



계피 또는 데리스 추출물을 주원료로 하는 유기농업자재의 약효 성분 안정성

최근형 · 진초롱 · 박병준 · 임성진 · 노진호 · 문병철 · 공승현¹ · 김진효^{1,*}

농촌진흥청 국립농업과학원 화학물질안전과

¹경상대학교 농업생명과학연구원 응용생명과학부 (BK21 plus)

The Shelf-life of Agricultural Organic Materials Containing Cinnamon or Derris Extract: Thermal Stability of Cinnamyl Derivatives and Rotenoids

Geun-Hyoung Choi, Cho-Long Jin, Byung-Jun Park, Sung-Jin Lim, Jin-Ho Rho, Byung-Cheol Moon, Seung-Heon Kong¹ and Jin Hyo Kim^{1,*}

Chemical Safety Division, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Wanju, Korea

¹Division of Applied Life Science (BK21 plus), Institute of Agriculture and Life Science (IALS), Gyeongsang National University, Jinju, Korea

(Received on September 13, 2016. Revised on September 26, 2016. Accepted on September 28, 2016)

Abstract The stabilities of bioactive compounds in cinnamon or derris extract were investigated in commercial agricultural organic materials (biopesticide) during storage on different temperature conditions (0°C, 23°C, 35°C, 45°C, and 54°C). The selected bioactive compounds were cinnamaldehyde, and cinnamyl alcohol in cinnamon extract and deguelin, and rotenone in derris extract. Half-lives of the total cinnamyl derivatives in biopesticide (A, B, C, and D) ranged from 15.1 to 46.2 days on the different temperature and cinnamaldehyde was more stable than cinnamyl alcohol in the biopesticide. The half-lives of total rotenoid ranged from 1.7 to 173 days on the different temperature in the tested biopesticide (E, F, and G) containing derris extract. The stabilities of deguelin, and rotenon in the biopesticide showed similar values in the same condition.

Key words Biopesticide stability, cinnamaldehyde, cinnamon, derris, rotenoid.

서 론

잔류화학물질에 대한 우려와 지속가능 농업에 대한 소비자의 관심이 높아짐에 따라 친환경 농산물에 대한 수요와 이에 따른 관련 인증이 꾸준히 증가하고 있다(RDA 2011). 하지만, 각종 병해충으로 인해 상품성이 높은 친환경 농산물의 단위면적당 생산량은 관행농업과 큰 차이를 보이고 있고, 이와 같은 문제 해결을 위해 병해충 관리용 유기농업자재의 수요는 지속적으로 증가하고 있다(RDA 2011). 현재 국내에 유통되는 유기농업자재는 목록공시제와 품질인증제

를 통해 제품에 대한 품질 관리와 평가를 받고 있지만, 농자재의 약효까지 보장하는 품질인증제 등록제품은 전체 등록 제품 1406개 중 1.4%에 지나지 않는다(RDA 2016). 이와 같은 품질인증 등록제품의 절대적 부족 원인으로 고비용이 소요되는 유기농업자재 품질관리 기술 개발과 여기에 맞춘 효능평가 시스템 구축을 들 수 있다. 따라서, 국내에서 주로 사용되는 병해충 관리용 유기농업자재의 원료와 이를 주 성분으로 하여 제조한 제품에 대한 안정성 연구를 지속적으로 수행하여 병해충 관리용 유기농업자재 품질관리에 관한 기술개발을 할 필요가 있다. 이에 따라, 작물 병해충관리용 유기농업자재에 주로 사용되는 식물추출물인 님, 고삼, 계피, 데리스 추출물 등에 대한 지표물질 설정 연구가 최근 보고된 바 있고(Lee et al. 2013, Lim et al. 2014a, Lim et al.

*Corresponding author
E-mail: jhkim75@gnu.ac.kr

2014b, Lim et al. 2015), 이와 함께, 님과 고삼 추출물은 주요 살충성분인 azadirachtins와 matrinines를 지표물질로하여 유기농업자재 제품 중 안정성이 보고된 바 있다(Kim et al. 2015). 본 연구에서는 님, 고삼과 함께 유기농업자재 원료로 많이 사용되는 계피와 데리스 추출물을 주원료로 사용한 제품에 대해 지표물질을 중심으로 제품 안정성을 연구하였다. 계피의 지표물질은 Lim 등(2014a)이 보고한 것을 바탕으로 효능 성분으로 다량 함유되어 있는 성분인 cinnamaldehyde와 cinnamyl alcohol을 계피의 지표물질로 선정하였고, 데리스 추출물에서는 deguelin과 rotenone을 품질평가 지표물질로 선정하였다(Lim et al. 2015).

Cinnamaldehyde와 cinnamyl alcohol은 계피유에 다량 함유되어 있는 성분으로 L-phenylalanine으로부터 생합성 되는 것으로 알려져 있으며, 살균과 살충기능을 갖는 물질이다(Liu et al. 2014, Shreaz et al. 2016). 이들 물질의 안정성은 여러 문헌에서 확인 할 수 있고, 제품의 안정성과 관련이 깊은 수증분해 반감기는 15 days, 대기 중 광분해 반감기는 cinnamaldehyde 0.31 days과 cinnamyl alcohol 0.1 days로 알려져 있다(ECHA, 2016a, ECHA 2016b). 또한, 데리스의 주요 살충성분으로 알려진 deguelin과 rotenone은 빛과 산소에 민감한 성분으로 분해가 매우 빨라 광분해 반감기 < 30 min, 수증 분해 반감기가 0.5 days로 알려져 있다(Cabizza et al. 2004, Dawson et al. 2011). 따라서, 본 연구에서는 병해충관리용 유기농업자재 원료로 많이 사용되는 계피와 데리스 추출물의 효능 성분에 대한 유통 제품 중의 안정성을 비교하여 유기농업자재에 대한 유통기한 설정 연구에 도움을 주고자 하였다.

재료 및 방법

시료

계피 또는 데리스 추출물을 주원료로 하는 ‘목록공시’ 등록 제품 중 국내에서 제조된 제품을 대상으로, 계피 제품의 경우 고상제품 2종(Biopesticide A, B)과 액상제품 2종(Biopesticide C, D)을 무작위 선정하였고, 데리스 제품은 액상제품 3종(Biopesticide E, F, G)을 시중에서 구매하여 안정성 평가시험에 사용하였다. 시험에 사용된 제품 내 포함된 보조제는 Table 1에 나타내었다.

표준품 및 시약

Cinnamaldehyde, cinnamyl alcohol, deguelin, rotenone 등 표준품은 Sigma-Aldrich Co. (MO, USA)에서 구매하였다. Acetonitrile, methanol, dichloromethane, sodium sulfate anhydrous는 Merck 사(Darmstadt, German) 제품을 사용하였으며, 시료 전처리에 사용되는 Hydrophilic-Liphophilic Balanced (HLB) solid-phase extraction (SPE) cartridge (60 mg, 3 mL)는 Waters Co. (MA, USA) 제품을 사용하였다.

열 안정성 평가

식물 추출물 및 이를 주원료로 하는 제품을 질소 기류하에서 용기개봉 후 즉시 암갈색 밀폐용기에 나눠 옮겨 담고, 4°C, 23°C, 35°C, 45°C, 54°C로 설정된 항온기에 빛을 차단하여 각각 보관한 후 일정 간격으로 시료를 취하여 유효성분 함량을 분석하였다.

계피 추출물 유효성분 분석

계피 추출물의 유효성분인 cinnamaldehyde와 cinnamyl alcohol은 Lim 등(2014a)이 보고한 방법에 따라 액상시료는 증류수로 100배 희석 후 시험에 사용하였고, 희석된 시료 1 mL를 HLB cartridge에 loading 한 뒤 증류수 2 mL로 세척 후 acetone (3 mL × 2)으로 elution한 뒤 감압농축 후 GC-FID (Agilent 7890, Agilent Co., Santa Clara, USA)를 사용하여 정량분석하였다. 고상제품 시료는 acetone으로 추출한 뒤 감압농축 후 시험에 사용하였다. 기기분석 조건은 아래의 Table 2에 자세히 나타내었다. 분석 검량선은 cinnamaldehyde와 cinnamyl alcohol 모두 0.5-20 mg/L (r^2 0.999)에서 작성하였고, 전처리 완료 시료는 acetone으로 희석 후 분석에 사용하였다.

Table 1. Ingredient list of the tested commercial biopesticides

Biopesticide A	Cinnamon oil, paraffin oil
Biopesticide B	Cinnamon oil, plant extracts
Biopesticide C	Cinnamon extract, plant extract
Biopesticide D	Cinnamon oil, plant oil, paraffin oil
Biopesticide E	Derris extract, detergent, emulsifier, diluents
Biopesticide F	Derris extract, citronella oil, others (not specified)
Biopesticide G	Derris extract, plant extract, ethanol

Table 2. Instrumental condition for the analysis of cinnamaldehyde and cinnmayl alcohol

Instrument	Agilent 6890 with FID detector
Column	RTX-5 (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm, Restek, PA, USA)
Gas (Flow rate)	He (6 mL min ⁻¹)
Temperature	Injector : 230°C, Detector 300°C
Oven Temp.	Initial 70°C (2 min holding), Ramping 3°C min ⁻¹ (93°C), 30°C min ⁻¹ (130°C), 3.5°C min ⁻¹ (140°C), 40°C min ⁻¹ (300°C).

데리스 추출물 유효성분 분석.

데리스 추출물을 함유한 유기농자재의 주요 지표성분인 deguelin과 rotenone의 분석은 Lim 등(2015)의 방법에 따라 액액분배법과 HLB cartridge를 사용한 정제를 수행하였다. 먼저, 증류수(distilled water, DW)로 10배 희석한 유기농자재를 dichloromethane을 사용하여 분액 정제하고, 감압 농축한 다음 2 mL의 5% methanol 수용액으로 재 용해하여 정제용 시료로 사용하였다. HLB cartridge (60 mg, 3 mL)에 정제용 시료 2 mL를 loading 한 뒤 2 mL의 5% methanol 수용액을 흘려주어 세정하고, methanol 5 mL로 지표성분을 용출하였다. 용출액은 감압 농축 후 methanol로 재 용해한 뒤 UPLC를 이용하여 분석하였다. 기기분석에는 Acquity BEH-C18 (1.7 μ m, 2.1 \times 100 mm, Waters Co., Boston, USA) 칼럼을 사용하여 0.05% formic acid 와 acetonitrile을 이동상으로 사용하여 Lim 등(2015)의 조건에 따라 295 nm에서 정량분석을 실시하였다. 분석 검량선은 deguelin과 rotenone 모두 0.1-20 mg/L (r^2 0.999)에서 작성하였으며, 전처리 완료시료는 methanol로 희석 후 분석에 사용하였다.

결과 및 고찰

계피 추출물을 주성분으로 한 유기농업자재

계피 추출물을 주 성분으로 하는 유기농업자재의 유효성분 중 품질평가 지표성분은 cinnamaldehyde와 cinnamyl alcohol로 정하고, 이에 대한 제품 중 열 안정성을 평가하였다. 시험에 사용된 계피 추출물을 사용한 유기농업자재 4종 (Biopesticide A, B, C, D) 중 고상제품 2종(Biopesticide A, B)과 액상제품 2종(Biopesticide C, D)에 대한 분석결과, 제품 내 cinnamyl 유도체 총 함량은 3.4-16.4%로 확인되었으며(Table 3), 이를 기준으로 농약에 적용되는 유통기한 설정에 적합한 유효성분 허용범위는 90-110%로 확인되었다(Kim et al. 2015). 최대 30일까지 진행된 시험에서 시험기간 중 층 분리, 침전물 발생과 같은 물성 변화는 관찰되지 않았다. 반면, cinnamyl 유도체의 총함량은 54°C에서 14일

보관 후 >10% 지표성분 감소가 관찰되었으며, 45°C 이하의 시험 조건에서도 농약에 설정된 유통기한 설정(1년) 규정을 충족시키지는 못하였다.

보관 온도에 따른 cinnamyl derivatives의 제품별 분해 속도 k 는 single exponential equation을 사용하여 산출하였으며, 상온 보관을 기준으로 총 cinnamyl derivatives의 k 0.018-0.097로(Fig. 1), 이에 따른 반감기는 7.1-38.5 days로 나타났다(Table 4). Cinnamaldehyde와 cinnamyl alcohol에 대한 각 성분별 제품 내 분해속도는 cinnamyl alcohol이 cinnamaldehyde보다 최대 5배(Biopesticide D) 빨랐으며, 모든 시험대상 제품에서 cinnamyl alcohol의 안정성이 cinnamaldehyde보다 낮은 것으로 나타났다(Table 5). 이는 cinnamyl alcohol의 이화학적 안정성에 관한 여러 문헌과 일치하는 결과이다(ECHA 2016b).

처리 온도별 분해 반감기는 Table 4에 나타낸 바와 같이 15.1-43.3 days (Biopesticide A), 21.7-46.2 days (Biopesticide B), 10.0-13.1 days (Biopesticide C), 4.7-9.4 days (Biopesticide D)로 보관 온도가 낮을수록 지표물질의 안정성이 높아 지는 것으로 확인되었다. 특히, 액상제품의 분해 반감기는 물질이

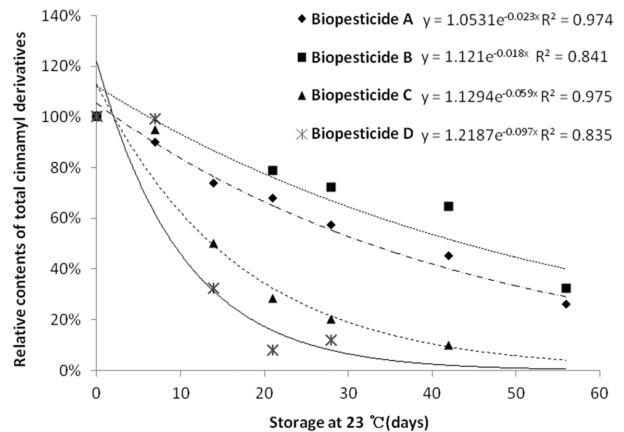


Fig. 1. An example for stability of total cinnamyl derivatives (cinnamaldehyde and cinnamyl alcohol) in commercial biopesticides during storage at 23°C.

Table 3. Total contents of the selected bioactive compounds in the biopesticides

	Bioactive compound contents (%)			
	Cinnamaldehyde	Cinnamyl alcohol	Deguelin	Rotenone
Biopesticide A	16.4	0.03	ND ^{a)}	ND
Biopesticide B	3.4	ND	ND	ND
Biopesticide C	10.8	0.27	ND	ND
Biopesticide D	6.02	0.19	ND	ND
Biopesticide E	ND	ND	0.13	0.19
Biopesticide F	ND	ND	1.56	2.05
Biopesticide G	ND	ND	1.52	1.21

^{a)}Not detected.

Table 4. Half-life of total cinnamyl derivatives or rotenoids in commercial biopesticide under different temperature

	Half-life (days) ^{a)}				
	4°C	23°C	35°C	45°C	54°C
Biopesticide A ^{b)}	43.3	30.1	24.8	13.9	15.1
Biopesticide B ^{b)}	46.2	38.5	34.7	21.7	21.7
Biopesticide C ^{b)}	13.1	11.7	11.6	10.5	10.0
Biopesticide D ^{b)}	9.4	7.1	7.1	5.1	4.7
Biopesticide E ^{c)}	25.0	6.7	2.9	2.4	1.5
Biopesticide F ^{c)}	173	138	30.9	3.7	3.5
Biopesticide G ^{c)}	92.4	77.0	58.9	8.8	6.6

^{a)}The half-life was mean value of triplicate replication ($R^2 > 0.60$). ^{b)}The values were calculated with the total cinnamyl derivatives. ^{c)}The half-life was calculated with the total rotenoids

Table 5. Half-life of cinnamaldehyde, cinnamyl alcohol, deguelin and rotenone in commercial biopesticide at 23°C

	Half-life (days) at 23°C			
	Cinnamaldehyde	Cinnamyl alcohol	Deguelin	Rotenone
Biopesticide A	30.1	21.7	NT ^{a)}	NT
Biopesticide B	38.5	NT	NT	NT
Biopesticide C	11.9	2.1	NT	NT
Biopesticide D	7.2	1.4	NT	NT
Biopesticide E	NT	NT	5.9	7.1
Biopesticide F	NT	NT	138	138
Biopesticide G	NT	NT	77.0	86.6

^{a)}Not tested.

갖는 수증 분해 반감기(15 days)와 유사하였고, 이는 제품 내 포함된 물이 물질의 분해과정에 직접 관여하여 나타난 결과로 추정되었다. 이와 달리, 고상제품은 물과의 접촉이 제한되어 상대적으로 긴 반감기를 나타낸 것으로 나타났다. 따라서, 계피와 같이 안정성이 낮은 효능물질을 포함한 제품의 유통기한 연장을 위해서는 저온유통 혹은 질소 충전 포장, 천연 안정제 사용과 같은 기술 개발이 보완되어야 할 것으로 판단된다.

데리스 추출물 및 이를 주성분으로 한 유기농업자재

데리스 추출물을 주성분으로 하는 유기농업자재 3종 (Biopesticide E, F, G)에 대해서는 rotenoid계 효능성분인 deguelin과 rotenone을 지표물질로 설정하여 제품 내 지표성분의 안정성을 평가하였다. 안정성 평가는 설정온도에서 최대 180일간 보관하면서 관능적 변화와 지표성분 변화를 관찰하였다. 시험에 사용된 유기농업자재에 포함된 총 rotenoid 함량은 0.32-3.61%로 확인되었다(Table 3). 상온 보관 시험 결과, 총 시험기간 동안 데리스 추출물을 주성분으로 한 유기농업자재의 관능적 품질변화는 관찰되지 않았다. 또한, 54°C에서 14일 보관시 평가대상 제품 3종 모두 rotenoid 함량이 기준 농도 이상 감소하여 유통기한 1년 기준을 충족시

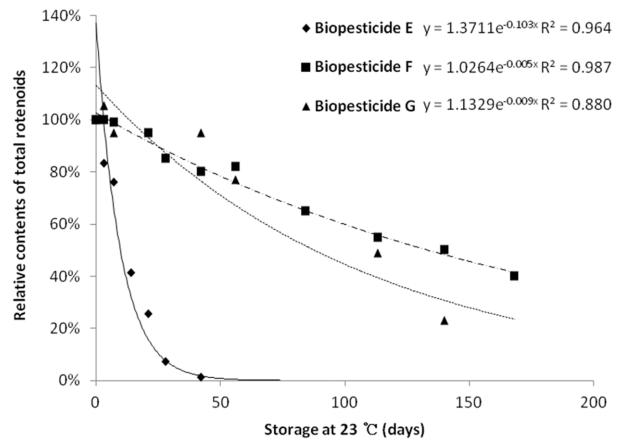


Fig. 2. An example for stability of total rotenoids (deguelin and rotenone) in commercial biopesticides during storage at 23°C.

키지 못하는 것으로 확인되었다.

상온에서 총 rotenoids를 기준으로 한 제품별 분해 속도 k 는 0.005-0.103으로 확인되었으며(Fig. 2), 이에 따른 반감기는 6.7-138 days로 나타났다(Table 4). 제품 내 포함된 deguelin과 rotenone에 대한 각 성분별 분해속도 k 를 비교하면, deguelin은 0.005-0.117이었고, rotenone은 0.005-0.097로 확인되었다. 이에 따른 반감기는 deguelin이 5.9-138 days,

rotenone이 7.1-138 days로 제품에 따라 각 주요 성분의 반감기가 큰 차이를 나타내었다(Table 5). 하지만, 동일 제품 내 degeulin과 rotenone의 안정성은 유사한 것으로 확인되었다.

보관 온도별 분해 반감기는 Table 4에 나타난 바와 같이 총 rotenoid 함량을 기준으로 볼 때, 1.5-25.0 days (Biopesticide E), 3.5-173 days (Biopesticide F), 6.6-92.4 days (Biopesticide G)로 낮은 온도에서 지표성분의 안정성이 높은 경향을 보였다. 이와 같은 시험결과는 물질이 갖는 광 분해 반감기(<0.5 h) 및 수중 분해 반감기(0.5 days)와 큰 차이를 보이고 있으며, 이는 rotenoid계 물질의 분해반응에 물 이외의 인자가 더 중요한 역할을 하는 것으로 판단된다. 또한, 제품별 반감기 차이가 크게 나타나는 것은 추출물과 함께 제공된 여러 보조제의 영향으로 고려되며, 제형에 관한 추가 연구가 요구된다. 이와 더불어, 본 연구에서 선정된 지표성분이 전체 약효를 대표할 수 있는지에 대한 보완 연구가 필요할 것이다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ010896)의 지원에 의해 이루어진 것입니다.

Literature cited

- Cabizza, M., A. Angioni, M. Melis, M. Cabras, C. V. Tuberoso and P. Cabras (2004) Rotenone and rotenoids in Cubè resins, formulations and residues on olives. *J. Agric. Food Chem.* 52:288-293.
- Dawson, V. K., W. H. Gingerich, R. A. Davis and P. A. Gilderhus (2011) Rotenone persistence in freshwater ponds: Effects of temperature and sediment adsorption. *N. Am. J. Fish Manage.* 11:226-231.
- ECHA (2016a) Cinnamaldehyde - Biodegradation in water and sediment: simulation tests. <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/14462/5/3/3>.
- ECHA (2016b) Cinnamyl alcohol - Biodegradation in water and sediment: simulation tests. <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/12023/5/3/3>.
- Kim, J. H., G. H. Choi, J. E. Kang and B. J. Park (2015) Stability of representative active compounds on commercial biopesticides based on neem or *Sophora flavescens* extract under controlled temperature. *Korean J. Pestic. Sci.* 19:88-92.
- Lee, J. W., C. L. Jin, K. C. Jang, G. H. Choi, H. D. Lee and J. H. Kim (2013) Investigation on the insecticidal limonoid content of commercial biopesticides and neem extract using solid phase extraction. *J. Agric. Chem. Environ.* 2:81-85.
- Lim, S. J., D. Y. Jeong, G. H. Choi, B. J. Park and J. H. Kim (2014a) Quantitative analysis of matrine and oxymatrine in *Sophora flavescens* extract and its biopesticides by UPLC. *J. Agric. Chem. Environ.* 3:64-73.
- Lim, S. J., J. H. Lee, J. H. Kim, G. H. Choi, N. J. Cho and B. J. Park (2014b) Quantitative analysis of cinnamaldehyde, cinnamylalcohol and salicylaldehyde in commercial biopesticides containing cinnamon extract using gas chromatography-flame ionization detector. *Korean J. Environ. Agric.* 33:213-219.
- Lim, S. J., J. H. Kim, G. H. Choi and B. J. Park (2015) Quantitative analysis of rotenone and deguelin in biopesticides containing derris extract by ultra performance liquid chromatography. *Korean J. Environ. Agric.* 34:27-31.
- Liu, X. C., J. Cheng, N. N. Zhao and Z. L. Liu (2014) Insecticidal activity of essential oil of *Cinnamomum cassia* and its main constituent, trans-cinnamaldehyde, against the Booklice, *Liposcelis bostrychophila*. *Trop. J. Pharm. Res.* 13:1697-1702.
- RDA (2011) Organic is life. In RDA Interrobang. Eds. B. S. Lee, J. S. Shin, W. S. Cho, C. Y. Min, Rural Development of Administration, Suwon, Korea. pp 1-20.
- RDA (2016) List of organic farming material, Rural Development Administration. <http://nongsaro.go.kr/portal/ps/psa/psab/psabl/openApiPurchaseInfoLst.ps?menuId=PS02479>
- Shreaz, S., W. A. Wani, J. M. Behbehani, V. Raja, M. Irshad, M. Karched, I. Ali, W. A. Siddiqi and L. T. Hun (2016) Cinnamaldehyde and its derivatives, a novel class of antifungal agents. *Fitoterapia* 112:116-131.

계피 또는 데리스 추출물을 주원료로 하는 유기농업자재의 약효 성분 안정성

최근형 · 진초롱 · 박병준 · 임성진 · 노진호 · 문병철 · 공승현¹ · 김진호^{1,*}

농촌진흥청 국립농업과학원 화학물질안전과

¹경상대학교 농업생명과학연구원 응용생명과학부 (BK21 plus)

요 약 계피 추출물의 지표성분으로 알려진 cinnamaldehyde와 cinnamyl alcohol, 데리스 추출물의 지표성분인 deguelin과 rotenone을 대상으로 유기농업자재 제품 중 안정성을 평가하였다. 시험은 4°C, 23°C, 35°C, 45°C, 54°C에서 각각 진행하였으며, 계피 추출물을 주성분으로 하는 유기농업자재 중 고상제품(Biopesticide A, B)의 유효성분 반감기가 15.1-46.2 days로 액상제품(Biopesticide C, D)에 비해 보관 중 안정성이 높게 나타났다. 또한, 동일 제품 내서는 cinnamaldehyde의 안정성이 cinnamyl alcohol보다 높은 것으로 나타났다. 데리스 추출물을 사용한 제품(Biopesticide E, F, G)의 rotenoid계 유효성분 반감기는 1.5-173 days로 제품별 보관온도에 따른 지표성분 안정성이 큰 차이를 나타내었으며, 동일 제품에서 deguelin과 rotenone의 안정성은 큰 차이를 나타내지 않았다.

색인어 계피, 데리스, 안정성, 로테논, 신남알데히드, 생물농약