

유기농업자재 중 님과 고삼 추출물의 피부 및 안점막자극성

오진아* · 최진희 · 최미선 · 김진호 · 백민경 · 박경훈 · 유아선¹ · 이재봉¹ · 김두호

농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 화학물질안전과, ¹농자재평가과

Evaluation of Skin & Eye Irritation of Plant Extracts, Neem and Sophora

Jin-A Oh*, Jin-Hee Choi, Mi-Seon Choe, Jin-Hyo Kim, Min-Kyoung Paik, Kyung-Hun Park, Are-Sun You¹, Je-Bong Lee¹ and Doo-Ho Kim

Chemical Safety Division, Department of Agro-Food Safety, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea, ¹Agro-Material Safety Evaluating Division

(Received on October 25, 2013. Revised on November 19, 2013. Accepted on November 29, 2013)

Abstract This study was performed to evaluate the acute skin and eye irritation of plant extracts (neem and sophora) against rabbit. The result of skin irritation test indicated that neem extracts and sophora extracts were not irritant. For eye irritation test, the result showed no irritation for neem extracts. Sophora extracts have a severe eye irritation and the symptoms have been reduced to day 3. Thus, safety guidelines for agricultural workers is considered to be needed when sophora extracts is used as an organic agricultural materials.

Key words Plant Extracts, Skin and eye irritation test

서론

안전한 농산물에 대한 소비자의 관심이 높아짐에 따라 친환경농산물의 시장규모가 커져 전체 농산물의 12%를 차지함으로써 덩달아 유기농업자재 산업도 급성장하고 있다(Korea Eco-friendly Agro-Materials Association, 2012). 현재 우리나라 유기농업자재로 공시 및 품질인증된 제품은 1,141종이 있으며 그 중 35%를 차지하는 작물병해충관리용자재 중 님 및 고삼 추출물의 비율이 44%로 많은 비중을 차지한다(Rural Development Administration, 2012). 님 추출물은 섭식성 해충방제용 자재로서 멸구슬나무 씨앗에서 추출된 azadirachtin이 유효성분으로(Mordue 등, 1998) 해충의 생육과 성장에 영향을 준다. azadirachtin의 일일섭취허용량(Acceptable Daily Intake)은 0.1 mg/kg/day이며 급성경구독성(LD₅₀ > 5000 mg/kg), 급성경피독성(LD₅₀ > 2000 mg/kg),

급성흡입독성(LC₅₀ > 0.72 mg/l), 안점막자극성(자극성 정도), 피부자극성(자극성 없음) 등의 독성연구가 이루어져 있다(EFSA, 2011). 고삼의 뿌리에는 alkaloid류인 matrine, oxymatrine, sophoranol, anagryne 등과 flavonoid류의 xanthohumol, isoanhydroicarin 등이 함유되어 있고 줄기와 잎에는 luteoline-7-glucoside 등이 함유되어 있다(Lee 등, 2010). 그 중 matrine은 고삼 추출물의 대표 유효성분으로 해충에 대한 섭식저해작용과 독성작용을 한다(Mao and Gregg, 2007). 농가에서는 병해충의 방제효율을 높이고자 2-3가지 이상의 농자재를 혼합하여 사용함으로써 약해 및 약효저하를 유발시킬 뿐만 아니라 작업자의 과도한 피부 노출로 인한 안전성 문제를 일으킬 위험이 있다고 한다(Lee 등, 2001). 식물추출물이 주성분인 유기농업자재의 경우 막연히 안전하다는 생각에 더욱 무분별하게 사용하는 경향이 있어 실제 사용에 따른 농작업자의 건강의 우려되므로 독성연구가 필요하다고 판단된다.

따라서 본 연구는 병해충관리용 유기농업자재로 많이 사용되고 있는 원료 중 대표적으로 님 추출물과 고삼 추출물의 토끼 피부에 대한 홍반, 가피 및 부종정도를 판정하는 피

*Corresponding author

Tel: +82-31-290-0536, Fax: +82-290-0506

E-mail: oja5074@korea.kr

부자극성시험과 토끼 눈의 홍채, 각막, 결막의 임상증상을 판정하는 안점막자극성시험을 실시하여 작업자의 안전성을 검토하였다.

실험방법

시험물질

본 시험에서는 님 추출물 2종(미얀마산, 주성분 1.84%, 인도산, 주성분 0.75%), 고삼 추출물 1종(중국산, 주성분 0.26%)을 시험물질로 사용하였으며, (주)그린포커스와 (주)고려바이오에서 구입하여 사용하였다.

실험동물

모든 시험은 ‘국립농업과학원 동물실험윤리위원회’의 운영 지침(훈령제66호)에 따라 수행하였다(승인번호: NAAS1304). 피부자극성 및 안점막자극성 시험에 체중 2.0~2.5 kg의 New Zealand White Rabbit(코아텍, 경기)를 각 시험 당 3마리 씩 사용하였다. 실험동물은 1주일간의 검역 및 순화를 거친 뒤 건강한 개체를 선발하였다.

사육환경

온도 23 ± 3°C, 상대습도 50 ± 10%, 환기횟수 13-18/h, 조명시간 12시간(오전 6시-오후 6시) 및 조도 200-300 Lux로 설정된 ‘농촌진흥청 국립농업과학원 화학물질안전과 동물사육실’에서 사육하였다. 시험기간 중 사료는 실험동물용 고품 사료(코아텍, 경기)를, 음용수는 수돗물을 자유급식 시켰다.

피부자극성시험

피부자극성시험은 농촌진흥청 고시 ‘농약 및 원제의 등록기준’ 중 별표 12 인축독성 시험기준과 방법(Rural Development Administration, 2012)으로 수행하였다. 시험물질 처리 24시간 전 토끼 등 부위의 털을 15 × 15 cm 넓이로 피부가 손상되지 않도록 깎았다. 시험 당일 척추를 중심으로 좌우 약 2 cm 떨어진 부위에 사각형으로 표시하였고 오른쪽에는 시험물질 0.5 ml, 왼쪽에는 증류수 0.5 ml를 도포하여 거즈로 덮고 비자극성 테이프로 고정시켰다. 4시간의 노출시간

종료 후 도포물을 제거하고 1시간, 24시간, 48시간, 72시간 후 홍반과 가피형성, 부종의 정도를 농촌진흥청 ‘인축독성 시험기준과 방법’의 피부반응의 평가에 따라 관찰하여 피부 1차 자극지수(Primary irritation index, P.I.I.)를 산출하였고, 농촌진흥청 ‘농약의 인축독성 시험성적서 검토기준’의 피부 1차 자극표(Rural Development Administration, 2012)에 따라 시험물질의 피부 자극정도를 분류하였다(Table 1).

안점막자극성시험

안점막자극성시험은 농촌진흥청 고시 ‘농약 및 원제의 등록기준’ 중 별표 12 인축독성 시험기준과 방법(Rural Development Administration, 2012)으로 수행하였다. 시험 개시 24시간 전에 양쪽 눈에 이상이 없는 개체를 선별하여 시험 당일 토끼 오른쪽 눈 하안검에 시험물질 0.1 ml 처리하고 무 처리한 왼쪽 눈은 대조군으로 사용하였다. 시험물질 처리 1시간, 24시간, 48시간, 72시간 후에 홍채, 각막, 결막의 임상증상을 관찰하여 농촌진흥청 ‘인축독성 시험기준과 방법’ 안반응의 평가표에 따라 급성 안점막 자극지수(Acute ocular irritation index, A. O. I.)를 산출하였고, 농촌진흥청 ‘농약의 인축독성 시험성적서 검토기준’의 안점막자극표(Rural Development Administration, 2012)에 따라 시험물질의 안점막 자극정도를 분류하였다(Table 1).

결과 및 고찰

피부자극성

님과 고삼 추출물 등 시험약제 3가지에 대하여 홍반, 가피 및 부종을 기준으로 피부자극을 평가한 결과는 Table 2

Table 1. Irritation index of Skin and Eye

Classification	Irritation index of skin (P.I.I.)	Irritation index of eye (A.O.I.)
Non	≤ 1.0	≤ 10
Slightly	1.1~2.0	10.1~30.0
Moderately	2.1~5.0	30.1~60.0
Severely	≥ 5.1	≥ 60.1

Table 2. Results of skin reaction of Neem extract(Myanmar), Neem extract(India) and Sophora extract(China)

Test materials	n ^{a)}	Erythema & Escher			Edaema			Total score	P.I.I. ^{b)}
		Time (h)			Time (h)				
		24	48	72	24	48	72		
Neem extract (Myanmar)	3	0	0	0	0	0	0	0	
Neem extract (India)	3	0	0	0	0	0	0	0	
Sophora extract (China)	3	0	0	0	0	0	0	0	

a) n : Number of animals

b) P.I.I. (Primary irritation index) = Total score/2

Table 3. Results of ocular irritation reaction of Neem extract (Myanmar), Neem extract (India) and Sophora extract (China)

Test materials	M.O.I. ^{a)} (Time, h)			A.O.I. ^{b)}
	24	48	72	
Neem extract (Myanmar)	2.67	2.0	0.67	2.67
Neem extract (India)	0	0	0	0
Sophora extract (China)	80.67	75.67	42.33	80.67

a) M.O.I. (Mean ocular irritation index)

b) A.O.I. (Acute ocular irritation index)

와 같았다. 님 추출물(미얀마산), 님 추출물(인도산) 및 고삼 추출물(중국산) 모두 관찰기간 동안 홍반, 가피, 부종이 관찰되지 않았고 체중은 각각 11.6%, 11.5%, 10.9% 증가하였으며 급작스런 체중변화 및 기타 이상증상은 관찰되지 않았다. 피부자극 1차 지수(P.I.I.)는 '0'으로 시험물질 3가지 모두 피부자극성이 없는 것으로 평가하였다.

안점막자극성

시험물질 3가지에 대하여 안점막자극성을 평가한 결과는 Table 3과 같다.

님 추출물(미얀마산)은 노출 1시간 후부터 결막에 발적 관찰되었으나 노출 48시간째부터 회복되었고 기타 각막이나 홍채는 이상이 없었다. 관찰기간동안 체중은 8.9% 증가하였으며 급작스런 체중변화 및 기타 이상증상은 관찰되지 않았다. 급성안점막자극지수는 2.67로 안점막자극성은 없었다.

님 추출물(인도산)은 노출 후 관찰기간 동안 각막, 홍채 및 결막에 이상이 관찰되지 않았고 체중은 7.6% 증가하였으며 급작스런 체중변화 및 기타 이상증상은 관찰되지 않았다. 급성안점막자극지수는 0으로 안점막자극성은 없었다.

고삼 추출물(중국산)은 노출 후 1시간째부터 각막 혼탁, 결막 발적 등의 증상과 눈을 뜨기 힘든 상태였고, 노출 24시간째에는 심한 각막 혼탁 증상과 홍채의 반응이 약하고 결막이 충혈, 심하게 부풀며 많은 양의 배출물을 분비하는 등 극심한 독성증상이 관찰되었다. 각막, 홍채, 결막의 독성 증상은 노출 72시간째부터 회복되었으며 노출 8일차인 192시간째에는 M.O.I.가 6으로 거의 정상적인 상태로 호전되었다. 관찰기간동안 체중은 8.3% 증가하였으며 급작스런 체중변화 및 기타 이상증상은 관찰되지 않았다. 급성안점막자극지수는 80.67로 안점막자극성은 강도로 분류되었고, 가역성이 있는 것으로 관찰되었다.

본 시험결과 님 추출물(미얀마산)의 급성안점막자극지수는 2.67, 님 추출물(인도산)의 급성안점막자극지수는 0으로 안점막에 대한 자극성이 없는 것으로 평가했고, 고삼 추출물(중국산)의 급성안점막자극지수는 80.67로 강도의 자극성이 있는 것으로 평가했다.

병해충 관리용 유기농업자재 허용물질로 지정된 식물추출물 중 님 추출물과 고삼추출물 원제의 독성 평가를 위해 피

부자극성과 안점막자극성시험을 수행하였다. 시험결과, 원산지가 다른 님 추출물 2종은 모두 피부자극성과 안점막자극성이 없는 것으로 평가하였고, 고삼 추출물은 피부자극성은 없었고 안점막자극성이 강도로 나타났으나 시간이 경과함에 따라 자극이 경감하는 것으로 평가했다. 제충국, 고삼 및 님 추출물을 일정 비율로 혼합한 약제 2종의 자극성 시험결과 피부자극성은 경도 및 중도, 안점막자극성은 무자극성으로 평가(Kang, 2012)한 결과와는 일치하지 않지만 원제의 원산지 및 추출법에 따라 독성반응이 달라질 수 있고, 단일 원제에 대한 안점막자극성이 강한 것으로 평가된 고삼 추출물은 유기농업자재로 사용할 때 농작업자에 대한 표시문구 및 그림문자 표시가 필요한 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2013년 농촌진흥청 공동연구사업 '친환경유기농자재 안전관리를 위한 독성평가' 중 세부과제 '농작업자 보호를 위한 급성독성 평가연구'(과제번호: PJ008953022013)에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

Literature Cited

- EFSA (2011) Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance azadirachtin.
- Lee, J. B., M. H. Jeong, H. J. Sung, H. K. Lee and J. S. Yang (2001) Acute toxicity response caused by mixture or tank mix of several insecticides. *The Korean Journal of Pesticide Science*. 5:57-61.
- Kang, W. T. (2012) A study on the insecticidal effect and biological safety of plant extracts. Kyungnam University.
- Korea Eco-friendly Agro-Materials Association (2012) Guidelines for standard use of Eco-friendly agro-materials.
- Lee, G. S., E. S. Kim, S. I. Cho, J. H. Kim, G. Choi, Y. S. Ju, S. H. Park, S. I. Jeong, H. J. Kim and H. J. Kim (2010) Antibacterial and synergistic activity of prenylated chalcone isolated from the roots of *Sophora flavescens*, *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry* 53(3): 290-296.
- Mao, L. and H. Gregg (2007) Antifeedant activity and acute

and residual toxicity of alkaloids from *Sophora flavescens* (Leguminosae) against formosan subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae). *Journal of Economic Entomology*, 100:866-870.

Mordue, A. J., M. S. L. Simmonds, S. V. Ley, W. M. Blaney, W.

Mordue, M. Nasiruddin and A. J. Nisbet (1998) Actions of azadirachtin, a plant allelochemical, against insects. *Journal of Pesticide Science* 54:277-284.

Rural Development Administration (2012).

유기농업자재 중 님과 고삼 추출물의 피부 및 안점막자극성

오진아* · 최진희 · 최미선 · 김진효 · 백민경 · 박경훈 · 유아선¹ · 이제봉¹ · 김두호

농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 화학물질안전과, ¹농자재평가과

요 약 본 연구는 병해충 관리용 유기농업자재 허용물질로 지정된 식물추출물 중 님 추출물(미안마산, 인도산)과 고삼추출물(중국산)의 독성 평가를 위해 피부자극성과 안점막자극성시험을 수행하였다. 시험결과, 원산지가 다른 님 추출물 2종은 모두 피부자극성과 안점막자극성이 없는 것으로 평가되었고, 고삼 추출물은 피부자극성은 없었고 안점막자극성이 강도로 나타났으나 시간이 경과함에 따라 자극이 경감하는 것으로 평가됐다. 따라서 안점막자극성이 강한 것으로 평가된 고삼 추출물을 유기농업자재로 사용할 때 농작업자에 대한 안전대책이 필요한 것으로 판단된다.

색인어 식물추출물, 피부 및 안점막자극성 시험