

식물추출물 싸임화이트, 클로브버드, 계피, 라벤더, 레몬 유칼립투스 정유의 생태독성평가

유아선 · 최영웅 · 정미혜 · 홍순성 · 박연기 · 장희섭 · 박재읍 · 박경훈*

국립농업과학원 농산물안전성부

(2011년 9월 4일 접수, 2011년 10월 19일 수리)

Acute Ecotoxicity Evaluation of Thyme White, Clove Bud, Cassia, Lavender, Lemon Eucalyptus Essential Oil of Plant Extracts

Are-Sun You, Young-Woong Choi, Mi-Hye Jeong, Soon-Seong Hong, Yeon-Ki Park, Hui-Sub Jang, Jae-Yup Park and Kyung-Hun Park*

Department of Crop Life Safety, National Academy of Agricultural Science, Suwon 441-707, Korea

Abstract

Environment-friendly agro-materials tend to be preferred to chemical insecticides recently. For this reason, many studies were conducted to develop environment-friendly insecticides containing natural materials. The purpose of this study was to assess ecotoxicity for 5 plant essential oils (Thyme white, Clove bud, Cassia, Lavender, Lemon eucalyptus) expected to prevent from pests and be used for agro-materials. Target species used to assess acute toxicity were aquatic invertebrate (*Daphina magna*), fish (*Oryzias latipes*), honeybee (*Apis mellifera* L.) and earthworm (*Eisenia fetida*). The EC₅₀ value, toxicological responses of thyme white, clove bud, and cassia to *Daphina magna* were 2.5, 2.8, and 6.9 mg L⁻¹ respectively and these values were moderately toxic according to standard of USEPA. EC₅₀ of Lavender and lemon eucalyptus were >10 mg L⁻¹ then they were considered as slightly toxicity. In case of acute toxicity test to fish, LC₅₀ of thyme white and cassia were 6.7 and 7.5 mg L⁻¹ each other. The other plant essential oils indicated LC₅₀ >10 mg L⁻¹. Acute contact and oral toxicity test to Honeybee were conducted. As a result, LD₅₀ of all essential oils were >100 μg a.i. bee⁻¹ in both of tests. In case of acute toxicity test to earthworm, LC₅₀ of thyme white, clove bud, cassia, lavender, and lemon eucalyptus were 149, 230, 743, 234, and 635 mg kg⁻¹, respectively. In conclusion, if the safety for earthworm is confirmed, 5 plant essential oils are expected to be use for environment-friendly insecticide materials with low risk against ecosystem and contribute to developing environment-friendly agro-materials.

Key words Plant Essential Oils, Ecotoxicity, *Daphina magna*, *Oryzias latipes*, *Apis mellifera* L., *Eisenia fetida*

서 론

화학합성 살충제의 오남용으로 인한 환경오염문제와 더불어 국민들의 삶의 질 향상으로 환경 친화적인 농약과 안전한

농산물에 대한 관심이 증대되고 있다. 그런 이유로 광범위한 살충효과를 보이며 환경에는 큰 영향을 주지 않는 친환경자재를 탐색하려는 연구가 활발히 이루어지고 있다(Saxena, 1989). 그 중 식물추출물을 이용한 친환경 작물보호제는 살충제, 곤충기피제 및 식식저해제로서 성공적으로 개발 및 이용되어지고 있으며(Schmutterer, 1980), 식물추출 화합물은

*연락처 : Tel. +82-31-290-0590, Fax. +82-31-290-0508

E-mail: sikyale@korea.kr

다양한 생물활성물질들을 함유하고 있고(Wink, 1993), 포유류 인 인축에는 거의 해가 없기 때문에 친환경 농업에서는 새로운 해충방제 자재로 인식되고 있다(Arnason 등, 1989). Pyrethrin 이나 rotenone과 같은 식물체 유래 살충 물질들은 160여 년 전부터 상업화되어 이용되고(Isman, 1999), neem 유래 식물 살충제는 세계 39개국에서 150종 이상의 제품이 생산되고 있다(Koul, 2004).

싸임화이트(*Thymus zygis*)는 빨간집모기(*Culex pipiens pallens*)성충에 대한 살충효과를 가지고 있고(Kang 등, 2006), 항산화의 활성이 있다(Soares 등, 1997). 클로브버드(*Eugenia caryophyllata* bud)는 향당노병(Prasad 등, 2005), 항염증(Srinivasan, 2005), 마취효과(Cooke 등, 2004), 항균성(Mytle 등, 2006), 항진균(Gowda 등, 2004)등의 다양한 약리적 활성을 가지고 있다고 밝혀졌고, 클로브버드 정유의 주요 구성 성분은 eugenol(2-methoxy-4-(2-propenyl)-phenol), eugenol acetate, β -caryophyllene 으로 효과를 나타내는 정확한 성분이 무엇인지는 밝혀지지 않았지만, 최근 eugenol에 의한 다양한 약리활성 작용이 연구되어지고 있다(Nishijima 등, 1998). 계피(*Cinnamomum cassia Blume*)는 두통, 발열, 신경성심계항진, 진통 및 감기 등의 치료에 많이 사용되고(Chang 등, 1998; 육, 1990), 계피의 생리활성 작용으로는 항균효과(Bang 등, 1997; Jeong 등, 1998a; Yang 등, 2001), 항돌연변이원성(Jeong 등, 1998b), 항암효과(Chung 등, 1999)등의 다양한 연구가 보고되고 있다. 라벤더(*Lavendula angustifolia*)추출물은 방충효과(Park, 2003)가 있으며, 주성분인 linalyl acetate, linalool은 항염, 항산화, 항균 등의 생리활성을 갖는다(Mazzanti 등, 1998). 레몬유칼립투스(*Eucalyptus citriodora*)의 주성분은 citral로 항균성, 항암 및 항산화 등의 활성이 있고(Onawunmi 등, 1984), 정유 함유량 및 노출시간 의존적으로 털진드기 살비력이 증가한다는 연구가 있다(Jo 등, 2008).

이러한 식물유래 추출물을 이용한 친환경 농자재 제품개발에 앞서 식물추출물의 환경에 대한 영향을 평가함으로써 제품으로 활용가능 여부를 판단할 필요성이 있다. 따라서, 본 연구에서는 싸임화이트, 클로브버드, 계피, 라벤더, 레몬유칼립투스 정유의 수생생물과 육생생물에 대한 생태독성시험을 통해 환경에 대한 안전성을 평가하고자 수행하였다.

재료 및 방법

시험물질

시험에 사용된 시료는 싸임화이트 정유(30%), 클로브버드

정유(30%), 계피 정유(30%), 라벤더 정유(30%), 레몬유칼립투스 정유(30%)가 각각 함유된 액체로 (주)내츄로바이오텍으로부터 제공받아 사용하였다.

식물추출물의 물벼룩에 대한 독성평가

시험생물

물벼룩 급성독성 평가에 사용된 물벼룩(*Daphnia magna*)은 국립농업과학원 농자재평가과에서 계대 사육하고 있는 물벼룩을 사용하였다. 사육조건은 수온이 $20 \pm 1^\circ\text{C}$, 광주선 16시간, 암조건 8시간으로 하였으며 물벼룩 먹이로는 순수배양 시킨 녹조류(*Chlorella vulgaris*)를 $1 \times 10^5 \sim 2.5 \times 10^6$ cells ml⁻¹의 농도로 공급하였다. 물벼룩 사육수(M4)는 인공으로 조제하여 사용하였다.

물벼룩 급성 유영저해시험

식물추출물의 물벼룩에 대한 급성유영저해시험은 우리나라의 농약등록 시험기준과 방법(농촌진흥청, 2010)에 준하여 시험하였다. 시험에 사용한 물벼룩은 생후 24시간 미만의 건강한 어린개체를 채집하여 사용하였다. 시험방법은 125 ml 원형 유리 비이커에 사육수 100 ml을 채운 후 농도별로 아세톤(acetone)에 희석 조제한 시험용액을 처리하고 대조군에는 용매인 아세톤을 처리하여 각 수조에 물벼룩을 10마리씩 3반복으로 하여 시험농도당 총 30마리의 물벼룩을 사용하였다. 노출방식은 지수식(static)으로 하였으며 노출시간은 48시간이었다. 수온은 대조군에서 매일 측정하였고 광주선은 16시간, 암조건은 8시간으로 하였다. 시험기간 중에는 산소와 먹이는 공급하지 않았다.

시험시작 후 24시간과 48시간에 치사 또는 유영저해(immobilisation)를 받은 개체와 이상증상을 관찰하였다. 유영저해의 판정은 유리막대로 시험수를 시계방향으로 1~2회 저어준 후 약 15초간 관찰하여 움직이지 않거나 정상적인 유영을 하지 못하는 개체는 영향을 받은 것으로 간주하였고, 독성증상은 육안으로 관찰하여 기록하였다. 시험기간 동안 시험용액의 pH는 시험시작 전과 종료시에 측정하였다.

식물추출물의 어류에 대한 독성평가

시험생물

담수어류 급성독성시험에 사용한 시험어종은 송사리(*Oryzias latipes*)로서 국립농업과학원 농자재평가과에서 실내 계대 사육중인 송사리를 사용하였으며, 개체 중 전장 2~3 cm의 건강하고 균일한 개체를 사용하였다.

어류 급성독성시험

식물추출물의 어류에 대한 급성독성시험은 우리나라의 농약 등록시험 기준과 방법(농촌진흥청, 2009)에 준하여 시험하였다. 6 L 원형 유리수조(직경 20×높이 26 cm)에 농도별 시험용액 5 L를 채우고 농도별로 아세톤(acetone)에 희석 조절된 시험용액을 처리하였다. 대조군에는 용매인 아세톤을 처리시험농도당 10마리(암 5 : 수 5)씩 반복 없이 넣은 후 시험기간 동안 시험용액을 교체하지 않는 지수식(static)으로 시험하였다. 시험기간 동안 먹이와 산소는 공급하지 않았으며, 온도는 $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 광주진 16시간, 암조진 8시간으로 유지하였다.

시험시작 후 4시간 및 24시간 마다 치사어 및 독성증상을 관찰하여 기록하였고 치사한 개체는 발견 즉시 제거하였다. 시험기간 동안 시험용액의 pH는 24시간마다 모든 농도에서 측정하였으며 수온은 대조군에서만 측정하였다.

식물추출물의 꿀벌에 대한 독성평가

시험생물

급성독성시험에 사용한 시험종은 서양종 황색 꿀벌(*Apis mellifera* L.)로서 농업과학기술원 농자재평가과에서 관리하는 봉군에서 건강한 일벌을 채집하여 사용하였다.

꿀벌 급성접촉독성시험

식물추출물의 꿀벌에 대한 급성접촉독성시험은 우리나라의 농약 등록시험 기준과 방법(농촌진흥청, 2009)에 준하여 시험하였다.

벌통에서 채집한 건강한 일벌을 CO₂ 가스로 마취한 다음 5농도 3반복으로 미리 준비한 원통형 스테인리스망 케이지(직경 50×높이 150 mm)에 순차적으로 10마리씩 넣은 후 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 의 암조건에 3시간동안 두어 회복시킨 다음 시험에 사용하였다. 마취에서 깨어난 케이지 안에 10마리씩 수용된 꿀벌

들을 다시 CO₂ 가스로 마취시킨 후 여과지 위에 올려놓고 각 꿀벌의 흉부에 농도별로 아세톤(Acetone)을 이용하여 희석 조절된 시험용액 1 μl 를 미량국소처리주사기를 사용하여 처리하였으며 대조군에는 용매로 사용된 아세톤을 처리하였다. 약제 처리를 끝낸 꿀벌은 다시 케이지에 옮겨 담고 50% 자당용액 2 μl 를 넣은 유리 급식관을 스펀지마개에 꽂아 온도 $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 50~70%의 암실에 두면서 4시간 및 24시간과 48시간의 꿀벌 치사 및 이상증상을 관찰하였다(Fig. 1).

꿀벌 급성섭식독성시험

식물추출물의 꿀벌에 대한 급성섭식독성시험은 우리나라의 농약 등록시험 기준과 방법(농촌진흥청, 2009)에 준하여 시험하였다.

접촉독성과 동일한 방법으로 채집한 꿀벌을 원통형 스테인리스망 케이지에 넣고 50% 자당용액에 증류수에 희석한 시험물질을 혼합하여 농도별로 조절된 시험용액을 사용하였고, 대조군에는 50% 자당용액을 이용하여 유리급식관에 0.2 ml 씩 넣어 케이지 마개에 꽂아두고 4시간 후에 관찰하여 전량 섭취한 케이지에는 50% 자당용액으로 교체하고 섭취가 끝나지 않은 케이지는 6시간까지 관찰한 뒤 새로운 50% 자당용액으로 교체한다. 실험 케이지는 암실에 두면서 24시간과 48시간의 꿀벌 치사율 및 이상증상을 관찰하였으며 시험용액의 섭취량은 시험시작 전과 종료 후에 기록하였다.

식물추출물의 지렁이에 대한 독성평가

시험생물

급성독성시험에 사용한 시험종은 줄지렁이(*Eisenia fetida*)로서 농업과학기술원 농자재평가과 생태독성 실험실에서 사육중인 지렁이 중 코균에서 부화하여 2개월 이상 성숙하고, 무게가 300~600 mg 정도의 건강하고 균일한 개체를 사용하였다.

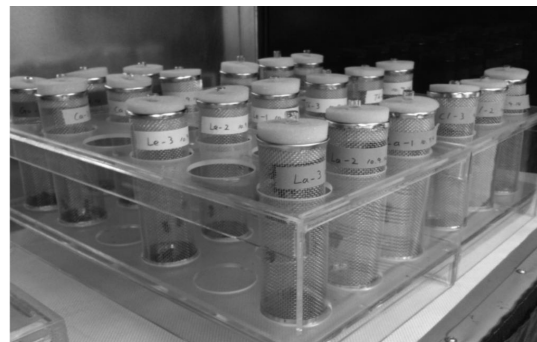


Fig. 1. Image of acute contact toxicity of plant essential oils on honeybee (*Apis mellifera* L.).

인공토양 조제

인공토양은 sphagnum peat와 kaolin clay 및 산업용 모래를 각각 1 : 2 : 7의 비율로 500 g이 되게 조제하였다. sphagnum peat는 pH 5.5~6.0인 식물이 남아있지 않는 분말상으로 건조된 것과 kaolin clay는 kaolinite 함량이 30% 이상인 것 그리고 산업용 모래는 입경이 50~200 μm 이고 함량이 50% 이상인 것을 시중에서 구입하여 사용하였다. 인공토양의 pH는 6.0 ± 0.5 가 되도록 CaCO_3 를 일정량 첨가하여 소형 믹서기를 이용하여 잘 혼합한 후 시험에 사용하였다.

지렁이 급성독성시험

식물추출물의 지렁이에 대한 급성독성시험은 우리나라의 농약 등록시험 기준과 방법(농촌진흥청, 2009)에 준하여 시험하였다. 시험방법은 2 L 유리수조(직경 20×높이 26 cm)에 조제된 인공토양 500 g을 넣고 아세톤(acetone)에 희석 조제한 농도별 시험용액을 미리 덜어낸 인공토양 10 g에 뿌린 뒤 흡후드에서 아세톤을 날아갈 때까지 방치한 후 인공토양과 혼합하고 증류수 175 ml을 첨가하여 최종 수분함량이 40%가 되게 하였다. 대조군에는 용매로 사용한 아세톤을 처리하였다. 시험조건으로 온도는 $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 광(光)은 400~800 Lux가 되도록 형광등을 사용하여 시험기간 내내 조사(照射)하였다. 시험물질을 농도별로 처리한 인공토양이 담긴 시험용기에 10마리씩 반복 없이 지렁이를 투입하고 통풍이 원활하게 만든 뚜껑을 덮고 Parafilm으로 감아 시험을 실시했다. 약제처리 후 7일과 14일에 형태이상, 행동변화, 치사 등을 관찰하였으며 인공토양의 pH 및 지렁이의 체중은 시험전과 시험 종료 후에 측정하였다.

통계처리

시험결과는 probit(EPA version 1.5)법을 이용하여 EC_{50} , LC_{50} , LD_{50} 값과 95% 신뢰한계를 구하였다.

결과 및 고찰

물벼룩 급성독성

식물추출물 싸임화이트, 클로브버드, 계피, 라벤더, 레몬유칼립투스 정유에 대한 물벼룩급성유영저해시험의 기초시험을 실시한 결과, 라벤더와 레몬유칼립투스 정유는 기초시험 농도 10 mg L^{-1} 에서 치사 및 유영저해가 나타나지 않아 EC_{50} 가 10 mg L^{-1} 이상이었다. 싸임화이트 정유는 100%, 클로브버드 정유는 90%, 계피 정유는 87%의 치사 및 유영저해를 보여 10% 이상의 영향이 나타났으므로 예비시험과 본시험을

Table 1. Result of acute toxicity of test materials to *Daphnia magna*

Test materials	EC_{50} , mg L^{-1}	
	24 h	48 h
Thyme white	3.8 (3.2~4.6)*	2.5 (2.2~2.8)
Clove bud	7.0 (5.5~9.4)	2.8 (2.4~3.3)
Cassia	9.4 (8.6~10.2)	6.9 (6.4~7.5)
Lavender	>10	>10
Lemon eucalyptus	>10	>10

*95% confidence limits

실시하였다. 싸임화이트는 0, 0.5, 1, 2, 4, 8 mg L^{-1} 의 농도를 처리하였으며 클로브버드는 0, 0.9, 1.8, 3.6, 7.2, 14.4 mg L^{-1} , 계피는 4.0, 5.6, 7.8, 11, 15.4 mg L^{-1} 의 농도를 처리하여 본시험을 실시하였다.

Table 1에서 보는 바와 같이 싸임화이트, 클로브버드, 계피 정유의 물벼룩 급성유영저해시험 결과, 24시간 EC_{50} 값은 각각 3.8, 7.0, 9.4 mg L^{-1} 이었고, 48시간 EC_{50} 값은 2.5, 2.8, 6.9 mg L^{-1} 로 각각 나타났다. 대조군에서는 치사 및 유영저해 개체가 나타나지 않았다.

USEPA의 담수무척추동물 독성기준을 보면, 매우 강한 독성(very highly toxic) $<0.1 \text{ mg L}^{-1}$, 강한 독성(highly toxic) $0.1\sim 1 \text{ mg L}^{-1}$, 보통 독성(moderately toxic) $>1\sim 10 \text{ mg L}^{-1}$, 약한 독성(slightly toxic) $>10\sim 100 \text{ mg L}^{-1}$, 거의 독성 없음(practically non-toxic) $>100 \text{ mg L}^{-1}$ 으로 구분되어 있다. 싸임화이트, 클로브버드, 계피 정유의 경우 보통독성의 정도를 보였고, 몇몇 개체가 수면에 뜨는 유영이상이 관찰되었다. 라벤더, 레몬유칼립투스 정유의 48시간 EC_{50} 값은 모기유충에 효과가 있는 미나리과 추출물인 캐러웨이($\text{EC}_{50}=12.15 \text{ mg L}^{-1}$), 달($\text{EC}_{50}=13.06 \text{ mg L}^{-1}$)(Park, 2010)와 같이 10 mg L^{-1} 이상으로 낮은 독성이 나타났으며 유영이상 증상을 보이지 않았다.

송사리 급성독성

클로브버드, 라벤더, 레몬유칼립투스 정유는 기초시험 농도 10 mg L^{-1} 에서 치사가 나타나지 않아 반수치사농도(LC_{50})는 10 mg L^{-1} 이상이었다. 싸임화이트, 계피 정유는 전원치사를 보여 예비시험과 본시험을 실시하였는데 본시험에서 싸임화이트와 계피는 5.0, 6.0, 7.2, 8.6, 10.4 10 mg L^{-1} 의 농도를 처리하여 치사율을 관찰하였다. 싸임화이트와 계피 정유

의 LC₅₀는 각각 6.7 mg L⁻¹, 7.5 mg L⁻¹로 나타났고(Table 2), 대조군에서는 치사개체가 나타나지 않았다. 이 결과는 제충국의 살충 성분인 피렌스린을 모태로 하고 있는 피레스로이드(pyrethroid)계 농약인 esfenvalerate(LC₅₀ ≤ 9.4 μg L⁻¹) (Werner 등, 2002)보다 무려 1/1000배 차이의 독성을 보였다. 또한, 식물정유들에 대한 어류의 반수치사농도는 2 mg L⁻¹ 이상임으로 농촌진흥청 고시에 따라 III급 농약으로 구분할 수 있다(농촌진흥청, 2009). 48시간과 96시간의 LC₅₀가 같은 것으로 보아 48시간 이후에는 독성 증상이 더 이상 진행되지 않았음을 알 수 있었다.

꿀벌 급성섭식 및 접촉독성

꿀벌 급성독성시험 결과 접촉과 섭식독성 시험에 대한 기초시험을 실시한 결과, 100 a.i. μg bee⁻¹ 약량에서 싸임화이트 정유의 섭식독성 시험을 제외한 모든 정유에서 치사개체가 10% 미만으로 나타나(농촌진흥청, 2009) LD₅₀는 100 a.i. μg bee⁻¹ 이상이였다. 싸임화이트 정유는 섭식독성의 기초시험에서 47%의 치사율을 보여 예비시험과 본시험을 실시하였는데 싸임화이트 0, 50, 75, 113, 169, 253 a.i. μg bee⁻¹의 농도를 처리한 결과, 24시간과 48시간의 LD₅₀ 값이 각각 207,

Table 2. Result of acute toxicity of test materials to Medaka (*Oryzias latipes*)

Test materials	LC ₅₀ , mg L ⁻¹	
	24 h	48 h
Thyme white	6.7 (6.2~7.2)*	6.7 (6.2~7.2)
Cassia	7.5 (6.9~8.1)	7.5 (6.9~8.1)
Clove bud	>10	>10
Lavender	>10	>10
Lemon eucalyptus	>10	>10

*95% confidence limits

Table 3. Result of acute toxicity of test materials to honeybee (*Apis mellifera* L.)

Test materials	Contact toxicity (a.i. μg bee ⁻¹)		Oral toxicity (a.i. μg bee ⁻¹)	
	24 h-LD ₅₀	48 h-LD ₅₀	24 h-LD ₅₀	48 h-LD ₅₀
Thyme white	>100	>100	207	115
Clove bud	>100	>100	>100	>100
Cassia	>100	>100	>100	>100
Lavender	>100	>100	>100	>100
Lemon eucalyptus	>100	>100	>100	>100

115 a.i. μg L⁻¹로 나타났다. 시험기간 동안 대조군에서는 치사개체가 나타나지 않았다.

따라서, 꿀벌급성독성 시험을 실시한 모든 식물정유의 LD₅₀ 값이 100 a.i. μg bee⁻¹ 이상임을 알 수 있다(Table 3). USEPA의 꿀벌 급성독성의 분류는 LD₅₀ 값에 따라 강한 독성(highly toxic) <2, 보통 독성(moderately toxic) 2-11, 거의 독성 없음(practically nontoxic) >11으로 LD₅₀ 값이 11 a.i. μg bee⁻¹ 이상일 경우 거의 독성이 없으므로 구분하기 때문에 식물정유들에 대한 꿀벌의 독성은 거의 없음을 알 수 있다.

지렁이 급성독성

지렁이 급성독성 결과, 기초시험에서 14일 노출기간 동안 모든 식물정유들에 대한 전일 치사가 발생하여 5종 모두 예비시험과 본시험을 실시하였는데 싸임화이트는 50, 95, 181, 343, 652 mg kg⁻¹, 클로브버드는 100, 150, 225, 338, 506 mg kg⁻¹, 카시아는 250, 375, 563, 844, 1266 mg kg⁻¹, 라벤더는 100, 170, 289, 491, 835 mg kg⁻¹, 레몬유칼립투스 500, 600, 720, 864, 1037 mg kg⁻¹의 농도로 각각 처리하였다.

그 결과 싸임화이트, 클로브버드, 계피, 라벤더, 레몬유칼립투스 정유의 LC₅₀ 값은 각각 149, 230, 743, 234, 635 mg kg⁻¹로 확인되었고(Table 4), 시험기간 동안 대조군에서는 치사개체가 나타나지 않았다. 시험을 실시한 정유 모두 7일 이후 치사가 발생하지 않아 7일과 14일의 LC₅₀ 값이 동일하였다. LC₅₀ 값이 기초시험 농도인 1,000 mg kg⁻¹ 미만으로 나타나 독성이 낮다고 볼 수 없는데 이 정유들이 시제품으로 개발되었을 때 국내 농약에 적용하는 지렁이 위해성 평가 체계에 의한 환경추정농도(PEC, Predicted environmental concentration)를 산출하여 독성-노출비(TER, Toxicity-exposure ratios)를 구하는 평가가 필요하다고 사료된다.

본 연구는 친환경 살충소재의 환경에 대한 안전성 평가를 수행하여 친환경 농자재 제품개발에 활용하기 위해 실시한

Table 4. Result of acute toxicity of test materials to earthworm (*Eisenia fetida*)

Test materials	LC ₅₀ , mg kg ⁻¹	
	7 days	14 days
Thyme white	149 (115~193)*	149 (115~193)
Clove bud	230 (194~274)	230 (194~274)
Cassia	743 (616~904)	743 (616~904)
Lavender	234 (190~288)	234 (190~288)
Lemon eucalyptus	635 (586~688)	635 (586~688)

*95% confidence limits

것이다. 싸임화이트, 클로브버드, 계피, 라벤더, 레몬유칼립투스 정유의 생태독성시험 4종(물벼룩급성독성, 송사리급성독성, 꿀벌급성독성, 지렁이급성독성)을 수행하였고, 그 결과 싸임화이트, 클로브버드, 계피 정유는 물벼룩급성독성 시험에서 보통독성이 나타났고, 그 외의 라벤더, 레몬 유칼립투스 정유는 독성이 낮은 것으로 확인되었다. 송사리와 꿀벌에 대한 급성독성 시험의 경우 실시한 모든 식물정유에서 독성이 낮게 나타났다.

모든 시험의 결과를 종합해 볼 때, 제품개발 시 지렁이급성독성에 대한 안전성이 확인될 경우 환경에 대한 안전성이 확보된 친환경 살충소재로서의 활용 가능성이 예상되며, 친환경 농자재 생산에 기여할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업 ‘농작물 해충 방제를 위한 식물유래 살충제 개발’ 중 세부과제 ‘곤충생리억제물질 및 식물 추출물의 생태독성 평가’(200901OFT102966315)와 국립농업과학원 기관과유 과제 ‘농약등록 신청자료의 검토 평가 및 관리’의 세부과제인 ‘등록 및 재등록 신청농약의 생태독성자료 검토 및 평가’(PJ0063402011)에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

>> 인 / 용 / 문 / 헌

- Arnason, J.T., B.J.R. Philogene., P. Morand., K. Imrie., S. Iyengar., F. Duval., C. Soucy-Breau., J.V. Scaiano., N.H. Werstiuk., B. Hasspieler. and A.E.R. Downe. (1989) Naturally occurring and synthetic thiopenes as photoactivated insecticides. In *Insecticides of Plant Origin*. (Eds. J.T. Arnason, B.J.R. Philogene and P. Morand) ACS symposium series no. 387, American Chemical Society, Washington, DC. pp.164-172.
- Bang, K.H., Y.H. Rhee., and B.S. Min., (1997) Purification and properties of antifungal component, AF-001, from cinnamomi cortex. *Kor. J. Mycology*, 25:348-353.
- Chang, S.Y., S.J. Kang., J.P. Lee., S.Y. Park., J.H. Shin., Y.J. Jung. J.Y. Park., K.W. Ha., J.H. Park., and J.I. Park., (1998) Studies on the quality control method of cinnamomi cortex, cinnamomi ramulus and cassiae cortex interior. The Annual Report of KFDA, 2:223~232.
- Chung, H.R., J.Y. Lee., D.C. Kim., and W.I. Hwang. (1999) Synergistic effect of *Panax ginseng* and *Cinnamomum cassia* Blume mixture on the inhibition of cancer cell growth in vitro. *J. Ginseng Res.*, 23:99-104.
- Cooke S.J., C.D. Suski., K.G. Ostrand., B.L. Tufts., D.H. Wahl. (2004) Behavioral and physiological assessment of low concentrations of clove oil anaesthetic for handling and transporting largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture* 239:509-529.
- Gowda, N.K.S., V. Malathi., R.U. Suganthi. (2004) Effect of some chemical and herbal compounds on growth of *Aspergillus parasiticus* and aflatoxin production. *Anim Feed Sci Technol* 116:281-291.
- Isman, M.B. (1999) Neem and related natural products., In eds. by F.R. Hall, and J.J. Menn. *Biopesticides use and delivery*. Human Press. Totowa. pp.139-153.
- Jeong, E.T., M.Y. Park., E.W. Lee., U.Y. Park. and D.S. Chang. (1998a) Antimicrobial characteristics against spoilage microorganisms and food preservative effect of cinnamon (*cinnamomum cassia* Blume) bark extract. *Kor. J. Life Sci.*, 8:648-653.
- Jeong, E.T., M.Y. Park., J.G. Lee., and D.S. Chang. (1998b) Antimicrobial activity and antimutagenesis of cinnamon (*cinnamomum cassia* Blume) bark extract. *J. Fd Hyg. Safety*, 13:337-343.
- Jo, H.C., K.H. Kim., S.G. Lee., Y.E. Na. and H.M. Park. (2008) Repellent and acaricidal activities against *Leptotrombidium pallidum* larvae of eucalyptus oil. *Korean J. Appl. Entomol.* 47:287-292.
- Kang, S.H., M.K. Kim., D.K. Seo., G.H. Kim. (2006) Insecticidal Activity of Essential Oils against Larvae of *Culex pipiens pallens*. *The Korean Journal of Pesticide Science*. 10:43-49.
- Koul, O. (2004) Neem: a global perspective. In eds. by O. Koul and S. Wahab. *Neem: today and in the new millennium*. Kluwer Academic Press. Dordrech. pp.1-19.
- Mazzanti, G., L. Battinelli., and G. Salvatore. (1998) Antimicrobial properties of the linalool rich essential oil of *Hyssopus officinalis* L. var. *decumbens* (Lamiaceae). *J. Flavour Frag.* 13:289-294.
- Mytle, N, G.L. Anderson., M.P. Doyle., M.A. Smith. (2006) Antimicrobial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil in inhibiting *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters. *Food Control* 17:102-110.
- Nishijima, H., R. Uchida., N. Kawakami., K. Shimamura., K. Kitamura. (1998) Role of endothelium and adventitia on eugenol-induced relaxation of rabbit ear artery precontracted by histamine. *J Smooth Muscle Res* 34.
- Onawunmi, G.O., W. Yisak., E.O. Ogunlana. (1984) Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. *J. Ethnopharmacology* 12:279-286.
- Park, K.W. (2003) *Herb & Aromatherapy*. Sunjimunhwasa, Seoul.
- Park, H.M. (2010) *Plant Essential Oils and their Components: The Larvicidal Activities against Aedes aedes aegypti, Acute Toxicities on Water Flea, Daphnia magna, and Aqueous Residues*.

- Prasad R.C., B. Herzog., B. Boone., L. Sims., M. Waltner-Law. (2005) An extract of *Syzygium aromaticum* represses genes encoding hepatic gluconeogenic enzymes. *J Ethnopharmacol* 2005, 96:295-301.
- Saxena, R.C. (1989) Insecticides from neem. In insecticides of plant origin (J.T. Arnason, B.J.R. Philogene and P. Morand, eds.). ACS Symp. Ser. No. 387. Am. Chem. Soc. Washington, D.C., pp. 110-135.
- Schmutterer, H. (1980) Natural pesticides from the neem tree. *Proc. 1st Int. Neem Conf.* pp. 33-259.
- Soares, J.R., T.C. Dinis., A.P. Cunha., LM. Almeida., (1997) Antioxidant activities of some extracts of *Thymus zygis*. *Free Radic Res.* May, 26(5):469-478.
- Srinivasan K. (2005) Spices as influencers of body metabolism: an overview of three decades of research. *Food Res Intern* 38:77-86.
- Werner, I., J. Geist., M. Okihiro., P. Rosenkranz, E. Hinton. David. (2002) Effects of dietary exposure to the pyrethroid pesticide esfenvalerate on medaka (*Oryzias latipes*). *Marine Environmental Research* 54:609- 614.
- Wink, M. (1993) Production and application of phytochemicals from an agricultural perspective. In *Phytochemistry and Agriculture* (van Beek TA, Breteler H. eds.). Clarendon Press, Oxford, pp.171-213.
- Yang, J.Y., J.H. Han., H.R. Kang., M.K. Hwang. and J.W. Lee., (2001) Antimicrobial effect of mustard, cinnamon, Japanese pepper and horseradish. *J. Fd Hyg. Safety*, 16:37-40.
- 농촌진흥청 농자재관리과. (2010) 농약관리법령 및 고시·훈령집 (발간등록번호 11-1390000-002807-01). 환경생물 독성 시험 기준과 방법. pp.306-313. 농촌진흥청. 대한민국.
- 육창수 (1990) 한국 약용 식물도감. 아카데미서적, 서울 pp.590.

식물추출물 싸임화이트, 클로브버드, 계피, 라벤더, 레몬 유칼립투스 정유의 생태독성평가

유아선 · 최영웅 · 정미혜 · 홍순성 · 박연기 · 장희섭 · 박재음 · 박경훈*

국립농업과학원 농산물안전성부

요 약 최근에는 화학적 살충소재 보다 친환경적인 살충소재를 선호하여 천연물질을 함유한 친환경 살충제의 개발이 활발히 이루어지고 있다. 본 연구의 목적은 해충 방제에 이용할 수 있는 친환경 농자재인 식물정유(싸임화이트, 클로브버드, 계피, 라벤더, 레몬유칼립투스)의 생태독성을 평가하는 것이다. 생태독성 평가로 물벼룩(*Daphnia magna*), 송사리(*Oryzias latipes*), 꿀벌(*Apis mellifera* L.), 지렁이(*Eisenia fetida*)를 이용하였다. 물벼룩급성독성시험의 경우, 싸임화이트, 클로브버드, 계피 정유의 EC₅₀ 값은 각각 2.5, 2.8, 6.9 mg L⁻¹로 EPA 기준으로 보통독성정도이었고, 라벤더, 레몬유칼립투스 정유는 10 mg L⁻¹ 이상이었다. 송사리급성독성 시험의 경우, 싸임화이트와 계피 정유의 LC₅₀ 값이 6.7, 7.5 mg L⁻¹으로 나타났으며 나머지 정유는 모두 10 mg L⁻¹으로 확인되었다. 꿀벌급성독성시험은 접촉과 섭식 시험으로 나누어서 실시하였고, 모든 정유의 LD₅₀ 값이 100 µg a.i bee⁻¹ 이상으로 확인되었다. 지렁이급성독성시험의 경우, 싸임화이트, 클로브버드, 계피, 라벤더, 레몬유칼립투스의 LC₅₀ 값이 각각 149, 230, 743, 234, 635 mg kg⁻¹로 나타났다. 결과적으로 식물 정유들의 지렁이급성독성에 대한 안전성이 확인될 경우 환경에 대한 안전성이 확보된 친환경 살충소재로서의 활용 가능성이 예상되며, 친환경 농자재 생산에 기여할 것으로 사료된다.

색인어 식물정유, 생태독성, 물벼룩, 송사리, 꿀벌, 지렁이