

<원 저>

## 가죽나무 추출물의 꽃매미 유인효과, 항산화 활성 및 국소자극성시험

이승진 · 박승춘\*

경북대학교 수의과대학 약동력학실험실

(접수: 2012년 12월 26일, 수정: 2013년 10월 22일, 게재승인: 2013년 10월 28일)

### Attraction effect against *Lycorma delicatula*, antioxidant activity and local irritation test of *Ailanthus altissima* extract

Seung-Jin Lee, Seung-Chun Park\*

Laboratory of Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

(Received: December 26, 2012; Revised: October 22, 2013; Accepted: October 28, 2013)

**Abstract :** This study aimed to assess the attraction effect against *Lycorma delicatula* and antioxidant activity of hexane, chloroform, butanol and water fraction obtained from *Ailanthus altissima* methanol extract. The attraction effect of chloroform fraction showed the highest activity (47%) as compared to that of other fractions. In the DPPH radical scavenging activity, methanol and butanol fraction showed higher antioxidant activity than other solvent fractions. From the above results, the potential chloroform fraction was further performed by local irritation test in New Zealand white rabbits. In eye irritation test, chloroform fraction showed moderate irritant at high concentration 0.5 g/site/mL, but there was no eye irritation at low concentration (0.05 g/site/mL). In accordance with the Draize evaluation of skin irritation, the primary irritation index was calculated to 3.3 and 0.68 at high (0.5 g/site/mL) and low concentration (0.05 g/site/mL) causing moderate and mild irritation, respectively. On the basis of this study, *Ailanthus altissima* chloroform fraction could be safely considered to be a candidate of attractant against *Lycorma delicatula*.

**Keywords :** *Ailanthus altissima*, antioxidative activity, attractant, local irritation test, *Lycorma delicatula*

## 서 론

꽃매미(*Lycorma delicatula*)는 일명 중국매미로 알려져 있으며, 국내에서 2006년 첫 발생이 확인된 이후 개체밀도와 발생면적이 기하급수적으로 증가하고 있다 [7]. 꽃매미는 나무즙액을 섭취하여 나무의 생장을 저해하고 많은 양의 배설물로 그을음병을 유발하므로 과수농가 및 인근 축산농가에 큰 문제가 되고 있다 [10].

꽃매미 방제법으로 나무껍질 소각, 접촉제로 충란 제거, 성충 방제를 위한 차단망 설치 등 충란을 직접 제거하는 방법이 제안되고 있으나, 그 방법이 번거롭고 처리 지역이 광범위하므로 과수농가에서는 화학적인 방법을 선호하는 추세이다. 현재 꽃매미 약충과 성충에 대한 방제 약제로 organophosphate계 1종과 carbamate계 1종, neonicotinoid계 4종, 혼합제 1종이 등록되어 있으며 방제효과가 가장 좋은 시기인 2~3령 약충기(5월 상순~6월 중순)에 이를 사용한 일

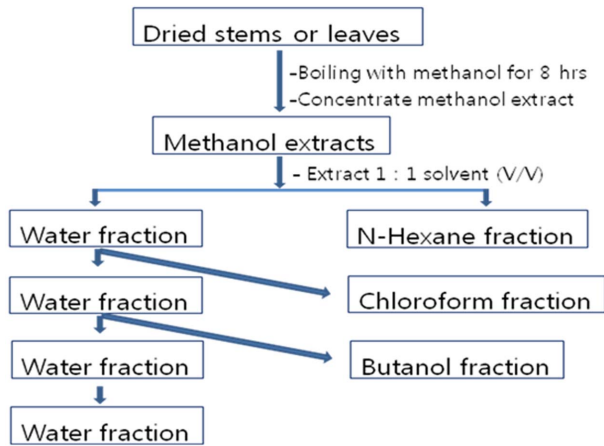
제 공동방제가 실시되고 있다 [7]. 그럼에도 불구하고 꽃매미 피해의 발생량은 해마다 증가하였으며 살충제의 과용으로 인축에 대한 독성과 잔류 문제 및 생태계 파괴 등의 다양한 문제점을 야기하고 있다. 특히 이러한 살충제는 도심 침투형 꽃매미를 퇴치하는 데에도 그 사용이 불가능하다. 따라서 화학적 방제법의 대체법으로 꽃매미를 유인하는 방제법이 효율적일 것으로 생각되었다.

꽃매미 유인제 개발을 위한 후보 소재는 꽃매미가 거주하는 기주식물이 중요한 탐색대상이 될 수 있다. 또한 꽃매미 유인제가 현장에서 적용되기 되기 위해서는 꽃매미 유인효과와 더불어 사람에 대한 안전성 확보가 필수적이다. 본 연구에서는 꽃매미 기주식물인 가죽나무(*Ailanthus altissima*)의 잎과 줄기 추출물에서 꽃매미에 대한 유인효과를 확인하였으며 이를 이용한 제품화를 위해 클로로포름(chloroform) 분획층의 수율과 토끼에서의 안점막자극 및 피부자극시험을 실시하여 안전성을 확인하였다. 바이오 소재의 항산화 효과가

\*Corresponding author

Tel: +82-53-950-5964, Fax: +82-53-950-5964

E-mail: parksch@knu.ac.kr



**Fig. 1.** Schematic process for the preparation of various solvent fractions.

제품의 최적 효능 유지에 영향을 미칠 수 있으므로 추가적으로 항산화 활성을 측정하였다 [4].

## 재료 및 방법

### 가죽나무 추출 분획물의 준비

경상북도의 포도농가에서 5월경의 가죽나무 줄기와 잎을 각각 1 kg씩 채취하였다. 시료는 세절하여 수분 함량이 13% 이하가 될 때까지 열풍 건조한 후 줄기(580 g)와 잎(89 g)의 중량당 100% 메탄올 비율을 1:20으로 혼합하여 8시간 동안 끓이면서 순환 추출하였다. 추출 후 상층액은 5 mm 필터로 여과한 후 여과액을 회전 진공농축 하여 가죽나무 추출액(줄기 21.51 g, 잎 3.29 g)을 얻었다. 극성에 따른 분획 추출물을 얻기 위해 가죽나무 추출물에 증류수 200 mL를 첨가하여 혼탁액을 만든 후 헥산(hexane)을 동량 첨가하여 헥산 분획층(줄기 2.51 g, 잎 0.40 g)을 얻고, 수층을 다시 클로로포름으로 추출하여 클로로포름 분획층(줄기 1.82 g, 잎 0.28 g)을 얻었다. 계속하여 수층을 부탄올로 추출하여 부탄올 분획층(줄기 7.6 g, 잎 1.87 g) 및 최종 수 분획층(줄기 12.0 g, 잎 1.25 g)을 얻었으며 동결건조하여 실온에 보관하였다. 용매별 분획층을 얻기 위하여 일련의 과정을 Fig. 1에 도식화하였다.

### 분획별 꽃매미 유인효과

꽃매미 유인효과를 검토하기 위하여 경북 포도농가에서 압수 구별 없이 직접 포획한 2~4 주령의 꽃매미(5월 중순)를 사용하였다. 채취한 꽃매미는 실내조건  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , 상대습도 50~60% 하에 아크릴 구조물(50 × 50 × 50 cm)에서 가죽나무를 기주로 그물망을 씌워 1일 정도 사육하였다. 용매별 분획층(3 g)을 3 mL의 Tween 80(Sigma-Aldrich, USA)에 각각 혼합하여 구획으로 나누어진 아크릴 구조물 내 끝부분에 위치시킨 후 꽃매미 개체의 이동수를 시간 별로 총 3회 측정하였다.

유인효과(attraction effect, %) = (용매별 분획층으로 이동한 꽃매미 수 / 시험한 꽃매미 수) × 100

### DPPH법에 의한 Free radical 소거능

각 시료와  $1.5 \times 10^{-4}$  M DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 용액을 혼합하여 실온에서 30분 동안 방치한 후 520 nm에서 흡광도(absorbance, A)를 측정하였다. 대조군으로 시료추출용매, 양성대조군으로 비타민 C(Sigma-Aldrich, USA)를 사용하였으며 DPPH radical 소거능(DPPH radical scavenging activity, %)은 다음 식을 이용하여 계산하였다.

DPPH radical scavenging activity = [(대조군 A - 시료처리군 A) / 대조군 A] × 100

### 시험동물 및 사육환경

4개월령의 New Zealand White계통의 수컷 토끼를 효창상사(대한민국)로부터 구입하여 1주일간의 순화 및 검역을 거친 후 시험에 공시하였다. 사육조건은 온도  $22 \pm 3^\circ\text{C}$ , 상대습도  $50 \pm 20\%$ , 환기횟수 12~15회/시간, 조도 150~300 Lux, 12시간으로 하였다. 시험동물은 실험군으로 나누어 각각의 사육상자에 개체별로 수용하고, 시험번호와 동물번호를 기재한 개체 식별카드를 부착하였다. 고휘사료(푸리나, 대한민국)와 물은 자유급여 하였다. 본 실험은 경북대학교 동물실험윤리위원회의 승인(KNU 2011-84) 후에 실시되었다.

### 안점막자극시험

**시험군의 구성 및 시험물질의 적용:** 시험군은 고용량군(클로로포름 분획층 0.5 g/site/0.1 mL)과 저용량군(클로로포름 분획층 0.05 g/site/0.1 mL)으로 나누고 공시동물을 9마리씩 각각 배치하였고 시험에 사용한 동물은 양안을 검사하여 안구 및 각막 등에 이상이 없는 건강한 동물 6마리를 선택하여 시험하였다. 시험물질은 동결건조한 클로로포름 분획층을 위에서 제시한 농도를 생리식염수로 희석하여 현탁액으로 만들어 이용하였다. 토끼에 생리식염수(왼쪽) 또는 시험물질(오른쪽)을 결막낭에 0.1 mL를 점안한 후 2마리는 30초 후 무균생리식염수로 1분간 세척하고 4마리는 세척 없이 시험을 진행하였다.

**적용부위의 관찰 및 자극성의 평가:** 시료투여 후 매일 일 반증상, 사료 및 물 섭취상태 등을 관찰하고 기록하였다. 체중변화는 시험물질을 투여하기 직전과 시험물질 투여 후 1, 2, 3, 7일째에 측정하였고 안검사는 시험물질 투여 후 1, 2, 3, 4, 7일째에 실시하였다. 안점막 자극반응의 평가는 안구병변의 등급에 따라 각막, 홍채, 결막에서의 병변을 관찰하여 평점하였다. 결과에 대한 자극성의 정도 판정은 각각의 판정일 개체별 안점막자극지수(Individual Ocular irritation Index, I.O.I.)의 합을 마리 수로 나눈 평균값인 평균안점막자극지수(Mean Ocular irritation Index, M.O.I.)와 관찰기간 중 M.O.I.의 최대값인 급성안점막자극지수(Acute Ocular irritation Index, A.O.I.)를 구하여 안점막자극지수 판정표에

따라 판정하였다. 안구병변의 등급평가 및 자극성 판정은 식품의약품안전처 고시(제2006-90호)에 준하여 평가하였다 [12].

**피부자극성 평가**

**시험군의 구성 및 시험물질의 적용:** 토끼를 고용량군(클로로포름 분획층 0.5 g/site/0.5 mL)과 저용량군(클로로포름 분획층 0.05 g/site/0.5 mL)으로 나누어 각각 6마리씩 배치하였다. 투여 전날, 토끼의 배부(15 × 15 cm)를 제모하고 척추를 중심으로 좌우 2개소(찰과 및 비찰과 부위, 2.5 × 2.5 cm)를 설정하여, 좌측은 무처리 대조구획으로, 우측은 처치구획으로 정하였다. 찰과는 주사침을 이용하여 표피손상만 유발하고 출혈이나 진피손상이 없을 정도로 ‘#’ 모양으로 실시하였다. 투여 당일, 우측의 찰과 부위 1개소와 비찰과 부위 1개소에 시료를 0.5 mL씩 도포하였으며, 좌측 부위도 생리식염수를 동일하게 처리하였다. 도포 후 가제를 덮은 후 침투성 및 반응성이 없는 고형 재질의 박지로 덮고 테이프로 고정하여 24시간 적용시켰다. 적용 종료 후, 잔류 시험물질을 제거하기 위해 미온의 무균 생리식염수로 부드럽게 세정하였다.

**적용부위의 관찰 및 자극성의 평가:** 적용부위의 피부반응 평가는 식품의약품안전처의 ‘의약품등의 독성시험기준’ 평가 기준에 준하여 Kang *et al.* [6]의 방법을 사용하였다. 24시간 동안 시험물질을 적용한 후, 패치를 제거하고 24시간째(패치 제거 직후), 72시간째(패치 제거 48시간 후)에 자극성 반응을 관찰하였다. 체액이 피하조직에 축적되어 부어 오른 것은 부종, 모세혈관 울혈에 의한 피부 발적 등 혈액에 의한 적색반응은 홍반, 부식작용 또는 괴저에 의한 피부조직의 부육상태는 가피(eschar)로 평가하였다. 결과에 대한 자극성의 판정은 Draize [1]의 산출 방법에 따랐다.

**결 과**

**가죽나무의 줄기 및 잎으로부터 추출 수율과 꽃매미 유인효과**

1차 추출 용매인 메탄올로 가죽나무의 줄기와 잎을 추출한 경우, 수율은 줄기 24.94 g(4.3%), 잎 21.46 g(3.7%)으로 서로 비슷하였다(Table 1). 순차적으로 무극성에서 극성의 용매로 추출 분획을 진행하였을 때 줄기의 경우 hexan 분획층과 클로로포름 분획층에서 각각 2.55 g(0.44%)과 1.86 g(0.32%), 잎의 경우 각각 2.61 g(0.45%)과 1.86 g(0.32%)의 추출 수율을 보였다. 3주령의 꽃매미에 대해 가죽나무 메탄올 추출물의 분획층별 유인효과를 확인한 결과, 클로로포름 분획층의 유인효과(평균 47%)가 메탄올 층(20%)보다 2.35배 높게 나타났고 이는 당밀농축액(brix 2.5)보다 4.7배 높은 수준이었다(Table 2). 따라서 가죽나무의 잎과 줄기의 용매별 추출 수율은 1차 추출용매인 메탄올층에서 가장 높았으며, 꽃매미 유인효과는 클로로포름 분획층의 효과가 뛰어난 것을 확인하였다.

**DPPH법에 의한 free radical 소거능**

가죽나무 줄기와 잎에서 추출된 용매별 분획물에 대하여 DPPH법으로 항산화 활성을 측정된 결과, free radical 소거능의 활성은 가죽나무 줄기와 잎의 부탄올 분획층에서 높은 것을 관찰하였다(Table 3).

**토끼에서 안자극성 시험**

**안자극성 시험:** 시험물질의 투여로 기인된 일반증상과 사망은 관찰되지 않았다. 고용량 투여군에서는 투여 후 7일째 까지 체중 감소가 관찰되었으나 유의한 수준은 아니었다.

**Table 1.** Fraction yield (%) of *Ailanthus altissima* methanol extract and solvent fractions

Sample	Yeild (%)				
	Extract	Fraction			
		Methanol	n-Hexane	Chloroform	Butanol
Stem	4.30	0.44	0.32	1.34	2.20
Leaf	3.70	0.45	0.32	2.10	1.42

**Table 2.** Attraction effect against *Lycorma delicatula* by various solvent fractions obtained from *Ailanthus altissima* methanol extract

Times	Extract	Fraction				Reference
		Methanol	n-Hexane	Chloroform	Butanol	
1	5.0	2.0	8.0	2.0	1.0	2.0
2	4.0	2.0	9.0	1.0	1.0	3.0
3	3.0	1.0	11.0	2.0	1.0	2.0
Mean	4.0	1.7	9.3	1.7	1.0	2.0
Attraction effect (%)	20	8	47	8	5	10

**Table 3.** DPPH radical scavenging activity (%) of various solvent fractions obtained from *Ailanthus altissima* methanol extract *in vitro*

Concentration (µg/mL)	Methanol		Hexane		Chloroform		Butanol		Water		Vitamin C	
	Stem	Leaf	Stem	Leaf	Stem	Leaf	Stem	Leaf	Stem	Leaf	Reference for Stem	Reference for Leaf
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
100	5.6	5.0	2.3	2.9	2.5	3.1	4.0	3.9	2.4	2.1	54.1	52.6
500	20.2	19.9	5.8	4.5	7.2	7.4	20.5	19.5	5.5	6.1	80.2	79.2
1,000	30.5	29.5	8.5	8.7	10.6	11.2	38.5	39.0	11.4	12.6	93.6	93.0
2,000	52.9	52.1	10.7	10.7	14.6	15.6	59.0	56.3	16.2	16.7	95.9	96.1

Values were expressed as mean  $\pm$  SD of three independent experiments (n = 3).

**Table 4.** Effect of chloroform fraction on eye irritation test in New Zealand White rabbits

Animal number	Tissue	Time after application (0.5 g/site/0.1 mL)					A.O.I.*
		Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 7	
W-1 <sup>†</sup>	Cornea	40	20	0	0	0	-
	Iris	0	5	0	0	0	
	Conjunctiva	12	14	0	0	0	
W-2	Cornea	40	20	0	0	0	-
	Iris	5	0	0	0	0	
	Conjunctiva	12	14	0	0	0	
M.O.I. <sup>‡</sup>		55	37	0	0	0	55
NW-1 <sup>§</sup>	Cornea	60	60	60	10	0	-
	Iris	5	5	10	0	0	
	Conjunctiva	20	20	20	6	0	
NW-2	Cornea	30	35	30	10	0	-
	Iris	5	5	5	0	0	
	Conjunctiva	18	18	14	8	0	
NW-3	Cornea	60	30	30	30	10	-
	Iris	5	5	5	5	5	
	Conjunctiva	18	20	20	12	20	
NW-4	Cornea	40	30	30	30	10	-
	Iris	5	5	5	5	5	
	Conjunctiva	20	12	12	12	12	
M.O.I.		72	61	60	32	16	72

\*Maximal among M.O.I. <sup>†</sup>Animals treated with test material and washed for 1 min. <sup>‡</sup>Total score/tested animal number in each observation time. <sup>§</sup>Animals treated with test material and not washed. M.O.I.: mean ocular irritation index, A.O.I.: acute ocular irritation index.

**안구병변의 관찰 :** 시험물질 투여 후 1, 2, 3, 4, 7일째에 각막, 홍채 및 결막에 대한 안구병변의 정도를 등급화하여 점수로 표시하였다(Table 4). 그 결과 0.5 g/site/0.1 mL의 고용량 투여군에서 눈을 세척한 동물과 세척하지 않은 동물의 7일째에 M.O.I.는 0(무자극)과 16(중등도자극)으로 나타났다. 또한 A.O.I.는 생리식염수 수세의 여부에 따라 수세한 동물은 55(중등도)와 72(중강도자극)로 나타나 안자극이 심한 것으로 판정되었다. 하지만 저용량 투여군(0.05 g/site/0.1 mL)의 A.O.I.는 0으로 수세 여부에 상관없이 모두 무자극성으로 판정되어 결과는 생략하였다. 이 결과로부터 가축나무추출물에서 분획된 클로로포름 분획층은 안자극성이 있는 것으로 판

정되므로 사용시 용량의 조절을 고려하여야 한다.

#### 토끼에서 피부자극성 시험

**임상증상 및 체중변화:** 고용량 투여군에서 체중 감소가 관찰되었으나, 4일째 이후에는 정상적인 체중의 증가를 보였다. 일반증상을 관찰한 결과, 시험물질의 적용으로 기인된 일반증상과 사망은 관찰할 수 없었다.

**도포부위의 관찰:** 시험물질 적용 후 24 및 72 시간째에 고용량(0.5 g/site/0.5 mL)과 저용량(0.05 g/site/0.5 mL) 적용부위의 자극성 정도를 Draize 방법에 따라 평가하여 Table 5와 Table 6에 그 결과를 나타내었다. 고용량 투여군의 모든 개

**Table 5.** Effect of chloroform fraction on skin irritation test in New Zealand white rabbits

Sites		Control site								0.5 g / site/0.5 mL (high dose)							
Change		Erythema* & eschar				Edema†				Erythema* & eschar				Edema†			
Phases		Intact		Abraded		Intact		Abraded		Intact		Abraded		Intact		Abraded	
Time (h)		24	72	24	72	24	72	24	72	24	72	24	72	24	72	24	72
No.	Sex																
1	male	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	3	2	3	2
2	male	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	3	2	3	2
3	male	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	3	2	3	2
4	male	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	3	2	3	2
5	male	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	3	2	3	2
6	male	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	3	2	4	2
Total score		0	0	0	0	0	0	0	0	6	3	6	3	18	12	19	12
Mean score		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.5	1	0.5	3	2	3.17	2
Sum of mean		0								13.2							
P.I.I.‡		0								3.3							

\*Erythema was scored as follows: no erythema = 0, very slight erythema (barely perceptible) = 1, well-defined erythema = 2, moderate to severe erythema = 3, and severe erythema (beet redness) to slight eschar formation (injuries in depth) = 4. †Edema formation was scored as follows: no edema = 0, very slight edema (barely perceptible) = 1, slight edema (edges of area well-defined by definite raising) = 2, moderate edema (raised approximately 1 mm) = 3, and severe edema (raised more than 1mm and extending beyond area of exposure) = 4. ‡Primary irritation index = total score/4.

**Table 6.** Effect of chloroform fraction on skin irritation test in New Zealand white rabbits

Sites		Control site								0.05 g / site/0.5 mL (low dose)							
Change		Erythema & eschar				Edema				Erythema & eschar				Edema			
Phases		Intact		Abraded		Intact		Abraded		Intact		Abraded		Intact		Abraded	
Time (h)		24	72	24	72	24	72	24	72	24	72	24	72	24	72	24	72
No.	Sex																
1	male	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
2	male	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
3	male	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	male	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	male	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	male	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total score		0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2
Mean score		0	0	0	0	0	0	0	0	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Sum of mean		0								2.7							
P.I.I.		0								0.68							

The scores of clinical observations are the same as those described in Table 5.

체에서는 찰과 및 비찰과 부위에서 정도가 심한 부종이 전 체적으로 관찰되었고 홍반 및 가피는 약하게 관찰되었다. 시험물질 적용 후, 24시간째는 찰과부에서는 중등도의 부종, 비찰과부에서 정도의 부종이 나타났으나 72시간째 비찰과 부위에서 약간의 회복이 관찰되었다. 클로로포름 분획층의 저

용량 투여군의 비찰과 부위에서 부종은 없었다. 모든 동물의 대조 구획에서 이상소견은 발견되지 않았다. 상기 결과를 Draize법에 따라 평가한 결과, 일차피부자극지수(Primary Irritation Index, P.I.I.)는 고용량군은 3.3의 중등도 자극성 그리고 저용량군은 0.68의 정도의 자극성을 보였다.

## 고 찰

꽃매미 방제에 사용하는 살충제는 약물내성 증가, 인축에서의 잔류독성, 생태계 파괴 등의 다양한 문제점을 안고 있으며, 특히 도심 침투형 꽃매미를 퇴치하는데 적용이 불가능하다. 본 연구에서는 살충제의 대체제로서 유인제를 개발하고자 꽃매미 기주식물인 가죽나무의 잎과 줄기의 추출물을 이용하여 유인효과를 확인하였으며 안정성을 평가하기 위해 국소자극시험을 실시하였다.

가죽나무의 줄기와 잎을 메탄올로 1차 추출하였으며 이때, 줄기와 잎에서 3.3%에서 4.4%의 획득 수율을 보였다. 이러한 수율은 Park *et al.* [11]이 한약재 추출물 시험에서 목통을 에탄올로 추출 시 35% 수율과 엄청난 차이를 보였다. 본 시험에서 보여준 낮은 수율은 산업화를 위한 원료의 확보 차원에서 문제점을 야기할 수가 있다. 따라서 본 실험에서 수율을 높이기 위한 방법으로 추출 재료의 품종, 수확시기, 재배조건 [11] 등을 고려한 추가 실험이 요구된다.

해충에 사용하는 화학적 방제법의 대체제로서 다양한 해충유인제가 연구되고 있다. 교미교란법은 대상 해충의 성 페로몬으로 수컷을 유인하여 암컷과의 교미를 방해한다는 원리로 복숭아순나방 야외 집단에서 입증되었다 [5]. 그러나 한 마리 수컷이 여러 암컷과 교미하는 생식생태를 감안한다면 수컷보다 암컷을 제거하는 것이 더 효과적이며 수컷과 암컷을 동시에 유인하는 것이 가장 효과적이다. 탄수화물은 곤충의 섭식자극 물질로 알려져 있고 당밀 발효액 중 휘발성 화합물은 수컷과 암컷 나방을 모두 유인할 수 있다고 연구된 바 있다 [2]. 그러나 당밀 유인제의 단점은 해충 및 유용 곤충에 관계없이 비특이적으로 작용한다는 것이다. 따라서 특이성을 높이고자 꽃매미의 선호도가 가장 큰 기주식물인 가죽나무를 원료로 선택하였다 [10].

가죽나무를 추출하여 획득한 용매별 분획층의 꽃매미 유인효과는 클로로포름 분획층이 가장 높았고 당밀 농축액(2.5 brix)보다 4.7배 높은 수준이었다. 가죽나무에는 sucrose와 fructose가 다량 함유되어 있으므로 꽃매미의 유인효과는 당 성분에 의한 것으로 추측된다 [1, 2]. 그러나 클로로포름 분획층의 유인효과가 당밀보다 더 높은 점을 감안한다면 당 성분 이외의 성분도 작용한 것으로 생각되었다. 미늘에서 대부분의 휘발성 향기 성분이 메탄올 용매에 추출되었다고 한 연구를 감안하였을 때, 가죽나무 추출액의 유인효과 역시 유효한 휘발성 성분이 클로로포름 분획추출에 의해 다량 추출된 것으로 보이나 추가적인 연구가 필요하다 [4]. 한편 유인 트랩의 형태에 따라 유인효과가 다른 것으로 보고된 바가 있으므로 꽃매미 생태를 고려한 유인 트랩을 개발하는 것이 필요하며, 실제 제품평가를 위한 야외효능 시험도 필요한 것으로 생각된다 [8].

해충 유인제에서 최적의 유인효과와 최대 유효기간을 유지하기 위하여 향산화제를 첨가한 제형이 이용된다 [4, 11]. 자연친화력과 비용이라는 측면을 고려하여 본 연구에서는 가죽나무 추출액 자체가 가지는 천연 향산화능을 평가하였다.

가죽나무 줄기와 잎에서 추출된 용매별 분획물에 대하여 DPPH법을 이용하여 측정된 결과, 부탄올 분획층이 가장 우수하였다. 그러나 클로로포름 분획층의 유인효과가 높은 것을 감안한다면 실제 제품의 개발 시에는 클로로포름 분획층을 주원료로 사용하고 유인효과와 향산화 활성이 동시에 우수한 메탄올층을 첨가하는 방법이 추천된다.

가죽나무의 클로로포름 분획물은 꽃매미 유인제의 원료물질로 이용 가능하므로 상품화하기 앞서 가죽나무의 클로로포름 분획물의 1차 안점막자극시험 및 피부자극성 잠재력을 평가하였다. 1차 안점막자극시험에서 클로로포름 분획층을 고용량(0.5 g/site/0.1 mL)과 저용량(0.05 g/site/0.1 mL)으로 나누어 결막낭에 투여한 후 자극성을 평가한 결과, 수세한 고용량 투여군에서 1일째와 2일째에 M.O.I.가 5와 37로 나타나 ‘중등도 자극물’에 속한 반면 3일째 이후에는 무자극물의 특성을 보였다. 수세하지 않은 동물에서는 시험물질 적용 후 수세하지 않은 경우, 클로로포름 분획층은 7일째에도 M.O.I.가 16으로 ‘중등도 자극물’의 특성을 보였다. 저용량 투여군에서는 0으로 관찰되어 ‘무자극물’로 평가하였다. 따라서 저용량의 클로로포름 분획층을 사용 시 안전한 것으로 생각되었으며 이는 노출가능성이 높은 계면활성제 linear alkylbenzene sulfonate(LAS-Na)의 ‘저자극’보다 낮은 수준이었다 [9]. 클로로포름 분획층의 P.I.I.는 고용량 투여군에서는 3.3, 저용량 투여군에서는 0.68로 각각 ‘중등도의 자극(2.1~5.0)’ 및 ‘경도의 자극(0.6~2.0)’으로 평가되었다(Table 5 and 6). 이는 항균활성이 있는 surfactin의 0.125에 비해 높은 수준이었으나, 천연물질인 레몬글라스 정유 5.63에 비해 낮은 수준이었다 [3, 12]. 또한 전염병 예방용 살균살충제 허가 조건(식품의약품안전처 고시 제2010-65호)인 A.O.I. 60 이하, P.I.I. 5.1 이하를 만족하므로 가죽나무 클로로포름 분획층의 안전성은 충분히 응용 가능한 수준으로 생각된다.

본 연구를 통해, 가죽나무의 클로로포름 분획층은 그 사용이 안전하고 향산화능과 꽃매미에 대한 유인효과가 우수한 것으로 확인되었으므로 꽃매미 유인제 개발에서 후보물질로 활용이 가능할 것으로 판단하였다.

## 감사의 글

본 연구는 지식경제부의 중소기업기술개발지원사업, 광역경제권 연계협력사업 그리고 농촌진흥청 차세대 바이오그린 21사업(과제번호: PJ009007)의 지원에 의해 이루어졌습니다.

## References

1. Draize JH, Woodard G, Calvery HO. Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. *J Pharmacol Exp Ther* 1944, **82**, 377-390.
2. El-Sayed AM, Heppelthwaite VJ, Manning LM, Gibb AR, Suckling DM. Volatile constituents of fermented sugar baits and their attraction to lepidopteran species. *J Agric Food*

- Chem 2005, **53**, 953-958.
3. **Hwang MH, Yun HI, Lim JH, Kim KS, Rhee MH, Kim NW, Kim JC, Park SC.** Antibacterial activity in vitro and primary dermal irritation test in rabbits of surfactin produced *Bacillus subtilis* complex BC2121. *Toxicol Res* 2005, **21**, 39-43.
  4. **Jung EJ, Kim JP, Cho JE, Lee JW, Kim WJ, Lee YB.** Effect of Extraction Solvent on Volatile Compounds of Garlic Oleoresin. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2001, **30**, 1033-1037.
  5. **Jung SC, Park CW, Park MY, Kim YG.** Field assessment of two commercial sex pheromone mating disruptors on male orientation of oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Busck). *Korean J Pestic Sci* 2007, **11**, 46-51.
  6. **Kang BC, Nam JS, Che JH, Lee SM, Yang J, Lee HM, Park JH, Song DH, Yoo SH, Lee YS.** A study on ocular and skin irritation test of EPO (Erythropoietin). *Korean J Toxicol* 1997, **13**, 149-152.
  7. **Kim SK, Lee GY, Shin YH, Kim GH.** Chemical control effect against spot clothing wax cicada, *Lycorma delicatula* (Hemiptera; Fulgoridae) nymphs and adults. *Korean J Pestic Sci* 2010, **14**, 440-445.
  8. **Kim YS, Lee MY, Lee ML, Nam SH, Park YM.** Development of natural luring liquid against the wasps inflicting honeybees. *Korean J Apic* 2006, **21**, 37-42.
  9. **Lee H, Park WJ, Sin DS, Lee DJ, Yoo YA, Lee DE, Lee SH, Kim BY.** A study on the primary skin and eye irritation test of LAS-Na and ASME(MES). *Lab Anim Res* 1993, **9**, 161-167.
  10. **Lee JE, Moon SR, Ahn HG, Cho SR, Yang JO, Yoon CM, Kim GH.** Feeding behavior of *Lycorma delicatula* (Hemiptera: Fulgoridae) and response on feeding stimulants of some plants. *Korean J Appl Entomol* 2009, **48**, 467-477.
  11. **Park CS.** Antioxidative and nitrite scavenging abilities of medicinal plant extracts. *Korean J Food Preserv* 2005, **12**, 631-636.
  12. **Shin JY, Park SC, Kim KH, Shin DH, Kim SH, Kim JC.** Primary dermal irritation study of lemon grass (*Cymbopogon citratus*) essential oil in rabbits. *Toxicol Res* 2005, **21**, 249-253.