

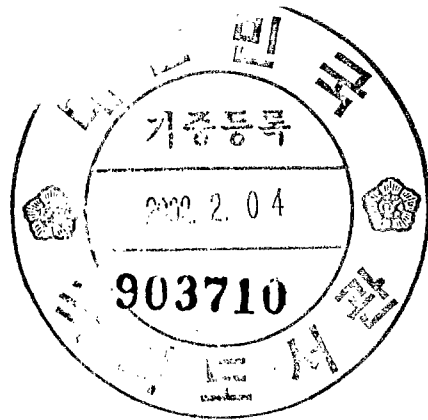
최 종
연구보고서

**물푸레나무를 이용한 고기능성 약제 및
목질재료 개발에 관한 연구**

Studies on the development of high functional drugs
and wood-based materials using korean ash
(*Fraxinus rhynchophylla*)

연구기관
강원대학교

농 립 부



최 종 보 고 서

1998년도 농림기술개발사업에 의하여 완료한 물푸레나무를 이용한 고기능성 약제 및 목질재료 개발에 관한 연구의 최종보고서를 별첨과 같이 제출합니다.

- 첨부 : 1. 최종보고서 10부
2. 최종보고서 디스켓 1매

2001. 10. 20.

주 관 연구 기관 : 강원대학교

총괄연구책임자 : 배 영 수 (인)

주관연구기관장 : 강원대학교 총장 직 인

농 립 부 장 관 귀 하

제 출 문

농림부장관 귀하

본 보고서를 “블푸레나무를 이용한 고기능성 약제 및 목질재료 개발에 관한 연구
과제의 최종보고서로 제출합니다.

2001. 10. 20

주관연구기관명 : 강원대학교
총괄연구책임자 : 배 영 수
세부연구책임자 : 김 남 훈
연 구 원 : 박 완 근
연 구 원 : 최 돈 하
연 구 원 : 이 성 숙
연 구 원 : 이 범 진
연 구 원 : 홍 순 일
연 구 원 : 이 성 재
연 구 원 : 함 연 호
연 구 원 : 김 진 규
연 구 원 : 이 상 극
연 구 원 : 조 재 현
연 구 원 : 최 재 우
연 구 원 : 황 원 중

요 약 문

I. 제 목

물푸레나무를 이용한 고기능성 약제 및 목질재료 개발에 관한 연구

II. 연구개발의 목적 및 중요성

물푸레나무는 예로부터 해열, 설사, 이질 및 눈병 등의 약리효과를 나타내는 것으로 알려지고 있으며, 역학적 성질, 특히 휨에 대한 韌性과 耐衝擊性이 우수하여 운동용구, 농기구, 차량용품 등의 주요 부품으로 사용되어 왔다.

그러나 국내의 산과 계곡에 많이 분포하고 있으나, 용도개발이 미진한 물푸레나무를 대상으로 추출분획물과 단리 화합물에 대한 약리효과 및 생리활성 검정을 통하여 유용한 성분을 선별하고 이들을 이용한 항산화제, 항균제 또는 항종양제 등의 기능성 약제 및 건강 보조식품 등으로의 용도를 개발하고 국내산 물푸레나무의 재질을 평가하여 고기능성 목질재료 개발을 목표로 본 연구를 수행하였다.

III. 연구개발 내용 및 범위

물푸레 나무의 수피 추출물을 대상으로 추출물을 분리하고 이에 대한 생리활성효과를 검증하여 항산화제 등의 기능성 약제를 개발하고, 목질부는 기초재질조사 및 역학적 성질 등을 조사하여 화학적 처리 등을 통한 고밀도 및 칫수안정화 목재의 제조

가능성을 타진하여 기능성 특수소재를 개발하고자 하였다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 물푸레나무를 이용한 고기능성 약제 개발

가. 성분분석

국내에 자생하는 물푸레나무, 쇠물푸레나무 그리고 들메나무의 수피를 채취하여 아세톤-물(7:3, v/v)로 추출한 후 동결 건조시켜서 분말로 제조하였고 Sephadex LH-20 및 TSK 40F로 충전한 칼럼 상에서 메탄올, 에탄올 그리고 에탄올-헥산 혼합액을 용리용매로 사용하여 칼럼크로마토그래피를 실시하였다.

단리된 화합물들은 TLC로 확인한 후 NMR 스펙트럼을 사용하여 정확한 구조규명을 하였고 FAB-MS로 분자량을 측정하였다.

분석결과 쿠마린 유도체들이 다량으로 포함되어 있었으며 소량의 ester 형태의 화합물들도 단리되었다.

물푸레나무와 쇠물푸레나무에서는 aesculin, aesculin 및 fraxetin과 같은 쿠마린 화합물과 ligstroside와 oleuropein과 같은 ester 형태의 화합물들이 모두 단리 되었으며 들메나무에서는 isoligstroside 및 ester 형태의 화합물만 단리 되었다.

나. 생리활성 시험

1) 항균 및 항세균 활성 시험

물푸레나무 수피 추출물에 대한 항균 및 항세균 활성은 낮은 것으로 나타났다.

2) 항산화활성 시험

물푸레나무 수피와 쇠물푸레나무 수피의 에틸아세테이트 분획물이 항산화 활성이 우수하였으며 추출성분중 대부분을 차지하는 aesculetin은 다른 후라보노이드 화합물 및 천연 항산화제인 α -tocopherol 보다 항산화활성이 우수하였다.

3) Aesculetin 첨가와 산소농도가 한우 체외수정란의 체외발육에 미치는 효과

본 실험의 결과로 볼 때 aesculetin은 소 체외수정란의 체외배양시 항산화제 작용을 하는 것으로 생각되며 배양액 내에 각각의 aesculetin($1\mu\text{g/ml}$)과 taurine(2.5mM)에 growth factor(PDGF, 1ng/ml ; EGF, 10ng/ml)의 혼합첨가구가 각각 70.0%, 58.0%, 56.0% 및 66.6%로써 무첨가구 46.0% 보다 높은 상실배기 이상의 체외발육율을 얻어, 항산화제(aesculetin과 taurine)와 growth factor(EGF와 PDGF)의 첨가 배양이 공동효과를 나타내어 체외수정란의 발육을 촉진한 것으로 사료되며 aesculetin이 체외발육율을 증진시키기 위한 항산화제로서 적합하며, 또한 배양액내에 적절한 항산화제 첨가(aesculetin과 taurine)와 growth factor(EGF와 PDGF)의 첨가는 후기 배발육의 발육 억제현상을 극복하고 체외발육을 향상시키는 효과적인 방법으로 이용될 수 있다고 생각된다.

4) 유전독성 시험

물푸레나무 수피 추출물 및 aesculetin 화합물에 대한 Ames test, Micro nucleus test 결과 유전자 돌연변이를 일으킬 수 있는 돌연변이원성의 물질이 없었다.

5) *in vitro* 항암시험(MTT assay)

물푸레 수피 추출물, aesculetin, fraxetin 및 aesculin의 4개 시료에 대하여 MTT assay를 수행한 결과 시료 모두에서 유의성 있는 암세포 증식 억제효과를 나타내지는 못하였다.

다. 항산화제 제조

Aesculetin 미세분말 30g, Avicel 101 45g, lactose 105g, PVP 15g과 에탄올 수용액 150ml를 이용하여 과립으로 제조하였으며 100mg의 aesculetin 분말, Avicel 102 191mg, 마그네슘 경지산염(硬脂酸鹽) 7mg과 Cab-O-Sil 2mg을 혼합 조성물로 정제 상으로 제조하였다.

2. 물푸레나무를 이용한 고기능성 목질재료 개발

이 장에서는 한국산 물푸레나무속 주요 수종의 해부학적 및 물리·역학적 특성들을 조사하였다. 또한, 이 연구에서는 목재의 합리적인 이용을 위한 화학적 처리에 대해 기초적인 자료를 제공하고자 하였다.

가. 한국산 물푸레나무속의 해부학적 특성

물푸레나무속의 물푸레나무, 들메나무 및 쇠물푸레나무의 해부학적 특성을 광학현미경법과 화상분석법에 의해 조사하였다.

공시 수종간에 연륜 경계의 명확성을 비롯한 도관 요소의 직경, 축방향유조직의 배열상태, 구성세포의 비율에서 차이가 있었다. 구성요소의 방사방향 변이에 있어서, 목 섬유 길이, 도관 요소 직경 및 길이는 수심 부위에서 작고 약 10-15 연륜까지 증가한 후 안정되었다. 결론적으로 본 연구 결과는 물푸레나무속 세 수종의 식별 자료 및 성숙제와 미성숙제를 구분하는 재질 지표치로 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

나. 한국산 물푸레나무속의 물리·역학적 특성

물푸레나무속 주요 수종의 물리 및 역학적 특성들은 KS 규격(KS F 2206, 2208, 2209, 2211)에 의해 조사하였다. 물푸레나무와 쇠물푸레나무의 생재함수율은 변·심재간 차이가 없었으나, 들메나무의 심재는 변재보다 다소 높았다. 들메나무의 생재밀도와 전건밀도는 다른 두 수종에 비해 낮게 나타났다. 쇠물푸레나무 변재의 수축·팽윤율은 물푸레나무보다 다소 높은 값을 보여주었다. 쇠물푸레나무의 종압축강도(MOR)와 영계수(MOE)는 다른 두 수종보다 다소 낮았다. 쇠물푸레나무 방사·접선단면의 전단강도는 다른 두 수종보다 높게 나타났으며, 세 수종 모두 방사단면 전단강도가 접선단면보다 높게 나타났다. 휨 특성에서, 세 수종의 목재는 최종 용도를 위해 적합한 재질을 가지고 있는 것으로 나타났다. 물푸레나무와 들메나무의 충격휨흡수에너지는 차이가 없었다.

다. 고기능성 목질재료 I - 알칼리처리 목재의 특성 -

한국산 물푸레나무속 주요 수종의 고부가가치화를 위한 기초 연구로서, 물푸레나무 알칼리 처리재의 특성은 여러 농도의 알칼리 수용액에서 조사되었다. 알칼리 처리후 밀도는 알칼리 농도에 따라 증가하였다. 목재시료는 알칼리 팽윤 동안 치수가 팽윤되었고, 그 후 수세와 기건상태에 의해 크게 수축하였다. 알칼리 처리후 기건상태의 목재시료는 방사방향과 접선방향 간에 수축율의 차이가 거의 없는 등방적인 수축의 특징을 보여주었다. X선 회절분석결과 알칼리 처리에 의해 목재 셀룰로오스 결정의 변화는 없었고, (1 $\bar{1}$ 0)과 (110) 결정면이 명확히 분리되었다.

라. 고기능성 목질재료 II - PEG 처리재의 특성 -

이 연구는 물푸레나무재의 칫수안정성을 평가하기 위해 분자량 1000, 2000, 4000인 PEG를 이용하여 검토하였다. 이 연구는 중량비가 10%, 20%, 30%인 PEG용액을 사용하였으며, 목재의 PEG 처리는 상온, 50℃ 및 70℃에서 수행되었다. 그 결과는 다음과 같다.

1. 물푸레나무재의 수축율은 PEG 처리에 의해 크게 감소되었으며, PEG 분자량 1,000 ~ 4,000의 30%에서 수축률이 크게 감소하였다.
2. 물푸레나무재의 중량증가율은 PEG처리 농도의 증가에 따라 높아졌다.
3. 물푸레나무재의 벌킹효과는 PEG 처리농도에 따라 증가되었으나, PEG 분자량이 높아질수록 벌킹 효과가 다소 감소되었다.
4. PEG 처리재의 변·심재의 휨 강도는 미처리재보다 낮게 나타났다.
5. PEG 처리재의 충격휨흡수에너지는 미처리재보다 높았다.

SUMMARY

I . Subject

Studies on the development of high functional drugs and wood-based materials using korean ash (*Fraxinus rhynchophylla*)

II . Purpose and Importance of the Research

The bark of korean ash(*Fraxinus rhynchophylla*) has been used as a valuable pharmaceutical material to cure some diseases such as fever, diarrhea and dysentery etc., and its wood also has been used as a useful material to manufacture sporting goods, agricultural tools and automobile goods because of the good mechanical properties such as toughness on bending stress and absorbed energy in impact bending.

However, its utilization study has never been done yet although the ash tree is widely distributed in domestic forest.

This research was carried out to evaluate the potentials that can utilize korean ash to manufacture some functional medicinal drugs or wood-based materials.

III . Contents and Scope of the Research

This study includes two kinds of research subjects.

One is the chemical utilization of korean ash which consists of the isolation and characterization of its bark extractives using some spectroscopic analyses such as NMR and MS, some biological activity tests such as antioxidation or antibacterial, antibiotic and anticancer effects to confirm the functionality of the extractives, and finally manufacturing some medicinal drugs using functional materials of the extractives.

Another is the mechanical application which consists of the investigation of anatomical, mechanical and physical properties of the ash wood, modification of the wood using alkali or polyethyleneglycol(PEG) treatment to develop functional wood-based materials, and finally manufacturing some functional wood-based materials using the modified wood.

IV. Results and Suggestion

1. Studies on the development of high functional drugs using korean ash(*Fraxinus rhynchophylla*)

A. Isolation and characterization of bark extractives

The bark of *Fraxinus rhynchophylla*, *Fraxinus sieboldiana* and *Fraxinus mandshurica* were collected, extracted and freeze dried to get some crude powder. A portion of the powder was chromatographed on a Sephadex LH-20 and a TSK 40F column using aqueous methanol, ethanol or ethanol-hexane mixture as eluents. NMR and MS analyses including TLC were performed to characterized the

isolated compounds.

The bark extractives contained abundant coumarin derivatives in addition to a small quantity of ester compounds. The bark of *F. rhynchophylla* and *F. sieboldiana* contained abundant coumarin compounds such as aesculetin, aesculin and fraxetin, and a small amount of ester compounds such as ligstroside and oleuropein. However, the bark of *F. mandshurica* contained only a small quantity of isoligstroside and ester compounds.

B. Biological activity test

① Antifungal and antibacterial tests using the bark extractives of korean ash indicated low activities and these facts suggest that the extractives may have a little potential to utilize manufacturing any antimicrobial reagents.

② Genotoxicity test including Ames and micronucleus tests on the crude extractives and aesculetin did not indicate genotoxicitic effect, and this means that the extractives of korean ash are harmless for people and can be utilized to manufacture any functional drugs or foods.

③ However, anticancer test *in vitro*(MTT assay) on some samples such as crude extractives, aesculetin, aesculin and fraxetin indicated no cytocidal effect and this suggests the korean ash extractives has no anticancer activity.

④ Antioxidative test on hexane, CH₂Cl₂, EtOAc and H₂O fractions of the korean ash extractives indicated that EtOAc fraction showed the highest antioxidative

activity. Furthermore, aesculetin which was isolated from EtOAc fraction indicated higher antioxidative activity compared to α -tocopherol, a commercial antioxidant.

This fact suggests that the korean ash extractives, especially aesculetin, can be applied to manufacture an antioxidant substitute for commercial one such as α -tocopherol.

Also the study on the effect of aesculetin on the development of cow(Hanwoo) IVM/IVF embryos indicated that antioxidant group as CR1aa medium containing aesculetin and taurine was higher developmental rates than control. This suggests that both aesculetin and taurine plus growth factor have a positive effect on the development of the embryos.

C. Manufacturing antioxidants

Two kinds of natural antioxidants, granule and tablet types, were manufactured using some aesculetin powder purified from the korean ash extractives. The recipe of the granule type antioxidant was aesculetin 30g, Avicel 101 45g, lactose 105g, starch 70g, PVP 15g and aqueous ethanol 150ml, and the recipe of the tablet was aesculetin 100mg, Avicel 102 191mg, magnesium stearate 7mg and Cab-O-Sil 2mg.

2. Studies on the development of high functional wood-based materials using korean ash (*Fraxinus rhynchophylla*)

A. Anatomical characteristics of ash species

Anatomical characteristics of *F. rhynchophylla*, *F. mandshurica* and *F.*

sieboldiana were investigated using an optical microscopy and an image analysis. Some characteristics such as boundary of annual rings, shape and size of vessel elements, arrangement of axial parenchyma cells in cross section, and cell volumetric composition indicated significant differences among the sample species. In the radial variation of cell elements, fiber length and vessel size were increased from pith to about 10 to 15 annual rings, then reached almost constant size. The result of this study can be used for identification of wood and indices of wood quality in *Fraxinus* species.

B. Physical and mechanical properties of ash species

Physical and mechanical properties of ash species were examined by Korean Standard Testing Methods(KS F 2206, 2208, 2209, 2211). Green moisture content of *F. rhynchophylla* and *F. sieboldiana* was almost similar value between sapwood and heartwood. However, heartwood of *F. mandshurica* showed little higher moisture content than sapwood. Green and oven-dry density of *F. mandshurica* were lower than those of *F. rhynchophylla* and *F. sieboldiana*. Swelling and shrinkage of sapwood in *F. sieboldiana* indicated some higher value than those of *F. rhynchophylla*. Longitudinal compressive strength and MOE in *F. sieboldiana* were lower than those of the other species. Shearing strength in radial section was higher than that of tangential section of all tested samples. It could be noted that shearing strength of *F. sieboldiana* demonstrated higher value than that of the other species. In bending properties, the woods of all species indicated high quality for end use. Impact bending absorbed energy between *F. rhynchophylla* and *F. mandshurica* did not indicated any significant difference.

C. High functional wood-based material I

- properties of alkali-treated wood -

As a basic study for high value-added utilization of ash species, the characteristics of alkali-treated wood of *F. rhynchophylla* were investigated on the different several concentration of alkali solution. Density of alkali-treated woods was highly increased in proportion to alkali concentration. Woods samples were swelled in their dimensions during alkali swelling, then thereafter they were highly shrank during water washing and air drying. The air dried wood samples after alkali treatment indicated almost isotropic shrinkage in tangential and radial directions. X-ray diffraction analysis revealed that the crystal structure of wood cellulose during alkali swelling did not change.

D. High functional wood-based material II

- properties of PEG-treated wood -

This study was carried out to investigate the dimensional stability of ash species by PEG(molecular weight 1000, 2000, 4000) treatment. Mass percentage of PEG solution were 10, 20 and 30%, and PEG treatment of woods was performed at room temperature, 50°C and 70°C. The obtained results can be summarized as follows;

① Shrinkage of *F. rhynchophylla* wood was decreased in inverse proportion to the concentration of PEG. Dimensional change was highly decreased in 30% concentration of PEG(molecular weight 1000, 2000, 4000) solution

② Weight gain of PEG-treated wood was increased in proportion to the

concentration of PEG.

③ Bulking effect of PEG-treated wood was increased due to the concentration increase. However, it was decreased in inverse proportion to the molecular weight increase.

④ Bending strength of sapwood and heartwood of PEG-treated woods showed lower value than that of untreated wood.

⑤ Absorbed energy in impact bending of PEG-treated was higher than that of untreated wood.

CONTENTS

SUMMARY(in KOREA)	2
SUMMARY	8
CONTENTS	15
CONTENTS(in KOREA)	17
TABLE	19
FIGURE	22

Chapter 1. Introduction

1. Purpose and scope of the research	25
2. Contents of the research	30

Chapter 2. Studies on the development of high functional drugs using korean ash(*Fraxinus rhynchophylla*)

1. Introduction	37
2. Materials and Method	41
3. Results and Discussion	61
4. References	121

Chapter 2. Studies on the development of high functional wood-based materials using korean ash(*Fraxinus rhynchophylla*)

1. Introduction	125
2. Materials and Method	128
3. Results and Discussion	139
4. References	187

목 차

요 약 문	2
SUMMARY	8
CONTENTS	15
목 차	17
표 목 차	19
그 립 목 차	22

제1장 서 론

제1절 연구개발의 목적과 범위	25
제2절 세부과제별 연구개발 내용	30

제2장 물푸레나무를 이용한 고기능성 약제 개발

제1절 서 론	37
제2절 재료 및 방법	41
제3절 결과 및 고찰	61
제4절 참고문헌	121

제2장 물푸레나무를 이용한 고기능성 목질재료 개발

제1절 서론	125
제2절 재료 및 방법	128
제3절 결과 및 고찰	139
제4절 참고문헌	187

표 목 차

표 1-1 과립처방조성	57
표 1-2 정제의 최적 처방조성	58
표 1-3 정제 코팅액 조성	59
표 1-4 Fluid bed를 이용한 코팅 조건	60
표 1-5 물푸레나무과 수종 수피의 각 분획별 수율	61
표 1-6 물푸레나무속에서 단리된 화합물 및 그 함유량	62
표 1-7 물푸레나무속 3수종 추출물의 항진균활성(1000 μ g/ml)	93
표 1-8 물푸레나무 수피 클로로포름용성 분획과 들메나무 수피 클로로포름 및 에틸 아세테이트용성 분획의 농도별 항진균활성	93
표 1-9 물푸레나무속 수종의 항세균활성(1mg/disc)	94
표 1-10 각 시료의 과산화물가에 의한 항산화능(200 μ g/ml)	95
표 1-11 Ferric thiocyanate법에 의한 aesculetin의 항산화능	95
표 1-12 Aesculetin 과 O ₂ 의 농도별에서 배양된 소 IVM/IVF 수정란의 성장속도	96
표 1-13 소의 IVM/IVF 수정란 발육속도에 대한 O ₂ 농도별 및 항산화 효과	97
표 1-14 소의 IVM/IVF 수정란의 발육속도에 대한 성장인자 및 항산화 효과	98
표 1-15 성장인자로 항산화물질을 첨가한 CR1aa에서 소의 IVM/IVF 수정란의 inner cell mass와 trophoctoderm cell의 수	99
표 1-16 소 IVM/IVF 수정란의 성장에 대한 천연 또는 상업용 aesculetin의 비교	100
표 1-17 천연 및 상업용 aesculetin을 첨가한 CR1aa에서 소의 IVM/IVF 수정란의 inner cell mass와 trophoctoderm cell의 수	100
표 1-18 <i>S. typhimurium</i> 을 이용한 물푸레 수피 추출물의 유전독성	103
표 1-19 Ames test를 이용한 물푸레 수피추출물 및 aesculetin의 항돌연변이 효과	104
표 1-20 CHO 세포를 이용한 물푸레나무 수피 추출물의 소핵시험	105

표 1-21 CHO 세포를 이용한 물푸레 수피 단리화합물의 소핵시험(직접법)	106
표 1-22 CHO 세포를 이용한 물푸레 수피 단리화합물의 소핵시험(간접법)	106
표 1-23 B-16 melanoma cell line에서 4개 시료에 대한 MTT assay의 $A_{570 \text{ nm}}$ 값과 세포생존율	109
표 1-24 물푸레나무의 직경급별 수피 생산량	116
표 1-25 각 조사지역의 물푸레나무 수피 생산량	117
표 1-26 Asculetin을 이용하여 조제한 정제의 물리적 특성	120
표 2-1 공시수종	128
표 2-2 공시수종	132
표 2-3 공시수종	135
표 2-4 물푸레나무속 구성요소의 특성	141
표 2-5 물푸레나무 구성요소 비율	151
표 2-6 물푸레나무속의 결정화도	157
표 2-7 생재함수율과 밀도	160
표 2-8 수축 및 팽윤율	161
표 2-9 종압축 특성	162
표 2-10 전단강도	164
표 2-11 휨특성	166
표 2-12 충격흡수에너지	167
표 2-13 알칼리팽윤 전후의 밀도	169
표 2-14 기건시료의 알칼리 팽윤	170
표 2-15 알칼리 팽윤 전후 기건상태에서의 수축율	171
표 2-16 알칼리 팽윤상태에서 전건까지의 칫수변화	173
표 2-17 물푸레나무의 전건 수축	178
표 2-18 물푸레나무의 중량 증가율	181

표 2-19 물푸레나무의 Bulking 효과	182
표 2-20 흰 특성	184
표 2-21 충격흡수 에너지	184

그림 목 차

그림 1-1 물푸레 및 식물푸레나무 수피로부터 단리된 coumarin 화합물의 구조	62
그림 1-2 물푸레나무와 들메나무 수피로부터 단리된 ester 화합물의 구조	62
그림 1-3 Aesculetin의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼	68
그림 1-4 Aesculetin의 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼	69
그림 1-5 Aesculetin의 HETCOR 스펙트럼	70
그림 1-6 Aesculetin의 EI-MS 스펙트럼	71
그림 1-7 Aesculin의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼	72
그림 1-8 Aesculin의 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼	73
그림 1-9 Aesculin의 EI-MS 스펙트럼	74
그림 1-10 Fraxetin의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼	75
그림 1-11 Fraxetin의 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼	76
그림 1-12 Fraxetin의 HETCOR 스펙트럼	77
그림 1-13 Fraxetin의 NOE 스펙트럼	78
그림 1-14 Fraxetin의 NOESY 스펙트럼	79
그림 1-15 Fraxetin의 FAB-MS 스펙트럼	80
그림 1-16 Ligstroside의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼	81
그림 1-17 Ligstroside의 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼	82
그림 1-18 Ligstroside의 COSY 스펙트럼	83
그림 1-19 Ligstroside의 HETCOR 스펙트럼	84
그림 1-20 Ligstroside의 DEPT 스펙트럼	85
그림 1-21 Ligstroside의 FAB-MS 스펙트럼	86
그림 1-22 Oleuropein의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼	87
그림 1-23 Oleuropein의 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼	88

그림 1-24 Oleuropein의 FAB-MS 스펙트럼	89
그림 1-25 Isoligstroside의 ¹ H-NMR 스펙트럼	90
그림 1-26 Isoligstroside의 ¹³ C-NMR 스펙트럼	91
그림 1-27 Cytokinesis-block된 CHO 세포의 소핵(micro nuclei)	107
그림 1-28 만덕봉 지역의 해발고별 물푸레나무 생산량과 개체별 평균 생산량	112
그림 1-29 매봉산지역의 해발고별 물푸레나무 생산량과 개체별 평균 생산량	113
그림 1-30 석룡산지역의 해발고별 물푸레나무 생산량과 개체별 평균 생산량	114
그림 1-31 각 조사지역의 해발고별 물푸레나무의 평균 생산량	114
그림 1-32 각 조사지역의 물푸레나무 직경급별 분포현황	115
그림 1-33 각 조사지역의 물푸레나무 평균직경 분포현황	116
그림 1-34 Aesculetin으로 제조한 과립상의 코팅 시제품	118
그림 1-35 Aesculetin으로 제조한 정제상의 시제품	118
그림 2-1 목재의 X선 회절강도 곡선	130
그림 2-2 수축·팽윤율 시료의 칫수(단위 : mm)	133
그림 2-3 물푸레나무 횡단면의 광학현미경 사진(Scale bar=300 μ m)	142
그림 2-4 들메나무 횡단면의 광학현미경 사진(Scale bar=300 μ m)	143
그림 2-5 쇠물푸레나무 횡단면의 광학현미경 사진(C)(Scale bar=300 μ m)	144
그림 2-6 물푸레나무 접선면의 광학현미경 사진(Scale bar=400 μ m)	145
그림 2-7 들메나무 접선면의 광학현미경 사진(Scale bar=400 μ m)	146
그림 2-8 쇠물푸레나무 접선면의 광학현미경 사진(Scale bar=400 μ m)	147
그림 2-9 물푸레나무 방사면의 광학현미경 사진(Scale bar=200 μ m)	148
그림 2-10 들메나무 방사면의 광학현미경 사진(Scale bar=200 μ m)	149
그림 2-11 쇠물푸레나무 방사면의 광학현미경 사진(Scale bar=200 μ m)	150
그림 2-12 물푸레나무속에서 목섬유의 연륜에 따른 방사면이	152
그림 2-13 물푸레나무속에서 조(A)·만재부(B) 도관 직경의 연륜에 따른 방사면이 ...	153

그림 2-14 물푸레나무속에서 조(A)·만재부(B) 도관 요소 길이에 따른 방사변이	154
그림 2-15 물푸레나무속에서 조(A)·만재부(B) 방사조직 높이의 연륜에 따른 방사변이	156
그림 2-16 무처리제와 20% NaOH 처리제의 주사전자현미경 사진	174
그림 2-17 알칼리 팽윤 전후 기진상태의 중량변화	175
그림 2-18 물푸레나무의 X선회절 강도곡선	176
그림 2-19 상온에서 처리한 물푸레나무의 수축율	179
그림 2-20 50℃에서 처리한 물푸레나무의 수축율	179
그림 2-21 70℃에서 처리한 물푸레나무의 수축율	180
그림 2-22 물푸레나무의 중량 증가율	181
그림 2-23 물푸레나무의 Bulking 효과	183
그림 2-24 물푸레나무를 이용한 시제품	186

제1장 서론

제1절 연구개발의 목적과 범위

1. 기술적 측면

예로부터 산림은 목재생산, 수원함양, 보건휴양 등의 기능을 지니고 인류에게 많은 혜택을 베풀어 왔으며 오늘날에는 이러한 산림의 기능을 종합적으로 이용하는 방안이 절실하게 요구되고 있다. 그러나 현재 임업과 관련된 여러 가지 상황이 매우 어려움 처지에 놓여 있으며 산촌으로부터의 인구이탈에 따른 임업노동자의 감소 및 고령화, 조립비, 육림비 등의 상승과 비합리적인 목재가격등으로 인하여 산림의 무육과 관리에 많은 문제를 내포하고 있다. 더욱이 국제화, 개방화시대를 맞이하여 임산물을 포함한 대부분의 농산물이 무차별로 수입되고 있어 경쟁력 제고를 위한 방안이 시급한 실정이며 지난해부터 시작된 IMF의 영향은 다른 산업에 비하여 재무구조가 취약한 임업 및 임산가공업에 막대한 타격을 주고 있다. 또한 우리나라의 임산관련 산업은 주로 물리, 기계적인 1차가공 분야에 치중하여 부가가치 창출이라는 측면에서 큰 성과를 기대하기 어려운 상황이다. 따라서 이러한 국제화, 개방화 시대에 외국산 수입제품과 경쟁하고 IMF의 높은 파고를 헤치고 살아남기 위해서는 임업분야도 첨단 과학기술과 생물공학 기술을 응용한 목제가공 분야의 육성이 시급한 실정이다.

우리나라는 전체 국토면적의 약 65%가 산지로 구성되어 있으며 더욱이 강원도는 전체면적의 82%가 산림으로서 다른 지역과 비교하여 풍부한 산림자원을 보유하고 있고 이중 50%가 활엽수림이 차지하고 있어 이들을 이용한 상품개발 및 목제가공을 위한 천혜의 입지조건을 갖추고 있다.

예로부터 한방에서 주요한 약제로 사용되고 있는 목분류의 대부분은 활엽수로서 이

들이 포함하고 있는 추출성분은 침엽수의 그것과 비교할 때 그 종류가 다양하고 복잡하여 많은 약용성분을 포함하고 있으나 과학적인 규명이 이루어지지 않고 있는 실정이다. 더욱이 서양에서는 전통적으로 식물이나 수목에서 추출한 생약성분에 관해서는 신뢰성을 부여하지 않았으며 따라서 수목의 추출성분을 이용한 약리성 및 기능성에 관한 연구가 활발하게 수행되지 않았으나 최근 일부 연구자들에 의하여 이들 성분을 이용한 질병의 치료가 큰 성과를 거두게 되어 인식을 새롭게 하고 있는 바, 우리도 이들과의 경쟁에서 유리한 위치를 차지하기 위하여 이에 관한 체계적인 연구가 절실히 요구되고 있다.

또한 근래의 급속한 산업발달 및 생활수준 향상에 기인한 식품의 고급화, 편의화 추세에 따라 가공식품의 수요가 급격히 증가하고 있으나 합성 식품첨가제에 기인한 여러 가지 문제가 제기되고 있다. 따라서 이러한 문제를 해결하기 위한 방법의 하나로 천연 농임산물을 이용한 건강, 기능성 보조식품에 대한 연구, 개발 및 안전성이 확보된 천연 첨가제의 개발, 이용이 시급한 실정이다.

이러한 실정에 비추어 볼 때, 우리나라 특히 강원도 산림에 많이 분포하고 있는 활엽수림의 경제적인 이용방안의 일환으로 주요한 유용수종을 선별하여 물리, 기계적인 시험을 통한 용도개발을 예측하고 그들 수목의 추출성분을 분리하여 과학적인 분석과 구조규명을 실시하며 생리활성 및 약리효과 검정에 의하여 천연 항균성 물질이나 천연 항산화성 성분을 분리하여 이를 신기능성 약제의 개발에 응용하는 시도는 매우 절실하고 시급한 과제로 생각된다.

따라서 본 연구에서는 이들 활엽수 자원중에서 비교적 풍부한 축적량을 보이고 있으나 특별한 용도가 개발되어 있지 않은 물푸레나무를 선정하여 그 추출성분으로부터 유용한 물질을 분리하여 신기능성 약제의 제조에 이용하고 휨강도와 내충격성이 매우 우수한 목재의 특성을 이용하여 기능성 목질재료를 가공하고자 한다.

물푸레나무는 일반적으로 목재로서의 가치보다는 잡용자원, 즉 간단한 농기구의 제조등에 이용되어 왔다. 그러나 이 목재의 역학적 성질, 인성, 내충격성등이 우수한 성

질을 이용하여 오늘날에는 운동용구, 차량용품등의 주요 부품으로 사용되고 있다. 비교적 대경제의 이용이 가능하던 때에는 스키용재로 중요하게 사용되었으나 대체재료의 개발로 오늘날에는 야구배트의 제조에 많이 이용되고 있다. 최근 골프, 게이트볼등의 스포츠 활동이 활발해지면서 이들 용구의 부품으로 충격흡수 에너지와 경도등이 크고 마모가 적은 재료의 개발이 크게 요구되고 있는 바, 물푸레나무의 이용적성 및 활용성 평가를 통한 고기능성 재료의 가공은 가능성이 매우 크다.

한편 동의보감에 따르면 물푸레나무의 수피는 회갈색 또는 흑갈색에 흰색 반점이 있어 백침목 또는 백심목이라 불리우며 푸른색의 수피를 가지므로 청피목 또는 진피수로도 불리운다 하였다. 한방에서는 진피라고 불리우며 성질은 차고 맛은 쓰며 독성이 없어 소염, 수렴, 해열, 설사, 이질, 결막염, 풍안누출과 눈의 백탁, 간질, 여성의 대하나 냉증과 아이들의 경기에 특효약으로 사용되었다고 하며 천연염료의 원료로도 이용되었다. 근대적인 분석방법에 의하여 물푸레나무가 aesculin, aesculitin, oleanolic acid, quercetin 및 그 배당체를 함유하고 있는 것이 알려져 있어 이들 성분들이 여러 가지 약리적인 효과를 나타내고 있는 것으로 생각되나 아직 체계적인 연구가 이루어지지 않은 실정이다. 따라서 이들 추출성분의 체계적인 연구를 통하여 약리효과를 확인하고 이러한 성분을 이용한 신기능성 약제의 제조는 매우 가능성이 큰 것으로 생각된다.

그러나 이와같이 용도가 다양하고 이용가치가 높은 물푸레나무에 대한 체계적인 연구가 이루어지고 있지 않으므로 성분분석을 통한 신기능성 물질의 탐색과 이용, 고기능성 목질제품의 가공, 생산 등의 총체적인 연구가 절실하게 요구되고 있다.

따라서 이들 수종에 대한 종합적인 연구가 수행된다면 유용자원을 약용 및 산업용, 그밖의 여러 가지 용도로 제품을 개발하여 농산촌 주민의 소득향상에도 크게 기여할 수 있다.

2. 경제 · 산업적 측면

오늘날 여러 가지 국제협약의 타결 및 WTO 체제의 출범으로 인하여 국제적인 교역질서에 일대 개편이 일어나고 있으며 아울러 우리나라의 농임산물 시장도 예외없는 관세화와 시장접근의 원칙에 입각하여 전면적으로 개방되고 있다. 더욱이 IMF 체제에서 산업 전반에 대한 극심한 구조조정은 자립기반이 취약한 국내의 농림업에 막대한 타격을 주고 있는 실정으로 단기간에 국제적인 경쟁력을 갖출 수 있도록 농림정책의 적절한 조정이 불가피하다. 따라서 이러한 위기상황에서 임지의 생산기반이 취약한 우리나라의 임업 및 임산가공업이 국제화, 개방화 시대에 외국의 수입상품과 경쟁하기 위해서는 첨단기술과 생물공학 기술을 응용한 산림자원의 연구, 개발이 시급한 실정이다.

본 연구는 이러한 상황을 타개하고 우리나라 임산공업의 활로를 모색하기 위한 방안의 하나로 풍부한 축적량을 가지고 있으나 적절한 용도개발이 없어 임지에서 방치되고 있는 물푸레나무를 이용하여 신기능성 약제의 개발 및 고기능성 목질재료 개발을 시도하여 국제적인 경쟁력을 가질 수 있는 제품을 생산하려고 한다. 따라서 이 연구가 계획대로 수행된다면 우리 산림자원의 이용, 개발을 극대화하고 아울러 상품화를 통하여 농산촌 주민들의 소득증대에 기여할 수 있을 것으로 생각한다. 또한 이 연구를 수행하는 과정에서 획득한 여러 가지 knowhow를 다른 목재수종의 이용, 가공에 응용함으로써 산업적인 기반을 구축할 수 있으며 제품의 수출이 가능할 경우 국가경제에 기여할 수 있을 것이다.

3. 사회 · 문화적 측면

농산촌 주민들을 포함한 일반인들의 물푸레나무에 대한 인식이 긍정적인 것은 아니다. 비록 이 수종이 인성이 크고 내충격성이 우수하여 예로부터 낮이나 꿩이의 자루.

도리깨, 소의 코뚜레등에 이용되거나 소규모의 농기구 제작에 사용되어 왔으나 다른 활엽수종과 비교할 때, 성장속도가 느리고 대경목으로 자라는데는 많은 시간이 소요되어 목재로서의 효용성이 떨어지는 활잡목으로 치부되어 왔다.

그러나 본 연구가 성공적으로 수행된다면 산림자원이 목재로 이용되는 물리적인 측면만 가지는 것이 아니라 목재 및 수피에 포함되어 있는 여러 가지 유용성분을 이용하여 부가가치가 매우 큰 상품을 제조할 수 있으며 아울러 경제적인 혜택을 가져다 줄 수 있다는 사실을 새롭게 인식하게 될 것이다.

따라서 산림자원의 이용, 개발에 관한 연구를 촉진시키고 산림의 경영 및 관리에 활력을 부여할 수 있으며 산림이 지니는 여러 가지 기능을 새로이 인식하고 산림자원의 귀중함을 느끼는 계기를 마련할 수 있을 뿐 아니라 이러한 인식을 토대로 산림보호 의식을 고취할 수 있다.

제2절 세부과제별 연구개발 내용

1. 제1세부과제: 물푸레나무를 이용한 고기능성 약제 개발

본 연구는 물푸레나무 수피를 대상으로 추출물을 분리하고 화합물을 단리하여 구조를 밝히고 단리화합물에 대하여 항산화활성, 항균활성, 유전독성 및 항암효과 등의 생리활성 검정을 통하여 기능성 약제 및 건강식품 등의 보조제 개발을 목표로 하였다.

2. 제2세부과제: 물푸레나무를 이용한 고기능성 목질재료 개발

본 연구는 고기능 목질신재료를 개발하기 위하여 산이나 알칼리를 이용한 화학처리 및 폴리머 등을 주입하여 물푸레나무의 밀도를 높인 고밀도 목재를 제조하고 습도의 변화에 대한 목재의 팽수변화를 억제하기 위하여 아세틸화 처리 및 PEG처리를 실시하여 팽수안정화 목재를 제조하고 고밀도 목재에 대한 팽수안정화 처리를 병행한 후 이들을 이용하여 야구배트, 제기 등의 제품을 개발하고자 한다.

구 분	연구개발목표	연구개발 내용및 범위
1차년도 (1998. 10~1999. 10)	연구대상목 수집 추출성분 분석	실험대상목 수집, 조제하고 추출성분 분석, 구조를 확인, 대상수종의 국내 자원 조사
2차년도 (1999. 10~2000. 10)	약리효과 및 생리활 성 시험	약리효능 등의 생리활성 검정 유용성분 분리 및 선별
3차년도 (2000. 10~2001. 10)	용도개발	시제품생산 제제공정 확립

3. 연구개발의 범위

가. 연구개발의 체계

1) 제1세부과제 : 물푸레나무를 이용한 고기능성 약제개발

지금까지 물푸레나무의 추출성분에 관한 연구는 일본과 유럽에서 부분적으로 수행되었으나 우리나라에 자생하고 있는 물푸레나무 수종은 중국 등지에 일부 분포하고 있을 뿐 일본을 포함하여 다른 나라에는 없는 수종이다. 그러므로 분포지역에 따라 식합유된 천연성분에 차이가 있을 수 있으며 일반적인 연구에 따르면 추출성분의 대부분은 coumarin 및 그 파생물로 구성되어 있으며 소량의 후라보노이드 및 에스테르 화합물과 그 배당체도 포함하고 있는 것으로 알려졌다. Rowe(1989)는 coumarin 추출성분 중 aesculetin은 항암효과를 포함하여 여러 가지 약리적인 효능을 지니고 있음을 보고하였으며 aesculetin의 glucose 배당체인 aesculin은 독일에서 건강보조식품으로 개발되어 시판되고 있다. 이미 앞에서 언급한 바와 같이 aesculetin은 항이질효과, 항균효과, 항염증효과, 항종양효과 및 항효모효과 등을 지니고 있는 것으로 보고되었으며 본 연구자 등에 의하여 수행된 aesculetin에 대한 항산화효과 실험은 상업용 항산화제인 천연 토코페롤보다 우수한 것으로 나타났다. 그러나 aesculin과 같은 다른 물푸레나무 추출성분에 관한 생리활성 효과는 아직 체계적으로 수행된 바 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 국내에서 자생하고 있는 물푸레나무의 추출성분을 분리, 그들의 화학적인 구조를 규명한 후 aesculetin 및 aesculin을 포함한 물푸레나무 추출성분의 약리효과 및 생리활성 시험을 통하여 유용한 성분을 선별하고 이들을 이용한 항산화제, 항균제 또는 항종양제 등의 기능성 약제 및 건강 보조식품의 개발에 연구노력을 집중하고자 한다. 아울러 국내의 물푸레나무과 자생수종인 들메나무 및 쇠물푸레나무에 관한 성분분석을 실시하고 물푸레나무의 성분과 비교하여 이들 수종의 추출

성분에 대한 이용가능성을 조사하고자 한다.

그러나 이들 물푸레나무과 수종의 이용도를 높이기 위해서는 국내의 식생 및 분포 상황과 축적량에 관한 조사가 선행되어야 할 것으로 생각된다. 일반적으로 중부 이북에는 물푸레나무의 식생이 우세하며 이남에는 들메나무가 많이 자생하고 있는 것으로 알려져 있으나 정확한 통계는 없는 실정이다. 한편 쇠물푸레나무는 수고 5~6m 정도로 자라는 낙엽 소교목으로서 상기 두 수종에 비해 이용가치가 매우 낮은 실정이다. 이들 물푸레나무과 수종은 소경재 생산을 목적으로 할 경우는 35년 정도에서 벌채가 가능하지만 흉고직경 30cm 이상의 대경재를 생산하기 위해서는 벌기령이 70년 정도는 되어야 한다. 산림청이 발표하고 있는 벌기령은 60년이다. 따라서 본 연구에서는 이들 수종의 조립 및 육묘량과 축적량에 관한 조사를 실시하고 최근 수입량이 늘어나고 있는 구주물푸레나무의 도입량을 조사하여 국내자원의 경쟁력 등을 분석하고자 한다.

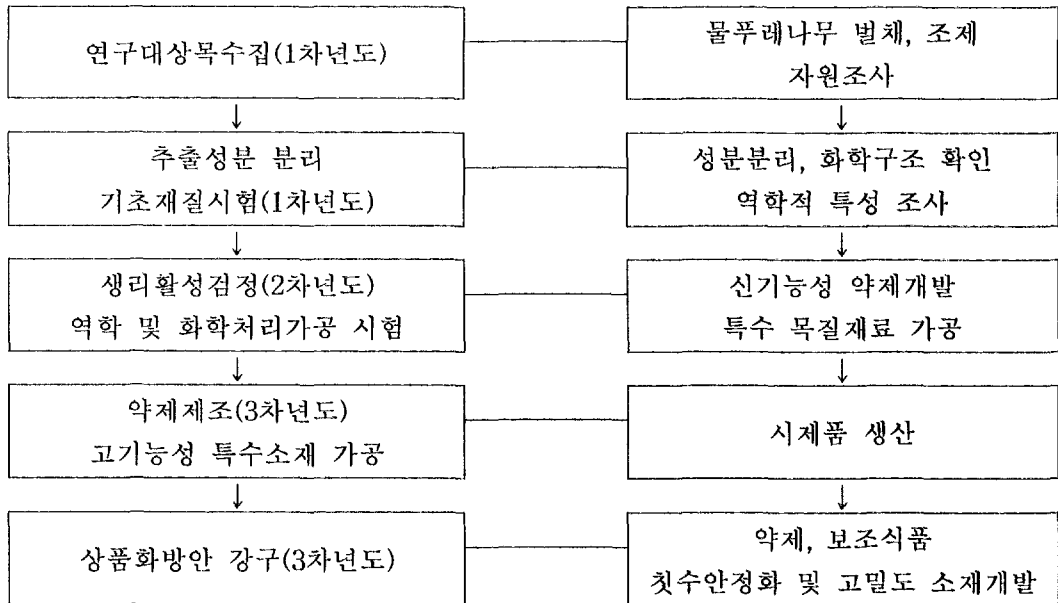
2) 제2세부과제 : 물푸레나무를 이용한 고기능성 목질재료 개발

물푸레나무의 목재는 특별한 용도를 찾지 못하고 잡용자원으로 전용되고 있으며 역학적 성질, 인성, 내충격성 등이 우수하여 예전에는 소규모 농기구 제작 등에 이용되어 왔으나 오늘날에는 스포츠용구, 차량용구 및 스키용구의 제조에 이용되고 있다. 그러나 우리 나라에서는 이 수종을 이용한 고기능성 특수소재의 개발에 관한 연구가 전무한 실정으로 본 연구에서는 그 목재를 특수한 처리가 요구되는 소재로 용도를 개발하고 아울러 수입대체 효과를 가져와 경제적인 면에서도 기여하고자 한다.

따라서 고기능 목질신재료를 개발하기 위해서는 산이나 알칼리를 이용한 화학처리 및 폴리머등을 주입하여 물푸레나무의 밀도를 높인 고밀도 목재를 제조하고 습도의 변화에 대한 목재의 팽수변화를 억제하기 위하여 아세틸화 처리 및 PEG처리를 실시하여 팽수안정화 목재를 제조하고 고밀도 목재에 대한 팽수안정화 처리를 병행한 후

이들을 이용하여 야구베트, 완구 및 제기 등의 시제품을 제작하고자 한다.

상기와 같은 연구를 성공적으로 수행하기 위해서는 다음과 같은 체계에 의하여 연차별로 종합적인 실험을 실시하고자 한다.



나. 연도별 연구수행 내용

1) 1차년도 연구내용

가) 제1세부과제

(1) 물푸레나무의 추출성분 분리

- ① 물푸레나무, 쇠물푸레나무, 들메나무의 시료를 채취하여 충분한 시료량 확보
- ② 시료의 추출 및 분리를 실시하여 충분한 양의 추출물 확보
- ③ 칼럼크로마토그래피를 수행하여 각각의 추출성분을 단리하고 단리화합물에 대

한 NMR 및 질량 분석을 통하여 구조 결정

(2) 물푸레나무의 국내자원 및 도입량 조사, 비교

① 국내에 분포하는 물푸레나무의 분포현황 파악

② 국내에서 생산되는 물푸레나무 수피의 생산량을 파악하여 경제성 분석

나) 제2세부과제

(1) 해부학적 성질 조사

① 常法에 의해 해리섬유 및 절편을 제작하여 구성세포의 치수, 형태, 비율 등을 광학현미경 및 주사전자현미경법으로 조사

② 편광현미경 및 X선회절법에 의하여 세포벽중의 microfibril의 배향성, 셀룰로오스 상대결정화도, 셀룰로오스 결정의 치수 등을 조사

③ 구성요소의 수간내 변이성 조사

(2) 물리적 성질 조사

심변재율, 조만재의 이행, 평균연륜폭, 밀도, 함수율, 수축팽윤율 등 조사

2) 2차년도 연구내용

가) 제1세부과제

(1) 생리활성 효과 검증

① 항산화 실험을 통하여 항산화제로의 이용 가능성 검증

② 항균효과 검증

③ 추출물의 항돌연변이 시험

(2) 단리화합물의 유전독성시험

- ① 박테리아를 이용한 유전독성 시험
- ② 동물세포를 이용한 유전독성 시험

나) 제2세부과제

(1) 역학적 성질 조사

- ① 압축강도 : 종압축강도, 횡압축강도, 종압축탄성율
- ② 전단강도 : 종전단 및 횡전단강도, 전단탄성율
- ③ 휨 강 도 : 방사방향 및 접선방향의 휨강도, 휨탄성율
- ④ 충격휨흡수에너지 : 방사방향 및 접선방향의 충격휨흡수에너지(섬유경사각에 따른 강도특성을 조사하기 위하여 0-90° 까지 15° 간격으로 충격휨흡수에너지 측정)

(2) 재질지표치의 작성

해부학적 성질과 물리적 역학적 성질과의 상호관련성을 통계처리로 분석하여 재질 지표치로서의 사용가능성 평가

(3) 고기능재료의 제조 및 성능시험

- ① 고밀도목재의 제조
화학처리, polymer의 주입등의 방법으로 고밀도목재 제조
- ② 성능시험

3) 3차년도 연구내용

가) 제1세부과제

- ① 함압효과 검정
- ② 시제품 제조

나) 제2세부과제

- ① 치수안정화 목재의 제조
알칼리 및 PEG 처리 등의 방법에 의해 치수안정화 목재 제조
- ② 성능시험
- ③ 시제품제작

제2장 물푸레나무를 이용한 고기능성 약제 개발

제1절 서론

우리 나라는 전체 국토면적의 약 65%가 산지로 구성되어 있으며 더욱이 강원도는 전체면적의 82%가 산림으로서 다른 지역과 비교하여 풍부한 산림자원을 보유하고 있고 이중 50%가 활엽수림이 차지하고 있어 이들을 이용한 상품개발 및 목재가공을 위한 천혜의 입지조건을 갖추고 있다.

예로부터 한방에서 주요한 약제로 사용되고 있는 목본류의 대부분은 활엽수로서 이들이 포함하고 있는 추출성분은 침엽수의 그것과 비교할 때 그 종류가 다양하고 복잡하여 많은 약용성분을 포함하고 있으나 과학적인 규명이 이루어지지 않고 있는 실정이다. 더욱이 서양에서는 전통적으로 식물이나 수목에서 추출한 생약성분에 관해서는 신뢰성을 부여하지 않았으며 따라서 수목의 추출성분을 이용한 약리성 및 기능성에 관한 연구가 활발하게 수행되지 않았으나 최근 일부 연구자들에 의하여 이들 성분을 이용한 질병의 치료가 큰 성과를 거두게 되어 인식을 새롭게 하고 있는 바, 우리도 이들과의 경쟁에서 유리한 위치를 차지하기 위하여 이에 관한 체계적인 연구가 절실히 요구되고 있다.

또한 근래의 급속한 산업발달 및 생활수준 향상에 기인한 식품의 고급화, 편의화 추세에 따라 가공식품의 수요가 급격히 증가하고 있으나 합성 식품첨가제에 기인한 여러 가지 문제가 제기되고 있다. 따라서 이러한 문제를 해결하기 위한 방법의 하나로 천연 농임산물을 이용한 건강, 기능성 보조식품에 대한 연구, 개발 및 안전성이 확보된 천연 첨가제의 개발, 이용이 시급한 실정이다.

이러한 실정에 비추어 볼 때, 우리 나라 특히 강원도 산림에 많이 분포하고 있는 활엽수림의 경제적인 이용방안의 일환으로 주요한 유용수종을 선발하여 물리, 기계적

인 시험을 통한 용도개발을 예측하고 그들 수목의 추출성분을 분리하여 과학적인 분석과 구조규명을 실시하며 생리활성 및 약리효과 검토에 의하여 천연 항균성 물질이나 천연 항산화 성분을 분리하여 이를 신기능성 약제의 개발에 응용하는 시도는 매우 절실하고 시급한 과제로 생각된다.

따라서 본 연구에서는 이들 활엽수 자원 중에서 비교적 풍부한 축적량을 보이고 있으나 특별한 용도가 개발되어 있지 않은 물푸레나무를 선정하여 그 추출성분으로부터 유용한 물질을 분리하여 신기능성 약제의 제조에 이용하고 휨강도와 내충격성이 매우 우수한 목재의 특성을 이용하여 기능성 목질재료를 가공하고자 한다.

동의보감에 따르면 물푸레나무의 수피는 회갈색 또는 흑갈색에 흰색 반점이 있어 백침목 또는 백심목이라 불리우며 푸른색의 수피를 가지므로 청피목 또는 진피수로도 불리운다 하였다. 한방에서는 진피라고 불리우며 성질은 차고 맛은 쓰며 독성이 없어 소염, 수렴, 해열, 설사, 이질, 결막염, 풍안누출과 눈의 백록, 간질, 여성의 대하나 냉증과 아이들의 경기에 특효약으로 사용되었다고 하며 천연염료의 원료로도 이용되었다. 근대적인 분석방법에 의하여 물푸레나무가 aesculin, aesculitin, oleanolic acid, quercetin 및 그 배당체를 함유하고 있는 것이 알려져 있어 이들 성분들이 여러 가지 약리적인 효과를 나타내고 있는 것으로 생각되나 아직 체계적인 연구가 이루어지지 않은 실정이다. 따라서 이들 추출성분의 체계적인 연구를 통하여 약리효과를 확인하고 이러한 성분을 이용한 신기능성 약제의 제조는 매우 가능성이 큰 것으로 생각된다.

물푸레나무과에 속하는 수종은 전세계적으로 30속 600여종이 분포하고 있으며 우리나라에서는 물푸레나무와 들메나무 및 쇠물푸레나무가 주요한 수종이다. 그중에서 물푸레나무는 오래전부터 목재로서의 용도보다는 소규모 농기구 등에 적용되는 잡용자원으로 많이 이용되어 왔다. 그러나 재질이 단단하고 질기며 내충격성등 이 우수하여 최근에는 운동용구 등의 부분품으로 많이 이용되고 있다(임업연구원, 1994). 한편 물푸레나무의 수피는 한방에서 진피라고 불리우며 독성이 없고 소염, 수렴, 해열, 설사,

이질, 결막염, 안질, 간질, 여성의 냉, 대하의 치료에 효과가 있다고 알려져 있다(동의 보감, 1994).

근래에 효과적인 분석기기 및 분석방법의 개발로 약용식물을 포함한 초본식물류 및 목재수종에 포함되어 있는 추출성분 분석을 통한 생약의 연구, 개발 노력이 집중적으로 이루어지고 있다. 물푸레나무는 쿠마린계의 화합물을 다량으로 함유하고 있어 이들의 분리 및 구조규명에 대한 연구가 많이 수행되었다. McCabe등(1967), Ishikura등(1982), Nonaka등(1989)과 Dubois등(1990)은 물푸레나무뿐 아니라 여러 가지 종류의 식물체로부터 aesculetin 및 그 배당체인 aesculin을 분리하여 보고하였다. 또한 Cussans등(1975), Ziegler등(1987) 과 Sato등(1987)은 8-hydroxycoumarin을 분리하여 보고하고 있으며 Udovin등(1987)은 7,8-dihydroxy-6-methoxycoumarin인 Fraxetin을 분리하여 그 구조를 동정하였다. 최근에 Damtoft등(1992)은 물푸레나무 수종으로부터 몇가지 종류의 에스테르 화합물과 그 배당체인 excelsioside, oleuropein과 ligstroside 화합물을 분리하여 그들의 구조를 규명하였다.

한편 국내에서는 초본류 및 수목의 추출성분에 관한 연구가 비교적 최근에 시작되어 농림분야에서 뿐 아니라 의, 약학분야에서 이들을 응용하고자 하는 시도가 활발하게 이루어지고 있으나 아직까지 체계적인 연구의 활성화가 이루어지지 않고 있는 실정이다. 국내에서 수행된 물푸레나무의 추출성분에 관한 연구는 지금까지 전무하며 다만 본 연구자 등(한국목재공학회, 1997)이 물푸레나무에 다량으로 포함되어 있는 coumarin 화합물인 aesculetin과 그 배당체 화합물인 aesculin을 분리하였으며 지금까지 학계에 보고되지 않은 5-methoxy aesculetin을 분리하여 그 구조를 규명하여 이를 국제 탄닌학회에 보고하였다(The 3rd Tannin Conference, 1998). 또한 본 연구자 등(한국목재공학회, 1998)은 동일한 수종으로부터 ester 화합물의 배당체인 ligstroside와 oleuropein을 분리하여 그 구조를 확인한 바 있다.

그러나 이러한 물푸레나무의 추출성분을 신기능성 약제 개발에 응용하기 위해서는 각각의 성분이 지니는 약리효과 및 생리활성 효과를 검정해야 한다. aesculetin은 이

미 잘 알려져 있는 화합물로 향이질효과, 항균효과, 항염증효과, 항말라리아효과, 항종양효과 및 항효모효과 등을 지니고 있으며 이따 이질 및 설사약으로 개발되어 있다 (Rowe, 1989). 그 이외의 물푸레나무 추출성분에 대한 생리활성 검정은 아직 집중적으로 수행되지 않고 있다. 그러나 국내에서는 이러한 연구 노력이 전혀 없는 실정으로 다만 본 연구자 등이 물푸레나무에서 추출된 쿠마린 화합물에 대한 항산화효과 시험에서 aesculetin이 상업용 항산화제로 사용되고 있는 α -tocopherol보다 우수한 효과를 보였다는 시험결과가 유일한 것이다.

이러한 상황에 비추어 볼 때, 물푸레나무 추출성분을 이용한 신기능성 물질의 탐색 및 약제의 제조는 매우 가능성이 큰 시도로 생각된다

제2절 재료 및 방법

1. 추출성분 분리

가. 공시재료

1998년 11월 강원도 춘천시 동면 강원대학교 연습림에서 자생하는 생장이 양호한 19년생 및 30년생 물푸레나무와 경상남도 함양군 마천면 삼정리 자연휴양림에서 자생하는 28년생 쇠물푸레나무, 80년생 들메나무를 벌채하고 즉시 박피하였다. 목질부와 수피부는 각각 실험실에서 약 2주간 건조한 후 분쇄기를 사용하여 추출이 용이하도록 분말로 조제하였다.

나. 유기용매 추출

분말로 조제된 물푸레나무 수피 분말 1kg, 쇠물푸레나무 수피 2kg과 들메나무 수피 2kg을 각각 10ℓ의 유리용기에 넣은 후에 아세톤-물(7:3, v/v)의 혼합용매를 약 7ℓ 가량 부어서 잘 섞이도록 흔들어 준 다음 마개를 막고 실험실에서 약 3일간 추출하였다. 충분한 추출물의 양을 얻기 위하여 3회 반복 추출하였고 추출액은 감압 농축기를 이용하여 농축하였다.

물푸레나무, 쇠물푸레나무와 들메나무 목질부는 분말로 조제 후 기건하였고 유기용매 추출을 위하여 저장하였다.

다. 추출물의 분리

1) 물푸레나무 수피

물푸레나무 수피의 농축 추출물에는 다량의 결정성화합물이 침전되었고 침전된 화합물은 분리하여 재결정법으로 정제하여 분말 10g을 얻었다. 결정화합물을 제외한 나머지 추출물은 분획깔때기 상에서 우선적으로 클로로포름을 사용하여 클로로포름용성 화합물을 제거하였고 다시 에틸아세테이트를 이용하여 에틸아세테이트용성 부분과 수용성 부분으로 분리하였으며 각각 농축하여 동결건조기를 이용 건조하여 분말로 만들었다.

동결건조되어 분말로 얻어진 클로로포름용성 화합물은 8g, 에틸아세테이트용성 화합물은 50g, 수용성 화합물은 150g 이었다.

2) 쇠물푸레나무 수피

쇠물푸레나무 수피 추출물을 농축하여 분획깔때기 상에서 클로로포름을 사용하여 클로로포름용성 화합물을 제거하였고 다시 헥산을 이용하여 헥산용성 화합물을 분리하였다. 이후 에틸아세테이트를 이용하여 에틸아세테이트용성 부분과 수용성 부분으로 분리하였으며 에틸아세테이트용성 부분을 농축하는 과정에서 다량의 결정성 화합물이 생성되었으며 재결정법으로 11.5g을 정제하였다. 각각의 부분은 농축하고 동결건조하여 분말로 저장하였다.

동결건조되어 분말로 얻어진 클로로포름용성 화합물은 14.8g, 헥산용성 59.2g, 에틸아세테이트용성 화합물은 24.8g, 수용성 화합물은 165.1g 이었다.

3) 들메나무 수피

들메나무 수피 추출물을 농축하여 분획깔때기 상에서 클로로포름을 사용하여 클로로포름용성 화합물을 제거하였고 다시 헥산을 이용하여 헥산용성 화합물을 분리하였

다. 이후 에틸아세테이트를 이용하여 에틸아세테이트용성 부분과 수용성 부분으로 분리하였다. 물푸레나무나 쇠물푸레나무 처럼 결정이 생기는 화합물은 없었으며 농축 후 동결건조하여 분말로 저장하였다.

동결건조되어 분말로 얻어진 클로로포름용성 화합물은 90.6g, 헥산용성 97.6g, 에틸아세테이트용성 화합물은 16.7g, 수용성 화합물은 119.4g 이었다.

라. 칼럼크로마토그래피(Column chromatography)

물푸레나무, 쇠물푸레나무 및 들메나무로부터 추출되어 분리된 혼합물로부터 단일의 순수한 화합물을 분리하기 위하여 칼럼크로마토그래피를 실시하였으며 이때 사용된 칼럼은 직경 3cm, 1.5cm, 1cm이고 길이는 60cm인 칼럼들을 사용하였으며 충전물질로는 Sephadex LH-20를 사용하였으며 용리용매로는 에탄올 및 에탄올-헥산혼합액 그리고 메탄올 수용액을 사용하였다. 또한 칼럼으로부터 떨어지는 용출액은 Fraction collector를 이용하여 순차적으로 시험관에 받았다. 단리물질의 확인은 셀룰로오스 박층크로마토그래피를 이용하여 확인하였다.

1) 물푸레나무 수피 추출물

칼럼크로마토그래피에는 에틸아세테이트용성 화합물 20g을 직경3cm, 길이60cm의 유리칼럼에 주입하고 용리용매로는 에탄올 100%를 사용하여 1차적인 분리를 실시하였다. 5개의 부분으로 분리되었으며 칼럼에 걸리는 결정 부분은 따로 분리하였으며 아세톤-물 추출물의 농축시 생긴 결정과 동일한 것으로 이와 합쳤다. 각각의 분리 부분은 MBE로 명명하였고, 농축후 동결건조된 양은 MBE-1 1.68g, MBE-2 3.49g, MBE-3 6.25g, MBE-4 1.8g, MBE-5 0.39g이었다. 분리된 각각의 부분은 계속적인 칼럼크로마토그래피를 실시하였고 aesculetin(1.3g), fraxetin(400mg), aesculin(20mg)과 같은 쿠마린 및 그 배당체 화합물과 ligstroside(46mg) 및 oleuropein(1g)과 같은 에스

테르 유도체 화합물을 분리하였다. 또한 수용성 부분의 분리를 실시하였으며 MBW-3 분획으로부터 aesculin(70mg)을 분리할 수 있었다.

2) 쇠물푸레나무 수피 추출물

쇠물푸레나무 수피의 에틸아세테이트용성 화합물 15g을 유리칼럼에 주입하고 용리 용매로는 메탄올-물(5:1, v/v)을 사용하여 1차 분리를 실시하였다. 셀룰로오스 TLC로 확인하여 4개의 부분으로 분리하였다.

농축 후 동결건조된 양은 FBE-1 4.12g, FBE-2 5.78g, FBE-3 2.37g, FBE-4 0.41g 이었다. 쇠물푸레 수피로부터 분리된 화합물은 물푸레나무에서 분리된 화합물들과 동일한 종류의 화합물이 분리되었으며 aesculetin은 물푸레나무 수피에서의 함량보다 상당히 많은 11.5g을 얻을 수 있었다. Fraxetin(317mg), aesculin(66mg), oleuropein (178mg)을 각각 분리하였다.

3) 들메나무 수피 추출물

들메나무 수피추출물은 지금까지 분리해온 물푸레나무, 쇠물푸레나무와는 다른 성질을 가지고 있으며 에틸아세테이트용성화합물의 비율이 다른 수종들과 비교하여 비교적 적은 양으로 함유되어 있으며 클로로포름용성과 헥산용성의 양이 상당부분을 차지하는 특징을 가지고 있다. 우선적으로 클로로포름용성 15g을 용리용매로 에탄올 (100%)을 사용한 Sephadex LH-20 칼럼으로 분리를 실시하여 DBC-1(11.31g), DBC-2 (2.33g)으로 분리하였다.

DBC-1과 DBC-2를 계속적으로 칼럼크로마토그래피를 수행하여 ligstroside, oleuropein 및 isoligstroside을 분리하였다.

마. 박층크로마토그래피(Thin layer cromatography)

분리된 화합물이 순수한지 혼합물인지의 여부는 셀룰로오스 분말을 얇은 박판에 입혀 전개용매에 전개시킨 후 UV 램프하에서 관찰하는 박층크로마토그래피(Thin layer chromatography)를 사용하였다. 또한 전개용매의 이동거리에 대한 화합물의 이동거리로 화학적 이동값 R_f 를 구하였다. 이 화학적 이동값은 각각의 화합물마다 다르게 나타나며 그 화합물의 고유 특성을 나타내 주기도 한다.

또한 정사각형의 TLC 판에 먼저 세로축으로 극성용매를 전개하고, 다시 건조시킨 후에 가로 축으로 비극성 전개용매를 직교로 교차하게 전개하는 2차원 박층크로마토그래피를 사용하였다. 극성용매로는 6%초산(solvent A)을 비극성용매로는 t-butanol-초산-물(3:1:1, solvent B)을 전개용매로 사용하였다. UV 램프로 전개용매에 전개시킨 TLC 판을 관찰하여 이동된 점을 관찰하였으며 박층크로마토그래피의 화학적 이동값과 이동 형태는 다음과 같다.

$$\text{화학적 이동값}(R_f) = \frac{\text{화합물의 이동거리(cm)}}{\text{전개용매의 이동거리(cm)}}$$

바. 단리화합물의 구조분석

반복적인 칼럼크로마토그래피를 통하여 정제된 단리화합물의 정확한 구조는 $^1\text{H-NMR}$ 과 $^{13}\text{C-NMR}$ 및 COSY, HETCOR, DEPT 등의 2D-NMR 스펙트럼을 분석함으로써 결정하였으며 EI-MS와 FAB-MS 분석을 통하여 분자량을 확인하였다.

NMR 분석에 사용된 기기는 강원대학교 공동실험실습관의 Bruker Avance DPX 400MHz 등을 이용하였으며 분석용매로는 methanol- d_4 및 acetone- d_6 를 사용하였다.

질량분석기는 강원대학교 공동실험실습관의 Micromass사 Autospec M363과 기초

과학지원연구소 서울분소 화학분석실의 VG70-VSEQ를 사용하였다.

2. 생리활성시험

가. 항균시험

1) 공시균주

항균활성검정용 공시균으로서는 목재부후균 *Gliocladium virens*, *Tyromyces palustris*, *Trametes versicolor*를, 수목병원균 *Phomopsis albobestita*, *Endothia nitschkeii*, *Melanconis juglandis*를, 그람양성균 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus faecalis*, 그람음성균 *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*를 사용하였다.

2) 항균활성검정

가) 항진균활성

항진균활성검정방법으로는 배지점적법을 이용하였다. 즉, potato dextrose agar배지에 소정의 농도가 되도록 화합물을 혼합하여 만든 평판배지에 미리 배양해둔 각 공시균의 균사선단부를 직경 8mm의 cork borer로 떼어내어 접종하였다. 배양온도 27℃에서 소정기간 배양한 후 자란 균사환의 직경을 측정하여 균사생장억제율(hyphal growth inhibition ratio)로 항균활성을 나타내었다(식 1).

$$\text{균사생장억제율(\%)} = \left[\frac{(\text{무첨가배지상의균사생장직경}) - (\text{첨가배지상의균사생장직경})}{(\text{무첨가배지상의균사생장직경})} \right] \times 100$$

나) 항세균활성

항세균활성은 한천배지확산법에 의하여 검정하였다. 한천배지확산법은 우선 agar 1.5%가 함유되어 있는 배지를 petri dish에 분주하여 하층배지를 만들고, 그 위에 각 세균을 접종한 0.6%의 agar 배지를 부어 2층의 평판배지를 만들었다. 이렇게 제조된 평판배지에 소정 농도의 화합물을 마운트한 페이퍼디스크(직경 : 8mm)를 올려놓고 37℃에서 20시간 배양한 후 디스크 주변에 형성되는 생육저지환(clear zone)의 직경을 측정하여 항균활성을 검토하였다.

나. 항산화활성 시험

1) 과산화물가 측정

A.O.C.S. Cd 8-53(1989)에 따라 60% linoleic acid를 기질로 사용하여 과산화물가(peroxide value : POV)를 측정하여 항산화활성의 지표로 삼았다. 과산화물가측정은 100ml 비이커에 linoleic acid를 30g씩 분취하여 40℃의 항온기에 저장하고 24시간 간격으로 측정하였다. 측정방법은 마개달린 삼각플라스크에 일정 시간별 측정용시료 2g을 정확히 취해 넣고, 클로로포름-빙초산혼합액(2:3, v/v) 35ml를 가하여 조용히 흔들어 용해한다. 이어서 청정한 질소가스를 투입하여 삼각플라스크내의 공기를 충분히 치환하고, 질소가스를 흘려보내면서 포화 KI용액 1ml를 정확히 가한 후 질소가스를 잠그고, 즉시 마개를 하여 잘 흔들어 혼합한 후 상온·암소에서 5분간 정치한다. 5분 후 이산화탄소를 배제시킨 증류수 75ml를 가해 심하게 흔들어 혼합한 후, 1% 전분용액을 지시약으로 넣고 0.01N Na₂S₂O₃용액으로 적정하여, 전분에 의한 착색이 소실된

때를 종점으로 하여 과산화물가(POV)를 산출하였다(식 2).

$$\text{과산화물가} = \left[\frac{A \times F}{B} \right] \times 10 \quad \text{..... (식 2)}$$

A : 0.01N Na₂S₂O₃용액 사용량(ml)

F : 0.01N Na₂S₂O₃용액의 factor

B : 시료채취량(g)

과산화물가가 80meq/kg oil에 도달하는 시간을 유도기간(induction period)으로 하여 시료별 항산화정도를 비교하고, 항산화지수(antioxidative index : A.I.)로 나타내었다(식 3).

$$\text{항산화지수} = \frac{\text{추출물첨가구유도기간}}{\text{대조구유도기간}} \quad \text{..... (식 3)}$$

2) Ferric thiocyanate법

80% 에탄올에 녹인 추출물 일정량을 2.51% linoleic acid 2.88ml, 40ml phosphate buffer(pH 7.0) 9ml와 혼합 후 40℃에서 Incubation 하면서 경시적으로 시료액 100 μ l를 75% 에탄올 9.7ml에 희석한 후 30% ammonium thiocyanate 액 100 μ l를 가하고 3분 후 20ml FeCl₂ / 3.5% HCl 100 μ l를 가하여 강하게 진탕한 다음 500nm에서 흡광도를 측정하여 대조구와 비교한다.

항산화력은 대조구의 흡광도에서 시료구의 흡광도를 제한 값을 대조구의 흡광도로 나누어 백분율을 나타낸다.(식 4)

$$\text{항산화력 (\%)} = (1 - A_s/A_c) \times 100(\%) \text{ (식 4)}$$

As : Absorbance of control treatment

Ac : Absorbance of sample treatment

3) Aesculetin 첨가와 산소농도가 한우 체외수정란의 체외발육에 미치는 효과

가) 난포란의 성숙배양과 체외수정

한우 난포란의 성숙배양 및 체외수정은 양 등(1997)의 방법에 준하여 실시하였다. 간략히 요약하면, 도축장에서 회수한 난소를 실험실로 운반한 후, 미성숙 난자를 채취하여 TC-199(Sigma)배양액에 10%자우혈청(Fetal bovine serum ; FBS, Gibco)과 호르몬(FSH 0.5 μ g/ml, LH 5 μ g/ml 및 Estradiol 1 μ g/ml, Sigma)이 함유된 성숙배양액에서 20~22시간 성숙배양을 실시하였다.

체외수정은 동결정액을 용해한 후 Brackett와 Oliphant 배양액(BO 배양액, 1975)에 10mM caffeine(Sigma)이 함유된 배양액과 혼합, 원심분리(1500 rpm, 10분)로 2회 세정 후 정자의 농도가 2.5 $\times 10^6$ 정자/ml가 되도록 정자 부유액을 준비하여 체외수정에 이용하였다. 수정 후 6~8시간에 CR_{1aa}(Rosenkrans와 First, 1991)배양액으로 2~3회 세척한 후 40~44시간동안 체외배양을 실시하여 생산된 2~8세포기 체외수정란을 난구세포를 제거한 후 체외발육 실험에 공용하였다.

나) 체외수정란의 항산화제 첨가 배양과 다른 농도의 가스조건에서의 체외배양

체외수정시킨 후 40~44시간에 생산된 2~8 세포기 체외수정란의 난구세포를 제거한 후 체외수정란을 단순배양액인 CR_{1aa} 배양액에 물푸레나무 수피로부터 추출한 항산화제인 aesculetin 0, 1, 5 및 10 μ g/ml 첨가하여 5% 또는 20% O₂ 농도와 5% CO₂ 농도 및 38.5 $^{\circ}$ C 온도 조건에서 체외배양을 실시하여 aesculetin의 적정농도를 조사하였고, CR_{1aa} 배양액에 aesculetin 1 μ g/ml, taurine 2.5mM을 첨가하여 5% 또는 20% O₂ 농도와 5% CO₂농도 조건에서 5~6일간 체외배양을 실시하여 두 처리구간의 항산화

효과를 비교 검토하였다. 또한 항산화제와 growth factor의 공동효과를 검토하기 위하여 aesculetin($1\mu\text{g}/\text{ml}$)과 taurine(2.5mM)에 PDGF $1\text{ng}/\text{ml}$ 와 EGF $10\text{ng}/\text{ml}$ 를 첨가하여 5% O_2 와 5% CO_2 농도 조건 및 38.5°C 에서 체외배양하여 체외발육성적을 조사하여 항산화제와 growth factor의 상호효과를 검토하였다. 물푸레나무 수피에서 추출한 aesculetin(천연 aesculetin)의 효능을 검증하기 위하여, 천연추출 aesculetin과 Sigma 회사로부터 구입한 aesculetin을 각각 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 첨가하여 5% O_2 농도와 5% CO_2 농도 조건에서 5~6일간 체외배양을 실시하여 두 처리구간의 효과를 비교 검토하였고, 배반포기 수정란의 일부를 형광염색에 의하여 세포수를 조사했다.

다) 체외수정란의 세포수 조사

체외수정란의 세포수 조사는 Papaioannou와 Ebert(1988)의 이중형광염색방법을 수정정보완하여 조사하였다. 체외수정란의 투명대를 0.5% hyaluronidase(Sigma)에 처리하여 용해시킨 후, TNBS acid-PBS(1 : 9)와 $3\text{mg}/\text{ml}$ PVP액에 넣어 4°C 에서 10분간 처리한 후, Anti-DNP-BSA(1 : 10)액내에서 20분간 배양한 후, Guinea pig complement-PBS(1 : 3)에서 30분간 처리하였다. 위의 방법에 의해 면역 외과적인 처리가 끝난 수정란을 2.3% citrate용액과 ethanol을 3 : 1의 비율로 만든 용액으로 세척한 다음, $10\mu\text{g}/\text{ml}$ Hoechst 33342(Sigma)와 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ propidium iodide(Sigma)에서 4~5분간 염색을 실시하였다. mounting용액은 PBS와 glycerol을 1 : 1로 혼합하여 사용하였으며, slide glass위에 $3\mu\text{l}$ mounting 용액을 떨어뜨려 소적을 만들고 염색된 수정란을 혼합한 후 cover glass를 덮고 메니큐어로 봉입하여 400배 형광현미경하(Ziess, Germany)에서 내세포피와 영양배엽의 세포수를 조사하였다.

라) 통계처리

본 실험에서 얻어진 결과는 SAS 통계 package program을 이용하여 분석하였고, Duncan의 다중범위 검정방법을 실시하여 처리간 유의성을 검토하였다.

다. 유전독성 시험

본 시험은 물푸레나무 수피 추출물이 박테리아와 동물세포에 투여되었을 때 직접적인 돌연변이 물질로 작용할 수 있는지 여부와 rat의 간으로부터 추출한 S9 mix를 첨가하여 물질대사를 활성화시킨 경우 간접적인 돌연변이 물질로 작용할 수 있는지의 여부를 박테리아의 복귀돌연변이 시험과 동물세포 소핵시험을 이용하여 시험하였다.

1) 박테리아를 이용한 복귀돌연변이 시험(Ames test)

시 료 : 물푸레나무 수피 추출물

공시균주 : *Salmonella typhimurium* TA98, TA100

본시험은 물푸레나무 수피 추출물이 직접적인 돌연변이 물질로 작용할 수 있는지 여부와 생체내 효소를 이용한 대사활성화에 의해 간접적인 돌연변이 물질로 작용할 수 있는지의 여부를 각각 시험하였다. 공시균주는 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100을 사용하였다.

시험에 사용될 추출물의 적정 농도(약 50% 정도의 colony 억제 농도)를 찾기 위해서 균주의 생장에 필수인 histidine이 충분히 첨가된 histidine/biotin plate를 이용하여 100 μ g/plate ~ 10 μ g/plate의 농도범위를 설정하여 TA98과 TA100 균주에 대해 시험하였다.

시험을 위한 배지, 시약 및 S9 mix의 조제와 시험방법은 Marton 등의 Ames 교수팀에 의해 제시된 방법에 따랐다. S9분획은 Phenol-barbital과 5,6-benzoflavone으로 유도한 Sprague-Dawley rat(CRJ; 7주령, 수컷)의 간으로부터 분리한 것으로 일본 Oriental Yeast Co., LTD.에서 구입(protein 함량 : 23.6mg/ml S9)하였으며, 얼음위에서 4% S9 mix를 제조하여 사용하였다.

시험에 사용한 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 균주는 Ames 교수로부터 직접 분양받아 액체질소탱크 속에 보관된 균주를 살려 시험에 사용하였으며 각 균주는 histidine 요구성, deep rough(rfa) 특성, UV에 대한 민감도(uvrB 돌연변이), R-factor에 의한 ampicillin 또는 tetracycline 내성 등의 유전형질을 확인한 후 시험에 사용하였다.

대사활성화를 시키지 않은 경우의 시험은 standard plate incorporation test로, 대사활성화시키는 경우에는 pouring하기전에 30분간 예비배양하는 preincubation test로 시행하였다. 시험관에 인산완충용액 0.5ml(대사활성화 시키는 경우에는 S9mix 0.5ml), 농도가 조절된 시료용액 0.1ml과 Oxoid nutrient broth에서 12시간 배양시킨 균배양액 0.1ml을 넣어 가볍게 vortex하였다. 대사활성화시키지 않는 경우에는 바로(대사활성화 시키는 경우에는 30분간 37℃에서 예비 배양한 다음) histidin/biotin(top agar 양의 1/10)이 첨가된 top agar(45℃)를 2ml 가하고 3초간 vortex하여 약 12시간 전에 미리 조제하여둔 minimal glucose agar plate 상에 부어 평판 고화시켰다. 37℃에서 48시간 배양한 후 revertant colony를 계수하였다. 돌연변이 유발성의 판정은 원저의 제시에 따라 복귀돌연변이 집락수가 용매대조군의 2배 이상이면서 용량의존성을 갖는 경우를 양성으로 하였다.

2) Ames test를 이용한 항돌연변이 시험

시 료 : 물푸레나무 수피 추출물, aesculetin

공시균주 : *Salmonella typhimurium* TA98, TA100

Salmonella typhimurium TA98, TA100 균주를 사용하였으며 Ames test 방법을 응용하였다. 시험관에 phosphate buffer 0.5ml(대사활성화시키는 경우에는 S9mix 0.5ml), 시료용액, 균배양액과 함께 돌연변이 유발물질(mutagen)을 넣은 후 top agar를 혼합

하여 MGA plate에 부었으며 37°C에서 48시간 배양한 후 revertant colony를 계수하였다.

직접법에서는 돌연변이원으로 TA98 균주에 대해 4-nitro-o-phenylenediamine (NPD)을 5 μ g/plate의 농도로, TA100 균주는 sodium azide를 1 μ g/plate로 사용하였으며, 대사를 활성화시키는 간접법에서는 두 균주에 대해 benzo(α)pyrene을 20 μ g/plate의 농도로 사용하였다.

돌연변이 유발물질에 의해 생긴 colony 수(spontaneous colony는 감산)를 control로 하여 시료에 의해 감소된 colony의 비율(%)로 항돌연변이 효과를 나타내었다.

3) 동물배양세포를 이용한 소핵시험(Micro nucleus test)

시 료 : 물푸레나무 수피 추출물, aesculetin, aesculin, fraxetin

동물세포 : Chinese hamster ovary(CHO) 세포

시험에 사용될 추출물의 적정 농도는 세포의 성장 억제를 나타내기 시작하는 100 μ g/ml을 최고 농도로 하였고, 30 μ g/ml 및 10 μ g/ml의 농도를 설정하여 대사를 활성화시키지 않는 직접법과 S9mix를 첨가하여 물질대사를 활성화시킨 간접법으로 각각 시험을 수행하였다.

시험에 사용된 세포배양용 배지는 RPMI 1640 이었으며 sodiumbicarbonate를 첨가하여 CO₂의 농도를 조절하고 HCl과 HEPES를 첨가하여 pH를 맞추어 후 필터하였으며 FBS 및 항생제로 Penicillin-streptomycin을 첨가하여 완전배지로 사용하였다. 물질대사를 활성화시키기 위한 S9 mix는 Ames test 방법에 따라 20%의 농도로 조제하여 사용하였다. 양성대조군으로 직접법에서는 MMC(mytomycin-C), 간접법에서는 Benzo(α)pyrene을 사용하여 비교하였다.

CHO 세포를 thawing 하여 최고의 세포상태가 되도록 한 배양한 후에 3ml용

culture dish에 약 1.3×10^5 개의 세포농도로 심어 약 48시간 동안 세포를 37°C의 CO₂ 인큐베이터에서 배양하였다. culture dish에 다시 적정농도의 시료와 세포분열시 세포질의 분열만을 저지하는 cytochalasin B를 넣어주고 24시간 동안 인큐베이터에서 배양한 후 고정액(메탄올-초산(3:1, 6:1))으로 세포를 고정하여 표본으로 만들었다. 고정된 세포들은 건조한 후 Giemsa 염색액으로 핵을 염색한 후 공기건조하였다. 간접법에서는 48시간 배양시킨 dish에 농도별 시료와 20%의 S9 mix를 첨가하여 6시간 동안 물질대사가 일어나도록 배양한 후 다시 dish를 꺼내어 배지를 버리고 다시 신선한 배지를 교환하면서 cytochalasin B를 함께 넣어주고 다시 18시간 동안 배양한 다음 직접법과 동일하게 세포를 고정하고 염색하였다.

핵을 염색시킨 세포표본들에 대해서 1,000배의 배율에서 현미경으로 관찰하여 세포막이 cytokinesis-blocked 된 세포들 1,000개씩 총 3,000개중에 포함된 소핵의 수를 계수하였다.

라. *in vitro* 항암시험(MTT assay)

시 료 : 물푸레수피 아세톤-물 추출물, aesculetin, fraxetin, aesculin

세 포 주 : 정상세포 - mouse splenocyte(생쥐 비장세포)

암 세 포 - B16 melanoma(생쥐 피부암세포)

1) 접종세포수 결정

우선적으로 접종할 정상세포와 암세포들에 대한 세포수를 결정하기 위하여 여러 가지의 세포수 조건으로 예비실험하여 5×10^5 cell/well 적정농도 세포수를 설정하였다.

2) 시료의 적정농도 결정

정상세포 및 암세포에 대한 각 시료의 적정농도를 찾기 위하여 여러 단계의 농도를 설정하여 예비실험한 결과 정상세포의 성장 저해는 없으면서 암세포에 적용할 수 있는 최고농도를 물푸레 수피 추출물은 $540\mu\text{g}/\text{ml}$, aesculetin은 $90\mu\text{g}/\text{ml}$, fraxetin $180\mu\text{g}/\text{ml}$, aesculin $360\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 결정하였다.

3) 방법

Well당 5×10^5 개의 세포농도로 완전배지를 넣은 세포부유액 $180\mu\text{l}$ 와 농도별 시료용액 $20\mu\text{l}$ 를 duplicate로 넣고 37°C (5%의 CO_2 농도를 유지하는 배양기에서 18시간동안 배양하였다.

세포 배양액에 $0.5\text{mg}/\text{ml}$ 의 MTT 농도가 되도록 MTT 용액 $20\mu\text{l}$ ($5\text{mg}/\text{ml}$)를 다시 첨가한 후 4시간 동안 더 배양을 하여 MTT formazan이 형성되도록 한다. 이후 세포들이 가라앉도록 원심분리를 하고 바닥의 세포들이 뜨지않게 $30\mu\text{l}$ 정도만 남겨두고 나머지액은 제거하였다. MTT formazan이 녹아나오도록 HCl(0.07N)을 넣어준 isopropanol $100\mu\text{l}$ 를 첨가한 후 10분간 흔들어서 ELISA reader로 570nm 에서 흡광도를 측정하였으며 reference로 650nm 의 흡광도를 빼주었으며 다음 식과 같은 세포생존율(%)로 나타냈다.

$$\text{세포 생존율(\%)} = \frac{\text{시료 well의 평균 } A_{570-650}}{\text{대조군의 평균 } A_{570-650}} \times 100(\%)$$

3. 물푸레나무의 국내 자원조사

지금까지 물푸레나무과의 수종에 대한 개략적인 축적량만이 파악된 바 있으며, 소경재의 생산을 목적으로 할 경우에는 35년 정도에서 벌채가 가능하지만, 흉고직경 30cm 이상의 대경재를 생산하고자 할 경우에는 70년 정도가 요구된다. 산림청에서 발표하고 있는 벌기령은 60년으로 되어 있다. 따라서 조림 및 육묘량과 임목축적량, 수피생산량 등은 본 연구에서 조사되어야 할 것이다.

본 연구에서는 강원도와 경기도의 일부 산지를 대상으로 조사코스를 설정한 후, 조사코스의 좌우 5m씩(폭 10m)에 출현하는 물푸레나무류에 대하여 수고 및 직경을 측정하였으며, 해발고 100m씩 구분하여 출현하는 물푸레나무류를 모두 조사하였다. 이와 같은 방법으로 조사된 자료를 이용 조사 대상지역의 산지에 대한 물푸레나무류의 분포 현황, 축적량 및 수피 생산량을 추정하였다.

4. 시제품 제조

물푸레나무로부터 단리한 aesculetin을 항산화제 및 식품 등의 첨가물로 사용할 수 있도록 하기 위하여 과립 및 정제로 제조하는 공정을 확립하고자 하였다. 우선 과립 및 정제를 만들기 위하여 4kg의 물푸레 수피를 확보하여 추출하였고 추출물로부터 약 70g 이상의 aesculetin을 정제하여 분말로 조제하였으며 이중 과립으로 30g 그리고 정제로 30g 을 시료로 사용하였다. 정제는 성분함량을 300mg/정으로 하였으며 정제의 특성을 보완하기 위하여 코팅을 하였다 .

가. Aesculetin 함유 과립 제조

1) 과립의 처방조성

물푸레나무 수피 성분인 aesculetin을 함유하는 균일 과립을 얻기 위하여 표 1-1과 같은 조성으로 처방하였다.

표 1-1. 과립처방조성

조성성분	첨가량
Aesculetin	30g
Avicel 101	45g
Lactose	105g
Starch	70g
PVP	15g
Ethanol/Water	150ml

2) 과립제조방법

가) 먼저 위의 처방 조성에 따라 aesculetin 30g, avicel 101 45g, lactose 105g과 starch 70g을 분말 혼합기에 넣어 골고루 혼합하였다.

나) 다음 15g의 PVP(polyvinylpyrrolidone)를 에탄올:물(4:1, V/V)의 혼합용매 150ml에 녹여 10%(w/w)정도 농도의 PVP 용액을 만들었다.

다) PVP 용액을 혼합 분말에 조금씩 가하면서 균일하게 혼합한 후 적당한 size의 체를 통과하여 골고루 섞이게 하였다.

라) 습윤된 분말은 지름 1.5mm 체가 장치된 과립제조기(extruder)에 넣어 과립을

제조하였다.

마) 압출된 과립을 10 mesh sieve를 통과시켜 아주 큰 size의 과립을 제거하였다.

바) 얻은 과립을 일정한 회전속도에서 30분간 구형화(spheronization) 조작을 수행하였다.

사) 조작이 끝나면 최종적으로 얻은 과립을 80°C oven에서 12hr. 건조하였다.

아) 건조된 과립은 12-14mesh 사이의 체를 통과시켜 균일한 크기의 과립을 얻었다. 얻은 과립은 구형에 가까운 입상이었으며 최종적으로 12-14mesh 크기의 체를 통과시켜 얻은 과립의 중량은 147g 이었다. 즉 수득율이 낮았으나 제조 배치 크기를 늘리면 최소한의 손실이 일어나도 90% 이상의 중량 대비 수득율을 얻을 수 있으리라 생각한다.

나. Aesculetin 함유 정제의 제조

1) 정제의 처방조성

다양한 조성물을 연구하여 표 1-2와 같은 aesculetin 함유 정제의 최적 처방을 확립하였다. 이들 첨가제들은 FDA에서 인체에 복용이 가능하고 매우 안전한 조성물들에서 선정한 것들이다.

표 1-2. 정제의 최적 처방조성

조성성분	첨가량(mg)	함량%(W/W)
Aesculetin	100mg	33.3%
Avicel 102	191mg	63.7%
Magnesium Stearate	7mg	2.3%
Cab-O-Sil	2mg	0.7%

2) 정제의 제조방법

가) 위의 처방 구성에 따라 aesculetin과 avicel 102를 분말 혼합기에 넣어 25min 동안 골고루 균일하게 혼합하였다.

나) 이 혼합분말에 Magnesium stearate와 Cab-O-Sil을 넣고 40 mesh를 통과(이 과정을 5-6회 반복)시켜 골고루 혼합된 타정 분말을 얻었다.

다) 타정기(정제 제조기)에서 직타법으로 분말을 타정하여 300mg/정 되는 정제를 얻었다. 1정당 함유된 약물량은 100mg이다.

3) 정제의 코팅

가) 코팅액 제조방법

- (1) 먼저 표 1-3과 같은 구성에 따라 점도가 15cps인 HPMC를 증류수에 녹여 농도가 2%인 용액을 만든다.
- (2) 다음 PEG 400(가소제)과 Tartrazine(황색4호, 착색제)을 HPMC 용액에 용해시킨다.
- (3) 마지막으로 위 용액에 talc를 현탁시켜 코팅액으로 한다.

표 1-3. 정제 코팅액 조성

조성성분	첨가량(g)	함량%(w/w)
Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC, 15cps)	4.0	2.00
PEG400	0.5	0.25
Talc	5.0	2.50
Tartrazine(황색4호)	0.3	0.15
Water(증류수)	190.2	95.10

나) 코팅방법

- (1) Inlet 온도를 50℃로 설정한 후 100g의 물푸레수피과립을 fluid bed에서 20-30분 간 예열시킨다.
- (2) 코팅액은 0.8mm의 nozzle을 이용하여 Atomizing air pressure가 2bar 인 상태에서 4ml/min 속도로 분사하여 코팅한다.
- (3) 코팅과정에서 코팅현탁액 중 talc가 용기 바닥으로의 침강을 막기 위하여 코팅액을 일정한 속도로 균일하게 stirring 해야 한다.
- (4) 코팅이 끝난 후 코팅된 과립을 fluid bed 내에서 30분 정도 계속하여 건조한다.

다) Fluid bed를 이용한 코팅 조건

정제를 코팅하기 위한 조건은 표 1-4와 같았다.

표 1-4. Fluid bed를 이용한 코팅 조건

Factor	Conditions
Batch size	100g
Atomizing air pressure	2 bar
Spray rate	4ml/min
Inlet temperature	50℃
Nozzle size	0.8mm

제3절 결과 및 고찰

1. 단리화합물

물푸레나무 수피, 쇠물푸레나무 수피와 들메나무 수피 추출물의 분획별 수율은 표 1-5와 같이 나타났으며 각 분획물에 대하여 계속적인 칼럼크로마토그래피를 수행하였다. 물푸레나무에서는 aesculetin, fraxetin, aesculin ligstroside 및 oleuropein을 단리하였다. 쇠물푸레나무 수피에서는 물푸레나무와 매우 흡사한 성향을 보였으며 aesculetin, fraxetin, aesculin 및 oleuropein을 단리할 수 있었다. 들메나무에서는 ester 화합물인 ligstroside, oleuropein과 isoligstroside를 단리하였으며 물푸레 및 쇠물푸레나무와는 추출성분의 차이가 현저한 것으로 판단되었다(표 1-6). 단리화합물들의 구조는 그림 1-1과 1-2에서 보는 바와 같다.

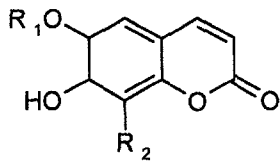
표 1-5. 물푸레나무과 수종 수피의 각 분획별 수율

분획 수종	Hexane sol.	Chloroform sol.	Ethylacetate sol.	Water sol.	Precipitate	Total
물푸레나무	-	8g	50g	150g	10g	218g
쇠물푸레나무	59g	24g	24g	163g	11g	281g
들메나무	97g	90g	15g	119g	-	321g

표 1-6. 물푸레나무속에서 단리된 화합물 및 그 함유량

화합물명	물푸레나무(1kg)	쇠물푸레나무(2kg)	들메나무(2kg)
Aesculetin	++++	+++++	
Fraxetin	+++	+++	
Aesculin	+	+	
Ligstroside	+		+
Oleuropein	++++	++	+
Isoligstroside			+

+: 100mg <, ++: 100~300mg, +++: 300mg~1.0g, ++++: 1.0~10.0g, +++++: 10.0g >

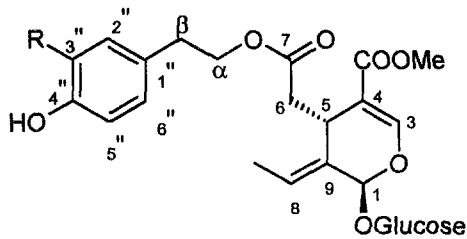


R₁= H, R₂= H: aesculetin

R₁= H, R₂= OMe: fraxetin

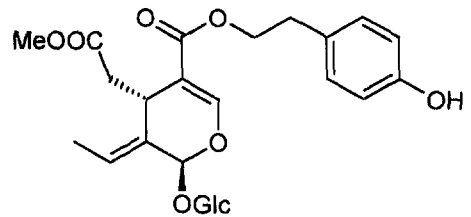
R₁= glucopyranose, R₂= H: aesculin

그림 1-1. 물푸레 및 쇠물푸레나무 수피로부터 단리된 coumarin 화합물의 구조.



R=H: ligstroside

R=OH: oleuropein



isoligstroside

그림 1-2. 물푸레나무와 들메나무 수피로부터 단리된 ester 화합물의 구조.

가. Aesculetin

물푸레 나무 수피 및 쇠물푸레 수피 에틸아세테이트용성 부분을 농축하는 과정에서 다량의 결정으로 단리되었으며 재결정법으로 정제하였다. 단리된 화합물의 양은 물푸레나무에서는 1.3g, 쇠물푸레에서는 11.5g 이었으며 TLC 상에서의 화학적이동값 R_f 는 0.67(solvent A)과 0.22(solvent B)로 나타났다.

NMR 및 MS data는 각각 그림 1-3, 1-4, 1-5 및 1-6에서 보는 바와 같이 나타났다.

$^1\text{H-NMR}(\text{Acetone-}d_6, \delta)$: δ 6.2(1H, d, $J=9.47\text{Hz}$, H-3), 6.8(1H, s, H-5), 7.1(1H, s, H-8), 7.9(1H, d, $J=9.50\text{Hz}$, H-4).

$^{13}\text{C-NMR}(\text{Acetone-}d_6, \text{ppm})$: δ 103.4(C-8), 112.2(C-10), 112.5(C-3), 112.9(C-5), 143.8(C-7), 145.5(C-4), 149.9(C-6), 151.2(C-9), 162.8(C-2).

나. Aesculin(6-O- β -D-glucopyranosylaesculetin)

물푸레나무 추출물에서는 MBE-3을 메탄올-물(2:1, 1:1, 1:2, 1:3등)로 재크로마토그래피를 실시하여 흰색의 순수한 aesculin 60mg을 얻을 수 있었으며 수용성추출물을 메탄올-물(1:1)로 칼럼크로마토그래피를 수행한 후 MBW-3에서 결정으로 얻을 수 있었다.

쇠물푸레나무 추출물에서는 FBE-2 부분을 메탄올-물(2:1, 1:2, v/v)을 용리용매로 하여 연속적인 재크로마토그래피를 실시한 결과 aesculin(66mg)을 결정으로 단리하였다. TLC 상에서의 화학적이동값 R_f 는 0.62(solvent A)과 0.30(solvent B)로 나타났다.

NMR 및 MS data는 각각 그림 1-7, 1-8 및 1-9에서 보는 바와 같이 나타났다.

$^1\text{H-NMR}(\delta, \text{MeOH-}d_4)$: δ 3.4-4.0(6H, m, glucose), 4.85(1H, d, $J=16.9\text{Hz}$, glucose H-1), 6.19(1H, d, $J=9.45\text{Hz}$, H-3), 6.74(1H, s, H-5), 7.42(1H, s, H-8), 7.83(1H, d, $J=9.43\text{Hz}$, H-4).

$^{13}\text{C-NMR}(\text{ppm}, \text{MeOH-}d_4)$: δ 62.5(glc C-6), 71.3(glc C-4), 74.7(glc C-2)77.5(glc C-5), 78.4(glc C-3), 104.1(glc C-1), 104.5(C-8), 112.8(C-10), 113.1(C-3), 116.4(C-5), 144.4(C-7), 146.0(C-4), 152.5(C-9), 153.2(C-6), 163.7(C-2).

다. Fraxetin

물푸레나무 추출물 분획 MBE-3을 메탄올-물(2:1, 1:1 등)로 재크로마토그래피를 실시하였으며 이때 칼럼에서 빠지지 않는 흰색의 결정층을 따로 분리할 수 있었다. 재결정법으로 정제를 하였으며 동결건조된 양은 0.4g이었다.

쇠물푸레나무 추출물 분획 FBE-3을 메탄올-물(2:1, v/v)의 용리용매로 칼럼크로마토그래피를 수행하여 FBE-31에서 fraxetin(277mg)을 단리하였다. 또한 FBE-2 부분을 연속적인 칼럼크로마토그래피를 수행함으로써 40mg을 얻었다.

fraxetin의 TLC 상에서의 화학적이동값 R_f 는 0.64(solvent A)와 0.58(solvent B) 였다.

NMR data는 각각 그림 1-10, 1-11, 1-12, 1-13 및 1-14에서 보는 바와 같이 나타났다.

$^1\text{H-NMR}(\delta, \text{Acetone-}d_6)$: δ 3.88(3H, s, Me-5) 6.23(1H, d, $J=9.44\text{Hz}$, H-3), 6.8(1H, s, H-8), 7.9(1H, d, $J=9.42\text{Hz}$, H-4).

$^{13}\text{C-NMR}(\text{ppm}, \text{Acetone-}d_6)$: δ 57.8(C-OMe), 102.1(C-8), 112.8(C-10), 114.0(C-3) 134.7(C-6), 141.0(C-4), 141.2(C-5), 147.5(C-7), 151.1(C-9), 163.1(C-2).

라. Ligstroside

물푸레나무 추출물분획 MBE-1을 메탄올-물(2:1)로 재크로마토그래피를 수행한 후 MBE-12를 메탄올-물(1:2 및 1:4)의 용매로 연속적인 재크로마토그래피를 실시하여 ligstroside(46mg)를 얻을 수 있었다.

들메나무 추출물분획 DBC-1을 메탄올-물(2:1, 1:2, 1:3, v/v) 등의 연속적인 크로마토그래피를 수행하여 ligstroside(52mg)를 단리하였다. TLC 상에서 ligstroside는 0.76(solvent A)과 0.75(solvent B)의 화학적 이동값(R_f)을 나타냈다. FAB-MS 스펙트럼(그림 1-21)에서는 $[M+H]^+$ 의 m/z 가 541로써 ligstroside의 분자량 540과 일치하였다.

NMR data는 각각 그림 1-16, 1-17, 1-18, 1-19, 1-20에서 보는 바와 같이 나타났다.

$^1\text{H-NMR}(\delta, \text{MeOH-}d_4)$: 7.51(1H, s, H-3), 7.05(1H, d, $J=8.45\text{Hz}$, H-5''), 6.75(1H, d, $J=1.25\text{Hz}$, H-2''), 6.66(1H, dd, $J=4.69\text{Hz}$ and $J=1.93\text{Hz}$, H-6''), 6.07(1H, q, $J=7.12\text{Hz}$, H-8), 5.91(1H, s, H-1), 4.20(2H, dt, $H_a-\alpha$), 4.10(2H, dt, $H_b-\alpha$), 3.96(1H, dd, $J=4.26\text{Hz}$ and $J=2.26\text{Hz}$, H-5), 3.7(3H, s, COOMe), 2.81(2H, t, $J=6.97\text{Hz}$ H- β), 2.69(2H, dd, $J=4.96\text{Hz}$ 와 $J=4.59\text{Hz}$, H_a-6), 2.43(2H, dd, $J=2.10\text{Hz}$ and $J=2.08\text{Hz}$, H_b-6), 1.64(3H, d, Me-10), 4.80(1H, d, $J=7.82\text{Hz}$, H-1'), 3.40(1H, d, $J=8.89\text{Hz}$ H-2'), 3.64~3.69(2H, m, H-3', 4'), 3.29~3.33(1H, m, H-5'), 3.88(1H, dd, $J=7.53\text{Hz}$ and $J=1.55\text{Hz}$, H-6').

$^{13}\text{C-NMR}(\text{ppm}, \text{MeOH-}d_4)$: 95.40(C-1), 155.43(C-3), 109.64(C-4), 32.08(C-5), 41.54(C-6), 173.49(C-7), 125.15(C-8), 130.31(C-9), 13.84(C-10), 168.92(C-11), 101.10(C-1'), 75.02(C-2'), 78.68(C-3'), 71.72(C-4'), 78.19(C-5'), 62.99(C-6'), 131.15(C-1''), 116.71(C-2''), 145.19(C-3''), 146.50(C-4''), 117.33(C-5''), 121.59(C-6''), 67.18(C- α), 35.66(C- β), 52.21(C-OMe).

따. Oleuropein

물푸레나무 추출물 분획 MBE-1을 메탄올-물(2:1)로 재크로마토그래피를 수행한 후 MBE-12를 메탄올-물(1:2 및 1:3)로 분리를 한 후 에탄올-헥산(4:1)으로 재크로마토그래피를 실시하여 1.01g의 oleuropein을 단리하였다.

식물푸레 추출물 분획 FBE-2를 메탄올-물(2:1, 1:2, 1:3, v/v)의 용리용매로 연속적인 재크로마토그래피를 실시함으로써 oleuropein 178mg을 단리할 수 있었다.

또한 들메나무의 DBC-1을 메탄올-물(2:1, 1:2, 1:3, v/v)의 연속적인 크로마토그래피를 수행하여 oleuropein 82mg을 단리하였다.

TLC 상에서 oleuropein의 화학적이동값은 0.80(solvent A)과 0.75(solvent B)로 나타났다. FAB-MS 스펙트럼(그림 1-24)에서 $[M+H]^+$ 의 m/z 는 525로써 oleuropein의 분자량 524와 일치하게 나타났다.

NMR data는 각각 그림 1-22와 1-23에서 보는 바와 같이 나타났다.

$^1\text{H-NMR}(\delta, \text{MeOH-}d_4)$: 7.4(1H, s, H-3), 6.96(2H, d, $J=8.0\text{Hz}$, H-2" and H-6"), 6.63(2H, d, $J=8.36\text{Hz}$, H-3" and H-5"), 5.98(1H, q, $J=7.03\text{Hz}$, H-8), 5.8(1H, s, H-1), 4.12(2H, dt, $H_a-\alpha$), 4.0(2H, dt, $H_b-\alpha$), 3.87(1H, dd, $J=4.25\text{Hz}$ and $J=4.27\text{Hz}$, H-5), 3.62(3H, s, COOMe), 2.73(2H, t, $J=6.91\text{Hz}$, H- β), 2.61(2H, dd, $J=4.36\text{Hz}$ and $J=4.36\text{Hz}$, H_a-6), 2.34(2H, dd, $J=9.30\text{Hz}$ and $J=9.29\text{Hz}$, H_b-6), 1.55(3H, d, Me-10), 4.72(1H, d, $J=7.79\text{Hz}$, H-1'), 3.32(1H, d, $J=8.52\text{Hz}$, H-2), 3.56~3.60(2H, m, H-3', 4'), 3.24~3.26(1H, m, H-5'), 3.80(1H, br d, $J=11.60\text{Hz}$, H-6').

$^{13}\text{C-NMR}(\text{ppm}, \text{MeOH-}d_4)$: 95.32(C-1), 155.44(C-3), 109.58(C-4), 32.08(C-5), 41.50(C-6), 173.47(C-7), 125.15(C-8), 130.28(C-9), 13.87(C-10), 168.90(C-11), 101.04(C-1'), 75.00(C-2'), 78.69(C-3'), 71.71(C-4'), 78.15(C-5'), 62.99(C-6'), 130.64(C-1''), 131.30(C-2''), 116.54(C-3''), 157.32(C-4''), 116.54(C-5''), 131.30(C-6''), 67.20(C- α), 35.42(C- β),

52.22(C-OMe).

바. Isoligstroside

DBC-2를 메탄올-물(1:5, 1:6, 1:8, v/v) 등의 용리용매를 사용하는 연속적인 크로마토그래피로 isoligstroside(25mg)을 분리할 수 있었다. TLC 상에서 isoligstroside는 0.78(solvent A)과 0.76(solvent B)으로 나타났으며 들메나무에서만 분리할 수 있었다.

NMR data는 각각 그림 1-25와 1-26에서 보는 바와 같이 나타났다.

$^1\text{H-NMR}(400\text{MHz}, \delta, \text{MeOH-}d_4)$: 7.57(1H, s, H-3), 7.0(2H, d, $J=8.71\text{Hz}$, H-2'', 6''), 6.69(2H, d, $J=8.46\text{Hz}$, H-3'', 5''), 6.18(1H, q, $J=6.99\text{Hz}$, H-8), 6.02(1H, s, H-1), 4.83(1H, d, $J=7.90\text{Hz}$, H-1'), 3.81~4.13(2H, m, H- α), 3.85(1H, m, H-5), 3.73(3H, s, COOMe), 3.29~3.76(5H, m, H-2', 3', 4', 5', 6'), 2.79~2.98(2H, m, H- β), 2.69~2.83(1H, m, H-6).

$^{13}\text{C-NMR}(100.6\text{MHz}, \delta, \text{MeOH-}d_4)$: 172.1(C-11), 169.0(C-7), 157.1(C-4''), 155.7(C-3), 131.3(C-2'', 6''), 131.2(C-1''), 130.9(C-9), 125.5(C-8), 116.5(C-3'', 5''), 109.6(C-4), 101.3(C-1'), 95.7(C-1), 78.7(C-3'), 78.3(C-5'), 75.1(C-2'), 71.7(C-4'), 64.4(C- α), 63.0(C-6'), 52.4(C-OMe), 41.4(C-6), 39.8(C- β), 32.1(C-5), 14.2(C-10).

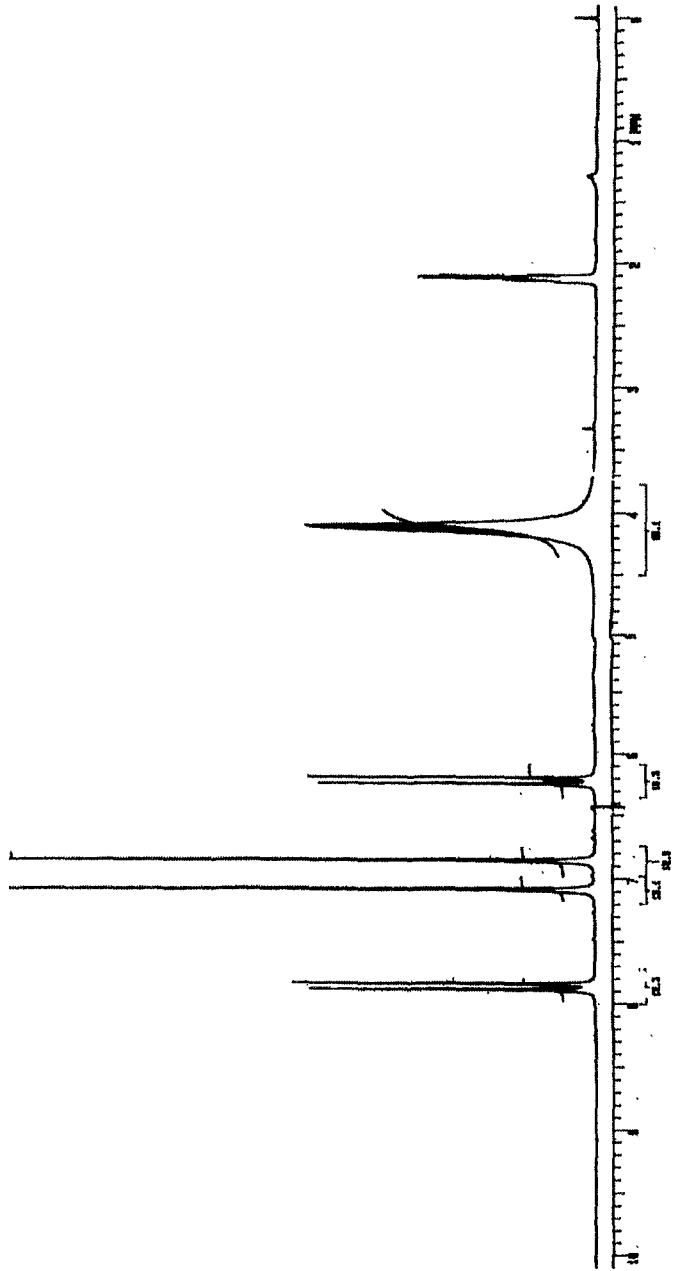


그림 1-3. Aesculetin의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼.

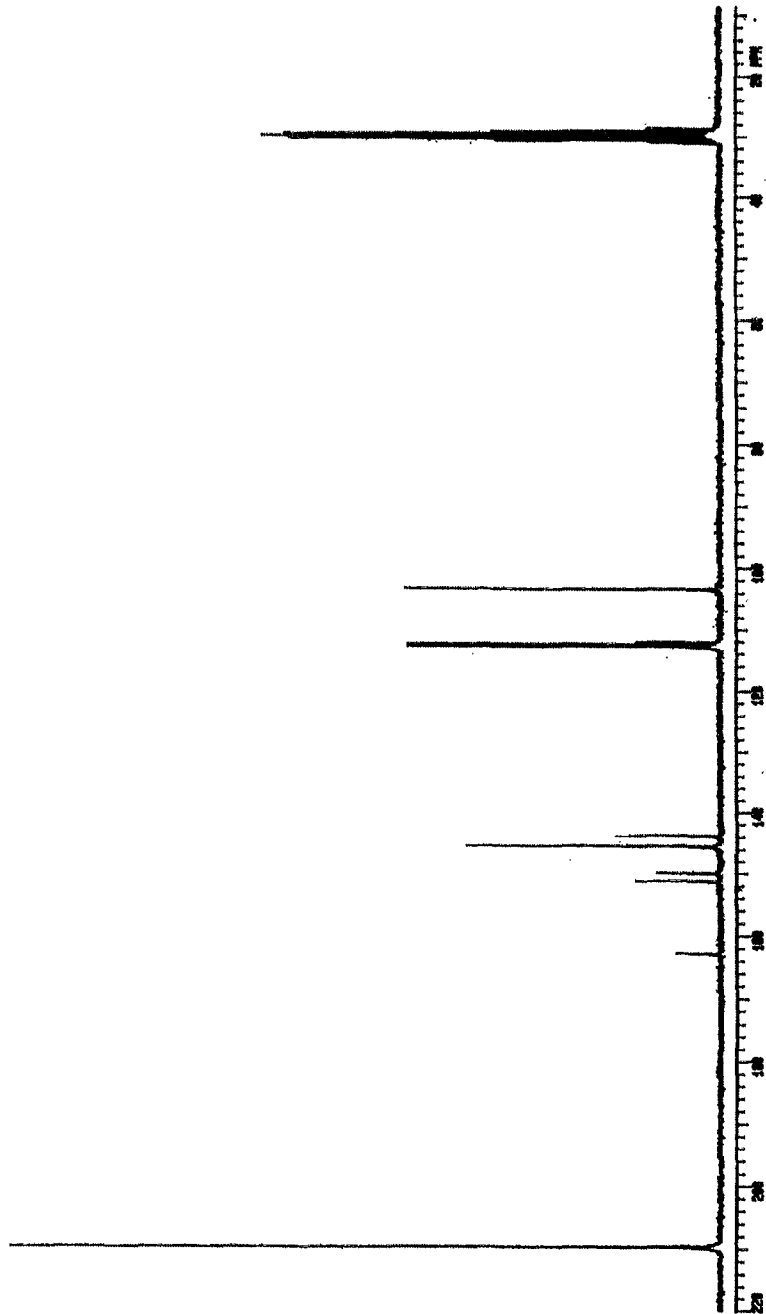


그림 1-4. Aesculetin의 ^{13}C -NMR 스펙트럼.

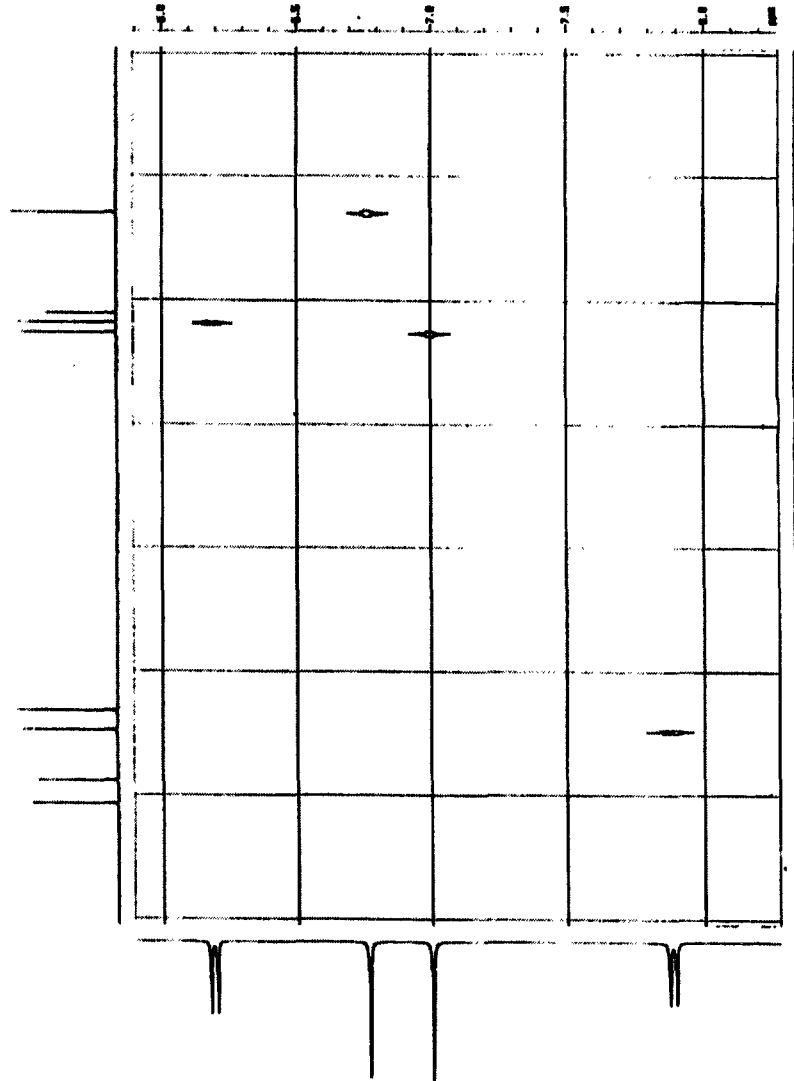
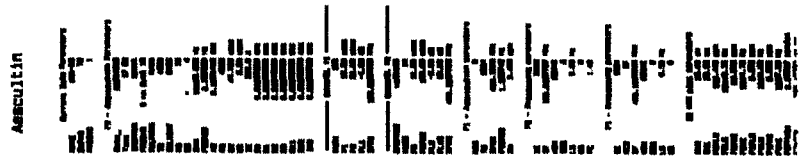


그림 1-5. Aesculetin의 HETCOR 스펙트럼.

File:LEI12 Ident:21-4 Mer Def 0.25 Acq:19-NOV-1997 15:38:41 +1:22 Cal:LEI10_1
 70S0 EI+ Magnet BpM:77 BpI:11631648 TIC:63785456 Flags:HALL
 IMS;2 File Text:KMSI/Aesculetin

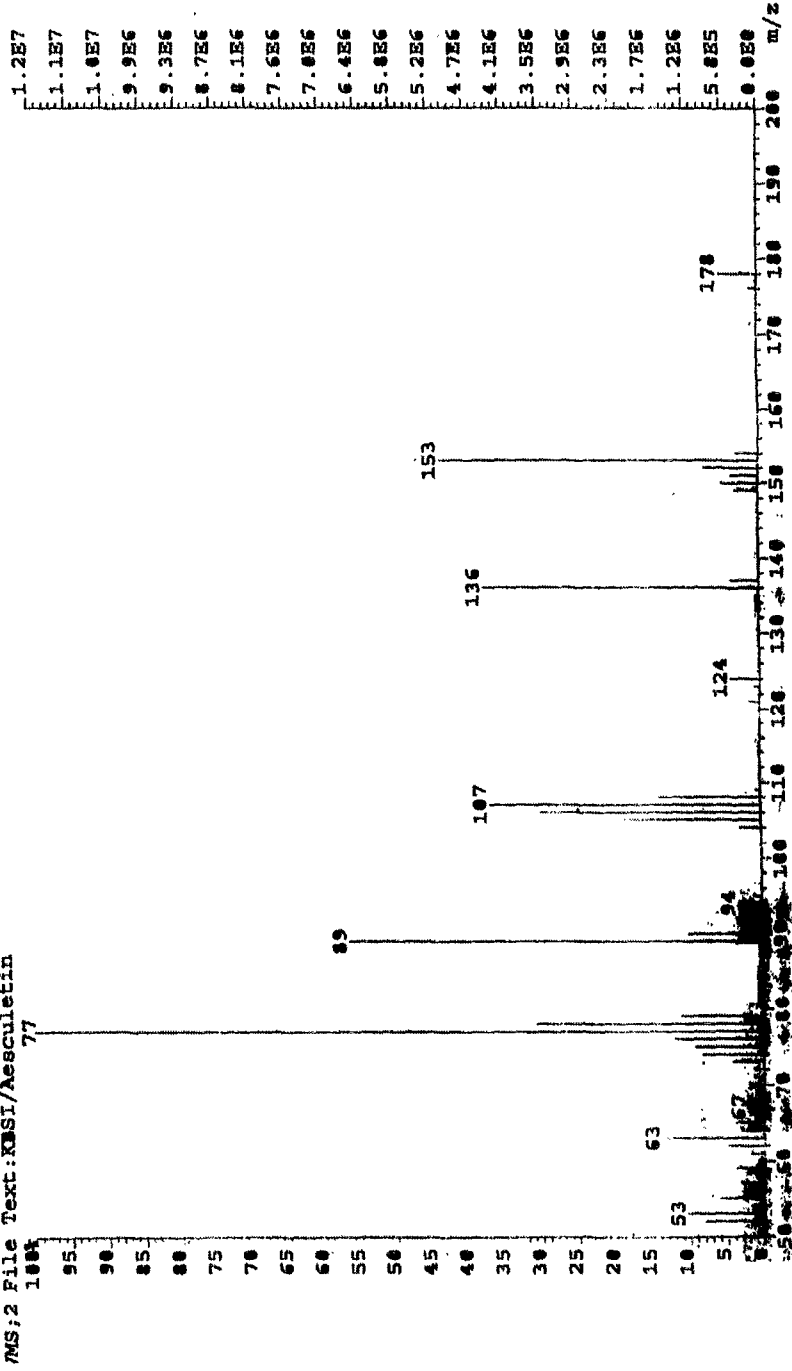


그림 1-6. Aesculetin의 EI-MS 스펙트럼.

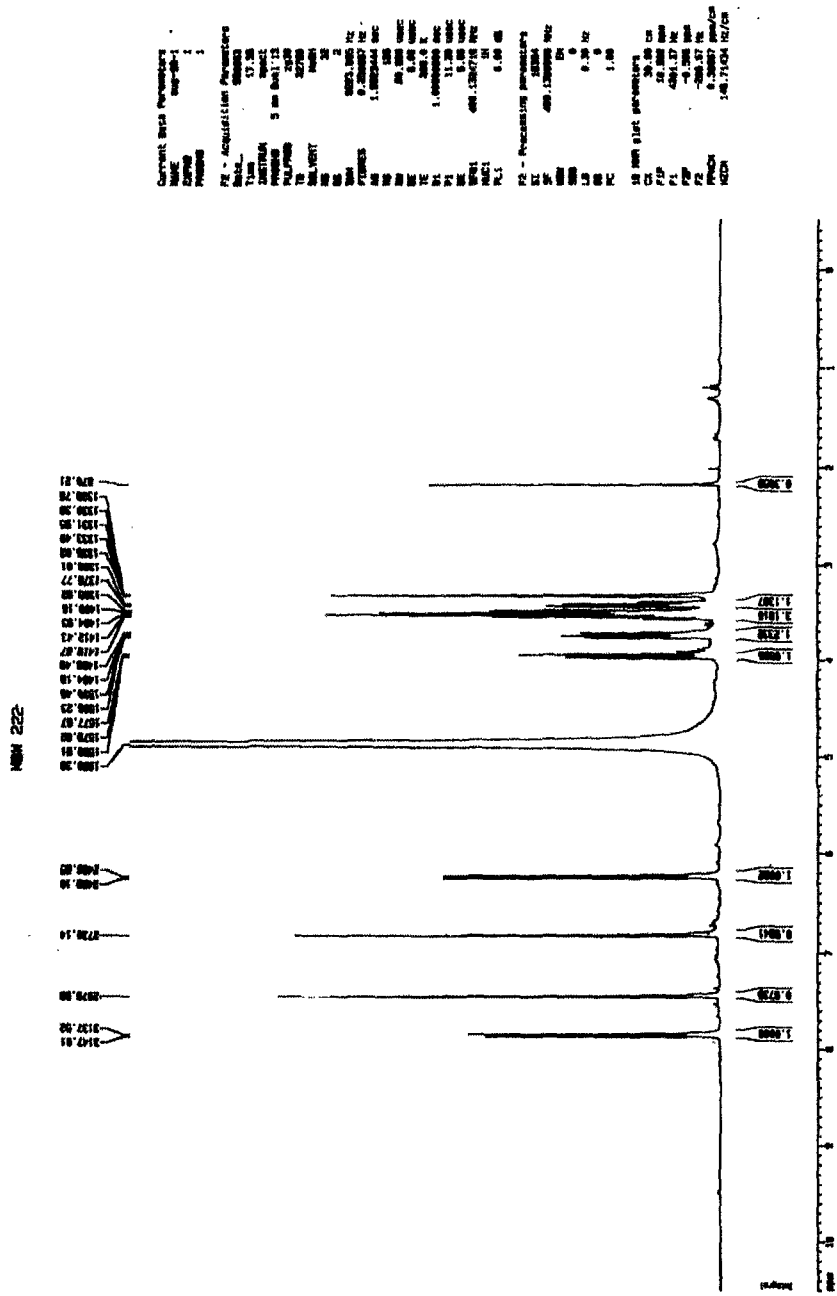


그림 1-7. Aesculin의 ¹H-NMR 스펙트럼.

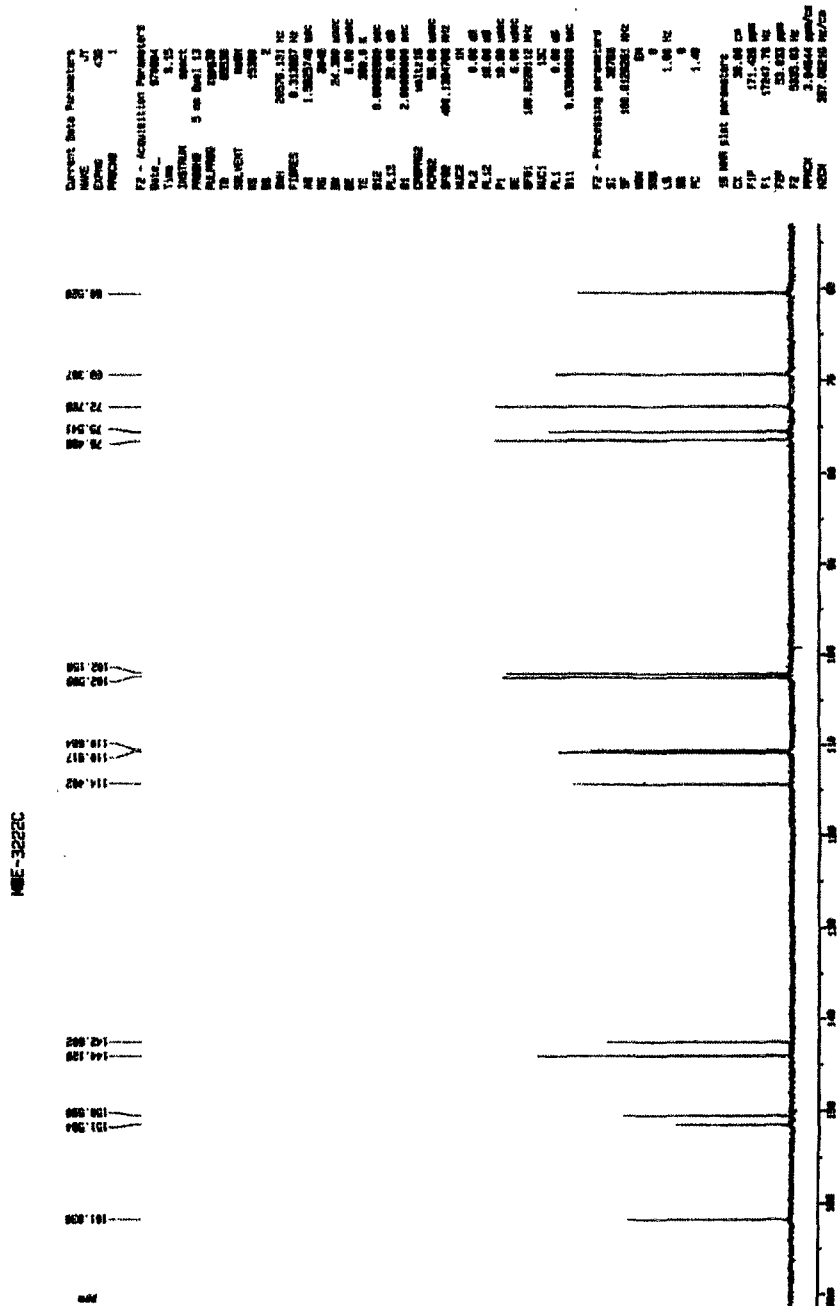


그림 1-8. Aesculin의 ¹³C-NMR 스펙트럼.

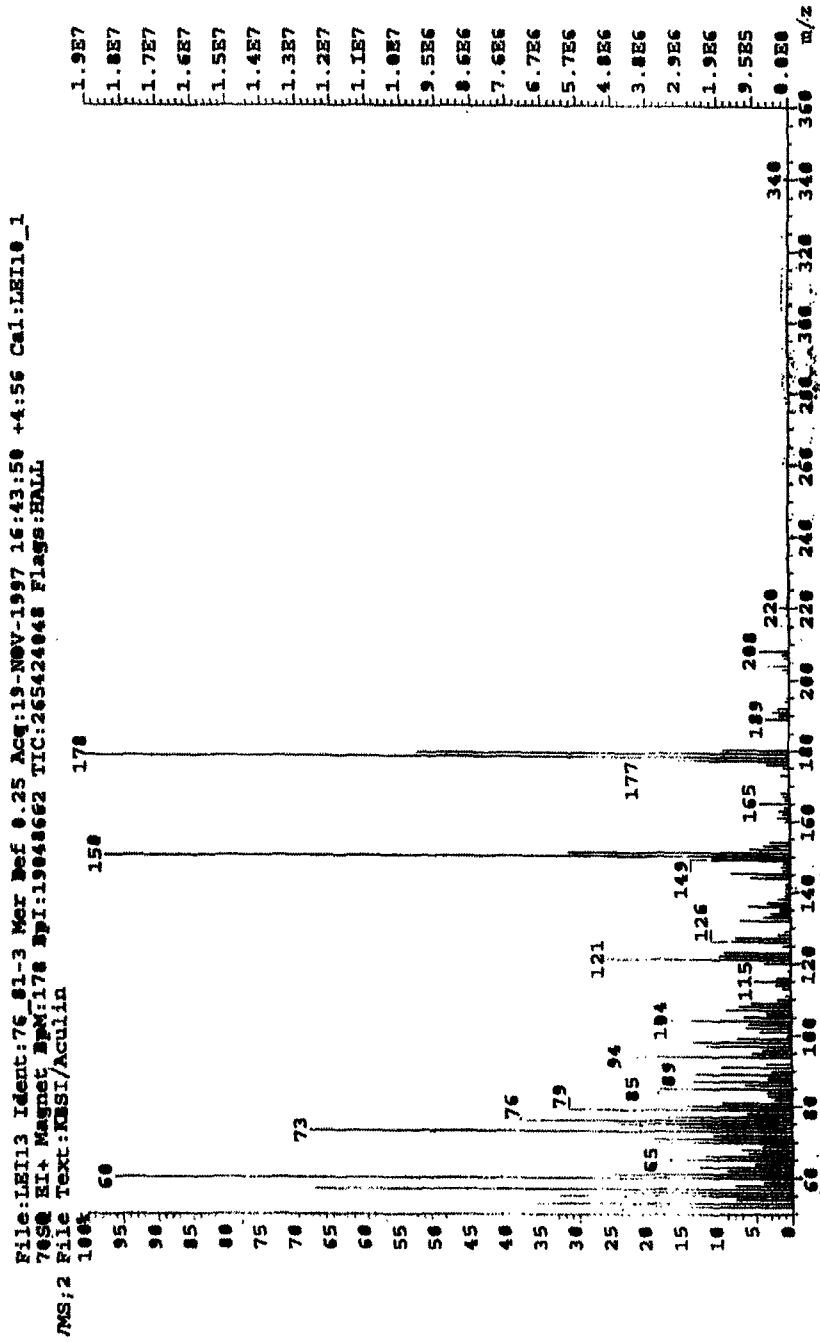


그림 1-9. Aesculin의 EI-MS 스펙트럼.

```

Current Data Parameters
NAME          12
EXPNO        12
PROCNO       1
F2 - Acquisition Parameters
Date_         12.27
Time          12.27
INSTRUM      spect
PROBHD       5 mm QNP1 H
PULPROG      zgpg30
TD            32768
SOLVENT      H2O
NS           12
DS           4
SWH           6323.862 Hz
F2FREQ       62.2500007 MHz
AQ           1.9951544 sec
RG           655.1000000
WDW           EM
SSB           0.0000000
LB           0.0000000 Hz
GB           0.0000000
TE           300.2 K
PC           1.0000000 sec
PL           0.0000000
PR           1.0000000
SFO1         400.1254710 MHz
AQ1          0.1000000
RG1          655.1000000
F2 - Processing parameters
SI           32768
SF           400.1254710 MHz
WDW           EM
SSB           0.0000000
LB           0.0000000 Hz
GB           0.0000000
TE           300.2 K
PC           1.0000000
PR           1.0000000
F3 - 1st parameters
SI           32768
SF           400.1254710 MHz
WDW           EM
SSB           0.0000000
LB           0.0000000 Hz
GB           0.0000000
TE           300.2 K
PC           1.0000000
PR           1.0000000

```

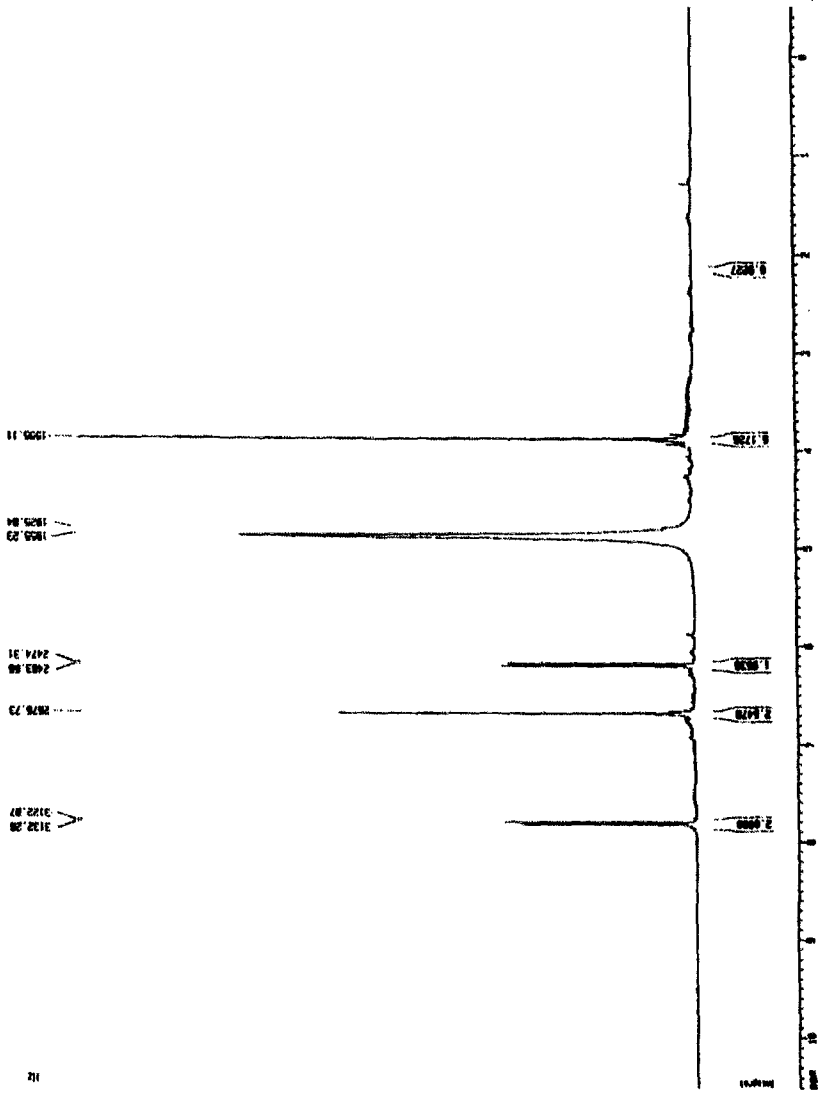


그림 1-10. Fraxetin의 ¹H-NMR 스펙트럼.

Current 800 Parameters
 NAME 800-MS
 EXPR 13
 PROCOR 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 2007
 Time 17.25
 INSTRUM spect
 PULPROG zgpg30
 TD 65536
 SFO 500.13
 AQC 1.00
 FIDRES 0.0001000
 AQ 0.0001000
 SFO 500.13
 F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 100.625000 MHz
 DS 4
 EN 8
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.48

10 NMR file parameters
 C2 30.00 cm
 F1P 200.000 MHz
 F2 500.130 MHz
 F3P -5.000 MHz
 F2P -303.00 Hz
 PWD 7.0000000 cm
 PWD2 701.0000000 Hz

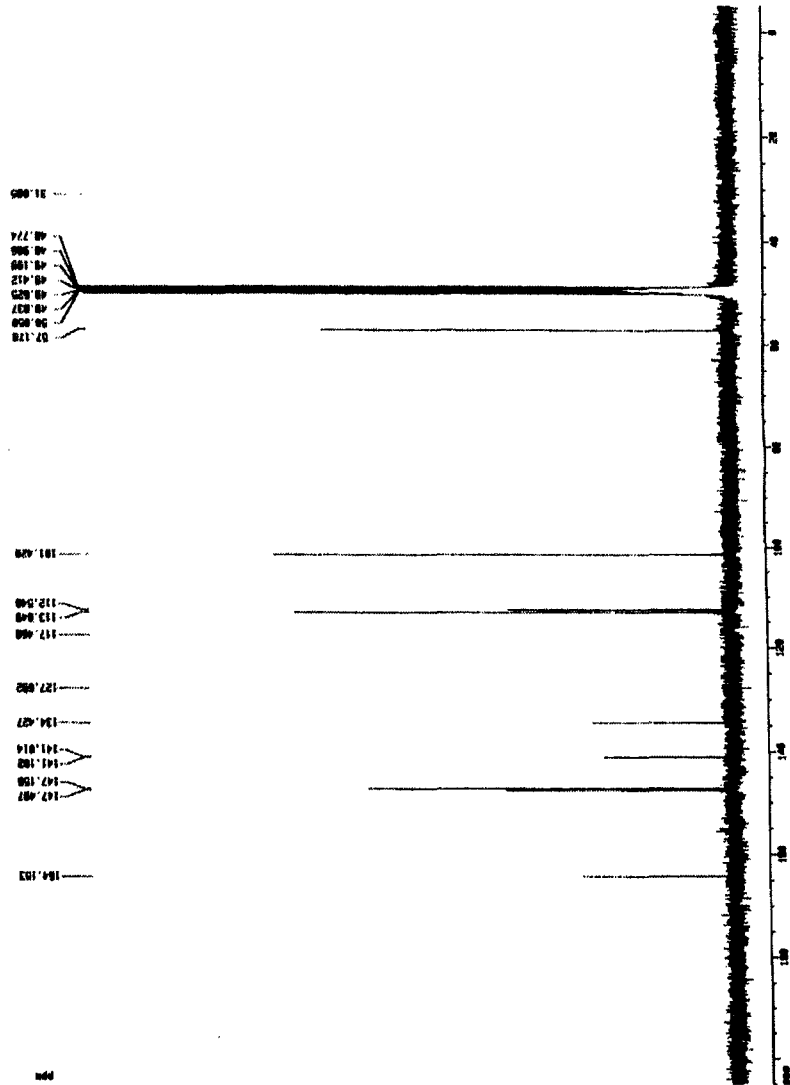


그림 1-11. Fraxetin의 ¹³C-NMR 스펙트럼.

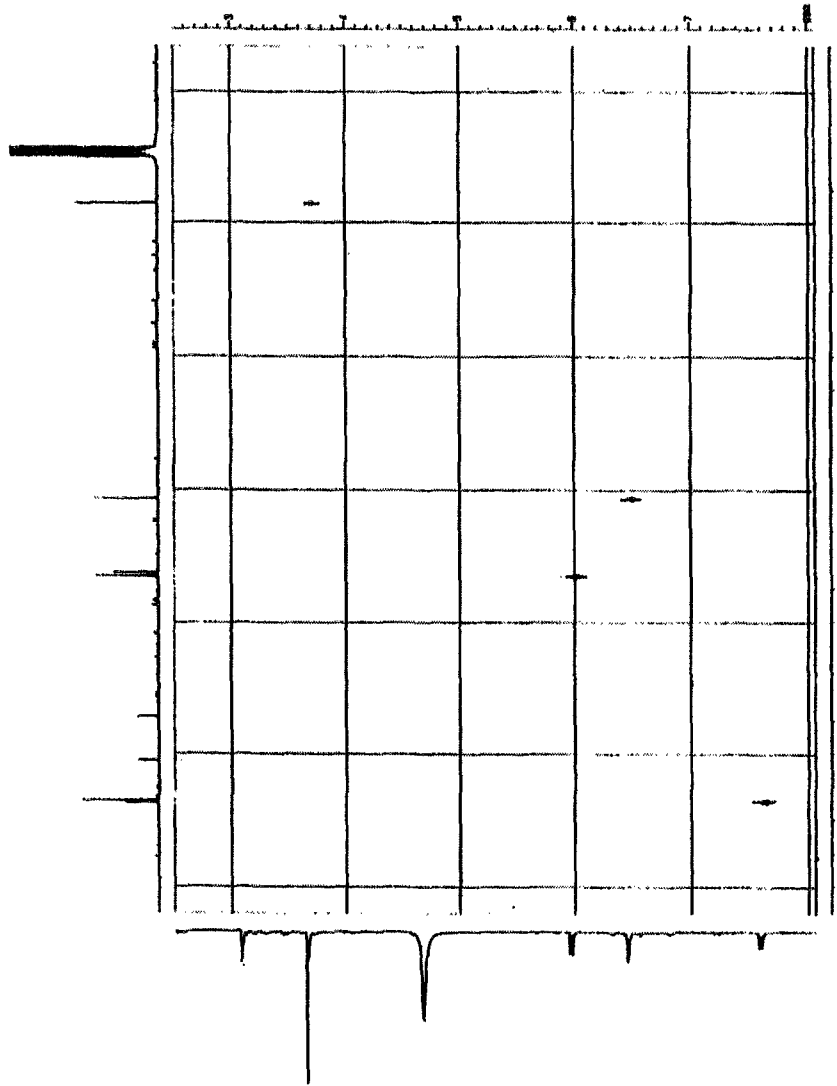
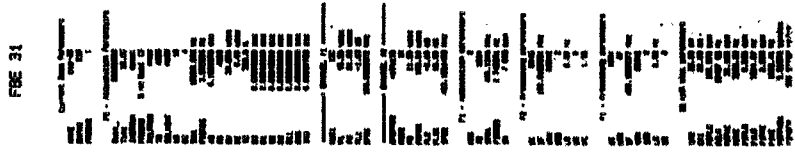


그림 1-12. Fraxetin의 HETCOR 스펙트럼.

FIG. 21 NOE (3.03 JTT.) - diff.

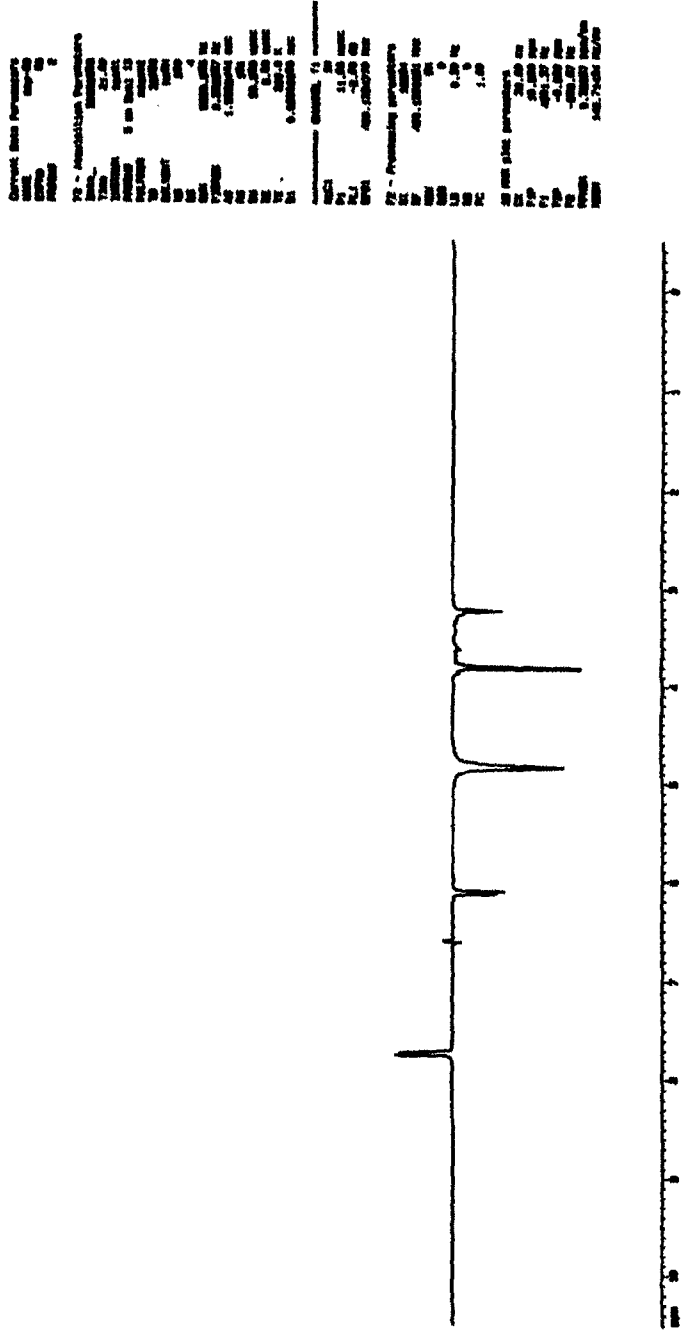


그림 1-13. Fraxetin의 NOE 스펙트럼.

Selective NOESY

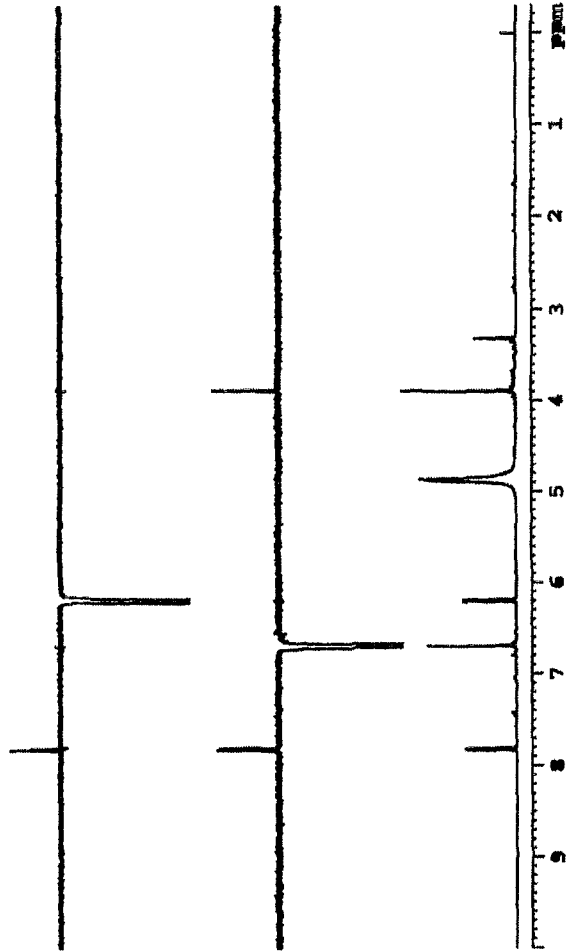


그림 1-14. Fraxetin의 NOESY 스펙트럼.

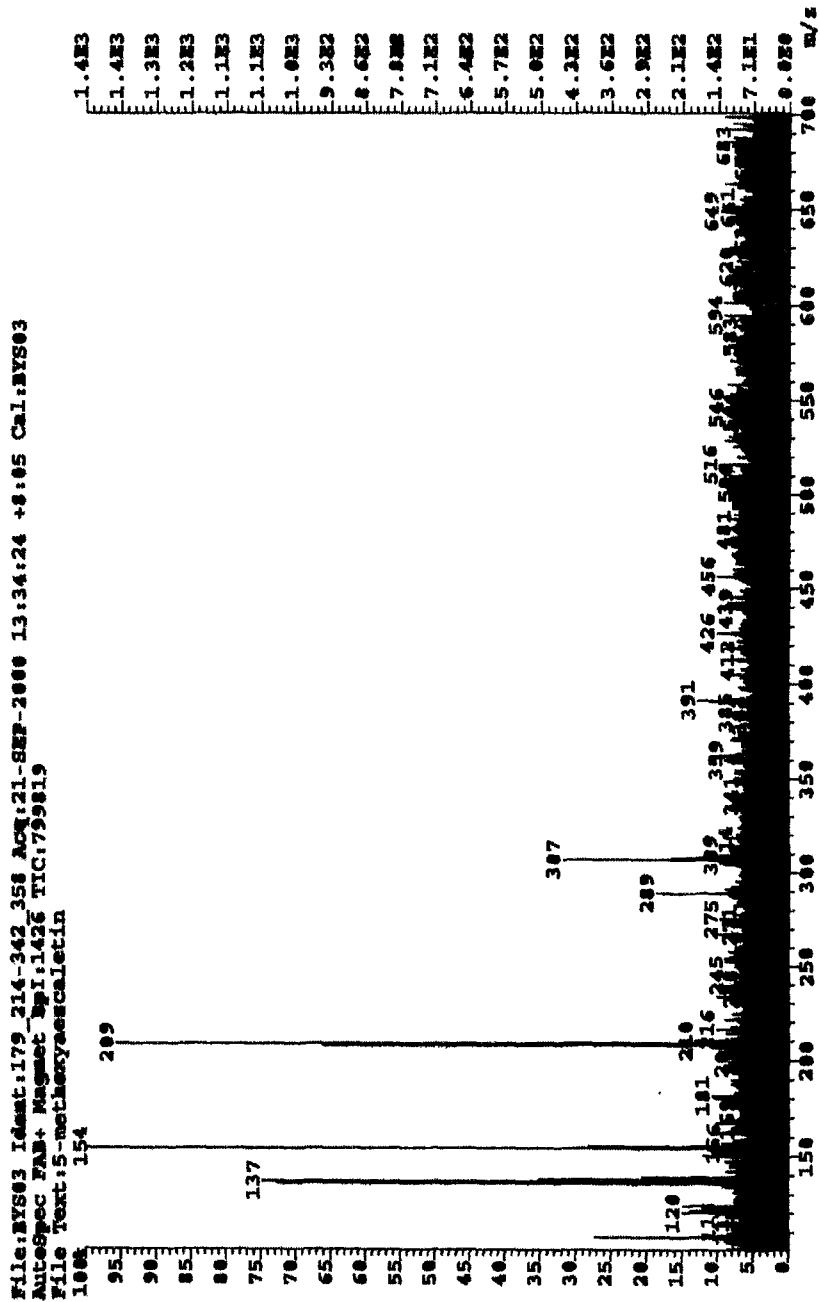


그림 1-15. Fraxetin의 FAB-MS 스펙트럼.

NMRB 1232

Current Data Parameters
 100-40-5
 71
 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 2000.03.16
 Time 09:13
 PROBHD 5 mm QNP 1H
 CPDPRG2 zgpg30
 TD 65536
 SOLVENT H₂O
 NS 2024
 DS 4
 SWH 2090.236 Hz
 FIDRES 0.120000 Hz
 AQ 0.120000 Hz
 RG 128
 EQ 128
 SI 32768
 SF 400.1464000 MHz
 AL 11.26
 AT 0.10000000
 BR 0.00000000
 BU 440.1300000 MHz
 BU 0.400000
 BU 0.00000000
 BU 0.00000000

F1 - Acquisition Parameters
 Date_ 2000.03.16
 Time 09:13
 PROBHD 5 mm QNP 1H
 CPDPRG2 zgpg30
 TD 65536
 SOLVENT H₂O
 NS 2024
 DS 4
 SWH 2090.236 Hz
 FIDRES 0.120000 Hz
 AQ 0.120000 Hz
 RG 128
 EQ 128
 SI 32768
 SF 400.1464000 MHz
 AL 11.26
 AT 0.10000000
 BR 0.00000000
 BU 440.1300000 MHz
 BU 0.400000
 BU 0.00000000
 BU 0.00000000

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 400.1464000 MHz
 DS 4
 SWH 2090.236 Hz
 FIDRES 0.120000 Hz
 AQ 0.120000 Hz
 RG 128
 EQ 128
 SI 32768
 SF 400.1464000 MHz
 AL 11.26
 AT 0.10000000
 BR 0.00000000
 BU 440.1300000 MHz
 BU 0.400000
 BU 0.00000000
 BU 0.00000000

F1 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 400.1464000 MHz
 DS 4
 SWH 2090.236 Hz
 FIDRES 0.120000 Hz
 AQ 0.120000 Hz
 RG 128
 EQ 128
 SI 32768
 SF 400.1464000 MHz
 AL 11.26
 AT 0.10000000
 BR 0.00000000
 BU 440.1300000 MHz
 BU 0.400000
 BU 0.00000000
 BU 0.00000000

2D 100% 2D F2 Acquisition Parameters
 Date_ 2000.03.16
 Time 09:13
 PROBHD 5 mm QNP 1H
 CPDPRG2 zgpg30
 TD 65536
 SOLVENT H₂O
 NS 2024
 DS 4
 SWH 2090.236 Hz
 FIDRES 0.120000 Hz
 AQ 0.120000 Hz
 RG 128
 EQ 128
 SI 32768
 SF 400.1464000 MHz
 AL 11.26
 AT 0.10000000
 BR 0.00000000
 BU 440.1300000 MHz
 BU 0.400000
 BU 0.00000000
 BU 0.00000000

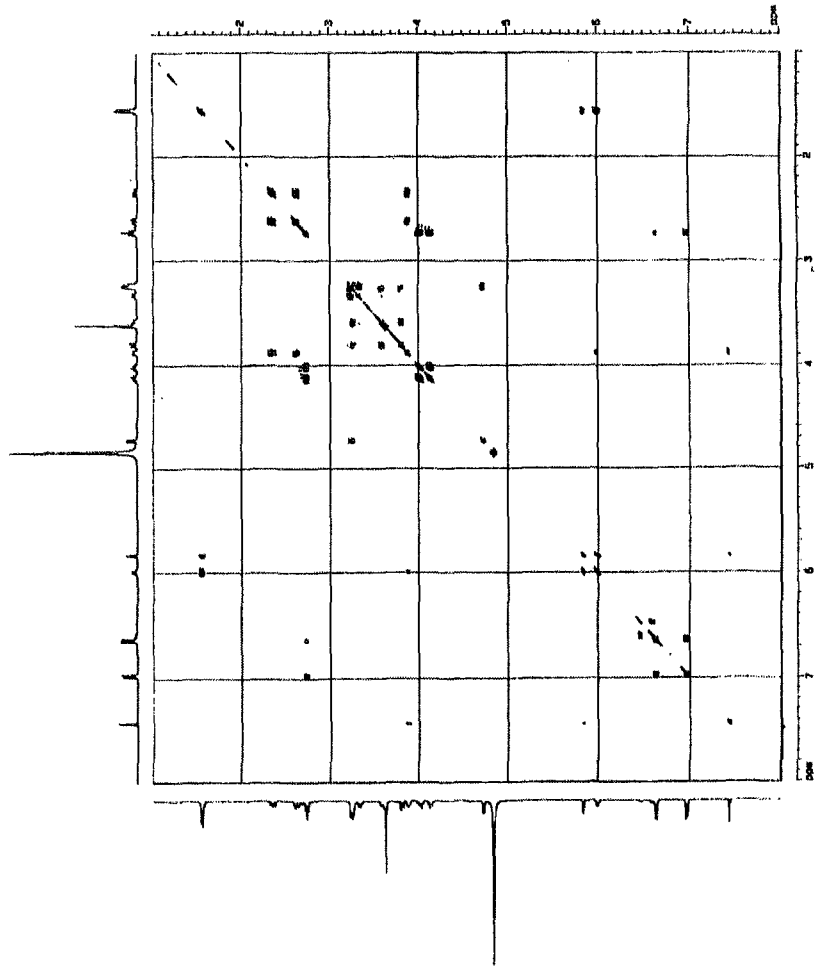


그림 1-18. Ligstroside의 COSY 스펙트럼.

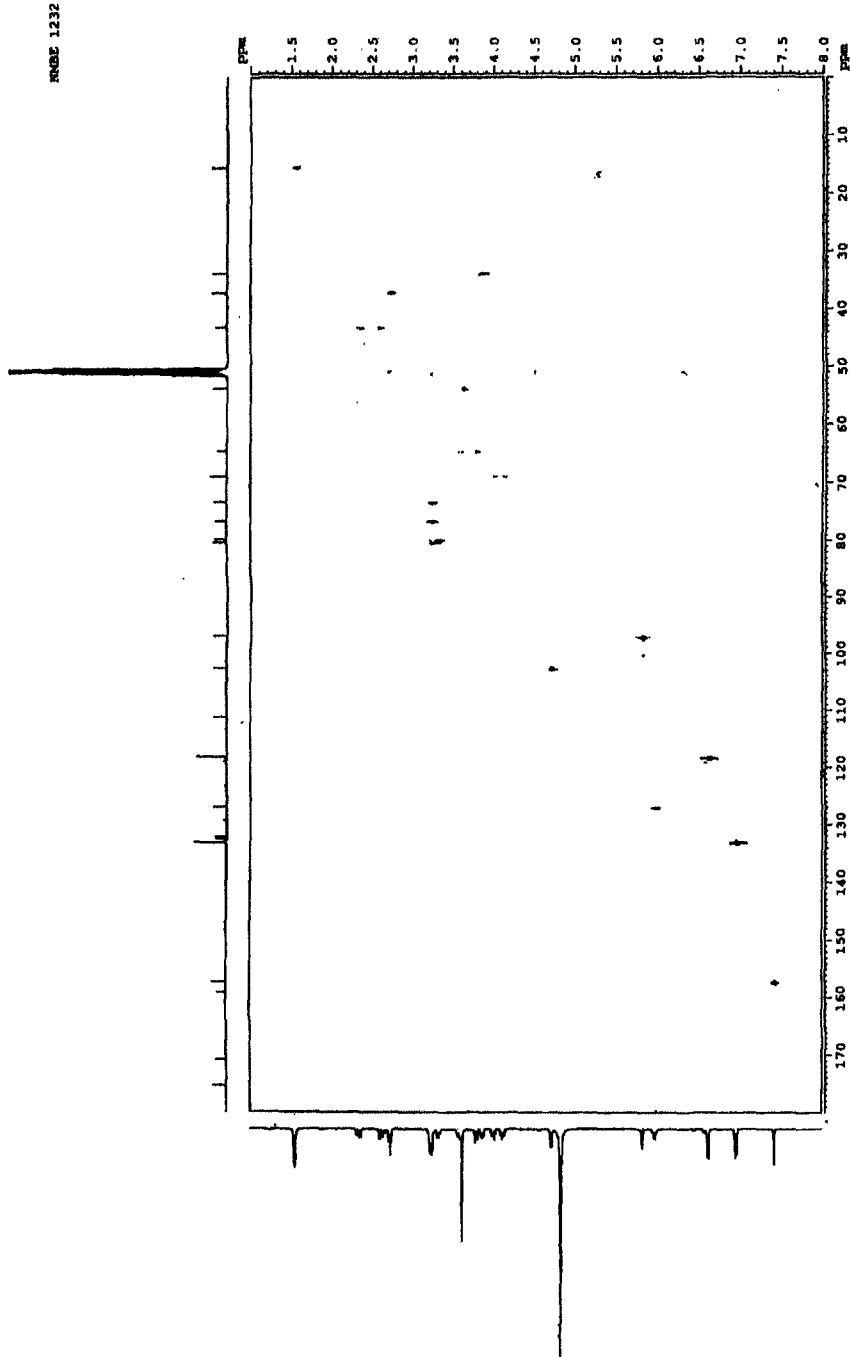


그림 1-19. Ligstroside의 HETCOR 스펙트럼.

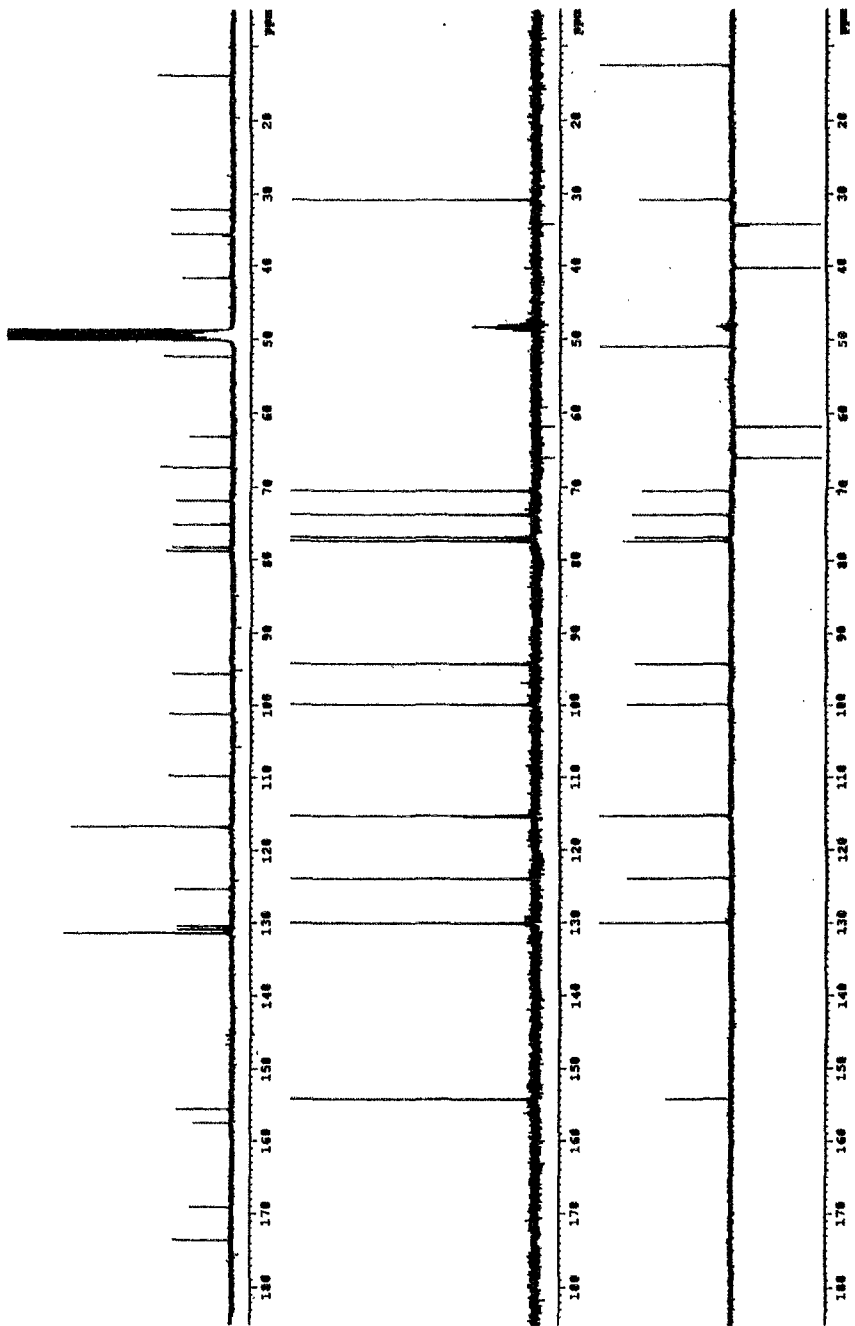


그림 1-20. Ligstroside의 DEPT 스펙트럼.

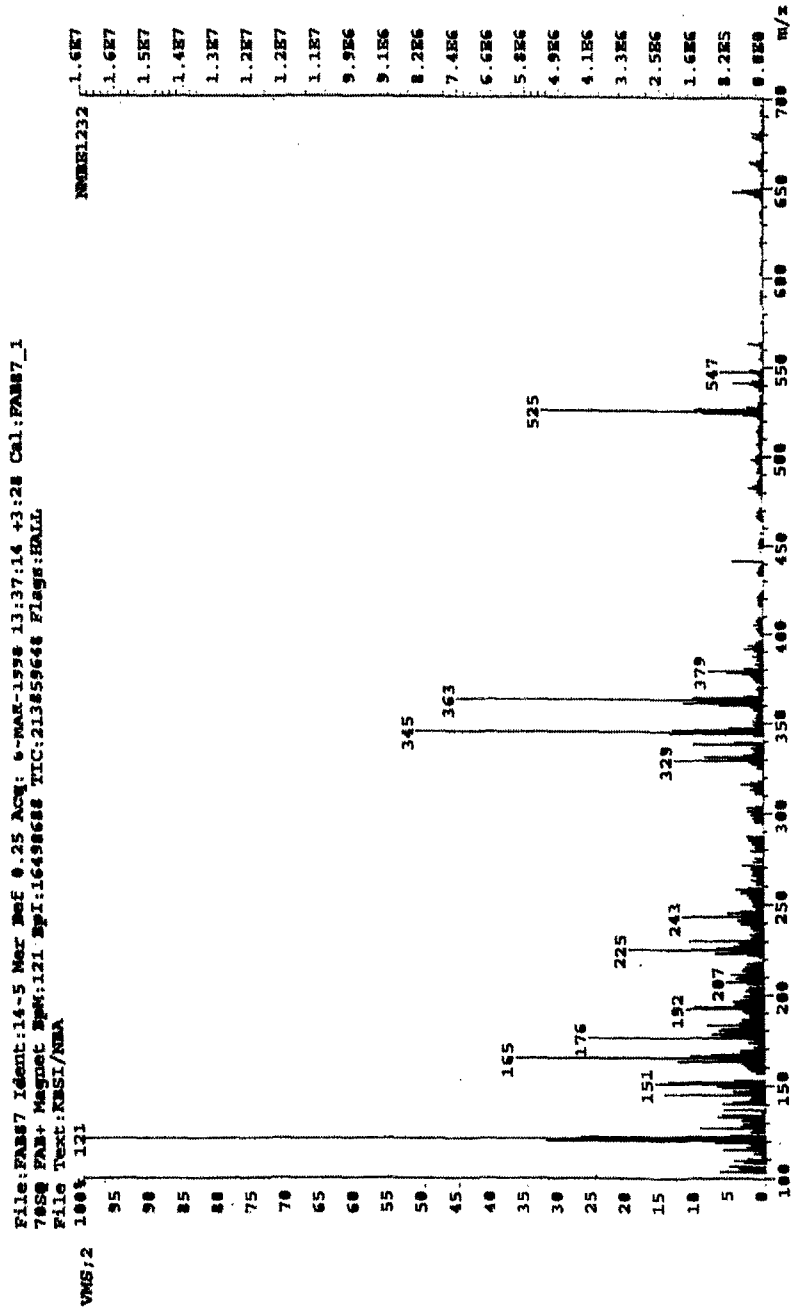


그림 1-21. Ligstroside의 FAB-MS 스펙트럼.

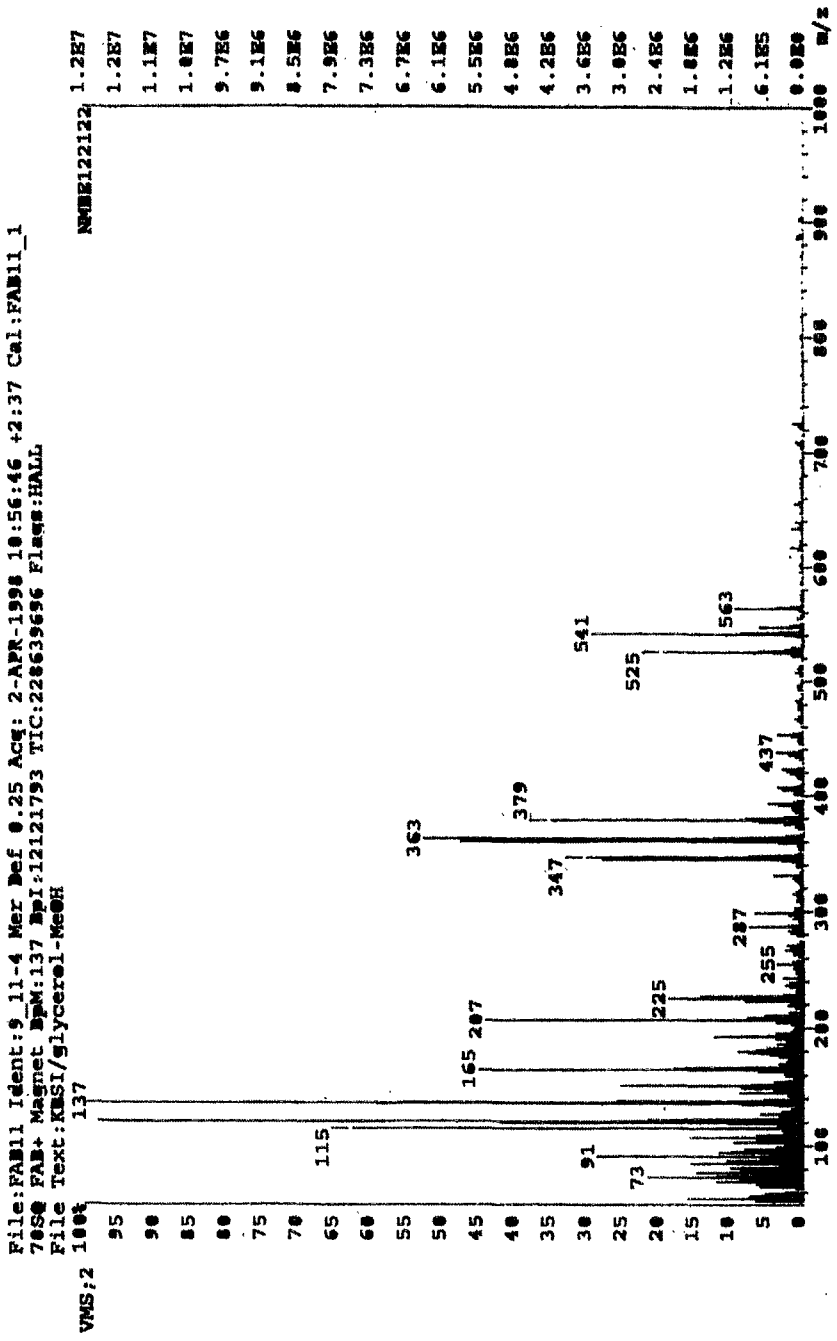


그림 1-24. Oleuropein의 FAB-MS 스펙트럼.

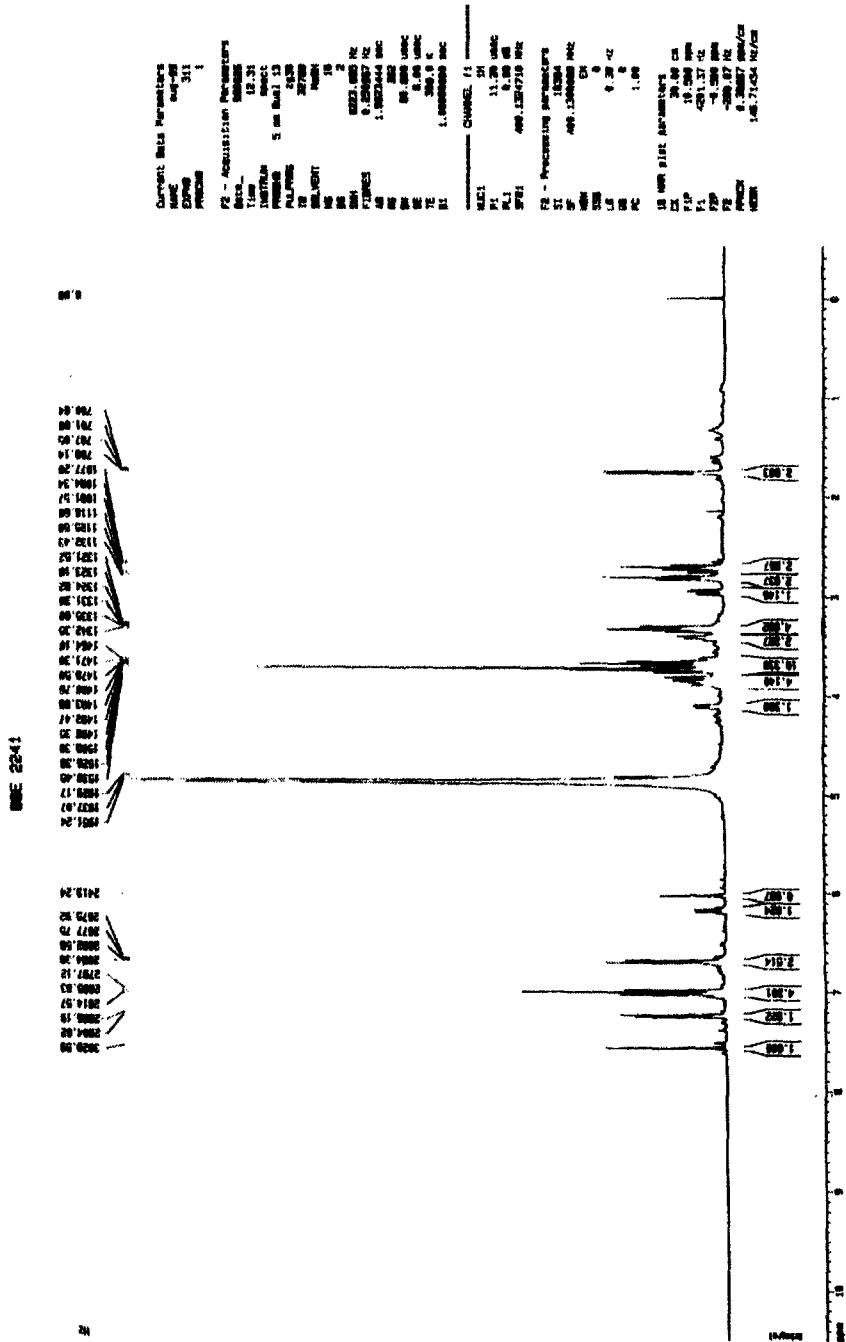


그림 1-25. Isoligstroside의 ¹H-NMR 스펙트럼.

88E 22-43

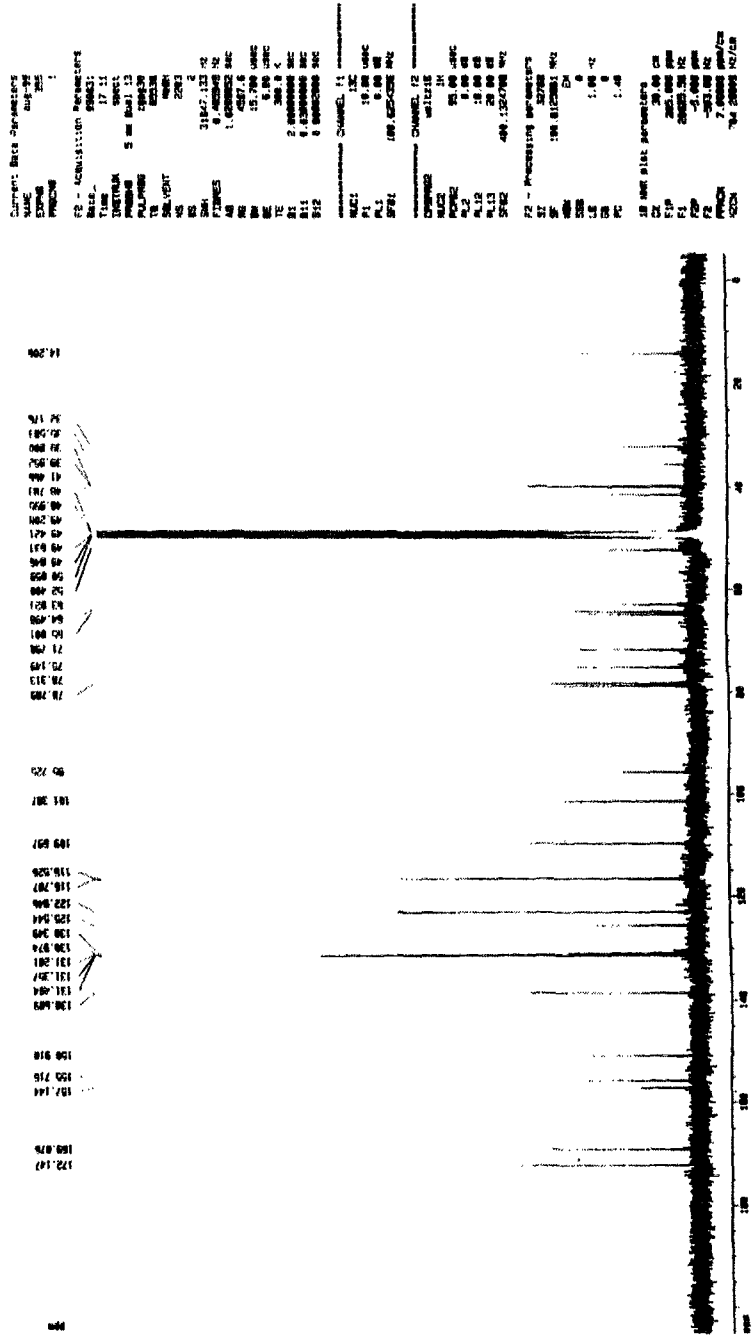


그림 1-26. Isoligstroside의 ¹³C-NMR 스펙트럼.

2. 생리활성 효과

가. 항균활성 효과

1) 항진균활성 효과

항진균활성은 대부분의 시료에서 활성이 없는 것으로 나타났으나, 물푸레나무 수피의 클로르포름 분획, 들메나무 수피의 클로르포름 분획과 에틸아세테이트 분획의 경우 수목 병원균인 *P. albobestita*, *E. nitschkeii*, *M. juglandis*에 대하여 항균활성을 나타내었다(표 1-7). 물푸레나무 수피의 클로르포름, 들메나무 수피의 클로르포름 및 에틸아세테이트용성 분획에 대한 항균활성을 농도별로 검정한 결과 천연물 유래의 항균물질의 항균력의 판단의 기준이 되는 $100\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 모든 공시균에 대해 50%이하의 균사생장 억제율을 나타내어 항균활성이 낮은 것으로 판단되었다(표 1-8).

2) 항세균활성 효과

항세균활성은 들메나무 수피의 클로르포름, 에틸아세테이트 및 물 분획의 경우 *S. faecalis*에 대해서 약간의 활성을 나타내었다(표 1-9).

표 1-7. 물푸레나무속 수종 추출물의 항진균활성(1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

Sample	Hyphal growth inhibition ratio(%)					
	<i>G. virens</i>	<i>T. palustris</i>	<i>T. versicolor</i>	<i>P. albobestita</i>	<i>E. nitschkei</i>	<i>M. juglandis</i>
물푸레나무 수피 Hexane	0.0	0.0	0.0	18.1	18.1	0.0
물푸레나무 수피 CHCl_3	34.9	0.0	0.0	33.7	32.5	31.3
물푸레나무 수피 EtOAc	0.0	0.0	0.0	12.0	30.1	10.8
물푸레나무 수피 H_2O	0.0	0.0	0.0	8.4	40.0	15.7
쇠물푸레나무 수피 Hexane	0.0	0.0	0.0	10.8	0.0	12.0
쇠물푸레나무 수피 CHCl_3	0.0	0.0	0.0	39.8	20.5	27.7
쇠물푸레나무 수피 EtOAc	0.0	0.0	0.0	13.3	51.8	27.7
쇠물푸레나무 수피 H_2O	24.1	0.0	0.0	3.6	10.8	16.9
들메나무 수피 Hexane	0.0	0.0	0.0	0.0	51.8	30.1
들메나무 수피 CHCl_3	15.7	9.6	9.6	37.3	69.9	100.0
들메나무 수피 EtOAc	0.0	0.0	0.0	12.0	67.5	67.5
들메나무 수피 H_2O	0.0	0.0	0.0	7.2	51.8	12.0

표 1-8. 물푸레나무 수피 클로로포름용성 분획과 들메나무 수피 클로로포름 및 에틸 아세테이트용성 분획의 농도별 항진균활성

Sample	Hyphal growth inhibition ratio(%)					
	<i>G. virens</i>	<i>T. palustris</i>	<i>T. versicolor</i>	<i>P. albobestita</i>	<i>E. nitschkei</i>	<i>M. juglandis</i>
물푸레나무 수피 CHCl_3						
100 $\mu\text{g}/\text{ml}$	15.7	0.0	0.0	8.4	4.8	21.7
10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.0	0.0	0.0	2.4	14.5	27.7
1 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.0	0.0	0.0	13.3	0.0	14.5
들메나무 수피 CHCl_3						
100 $\mu\text{g}/\text{ml}$	6.0	0.0	0.0	13.3	10.8	42.2
10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	7.2	0.0	21.7	9.6	2.4	10.8
1 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.0	0.0	0.0	8.4	16.9	2.4
들메나무 수피 EtOAc						
100 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.0	0.0	0.0	18.1	31.3	27.7
10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.0	0.0	0.0	8.4	1.2	2.4
1 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.0	0.0	0.0	9.6	2.4	0.0

표 1-9. 물푸레나무속 수종의 항세균활성(1mg/disc)

Sample		Clear zone (mm)				
		<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
물푸레나무 수피	Hexane	n.d. ¹⁾	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
물푸레나무 수피	CHCl ₃	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
물푸레나무 수피	EtOAc	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
물푸레나무 수피	H ₂ O	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
쇠물푸레나무 수피	Hexane	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
쇠물푸레나무 수피	CHCl ₃	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
쇠물푸레나무 수피	EtOAc	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
쇠물푸레나무 수피	H ₂ O	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
들메나무 수피	Hexane	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
들메나무 수피	CHCl ₃	n.d.	n.d.	20	n.d.	n.d.
들메나무 수피	EtOAc	n.d.	n.d.	21	n.d.	n.d.
들메나무 수피	H ₂ O	n.d.	n.d.	13	n.d.	n.d.

1) n.d. : not detected

나. 항산화활성 효과

1) 과산화물가 및 Ferric thiocyanate법에 의한 황산화능

물푸레나무 수피의 에틸아세테이트 분획물과 쇠물푸레나무 수피의 에틸아세테이트 분획물의 경우, 10일이 경과한 후 과산화물가가 80meq/kg에 도달하여 항산화활성이 우수한 것으로 나타났으나, 합성항산화제인 BHT에는 못 미치는 것으로 나타났다(표 1-10). 항산화지수(Antioxidative index : A.I.)는 각 시료의 유도기간을 linoleic acid의 유도기간 4.61로 나눈 값에 해당되는 것으로, 물푸레나무 수피의 에틸아세테이트 분획물과 쇠물푸레나무 수피의 에틸아세테이트 분획물이 각각 2.27과 2.64로 나타나 항산화활성이 우수한 것으로 판단되었다(표 1-10).

Aesculetin이 다른 후라보노이드 화합물 및 천연 항산화제인 α -tocopherol 보다 항산화활성이 우수한 것으로 나타났다(표 1-11).

표 1-10. 각 시료의 과산화물가에 의한 항산화능(200 μ g/ml)

Sample	Fraction	Induction period	Antioxidative index
물푸레나무 수피	Hexane	7.51	1.63
	Chloroform	7.43	1.61
	Ethyl acetate	10.47	2.27
	H ₂ O	6.38	1.38
쇠물푸레나무 수피	Hexane	6.69	1.45
	Chloroform	7.55	1.64
	Ethyl acetate	12.20	2.64
	H ₂ O	6.02	1.31
들메나무 수피	Hexane	5.82	1.26
	Chloroform	6.04	1.31
	Ethyl acetate	6.18	1.33
	H ₂ O	5.67	1.23
합성항산화제	Butylated hydroxytoluene	> 15.0	> 3.25
천연항산화제	α -tocopherol	4.98	1.08
대 조 구	Linoleic acid	4.61	1.0

표 1-11. Ferric thiocyanate법에 의한 aesculetin의 항산화능

시 료	농 도	
	50ppm	10ppm
α -tocopherol	93.49	81.27
Robtin	43.64	49.08
Robinetin	85.75	67.74
Dihydrorobinetin	50.64	50.44
Aesculetin	96.80	94.47
Flavan-3,4-diol	60.94	54.33

2) Aesculetin 첨가와 산소농도가 한우 체외수정란의 체외발육에 미치는 효과

소 체외 수정란을 다른 산소농도 조건(5%, 20% O₂)과 체외배양액에 일정량의 식물성 천연 항산화제인 aesculetin을 첨가하여 체외배양 시킨 후 체외발육율을 조사한 결과를 표 1-12에 요약하였다.

표 1-12. Aesculetin 과 O₂의 농도별에서 배양된 소 IVM/IVF 수정란의 성장속도

O ₂ (%)	Aesculetin ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	No. of IVM/IVF embryos	No. of embryos developed to(%):			Morulae plus blastocysts (%)
			Premorulae	Morulae	Blastocysts	
5	0	40	16(40.0) ^a	13(32.5) ^a	11(27.5) ^b	24(60.0) ^b
	1	43	9(20.9) ^b	14(32.6) ^a	20(46.5) ^a	34(79.1) ^a
	5	40	15(37.5) ^a	12(30.0) ^a	13(32.5) ^b	25(62.5) ^b
	10	40	17(42.5) ^a	10(25.0) ^a	13(32.5) ^b	23(57.5) ^b
20	0	41	20(47.5) ^a	11(26.8) ^a	10(24.4) ^b	21(51.2) ^b
	1	41	13(31.7) ^b	13(31.5) ^a	15(36.6) ^a	28(68.3) ^a
	5	41	20(48.8) ^a	12(29.3) ^a	9(22.0) ^b	21(51.2) ^b
	10	40	19(47.5) ^a	12(30.0) ^a	9(22.5) ^b	21(52.5) ^b
Overall means						
5		163	57(35.0) ^B	49(30.1) ^A	57(35.0) ^A	106(65.0) ^A
20		163	72(44.1) ^A	48(29.4) ^A	43(26.4) ^B	91(55.8) ^B
	0	81	36(44.4) ^a	24(30.0) ^a	21(26.3) ^b	45(56.3) ^b
	1	84	22(26.2) ^b	27(32.1) ^a	35(41.7) ^a	62(73.8) ^a
	5	81	35(44.4) ^a	24(29.3) ^a	22(26.8) ^b	46(56.1) ^b
	10	80	36(45.0) ^a	22(27.5) ^a	22(27.5) ^b	44(55.0) ^b

a, b, A, B Means with different superscripts within treatment groups and embryo stages are significantly different, P < 0.05.

표 1-12의 결과에서 나타난 바와 같이 5% O₂와 5% CO₂농도 조건하에서 CR1aa 배양액에 aesculetin을 0, 1, 5, 및 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 첨가한 구에서 상실배기 이상 발육된 체외배양 성적은 1 μg 첨가구(79.1%)가 여타구(0 μg , 60.0% ; 5 μg , 62.5% ; 10 μg , 57.5%)보다 높은 성적을 얻었으며(P < 0.05), 20% O₂와 5% CO₂농도 조건하에서 CR1aa 배양

액에 aesculetin을 0, 1, 5 및 10 μ g/ml를 첨가한 결과 상실배기 이상 발육된 체외배양 성적은 aesculetin 1 μ g 첨가구(68.3%)가 여타구(0 μ g, 51.2% ; 5 μ g, 51.2% ; 10 μ g, 52.5%)보다 통계적으로 유의하게 높은 성적을 나타내(P<0.05), O₂ 농도와 관계없이 체외배양액에 1 μ g/ml aesculetin 첨가구가 다른 처리구 보다 체외발육성적이 높은 것으로 나타났다. 다른 산소 조건(5%와 20% O₂)에 체외배양액에 항산화제인 aesculetin 과 taurine을 첨가하여 체외배양 시킨 후 체외발육율을 조사한 결과를 표 1-13에 요약하였다.

표 1-13. 소의 IVM/IVF 수정란 발육속도에 대한 O₂ 농도별 및 항산화 효과

O ₂ (%)	Aesculetin (μ g/ml)	Taurine (mM)	No. of IVM/IVF embryos	No. of embryos developed to(%) :			Morulae plus blastocysts (%)
				Premorulae	Morulae	Blastocysts	
5	0	0	43	23(53.5) ^a	11(25.6) ^a	9(20.9) ^b	20(46.5) ^b
	1	0	42	15(35.7) ^a	13(31.0) ^a	14(33.3) ^a	27(64.3) ^a
	0	2.5	43	17(39.5) ^a	11(25.6) ^a	15(34.9) ^a	26(60.5) ^a
20	0	0	42	27(64.3) ^a	8(19.0) ^a	7(16.7) ^a	15(35.7) ^b
	1	0	42	21(50.0) ^a	12(28.6) ^a	9(21.4) ^a	21(50.0) ^a
	0	2.5	43	23(53.5) ^a	10(23.3) ^a	10(23.3) ^a	20(46.5) ^{ab}
Overall means							
5			128	55(43.0) ^A	35(27.3) ^A	38(29.7) ^A	73(57.0) ^A
20			127	71(55.9) ^B	30(23.6) ^A	26(20.5) ^B	56(44.0) ^B
	0	0	85	50(58.8) ^a	19(22.4) ^a	16(18.8) ^b	35(41.2) ^b
	1	0	84	36(42.9) ^a	25(29.8) ^a	23(27.4) ^a	48(57.1) ^a
	0	2.5	86	40(46.5) ^a	21(24.4) ^a	25(29.1) ^a	46(53.5) ^a

a, b, A, B Means with different superscripts within treatment groups and embryo stages are significantly different, P <0.05.

표 1-13에서 보는 바와 같이 5% O₂ 농도 조건하에서 CR1aa 배양액에 aesculetin 1 μ g/ml 첨가구와 taurine 2.5mM 첨가구에서 각각 상실배기 이상 발육된 체외발육율이

64.3%와 60.5%로서 대조구의 46.5%보다 높은 성적을 얻었으며($P < 0.05$), 20% O₂ 조건에서 체외배양액에 1 μ g/ml aesculetin 첨가구와 2.5mM taurine 첨가구에서 상실배기 이상 발육한 체외발육 성적은 50.0%와 46.5%로서 대조구의 35.7%보다 높은 성적을 얻어 산소농도에 관계없이 항산화제 첨가구가 대조구에 비하여 높은 체외발육 성적을 얻었다.

소 체외수정란의 체외발육에 항산화제와 growth factor의 효과를 조사한 결과는 표 1-14, 1-15와 같다.

표 1-14. 소의 IVM/IVF 수정란의 발육속도에 대한 성장인자 및 항산화 효과

Antioxidants plus growth factors	No. of IVM/IVF embryos	No. of embryos developed to(%) :			Morulae plus blastocysts (%)
		Premorulae	Morulae	Blastocysts	
C ¹	78	40(51.3) ^a	2(2.6) ^a	36(46.0) ^c	38(48.7) ^c
AP ²	78	22(28.2) ^c	1(1.3) ^a	55(70.0) ^a	56(71.8) ^a
AE ³	78	31(39.7) ^b	1(1.3) ^a	46(58.0) ^b	47(60.3) ^b
TP ⁴	78	33(42.3) ^b	1(1.3) ^a	44(56.0) ^b	45(57.7) ^b
TE ⁵	78	25(32.1) ^c	1(1.3) ^a	52(66.0) ^a	53(67.9) ^a

표 1-15. 성장인자로 항산화물질을 첨가한 CR1aa에서 소의 IVM/IVF 수정란의 inner cell mass와 trophectoderm cell의 수

Antioxidant plus growth factor	No. of ICM cell (M±S.E)	No. of TE cell (M±S.E)	Total cell no. of blastocysts (M±S.E)
C ¹	51±6.8	66±10.7	117±14.5
AP ²	53±26.2	85±8.6	138±20.0
AE ³	52±13.9	87±17.4	139±30.1
TP ⁴	53±11.4	68±7.5	121±16.2
TE ⁵	56±10.2	75±9.7	131±19.3

1 Control, 2 Aesculetin 1 μ l/ml + PDGF 1ng/ml, 3 Aesculetin 1 μ l/ml + EGF 10ng/ml, 4 Taurine 2.5mM +PDGF 1ng/ml, 5 Taurine 2.5mM +EGF 10ng/ml

a, b, c Means with different superscripts within treatment groups and embryo stages are significantly different, P <0.05.

표 1-14의 결과에서 나타난 바와 같이 CR1aa배양액에 대조구, aesculetin 1 μ g/ml과 taurine 2.5mM에 각각 PDGF 1ng/ml와 EGF 10ng/ml을 첨가하여 체외발육율을 조사한 결과, 배반포기 발육율은 대조구, aesculetin + PDGF 첨가구, aesculetin + EGF 첨가구, taurine + PDGF 첨가구 및 taurine + EGF 첨가구에서 각각 46.0%(36/78), 70.0%(55/78), 58.0%(46/78), 56.0(44/78) 및 66.0%(52/78)로써 처리구가 무첨가구 보다 통계적으로 유의하게 높게 나타났으며(P<0.05), 상실배기 이상 발육율은 각각 48.7%, 71.8%, 60.3%, 57.7% 및 67.9%로서 무첨가구 보다 첨가구가 높은 성적을 얻어 같은 경향을 나타냈다(P<0.05).

물푸레나무에서 추출한 aesculetin(천연 aesculetin)의 효능을 검증하기 위하여 천연 aesculetin과 Sigma사에서 구입한 aesculetin의 효능을 비교 검토한 결과를 표 1-16와 1-17에 요약하였다.

표 1-16. 소 IVM/IVF 수정란의 성장에 대한 천연 또는 상업용 aesculetin의 비교

Treatment	No. of IVM/IVF embryos	No. of embryos developed to(%) ;			Morulae plus blastocysts(%)
		Premorulae	Morulae	Blastocysts	
C ¹	44	21(47.6) ^a	6(13.6) ^a	17(38.6) ^b	23(52.3) ^b
NA ²	44	13(29.5) ^a	7(15.9) ^a	24(54.6) ^a	31(70.5) ^a
CA ³	43	13(29.8) ^a	7(16.3) ^a	23(53.5) ^a	30(70.0) ^a

표 1-17. 천연 및 상업용 aesculetin을 첨가한 CR1aa에서 소의 IVM/IVF 수정란의 inner cell mass와 trophectoderm cell의 수

Treatment	No. of ICM cell (M±S.E)	No. of TE cell (M±S.E)	Total cell no. of blastocysts (M±S.E)
C ¹	44±3.6	94±5.7	138±6.8
NA ²	51±13.1	94±6.2	145±8.3
CA ³	47±4.9	96±1.9	143±4.5

1 Control, 2 natural aesculetin(1μg/ml), 3 commercial aesculetin(1μg/ml)

a, b Means with different superscripts within treatment groups and embryo stages are significantly different, P < 0.05.

표 1-15에 나타난 바와 같이 CR1aa 배양액에 천연추출 aesculetin과 상품화된 aesculetin을 각각 0, 1μg/ml을 첨가했을 때 배반포기 발육율은 대조구, 천연추출 aesculetin 처리구 및 상품화된 aesculetin 처리구에서 각각 38.6%, 54.6% 및 53.5%였으며, 상실배기 이상의 발육율에서 52.3%(23/44), 70.5%(31/44) 및 70.0%(30/43)로서 첨가구가 무첨가구보다 상실배기이상 수정란이 많이 생산된 것으로 나타났다(P < 0.05), 그러나 천연 aesculetin 처리구와 상품화된 aesculetin 처리구간에는 차이가 인

정되지 않았다.

체외배양 후 생산된 배반포기이상의 수정란의 세포수는 무처리구와 처리구간의 차이는 인정되지 않았다($P > 0.05$).

체외수정란의 체외배양시 일어나는 발육억제현상은 초기배 수정란의 genome 활성화 유무와 free radical에 의해 일어난다고 알려져 있다. 이러한 free radical을 제거하고, 체외수정란의 체외발육율을 향상시키기 위하여 최근에는 배양액 내에 여러 가지 성장 인자의 첨가, 항산화제의 첨가 등이 폭넓게 이용되어 좋은 체외발육성적을 얻고 있다.

수복에서 추출할 수 있는 aesculetin은 체내에서 arachidonic acid의 산화반응에 항산화제로의 기능에 관한 연구와 lipoxygenase 와 cyclooxygenase의 억제로 인한 암 발생 억제 인자로서의 작용 및 glutathione 대사작용과 lipid peroxidation의 항산화제로서 기능에 관한 보고가 있지만(Martin-Aragon 등, 1998 ; Matsunaga 등, 1998 ; Sekiya 등 1982), 아직 aesculetin에 대한 많은 연구가 수행되어 있지 않다. 본 실험에서 식물성 천연 항산화제로서 aesculetin이 체외수정란의 체외발육에 미치는 효과를 검토한 결과, aesculetin을 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 첨가했을 때, 상실배기이상 발육율이 73%로서 여타구($0\mu\text{g}$, 60.0% ; $5\mu\text{g}$, 62.5% ; $10\mu\text{g}$, 57.5%)보다 유의적으로 높은성적을 나타냈고, 물푸레나무 수피에서 추출한 aesculetin과 상품의 aesculetin의 항산화제로서 서로간에 비교 실험에서는 체외발육율에 대한 차이가 인정되지 않았다.

본 실험의 결과로 볼 때 aesculetin은 소 체외수정란의 체외배양시 항산화제 작용을 하는 것으로 생각되며 배양액 내에 각각의 aesculetin($1\mu\text{g}/\text{ml}$)과 taurine(2.5mM)에 growth factor(PDGF, $1\text{ng}/\text{ml}$; EGF, $10\text{ng}/\text{ml}$)의 혼합첨가구가 각각 70.0%, 58.0%, 56.0% 및 66.6%로써 무첨가구 46.0% 보다 높은 상실배기 이상의 체외발육율을 얻어, 항산화제(aesculetin과 taurine)와 growth factor(EGF와 PDGF)의 첨가 배양이 공동효과를 나타내어 체외수정란의 발육을 촉진한 것으로 사료되며 aesculetin이 체외발육율을 증진시키기 위한 항산화제로서 적합하며, 또한 배양액내에 적절한 항산화제 첨가(aesculetin과 taurine)와 growth factor(EGF와 PDGF)의 첨가는 후기 배발육의 발육

억제현상을 극복하고 체외발육을 향상시키는 효과적인 방법으로 이용될 수 있다고 생각된다.

다. 유전독성 실험

1) 박테리아를 이용한 복귀돌연변이 시험(Ames test)

Histidine/biotin plate를 이용한 적정농도실험에서 약 50%의 colony 성장 억제효과를 나타내는 농도는 $30\mu\text{g}/\text{plate}$ 였으며 이 농도를 최고농도로 50%씩 희석하여 5개의 추출물 농도를 대상으로 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100의 복귀돌연변이 집락수를 조사하였다.

일반적으로 TA98의 자연복귀 colony는 10~30개의 범위에서 그리고 TA100은 100~200개의 범위내에서 일어나는 것으로 보고되었으며 돌연변이원성의 물질인 경우에는 colony의 수가 5배이상 증가하는 것으로 알려져 있다.

그러므로 수피 추출물에 대한 박테리아의 복귀돌연변이 시험에서 표 1-18에서 보는 바와 같이 생체에 흡수되어 직접적인 돌연변이원으로 작용할 수 있는지를 알아보는 직접법 및 rat의 간으로부터 만들어진 S9 mix를 첨가하여 생체내 물질대사에 의한 간접적인 돌연변이원으로 작용하는지를 판단할 수 있는 간접법 모두에서 음성대조군과 비교하여 볼 때 각 농도별에 있어 TA98과 TA100 균주 복귀돌연변이의 유의성 있는 집락(colony)수의 증가를 인정할 수 없었다.

표 1-18. *S. typhimurium*을 이용한 물푸레 수피 추출물의 유전독성

Test material	S9 mix	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	No. of revertant colonies(His ^r) per plate	
			TA98	TA100
H ₂ O	-		18, 15, 15 (16)	161, 162, 159 (161)
Bark extract	-	30	22, 18 (20)	136, 150 (143)
	-	15	15, 18 (17)	150, 158 (154)
	-	7.5	13, 19 (16)	139, 154 (147)
	-	3.75	12, 23 (18)	153, 177 (165)
	-	1.88	21, 20 (21)	137, 165 (151)
	NPD	-	0.02	2032, 2075 (2,054)
Na-azide	-	0.001		776, 743 (760)
H ₂ O	-		13, 16, 20 (16)	154, 135, 139 (143)
H ₂ O	+		27, 23, 25 (25)	116, 111, 113 (113)
Bark extract	+	30	23, 24 (24)	119, 111 (115)
	+	15	27, 23 (25)	116, 115 (116)
	+	7.5	25, 28 (27)	127, 108 (118)
	+	3.75	25, 23 (24)	118, 135 (127)
	+	1.88	23, 22 (23)	106, 128 (115)
2-AF	+	10	1371, 1207 (1,289)	713, 757 (735)

* Positive control: NPD(4-nitro-*o*-phenylenediamine), Na-azide and 2-AF(2-aminofluorene)

2) Ames test를 이용한 항돌연변이 시험

유전독성시험을 응용한 항돌연변이 시험에서 수피추출물은 *S. typhimurium* TA98과 TA100 균주를 사용한 직접법에서는 주목할 만한 억제경향을 나타내지 않았다. 그러나 Aesculetin은 직접법에서 TA98과 TA100의 돌연변이 억제효과를 나타내지는 않았으며, S9 mix를 사용한 대사활성화 방법에서는 200 μ M/plate 첨가했을 경우 TA98에서는 44% 그리고 TA100에서는 59%의 돌연변이 억제효과를 나타내었다(표 1-19).

표 1-19. Ames test를 이용한 물푸레 수피추출물 및 aesculetin의 항돌연변이 효과

Test material	S9 mix	Dose (μ M/plate)	No. of revertant colonies(His ^r) per plate	
			TA98/inhibition ratio	TA100/inhibition ratio
H ₂ O	-		20, 20, 16 (19)	124, 117, 117 (119)
Bark extract	-	200	2,056, 2,032 (2,044) /4%	671, 696 (684) / 10%
	-	100	2,028, 2,240 (2,134) / -	719, 723 (721) / 4%
	-	50	1,932, 2,110 (2,021) / -	740, 770 (755) / -%
	-	25	1,974, 2,244 (2,109) / -	757, 761 (759) / -%
NPD	-	0.02	1,984, 2,070, 2,312 (2,122)	
Na-Azide	-	0.001		776, 725, 743 (748)
H ₂ O	-		19, 15, 16 (17)	194, 168, 175 (179)
H ₂ O	+		24, 22, 24 (23)	149, 158, 147 (151)
Aesculetin	+	200	78, 73 (76) / 44%	345, 314 (330) / 59%
	+	100	92, 89 (91) / 28%	389, 360 (375) / 49%
	+	50	98, 98 (98) / 14%	444, 424 (434) / 35%
	+	25	104, 114 (119) / -	459, 471 (465) / 28%
B(α)P	+	20	128, 110, 114 (117)	603, 756, 588 (589)

3) 동물배양세포를 이용한 소핵시험(Micro nucleus test)

그림 1-27에서 볼 수 있듯이 동물 세포의 소핵은 돌연변이를 유발할 수 있는 물질에 노출되었을 때 다량으로 발생할 수 있으며 이러한 소핵의 유발은 천연물 및 여러 화합물에 대한 유전독성의 지표로 많이 사용된다. 수피 추출물 및 3개의 단리화합물인 aesculetin, aesculin 및 fraxetin의 동물세포 소핵 유발시험에서는 표 1-20, 1-21, 1-22에서 볼 수 있듯이 음성대조군과 비교하여 농도별로 유의성 있는 소핵의 증가를 나타내지 않았으므로 유전자 돌연변이를 일으킬 수 있는 돌연변이원성의 물질이 없음을 알 수 있었다.

표 1-20. CHO 세포를 이용한 물푸레나무 수피 추출물의 소핵시험

Test material	S9 mix	Dose ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	No. of CB cells with n MN					Total No. of MN	MN/1000 cells (Mean \pm S.D)
			0	1	2	3	4		
H ₂ O	-	-	2,895	94	11	-	-	116	38.7 \pm 7.1
Bark extract	-	100	2,879	109	11	1	-	134	44.7 \pm 3.2
	-	30	2,897	91	10	2	-	117	39.0 \pm 6.6
	-	10	2,897	87	11	4	1	125	41.7 \pm 4.2
MMC*	-	0.0001	2,698	266	30	5	1	345	115.0 \pm 12.6
H ₂ O	+	-	2,892	91	13	3	1	130	32.0 \pm 4.6
Bark extract	+	100	2,926	61	12	1	-	88	29.3 \pm 0.6
	+	30	2,903	87	7	3	-	110	40.0 \pm 4.2
	+	10	2,906	88	5	1	-	101	33.7 \pm 9.9
B(α)P*	+	0.02	2,634	324	35	6	1	415	138.3 \pm 19.4

* Positive control: MMC(mytomyacin-C), B(α)P(benzo(α)pyrene)

표 1-21. CHO 세포를 이용한 물푸레 수피 단리화합물의 소핵시험(직접법)

Test material	S9 mix	Dose ($\mu\text{g/ml}$)	No. of CB cells with n MN					Total No. of MN	MN/1000 cells (Mean \pm S.D)
			0	1	2	3	4		
H ₂ O	-		2,927	64	9	-	-	82	27.3 \pm 6.8
Aesculetin	-	30	-	-	-	-	-	-	growth inhibition
	-	10	2,924	68	6	2	-	86	28.7 \pm 3.2
	-	3	2,924	72	3	1	-	81	27.0 \pm 1.7
Aesculin	-	30	2,932	54	11	3	-	85	28.3 \pm 2.5
	-	10	2,923	71	6	-	-	83	27.7 \pm 4.1
	-	3	2,926	68	6	-	-	80	26.7 \pm 4.0
Fraxetin	-	30	2,920	69	11	-	-	91	30.3 \pm 4.0
	-	10	2,917	73	10	1	-	96	32.0 \pm 6.5
	-	3	2,928	65	5	2	-	81	27.0 \pm 4.3
MMC*	-	0.0001	2,684	280	32	4	0	356	118.7 \pm 13.5

표 1-22. CHO 세포를 이용한 물푸레 수피 단리화합물의 소핵시험(간접법)

Test material	S9 mix	Dose ($\mu\text{g/ml}$)	No. of CB cells with n MN					Total No. of MN	MN/1000 cells (Mean \pm S.D)
			0	1	2	3	4		
H ₂ O	+	-	2,923	74	3	-	-	80	26.7 \pm 3.2
Aesculetin	+	10	-	-	-	-	-	-	growth inhibition
	+	3	2,944	50	5	1	-	63	21.0 \pm 3.6
	+	1	2,939	55	4	2	-	69	23.0 \pm 2.6
Aesculin	+	30	2,938	58	4	-	-	66	22.0 \pm 2.5
	+	10	2,938	53	7	2	-	73	24.3 \pm 2.9
	+	3	2,939	55	6	-	-	67	22.3 \pm 4.3
Fraxetin	+	30	-	-	-	-	-	-	growth inhibition
	+	10	2,946	50	4	-	-	58	19.3 \pm 4.5
	+	3	2,936	60	4	1	-	71	23.7 \pm 4.7
B(α)P*	+	0.02	2,627	332	33	7	1	423	141.0 \pm 11.2

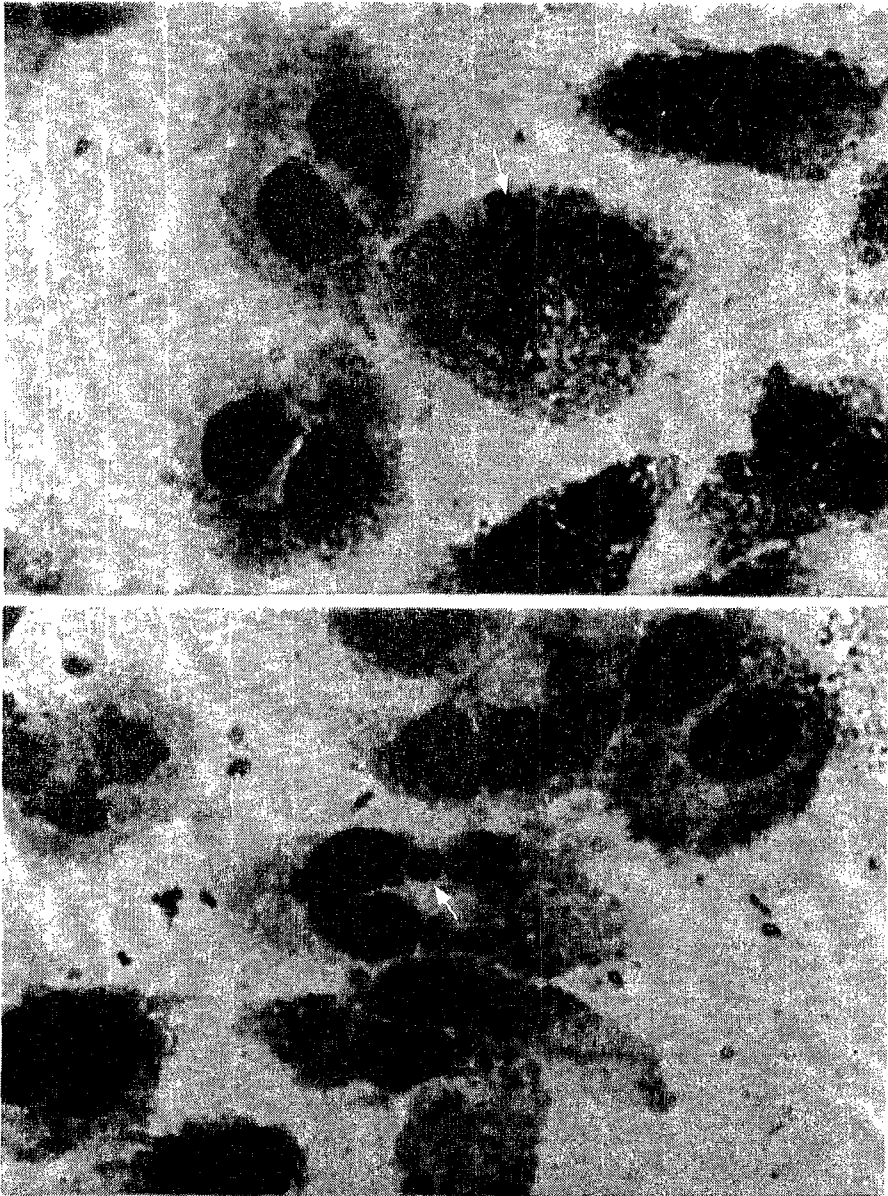


그림 1-27. Cytokinesis-block된 CHO 세포의 소핵(micro nuclei).

라. *in vitro* 항암시험(MTT assay)

세포의 증식과 살아있는 세포를 정확하게 측정할 수 있는 기법은 생명과학 분야 특히 종양생물학에서 필수적인 기법중의 하나이다. 새로운 항암제 개발을 위한 효능 검색이나 기존에 개발된 항암제의 감수성을 알아보기 위하여 동물실험 등의 생체에서의 적용이전에 생체외에서 약물이 종양세포의 성장을 억제함을 객관적으로 증명하는 과정이 선행되어야 한다. 이러한 생체외 종양의 1차적 선별검사법은 민감하면서도 실험 조작이 간편하고 단기간에 많은 대상물질의 항암작용 여부를 검사할 수 있는 시스템이 가장 이상적이다.

가장 이상적인 방법은 세포를 염색한 후 현미경을 이용하여 살아있는 세포를 세는 것이지만 많은 시간과 노력이 요구되고 검체수가 많을 경우에는 사용할 수가 없다.

따라서 현재 많이 사용되고 있는 MTT 검색법은 96-well plate를 사용하고 검사결과를 ELISA reader(multiwell microplate reader)를 이용하여 많은 시료를 간단히 빠르고 객관성 높게 판독할 수 있어 세포독성 및 세포증식 검색법으로서 널리 사용되고 있다

본 실험에서는 물푸레 수피 추출물, aesculetin, fraxetin 및 aesculin의 4개 시료에 대하여 MTT assay를 수행한 결과 표 1-23에서 보는 바와 같이 4개 시료 모두에서 유의성 있는 암세포증식 억제효과를 나타내지는 못하였다.

표 1-23. B-16 melanoma cell line에서 4개 시료에 대한 MTT assay의 A₅₇₀₋₆₅₀값과 세포생존율

시 료	A ₅₇₀₋₆₅₀ (세포생존율(%))			
	농도	540 μ g/ml	270 μ g/ml	135 μ g/ml
수피 추출물	S	0.111	0.116	0.133
	B	1.499	1.503	1.334
	농도	90 μ g/ml	45 μ g/ml	22.5 μ g/ml
Aesculetin	S	0.126	0.142	0.137
	B	1.479	1.626	1.558
	농도	360 μ g/ml	180 μ g/ml	90 μ g/ml
Fraxetin	S	0.025(21.0)	0.091(76.5)	0.107
	B	1.215(81.3)	1.615	1.610
	농도	360 μ g/ml	180 μ g/ml	90 μ g/ml
Aesculin	S	0.117	0.132	0.142
	B	0.954(63.8)	1.256(84.1)	1.506
	S		0.119	
Control	B		1.494	

* S: Splenocyte, B: B-16 melanoma

3. 물푸레나무의 국내 자원조사

가. 물푸레나무의 분포 현황

물푸레나무는 전국의 해발 100-1,500m의 산야에 분포하며, 분포의 중심지는 600m 내외로 보고되고 있다. 지리적으로는 일본, 중국의 북부지방이나 만주 등에 분포한다. 어려서는 내음성이 있어 수림하에서도 잘 자라나 점차 성장하면서 햇빛을 좋아한다. 내한성과 맹아력이 강하고 이식력이 좋으나 생장이 빠르지 못하다. 들메나무에 비하여 균집성은 약하지만 활력이 왕성하여 계곡, 하천변의 조림수로 적합하며, 목재의 물리적 성질이 좋아 악기, 운동용구의 재료로 적합하고 그외 가구재, 기구재 등으로 사용되며, 껍질은 약용으로 쓰인다.

또한 들메나무는 수평적으로 충청남북도를 제외한 전국의 해발 50-1,500m 심산 계곡에 분포하며, 분포의 중심지는 700m 내외로 보고되고 있다. 지리적으로는 일본, 중국, 만주, 사할린 등에 분포한다. 내음력이 강하나 성장하면서 양광을 요구하며, 습한 곳을 좋아하는 습성이 있어 계곡의 습지를 선호한다. 생장이 왕성하고 균집성이 강하여 계곡이나 하천변 조림에 적합하나 종자결실의 풍흉이 심하므로 조림용 묘목을 생산할 경우에는 종자 결실이 잘된 해에 채취하도록 해야 한다. 버드나무, 귀룽나무, 갯버들, 느릅나무, 가래나무, 층층나무, 피나무 등과 혼생하거나 균집을 형성하는 낙엽활엽교목으로 수고 30m, 직경 1m까지 자라며, 목재는 재질이 질기고 보존기간이 길어 건축재, 운동용구, 가구재, 기구재, 선박재 등으로 사용되며, 껍질은 염료 및 탄닌 채취에 쓰인다.

이들 물푸레나무과의 물푸레나무와 들메나무는 용도가 매우 다양하여 고급 가구재, 내장재, 합판재, 기계재, 운동기구재, 펄프재 등에 좋으며, 수피는 약용, 염색, 탄닌 추출의 원료로 이용되고 있다. 이와 같은 이유로 우수한 물푸레나무 및 들메나무의 육종과 조림이 필요하다. 특히 이들 수종은 결실주기가 3-4년으로 우수한 자원을 확보

하기 위해서는 삼목 등 무성번식법에 의한 대량증식이 필연적으로 요구된다. 반면 쇠물푸레나무는 자생지에서도 수고 5-6m 정도로 자라는 낙엽소교목으로 물푸레나무와 들메나무에 비해 이용가치가 매우 낮을 뿐만 아니라 분포범위가 협소하며, 그 양도 매우 적다.

지금까지 물푸레나무과의 수종에 대한 개략적인 축적량만이 파악된 바 있으며, 소경재의 생산을 목적으로 할 경우에는 35년 정도에서 벌채가 가능하지만, 흉고직경 30cm 이상의 대경재를 생산하고자 할 경우에는 70년 정도가 요구되지만, 산림청에서 발표하고 있는 벌기령은 60년으로 되어 있다. 따라서 조림 및 육묘량과 임목축적량, 수피생산량 등은 본 연구에서 조사되어야 할 것이다.

본 연구에서는 강원도와 경기도의 일부 산지를 대상으로 조사코스를 설정한 후, 조사코스의 좌우 5m씩(폭 10m)에 출현하는 물푸레나무류에 대하여 수고 및 직경을 측정하였으며, 해발고 100m씩 구분하여 출현하는 물푸레나무류를 모두 조사하였다. 이와 같은 방법으로 조사된 자료를 이용 조사 대상지역의 산지에 대한 물푸레나무류의 분포 현황, 축적량 및 수피 생산량을 추정하였다.

1) 만덕봉지역의 물푸레나무 분포 현황

만덕봉(1,035m)은 강원도 강릉시 강동면, 왕산면 및 옥계면의 경계에 위치하는 산으로 해발 600m까지는 소나무 군락이 우점하며, 그 이상 지역은 신갈나무가 우점하는 곳이다. 조사지역 내(해발고 100m 구간)에 출현하는 물푸레나무의 재적 생산량은 400-500m에서 0.55m³이며, 500-600m에서는 0.69m³으로 총 1.24m³을 생산하는 것으로 나타났다. 각 해발고별 개체수로 평균하여 1개체가 생산할 수 있는 재적은 400-500m에서 0.02m³이며, 500-600m에서는 0.02m³으로 평균 0.02m³을 생산하는 것으로 나타났다. 따라서 이 지역은 다른 지역에 비하여 어린 개체로 구성되어 있기 때문에 재적 생산량이 적게 나타나는 것으로 추정된다(그림 1-28).

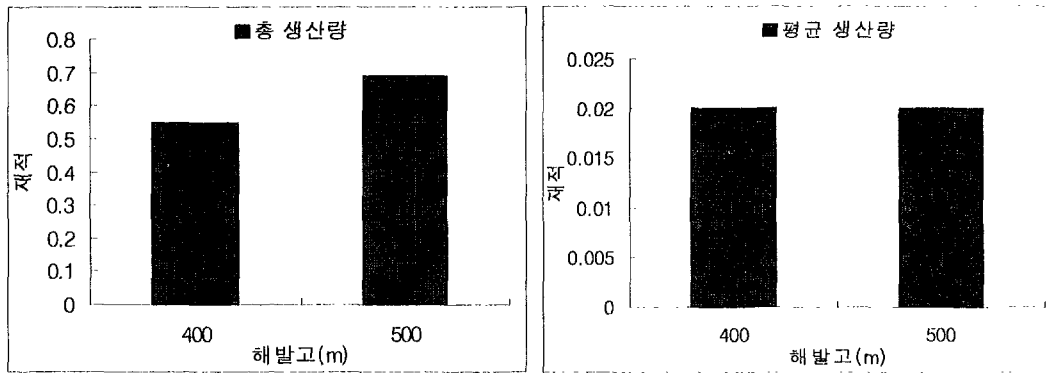


그림 1-28. 만덕봉 지역의 해발고별 물푸레나무 생산량과 개체별 평균 생산량.

2) 매봉산지역의 물푸레나무 분포현황

매봉산(1,271m)은 강원도 인제군의 북면과 서화면의 경계에 위치하는 산으로 해발 800m까지는 소나무 군락과 혼효림이 우점하며, 그 이상 지역은 신갈나무가 우점하는 곳이다. 조사지역 내(해발고 100m 구간)에 출현하는 물푸레나무의 재적 생산량은 400-500m에서 1.23m³이며, 500-600m에서는 0.29m³으로 총 1.52m³을 생산하는 것으로 나타났다. 각 해발고별 개체수로 평균하여 1개체가 생산할 수 있는 재적은 400-500m에서 0.04m³이며, 500-600m에서는 0.02m³으로 평균 0.02m³을 생산하는 것으로 나타났다. 따라서 이 지역은 만덕봉 지역보다 생산량이 약간 높은 것으로 나타났으며, 산의 하부지역인 400-500m지대에 많은 개체수가 분포하는 것으로 추정된다(그림 1-29).

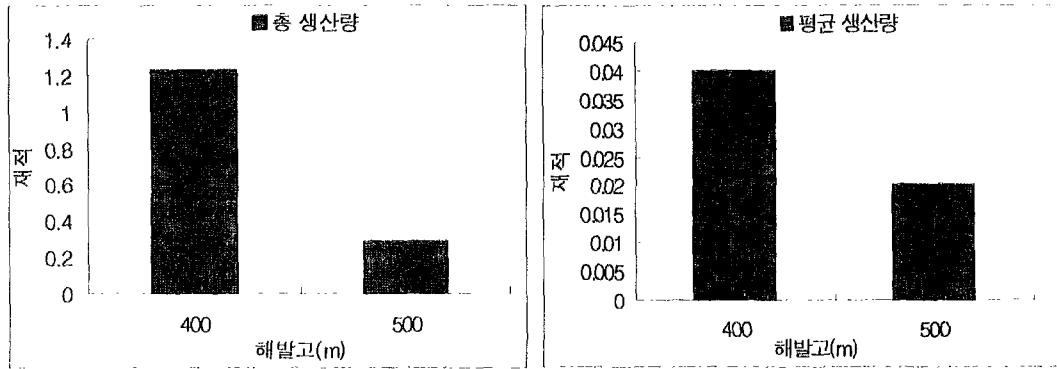


그림 1-29. 매봉산지역의 해발고별 물푸레나무 생산량과 개체별 평균 생산량.

3) 경기도 가평군 석룡산지역의 물푸레나무 분포현황

석룡산(1,215m)은 강원도 화천군 사내면과 경기도 북면의 경계에 위치하는 산으로 해발 800m까지는 잣나무, 일본잎갈나무 및 물푸레나무 조림지로 되어 있으며, 그 이상 지역은 신갈나무가 우점하는 곳이다. 조사지역 내(해발고 100m 구간)에 출현하는 물푸레나무의 재적 생산량은 500-600m에서 4.01m³이며, 600-700m에서 4.07m³이며, 700-800m에서 6.74m³이며, 800-900m에서는 4.58m³으로 총 19.4m³을 생산하는 것으로 나타났다. 각 해발고별 개체수로 평균하여 1개체가 생산할 수 있는 재적은 500-600m에서 0.1m³이며, 600-700m에서 0.31m³이며, 700-800m에서 0.14m³이며, 800-900m에서는 0.46m³으로 평균 0.25m³을 생산하는 것으로 나타났다. 따라서 이 지역은 다른 지역에 비하여 물푸레나무가 600-900m지역을 중심으로 매우 많이 분포하여 재적 생산량이 높게 나타나는 것으로 추정된다(그림 1-30).

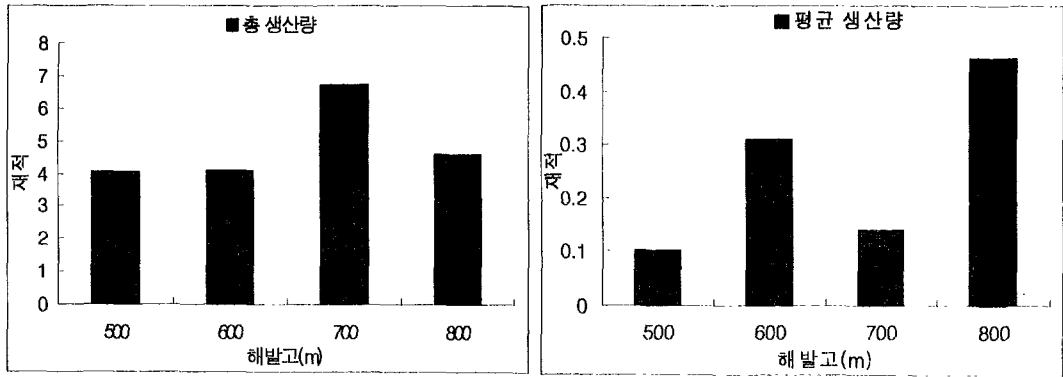


그림 1-30. 석룡산지역의 해발고별 물푸레나무 생산량과 개체별 평균 생산량.

이상의 지역을 종합적으로 고려해 보면, 그림 1-31에서 보는 바와 같이 조사지역 내(해발고 100m 구간)에 출현하는 물푸레나무의 평균 재적 생산량은 400-500m에서 0.89m³이며, 500-600m에서 1.66m³이며, 600-700m에서 4.07m³이며, 700-800m에서 3.61m³이며, 800-900m에서는 4.58m³으로 600-900m지역이 중심을 이루며, 재적 생산 역시 해발 600-900m 지역에서 많이 생산되는 것으로 나타났다.

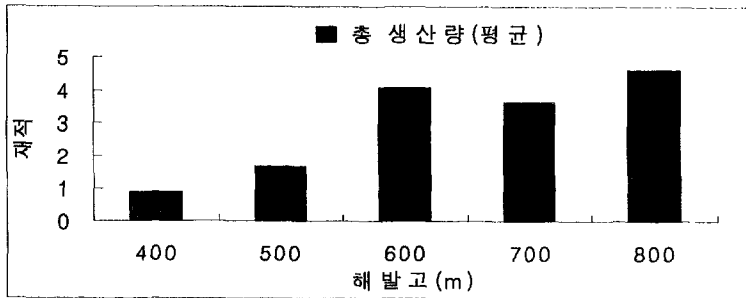


그림 1-31. 각 조사지역의 해발고별 물푸레나무의 평균 생산량.

4) 물푸레나무 직경분포

조사지역에 대한 물푸레나무의 직경분포 현황을 보면, 그림 1-32에서 보는 바와 같이 4개 지역 모두 직경 1-10cm 범위의 것이 가장 많이 분포하고 있으며, 석룡산 지역은 20cm 이상의 중경목과 30cm 이상의 대경목이 분포하나 그 분포가 크지 않다. 또한 만덕봉 지역은 직경 10cm 이하의 유령목이 많이 분포하나 중경목 이상의 분포는 매우 적어 재적 생산량이 낮으나, 장기적으로는 많은 생산이 가능할 것으로 판단된다. 따라서 부가가치가 높은 물푸레나무의 대량 생산을 위해서는 대면적의 조림 및 육림이 필요하며, 대량생산을 위한 무육방법이 뒷받침되어야 할 것이다.

조사지역을 종합적으로 판단해 보면, 그림 1-33에서 보는 바와 같이 직경 10cm 이하의 유령목이 대부분을 차지하며, 직경 30cm 이상의 대경목은 극히 미세한 양으로 분포하는 것으로 나타났다.

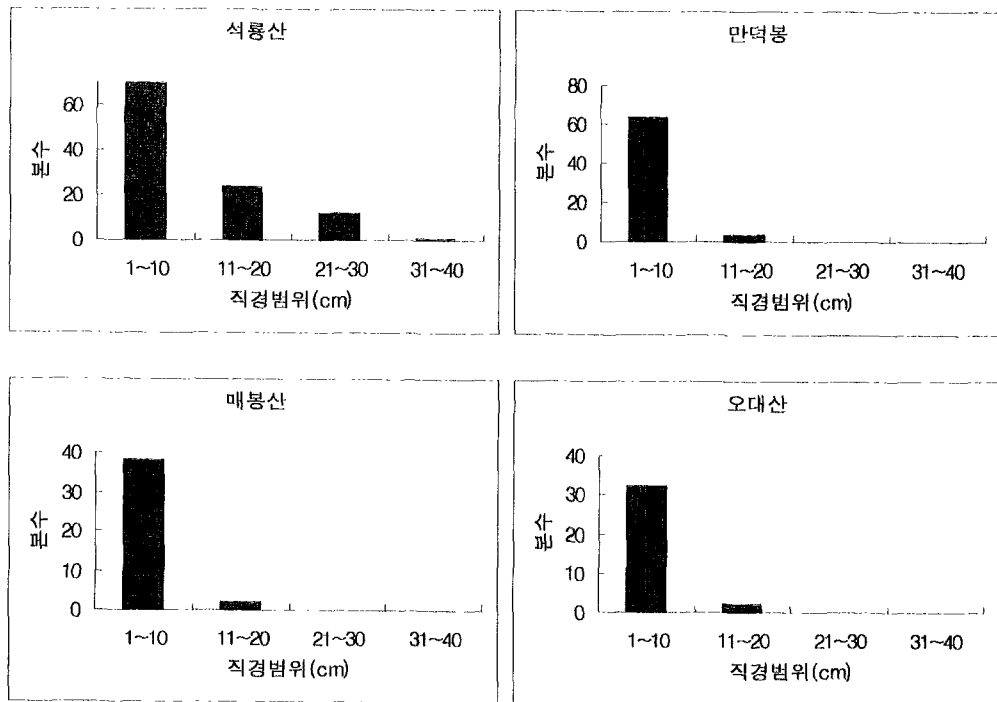


그림 1-32. 각 조사지역의 물푸레나무 직경급별 분포현황.

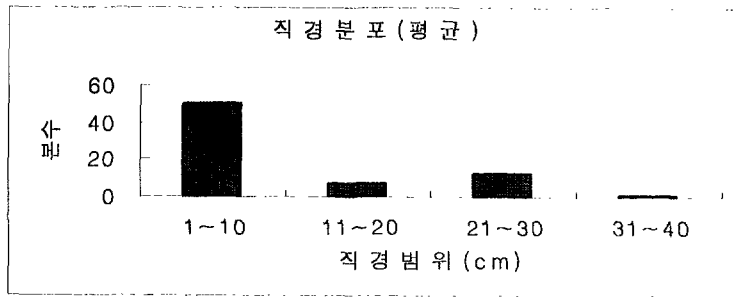


그림 1-33. 각 조사지역의 물푸레나무 평균직경 분포현황.

나. 물푸레나무의 수피 생산량

약용으로 이용되는 물푸레나무의 1본당 수피 생산량은 각 직경급별 표준목을 선정하여 수피를 벗겨 생중으로 무게를 측정한 후, 각 직경급별로 적용하여 수피 생산량을 추정하였다. 물푸레나무는 표 1-24에서 나타난 것과 같이 직경 10cm 이하에서는 평균 약 5.9kg, 11-20cm에서는 약 11.8kg, 21-30cm에서는 23.6kg, 그리고 31-40cm에서는 약 35.4kg의 수피를 생산하는 것으로 나타나, 직경이 크면 클수록 수피 생산량이 급격히 증가하는 경향을 나타냈다.

표 1-24. 물푸레나무의 직경급별 수피 생산량

직경 범위 (cm)	1~10	11~20	21~30	31~40
생산량(kg)	5.9	11.8	23.6	35.4

조사된 4개 지역에서 생산될 수 있는 물푸레나무의 수피 생산량은 매봉산이 819,500kg, 오대산이 583,600kg, 만덕봉이 205,700kg 및 석룡산 99,500kg의 순으로 나타났다지만, 수피생산량/ha은 대상면적이 가장 작은 석룡산이 369.3kg/ha으로 가장 높은

것으로 추정되었으며, 매봉산 206.5kg/ha, 만덕봉 203.6kg/ha, 오대산 106.2kg/ha의 순으로 나타났다(표 1-25). 따라서 작은 규모로 산을 소유하고 있는 영세 산주들도 고부가가치의 물푸레나무를 집약적으로 조림하여 무육 한다면 수피를 대량으로 생산하여 농산촌 주민들의 소득향상에 기여할 것으로 판단된다.

표 1-25. 각 조사지역의 물푸레나무 수피 생산량

조사지	총 대상면적(ha)	실 조사지		생산량(kg)/ha	총 생산량(kg)
		면적(ha)	생산량(kg)		
석룡산	269.38	2.7	997.1	369.3	99,500
만덕봉	1,010.52	2.0	407.1	203.6	205,700
매봉산	3,968.45	1.2	247.8	206.5	819,500
오대산	5,495.61	2.0	212.4	106.2	583,600

따라서 앞으로는 목재생산 뿐만 아니라, 용도가 여러 가지로 다양한 물푸레나무 생산량을 확보하기 위해서는 그 밖의 지역을 대상으로 물푸레나무의 분포현황, 생산량 및 수피 생산량에 대한 조사가 지속적으로 수행되어 명확한 자료가 확보되어야 할 것이다.

4. 시제품 제조

물푸레나무의 추출성분 중 aesculetin을 이용하여 제조공정을 확립한 항산화 시제품은 정제 및 과립으로 제조하여 코팅을 하였으며 그림 1-34과 1-35에서 보는 바와 같다.

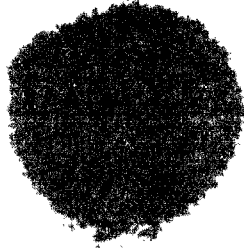


그림 1-34. Aesculetin으로 제조한 과립상의 코팅 시제품

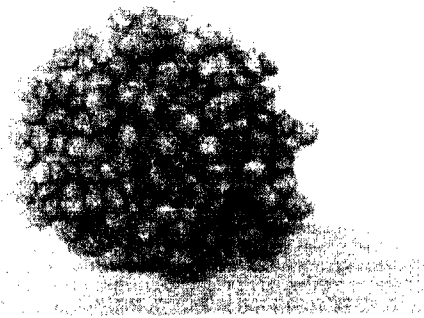


그림 1-35. Aesculetin으로 제조한 정제상의 시제품.

가. Aesculetin을 이용한 과립의 제조 특성

1) Aesculetin 분말은 고운 미세분말이 아니기 때문에 더 미세한 분말로 가루 내거나 상황에 따라 큰 입자의 분말은 sieving하여 제거하여야 한다.

2) 그리고 과립제조 시 분말의 결합에 사용하는 용매의 선정도 매우 중요하다. 본 실험에서 에탄올과 물을 적당한 비례로 한 혼합용매를 사용하였다. 여기서 두 가지 용매의 비례가 과립성형의 주요 요인인데, 물의 양이 너무 적으면 PVP나 starch가 결합제의 역할을 제대로 발휘할 수 없어 과립이 성형되었다 하더라도 금방 건조되어 쉽게 부서지는 단점이 있다. 반면에 물의 양이 너무 많으면 과립 제조과정에서 분말이 점점 진득진득하게 변하기 때문에 과립제조에 장애가 생긴다. 위에서 표시한 용매량은 절대적이 아니므로 제조 규모에 따라 실험조건이 약간 변화 할 수도 있다.

3) 실험중 PVP를 먼저 에탄올에만 녹여 이 용액으로 과립을 습윤 시킨 후 다음 물을 조금씩 넣어 분말의 과립제조 가능성을 check 하면서 과립을 제조하는 방법도 가능하다.

4) 본 실험에서 얻은 과립의 수득율은 55.5% 밖에 되지 않는데 그 원인은 주성분인 aesculetin의 양이 약간 적은데 있다. 과립 제조는 기계적인 조작을 거치기 때문에 기계자체에서 나타나는 손실(압출되지 않고 과립제조기 내부에 남아 있는 양)을 어느정도 예상할 수 있는 데 제조 규모가 작을수록 손실율이 당연히 크며, 생산량을 늘리면 수득율은 최고 90%이상 얻을 수 있으므로 수득율을 높이려면 반드시 주성분의 양이 증가하여야 한다.

나. Aesculetin을 이용한 정제의 제조특성

30g의 aesculetin 분말, avicel 101 45g, lactose 105g과 starch 70g을 혼합 조성물로 하여 184(300mg/정)개의 정제를 제조하였다. 제조된 정제의 기본적인 물리적 특성은

표 1-26와 같다.

표 1-26. Asculetin을 이용하여 조제한 정제의 물리적 특성

No.	중량(mg)	경도(N)	직경(mm)	밀도(g/ml)
1	298.4	56	9.03	
2	314.0	61	9.08	
3	307.9	53	9.13	
4	316.4	66	9.10	
5	309.6	57	9.10	
Mean±SD	309.26±6.95	58.4±5.3	9.1±0.05	1.266

중량 : 309.26 ± 6.95 mg; 밀도 : 1.266g/ml; 경도 : 58.4 ± 5.3 N; 직경 : 9.1 ± 0.05 mm

정제 제조시 특성은 다음과 같다.

- 1) 우선 처방에 있는 조성 분말들을 골고루 균일하게 혼합하여야 한다.
- 2) 약물(aesculetine) 분말 자체가 경질분말이기 때문에 정제 제조과정에서의 유동성이 좋지 않다. 또한 처방중 부형제의 양이 너무 적으면 타정분말의 유동성이 좋지 않기 때문에 정제 제조에 어려움이 존재한다. 따라서 유동성이 좋은 일정양의 부형제를 가하는 것이 중요하다.
- 3) 본 실험에서 avicel을 부형제로 하여 정제 제조시, 분말의 압축성이 좋고 성형이 용이하며 또한 혼합분말의 유동성도 좋았다. 그리고 capping이나 laminating과 같은 정제 장애가 생기지 않았다.

제4절 참고문헌

1. Agrawal, P. K. 1989. Carbon ^{13}C -NMR of flavonoids. Elsevier Science Publishing Company INC: 96-123.
2. Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181: 1199-1200.
3. Brackett, B. G. and G. Oliphant. 1982. Capacitation of rabbit spermatozoa in vitro. *Biol. Reprod.*, 12: 260-274.
4. Damtoft, S., H. Franzyk., S. R. Jensen. 1992. Excelsioside, a Secoiridoid Glucoside from *Fraxinus Excelsior*. *Phytochemistry* 31, 12: 4197-4201.
5. Dulcie A. Mulholland, Serge E. Iourin, David A. H. Taylor and Francis M. Dean, 1998, Coumarins from Ekebergia Pterophylla, *Phytochemistry*, 47, 8: 1641-1644.
6. Harborne, J. B. 1994. The Flavonoids. Chapman and Hall LTD: 441-497.
7. Inoue, K., Nishioka, T., Tanahashi, T. and Inouye, H. 1982. Three Secoiridoid Glucosides from *Ligustrum japonicum*. *Phytochemistry* 21, 9: 2305-2311.
8. Inouye, H., Nishioka, T. and Kaniwa, M. 1975. Glucosides of *Fraxinus japonica*. *Phytochemistry* 14: 304.
9. Maron, D. M. and B. N. Ames: Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test, 1983, *Mutation Res.*, 113: 173-215.
10. Martin-Aragon, S., J. M. Benedi and A. M. Villar. 1998. Effects of the antioxidant(6,7-dihydroxycoumarin) esculetin on the glutathione system and lipid peroxidation in mice. *Gerontology*, 44: 21-25.
11. Matsunaga, K., N. Yoshimi, Y. Yamada, M. Shimizu, K. Kawabata, Y. Ozawa, A. Hara and H. Mori. 1998. Inhibitory effects of nabumetone, a cyclo-

- oxygenase-2 inhibitor, and aesculetin, a lipoxygenase inhibitor, on N-methyl-N-nitrosourea induced mammary carcinogenesis in rat. *Jpn. J. Cancer Res.*, 89(5): 496-501.
12. Oliver kayser and Hervert Kolodziej, 1995, High Oxigenated Coumarins from *Pelargonium Sidoides*, *Phytochemistry*, 39, 5: 1181-1185.
 13. Papaioannou, D. E. and K. M. Ebert. 1988. The preimplantation pig embryo : cell number and allocation to trophectoderm and inner cell mass of the blastocyst in vivo and in vitro. *Development*, 102: 793-703.
 14. Rosenkrans, C. F. and N. L. First. 1991. Culture of bovine zygotes to the blastocyst stage : Effect of amino acids and vitamins. *Theriogenology*, 35: 266(Abstr.).
 15. Row, J. W. 1989. *Natural Products of Woody Plants*. Springer-Verlag: 374-382.
 16. Schultz, T. P., W. B. Harms, T. H. Fisher, K. D. McMurtrey, J. Minn and D. D. Nicholas, 1995, Durability of Angiosperm Heartwood: The Importance of Extractives, *Holzforschung*, 49, 1: 20-34.
 17. Sekiya, K., H. Okuda and S. Arichi. 1982. Selective inhibition of platelet lipoxygenase by esculetin. *Bilchim. Biophys. Acta.*, 713 : 68-72.
 18. Soren Damtoft, Henrik Franzyk and Soren Rosendal Jensen, 1992, Exelsioside, a secoiridoid glucoside from *Fraxinus Exelsior*, *Phytochemistry*, 31, 12: 4197-4201.
 19. Sutarjadi, Malingre, Th. M. and Vav Os, F. L. 1978. Iridoid and Phenolic Glycosides of *Fraxinus griffithi*. *Phytochemistry* 17: 564.
 20. Thompson, J. G. E., A. C. Simpson, P. A. Pugh, D. E. Donnelly and H. R. Tervit. 1990. Effect of oxygen concentration on in vitro development of preimplantation sheep and cattle embryos. *J. Reprod. Fert.*, 89: 573-578.

21. Yoshida, T., K. Mori., T. Hatano., T. Okumura., I. Uehara., K. Komagoe., Y. Fujita and T. Okuda. 1989. Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids. V. Radical-scavenging effects of tannins and related polyphenols on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem. Pharm. Bull.* 37, 7: 1919-1921.
22. 金榮中, 宋源燮, 金世炫, 朴亨淳, 長大昶. 1991, 물푸레나무 선발목 차대의 생장 특성. *임목육종 연구보고* 27: 19-23.
23. 김태정. 1995. 한국의 산야초. 국일문화사: 296-297.
24. 김태욱. 1996. 한국의 수목. 교학사: 536-538.
25. 宋源燮, 朴亨淳, 鄭憲官. 1988. 들메나무의 형태적 변이. *임목육종연구보고* 24: 28-34.
26. 양부근, 황환섭, 박동현, 정희태, 박춘근, 김종복, 김정익. 1997. 항산화제 첨가와 체세포 공동배양이 소 체외수정란의 체외발육에 미치는 영향. I. 항산화제 첨가가 소 체외수정란의 체외발육에 미치는 효과. *한국가축번식학회지*. 20: 163-170.
27. 이상극, 함연호, 배영수, 1998, 물푸레나무 수피의 Oleuropein과 Ligstroside, *목재공학*, 26, 4: 56-62.
28. 임업연구원. 1994. 한국산 주요수종의 성질과 용도: 110-113.
29. 중국본초도감. 1994. 여강출판사. vol. 3: 215.
30. 조성기, 육홍선, 변명우, 복귀돌연변이 시험을 이용한 감마선 조사 생약재의 안전성에 관한 유전독성학적 평가, 1997, *한국식품영양과학회지*, 26, 5: 958-964.
31. 韓相燮, 沈朱錫. 1989. 물푸레나무와 들메나무엽의 광합성과 호흡특성. *한국임학회지* 78: 280-286.
32. 함연호, 김진규, 이상극, 배영수, 물푸레나무 수피의 쿠마린화합물, 1997, *한국목재공학회 추계학술발표 요지집*.
33. 허준. 1994. 동의보감. 여강출판사. vol. 5: 2814-2815.

34. 森 満範, 土居修一, 青山政和. 1994. 樹皮抽出物の抗菌活性. 日本木材學會北海道支部講演集. 26: 41-44.
35. 池川 信夫, 丸茂 晋吾, 星 元紀, 1984. 生理活性物質のバイオアッセイ. 講談社: 17-29.
36. 中江篤記, 眞鍋逸評. 1962. 京都大學北海道演習林におけるヤチダモの育林學的研究第7報. ヤチダモ苗の生長に及ぼす火山性黒色土壤の含有水分の影響について. 京都大 演報 34: 32-36.

제3장 물푸레나무를 이용한 고기능성 목질재료 개발

제1절 서 론

물푸레나무속 수종은 예로부터 재질이 단단하고 견고하여 높은 강도를 요하는 소규모 농기구의 부품과 건축재, 가구재, 기구재, 운동용품재 등으로 널리 사용되어 왔다(宮島, 1979). 현재 우리 나라에서도 활엽수종 중 물푸레나무과 수종은 특수활잡목 등급으로 분류되어 있고 고급 목제품의 재료로써 비교적 고가로 유통되고 있다.

물푸레나무는 역학적 성질, 특히 휨에 대한 韌性和 耐衝擊性이 우수하여 운동용구, 농기구, 차량용품 등의 주요 부품으로 사용되어 왔다. 비교적 대경목의 물푸레나무가 생산되던 때는 스키용재로서 중요시되었으나, 대경목의 생산이 불가능하게 되고 스키용 재료도 타재료로 대체되면서 스키용재로서는 사용되지 않고 야구베트용재로 많이 이용되었다. 특히 프로야구에서 목재의 야구베트 사용량은 크게 증가하고 있다. 현재, 국내의 프로야구선수들은 상당량의 목재 야구베트를 사용하고 있지만 거의 수입품에 의존하고 있는 것으로 알려져 있다.

최근 자료(산림청, 2000)를 보면 99년도 국내 목재 공급량에서 수입재(원목기준)가 총 공급량의 80%를 차지하고 있으며, 국내재는 총 공급량의 20%에 불과하다. 국내산 원목의 자급율은 14.6%(主伐, 間伐)(임업연구원, 1997)에 불과하며, 그나마 공급된 목재의 71% 정도가 직경이 15cm이하인 소경재들이다(李, 1993). 이들 소경재는 대부분이 미성숙재로 이루어져 있어 수축과 팽윤의 이방성이 커서 수종간은 물론 동일 개체 내에서도 생육 환경에 따라 세포의 크기 및 형태면에서 그 변이가 매우 다양하며(Carlquist, 1988) 재질이 성숙재보다 뒤떨어진다(李 등, 1989). 이러한 목재의 성질 중 특히 목재의 수축 및 팽윤성을 개선하여 안정된 목재를 개발하거나 목재의 성질을 개선하려는 시도는 계속적으로 이루어져 왔다(鈴木·徳田, 1993; 일본목재학회, 1993; 今

村, 1983).

현재까지 물푸레나무과 수종에 대한 해부학적 특성 및 재질에 관한 연구는 국내·외 여러 연구자(Yamabayashi 1938; 朴 등 1981; 李·嚴 1987; 朴 등 1990; 朴 1990; Fujiwara 1992; Sano & Fukuzawa 1994; 李 1994; 임업연구원 1994; Utsumi *et al.* 1996; 李 1997; Helinska & Fabisiak 1999; Panshin & Zeeuw, 1970; 宮島, 1979; 森林總合研究所, 1982; 中井 & 山井, 1982; 海老原 등, 1985; 日本木材學會, 1985; 李 등, 1989; 朴 등, 1990; Tsoumis, 1991; 李, 1994; 李, 1997; 임업연구원, 1994; Gustafsson, 1999)에 의해 수행되어 왔지만 단편적으로 이루어져 있어 광범위하고 전반적인 연구의 필요성이 제기되고 있다.

한편, 목재 고유의 성질중 단점으로 생각되는 수축·팽윤성, 부후성, 인화성 등을 개선하여 기능성을 부여하기 위한 연구가 계속적으로 수행되고 있으며 이렇게 개발된 재료를 木質新素材로 부르고 있다. 화학처리 목재의 대부분은 목재내 비결정영역의 -OH기를 제어하여 어느 정도의 성질을 변화시킬 수 있는데, 목재의 성질을 개선하여 가공을 용이하게 하고자 하는 방법에는 열처리, 아민 및 암모니아 처리, 알칼리 처리 및 microwave 등을 이용하는 방법들이 있다(鈴木 & 徳田, 1993; 日本木材學會, 1993; 佐道, 1971; 今村 등, 1983). 이러한 여러 가지 방법중에서 알칼리처리는 세포벽으로부터 헤미셀룰로오스 및 리그닌의 일부를 용탈시켜 매트릭스에 공극을 형성시켜 매트릭스내에 배향된 microfibril의 경사 또는 굴곡 등의 형태변화가 가능하게 되어 가소성이 부여된다(日本木材學會, 1993). 그러므로 기능성 부여를 위한 연구의 일환으로 이미 저자들(黃·金, 1997)이 보고한 연구와 관련하여 물푸레나무재의 알칼리 처리에 의한 수축·팽윤성 및 미세구조를 검토하였다.

또한, 수분변화에 따른 목재의 변형을 개선시키고 치수안정성을 부여하기 위하여 화학처리나 다른 재료와의 복합화에 의해 목재의 성질을 개선하려는 연구가 이전부터 많이 진행되어 왔다(鈴木 ·徳田, 1993; 일본목재학회, 1993). 그 중에서 PEG (Polyethylene glycol)처리는 초기 함수율이 높은 생재에 PEG수용액을 침투시켜 벌킹

효과에 의해 목재를 팽윤상태로 유지시키는 방법으로서 처리비용이 저렴하고, 조작이 간단하면서도 높은 칫수안정성을 부여하는 것으로 생각되고 있다(佐道, 1989).

PEG처리에 의한 목재의 칫수안정성에 관한 연구는 Stamm(1959)의 연구에서부터 시작되었다. 그는 southern pine 원판의 건조실험에서 30%-PEG 1000 수용액에 침적 처리한 결과, 수축율이 감소되고 할열이 발생되지 않았다고 보고하였고, Tarkow 등(1966)은 용질배제법에 의한 Non-Solvent Water(NSW)의 정량에 의해서 분자량 3000 이상의 PEG는 목재의 일시공극 중에 침입할 수 없다는 결과를 보고하였다. 堀岡 등(1968)은 너도밤나무재의 실험에서 PEG 함침율 25%정도가 최대의 항수축율(ASE: Anti-Shrinkage Efficiency)과 항팽윤율(AE: Anti-swelling Efficiency)을 나타내는 것을 밝혔고, 岡本 등(1984)은 비중이 저하되고 공극율이 높아진 出土木材의 보존처리를 위해서는 분자량 4000의 PEG가 적당하다고 보고하였다.

따라서, 본 연구에서는 물푸레나무속 수종을 보다 합리적으로 이용하기 위한 기초 자료를 얻기 위하여, 물푸레나무속 수종 중에서 유용한 목재 생산이 가능한 것으로 판단되는 수종인 물푸레나무, 들메나무 및 쇠물푸레나무의 해부학적 특성과 물리·역학적 특성을 조사·검토하였으며, 기능성 부여를 위해 실시한 알칼리 처리제의 수축·팽윤성 및 미세구조를 조사하였고, 칫수안정성을 위한 PEG 처리제의 PEG처리 후의 수축·팽윤특성, 휨강도 및 충격강도를 검토하였다.

제2절 재료 및 방법

1. 한국산 물푸레나무屬 주요 수종의 해부학적 특성

가. 재료

본 연구에서는 2000년 5월 강원대학교 연습림 8임반 나소반에서 채취한 물푸레나무 (*Fraxinus rhynchophylla* HANCE)와 1998년 11월 경남 함양군 마천면 삼정리 자연휴양림에서 채취한 들메나무(*Fraxinus mandshurica* RUPR.) 및 쇠물푸레(*Fraxinus sieboldiana* BLUME) 1본씩을 재료로 사용하였다. 공시목의 개요는 표 2-1과 같다.

표 2-1. 공시수종

Species	Tree age(year)	DBH(cm)
<i>F. rhynchophylla</i>	45	20.0
<i>F. mandshurica</i>	29	18.0
<i>F. sieboldiana</i>	23	9.5

나. 실험방법

1) 해부 및 미세구조학적 특성

해부학적 특성을 조사하기 위한 슬라이드는 상법(일본목재학회, 1985)으로 제작한 후 광학현미경(ZEISS Standard 25)과 화상분석기(BMI)를 이용하여 관찰 및 측정하였다.

가) 목섬유 길이, 조·만재부 도관요소의 길이 및 직경 측정

목섬유, 조·만재부 도관요소의 길이 및 도관의 접선방향 직경은 화상분석기를 사용하여 연료별로 각각 50개씩 측정하였다.

나) 방사조직의 높이 및 수 측정

방사조직의 높이는 접선단면에서 조·만재부를 구별하여 하나의 방사조직내의 방사유세포 수(세포고)를 측정하였다. 방사조직의 수는 화상분석기를 사용하여 각 연료별로 횡단면(접선방향 1mm 내)에서 조·만재부를 구별하여 측정하였다. 방사조직의 높이와 수는 각각 20회씩 측정하여 평균치로 하였다.

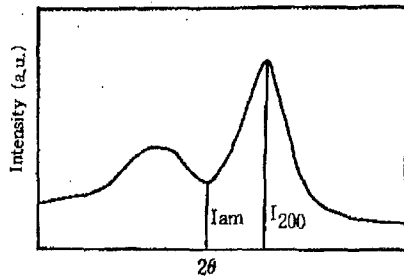
다) 구성요소 비율의 측정

구성요소 비율은 광학현미경으로 촬영한 횡단면 사진을 이용하여 측정하였다. 횡단면상에서 조사할 수 있는 목섬유, 도관요소, 방사유조직, 축방향유조직의 비율을 각 연료별로 조제부와 만재부로 나누어서 측정하였다.

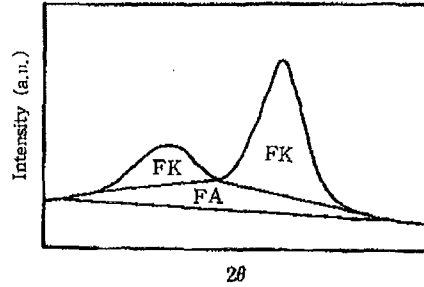
2) 미세구조적 특성 측정

가) 상대결정화도 측정

결정화도 측정 시료는 원판상에서 심재와 변재로 나누었으며, 만재부분에서 1cm×0.1mm×4cm 크기로 제작하였다. X선 회절장치는 Rigaku DMax-2100을 사용하였으며, X선은 Ni filter로 단색화한 CuK α 선($\lambda=0.1542\text{nm}$)을 사용하였다. 결정화도는 그림 2-1과 같이 고도법(segal, 1959) 과 면적법(Wellwood, 1975)을 이용하였다.



A



B

그림 2-1. 목재의 X선 회절강도 곡선.

▶ Segal's method

$$Cr.(\%) = \frac{I_{200} - I_{AM}}{I_{200}} \times 100$$

I_{200} : (200)의 회절강도($2\theta = 22.8^\circ$)

I_{AM} : 비결정부분의 회절강도($2\theta = 18^\circ$)

▶ Area method

$$Cr.(\%) = \frac{F_k}{F_k + F_A}$$

F_k : 결정영역 부분

F_A : 비결정영역 부분

2. 물푸레나무屬 주요 수종의 물리적 특성

가. 재료

본 연구에서는 2000년 5월 강원대학교 연습림에서 채취한 물푸레나무(*Fraxinus rhynchophylla* HANCE)와 1999년 8월 지리산에서 채취한 들메나무(*Fraxinus mandshurica* RUPR.) 및 쇠물푸레(*Fraxinus sieboldiana* BLUME)를 재료로 사용하였다. 공시목의 개요는 표 2-1과 같다.

나. 실험방법

1) 생재 함수율 및 밀도 측정

공시재료의 흉고부위에서 원판을 채취하여 KS F 2201(한국산업규격 1994)에 따라 심·번재의 시료를 제작하였다. 생재함수율, 생재밀도(W_g/V_g), 전건밀도(W_o/V_o) 및 용적밀도(W_o/V_g)는 생재상태와 전건상태의 무게 및 컷수를 측정한 후 KS F 2202(한국산업규격 1994)에 따라 계산하였다.

측정에는 디지털식 버어니어 캘리퍼스(MITUTOYO CORPORATION, CD-15C, 1/100mm)와 디지털식 전자저울(OHAUS Explored, 1/100g)을 사용하였다.

2) 수축 및 팽윤율 측정

수축·팽윤율은 KS F 2203(한국산업규격 1994)에 따라 섬유방향 시료와 접선·방사방향용 시료를 제작하여 측정하였다.

3) 역학적 성질 측정

압축강도, 휨강도, 전단강도, 충격휨흡수에너지는 KS F 2201, 2202에 따라 시험편을 제작한 후 2206, 2208, 2209, 2211(한국산업규격 1994)에 따라 측정하였다. 또한, 측정값의 비교를 위해 SPSS 10.0을 이용하여 t검정 및 분산분석을 실시하였다.

3. 고기능성 목질재료 I - 알칼리 처리 목재의 특성 -

가. 재료

본 연구에는 강원대학교 연습림 8임반 나소반에서 채취한 물푸레나무(*Fraxinus rhynchophylla* H.)와 소나무(*Pinus densiflora* S. et Z.)를 공시목으로 사용하였다.

표 2-2. 공시수종

Species	Tree height(m)	Tree age(year)	DBH(cm)
<i>Fraxinus rhynchophylla</i> H.	14	49	16.3
<i>Pinus densiflora</i> S. et Z.	7.5	25	14.3

나. 실험방법

1) 수축 및 팽윤 시료제작

수축 및 팽윤용 시료는 KS F 2201, 2203(한국공업규격, 1994)에 따라 변재부에서 방사·접선방향용 시료와 섬유방향용 시료를 각각 30개씩 제작하였으며, 그림 2-2와 같다.

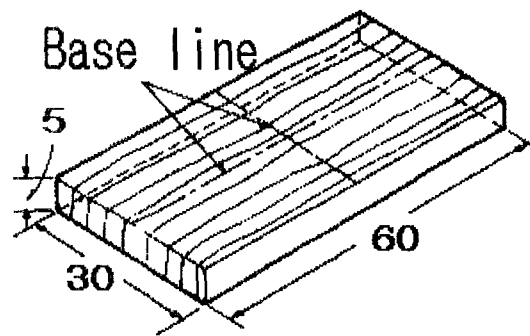
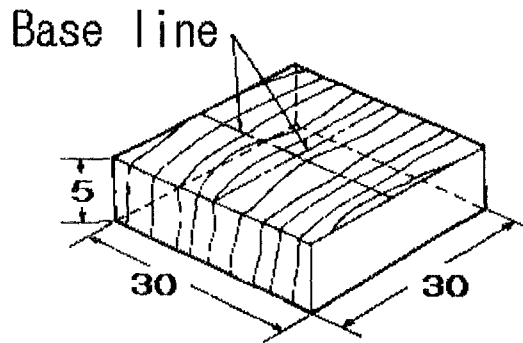


그림 2-2. 수축·팽윤을 시료의 치수(단위 : mm).

2) 알칼리 처리 및 수세

알칼리 처리 및 수세는 黃과 金(1997)의 방법과 동일 조건에서 실시하였다.

3) 치수 및 중량 변화율

알칼리 처리 전후의 수축율(α , 이하 수축율이라 함), 기건 시료의 알칼리 처리에 의한 팽윤율(β , 이하 팽윤율이라 함) 및 알칼리 팽윤 후 수세 및 전건시킨 시료의 수축율(γ , 이하 전수축율이라 함), 알칼리 처리 전후의 중량감소율은 前報(黃·金,

1997)와 같이 계산하였다.

4) 주사전자현미경(SEM) 및 X선 회절실험

알칼리처리후 목재의 각 단면은 Ion sputter coater (Polaron, E5200)를 사용하여 Au로 증착한 후 주사전자현미경(Jeol, JMS-5410)을 이용하여 관찰 및 촬영하였다.

X선회절실험은 강원대학교 산림과학대학 임산공학과에 설치되어 있는 X-ray Diffractometer(RIGAKU Co., D/Max 2100, Cu, 40kV, 40mA)를 이용하였다.

상대결정화도는 다음의 Segal법(Segal *et al*, 1959)을 사용하였다.

$$\text{Cr(\%)} = \frac{I_{200} - I_{am}}{I_{200}} \times 100$$

I_{200} : (200)의 회절강도($2\theta = 22.8^\circ$) I_{am} : 비결정부분의 회절강도($2\theta = 18^\circ$)

4. 고기능성 목질재료 II - PEG 처리목재의 특성 -

가. 재료

본 실험에 사용한 공시재는 표 2-3과 같으며, 흉고직경 20cm이하의 임목을 벌채하여 이용하였다. PEG(Polyethylene glycol : Kanto Chemical Co. INC.)는 분자량 1000, 2000, 4000의 것을 사용하였다.

표 2-3. 공시수종

Species	Tree Age	Location
<i>Fraxinus rhynchophylla</i> HANCE	38	Hongchon, Kangwon

나. 방 법

1) 수축률 시편제작

본 실험에서 사용한 시편은 목재의 수축률 측정방법(KS F 2201, 2203)에 의한 규격에 따라 방사 및 접선방향의 수축률 측정시료를 5mm(L)×30mm(R)×30mm(T)의 칫수로 제작하였다. 시편 제작시 가급적 변재 부분에서 채취하였고, 측정항목당 3개씩의 시편을 하나의 group으로 하였다.

2) PEG處理

PEG 처리는 다음의 순서로 실시하였다.

- 가) 제작된 시편들을 105℃에서 24시간동안 전건시킨 후 칫수 및 중량을 측정하였다.
- 나) 그 후 감압용 수조내에서 증류수에 침지하여 30분동안 감압주입을 실시한 후에 1주일동안 방치시켜 포수상태로 한 후 각 방향의 칫수 및 중량을 측정하였다.
- 다) PEG수용액은 분자량 각각 1000, 2000, 4000인 것을 이용하여 중량비로 10%, 20%, 30%의 농도로 제조하였다.
- 라) 포수상태인 시료를 PEG 수용액에 담근 후 상온, 50℃, 70℃에서 각각 1주일동안 침지처리하였다.
- 마) 침지처리 후 시료를 꺼내어 칫수 및 중량을 측정하고, 60℃에서 3일 동안 건조시킨 후 칫수 및 중량을 측정하였다.

3) PEG 처리제의 칫수안정성 평가

PEG처리에 의한 칫수안정성을 평가하기 위하여 수축률, 중량증가율(Weight Gain : W.G.), 벌킹 효과(Bulking Effect : B.E.)를 계산하였다.

$$\text{수축률} = \frac{l_1 - l_2}{l_1} \times 100(\%)$$

l_2 : PEG 함침 후 60°C에서 3일 동안 건조한 후 길이(mm)

l_1 : 처리 전 포수시의 길이(mm)

$$W.G = \frac{G_T - G_0}{G_0} \times 100(\%)$$

G_T : PEG 함침 후 60°C에서 3일 동안 건조한 후 중량

G_0 : 처리 전 전건시의 중량

$$B.E = \frac{A_{T0} - A_0}{A_s - A_0} \times 100(\%)$$

A_{T0} : PEG 함침 후 60°C에서 3일 동안 건조한 후의 횡단면 면적

A_0 : 처리 전 전건한 후 횡단면 면적

A_s : 처리 전 포수시의 횡단면 면적

4) PEG 처리제의 휨강도 및 충격강도 평가

휨강도 및 충격휨흡수에너지 측정용 시료는 PEG 분자량 1000의 30%용액으로 침지 처리하여 기건시킨 후 KS F 2208, 2211(한국산업규격 1994)에 따라 제작한 후 측정하였다.

5. 시제품 제작

가. 재 료

2000년 5월 강원대학교 연습림 8임반 나소반에서 채취한 물푸레나무(*Fraxinus rhynchophylla* HANCE)와 1998년 11월 경남 함양군 마천면 삼정리 자연휴양림에서 채취한 들메나무(*Fraxinus mandshurica* RUPR.) 및 쇠물푸레(*Fraxinus sieboldiana* BLUME)의 원판 및 제재목을 재료로 사용하였다.

나. 방 법

1) 시료준비 및 열판 제작

가) 목재 준비 : 사용하는 목적에 맞게 제재를 하거나 원목 직경을 골라 적당한 크기로 절단한다. 그후 아래와 같이 무처리재를 그대로 이용하거나 알칼리 및 PEG 처리재를 이용한다.

나) 열판 제작 : 원하는 그림이나 마크를 디자인하여 동판에 새겨 넣는다. 그후 전기를 이용하여 동판을 가열할 수 있도록 제작한다.

2) 무처리재 이용

원판을 전건 또는 기건하여 표면을 포삭한다. 그 후 미리 가열시킨 열판을 표면에 찍고 고운 사포로 Sanding하여 열처리 및 광택을 낸다.

3) 알칼리 처리재 이용

가) 사용하는 목적에 맞게 제재를 하거나 원목 직경을 골라 적당한 크기로 절단한다.

나) NaOH 5~15%의 수용액에 침지시킨다.

- 다) 침지된 시료를 흐르는 물로 깨끗이 수세한 후 기건시키거나 서서히 전건시킨다.
- 라) 그 후 미리 가열시킨 열판을 표면에 찍고 고운 사포로 Sanding하여 열처리 및 광택을 낸다.

4) PEG 처리제 이용

- 가) 사용하는 목적에 맞게 제재를 하거나 원목 직경을 골라 적당한 크기로 절단한다.
- 나) 분자량 1000의 PEG 30% 수용액에 침지시킨다.
- 다) 침지된 시료는 기건시키거나 서서히 전건시킨다.
- 라) 그 후 미리 가열시킨 열판을 표면에 찍고 고운 사포로 Sanding하여 열처리 및 광택을 낸다.

제3절 결과 및 고찰

1. 한국산 물푸레나무屬 주요 수종의 해부학적 특성

가. 현미경적 구조, 구성세포의 특성 및 비율

1) 현미경적 구조

그림 2-3~2-11은 공시수종의 성숙재 부분에서 촬영한 횡단면, 접선단면 및 방사단면의 사진이다. 각 수종별 특징은 다음과 같다.

물푸레나무 : 만재부 소도관의 직경이 들메나무와 쇠물푸레나무에 비해 작고 방사방향으로 3개의 소도관이 복합된 것이 비교적 많이 존재하였다. 방사조직은 1-3열로 분포하였다.

들메나무 : 세 수종중 연륜 경계가 가장 뚜렷하고, 만재부 도관 직경은 물푸레나무와 쇠물푸레나무의 것보다 컸으며, 방사조직은 1-2열로 분포하였다.

쇠물푸레나무 : 만재부에서 축방향유조직의 출현 비율은 타수종에 비해 높았고 수반대상 및 주위상 배열을 보여주었으며, 방사조직은 1-4열이었다.

물푸레나무와 들메나무의 축방향유조직은 주위상, 수반산재상 배열을 하였으며, 물푸레나무와 쇠물푸레나무의 방사조직은 평복세포가 대부분이었고 방형세포도 존재하였다. 한편, 들메나무 방사조직은 평복세포가 주를 이루고 있으나 방형세포 및 직립세포도 존재하는 특성을 보여주었다.

2) 구성세포의 특성

공시수종의 구성세포 특성은 표 2-4에 나타났다. 목섬유 길이는 물푸레나무 $1285 \pm 194 \mu\text{m}$, 들메나무 $1395 \pm 160 \mu\text{m}$, 쇠물푸레나무 $1331 \pm 129 \mu\text{m}$ 로서 수종간에 큰 차이가 없는 것으로 생각되었다. 목섬유 길이에 관하여 Yamabayashi (1938)는 물푸레나무 47

0~1330 μm , 들메나무 470~1540 μm , 쇠물푸레나무 530~1060 μm 로 보고하였으며, *李* (1994)는 물푸레나무 490~1730 μm , 들메나무 1010~1630 μm , 쇠물푸레나무 590~990 μm 로 보고해 본 실험과 다소 차이가 있었다. 또한, 임업연구원 (1994)에서는 물푸레나무와 들메나무의 목섬유 길이를 각각 1000 μm , 1100 μm 로 측정하여 본 실험의 결과보다 다소 짧은 값을 보고하였다. 조재부의 도관 직경은 쇠물푸레나무가 물푸레나무와 들메나무보다 작았고, 도관요소 길이도 쇠물푸레나무가 다른 두 수종보다 짧았다. 또한 공시수종 모두 만재부 도관요소 길이가 조재부보다 길었다. 도관요소의 길이에 관하여 Yamabayashi (1938)는 물푸레나무 140~430 μm , 들메나무 120~290 μm , 쇠물푸레나무 110~320 μm 로 본 실험의 치수보다 다소 짧은 결과를 보고하였으며, 임업연구원 (1994)에서는 들메나무 204.8 μm , 물푸레나무 227.0 μm 로 보고하여 다소 차이가 있었다.

방사조직 높이는 물푸레나무의 조재부에서 다소 낮았으며 그외에서는 비슷하였다. 방사조직 수는 물푸레나무와 들메나무가 비슷하였고 쇠물푸레나무가 다른 수종보다 현저히 적은 특징을 보여주었다.

표 2-4. 물푸레나무속 구성요소의 특성

		<i>F. rhynchophylla</i>		<i>F. mandshurica</i>		<i>F. sieboldiana</i>	
		E	L	E	L	E	L
	av.	1285±194		1395±160		1331±129	
Fiber length (μm)	mature	1400±68		1481±38		1406±46	
	juvenile	1016±97		1234±180		1170±100	
	av.	180±26	32±3	173±31	49±7	142±29	38±4
Vessel diameter (μm)	mature	196±9	33±3	195±10	53±3	161±8	47±4
	juvenile	150±19	28±3	146±25	45±8	119±30	27±3
	av.	355±33	403±30	357±24	401±25	311±21	371±16
Vesse element length(μm)	mature	371±20	416±23	367±17	416±15	329±16	365±10
	juvenile	318±26	373±19	345±27	384±24	298±14	375±18
Ray height (No. of ray parenchyma)	av.	12±1.3	15±1.9	14±1.6	15±1.0	15±1.3	15±1.8
Ray number in cross section (No./mm)	av.	13±2.5		11±2.4		5±1.8	

E: earlywood L: latewood av.: average mature: mature wood juvenile: juvenile wood

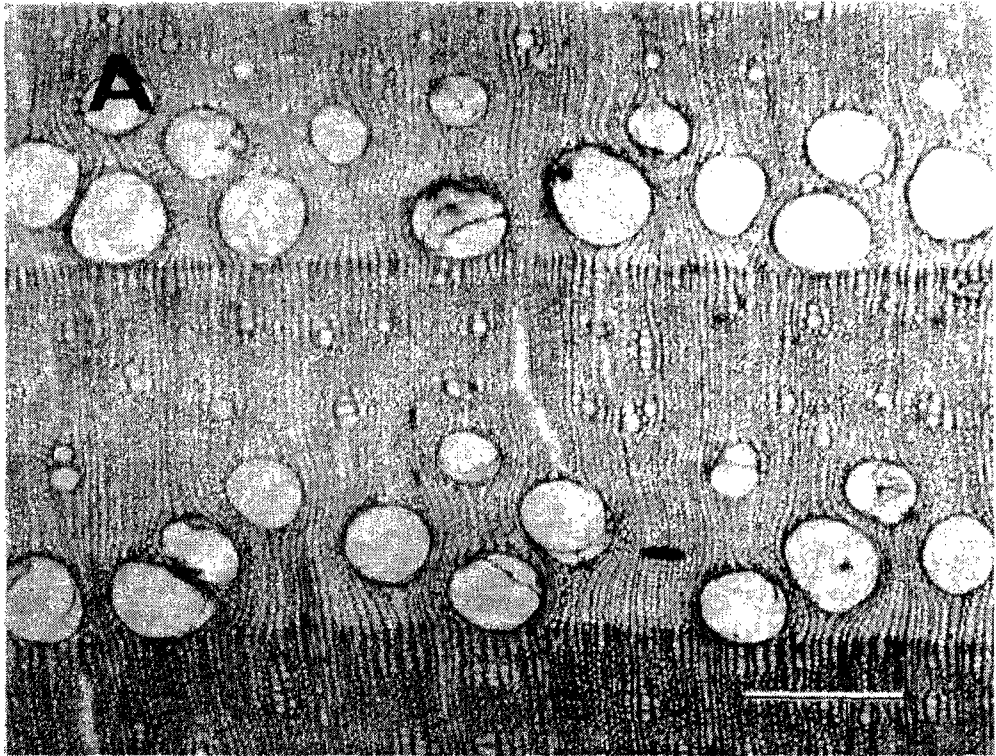


그림 2-3. 물푸레나무 횡단면의 광학현미경 사진(Scale bar=300 μ m).

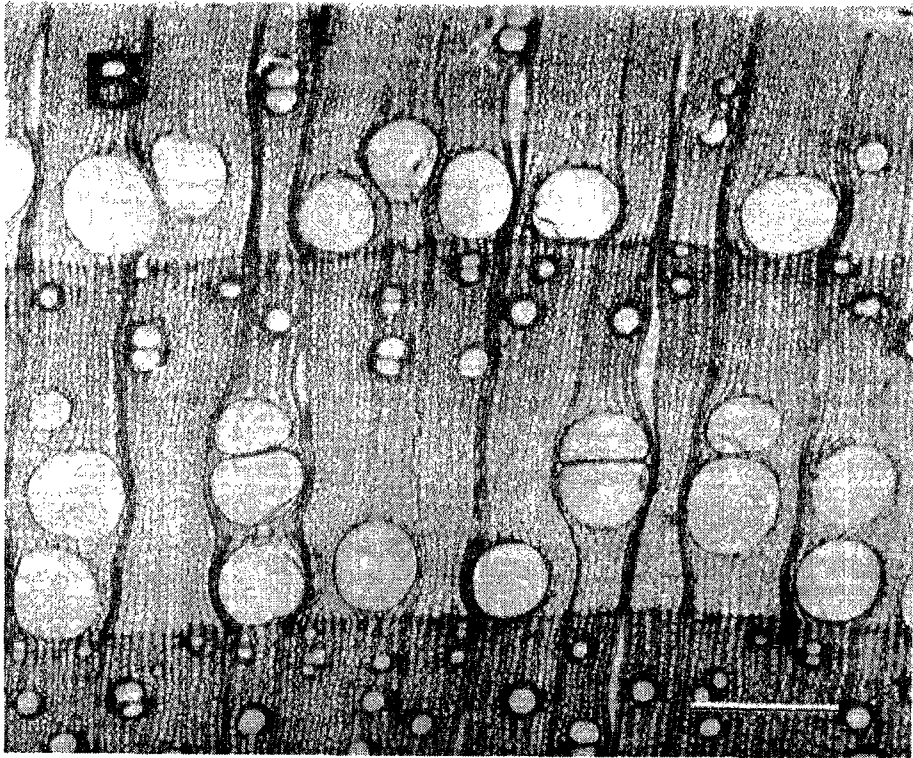


그림 2-4. 들메나무 횡단면의 광학현미경 사진(Scale bar=300 μ m).

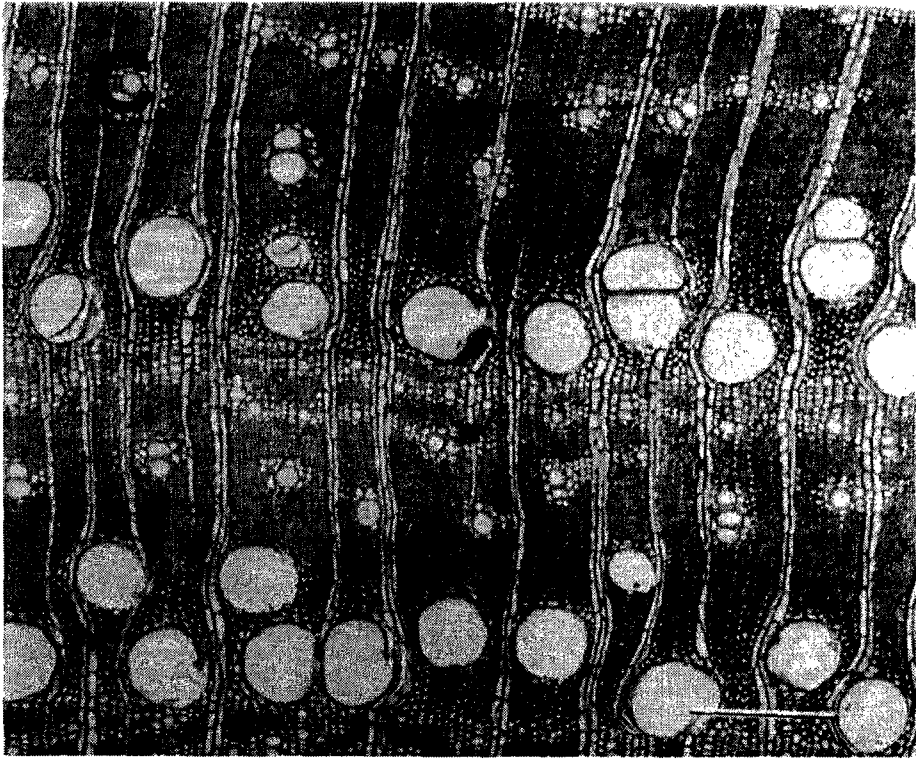


그림 2-5. 식물푸레나무 횡단면의 광학현미경 사진(Scale bar=300 μ m).

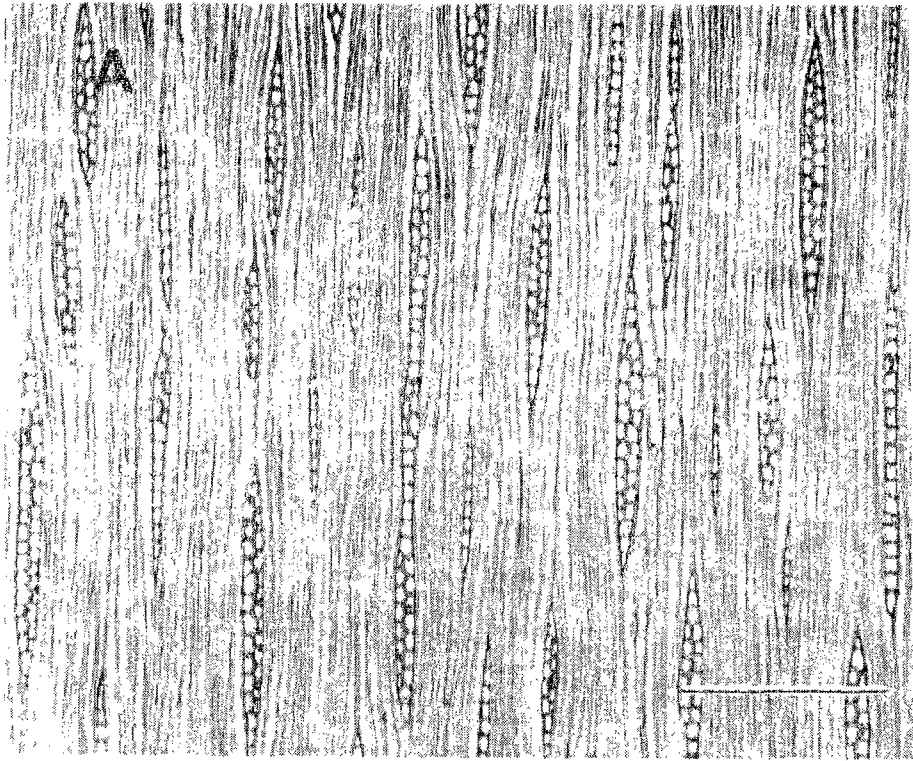


그림 2-6. 물푸레나무 접선면의 광학현미경 사진(Scale bar=400 μ m).

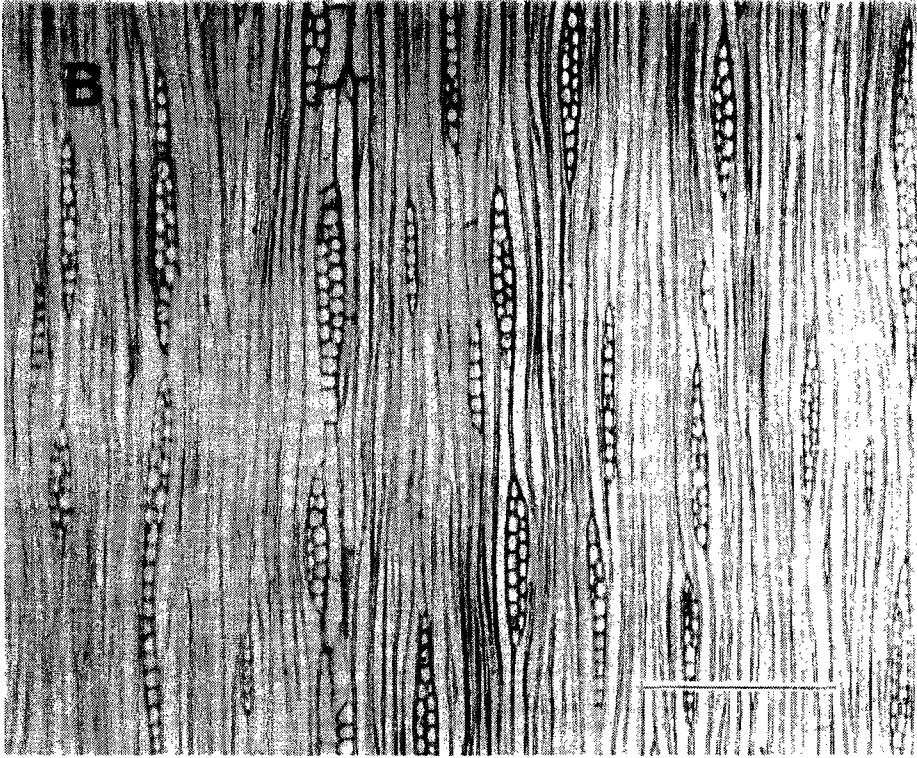


그림 2-7. 들메나무 접선면의 광학현미경 사진(Scale bar=400 μ m).

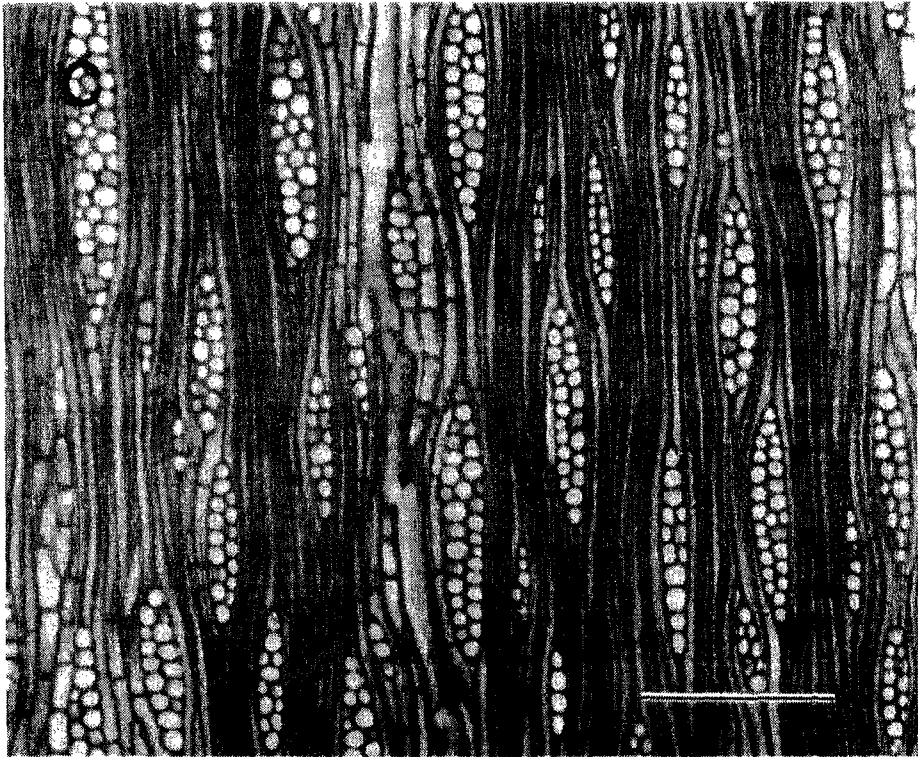


그림 2-8. 쇠물푸레나무 접선면의 광학현미경 사진(Scale bar=400 μ m).

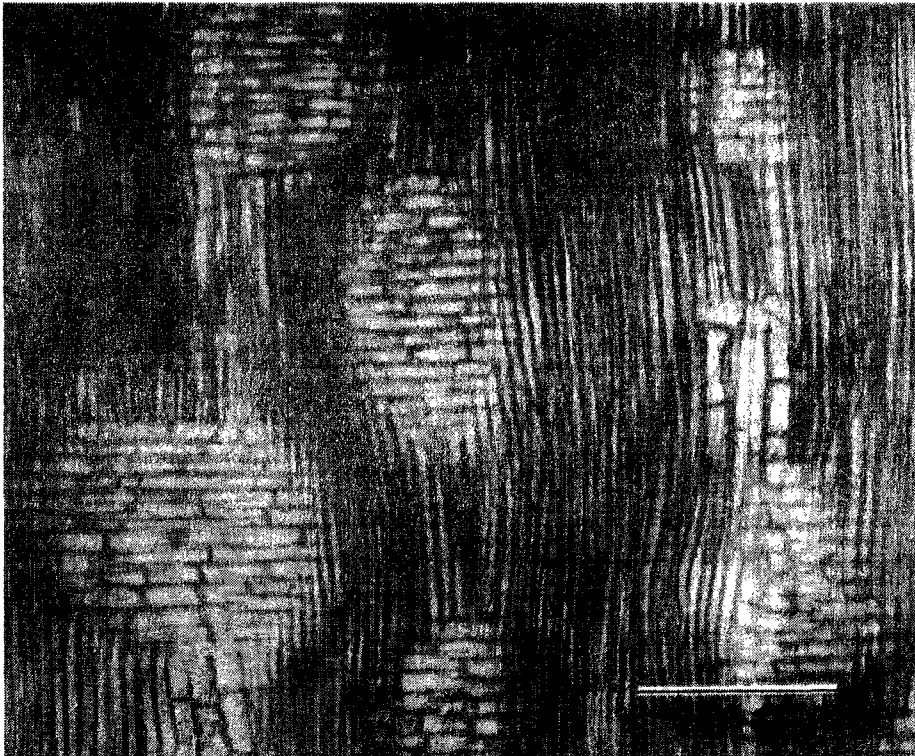


그림 2-9. 물푸레나무 방사면의 광학현미경 사진(Scale bar=200 μ m).

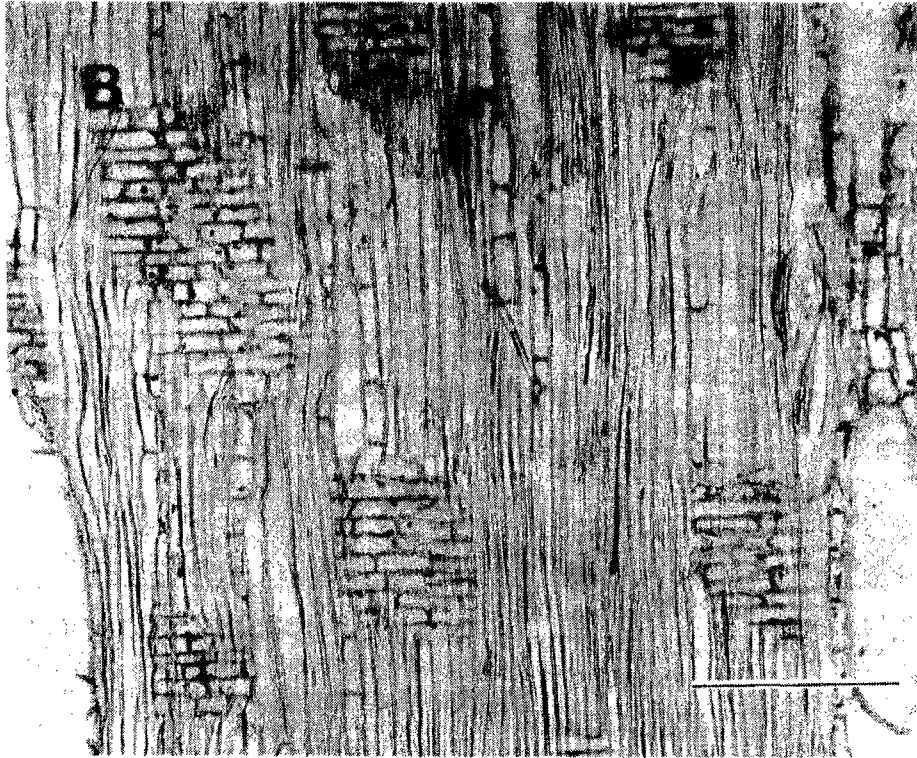


그림 2-10. 들메나무 방사면의 광학현미경 사진(Scale bar=200 μ m).

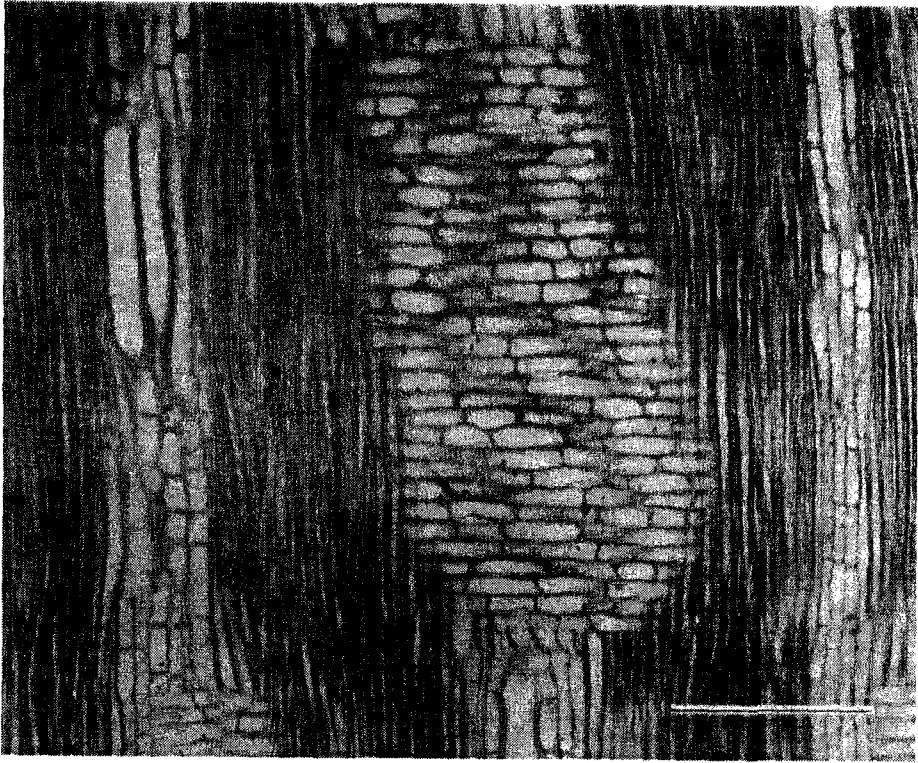


그림 2-11. 쇠물푸레나무 방사면의 광학현미경 사진(Scale bar=200 μ m).

3) 구성요소 비율

공시 수종의 구성요소 비율을 측정한 결과는 표 2-5와 같다. 물푸레나무와 들메나무의 목섬유 비율은 조재부 약 44~53%, 만재부 약 75~78%로 만재부가 높았다. 쇠물푸레나무는 조·만재부에서 방사유조직의 비율이 타 수종에 비해 높았으며, 또한 쇠물푸레나무의 만재부는 축방향유조직의 비율이 극히 높았다. Fujiwara (1992)는 들메나무 방사조직의 구성비를 9.8%로 보고하여 본 실험과 유사한 결과를 보여주었다.

표 2-5. 물푸레나무 구성요소 비율

(단위: %)

Cell elements	<i>F. rhynchophylla</i>		<i>F. mandshurica</i>		<i>F. sieboldiana</i>	
	Earlywood	Latewood	Earlywood	Latewood	Earlywood	Latewood
Fiber	43.6	75.3	52.7	78.9	46.9	51.9
Vessel element	39.7	4.9	34.5	7.7	31.8	6.5
Axial parenchyma	1.8	5.1	2.6	4.4	3.7	20.2
Ray	14.2	14.4	10.0	8.9	17.5	20.9

나. 구성요소의 방사방향 변이

1) 목섬유의 길이

각 연륜에서 측정한 목섬유 길이의 방사방향 변이는 그림 2-12에 나타냈다. 공시 수종 모두 약 9~13 연륜까지 증가한 후 거의 일정한 값을 나타내는 경향을 보여주었다. 이러한 결과는 일반적으로 보고되고 있는 목섬유 길이의 방사방향 변이 결과와 일치하고 있다(Panshin & Zeeuw 1980;朴 1981;朴 등 1990; Lei *et al.* 1996). 이들은 목섬유 길이가 수부터 증가하다가 일정해지는 연륜을 기준으로 성숙재와 미성숙재로 구

분하였다. 한편, 본 실험 결과 9~13 연륜 이후 세 수종간에 있어서 목섬유의 길이는 거의 차이가 없었으나 미성숙재 부위에서는 물푸레나무가 가장 짧았다.

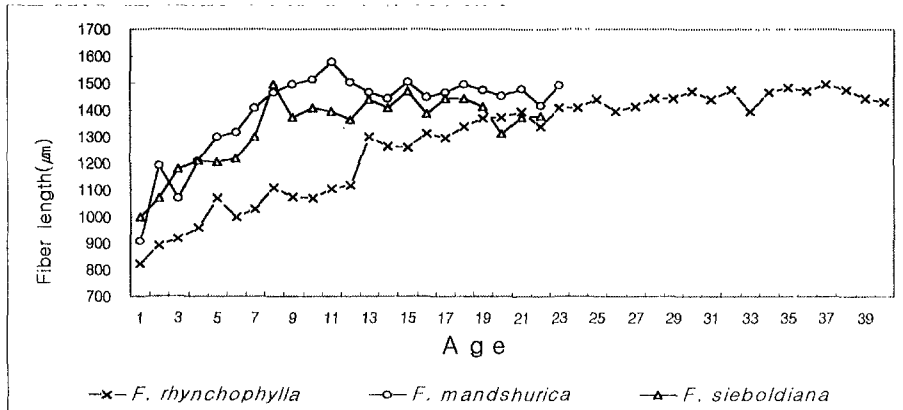
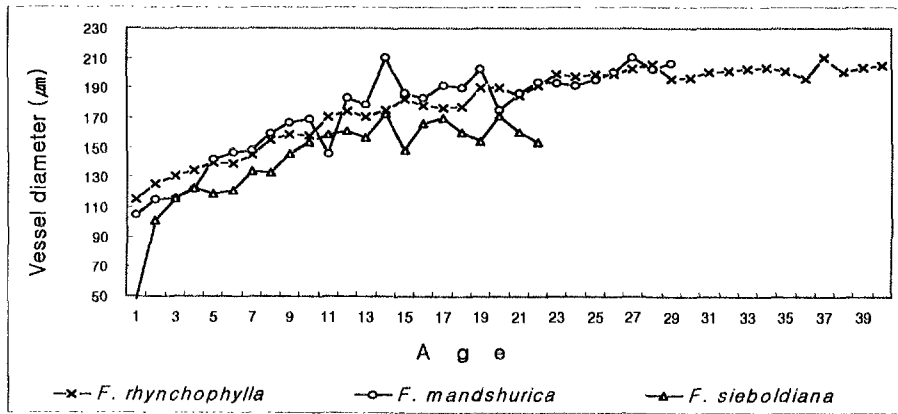


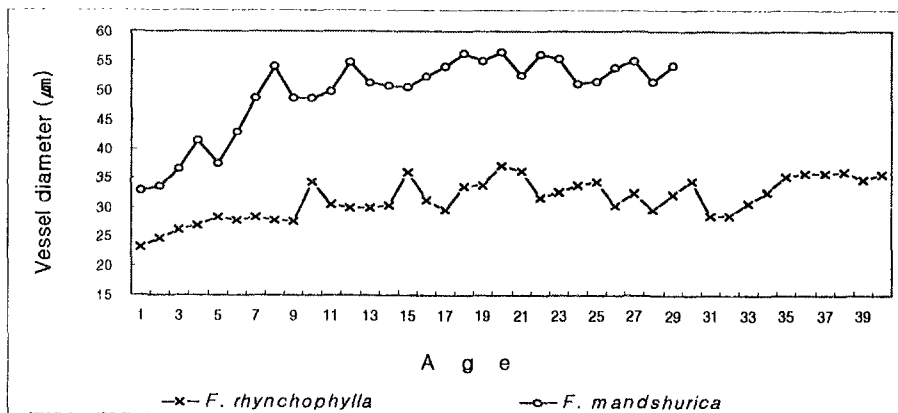
그림 2-12. 물푸레나무속에서 목섬유의 연륜에 따른 방사변이.

2) 도관의 직경

그림 2-13는 공시수종의 조·만재부 도관 직경의 방사방향 변이를 나타낸 것이다. 조재부 도관 직경은 13~15 연륜까지 증가한 후 일정해지는 경향을 보여주었다. 만재부 도관 직경도 연륜에 따라 증가하였는데 그 증가정도는 들메나무가 물푸레나무보다 더 크게 나타났다. 도관 직경의 방사방향 변이에 관하여 Lei *et al.*(1996)은 *Quercus garryana*재의 조재부 도관 직경이 15 연륜 정도까지 증가한 후 일정해지는 변이를 보고하여 본 실험의 결과와 비슷하였다.



A



B

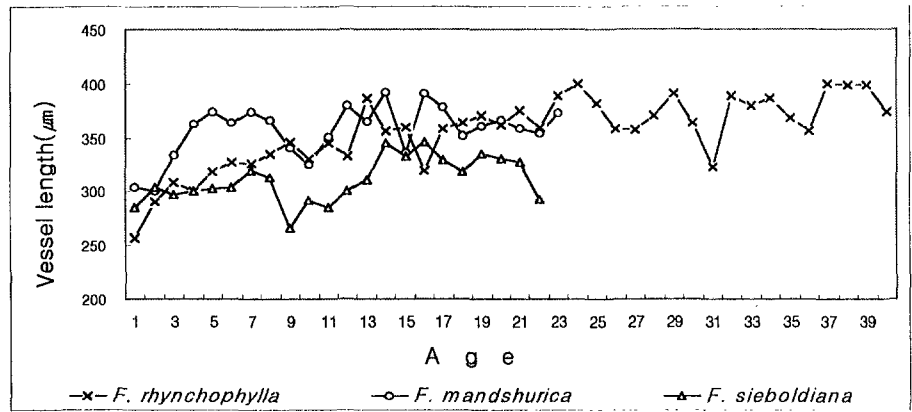
그림 2-13. 물푸레나무속에서 조(A)·만재부(B) 도관 직경의 연륜에 따른 방사변이.

또한 박 (1981)은 환공재 4수종의 공권부 도관 직경의 방사방향 변이를 조사하여 본 실험의 결과와 같이 일정 연륜까지 증가한 후 안정되는 pattern과 계속적으로 증가하는 pattern을 보고하였다. 그러나 만재부에서는 4수종 모두 연륜에 따라 완만히 증가한다고 하여 본 실험의 결과와 다소 차이가 있었다. Helinska & Fabisiak (1999)은 *F. excelsior* 조재부 도관 직경의 방사방향 변이를 조사하여 30 연륜을 기준으로 미성숙

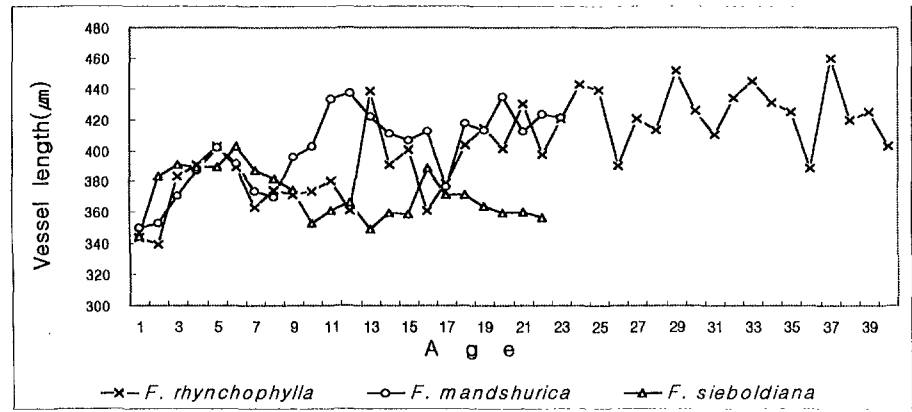
재와 성숙재를 구분하였으며, 미성숙재부는 다시 15 연륜 이하를 immature wood sub-zone, 15~30 연륜을 mature wood sub-zone으로 구분하였다.

3) 도관요소의 길이

공시 수종의 조·만재부 도관 요소 길이의 방사방향 변이는 그림 2-14에 나타났다.



A



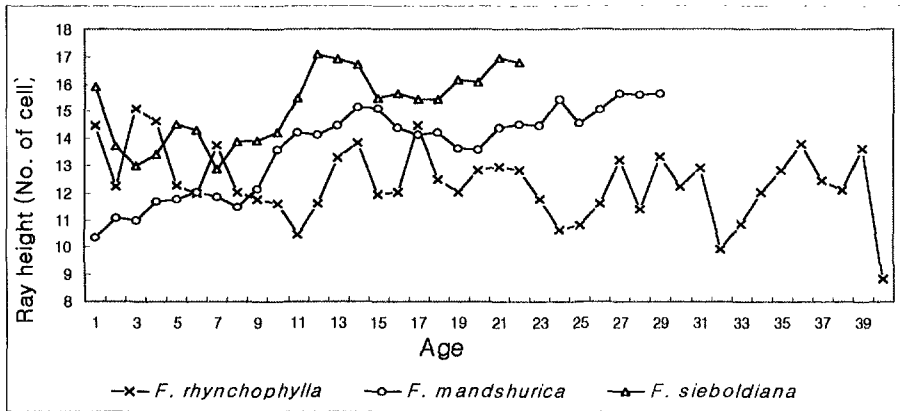
B

그림 2-14. 물푸레나무속에서 조(A)·만재부(B) 도관 요소 길이에 따른 방사변이.

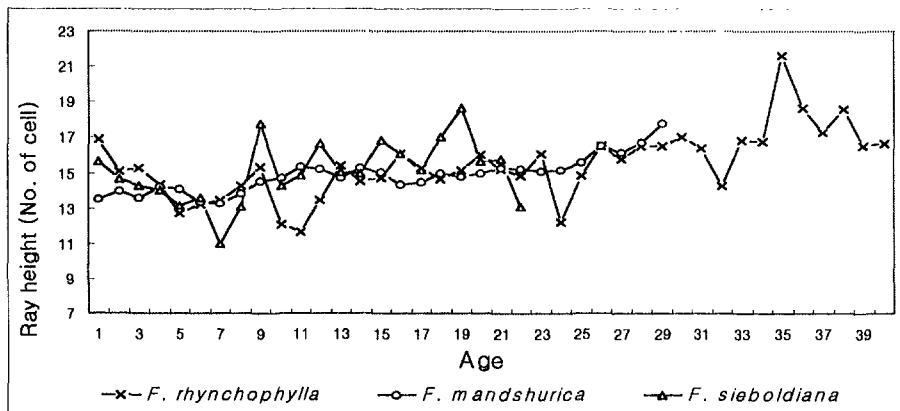
물푸레나무와 들메나무의 도관요소 길이의 방사방향 변이는 조·만재부에서 비슷한 경향을 나타냈으나, 쇠물푸레나무의 도관요소 길이는 조·만재부 모두 다른 수종에 비해 다소 짧았으며 방사방향 변이의 경향에도 차이가 있었다. 즉, 물푸레나무와 들메나무는 조·만재부 모두 수부근에서 도관요소의 길이가 짧고 일정 연륜까지 증가한 후 안정되는 경향이 있었다. 그러나 쇠물푸레나무 조재부 도관요소 길이는 전연륜에서 거의 차이가 없었고, 만재부에서는 수에 인접한 부위에서 짧고 그후 급격히 증가하였다.

4) 방사조직의 높이

그림 2-15는 공시수종의 조·만재부 방사조직 높이의 방사방향 변이를 나타낸 것이다. 조재부에서 들메나무의 방사조직 높이는 15 연륜 정도까지 증가한 후 일정해졌으나, 물푸레나무와 쇠물푸레나무는 들메나무의 방사방향 변이 경향과 다르게 나타났다. 만재부에서 물푸레나무와 들메나무는 점진적으로 증가하는 변이를 보여주었으나 쇠물푸레나무는 거의 일정한 것으로 생각되었다. 방사조직의 방사방향 변이에 관하여 박(1981)은 몇 가지 변이경향을 보고하였다. 신갈나무 방사조직의 높이는 조·만재부에서 연륜에 따른 변동이 없었고, 느릅나무는 조·만재부 모두 일정 연륜까지 증가한 후 안정되는 경향이였다. 또한, 다릅나무 조재부의 방사조직 높이는 30 연륜까지 증가한 후 일정해지지만 만재부는 전연륜에 대해 거의 일정하며, 음나무는 조·만재부 모두 거의 변동이 없는 변이를 보고하였다.



A



B

그림 2-15. 물푸레나무속에서 조(A)·만재부(B) 방사조직 높이의 연륜에 따른 방사변이.

다. 상대결정화도

물푸레나무, 들메나무 및 쇠물푸레나무의 결정화도는 표 2-6에 나타났다. 물푸레나무와 들메나무 심재의 결정화도는 변재보다 높게 나타났으나, 쇠물푸레나무에서는

심·변재의 차이가 거의 없었다. 상대결정화도의 측정방법에 따라 Segal's method가 Area method보다 약 10%정도 높게 나타나고 있으나 이러한 결과는 추와 金(1992)이 보고한 결과와 같이 현재의 방법으로는 결정영역과 비결정영역량의 절대치를 구할 수 없으므로 측정방법에 의한 차이는 불가피한 것으로 생각된다.

표 2-6. 물푸레나무속의 결정화도

Species		Relative crystallinity(%)	
		Segal's method	Area method
<i>F. rhynchophylla</i>	Heartwood	71.13	62.96
	Sapwood	77.31	64.52
<i>F. mandshurica</i>	Heartwood	69.91	60.60
	Sapwood	78.30	67.86
<i>F. sieboldiana</i>	Heartwood	71.03	63.33
	Sapwood	69.64	60.60

라. 결론

물푸레나무속 주요 수종의 합리적 이용을 위한 기초 자료를 얻고자 물푸레나무, 들메나무 및 쇠물푸레나무의 해부학적 특성을 조사하여 검토하였다.

- 1) 물푸레나무는 만재부 소도관의 직경이 들메나무와 쇠물푸레나무보다 작았고, 방사방향으로 3개의 소도관이 복합된 것이 비교적 많이 존재하였으며, 방사조직은 1-3열로 분포하였다. 들메나무는 다른 두 수종보다 연륜경계가 명확하였고, 만재부 도관 직경이 물푸레나무와 쇠물푸레나무보다 컸으며, 방사조직은 1-2열로 분포하였다. 쇠물푸레나무는 축방향유조직이 수반대상 및 주위상으로 뚜렷한 배열을 하였으며, 방사조직은 1~4열로 분포하였다.

- 2) 공시 수종간 목섬유 길이는 큰 차이가 없었으며, 조재부의 도관 직경과 도관요소 길이는 쇠물푸레나무가 물푸레나무와 들메나무보다 작았다. 공시수종 모두 만재부 도관요소 길이가 조재부보다 길었다.
- 3) 방사조직 높이는 공시수종간 비슷하였으나 물푸레나무의 조재부가 다소 낮았다. 방사조직 수는 쇠물푸레나무가 가장 작게 나타났다.
- 4) 물푸레나무와 들메나무의 목섬유 비율은 조재부 약 44~53%보다 만재부가 약 75~78%로 높았다. 쇠물푸레나무는 조·만재부에서 방사조직의 비율이 타 수종에 비해 높았으며, 또한 쇠물푸레나무의 만재부는 축방향유조직의 비율이 극히 높았다.
- 5) 목섬유 길이, 도관요소의 직경 및 길이의 방사방향 변이는 일정연륜까지 증가한 후 안정되는 유사한 경향을 보여주었다. 이러한 구성요소의 방사방향 변이로부터 공시 수종은 12~15 연륜을 경계로 성숙재와 미성숙재로 구분할 수 있을 것으로 생각된다.
- 6) 물푸레나무와 들메나무 심재의 결정화도는 변재보다 높게 나타났으나, 쇠물푸레나무에서는 변·심재의 차이가 거의 없었다.

2. 물푸레나무屬 주요 수종의 물리적 특성

가. 물리적 특성

1) 생재 함수율 및 밀도

물푸레나무속 주요 세 수종에 대한 생재함수율과 밀도를 측정된 결과는 표 2-7과 같다. 물푸레나무와 쇠물푸레나무의 생재함수율은 변·심재부 사이에 차이가 없었으나, 들메나무는 변재부가 심재부보다 다소 낮게 나타났다. 본 실험결과 공시수종의 생재함수율은 약 40~45%로서 宮島(1979)가 보고한 *F. lanuginosa*재 변재부 44.7%, 심재

부 48%와 비슷하지만, 李 등(1989)이 보고한 들메나무 변재부 53%, 심재부 71.6%, 宮島(1979)가 보고한 들메나무 39%, 80.8%와는 다소 차이가 있었다.

들메나무의 생재밀도와 전건밀도는 변·심재부간 차이가 없었으며 다른 수종에 비해 다소 낮았다. 물푸레나무와 쇠물푸레나무의 밀도는 변재부가 심재부보다 다소 낮았으며, 두 수종간에는 비슷한 값을 나타냈다. 생재밀도에 관하여 임업연구원(1994)은 물푸레나무 1.08g/cm³, 들메나무 1.10g/cm³로 거의 차이가 없었으나, 전건밀도는 물푸레나무 0.69g/cm³, 들메나무 0.69g/cm³로서 물푸레나무에서 다소 차이가 있었다. 또한, Tsoumis(1991)는 전건밀도를 조·만재부로 구분하여 ash재의 조재부 0.38 - 0.51g/cm³, 만재부 0.72 - 0.80g/cm³로 보고하였다.

용적밀도는 물푸레나무 0.66g/cm³, 들메나무 0.57g/cm³, 쇠물푸레나무 0.67g/cm³로서 들메나무가 다른 두 수종보다 다소 작게 나타났다. 용적밀도에 관하여 Panshin & Zeeuw(1970)는 *F. americana*재 0.55g/cm³, *F. nigra*재 0.45g/cm³, 宮島(1979)는 들메나무 0.54g/cm³, *F. lanuginosa*재 0.61g/cm³로서 본 실험의 결과보다 작거나 비슷한 값을 보고하였다.

표 2-7. 생재함수율과 밀도

Species		Green moisture contents(%)	Green density (Wg/Vg g/cm ³)	Oven-dry density (Wo/Vo g/cm ³)	Basic density (Wo/Vg g/cm ³)
<i>F. rhynchophylla</i>	Sapwood	46.15±6.04	0.94±0.02	0.75±0.02	0.64±0.02
	Heartwood	47.67±3.29	1.00±0.01	0.81±0.03	0.68±0.02
<i>F. mandshurica</i>	Sapwood	36.57±0.71	0.80±0.02	0.68±0.02	0.59±0.01
	Heartwood	44.61±3.33	0.80±0.02	0.65±0.04	0.55±0.01
<i>F. sieboldiana</i>	Sapwood	42.67±1.22	0.91±0.03	0.72±0.02	0.71±0.02
	Heartwood	40.68±0.90	1.00±0.02	0.81±0.02	0.63±0.01

2) 수축 및 팽윤율

물푸레나무와 쇠물푸레나무의 수축·팽윤율을 측정한 결과는 표 2-8과 같다. 수축·팽윤율은 두 수종 모두 일반적인 경향과 마찬가지로 접선방향이 가장 크고 방사방향, 섬유방향순이었다. 한편, 섬유방향 수축·팽윤율은 변재부가 심재부보다 높은 특징을 보여주었다.

표 2-8. 수축 및 팽윤율

Species	Shrinkage (%)			Swelling (%)		
	T	R	L	T	R	L
<i>F. rhynchophylla</i> Sapwood	9.75±0.31	4.66±0.34	2.05±0.99	10.80±0.38	4.89±0.38	2.11±1.03
<i>F. rhynchophylla</i> Heartwood	10.37±0.73	5.60±0.61	0.71±0.31	11.58±0.91	5.93±0.68	0.72±0.31
<i>F. sieboldiana</i> Sapwood	11.71±1.29	5.50±0.48	2.91±0.10	13.28±1.69	5.82±0.54	3.00±0.64
<i>F. sieboldiana</i> Heartwood	10.48±2.38	6.41±0.34	0.85±0.27	11.77±2.93	6.85±0.39	1.22±0.39

T : tangential direction R : radial direction L : longitudinal direction

본 실험의 수축률은 Panshin & Zeeuw(1970), Tsoumis(1991)가 보고한 *F. americana*재의 접선방향 7.8%, 방사방향 4.8%, 임업연구원(1994)의 물푸레나무 접선방향 8.91%, 방사방향 4.3%, 섬유방향 0.47%, 森林總合研究所(1982)가 보고한 쇠물푸레나무 7.54%, 3.63%, 0.73%와 宮島(1979)가 보고한 *F. lanuginosa*재 9.1%, 4.2%, 0.44%의 결과보다도 다소 높게 나타났다. 한편, 임업연구원(1994)의 들메나무 11.83%, 4.88%, 0.51%, 森林總合研究所(1982)가 보고한 들메나무 11.70%, 4.53%, 0.39%와 宮島(1979)가 보고한 들메나무 12.7%, 6.0%, 0.18%와는 비슷한 수축률을 보여주었다.

나. 역학적 특성

1) 종압축 특성

공시수종의 종압축 특성의 측정결과는 표 2-9에 나타났다. 세 수종의 종압축강도(MOR)와 종압축탄성계수(MOE)는 1% 유의수준에서 유의성이 인정되어 수종간 다소

차이가 있었다. 즉, 변재부에서는 들메나무가, 심재부에서는 물푸레나무가 다른 수종보다 다소 높은 종압축 특성을 보여주었다. 쇠물푸레나무의 MOR은 심재부가 변재부보다 다소 높았으나, 물푸레나무와 들메나무의 MOR과 MOE, 쇠물푸레나무의 MOE는 t검정 결과 변·심재부간의 차이가 없었다.

표 2-9. 종압축 특성

Species		Moisture contents(%)	Density (g/cm ³)	MOR (kgf/cm ²)	Proportional limit (kgf/cm ²)	MOE (kgf/cm ²)
<i>F. rhynchophylla</i>	Sapwood	9.04 ±0.07	0.78 ±0.01	649 ±41	461 ±72	49561 ±931
	Heartwood	9.04 ±0.13	0.86 ±0.02	701 ±32	476 ±50	50109 ±484
<i>F. mandshurica</i>	Sapwood	9.03 ±0.16	0.68 ±0.01	672 ±19	504 ±3	51830 ±2721
	Heartwood	8.71 ±0.19	0.69 ±0.02	592 ±28	462 ±67	44602 ±5843
<i>F. sieboldiana</i>	Sapwood	8.69 ±0.38	0.74 ±0.03	508 ±21	352 ±28	24090 ±6105
	Heartwood	9.29 ±0.71	0.86 ±0.03	601 ±29	491 ±38	32292 ±9690
P	Sapwood	-	-	0.000**	-	0.001**
	Heartwood	-	-	0.000**	-	0.000**

P : significance probability

* : significant effect at 0.05 level

** : significant effect at 0.01 level

본 실험의 MOR은 임업연구원(1994)에서 발표한 물푸레나무 581kg/cm², 들메나무 508kg/cm², 中井와 山井(1982)가 보고한 들메나무 488kg/cm², 쇠물푸레나무 423kg/cm², 日本木材學會(1985)의 들메나무 440kg/cm²보다 다소 높았으나, Gustafsson(1999)의 *F.*

excelsior 80.5MPa(820kg/cm²)와 Tsoumis(1991)가 보고한 *F. americana*재 520kg/cm²보다는 다소 작거나 비슷한 값을 보여주었다. MOE 값은 中井와 山井(1982)의 들메나무 148×10³kg/cm², 쇠물푸레나무 125×10³kg/cm², Tsoumis(1991)가 보고한 *F. americana*재 122 ×10³kg/cm²와 Gustafsson(1999)의 *F. excelsior* 13.36Pa(136×10³kg/cm²)보다 다소 작은 값을 나타냈다.

2) 전단강도

표 2-10은 공시수종의 전단강도를 측정한 결과를 나타낸 것이다. 방사·접선방향 전단강도는 5% 유의수준에서 유의성이 인정되어 수종간에 차이가 있었으나, 수종내 변·심재부 사이의 유의성은 없었다. 쇠물푸레나무의 방사·접선단면의 전단강도는 다른 두 수종보다 다소 높았으며, 전체적으로 방사단면이 접선단면보다 다소 높은 값을 보여주었다.

표 2-10. 전단강도

Species		Shear plane	Moisture contents (%)	Shearing strength (kgf/cm ²)
<i>F. rhynchophylla</i>	Sapwood	LR	9.52±0.22	144±23.9
		LT	9.47±0.15	144±17.7
	Heartwood	LR	9.28±0.19	165±37.6
		LT	9.07±0.59	136±23.5
<i>F. mandshurica</i>	Sapwood	LR	8.47±0.29	140±12.4
		LT	8.68±0.30	131±14.2
	Heartwood	LR	9.03±0.69	153±11.6
		LT	9.62±0.14	151±13.5
<i>F. sieboldiana</i>	Sapwood	LR	9.71±0.24	173±20.3
		LT	9.62±0.21	165±9.4
	Heartwood	LR	10.04±0.39	198±13.5
		LT	9.58±0.39	169±23.4
P	Sapwood	LR	-	0.033 *
		LT	-	0.006 **
	Heartwood	LR	-	0.033 *
		LT	-	0.034 *

P : significance probability

* : significant effect at 0.05 level

** : significant effect at 0.01 level

본 실험의 결과중 물푸레나무와 들메나무의 값은 임업연구원(1994)이 보고한 물푸레나무 R: 195kgf/cm², T: 188kgf/cm²과 들메나무 R: 189kgf/cm², T: 187kgf/cm²보다 다소 낮게 나타났으나, 中井와 山井(1982)가 보고한 들메나무 R: 135kg/cm², T: 144kg/cm²와는 비슷한 값을 보여주었다. 본 실험의 쇠물푸레나무는 中井와 山井(1982)가 보고한 들메

나무와 쇠물푸레나무 R : 155kg/cm², T : 162kg/cm²보다 높은 전단강도를 나타냈다. 또한, 세 수종의 전단강도는 Tsoumis(1991)가 보고한 *F. americana*재 136.6kg/cm²과 ash재 127.5kg/cm²보다 높은 값을 보여주었다.

3) 휨 특성

공시수종의 휨 특성을 측정한 결과는 표 2-11에 나타냈다. 휨파괴계수(MOR)는 공시수종 모두 1% 유의수준에서 유의성이 인정되어 수종간 차이가 있었다. 휨탄성계수(MOE)는 90~140×10³kg/cm²의 범위인데 쇠물푸레나무 변재부가 다른 수종의 변·심재부보다 다소 낮았으며, 세 수종의 심재부에서는 차이가 인정되지 않았다. 물푸레나무와 들메나무는 변·심재부의 MOR과 MOE 차이가 없었으나 쇠물푸레나무는 심재가 변재부보다 다소 높게 나타났다. 쇠물푸레나무 변재부의 휨강도 특성이 다소 낮게 나타난 이유는 다른 시료에 비해 직경이 상당히 작았고 연륜폭이 좁아 연륜폭내 공권부의 비율이 높았기 때문으로 생각된다.

본 실험의 휨파괴계수는 임업연구원(1994)에서 보고한 물푸레나무 1192kg/cm², 들메나무 1139kg/cm², 中井와 山井(1982)가 보고한 들메나무 1109kg/cm², Tsoumis(1991)가 보고한 ash재 1203kg/cm²와 거의 비슷하였고, 中井와 山井(1982)가 보고한 쇠물푸레나무 816kg/cm², Tsoumis(1991)가 보고한 *F. americana*재 1081kg/cm²보다는 다소 높았다. 또한 휨탄성계수는 日本木材學會(1985)의 들메나무 95×10³kg/cm²와 中井와 山井(1982)의 쇠물푸레나무 86×10³kg/cm²보다 다소 높았으며, 中井와 山井(1982)의 들메나무 129×10³kg/cm², Tsoumis(1991)가 보고한 *F. americana*재 122×10³kg/cm²과 ash재 134×10³kg/cm²와 Gustafsson(1999)이 보고한 *F. excelsior* 13,000MPa(133×10³kg/cm²)과도 비슷하거나 다소 크게 나타났다.

표 2-11. 휨특성

Species		Moisture contents(%)	Density (g/cm ³)	MOR (kgf/cm ²)	Proportional limit (kgf/cm ²)	MOE (kgf/cm ²)
<i>F. rhyncophylla</i>	Sapwood	12.49 ±0.98	0.75 ±0.04	1108 ±69.2	528 ±17.6	140182 ±12499
	Heartwood	14.09 ±0.70	0.80 ±0.03	1030 ±27.2	499 ±60.6	139261 ±4000
<i>F. mandshurica</i>	Sapwood	8.51 ±0.20	0.70 ±0.02	1350 ±97.3	731 ±148.6	137555 ±36398
	Heartwood	9.55 ±0.42	0.70 ±0.01	1191 ±24.8	463 ±55.0	126744 ±12423
<i>F. sieboldiana</i>	Sapwood	9.41 ±0.10	0.79 ±0.01	1134 ±71.1	494 ±44.6	99226 ±9048
	Heartwood	9.15 ±0.15	0.83 ±0.05	1378 ±161.8	589 ±54.0	138359 ±12170
P	Sapwood	-	-	0.001 **	-	0.001 **
	Heartwood	-	-	0.004 **	-	0.185

P : significance probability

* : significant effect at 0.05 level

** : significant effect at 0.01 level

4) 충격휨 흡수 에너지

표 2-12는 물푸레나무와 들메나무의 충격휨 흡수 에너지를 측정한 결과이다. 충격휨 흡수 에너지는 들메나무 심재부가 0.85kg · m/cm²이고 그외는 1.2~1.3정도였으나 유의성 검정 결과 수종간과 변 · 심재부간 차이는 인정되지 않았다.

中井와 山井(1982)는 들메나무 0.94kg · m/cm², 쇠물푸레나무 1.11kg · m/cm²로 보고하

였고, 日本木材學會(1985)는 들메나무 $0.90\text{kg} \cdot \text{m}/\text{cm}^3$ 로 보고하여 본 실험의 충격휨흡수 에너지와 거의 비슷하였다.

표 2-12. 충격흡수에너지

Species		Moisture contents(%)	Density (g/cm ³)	Impact bending absorbed energy (kg · m/cm ³)
<i>F. rhynchophylla</i>	Sapwood	13.01 ± 2.07	0.75 ± 0.04	1.24 ± 0.24
	Heartwood	14.16 ± 0.52	0.80 ± 0.02	1.22 ± 0.38
<i>F. mandshurica</i>	Sapwood	8.51 ± 0.20	0.69 ± 0.02	1.29 ± 0.35
	Heartwood	9.55 ± 0.42	0.70 ± 0.03	0.85 ± 0.29
P	Sapwood	-	-	0.773
	Heartwood	-	-	0.177

P : significance probability

* : significant effect at 0.05 level

** : significant effect at 0.01 level

다. 결론

물푸레나무속 주요 수종의 합리적 이용을 위한 기초 자료를 얻고자 물푸레나무, 들메나무 및 쇠물푸레나무의 물리 및 역학적 특성을 조사한 결과는 다음과 같다.

- 1) 물푸레나무와 쇠물푸레나무의 생재함수율은 변·심재부간 차이가 없었으나, 들메나무는 심재부가 변재부보다 다소 높게 나타났다. 생재밀도와 전건밀도는 들메나무가 두 수종에 비해 낮았으며 물푸레나무와 쇠물푸레나무간에는 거의 차이가 없었다.
- 2) 각 방향의 수축·팽윤율비는 약 10 : 5.3~5.0 : 1.5 였으며, 물푸레나무와 쇠물푸

레나무의 섬유방향 수축·팽윤율은 변재부가 심재부보다 높은 특징이 있었다.

- 3) 쇠물푸레나무 변재부가 물푸레나무보다 다소 높았다. 쇠물푸레나무 변·심재부의 종압축강도(MOR)와 영계수(MOE)는 다른 두 수종에 비해 다소 낮았으며, 물푸레나무와 들메나무는 비슷한 값을 보여 주었다.
- 4) 쇠물푸레나무의 전단강도는 방사·접선단면에서 다른 두 수종보다 높았으며, 공시수종 모두 방사단면 전단강도는 접선단면의 것보다 다소 높았다.
- 5) 휨과피계수(MOR)는 공시수종사이에 차이가 있었으며, 휨탄성계수(MOE)는 쇠물푸레나무 변재부가 다소 낮았다.
- 6) 충격휨흡수에너지는 물푸레나무와 들메나무 사이에 비슷한 값을 보여주었다.

3. 고기능성 목질재료 I - 알칼리 처리 목재의 특성 -

알칼리 처리 전 기건밀도와 처리 후 기건밀도, 처리 후 전건밀도, 처리 전후의 기건밀도 비율을 표 2-13에 나타냈다.

무처리재의 밀도는 물푸레나무재 0.71-0.75g/cm³, 소나무재 0.48-0.51g/cm³로 나타났다. 알칼리 처리에 의한 변화를 보면 소나무재는 20%이상의 처리에서 밀도가 농도와 함께 증가되었다. 물푸레나무재는 5%, 10%의 처리로 20-30% 밀도가 증가하였으며, 15%이상의 처리로 40% 이상의 밀도증가율을 보여주고 있어 소나무재에 비해 밀도가 크게 증가하였다. 이러한 결과는 다른 수종으로 실험한 황과 兪(1997)의 연구 결과와 일치하였다.

표 2-13. 알칼리팽윤 전후의 밀도

Species	NaOH concentration	Air-dry density before alkali swelling (g/cm ³)	Air-dry density after alkali swelling (g/cm ³)	Oven-dry density after alkali swelling (g/cm ³)	The ratio of air-dry density (after/before)
<i>F. rhy-ncho-phylla</i>	0%	0.73			
	5%	0.75	0.89	0.88	1.19
	10%	0.75	0.95	0.95	1.27
	15%	0.74	1.05	1.05	1.42
	20%	0.73	1.10	1.10	1.51
	25%	0.71	1.20	1.21	1.69
<i>Pinus densiflora</i>	0%	0.50			
	5%	0.51	0.48	0.45	0.94
	10%	0.51	0.49	0.46	0.96
	15%	0.48	0.49	0.48	1.02
	20%	0.50	0.56	0.52	1.12
	25%	0.48	0.57	0.56	1.20

가. 알칼리 처리에 의한 팽윤 및 수축

1) 기건재의 알칼리 팽윤

기건상태의 칫수와 알칼리 팽윤상태의 칫수에서 계산한 각 방향별 팽윤율(β)과 용적 팽윤율을 표 2-14에 나타냈다. 무처리재의 팽윤율은 기건상태와 포수상태의 칫수에서 계산한 값이다.

소나무재와 물푸레나무재에서 접선방향의 팽윤은 방사방향에 비해 상당히 크게 나타났다. 이러한 팽윤현상은 소나무재의 만재부가 접선방향으로 배열한 것, 접선벽의 microfibril의 경사각이 방사벽보다 작고, 접선벽이 방사벽보다 목화가 덜되어 알칼리

의 침투가 용이했기 때문으로 생각된다(李 등, 1989). 용적팽윤율을 보면, 소나무재는 5~15% 처리에서 팽윤 효과가 크며 농도가 증가하면 감소하였다. 물푸레나무재는 5% 처리로도 크게 팽윤하였으며 농도 증가에 의한 영향은 적었다.

일반적으로, 소나무재와 물푸레나무재 모두 수분에 의한 접선방향 팽윤은 방사방향보다 2배정도 방사방향이 크지만, 본 실험결과 알칼리 처리후 접선방향을 팽윤은 방사방향보다 5~10배정도 큰 팽윤을 나타냈다. 이러한 알칼리처리에 의한 팽윤현상은 前報(1997)와 유사한 결과를 보여주었다.

표 2-14. 기건시료의 알칼리 팽윤

(단위 : %)

Species	NaOH concentration	Swelling(β)			
		L	R	T	V
<i>F. rhyncho- phylla</i>	0%	0.15	2.71	5.40	8.26
	5%	0.04	2.89	9.28	12.21
	10%	0.06	2.48	10.56	13.10
	15%	-0.96	2.11	11.15	12.30
	20%	-2.83	2.13	11.26	10.56
	25%	-2.58	1.36	10.33	9.11
<i>Pinus densiflora</i>	0%	0.77	2.23	4.11	7.11
	5%	1.34	1.27	6.79	9.40
	10%	0.91	1.31	7.13	9.35
	15%	1.05	0.74	7.88	9.67
	20%	-0.91	-0.66	6.86	5.29
	25%	-1.97	-0.67	7.31	4.67

L : Longitudinal

R : Radial

T : Tangential

V : Volumetric

2) 알칼리 처리재의 기건 수축율

알칼리 처리 전의 기건치수와 알칼리 처리 후 기건치수에서 계산한 각 방향의 수축율(α)과 용적 수축율은 표 2-15에 나타났다.

두 수종 모두 알칼리 농도증가와 함께 접선, 방사방향 수축율이 일정하게 증가하였다. 소나무재는 알칼리 처리에 의해 오히려 방사방향의 수축율이 접선방향보다 높았다. 일반적으로 수분에 의한 접선방향의 수축률은 방사방향보다 2배정도 크지만, 알칼리 처리에 의한 수축률은 접선방향과 방사방향에서 거의 등방적인 수축현상을 보여주었다. 용적수축율은 소나무재, 물푸레나무재 모두 농도에 따라 증가하였다.

표 2-15. 알칼리 팽윤 전후 기건상태에서의 수축율 (단위 : %)

Species	NaOH concentration	Shrinkage(α)			
		L	R	T	V
<i>F. rhyncho-phylla</i>	0%	-0.11	-0.24	-0.34	-0.69
	5%	-0.09	10.40	14.74	25.05
	10%	0.05	12.97	17.20	30.22
	15%	1.20	17.32	20.33	38.85
	20%	3.09	20.45	21.98	45.52
	25%	2.78	22.58	25.33	50.69
<i>Pinus densiflora</i>	0%	-0.55	-0.51	-0.52	-1.58
	5%	-0.24	1.22	0.24	1.22
	10%	-0.44	2.27	1.18	3.01
	15%	-0.14	7.06	4.72	11.64
	20%	1.23	10.28	7.46	18.97
	25%	2.72	13.56	9.94	26.22

3) 알칼리 팽윤재의 전수축율

알칼리 팽윤상태의 칫수와 수세 후 전건상태의 칫수에서 계산한 각 방향별 전수축율(γ)과 용적수축율은 표 2-16에 나타났다. 알칼리 처리 전후의 횡단면 구조를 SEM으로 촬영하여 그림 2-16에 나타났다. 무처리재의 전수축율은 포수상태의 칫수와 전건상태의 칫수에서 계산한 값이다.

소나무재, 물푸레나무재 모두 무처리재보다 알칼리 처리 시료의 전수축율이 크며 농도 증가에 따라 전수축율도 증가하였다.

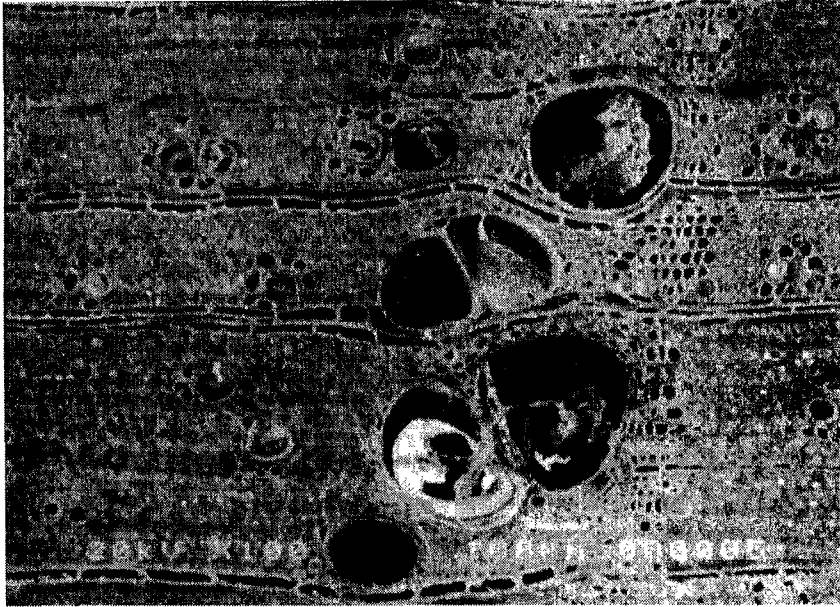
특히, 물푸레나무재는 방사 및 접선방향에서 5% 알칼리 처리만으로도 무처리재의 것보다 3~4배의 수축율을 보였으며, 농도증가에 따라 다소 증가하는 경향이 있었으나 그 차이는 크지 않았다. 물푸레나무재의 수축은 소나무재의 그것에 비해 동일조건에서도 2배 이상 크게 나타나고 있으므로 물푸레나무재가 알칼리 처리의 영향을 받기 쉬운 것으로 생각된다.

물푸레나무재의 수축률이 큰 이유는 그림 2-16에 보여지듯이 도관의 찌그러짐, 목섬유, 방사조직등 구성세포들의 수축으로 보여진다.

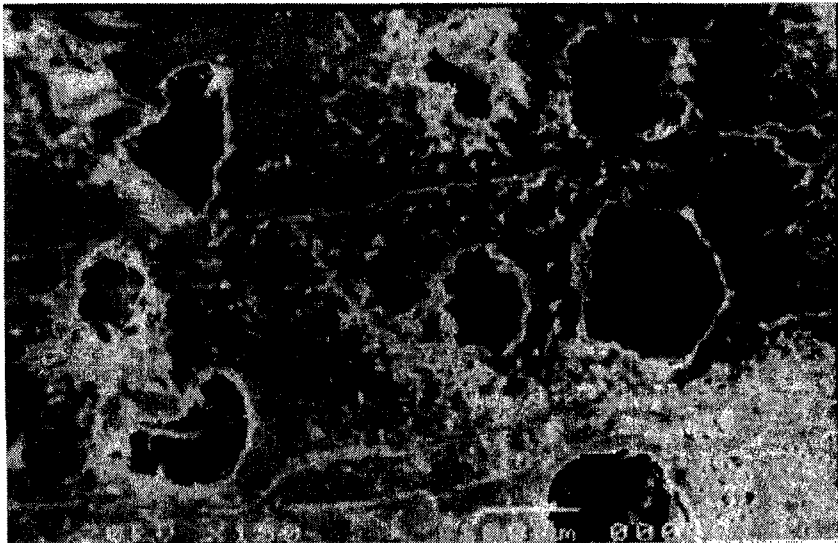
표 2-16. 알칼리 팽윤상태에서 전건까지의 찌수변화

(단위 : %)

Species	NaOH concentration	Shrinkage(γ)			
		L	R	T	V
<i>F. rhyncho- phylla</i>	0 %	0.35	4.95	8.55	13.85
	5 %	0.20	16.58	25.97	42.75
	10%	0.23	18.82	29.74	48.79
	15%	0.38	22.97	32.48	55.83
	20%	0.44	26.21	34.02	60.67
	25%	0.35	27.86	36.62	64.83
<i>Pinus densiflora</i>	0 %	0.73	3.54	6.23	10.50
	5 %	1.71	4.29	9.16	15.16
	10%	0.79	5.55	10.42	16.76
	15%	1.35	10.66	15.18	27.19
	20%	0.76	12.81	13.35	26.92
	25%	1.24	16.06	19.74	37.04



A



B

그림 2-16. 무처리재(A)와 20% NaOH(B) 처리재의 주사전자현미경 사진

4) 알칼리 처리제의 중량감소를

목재 시료의 알칼리 처리에 의한 중량변화는 그림 2-17에 나타냈다.

그림 2-17에서 보여주는 것과 같이 알칼리 처리에 의해 중량이 다소 감소된 것을 알 수 있다. Lonikar *et al.*(1986)은 mercerization에 의해 목재의 9~30%의 중량이 감소한다고 보고하였다. 이때 주로 용출되는 성분은 헤미셀룰로오스이며, 리그닌이나 α -cellulose는 거의 용출되지 않는다고 하였다. 특히 활엽수에서는 전체 헤미셀룰로오스 량의 50%이상이 제거된다고 보고하였다. 본 실험에서는 수분에 의한 중량감소보다 알칼리 처리에 의한 중량감소가 소나무는 4.5~5.7배, 물푸레나무는 14.6~19.5배 더 높게 나타났다. 따라서 물푸레나무는 소나무보다 알칼리 처리시 추출물이 더 많이 용출된 것을 알 수 있다.

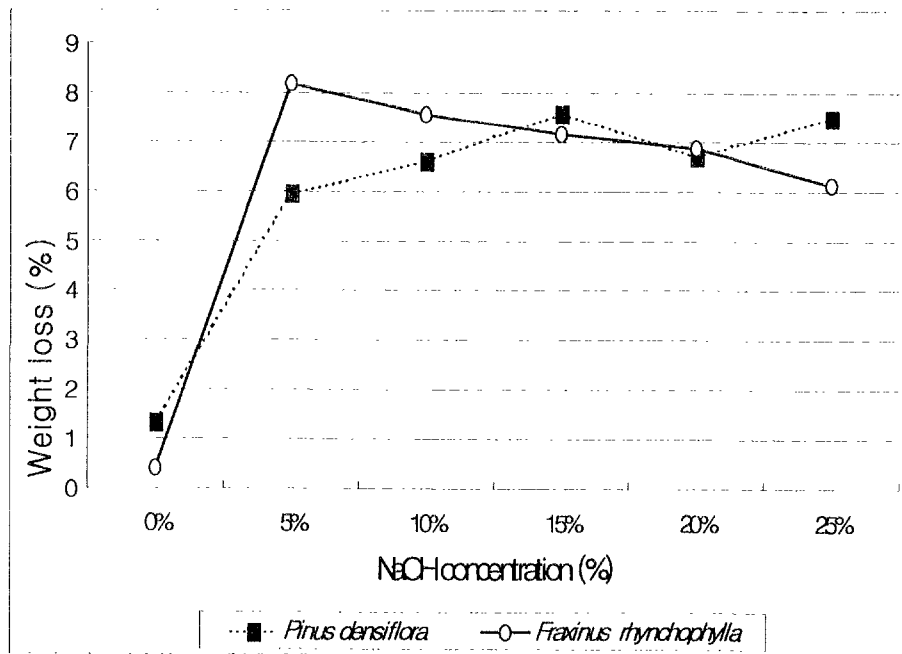


그림 2-17. 알칼리 팽윤 전후 기건상태의 중량변화.

나. 미세구조의 변화

물푸레나무재의 X선 회절강도는 그림 2-18에 나타났다. 물푸레나무 무처리재의 결정화도는 77%이며, NaOH 20% 수용액으로 처리한 물푸레나무재는 75%로서 비슷한 경향을 나타냈다. 알칼리처리에 의해 추출물 및 헤미셀룰로오스가 용출됨으로 인해 (100)과 (110)의 peak가 다소 선명히 분리되는 것을 알수있었으나 Cellulose I에서 Cellulose II로의 결정구조의 변화는 없었다.

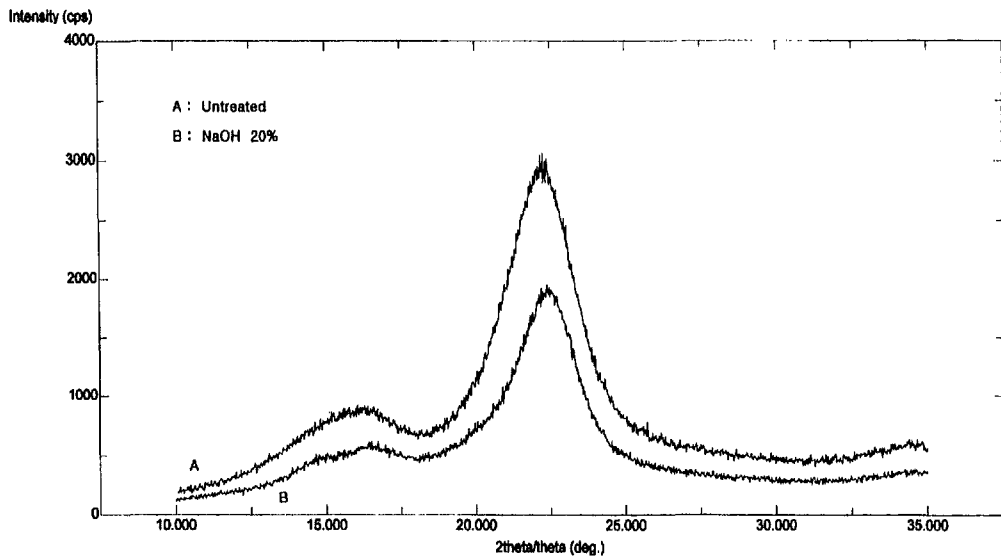


그림 2-18. 물푸레나무의 X선회절 강도곡선.

다. 결 론

소나무재와 물푸레나무재 2수종에 대하여 알칼리 처리에 의한 목재의 수축·팽윤성과 미세구조의 변화를 조사한 결과는 다음과 같다.

- 1) 소나무재는 20%이상의 처리에서 밀도가 증가되었고, 물푸레나무재는 15%이상의 처리로 40% 이상 증가되어 소나무재에 비해 밀도가 크게 증가되었다.
- 2) 기건재의 알칼리 팽윤은 접선방향이 방사방향보다 컸으며, 물푸레나무재가 소나무재보다 크게 팽윤하였다.
- 3) 알칼리 처리재의 기건 수축율은 두 수종 모두 알칼리 농도증가와 함께 접선, 방사방향 수축율이 일정하게 증가하였으며, 접선방향과 방사방향에서 거의 등방적인 수축현상을 보여주었다.
- 4) 알칼리 처리에 의한 전수축률은 세포의 찌그러짐과 중량감소율의 증가등으로 농도 증가에 따라 전수축율도 증가하였다.
- 5) X선회절분석결과 알칼리 처리에 의해 목재셀룰로오스 결정의 변화는 없었고, (110)과 (110) 결정면이 명확히 분리되었다.

4. 고기능성 목질재료 II - PEG 처리목재의 특성 -

가. 수축률

표 2-17과 그림 2-19, 2-20, 2-21은 물푸레나무재의 수축률을 나타냈다. 무처리재의 방사 및 접선방향 수축률은 각각 5.54%와 7.63% 이었다.

물푸레나무는 PEG 처리에 의해 수축률이 크게 감소하는 효과가 있었고, PEG 처리 농도가 증가할수록 수축률이 감소하여 PEG농도 30%의 조건에서 처리했을 때 가장 좋은 칫수안정효과가 보여주었다. 그러나 PEG 분자량과 PEG 처리온도는 칫수안정효

과에 영향을 주지 못하였다.

표 2-17. 물푸레나무의 전진 수축

Treatment	PEG	PEG 1000			PEG 2000			PEG 4000		
		10%	20%	30%	10%	20%	30%	10%	20%	30%
Untreatment	r	5.54								
	t	7.63								
Treatment at R.T.	r	3.27	2.29	1.57	3.65	2.70	1.80	3.77	3.17	1.90
	t	5.59	3.51	3.83	6.85	6.27	4.04	7.10	6.35	3.92
Treatment at 50°C	r	3.38	3.07	1.74	3.29	2.75	1.76	3.40	3.05	1.64
	t	6.36	5.07	4.07	6.42	5.60	4.01	6.70	5.70	3.16
Treatment at 70°C	r	3.27	2.34	1.78	3.48	2.43	1.52	3.73	2.66	1.65
	t	7.63	5.09	3.76	7.27	5.54	4.35	7.12	6.11	3.77

*R.T. : room temperature r : radial direction t : tangential direction

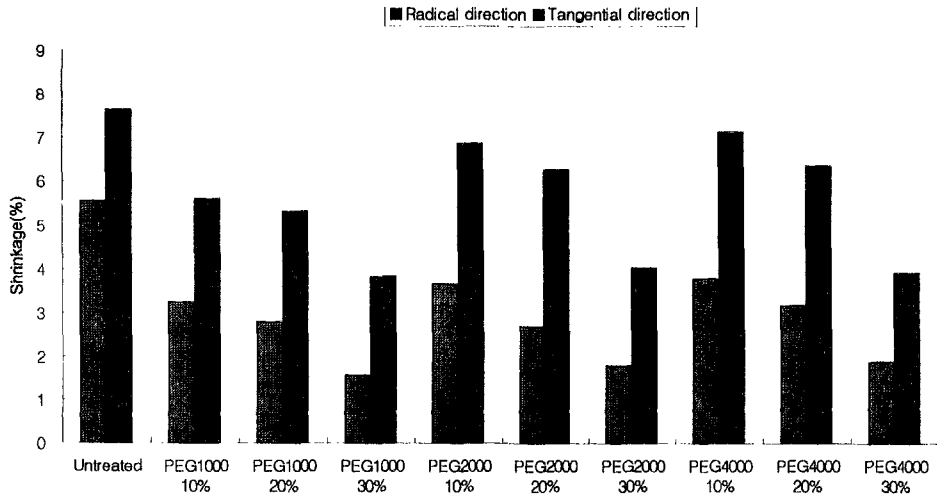


그림 2-19. 상온에서 처리한 물푸레나무의 수축율.

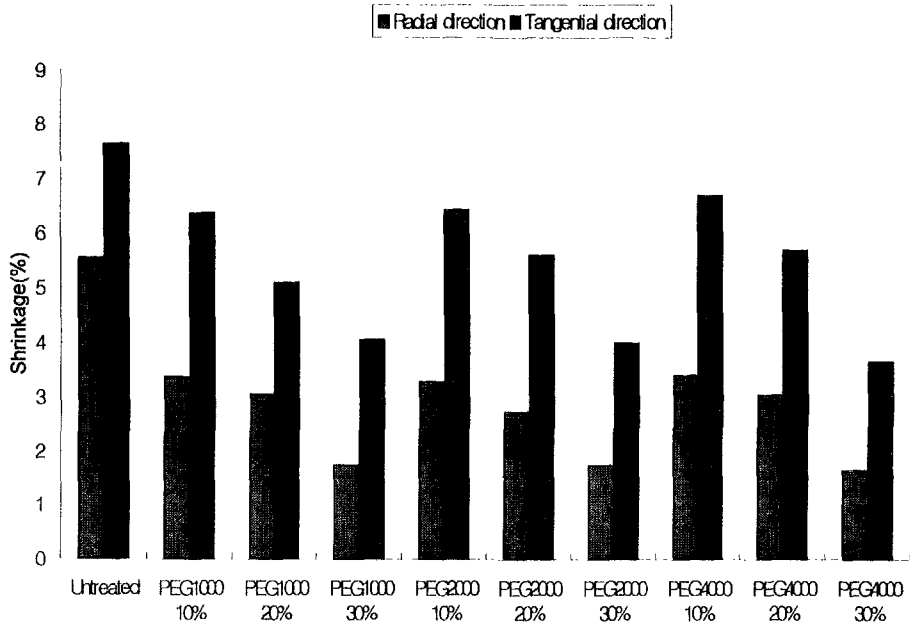


그림 2-20. 50°C에서 처리한 물푸레나무의 수축율.

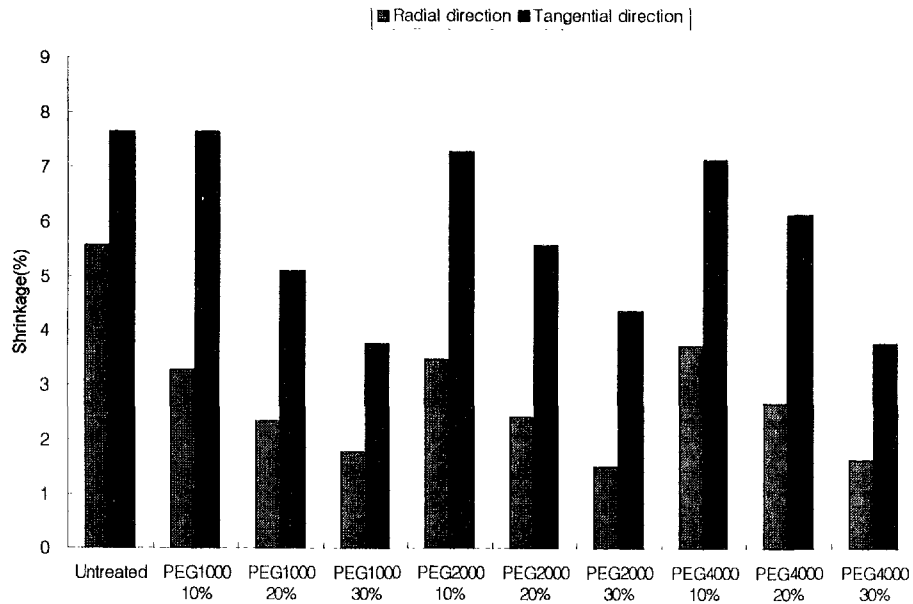


그림 2-21. 70°C에서 처리한 물푸레나무의 수축율.

나. 중량증가율

표 2-18과 그림 2-22는 물푸레나무재의 중량증가율을 나타낸 것으로 PEG처리 농도증가에 따라 증가되었는데, 분자량에 관계없이 PEG농도 30%의 조건에서 높은 중량증가율을 보여주었다. PEG 처리온도와 분자량에 따른 차이는 거의 나타나지 않았지만, PEG4000으로 처리하였을 때 다소 높은 중량증가율을 보여주었다.

표 2-18. 물푸레나무의 증량 증가율

Treatment	PEG	PEG 1000			PEG 2000			PEG 4000		
		10%	20%	30%	10%	20%	30%	10%	20%	30%
Treatment at R.T.		4.17	11.35	17.16	2.20	9.72	17.07	3.94	9.97	21.62
Treatment at 50°C		3.07	9.98	16.39	3.90	10.17	19.41	2.87	8.24	17.14
Treatment at 70°C		4.01	10.33	19.90	4.26	9.97	18.64	4.01	9.96	21.30

*R.T. : room temperature

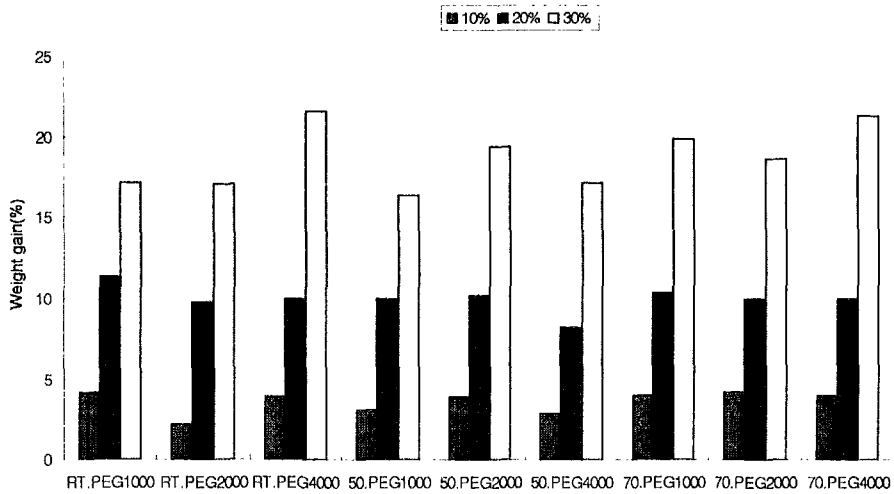


그림 2-22. 물푸레나무재의 증량증가율.

다. 벌킹효과

표 2-19와 그림 2-23은 물푸레나무의 벌킹효과를 나타낸 것으로 PEG처리 농도증가에 따라 벌킹효과가 증가하였다. 그러나 PEG 분자량이 높을수록 벌킹 효과가 다소 감소하였지만, PEG 처리 온도가 높아짐에 따라 벌킹효과가 다소 증가하였다. 가장 좋은 벌킹 효과는 PEG분자량과 처리온도에 관계없이 PEG농도 30%로 처리한 경우 높게 나타났다.

표 2-19. 물푸레나무의 Bulking 효과

Treatment	PEG	PEG 1000			PEG 2000			PEG 4000		
		10%	20%	30%	10%	20%	30%	10%	20%	30%
Treatment at R.T.		25.23	36.73	53.75	19.87	31.82	50.82	8.01	28.34	49.39
Treatment at 50°C		20.86	40.54	55.63	17.71	37.56	55.18	14.16	33.17	54.08
Treatment at 70°C		16.31	42.59	57.25	20.62	35.92	56.53	17.02	29.79	56.34

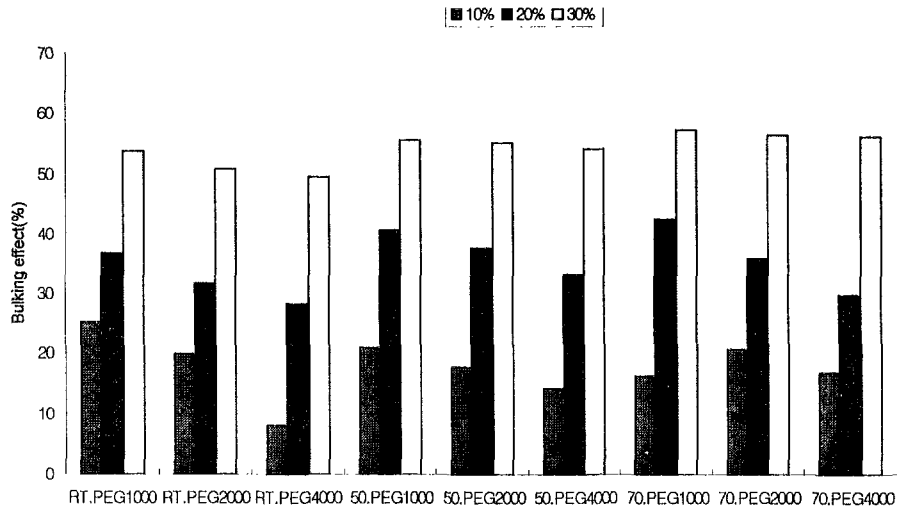


그림 2-23. 물푸레나무재의 Bulking 효과.

라. 휨 특성

표 2-20은 공시수종의 휨 특성을 측정한 결과를 보여준 것이다. PEG 처리재의 휨 파괴계수(MOR)와 휨탄성계수(MOE)는 변·심재 모두 미처리재보다 낮게 나타났다. 그러나 휨특성이 낮게 나타난 이유는 PEG 처리재의 함수율이 매우 높기 때문으로 생각된다.

표 2-20. 퓌 특성

<i>F. rhynchophylla</i>		Moisture contents(%)	Density (g/cm ³)	MOR (kgf/cm ²)	Proportional limit (kgf/cm ²)	MOE (kgf/cm ²)
Control	Sapwood	12.49 ±0.98	0.75 ±0.04	1108 ±69.2	528 ±17.6	140182 ±12499
	Heartwood	14.09 ±0.70	0.80 ±0.03	1030 ±27.2	499 ±60.6	139261 ±4000
PEG Treatment	Sapwood	31.27 ±9.17	0.84 ±0.07	753 ±82.7	753 ±82.7	113215 ±13711
	Heartwood	23.16 ±2.94	0.83 ±0.08	619 ±90.3	619 ±90.3	99831 ±5222

마. 충격휨흡수에너지

표 2-21은 불푸레나무의 충격휨흡수에너지를 측정한 결과이다. PEG 처리제의 함수율과 밀도는 미처리제보다 높게 나타났으나, 충격휨흡수에너지는 미처리제보다 높게 나타났다.

표 2-21. 충격흡수 에너지

<i>F. rhynchophylla</i>		Moisture contents(%)	Density (g/cm ³)	Impact bending absorbed energy (kg · m/cm ²)
Control	Sapwood	13.01 ± 2.07	0.75 ± 0.04	1.24 ± 0.24
	Heartwood	14.16 ± 0.52	0.80 ± 0.02	1.22 ± 0.38
PEG Treatment	Sapwood	26.46 ± 8.54	0.83 ± 0.08	2.29 ± 0.22
	Heartwood	25.81 ± 2.07	0.77 ± 0.02	2.08 ± 0.20

바. 결 론

국내산 소경재의 효율적인 이용방안을 모색하고자 PEG를 다양한 조건으로 처리하여 수축·팽윤특성, 휨강도 및 충격강도를 검토하였다.

- 1) 물푸레나무는 PEG 처리에 의해 수축률이 크게 감소하였으며, PEG 농도가 증가할수록 수축률이 감소하여 PEG농도 30% 처리시 가장 좋은 칫수안정 효과를 보여주었다.
- 2) 물푸레나무재의 중량증가율은 PEG처리 농도의 증가에 따라 높아졌다.
- 3) 물푸레나무재의 벌킹효과는 PEG 처리농도 증가에 따라 증가하였으나, PEG 분자량이 높아지면 오히려 벌킹 효과가 다소 감소하였다.
- 4) PEG 처리재의 휨파괴계수(MOR)와 휨탄성계수(MOE)는 변·심재 모두 미처리재보다 낮게 나타났다.
- 5) PEG 처리재는 미처리재보다 함수율과 밀도가 높게 나타났으나, 충격휨흡수에너지는 미처리재보다 높았다.

5. 물푸레나무를 이용한 공예품

가. 물푸레나무 원판을 이용한 홍보용 상징물 및 기념품

제작된 작품들중 2가지를 그림 2-24에 보여 주었다. 이외에도 무처리재와 알칼리 및 PEG 처리재 모두 표면에 문양과 마크가 선명하게 찍혔다. 또한 알칼리 처리재를 이용한 작품은 재색의 변화를 줄 수 있었고, PEG 처리재를 이용한 작품은 칫수안정 효능이 뛰어나 변형이 거의 없었다.

제작된 작품들은 주위의 사람들로부터 반응이 좋아 선물용이나 기념품으로 널리 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

이외에도 야구배트, Key holder, 수저받침대, 접시 등도 제작하였다.

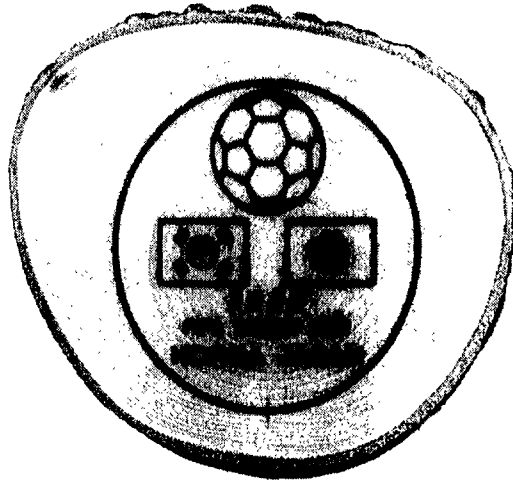
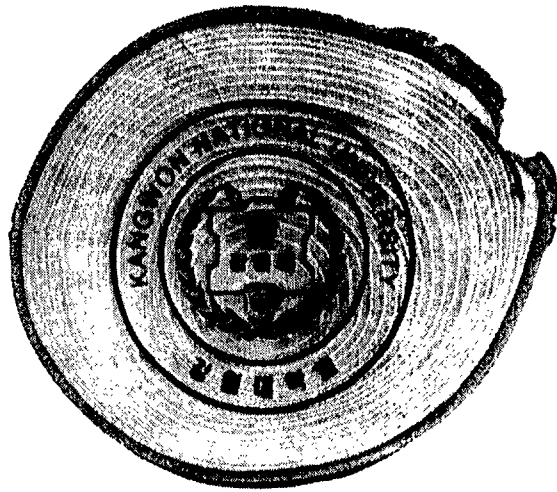


그림 2-24. 물푸레나무를 이용한 시제품.

제4절 참고문헌

1. Fujiwara, S. 1992. Anatomy and properties of Japanese hardwoods II. Variation of dimensions of ray cells and their relation to basic density. IAWA Bulletin n. s. 13, 4: 397-402.
2. Panshin, A. J. and C. de Zeeuw. 1980. Textbook of wood technology. McGraw-Hill, Inc.: 240-285.
3. Carlquist, S. 1988. Comparative wood anatomy. Springer-Verlag, Berlin.:12-357.
4. Gustafsson, S. I. 1999. Solid mechanics for ash wood. Holz als Roh- und Werkstoff 57: 373-377.
5. Helinska-Raczkowska, L. and E. Fabisiak. 1999. Radial variation of earlywood vessel lumen diameter as an indicator of the juvenile growth period in ash(*Fraxinus excelsor* L.). Holz als Roh- und Werkstoff 57: 283-286.
6. Lei, H., M. R. Milota and B. L. Gartner. 1996. Between- and within- tree variation in the anatomy and specific gravity of wood in Oregon white oak(*Quercus garryana* Dougl.). IAWA Journal. 17, 4. 445-461.
7. Lonikar, S. V., N. Shiraishi and T. Yokota. 1986. Lattice conversion of cellulose within wood (II). Holzforschung 40 : 1-8.
8. Panshin, A. J. and C. de Zeeuw. 1970. Textbook of wood technology Volume I. McGraw-Hill, Inc.: 627-629.
9. Sano, Y. and K. Fukuzawa. 1994. Structural variations and secondary changes in pit membranes in *Fraxinus mandshurica* var. *japonica*. IAWA Bulletin n. s. 15, 3: 283-291.
10. Segal, L., J. J. Creely., A. E. Martin. Jr. and C. M. Conrad. 1959. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the

- X-ray diffractometer. Text. Res. J.: 786-794.
11. Stamm A., J. 1959. Effect of polyethylene glycol on the dimensional stability of wood. Forest Products Journal 9(10) : 375~381.
 12. Tarkow H., W. C. Feist, C. F. Southerland. 1966. Interaction of wood with polymeric materials, Penetration versus molecular size. Forest Products Journal. 16(10) : 61~65.
 13. Tsoumis, G. T. 1991. Science and technology of wood. Structure, Properties, Utilization. Van Nostrand Reinhold. New York: 111-127, 160-193.
 14. Utsumi, Y., Y. Sano, J. Ohtani and S. Fujikawa. 1996. Seasonal changes in the distribution of water in the outer growth rings of *Fraxinus mandshurica* var. *japonica*: A study by cryo-scanning electron microscopy. IAWA Bulletin n. s. 17, 2: 113-124.
 15. Wellwood, R. W., C. B. R. Sastry., M. M. Micko. and L. Paszner. 1975. Mokuzai Gakkaishi 21 : 272-277.
 16. Yamabayashi, N. 1938. Identification of corean woods. Bull. Govt. Forest Experiment Station 21.
 17. 岡本 一, 増澤文武. 1984. 出土木材, その材質と保存処理. 木材工業 39(6) : 7~12
 18. 宮島寛. 1979. 日本産アオダモ材の生長と基礎材質. 北海道大學農學部演習林研究報告. 36, 2: 421-450.
 19. 堀岡邦典, 富永洋司, 千葉保人. 1968. 材質改良に關する研究 第21報. ポリエチレングリコールによる寸法安定化處理について(その 2). 東京農工大學農學部演習林報告 (7) : 89~107.
 20. 今村 博之 外 5名. 木材利用の化學. 284-293. (1983).
 21. 森林總合研究所 木材部, 木材利用部. 1982. 木材の性質一覽表. Bull. For. & For. Prod. Res. Inst. No. 319: 85-126.

22. 鈴木正治, 徳田勉夫. 1993. 木質資源材料. 海青社. 51-55.
23. 日本木材學會・物理・工學編編輯委員會. 1985. 木材科學實驗書 I. 物理・工學編. 中外産業: 53-94, 343-345
24. 日本木材學會編. 1993. 木材の科學と利用技術Ⅲ-ズーパーウッド-. 日本木材學會:1~41.
25. 佐道 健. 1971. 木材の 可塑化. 木材工業 26(11) : 496-502.
26. 佐道 健. 1989. 木材の科學と利用技術 -寸法安定化-. 日本木材學會研究分科會報告書 : 520~524.
27. 中井孝, 山井良三郎. 1982. 日本産主要35樹種の強度的性質. Bull. For. & For. Prod. Res. Inst. No. 319: 13-46.
28. 海老原徹, 鷺見博史, 中野達夫. 1985. アオダモ、ヤチダモ材の衝擊曲げ性能に乃ぼす人工乾燥および含水率の影響. 木材學會誌. 31, 12: 1040-1046.
29. 권구중, 김남훈. 2000. PEG처리 에 의한 국내산 소경재의 치수안정성 증대 방안. 한국목재공학회 2000추계학술발표논문집 : 93~99.
30. 朴相珍, 李元用, 李華珩. 1981. 木材組織의 圖解. 正民社: 132-133.
31. 朴相珍, 李元用, 李華珩. 1990. 木材組織과 識別. 郷文社: 216-228.
32. 朴相珍. 1981. 環孔材 主要構成要素의 放射方向變動. 목재공학. 9, 3:1-6.
33. 朴相珍. 1990. 국산 활엽수재의 목재조직. 한국학술진흥재단 보고서.
34. 산림청. 2000. 임업통계연보 : 46~297.
35. 李元用, 金南勳. 1992. X線回折法에 의한 主要 침・활엽수재의 微細構造 解釋. 木材工學 20, 1: 28-37.
36. 李元用. 1997. 韓國産木材의 組織構造. 郷文社: 216-219.
37. 李春澤. 1993. 小徑材의 利用 方案. 木材工學會誌 21(1) : 65-73.
38. 李弼宇, 嚴永根. 1987. 韓國産 單板樹種의 木材識別-II 顯微鏡的 性質에 의한 木材의 特性 및 그 識別. 목재공학. 15, 1: 22-55.
39. 李弼宇. 1994. 韓國産 木材의 構造-顯微鏡的 構造-. 正民社. pp.275-277.

40. 李華珩 外 4名. 1989. 木材物理 및 力學. 鄉文社. 42-102.
41. 李華珩, 魏 滄, 李元用, 洪秉和, 朴相珍. 1989. 木材物理 및 力學. 鄉文社. pp. 49-51.
42. 임업연구원. 1994. 韓國産 主要木材의 性質과 用途. 임업연구원 연구자료 제 95호: 235-238.
43. 한국산업규격. 1994. 한국표준협회. KS F 2201, 2202, 2203, 2206, 2208, 2209, 2211.
44. 황원중, 권구중, 배영수, 김남훈. 2001 투고중. 물푸레나무속 주요 수종의 해부학적 특성. 목재공학회지.
45. 黃元重, 金南勳. 1997. 알칼리 처리 목재의 특성(I) - 수축 및 팽윤성 - '97추계학술발표논문집. 14-20.