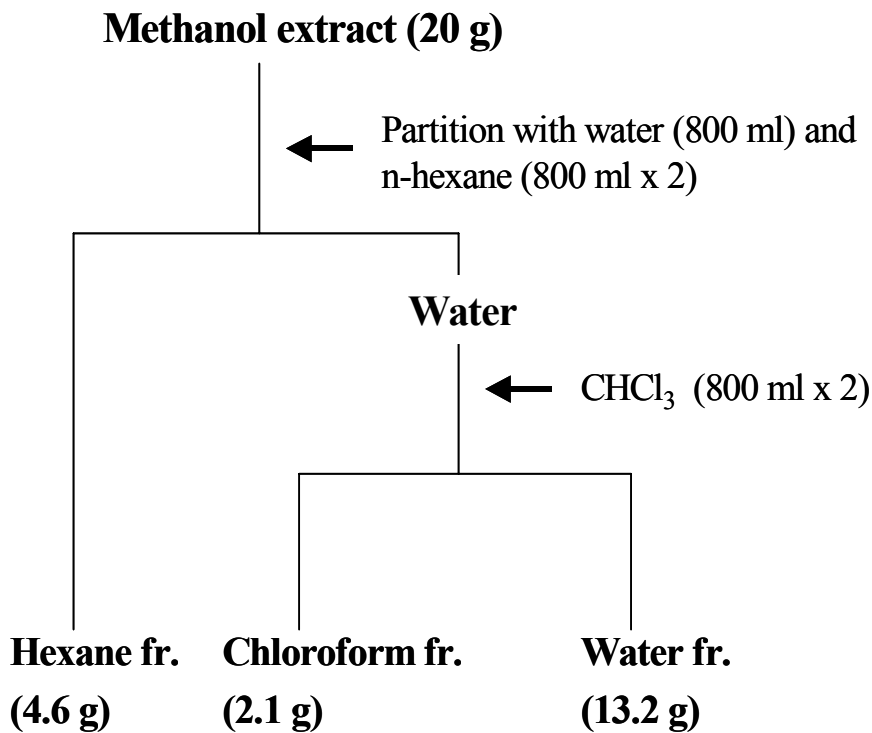


그림 1. 편백나무 잎 추출물의 분획과정

각 획분의 생물검정 결과 3가지 획분 중 hexane 획분이 가장 우수한 활성을 보였다 (표 3).



표 3. 편백나무 II 영급 잎 추출물의 획분에 따른 생물검정

Fraction	농도, mg/cm <sup>2</sup>	Mortality (mean $\pm$ SE, %)	
		<i>D. farinae</i>	<i>D. pteronyssinus</i>
Hexane	1	100a	100a
Chloroform	1	5 $\pm$ 1.2b	3 $\pm$ 2.2b
Water	1	0b	0b

<sup>a</sup>Means within a column followed by the same letter are not significantly different ( $P = 0.05$ , Scheffe's test) (20 adults per replicate; 3 replicates per treatment;  $n=60$ ). Mortalities were transformed to arcsine square-root before ANOVA.

이 hexane 획분을 2번의 silicagel column을 수행하였는데, 먼저 hexane:ethyl acetate를 5:1과 100%의 메탄올을 조건으로 하여 받은 획분들 중 생물검정을 통해 가장 뛰어난 생리활성을 나타낸 H<sub>2</sub> 획분을 얻어냈으며, 이를 다시 hexane:ethyl acetate를 5:1, 3:1, 2:1, 100% ethyl acetate, 100% methanol을 순차적으로 넣어서 받은 4개의 획분으로 나누어 받은 것을 생물검정을 통해 가장 활성이 뛰어난 H<sub>22</sub> 획분을 얻었다. 이 H<sub>22</sub> 획분을 HPLC를 이용하여 최종으로 H<sub>222</sub>(1.93 g)를 분리하였다 (그림 2, 표 4).

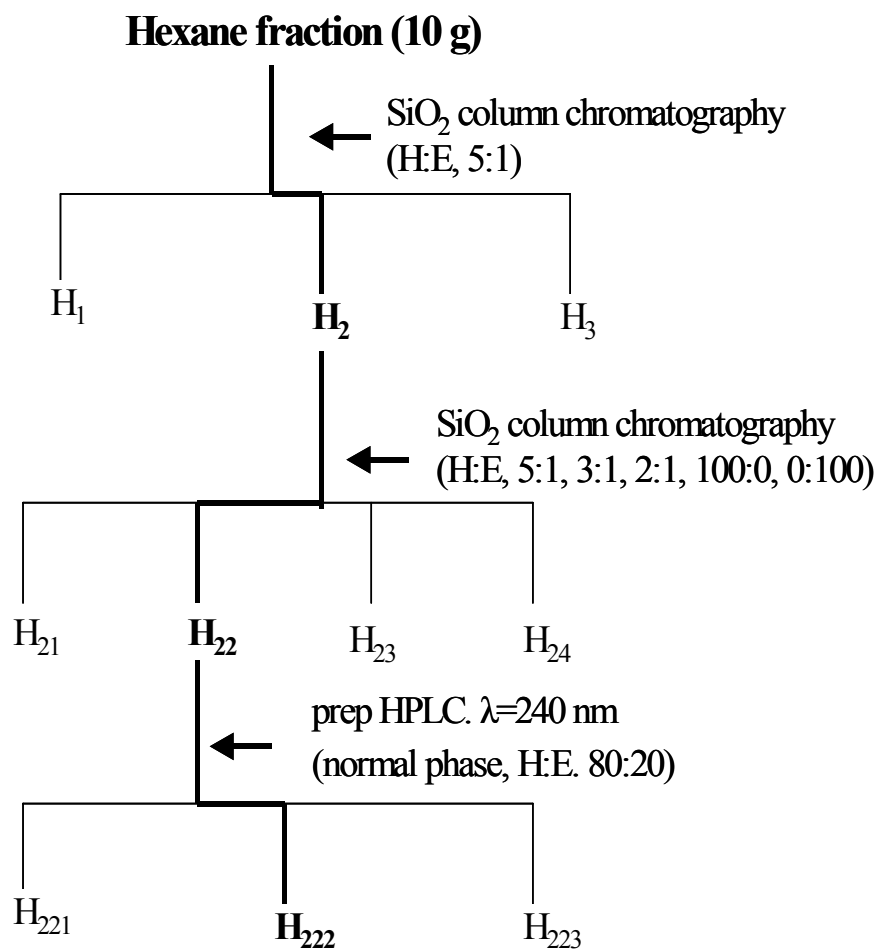


그림 2. 편백나무 잎 추출물 hexane 분획물의 살비활성물질의 분리과정

표 4. 편백나무 II 영급 잎 추출물의 크로마토그래피에서 얻은 물질들의 생물검정

Fraction	농도, mg/cm <sup>2</sup>	Mortality (mean $\pm$ SE, %)	
		<i>D. farinae</i>	<i>D. pteronyssinus</i>
H1	1	0 $\pm$ 0.0	0 $\pm$ 0.0
<b>H2</b>	<b>1</b>	<b>100a</b>	<b>100a</b>
H3	1	2.2 $\pm$ 1.0	7.3 $\pm$ 0.8
H21	1	0 $\pm$ 0.0	0 $\pm$ 0.0
<b>H22</b>	<b>1</b>	<b>100a</b>	<b>100a</b>
H23	1	21.1 $\pm$ 1.1	25.3 $\pm$ 3.2
H24	1	0 $\pm$ 0.0	0 $\pm$ 0.0
H221	1	0 $\pm$ 0.0	0 $\pm$ 0.0
<b>H222</b>	<b>1</b>	<b>100a</b>	<b>100a</b>
H223	1	0 $\pm$ 0.0	0 $\pm$ 0.0

<sup>a</sup>Means within a column followed by the same letter are not significantly different ( $P = 0.05$ , Scheffe's test) (20 adults per replicate; 3 replicates per treatment;  $n=60$ .) Mortalities were transformed to arcsine square-root before ANOVA. Means ( $\pm$  SE) of untransformed data are reported.

분리한 H<sub>222</sub>를 UV, Mass spectrum, <sup>1</sup>H-NMR spectrum, <sup>13</sup>C-NMR spectrum 및 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY spectrum 등을 이용하여 살비활성 물질의 구조를 동정, hinokitiol (C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>, M.W. 164.20,  $\beta$ -thujaplicin)을 분리하였다(그림 3, 그림 4, 그림 5, 그림 6).



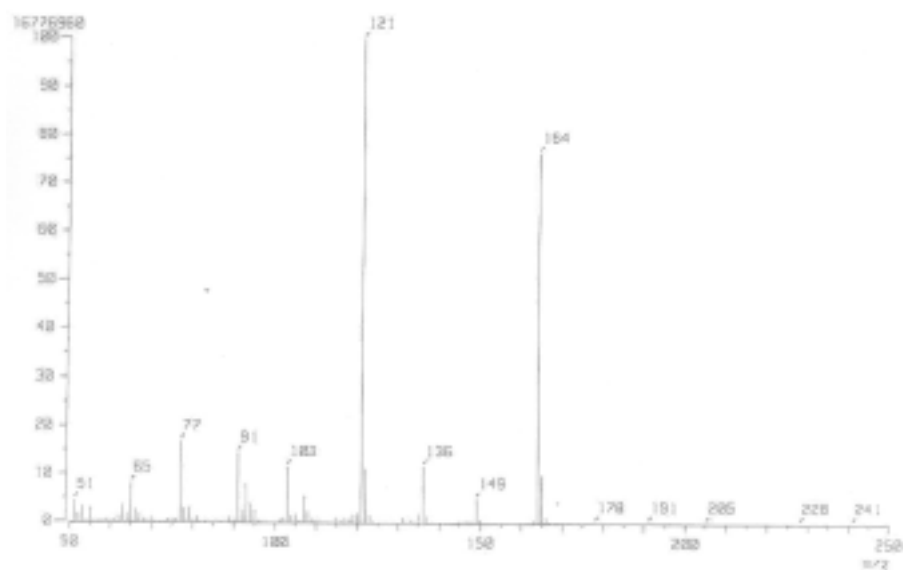


그림 5. 분리·동정한 물질의 Mass spectrum

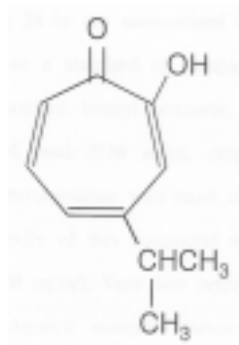


그림 6. 편백나무 잎에서 분리·정제한 집먼지진드기 살비활성을 갖는 hinokitiol의 구조

## 제 5 절 분리 · 정제한 hinokitiol의 살비활성을 공시약제와 비교 · 분석

여러 가지 분리방법과 각종 기기분석에 의해 동정된 hinokitiol을 공시약제, 국외의 살비제 대조구인 benzyl benzoate와 dibutyl phthalate은 구입 중에 있으며, 국내의 살비제인 진드기킬러(상품명, 애경)와 비교 실험하였다. Hinokitiol은 큰다리먼지진드기에 대해 LD<sub>50</sub> 값이 7.25 µg/cm<sup>2</sup> 이었으며, 세로무늬먼지진드기의 LD<sub>50</sub> 값은 6.22 µg/cm<sup>2</sup>로 국내의 집먼지진드기 합성살비제인 진드기킬러 LD<sub>50</sub> 값 900 µg/cm<sup>2</sup>로 100배 이상의 효과를 나타냈다. 또한 국외합성 살비제로 사용되고 있는 benzyl benzoate 및 dibutyl phthalate를 대조구의 공시약제로서 비교실험을 마무리 하였다. 여태까지 대조구와 비교분석을 통하여 편백나무의 잎으로부터 분리 · 동정한 hinokitiol의 살비활성은 집먼지진드기 방제제 개발에 신기능성 바이오 소재로서 충분한 가치가 있을 것으로 사료된다.

## 제 6 절 편백나무 부산물의 정유성분 추출, GC-Mass 분석에 의한 구성성분 분석과 생물검정 비교분석

집먼지진드기에 대해 가장 우수한 활성을 나타낸 편백나무 II 영급 잎, 줄기, 열매를 수집하여, 수증기증류추출법을 이용한 정유성분 추출과, 정유성분의 GC-Mass를 통한 구성 성분을 분석하였다. 또한 GC-Mass에서 분석된 구성 성분과 본 실험에서 분리·동정한 hinokitiol의 집먼지진드기에 대한 살비활성 검정 실험을 수행하였다.

편백나무 II 영급의 줄기에서 추출한 정유성분을 GC-Mass를 통하여 분석한 결과, 주요성분으로 sabinene(9.1%), myrcene(5.9%), limonene(4.6%),  $\alpha$ -terpinene(4.9%), 3-cyclohexen-1-ol(8.0%), (-)-bornyl acetate(8.1%), camphene(13.3%), (-)-thujopsene(3.3%),  $\beta$ -cadinene(1.2%), elemol(5.3%) 등이 분석되었으며, 그림 7에 편백나무 II 영급 줄기에서 추출한 정유 성분의 GC-Mass 분석결과 및 표 5에 그 주요성분들의 retention time 및 mass spectral data를 나타냈다.

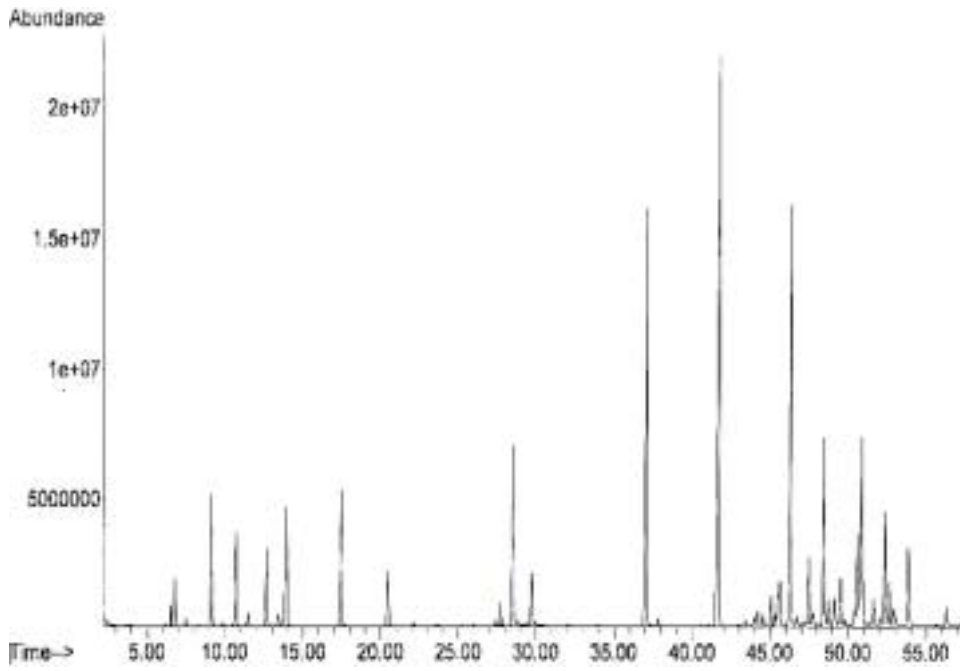


그림 7. 편백나무 II 영급의 줄기에서 추출한 정유성분의 GC-Mass 분석

표 5. 편백나무 II 영급 줄기의 정유성분에 대한 GC-Mass spectrometry

peak number	compound	mass spectral data <sup>a</sup>	retention time(min)	relative (%)
1	sabinene	53, 65, 77, 93, 121, 136	9.18	9.1
2	myrcene	53, 69, 81, 93, 107, 136	10.78	5.9
3	limonene	68, 80, 93, 107, 136	13.98	4.6
4	$\Psi$ -terpinene	43, 65, 77, 93, 105, 121, 136	17.51	4.9
5	3-cyclohexen-1-ol	28, 43, 55, 71, 93, 111, 136	28.55	8.0



6	(-)-bornyl acetate	55, 67, 80, 95, 108, 121, 136	37.02	8.1
7	camphene	41, 67, 79, 93, 107, 121, 136	41.65	13.3
8	(-)-thujopsene	41, 69, 93, 105, 119, 133, 204	46.27	3.3
9	♣-cadinene	41, 91, 105, 119, 134, 161, 204	52.32	1.2
10	elemol	59, 79, 93, 107, 161, 189	53.85	5.3

<sup>a</sup>Major fragmentation ions, base peak (listed first) and other ions in decreasing order of relative abundance.

편백나무 II 영급 열매에서 추출한 정유성분을 GC-Mass를 통하여 분석한 결과, 주요성분으로 sabinene (7.2%), ♣-myrcene (6.6%), (+)-2-carene (3.8%), limonene (6.4%), ♣-terpinene (9.7%), ♣-terpinolene (6.0%), terpinen-4-ol (30.1%), (-)-bornyl acetate (4.5%), 16,17-secodammara (3.4%), dihydrazide (5.9%) 등이 분석되었으며, 그림 8에 편백나무 II 영급 열매에서 추출한 정유성분의 GC-Mass 분석결과 및 표 6에 그 주요성분들의 retention time 및 mass spectral data를 나타냈다.

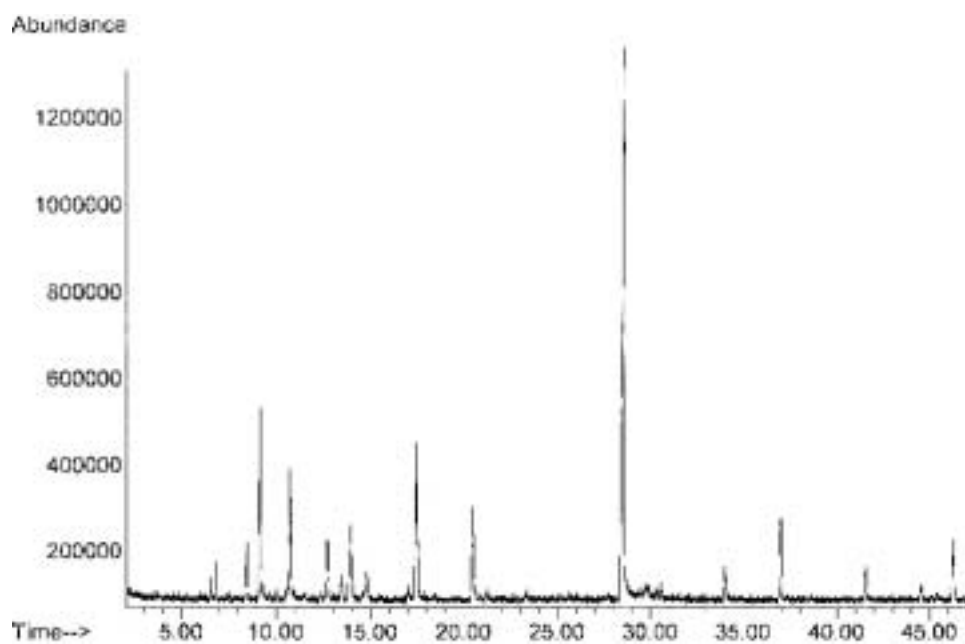


그림 8. 편백나무 II 영급의 열매에서 추출한 정유성분의 GC-Mass 분석

표 6. 편백나무 II 영급 열매의 정유성분에 대한 GC-Mass spectrometry

peak number	compound	mass spectral data <sup>a</sup>	retention time (min)	relative (%)
1	sabinene	53, 65, 77, 93, 121, 136	9.12	7.2
2	β-myrcene	41, 53, 69, 81, 93, 136	10.72	6.6
3	(+)-2-carene	41, 79, 93, 105, 121, 136	12.69	3.8
4	limonene	39, 53, 68, 80, 93, 107, 136	13.94	6.4
5	ψ-terpinene	51, 65, 77, 93, 105, 121, 136	17.46	9.7

6	$\alpha$ -terpinolene	27, 41, 53, 79, 93, 121, 136	20.47	6.0
7	terpinen-4-ol	55, 71, 93, 111, 136, 154	28.44	30.1
8	(-)-bornyl acetate	55, 67, 80, 95, 108, 121, 136	36.96	4.5
9	16,17-secodammara	81, 93, 107, 121, 136, 163, 189	46.23	3.4
10	dihydrazide	18, 31, 44, 63, 79, 96, 116	98.69	5.9

<sup>a</sup>Major fragmentation ions, base peak (listed first) and other ions in decreasing order of relative abundance.

편백나무 II 영급 앞에서 추출한 정유성분을 GC-Mass를 통하여 분석한 결과, 주요성분으로 sabinene (2.5%), myrcene (2.1%), limonene (3.8%),  $\psi$ -terpinene (3.9%), terpinen-4-ol (5.2%), (-)-bornyl acetate (11.2%), 2,4,6-octatriene (17.9%),  $\beta$ -caryophyllene (11.7%), hinokitiol (1.8%),  $\beta$ -himachalene (2.5%), (-)-isolede (5.8%),  $\beta$ -cadinene (2.8%) 등이 분석되었으며, 그림 9에 편백나무 II 영급 앞에서 추출한 정유 성분의 GC-Mass 분석 결과 및 표 7에 주요성분들의 retention time 및 mass spectral data를 나타냈다.

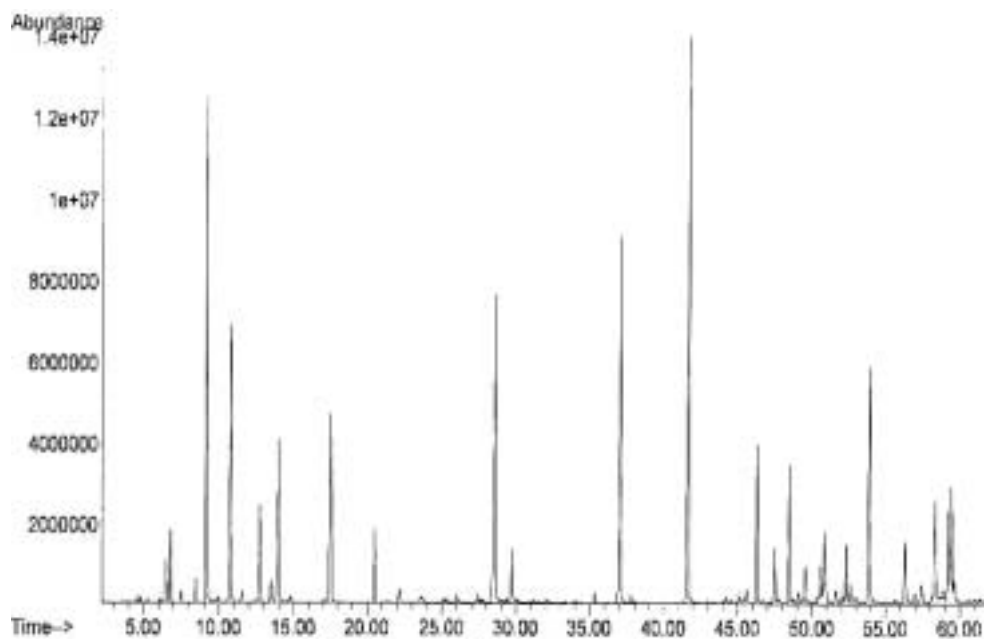


그림 9. 편백나무 II 영급의 잎에서 추출한 정유성분의 GC-Mass 분석

표 7. 편백나무 II 영급 잎의 정유성분에 대한 GC-Mass spectrometry

peak number	compound	mass spectral data <sup>a</sup>	retention time(min)	relative (%)
1	sabinene	53, 65, 77, 93, 121, 136	9.11	2.5
2	myrcene	53, 69, 81, 93, 107, 136	10.71	2.1
3	limonene	39, 53, 68, 93, 107, 121, 136	13.93	3.8
4	ψ-terpinene	65, 77, 93, 105, 121, 136	17.45	3.9
5	terpinen-4-ol	43, 55, 71, 93, 111, 136, 154	28.49	5.2

6	(-)-bornyl acetate	55, 95, 108, 121, 136	37.04	11.2
7	2,4,6-octatriene	27, 41, 79, 93, 121, 136	41.68	17.9
8	β-caryophyllene	204, 176, 148, 133, 107	46.32	11.7
9	hinokitiol	65, 77, 91, 103, 121, 136, 164	47.47	1.8
10	β-himachalene	41, 93, 105, 119, 134, 204	50.59	2.5
11	(-)-isolekene	41, 91, 105, 119, 133, 161, 204	50.85	5.8
12	α-cadinene	119, 134, 161, 204	52.33	2.8

<sup>a</sup>Major fragmentation ions, base peak (listed first) and other ions in decreasing order of relative abundance.

집먼지진드기 두 종, 큰다리먼지진드기와 세로무늬먼지진드기에 대하여 영급 별 편백 및 측백나무 부산물 중 가장 우수한 활성을 보인 편백나무 II 영급 잎의 정유성분의 GC-Mass 분석은 그 활성의 근원을 추측할 수 있는 여지를 제공할 수 있다. 이러한 관점에서 위에서 제시한 것처럼 편백나무 II 영급 잎, 줄기, 열매의 GC-Mass를 통해 분석한 정유성분의 각 구성 성분들을 비교해 본 결과는 서로 많은 차이가 있다는 것을 알 수 있었다. 편백나무 II 영급 줄기 정유성분에서는 camphene 13.3%, sabinene 9.1%, (-)-bornyl acetate 8.1%, 3-cyclohexen-1-ol 8.0% 순으로 정유의 주요 구성성분을 이루고 있지만, 편백나무 II 영급 열매 정유성분에서는 terpinen-4-ol 30.1%, γ-terpinene 9.7%, sabinene 7.2%, β-myrcene 6.6%, limonene 6.4% 순으로 주요 구성성분을 이루고 있어서 2가지 편백나무 부산물들의 정유 간에 주요 구성성분에 많은 차이가 있음을 알 수 있었다. 또한 편백나무 II 영급 잎 정유성분에서는 2,4,6-octatriene 17.9%, β-caryophyllene 11.7%, (-)-bornyl acetate 11.2%,

(-)-isolekene 5.8%, terpinen-4-ol 5.2% 순으로 주요 구성성분을 이루고 있어서 앞에서 살펴본 편백나무 II 영급의 줄기 및 열매 정유성분의 구성성분들과 많은 차이가 있다는 것을 볼 수 있다. 각 부산물 정유간의 GC-Mass에 의한 구성 성분들이 각 부산물 정유성분에서 다르게 나타나고, 같은 성분이 나타난다 할지라도 이들이 정유성분 내에서 차지하는 함량도 다르다. 특히 눈에 띄게 다른 점은 편백나무 부산물간에 집먼지진드기에 살비활성이 가장 뛰어난 편백나무 II 영급 잎 추출물로부터 분리·동정된 물질인 hinokitiol이 편백나무 II 영급의 잎 정유성분의 구성 성분에만 있다는 점이다. 편백나무 잎이 큰다리먼지진드기와 세로무늬먼지진드기에 대하여 갖는 뛰어난 살비활성의 근원을 찾는 관점에서 편백나무 II 영급의 잎 정유성분의 GC-Mass에 의한 구성 성분들을 국내 살비제로서 공시약제인 진드기킬러(회사: 애경)와 생물검정을 통해 비교하였다.

표 8에서는 편백나무 II 영급 잎 정유의 GC-Mass에 의한 구성성분들과 국내 살비제로서 공시약제인 진드기킬러(회사: 애경)의 집먼지진드기에 대한 생물검정결과를 보여준다. 국내 살비제인 진드기킬러는 큰다리먼지진드기와 세로무늬먼지진드기에 대하여 그 LD<sub>50</sub>값이 각각 900 µg/cm<sup>2</sup>으로 나타났으며, 편백나무 II 영급 잎 추출물로부터 분리·동정한 hinokitiol은 각각 7.3 µg/cm<sup>2</sup>, 6.2 µg/cm<sup>2</sup>의 LD<sub>50</sub>값을 나타내었다. 편백나무 II 영급 잎 정유성분의 GC-Mass에 의한 구성 성분들인 myrcene은 두 집먼지진드기에 대하여 각각 LD<sub>50</sub>값이 25.9 µg/cm<sup>2</sup>, 28.4 µg/cm<sup>2</sup>로 나타났다. Limonene은 큰다리집먼지진드기에 대하여 36.2 µg/cm<sup>2</sup>, 세로무늬먼지진드기에 대하여 30.5 µg/cm<sup>2</sup>의 활성을 나타내고, (-)-isolekene은 각각 38.4 µg/cm<sup>2</sup>, 33.7 µg/cm<sup>2</sup>의 LD<sub>50</sub>값을 나타내었다. 편백나무 II 영급 잎 정유성분의 GC-Mass에 의한 구성 성분들과 국내 살비제로서 공시약제인 진드기킬러의 집먼지진드기에 대한 생물검정 결과 국내 살비제의 살비활성이 편백나무 II 영급 잎 정유의 구성성분들에 대하여 매우 미미했다. 본 실험을 통해 편백나무 II 영급 잎 추출물에서도 분리·동정되었지만, 잎에서 추출한 정유의 GC-Mass 분석에 의해 구성성분으로 밝혀진 hinokitiol은 잎 정

유의 구성성분 중에서도 집먼지진드기에 대한 살비활성이 큰다리먼지진드기에 대해 LD<sub>50</sub>값이 7.3 µg/cm<sup>2</sup>으로 다른 구성성분보다 매우 높다는 것을 알 수 있으며, 국내 살비제 진드기 킬러와 비교하여 볼 때 그 활성이 월등하였다. Hinokitiol의 세로무늬먼지진드기에 대한 LD<sub>50</sub>값이 6.2 µg/cm<sup>2</sup>으로, 잎 정유의 구성성분들뿐만 아니라 국내 살비제 진드기킬러와 비교하여 볼 때 매우 강한 활성을 보였다. 또한 편백나무 II 영급의 줄기, 열매, 잎 정유성분의 GC-Mass에 의한 구성성분의 비교를 통해 편백나무 II 영급의 잎 정유에만 hinokitiol이 있다는 사실을 감안하면 편백나무 II 영급의 잎이 집먼지진드기에 가장 뛰어난 살비활성을 가지고 있는 것을 알 수 있다.

표 8. 국내 살비제인 진드기킬러와 구입 가능한 편백나무 II 영급 잎 정유성분의 GC-Mass에 의한 구성 성분들의 집먼지진드기에 대한 살비활성 비교 실험

sample	Mite species	LD <sub>50</sub> µg/cm <sup>2</sup>
진드기킬러(애경)	<i>D. farinae</i>	900
	<i>D. pteronyssinus</i>	900
hinokitiol	<i>D. farinae</i>	7.3
	<i>D. pteronyssinus</i>	6.2
myrcene	<i>D. farinae</i>	25.9
	<i>D. pteronyssinus</i>	28.4
limonene	<i>D. farinae</i>	36.2
	<i>D. pteronyssinus</i>	30.5
ψ-terpinene	<i>D. farinae</i>	NT
	<i>D. pteronyssinus</i>	NT

terpinen-4-ol	<i>D. farinae</i>	NT
	<i>D. pteronyssinus</i>	NT
β-caryophyllene	<i>D. farinae</i>	NT
	<i>D. pteronyssinus</i>	NT
(-)-isolekene	<i>D. farinae</i>	38.4
	<i>D. pteronyssinus</i>	33.7

<sup>a</sup>Exposed for 24 h. <sup>b</sup>NT: Not tested.



## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 제 1 절 연구개발 목표 달성도

#### 1. 집먼지진드기 검색법 정립에 대한 분석

집먼지진드기는 과(科)가 서로 다른 진드기간에도 강한 교차 반응을 일으키기 때문에 사육이 어려운데, 본 연구실이 소유한 진드기 사육법을 통하여 진드기기간의 교차 반응을 최대한 통제된 상황에서 사육하였으며, 이를 본 연구실이 소유한 특수 bioassay 기법을 사용하여 편백 및 측백나무의 부산물로부터 추출된 시료의 살비활성을 검정할 수 있었다.

#### 2. 편백 및 측백나무의 부산물의 집먼지진드기에 대한 살비효과에 대한 살비효과 분석

편백 및 측백나무 부산물의 집먼지진드기의 2 종, 큰다리 먼지진드기와 세로무늬먼지진드기에 대한 살비활성 검정을 행한 결과, 수종뿐만 아니라 각각의 부산물에 따라서도 다양한 활성을 보였다. 편백나무의 부산물은 집먼지진드기에 대해서 잎이 초기 검정실험 농도에서 100% 살비활성을 나타내 가장 강력한 살비활성을 보였으며, 줄기, 열매, 씨앗은 약한 살비활성을 보였고, 큰다리 먼지진드기보다 세로무늬먼지진드기에 대해서 더욱 활성을 보였다. 또한 집먼지진드기에 대해서 측백나무의 부산물의 살비활성은 잎이 가장 활성이 뛰어났으며, 줄기, 열매가 약한 살비활성을 보였으나 씨앗은 전혀 활성을 나타내지 않았다. 편백나무 부산물의 검정실험에서와 마찬가지로 큰다리 먼지진드기보다 세로무늬먼지진드기에 대해서 더욱 활성을 보였다. 이로서 인간에게 알레르기를 유발하는 집먼지진드기의 우점종을 차지하는 큰다리 먼지진드기와 세로무늬먼지진드기의 천연 살비제로서의 가능성을 부여하여 화학합성 살비제가 갖

는 부작용 및 독작용에 대한 우려로부터 비교적 부작용이 적고 안전한 천연물 유래의 살비제 개발의 가능성을 부여할 것이다. 이로써 환경오염 및 지구 온난화 현상 등의 영향으로 전 세계에 심각하게 발생되고 있는 위생해충인 집먼지진드기에 대한 편백 및 측백나무 부산물을 이용한 우수 신기능성 바이오 소재 개발의 대상 소재로서, 편백 및 측백나무의 부산물(잎, 줄기, 열매, 씨앗)중에서 잎 부산물이 가장 적격이라고 판단된다.

### 3. 선택된 편백 및 측백나무의 잎의 수종의 영급별 집먼지진드기에 대한 살비효과 분석

편백 및 측백나무의 부산물들의 집먼지진드기에 대한 생물검정을 한 결과 가장 뛰어난 살비활성을 보이는 편백나무의 잎에 대해서 수종의 영급별 살비활성 검정 실험을 행하였다. 편백나무를 I 영급 (1-10년), II 영급 (11-20년), III 영급 (21-30년)으로 분류, 각 영급별로 편백나무 잎을 수집하여 methanol로 추출하고 생물검정을 행하였다. 집먼지진드기에 대해서는 큰다리먼지진드기와 세로무늬먼지진드기의 활성이 비슷하게 나타나 II 영급 편백나무의 잎 추출물이 가장 뛰어난 활성을 보였고 I 영급과 III 영급 편백나무의 잎 추출물은 그 보다는 약한 활성을 보였으며 그 다음으로 II 영급 측백나무의 잎 추출물, III 영급 측백나무의 잎 추출물이 활성을 보였고 I 영급 측백나무 잎 추출물은 전혀 활성을 보이지 않았다. 이로서 편백 및 측백나무 잎 부산물 중에서도 II 영급 편백나무의 잎 추출물이 가장 뛰어난 활성을 가진 것으로 밝혀져 집먼지진드기 살비활성을 갖는 신기능성 바이오 소재 개발의 대상으로 선정하였다.

### 4. 편백나무 부산물로부터 활성 바이오소재의 분리·정제 및 동정 분석

편백나무의 II 영급 잎 추출물로부터 활성 바이오소재의 분리·정제 및 동정을 위해 II 영급 편백나무 잎의 추출물을 hexane, chloroform, 물 순으로 분

획하여 각 획분에 대하여 집먼지진드기 생물검정 실험을 수행한 결과 hexane 획분이 강한 활성을 보여 hexane 획분을 두 번의 silicagel 크로마토그래피를 통해 얻은 획분들에 대한 생물검정을 거쳐 가장 우수한 활성을 보인 H<sub>22</sub>를 얻었으며 이를 HPLC를 이용해 분리한 물질들 중 가장 활성이 뛰어난 H<sub>222</sub>를 얻어 이것을 UV, Mass spectrum, <sup>1</sup>H-NMR spectrum, <sup>13</sup>C-NMR spectrum 및 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY spectrum 등을 이용하여 살비활성 물질의 구조를 동정한 결과, hinokitiol을 분리하였다.

##### 5. 편백나무 부산물로부터 분리 정제된 활성 바이오 소재와 상업적 살비제와의 비교 분석 및 GC-Mass에 의한 각 성분들과의 비교 실험

집먼지진드기에 대해 살비활성을 나타낸 물질을 분리동정하여 얻은 hinokitiol의 생물검정실험을 수행한 결과, 큰다리먼지진드기의 LD<sub>50</sub> 값이 7.25 µg/cm<sup>2</sup>이었으며, 세로무늬먼지진드기의 LD<sub>50</sub> 값은 6.22 µg/cm<sup>2</sup>로 강력한 살비활성을 나타냄. 또한 국내의 집먼지진드기 살비제인 집먼지진드기 살비제인 진드기킬러(회사: 애경)의 LD<sub>50</sub> 값이 900 µg/cm<sup>2</sup>을 나타내어 본 연구팀의 활성물질과 비교해 볼 때 강력한 활성을 보여 실험을 완료하였으며, 현재 본 연구팀은 국외 집먼지진드기 살비제를 구입 하며 대조구인 국외 공시약제와 LD<sub>50</sub> 값을 이용하여 실제 면적(µg/cm<sup>2</sup>)에서 비교 분석을 실시하였다. 또한 집먼지진드기에 우수한 살비활성을 갖는 II 영급 편백나무의 잎, 줄기 및 열매를 수집하여 수증기증류추출법을 이용하여 부산물별 정유성분을 준비하였으며, 이들을 GC-Mass를 통해 구성 성분을 분석하였다. 각 부산물로부터 추출된 정유성분들과, 본 실험에서 분리·동정한 물질인 hinokitiol, 그리고 국내 살비제인 진드기킬러(회사: 애경)를 대상으로 하여 집먼지진드기에 대한 살비활성 검정 실험을 수행하여 비교, 분석함으로써 집먼지진드기에 대한 편백나무 부산물 중 있으므로부터 분리된 물질과 편백나무 잎의 정유성분의 GC-Mass에 의한 구성성분들의 살비활성을 측정하였다.

## 6. 편백나무 부산물로부터 분리 정제된 활성 바이오소재와 상업적 살비제와의 비교 분석

집먼지진드기에 대해 살비활성을 나타낸 물질을 분리 동정하여 얻은 hinokitiol의 생물검정실험을 수행한 결과, 큰다리먼지진드기의 LD<sub>50</sub> 값이 7.25 µg/cm<sup>2</sup>이었으며, 세로무늬먼지진드기의 LD<sub>50</sub> 값은 6.22 µg/cm<sup>2</sup>로 강력한 살비활성을 나타내었다. 또한 국내의 집먼지진드기 살비제인 집먼지진드기 살비제인 진드기킬러(회사: 애경)의 LD<sub>50</sub> 값이 900 µg/cm<sup>2</sup>을 나타내어 본 연구팀의 활성 물질과 비교해 볼 때 강력한 활성을 보여 실험을 완료하였다.

## 제 2 절 대외기여도

### 1. 학술분야

#### 가. 논문 발표

- 1) 이치훈, 김영상, 이희선. 2003. 천연성분의 집먼지진드기에 대한 살비활성 물질 개발.


교육인적자원부 28회 전국대학생 논문경진 대회, 농수산해양부분 최우수 논문상.



교육인적자원부 대학생 논문경진대회 최우수논문상

■ 농업생명대 응용생물공학부 이치훈, 김영상 군

— 제28회 전국대학생학술연구발표대회 1위, 교육과학기술부 장관상 수상 —



우리 대학 농업생명과학대학 응용생물공학부 이치훈(학번), 김영상(학번)군이 지난 11월 8일(토) 교육과학기술부가 주최하고 서울대학교에서 열린 제28회 학생연구발표대회에서 농·수·해양학 분야 최우수 논문으로 선정되어 교육과학기술부장관상과 장학금 150만원을 수상하였다.

이치훈 군과 김영상 군은 농업생명대 학부생으로 이희선 교수(응용생물공학부) 연구팀에 속하여 농림기술센터 연구과제를 수행하다 편백에서 알러지를 일으키는 집먼지진드기를 죽이는 SN-135라는 새로운 물질용 연구개발한 공로를 인정받아 전국대학생학술연구발표대회에서 최우수논문상을 수상하게 되었다.

이밖에 발견한 천연물질 SN-135는 아무리 과다한 양을 뿌려도 인간에게 독성을 전혀 미치지 않고 집먼지진드기만을 죽여 새로운 형태의 미해 약으로 주목받고 있다.

이치훈 군은 이에 우리 대학 농업생명대 대학원에 합격한 상태이고 김영상 군도 대학원 진학을 목표로 학업에 열중하고 있다.

- 2) Bo-Kyung Sung, Moo-Key Kim, Sang-Hyun Lee, Jae-Gwon Son, and Hoi-Seon Lee. 2004. Acaricidal Activity of Essential Oils Derived from 10 Cupressaceae Species against Stored Food and House Dust Mites. *Food Science and Technology*. 13(3): 376-380
- 3) Young-Su Jang, Chi-Hoon Lee, Moo-Key Kim, Jeong-Hak Kim, Sang-Hyun Lee, and Hoi-Seon Lee. 2005. Acaricidal Activity of Active Constituent Isolated in *Chamaecyparis obtusa* Leaves against *Dermatophagoides* spp. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(6): 1934-1937
- 4) 이희선. 2004. 편백 및 측백나무를 이용한 신기능성 바이오 소재 개발. 2004 자원식물개발 우수과학기술발표회 및 전시회. 주최: 농림기술관리센터 및 국립산림과학원. 32-38

#### 나. 특허출원

- 1) 국내특허 출원번호: 제 2004-0087878호  
명칭: 차메시파리스 옅투사로부터 분리된 살비활성의 정유화합물

#### 다. 포스터발표

- 1) Chi-Hoon Lee, and Hoi-Seon Lee. 2004. Antimite Effect of Active Constituent Isolated from *Chamaecyparis obtusa* Leaves against *Dermatophagoides* spp. 한국응용생명화학회 추계학술대회, pp 191, NC-13
- 2) Bo-Kyung Sung, and Hoi-Seon Lee. 2004. Mite-Control Activities of Essential Oils Derived from Plants against Stored Food Mite. 한국응용생명화학회 추계학술대회, pp 193, NC-18
- 3) Bo-Kyung Sung, Hoi-Seon Lee. 2004. Mite-Control Activity of Essential Oils of Various Plant Species. 한국식품과학회 71차 학술대회, pp. 263 P7-006.
- 4) Bo-Kyung Sung, Hoi-Seon Lee. 2005. Mite-control of Active Constituent Isolated in *Chamaecyparis obtusa* against *Dermatophagoides farinae* and *D. pteronyssinus*. 한국생물공학회, pp 450-451, P813
- 5) Ju-Hyun Jeon, Hoi-Seon Lee. 2005 Potential House Dust Mite Control Agent Isolated from *Chamaecyparis obtusa*. 한국응용생명화학회 춘계학술대회, pp 176, NF-35

## 제 5 장 연구개발 결과의 기대효과 및 활용방안

### 제 1 절 기대효과

#### 1. 해당분야 학문 발전적 측면

- 집먼지진드기의 천연살비제 개발을 통하여 선진국 및 국내연구에 전무한 천연살비제의 연구수준을 향상시킴과 동시에 타 살비제 개발에 귀중한 기술적 자료를 제공 및 상업적 이용 가능성 제공
- 생리활성물질 탐색에 관한 국내연구는 의약학 및 농약분야에서 이루어지고 있으나 집먼지진드기의 살비제에 대해서는 세계적으로 아직 체계적인 연구가 거의 이루어지지 않고 있는 상태에서 본 연구는 간편하면서도 신속 정확한 생물검정법을 확립
- 편백 및 측백나무의 바이오성분 함량분석과 생리활성 상관관계도 작성을 통하여 현지 임가에 대한 과학적이고 체계적인 영농지도가 가능해질 것임
- 편백 및 측백나무 유효성분의 검색 및 생산·이용기술 개발을 통하여 임가의 고부가가치화를 위한 가공기술의 개선, 임업산업에서의 기술향상 및 관련 기술의 상업적 이용 가능성 제공
- 편백 및 측백나무 유효성분에 대한 효율적 정제기술 개발로 고순도 바이오소재 제조가 가능해지면 이는 다른 임업작물의 유사구조물질에 대한 정제기술 개발에도 활용
- 본 연구개발(천연살충제 및 살비제)을 통하여 그 중요성이 점차 강조되고 있는 위생해충의 생리활성물질 탐색 및 이용 분야의 전문가를 양성할 수 있음
- 편백 및 측백나무의 생장정보를 제공



## 2. 경제 · 산업적 측면

- 국내 산림자원 업계의 국내외 시장경쟁력을 부여함으로써 고부가가치성 산림자원을 집단 재배하여 임가소득 증대를 도모하는데 기여할 수 있음
- 본 연구개발로 편백 및 측백나무의 성장특성, 위생해충 방제성분에 대한 체계적인 검색 및 생산기술, 제제화 응용기술이 확립되면 이로 인한 원료의 부가가치 증대는 20%만 가정하여도 연간 약 400~500억원 규모로 예상됨
- 집먼지진드기로 인하여 해마다 급증한 호흡기 알레르기 발생과 유발을 예방함으로써 새로운 형태의 위생해충 방제제를 활용한 막대한 경제적 이익 예상
- 고순도의 바이오소재 정제기술이 확립되면 위생해충 방제를 위한 고순도 정제품의 가격을 고려해볼 때 높은 부가가치 증대를 기대할 수 있음
- 천연살비제의 특허출원 및 제형화를 통한 개발기술의 산업화를 통해 시장 전망이 밝은 국내 및 세계 위생해충 시장으로의 진출 기대
- 기능성음료 보급으로 증가하고 있는 암 등 성인병 예방 및 노인성 질환 발생억제로 의료비 절감 가능
- UR에 대비한 임목재배농가의 부가가치 증대에 기여함으로써 임목농가에 항구적 원료 공급원 제공으로 임목 재배농가의 소득 향상 가능
- 위생해충 방제 및 관련 질환은 최근 국내외의 중요질환 중의 하나이므로 편백 및 측백나무에서 유효성분을 생산하고 그 이용방안을 확립하면 지구 온난화 및 환경오염으로 유발된 위생해충 관련 질환의 예방과 치료에 크게 기여할 것으로 기대되고 새로운 산업으로 육성 가능
- 합리적인 산림생장을 파악할 수 있어 측백 및 편백을 이용한 생물산업에 필요한 자원의 효율적 경영의 극대화 가능
- 편백 및 측백나무의 산림생장 정보를 제공하여 이를 이용한 생물산업의 부가가치 제고

## 제 2 절 활용방안

- 개발된 위생해충 방제제의 대량생산 및 판매가 가능한 기업(애경, 내츄로바 이오텍, 선경, LG, 한올제약)에 기술을 전수하여 기업화 유도
- 편백 및 측백나무 유효성분의 생산·이용에 관한 주요기술은 특허화하여 국내 위생해충 방제산업의 국제경쟁력 제고에 활용함
- 연구결과의 학회발표 등을 통하여 일반에 널리 홍보하여 관련연구 촉진에 의한 임목재배 농가의 부가가치 증대에 기여 및 개발기술은 특허 출원
- 필요시 연구종료 후에 임업인 단체 혹은 위생해충 방제관련 산업계와 산업화를 위한 제품다양화 및 추가적인 공동연구를 모색
- 편백 및 측백나무의 유효성분 함량분석 및 생리활성 평가결과는 주산지 소재의 농촌지도소에 보급하여 영농지도시의 자료로 활용
- 편백 및 측백나무 수종에 대한 생장정보를 구축함으로써 임업소득자원 식물의 증식 및 산림자원의 관리 방향에 대한 지침서로 활용

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

해당사항 없음

## 제 7 장 참고문헌

1. Clutter, J. L., and Jones, E. P. 1980. Prediction of growth after thinning in old field slash pine plantations. USDA, For. Serv. Res. Pap. SE-217.
2. Goulding, C. J. 1979. Validation of growth models for *pinus radiata* in New Zealand. New Zealand Journal of Forestry. 24(1): 108-124.
3. Lee, S. H. 2001. Estimating diameter and height growth for *Pinus densiflora* S. et Z. using non-linear algebraic difference equations. Journal of Korean Forestry Society. 90(2): 210-216.
4. Newberry, J. D. and Stage, A. R. 1987. Validating forest growth models. Procedures defined by resources decisions. In: Ek, A.R., Shifey, S.R. and Burk, T.E. (Eds.), Proceeding of the IUFRO symposium on forest growth modeling and prediction, Minneapolis, Minnesota, USDA, For. Serv. Gen. Tech. Rep. Nc-120: 786-793
5. Pienaar, L. V. and Turnbull, K. J. 1973. The Chapman-Richards generalization of Von Bertalanffy's model for basal area growth and yield in even-aged stands. Forest science. 19: 2-22.
6. Schumacher, F. X. 1939. A new growth curve and its application to timber-yield studies. Journal of Forestry 37: 819-820.
7. Whyte, A. G. D. and Woollons, R.C. 1990. Modelling stand growth of radiata pine thinned to varying densities. Canadian Journal of Forest Research. 20: 1069-1076.
8. Woollons, R. C. 1988. Analysis and interpretation of forest fertilizer experiments. Ph. D. Thesis. School of Forestry, University of Canterbury, New Zealand. pp. 256.
9. Woollons, R. C, Whyte, A. G. D., and Liu, xu. 1990. The Hossfeld function: an alternative model for depicting stand growth. Japanese

- Journal of Forestry 15: 25-35.
10. Vancly, J. K. 1994. Modelling forest growth and yield: application to mixed tropical forest. CAB International Wallingford, UK. 312 pp.
  11. Barbour, M. G., Burk, J. H. and Pitts, W. D. 1987. Terrestrial Plant Ecology. The Benjamin/Cummings Publ. Co., California, pp 634.
  12. Beon, M. S. 1997. Verjüngungsökologische Untersuchungen in Kiefern(*Pinus densiflora*)-Eichen(*Quercus* spp.)-Mischbeständen Südkoreas. Dissertation Univ. Göttingen, pp. 148.
  13. Braun-Blanquet, J. 1964. Pflanzensoziologie, Grundzüge einer Vegetationskunde. Springer, 3. Auflage, Wien, pp. 865.
  14. Curtis, J. T. and McIntosh, R. P. 1951. An upland forest continuum in the prairie-forest border region of Wisconsin. Ecology 32, 476-496.
  15. Dierschke, H. 1994. Pflanzensoziologie -Grundlagen und Methoden-. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart, pp. 683.
  16. Dohrenbusch, A. 1993. Die natürliche Verjüngung der Kiefer (*Pinus silvestris* L.) im nordwestdeutschen Pleistozän. Habilitationsschrift Forstl. Fak. Univ. Göttingen, pp 333.
  17. Kreeb, K. H. 1983. Vegetationskunde -Methoden und Vegetationsformen unter Berücksichtigung öko-systemarer Aspekte-.Ulmer Stuttgart.
  18. Pfadenhauer, J. 1993. Vegetationsökologie. -Ein Skriptum-, IHW-Verlag, pp. 301.
  19. Pielou, E. C. 1975. Ecological Diversity. John Wiley & Sons, New York, pp. 165. Staupendahl, K. 1996. Ein Programm zur Anfertigung von Kronenkarten und dreidimensionalen Darstellung von Waldbeständen. TreeDraw ver. 3.1.
  20. Arlian, L. G. 1989. Biology and ecology of house dust mites, *Dermatophagoides* spp. and *Euroglyphus* spp. Immunological Allergy

- Clinics of North America 9: 339-356.
21. Arlian, L. G. 1992. Water balance and humidity requirements of house dust mites. *Exp. Appl. Acarol.* 16: 15-35.
  22. Arruda, L. K., M. C. Rizzo and M. D. Chapman. 1991. Exposure and sensitization to dust mite allergens among asthmatic children in Sao Paulo, *Brazil*. *Clin. Exp. Allergy* 21: 433-439
  23. Maunsell, K., D. G. Wraith and A. M. Cunningham. 1968. Mite and house dust allergy in bronchial asthma. *Lancet.* 1: 1267-1270
  24. 강석영, 주정균. 1984. 한국에 있어서의 먼지진드기에 관한 연구. *대한의학 협회지* 18: 1081-1089.
  25. Blythe, M. K. 1976. Some aspects of the ecological study on the house dust mites. *Br. Chest Dis.* 70: 3-31.
  26. DeMilo, A. B., R. T. Cunningham, and T. P. McGovern. 1994. Structural variants of methyl-eugenol and their attractiveness to the Oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* 87: 957-964.
  27. Don-Pedro, K. N. 1996. Investigation of single and joint fumigant insecticidal action of citrus peel oil components. *Pestic. Sci.* 46: 79-84.
  28. Gulati, R. and S. Mathur. 1995. Effect of *Eucalyptus* and *Mentha* leaves and *Curcuma* rhizomes on *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) (Acarina: Acaridae) in wheat. *Exp. Appl. Acarol.* 19: 511-518.
  29. Hughes, A. M. 1976. The mites of stored food and houses. *Technical Bulletin of the ministry of Agriculture, Fisheries and Food* 9: 1-400.
  30. Larson, D. G., W. F. Mitchell and G. W. Wharton. 1969. Preliminary studies on *Dermatophagoides farinae* Hughes, 1961 (Acari) and house dust allergy. *J. Med. Entomol.* 6: 295-299.
  31. Mumcuoglu, K. Y., Z. Gat, T. Horowitz, J. Miller, R. Bar Tana, A. Ben Zvi, and Y. Naparstek. 1999. Abundance of house dust mites in relation

- to climate in contrasting agricultural settlements in Israel. *Med. Vet. Entomol.* 13: 252-258.
32. Sanchez-Ramos, I. and P. Castanera. 2001. Acaricidal activity of natural monoterpenes on *Tyrophagus putrescentiae* (schrank), a mite of stored food. *J. Stored Prod. Res.* 37: 93-101.
33. Kwon, J. H. and Ahn, Y. J. 2002. Acaricidal Activity of *Butylidenephthalide* in *Cnidium officinale* Rhizome against *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae). *J. Agric. Food Chem.* 50: 4479-4483.

편백 및 측백나무를 이용한 신기능성  
모기유충살충제 개발

연구 기관: 전북대학교

연구책임자: 이 회 선

연구 원: 지 경 진

정 은 영

김 영 상

전 주 현

조 장 희

성 보 경

이 치 훈



# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성

과학이 급속도로 발전해 가고 있는 현대에 들어와서도 후진국은 물론 미국과 같은 선진국에서도 모기는 주요 위생해충으로 남아 있을 뿐만 아니라 최근에는 지구촌의 기후변화에 따른 기온상승과 지역에 따라 강우량 증가로 인하여 더욱 문제가 되고 있어서 인류의 활동과 보건위생에 큰 위해요인으로 남아있는 곤충이다. 특히 20세기말 전후에 생명공학 분야의 눈부신 발전 속에서 모든 생명현상과 인류의 질병을 분자나 유전공학적 연구를 통하여 해결하려는 움직임이 급속히 이루어져 왔다. 그러나 선진국에서도 위생해충에 대한 방제까지는 살충제 개발을 위한 경우를 제외하고는 생명공학적 해결책이 나오지 않은 상태이다. 오히려 환경적응력이 뛰어난 모기들의 발생밀도는 인류의 과학발전 속도보다 더욱 빨리 지구 온난화 현상과 맞물려 증가일로에 있는 것이 현실이다. 이러한 현상은 생태계의 움직임이 어떤 한 분야에 대한 단편적인 연구만으로는 문제의 해석이나 해결방안을 찾을 수 없는데다가 그 동안 열대지역을 제외한 우리 나라를 비롯한 많은 지역에서 모기로 인한 질병들이 사라지거나 감소한 탓에 상대적으로 모기에 대한 지속적인 생태 및 방제 연구를 등한시하여 온 때문으로 해석하고 있다.

모기는 전세계적으로 3,126종이 분류, 보고되어 있으며, 우리 나라에서도 53종의 모기가 알려져 있으며, 이들 중 작은빨간집모기 (*Culex tritaeniorhynchus*)는 일본뇌염을, 중국얼룩날개모기 (*Anopheles sinensis*)는 말라리아와 내륙성 브르기아 사상충증 (Inland Brugian Filariasis), 토고숲모기 (*Aedes togoi*)는 남해도서 지역의 사상충증을 전파하는 질병매

개충이며, 그외 집모기에 속하는 빨간 집모기 (*Culex pipiens pallens*)와 지하집모기 (*Culex pipiens molestus*)등은 주택인가에서 발생, 도시화가 이루어지는 아파트단지에서 흡혈성 문제로 방제가 불가피한 문제종이다. 특히 우리 나라의 말라리아는 1970년대 들어서서 완전히 자취를 감추었다가, 1993년부터 다시 환자가 발생하여 1998년도에는 9월말까지 3,330명의 말라리아 환자가 발생하였으며, 1999년에도 말라리아 환자의 수치는 그다지 줄어들지 않았고 오히려 민간인의 감염율은 더욱 늘어났으며 환자발생 지역은 비무장지대 인근에서 서울 방향의 경기도 북부 전역으로 더욱 넓어졌다. 일본뇌염의 경우에는 현재 환자 발생이 많이 줄었으나 아직 안심할 단계는 아니라고 생각된다. 이와 같이, 모기방제에 관한 관심과 대책이 매우 미약한 가운데 1990년대 이후에는 미국에서도 오래전에 문제가 되었던 뇌염이나 황열병과 같은 모기로 인한 질병들이 다시 등장하였고 West Nile 뇌염과 같이 전에 발생되지 않았던 매개질병까지도 발생하였다. 또한, 지구 온난화에 따른 기온상승과 환경변화로 인하여 여름철은 물론 겨울철에도 모기의 발생과 흡혈활동이 증가하여 지역에 따라 모기로 인한 피해가 계속 늘 것으로 우려되고 있다. 특히 우리나라의 경우, 일본뇌염 매개모기의 발생밀도를 조사하는 지엽적인 장소 외에 농촌은 물론 도시 전반에 걸쳐서 서식하고 있는 모기의 종류, 밀도 및 발생장소에 대한 조사와 능률적인 방제작업을 위한 개선책이 그 동안 거의 없는 실정이었다. 20세기중엽에 출현한 DDT의 개발이래 수많은 유기합성제가 연이어 출현하였으며, 모기의 방제를 위하여 막대한 양의 각종 살충제 및 농약을 산포한 결과 인류는 심각한 환경문제에 직면하고 있다. 이로 말미암아 ①환경의 파괴와 공해문제는 물론 ②모기의 살충제에 대한 저항성 유발(Resistance) ③살충제 처리횟수증가로 인한 방제경비증가 ④농약의 남용으로 인한 모기의 천적 및 유용동물들의 점차적인 소멸 ⑤인축독성에 의한 중독증 환자 발생 ⑥환경호르몬 가능성 등의 많은 문제가 야기되고 있다. 이를 해결하기 위해서는 종래의 살충제를 대체할 수 있는 새로운

타입의 친환경적 살충제 개발을 위한 살충성 활성물질의 탐색 및 개발, 모기에 대한 기피성이 우수한 물질의 개발, 오염수에 강한 모기유충의 천적의 방사등을 통해 종합적인 방제법 (Integrated Control)의 필요성이 점차 커지고 있다. 즉, 모기의 성충과 유충을 치사시킬 수 있는 살충제를 사용하는 화학적 방제 (Chemical Control)와 천적을 이용하여 주로 모기의 유충을 지속적으로 포식하게 하여 모기유충 밀도를 저밀도 이하로 감소 유지하게 하는 생물학적 방제 (Biological Control), 모기의 발생장소가 되는 장소나 인공물을 변경 또는 제거시켜 모기의 발생장소를 없애는 물리적 방제 (Physical Control) 등을 함께 사용하는 포괄적인 방제방법이다.

한편, 우리나라에서는 1980중반부터 모기방제를 위한 *B. t. israelensis* 개발이 KIST 유전공학연구소, 농촌진흥청 농약연구소 등에서 행하여졌으나 실용화되지 못한 상황이며, 최근 국립보건원에서 개발한 *B. t. NE-87*은 살충효력은 우수하나, 다량생산과 모기다발지역에서의 대규모 야외시험이 선행되어야 할 것이다. 한편 이외의 살충성 모기유충 제제에 대한 개발을 위한 연구동향은 국내에서 체계적인 개발 및 연구가 거의 이루어지고 있지 못한 실정이다. 또한 모기 기피제도 국내에서는 개발이 전무하며 전량 수입에 의존하고 있는 실정이다. 최근 인체용 모기 기피제의 수요가 급증하고 있는데, 합성 기피제인 DEET (*N,N*-diethyl-*m*-toluamide)를 그동안 주로 사용하여 왔으나 부작용이 있어 이 화합물에 대한 소비자의 인식 변화와 천연물에 대한 기대감으로 천연물 유래의 기피제 개발이 시급한 실정에 있다. 기피제는 기피효과외에 인체에 무해할 것, 효과가 장기간 지속할 것, 피부에 대한 자극성이 없을 것, 불쾌한 냄새가 없을 것, 화학적으로 안정할 것, 피부 전면에 처리하지 않아도 효과가 있을 것 등의 특성을 구비하지 않으면 안된다. 이러한 점에서 식물은 테르펜, 페놀, 알칼로이드 등 많은 이차대사산물을 함유하고 있으며, 이들 화합물은 인체에 대한 독성이 낮다는 점, 기존살충제와 마찬가지로 처리방법이 간단하다는 점, 목적해충등 제한된 해충에 유효하고 천적에 영향이 낮다는 점등으로

인하여 합성기피제의 대체약제로서 오래 전부터 인식되어 왔다. 따라서 천연물에서 새로운 기피제를 개발하려는 연구가 꾸준히 진행중이며 쪽과 neem tree등에서 개발의 가능성이 제시되기도 하였다. 그러나 기피제의 사용상 장점과 시장성에도 불구하고 아직까지 국내는 물론 국외에서도 기존의 DEET를 대체할 만한 기피효과와 안전성을 지닌 약제가 개발되지 못한 실정이다. 따라서 본 연구를 통하여 최근 문제가 되는 모기에 의한 피해를 줄이면서 환경에 문제가 되지 않고 모기를 치사시킬 수 있는 새로운 살충제와 기피제를 개발하는 것이 절실히 요구된다.

## 제 2 절 연구개발의 내용 및 범위

### 1. 모기유충살충제 문헌정보 수집

천연 모기유충 살충제에 대한 다양한 정보는 미국환경청 (EPA), 미국환경평가센터 (PCTL), 미국농무성 (USDA), 일본 국·공립연구소, 한국독성학회, 한국임업학회, 한국농화학회, 한국응용곤충학회지, 한국곤충학회지, J. Entomology, J. Agricultural and Food Chemistry 등에서 수집하였으며, 또한 최근의 주요 모기유충 살충제 동향을 각국의 관련회사로부터 수시로 수집하였다.

### 2. 편백 및 측백나무 부산물의 수집 및 추출

편백 및 측백나무 부산물 (잎, 줄기, 열매, 씨앗)을 수집하고, 이를 음지에서 건조시켜 세절하여 연속수증기증류장치 (SDE, Nickerson & Likens 장치)에서 100℃, 5-6시간 동안 연속추출하였다. hexan 추출물은 무수황산마그네슘으로 건조시킨 후 20℃ 이하에서 감압농축하여 얻은 정유성분은 밀봉하여 생리활성 검정시까지 4℃에서 냉장보관 하였다.

### 3. 편백 및 측백나무 부산물의 모기유충에 대한 생물검정

편백 및 측백나무 부산물 (잎, 줄기, 열매, 씨앗)의 추출물을 에집트숲모기와 빨간집모기 유충에 대하여 생물검정을 실행한 결과 편백 및 측백나무의 잎 추출물을 모기유충에 살충활성을 갖는 우수활성시료로 선정함.

### 4. 우수활성시료의 영급별 수집, 추출 및 생물검정

우수활성시료로 선정된 편백 및 측백나무의 잎을 영급별로, I 영급 (1-10년), II 영급 (11-20년), III 영급 (21-30년)으로 분류, 수집하여 hexane을 이용한 수증기증류추출법으로 식물정유 추출물을 감압 농축하여 6개의 시료를 준비한다. 6개 시료를 모기유층에 대하여 초기 스크리닝 농도인 400 ppm과 이의 반 농도인 200 ppm 농도로 생물검정을 실시하여 가장 활성이 우수한 시료를 선정함.

#### 5. 우수 생리활성 물질의 hexane층 오일 추출 및 분리·동정

가장 우수한 살충활성을 나타낸 II 영급 (11-20년) 편백나무의 잎의 물질을 분리·동정하기 위해, 오일 추출에 주로 사용되는 수증기증류추출법을 사용하여 시료 500 g에 증류수 2,000 ml와 hexane 200 ml을 각각 넣고, 연속수증기증류장치 (SDE, Nickerson & Likens 장치)에서 100°C, 5-6시간 동안 연속 추출하였다. hexane 추출물은 무수황산마그네슘으로 건조시킨 후 20°C이하에서 감압 농축하고, 밀봉하여 4°C에서 냉장보관 하였다. 분리된 살충물질을 UV spectrum, Mass spectrum, <sup>1</sup>H-NMR spectrum, <sup>13</sup>C-NMR spectrum 및 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY spectrum 등을 이용하여 동정한 후에 이화학적 구조분석에 이용.

#### 6. 우수활성을 보인 부산물의 Essential oil과 분리·정제한 물질과의 비교 실험

다양한 활성성분을 분리·정제하여, 활성성분의 이화학적 및 구조특성을 분석하여 우수한 살충활성이 예측되는 단일물질을 Sigma (St. Louis, MO, USA), Aldrich (Milwaukee, WI, USA), Wako (Osaka, Japan) 및 Merck (Mohenbrunn, Germany)등의 회사에서 구입하여 편백나무 부산물로부터 가장 우수한 활성을 나타낸 정유성분을 GC-Mass를 통해 동정한 단일 물질과 비교·분석 및 생물검정을 실시하였음.

## 7. 분리·정제한 물질의 공시약제와 비교·분석

여러 가지 분리방법과 각종 기기분석에 의해 동정된 물질을 공시약제로서 모기유충 살충제로 사용되고 있는 pirimiphos-methyl과 비교실험하여 편백나무 부산물로부터 분리·동정한 물질의 살충성분을 비교·분석함.

## 8. 독성평가

산업화를 위한 독성평가에서는 제형화의 유무를 결정하기 전에 기존에 다른 기능으로 알려진 화합물의 경우에는 발표된 학술지나 연구성과의 자료를 수집하여 물질 혹은 식물체 추출물 자체의 독성자료들을 수집·분석하여, 도출된 결과를 바탕으로 산업화를 위한 개발 가능성을 타진할 것이다. 독성평가 자료가 빈약한 경우에는 돌연변이원성 시험 및 수서생물에 대한 어독성 시험을 실시할 것이다. 독성평가는 산업화를 위하여 필수적이지만 실험의 비용이 너무 비싸서 본 항목들에 대한 평가가 진행되려면 그 만큼의 연구비 산정이 필수적인 요인이다.

## 9. 산업화를 위한 제형연구

살충물질의 가장 적합한 제형화를 피하고, 실제 야외검정을 통해 모기 유충 살충제로서 효과가 우수한 천연물질이라도 제형화가 어렵거나 제형과정 중에 발생하는 열에 의해 그 유효성분들의 질적인 활성유지가 어렵게 된다면 천연물 이용성에 있어서 큰 난관에 부딪히게 된다. 또한 그 물질이나 천연물에 합리적인 제형화에 성공하지 못하면 적용면에 한계성을 갖게 되기 때문에 활성물질의 특성에 합리적인 제형물과 살충효과의 지속성을 유지시킬 수 있는 제형화를 추구하기 위하여 고형물이나 액상을 위주로 녹여 사용할 수 있는 다양한 용매적용이 기술적으로 더 고려되어 야외적용 시험을 실시한다.

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 1. 국내외 관련분야의 환경변화

- 최근 선진국들은 지구온난화현상 및 환경오염으로 평균기온 2℃ 상승시에 전세계 거주 지역의 약 46%인 말라리아 유행지역이 60%로 증가함으로서 야기되는 위생해충 및 관련 질환의 증가에 대처하여 오래전부터 천연 생리활성물질 개발에 많은 투자를 하고 있으며, 미국 등의 선진국(미국의 National Institute of Health과 National Cancer Institute, 일본의 후생성등)은 국가차원의 사업으로 추진하고 있다. 더구나 선진국들은 모기성충보다는 유충방제 시스템으로 전환하면서 천연 모기유충 살충제에 관련된 바이오 생리활성물질을 개발, 산업화하고 있을 뿐만 아니라, 인축 및 환경에 부작용이 적은 식물기원의 천연활성성분의 탐색과 개발에 박차를 가하여 이들을 토대로 하여 실용화에 이르고 있다. 예를 들면, 실용화된 식물의 생리활성물질로서는 피레스린과  $\beta$ -Thujaplicine 등이 개발되었으며, 이들 천연물 유래의 활성성분을 모핵화합물로 하여 위생해충 살충제가 개발하였다.
- 국내는 천연물에서 유래된 모기유충 미생물살충제인 *Bacillus thuringiensis*이 개발되어 실용화되었을 뿐 식물에서는 전무한 실정임.
- 모기유충 살충제는 의약품 및 농약으로 분류되지 않아 위생해충의 사각지대로 남아 있는 실정이어서 아직 기초단계에 있음.
- 편백 및 측백나무 부산물의 우수한 약리활성을 제시한 연구결과는 많으나, 위생해충의 방제제로서의 결과는 없음.
- 모기에서 유발되는 관련 질환은 인간의 건강에 직·간접적으로 관여하고 있어 선진국에서는 이들 관련 질환의 직접적인 유발인자인 모기유충의 천연 방제제 개발에 진력하고 있으나 국내의 경우 위생해충 생물검정법



의 미비로 기초 수준에 머물러있음.

- 우리나라에서 편백·측백나무 수종에 대한 인식은 지금까지 편백, 화백에 대한 목재 생산적 가치나 향나무, 측백나무, 노간주나무 등의 조경용 가치에 국한된 연구들과 일부 약리활성에 대한 연구결과가 대부분이고 이들 수종의 생장에 관한 연구는 미미한 상태임.
- 세부책임연구자는 다년간 천연물의 분리, 화학적 구조 동정, 분석, 생리활성 검정 등의 연구에 종사하여 왔으며 모기유충 분야에서 우수한 연구업적, 풍부한 인적 및 실험실 여건을 갖추고 있음.

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 제 1 절 편백 및 측백나무 부산물의 수집 및 추출

편백 및 측백나무 부산물을 잎, 줄기, 열매, 씨앗으로 분류하여 수집하고, 이를 음지에서 건조시켜 세절하여 이를 음지에서 건조시켜 세절하여 연속수증기 증류장치 (SDE, Nickerson & Likens 장치)에서 100℃, 5-6시간 동안 연속추출하였다. Hexan 추출물은 무수황산마그네슘으로 건조시킨 후 20℃이하에서 감압 농축하여 얻은 정유성분은 밀봉하여 생리활성 검정시까지 4℃에서 냉장보관하였다.

## 제 2 절 편백 및 측백나무 부산물의 추출물의 모기유충에 대한 생리활성검정 실험

본 연구실에서 사육중인 모기유충 2종, 에집트숲모기 유충과 빨간집모기 유충의 살충활성을 비교 분석하였다.

표1. 모기유충에 대한 편백 및 측백나무 부산물의 Essential oil 추출물 살충효과

Sample <sup>b</sup>	Mortality (mean $\pm$ SE, %) <sup>a</sup>				
	에집트숲모기 ( <i>Aedes aegypti</i> )		빨간집모기 ( <i>Culex pipiens pallens</i> )		
	400 ppm	200 ppm	400 ppm	200 ppm	
편백나무	잎	100	100	100	100
	줄기	100	68.2 $\pm$ 3.7	100	34.5 $\pm$ 3.4
	열매	0	0	0	0
	씨앗	0	0	0	0
측백나무	잎	100	100	100	92.1 $\pm$ 4.1
	줄기	0	0	0	0
	열매	71.6 $\pm$ 2.9	18.7 $\pm$ 5.2	53.1 $\pm$ 1.1	18.7 $\pm$ 5.2
	씨앗	0	0	0	0

( $P = 0.05$ , Scheffe's test[SAS Institute])

<sup>a</sup>Values are percentages (mean  $\pm$  SE). <sup>b</sup>Exposed for 24h.

비교 시험에서는 본 연구실이 소유한 특수한 모기유충 생리활성 검정법을 이용하여 편백 및 측백나무 부산물의 추출물에 존재하는 활성인자 탐지를 위한 농도 400 ppm 및 200 ppm을 사용하였다. 비교분석한 시험결과는 표 1에 나타내었다. 표 1에서 사용된 시료 중에 편백나무의 열매와 씨앗, 측백나무의 줄기와 씨앗의 추출물 시료가 활성을 나타내지 않은 것 이외에 4가지의 편백 및 측백나무의 부산물의 추출물 시료가 크고 작은 살충활성을 나타내었다. 시료의 400 ppm 농도의 경우, 에집트숲모기 유충에 편백나무의 잎과 줄기, 측백나무의 잎 추출물이 우수한 살충활성 (100%)을 나타내었고 측백나무는 열매가 잎보다 낮은 활성을 보였다. 빨간집모기 유충에 대해서도 편백나무의 잎과 줄기, 측백나무 잎의 추출물이 뛰어난 살충활성 (100%)을 보였으며, 측백나무의 열매가 잎보다 낮은 활성을 나타내었다. 시료 200 ppm 농도 실험의 경우, 에집트숲모기에 대해서 편백나무의 잎 추출이 100%의 살충활성을 보였으며, 다음으로 줄기 추출물이 68.2%로 잎보다 낮은 활성을 보였다. 빨간집모기 유충에 대해서도 측백나무의 잎 추출물은 92.1%의 살충활성을 보였으며, 그 다음으로 열매 추출물이 18.7%로 살충활성이 많이 감소하여 나타났다. 본 연구에서는 측백나무 열매 추출물이 400 ppm에서와는 달리 200 ppm에서 급격한 살충활성 감소현상이 나타났는데 이는 방향성 물질의 영향 탓으로 예측이 가능하다.

위와 같은 예비적인 살충활성 분석을 통하여 사용된 잎, 줄기, 열매, 씨앗의 4가지 모든 부산물 추출물 중에서 잎 추출물이 가장 우수한 활성을 나타냄을 확인하였다.

### 제 3 절 모기유충에 대한 우수시료의 선정 및 영급별 수집, 추출 및 살충활성 검정

우수활성시료로 선정된 편백 및 측백나무의 잎을 영급별로, I 영급 (0-10년), II 영급 (11-20년), III 영급 (21-30년)의 편백 및 측백나무의 잎으로 분류하여 수집하였다. 영급별 실험에서는 수증기증류추출법을 이용하여 Essential oil을 추출하여 6개의 시료를 준비하고 모기유충 살충활성 검정을 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm의 농도로 실시하였다.

표2. 편백 및 측백나무 잎의 영급별 Essential oil 추출물의 모기유충 살충활성 검정

Sample <sup>b</sup>	Mortality (mean ± SE, %) <sup>a</sup>						
	에집트숲모기 ( <i>Aedes aegypti</i> )			빨간집모기 ( <i>Culex pipiens pallens</i> )			
	100 ppm	50 ppm	25 ppm	100 ppm	50 ppm	25 ppm	
편백 나무	I 영급 <sup>c</sup>	91.3±3.2	72.8±2.8	42.2±2.6	84.2±3.2	59.6±2.8	31.2±4.1
	II 영급	100	87.4±3.3	62.7±3.8	100	78.6±2.7	51.5±3.3
	III 영급	68.5±2.5	43.1±1.9	18.7±3.1	54.7±4.3	33.6±3.1	0
측백 나무	I 영급	79.6±3.4	48.6±2.7	22.5±3.7	56.5±2.7	31.2±2.9	0
	II 영급	91.5±2.9	74.5±4.1	37.8±3.7	83.9±1.8	57.9±1.9	29.6±4.5
	III 영급	34.1±4.2	0	0	20.5±2.5	0	0

( $P = 0.05$ , Scheffe's test[SAS Institute])

<sup>a</sup>Values are percentages (mean ± SE). <sup>b</sup>Exposed for 24h. <sup>c</sup>Age class I: 0-10 years, Age class II: 11-20 years, Age class III: 21-30 years.

위의 표에서 편백 및 측백나무 잎의 영급별 추출물의 모기유충의 살충활성은 편백 및 측백나무의 II 영급 잎 추출물에서 그 활성이 가장 우수하였다. 시료 100 ppm의 농도에서, 에집트숲모기와 빨간집모기에 편백나무 잎 추출물은 II 영급에서, 측백나무 잎 추출물 또한 II 영급에서 각각 91.5%, 83.9%의 살충활성을 나타내었으며, 50 ppm의 농도에서는 에집트숲모기와 빨간집모기에 편백나무 II 영급의 잎 추출물이 각각 87.4%, 78.6%의 활성을 보였다. 또한 편백나무 잎 추출물은 I 영급과 III 영급의 경우, 에집트숲모기에 72.8%와 43.1%, 빨간집모기에 59.6%와 33.6%의 활성을 나타냈다. 이에 반해 측백나무 잎 추출물은 II 영급의 경우, 에집트숲모기에 74.5%, 빨간집모기에 57.9%의 살충활성을 나타내었다. 또한 25 ppm의 농도에서는 에집트숲모기와 빨간집모기에 편백나무 II 영급의 잎 추출물이 각각 62.7%, 51.5%의 활성을 보였으며, I 영급과 III 영급의 경우, 에집트숲모기에 42.2%와 18.7%, 빨간집모기에 31.2%와 III 영급은 살충효과가 전혀 나타나지 않았다. 또한 측백나무 잎 추출물은 II 영급의 경우, 에집트숲모기에 37.8%, 빨간집모기에 29.6%의 살충활성을 나타내었다. 50 ppm의 농도에 비해 25 ppm의 농도에서 급격한 살충활성 감소를 나타냈다. 본 연구결과를 근거로 생리활성 물질의 분리정제를 위한 실험의 우수 시료로 최종적으로 편백나무 II 영급 잎 추출물을 선정하였다.

## 제 4 절 편백나무에서 1차 년도에 진행했던 천연 살충활성물질의 분리·정제 및 동정

지속적인 모기유충의 사육 및 생물검정을 통하여 살충성을 갖는 우수한 살충활성 식물체인 편백나무 잎을 수증기 증류추출법으로 정유를 얻었다. 이렇게 확보된 편백나무 잎의 정유는 살충활성 물질의 분리·정제 및 GC-Mass를 위하여 사용되었다. 편백나무 잎에서 추출한 식물 정유를 활용하여 실리카겔 크로마토그래피,  $\mu$ Porasil Silica 순상컬럼 및 Prep. HPLC 크로마토그래피를 반복하여 생물검정을 병행하면서 순차적으로 분리·정제하였다. 최종적으로 활성이 있는 천연살충물질을 분리·정제하였으며, 활성물질의 구조·동정은  $^1\text{H}$  (600 MHz) 및  $^{13}\text{C}$  (150 MHz) NMR (JNM-LA 400F7), UV (Jasco V-550, solvent:MeOH), EI-MS (JEOL GSX 400)등의 기기분석법을 통해 hinokitiol ( $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_2$ , M.W. 164.20,  $\beta$ -thujaplicin)과 limonene ( $\text{C}_{10}\text{H}_{16}$ , M.W. 136.23, (R)-4-Isopropenyl-1-methyl-1-cyclohexene)을 분리하였다. (그림1, 그림2)

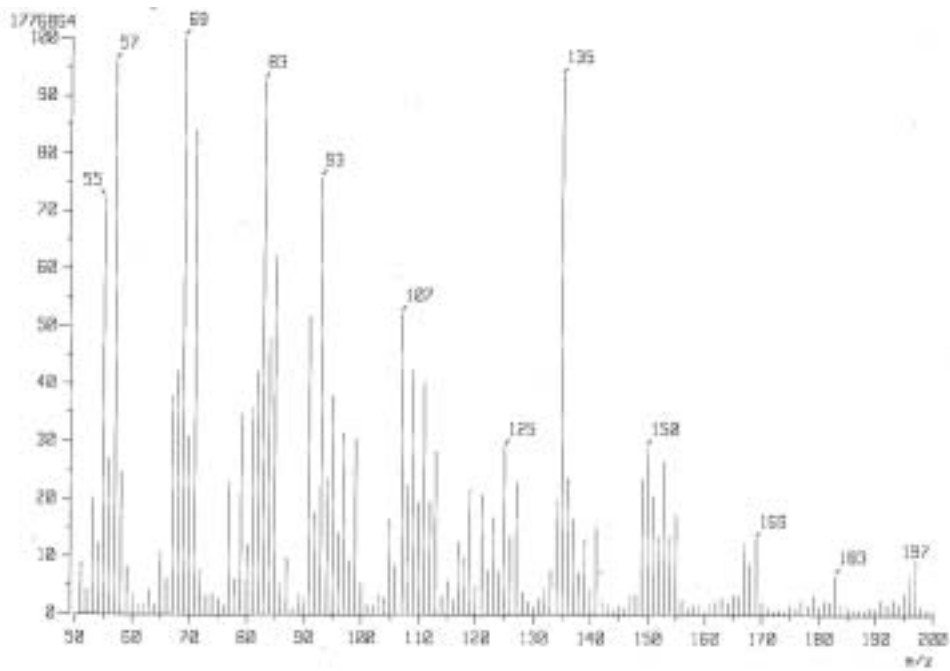


그림 1. 분리·동정한 물질의 Mass spectrum

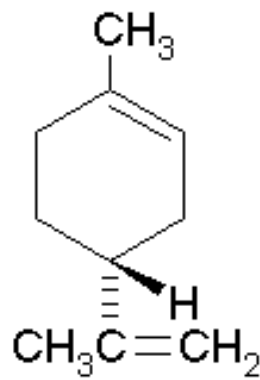


그림 2. 편백나무 잎에서 분리·정제한 모기유충 살충활성을 갖는 limonene의 구조



## 제 5 절 편백나무 부산물의 정유성분 추출, GC-Mass 분석에 의한 구성성분 분석과 생물검정 비교분석

모기유충에 대해 가장 우수한 활성을 나타낸 편백나무 II 영급 열매, 잎을 수집하여, 수증기증류추출법을 이용한 정유성분 추출과, 정유성분의 GC-Mass를 통한 구성 성분을 분석하였다. 또한 GC-Mass에서 분석된 구성 성분과 본 실험에서 분리·동정한  $\beta$ -thujaplicin의 모기유충에 대한 살충활성 검정 실험을 수행하였다.

편백나무 II 영급 열매에서 추출한 정유성분을 GC-Mass를 통하여 분석한 결과, 주요성분으로 sabinene (7.2%),  $\beta$ -myrcene (6.6%), (+)-2-carene (3.8%), limonene (6.4%),  $\gamma$ -terpinene (9.7%),  $\alpha$ -terpinolene (6.0%), terpinen-4-ol (30.1%), (-)-bornyl acetate (4.5%), 16,17-secodammara (3.4%), dihydrazide (5.9%) 등이 분석되었으며, 그림 9에 편백나무 II 영급 열매에서 추출한 정유성분의 GC-Mass 분석결과 및 표 3에 그 주요성분들의 retention time 및 mass spectral data를 나타냈다.

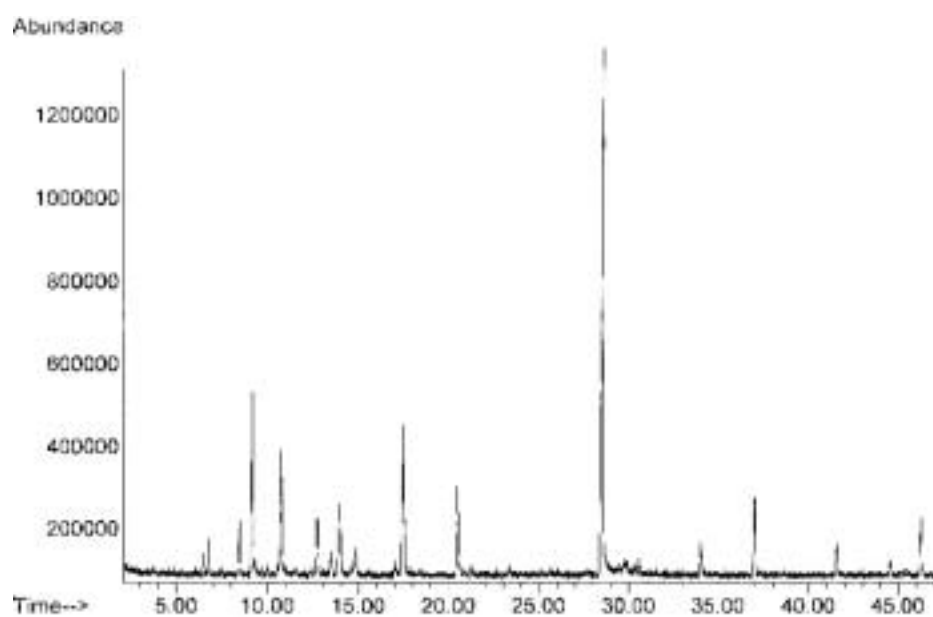


그림 3. 편백나무 II 영급의 열매에서 추출한 정유성분의 GC-Mass 분석

표 3. 편백나무 II 영급 열매의 정유성분에 대한 GC-Mass spectrometry

peak number	compound	mass spectral data <sup>a</sup>	retention time(min)	relative (%)
1	sabinene	53, 65, 77, 93, 121, 136	9.12	7.2
2	β-myrcene	41, 53, 69, 81, 93, 136	10.72	6.6
3	(+)-2-carene	41, 79, 93, 105, 121, 136	12.69	3.8
4	limonene	39, 53, 68, 80, 93, 107, 136	13.94	6.4
5	ψ-terpinene	51, 65, 77, 93, 105, 121, 136	17.46	9.7

6	$\alpha$ -terpinolene	27, 41, 53, 79, 93, 121, 136	20.47	6.0
7	terpinen-4-ol	55, 71, 93, 111, 136, 154	28.44	30.1
8	(-)-bornyl acetate	55, 67, 80, 95, 108, 121, 136	36.96	4.5
9	16,17-secodammar a	81, 93, 107, 121, 136, 163, 189	46.23	3.4
10	dihydrazide	18, 31, 44, 63, 79, 96, 116	98.69	5.9
11	(-)-isolede	41, 91, 105, 119, 133, 161, 204	50.85	5.8
12	$\beta$ -cadinene	119, 134, 161, 204	52.33	2.8

<sup>a</sup>Major fragmentation ions, base peak (listed first) and other ions in decreasing order of relative abundance.

편백나무 II 영급 잎에서 추출한 정유성분을 GC-Mass를 통하여 분석한 결과, 주요성분으로 sabinene (2.5%), myrcene (2.1%), limonene (3.8%),  $\gamma$ -terpinene (3.9%), terpinen-4-ol (5.2%), (-)-bornyl acetate (11.2%), 2,4,6-octatriene (17.9%),  $\beta$ -caryophyllene (11.7%),  $\beta$ -thujaplicin (1.8%),  $\beta$ -himachalene (2.5%), (-)-isolede (5.8%),  $\beta$ -cadinene (2.8%) 등이 분석되었으며, 그림 10에 편백나무 II 영급 잎에서 추출한 정유 성분의 GC-Mass 분석 결과 및 표 4에 주요성분들의 retention time 및 mass spectral data를 나타냈다.

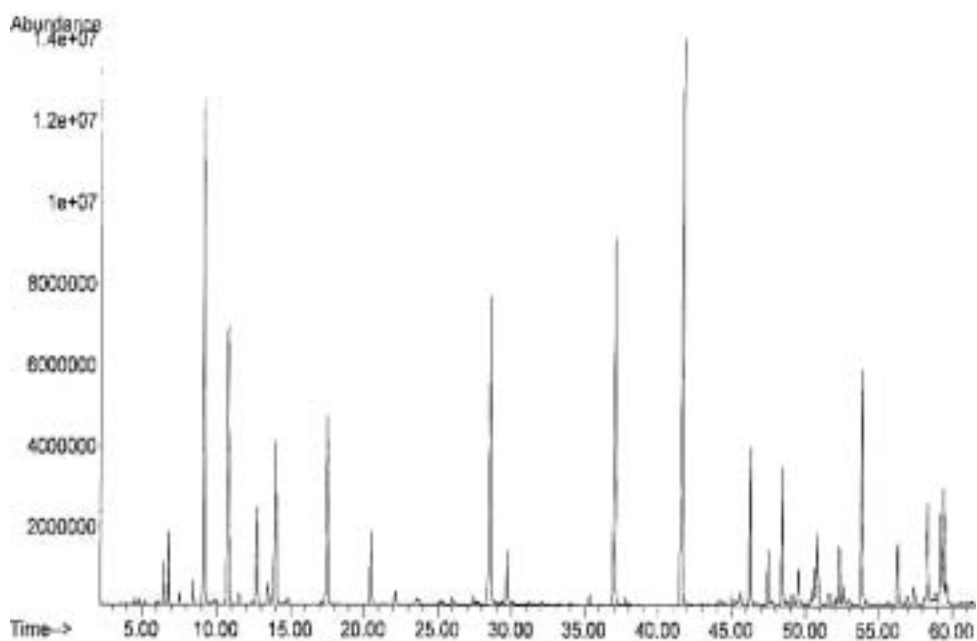


그림 4. 편백나무 II 영급의 잎에서 추출한 정유성분의 GC-Mass 분석

표 4. 편백나무 II 영급 잎의 정유성분에 대한 GC-Mass spectrometry

peak number	compound	mass spectral data <sup>a</sup>	retention time(min)	relative (%)
1	sabinene	53, 65, 77, 93, 121, 136	9.11	2.5
2	myrcene	53, 69, 81, 93, 107, 136	10.71	2.1
3	limonene	39, 53, 68, 93, 107, 121, 136	13.93	3.8
4	ψ-terpinene	65, 77, 93, 105, 121, 136	17.45	3.9
5	terpinen-4-ol	43, 55, 71, 93, 111, 136, 154	28.49	5.2

6	(-)-bornyl acetate	55, 95, 108, 121, 136	37.04	11.2
7	2,4,6-octatriene	27, 41, 79, 93, 121, 136	41.68	17.9
8	♣-caryophyllene	204, 176, 148, 133, 107	46.32	11.7
9	♣-thujaplicin	65, 77, 91, 103, 121, 136, 164	47.47	1.8
10	♣-himachalene	41, 93, 105, 119, 134, 204	50.59	2.5
11	(-)-isolekene	41, 91, 105, 119, 133, 161, 204	50.85	5.8
12	♣-cadinene	119, 134, 161, 204	52.33	2.8

<sup>a</sup>Major fragmentation ions, base peak (listed first) and other ions in decreasing order of relative abundance.

모기유충 두 종, 예집트숲모기와 빨간집모기에 대하여 영급별 편백 및 측백 나무 부산물 중 가장 우수한 활성을 보인 편백나무 II 영급 잎의 정유성분의 GC-Mass 분석은 그 활성의 근원을 추측할 수 있는 여지를 제공할 수 있다. 이러한 관점에서 위에서 제시한 것처럼 편백나무 II 영급 잎, 줄기, 열매의 GC-Mass를 통해 분석한 정유성분의 각 구성 성분들을 비교해 본 결과는 서로 많은 차이가 있다는 것을 알 수 있었다. 편백나무 II 영급 줄기 정유성분에서는 camphene 13.3%, sabinene 9.1%, (-)-bornyl acetate 8.1%, 3-cyclohexen-1-ol 8.0% 순으로 정유의 주요 구성성분을 이루고 있지만, 편백나무 II 영급 열매 정유성분에서는 terpinen-4-ol 30.1%, ♣-terpinene 9.7%, sabinene 7.2%, ♣-myrcene 6.6%, limonene 6.4% 순으로 주요 구성성분을 이루고 있어서 2가지 편백나무 부산물들의 정유 간에 주요 구성성분에 많은 차이가 있음을 알 수 있었다. 또한 편백나무 II 영급 잎 정유성분에서는 2,4,6-octatriene 17.9%, ♣-caryophyllene 11.7%, (-)-bornyl acetate 11.2%,

(-)-isolekene 5.8%, terpinen-4-ol 5.2% 순으로 주요 구성성분을 이루고 있어서 앞에서 살펴본 편백나무 II 영급의 열매 정유성분의 구성성분들과 많은 차이가 있다는 것을 볼 수 있다. 각 부산물 정유간의 GC-Mass에 의한 구성 성분들이 각 부산물 정유성분에서 다르게 나타나고, 같은 성분이 나타난다 할지라도 이들이 정유성분 내에서 차지하는 함량도 다르다. 특히 눈에 띄게 주목할 점은 편백나무 부산물간에 모기유충에 살충활성이 가장 뛰어난 편백나무 II 영급 잎 추출물로부터 분리·동정된 물질인 hinokitiol이 편백나무 II 영급의 잎 정유성분의 구성 성분에만 있다는 점이다. 편백나무 잎이 빨간집모기에 대하여 갖는 뛰어난 살충활성의 근원을 찾는 관점에서 편백나무 II 영급 잎의 정유에 GC-Mass Data를 가지고 빨간집모기 유충에 대한 살충활성을 검정하여 비교하였다.(표 5)

표 5. 편백나무 II 영급 잎 정유성분의 모기유충에 대한 살충활성 비교 실험

Compound <sup>a</sup>	Mosquito species	Slope ( $\pm$ SE)	LC <sub>50</sub> , ppm	95% CI <sup>b</sup>
sabinene	빨간집모기	-	-	-
myrcene	빨간집모기	10.23 $\pm$ 1.77	20.42	2.29-2.37
<b>limonene</b>	<b>빨간집모기</b>	<b>9.03 <math>\pm</math> 1.94</b>	<b>0.19</b>	<b>1.11-1.40</b>
$\Psi$ -terpinene	빨간집모기	-	-	-
terpinen-4-ol	빨간집모기	11.18 $\pm$ 1.46	43.18	1.47-2.45
<b>(-)-bornyl acetate</b>	<b>빨간집모기</b>	<b>8.15 <math>\pm</math> 0.46</b>	<b>5.69</b>	<b>2.01-2.23</b>
2,4,6-octatriene	빨간집모기	-	-	-

$\beta$ -caryophyllene	빨간집모기	13.67 ± 1.91	33.46	1.43-2.45
$\beta$ -thujaplicin	빨간집모기	9.20 ± 1.94	0.14	1.13-1.50
$\beta$ -himachalene	빨간집모기	-	-	-
(-)-isoledeane	빨간집모기	16.46 ± 1.27	50.47	2.45-3.12
$\delta$ -cadinene	빨간집모기	-	-	-

<sup>a</sup>exposed for 24 h. <sup>b</sup>cl denotes confidence limit.

표 5에서는 우수한 활성을 보인 편백나무 II 영급 잎의 정유성분의 빨간집모기에 대한 생물검정을 나타내었다. 정유성분중에서 가장 높은 LC<sub>50</sub>값을 보인 것은  $\beta$ -thujaplicin로 0.14 ppm을 다음으로 limonene이 0.19 ppm, (-)-bornyl acetate이 5.69 ppm, myrcene이 20.42 ppm,  $\beta$ -caryophyllene이 33.46 ppm, terpinene-4-ol이 43.18 ppm, (-)-isoledeane이 50.47 ppm 순으로 나타났으며 sabinene,  $\gamma$ -terpinene, 2,4,6-octatriene,  $\beta$ -himachalene,  $\delta$ -cadinene은 전혀 살충활성을 나타내지 않았다. 본 실험을 통해 편백나무 II 영급 잎 추출물에서도 분리·동정되었지만, 잎에서 추출한 정유의 GC-Mass 분석에 의해 구성성분으로 밝혀진  $\beta$ -thujaplicin과 추가적으로 limonene 및 (-)-bornyl acetate의 살충활성이 잎 정유의 구성성분 중에서도 빨간집모기에 대해 다른 구성성분보다 매우 높다는 것을 알 수 있었다. 따라서 이 세가지 성분이 편백나무 II 영급 잎에 살충효과에 주된 성분임을 알 수 있다. 따라서 편백나무 II 영급 잎의 주된 살충성분과 국내 살충제로서 공시약제인 pirimiphos-methyl과 비교하여 예 집트숲모기와 빨간집모기 및 중국얼룩날개모기에 대한 생물검정을 수행하였다.

표 6. 국내 살충제인 pirimiphos-methyl과 우수한 편백나무 II 영급 잎 정유성분의 모기유충에 대한 살충활성 비교 실험

Compound <sup>a</sup>	Mosquito species	Slope ( $\pm$ SE)	LC <sub>50</sub> , ppm	95% cl <sup>b</sup>
β-thujaplicin	에집트숲모기	8.60 $\pm$ 1.80	2.91	2.60-3.26
	빨간집모기	9.20 $\pm$ 1.94	1.33	1.13-1.50
	중국얼룩날개모기	8.78 $\pm$ 1.77	3.15	2.11-2.45
limonene	에집트숲모기	9.33 $\pm$ 1.23	3.19	1.19-2.31
	빨간집모기	8.15 $\pm$ 0.98	2.08	1.45-1.68
	중국얼룩날개모기	8.66 $\pm$ 1.33	3.48	1.62-1.79
(-)-bornyl acetate	에집트숲모기	9.16 $\pm$ 0.16	6.42	2.21-2.45
	빨간집모기	8.15 $\pm$ 0.46	5.69	2.01-2.23
	중국얼룩날개모기	8.34 $\pm$ 1.19	8.16	1.08-1.33
Pirimiphos-methyl	에집트숲모기	1.75 $\pm$ 0.21	0.16	0.12-0.19
	빨간집모기	1.29 $\pm$ 0.56	0.14	0.11-0.18
	중국얼룩날개모기	1.43 $\pm$ 1.51	0.19	0.19-0.25

<sup>a</sup>exposed for 24 h. <sup>b</sup>cl denotes confidence limit.



표 6에서 모기유충 살충제로 사용되는 pirimiphos-methyl은 에집트숲모기와 빨간집모기 및 중국얼룩날개모기에 대하여 LC<sub>50</sub>값이 각각 0.16 ppm, 0.14 ppm, 0.19 ppm으로 나타났으며, 다음으로 편백나무 II 영급 잎 추출물로부터 분리·동정한 hinokitiol은 각각 2.91 ppm, 1.33 ppm, 3.15 ppm의 LC<sub>50</sub>값을 나타내었으며, limonene은 각각 3.19 ppm, 2.08 ppm, 3.48 ppm을, (-)-bornyl acetate는 각각 6.42 ppm, 5.69 ppm, 8.16 ppm을 나타내었다. 본 실험을 통해 hinokitiol이 편백나무 II 영급 잎 정유성분중에서 에집트숲모기와 빨간집모기 및 중국얼룩날개모기에 대해 가장 높은 활성을 나타내었으며, 또한 정유성분에서만 분리·동정한 limonene 역시 이와 비슷한 살충효과를 나타내는 것을 알 수 있었다. 그러나 모기유충 살충제 pirimiphos-methyl과 비교하여 볼 때 그 활성이 공시약제 보다 약한 활성을 보였다. 하지만 pirimiphos-methyl과 같은 합성 살충제를 사용하였을 경우 살충효과는 좋지만 지속적이고 반복적인 사용으로 생태계를 파괴하고 저항성을 초래하거나, 유용생물과 환경, 그리고 인간의 건강에 부작용을 유발할 수 있다. 그러나 지금 까지 편백나무 잎에서 유래된 천연살충물질과 독성 데이터를 살펴본 결과, 이들을 사용함에 있어서 인간에게 큰 위해가 없을 것으로 판단되어지며, 환경오염이 낮은 선택적인 천연살충제 개발에 도움을 줄 것이다.

## 제 6 절 분리 · 정제한 hinokitiol과 공시약제의 살충활성 비교 · 분석

여러 가지 분리방법과 각종 기기분석에 의해 동정된  $\beta$ -thujaplicin 및 limonene을 공시약제, 모기유충 살충제로 쓰이는 pirimiphos-methyl과 비교 실험하였다. Hinokitiol 및 limonene은 예집트숲모기 유충에 대해 LC<sub>50</sub> 값이 각각 2.91 ppm, 3.19 ppm이었으며, 빨간집모기의 LC<sub>50</sub> 값은 각각 1.33 ppm, 2.08 ppm이었으며 중국얼룩날개모기에 대해서는 각각 3.15 ppm, 3.48 ppm을 나타냈다. 합성살충제인 pirimiphos-methyl의 LC<sub>50</sub> 값은 예집트숲모기와 빨간집모기 및 중국얼룩날개모기에 대해 각각 0.16 ppm, 0.14 ppm, 0.19 ppm으로 본 연구실에서 분리 · 정제한 물질이 공시약제보다 약한 활성을 나타냈지만, pirimiphos-methyl과 같은 화학적 방제제는 효과적이긴 하지만 잔류독성과 인축에 독성을 나타낸다. 또한 지속기간이 짧아 자주 처리해 줘야 한다는 점과 고농도의 약제처리로 인한 저항성 개체 발생 등의 단점이 있다. 따라서 이들의 문제를 개선하고 보완하여 인축에 저독성이고 환경 친화형 약제를 개발하는데 있어서 편백나무의 잎으로부터 분리 · 동정한  $\beta$ -thujaplicin 및 limonene의 살충활성은 모기유충 방제제 개발에 신기능성 바이오 소재로서 충분한 가치가 있을 것으로 사료된다.

## 제 7 절 독성평가

산업화를 위한 독성평가에서는 제형화의 유무를 결정하기 전에 알려진 화합물에 대한 기존에 다른 기능으로 알려진 경우에는 Journal of America Mosquito Control Association, Journal of Agricultural and Food Chemistry, American Chemical Society 학술지나 US Environmental Protection Agency (EPA-미국환경청), U. S. Food and Drug Administration (FDA) 및 National Toxicology Program (NTP)의 독성자료를 분석하여 산업화를 위한 개발 가능성을 타진하였다. (표 7)

표 7. 모기유충에 살충효과를 지닌 화합물의 독성평가를 위한 LD<sub>50</sub>의 비교분석

화합물	LD <sub>50</sub>		
	rat	mouse	rabbit
myrcene	5,000 mg/kg	-	5,000 mg/kg
limonene	4,400 mg/kg	-	-
ψ-terpinene	3,650 mg/kg	-	-
β-thujaplicin	-	85 mg/kg	-
camphene	5,000 mg/kg	-	2,500 mg/kg
terpinen-4-ol	1,300 mg/kg	1,016 mg/kg	>2,500 mg/kg

LD<sub>50</sub>은 myrcene의 경우 rat과 rabbit에 대하여 각각 5,000 mg/kg, 5,000 mg/kg 이며, limonene은 rat에 4,400 mg/kg,  $\alpha$ -terpinene은 rat에 3,650 mg/kg,  $\beta$ -thujaplicin은 mouse에 85 mg/kg 이다. camphene은 rat과 rabbit에 각각 5,000 mg/kg, 2,500 mg/kg이며, terpinene-4-ol은 rat, mouse 그리고 rabbit에 대해 각각 1,300 mg/kg, 1,016 mg/kg, >2,500 mg/kg이다.

## 제 8 절 산업화를 위한 제형연구

살충물질의 가장 적합한 제형화를 피하고, 실제 야외검정을 통해 모기 유충 살충제로서 효과가 우수한 천연물질이라도 제형화가 어렵거나 제형과정 중에 발생하는 열에 의해 그 유효성분들의 질적인 활성유지가 어렵게 된다면 천연물 이용성에 있어서 큰 난관에 부딪히게 된다. 또한 그 물질이나 천연물에 합리적인 제형화에 성공하지 못하면 적용면에 한계성을 갖게 되기 때문에 활성물질의 특성에 합리적인 제형물과 살충효과의 지속성을 유지시킬 수 있는 제형화를 추구하기 위하여 고형물이나 액상을 위주로 녹여 사용할 수 있는 다양한 용매적용 실험을 수행하였다. (표 8)

표 8. 모기유충에 살충효과를 지닌 화합물의 다양한 용매적용 실험 비교

화합물	용매					
	메탄올	에탄올	클로로포름	에칠아세테이트	아세톤	물
myrcene	○	○	○	○	○	X
limonene	○	○	○	X	○	X
terpinen-4-ol	○	○	X	○	○	X
2,4,6-octatriene	○	○	○	X	○	X
β-caryophyllene	X	X	○	X	○	X
β-thujaplicin	○	○	○	○	○	X

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 제 1 절 연구개발 목표 달성도

#### 1. 모기유충살충제 문헌정보 수집 및 시료추출

- 천연 모기유충 살충제에 대한 다양한 정보는 미국환경청 (EPA), 미국환경평가센터 (PCTL), 미국농무성 (USDA), 일본 국·공립연구소, 한국독성학회, 한국임업학회, 한국농화학회, 한국응용곤충학회지, 한국곤충학회지, J. Entomology, J. Agricultural and Food Chemistry 등에서 수집하였으며, 또한 최근의 주요 모기유충 살충제 동향을 각국의 관련회사로부터 수시로 수집하였다.
- 헥산추출물은 거의가 정유 성분이므로 경제성 관점에서 불 때 굳이 분획화 하지 않고, 편백 및 측백나무 부산물 (잎, 줄기, 열매, 씨앗)을 수집하고 이들을 수증기 증류추출법으로 식물정유 성분을 추출하였다. 추출된 정유는 4℃ 냉장 보관하였다.

#### 2. 모기유충의 사육 및 생리활성 검색

- 실험은 예집트숲모기와 빨간집모기 유충을 대상으로 살충효과를 실험하였으며, 실험에 사용된 모기유충은 전라북도 전주시 백제교 근교 웅덩이에서 채집된 wild type을 그대로 사용하였음. 이들 유충을 공시충 사육상자에 16:8 h light:dark cycle하에서  $27 \pm 3^{\circ}\text{C}$  및  $80 \pm 10\% \text{RH}$ 의 조건에서 사육하여 실험에 이용하였음.
- 모기유충의 살충활성측정은 편백 및 측백나무의 부산물들 (줄기, 잎, 열매, 씨앗)의 수증기증류추출법에 의해 추출된 정유를 에탄올에 녹인 것을

Triton X-100 용액 (10 mg/L)을 이용하여 각 농도별로 희석한 것을 종이컵안의 모기유충들에 처리한 후 24시간 후에 사충율을 조사하였으며, 대조구는 Ethanol과 Triton X-100 용액만을 처리하고 24시간 후에 사충율을 조사하였음.

- 모기유충에 대한 시료의 살충활성 검정 실험 완료 - 전 세계적으로 심각한 문제를 야기하는 모기인 에집트숲모기 (*Aedes aegypti*)와 빨간집모기 (*Culex pipiens pallens*) 유충에 대하여 편백 및 측백나무 부산물 (잎, 줄기, 열매, 씨앗)의 정유 추출물의 활성을 검정하였음. 편백나무의 부산물 중에서는 잎 추출물의 경우에 에집트숲모기와 빨간집모기 유충에 대하여 강한 활성을 보였고, 줄기 추출물은 잎 추출물의 활성보다는 약한 활성을 보였으며, 씨앗과 열매는 전혀 활성을 보이지 않았음. 측백나무에서도 편백나무와 마찬가지로 잎 추출물의 경우에 가장 활성이 높았고, 열매에서 약한 활성을 보였으며, 줄기와 씨앗 추출물은 활성을 전혀 보이지 않았음. 측백나무 잎 추출물보다는 편백나무 잎 추출물의 경우에 모기유충에 대한 살충활성이 높게 나타남을 확인하여 실험 완료.
- 시료 부산물 중에 모기유충에 생리활성이 우수한 부산물의 연령별 시료의 활성 검정실험 완료- 모기유충에 우수한 생리활성을 보인 편백나무 잎과 측백나무 잎을 I 영급 (0-10년), II 영급 (11-20년), III 영급 (21-30년) 으로 분류, 수집하여 헥산을 이용하여 정유를 추출하였으며, 추출물을 2종의 에집트숲모기와 빨간집모기 유충에 대하여 활성 검정 실험을 수행하였음. 편백나무 잎 추출물의 경우 2종의 모기유충에 대해 II 영급의 시료가 우수한 생리활성을 보였으며, I 영급과 III 영급은 II 영급의 시료보다 약한 활성을 보였음. 측백나무 잎 추출물에서도 마찬가지로 2종의 모기유충에 대하여 II 영급의 시료가 우수한 활성을 보였으나, 편백나무 잎과 비교하여 약한 활성을 보였고, 측백나무 잎의 III 영급 시료는 매우 약한 활성을 보였으며, I 영급 시료는 활성을 보이지 않음을 확인하여 실험 완료.

### 3. 편백 및 측백나무 부산물 중에 생리활성이 우수한 부산물의 정유추출과 GC-Mass에 의한 성분분석 비교

- 모기유충에 우수한 생리활성을 갖는 부산물의 살충활성물질의 분리 및 정제 완료 - 2종의 모기유충에 대한 강한 활성을 가지는 것은 편백 및 측백나무의 부산물들 (잎, 줄기, 열매, 씨앗)의 정유추출물중 편백나무 잎 추출물이었으며, 이를 분리정제 하였음.
- 모기유충에 우수한 생리활성을 갖는 살충물질의 구조 동정완료 - 편백나무 II 영급의 부산물들의 수증기증류추출법에 의해 추출된 오일성분을 UV, Mass spectrum,  $^1\text{H}$ - 및  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum 및  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY spectrum 등을 이용하여 살충활성 물질의 구조를 동정한 결과, 분리한 물질이 hinokitiol 이었음.
- 모기유충에 우수한 생리활성을 갖는 부산물로부터 동정한 물질의 살충활성 검정 완료 - 모기유충에 대해 분리 동정한 물질의 살충활성 검정 실험을 수행한 결과, 예집트숲모기의  $\text{LC}_{50}$  값이 2.91 ppm이었으며, 빨간집모기의  $\text{LC}_{50}$  값은 1.33 ppm임. 그리고 공시약제로 널리 사용되고 있는 살충제인 pirimiphos-methyl의  $\text{LC}_{50}$  값이 각각 0.16, 0.14 ppm을 나타내어 본 연구실에서 분리·동정한 물질이 공시약제보다 약한 활성을 보였지만 인축에 저독성이고 환경 친화형 약제 개발에 도움을 줄 것이라고 판단됨.

### 4. 생리활성물질의 안정성 검정

- 산업화를 위한 독성평가에서는 제형화의 유무를 결정하기 전에 알려진 화합물에 대한 기준에 다른 기능으로 알려진 경우에는 Journal of America Mosquito Control Association, Journal of Agricultural and



Food Chemistry, American Chemical Society 학술지나 US Environmental Protection Agency (EPA-미국환경청), U.S. Food and Drug Administration (FDA) 및 National Toxicology Program (NTP), 미국농무성 (USDA)의 독성자료를 수집하였음. 그 외에도 한국독성학회 및 바이오소재에 대한 관심기업과 상호조사를 통하여 조사하였음.

## 5. 공시약제와 비교분석 및 특허출원

- 최근 모기유충 살충제로 사용되고 있는 공시약제 (pirimiphos-methyl)를 대조구로 사용하여 비교분석 하였음.
- 모기유충 방제제와 비교 분석한 연구 자료를 토대로 장 · 단점을 상품적 입장에서 비교 평가하였음.
- 위생해충에 대한 신기능성 바이오소재의 특허출원 완료.
- 제조 공정을 기업적 측면에서 검토하여 제품의 실용화 가능성 검토.

## 제 2 절 대외기여도

### 1. 학술분야

#### 가. 논문 발표

- 1) Ju-Hyun Jeon, Sang-Hyun Lee, Moo-Key Kim, and Hoi-Seon Lee. 2005. Larvicidal Activity of *Chamaecyparis obtusa* and *Thuja orientalis* Leaf Oils against Two Mosquito Species. *Agric. Chem. Biotechnol.* 48(1): 26-28
- 2) Young-Su Jang, Ju-Hyun Jeon, and Hoi-Seon Lee. Mosquito Larvicidal Activity of Active Constituent Derived from *Chamaecyparis obtusa* Leaves against Three Mosquito Species. 2005. In press

#### 나. 포스터 발표

- 1) Chi-Hoon Lee, Ju-Hyun Jeon, and Hoi-Seon Lee. 2005. Larvicidal Agent Derived from *Chamaecyparis obtusa* Leaves against Three Mosquito Larvae. 한국생물공학회, pp 454, P814
- 2) Chi-Hoon Lee, Hoi-Seon Lee. 2005. Potential Mosquito Larval Control Agents against *Aedes aegypti*, *Aedes togoi*, and *Culex pipiens pallens*. 한국응용생명화학회 춘계학술대회, pp 175 NF-34

## 제 5 장 연구개발 결과의 기대효과 및 활용방안

### 제 1 절 기대효과

#### 1. 기술적 측면

- 편백 및 측백나무과의 주요 자원수종에 대한 생태학적 정보인프라를 구축 및 성장정보를 제공
- 편백 및 측백나무의 바이오성분 함량분석과 생리활성 상관관계도 작성을 통하여 현지 임가에 대한 과학적이고 체계적인 영농지도가 가능해질 것임
- 모기유충의 천연살충제 개발을 통하여 선진국 및 국내연구에 전무한 천연살충제의 연구수준을 향상시킴과 동시에 타 살충제 개발에 귀중한 기술적 자료를 제공 및 상업적 이용 가능성 제공
- 생리활성물질 탐색에 관한 국내연구는 의약학 및 농약분야에서 이루어지고 있으나 모기유충 살충제에 대해서는 세계적으로 아직 체계적인 연구가 거의 이루어지지 않고 있는 상태에서 본 연구는 간편하면서도 신속 정확한 생물검정법을 확립
- 편백 및 측백나무 유효성분의 검색 및 생산·이용기술 개발을 통하여 임가의 고부가가치화를 위한 가공기술의 개선, 임업산업에서의 기술향상 및 관련기술의 상업적 이용 가능성 제공
- 편백 및 측백나무 유효성분에 대한 효율적 정제기술 개발로 고순도 바이오소재 제조가 가능해지면 이는 다른 임업작물의 유사구조물질에 대한 정제기술 개발에도 활용
- 본 연구개발(천연살충제 및 살비제)을 통하여 그 중요성이 점차 강조되고 있는 위생해충의 생리활성물질 탐색 및 이용 분야의 전문가를 양성할 수 있음

## 2. 경제 · 산업적 측면

- 국내 산림자원 업계의 국내외 시장경쟁력을 부여함으로써 고부가가치성 산림자원을 집단 재배하여 임가소득 증대를 도모하는데 기여할 수 있음
- 본 연구개발로 편백 및 측백나무의 성장특성, 위생해충 방제성분에 대한 체계적인 검색 및 생산기술, 제제화 응용기술이 확립되면 이로 인한 원료의 부가가치 증대는 20%만 가정하여도 연간 약 400~500억원 규모로 예상됨
- 고순도의 바이오소재 정제기술이 확립되면 위생해충 방제를 위한 고순도 정제품의 가격을 고려해볼 때 높은 부가가치 증대를 기대할 수 있음
- 합리적인 산림생장을 파악할 수 있어 측백 및 편백을 이용한 생물산업에 필요한 자원의 효율적 경영의 극대화 가능
- 기능성음료 보급으로 증가하고 있는 암 등 성인병 예방 및 노인성 질환 발생억제로 의료비 절감 가능
- UR에 대비한 임목재배농가의 부가가치 증대에 기여함으로써 임목농가에 항구적 원료 공급원 제공으로 임목 재배농가의 소득 향상 가능
- 위생해충 방제 및 관련 질환은 최근 국내외의 중요질환 중의 하나이므로 편백 및 측백나무에서 유효성분을 생산하고 그 이용방안을 확립하면 지구온난화 및 환경오염으로 유발된 위생해충 관련 질환의 예방과 치료에 크게 기여할 것으로 기대되고 새로운 산업으로 육성 가능
- 편백 및 측백나무의 산림생장 정보를 제공하여 이를 이용한 생물산업의 부가가치 제고
- 천연살충제의 특허출원 및 제형화를 통한 개발기술의 산업화를 통해 시장전망이 밝은 국내 및 세계 위생해충 시장으로의 진출 기대

## 제 2 절 활용방안

- 편백 및 측백나무과의 주요 자원수종에 대한 생태학적 정보인프라를 구축함으로써 임업 소득자원 식물의 증식 및 산림자원의 관리 방향에 대한 지침서로 활용
- 다양한 형태의 산림생장 예측 모형의 실용화 방안에 이용하고 환경 친화적 산림경영에 활용
- 개발된 위생해충 방제제의 대량생산 및 판매가 가능한 기업(애경, 내츄로 바이오텍, 선경, LG, 한올제약)에 기술을 전수하여 기업화 유도
- 편백 및 측백나무과 유효성분의 생산·이용에 관한 주요기술은 특허화하여 국내 위생해충 방제산업의 국제경쟁력 제고에 활용함
- 연구결과와 학회발표 등을 통하여 일반에 널리 홍보하여 관련연구 촉진에 의한 임목재배 농가의 부가가치 증대에 기여 및 개발기술은 특허 출원
- 필요시 연구종료 후에 임업인 단체 혹은 위생해충 방제관련 산업계와 산업화를 위한 제품다양화 및 추가적인 공동연구를 모색
- 편백 및 측백나무과의 유효성분 함량분석 및 생리활성 평가결과는 주산지 소재의 농업기술센터에 보급하여 영농지도시의 자료로 활용
- 최근 건강에 대한 국민의 관심이 지극히 고조되고 있으며 이에 못지않게 건강에 대해 불안을 느끼는 사람이 많아 환경오염으로 유래된 위생해충을 방제하는 바이오 생리활성 물질의 수요는 급증할 전망
- 특히 국내 산림자원을 원료로 폭넓게 이용함으로써 원료 생산과 소비를 촉진할 수 있고, 새로운 위생해충시장을 개척하여 원료 생산자 보호 및 관련 산업육성의 효과를 거둘 수 있을 것임

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

해당사항 없음

## 제 7 장 참고문헌

1. Maillard, M., Marston, A. and Hostettmann, K. (1993) Search for molluscicidal and larvicidal agents from plants. In human medicinal agents from plants, Balandrin, M. (ed.) American Chemical Society, Washington DC.
2. Peiris, J. S. M. and Amerasinghe, F. P. (1994) West Nile fever. In handbook of zoonoses, Beran, G. W., Stelle, J. H. (ed.) CRC Press, Florida.
3. Rozendaal, J. A. (1990) Mosquitoes and other biting Diptera. In *Vector Control*. pp. 5-177, World Health Organization, Geneva, Switzerland.
4. Brown, A. W. A. (1983) Insecticide resistance as a factor in the integrated control of Culicidae. In *Integrated mosquito control methodologies* Laird, M. and Miles, J. W. (ed.) pp. 161-235, Academic Press, New York.
5. Hayes, W. J. Jr. and Laws, E. R. Jr. (1991) In *Handbook of Pesticide Toxicology*, Vol. 1, Academic Press, New York.
6. Chandre, F., Darriet, F., Darder, M., Cuany, A., Doannio, J. M. C., Pasteur, N. and Guillet, P. (1998) Pyrethroid resistance in *Culex quinquefasciatus* from West Africa. *Med. Vet. Entomol.* 12, 359-366.
7. Casida, J. E. and Quistad, G. B. (2000) Insecticide targets: learning to keep up with resistance and changing concepts of safety. *Agric. Chem. Biotechnol.* 43, 185-191.
8. Lee, S. E., Kim, J. E. and Lee, H. S. (2001) Insecticide resistance in increasing interest. *Agric. Chem. Biotechnol.* 44, 105-112.
9. Kim, M. J., Ahn, Y. J., Kim, M. K., Kim, H. Y. and Lee, H. S. (2001) Rat intestinal  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of leguminous seed

- extracts. *Agric. Chem. Biotechnol.* 44, 1-5.
10. Cheng, S. S., Chang, H. T., Chang, S. T., Tsai, K. H. and Chen, W. J. (2003) Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. *Biores. Tech.* 89, 99-102.
  11. Hieda, T., Tazaki, M., Morishita, Y., Aoki, T. and Nagahama, S. (1996) Sesquiterpene alcohols from *Chamaecyparis obtusa* leaf oil. *Phytochemistry.* 42, 159-162
  12. Chizzola, R., Hochsteiner, W. and Hajek, S. (2004) GC analysis of essential oils in the rumen fluid after incubation of *Thuja orientalis* twigs in the Rusitec system. *Res. Vet. Sci.* 76, 77-82.
  13. Koyama, S., Yamaguchi, Y., Tanaka, S. and Motoyoshiya, J. (1997) A new substance (Yoshixol) with an interesting antibiotic mechanism from wood oil of Japanese traditional tree (Kiso-hinoki), *Chamaecyparis obtusa*. *Gen. Pharmac.* 28, 797-804.
  14. Sung, B. K., Kim, M. K., Lee, S. H., Son, J. G. and Lee, H. S. (2004) Acaricidal activity of essential oils derived from 10 cupressaceae species against stored food and house dust mites. *Food Sci. Biotechnol.* 13, 376-380.
  15. Oh, D. H. (2000) Antimicrobial activities of *Thuja orientalis* L. and *Acoru graminens* scoland on the harmful microorganisms. *J. Agr. Sci.* 11, 47-55.
  16. Lee, K. K. (1999) Antimicrobial activity of *Thuja orientalis* and *Chamaecyparis obtusa* essential oil. *Kor. Soc. Cosmetology.* 5, 567-577.
  17. Yu, J. Q. and Komada, H. (1999) Hinoki (*Chamaecyparis obtusa*) bark, a substrate with anti-pathogen properties that suppress some root diseases of tomato. *Sci. Horticulturae.* 81, 13-24.
  18. Park, I. K., Lee, S. G., Choi, D. H., Park, J. D. and Ahn, Y. J. (2003)



- Insecticidal activities of constituents identified in the essential oil from leaves of *Chamaecyparis obtusa* against *Callosobruchus chinensis* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.). *J. Stored Prod. Res.* 39, 375-384.
19. Park, I. K., Lee, S. G., Choi, D. H., Park, J. D. and Ahn, Y. J. (2003) Insecticidal activities of constituents identified in the essential oil from leaves of *Chamaecyparis obtusa* against *Callosobruchus chinensis* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.). *J. Stored Prod. Res.* 39, 375-384.
  20. Jang, Y. S., Baek, B. R., Yang, Y. C., Kim, M. K. and Lee, H. S. (2002) Larvicidal activity of leguminous seeds and grains against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens pallens* (Diptera: Culicidae). *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 18, 210-213.
  21. SAS Institute. (1990) *SAS/STAT User's Guide, Version 6* SAS Institute, Cary, NC.
  22. Arnason JT, Philogene BJR, Morand P. 1989. In *Insecticides of plant origin*. ACS Symp. Ser. No. 387. Am. Chem. Soc. Washington, D. C.
  23. Jang YS, Lee CH, Kim MK, Kim JH, Lee SH, Lee HS. 2005. Acaricidal activity of active constituent isolated in *Chamaecyparis obtusa* leaves against *Dermatophagoides* spp. *J. Agric. Food Chem.* In press.
  24. Kil BS. 2000. Allelopathic effects of volatile substances from *Chamaecyparis obtuse*. *Korean J. Ecol.* 23: 323-329.
  25. Minijas JN, Sarda RK. 1986. Laboratory observations on the toxicity of *Swartzia madagascariensis* (Leguminosae) extract to mosquito larvae. *Trans R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 80: 460-461
  26. Perich MJ, Wells C, Bertsch M, Treadway KE. 1994. Toxicity of extracts from three *Tagetes* against adults and larvae of yellow fever mosquito and *Anopheles stenphensi* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* 31: 833-837.

27. Perich MJ, Wells C, Bertsch M, Treadway KE. 1995. Isolation of the insecticidal components of *Tagetes minuta* (Compositae) against mosquito larvae and adults. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.* 11: 307-310.
28. Penilla RP, Rodriguez AD, Hemingway J, Torres JL, Arredondo-Jimenez JI, Rodriguez MH. 1998. Resistance management strategies in malaria vector mosquito control. Baseline data for a large-scale field trial against *Anopheles albimanus* in Mexico. *Med. Vet. Entomol.* 12: 217-233.
29. Sujatha CH, Vasuki V, Mariappan T, Kalyanasundaran M, Das PK. 1988. Evaluation of plant extracts for biological activity against mosquitoes. *Int. Pest Control* 30: 122-124.
30. Sukumar K, Perich MJ, Boobar LR. 1991. Botanical derivatives in mosquito control: a review. *J Am. Mosq. Control Assoc.* 7: 210-237.
31. WHO [World Health Organization]. 1992. *Vector resistance to pesticides. Report to the WHO Expert Committee on Vector Biology and Control.* Geneva, Switzerland: World Health Organization.
32. Wink M. 1993. Production and application of phytochemicals from an agricultural perspective. In *Phytochemistry and Agriculture* (van Beek TA, Breteler H. eds.). Clarendon Press, Oxford, pp. 171-213.
33. Yaeno A, Yoriko N, Rituko H, Takeshi N. 2003. Antibacterial effect of b-thujaplicin on staphylococci isolated from atopic dermatitis: relationship between changes in the number of viable bacterial cells and clinical improvement in an eczematous lesion of atopic dermatitis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 51: 113-122.
34. Yang YC, Lee SG, Lee HK, Kim MK, Lee SH, Lee HS. 2002. A piperidine amide extracted from *Piper longum* L. fruit shows activity against *Aedes aegypti* mosquito larvae. *J. Agric. Food Chem.* 50:

3765-3767.

35. Yang YC, Lim MY, Lee HS. 2003. Emodin isolated from *Cassia obtusifolia* (Leguminosae) seed shows larvicidal activity against three mosquito species. *J. Agric. Food Chem.* 51: 7629-7631.

## 주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.