



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0145433
(43) 공개일자 2016년12월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01N 59/00 (2006.01) A23B 7/06 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A01N 59/00 (2013.01)
A23B 7/06 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0082114
(22) 출원일자 2015년06월10일
심사청구일자 2015년06월10일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암
동5가)
(72) 발명자
김욱
서울특별시 서초구 서초중앙로 188, C-709
김용균
경기도 구리시 장자대로37번길 20, 201동 503호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
한양특허법인

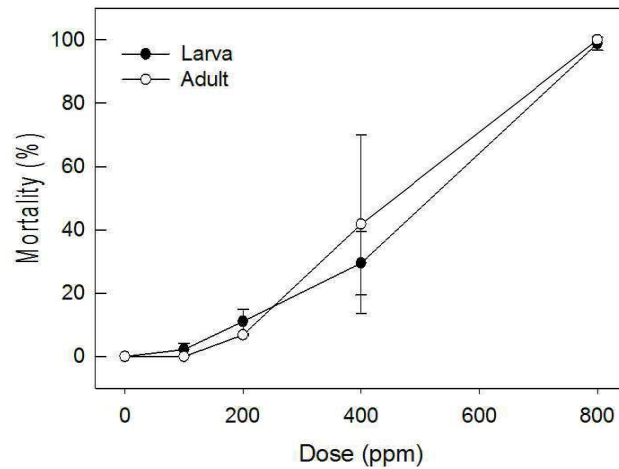
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 살충 방법

(57) 요약

본 발명은, 곡식에 서식하는 곤충의 살충 방법으로, 대상 곡식에 이산화염소의 처리 및 열처리를 병행하는 것을 특징으로 하는, 살충 방법에 대한 것이다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

Y10S 424/10 (2013.01)

Y10S 514/919 (2013.01)

(72) 발명자

쿠마르, 수닐

경상북도 안동시 논골길 37-4, 208호

권혁

인천광역시 남구 경원대로922번길 28, 3동 202호

나자현

경기도 고양시 일산동구 위시티4로 80, 108동 903호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 114063-3

부처명 농림축산식품부

연구관리전문기관 농림수산물기술기획평가원

연구사업명 농생명산업기술개발사업

연구과제명 저곡해충 방제를 위한 이산화염소 현장 이용기술 개발

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교

연구기간 2014.09.25 ~ 2017.09.24

명세서

청구범위

청구항 1

곡식에 서식하는 곤충의 살충 방법으로, 대상 곡식에 이산화염소의 처리 및 열처리를 병행하는 것을 특징으로 하는, 살충 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 이산화염소는 0.1 ppm 내지 800ppm의 농도인 것인, 살충 방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 열처리는 30 내지 50℃의 온도로 수행되는 것인, 살충 방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 곤충은 거릿쌀도둑거저리(*T. castaneum*)의 알, 유충, 번데기 및 성충에서 선택되는 하나 이상인, 살충 방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 이산화염소의 처리 및 열처리를 1 내지 72시간 동안 수행하는 것인, 살충 방법.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 곤충의 이산화염소에 대한 회피행동을, 상기 열처리에 의해 저해시키는 것인 살충 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 곤충의 살충 방법에 대한 것이다.

배경 기술

[0002] 저곡해충으로 우리나라 저곡해충에 대한 연구는 국립농산물검사소(1993)에서 주요 저곡 해충 38 종에 대하여 편람을 작성한 바 있고, 농업과학기술원(1996)에서 국내외 주요 저곡해충 70 종에 대한 기주, 분포, 형태 및 생태 등의 자료를 정리한 바 있다. 실제 유통 단계에 있는 곡물에서 흔하게 발생하는 저곡해충의 종류에 벼와 쌀에서 발생하는 저곡해충 종류는 거릿쌀도둑거저리, 화랑곡나방 등이며, 특히 발생된 저곡해충은 화랑곡나방과 보리나방을 제외한 어리쌀바구미, 거릿쌀도둑거저리 및 긴털가루응애는 크기가 3 mm 미만으로 크기가 매우 작아 관찰시 세심한 주의를 요하는 해충이다.

[0003] 수확후 해충 관리기술은 크게 화학적 및 물리적 처리법으로 대별된다. 화학적 처리법은 메틸브로마이드나 포스핀과 같이 농작물 침투부까지 침투하여 효과를 발휘하는 훈증 처리와 표면에 정착하는 해충을 제거하는 비누화 물질 또는 화학농약 처리를 포함한다. 반면에 물리적 처리법은 온도(고온, 저온)처리, 환경조절처리, 방사선처

리 및 이들의 혼합처리를 포함한다. 온도 처리는 해충의 온도에 대한 생존 한계 범위를 이용한 방제 기술이고, 환경조절처리는 높은 농도의 이산화탄소와 낮은 농도의 산소를 결부한 온도 처리를 의미한다. 방사선 조사는 해충의 DNA의 화학결합을 붕괴시킴으로 소독효과를 발휘하게 한다. 기타 물리적 처리법으로 오존처리, 마이크로파 처리, 라디오주파 열처리, 고압산소처리 및 진공처리를 포함하게 된다. 글로벌 국가 간의 자유무역협정의 체결로 인해 해외 농산물의 수입이 급증할 것으로 예상되는 상황에서 국내 농산물의 해외 수출 또한 경쟁력 있으며, 현재까지 메틸브로마이드가 처리되고 있지만 이는 오존층 파괴물질로 점차 사용이 금지될 전망이며 대체 기술 개발이 시급하게 요구되고 있다.

[0004] 한편, 본 발명자는 앞선 연구에서 이산화염소의 살충효과를 밝힌 바 있으며, 이산화 염소의 우수한 살충효과에도 불구하고, 이산화염소를 이용하여 곡식의 저곡 해충을 사멸시키는 데 적용하는 경우 곤충의 회피행동이 관찰되었고, 이에 따라 이산화염소 훈증 처리의 효과를 크게 둔화시켰다. 이에, 이러한 회피행동을 억제하여 실제 곡식 해충에 이산화염소를 활용할 수 있는 기술의 개발이 필요하다.

[0006] 한편, 대한민국 공개특허 제 2001-0029166호 등에는 이산화염소의 펄프 표백 방법에 대한 발명이 기재있으나, 이산화염소를 이용한 살충 방법이나, 곤충의 회피행동에 대한 연구는 전무한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제 2001-0029166호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 곡식의 곤충의 알, 유충, 번데기, 성충 등을 효과적으로 살충할 수 있는 방법의 제공을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명은 곡식에 서식하는 곤충의 살충 방법으로, 대상 곡식에 이산화염소의 처리 및 열처리를 병행하는 것을 특징으로 하는, 살충 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0011] 본 발명은 이산화염소에 대한 곤충의 회피행동을 억제하여 이산화염소에 의한 곡식에 서식하는 해충의 살충효과를 극대화하기 위한 것으로, 이산화염소 처리에 열처리 혼합 처리하는 경우, 살충효과가 극대화되며, 열처리 또는 이산화염소의 단독 처리효과와 혼합처리효과를 각각의 경우에 비해 현저히 우수한 시너지 효과를 나타낸다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은, 거릿쌀도둑거저리(*T. castaneum*)에 대한 이산화염소(12 h 노출)를 평가한 그래프이다. 도 1a는 거릿쌀도둑거저리 유충과 성충에서의, 처리농도-독성 커브를 나타낸다. 도 1b는 거릿쌀도둑거저리 유충과 성충에서의 감수성을 나타낸다. 각 평가는 15 개체에 대해 3 반복하여 수행되었다. 표준편차 막대(standard deviation bar) 상의 서로 다른 표식은 Type I = 0.05 (LSD test)에서의 평균 사이의 유의적 차이를 나타낸다.

도 2는, 먹이 증가에 따른 거릿쌀도둑거저리(*T. castaneum*)에 대한 이산화염소(200 ppm for 24 h) 독성 감소를 평가한 그래프이다. 각 평가는 50 mL 튜브 내의 15 개체에 대해 3 반복하여 수행되었다. 그래프의 가로축 "Diet depth"는 테스트 튜브의 먹이의 부피를 나타낸다. 5 mL 는 약 2cm의 먹이 깊이와 동일하다. 표준편차 막대(standard deviation bar) 상의 서로 다른 표식은 Type I = 0.05 (LSD test)에서의 평균 사이의 유의적 차이를 나타낸다.

도 3은, Y 튜브를 이용한 거짓쌀도둑거저리(*T. castaneum*)의 이산화염소(ClO_2)에 대한 행동을 테스트를 나타낸다. 도 3a는 Y 튜브의 모식도이다. (C (control), T (test chemical: ClO_2), L_C : control의 한계선, L_T : test chemical의 한계선, NR: no response의 한계선, 작은 원은 대상 곤충의 출발점을 나타내며, 10 성충을 사용하여 평가함.)

도 3b는 Y 튜브 내에서의 먹이에 따른 방향 행동에 더듬이가 미치는 영향을 나타낸다(+ANT (더듬이 있음) 및 -ANT (더듬이 없음)). 각 평가는 3회 반복 수행되었다.

도 3c는 응답 개체의 선호 행동에 대한 이산화염소의 영향을 나타낸다. 각 평가는 3회 반복 수행되었다.

도 4는 거짓쌀도둑거저리(*T. castaneum*) 성충에 대한 이산화염소 처리에 따른 운동치를 나타낸다. 도 4a는 실험 장비의 모식도로, "X"는 대상 곤충을 나타낸다. 도 4b는 5분 동안 보행거리를 나타낸다. 도 4c는 보행행동 속도를 나타낸다. 각 평가는 20회 반복 수행되었다. 표준편차 막대(standard deviation bar) 상의 서로 다른 표식은 Type I = 0.05 (LSD test)에서의 평균 사이의 유의적 차이를 나타낸다.

도 5는 거짓쌀도둑거저리(*T. castaneum*) 성충에 대한 이산화염소와 열(46°C) 처리에 따른 시너지 효과를 나타낸다. 각 평가는 20회 반복 수행되었다. 표준편차 막대(standard deviation bar) 상의 서로 다른 표식은 Type I = 0.05 (LSD test)에서의 평균 사이의 유의적 차이를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0014] 본 발명은, 곡식에 서식하는 곤충의 살충 방법에 대한 것으로, 대상 곡식에 이산화염소의 처리 및 열처리를 병행하는 것을 특징으로 한다. 본 발명자는 앞서 이산화염소가 우수한 살충 효과가 있음을 최초로 규명해 낸 바 있으며, 이러한 이산화염소가 살충에 매우 우수한 효과를 나타냄에도 이러한 이산화염소 처리에 의한 살충방법을 실제 곡식의 살충을 위해 적용하는 경우, 곤충의 이산화염소에 의한 회피행동을 나타냄에 따라 충분한 살충 효과를 얻기 어려운 문제점이 있음을 실험적으로 확인하였다. 또한, 이산화염소 처리에 비교적 저온의 열처리를 병행하는 경우, 곤충의 회피행동을 억제하여 이산화염소에 의한 살충효과가 극대화됨을 확인하여 본 발명을 완성하였다.
- [0016] 상기 곤충은 저곡해충일 수 있으며, 거짓쌀도둑거저리(*T. castaneum*) 또는 화랑곡나방일 수 있고, 구체적으로 거짓쌀도둑거저리(*T. castaneum*)의 알, 유충, 번데기 및 성충에서 선택되는 하나 이상일 수 있다.
- [0018] 또한, 상기 살충방법은 밀폐된 대상공간에서 수행되는 것 일수 있다. 상기 대상공간은 농산물이 보관 또는 생육되는 창고, 컨테이너 박스(container box), 구멍이 형성된 비닐용기, 포대 또는 뚜껑을 가지는 플라스틱용기, 싸일로 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0019] 그리고, 이산화염소는 기체상태이거나 스프레이 방식으로 분사되는 액체상태일 수 있다. 스프레이 방식으로 분사되는 액체는 미스트(mist)상의 액체일 수 있다.
- [0020] 이에 따라, 이산화염소는 대상공간 내의 대상물의 표면에 부착될 수 있다.
- [0022] 상기 이산화염소는 0.1 ppm 내지 800ppm의 농도로 처리 될 수 있으며, 바람직하게는 1ppm 내지 800ppm의 농도로 처리 될 수 있다. 또한, 상기 이산화염소는 1 내지 72시간 동안 상기 대상물에 처리되도록 하는 것이 바람직하며, 살충 대상물의 종류에 따라 처리 농도와 처리 시간을 조절할 수 있다.
- [0023] 일 예로, 일반적으로 100ppm X 24시간 처리로 이산화염소를 살충 대상물에 처리하는 경우 완전 사멸이 가능하며, 그에 따라 2400ppm/hour가 완전사멸 조건이다. 또한, 이 보다 낮은 조건에서도 살충 대상물의 사멸효과가 있다.
- [0025] 상기 열처리는 바람직하게는 30 내지 50°C 로 수행되는 것일 수 있다. 상기 온도 범위 내에서는, 열에 의한 곡식

의 품질 손상이 최소화되면서도, 곤충의 이산화염소에 대해 회피행동을 막아, 이산화염소에 의한 곤충의 사멸효과를 극대화할 수 있다.

[0027] 이하에서, 본 발명을 실시예에 기초하여 더욱 상세하게 설명한다. 그러나 하기에 개시되는 본 발명의 실시 형태는 본 발명의 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위는 이들의 실시 형태에 한정되지 않는다. 본 발명의 범위는 특허청구범위에 표시되었고, 더욱이 특허청구범위 기록과 균등한 의미 및 범위 내에서의 모든 변경을 포함한다.

[0029] **참조예:**

[0031] **(1) 거짓쌀도둑거저리 증식**

[0033] 공시충인 거짓쌀도둑거저리 먹이는 밀가루(100 g), 밀배아(50 g) 및 이스트추출물(15 g)을 혼합하여 제조하였다. 사육용기는 지름 15 cm의 원형 플라스틱통에 약 5 cm 정도 먹이를 채우고, 모든 발육시기를 혼합하여 사육하였다. 공기순환을 위해 사육통의 윗면은 망사로 덮었다. 약 3-4주 간격으로 먹이를 교환하여 주었다. 시험에 이용된 유충은 길이 5 mm 이상의 크기였다. 성충은 우화 후 10 일 이내의 개체를 선발하여 시험에 이용하였다. 모든 곤충은 25℃ 온도조건, 60% 상대습도 조건에서 사육되었다.

[0035] **(2) Y 튜브 행동 분석**

[0037] 유리 재질의 Y 튜브는 3 cm 내부 직경으로, 양쪽 팔의 길이는 16 cm이고 서로 45°의 각도로 벌어져 있으며, 공통관의 길이는 13 cm로 구성되었다(도 3 a 참조). 질소 가스가 양쪽 팔로 연결되어 공통관을 통해 빠져나가도록 설계했다. 질소가스는 우선 수증기를 포함하기 위해 물이 반쯤 차있는 병을 통해 Y 튜브의 양쪽 팔로 들어가게 했다. 주입 질소 가스의 속도는 300 mL/min으로 설정했다. 양쪽 팔 말단에 거짓쌀도둑거저리 먹이를 500 mg 투입하고 여기에 대조구는 인산완충용액, 처리구는 이산화염소 용액(800 ppm)을 각각 100 µL씩 처리하였다. 처리될 거짓쌀도둑거저리 성충은 24 시간 절식시킨 후 공통관 기부에 놓고 10 분간 움직이는 방향으로 결과를 얻었다. 이때 출발점으로부터 먹이쪽으로 3 cm 움직인 개체를 반응한 개체로 규정하였으며, 분지점을 지나 어느 한 쪽으로 움직인 개체는 분지점으로부터 24 cm 움직인 개체를 특정 처리를 선호한 개체로 판명하였다. 처리 후 Y 튜브는 95.5% 아세톤으로 세척하고, 이를 다시 99% 헥산으로 재세척을 실시하였다. 끝으로 물로 행군 후 건조시켜 다음 실험에 이용하였다.

[0039] **(3) 보행행동 분석**

[0041] 거짓쌀도둑거저리 성충의 이산화염소 노출 후 보행거리 및 보행속도를 곤충행동측정기(EthoVision XT, Version 9.0, Noldus Information Technology, Wageningen, Netherland)로 분석하였다. 행동분석용 경기장은 직경 55 mm의 페트리디쉬를 이용하였으며, 중앙부위에 1.5 mL E-tube 뚜껑을 놓고 여기에 이산화염소(800 ppm) 액체 또는 인산완충용액 200 µL를 올려 놓았다. 전체 행동은 5 분간 관찰되었고, 각 처리에는 30 마리의 개체로 반복하였다. 처리 기간 동안 온도는 25℃, 상대습도는 40% 였다.

[0043] **(4) 이산화염소 훈증 처리**

[0045] 이산화염소는 전기분해 방식으로 제조하였다. 물에 녹여놓았다가 가스 형태로 훈증시키는 것이기 때문에 농도조

절이 가능하였고 이를 아크릴판으로 특수 제작한 밀폐된 챔버에 가스 발생장치(푸르고팜, 화성시, 대한민국)을 이용하여 투여했다. 시험 곤충은 50 mL 튜브에 소량(약 10개) 현미와 함께 투여되었다. 이 용기의 윗면은 망사로 씌어 훈증제 처리가 가능하게 하였다. 이 곤충 용기를 이산화염소 처리 챔버에 넣고 처리 기간동안 가스누출 검지기(Gas leak detector C16, Analytical technology, Collegeville, PA, USA)로 이산화염소 농도를 지속적으로 모니터링해서 처리 농도를 확인했다.

[0047] (5) 이산화염소에 대한 거짓쌀도독거저리의 감수성 분석

[0049] 이산화염소 농도 처리는 0, 100, 200, 400 및 800 ppm을 이용하였다. 각 농도 처리는 3반복으로 24 시간 노출시켰다. 처리 후 25℃ 실내 조건에서 72 시간 방치 후 사망율을 조사하였다. 유충과 성충의 사망 판정은 핀셋으로 복부를 가볍게 눌렀을 때 자의적 행동이 없는 상태로 규정하였다. 번데기의 사망 판정은 흉부를 핀셋으로 잡았을 때 복부의 움직임이 없는 상태로 규정하였다.

[0051] (6) 열처리와 복합처리

[0053] 열처리는 항온수조를 이용하여 46℃의 열처리가 실시되었다. 공시충은 10 mL 먹이가 채워진 50 mL 튜브에 15 마리씩 처리되었다. 항온수조의 물이 튜브의 뚜껑 부위까지 차도록 처리하였다. 뚜껑 부위는 망사로 대체하였다. 이 항온수조를 이산화염소 훈증제 처리 챔버 내부로 옮겨 무처리와 400 ppm 이산화염소 처리를 각각 6 시간 및 12 시간 동안 실시하였다. 동일 조건에서 이산화염소 단독 처리는 항온수조 밖의 이산화염소 처리 챔버 내부에서 동시에 실시되었다. 각 처리는 3 반복으로 실시되었다.

[0055] 실시예 1: 거짓쌀도독거저리에 대한 이산화염소의 독성 평가

[0057] 상기 참조예의 방법에 따라, 이산화염소 훈증제 처리에 대한 거짓쌀도독거저리의 감수성을 분석하여 그 결과도 1에 나타내었다(도 1a). 거짓쌀도독거저리에 대한 이산화염소는 처리 농도에 따라 뚜렷한 독성을 주었다($F = 196.10$; $df = 4, 22$; $P < 0.0001$). 이러한 이산화염소의 농도별 독성 증가는 유충과 성충 모두에 대해서 유사하게 나타났다($F = 0.06$; $df = 4, 22$; $P = 0.3083$). 그러나 발육시기에 따라 이산화염소에 대한 감수성을 상이하(도 1b), 유충과 성충에 비해 번데기가 높은 감수성을 나타냈다($F = 0.54$; $df = 2, 22$; $P < 0.0001$). 거짓쌀도독거저리에 대한 이산화염소의 반수치사농도(LC₅₀)는 유충에 대해 383.67 ppm (153.63 - 955.78 ppm: 95% 신뢰구간), 성충에 대해 397.75 ppm (354.46 - 446.13 ppm: 95% 신뢰구간)을 보였다.

[0059] 실시예 2: 회피행동에 따른 이산화염소 독성 저하 확인

[0061] 밀가루 먹이를 다양한 부피로 처리 튜브에 채워주었을 때 이산화염소에 대한 거짓쌀도독거저리의 감수성은 유충과 성충 모두의 회피행동에 따라 크게 감소하였다(도 2). 이러한 감수성 저하는 공급된 먹이량에 비례하여 뚜렷이 나타났다($F = 49.0$; $df = 7, 32$; $P < 0.0001$). 이러한 경향은 유충과 성충 모두에서 유사하게 나타났다($F = 0.82$; $df = 7, 32$; $P = 0.5773$). 특별히 먹이량이 5 mL 이상의 경우(약 2 cm 이상 깊이)에서는 거의 처리 효과를 나타내지 못하였다.

[0062] 거짓쌀도독거저리가 이산화염소를 회피하는 지를 분석하기 위해 Y 튜브 생물검정을 실시하였다(도 3). Y 튜브 양쪽 말단에 곤충의 먹이를 각각 두었다(도 3a). 대조구는 800 ppm 이산화염소를 처리하였고, 대조구는 동일한 부피의 인산완충용액을 처리하였다. 이때 거짓쌀도독거저리 가운데 먹이 쪽으로 움직이는 행동 반응을 보인 개체 약 82%를 차지 하였다 도 3b). 그러나 촉각을 제거한 경우 무반응을 보이는 개체가 전체의 약 77%를 차지하였다. 먹이쪽으로 반응을 보인 정상적 개체 가운데는 이산화염소가 처리되지 않은 쪽으로 약 88%가 움직였다(도

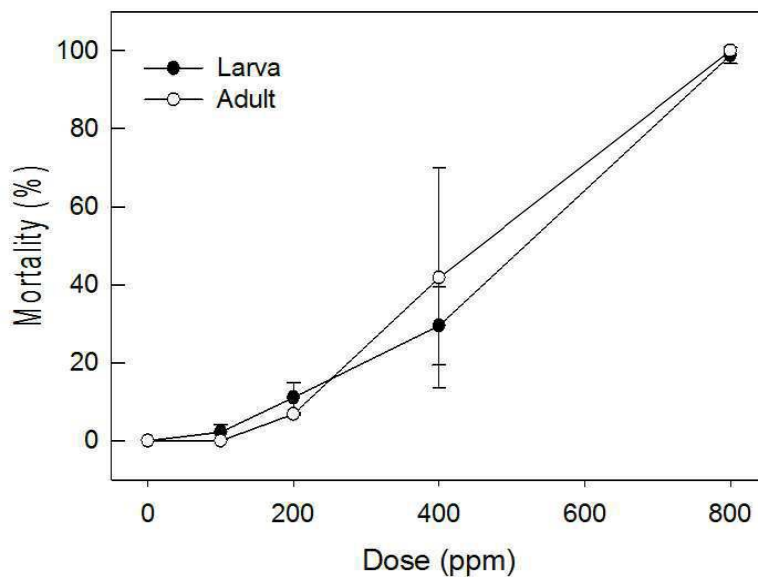
3c). 그러나 촉각이 제거된 거짓쌀도둑거저리는 대부분 먹이에 대한 감지 능력을 잃었고, 일부 반응을 보인 개체들은 오히려 이산화염소 처리된 곳으로 치우쳐져서 대조구 대비 이산화염소에 대한 감지능력을 잃었다($\chi^2 = 35.6$; $df = 2$; $P < 0.0001$). 이러한 회피행동은 이산화염소 처리에 따라 증가된 보행행동 속도와 거리 증가에서도 뒷받침하고 있다(도 4).

[0064] 실시예 3: 열처리와 혼합에 따른 이산화염소 독성 회복 평가

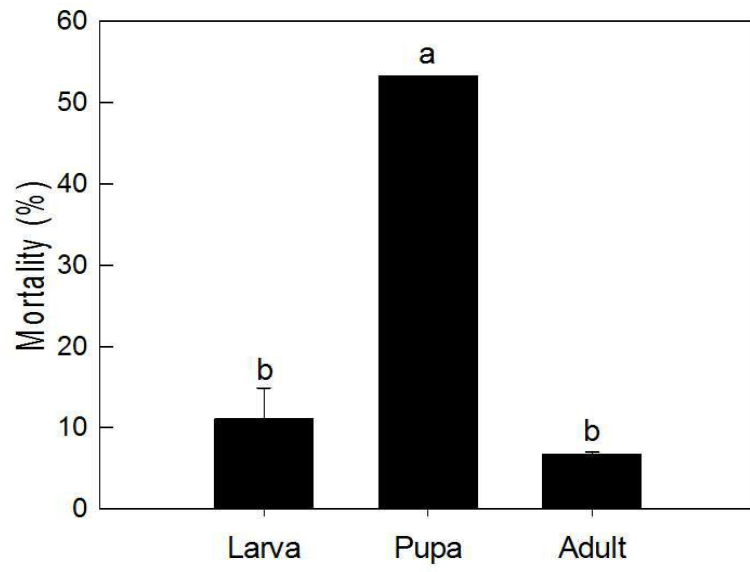
[0066] 이산화염소에 대한 거짓쌀도둑거저리의 감수성 저하는 먹이 속으로 파고 들어가면서 이산화염소 노출을 회피하는 행동에서 기인한 것으로 관찰되었다. 이러한 회피행동을 줄이기 위해 열처리를 병행하였다(도 5). 열처리 단독으로는 6시간 처리에서 약 4.4% 살충력을 보였고, 12시간을 처리한 결과 93.3% 살충력을 보였다. 그러나 400 ppm의 이산화염소를 처리한 결과 두 시간 처리 모두에서 전혀 살충력을 나타내지 못했다. 그러나 두 처리를 병행한 경우 6시간 처리에서 93.3%의 살충력을 나타내 두 처리의 뚜렷한 시너지효과를 나타냈다($F = 160.82$; $df = 2, 12$; $P < 0.0001$). 그리고 12시간을 처리한 두 처리 병행은 완전 방제효과를 나타냈다.

도면

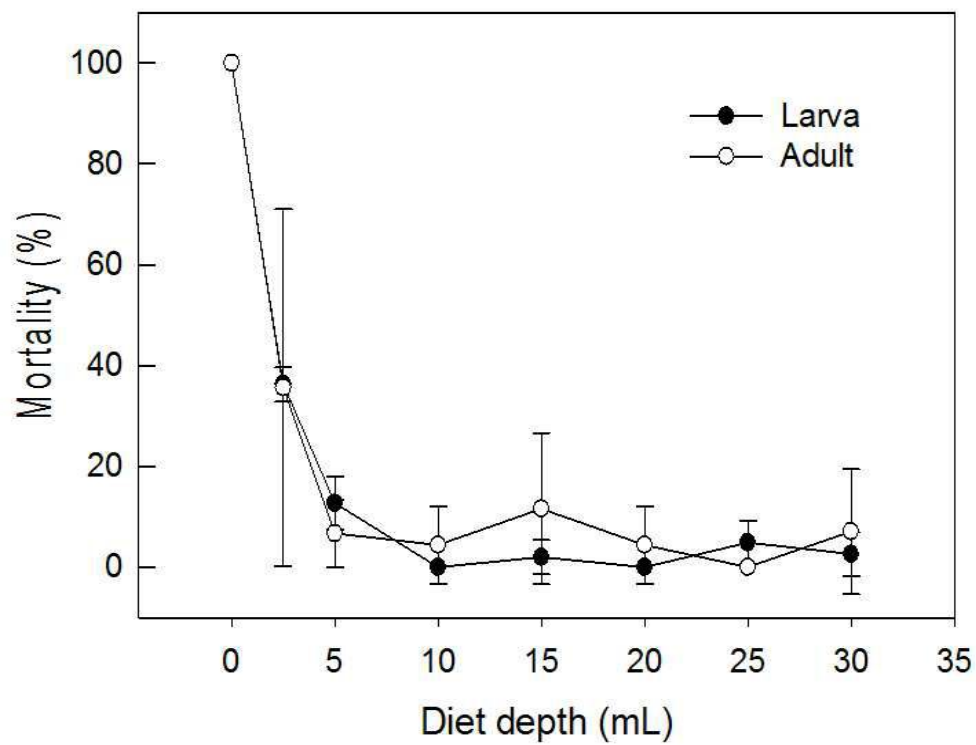
도면1a



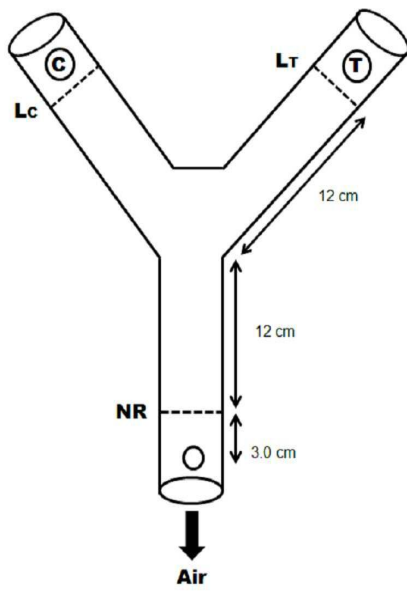
도면1b



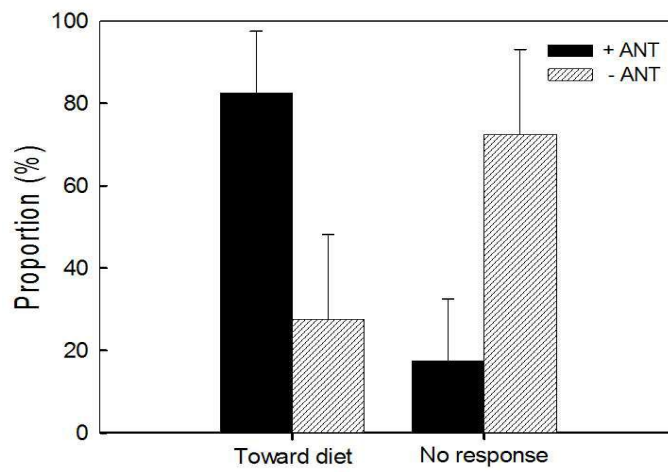
도면2



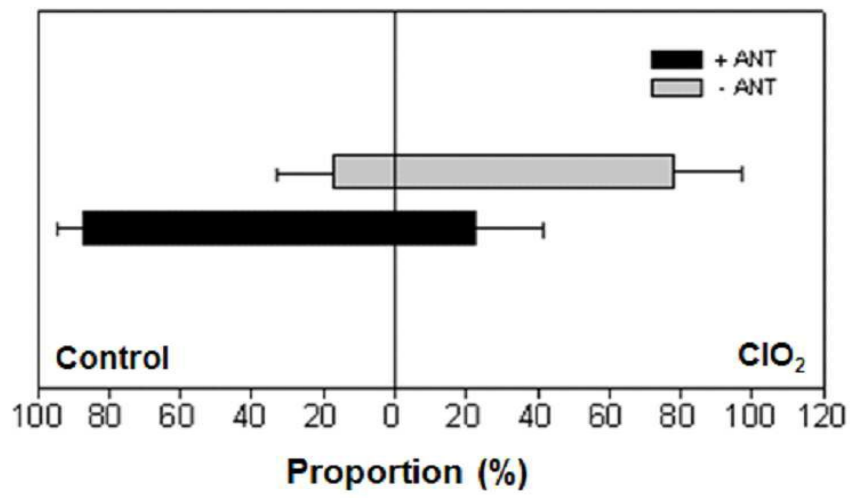
도면3a



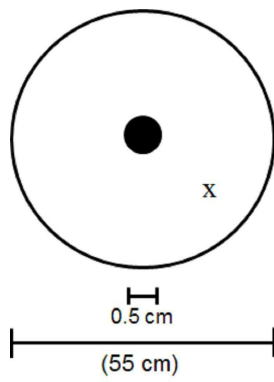
도면3b



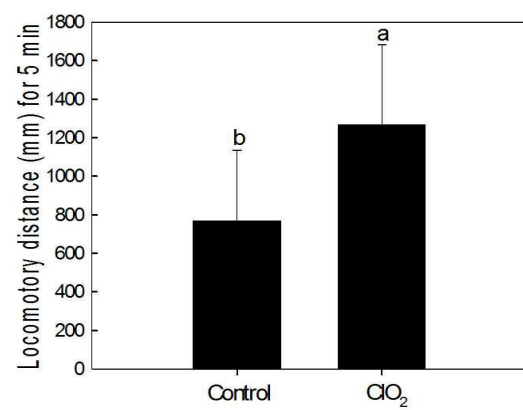
도면3c



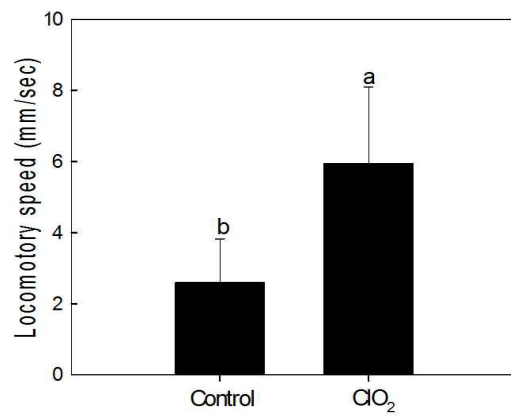
도면4a



도면4b



도면4c



도면5

