



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

工學博士學位論文

천연 항균성 오프셋 잉크의 개발에 관한 연구



2014年 2月

釜慶大學校大學院

印刷工學科

李成炯

工學博士學位論文

천연 항균성 오프셋 잉크의 개발에 관한 연구

指導教授 具 哲 會

이 論文을 工學博士 學位論文으로 提出함.



2014年 2月

釜慶大學校大學院

印刷工學科

李 成 炯

李成炯의 工學博士 學位論文을 認准함

2014年 2月 21日



主	審	工學博士	尹	鐘	太 (印)
委	員	工學博士	吳	盛	祥 (印)
委	員	工學博士	金	在	解 (印)
委	員	工學博士	趙	가	람 (印)
委	員	工學博士	具	哲	會 (印)

목 차

목 차	i
List of Figures	iv
List of Tables	v
Abstract	vii
1. 서 론	1
2. 관계 이론	4
2-1. 항균제	4
2-1-1. 유기계 항균제	5
2-1-2. 무기계 항균제	5
2-2. 항균성 물질 추출	8
2-2-1. 추출	8
2-2-2. 분별 증류법	12
2-2-3. 이온 크로마토그래피	12
2-3. 항균 실험 방법	13
2-3-1. 억제대법	15
2-3-2. 웨이크 플라스크법	16
2-3-3. 필름 밀착법	16
2-4. 항균성 확인을 위한 균수의 측정	17
2-4-1. 현미경 측정법	17

2-4-2. 평판 계수법	18
2-4-3. 최확수법	19
2-5. 항균 활성 시험	19
2-5-1. 디스크 확산법	20
2-5-2. 최소 저해 농도법	20
2-6. 인쇄 적성 평가 방법	21
2-6-1. 농도	21
2-6-2. 측색	23
2-6-3. 광택도	27
2-6-4. 트래핑 효율	27
3. 실험	28
3-1. 실험 재료	28
3-1-1. 항균제	28
3-1-2. 항균성 잉크	28
3-2. 실험 기자재	29
3-3. 실험 방법	31
3-3-1. 항균제 제조	31
3-3-2. 항균제 항균성 평가	33
3-3-3. 항균성 잉크 제조	34
3-3-4. 항균성 잉크 전색	35
3-3-5. 잉크의 항균성 평가	36
3-4. 항균성 잉크의 인쇄 적성 평가	38
3-4-1. 솔리드 인쇄의 농도 값 평가	38
3-4-2. 솔리드 인쇄의 측색 평가	39

3-4-3. 광택도 평가	40
3-4-4. 트래핑 효율	40
4. 결과 및 고찰	41
4-1. 항균제의 수율 및 항균성 결과	41
4-2. 항균성 잉크의 항균 평가	43
4-3. 솔리드 인쇄의 농도 값을 이용한 평가	51
4-4. 솔리드 잉크의 측색 값에 의한 평가	52
4-5. 항균 잉크의 광택도 평가	54
4-6. 항균 잉크의 트래핑 효율 결과	56
5. 결 론	57
References	59



List of Figures

Figure 1. Photography of antibiosis test result	13
Figure 2. A reflection density of the printing inks	21
Figure 3. The color space of CIEL*a*b*	23
Figure 4. Photography of pressure extractor	30
Figure 5. Photography of evaporator	30
Figure 6. Photography of freeze dryer	30
Figure 7. Photography of RI-Tester	30
Figure 8. The manufacturing process of antibiosis agent	32
Figure 9. The manufacturing process of antibiosis ink	35
Figure 10. The antibiosis activity of each film samples using antibiosis ink	36
Figure 11. The antibiosis evaluation of staphylococcus aureus by tested samples	45
Figure 12. The antibiosis evaluation of escherichia coli by tested samples	46
Figure 13. The antibiosis evaluation of staphylococcus aureus by tested samples (sample 1 without antibiosis agent, sample 2 with 2% natural antibiosis agent and sample 3 with 0.5% organic antibiosis agent)	48
Figure 14. The antibiosis evaluation of escherichia coli by tested samples (sample 1 without antibiosis agent, sample 2 with 2% natural antibiosis agent and sample 3 with 0.5% organic antibiosis agent)	50

List of Tables

Table 1. Kinds of Antibiosis Agent	4
Table 2. The Classification of Inorganic Antibiosis Agent	6
Table 3. The Comparison of Inorganic Antibiosis Metal	7
Table 4. The Test Methods of Antibiosis	14
Table 5. The Classification according to Filter Characteristic by ISO 5-3:1995	22
Table 6. The Xn, Yn, Zn Value of Tristimulus Values by Specular Surface	25
Table 7. The Colorimetric Values of CIEL*a*b* in ISO 12647-2/GRACoL G7	26
Table 8. The Comparison of CIEL*a*b* Value of Reference Substrate acc- -ording to the Backing Color	26
Table 9. The Status of The Ink Composition	29
Table 10. The Comparison of CIEL*a*b* Value in ISO 12647-2 Paper Type 2 and Full Color Paper	36
Table 11. The Density Value of ISO 12647-2 Paper Type 2 and GRACoL G7 Standard	39
Table 12. The Yield Rate of Antibiosis Agent	41
Table 13. Antibiosis Activities of Ethanol Extracts against Tested Bacteria	42
Table 14. The Antibiosis Test Results of Staphylococcus Aureus	43
Table 15. The Antibiosis Test Results of Escherichia Coli	44
Table 16. The Antibiosis Comparison of Staphylococcus Aureus(sample 1	

	without antibiosis agent, sample 2 with 2% natural antibiosis agent and sample 3 with 0.5% organic antibiosis agent) 47
Table 17.	The Antibiosis Comparison of Escherichia Coli(sample 1 without antibiosis agent, sample 2 with 2% natural antibiosis agent and sample 3 with 0.5% organic antibiosis agent) 49
Table 18.	The Density Value of Antibiosis Solid Printing Samples' against ISO 12647-2 Paper Type 2 and GRACoL G7 Standard Density Value 51
Table 19.	The Comparison of the CIEL*a*b* Values and ΔE^*_{ab} in Samples (Cyan ink solid) and ISO 12647-2/GRACoL G7 Standard 53
Table 20.	The Comparison of the CIEL*a*b* Values and ΔE^*_{ab} in Samples (Magenta ink solid) and ISO 12647-2/GRACoL G7 Standard 53
Table 21.	The Gloss Measurement Value according to different Antibiosis Cyan Inks 54
Table 22.	The Gloss Measurement Value according to different Antibiosis Magenta Inks 55
Table 23.	The Trapping Efficiency by different Antibiosis Inks 56

A Study on the Development of Offset Ink with Natural Antibiosis

Sung-Hyung Lee

*Department of Graphic Arts Engineering, Graduate School,
Pukyong National University*

Abstract

Due to the sophistication of industry and the lifestyle, there are greater demand and requirement for antibiosis products, especially development of eco-friendly materials that are harmless to human health and the environment.

For the source of materials for the antibiosis products, different materials such as inorganic and organic antibiosis materials. Especially, persistence of inorganic antibiosis material lasts longer, but has less antibiosis effect compared to organic materials. However, organic antibiosis material can cause skin irritation and gradually limits the usages.

In recent years, there has been active researches on developing harmless natural antibiosis materials from natural food ingredients.

Commercialized natural ingredients with antibiosis effect are organic acids(such as acetic, benzoic, maleic and succinic etc.), proteins(such as lysozyme, polylysine, protamine, conalbumin and avidin etc.), pectin hydrolyzate, browning reaction products, lower fatty acid ester and different spices. Domestically, there has been active researches on pepper·onion essential oil, anti-fungal ingredients of medical herbs, chitin and chitosan etc.

Printing ink uses aroma free solvents and commercialized eco-friendly

ink products after development of non-VOC ink uses vegetable oils such as rice oil ink and palm oil ink. At the same time, there are increasing awareness about the ink additives.

There has been researches on eco-friendly inorganic antibiosis materials such as silver, copper and zinc, but, process materials for silver damages the environment and copper itself has toxic materials. Some developed countries with nanotechnology applies nano-zinc oxides, but it has less antibiosis effect compared to the organic materials.

In particular, from the previous studies with manufacturing printing ink using organic and inorganic antibiosis agents, there was not much impacts on the physical properties with 0.5% concentration. However, with the organic antibiosis agents showed yellowing effects on the ink and the antibiosis effect decreased as the time goes by. During the manufacturing of the printing ink the aging process is needed, and by not using it immediately, the books printed with the ink has long term usage and is able to retain the information,

Due to the oxidation of the copper, organic antibiosis agent had stinks and it can show the yellowing effect as well. Thus, it is necessary to consider natural antibiosis agents which is harmless to human health and has strong antibiosis effects.

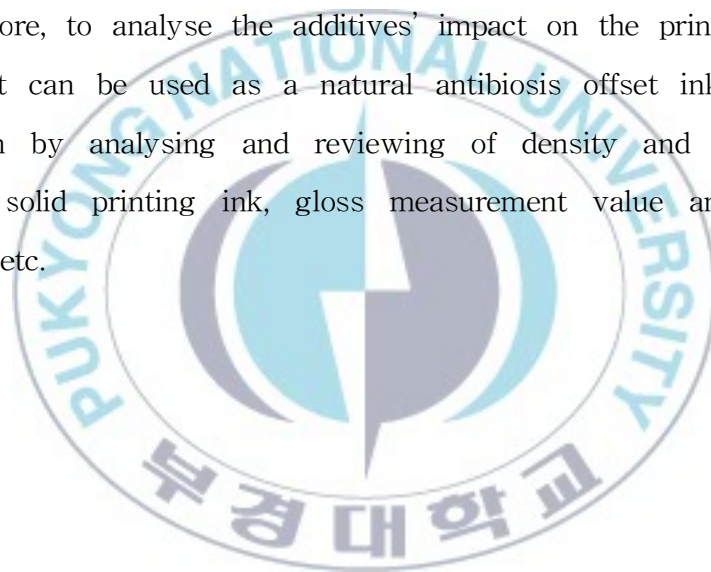
Therefore, as stated in the previous research, antibiosis agent has been extracted by chrysophanic acid, coumaric acid and berberine, and by using the extracted antibiosis, the natural offset antibiosis inks has been manufactured.

Firstly, antibiosis agents has been extracted by absolutes and freeze-drying methods using ethanol and distilled water. Although ethanol has lower yield rates, it has less effect to the human body, edible and can be powderize, which is able to be used in water soluble edible inks. To test the antibiosis effect of the natural antibiosis agent, paper disk diffusion method has been used by cultivation of

staphylococcus aureus and escherichia coli on a paper disk with antibiotics, and checked the differences on the diameter of the clear zone around the disk.

Further, extracted antibiotics has been added to the commercialized offset ink to produce an antibiotic ink. The antibiotic effect of antibiotic ink has been tested and analysed by inoculating the liquid cultures with staphylococcus aureus and escherichia coli and covered by a film, then measures a viable cell count, which is called a film attached method.

Furthermore, to analyse the additives' impact on the printability and whether it can be used as a natural antibiotic offset ink has been undertaken by analysing and reviewing of density and colorimetric value of solid printing ink, gloss measurement value and trapping efficiency etc.



1. 서 론

산업이 고도화되고 생활이 윤택해지면서 향균 제품에 대한 수요가 크게 증가하고 있으며, 특히 인체와 환경에 무해한 환경 친화적 향균 소재 개발이 절실히 요구되고 있다.

현재 향균제로써 천연 추출물뿐만 아니라 무기계, 유기계 향균제 등 다양한 향균 소재가 개발되어 왔다. 특히 무기계 향균제는 향균 지속성이 유기계 향균제보다 우수하나 향균력이 떨어지며, 유기계 향균제는 무기계 향균제보다 향균력이 뛰어나지만 피부 자극원의 하나이므로 점차 사용 범위가 제한되고 있다.

최근에 인체에 무해하고 합성제에 비하여 해가 적은 것으로 알려진 천연 향균제를 개발하기 위해 오랫동안 식용해 온 천연 식품 재료로부터 향균제를 개발하기 위하여 많은 연구가 활발히 진행되고 있다.¹⁾

현재까지 상품화되어 있거나 향균성을 나타내는 천연물은 주로 acetic acid, benzoic acid, maleic acid, succinic acid 등의 유기산과 lysozyme, polylysine, protamine, conalbumin, avidin 등의 단백질 및 펙틴 분해물, 갈변 반응 물질, 저급 지방산 에스터(ester), 향신료 등 다양하게 알려져 있으며²⁾, 최근 국내에서도 고추·양파 등 향신료의 정유 성분, 생약제의 향진균성 성분, chitin과 chitosan 등에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다.^{3)~6)}

인쇄 잉크의 경우, 방향족계 용제를 사용하지 않고 아로마 프리(aroma free) 용제를 사용한 non-VOC 잉크로 개발되어 상품화 된 친환경 잉크로는 라이스 오일 잉크, 팜오일 잉크와 같이 식물성 오일을 이용한 잉크가 출시되었다. 또한 이와 동시에 잉크 첨가제에 대한 관심도 높아지고 있다. 그 중에서 유기계 향균제를 대신할 친환경 무기계 향균제 개발이 진행되어

상품성을 가질만한 금속 향균제로 은, 구리, 아연이 있지만, 은은 가공 과정에서 발생하는 부산물이 환경을 파괴한다는 단점을, 구리는 자체 독성을 가지고 있다는 단점이 있으며, 일부 나노 기술 선진국에서는 나노 산화아연을 응용하고 있으나 향균력이 유기체보다 떨어진다는 단점을 가지고 있다. 특히 선행 연구에서 유기체 및 무기체 향균제를 사용하여 인쇄 잉크를 제조하여 평가한 결과 0.5%의 적은 함량으로 잉크의 물성에는 크게 영향을 주지 않았으나 유기 향균제는 시간이 지남에 따라 잉크에 황변 현상이 일어났으며, 향균성 평가 결과에서도 좋지 않은 결과가 나타났다. 인쇄잉크를 제조 할 때에는 숙성 공정을 거쳐야 하며, 잉크 제조 후 바로 사용하지 않고 잉크가 인쇄된 책의 정보 전달 및 보존 역할을 함으로써 사용 기간은 더욱 길다.

유기 향균제는 향균제 속에 포함된 구리의 산화 작용으로 시간이 지남에 따라 잉크에 냄새가 나고 황변 현상이 나타나는 경우가 있다. 이러한 점을 고려하여 인체에 무해할 뿐만 아니라 쉽게 구할 수 있고, 향균력도 양호한 천연 추출물 향균제를 이용하여 인쇄 잉크에 활용할 필요가 있다.

따라서 본 연구에서는 선행 연구에서 보고된 바가 있는 결명자(chrysophanic acid), 솔잎(berberine), 약쑥(coumaric acid)³⁾ 등 세 가지 식물 시료를 이용하여 천연 향균제 성분을 추출하였고, 추출한 향균제를 이용하여 천연 향균성 오프셋 잉크를 제조하였다.

먼저 향균제를 에탄올과 증류수를 이용한 용매 추출법과 동결 건조법을 활용하여 추출하였는데 비록 메탄올보다 향균제 수율은 작지만 추후 수용성 식용 잉크에도 활용할 수 있도록 하기 위해 인체에 유해성이 적고, 식용 가능하며 동결 건조 방법으로 향균제를 파우더로 만들 수 있는 에탄올을 용매로 선택하여 적용하였다. 천연 향균제의 향균력 평가는 한천 배지 확산 방법을 사용하였으며, 천연 향균제를 paper disk에 포도상구균과 대

장균을 배양한 후, disk 주변에 있는 clear zone의 직경을 측정하여 항균력을 비교 평가하였다.

또한 추출한 항균제는 현재 상용화되어 있는 오프셋 잉크에 첨가하여 항균 잉크를 제조하였다. 이러한 항균 잉크의 항균성 실험은 점도가 높은 잉크의 항균력 분석에 가장 적합한 방법으로 샘플 표면에 포도상구균과 대장균이 배양된 액을 접종하고 필름을 덮어 부착시킨 후, 생균수를 측정하는 필름 밀착법으로 그 결과를 분석 및 검토하였다.

또한 항균제 첨가에 따른 인쇄 적성에 미치는 영향을 확인하기 위하여 잉크의 솔리드 농도 및 측색, 광택도, 트래핑 효율 등을 구하여 그 결과를 평가하고 천연 항균성 오프셋 잉크로 활용 가능한지를 검토하였다.



2. 관계 이론

2-1. 항균제

항균제는 세균성 질병의 치료에 사용되는 약제로서 먹이거나 주사 또는 약욕 등과 같은 방법으로 병원균을 죽이거나 발육을 저지하는 물질을 통칭하는 것으로 기원전 4,000년경 이집트의 미이라 보호의를 특수 약품 처리하는 용도로 처음 사용되었다.

Table 1은 대표되는 무기 항균제와 유기 항균제를 비교한 데이터로 유기 항균제가 무기 항균제보다 항균성은 뛰어나지만 독성과 냄새 등이 고려되어야 한다는 것을 알 수 있다.

Table 1. Kinds of Antibiosis Agent

Items	Inorganic antibiosis agent	Organic antibiosis agent
Antibiosis	>100ppm	>1ppm
Persistence	Permanent	Within three months
Thermal stability	Good	Poor
Reactivity	No	Yes
Toxicity	No	Yes
Odor	Odorless, deodorization action	Yes
Additional effect	Infrared radiation	No
Workability	Good	Poor

2-1-1. 유기계 항균제

유기계 항균제는 약제의 용출(release or migration)에 의한 효과를 주로 이용하며, 살균보다는 세균의 군락(colony)을 형성하는 것을 방지하는 항균에 가까운 작용을 한다.

유기계 항균제를 사용할 경우, 가장 큰 장점은 표면으로 노출이 빠르게 진행되어 즉각적인 세균 번식을 방지하는 기능 역할을 하고, 비교적 값이 싸며, 제품의 색상에 큰 영향을 미치지 않고, 가공이 용이하다는 점 등을 들 수 있다. 반면 단점으로는 migration에 의한 빠른 용출로 인해 내구성이 취약하고, 고온 작업 조건에서는 유기 항균제의 열분해로 인해 적용이 불가능하며, 인체 및 환경에 유해성 등의 문제가 있다는 점이다.

현재 시장에서 유통되고 있는 대표적인 유기 항균제는 유기 금속계로서 비소(As)계인 OBPA(oxybisphenox arsine)로서 옥실용 실란트에는 거의 모두가 이것을 사용하고 있다. 그러나 장기적인 독성 문제로 인해 염소계인 triclosan 또는 순수 유기계인 isothiazalone계 등이 대체용으로 사용되고 있으나 OBPA가 매우 저가이므로 여전히 많이 사용되고 있다. 또한 유기계 항균제는 세균을 직접적으로 사멸시키기 보다는 급속한 용출에 의해 표면에서 세균이 번식하는 것을 방지하는 항균 작용이 주를 이루고 있다.

2-1-2. 무기계 항균제

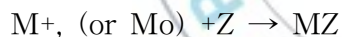
무기계 항균제는 주로 은, 구리, 아연과 같은 금속 이온이 사용된다. 구리의 경우에는 독성 및 산화에 의한 변색 문제로 인해 전자재 등에만 적용이 될 뿐이며, 실제적으로는 은이 가장 많이 응용되고 있다. 은 이온의 경우, 세포벽과 결합하여 에너지 이동을 방해하거나 세포내에 침투한 경우에

는 단백질의 황성분과 결합하여 신진대사를 일으키는 효소의 작용을 억제함으로써 세균류를 죽게 하는 역할을 한다.

금속 이온은 잉크 내에 포함된 금속 성분으로부터 이온화 과정을 거쳐 잉크 표면으로 용출됨으로써 항균 작용을 한다. 무기계 항균제는 용출 속도가 느리므로 내구성이 우수하며, 극소량의 용출로 환경적으로나 인체적으로 유해성이 없고, 열적 안정성이 우수하다는 장점이 있다. 반면에 단점으로는 고분자 수지내의 분산성, 색상 변화, 비교적 고가라는 점 등이 있다.

(1) 무기계 항균제의 특성 및 종류

무기 산화물의 이온 교환은 오래전부터 알려진 현상으로 은, 구리, 아연과 같은 항균 활성을 갖는 금속 이온을 담지시킨 무기 금속 항균제가 개발되었다. Table 2는 무기계 항균제를 분류한 것이고, Table 3은 무기계 항균 금속을 비교한 것이다.



M : Ag, Zn, Cu, Hg, Sn, Pb, Bi, Cd, Cr / Z : 무기 담체

Table 2. The Classification of Inorganic Antibiosis Agent

Kinds of antibiosis	Kind of inorganic carriers	Representative name
Inorganic antibiosis metal	Aluminasilicate(zeolite)	Zeomic, bactekiller
	Calcium phosphate	Apacider
	Zirconium phosphate	Novaron
	Soluble glass	Ionpure
Organic, inorganic antibiosis hybrid	Silica gel	Amenitop
	Layered calcium	
	Phosphate	
	Monmorillonite	
Photocatalytic antibiosis	Titanium oxide	TOTO

Table 3. The Comparison of Inorganic Antibiosis Metal

Inorganic carrier	Composition formula	Antibiosis ingredient amount	Supported types	Antibiosis ability
Aluminasilicate (zeolite)	Na ₂ O, Al ₂ O ₃ SiO ₃	Silver, zinc ion (exchange possibility to 40wt %)	Ion exchange	Strong
Calcium phosphate	CaO, P ₂ O ₅	Metal silver (2~3wt%)	Adsorption and ion exchange	Weakness
Zirconium phosphate	ZrO ₂ , P ₂ O ₅	Silver ion (3wt%)	Ion exchange	Strong
Soluble glass	B ₂ O ₃ SiO ₃ , Na ₂ O	Oxidation silver (2~3wt%)	Melting supported	Weakness

(2) 무기 항균제의 항균 메커니즘

무기 항균제의 항균 메커니즘(mechanism)에 대해서는 확립된 정설이 없으나 항균 금속 자체에 기인한 작용과 활성 산소에 기인한 항균 및 살균 작용으로 설명하고 있다.

1) 항균 금속 이온에 의한 항균 작용

무기 담체로부터 미량 해리된 항균 금속 이온(Ag⁺, Zn²⁺, Cu⁺)은 확산에 의해 세포막에 도달하고 세포막 등의 단백질에 흡착됨과 동시에 세포의 구조를 파괴하는 메커니즘을 가지고 있다.

세포막 및 효소 등의 단백질에 흡착된 항균 금속 이온은 구성 아미노산인 Cystein의 -SH기에 결합하여 세포의 에너지 대사를 저해하고 화합물로 전환한다.

2) 활성 산소에 의한 항균 작용

활성 산소에 의한 항균 메커니즘은 무기 담체와 결합하고 있는 산소 혹은 물속의 용존 산소는 항균 금속의 촉매 작용에 의해 부분적으로 활성 산소(O_2^+ , O_2^- , O)로 전환되고 이 활성 산소는 오존, 과산화수소, 염소와 같은 강력한 살균 작용을 발휘하게 된다.

3) 세라믹에 의한 흡착 항균 작용

세라믹은 잘 발달된 포어(pore)를 가지고 있기 때문에 비표면적이 크다. 따라서 균, 박테리아, 유기 물질 등을 흡착하는 기능을 가지고 있으므로 가스 탈취제로도 일부 사용되고 있다.

2-2. 항균성 물질 추출

2-2-1. 추출

두 가지 이상의 물질이 섞여 있는 혼합물 속에서 특정한 물질을 용해할 수 있는 용매를 사용하여 성분을 분리해 내는 방법을 추출이라 한다. 이

경우 산-염기 혹은 킬레이트 생성 등의 화학 반응을 이용하거나 혹은 단순히 용해도 차이만을 이용할 수도 있다. 고체에서 추출하는 경우를 고-액 추출, 액체에서 추출하는 경우를 액-액 추출이라 하며, 고-액 추출을 침출이라고 부르기도 한다.^{8),10)}

실험실에서는 각종 분리, 정제, 분석 등에 이용되는데, 고체로부터 추출할 때는 속슬렛(soxhlet) 추출기, 액체에서 추출하는 데는 분액 깔때기 등을 사용한다. 용매로는 물, 알코올, 에테르, 석유 에테르, 벤젠, 아세트산에틸, 클로로폼 등의 액체가 주로 사용된다. 최근에는 초임계유체 SCF (super-critical fluid)를 용매로 사용한 추출 방법도 많이 사용된다.^{11)~17), 25)}

(1) 증기 증류법

증기 증류법(steam distillation)이란 끓는점이 높고, 물에 거의 녹지 않는 유기 화합물에 수증기를 붙여 넣어, 그 물질의 끓는점보다 낮은 온도에서 수증기와 함께 유출되어 나오는 물질의 증기를 냉각하여, 물과의 혼합물로서 응축시키고 그것을 분리시키는 증류법이다. 수증기를 붙여 넣는 대신 물을 가하고 가열할 수도 있다. 물과 기름처럼 서로 섞이지 않는 혼합물을 가열하면, 각각의 물질은 단독으로 가열하였을 때와 같은 증기압을 나타내므로, 수증기와 물질의 증기압의 합이 대기압과 같아지면 유출되므로, 그 물질의 끓는점보다 낮은 온도에서 물과 함께 유출시킬 수 있다. 보통의 증류법으로는 분해할 염려가 있는 유기물이나, 끓는점보다 저온이라도 상당히 높은 증기압을 갖는 유기 화합물 등의 분리 정제에 이용된다. 특히 유류(油類)와 같이 응축 후에 두 액층으로 분리하는 것 등에 편리하다.

(2) 용매 추출법

용매 추출법(absolutes)은 어떤 화합물이 2상 간에 분배하는 현상을 이용하는 분리법으로서 오래 전부터 침전, 증류와 함께 주요한 물질 분리법으로 사용되어 왔다. 고상-액상, 액상-액상 및 기상-액상의 추출 방식이 있으며, 모두 액상으로 추출하므로 용매 추출이라고도 한다. 고-액 추출은 천연물이나 생체 성분의 단리 또는 광석의 습식제련 제1단계에서 흔히 사용된다. 물질의 단리 정제 및 분리 분석에 가장 광범위하게 사용되는 것은 액-액 추출이며, 보통 용매 추출이라고 하면 바로 이것을 가리킨다.

(3) 용출법

용출법(enflourage)은 과거부터 많이 사용되어온 전통적인 방법이었으나 오늘날에는 그다지 많이 이용되지 않는다. 아주 복잡하고 혼하게 사용되지 않는 방법으로 다른 동물의 기름이나 식물의 정유를 사용하여 여러 단계를 거쳐 식물의 정유를 추출하는 방법으로 고순도의 정유가 얻어진다. 현재에도 냉침법을 통해 소규모 정유를 추출하고 있다. 냉침법은 동물 또는 식물의 지방유를 유리판에 도포한 후, 그 위에 꽃잎을 얹고 흡착하는 방법이다. 이 과정을 거치고 나면 지방유에 향기 물질이 포화될 정도로 얻어지는데 이렇게 얻은 물질을 포마드(pomade, 머릿기름)라고 한다. 포마드는 그대로 향수로 사용되었지만 아로마 오일만을 만들어 순수하게 추출하기도 한다. 이 때 추출 용매는 에탄올이 사용되며 이를 증발시키면 최종적으로 에탄올이 없는 완전 물질이 얻어진다. 단시간에 향이나 정유를 저장시키기 어려운 식물에 사용하기 적합하다.

(4) 탄산가스 추출법

탄산가스 추출법은 아주 현대적인 추출 방법으로 식물을 통에 넣고 공기를 뺀 후, 이산화탄소를 주입하여 수분만에 낮은 온도에서 극히 고순도의 정유를 얻어내는 방법이다.

물질은 기체, 액체, 고체의 세 가지 상태를 취할 수 있다. 몇몇 물질은 액체 또는 기체가 아닌 상태 또는 두 가지 상태로 존재할 수 있다, 용매제로 사용되는 이산화탄소는 용매제와 아로마 성분 사이에 화학적 반응이 생겨나지 않는다. 단지 압력을 가하는 간단한 방법을 통해 용매제를 제거할 수 있다.

이 방법의 장점은 모든 조작을 저온에서 할 수 있다는 것으로, 방향이 열에 의한 영향을 받지 않는다는 것이다. 추출은 몇 분간이라는 짧은 시간에 끝나고 효율 또한 완벽하다. 따라서 향이 휘발하기 가장 쉬운 취약한 부분도 남김없이 모을 수 있다.

하나의 단점은 이때 200기압 이상의 고압이어야 한다는 점이다. 이를 위해서는 고가의 무거운 스테인리스 강철 장치가 필요하다.

(5) 저온 압출법

저온 압출법(cold pressing)은 식물의 열매, 잎, 줄기, 씨앗 등을 압착하여 오일을 얻는 형태를 모두 의미하며 주로 캐리어용 오일의 추출에 이용되는 방법이며, 순수 오일 중에서는 Citrus 계열의 정유만을 얻는데 사용한다.

2-2-2. 분별 증류법

끓는 점의 차이가 그다지 크지 않은 액체 혼합물을 분리할 때는, 가열 곡선에서 수평 부분이 잘 나타나지 않고 한 성분 속에 다른 성분의 일부가 섞여 나오게 된다. 이 때 증류를 여러 번 되풀이 하여 순수한 성분으로 분리하는데 이를 분별 증류법이라 한다. 공정에서는 분별 증류법을 사용하여 대량의 액체 혼합물을 분리하고 있으며, 증류를 여러 번 되풀이 하는 대신에 증류탑을 이용한다. 이것은 증류가 여러 번 계속하여 일어날 수 있도록 설계되어 한 번의 증류로도 혼합물을 효과적으로 분리할 수 있는 장치이다.

2-2-3. 이온 크로마토그래피

고성능 이온 교환체 또는 중성 수지 등을 고정상으로 하고 수 mM 정도의 희박한 용리액을 이동상으로 하여 분리관 내에서 시료 이온을 전개 용리시킨 후, 적당한 검출기에 의해 측정하는 것으로 고속 이온 크로마토그래피(chromatography)라고도 불리고 있다. 요컨대, 크로마토그래피 기술에 의해 이온 종을 분리하는 수법을 이온 크로마토그래피(ion chromatography)라고 한다. 분석 시스템의 구성은 기본적으로는 고속 액체 크기의 구성과 마찬가지로 송액계, 시료 주입계, 분리계 및 검출계로 이루어진다. 검출기로는 전기 전도도 검출기 외에 전기 화학 검출, 시차 굴절 검출, 흡광도 검출 등의 여러 가지 검출 방식이 분석 대상 성분에 따라 이용된다.

2-3. 항균 실험 방법

생활 수준의 향상으로 위생, 청결 및 안정성에 대한 관심이 증가되면서 일상생활에서 사용하는 제품들이 세균 오염으로부터 불안감과 예방책으로 항균성 제품들이 개발되고 있다. 항균성이란 세균의 성장을 저지하는 것을 말하며, 항균제는 원자재, 원료, 제품들에 첨가하여 세균 등을 사멸시키는 용도로 사용되고 있다. 이러한 목적으로 가공 처리한 섬유 및 비섬유 제품군들에 대하여 국내·외 규격으로 항균 기능 여부를 확인한다. 항균 제품의 성능 분석 방법은 크게 억제대법, 플라스크법, 필름 밀착법의 세 가지 방법에 의해 분석이 가능하다.^{18)~21)} Figure 1은 항균 테스트 결과이고, Table 4는 항균 테스트 방법이다.

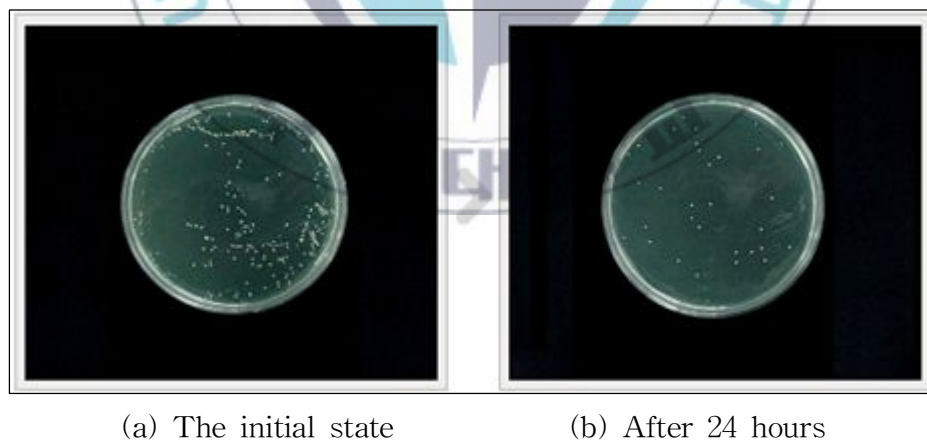


Figure 1. Photography of antibiosis test result.

Table 4. The Test Methods of Antibiosis

Specifications number	Subject	Use strain	Test condition	Judgment standard
KS K 0693	Antibiosis of textile fabrics method of examination	S. aureus, K. pneumoniae	Temp: 37 ± 1°C Time: 18 ± 1hour Sample size: 0.4g	Reduction of bacteria(%) When required: Decrease the value of bacteria(log)
AATCC 100	Antibiosis finishes on textile materials	S. aureus, K. pneumoniae	Temp: 37 ± 1°C Time: 18 ± 1hour Sample size: 4.8cm (Diameter)	Reduction of bacteria(%)
JIS L 1902	Testing method for antibiosis of textile	S. aureus, K. pneumoniae	Temp: 37 ± 1°C Time: 18 ± 1hour Sample size: 0.4g	Value of bacteria activity (log)
KS K 0890	Antimicrobial test methods for textile products	S. aureus, K. pneumoniae	Temp: 37 ± 1°C Time: 24 ± 1hour Sample size: 25×50mm	Lowlands bacteria(mm)
AATCC 147	Antibiosis activity assessment of textile material	S. aureus, K. pneumoniae	Temp: 37 ± 1°C Time: 24 ± 1hour Sample size: 25×50mm	Zone of inhibition(mm)
JIS L 1902	Testing method for antibiosis of textile	S. aureus, K. pneumoniae	Temp: 37 ± 1°C Time: 18 ± 1hour Sample size: 28mm	Lowlands bacteria(mm)
JIS Z 2801	Film attached method	S. aureus, E. coli	Temp: 37 ± 1°C Time: 24 ± 1hour Sample size: 50×50mm The amount of use: 8	Antibiosis activity value (log)

Specifications number	Subject	Strains used	Test condition	Judgment standard
KS M 0146	Shake flask test	S. aureus, E. coli	Temp: 37 ± 1°C Time: 24 ± 1hour Sample size: 6cm ³ /ml The amount of use: A4 size 4 sheet	Reduction of bacteria(%)
ASTM E 2149	Antimicrobial activity of immobilized antimicrobial agents under dynamic contact conditions	S. aureus, K. pneumoniae	Temp: 37 ± 1°C Time: 1hour Sample size: 2g Total weight: 10g	Reduction of bacteria(%)

2-3-1. 억제대법

억제대법(halo test, zone of inhibition test, AATCC 147)은 항균 제품의 성능 평가를 위해 사용되는 방법으로 세균이 도포된 영양배지 위에 시편을 놓아 시편 주위로 얼마의 억제띠가 생성되는가를 관찰하는 방법이다.

본 방법에 유효한 항균제는 주로 용출이 쉬운 유기 항균제에 적합한 방법으로서, 유기물이 용출에 의해 시편 주위로 흘러나와 세균 번식이 되는 것을 억제하는 정도로 평가한다. 억제대는 mm로 나타내게 되는데, 무기계 항균제는 용출이 플라스틱 표면에 주로 존재하므로 억제띠가 생성이 되지 않기에 적절치 않다.

그렇지만 기존 유기 항균제 테스트에 익숙하여 항균 실험 방법을 진행하므로, 무기 항균제에 대해서는 상기의 방법이 적절히 않음에도 불구하고 기준으로 삼는 경우가 종종 있다.

2-3-2. 웨이크 플라스크법

웨이크 플라스크법(shake flask test, ASTM E2149-1)의 분석법은 섬유 제품의 분석에서 기초하여 제정된 방법이다. 용출성이 우수한 유기계 항균제를 적용한 제품 또는 용출이 우수한(예, Cu) 무기계 항균제를 적용한 제품의 분석에 적절한 방법으로서, 균이 배양된 배양액에 항균 제품 시료를 넣고, 일정 시간 배양 후 생존 균수를 측정하는 방법이다. 일반 플라스틱 제품보다는 원단류에 적합한 방법으로서 벌크 은 입자를 적용한 시료에서는 항균력이 제대로 나타나지 않으나 나노입자를 처리한 경우에는 표면적의 증가로 노출된 면적이 증가하게 되고 용출이 벌크 입자에 비해 용이하므로 대부분은 항균력이 우수하게 나타난다.

2-3-3. 필름 밀착법

필름 밀착법(film attached method, ISO 22196, JIS Z 2801)은 금속 입자의 미그레이션이 플라스틱 표면에 한정되는 무기계 항균제를 적용한 플라스틱 제품의 항균력 분석에 가장 적합한 방법이다. 시료의 표면에 균이 배양된 액을 접촉하고 필름으로 덮어 부착을 시킨 후, 생존수를 측정하는 방법이다. 본 방법에 의해 항균력이 유효한 경우의 수치 값은 99% 이상(로그 값 = 활성 값 2)인 경우로서 시판되는 제품의 경우에는 일반적으로 활성 값 4이상을 요구하는 경우가 많다.

2-4. 항균성 확인을 위한 균수의 측정

시료의 미생물 밀도를 알기 위해서는 직접적으로 세포의 수 또는 질량을 측정하는 것이 일반적이지만 간접적으로 세포의 수와 비례하는 기질 소비량 또는 세포의 특정 구성 성분을 측정하기도 한다. 균수의 측정 방법에는 다음의 세 가지 방법이 있으며, 각 방법마다 장점과 단점이 있으므로 시료와 미생물의 종류 및 실험 목적에 따라 적절한 방법을 선택하여 사용해야 한다.

2-4-1. 현미경 측정법

현미경 측정법(microscopic count)은 특별히 고안된 계수기(counting chamber)를 사용하여 일정 부피에 존재하는 모든 세포의 수를 측정하는 방법이다. 세균, 효모 등 단세포 미생물의 수를 측정하는데 적합하다. 액체를 배양한 시료를 직접 사용하거나 세포를 염색한 후 균수를 측정하며, 세균의 계수에는 Petroff-Hausser 계수기를 사용하고, 효모의 계수에는 Thoma의 혈구 계수기(hematocytometer)를 사용한다.

현미경 측정법을 사용하면 신속하게 세포의 수를 측정할 수 있으며, 세포의 크기와 형태에 관한 정보도 얻을 수 있다. 평판 배양법으로는 특정한 조건에서 증식할 수 있는 미생물만 측정할 수 있으나, 현미경 계수법은 시료에 존재하는 모든 미생물을 측정할 수 있다.

그러나 배양액이 투명하고 세포로 오인할 수 있는 입자들이 없어야 하며, 측정하는 시료의 양이 매우 적으므로 세포 밀도가 낮을 때에는 사용할 수 없다. 산 세포와 죽은 세포를 구별하기 어려우나 0.1% 메틸렌 블루(methylene blue)로 염색을 한 후에 측정하면 구별하여 계수할 수 있다.

2-4-2. 평판 계수법

평판 계수법(plate culture method)은 측정에 가장 많이 사용되는 방법으로 단세포인 세균과 효모의 세포 수 측정에 유용하다. 시료를 멸균된 희석액을 사용하여 적절히 희석한 후, 한천 배지에 배양하면 미생물이 증식하여 형성하는 집락(colony)의 수를 측정하는 방법으로 집락 계수법(colony count)이라고도 한다. 결과는 집락 형성단위(CFU, colony-forming unit)로 표시한다. 살아 있는 한 개의 미생물 세포가 한 개의 집락을 형성한다는 가정 하에서 균수를 측정하지만 실제로는 한 개 이상의 생균이 하나의 집락을 형성하기도 하며, 사용하는 배지 및 배양 조건에 따라 살아 있는 세포 중에서도 일부가 집락을 형성하지 못하므로 시료에 있는 생균수보다 적은 결과를 얻게 된다.

평판 계수법에는 도말 평판법(spread plate method)과 주입 평판법(pour plate method)이 있다. 도말 평판법은 한천 배지 표면에 시료 0.1ml를 올려 놓고 유리 막대로 표면에 넓게 편 후, 배양하여 집락의 수를 측정하는 방법이다. 주입 평판법은 시료 1.0ml를 멸균 평판에 주입한 후, 45~55℃로 식힌 한천 배지를 넣어 혼합, 배양하여 집락의 수를 측정하는 방법이다.

평판 배양법의 결과가 통계적으로 신뢰성을 갖기 위해서는 한 평판에 형성된 집락의 수가 30~300개 정도이어야 한다. 따라서 시료의 미생물 수가 많을 때에는 시료를 10배수 계열 희석법(serial decimal dilution)으로 적절히 희석하여 집락의 수가 이 범위에 있도록 하여야 한다.

시료의 미생물 밀도가 낮을 때에는 일정량의 액체 시료를 박막 여과(membrane filtration)한 후, 박막 여과지를 한천 평판 배지 또는 액체 배지로 포화된 여과지 위에 올려놓고 배양한 후 나타난 집락의 수를 셀 수 있다.

2-4-3. 최확수법

최확수법(MPN, most probable number)은 확률 이론에 근거한 통계적인 방법이다. 주로 물, 식품 등의 대장균 균수를 추정하는데 사용하지만 배양 조건을 변화시키면 다른 종류의 미생물 수를 추정하는 데에도 사용할 수 있다.

시료를 생균이 하나도 없을 때까지 10배수 계열 희석한 후, 각 단계별 희석액 일정량을 수 개의 적절한 액체 배지에 접종하고 배양한다. 희석액에 최소 한 개 이상의 생균이 존재하면 배양액에 균의 증식을 나타내는 혼탁, 산의 생성, 가스의 생성 등의 현상이 나타나게 된다. 각 희석 단계별로 양성/음성 반응을 나타내는 관의 수를 센 후, 최확수표를 사용하여 시료의 미생물 밀도를 추정한다. 각 희석 단계별로 3, 5, 10개의 관을 사용했을 때의 최확수표가 있으며, 사용하는 관의 수가 많을수록 보다 정확한 밀도를 추정할 수 있다.

2-5. 항균 활성 시험

미생물이 생산하는 다양한 항생 물질(antibiotics)이 감염성 질병의 치료에 사용되고 있으며, 새로운 항생 물질이 계속해서 개발되고 있다. 항균 활성 시험은 새로운 항균 물질의 개발에 꼭 필요할 뿐 아니라, 감염성 질환의 치료를 위해 병원성 미생물의 항생 물질에 대한 감수성(susceptibility)을 알기 위해서도 꼭 필요한 시험법이다.^{22)~24)}

2-5-1. 디스크 확산법

디스크 확산법 (disk diffusion assay)은 항균 물질의 항균 능력이나 병원균의 감수성을 시험하는 가장 간단한 방법이다. 항균 물질을 함유한 필터 paper disk를 시험균이 도말된 한천 평판 배지에 놓고 배양하는 방법이다. Paper disk에 있는 항균 물질이 확산되면서 disk로부터 멀리 떨어질수록 항균 물질의 농도가 낮아지고, 일정한 거리 이상 떨어진 곳에서는 항균 물질의 농도가 낮아 더 이상 시험균의 증식을 억제할 수 없게 된다.

항균 물질에 의해 시험균의 생육이 억제되어 나타나는 영역을 저해대 (zone of inhibition)라고 하며, 저해대의 직경으로 병원균의 민감도 또는 항균 물질의 역가(inhibiting activity)를 알 수 있다. 저해대의 크기는 항균 물질의 확산성에 따라서도 달라질 수 있으므로, 종류가 다른 항균 물질에 의해서 생긴 저해대의 직경만으로 항균력의 우열을 비교할 수는 없다. 디스크 확산법으로는 증식이 느린 세균, 혐기성 세균, CO₂를 필요로 하는 세균은 시험할 수 없다.

2-5-2. 최소 저해 농도법

최소 저해 농도(MIC, minimum inhibitory concentration)란 특정 미생물의 생육을 저해하는데 필요한 항균 물질의 최소 농도이며, 시험관 희석법 (tube dilution method)으로 결정할 수 있다. 최소 저해 농도가 낮다는 것은 시험균의 항균 물질에 대한 감수성이 높거나, 시험 물질의 항균 활성이 높다는 것을 의미한다.

2-6. 인쇄 적성 평가 방법

2-6-1. 농도

인쇄물의 객관적 평가 방법으로 농도계를 사용하는 것을 농도법(densitometry)이라고 한다. 농도법은 주로 농도계를 사용하여 품질을 측정하는 것이며, 농도법의 가장 큰 장점은 사용법이 아주 간단하다는 점이다. 농도는 투명한 필름을 측정하는 방법과 같은 투과 농도법(transmission densitometry)과 불투명한 물질에 인쇄된 인쇄물이나 인쇄된 상 등을 측정하는 반사 농도법(reflection densitometry)이 있다.⁷⁾ Figure 2는 인쇄잉크의 반사 농도 원리이다.



Figure 2. A reflection density of the printing inks.

농도 측정 및 농도계에 대하여 ISO 5-3:1995의 'Photography Density Measurements-Part 3: Spectral Conditions'¹⁴⁾에 규정되어 있다. 농도계의 광원은 측정 시료에 형광 성분이 없을 때, 2,856K의 표준 광원 A를 사용하며 주변의 온습도에 따라 인쇄 컬러 값의 변화가 있을 수 있으므로 농도계는 제작 회사 및 모델에 따라 측정값의 차이를 보인다. 온도가 $\pm 2^{\circ}\text{C}$, 상

대 습도(relative humidity)는 $50 \pm 5\%$ 의 환경 조건을 권장하고 있는데 이는 농도계에 적용된 R, G, B 필터의 특성이 다르기 때문이다. ISO에서는 필터의 특성에 따라 Table 5와 같이 분류한다.

Table 5. The Classification according to Filter Characteristic by ISO 5-3:1995

Classification	Characteristic
Status A	Measurement of transparent film and reflection copy
Status M	Measurement of negative color film
Status T	Measurement of reflection copy the likes of printing
Status E	“Din wide-band” standard
Status I	“Din narrow-band” standard

Table 5의 분류 외에도 인쇄 농도의 드라이다운(dry down) 현상 등을 고려하여 편광(polarizer) 필터를 사용하기도 한다. ISO 5-4:1995의 'Photography Density Measurements - Part 4: Geometric Conditions for Reflection Density'에서는 농도 측정 시 측정 시료를 놓는 바탕의 농도가 백색 바탕보다 흑색 바탕에서 영향이 적기 때문에 중성 농도 1.50 ± 0.2 의 매트(matte)상 재료를 권장하고 있다. 반면에 투과도를 갖는 인쇄물의 경우, 농도가 0.08이하의 백색 바탕을 사용하도록 권장하고 있다.

2-6-2. 측색

CIE L*a*b* 컬러 공간은 3차원 방향에서 균등하게 컬러를 배치하여 균등한 컬러 공간을 만든 것이다. 인간이 등간격으로 지각하는 색차는 측색적으로 얻는 거리에 거의 비례하는 것을 이용한 것이다.

CIE L*a*b* 컬러 공간에 표기를 한 것은 Figure 3과 같다.

ΔL^* = lightness / darkness 값의 차이

+ = lighter - = darker (0 ~ 100)

Δa^* = red / green 축에서 차이

+ = redder - = greener (+60 ~ -60)

Δb^* = yellow / blue 축에서 차이

+ = yellower - = bluer (+60 ~ -60)

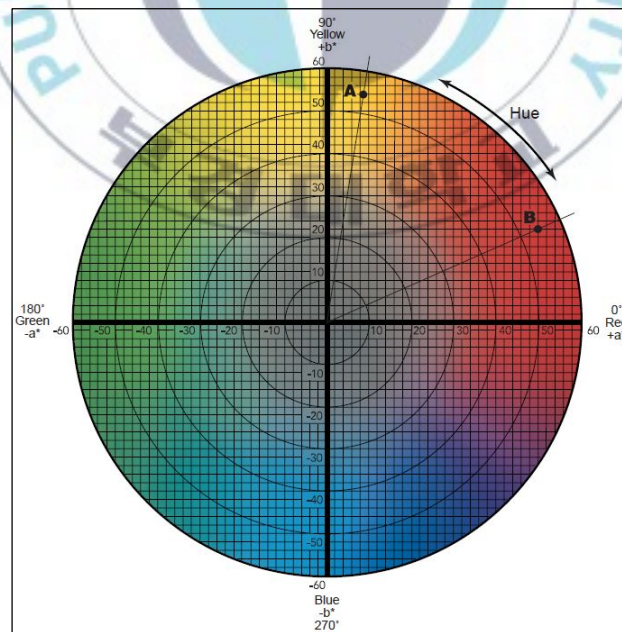


Figure 3. The color space of CIE L*a*b*.

CIE $L^*a^*b^*$ 컬러 공간은 $L^*a^*b^*$ 의 입체 좌표로서 색을 표시한다. L^* 는 명도를 표시하며, 채도 좌표의 x축은 a^* 로, y축은 b^* 로 표시한다. 또한 이 표색계에서 $+a^*$ 는 red 방향, $-a^*$ 는 green 방향, $+b^*$ 는 yellow 방향, $-b^*$ 는 blue 방향이다. 중앙은 무채색에 해당되며, $a^* = 0, b^* = 0$ 의 위치이다. $L^* = 100$ 이면 순수 white, $L^* = 0$ 이면 black을 나타낸다. 특히 a^* 와 b^* 가 증가할 수록 중심에서 멀어지며 채도가 높아져 순색을 나타낸다.

여기서 L^* 은 반사율(인간의 시감과 같은 명도)을 나타내며, 0~100까지의 단계로 소수점 이하 단위도 표현할 수 있다. a^* 는 색도 다이어그램으로 $+a^*$ 는 red, $-a^*$ 는 green 방향을 나타내고, b^* 는 색도 다이어그램으로 $+b^*$ 는 yellow, $-b^*$ 는 blue 방향을 나타낸다.

$$\begin{aligned}
 L^* &= 116\{Y/Y_n\}^{1/3}-16 & (1) \\
 a^* &= 500 [\{X/X_n\}^{1/3} - \{Y/Y_n\}^{1/3}] \\
 b^* &= 200 [\{Y/Y_n\}^{1/3} - \{Z/Z_n\}^{1/3}] \\
 &(\text{단. } X/X_n > 0.008856, Y/Y_n > 0.008856, Z/Z_n > 0.008856)
 \end{aligned}$$

식 (1)에서 X, Y, Z는 XYZ 색표시계 또는 $X_{10}Y_{10}Z_{10}$ 색표시계의 3차극 값, X_n, Y_n, Z_n 는 Table 6과 같이 완전 확산 반사면(PRD, perfect reflecting diffuser)의 3차극 값이며 이 색공간을 이용한 색표시계(CIE 1976)는 $L^*a^*b^*$ 색표시계 또는 CIE $L^*a^*b^*$ 색표시계이다.

현재 많은 컬러 연구가들에 의해서 색차를 숫자로 표현하기 위해 다양한 방정식이 개발되어 사용되고 있다. 하지만 서로 다른 다양한 방식과 색공간에서 모두 산출되는 방정식을 기본적으로 사용함으로써 이러한 숫자로 비교하는 것은 불가능하다.

Table 6. The X_n , Y_n , Z_n Value of Tristimulus Values by Specular Surface

Standard light source	Observer	X_n	Y_n	Z_n
D ₆₅	2°	95.047	100.000	108.883
	10°	94.811	100.000	107.304
D ₅₀	2°	96.422	100.000	82.490
	10°	96.720	100.000	81.410

1967년에 CIE 위원회에서는 색차 방정식 CIE 1976을 발표하여 공식적으로 공인하였다. 이 방정식에서 사람의 눈으로 인지할 수 있는 가장 작은 색차 값은 1.0으로 간주하였다. 또한 이 방정식은 색차에서 최초의 표준으로 설정하고 이 값으로 색차를 정의하였다.

하지만, CIE 1976 방정식은 사람의 눈이 시지각 스펙트럼 안에서 다른 민감도를 가지고 있는 부분이 적용되어 있지 않다는 것을 발견하였다. 예를 들면, 어두운 블루 색상과 밝은 파스텔 색상에서 색차가 1.0으로서 시각적 차이를 가진다는 것이다.

CIE 1976 색차 방정식은 식 (2)와 같다.

$$\Delta E_{ab}^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (2)$$

$$\Delta L^* = L_{Batch}^* - L_{Standard}^*$$

$$\Delta a^* = a_{Batch}^* - a_{Standard}^*$$

$$\Delta b^* = b_{Batch}^* - b_{Standard}^*$$

오프셋 매엽 인쇄 잉크의 컬러 규격에 만족하는가를 확인하기 위해 Table 7에 정의된 대로 ISO 12647-2 및 GRACoL G7의 C, M, Y, K 솔리드 측색 값인 CIEL*a*b* 값과 컬러의 허용 오차를 적용한다. 이 때 ISO 13655에 정의된 것과 같이 측정 조건에서 관측자는 2도 시야, 조명은 D50, 0/45°(geometry), 백그라운드는 흰색(status T 기준)이다.

특히 Table 8과 같이 측색에 사용하는 백그라운드가 흰색 또는 검은색 이냐에 따라서 참조 피인쇄체의 CIEL*a*b* 값에 차이가 있다.

Table 7. The Colorimetric Values of CIEL*a*b* in ISO 12647-2/GR -ACoL G7

Ink	CIEL*a*b* Value			Tolerance			
	L*	a*	b*	ΔE^*_{ab}	ΔL^*	Δa^*	Δb^*
Cyan	55	-37	-50	4.0	-	-	-
Magenta	48	74	-3	4.0	-	-	-
Yellow	89	-5	93	5.0	-	-	-
Black	16	0	0	4.0	-	-	-

^a 매개 변수 L*, a*, b*, ΔE^*_{ab} , Δa^* 와 Δb^* 는 ISO 13655에 정의한다.

Table 8. The Comparison of CIEL*a*b* Value of Reference Substrate according to the Backing Color

Backing color	CIEL*a*b*		
	L*	a*	b*
White backing	85.2±4.0	-0.9±2.0	5.2±2.0
Black backing	82.0±4.0	-0.0±2.0	3.0±2.0

2-6-3. 광택도

광택은 인쇄물의 콘트라스트를 증가시키고, 깊이가 있는 아름다운 인쇄물을 표현한다. 75도의 입사광을 75도의 수광각에서 측정하여 인쇄용지의 반사 광택 또는 인쇄면의 솔리드 부분을 측정한다. ISO 8254-1을 따르는 측정 장치를 사용하고, ISO 8254-1 TAPPI Gloss를 이용하고 최종 결과값은 퍼센트로 나타낸다.

발광체의 광도를 측정하는 광도계는 표준이 되는 광원과 수광기 및 측정 광원의 빛을 도입하는 광학계로 되어 있다. 표준 광원과의 비교는 수광 소자로 정량적으로 할 때와 투사된 두 면의 휘도를 시감으로 비교할 때도 있다. 과장의 광도를 측정하는 분광 광도계를 가리킬 때도 있다.

2-6-4. 트래핑 효율

트래핑은 다색 인쇄에서 한 가지의 색 위에 다른 색을, 또는 한 잉크의 필름 위에 다른 잉크 필름이 전이되어 서로 결합되는 것을 말한다. 만일 잉크를 잡아주지 못하면 아무리 많은 잉크가 전이되고, 바람직하게 세팅과 건조가 되었다고 할지라도 잉크는 피인쇄체 또는 아래 잉크로부터 떨어져 나가기 때문이다. 다시 말해서 인쇄는 이러한 잉크간의 결합력으로 인해 인쇄가 이루어진다고 보아야 할 것이다.

농도계를 이용하여 인쇄 적성을 평가하는 항목에는 여러 가지가 있다. 그 중에서 농도계를 이용하여 트래핑 값을 구할 수 있다.⁹⁾

3. 실험

3-1. 실험 재료

3-1-1. 향균제

본 실험에 사용한 천연 향균 추출 성분 재료는 향균성 실험에서 대장균과 포도상구균에 향균 효과가 비교적 양호한 결명자, 약쑥, 솔잎 등의 식물 시료 3종을 선택하였다.

특히 선행 연구에 따른 이 3종의 향균제는 향균성이 뛰어나면서 냄새에서 불쾌감을 덜 주고, 국내 어디서나 쉽게 구할 수 있기 때문에 다른 천연 향균제보다 경제적 효율성이 유리한 재료이다.

따라서 본 실험에서는 친환경 향균 오프셋 잉크용으로 이러한 식물 시료 3종으로 천연 향균제를 용매 추출법으로 직접 추출해서 사용하였다.

3-1-2. 향균성 잉크

향균성 잉크의 제조를 위해 사용한 잉크는 ISO 12647-2의 규격을 준수하는 국내 시판중인 D사의 오프셋 잉크를 사용하였고, 그 조성은 Table 9와 같다. Table 9와 같이 잉크 조정 상태는 바니시가 일반적으로 60~65%인데 본 연구에서도 바니시 63%, 안료 20%, 천연 향균제 2%, 첨가제 5%, 용제 10%로 전체 100%를 구성하였다. 특히 일반적으로 유기 및 무기 향균제인 경우 0.5~1% 정도를 첨가하고 있으나 본 연구에서는 세 가지 천

연 향균제를 2%씩 첨가하였다. 이 첨가량은 향균 잉크에 필요한 최적의 첨가량을 찾아서 결정한 것보다 인쇄 적성에 영향을 주지 않는 범위에서 어느 정도의 향균력을 가지고 있는가를 평가하는데 비중을 두므로써 향균제를 최고 2%로 첨가하였다. 또한 외적 요인에 의한 평가 결과의 오차를 최소화하기 위하여 잉크의 입도는 5 μ m 이하로 제조하였다.

Table 9. The Status of The Ink Composition

Ink composition	Portion
Varnish	63%
Pigment	20%
Antibiosis agent	2%
Additive	5%
Solvent	10%
Total	100%

3-2. 실험 기자재

본 실험의 향균제 제조는 선택한 3종의 식물 시료에서 압력 추출, 추출물의 여과 및 농축, 동결 건조, 분쇄 순으로 진행되었다. 이 때 압력 추출기는 Figure 4와 같이 전탕 방법이 압력식인 경서기계사의 KSNP-B1130-240L을 사용하였다.

압력 추출기에서 추출한 성분 에탄올을 제거하고 향균 성분만 남게 하기 위해 Figure 5와 같이 rotary evaporator(EYELA N-11, Japan) 농축기를 사용하였다. 또한 향균제의 오염 및 보관성, 향균 잉크 제조 시 첨가량

의 편이성을 고려하여 파우더로 제조하기 위하여 Figure 6의 일신랩사의 PVTFD30A Freeze Dryer를 사용하여 -80°C 로 동결 건조하였다.



Figure 4. Photography of pressure extractor.



Figure 5. Photography of evaporator.



Figure 6. Photography of freeze dryer.

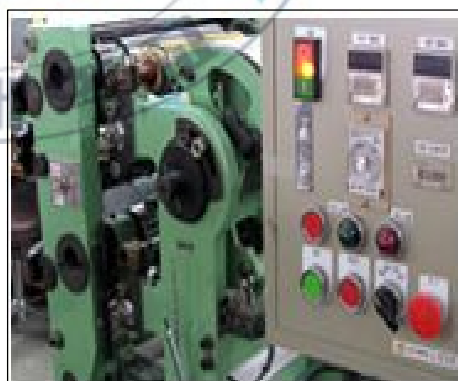


Figure 7. Photography of RI-tester.

본 실험에서 추출한 향균 물질의 향균성 실험에는 한천 배지 확산법을 이용하였다. 또한 향균성 잉크 제조 시 3 roll mill(bühler사 SDY 200)로 3종의 향균제를 섞은 각각의 페이스트를 만들었으며, 잉크를 전색 실험을 통해 인쇄 적성을 확인하기 위해 Figure 7과 같이 아키라사의 RI-Test를 사용하여 ISO 12647-2 paper type 2 matte-coated, wood-free 용지 위에 잉크를 균일한 규정의 두께인 1 μ m로 각각 전색하여 실험에 이용하였다.

인쇄 적성을 평가하기 위해 솔리드 인쇄의 농도 값 및 컬러 값, 트래핑 효율 측정에는 X-Rite사 spectrophotometer X-Rite 528, 광택 측정은 Sheen Instruments사의 Micro 광택계를 사용하였다.

뿐만 아니라 인쇄물의 향균성 실험은 필름 밀착법을 적용하였는데 이 때 사용한 기기로 대장균과 포도상구균을 확인함으로써 향균 잉크로써의 가능성 여부를 확인하였다.

3-3. 실험 방법

3-3-1. 향균제 제조

(1) 향균 추출물 제조

본 실험에서 향균 추출물 제조 과정은 먼저 Figure 8과 같이 결명자, 약쭈, 솔잎 등 3종의 시료를 흐르는 수돗물로 깨끗이 세척하고, 시료에 남아 있는 불순물을 최대한 제거하기 위하여 증류수로 재 세척한 후, 37 $^{\circ}$ C 건조기로 18시간 건조시켰다.

건조된 시료를 추출에 적합하도록 압력 추출기에 넣고, 시료 중량의 약 10배의 3차 증류수 20%와 80% 에탄올을 혼합한 용매로 3회 반복 환류하는 용매 추출법으로 추출하였다. 이 때 용매 추출법으로 추출할 경우, 에탄올보다 메탄올을 사용하는 것이 추출물의 수율은 더 좋으나 본 연구에서 추출한 항균제인 경우, 실제 식용 잉크에도 활용할 수 있도록 하기 위해 인체에 유해성이 적고, 식용이 가능하며 동결 건조 방법으로 항균제를 과우더로 만들기 위하여 에탄올을 용매로 선택하여 적용하였다.

추출 조건은 100℃에서 2kgf/cm² 압력으로 8시간 동안 추출하였다.

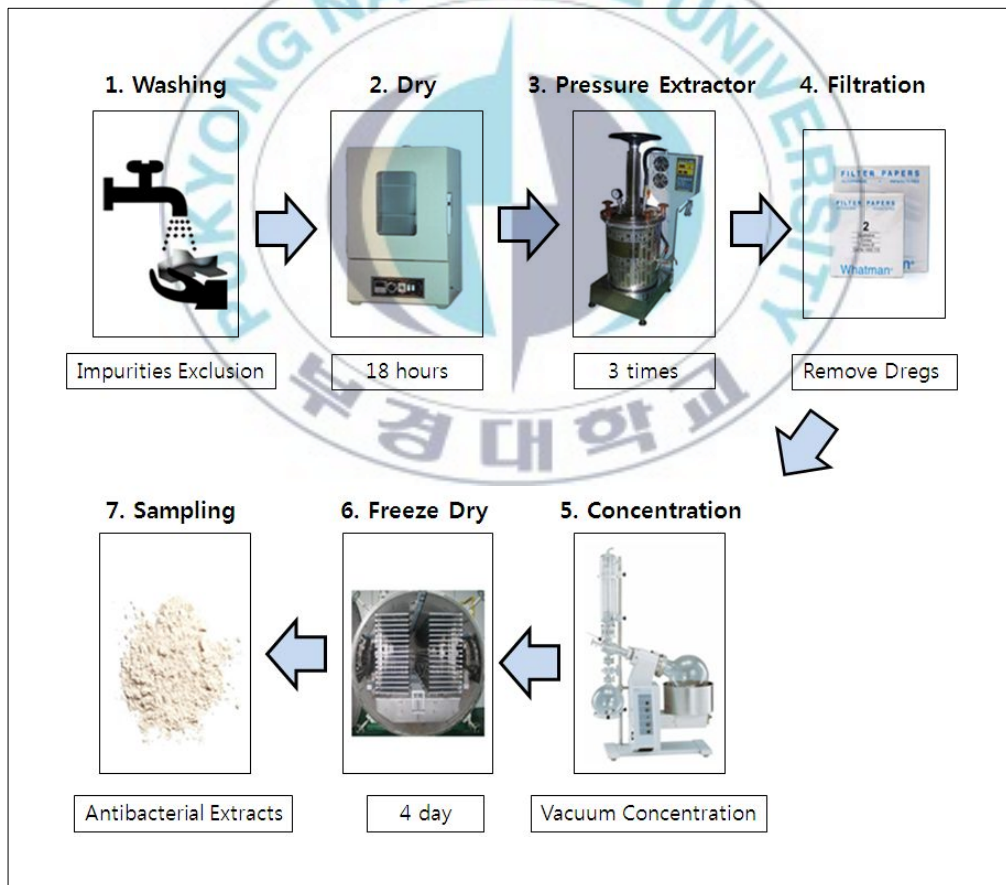


Figure 8. The manufacturing process of antibiosis agent.

(2) 여과 및 농축

압력 추출 도중에 생성된 추출물의 찌꺼기를 완전히 제거하기 위하여 각
각의 추출물을 살균 처리된 여과지(Whatman No.2)를 이용하여 여과한 후,
rotary evaporator로 감압 농축하였다. 이 때 감압 농축 조건은 650mmHg,
45℃이었다.

(3) 동결 건조

에탄올을 완전히 제거한 세 가지 농축물에 남아 있는 증류수를 제거하
여 순수한 미세 파우더형 항균제를 만들기 위해 동결 건조하였다. 특히
동결 건조 시 온도가 -80℃로 바로 떨어지지 않으므로 먼저 동결 건조
기를 -80℃로 48시간동안 예비 동결한 후, 접시(tray)에 농축물을 붓고 -
80℃에서 진공도를 5Torr로 하고 4일간 본 동결 건조를 하였다.

3-3-2. 항균제 항균성 평가

천연 식물의 에탄올 추출의 항균력 확인은 한천 배지 확산법(paper disk
diffusion method)으로 측정하였다. 각각의 균주들을 10ml 생육 배지에 1백
금이(platinum pool)씩 취하여 접종하고 37℃에서 24시간 항온수조에서 진
탕 배양하였다. 각각의 천연 항균제를 추출 용액인 에탄올을 사용하여
0.1% 농도로 조절한 후, 0.45 μ m menbrance filter로 여과 제공하였다. 멸균

된 paper disk에 20 μ l씩 흡수시킨 후, 추출 용매인 에탄올을 완전히 확산시켰다. 다음에 평판 배지에 paper disk를 밀착시켜, 4 $^{\circ}$ C 냉장고에서 1시간 방치한 후, 30 $^{\circ}$ C의 incubator에서 48시간 배양한 다음 disk 주변의 clear zone의 직경을 측정하여 항균력을 비교하였다.

3-3-3. 항균성 잉크 제조

파우더 항균제의 분산성을 위하여 바니시(vernish)에 안료(pigment)를 섞은 Cyan 및 Magenta 베이스(base) 페이스트를 3 roll mill을 이용하여 외적 요인에 의한 평가 결과의 오차를 최소화하기 위하여 3회로 분산 진행하였다. 분산 시의 조건은 압력 20Bar, 잉크 입도 5 μ m 이하로 분산하여 Cyan과 Magenta 색에 항균제가 각각 다른 6 종류의 오프셋 잉크용 베이스 페이스트를 Figure 9와 같이 제조하였다.

또한 분산된 각 베이스의 페이스트에 잉크의 또 다른 첨가제를 투입한 후, 마지막으로 잉크의 건조와 점도 조절을 위해 용제를 첨가하였다. 이 때 용제의 첨가 정도는 친환경 잉크라는 점을 고려하여 평판 점도계로 측정했을 때 잉크 점도가 60~62이고, 잉크 택 값(tack value)이 11.5~12.5가 되도록 조정하여 첨가하였다.

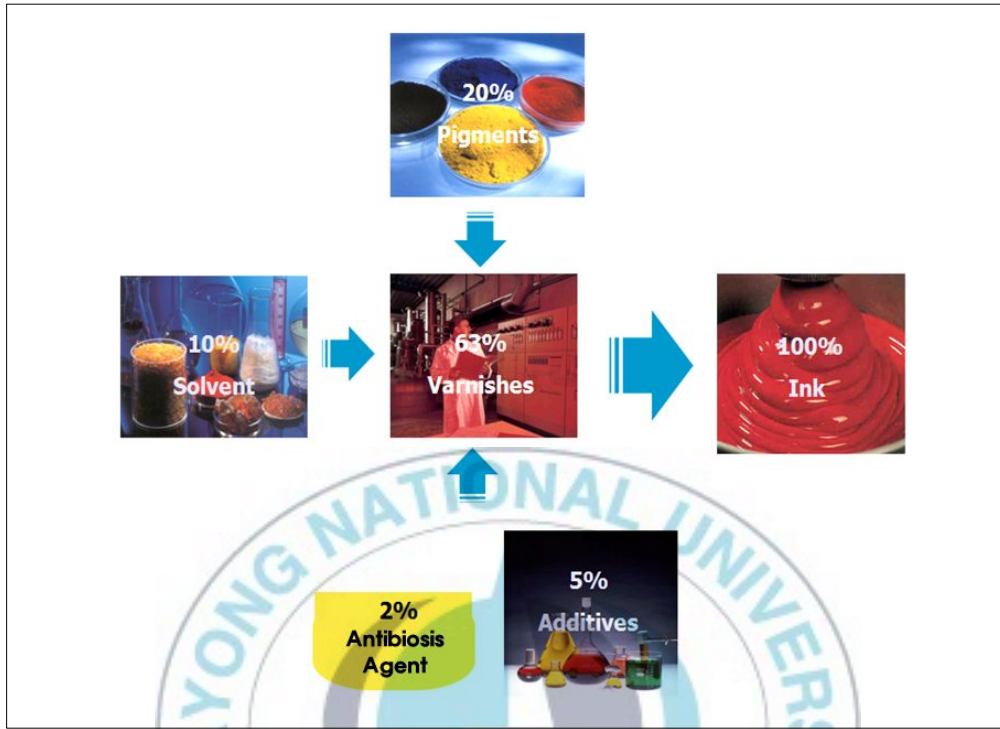


Figure 9. The manufacturing process of antibiosis ink.

3-3-4. 항균성 잉크 전색

본 실험에서 추출한 세 가지 천연 항균 성분으로 제조된 6종류의 잉크에 대한 농도, 색상, 광택, 트래핑 효율 등의 인쇄 적성 평가를 위하여 RI-Tester로 각각 6종류의 샘플을 제작하였다. RI-Tester 4분할 롤에서 0.075cc 항균 잉크를 올려 한 개 종류마다 각각 5장씩 총 30장을 전색 테스트 인쇄하였다. 또한 전색 테스트 인쇄물을 완전히 건조시킨 후, 계측기를 이용하여 샘플별 반사 농도, 색상, 광택도, 트래핑 효율을 측정하였다. 전색 시 용지는 Table 10과 같이 ISO 12647-2의 paper type 2 matte-coated, wood-free 규격을 만족하는 것을 사용하였다.

Table 10. The Comparison of CIEL*a*b* Value in ISO 12647-2 Paper Type 2 and Full Color Paper

Paper	CIEL*a*b*			Gloss %
	L*	a*	b*	
Matte-coated, wood-free	94	0	-2	38
Full colors paper	95	0	-3	37

3-3-5. 잉크의 항균성 평가

(1) 샘플 제작

점도가 높은 잉크의 항균력 분석에 가장 적합한 방법으로 본 연구에서는 필름 밀착법을 이용하였다. 이 방법은 샘플 표면에 대장균과 포도상구균이 배양된 액을 점종하고 필름으로 덮어 부착을 시킨 후, 생균수를 측정하는 방법이다. 이 실험에 사용한 샘플은 RI-Tester로 #1(Sample A), #2(Sample 2), #3(Sample 3)의 항균제가 다른 Magenta 잉크 3 종류로 Figure 10 과 같이 필름에 인쇄하여 제작하였다.

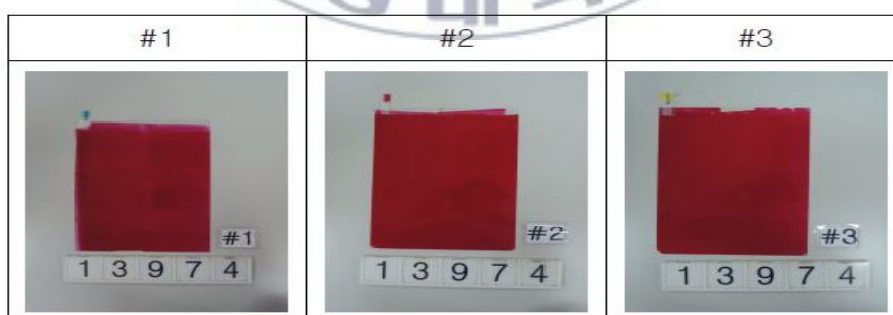


Figure 10. The antibiosis activity of each film samples using antibiosis ink.

(2) 항균성 실험

본 연구의 항균성 실험은 JIS Z 2801:2010 규격을 기준으로 하는 필름 밀착법으로 하였다. 먼저 항균성 실험을 위해 제작한 3 종류의 샘플 필름 표면에 묻어 있는 모든 균을 무균실에서 UV 멸균하였다. 황색포도상구균과 대장균을 배양한 후, 황색포도상구균은 세균수가 $1.8 \times 10^4/\text{cm}^2$, 대장균은 $1.1 \times 10^4/\text{cm}^2$ 이 되도록 20배로 희석된 뉴트리언트(nutrient) 배지로 균을 희석하여 접종액으로 사용하였다.

샘플 필름의 크기가 모두 $50 \times 50\text{mm}$ 인 4 종류를 각각 항온조 멸균 페트리 접시(petri dish)에 넣고, 그 샘플 필름에 접종용 균액 0.4ml를 접종하였다. 그 위에 표준 피복 필름을 덮어 뚜껑을 씌운 후, 균액의 온도가 $35 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도가 RH 90%인 항온조에서 24시간 동안 정지 배양하였다. 각각 샘플 필름에 부착된 균을 중화 용액을 이용하여 페트리 접시 안에 충분히 씻어 내고, 이 씻어낸 액으로 확률 이론에 근거한 통계학적 방법인 최확수법으로 균수를 각각 측정하였다. 이 때 대조는 표준 피복 필름 Stomacher 400 Poly-Bag 멸균 백을 사용하였다.

(3) 항균성 잉크의 항균성 평가

본 연구에서 제작한 항균성 잉크의 항균성은 항균 활성 값과 정균 감소율(%)로 평가할 수 있다. 먼저 샘플 필름을 유당이 포함된 배지에 배양할 때 포도상구균과 대장균은 증식하면서 가스를 생성하는데 이때의 양성관 수로부터 확률적으로 포도상구균과 대장균의 수를 산출하여 최확수로 표시하고, 이 수를 항균 활성 값과 정균 감소율을 계산할 때 사용한다.

특히 항균 활성 값이 2.0이상일 경우 항균력이 있는 것으로 판정하며,

3.4 이상이면 99% 이상의 향균력이 있는 것으로 식 (3)과 같이 계산하였다. 또한 정균 감소율은 24시간 배양하고, 그 후 대조 시료의 균수와 24시간 배양 후, 시험 시료의 균수로 구할 수 있었고, 구하는 식은 식 (4)와 같다.

$$R = \log\left(\frac{M_b}{M_c}\right) \quad (3)$$

$$\text{정균 감소율(\%)} = \left(\frac{M_b - M_c}{M_b}\right) \times 100 \quad (4)$$

여기서 M_a 는 대조 시료의 초기 균수(CFU/cm², 평균 값)이고, M_b 는 24시간 배양 후, 대조 시료의 균수(CFU/cm², 평균 값)이며, M_c 는 24시간 배양 후 시험 시료의 균수(CFU/cm², 평균 값)이다.

3-4. 향균성 잉크의 인쇄 적성 평가

3-4-1. 솔리드 인쇄의 농도 값 평가

향균제 첨가에 따른 인쇄 적성의 변화를 확인하기 위하여 객관적 평가방법으로 솔리드 인쇄 농도 값을 평가하였다. 먼저, 본 실험에서 제조한 3종의 향균제가 다른 Cyan과 Magenta 잉크를 RI-Tester에서 테스트 인쇄하고, 그 결과물을 완전히 건조시킨 후, 계측기로 솔리드 인쇄의 농도 값을 측정하였다. 이 때 농도 측정 조건은 관측자 2도시야, 조명 D50, 0/45°(geometry), 백그라운드 흰색, 필터 특성은 반사 인쇄물 측정에 적합한 status T를

기준으로 하였다. 측정하여 구한 농도 값은 Table 11과 같이 ISO 12647-2와 GRACoL G7 규격과 비교 평가하였다.

Table 11. The Density Value of ISO 12647-2 Paper Type 2 and GRACoL G7 Standard

Specifications	Density		Tolerance	
	Cyan	Magenta	Cyan	Magenta
ISO 12647-2 Paper Type 2	1.45	1.45	±0.05	±0.05
GRACoL G7	1.45	1.45	±0.10	±0.10

3-4-2. 솔리드 인쇄의 측색 평가

본 실험에서 제조한 항균성 잉크의 Cyan과 Magenta의 솔리드 CIEL*a*b* 측색 값이 ISO 12647-2와 GRACoL G7 컬러 규격에 만족하는가를 확인하기 위해 RI-Tester에서 서로 다른 3종의 항균제별로 각각 테스트 인쇄하여 샘플 6종을 제작하였다. 이 때 잉크의 피막 두께를 본 인쇄 조건과 유사하게 하기 위하여 1 μ m로 인쇄하였다.

잉크 피막이 완전히 건조되면 X-Rite 528 spectrophotometer로 측색하여 CIEL*a*b* 값을 구하였다. 측색 조건은 ISO 13655 규격을 준수하여 관측자는 2도시야, 조명은 D50, 0/45°(geometry), 백그라운드는 흰색으로 하였고, 필터 특성은 반사 인쇄물 측정에 적합한 status T를 기준으로 선택하였다. 또한 측색으로 구한 CIEL*a*b*값으로 ISO 12647-2와 GRACoL G7과의 색차를 비교 평가하였다.

3-4-3. 광택도 평가

인쇄 용지의 반사 광택 또는 단색 잉크의 솔리드 부분 광택은 75°(지면과 15°의 차이)로 광을 입사하고, 75°에서 반사광을 측정하였다. 사용한 계측기는 ISO 8254-1의 규정을 준수하는 Micro 광택계를 사용하였고, 그 결과 값은 ISO 8254-1:2003에 따라 기록하였다. 특히 광택의 측정 조건은 3종류의 항균제가 다른 Cyan과 Magenta 잉크로 인쇄한 샘플을 5회 반복 측정한 후 그 평균값을 구하여 결과를 비교 평가하였다.

3-4-4. 트래핑 효율

트래핑 효율은 피인쇄체에 전이된 잉크 필름 위에 다른 잉크 필름이 전이되어 서로 결합되는 것으로, 만일 첫 번째 인쇄한 잉크와 피인쇄체가 두 번째 인쇄한 잉크를 잡아주지 못하면 아무리 많은 잉크가 전이되고, 바람직하게 세팅 및 건조되었다 할지라도 잉크는 피인쇄체 또는 아래 잉크로부터 떨어져 나간다. 따라서 일반적으로 유기 항균제를 0.5% 첨가하던 것을 본 연구에서는 항균성을 높이기 위해 2%를 첨가함으로써 잉크 특성 변화에 영향을 줌에 따른 인쇄 적성을 확인하기 위하여 이러한 트래핑 효율을 구하였다. 인쇄 순서는 일반 인쇄 순서와 동일하게 Cyan 잉크 위에 Magenta 잉크로 인쇄하였다. 또한 트래핑 효율 측정을 위한 테스트 인쇄는 RI-Tester로 하였고, 농도계를 이용하여 트래핑 효율을 구할 수 있으므로 측정은 X-Rite을 이용하였다. 이 때 측정 조건은 농도 측정 때와 동일하게 적용하였고, 인쇄용지는 ISO 12647-2의 paper type 2 matte-coated, wood-free 규격을 사용하였다.

4. 결과 및 고찰

4-1. 항균제의 수율 및 항균성 결과

본 실험에서 항균제의 항균성 결과 확인에 앞서 먼저 에탄올과 증류수를 용매로 한 용매 추출법과 냉동 건조법으로 추출하여 파워드링한 후, 세 가지 항균제의 kg당 수율을 확인한 결과는 Table 12와 같다.

Table 12와 같이 수율은 결명자가 7.6%, 솔잎은 21.8%, 약쭉은 5.1%으로 세 가지 샘플 중 솔잎이 가장 수율이 양호하였고, 약쭉은 수율이 가장 낮았다. 전체적으로 수율이 낮는데 이것은 실제 식용 잉크에 활용할 수 있는 항균제를 만들기 위하여 용매 추출법에서 용매를 수율이 양호한 메탄올을 사용하지 않고 수율은 낮으나 인체에 무해한 에탄올 즉, 99.9%의 주정을 사용하여 추출하였기 때문이다.

Table 12. The Yield Rate of Antibiosis Agent

Plant name	Yield rate(%)
Gullmungja	7.6%
Pine neddles	21.9%
Worm wood	5.1%

특히 약쭉의 경우, 식품의약품안전처 허가에 따라 식용으로 사용하는 쭉은 줄기를 사용하지 못하고 잎만 사용할 수 있고, 잎에 함유된 항균 성분만 추출함으로써 다른 샘플과 비교하여 수율이 상대적으로 떨어진 것이라 사

료된다. 또한 결명자인 경우, 추출 성분의 순도를 고려하여 분쇄하지 않고 원재료를 그대로 사용함으로써 솔잎에 비해 수율이 낮은 것으로 사료된다.

선행 연구에 따라 포도상구균과 대장균의 항균 효과가 비교적 양호하다고 알려진 점을 참조³⁾하여 본 실험에서 선택하여 추출한 세 가지 천연 항균제를 paper disk 방법으로 포도상구균과 대장균을 배양한 다음, disk 주변 clear zone의 직경을 측정하여 항균력을 비교 평가한 결과는 Table 13과 같다.

Table 13과 같이 생육 환경의 직경에 따라 8.0~8.4mm는 '-', 8.5~9.0mm는 '-/+', 9.0~9.9mm는 '+', 10.0~11.9mm는 '++'로 표시하여 항균력을 비교한 결과, 포도상구균과 대장균 모두에서 솔잎의 항균 효과가 11.0mm와 10.5mm로 가장 우수하였으며, 다음은 10.5mm와 10mm인 결명자이었고, 90mm와 95mm로 약쭉 순으로 나타났다.

따라서 본 실험에서 추출한 세 가지 천연 항균제는 친환경 오프셋 잉크용 항균제로 활용 가능하다고 사료된다.

Table 13. Antibiosis Activities of Ethanol Extracts against Tested Bacteria

Plant name	Antibiosis activity	
	Gram(+)	Gram(-)
	Staphylococcus aureus	Escherichia coli
Gullmungja	++10.5	++10.0
Pine neddles	++11.0	++10.5
Worm wood	+9.0	++9.5

-: no inhibition(~8mm) +:slight inhibition(8~9mm) ++:moderate inhibition(10~11mm) +++:heavy inhibition ~12mm).

4-2. 항균성 잉크의 항균 평가

본 연구에서 추출한 천연 항균제 세 가지를 첨가하여 제작한 Magenta 오프셋 잉크의 Sample A(결명자), Sample B(솔잎), Sample C(약쭈)의 포도상구균과 대장균에 대한 항균력을 JIS Z 2801:2010 규격의 필름 밀착법으로 평가한 결과는 Table 14, 15, Figure 11, 12와 같다.

Table 14와 같이 포도상구균의 경우, 초기 접종시 대조 샘플 균수는 $1.8 \times 10^4/\text{cm}^2$ 이었고, 24시간 경과 후 대조 샘플 균수는 $2.4 \times 10^4/\text{cm}^2$ 이었으나 시험 샘플 균수는 세 가지 샘플 모두 0.63미만(<0.63)으로 항균 활성 값이 4.6으로 항균 활성 값 기준으로 항균력이 99.9% 이상이었다.

Table 14. The Antibiosis Test Results of Staphylococcus Aureus
(Unit: CFU/Specimen)

Samples	Control sample immediately after inoculation	Control sample after 24 hours	Test sample after 24 hours	Antibiosis activity value
Sample A	1.8×10^4	2.4×10^4	<0.63	4.6(more than 99.9%)
Sample B	1.8×10^4	2.4×10^4	<0.63	4.6(more than 99.9%)
Sample C	1.8×10^4	2.4×10^4	<0.63	4.6(more than 99.9%)

또한 Table 15와 같이 대장균인 경우, 초기 접종용 대조 샘플 균수는 $1.1 \times 10^4/\text{cm}^2$ 이었고, 24시간 경과 후 대조 샘플 균수는 $1.4 \times 10^4/\text{cm}^2$ 이었으나 시험 샘플 균수는 세 가지 샘플 모두 0.63미만(<0.63)으로 항균 활성 값이 6.3으로 항균 활성 값 기준으로 항균력이 99.9% 이상이었다.

따라서 실험한 샘플은 양성균인 포도상구균과 그람 음성균인 대장균에 대하여 24시간 경과 후, Figure 11, 12와 같이 99.9% 이상의 우수한 균 억제력을 나타내었으므로 친환경 천연 항균성 오프셋 잉크로 활용할 수 있을 것이라 사료된다.

Table 15. The Antibiosis Test Results of Escherichia Coli
(Unit: CFU/Specimen)

Samples	Control sample immediately after inoculation	Control sample after 24 hours	Test sample after 24 hours	Antibiosis activity value
Sample A	1.1×10^4	1.4×10^4	<0.63	6.3(more than 99.9%)
Sample B	1.1×10^4	1.4×10^4	<0.63	6.3(more than 99.9%)
Sample C	1.1×10^4	1.4×10^4	<0.63	6.3(more than 99.9%)

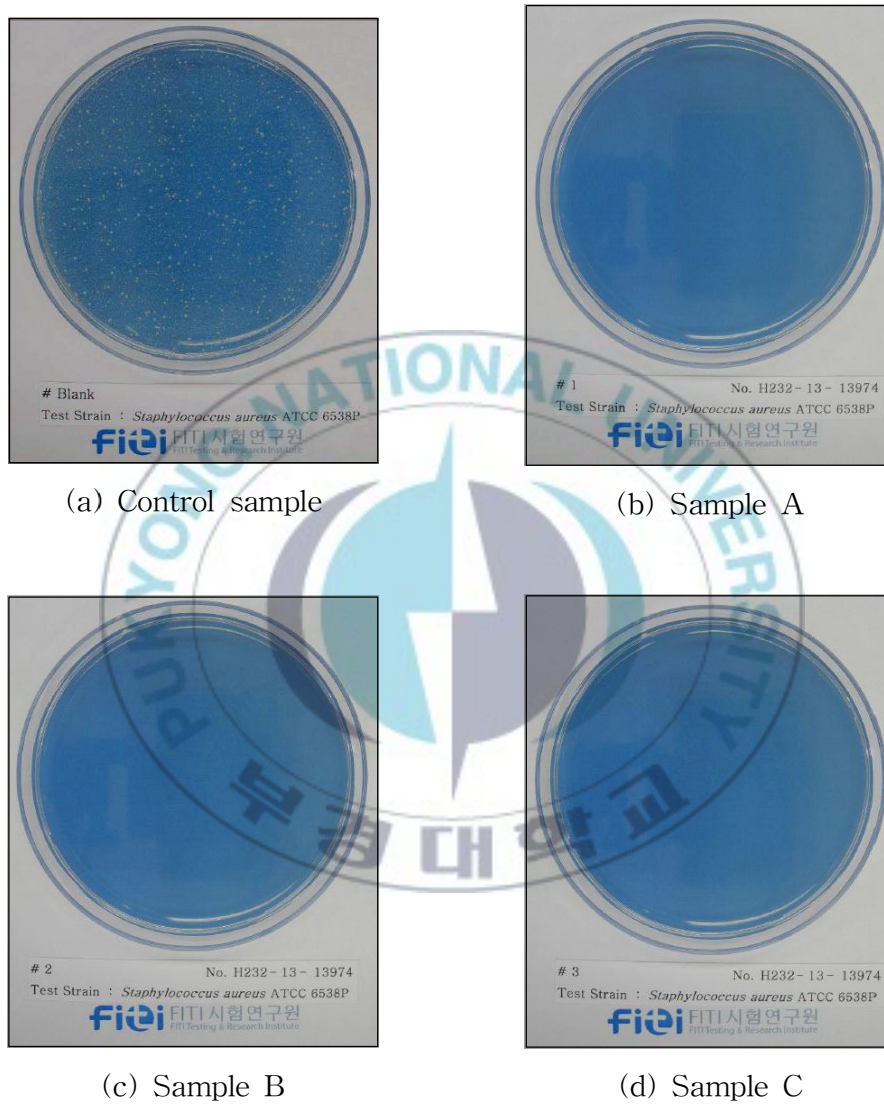
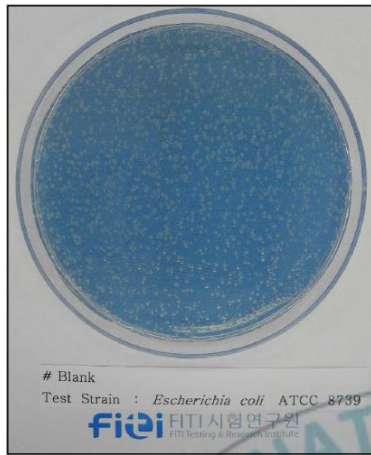


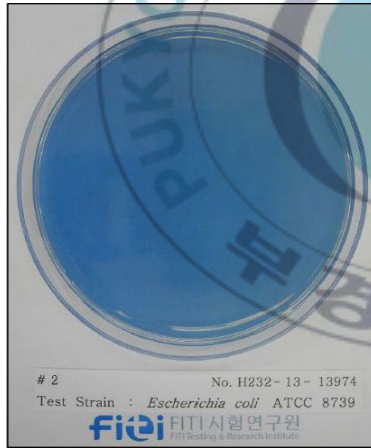
Figure 11. The antibiotics evaluation of staphylococcus aureus by tested samples.



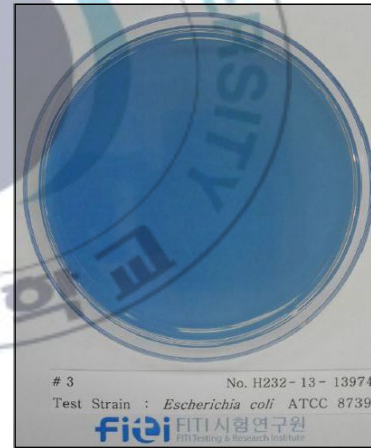
(a) Control sample



(b) Sample A



(c) Sample B



(d) Sample C

Figure 12. The antibiosis evaluation of escherichia coli by tested samples.

또한 본 연구에서 항균제를 넣지 않은 Magenta 오프셋 잉크 Sample 1, 천연 항균제 2%를 첨가하여 제작한 Sample 2, 유기 항균제 0.5%를 첨가한 Sample 3의 포도상구균과 대장균에 대한 항균력을 필름 밀착법으로 평가한 결과는 Table 16, 17, Figure 13, 14와 같다.

Table 16, Figure 13과 같이 포도상구균의 경우, 초기 접종용 대조 샘플 균수는 $1.8 \times 10^4 / \text{cm}^2$ 이었고, 24시간 경과 후 대조 샘플 균수는 $2.4 \times 10^4 / \text{cm}^2$ 이었다. 이 때 Sample 1 잉크의 경우, 24시간 경과 후의 균수가 $5.4 \times 10^4 / \text{cm}^2$ 으로 항균 활성 값이 2.6이었다. 일반적으로 항균 활성 값이 2.0 이상일 경우, 항균력이 있는 것으로는 판정할 수 있는데 비록 항균제를 첨가하지는 않았지만 잉크에 포함된 다른 구성 성분에 의한 결과라 사료된다. 이러한 Sample 1 잉크의 결과와 비교해서 천연 항균제와 유기 항균제를 첨가한 Sample 2, 3 잉크인 경우, 24시간 경과 후 균수가 모두 0.63미만 (< 0.63)으로 항균 활성 값이 4.6이기 때문에 항균 활성 값 기준으로 항균력이 99.9% 이상을 나타내었다.

Table 16. The Antibiosis Comparison of Staphylococcus Aureus (sample 1 without antibiosis agent, sample 2 with 2% natural antibiosis agent and sample 3 with 0.5% organic antibiosis agent) (Unit: CFU/Specimen)

Samples	Control sample immediately after inoculation	Control sample after 24 hours	Test sample after 24 hours	Antibiosis activity value
Sample 1	1.8×10^4	2.4×10^4	5.4×10^4	2.6
Sample 2	1.8×10^4	2.4×10^4	< 0.63	4.6(more than 99.9%)
Sample 3	1.8×10^4	2.4×10^4	< 0.63	4.6(more than 99.9%)

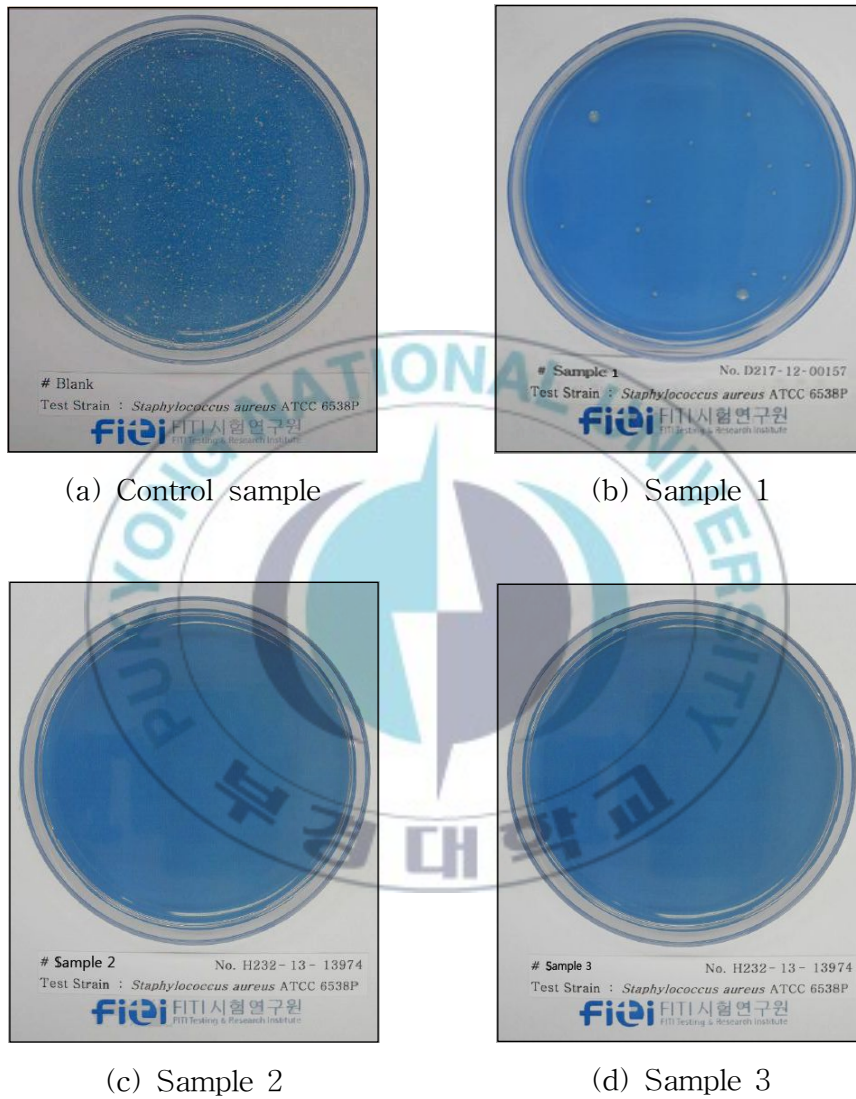


Figure 13. The antibiosis evaluation of staphylococcus aureus by tested samples(sample 1 without antibiosis agent, sample 2 with 2% natural antibiosis agent and sample 3 with 0.5% organic antibiosis agent).

Table 17, Figure 14와 같이 대장균의 경우, 초기 접종의 대조 샘플 균수는 $1.1 \times 10^4/\text{cm}^2$ 이었고, 24시간 경과 후 대조 샘플 균수는 $1.4 \times 10^4/\text{cm}^2$ 이었다. 이 때 Sample 1의 경우, 24시간 경과 후 균수가 $5.4 \times 10^5/\text{cm}^2$ 으로 항균 활성 값이 0.6이었다. 항균 활성 값이 2.0 이하이므로 대장균에 대한 항균력이 없는 것으로 나타났다.

그러나 Sample 1의 결과와 비교해서 천연 항균제와 유기 항균제를 첨가한 Sample 2, 3인 경우, 24시간 경과 후 균수가 모두 0.63미만(<0.63)으로 항균 활성 값이 6.3이기 때문에 그람 음성균인 대장균에 대하여 99.9% 이상의 우수한 균 억제력을 나타내었다.

비록 0.5% 첨가한 유기 항균제의 항균 효과가 2% 첨가한 천연 항균제의 항균 효과보다 상대적으로 더 뛰어나지만 환경적인 면을 고려한다면 천연 항균제의 개발과 사용이 필요하다고 사료된다.

Table 17. The Antibiosis comparison of Escherichia Coli(sample 1 without antibiosis agent, sample 2 with 2% natural anti-biosis agent and sample 3 with 0.5% organic antibiosis agent) (Unit: CFU/Specimen)

Samples	Control sample immediately after inoculation	Control sample after 24 hours	Test sample after 24 hours	Antibiosis activity value
Sample 1	1.1×10^4	1.4×10^4	5.4×10^5	0.6
Sample 2	1.1×10^4	1.4×10^4	<0.63	6.3(more than 99.9%)
Sample 3	1.1×10^4	1.4×10^4	<0.63	6.3(more than 99.9%)

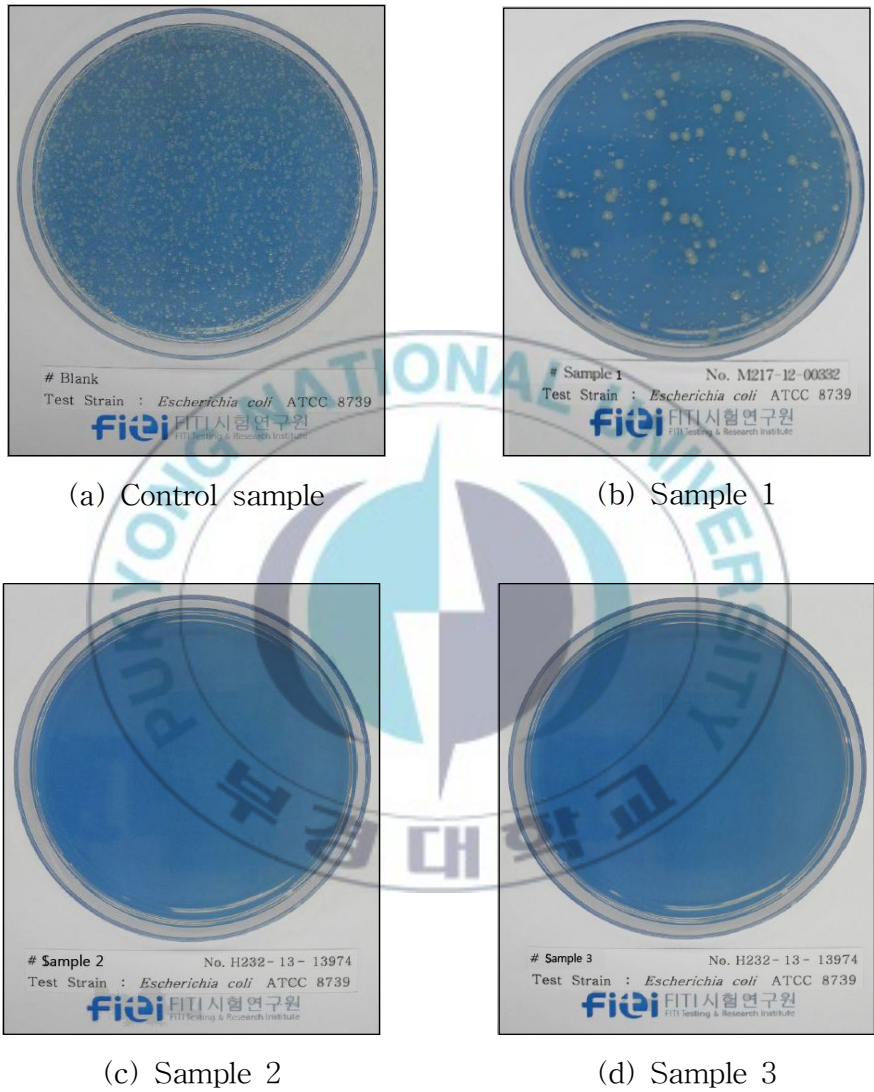


Figure 14. The antibiosis evaluation of escherichia coli by tested samples(sample 1 without antibiosis agent, sample 2 with 2% natural antibiosis agent and sample 3 with 0.5% organic antibiosis agent).

4-3. 솔리드 인쇄의 농도 값을 이용한 평가

솔리드 인쇄 농도는 잉크를 사용하여 재현할 수 있는 컬러 범위와 깊이를 결정해 주기 때문에 중요하다. 중성 농도가 0.08 이하인 백색 바탕을 인쇄물 아래에 넣고 측정된 인쇄물의 농도 값을 Table 18에 나타내었다.

Table 18과 같이 Cyan 잉크의 3가지 천연 향균 추출물을 각각 2% 첨가한 잉크 샘플들의 농도 값은 Sample A 1.44, Sample B 1.48, Sample C는 농도 값이 1.41을 나타내었다. ISO 12647-2와 GRACoL G7 기준 농도 값 1.45와 비교하여 제작된 샘플 모두 근사한 차이를 나타내었다. 특히 Sample B는 농도 차이가 +0.03을 나타내어 가장 우수하였으며, Sample C는 농도 차이가 -0.04를 나타내어 가장 좋지 않았다. 그러나 국제 표준 농도 값의 허용 오차 ± 0.05 및 ± 0.10 범위 내에 모두 존재하므로 향균제 첨가에 따른 인쇄 적성 문제는 적은 것으로 향균성 오프셋 잉크로 충분히 사용 가능함을 알 수 있었다.

Table 18. The Density Value of Antibiosis Solid Printing Samples' against ISO 12647-2 Paper Type 2 and GRACoL G7 Standard Density Value

Ink	Density value of solid printing area				
	Sample A	Sample B	Sample C	ISO 12647-2 Paper Type 2	GRACoL G7
Cyan	1.44	1.48	1.41	1.45(± 0.05)	1.45(± 0.10)
Magenta	1.40	1.42	1.45	1.45(± 0.05)	1.45(± 0.10)

또한 Magenta 잉크의 세 가지 천연 향균 추출물을 각각 2% 첨가한 잉크 샘플들의 농도 값은 Sample A 1.40, Sample B 1.42, Sample C는 농도 값이 1.45를 나타내었다. ISO 12647-2와 GRACoL G7 기준 농도 값 1.45와 비교

하여 제작된 샘플 모두 근사한 차이를 나타내었다. 특히 Sample C는 농도 차이가 0을 나타내어 가장 우수하였으며, Sample A는 농도 차이가 -0.05를 나타내어 가장 좋지 않았다. 그러나 국제 표준 농도 값의 허용 오차 ± 0.05 및 ± 0.10 범위 내에 모두 존재하므로 항균제 첨가에 따른 인쇄 적성 문제는 적은 것으로, 항균성 오프셋 잉크로 충분히 사용 가능함을 알 수 있었다.

4-4. 솔리드 인쇄의 측색 값에 의한 평가

본 실험에서 제조한 항균성 오프셋 잉크의 Cyan과 Magenta가 오프셋 잉크의 국제 표준 규격인 ISO 12647-2와 GRACoL G7 규격에 부합하는가를 확인하기 위해 테스트 인쇄한 후, 항균별 솔리드 잉크의 CIEL*a*b* 측색 값과 색차를 구한 결과는 Table 19, 20과 같다.

Table 19와 같이 서로 다른 3종류의 항균제별 Cyan 잉크의 솔리드 CIEL*a*b* 값이 모두 유사하게 재현되었으며, 또한 항균제별 ISO 12647-2/GRACoL G7 규격과의 비교에서도 L*값이 1.1이하, a*값은 1.7이하, b*값은 2 이하로 국제 규격과 비교적 부합됨을 알 수 있었다.

특히 항균제별 각 샘플과 ISO 12647-2/GRACoL G7 규격과의 색차를 구한 결과, 결명자를 항균제로 한 Sample A가 2.61, 솔잎을 항균제로 한 Sample B가 2.51, 약쭉을 항균제로 한 Sample C가 1.98로 허용 오차 4.0 범위 안에 모두 포함됨을 확인하였다. 특히 Sample C인 경우, 다른 항균제 샘플보다 가장 근접한 결과를 나타내었다.

Table 20과 같이 Magenta 잉크의 솔리드 CIEL*a*b* 값도 Cyan 잉크와 같이 모두 유사하게 재현되었으며, 또한 항균제별 ISO 12647-2/GRACoL G7 규격과의 비교에서도 L*값은 0.9 이하, a*값은 1.7 이하, b*값은 1.6 이하로 국제 규격과 비교적 부합되게 재현되었다. 특히 항균제별 각 샘플과

ISO 12647-2/GRACoL G7 규격과의 색차를 구한 결과, Sample A가 2.34, Sample B는 1.84, Sample C는 1.65로 허용 오차 4.0 범위 안에 모두 포함됨을 확인하였다. 특히 Sample C인 경우가 Cyan 잉크 때와 같이 다른 항균제 샘플보다 가장 근접한 결과를 나타내었다.

따라서 항균제 첨가에 따른 인쇄 적성 문제는 적은 것으로 평균 오프셋 잉크로 충분히 사용 가능하다고 사료된다.

Table 19. The Comparison of the CIEL*a*b* Values and ΔE^*_{ab} in Samples (Cyan ink solid) and ISO 12647-2/GRACoL G7 Standard

CIEL*a*b*	Cyan ink solid			ISO 12647-2 /GRACoL G7	ΔE^*_{ab}			Tolerance ΔE^*_{ab}
	Sample A	Sample B	Sample C		Sample A	Sample B	Sample C	
L*	54.84	53.92	55.31	55	2.61	2.51	1.98	4.00
ΔL^*	-0.16	-1.08	0.31					
a*	-35.3	-35.37	-35.72	-37				
Δa^*	1.70	1.63	1.28					
b*	-51.98	-51.57	-51.36	-50				
Δb^*	-1.98	-1.57	-1.36					

Table 20. The Comparison of the CIEL*a*b* values and ΔE^*_{ab} in samples (magenta ink solid) and ISO 12647-2/GRACoL G7 standard

CIEL*a*b*	Magenta ink solid			ISO 12647-2 /GRACoL G7	ΔE^*_{ab}			Tolerance ΔE^*_{ab}
	Sample A	Sample B	Sample C		Sample A	Sample B	Sample C	
L*	48.89	48.71	48.22	48	2.34	1.84	1.65	4.00
ΔL^*	0.89	0.71	0.22					
a*	75.22	75.62	75.63	74				
Δa^*	1.22	1.62	1.63					
b*	-4.55	-3.51	-3.03	-3				
Δb^*	-1.55	-0.51	-0.03					

4-5. 항균 잉크의 광택도 평가

Cyan 잉크와 Magenta 잉크의 세 가지 천연 항균 추출물을 각각 2% 첨가한 잉크 샘플들이 국제 표준 오프셋 잉크 광택도 규격을 준수할 수 있는가를 확인하기 위하여 ISO 2846-1의 조건에 따라서 광택도를 5회 측정하고, 그 평균값을 각각 계산하여 Table 21, 22에 나타내었다.

Table 21과 같이 Cyan 잉크에서 Sample A인 경우 광택도가 60.68%를 나타내었으며, Sample B는 61.72%, Sample C는 63%를 나타내었다. 특히 ISO 2846-1의 조건에 따라 측정된 광택도 표준 값이 65%인데, 이 값과 비교하여 Sample A는 광택도 차가 -4.32%, Sample B는 -3.28%, Sample C는 -2%로 다른 샘플보다 양호한 결과를 나타내었으며, 또한 ISO 2846-1 규격의 광택도 허용 오차 ± 5 범위 안에 모두 부합됨으로써 친환경 천연 항균제 오프셋 잉크로 활용 가능성을 확인하였다.

Table 21. The Gloss Measurement Value according to different Antibiosis Cyan Inks

The number of measurements	Sample A	Sample B	Sample C
1	53.9	58.4	57.2
2	63.2	62.4	64.5
3	64.5	62.8	61.6
4	61.0	62.0	62.8
5	60.8	63.0	63.0
Average value	60.68	61.72	63.0

Table 22와 같이 Magenta 잉크의 세 가지 천연 향균 추출물을 첨가(잉크 무게의 2%)한 잉크 샘플들의 광택도를 측정한 결과, Sample A는 61.16%, Sample B는 63.32%, Sample C는 65.72%를 나타내었다.

특히 ISO 2846-1의 조건에 따라 측정한 광택도 표준 값이 65%인데, 이 값과 비교하여 Sample A는 광택도 차가 -3.84%, Sample B는 -1.68%, Sample C는 +0.72%를 각각 나타냈다. 무엇보다 표준 광택도와 비교하여 Sample C가 +0.72% 차로 가장 양호한 결과를 나타내었고, Sample A는 -3.84%로 가장 큰 차이를 나타내었다.

따라서 모든 Sample들이 국제 표준 광택도 허용 범위 $\pm 5\%$ 에 포함됨으로써 향균제 첨가에 따른 광택도 적성은 양호하기 때문에 친환경 천연 향균제 오프셋 잉크로 활용 가능성을 확인하였다.

Table 22. The Gloss Measurement Value according to different Antibiosis Magenta Inks

The number of measurements	Sample A	Sample B	Sample C
1	61.2	63.8	66.0
2	62.0	62.0	67.5
3	57.7	61.3	63.1
4	62.6	64.7	66.3
5	62.3	64.8	65.7
Average value	61.16	63.32	65.72

4-6. 항균 잉크의 트래핑 효율 결과

오프셋 잉크에 유기 항균제를 0.5% 첨가하던 것을 본 연구에서는 항균성을 높이기 위해 잉크 무게의 2%를 첨가함으로써 잉크 특성 변화에 영향을 줌에 따른 인쇄 적성을 확인하기 위하여 트래핑 효율을 구하였다. 그 결과를 Table 23에 각각 나타내었다. 이 때 인쇄 순서는 ISO 12647-2의 paper type 2 matte-coated, wood-free 규격의 인쇄용지에 일반 인쇄 순서와 동일하게 Cyan 잉크 위에 Magenta 잉크로 인쇄하였다.

Table 23과 같이 항균제가 포함되지 않은 잉크를 기준으로 하여 트래핑 효율을 확인한 결과 Sample A는 82%로 동일한 결과를 나타내었으며, Sample B와 C도 각각 81%로 항균제가 포함되지 않은 잉크와 비교하여 1%의 근사한 차이로 계측 장비의 허용 오차 범위를 고려한다면 매우 유사한 트래핑이 가능함을 알 수 있었다.

따라서 천연 항균제 첨가량이 비교적 높았지만 잉크 특성 변화에 영향이 적었으므로 이러한 결과에서 친환경 항균제 첨가량의 허용도가 비교적 넓은 것을 알 수 있었다.

Table 23. The Trapping Efficiency by different Antibiosis Inks

Items	Standard (Non antibiosis)	Sample A	Sample B	Sample C
Ink 1(Cyan density)	1.48	1.46	1.45	1.44
Ink 2(Magenta density)	1.38	1.42	1.39	1.43
Trapping efficiency	82%	82%	81%	81%

5. 결 론

본 연구는 천연 항균성 오프셋 잉크 개발에 관한 연구로서 세 가지 천연 물질을 이용하여 천연 항균제 성분을 추출하였고, 추출한 항균제를 이용하여 천연 항균성 오프셋 잉크를 개발한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 용매 추출법과 냉동 건조법으로 추출하여 파워드링한 항균제의 수율은 결명자가 7.6%, 솔잎은 21.8%, 약쭉은 5.1%으로 세 가지 샘플 중 솔잎이 가장 수율이 양호하였고, 약쭉은 수율이 가장 낮았다. 또한 생육 환경의 직경에 따라 항균력을 비교한 결과, 포도상구균과 대장균 모두에서 솔잎의 항균 효과가 11.0mm와 10.5mm로 가장 우수하였으며, 다음은 10.5mm와 10mm인 결명자이었고, 95mm와 90mm로 약쭉 순으로 나타났다.
2. 천연 항균제 세 가지를 첨가한 오프셋 잉크의 항균 실험에서 양성균인 포도상구균과 그람 음성균인 대장균에 대하여 99.9% 이상의 우수한 균 억제력을 나타내었다. 또한 항균제를 첨가하지 않은 잉크의 경우, 포도상구균에 대한 항균 활성 값이 2.6으로 균 억제력은 낮지만 항균력이 있는 것으로 판정되었고, 대장균에서는 항균 활성 값이 0.6으로 항균력이 없는 것으로 나타났다. 뿐만 아니라 0.5%의 유기 항균제를 첨가한 잉크와 2%의 천연 항균제를 첨가한 잉크를 비교한 결과 동일한 항균력을 나타내었다.
3. 항균제별 솔리드 인쇄 샘플의 농도 값과 ISO 12647-2 paper type

2/GRACoL G7 기준 농도 값을 비교한 결과, 허용 오차 ± 0.05 및 ± 0.10 범위 내에 모두 존재하였다.

4. 항균제별 각 샘플과 ISO 12647-2/GRACoL G7 규격과의 색차를 구한 결과, 허용 오차 4.0 범위 안에 모두 포함되었고, 약속 항균제를 첨가한 Sample C가 가장 양호한 결과를 나타내었다.

5. Sample A, B, C의 Cyan과 Magenta 잉크의 광택도를 측정한 결과, 국제 표준 광택도 허용 범위 $\pm 5\%$ 에 포함됨으로써 항균제 첨가에 따른 광택도 적성은 양호하였다.

6. 트래핑 효율을 측정한 결과, Sample A는 82%로 동일한 결과를 나타내었으며 Sample B와 C도 각각 81%로 항균제가 포함되지 않은 잉크와 비교하여 1%의 근사한 차이로 계측 장비의 허용 오차 범위를 고려한다면 매우 유사한 트래핑 효율을 나타내었다.

따라서 본 실험에서 추출한 천연 항균제가 오프셋 잉크의 항균제로 활용 가능성을 확인하였고, 앞으로 최적의 항균제 첨가 비율을 찾아서 C, M, Y, K 4색의 천연 항균성 오프셋 잉크의 개발뿐만 아니라 식용 가능한 잉크에 활용할 수 있도록 해야 할 것이다.

References

- 1) Han-Wool Kim, So-Hyung Kim, Sun-Young Park and Mi-Young Lee, "Development of environmentally benign inorganic bactericide and studies of its efficacy", *Journal of academia-industrial technology* Vol. 7, No. 5, pp. 935-939 (2006).
- 2) Huang Wentao, Chen Guangxue, Tang Baoling And Yu Mingguang, "Study on Property of Anti-bacterial UV Ink with Zinc-copper", *Advanced Materials Research* Vol. 549 pp 54-59 (2012).
- 3) Seung Ho Han, Na Ri Yah Woo, Song Deuk Lee, and Myung Hwa Kang, "Antioxidative and Antibiosis Activities of Endemic Plants Extracts in Korea", *Korean J. Medicinal Corp Sci* 14(1) pp 49-55 (2006).
- 4) Hwa-Young Cho, Sung-Yong Yoon, Jeong-Jin Park, Kung-Won Yun, and Jong Moon Park, "Antimicrobial Activity of Water-soluble Extract from *Artemisia Princeps* var. *orientalis*", *Korean J. Biotechnol, Bioeng.* Vol. 21, No. 2, pp 129-132 (2006).
- 5) Seok Kyu Park and Jong Cheol Park, "Antimicrobial Activity of Extracts and Coumaric Acid Isolated from *Artemisia princeps* var. *orientalis*", *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* Vol. 9. No. 5. pp 506-511 (1994).
- 6) Gee-Dong Lee, Jeong-Sook Kim, Jae-Oh Bae and Hyung Sik Yoon, "Antioxidative Effectiveness of Water Extract and Ether Extract in Wormwood(*Artemisia montana* Pampan)", *J Korean Soc. Food Nutr.* 21(1), pp 17-22 (1992).

- 7) Suck-J in Seo, Sang-Hoon Kang, "The Optimal Solid Print Density Setting Method for Sheetfed Offset Printing", Journal of the Korean Graphic Arts Communication Society, Vol. 27, No. 1, pp. 15-27 (2009).
- 8) Mi-Bo Kim, Sun-Hee Hyun, Jae-Sung Park, Mi-Ae Kang, Young-Hwan Ko, and Sang-Bin Lim, "Integral Antioxidative Capacity of Extracts by Pressurized Organic Solvent from Natural Plants in Jeju" J Korean Soc Food Sci Nutr 37(11), pp. 1491-1496 (2008).
- 9) Sang-Hoon Kang, "Printing Density and Ink Trap of 2-color Halftone Dot Overprinting", Journal of the Korean Graphic Arts Communication Society Vol. 14, No. 2, pp. 51-63 (1996).
- 10) Kim JP. "A study on development of natural antioxidants", Bioind News 11: pp. 6-14 (1998).
- 11) Song JW, Min KJ, and Cha CG. "Antioxidative and antitumor activity of extracts from Saussurea lappa", J Env Hlth Sci 34: pp. 55-61 (2008).
- 12) Kim JW, Moon BS, Park YM, Yoo NH, Ryoo IJ, Nguyen TC, Yoo ID, and Kim JP. "Structures and antioxidant activity of diketopiperazines isolated from the mushroom Sarcodon aspratus", J Korean Soc Appl Biol Chem 48: pp. 93-97 (2005).
- 13) Kang MC, Lee JY, Lee JA, Han JH, Kim BS, and Kim GO. "Antioxidant effects and melanin inhibitory effect of natural Pimpinella komarovii extracts in Jeju island", Korean J Biotechnol Bioeng 23: pp. 77-82 (2008).

- 14) Huang MT, Ho CT, and Lee C. "Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health (II), Antioxidants and Cancer Prevention." ACS Symp Series 507. American Chemical Society, Washington, DC. pp. 54-71 (1992).
- 15) Mukhopadhyay S, Luthria DL, and Robbins RJ. "Optimization of extraction process for phenolic acids from black cohosh (*Cimicifuga racemosa*) by pressurized liquid extraction", *J Sci Food Agric* 86: pp. 156-162 (2006).
- 16) Lee YJ, Shin DH, Chang YS, and Kang WS. "Antioxidative effect of *Rhus javanica* Linne extract by various solvents", *Korean J Food Sci Technol* 25: pp. 677-682 (1993).
- 17) Peschel W, Sanchez-Rabaneda F, Diekmann W, Plescher A, Gaetzia A, Gartzia I, Jimenez D, Lamuela-Raventos R, Buxaderas S, and Codina C. "An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes", *Food Chem* 97: pp. 137-150 (2006).
- 18) Besco E, Braccioli E, Vertuani S, Ziosi P, Brazzo F, Bruni R, Saccetti G, and Manfredini S. "The use of photochemiluminescence for the measurement of the integral antioxidant capacity of baobab products", *Food Chem* 102: pp. 1352-1356 (2007).
- 19) Chiou A, Karathanos VT, Mylona A, Salta FN, Preventi F, and Andrikopoulos NK. "Currants (*Vitis vinifera* L.) content of simple phenolics and antioxidant activity", *Food Chem* 102: pp. 516-522 (2007).
- 20) Hyun SH, Jung SK, Jwa MK, Song CK, Kim JH, and Lim SB.

- "Screening of antioxidants and cosmeceuticals from natural plant resources in Jeju island", Korean J Food Sci Technol 39: pp. 200-208 (2007).
- 21) Kim IW, Shin DH, and Choi U. "Isolation of antioxidative components from the bark of *Rhus verniciflua* S. screened from some chinese medical plants", Korean J Food Sci Technol 31: pp. 885-863 (1999).
- 22) Ra KS, Suh HJ, Chung SH, and Son JY. "Antioxidant activity of solvent extract from onion skin", J Food Sci Technol 29: pp. 595-600 (1997).
- 23) Kim H, and Lee SW. "The effects of quercetin on paraquat-induced cell damage", J Korean Soc Emerg Med 18: pp. 41-47 (2007).
- 24) Kim MK. "Formation of superoxide anion in the autoxidation of L-ascorbic acid in the presence of heavy metal ions", Korean J Food Sci Technol 33: pp. 378-383 (2001).
- 25) Tisser and Robert, " Essential oil safety: a guide for health care professionals", Churchill Livingstone. (1995).