(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0135865
(43) 공개일자 2015년12월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01N 65/24 (2009.01) *A01N 65/36* (2009.01)
A01P 17/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0062958
(22) 출원일자 2014년05월26일
심사청구일자 2014년05월26일

(71) 출원인
계명대학교 산학협력단
대구광역시 달서구 달구벌대로 1095 (신당동)
(72) 발명자
이삼빈
대구광역시 달서구 선원로 171, 102동 306호
김준태
대구광역시 달서구 신당로 55, 209동 1307호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양부현

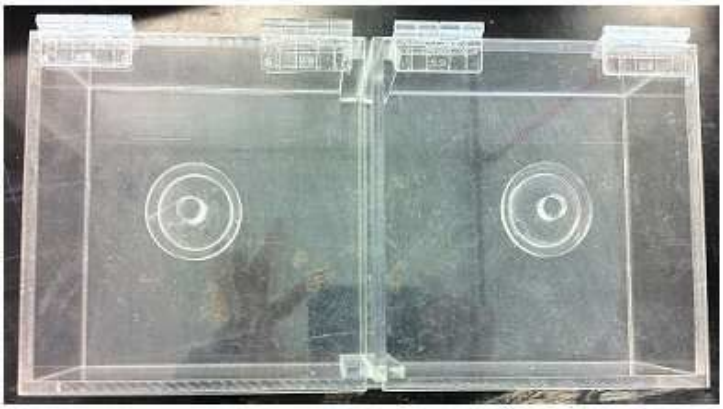
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 **천연물의 초임계 추출물을 유효성분으로 포함하는 개미 기피용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 (i) 계피(*Cinnamomum verum*) 초임계 추출물; 및 (ii) 석창포(*Acorus gramineus*) 초임계 추출물, 또는 산초(*Zanthoxylum schinifolium*) 초임계 추출물의 혼합물을 유효성분으로 포함하는 개미 기피용 조성물 및 이 개미 기피용 조성물의 제조 방법에 관한 것이다. 본 발명의 초임계 추출물은 저비용으로서 제조가 가능하여 경제적이며, 개미 기피 활성의 지속성이 뛰어나고, 천연물 유래 기피제이므로 종래 화합물 기피제에 비하여 안전한 특성을 가진다. 따라서, 본 발명의 조성물은 개미 기피제의 활성성분으로 개발될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

박성진

대구광역시 달성군 다사읍 대실역북로 38, 105동 1605호

임지연

대구광역시 달서구 달서대로 719, 110동 103호

임종순

경상북도 의성군 봉양면 도원길 2

이은지

대구광역시 달서구 장기로 127, 305동 1603호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2011H1B8A2003327
부처명	교육과학기술부
연구관리전문기관	한국연구재단
연구사업명	지역혁신인력양성사업
연구과제명	유해 생물 기피용 친환경 바이오 신소재 개발 및 상품화
기 여 율	1/1
주관기관	계명대학교 산학협력단
연구기간	2013.04.01 ~ 2014.03.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

(i) 계피(*Cinnamomum verum*) 초임계 추출물; 및 (ii) 석창포(*Acorus gramineus*) 초임계 추출물, 또는 산초(*Zanthoxylum schinifolium*) 초임계 추출물의 혼합물을 유효성분으로 포함하는 개미 기피용 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 (i) 계피 초임계 추출물; 및 (ii) 석창포 초임계 추출물, 또는 산초 초임계 추출물의 혼합 비율은 중량비율로 1:1인 것을 특징으로 하는 개미 기피용 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 상기 계피 초임계 추출물은 트랜스-시남알데히드, 쿠마린 및 4-메톡시시남알데히드를 포함하고, 상기 석창포 초임계 추출물은 시스-아사론(cis-asarone) 및 리놀레산을 포함하고, 상기 산초 초임계 추출물은 올레산, 아세테이트, 시트로넬라(citronella), 팔미트산, 2,6-옥타디엔(2,6-octadiene), 및 크립톤(cryptone)을 포함하는 것을 특징으로 하는 개미 기피용 조성물.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 상기 계피, 석창포, 또는 산초의 초임계 추출물은 100-500 bar의 압력과 30℃-50℃의 온도하에서 이산화탄소를 초임계 용매로 에탄올을 보조용매로 사용하여 초임계 추출한 것임을 특징으로 하는 개미 기피용 조성물.

청구항 5

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 기재된 개미 기피용 조성물을 살포하는 단계를 포함하는 개미를 퇴치하는 방법.

청구항 6

다음의 단계를 포함하는 개미 기피용 조성물의 제조 방법:

(a) 계피 (*Cinnamomum verum*)를 150-250 bar의 압력, 25-35℃의 온도 및 초임계 유체인 이산화탄소:에탄올의 유속비율(flow rate)을 47.5 g/min : 2.5 g/min으로 한 조건하에서 초임계 추출하여 계피의 초임계 추출물을 얻는 단계;

(b) 석창포(*Acorus gramineus*)를 130-230 bar의 압력, 40-50℃의 온도 및 초임계 유체인 이산화탄소:에탄올의 유속비율(flow rate)을 120 g/min : 3.6 g/min으로 한 조건하에서 초임계 추출하여 석창포의 초임계 추출물을 얻는 단계;

(c) 산초(*Zanthoxylum schinifolium*)를 400-500bar의 압력, 40-50℃의 온도 및 초임계 유체인 이산화탄소:에탄올의 유속비율(flow rate)을 120 g/min : 3.6 g/min으로 한 조건하에서 초임계 추출하여 산초의 초임계 추출물을 얻는 단계; 및

(d) 상기 계피의 초임계 추출물 및 석창포의 초임계 추출물 또는 산초의 초임계 추출물을 중량비로 1:1로 혼합

하여 혼합물을 제조하는 단계.

청구항 7

제 6 항에 기재된 제조 방법에 의해 제조된 것으로서, 계피의 초임계 추출물 및 석창포 또는 산초의 초임계 추출물을 유효성분으로 포함하는 개미 기피용 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 천연물의 초임계 추출물을 유효성분으로 포함하는 개미 기피용 조성물에 관한 것이다. 보다 상세하게는 (i) 계피(*Cinnamomum verum*) 초임계 추출물; 및 (ii) 석창포(*Acorus gramineus*) 초임계 추출물, 또는 산초(*Zanthoxylum schinifolium*) 초임계 추출물의 혼합물을 유효성분으로 포함하는 개미 기피용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 정유는 식품의 줄기나 잎에서 분비되는 비극성 물질로서 휘발되는 성분이다. 식물에서 추출되는 정유는 단일 성분이나, 모노테르펜(monoterpene)계, 페닐프로펜(phenylpropene)계 화합물의 혼합물로 추출 식물 종의 유전적 특징과 재배환경 등에 따라 정유의 성분의 차이가 있으며, 함유된 정유의 형태는 cavity, ducts, grandular, trichome, cell 이 있다. 천연 정유에 대해서는 항산화, 항균, 항암, 면역 및 항염증 작용, 구강 세균 사멸효과 및 항 고혈압 효과가 보고되어 있다.

[0003] 비극성 천연 정유에서 특정 유용물질을 추출하는 방법은 매우 까다로운 일이며, 일반적으로 유기용매로 천연물을 추출하는 방법이 많이 이용되고 있다. 대표적인 방법이 soxhlet 추출인데 이 추출법은 고온에서 장시간 사용하기 때문에 활성성분의 손실과 변질된다. 식물 유래의 정유 성분은 대표적인 천연 비극성 물질로서 다양한 화합물이 함유되어 있으며, 대부분의 성분이 구조적으로 매우 복잡하고 정교할 뿐만 아니라 매우 불안정하기 때문에 효율적으로 추출하는 방법으로 유기용매와 고열을 이용하는 방법은 효율적이지 않다.

[0004] 초임계 유체 추출법(Supercritical fluid extraction, SFE)는 초임계 유체(supercritical fluid)를 이용한 추출방법으로 열에 약한 정유 성분을 열을 사용하지 않고 추출하기 때문에 기존의 특정 용매에 대한 용해도 차이를 이용하는 용매 추출법과 비교 하였을 때, 초임계 유체는 확산계수가 높고 점도가 낮기 때문에 빠른 추출과 상분리가 가능 하고 또한 온도와 압력의 변화를 통하여 용매를 쉽게 회수 할 수 있기 때문에 환경오염의 문제가 없다. 최근의 초임계 유체 추출기술에는 낮은 임계 온도와 임계 압력으로 온화한 조건에서 추출이 가능한 이산화탄소가 가장 널리 이용되고 있으며, 기존의 유기용매와 달리 독성, 가연성, 부식 그리고 환경적인 문제가 적다.

[0005] 석창포(*Acorus gramineus*, AG), 산초(*Zanthoxylum schinifolium*, ZS), 계피(*Cinnamomum verum*, CV)는 과거에서부터 향이 강한 천연식물로서 식품으로 이용할 뿐만 아니라 다양한 기능으로서 사용되고 있는 소재이다. 현재까지 계피(CV)의 가용성 물질 및 유효성분을 효과적으로 추출하여 제품화하는 가공방법에 관한 연구가 수행되었으나, 계피의 가용성 물질 및 유효성분을 효과적으로 추출하여 제품화하는 가공방법에 관한 연구로는 추출 중 점조성 물질의 생성을 감소시켜 여과분리를 용이하게 한 보고가 있을 뿐 산업적, 기계적 제한 요인 때문에 연구내용이 발표되지 못하는 경우도 있어서 그에 대한 보고가 극히 부족한 실정이다.

[0006] 인류의 산업기술이 초고도로 발전하고 있지만, 이로 인한 지구의 온난화 및 엘리뇨 등의 기후변화는 환경파괴 및 인류생명에 위협이 되는 여러가지 문제점들을 수반한다. 특히, 유해 해충의 출현이 빈번해지고, 발생지역의 확대, 밀도가 증가되면서 모기에 의한 피해가 더욱 심해지고 있다. 그러한 유해충은 생존을 위하여 인간에게 간접적, 직접적으로 여러 가지 질병을 매개하거나 전염병을 전파시켜 과거 인류에 많은 피해를 주었다. 대표적인 유해충으로는 모기, 개미, 진드기 등이 있으며 그들이 전파한 질병으로는 뎅기열, 말라리아, 알레르기성 질환 등 다양한 형태의 질병을 매개하거나 전파하였다. 이러한 질병들은 매년 7억 명 이상의 사람들에게 병을 옮기며 매년 백만 명 이상의 사망자를 기록하고 있으며, 하루에 3,000명 이상의 사람들이 말라리아에 의해 사망하고 있다. 특히, 개미는 일반적으로 가장 흔히 볼 수 있는 유해충으로서 일반가정이나 산업에 상당한 피해를 주고 있

으며, 식품오염, 경제적 손실과 알러지성 병원체를 인체에 주입하여 알레르기 반응을 일으키기도 한다. 개미는 국내를 포함하여 세계적으로 널리 생존하고 있으며, 약 1억년 전에 출현하여 9,000여종이 전세계에 분포하며 고대에서부터 전염병(plague) 매개충으로 널리 알려져 있다. 최근 개미가 흡입성 알레르겐으로 작용하여 기관지 천식을 일으킬 수 있다는 보고가 되고 있다. 이 뿐만 아니라 개미에게 물리면 개미산에 의해 두통, 권태, 발열, 경련, 심계항진, 전신 알레르기 반응이 일어나게 되므로 주의가 필요하다. 이러한 전염병을 매개하는 개미에 대항하기 위하여 인류는 다양한 환경에서 여러가지 방법으로 해충 방제 방안을 모색하고, 개발이 활발하게 진행되고 있다. DEET는 가장 널리 사용되는 범용기피 성분이지만, 높은 피부 침투성으로 안전성의 문제, 불쾌한 냄새 등의 문제를 가지고 있다. 이러한 문제를 해소하기 위해 많은 DEET 유도체들이 개발되고 마이크로 캡슐화 등의 시도가 되어 KBR 3023 (1-methyl-propyl2-(2-hydroxyethyl)-1-piperidinecarboxylate), CIC-4 (hydroxymethylcyclohexyl acetic acid lactone), 등의 기피성분들이 개발되었으나 기피 효과에서 주목할 만한 효과를 보이지는 않았다. 따라서 DEET를 대체하기 위한 기피제의 개발이 필요하다.

[0007] 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제10-2009-0103280호

(특허문헌 0002) 대한민국 공개특허 제10-2007-0011590호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명자들은 향이 강한 천연물로부터 개미 기피제로서 사용 가능한 활성성분을 개발하기 위해 연구 노력하였다. 그 결과, 석창포, 산초 및 계피를 초임계 추출한 오일 성분이 종래 사용되던 기피제와 비교하여 개미에 대한 기피 활성이 매우 우수하다는 점을 실험적으로 증명함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0010] 따라서, 본 발명의 목적은 석창포, 산초 또는 계피의 초임계 추출물을 유효성분으로 포함하는 개미 기피용 조성물을 제공하는데 있다.

[0011] 본 발명의 다른 목적은 상기 개미 기피용 조성물을 살포하는 단계를 포함하는 개미를 퇴치하는 방법을 제공한다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 개미 기피용 조성물의 제조 방법을 제공하는데 있다.

[0013]

[0014] 본 발명의 목적 및 장점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구의 범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

과제의 해결 수단

[0015] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 (i) 계피(*Cinnamomum verum*) 초임계 추출물; 및 (ii) 석창포(*Acorus gramineus*) 초임계 추출물, 또는 산초(*Zanthoxylum schinifolium*) 초임계 추출물의 혼합물을 유효성분으로 포함하는 개미 기피용 조성물을 제공한다.

[0016] 본 명세서에서 용어 "개미 기피용 조성물"은 개미 기피제와 동일한 의미로서 개미가 냄새나 맛을 싫어하여 피하는 성질을 이용하여 개미를 쫓기 위해 사용하는 용도의 조성물을 의미한다.

[0017] 본 발명의 바람직한 구현예 따르면, 상기 (i) 계피 초임계 추출물; 및 (ii) 석창포 초임계 추출물, 또는 산초 초임계 추출물의 혼합 비율은 중량비율로 1:1이다.

[0018] 본 발명의 다른 바람직한 구현예에 따르면, 상기 유효성분인 초임계 추출물은 전체 조성물에 대해 0.1 - 30 중량%의 범위로 포함된다.

[0019] 본 발명의 다른 바람직한 구현예에 따르면, 상기 유효성분인 초임계 추출물은 전제 조성물 중량에 대해 0.1 - 20 중량%, 보다 바람직하게는 1 - 10 중량%, 보다 더 바람직하게는 1 - 5 중량%으로 포함된다.

[0020] 본 명세서에서 용어 "초임계 추출법"은 임계온도 및 경계압력을 초과하는 상태의 유체인 초임계 유체를 사용하여 추출하는 방법을 의미한다. 기체는 임계온도이하에서는 어떤 압력을 초과하면 액화되지만 임계온도 이상에서는 저압에서 고압까지 연속한 상(相)상태를 나타내고 기체와 액체의 성질을 구별할 수 없게 된다. 따라서, 초임계유체는 높은 밀도가 있으면서 낮은 점성과 액체의 백 배가량이나 큰 확산능력이 있기 때문에 초임계 유체를 이용한 초임계 추출법은 액체추출법에 비교하면 효율이 높은 추출법이다.

[0021] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상기 초임계 추출법은 이산화탄소를 초임계유체로 사용한 것이다.

[0022] 상기 초임계 유체와 함께 사용되는 보조용매(co-solvent)는 당업계에서 통상적으로 이용되는 극성 용매를 포함하며, 바람직하게는 알코올, 물, 에틸렌 글라이콜, 폴리에틸렌글라이콜, 프로필렌카보네이트, 포름산, 아세트산, 아세토니트릴, 클로로디프루오로메탄 또는 이의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되며, 보다 바람직하게는 메탄올, 에탄올, 프로판올, 1-헥사놀, 2-메톡시에탄올 및 그의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 알코올이고, 보다 더 바람직하게는 메탄올 또는 에탄올이며, 가장 바람직하게는 에탄올이다.

[0023] 상기 초임계 추출시의 압력과 온도는 당업자가 적정한 범위 내에서 선택할 수 있다.

[0024] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상기 초임계 추출은 100-500 bar의 압력과 30℃-50℃의 온도 하에서 행한다.

[0025] 본 발명에서 상기의 조건하에서 초임계 추출한 계피의 초임계 추출물은 트랜스-시남알데히드(trans-cinnamaldehyde), 쿠마린(coumarin) 및 4-메톡시시남알데히드(4-methoxycinnamaldehyde)를 포함하며, 석창포의 초임계 추출물은 시스-아사론(cis-asarone), 리놀레산(linoleic acid), 및 벤젠(benzene)을 포함하고, 산초의 초임계 추출물은 올레산, 아세테이트, 시트로넬라(citronella), 팔미트산, 2,6-옥타디엔(2,6-octadiene), 및 크립톤(cryptone)을 포함한다.

[0026] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상기 설명된 개미 기피용 조성물을 살포하는 단계를 포함하는 개미를 퇴치하는 방법을 제공한다.

[0027] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 다음의 단계를 포함하는 개미 기피용 조성물의 제조 방법을 제공한다:

[0028] (a) 계피(*Cinnamomum verum*)를 150-250 bar의 압력, 25-35℃의 온도, 및 초임계 유체 및 보조용매로서 이산화탄소:에탄올을 47.5 g/min : 2.5 g/min의 유속비율(flow rate)로 한 조건하에서 초임계 추출하여 계피의 초임계 추출물을 얻는 단계;

[0029] (b) 석창포(*Acorus gramineus*)를 130-230 bar의 압력, 40-50℃의 온도, 및 초임계 유체 및 보조용매로서 이산화탄소:에탄올을 120 g/min : 3.6 g/min의 유속비율(flow rate)로 한 조건하에서 초임계 추출하여 석창포의 초임계 추출물을 얻는 단계;

[0030] (c) 산초(*Zanthoxylum schinifolium*)를 400-500 bar의 압력, 40-50℃의 온도, 및 초임계 유체 및 보조용매로서 이산화탄소:에탄올을 120 g/min : 3.6 g/min의 유속비율(flow rate)로 한 조건하에서 초임계 추출하여 산초의 초임계 추출물을 얻는 단계; 및

[0031] (d) 상기 계피의 초임계 추출물 및 석창포의 초임계 추출물 또는 산초의 초임계 추출물을 중량비로 1:1로 혼합하여 혼합물을 제조하는 단계.

[0032] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상기 제조 방법에 의해 제조된 것으로서, 계피의 초임계 추출물 및 석창포 또는 산초의 초임계 추출물을 유효성분으로 포함하는 개미 기피용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0033] 본 발명은 (i) 계피(*Cinnamomum verum*) 초임계 추출물; 및 (ii) 석창포(*Acorus gramineus*) 초임계 추출물, 또는 산초(*Zanthoxylum schinifolium*) 초임계 추출물의 혼합물을 유효성분으로 포함하는 개미 기피용 조성물 및 이 개미 기피용 조성물의 제조 방법에 관한 것이다. 본 발명의 초임계 추출물은 저비용으로서 제조가 가능하여 경제적이며, 개미 기피 활성의 지속성이 뛰어나고, 천연물 유래 기피제이므로 종래 화합물 기피제에 비하여 안전한 특성을 가진다. 따라서, 본 발명의 조성물은 개미 기피제의 활성성분으로 개발될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0034] 도 1은 개미 기피 실험을 위한 케이지(15 x 15 x 7 cm) 사진이다.

도 2는 개미 기피 지속성 실험을 위한 케이지 사진이다.

도 3은 석창포(*Acorus gramineus*, AG), 산초(*Zanthoxylum schinifolium*, ZS), 또는 계피(*Cinnamomum verum*, CV)의 초임계 추출물 단독(A 패널) 또는 이들의 추출물의 혼합물(B 패널)의 개미 기피 활성을 측정한 결과와, 어두운 환경에서의 개미 기피 활성(C 패널)을 측정한 결과를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0035] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0036] **실시예**

[0037] **재료 및 방법**

[0038] **1. 석창포(AG), 산초(ZS), 계피(CV) 초임계 오일의 제조**

[0039] 실험에 사용된 석창포(*Acorus gramineus*, AG), 산초(*Zanthoxylum schinifolium*, ZS), 계피(*Cinnamomum verum*, CV)는 대구 약령시장에서 건조 상태의 것을 구입하여 분말화하여 사용하였다. 초임계 추출에 사용할 초임계 추출 장치는 Waters AD-RC 08 (Waters Co., Miford, MA, USA)를 사용하였다. 시료를 추출 용기에 각각 300g씩 넣어 추출하였다. 석창포는 180 bar, 45℃ 조건에서 CO_2 유속 : 공용매 유속 = 120 g/min : 3.6 g/min 으로 하여 150 분간 추출하였다. 산초는 450 bar, 45℃ 조건에서 CO_2 유속 : 공용매 유속 = 120 g/min : 3.6 g/min으로 하여 120 분 동안 추출하였다. 계피는 200 bar, 30℃ 조건에서 CO_2 유속 : 공용매 유속 = 47.5 g/min : 2.5g/min으로 하여 120 분간 추출하였다. 상기 방법으로 각 시료에 대한 정유 성분을 얻었다. 공용매(co-solvent)로는 HPLC급 에틸알코올(JT Baker Co., Phillipsburg, NJ, USA)를 사용하였다.

[0040] **2. 가스크로마토그래피 질량분석계(GC/MS, Gas chromatograph Mass spectrometer)를 이용한 성분 분석**

[0041] 초임계 추출하여 얻은 오일은 가스크로마토그래피 질량 분석 계(GC/MS; Gas chromatograph Mass spectrometer)를 이용하여 성분을 확인하였다. 실험에 사용한 GC/MS 시스템은 HP 190914-433 model (Paloalto, California, USA)이며 컬럼은 HP-5MS(30 m x 0.255 mm, 0.25㎛)를 사용하였다. 검출기(detector)로는 질량분석계(mass spectrometer)를 이용하였고, ESI 모드에서 70 eV의 에너지로 이온화하여 TIC의 SCAN 모델에서 이온의 질량범위를 10-800으로 설정하여 물질을 확인하였다. 주입기 온도(injector temperature)는 260℃, 검출기 온도(detector temperature)는 280℃으로 설정하였고, 캐리어 가스(carrier gas)는 헬륨(helium)을 사용하여

오븐 온도(oven temperature)는 최초 50℃에서 5분간 유지하고, 4℃/min의 속도로 200℃ 까지 상승시킨 후, 200℃에서 20℃/min 속도로 280℃까지 온도를 상승시킨 후 20분간 유지하였다. 각 초임계 추출오일은 0.45 μM 멤브레인 필터로 여과하여 HPLC급 에틸알코올(JT Baker Co., Phillipsburg, NJ, USA)에 희석하여 사용하였다.

[0042] **3. 시험곤충**

[0043] 개미에 대한 기피력 평가에 사용된 개미는 일본왕개미(*Camponotus japonicus*)로 ㈜ 비바생물원(Bibobibaant kingdomCo., Deagu, Korea)에서 분양하여 사용하였다. 사육 조건은 온도 25-30℃, 습도는 40-60%를 유지하면서 먹이와 수분공급을 위해 사료용 젤리를 공급하였다. 개미의 상태를 고려하여 가장 활발한 시간을 선택하여 개미기피 실험에 사용하였다.

[0044] **4. 개미 기피 실험**

[0045] 개미 기피실험을 위하여 15 x 15 x 7 cm의 크기의 케이지를 반제작하여 개미 30 마리를 넣고 실험하였다(도 1 참조). 케이지(cage)는 두 개의 공간으로 나누어 시료처리를 행한 쪽과 처리하지 않은 쪽을 구분하였고, 시료의 향이 환기될 수 있도록 환기구를 만들었다. 시료의 처리는 8 x 8cm 의 크기로 여과지에 각 초임계 추출 오일을 에탄올에 10% 농도로 희석한 것을 1 mL으로 분주하고 충분히 건조하여 여과지를 바닥에 깔고, 그 위에 10 x 10cm 크기의 유리판을 설치하였다. 그 위에 사료용 젤리를 2 x 2 x 2cm 크기로 설치하였다. 실험 12시간 전에 절식시키고 개미는 시료(sample)에 따라 매번 새로운 군체로 교체하여 사용하였고, 3회 반복하여 실험하였다. 대조구로는 여과지에 에탄올 1 mL을 분주하였고, 물질 대조군으로는 DEET를 분주하여 시료를 처리한 쪽과 같은 방식으로 만들었다. 기피력은 1시간 동안 10분 간격으로 유리판에 올라온 개미의 수를 측정하여 기피력을 계산하였다.

[0046] **5. 개미 기피 지속성 실험**

[0047] 개미는 군락을 형성하여 어두운 곳에 서식지를 건설하여 생존하기 때문에 어두운 조건에서 장시간 방치 하였을 때의 초임계 오일의 효과를 알아보았다. 15 x 15 x 8cm 아크릴 케이지에 두 개의 이동 통로를 만들고 여기에 50 mL 튜브를 연결하여 튜브 안쪽에 먹이를 설치하고 바깥 부분에 시료를 10% 농도로 희석하여 2 mL 도포하고 건조 후, 호일을 이용하여 튜브를 감싸 빛을 차단하였다(도 2 참조). 아크릴 케이지에 24시간 절식시킨 개미를 30 마리를 넣고 24 시간 후 50 mL 튜브에 있는 개미의 수를 관찰하였다. 대조구로는 70% 에탄올을 사용하였고, 물질 대조군으로는 DEET를 사용하였다.

[0048] **실험 결과 및 고찰**

[0049] **1. 석창포, 산초, 계피 초임계 오일의 GC/MS 성분 분석**

[0050] 석창포, 산초 및 계피의 세 가지 천연 초임계 추출오일을 GC/MS를 이용하여 분석한 결과는 아래 표 2에 나타내었다. 전체 피크(peak)에서 질(quality)가 90% 이상이고, 영역(area)가 1.0 이상의 피크(peak)만을 표 1에 표시하였다. 일반적으로 용해성 유기화합물의 비용해성물질로부터의 추출은 용매로 시료를 진탕하거나 여과하는 방법이 이용되고 있고, 대표적인 방법이 soxhlet 추출이다. soxhlet 추출의 가장 취약점은 지속적인 가열이 필요하기 때문에 천연물에 있는 유용물질의 파괴할 수 있고, 많은 양의 용매를 사용하기 때문에 이상적인 방법이 아니다. 본 발명의 실험결과에서는 향이 강한 세가지 식물에 대하여 초임계 공정을 이용한 추출을 실시하였다. 실험 결과 석창포에서는 시스-아사론(cis-Asarone), 산초에서는 올레산(oleic acid) 및 아세테이트, 계피에서는 시남알데히드(cinnamaldehyde)가 가장 높은 함유량을 보였다.

표 1

[0051]

	Peak No.	RT	Area(%)	Compounds	quality
석창포 (AG)	1	28.302	1.18	Benzene	96
	2	31.898	68.15	Cis-Asarone	99
	3	58.027	13.37	Linoleic acid	99
	4	80.955	1.22	Rhmanol	99
산초 (ZS)	1	7.903	11.63	citronella	96
	2	9.287	2.64	Cryptone	96
	3	16.586	3.23	2,6-octadiene	96
	4	18.314	13.88	acetate	91
	5	49.661	6.4	Palmitic acid	99
	6	58.37	18.45	9-octadecenoic acid	99
계피 (CV)	1	13.969	51.68	Trans-cinnam aldehyde	97
	2	21.876	10.89	Coumarin	96
	3	26.274	2.71	4-Methoxycinnamaldehyde	98

[0052] **2. 석창포, 산초, 계피 초임계 오일의 개미 기피력 및 지속성 평가**

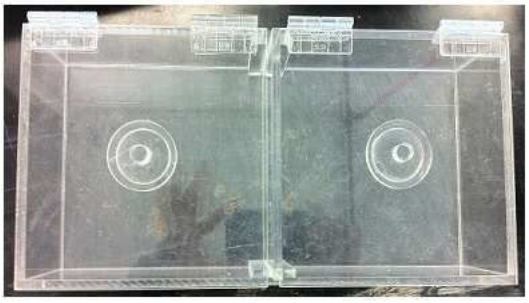
[0053] 세 가지 천연오일을 이용하여 개미의 기피력을 확인한 결과는 도 3의 그래프 (A)와 같다. 계피 초임계 추출 오일(CV)이 세가지 오일 중에서 가장 높은 기피력을 보였다. 또한, 두가지 오일 또는 세가지 오일을 각각 혼합하여 기피력을 평가하였다. 평가 결과는 도 3의 그래프 (B)에 나타내었다. 세가지 모든 오일을 혼합하는 것 보다 두 가지 오일을 1:1 비율로 혼합하였을 때 단일로 쓰는 것 보다 높은 효과를 나타내었다. 특히 석창포 초임계 추출 오일(AG)과 산초 초임계 추출 오일(ZS)의 혼합할 경우 가장 효과가 상승하였다.

[0054] 개미의 경우 눈에 보이는 개체보다 눈에 보이지 않은 곳에서 군락을 형성하여 생존하기 때문에 어두운 환경에서의 개미의 이동이나 군락을 형성하는 것에 대한 차단이 근본적인 기피효과가 된다. 따라서 본 발명의 실험에서는 각각의 초임계 오일을 어두운 환경에서 처리하여 24시간 이후의 개미의 이동을 관찰 하였다(도 3의 그래프 (C) 참조). 실험 결과 대조구에서는 모든 개미가 24시간 후 어두운 환경으로 이동하였으나 계피 초임계 추출 오일(CV)를 처리할 경우 어두한 환경에서 개미의 수가 현저히 줄어들어 가장 우수한 개미 기피 효과를 확인할 수 있었다.

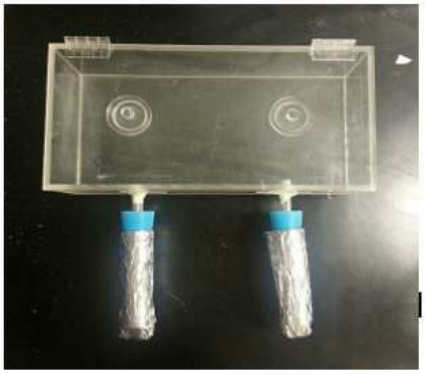
[0055] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

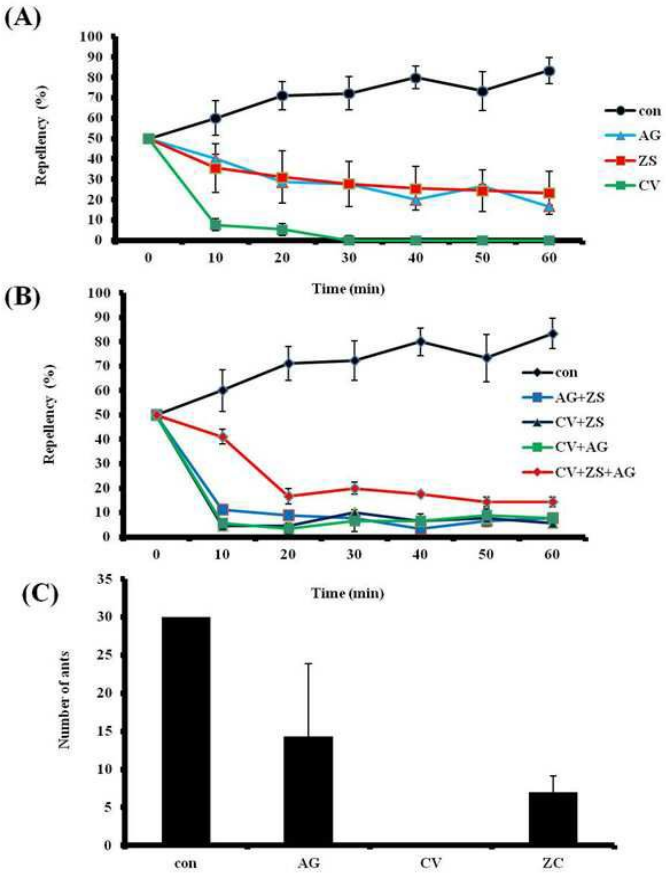
도면1



도면2



도면3


(A)
Repellency (%)
Time (min)
con
AG
ZS
CV
(B)
Repellency (%)
Time (min)
con
AG+ZS
CV+ZS
CV+AG
CV+ZS+AG
(C)
Number of ants
con
AG
CV
ZC