

넝 또는 고삼추출물을 주원료로 하는 작물병해충 관리용 유기농업자재의 유효성분 열 안정성

김진호^{1,*} · 최근형¹ · 강재은² · 박병준¹

¹농촌진흥청 국립농업과학원 화학물질안전과, ²화학물질안전원 사고예방심사과

Stability of Representative Active Compounds on Commercial Biopesticides Based on Neem or *Sophora flavescens* Extract Under Controlled Temperature

Jin Hyo Kim^{1,*}, Geun-Hyoung Choi¹, Jae-Eun Kang² and Byung-Jun Park¹

¹Chemical Safety Division, National Academy of Agricultural Science, RDA, Korea

²Accident Prevention and Assessment Division, National Institute of Chemical Safety, Korea

(Received on March 19, 2015. Revised on May 18, 2015. Accepted on June 1, 2015)

Abstract This study investigated the thermal stabilities of the four limonoid active compounds like azadirachtin A, azadirachtin B, deacetylsalannin and salannin and of the two alkaloidal active compounds like matrine and oxymatrine in commercial biopesticides at incubated conditions (30°C, 35°C, 40°C, 45°C, and 54°C). Half-lives of the limonoid compounds in biopesticide ranged from 25.6 to 220 days. And the total limonoid contents changed over 15% after 14 days at all the conditions in the tested biopesticide containing neem extract. On the contrary, half-lives of the alkaloidal compounds in biopesticide showed the ranges from 231 to 346 days. And total alkaloidal compounds in all the tested biopesticides containing *Sophora flavescens* extracts decomposed below 15% after 14 days incubation at 54°C.

Key words neem, *Sophora flavescens*, biopesticide, thermal stability

서 론

현재 국내 친환경 및 유기 농산물에 대한 소비자의 수요가 증가함에 따라 유기농산물 생산 경작지가 매년 지속적으로 증가하고 있다. 그러나 유기농산물의 단위면적당 생산량은 각종 병해충 발생 등으로 인해 관행농업과 큰 차이를 보이고 있고, 이와 같은 문제를 해결하기 위한 방법으로 화학 농약을 대체할 수 있는 기술이 꾸준히 개발·보급되고 있다. 이런 맥락에서 병해충 관리용 유기농업자재가 다양하게 개발되어 사용되고 있으며, 이와 함께 안전성에 기초한 국내 외의 관련 규정도 마련되어 있다. 우리나라는 “친환경 농업 육성 및 유기식품 등의 관리지원에 관한 법률(2014. 3. 2. 개정)”에서 우수한 품질의 병해충 관리용 유기농업자재

가 생산되고 유통되도록 ‘목록공시제’와 ‘품질인증제’를 시행하고 있다. 두 제도는 유기농업자재 생산에 사용할 수 있는 원료와 안전성에 대해 규정하고 있고, ‘품질인증제’는 ‘목록공시제’와 달리 약효 및 품질관리에 대한 규정이 보다 강화되어 있다(Paik 등 2013).

국내에서 제조·유통되는 병해충관리용 유기농업자재의 식물 추출물 원료 중 큰 비중을 차지하는 것은 넝 추출물과 고삼 추출물이다. 넝 추출물의 유효성분은 limonoid계 살충 성분인 azadirachtin A, azadirachtin B, salannin, deacetylsalannin (Lee 등 2013a) 등으로 알려져 있으며, 고삼 추출물은 alkaloid계 살충성분인 matrine과 oxymatrine (Lim 등 2014)이 유효성분으로 알려져 있다. 이 성분은 넝과 고삼의 추출물을 주원료로 사용한 유기농업자재의 품질관리를 위한 지표성분으로 공정시험분석법이 공시되어 있다. 그러나 식물 추출물을 원료로 하는 병해충 관리용 유기농업자재들이

*Corresponding author
E-mail: setup75@korea.kr

꾸준한 품질관리를 받지 않고, 목록공시에 등록되어 관행적으로 생산·유통되고 있어 효능을 중심으로 한 유통기한설정 평가가 부족한 실정이다.

이에 본 연구에서는 지표성분을 중심으로 넙 추출물 또는 고삼 추출물을 주원료로 하는 유기농업자재의 열 안정성을 평가하였다.

재료 및 방법

시료

넙 추출물 또는 고삼 추출물을 주원료로 하는 ‘목록공시’ 등록 제품 각 3종을 무작위 선정하고 구매하여 열 안정성 평가시험에 사용하였다.

표준품 및 시약

Azadirachtin A, azadirachtin B, salannin, deacetylsalannin, matrine, oxymatrine 등 표준품은 Chromadex Co. (CA, USA)에서 구매하였다. Acetonitrile, methanol, dichloromethane, sodium sulfate anhydrous는 HPLC급 용매(Tedia Co., OH, USA)를 구입하여 사용하였다. Hydrophilic-Lipophilic Balanced (HLB) solid-phase extraction (SPE) cartridge (60 mg, Supelco Co., MA, USA)와 Florisil SPE (500 mg, Applied Separation Co., USA), C18 SPE (500 mg, GL Science, Japan)을 시료 전처리에 사용하였다.

열 안정성 평가

식물 추출물 및 이를 주원료로 하는 제품을 용기개봉 후 즉시 1.5 mL 밀폐용기에 1.2 mL를 옮겨 담고, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, 54°C로 설정된 항온기에 빛을 차단하여 각각 보관한 후 7일 간격으로 1 mL의 시료를 취하여 유효성분 함량을 분석하였다.

유효성분 분석

넙나무 추출물의 유효성분인 limonoids계 4성분은 Lee 등 (2013)이 보고한 방법에 따라 HLB cartridge와 Florisil cartridge를 사용하여 정제하였고, 고삼 추출물의 유효성분

인 alkaloids계 2성분은 Lim 등(2014)의 방법에 따라 HLB cartridge와 C18 cartridge를 사용하여 정제하였다. 정제된 시료는 BEH-C18 (1.7 µm, 2.1 × 100 mm) 칼럼이 장착된 UPLC (Waters Co., USA)에서 deionized water (DW)와 acetonitrile을 이동상으로 사용하여 Lee 등(2013a)과 Lim 등(2014)의 조건에 따라 217 nm에서 정량분석을 실시하였다.

결과 및 고찰

본 시험에 앞서 넙나무 추출물과 고삼 추출물을 각각 주원료로 하는 목록공시 등록제품의 유통기한 설정 현황을 25개 제품을 대상으로 조사한 결과 56%에 해당하는 14개 제품은 유통기한을 설정해 유통하고 있었으며, 설정된 유통기한은 2년에서 3년으로 확인되었다. 현재, 목록공시제품에 대해서는 유통기한 설정 및 효능성분을 기초로 한 품질평가 세부규정이 마련되어 있지 않고, 제조사의 자발적 품질관리 기준에 의해 설정 운영되고 있다. 이에 본 연구에서는 추후 품질인증제품에 적용될 유통기한 설정과 관련한 제품의 효능성분 안정성 평가사례를 제공하여 넙 또는 고삼 추출물을 주 성분으로 사용하는 유기농업자재의 유통기한 설정과 제품 안정성 향상기술 개발에 기여하고자 하였다.

넙 추출물을 주성분으로 한 유기농업자재

넙 추출물을 활용한 유기농업자재의 유효성분을 Limonoid 4성분(Azadirachtin A, B, salannin, deacetylsalannin)으로 정하고, 이들 지표물질에 대한 제품 중 열 안정성을 평가하였다. 넙 추출물을 주원료로 하는 유기농업자재 3종(제조사 별 1종)의 제품 내 포함된 총 limonoid 함량은 모두 2.5% 이하로 확인되었으며(Table 1), 이에 따라, 유통기한 설정에 적합한 유효성분 허용범위는 85-115%로 확인되었다(Table 2). 최대 120일까지 진행된 시험에서 시험기간 중 층분리, 침전물 발생과 같은 물성 변화는 관찰되지 않았다. 그러나, limonoid 성분을 중심으로 지표성분 변화를 관찰한 결과, 54°C에서 7일 보관 후 모든 평가대상에서 15% 이상 지표성분 감소가 관찰되었으며, 45°C 이하의 시험 조건에서도 농약에 설정된 유통기한 설정 규정을 충족시키지는 못하였다.

Table 1. Total contents of the selected bioactive compounds in the biopesticides

	Bioactive compound contents (%)					
	Azadirachtin A	Azadirachtin B	Salannin	Deacetylsalannin	Matrine	Oxymatrine
Biopesticide I	0.087	0.041	0.192	0.038	-	-
Biopesticide II	0.017	0.009	0.011	0.052	-	-
Biopesticide III	<0.001	<0.001	0.020	<0.001	-	-
Biopesticide IV	-	-	-	-	1.223	<0.001
Biopesticide V	-	-	-	-	1.037	<0.001
Biopesticide VI	-	-	-	-	0.528	<0.001

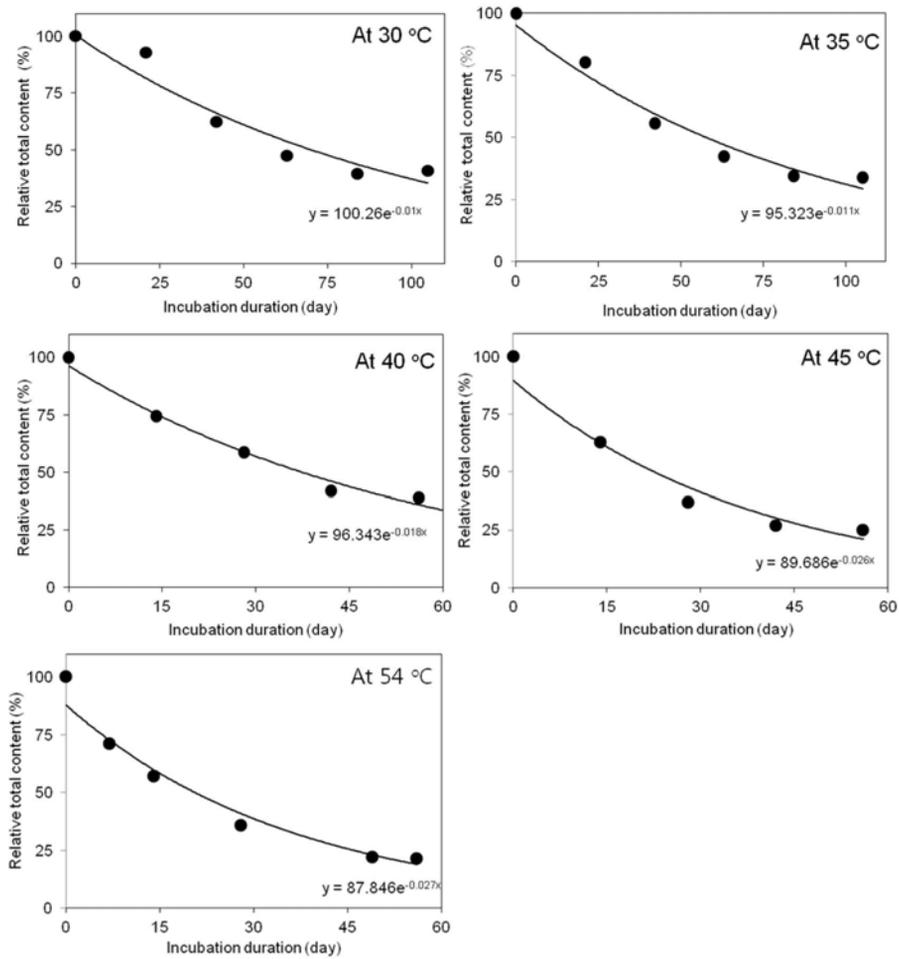


Fig. 1. An example for thermal stability of limonoid active compounds in a commercial biopesticide.

Table 2. Active ingredient (AI) allowance for the each AI group in pesticide

AI content	Allowance		
	Lower limit	Upper limit	
≤ 2.5%	Solid	75% of AI content	125% of AI content
	Liquid	85% of AI content	115% of AI content
2.5% - 10%		90% of AI content	110% of AI content
10% - 25%		94% of AI content	106% of AI content
25% - 50%		95% of AI content	105% of AI content
> 50%		AI content - 2.5 %	AI content + 2.5 %

보관 온도에 따른 제품별 분해 속도 k 는 single exponential equation을 사용하여 산출한 결과, 0.003-0.027로 제품별 편차가 컸으며, 이에 따른 반감기는 25.6-220일로 예측되었다 (Fig. 1). 님 추출물의 유효성분인 limonoid는 산소, 광, 미생물 등 노출에 대해 쉽게 분해되는 것이 알려져 있으며(Kim 등 2014), 또한 본 시험결과와 같이 열 안정성도 높지 않은 것이 확인되어 효능물질을 기반으로 장기간 유통기한 설정을 위해서는 저온유통 혹은 질소 충전 포장, 안정제 등 보조

제 사용과 같은 유통기술 개발이 보완되어야 할 것으로 판단된다.

고삼 추출물 및 이를 주성분으로 한 유기농업자재

고삼 추출물을 주성분으로 하는 유기농업자재 3종(제조사별 1종)의 주요 효능성분인 alkaloid계 matrine과 oxymatrine을 지표물질로 설정하고 제품 내 지표성분의 열 안정성을 평가하였다. 열 안정성 평가는 5개 설정온도에서 180일간 암조건에서 보관하면서 관능적 변화와 지표성분 변화를 관찰하였다. 또한, 시험에 사용된 유기농업자재에 포함된 총 matrine 함량이 2.5% 이하로 확인됨에 따라(Table 1), 유통기한 설정시 유효성분 허용범위는 85-115%로 설정되었다. 시험결과, 고삼 추출물을 주성분으로 한 유기농업자재 최대 보관일까지 제품의 관능적 품질변화는 관찰되지 않았다. 또한, 54°C에서 14일 보관시 평가대상 제품 3종 모두 지표성분 변화가 15% 미만으로 유통기한 1년 기준을 충족시키는 것이 확인되었다. 보관 온도별 분해 속도 k 는 0.002-0.003으로 확인되었으며, 예측된 반감기는 보관 온도와 제품에 따른 차이가 있으나 231-346일로 나타났다. 고삼 추출물 및

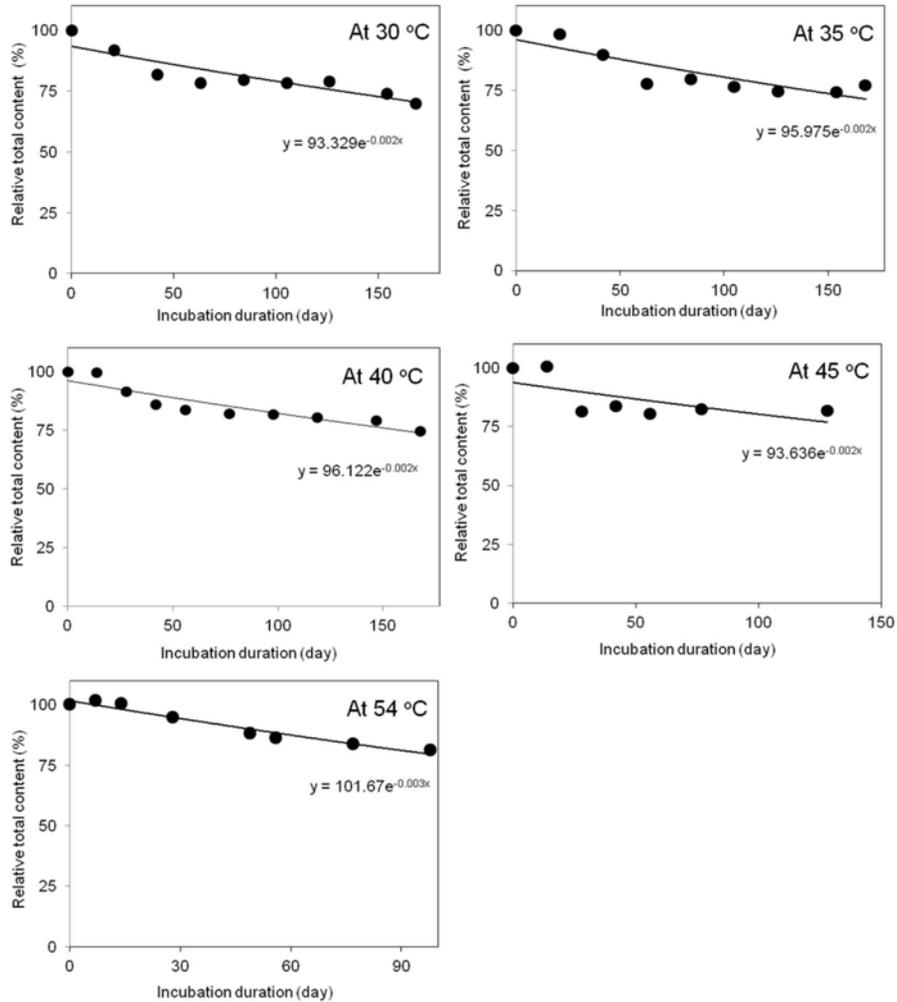


Fig. 2. An example for thermal stability of alkaloidal active compounds in a commercial biopesticide.

이를 주성분으로 하는 유기농업자재는 주요 지표성분 안정성 평가에서 현행 규정에서 설정한 유통기한 1년 이상 조건을 충족시킬 수 있는 것으로 확인되었다. 또한, Kim 등 (2015)의 보고와 같이 환경매체 노출 시에도 고삼 추출물의 유효성분 안정성이 님 추출물의 유효성분인 limonoid계 성분보다 안정적이어서, 고삼 추출물을 주원료로 하는 유기농업자재가 님 추출물을 주원료로 하는 제품보다 품질관리 측면에서의 장점이 있는 것으로 확인되었다.

감사의 글

This study was carried out with the support of “Research Program for Agricultural Science & Technology Development (PJ010834)”, Rural Development Administration, Republic of Korea.

Literature Cited

Lee, J. W., C. L. Jin, K. C. Jang, G. H. Choi, H. D. Lee and J. H. Kim (2013a) Investigation on the insecticidal limonoid content of commercial biopesticides and neem extract using solid phase extraction. *J. Agric. Chem. Environ.* 2:81-85.

Lee, W. M., S. J. Yoon and Y. J. An (2013b) Assessing adjuvants and extractants applicable to environment-friendly organic agro-materials. *J. Appl. Biol. Chem.* 56:69-78 (Korean).

Lim, S. J., D. Y. Jeong, G. H. Choi, B. J. Park and J. H. Kim (2014) Quantitative analysis of matrine and oxymatrine in *Sophora flavescens* extract and its biopesticides by UPLC. *J. Agric. Chem. Environ.* 3:64-73.

Kim, J. H., D. Y. Jeong, C. L. Jin, W. I. Kim, S. J. Lim, G. H. Choi and B. J. Park (2014) Stability of four limonoidal substances of neem extract under controlled aquatic and soil conditions. *Kor. Soc. Pestic. Sci.* 18:156-160 (Korean).

Kim, J. H., G. H. Choi, S. J. Lim and B. J. Park (2015) Stability

of matrine and oxymatrine from the biopesticide from *Sophora flavescens* under aquatic and soil environment. Kor. J. Environ. Agric. 34:1-5 (Korean).
Paik, M. K., S. E. Park, B. H. Kim, Y. K. Kim, J. A. Oh, D. H.

Kim and J. B. Lee (2013) A survey on the use and perception of environmentally-friendly organic materials among Korean farmers. Kor. Soc. Pestic. Sci. 17:41-49 (Korean).

● ● 님 또는 고삼추출물을 주원료로 하는 작물병해충 관리용 유기농업자재의 유효성분 열 안정성

김진호^{1,*} · 최근형¹ · 강재은² · 박병준¹

¹농촌진흥청 국립농업과학원 화학물질안전과, ² 화학물질안전원 사고예방심사과

요 약 님 추출물 또는 고삼 추출물을 주원료로 하는 유기농업자재의 유효성분인 limonoid계 4성분 (azadirachtin A, azadirachtin B, deacetylsalannin, salannin)과 alkaloid계 2성분 (matrine, oxymatrine)을 중심으로 열 안정성을 평가하였다. 시험은 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, 54°C에서 각각 진행하였으며, 님 추출물을 주성분으로 하는 유기농업자재 3종에서 유효성분 반감기는 25.6-220일로 제품에 따라 열 안정성의 차이가 큰 것을 확인하였다. 반면, 고삼 추출물을 주성분으로 하는 유기농업자재의 유효성분 반감기는 231-346일로 님 추출물에 비해 상대적으로 열 안정성이 높은 것으로 나타났다.

색인어 님, 고삼, 추출물, 생물농약, 열 안정성

● ●