

<Note>

고수 정유를 원제로 하는 유제 제형의 잉어에 대한 급성독성

남태훈 · 전황주 · 김경남 · 최연서 · 이성은*

경북대학교 응용생명과학부

Acute Toxicity of Emulsifiable Concentrate of Coriander Essential Oils against *Cyprinus carpio*

Tae-Hoon Nam, Hwang-Ju Jeon, Kyeongnam Kim, Yeonsoo Choi and Sung-Eun Lee*

School of Applied Biosciences, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea

Abstract - Essential oils (EOs) extracted from plants possess various biological activities and have been considered as natural insecticides due to their potent insecticidal activities. In regard to develop natural insecticides, EOs are formulated as an emulsifiable concentrate and their acute toxicity against to fishes were determined in a static condition using *Cyprinus carpio*. Coriander EO was used as an active ingredient mixed with ethanol for solvent and various surface active agents. The tested EOs were obtained from a commercial market, and three different extractions were also undertaken to produce EO using steam distillation, solvent extraction, and supercritical fluid extraction. Among the emulsifiable concentrate including a commercial coriander EO, surface active agents such as Tween 80, sodium dodecyl benzene sulfonate (SDBS), and mixture of SDBS and Nonidet showed acute toxicity to the fish. With the three different EO extraction, coriander EO obtained from supercritical fluids with Triton X-100 exhibited acute toxicity to *C. carpio*. Taken together, Tetgitol and Nonidet are considered as surface active agents for the emulsifiable formulation of coriander EO.

Key words : acute toxicity, *Cyprinus carpio*, emulsifiable concentrate, coriander essential oil

서 론

정유는 식물로부터 추출되어진 오일 성분의 집합체이며 주된 물질로서는 10개의 탄소원자로 이루어진 모노테르펜 (monoterpenoid) 등이 있다(Tongnuanchan and Benjakul 2014). 정유는 강한 살균 효과로 인한 식품보존제로서 사용하고 있으며(Tongnuanchan and Benjakul 2014), 국내에서도 천연항균제로서 식품산업에 사용하고 있다(Cho *et al.* 2005). 새로운 천연항균제로서 정유에 대한 연구 또한 심도 있게 진행되고 있다(Jang *et al.* 2010). 이외에도 정유는 의료용으

로서 사용 가능하며, 사료용으로도 활용 가능하다(Batish *et al.* 2008).

최근에 이르러 정유는 저극해충에 대한 강한 살충력과 모기기피 효과 등이 입증되어 이들을 원제로 하는 약제가 개발 되기에 이르렀다(Choi *et al.* 2002; Kang *et al.* 2012; Lee *et al.* 2012; Park *et al.* 2015). 훈증효과를 나타내는 정유의 대표적인 살충성분으로 알려진 모노테르펜류 중 멘톨(Menthol) 성분은 신경세포의 신호를 전달하는 신경전달물질인 아세틸콜린의 가수분해를 촉매하는 아세틸콜린에스테라제(acetylcholinesterase, AChE)의 활성을 저해하는 것이며 이 저해 작용은 아세틸콜린에 대하여 경쟁적 저해로 확인되었다(Miyazawa *et al.* 1998; Lee *et al.* 2001). 이러한 정유를 원제로서

* Corresponding author: Sung-Eun Lee, Tel. 053-950-7768, Fax. 053-953-7233, E-mail. selpest@knu.ac.kr

사용하는 유제 제형 (Emulsifiable Concentrate)을 개발하여 이들을 친환경농자재로서 사용하기에 이르렀다 (You *et al.* 2012).

고수 정유 (Coriander essential oil, *Coriandrum sativum* L.)는 항진균, 항산화, 항박테리아 효과를 지니고 있으며 (Mandal and Mandal 2015), 강한 살충 효과를 농업 해충인 어리쌀도독거저리 (*Tribolium confusum*)와 콩바구미 (*Gallosobruchus maculatus*)에 나타내었다 (Cloyd *et al.* 2009; Khani and Rahdari 2012; Rani 2012). 이 고수 정유는 다른 식물 정유에 비하여 그 살충력이 월등하였고 (Rani 2012) 따라서 이를 이용하여 친환경농자재로 개발하여 기존의 상용화된 농약을 대신할 수 있다.

이러한 고수 정유를 원제로 하는 친환경농자재로서의 사용을 위하여 유제 제형을 개발하였고 이들의 수계 환경 중 잉어에 대한 급성독성을 측정하여 보고하고자 하였다. 사용된 고수 정유는 세 가지의 다른 방법으로 추출하였으며, 고수 정유의 유제 제형을 위하여 다양한 유화제를 사용하였다.

재료 및 방법

1. 시험물질

시험에 사용된 시료는 고수 정유 (50%)가 함유된 유제로서 에탄올 (10%) 및 유화제 (40%)를 함유하였다. 고수 정유는 세가지 방법으로 추출한 것으로서 수증기증류법, 용매추출법, 초임계추출법을 이용하였고 전북대학교로부터 제공받았다. 또한 상용화된 고수 정유를 Mother and Daughters (포천, 경기도)사로부터 구입하여 사용하였다. 사용된 유화제로는 Castor oil, Tween 80, Triton X-100, Tergitol, Nonidet 등의 비이온계 계면활성제와 음이온성 계면활성제로서 Sodium dodecyl sulfate (SDS)와 sodium dodecyl benzene sulfonate (SDBS) 등의 2종이 사용되었으며 모두 Sigma-Aldrich사 (St Louise, MO)로부터 구입하였다.

2. 시험생물

시험에 사용한 잉어 (*Cyprinus carpio*)는 오창양어장 (오창, 충북)으로부터 구입하여 실험실에서 1주일 이상 순화시킨 후 전장 3~5 cm의 건강한 개체를 선별하여 사용하였다. 시험 24시간 전부터 먹이 공급을 중단하였으며 염소를 제거한 물을 이용하여 시험하였다.

3. 잉어에 대한 급성독성 평가

잉어에 대한 고수 유제의 급성독성 실험은 국내 농촌진

흥청 환경생물 독성 시험기준과 방법 (제5조 제1항 제4호) (RDA 2012)을 참고하여 시험하였으며 음성대조군 (물만 사용) 및 양성대조군 (용제 및 계면활성제 사용)을 두어 유효성분 (정유)이 10 ppm이 되는 농도로 처리하여 시험하였다. 염소를 제거한 수돗물 5L를 5L 비커에 채워 20~28도의 온도를 유지하여 각 비커당 10마리의 잉어를 처리하여 지수식으로 실험을 96시간 동안 수행하였다. 실험 도중 발생한 치사 개체는 발견 즉시 제거하였으며, 치사율을 6, 12, 18, 24, 48, 72, 96시간에 맞추어 기록하였다. 비커 내의 용존산소량, pH, 온도는 24시간 단위로 측정하여 기록하였다.

결과 및 고찰

1. 유제로의 제조 및 유화제의 잉어 독성 실험

유제 제형을 확립하기 위해서 정유, 유화제, 에탄올의 적정 비율 (무계비, 정유 : 유화제 : 에탄올, 5 : 4 : 1)을 사용하였고 다른 계면활성제는 모두 정유와 에탄올 혼합용액에 잘 녹았으나, SDS의 경우 물을 섞지 않을 경우에는 SDS가 정유와 에탄올을 섞은 용액에 녹지 않음을 확인하였다. 따라서, SDS는 정유의 유제 제형 시 사용될 유화제로서 고려하지 않았다.

각 유화제별 잉어 급성독성 실험의 결과는 Table 1과 같다. 시험에 사용된 계면활성제들은 잉어에 대해서 독성을 나타내지 않았다. 정유 대신 증류수를 사용하였으며 이는 양성대조군으로서 사용하기 위한 시험이었다. 또한 음성대조군으로 증류수만을 사용한 대조군에서도 치사 개체가 발견되지 않았다.

2. 고수 유제 잉어 독성 실험

상용화된 고수의 정유를 사용한 경우, 정유 : 유화제 : 용제 (에탄올)의 비율 5 : 4 : 1로 처리하였고 Tween 80, SDBS 및 Nonidet과 SDBS 혼합물을 유화제로 사용한 유제에서 어독성 시험에서 치사 개체가 발견되었다.

따라서, 치사 개체가 발견된 계면활성제의 경우 시험에서 더 이상 사용하지 않았으며 양성대조군에서는 Table 2에서 나타낸 바와 같이 치사 개체가 발견되지 않았다.

전북대학교에서 제공한 세 종류의 고수 정유를 함유한 유제의 잉어에 대한 급성독성 실험을 수행한 결과를 Table 3에 나타내었다.

고수의 초임계추출 정유의 경우, 유화제로 Triton X-100을 사용한 유제에서 1마리의 치사 개체가 발생하였으며, 나머지 대조구에서는 치사 개체가 나오지 않았다. 이와 같은 결과

Table 1. Acute toxicity against *Cyprinus carpio* of various surface active agents in emulsifiable formulation before addition of coriander essential oil

No	Surface active agents	Mortality (12 h*)	24 h	48 h	72 h	96 h
1	Tergitol	0/10**	0/10	0/10	0/10	0/10
2	Tween 80	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
3	Triton X-100	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
4	Koliophor	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
5	Sodium dodecyl sulfate	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
6	Sodium dodecyl benzene sulfonate (SDBS)	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
7	Nonidet	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
8	Nonidet + SDBS	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

*Time after the exposure of surface active agents against the fish

**In this experiment, only 10 fishes were exposed to the agents followed by the guideline from Rural development Agency.

Table 2. Acute toxicity against *Cyprinus carpio* of various surface active agents in emulsifiable formulation with the addition of coriander essential oil commercially available

No	Surface active agents	Mortality (12 h*)	24 h	48 h	72 h	96 h
1	Tergitol	0/10**	0/10	0/10	0/10	0/10
2	Tween 80	0/10	0/10	1/10	1/10	1/10
3	Triton X-100	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
4	Koliophor	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
5	Sodium dodecyl sulfate	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
6	Sodium dodecyl benzene sulfonate (SDBS)	0/10	1/10	2/10	2/10	2/10
7	Nonidet	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
8	Nonidet + SDBS	0/10	0/10	1/10	1/10	1/10

*Time after the exposure of surface active agents against the fish

**In this experiment, only 10 fishes were exposed to the agents followed by the guideline from Rural development Agency.

Table 3. Acute toxicity against *Cyprinus carpio* of emulsifiable formulation with the addition of coriander essential oils extracted from three different methods

No	Used EO type and surface active agent	Mortality (12 h*)	24 h	48 h	72 h	96 h
1	EOSD** + Tetgitol	0/10***	0/10	0/10	0/10	0/10
2	EOSE** + Tetgitol	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
3	EOSF** + Tetgitol	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
4	EOSD + Triton X-100	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
5	EOSE + Triton X-100	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
6	EOSF + Triton X-100	0/10	0/10	1/10	1/10	1/10
7	EOSD + Nonidet	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
8	EOSE + Nonidet	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
9	EOSF + Nonidet	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

*Time after the exposure of surface active agents against the fish

**Essential oil obtained from steam distillation, EOSD; Essential oil obtained from solvent extraction, EOSE; Essential oil obtained from supercritical fluids, EOSF.

***In this experiment, only 10 fishes were exposed to the agents followed by the guideline from Rural development Agency.

를 토대로 고수 정유의 유제 제형에 사용할 계면활성제로서 Tetgitol과 Nonidet이 적당할 것으로 판명되었다.

적 요

식물로부터 추출한 정유(Essential oil, E. O.)는 다양한 생

리활성을 나타내며 특히 해충에 대한 강한 살충 효과를 지니고 있어서 식물 정유를 이용한 해충방제 연구가 활발히 진행되고 있다. 해충방제 목적으로 정유를 사용하기 위하여 정유를 유제(Emulsifiable Concentrate)형태로 개발하였고 이들의 수계 환경 중 급성어독성을 지수식으로 시험하였다. 유제 제형은 고수 정유(Coriander E. O.)를 원제로 하였으며 용제로서 에탄올을 이용하였고 유화제로서 계면활성제를 사

용하였다. 사용된 정유는 상업화된 정유, 연구실에서 수증기 증류법, 용매추출법, 초임계추출법을 이용하여 얻은 정유를 각각 실험에 사용하였다. 어독성 시험을 위하여 잉어를 이용하였으며 유제 제형 중 Tween 80, sodium dodecyl benzene sulfonate (SDBS) 및 SDBS와 Nonidet의 혼합형태를 계면활성제로 사용하였을 때, 상용화된 고수 정유가 잉어에 대한 급성독성을 나타내었다. 다양한 추출법에 의해서 얻은 고수 정유의 경우, 초임계추출법에 의하여 얻은 정유가 Triton X-100을 계면활성제로 사용하였을 때, 어독성을 나타내었다. 위의 결과를 토대로 본 시험에서 유화제로서 사용된 계면활성제 중 Tergitol과 Nonidet만이 고수 정유를 원제로 하는 유제 제형에 적합함을 확인할 수 있었다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(세부과제명: 고수, 길 초근 등 유래 기능성 물질 이용 주요 농작물 해충 방제제 개발, 과제번호: PJ011983032016)의 지원으로 이루어진 것이며, 이에 감사 드립니다.

Conflict of Interest

The authors have declared that no competing interests exist.

REFERENCES

- Batish DR, HP Singh, N Setia, RK Kohli, S Kaur and SS Yadav. 2007. Alternative control of littleseed canary grass using eucalypt oil. *Argon Sust. Dev.* 27:171-177.
- Batish DR, HP Singh, RK Kohli and S Kaur. 2008. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecol. Manag.* 256:2166-2174.
- Cho M, E-K Bae, S-D Ha and J Park 2005. Application of natural antimicrobials to food industry. *Food Sci. Ind.* 38:36-45.
- Choi WS, BS Park, SK Ku and SE Lee. 2002. Repellent activities of essential oils and monoterpenes against *Culex pipiens pallens*. *J. Am. Mosquito Contr. Assoc.* 18:348-351.
- Cloyd RA, CL Galle, SR Keith, NA Kalscheur and KE Kemp. 2009. Effect of commercially available plant-derived essential oil products on arthropod pests. *J. Econ. Entomol.* 102:1567-1579.
- Jang M, J-H Lee, J Seo and GH Kim. 2010. Antibacterial activities of essential oil from *Zanthoxylum schinifolium* against food-borne pathogens. *Korean J. Food Cookery Sci.* 26:206-213.
- Kang S, YJ Chung and JA Lim. 2012. Antifungal and insecticidal activity of essential oil from *Asarum sieboldii* against wood contaminant fungi and *Lasioderma serricorne* L. *J. Conserv. Sci.* 28:395-401.
- Khani A and T Rahdari. 2012. Chemical composition and insecticidal activity of essential oil from *Coriandrum sativum* seeds against *Tribolium confusum* and *Gallosobruchus maculatus*. *ISRN Pharm.* 2012:Article ID 263517.
- Lee DG, YH Jung, DH Choi, SH Choi, HY Choo and DW Lee. 2012. Insecticidal activity of essential oils against white-grub. *Weed Turfgrass Sci.* 4:129-134.
- Lee SE, BH Lee, WS Choi, BS Park, JG Kim and BC Campbell. 2001. Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean species and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L). *Pest Manag. Sci.* 57:548-553.
- Mandal S and M Mandal. 2015. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: Chemistry and biological activity. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 5:421-428.
- Miyazawa M, H Watanabe, K Umamoto and H Kameoka. 1998. Inhibition of acetylcholinesterase activity by essential oils of *Mentha* species. *J. Agric. Food Chem.* 46:3431-3434.
- Park JY, JY Kim, SH Jang, HJ Kim, SJ Lee and SC Park. 2015. Biological activities and acute oral toxicity of citronella and lemongrass oil. *Korean J. Vet. Res.* 55:13-20.
- Rani PU. 2012. Fumigant and contact toxic potential of essential oils from plant extracts against stored product pests. *J. Biopestic.* 5:120-128.
- RDA. 2012. Criteria and methods of toxicity test for environmental organisms, legislation, notification, and directives for pesticide regulation, RDA, Korea, pp. 306-313.
- Tongnuanchan P and S Benjakul. 2014. Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *J. Food Sci.* 79:R1232-R1249.
- You AS, M Jeong, SS Hong, KH Park, HS Chang, JB Lee and JY Park. 2012. Acute ecotoxicity evaluation of 3 emulsifiable concentrates containing garlic extract, *Zanthoxylum* extract, and lemon grass oil originated from plant. *Korean J. Pestic. Sci.* 16:376-382.

Received: 4 September 2016

Revised: 9 September 2016

Revision accepted: 9 September 2016