(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0080331
(43) 공개일자 2012년07월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01N 65/08 (2009.01) *A01N 35/06* (2006.01)
A01N 25/00 (2006.01) *A01P 7/00* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-0001710
(22) 출원일자 2011년01월07일
심사청구일자 2011년01월07일

(71) 출원인
경상대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
(72) 발명자
양재경
경상남도 진주시 호탄동 대동아파트 103동 302호
강훈석
경상남도 창원시 마산회원구 내서읍 숲속로 27, 숲속마을 611동 503호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인태백

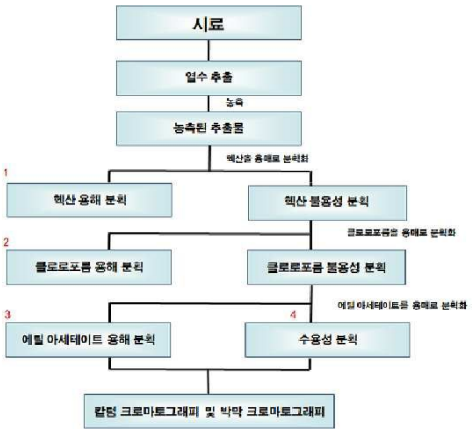
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **황련 추출물 및 카르본을 유효성분으로 포함하는 천연 살충제 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 황련 추출물 및 카르본을 유효성분으로 포함하는 천연 살충제 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 천연 살충제 조성물은 살균, 살진균 및 살충 효과를 가지며, 특히 씀바귀수염진딧물에 대해 살충 효과를 가진다. 또한, 식물 추출물을 유효성분으로 포함하여 친환경적이며, 농약, 토양개량제, 퇴비부숙제, 환경정화제 등 친환경 제제 등으로 이용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

정지영

경상남도 사천시 숲뫼1길 12, 동부9차에이스빌라 가동 403호 (향촌동)

하시영

경상북도 구미시 형곡서로 11-15, 시영아파트 102동 1507호 (형곡동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

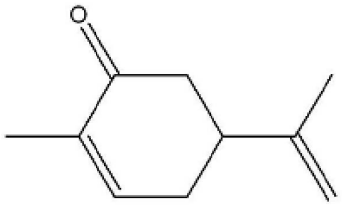
과제고유번호	S1036842
부처명	지식경제부
연구사업명	중소기업 기술지원사업
연구과제명	천연식물자원으로부터 생력형 친환경살충제 개발(한방 및 허브추출물로부터 살충성분의 분리)
주관기관	(주) 한국바이오케미칼
연구기간	2008.08.01 ~ 2010.07.31

특허청구의 범위

청구항 1

황련 추출물 및 하기 화학식 1의 카르본을 유효성분으로 포함하는 천연 살충제 조성물.

[화학식 1]



청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 황련 추출물은 유기용매추출물 분획인 것을 특징으로 하는 천연 살충제 조성물.

청구항 3

제 2항에 있어서, 상기 황련 추출물은 황련의 열수추출물 분말의 클로로포름 유기용매 추출물 분말 분획인 것을 특징으로 하는 천연 살충제 조성물.

청구항 4

제 1항 또는 제 3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 천연 살충제 조성물은 동일 농도의 황련 추출물에 대해 동일 농도의 카르본이 3:7 내지 7:3 부피 비로 혼합된 것을 특징으로 하는 천연 살충제 조성물.

청구항 5

제 1항 또는 제 3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 천연 살충제 조성물이 씀바귀수염진딧물 (*Uroleucon lactucicola*)에 대해 살충활성을 갖는 것을 특징으로 하는 천연 살충제 조성물.

청구항 6

제 1항에 있어서, 상기 천연 살충제 조성물이 농경학적으로 허용되는 담체를 더 포함하는 살충제 조성물.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 황련 추출물 및 카르본을 유효성분으로 포함하는 천연 살충제 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 2007년 세계 살충제 시장규모는 38,600백만 달러로 나타났고, 국내 살충제 시장규모는 2,200억원 규모로 추산되고 있습니다. 특히, 국내에서는 2002년 7월 1일자로 제조물 책임법이 시행되면서 친환경적인 천연물질을 이용한 제품개발이 늘어나 방향제, 코팅제 등의 선호도가 점차 높아져가고 있으며, 이중 리퀴드 제품은 편리성과 강한 살충효과로 최근 급속도로 성장하고 있습니다. 따라서, 편리성과 강한 살충효과를 나타내면서 환경친화적인 천연 살충제의 개발이 요청되고 있습니다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0003] 본 발명의 목적은 황련 추출물 및 카르본을 유효성분으로 포함하는 천연 살충제 조성물을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

[0004] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 황련 추출물 및 카르본을 유효성분으로 포함하는 천연 살충제 조성물을 제공한다.

[0005] 상기 천연 살충제 조성물에서 "살충"의 의미는 살충, 살균 및 살진균 등을 포함하는 개념이다.

[0006] 본 발명의 식물 추출물은 당업계에 공지된 다양한 식물 추출물의 제조방법에 따라 제조된 것일 수 있으며, 일예로 진탕추출법, 냉침추출법, 온침추출법, 열추출법 또는 환류추출법에 의할 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0007] 상기 황련 추출물은 물 또는 유기용매로 추출한 추출물일 수 있다. 상기 유기 용매로는 헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트, 부탄올, 메탄올, 프로판올, 탄소수 1 내지 4인 저가 알콜 등일 수 있다.

[0008] 상기 추출용매가 물인 경우에는 열수추출법에 의할 수 있으며 상기 추출용매가 알콜인 경우에는 환류추출법에 의할 수 있다.

[0009] 또한, 상기 용매로 추출한 추출물은 추출과정을 수행한 이후, 헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 등의 용매로 분획과정을 더욱 실시할 수 있으며, 상기 분획시 용매는 1종 이상 사용할 수 있다.

[0010] 상기 황련 추출물은 황련의 물 추출물을 유기용매로 더욱 추출한 클로로포름 분획이 바람직하다. 더 바람직하게는 상기 황련의 열수추출물의 분말을 유기용매로 더욱 추출한 클로로포름 분획이 바람직하다.

[0011] 상기 추출물을 제조하기 위한 온도는 4 내지 120℃일 수 있으나, 이에 한정되지는 않으며, 추출시간은 특별히 한정되지는 않으나 10분 내지 300분일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 추출과정은 통상의 추출기기, 초음파분쇄 추출기 또는 분획기를 이용하여 수행할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 제조된 추출물은 이후 감압 여과하거나 건조하여 용매를 제거하여 농축할 수 있으며, 감압 여과 및 건조를 모두 수행할 수 있고 상기 감압 여과는 감압농축기를 이용한 저온 감압 농축법에 의해 수행될 수 있으며, 건조는 동결건조법에 의해 수행될 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0012] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 황련 추출물은 유기용매추출물 분획일 수 있다.

[0013] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 황련 추출물은 황련의 열수추출물 분말의 클로로포름 유기용매 추출물 분획일 수 있다.

[0014] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 천연 살충제 조성물은 동일 농도의 황련 추출물에 대해 동일 농도의 카르본이 3:7 내지 7:3 부피 비로 혼합된 것일 수 있다. 상기 천연 살충제 조성물에서, 동일 농도의 황련 추출물에 대해 동일 농도의 카르본이 3:7 내지 7:3 부피 비로 포함할 때, 황련 추출물 및 카르본을 동시에 포함함으로 인한 상승효과를 더 가질 수 있다. 바람직하게는 상기 천연 살충제 조성물은 동일 농도의 황련의 열수추출물 분말의 클로로포름 유기용매 추출물 분획에 대해 동일 농도의 카르본이 5:5 내지 7:3의 부피비로 혼합된 것일 수 있다.

[0015] 상기 천연 살충제 조성물은 살충, 살균 및 살진균 효과를 가진다. 예를 들어, 고추탄저병(Collerotrichum gloeosporioides), 벼도열병(Pyricularia grisea), 온실가루이(Trialeurodes vaporariorum), 담배가루이(Bemisia tabaci)등에 효과를 보일 수 있다.

[0016] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 천연 살충제 조성물이 씀바귀수염진딧물 (*Uroleucon lactucicola*)에 대해 살충활성을 가질 수 있다.

[0017] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 천연 살충제 조성물이 농경학적으로 허용되는 담체를 더 포함할 수 있다.

[0018] 상기 담체는 무기 또는 유기 및 합성 또는 천연 기원의 것일 수 있고, 활성 조성물을 이 담체와 함께 혼합하거나 또는 제제화하여 식물, 종자, 토양 또는 기타 처리 대상, 또는 그 저장, 이동 및(또는) 핸들링을 용이하게 하는 물질을 의미한다. 일반적으로, 살충제, 제초제 또는 항균제 조성물에서 담체로서 통상적으로 사용될 수 있는 어떤 물질도 본 발명에의 사용에 적합하다. 본 발명의 천연 살충제 조성물은 단독으로 사용되거나 또는 상기 고체 및(또는) 액체 분산성 담체 비히클 및(또는) 기타 공지의 양립가능한 활성제, 특히, 기타 살곤충제, 살거미제, 살진드기제, 선충제거제, 살진균제, 박테리아 제거제, 설치류 제거제, 제초제, 비료, 성장조절제 등과 같은 식물 보호제와 함께 혼합물의 형태로, 또는 원한다면, 이로부터 제조된 특정 응용을 위한 특

정 용량의 제조 형태, 예를 들어, 용액, 에멀젼, 현탁제, 분말, 페이스트 및 과립과 같이 즉시 사용될 수 있는 형태로 사용될 수도 있다. 본 발명의 천연 살충제 조성물은 선택적으로, 통상적인 살충성 제제 또는 조성물에 사용가능한 유형의 통상적인 불활성(식물 양립가능성 또는 제초적으로 불활성)인 살충제 희석제 또는 팽창제, 예를 들어, 통상적인 가스, 용액, 에멀젼, 현탁제, 에멀젼화 가능한 농축액, 분무 분말, 페이스트, 가용성 분말, 집진제, 과립, 거품제, 페이스트, 정제, 에어로졸, 활성 화합물과 혼입된 천연 및 합성 물질, 마이크로캡슐, 종자에 사용되기 위한 코팅 조성물 및 발염성 카트리지, 발포성 캔 및 발포성 코일뿐만 아니라 ULV 냉풍 안개 및 온풍 안개 제제와 같은 버닝 장비와 함께 사용되는 제제 등과 함께 혼합되어 제제화될 수 있다. 상기 담체는 천연 살충제 조성물의 제형, 살포장소 및 살포방법에 따라 조절하는 것이 바람직하다.

발명의 효과

[0019] 본 발명에 따른 천연 살충제 조성물은 살균, 살진균 및 살충 효과를 가지며, 특히 씀바귀수염진딧물에 대해 살충 효과를 가진다. 또한, 식물 추출물을 유효성분으로 포함하여 친환경적이며, 농약, 토양개량제, 퇴비 부숙제, 환경정화제 등 친환경 제제 등으로 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0020] 도 1은 각 시료의 용제별 분획을 설명하기 위한 블록도이다.

도 2는 황련 추출물 시료로부터 분리된 용제별 분획을 나타내는 사진이며, (a), (b), (c) 및 (d)는 각각 용매 분획으로 헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 물의 분획을 나타낸다.

도 3은 황련 추출물의 실온 및 UV 램프에서의 2D-TLC 전개 상태를 나타내는 사진이며, (a) 및 (b)는 각각 황련 + 실온 조건, 황련 + UV램프 조건을 나타낸다.

도 4는 황련의 열수추출물의 용제별 분획의 1D-TLC 전개 상태를 나타내는 사진이며, (a), (b), (c), (d)및 (e)는 각각 용매 분획으로 열수추출물, 헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 물의 분획을 나타낸다.

도 5는 황련 헥산 분획의 가스 크로마토그램을 나타낸다.

도 6은 황련 클로로포름 분획의 가스 크로마토그램을 나타낸다.

도 7은 황련 에틸 아세테이트의 가스 크로마토그램을 나타낸다.

도 8은 실내오염균에 대한 한방추출물의 살균 효과 검정결과를 나타내는 사진이며, (a) 및 (b)는 각각 황련 열수추출물 및 대조군을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

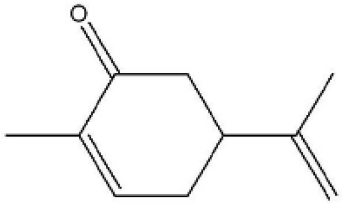
[0021] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명하지만, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0022] <실시예>

[0023] 1. 카르본(Carvone)

[0024] 카르본은 캐러웨이 오일(Caraway oil)의 주요 성분으로서 하기 화학식 1을 가진다.

화학식 1

[0025] 

[0026] 2. 황련 추출물

[0027] 가. 시료

[0028] 황련(*Coptis chinensis*)을 분쇄하여 열수추출(온도: 100 ~120℃, 4시간)을 한 다음 농축하고 동결 건조시켜 분말로 조제시킨 것을 시료로 이용하였다.

[0029] 나. 추출물의 분리

[0030] 분말화된 시료를 증류수에 녹인 후 용제(헥산(hexane), 클로로포름(chloroform), 에틸 아세테이트(ethyl acetate))를 사용하여 도 1과 같이 분획 여두로 헥산용성, 클로로포름용성, 에틸 아세테이트용성 및 수용성으로 순차적으로 분획하고 감압 농축기를 이용하여 농축하였다.

[0031] 다. 추출물의 분리

[0032] 도 2는 황련 추출물 시료로부터 분리된 용제별 분획을 나타내는 사진이며, (a), (b), (c) 및 (d)는 각각 용매 분획으로 헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 물의 분획을 나타낸다.

[0033] 황련에서는 헥산용성, 클로로포름용성, 에틸 아세테이트용성 및 수용성 각 분획에서 물질이 용해된 것을 확인할 수 있었고 클로로포름용성 및 에틸 아세테이트용성에서는 미세한 결정이 생성되는 것을 확인할 수 있었다.

[0034] 라. 황련 추출물과 카르본의 혼합

[0035] 일 실시예로 황련의 열수추출물 분말과 카르본을 각각 1,000ppm 현탁액으로 조제하였다. 그리고, 각각 1,000ppm 현탁액으로 조제된 황련의 열수추출물과 카르본을 3:7의 비율(v/v), 1:1(5:5)의 비율 (v/v) 및 7:3의 비율(v/v)로 혼합하였다.

[0036] 다른 실시예로, 황련 클로로포름 분획 및 카르본을 각각 1,000ppm 현탁액으로 조제하였다. 그리고, 각각 1,000ppm 현탁액으로 조제된 황련 클로로포름 분획 및 카르본을 3:7의 비율(v/v), 1:1(5:5)의 비율 (v/v) 및 7:3의 비율(v/v)로 혼합하였다.

[0037] <u>실험예 1. 황련 추출물 용제별 분획으로부터 살충능력을 나타내는 기능성 성분의 단리</u>

[0038] 1. 살충 능력을 나타내는 기능성 성분의 단리

[0039] 가. 시료

[0040] 황련으로부터 분리된 각각의 용제별 분획(헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 물의 분획)을 감압농축기를 이용하여 농축하여 이용하였다.

[0041] 나. 추출물의 단리

[0042] 황련으로부터 분리된 분획물의 순수 화합물 여부를 확인하기 위하여 박막 크로마토그래피(TLC)를 실시하였다. TLC는 Merk사의 DC-Plastilfolien cellulose F cellulose plate를 사용하였으며 화합물의 단리 여부를 확인하기 위해 2차원 TLC를 실시(용매 A와 용매 B를 순차적으로 직각으로 교차하여 전개)하였으며 혼합물의 분리단계에서는 1차원 TLC를 실시하였다. 전개용매로는 TBA (t-부탄올(butanol)-아세트산(acetic acid)-물(water) (3:1:1 (v/v), 용매 A)과 6% 아세트산 (용매 B)을 사용하였다. TLC 상에 전개된 화합물은 UV램프 (254nm, 354 nm)로 관찰하였으며 발색제 바닐린(vanillin)-HCl-EtOH(4.8g:12mℓ:480mℓ)와 1% $FeCl_3$-EtOH 용액을 전개된 TLC 판에 분무하고 가열 건조하여 반응하는 화합물 고유의 색을 관찰하였다.

[0043] 다. 결과

[0044] 1) 2차원 박막 크로마토그래피(2D-TLC)

[0045] 황련추출물의 실온 및 UV 램프에서의 2D-TLC 전개 상태를 도 3에 나타내었다. 황련 열수추출물의 적절한 전개용매 선정과 추출물의 단리 여부를 확인하기 위하여 2차원 박막 크로마토그래피를 실시하였다. 황련 열수추출물을 2D-TLC로 실시한 결과 야광으로 발색하는 물질이 단리되지 않은 상태로 나타났으며 그 외 1종의 물질이 단리 되었다.

[0046] 2) 황련 추출물로부터 분리된 각각의 용제별 분획의 1차원 박막 크로마토그래피 (1D-TLC)

[0047] 황련 열수추출물의 용제별 분획의 1차원 박막 크로마토그래피(1D-TLC) 전개 상태를 도 4에 나타내었다. 황련 열수추출물을 TBA 전개용매로 1D-TLC로 전개한 결과 야광 발색 물질이 단리된 것을 확인 할 수 있었다. 황련 열수추출물의 헥산 분획은 TBA 전개용매로 1D-TLC를 실시한 결과 분리된 물질을 육안으로 확인할 수 없었다.

황련 열수추출물의 클로로포름 분획은 TBA 전개용매로 1D-TLC를 실시한 결과 2종의 물질이 분리된 것을 확인 할 수 있었으며 야광 발색 물질이 나타났다. 황련 열수추출물의 에틸 아세테이트 분획은 TBA 전개용매로 1D-TLC를 실시한 결과 3종의 물질이 분리된 것을 확인 할 수 있었으며 클로로포름에서 확인된 야광 발색물질은 나타나지 않았다. 황련 열수추출물의 물 분획은 6% 아세트산 전개용매로 1D-TLC를 실시한 결과 3종의 물질이 분리된 것을 확인 할 수 있었으며 야광 발색물질이 나타났다. 황련 열수추출물은 클로로포름 분획, 에틸 아세테이트 분획 및 물 분획에서 단리되는 물질이 살충능력에 효과를 나타낼 물질일 것으로 판단된다.

[0048] 실험예 2. 황련 추출물의 용제별 분획으로부터 살충능력을 나타내는 기능성 성분의 분석

[0049] 1. 황련 추출물로부터 분리된 용제별 분획의 화학적 조성 분석

[0050] 가. 시료

[0051] 황련 추출물로부터 분리된 각각의 용제별 분획(헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트 및 물의 분획)을 감압농축기를 이용하여 농축하여 GC-MS 분석 시료로 이용하였다.

[0052] 나. GC-MS 분석

[0053] 시료 1㎖을 바이알(vial)에 담아서 GC-MS (Perkin Elmer, USA)로 분석하였다. GC-MS의 분석 조건은 하기와 같다.

[0054] - 인젝터(injector) 온도: 260℃

[0055] - 디텍터(detector) 온도: 260℃

[0056] - 이온 소스 온도: 250℃

[0057] - 칼럼: DB-5MS (30m×0.25㎜×0.25㎛)

[0058] - 라이브라리(library): NIST

[0059] 초기 칼럼 온도를 35℃로 5분간 유지시키고 나서, 280℃에 도달할 때까지 5℃/분의 속도로 승온 시키고, 상기 280℃에서 10분 동안 유지시켰다. 이후 300℃에 도달할 때까지 10℃/분의 속도로 승온 시키고, 상기 300℃에서 14분 동안 유지시켰다.

[0060] 다. 분석 결과

[0061] 1) 황련의 추출물로부터 분리된 각각의 용제별 분획의 화학적 조성

[0062] 가) 헥산 용해 분획

[0063] 황련 헥산 분획의 가스 크로마토그램(gas chromatogram)을 도 7에 나타내었다. 황련 헥산 분획에 함유된 화합물과 머무름 시간(retention time), 함유비율 등을 표 1에 나타내었다. 황련 헥산 분획에는 총 27종의 향기성분이 검출되었으며 Bis (2-ethylhexyl) phthalate (20.3%), (-)-Caryophyllene (15.5%), Distearyl thiodipropionate (9.6%), Acetal (9.2%), Farnesyl bromide (7.2%) 등이 주성분으로 함유되어 있었다.

표 1

[0064]

번호	머무름 시간(분)	%	화합물 명칭	화학식
1	4.9	2.6	Cyclopentanone	C5H8O
2	9.0	1.8	Tetradecyl ether	C28H58O
3	12.2	0.7	2-methoxy-4-vinylphenol	C9H10O2
4	13.3	2.6	Acetaldehyde	C8H16O4
5	14.5	0.6	Heptadecane	C17H36
6	15.4	0.5	Phosphoric acid, 1,1-dimethylethyl diethyl ester	C8H19O4P
7	17.0	0.6	Disulfide	C24H50OS2
8	18.1	0.9	Benzenepropanoic acid	C9H10O2
9	19.0	0.4	2,4-dimethoxybenzyl alcohol	C9H12O3
10	19.7	1.1	7-methanoazulene	C15H24
11	22.0	0.9	8-Heptadecene	C17H34

12	23.7	0.4	1-Hentetracontanol	C41H84O
13	24.7	20.2	Bis(2-ethylhexyl)phthalate	C24H38O4
14	26.0	2.8	2-butenoic acid	C4H6O2
15	26.7	4.6	Desacetylanguidine	C17H24O6
16	26.8	0.7	5-methyl-z-5-docosene	C23H46
17	29.2	2.6	Corydine	C20H23O4N
18	30.9	0.6	Cyclotrisiloxane, 2,4,6-trimethyl-2,4,6-triphenyl	C21H24O3Si3
19	31.1	2.8	Lopatol	C13H8N2O3S
20	32.2	0.9	D-mannitol	C6H14O6
21	32.7	2.3	Squalene	C30H50
22	33.1	4.6	β-sitosterol	C29H50O
23	33.5	7.2	Farnesyl bromide	C15H25Br
24	34.4	15.5	(-)-caryophyllene	C15H24
25	35.7	9.6	Distearyl thiodipropionate	C42H82O4S
26	36.6	3.3	Oxoberberine	C21H21NO4
27	38.1	9.2	Acetal	C9H8O4

[0065] 나) 클로로포름 용해 분획

[0066] 황련 클로로포름 분획의 가스 크로마토그램을 도 8에 나타내었다. 황련 클로로포름 분획에 함유된 화합물과 머무름 시간, 함유비율 등을 표 2에 나타내었다. 황련 클로로포름 분획에는 총 21종의 향기성분이 검출되었으며 Desacetylanguidine (14.4%), 2-methoxy-4-vinylphenol (13.0%), 2-butenoic acid (9.1%), Benzenamine (8.4%), Methydrine (7.6%) 등이 주성분으로 함유되어 있었다.

표 2

[0067]

번호	머무름 시간(분)	%	화합물 명칭	화학식
1	9.7	4.8	3-methyl-Sydnone	C3H4N2O2
2	10.5	2.6	Hydroquinone	C6H6O2
3	11.0	1.1	Thiophene	C4H4S
4	12.2	13.0	2-methoxy-4-vinylphenol	C9H10O2
5	13.0	1.9	1,2,3-benzenetriol	C6H6O3
6	14.9	2.1	D-allose	C6H12O6
7	15.4	2.5	Phosphoric acid	H3PO4
8	15.5	8.4	Benzenamine	C6H7N
9	16.1	4.6	Cyclotrisiloxane, 2,4,6-trimethyl-2,4,6-triphenyl	C21H24O3Si3
10	17.4	4.5	3-methyl-2-butenoic acid	C5H8O2
11	17.5	3.5	1-Methylene-2b-hydroxymethyl-3,3-dimethyl-4b-(3-methylbut-2-enyl)-cyclohexane	C15H26O
12	18.8	7.6	Methydrine	C8H11NO
13	19.3	2.4	Levodopa	C9H11O4N
14	19.6	2.0	L-(+)-Ascorbic acid	C6H8O6
15	20.6	4.0	Tetrazole	CH2N4
16	21.4	0.8	9,12-octadecadien-1-ol	C18H34O
17	24.7	2.7	Bis(2-ethylhexyl)phthalate	C24H38O4
18	25.6	6.3	Retinal	C20H28O
19	26.0	9.1	2-butenoic acid	C4H6O2
20	26.7	14.4	Desacetylanguidine	C17H24O6
21	28.3	1.7	Tetrapentacontane	C54H110

[0068] 다) 에틸 아세테이트 용해 분획

[0069] 황련 에틸 아세테이트 분획의 가스 크로마토그램을 도 9에 나타내었다. 황련 에틸 아세테이트 분획에 함유된 화합물과 머무름 시간, 함유비율 등을 표 3에 나타내었다. 황련 에틸 아세테이트 분획에는 총 29종의 향기성분이 검출되었으며 Oxoberberine (21.6%), 3-decanynoic acid (8.3%), β-amyrin (6.4%), 2-methoxy-4-vinylphenol (6.1%), 1-Methylene-2b-hydroxymethyl-3,3-dimethyl-4b- (3-methylbut-2-enyl)-cyclohexane

(4.6%) 등이 주성분으로 함유되어 있었다.

표 3

[0070]

번호	머무름 시간(분)	%	화합물 명칭	화학식
1	9.7	1.7	3-methyl-Sydnone	C3H4N2O2
2	12.2	6.1	2-methoxy-4-vinylphenol	C9H10O2
3	13.4	4.3	Vanillin	C8H8O3
4	15.0	1.0	Acetamide	C2H5NO
5	15.4	0.8	Phosphoric acid	H3PO4
6	16.1	0.9	Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl	C16H48O8Si8
7	16.7	1.8	Pentanoic acid	C5H10O2
8	17.5	4.6	1-Methylene-2b-hydroxymethyl-3,3-dimethyl-4b-(3-methylbut-2-enyl)-cyclohexane	C15H26O
9	17.9	1.6	4'-Methoxybutyrophenone	C11H14O2
10	18.5	1.3	2-propenoic acid	C3H4O2
11	19.5	1.1	Thujone	C10H16O
12	20.0	5.1	Cyclopropane	C3H6
13	20.5	8.3	3-decanynoic acid	C10H16O2
14	21.4	4.0	9,12-octadecadien-1-ol	C18H34O
15	23.5	0.6	Pyrrolo(1,2-A)Pyrazine-1,4-dione	C21H23N3O2
16	24.6	2.2	Didodecyl phthalate	C32H54O4
17	26.0	1.2	2-butenoic acid	C4H6O2
18	26.7	1.3	Desacetylanguidine	C17H24O6
19	28.4	2.0	carinol	C20H26O7
20	29.2	3.9	Corydine	C20H23O4N
21	30.9	3.5	Cyclotrisiloxane, 2,4,6-trimethyl-2,4,6-triphenyl	C21H24O3Si3
22	31.6	2.1	Propenylguaethol	C8H8O3
23	32.3	2.7	(+)-lariciresinol	C20H24O6
24	32.7	1.6	Squalene	C30H50
25	33.8	6.4	β-amyrin	C30H50O
26	33.9	1.2	Silicic acid	H4O4Si
27	36.6	21.6	Oxoberberine	C21H21NO4
28	38.8	2.7	methyltrimethoxysilane	C4H12O3Si
29	39.8	4.4	4-(trifluoromethyl)-2-pteridinamine	C7H4F3N5

[0071] <u>실험예 3. 황련 추출물의 용제별 분획으로부터 살충능력을 나타내는 기능성 유효 성분의 규명</u>

[0072] 1. 실내오염균에 대한 한방추출물의 살균 효과 검정

[0073] 가. 시료

[0074] 황련의 열수추출물 분말을 사용하였다.

[0075] 나. 시험 방법

[0076] LB 배지에 100ppm 농도의 황련의 한방 열수추출물 분말을 각각 첨가하여 2일 동안 실내에 노출시킨 뒤 4일 동안 30℃에 배양하여 오염정도를 관찰하였다.

[0077] 다. 결과

[0078] 도 8에 시료별 오염정도를 비교하여 나타내었다. 황련 추출물이 첨가되지 않은 LB 배지(대조군, 도 13의 (b) 참조)에서는 총 11종의 세균 및 곰팡이가 육안으로 확인되었다. 황련 열수추출물이 첨가된 LB 배지(도 13의 (a) 참조)에서는 총 6종의 세균 및 곰팡이가 확인되었다. 세균과 곰팡이가 오염된 정도를 확인한 결과 살균, 살진균 능력이 우수할 것으로 판단되었다.

[0079] 2. 엽침지법에 의한 씀바귀수염진딧물 (*Uroleucon lactucicola*)에 대한 한방추출물의 살충 효과 검정

[0080] 가. 시험 화합물

[0081] 황련 추출물에 대한 살충 효과를 검정하기 위해 황련의 열수추출물 분말을 1,000ppm 현탁액으로 조제하여 사

용하였다. 이와 함께, 황련의 열수추출물 분말로부터 유래된 분획의 살충효과를 검정하기 위해 황련 에틸 아세테이트 분획, 황련 클로로포름 분획을 각각 1,000ppm 현탁액으로 조제하여 사용하였다.

[0082] 나. 시험 곤충

[0083] 실험에 사용된 씀바귀수염진딧물(*Uroleucon lactucicola*)은 2010년 6월 경남 진주시 가좌산에서 채취하여 실내 사육조건 온도 28℃, 상대습도 40%의 조건 하에서 3일안에 시험에 이용하였다.

[0084] 다. 엽침지법에 의한 살충효과 검정

[0085] 직경 10㎝ 페트리디쉬에 여과지(filter paper) No. 1을 깔고 증류수 1㎖을 적셔 수분이 공급 되게 하였다. 각 시료 분말을 1,000ppm 현탁액으로 각각 제조한 후 엽절편 (5.6~7.3㎝)에 1분간 침지시키고 엽절편의 뒷면이 위로 향하게 하여 1시간 동안 음건시켰다. 음건시킨 엽절편은 페트리디쉬 중앙에 올려놓은 후 씀바귀수염진딧물(*Uroleucon lactucicola*) 1마리를 미세붓으로 엽절편에 접종한다(무처리는 엽절편을 증류수에 침지시켜 사용하였음). 접종 후 25℃의 배양기에 보관하면서 처리 48시간 후에 치사 유무를 조사하였으며 3반복으로 실시하였다.

[0086] 라. 결과

[0087] 1) 씀바귀수염진딧물 (*Uroleucon lactucicola*)에 대한 황련 열수추출물 분말의 살충 효과

[0088] 황련 열수추출물 분말에 대한 살충 효과는 표 4와 같다. 황련의 열수 수출물의 살충효과는 66.7%이었다.

표 4

[0089]

실험 물질	농도(ppm)	치사율(mortality) %(평균±표준편차)
황련	1,000	66.7 ± 2.3
대조군	-	29.7 ± 1.8

[0090] 상기 표 4에서 각 데이터는 3반복 실험의 평균적인 결과로서, 각각 20개의 성충을 실험한 것이다.

[0091] 2) 씀바귀수염진딧물(*Uroleucon lactucicola*)에 대한 황련 추출물의 분획에 따른 살충효과

[0092] 황련 추출물의 분획에 따른 살충 효과는 표 5와 같다. 황련 클로로포름 분획에서 76.7%의 높은 살충효과를 나타낸 것으로 볼 때 황련의 클로로포름 분획에 살충효과를 나타내는 기능성 물질이 함유되어 있는 것으로 판단되었다.

표 5

[0093]

실험 물질	농도(ppm)	치사율(mortality) %(평균±표준편차)
황련 에틸 아세테이트 분획	1,000	60.0 ± 0.0
황련 클로로포름 분획	1,000	76.7 ± 5.8
대조군	-	43.3 ± 5.8

[0094] 상기 표 5에서 각 데이터는 3반복 실험의 평균적인 결과로서, 각각 20개의 성충을 실험한 것이다.

[0095] <u>실험예 4. 황련 추출물과 카르본의 혼합물로부터 살충능력 확인</u>

[0096] 1. 시험 화합물

[0097] 황련의 열수추출물 분말과 카르본을 각각 1,000ppm 현탁액으로 조제하여 사용하였다. 황련의 열수추출물과 카르본을 각각 1,000ppm의 현탁액으로 제조한 후 7:3, 1:1, 3:7 비율(v/v)로 혼합하여 혼합물 조성물을 얻었다.

[0098] 나. 시험 곤충

[0099] 실험에 사용된 씀바귀수염진딧물(*Uroleucon lactucicola*)은 2010년 6월 경남 진주시 가좌산에서 채취하여 실내 사육조건 온도 28℃, 상대습도 40%의 조건 하에서 3일안에 시험에 이용하였다.

[0100] 다. 엽침지법에 의한 살충효과 검정

[0101] 직경 10㎝ 페트리디쉬에 여과지(filter paper) No. 1을 깔고 증류수 1㎖을 적셔 수분이 공급 되게 하였다. 상기 혼합물 조성물을 엽절편 (5.6~7.3㎝)에 1분간 침지시키고 엽절편의 뒷면이 위로 향하게 하여 1시간 동안 음건시켰다. 음건시킨 엽절편은 페트리디쉬 중앙에 올려놓은 후 씀바귀수염진딧물(*Uroleucon lactucicola*) 1마리를 미세붓으로 엽절편에 접종한다(무처리는 엽절편을 증류수에 침지시켜 사용하였음). 접종 후 25℃의 배양기에 보관하면서 처리 48시간 후에 치사 유무를 조사하였으며 3반복으로 실시하였다.

[0102] 라. 결과

[0103] 황련 열수추출물과 카르본을 각각 1,000ppm의 현탁액으로 제조한 후 7:3 (v/v), 1:1(5:5) (v/v), 3:7 (v/v) 비율로 혼합하여 실험한 결과 동일한 비율로 혼합하였을 때 75.6%의 가장 높은 살충효과를 나타냈다. 또한, 황련 열수추출물과 카르본 각각 보다 황련 열수추출물과 카르본의 혼합물이 살충효과가 크게 나타났다(5% 수준에서 유의성이 나타났다).

표 6

[0104]

실험 물질	농도(ppm)	치사율(mortality) %(평균±표준편차)
황련	1,000	60.0 ± 2.6
카르본	1,000	70.5 ± 8.9
황련 : 카르본(7:3)	1,000	72.1 ± 2.1
황련 : 카르본(5:5)	1,000	75.6 ± 8.0
황련 : 카르본(3:7)	1,000	71.2 ± 7.4
대조군	-	42.1 ± 1.2

[0105] <u>실험예 5. 황련 클로로포름 분획과 카르본의 혼합물의 혼합비율에 따른 살충능력 확인</u>

[0106] 1. 시험 화합물

[0107] 황련의 클로로포름 분획과 카르본을 각각 1,000ppm 현탁액으로 조제하여 사용하였다. 황련의 클로로포름 분획과 카르본을 각각 1,000ppm의 현탁액으로 제조한 후 7:3, 1:1(5:5), 3:7 비율(v/v)로 혼합하여 혼합물 조성물을 얻었다.

[0108] 나. 시험 곤충

[0109] 실험에 사용된 씀바귀수염진딧물(*Uroleucon lactucicola*)은 2010년 6월 경남 진주시 가좌산에서 채취하여 실내 사육조건 온도 28℃, 상대습도 40%의 조건 하에서 3일안에 시험에 이용하였다.

[0110] 다. 엽침지법에 의한 살충효과 검정

[0111] 직경 10㎝ 페트리디쉬에 여과지(filter paper) No. 1을 깔고 증류수 1㎖을 적셔 수분이 공급 되게 하였다. 상기 혼합물 조성물을 엽절편 (5.6~7.3㎝)에 1분간 침지시키고 엽절편의 뒷면이 위로 향하게 하여 1시간 동안 음건시켰다. 음건시킨 엽절편은 페트리디쉬 중앙에 올려놓은 후 씀바귀수염진딧물(*Uroleucon lactucicola*) 1마리를 미세붓으로 엽절편에 접종한다(무처리는 엽절편을 증류수에 침지시켜 사용하였음). 접종 후 25℃의 배양기에 보관하면서 처리 48시간 후에 치사 유무를 조사하였으며 3반복으로 실시하였다.

[0112] 라. 결과

[0113] 황련의 클로로포름 분획과 카르본을 각각 1,000ppm의 현탁액으로 제조한 후 7:3, 1:1(5:5), 3:7 비율 (v/v)로 혼합하여 실험한 결과 동일한 비율로 혼합하였을 때 84.5%의 가장 높은 살충효과를 나타냈다. 또한, 황련의 클로로포름 분획과 카르본 각각 보다 황련의 클로로포름 분획과 카르본의 혼합물이 살충효과가 크게 나타났다(5% 수준에서 유의성이 나타났다).

표 7

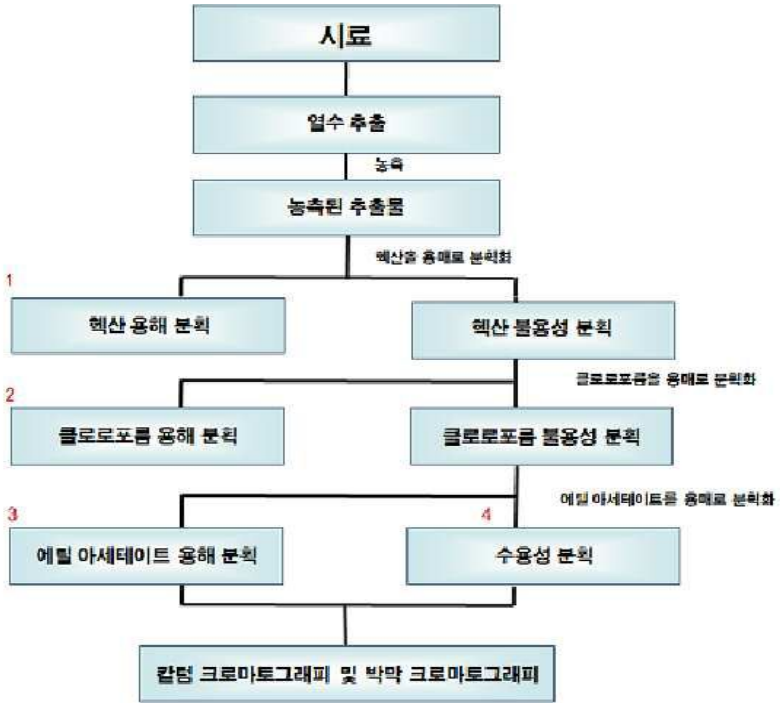
[0114]

실험 물질	농도(ppm)	치사율(mortality) %(평균±표준편차)
황련	1,000	76.7±5.8
카르본	1,000	70.5±8.9
황련 : 카르본(7:3)	1,000	80.1±4.4

황련 : 카르본(5:5)	1,000	84.5±2.3
황련 : 카르본(3:7)	1,000	77.3±3.3
대조군	-	42.1±1.2

도면

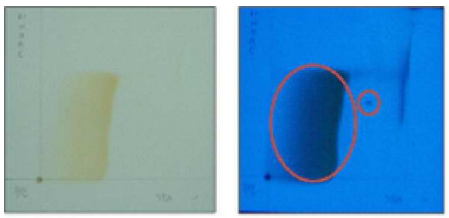
도면1



도면2

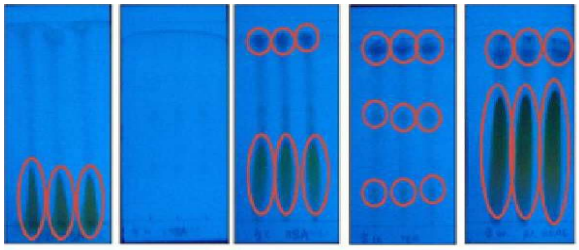
(a) (b) (c) (d)

도면3

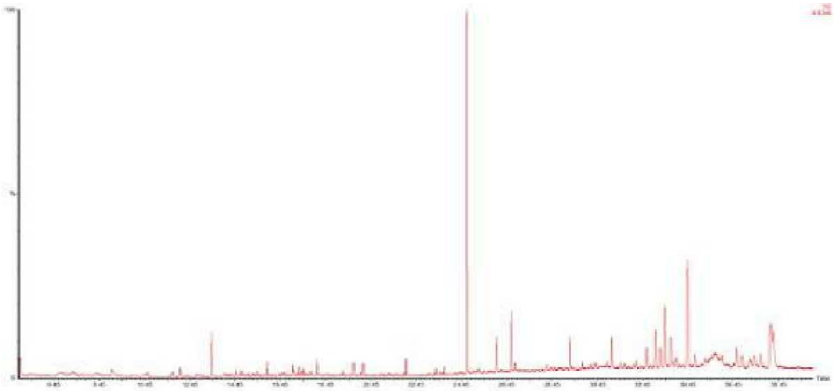


(a) (b)

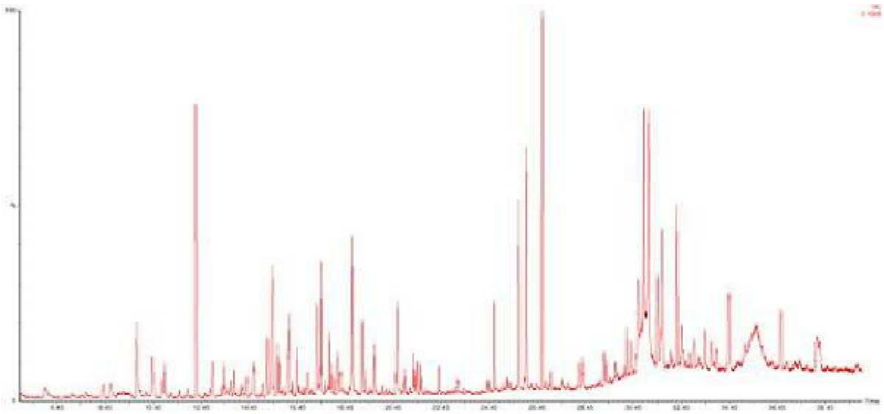
도면4



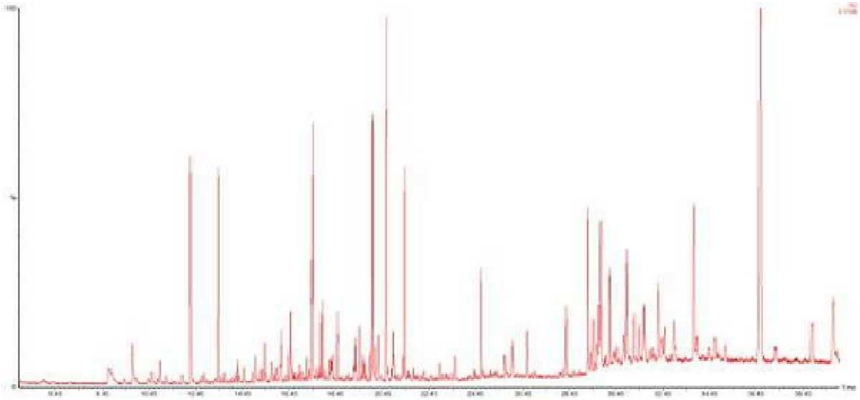
도면5



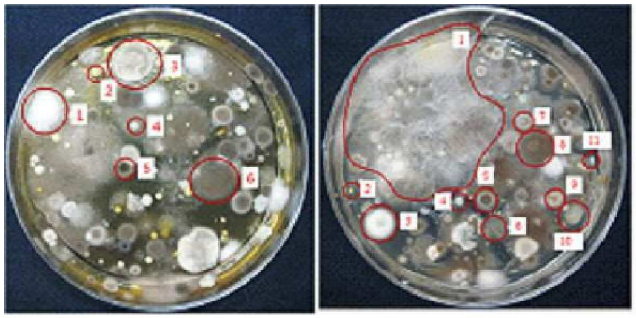
도면6



도면7



도면8



(a) (b)