

GOVP1200512542

최 종
연구보고서

산림자원으로부터 기능성 향균물질의 탐색
및 고부가가치 향균지 개발

Isolation of antimicrobial materials from
forest resources and manufacture of
antimicrobial paper using them

연구기관

강원대학교

농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “산림자원으로부터 기능성 향균물질의 탐색 및 고부가가치 향균지 개발에 관한 연구” 과제 (세부과제 “산림자원으로부터 천연항균소재 탐색 및 선도 유지연장에 관한 연구”와 “고부가가치 향균지 개발 및 상품화”)의 최종보고서로 제출합니다.

2003 년 8 월 30 일

주관연구기관명 : 강원대학교

총괄연구책임자 : 이명구

세부연구책임자 : 박부길

세부연구책임자 : 오덕환

세부연구책임자 : 정우열

연 구 원 : 최경화

연 구 원 : 송한규

연 구 원 : 권오윤

연 구 원 : 현경수

연 구 원 : 박광근

연 구 원 : 김영신

연 구 원 : 김영국

연 구 원 : 진성식

연 구 원 : 오민희

요 약 문

I. 제 목

산림자원으로부터 기능성 향균 물질의 탐색 및 고부가가치 향균지 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구의 목적

경제 및 생활수준의 향상과 더불어 위생과 건강에 대한 관심이 증가함에 따라 세균 및 곰팡이균에 대해 저항성을 가지는 향균제품의 대한 생산과 수요가 증가하고 있다. 특히 제지 분야의 경우 앞으로 다가올 외국의 수입 개방을 대처하기 위하여 다양한 특수기능지 개발을 위한 노력이 행해지고 있으며, 특수기능지 중 향균지에 대한 수요가 증가함에 따라 우수한 향균지 제조를 위한 연구가 진행되고 있다.

향균성 부여를 위해 일반적으로 유기계 약품을 사용하고 있으나 이는 안전성이 검토되지 않았기 때문에 제한적으로 사용되고 있으며 현재 안전성이 보장된 천연계 향균제의 개발이 주목을 받고 있는 실정이다. 이에 본 연구는 우리나라 국토의 70%를 차지하는 산림자원 중 20% 이상을 차지하고 있는 참나무 종을 사용하여 천연계 향균 물질을 탐색하고 참나무 향균 물질을 이용한 향균지 및 wet tissue 제조 기술을 개발하고자 한다. 참나무로부터 향균 물질의 탐색은 새로운 천연계 향균물질 개발을 위한 기초 자료로 적용이 가능하며 천연계 향균물질을 적용한 향균지 및 wet tissue의 제조는 우리나라 특수 기능지 시장에 경쟁력을 부여함으로써 우리나라 제지 및 기타 산업의 발전에 기여할 수 있을 것이다.

2. 연구개발의 필요성

식품 포장용 항균지를 비롯한 위생을 요하는 wet tissue의 경우 안전성이란 부분은 매우 중요한 항목이며, 안전성 확보를 위해 항균제를 적용하고 사용하고 있으나 기존 사용되던 유기계 및 무기계 항균제는 안전성, 경제성의 문제점이 발생하므로 새로운 항균제의 개발이 요구되고 있으며 천연계 항균제의 개발은 위의 문제점을 해결할 수 있는 방법으로 제시되고 있다.

산림자원으로부터 천연계 항균물질의 개발은 대량으로 시료 채취가 가능하므로 천연계 항균제의 난점이었던 상업적인 생산과 적용 문제를 해결이 가능하여 산림자원으로부터 천연계 항균물질을 탐색하고 이를 상용화하기 위한 연구는 매우 필요한 사항이라 할 수 있다. 산림자원으로부터 천연계 항균물질의 탐색 및 적용 방법의 개발은 기술적 측면, 경제적 측면, 사회 · 문화적 측면에서 직 · 간접적인 영향을 미칠 것으로 예상된다.

가. 기술적 측면

- 항균물질을 함유한 수종 검색 및 추출방법 개발
- 안전성이 확립된 천연계 항균제의 개발
- 효과적인 항균제 적용 방법 개발
- 경제적인 상품화 기술 개발
- 국내의 특수 기능지 기술 개발 및 향상
- 국가 경쟁력 향상

나. 경제 · 산업적 측면

- 국제 경쟁력 있는 중소기업 육성
- 국내 임업자원의 효과적인 이용
- 유용 수종의 재배로 농촌 지역의 소득 증대
- 항균제 공급의 다양화로 원가 절감
- 국내 관련 산업의 활성화

- 고품질 종이 제조로 다양한 수요 창출
- 향균지의 국내 생산으로 외화 절감

다. 사회 · 문화적 측면

- 임업 자원 및 종이 제품의 고부가가치화
- 소비자의 건강 · 위생 관련 욕구 충족
- 실질적인 산 · 학 · 연 협동 체계 구축

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 산림자원에서부터 향균물질의 탐색과 선도유지 기능에 관한 연구

산림자원에서부터 향균물질 획득을 위한 수종의 선택을 위해 유용식물로 자생지역이 넓어 시료의 채취가 용이하여야 하므로 본 연구는 천연계 향균물질 및 이용에 관한 해외 문헌 및 국내 문헌 자료를 바탕으로 산림 자원 중 천연계 향균 물질 획득을 위한 수종으로 참나무 수종 중 대표적인 참나무 6종(신갈, 떡갈, 굴참, 졸참, 갈참, 상수리)을 선정하였다. 선정된 참나무 6종의 부위별 · 수종별 에탄올 추출물을 제조하고 조건에 따른 수율을 검토하여 가장 적합한 추출조건을 설정하였으며 paper disk 법과 bioscreen C를 통해 향균활성을 검토하였다. 향균 활성 검색을 통해 가장 우수한 향균활성을 나타낸 참나무 수종 및 부위를 선별하여 용매별 분획을 실시하여 향균성을 검토하고 NMR를 이용한 분석을 통해 향균성을 나타내는 물질을 찾았다. 또한 참나무 추출물을 적용한 향균지의 선도 유지 기능을 검토하였다.

2. 참나무 추출물을 적용한 향균지 제조

참나무의 수종별 · 부위별 향균활성 검색 결과를 바탕으로 참나무 추출물을 적용한 향균지를 제조하였다. 향균활성 발현을 위한 최적 적용 농도를 검토하고 향균지를 제조하였으며, halo test법과 JIS L 1902법을 통해 향균활성을 확

인하였다. 또한 타 임산자원과 병용 처리하여 제조한 항균제를 종이에 적용하여 항균성 상승효과를 검토하였다. 참나무 추출물을 적용 시 종이의 기본 물성에 미치는 영향을 확인하기 위하여 종이의 백색도 및 인열강도, 인장강도, 파열강도를 측정하여 참나무 추출물을 적용한 항균지의 기본 물성을 측정하였다.

3. 기능성 wet tissue의 제조

참나무 추출물을 적용한 wet tissue 제조를 위하여 wet tissue 원지의 이동 속도에 따라 제조된 wet tissue의 항균력 검색을 통해 wet tissue 제조를 위한 최적 조건을 찾았으며 제조된 기능성 wet tissue는 JIS L1902법을 통하여 항균성을 검토하였다.

IV. 연구개발 결과 및 기술 개발의 기여도

1. 연구개발 결과

가. 산림자원으로부터 천연항균소재 탐색에 관한 연구

산림자원으로부터 천연 항균 물질을 획득하기 위하여 참나무 6종의 목질부, 잎, 수피 추출물을 제조하였다. 참나무 6종의 부위별 추출조건은 70℃에서 75%의 에탄올로 추출한 결과 갈참나무의 잎에서 가장 높은 수율을 나타냈다.

참나무 6종의 수종별·부위별 항균활성을 paper disk법과 bioscreen C법을 통해 검색하였다. 참나무 6종 모두 그람양성균과 그람음성균에 대해 항균력을 나타냈으며, 수종에 따라 차이가 나타나지만 일반적으로 그람음성균보다 그람양성균에 대해 더 높은 항균활성을 나타냈다. 수종별 항균활성은 갈참나무의 추출물이 가장 높았으며, 부위별 항균활성은 잎부위에서 가장 높은 항균활성을 나타냈다. 참나무 6종의 수종별·부위별 항균활성 검색 결과 갈참나무 잎 부위가 가장 높은 항균활성을 나타냈다.

나. 산림자원 추출물을 적용한 고부가가치 향균지 개발

참나무의 향균활성 검색 결과를 바탕으로 참나무 5-8%의 참나무 에탄올 추출물을 종이에 적용하였다. 위의 조건으로 제조된 향균지를 halo test법과 JIS L1902법을 통해 향균활성을 검색하였으며 그 결과 갈참나무 잎 부위를 적용한 향균지가 가장 우수한 향균활성을 나타냈다. 또한 타 임산자원인 황련 추출물과 citric acid를 병용 처리하여 제조된 향균지의 상승효과를 확인한 결과 황련 추출물과 citric acid의 병용 처리에 의해 향균성이 상승효과를 나타냈으며 고농도로 적용해야 하는 참나무 추출물의 첨가량을 감소시킬 수 있었다.

황련 및 citric acid를 병용 처리하여 제조된 향균지의 향균성 지속효과를 확인하기 위하여 제조 후 10일, 20일, 30일 후에 향균성을 측정하였다. 시간이 지남에 따라 향균성이 감소하는 경향을 나타냈으나 10일이 지난 후 측정된 결과는 제조 직후 측정된 향균지의 향균성과 비슷한 결과를 나타냈다.

참나무 추출물 및 황련, citric acid의 처리했을 때 종이의 물성 변화는 인장, 인열, 파열 강도 모두 저하되는 경향을 나타냈으며, UV 처리에 의한 종이의 변색 여부는 참나무 추출물이 색을 가지고 있기 때문에 UV에 의한 변화를 측정할 수 없었다.

다. 참나무 추출물을 적용한 향균지의 선도유지 기능

참나무 추출물을 적용한 향균지의 선도 유지 기능을 탐색하기 위하여 제조된 향균지를 포장매개물에 가공 처리하여 실험에 사용하였으며 본 연구를 위한 시료로 오이를 사용하였다. 오이의 선도유지 기능은 저장 시간에 따른 오이의 중량변화 및 곰팡이균의 발생여부, 황변화, 경도의 변화를 측정하였다.

일반 상자에 오이를 보관하였을 때 저장 기간이 증가함에 따라 부패의 정도가 심하게 일어나는 것을 확인할 수 있었으나 참나무 추출물과 황련 추출물, citric acid를 처리한 향균 포장지를 사용하여 포장한 경우 모든 조건에서 대조구에 대해 낮은 저하율을 나타내 참나무 추출물을 적용한 향균지에 의해 선도유지 기능이 향상됨을 확인할 수 있었다.

참나무 추출물을 적용한 향균지는 향균 물질 첨가에 의해 우수한 향균활성을

나타내며, 이러한 항균지는 오이의 부패를 감소시켜 오랜 기간 저장이 가능하게 하였을 것으로 사료된다.

라. 산림자원 추출물을 적용한 기능성 wet tissue 제조

참나무 추출물의 항균성 검색 결과를 바탕으로 wet tissue 제조를 위한 최적의 조건을 검토하였다. wet tissue에 적용하기 위한 항균물질은 참나무 추출물과 전해수를 혼합하여 제조하였다.

전해수는 산성수와 알카리수로 나뉘며, 여기에 참나무 추출물과 황련 추출물을 혼합하여 제조한 항균전해수의 항균활성 검색 결과, 산성수에 참나무와 황련 추출물을 적용한 경우 가장 우수한 항균활성을 나타냈다.

항균전해수의 항균활성 검색 결과 가장 우수한 항균활성을 나타낸 조건을 wet tissue 원지 제조에 적용하기 위하여 wet tissue 제조기의 컨베이어 속도를 조절하여 wet tissue 원지 중량에 대해 1배~4배까지 처리하였으며, 제조된 wet tissue의 균감소율과 백색도를 측정하여 제품 제조 시 가장 적합한 공정상의 처리 조건을 찾았다. wet tissue 원지 중량비에 대해 4배정도 처리한 경우 가장 우수한 항균력을 나타냈으며, 3배 처리한 경우도 우수한 항균력을 나타냈다. 그러나 wet tissue 원지 중량에 대해 4배의 항균전해수를 처리한 경우 wet tissue에 착색이 일어나며 wet tissue 원지의 함수율의 증가로 인해 제품으로서의 가치가 저하하게 된다. Wet tissue 중량비에 대해 3배의 항균전해수를 적용한 경우 우수한 항균력을 발현하며, 제품의 착색 및 수분의 함수량 등을 고려했을 때 가장 적합한 조건으로 사료된다.

2. 기술개발의 기여도

제지 산업의 발전과 더불어 경제 수준이 향상되고 생활양식이 다양해짐에 따라 일반적인 종이의 품질 향상과 함께 다양한 종류의 종이가 요구되므로 고부가가치화·차별화를 부여한 특수 기능지의 수요가 급성장하고 있으며 특히 건강에 대한 관심이 증가함에 따라 항균성능을 부여한 항균지 및 항균 제품들은 고부가가치 상품으로 주목을 받고 있다. 이에 산림자원으로부터 천연 항균물질

을 탐색하고 이의 적용방법에 대한 연구는 과거 항균성 소재 탐색과 응용 연구가 부족한 항균성 관련 연구에 새로운 방향을 제시했다고 할 수 있다.

가. 기술적 측면

본 연구는 산림자원으로부터 항균물질을 탐색함으로써 새로운 천연 소재 개발의 가능성 제시했으며, 참나무 추출물을 이용한 항균지 및 wet tissue를 통해 효과적인 항균지 적용 기술 개발은 항균 관련 분야에 응용하기 위한 기초 자료로 적용이 가능할 것으로 기대된다.

나. 경제·산업적 측면

참나무로부터 천연계 항균 물질을 획득함으로써 제한적으로 사용된 국내 산림자원의 효과적인 이용 가능성을 제시하였으며 이러한 유용 수종의 재배로 우리 나라 농촌 지역의 소득 증대에 영향을 미칠 것으로 기대된다. 또한 다양한 항균제의 공급을 통해 항균 관련 사업의 활성화를 이끌 수 있으며 경쟁력 있는 상품의 제조로 국제 경쟁력을 갖춘 중소기업을 육성할 수 있을 것이다.

다. 사회·문화적 측면

참나무로부터 천연 항균 소재를 획득함으로써 항균물질을 함유한 산림자원 및 항균 성능을 부여한 제품의 고부가가치화를 기대할 수 있으며, 산업화와 경제력의 증가에 따른 소비자의 건강·위생 관련 욕구를 본 연구 개발을 통해 충족시킬 수 있을 것으로 기대된다.

Summary

I . Title

Isolation of antimicrobial materials from forest resources and manufacture of antimicrobial paper using them

II . Objectives and necessity of research and development

1. Objectives of study

The production and demand of antimicrobial product killing bacteria and mold increase as concern about sanitation and health increases with the improvement of economy and living standard. Especially in paper making field many researches have been concentrated in the development of various specialty functional paper to cope with the import opening to foreign countries in the near future. In specialty functional paper many researches go on to manufacture good antimicrobial paper as the demand of antimicrobial paper in specialty functional paper increases.

Generally the organic chemicals are used to provide antimicrobial properties but the use is restricted because the safeties of chemicals have not been examined. At present the development of natural antimicrobial agent, of which the safeties are verified, attract public attention. Therefore in this research the natural antimicrobial materials were searched with *Quercus* species, which occupy more than 20% in forest resources covering 70% of the land of Korea, and the new technology to manufacture antimicrobial paper and wet tissue were developed. The search of antimicrobial materials from *Quercus* species can be used as the basic data to develop the new natural antimicrobial materials, and will contribute to the

growth of paper making and other industry as the manufacture of antimicrobial paper and wet tissue give competitive power to the market of specialty functional paper in Korea.

2. Necessity of research and development

In antimicrobial paper for food packing and wet tissue for sanitation the safety is a very important factor. antimicrobial agent is used to ensure the safety, but the organic and inorganic antimicrobial agent used now have the some problems in safety and economic aspect. Therefore, the development of new antimicrobial agent is required and the development of natural antimicrobial agent is suggested as a way to solve the above problems.

Because in the development of natural antimicrobial materials from forest resource the raw material can be gathered in large quantity, and the commercial production and the application problems, which are the weakness of natural antimicrobial agent, can be settled, the research to search the natural antimicrobial materials from forest resource and use commercially is very necessary. The search of natural antimicrobial materials from forest resource and the development of application methods are expected to affect directly or indirectly to the technical, economical, and social and cultural fields.

1). Technical aspect

- Search of species containing antimicrobial materials and development of extraction methods
- Development of natural antimicrobial agent, of which the safety is ensured
- Development of method applying effectively
- Development of technique to produce economically on a commercial scale
- Development and improvement of domestic specialty functional paper

technique

- Improvement of national competitive power

2) Economical and industrial aspect

- Fostering of smaller businesses which have international competitive power
- Effective use of domestic forestry resource
- Increase of income in rural area by cultivating valuable species
- Reduction of cost by diversifying the antimicrobial agent supply
- Activation of related industry in the country
- Creating of various demands by manufacturing the high quality paper

3) Social and Cultural aspect

- Adding high value to forestry resource and paper products
- Satisfaction of the health and sanitation-related desire of consumer
- Construction of the practical cooperation system of industry, university and research institute

III. Content and scope of research and development

1. Study on the search for antimicrobial materials and the ability of freshness conservation from forest resource

When the species to get antimicrobial materials from forest resource is selected, the natural growth area of valuable plant is extensive and the raw material can be gathered easily. So in this study the representative six *Quercus* species (*Q.mongolica*, *Q.dentata*, *Q.variebilis*, *Q.serrata*, *Q.aliens* and *Q.acutissima*) in *Quercus* species were selected on the basis of overseas

and domestic literatures about natural antimicrobial materials and their use. The 6 species of selected *Quercus* species were extracted with ethanol in each part and each species, the yield of each condition was examined, and the best extraction condition was selected. The antimicrobial activation was investigated by the paper disk method and the bioscreen C. *Quercus* species and part showing the best antimicrobial activity were selected through antimicrobial active examination of each fraction and substances showing antimicrobial properties were identified by analyzing with NMR. Also, the ability of freshness conservation of antimicrobial paper treated with *Quercus* species extractives was considered.

2. Manufacture of antimicrobial paper treated with *Quercus* species extractives

On the basis of the results to investigate the antimicrobial activity of each species and each part, antimicrobial paper applying *Quercus* species extractives was manufactured. The optimum concentration to reveal antimicrobial properties was examined, and antimicrobial paper was manufactured. The antimicrobial activity was conformed by the halo test method and the JIS L 1902 method. Also, antimicrobial agent made by treating with other forestry resources was applied on paper, and the synergy effect of antimicrobial properties was investigated. When *Quercus* species extractives were applied on paper, the brightness, tensile strength, tear strength, burst strength of paper were measured and the basic physical properties of antimicrobial paper treated with *Quercus* species extractives were determined to conform the effect to the basic physical properties of paper.

3. Manufacture of functional wet tissue

To manufacture the wet tissue treated with *Quercus* species extractives, the optimum condition was chosen by investigating the antimicrobial properties of wet tissue, which were manufactured changing the conveyer speed of wet tissue sheet. The antimicrobial properties of functional wet tissue manufactured was examined by the JIS L1902 method.

IV. Results of research and development and contribution to technology development

1. Results of research and development

1) Study on searching the natural antimicrobial materials from forest resource

To get the natural antimicrobial material from forest resource, the extractives were prepared from xylem, leaf and bark of *Quercus* 6 species. When each part of *Quercus* 6 species was extracted with 75% ethanol at 70 °C, the yield was the highest in leaf of *Quercus aliena*.

Antimicrobial activity of each species and each set of *Quercus* 6 species were examined by the paper disk and the bioscreen C methods. All *Quercus* species show antimicrobial properties against gram positive and gram negative. Each species showed the difference of antimicrobial properties, but antimicrobial activity was higher in gram positive than in gram negative. Antimicrobial properties in each species was the highest in the extractives of *Quercus aliena*, and antimicrobial properties showed the highest in leaf. The results to examine antimicrobial property of each species and each part of *Quercus* 6 species showed that leaf of *Quercus aliena* has the strongest antimicrobial properties.

2) Development of the high valuable antimicrobial paper treated with the

extractives from forest resource

On the basis of the results to examine antimicrobial properties of *Quercus* species, 5-8% of *Quercus* species and ethanol extractives was applied. When antimicrobial properties of antimicrobial paper manufactured by the above condition was examined by the halo test and the JIS L1902 methods, antimicrobial properties was the highest in the paper applying the extractives of the leaf of *Quercus aliena*. Also, when the synergy effect of antimicrobial paper manufactured by treating together with other forestry resources, such as *Coptis chinensis* extractives and citric acid, was examined, the synergy effect of antimicrobial properties by treating together with *Coptis chinensis* extractives and citric acid was shown, and the added amount of *Quercus* species extractives, which must be applied in the high concentration, can be reduced.

To examine the durability of antimicrobial properties of antimicrobial paper manufactured by treating together with *Coptis chinensis* and citric acid, antimicrobial properties was measured after 10, 20 and 30 days. As time passes, the trend that antimicrobial properties decreases was observed, but the result measured after 10 days showed the similiar result to that of antimicrobial paper measured just after manufacturing.

When paper was treated with *Quercus* species extractives, *Coptis chinensis* and citric acid, the trend that physical properties of paper decreases all in tensile, tear and burst strength was observed, and the color change of paper by UV treatment could not be measured because *Quercus* species extractives have colors and the change by UV could not be measured.

3) Freshness conservation of antimicrobial paper treated with the *Quercus* spp extractive

To investigate the freshness conservation of antimicrobial paper treated

with the *Quercus* spp extractive, antimicrobial paper was overlaid on packaging paper and cucumbers were used as specimen. The weight change of cucumber according to the storing period, the appearance of mold, yellowing and change in hardness were examined.

When cucumbers were stored in the untreated packing box, the spoiled rate increased significantly as the storing period increased, but when in the antimicrobial packaging paper treated with the *Quercus* spp and *Coptis chinensis* extractive, and citric acid, the spoiled rate was much less than that of control. It was confirmed that the antimicrobial paper treated with the *Quercus* spp extractive improves the freshness conservation.

The antimicrobial paper applying the *Quercus* spp extractive showed the good antimicrobial activity by the added antimicrobial material. The antimicrobial paper made the long term storage possible, decreasing the rotting of cucumber.

4) Manufacture of functional wet tissue treated with the extractive of forest resource

On the basis of the results to check the antimicrobial property of *Quercus* spp extractive, the best condition to make the wet tissue was investigated. The mixture of the *Quercus* spp extractive and electrolyzed water was used as antimicrobial material to apply on the wet tissue.

The electrolyzed water is divided into acid water and alkali water. Antimicrobial electrolyzed water was prepared by adding the extractives of *Quercus* spp and *Coptis chinensis* extractive to electrolyzed water and mixing. The results to check the antimicrobial activity of antimicrobial electrolyzed water show that antimicrobial activity was the best in the antimicrobial electrolyzed water adding the *Quercus* spp and *Coptis chinensis* extractive. Also, as *Quercus* spp and *Coptis chinensis* extractive were added to acid water, the antimicrobial activity was improved.

The condition to show the best antimicrobial activity in the antimicrobial activity experiment was used to make the wet tissue sheet. One to four times of antimicrobial electrolyzed water as much as the wet tissue was applied controlling the speed of conveyor belt. The best condition to make the wet tissue was chosen through examining the decreasing rate of microorganism and brightness. The antimicrobial activity was the best, when the four times of antimicrobial electrolyzed water was applied on the wet tissue, and good, when the three times.

However, the treatment with the four times of antimicrobial electrolyzed water shows the best antimicrobial activity but the value as product was decreased because yellow color appeared on the wet tissue and the water content of the wet tissue sheet increased. The treatment with three times of antimicrobial electrolyzed water showed the good antimicrobial activity, and was the best condition, when the yellow color of product and water content are considered.

2. Contribution to technology development

As the economic level is improved and the life styles are diversified with the growth of paper industry, the various kinds of papers and the quality improvement of general paper are required, and the demand of specialty functional paper, which has the high value and distinction, has been increased rapidly. Especially, with the increased concern to health, the antimicrobial paper and antimicrobial products, which have antimicrobial properties, attract public attention as the high valued products. Therefore, the search for natural antimicrobial materials from forest resource and the study of applying methods suggest the new direction in the search of antimicrobial material and the antimicrobial properties related research, of which the application research is insufficient.

1) Technical aspect

This study presents the possibility to develop the new natural material by searching antimicrobial materials from forest resource. The development of the effective application technology of antimicrobial paper and wet tissue using *Quercus* species extractives is expected to be used as the basic data for the application in the antimicrobial product areas.

2) Economical and industrial aspect

The possibility of the effective use of the domestic forest resource, which was used limitedly, is suggested as getting the natural antimicrobial material from forest resource. It is expected that the income in rural area may be increased as cultivating these valuable species. Also, the activation of antimicrobial product industry can be possible through the supply of various antimicrobial agent. The smaller businesses, which have the international competitive power, can be raised as manufacturing the products, which have the competitive power.

3) Social and cultural aspect

It is expected that as getting the natural antimicrobial material from *Quercus* species the high value is added to the forest resource including antimicrobial material and the antimicrobial properties given products, and that the health and sanitation related desires of consumers is satisfied by both the industrialization and the growth of economic power through this research and development.

Content

Chapter 1 Outline of study	28
Section 1 Objectives and necessity of research and development	28
1. Objectives of study	28
2. Necessity of research and development	30
Section 2 Range and system of study	32
1. Range of study	32
2. System of study	34
Chapter 2 Technical present condition of domestic and outside	35
Section 1 Development of natural antimicrobial material	35
1. Case of outside	35
2. Case of domestic	36
Section 2 Manufacture of funtional antimicrobial paper and wet tissue	38
Chapter 3 Content and result of research and developement	39
Section 1 Search of antimicrobial from forest resource	39
1. Introduction	39
2. Materials and Methods	42
1) Preparation of sample	42
2) Preparation of ethanol extracts from <i>Quercus. spp</i>	42
3) Fraction of ethanol extracts from <i>Quercus. spp</i>	43
4) Microorganism and search of antimicrobial activity on <i>Quercus. spp</i> ..	45
5) Separation of ethanol extracts from <i>Quercus. spp</i>	46
6) Search of antimicrobial activity on different forest resource	49
7) Synergy effect of antimicrobial activity by mixture treatment	50
3. Result and discussion	51
1) Search of antimicrobial activity on <i>Quercus. spp</i>	51
2) Separation of ethanol extracts from <i>Quercus. spp</i>	82

3) Search of antimicrobial activity on different forest resource	91
4) Synergy effect of antimicrobial activity by mixture treatment	96
4. Conclusion	102
1) Antimicrobial activity of <i>Quercus</i> . spp extracts	102
2) Antimicrobial activity of different forest resource	103
3) Antimicrobial activity of mixture treatment	103
Section 2 Development of high valuable antimicrobial paper	104
1. Introduction	104
2. Material and Methods	106
1) Search of manufacture condition on antimicrobial paper	106
2) Manufacture of antimicrobial paper	106
3) Methods of antimicrobial activity test	107
4) Maintenance of antimicrobial activity	108
5) Change of color on antimicrobial paper	109
6) Change of physical strength on antimicrobial paper	109
3. Result and discussion	110
1) Manufacture of antimicrobial paper treated with the extracts from <i>Quercus</i> . spp	110
2) Manufacture of antimicrobial paper treated with mixture of antimicrobial material and synergy effect of antimicrobial activity ..	131
3) Maintenance of antimicrobial paper treated with mixture of antimicrobial material	152
4) Antifungal property of antimicrobial paper treated with mixture of antimicrobial materials	163
5) Change of color on antimicrobial paper treated with the UV	165
6) Change of physical properties on antimicrobial paper	167
4. Conclusion	171
1) Manufacture of antimicrobial paper treated with the extracts from <i>Quercus</i> . spp	171
2) Manufacture of antimicrobial paper treated with mixture of	

antimicrobial material	172
3) Maintenance of antimicrobial paper treated with mixture of antimicrobial material	173
4) Physical properties of antimicrobial paper treated with mixture of antimicrobial material	173
Section 3 Freshness conservation of antimicrobial paper treated with the extractives from forest resource	174
1. Introduction	174
2. Material and Methods	176
1) Choice of test sample	176
2) Manufacture of antimicrobial paper treated with extractives from forest resource	176
3) Packaging and Storage	176
4) Freshness conservation of antimicrobial paper treated with extractives from forest resource	176
3. Result and discussion	178
1) Weight reduction rate of the cucumber by change of storage period	178
2) Decomposition of the cucumber by change of storage period	179
3) Hardness change of cucumber	182
4. Conclusion	183
1) Weight reduction rate of the cucumber by change of storage period	183
2) Decomposition of the cucumber by change of storage period	183
3) Hardness change of cucumber	184
4) Freshness conservation of antimicrobial paper treated with extractive from forest resource	184
Section 4 Manufacture of functional wet tissue	185
1. Introduction	185
2. Material and Methods	187
1) Application condition of antimicrobial material wet tissue	187
2) Manufacture of functional wet tissue	187

3) Methods of antimicrobial activity	187
3. Result and discussion	190
1) Application condition of antimicrobial material	190
2) Manufacture of functional wet tissue	197
4. Conclusion	201
1) Condition of antimicrobial electrolyzed water	201
2) Operating Condition of wet tissue machine	201
Chapter 4 Achievement of objectives and contribution of technology development	203
Section 1 Achievement of objectives	203
Section 2 Contribution of technology development	204
1. Technical aspect	205
2. Economical and industrial aspect	205
3. Social and cultural aspect	206
Chapter 5 Application plan of research development results	207
Section 1 Necessity of additional research	207
Section 2 Application of different research	207
1. Application of pulp · paper industry	208
2. Application of textile	208
3. Application of filter	208
4. Application of functional cosmetics	209
5. Application of new medicine	209
Chapter 6 Overseas scientific technical information	210
Section 1 Overseas patent data	210
Section 2 Overseas thesis data	212
Section 3 Overseas research development trend	215

Chapter 7 Reference 219

목 차

제 1장 연구개발 과제의 개요	28
제 1절 연구개발의 목적과 필요성	28
1. 연구개발의 목적	28
2. 연구개발의 필요성	30
제 2절 연구 개발의 범위 및 연구수행체계	32
1. 연구개발 범위	32
2. 연구수행체계	34
제 2장 국내·외 기술개발 현황	35
제 1절 천연계 향균 물질의 개발	35
1. 외국의 경우	35
2. 국내의 경우	36
제 2절 기능성 향균지와 향균 wet tissue 제조	38
제 3장 연구개발 수행 내용 및 결과	39
제 1절 산림자원으로부터 향균 물질의 탐색	39
1. 서론	39
2. 연구수행방법	42
가. 시료준비	42
나. 참나무 에탄올 추출물의 조제	42
다. 참나무 에탄올 추출물의 유기용매별 분획	43
라. 시험균주 및 참나무 추출물의 향균력 검색	45
마. 참나무 추출물의 단리	46
1) 칼럼크로마토그래피	46
2) 박층크로마토그래피	47
3) 재결정법	47
4) 용출물의 구조 결정	48
바. 타 임산자원의 향균력 검색	49

사. 병용처리에 의한 항균력 상승효과 검색	50
3. 연구수행결과	51
가. 참나무 추출물의 항균력 검색	51
1) 참나무 추출 조건의 확립	51
2) 참나무 추출물의 항균력 검색	52
3) 갈참나무 잎 분획물의 항균력 검색	55
4) 참나무 추출물의 inhibition growth test	57
5) 갈참나무 추출물의 첨가에 따른 inhibition growth test	67
6) 갈참나무 잎 분획물의 inhibition growth test	75
나. 참나무 추출물의 단리	82
1) 분획물질의 분리·정제	82
2) 활성물질의 구조해석	86
다. 타 임산자원의 항균력 검색	91
1) 황련 추출물의 항균력 검색	91
2) 황련 추출물 첨가에 따른 inhibition growth test	92
라. 타 임산자원의 병용처리에 의한 항균력 상승효과 검색	96
1) 병용처리에 의해 제조된 항균물질의 항균력 검색	96
2) 병용처리한 항균물질의 첨가에 따른 inhibition growth test	97
4. 결론	102
가. 참나무 추출물의 항균활성 검색	102
나. 타 임산자원의 항균활성 검색	103
다. 병용처리에 의한 항균활성 검색	103
제 2절 고부가가치 항균지 개발	104
1. 서론	104
2. 연구수행방법	106
가. 항균지 제조 조건 검색	106
1) 참나무 추출물을 적용한 항균지의 제조 조건 검토	106
2) 혼합항균제를 적용한 항균지	106
나. 항균지 제조 방법 검토 및 제조	106
다. 항균지의 항균력 평가	107

1) Halo test	107
2) JIS L 1902법	108
라. 항균력 지속성 검색	108
마. 자외선에 의한 항균지의 변색 여부 조사	109
바. 항균제 처리에 의한 항균지의 강도 성질 변화	109
3. 연구수행결과	110
가. 참나무 추출물을 적용한 항균지 제조	110
1) 참나무 추출물을 적용한 항균지 제조 조건 검색	110
2) 참나무 잎 추출물을 적용한 항균지의 halo test	114
3) 참나무 추출물을 적용한 항균지의 균감소율	121
4) 참나무 추출물을 적용한 항균지의 항곰팡이성	130
나. 항균물질 병용 처리에 의한 항균지 제조 및 항균력 상승효과 검토	131
1) 항균물질 병용 처리에 의한 항균지 제조 조건 탐색	131
2) 항균물질 병용 처리에 의해 제조한 항균지의 halo test	133
3) 항균물질 병용 처리에 의해 제조한 항균지의 균감소율	144
다. 항균물질 병용 처리에 의해 제조한 항균지의 항균력 지속성 평가	152
1) Halo test를 통한 항균지의 지속성 검색	152
2) 균감소율의 변화를 통한 항균지의 지속성 검색	156
라. 항균물질 병용 처리에 의해 제조된 항균지의 항곰팡이성	163
마. 자외선에 의한 항균지의 변색 여부 평가	165
1) 갈참나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 변색	165
2) 항균물질 병용 처리에 의해 제조한 항균지의 변색	166
바. 항균제 처리에 의한 종이의 강도 변화	167
1) 항균물질 처리가 종이 인장강도에 미치는 영향	167
2) 항균물질 처리가 종이 인열강도에 미치는 영향	168
3) 항균물질 처리가 종이 파열강도에 미치는 영향	169
4. 결론	171
가. 참나무 6종의 부위별 추출물을 적용한 항균지의 제조	171
나. 항균물질 병용처리에 의한 항균지의 제조	172
다. 병용 처리하여 제조된 항균지의 항균력 지속성 평가	173

라. 병용 처리하여 제조한 종이의 특성	173
제 3절 산림자원 추출물을 적용한 향균지의 선도유지 기능	174
1. 서론	174
2. 연구수행방법	176
가. 실험대상의 선정	176
나. 산림자원 추출물을 적용한 향균지	176
다. 포장 및 저장	176
라. 산림자원 추출물을 적용한 향균지의 선도유지 평가	176
1) 중량감소율의 평가	176
2) 부패율의 평가	177
3) 경도의 평가	177
3. 연구수행결과	178
가. 저장 기간에 따른 오이 중량감소율의 변화	178
나. 저장 기간에 따른 오이의 부패	179
1) 저장 기간에 따른 외관상 부패	179
2) 저장 기간에 따른 곰팡이의 발생	180
3) 저장 기간에 따른 오이의 황변화	181
다. 오이의 경도 변화	182
4. 결론	183
가. 저장 기간에 따른 오이의 중량감소율의 변화	183
나. 저장 기간에 따른 오이의 부패	183
다. 오이의 경도 변화	184
라. 산림자원 추출물을 적용한 향균지의 선도유지 기능	184
제 4절 기능성 향균 wet tissue의 제조	185
1. 서론	185
2. 연구수행방법	187
가. wet tissue 적용을 위한 향균물질의 적용 조건 검색	187
나. 기능성 wet tissue의 제조	187
다. 향균력 측정 방법	187
1) Paper disk법	187

2) JIS L 1902법	188
3. 연구수행결과	190
가. Wet tissue 적용에 적합한 항균물질 적용 농도의 검색	190
1) 항균 전해수 제조를 위한 적용 농도 검색	190
나. 기능성 wet tissue의 제조	197
1) Wet tissue 제조를 위한 공정의 설계	197
2) 공정 조건별로 제조한 wet tissue의 균감소율	197
3) 최적의 wet tissue 제조 조건	199
4. 결론	201
가. 항균 전해수 제조 조건 설정	201
나. 항균 wet tissue 제조를 위한 공정상의 조건 설정	201
제 4장 목표 달성도 및 관련분야에의 기여도	203
제 1절 연구개발 목표의 달성도	203
제 2절 기술개발의 기여도	204
1. 기술적 측면	205
2. 경제·산업적 측면	205
3. 사회·문화적 측면	206
제 5장 연구개발 결과의 활용 계획	207
제 1절 추가연구의 필요성	207
제 2절 타 연구에의 응용	207
1. 펄프·제지 산업에의 응용	208
2. 항균성능을 요구하는 직물의 제조에 응용	208
3. 항균성능이 부가된 필터의 제조에 응용	208
4. 천연 항균물질을 함유한 기능성 화장품의 제조에 응용	209
5. 참나무 추출물을 이용한 신약 개발에 응용	209
제 3절 기업화 추진방안	209
제 6장 해외과학 기술정보	210

제 1절 해외 특허 자료	210
제 2절 해외 논문 자료	212
제 3절 해외 연구 개발 동향	215
제 7장 참고문헌	219

제 1장 연구개발 과제의 개요

제 1절 연구개발의 목적과 필요성

1. 연구개발의 목적

경제 수준의 향상과 생활 수준이 향상됨에 따라 일반적인 종이에 기능성을 부여하여 고부가가치화와 차별화를 이룬 특수 기능지의 수요가 급성장하고 있다. 우리 나라의 경우 과거 특수 기능지를 제조하기 위한 기술이 부족하고 소비량이 미비하여 전량 수입에 의존하였으나, 최근 일부 특수 기능지가 국내에서 생산·공급되면서 다양한 특수 기능지 제조를 위한 연구·개발이 이루어지고 있다. 그러나 특수 기능지 제조를 위한 원료인 펄프 의존율이 높은 우리 나라 제지 산업의 고질적 문제와, 국내의 비싼 연료비 및 인건비, 외국의 수입 압력과 같은 구조적인 불안은 여전히 남아 있으며, 2004년 관세 제로화에 의한 수입 종이의 등장으로 인해 이러한 문제는 점차 심각할 것으로 예상되고 있다. 더욱이 제지 선진국들은 기술 이전을 회피하고 있어 앞으로 수입이 전면 개방될 경우 풍부한 자원과 뛰어난 기술력을 바탕으로 대량 생산된 선진국의 제품과 경쟁하기 위해서는 특수 기능지 분야에 대한 연구와 개발에 많은 투자가 필요한 실정이다.

현재 건강과 위생에 대한 관심이 증가함에 따라 이와 관련된 생활 용품인 kitchen towel, wet tissue의 생산과 소비가 증가하고 있다. 일회용 생활용품은 인체 및 주방용품과 접촉을 하게 되며 세균과 곰팡이 등에 의해 접촉된 주방용품과 신체는 오염이 발생할 수 있다. 일회용 wet tissue의 경우 일부 제품이 항균처리 되어 판매되고 있지만 대부분 유기약품을 사용하고 있으며 이에 대한 안정성이 확인되지 않았기 때문에 저농도로 처리하여 사용되고 있으나, 저농도 처리 시 낮은 항균효과가 발현되므로 항균제의 첨가량을 증가시켜야 하는 문제점이 발생하며, 이로 인해 잔류독성 및 돌연변이가 발생하는 부가적인 문제점을 가지고 있어 이러한 문제의 해결을 위해 새로운 항균제 개발을 위한 노력이 시급한 실정이다.

제지 분야에서도 항균성이 부여된 고부가가치 제품인 항균지에 대한 요구가 증가하고 있다. 항균지란 질병과 부패·오염 등의 원인이 되는 세균 또는 곰팡이의 생성을 방지하고 번식을 억제시키는 항균 기능을 종이에 부여하여 일반 종이와 차별화 시킨 종이로 현재 소비자의 주목을 받고 있는 특수 기능지 중의 하나이다. 이러한 항균지는 항균성 부여를 위해 여러 가지 항균제가 적용되며 사용하는 항균제와 종이의 상호작용 및 특성에 따라 항균지의 항균 성능과 물리적 성질이 좌우된다.

국내에서 항균과 관련된 연구는 여러 분야에서 진행되고 있으나 항균제를 직접 종이에 적용한 사례는 매우 미비하며 위생과 건강에 대한 관심이 증가함에 따라 이와 관련된 연구가 절실히 필요한 실정이다. 종이 제품에 항균성을 부여하기 위하여 여러 가지 항균제가 사용되고 있으며, 현재 가장 많이 사용되고 있는 것은 유기계 항균제로 할로젠 원소들을 포함한 약품이 사용되고 있다. 그러나 유기계 항균제로 처리한 제품의 경우 다이옥신 등의 환경호르몬이 발생됨에 따라 인체 안전성의 문제가 대두되어 안전한 항균제가 요구되었으며 이러한 요구에 의해 개발된 것이 무기계 항균제와 천연계 항균제이다. 무기계 항균제는 은, 구리, 아연 등의 금속이온을 함유하는 물질로 항균성이 우수한 특성을 가지고 있다. 그러나 금속 이온을 사용하기 위한 경제적 문제 및 입자상으로 존재하는 무기계 항균제를 종이에 적용하는 방법에 제한이 따른다는 문제점을 가지고 있다. 반면 천연계 항균제의 경우 천연 물질에서 항균성분을 추출하여 사용하기 때문에 우선 안전성이 보장되어 있어 현재 주목을 받고 있으며 활발히 연구되고 있는 분야이다.^(4,14,55,56) 과거 천연계 항균제의 개발을 위한 연구는 갑각류로 얻어지는 키토산과 키토 올리고당^(8,23)의 제조와 항균성 검색으로 시작하여 현재 식물 추출물을 이용한 항균제 개발^(39,19)이 주를 이루고 있다. 식물 추출물의 항균성은 오래 전부터 알려져 왔기 때문에 마늘⁽⁶⁵⁾, 갖⁽⁶⁵⁾ 등의 향신료^(57,56)와 솔잎, 쑥, 황련, 자몽 등의 식용 식물과 다양한 한약제에 대해 연구가 이루어지고 있다 그러나 시료의 채취가 용이한 침엽수나 활엽수 등의 산림자원을 이용한 천연계 항균제 개발에 대한 연구는 미비한 실정이다. 수목의 추출물은 물 또는 유기 용매에 의하여 유출되는 성분으로 테르펜류, 페놀류, 알칼로이드류, 저분자 탄수화물, 무기염류 등을 함유⁽¹⁰⁷⁾하고 있어 의약, 향료, 염료 및 공업원료 등으로 이용되고 있으며 최근 수목 추출성분이 항생물질, 살균·살충

물질, 효소, 비타민, 각종 호르몬 물질로 이용이 가능하다는 연구가 발표되기도 하였다⁽¹⁰⁸⁾.

산림 자원 중 참나무는 세계적으로 6속 600여종이 있으며, 우리나라의 경우 참나무는 전체 산림자원의 20% 이상을 차지하며 4속 15종이 분포하고 있다. 참나무 수종은 유용식물로서 국내에서는 예로부터 열매를 식용으로 사용하였으며 잎과 껍질은 민간요법에서 수렴성 지형제, 설사멧이약, 입안 염증, 궤양, 종양 등에 사용되었다. 일본의 德島縣에서는 잎이나 작은 가지를 끓여서 민간약으로 신장 담석증 치료에 사용하고, 독일에서는 구강, 질, 항문 등의 외부염증 치료약으로 사용되고 있다^(70,71).

따라서 본 연구는 산림자원 중 참나무류의 수종별, 부위별 천연계 항균제를 탐색하고 참나무 추출물을 적용한 항균지 및 wet tissue를 제조하며 제조된 항균지의 선도 유지 기능을 탐색하며 이를 통해 새로운 천연계 항균 물질 개발을 위한 기초 자료의 확보와 항균지 제조를 위한 기술적인 기반 및 항균성 검토를 위한 방법의 체계를 확립하려고 한다. 더 나아가 우리나라 특수 기능지 시장에 경쟁력을 부여함으로써 우리나라 제지 산업의 발전에 기여하고자 한다.

2. 연구개발의 필요성

식품 포장용 항균지를 비롯한 위생을 요하는 wet tissue의 경우 안전성은 매우 중요한 부분이다. 현재 wet tissue나 항균지 제조에 사용되고 있는 항균제는 유기계 항균제로서 안전성의 문제가 제기되고 있다. 따라서 본 연구는 국내 산림자원에서 천연 항균 물질을 추출하여 식품 포장용 항균지의 제조와 고기능성 wet tissue 제조에 적용함으로써 국내 임산자원의 효율적인 이용뿐만 아니라 종이의 고부가가치화에 기여하고자 한다. 또한 항균지 제조 및 wet tissue 제조를 위한 기술적 기반을 마련하고 천연계 항균 물질 개발을 위한 기초 자료를 확립하며 나아가 제지 선진국과 대등한 우수한 기술력을 확보하여 경쟁력을 강화함으로써 국내 제지 산업을 보호하고자 한다.

가. 기술적 측면

- 항균물질을 함유한 수종 검색 및 추출 방법 개발
- 안전성이 확립된 천연계 항균제의 개발
- 효과적인 항균제 적용 방법 개발
- 경제적인 상품화 기술 개발
- 국내의 특수 기능지 기술 개발 및 향상
- 국가 경쟁력 향상

나. 경제·산업적 측면

- 국제 경쟁력 있는 중소기업 육성
- 국내 임업자원의 효과적인 이용
- 유용 수종의 재배로 농촌 지역의 소득 증대
- 항균제 공급의 다양화로 원가 절감
- 국내 관련 산업의 활성화
- 고품질 종이 제조로 다양한 수요 창출
- 항균지의 국내 생산으로 외화 절감

다. 사회·문화적 측면

- 임업 자원 및 종이 제품의 고부가가치화
- 소비자의 건강·위생 관련 욕구 충족
- 실리적인 산·학·연 협동 체제 구축

제 2절 연구 개발의 범위 및 연구수행체계

1. 연구개발 범위

가. 산림자원의 선정

산림자원으로부터 천연계 항균물질의 탐색과 고부가가치화를 위하여 가장 우선 시 되어야 할 부분은 천연 항균 물질 탐색을 위한 유용 식물의 검토이다. 따라서 본 연구에서는 우리 나라 산림자원 중 자생분포 지역이 넓고 시료의 다량 채집이 용이한 수종을 검토하였고 또한 해외 문헌 및 국내 문헌 자료를 토대로 항균성이 있을 가능성이 있는 수종을 검토한 결과 참나무 수종이 본 연구의 대상으로 적합하여 항균 물질 탐색을 위한 시료로 선정하였다.

나. 산림자원으로부터 항균물질의 탐색과 선도유지 기능에 관한 연구

선정된 산림자원인 참나무 수종을 이용하여 항균물질을 탐색하고 선도유지 기능에 관한 연구를 실시하였다. 참나무 6종의 부위별·수종별 에탄올 추출물을 제조하고 조건에 따른 수율을 검토하여 가장 적합한 추출 조건을 설정하였으며 에탄올 추출에 의해 제조된 참나무 6종의 부위별·수종별 추출물을 paper disk method와 bioscreen C법을 통해 항균활성을 검토하였다. 항균활성 검색 결과 가장 우수한 항균성을 나타냈던 수종을 선별하여 용매별 분획을 실시하였고 분획물의 항균성을 검토하였다. 또한 참나무 추출물에 타 임산자원을 혼합하여 항균성 상승 효과를 검토하였으며 가장 우수한 항균활성을 나타낸 수종의 분리 정제와 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 을 통해 항균활성을 나타내는 물질을 분석하고, 제조된 참나무 항균물질을 적용한 항균지의 선도유지 기능을 검토하였다.

다. 참나무 추출물을 적용한 항균지 제조

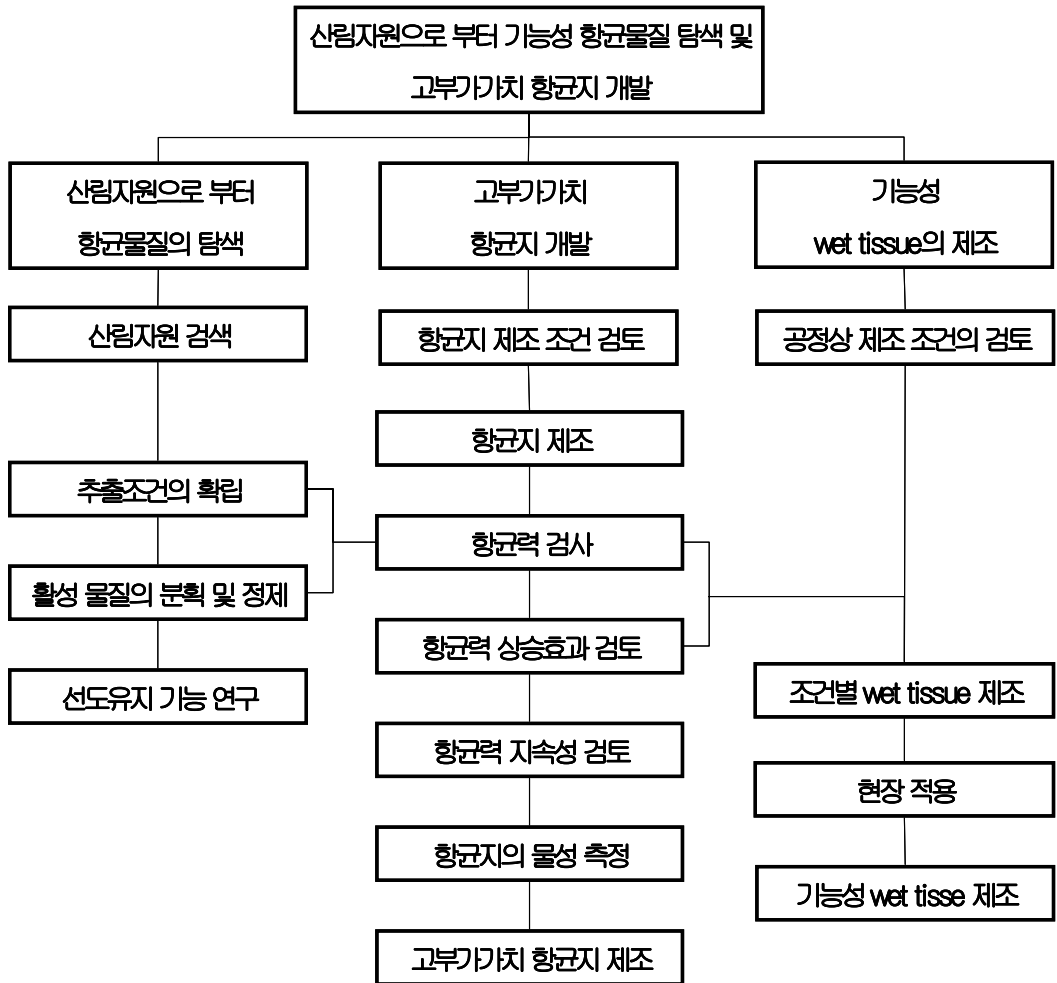
참나무의 항균활성을 검색하고 참나무 추출물을 적용한 항균지 제조 가능성을 분석하였다. 종이에 적용 가능한 참나무 추출물의 최적 농도를 검토한 후

참나무 추출물을 적용한 항균지를 제조하였으며 항균지의 항균활성을 halo test 법과 JIS L1902법을 통해 확인하였다. 또한 타 임산자원과 혼합하여 제조한 항균물질을 종이에 적용하여 혼합 항균물질이 적용된 종이의 항균성 상승효과를 검토하였다. 그리고 참나무 추출물 적용 시 종이의 물성에 미치는 영향을 확인하기 위하여 종이의 백색도와 인장, 인열, 과열강도를 측정하여 참나무 추출물을 적용한 항균지의 제조 가능성과 이용 가능성에 대해 검토하였다.

라. 기능성 wet tissue의 제조

위의 실험결과를 바탕으로 기능성 wet tissue를 제조하였다. 참나무 추출물을 적용한 wet tissue 제조를 위해 실험실상의 연구 진행과 현장방문을 통해 공정상의 최적 조건을 설정하였다. 항균제 분사량 및 wet tissue 원지의 이동 속도에 따라 제조된 wet tissue의 항균력 검색을 통해 최적의 조건을 확인하였으며 제조된 기능성 wet tissue는 JIS L1902법을 통해 항균성을 검토하였다.

2. 연구수행체계



제 2장 국내 · 외 기술개발 현황

제 1절 천연계 항균 물질의 개발

오늘날 산업문명이 고도로 발달함에 따라 생활 환경도 날로 복잡해지고 식생활 습관 역시 급격하게 변화되어 왔다. 최근 식품 산업의 발전과 식품의 세계화 및 인스턴트 식품의 대량화 등으로 식품 저장기간을 연장하고 상품가치를 높이기 위한 포장지의 사용이 증가하고 있으나 대부분의 식품 포장지는 기능성이 없거나 기능성 부여를 위해 화학약품을 사용하고 있다. 이러한 화학약품의 사용은 안전성의 문제 때문에 소량의 범위에서 적용되므로 항균효과가 낮게 나타나는 문제점이 발생되며 만일 항균성 상승을 위해 고농도로 처리하면 안전성에 심각한 문제점이 발생된다. 따라서 대부분의 소비자들은 화학약품 첨가제를 사용한 식품 포장지의 사용을 기피하고 있다. 이러한 현상은 wet tissue의 경우도 마찬가지로, 특히 피부가 연약한 어린아이에게 주로 사용되는 wet tissue는 오랜 유통기간과 장기간 사용에 따라 품질이 변질되는 문제를 지니고 있으므로 안전성의 문제가 보장된 천연계 항균제를 사용한 포장재와 wet tissue의 개발과 이용은 식품의 저장성 향상과 건강·위생 면에서 필수적이라 하겠다.

1. 외국의 경우

미국, 일본, 유럽 등의 대학 및 산업체에서는 인체에 유해성이 없으며 안전한 천연 식품 보존제 및 포장지 개발과 특허 획득을 위해 많은 투자를 하고 있다. 현재까지 연구된 천연 항균성 물질은 동물 또는 식물체 내에 함유되어 있는 특정 성분을 추출하며 단백질, 특정효소, 유기산, 젖산균에 의해 분비되는 bacteriocin 등이 항균성을 발현하는 물질로 알려져 있다. 예를 들어, 단백질 및 효소성분으로서 달걀에 함유된 conalbumin, avidine, lycozyme^(76,77) 등과 우유에 있는 lactoferon⁽⁷⁸⁾은 항균성을 가지고 있으며, 유기산에는 benzoic acid, citric acid, maleric acid 등이 천연물에 함유되어 미생물의 증식을 억제하는 것으로 보고되고 있다⁽⁷⁹⁾. 또한 탄소수가 12-18개의 중급 지방산^(80,81)들이 가장 효과적

인 항균성을 나타내지만 대부분 정균작용이며, polyhydric alcohol의 fatty acid ester도 항균성을 가지고 있고 젖산균에서 분리되는 많은 bacteriocin 중 nisin, diplococcin, acidophilin, colicin 등이 항균성을 가지고 있는 것으로 보고되었다. 한편 식물 추출물로서 마늘과 양파 추출물에서 부패 미생물의 생육과 곰팡이 독소 성분의 생합성 저해효과를 나타내며, 정향 등의 향신료 및 정유 성분은 항균성을 가지고 있고 식물의 색소 물질도 항균성이 인정되어 flavanol과 proanthocyanin에 관한 연구가 보고되었다^(57,56).

가까운 일본의 경우 각종 식품포장용 항균지가 개발되어 사용되고 있다. 백화점과 24시간 편의점에서 판매되는 식품을 포장한 대부분의 식품 포장재는 합성수지 계통에서 환경 친화적인 종이제품으로 대체되고 있으며, 쇠고기와 돼지고기를 썰어서 판매하는 경우도 항균지가 사용되고 있다.

2. 국내의 경우

최근 들어 새로운 분석기기의 도입과 활용으로 천연물의 성분 분석에 관한 연구가 활발하게 급진전하여 한방 의학에서 사용되고 있는 약용 식물⁽⁶⁰⁾을 비롯하여 각종 야채류, 산채류 및 수자원에 이르기까지 다양한 소재로부터 항균활성물질 탐색이 활발하게 진행되고 있다. 예를 들면, 편축, 초피나무 등에서 항·진균 작용이 밝혀졌으며, 생약재로 쓰이는 황백, 오배자, 자초, 갓, 알로에 등은 광범위한 항균성을 나타내는 것으로 알려져 있다. 한편, 일반 식용야채인 김치재료 성분들이 젖산균에 대한 생육억제효과를 나타내고 grapefruit 및 영지버섯은 광범위한 항균력을 발현하는 것으로 알려져 있다. 또한 수산 자원 중에서 팽생이 모자반, 구명쇠 미역, 참빗풀, 산말 등은 강한 항균력을 지니고 있는 것으로 밝혀졌다^(86,87).

여러 범위에서 천연계 항균 물질을 찾기 위한 연구가 진행되고 있지만 산림 자원으로부터 항균소재의 탐색을 위한 연구는 미비한 실정이다. 또한 기존의 항균 성분의 검색을 위한 연구는 대부분 배지에서 유해 미생물의 생육억제 효과에 치중했으며 항균물질소재에 대한 유효성분 및 작용 기작을 규명하기 위한 기초 연구는 매우 미약한 상황이다. 또한 이러한 항균소재를 이용하여 식품에 직접 응용하였을 때 천연 항균성 물질의 보존력 효과에 관한 연구나 항균 포장

지 제조, 새로운 기능성 향균지 개발에 관한 응용 연구는 거의 전무한 실정이다.

제 2절 기능성 항균지와 항균 wet tissue 제조

산업의 발달과 더불어 생활이 윤택해지면서 건강과 위생에 대한 관심이 날로 증가하고 있다. 이와 더불어 오염의 원인으로 작용하는 미생물 및 균류의 번식을 억제하기 위한 방법이 연구되고 있으며 인간 생활과 관계 있는 항균지 제조에 관련된 연구는 과거 20여 년 전부터 진행되어 왔다. 항균지를 제조하는 방법으로 여러 가지가 제안되고 있으며, 처음에는 유기계 약품을 주로 사용하였으나 인체에 대한 식품포장지의 문제가 제기되면서 사용이 제한되고 있다. 이후 무기계 항균제인 은, 구리 등의 금속이온을 치환하여 항균력을 검토한 연구가 진행되었으나 가격적인 면에서 경쟁력이 감소하여 적용이 미비한 상태이다. 현재 항균제로 가장 각광을 받고 있는 것이 천연계 항균제로 현재 갑각류로부터 분리한 키토산과 키토올리고당의 이용방법에 대한 연구^(8,12)와 한약재⁽⁶⁰⁾나 차류⁽¹⁹⁾를 사용하여 항균물질을 추출하는 연구가 진행되고 있다.

국내에서 키토산을 전분과 함께 사용하여 항균지를 제조하고 이에 대한 항균성을 연구한 사례⁽⁷⁾가 발표되었으며, 키토산과 키토 올리고당⁽⁸⁾을 사용한 경우와 모노로틴을 키토산과 키토올리고당에 혼합하여 항균성 상승효과를 확인한 연구 사례⁽⁶⁾가 있다.

일본에서는 유기계 항균제인 glutar-aldehyde를 사용하여 항균지를 제조하여 연구하였으나 알데히드계 약품이 인체에 대하여 유해성을 가지고 있기 때문에 사용되지 않으며, 대나무의 미세섬유를 사용하여 항균지를 제조한 연구 사례가 있다. 이후에 한약재의 잎, 종실, 뿌리 등에서 추출한 천연계 항균제를 제조하려는 연구^(86,87)는 많이 진행되었지만 임산자원으로 항균물질을 추출하는 연구는 매우 미비한 실정이고, 천연계 항균 물질을 식품포장지에 적용하기 위한 연구도 매우 부족한 실정이다.

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

제 1 절 산림자원에서부터 항균 물질의 탐색

1. 서 론

세계 경제·문화의 발달과 더불어 모든 산업이 기계화되면서 다양한 가공식품이 대량 생산되고, 질적 생활 수준도 점차 높아지고 있다. 이러한 변화에 따른 식생활의 서구화 및 성인병과 각종 질병이 늘어나고 환경오염과 더불어 세균에 의한 오염이 증가함에 따라 건강에 대한 관심이 점차 높아져 가고 있는 추세이다. 또한 국내의 불안정한 식품재료의 수급으로 인해 해외로부터 값싼 식품재료를 대량 수입하게 되었고 이에 따라 유통 및 보관기간 중에 식품의 변질과 부패의 발생은 심각한 문제로 대두되고 있다.^(45,46,47)

식품 및 식품 저장유통 산업에 심각한 문제인 식중독 사고는 우리 나라의 경우 1995년 55건으로 1584명의 환자가 발생하였으며 1998년에는 119건으로 4577명의 환자가 발생하여 3배 이상 증가하였다고 보고되었으며,⁽⁴⁸⁾ 또한 미국의 질병통제 센터는 매년 20,000명 정도의 사람들이 *E.coli* O157:H7에 감염된다고 보고하였다⁽⁵⁰⁾. 식중독 환자의 발생을 증가에 따른 경제적 손실은 해마다 증가하고 있으며 그 원인이 점차 다양해져 식중독사고의 규모가 대형화됨에 따라 식중독 세균에 대한 관심은 점차 증가하여 저장과 유통 중 부패균에 의해 일어날 수 있는 위험성을 예방하기 위한 연구가 점차 중요시되고 있다.^(51,52)

이러한 식품의 부패나 변질은 주로 미생물의 작용에 의해서 나타나게 되며, 식품의 변질을 방지하기 위한 방법으로 미생물을 살균시키거나 정균시키는 방법을 사용하고 있다. 살균은 열탕, 증기 등의 열처리에 의해 부패의 원인이 되는 미생물의 단백질을 변성시켜 그 미생물을 사멸시키는 방법으로, 세균독소의 파괴와 포자 낭중 같은 기생충을 사멸시키고, 식품내의 효소를 불활성화 시켜 식품의 경시적 변화를 방지한다. 그러나 열처리를 할 경우 식품의 저장성은 향상되지만 조직과 맛의 변화로 인해 신선도가 떨어진다는 단점을 가지고 있으며, 식품 그 자체를 미생물이 증식하기 어려운 환경으로 변화시켜 보존성을

향상시키거나 식품 내 미생물의 증식을 어렵게 하기 위해 보존환경을 변화시키는 방법은 맛과 신선도는 유지하나 장기저장이 어렵다는 단점을 가지고 있다⁽⁵³⁾.

식중독 세균과 부패 세균의 증식을 억제할 목적으로 많은 종류의 화학합성 보존제가 사용되고 있다. 이러한 보존제가 지속적으로 인체 내에 축적될 경우 만성독성, 발암성, 돌연변이 유발 등의 문제점⁽⁵⁴⁾이 발생하게 되는 원인이 되기 때문에 화학합성 보존제는 안전한 것이라 하더라도 순도나 사용법에 따라 인체에 해로운 영향을 미칠 수 있다. 따라서 식품제조업자와 소비자는 인체에 무해한 보존제를 원하게 되었고 이에 천연물질로부터 항균성 물질을 추출하여 이를 이용하려는 연구가 진행되고 있다^(55,56). 최근에는 향신료^(57,58), 식물의 정유성분⁽⁵⁹⁾, 생약제⁽⁶⁰⁾ 및 우리 나라에서 많이 응용되는 녹차 추출물의 항균성에 관한 연구⁽⁶¹⁾가 활발히 이루어지고 있으며 탐색된 항균물질을 사용하여 보존성을 향상시키는 기술 개발과 항균물질들의 미생물 생리기능에 미치는 영향에 대해 꾸준한 연구가 수행하고 있다. 천연물이라 함은 당, 지방산, 아미노산과 같은 모든 생물에 존재하며, 생활하는데 필요한 기본 대사에 관여하는 물질과 alkaloid, terpenoid, flavonoid와 같이 어느 특정 식물에만 분포하는 2차 대사물을 일컫는다⁽⁶³⁾.

이러한 천연물을 이용한 것들 중에 우리 나라에 자생하는 식물을 대상으로한 항균활성에 관한 연구가 많이 있으나 항균물질의 분리와 확인이 부족하여 연구 결과를 실용화하기에는 미흡하다는 문제점을 가지고 있다. 이에 반해 외국의 경우 천연계 항균물질의 추출에 대한 체계적인 연구가 진행되어 현재 실용화 단계까지 진행되어 있으며 그중 향신료로 쓰이는 rosemary, sage 등은 22종의 그람음성균과 24종의 그람양성균에 대한 높은 항균활성이 발현되는 것으로 보고되었으며⁽⁶⁴⁾ 건강식품으로 잘 알려진 마늘, 양파와 식물의 정유성분도 항균물질을 가지고 있다고 발표하였다^(65,66,67).

최근 수목 추출성분이 갖는 여러 기능 중 약리 및 생리 활성에 관한 연구가 많이 이루어지고 있다⁽⁶⁸⁾. 수목 추출물들은 항생물질, 살균·살충물질, 효소, 비타민, 각종 호르몬 물질 등 이용 분야가 광범위하기 때문에 천연물로부터 항균물질의 탐색 및 이용에 관한 연구는 관심의 대상이 되고 있다⁽⁶⁹⁾.

우리 나라의 참나무류는 전체 임목의 약 27%를 차지하고있으며, 예로부터 종

실을 식용으로 사용하였다. 도토리에는 풍부한 전분과 떫은맛을 내는 tannin, 유지방과 quercitrin 등 여러 성분이 함유되어 있는데 식품으로는 물론 약용 식물로도 아주 유용하여 장 및 혈관을 수축시키는 작용을 하며, 민간용법에서 잎과 껍질을 수렴성 지혈, 설사, 탈황, 치질을 비롯하여 거담, 진통 등에 사용해 왔다^(70,71).

이에 본 연구에서는 대표적 참나무류인 갈참, 굴참, 떡갈, 졸참, 신갈, 상수리나무 추출물의 부위별 추출물의 항균활성을 검색하였으며 가장 항균활성이 높은 성분을 분리하고 참나무 추출물의 항균 활성을 발현시키는 성분을 규명함으로써 항균활성을 나타내는 물질에 대한 화학적인 기초자료를 제공하고 이들의 응용 가능성을 검토하였다.

2. 연구수행 방법

가. 시료준비

수목은 Table. 1-1에 나타난 것과 같이 국내에 분포하는 참나무류의 대표적인 6수종을 선정하고 본 실험을 위해 2001년, 2002년 8월 강원대학교 연습림에서 시료를 채집하였다. 채집된 시료는 잎, 수피, 목질부별로 선별 정선한 후 먼지 등을 제거하기 위해 깨끗한 물로 수세, 음건(陰乾) 후, 각 부위를 건식 분쇄기(Samsung Electrics, CR-581W, Korea)로 분쇄하여 150mesh(Standard testing sieve, ITOH Co., Japan)에 통과된 분말을 추출용 시료로 사용하였다.

Table. 1-1. *Quercus* spp. used for experiment

Botanical name	Korean name	Part used
<i>Quercus aliena</i> Blume.	갈참나무	leaves, bark, xylem
<i>Quercus variebilis</i> Blume.	굴참나무	"
<i>Quercus dentata</i> Thunb.	떡갈나무	"
<i>Quercus serrata</i> Thunb.	졸참나무	"
<i>Quercus mongolica</i> Fisch.	신갈나무	"
<i>Quercus acutissima</i> Carruth	상수리나무	"

나. 참나무 에탄올 추출물의 조제

참나무의 추출은 수직 환류 냉각관을 부착시킨 flask 내에 500g의 분말시료를 넣고 시료중량의 10배에 해당하는 75% 에탄올을 가하여 Table. 1-2의 조건 중 최적의 조건을 찾아 2회 반복 추출한 후 감압 여과하였다. 여액은 rotary vacuum evaporator(Eyela N-N-series, Japan)를 사용하여 농축하고, 이를 동결 건조한 후 밀봉하여 4℃의 냉장고에 보관하여 실험에 사용하였다.

Table. 1-2. Conditions for ethanol extractives

Temperature(℃)	Time(hr)
25	3
50	5
75	7

다. 참나무 에탄올 추출물의 유기용매별 분획

에탄올 추출물을 극성이 다른 용매를 이용하여 Figure. 1-1과 같이 단계적으로 분획하였다. 에탄올 추출물과 헥산, 물을 1 : 10 : 9의 비율로 혼합하여 추출 분획한 후 rotary vacuum evaporator(Eyela N-N-series, Japan)로 농축하여 헥산 분획물을 얻었다. 물층 분획은 분획 여두에서 다시 클로로포름, 에틸아세테이트 및 부탄올로 추출하여 이로부터 각각 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물층 분획물을 얻은 후 농축하고, 이를 동결 건조하여 건조 후 증발 잔사의 양을 시료 건물량에 대한 백분율로 나타내어 추출 수율을 계산하였다.

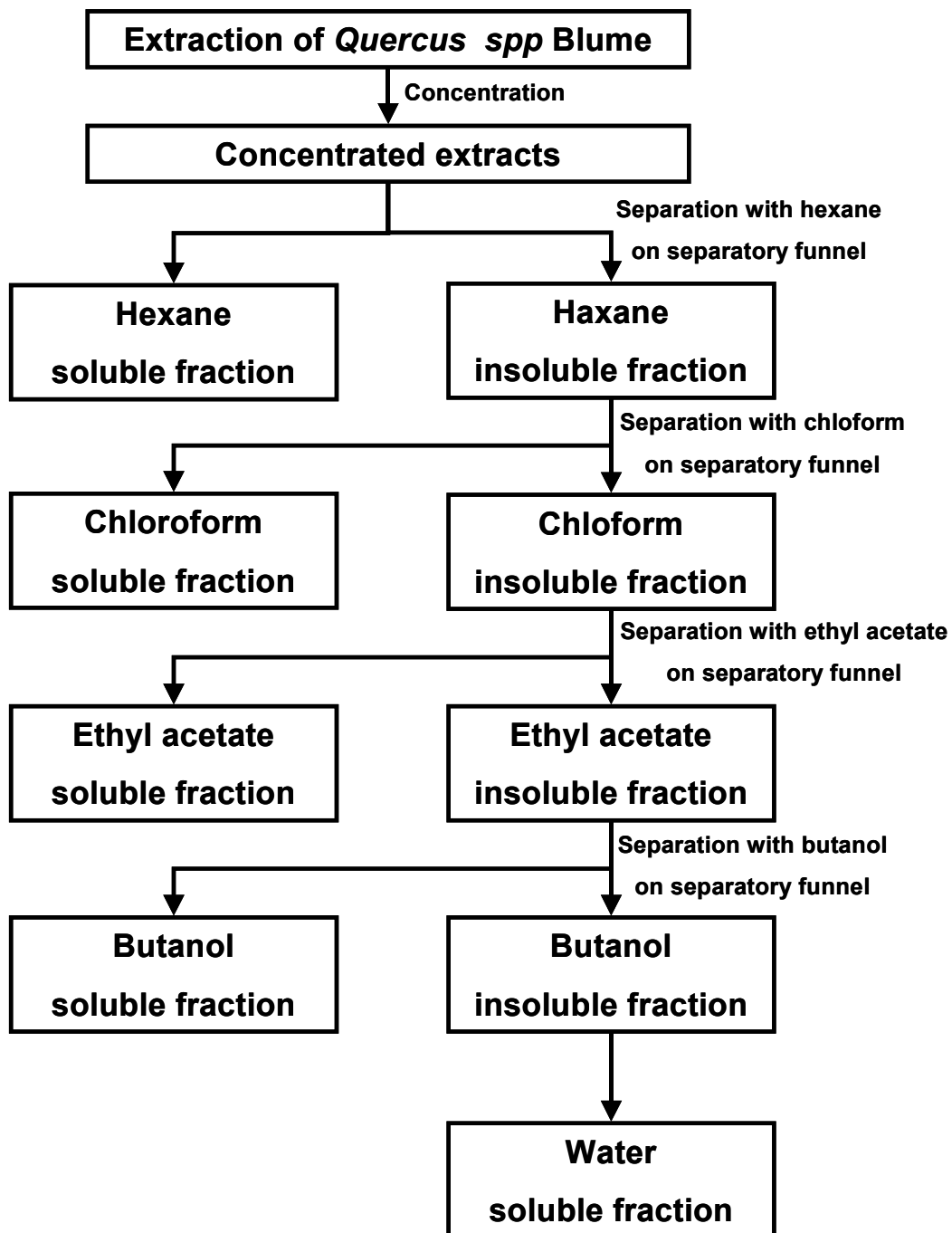


Figure. 1-1. Procedure of fractionation of *Quercus spp* Blume extractive

라. 시험 균주 및 참나무 추출물의 항균력 검색

항균력 검색에 사용한 균주 및 배지는 Table. 1-3과 같이 그람양성균 4균주와 그람음성균 4균주, 효모 1균주 및 곰팡이 1균주를 대상으로 paper disk method를 이용하여 항균력을 조사하였다. Paper disk method는 멸균된 각각의 생육배지를 petri dish에 15ml씩 분주하여 응고시키고, 중층용 배지를 각각 5ml씩 시험관에 분주하여 멸균시킨 후, 50℃ 수욕상에 보관하면서 전배양한 각종 시험균액을 무균적으로 첨가하여 잘 혼합한 후 기층용 배지 위에 분주하여 2중의 평판배지를 만들고 참나무 추출물을 멸균된 paper disk에 2,000 μ g씩 흡수시켜 시험용 평판배지 표면에 올려놓고 35℃ incubator에서 24-48시간 동안 배양하여 disk 주변의 clear zone(mm)을 측정하여 항균력을 검색하는 방법이다

Table. 1-3. List of microorganisms and media used for antimicrobial experiment

Microorganisms	Media
Gram positive bacteria	Tryptic soy broth and agar (Difco, U.S.A)
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 9634	
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	
<i>Listeria monocytogenes scott A</i> ATCC 49594	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Tryptic soy broth and agar (Difco, U.S.A)
Gram negative bacteria	
<i>Escherichia coli</i> k-12 IFO 3301	
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 933	
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	YM broth and agar
<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 9610	
Yeast	YM broth and agar
<i>Candida utilis</i> IFO 0589	
Mold	YM broth and agar
<i>Fusarium moniliform</i> ATCC 10052	

각 추출물의 생육저해 효과를 알아보기 위하여 멸균된 TSB 배지에 각 시험균의 초기 농도를 1×10^5 CFU/ml가 되도록 접종하여 각 추출물을 2,000 μ g/ml가 되게 첨가한 뒤, bioscreen C(Labsystem, FP-1100-C, Finland)로 35°C에서 24시간 배양하면서 균의 생육을 O.D(optical density)값으로 측정하였다. 이때 배양 및 측정조건은 Table. 1-4와 같다.

Table. 1-4. Measurement conditions for Bioscreen C

Item	Condition
Wavelength	single
Filter. nm	600nm
Incubation temperature	35°C
Preheating time	5 min
Measurement time	24 hrs
Measurement interval	2 hrs
Shaking intensity	medium

마. 참나무 추출물의 단리

1) 칼럼크로마토그래피

혼합물로부터 순수한 단일 화합물을 분리하기 위하여 칼럼크로마토그래피를 실시하였다. 충전물로는 Sephadex LH-20을 사용하였고 전개용매로는 에탄올 및 메탄올-물 혼합액(5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, v/v)을 사용하였다. 칼럼으로부터 전개된 용출액은 fraction collector(Gilson FC 204)를 이용하여 순차적으로 시험관에 채취하였으며, 분리된 용출액은 박층크로마토그래피(TLC)로 확인하여 같은 종류의 화합물을 함께 모았고 이러한 과정을 여러번 반복 실시하였으며 JLE-1, JLE-2, JLE-3, JLE-4, JLE-5, JLE-6, JLE-crystal로 각각 분류하였다. 각 분획물은 감압 농축하고 동결 건조하여 분말상태로 만들고 그 양을 측정하였으며 다시 메탄올 또는 에탄올과 증류수와의 혼합비를 달리하는 전

개용매를 사용하여 계속적인 크로마토그래피를 실시하였고 최종적으로 순수한 단일 화합물을 얻었다.

2) 박층크로마토그래피(TLC)

분리된 화합물의 단일 물질 여부를 확인하기 위하여 셀룰로오스 박층크로마토그래피법을 사용하였다. 혼합물의 분리 여부를 확인하기 위해 주로 1차원 TLC를 사용하였으며 분리된 화합물의 단일 여부를 확인하기 위해 2차원 TLC를 사용하였다. 본 실험에서는 MERCK사의 DC-plastickfolien cellulose (Art.5577)박판을 사용하였으며 전개용매로 TBA (t-butanol-HOAc-H₂O, 3:1:1, v/v/v, solvent A)와 6% acetic acid(solvent B)를 사용하였다. 전개된 TLC박판은 가열 건조한 뒤, 분리 여부를 확인하기 위하여 UV 램프(365nm, 254nm)에서 관찰하였고, 발색제로 vanillin-HCl-EtOH(60:0.15:6, v/v/v)용액을 TLC판에 분무하고 가열 건조하여 나타나는 색을 관찰하였다.

3) 재결정법

아세톤-물(7:3, v/v)용매에 추출된 용출물은 농축하는 과정에서 물에 잘 녹지 않는 다량의 침전물이 발생하였으며, 이를 여과 분리하여 깨끗하고 순수한 화합물로 정제하기 위하여 재결정법을 행하였다.

저온상태에서 물질의 용해도가 감소하지 않기 때문에 많은 양의 결정을 만들 수 있으므로 농축과정에서 생긴 결정들을 분리하여 500ml의 삼각플라스크에 옮겨 냉장실에서 10시간 정도 정치하였다. 플라스크의 바닥의 침전 결정들을 다시 여과하여 분리하였고, 분리된 결정들은 혼합물이 많이 섞여 있으므로 순수한 단일 물질로 만들기 위하여 미량의 아세톤을 넣어 모두 용해시킨 후 많은 양의 증류수를 넣어 결정이 만들어지도록 하고 냉장실에 저장하였다. 이러한 조작을 3회 반복적으로 수행하여 깨끗하고 순수한 결정성의 화합물을 얻을 수 있었다. 얻어진 화합물은 동결 건조기를 이용하여 건조시켜 425.5mg의 분말을 얻었다.

4) 용출물의 구조 결정

분리된 화합물의 순수도를 확인하기 위하여 박층크로마토그래피를 실시하였다. 정사각형(6.7cm×6.7cm)의 cellulose TLC 판에 먼저 세로축으로 전개용매를 전개하고, 다시 건조시킨 후에 가로축에 전개용매를 직교로 전개하는 2차원 박층크로마토그래피를 사용하였다. 본 연구에서는 전개용매로 6% HOAc와 t-butanol-HOAc-H₂O(3:1:1, v/v/v)을 전개용매로 사용하였다.

화합물의 spot을 UV 램프로 확인하고 발색제에 의해 나타나는 색과 R_f 값을 구하였다.

정확한 구조 결정을 위하여 주로 NMR 분석방법을 사용하였으며 분석용매로는 methanol-*d*₄와 acetone-*d*₆, DMSO를 이용하여 ¹H-NMR과 ¹³C-NMR의 스펙트럼을 분석하였다.

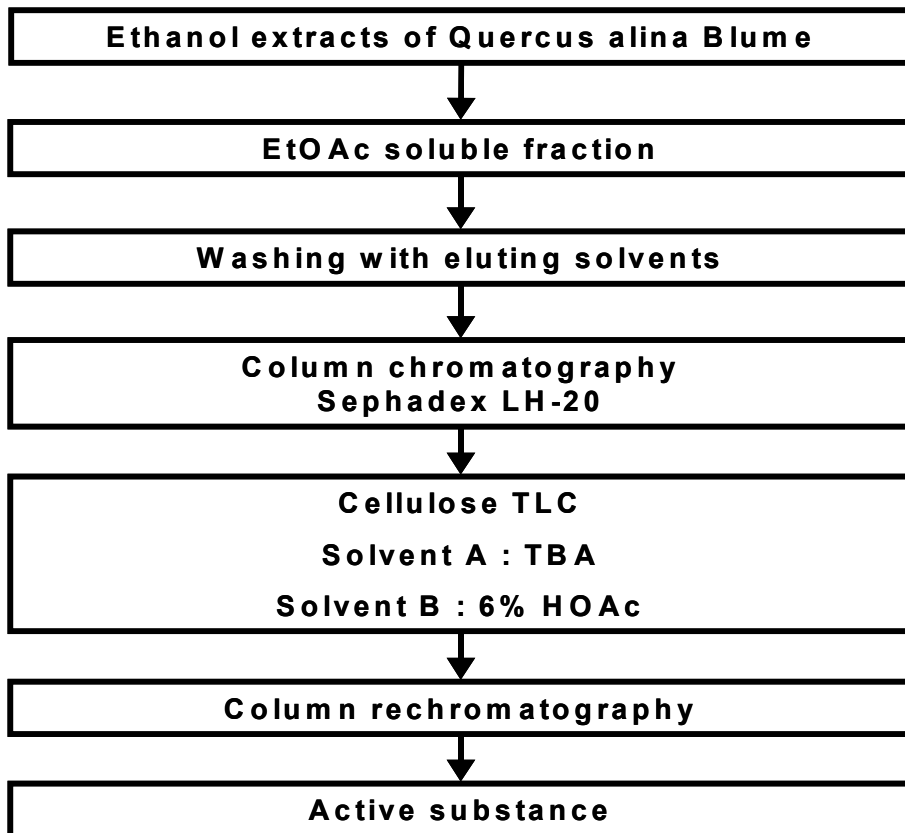


Figure. 1-2. Isolation scheme of the ethanol extractives of *Quercus aliena* Blume

바. 타 임산자원의 항균력 탐색

참나무 추출물의 항균력과 다른 임산자원 추출물의 항균력 검색을 위하여 항균력이 있을 것으로 예상되는 임산자원을 선정하여 항균력을 비교하였다.

본 연구를 위한 타 임산자원으로 황련을 선정하였다. 황련은 한방에서 건위·진정·소염·항균 등의 효능이 있어 소화불량, 위염, 복통, 이질, 심계, 하혈, 화상 등의 치료제로 사용된다고 보고되고 있어 항균성을 발현할 수 있는 물질이 있을 것으로 예상되며, 에탄올 추출에 의해 제조된 황련 추출물은 참나무 추출물과의 항균성을 비교하기 위하여 사용하였다.

실험에 사용된 황련은 춘천에 위치한 약재상에서 구입하였으며, 황련의 추출 조건은 참나무 추출조건과 동일한 조건으로 추출하고 농축하여 황련 추출물을 제조하였다. 황련의 항균활성 검색은 paper disk법과 bioscreen C법을 통해 검색하였다.

사. 병용처리에 의한 항균력 상승효과 검색

참나무 추출물에 타 임산자원인 황련 추출물을 병용 처리하여 항균력 상승효과를 검색하였다. 병용 처리한 항균 물질의 항균력 검색은 paper disk법을 통해 실시하였으며 bioscreen C를 통해 생육저해효과를 측정하였다.

3. 연구수행결과

가. 참나무 추출물의 항균력 검색

1) 참나무 추출 조건의 확립

국내 자생하는 참나무류의 대표적인 수종 6종(갈참, 굴참, 떡갈, 졸참, 신갈, 상수리나무)의 추출조건 확립을 위해 수종별·부위별 시간과 온도에 따른 에탄올 추출한 결과를 Table. 1-5에 나타내었다. 70℃에서 75% 에탄올로 7시간 추출한 결과 잎, 수피, 목질부 모두 최대 수율을 나타냈으며, 갈참나무의 잎에서 18.16%로 가장 높은 수율을 나타냈다.

Table. 1-5. Ethanol extraction yield from *Quercus spp.*

		Yield (% , w/w)								
		Leaves			Bark			Xylem		
Time(hr)	Conc	25	50	75	25	50	75	25	50	75
		Yield of <i>Q. aliena</i>(%, w/w)								
3		17.04	17.23	17.77	5.02	5.62	5.03	1.98	2.02	2.24
5		17.59	17.67	17.98	5.44	5.82	5.38	2.03	2.08	2.26
7		17.87	18.01	18.16	5.64	5.92	5.86	2.09	2.19	2.38
Yield of <i>Q. variebilis</i>(%, w/w)										
3		13.49	13.44	13.55	3.12	3.29	3.53	2.42	2.77	2.51
5		13.52	13.53	13.85	3.27	3.57	3.60	2.55	2.68	2.71
7		13.67	13.74	13.91	3.42	3.66	3.71	2.59	2.75	2.88
Yield of <i>Q. dentata</i>(%, w/w)										
3		15.92	16.48	15.93	14.68	15.07	15.19	3.33	3.71	3.68
5		16.02	16.53	16.42	15.02	15.11	15.33	3.48	3.78	3.76
7		16.19	16.66	16.53	15.09	15.15	15.42	3.66	3.81	3.95
Yield of <i>Q. serrata</i>(%, w/w)										
3		14.39	14.61	15.18	12.20	12.08	12.49	1.72	1.73	1.91
5		14.77	15.01	15.27	12.38	12.41	12.54	1.81	1.90	1.97
7		14.94	15.07	15.35	12.49	12.62	12.68	1.85	1.92	2.05
Yield of <i>Q. mongolica</i>(%, w/w)										
3		14.03	14.28	13.93	9.11	9.28	9.44	1.96	1.82	1.96
5		14.17	14.50	14.02	9.27	9.32	9.47	2.02	2.02	2.02
7		14.29	14.76	14.22	9.36	9.58	9.64	2.09	2.17	2.25
Yield of <i>Q. acutissima</i>(%, w/w)										
3		12.52	12.63	12.86	7.09	7.11	7.28	2.29	2.48	2.28
5		12.77	12.75	12.09	7.18	7.62	7.79	2.58	2.69	2.44
7		12.84	12.98	13.05	7.24	7.86	7.90	2.69	2.71	2.67

2) 참나무 추출물의 항균력 검색

참나무 추출물의 항균력 검색에 사용한 균주 및 배지는 그람양성균 4균주, 그람음성균 4균주, 효모 1균주 및 곰팡이 1균주를 대상으로 paper disk법과 MIC를 이용하여 항균력을 조사하였다. Paper disk법은 멸균된 각각의 생육배지를 petri dish에 15ml씩 분주하여 응고시키고, 중층용 배지를 각각 5ml씩 시험관에 분주하여 멸균시킨 후 50℃ 수욕상에 보관하고 전배양한 각종 시험균액을 무균적으로 첨가하여 잘 혼합한 후 기층용 배지 위에 분주하여 2중의 평판배지를 만든다. 그 후 목재 추출물을 멸균된 paper disk에 2,000 μ g씩 흡수시킨 뒤 평판배지에 올려놓고 35℃ incubator에서 24-48시간 동안 배양시켰을 때 disk 주변의 clear zone(mm)을 측정하여 항균력을 검색하는 방법으로 그 결과를 Table. 1-6에 나타내었다.

참나무 6종의 수종별 항균 활성 검색 결과 신갈, 갈참, 떡갈나무의 에탄올 추출물이 갈참, 상수리, 굴참나무의 에탄올 추출물 보다 그람양성균과 그람음성균에 대해 높은 항균활성이 나타났다. 특히 그람양성균인 *Bacillus cereus* ATCC 9634, *Listeria monocytogenes* scott A 그리고 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923에 대한 항균 활성은 갈참, 떡갈, 신갈나무의 에탄올 추출물이 다른 수종에 비해 높은 활성을 나타냈으며, 또한 그람음성균인 *Salmonella typhimurium* ATCC 14028과 *Yersinia enterocolitica* ATCC 9610에 대해 갈참, 떡갈, 신갈나무의 에탄올 추출물은 다른 수종의 에탄올 추출물에 비해 더 우수한 항균활성을 나타냈다. 효모와 곰팡이균인 *Candidia utilis* IFO 0589와 *Fusarium monoiform* ATCC 10052에 대한 항균활성은 참나무 6종의 모든 부위의 추출물을 적용하여도 항균 활성이 나타나지 않았다.

참나무 6종의 잎, 수피와 목질부의 항균활성은 수종에 따라 약간의 차이가 있지만 대체로 잎, 목질부, 수피의 순으로 높은 항균활성을 나타냈다. 잎의 항균력 검색 결과에서 갈참나무의 에탄올 추출물은 *Listeria monocytogenes* ATCC 19111에 대해 20mm정도의 clear zone을 나타내 가장 높은 항균활성이 나타났으며, *Listeria monocytogenes* scott A에 대해서 19mm의 항균력을 나타냈다. 수피의 항균력은 신갈나무의 에탄올 추출물에서 *Listeria monocytogenes* ATCC 19111에 대해 16mm의 clear zone을 나타냈다. 목질부

의 항균력은 갈참나무의 에탄올 추출물이 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923에 대해 20mm, *Bacillus cereus* ATCC 9634에서 19mm로 높은 항균활성을 나타냈다.

참나무 6수종의 수종별·부위별 항균활성 검색 결과, 참나무 6종 모두 그람 양성균과 그람음성균에 대해 항균력을 나타냈으며, 수종에 따라 차이가 있으나 일반적으로 그람음성균보다 그람양성균에 대해 더 높은 항균활성을 나타냈다. 참나무 6종의 수종별 항균활성은 갈참나무의 추출물이 가장 높은 항균활성을 나타냈으며 떡갈나무와 신갈나무의 경우도 우수한 항균력을 나타냈다. 부위별로 살펴보면 잎의 에탄올 추출물이 가장 높은 항균활성을 나타내고 목질부, 수피의 순으로 항균활성을 나타냈다. 참나무 6종의 수종별, 부위별 에탄올 추출물의 항균활성 결과 갈참나무의 잎 에탄올이 가장 높은 항균활성을 나타냈다.

Table. 1-6. Antimicrobial activities of ethanol extractives from *Quercus* spp

Botanical name Test organism	Inhibition zone ¹⁾ (mm)								
	<i>Q. serrata</i>			<i>Q. mongolica</i>			<i>Q. acutissima</i>		
	L	B	X	L	B	X	L	B	X
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 9634	20	11	12	15	16	14	15	12	12
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	19	10	11	17	16	14	14	10	14
<i>Listeria monocytogenes scott A</i>	19	9	14	15	14	15	14	11	15
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	16	9	10	16	13	13	13	10	12
<i>Escherichia coli</i> k-12 IFO 3301	12	9	11	13	10	10	9	9	9
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 933	13	9	9	15	11	11	9	9	9
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	17	9	10	13	12	11	13	9	10
<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 9610	14	9	9	16	14	15	12	11	13
<i>Candida utilis</i> IFO 0589	ND ²⁾	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Fusarium moniliform</i> ATCC 10052	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Botanical name Test organism	Inhibition zone ¹⁾ (mm)								
	<i>Q. aliena</i>			<i>Q. variegata</i>			<i>Q. dentata</i>		
	L	B	X	L	B	X	L	B	X
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 9634	20	15	19	13	9	13	16	13	14
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	19	15	17	11	9	10	16	14	16
<i>Listeria monocytogenes scott A</i>	19	11	18	12	10	11	14	13	15
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	16	13	20	14	10	13	18	12	15
<i>Escherichia coli</i> k-12 IFO 3301	12	11	12	9	9	9	10	11	13
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 933	13	11	10	9	9	9	13	11	16
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	17	14	16	10	9	9	17	10	13
<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 9610	14	12	13	9	10	12	15	11	12
<i>Candida utilis</i> IFO 0589	ND ²⁾	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Fusarium moniliform</i> ATCC 10052	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

¹⁾ Two thousand μg of ethanol extractives was absorbed into paper disc ($\Phi 8$ mm) and the diameter(mm) of clear zone was measured.

²⁾ Not detected L : leaves, B : bark, X : xylem

3) 갈참나무 잎 분획물의 항균력 검색

가) 갈참나무 분획물의 수율

참나무 6종의 부위별 에탄올 추출물의 항균활성 검색 결과 가장 높은 항균활성을 나타낸 갈참나무 잎 에탄올 추출물의 활성성분에 대한 특성을 검토하고자 극성이 다른 용매인 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물을 사용하여 순차적으로 분획하여 분획물을 얻었으며 용매별 분획별의 수율 결과를 Table. 1-7에 나타냈다. 용매별 분획물의 수율은 물이 45%로 가장 높게 나타났으며, 부탄올이 17%의 수율을 나타냈고 클로로포름과 에틸아세테이트의 경우 5% 미만의 수율을 나타냈다.

Table. 1-7. Extraction yield of solvent fraction from ethanol extractives of *Quercus aliena* leaf

Solvents	Yield(%, w/w)
Hexane	ND
Chloroform	2.3
Ethylacetate	4.6
Butanol	17.00
Water	45.00
Total	68.90

나) 갈참나무 잎 분획물의 항균력

항균성 물질의 분리 초기 단계로서 극성이 다른 용매로 순차 분획한 에탄올 추출물에 대한 항균활성의 검토 결과를 Table. 1-8에 나타냈다.

에틸아세테이트와 부탄올의 분획물은 시험균주에 대해 항균력이 나타났으며 클로로포름과 물의 분획물의 경우 시험균주에 대해 항균활성이 나타나지 않았다. 에틸아세테이트 분획물은 에탄올 추출물의 항균활성 검색 시 항균효과가 나타났던 대상균주 모두에 대해 항균력을 나타냈으며 그람음성균보다 그람양성균에 대해 더 높은 항균활성을 나타냈다. 특히 그람양성균인 *Bacillus cereus*

ATCC 9634와 *Listeria monocytogenes* ATCC 19111균에 대해 13mm의 항균 활성이 나타났으며 *Escherichia coli* k-12 IFO 3301의 경우 에틸아세테이트의 분획물이 대해 항균활성이 나타나지 않았다. 부탄올 분획물의 경우 *Bacillus cereus* ATCC 9634와 *Salmonella typhimurium* ATCC 14028균에서 12mm의 clear zone이 나타났고 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923과 *Escherichia coli* k-12 IFO 3301, *Yersinia enterocolitica* ATCC 9610은 11mm의 clear zone을 형성하였다.

그람양성균과 그람음성균 중에서 가장 높은 항균력이 나타난 *Bacillus cereus* ATCC 9634와 *Listeria monocytogenes* ATCC 19111균은 분획물에 따라 항균력의 차이가 나타났으며 *Candidia utilis* IFO 0589와 *Fusarium moniliform* ATCC 10052는 모든 분획물에 대해 항균력을 나타내지 않았다. 클로로포름과 물의 분획물은 그람양성균과 그람음성균에 대해 전혀 항균활성을 나타내지 않았다.

갈참나무 잎 에탄올 추출물의 용매별 분획물을 이용한 항균활성의 검색 결과 활성물질에 대한 물질성분 분리에 있어서 에틸아세테이트와 부탄올의 분획물이 항균활성을 나타내는 물질을 분획함을 알 수 있으며, 갈참나무 잎의 에탄올 추출물과 분획물의 항균활성은 갈참나무 잎 에탄올 추출물이 더 높은 항균활성을 나타내는 것을 알 수 있다.

Table. 1-8. Antimicrobial activities of different solvent fractions on test microorganisms

Microorganisms \ Solvents	Inhibition zone(mm)			
	Chloroform	Ethylacetate	Butanol	Water
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 9634	ND	13	12	ND
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	ND	13	ND	ND
<i>Listeria monocytogenes</i> scott A	ND	12	ND	ND
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	ND	12	11	ND
<i>Escherichia coli</i> k-12 IFO 3301	ND	ND	ND	ND
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 933	ND	11	11	ND
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	ND	11	12	ND
<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 9610	ND	11	11	ND
<i>Candida utilis</i> IFO 0589	ND	ND	ND	ND
<i>Fusarium moniliform</i> ATCC 10052	ND	ND	ND	ND

4) 참나무 추출물의 inhibition growth test

참나무 6종의 잎, 수피, 목질부 추출물의 생육억제 효과를 알아보기 위하여 시험균주로 *Bacillus cereus* ATCC 9634, *Listeria monocytogenes* ATCC 19111, *Escherichia coli* O157:H7 933, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 균주를 사용하였다. 각 시험균의 초기농도를 1×10^5 CFU/ml가 되도록 접종하여 각 추출물을 2000 µg/ml씩 첨가한 후, bioscreen C(Labsystem, FP-1100-C, Finland)로 35°C에서 24시간 배양하여 균의 생육상태를 optical density(O.D) 값으로 측정하였다.

가) Bioscreen C를 통한 참나무 6종 잎 추출물의 inhibition growth test

Bioscreen C를 통한 참나무 6종 잎 에탄올 추출물의 생육저해효과를 경시적으로 조사하기 위해 tryptic soy broth에 참나무 잎 에탄올 추출물을 2000 µg/ml씩 첨가하여 무첨가균인 대조군과 비교하였으며 그 결과를 Figure. 1-3과 1-4에 나타내었다.

Bacillus cereus ATCC 9634에 대한 생육저해효과는 갈참과 신갈나무의 잎 에탄올 추출물에서 24시간 동안 생육을 억제하는 효과를 나타냈으며 24시간 후에도 균의 생육억제효과는 지속되었다. 굴참나무와 상수리나무의 잎 에탄올 추출물은 12시간, 졸참나무와 떡갈나무의 경우는 6-8시간 동안의 생육억제효과를 나타냈다. *Listeria monocytogenes* ATCC 19111에 대한 생육저해효과는 갈참나무 잎 에탄올 추출물이 10시간 동안 생육을 억제하는 효과를 나타냈으며 나머지 참나무 잎 에탄올 추출물은 2시간 정도의 미비한 생육억제효과를 나타냈다. *Escherichia coli* O157:H7 933균에 대한 생육억제효과는 갈참나무 잎 에탄올 추출물이 16시간의 생육억제효과를 나타냈으며, 나머지 참나무 잎 에탄올 추출물에 대해서는 6-8시간 동안 억제 효과를 나타냈다. *Salmonella typhimurium* ATCC 14028균에 대한 참나무 잎 에탄올 추출물의 생육억제효과는 갈참나무의 잎 에탄올 추출물이 24시간 이상 생육을 억제하였으며, 다른 참나무 종은 6-8시간 동안 생육억제효과를 나타냈다.

Bioscreen C법을 통한 참나무 잎 에탄올 추출물의 생육억제효과는 참나무 수종에 따라 차이가 있었으나 그람음성균 보다 그람양성균에 대해 더 강한 생육억제효과를 나타냈으며, 참나무 6종의 잎 에탄올 추출물 중 갈참나무 잎 에탄올 추출물이 시험 균주에 대해 가장 강한 생육억제효과를 나타냈다.

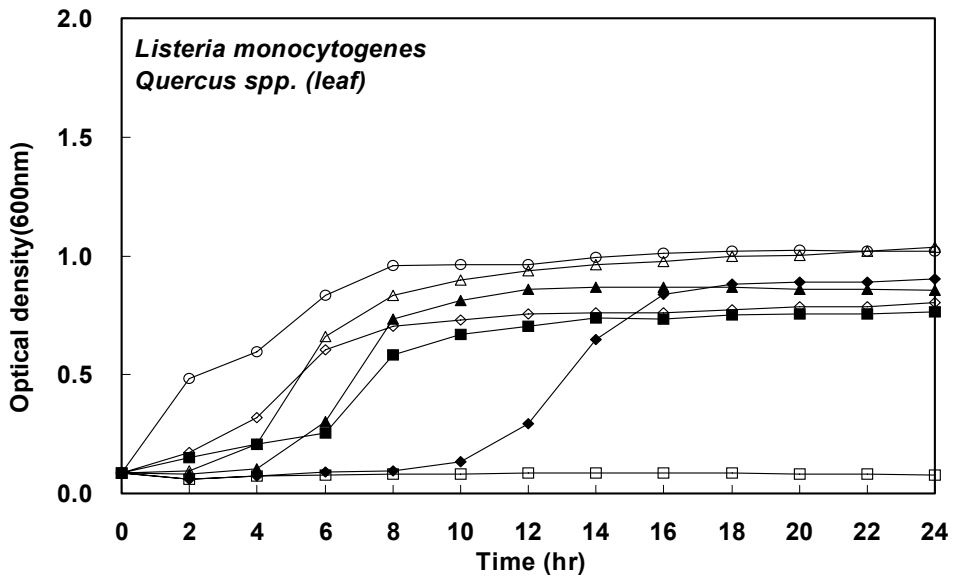
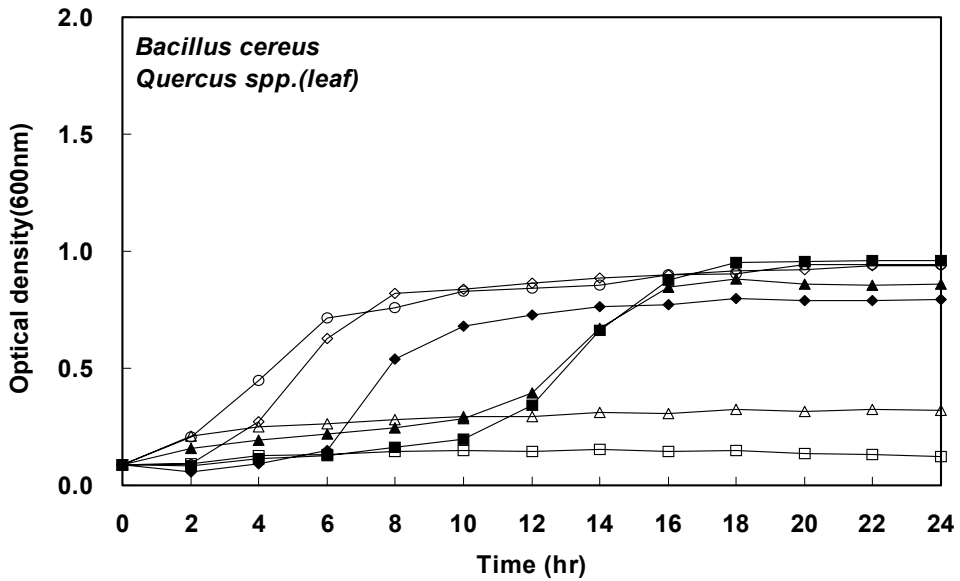


Figure. 1-3. Antimicrobial activity of the ethanol extractives from *Quercus spp.* leaves against the growth of various pathogene bacteria.

□ *Q. aliena*, ■ *Q. variabilis*, ◇ *Q. dentata*, ◆ *Q. serrata*, △ *Q. mongolica*, ▲ *Q. acutissima*, ○ control

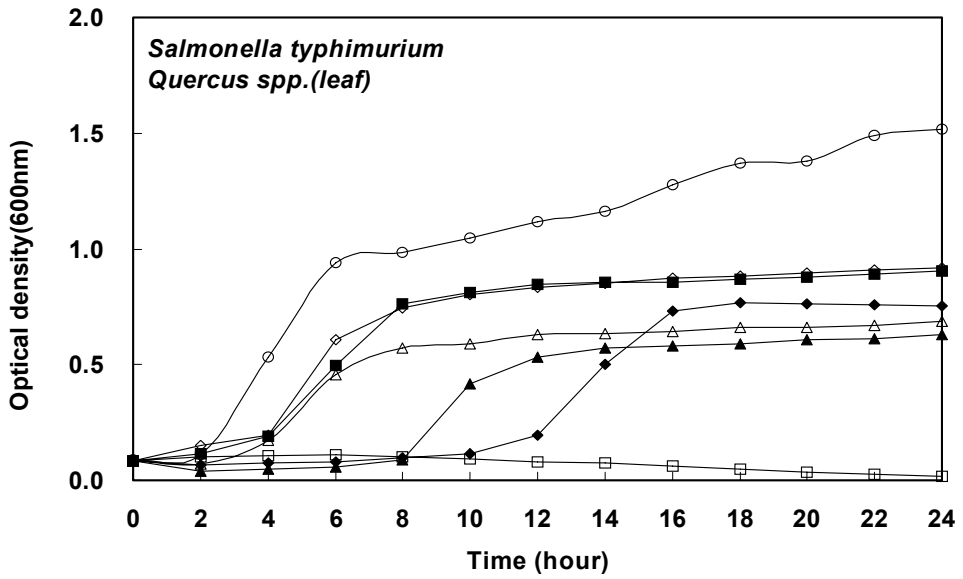
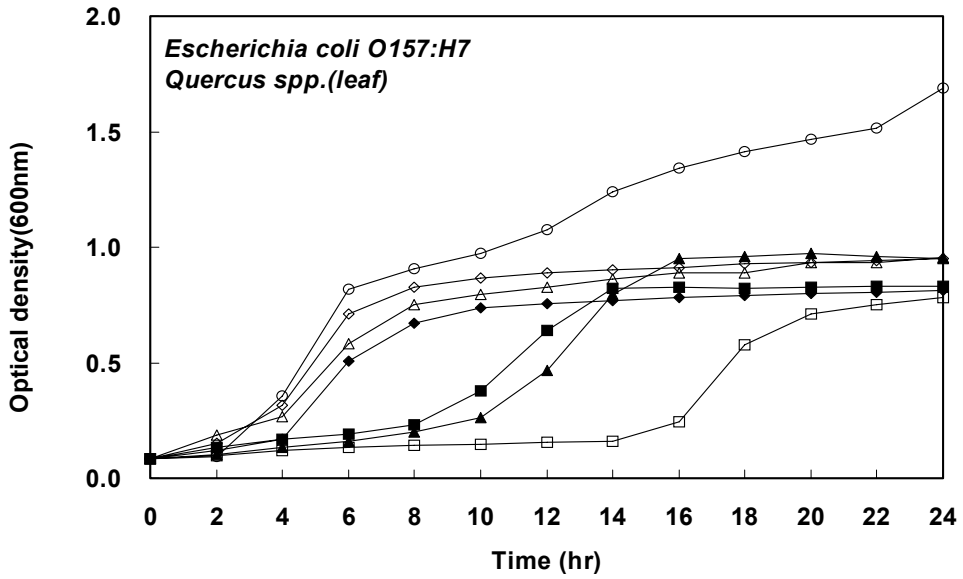


Figure. 1-4. Antimicrobial activity of the ethanol extractives from *Quercus* spp. leaves against the growth of various pathogene bacteria.

◻ *Q. aliena*, ■ *Q. variabilis*, ◇ *Q. dentata*, ◆ *Q. serrata*, △ *Q. mangolica*, ▲ *Q. acutissima*, ○ control

나) Bioscreen C를 통한 참나무 6종 수피 추출물의 inhibition growth test

Bioscreen C를 이용한 참나무 6종 수피 에탄올 추출물 생육저해효과를 검토하기 위해 tryptic soy broth에 참나무 수피 에탄올 추출물을 2000 μ g/ml씩 첨가한 후 대조구와 비교하여 그 결과를 Figure. 1-5와 1-6에 나타냈다.

Bacillus cereus ATCC 9634에 대한 생육효과는 갈참나무의 수피 에탄올 추출물이 24시간 동안 생육을 억제시켰으며 상수리나무는 12시간, 졸참나무와 굴참나무, 떡갈나무, 신갈나무는 6시간 동안 생육억제효과를 나타냈다. *Listera monocytogenes* ATCC 19111에 대한 생육효과는 갈참나무와 신갈나무의 수피 에탄올 추출물에서만 나타났으며 *Escherichia coli* O157:H7 933과 *Salmonella typhimurium* ATCC 14028균에 대한 생육저해효과는 참나무 6종의 수피 에탄올 추출물 모두 생육억제효과를 나타냈다.

참나무 6종의 수피 에탄올 추출물의 그람음성균과 그람양성균 4종에 대한 생육억제효과는 균종에 따라 차이가 있었으나 그람음성균보다 그람양성균에 대해 더 강한 생육억제효과를 나타냈으며 참나무 6종의 수피 에탄올 추출물 중 갈참나무의 수피 에탄올 추출물이 가장 높은 생육억제효과를 나타냈다.

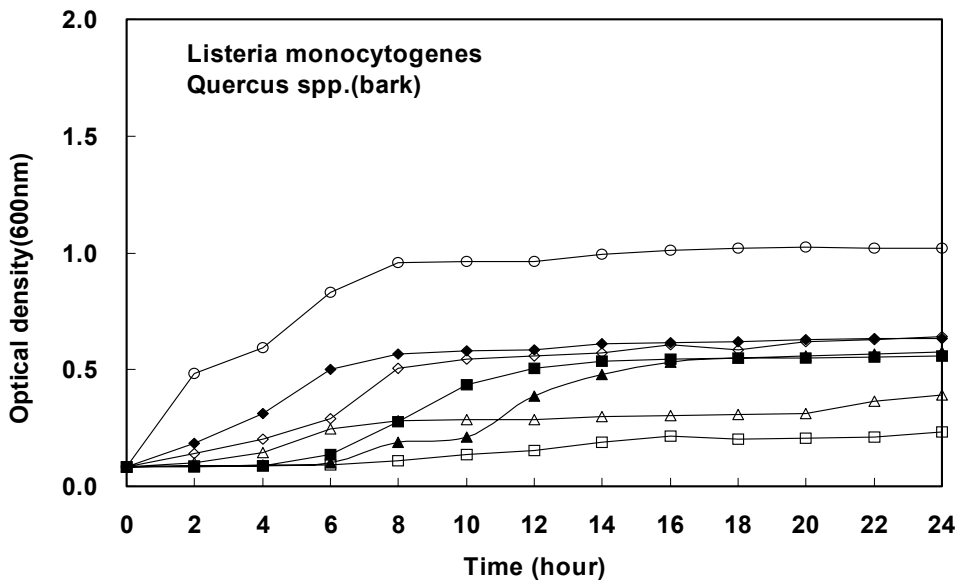
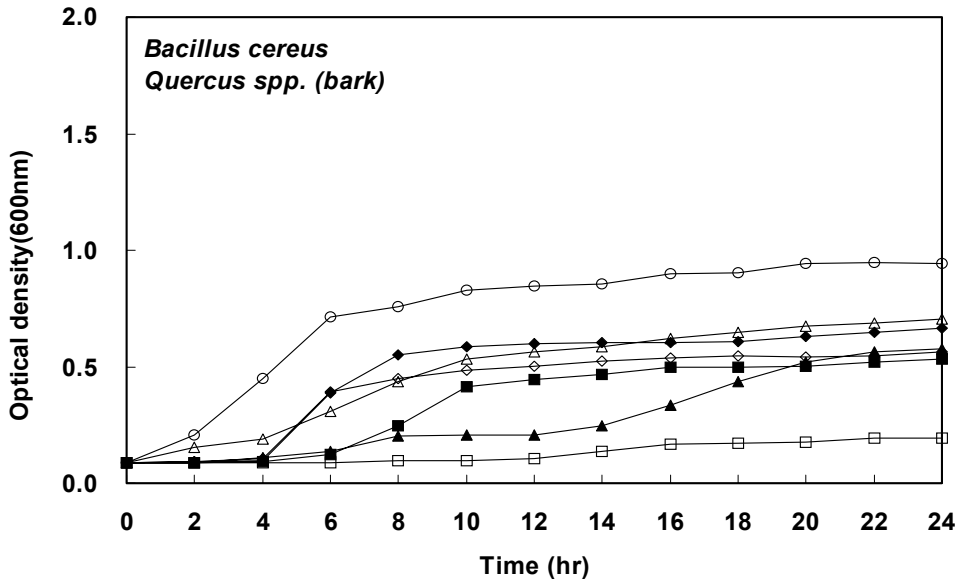


Figure. 1-5. Antimicrobial activity of the ethanol extractives from *Quercus spp.* bark against the growth of various pathogene bacteria.

□ *Q. aliena*, ■ *Q. variabilis*, ◇ *Q. dentata*, ◆ *Q. serrata*, △ *Q. mongolica*, ▲ *Q. acutissima*, ○ control

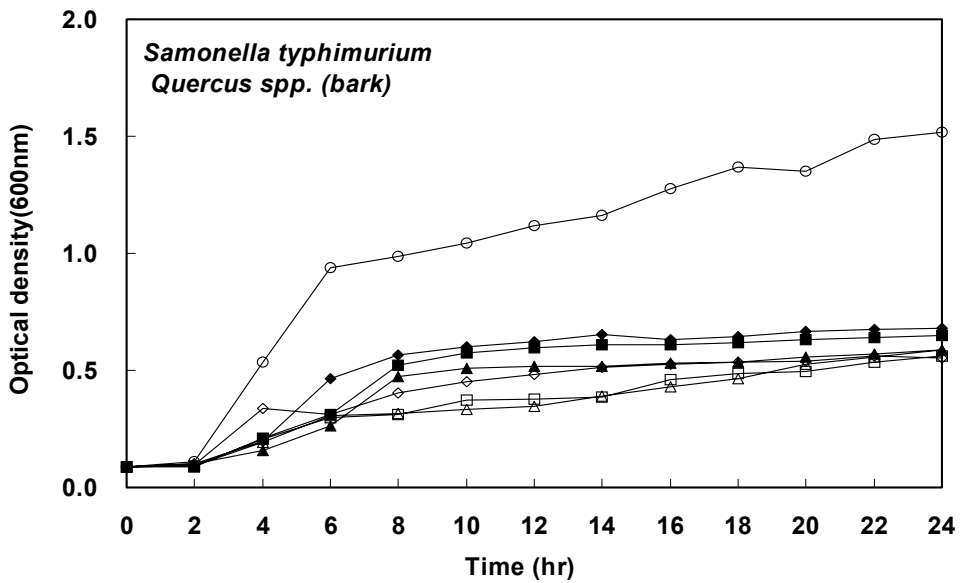
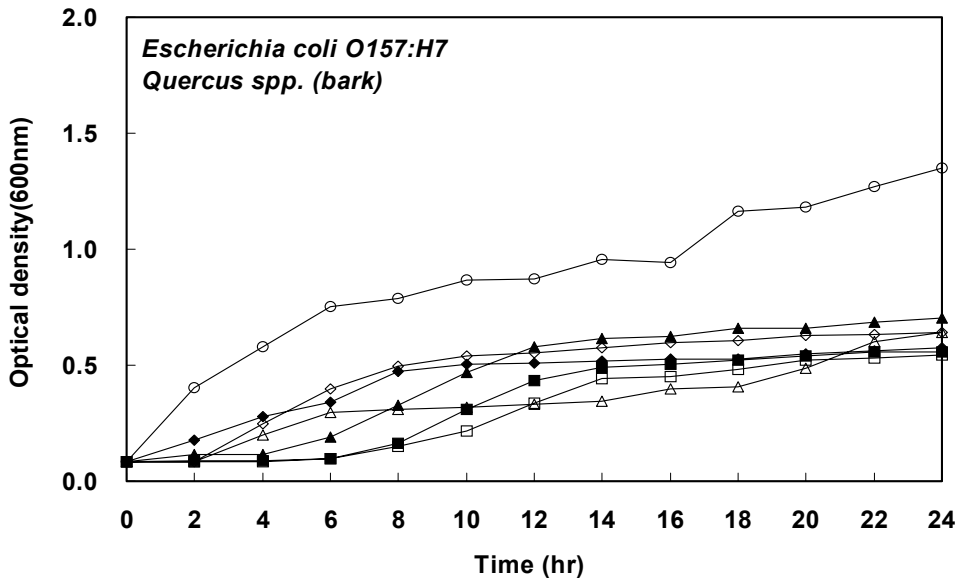


Figure. 1-6. Antimicrobial activity of the ethanol extractives from *Quercus spp.* bark against the growth of various pathogene bacteria.

□ *Q. aliena*, ■ *Q. variabilis*, ◇ *Q. dentata*, ◆ *Q. serrata*, △ *Q. macrocarpa*, ▲ *Q. acutissima*, ○ control

다) Bioscreen C를 통한 참나무 6종 목질부 추출물의 inhibition growth test

Bioscreen C를 이용한 참나무 6종 목질부 에탄올 추출물 생육저해효과를 검토하기 위해 tryptic soy broth에 참나무 목질부 에탄올 추출물을 2000 μ g/ml씩 첨가하여 대조구와 비교한 결과를 Figure. 1-7과 1-8에 나타냈다.

Bacillus cereus ATCC 9634에 대한 생육효과는 갈참나무의 목질부 에탄올 추출물이 24시간 동안 생육을 억제시켰으며 신갈나무는 12시간, 졸참나무와 굴참나무, 떡갈나무, 상수리나무는 4시간 동안 생육억제효과를 나타냈다. *Listera monocytogenes* ATCC 19111에 대한 생육억제 효과는 갈참나무 목질부 에탄올 추출물에서 12시간 이상의 생육억제 효과를 나타냈고 상수리나무가 4시간의 생육억제효과를 나타냈다. *Escherichia coli* O157:H7 933과 *Salmonella typhimurium* ATCC 14028균에 대한 참나무 6종의 목질부 에탄올 추출물은 모두 4시간 정도의 생육억제효과를 나타냈다.

참나무 6종의 목질부 에탄올 추출물은 그람음성균과 그람양성균 4종에 대한 생육억제효과는 각종에 따라 차이가 있었으나 그람음성균보다 그람양성균에 대해 더 강한 생육억제효과가 나타났으며 참나무 6종의 목질부 에탄올 추출물 중 갈참나무의 목질부 에탄올 추출물이 가장 높은 생육억제효과를 나타냈다.

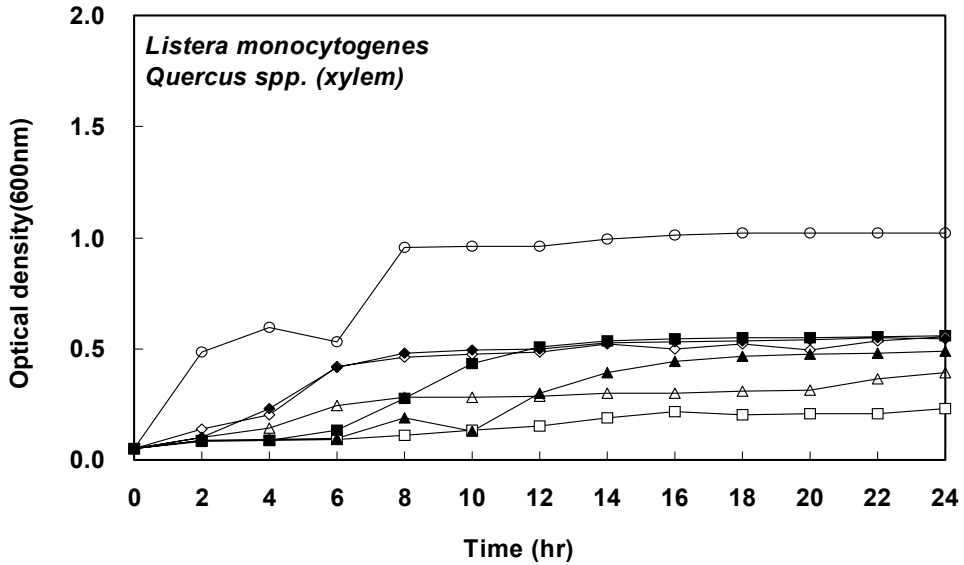
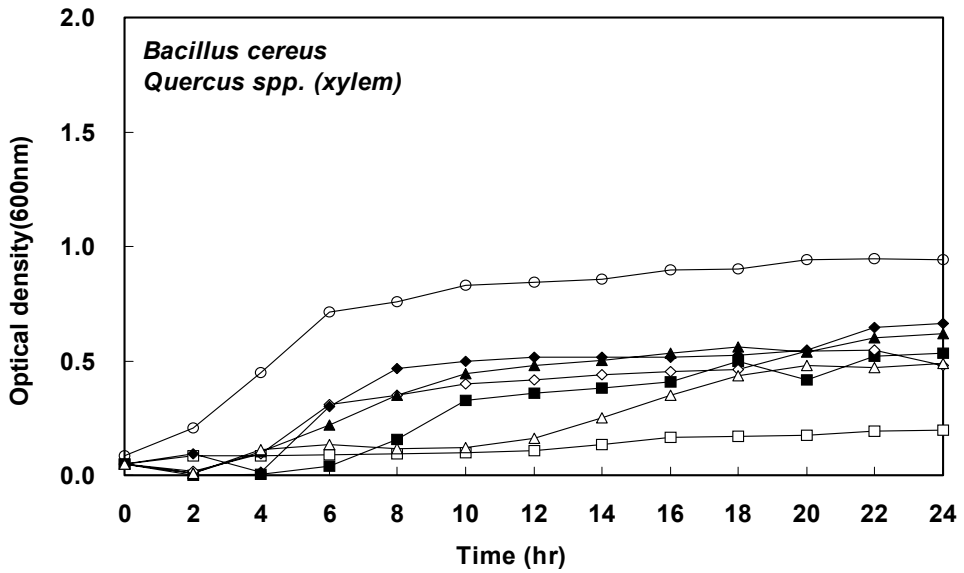


Figure. 1-7. Antimicrobial activity of the ethanol extractives from *Quercus spp.* xylem against the growth of various pathogene bacteria.

□ *Q. aliena*, ■ *Q. variabilis*, ◇ *Q. dentata*, ◆ *Q. serrata*, △ *Q. mongolica*, ▲ *Q. acutissima*, ○ control

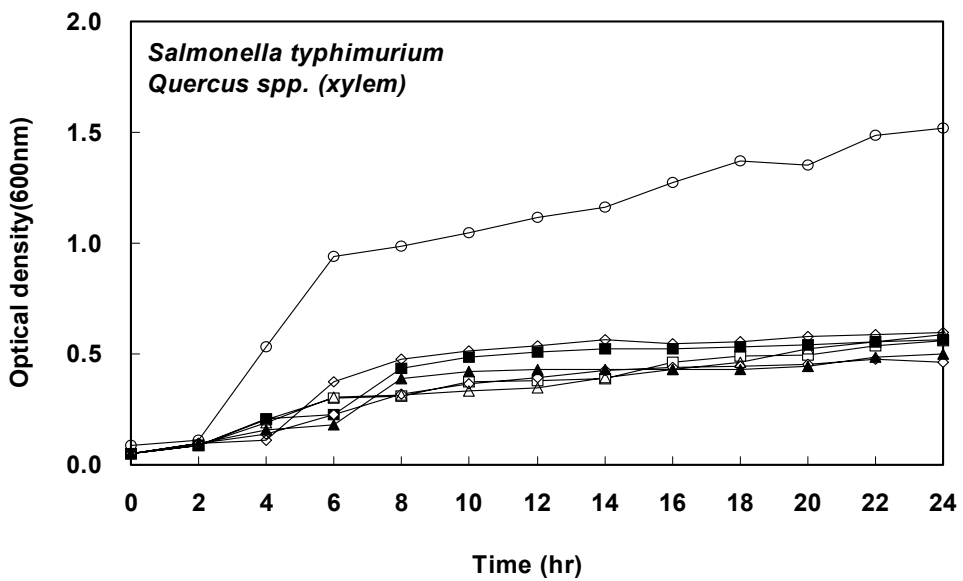
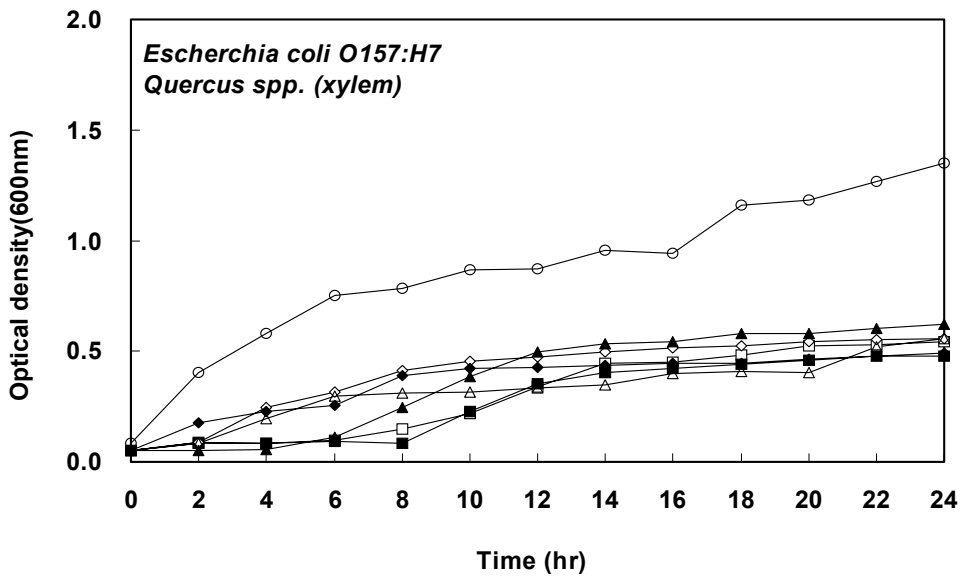


Figure. 1-8. Antimicrobial activity of the ethanol extractives from *Quercus* spp. xylem against the growth of various pathogene bacteria.

◻ *Q. aliena*, ■ *Q. variabilis*, ◇ *Q. dentata*, ◆ *Q. serrata*, △ *Q. macrocarpa*, ▲ *Q. acutissima*, ○ control

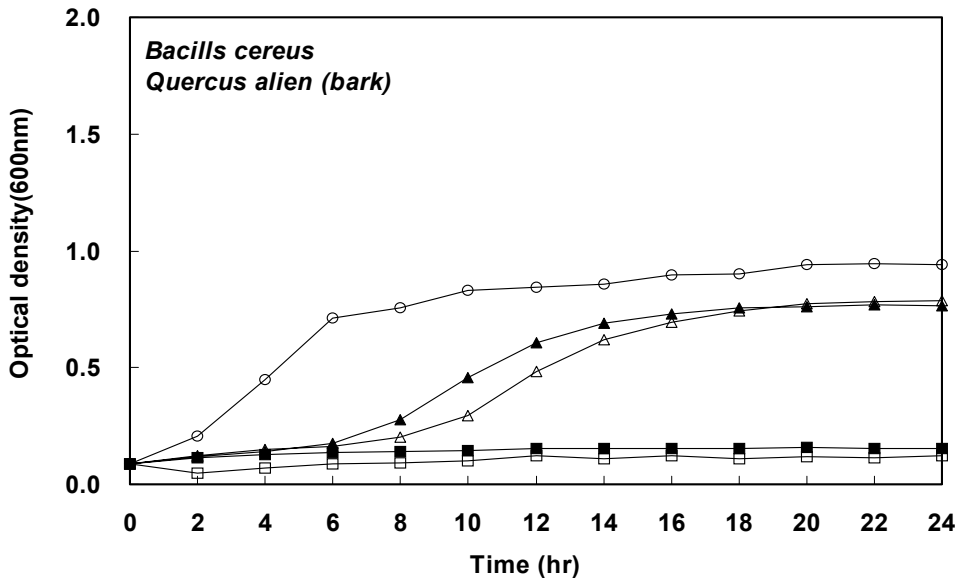
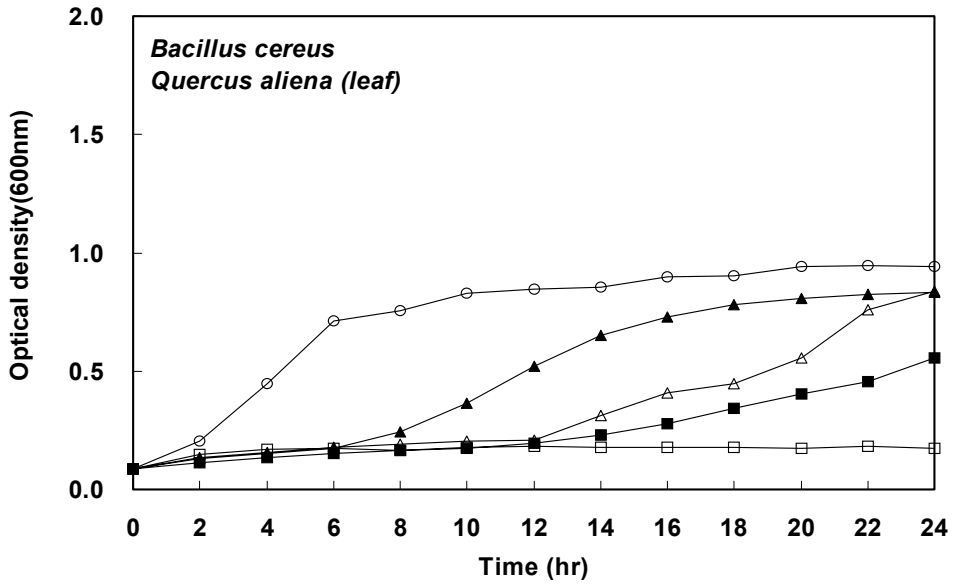
5) 갈참나무 추출물의 첨가에 따른 inhibition growth test

참나무 6종 중 생육저해 효과가 가장 높은 갈참나무 부위별 에탄올 추출물을 각각 2000, 1000, 500, 250 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 씩 첨가하여 그람양성균과 그람음성균에 대한 생육억제효과를 살펴보았다.

갈참나무 추출물의 생육억제 효과를 측정하기 위한 시험 균주로 *Bacillus cereus* ATCC 9634, *Listeria monocytogenes* ATCC 19111, *Escherichia coli* O157:H7 933, *Salmonella typhimurim* ATCC 14028을 사용하였다. 각 시험균의 초기농도를 1×10^5 CFU/ml가 되도록 접종하고 갈참나무 추출물을 2000, 1000, 500, 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 가 되게 첨가한 후, Bioscreen C (Labsystem, FP-1100-C, Finland)로 35 $^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 배양하여 균의 생육상태를 optical density(O.D)값으로 측정하였다.

가) *Bacillus cereus* ATCC 9634에 대한 inhibition growth test

갈참나무의 잎, 수피, 목질부 에탄올 추출물을 각각 2000, 1000, 500, 250 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 씩 첨가하여 *Bacillus cereus* ATCC 9634에 대한 생육 억제 효과에 대해 측정된 결과를 Figure. 1-9에 나타냈다. 갈참나무의 잎 추출물 2000 μg 을 첨가하였을 때 24시간 동안 생육 저해 효과를 나타내었고, 1000 μg 과 500 μg 에서는 12 시간 동안의 생육 저해 효과를 나타냈다. 수피 에탄올 추출물은 1000 μg 에서 목질부 에탄올 추출물은 500 μg 이상에서 24 시간 동안의 생육 저해 효과를 나타냈다. 갈참나무의 잎, 수피, 목질부 에탄올 추출물에 대한 *Bacillus cereus* ATCC 9634의 생육 저해 효과는 모든 부위의 에탄올 추출물이 500 μg 이상 첨가했을 때 생육 저해 효과를 나타냈다. Figure. 1-9의 결과 잎에 비해 목질부가 *Bacillus cereus* ATCC 9634에 비해 더 높은 생육 저해 효과를 나타내는 것은 균종에 따른 항균물질의 항균성 발현 정도의 차이 때문으로 생각된다.



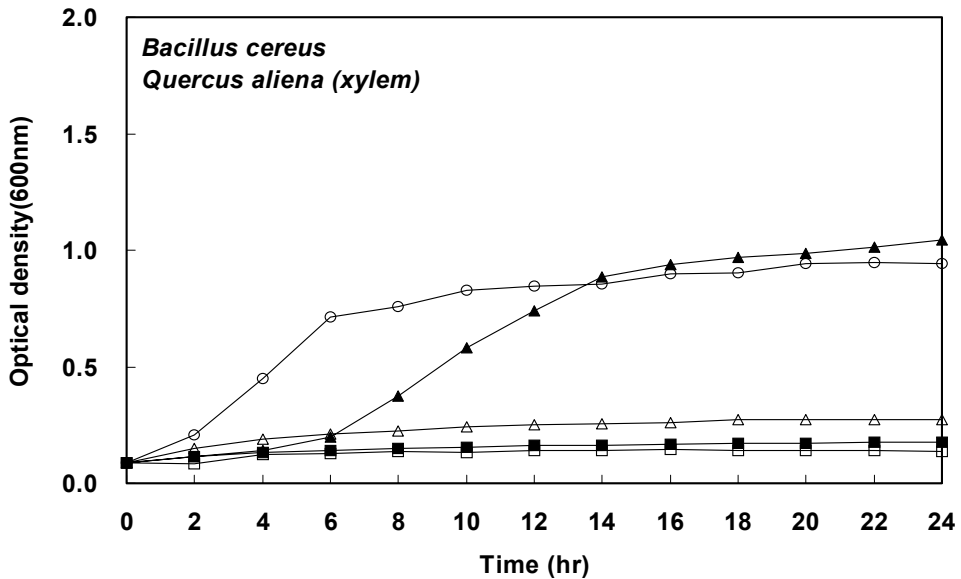
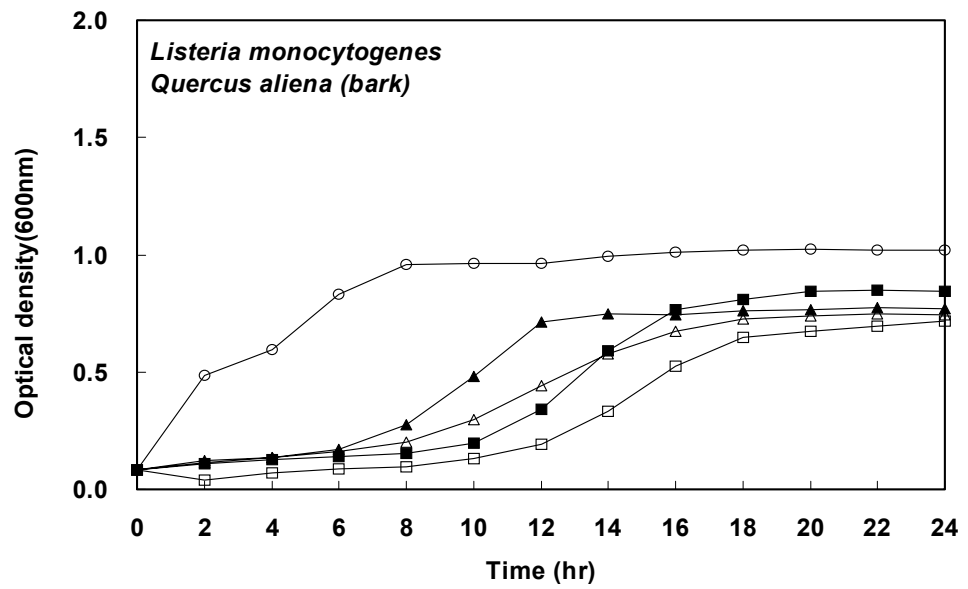
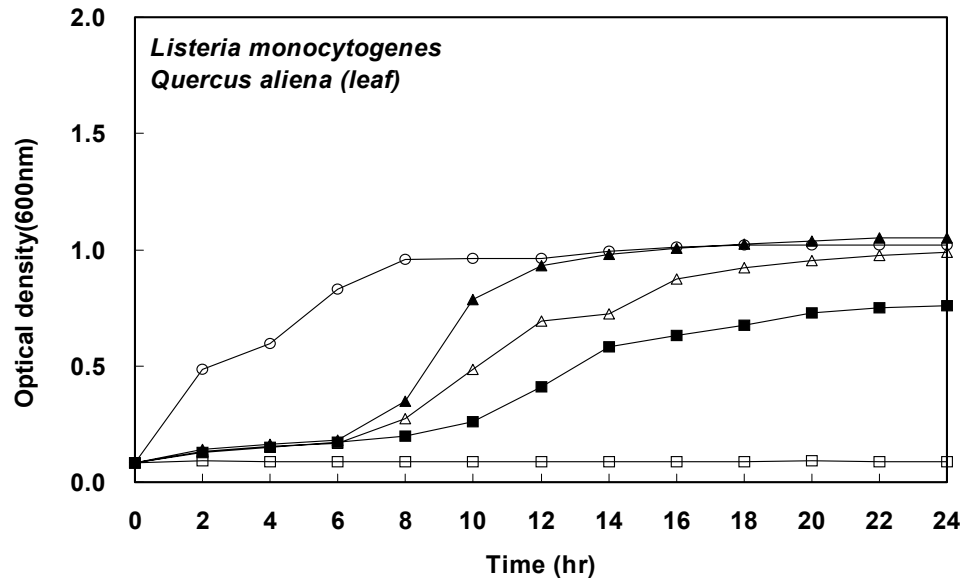


Figure. 1-9. Antimicrobial activity of the ethanol extractives from *Quercus aliena* against the growth of *Bacillus cereus*.

□ 2000µg/µl, ■ 1000µg/µl, △ 500µg/µl, ▲ 250µg/µl, ○ control

나) *Listeria monocytogenes* ATCC 9634에 대한 inhibition growth test

Figure. 1-10은 갈참나무의 잎, 수피, 목질부 에탄올 추출물을 각각 2000, 1000, 500, 250µg/µl 씩 첨가하여 *Listeria monocytogenes* ATCC 19111에 대한 생육저해효과를 bioscreen C를 이용하여 실험한 결과이다. 갈참나무 잎 에탄올 추출물을 2000µg 적용하였을 때 24시간 이상의 생육저해 효과를 나타냈으며, 1000µg에서는 10시간 정도의 생육저해 효과와 500과 250µg의 경우 6시간 정도의 생육 저해 효과를 나타내었다. 갈참나무 수피 에탄올 추출물을 250, 500, 1000, 2000µg 적용하였을 때 8시간 이상의 비슷한 생육저해 효과를 나타내었으며, 목질부 에탄올 추출물의 경우 모든 농도에서 10시간 정도의 생육저해 효과를 나타내었다. 대조군에 비하여 모두 생육억제효과를 나타내었으나 *Bacillus cereus* ATCC 9634보다 억제효과가 낮은 것으로 나타났다.



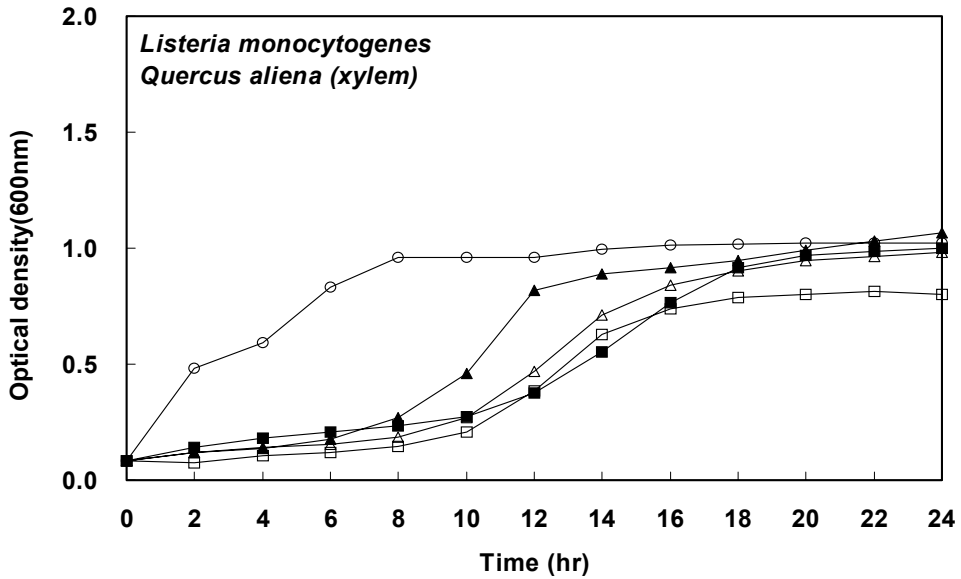
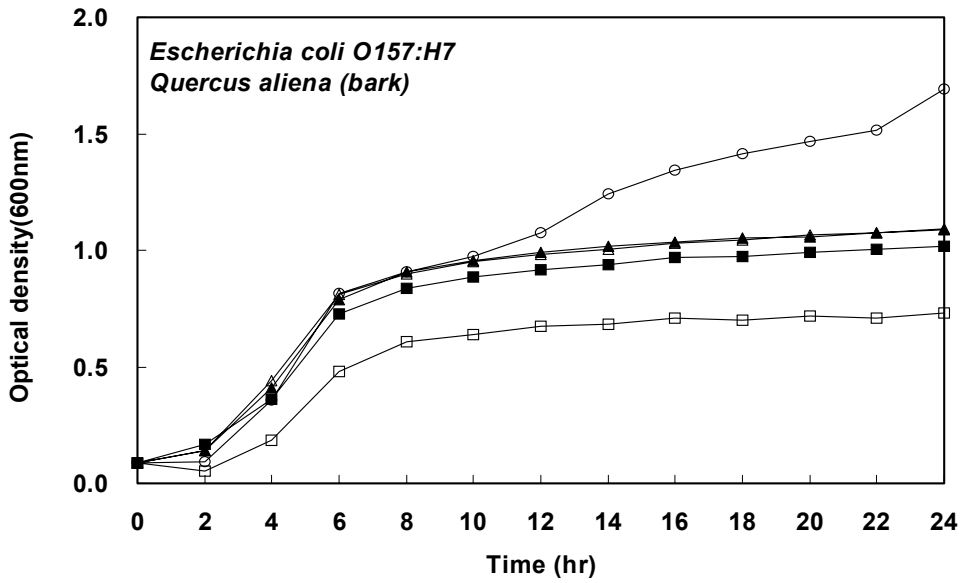
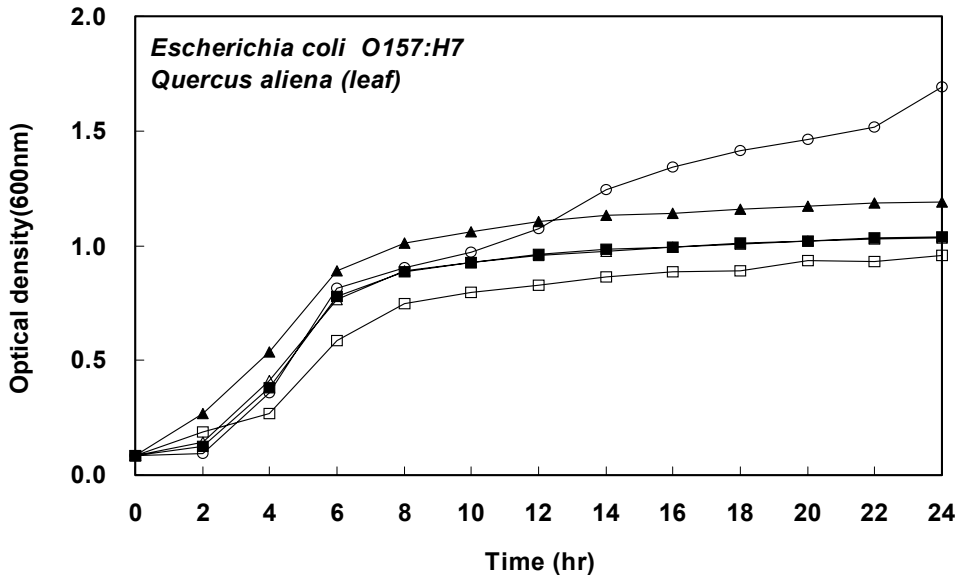


Figure. 1-10. Antimicrobial activity of the ethanol extractives from *Quercus aliena* against the growth of *Listeria monocytogenes*.

□ 2000 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, ■ 1000 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, △ 500 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, ▲ 250 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, ○ control

다) *Escherichia coli* O157:H7 933에 대한 inhibition growth test

Figure. 1-11은 *Escherichia coli* O157:H7 933에 대한 생육억제효과를 나타낸 결과이다. 갈참나무의 부위별 에탄올 추출물은 농도가 증가함에 따라 생육저해효과가 상승하는 것을 볼 수 있으나 억제 효과가 미약한 것으로 나타났다. 갈참나무의 잎과 수피, 목질부 에탄올 추출물은 2시간 정도의 생육억제효과를 나타냈다. *Escherichia coli* O157:H7 933그램양성균인 *Bacillus cereus* ATCC 9634와 *Listeria monocytogenes* ATCC 19111과 비교하였을 때 더 낮은 생육저해효과를 나타내었다. 이러한 결과는 갈참나무 부위별 에탄올 추출물이 그람음성균 보다 그람양성균에 대해 더 높은 항균 활성을 발현하기 때문이라고 생각한다.



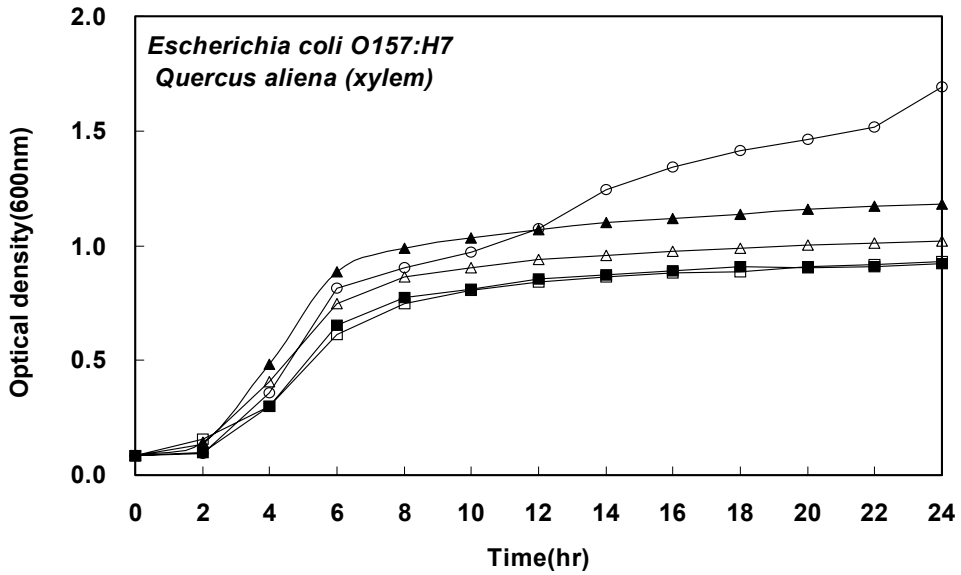
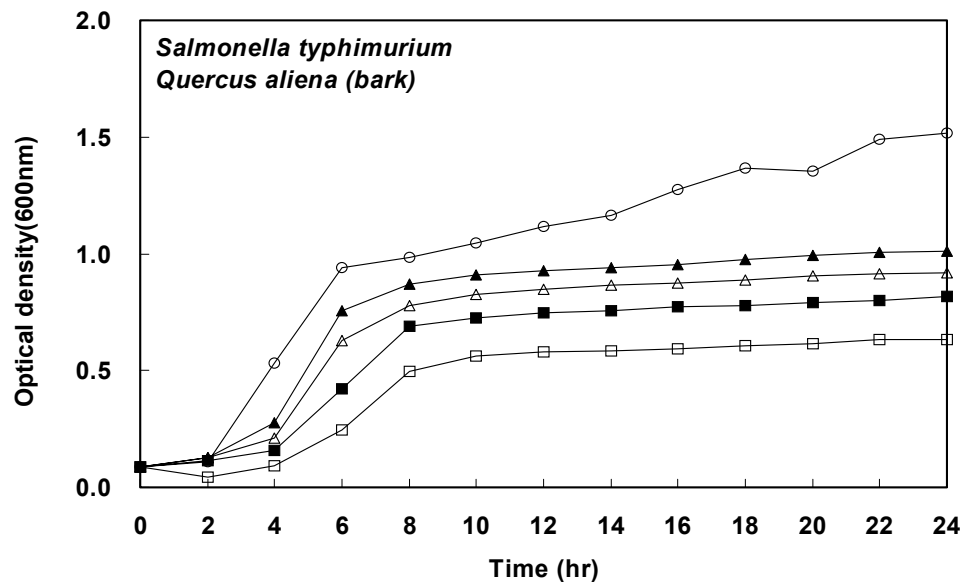
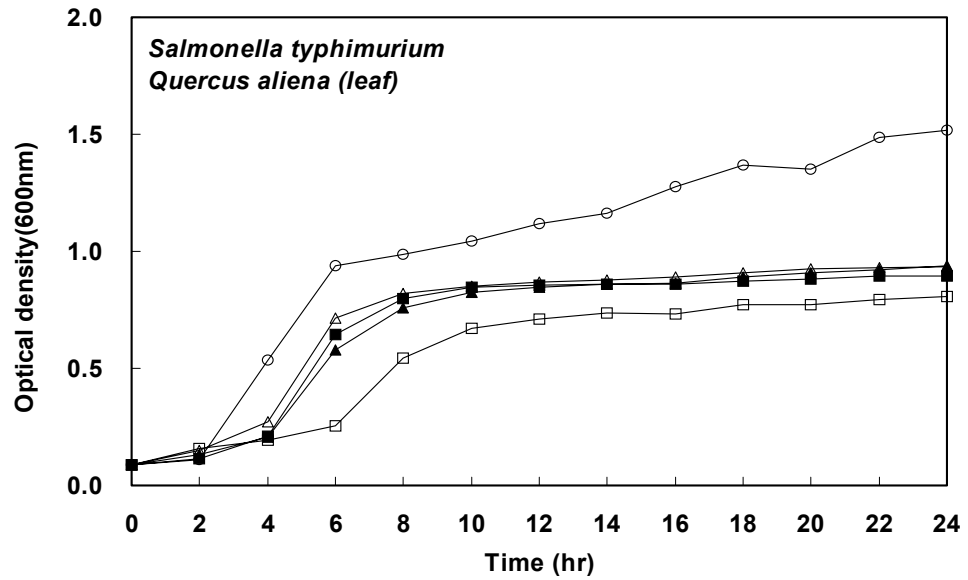


Figure. 1-11. Antimicrobial activity of the ethanol extractives from *Quercus aliena* against the growth of *Escherichia coli* O157:H7

□ 2000µg/µl, ■ 1000µg/µl, △ 500µg/µl, ▲ 250µg/µl, ○ control

라) *Salmonella typhimurium* ATCC 14028에 대한 inhibition growth test

Figure. 1-12는 *Salmonella typhimurium* ATCC 14028에 대한 갈참나무 부위별 에탄올 추출물의 생육저해 효과를 나타낸 것이다. 첨가 농도가 증가함에 따라 생육저해 효과가 증가하는 것을 볼 수 있으며 대조구에 대해 부위별 에탄올 추출물은 더 우수한 생육저해 효과를 나타냈으나 그 효과가 미약하였다. 갈참나무 잎 에탄올 추출물은 수피와 목질부 에탄올 추출물에 비해 더 높은 생육저해 효과를 나타내며 그람음성균인 *Salmonella typhimurium* ATCC 14028은 그람양성균 보다 더 낮은 항균활성을 나타냈다.



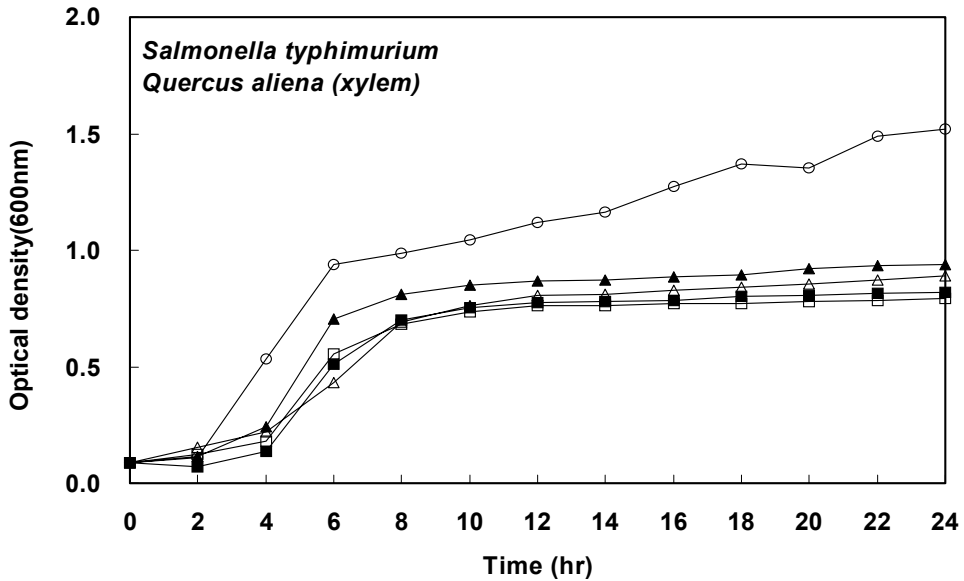


Figure. 1-12. Antimicrobial activity of the ethanol extractives from *Quercus aliena* against the growth of *Salmonella typhimurium*.

□ 2000µg/µl, ■ 1000µg/µl, △ 500µg/µl, ▲ 250µg/µl, ○ control

6) 갈참나무 잎 분획물의 inhibition growth test

참나무 6종의 부위별 에탄올 추출물 중 가장 높은 항균 활성을 나타냈던 갈참나무 잎을 극성이 다른 용매인 부탄올, 에틸아세테이트, 헥산, 클로로포름으로 분획하여 분획물을 제조하고 분획물의 paper disk 법을 통한 항균 활성 분석을 통해 항균 활성을 나타냈던 에틸아세테이트와 부탄올 분획물에 대하여 농도별 생육억제효과를 살펴보았다.

가) Ethylacetate 분획물의 inhibition growth test

Figure. 1-13과 1-14는 에틸아세테이트 분획물의 생육저해효과를 나타낸 것으로 *Bacillus cereus* ATCC 9634에 대한 생육저해효과는 500µg 이상 처리하였

을 때 24시간 동안 생육억제효과를 나타냈으며 250 μ g은 12시간의 생육억제효과를 나타내었다. *Listeria monocytogenes* ATCC 19111은 500 μ g 이상에서 24시간 이상의 생육억제효과를 나타냈으며 250 μ g을 처리하였을 때 18시간 이상의 생육억제효과를 나타내어 비교적 항균활성이 높은 것을 알 수 있었다. *Escherichia coli* O157:H7 933과 *Salmonella typhimurium* ATCC 14028은 대조구에 비해 우수한 생육억제효과를 나타냈다. 그람양성균과 그람음성균에 대한 생육억제효과는 균종에 따라 차이는 있지만 그람양성균이 그람음성균에 비해 더 높은 생육저해효과를 나타냈다.

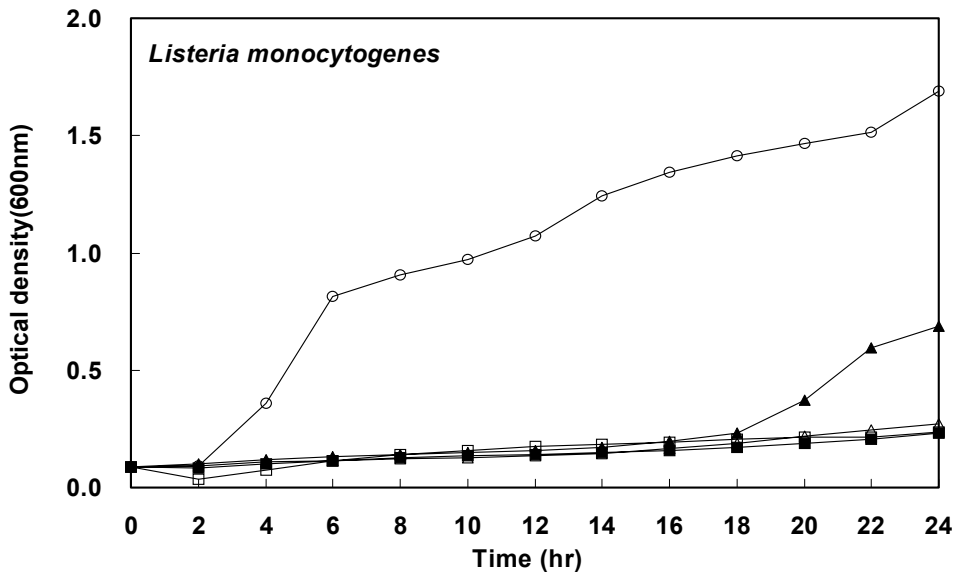
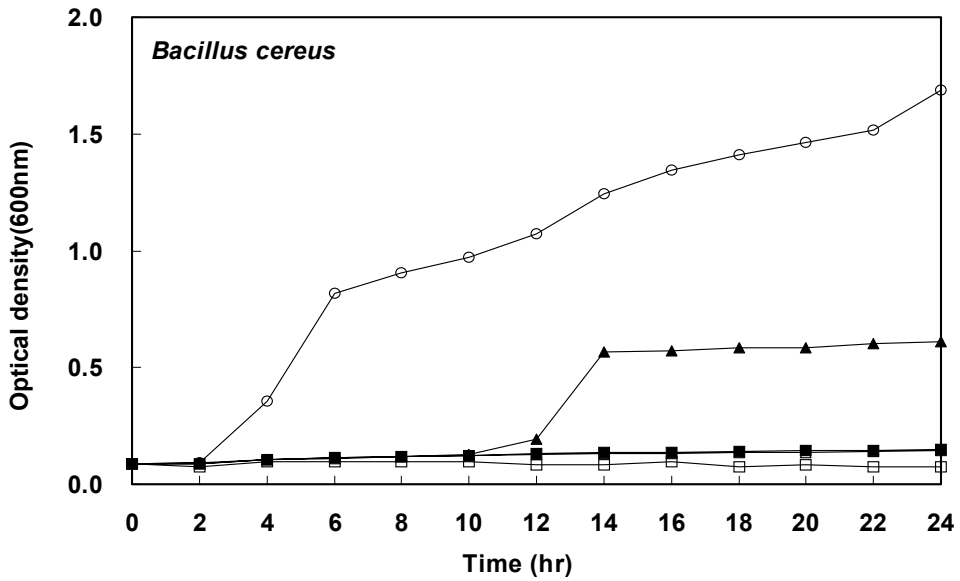


Figure. 1-13. Inhibitory effects of ethylacetate fraction from ethanol extractives of *Quercus aliena* leaf against various pathogenic bacteria.

◻ 2000 µg/µl, ■ 1000 µg/µl, △ 500 µg/µl, ▲ 250 µg/µl, ○ control

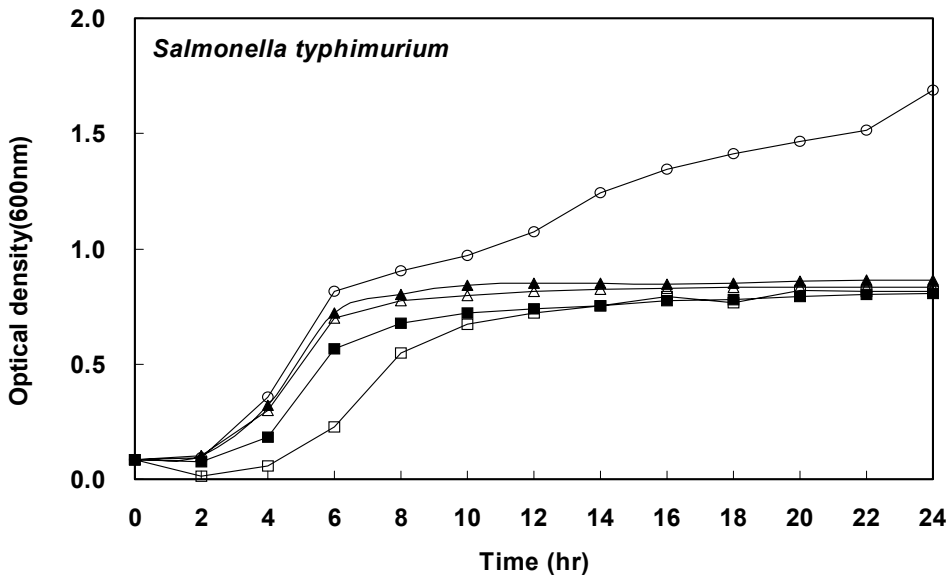
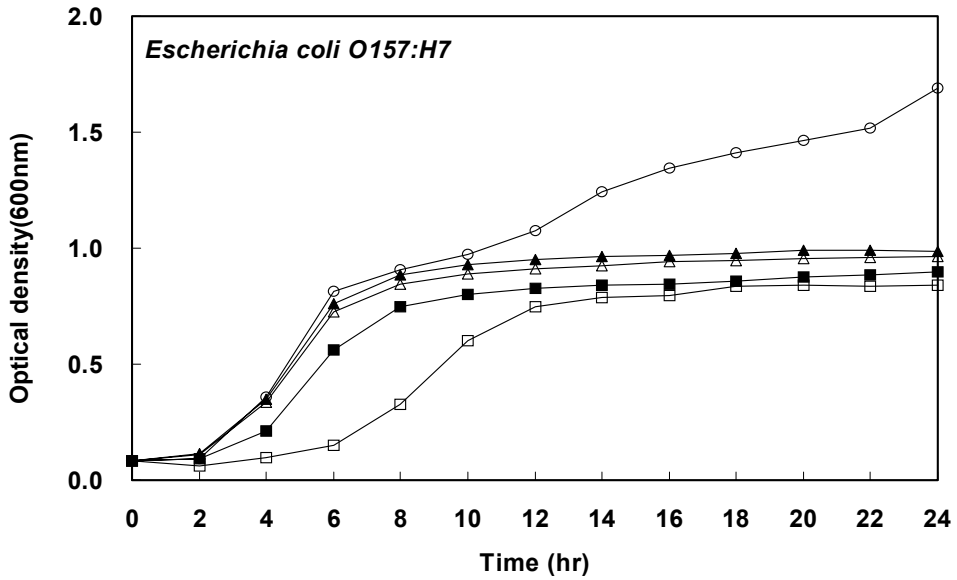


Figure. 1-14. Inhibitory effects of ethylacetate fraction from ethanol extractives of *Quercus aliena* leaf against various pathogenic bacteria.

□ 2000 µg/µl, ■ 1000 µg/µl, △ 500 µg/µl, ▲ 250 µg/µl, ○ control

나) Butanol 분획물의 inhibition growth test

Figure. 1-15와 16은 부탄올 분획물을 각각 2000, 1000, 500, 250 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 씩 첨가하고 대조군과 비교하여 생육저해효과를 나타내었다. *Bacillus cereus* ATCC 9634는 500 μg 이상 첨가하였을 경우 24시간 동안 생육저해효과를 나타냈으며 250 μg 을 첨가하였을 때는 8시간 정도의 생육억제효과를 나타냈다. *Listeria monocytogenes* ATCC 19111은 1000 μg 이상에서 24시간 생육저해효과를 나타냈으며 500 μg 에서 18시간의 생육억제효과를 나타냈다. *Escherichia coli* O157:H7과 *Salmonella typhimurium* ATCC 14028에 대해서는 대조구 보다 높은 생육억제효과를 나타냈으나 효과가 미약한 것으로 나타났다. 부탄올 분획물에 대한 생육억제 효과는 균종에 따라 차이는 있으나 그람음성균에 비해 그람양성균이 더 높은 생육저해효과를 나타냈다.

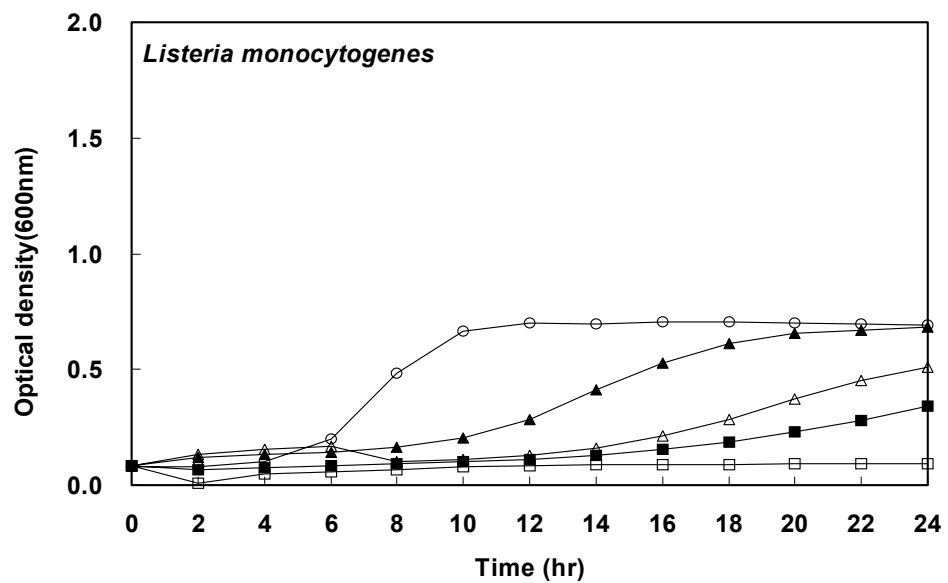
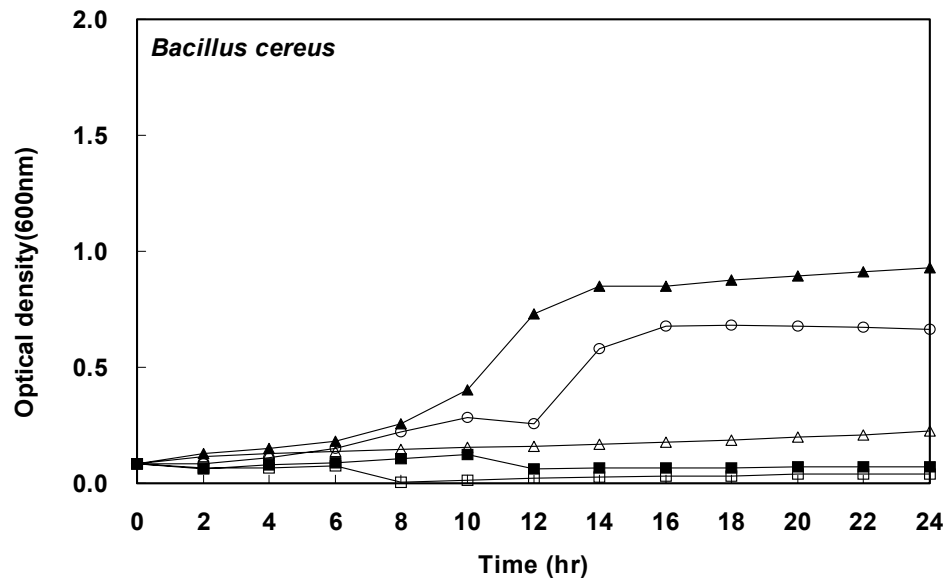


Figure. 1-15. Inhibitory effects of Butanol fraction from ethanol extractives of *Quercus aliena* leaf against various pathogenic bacteria.

□ 2000 µg/µl, ■ 1000 µg/µl, △ 500 µg/µl, ▲ 250 µg/µl, ○ control

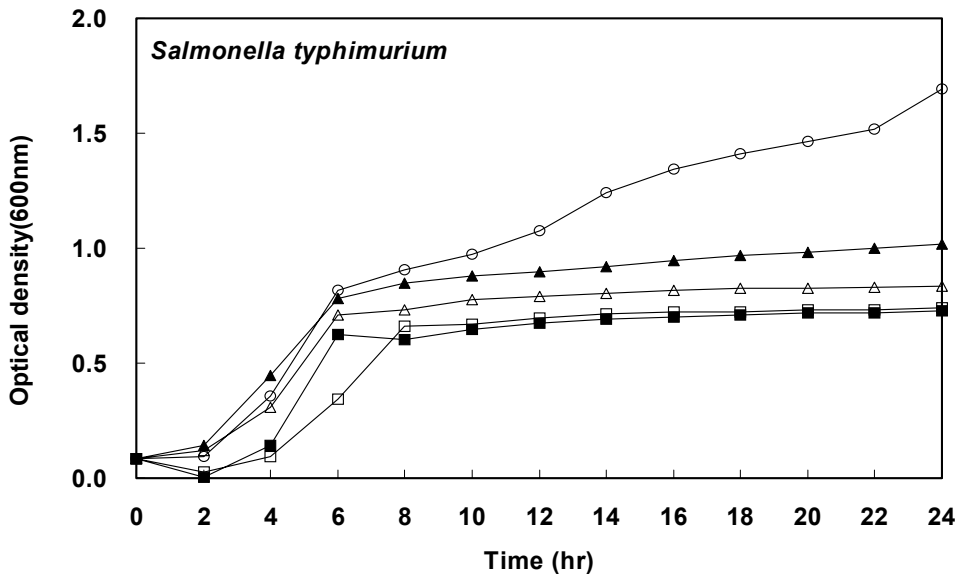
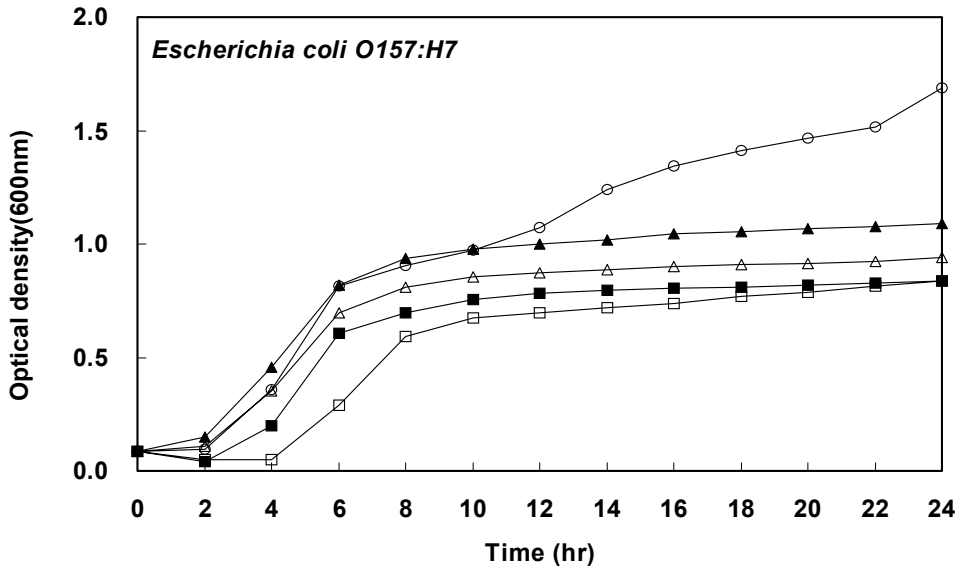


Figure. 1-16. Inhibitory effects of Butanol fraction from ethanol extractives of *Quercus aliena* leaf against various pathogenic bacteria.

◻ 2000 µg/µl, ■ 1000 µg/µl, △ 500 µg/µl, ▲ 250 µg/µl, ○ control

나. 참나무 추출물의 단리

1) 분획물질의 분리 정제

항균활성이 가장 강하게 나타난 갈참나무 잎 추출물의 에틸아세테이트 분획물을 JLE로 명명하고 JLE의 순수한 단일 화합물을 단리하기 위하여 분획물(6g)을 methanol에 용해시켜 column chromatography를 실시하였으며, 이때 충전물질은 Sephadex LH-20을 사용하였다. 우선 McOH:H₂O(5:1, v/v)를 사용하였으며 이후 반복적인 분리에서는 차츰 물의 비율을 증가시켜 극성을 크게 함으로써 분리 능력을 향상시켰으며 반대로 수용성 화합물의 경우 에탄올과 hexan을 넣어 극성을 낮게 함으로써 분리하였다.

분리용 칼럼은 처음에 직경 3cm 길이 100cm 크기의 유리 칼럼을 사용하였으며, 이후의 rechromatography에서는 화합물들의 분리에 따라 양이 감소되므로 보다 작은 직경 2cm, 1cm, 길이 60cm인 칼럼들을 사용하여 화합물을 단리하였다. 이러한 유리칼럼에 전개용매(McOH : H₂O = 5 : 1)로 시료를 용해시켜 충전하였다. 전개용매는 1ml/min의 속도를 유지하였다. 각각의 fraction을 농축 후, 동결 건조하여 rechromatography를 통하여 분획물에 대해 TLC cellulose plate상에서 유사한 위치의 분획물끼리 그룹을 정하였으며, JLE1(0.2g), JLE3(0.41g), JLE4(3.586g), JLE5(0.791g), JLE6(0.418g)과 재결정법에 의한 JLEcrystal(0.425g)을 얻은 다음, 정제과정 중 항균성 물질 확인은 paper disk test와 Bioscreen C로 하여, 항균활성을 나타내는 JLE4를 다시 column chromatography를 실시하였으며, 최종적으로 JLE4223과 JLE4234에서 최종적으로 162mg, 39mg을 얻었으며 이에 대한 항균활성에 대한 실험을 Table. 1-9에 나타내었다. 항균력의 세기는 에탄올 추출물, 에틸아세테이트, JLE4234, JLE4223 순으로 나타났으며 이러한 결과는 갈참나무의 항균력이 단일 물질로 나타나기보다 여러 물질의 상승효과로 항균활성을 나타냄을 알 수 있었다. 화합물의 분리과정과 결과는 Figure. 1-17에 나타냈다.

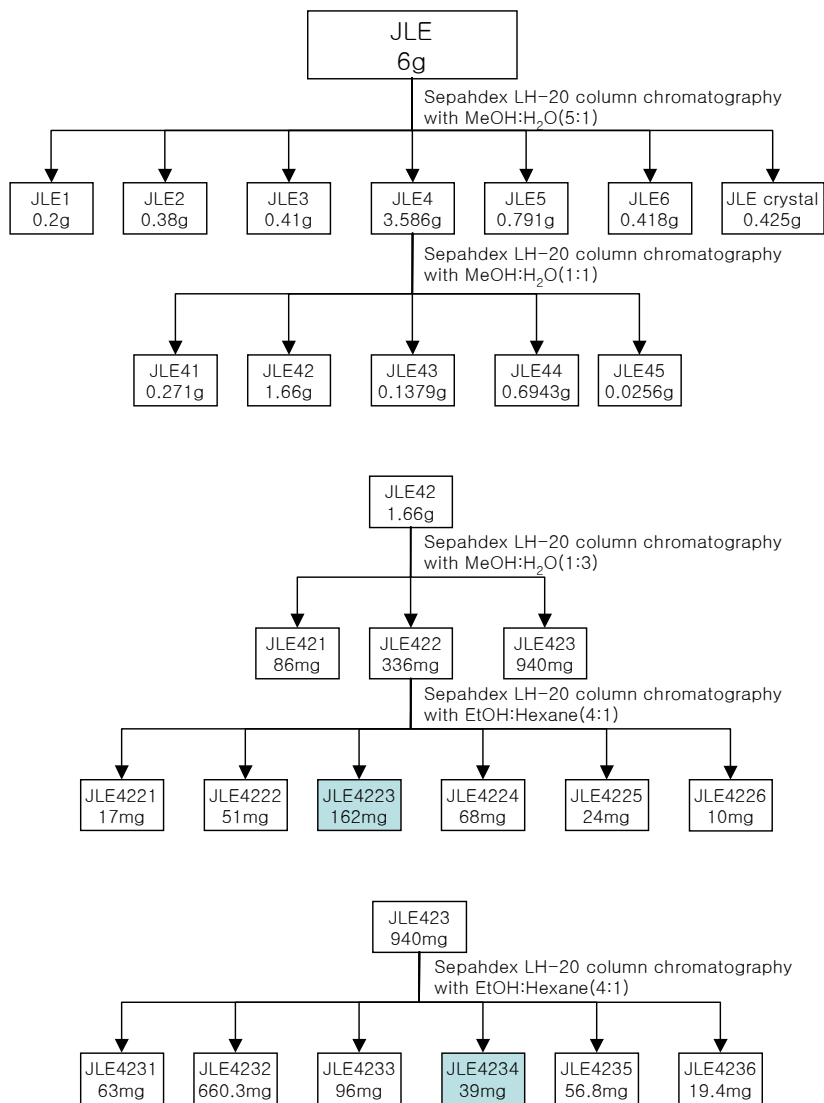


Figure. 1-17. Sephadex LH-20 column chromatographic procedure of ethyl acetate fractions from ethanol extractives of *Quercus aliena* leaf

Table. 1-9. Antimicrobial activities of ethanol extractive, ethylacetate fraction and JLE4234 and JLE4223 on test microorganisms.

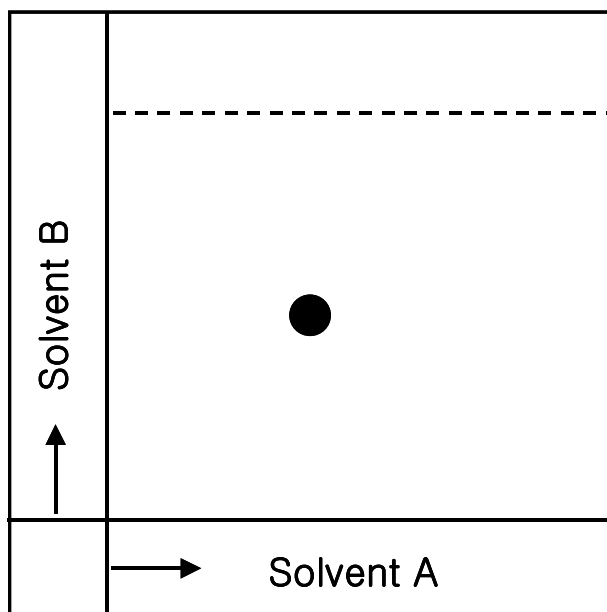
Solvents Microorganism	Inhibition zone(mm) ¹⁾				
	Butanol fraction	Ethylacetate fraction	JLE4234	JLE4223	(+)- ³⁾ catechin
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 9634	20	12	11	9	N.D
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	19	14	12	N.D	N.D
<i>Listeria monocytogenes</i> scott A	19	13	12	N.D	N.D
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	20	20	16	10	N.D
<i>Escheria coli</i> k-12 IFO 3301	17	15	10	N.D	N.D
<i>Escheria coli</i> O157:H7 933	1	14	10	N.D	N.D
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	12	11	N.D ²⁾	N.D	N.D
<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 9610	14	11	N.D	N.D	N.D

¹⁾ Two thousand μg of ethanol extractives was absorbed into paper disc(8mm) and the diameter(mm) of clear zone was measured.

²⁾ Not detected.

³⁾ Control(standard (+)-catechin)

또한 화합물의 분리 여부를 확인하기 위하여 TLC를 실시하였으며, 이때 분리된 화합물의 R_f 측정값은 Figure. 1-18과 같다.



Solvent A : t-butanol-HOAc-H₂O(3:1:1, v/v/v), $R_f(0.33)$

Solvent B : 6% HOAc, $R_f(0.33)$

A : JLE4223 compound

Figure. 1-18. Two dimensional cellulose thin layer chromatogram of the isolated compound

2) 활성물질의 구조해석

다음은 $^1\text{H-NMR}$ 과 $^{13}\text{C-NMR}$ 의 분석 결과이다.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, δ , CH_3OH) spectrum :

2.50(1H, dd, $J=2.1\text{Hz}$, 16.1Hz H-4_{ax}), 2.84(1H, dd, $J=5.4\text{Hz}$, 16.1Hz H_{eq}-4),
3.97(1H, m, H-3), 4.56(1H, d, $J=7.4\text{Hz}$, H-2), 5.85(1H, d, $J=2.1\text{Hz}$, H-6),
5.92(1H, d, $J=2.1\text{Hz}$, H-8), 6.71(1H, dd, $J=1.8\text{Hz}$, $J=8.1\text{Hz}$ H-5'),
6.76(1H, d, $J=8.1\text{Hz}$, H-6'), 6.83(1H, d, $J=1.7\text{Hz}$, H2')

$^{13}\text{C-NMR}$ (100MHz, δ , CH_3OH) spectrum :

28.92(C-4), 69.21(C-3), 83.24(C-2), 95.89(C-8), 96.68(C-6), 101.21(C-10),
115.65(C-2'), 116.48(C-5'), 120.45(C-6'), 132.61(C-1'), 146.62(C-3'),
146.64(C-4'), 157.31(C-9), 157.98(C-5), 158.23(C-7)

이상의 결과에서 (+)-catechin과 유사하고 Figure. 1-18 에서는 (+)-catechin의 R_f 수치를 나타냈으며(0.33,0.33) vanillin-HCl-EtOH의 발색제에 적색으로 반응하였다. 따라서 분리정제한 활성물질을 catechin의 NMR data와 비교 동정하였다.

Figure. 1-20에서와 같이 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에서 δ 5.85와 5.92에서 두 개의 double은 H-6과 H-8의 피크로서 J 값이 2.1Hz와 2.1Hz이므로 페놀환에서 meta coupling이 되었음을 알 수 있으며, Figure. 1-21에서 $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서는 δ 96.68과 95.89가 각각 나타나고 있으므로 phloroglucinol A환의 특징적인 피크 형태를 갖고 있다. δ 2.50에서 나타나는 double doublet 피크는 H-4의 axial 수소로서 vicinal 수소인 H-3에 의해서 8.1Hz 정도의 J 값과 geminal 수소인 H-4의 equatorial 수소에 의해서 5.4Hz의 J 값을 갖는다. 또한 δ 2.84 부근에 나타나는 double doublet 피크는 H-4의 equatorial 수소로서 H-3과 H-4의 axial 수소에 의해서 5.4Hz와 16.1Hz의 J 값을 갖는다. δ 3.97의 피크는 H-3으로서 H-4의 수소들에 의하여 multiplet으로 나타났으며 δ 4.56의 doublet 피크는 H-3으로서 H-2에 의해 J 값이 7.4로 나타났다. $^{13}\text{C-NMR}$ 스펙트럼에서 δ 28.92의 값은 전형적인 flavan-3-ol의 C-4 피크로서 후라보노이드가 갖는 carbonyl기로 구성되어 있음을 알 수 있다. δ 69.21과 83.24의 피크들은 각각 C-3과 C-2에 해당된다.

B환의 구조는 catechol의 형태로서 δ 146.62와 146.64에서 수산기가 결합된 C-3'과 C-4'의 피크가 나타나고 있으며 C-2', 5', 6'은 각각 δ 115.65, 116.48, 120.45에서 나타나고 있다. 이것은 전형적인 catechol B환의 ^{13}C -NMR 스펙트럼 형태를 보여주는 것이다. ^1H -NMR 스펙트럼상에서 H-2'의 피크는 δ 6.83에서 meta coupling되어 J값, 1.7Hz인 doublet으로 나타났으며, H-5'는 δ 6.71에서 H-6'은 ortho coupling에 의해서 J값이 8.1Hz인 doublet으로 나타났다. H-6'은 δ 6.76에서 인접한 수소들에 의해 doublet으로 나타났으며 여러 연구자가 보고한 결과와 동일한 data를 얻었다.

이상의 결과에서 분리정제한 활성물질의 화학구조는 flavon-3-ol인 (+)-catechin으로 확인하였다. 이 화합물은 1902년 Perkin에 의하여 epicatechin과 함께 마호가니 나무로부터 최초로 확인된 물질로써, 현재까지 함유된 카테킨류로서는 (+)-catechin(C)와 (-)-epicatechin(EC), (-)-epigallocatechin-3-gallate(EGCG), (+)-epogallocatechin(EGC) 및 (-)-epocatechin gallate(ECG)등 5성분인 것으로 알려져 있으며, 특히 이들 화합물은 항암 작용이나 고혈압 및 동맥경화 억제작용 등에 효과가 있으며, Agrimonia pilosa로부터 분리된 3종의 catechin에서 *Staphylococcus aureus* 및 세균에서 항균활성을 나타낸다고 발표되었다.

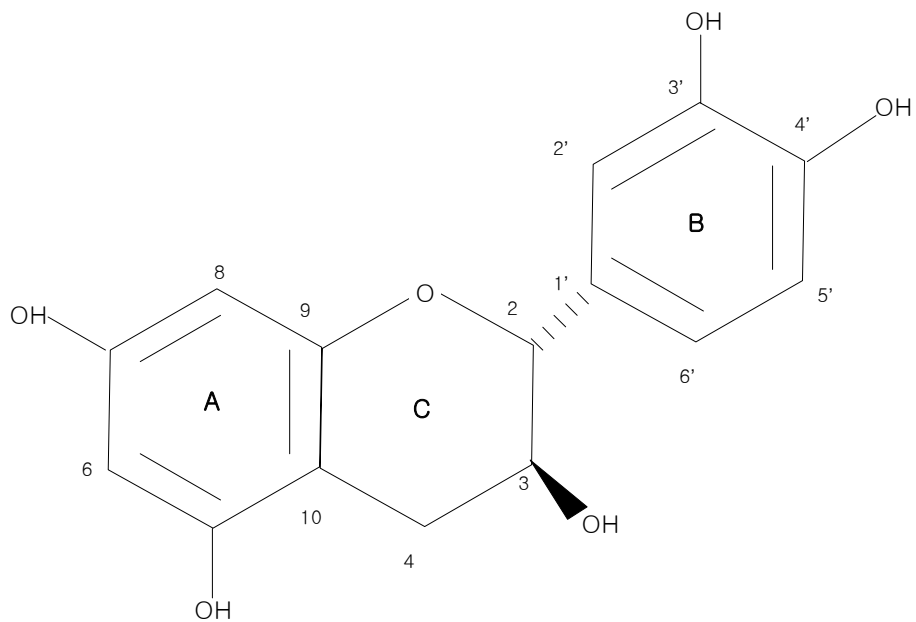


Figure. 1-19. The structure of (+)-catechin

Figure. 1-20. ^1H -NMR spectrum of (+)-Catechin

다. 타 임산자원의 항균력 검색

참나무 추출물과의 항균력 비교를 위하여 타 임산자원으로 황련을 선정하였다. 황련은 예로부터 한방에서 건위·진정·소염·항균 등의 효능이 있어 소화불량, 위염, 복통, 이질, 심계, 하혈, 화상 등의 치료제로 사용되었다고 보고되어 있어 항균 물질을 포함하고 있을 가능성이 높을 것으로 사료되어 참나무 추출물의 항균성 비교대상으로 선정하였다.

황련은 참나무 추출조건과 동일 조건으로 추출을 실시하였고 농축하여 황련 추출물을 제조하였다. 제조된 황련 추출물은 5~6% 정도의 수율을 나타냈으며 paper disk법과 bioscreen C 법을 이용하여 황련의 항균성을 검색하고 참나무 추출물의 항균활성과 비교 검토하였다.

1) 황련 추출물의 항균력 검색

황련 추출물을 2000 μ g/disk에 적용한 후 incubator에서 24시간 배양시켰을 때 나타난 항균활성 결과를 Table. 1-10에 나타냈다. 황련 추출물은 그람양성균인 *Bacillus cereus* ATCC 9634에 대하여 14mm의 높은 항균력을 나타냈으며 그람음성균인 *Salmonella typhimurium*에 대해서도 우수한 항균력을 나타냈다. 황련 추출물은 *Listeria monocytogenes* ATCC 19111과 *Listeria monocytogenes* scottA에 대해서는 11mm의 항균활성을 나타냈으며 *Candida utilis* IFO 0589과 *Fusarium moniliform* ATCC 10052에 대해서는 항균활성이 나타나지 않았다.

Table. 1-10. Antimicrobial activities of ethanol extractives from *Coptis chinensis*

Botanical name Test organism	Inhibition zone ¹⁾ (mm)
	<i>Coptis chinensis</i>
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 9634	14
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	11
<i>Listeria monocytogenes</i> scott A	11
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	13
<i>Escherichia coli</i> k-12 IFO 3301	13
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 933	13
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	14
<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 9610	12
<i>Candida utilis</i> IFO 0589	ND
<i>Fusarium moniliform</i> ATCC 10052	ND

¹⁾ Two thousand μg of ethanol extractives was absorbed into paper disc ($\Phi 8$ mm) and the diameter(mm) of clear zone was measured.

²⁾ Not detected

2) 황련 추출물의 첨가에 따른 inhibition growth test

가) *Bacillus cereus* ATCC 9634에 대한 inhibition growth test

황련 추출물을 각각 2000, 1000, 500, 250 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 씩 첨가하여 *Bacillus cereus* ATCC 9634에 대한 생육 억제 효과에 대해 측정한 결과를 Figure. 1-22에 나타냈다. 황련 추출물을 2000 μg 첨가하였을 경우 14시간 동안 생육 저해 효과를 나타냈고 1000 μg 을 첨가한 경우는 10시간 정도, 500 μg 을 첨가한 경우는 8시간 정도의 생육저해 효과를 나타냈다. 24시간이 경과했을 경우 2000 μg 을 첨가한 경우의 O.D(optical density)값은 대조구 보다 더 낮은 값을 나타내 생육효과가 24시간이 경과한 후에도 지속됨을 알 수 있었다. *Bacillus cereus* ATCC 9634에 대한 황련 추출물의 생육저해 효과는 250 μg 이상 첨가했을 경우 8시간 정도의 생육저해 효과를 나타냈으며 첨가량이 증가함에 따라 생육저해효과는 더 상승하는 경향을 나타냈다.

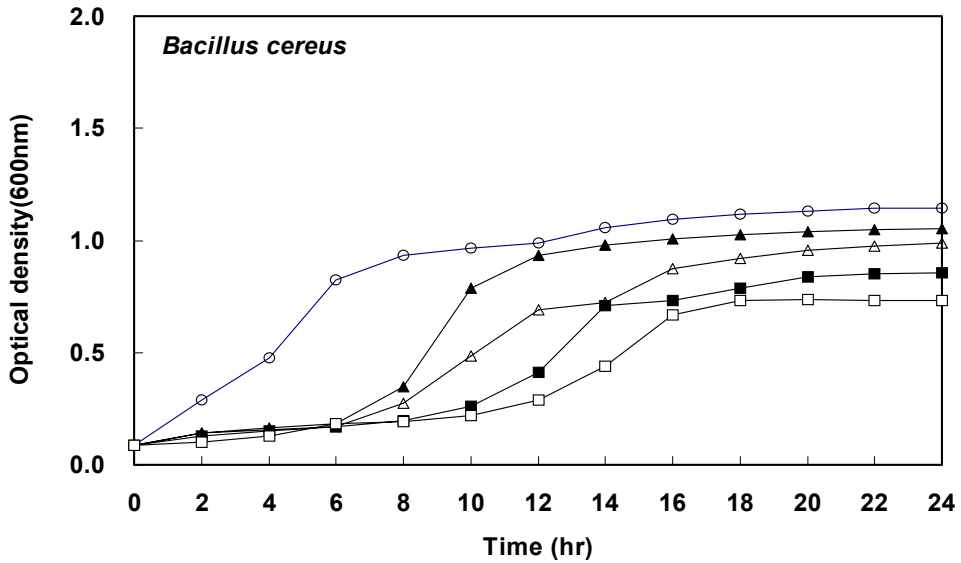


Figure. 1-22. Antimicrobial activity of the ethanol extractives from *Coptis chinensis* against the growth of *Bacillus cereus* ATCC 9634

□ 2000µg/µl, ■ 1000µg/µl, △ 500µg/µl, ▲ 250µg/µl, ○ control

나) *Listeria monocytogenes* ATCC 1911에 대한 inhibition growth test

황련 추출물의 첨가량 증가에 따른 *Listeria monocytogenes* ATCC 1911의 생육 억제 효과를 Figure. 1-23에 나타냈다. 황련 추출물을 250µg 첨가한 경우 *Listeria monocytogenes* ATCC 1911에 대한 생육억제효과가 미약한 것으로 나타났다으며, 500, 1000µg으로 첨가량을 증가시켰을 경우도 생육억제효과는 미약하게 나타났다. 황련 추출물 2000µg을 첨가함 경우만 2시간 동안 생육억제효과가 나타났으며 24시간이 경과했을 경우 대조군에 비해 낮은 O.D값을 나타냈지만 다른 조건의 경우는 대조군과 유사한 O.D값을 나타내 *Listeria monocytogenes* ATCC 1911에 대한 생육억제효과를 얻기 위해서는 2000µg 이상을 첨가해야함을 알 수 있었다. 생육억제효과 검색 결과 황련 추출물은 *Listeria monocytogenes* ATCC 1911에 대한 항균성이 미약한 것을 확인할 수 있었다.

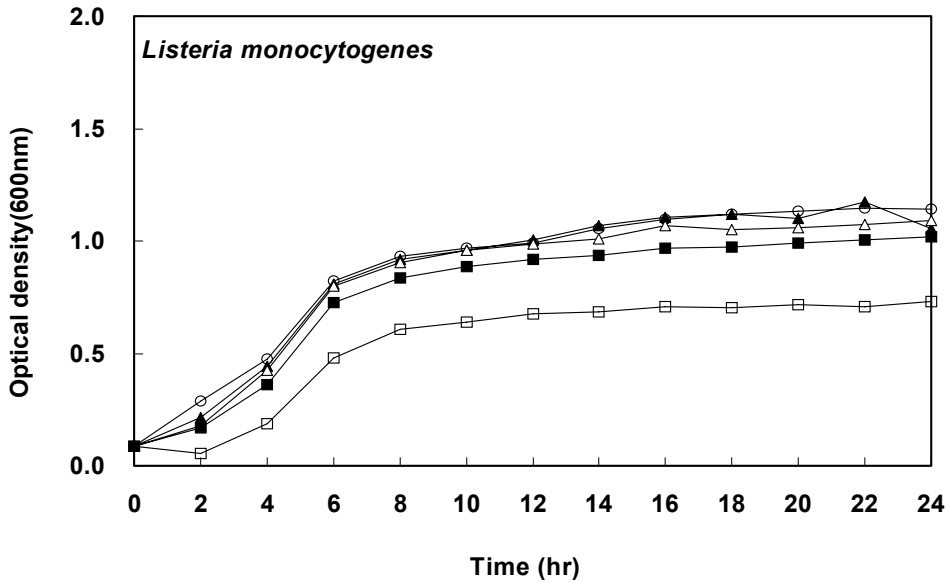


Figure. 1-23. Antimicrobial activity of the ethanol extractives from *Coptis chinensis* against the growth of *Listeria monocytogenes* ATCC 19111

□ 2000µg/µl, ■ 1000µg/µl, △ 500µg/µl, ▲ 250µg/µl, ○ control

다) *Escherichia coli* O157:H7 933에 대한 inhibition growth test

황련 추출물을 첨가량을 달리하여 적용했을 때 *Escherichia coli* O157:H7 933에 대해 나타난 생육억제효과를 Figure. 1-24에 나타냈다. 황련 추출물 2000 µg 첨가한 경우 10시간 정도의 생육저해효과를 나타냈으며 500µg과 1000µg을 첨가한 경우도 8시간 이상의 생육저해효과를 나타냈다. 250µg을 첨가한 경우는 6시간 정도의 생육저해효과를 나타내 첨가량이 증가함에 따라 생육저해효과도 증가함을 알 수 있었으며 황련 추출물은 *Escherichia coli* O157:H7에 대해 우수한 항균력을 나타냄을 알 수 있었다. *Escherichia coli* O157:H7에 대한 황련 추출물의 생육저해효과는 250µg이상 첨가했을 경우 8시간 이상의 생육저해효과를 나타냈다.

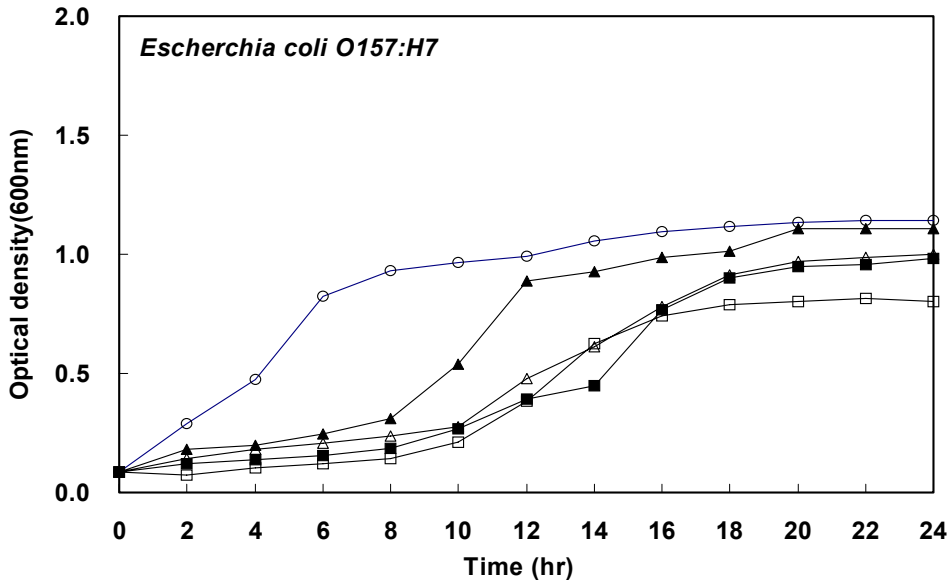


Figure. 1-24. Antimicrobial activity of the ethanol extractives from *Coptis chinensis* against the growth of *Escherichia coli* O157:H7

□ 2000µg/µl, ■ 1000µg/µl, △ 500µg/µl, ▲ 250µg/µl, ○ control

라) *Salmonella typhimurin* ATCC 14028에 대한 inhibition growth test

Salmonella typhimurin ATCC 14028에 대한 황련 추출물의 생육억제효과를 Figure. 1-25에 나타냈다. 황련 추출물을 2000µg 첨가한 경우 10시간 이상의 생육억제효과가 나타났으며, 1000µg과 500µg을 적용한 경우 8시간 정도의 생육억제효과를 나타냈으나 250µg을 첨가했을 때는 생육저해효과가 나타나지 않았다. *Salmonella typhimurin* ATCC 14028에 대한 황련 추출물의 생육억제효과는 500µg 이상 첨가했을 경우 8시간 이상의 생육억제효과를 나타냈다.

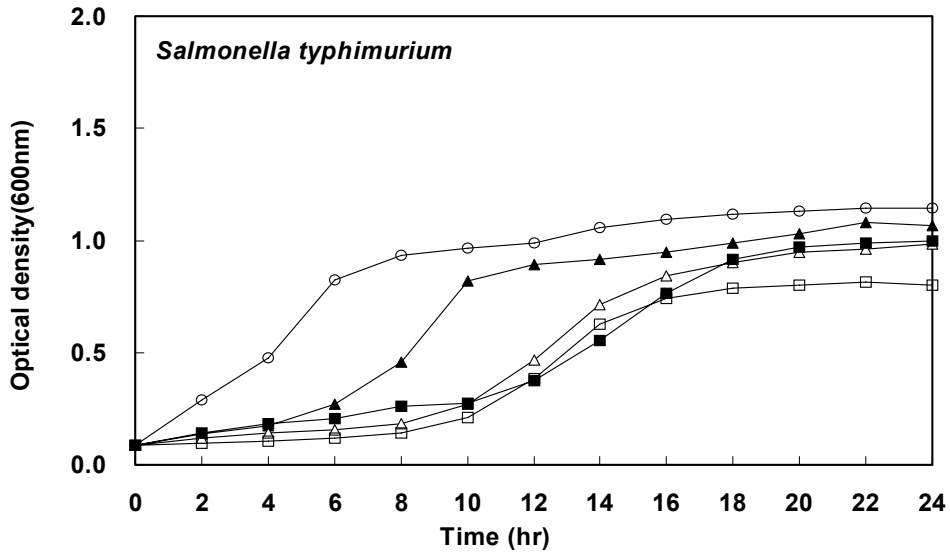


Figure. 1-25. Antimicrobial activity of the ethanol extractives from *Coptis chinensis* against the growth of *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

□ 2000µg/µl, ■ 1000µg/µl, △ 500µg/µl, ▲ 250µg/µl, ○ control

라. 타 임산자원의 병용처리에 의한 항균력 상승효과 검색

이전의 실험을 통해 항균성이 증명된 타 임산자원인 황련 추출물과 참나무 6종의 수종별·부위별 항균활성 검색 결과 가장 우수한 항균활성을 나타낸 갈참나무 잎 에탄올 추출물의 병용처리에 의한 항균성과 생육억제효과를 검토하였다.

1) 병용처리에 의해 제조된 항균물질의 항균력 검색

갈참나무 잎 추출물과 황련 추출물을 병용 처리한 항균 물질의 검색 결과를 Table. 1-11에 나타냈다. 황련 추출물을 병용 처리함에 의해 각각의 균종에 대한 항균활성이 약간 상승하는 경향을 나타냈으며 그람양성균과 그람음성균에

대한 항균활성은 유사한 결과를 나타냈다. 이는 항균물질 혼합에 의해 균종에 대한 항균활성 발현 폭이 증가하였기 때문으로 생각된다. *Candida utilis* IFO 0589와 *Fusarium moniliform* ATCC 10052 균종의 경우 병용 처리한 항균물질을 적용하여도 항균활성이 나타나지 않았다.

Table. 1-10. Antimicrobial activities of ethanol extractives from *Coptis chinensis*

Botanical name Test organism	Inhibition zone ¹⁾ (mm)
	Mixture of <i>Quercus aliena</i> and <i>Coptis chinensis</i>
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 9634	17
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	15
<i>Listeria monocytogenes</i> scott A	15
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	16
<i>Escherichia coli</i> k-12 IFO 3301	16
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 933	16
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	15
<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 9610	15
<i>Candida utilis</i> IFO 0589	ND
<i>Fusarium moniliform</i> ATCC 10052	ND

¹⁾ Two thousand μg of ethanol extractives was absorbed into paper disc ($\Phi 8$ mm) and the diameter(mm) of clear zone was measured.

²⁾ Not detected

2) 병용 처리한 항균물질 첨가에 따른 inhibition growth test

가) *Bacillus cereus* ATCC 9634에 대한 inhibition growth test

갈참나무 잎 추출물에 황련 추출물을 병용 처리한 항균물질을 2000, 1500, 500, 250 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 첨가하여 *Bacillus cereus* ATCC 9634에 대한 생육억제효과를 측정 한 결과를 Figure. 1-26에 나타냈다. 갈참나무 잎과 황련 추출물을 병용 처리한 항균물질을 2000 μg 적용한 경우 12시간 정도의 생육억제효과를 나타냈으며. 1000 μg 과 500 μg 을 첨가한 경우도 10시간 정도의 생육억제효과를 나타냈다.

병용처리한 항균물질의 *Bacillus cereus* ATCC 9634에 대한 항균활성은 250 μg 이상 첨가했을 경우 8시간 이상의 우수한 생육억제효과가 나타났다.

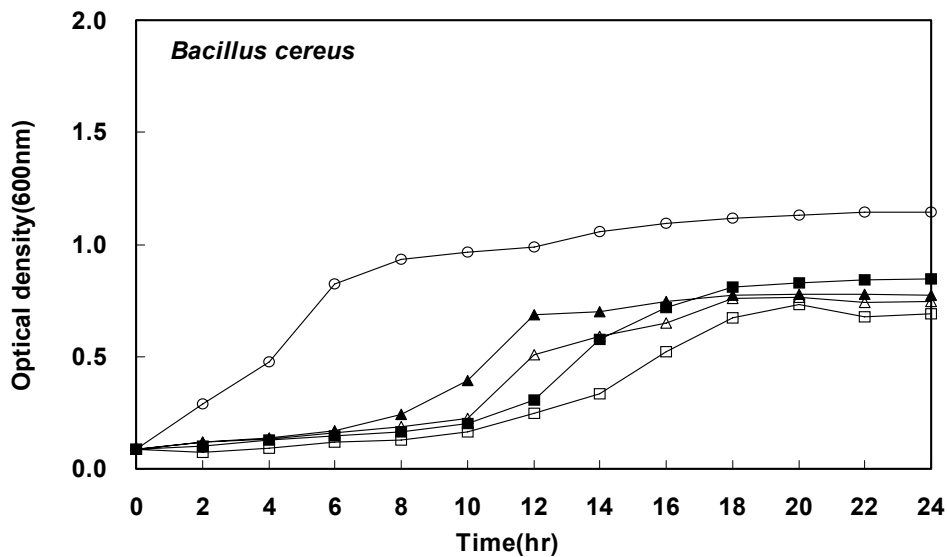


Figure. 1-26. Antimicrobial activity of mixture of *Quercus aliena* and *Coptis chinensis* on the growth of *Bacillus cereus* ATCC 9634

□ 2000 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, ■ 1000 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, △ 500 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, ▲ 250 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, ○ control

나) *Listeria monocytogenes* ATCC 19111에 대한 inhibition growth test

갈참나무 추출물에 황련 추출물을 병용 처리한 항균물질의 *Listeria monocytogenes* ATCC 19111에 대한 생육억제효과를 Figure. 1-27에 나타내었다. 250 μg 과 500 μg 을 첨가함 경우 8시간 정도의 생육억제효과를 나타냈으며 1000 μg 를 첨가하자 10시간 정도로 생육억제효과가 증가하였으며 2000 μg 을 첨가했을 때 12시간 이상의 생육억제효과를 나타냈다. *Listeria monocytogenes* ATCC 19111에 대한 생육억제효과는 250 μg 이상 첨가했을 경우 6시간 이상의 우수한 생육억제효과를 나타냈다.

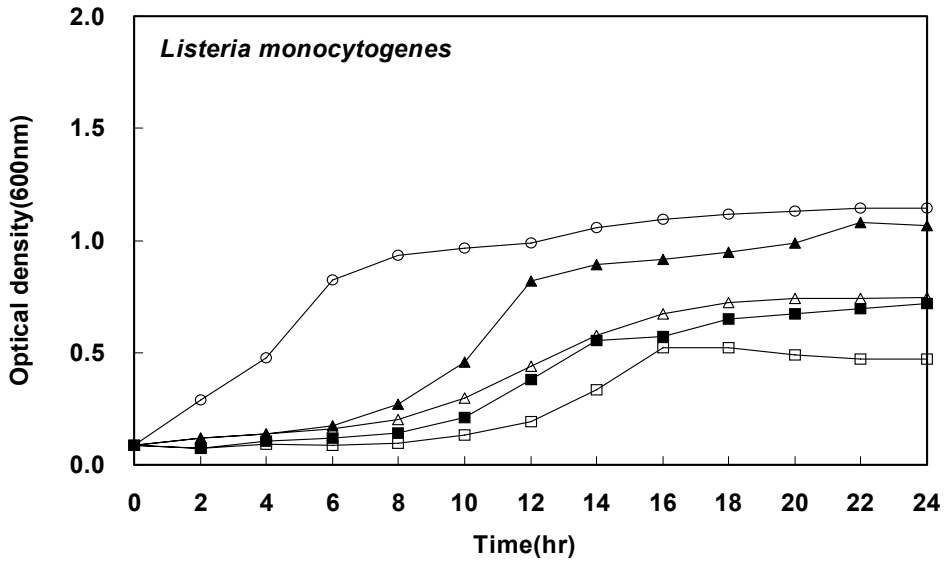


Figure. 1-27. Antimicrobial activity of mixture of *Quercus aliena* and *Coptis chinensis* against the growth of *Listeria monocytogenes* ATCC 19111

□ 2000µg/µl, ■ 1000µg/µl, △ 500µg/µl, ▲ 250µg/µl, ○ control

다) *Escherichia coli* O157:H7 933에 대한 inhibition growth test

Escherichia coli O157:H7 933에 대한 생육억제효과를 Figure. 1-28에 나타냈다. 250µg의 혼합 항균물질을 처리한 경우 시험 균주에 대해 6시간 이상의 생육억제효과를 나타냈으며 첨가농도가 증가함에 생육억제효과가 증가하는 경향을 나타냈으나 1000µg와 2000µg를 첨가한 경우의 생육억제효과는 농도에 의한 증가가 미비하였다. *Escherichia coli* O157:H7 933에 대한 생육억제효과는 250µg 이상 첨가했을 때 6시간 이상의 우수한 생육억제효과를 나타냈다.

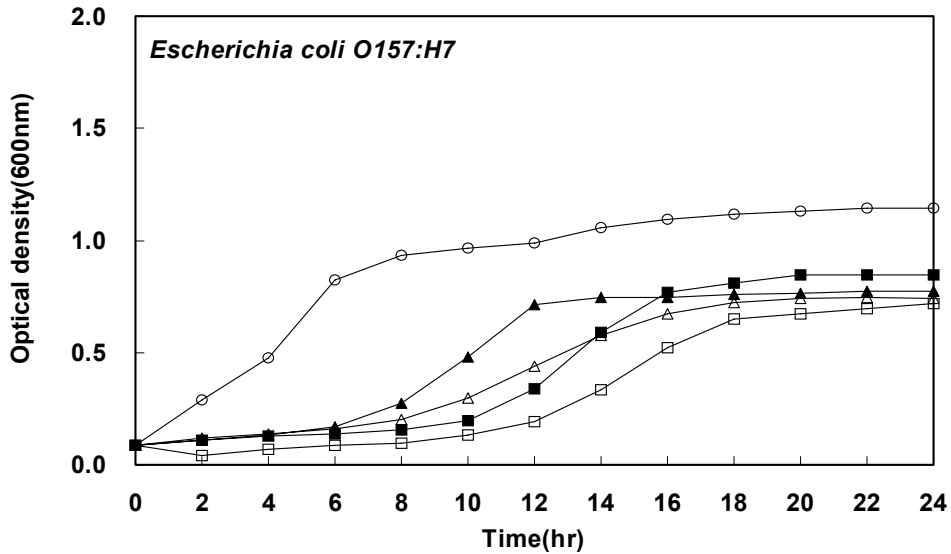


Figure. 1-28. Antimicrobial activity of mixture of *Quercus aliena* and *Coptis chinensis* against the growth of *Escherichia coli* O157:H7

□ 2000µg/µl, ■ 1000µg/µl, △ 500µg/µl, ▲ 250µg/µl, ○ control

라) *Salmonella typhimurin* ATCC 14028에 대한 inhibition growth test

갈참나무 잎 추출물과 황련 추출물을 병용처리한 경우 *Salmonella typhimurin* ATCC 14028에 대한 생육억제효과 결과를 Figure. 1-29에 나타냈다. 혼합항균물질을 250µg 첨가하였을 경우 생육억제효과는 미비하게 나타났으며 500µg을 첨가하자 6시간 정도의 생육억제효과를 나타냈다. 1000µg과 2000µg을 첨가한 경우 10시간 정도의 생육억제효과를 나타냈으며, 첨가농도 증가에 따라 생육억제효과는 증가하는 경향을 나타냈다. *Salmonella typhimurin* ATCC 14028의 경우 병용 처리한 항균물질을 500µg 이상 첨가했을 때 6시간 이상의 생육저해효과가 나타났다.

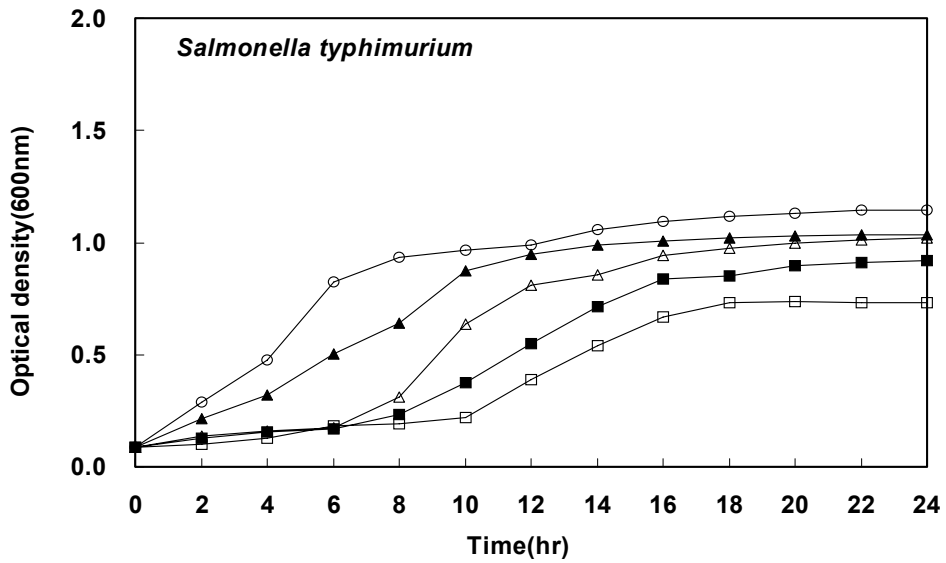


Figure. 1-29. Antimicrobial activity of mixture of *Quercus aliena* and *Coptis chinensis* against the growth of *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

□ 2000 µg/µl, ■ 1000 µg/µl, △ 500 µg/µl, ▲ 250 µg/µl, ○ control

4. 결론

본 절은 산림자원 중 참나무 6수종(갈참, 굴참, 신갈, 떡갈, 상수리, 졸참)의 부위별(잎, 목질부, 수피) 추출물을 제조하여 가장 높은 항균활성을 나타내는 수종과 부위를 검색하고 가장 우수한 항균성을 나타내는 수종의 분획을 실시하여 분획물과의 항균활성을 비교 검토하였으며, 항균물질을 분리 정제하고 NMR 분석을 통해 항균성을 나타내는 성분을 규명하였다. 또한 타 임산자원과 참나무 추출물의 항균성을 비교하였으며 이들을 병용 처리했을 때 나타나는 참나무 추출물의 항균성 상승효과를 평가하였다.

가. 참나무 추출물의 항균력 검색

- 1) 참나무 6종의 추출은 70℃에서 75%의 에탄올로 7시간 추출한 결과 모든 부위에서 최고의 수율을 나타냈으며 그중 갈참나무 잎이 18.16%로 가장 높은 수율을 나타냈다.
- 2) Paper disk법을 통한 참나무의 수종별·부위별 항균활성 결과 수종별 항균활성은 갈참나무가 가장 높은 항균활성을 나타냈고 부위별 항균활성은 잎, 목질부, 수피의 순으로 항균활성을 나타냈다. 참나무 6종의 수종별·부위별 항균활성은 갈참나무 잎 부위에서 가장 우수한 항균활성을 나타냈다.
- 3) 가장 높은 항균활성을 나타낸 갈참나무 잎 에탄올 추출물의 용매별 분획에 의한 항균활성 검색 결과, 부탄올과 에틸아세테이트 분획물이 항균활성을 나타냈으나 갈참나무 잎 에탄올 추출물 보다 미약하였다.
- 4) Bioscreen C를 통한 참나무 수종별·부위별 생육억제효과 검색 결과, 갈참나무 잎 에탄올 추출물이 가장 우수한 생육억제효과를 나타냈으며, 추출물의 첨가량 변화에 따른 생육억제효과는 농도가 증가함에 따라 우수한 생육억제효과를 나타냈다.

5) 갈참나무 잎 에탄올 추출물의 분리·정제를 통한 성분의 규명 결과 갈참나무 잎 에탄올 추출물이 catechin의 항균활성 성분을 함유하고 있었으며 catechin은 항암작용이나 고혈압 및 동맥경화 억제작용과 세균에 대해 항균활성을 가지고 있다고 보고되고 있다.

나. 타 임산자원의 항균활성 검색

- 1) Paper disk의 항균활성 검색 결과 황련 추출물은 그람양성균과 그람음성균에 대하여 항균활성을 발현했으나 갈참나무 잎 에탄올 추출물 보다 낮은 항균활성을 나타냈다.
- 2) Bioscreen C 결과 황련 추출물은 2000 μ g 첨가 시 10시간 이상 그람음성균과 그람양성균에 대해 생육억제효과를 나타냈으며 첨가량 증가에 따라 생육억제효과는 증가하는 경향을 나타냈다.

다. 병용처리에 의한 항균활성 검색

- 1) 갈참나무 잎 에탄올 추출물에 황련 추출물을 병용 처리하고 paper disk법을 통한 항균성 검색 결과 황련 추출물의 첨가에 항균성의 상승효과는 발생하지 않았으나, 단독 첨가에 의해 항균성이 낮게 나타난 균종에 대한 항균활성은 증가하는 경향을 나타냈다.
- 2) Bioscreen C를 통한 생육억제효과의 검색 결과 2000 μ g 첨가했을 경우 10시간 정도의 생육억제효과를 나타냈으며 모든 시험 균종에 대해 비슷한 생육억제효과를 나타냈다.

제 2절 고부가가치 항균지 개발

1. 서 론

20세기 후반의 경제 및 과학기술의 눈부신 발전에도 불구하고 미생물에 의한 식품의 부패나, 공산품의 피해는 세계적으로 심각한 문제로 제기 되고 있으며, 최근 들어 미국과 일본을 중심으로 이러한 문제점의 개선 및 해결책을 찾기 위한 연구가 이루어지고 있으나 우리 나라의 경우 미생물 피해를 해결하기 위한 구체적인 연구가 진행되지 않은 실정이다.

식품 부패나 공산품 피해의 원인이 되는 미생물은 자연계에 존재하지 않는 곳이 없을 정도로 널리 분포되어 있다. 이러한 미생물은 생활에 유익한 경우도 많지만 또한 질병의 원인으로 작용하기도 한다. 미생물 성장 및 번식에 의한 변형 및 변색과 같은 문제의 발생은 공산품에 막대한 손실을 입히며 병원성 미생물은 질병과 각종 오염의 원인으로 작용하기도 한다. 따라서 미생물의 번식을 억제시킬 수 있는 항균성 약품을 적용한 제품들의 개발이 이루어지고 있으며 건강과 위생에 대한 관심이 날로 증가함에 따라 이러한 경향은 계속 증가 추세에 있다.

이와 같은 항균 성능의 부여는 제지 분야에서도 응용되기 시작했다. 소비자의 한층 다양화·개성화된 요구로 차별화·고부가가치화 제품의 개발이 요구함에 따라 제지 업계에서도 기능성을 부여한 제품의 개발에 주력하고 있는 실정이다. 필기용지나 인쇄용지로 주로 사용되는 종이는 환경 문제가 대두됨에 따라 친환경성 제품으로써 그 이용 범위가 점차 다변화되고 있으며 특히 비닐류의 식품포장용지나 위생을 요하는 일회용 물수건 등 여러 분야의 일회용 제품들이 종이 제품으로 대체되고 있다. 이에 항균 성능을 부여한 종이의 개발은 위생과 건강을 중시하는 현대인의 욕구를 충족시켜 줄 수 있을 것으로 기대된다.

항균지라 함은 질병과 부패 오염의 원인이라고 할 수 있는 세균이나 곰팡이의 번식을 방지하기 위해 종이에 항균기능을 부여함으로써 얻을 수 있는 고부가가치 특수 기능지으로써 항균 성능을 부여하기 위해 종이의 표면을 도공하거나 함침, 종이 제조 시 항균물질을 투입하여 항균성능을 발현시킨 종이를 의미한다.

종이에 항균성을 부여하기 위한 항균제는 일반적으로 유기계 항균제^(40,2), 무기계 항균제, 천연계 항균제로 크게 세가지⁽¹²⁾로 구분한다. 무기 항균제는 항균력 지속성이 우

수하고 독성이 적으나 가격이 비싸고 항균 성능을 부여하기 위해 첨가량이 많은 편이며 금속 이온에 의해 변색이 일어난다는 문제점을 가지고 있다. 유기계 항균제는 가공이 용이하며 종이의 물성에 영향을 미치지 않고 가격과 필요 첨가량이 낮아 제품의 가격 상승 부담이 적다는 잇점이 있으나 항균력의 지속성과 인체 안전성 등의 검증이 필요한 실정이다. 천연계 항균제의 경우 자연의 생물로부터 추출하여 얻은 항균제로서 인체 안전성은 높지만 상업적인 생산과 적용을 위해서는 많은 난점을 가지고 있다는 문제점을 가지고 있으나 천연계 항균제가 인체에 지니는 우수한 안전성 때문에 천연계 항균제의 개발과 적용에 관한 연구는 매우 중요하다.

따라서 본 연구는 참나무 6종으로부터 추출한 천연 항균 물질을 종이에 적용하고 이용 가능성을 검토하였다. 대표적인 병원성 미생물^(31,37)인 *Escherchia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* 와 곰팡이균인 *Penicillium citrinium*에 참나무 6종의 부위별 추출물을 적용한 항균지를 적용하여 가장 우수한 항균력을 나타내는 수종을 검토하였으며 황련 추출물과 citric acid을 병용 처리하여 항균제 병용 처리에 의한 항균성 상승효과를 검토하였다. 또한 UV에 의한 항균지의 변색 여부 측정과 항균제 처리가 종이의 물성에 영향을 미치는지 살펴보기 위하여 인장강도와 인열강도, 파열강도를 측정하여 참나무 추출물을 적용한 항균지의 제조 가능성을 확인하였다.

2. 연구수행방법

가. 항균지 제조 조건 검색

1) 참나무 추출물을 적용한 항균지의 제조 조건 검토

참나무 추출물을 적용한 항균지 제조를 위해 참나무 6종의 paper disk를 통한 항균성 발현 결과를 바탕으로 항균지 제조에 효과적인 적용 농도를 검색하였다. 각각의 조건으로 제조된 항균제는 paper disk법을 통해 항균성을 측정하였으며, 설정된 조건별 참나무 추출물을 종이에 함침공정을 적용시켜 참나무 추출물을 적용한 항균지를 제조한 후 halo test법을 통해 항균성의 유무를 검색하였으며, 정량적인 방법으로 JIS L1902법을 통한 균감소율을 측정하여 참나무 추출물을 적용한 항균지의 항균성 발현 여부를 판단하였다. 참나무 추출물을 적용한 항균지 제조를 위해 참나무 6종의 잎, 목질부, 수피의 에탄올 추출물을 각각 2%, 5%, 8%의 농도로 제조하여 적용하였으며 함침시간을 20, 40, 60초로 달리 적용하여 조건에 따른 항균검색을 통해 종이에 적용 시 가장 우수한 항균활성을 발현하는 참나무 추출물의 적용 조건을 탐색하였다.

2) 혼합항균제를 적용한 항균지

참나무 6종의 항균 활성 결과를 바탕으로 참나무 6종 중 가장 항균활성이 높았던 수종을 선정하고 선정된 참나무 추출물에 타 임산자원인 황련 추출물과 citric acid를 첨가하여 병용 처리에 의한 항균성 상승효과를 검토하였다. 병용 처리를 위한 황련 추출물과 citric acid의 항균성은 paper disk법을 통해 검토하였으며, 참나무 추출물과 병용 처리하여 제조한 항균지의 항균활성은 halo test법과 JIS L1902법을 통해 병용처리에 의한 항균지의 항균성 상승효과를 검토하였다.

나. 항균지 제조 방법 검토 및 제조

각각의 농도로 제조된 항균제를 종이에 적용하여 항균지를 제조하기 위하여 종이를 제조된 항균제에 함침시키고 항균제가 원지에 잘 흡착될 수 있도록 size

press를 통과시킨 후 130℃의 실린더 드라이어로 건조하였다. Table. 2-1은 항균지 제조를 위한 size press의 운전 조건이다.

Table. 2-1. Application conditions for antimicrobial paper manufacture

Size press	Roll speed(rpm)	600	800	1000
	Nip pressure(Kgf/cm ²)	4	6	8
Dipping time(sec)		20	40	60

다. 항균지의 항균력 평가

1) Halo test

Halo test 방법은 tryptic soy agar와 tryptic soy broth를 1 : 2의 비율로 용해시켜 121℃의 autoclave에서 40분간 습윤 살균시킨 후 공시균을 petri dish에 분주하고 그 위에 tryptic soy agar와 tryptic soy broth 용액을 넣고 잘 혼합하여 항균 실험을 위한 배지를 만든다. 살균한 핀셋으로 항균 처리된 시료를 올려놓고 37℃ 인큐베이터에서 24시간 배양시켰을 때 항균 시료 주위에 형성되는 균저지대를 관찰하여 항균성의 유무를 확인하는 방법이다.

2) JIS L 1902법

공시균을 neutrient broth로 희석하여 균수를 $1-2 \times 10^4$ CFU/ml로 만든 후 각각의 에탄올 추출물을 처리한 항균지에 희석균을 0.2ml씩 분주하여 18시간 인큐베이터에서 배양한 후 식염수 20ml를 첨가하여 희석하였다. 다시 여러번의 희석단계를 거친 후 agar 배지를 제조하고 배양하여 생성된 colony 수를 세어 균감소율을 측정하였다(균수 측정 시 colony가 30-300개 형성된 것을 사용하였다).

생균수는 다음 식을 이용하여 계산하였다.

$$M = Z \times R \times 20$$

M : 생균수

R : 희석배수

20 : 추출용 생리식염수의 양

접종 수 접촉시간 “0”의 대조편으로부터 재생된 생균수 보다 접종 후 18시간 배양된 대조편으로부터 재생된 균수의 뚜렷한 증가가 있어야 한다. 균의 증가치가 31.6배 이하인 경우 시험은 유효하지 않은 것으로 판정하여 재시험을 실시하였다.

$$F = M_b / M_a$$

F : 균의 증가치

M_b : 대조편의 18시간 배양후의 생균수 (3검체의 평균치)

M_a : 대조편의 접종 직후의 생균수 (3검체의 평균치)

시험이 성립할 경우 다음과 같이 시험편에 의한 세균의 살균감소율과 정균감소율을 계산하였다.

$$\text{살균감소율} = (M_a - M_c) / M_a \times 100$$

$$\text{정균감소율} = (M_b - M_c) / M_b \times 100$$

M_a : 대조편의 접종 직후 생균수 (3검체의 평균치)

M_b : 대조편의 18시간 배양 후의 생균수 (3검체의 평균치)

M_c : 시험편의 18시간 배양 후의 생균수 (3검체의 평균치)

라. 항균력 지속성 검색

제조된 항균지의 항균력 검색을 위하여 제조 후 10일, 20일, 30일 후 항균력을 평가하여 시간에 따른 항균성 발현의 변화를 살펴보았으며, 제조된 항균지는 항온 항습실에 보관하여 온도나 습도에 따른 항균지 샘플의 변화가 최소화하도록 하였다. 항균력 지속

성은 halo test법과 JIS L1902 법을 통해 검색하였다.

마. 자외선에 의한 항균지의 변색 여부 조사

항균제 처리에 의해 제조된 항균지가 자외선에 노출되었을 때 항균제의 처리가 변색에 미치는 영향을 확인하기 위하여 Light fastness tester를 사용하여 항균지를 30분, 1시간, 2시간, 3시간 자외선에 노출시켰으며 이에 따른 항균지의 변색 여부를 측정하기 위하여 Elrepho 3000을 사용하여 자외선에 노출된 항균지의 백색도를 측정하였다.

바. 항균제 처리에 의한 항균지의 강도 성질 변화

항균제 처리 시 항균제가 종이의 강도에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 참나무 추출물을 단독으로 처리한 항균제와 참나무 추출물과 황련 추출물, citric acid를 혼합한 혼합 항균제를 각각 1%, 2%, 3%로 제조하고 종이에 처리하여 처리량에 따른 인장강도와 인열강도, 파열강도의 변화를 측정하였다. 제조한 항균지의 강도적 성질을 측정하기 위하여 TAPPI에 의거하여 인장지수(T494 om-88), 인열지수(T 414 om-88), 파열강도(T 403 om-91)를 측정하였다.

$$\text{Tensile Index}(N \cdot m.g) = 1000 \times N / B \times W$$

N : Tensile strength

B : Grammage(g/m^2)

W : Width of strip(mm)

$$\text{Tear Index}(mN \cdot m^2/g) = 16 \times 9.81 \times G / B \times C$$

B : Grammage(g/m^2)

C : Number of plies

G : Average scale reading

3. 연구수행결과

가. 참나무 추출물을 적용한 항균지의 제조

1) 참나무 추출물을 적용한 항균지 제조를 위한 조건 검색

참나무 6종의 부위별 추출물을 적용한 항균지 제조를 위한 효과적인 적용 농도 검색을 위하여 기존의 paper disk 결과와 종이의 특성을 바탕으로 적용을 위한 최적 농도를 paper disk를 통하여 검색하였다. 적용 가능한 참나무의 수종별·부위별 적용 농도는 2%, 5%, 8%로 설정하였으며, paper disk에 적용하는 시간을 20초, 40초, 60초로 구분하여 적용함으로써 항균지 제조를 위한 최적의 조건을 검색하였다.

2%, 5%, 8%로 제조한 참나무 수종별·부위별 항균력 검색 결과 8% 처리한 갈참나무의 잎 부위 추출물이 가장 높은 항균활성을 나타냈다. 참나무 처리 농도에 의한 항균성은 농도가 증가함에 따라 상승하는 경향을 나타냈으며, 수종별 항균활성 검색 결과 갈참나무가 가장 높은 항균활성을 나타냈고 신갈나무의 경우도 높은 항균활성을 나타냈다. 부위별 항균활성은 잎부위가 가장 높은 항균활성을 나타냈고 목질부, 수피의 순으로 항균활성을 나타냈다. 균종별 항균활성은 그람양성균과 그람음성균에 대해 비슷한 항균활성을 나타냈으며 특히 *Staphylococcus aureus*와 *Pseudomonas aeruginosa*에 대해 높은 항균활성을 나타냈다.

함침시간에 의한 항균력 검색 결과 항균제를 60초를 적용하였을 때 가장 우수한 항균활성을 나타냈다. 40초를 처리하였을 경우도 우수한 항균활성을 나타냈으나 60초를 처리한 경우 보다 항균성이 미약함을 나타냈다.

항균지 제조를 위한 조건의 검색 결과 5-8%로 참나무 에탄올 추출물을 적용하고 60초 이상 함침 처리를 하여 제조하는 것이 항균지의 항균활성을 최대화시킬 수 있음을 확인할 수 있었다.

함침시간과 참나무 수종별·부위별 추출물의 적용 농도에 따른 항균력의 변화는 Tables. 2-2 ~ 2-4에 나타냈다.

Table. 2-2. Antimicrobial spectrum of treatment solution.

Botanical name Test organism		Dipping time : 20 sec								
		Inhibition zone ¹⁾ (mm)								
		Q. <i>serrata</i>			Q. <i>mongolica</i>			Q. <i>acutissima</i>		
		2L	5L	8L	2L	5L	8L	2L	5L	8L
<i>Escherchia coli</i>		8	9	9	8	8	9	8	9	9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		8	9	9	8	8	9	8	9	10
<i>Staphylococcus aureus</i>		8	8	8	8	8	9	8	8	10
<i>Bacillus subtilis</i>		8	8	9	8	8	9	8	8	9
<i>Listeria monocytogenes</i>		8	8	8	8	9	9	8	8	9
		2B	5B	8B	2B	5B	8B	2B	5B	8B
<i>Escherchia coli</i>		8	8	9	8	8	9	8	8	9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		8	8	10	8	8	9	8	8	9
<i>Staphylococcus aureus</i>		8	8	10	8	8	9	8	8	9
<i>Bacillus subtilis</i>		8	8	9	8	8	9	8	8	9
<i>Listeria monocytogenes</i>		8	8	9	8	8	9	8	8	9
		2X	5X	8X	2X	5X	8X	2X	5X	8X
<i>Escherchia coli</i>		8	8	9	8	8	9	8	8	9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		8	8	9	8	8	9	8	8	9
<i>Staphylococcus aureus</i>		8	8	9	8	8	9	8	8	9
<i>Bacillus subtilis</i>		8	8	9	8	8	9	8	8	9
<i>Listeria monocytogenes</i>		8	8	9	8	8	9	8	8	9
Botanical name Test organism		Inhibition zone ¹⁾ (mm)								
		Q. <i>aliena</i>			Q. <i>variebilis</i>			Q. <i>dentata</i>		
		2L	5L	8L	2L	5L	8L	2L	5L	8L
		2L	5L	8L	2L	5L	8L	2L	5L	8L
<i>Escherchia coli</i>		8	8	9	8	8	9	8	8	9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		8	9	10	8	8	10	8	8	9
<i>Staphylococcus aureus</i>		8	8	10	8	9	9	8	9	9
<i>Bacillus subtilis</i>		8	8	10	8	8	9	8	8	9
<i>Listeria monocytogenes</i>		8	8	9	8	8	9	8	9	9
		2B	5B	8B	2B	5B	8B	2B	5B	8B
<i>Escherchia coli</i>		8	8	9	8	9	9	8	8	9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		8	9	9	8	9	9	8	9	9
<i>Staphylococcus aureus</i>		9	9	9	8	8	9	8	8	9
<i>Bacillus subtilis</i>		8	8	9	8	8	9	8	9	9
<i>Listeria monocytogenes</i>		8	8	9	8	8	9	8	8	9
		2X	5X	8X	2X	5X	8X	2X	5X	8X
<i>Escherchia coli</i>		8	8	9	8	8	9	8	8	9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		8	9	9	8	9	9	8	9	9
<i>Staphylococcus aureus</i>		8	9	9	8	8	9	8	8	9
<i>Bacillus subtilis</i>		8	8	9	8	8	9	8	8	9
<i>Listeria monocytogenes</i>		8	8	9	8	8	9	8	9	9

Size of test sample : 8mm, 1) Size of clear zone

2, 5, 8 : Concentration of ethanol extractives, L : leaves, B : bark, X : xylem

Table. 2-3. Antimicrobial spectrum of treatment solution.

Botanical name Test organism		Dipping time : 40 sec								
		Inhibition zone ¹⁾ (mm)								
		Q. <i>serrata</i>			Q. <i>mongolica</i>			Q. <i>acutissima</i>		
		2L	5L	8L	2L	5L	8L	2L	5L	8L
<i>Escherchia coli</i>	9	10	10	8	10	10	8	8	9	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	9	11	9	9	11	9	9	10	
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	9	11	8	9	11	8	10	10	
<i>Bacillus subtilus</i>	9	9	9	8	8	10	9	9	9	
<i>Listeria monocytogenes</i>	9	9	9	9	9	10	8	9	9	
	2B	5B	8B	2B	5B	8B	2B	5B	8B	
<i>Escherchia coli</i>	9	9	10	8	10	10	8	8	10	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	9	10	9	9	10	8	10	10	
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	8	10	8	10	10	8	10	10	
<i>Bacillus subtilus</i>	8	9	10	8	9	10	8	8	10	
<i>Listeria monocytogenes</i>	8	9	10	8	8	10	8	9	10	
	2X	5X	8X	2X	5X	8X	2X	5X	8X	
<i>Escherchia coli</i>	8	9	10	8	9	10	8	9	10	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	9	11	9	9	10	9	9	10	
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	9	10	8	9	10	9	9	10	
<i>Bacillus subtilus</i>	8	10	10	8	9	10	8	8	10	
<i>Listeria monocytogenes</i>	8	9	10	8	9	10	8	8	10	
Botanical name Test organism		Inhibition zone ¹⁾ (mm)								
		Q. <i>aliena</i>			Q. <i>variabilis</i>			Q. <i>dentata</i>		
		2L	5L	8L	2L	5L	8L	2L	5L	8L
		<i>Escherchia coli</i>	9	11	12	9	10	12	9	9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	11	13	8	11	12	9	10	10	
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	10	12	9	10	12	9	10	11	
<i>Bacillus subtilus</i>	9	9	12	10	10	12	9	9	10	
<i>Listeria monocytogenes</i>	9	9	11	9	9	12	9	9	10	
	2B	5B	8B	2B	5B	8B	2B	5B	8B	
<i>Escherchia coli</i>	9	9	10	8	9	10	9	9	10	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	10	12	9	10	11	8	10	11	
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	10	12	9	10	10	9	9	10	
<i>Bacillus subtilus</i>	8	10	11	8	9	10	8	9	11	
<i>Listeria monocytogenes</i>	8	9	10	8	10	10	9	9	10	
	2X	5X	8X	2X	5X	8X	2X	5X	8X	
<i>Escherchia coli</i>	8	9	9	9	9	11	8	9	10	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	9	12	10	10	11	9	10	11	
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	9	12	9	10	10	9	10	10	
<i>Bacillus subtilus</i>	9	9	10	8	9	9	8	9	10	
<i>Listeria monocytogenes</i>	8	9	11	8	9	10	8	10	10	

Size of test sample : 8mm, 1) Size of clear zone

2, 5, 8 : Concentration of ethanol extractives, L : leaves, B : bark, X : xylem

Table. 2-4. Antimicrobial spectrum of treatment solution.

Botanical name Test organism		Dipping time : 60 sec								
		Inhibition zone ¹⁾ (mm)								
		<i>Q. serrata</i>			<i>Q. mongolica</i>			<i>Q. acutissima</i>		
		2L	5L	8L	2L	5L	8L	2L	5L	8L
<i>Escherchia coli</i>		8	10	13	9	10	14	9	10	13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		10	12	13	11	14	14	10	13	14
<i>Staphylococcus aureus</i>		11	14	13	10	14	14	11	13	14
<i>Bacillus subtilis</i>		9	10	12	8	10	12	9	11	14
<i>Listeria monocytogenes</i>		8	10	12	8	10	12	8	10	13
		2B	5B	8B	2B	5B	8B	2B	5B	8B
<i>Escherchia coli</i>		9	11	13	8	10	12	9	11	14
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		10	13	14	9	11	14	10	13	14
<i>Staphylococcus aureus</i>		10	13	14	10	13	14	10	13	14
<i>Bacillus subtilis</i>		8	10	12	8	10	12	8	10	13
<i>Listeria monocytogenes</i>		9	9	13	8	10	12	8	10	12
		2X	5X	8X	2X	5X	8X	2X	5X	8X
<i>Escherchia coli</i>		8	10	12	8	10	19	9	9	10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		9	11	14	10	13	14	11	13	14
<i>Staphylococcus aureus</i>		9	11	14	10	13	14	10	14	14
<i>Bacillus subtilis</i>		8	10	12	8	9	12	8	9	12
<i>Listeria monocytogenes</i>		8	9	13	8	9	12	9	9	11
Botanical name Test organism		Inhibition zone ¹⁾ (mm)								
		<i>Q. aliena</i>			<i>Q. variabilis</i>			<i>Q. dentata</i>		
		2L	5L	8L	2L	5L	8L	2L	5L	8L
<i>Escherchia coli</i>		8	10	14	8	10	13	9	10	12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		10	12	14	10	14	14	10	11	13
<i>Staphylococcus aureus</i>		10	12	14	10	13	14	10	12	14
<i>Bacillus subtilis</i>		9	10	14	9	12	14	8	9	13
<i>Listeria monocytogenes</i>		8	10	13	9	12	14	8	9	13
		2B	5B	8B	2B	5B	8B	2B	5B	8B
<i>Escherchia coli</i>		8	10	13	8	10	13	8	11	13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		10	12	13	10	12	14	10	13	14
<i>Staphylococcus aureus</i>		9	12	14	10	14	13	10	13	14
<i>Bacillus subtilis</i>		8	8	13	8	9	12	9	11	13
<i>Listeria monocytogenes</i>		8	10	14	8	10	13	8	11	13
		2X	5X	8X	2X	5X	8X	2X	5X	8X
<i>Escherchia coli</i>		9	11	14	9	10	12	9	10	13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		10	13	13	10	13	14	11	12	13
<i>Staphylococcus aureus</i>		10	14	14	10	14	14	10	14	14
<i>Bacillus subtilis</i>		8	9	13	8	9	12	9	11	13
<i>Listeria monocytogenes</i>		8	10	13	8	9	12	8	11	14

Size of test sample : 8mm, 1) Size of clear zone

2, 5, 8 : Concentration of ethanol extractives, L : leaves, B : bark, X : xylem

2) 참나무 잎 추출물을 적용한 항균지의 halo test

참나무 추출물의 최적 적용 농도 검색 결과 우수한 항균성을 나타내기 위해선 5-8%의 참나무 추출물을 적용해야 했다. 따라서 참나무 6종의 수종별·부위별 추출물을 5%와 8%로 제조하고 이를 종이에 적용하여 항균지를 제조하였다. 제조된 항균지의 항균성 여부를 검색하기 위하여 halo test 실험을 실시하여 시료 주변에 나타난 clear zone을 화상분석기를 사용하여 관찰하였다.

참나무 6종의 수종별·부위별 항균지 제조는 참나무 추출물을 용액상태로 제조하고 종이를 60초 동안 함침하여 1000rpm의 속도와 8Kgf/cm²의 nip 압력으로 size press하였으며 참나무 추출물을 함침한 종이는 130℃ cylinder dryer를 통과시켜 항균지를 제조하였다. 제조한 항균지는 tryptic soy broth와 tryptic soy agar 배지에 접종하고 항균지 시료 주위에 나타난 clear zone의 생성 유무를 화상분석기로 관찰하여 항균성 발현 여부를 확인하였다.

참나무의 수종별·부위별 항균활성 검색 결과 종이에 적용 시 참나무 잎 부위를 적용하여 제조한 항균지의 경우 clear zone이 형성되었으나 수피와 목질부를 적용한 항균지의 경우 항균활성이 나타나지 않았다. 이러한 결과는 종이에 항균제를 적용하는 것은 종이의 특성상 100% 적용이 되기 어렵기 때문에 paper disk 결과 잎 부위보다 항균성이 적게 나타난 목질부와 수피 추출물의 경우 항균지를 이용한 항균성 실험 결과 나타나지 않은 것으로 생각된다.

항균성이 발현되는 참나무 잎 부위를 적용한 항균지 중 갈참나무 잎 부위를 적용한 항균지가 가장 높은 항균활성을 나타냈으며 균종별 항균활성은 균종에 따라 차이가 있지만 일반적으로 그람양성균과 그람음성균에 대해 비슷한 항균활성을 나타냈고, 그중 *Staphylococcus aureus*와 *Pseudomonas aeruginosa*에 대해 높은 항균활성을 나타냈다.

본 항에서는 가장 높은 항균활성을 나타낸 참나무 6종의 잎부위를 8%로 적용한 항균지의 halo test 결과를 나타냈다.

가) 갈참나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 halo test

Figure. 2-1은 갈참나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 halo test 결과이다. 갈참나무 잎 에탄올 추출물을 적용했을 때 항균 샘플 주위에 크지는 않지만 선명한 clear zone이 형성됨을 관찰할 수 있었으며, 균종별 항균활성 검색 결과 그람양성균과 그람 음성균에 대해 비슷한 항균활성을 나타냈고, 그 중 *Staphylococcus aureus*와 *Pseudomonas aeruginosa*에 대해 높은 항균활성을 나타냈다. 갈참나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 halo test를 통해 갈참나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지는 항균활성이 발현됨을 확인할 수 있었다.


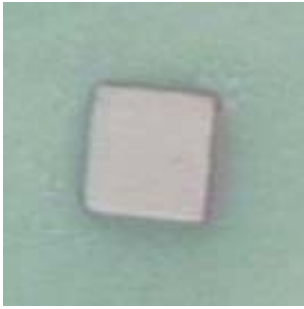
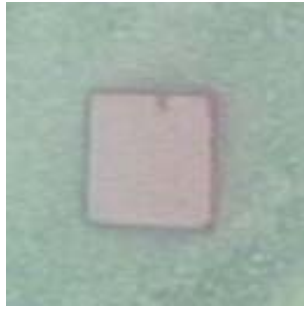

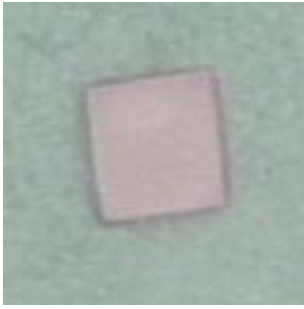
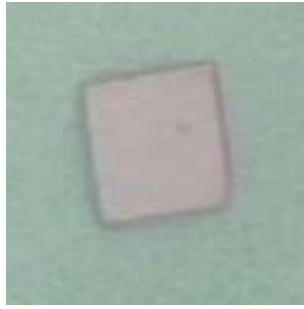
		
<i>Control</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
		
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Figure. 2-1. Halo test of leaf ethanol extractive from *Quercus aliena*

나) 떡갈나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 halo test

Figure. 2-2는 떡갈나무의 잎 에탄올 추출물을 적용하여 제조한 항균지의 halo test 결과이다. 떡갈나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 경우 clear zone이 뚜렷하게 형성되지 않으며 shadow mark가 형성되는 것을 관찰되었다. 균종별 항균활성은 그람 양성균과 그람 음성균에 대해 비슷한 항균활성이 나타나나 미약한 것을 관찰할 수 있었다.


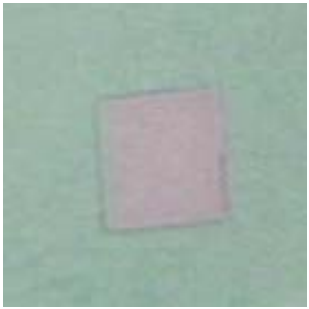

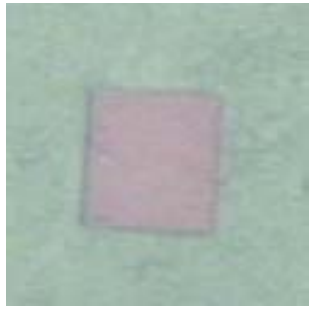
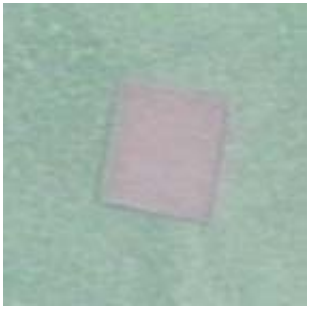
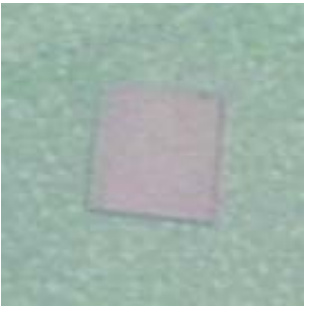
		
<i>Control</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
		
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Figure. 2-2. Halo test of leaf ethanol extractive from *Quercus dentata*

다) 신갈나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 halo test

Figure. 2-3은 신갈나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 halo test 결과이다. 신갈나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 경우 시료 주위에 뚜렷한 clear zone이 형성되었으나 clear zone이 크게 나타나지 않았다. 균종별 항균활성은 그람양성균과 그람 음성균에 대하여 비슷한 항균활성을 나타냈다.

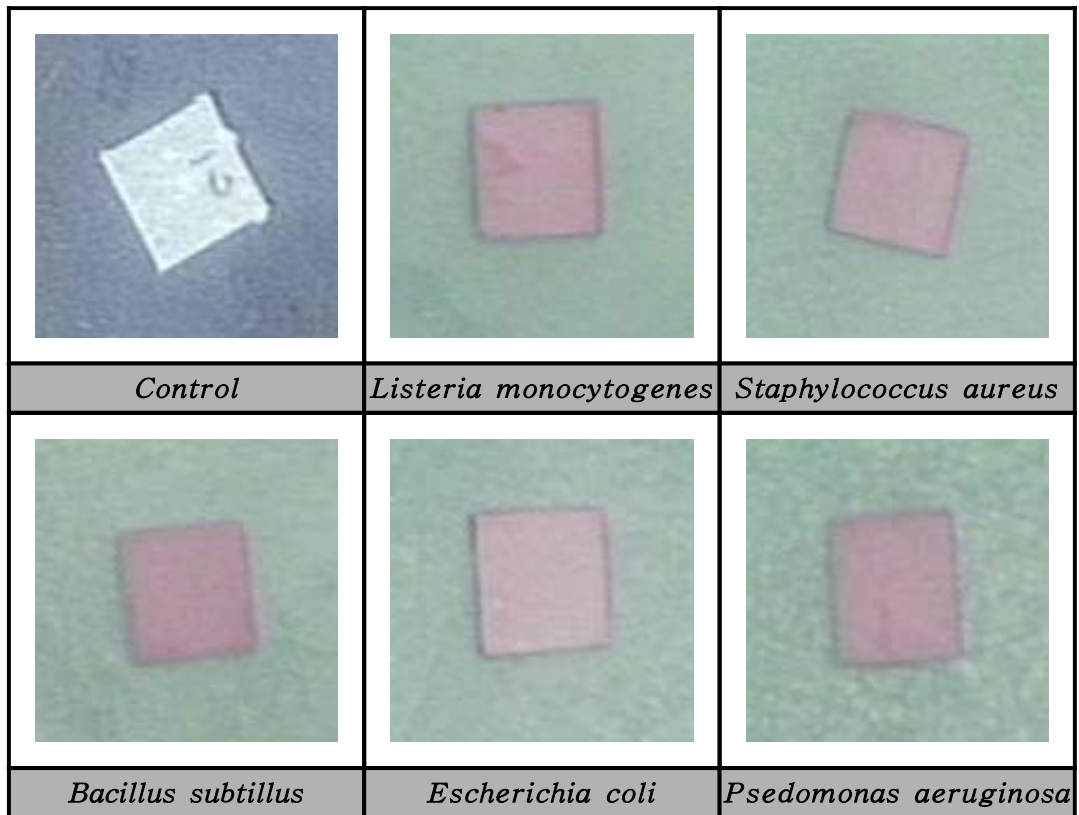


Figure. 2-3. Halo test of leave ethanol extractive from *Quercus mongolica*

라) 졸참나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 halo test

Figure. 2-4는 졸참나무의 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 halo test 결과이다. 졸참나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지는 뚜렷한 clear zone이 관찰되거나 clear zone이 크게 나타나지 않았다. 균종별 항균활성은 그람양성균과 그람음성균에 대해 비슷한 항균활성을 나타냈다.


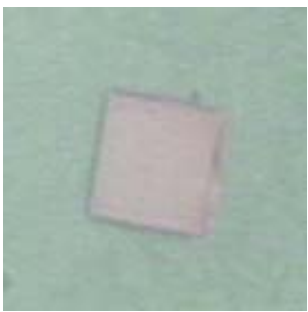
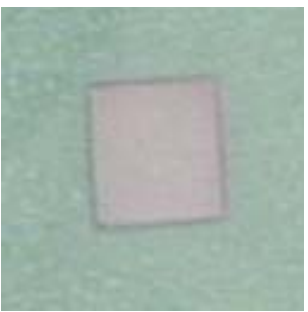

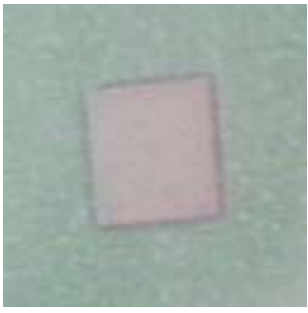
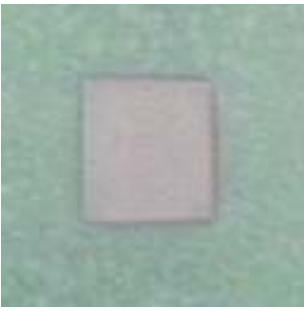
		
<i>Control</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
		
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Figure. 2-4. Halo test of leave ethanol extractive from *Quercus serrata*

마) 굴참나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 halo test

Figure. 2-5는 굴참나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 halo test 결과를 나타낸 것이다. 굴참나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 경우 항균 샘플 주위에 뚜렷한 clear zone이 형성되었으며, 균종별 항균활성은 그람양성균과 그람음성균에 대해 비슷한 항균활성을 나타냈다.

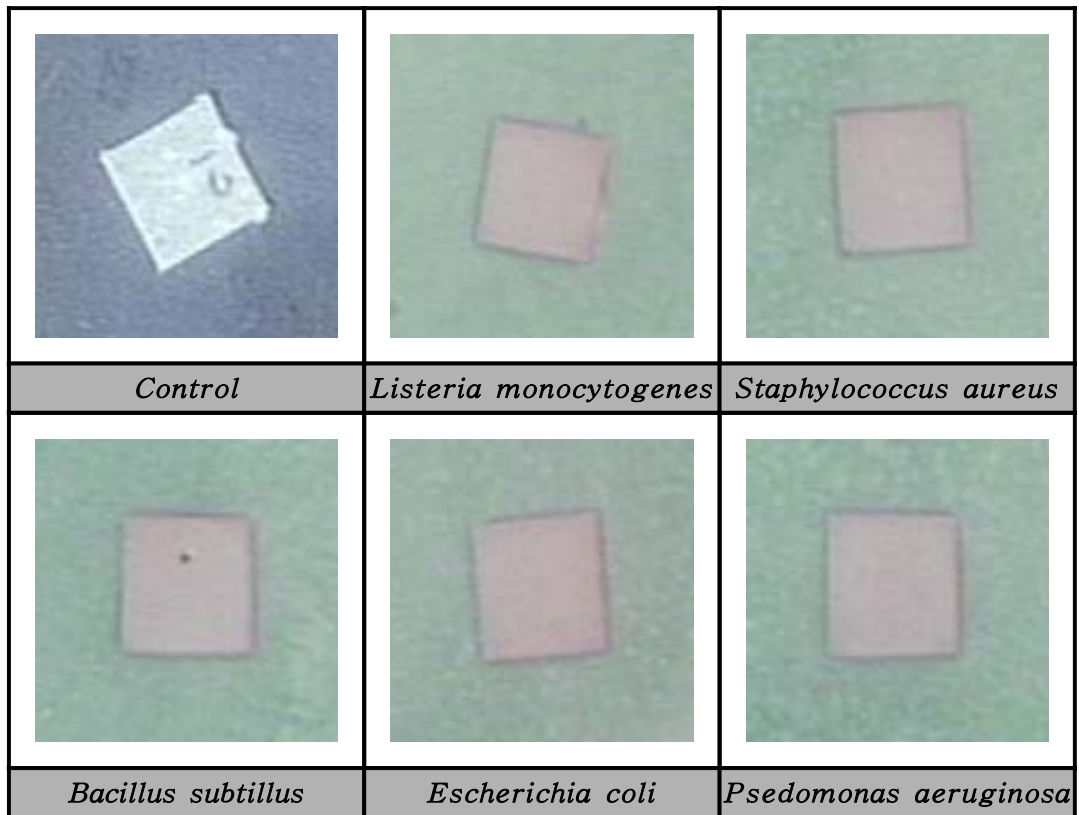


Figure. 2-5. Halo test of leave ethanol extractive from *Quercus serrata*

바) 상수리나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 halo test

Figure. 2-6은 상수리 나무의 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 halo test 결과이다. 상수리 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지 시료 주위에 shadow mark가 형성되어 상수리나무의 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지는 항균활성이 미약하게 나타내는 것을 알 수 있었으며, 균종별 항균활성은 그람양성균과 그람음성균에 대해 항균활성을 나타내나 그 정도가 미약한 것으로 나타났다.


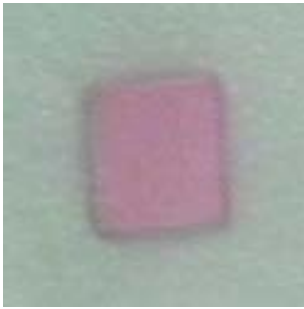
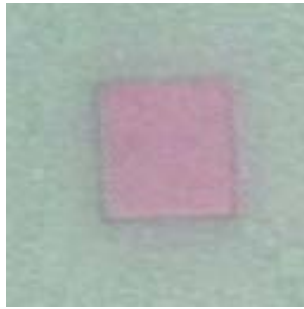


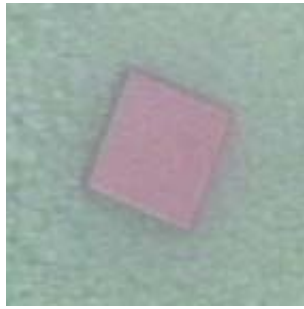
		
<i>Control</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
		
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Figure. 2-6. Halo test of leaf ethanol extractive from *Quercus acutissima*

3) 참나무 추출물을 적용한 항균지의 균감소율

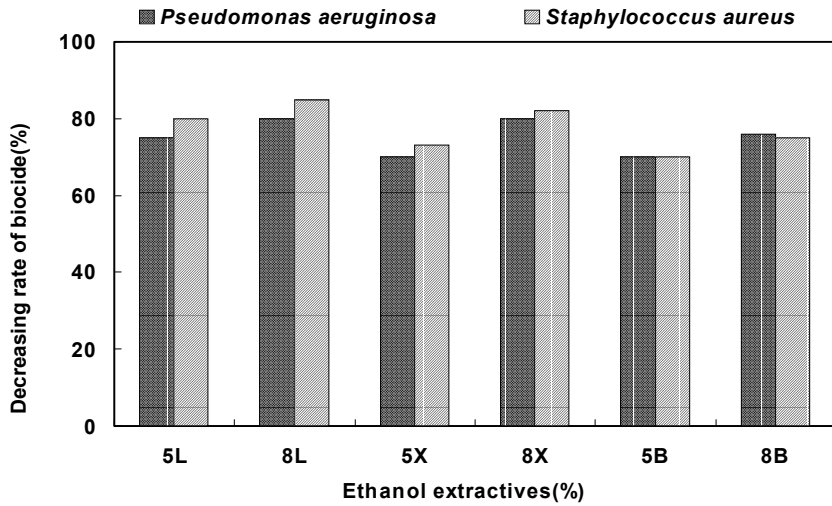
참나무 6종의 부위별 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 균감소율을 측정하기 위하여 참나무 부위별 추출물을 5%와 8%로 제조하고 종이에 적용시켜 제작한 항균지의 살균감소율과 정균감소율을 JIS L 1902법을 통해 측정하였다.

JIS L 1902법은 halo test와 다른 조건에서 항균활성이 발현되는 방법으로 항균 처리된 시료를 희석균에 접종하고 18시간 배양시킨 후 다시 여러 희석 단계를 거쳐 배양하였을 때 나타난 colony 수를 측정한다. 측정된 colony 수를 대조편과 시험편의 비교를 통해 살균감소율과 정균감소율을 측정하는 항균성 발현 정도를 측정할 수 있는 정량분석의 한가지 방법으로 공시균으로 그람양성균인 *Staphylococcus aureus*와 그람음성균인 *Pseudomonas aeruginosa*를 사용하여 균종별에 따른 균감소율을 측정하는 방법이다.

JIS L 1902법을 통한 참나무 수종별·부위별로 제조한 항균지는 60% 이상의 살균감소율과 70% 이상의 정균감소율을 나타냈으며, 갈참나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 경우 70% 이상의 가장 높은 균감소율을 나타냈다. 참나무 6종의 부위별 에탄올 항균활성은 잎, 목질부, 수피의 순으로 높은 항균활성을 나타냈으며 농도가 증가함에 따라 항균성이 상승하는 경향을 나타냈다.

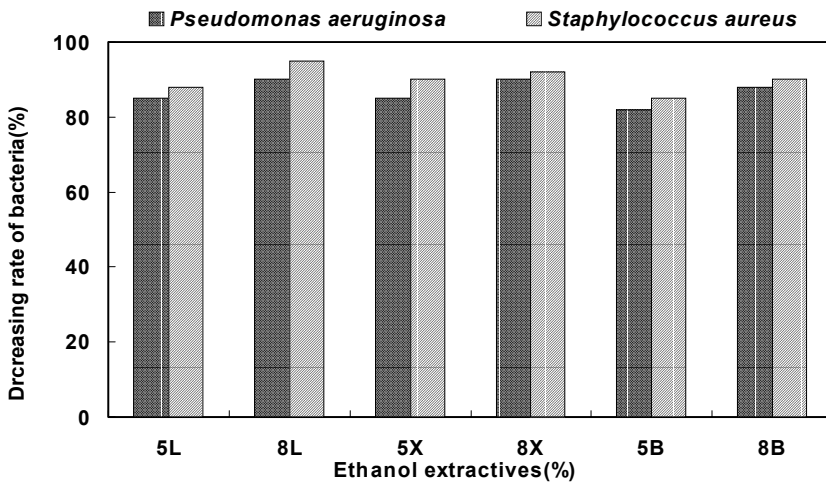
가) 갈참나무 부위별 추출물을 적용한 항균지의 균감소율

Figure. 2-7과 2-8은 갈참나무 부위별 에탄올 추출물을 5%, 8%로 제조하고 이를 종이에 적용한 항균지의 살균감소율과 정균감소율을 나타낸 그래프이다. 갈참나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 경우 75% 이상의 살균감소율과 85% 이상의 정균감소율을 나타내 목질부와 수피 에탄올 추출물을 적용한 항균지에 비해 더 우수한 항균활성을 나타냈으며 적용 농도가 증가함에 따라 항균활성이 증가하는 경향을 나타냈다. 균종별 항균활성은 균종에 따라 차이는 있지만 그람양성균인 *Staphylococcus aureus*가 그람음성균인 *Pseudomonas aeruginosa*에 비해 더 높은 항균활성을 나타냈다. 갈참나무의 부위별 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 항균활성은 모든 부위에서 70% 이상의 살균감소율과 80% 이상의 정균감소율을 나타냈다.



5, 8 : Concentration of ethanol extractives
 L : leaves, B : bark, X : xylem

Figure. 2-7. Decreasing rate of biocide in different treatment solution

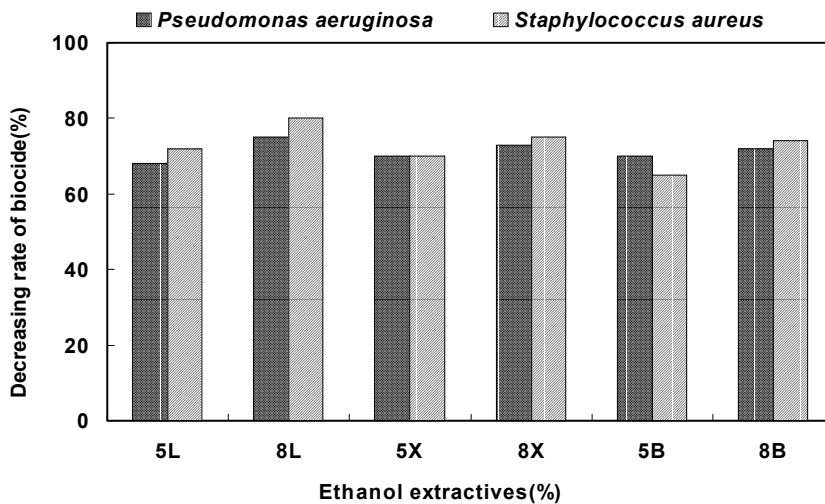


5, 8 : Concentration of ethanol extractives
 L : leaves, B : bark, X : xylem

Figure. 2-8. Decreasing rate of bacteria in different treatment solution

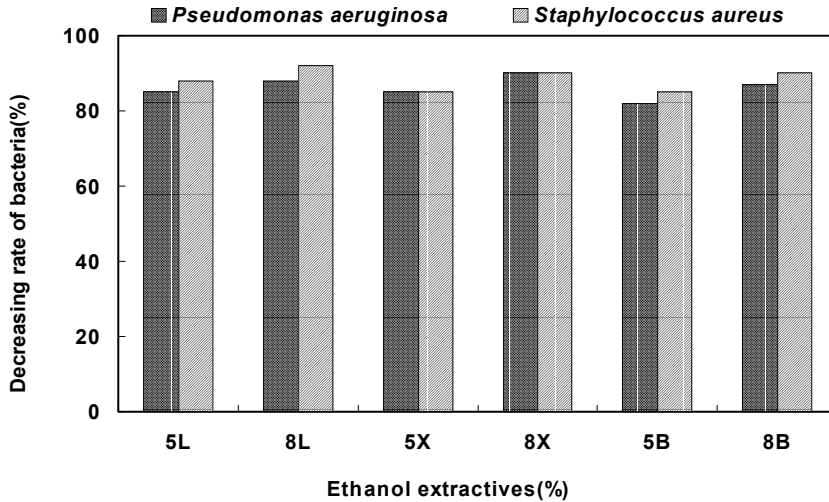
나) 떡갈나무 부위별 추출물을 적용한 항균지의 균감소율

Figure. 2-9와 2-10은 떡갈나무 부위별 에탄올 추출물을 5%와 8%로 제조하고 이를 종이에 적용하여 제조한 항균지의 살균감소율과 정균감소율을 나타낸 그래프이다. 떡갈나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 경우 75%이상의 살균감소율과 80%이상의 정균감소율을 나타냈으며, 목질부와 수피 에탄올 추출물을 적용한 경우 비슷한 항균활성을 나타냈고 참나무 추출물의 적용농도가 증가함에 따라 항균활성이 증가하는 경향을 나타냈다. 균종별 항균활성은 균종에 따라 차이가 있지만 떡갈나무 잎 에탄올 추출물과 수피 추출물의 경우 그람양성균인 *Staphylococcus aureus*가 그람음성균인 *Pseudomonas aeruginosa*에 비해 더 높은 항균활성을 나타냈으며 목질부 에탄올 추출물의 경우는 그람양성균과 그람음성균 모두 비슷한 항균활성을 나타냈다. 떡갈나무의 부위별 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 항균활성은 모든 부위에서 60% 이상의 살균감소율과 75% 이상의 정균감소율을 나타냈다.



5, 8 : Concentration of ethanol extractives
L : leaves, B : bark, X : xylem

Figure. 2-9. Decreasing rate of biocide in different treatment solution

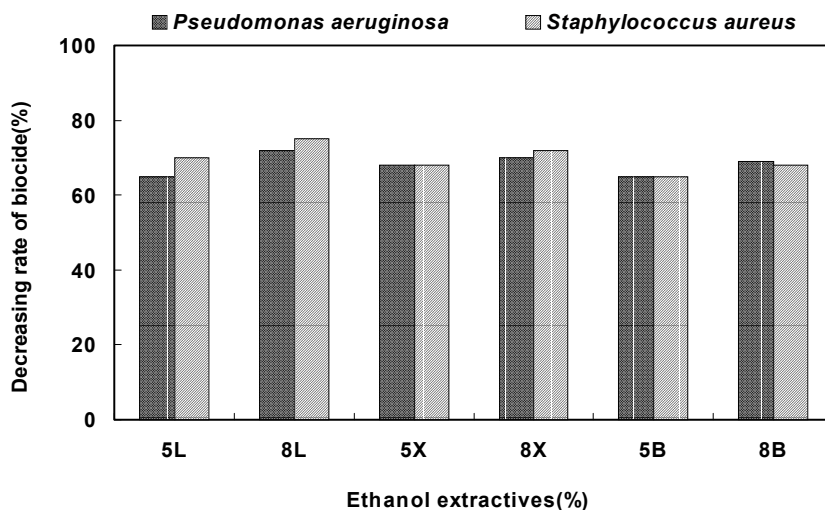


5, 8 : Concentration of ethanol extractives
 L : leaves, B : bark, X : xylem

Figure. 2-10. Decreasing rate of bacteria in different treatment solution

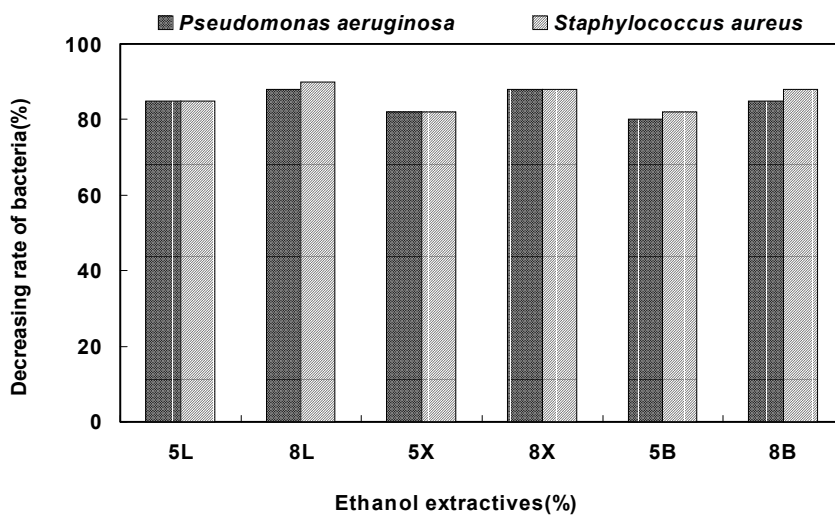
다) 신갈나무 부위별 추출물을 적용한 항균지의 균감소율

Figure. 2-11과 2-12는 신갈나무 부위별 추출물을 5%와 8%로 제조하고 이를 종이에 적용하여 제조한 항균지의 살균감소율과 정균감소율을 나타낸 그래프이다. 신갈나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 경우 70% 이상의 살균감소율과 80% 이상의 정균감소율을 나타냈으며, 목질부와 수피 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 경우 비슷한 항균활성을 나타냈다. 신갈나무 추출물의 적용 농도가 증가함에 따라 항균활성이 증가하는 경향을 나타냈으나 그 정도가 미약함을 알 수 있었다. 균종별 항균활성은 균종에 따라 차이가 있지만 그람양성균인 *Staphylococcus aureus*가 그람음성균인 *Pseudomonas aeruginosa*에 비해 더 높은 항균활성을 나타냈다. 떡갈나무의 부위별 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 항균활성은 모든 부위에서 60% 이상의 살균감소율과 75% 이상의 정균감소율을 나타냈다.



5, 8 : Concentration of ethanol extractives
 L : leaves, B : bark, X : xylem

Figure. 2-11. Decreasing rate of biocide in different treatment solution

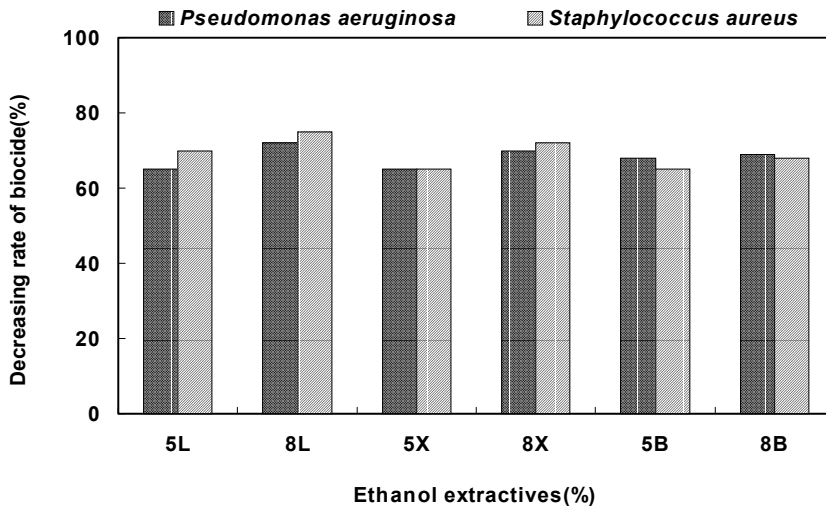


5, 8 : Concentration of ethanol extractives
 L : leaves, B : bark, X : xylem

Figure. 2-12. Decreasing rate of bacteria in different treatment solution

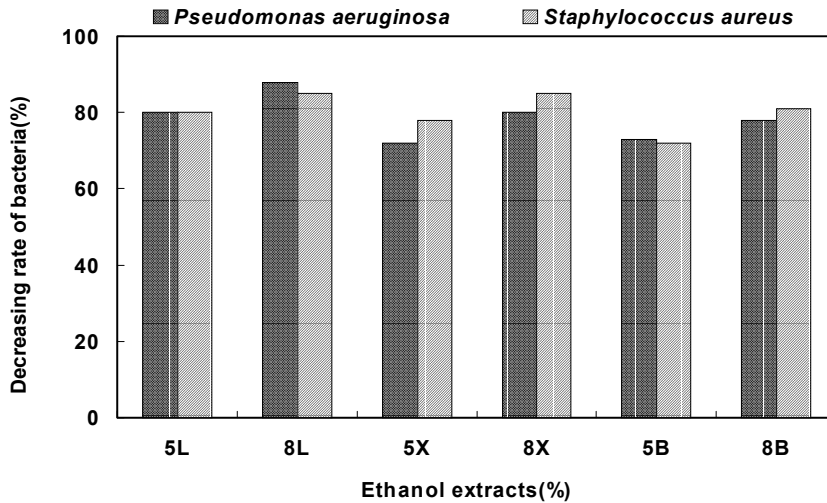
라) 졸참나무 부위별 추출물을 적용한 항균지의 균감소율

Figure. 2-13과 2-14는 졸참나무 부위별 추출물을 5%와 8%로 제조하고 종이에 적용하여 제조한 항균지의 살균감소율과 정균감소율을 나타낸 그래프이다. 졸참나무 잎 에탄올 잎 에탄올 추출물을 적용한 경우 60% 이상의 살균감소율과 70% 이상의 정균감소율을 나타내 가장 우수한 항균활성을 나타냈으며, 목질부와 수피 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 경우 60% 이상의 비슷한 항균활성을 나타냈다. 졸참나무 추출물은 적용 농도가 증가함에 따라 항균활성이 증가하는 경향을 나타냈으나 그 정도가 미약하게 나타났다. 균종별 항균활성은 균종에 따라 차이가 있지만 그람양성균인 *Staphylococcus aureus*가 그람음성균인 *Pseudomonas aeruginosa*에 비해 더 높은 항균활성을 나타냈다. 졸참나무의 부위별 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 항균활성은 모든 부위에서 60% 이상의 살균감소율과 70% 이상의 정균감소율을 나타냈다.



5, 8 : Concentration of ethanol extractives
L : leaves, B : bark, X : xylem

Figure. 2-13. Decreasing rate of biocide in different treatment solution

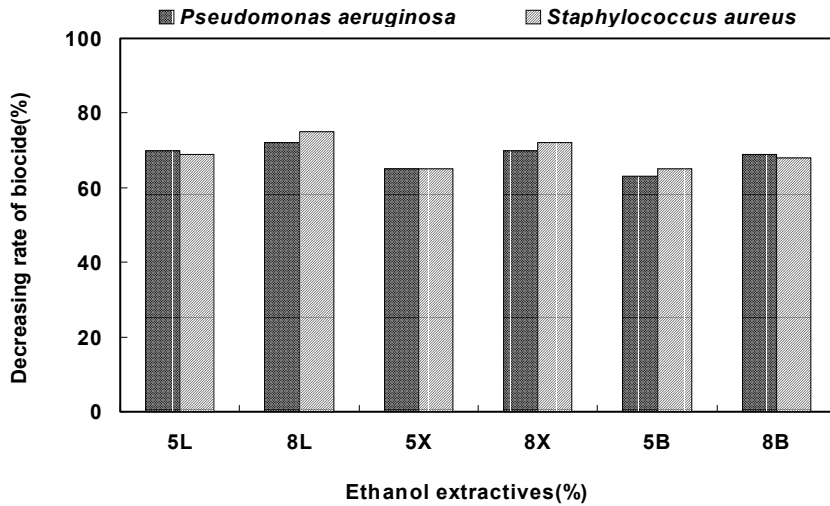


5, 8 : Concentration of ethanol extractives
 L : leaves, B : bark, X : xylem

Figure. 2-14. Decreasing rate of bacteria in different treatment solution

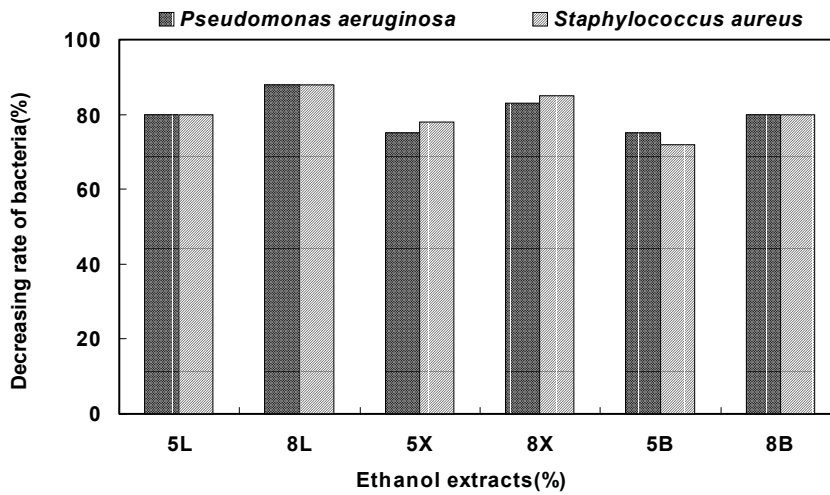
마) 굴참나무 부위별 추출물을 적용한 항균지의 균감소율

Figure. 2-15와 2-16은 굴참나무 부위별 추출물을 5%와 8%로 제조하고 종이에 적용하여 제조한 항균지의 살균감소율과 정균감소율을 나타낸 그래프이다. 굴참나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 경우 65% 이상의 살균감소율과 75% 이상의 정균감소율을 나타내 가장 우수한 항균활성을 나타냈으며, 목질부와 수피의 에탄올 추출물을 적용한 경우 60% 이상의 살균감소율과 70% 이상의 정균감소율을 나타냈다. 또한 굴참나무 부위별 추출물은 적용 농도가 증가함에 따라 항균활성이 증가하는 경향을 나타냈다. 균종별 항균활성은 균종에 따라 차이가 있지만 그람양성균인 *Staphylococcus aureus*가 그람음성균인 *Pseudomonas aeruginosa*에 비해 더 높은 항균활성을 나타냈다.



5, 8 : Concentration of ethanol extractives
 L : leaves, B : bark, X : xylem

Figure. 2-15. Decreasing rate of biocide in different treatment solution

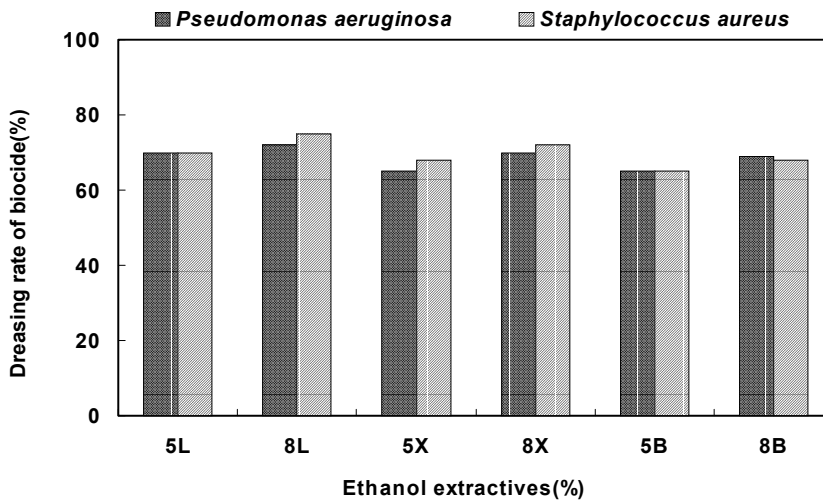


5, 8 : Concentration of ethanol extractives
 L : leaves, B : bark, X : xylem

Figure. 2-16. Decreasing rate of bacteria in different treatment solution

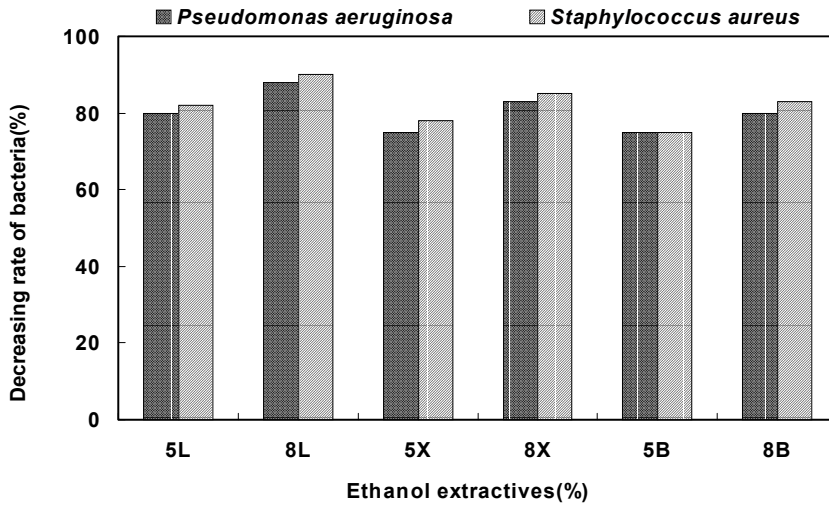
바) 상수리 나무 부위별 추출물을 적용한 항균지의 균감소율

Figure. 2-17과 2-18은 상수리나무 부위별 추출물을 5%와 8%로 제조하고 종이에 적용하여 제조한 항균지의 살균감소율과 정균감소율을 나타낸 그래프이다. 상수리나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 경우 65% 이상의 살균감소율과 75% 이상의 정균감소율을 나타내 가장 우수한 항균활성을 나타냈으며, 목질부와 수피의 에탄올 추출물을 적용한 경우 60% 이상의 살균감소율과 75% 이상의 정균감소율을 나타냈다. 균종별 항균활성은 균종에 따라 차이가 있지만 그람양성균인 *Staphylococcus aureus*가 그람음성균인 *Pseudomonas aeruginosa*에 비해 더 높은 항균활성을 나타냈다.



5, 8 : Concentration of ethanol extractives
L : leaves, B : bark, X : xylem

Figure. 2-17. Decreasing rate of biocide in different treatment solution



5, 8 : Concentration of ethanol extractives
 L : leaves, B : bark, X : xylem

Figure. 2-18. Decreasing rate of bacteria in different treatment solution

4) 참나무 추출물을 적용한 항균지의 항곰팡이성

참나무 추출물을 적용한 항균지의 항곰팡이성을 측정하기 위하여 항균성 실험결과 우수한 항균활성을 나타낸 참나무 6종의 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지를 사용하여 항곰팡이성을 측정하였다.

항곰팡이성의 측정을 위한 곰팡이균으로 *Penicillium citrinum*을 사용하였으며 potato dextrose agar 배지를 제조하고 곰팡이균을 배양한 후 그 위에 항균 시료를 접종하고 27°C incubator에서 24시간 이상 배양 시켰을 때 시료 주위에 형성되는 곰팡이균의 번식 정도를 육안하여 관찰하여 항곰팡이성의 유무를 판단하였다

항곰팡이성 실험결과 대조군인 무처리 종이의 경우 곰팡이균이 대조군의 표면까지 자란 것을 확인할 수 있었으나 참나무 6종의 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 경우는 접종한 항균시료에 곰팡이균의 성장이 일어나지 않는 것을 관찰할 수 있었다. 참나무 6종 중 상수리나무와 신갈나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 경우 가장 우수한 항곰팡이성을 나타냈으며, Figure. 2-19는 참나무 6종의 잎 에탄올 추출물을 적용하여 제조한 항균지의 항곰팡이성 실험 결과이다.

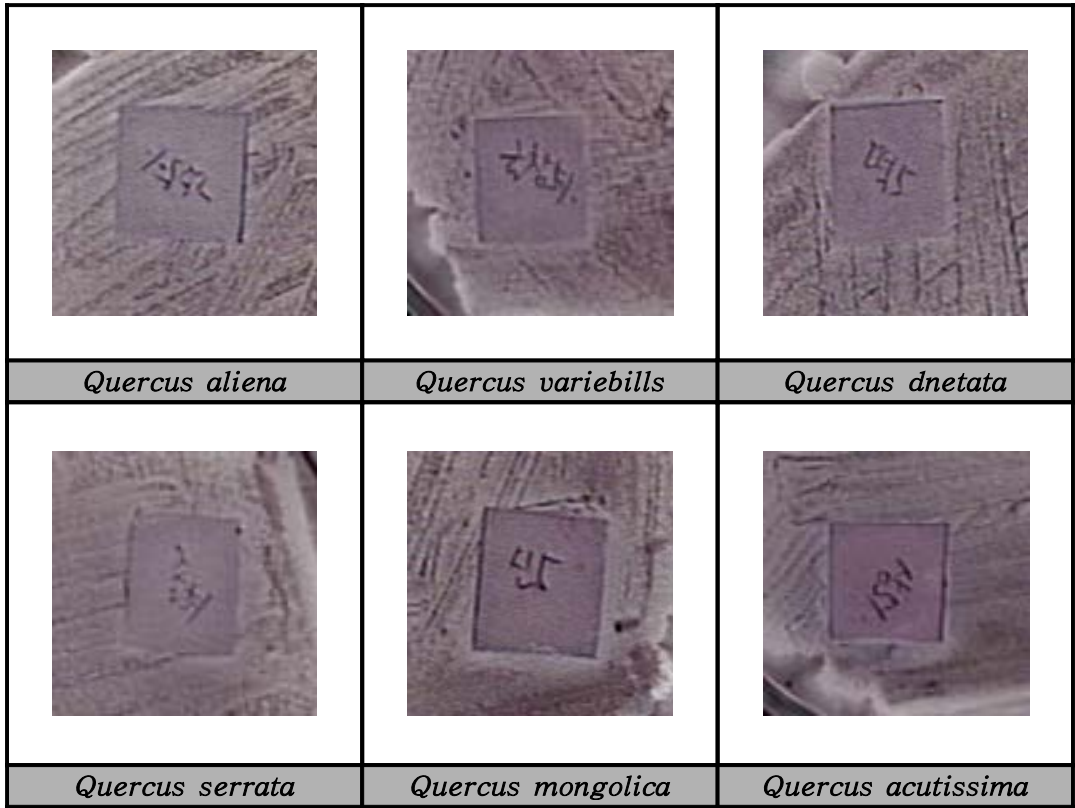


Figure. 2-19. Antifungal properties of *Quercus spp*

나. 항균물질 병용 처리에 의한 항균지 제조 및 항균력 상승효과 검토

1) 항균물질 병용 처리에 의한 항균지 제조 조건 탐색

항균물질 병용 처리에 의한 항균성 상승 효과를 검토하기 위하여 항균지 제조시 가장 항균활성이 높았던 갈참나무 잎 에탄올 추출물에 황련 추출물과 항균력을 극대화시키기 위하여 citric acid를 적용하여 항균물질을 병용 처리한 항균성 상승효과 및 항균지 제조 조건을 검토하였다. 항균지 제조를 위한 항균물질의 항균성 검색을 위해 갈참나무 잎 에탄올 추출물 5%와 8%에 황련 추출물을 0.5%와 1%를 적용하였으며 citric acid는 0.3%와 0.5%를 병용 처리하였다.

병용처리에 의한 항균력 검색 결과 황련 추출물과 citric acid 적용하였을 경우 갈참

나무 잎 에탄올 추출물을 단독으로 처리한 경우 보다 높은 항균활성이 발현되었다. 특히 갈참나무 잎 에탄올 추출물 8%에 황련 추출물 1%와 citric acid 0.5%를 적용하였을 경우 가장 높은 항균활성이 나타났으며, 황련 추출물과 citric acid를 병용 처리하면 항균성이 상승하는 효과를 나타냈다. 균종별 항균활성은 모든 균에 대하여 균일한 항균활성을 나타냈으며 이는 황련 추출물과 citric acid의 병용 처리에 의한 그람양성균과 그람음성균에 대한 항균활성의 차이가 감소하였기 때문으로 생각된다.

Table. 2-5는 황련 추출물과 citric acid의 병용처리에 의한 항균활성 상승효과를 나타낸 표이다.

Table. 2-5. Antimicrobial spectrum of treatment solution.

Antimicrobial agents Test organism	Dipping time : 60 sec							
	Inhibition zone ¹⁾ (mm)							
	A	B	C	D	E	F	G	H
<i>Escherchia coli</i>	9	10	10	11	11	11	12	13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	11	10	11	12	11	12	14
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	10	10	10	10	12	12	14
<i>Bacillus subtilis</i>	9	11	10	11	11	12	12	13
<i>Listeria monocytogenes</i>	9	11	10	10	10	12	12	14
	I	J	K	L	M	N	O	P
<i>Escherchia coli</i>	13	14	14	14	15	16	16	17
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13	15	14	15	15	16	16	17
<i>Staphylococcus aureus</i>	14	15	14	14	16	16	17	17
<i>Bacillus subtilis</i>	14	14	14	15	16	16	16	17
<i>Listeria monocytogenes</i>	14	15	14	15	15	16	16	17

- A : *Coptis chinensis* 0.5% B : *Coptis chinensis* 1% C : Citric acid 0.3% D : Citric acid 0.5%
 E : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5%
 F : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1%
 G : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.3%
 H : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.5%
 I : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.3%
 J : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.5%
 K : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5%
 L : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1%
 M : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.3%
 N : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.5%
 O : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.3%
 P : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.5%

Size of test sample : 8mm, 1) Size of clear zone

2) 항균물질 병용처리에 의해 제조한 항균지의 halo test

갈참나무 잎 에탄올 추출물과 황련 추출물 및 citric acid를 병용 처리하여 제조한 항균지의 항균활성을 halo test법을 통해 검색하였다. 갈참나무 잎 에탄올 추출물에 황련 추출물을 병용 처리하여 제조한 항균지의 경우 모든 균에 대해 항균활성이 미약하게 나타났으며 갈참나무 잎 에탄올 추출물에 황련 추출물과 citric acid를 처리한 경우 우수한 항균활성을 발현하는 것으로 나타났다.

균종에 따른 병용 처리된 항균지의 항균활성은 그람양성균과 그람음성균에 대해 비

슷한 항균활성을 나타냈으며, 이는 황련 추출물과 citric acid의 처리에 의한 그람양성균뿐만 아니라 그람음성균에 대한 항균활성 상승효과가 작용하였기 때문으로 생각된다.

가) *Escherichia coli*에 대한 halo test

Figure. 2-20은 항균물질을 병용처리하여 제조한 항균지의 *Escherichia coli* 균에 대한 halo test 결과이다. 갈참나무 잎 추출물과 황련 추출물을 적용한 항균지의 경우 항균 시료 주위에 shadow mark가 형성되어 항균활성의 정도가 미약한 것을 알 수 있으며 참나무와 황련의 첨가량이 증가함에 따라 항균활성이 상승하는 효과를 나타내었다. Citric acid를 첨가하였을 경우 clear zone이 형성되었으며 citric acid의 첨가량이 증가함에 따라 항균활성은 더 높아지는 효과를 나타냈다. 항균물질을 병용 처리하였을 경우 갈참나무 8%와 황련 추출물 1% 그리고 citric acid 0.5%를 첨가하였을 경우 가장 높은 항균활성을 나타냈다.

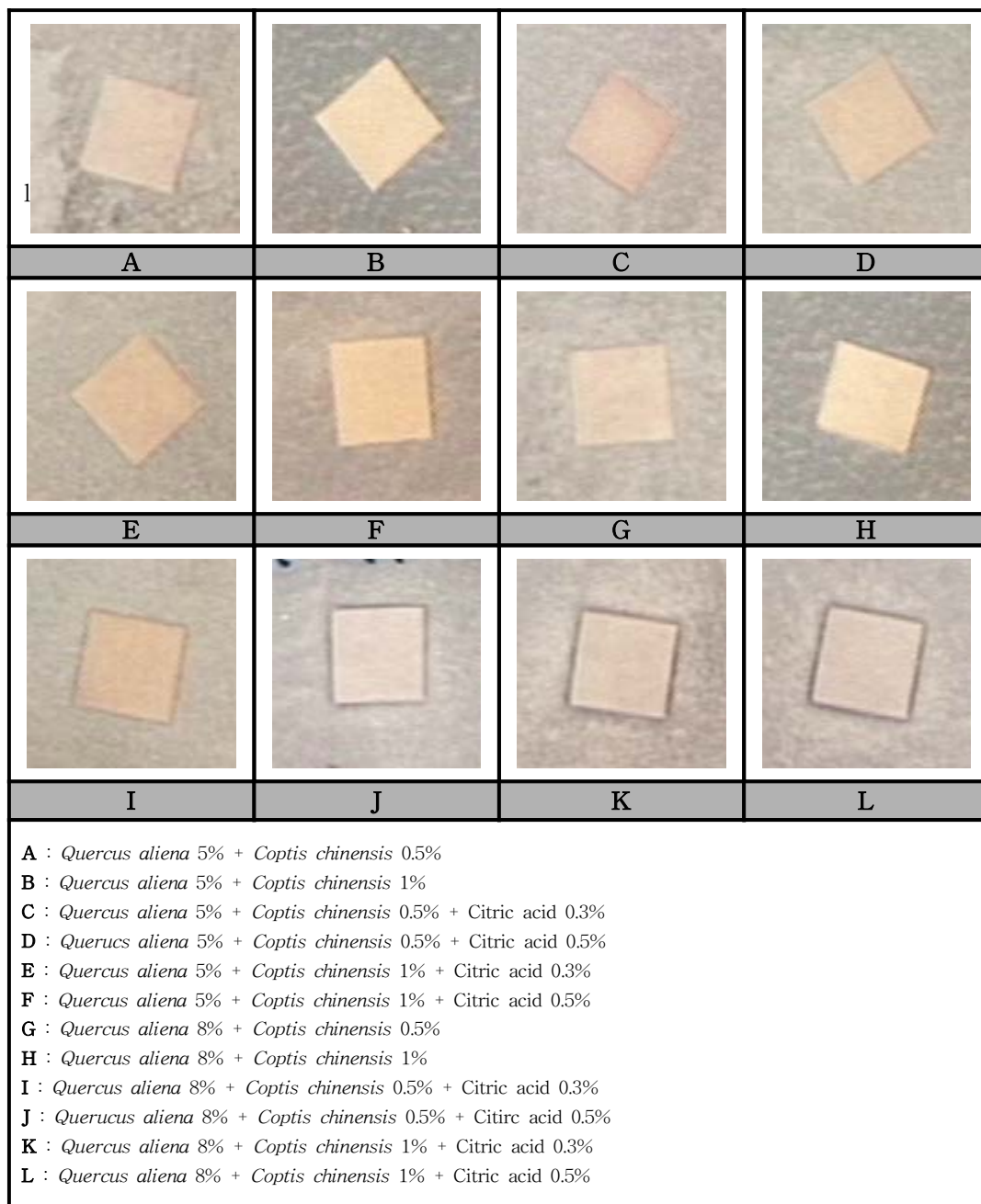


Figure. 2-20. Halo test of *Escherchia coli*

나) *Listeria monocytogenes*에 대한 halo test

Figure. 2-21은 항균물질을 병용처리하여 제조한 항균지의 *Listeria monocytogenes* 균에 대한 halo test 결과이다. 갈참나무 잎 추출무과 황련 추출물을 적용한 항균지의 경우 항균 시료 주위에 shadow mark가 형성되었으며 참나무와 황련의 첨가량이 증가함에 따라 항균활성이 상승하는 결과를 나타냈으나 미약하였다. Citric acid를 첨가하였을 경우 clear zone이 형성되었으며 citric acid의 첨가량이 증가함에 따라 항균활성이 증가하였으나 미약함을 확인할 수 있었다. 항균제를 병용처리 하였을 경우 참나무 8%와 황련 추출물 1% 그리고 citric acid 0.5%를 첨가하였을 경우 가장 높은 항균활성을 나타냈다.

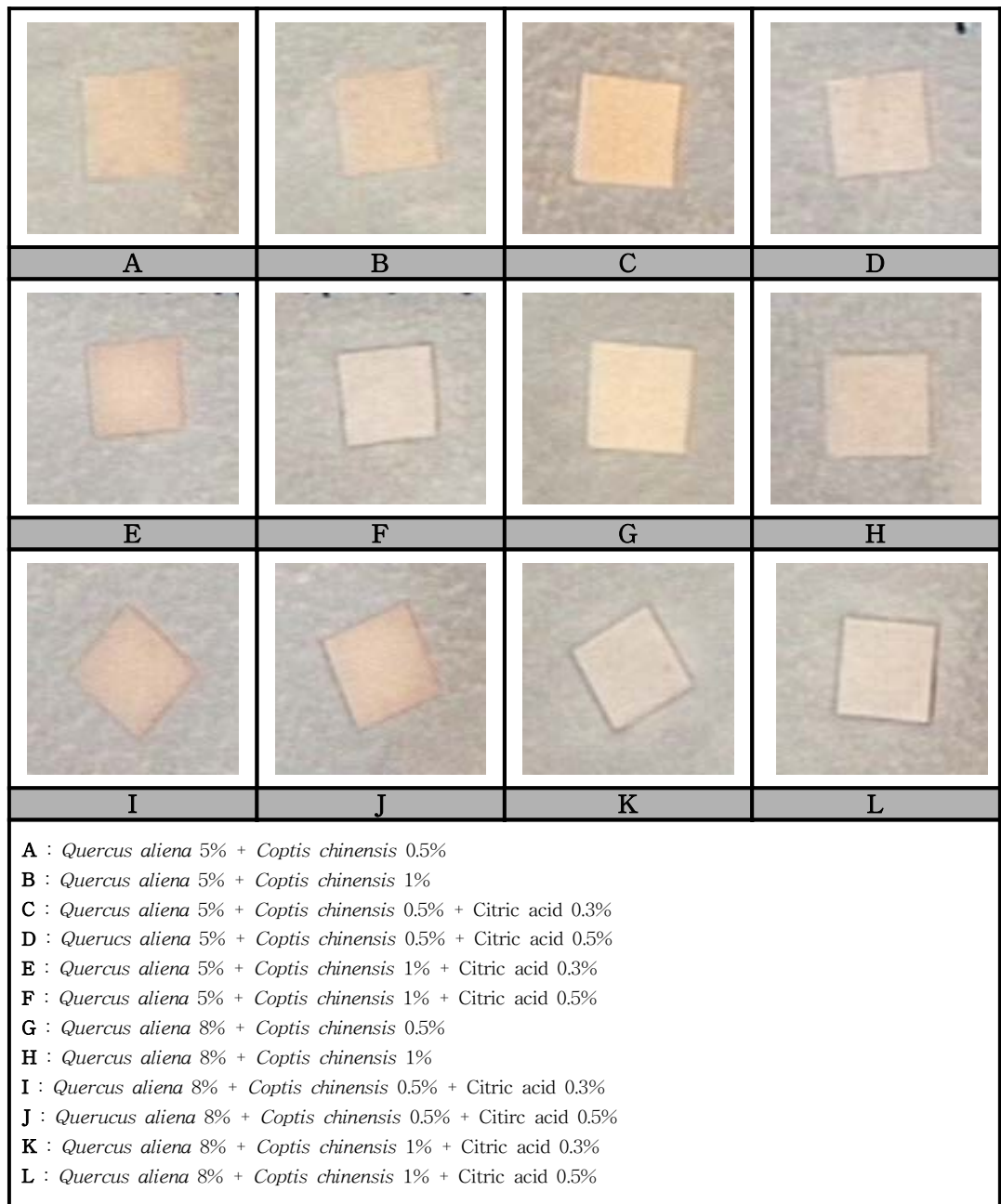


Figure. 2-21. Halo test of *Listeria monocytogenes*

다) *Pseudomonas aeruginosa*에 대한 halo test

Figure. 2-22는 항균물질을 병용 처리하여 제조한 항균지의 *Pseudomonas aeruginosa* 균에 대한 halo test 결과이다. 갈참나무 잎 추출무과 황련 추출물을 적용한 항균지의 경우 항균 시료 주위에 shadow mark가 형성되었으며, 참나무와 황련의 첨가량이 증가함에 따라 항균활성이 상승하는 결과를 나타냈으나 미약한 것을 확인할 수 있었다. Citric acid를 병용처리 하였을 경우 clear zone이 형성되었으며 citric acid의 첨가량이 증가함에 따라 항균활성이 증가하였으나 미약함을 확인할 수 있었다. 항균제를 병용처리 하였을 경우 참나무 8%와 황련 추출물 1% 그리고 citric acid 0.5%를 첨가하였을 경우 가장 높은 항균활성을 나타냈다.

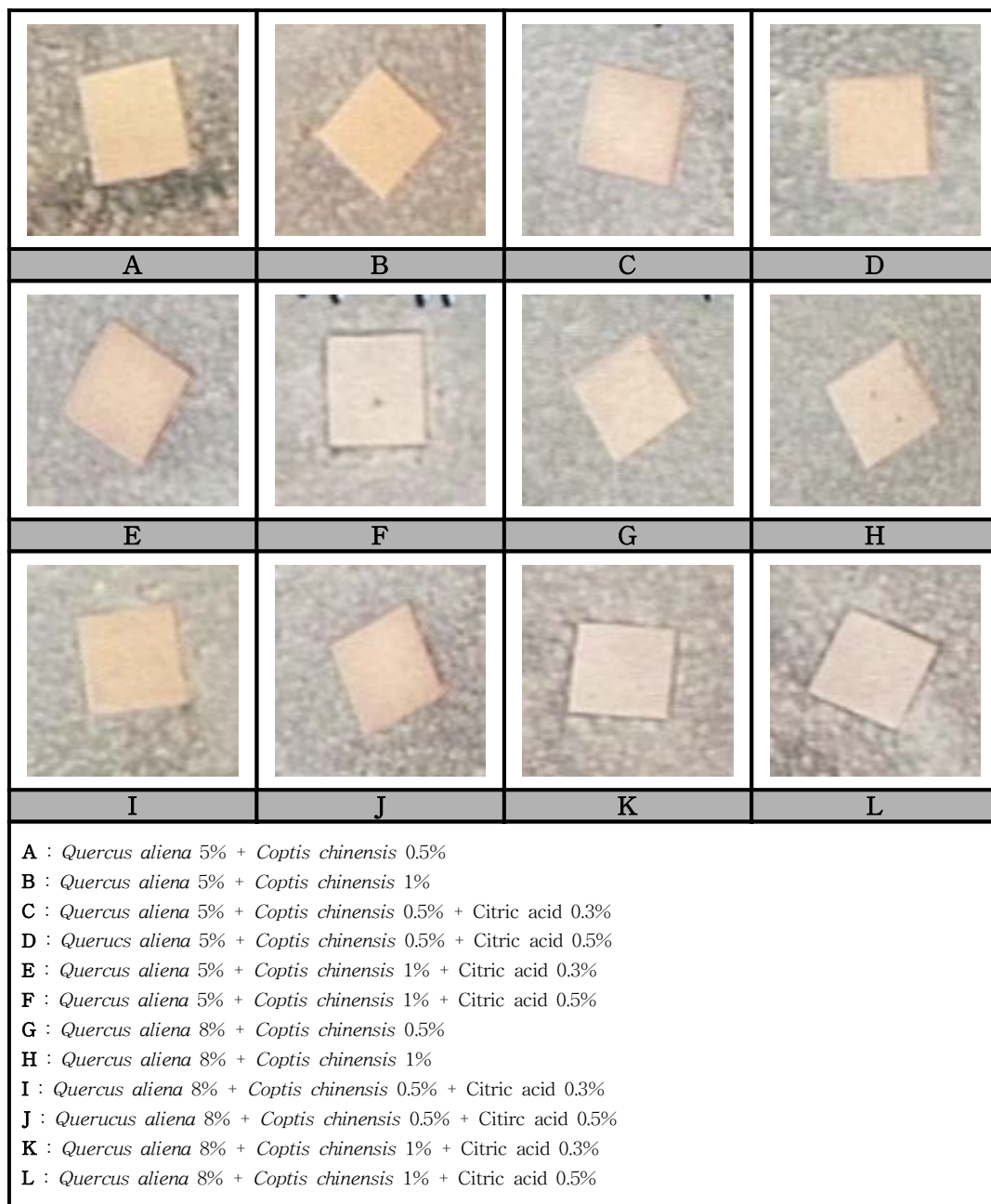


Figure. 2-22. Halo test of *Pseudomonas aeruginosa*

라) *Bacillus subtilis*에 대한 halo test

Figure. 2-23은 항균물질을 병용처리하여 제조한 항균지의 *Bacillus subtilis* 균에 대한 halo test 결과이다. 갈참나무 잎 추출무과 황련 추출물을 적용한 항균지의 경우 항균 시료 주위에 shadow mark가 형성되었으며 참나무와 황련의 첨가량이 증가함에 따라 항균활성의 상승효과는 미약한 것을 확인할 수 있었다. Citric acid를 병용처리 하였을 경우 clear zone이 형성되었으며, citric acid의 첨가량이 증가함에 따라 항균활성이 증가하였으나 미약함을 확인할 수 있었다. 항균제를 병용처리 하였을 경우 참나무 8%와 황련 추출물 1% 그리고 citric acid 0.5%를 첨가하였을 경우 가장 높은 항균활성을 나타냈다.

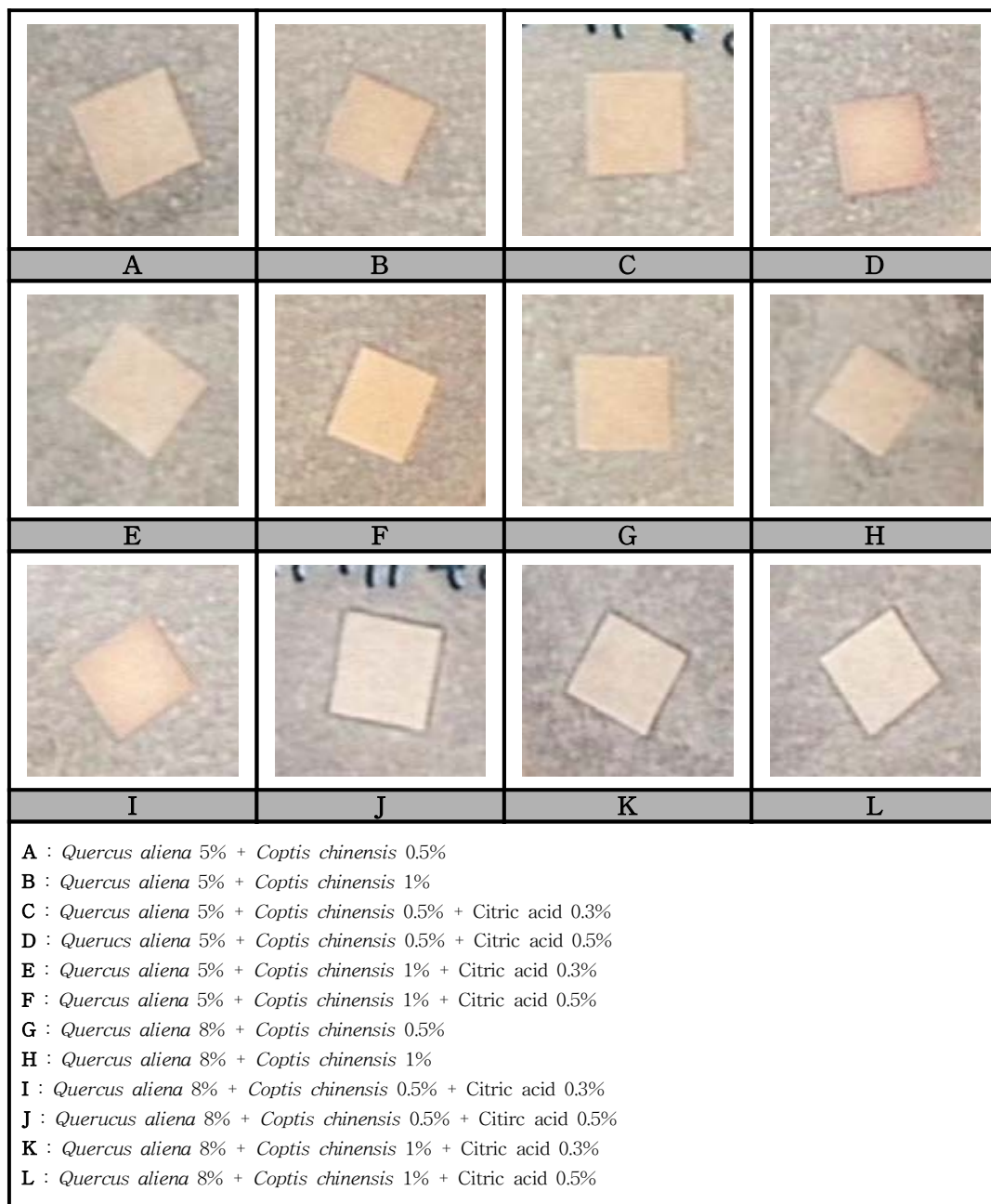


Figure. 2-23. Halo test of *Bacillus subtilis*

마) *Staphylococcus aureus*에 대한 halo test

Figure. 2-24는 항균물질을 병용 처리하여 제조한 항균지의 *Staphylococcus aureus* 균에 대한 halo test 결과이다. 갈참나무 잎 추출무과 황련 추출물을 적용한 항균지의 경우 항균 시료 주위에 shadow mark가 형성되었으며 참나무와 황련의 첨가량이 증가함에 따라 항균활성의 상승효과는 미약한 것을 확인할 수 있었다. Citric acid를 병용처리 하였을 경우 clear zone이 형성되었으며, citric acid의 첨가량이 증가함에 따라 항균활성이 증가하였으나 미약함을 확인할 수 있었다. 항균제를 병용처리 하였을 경우 참나무 8%와 황련 추출물 1% 그리고 citric acid 0.5%를 첨가하였을 경우 가장 높은 항균활성을 나타냈다.

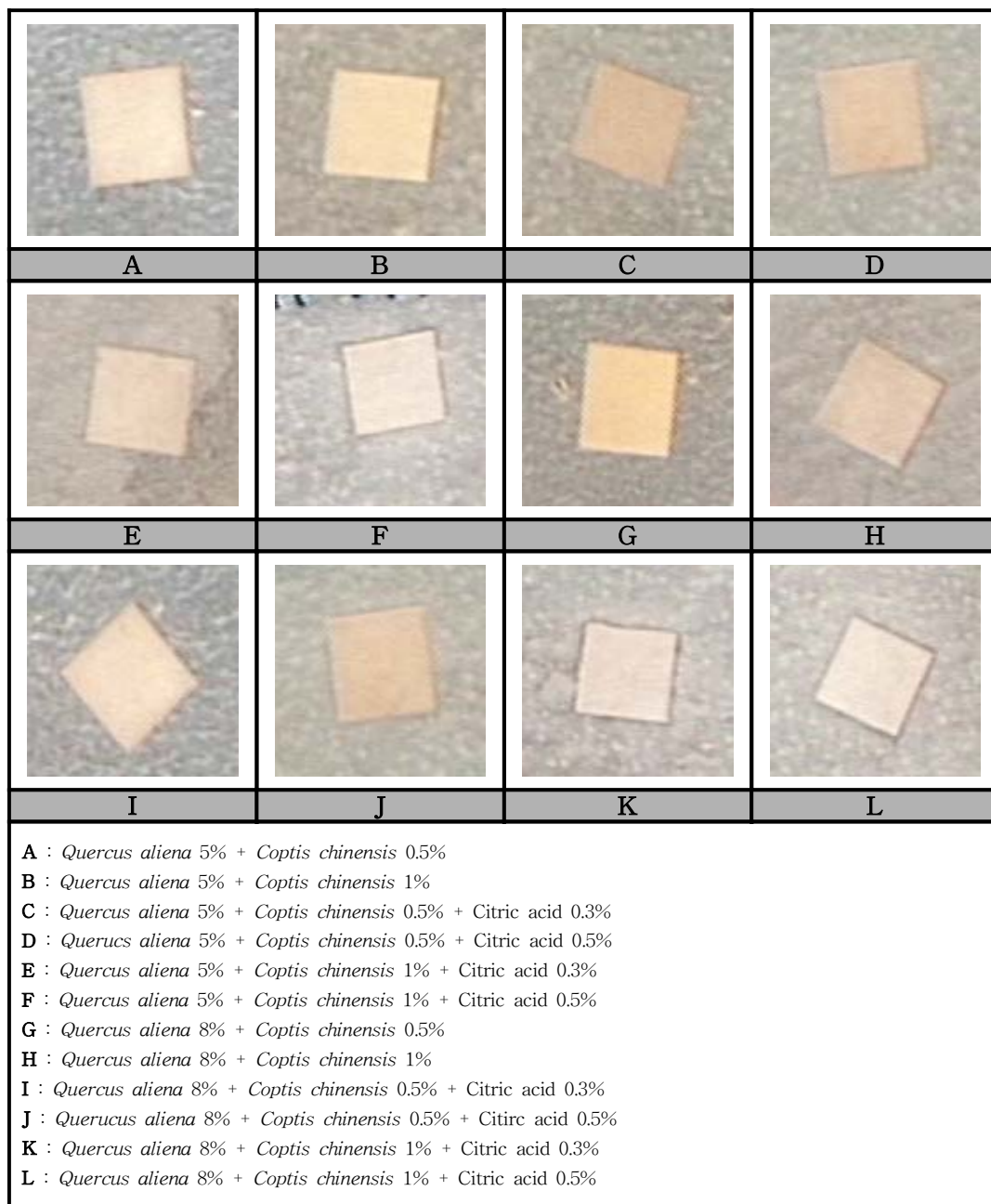


Figure. 2-24. Halo test of *Staphylococcus aureus*

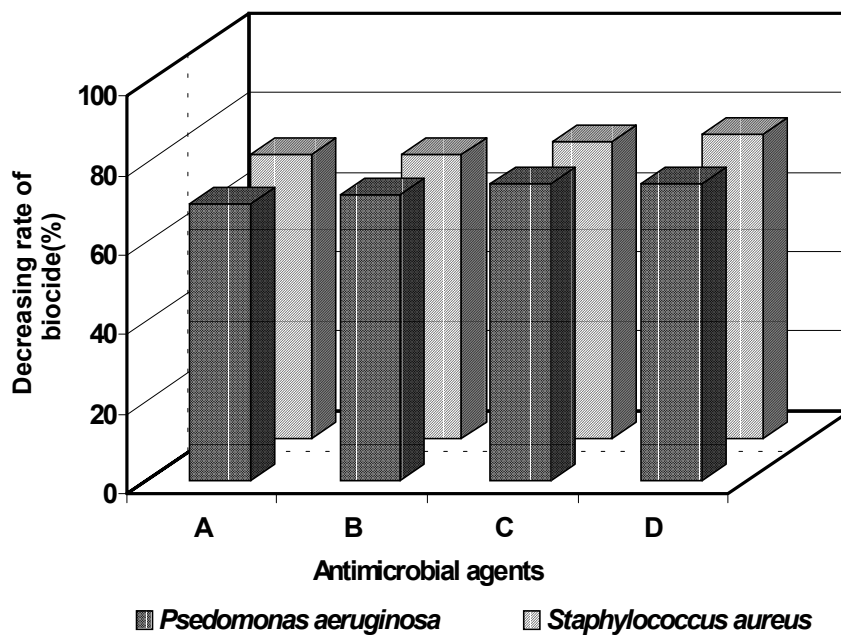
3) 항균물질 병용처리에 의해 제조한 항균지의 균감소율

항균물질을 병용 처리하여 제조한 항균지의 살균감소율과 정균감소율을 JIS L1902법을 통하여 측정하였다. 항균제 병용처리에 의한 균감소율의 상승효과가 나타났다. 갈참나무 잎 추출물과 황련 추출물 및 citric acid 첨가에 의해 살균감소율이 70% 이상 정균감소율이 80% 이상으로 상승하였다. 황련 추출물을 병용 처리한 경우 항균성의 상승효과가 나타났으나 미약하였으며, citric acid를 병용 처리한 경우 우수한 항균활성 상승효과가 나타났다. 가장 우수한 항균활성은 갈참나무 잎 추출물 8%에 황련 1% 그리고 citric acid 0.5%를 첨가한 경우였다.

가) 항균물질 병용처리에 의해 제조한 항균지의 살균감소율

Figure. 2-25~2-27은 갈참나무 잎 에탄올 추출물에 황련 추출물과 citric acid를 병용처리하여 제조한 항균지의 살균감소율 결과이다. 갈참나무 잎 에탄올 추출물에 황련 추출물을 적용한 경우 70% 이상의 살균감소율을 나타냈으며, 병용 처리한 갈참나무 잎 에탄올 추출물과 황련 추출물의 첨가량이 증가함에 따라 살균감소율은 증가하는 경향을 나타냈다. Citric acid를 첨가했을 경우 살균감소율은 더욱 상승하는 효과를 나타내 황련 추출물과 citric acid를 첨가함에 따라 항균성 상승효과 일어남을 확인하였다. 병용처리에 의한 항균지의 살균감소율 중 갈참나무 잎 에탄올 추출물 8%와 황련 추출물 1% 그리고 citric acid 0.5%를 첨가했을 경우 85% 정도의 가장 우수한 항균활성을 나타냈다.

균종별 항균활성 검색 결과 그람양성균인 *Staphylococcus aureus* 균이 그람음성균인 *Pseudomonas aeruginosa*에 비해 더 높은 항균활성을 나타내나 살균감소율의 차이는 낮은 것으로 나타났다.



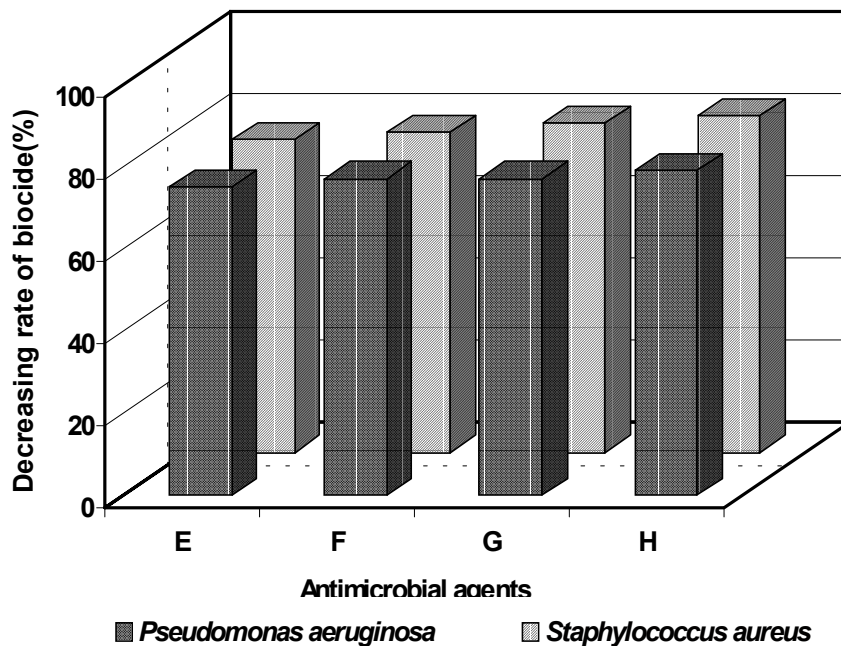
A : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5%

B : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1%

C : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.3%

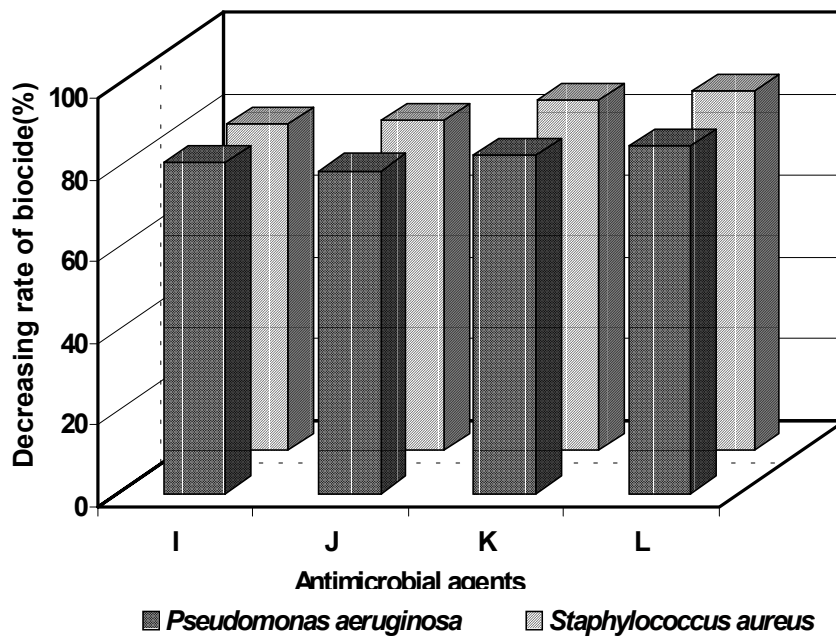
D : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.5%

Figure. 2-25. Decreasing rate of biocide in different treatment solution.



E : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.3%
 F : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.5%
 G : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5%
 H : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1%

Figure. 2-26. Decreasing rate of biocide in different treatment solution.



I : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.3%

J : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.5%

K : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.3%

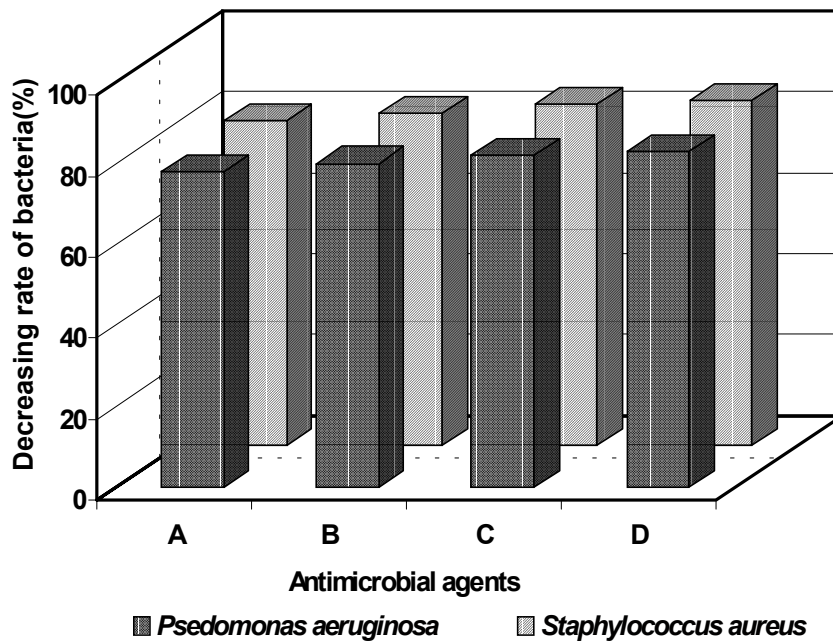
L : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.5%

Figure. 2-27. Decreasing rate of biocide in different treatment solution.

나) 항균물질 병용처리에 의해 제조한 항균지의 정균감소율

Figure. 2-28~2-30은 갈참나무 잎 에탄올 추출물에 황련 추출물과 citric acid를 병용 처리하여 제조한 항균지의 정균감소율 결과이다. 갈참나무 잎 에탄올 추출물에 황련 추출물을 적용한 경우 80% 이상의 살균감소율을 나타냈으며, 병용 처리한 갈참나무 잎 에탄올 추출물 첨가량이 증가함에 따라 정균감소율은 증가하는 경향을 나타냈다. Citric acid를 첨가했을 경우 90%까지 정균감소율이 상승하는 효과를 나타내 황련 추출물과 citric acid를 첨가함에 따라 항균성 상승효과 일어남을 확인하였다. 병용처리에 의한 항균지의 정균감소율 중 갈참나무 잎 에탄올 추출물 8%와 황련 추출물 1% 그리고 citric acid 0.5%를 첨가했을 경우 90% 정도의 가장 우수한 항균활성을 나타냈다.

균종별 항균활성 검색 결과 그람양성균인 *Staphylococcus aureus* 균이 그람음성균인 *Pseudomonas aeruginosa*에 비해 더 높은 항균활성을 나타냈으나 살균감소율의 차이는 약한 것으로 나타났다.



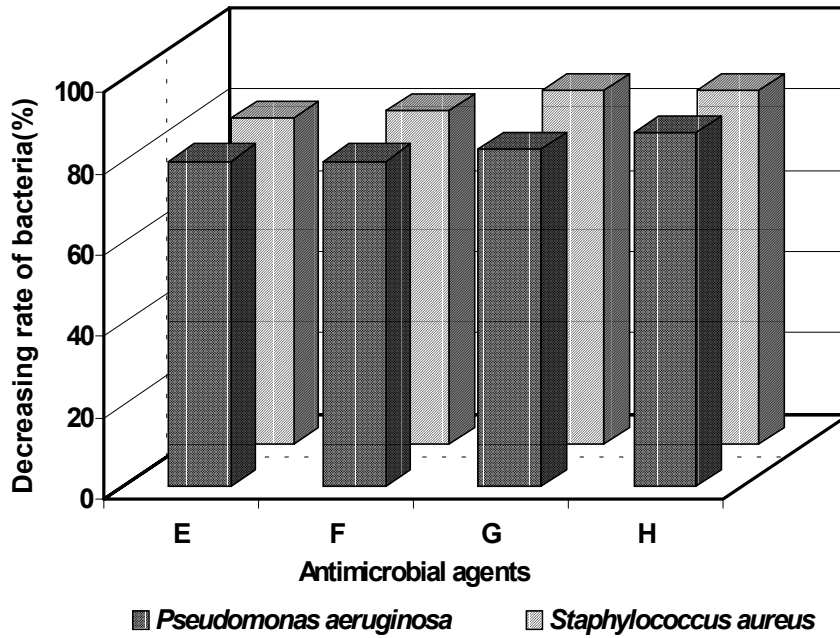
A : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5%

B : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1%

C : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.3%

D : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.5%

Figure. 2-28. Decreasing rate of bacteria in different treatment solution.



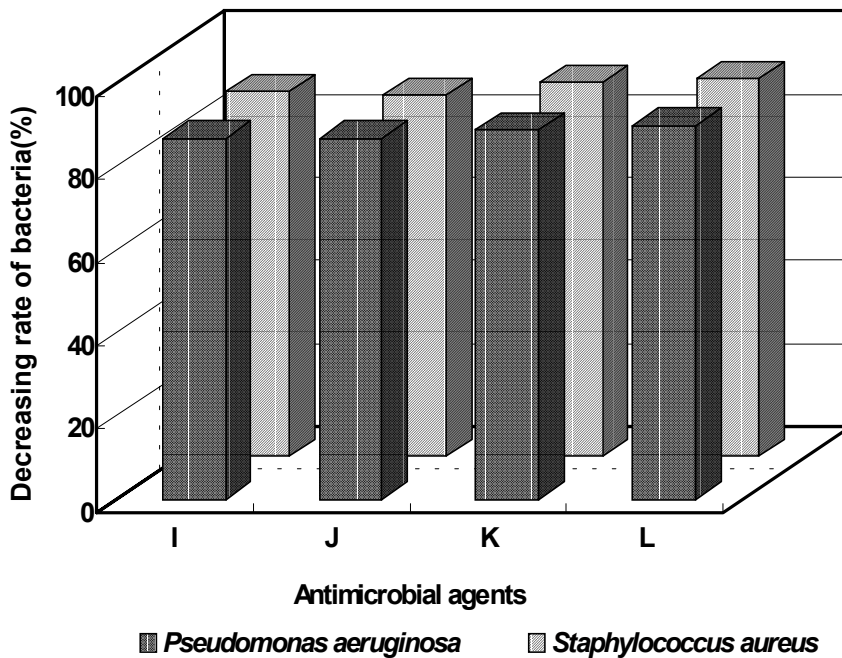
E : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.3%

F : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.5%

G : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5%

H : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1%

Figure. 2-29. Decreasing rate of bacteria in different treatment solution.



I : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.3%

J : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.5%

K : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.3%

L : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.5%

Figure. 2-30. Decreasing rate of bacteria in different treatment solution.

다. 항균물질 병용 처리에 의해 제조한 항균지의 항균력 지속성 평가

항균물질 병용 처리를 통해 제조한 항균지의 항균력 지속성을 평가하기 위하여 항균지 제조 후 10일, 20일, 30일이 경과한 후 항균성을 측정하였으며, 온도와 습도에 대한 항균 시료의 변화를 최소화하기 위하여 항온 항습실에서 보관하였다. 제조 후 시간의 변화에 따른 항균력의 변화는 halo test과 JIS L 1902법을 통해 평가하였다.

병용 처리에 의해 제조한 항균지의 항균력 지속성 평가 결과 10일이 경과한 항균지의 항균활성은 제조직 후 측정된 항균력과 유사한 값을 나타냈으며 20일, 30일이 경과함에 따라 항균력이 급격하게 저하하는 경향을 나타냈다.

1) Halo test를 통한 항균지의 지속성 검색

Halo test를 통한 시간별 항균지의 항균력을 측정하기 위하여 항균시료의 크기를 10mm로 자르고 tryptic soy agar와 tryptic soy broth 배지에 항균시료를 24시간 incubator에서 배양하여 시료 주위에 형성된 clear zone의 크기를 측정하였다.

Table. 2-6은 항균지 제조 후 10일이 경과한 항균시료의 halo test 결과이다. 10일이 경과한 후 항균지의 항균력은 제조 직후 측정된 항균지의 항균력과 비슷한 결과를 나타냈다. 갈참나무 잎 에탄올 추출물과 황련 추출물을 적용한 경우 14mm 정도의 항균활성을 나타냈으며, citric acid의 첨가에 의해 항균력은 증가하는 경향을 나타냈다. 가장 우수한 항균활성을 나타낸 항균지 제조 조건은 갈참나무 잎 에탄올 추출물 8%에 황련 추출물 1%와 citric acid 0.5%를 병용 처리한 경우 17mm 정도의 항균성을 발현하였다. 10일이 경과한 후 균종별 항균활성은 그람양성균과 그람음성균에 대해 비슷한 항균활성을 나타냈다.

Table. 2-7 항균지 제조 후 20일이 경과한 항균시료의 halo test 결과를 나타낸 것으로 20일이 경과한 후 항균력은 급격하게 감소하는 경향을 나타냈다. 갈참나무와 황련을 처리한 항균지의 경우 12mm 정도의 항균력을 나타냈으며, citric acid를 병용 처리한 경우도 항균력이 14-15mm 정도로 감소하는 것으로 나타났다.

30일이 경과한 항균시료의 halo test 결과를 Table. 2-8에 나타냈다. 30일이 경과하자 갈참나무와 황련 추출물을 병용 처리한 항균지는 육안으로 clear zone의 형성 여부를 판단할 수 없었으며 citric acid를 첨가한 경우도 항균력이 감소하는 경향을 나타냈다.

Table. 2-6. Antimicrobial spectrum of treatment solution.

10-day after antimicrobial paper manufacture						
Antimicrobial antsges	Inhibition zone ¹⁾ (mm)					
	A	B	C	D	E	F
Test organism						
<i>Escherchia coli</i>	12	12	13	13	13	14
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	12	13	14	13	14
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	13	13	13	14	14
<i>Bacillus subtilis</i>	12	13	13	14	14	14
<i>Listeria monocytogenes</i>	11	12	13	13	13	14
	G	H	I	J	K	L
<i>Escherchia coli</i>	13	14	15	15	16	17
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13	15	15	16	16	17
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	14	15	16	16	16
<i>Bacillus subtilis</i>	13	15	15	15	16	17
<i>Listeria monocytogenes</i>	13	15	15	15	16	17

A : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5%

B : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1%

C : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.3%

D : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.5%

E : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.3%

F : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.5%

G : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5%

H : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1%

I : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.3%

J : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.5%

K : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.3%

L : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.5%

Size of test sample : 10mm, 1) Size of clear zone

Table. 2-7. Antimicrobial spectrum of treatment solution.

20-day after antimicrobial paper manufacture						
Antimicrobial antsges	Inhibition zone ¹⁾ (mm)					
	A	B	C	D	E	F
Test organism						
<i>Escherchia coli</i>	11	12	12	12	12	13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	11	12	12	12	13
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	11	11	12	13	13
<i>Bacillus subtilus</i>	11	11	12	12	12	14
<i>Listeria monocytogenes</i>	11	12	11	12	13	13
	G	H	I	J	K	L
<i>Escherchia coli</i>	12	13	14	14	14	14
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	13	14	14	14	15
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	13	14	14	14	14
<i>Bacillus subtilus</i>	11	14	14	14	14	14
<i>Listeria monocytogenes</i>	12	14	14	14	14	15

A : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5%

B : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1%

C : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.3%

D : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.5%

E : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.3%

F : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.5%

G : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5%

H : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1%

I : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.3%

J : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.5%

K : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.3%

L : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.5%

Size of test sample : 10mm, 1) Size of clear zone

Table. 2-8. Antimicrobial spectrum of treatment solution.

30-day after antimicrobial paper manufacture						
Antimicrobial antsges	Inhibition zone ¹⁾ (mm)					
	A	B	C	D	E	F
Test organism						
<i>Escherchia coli</i>	10	10	10	10	10	11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	10	10	11	10	11
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	10	11	10	10	11
<i>Bacillus subtilus</i>	10	10	10	11	10	11
<i>Listeria monocytogenes</i>	10	10	10	10	11	11
	G	H	I	J	K	L
<i>Escherchia coli</i>	10	11	11	11	12	12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	11	12	12	12	12
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	11	11	12	12	13
<i>Bacillus subtilus</i>	10	10	12	12	12	12
<i>Listeria monocytogenes</i>	10	11	12	12	12	12

A : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5%

B : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1%

C : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.3%

D : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.5%

E : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.3%

F : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.5%

G : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5%

H : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1%

I : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.3%

J : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.5%

K : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.3%

L : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.5%

Size of test sample : 10mm, 1) Size of clear zone

2) 균감소율의 변화를 통한 항균지의 지속성 검색

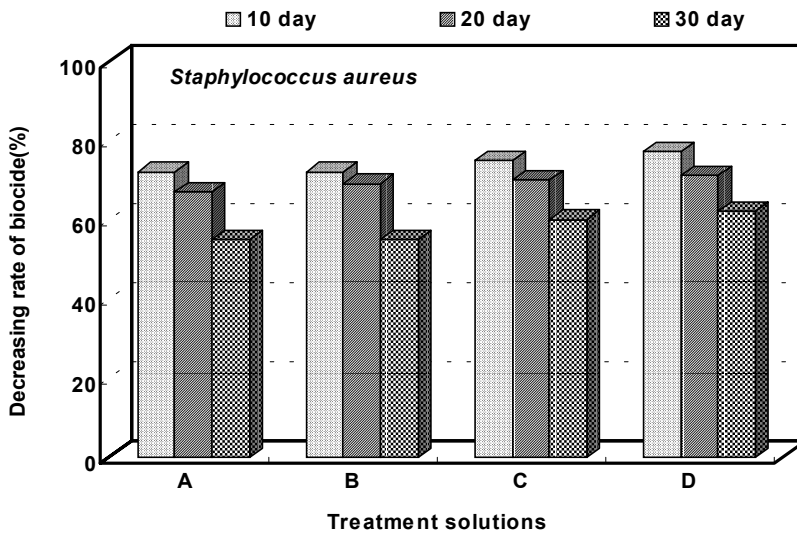
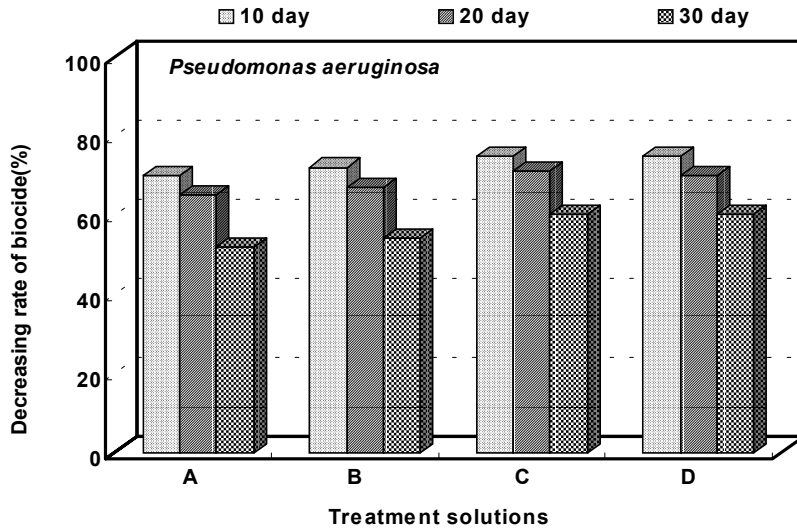
Figure. 2-31~2-36은 갈참나무 잎 에탄올 추출물과 황련 추출물, citric acid를 병용 처리하여 항균지를 제조하고 10일, 20일, 30일이 경과한 후 균감소율을 측정하여 항균지의 항균성 지속 여부를 검색한 그래프이다.

병용처리에 의해 제조한 항균지는 10일이 경과하자 70% 이상의 살균감소율과 80% 이상의 정균감소율을 나타냈으며, 균종별 항균활성은 *Staphylococcus aureus*가 *Pseudomonas aeruginosa*보다 더 높은 항균활성을 나타냈으나 항균활성의 차이가 미약하게 나타났다.

항균지 제조 후 20일이 지나자 모든 조건별 항균지의 항균성이 감소하는 경향을 나타냈다. 갈참나무 잎 에탄올 추출물과 황련 추출물을 병용 처리한 항균지의 경우 60% 정도의 살균감소율과 70% 정도의 정균감소율을 나타냈으며 citric acid를 병용 처리한 경우 항균성의 감소가 약화되었다. 균종별 항균활성인 그람양성균인 *Staphylococcus aureus*가 그람음성균인 *Pseudomonas aeruginosa*에 비해 더 높은 항균활성을 나타냈다. 항균지 제조 후 20일이 경과하면 모든 조건에서 5-10%정도 균감소율이 감소하는 경향을 나타냈다.

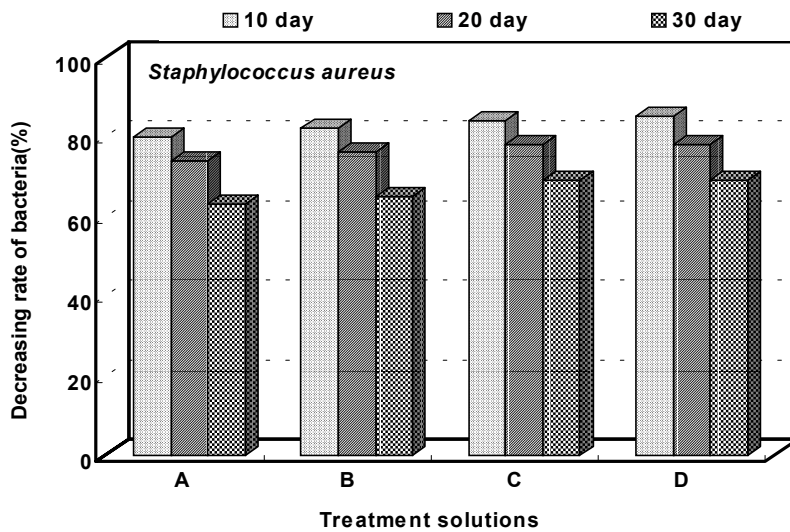
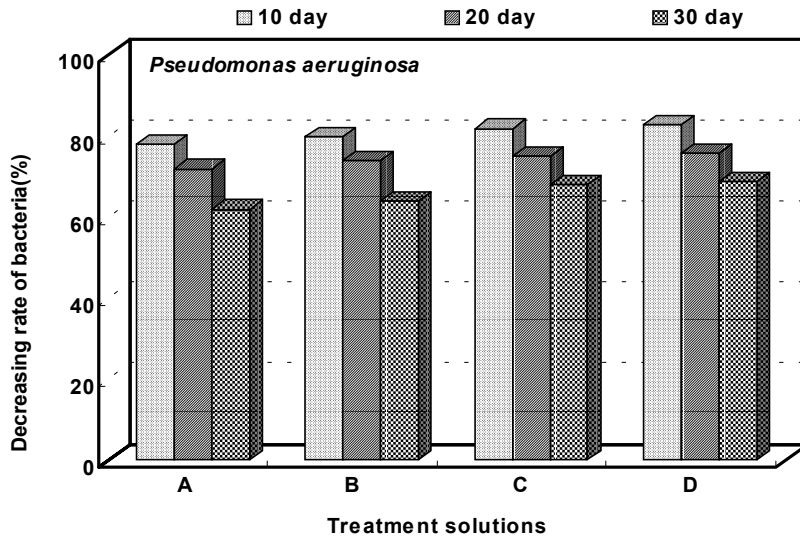
항균지 제조 30일이 지나자 균감소율은 급격하게 감소하는 경향을 나타냈다. 황련만을 병용처리한 경우 살균감소율이 50%까지 감소하였으며 정균감소율은 60%까지 감소하는 경향을 나타냈다. Citric acid를 처리한 경우는 60% 이상의 살균감소율과 70% 이상의 정균감소율을 나타냈다. 균종별 항균활성은 그람양성균인 *Staphylococcus aureus*가 그람음성균인 *Pseudomonas aeruginosa*에 비해 더 우수한 항균력이 나타났으나 항균활성의 차이가 미약한 것으로 나타났다.

황련 추출물과 citric acid를 병용 처리한 항균지는 10% 이상 항균성이 감소하는 결과를 나타냈으며, citric acid를 첨가한 경우 황련 추출물만 첨가한 경우보다 항균력 지속효과가 더 우수한 것으로 나타났다.



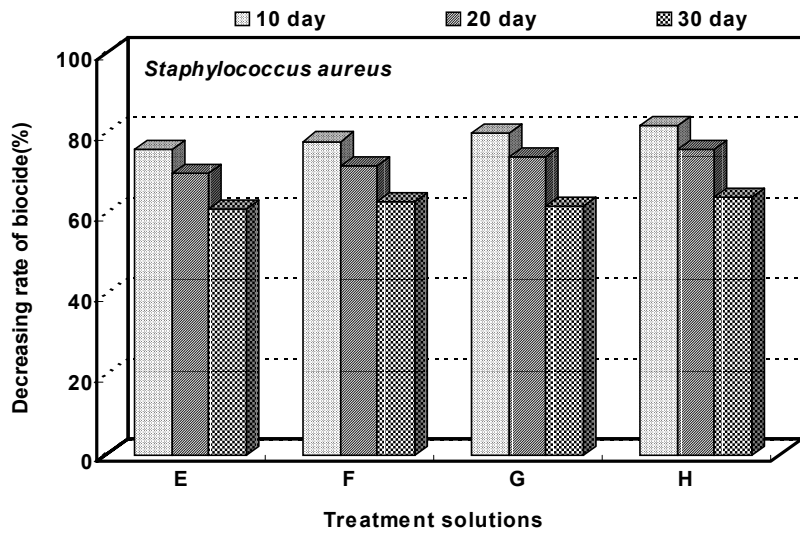
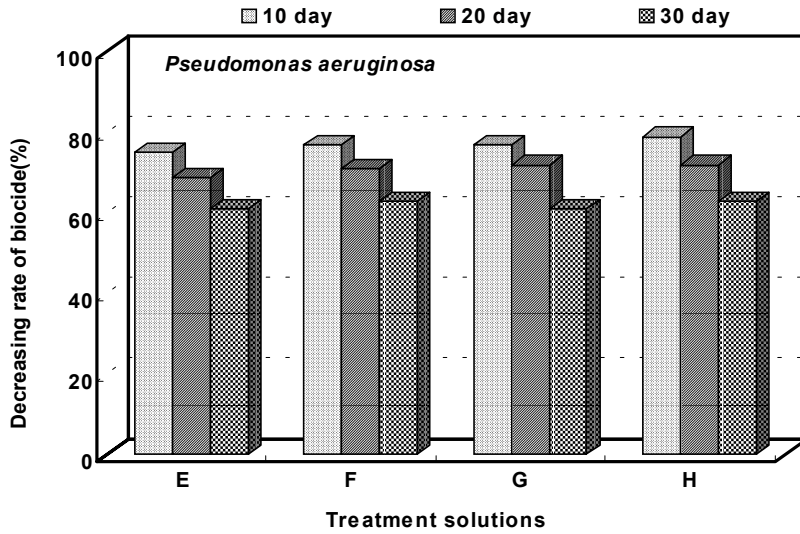
- A : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5%
- B : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1%
- C : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.3%
- D : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.5%

Figure. 2-31. Decreasing rate of biocide in different treatment solution.



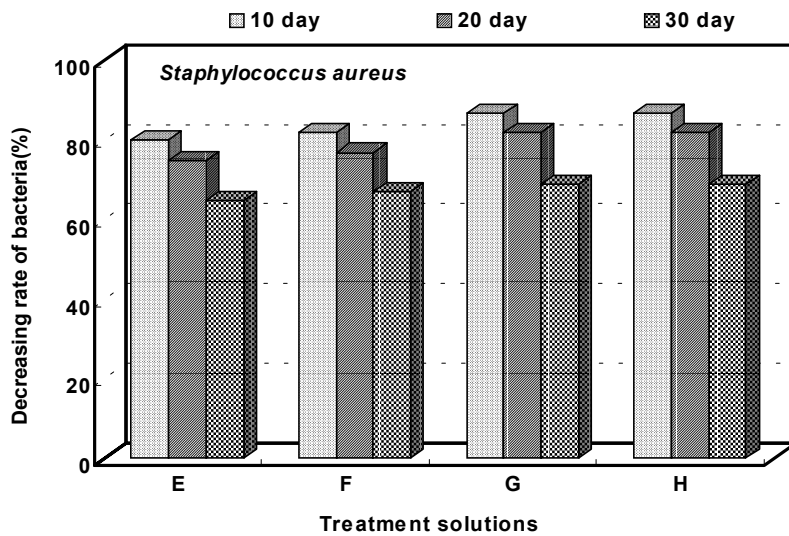
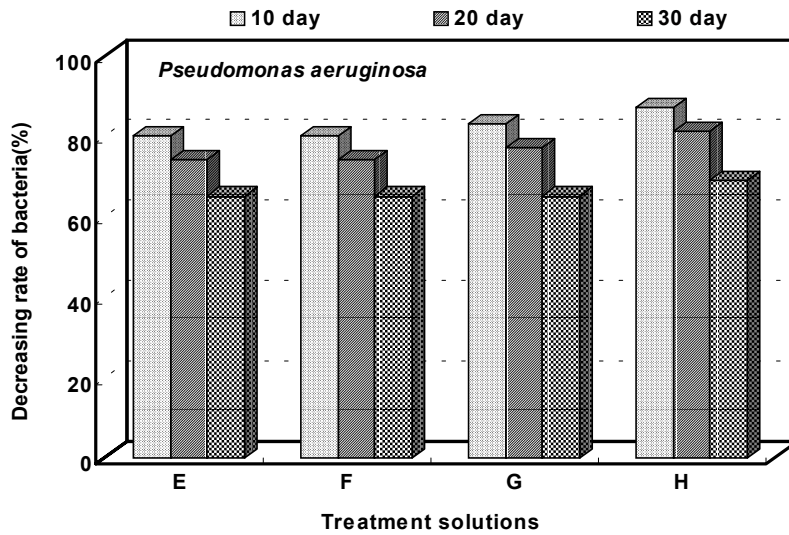
- A : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5%
- B : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1%
- C : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.3%
- D : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.5%

Figure. 2-32. Decreasing rate of bacteria in different treatment solution.



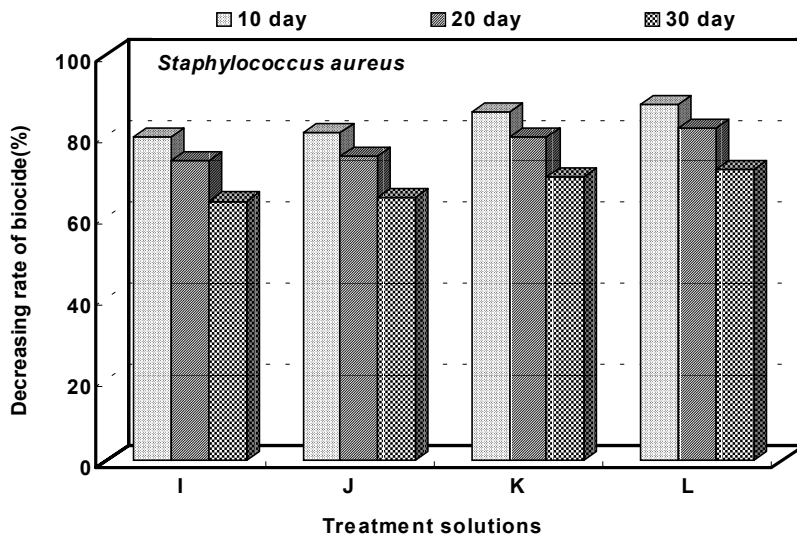
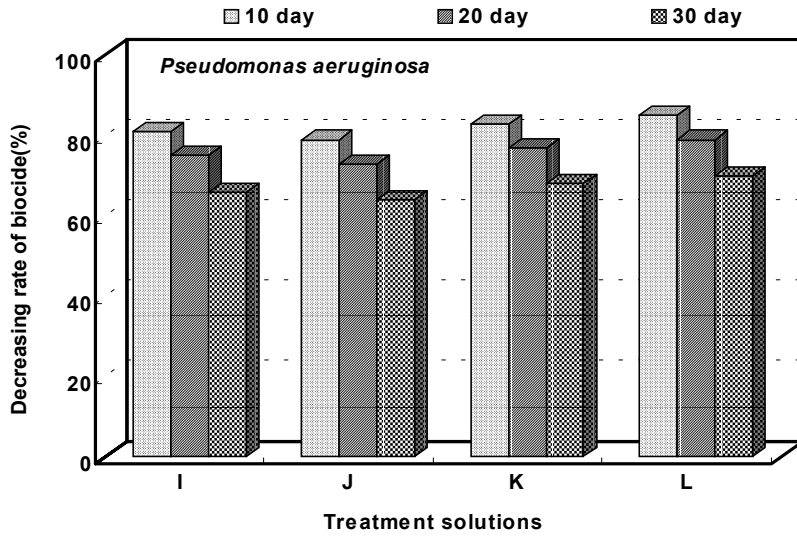
- E : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.3%
- F : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.5%
- G : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5%
- H : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1%

Figure. 2-33. Decreasing rate of biocide in different treatment solution.



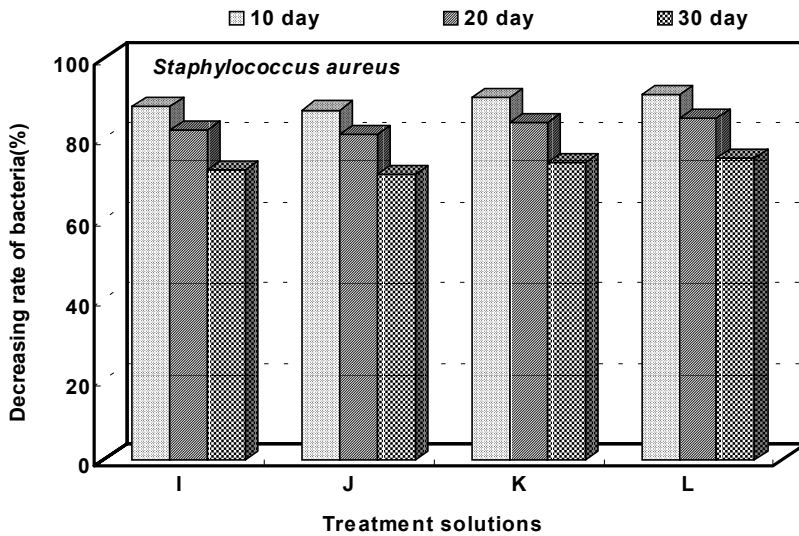
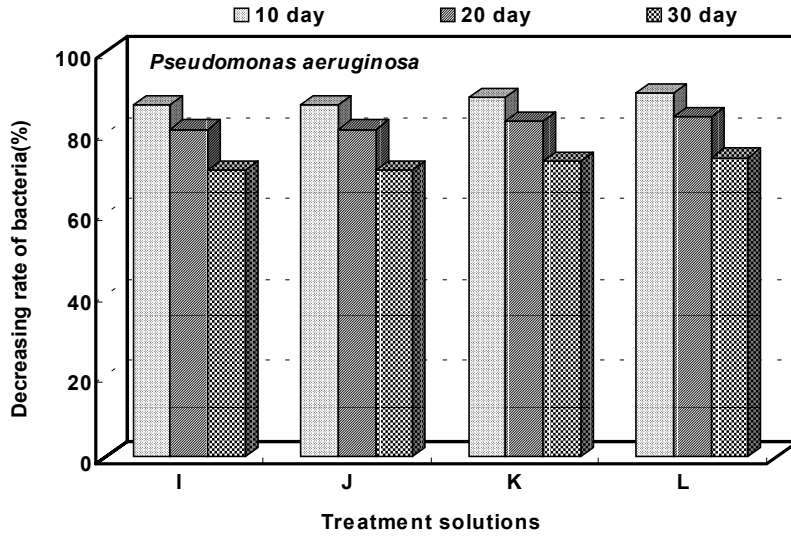
- E : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.3%
- F : *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.5%
- G : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5%
- H : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1%

Figure. 2-34. Decreasing rate of bacteria in different treatment solution.



- I : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.3%
- J : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.5%
- K : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.3%
- L : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.5%

Figure. 2-35. Decreasing rate of biocide in different treatment solution.



- I : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.3%
- J : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 0.5% + Citric acid 0.5%
- K : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.3%
- L : *Quercus aliena* 8% + *Coptis chinensis* 1% + Citric acid 0.5%

Figure. 2-36. Decreasing rate of bacteria in different treatment solution.

라. 항균물질 병용 처리에 의해 제조된 항균지의 항곰팡이성

Figure. 2-37은 갈참나무 잎 에탄올 추출물에 황련 추출물과 citric acid를 병용 처리하여 제조한 항곰팡이성의 결과이다. 항곰팡이성 측정을 위하여 *Penicillium citrinium* 균과 potato dextrose agar 배지를 사용하였다. 항곰팡이성 측정은 곰팡이균을 potato dextrose agar 배지에 배양하고 그 위에 항균시료를 접종하여 24시간 이상 인큐베이터에서 배양하였을 때 항균 시료 주위의 곰팡이균을 관찰하여 항곰팡이성의 유무를 측정하였다.

갈참나무 잎 에탄올 추출물에 황련 추출물을 병용 처리하여 제조한 항균지의 경우 *Penicillium citrinium*에 대한 항곰팡이성이 나타났으며, 황련 추출물과 갈참나무 잎 에탄올 추출물의 처리 농도가 증가함에 따라 항곰팡이성이 약간 상승하는 경향을 나타냈으나 미약하였다. 또한 citric acid를 병용 처리함에 따라 항곰팡이성이 더욱 증가하는 경향을 나타냈다.

항곰팡이성 측정 결과 갈참나무 잎 에탄올 추출물 8%에 황련 추출물 1%와 citric acid 0.5%를 병용 처리하여 제조한 항균지의 경우 가장 우수한 항곰팡이성을 나타냈다.

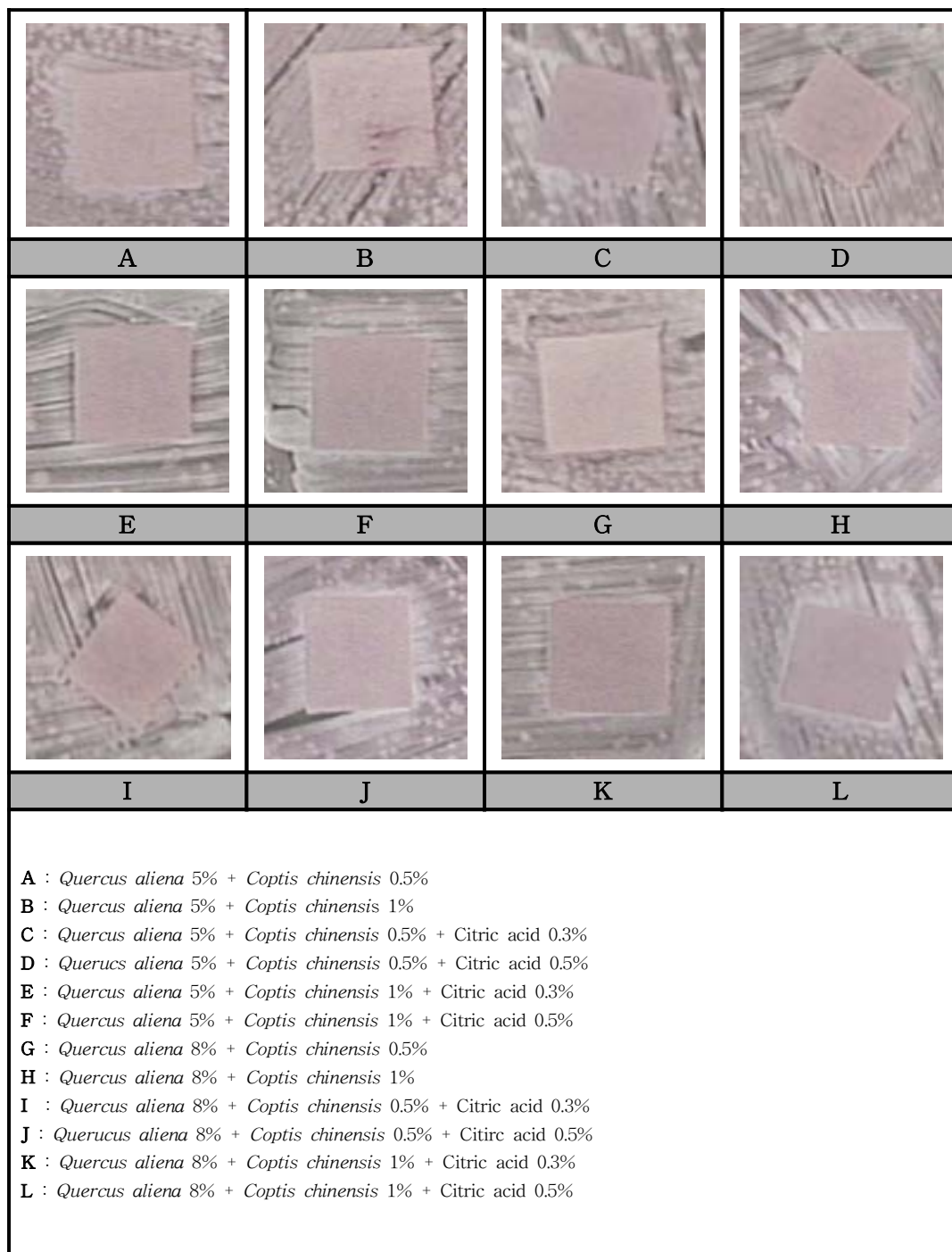


Figure. 2-37. Antifungal properties of various antimicrobial agent

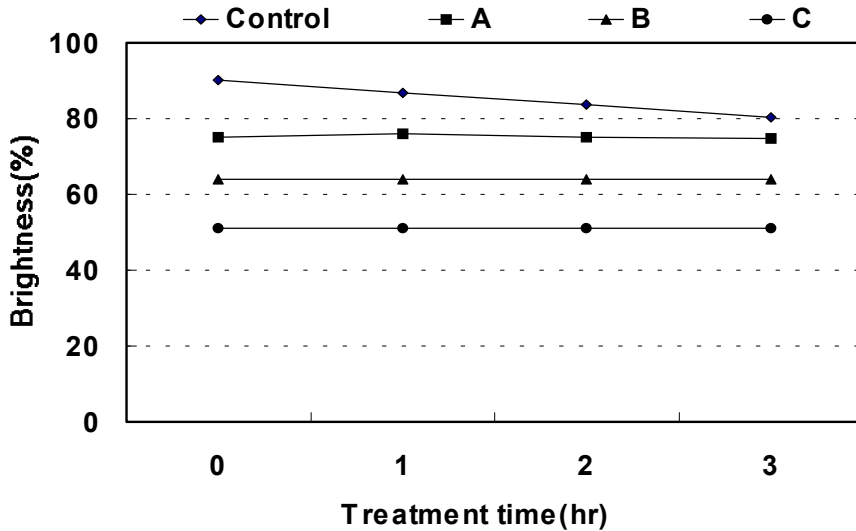
마. 자외선에 의한 항균지의 변색 여부 평가

갈참나무 잎 추출물과 황련 추출물, citric 추출물을 병용 처리하여 제조한 항균지가 자외선에 노출하였을 때 항균물질의 처리가 종이의 변색에 미치는 영향을 평가하기 위하여 제조된 항균지 시료를 Light fastness tester를 이용하여 시간별로 자외선에 노출시켰으며, 처리된 시료의 백색도 변화를 Elrepho 3000을 이용하여 측정하여 자외선에 의한 항균지의 변색 여부를 평가하였다.

1) 갈참나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 변색

갈참나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 자외선에 의한 변색 여부를 확인하기 위하여 갈참나무 추출물을 1%, 3%, 5%로 제조하고 1시간, 2시간, 3시간 동안 자외선을 처리하여 농도증가 및 자외선 처리 시간 증가에 따른 백색도의 변화를 측정하였으며 그 결과를 Figure. 2-38에 나타냈다.

무처리한 종이의 경우 자외선을 처리하기 전 88% 정도의 백색도를 나타냈으며 자외선 처리 시간이 증가함에 따라 백색도가 80% 이하로 감소하는 경향을 나타냈다. 반면 갈참나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 경우 백색도가 75%(1% 처리한 경우), 63%(3% 처리한 경우), 55%(5%처리한 경우)로 무처리한 대조군에 비해 초기 백색도가 매우 낮게 나타남을 확인하였으며 농도가 증가함에 따라 백색도가 감소하였다. 갈참나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지는 3시간 동안 light fastness tester를 통해 자외선을 처리하여도 백색도의 감소가 일어나지 않았다. 이는 갈참나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지는 갈참나무 잎 추출물에 의해 종이에 착색이 일어나게 되고 초기 백색도가 매우 낮은 상태의 갈참나무 추출물을 적용한 종이는 미세하게 일어나는 백색도의 변화를 측정할 수 없었던 것으로 생각된다.

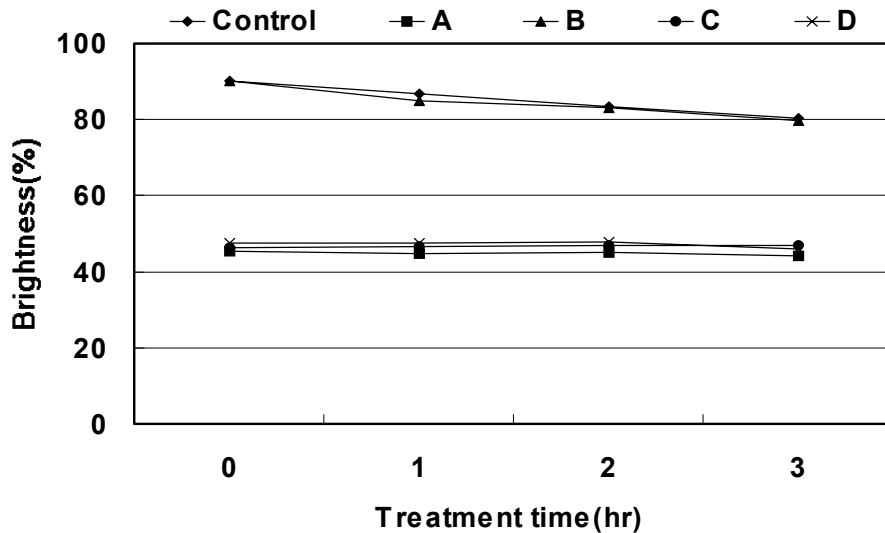


A : *Quercus aliena* 1%, B : *Quercus aliena* 3%, C : *Quercus aliena* 5%

Figure. 2-38. Effect of *Quercus aliena* leaf extraction on brightness

2) 항균물질 병용 처리에 의해 제조한 항균지의 변색

항균물질을 병용 처리하여 제조한 항균지가 자외선에 의해 일어나는 백색도의 변화를 측정하고 그 결과를 Figure. 2-39에 나타냈다. Citric acid를 적용한 항균지의 경우 무처리한 종이의 경우와 유사한 백색도를 나타냈으며 자외선 처리 시간이 증가함에 따라 백색도는 감소하는 경향을 나타냈다. 갈참나무 추출물에 황련 추출물을 병용 처리한 경우 황련 추출물 자체가 색을 띠고 있기 때문에 갈참나무 추출물과 병용 처리할 경우 초기 백색도가 더 감소하는 경향을 나타냈으나 자외선 처리시간이 증가함에 따라 백색도의 감소는 일어나지 않았다. 갈참나무 추출물에 황련 추출물과 citric acid를 병용 처리한 경우도 위의 경우와 유사한 현상이 경향이 일어났다. Citric acid 단독으로 처리한 항균지의 경우는 citric acid가 무색의 용제이기 때문에 자외선 처리에 의한 백색도의 저하가 일어났으나 황련 추출물을 병용처리함에 의해 항균지의 초기 백색도는 더 저하하게 되고 이렇게 낮은 백색도를 가진 항균지는 미세하게 변화하는 백색도의 변화를 측정할 수 없었다.



A : *Coptis chinensis* , B : Citric acid
 C : Mixture of *Quercus aliena* and *Coptis chinensis*
 D : Mixture of *Quercus aliena* and *Coptis chinensis* and Citric acid

Figure. 2-39. Effect of various antimicrobial agent on brightness

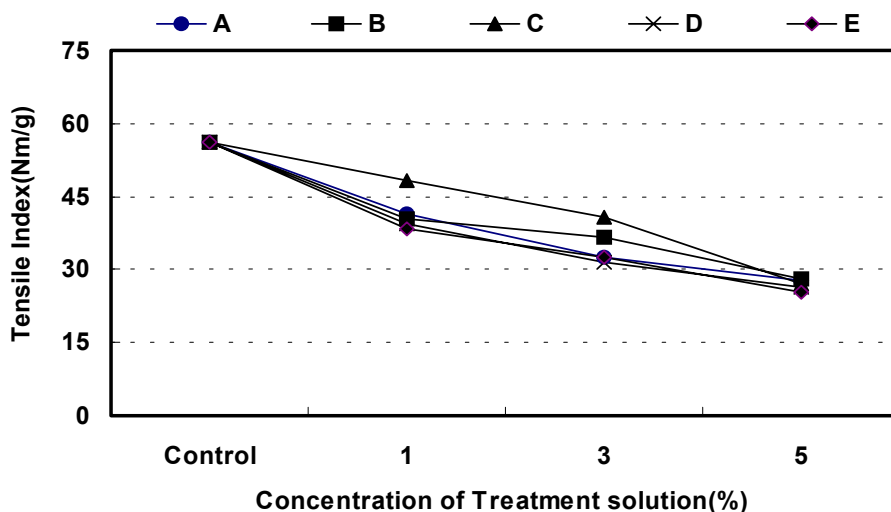
바. 항균제 처리에 의한 종이의 강도 변화

갈참나무 잎 에탄올 추출물과 황련 추출물 및 citric acid의 처리가 종이의 강도에 미치는 영향을 확인하기 위하여 각각의 농도와 조건별로 제조된 항균제를 종이에 함침하여 항균지를 제조하고 종이의 인장강도와 인열강도 및 파열강도를 TAPPI method에 의거하여 Universal test machine과 Protear tester, Burst tester를 사용하여 측정하였다.

1) 항균물질 처리가 종이 인장강도에 미치는 영향

갈참나무 잎 에탄올 추출물과 황련 추출물, citric acid를 단독, 병용 처리하여 제조한 항균지의 농도별 인장강도의 변화를 측정하고 그 결과를 Figure. 2-40에 나타냈다. 무처리한 종이의 인장강도는 58Nm/g을 나타냈으며, 각각의 조건별 항균 물질의 처리농

도가 증가함에 따라 인장강도가 30Nm/g까지 감소하는 경향을 나타냈다. 항균물질을 단독 처리한 경우와 병용 처리한 경우 모두 인장강도가 감소하는 경향을 나타냈으며 병용 처리에 의해 인장강도가 큰 폭으로 감소하지는 않았다. 인장강도의 저하는 항균물질의 처리에 의한 종이의 결합 방해 및 함침공정에 의해 wetting과 drying 공정이 반복됨에 따라 섬유간 결합이 저하되었을 것으로 생각된다.



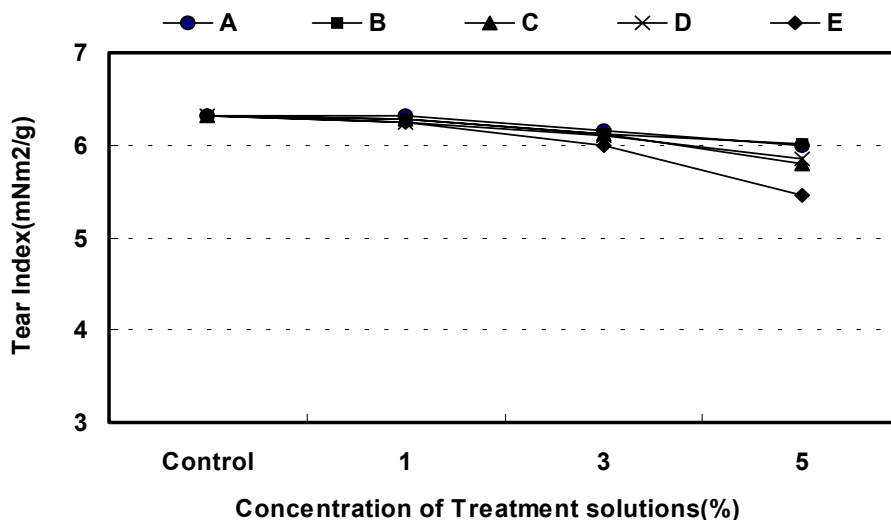
A : *Quercus aliena* , B : *Coptis chinensis* , C : Citric acid
 D : Mixture of *Quercus aliena* and *coptis chinensis*
 E : Mixture of *Quercus aliena* and *Coptis chinensis* and Citric acid

Figure. 2-40. Effect of various antimicrobial agent on tensile index

2) 항균물질 처리가 종이 인열강도에 미치는 영향

갈참나무 잎 에탄올 추출물과 황련 추출물, citric acid의 단독, 병용 처리하여 제조한 항균지의 농도변화에 따른 인열강도의 변화를 측정하고 그 결과를 Figure. 2-41에 나타냈다. 무처리한 종이의 경우 6.5mNm²/g의 인열강도를 나타냈으며 항균물질을 1% 처리한 경우 모두 인열강도의 변화가 거의 없었고 3%를 처리하자 인열강도의 저하가 일어나기 시작했다. 인열강도는 갈참나무 잎 에탄올 추출물을 단독으로 처리한 경우 가장

적은 감소가 나타났으며, 갈참나무 잎 에탄올 추출물과 황련 추출물 그리고 citric acid 를 병용 처리한 경우 인열강도의 저하가 가장 큰 폭으로 나타났다. 이러한 인열강도의 저하는 처리된 항균물질이 종이를 구성하는 섬유간 결합력을 저하시키고, 항균지 제조 시 함침공정에 의한 wetting과 drying이 반복되어 일어나므로 섬유자체의 강도가 감소하였기 때문으로 생각된다.



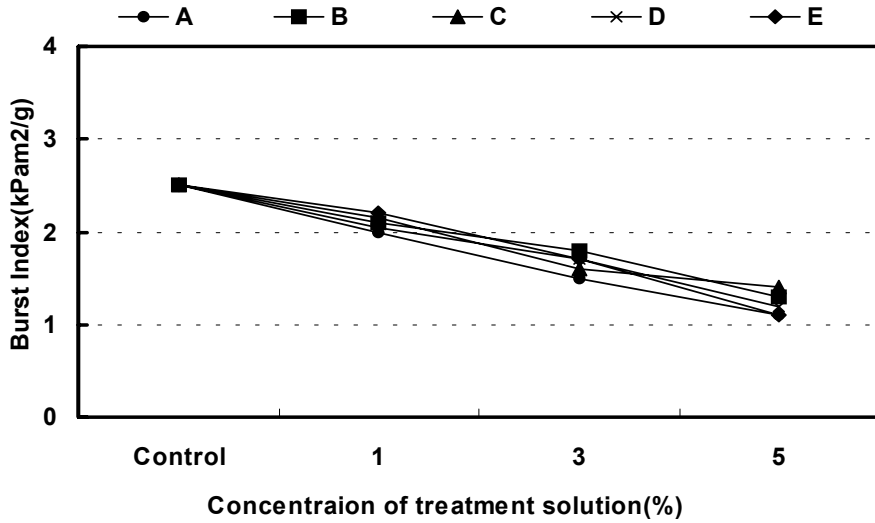
A : *Quercus aliena* , B : *Coptis chinensis* , C : Citric acid
 D : Mixture of *Quercus aliena* and *Coptis chinensis*
 E : Mixture of *Quercus aliena* and *Coptis chinensis* and Citric acid

Figure. 2-41. Effect of various antimicrobial agent on tear index

3) 항균물질 처리가 종이 파열강도에 미치는 영향

갈참나무 잎 에탄올 추출물과 황련 추출물, citric acid를 병용 처리하여 제조한 항균지의 농도 증가에 따른 파열강도의 변화를 측정하고 그 결과를 Figure. 2-42에 나타냈다. 갈참나무 잎 에탄올 추출물과 황련 추출물, citric acid를 단독, 혼합처리한 경우 파열강도의 큰 차이는 나타나지 않았으나 항균제의 처리 농도가 증가함에 따라 파열강도는 감소하는 경향을 나타냈다. 이는 항균제 처리에 의해 섬유간 강도 저하 및 항균지

제조 공정 시 함침 공정에 의한 섬유 자체의 강도 및 결합 능력이 저하되었기 때문으로 생각된다.



A : *Quercus aliena* , B : *Coptis chinensis* , C : Citric acid
 D : Mixture of *Quercus aliena* and *Coptis chinensis*
 E : Mixture of *Quercus aliena* and *Coptis chinensis* and Citric acid

Figure. 2-42. Effect of various antimicrobial agent on Burst index

4. 결론

가. 참나무 6종의 부위별 추출물을 적용한 항균지의 제조

참나무 6종의 수종별·부위별 추출물을 적용한 항균지의 항균활성을 검색하기 위하여 halo test법과 JIS L 1902법을 사용하여 clear zone의 유무와 균감소율을 측정하였으며 곰팡이균에 대한 저항력을 확인하여 참나무 6종의 부위별 추출물을 적용한 항균지의 제조 가능성을 확인하였다.

- 1) 참나무의 수종별·부위별 항균지 제조를 위한 참나무 추출물의 최적 적용 농도는 5-8% 였다.
- 2) 수종별 항균활성 결과 갈참나무가 가장 우수한 항균활성을 나타냈으며, 부위별 항균활성은 잎부위가 가장 우수한 항균활성을 나타냈다. 참나무 6종의 수종별·부위별 항균활성은 갈참나무 잎 부위가 가장 높은 항균활성을 나타냈다.
- 3) 균종별 항균활성은 균종에 따라 차이가 있으나 그람음성균보다 그람양성균에 대해 더 높은 항균활성을 나타냈다.
- 4) Halo test를 통한 항균활성 검색 결과. 종이에 참나무 6종의 부위별 추출물 적용 시 목질부와 수피부를 적용한 항균지의 경우 clear zone이 형성되지 않았으며 잎 부위를 적용한 항균지는 뚜렷한 clear zone을 형성하였다.
- 5) JIS L 1902법을 통한 참나무 6종의 수종별·부위별 균감소율 측정 결과 모든 수종에서 60% 이상의 살균감소율과 70% 이상의 정균감소율을 나타냈으며, 그 중 갈참나무 잎 추출물을 적용한 항균지가 가장 우수한 균감소율을 나타냈다. 균종별 항균활성은 그람양성균인 *Staphylococcus aureus*가 *Pseudomonas aeruginosa*에 비해 더 높은 항균활성을 나타냈으며 항균물질의 처리 농도 증가에 따라 항균성이 증가하는 경향을 나타냈다.

6) 가장 높은 항균활성을 나타낸 참나무 6종의 잎 추출물을 적용한 항균지의 항곰팡이성은 모든 수종에서 항곰팡이성이 나타났으며, 특히 신갈나무의 잎 에탄올 추출물과 상수리나무의 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지의 경우 가장 우수한 항곰팡이성을 나타냈다.

7) 참나무 6종의 수종별·부위별 항균활성 검색 결과 참나무 추출물을 적용한 항균지의 제조 가능성을 확인할 수 있었다.

나. 항균물질 병용처리에 의한 항균지의 제조

가장 우수한 항균활성을 나타낸 갈참나무 잎 추출물에 타 임산자원인 황련 추출물과 항균성 극대화를 위해 citric acid를 병용 처리하여 항균물질 병용처리에 의한 항균활성 상승효과를 검토하였다.

1) 병용 처리에 의한 항균활성 결과 갈참나무 8%에 황련 추출물 1%와 citric acid 0.5%를 병용 처리한 경우 가장 우수한 항균활성을 나타냈다.

2) 병용처리에 의한 항균지의 항균활성은 그람양성균과 그람음성균에 대하여 비슷한 항균활성을 나타냈다.

3) 병용처리한 항균지의 균감소율은 모든 조건에서 70% 이상의 살균감소율과 80% 이상의 정균감소율을 나타냈으며 처리 농도의 증가에 따라 균감소율이 증가하는 것으로 나타났다.

4) 병용처리에 의한 항곰팡이성은 참나무를 단독 처리한 경우와 유사한 항곰팡이성을 나타냈다.

5) 병용처리에 의해 항균활성이 증가하는 경향을 나타냈다. Halo test 결과 항균성의 상승효과의 확인이 어렵지만 균감소율을 통한 항균활성 결과 황련과 citric acid의 병용 처리에 의해서 항균활성이 상승하는 경향을 나타냈다.

다. 병용 처리하여 제조된 항균지의 항균력 지속성 평가

병용 처리하여 제조된 항균지의 항균력 지속성 평가를 위하여 제조 후 10일, 20일, 30일이 경과한 후 시간 변화에 따른 항균지의 항균력 지속성을 평가하였다. 제조된 항균지는 온도와 습도가 일정한 항온항습실에 보관하여 온도 및 습도에 의한 변화를 최소화하였다.

- 1) 참나무 추출물과 황련 추출물, citric acid를 병용 처리하여 제조한 항균지는 시간이 경과함에 따라 항균활성이 감소하는 경향을 나타냈다. 10일이 경과한 후의 항균활성은 제조 즉시 측정된 항균활성과 비슷한 결과를 나타냈으며, 20일이 경과하면서 항균활성은 급격히 저하하고 30일이 지난 경우 항균활성이 더 감소하는 경향을 나타냈다.

라. 병용 처리하여 제조한 종이의 특성

항균물질의 처리가 종이의 특성에 미치는 영향을 확인하기 위하여 인열, 인장, 파열 강도와 같은 종이의 물리적 성질과 항균물질을 적용한 종이가 자외선에 노출되었을 시 일어나는 변색 여부를 확인하기 위하여 백색도를 측정하였다.

- 1) 종이에 적용한 참나무 추출물과 혼합 항균제의 처리 농도가 증가함에 따라 백색도가 저하하는 경향을 나타냈으며, 자외선 처리 시간이 증가함에 따라 백색도의 감소는 발생하지 않았다. 참나무 추출물 및 황련 추출물의 적용에 의해 착색된 종이는 낮은 백색도를 가지고 있기 때문에 미세하게 변하는 백색도의 변화를 측정할 수 없었던 것으로 생각된다.
- 2) 무처리한 종이에 항균제를 적용함에 따라 인장강도, 인열강도, 파열강도는 감소하는 경향을 나타냈다. 이는 항균물질 적용으로 인한 강도의 감소와 함침 공정 시 종이의 wetting과 drying 공정이 반복되면서 섬유간 결합강도와 섬유자체 강도가 저하되었기 때문으로 생각된다.

제 3절 산림자원 추출물을 적용한 향균지의 선도유지 기능

1. 서론

과일이나 채소를 포함한 과채류는 소비자에게 전달되기까지 오랜 기간 온도, 습도 및 기타 환경이 열악한 조건에서 저장됨에 따라 과채류는 쉽게 노화 및 부패가 일어나 색, 맛, 조직감 등 품질변화를 초래하게 되어 상품으로서의 가치가 저하되게 된다.

과채류는 계절별 수확시기가 있기 때문에 대량으로 출하되는 수확시기에는 가격이 폭락하기 쉽고 수확 후 공급량이 부족하게 되면 가격이 폭등하는 현상이 일어나므로 이러한 현상의 완화를 위해서는 과채류의 저장기간을 증가시킬 수 있는 선도유지에 관한 연구가 필요한 상황이다.

과채류의 저장기간을 증가시키기 위해 온도 및 습도와 같은 저장 환경을 적절하게 맞추는 노력을 실시하고 있다. 과채류는 4℃에서 12℃ 정도 되는 저온에서 보관한 상태로 유통되거나 저장되면 노화나 품질 열화가 더디게 진행된다. 저온 저장 이외에도 기체 조성을 조정하여 과채류의 호흡을 조절하는 방법도 추가된다. 이런 저장법은 인위적으로 그 환경을 조절하여 저장하므로, 조절 환경 저장(Controlled Atmospheric Storage, CA)이라고 일컫는다. 기체 조성이나 온도를 인위적으로 맞추어서 저장한 상태에서 유통되면 이 과채류는 소비자에게 싱싱한 상태로 전달되지만 이런 환경을 유지하기 위해 과다한 비용이 든다. 따라서 저장기간을 높이기 위한 가장 좋은 방법은 포장용 종이나 비닐 등에 과채류 포장하여 유통시키는 것이다. 이때 사용하는 포장재는 일반 포장재와 다른 기능을 가져야 한다. 우선 포장재는 내부에서 발생할 수 있는 미생물의 가능성을 억제해야 하며, 아울러 그 포장물 내부에 있는 과채류는 계속해서 호흡을 하므로 호흡을 조절하여 오랫동안 신선하게 남아 있도록 해야 한다. 이러한 저장법은 과채류가 내놓는 기체로 인하여 약간 그 환경이 변한 상태에서 보관되는 것이므로 수정환경 저장(Modified Atmospheric Storage, MA)이라고 한다. CA와 MA 저장 모두 온도나 기조조성 등 물리적인 환경을 변화하여 저

장하는 방법으로 위의 방법에 의해 물리적 환경을 변화시키게 되면 그 환경이 대기중의 환경과 달라져 혐기성 또는 호기성 부패 미생물이 성장할 수 있는 조건을 가지게 되므로 부패나 열화가 촉진되는 부작용을 낳는다. 따라서 물리적 환경 변화에 의해 발생하는 혐기성·호기성 미생물의 발생을 억제할 수 있는 기술의 개발이 필요한 상황이다.

본 연구는 산림자원 추출물을 적용한 항균지의 선도유지 기능을 검색하는데 목적이 있다. 이전의 산림자원 추출물을 적용한 항균지 항균성 결과 우수한 항균 활성을 나타냈던 참나무 8%를 적용한 항균지와 이에 황련 추출물과 citric acid를 병용 처리한 항균지에 우리나라에서 경작되는 대표적인 야채인 오이를 포장하여 실험함으로서 산림자원 추출물을 적용한 항균지의 선도유지기능을 평가하였다.

2. 연구수행방법

가. 실험대상의 선정

본 연구를 위한 실험대상으로 오이를 사용하였다. 오이는 미숙과로 수확되므로 성숙되면서 시들고 저온 장해도 쉽게 받음으로써 품질 유지가 어려운 작물로 상온에서 상품성 유지가 2~3일로 짧아 유통시 신선도가 문제가 되므로 선도 유지를 위한 기술의 개발이 필요하다. 본 연구에 사용된 오이는 춘천 당임리에서 생산된 품종으로 크기는 약 $24.5 \pm 2\text{cm}$ 이며 중량은 약 210.7 ± 18 였다.

나. 산림자원 추출물을 적용한 향균지

산림자원 추출물을 적용한 향균지의 선도 유지 기능을 탐색하기 위하여 이전의 실험결과 우수한 향균활성을 나타낸 갈참나무 잎 에탄올 추출물 8%를 적용한 향균지와 황련 추출물, citric acid를 순차적으로 병용 처리한 향균지를 제조하여 향균성 상승효과가 적용된 향균지의 사용에 따른 선도 유지 기능을 평가하였다.

다. 포장 및 저장

선도 유지 실험을 위해 시료는 균일하고 외상이 없는 것을 수작업으로 선별하였다. 선별한 시료는 각각의 조건으로 제조된 향균지를 포장용 박스에 가공한 후 포장을 실시하고 온도 $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $65 \pm 2\%$ 의 항온항습실에서 일정기간 저장하였다.

라. 산림자원 추출물을 적용한 향균지의 선도유지 평가

1) 중량감소율의 평가

오이의 중량 감소율은 저장 전 오이의 중량에서 저장 후 측정된 오이의 중량

을 저장 전 오이에 대한 백분율(%)로 나타내었다. 오이는 2일, 5일, 8일, 15일, 20일이 경과 후의 중량을 백분율로 나타냈다.

2) 부패율의 평가

오이의 부패율 측정은 외관상의 관찰을 통해 곰팡이의 발생 여부와 물러짐, 황변 등에 의해 부패된 시료에서 전체 과수에 대한 백분율(%)로 나타냈다.

3) 경도의 평가

오이의 경도는 back extrusion test cell(dimensions I. D. 10.2cm × I.H. > 12cm, I.D : internal diameter, I. H. : internal height)을 이용하여 Instron universal testing machine(Model No. A 31-1002, England)으로 측정하였다. 오이는 양끝을 절단하고 껍질을 제거한 후 일정크기로 잘라 cell에 넣고 측정하였다. 측정은 각 조건마다 3회 반복하여 실시하고 평균값으로 나타냈다.

3. 연구수행결과

가. 저장기간에 따른 오이 중량감소율의 변화

갈참나무 잎 에탄올 추출물 단독으로 처리한 항균지와 이에 황련 추출물과 citric acid를 순차적으로 병용 처리하여 제조한 항균지의 경시적인 중량 감소율 Table. 3-1에 나타났다. 대조구의 경우 저장시간이 증가함에 따라 중량 감소율이 증가하였다. 저장 8일이 경과한 후 중량 감소율이 7.86%로 가장 많은 중량 감소율을 나타냈으며, 15일과, 20일 동안 저장한 경우 중량 감소가 미비하게 일어나는 경향을 나타냈다. 갈참나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 항균지(A)의 경우 5일이 경과한 경우 대조구에 비해 32% 정도 중량 손실이 낮게 나타났으나 시간이 경과할수록 대조군의 경우와 비슷한 중량 감소율을 나타냈다. 갈참나무 잎 에탄올 추출물에 황련 추출물을 병용 처리한 항균지(B)의 경우 8일까지 대조구 보다 중량 감소가 낮았으며 갈참나무 추출물을 처리한 A의 시료 경우와 비슷한 중량 감소율을 나타냈다. 갈참나무 잎 에탄올 추출물과 황련 추출물과 citric acid를 병용 처리한 항균지(C)의 경우 대조구에 비해 훨씬 낮은 중량감소율을 나타냈다. 5일이 경과한 경우 대조구에 대해 32%로 더 낮았으며, 15일이 지난 경우도 20% 정도의 낮은 중량 감소율을 나타냈으나 20일이 경과하자 대조구와 비슷한 중량 감소율을 나타냈다. 조건별로 제조된 항균지의 저장기간에 따른 중량감소율 실험 결과 조건별 항균지의 중량 감소율의 차이는 미약함을 알 수 있었다. 하지만 대조구와 비교하여 저장 5일이 경과했을 경우 30% 이상의 낮은 중량감소율을 나타냈다.

Table. 3-1. Weight reduction rate of the cucumber as a function of storage period

Test sample	Storage period				
	2 day	5 day	8 day	15 day	20 day
Control	3.01±1.30	5.24±1.13	7.86±2.0	9.21±2.86	12.31±3.12
A	2.02±1.10	3.55±1.25	5.73±1.37	8.87±2.36	12.03±3.27
B	2.42±0.56	3.99±1.30	4.57±1.46	9.00±2.32	11.78±2.78
C	2.35±0.58	3.56±0.78	5.00±1.21	7.34±2.09	11.54±3.02

A : Quercus aliena 8%

B : Quercus aliena 8% + Coptis chinensis 1%

C : Quercus aliena 8% + Coptis chinensis 1% + Citric acid 0.5%

나. 저장기간에 따른 오이의 부패

오이를 상온에서 저장하면서 오이의 부패 여부를 관찰하였다. 오이의 부패 특성은 오이의 연화나 파손에 의한 부패, 회색 곰팡이에 의한 부패, 황변 현상을 조사하였다.

1) 저장기간에 따른 외관상 부패

저장 기간에 따른 오이의 외관상 부패 여부를 Table. 3-2에 나타냈다. 저장 기간이 증가함에 따라 오이의 외관상 부패가 증가하는 것을 확인 할 수 있었다. 대조구를 포함한 모든 시료는 5일이 경과한 경우 양호한 상태 가지고 있었으며, 8일이 지나자 대조구에서 우선적으로 부패가 일어나기 시작했으나 전체 시료의 10% 정도로 부패가 심하게 일어나지는 않았다. 15일이 지나자 대조구의 경우 부패의 정도가 심했고 갈참나무 잎 에탄올 추출물을 적용한 향균지(A)의 경우 전체 시료의 20% 정도 부패가 일어났으며 황련 추출물을 병용 처리한 향균지(B)도 저장 15일에서 부패가 진행되기 시작하였다. 20일이 지난 경우 모든 조건별 향균지에서 부패가 일어났으며, 갈참나무 잎 에탄올 추출물에 황련 추출물과 citric acid를 병용 처리한 향균지(C)의 경우 전체 시료의 25% 정도로 부패가 가장 적게 일어났다. 갈참나무 잎 에탄올 추출물에 황련 추출물과 citric acid를 병용 처리한 향균지를 제외한 모든 조건별 시료는 저장 8일 이후 부패

가 진행되기 시작하여 15일이 경과하자 부패 정도가 증가하는 경향을 나타냈다. 또한 항균지의 항균력이 증가함에 따라 외관상 부패율은 감소하는 것으로 나타났다.

Table. 3-2. Apparent decomposition of the cucumber as a function of storage period

Test sample	Storage period				
	2 day	5 day	8 day	15 day	20 day
Control	-	-	+	+++	+++
A	-	-	-	++	++
B	-	-	-	+	++
C	-	-	-	-	++

A : Quercus aliena 8%

B : Quercus aliena 8% + Coptis chinensis 1%

C : Quercus aliena 8% + Coptis chinensis 1% + Citric acid 0.5%

+ : 0-10% of the whole sample

++ : 10-50% of the whole sample

+++ : 50% of the whole sample

2) 저장기간에 따른 곰팡이의 발생

저장 기간에 따른 오이의 꼭지 부분의 곰팡이 발생여부를 조사하였으며 그 결과는 Table. 3-3에 나타났다. 대조구를 포함한 모든 조건에서 저장 8일 까지는 곰팡이균이 발견되지 않았으며, 저장 8일이 경과하면서 곰팡이 균이 발생하기 시작했다. 저장 15일째 대조구의 경우 곰팡이 발생이 심했으며 다른 조건에서도 많은 곰팡이가 발견됐다. 저장 20일이 경과되었을 경우 모든 조건에서 곰팡이균의 발생 여부는 15일이 경과한 경우와 비슷한 결과를 나타냈다.

항곰팡이성을 가지고 있는 조건별 항균지는 곰팡이균의 발생을 좀 더 억제시켜주는 결과를 나타냈으며, 저장 22일이 지난 경우 대부분의 조건에서 곰팡이균이 발생되어 오이의 외관 품질을 저하시켰다.

Table. 3-3. Mold growth of the cucumber as a function of storage period

Test sample	Storage period				
	2 day	5 day	8 day	15 day	20 day
Control	-	-	-	+++	+++
A	-	-	-	++	++
B	-	-	-	++	++
C	-	-	-	+	++

A : Quercus aliena 8%
B : Quercus aliena 8% + Coptis chinensis 1%
C : Quercus aliena 8% + Coptis chinensis 1% + Citric acid 0.5%

+ : mold→1-10
 ++ : mold→10-20
 +++ : mold→20↑

3) 저장 기간에 따른 오이의 황변화

오이를 저장하는 동안 황변 현상을 관찰한 결과를 Table. 3-4에 나타냈다. 저장 8일이 경과한 경우 대조구를 포함한 대부분 조건에서 황변 현상이 발생하지 않았으며 15일이 지나자 전체 시료의 10% 정도 황변화가 발생하기 시작했다. 저장 20일이 경과한 경우 대조구의 경우 황변화는 50% 정도 진행되었으며, 갈참나무 잎 에탄올 추출물과, 황련 추출물 및 citric acid를 병용 처리한 경우 황변화가 일어나기는 하지만 미약한 것으로 나타났다.

Table. 3-4. Yellowing of the cucumber as a function of storage period

Test sample	Storage period				
	2 day	5 day	8 day	15 day	20 day
Control	-	-	-	+	+++
A	-	-	+	+	++
B	-	-	-	+	+
C	-	-	-	+	+

A : Quercus aliena 8%
B : Quercus aliena 8% + Coptis chinensis 1%
C : Quercus aliena 8% + Coptis chinensis 1% + Citric acid 0.5%

+ : 0-10% of the whole sample
 ++ : 10-50% of the whole sample
 +++ : 50% of the whole sample

다. 오이의 경도 변화

각각의 조건에 의해 실험된 오이의 경도 변화를 Table. 3-5에 나타냈다. 오이의 저장 전 경도는 $216.21 \pm 12.27 \text{Kg}$ 였으며 20일이 경과하자 $187.61 \pm 28.34 \text{Kg}$ 로 경도가 13%정도 감소하였다. 조건별로 저장한 오이의 경우 10%이하의 경도 감소율을 나타냈으며 처리 조건의 변화에 따른 경도의 변화는 미비하였다.

Table. 3-5. Hardness change of cucumber after 20 days

Test sample	Hardness(Kg · force)
Before storage	216.21 ± 12.27
Control	187.61 ± 28.34
A	202.46 ± 15.62
B	199.28 ± 12.47
C	202.13 ± 13.89

A : Quercus aliena 8%

B : Quercus aliena 8% + Coptis chinensis 1%

C : Quercus aliena 8% + Coptis chinensis 1% + Citric acid 0.5%

4. 결론

산림자원 추출물을 적용한 향균지의 선도유지 기능 검색을 위해 실험대상으로 오이를 선정하여 실험을 실시하였다. 선도유지 기능 검색을 위한 실험은 오이의 생리적 특성 및 품질에 대한 정보를 기초로 저장기간에 따른 중량감소율과 외관상의 부패, 곰팡이 발생여부, 황변화, 경도 등을 측정하여 산림자원 추출물을 적용한 향균지의 선도유지 기능을 평가하였다.

가. 저장 기간에 따른 오이의 중량 감소율의 변화

- 1) 저장 기간에 따른 오이의 중량 감소는 저장 기간이 증가함에 따라 중량감소율도 증가하는 경향을 나타냈다. 향균지 제조 조건의 차이에 의한 중량감소율의 변화는 미비했으며, 대조구와 비교하여 저장 5일이 경과했을 경우 30% 이상의 낮은 중량감소율을 나타냈다.

나. 저장기간에 따른 오이의 부패

- 1) 저장기간이 증가함에 따라 오이의 부패가 증가하는 경향을 나타냈다. 모든 조건별 시료는 저장 8일 까지 부패가 일어나지 않았으며 8일이 경과하자 부패가 진행되어 갈참나무 잎 에탄올 추출물에 황련 추출물과 citric acid를 병용 처리한 경우를 제외하고는 부패의 발생했다. 20일이 경과한 경우 대조구는 부패 정도가 매우 심했으며, 모든 조건별 시료도 부패 정도가 증가하였다. 오이의 외관상 부패 여부는 실험에 사용된 조건별 향균지의 향균성이 증가함에 따라 감소하는 것으로 나타났다.
- 2) 저장 15일이 경과하면 대조구를 포함한 모든 시료에서 곰팡이균이 발생했으며, 대조구에 비해 조건별 향균지의 경우 곰팡이 발생이 낮은 것으로 나타났으며, 갈참나무 잎 에탄올 추출물과 황련, citric acid의 처리가 곰팡이 성장을 억제시켰기 때문으로 생각된다.

3) 오이의 황변화는 저장 15일이 경과한 후 발생하기 시작하여, 저장 20일 정도 경과했을 경우 대조구는 50% 정도의 황변화가 일어났으며 조건별 항균지의 경우 황변화가 일어나지만 미약한 것으로 나타났다.

다. 오이의 경도 변화

1) 20일간 저장 후 오이의 경도는 대조구의 경우 13% 정도 경도가 감소하였으며, 조건별 항균지를 적용한 오이의 경우도 경도의 감소는 일어났으나 10% 이하로 대조구에 비해 낮은 수치를 나타냈다.

라. 산림자원 추출물을 적용한 항균지의 선도유지 기능

1) 산림자원 추출물을 적용한 항균지의 선도 유지 검색 결과 오이에 대한 선도 유지 기능을 확인할 수 있었다. 제조된 조건별 항균지의 선도유지는 갈참나무 잎 에탄올 추출물과 황련 추출물, citric acid에 의한 항균성에 의해 발현되는 것으로 사료된다.

2) 갈참나무 추출물을 적용한 항균지에 황련 추출물과 citric acid를 병용 처리하면 선도유지 기능이 약간 상승하는 효과를 나타냈다.

제 4절 기능성 향균 wet tissue의 제조

1, 서론

각종 산업의 발달과 더불어 생활이 윤택해짐에 따라 여러 가지 풍요로움을 누리고 있지만, 한편으로는 환경의 변화와 생태계의 오염으로 예측하지 못한 질병과 내성이 더욱 강해진 각종 병원균으로부터 위협받고 있는 것이 오늘날 우리가 당면한 현실이다. 따라서 보다 나은 삶과 각종 병원균에 의한 질병의 예방을 위해 보건의료분야 중 예방의학에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며 이와 더불어 일상생활에서 병원균의 감염이나 침투를 일차적으로 예방할 수 있는 기능성 제품의 개발에 대한 관심도가 날로 증가하고 있다.

병원균에 의한 질병 감염은 주로 인체에 유입되는 모든 에너지원을 제어하는 손을 중심으로 이루어지고 있으며 또한 인체의 피부에 접촉하여 피부를 통하여 병원균이 침투하여 질병에 감염되고 있다. 손이나 피부의 세정을 위해 음식점 등에서는 일반적으로 wet tissue나 기타 섬유제품들을 사용하고 있으며 병원 등에서의 의료 기구 등을 닦는 데 사용하는 거즈 등은 손이나 기기 등에 묻어 있는 오염물질을 단순히 물리적으로 제거하는데 그치고 있다. 특히 일반식당이나 대중음식점에서는 식사 전에 종이비누나 wet tissue 등의 섬유제품의 사용을 권장하고 있으나, 이들 제품은 자체의 오염 물질의 발생 억제 및 오염 대상의 근본적 오염 물질을 완전히 제거하는 데는 역부족인 실정이다.

이러한 오염물질에 의한 제거를 위해 일반적으로 사용되는 wet tissue나 섬유제품에 항균성능을 부여하려는 노력이 이루어졌다. 각종 세균이나 곰팡이의 제거를 위해 사용되던 염소계 살균제, 유기 수은계 화합물, 포르말린 등은 세균 및 곰팡이 제거에 탁월한 효과를 나타내지만 사람이나 가축에 대한 호흡기 및 피부에 대한 자극성과 독성이 높을 뿐 아니라 일부 성분은 발암성 물질로 알려져 있으며, 환경 독성을 유발하는 환경 오염 물질로 사용에 있어 많은 규제를 받고 있다. 따라서 무독성이며 인체에 무해한 천연계 물질의 개발과 적용한 wet tissue에 대한 연구가 진행되고 있다.

본 연구는 천연계 향균 물질은 참나무 수종의 잎에서 추출한 천연 물질을 적용한 기능성 향균 wet tissue의 제조에 있다. 참나무 잎의 추출물에 황련 추출물을 적용하여 항균성 상승효과를 부여하며 전해수의 사용으로 위생적이며 우수한 살균효과가 발휘되

는 wet tissue를 제조하여 안전성이 우수한 제품의 개발과 동시에 건강·위생 면에서 우수한 효과를 나타내는 제품을 개발하려고 한다.

2. 연구수행방법

가. Wet tissue 적용을 위한 항균 물질의 적용 조건 검색

wet tissue에 적용하기 위한 항균전해수(항균물질+전해수)의 농도를 검색하기 위하여 paper disk법을 사용하였다. 항균전해수 제조를 위한 갈참나무 잎 에탄올 추출물과 황련 추출물은 이전에 행해진 항균활성 발현 조건 검색 결과를 바탕으로 갈참나무 잎 에탄올 추출물을 1%, 3%, 5%의 용액상태를 제조하였으며 황련 추출물을 0.5%, 1%를 첨가하여 혼합항균물질을 제조하였다. 제조된 항균물질은 전해수인 산성수와 알칼리수에 1%로 첨가하여 wet tissue제조를 위한 항균전해수를 만들었으며 제조된 항균전해수를 paper disk에 적용하여 최적의 적용 농도를 검색하였다.

나. 기능성 wet tissue의 제조

가장 우수한 항균활성을 나타내는 기능성 wet tissue 제조를 위한 공정상의 최적의 조건을 검색하기 위하여 컨베이어의 속도를 조절하여 wet tissue 중량에 대해 1~4배로 항균제를 적용하고 이의 항균성을 JIS L 1902법을 통해 검색하였다. 공정상 최적 조건은 항균성 검색과 함께 wet tissue의 최적 수분 함유량을 측정하여 제품으로서의 기능을 상실하지 않는 범위에서 설정하였다.

다. 항균력 측정 방법

1) Paper disk 법

Paper disk법은 tryptic soy agar와 tryptic soy broth를 1 : 2의 비율로 용해시켜 121℃의 autoclave에서 40분간 습윤 살균한 후 공시균을 petri dish에 분주하고 그 위에 tryptic soy agar와 tryptic soy broth 용액을 넣고 잘 혼합하여 항균 실험을 위한 배지를 만든다. 각각의 농도로 제조된 항균물질을 paper disk에 적정농도 점종시키고 처리된 조건별 paper disk 시료를 37℃ 인큐베이터에서 24시간 배양시켰을 때 항균 시료 주위에 형성되는 균저지대를 크기를 측정하여 항균력의 발

현의 차이를 측정하는 방법이다.

2) JIS L 1902법

공시균을 nutrient broth로 희석하여 균수를 $1-2 \times 10^4$ CFU/ml로 만든 후 각각의 에탄올 추출물을 처리한 항균지에 희석균을 0.2ml씩 분주하여 18시간 인큐베이터에서 배양한 후 식염수 20ml를 첨가하여 희석한다. 다시 여러번의 희석단계를 거친 후 agar 배지를 제조하고 배양하여 생성된 colony 수를 세어 균감소율을 측정하였다(균수 측정 시 colony가 30-300개 형성된 것을 사용한다).

생균수는 다음식을 이용하여 계산한다.

$$M = Z \times R \times 20$$

M : 생균수

R : 희석배수

20 : 추출용 생리식염수의 양

접종 수 접촉시간 “0”의 대조편으로부터 재생된 생균수 보다 접종 후 18시간 배양된 대조편으로부터 재생된 균수의 뚜렷한 증가가 있어야 한다. 균의 증가치가 31.6배 이하인 경우 시험은 유효하지 않은 것으로 판정하여 재시험을 실시한다.

$$F = M_b / M_a$$

F : 균의 증가치

M_b : 대조편의 18시간 배양후의 생균수 (3검체의 평균치)

M_a : 대조편의 접종 직후의 생균수 (3검체의 평균치)

시험이 성립할 경우 다음과 같이 시험편에 의한 세균의 살균감소율과 정균감소율을 계산하였다.

$$\text{살균감소율} = (M_a - M_c) / M_a \times 100$$

$$\text{정균감소율} = (M_b - M_c) / M_b \times 100$$

M_a : 대조편의 접종 직후 생균수 (3검체의 평균치)

M_b : 대조편의 18시간 배양 후의 생균수 (3검체의 평균치)

M_c : 시험편의 18시간 배양 후의 생균수 (3검체의 평균치)

3. 연구수행결과

가. wet tissue 적용에 적합한 항균물질의 적용 농도 검색

1) 항균 전해수 제조를 위한 적용 농도 검색

wet tissue 적용에 적합한 항균 전해수 제조를 위하여 갈참나무 잎 에탄올 추출물을 단독처리하고, 황련 추출물을 병용 처리하여 제조된 항균 전해수를 paper disk 법을 통하여 항균력을 검색하여 가장 우수한 항균력을 나타내는 항균전해수 제조 조건을 검색하였다. 또한 제조된 항균 전해수를 wet tissue에 일정량 적용하여 백색도를 측정하여 wet tissue 제조를 위한 최적의 조건을 검색하였다.

가) Paper disk법을 통한 항균전해수의 항균력 검색

전해수는 산성수와 알칼리수로 나뉘며 본 항에서는 각각의 전해수에 갈참나무와 황련 추출물을 적용하여 항균전해수를 제조하고 각각의 항균성을 검색하였다.

(1) 산성수를 이용해 제조한 항균 전해수의 항균력 검색

산성수에 갈참나무 잎 에탄올 추출물과 황련 추출물을 적용하여 항균 전해수의 항균력을 검색하였으며 그 결과를 Table. 4-1에 나타냈다.

산성수 자체만 처리한 경우 자체의 항균력을 가지고 있어 10mm 정도의 항균활성을 나타냈으며 갈참나무 잎 추출물 1%와 황련 추출물을 병용 처리한 경우 소량이 첨가되었기 때문에 항균력의 증가는 일어나지 않았다. 갈참나무 잎 에탄올 추출물의 농도가 증가함에 따라 항균력은 증가하였으며 황련 추출물에 의해 항균력이 상승하는 경향을 나타냈다. 균종별 항균활성은 균종에 따라 차이는 있지만 그람양성균과 그람음성균에 대하여 유사한 항균활성을 나타냈다.

산성수에 갈참나무 잎 에탄올 추출물과 황련 추출물의 첨가는 자체 항균력을 가지고 있는 산성수의 항균활성을 저하시키지 않고 이들의 첨가에 의해 더욱 항균활성이 상승하는 결과를 나타내 wet tissue 적용을 위한 항균전해수로서 사용이 가능할 것으로 생

각된다.

Table. 4-1. Antimicrobial spectrum of antimicrobial agents

Antimicrobial agents Test organism	Inhibition zone ¹⁾ (mm)				
	A	B	C	D	E
<i>Escherchia coli</i>	10	10	10	10	11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	10	10	11	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	10	10	10	11
<i>Bacillus subtilis</i>	10	10	10	10	11
<i>Listeria monocytogenes</i>	10	10	10	10	10
	Inhibition zone ¹⁾ (mm)				
	F	G	H	I	J
<i>Escherchia coli</i>	11	11	11	11	12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	11	10	11	12
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	11	11	11	12
<i>Bacillus subtilis</i>	11	12	11	11	12
<i>Listeria monocytogenes</i>	11	12	10	11	12

A : Acid water

B : Acid water + *Quercus aliena* 1%

C : Acid water + *Quercus aliena* 1% + *Coptis chinensis* 0.5%

D : Acid water + *Quercus aliena* 1% + *Coptis chinensis* 1%

E : Acid water + *Quercus aliena* 3%

F : Acid water + *Quercus aliena* 3% + *Coptis chinensis* 0.5%

G : Acid water + *Quercus aliena* 3% + *Coptis chinensis* 1%

H : Acid water + *Quercus aliena* 5%

I : Acid water + *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5%

J : Acid water + *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1%

Size of test sample : 8mm 1) Size of clear zone

(2) 알칼리수를 이용해 제조한 항균 전해수의 항균력 검색

알칼리수에 갈참나무 잎 에탄올 추출물과 황련 추출물을 적용하여 제조한 항균 전해수의 항균력을 검색하였으며 그 결과를 Table. 4-2에 나타냈다.

알칼리수만 처리한 경우 자체의 항균력을 가지고 있어 대략 10mm 정도의 항균활성을 나타냈으며 갈참나무를 1% 와 황련추출물을 병용 처리하였을 경우 항균력의 증가는 일어나지 않았다. 갈참나무 잎 에탄올 추출물의 농도가 3%-5%로 증가함에 따라 항균력이 상승하는 경향을 나타냈으며 황련 추출물의 병용처리에 의해 미약하게 항균성 상승효과를 나타냈다. 균종별 항균활성은 균종에 따라 차이는 있지만 그람양성균과 그람음성균에 대하여 유사한 항균활성을 나타냈다.

알칼리수에 갈참나무 잎 에탄올 추출물과 황련 추출물의 첨가는 자체 항균력을 가지고 있는 알칼리수의 항균활성을 저하시키지 않고 이들의 첨가에 의해 항균활성이 상승하는 결과를 나타냈으나, 산성수에 첨가한 경우 보다 더 미약한 항균활성을 나타냈다.

Table. 4-2. Antimicrobial spectrum of antimicrobial agents

Antimicrobial agents Test organism	Inhibition zone ¹⁾ (mm)				
	K	L	M	N	O
<i>Escherchia coli</i>	10	10	10	10	11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	10	10	10	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	10	10	10	11
<i>Bacillus subtilus</i>	9	10	10	10	10
<i>Listeria monocytogenes</i>	10	10	10	10	10
	Inhibition zone ¹⁾ (mm)				
	P	Q	R	S	T
<i>Escherchia coli</i>	11	11	11	11	12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	11	11	12	12
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	11	11	11	11
<i>Bacillus subtilus</i>	10	11	11	12	12
<i>Listeria monocytogenes</i>	11	11	11	11	11

K : Alkali water

L : Alkali water + *Quercus aliena* 1%

M : Alkali water + *Quercus aliena* 1% + *Coptis chinensis* 0.5%

N : Alkali water + *Quercus aliena* 1% + *Coptis chinensis* 1%

O : Alkali water + *Quercus aliena* 3%

P : Alkali water + *Quercus aliena* 3% + *Coptis chinensis* 0.5%

Q : Alkali water + *Quercus aliena* 3% + *Coptis chinensis* 1%

R : Alkali water + *Quercus aliena* 5%

S : Alkali water + *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5%

T : Alkali water + *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1%

Size of test sample : 8mm 1) Size of clear zone

나) 백색도 측정을 통한 적용 가능한 항균 전해수의 조건 검색

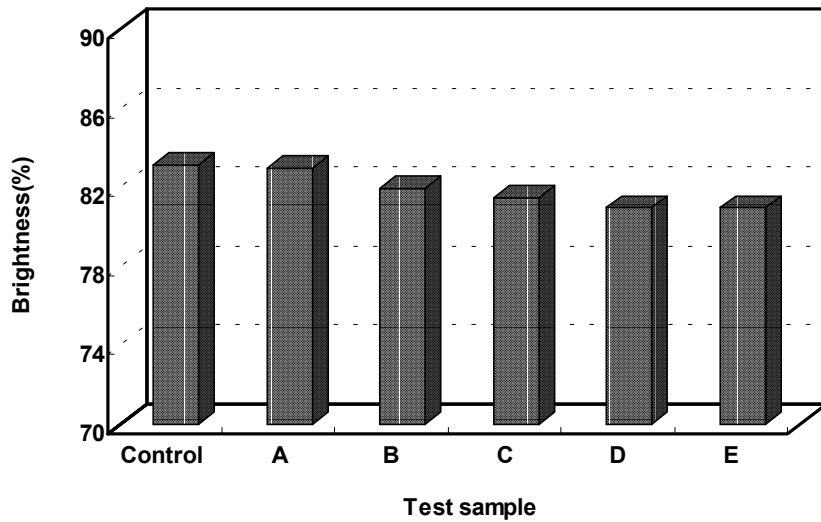
Paper disk 결과를 통한 항균력 검색을 통해 산성수에 갈참나무 추출물 5%와 황련 추출물 1%를 적용한 경우 가장 우수한 항균활성을 발현한다는 결과를 얻었지만, 고농도로 처리된 항균물질로 인해 wet tissue에 착색이 일어난다면 제품으로서의 가치가 저하되므로 제품의 가치가 저하시키지 않으며 항균활성을 나타내는 최적 조건을 찾고자 Elrepho 3000을 사용하여 제조된 wet tissue의 백색도를 검색하였다.

백색도의 측정을 위해 항균성 검색 결과 우수한 항균활성을 나타낸 산성수에 갈참나무 잎 에탄올 추출물과 황련 추출물을 첨가한 항균전해수를 제조하고 조건별 항균 전해수를 wet tissue 원지에 일정량 분사시켜 항균 wet tissue를 제조하고 실험에 사용하였다.

제조된 항균 wet tissue는 갈참나무 잎 에탄올 추출물과 황련 추출물의 첨가에 의해 wet tissue 원지에 착색이 일어나고 처리 농도의 증가에 따라 착색이 많이 일어남을 육안으로 관찰할 수 있었다.

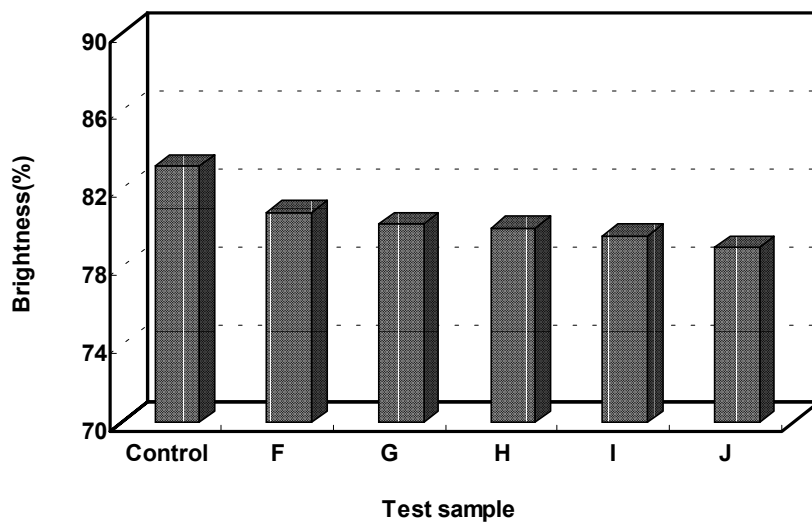
무처리한 wet tissue 원지의 백색도는 83% 정도를 나타냈으며 산성수만 단독으로 처리한 경우 무처리한 wet tissue와 유사한 백색도를 나타냈다. 산성수에 갈참나무를 첨가한 경우 처리 농도가 증가함에 따라 대략 2% 정도의 백색도가 저하하는 경향을 나타냈으며 황련을 병용처리했을 경우 더욱 백색도가 저하되는 현상을 나타냈다.

갈참나무 잎 에탄올 추출물 5%에 황련 추출물을 병용 처리하여 제조한 항균지는 가장 높은 항균력을 나타냈으나 wet tissue 원지에 착색이 일어나기 때문에 wet tissue 제품을 제조하기 위한 항균 전해수로 사용이 불가능하며, 항균활성 검색 결과 우수한 항균활성을 나타낸 갈참나무 3%와 황련 추출물 1%를 첨가하여 항균전해수를 제조하는 것이 제품의 가치를 하락시키지 않고 우수한 항균활성을 발현하는 기능성 wet tissue 제조를 위한 최적의 조건으로 생각된다.



- A : Acid water
- B : Acid water + *Quercus aliena* 1%
- C : Acid water + *Quercus aliena* 1% + *Coptis chinensis* 0.5%
- D : Acid water + *Quercus aliena* 1% + *Coptis chinensis* 1%
- E : Acid water + *Quercus aliena* 3%

Figure. 4-1. Effect of various antimicrobial electrolyzed water on brightness



F : Acid water + *Quercus aliena* 3% + *Coptis chinensis* 0.5%

G : Acid water + *Quercus aliena* 3% + *Coptis chinensis* 1%

H : Acid water + *Quercus aliena* 5%

I : Acid water + *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 0.5%

J : Acid water + *Quercus aliena* 5% + *Coptis chinensis* 1%

Figure. 4-2. Effect of various antimicrobial electrolyzed water on brightness

나. 기능성 wet tissue의 제조

기능성 wet tissue 제조를 위한 공정상의 조건을 찾기 위하여 wet tissue 제조 기계의 분사 노즐과 컨베이어 속도를 조절하여 wet tissue의 항균지 제조에 가장 적합한 공정상의 조건을 찾고자 하였다.

1) wet tissue 제조를 위한 공정의 설계

항균 wet tissue를 제조하기 위한 항균 전해수의 처리 조건을 검색하기 위하여 wet tissue 제조 기계의 노즐에서 분사되는 양은 일정하게 유지하고 wet tissue가 이동하는 컨베이어의 속도를 조절하여 wet tissue 원지에 적용되는 항균 전해수의 양을 조절하였다.

노즐의 분사량과 컨베이어의 속도의 제어를 통해 wet tissue 원지 중량에 대해 적용되는 항균 전해수의 양을 1배, 2배, 3배, 4배로 제어하였다. Table. 4-3은 공정 조건에 따른 항균 전해수의 처리 용량을 나타냈다.

Table. 4-3. Conditions of antimicrobial wet tissue manufacture

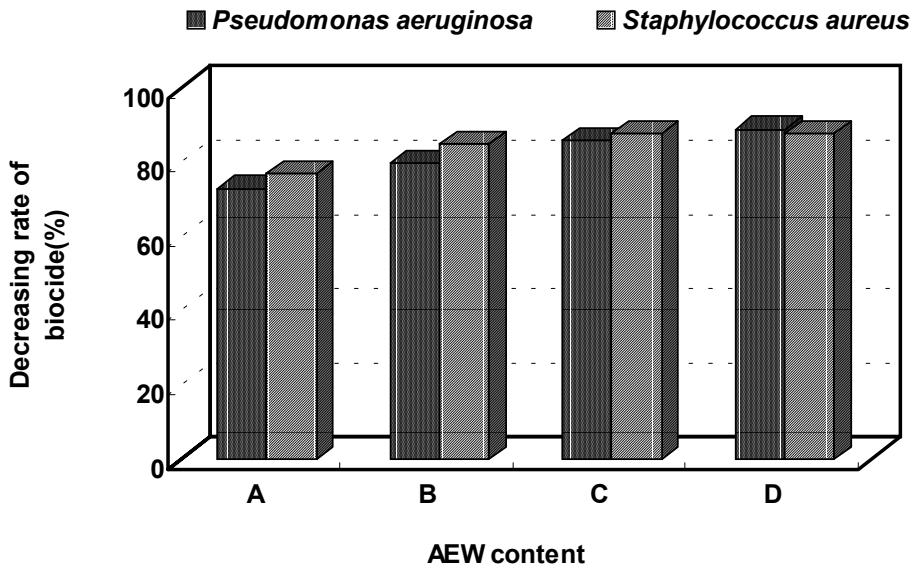
Conveyer speed	AEW content
175m/min	wet tissue sheet wetight × 1
150m/min	wet tissue sheet wetight × 2
125m/min	wet tissue sheet wetight × 3
100m/min	wet tissue sheet wetight × 4

AEW : antimicrobial electrolyzed water

2) 공정 조건별로 제조한 wet tissue의 균감소율

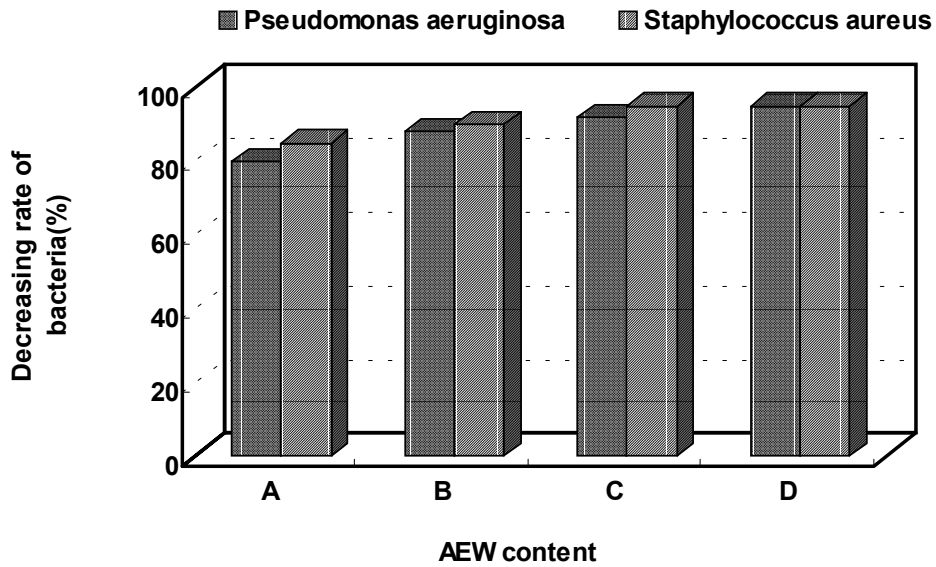
위의 공정 조건으로 제조된 항균 wet tissue의 항균성 검색을 위하여 JIS L 1902법을 통한 살균감소율과 정균감소율을 검색하였다. 공정 조건에 따른 항균성 검색 결과 wet tissue에 처리된 항균 전해수의 양이 증가할수록 항균성이 상승하는 결과를 나타냈다. wet tissue 원지의 무게에 대해 항균 전해수를 1배정도 처리한 경우 70% 이상의

살균감소율과 80% 정도의 정균감소율을 나타냈으며 처리농도가 증가할수록 균감소율은 증가하여 4배를 처리했을 경우 80% 이상의 살균감소율과 90% 이상의 정균감소율을 나타냈다. 균종별 항균활성은 균종에 따라 차이는 있으나 그람양성균인 *Staphylococcus aureus*가 그람음성균인 *Pseudomonas aeruginosa* 보다 더 우수한 항균활성을 나타냈으나 그 차이가 미약한 것으로 나타났다. 공정 조건 별로 제조된 항균 wet tissue의 항균활성은 가장 높은 균감소율을 나타낸 wet tissue 원지에 대해 4배의 항균 전해수를 처리한 경우였으며 3배의 항균 전해수를 처리한 경우도 우수한 항균활성을 나타내는 것으로 나타났다.



A : wet tissue weight × 1, B : wet tissue weight × 2
 C : wet tissue weight × 3, D : wet tissue weight × 4
 AEW : antimicrobial electrolyzed water

Figure. 4-3. Decreasing rate of biocide in different treatment condition



A : wet tissue weight × 1, B : wet tissue weight × 2
 C : wet tissue weight × 3, D : wet tissue weight × 4
 AEW : antimicrobial electrolyzed water

Figure. 4-4. Decreasing rate of bacteria in different treatment condition

3) 최적의 wet tissue 제조 조건

Wet tissue 적용을 위한 항균 전해수의 조건 검색 결과 갈참나무 3%와 황련 추출물 1%를 적용한 경우 항균 전해수 제조를 위한 최적 조건임을 위의 실험을 통해 확인하였으며, 최적 조건의 항균 전해수를 wet tissue에 직접 적용하여 공정 조건별에 따라 제조된 항균 wet tissue 제조에 가장 적합한 조건을 찾았다. 그 결과 항균 전해수를 wet tissue 증량에 대해 4배 정도 적용한 경우 가장 우수한 항균활성을 나타냈고, 3배 정도 적용한 경우도 우수한 항균활성을 나타냈다.

항균 wet tissue를 제조하기 위하여 우선 시 되어야 할 것은 항균 wet tissue로서의 항균성 발현 여부와 제품으로서의 가치 여부라고 할 수 있다. 항균력 검색 결과 4배의 항균 전해수를 적용한 경우가 가장 높은 항균활성을 나타내지만, 항균 전해수의 처리량이 많아짐에 따라 적용 시 wet tissue 원지에 착색이 일어나는 문제점을 나타냈다. 또한 과도한 양의 항균 전해수를 첨가함에 따라 wet tissue 원지에 수분 함유량이 증가

함으로써 wet tissue 사용 시 과도한 수분에 의한 청량감 및 wet tissue로서 기능이 저하되므로 4배로 항균 전해수를 첨가하는 것은 불가피하다고 할 수 있다. 1배나 2배 처리를 한 경우 낮은 항균성을 가지고 있으며 wet tissue에 적합한 수분이 적용되지 않으므로 적합하지 않다고 할 수 있다. 따라서 wet tissue 제조를 위해 3배의 항균 전해수를 적용하는 것이 적합하다고 판단된다. 3배의 적용은 항균 wet tissue에 거의 착색이 일어나지 않으며 현재 시판되고 있는 wet tissue의 함유율과 비슷한 함유율을 가지게 되며 가장 중요한 항균성 역시 85% 이상으로 우수한 항균성을 나타내므로 항균 wet tissue 제조를 위한 최적의 조건으로 사료된다.

4. 결론

참나무 추출물을 적용한 wet tissue에 적용하기 위한 항균 전해수의 조건 탐색과 wet tissue 제조 공정을 설정을 통해 우수한 항균력을 발현하며 제품성을 갖춘 기능성 wet tissue를 제조하였다.

가. 항균 전해수의 제조 조건 설정

Wet tissue 제조를 위한 항균 전해수의 최적 조건 설정을 위하여 산성수와 알칼리수에 갈참나무 잎 에탄올 추출물과 황련 추출물을 적용하고 paper disk법을 통한 항균력 검색과 임의의 조건으로 제조된 항균 wet tissue의 백색도를 측정하여 최적의 조건을 설정하였다.

- 1) 조건별 항균 전해수의 검색 결과 산성수에 갈참나무 추출물 잎 에탄올 추출물 5%와 황련 추출물 1%를 적용한 경우 가장 우수한 항균을 나타냈으며, 산성수에 갈참나무 잎 에탄올 추출물 3%와 황련 추출물 1%를 적용한 경우도 우수한 항균력을 나타냈다.
- 2) 제조된 우수한 항균활성을 나타낸 항균 전해수를 처리하여 제조한 항균 wet tissue의 백색도 측정 결과, 산성수에 갈참나무 잎 에탄올 추출물 5%와 황련 추출물 1%를 적용한 경우 원지에 착색이 발생하여 이를 적용시 제품으로서의 가치가 저하됨을 나타냈다. 따라서 항균 wet tissue 제조에 가장 적합한 항균전해수 제조 조건은 산성수에 갈참나무 잎 에탄올 추출물 3%와 황련 추출물 1%를 적용한 경우였다.

나. 항균 wet tissue 제조를 위한 공정상의 조건 설정

Wet tissue 제조 기계의 컨베이어 속도 조절을 통해 가장 우수한 항균활성을 나타내며 제품성이 뛰어난 공정상의 조건을 찾고자 하였다. 항균 wet tissue를 공정 조건별로 제조하고 이들의 항균력을 JIS L 1902법으로 검색하여 최적 조건을 검색하였다.

- 1) 항균 wet tissue의 제조는 wet tissue 중량에 대해 1배, 2배, 3배, 4배로 처리하였고

위의 조건으로 제조된 향균지의 향균성 검색 결과, 4배를 처리한 경우 가장 우수한 향균활성을 나타냈으며 3배로 처리한 경우도 우수한 향균활성을 나타냈다.

- 2) 향균 wet tissue 제조를 위한 최적의 공정 조건은 wet tissue 원지 중량에 대해 3배 정도 처리한 경우, 우수한 향균력과 제품성을 갖는 결과를 나타냈다.

제 4장 목표 달성도 및 관련분야에 의 기여도

제 1절 연구개발 목표의 달성도

본 연구는 우리나라에 널리 분포하고 있어 시료의 채취가 용이한 참나무 6종(갈참, 신갈, 떡갈, 상수리, 굴참, 졸참)을 사용하여 참나무 6종의 수종별·부위별 항균물질을 탐색하고 천연 항균물질을 적용한 항균지 제조 가능성을 확인하였으며 기능성 wet tissue를 제조 하고자 하였다.

1차 연도는 산림자원으로부터 천연 항균 소재를 탐색하고 이를 종이에 적용하여 항균지 제조 가능성에 대해 연구를 실시하였다. 산림자원으로부터 항균물질을 획득하기 위해 산림자원 중 가장 시료의 채취가 용이하며, 국내외 자료 검색 결과 본 연구를 위한 시료로 참나무 수종을 선택하였다. 참나무 수종으로부터 항균물질을 획득하기 위하여 최적의 에탄올 추출조건을 확립하고 제조된 참나무 추출물의 항균활성을 paper disk법과 bioscreen C법을 통하여 항균활성을 검색하였다. 이 중 가장 우수한 항균활성을 나타낸 수종과 부위를 선별하여 이들을 극성이 다른 용매로 분획하고 에탄올 추출물과 분획물의 항균활성 비교를 통해 항균지 제조 시 가장 우수한 항균활성을 나타낼 수 있는 항균물질을 검색하였다. 참나무 6종의 수종별·부위별로 추출물을 적용하여 제조한 항균지는 halo test법과 JIS L1902법을 통하여 항균력을 평가하였으며 항균력의 평가를 통해 참나무 추출물과 참나무 추출물을 적용한 항균지의 제조 가능성을 확인하였다.

1차 연도 연구를 통해 산림자원의 새로운 이용 방향에 대한 가능성을 확인하였다고 할 수 있다. 산림자원으로부터 항균물질의 검색은 목질부, 뿌리 등으로 제한된 나무 산림 자원의 합리적인 이용을 가능하게 하였으며, 참나무 6종의 잎, 수피, 목질부를 다양한 조건에서 추출함으로써 타 산림자원으로부터 항균물질을 획득하기 위한 기초 자료로 사용이 가능하다. Paper disk 법과 bioscreen C법, halo test법, JIS L 1902법을 통해 항균활성 검색 및 항균성을 부여한 종이에 적용 가능한 새로운 항균력 평가 방법을 제시하였으며, 항균지 제조를 위한 최적의 적용 조건의 설정을 통해 효과적인 항균지 제조 기술과 적용 방법을

개발하였다.

2차 연도는 참나무 추출물의 분리·정제를 통한 항균물질 검색과 항균지의 상승 효과 부여 및 참나무 추출물을 이용한 wet tissue 제조 조건 및 참나무 추출물을 적용한 항균지의 선도유지 기능을 검토하였다. 참나무 잎 추출물을 분리·정제하고 NMR 분석을 통해 항균물질의 구조를 분석하였으며 참나무 추출물과 타 임산자원인 황련 추출물, citric acid를 적용하여 항균지의 상승효과 및 참나무 추출물의 적용이 종이의 물성에 미치는 영향을 검토하였다. 또한 병용 처리하여 제조한 항균지의 선도유지 기능과 항균물질을 wet tissue에 적용하여 기능성 wet tissue 제조 가능성을 검토하였다.

2차 연도의 연구를 통해 항균성을 상승시킬 수 있는 기술과 참나무 추출물을 타 분야에 적용할 수 있는 유용 자료를 확보하였다. 참나무 추출물에서 분리해 낸 항균물질은 타 산림자원으로부터 분리한 항균물질을 분석하는데 유용한 자료로 활용이 가능하다. 또한 항균성 상승효과가 부가된 항균지의 제조 및 항균지의 선도유지 평가, 기능성 wet tissue의 제조를 통해 참나무 추출물을 타 분야에 적용하기 위한 다양한 자료를 제공할 수 있어 참나무 추출물의 폭넓은 활용을 가능하게 할 수 있을 것이다.

제 2절 기술개발의 기여도

제지 산업의 발전과 더불어 경제 수준의 향상되고 생활양식이 다양해짐에 따라 일반적인 종이의 품질 향상과 함께 다양한 종류의 종이가 요구되므로 고부가가치화·차별화를 부여한 특수 기능지의 수요가 급성장하고 있으며 특히 건강에 대한 관심이 증가함에 따라 항균성능을 부여한 항균지의 개발과 항균성능을 부여한 제품은 고부가가치 상품으로 주목을 받고 있다.

항균성 부여를 위한 여러 가지 약품 중 천연계 물질로부터 제조한 항균약품에 대한 개발은 매우 미비한 실정이다. 천연계 항균물질 제조를 위해 한방의약에서 사용되고 있는 약용식물이나, 수산물에 의한 항균물질의 탐색이 증가되고 있지만 산림자원을 이용한 항균 소재의 탐색에 대한 연구는 부족한 현실이다. 또한 항균성분을 함유하는 대부분의 천연 항균 물질들은 대부분 배지에서 유해미생물의 생육억제 효과에 치중했으며 이러한 항균소재의 적용 방법에 대

한 응용 연구는 거의 전무한 실정이다.

본 연구는 산림자원으로부터 항균물질을 탐색하고 이를 이용한 고부가가치 항균지의 제조 가능성을 확인하는데 목적이 있으며 본 연구를 통해 과거 항균성 소재 탐색과 응용 연구가 부족한 항균성 관련 연구를 위한 기초 자료의 제공과 적용을 위한 새로운 방향을 제시하였다.

1. 기술적 측면

과거 천연계 항균물질을 획득하기 위한 항균 소재는 한약재 및 기타 천연소재에 한정되어 있었으나 이러한 천연소재는 시료의 획득이 어렵고 항균 처리시 얻을 수 있는 항균물질의 양이 매우 적다는 문제점을 가지고 있다. 따라서 시료의 채취가 용이한 천연물질로 가장 적합한 것은 우리 나라 영토의 70%를 차지하는 있는 산으로부터 획득이 가능한 산림자원으로부터 항균소재를 탐색하는 것이 바람직하다. 본 연구는 우리 나라 수목 중 20%를 차지하고 있는 참나무 수종으로부터 항균활성을 검색하고 항균 물질 추출을 위한 최적의 추출 조건을 개발함으로써 새로운 천연 소재 개발의 가능성을 제시와 안전성이 확립된 천연계 항균제를 개발 가능성을 보여줬다고 할 수 있다. 또한 참나무 추출물을 이용한 항균지 및 wet tissue를 제조함으로써 효과적인 항균제 적용 방법을 확립하고 황련 추출물과 citric acid와의 병용 처리를 실시하여 상승효과가 부가된 항균지를 제조함으로써 더 우수한 항균성을 발현하며 경제적인 항균 상품 제조가 가능할 것으로 기대된다.

2. 경제·산업적 측면

참나무로부터 천연계 항균 물질의 획득함으로써 국내 임업자원의 효과적인 이용 가능성을 제시하였으며 이러한 유용 수종의 재배로 우리 나라 농촌 지역의 소득 증대에 영향을 미칠 것으로 사료된다. 또한 항균제 공급이 다양해짐에 따라 천연계 항균제의 원가가 절감되어 항균지 제조 관련 사업의 활성화를 이끌 수 있으며 경쟁력 있는 상품의 제조로 국제 경쟁력을 갖는 중소기업을 육성할 수 있을 것이다. 이러한 천연계 항균제로부터 항균성을 부여한 항균지의 국

내 생산 체계를 확립함으로써 수입에 대체효과를 통해 외화 절감 효과에 기여할 것으로 기대된다.

3. 사회·문화적 측면

참나무로부터 천연 향균 소재를 획득함으로써 향균물질을 함유한 산림자원 및 향균성을 부여한 제품의 고부가가치화가 가능할 것으로 기대된다. 또한 산업화와 경제력의 증가에 따른 소비자의 건강·위생 관련 욕구를 본 연구 개발을 통해 충족시킬 수 있을 것으로 기대된다.

제 5장 연구개발 결과의 활용계획

제 1절 추가 연구의 필요성

본 연구로부터 제조한 항균지는 항균물질 처리에 의해 제조된 항균지에 착색이 일어나며 종이의 강도를 저하된다는 문제점을 가지고 있다. 만일 제조된 항균지가 항균성능 부여를 위해 박스와 같은 포장매개물에 가공되어져 사용이 된다면 이러한 문제점은 해결이 가능하지만써의 강도 참나무 추출물을 적용한 항균지만을 이용하여 식품 포장을 할 경우 포장지로적 특성과 미적 특성이 저하는 큰 문제로 작용될 수 있을 것이다. 그러므로 참나무 추출물을 적용한 항균지의 상용화를 위해 포장지로서 종이의 강도를 향상시킬 수 있는 방법과 참나무 물질로부터 착색물질을 분리할 수 있는 기술을 개발할 수 있는 추가적인 연구가 필요하다고 생각된다. 또한 천연계 항균물질의 경우 항균성을 발현시키는 물질에 대한 규명이 부족한 실정이다. 본 연구를 통해 참나무 추출물의 항균성을 나타내는 물질을 분리했으나 국내에선 이러한 물질에 대한 구체적인 연구가 부족한 실정이며 천연계 항균물질이 병원성 균에 대해 일어나는 항균성 발현 기작에 대해 검증된 구체적인 연구가 필요한 실정이다.

또한 참나무 추출물을 적용한 항균 제품의 상용화를 위한 경쟁력 분석과 상품화를 위한 추가적 설비 및 투자비에 대한 구체적인 분석이 필요할 것으로 사료된다.

제 2절 타연구에의 응용

본 연구를 통해 제조된 참나무 항균 물질은 항균 성능 부여를 필요로 하는 제품 생산에 이용 가능하다. 항균 물질을 필요로 하는 여러 공산품의 제조에 적용이 가능하며 참나무 성분 분석을 통해 참나무 성분을 주로 하는 신약의 개발에도 활용이 가능할 것이다. 이러한 참나무 추출물을 타 연구에 응용하기 위해서는 우선 참나무 추출물의 성분 분석과 참나무 추출물이 항균성을 발현하는 작용 기작에 대한 연구가 우선적으로 실시되었을 때 응용이 가능할 것으로 생

각된다.

1. 펄프·제지 산업에의 응용

항균성을 가지고 있는 참나무 추출물은 펄프 제지 산업 중 항균성을 부여한 특수 기능지 생산에 적용하여 고부가가치 기능지 생산에 적용이 가능하다. 일반적인 식품은 유통이나 저장 시 병원성 미생물의 발생으로 인해 부패현상이 일어나 제품의 가치가 저하되게 된다. 이를 방지하기 위하여 식품 제조 시 식품 보존제를 첨가하는 방법을 사용하고 있으나 직접적으로 인체에 섭취되는 문제점이 있으므로 제한적으로 사용하고 있다. 이러한 문제는 식품을 포장하는 식품 포장지에 항균성능을 부여함으로써 해결이 가능하다. 항균 성능을 부여한 식품 포장지는 식품에 직접 접촉하여 일차적으로 미생물의 발생을 억제시켜 부패를 방지하므로 참나무 추출물을 적용한 항균지를 식품 포장 용도로 사용할 경우 포장하는 제품에 따른 항균성 부여 방법 및 적용농도에 대한 체계적인 연구를 통해 식품 항균 포장지 제조에 적용이 가능할 것으로 사료된다. 또한 참나무 추출물을 적용한 수저 포장지 및 매트에 적용이 가능하며 참나무 추출물은 항균성 부여를 필요로 하는 벽지나 초배지 등의 산업용지의 제조에 응용이 가능하다.

2. 항균성능을 요구하는 직물의 제조에 응용

참나무 추출물은 의류나 양말 등 위생을 요하는 제품의 생산에 이용이 가능하다. 의류를 제조에 사용되는 직물 제조 시 참나무 항균 물질을 첨가하여 직물을 제조하거나 함침 방법에 의해 직물에 항균성능을 부여하는 방법을 통해 제조된 항균 직물은 위생을 요하는 의류 제품의 생산에 응용 가능하다.

3. 항균성능이 부가된 필터의 제조에 응용

산업용 항균 필터의 제조에 사용이 가능하다. 산업용 필터에는 많은 병원성 세균들이 서식하기에 좋은 환경을 제공하고 있으며 이러한 산업용 필터에 번식

하는 병원성 세균은 질병 발생의 원인으로 작용한다. 그러므로 참나무로부터 추출한 항균 물질을 산업용 필터 제조에 응용하여 항균 필터를 제조함으로써 질병 발생의 원인을 감소하며 미생물에 의한 필터의 오염도가 저하되므로 필터의 교체 시기를 연장 등 부가적인 잇점을 부여할 수 있을 것이다.

4. 천연 항균 물질을 함유한 기능성 화장품의 제조에 응용

천연 항균 물질을 함유한 기능성 화장품 개발에 응용이 가능하다. 예를 들어 아토피성 피부염의 경우 항균기능이 첨가된 화장품의 사용으로 일차적인 방지가 가능하므로 이러한 제품이 개발되어 현재 시판되고 있다. 새롭게 개발되는 화장품의 경우 염증억제, 항산화, 항균작용을 첨가한 새로운 개념의 기능성 화장품이 주를 이루고 있으며 천연계 물질인 참나무 추출물을 적용한 화장품의 개발은 천연 항균 물질을 함유한 신개념 화장품으로 각광을 받을 수 있을 것으로 생각된다.

5. 참나무 추출물을 이용한 신약 개발에 응용

참나무 추출물은 신약 개발 원료로 사용이 가능하다. 참나무는 민간 요법에서 질병의 치료를 위해 사용이 되었으며 독일에서는 외부염증 치료제로 현재 사용을 하고 있다. 또한 본 연구를 통해 밝혀진 catechin 성분은 여러 분야에서 의약용으로 사용되어 이를 이용한 신약이 가능할 것으로 생각된다.

제 3절 기업화 추진방안

해당사항 없음

제 6장 해외 과학 기술 정보

본 연구를 수행하기 위한 기초 자료 수집을 위해 국외 항균제 개발 동향 및 해외 논문 자료 검색, 해외 특허 자료 검색을 실시하였다. 연구 개발 과정에서 수집한 해외 과학 기술 정보는 본 연구 진행을 위한 기초 자료로 사용하였다.

제 1절 해외 특허 자료

- ANTIMICROBIAL COMPOSITION COMPRISING SOY OIL, RICE BRAN OIL, AND JOJOBA OIL

-특허번호 : WO 03/047537 A1

-내 용 : 본 자료는 soy oil, rice oil, jojoba oil의 혼합물을 skin tissue에 처리하고 이의 항곰팡이성과 항균성의 측정에 관한 내용이다. 부가적으로 avocado oil, grapefruit oil, juniper oil, lavender oil을 첨가하여 항균성 상승 효과의 확인과 효과적인 항균성/ 항곰팡이성을 발현할 수 있는 적정 농도를 찾는 과정을 설명하고 있으며 이를 이용한 skin tissue 제조 방법을 제시하고 있다.

- ANTIMICROBIAL PEPTIDES ISOLATED FROM FISH

-특허번호 : US 2003/0083247 A1

-내 용 : 본 특허는 물고기로부터 천연의 peptide를 분리하고, 분리된 peptide의 항균성 발현능력에 대한 내용이다. Bass로부터 peptide를 분리하는 방법과 peptide의 항체 및 peptide 사용법에 대해 설명하고 있다.

- ANTIMICROBIAL COMPOSITE MATERIAL

-특허번호 : WO 03/047349 A1

-내 용 : 본 자료는 초미세입자를 가지는 항균물질의 합성에 대한 내용이다. 금속 이온과 비금속 양이온을 접목시키고 이러한 합성물질의 제조 및 사용법에 대한 내용을 포함하고 있다.

- ANTIMICROBIAL TERNARY SURFACTANT BLEND COMPRISING CATIONIC, ANIONIC, AND BRIDING SURFACTANTS, AND METHODS OF PREPARING SAME

-특허번호 : US01/28739

-내용 : 4급암모늄, 양이온성, 음이온성 계면활성제와, bridging 계면활성제를 함유한 항균물질의 개발에 관한 내용이다. 위의 성분으로 구성된 항균 물질의 제조 방법과 항균 물질과 병원성 세균에 대한 저해 능력 측정 방법을 제시하고 있다.

- CHITOSAN-CONTAINING ACRYLIC FIBERS AND PROCESS FOR PREPARING THE SAME

-특허번호 : US 6551705 B1

-내용 : 본 특허 내용은 0.05에서 2%의 키토산을 함유한 아크릴 섬유의 제조에 대한 내용이다. 키토산을 함유하여 제조한 아크릴 섬유의 항균활성은 오랜 기간 동안 저항성을 가지며 이러한 키토산 섬유는 섬유의 염색이나 표백, 섬유 생산을 위한 일반적인 처리, 세탁, 다림질과 같은 공정에 의해 항균성이 감소하지 않는다고 설명하고 있다.

- MIXTURE OF PHENOLIC AND INORGANIC MATERIALS WITH ANTIMICROBIAL ACTIVITY

-특허번호 : EP 1190 622 A1

-내용 : 본 특허에서는 플라스틱 필름이나 섬유에 phenolic 물질과 무기 항균제를 혼합하여 처리하면 오랜 기간 항균활성을 유지할 수 있다고 설명하고 있다. 위의 항균물질이 부여된 플라스틱과 섬유는 자외선에 의한 변색에 대해서 저항성을 가지며 고온에서도 제조가 가능하며 자외선 노출과 풍화작용에 의해서도 물리적 성질이 변화지 않아 여러 용도로 사용이 가능함을 설명하고 있다.

- ANTIMICROBIAL PACKING MATERIALS

-특허번호 : WO 03041516

-내 용 : 본 발명은 항균성과 안전성이 부가된 포장 물질의 제조에 관한 내용이다. 포장물질은 amino acid cellulose ester를 기본으로 하며 여기에 lysine cellulose ester와 arginine cellulose ester, ornithine cellulose ester, histidine cellulose ester를 혼합하여 제조가 가능하다고 설명하고 있다.

제 2절 해외논문자료

- Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise(*Pimpinella anisum* L.) seed extracts
-저 자 : İlhami Gulcin, Munir Oktay, Ekrem Kirecci, O. İrfan Kufrevioğlu.
-Journal : Food Chemistry (2003)
-개 요 : 본 연구는 anise 종자를 물과 에탄올 추출하여 이들의 항산화성과 항균성을 검토한 내용이다. anise의 두가지 추출물에 대한 항산화성은 free radical scavenging, superoxide anion radical scavenging, hydrogen peroxide scavenging, metal chelating activity를 평가하였다. 물과 에탄올 추출물의 20µg/ml는 linoleic acid 시스템에서 peroxidation에 대해 99.1%와 77.5%의 저항을 나타냈으며 이는 α-tocopherol을 동일한 농도로 적용했을 때 보다 더 큰 저항성을 나타냈다. 이런 다양한 항산화성을 BHA와 BHT 그리고 α-tocopherol로 구성된 항산화제와 비교하였다. anise 종자의 물 추출물은 에탄올 추출물 보다 더 높은 항산화 능력을 나타냈다. 항균성에 대한 실험은 10개 균종에 대해 디스크 확산 방법(disc diffusion method)을 사용하여 실시하였다.
- Antifungal and larvicidal cordiaquinones from the roots of *Cordia curassavica*
-저 자 : Jean-Robert Iost, Andrew Maston, Mahabir P. Gupta, Kurt Hostettmann.
-Journal : Phytochemistry 53 (2000) p.613-617
-개 요 : Cordiaquinones A와 B에서 부가적으로 cordiaquinone J와 K로 명명한 두가지 새로운 meroterpenoid naphthoquinones을 *Cordia curassavica*로

부터 분리하였다. 위 물질의 구조는 EI, D/CI 질량 측정기, ^1H , ^{13}H -NMR, 2D-NMR 실험을 통해 분석하였으며 4가지 naphtoquinones의 *Caldosporium cucumerinum*에 대한 antifungal 활성을 증명하였다.

- Antimicrobial activity of plants used in traditional medicine fo San Juan province, Argentine.

-저 자 : Gabriela Egly Feresin, Alejandro Tapia, Silvia N. Lopez, Susana A. Zacchino

-Journal : Journal of Ethnopharmacology 78 (2001) p.103-107

-개 요 : *Acaenta magellamica*, *Bacharis grisebachii*, *Ephedra breana*, *Oxalis erythrorhiza*, *Pachylaena atriplicifolia*, *Satureja pravifolia*로부터 얻은 18개의 추출물은 agar dilution method를 사용하여 박테리아와 곰팡이균에 대한 항균활성을 검색하였다. *B. grisebachii*와 *O. erythrorhiza*의 hexane(H) 추출물과 dichloromethane(DCM) 추출물은 곰팡이균에 대하여 우수한 항균효과를 나타냈다. 모든 추출물의 저해 능력은 25-1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 첨가했을 때 나타냈다. *Trichophyton rubrum*의 추출물은 가장 높은 항균성을 나타냈으며 *Cryptococcus neoformans*의 추출물은 MIC 측정 시 600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 항균활성을 나타냈는데 이는 *B. grisebachii*의 DCM 추출물에 의한 것이다. *O. erythrorhiza*의 DCM과 *B. grisebachii*의 DCM 추출물은 125-500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 첨가했을 때 methicillin-resistant와 methicillin-sensitive를 가지는 *Staphylococcus aureus*에 대해 항균활성을 나타냈다. *B. grisebachii*의 DCM 추출물은 methicillin-sensitive strain 보다 methicillin-resistant에 대해 더 높은 효과를 나타냈다.

- Antimicrobial activity of extracts of eastern North American hardwood trees and relation to traditional medicine

-저 자 : S. Omar, B. Lemonnier, N. Jones, C. Ficker, M. L. Smith, C. Neema, G. H. N. Towers, K. Goel, J. T. Arnason.

-Journal : Journal of Ethnopharmacology 73 (2000) p.161-170

-개 요 : 14종의 북아메리카 활엽수의 목질부와 수피 추출물은 8종의 박테리

아와 6종의 곰팡이 균에 대하여 항균활성을 나타내는 특성을 가지고 있어 의학용으로 사용이 되어왔다. 수피추출물은 methicillin sensitive *Staphylococcus aureus*에 대해 86% 이상의 활성을 나타냈으며, *Bacillus subtilis*에 대해서는 71%, *Mycobacterium phlei*에 대해서는 79%의 항균활성을 나타냈다. 목질부 추출물은 수피 추출물에 비해 낮은 항균활성을 나타냈다. *Staphylococcus aureus*에 대해서는 72%, *Bacillus subtilis*에 대해서는 36%, *Mycobacterium phlei*에 대해서는 43%의 항균활성을 나타냈다. 항곰팡이성은 적어도 한 종의 곰팡이 균에 대해 항곰팡이성이 나타났으며 수피추출물이 목질부 추출물 보다 더 높은 항균활성을 나타냈다. *Juglans cinerea*의 수피 추출물은 *Candida albicans*와 *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton mentaforphytes*, *Microsporium gypseum*, *Aspergillus fumigatus*에 대해 우수한 항균활성을 나타냈다. 일반적으로 추출물은 그람음성균과 그람양성균에 대해 더 높은 항균활성을 나타냈고 yeast-like fungi 보다 filamentous fungi에 대해 더 높은 항곰팡이성을 나타냈다.

- Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L.

-저 자 : I. Karaman, F. Sahin, M. Guluce, H. Ogutcu, M. Sengul, A. Adiguzel

-개 요 : 물과 메탄올 추출에 의한 *Juniperus Oxycedrus* 잎의 항균성질은 invitro 실험을 통해 검토하였다. 실험에 사용된 식물은 Gebze의 Pelitili village와 Kocali, 그리고 터키의 Marmata 지역에서 수집하여 사용하였다. *Juniperus oxycedrus*는 전염병의 치료제로 터키의 민간요법에서 사용되고 있다. 위의 추출물은 56종의 박테리아와 5종의 곰팡이균에서 분리시킨 31개 종을 가지고 disc-diffusion assay 방법과 MIC, MBC 법을 사용하여 항균성을 검색하였다. *J. oxycedrus*의 물 추출물은 실험에 사용된 균종에 대한 항균효과가 나타나지 않았으나 메탄올 추출물은 24개 박테리아 중 중 변형된 57개종에 대해 항균활성을 나타냈으며, 31.25-250 μ g/ml의 범위에서 첨가했을 경우 항균활성이 나타났다.

제 3절 해외 연구 개발 동향

- 새로운 천연항균제 개발 - 일본 신나까무라 화학공업
 - 정보출처 : <http://www.chemicaldaily.co.jp>
 - 내 용 : 일본의 신나까무라 화학공업은 항균-항곰팡이성 제제 분야에 진출하여 파마자유의 운데실산(Undecylenic acid)에 독자적인 에테르화 기술을 응용하여 항균-항곰팡이성을 가진 새로운 타입의 아크릴계 모노머를 개발했다. 본 항균제는 천연물이므로 환경 친화적이며 첨가제 타입과 달리 모노머와 라디컬 반응을 하며 고정 안정화되므로 삼출이나 기화 등의 우려가 없어 안전하며 중합성의 아크릴로일(acryloyl)기를 이용한 광경화나 열중합도 가능하므로 대상물의 표면에 고효율로 적용이 가능하며 박막 수지층을 형성할 수 있다.
- 천연죽엽 엑기스가 주성분인 항균제 개발
 - 정보출처 : <http://release.nikkei.co.jp>
 - 내 용 : 본 항균제는 천연 죽엽에서 추출된 엑기스를 주성분으로 하므로 MRSA 등의 세균이나 *candida*균등의 진균 방어에 유효하게 적용한다. 지금까지 실용화된 항균제는 유기은계열의 화합물이 대부분으로 식품에 직접 접촉되는 포장재료에 사용할 경우 인체에 대한 영향이 우려되기 때문에 이러한 분야에 잘 사용되지 않고 있다. 본 항균제는 천연죽엽에서 추출된 엑기스가 주성분이므로 식품에 직접 접촉되는 용도로 사용해도 인체에 대한 영향이 거의 없을 것으로 예상된다.
- 허브성분을 이용하여 만든 항균 플라스틱 식품 포장지
 - 정보출처 : The New Scientist Magazine
 - 내 용 : 허브에서 추출한 항 미생물 화학 성분을 서서히 배출하도록 만든 플라스틱 음식 포장지로 육류와 치즈를 포장하면 식품의 보존기간을 증가시킬 수 있고 식중독의 위험성도 감소시킬 수 있다고 한다. 또한 포장지에 포함되어 있는 항균 성분은 포장된 식품의 맛을 떨어뜨리지 않으며 일반 포장지와 비교하여 박테리아의 생성이 1주일 이상 억제되는 것으로 밝혀졌다.

본 연구는 호주 멜버른 시 빅토리아 대학과 이스라엘 하이파시 Technion Institutes of Technology 대학 연구진에 의해 발표되었다.

새로운 플라스틱 포장지에는 바실 허브에서 추출한 두 종류의 화학 성분이 들어있는데 그중 한 성분은 “메틸 chavicol” 성분이고 또 다른 성분은 “알코올 linalool” 성분이다. 이 화학성분은 *E. coli O157* 및 *Listeria* 균을 포함한 8종의 박테리아에 항균성을 보이는 것으로 알려져 있다. 위의 성분이 함유된 포장지는 식품의 맛에 영향을 주지 않으며 물에 덜 용해되기 때문에 식품에 잘 흡착되지 않는다.

- 중국, 신평 항균포장지 발매

- 정보출처 : <http://www.ccen.net>

- 내 용 : 중국의 서안교통대학 재료학원은 ZnO 결정 복합항균제의 연구 기초에서 ZnO 단결정을 주성분으로 여러 가지 높은 활성을 가진 나노 재료를 기본으로 한 새로운 항균제품-ZnO 복합 항균 플라스틱 미립자를 개발했다. 본 항균포장지는 진균, mold, candida alvicans 등에 대해 98-99%의 억제 및 살균효과를 가지고 있다.

- 해초에서 발견된 새로운 항생물질

- 정보출처 : <http://www.bio.com>

- 내 용 : 미국 애틀랜타 조지아 기술 연구소의 과학자들은 최근 해초류가 특정 병원균으로부터 자신을 방어하는데 자연산 항생제를 이용하고 있음을 발견했다. 연구팀은 흔한 해초의 일종인 *Lobophora variegata*에서 강력한 항균화합물을 분리하는데 성공했으며, 이 화합물은 식물에서는 관찰된 적 없는 독특한 화학구조를 가지고 있다. 연구팀이 발견한 항생제는 해양해면 및 청록조류에서 발견되는 두 종류의 매크로라이드(macrolide)계 항생제를 발견했다.

- 벼로 항생물질 생산

- 정보출처 : 닷케이산업신문

- 내 용 : 일본 공경이과대학과 명치대학의 공동 연구 그룹이 벼의 유전자를

합성해서 곤충이 갖는 항균물질을 만드는데 성공했다. 본 연구는 “타나틴”으로 부르는 항균작용이 있는 펩티드의 유전자에 곤충의 유전자를 기초로 합성했다. 이 유전자를 토양 세균을 사용해 벼의 유전자에 조합해 넣었다. 유전자를 합성한 벼는 합성하지 않는 보통의 벼와 거의 같은 속도로 성장했으며 잎을 조사한 결과 항균물질이 포함되어 있어 활성도가 있음을 확인했다.

- *Candida albicans*에 특효인 슈퍼 펩티드 개발

- 정보출처 : <http://www.bio.com>

- 내용 : 대표적인 병원성 진균인 *Candida albicans*에 대해 특효인 펩티드가 개발됐다. *Candida* 살균 작용이 확인된 펩티드 물질의 명칭은 알파-멜라닌 세포 자극 호르몬 유사체이다. 연구진은 이미 선행 연구를 통해 알파-MSH의 항균작용이 수용체의 매개 역할로 유도된다는 것을 알고 있었다. 이 펩티드를 구성하는 아미노산 서열 가운데 어떤 영역이 항균 작용의 핵심을 구성하는가를 동정한 것이다.

- 말린 자두, 육류의 미생물 번식 차단

- 정보출처 : <http://www.unisci.com>

- 내용 : 켄자스 주립 대학 식물 미생물학자에 따르면 말린 자두에는 육로 제품을 안전하게 해주는 항생 성분이 있다고 한다. Daniel Y. C. Fung 교수와 대학원 연구 조교인 Leslie Thompson은 말린 자두 혼합물의 양을 바꾸면서 음식 병원균에 오염된 육류에 대한 영향을 조사하였다. 육류의 3% 정도의 작은 양의 말린 자두만 있어도 음식 병원균인 대장균, 살모넬라, 리스테리아, 포도상구균의 증식을 억제하는 효과가 있는 것으로 나타났다.

- 마늘에서 확인된 암발생 억제 효능

- 정보출처 : Le Monde(AFP)

- 내용 : 마늘과 로즈마리 추출물이 암 발생을 예방한다는 사실이 프랑스 국립농학연구소(INRA)의 연구에 의해 입증되었다. 로즈마리 추출물은 폴리페놀 그룹의 다양한 분자들을 포함하고 있어서 암세포 형성을 차단하는

기능을 가지고 있으며 마늘과 양파와 같은 마늘류의 식물의 경우 많은 황화합물을 가지고 있는데 그중 diallyle 화합물은 강한 암 발생 억제 효능을 가지고 있는 것으로 밝혀져 있다. 런던 이스트 대학의 로날드 커틀러 교수는 마늘의 주요 성분의 하나인 알리신이 박테리아 억제 효과가 대단히 뛰어나움을 입증했다. 알리신의 성분은 손에 바르는 크림 형태로 만들어 시험하였는데 메티실린에도 견뎌낸 금빛 포도상구균이라는 강력한 박테리아를 아무 문제없이 제거할 수 있었다.

- 노송나무 성분으로 항균제 개발

- 정보출처 : 일간공업신문

- 내 용 : 나고야 공업 대학의 노우에 교수들과 벤처기업 Green Chemical은 줄, 겔법에 의해 항균성을 갖는 식물 성분의 히노키티올과 실리카를 베이스로 한 무기화합물의 하이브리드화에 성공했다. 합성한 하이브리드 물체의 용점은 히노키티올의 7배를 약간 넘는 380도로써 승화하기 어렵고 항균성, 도막성이 뛰어나기 때문에 이 특성을 활용해 항균성을 갖는 코팅제를 개발했다. 하이브리드화의 목표는 대만 노송나무(히노키)와 아오모리 노송나무의 잎에서 추출되는 경정성 물질인 히노키티올의 공업적인 활용이다. 히노키티올은 일반 세균을 비롯해 곰팡이, 효모 등에도 뛰어난 항균성을 나타내고 내성균도 없는 것으로 알려져 있다. 그러나 용점이 53도로 낮고 승화하기 쉽기 때문에 효과의 지속성이 결여되어 있고 게다가 빛으로 분해되기 쉬워 금속을 부식하기 때문에 용도는 방향제 등 일부에 한정되어져 있다.

하이브리드 물체의 합성은 히노키티올 1, 티타니아 20, 실리카 60의 비율로 원료에 알콜, 물, 촉매를 더해 상온에서 줄, 겔 반응시킨다. 하이브리드 물체는 항균성이 손상되지 않고 용점이 높아지는 것 외에 금속 부식성이 없고 내광성, 도막성이 뛰어나다는 것을 발견했다. 이 하이브리드 물체를 사용한 코팅제는 병원, 식품공장, 식품포장지용 등의 항균제와 호텔, 옥광, 로그하우스용 등의 부패방지, 곰팡이 방지제로서 광범위한 용도가 기대될 뿐만 아니라 히노키티올의 용도 확대로 연결이 가능하다고 한다.

제 7장 참고문헌

1. 이명구, 유재국, 권오윤, “특수 기능성 항균한지 개발(Development of specialty functional Hanji with antibacterial properties.)”, 산학협동연구, 6호 p.25-33 (2002)
2. 이명구, 유재국, 송한규, 권오윤, “4급 암모늄의 항균효과와 식품 보존제 첨가에 의한 상승효과.”, 한국펄프종이공학회 춘계학술발표대회요지집, p. 110-115 (2002)
3. 이명구, 유재국, 송한규, 권오윤, “금속이온에 의한 항균효과.” 한국펄프종이공학회 춘계학술발표대회요지집, p.116-120 (2002)
4. 이명구, 유재국, 송한규, 권오윤, “산림자원 추출물을 이용한 항균지.”, 한국펄프종이공학회 추계학술발표대회, p.170-175 (2002)
5. 이명구, 유재국, 송한규, 권오윤, 현경수, “금속 복합물 적용에 따른 항균지 제조.” 한국펄프종이공학회 추계학술발표대회, p.176-180 (2002)
6. 이명구, 이상명, “Antimicrobial Paper by using Monolaurin and Chitosan”, 한국펄프종이공학회 춘계학술발표대회요지집, p.41-42 (1999)
7. 이명구, 이상명, 오덕환, “Manufacture of Antimicrobial Paper for Food Product.”, Proceeding of Pre-symposium of the 10th ISWPC, p.217-220 (1999)
8. 이명구, 이상명, “키토산을 이용한 항균지 제조”, 제지기술, 13호 p.57-63 (1999)
9. 이명구, 박준호, “항균제에 의한 기저귀 발진 억제 효과(Effect of Antifungi Agents on Rash Inhibition of Diaper.)”, 한국펄프종이공학회 추계학술대회 발표요지집, p.37-40 (1999)
10. 이명구, 이상명, 오덕환. “식품 포장용 항균지 제조(Manufacture of antimicrobial paper for food products.)”, 펄프종이기술, 32(1) p.65-71 (2000)
11. P. R. Austin, C. J. Brine, J. E. Castle, and J. P. Zikakis, Science, 212, 749 (1981)
12. J. P. Zikakis(Ed.), “Chitin, Chitosan and Related Enzymes”, p.119-133,

Academic Press, Inc..(1984)

13. 福井三郎, 齊藤日向 監修, バイオテクノロジー-事典, シエムシー, p.645 (1986)
14. Tracey, M. V., Rev. Pure Appl. Chem., 7.1(1957)
15. Hackman, R. H., Austr. J. Biol. Sci., 7, 168 (1954)
16. BRITANNICA WORLD ENCYCLOPAEDIA, 한국블리태니커 회사 발행, p.605 (1994)
17. DOOSAN WORLD ENCYCLOPIA, 주식회사 두산 동아 발행, p.568 (1996)
18. 조길수, 조정숙, 손미영, “항균성 및 발수성 부직포 소재의 개발에 관한 연구”, Journal of the Korean Society of Clothing and Textiles Vol, 14, NO. 3, p.216-221 (1990)
19. 여생규, 안철우, 김인수, 박영범, 박영호, 김선봉, “녹차, 오롱차 및 홍차 추출물의 항균효과”, 한국영양식량학회지, 24(2), p.293-298 (1995)
20. Muzzarelli, R. A. A., In Chitin, Pergamon Press, Oxford, p.1 (1977)
21. Clark, G. L., and Smith, A. F., J. Phys. Chem., 40, 863 (1937)
22. 橋本正憲, フードケミカル, 9, 61 (1986)
23. 신윤숙, 민경혜, “키노산을 이용한 면직무의 항균가공(I)-탈아세틸화도에 따른 항균효과”, Journal of the Korean Fiber Society, Vol, 33, No, 6, p.487-497 (1996)
24. 内田 泰, キチン, キトサンの 抗菌性. フードケミカル-2, 22, (1988)
25. Morse, S. I., and Me., Staphylococci. In, Brnade, A. T.(ed.), Infections Disease and Medical Microbioloy, 2nd and ed. Philadelphia, The W. B. Saunders Co., p.236-242 (1986)
26. Jawetz, E., Melnick, J. L., and Adelberg, E. A., The Staphylococci. In, Review of Medical Microbiology, 17th ed. Connecticut, The Appleton and Lange Co., p.217-222 (1987)
27. Takno et al., J. Food Sci. 44, p.112-115 (1979)
28. Lori N. C., and Douglas L. M., Monolaurin Preparation Method Affects Acticity Against Vegetative Cells of Bacillus cereus, Lebensm.-Wiss. U.-Technol., 30, p.830-833 (1997)
29. C. H. Kim, J. W. Choi, H. J. Chun and K. S. Choi. Polym. Bull., 38, 387

- (1997)
30. S. Kasai, S. Watanabe, J. Kawabata, S. Tahara and J. Mizutani., "Antimicrobial catechin derivatives of agrimono pilosa.", Department of Angircultural Chemistry, 31, p.787-789 (1992)
 31. Beuchat, L. R., and Golden, D. A. : Antimicrobials occuring naturally in foods. Food Technol., 43, 134 (1989)
 32. Board, R. G. : The microbiology of Hen's egg. In Advances in Applied Microbiology, Vol. II, Perlman, D. (ed.), AP, New York (1969)
 33. Orman, J. D. and Reiter, B. : Inhibition of bacteria by lactoferrin and other iron chelating agents. Biochem. Biophys. Acta, 170, 351 (1968)
 34. Zaika, L. L. : Spices and herbs : Their antimicrobial activity and its determination. J. Food Safety 9, 97 (1988)
 35. Tansey, M. R. and Appleton, J. A. : Inhibition of fungal growth by garlic extract. Mycologia, 70, .397 (1978)
 36. Scott, V. N. : Safety considerations for new generation refrigerated foods. Dairy food Environ. Sanitation, 8, 5 (1988)
 37. Davidson, P. M. and Pose, L. S. : Naturally occuring and miscellaneous food antimicrobials. In "Antimicrobials in foods.: eld., Branen, A. L. and Davidson, P. M., p.371, Mcrcel Dekker, Inc., New York (1983)
 38. Branen, A. I., Go, H. C., and Genske, R. P. : Purification and properties of antimicrobial substnaces produced by Strptococcus diacetilacis and Leuceonostoc citrivorum. J. Food. Sci., 40, 446 (1975)
 39. 박수웅, 김찬조, "생약재에 의한 식품보존에 관한 연구 (제 1보). 몇 가지 생약재의 간장 방부효과.", 한-구농화학회지, 22, p.91 (1979)
 40. Cutter, C. N. and Siragusa, G. R. 1994. "Efficacy fo organic acids against Escherichia coli O157:H7 attached to beef careass tissue using a pilot scale model carecass washer.", J. Food Prot, 57, p.97-103
 41. Griffin, P. M. and Tauxe, R. V., "The epidermiology of infections caused by Escherichia coli O157:H7, other enterohemorrhagic E. coli, and the associated hemolytic uremic syndrom.", Epoderiol. rev, 13, p.60-98 (1991)

42. Leyer, G. J., Wanf, L. L. and Jhonson, E. A., "Acid adaptation of Escherchia coli O157:H7 increases survival in acidic foods." Environ, Microbiol, 61, p.3752-3755 (1995)
43. Miller, L. G. and Kaspar, C. W., "Escherchia coli O157:H7 acid tolerance and survival in apple cider." J. Food Prot, 57, p.460-464 (1994)
44. Paghubeer, E. V., Michael, J. K and Meyer R. S., "Fate fo Escherchia coli O157:h7 and other coliforms in commercial mayonnaise and refrigerated salad dressing.", J. Food Prot., 58, p. 13-18 (1995)
45. Todd, E. C. D., "Preliminary estimates of costs of food borne disease in the United Stated.", J. Food Prot, 52, p.595-601 (1989)
46. Frack, J. F., "Control of L. monocytogenes in food processing environments." J. Korean Soc., Food Nutr., 19, p.491-493 (1990)
47. 이승용, 장영수, 최희진, "우리나라의 HACCP 제도의 실시현황 및 추진전망.", 식품산업과 영양, 4, p.14-16 (1999)
48. Monitor : population and health. National statistics. Government saltistical service, London : Office for National stistics (1996)
49. Silk, T. M. and Donnelly, C. W., "Increased detection of acid-injured Escherichia coli O157:H7 in autocalved appl cider by using nonselective repair on trypticast soy agar.", J. Food Prot., 60, p.1483-1486 (1997)
50. Essenlen, W. B. and A. S. Levine., "Bacterial food poisoning and its control.". A review, Dept, fo Food Technol., Univ, Massachusetts. Bull, p.493 (1959)
51. Bryan, F. L., "Food-borne disease of contemporary importance.", US EPA public Health Sevice. Center for disease Control. Atlanta, Georgia (1972)
52. 김명호, "식품의 미생물관리와 보존성 향상기술." 식품기술, 81, 93 (1994)
53. Brane, A. L., "Toxicological and biochemistry of butylateed hydroxyanusole and butylated hydroxytoluene.", JAOCL. 52, p.59-63 (1975)
54. 김희연, 이영자, 홍기형, 권용관, 이주연, 김소희, 하상철, 조홍연, 장이섭, 이

- 철원, 김길생, “전통식품 및 천연물에서 천연 보존료 개발에 관한 연구.”, 한국식품과학회지, 31, p.1667-1678 (1999)
55. 정동옥, 정지훈, “영지의 항균성 물질에 관한 연구.”, 한국식품 과학회지, 24, p.552-557 (1992)
56. Shelef. L. A., Naglik, O. A. and Bogen D. W., "Sensitivity of some common food-borne bacteria to the spices sage, resemmary, and allspice.", J. Food Sci., 45, 1042-1044 (1980)
57. Ziauddin K. S., Rao. H. S. and Faroze, N., "Effect of orgainc acids and spices on quality and self-life of meat at ambient temperature.", J. Food Sci. Techol., 33, p.255-258 (1996)
58. Smith-palmer, A., Stewart. J. and Fype. L., "Antimicrobial properties of plant essential against five important foog-bome pathogens.", Lett, Appl, Microbial., 26, p.118-122 (1998)
59. 김근영, 정동목, 정희종, “ 여성초의 화학성분 및 향미생물 활성.”, J. Food Sci, Techol., 29, p.400-406 (1997)
60. 김영록, 조성환, “Graphfruit 종자 추출물의 항균작용 및 미생물 생리기능에 미치는 영향.”, 한국농산물저장유통학회지, 3(2), p.187-193 (1996)
61. 우원식, “ 천연물화학 연구법.”, 서울대학교 출판부, p.9-17 (1999)
62. Larry R. Beuchat and David A. Golen, "Antimicrobials occurring naturally in foods." J. Food technoloy, Jan., p.134-142 (1989)
63. Maria B. Z., lamar S. R. Jose S. M. Minam L. S. and Amaldo R. L. : Volatile sulfides of the amazonian garlic bush.", J. Agric, Food chem, 32, p.1009-1010 (1984)
64. Jamal N. B. and Ibrahim A. W., "citric acid and antimicrobial affect microbiological suability and quality of tomato juice.", J. Food Sci, 59, p.130-134 (1994)
65. 신동화, “천연 항균성 물질의 연구현황과 식품가공에의 이용.”, 식품과학과 산업, 23, p.130-134 (1994)
66. Fleming, H. P., W. M. Walter, JR., J. L. Etchells, "Isolation of a Bacterial Inhibition from Green Olives." Applied Microbiology, 18(5),

- p.856-860 (1969)
67. Kang, H. Y., "The biochemical role of tree extractives." Mokchae Kon호
마, 22(1) p.5-11 (1994)
 68. 김태욱, "한국의 수목", 교학사 (1996)
 69. 배영수, "참나의 추출성분.", 숲과 문화 연구회. (1995)
 70. Sofos, J. N., Beuchat, L. R., Davidson, P. M. and Johnson, E. A.
Naturally occurring antimicrobials in foods.", Regul. Toxicol. Pharmacol.,
28, p.71-72 (1998)
 71. Dalgaard. P., Garcia Munoz. L. and Mejiholm. O., "Specific inhibition of
Photobacterium phosphoreum extends the shelf life of modified
atmosphere-packed cod fillets.", J. Food Prot., 61, p.911-1194 (1998)
 72. Lancini & Parenti, "antibiotics.:" (1995)
 73. 임광민, "항균제 및 항균제품.", 항균방취위생가공세미나 (1997)
 74. Hughey, V. L. and Johnson, E. A., "Antibacterial activity of lysozyme
against bacteria involved in food spoilage and food-borne disease.", Appl.
Environ. Microbiol. 53, p.97-105 (1983)
 75. Golocinsky, E. V., Maneva, L. S., Angelov., I. I., eljanova, K. D., Sniker,
D. J. and Stankevich, E. K., "antibacterial and antitumor activity of some
derivatives of ureidosuccinic acid.", Neoplasma, 23, 4, p.3-46 (1976)
 76. Ouattara, B., Simard, R. E., Holley, R. A., Piette, G. J., and Begin. A.,
"Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against
six meat spoilage organism." Int. J. Food Microbiol., 37, p.155-162 (1997)
 77. Galbraith, H., Miller, T. B., Panton, A. M., and Thompson, J. K.,
"Antibacterial activity of long chain fatty acids and the reversal with
calcium, magnesium, erogocalciferol and cholestrol.", J. Appl. bacteriol.,
70, p.397-401 (1978)
 78. J. F. Petrie, and B. A. Dave., "Phytopathology.", 72, p.1008 (1982)
 80. C. L. Wilson and M. E. Wisniewski, Annu., : Rev. Phytophoto., 27,
p.425-441 (1989)
 81. M. E. Wisniewski and C. L. Wilson, "Hortscience.", 27, p.94-98 (1992)

82. 박옥연, 장동석, 조학래, “한약재 추출물의 항균효과 검색.”, 한국영양식량학회지. 21, p.91 (1992)
83. Oguni, I., nasu, Yamamoto, S. and T. Nomura, “On the antitumor activity of fresh green tea leat.” *Agric. Biol. Chem.*, 52, p.1879 (1988)
84. 김근영, 정동욱, 정희중, “어성초의 화학성분 및 향미생물활성.”, 한국식품과학회지, 29(3), p.400-406 (1997)
85. 이신호, 조옥기, 최우정, 김순동, “항균활성이 있는 한약재의 복합첨가가 김치숙성에 미치는 영향.”, 한국식품과학회지, 30(6), p.1404-1408 (1998)
86. 마승진, 국수희, 고병섭, 박근영, “두릅나무 수피에서 향미생물활성을 갖는 3,4-Dihydroxycinnamic acid 분리.” 한국식품과학회지, 28(3), p.600-603 (1996)
87. 한지숙, 신동하, “*L. monocytogenes*의 증식억제에 미치는 뽕나무 및 고삼에탄을 추출물의 분획별 효과.” 한국식품과학회지, 26(5), p.539-544
88. 윤동탁, 홍거표, 공영준, 권혜정, 강안석, “느릅나무 추출물의 추출용매에 따른 수율 및 항균력 검정.”, 농업과학논문집, 40(4), p.7-12 (1998)
89. 강석극, 정희중, “무화과 잎의 용매분획 및 향미생물 활성.”, 한국농화학회지, 38(4), p.269-292 (1995)
90. 위지향, 박근형, “차엽카테킨의 김치발효 지연 및 관련 미생물의 증식 억제.”, 한국식품과학회지, 29(6), p.1275-1280 (1997)
91. Todd, E. C. D., “Preliminary estimates of costs of foodborne disease in the United States.”, *J. Food Prot.*, 52, p.595-601 (1989)
100. 신동화, 김문숙, 한지숙, “국내산 약용식물 추출물에 대한 항균성 검색과 농도별 및 분획별 항균특성.”, 한국식품과학회지, 29(4), p.808-818 (1997)
101. An, E. Y., Han, J. S. and Shin, D. W., “Growth inhibition of *Listeria monocytogenes* by pure compound isolated from extract of *Morus alba* Linne bark.”, *Korean J. Food Sci. Technol.*, 29, p.1236-1240 (1997)
102. Oh, D. H., S. S., Park, B. K. Ahn C., and Yu J. Y., “Antimicrobial activities of natural medical herbs on the food spoilage or foodborne disease microorganisms.”, *Korean J. Food Sci. Technol.*, 30, p.957-963 (1998)

103. Eun, J. S., Lim, J. P., Park, Y. K., Choi, D. S., and Ahn, M. S., "Hepatoprotective activity for *Salvia miltiorrhizae* Radix extract.", *Korean J. Pharmacogn* 22, p.95-100 (1991)
104. Tang. W. and Eisenbtand, G., "Chinese drug of plant prigin Springer-Verlag.", Berlin, Germany. p.891-902 (1992)
105. Ikeshiro, Y., Mase, I. and Tomita. Y., "Abientance type diterphenoid from *Salvia Milltiorrhizae*.", *Phytochemistry* 28, p.3139-3141 (1989)
106. Gao, Y. G., Song, Y. M., Yang, Y. Y., Liu, W. F. and Tang, J. X., "Pharmacology of tanshinone.", *Yao Hsueh pao*, 14, p.75-82 (1979)
107. Luo, H. W., Sheng, L. S., Zhang, S. Q., Xu, L. F. and Wei, P. Tanshinone, "Antimycobacterial agents its bile excretion and biotransformation in rat liver.", *Yao Hsueh Pal.*, 18, p.1-6 (1983)
108. Lee, B. W. and D. H. Shin, "Screening of natural antimicrobial plant extract on food spoilage microorganisms.", *Korean J. Food Sci. Tehnol.*, 23(2), p.200-204 (1991)
109. T. Ojala, S. Remes, P. haansuu, H. Vuorla, R. Hiltunen, K. Haahtela, P. Vuorela, "Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland.", *Journal of Ethopharmacology*, 73, p.299-305 (2000)
110. Sasaua, T., Y. G. kim and C. K. Moon., "On the Recent Investigation of the Wood Extractives." *Res. bull. of Experiment Forests, Gyeongsang National University*, 7, p.39-51 (1997)
111. Yatagai, M., Y. Miyazaki and S. I. Morita., "Extractives from Yakusugi Bogwood and Their Termicidal Acticity and Growth Requulation Effects on Plants Seeds.", *Mokkuzai Guakkaishi*. 37(4), p.345-351 (1991)
112. S. Omar, B. Lemonnier, N. Jones, C. Ficker, M. L. Smith, C. Neema, G. H. N. Towers, K. Goel, J. T. Arnason., "Antimicrobial activity of extracts of estern North American hardwood trees and relation to traditional medicine.", *Journal of Ethnopharmacology*, 73, p.161-170 (2000)

113. 임주훈, “참나무와 우리문화.”, 숲과 문화연구회 (1995)
114. 이병환, 신동화, “식품 부패미생물의 증식을 억제하는 천연 항균성 물질의 검색.”, 한국식품과학회지, 23(2), p.200-204 (1991)
115. Min-Young Kim, Yun-Geun Kim, Tae-hong Kim, Jong-Soo Jo, Jae-Kyung Yang., “Antimicrobial Activity and Antioxidative Activity in the Extractives of *Quercus dentata* Thunberg.”, Mokchae Konghak, 28(3), p.42-51 (2000)
116. Y. J. Kong, T. S. kang, M. K. Lee, B. K. Park and D. H. oh., “Antimicrobial and antioxidative activities of solvent fractions of *Quercus mongolia* Leaf.”, J. Korean Soc. Food Sci., Nutr. 30(2), p.338-343 (2001)
117. Bae, Y. S., Burger, J. F. W., Steynberg, J. P., D and Hemingway, R. W., “Flavan and procyanidin glycosides”
118. M. Mallea, D. Pesando, P. Bernard and B. Khoualene, “Comparison between antifungal and antibacterial activities of several stains of *Epicoccum purpurascens* from Mediterranean area.”, Mycopathologia, 115, p.83-88 (1991)
119. A. Redwne, H. B. Lazrek, S. Bouallam, M. Markouk, H. Amarouch, M. Jana., “Larvicidal acticity of extracts from *Quercus Lusitania* var *infectoria* galls(Oliv).”, Journal of Ethnopharmacology, 79, p.261-263 (2002)
120. Harborne, J. B., “The flavonoids.”, Chapman and hall, p.463-497 (1988)
121. Markham, K. R., “Techniques of Flavainoid Identification.”, Academic press, p.72-93 (1982)
122. 함연호, 배영수, “현사시나무의 후라보노이드 추출성분.”, 한국목재공학회지, 23(2), p.94-99 (1995)
123. Ikegaya, K., “Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi.”, 32, p.61 (1985)
124. Namiki, K., Yamanaka, M., Tateyama, C. Igarashi, M. and Namiki, M., “Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi.’, 38, p.189 (1991)
125. 유태종, “차와 건강”, 등지출판사, 57 (1988)