

최 종 보 고 서

최      중  
연구보고서

환경친화형 참다래 저장병 종합적 방제기술  
개발 및 실용화

**Development of Eco-friendly Control  
Techniques for Integrated Pest  
Management of Postharvest  
Diseases on Kiwifruits**

연 구 기 관  
순 천 대 학 교

농 립 부

# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “환경친화형 참다래 저장병 종합적 방제기술 개발 및 실용화” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2003년 7월 28일

주관연구기관명 : 순천대학교

총괄연구책임자 : 고 영 진

세부연구책임자 : 허 재 선

협동연구기관명 : 원예연구소

협동연구책임자 : 박 동 만

# 요 약 문

## I. 제 목

환경친화형 참다래 저장병 종합적 방제기술 개발 및 실용화

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

우리나라의 참다래 재배면적은 1,200 ha 정도이며 생산량은 약 15,000 M/T이지만 연간 소비량은 20,000 M/T으로 5,000 M/T정도는 수입에 의존하고 있다. 전남지역 200여 참다래 재배자들을 대상으로 한 설문조사 결과, 재배상 가장 애로점으로 병방제(33%)를 지적하였으며 28.1%의 재배자들이 대표적인 저장병인 과실무름병에 의한 피해를 경험한 적이 있다고 조사되어 저장병이 궤양병과 더불어 참다래에 가장 많은 피해를 주는 병해인 것으로 밝혀졌다.

그러나 국내에서 참다래에 발생하는 저장병에 의한 과실부패 경감을 위하여 실시하는 방법은 현재 크게 경종적 방법과 재배기간 중에 약제 방제에 의하여 이루어지고 있으며 저장 중에는 후숙 온도가 15℃ 이상 유지되지 않도록 하는 방법이나 후숙촉진제 처리에 의한 후숙소요기간 축소 등을 통한 병회피 방법이 주를 이루고 있을 뿐 저장 중에 직접적인 병 방제기술이 개발되어 있지 않아 일단 저장 중에 발병이 되면 연속적인 감염을 일으키기 때문에 그 피해가 매우 심각한 실정이다.

따라서 저장 중에 발생하는 참다래 과실무름병을 방제하기 위한 방제 방법의 개발이 시급하며, 농약사용으로 야기될 수 있는 환경오염문제와 인체위해성 측면을 고려한 환경친화적인 방제 방법의 개발이 절실하게 요청된다. 이를 위하여 참다래 저장병에 대한 종합적인 방제체계 확립을 위하여 포장 상태에서의 감염을 최소화할 수 있는 화학적 방제체계를 확립하고, 저장 중에 발생하는 과실무름병 방제를 위한 물리적 방제 기술과 천연항균 물질을 이용한 방제 기술 개발을 시도하고자 본 연구를 실시하였다.

### Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

#### < 연구개발 목표 >

- 농약사용량 절감을 위한 참다래 저장병 화학적 방제체계 확립
  - 천연물 농약을 이용한 환경친화형 참다래 저장병 방제기술 개발
  - 무공해적 참다래 저장병 물리적 방제기술 개발
- ⇒ 『환경친화형 참다래 저장병 종합적 방제기술 개발 및 실용화』

#### < 연구개발 내용 >

- 농약사용량 절감을 위한 참다래 저장병 화학적 방제체계 확립
  - 참다래 저장병 예방약제 선발
  - 참다래 저장병 예방약제 약효 검정
  - 참다래 저장병 예방약제 살포적기 구명
  - 참다래 저장병 예방약제 적정 살포횟수 구명
  - 참다래 저장병 예방약제 최적 살포 프로그램 정립
  - 참다래 저장병 예방약제 최적 살포 프로그램 포장 검증
- 천연물 농약을 이용한 환경친화형 참다래 저장병 방제기술 개발
  - *Eucalyptus* 엽육 추출액의 참다래 저장병균에 대한 항균활성검정
  - *Eucalyptus* 엽육 추출액 대량회수 최적조건 구명
  - 참다래 저장병 방제를 위한 *Eucalyptus* 엽육 추출액 이용 천연물 농약 개발
- 무공해적 참다래 저장병 물리적 방제기술 개발
  - 순환식 연속  $\text{TiO}_2$  광촉매 처리시스템 제작
  - 참다래 저장병균에 대한  $\text{TiO}_2$  광촉매의 살균효과 검증
  - $\text{TiO}_2$  광촉매 최적 처리조건 확립
  - $\text{TiO}_2$  광촉매 처리시스템 설계 및 시제품 제작
  - 참다래 상품성 및 안정성에 미치는  $\text{TiO}_2$  광촉매 처리 효과 검증 및 복합처리기술 개발
  - 참다래 저장병 물리적 처리방법 및 시스템의 실용화 현장 검증

#### IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

##### 1. 연구개발결과

##### 가. 농약사용량 절감을 위한 참다래 저장병 화학적 방제체계 확립

- 1) 참다래 저장병 예방약제 약효 포장검정 결과, 후루실라졸 수화제 (누스타), 이프로 수화제 (로브랄) 및 터부코나졸 수화제 (실바코)가 국내에서 참다래 과실무름병 약제로 등록되어 있는 베노밀 수화제 (벤레이트)와 지오판 수화제 (툽신엠)보다 포장에서 참다래 과실무름병에 대한 예방효과가 우수한 것으로 판명되어 장차 참다래 저장병 방제 약제로 개발할 수 있을 것으로 기대된다.
- 2) 참다래 저장병 예방약제 살포적기 구명결과, 참다래 과실무름병 예방약제들 중 효과가 우수한 약제들인 후루실라졸 수화제 (누스타), 이프로 수화제 (로브랄) 및 터부코나졸 수화제 (실바코)의 방제적기는 모두 6월 26일 전후인 것으로 추정되었다.
- 3) 참다래 저장병 예방약제 적정 살포횟수 구명 결과, 후루실라졸 수화제 (누스타)와 이프로 수화제 (로브랄) 그리고 터부코나졸 수화제 (실바코)는 모두 3회부터 9회까지 처리를 하는 것이 1회나 2회보다 효과적인 것으로 나타났다. 특히 6월 16일, 26일, 7월 6일, 16일 살포에 10일 간격으로 4회 처리한 경우에는 후루실라졸 수화제 (누스타)가 85.3%, 이프로 수화제 (로브랄)가 88.7% 그리고 터부코나졸 수화제 (실바코)가 81.9%로 가장 높은 방제가를 나타냄으로써 예방 효과가 우수한 것으로 나타났다.
- 4) 참다래 저장병 예방약제 최적 살포 프로그램 정립 및 포장 검증 결과, 참다래 과실무름병 방제를 위한 예방약제 최적 살포프로그램은 6월 중순부터 10일 간격 4회 살포임이 검증되었으며, 예방약제는 후루실라졸 수화제 (누스타)가 가장 우수한 약제로 검증되었다. 그러나 약제의 다양화를 통한 약제저항성균의 출현을 예방하기 위하여 터부코나졸 수화제

(실바코)와 이프로 수화제 (로브랄)도 후루실라졸 수화제 (누스타)를 대체할 수 있는 예방약제로 사용할 수 있을 것으로 판단된다.

#### 나. 천연항균성 물질을 이용한 환경친화형 참다래 저장병 방제 기술 개발

- 1) 국내에 서식 가능한 내한성 *Eucalyptus* 수종 중에서 우수한 천연항균성 물질을 함유하는 *Eucalyptus unigera*와 *Eucalyptus darlympleana*를 선정할 수 있었다.
- 2) 생체 시료를 확보하기 쉬운 *Eucalyptus darlympleana*의 항균효과는 *Botryosphaeria dothidea*에 대해 가장 항균력이 높았으며, 다음으로 *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.)와 *Botrytis cinerea* 순으로 나타났다.
- 3) 추출용매에 따른 항균작용은 물 ( $H_2O$ )보다는 메탄올 (MeOH)이 효과적이었으며 추출방법으로는 환류증류추출보다는 진탕추출이 대체로 효과가 높은 것으로 나타났다.
- 4) 참다래 저장 병원균에 대한 *Eucalyptus darlympleana*의 항균 효과는 대상 병원균에 상관없이 가지 추출액보다는 엽추출액에서 항균력이 월등히 높았다. 또한 엽추출액의 경우, 6월 초에 수확한 잎보다는 10월 초에 수확한 잎에서의 항균 활성이 월등히 높게 조사되었다.
- 5) *Eucalyptus darlympleana*의 메탄올 추출액을 이용하여 chloroform, ethyl acetate, butanol 용매로 순차 분획한 후 참다래 저장병원균에 대한 chloroform, ethyl acetate, butanol 및 잔존 분획 (residual fraction)의 항균 효과를 조사한 결과 병원균의 종류와는 상관없이 butanol fraction이 항균력이 가장 높았게 나타났다.
- 6) *Eucalyptus darlympleana* 잎 MeOH 추출물의 에틸아세테이트 (EtOAc)와 부탄올 (*n*-BuOH) 분획층에서 분리한 2개의 aromatic acid (gallic

acid, 3,4-dihydroxybenzoic acid)와 3개의 flavonoid (quercetin, quercitrin, isoquercitrin) 화합물이 순수 분리되었으며, 이들 중에서 gallic acid 만이 항균활성이 인정되었으며, 특히 기주범위가 넓은 *Botrytis cinerea*에 효과가 탁월한 것으로 나타났다. 이들 5개의 화합물은 다른 식물체에서는 이미 보고된 화합물이지만, gallic acid의 경우 다량을 분리할 수 있었으며 외국의 연구논문을 검색한 결과 항균활성 이외에도 여타 생리활성이 우수한 화합물로 알려져 있지만 *Eucalyptus darlympleana*에서는 최초로 보고되어 학술적 가치가 매우 높은 것으로 평가되었다.

- 7) 참다래 과피에 상처를 낸 후에 butanol fraction의 희석 조추출액을 100  $\mu$ l를 처리한 후 각각의 병원균을 인공 접종하여 병방제 효과를 살펴 본 결과 *Botryosphaeria dothidea*에 의한 참다래 과실무름병은 62% 억제 효과를 보여 *Botryosphaeria dothidea*에 의한 과실무름병 방제 효과는 탁월한 것으로 나타났다.
- 8) 현장 적용을 위하여 자연 감염된 참다래를 이용하여 butanol 분획층을  $\times 10$ 로 희석한 조추출액에 참다래를 5분간 침지시킨 후 풍건, 후숙시킨 후에 참다래 과실무름병 발생 정도를 비교하여 항균 활성을 검증한 결과, 인공 접종 실험과 마찬가지로 *Botryosphaeria dothidea*에 대하여 매우 높은 항균 활성을 보였다. Butanol 분획층에 침지한 참다래의 경우 전체 처리 참다래 중에서 *Botryosphaeria dothidea*에 의한 과실무름병이 전혀 발생하지 않은데 비하여 무처리의 경우 과실무름병이 발생한 참다래 과실의 감염율이 67%, 병든 과실당 무름병 병반수가 평균 1.9개, 병반의 평균 직경이 20.9 mm로 나타나 *Botryosphaeria dothidea*에 의한 참다래 과실무름병에 대해 *Eucalyptus darylpleana* 추출액 중 butanol 분획층이 탁월한 효과를 지닌 것을 알 수 있었으며, 천연물 항균물질로서 참다래 저장중 과실무름병 방제를 위한 천연물 농약으로 실용화할 가능성이 매우 높은 것으로 기대되었다.

## 다. 무공해적 참다래 저장병 물리적 방제기술 개발 연구

- 1) UV 광원에 따른 광촉매 효과를 검증한 결과 단파장의 UV-C가 장파장의 UV-B 보다 광촉매 효과가 우수한 것으로 나타났다
- 2) 연속 순환식 처리 시스템에서 reactor내 수리적 체류시간(hydraulic retention time)에 따라 광촉매 효과에 따른 산화 분해 및 살균 효과를 조사한 결과, 광촉매 효과는 체류시간이 짧을수록 증가하는 것으로 나타났다. 즉  $\text{TiO}_2$  표면에서 발생한 활성 자유기를 신속히 처리수로 전달할수록 광촉매 효과가 증가하는 것을 알 수 있었다.
- 3) Batch-type reactor 시스템에서 처리수 순환에 따른  $\text{TiO}_2$ 에 의한 광촉매 촉진 효과를 알아본 결과, 시간이 경과할수록 처리수 순환에 따른 광촉매 효과 증진이 뚜렷하게 나타났다.
- 4) 연속순환 처리 시스템을 이용하여  $\text{TiO}_2$  광촉매처리와 동시에 산소를 공급할 경우 산소가 공급되지 않는 상태보다 광촉매 효과가 증가하였으며  $\text{TiO}_2$  광촉매와 오존을 동시에 복합 처리할 경우  $\text{TiO}_2$  광촉매 단독처리보다 약 25배, 산소공급 상태에서  $\text{TiO}_2$  광촉매 단독처리보다 약 12배, 오존 단독처리보다 약 3배정도 높은 것으로 나타나  $\text{TiO}_2$  광촉매와 오존을 동시에 처리할 경우 매우 빠르고 강력한 산화반응에 의한 유기물 분해 및 살균효과를 나타냈다.
- 5)  $\text{TiO}_2$  광촉매와 오존을 단독으로 5분 동안 처리할 경우 대조구에 비하여 각각 약 50%와 90%의 포자 발아율 감소가 일어났으며, 복합처리할 경우 처리시간에 상관없이 약 95%의 포자 발아율 감소가 가능했다. 따라서 1~5분의 짧은 시간 동안  $\text{TiO}_2$  광촉매와 오존을 단독 또는 복합처리할 경우 키워 저장병원균의 포자발아율이 50~95% 정도 감소하여 산화 반응에 의한 항균효과가 확실한 것으로 조사되었다.
- 6)  $\text{TiO}_2$  광촉매에 의한 참다래 저장병 억제 효과를 알아보기 위하여 포장에서 자연 감염되었을 것으로 여겨지는 참다래를 이용하여  $\text{TiO}_2$  광촉매와 오존 복합 처리에 의한 참다래 저장병 억제 효과를 살펴 본 결과, 용존오존농도가 증가할수록 과실무름병 발생 억제 효과가 증가하였으며



1.5 ppm에서 10분간 TiO<sub>2</sub> 광촉매와 복합처리할 경우, 약 70%의 억제 효과가 나타나는 것으로 조사되었다.

7) TiO<sub>2</sub> 광촉매에 의한 살균제 후루실라졸 수화제 (누스타)의 분해효과를 조사한 결과 처리시간이 경과할수록 지속적으로 감소하였으며 3시간 경과 후에 초기농도의 약 64% 수준까지 감소하였다. 이는 단순히 UV에 의한 농약분해보다 TiO<sub>2</sub> 광촉매에 의해 농약분해효과가 약 2배 증가하여 TiO<sub>2</sub> 광촉매에 의한 살균제 분해 효과를 확실하게 볼 수 있었다. 오존과 TiO<sub>2</sub> 광촉매의 복합처리에 의한 과실무름병 발생이 가능했던 30분 동안 처리할 경우 TiO<sub>2</sub> 광촉매에 의해서만도 약 15 ppm 내외의 농약 분해가 가능할 것으로 산출되었으며 산화력이 강력한 오존, UV 및 TiO<sub>2</sub> 광촉매가 복합적으로 작용할 때 과실무름병 발생 억제뿐만 아니라 잔류농약 역시 안전한 수준이하로 분해할 수 있을 것으로 기대되어 병발생 억제뿐만 아니라 식품의 안정성을 동시에 증대시킬 수 있는 새로운 복합처리 기술로 기대되었다.

8) TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합처리 장치의 시제품을 이용하여 현장 적용 실험을 실시한 결과, 무처리에 비하여 처리시기에 따라 약 60~87% 정도의 방제효과를 보였으며 저온 저장 직전에 처리하는 것이 가장 우수한 방제효과를 보였다. 농약 침지에 비하여 TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합처리가 참다래 과실무름병 발생 억제 효과가 높은 것으로 나타났으며 특히 저장 후기로 갈수록 농약처리에 비하여 TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합처리에서 약 30% 이상의 높은 방제효과를 보여 약제 방제를 대신할 새로운 방제 방법으로 개발 가능성이 매우 높다고 판단되었다.

9) 본 연구 결과 환경친화적인 무공해 TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합처리에 의한 참다래 과실무름병 방제와 잔류농약 분해 및 이를 위한 처리 장치의 실용화가 가능할 것으로 기대되었다.

## 2. 활용에 대한 건의

가. 농약사용량 절감을 위한 참다래 저장병 화학적 방제 기술

참다래 저장병에 대한 농약절감형 화학적 방제체계는 저공해 고품질 참다래를 생산할 수 있는 저장병에 대한 환경친화형 예방법으로 즉시 농가에 보급·활용할 수 있다.

우리나라 참다래 재배면적이 약 1,200 ha, 생산량이 약 15,000톤인 점을 감안하면 저장병에 의한 과실 부패율을 단 1%만 줄인다고 하더라도 연간 2억원 정도의 경제적 효과가 발생할 수 있으며 수확 후에 저장성 향상을 위하여 사용되는 과도한 농약사용비용을 현저하게 줄일 수 있어 참다래 생산농가 및 대형 저온저장시설 영농조합의 수익성을 획기적으로 개선할 수 있을 것으로 기대된다. 또한 소비자의 인식의 변화에 따라 저공해, 저농약 농산물의 고가격 및 선호 경향은 날로 증가하고 있어 고품질의 상품성에 환경친화성 및 식품안정성의 기능을 함께 지닌 참다래의 소비 촉진은 참다래 재배 농가 소득 증대에 크게 기여할 것이다.

따라서 이러한 혜택이 실질적으로 농민에게 돌아가도록 하기 위하여 연구결과의 즉각적인 현장 적용을 실시할 예정이다. 현장에서 중점적으로 홍보 교육할 부분은 포장에서 재배중인 참다래 저장병을 효과적으로 예방할 수 있는 예방약제 소개와 농약살포 적정횟수 및 방제적기이며 이를 통해 실질적인 농약사용량을 절감시킬 수 있는 화학적 방제체계가 확립될 수 있도록 하겠다. 참다래 저장병에 대한 농약절감형 화학적 방제체계의 농가 보급을 위하여 방제체계에 대한 대 농민용 교육자료 제작 및 배포를 추진하고 농진청과 같은 농림기술관련 서버 홈페이지에 자료 게재 및 공개를 통하여 온라인 상으로 누구든지 활용 가능한 체계를 구축하여 연구개발 결과의 신속한 현장 적용이 가능하도록 관련 기관과 협의하여 추진하겠다. 또한 참다래 저장병에 대해 선발된 유효약제들은 포장에서 조사된 적정 살포시기 및 살포횟수 자료를 이용하여 각 병원균에 의해 발생하는 저장병 약제로 사용할 수 있도록 참다래 저장병 약제 품목고시 자료로 활용하여 조속한 시일 내에 선발 약제들의 품목고시를 추진하며 이러한 약제들은 재배 현장에서 농민들이 빠른 시일 내에 사용할 수 있도록 하겠다.

#### 나. 천연물 농약을 이용한 환경친화형 참다래 저장병 방제기술

현재 저장중인 참다래에 저장병 방제를 위해 직접 사용할 수 있는 뚜렷한 방제 약제가 확립되어 있지 않은 상황에서, 농약을 대신할 수 있는 천연물 항균물질로 개발 및 상용화를 실시할 예정이다. 이를 위하여 아직 기

술적으로 미흡한 제형화 및 안정성 검토를 기술 이전 희망 업체와 협의하여 보완 실시하고 상용화 준비를 완료하도록 할 예정이다. 하지만 참다래 저장병 방제용 천연물농약으로 개발된 제제들은 현행법상 생물농약으로 등록할 수 있는 법적 근거가 마련되어 있지 않기 때문에 일단 비료로 등록하여 상용화를 추진한다. 기존의 생물농약 또는 기능성 생물 소재 개발 벤처 기업이나 농약회사와 협의하여 이를 추진할 계획이다. 한편 천연물 향균물질 원료의 안정적인 확보 및 공급 확대를 위하여 현재 *Eucalyptus* 수목의 해외 조립 사업을 진행 중인 국내 제지업체들과 협의하여 보다 구체적인 사업화를 위한 협의를 실시할 예정이다. 점진적으로는 본 연구를 통하여 개발된 향균활성물질은 생물농약이나 새로운 살균제 개발을 위한 leading compound로 이용 가능하도록 지속적인 연구를 진행할 예정이다.

#### 다. 무공해적 참다래 저장병 물리적 방제기술

본 연구에서 개발한  $\text{TiO}_2$  광촉매와 오존 복합처리 기술 및 장치는 곧바로 현장 적용이 가능한 상태이므로 본 기술 이전을 희망하는 업체를 선정하여 상용화에 착수하겠다. 이를 위해 현재 관련 장치에 대한 특허 출원 준비가 완료된 상태이므로 빠른 시일 내에 특허 출원을 신청하여 지적 재산에 대한 권리 확보 및 보호 장치를 마련하고, 이를 바탕으로 산업적 활용을 추진할 예정이다. 본 개발 기술은 병방제 뿐만 아니라 청정농산물 처리를 위한 복합기술로 진일보할 수 있어 이용 범위 및 경제적 가치 창출 잠재력이 매우 높은 기술이며 국내 관련 신규 산업을 유발할 수 있을 것으로 기대된다. 따라서 기타 저장성 과채류에 대한 적용 범위 확대를 실시할 예정이다. 또한 수처리에서 살균 공정이 필요한 농산물 가공공정 (예: 깎마늘 세척)이나 재배 공정 (순환시스템을 이용한 콩나물재배)에 적용여부를 검증하여 살균효과와 정수효과가 우수한 농산물 가공 수처리 시스템으로 확대 개발을 시도한다.

참다래 재배와 직접적으로 관련해서는 참다래 저장병에 대한 환경친화형 종합적 방제 모델로 적극 홍보 활용하여 참다래의 재배, 저장, 유통 중에 전천후로 사용할 수 있는 참다래 저장병 방제체계로 실용화를 추진한다.

## Summary

Kiwifruit (Chinese gooseberry, *Actinidia deliciosa* (A. Chev.) C. F. Liang et A. R. Ferguson) has been grown in southern regions of Korea since the early 1980s. Kiwifruit is currently cultivated on approximately 1,200 ha in Korea and great amount of the fruits has been imported from foreign countries due to increasing demand. Kiwifruit can be maintained more than 4 months when stored at  $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ . However, fruit rot diseases caused a severe loss of kiwifruits during storage, transportation, marketing and consumption after harvest. More than 7 fungi were reported to be associated with postharvest fruit rots of kiwifruit. Among the fungi, *Botryosphaeria* sp. and *Phomopsis* sp. were reported to be the major causal organisms of postharvest fruit rots of kiwifruit. Fruit rots of kiwifruit caused by *Phomopsis* sp. was named as stem-end rot by Beraha. Sommer and Beraha reported its teleomorph state as *Diaporthe actinidiae*. In Korea, Park et al. reported *Phomopsis* sp. as one of the major fruit rot pathogens of kiwifruit. Ripened rot of kiwifruit caused by *Botryosphaeria dothidea* were also reported in Korea. Fungal pathogens isolated from fruit rots were identified as *Botryosphaeria dothidea*, *Diaporthe actinidiae*, *Botrytis* sp., *Collectotrichum* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., and *Pestalotiopsis* sp.. Among them, *Botryosphaeria dothidea* and *Diaporthe actinidiae* were mainly detected at the rates of 83.3% and 11.9%, respectively. Whereas *Diaporthe actinidiae* was reported to be dominant fungal pathogen rather than *Botryosphaeria dothidea* in New Zealand, *Botryosphaeria dothidea* was found to be dominant pathogen in Korea. The fungal pathogen infects kiwifruits during the whole growing season, and heavily during rainy season (July and August) of Korea. Intensive application of fungicides just before or after rainy season can effectively control the fungal infection. Current control methods against these fungi include preharvest sprays with fungicides. Fungicides have been effective in controlling postharvest fungal infection. However, fungicides are under review in many countries due to their possible

health risks. As the number of approved fungicides is reduced, there is increased need for technologies that can safely and effectively inhibit fungal growth, reduce postharvest losses and extend market quality. Postharvest dips in fungicides are also effective, but there are persistent residues. Prolonged and intensive use of fungicides may also create a selection pressure for fungicide-resistant pathogens. Curing during prestorage period is commercially applied to control the pathogens, but success is sometimes variable, possibly due to inadequate control of factors, such as relative humidity during the curing process. Experimental control methods such as hot water dips, application of natural coatings and biological control have been attempted, but all these methods have their shortcomings.

Ozone is a strong oxidant and has been used to disinfest drink water since 1893. The interactions between gaseous ozone and plant pathogens have been extensively studied. Ozone treatment has been attempted to control postharvest fungal pathogens of several fruits.

The photocatalytic activity of  $\text{TiO}_2$  for the degradation of organic water pollution is a well-established phenomenon. The reactive oxygen species generated by the  $\text{TiO}_2$  photocatalytic reactions under UV irradiation cause various damages to living organisms. Since Matsunaga *et al.* reported the microbiocidal effect of  $\text{TiO}_2$  photocatalytic reactions, research work on  $\text{TiO}_2$  photocatalytic killing has been intensively conducted on a wide spectrum of organisms including viruses, bacteria, fungi, algae, and cancer cells. In  $\text{TiO}_2$ -photocatalytic oxidation processes oxygen is widely used as an additional oxidizing agent. The disadvantage is the slow electron transfer from  $\text{TiO}_2$  to  $\text{O}_2$ . Ozone should be a potential oxidant for photocatalytic oxidation processes. Until now, few studies on  $\text{TiO}_2$  photocatalytic ozonation (the combination of  $\text{TiO}_2$  and  $\text{O}_3$ ) have been attempted to degrade organic compounds in water.

There is interest in the use of natural products as safer and more acceptable alternatives to current fungicides. Antimicrobial substances originated from plant have been extensively studied for their use as an agrochemical with highly selective activity against some plant

pathogens or as leading molecules for the synthesis of new chemical fungicides. Eucalyptus trees have been known to produce several natural substances having antagonistic activities against several pathogenic microorganisms.

In this research proposal, development of eco-friendly control techniques for integrated pest management of postharvest diseases on kiwifruit was attempted to reduce the fungal spoilage and improve quality control of kiwifruits during long-term storage in cold room. For this purpose, three main strategies were applied as follows ; 1) establishment of optimum fungicide application programs, 2) development of natural antifungal compounds extracted from Eucalyptus trees, and 3) development of TiO<sub>2</sub> photocatalytic ozonation techniques.

#### 1. Establishment of optimum fungicide application programs,

To date, Benomyl WP and Thiophanate WP are the only registered fungicides in Korea for the control of the fruit diseases of kiwifruit. Screening of effective fungicides which can substitute for Benomyl WP and Thiophanate WP and determination of their optimal application program were attempted in this research.

Among the several candidate fungicides tested, Viozolin WP, Flusilazole WP, Tebuconazole WP and Iprodione WP effectively inhibited the mycelial growths of the causal organisms on laboratory conditions. Flusilazole WP, Tebuconazole WP and Iprodione WP were more effective than Thiophanate WP and as effective as Benomyl WP when sprayed four times at 10-day-intervals from June 16. The control efficacies of the fungicides varied depending upon the spray schedules. Two-year field performance demonstrated that four times application of the fungicides at the middle of June was most effective in controlling postharvest decay on kiwifruits. Alternative use of these fungicides is required to avoid emergence of fungicide-resistant pathogens.

#### 2. Development of natural antifungal compounds extracted from Eucalyptus trees

This research investigated the antimicrobial properties of compounds isolated from cold-tolerant eucalyptus trees *Eucalyptus darlympleana* against the fungal pathogens causing kiwifruit soft rot decay. Five-year-old trees of *Eucalyptus darlympleana* were used for the investigation. The tree was proved to be highly cold tolerant and successfully grown under the low temperature of winter seasons in Korea.

Crude methanol extract of *Eucalyptus darlympleana* inhibited aerial mycelium growth of several plant pathogenic fungi including kiwifruit soft rot pathogens. For chemical identification of antifungal substances, EtOAc soluble fraction and Bu-OH soluble fraction of the leaf extract was investigated. Two phenolic compound (3,4-dihydroxybenzoic acid and gallic acid) and three flavonoid compounds (quercetin, Quercetin-3-O-rhamnoside (quercitrin), Quercetin-3-O-glucoside (isoquercitrin)) were isolated and identified from the two fractions of *Eucalyptus darlympleana* leaf extract.

Among the five compounds, gallic acid significantly inhibited aerial mycelium growth of *Botrytis cinerea* over 1,000 mg/ℓ concentrations. No inhibitory effect of gallic acid on mycelium growth was found in *Botryosphaeria dothidea* and *Diaporthe actinidiae*. Gallic acid has been extracted from several plants and found to have strong antioxidant activity. Many researches on gallic acid currently concentrate antioxidant properties against low-density lipoprotein oxidation in animal cells. The compound was also found to have strong antimicrobial activity against pathogenic bacteria such as *Staphylococcus aureus*. Little information is available on antifungal activity of the compound so far. This study demonstrated that gallic acid has antifungal activity, but minimum inhibitory concentration (MIC) against fungal growth is much higher than MIC against bacterial growth. Botrytis rot caused by the fungus, *Botrytis cinerea* is one of the most important postharvest diseases of kiwifruit. Gallic acid also inhibited spore germination in a similar manner with aerial mycelium growth. Spore germination was severely inhibited at 5,000 mg/ℓ in all the tested pathogens, and completely in *Botrytis cinerea*. Since *Botrytis cinerea* is major fungal

pathogen causing serious economic losses in kiwifruit industry and was found to be sensitive to the compound, gallic acid as a natural product can be safer and more acceptable alternative to current fungicides controlling stem-end rot of kiwifruit. In addition to direct spoilage of diseased tissue, fruit infected by the fungus produces small amounts of ethylene in cool storage. Ethylene released by infected fruit could in principle cause further losses by softening adjacent sound fruit. It is speculated that gallic acid as a strong antioxidant agent can scavenge the oxidants and subsequently prevent ethylene production in infected fruit. This can delay fruit softening and reduced soft rot decay. Systemic investigation on the speculation is further needed. This is the first report on the isolation of gallic acid from *Eucalyptus darylpleana*, which has antifungal activity against mycelium growth and spore germination of *Botrytis cinerea*.

### 3. Development of TiO<sub>2</sub> photocatalytic ozonation techniques

In this research, TiO<sub>2</sub> photocatalytic ozonation was attempted to disinfect the fungal pathogens causing postharvest spoilage of kiwifruit and to decompose residues of the fungicides sprayed at preharvest or postharvest for the fungal spoilage control.

Device for TiO<sub>2</sub> photocatalytic ozonation was invented for the treatment of kiwifruits to prevent fungal spoilage and degrade residual fungicide.

Degradation of Methylene Blue by oxidative reactions of ozonation and/or TiO<sub>2</sub> photocatalysis was examined to find out their efficacies of organic matter decomposition. The degradation rate of TiO<sub>2</sub> photocatalytic ozonation (TiO<sub>2</sub>/O<sub>3</sub>) is about 3 times higher than the degradation by ozonation (O<sub>3</sub>) under same condition without TiO<sub>2</sub> and 12 times higher compared to elimination by TiO<sub>2</sub> treatment. This result showed that both processes TiO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O/O<sub>3</sub> occurred during the combined photocatalytic ozonation that more rapidly eliminated the dye than individual process. The degradation rate of TiO<sub>2</sub>/O<sub>3</sub> process is about 2.3 times higher than the sum of the degradation rate of TiO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>



and  $\text{H}_2\text{O}/\text{O}_3$ . The synergistic degradation implies that there were additional reactions leading to the faster decomposition of the dye. The higher oxidation rate might be due to a photocatalytic-induced decay of ozone, initiated by the combination of  $\text{TiO}_2$  and UV illumination.

Ozonation was more effective than  $\text{TiO}_2$  photocatalysis in germicidal activity of the fungal spore. Germination of the spores was more apparently inhibited by  $\text{TiO}_2$  photocatalytic ozonation than ozonation ( $\text{O}_3$ ) or  $\text{TiO}_2$  photocatalytic oxidation alone.  $\text{TiO}_2$  photocatalytic ozonation synergistically inhibited conidial germination as found in Methylene Blue degradation. About 95% of conidia were successfully disinfected by the exposure to  $\text{TiO}_2$  photocatalytic ozonation process within 5 min.

Fungicide flusilazole was effectively decomposed by  $\text{TiO}_2$  photocatalytic ozonation. The concentration curve was approximately linear. The decomposition rate determined by regression was calculated as  $1.71 \mu\text{M}/\text{min}$  ( $P=0.001$ ). Approximately 70% of the flusilazole (initial concentration of  $100 \text{ mg}/\ell$ ) was decomposed in the photocatalytic ozonation reactor within 120 min.

$\text{TiO}_2$  photocatalytic ozonation successfully controlled fungal spoilage of kiwifruits and showed higher efficacy of disease control than fungicide (flusilazole) treatment. Examination of whole storage period showed that  $\text{TiO}_2$  photocatalytic ozonation most successfully prevented fungal spoilage when kiwifruits were treated with the device just after harvest. This result clearly demonstrates that  $\text{TiO}_2$  photocatalytic ozonation can successfully retard subsequent decay during cold storage and distribution in markets.

The efficient control of fungal spoilage and removal of residual fungicides indicate that  $\text{TiO}_2$  photocatalytic ozonation is an very attractive method for postharvest disease control of kiwifruits with the reported benefits of alternative to chemical control methods.

Now, postharvest decay of kiwifruit is definitely controlled by IMP programs including the new informations and technologies induced from this research project.

# Contents

Chapter 1. Introduction .....	23
Section 1. Research Purpose .....	23
Section 2. Research Necessity .....	24
Section 3. Research Scope .....	28
Chapter 2. Research background and current status .....	29
Chapter 3. Results and Discussion .....	32
Section 1. Establishment of optimum fungicide application programs .....	32
Section 2. Development of natural antifungal compounds extracted from Eucalyptus trees .....	52
Section 3. Development of TiO <sub>2</sub> photocatalytic ozonation techniques .....	95
Chapter 4. Achievement and Devotion .....	132
Chapter 5. Application plans of research results .....	137
Chapter 6. Novel information collected .....	139
Chapter 7. References .....	141

## 목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요 .....	23
제 1 절 연구개발의 목적 .....	23
제 2 절 연구개발의 필요성 .....	24
제 3 절 연구개발의 범위 .....	28
제 2 장 국내외 기술개발 현황 .....	29
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과 .....	32
제 1 절 농약사용량 절감을 위한 참다래 저장병 화학적 방제체계 확립 .....	32
1. 참다래 저장병 화학적 방제체계 확립을 위한 저장병 예방약제 선발 및 살포 적기 구명 .....	32
1) 참다래 저장병 예방약제 실내선발 .....	32
2) 참다래 저장병 예방약제 약효 포장검정 .....	33
3) 참다래 저장병 예방약제 살포적기 구명 .....	36
2. 참다래 저장병 예방약제 적정 살포횟수 구명 .....	42
3. 참다래 저장병 예방약제 최적 살포 프로그램 정립 및 포장 검증 .....	47
4. 농약사용량 절감을 위한 참다래 저장병 화학적 방제체계 결과 요약 .....	51
제 2 절 천연항균성 물질을 이용한 환경친화형 참다래 저장병 방제기술 개발 .....	52
1. 참다래 저장병 천연물농약 개발을 위한 <i>Eucalyptus</i> 수목의 엽육 추출액 대량 회수 최적조건 구명 .....	52
1) <i>Eucalyptus</i> 수목의 엽육 추출액의 참다래 저장병균에 대한 항균활성 검정 .....	52
2) <i>Eucalyptus</i> 수목의 엽육 추출 방법에 따른 항균 효과 검증 .....	55
3) <i>Eucalyptus</i> 부위별, 시기별 추출액의 참다래 과실무름병원균에 대한 항균 활성 검정 .....	57
2. <i>Eucalyptus</i> 엽육 추출액 대량회수 최적조건 구명 .....	59
1) 항균물질 추출 및 분리에 적합한 최적 용매 및 전개조건 구명 .....	59
2) <i>Eucalyptus darlympleana</i> 엽육 추출액의 chloroform과 butanol fraction 혼합물에 대한 참다래 저장병원균의 균사생장억제 효과 조사 .....	62
3) 참다래 저장병원균에 대한 <i>Eucalyptus darlympleana</i> 추출액 butanol fraction의 항균 활성 검증 .....	64

3. <i>Eucalyptus darlympleana</i> 엽육 추출액에서 항균원인물질 화학적 구조 동정 및 항균활성 검증 .....	66
1) <i>Eucalyptus darlympleana</i> 엽육 추출액에서 항균원인물질 화학적 구조동정 .....	66
2) <i>Eucalyptus darlympleana</i> 엽육 추출액에서 분리한 항균원인물질의 참다래 과실무름병균 억제효과 검증 .....	85
3) 참다래 저장병원균에 대한 <i>Eucalyptus darlympleana</i> 추출액 butanol fraction의 항균 활성 검증 .....	89
4. 천연항균성 물질을 이용한 환경친화형 참다래 저장병 방제기술 개발연구 결과 요약 .....	93
제 3 절 무공해적 참다래 저장병 물리적 방제기술 개발 .....	95
1. TiO <sub>2</sub> 광촉매를 이용한 참다래 저장병 방제 효과 검증 및 최적 처리조건 확립 .....	95
1) TiO <sub>2</sub> 광촉매 처리수를 이용한 살균시스템 제작 .....	95
2) TiO <sub>2</sub> 광촉매 최적 처리조건 확립 .....	99
3) 참다래 저장병균에 대한 TiO <sub>2</sub> 광촉매의 살균효과 .....	111
2. TiO <sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합 처리를 위한 시제품 제작 및 참다래 저장병 방제 효과 .....	116
1) TiO <sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합 처리 시스템 설계 및 시제품 제작 .....	116
2) 참다래 과실무름병균에 대한 TiO <sub>2</sub> 광촉매의 살균효과 .....	119
3) TiO <sub>2</sub> 광촉매 처리에 의한 살균제 flusilazole 분해효과 조사 .....	123
3. 참다래 과실무름병균에 대한 TiO <sub>2</sub> 광촉매와 오존복합처리 장치 시제품을 이용한 현장적용 실험 .....	127
4. 무공해적 참다래 저장병 물리적 방제기술 개발 연구 결과 요약 .....	130
제 4 장 목표 달성도와 관련분야에의 기여도 .....	132
1. 연구개발목표 달성도 .....	132
2. 관련 분야에의 기여도 .....	133
제 5 장 연구개발결과의 활용계획 .....	137
제 6 장. 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	139
제 7 장 참고문헌 .....	141

## 제 1 장 연구개발과제의 개요

### 제 1 절 연구개발의 목적

우리나라 참다래 재배면적은 1,200 ha 정도이며 생산량은 약 15,000 M/T이지만 연간 소비량은 20,000 M/T으로 5,000 M/T 정도는 수입에 의존하고 있다. 전남지역 200여 참다래 재배자들을 대상으로 한 설문조사 결과, 재배상 가장 애로점으로 병방제(33%)를 지적하였으며 28.1%의 재배자들이 대표적인 저장병인 과실무름병에 의한 피해를 경험한 적이 있다고 조사되어 저장병이 껌양병과 더불어 참다래에 가장 많은 피해를 주는 병해인 것으로 밝혀졌다.

그러나 국내에서 참다래 저장 중 발생하는 저장병에 의한 과실부패 경감을 위하여 실시하는 방법은 현재 크게 경종적 방법과 재배기간 중에 약제 방제에 의하여 이루어지고 있으며 저장 중에는 후숙 온도가 15℃ 이상 유지되지 않도록 하는 방법이나 후숙촉진제 처리에 의한 후숙소요기간 축소 등을 통한 병회피 방법이 주를 이루고 있을 뿐 저장 중에 직접적인 병 방제기술이 개발되어 있지 않아 일단 저장 중에 발병이 되면 연속적인 감염을 일으키기 때문에 그 피해가 매우 심각한 실정이다.

따라서 저장 중에 발생하는 참다래 과실무름병을 방제하기 위한 방제 방법의 개발이 시급하며, 농약사용으로 야기될 수 있는 환경오염문제와 인체 위해성 측면을 고려한 환경친화적인 방제 방법의 개발이 절실하게 요청된다고 하겠다. 이를 위하여 참다래 저장병에 대한 종합적인 방제체계 확립을 위하여 포장 상태에서의 감염을 최소화할 수 있는 화학적 방제체계를 확립하고, 저장 중에 발생하는 과실무름병 방제를 위한 물리적 방제 기술과 천연항균물질을 이용한 방제 기술 개발을 시도하고자 본 연구를 실시하였다.

## 제 2 절 연구개발의 필요성

### 1. 기술적 측면

- 참다래는 표피가 얇고 부드럽고 장기간의 저장과 유통과정을 거쳐 후숙을 시켜 먹는 특성 때문에 참다래 수확 후 저장, 유통 및 소비 과정에서 다양하게 과실을 부패시키는 저장병이 발생하여 큰 피해를 입고 있지만 저장병에 의한 피해실태는 물론 참다래 저장병에 관한 종합적인 방제 연구도 전무한 실정이다. 또한 뉴우질랜드 등 국외에서 수입되는 참다래도 장시간 동안의 운송 과정을 거쳐 국내에서 유통되는 동안에 저장병에 의해 큰 피해를 입고 있지만 국내로 수입된 참다래 과실에 직접 적용할 수 있는 적절한 저장병 방제기술이 개발되어 있지 않다.
- 참다래에 저장병을 일으키는 대부분의 식물병원균은 포장에서 감염되어 저온 저장중에 잠복해 있다가 유통기간중에 급격하게 발병하는 특성을 지니고 있으므로 재배기간동안에 예방약제 살포에 의한 병방제 관리가 우선되어야 한다. 그러나 참다래 재배자들은 저장병에 의한 직접적인 수량감소가 적기 때문에 병방제를 소홀히 하고 있으며, 포장에서 농약 사용량을 절감시킬 수 있는 환경친화형 저장병 약제방제 프로그램 또한 개발되어 있지 않다.
- 참다래 과실에 잠복감염중인 저장병원균을 방제하기 위하여 유기합성 농약을 저장, 운송 및 유통중인 참다래 과실에 사용할 경우 인체에 유독한 잔류농약이 문제가 된다. 따라서 유기합성 농약 사용에 따른 부작용이 없고 방제시기에 구애를 받지 않고 수확 후 과실에도 적용 가능한 선택적, 저공해적인 천연물 농약을 이용한 방제는 유기합성 농약을 이용하는 화학적 방제의 유력한 대안이 될 수 있다. 따라서 유용식물자원에서 추출한 천연 항균활성물질을 천연물 농약으로 개발하여 이용하는 환경친화형 방제기술 개발이 필요하다.
- 오존처리나 티타늄다이옥사이드( $TiO_2$ ) 광산화 촉매 처리 방법과 같이 강력한 산화력을 유발시켜 살균작용을 하는 물리적 방제기술도 참다래 수확후 저장병 방제를 위하여 화학적 방제 대신에 적용할 수 있는 또

다른 대안이 될 수 있다. 자외선 영역에서  $TiO_2$ 를 광촉매로 이용하는 방법은 실제로 폐수처리에서 최근 주목받는 기술 중의 하나이며 국내에서도 양액재배에서 폐양액의 살균 및 재활용을 위한 연구가 시도된 바가 있다. 그러나 각종 농산물의 저장병원균의 제거를 위해서는 아직 시도된 바가 없고 또한 과채류 표면에 오염된 잔류농약이나 기타 유해물질까지도 분해 무독화시킬 수 있어 저장 과실의 병방제 뿐만 아니라 청정 농산물 처리기술로도 이용 가능한 장점이 있으므로  $TiO_2$  광산화 촉매 방법과 같은 물리적 방제기술 개발에 관한 연구가 요청된다.

## 2. 경제 · 산업적 측면

- 참다래에 발생하는 저장병은 수확 후 저장, 유통 및 소비 과정에서 다양하게 발생하여 과실을 부패시키고 품질을 저하시키거나 상품성을 잃게 함으로써 참다래 생산농가와 유통업자의 수익성을 낮추고 소비자들에게도 손실을 주고 있으므로 남해안 일대에서 농가 고소득 작목으로 자리잡고 있는 참다래의 안정적인 생산 및 유통 기반을 확보시켜 주고 참다래 생산자와 유통업자 및 소비자들에게 주고 있는 경제적 손실을 최소화하기 위하여 저장병의 방제가 절실하다.
- 국내에서는 남해안 일대에서 참다래 재배면적이 약 1,200ha에 이르고 있고 연간 15,000톤 이상 생산되고 있지만 생산량 부족으로 매년 상당량의 참다래를 국외에서 수입하고 있으므로 참다래 과실에 발생하는 저장병에 의한 피해를 최소화시킬 경우 간접적인 참다래 증산 효과를 꾀할 수 있어 참다래 수입을 최소화시킴으로써 무역수지 개선에 기여할 것이다.
- 우리나라에서 생산되는 참다래는 품질이 우수할 뿐만 아니라 참다래 주요 수출국인 뉴질랜드와 칠레 등 남반구의 생산국과는 수확시기가 겹치지 않아 WTO 체제하에서도 국제경쟁력을 갖춘 유망한 작목으로 평가되고 있다. 소비자의 인식의 변화에 따라 화학적인 처리를 하지 않은 저공해, 저농약 농산물에 대한 선호 경향은 날로 증가하고 있어 고품질의 상품성에 환경친화성 및 식품안정성의 기능을 함께 지닌 참다래 생

산기술 개발을 통한 기술적 우위 확보는 국가경쟁력을 제고시키고 수출용 농산물에서 종종 문제가 되고 있는 잔류농약 문제가 개선되어 농산물의 대외 수출에도 일익을 담당할 것이므로 참다래 산업을 수출산업으로 육성하기 위하여 환경친화형 참다래 저장병 방제기술 개발이 시급하다.

### 3. 사회·문화적 측면

- 참다래는 독특한 맛과 향을 지닌 과실로서 주로 생과일로 이용되지만 주스와 같은 가공식품으로도 개발되어 이용되고 있으며, 최근 비타민 C와 미네랄 성분이 다른 과실에 비해 월등히 많은 것으로 밝혀져 건강식품으로 각광을 받으면서 대중적인 과실로 정착한 참다래의 맛과 향을 지속적으로 유지시킴으로써 국민들에게 우리 농산물에 대한 신뢰를 잃지 않도록 하기 위하여 참다래 저장병의 방제가 필요하다.
- 유기합성 농약의 사용을 최소화할 수 있는 화학적 방제 프로그램과 환경친화형 생물적 방제기술 및 무공해성 물리적 방제기술을 개발함으로써 불필요한 약제 살포나 과다 약제 살포를 억제하여 참다래 재배자의 보건 증진에 기여하고, 농산물의 잔류농약 문제를 경감시켜 국민의 안전 식품 요구 증대에 따른 저공해성 안전식품 생산으로 국민 건강 증진에 기여하고, 환경친화적인 농산물 및 식품 저장 유통 관리가 가능토록 하기 위하여 환경친화형 참다래 저장병 종합적 방제기술의 실용화가 절실하게 요구되고 있다.
- 한편 농특세로 지원되는 대형 저장시설의 효율적인 관리면에서 저장부패병원균의 발생을 감소시킬 수 있는 저장시설의 적정 환경조건을 설정함으로써 필요 이하의 저온 유지에 따른 과다한 관리비 지출을 막아 효율적인 저장시설의 운영을 가능케 할 수 있으며 이럴 경우 막대한 국고 지원이 투입된 저장시설의 효율적이며 지속적인 운영이 가능하게 되어 농특세의 국고 지원에 대한 재배 농민들의 긍정적인 사고 전환을 유도할 수 있으므로 저장시설내 과실에 대한 환경친화형 저장병 종합적 방제기술의 개발 및 실용화가 필요하다.



- 또한 고품질, 환경친화적, 저농약 참다래의 저장성 증대와 소비증대에 따른 재배 농가의 생산 의욕 고취는 재배 농가에게 다양한 작목 선택의 폭을 넓혀 주고 의욕적인 영농 활동을 가능케 하여 안정적인 지역사회 유지를 위한 바탕을 제공할 수 있을 것이다.

### 제 3 절 연구개발의 범위

#### < 연구개발 목표 >

- 농약사용량 절감을 위한 참다래 저장병 화학적 방제체계 확립
  - 천연물 농약을 이용한 환경친화형 참다래 저장병 방제기술 개발
  - 무공해적 참다래 저장병 물리적 방제기술 개발
- ⇒ 『환경친화형 참다래 저장병 종합적 방제기술 개발 및 실용화』

#### < 연구개발 내용 >

- 농약사용량 절감을 위한 참다래 저장병 화학적 방제체계 확립
  - 참다래 저장병 예방약제 선발
  - 참다래 저장병 예방약제 약효 검정
  - 참다래 저장병 예방약제 살포적기 구명
  - 참다래 저장병 예방약제 적정 살포횟수 구명
  - 참다래 저장병 예방약제 최적 살포 프로그램 정립
  - 참다래 저장병 예방약제 최적 살포 프로그램 포장 검증
- 천연물 농약을 이용한 환경친화형 참다래 저장병 방제기술 개발
  - *Eucalyptus* 엽육 추출액의 참다래 저장병균에 대한 항균활성검정
  - *Eucalyptus* 엽육 추출액 대량회수 최적조건 구명
  - 참다래 저장병 방제를 위한 *Eucalyptus* 엽육 추출액 이용 천연물 농약 개발
- 무공해적 참다래 저장병 물리적 방제기술 개발
  - 순환식 연속  $\text{TiO}_2$  광촉매 처리시스템 제작
  - 참다래 저장병균에 대한  $\text{TiO}_2$  광촉매의 살균효과 검증
  - $\text{TiO}_2$  광촉매 최적 처리조건 확립
  - $\text{TiO}_2$  광촉매 처리시스템 설계 및 시제품제작
  - 참다래 상품성 및 안정성에 미치는  $\text{TiO}_2$  광촉매 처리 효과 검증 및 복합처리기술 개발
  - 참다래 저장병 물리적 처리방법 및 시스템의 실용화 현장 검증

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

- 전남지역 200여 참다래 재배자들을 대상으로 한 설문조사 결과 28.1%의 재배자들이 대표적인 저장병인 과실무름병에 의한 피해를 경험한 적이 있다고 조사되어 저장병이 궤양병과 더불어 참다래에 가장 많은 피해를 주는 병해인 것으로 밝혀졌다. 그러나 국내에서 참다래 저장 중 발생하는 저장병에 의한 과실부패 경감을 위하여 실시하는 방법은 현재 크게 경종적 방법과 재배기간 중에 약제 방제에 의하여 이루어지고 있으며 저장 중에는 후숙 온도가 15℃ 이상 유지되지 않도록 하는 방법이나 후숙촉진제 처리에 의한 후숙소요기간 축소 등을 통한 병회피 방법이 주를 이루고 있을 뿐 저장 중에 직접적인 병 방제기술이 개발되어 있지 않아 일단 저장 중에 발병이 되면 연속적인 감염을 일으키기 때문에 그 피해가 매우 심각한 실정이다.
  
- 참다래 과실에 발생하는 저장병해로 뉴우질랜드와 미국에서는 *Botrytis rot*, *surface mold*(*Alternaria rot*), *Dothiorella rot*, *Phoma rot*, *Phomopsis rot*, *Sclerotinia rot*, *Mucor rot*, *blue mold*, *buckshot rot* 등 여러 가지 병해가 발생한다고 보고되었으나, 국내에서는 본 연구팀이 참다래 저장병에 관한 기초 연구와 저장병 예방에 관한 대농민 상담을 처음 시작하여 *Phomopsis* sp.와 *Botryosphaeria* sp.에 의한 과실무름병의 발생현황을 보고하였다. 한편 *Phomopsis* sp.에 의한 참다래 과실무름병의 발생 생태 및 약제방제에 관한 연구가 국내에서 최근 시행되었으나, 추후 본 연구팀의 검토결과 *Phomopsis* sp.에 의해 참다래 과육에 발생하는 과실무름병의 병징으로 제시된 사진이 *Botryosphaeria* sp.에 의한 병징인 것으로 확인되어 *Phomopsis* sp.에 의한 참다래 과실무름병 약제방제 연구 결과에 대한 재검토가 요구된다.
  
- 과실무름병을 비롯하여 참다래에 저장병을 일으키는 병원균은 참다래의 생육 중에 포장에서 감염을 일으키지만, 보통 수확후 저장, 유통 및 소비 과정에서 다양하게 저장병을 일으키기 때문에 참다래 재배자들이 재배기간동안에 포장에서 저장병의 방제를 소홀히 하는 경향이 있고 국내에서 등록되어 있는 참다래 저장병 예방약제는 베노밀 수화제 (벤레이트)와 지오판 수화제 (툽신엠)뿐이어서 저장병에 의한 피해를 효과적으로

로 예방하지 못하고 있는 실정이다. 이와 같은 상황에서 예방적 차원의 약제 방제를 위한 기초적인 조사가 이루어져야함을 물론이고 동시에 저장 중인 참다래에 직접적으로 실시할 수 있는 치료적 차원의 방제기술의 개발이 매우 시급한 실정이다.

- 일반적으로 행하여지는 치료(curing)방법으로는 저장 직전에 참다래를 저장 조건과는 전혀 다른 온도나 습도 조건에서 1~2일 정도 처리하는 것으로서 참다래를 저온 저장 전에 48시간동안 10~20℃ 방치할 경우 과실 품질에는 거의 영향을 주지 않으면서도 병원성 곰팡이의 감염을 현격하게 줄일 수 있다는 연구 결과가 뉴질랜드 연구팀에 의해 최근에 규명되었다. 하지만 이러한 방법으로도 병원균의 침입을 완전히 차단할 수 없을 뿐만 아니라 치료과정동안 상대습도와 같은 부적절한 조건 때문에 성공 가능성이 상황에 따라 좌우되는 단점이 있다.
- 실험적 방법으로는 온수침탕(hot water dips), 천연피막제(natural coating)와 생물학적 방제(biological control) 방법이 시도되었지만 각기 단점을 지니고 있는 것으로 나타났다. 온수침탕의 경우 방제는 가능할 지라도 종종 과실 품질에 영향을 줄 수 있으며, 천연 폴리머인 키토산으로 피막처리를 할 경우 중량감소와 호흡을 억제시켜 과실 수명을 연장시키는 효과가 있으며 기주 저항성을 유도하기도 하지만 계속적으로 사용할 경우 효과적으로 병을 방제하지 못하는 것으로 나타났으며 생물학적 방제의 경우 가능성은 있어 보이지만 약제 등록 과정이 복잡하고 비용과 시간이 많이 소요되는 단점이 있으며 실제 포장에서 효과적인 방제를 위해서는 다른 방제 방법과 병행해야하는 등의 한계점을 나타내고 있다.
- 저장 중에 살균제 살포에 따른 부작용이 발생할 수 있으므로 방제효과가 우수하면서도 환경친화적인 보다 안정적 방제기술 개발이 요청되고 있지만 아직까지 참다래 주요 저장병원균으로 밝혀진 *Phomopsis* sp., *Botryosphaeria* sp., *Botrytis cinerea*균에 대한 천연 항균활성물질 탐색이 이루어지지 않아 이에 대한 연구가 시급히 요청되고 있다.
- 자외선 광선하에서 티타늄다이옥사이드(TiO<sub>2</sub>)를 광촉매로 이용한 살균 방법은 최근 10년동안 많은 연구가 진행되고 있는 분야로 수돗물 살균

및 공기 중의 유해미생물 살균 목적으로 설비 및 시스템이 개발 응용되고 있으며 최근 들어 암세포 치료를 위하여 이용되는 등 생물학적 응용 분야가 넓혀지고 있다. 이 방법은 자외선에 의하여 이루어지므로 자외선 자체의 살균력에  $\text{TiO}_2$ 에 의한 산화력까지 함께 작용하므로 살균 효과가 매우 뛰어난 것으로 알려지고 있으며 *E. coli*와 같은 저분자량 유기물을  $\text{CO}_2$ 와 물로 완전 산화시킬 정도로 매우 효과적인 살균 방법으로 알려지고 있다. 하지만 저장 과실과 채소류 표면의 식물병원균에 대한 살균연구나 장비는 아직 개발되지 않고 있으며 이를 위한 새로운  $\text{TiO}_2$ 의 처리기술 및 살균장비 개발이 요청되고 있다. 또한  $\text{TiO}_2$  자체는 인체에 거의 무독할 뿐만 아니라 난분해성 유기물의 분해 및 무독화 작용이 우수하여 난분해성물질 처리분야에 널리 이용되고 있기 때문에 과채류 표면에 오염된 잔류농약의 분해에도 응용이 가능하여 농산물 저장 및 유통을 위한 청정 처리기술로의 개발도 기대되고 있다.

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 제 1 절 농약사용량 절감을 위한 참다래 저장병 화학적 방제체계 확립

#### 1. 참다래 저장병 화학적 방제체계 확립을 위한 저장병 예방약제 선별 및 살포 적기 구명

##### 1) 참다래 저장병 예방약제 실내선발

###### 가. 실험재료 및 방법

국내외에서 과수 저장병 또는 이와 유사한 곰팡이병에 대해 등록되어 있는 약제들 중에서 본 연구팀이 수행한 선행연구결과 참다래 주요 저장병균에 대해 억제효과가 있는 것으로 판명된 10가지 약제들을 대상으로 PDA상에서 참다래 주요 저장병원균인 *Botryosphaeria dothidea*, *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.), *Botrytis cinerea*에 대한 균사생장 억제효과 검증 시험을 3반복으로 수행하였다.

시험에 사용한 약제들은 터부코나졸 수화제 (실바코), 후루실라졸 수화제 (누스타), 이프로 수화제 (로브탈), 비타놀 수화제 (바이코), 빈졸 수화제 (놀란), 만코지 수화제 (다이센엠-45), 이미녹타딘트리스알베실레이트 수화제 (벨쿠트), 디치 수화제 (델란) 등 8개 약제와 국내에서 참다래 과실무름병 방제약제로 등록되어 있는 살균제인 베노밀 수화제 (벤레이트)와 지오판 수화제 (툽신엠) 등 10가지 약제였다.

###### 나. 결과 및 고찰

시험에 사용한 10가지 약제들 중에서 터부코나졸 수화제 (실바코), 후루실라졸 수화제 (누스타), 이프로 수화제 (로브탈) 등 3개 약제는 국내에서 참다래 과실무름병 방제약제로 등록되어 있는 살균제인 베노밀 수화제 (벤레이트)와 지오판 수화제 (툽신엠) 보다 PDA상에서 참다래 주요 저장병원균인 *Botryosphaeria dothidea*, *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.), *Botrytis*

*cinerea*에 대한 균사생장 억제효과가 높았으며, 비타놀 수화제 (바이코)와 빈졸 수화제 (놀란)은 대상 병원균에 따라 다소 차이가 있었지만 지오판 수화제 (툽신엠) 보다 억제효과가 높았고 베노밀 수화제 (벤레이트)에 비해서는 억제효과가 낮았다 (Table 1). 나머지 약제들은 지오판 수화제 (툽신엠) 보다 억제효과가 현저하게 낮았다. 따라서 지오판 수화제 (툽신엠) 보다 억제효과가 높은 터부코나졸 수화제 (실바코), 후루실라졸 수화제 (누스타), 이프로 수화제 (로브랄)와 빈졸 수화제 (놀란) 등 4개 약제를 약효검정을 위한 포장시험에 사용하였다.

## 2) 참다래 저장병 예방약제 약효 포장검정

### 가) 실험재료 및 방법

참다래 주요 저장병균들은 개화 직후인 6월상순부터 8월하순에 걸쳐 참다래 과실에 감염을 일으키고 수확기까지 잠복 감염되어 있다가 저장, 유통 및 소비과정에서 발병을 일으키기 때문에 실내에서 선발된 예방약제들을 대상으로 주요 병원균별 예방약제들의 약효를 구명하였다.

선행연구결과 선발된 후루실라졸 수화제 (누스타), 이프로 수화제 (로브랄), 터부코나졸 수화제 (실바코) 및 빈졸 수화제 (놀란)와 국내에서 참다래 과실무름병 방제약제로 등록되어 있는 살균제인 베노밀 수화제 (벤레이트) 및 지오판 수화제 (툽신엠)를 6월 6일부터 7월 16일까지 10일 간격으로 5회 살포하였다(6월 6일, 6월 16일, 6월 26일, 7월 6일, 7월 16일). 각 약제들의 약효 포장검정은 난괴법 3반복으로 수행하였으며 처리당 1그루씩 권장사용농도로 각 약제를 살포하였다. 예방약제의 방제효과를 검정하기 위하여 참다래는 11월 5일 처리당 100과씩 수확하였으며, 수확한 과실은 15일동안 polyethylene bag속에 넣고 밀봉시켜 후숙시킨 후 과실무름병의 발생율을 조사하여 각 약제들의 방제효과를 평가하였다.

### 나. 결과 및 고찰

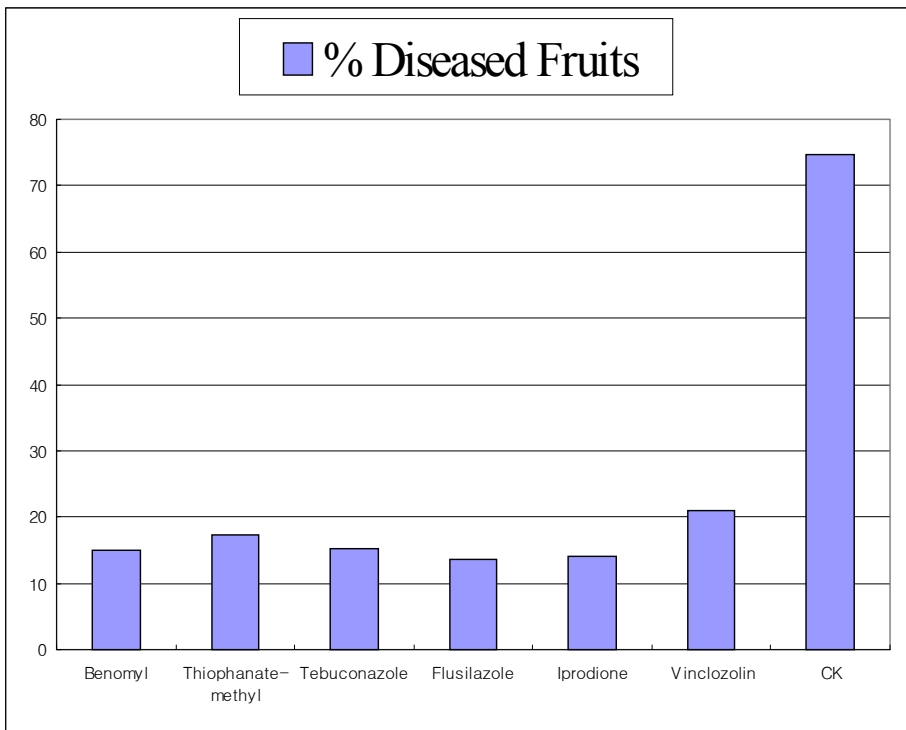
시험에 사용한 약제들 중에서 후루실라졸 수화제 (누스타) 처리구의 저장병 발생율은 13.7%, 이프로 수화제 (로브랄) 처리구의 저장병 발생율은 14.0%, 터부코나졸 수화제 (실바코) 처리구의 저장병 발생율은 15.3%로 국내에서 참다래 과실무름병 방제약제로 등록되어 있는 살균제인 베노밀 수화제 (벤레이트) 처리구의 저장병 발생율 15.0%와 비슷하고 지오판 수화제 (툽신엠) 처리구의 저장병 발생율 17.3%보다는 낮았다 (Fig. 1).

**Table 1.** Inhibitory effects of fungicides on mycelial growth of *Botryosphaeria dothidea*, *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.), and *Botrytis cinerea* on potato dextrose agar

Fungicide	Inhibition zone (mm)				평균
	<i>Botryosphaeria dothidea</i> (isolate)				
	KS13	PS17	JJ16	KH51	
Benomyl	7.0	11.7	7.3	6.3	<b>8.07</b>
Thiophanatemethyl	2.3	2.0	3.0	3.3	<b>2.65</b>
Tebuconazole	10.3	9.3	11.7	13.3	<b>11.15</b>
Flusilazole	6.3	8.0	12.7	8.3	<b>8.82</b>
Iprodione	10.0	11.0	9.3	8.7	<b>9.75</b>
Vinclozolin	9.0	11.3	4.0	3.3	<b>6.90</b>
Bitertanol	2.7	0.0	7.3	9.7	<b>4.92</b>
Mancozeb	1.0	0.3	3.3	3.7	<b>2.08</b>
Iminoctadine tris	1.0	0.3	4.3	2.0	<b>1.90</b>
Dithianon	0.3	0.7	0.0	1.3	<b>0.57</b>
	<i>Diaporthe actinidiae</i> ( <i>Phomopsis</i> sp.)				평균
	PS1	JJ2	SC10	KH47	
Benomyl	5.7	10.0	8.3	8.3	<b>8.07</b>
Thiophanatemethyl	5.7	9.3	5.7	6.7	<b>6.85</b>
Tebuconazole	11.0	10.0	13.0	10.8	<b>11.20</b>
Flusilazole	10.3	14.0	15.7	14.4	<b>13.60</b>
Iprodione	9.7	9.7	12.3	9.7	<b>10.35</b>
Vinclozolin	7.3	4.3	3.0	4.2	<b>4.70</b>
Bitertanol	9.0	10.0	8.0	8.7	<b>8.93</b>
Mancozeb	3.0	3.0	3.0	2.4	<b>2.85</b>
Iminoctadine tris	6.0	4.0	2.7	3.1	<b>3.95</b>
Dithianon	0.3	6.0	4.7	2.7	<b>3.42</b>
	<i>Botrytis cinerea</i>				평균
	NH2	KH2	PS4	JJ6	
Benomyl	14.7	1.3	13.3	2.0	<b>7.83</b>
Thiophanatemethyl	5.3	1.0	4.0	2.7	<b>3.25</b>
Tebuconazole	13.0	6.7	10.0	10.3	<b>10.00</b>
Flusilazole	2.3	7.0	10.4	10.7	<b>7.60</b>
Iprodione	8.7	10.3	10.7	14.3	<b>11.00</b>
Vinclozolin	7.3	8.0	7.0	9.7	<b>8.00</b>
Bitertanol	2.3	4.0	7.7	6.7	<b>5.17</b>
Mancozeb	0.0	0.0	0.0	0.0	<b>0.00</b>
Iminoctadine tris	0.0	0.0	0.0	1.3	<b>0.33</b>
Dithianon	0.0	0.0	0.0	0.0	<b>0.00</b>



무치리구의 저장병 발생률 74.7%와 비교해 볼 때 후루실라졸 수화제 (누스타), 이프로 수화제 (로브랄), 테부코나졸 수화제 (실바코)의 방제효율은 81.7~79.5%로 확인되어 참다래 저장병에 대해 방제 효과가 우수한 것으로 판명되었다. 그러나, 빈졸 수화제 (놀란) 처리구의 저장병 발생률은 21.0%로 지오판 수화제 (톱신엠) 처리구보다도 낮았고, 방제효율도 71.9%에 불과한 것으로 확인되었다. 따라서 참다래 저장병에 대해 방제 효과가 우수한 후루실라졸 수화제 (누스타), 이프로 수화제 (로브랄), 테부코나졸 수화제 (실바코)는 장차 참다래 저장병 방제 약제로 개발할 수 있을 것으로 기대된다.



**Fig. 1.** Control efficiencies of several fungicides on fruit rots in kiwifruit orchard.

### 3) 참다래 저장병 예방약제 살포적기 구명

#### 가. 실험재료 및 방법

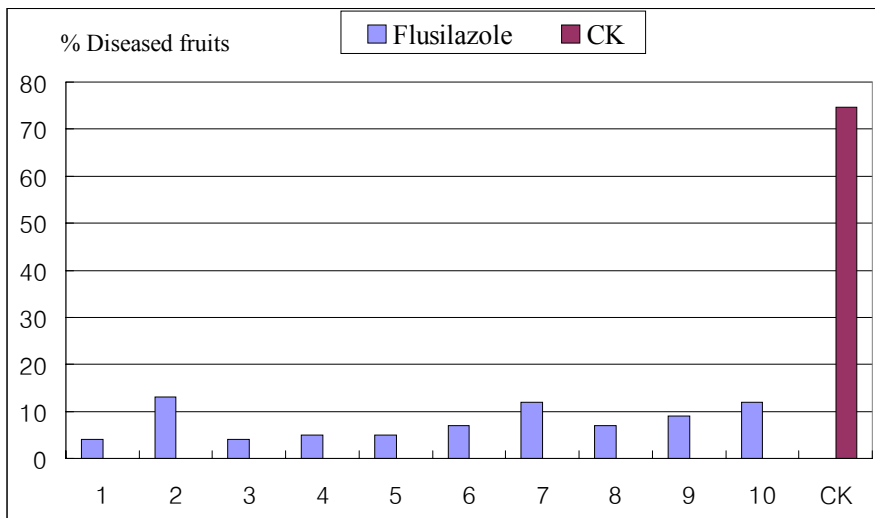
국내에서 참다래 과실무름병 방제약제로 등록되어 있는 살균제인 베노밀 수화제 (벤레이트)와 지오판 수화제 (톱신엠)를 대조약제로 선정하고, 실내실험에 사용한 결과 참다래 주요 저장병원균인 *Botryosphaeria dothidea*, *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.), *Botrytis cinerea*에 대해 항균력이 우수한 것으로 판명된 터부코나졸 수화제 (실바코), 후루실라졸 수화제 (누스타) 및 이프로 수화제 (로브탈) 등 5개 약제를 약제살포 적기 구명에 사용할 예방 약제로 선정하였다.

각 약제를 권장사용농도로 6월 6일부터 10일간격 3회씩 10종류 처리시기에 분무살포를 하였다. 처리약제당 1주씩 난괴법 3반복으로 수행하였으며, 참다래는 11월 5일 처리당 100과씩 수확하여 15일동안 polyethylene bag속에 넣고 밀봉시켜 후숙시킨 후 과실무름병의 발생율을 조사하여 각 약제들의 살포적기를 평가하였다. ①번처리시기부터 ⑩번처리시기까지 10종류 처리시기는 다음과 같다.

- ①번처리시기 : 6월 6일, 16일, 26일 살포,
- ②번처리시기 : 6월 16일, 26일, 7월 6일 살포,
- ③번처리시기 : 6월 26일, 7월 6일, 16일 살포,
- ④번처리시기 : 7월 6일, 16일, 26일 살포,
- ⑤번처리시기 : 7월 16일, 26일, 8월 6일 살포,
- ⑥번처리시기 : 7월 26일, 8월 6일, 16일 살포,
- ⑦번처리시기 : 8월 6일, 16일, 26일 살포,
- ⑧번처리시기 : 8월 16일, 26일, 9월 6일 살포,
- ⑨번처리시기 : 8월 26일, 9월 6일, 16일 살포,
- ⑩번처리시기 : 9월 6일, 16일, 26일 살포

나. 결과 및 고찰

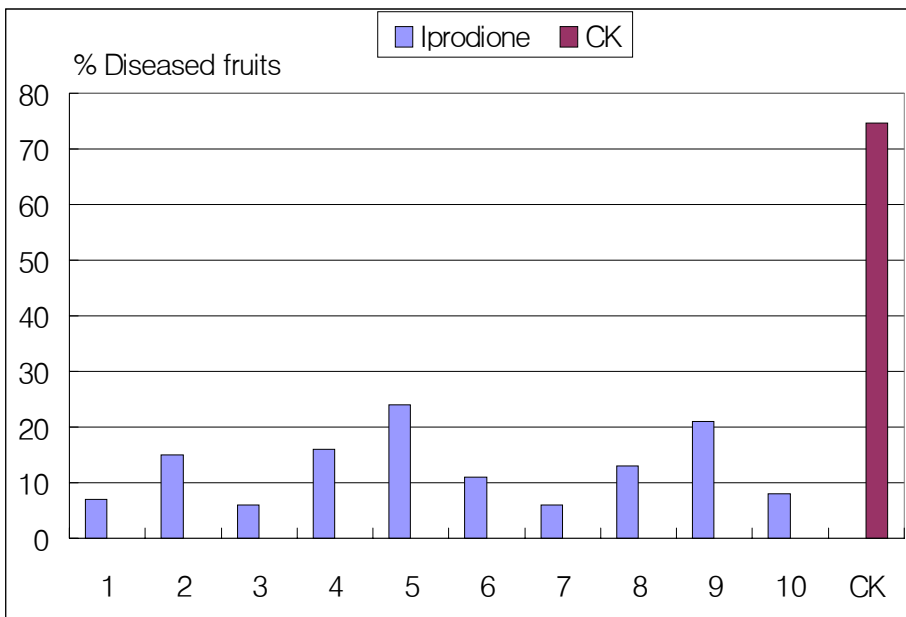
시험에 사용한 약제들 중에서 후루실라졸 수화제 (누스타) 처리구의 저장병 발생율이 4~13%로 가장 낮게 나타났으며, 10가지 약제처리 시기 중에서 3번 처리시기 즉, 6월 26일부터 10일간격 3회 처리구(6월 26일, 7월 6일, 7월 16일)의 저장병 발생율이 4%로 가장 낮게 나타났다. 따라서 후루실라졸 수화제 (누스타)의 살포적기는 6월 26일 전후로 판단되었다 (Fig. 2).



**Fig. 2.** Control efficiencies of flusilazole on fruit rots in kiwifruit orchard with 10 different spray schedules (① spray schedule 6/6, 6/16, 6/26, ② spray schedule 6/16, 6/26, 7/6, ③ spray schedule 6/26, 7/6, 7/16, ④ spray schedule 7/6, 7/16, 7/26, ⑤ spray schedule 7/16, 7/26, 8/6, ⑥ spray schedule 7/26, 8/6, 8/16, ⑦ spray schedule 8/6, 8/16, 8/26, ⑧ spray schedule 8/16, 8/26, 9/6, ⑨ spray schedule 8/26, 9/6, 9/16, ⑩ spray schedule 9/6, 9/16, 9/26).

시험에 사용한 약제들 중에서 이프로 수화제 (로브랄) 처리구의 저장병 발생율이 6%~24%로 두번째로 낮게 나타났으며, 10가지 약제처리 시기 중

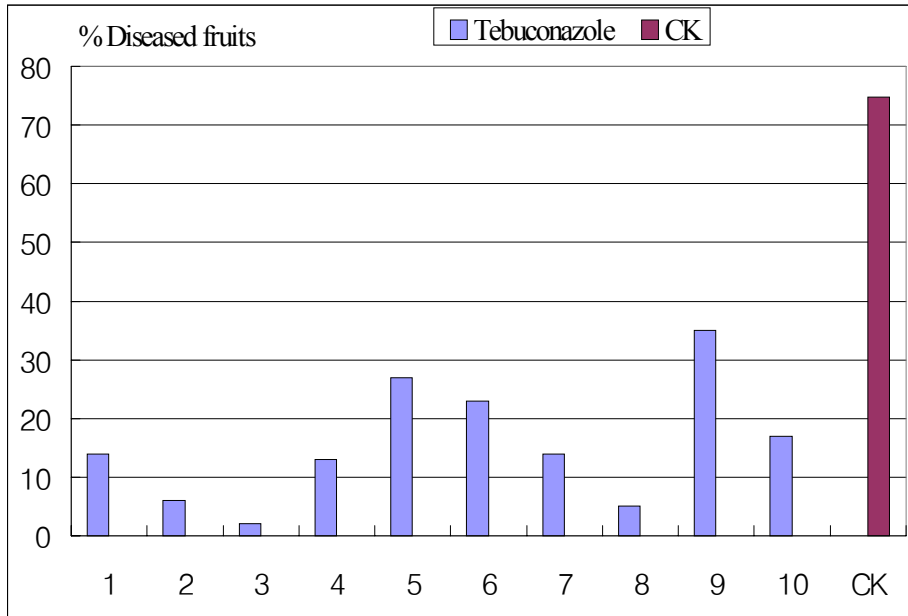
에서 3번 처리시기 즉, 6월 26일부터 10일간격 3회 처리구(6월 26일, 7월 6일, 7월 16일)와 7번 처리시기 즉, 8월 6일부터 10일간격 3회 처리구(8월 6일, 8월 16일, 7월 26일)의 저장병 발생율이 6%로 가장 낮게 나타났다. 그런데 이미 알려진 참다래 주요 과실무름병균의 포자 비산시기가 6월~7월 인 점을 고려하면 이프로 수화제 (로브랄)의 살포적기도 6월 26일 전후로 판단되었다 (Fig. 3).



**Fig. 3.** Control efficiencies of iprodione on fruit rots in kiwifruit orchard with 10 different spray schedules (① spray schedule 6/6, 6/16, 6/26, ② spray schedule 6/16, 6/26, 7/6, ③ spray schedule 6/26, 7/6, 7/16, ④ spray schedule 7/6, 7/16, 7/26, ⑤ spray schedule 7/16, 7/26, 8/6, ⑥ spray schedule 7/26, 8/6, 8/16, ⑦ spray schedule 8/6, 8/16, 8/26, ⑧ spray schedule 8/16, 8/26, 9/6, ⑨ spray schedule 8/26, 9/6, 9/16, ⑩ spray schedule 9/6, 9/16, 9/26).

시험에 사용한 약제들 중에서 터부코나졸 수화제 (실바코) 처리구의 저

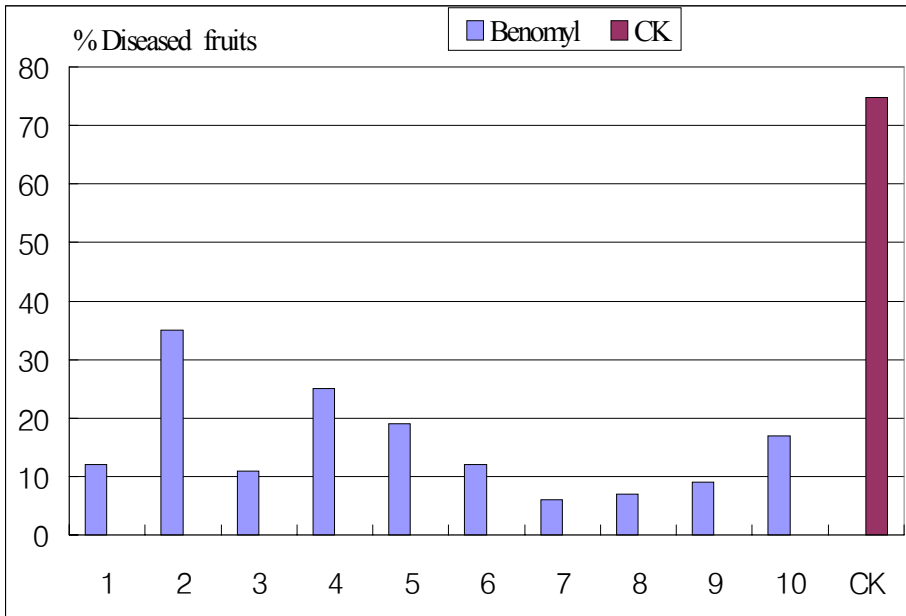
장병 발생율이 2~35%로 나타났으며, 10가지 약제처리 시기 중에서 3번 처리시기 즉, 6월 26일부터 10일간격 3회 처리구(6월 26일, 7월 6일, 7월 16일)의 저장병 발생율이 2%로 가장 낮게 나타났다. 따라서 테부코나졸 수화제 (실바코)의 살포적기도 6월 26일 전후로 판단되었다 (Fig. 4).



**Fig. 4.** Control efficiencies of tebuconazole on fruit rots in kiwifruit orchard with 10 different spray schedules (① spray schedule 6/6, 6/16, 6/26, ② spray schedule 6/16, 6/26, 7/6, ③ spray schedule 6/26, 7/6, 7/16, ④ spray schedule 7/6, 7/16, 7/26, ⑤ spray schedule 7/16, 7/26, 8/6, ⑥ spray schedule 7/26, 8/6, 8/16, ⑦ spray schedule 8/6, 8/16, 8/26, ⑧ spray schedule 8/16, 8/26, 9/6, ⑨ spray schedule 8/26, 9/6, 9/16, ⑩ spray schedule 9/6, 9/16, 9/26).

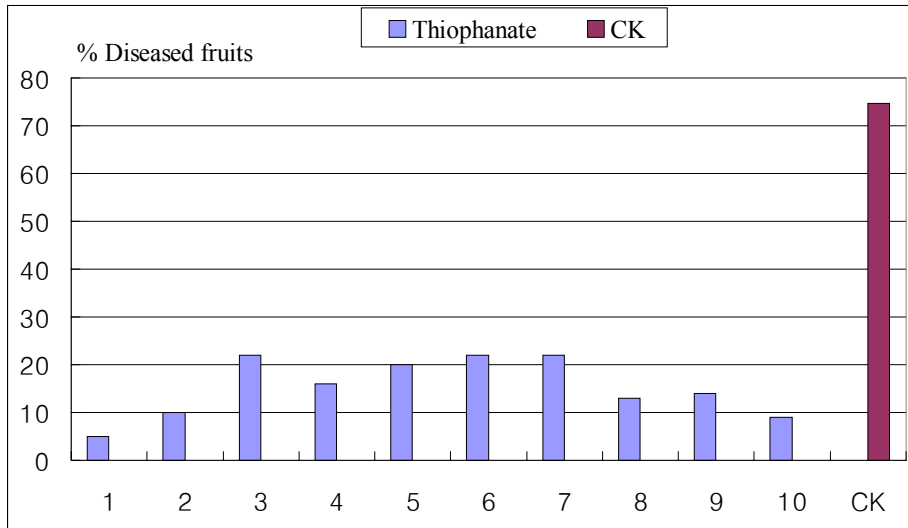
한편, 국내에서 참다래 과실무름병 방제약제로 등록되어 있는 살균제인 베노밀 수화제 (벤레이트) 처리구의 저장병 발생율은 6~35%로 나타났으며, 10가지 약제처리 시기 중에서 7번 처리시기 즉, 8월 6일부터 10일간격 3회 처리구(8월 6일, 8월 16일, 8월 26일)의 저장병 발생율이 6%로 가장 낮게

나타났다. 따라서 베노밀 수화제 (벤레이트)의 살포적기는 8월 6일 전후로 판단되었다 (Fig. 5).



**Fig. 5.** Control efficiencies of benomyl on fruit rots in kiwifruit orchard with 10 different spray schedules (① spray schedule 6/6, 6/16, 6/26, ② spray schedule 6/16, 6/26, 7/6, ③ spray schedule 6/26, 7/6, 7/16, ④ spray schedule 7/6, 7/16, 7/26, ⑤ spray schedule 7/16, 7/26, 8/6, ⑥ spray schedule 7/26, 8/6, 8/16, ⑦ spray schedule 8/6, 8/16, 8/26, ⑧ spray schedule 8/16, 8/26, 9/6, ⑨ spray schedule 8/26, 9/6, 9/16, ⑩ spray schedule 9/6, 9/16, 9/26).

또한, 국내에서 참다래 과실무름병 방제약제로 등록되어 있는 살균제인 지오판 수화제 (톱신엠) 처리구의 저장병 발생율은 5~22%로 나타났으며, 10가지 약제처리 시기 중에서 1번 처리시기 즉, 6월 6일부터 10일간격 3회 처리구 (6월 6일, 6월 16일, 6월 26일)의 저장병 발생율이 5%로 가장 낮게 나타났다. 따라서 지오판 수화제 (톱신엠)의 살포적기는 6월 6일 전후로 판단되었다 (Fig. 6).



**Fig. 6.** Control efficiencies of thiophanate on fruit rots in kiwifruit orchard with 10 different spray schedules (① spray schedule 6/6, 6/16, 6/26, ② spray schedule 6/16, 6/26, 7/6, ③ spray schedule 6/26, 7/6, 7/16, ④ spray schedule 7/6, 7/16, 7/26, ⑤ spray schedule 7/16, 7/26, 8/6, ⑥ spray schedule 7/26, 8/6, 8/16, ⑦ spray schedule 8/6, 8/16, 8/26, ⑧ spray schedule 8/16, 8/26, 9/6, ⑨ spray schedule 8/26, 9/6, 9/16, ⑩ spray schedule 9/6, 9/16, 9/26).

이상의 결과로부터 참다래 과실무름병 예방약제 중에서 후루실라졸 수화제 (누스타), 이프로 수화제 (로브랄) 및 터부코나졸 수화제 (실바코)가 국내에서 참다래 과실무름병 약제로 등록되어 있는 베노밀 수화제 (벤레이트)와 지오판 수화제 (툽신엠)보다 포장에서 참다래 과실무름병에 대한 예방효과가 우수한 것으로 판명되었다. 또한 방제적기는 세 약제 모두 6월 26일 전후인 것으로 추정되었다. 따라서 참다래 저장병 예방약제 적정 살포횟수 구명 시험에서 6월 26일을 중심으로 10일간격 1~5회 살포까지 다양한 조합으로 살포하여 적정 살포횟수를 구명을 실시하였다.

## 2. 참다래 저장병 예방약제 적정 살포횟수 구명

### 가. 실험재료 및 방법

1차년도 실험결과에서 나타난 것처럼 참다래 주요 저장병원균인 *Botryosphaeria dothidea*, *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.), *Botrytis cinerea*에 대해 항균력이 우수하고 포장실험에서도 방제효과가 뛰어난 것으로 판명된 터부코나졸 수화제 (실바코), 후루실라졸 수화제 (누스타) 및 이프로수화제 (로브랄) 등 3개 약제를 참다래 저장병 적정 살포횟수 구명에 사용할 약제로 선정하였다.

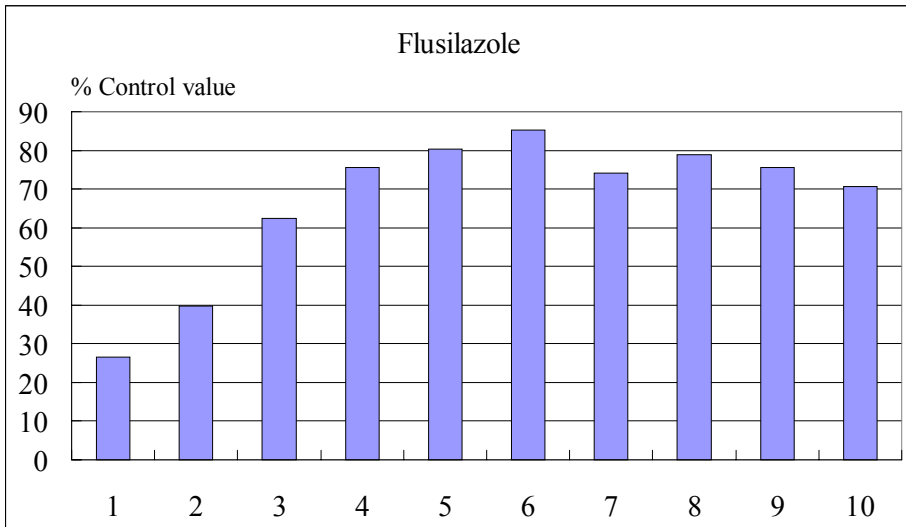
각 약제를 권장사용 농도로 1차년도에서 나타난 살포적기인 6월 26일을 중심으로 10일간격으로 1회 살포부터 9회 살포까지 10종류 처리시기에 분무살포를 하였다. 처리약제당 1주씩 난괴법 3반복으로 수행하였으며, 참다래는 11월 5일 처리당 100과씩 수확하여 15일동안 polyethylene bag속에 넣고 밀봉시켜 후숙시킨 후 과실무름병의 발생율을 조사하여 각 약제들의 적정 살포횟수를 평가하였다. ①번처리구의 1회살포부터 ⑩번처리구의 9회살포까지 10종류 처리시기는 다음과 같다.

- ①번(1회살포) 6월 26일 살포,
- ②번(2회살포) 6월 26일, 7월 6일 살포,
- ③번(2회살포) 6월 16일, 26일 살포,
- ④번(3회살포) 6월 16일, 26일, 7월 6일 살포,
- ⑤번(4회살포) 6월 6일, 16일, 26일, 7월 6일 살포,
- ⑥번(4회살포) 6월 16일, 26일, 7월 6일, 16일 살포,
- ⑦번(6회살포) 6월 6일, 16일, 26일 7월 6일, 16일, 26일 살포,
- ⑧번(7회살포) 6월 6일, 16일, 26일 7월 6일, 16일, 26일, 8월 6일 살포,
- ⑨번(8회살포) 6월 6일, 16일, 26일 7월 6일, 16일, 26일 8월 6일 16일 살포,
- ⑩번(9회살포) 6월 6일, 16일, 26일 7월 6일, 16일, 26일 8월 6일, 16일, 26일 살포



## 나. 결과 및 고찰

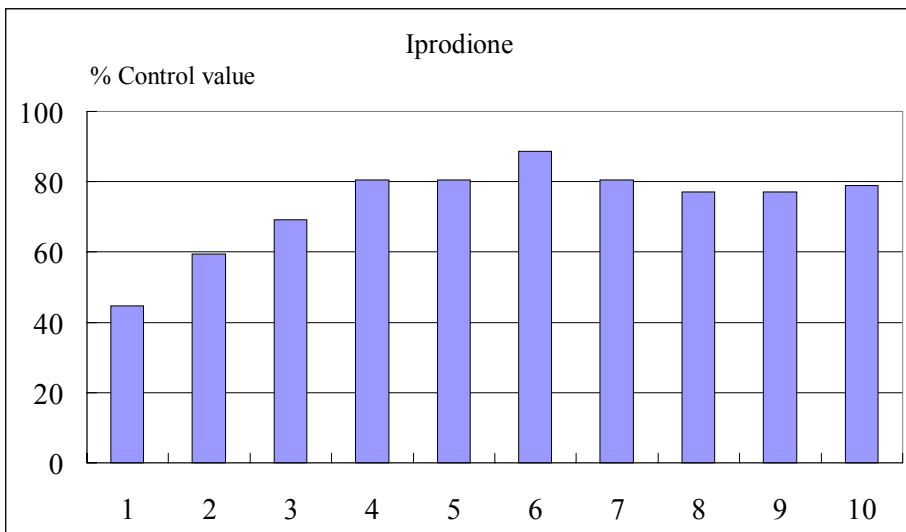
시험에 사용한 약제들 중에서 1차년도 실험결과 가장 약효가 우수했던 후루실라졸 수화제 (누스타)는 전체 1회부터 9회까지 약제를 살포하였을 경우 참다래 저장병 발병률이 최소 3%에서 최대 15%로 나타났으며 무처리구의 발병률은 20.4%로 나타났다. 1회와 2회 약제를 살포한 처리구인 ①, ②, ③번 처리구에서는 무처리구에 대한 방제가가 70% 미만으로 나타났으나 3회 이상 살포한 처리구들(④~⑩번 처리구)에서는 모두 70%의 이상의 방제가를 나타내었다 (Fig. 7).



**Fig. 7.** Control efficiencies of flusilazole on fruit rots in kiwifruit orchard with 10 different spray times (① 1 time spray, ② 2 times spray, ③ 2 times spray, ④ 3 times spray, ⑤ 4 times spray, ⑥ 4 times spray, ⑦ 6 times spray, ⑧ 7 times spray, ⑨ 8 times spray, ⑩ 9 times spray).

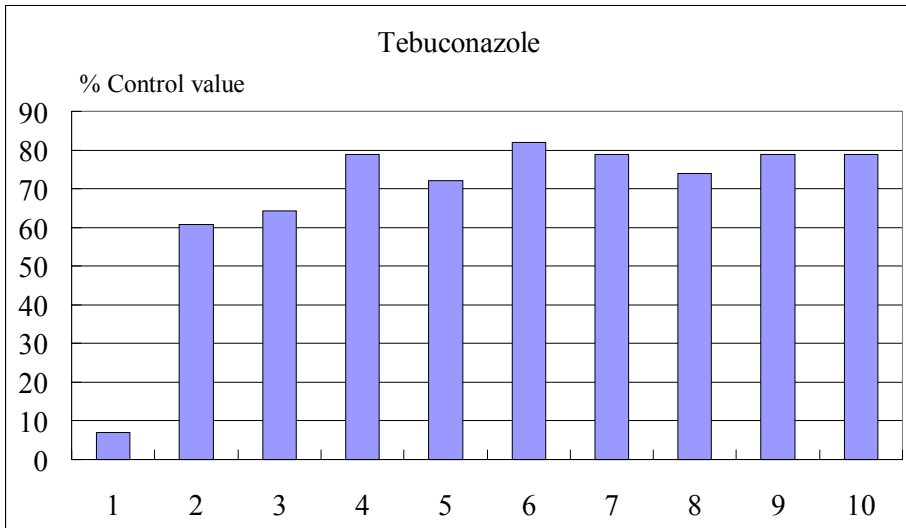
이프로 수화제 (로브랄)는 전체 1회부터 9회까지 약제를 살포하였을 경우 참다래 저장병 발병률이 최소 2.3%에서 최대 11.3%로 나타났으며 무처리구의 발병률은 20.4%로 나타났다. 후루실라졸 수화제 (누스타)와 마찬가지로

지로 1회와 2회 약제를 살포한 처리구인 ①, ②, ③번 처리구에서는 무처리구에 대한 방제가가 70% 미만으로 나타났으며 3회 이상 살포한 처리구들(④~⑩번 처리구)에서는 모두 70%의 이상의 방제가를 나타내었다. 특히 ⑥번 처리구인 4회 살포(6월 16일, 26일, 7월 6일, 16일)시에 3개 약제들 중에서 가장 높은 방제가인 88.7%를 나타냄으로써 가장 효과적임을 알 수 있었다 (Fig. 8).



**Fig. 8.** Control efficiencies of iprodione on fruit rots in kiwifruit orchard with 10 different spray times (① 1 time spray, ② 2 times spray, ③ 2 times spray, ④ 3 times spray, ⑤ 4 times spray, ⑥ 4 times spray, ⑦ 6 times spray, ⑧ 7 times spray, ⑨ 8 times spray, ⑩ 9 times spray).

시험에 사용한 약제들 중에서 터부코나졸 수화제 (실바코)는 전체 1회부터 9회까지 약제를 살포하였을 경우 참다래 저장병 발병률이 최소 3.7%에서 최대 19.0%로 나타났으며 무처리구의 발병률은 20.4%로 나타났다. 1회와 2회 약제를 살포한 처리구인 ①, ②, ③번 처리구에서는 무처리구에 대한 방제가가 70% 미만으로 나타났으나 3회 이상 살포한 처리구들(④~⑩번 처리구)에서는 모두 70%의 이상의 방제가를 나타내었다 (Fig. 9).



**Fig. 9.** Control efficiencies of tebuconazole on fruit rots in kiwifruit orchard with 10 different spray times (① 1 time spray, ② 2 times spray, ③ 2 times spray, ④ 3 times spray, ⑤ 4 times spray, ⑥ 4 times spray, ⑦ 6 times spray, ⑧ 7 times spray, ⑨ 8 times spray, ⑩ 9 times spray).

이상의 결과로부터 참다래 저장병 예방약제들 중 효과가 우수한 약제들인 후루실라졸 수화제 (누스타)와 이프로 수화제 (로브랄) 그리고 테부코나졸 수화제 (실바코)는 모두 3회부터 9회까지 처리를 하는 것이 1회나 2회보다 효과적인 것으로 나타났다. 특히 6월 16일, 26일, 7월 6일, 16일 살포에 10일 간격으로 4회 처리한 ⑥번 처리구의 경우에는 후루실라졸 수화제 (누스타)가 85.3%, 이프로 수화제 (로브랄)가 88.7% 그리고 테부코나졸 수화제 (실바코)가 81.9%로 가장 높은 방제가를 나타냄으로서 예방 효과가 우수한 것으로 나타났다. 이는 현재 알려진 참다래 저장병 예방 약제들의 적정 살포횟수인 5회 보다 적은 횟수이므로 화학농약의 사용횟수를 줄일 수 있을 것이라고 기대된다 (Table 2).

**Table 2.** Control efficiencies of flusilazole, iprodione and tebuconazole on fruit rots in the kiwifruit orchard with 10 different spray times

Fungicides		Treatment										
		①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩	CK
Tebuconazole WP	Diseased fruits (%)	19.0	8	7.3	4.3	5.7	3.7	4.3	5.3	4.3	4.3	20.4
	Control values (%)	6.9	60.8	64.2	78.9	72.1	81.9	78.9	74.0	78.9	78.9	-
Flusilazole WP	Diseased fruits (%)	15	12.3	7.7	5	4	3	5.3	4.3	5	6	20.4
	Control values (%)	26.5	39.7	62.3	75.5	80.4	85.3	74.1	78.9	75.5	70.6	-
Iprodione WP	Diseased fruits (%)	11.3	8.3	6.3	4	4	2.3	4	4.7	4.7	4.3	20.4
	Control values (%)	44.6	59.3	69.1	80.4	80.4	88.7	80.4	77.0	77.0	78.9	-

① 1 time spray, ② 2 times spray, ③ 2 times spray, ④ 3 times spray, ⑤ 4 times spray, ⑥ 4 times spray, ⑦ 6 times spray, ⑧ 7 times spray, ⑨ 8 times spray, ⑩ 9 times spray, CK No treatment.

### 3. 참다래 저장병 예방약제 최적 살포 프로그램 정립 및 포장 검증

1, 2차년도에 실험한 참다래 저장병 우수 예방약제들의 살포적기 및 적정 살포횟수 구명 시험 결과를 종합하여 직접 포장에서 최소 약제 살포로 최대 예방효과를 얻을 수 있는 최적 살포 프로그램을 정립하는 것을 목표로 하였다.

#### 가. 실험재료 및 방법

- ① 참다래 저장병의 예방약제로 등록되어 있는 베노밀 수화제 그리고 지오판 수화제를 대조약제로 사용하고 1, 2차년도 실험결과 살포횟수가 검증된 터부코나졸 수화제 (실바코), 후루실라졸 수화제 (누스타) 및 이프로 수화제 (로브랄)를 최적 살포 프로그램 정립 실험용 약제로 사용하였다.
- ② 각 약제를 1, 2차년도 실험에서 얻은 살포적기를 토대로 베노밀 수화제는 8월 5일, 지오판 수화제는 6월 15일, 터부코나졸 수화제 (실바코), 후루실라졸 수화제 (누스타) 및 이프로 수화제 (로브랄)는 6월 15일부터 10일 간격 3회, 4회, 5회 분무살포하였다 (Table 3).
- ③ 난괴법 3반복으로 시험을 수행하고 참다래 과실 수확 (11월 14일) 후 반복당 과실 100과씩 상온에서 15-20일간 후숙시켜 과실에 나타나는 주요 저장병 발병율을 조사하였다.

#### 나. 결과 및 고찰

시험 약제들을 3회부터 5회까지 살포횟수에 따라 방제효과가 점차 증가하는 경향이었다 (Table 4, Fig. 10). 그러나 10일 간격으로 5회 살포시 대조약제인 베노밀 수화제 (벤레이트)는 16.6%, 지오판 수화제 (톱신엠)는 17.0%의 발병율을 나타낸 반면에, 시험 약제인 후루실라졸 수화제 (누스타), 터부코나졸 수화제 (실바코)와 이프로 수화제 (로브랄)는 10일 간격으로 4회 살포시에 각각 16.0, 15.6과 16.3%의 발병율을 나타내었다. 따라서

대조약제인 베노밀 수화제 (벤레이트)와 지오판 수화제 (톱신엠)의 5회 살포와 비슷하게 모두 70% 정도의 방제효과를 나타내는 후루실라졸 수화제 (누스타), 테부코나졸 수화제 (실바코)와 이프로 수화제 (로브랄)의 4회 살포가 최저 살포횟수로 우수한 방제효과를 나타내는 최적 살포 프로그램으로 추천되었다 (Table 4, Fig. 10).

이상의 결과로부터 참다래 과실무름병 방제를 위한 예방약제 최적 살포 프로그램은 6월 중순부터 10일 간격 4회 살포임이 검증되었으며, 예방약제는 후루실라졸 수화제 (누스타)가 가장 우수한 약제로 검증되었다. 그러나 약제의 다양화를 통한 약제저항성균의 출현을 예방하기 위하여 테부코나졸 수화제 (실바코)와 이프로 수화제 (로브랄)도 후루실라졸 수화제 (누스타)를 대체할 수 있는 예방약제로 사용할 수 있을 것으로 판단된다.

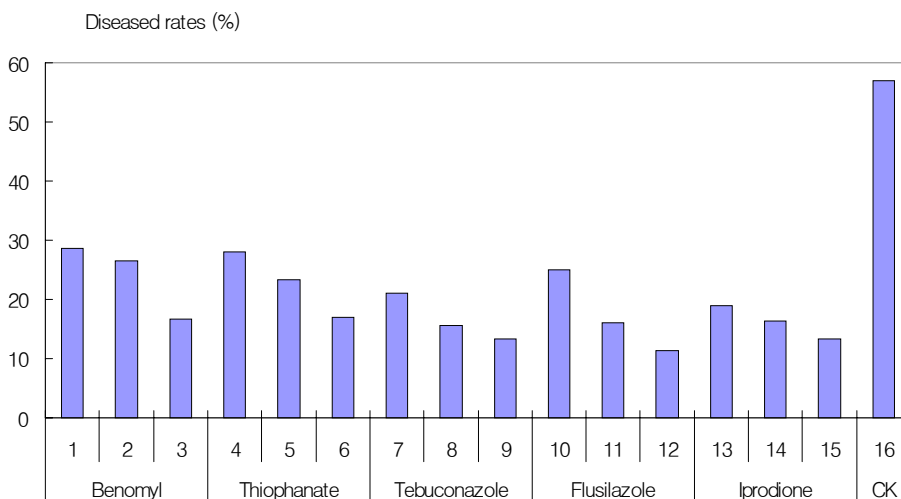
**Table 3.** Fungicides application for control of fruit rots in the kiwifruit orchard

Fungicides	Treatment	Spray times	Spray schedules
Benomyl WP	1	3회	8/5, 8/15, 8/25
	2	4회	8/5, 8/15, 8/25, 9/5
	3	5회	8/5, 8/15, 8/25, 9/5, 9/15
Thiophanate WP	4	3회	5/25, 6/5, 6/15
	5	4회	5/25, 6/5, 6/15, 6/25
	6	5회	5/25, 6/5, 6/15, 6/25, 7/5
Flusilazole WP	10	3회	6/15, 6/25, 7/5
	11	4회	6/15, 6/25, 7/5, 7/15
	12	5회	6/15, 6/25, 7/5, 7/15, 7/25
Tebuconazole WP	7	3회	6/15, 6/25, 7/5
	8	4회	6/15, 6/25, 7/5, 7/15
	9	5회	6/15, 6/25, 7/5, 7/15, 7/25
Iprodione WP	13	3회	6/15, 6/25, 7/5
	14	4회	6/15, 6/25, 7/5, 7/15
	15	5회	6/15, 6/25, 7/5, 7/15, 7/25

**Table 4.** Occurrence of postharvest fruit rots of the kiwifruits treated with 5 fungicides on the several spray schedules and spray times

Fungicides	Treatments <sup>a</sup>	Spray times	Diseased rates (%)	Control value (%)
Benomyl WP	1	3	28.6	49.8
	2	4	26.5	53.5
	3	5	16.6	70.9
Thiophanate WP	4	3	28.0	50.9
	5	4	23.3	59.1
	6	5	17.0	70.2
Flusilazole WP	10	3	25.0	56.1
	11	4	16.0	71.9
	12	5	11.3	80.2
Tebuconazole WP	7	3	21.0	63.2
	8	4	15.6	72.6
	9	5	13.3	76.7
Iprodione WP	13	3	19.0	66.7
	14	4	16.3	71.4
	15	5	13.3	76.7
Control	16	-	57.0	-

<sup>a</sup>① 3 times sprayed on 8/5, 8/15, 8/25 ② 4 times sprayed on 8/5, 8/15, 8/25, 9/5 ③ 5 times sprayed on 8/5, 8/15, 8/25, 9/5, 9/15 ④ 3 times sprayed on 5/25, 6/5, 6/15 ⑤ 4 times sprayed on 5/25, 6/5, 6/15, 6/25 ⑥ 5 times sprayed on 5/25, 6/5, 6/15, 6/25, 7/5 ⑦, ⑩, ⑬ 3 times sprayed on 6/15, 6/25, 7/5 ⑧, ⑪, ⑭ 4 times sprayed on 6/15, 6/25, 7/5, 7/15 ⑨, ⑫, ⑮ 5 times sprayed on 6/15, 6/25, 7/5, 7/15, 7/25 ⑯ No treatment.



**Fig. 10.** Control efficiencies of benomyl, thiophanate, tebuconazole, flusilazole and iprodione against fruit rots in the kiwifruit orchard with 15 different spray schedule and spray times (① 3 times sprayed on 8/5, 8/15, 8/25 ② 4 times sprayed on 8/5, 8/15, 8/25, 9/5 ③ 5 times sprayed on 8/5, 8/15, 8/25, 9/5, 9/15 ④ 3 times sprayed on 5/25, 6/5, 6/15 ⑤ 4 times sprayed on 5/25, 6/5, 6/15, 6/25 ⑥ 5 times sprayed on 5/25, 6/5, 6/15, 6/25, 7/5 ⑦, ⑩, ⑬ 3 times sprayed on 6/15, 6/25, 7/5 ⑧, ⑪, ⑭ 4 times sprayed on 6/15, 6/25, 7/5, 7/15 ⑨, ⑫, ⑮ 5 times sprayed on 6/15, 6/25, 7/5, 7/15, 7/25 ⑯ No treatment).



#### 4. 농약사용량 절감을 위한 참다래 저장병 화학적 방제체계 확립 결과 요약

- 1) 참다래 저장병 선정 예방약제 약효 포장검정 결과, 방제 효과가 우수한 후루실라졸 수화제 (누스타), 이프로 수화제 (로브랄), 터부코나졸 수화제 (실바코)는 장차 참다래 저장병 방제 약제로 개발할 수 있을 것으로 기대된다.
- 2) 참다래 저장병 예방약제 살포적기 구명결과, 참다래 과실무름병 예방약제 중에서 후루실라졸 수화제 (누스타), 이프로 수화제 (로브랄) 및 터부코나졸 수화제 (실바코)가 국내에서 참다래 과실무름병 약제로 등록되어 있는 베노밀 수화제 (벤레이트)와 지오판 수화제 (툽신엠)보다 포장에서 참다래 과실무름병에 대한 예방효과가 우수한 것으로 판명되었다. 또한 방제적기는 세 약제 모두 6월 26일 전후인 것으로 추정되었다.
- 3) 참다래 저장병 예방약제 적정 살포횟수 구명 결과, 참다래 저장병 예방약제들 중 효과가 우수한 약제들인 후루실라졸 수화제 (누스타)와 이프로 수화제 (로브랄) 그리고 터부코나졸 수화제 (실바코)는 모두 3회부터 9회까지 처리를 하는 것이 1회나 2회보다 효과적인 것으로 나타났다. 특히 6월 16일, 26일, 7월 6일, 16일 살포에 10일 간격으로 4회 처리한 경우에는 후루실라졸 수화제 (누스타)가 85.3%, 이프로 수화제 (로브랄) 88.7% 그리고 터부코나졸 수화제 (실바코)가 81.9%로 가장 높은 방제가를 나타냄으로서 예방 효과가 우수한 것으로 나타났다.
- 4) 참다래 저장병 예방약제 최적 살포 프로그램 정립 및 포장 검증 결과, 참다래 과실무름병 방제를 위한 예방약제 최적 살포프로그램은 6월 중순부터 10일 간격 4회 살포임이 검증되었으며, 예방약제는 후루실라졸 수화제 (누스타)가 가장 우수한 약제로 검증되었다. 그러나 약제의 다양화를 통한 약제저항성균의 출현을 예방하기 위하여 터부코나졸 수화제 (실바코)와 이프로 수화제 (로브랄)도 후루실라졸 수화제 (누스타)를 대체할 수 있는 예방약제로 사용할 수 있을 것으로 판단된다.

## 제 2 절 천연항균성 물질을 이용한 환경친화형 참다래 저장병 방제기술 개발

### 1. 참다래 저장병 천연물농약 개발을 위한 *Eucalyptus* 수목의 엽육 추출액 대량회수 최적조건 구명

#### 1) *Eucalyptus* 수목의 엽육 추출액의 참다래 저장병균에 대한 항균활성 검정

참다래 주요 저장병균인 *Botryosphaeria dothidea*, *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.), *Botrytis cinerea*에 대한 *Eucalyptus* 수목의 항균활성 실내 검정을 위하여 수종별, 부위별, 계절별 추출액을 이용하여 실시하였다.

#### 가. 실험 재료 및 방법

*Eucalyptus* 수목 엽육 methanol 추출 농축액을 이용하여 agar well 방법으로 균사생육저지효과 검증을 실시하였다. 추출액 조제는 다음과 같이 실시하였다.

- ① 2000년 9월에 광양제철소내 RIST 실험 포장에서 자라고 있는 3~5년생 *Eucalyptus darlympleana*, *Eucalyptus unigera*, *Eucalyptus gunnii*, *Eucalyptus globulus* 4개 수종의 잎을 채집하였고 각 수종의 잎을 3일 동안 풍건시킨 후 70℃ 건조기에서 3일 동안 건조시켜 완전히 건조된 잎을 mill을 이용하여 powder로 만든 후 냉동 보관하여 실험에 사용하였다.
- ② 건중엽 30 g을 methanol 500 ml를 이용하여 진탕하여 24시간씩 3회 반복 추출하였다.
- ③ 추출 methanol 1,500 ml를 합하여 rotary evaporator를 이용하여 감압 농축시켰다.
- ④ 농축된 추출액에 methanol을 첨가하여 추출액 총부피가 30 ml로 적정

하여 항균력 검증에 사용하였다.

항균력 검증은 PDA 배지 중앙에 직경 8 mm well을 만든 후 살균한 paper disc를 well 바닥에 올려놓고 그 위에 *Eucalyptus* 추출액을 100  $\mu$ l를 점적하여 용매를 완전히 휘발시킨 다음에 PDA 배지에서 새로 배양하여 7~10일 정도 자란 *Botryosphaeria dothidea*, *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.), *Botrytis cinerea* agar block (직경 8 mm)을 well에 올려놓고 25°C 배양기에서 5일간 배양시킨 후에 대조구 (methanol 처리구)에서 자란 균사의 직경과 비교하여 균사생장억제 정도를 항균효과로 나타내었다.

#### 나. 결과 및 고찰

참다래 저장 병원균에 대한 *Eucalyptus* 수종의 항균 효과는 *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.)에 대하여 가장 높은 항균력을 보인 반면, 전체적으로 *Botrytis cinerea*에 대해서 가장 낮은 항균력을 보였다. 각 수종별 항균효과는 *Eucalyptus unigera*가 모든 병원성 곰팡이에 가장 항균력이 높았으며 *Eucalyptus darlympleana*도 비교적 항균력이 높은 것으로 나타났다. 하지만 *Eucalyptus gunnii*와 *Eucalyptus globulus*는 *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.)를 제외하고는 항균 효과가 뚜렷하지 않은 것으로 나타났다. (Table 5, Fig. 11)

**Table 5.** Antagonistic effects of leaf extracts of *Eucalyptus* trees against phytopathogenic fungi causing fruit rots of kiwifruit

Fungi	<i>Eucalyptus unigera</i> (EU)	<i>Eucalyptus darlympleana</i> (ED)	<i>Eucalyptus gunnii</i> (EG1)	<i>Eucalyptus globulus</i> (EG2)
<i>Botryosphaeria dothidea</i>	+++	+++	-	-
<i>Botrytis cinerea</i>	++	+	+	+
<i>Diaporthe actinidiae</i> ( <i>Phomopsis</i> sp.)	+++	++	++	+++

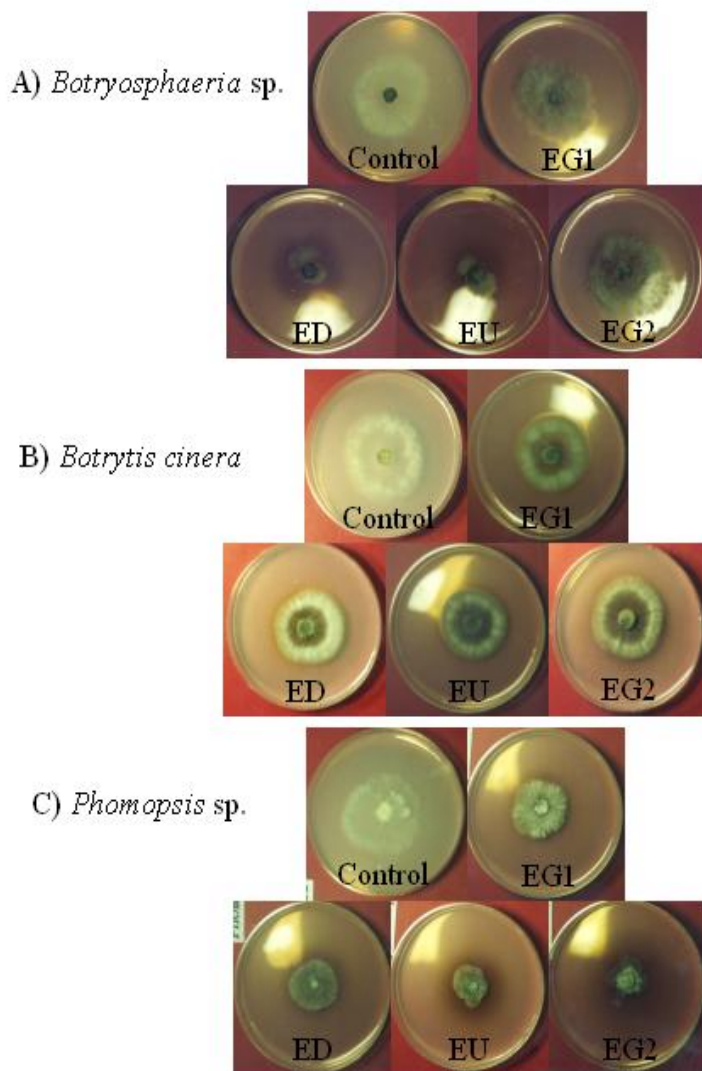


Fig. 11. Antagonistic activity of *Eucalyptus* trees against fruit rot fungal pathogens of kiwifruit.  
 EG1: *E. gunnii*, ED: *E. darlympleana*, EU: *E. unigera*, EG2: *E. globulus*

## 2) *Eucalyptus* 수목의 엽육 추출 방법에 따른 항균 효과 검증

### 가. 실험재료 및 방법

항균력이 우수하다고 인정된 *Eucalyptus darlympleana*의 잎을 이용하여 최적 추출방법을 조사하였다. 추출용매로는 가장 일반적으로 사용되는 증류수와 메탄올을 이용하였으며 추출장치로 환류추출기와 진탕추출기를 비교하였다. 환류추출의 경우 건조된 잎 20 g에 증류수와 메탄올 100 ml 비율로 90℃와 60℃에서 각각 3시간 연속 환류냉각추출을 총 3회 반복 추출을 실시하고 각 추출액을 모두 합하여 항균력 검증에 이용하였으며, 진탕추출의 경우도 건조 잎 20 g에 용매 100 ml의 비율로 6시간씩 총 3회 반복 추출하여 각 추출액을 모두 합하여 항균력 검증에 이용하였다. 용매와 추출방법이 다른 4개의 추출액은 감압증류기로 완전 농축시킨 후에 20 ml 1% DMSO로 완전히 용해시킨 후에 microfilter (22 µm)로 여과한 후 여과액을 agar well 방법을 이용하여 위와 동일하게 실시하였다.

### 나. 결과 및 고찰

참다래 저장병원균에 효과가 우수하다고 인정된 *Eucalyptus darlympleana*의 잎을 이용하여 추출 방법에 따른 항균 효과를 조사한 결과는 **Fig. 12**에 나타나 있다. 우선 *Eucalyptus darlympleana*의 항균효과는 Table 5과 동일하게 *Botryosphaeria dothidea*에 대해 가장 항균력이 높았으며 *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.)와 *Botrytis cinerea* 순으로 나타났다.

추출용매에 따른 항균작용은 물(H<sub>2</sub>O)보다는 메탄올(MeOH)이 효과적이었으며 추출방법으로는 환류증류추출 (RD: reflux distillation)보다는 진탕추출 (S: shaking)이 대체로 효과적 높은 것으로 나타났다. 따라서 이후의 실험에서 *Eucalyptus* 수종의 엽육으로부터 항균물질을 추출하기 위하여 추출용매로는 메탄올을 추출방법으로는 진탕추출방법을 이용하였다.

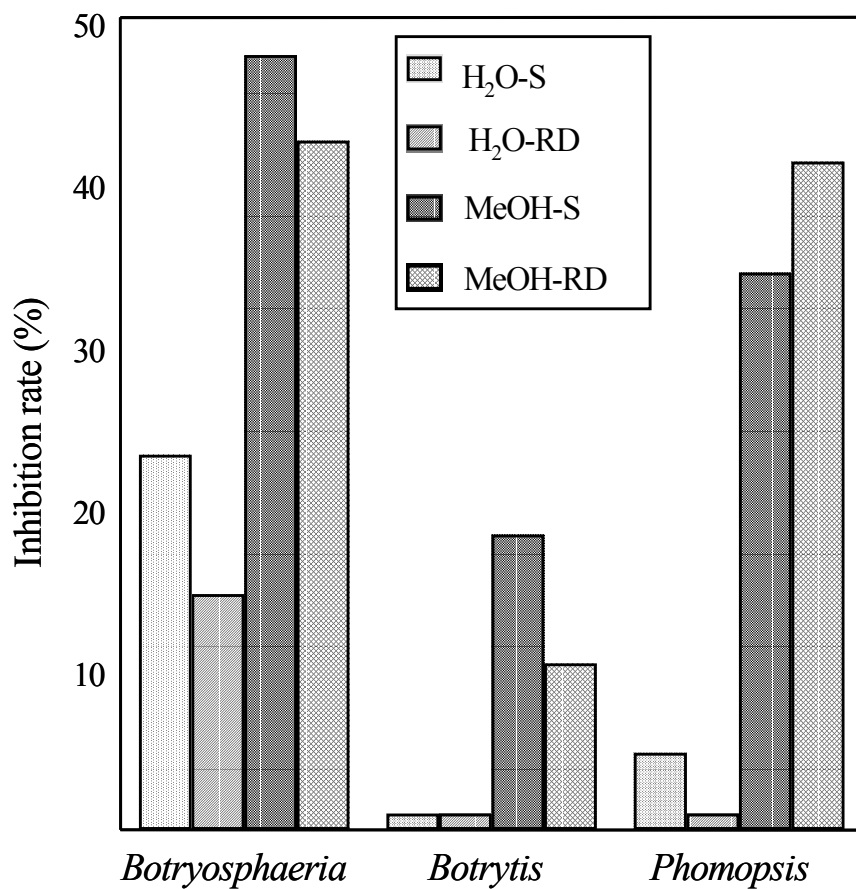


Fig. 12 Effect of extraction methods on antimicrobial activity on the fungi causing kiwifruit fruit rot

### 3) *Eucalyptus* 부위별, 시기별 추출액의 참다래 과실무름병원균에 대한 항균 활성 검정

#### 가. 실험재료 및 방법

1차년 실험 결과 참다래 저장 병원균인 *Botryosphaeria dothidea*, *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.), *Botrytis cinerea* 모두에서 가장 항균력이 우수했던 *Eucalyptus darlympleana* 수종을 이용하여 계절별로는 6월 10일과 10월 2일에 부위별로는 잎과 가지 각각 채집하여 항균 활성을 비교 검증하였다. 이를 위하여 잎과 가지의 methanol 추출 농축액을 이용하여 agar well 방법으로 균사생육저지효과를 살펴보았다. 추출액 제조는 다음과 같이 실시하였다.

- ① 2001년 6월과 10월에 채집한 *Eucalyptus darlympleana* 수종의 잎과 여린 가지를 3일 동안 풍건시킨 후 70℃ 건조기에서 3일 동안 건조시켜 완전히 건조된 조직을 mill을 이용하여 powder로 만든 후 냉동 보관하였다.
- ② 건조엽 30 g을 methanol 500 ml에 총 3회 반복 추출을 실시하고 각 추출액을 모두 합하여 항균력 검증에 사용하였다.
- ③ 추출 methanol 1,500 ml를 합하여 rotary evaporator를 이용하여 감압 농축시켰다.
- ④ 농축된 추출액에 methanol을 첨가하여 추출액 총부피가 30 ml로 적정하여 항균력 검증에 사용하였다.
- ⑤ 25℃에서 5일간 배양 후 성장 균사 직경을 측정하여 항균력을 비교하였다.

#### 나. 결과 및 고찰

참다래 저장 병원균에 대한 *Eucalyptus darlympleana* 수종의 항균 효과는 대상 병원균에 상관없이 가지 추출액보다는 엽추출액에서 항균력이 월

등히 높았다. 또한 엽추출액의 경우, 6월 초에 수확한 엽보다는 10월 초에 수확한 엽에서의 항균 활성이 월등히 높게 조사되었다. 특히 *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.)의 경우 10월에 수확한 엽 추출액에 의하여 균사 생장이 전혀 일어나지 않아 강력한 항균 활성을 나타내었으며 *Botrytis cinerea*에 대해서는 약 74%의 항균 활성을, *Botryosphaeria dothidea*에 대해서는 약 91%의 항균 활성을 보여 전반적으로 매우 높은 항균 활성을 보였다 (Table 6).

**Table 6.** Antagonistic effects of twig and leaf extracts of *Eucalyptus darlympleana* tree against phytopathogenic fungi causing fruit rots of kiwifruit

Fungi	Mycelium diameter (mm)			
	Twig-10 <sup>a</sup>	Leaf-6 <sup>b</sup>	Leaf-10 <sup>c</sup>	Control
<i>Botryosphaeria dothidea</i>	55.5	36.9	5.95	73.48
<i>Botrytis cinerea</i>	36.9	17.74	9.72	38.51
<i>Diaporthe actinidiae</i> ( <i>Phomopsis</i> sp.)	36.0	8.79	N.G <sup>d</sup>	48.53

The data represent the means of 5 replicates.

<sup>a</sup> Extracted with the twigs harvest on October.

<sup>b</sup> Extracted with the leaves harvest on June.

<sup>c</sup> Extracted with the leaves harvest on October.

<sup>d</sup> No mycelium growth.



## 2. *Eucalyptus* 엽육 추출액 대량회수 최적조건 구명

### 1) 항균물질 추출 및 분리에 적합한 최적 용매 및 전개조건 구명

#### 가. 실험 재료 및 방법

*Eucalyptus* 엽육 추출물에 대하여 chloroform, ethyl acetate, butanol과 같은 유기용매를 이용하여 순차적 용매 분획에 대한 항균력 검증을 실시하였다. 이를 위하여 항균력이 우수하다고 인정되는 *Eucalyptus unigera*와 *Eucalyptus darlympleana*의 건물 엽 30 g을 methanol 350 ml씩 3회 반복 추출하여 총 1,150 ml의 엽육 추출액을 합한 후에 rotary evaporator를 이용하여 감압 농축시킨 후 점액질의 농축물에 chloroform, ethyl acetate, butanol을 각각 300 ml씩 2회 순차 분획 추출한 후 마지막 남은 잔재물은 methanol로 다시 녹여 4개의 분획 fraction을 획득하였다. 각각 분획물들을 rotary evaporator로 완전히 감압 농축시킨 후 1% DMSO 10 ml씩을 첨가하여 완전 용해시켜 microfilter (22  $\mu$ m)로 여과한 후 여과액을 agar well 방법을 이용하여 위와 동일하게 실시하였다.

#### 나. 결과 및 고찰

항균력이 우수하다고 인정된 *Eucalyptus unigera*와 *Eucalyptus darlympleana*의 메탄올 추출액을 이용하여 chloroform, ethyl acetate, butanol 용매로 순차 분획한 후 참다래 저장병원균에 대한 chloroform, ethyl acetate, butanol 및 잔존 분획(residual fraction)의 항균 효과를 조사한 결과 (Table 7, Fig. 13), *Eucalyptus* 수종이나 병원균의 종류와는 상관없이 butanol fraction이 항균력이 가장 높았으며 다음으로 chloroform fraction이 높게 나타났다. Ethyl acetate fraction의 경우 *Eucalyptus unigera*는 *Botrytis cinerea*에 대하여 항균력이 어느 정도 있었으나 *Botryosphaeria dothidea*나 *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.)에 대해서는 뚜렷한 항균 효과를 찾아 볼 수 없었고 *Eucalyptus darlympleana*는 *Botryosphaeria dothidea*에 높은 항균력을 보였으며 *Botrytis cinerea*에 대

해서는 어느 정도 항균력이 있는 것으로 나타났지만 *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.)에 대해서는 전혀 항균력이 없는 것으로 나타났다. 잔존 fraction의 경우 모든 검증 병원균에 대해 항균력을 찾아 볼 수 없었다. 수종에 상관없이 chloroform과 butanol fraction에 항균력이 높은 물질이 존재하는 것을 알 수 있었다.

**Table 7.** Antagonistic activities of different solvent fractions of *Eucalyptus unigera* and *Eucalyptus darlympleana* against phytopathogenic fungi causing fruit rots of kiwifruit

<i>Eucalyptus</i> trees & target pathogens	Inhibition rates of mycelial growth (%)			
	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Residual
<i>Eucalyptus unigera</i>				
<i>Botryosphaeria dothidea</i>	10.47	-	62.13	-
<i>Diaporthe actinidiae</i> ( <i>Phomopsis</i> sp.)	20.03	4.39	53.30	-
<i>Botrytis cinera</i>	25.63	10.90	47.17	6.62
<i>Eucalyptus darlympleana</i>				
<i>Botryosphaeria dothidea</i>	52.95	39.69	49.18	-
<i>Diaporthe actinidiae</i> ( <i>Phomopsis</i> sp.)	21.52	2.21	51.79	16.44
<i>Botrytis cinera</i>	20.20	9.16	39.03	5.88

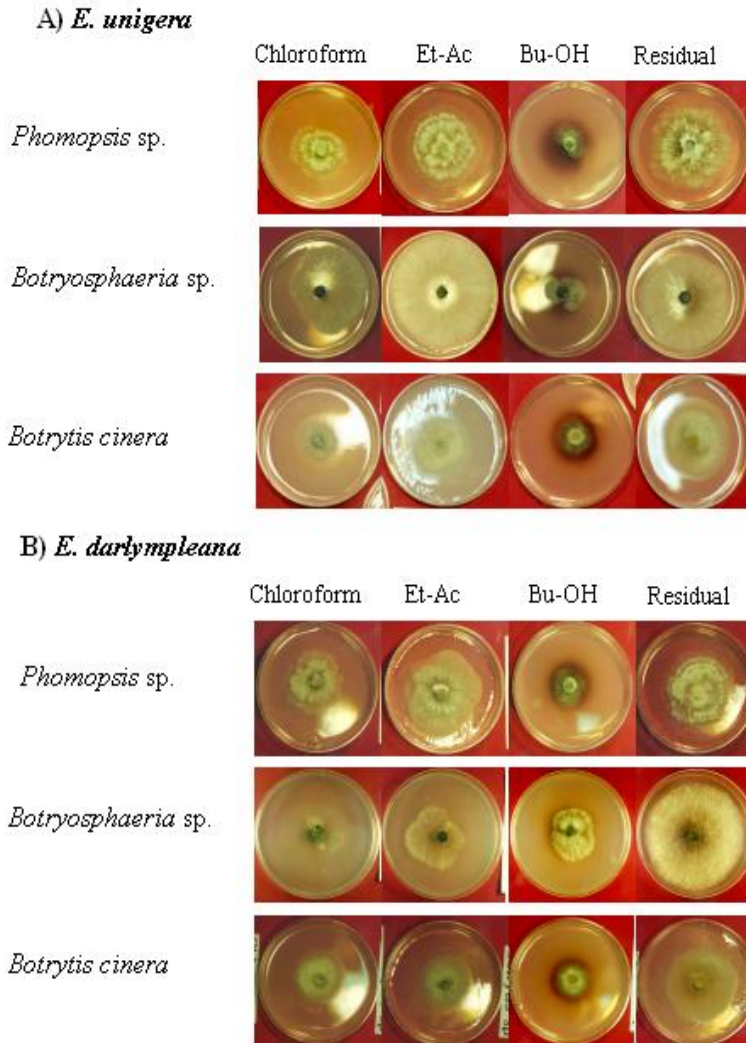


Fig. 13. Antagonistic activity of the fractions partitioned by serial extraction with Chloroform, Ethyl acetate and Butanol, and residual fraction of methanol extracts of *E. unigera*(A) and *E. darlympleana* (B) leaves against fruit rot fungal pathogens of kiwifruit.

## 2) *Eucalyptus darlympleana* 엽육 추출액의 chloroform과 butanol fraction 혼합물에 대한 참다래 저장병원균의 균사 생장억제 효과 조사

### 가. 실험재료 및 방법

*Eucalyptus darlympleana* 건조 분말 엽 시료 200 g을 methanol 1,000 ml씩 3회 반복 추출하여 전체를 합한 후 rotary evaporator를 이용하여 완전 감압한 후, chloroform, ethyl acetate, butanol 500 ml씩 2회 분획 추출하여 chloroform fraction과 butanol fraction을 혼합한 후 완전 감압시킨 후에 1% DMSO 30 ml를 넣어 완전히 녹인 후에 이를 실험에 이용하였다. 또한 1% DMSO 30 ml를 원액으로 하여 ×10, ×100, ×1000, ×2000 농도로 희석 조제하여 방제가 50%에 해당하는 농도 결정을 실시하였다. 이를 위하여 PDA 배지 중앙에 직경 8 mm의 well을 뚫은 후 구멍 바닥에 paper disc(직경 8 mm)를 올려놓은 후에 위에서 조정된 각기 농도의 추출액을 100  $\mu$ l를 첨가한 후 용매가 완전히 휘발된 후에 배지 중앙에 각 병원균의 균사 agar block(직경 8 mm)을 치상하고 25°C에서 5일간 배양 한 후 균사 생장 억제효과를 조사하였다.

### 나. 결과 및 고찰

항균물질에 대한 세부 분획 추출 및 화학적 구조 동정 연구와 병행하여 *Eucalyptus* 추출액의 참다래 저장병 방제 효과를 알아보기 위한 처리량을 결정하기 위하여 *Eucalyptus darlympleana*의 chloroform과 butanol fraction의 혼합 추출액을 이용하여 조사한 참다래 저장병원균에 대한 항균효과는 **Table 8**에 나타나 있다. 건조엽 200 g에서 획득한 30 ml의 조추출액을 원액으로 하여 각 희석 농도별로 항균효과를 조사한 결과 *Botryosphaeria dothidea*는 원액에서 균사 생장이 전혀 이루어지지 않았으며 10배 희석한 농도에서는 약 57%, 100배 희석한 경우에는 약 25%의 균사생장억제 효과를 나타냈다. *Botrytis cinerea*의 경우 원액에서 약 75%, 10배 희석 농도에서는 약 20%, 100배 이상 희석한 경우 항균효과가 거의 나타나지 않았다. *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.)의 경우 원액에서 약 90%, 10배 희석 농도에서 약 50%, 100배 희석에서도 약 30%의 균사생장억제 효과를 나타내었다.

**Table 8.** Inhibitory effects of different concentrations of mixture of chloroform and butanol fractions extracted from *Eucalyptus darlympleana* on phytopathogenic fungi causing fruit rots of kiwifruit

Target fungal pathogens	Inhibition rates of mycelial growth (%)				
	Dilution rates				
	× 1	× 10	× 100	× 1000	× 2000
<i>Botryosphaeria dothidea.</i>	100	56.59	25.54	-	-
<i>Diaporthe actinidiae</i> ( <i>Phomopsis</i> sp.)	90.36	50.23	30.47	-	-
<i>Botrytis cinera</i>	75.20	20.34	-	-	-

### 3) 참다래 저장병원균에 대한 *Eucalyptus darlympleana* 추출액 butanol fraction의 항균 활성 검증

#### 가. 실험재료 및 방법

*Eucalyptus darlympleana*의 methanol 추출액의 순차 분획 중에서 가장 항균 효과가 우수한 butanol fraction의 항균 활성을 검증하기 위하여 건엽 100 g을 methanol 1,000 ml씩 3회 반복 추출하여 전체를 합한 후 rotary evaporator를 이용하여 완전 감압한 후, chloroform, ethyl acetate, butanol 500 ml씩 2회 분획 추출하여 완전 건조하여 획득한 13 g의 butanol fraction에 1% DMSO 13 ml을 첨가하여 제조한 조추출액을 원액으로 하여  $\times 2$ ,  $\times 4$ ,  $\times 8$ ,  $\times 16$ 로 희석하여 각 농도별로 배지 상에서 참다래 저장병원균에 대한 군사생육억제 효과를 조사하였다.

#### 나. 결과 및 고찰

*Eucalyptus darlympleana*의 methanol 추출액의 순차 분획 중에서 가장 항균 효과가 우수한 butanol fraction의 항균 활성을 검증하기 위하여 건엽 100 g에서 추출한 butanol fraction 조추출액 13 ml을 이용하여 조사한 참다래 저장병원균에 대한 항균효과는 **Fig. 14**에 나타나 있다. Butanol fraction 조추출액 13 ml을  $\times 2$ ,  $\times 4$ ,  $\times 8$ ,  $\times 16$ 로 희석하여 각 농도별로 배지 상에서 군사생장 억제율을 기준으로 항균효과를 조사한 결과 *Botryosphaeria dothidea*는 각 희석농도에서 72%, 64%, 44%, 38%의 군사생장억제율을 보였으며 *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.)의 경우 82%, 74%, 60%, 45%의 군사생장 억제율을 보였다. 하지만 *Botrytis cinerea*의 경우  $\times 2$  희석의 경우 약 52% 억제 효과를 보였을 뿐 그 이하의 희석 농도에서는 10% 미만의 낮은 억제 효과를 보여 chloroform과 butanol fraction의 혼합액과 유사한 경향을 보였으며 butanol fraction 단독의 경우 혼합액보다 현저히 낮은 군사생장 억제 효과를 나타냈다.

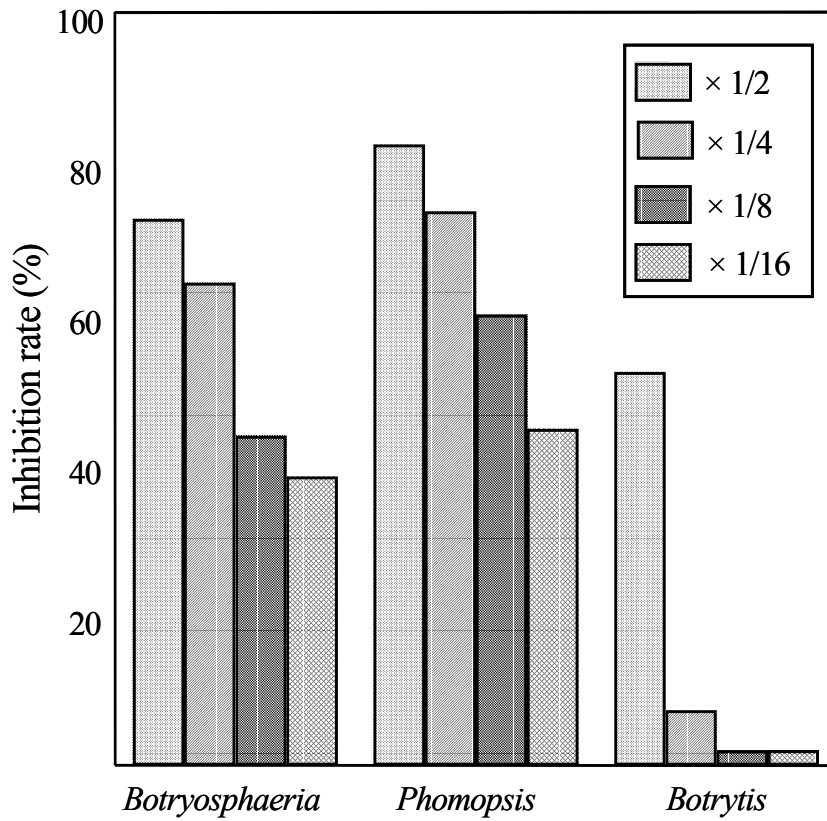


Fig. 14 Antimicrobial activity of butanaol fraction of *E. darylpleana* extract against phytopathogenicfungi causing kiwifruit fruit rot disease

### 3. *Eucalyptus darlympleana* 엽육 추출액에서 항균원인물질 화학적 구조동정 및 항균활성 검정

#### 1) *Eucalyptus darlympleana* 엽육 추출액에서 항균원인물질 화학적 구조동정

##### 가. 실험재료 및 방법

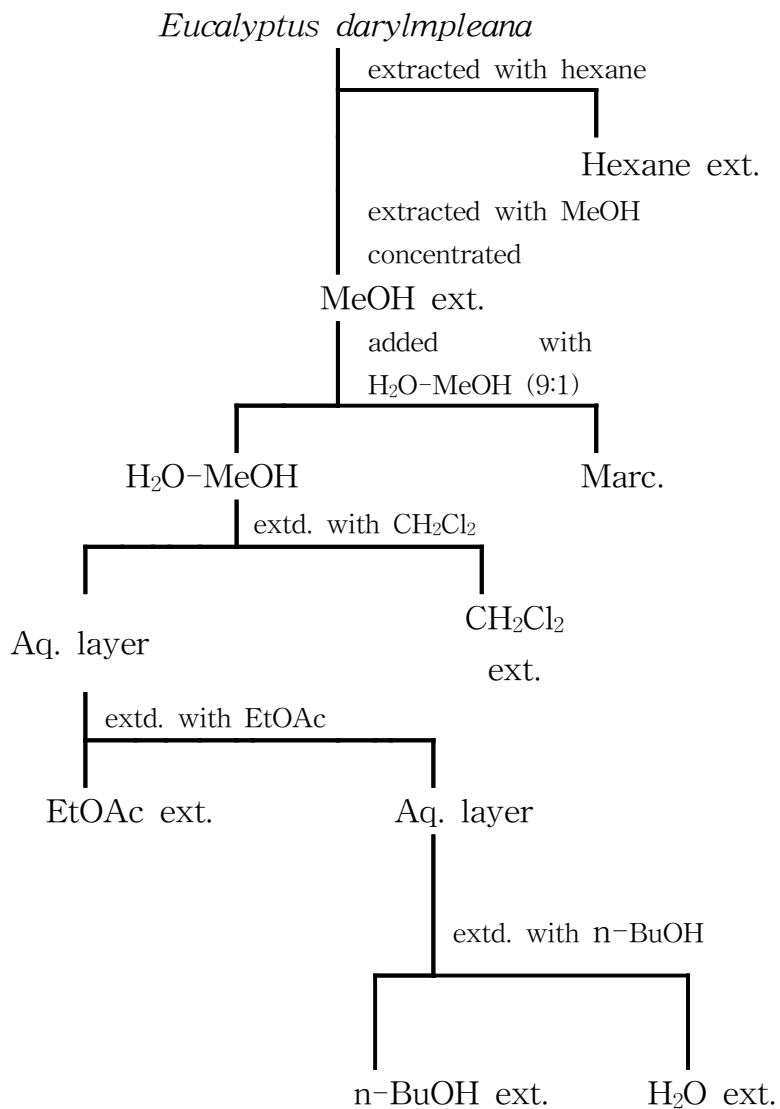
###### ○ 시약 및 기기

용매는 특급 및 1급 시약을 column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60(70-230 mesh, Merck, Art 7734), Sephadex LH-20(Farumasia, Sweden)을, precoated Kiesegel 60 F<sub>254</sub>(Merck, No. 5735), Microplate Reader(Benchmark, Bioraq Co., Germany), <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz) 과 <sup>13</sup>C-NMR (100.5 MHz) spectra는 Brucker AMX 400 spectrometer로써, 용매는 DMSO-d<sub>6</sub>, 내부표준물질로는 TMS를 사용하였다.

###### ○ 추출 및 분획

엽육추출액 조제를 위하여 2001년 하반기 동안 광양제철소내 RIST 실험 포장에서 자라고 있는 4~6년생 *Eucalyptus darlympleana* 잎을 채집하여 3일 동안 음건 풍건시킨 후 70℃ 건조기에서 3일 동안 건조시켜 완전히 건조된 잎을 mill을 이용하여 powder로 만든 후 실험에 이용하였다. 환류추출방식을 이용하여 건물시료 2 kg에 n-haxane을 이용하여 수 차례 추출하여 색소와 지방성분을 제거한 후 methanol을 이용하여 수 차례 추출한 후 rotary evaporator로 용매를 제거하여 추출물을 얻었다. 이 MeOH 추출물은 10% MeOH로 현탁시켜 용매의 극성을 증가시키는 계통분획법에 의해 디클로로메탄 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), 에틸아세테이트 (EtOAc), 부탄올 (*n*-BuOH) 및 물 (H<sub>2</sub>O)순으로 분획한 후 감압농축하여 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, EtOAc 및 *n*-BuOH의 가용부를 각각 30 g, 20 g 및 42 g을 얻었다. 이에 대한 자세한 분리방법은 Fig. 15에 나타나 있다.





**Fig. 15.** Schematic diagram of extraction and fractionation from *Eucalyptus darylpleana* leaves.

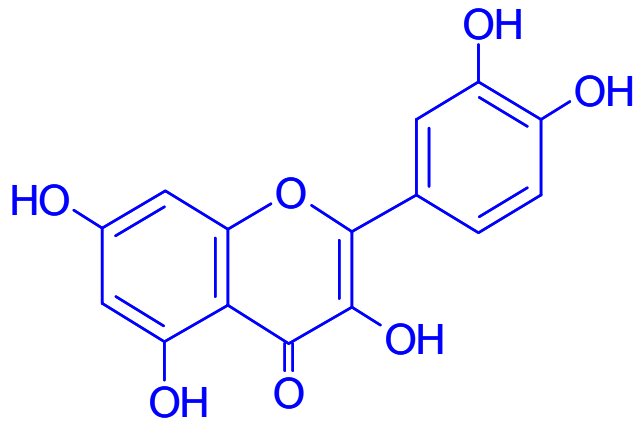
○ EtOAc 및 *n*-BuOH의 가용부에서 페놀성 화합물의 분리

*Eucalyptus* 잎의 EtOAc 분획물 20 g을 silica gel 30 g에 흡착시킨 후, column (직경 5.2 cm, 길이 75 cm)에 silica gel 380 g을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>로 충전시키고 그 위에 시료를 넣고 그 위에 다시 silica gel 20 g을 충전시켰다. 사용된 용매는 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O (5:1:1, lower layer), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O (25:8:5, lower layer), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O (7:3:1, lower layer) 및 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O (65:35:10, lower layer)의 혼합용매로 용출하는 column chromatography를 실시하여 100 ml씩 용출하였다. 이 subfraction들을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O (65:35:10, lower layer)와 EtOAc-MeOH-H<sub>2</sub>O (600:99:81)의 전개용매로 TLC상에서 전개시켜 화합물의 분리를 확인하였고 subfraction EDE 23-24에서 화합물 1(110 mg)을, subfraction EDE 78-87에서 화합물 2(12 mg)을, subfraction EDE 146-179에서 화합물 3(198 mg)을, subfraction EDE 269-271에서 화합물 4(196 mg)을, subfraction EDE 277-279에서 화합물 5(12 mg)을, subfraction EDE 511-518에서 화합물 6(13 mg) 등을 각각 분리하였다. 이들 중 subfraction EDE 78-87은 sephadex LH20 column chromatography를 실시하여 단일 화합물을 분리하였다. 또한 유카리투스 잎 *n*-BuOH의 가용부 42 g중 20 g을 silica gel 30 g에 흡착시킨 후, EtOAc 분획물의 분리와 동일한 방법으로 실시하였으며, subfraction EDB 105-113에서 화합물 7(7 mg)과 subfraction EDB 195-208에서 화합물 8(35 mg)을 분리하였다. 이때 각각의 subfraction들이 혼합물이었으며 메타놀을 용출용매로 하여 sephadex LH20 column chromatography를 반복 실시하여 화합물들을 분리하였다. TLC 상에서 단일 화합물의 분리를 확인하고 <sup>13</sup>C-NMR과 <sup>1</sup>H-NMR을 통한 분광학적 방법으로 화학구조를 동정하였다.

나. 결과 고찰

화합물 1과 7은 <sup>1</sup>H-NMR spectrum에서 A-ring의 meta coupling에 기인한 signal이 δ 6.38 (1H, d, J=2.0 Hz, H-8)과 δ 6.16 (1H, d, J=2.0 Hz, H-6)에서 doublet으로 나타나고, B-ring의 H-2', H-6' 및 H-5' signal이 δ 7.64 (H, d, J=2.4 Hz), δ 7.53 (1H, dd, J=2.4 & 8.4 Hz) 및 δ 6.85 (1H, d, J=8.5 Hz)에서 meta와 ortho coupling으로 관측되었다. <sup>13</sup>C-NMR에

서는 전형적인 flavonol aglycon 화합물인 quercetin의 문헌치와 잘 일치하였다. 따라서 본 화합물의 화학구조는 quercetin으로 결정하였다 (Fig. 16, 17, 18).



### Quercetin (Compound 1, 7)

#### $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- $d_6$ ) $\delta$ :

7.66 (1H, d,  $J=2.1$  Hz), 7.53 (1H, dd,  $J=2.1$  & 8.5 Hz), 6.87 (1H, d,  $J=8.5$  Hz), 6.40 (1H, d,  $J=2.0$  Hz), 6.18 (1H, d,  $J=2.0$  Hz)

#### $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- $d_6$ ) $\delta$ :

175.8 (C-4), 163.8 (C-7), 160.7 (C-5), 156.1 (C-9), 147.7 (C-4'),  
146.8 (C-2), 145.0 (C-3'), 135.7 (C-3), 121.9 (C-1'), 119.9 (C-6'),  
115.6 (C-5'), 115.0 (C-2'), 103.0 (C-10), 98.1 (C-6), 93.3 (C-8)

Fig. 16. Chemical structure of quercetin isolated from *Eucalyptus darylpleana* leaves.

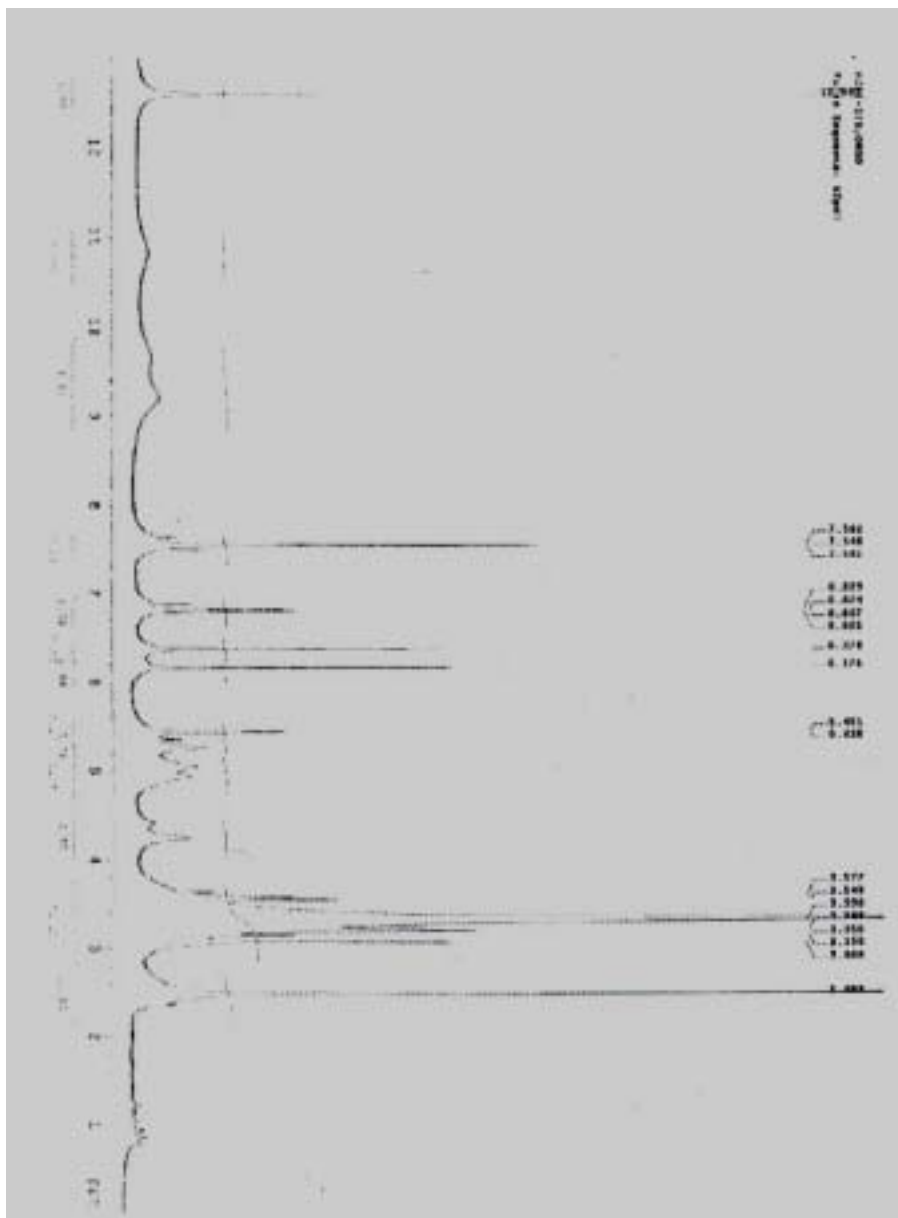


Fig. 17.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of quercetin.

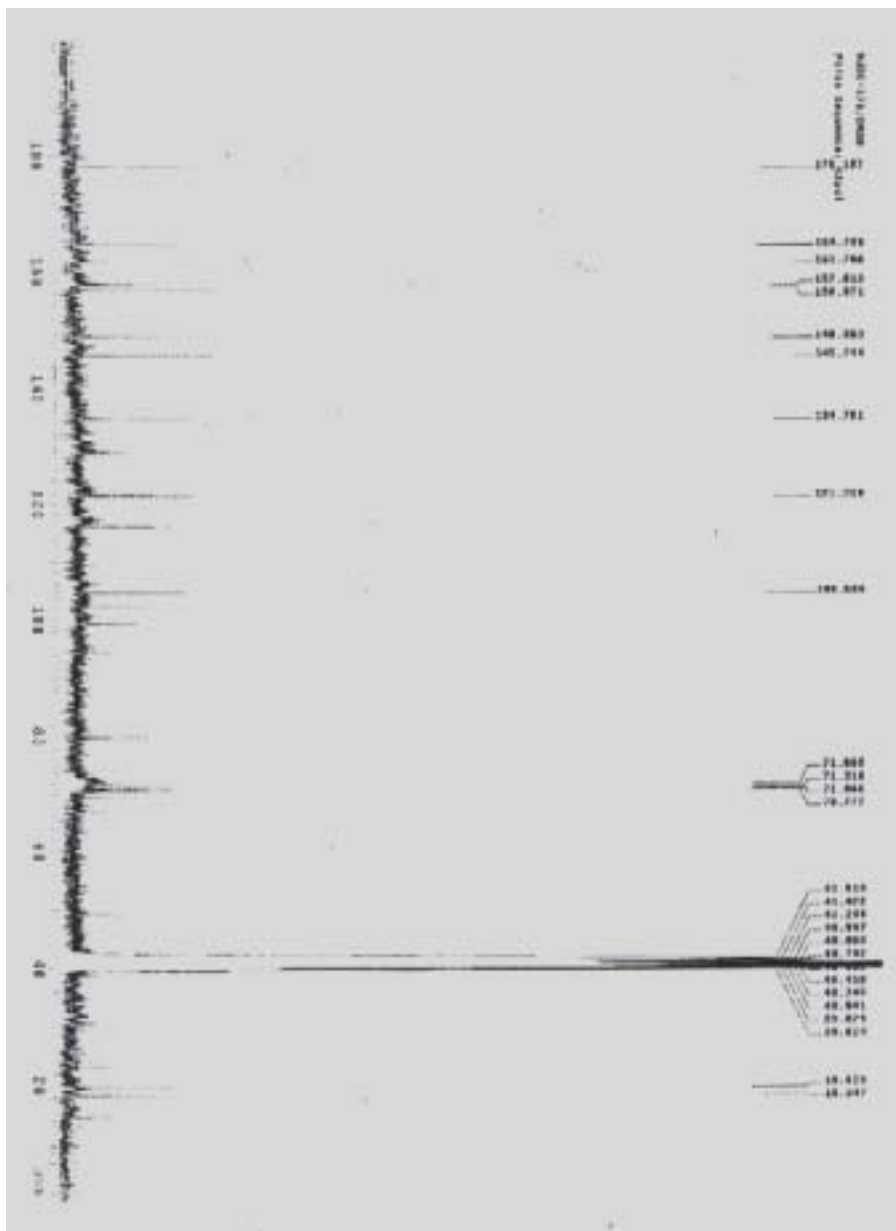
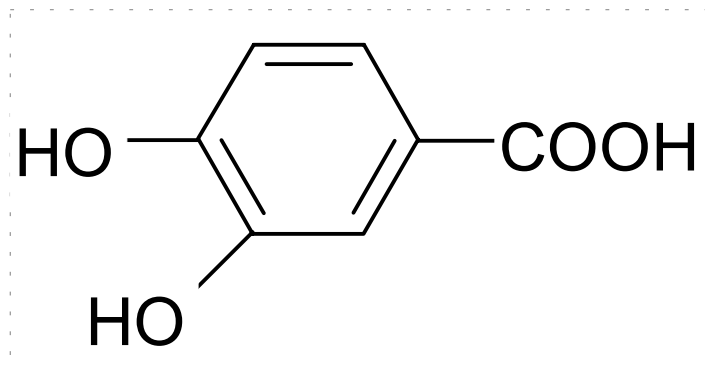


Fig. 18.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of quercetin.

화합물 2는  $^1\text{H-NMR}$  spectrum에서  $\delta$  7.31에서 2.0 Hz로  $\delta$  7.26과 doublet로 meta coupling하고  $\delta$  6.77는  $\delta$  7.26과 8.0 Hz로 ortho coupling 하여 H-2, H-6, H-5로 각각 assignment 하였으며,  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum에서는 carbonyl기의 C에 기인한 peak가  $\delta$  167.1에서 관측되고, benzene ring에 기인한 peak가 6개 관측되어 benzoic acid 유도체임을 알 수 있었으며, 문헌치의 비교로 3,4-dihydroxybenzoic acid임을 알 수 있었다. 따라서 본 화합물은 3,4-dihydroxybenzoic acid로 구조를 결정하였다 (Fig. 19, 20, 21).



**3,4-dihydroxybenzoic acid  
(Compound 2)**

**$^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$ :**

7.31 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-2), 7.26 (1H, dd,  $J=2.0$  & 8.0 Hz, H-6),  
6.77 (1H, d,  $J=8.0$  Hz, H-5);

**$^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 100.5 MHz)  $\delta$ :**

167.1 (C-7), 149.8 (C-4), 144.7 (C-3), 121.8 (C-1), 121.5 (C-6),  
116.4 (C-2), 115.0 (C-5)

**Fig. 19.** Chemical structure of 3,4-dihydroxybenzoic acid isolated from *Eucalyptus darylpleana* leaves.

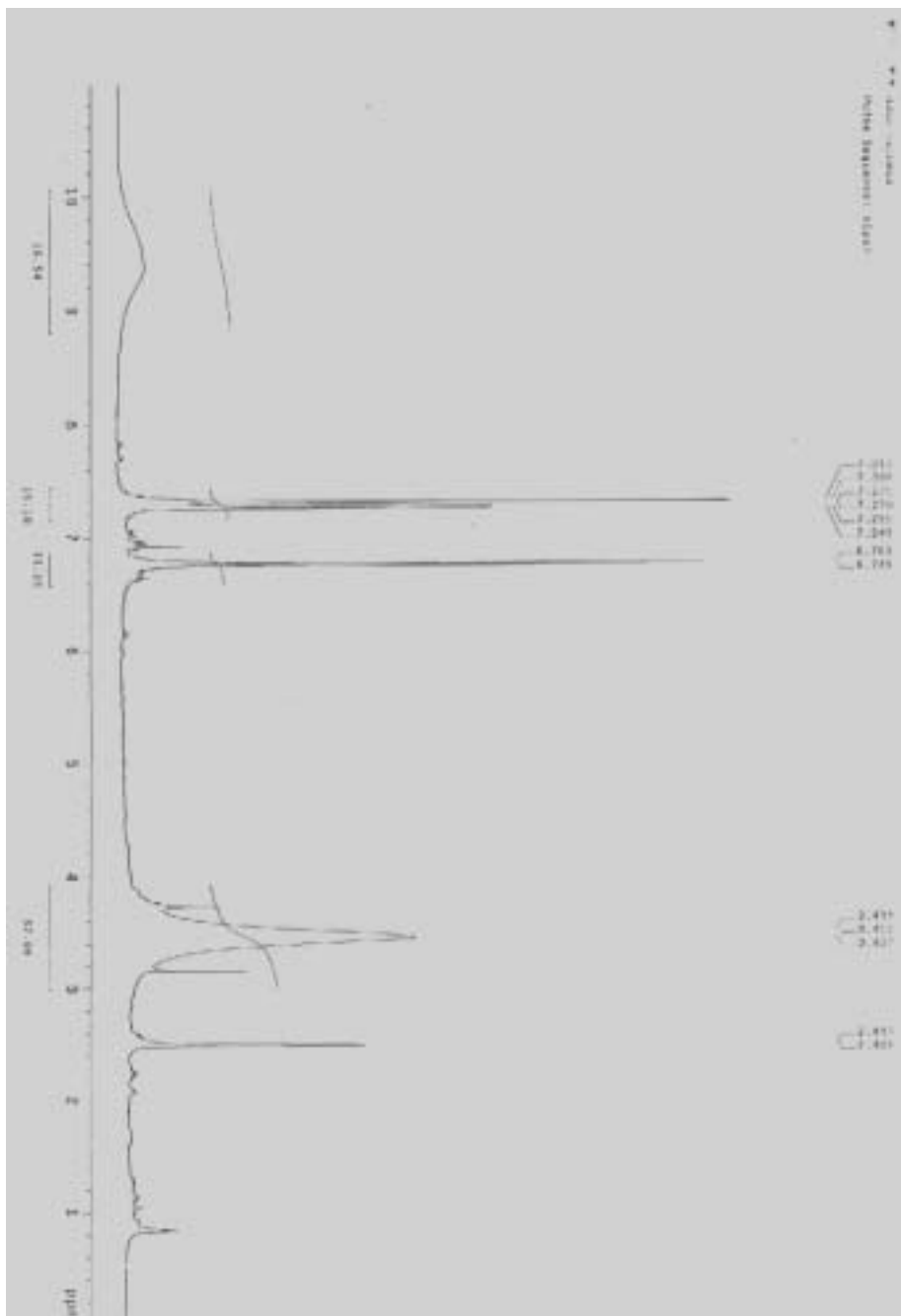


Fig. 20.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of 3,4-dihydroxybenzoic acid.

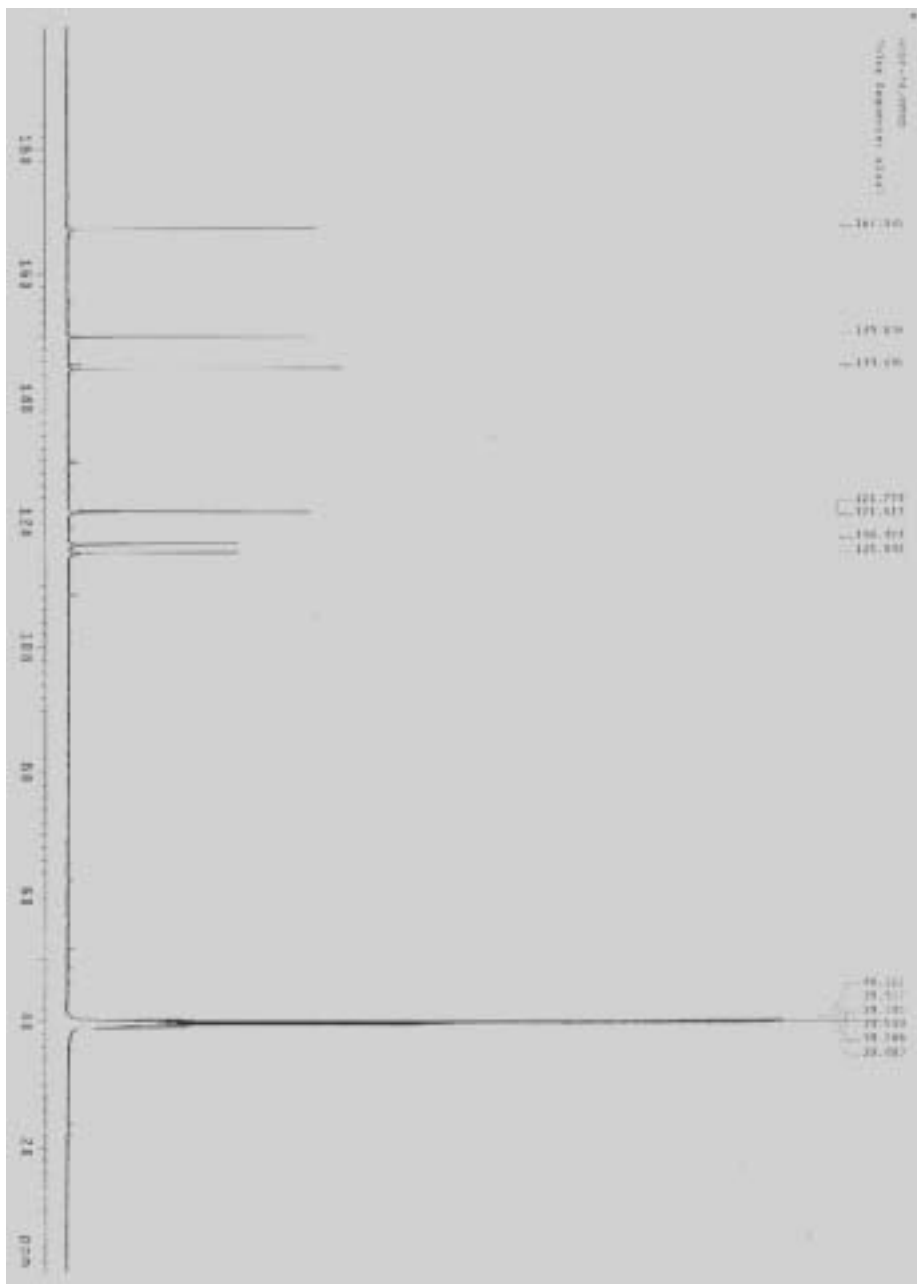
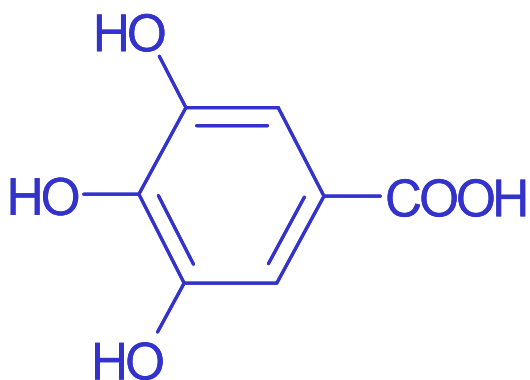


Fig. 21.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of 3,4-dihydroxybenzoic acid.



화합물 3, 6과 8은  $^1\text{H-NMR}$  spectrum에서  $\delta$  6.90 (2H, s, H-2 & 6)의 peak가 나타나고,  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum분석에서는 carboxyl기에 기인하는 peak가  $\delta$  167.4에서 관측되고 benzene ring에 기인한 peak가 6개 관측되어 benzoic acid 유도체임을 알 수 있었으며, 문헌치의 data와 비교하여 gallic acid와 잘 일치하였다. 따라서 본 화합물을 gallic acid로 결정하였다 (Fig. 22, 23, 24).



### Gallic acid (Compound 3, 6, 8)

$^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ :6.92 (2H, s, H-2 & 6)

$^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 50.3 MHz)  $\delta$ : 167.6 (C-7),  
145.6 (C-3 & 5), 138.1 (C-4), 120.6 (C-1), 108.9 (C-2  
& 6)

Fig. 22. Chemical structure of gallic acid isolated from *Eucalyptus darylmpleana* leaves.

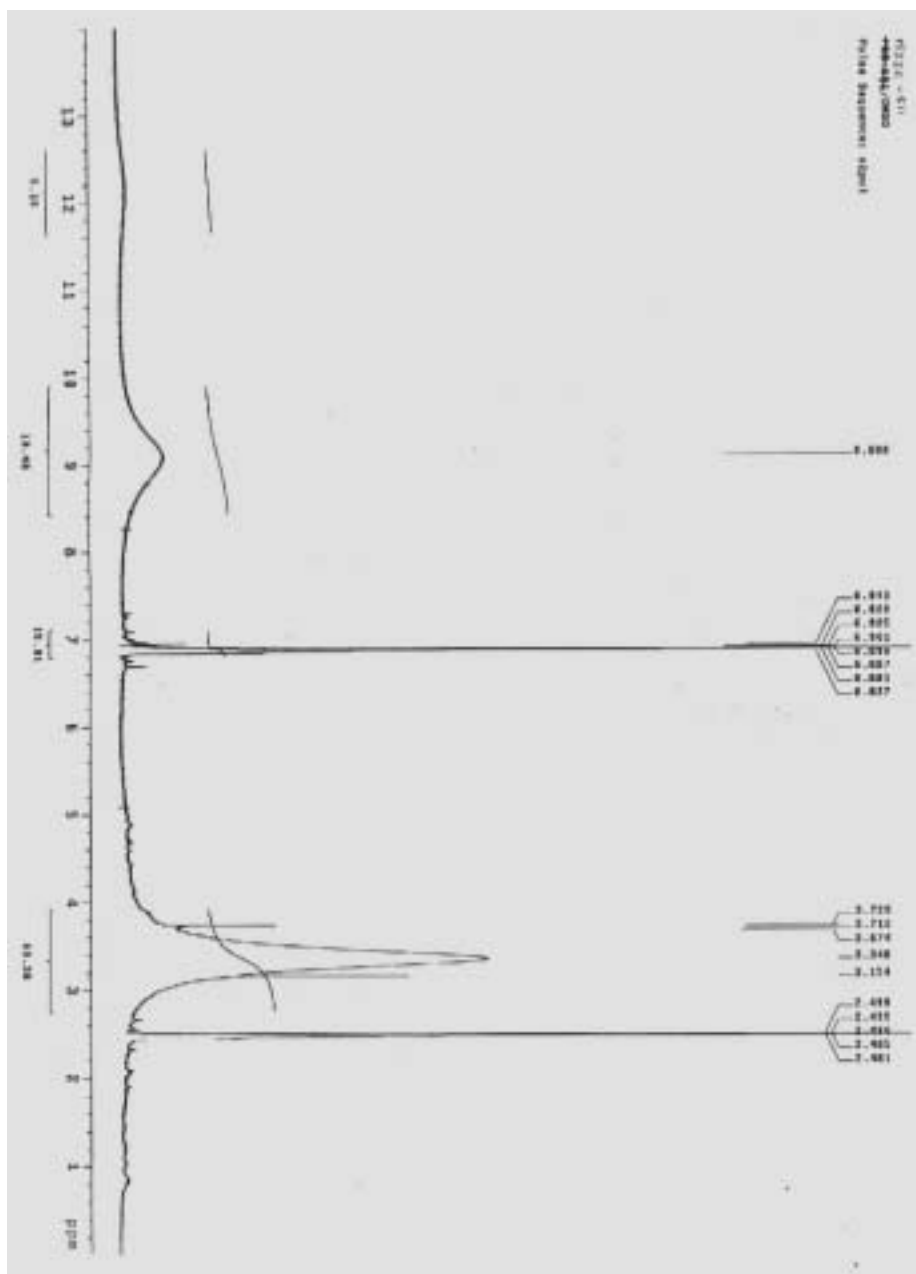


Fig. 23. <sup>1</sup>H-NMR spectrum of gallic acid.

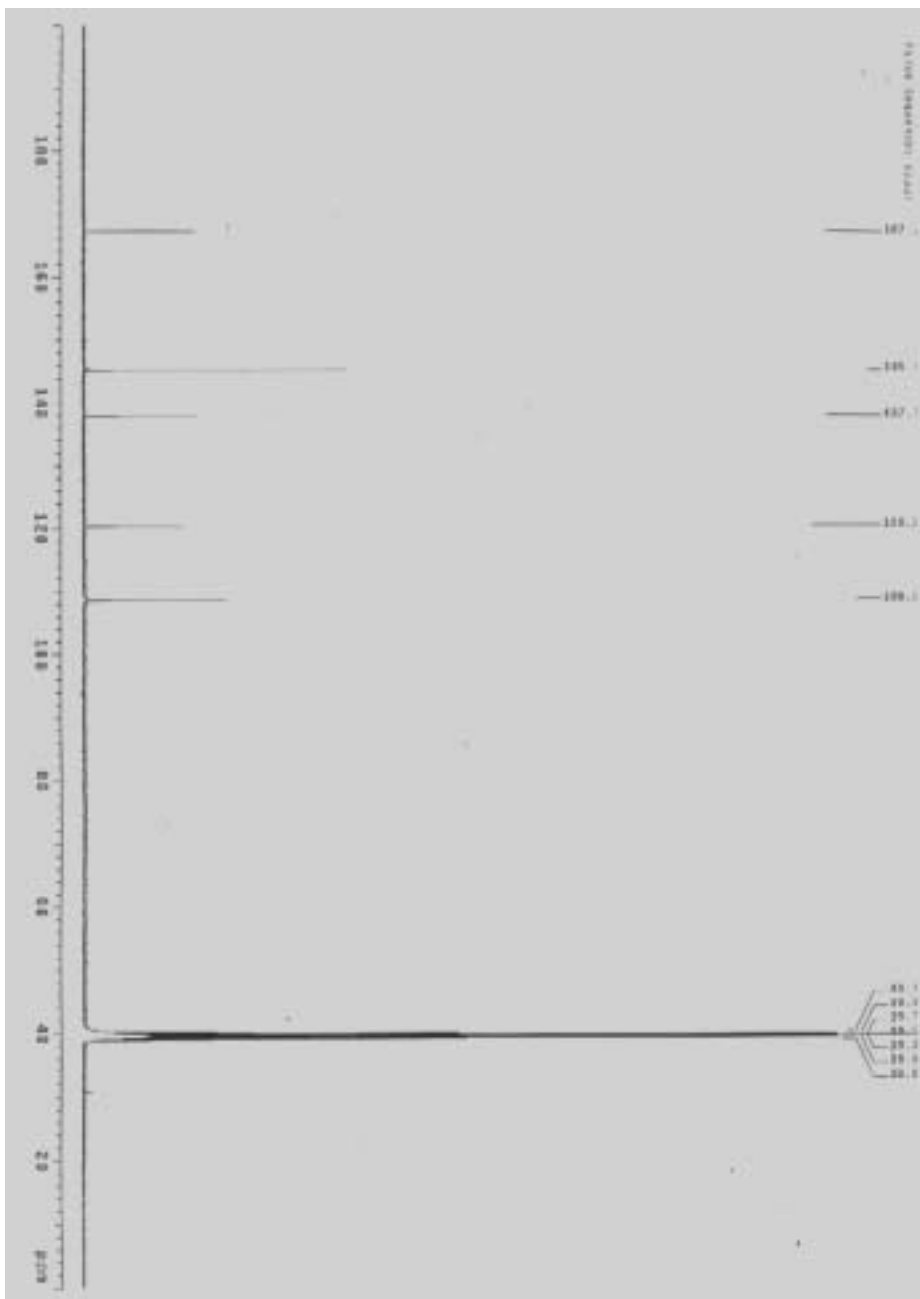
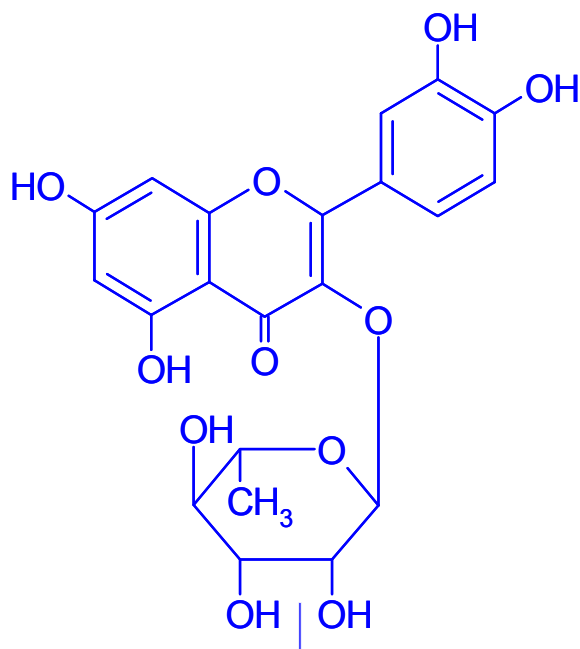


Fig. 24.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of gallic acid.

화합물 4는  $^1\text{H-NMR}$  spectrum에서 A-ring의 meta coupling에 기인한 signal이  $\delta$  6.38 (1H, d,  $J=1.9$  Hz, H-8)과  $\delta$  6.18 (1H, d,  $J=1.9$  Hz, H-6)에서 doublet으로 나타나고, B-ring의 H-2', H-6' 및 H-5' signal이  $\delta$  7.29 (H, d,  $J=2.1$  Hz),  $\delta$  7.26 (1H, dd,  $J=2.1$  & 8.2 Hz) 및  $\delta$  6.86 (1H, d,  $J=8.2$  Hz)에서 meta와 ortho coupling으로 관측되었다. 또한 1 mole의 당에 기인하는 anomeric proton의 signal이  $\delta$  5.24 (1H, d,  $J=1.4$  Hz, anomeric H)에서 관측되었으며, rhamnose의 methyl기로 추정되는 signal이  $\delta$  0.81(3H, d,  $J=5.6$  Hz)에서 나타났다.  $^{13}\text{C-NMR}$ 은 전형적인 flavonol aglycon 화합물인 quercetin의 문헌치와 잘 일치하고 1 mole의 당에 기인하는 signal이 102.4 (C-1''), 71.9 (C-4''), 71.3 (C-5''), 71.1 (C-3''), 70.8 (C-2''), 18.3 (C-6'')에서 나타났으며, 당의 결합위치는 비당체의  $^{13}\text{C-NMR}$ 과 비교시 C-3이 0.7 ppm 저자장 이동함으로써 quercetin C-3 위치에 당이 결합하고 있음을 알 수 있었다. 따라서 본 화합물의 화학구조는 문헌치의 data와 잘 일치하여 quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnoside(quercitrin)로 결정하였다 (Fig. 25, 26, 27).

화합물 5는  $^1\text{H-NMR}$  spectrum에서  $\delta$  6.18 (1H, d,  $J=2.0$  Hz),  $\delta$  6.37(1H, d,  $J=2.0$  Hz)의 peak는 A-ring의 proton이 H-6, H-8에서 서로 meta coupling하고 있으며,  $\delta$  8.04 (2H, d,  $J=9.0$  Hz)와  $\delta$  6.84 (2H, d,  $J=9.0$  Hz)에서는 H-2', 6' 및 H-3', 5'이 각각 ortho coupling함을 나타냈다. 또한  $\delta$  5.46 (1d,  $J=7.0$  Hz)에서 1 mole의 당에 기인하는 anomeric proton이 관측되었다. 당의 결합위치는 비당체의  $^{13}\text{C-NMR}$  문헌치와 비교할 때 C-3이 1.6 ppm 저자장 shift함으로써 quercetin C-3위치에 당이 결합함을 알 수 있었다. 당의 구조는  $^{13}\text{C-NMR}$  data ( $\delta$  101.5, 74.8, 77.2, 70.7, 78.3, 61.7)에서 D-glucose로, 그리고 결합 양식은 coupling constant가 7.0 Hz로써  $\beta$ 결합함을 알 수 있다. 따라서 화합물 8의 화학구조는 quercetin 3-O- $\beta$ -D-glucoside(isoquercitrin)로 결정하였으며, 문헌치의 data와 잘 일치하였다 (Fig. 28, 29, 30).

이들 5개의 화합물은 다른 식물체에서는 이미 보고된 화합물이지만, gallic acid의 경우 다량을 분리할 수 있었으며 외국의 연구논문을 검색한 결과 항균활성 이외에도 여타 생리활성이 우수한 화합물로 알려져 있지만 *Eucalyptus ddarlympleana*에서는 최초로 보고되어 학술적 가치가 매우 높은 것으로 평가되었다.



**Quercetin-3-O-rhamnoside (Quercitrin)  
(Compound 4)**

**<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ:**

12.6 (1H, s, 5-OH), 7.29 (1H, d, J=2.0Hz, H-2'), 7.24 (1H, dd, J=2.0&8.2Hz, H-6'), 6.65 (1H, d, J=8.2Hz, H-5'), 6.38 (1H, d, J=1.9Hz, H-8), 6.20 (1H, d, J=1.9Hz, H-6), 5.24 (1H, d, J=1.3Hz, anomeric H), 0.80 (3H, d, J=5.5Hz, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ:**

177.8 (C-4), 164.2 (C-7), 161.3 (C-5), 157.3 (C-2), 156.4 (C-9), 148.5 (C-4'), 145.2 (C-3'), 134.2 (C-3), 121.1 (C-1'), 120.7 (C-6'), 115.7 (C-5'), 115.5 (C-2'), 104.1 (C-10), 101.6 (C-1''), 98.7 (C-6), 93.6 (C-8), 71.2 (C-4''), 70.6 (C-5''), 70.4 (C-3''), 70.1 (C-2''), 17.5 (C-6'').

**Fig. 25.** Chemical structure of quercitrin isolated from *Eucalyptus darylimpleana* leaves.

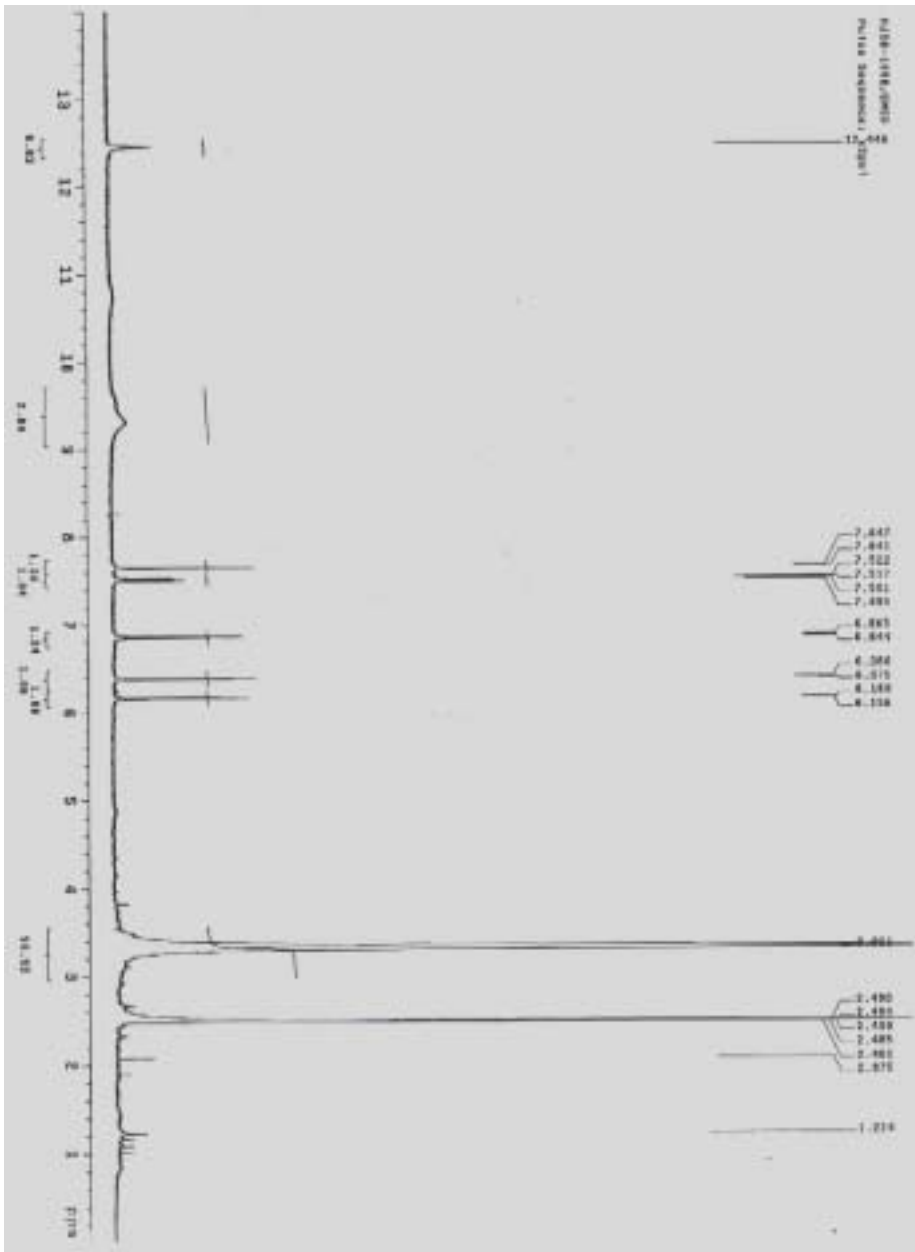
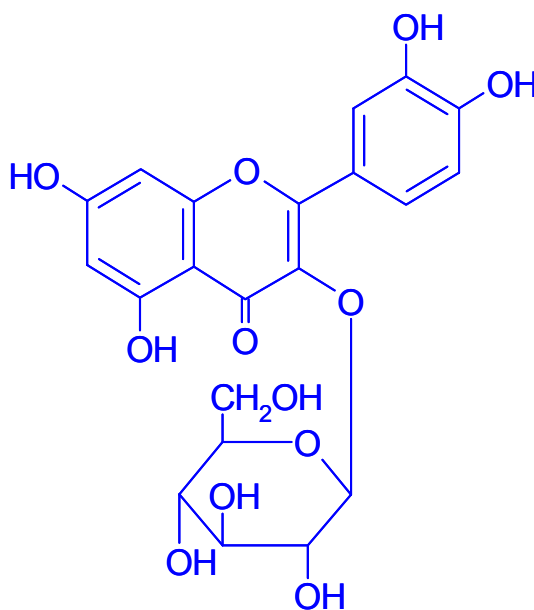


Fig. 26.  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of quercitrin.



Fig. 27.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of quercitrin.



**Quercetin 3-O-glucoside (Isoquercitrin)  
(Compound 5)**

**<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ:**

7.59 (1H, d, J=2.0Hz), 7.56 (1H, dd, J=9.0&2.0Hz), 6.83 (1H, d, J=9.0Hz), 6.39 (1H, d, J=1.8Hz), 6.19 (1H, d, J=1.8Hz), 5.46 (1H, d, J=7.0Hz)

**<sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 50.3 MHz) δ:**

177.4 (C-4), 164.1 (C-7), 161.2 (C-5), 156.3 (C-2), 156.2 (C-9), 148.4 (C-4'), 133.3 (C-3), 121.6 (C-6'), 121.1 (C-1'), 116.2 (C-5'), 115.2 (C-2'), 104.0 (C-10), 106 (C-1''), 98.6 (C-6), 93.5 (C-8), 77.6 (C-5''), 76.5 (C-3',3''), 74.1 (C-2''), 69.9 (C-4'), 60.9 (C-6'')

**Fig. 28.** Chemical structure of isoquercitrin isolated from *Eucalyptus darylpleana* leaves.



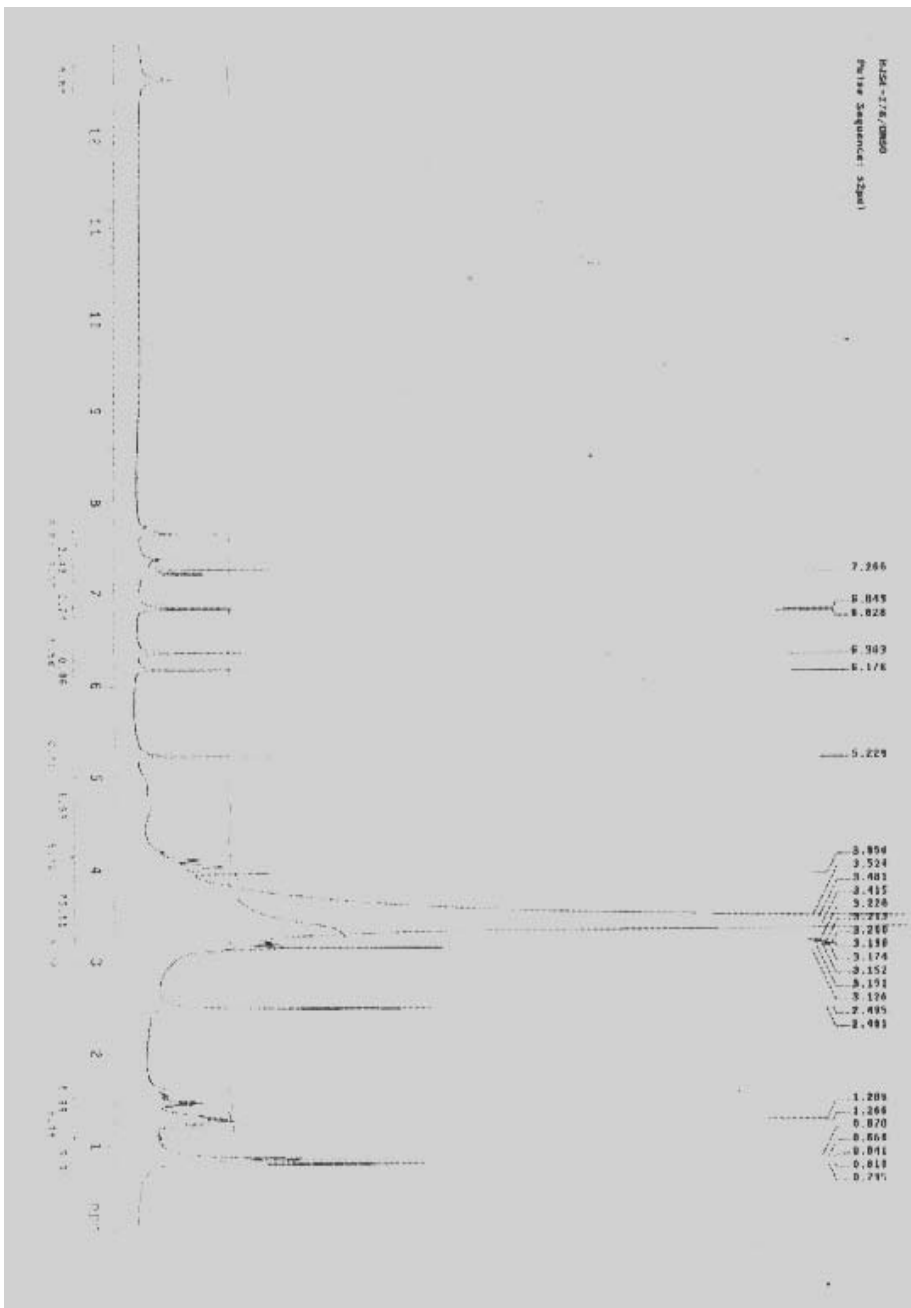


Fig. 29. <sup>1</sup>H-NMR spectrum of isoquercitrin.

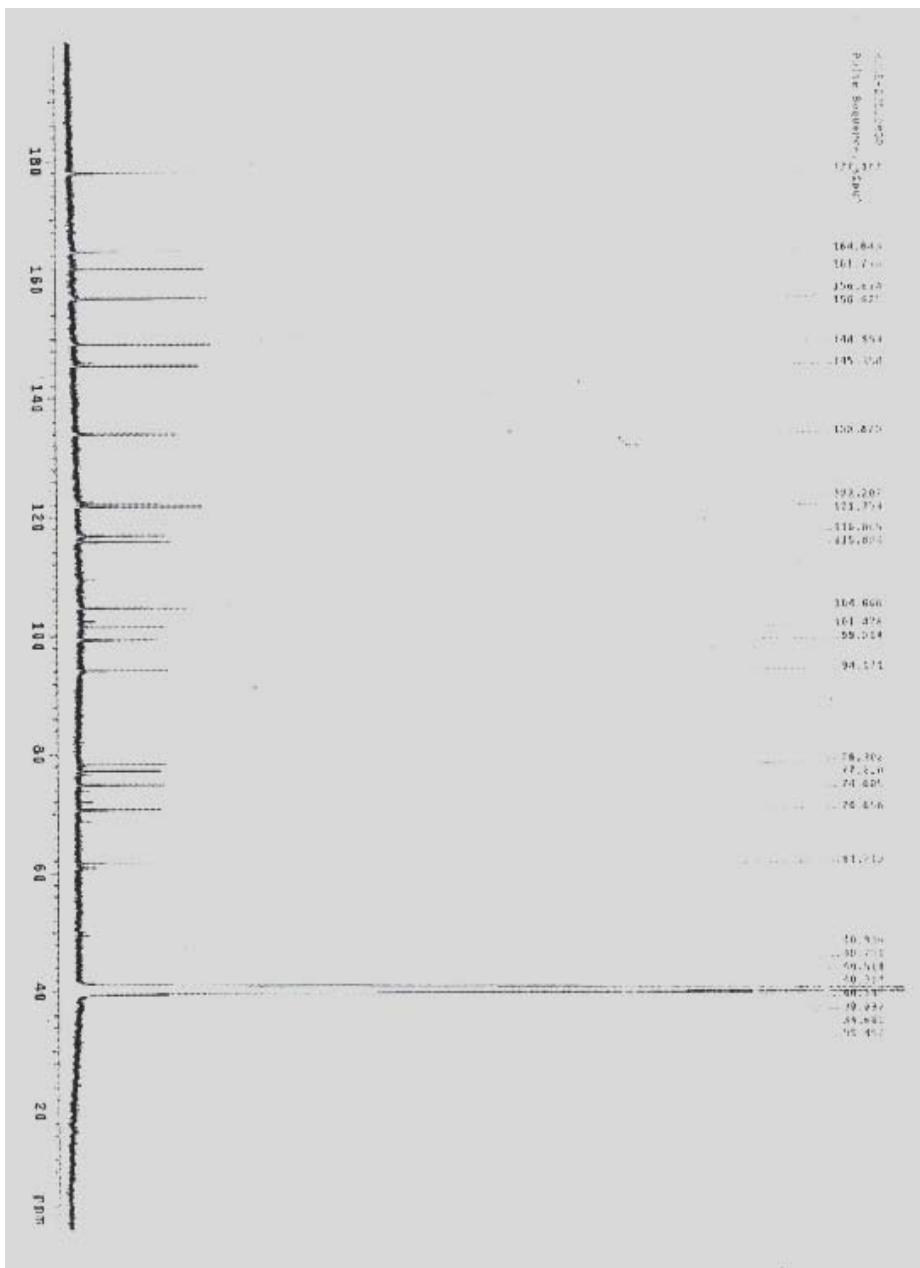


Fig. 30.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of isoquercitrin.

## 2) *Eucalyptus darlympleana* 엽육 추출액에서 분리한 항균원인물질의 참다래 과실무름병균 억제효과 검증

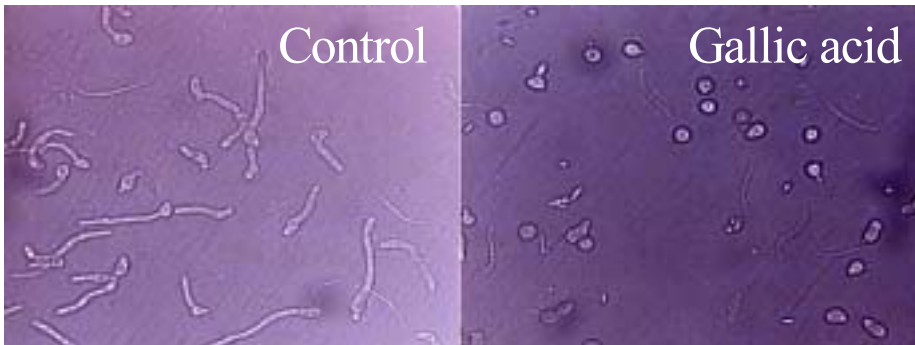
### 가. 실험재료 및 방법

*Eucalyptus darlympleana* 잎에서 순수 분리한 5개의 compound에 대한 참다래 저장병균의 항균활성을 공중균사 생장억제와 포자발아억제를 중심으로 검증하였다. 순도 99%의 compound들을 1% DMSO 용액에 넣어 최종 농도 5,000 ppm 원액을 조제한 후 이를 단계희석법을 이용하여 1,000 ppm, 100 ppm, 10 ppm, 1 ppm 농도로 조제하여 참다래 과실무름병을 일으키는 주요 병원균인 *Botryosphaeria dothidea*, *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.), *Botrytis cinerea*에 대하여 조사하였다. 감자한천배지 (PDA)에서 신선하게 배양하여 왕성하게 자라는 균주를 이용하여 agar well diffusion 방법을 이용하여 공중균사억제를 조사하였다. PDA 배지 중앙에 직경 8mm well을 만든 후 살균한 paper disc를 well 바닥에 올려놓고 그 위에 여러 농도로 희석한 compound 들의 희석액 (DMSO 1% 포함)을 100  $\mu$ l를 점적하여 용액이 배지 안으로 완전히 스며든 후 PDA 배지에서 새로 배양하여 7~10일 정도 자란 병원균의 agar block (직경 8 mm)을 well에 올려놓고 25 $^{\circ}$ C 배양기에서 5일간 배양시킨 후에 대조구 (DMSO 1% 멸균수)에서 자란 균사의 직경과 비교하여 균사생장억제 정도를 항균 효과로 나타내었다. 포자발아억제는 위에서 제조한 희석액을 이용하여 각 병원균의 포자농도가 약  $1 \times 10^6$  spores/mm되게 조정하여 cavity slide glass에 100  $\mu$ l를 점적하여 25 $^{\circ}$ C 배양기에서 24시간 배양시킨 후 포자 100개당 발아한 포자수를 현미경하에서 직접 계수하여 포자발아율을 조사하고, 대조구의 포자발아율과 비교하여 각 농도에서의 포자발아 억제율을 조사하고 이를 기준으로 포자발아억제에 필요한 compound들에 대한 MIC (minimum inhibition concentration; 최소억제농도)를 결정하였다.

### 나. 결과 및 고찰

*Eucalyptus darylpleana* 잎 MeOH 추출물의 에틸아세테이트 (EtOAc)와 부탄올 (*n*-BuOH) 분획층에서 분리한 2개의 aromatic acid와 3개의

flavonoid 화합물에 대한 참다래 과실무름병균의 공중균사 성장 억제 조사 결과, gallic acid를 제외한 나머지 화합물들은 효과가 거의 없는 것으로 나타났다 (Table 9). Gallic acid의 경우 *Botrytis cinerea* 균에 대하여 1,000 ppm 이상 농도에서 우수한 항균활성을 보인 반면, *Botryosphaeria dothidea*와 *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.)에 대해서는 뚜렷한 공중균사 성장 효과가 나타나지 않았다. 포자발아 억제에 대한 항균활성 조사에서도 3, 4-dihydroxybenzoic acid와 gallic acid를 제외한 나머지 화합물들은 효과가 거의 없는 것으로 나타났다 (Table 10). Gallic acid의 경우, 1,000 ppm까지는 조사한 3개의 병원균에 대한 뚜렷한 포자발아 억제가 나타나지 않았지만, 5,000 ppm에서는 포자발아가 현저하게 억제되는 것을 볼 수 있었으며 (Fig. 31), 특히 *Botrytis cinerea*의 경우, 100% 포자 발아 억제효과가 나타났다. 따라서 분리, 동정한 페놀성 화합물인 gallic acid의 경우 *Botrytis cinerea* 병원균에 가장 효과가 우수한 것으로 조사되었다. 잣빛곰팡이균으로 *Botrytis cinerea*의 경우, 기주 식물체의 범위가 매우 넓고, 기존 약제에 대한 내성균주 출현이 많은 문제가 되고 있을 뿐만 아니라, 동절기 시설원예에서 가장 문제가 되는 식물병원균 중의 하나이기 때문에 본 연구에서 분리 동정한 gallic acid는 참다래 저장병 뿐만 아니라 다른 작물의 잣빛곰팡이병 방제에도 적용 가능성이 높을 것으로 기대된다.



**Fig. 31.** Inhibition of spore germination by 5,000 mg/ℓ of gallic acid in *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.).

**Table 9.** Antagonistic activity of the compounds isolated from *Eucalyptus darylpleana* on aerial mycelium growth of fruit rot fungal pathogens of kiwifruit

Compound	Fungi	Diameter of mycelium mats (mm)				
		Control	Concentrations (ppm)			
			10	100	1000	5000
Quercetin	<i>Botrytis cinerea</i>	42.10	41.05	42.13	42.24	41.23
	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	42.01	41.67	41.67	41.69	44.06
	<i>Diaporthe actinidiae</i>	32.02	31.69	32.31	32.14	31.65
Gallic acid	<i>Botrytis cinerea</i>	41.19	41.56	41.85	18.75	6.08
	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	42.08	41.82	41.12	41.40	40.12
	<i>Diaporthe actinidiae</i>	43.22	43.51	42.19	42.32	40.86
3,4-dihydroxy benzoic acid	<i>Botrytis cinerea</i>	42.10	42.38	42.60	41.42	40.89
	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	42.01	42.16	42.29	41.67	41.97
	<i>Diaporthe actinidiae</i>	32.02	32.20	32.12	33.15	31.16
Quercitrin	<i>Botrytis cinerea</i>	42.10	43.54	44.21	42.51	42.02
	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	42.01	41.93	42.53	42.97	42.35
	<i>Diaporthe actinidiae</i>	32.02	31.85	30.77	31.12	31.03
Isoquercitrin	<i>Botrytis cinerea</i>	42.10	40.36	40.52	43.20	40.51
	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	42.01	42.43	42.08	42.10	41.18
	<i>Diaporthe actinidiae</i>	32.02	32.35	32.29	32.06	30.41

**Table 10.** Antagonistic activity of the compounds isolated from *Eucalyptus darylpleana* on spore germination of fruit rot fungal pathogens of kiwifruit

Compound	Fungi	Spore germination rate (%)				
		Control	Concentrations (ppm)			
			10	100	1000	5000
Quercetin	<i>Botrytis cinerea</i>	94	91	96	92	88
	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	54	48	56	44	42
	<i>Diaporthe actinidiae</i>	95	88	90	97	85
Gallic acid	<i>Botrytis cinerea</i>	94	95	94	86	0
	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	96	96	96	95	26
	<i>Diaporthe actinidiae</i>	95	96	95	84	39
3,4-dihydroxy benzoic acid	<i>Botrytis cinerea</i>	94	94	92	91	91
	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	55	52	47	56	42
	<i>Diaporthe actinidiae</i>	95	88	89	61	0
Quercitrin	<i>Botrytis cinerea</i>	94	89	96	95	92
	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	54	55	45	56	45
	<i>Diaporthe actinidiae</i>	95	96	93	94	94
Isoquercitrin	<i>Botrytis cinerea</i>	94	93	96	96	92
	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	57	48	54	51	47
	<i>Diaporthe actinidiae</i>	95	94	91	92	98

### 3) 참다래 저장병원균에 대한 *Eucalyptus darlympleana* 추출액 butanol fraction의 항균 활성 검증

*Eucalyptus darlympleana* 잎에서 순수 분리한 5개의 compound에 대한 참다래 저장병원균의 항균활성을 공중균사 생장억제와 포자발아억제를 조사한 결과, gallic acid만이 뚜렷한 항균활성을 나타내었으며, 항균 정도에서도 butanol 분획층 전체에 대한 항균활성에 비하여 현저히 감소하는 경향을 보였다, 따라서 실제 현장에 적용하는데 있어서 어느 특정 물질을 분리 추출하여 처리하는 것보다는 항균활성이 가장 높은 butanol 분획층 전체를 처리하는 것이 훨씬 효과적일 것으로 판단되어 butanol 분획층을 이용하여 참다래 과실에서의 과실무름병 방제효과를 살펴보았다.

#### 가. 실험 재료 및 방법

*Eucalyptus darlympleana*의 methanol 추출액의 순차 분획 중에서 가장 항균 효과가 우수한 butanol fraction의 항균 활성을 검증하기 위하여 건엽 1 kg을 앞 선 방법과 동일하게 추출하여 rotary evaporator를 이용하여 완전 감압한 후, butanol층을 분획한 후 획득한 130 g의 butanol 분획층에 1% DMSO 130 ml를 첨가하여 제조한 조추출액을 원액으로 하여 참다래 과실에서의 무름병 방제효과를 조사하였다.

재배 중에 농약을 살포하지 않은 참다래를 이용하여 냉장 보관 중인 참다래의 과피에 살균한 pin으로 상처를 내고 위의 butanol fraction의 2배 희석 농도 조추출액을 100  $\mu$ l를 처리한 후 용매를 완전히 건조시켜 제거한 후에 PDA 배지에서 새로 배양하여 7~10일 정도 자란 *Botryosphaeria dothidea*, *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.), *Botrytis cinerea* 균의 agar block (직경 8 mm)을 인위적 접종하고 2일간 습실 처리 후 25 $^{\circ}$ C에서 10일간 후숙시킨 후에 병진전 정도를 조사하여 항균 활성을 검정하였다. 대조구 실험을 위하여 용매로 이용한 1% DMSO 용액을 이용하였다. 발병 정도는 과실무름병 발병 유무와 병반의 직경을 조사하여 비교하였다.

인공 접종 실험 이외에도 실질적인 현장 적용을 위한 예비 실험 성격으로 자연 감염된 참다래를 이용하여 위에서 획득한 butanol fraction을 10배로 희석한 조추출액에 참다래를 5분간 침지시킨 후 풍건, 25 $^{\circ}$ C에서 10일간 후숙 시킨 후에 참다래 과실무름병 발생 정도를 비교하여 항균 활성을 검

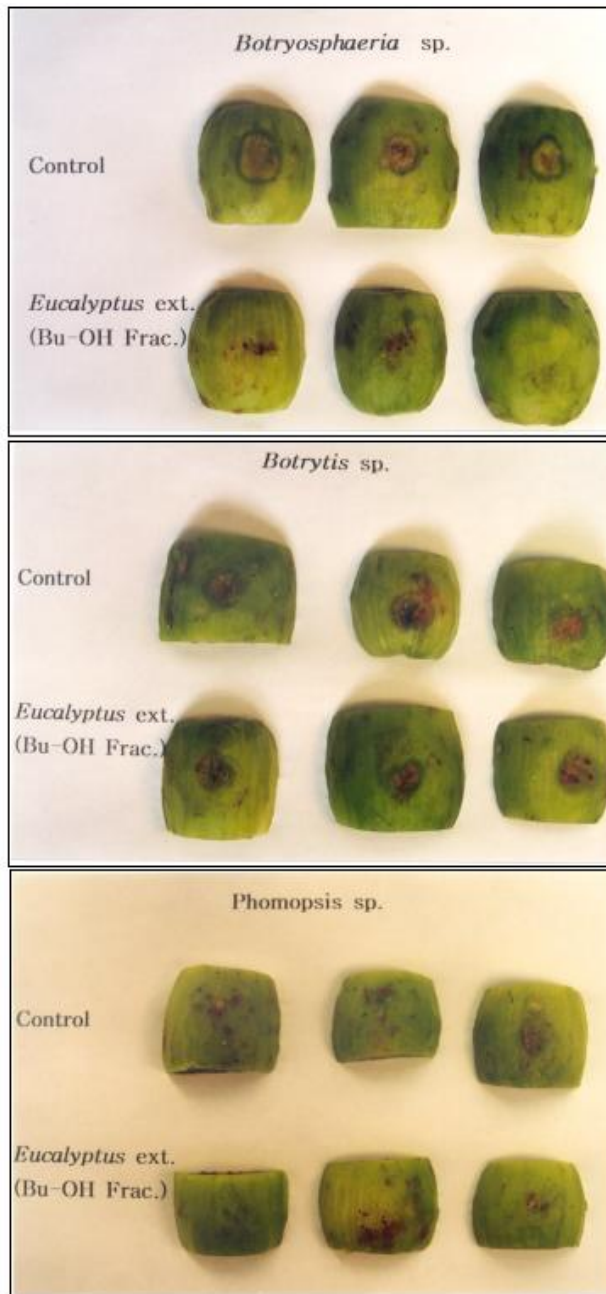
증하였다. 대조구 실험을 위하여 용매로 이용한 1% DMSO 용액을 이용하였다. 발병정도는 발병 참다래 과실 비율, 발병한 과실에서 발병 부위에 따른 병반 수 (일반적으로 *Botryosphaeria dothidea*와 *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.)에 의한 병반은 과육에 나타나며, *Botrytis cinerea*에 의한 병반은 과실 꼭지에 나타남)와 각 병반 직경을 조사하여 비교하였다.

#### 나. 결과 및 고찰

참다래 과피에 상처를 낸 후에 butanol fraction의 2배 희석 농도 조추출액을 100  $\mu$ l를 처리한 후 각각의 병원균을 인위적 접종하여 후숙시킨 후에 병진전 정도를 조사하여 항균 활성을 검정한 결과 *Botryosphaeria dothidea*에 의한 참다래 과실무름병은 62% 억제 효과를 보인 반면, *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.)는 약 10% 정도, *Botrytis cinerea*의 경우 전혀 억제 효과가 나타나지 않았다 (Fig. 32). 따라서 butanol 분획층은 실제 참다래 과실에서 *Botryosphaeria dothidea*에 의한 과실무름병 방제 효과는 탁월하지만 *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.)와 *Botrytis cinerea*에 의한 과실무름병에는 효과가 적은 것을 알 수 있었으며 억제 정도도 배지상에서 균사 생장을 억제하는 정도와는 다르게 나타났다.

실질적인 현장 적용을 위하여 자연 감염된 참다래를 이용하여 butanol 분획층을  $\times 10$ 로 희석한 조추출액에 참다래를 5분간 침지시킨 후 풍건, 후숙시킨 후에 참다래 과실무름병 발생 정도를 비교하여 항균 활성을 검증한 결과, 인공 접종 실험과 마찬가지로 *Botryosphaeria dothidea*에 대하여 매우 높은 항균 활성을 보였지만 *Botrytis cinerea*나 *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.)에 의한 과실무름병 억제 효과는 대조구와 비교하여 거의 차이가 없었다 (Fig. 33). Butanol fraction에 침지한 참다래의 경우 전체 처리 참다래 중에서 *Botryosphaeria dothidea*에 의한 과실무름병이 전혀 발생하지 않은데 비하여 무처리의 경우 과실무름병이 발생한 참다래 과실의 발병율이 67%, 병든 과실당 무름병 병반수가 평균 1.9개, 병반의 평균 직경이 20.94 mm로 나타나 *Botryosphaeria dothidea*에 의한 참다래 과실무름병에 대해 *Eucalyptus darylpleana* 추출액 중 butanol 분획층이 탁월한 효과를 지닌 것을 알 수 있었다.





**Fig. 32.** Antimicrobial activity of butanol fraction of *Eucalyptus darylpleana* extract on *Botryosphaeria dothidea*, *Botrytis cinerea* and *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.) causing fruit rots on kiwifruit.



**Fig. 33.** Inhibitory effect of butanol fraction of *Eucalyptus darylpleana* extract against *Botryosphaeria dothidea* on the kiwifruit naturally infected in field.

#### 4. 천연항균성 물질을 이용한 환경친화형 참다래 저장병 방제 기술 개발연구 결과 요약

- 1) 국내에 서식 가능한 내한성 *Eucalyptus* 수종 중에서 우수한 천연항균성 물질을 함유하는 *Eucalyptus unigera*와 *Eucalyptus darlympleana* 수종을 선정할 수 있었다.
- 2) 생체 시료를 확보하기 쉬운 *Eucalyptus darlympleana*의 항균효과는 *Botryosphaeria dothidea*에 대해 가장 항균력이 높았으며 *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.)와 *Botrytis cinerea*순으로 나타났다.
- 3) 추출용매에 따른 항균작용은 물 (H<sub>2</sub>O)보다는 메탄올 (MeOH)이 효과적이었으며 추출방법으로는 환류증류추출보다는 진탕추출이 대체로 효과가 높은 것으로 나타났다.
- 4) 참다래 저장 병원균에 대한 *Eucalyptus darlympleana*수종의 항균 효과는 대상 병원균에 상관없이 가지 추출액보다는 엽추출액에서 항균력이 월등히 높았다. 또한 엽추출액의 경우, 6월 초에 수확한 엽보다는 10월 초에 수확한 엽에서의 항균 활성이 월등히 높게 조사되었다.
- 5) *Eucalyptus darlympleana*의 메탄올 추출액을 이용하여 chloroform, ethyl acetate, butanol 용매로 순차 분획한 후 참다래 저장병원균에 대한 chloroform, ethyl acetate, butanol 및 잔존 분획 (residual fraction)의 항균 효과를 조사한 결과 병원균의 종류와는 상관없이 butanol fraction이 항균력이 가장 높았게 나타났다.
- 6) *Eucalyptus darlympleana* 잎 MeOH 추출물의 에틸아세테이트 (EtOAc)와 부탄올 (*n*-BuOH) 분획층에서 분리한 2개의 aromatic acid (gallic acid, 3,4-dihydroxybenzoic acid)와 3개의 flavonoid (quercetin, quercitrin, isoquercitrin) 화합물이 순수 분리되었으며, 이들 중에서 gallic acid 만이 항균활성이 인정되었으며, 특히 기주범위가 넓은 *Botrytis cinerea*에 효과가 탁월한 것으로 나타났다. 이들 5개의 화합물은 다른 식물체에서는 이미 보고된 화합물이지만, gallic acid의 경우 다

량을 분리할 수 있었으며 외국의 연구논문을 검색한 결과 항균활성 이외에도 여타 생리활성이 우수한 화합물로 알려져 있지만 *Eucalyptus dardarlympleana*에서는 최초로 보고되어 학술적 가치가 매우 높은 것으로 평가되었다.

- 7) 참다래 과피에 상처를 낸 후에 butanol fraction의 희석 조추출액을 100  $\mu$ 를 처리한 후 각각의 병원균을 인공 접종하여 병방제 효과를 살펴 본 결과 *Botryosphaeria dothidea*에 의한 참다래 과실무름병은 62% 억제 효과를 보여 *Botryosphaeria dothidea*에 의한 과실무름병 방제 효과는 탁월한 것으로 나타났다.
- 8) 현장 적용을 위하여 자연 감염된 참다래를 이용하여 butanol 분획층을  $\times 10$ 로 희석한 조출액에 참다래를 5분간 침지시킨 후 풍건, 후숙시킨 후에 참다래 과실무름병 발생 정도를 비교하여 항균 활성을 검증한 결과, 인공 접종 실험과 마찬가지로 *Botryosphaeria dothidea*에 대하여 매우 높은 항균 활성을 보였다. Butanol 분획층에 침지한 참다래의 경우 전체 처리 참다래 중에서 *Botryosphaeria dothidea*에 의한 과실무름병이 전혀 발생하지 않은데 비하여 무처리의 경우 과실무름병이 발생한 참다래 과실의 발병율이 67%, 병든 과실당 무름병 병반수가 평균 1.9개, 병반의 평균 직경이 20.9 mm로 나타나 *Botryosphaeria dothidea*에 의한 참다래 과실무름병에 대해 *Eucalyptus dardarlympleana* 추출액 중 butanol 분획층이 탁월한 효과를 지닌 것을 알 수 있었으며, 천연물 항균물질로서 참다래 저장중 과실무름병 방제를 위한 천연물 농약으로서의 실용화 가능성이 매우 높은 것으로 기대되었다.

### 제 3 절 무공해적 참다래 저장병 물리적 방제기술 개발

#### 1. TiO<sub>2</sub> 광촉매를 이용한 참다래 저장병 방제 효과 검증 및 최적 처리조건 확립

##### 1) TiO<sub>2</sub> 광촉매 처리수를 이용한 살균시스템 제작

; 기존에 개발되어 이용되고 있는 순환식 연속처리시스템과 batch type(정치형) 처리시스템을 제작하여 광촉매(살균) 효과 비교.

기존의 TiO<sub>2</sub> 광촉매 처리는 TiO<sub>2</sub> 입자를 처리 대상 폐수에 혼합하여 TiO<sub>2</sub> 현탁액을 조제한 후 UV lamp를 조사하여 처리하는 것이 일반적이지만 참다래에 적용하기에는 위의 처리방식에 문제가 많다. 비록 TiO<sub>2</sub> 입자 자체는 독성이 없지만 참다래 표면에 흡착하여 처리 후에 흰색의 powder로 잔존함으로써 식품으로서 거부감을 주기 때문에 TiO<sub>2</sub> 입자를 현탁하여 사용하는 대신에 고형물에 TiO<sub>2</sub> 입자를 coating하여 사용함으로써 광촉매 효과를 유지하면서도 참다래와 TiO<sub>2</sub> 입자간의 직접적인 접촉을 방지할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 세라믹의 일종인 산화 알루미늄 불 (직경 8 mm)에 TiO<sub>2</sub> 입자를 소성 coating한 활성 알루미늄 불을 이용하였다. 우선 제작한 알루미늄 불의 광촉매 효과를 알아보기 위하여 methylene blue 용액에 30개의 활성 알루미늄 불을 넣은 후 UV-C (200~300 nm) 파장의 자외선을 주로 방출하는 20 W lamp 이용하여 24시간 조사한 후 methylene blue 분해 정도를 살펴보았다. 24 시간 UV 처리 후 활성 알루미늄 불을 넣은 수조의 경우 대부분의 methylene blue가 분해되어 물의 색도가 투명하게 개선된 반면, UV 단독 처리 또는 TiO<sub>2</sub>를 coating을 하지 않은 비활성 알루미늄 불을 넣은 수조의 경우 methylene blue 분해가 거의 일어나지 않아 여전히 진한 청색을 띠고 있는 것을 볼 수 있었다. 따라서 본 연구에서 제작하여 이후 실험에 이용한 TiO<sub>2</sub> coating 활성 알루미늄 불은 광촉매 효과가 우수한 것을 알 수 있었다 (Fig. 34).

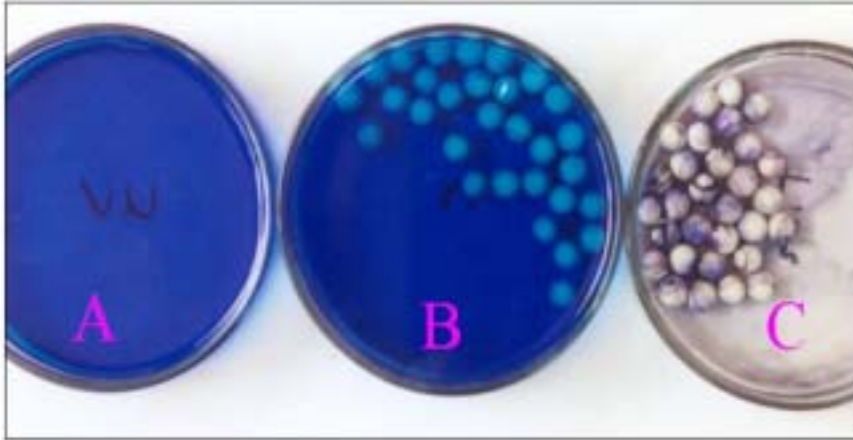


Fig. 34.  $\text{TiO}_2$  photocatalytic activity on methylene blue decomposition. A: UV illumination, B: Alumina balls without  $\text{TiO}_2$  coating, C: Alumina balls coated with  $\text{TiO}_2$  under UV illumination for 24 hrs.

순환식 연속처리 시스템(CCS)은 Fig. 35에서 볼 수 있는 것과 같이 2중 water jacket으로 이루어진 유리관 reactor로 바깥 쪽 jacket 내에 활성 알루미늄 불을 충전시키고 내부 jacket에 UV lamp를 설치하며 내부 jacket의 표면은 석영관으로 제작되어 UV가 활성 알루미늄 불 표면에 충분히 전달 조사될 수 있도록 설계되었다. 활성 알루미늄 불에 coating된  $\text{TiO}_2$  표면에서 UV 조사에 의해 생성된 활성 자유기(free radicals)들은 활성 알루미늄 불로 채워진 공간 사이로 통과하는 처리수 내로 전달되어 처리수 내의 오염물질을 산화 분해시키거나 미생물을 살균하게 된다. Reactor를 통과하여 빠져 나온 처리수는 reservoir에 수집되고 흡입 정량 pump에 의해 reactor 내로 다시 유입되는 순환 경로를 이루게 된다. 광촉매 효과 증진은 활성 알루미늄 불에 coating된  $\text{TiO}_2$  표면에서 생성된 활성 자유기를 처리수 내로 효과적으로 전달할 수 있는 능력에 의해 좌우될 수 있으므로 이에 대한 조건 도출과 조절을 위하여 정량 pump를 설치하였다. 활성 알루미늄 불을 채운 후의 reactor의 처리 용량은 부피는 200 ml 되게 조절하였다.

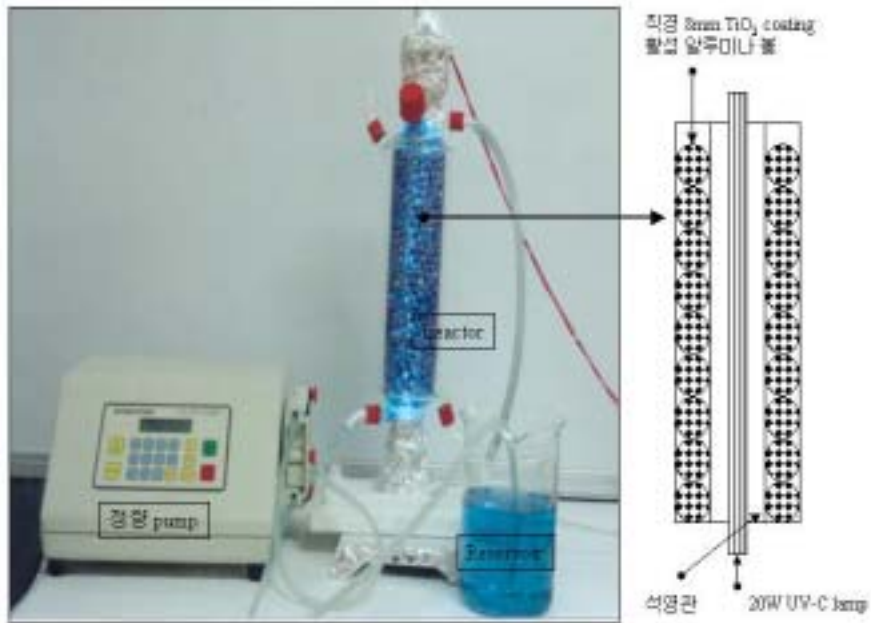


Fig 35. Circulating-type reactor of TiO<sub>2</sub> photocatalytic treatment.

Batch Type Reactor (BTR) 시스템은 길이 35 cm, 직경 25 cm의 원통형 아크릴 수조에 여러 개의 단위 reactor를 삽입하여 산화 분해하는 시스템이다 (Fig. 36). 단위 reactor는 길이 21 cm 직경 5 cm 원통형 PVC 파이프 내에 UV lamp를 직접 삽입하고 lamp 주위는 활성 알루미늄 볼로 채워져 있다. BTR 시스템은 순환식 시스템과는 달리 처리수의 용량이 크고 처리수가 TiO<sub>2</sub> 표면을 직접 통과하지 않고 대신 단위 reactor 내에서 광촉매 작용에 의해 생성된 활성 자유기가 PVC 표면에 뚫린 여러 개의 구멍을 통하여 처리수 내로 흘러나와 처리수 내의 오염물질을 산화 분해하거나 미생물을 살균하도록 설계되었다. TiO<sub>2</sub> 표면에서 생성된 활성 자유기가 수조 내의 처리수로 전달되는 것을 촉진시키기 위한 수조 내의 처리수의 water flow 생성을 위하여 수중 pump들을 설치하여 수조 내의 처리수가 수직방향과 좌우 방향으로 순환하도록 하였다. 단위 reactor 4 set와 수중 pump

를 채운 후의 적정 처리 부피는 13 ℓ가 되도록 설계하였다.

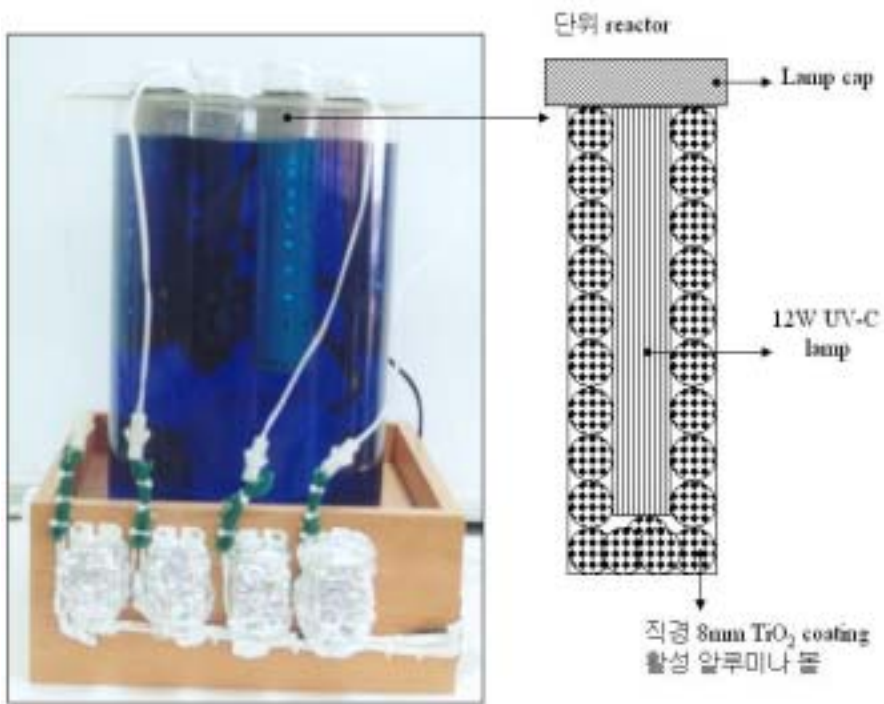


Fig. 36. Batch-type Reactor of  $\text{TiO}_2$  photocatalytic treatment.



## 2) TiO<sub>2</sub> 광촉매 최적 처리조건 확립

최대 살균효과를 발휘할 수 있도록 TiO<sub>2</sub> 광촉매 시스템의 효율을 증진시킬 수 있는 재료 및 방법 도출 실시하였다.

○ 광원 (light source)에 따른 광촉매 효과 검증

### 가. 실험재료 및 방법

UV 광원에 따른 광촉매 효과 검증을 검증하기 위하여 시판되고 있는 단파장 (200~300 nm)의 UV-C 광원 (germicidal lamp, 15W, G15T8-AN, Sanyo denki, Japan)과 장파장 (300~360 nm)의 UV-B 광원 (black light, 15W, FL15BLB, Sanyo denki, Japan)에 의한 광촉매 효과를 연속 순환식 시스템을 이용하여 methylene blue 분해 효율로 측정하였다. methylene blue의 농도는 UV spectrophotometer (UV-1601, Shimadzy, Japan)를 이용하여 664 nm에서의 흡광도를 이용하여 측정하였다. TiO<sub>2</sub> 광촉매를 coating한 활성 알루미늄 불을 연속처리시스템의 reactor에 충전한 다음, 1 ℓ의 methylene blue 용액을 400 ml/min의 flow rate로 reactor를 통과하게 설정한 다음 1시간동안 암상태에서 시운전하여 흡착에 의한 methylene blue의 손실이 완료된 것을 확인한 후에 UV lamp를 켜고 매 1시간 간격으로 methylene blue의 흡광도를 측정하여 광촉매에 산화분해 효과를 조사하였다. 냉각수 순환 방법으로 처리수의 수온은 15℃로 유지하였다.

### 나. 결과 및 고찰

UV 광원에 따른 광촉매 효과를 검증하기 위하여 단파장 (200~300 nm)의 UV-C 광원과 장파장 (300~360 nm)의 UV-B black light에 의한 광촉매 효과를 연속 순환식 시스템을 이용하여 methylene blue 분해 효율로 측정된 결과 UV-C에 의한 methylene blue 분해는 처리 1시간 후에 약 51% 분해효율을 보인 반면 UV-B는 41%의 분해효율을 보였고 처리 2시간 후에는 UV-C가 약 74%의 분해효율, UV-B는 약 63%의 분해효율을 보여

단파장의 UV-C가 장파장의 UV-B 보다 약 10% 정도 광촉매 효과가 우수한 것으로 나타났다 (Fig. 37)

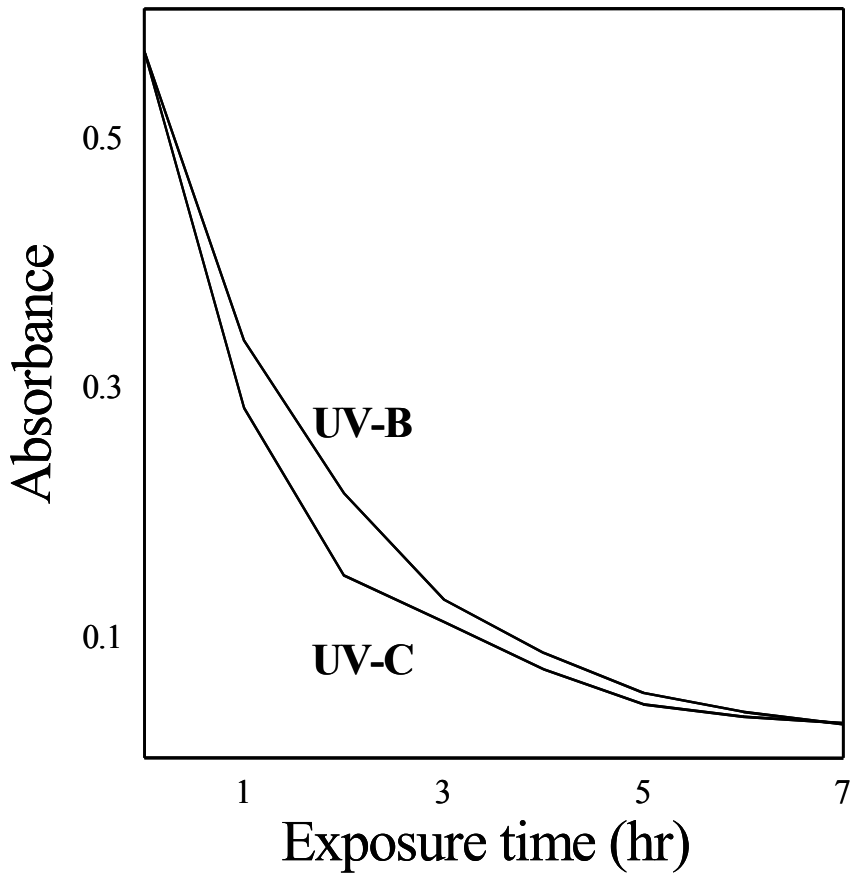


Fig. 37. Effects of UV light source on photocatalytic activity of  $\text{TiO}_2$  in degrading methylene blue.

- 연속순환 처리 시스템의 reactor내 수리적 체류시간 (Hydraulic retention time)에 따른 광촉매 효과 검증

#### 가. 실험재료 및 방법

연속 순환식 처리 시스템에서 reactor내 수리적 체류시간 (hydraulic retention time)에 따라 광촉매 효과에 따른 산화 분해 및 살균 효과를 알아보기 위하여 UV-C 광원을 이용하여 reactor내 통과 유량을 200 ml/분 (체류시간 60 초), 400 ml/분 (체류시간 30초), 800 ml/분 (체류시간 15초)으로 설정하고 methylene blue의 분해 속도를 조사하였다. 유량설정은 정량 pump (flow pump, 865552, Wheaton, USA)를 이용하여 실시하였으며, methylene blue농도는 위와 동일한 방법으로 매 1시간 간격으로 흡광도를 측정하여 조사하였다. 냉각수 순환 방법으로 처리수의 수온은 15°C로 유지하였다.

#### 나. 결과 및 고찰

연속 순환식 처리 시스템에서 reactor내 수리적 체류시간(hydraulic retention time)에 따라 광촉매 효과에 따른 산화 분해 및 살균 효과를 알아보기 위하여 reactor내 통과 유량을 200 ml/분, 400 ml/분, 800 ml/분으로 설정하고 methylene blue의 분해 속도를 조사하였다. Reactor내의 수리적 체류시간을 60초 (유량 200 ml/min), 30초 (유량 400 ml/min), 15초 (유량 800 ml/min)로 설정하여 조사한 광촉매 효과는 체류시간이 짧을수록 증가하는 것으로 나타났다. 즉 1시간 경과 후 methylene blue 분해효율이 유량이 200 ml/min일 경우 51%인 반면, 800 ml/min의 경우 62%이었으며, 2시간 경과 후 분해율은 200 ml/min 경우 74%, 400 ml/min 경우 77%, 800 ml/min 경우 82%로 나타났다. 즉 TiO<sub>2</sub> 표면에서 발생한 활성 자유기를 신속히 처리수로 전달할수록 광촉매 효과가 증가하는 것을 알 수 있었다 (Fig. 38).

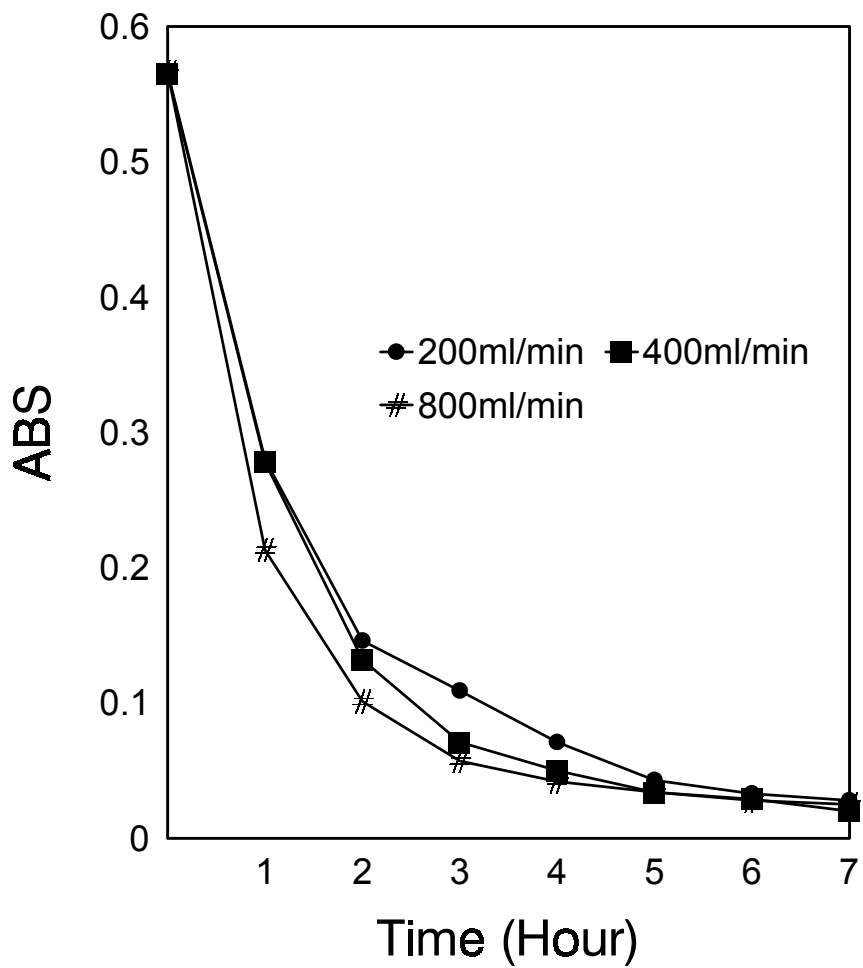


Fig. 38. Effects of hydraulic retention times on photocatalytic activity of TiO<sub>2</sub> in degrading methylene blue.

○ Batch-type reactor 시스템에서의 처리수 순환에 따른 광촉매 효과 검증

가. 실험재료 및 방법

Batch-type reactor 시스템은 연속 순환 시스템과 달리 처리수가  $\text{TiO}_2$  표면을 직접 통과하지 않는 정치형인 관계로 단위 reactor 주위에서는 광촉매 효과가 발휘될 수 있지만 수조 전체로 활성 자유기가 원활하게 전달되지 않는 단점이 있다. 따라서 단위 reactor 내에 내장된  $\text{TiO}_2$  입자가 coating된 활성 알루미늄 불 표면에서 발생한 활성 자유기를 수조 전체로 신속하게 전달시키기 위한 방법으로 처리수가 수조 전체를 순환할 수 있도록 3방향으로 수중 pump를 설치하여 수조 내의 처리수를 순환시키면서 methylene blue의 분해 속도를 매 1시간 간격으로 조사하였다. 수중 pump는 aqua-shop에서 시판 중인 수중 pump (전기펌프 YIM-8808A, Young Il, Korea)를 이용하였으며 methylene 농도는 위와 동일한 방법으로 매 1시간 간격으로 흡광도를 측정하여 조사하였다.

나. 결과 및 고찰

Batch-type reactor 시스템은 연속 순환 시스템과 달리 처리수가  $\text{TiO}_2$  표면을 직접 통과하지 않는 정치형인 관계로 단위 reactor 주위에서는 광촉매 효과가 발휘될 수 있지만 수조 전체로 활성 자유기가 원활하게 전달되지 않는 단점이 있다. 따라서 단위 reactor 내에 내장된  $\text{TiO}_2$  입자가 coating된 활성 알루미늄 불 표면에서 발생한 활성 자유기를 수조 전체로 신속하게 전달시키기 위한 방법으로 처리수가 수조 전체를 순환할 수 있도록 3방향으로 수중 pump를 설치하여 수조 내의 처리수를 순환시키면서 methylene blue의 분해 속도를 조사한 결과는 **Fig. 39**에 나타나 있다.

우선  $\text{TiO}_2$ 에 의한 광촉매 효과를 알아보기 위하여  $\text{TiO}_2$ 가 coating된 활성 알루미늄 불이 없는 상태에서 단지 UV 처리를 하면서 처리수를 순환시킨 경우 (No  $\text{TiO}_2$  + flow), methylene blue는 거의 분해되지 않아 12시간이 경과한 후에도 분해율이 10% 미만으로 나타났다. 반면에  $\text{TiO}_2$ 가 coating된 활성 알루미늄 불에 UV 처리를 하면서 처리수를 순환시킨 경우 ( $\text{TiO}_2$  + flow), 처리 1시간 경과 후에 12%, 4시간 경과 후에 44%, 8시간 경과 후에 80%, 12시간 경과 후에 93%의 분해 효율을 보여  $\text{TiO}_2$ 에 의한

광촉매 분해 효과를 확인할 수 있었다. 처리수 순환에 따른  $\text{TiO}_2$ 에 의한 광촉매 촉진 효과를 알아보기 위하여  $\text{TiO}_2$ 가 coating된 활성 알루미나 볼에 UV 처리를 하면서 처리수를 순환시킨 경우 ( $\text{TiO}_2 + \text{flow}$ )와 순환시키지 않은 경우 ( $\text{TiO}_2 + \text{no flow}$ )를 비교한 결과, 시간이 지날수록 처리수 순환에 따른 광촉매 효과 증진이 뚜렷하게 나타나 처리 1시간 경과 후에 5%, 4시간 경과 후에 14%, 8시간 경과 후에 36%, 12시간 경과 후에 31%의 증진효과가 처리수 순환에 의해 발생한 것을 알 수 있었다.

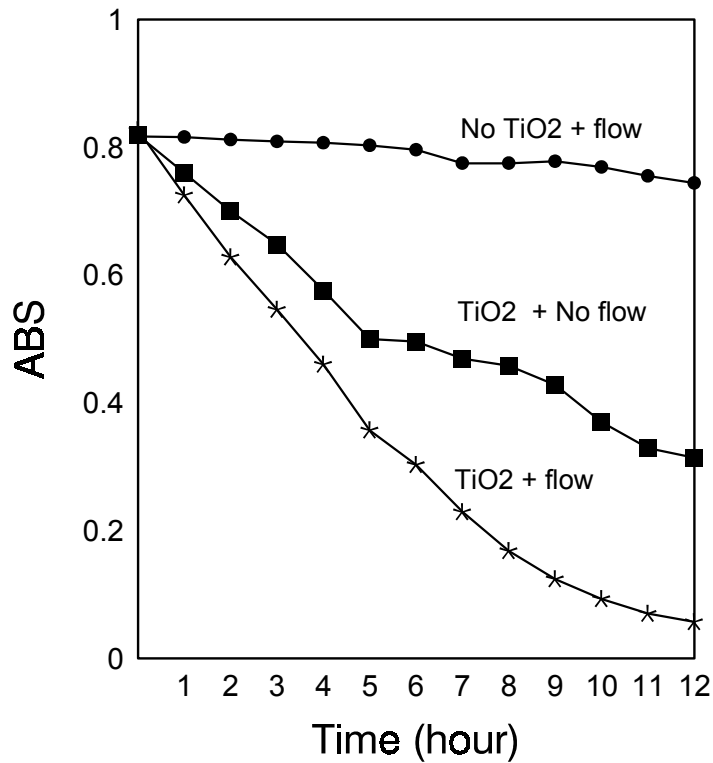


Fig. 39. Effects of water flow on photocatalytic activity of  $\text{TiO}_2$  in degrading methylene blue.

## ○ 산화보조제 첨가에 따른 광촉매 효과 검증

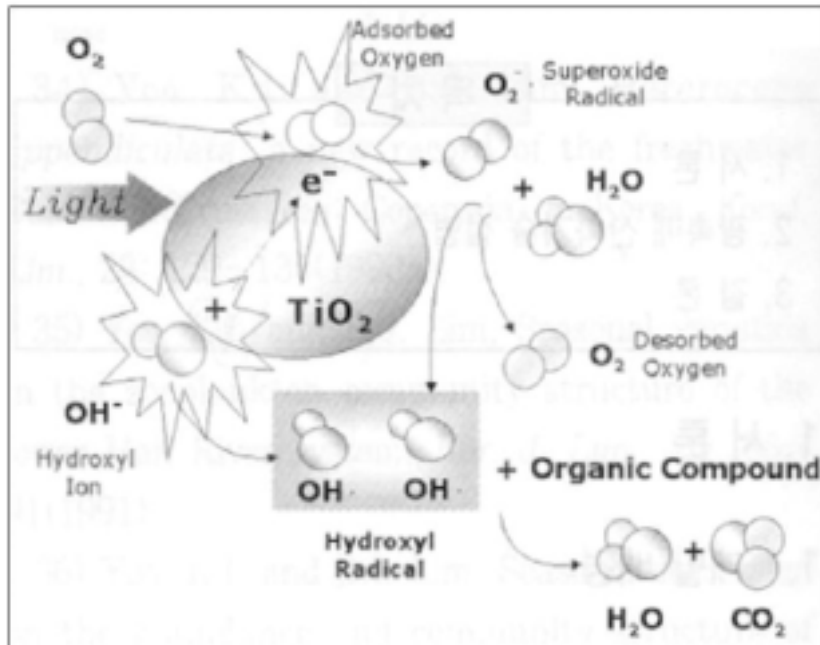
### 가. 실험 재료 및 방법

TiO<sub>2</sub> 광촉매에서는 빛에너지에 의하여 전자/정공쌍이 생성되어 촉매가 여기 (excited) 되고 여기된 촉매는 표면에 흡착되어 있는 수산기 이온과 산화반응을 하여 OH 라디칼을 생성하게 되고 이때 생성된 OH 라디칼이 유기물질의 분해반응을 주도한다. 이때에 산소가 고갈되게 되면 반응속도는 전체적으로 저하되기 시작하기 때문에 지속적인 광촉매 활성을 유지하기 위해서는 과산화수소와 같은 산화보조제를 공급해 주는 것이 필요하다. 하지만 과산화수소는 고가인 단점 때문에 본 연구에서도 산화보조제로서 산소와 오존 공급을 실시하였다. 연속순환처리시스템의 reactor 내에 공기노출을 삽입 설치한 후 산소는 고압 산소 cylinder에서 500 ml/min의 유량으로 공급하였으며, 오존은 동일 유량의 산소를 방전형 오존발생기를 통과시켜 공급하였고 용존 산소 농도는 용존산소측정기를 이용하여 측정하였고, 용존 오존량은 Indigo reagent 발색법을 이용하여 실시하였다. 산소와 오존을 단독 또는 동시에 공급하면서 methylene 분해능을 측정하였다. methylene 농도는 위와 동일한 방법으로 매 5분 간격으로 흡광도를 측정하여 조사하였다. 냉각수 순환 방법으로 처리수의 수온은 15°C로 유지하였다.

### 나. 결과 및 고찰

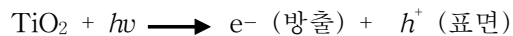
TiO<sub>2</sub> 광촉매 산화반응은 빛에너지를 TiO<sub>2</sub> 촉매가 흡수 (380 nm 이하)할 때 생성되는 전자와 정공이 유기물질과 반응하여 발생한다. 빛에너지를 흡수한 반도체내에서는 여기된 전자와 생성된 정공이 수중의 산소나 과산화수소, 수산기 이온 등과 반응하여 산화력이 강력한 OH 라디칼 (OH·)을 생성하고 수중의 유기물질을 산화하여 CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O로 분해한다 (Fig. 40).

빛에너지에 의하여 전자/정공쌍이 생성되는 것을 촉매가 여기 (excited) 되었다고 하는데, 여기된 촉매는 표면에 흡착되어 있는 수산기 이온과 산화반응을 하여 OH 라디칼을 생성하게 되고 이때 생성된 OH 라디칼이 유기물질의 분해반응을 주도한다.



**Fig. 40.** Schematic diagram of  $\text{TiO}_2$  photocatalysis-mediated oxidation reactions.

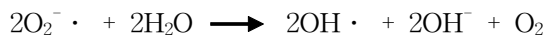
그리고 전자대로 이동한 전자도 전자 수용체인 산소나 과산화수소 등과 반응하여 정공과의 재결합을 늦추거나 superoxide 래디칼 ( $\text{O}_2^- \cdot$ )을 생성하여 유기물질 분해반응을 진행한다.



방출된 전자( $e^-$ )는 물속의 용존산소와 반응하여 과산화이온 (superoxide ion)을 형성하고

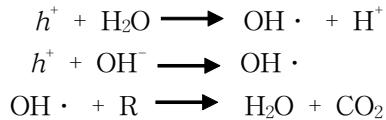


이 과산화수소 이온은 물분자와 반응하여 OH 래디칼을 생성하며





TiO<sub>2</sub>의 표면에 생성된 정공에서는 물분자 또는 용존된 수산기이온과 반응하여 OH 라디칼을 형성하여 유기물질을 H<sub>2</sub>O나 CO<sub>2</sub>로 산화 분해한다.

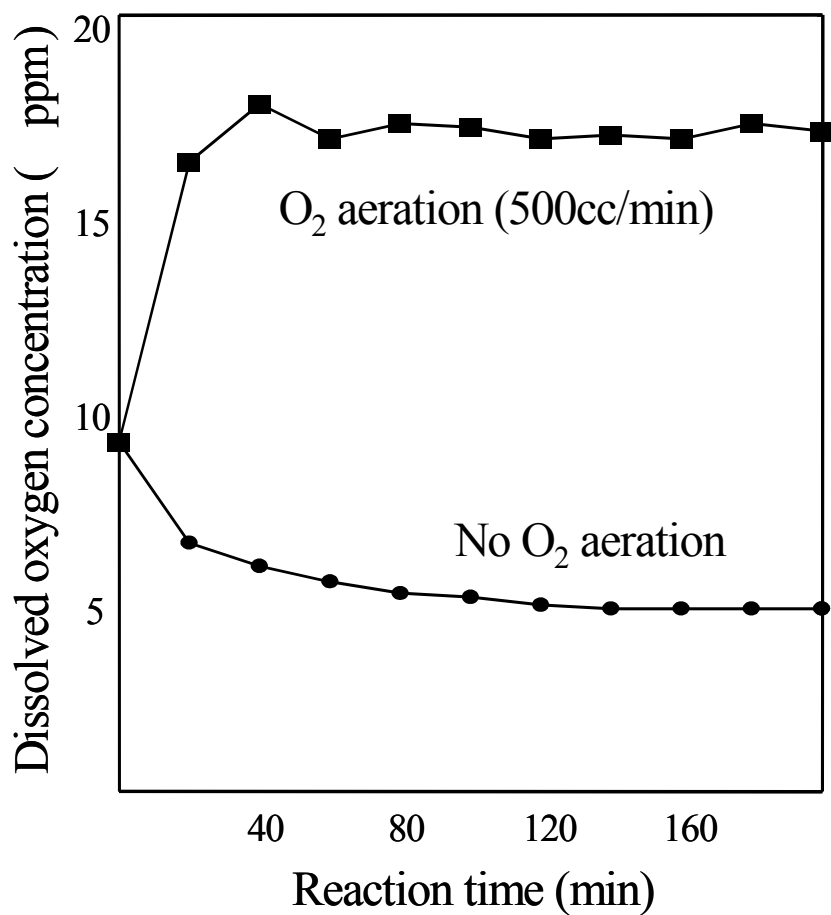


이때에 산소가 고갈되게 되면 반응속도는 전체적으로 저하되기 시작한다. 따라서 과산화수소와 같은 산화보조제를 사용하지만 고가인 단점 때문에 순산소를 공기하거나 공기를 불어 넣어주는 aeration을 보통 실시한다.

본 연구에서도 TiO<sub>2</sub> 광촉매 산화반응 과정에서 용존 산소 변화를 살펴 보았으며 산소를 공급할 경우의 용존 산소 농도를 조사하여 보았다. **Fig. 41**에서 볼 수 있듯이 연속순환 처리 시스템에서 TiO<sub>2</sub> 광촉매를 이용하여 methylene blue를 분해하는 동안 용존 산소가 급격히 감소하다가 일정하게 유지되는 것을 볼 수 있었으며 광촉매 산화반응동안 순산소를 500 cc/min의 비율로 공급할 경우 반응 수조내 용존 산소 농도를 17 ppm (수온 15°C) 내외로 일정하게 유지할 수 있었다.

산화보조제로 산소 대신에 오존을 공급할 경우, 오존은 강력한 산화제이며 TiO<sub>2</sub> 광촉매 산화반응 과정에서 생성되는 중간 반응 라디칼들을 생성할 수 있으므로 광촉매 산화 반응을 촉진할 것으로 여겨지는 산소 공급과 오존처리에 따른 TiO<sub>2</sub> 광촉매 산화반응에 의한 methylene blue 분해율을 살펴보았다.

**Fig. 42**과 **Table 11**에 나타난 것처럼 연속순환 처리 시스템을 이용하여 TiO<sub>2</sub> 광촉매처리와 동시에 산소를 공급할 경우 산소가 공급되지 않는 상태보다 광촉매 산화반응에 의한 methylene 분해율이 약 2배 이상 증가한 것을 볼 수 있었다. 한편 methylene blue 분해능력 면에서 오존처리가 TiO<sub>2</sub> 광촉매보다 9배 이상 훨씬 월등히 높은 것을 볼 수 있었다. 또한 TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존을 동시에 복합 처리할 경우 methylene 분해율이 TiO<sub>2</sub> 광촉매 단독처리보다 약 25배, 산소공급 상태에서 TiO<sub>2</sub> 광촉매 단독처리보다 약 12배, 오존 단독처리보다 약 3배정도 높은 것으로 나타나 TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존을 동시에 처리할 경우 매우 빠르고 강력한 산화반응에 의한 유기물 분해 및 살균효과를 기대할 수 있을 것으로 판단되었다.



**Fig. 41.** Dissolved oxygen concentration during TiO<sub>2</sub> photocatalytic oxidation process.

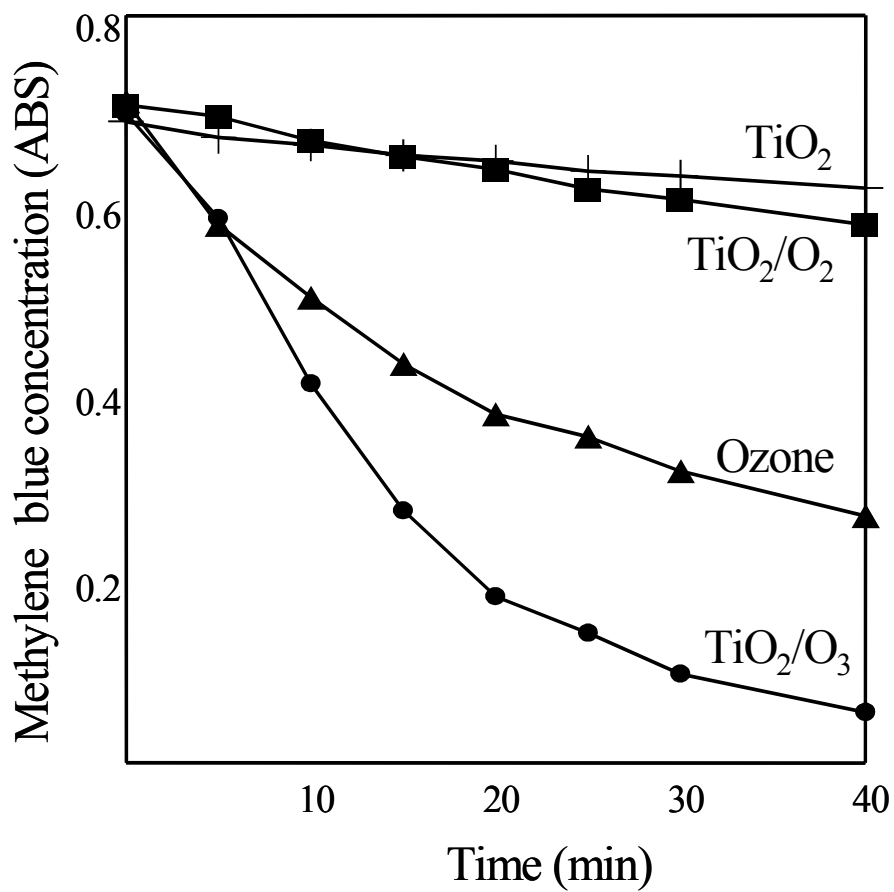


Fig. 42. Decomposition of methylene blue by oxidative reactions induced by photocatalysis, ozonation, and photocatalytic ozonation.

**Table 11.** Regression equations for methylene blue decomposition against reaction time by the oxidative reactions presented in Fig. 42.

Oxidative reaction	Regression equation <sup>a</sup>	Correlation coefficient <sup>b</sup>
TiO <sub>2</sub> photocatalytic reaction (only TiO <sub>2</sub> )	$\log Y = -0.17 - 0.00115X$	0.980
TiO <sub>2</sub> photocatalytic reaction under O <sub>2</sub> aeration (TiO <sub>2</sub> /O <sub>2</sub> )	$\log Y = -0.15 - 0.00236X$	0.988
Ozonation (only O <sub>3</sub> )	$\log Y = -0.19 - 0.01050X$	0.972
TiO <sub>2</sub> photocatalytic ozonation (TiO <sub>2</sub> /O <sub>3</sub> )	$\log Y = 0.13 - 0.02910X$	0.995

<sup>a</sup>Y = methylene blue concentration measured by absorbance at 664nm;  
X = reaction time.

<sup>b</sup>Significant at  $P = 0.05$ .

### 3) 참다래 저장병균에 대한 $\text{TiO}_2$ 광촉매의 살균효과

;  $\text{TiO}_2$  광촉매 처리수에 의한 참다래 주요 저장병균에 대한 항균활성 검증

○  $\text{TiO}_2$  광촉매 처리수에 의한 *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.) 포자발아 저해율 조사

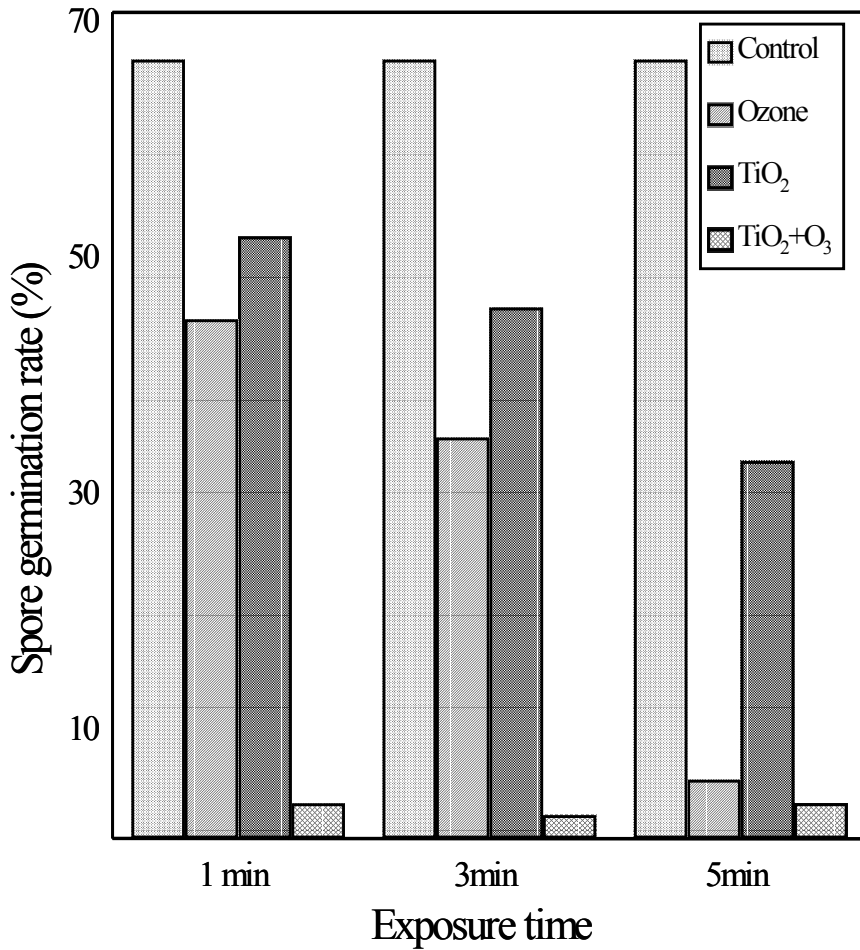
#### 가. 실험재료 및 방법

PAD에서 20일 이상 배양한 *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.)를 이용하여 포자현탁액을 제조한 후  $\text{TiO}_2$  광촉매를 2시간 처리한 처리수와 오존을 1시간 처리한 처리수(용존오존농도 0.1 mg/ℓ)를 단독 또는 복합 첨가하여 *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.) 포자 현탁액의 최종 포자농도가  $10^3$  cell/ℓ 되게 제조한 후 각각 1분, 3분, 5분 동안 처리수에서 처리한 후 microfilter를 이용하여 처리된 포자를 수집하여 멸균수를 이용하여 water agar에 도말한 후 25℃에서 24시간 배양한 후 현미경 하에서 수집한 포자 100개 당 발아한 포자 수를 조사하여 포자 발아율을 조사 비교하였다.

#### 나. 결과 및 고찰

$\text{TiO}_2$  광촉매 2시간 처리수와 오존 1시간 처리수 (용존오존농도 0.1 mg/ℓ)를 단독 또는 복합 처리하여 *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.) 포자 현탁액 ( $10^3$  spores/ℓ)을 제조한 후 각각 1분, 3분, 5분 동안 처리하여 수집한 포자 100개 당 발아한 포자 수를 조사한 결과는 **Fig. 43**과 같다.  $\text{TiO}_2$  광촉매 단독처리 ( $\text{TiO}_2$ ), 오존 단독처리 (Ozone),  $\text{TiO}_2$  광촉매와 오존 복합처리 ( $\text{TiO}_2+\text{O}_3$ )를 실시한 후 조사한 *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.)의 포자 발아율은 처리 시간에 상관없이 모두 대조구보다 낮은 발아율을 보였으며, 처리시간이 증가함에 따라 발아율이 현저하게 감소하는 것을 볼 수 있었다. 특히  $\text{TiO}_2$  광촉매와 오존을 단독으로 5분 동안 처리할 대조구에 비하여 각각 약 50%와 90%의 포자 발아율 감소가 일어났으며, 복합처리할 경우 처리시간에 상관없이 약 95%의 포자 발아율 감소가 가능했다. 따라서 1~5 분의 짧은 시간 동안  $\text{TiO}_2$  광촉매와 오존을

단독 또는 복합처리할 경우 참다래 저장병원균의 포자발아율이 50~95% 정도 감소하여 본 연구에서 실시한 산화 반응에 의한 항균효과가 확실한 것으로 조사되었다.



**Fig. 43.** Effects of TiO<sub>2</sub> photocatalysis (TiO<sub>2</sub>), ozonation (O<sub>3</sub>) and photocatalytic ozonation (TiO<sub>2</sub>+O<sub>3</sub>) reaction on spore germination of *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.) causing fruit rots on kiwifruits.

## ○ TiO<sub>2</sub> 광촉매 처리수에 의한 참다래 저장병 억제효과 조사

### 가. 실험재료 및 방법

실제 TiO<sub>2</sub> 광촉매에 의한 참다래 저장병 억제 효과를 알아보기 위하여 포장에서 자연 감염되었을 것으로 여겨지는 참다래를 이용하여 TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합 처리에 의한 참다래 저장병 억제 효과를 살펴보았다. 이를 위하여 13 ℓ의 정치형 처리시스템을 이용하여 TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 처리를 단독 또는 복합 처리를 실시하면서 참다래를 1시간 동안 처리수에 침지시킨 후 커내어 상온에서 24시간 풍건 시킨 다음, 25℃에서 2주간 후숙시킨 후에 참다래 저장병 발병 정도를 조사하였다. 발병정도는 전체 20개 처리 참다래 중에서 발병된 참다래 과실 수, 발병 참다래 과실에서 나타난 총 병반 수, 각 병반 직경을 조사하였다. 대조구로는 동일량의 증류수에 1시간 침지시킨 참다래를 이용하였다.

### 나. 결과 및 고찰

지금까지 TiO<sub>2</sub> 광촉매에 의한 곰팡이 포자 발아에 대한 선행 연구 결과가 없기 때문에 비교가 불가능하지만 오존의 경우 서양배에서 저장병을 일으키는 식물병원균인 *Botrytis cinerea*, *Mucor piriformis*와 *Penicillium expansum*의 경우에서 본 연구에서 적용한 용존오존 농도 (0.1 mg/ℓ) 수준에서 5분간 처리할 경우 80~95% 정도의 포자 발아 억제가 가능한 것으로 조사되어 본 연구 결과와 어느 정도 일치하는 것을 볼 수 있었으며 특히 TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존을 복합 처리할 경우 1분 정도의 처리만으로도 95% 이상의 포자 발아 억제가 가능하여 매우 살균효과가 우수한 것으로 나타났다. 이는 앞에서 언급한 photocatalytic ozonation에 의한 methylene blue 분해율과 일치하고 있어 TiO<sub>2</sub> 광촉매나 오존 단독처리 보다는 복합처리하는 것이 훨씬 효과적일 것으로 판단된다.

오존처리를 이용한 서양배의 저장병원균 연구에서 오존처리에 의한 포자 발아 억제는 위에서 언급한 것처럼 매우 효과적이었지만 실제 과실에서 저장병 억제 효과가 뚜렷하지 않았다. 이는 아마도 포장에서 감염되어 과피나 과육 속에 잠복 중인 병원균이 오존처리수와 직접 접촉하지 않았기 때문일 수 있으며 특히 처리 시간이 짧을 경우 이러한 현상은 더욱 뚜렷하여

실제 이용에 한계가 있을 것으로 여겨진다. 이러한 점을 염두에 두고 본 연구에서는 포장에서 자연 감염되었을 것으로 여겨지는 참다래를 이용하여 TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합 처리에 의한 참다래 저장병 억제 효과를 살펴보았다. 잠복 병원균과 활성 산화 반응물간의 접촉을 증진시키기 위하여 참다래를 1시간 동안 처리한 후 조사한 결과는 **Table 12**와 같다.

**Table 12.** Inhibitory effects of TiO<sub>2</sub> photocatalytic reaction and/or ozonation on fruit rots development of kiwifruit

Oxidative reaction	Diseased fruit (%)	Lesion location	Number of lesion	Diameter of lesion (mm)
Control	95	stem-end	12	18.6
		fruit	46	20.1
TiO <sub>2</sub> photocatalytic reaction (only TiO <sub>2</sub> )	65	stem-end	9	13.8
		fruit	23	11.3
Ozonation (only O <sub>3</sub> )	80	stem-end	12	15.9
		fruit	19	15.4
TiO <sub>2</sub> photocatalytic ozonation (TiO <sub>2</sub> /O <sub>3</sub> )	70	stem-end	9	12.8
		fruit	19	12.1

각 처리별로 실시한 20개의 참다래 중에서 *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.)나 *Botrytis cinerea*에 의해 발병했을 것으로 여겨지는 꼭지 (stem-end)에 나타나는 병징이나 *Botryosphaeria dothidea*에 의해 발병했을 것으로 여겨지는 과실 몸통 (fruit)에 나타는 무름병징의 수나 정도에 상관없이 병징이 하나 이상 존재할 경우 발병한 것으로 간주하였을 경우, 아무런 처리를 하지 않은 대조구에서는 전체 20개의 참다래 중 19개 참다래가 감염 발병하여 발병율이 95%인데 반하여 TiO<sub>2</sub> 광촉매 단독처리



(only TiO<sub>2</sub>), 오존단독처리 (only O<sub>3</sub>), TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합 처리 (TiO<sub>2</sub>/O<sub>3</sub>)에 의한 발병율이 각각 65%, 80%와 70%로 나타나 대조구에 비해 32%, 16%와 26%의 발병율 억제 효과를 보였다. 발병된 참다래에 나타난 총 병반수는 대조구의 경우 꼭지에서 12개, 과육에서 46개가 나타났으며 TiO<sub>2</sub> 광촉매 단독처리, 오존단독처리, TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합 처리에 의한 총 병반수는 꼭지와 과육에서 각각 9개와 23개, 12개와 19개, 9개와 19개로 나타나 대조구에 비해 꼭지와 과육에서 각각 25%와 50%, 0%와 58%, 25%와 58%의 병반 발현 억제 효과를 보였다. 또한 각 병징의 발병 정도를 알아보기 위하여 측정된 병반의 직경은 대조구의 꼭지의 평균 병반 직경이 15.6 mm, 과육의 평균 병반직경이 20.1 mm로 나타났다. 이에 반하여 TiO<sub>2</sub> 광촉매 단독처리, 오존단독처리, TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합 처리에 의한 평균 병반직경은 꼭지와 과육에서 각각 13.8 mm와 11.3 mm, 15.9 mm와 15.4 mm, 12.8 mm와 12.1 mm로 나타나 대조구에 비해 꼭지와 과육 병반직경이 각각 26%와 46%, 14%와 23%, 31%와 40% 작은 병반이 형성되었다. 위의 자료를 이용하여 참다래 한 개당 발생한 전체 병반 면적[ [총병반수 × (평균병반직경/2)<sup>2</sup> × 3.14 ] / 총참다래수(20)]은 대조구의 경우 꼭지에서 165 mm<sup>2</sup>, 과육에서 729 mm<sup>2</sup>으로 산출되었으며 TiO<sub>2</sub> 광촉매 단독처리, 오존 단독처리, TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합 처리에 의한 참다래 한 개당 발생한 총 병반 면적은 꼭지와 과육에서 각각 67 mm<sup>2</sup>과 115 mm<sup>2</sup>, 119 mm<sup>2</sup>와 178 mm<sup>2</sup>, 57 mm<sup>2</sup>과 109 mm<sup>2</sup>로 대조구에 비해 꼭지와 과육 병반 면적은 각각 59%와 84%, 27%와 76%, 65%와 85% 감소하였으며 과육에 나타난 과실무름병의 병반 면적이 76~85% 정도로 현저하게 적은 것을 알 수 있었다. 전체적으로 볼 때 본 연구에서 실시한 산화반응 처리에 의하여 참다래 과피나 과육 내에 잠복하는 병원균에 의한 저장병을 만족할 만한 수준 이하로 방제하는 것은 어렵지만 병 발생과 발병 정도를 뚜렷하게 저감할 수 있으며 포자 발아 억제와는 달리 오존 단독처리보다는 TiO<sub>2</sub> 광촉매 단독처리 또는 TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합 처리가 효과적인 것을 알 수 있었다.

## 2. TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합 처리를 위한 시제품 제작 및 참다래 저장병 방제 효과

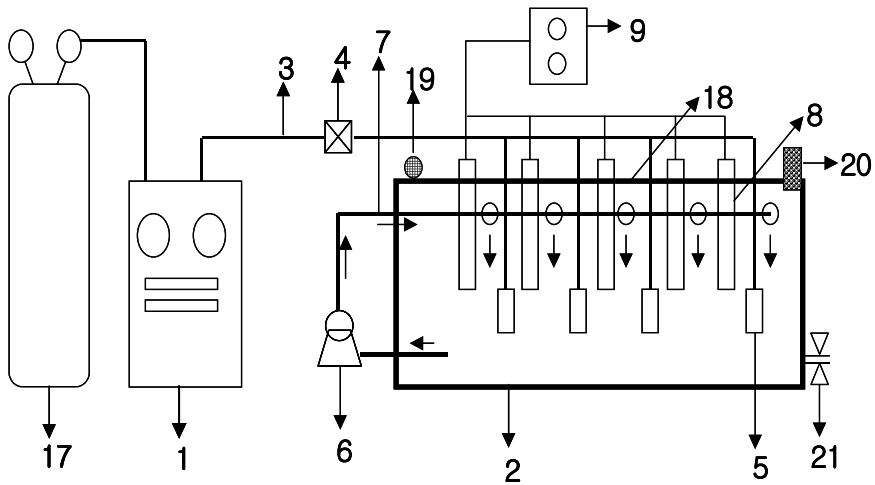
### 1) TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합 처리 시스템 설계 및 시제품 제작

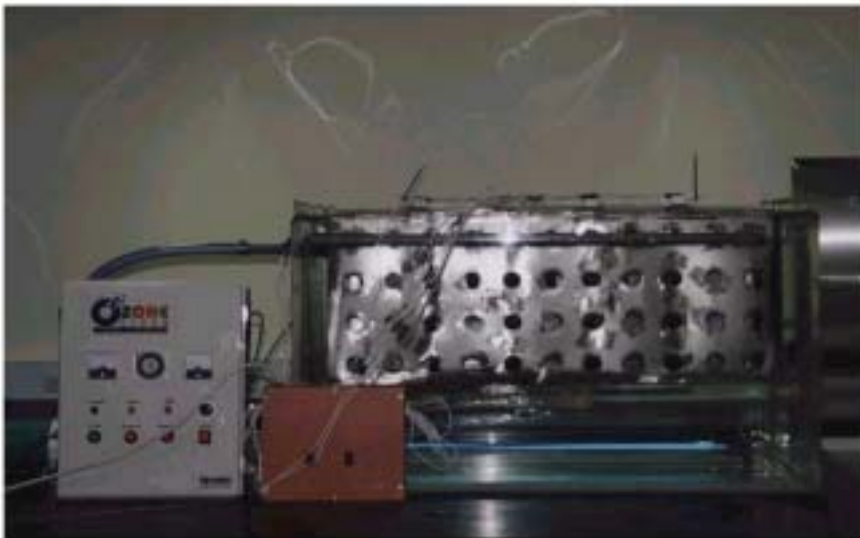
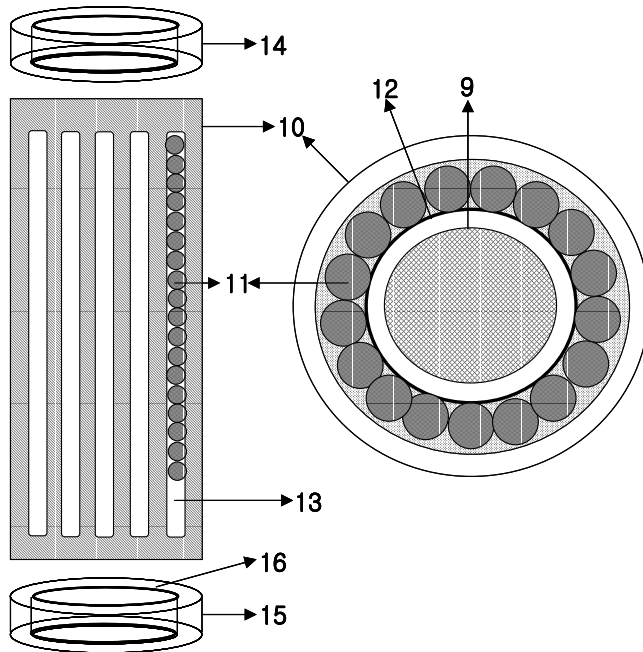
1차년도 연구 결과 TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존을 복합 처리할 경우 살균 효과가 우수한 것으로 나타나 복합처리 시스템의 시제품 (Fig. 44)을 제작하여 운전을 실시하였다.

- 시스템 처리 용량 : 참다래 0.5 - 1 kg
- 시스템 설계 주안점 : 광촉매 반응에 의하여 생성된 oxidative radical의 효율적인 mass transduction을 증진시키기 위하여 처리수 순환과 균등 배분 장치를 설치 (overhead irrigation system)
- 장치설명 :

참다래와 같이 장기 저온 저장 과실의 저장과 유통 과정에서 식물병원성 곰팡이에 의해 발생하는 과실무름병의 피해를 방지하고 동시에 과실에 잔류되어 있는 유기합성농약을 분해하기 위하여 오존과 TiO<sub>2</sub> 광촉매 복합처리에 의해 생성되는 강력한 산화수를 이용하는 방법을 제공하기 위한 것으로서, 오존과 TiO<sub>2</sub> 광촉매 복합처리 장치는 고압산소나 공기를 이용하여 오존을 발생하는 오존발생기(1)와, 오존이 외부로 누출되지 않게 스텐이나 특수아크릴판 또는 P.V.C 등으로 제작된 오존접촉 과실처리조(2)와, 상기 오존발생기(1)로부터 발생된 오존을 오존접촉 과실처리조(2)로 이송하기 위한 오존연결배관(3) 및 오존 노출을 정해진 시간동안 자동적으로 실시할 수 있도록 오존발생기(1)와 타이머에 동시에 연결된 오존차단밸브(4)와, 특수세라믹재질로 이루어지며 과실처리수와 오존이 충분히 믹스되도록 설치되는 오존폭기장치(5)와, 오존살균수와 처리과실의 원활한 접촉이 이루어지도록 오존살균수 이송펌프(6)와 오존살균수 순환배관장치(7)로 이루어진 오존살균수 순환 장치와, 물 속에서 작동하도록 특수 설계된 자외선 램프를 중심으로 TiO<sub>2</sub> 광촉매가 코팅된 알루미나 볼로 채워진 슬릿형 TiO<sub>2</sub> 광촉매 튜브(8)와, 광촉매 자외선 램프의 발광을 조절하는 전원공급장치 (22)와, 고정 및 밀폐되어 있으며 표면에는 광촉매 튜브(8)와 오존연결배관(3)이 삽입 고정될 수 있도록 설계된 과실처리조(2)의 윗 덮개(18)와, 과실처리조(2) 내부로 과실을 넣고 빨 수 있도록 윗 덮개의 일정부분은 개폐가 가능하도록

록 설치된 개폐장치(19)와, 용존되지 않거나 사용되지 않고 남은 잉여 오존을 제거하여 순수한 공기로 외부로 배출시키기 위한 배기오존제거부(20)와 처리 종료 후에 처리수를 외부로 배출하는 처리수 배출밸브(21)로 이루어지며, 슬릿형  $TiO_2$  광촉매 튜브(8)는 사용하고자하는 단파장 자외선 램프(9)의 길이에 따라 아크릴이나 P.V.C 등으로 제작된 원통형 튜브 몸체(10)와,  $TiO_2$  광촉매가 특수 코팅된 직경 10 mm의 알루미늄아 불(11)과, 자외선 램프(9)를 밀폐하고 있는 특수 제작된 석영관(12)과, 물 속에서  $TiO_2$  광촉매가 활성화되어 생성된 강력 산화수가 오존접촉 과실처리조(2)로 원활히 유출되어 혼합될 수 있도록 튜브 몸체 (10) 표면에 일정간격으로 배치된 9 mm 간격의 슬릿(13)과, 광촉매가 코팅된 알루미늄아 불(11)을 자유자재로 튜브(10)에 채우고 빼내기 위해 튜브(10)에 꼭 맞도록 표면에 제작된 나선형 홈에 의해 잠금과 풀림이 이루어지며 중앙부에 O 링(16) 처리된 홈을 통하여 자외선 램프와 석영관을 삽입할 수 있도록 설계된 상, 하 캡(14, 15)으로 이루어진다.





**Fig. 44.** Pilot system of TiO<sub>2</sub> photocatalytic ozonation treatment for the control of fruit rots of a kiwifruit.

## 2) 참다래 과실무름병균에 대한 TiO<sub>2</sub> 광촉매의 살균효과

### ○ 오존처리에 의한 참다래 과실무름병균 포자발아 저해율 조사

1차년도 연구 결과 TiO<sub>2</sub> 광촉매 처리와 오존처리를 복합하였을 경우, 참다래 과실무름병 발생 억제에 증진된다는 결과를 기준으로 오존단독처리에 의한 참다래 과실무름병원균들의 포자발아 억제 효과를 조사하였다.

#### 가. 실험재료 및 방법

PDA에서 한달 이상 배양한 *Botryosphaeria dothidea*, *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.), *Botrytis cinerea*를 이용하여 포자현탁액을 제조한 후 용존 오존 농도를 0.1에서 1.5 ppm이 되도록 조절한 오존수에 각 병원균의 포자현탁액을 첨가하여 (최종 포자농도: 약  $1 \times 10^5$  spores/ml)를 각 용존오존농도에서 각각 1분, 3분, 5분 동안 처리수에서 처리한 후 microfilter를 이용하여 처리된 포자를 수집하여 멸균수를 이용하여 PDB (potato dextrose broth,  $\times 1/2$ )에 모은 후, cavity slide glass에서 100  $\mu$ l를 점적하고 25°C에서 24시간 배양한 후 현미경 하에서 포자 100개 당 발아한 포자 수를 조사하여 포자 발아율을 조사하였다.

#### 나. 결과 및 고찰

*Botryosphaeria dothidea*, *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.), *Botrytis cinerea*의 포자들은 용존 오존 농도 1.0 ppm 이상에서는 1분간 노출되어도 발아가 거의 억제되었으며, 여러 용존오존농도(DOC: dissolved ozone concentration)에서 1분, 3분, 5분간 노출된 포자의 발아 저해율에 대한 관계식은 **Table 13**에 나타나 있다. 이를 기준으로 살펴보면 각 병원균 포자에 대해 3개의 노출시간에서 얻은 DOC에 따른 포자저해율에 대한 9개의 회귀식은 매우 유의한 ( $P=0.01$ )으로 것으로 나타났으며, 5분 노출시간을 기준으로 95%의 포자발아 억제를 위한 DOC는 *Botrytis cinerea*의 경우 0.46  $\mu$ g/ml (ppm), *Botryosphaeria dothidea*의 경우 0.36  $\mu$ g/ml와 *Diaporthe actinidiae* (*Phomopsis* sp.)의 경우 0.28  $\mu$ g/ml로 산출되어 평균

적으로 0.5 ppm 이상의 용존오존농도에서 5분간 처리로 주요 참다래 저장 병균의 포자발아를 충분히 억제할 수 있을 것으로 기대되어 TiO<sub>2</sub> 광촉매 처리와 오존 복합처리에 따른 참다래 과실무름병 발생 억제에 있어서 상승 효과가 기대되며 새로운 물리적 병방제 방법으로 개발 가능성이 매우 높을 것으로 나타났다.

**Table 13.** Regression equations for concentration of ozone in distilled water and inhibition of spore germination of three fungi pathogens on fruit rots of kiwifruit

Fungus	Time (min)	Regression equation <sup>a</sup>	R <sup>2b</sup>
<i>Botrytis cinerea</i>	1	Y = -0.026 + 1.409X	0.768
	3	Y = 0.0279 + 1.939X	0.945
	5	Y = 0.0235 + 2.005X	0.923
<i>Diaporthe actinidiae</i>	1	logY = 0.0617 + 3.410X	0.970
	3	logY = 0.0277 + 4.108X	0.980
	5	logY = 0.0425 + 4.441X	0.990
<i>Botryosphaeria dothidea</i>	1	logY = 0.656 + 0.987X	0.535
	3	logY = 0.621 + 1.329X	0.667
	5	logY = 0.738 + 1.558X	0.580

<sup>a</sup>Y = percent inhibition of germination; X = microgram of ozone per milliter of distilled water.

<sup>b</sup>Significant at P=0.01

## ○ TiO<sub>2</sub> 광촉매 처리수에 의한 참다래 저장병 억제효과 조사

### 가. 실험재료 및 방법

실제 TiO<sub>2</sub> 광촉매에 의한 참다래 저장병 억제 효과를 알아보기 위하여 포장에서 자연 감염되었을 것으로 여겨지는 참다래를 이용하여 TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합 처리에 의한 참다래 저장병 억제 효과를 살펴보았다. 이를 위하여 **Fig. 44**에 나타난 시제품의 정치형 처리시스템을 이용하여 TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 처리를 단독 또는 복합 처리를 실시하면서 참다래를 5, 10, 30분간 침지 시켜 처리한 후 꺼내어 강제 풍건시키고, 20℃에서 2주간 후 숙시킨 후에 참다래 저장병 발병 정도를 조사하였다. 발병정도는 전체 200개 처리 참다래 중에서 발병된 참다래 과실 수, 발병 참다래 과실에서 나타난 총 병반 수, 각 병반 직경을 조사하였다.

### 나. 결과 및 고찰

TiO<sub>2</sub> 광촉매에 의한 참다래 저장병 억제 효과를 알아보기 위하여 포장에서 자연 감염되었을 것으로 여겨지는 참다래를 이용하여 TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합 처리에 의한 참다래 저장병 억제 효과를 병반면적을 기준으로 살펴 본 결과 (**Table 14**), 용존오존농도가 증가할수록 과실무름병 발생 억제 효과가 증가하였으며 1.5 ppm에서 10분간 TiO<sub>2</sub> 광촉매와 복합처리할 경우, 약 70%의 억제 효과가 나타나는 것으로 조사되었다. 하지만 반응조에서 10분 이상 처리시간이 길어질수록 오히려 방제효과가 감소하는 것으로 조사되었다. 발병과율을 기준으로 살펴보면 병반면적의 대소에 상관없이 모든 처리에서 약 70% 이상의 과실에서 병반이 나타나는 것으로 조사되었다. 이는 오존과 TiO<sub>2</sub> 광촉매 복합처리는 이미 포장에서 감염되어 조직 내에 침입한 병원균을 완전히 살균하기보다는 후숙과정에서 이미 감염된 병원균의 병진전을 억제하는 것으로 풀이할 수 있다.

**Table 14.** Control efficiencies of TiO<sub>2</sub> photocatalytic treatment with ozonation under different concentrations of dissolved ozone on fruit rots of kiwifruit

Concentrations of dissolved ozone ( $\mu\text{g/ml}$ )	Exposure time (min)	Diseased rates <sup>a</sup> (%)	No. of lesions/fruit	Lesion areas ( $\text{mm}^2$ )/fruit	Control efficiencies <sup>b</sup> (%)
Control	30	100	2.2	1179	-
0.5	5	100	2.7	1072	9.1
	10	85	1.9	547	53.6
	30	80	1.8	641	45.6
1.0	5	85	1.55	638	45.9
	10	90	1.55	598	49.3
	30	75	1.55	472	60.0
1.5	5	75	1.4	393	66.7
	10	65	1.2	343	70.9
	30	80	1.6	476	59.6

The data represent means of 200 fruits in each treatment.

<sup>a</sup> Diseased rate (%) = diseased fruits/total fruits (n=200)×100.

<sup>b</sup> Control efficiency (%) = average lesion area of control/treatment×100.



### 3) TiO<sub>2</sub> 광촉매 처리에 의한 살균제 flusilazole 분해효과 조사

TiO<sub>2</sub> 광촉매처리는 수처리에서 유기물을 분해하는 오염처리 기술로 최근 관심이 고조되고 있는 신기술 분야이다. 본 연구에서 이미 TiO<sub>2</sub> 광촉매 처리에 의한 살균효과와 참다래 저장병원균 억제 효과를 확인하여 식물병 방제에 이용 가능성을 확인하였다. 이러한 살균기능 이외에 장기 저장 과실에서 문제가 되는 잔류농약 문제를 동시에 해결할 수 있는 새로운 적용 분야 개척을 위하여 TiO<sub>2</sub> 광촉매처리에 의한 농약 분해 효과를 살펴보았다.

#### 가. 실험 재료 및 방법

##### ▷ 광촉매처리

TiO<sub>2</sub> 광촉매처리에 의한 농약 분해 효과를 알아보기 위하여 제 1세부연구 결과, 참다래 과실무름병에 효과가 우수한 예방 약제로 선발한 flusilazole에 대하여 실시하였다. 하지만 flusilazole 원제의 시료량이 시제품 scale에서 실시하기에는 충분치 않아 순환식 처리시스템 (Fig. 35)의 소규모 scale에서 농약분해 효과를 검정을 실시하였다.

TiO<sub>2</sub> 광촉매처리에 의한 flusilazole 분해 효과를 조사하기 위하여 (주) 동부한농에서 기증 받은 원제를 최종 100 ppm 농도로 2 ℓ를 조제하고 단순흡착에 의한 손실을 감안하여 2시간 동안 UV를 조사하지 않은 상태로 공운전 시킨 다음, 매 20분 간격으로 reactor를 통과하여 빠져 나온 처리수의 일정량 (25 ml)을 회수하여 flusilazole 분석에 이용하였다. 유량은 400 ml/분으로 조정하였으며 산술적인 HRT (반응기 내 체류시간)은 30초로 20분 동안 총 4회에 걸쳐 전체 시료가 reactor를 통과할 수 있도록 설정하였다. 광촉매 효과를 알아보기 위하여 ① UV-B (350 nm)+TiO<sub>2</sub> coated 알루미늄 ② Dark+TiO<sub>2</sub> coated 알루미늄 ③ UV-B (350 ml)+TiO<sub>2</sub> uncoated 알루미늄 처리를 동시에 실시하였으며, 3회 반복실험을 실시하였다.

##### ▷ 잔류 농약량 분석

농약 검출 및 농약량 산출은 농업과학기술원 농약학실에서 실시한

flusilazole 잔류분석법을 일부 변형하여 실시하였다.

- 시료추출 및 분배

매 20분 간격으로 광촉매를 처리한 시료를 25 ml을 취한 후 0.5 l 용량의 분액여두에 옮긴 후 200 ml 증류수를 가하고 dichloromethane으로 50 ml씩 2회 분배 추출하였다. Dichloromethane 층을 20 g anhydrous sodium sulfate에 통과시켜 탈수하고 40℃에서 감압 농축하여 건조한 후 잔류물을 10 ml의 dichloromethane에 재용해시켰다.

- Silica gel column chromatography

독일 Merck사의 ca gel (70 230 mesh)을 130℃에서 5시간 이상 활성화시킨 후, silica gel 10 g과 그 위에 2 cm 높이로 anhydrous sodium sulfate를 차례로 건식 충전하고 dichloromethane 50 ml로 세척하였다. Sodium sulfate층이 노출되기 직전에 위에서 준비한 dichloromethane에 녹인 시료 용액 10 ml를 가하고 용기 및 column 벽면을 여분의 2 ml dichloromethane으로 2회 씻어 내렸다. 표면이 노출되기 직전에 80 ml의 ethyl acetate/ dichloromethane (20/80, v/v) 혼합액을 통과시켜 분액을 받고 재차 80 ml의 ethyl acetate/ dichloromethane (80/20, v/v) 혼합액으로 용출시킨 분액을 받아 앞에서 받은 분액과 합하였다. 이 분획을 40℃에서 감압농축하여 건조시킨 후 잔류물을 10 ml의 acetone에 GLC/NPD 공시액으로 하였다. 본 분석에 사용된 시료는 특급시약으로 재증류 및 방해여부를 확인한 후 사용하였다.

- 사용 분석기기 및 분석조건

분석기기 : Hewlett Packard (USA) GC 6890+ gas chromatography  
equipped with chemstation Integrator

검출기 : nitrogen-phosphorus detector (NPD)

Column : RSL-300 bonded phase capillary column

운전온도 : Column oven : 200℃  
Detector block : 270℃  
Injector port : 240℃

Gas flow rate : Carrier He 20 ml/min  
Make-up He 20 ml/min  
Fuel H<sub>2</sub> 3.5 ml/min  
Air 110 ml/min

Auto-sample size : 2  $\mu$ l

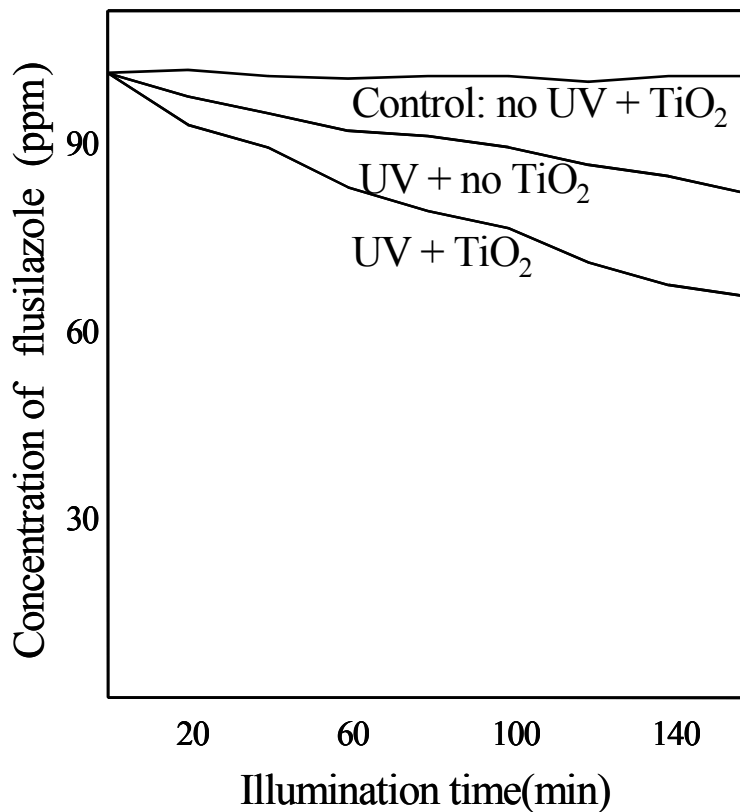
- 검량선 작성

Flusilazole 표준품 (동부한농 제공) 105.8 mg을 100 ml acetone에 녹여 stock solution을 제조하였다. Stock solution에서 일정량을 취하여 100, 50, 10, 1 ppm의 농도가 되도록 acetone에 희석하고 이들 표준용액을 GC에 주입한 후 chromatography 상에 나타난 면적을 기준으로 검량선을 작성하였다.

나. 결과 및 고찰

TiO<sub>2</sub> 광촉매에 의한 살균제 flusidazole의 분해효과를 조사한 결과 (Fig. 45), TiO<sub>2</sub> 광촉매가 coating된 알루미늄박을 암상태 (no UV + TiO<sub>2</sub>)에서 처리한 결과, flusidazole의 농도가 약 3시간 처리 동안 거의 초기농도 (100 ppm)와 비슷하게 일정한 수준으로 유지되어 단순흡착에 의한 손실량이 거의 없음을 알 수 있었다. 이에 반하여 UV를 조사하면서 TiO<sub>2</sub> 광촉매가 coating되지 않은 알루미늄박 (UV + no TiO<sub>2</sub>)을 처리한 경우 처리시간이 경과할수록 지속적으로 감소하여 분해계수가 0.112 (conc./min)로 산출되어 3시간 후에 초기농도의 약 80.7% 수준으로 감소한 것을 알 수 있었다. TiO<sub>2</sub> 광촉매 (UV + TiO<sub>2</sub>)에 의한 살균제 분해효과를 살펴 본 결과 처리시간이 경과할수록 지속적으로 감소하였으며 감소정도는 UV만을 처리한 것보다 훨씬 효과적으로 감소하여 분해계수가 0.219 (conc./min)로 산출되어 3시간 경과 후에 초기농도의 약 64% 수준까지 감소하였다. 이는 단순히 UV에 의한 농약분해보다 TiO<sub>2</sub> 광촉매에 의해 농약분해효과가 약 1.96 배 증가하여 TiO<sub>2</sub> 광촉매에 의한 살균제 분해 효과를 확실하게 볼 수 있었다.

앞에서 조사한 오존과 TiO<sub>2</sub> 광촉매의 복합처리에 의한 과실무름병 발생이 가능했던 30분 동안 처리할 경우 TiO<sub>2</sub> 광촉매에 의해서만도 약 7 ppm 내외의 농약 분해가 가능할 것으로 산출되었으며 산화력이 강력한 오존, UV 및 TiO<sub>2</sub> 광촉매가 복합적으로 작용할 때 과실무름병 발생 억제뿐만 아니라 잔류농약 역시 안전한 수준이하로 분해할 수 있을 것으로 기대되어 병발생 억제뿐만 아니라 식품의 안정성을 동시에 증대시킬 수 있는 새로운 복합처리 기술로 기대되었다.



**Fig. 45.** Fungicide flusilazole decomposition by TiO<sub>2</sub> photocatalytic reaction. Initial concentration of the fungicide was 100mg/l and a 50ml-sample was removed every 20 min. Regression equation of flusilazole decomposition against reaction time was calculated as followed;  $Y = 101.34 - 0.219X$  (TiO<sub>2</sub>+UV treatment, Y= concentration; X = time) ( $R^2=0.980$ ,  $P=0.001$ ) and  $Y = 101.04 - 0.112X$  (UV treatment  $R^2=0.987$ ,  $P=0.001$ )

### 3. 참다래 과실무름병균에 대한 TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존복합처리 장치 시제품을 이용한 현장적용 실험

앞 선 연구 결과 참다래 과실무름병원균 살균, 참다래 과실무름병 발생 억제 및 잔류농약 분해 면에서 우수한 효과를 보인 TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합처리 장치의 시제품을 이용하여 현장 적용 실험을 실시하였다.

#### 가. 실험 재료 및 방법

2002년 순천시 해룡면 실험포장에서 농약을 처리하지 않고 재배한 참다래를 이용하여 실시하였다. 실험에 이용한 참다래는 자연상태에서 발병되어 저장 중에 충분히 참다래 과실무름병이 발생하였다. 11월 중순에 수확한 참다래를 수확 직후 처리, 저온 저장고 (2℃)에서 저장 도중 처리 (2개월 저장), 출하 직후 처리 (4개월 저장고 보관)를 실시하였다.

각 시기별로 1) TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합처리, 2) 대조구로서 농약처리 (flusilazole 수화제: 누스타)를 실시하였으며, 처리별로 50과를 1단위로 3개 단위 (처리당 150과 참다래 처리)의 시료를 이용하였다. 농약 농도는 사용 권장농도를 적용하여 실시하였다.

TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합처리를 위해 용존오존농도를 0.5 ppm로 조정하였으며, 과실 침지 1시간 전부터 광촉매 처리를 시작하였다. 과실 침지 후 30분 동안 복합 처리를 실시한 후, 꺼내어 냉풍 팬을 이용하여 표면에 묻은 수분을 완전히 제거한 후에, 2℃ 냉장고에 보관하였다. 수확직후와 저장 도중 처리 참다래는 마지막 처리 시기인 수확 후 4개월 (2003년 3월 중순) 저장 과실 처리 시기까지 냉장 보관하였으며, 보관 종료 후에 각 처리 시기의 참다래를 20℃ incubator에서 3주간 후숙 시킨 후에 참다래 과피를 제거한 후 발병 정도를 조사하고 이를 토대로 각 처리의 방제가를 계산하였다. 대조구로서 실시한 농약처리를 위하여 사용권장농도의 농약에 참다래 과실을 30분간 침지시킨 후 꺼내어 위와 동일하게 실시하였다.

#### 나. 결과 및 고찰

자연 감염된 참다래의 경우 저장 4개월 후에 조사한 발병 정도를 보면 약 90%의 과실이 감염되었으며, 각 과실당 반 이상의 과육에서 부패가 심

하게 진행되어 감염된 것을 볼 수 있었다 (Table 15, Fig. 46). 저장 과정 중에 과실무름병이 진전되어 처리에 상관없이 저장 기간이 길어수록 발병 정도가 심해지는 경향이 있었다. 따라서 수확 직후, 저온 저장 전에 처리하는 것이 가장 우수한 방제 효과를 보임을 알 수 있었다. 대조구 처리인 농약 침지에 비하여 TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합처리가 참다래 과실무름병 발생 억제 효과가 높은 것으로 나타났다. 특히 저장 후기로 갈수록 농약 침지에 비하여 방제 효과가 우수하여 3차 시기에서는 농약처리에 비하여 TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합처리에서 약 30% 이상의 높은 방제효과를 보여 약제 방제를 대신할 새로운 방제 방법으로 개발 가능성이 매우 높다고 판단되었다.

**Table 15.** Effects of TiO<sub>2</sub> photocatalytic ozonation on fruit rots of kiwifruit

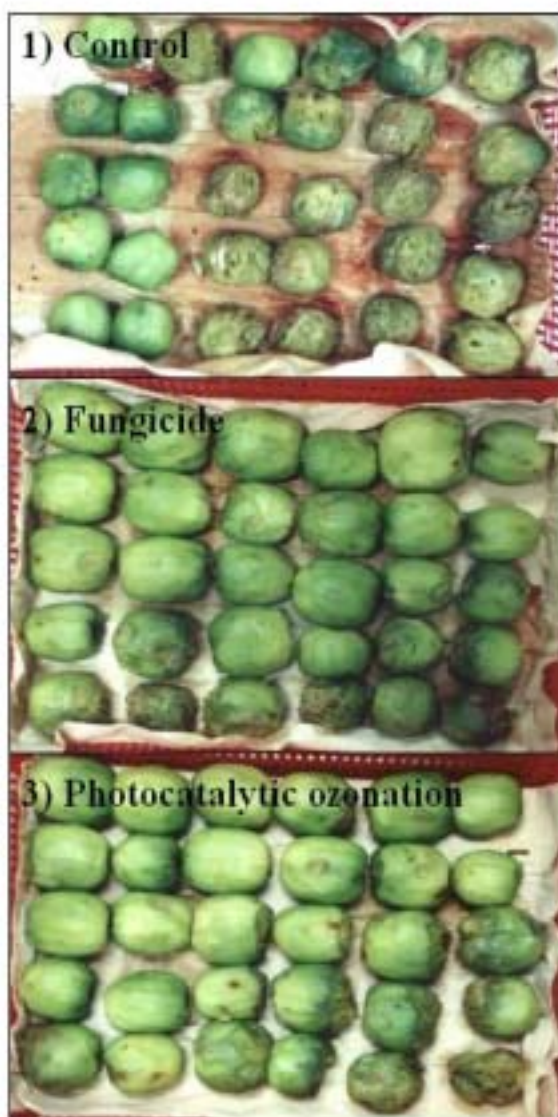
Application time	Treatment	Disease incidence <sup>1</sup>	Disease severity <sup>2</sup>	Disease index <sup>3</sup>	Control efficacy (%) <sup>4</sup>
1st trial (before storage)	Fungicide	0.733	0.147	0.111	<b>80.5</b>
	TiO <sub>2</sub> /O <sub>3</sub>	0.634	0.115	0.074	<b>87.0</b>
2nd trial (during storage)	Fungicide	0.802	0.178	0.150	<b>73.5</b>
	TiO <sub>2</sub> /O <sub>3</sub>	0.833	0.105	0.084	<b>85.1</b>
3rd trial (after storage)	Fungicide	0.865	0.348	0.304	<b>46.3</b>
	TiO <sub>2</sub> /O <sub>3</sub>	0.831	0.269	0.224	<b>60.5</b>
	Control	0.902	0.626	0.566	-

<sup>1</sup>Incidence = diseased fruits/total fruits. Diseased kiwifruit was considered as one showing at least one lesion with a diameter more than 2 mm.

<sup>2</sup>Severity = lesion area/fruits area (mm<sup>2</sup>) in each diseased kiwifruit.

<sup>3</sup>Index = incidence × severity in each diseased kiwifruit.

<sup>4</sup>Control efficacy (%) = [1-(index of each treatment/index of control)] × 100.



**Fig. 46.** Effects of  $\text{TiO}_2$  photocatalytic ozonation on fruit rots of kiwifruit. Fungicide and photocatalytic ozonation were treated just before storage. Kiwifruits were severely rotten without the treatments (control) after 4-month storage in cold room ( $2^\circ\text{C}$ ).

#### 4. 무공해적 참다래 저장병 물리적 방제기술 개발 연구 결과 요약

- 1) UV 광원에 따른 광촉매 효과를 검증한 결과 단파장의 UV-C가 장파장의 UV-B 보다 광촉매 효과가 우수한 것으로 나타났다
- 2) 연속 순환식 처리 시스템에서 reactor내 수리적 체류시간 (hydraulic retention time)에 따라 광촉매 효과에 따른 산화 분해 및 살균 효과를 조사한 결과, 광촉매 효과는 체류시간이 짧을수록 증가하는 것으로 나타났다. 즉  $TiO_2$  표면에서 발생한 활성 자유기를 신속히 처리수로 전달할수록 광촉매 효과가 증가하는 것을 알 수 있었다.
- 3) Batch-type reactor 시스템에서 처리수 순환에 따른  $TiO_2$ 에 의한 광촉매 촉진 효과를 알아본 결과, 시간이 경과할수록 처리수 순환에 따른 광촉매 효과 증진이 뚜렷하게 나타났다.
- 4) 연속순환 처리 시스템을 이용하여  $TiO_2$  광촉매처리와 동시에 산소를 공급할 경우 산소가 공급되지 않는 상태보다 광촉매 효과가 증가하였으며  $TiO_2$  광촉매와 오존을 동시에 복합 처리할 경우  $TiO_2$  광촉매 단독처리보다 약 25배, 산소공급 상태에서  $TiO_2$  광촉매 단독처리보다 약 12배, 오존 단독처리보다 약 3배정도 높은 것으로 나타나  $TiO_2$  광촉매와 오존을 동시에 처리할 경우 매우 빠르고 강력한 산화반응에 의한 유기물 분해 및 살균효과를 나타났다.
- 5)  $TiO_2$  광촉매와 오존을 단독으로 5분 동안 처리할 경우 대조구에 비하여 각각 약 50%와 90%의 포자 발아율 감소가 일어났으며, 복합처리할 경우 처리시간에 상관없이 약 95%의 포자 발아율 감소가 가능했다. 따라서 1~5분의 짧은 시간 동안  $TiO_2$  광촉매와 오존을 단독 또는 복합처리할 경우 참다래 저장병원균의 포자발아율이 50~95% 정도 감소하여 산화반응에 의한 항균효과가 확실한 것으로 조사되었다.
- 6)  $TiO_2$  광촉매에 의한 참다래 저장병 억제 효과를 알아보기 위하여 포장에서 자연 감염되었을 것으로 여겨지는 참다래를 이용하여  $TiO_2$  광촉매



와 오존 복합 처리에 의한 참다래 저장병 억제 효과를 살펴 본 결과, 용존오존농도가 증가할수록 과실무름병 발생 억제 효과가 증가하였으며 1.5 ppm에서 10분간  $\text{TiO}_2$  광촉매와 복합처리할 경우, 약 70%의 억제 효과가 나타나는 것으로 조사되었다.

7)  $\text{TiO}_2$  광촉매에 의한 살균제 flusidazole의 분해효과를 조사한 결과 처리 시간이 경과할수록 지속적으로 감소하였으며 3시간 경과 후에 초기농도의 약 64% 수준까지 감소하였다. 이는 단순히 UV에 의한 농약분해보다  $\text{TiO}_2$  광촉매에 의해 농약분해효과가 약 2배 증가하여  $\text{TiO}_2$  광촉매에 의한 살균제 분해 효과를 확실하게 볼 수 있었다. 오존과  $\text{TiO}_2$  광촉매의 복합처리에 의한 과실무름병 발생이 가능했던 30분 동안 처리할 경우  $\text{TiO}_2$  광촉매에 의해서만도 약 7 ppm 내외의 농약 분해가 가능할 것으로 산출되었으며 산화력이 강력한 오존, UV 및  $\text{TiO}_2$  광촉매가 복합적으로 작용할 때 과실무름병 발생 억제뿐만 아니라 잔류농약 역시 안전한 수준 이하로 분해할 수 있을 것으로 기대되어 병발생 억제뿐만 아니라 식품의 안정성을 동시에 증대시킬 수 있는 새로운 복합처리 기술로 기대되었다.

8)  $\text{TiO}_2$  광촉매와 오존 복합처리 장치의 시제품을 이용하여 현장 적용 실험을 실시한 결과, 무처리에 비하여 처리시기에 따라 약 60~87% 정도의 방제효과를 보였으며 저온 저장 직전에 처리하는 것이 가장 우수한 방제효과를 보였다. 농약 침지에 비하여  $\text{TiO}_2$  광촉매와 오존 복합처리가 참다래 과실무름병 발생 억제 효과가 높은 것으로 나타났으며 특히 저장 후기로 갈수록 농약처리에 비하여  $\text{TiO}_2$  광촉매와 오존 복합처리에서 약 30% 이상의 높은 방제효과를 보여 약제 방제를 대신할 새로운 방제 방법으로 개발 가능성이 매우 높다고 판단되었다.

9) 본 연구 결과 환경친화적인 무공해  $\text{TiO}_2$  광촉매와 오존 복합처리에 의한 참다래 과실무름병 방제와 잔류농약 분해 및 이를 위한 처리 장치의 실용화가 가능할 것으로 기대되었다.

## 제 4 장 목표 달성도와 관련분야에의 기여도

### 1. 연구개발목표 달성도

#### < 연구개발 목표 >

- 농약사용량 절감을 위한 참다래 저장병 화학적 방제체계 확립
  - 천연물 농약을 이용한 환경친화형 참다래 저장병 방제기술 개발
  - 무공해적 참다래 저장병 물리적 방제기술 개발
- ⇒ 『환경친화형 참다래 저장병 종합적 방제기술 개발 및 실용화』

연구개발목표	연구개발내용	달성도
○ 농약사용량 절감을 위한 참다래 저장병 화학적 방제체계 확립	- 참다래 저장병 예방약제 선발 - 참다래 저장병 예방약제 약효 검정 - 참다래 저장병 예방약제 살포적기 구명 - 참다래 저장병 예방약제 적정 살포횟수 구명 - 참다래 저장병 예방약제 최적 살포 프로그램 정립 - 참다래 저장병 예방약제 최적 살포 프로그램 포장 검증	100
○ 천연물 농약을 이용한 환경친화형 참다래 저장병 방제기술 개발	- <i>Eucalyptus</i> 엽육 추출액의 참다래 저장병균에 대한 항균활성검정 - <i>Eucalyptus</i> 엽육 추출액 대량회수 최적조건 구명 - 참다래 저장병 방제를 위한 <i>Eucalyptus</i> 엽육 추출액 이용 천연물 농약 개발	100
○ 무공해적 참다래 저장병 물리적 방제기술 개발	- 순환식 연속 TiO <sub>2</sub> 광촉매 처리시스템 제작 - 참다래 저장병균에 대한 TiO <sub>2</sub> 광촉매의 살균 효과 검증 - TiO <sub>2</sub> 광촉매 최적 처리조건 확립 - TiO <sub>2</sub> 광촉매 처리시스템 설계 및 시제품제작 - 참다래 상품성 및 안정성에 미치는 TiO <sub>2</sub> 광촉매 처리 효과 검증 및 복합처리기술 개발 - 참다래 저장병 물리적 처리방법 및 시스템의 실용화 현장 검증	100
○ 참다래 저장병 환경친화형 종합적 방제체계 확립	- 환경친화형 참다래 저장병 생물적 방제기술, 무공해적 참다래 저장병 물리적 방제기술 및 농약사용량 절감을 위한 참다래 저장병 화학적 방제체계를 바탕으로 참다래 저장병 환경친화형 종합적 방제 모델을 정립함.	100

본 연구개발과제에서 환경친화형 참다래 저장병 종합적 방제 기술 개발 및 실용화를 통하여 달성하고자 하였던 참다래 저장병 환경친화형 종합적 방제체계가 확립되었다. 즉, 지금까지 참다래 재배 포장에서 예방적 차원의 약제방제를 위하여 필요로 하였지만 정립되어 있지 않았던 약제 선발, 살포 방법, 살포시기, 횡수에 대한 최적프로그램이 도출되었으며, 저장, 유통 중에 발생하는 저장병 치료 및 방제를 위하여 요구되는 천연물 농약의 개발과  $TiO_2$  광촉매와 오존복합처리 방법 및 장치개발의 토대가 마련되어 환경친화적이면서도 전천후 적인 참다래 저장병 종합적 방제체계가 확립되었고 이를 통하여 참다래 재배 농가의 어려움을 현실적으로 해결할 수 있는 대책을 마련할 수 있게 되어 본 연구개발에서 달성하고자 하였던 목표를 100% 이루었다고 할 수 있겠다.

실제 재배 농가에게 제시할 수 있는 참다래 저장병 종합적 방제 체계는 다음과 같이 요약될 수 있다.

**“참다래 재배 포장에서 후루실라졸 수화제 (누스타) 등 예방약제를 6월 중순부터 10일 간격 4회 예방적 차원에서 살포하며, 수확 후 저온 저장 직전에 상용화 예정인  $TiO_2$ 와 오존복합처리장치를 이용하여 정해진 조건에서 30분 처리하고, 필요한 경우 추가적으로 상용화 예정인 천연물 향균물질을 처리한다”**

이와 같은 방법으로 참다래를 재배, 저장, 유통할 경우 참다래 저장병의 확실한 방제가 가능하고 우수한 상품성과 식품 안정성이 보장된 지역특화, 친환경, 청정 농산물을 재배, 판매할 수 있게 됨으로서 참다래 과실 재배 농가의 어려움을 해결하고 농가 소득 향상이 가능하게 됨으로서 소기의 목적 달성과 더불어 본 연구개발 사업의 연구비 지원 취지에 정확하게 부합하였다고 할 수 있겠다.

## 2. 관련 분야에의 기여도

본 연구개발 분야의 목표 달성을 통하여 관련분야에 기대되는 효과는 다음과 같이 요약 정리될 수 있다..

○ 농약사용량 절감을 위한 참다래 저장병 화학적 방제체계 확립

본 연구개발 과정에서, 지금까지 국내에서 정확하게 판명되지 않았던 참다래 저장병 유발 병원균에 대한 균학적 특성을 정확히 밝힘으로서 식물병리학 발전에 공헌하였다. 또한 이들 병원균을 이용한 실내 연구에서 가장 문제가 되었던 분생포자의 대량생성 유도 방법과 포자발아 유도 방법을 개선하여 관련 연구자들에게 새로운 과학적 정보를 제공할 수 있게 되었다. 참다래 저장병원균의 발생 pattern에 대한 조사를 통하여, 외국의 경우와 달리 국내 참다래에서의 발병학적인 차이를 명확히 구별한 점도 매우 특기할만하다고 하겠다.

본 연구에서 도출한 최적 예방약제인 후루실라졸 수화제 (누스타)와 이프로 수화제 (로브탈), 터부코나졸 수화제 (실바코) 등 3종의 약제의 경우 10일 간격 4회 살포가 현재 국내에서 참다래 과실무름병 약제로 등록되어 있는 베노밀 수화제 (벤레이트)와 지오판 수화제 (톱신엠)의 10일 간격 5회 살포와 대등한 효과를 보여 장차 참다래 저장병 방제 약제로 개발할 수 있을 것으로 기대되므로 참다래 저장병 약제의 다양화뿐만 아니라 농약 사용량 절감을 통하여 재배 농가에 많은 도움을 줄 수 있을 것으로 판단된다.

현재 참다래 재배농가에 대한 최적 약제 살포에 대한 대농민 지도 지침이 확실하게 마련되지 않은 상황에서 본 연구에서 도출한 농약살포 프로그램은 일선 현장에서 대농민용 지도 매뉴얼로서 그 가치가 인정되며, 유사한 작물에서의 최적 약제 방제 프로그램 개발에도 좋은 지침 자료를 제공할 수 있을 것으로 기대된다.

○ 천연물 농약을 이용한 환경친화형 참다래 저장병 방제기술 개발

임업 분야에서 지난 30여년 동안 우수한 펄프 목재로의 특성과 빠른 성장성에도 불구하고 국내 기후 적합성에 문제가 있어 많은 검토가 이루어졌음에도 불구하고 국내 도입 및 재배가 활발하지 않았던 *Eucalyptus* 수목에 대한 새로운 시각 및 이용 가능성을 제공할 수 있게 되었다는 점은 매우 특기할 만 하다고 하겠다. 본 연구에서 이용한 *Eucalyptus* 수목은 이미 수년간의 내한성 검증을 거쳐 충분히 국내 정착 가능성이 확인된 수종들로써, 펄프 생산에 이용되지 못하고 폐기물로 처리될 수 있는 *Eucalyptus* 으로부터 고부가가치 천연 항균물질 생산 및 효과가 입증되어 앞으로 이에

대한 전면적인 재검토의 토대를 마련하였다고 하겠다. 특히 한솔제지와 같이 호주에 대규모 *Eucalyptus* 수목 해외조림기지를 운영하고 있는 국내 기업들에게도 *Eucalyptus* 잎을 이용한 고부가가치 생물산업의 기초 토대를 제공하였다는 점은 매우 의미 있는 일이라고 하겠다.

본 연구에서 실시한 항균활성물질들에 대한 화학적 구조 동정을 통하여 *Eucalyptus* 수목에서 분리한 gallic acid의 경우 다량을 획득할 수 있었으며 외국의 연구논문을 검색한 결과 항균활성 이외에도 여타 생리활성이 우수한 화합물로 알려져 있지만 *Eucalyptus ddarlympleana*에서는 최초로 보고되어 학술적 가치가 매우 높은 것으로 평가되었으며 관련 연구자들에게 새로운 연구 재료와 이론적 근거를 제공하였다는 점에서 학문 발전에 공헌한 바가 매우 크다고 하겠다.

본 연구결과를 바탕으로 *Eucalyptus* 잎에서 항균활성물질 이외에도 다양한 생리활성을 지닌 물질들에 대한 연구를 유발할 수 있을 것이며, 이러한 연구를 원하는 연구자들에게 연구재료와 기본적인 실험방법을 제공해 줌으로써 *Eucalyptus* 수목을 이용한 유용생물자원화 연구 촉진을 기대할 수 있겠다.

#### ○ 무공해적 참다래 저장병 물리적 방제기술 개발

TiO<sub>2</sub> 광촉매 기술 적용 분야는 주로 수처리에서의 유기물 분해, 공기 정화 및 항균 등과 같이 주로 환경오염 저감이 주를 이루고 있는 상황에서 농작물을 비롯한 식품 관리 분야에 적용하는 연구는 새로운 분야라고 할 수 있겠다. 본 연구에서는 이러한 TiO<sub>2</sub> 광촉매 기능을 적용하는 새로운 분야를 개척했음은 물론이고 TiO<sub>2</sub>와 오존을 동시 복합 처리하는 장치 및 실제 적용을 실시하고 그 유용성을 구명함으로써 관련 분야에서 원천기술을 마련했다는 점에서 의미가 있으며, 참다래 이외의 과채류에 대하여 폭 넓게 적용할 수 있는 이론적, 기술적 토대를 제공했다고 하겠다. 특히 항균활성을 통한 식품에서의 유해 병원성 미생물의 살균 이외에도 잔류농약을 동시에 분해할 수 있는 새로운 기술과 적용 장치를 개발함으로써 앞으로 무한한 응용 가능성을 제시하였다고 하겠다. 또한 콩나물 재배와 같이 수자원을 효율적으로 사용하면서도 재배상의 문제가 되는 미생물 제거 및 유해 화학물질을 동시에 처리할 수 있는 기술로 앞으로 산업적 응용이 기대되며 관련 장치 산업 분야에 신기술로 충분히 인정받을 수 있어 산업체와 식품 가공 유통 분야에 기여할 바가 매우 크다고 하겠다. 학문적으로도 본 연구

내용을 아직 시도한 국가나 연구팀이 없어 관련 학문 분야에도 기여한 바가 지대하다고 하겠다. 특히 TiO<sub>2</sub>의 생물학적 응용이 국내외적으로 미진한 상황에서 이러한 시도는 관련 연구자나 종사자들에게 새로운 아이디어를 제공하고 기본적인 재료 및 방법을 제시하였다는 점에서도 산업용용생물학 분야에도 그 기여도가 크다고 하겠다.

○ 본 연구 과제 수행을 통하여 현재까지 관련 분야에 기여한 정도에 대한 산술적인 실적은 다음과 같다.

- |                  |                 |
|------------------|-----------------|
| 1. 외국 저명학술지(SCI) | 1편 게재<br>1편 심사중 |
| 2. 외국학술지         | 2편 인쇄중          |
| 3. 국제학술대회발표      | 4건              |
| 4. 국내학술대회발표      | 5건              |
| 5. 국내 특허 출원      | 1건              |

## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

### ○ 농약사용량 절감을 위한 참다래 저장병 화학적 방제 기술

참다래 저장병에 대한 농약절감형 화학적 방제체계는 저공해 고품질 참다래를 생산할 수 있는 저장병에 대한 환경친화형 예방법으로 즉시 농가에 보급·활용할 수 있다.

우리나라 참다래 재배면적이 약 1,200 ha, 생산량이 약 15,000톤인 점을 감안하면 저장병에 의한 과실 부패율을 단 1%만 줄인다고 하더라도 연간 2억원 정도의 경제적 효과가 발생할 수 있으며 수확 후에 저장성 향상을 위하여 사용되는 과도한 농약사용비용을 현저하게 줄일 수 있어 참다래 생산농가 및 대형 저온저장시설 영농조합의 수익성을 획기적으로 개선할 수 있을 것으로 기대된다. 또한 소비자의 인식의 변화에 따라 저공해, 저농약 농산물의 고가격 및 선호 경향은 날로 증가하고 있어 고품질의 상품성에 환경친화성 및 식품안정성의 기능을 함께 지닌 참다래의 소비 촉진은 참다래 재배 농가 소득 증대에 크게 기여할 것이다.

따라서 이러한 혜택이 실질적으로 농민에게 돌아가도록 하기 위하여 연구결과의 즉각적인 현장 적용을 실시할 예정이다. 현장에서 중점적으로 홍보 교육할 부분은 포장에서 재배중인 참다래 저장병을 효과적으로 예방할 수 있는 예방약제 소개와 농약살포 적정횟수 및 방제적기이며 이를 통해 실질적인 농약사용량을 절감시킬 수 있는 화학적 방제체계가 확립될 수 있도록 하겠다. 참다래 저장병에 대한 농약절감형 화학적 방제체계의 농가 보급을 위하여 방제체계에 대한 대 농민용 교육자료 제작 및 배포를 추진하고 농진청과 같은 농림기술관련 서버 홈페이지에 자료 게재 및 공개를 통하여 온라인 상으로 누구든지 활용 가능한 체계를 구축하여 연구개발 결과의 신속한 현장 적용이 가능하도록 관련 기관과 협의하여 추진하겠다.

또한 참다래 저장병에 대해 선발된 유효약제들은 포장에서 조사된 적정 살포시기 및 살포횟수 자료를 이용하여 각 병원균에 의해 발생하는 저장병 약제로 사용할 수 있도록 참다래 저장병 약제 품목고시 자료로 활용하여 조속한 시일 내에 선발 약제들의 품목고시를 추진하며 이러한 약제들은 재배 현장에서 농민들이 빠른 시일 내에 사용할 수 있도록 하겠다.

#### ○ 천연물 농약을 이용한 환경친화형 참다래 저장병 방제기술

현재 저장중인 참다래에 저장병 방제를 위해 직접 사용할 수 있는 뚜렷한 방제 방법이 확립되어 있지 않은 상황에서, 농약을 대신할 수 있는 천연물 항균물질로 개발 및 상용화를 실시할 예정이다. 이를 위하여 아직 기술적으로 미흡한 제형화 및 안정성 검토를 기술 이전 희망 업체와 협의하여 보완 실시하고 상용화 준비를 완료하도록 할 예정이다. 하지만 참다래 저장병 방제용 천연물농약으로 개발된 제제들은 현행법상 생물농약으로 등록할 수 있는 법적 근거가 마련되어 있지 않기 때문에 일단 비료로 등록하여 상용화를 추진한다. 기존의 생물농약 또는 기능성 생물 소재 개발 벤처기업이나 농약회사와 협의하여 이를 추진할 계획이다. 한편 천연물 항균물질 원료의 안정적인 확보 및 공급 확대를 위하여 현재 *Eucalyptus* 수목의 해외 조림 사업을 진행 중인 국내 제지업체들과 협의하여 보다 구체적인 사업화를 위한 협의를 실시할 예정이다. 점진적으로는 본 연구를 통하여 개발된 항균활성물질은 생물농약이나 새로운 살균제 개발을 위한 leading compound로 이용 가능하도록 지속적인 연구를 진행할 예정이다.

#### ○ 무공해적 참다래 저장병 물리적 방제기술

본 연구에서 개발한  $TiO_2$  광촉매와 오존 복합처리 기술 및 장치는 곧바로 현장 적용이 가능한 상태이므로 본 기술 이전을 희망하는 업체를 선정하여 상용화에 착수하겠다. 이를 위해 현재 관련 장치에 대한 특허 출원 준비가 완료된 상태이므로 빠른 시일 내에 특허 출원을 신청하여 지적 재산에 대한 권리 확보 및 보호 장치를 마련하고, 이를 바탕으로 산업적 활용을 추진할 예정이다. 본 개발 기술은 병방제 뿐만 아니라 청정농산물 처리를 위한 복합기술로 진일보할 수 있어 이용 범위 및 경제적 가치 창출 잠재력이 매우 높은 기술이며 국내 관련 신규 산업을 유발할 수 있을 것으로 기대된다. 따라서 기타 저장성 과채류에 대한 적용 범위 확대를 실시한다. 또한 수처리에서 살균 공정이 필요한 농산물 가공공정(예: 깎마늘 세척)이나 재배 공정(순환시스템을 이용한 콩나물재배)에 적용여부를 검증하여 살균효과와 정수효과가 우수한 농산물 가공 수처리 시스템으로 확대 개발을 시도한다. 참다래 재배와 직접적으로 관련해서는 참다래 저장병에 대한 환경친화형 종합적 방제 모델로 적극 홍보 활용하여 참다래의 재배, 저장, 유통 중에 전천후로 사용할 수 있는 참다래 저장병 방제체계로 실용화를 추진한다.



## 제 6 장. 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

### ○ 참다래 저장병 방제 관련

화학적 방제의 기피 현상으로 참다래 저장병 방제를 위한 대안 개발에 치중하고 있으며 주로 뉴질랜드를 중심으로 새로운 기술과 방법들이 개발되고 있음

- ① 길항미생물에서 유래된 2차대사산물인 천연항균물질에 대한 화학적 구조 동정 및 적용에 대한 연구 진행

; *Trichoderma* fungi의 배양액에서 항균활성물질인 6-pentyl-2-pyrone에 대한 적용 연구 진행

- ② 과육 연화를 촉진시켜 과실무름병 발생을 조장하는 호르몬인 에틸렌 발생 억제제에 대한 연구 진행 중

- ③ *Trichoderma harzianum*의 분생포자를 이용한 생물학적 방제연구 진행

- ④ 치료 (curing)방법으로는 저장 직전에 참다래를 저장 조건과는 전혀 다른 온도나 습도 조건에서 1~2일 정도 처리하는 것으로서 참다래를 저온 저장 전에 48시간동안 10~20℃ 방치할 경우 과실 품질에는 거의 영향을 주지 않으면서도 병원성 곰팡이의 감염을 현격하게 줄일 수 있다는 연구 결과가 뉴질랜드 연구팀에 의해 최근에 규명

- ⑤ 온수침탕 (hot water dips)과 천연피막제 (natural coating) 방법이 시도. 온수침탕의 경우 방제는 가능할지라도 종종 과실 품질에 영향을 줄 수 있으며, 천연 폴리머인 키토산으로 피막처리를 할 경우 중량감소와 호흡을 억제시켜 과실 수명을 연장시키는 효과가 있으며 기주 저항성을 유도하기도 하는 것으로 밝혀짐.

- ⑥ 저장성 품종 개발을 분자생물학적인 방법을 이용하여 진행하고 있음

○ Eucalyptus 추출액의 생리활성 연구

이 분야는 주로 식품병원성 유해 세균에 대한 연구가 주를 이루고 있으며 추출액을 식품첨가제로 개발하려는 연구가 진행. 현재까지 주로 phenolic compound에 대한 항균활성 연구가 진행되고 있음.

○ TiO<sub>2</sub> 광촉매 관련

- ① TiO<sub>2</sub> 광촉매 관련 연구의 주된 분야는 주로 환경오염물질 저감으로서 수처리에서의 유기물 저감, 난분해성 물질 저감, 공기정화, 살균 작용에 대한 연구 개발이 활발
- ② TiO<sub>2</sub> 광촉매 제조 및 증착에 대한 공학적 연구와 관련 기작 및 기초 이론에 대한 연구도 활발
- ③ TiO<sub>2</sub> 광촉매 처리를 이용한 농약 분해 연구 시작. 주로 분해 과정 관련 메카니즘 및 분해 산물에 대한 연구 활발
- ④ TiO<sub>2</sub> 광촉매 처리를 이용한 생물학적 응용 연구는 상대적으로 미진하고 특히 식품이나 농산물에서의 살균 및 식품안정성 증대 청정 연구는 태동 단계이며 본격적인 실용화 사례는 없음
- ⑤ 최근 들어 TiO<sub>2</sub> 광촉매와 오존 복합처리에 대한 연구가 시작되었으며 주로 수처리 과정에서 난분해성 물질 분해 관련 연구가 주로 이루고 있음.
- ⑥ TiO<sub>2</sub> 광촉매를 이용한 콩나물 재배와 같은 생물학적 응용 연구는 본 연구팀이 선도적 역할을 담당하고 있음

## 제 7 장 참고문헌

- Agrawal, P. K., 1989, Carbon-13 NMR of flavonoids. Elsevier, 336-337.
- Amakura, Y., Umino, Y., Tsuji, S., Ito H., Hatano T., Yoshida T., Tonogai, Y., 2000, Constituents and their antioxidative effects in eucalyptus leaf extract used as a natural food additive. *Food Chemistry* 47-56.
- Amirsardari Y, Yu Q, Williams. 2001. Effect of ozonation and UV irradiation with direct filtration and disinfection and disinfection by-product precursors in drinking water treatment. *Environ. Technol.* 22: 1015-1023.
- Bader H, Hoign J. 1981. Determination of ozone in water by the indigo method. *Water Res.* 15: 449-456.
- Bautista-Baos, S., Long, P. G. and Ganeshanandam, S. 1995. Physiological changes in kiwifruit during a curing period and incidence of *Botrytis cinerea* during storage. *Acta Hort.* 398: 233-240.
- Bautista-Baos, S., Long, P. G. and Ganesh, S. 1997. Curing of kiwifruit for control of postharvest infection by *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biol. Technol.* 12: 137-145.
- Beare JA, Archer SA, Bell JNB. 1999. *Marssonina* leaf spot disease of poplar under elevated ozone: pre-fumigated host and in vitro studies. *Environ. Pollut.* 105: 409-417.
- Bellobono, I. R., Barni, B. and Gianturco, F. 1995. Pre-industrial experience in advanced oxidation and integral photodegradation of organics in portable waters and waste waters by PHOTOPERM membranes immobilizing titanium dioxide and promoting photocatalysts. *J. of Membrane Science* 102: 139-147.
- Beraha, L. 1970. Stem-end rot of Chinese gooseberry (*Actinidia chinensis*) on the market. *Plant Disease Reporter* 54: 422-423.
- Bisignano, G., Sanogo, R., Marino, A., Aqino, R., D'Angelo, V., German, O. M. P., De Pasquale, R. and Pizza, C. 2000. Antimicrobial activity of *Mitracarpus scaber* extract and isolated constituents. *Lett. Appl. Microbiol.* 30: 105-108.
- Blake, D. M., Maness, P-,C., Huang, Z., Wolfrum, E. J. and Huang, J.

1999. Application of the photocatalytic chemistry of titanium dioxide to disinfection and killing of cancer cells. *Separation and Purification Methods* 28: 1-50.
- Blasco C, Font G, Pic Y. 2002. Comparison of microextraction procedures to determine pesticides in oranges by liquid chromatography-mass sepectrometry. *J. Chromatogr. A.* 970: 201-212.
- Boland, J., Brophy, J., J. and House, A. P. N., 1991, Eucalyptus leaf Oils: Use, Chemistry, Distillation and Marketing. ACIAR/CSIRO, Australian Central for Internatonal Agricultural Research, Inkata Press, Melbourne.
- Cheah, L. H., Irving, D. E., Hunt, A. W., and Corrigan, V. K. 1992. Effect of hot water dips on botrytis storage rot and quality of kiwifruit. *Postharvest Biology and Technology* 2: 1-6.
- Cheah, L. H., de Silva, N., Irving, D. E., Hunt, A. W. and Tate, K. G. 1992. Hot water dips for control of *Botrytis cinerea* storage rot in kiwifruit. *Acta Hort.* 297: 605-609.
- Concepcin S.-M., Antonio, J.-E. and Fulgencio, S.-C. 2000. Study of low-density lipoprotein oxidizability indexes to measure the antioxidant activity of dietary polyphenols. *Nutrition Research* 20: 941-953.
- Edwin Hills, W. and Yazaki Y., 1973, Wood polyphenols of Eucalyptus *polyanthemos*. *Phytochemistry* 12: 2969-2977.
- Elliot, W. R. and Jones, D. L., 1984, Encyclopaedia of Australian Plants Suitable for Cultivation, Vol. 4. Lothian Publication, Melbourne.
- Ghisalberti. E. L., 1996, Bioactive acylphloroglucinol dervatives from Eucalyptus species. *Phytochemistry* 41: 7-22.
- Gutteridge, J. M. C., 1993, Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free Radical Research Coommunications* 19: 141-158.
- Halliwell B., 1991, Drug antioxidant effects. A basis for drug selection. *Drug* 42: 569-605
- Hawthorne, B. T. and Reid, M. S. 1982. Possibility for fungicidal control of kiwifruit fungal storage rots. *New Zealand J. Exp. Agriculture* 10: 333-336.

- Hawthorne, B. T., Rees-George, J., and Samuels, G. J. 1982. Fungi associated with leaf spots and post-harvest fruit rots of "kiwifruit" (*Actinidia chinensis*) in New Zealand. *New Zealand J. Botany* 20: 143-150.
- Heagle, A. S. 1982. Interactions between air pollutants and parasitic plant diseases. p. 333-348. In: M. H. Unsworth and D. P. Ormrod (eds.), *Effects of Gaseous Air Pollution in Agriculture and Horticulture*, Butterworths, London, UK.
- Hiroyuki, I. and Youichi, Y. 1991. Reduction of kiwifruit ripe rot by accelerated chemical ripening at low temperatures. *New Zealand J. Crop and Hort. Sci.* 19: 399-403.
- Hoffmann MR, Martin ST, Cloi W, Bahnemann W. 1995. Environmental applications of semiconductor photocatalysis. *Chem. Rev.* 95: 69-96.
- Hur, J.-S., Ahn, S. Y., Koh, Y. J. and Lee, C. I. 2000. Antimicrobial properties of cold-tolerant Eucalyptus species against phyto-pathogenic fungi and food-borne bacterial pathogens. *Plant Pathol. J.* 16: 286-289.
- Hur, J-S, Kim J-A, Kim M, Koh YJ. 2002. Inhibitory effects of atmospheric ozone on *Magnaporthe grisea* conidia. *Plant Pathol. J.* 18: 43-49.
- Hur J-S, Koh YJ .2002. Bactericidal activity and water purification of immobilized TiO<sub>2</sub> photocatalyst in bean sprout cultivation. *Biotechnol. Lett.* 24: 23-25.
- Jacoby, W., Maness, P. C., Wolfrum, E. J., Blake, D. M. and Fennell, J. A. 1998. Mineralization of bacterial cell mass on a photocatalytic surface in air. *Environmental Science & Technology* 32: 2650-2653.
- Katzenelson, E. B., Kletter, B. and Shuval, H. I. 1974. Inactivation kinetics of viruses and bacteria in water by use of ozone. *J. Am. Water Works Assoc.* 66: 725-729.
- Kopf P, Gilbert E, Eberle SH. 2000. TiO<sub>2</sub> photocatalytic oxidation of monochloroacetic acid and pyridine: influence of ozone. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 136: 163-168.
- Kurahashi, M., Katsura, S. and Mizuno, A. 1997. Radical formation due to discharge inside bubble in liquid. *J. of Electrostatics* 42: 93-105.

- Latorre, B. A., Agosin, E., Martin, R. S. and Vasquez, G. S. 1997. Effectiveness of conidia of *Trichoderma harzianum* produced by liquid fermentation against Botrytis bunch rot of table grape in Chile. *Crop Protection* 16: 209-214.
- Lee, J. G., Lee, D. H., Park, S. Y., Hur, J.-S. and Koh, Y. J. 2001 First report of *Diaporthe actinideae*, the causal organism of stem-end rot of kiwifruit in Korea. *Plant Pathol. J.* 17: 110-113.
- Liu, Z., Ma, L., Zhou, B., Yang, L. and Liu, Z. L. 2000. Antioxidative effects of green tea polyphenols on free radical initiated and photosensitized peroxidation of human low density lipoprotein. *Chem. Physics Lipids.* 106: 53-63.
- Matsunaga, T. and Okochi, M. 1995. TiO<sub>2</sub>-mediated photochemical disinfection of *Escherichia coli* using optical fibers. *Environmental Science & Technology* 29: 501-505.
- Mehlhorn, H. and Wellburn, A. R. 1987. Stress ethylene determines plant sensitivity to ozone. *Nature* 327: 417-418.
- Mohamed, S., Saka, S., El-Sharkawy, S. H., Ali, A. M. and Muid, S. 1996. Antimycotic screening of 58 Malaysian plants against plant pathogens. *Pestic. Sci.* 47: 259-264.
- Morar, R., Munteanu, R., Simion, E. and Dascalescu, L. 1999. Electrostatic treatment of bean seeds. *IEEE Transaction on Industry Application* 35: 208-212.
- Niklis, N., Sfakiotakis, E. and Thanassoulopoulos, C. C. 1997. Ethylene production by *Botrytis cinerea*, kiwifruit and *Botrytis* rotted kiwifruit under several storage temperatures. *Acta Hort.* 444: 733-737.
- Ohshima, T., Sato, K., Tersuchi, H. and Sato, M. 1997. Physical and chemical modification of high-voltage pulse sterilization. *J. of Electrostatics* 42: 159-166.
- Ogawa JM, Feliciano AJ, Manji BT (1990) Evaluation of ozone as a disinfection in postharvest dump tank treatments for tomato. *Phytopathol.* 80: 1020.
- Pai, S. T. and Platt, M. W. 1995. Antifungal effects of *Allium sativum* (garlic) extracts against the *Aspergillus* species involved in otomycosis. *Lett. Appl. Microbiol.* 20: 14-18.

- Pak, H. A., Beaver, R. E. and Laracy, E. P. 1990. Population dynamics of dicarboximide-resistant strains of *Botrytis cinerea* on grapevine in New Zealand. *Plant Pathol.* 39: 501-509.
- Patterson, S. D., Thruston, A. D., Collette, T. W., Patterson, K. S., Lykins, B. W. and Ireland, J. C. 1996. Identification of TiO<sub>2</sub>/UV disinfection byproducts in drinking water. *Environmental Science & Technology* 30: 3327-3334.
- Pattnaik, S., Subramanyam, V. R. and Kole, C. 1996. Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils *in vitro*. *Microbios.* 86: 237-246.
- Pennycook, S. R. 1981. Ripe rot of kiwifruit caused by *Botryosphaeria dothidea*. *Orchardist of New Zealand* 54: 392-394.
- Pennycook, S. R. 1985. Fungal fruit rots of *Actinidia deliciosa* (kiwifruit). *New Zealand J. Exp. Agriculture* 13: 289-299.
- Pike, N. B., Manktelow, D. G., Elmer, P. A. G., and Tate, K. G. 1994. Postharvest dipping of kiwifruit in iprodione to control stem-end rot caused by *Botrytis cinerea*. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 22: 81-86.
- Poole, P. R. and McLeod, L. C. 1992. Inhibition of *Botrytis cinerea* infection in kiwifruit tissues. *Acta Hort.* 297: 159-164.
- Poole, P. R. and Whitmore, K. J. 1997. Effects of topical postharvest applications of 6-pentyl-2-pyrone on properties of stored kiwifruit. *Postharvest Biology and Technology* 12: 229-237.
- Pyke, N. A., Manktelow, D., Elmer, P. and Tate, K. G. 1994. Post harvest dipping of kiwifruit iprodione to control stem end rot caused by *Botrytis cinerea*. *N. Z. J. Crop Hortic. Sci.* 22: 81-86.
- Qadir, A., Hewett, E. W. and Long, P. G. 1997. Ethylene production by *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biol. Technol.* 11: 85-91.
- Regoli, F. and Winston, G. W. 1999. Quantification of total oxidant scavenging capacity of antioxidants for peroxynitrite, peroxy radicals, and hydroxyl radicals. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 156: 96-105.
- Rice, R. G., Robson, C. M., Miller, G. W. and Hill, A. G. 1981. Uses of ozone in drinking water treatment. *J. Am. Water Works Assoc.* 73:

3-16.

- Santos, G. G., Alves, J. C. N., Rodilla, J. M. L., Duarte, A. P., Lithgow, A. M., Urones, J. G., 1997, Terpenoids and other constituents of *Eucalyptus globulus*. *Phytochemistry*. 44: 1309-1312.
- Schroeder, C. A. and Fletcher, W. A. 1967. The Chinese gooseberry (*Actinidia chinensis*) in New Zealand. *Econ. Botany* 21: 81-92.
- Seikel, M. K., Hillis, W. E., 1970, Hydrolysable tannins of *Eucalyptus delegatensis* wood. *Phytochemistry*. 9: 1115-1128.
- Sharma, V. P. and Jandaik, C. L. 1995. Effect of some plant materials in controlling different moulds in *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach. *Indian J. Mycol. Plant Pathol.* 24: 183-185.
- Sommer, N. F. and Suadi, J. E. 1984. Postharvest disease and storage life of kiwifruits. *Acta Horticulturae* 157: 295-302.
- Sommer, N. F. and Beraha, L. 1975. *Diaporthe actinidiae*, a new species causing stem-end rot of chinese gooseberry fruits. *Mycologia* 67: 650-653.
- Spotts RA, Cervantes LA. 1992 Effect of ozonated water on postharvest pathogens of pear in laboratory and packinghouse tests. *Plant Dis.* 76: 256-259.
- Takasaki, M., Konoshima T., Etoh, H., Singh, I. P., Tokuda, H., Nishino, H., 2000, Cancer chemopreventive activity of euglobal-G1 from leaves of *Eucalyptus grandis*. *Cancer Letters*. 155: 61-65.
- Wurms, K., Long, P. G., Sharrock, K. R. and Greenwood, D. R. 1999. The potential for resistance to *Botrytis cinerea* by kiwifruit. *Vrop Protection* 18: 427-435.
- Yang, S. F. and Hoffman, N. E. 1984. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 35: 155-189.
- Yi, J. H. and Lee, D. H. 1998. Mycological characteristics and pathogenicity of *Phomopsis mali* causing fruit decays of Japanese apricot, apple and kiwifruit. *Korean J. Plant Pathol.* 14(2): 109-114.
- Yosida, T., Maruyama, T., Nitta, A. and Okuda, T., 1992, Eucalbanine A, B and C, monomeric and dimeric hydrolyzable tannins from *Eucalyptus alba*, *Chem. Pharm. Bull.* 40: 1750-1754.



- 고영진. 1995. 참다래의 주요 병. 식물병과 농업 1(1): 3-13.
- 고영진, 오상준, 정희정. 1994. 전남지역 참다래 재배현황 및 문제점에 관한 조사연구. 순천대학교 논문집 13: 93-106.
- 박숙영, 이동현, 정희정, 차병진, 고영진. 1994. *Phomopsis* sp.에 의한 참다래 과실무름병. 한국식물병리학회소식 5(2): 71.
- 박종철, 양한석, 유영법, 이종호, 1993a, 한국산 식용식물의 화학성분 및 생리활성에 관한 연구 (1) : 참죽나무 잎에서 페놀성 화합물의 분리. 약학회지 37: 306-310.
- 박종철, 옥광대, 1993b, 해당화에서 분리한 페놀성 화합물. 약학회지 37: 365-369.
- 박종철, 하정옥, 박건영, 1996, 미나리에서 분리한 플라보노이드 화합물의 아플라톡신 B<sub>1</sub>에 대한 항돌연변이 효과. 한국식품영양학회지 25: 588-592.
- 박종철, 허종문, 박주권, 박성중, 이종호, 성낙주, 최명락, 송상호, 김문성, 최종원, 2000, 흰쥐의 브로모벤젠대사계에 미치는 어성초의 영향과 페놀성 화합물의 분리. 생약학회지 31: 228-234.
- 정병만. 1997. *Phomopsis* sp.에 의한 참다래 과실연부병의 발생과 억제방제에 관한 연구. 경상대학교대학원 석사학위논문. 29p.
- 이동현, 홍은경, 이재홍, 고영진. 1998. *Botryosphaeria* sp.에 의한 참다래 과실무름병. 한국식물병리학회 발표초록집 C26: 77.
- 이인경, 윤봉식, 김종평, 정성현, 심규섭, 유익동, 1998, 유칼리나무의 수피로부터 분리한 항산화활성 물질, 생약학회지 29: 163-168.
- 家城洋之. 1991. キウイフルーツの果實軟腐病對策について. 今月の農業. 35(2): 89-92.