

발간등록번호

11-1543000-002013-01

저곡해충 방제를 위한 이산화염소 현장 이용기술 개발
(Development of stored grain insect pest control technology using
chlorine dioxide)

고 려 대 학 교

농 립 축 산 식 품 부

2. 제출문

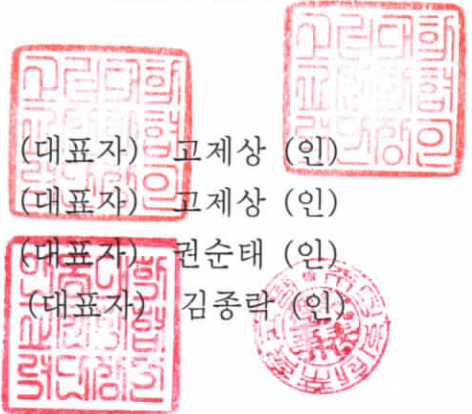
제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “저곡해충 방제를 위한 이산화염소 현장 이용기술 개발”(개발기간 : 2014.09. ~ 2017. 09.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2017. 11 . 08.

주관연구기관명 : 고려대학교 산학협력단
세부연구기관명 : 고려대학교 산학협력단
협동연구기관명 : 안동대학교 산학협력단
참여기관명 : (주)푸르고팜



주관연구책임자 : 김 욱
세부연구책임자 : 나자현
협동연구책임자 : 김용균
참여기관책임자 : 김종락

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

3. 보고서 요약서

보고서 요약서

과제고유번호	114063-3	해당 단계 연구 기간	2014-09-25 ~ 2017-09-24	단계 구분	(총 단계)
연구사업명	단위사업	농식품기술개발사업			
	사업명	농생명산업기술개발사업			
연구과제명	대과제명	(해당 없음)			
	세부과제명	저곡해충 방제를 위한 이산화염소 현장 이용기술 개발			
연구책임자	김 욱	해당단계 참여 연구원 수	총: 18 명 내부: 18 명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부: 260,000천원 민간: 86,667천원 계: 346,667천원
		총연구기간 참여 연구원 수	총: 27 명 내부: 27 명 외부: 명	총연구개발비	정부: 780,000천원 민간: 260,001천원 계: 1,040,001천원
연구기관명 및 소속부서명	고려대학교(1세부) 고려대학교(2세부) 안동대학교(1협동)			참여기업명: (주)푸르고팜	
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	
요약 ○ 이산화염소 처리에 대한 저곡해충(성충, 유충, 해충) 치사율 검정 ○ 곡물의 이산화염소 처리에 따른 물리, 화학적 특성 변화 및 품질변화 양상 모니터링 ○ 곡물 저장 단계에서 질적, 양적으로 피해를 유발하는 대상 저장해충 의 경제적 피해 수준 설정 ○ Pilot 실험, 저장시설 등에서의 이산화염소 가스 적용을 통한 대상 해충개체군 치사율 검정 ○ 이산화염소 가스 처리 후 처리된 시설로부터의 모니터링과 샘플링을 통한 해충개체군 밀도 변동 분석과 생태적 특성 분석 ○ 이산화염소 최적 처리조건 확립 ○ 이산화염소의 곤충 세포독성 기작 분석 ○ 이산화염소의 곤충 조직생리에 대한 독성기작 분석 ○ 이산화염소의 개체 발육 및 행동 교란 기작 분석 ○ 이산화염소의 곤충 생체 내 분자종말점 분석 ○ 이산화염소의 개체 발육 및 행동 교란 기작 분석 ○ 저곡해충 사멸용 이산화염소 처리장비 개발 ○ 곡물보관장고의 크기별, 산업현장별 처리모델 구축 ○ 이산화염소 훈증처리 기술이전 및 산업화				보고서 면수 210	

4. 국문 요약문

		코드번호	D-01
<p>연구의 목적 및 내용</p>			<ul style="list-style-type: none"> ○ 이산화염소 가스 처리에 의한 저장해충 치사조건 확립 ○ 이산화염소 가스 처리에 의한 저장곡물의 물리화학적 변화 검정 ○ 이산화염소 가스의 살충 기작 구명 ○ 이산화염소 가스를 이용한 곡물 저장시설에서의 저장해충에 대한 살충효과 검증 ○ 저곡 해충 사멸을 위한 고농도-대용량 이산화염소 가스 장치 개발 ○ 고농도 - 대용량 장치에 수반 될 수 있는 안전성과 가스 제어 능력 확보 ○ 이산화염소 가스를 이용한 저곡해충 방제 기술 개발 및 산업화
<p>연구개발성과</p>			<p>저장곡물의 종류, 저장방식, 저장시설의 규모, 환경 등에 따라 이산화염소 가스의 농도 및 처리시간이 달라질 수 있으나 대상해충에 대한 이산화염소 가스의 처리 농도는 최소 100ppm 이상이 되어야 효과적인 치사율은 기대할 수 있으며, 처리 시간 역시 24시간 이상이 되어야만 적절한 치사효과를 기대할 수 있을 것이라 판단되었다.</p> <p>대상해충의 경우 치사율에 크게 영향을 주지 않는 이산화염소 가스의 낮은 농도(50ppm)에 노출되면 낮은 농도라 할지라도 생리적으로 영향을 받아 유충의 발육 속도가 늦어질 수 있다는 사실을 보여주는 것으로 이산화염소 가스가 화랑곡나방과 어리쌀바구미의 생존률, 치사율, 수명, 우화율, 용화율, 발육기간 등 전반적인 생리적, 생태적 특성에 영향을 미치는 것으로 판단되었다.</p> <p>실제 저장시설의 경우 본 연구를 위한 실험 장소가 환경적으로 불리한 경우, 즉 시설의 밀폐도, 시설의 규모 및 곡물의 적재방법, 현장 작업자들의 태도나 근무시간 등의 제반조건 등에 영향을 받은 것으로 생각되어지므로 앞으로 이산화염소의 적용 시에는 이러한 현장의 환경조건과 제반조건 등을 정확히 파악하여 실행하면 좋은 방제효과를 얻을 수 있을 것이라 판단되었다.</p> <p>이산화염소(ClO₂) 훈증 처리는 병원과 같은 공공시설에 거주하는 위생해충을 구제하는 데 사용되었다. 또한 수서 지역에 거주하는 곤충류를 방제하는 데에도 이용되었다. 본 연구를 통해 이산화염소가 저곡해충을 방제하는 데 유효하다는 것을 밝히게 되었다. 특별히 이러한 살충 효과가 이 물질이 생성하는 활성산소(reactive oxygen species: ROS)에 기인되는 것을 밝혔다. ROS는 생체 내에 여러 분자들(지질, 단백질, 핵산)을 대상으로 산화작용으로 물질의 구조를 바꾸는 성질을 갖고 있다. 이러한 다양한 분자종말점을 갖는 ROS를 생성하는 이산화염소는 다양한 곤충의 생리과정을 교란하게 된다. 거릿쌀도둑거저리(<i>Tribolium castaneum</i>)의 아세틸콜린에스터레이즈의 활성을 변경하여 이들 곤충의 행동을 교란하였다. 화랑곡나방(<i>Plodia interpunctella</i>)의 경우는 혈구세포에 세포독성을 주어 세포성 면역작용을 억제하였다. 그러나 이러한 이산화염소의 생리교란효과는 항산화제인 비타민 E를 처리하는 경우 다시 회복되었다. 또한 이산화염소 처리는 지질과산화물을 유발하여 세포독성을 일으키는 주요 기작 가운데 하나로 주목 받았다. 또한 이러한 지질과산화에 대한 분자종말점이 인지질분해효소라는 것도 알게 되었다. 이러한 결과는 이산화염소의 살충기작이 이 물질이 생성하는 ROS이며 이를 통해 다양한 분자종말점을 대상으로 다양한 곤충생리 교란을 유발하는 것으로 본 연구 결과는 뒷받침하고 있다.</p>

	<p>쌀을 포함한 다양한 곡물의 현장 환경에서 방제를 위한 대용량 이산화염소 발생 장치의 성능이 요구되었다. 본 연구를 통해 이산화염소 발생 장치를 대용량화하고 다양한 현장 적용성을 보완하는 키트를 개발하여 저곡해충을 방제하는 데 유용하게 활용될 수 있게 되었다. 기존 6cm 전극을 확충하여 12cm 전극을 개발하고 병렬 구성을 완성하여 대용량 확장의 한계를 극복하였다. 운전 강도 조절을 위해 정전류 제어 회로를 새롭게 구성하고 디지털 제어를 가능케 하여 통신 명령에 의한 전류량 값 전달이 가능하게 되었다. 대용량 고농도 처리 요구에 따른 장비의 내구성을 강화하여 현장 사용 실용성을 제고하였다. 이를 위해 기성 솔레노이드 밸브 부품을 대체하는 공압식 밸브를 성공적으로 개발하여 내구성을 증진시킬 수 있었다. 현장의 처리 조건이 고정적 설비를 적용하기 어려운 상황에 사용이 가능하도록 순간 방출식 고농도 이산화염소 발생키트를 개발하였다. 이를 통해 곡물 창고는 물론 다양한 창고 환경에서의 훈증 방제 요구에 대응할 수 있는 방안을 제시하였다.</p>				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 저장해충의 방제, 관리를 잔류독성이나 인축에 크게 악영향을 주지 않는 대체 방제 수단을 사용하여 저장시설의 규모, 농도, 처리시간을 효율적으로 조절하여 해충방제 효과를 극대화 할 수 있는 종합적인 관리 매뉴얼이 마련되고 확대 사용될 것으로 예상. ○ 저장해충 관리를 과학적, 효율적으로 수행하여 대규모 곡물 저장시설의 해충 관리비용을 절감하며 친환경적이며 안전한 병해충 관리를 통해 소비자의 선호도를 증가시켜 상품으로서의 곡물의 가치를 높이고 질적, 양적 손실을 최소화하여 곡물 자급률, 국가 경쟁력을 향상시킬 것으로 예상. ○ MB(methyl bromide)와 같은 브롬계의 훈증제 사용은 잔류, 발암 등의 위험성이 높고 오존층을 파괴하는 등의 문제점을 가지고 있어서, 친환경적인 종합적 해충 관리 체계 개발은 국토의 환경보전 및 국민 건강복지 증진에 기여하리라 기대. ○ 기존의 훈증제 사용을 대체하는 효과적인 친환경적 가스를 사용하는 대규모 곡물 저장시설의 해충 방제, 관리를 저장시설의 규모, 농도, 처리시간, 대상해충에 따라 효과적으로 조절하여 방제효과와 경제성 두 가지 측면에서 극대화할 수 있을 것으로 예상. 				
<p>중심어 (5개 이내)</p>	<p>곤충생리교란</p>	<p>이산화염소</p>	<p>저장해충</p>	<p>화랑곡나방</p>	<p>어리쌀바구미</p>

5. 영문 요약문

< SUMMARY >

		코드번호	D-02
Purpose& Contents	<ul style="list-style-type: none"> ○ Establishment of storage insect pest control condition by gaseous chlorine dioxide treatment ○ Physico-chemical change of stored grain by gaseous chlorine dioxide treatment ○ Investigation of the insecticidal mechanism of gaseous chlorine dioxide ○ Verification of insecticidal effect on stored insect pests in a grain storage facility using gaseous chlorine dioxide treatment ○ Developed high concentration - large capacity chlorine dioxide gas device for storage insect pest ○ Securing safety and gas control capability for control high concentration - large capacity chlorine dioxide gas device ○ Development and industrialization of stored insect pest control technology using gaseous chlorine dioxide 		
Results	<p>When chlorine dioxide gas treatment was carried out at a treatment concentration of 100 ppm for more than 24 hours, effective lethal rates were shown for the target insect pests. Depending on the type of storage grain, the storage method, the size of the storage facility, and the type of pest, chlorine dioxide concentration and treatment time may vary. When exposed to chlorine dioxide at concentrations lower than the lethal concentration, the overall growth rate, as well as the rate of eclosion, longevity, and pupation rate decrease. In actual application, understanding the environmental conditions is important.</p> <p>Chlorine dioxide (ClO₂) fumigation has been reported to be effective in killing bedbugs inhabiting in public buildings and hospitals. ClO₂ is also effective in killing aquatic insects such as chironomid larvae. In current studies, ClO₂ treatment is useful for controlling insect pests infesting stored grains. Its insecticidal activity is ascribed to its induction of reactive oxygen species (ROS) production. It is well-known that ROS can attack various biomolecules, including proteins, nucleic acids, and fatty acids. The multi-targeting activity of ROS will</p>		

result in various malfunctioning in target insect's physiological processes. For examples, in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*, ClO₂ can interfere with photo-taxis by altering acetylcholinesterase activity. ClO₂ treatment also exhibits potent cytotoxicity to hemocytes (insect blood cells), resulting in significant impairment to cellular immune responses of the Indianmeal moth, *Plodia interpunctella*. However, addition of vitamin E, an antioxidant, can abolish the cytotoxicity of ClO₂. In fact, intracellular ROS amounts are significantly increased in insect cells treated with ClO₂. ROS induced by ClO₂ also enhanced lipid peroxidation in phospholipids, thus impairing cell membrane and causing significant cytotoxicity. In the lipid peroxidation, a PLA₂ is a novel inhibitory target of ClO₂. These results indicate that a main insecticidal activity of ClO₂ is its release of ROS, which alters various insect physiological processes.

The large scale capacity of Chlorine dioxide (ClO₂) fumigation apparatus has been requested for the purpose of eliminating insect pests infesting stored grains including rices. Through the current study, large capacity Chlorine dioxide equipment development was realized and disposable kit usable for various field situations was also developed. The existing 6cm electrolysis cell was expanded to that of 12cm cell and parallel operation with 2 or more cells became possible. This enabled us to overcome the limitation of capacity problem related with ClO₂ generation apparatus. Newly designed static current circuit for control of operational strength was developed for allowing digital command delivery. Thus it became controllable through communication channel. The durability of equipment was also required in parallel with high-concentration large capacity demand increase. Instead of adopting solenoid type valve available in markets, the teflon valve operated by pneumatic pressure was newly developed and successfully adopted for durability. Instantaneous releasing kit of high concentration ClO₂ was developed for the application in the situation where stationary equipments are not appropriate. This opened and suggested new way of preventing the breeding and extermination of insects and pests in diverse

	warehouse environments including grain storage.				
Expected Contribution	<ul style="list-style-type: none"> ○ Provide a comprehensive management manual that can be used to maximize the effect of storage insect pest control. ○ Increase the value of grain by safe pest management that increasing consumer's preference and improve grain self-sufficiency rate and national competitiveness. ○ Development of environment-friendly comprehensive pest management system contributes to environmental conservation of the country and promotion of national health welfare ○ The development of environmentally comprehensive pest management system will contribute to the preservation of the environment in the country and the promotion of the national health welfare 				
Keywords	Insect physiological alteration	Chlorine dioxide	Stored grain insect pest	Indian meal moth	Maize weevil

6. 영문목차

1. Overview of research and development projects	10
2. Status of domestic and international technology developments	11
3. Research contents and results	18
4. Achievement of goal and contribution to related field	201
5. Utilization of research results	203
6. International science and technology information collected during the research process	206
7. Security level of research and development	206
8. Research facilities registered in National Science and Technology Comprehensive Information System	206
9. Implementation of safety in laboratories based on research and development	206
10. Research achievements of research and development	210
11. Others	210
12. References	210

7. 본문목차

< 목 차 >

1. 연구개발과제의개요	10
2. 국내외 기술개발 현황	11
3. 연구수행 내용 및 결과	18
4. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	201
5. 연구결과의 활용계획 등	203
6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보	206
7. 연구개발성과의 보안등급	206
8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비현황	206
9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적	206
10. 연구개발과제의 대표적 연구실적	210
11. 기타사항	210
12. 참고문헌	210

1. 연구개발과제의 개요

코드번호	D-03
<p>1-1. 연구개발 목적</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 이산화염소 가스 처리에 의한 저장해충 치사조건 확립 ○ 이산화염소 가스 처리에 의한 저장곡물의 물리화학적 변화 검정 ○ 이산화염소 가스의 살충 기작 구명 ○ 이산화염소 가스를 이용한 곡물 저장시설에서의 저장해충에 대한 살충효과 검증 ○ 저곡 해충 사멸을 위한 고농도-대용량 이산화염소 가스 장치 개발 ○ 고농도 - 대용량 장치에 수반 될 수 있는 안전성과 가스 제어 능력 확보 ○ 이산화염소 가스를 이용한 저곡해충 방제 기술 개발 및 산업화 <p>1-2. 연구개발의 필요성</p> <p>인간이나 동물의 잔류독성이나 생태계에 악영향을 미칠 수 있는 살충제나 훈증제와 같은 농약의 사용을 최대로 억제하면서 친환경적이고 효과적인 저장해충 관리, 방제 방안이 요구되는 실정이다. 따라서 본 연구는 이산화염소 가스를 이용하여 저장시설 내 곡물(쌀, 보리)의 주요 저장해충(화랑곡나방, 바구미류)에 대한 살충효과를 검정하고, 기존에 사용 중인 화학 훈증제의 잔류독성과 인축에 미치는 악영향을 최소화 할 수 있는 저장해충 관리 시스템을 개발, 확립하고자 한다.</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 이산화염소 가스 처리에 의한 저장해충 치사조건 확립 ○ 이산화염소 가스 처리에 의한 저장곡물의 물리화학적 변화 검정 ○ 이산화염소 가스의 살충 기작 구명 ○ 이산화염소 가스를 이용한 곡물 저장시설에서의 저장해충에 대한 살충효과 검증 ○ 저곡 해충 사멸을 위한 고농도-대용량 이산화염소 가스 장치 개발 ○ 고농도 - 대용량 장치에 수반 될 수 있는 안전성과 가스 제어 능력 확보 ○ 이산화염소 가스를 이용한 저곡해충 방제 기술 개발 및 산업화 <p>1-3. 연구개발 범위</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 이산화염소 처리에 대한 저곡해충(성충, 유충, 해충) 치사율 검정 ○ 곡물의 이산화염소처리에 따른 물리, 화학적 특성 변화 및 품질변화양상 모니터링 ○ 곡물 저장 단계에서 질적, 양적으로 피해를 유발하는 대상 저장해충의 경제적 피해 수준 설정 ○ Pilot 실험, 저장시설 등에서의 이산화염소 가스 적용을 통한 대상 해충개체군 치사율 검정 ○ 이산화염소 가스 처리 후 처리된 시설로부터의 모니터링과 샘플링을 통한 해충개체군 밀도 변동 분석과 생태적 특성 분석 ○ 이산화염소 최적 처리조건 확립 ○ 이산화염소의 곤충 세포독성 기작 분석 ○ 이산화염소의 곤충 조직생리에 대한 독성기작 분석 ○ 이산화염소의 개체 발육 및 행동 교란 기작 분석 	

- 이산화염소의 곤충 생체 내 분자종말점 분석
- 이산화염소의 개체 발육 및 행동 교란 기작 분석
- 저곡해충 사멸용 이산화염소 처리장비 개발
- 곡물보관창고의 크기별, 산업현장별 처리모델 구축
- 이산화염소 훈증처리 기술이전 및 산업화

2. 국내의 기술개발 현황

	코드번호	D-04
<p>(저곡해충현황)</p> <p>농산물의 국제 교역량이 늘어나면서 외래 해충의 유입이 우려되고 있다. 새로운 해충이 정착이 되면 농작물 피해가 속출하고 이에 따른 방제 비용의 증가가 수반되면서 경제적 피해를 가중시키게 한다. 미국의 경우 이러한 외래 해충에 의한 피해가 연간 170억불 이상에 이른다고 보고하였다(Pimentel et al., 2002). 자연스럽게 이러한 해충의 침입을 억제시키려는 방역 기술의 개발과 현장 적용이 요구되고 있다.</p> <p>저곡해충에 대한 해외연구는 작물별 발생하는 저곡해충 종류, 저곡해충별 천적종류 및 이용가능성 연구, 고온처리를 통한 저곡해충 화랑곡나방 방제 가능성 구명 및 적외선을 이용한 저곡해충 방제법 연구 등이 연구되어 왔다.</p> <p>어리쌀바구미와 화랑곡나방은 저장 중 곡물에서 가장 큰 피해를 일으키는 문제 해충이다. 어리쌀바구미(<i>Sitophilus zeamais</i>)는 범세계적으로 분포하면서 저장곡물의 양적 손실은 물론 저장환경의 온도와 습도를 상승시켜 품질의 저하를 초래하고 저장곰팡이균에 의한 곡물의 부패와 곰팡이 독소 (mycotoxin) 생성을 유도한다(Subramany & Hagstrum, 1995). 화랑곡나방 (<i>Plodia interpunctella</i>)은 남극대륙을 제외한 다른 모든 대륙에 분포하는 저장식품의 문제 해충이다(Pedigo et al., 1982, hodge et al., 1985, Nault and Kennedy 1996, Ruesink and Kogan 1982). 화랑곡나방에 의한 식품피해는 특히 유충의 경우에 많이 발생하는데, 여러 종류의 포장재질을 뚫고 들어갈 수 있고(Reed et al., 1990), 유충이 많은 양의 실크를 분비함으로써 저장 식품을 뭉치게 하여 처리공정을 방해 하거나 소비자들로 하여금 혐오감을 느끼게 하는 등의 피해를 준다(Reed et al., 2003). 저장물 생태계는 인위적으로 조성된 생태계이며, 야생 생태계에 비해 안정된 물리적 환경을 가진다. 따라서 저장물 생태계를 구성하는 해충개체군의 온도 등 물리적 제한 인자에 대한 내인범위는 야생생태를 구성하는 개체군들에 비해 좁아 개체군의 발전에 미치는 온도 등 물리적인 인자의 영향이 상대적으로 크다 (Howe, 1965, Field, 1992; Mullen and Arbogast, 1979).</p> <p>우리나라는 OECD 34개국 중 최하위에 머물러 있는 대표적인 곡물 수입국이며, 매년 1,400톤 이상의 곡물을 수입하고 있다. 따라서 다양한 해외 해충이 국내에 유입되어 생태계 교란 뿐 아니라 국내의 곡물창고에 서식하며 문제를 발생시키고 있으며 이에 따라 저곡해충에 대한 국내 연구가 지속적으로 이뤄지고 있는 상황이다. 국립농산물검사소(1993)에서 주요 저곡해충 38종에 대하여 편람을 작성하였고, 농업과학기술원(1996)에서 국내외 주요 저곡해충</p>		

70종에 대한 생태학적 연구를 하였다. 농촌진흥청 연구보고서(2013년)에 의하면 실제 유통 단계에 있는 곡물에서 흔하게 발생하는 저곡해충의 종류에 벼와 쌀에서 발생하는 저곡해충 종류는 화랑곡나방 등 6종 발생되었고, 이중에 화랑곡나방과 어리쌀바구미의 발생량이 가장 많은 것으로 조사되었다. 특히 화랑곡나방과 어리쌀바구미는 쌀겨와 저장중인 벼 등 모든 채취시료에서 발생되었다. 유통 중인 쌀에서도 화랑곡나방, 어리쌀바구미, 쌀바구미 및 긴털가루응애가 발생되었으나, 그중에 화랑곡나방과 어리쌀바구미 발생이 많은 것으로 보고되었다.

농업전망 2014보고서에 의하면 국내 농업 생산액은 45조원이고, 그중 쌀이 차지하는 생산액은 400만톤 규모로 8조원이상을 차지한다. 보리는 5만톤 정도로 생산액은 1000억에 이른다. 이중 쌀과 보리등 약 10% 정도를 매년 정부가 매입하고 있는 실정이며, 이렇게 매입한 곡물은 주로 농협이 보유한 3000개(2010년) 이상의 곡물창고에 다양한 곡물과 함께 보관중이다(2013년, 양정자료, 농림수산식품부). 수확된 미곡은 건조 과정을 거쳐 저장되면서 다른 작물과 마찬가지로 생활생리작용은 계속하면서 비교적 안정한 휴면 상태에 있게 되는데 이 상태에서의 생명력을 잘 보존시키고 그 고유의 품질 그대로 변질 없이 저장한다는 것은 생산에 못지않게 중요하다. 그러나, 자연조건하에서는 저장곡물 자체에서 이화학적 변화가 일어날 뿐만 아니라, 미생물, 해충, 쥐 등의 피해를 입게 되는데 이의 양적 손실율이 4~5%정도 된다고 한다. 최근 벼 재배면적 감소에도 불구하고 MMA 증가와 소비량 감소에 따른 공급과잉 쌀 문제 해결 방안으로 쌀 수출이 증가하고 있는 상황에서 쌀 수출산업체 가공·유통과정에서 저곡해충의 발생으로 인한 클레임이 발생하고 있다.

(방제기술 현황)

세계적으로 현재까지 이들을 방제하는 방법으로는 물리적인 방법과 화학적 방법으로 구분된다. 물리적 처리 방법 중 온도 처리는 해충의 온도에 대한 생존 한계 범위를 이용한 방제 기술이고, 환경조절처리는 높은 농도의 이산화탄소와 낮은 농도의 산소를 결부한 온도 처리를 의미한다(Carpenter and Potter, 1994; Neven and Drake, 2000). 방사선 조사는 해충의 DNA의 화학결합을 붕괴시킴으로 소독효과를 발휘하게 한다. 기타 물리적 처리법으로 오존처리(Hollingsworth and Armstrong, 2005; Kells et al., 2001), 마이크로파처리(Ikedia et al., 1999), 라디오파 열처리(Nelson, 1996; Tang et al., 2000; Wang et al., 2002), 고압산소처리(Butz and Tauscher, 1995) 및 진공처리(Liu, 2003)를 포함하게 되며, 식품에 따라서 고온처리(Heating), 저온처리(Low temperature storage), 밀봉저장(Hermetic storage) 및 CA저장(Controlled atmosphere storage) 등의 물리적인 방법이 주로 이용된다.

물리적인 방법들은 구조건설 및 유지비용이 크고, 높은 수분을 함유한 곡물에서는 혐기적 발효가 일어날 위험성이 있으며, 산소 결핍 시까지의 시간동안 피해우려가 있어 임시적인 방편으로 이용될 뿐 이들의 완전한 사멸은 어려운 방법이다.

반면, 화학적 처리법으로 특히 곡물저장 해충의 방제에 가스형태로 사용이 가능한 소독제로는 포름알데히드, 글루타르알데히드, 메틸브로마이드, 에틸렌옥사이드, 이산화염소 등이 있다. 그러나 포름알데히드와 글루타르알데히드는 훈증제로 축사소독 등에 사용되며 발암성이 있기 때문에 환기 등 사용에 주의해야하며, 에틸렌옥사이드 또한 발암성이 있는 강력한 산화제로 주로 의료용으로 사용되고 있다. 화학적인 방법 중에 주로 메틸브로마이드(CH_3Br)가 사용

되고 있으나 잔류, 발암 등의 위험성이 높아 소량 흡입 시에도 체내축적이 이루어져 만성중독 유발성이 높고, 오존층파괴 물질로 분류되어 2015년에는 사용이 금지되어 이 역시도 한시적이라는 단점을 지니고 있다.

에피움은 강력한 산화제로 처리 후 가스빠기에 있어서 환기시킨 후 냄새가 없는 것을 작업자가 직접 확인해야하는 위험요소가 있고, 비오는 날이나 습기가 많은 날에는 투약을 절대 금하고 있다. 투약 작업역시 작업자가 직접 2-3시간 이내에 하여야 하고, 처리 중 부족한 약제의 추가 투입이 불가능하다. 더불어 이 농약이 분실되었을 경우 경찰에 신고하여야 하는 안전성 관리기준을 포함한다. 창고면적 330m², 높이 8m인 경우 소요비용은 약제비용 500만원 정도와 처리 제반비용을 포함하여 1회 처리시 500~600만원이 소요된다. 이 약제에 대한 저항성을 보이는 저곡해충으로는 maize weevil(옥수수바구미)를 포함하여 granary weevil, rice weevil, maize weevil(옥수수바구미)의 번데기가 알려져 있다.

이외에 미국 농업연구청 소속의 곤충학자 Jackie Blackmer와 미국 Arid-Land Agricultural Research Center의 John Byers 및 Rutgers 대학 Cesar Rodriguez-Saona 연구팀에 의하면 녹색 발광다이오드(LED)는 화학 살충제를 대신하여 해충들을 유인하거나 쫓아내는 연구가 최근에 발표되었다.

천연물의 경우 미국의 Merck사는 코넬대학과 계약 하여 10년간 5,000만 불을 투입하여 열대림에 존재하는 천연물 신약 25종을 개발하는 프로젝트를 진행 중이며, 미시시피대학의 National Center of the Development of Natural products에서는 천연물로부터 농약에 관한 선도물질 탐색 연구뿐만 아니라 천연물 관련 정보 제공과 상업화에 따른 표준화 연구가 진행되고 있으며, 독일은 최근 정부 주도하에 정부와 민간 회사가 공동 지원하는 Natural product pool을 1996년에 시작하였으며, 천연물 성분과 유도체들을 수집, 확보하여 대단위 생리 활성 검색을 진행함으로써 신의약품 및 신농약 등을 개발하는 연구를 진행 중이다.

(이산화염소 활용 현황)

이산화염소는 1970년대부터 음수소독에 사용되고 있는 강력한 산화제로 광범위한 살균효과를 나타낸다. 음수소독 외에도 강력한 산화작용으로 살균제, 악취제거 등에 적용되고 있다. 이산화염소는 다른 염소계 살균소독제 보다 pH와 온도에 영향을 덜 받는 것으로 알려져 있으며, 식품첨가물로 WHO와 FAO의 식품첨가물 합동 회의에서 설탕, 소금과 같이 먹을 수 있는 안전성 랭크 A1으로 인정된 바 있다. 최근 저농도(0.05ppm/0.1ppm)로 6개월간 SD rat에 이산화염소가스를 노출한 연구(Akamatsu et al., 2012) 결과, 아무 독성효과를 보이지 않았으며 공기 중 미생물 감소효과는 탁월했다고 발표한 바 있다.

이산화염소에 대해 미국 EPA(환경보호청)에서는 병원실험실 및 의료용 기구의 살균, 소독, 곰팡이방제, 박테리아 살균용, 식품식육양조 공장 등 모든 식품공장 시설이나 벽천정의 최종 살균세제, 음료수의 살균 정화 설비, 공조 설비의 Duct의 소독 살균과 소취, 하수공장폐수의 정화 처리, 기름화합물의 분해, 악취원 제거, 식육 동물(우돈, 양계 등)의 농장, 목축장, 가공장의 소독소취용으로 사용을 허가하고 있다. 미국 USDA(농무성)에서는 식품 제조, 가공장의 설비, 기계류에의 최종 소독세정액, 식품, 식육, 집에서 기르는 새(닭, 칠면조), 어패류, 야채, 과일 등에 살균부패방지 선도 보관 유지 목적으로 사용되는 식품첨가물로의 사용을 허가하고 있다(FDA, revised 2012). 호주 FRANZ에서도 도축 후 최종 세척단계에서 이산화염소를

50 ppm 이상, 10-15초간 처리하는데 사용하도록 허가하고 있는(FSANZ, 2006) 등 기구 등의 소독 외에도 다양한 분야에 활용되고 있으며 특히 토마토, 멜론, 딸기 등 과실류와 양배추, 당근 등 야채류의 곰팡이 및 박테리아에 한정되어 연구가 진행되고 있다.

표1. 국제적 이산화염소 적용 분야

JFCFA	유엔식품첨가물 전문위원회	ADI(인체섭취허용기준) A클래스 인증
ADI	미국 항공우주국	우주왕복선 내부 및 우주식 완전멸균
NASA	식품위해요소 중점관리제도	식중독발생 위험도 높은 식육 소독 공식 채용
USDA FSIS	미국농무성 미국식품안전검사국	식품제조 가공공장 설비, 기계류 최종 소독, 세정. 야채, 과일 식품첨가물로 사용 (살균 보관 신선도 유지) 식품, 식육, 가공류(닭, 칠면조), 어패류 살균, 부패방지
EFSA	유럽 식품안전국	음용수 소독, 식품첨가물
KFDA	한국식품의약품 안전처	식품 살균소독, 식품첨가물, 소맥분 표백
MOHLW	일본후생노동성	일반향균, 소독에 사용허가, 음료수 소독, 소맥분 표백, 수영장, 목욕탕 수처리소독
FDA	미국식품의약품 안전청	식품첨가물(야채, 과일), 의료기기소독 사용허가 병원내 소독 세정(병실, 수술실) 및 린넨류 소독 세정
EPA	미국환경보호청	곰팡이 방제, 박테리아살균 병원 실험실 및 의료용 기구 살균 소독 음료수 살균정화, 공조설비 Duct 소독, 살균 식품, 식육, 양조공장 식품공장 시설, 기계류 살균, 세정

반면, 이산화염소는 강력한 산화제로 불안정하고 쉽게 분해되는 물질이기 때문에 현장에서 제조해야하며 일반인들이 취급하기 어려움이 있었다. 이산화염소의 제조는 염산과 염소산나트륨을 반응시켜 이산화염소(순도 ~80%)와 chlorates를 생성하는 acid-chlorite 방식과 액상 염소와 물을 반응시켜 이산화염소(순도 ~80~92%)와 HOCl-와 Chlorate를 형성하는 aqueous chlorine-chlorite 방식을 주로 사용하였다. 그 외에도 최근 가스상 염소와 염소산나트륨을 반응시키는 gaseous chlorine-chlorite 방식(이산화염소 순도 95%)이 도입되고 있다. 그러나 가스상 염소발생 방식은 폭발의 위험이 있고 진공 하에서 반응시켜야하기 때문에 현장적용에 제한적이며 위험도가 높은 방식이다.

이산화염소는 최근까지 가스형태로 제조하는 과정에서 원료가 되는 화학물질의 폭발성 때문에 현장에서 제조해야하고, 반응과정에서 chlorites와 chlorates 등의 잔류염소가스를 발생시켜 상용화하는데 어려움이 있었다. 따라서 폭발의 위험성, 원료의 취급 부주의 사고 등을 보완하여 최근 화공적 방법을 통해 가스상 이산화염소를 제조하는 기술이 개발되어 적용되고 있다. 전기화학적 분해방법을 통한 이산화염소 가스발생기를 제작·보급하는 회사는 Dupon, Halox/Nalco, Pureline 등 몇몇 회사에 국한되어 있다. 아래 그림과 같이 현재 전기화학적 분해방법을 통한 이산화염소 가스발생기는 기술상 제약으로 인해 여러 부산물이 발

생하고 있으며, 이들 부산물로 인해 pH 등의 변화와 부식성을 나타내어 다양한 분야로의 활용이 제한되기 때문으로 판단된다. 그림 1. 은 이산화염소 가스의 효능 연구를 활발하게 실시하고 있는 미국 Purdue 대학의 이산화염소 가스발생기로 두 가지 가스의 혼합방법을 이용하기 때문에 취급 상 어려움이 있다.

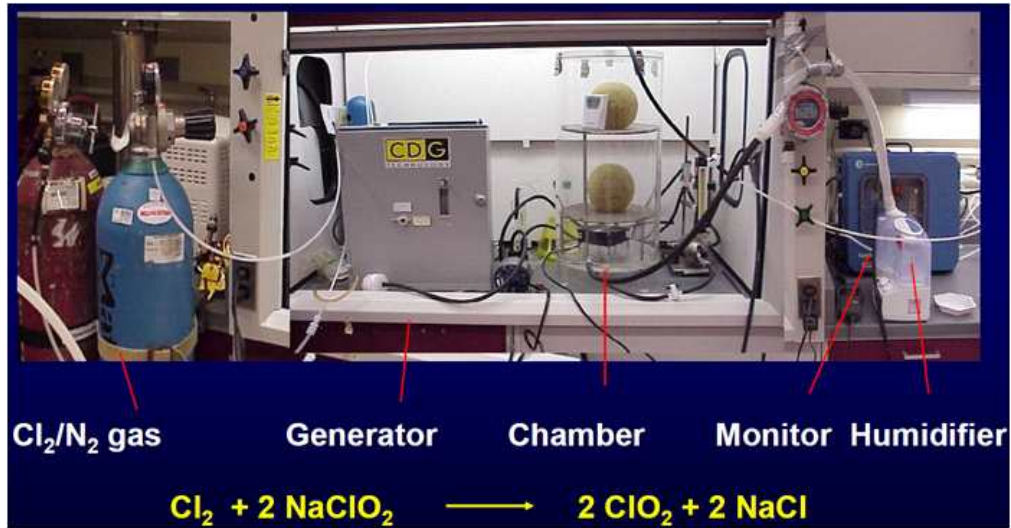
국내외에서 개발된 이산화염소 발생 장치는 아염소산나트륨에 염소, 염산과 같은 위험물질을 반응시키는 방법이 주류이며, 반응이 격렬하여 폭발 위험이 높다. 더불어 전기분해 기술 적용시에 대부분 소금을 투입하므로 염소 가스를 발생 시키게 되고 소독 부산물을 만들어 내며 주로 용액으로 생성한다. 한편 국내에서 개발된 무염 전기분해방식은 본과제(제2협동)에 참여하는 (주)푸르고팜의 보유 특허인 가스상 이산화염소 제조기로서 막전극접합체(특허번호 10-0704438)를 이용한 전기분해방식을 채택하여 화학적 방법을 포함하지 않고 잔류염소를 발생시키지 않으며 자동으로 고농도의 가스발생이 가능하고 소형 및 대형화가 가능하며 현장에 바로 적용할 수 있는 장점이 있다(그림 2). 이러한 무염 전기분해방식은 설정 정-전류값에 운전 시간 제어를 통하여 일정한 수율의 초 고순도 이산화염소 가스를 발생시키는 원천 기술을 적용함으로써 안전성, 운전 간편성, 항상적 결과 재현성 등 현장의 요구를 충족시킬 수 있는 기술로 평가되고 있다. (주)푸르고팜은 아래 표 1. 과 같이 가스상 이산화염소 발생기에 적용 중인 특허를 보유하고 있으며, 주로 과실류, 야채류를 취급하는 청도 복숭아 시험장, 영천 복숭아 농가 2개소, 지역 농협, 농업기술실용화 재단과 파프리카 수출 선적 시 가스상 이산화염소 처리를 진행하였다. 최근에는 고구마 수확 후 고구마의 품위를 유지하기 위하여 처리하는 고온다습의 고구마큐어링 방법을 대체할 기술로서 이산화염소 가스를 이용하는 기술이 본 과제제안 연구책임자와 (주)푸르고팜과의 공동연구로 개발되었다(특허출원 제 10-2014-0061082). 더불어 본 연구팀에 의해 저곡 해충의 이산화염소 처리에 의한 사멸조건을 확인하는 연구가 이뤄지고 있다.

(이산화염소 + 저곡해충)

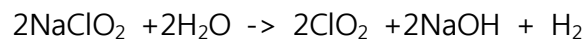
이렇듯 인간이나 동물의 잔류독성이나 생태계에 악영향을 미칠 수 있는 살충제나 훈증제와 같은 화학약품의 사용을 최대한 억제하면서 친환경적이고 효과적인 저장해충 관리, 방제 방안의 요구가 커지고 있는 상황에서 국내외적으로 이산화염소를 활용한 저곡해충 방제에 대한 연구가 전무한 실정 이며, 현재 개발된 장비는 주로 원예 작물 처리용임으로 대량의 저장 곡물 처리 현장 실용화를 구현하기 위해서는 기존 설계 성능 요구량의 대폭적 증설 및 그에 수반하는 안전성 요인 등에 대한 통제력을 공고히 확보할 필요가 있음과 동시에 여전히 현장 사용 편리성을 제공해야 하는 과제를 해결해야 할 필요성이 존재한다.

따라서 본 연구팀은 곡물저장시설 및 검역에 활용 가능한 새로운 적용기술인 이산화염소 가스를 이용한 곡물저장시설 내 저곡해충 방제, 관리 및 이산화염소에 반응하는 정도와 사멸 원인 등을 분석하여 이를 토대로 저장시설 내 효과적인 해충 관리 방안 시스템을 구축하고 산업화를 이루고자 한다.

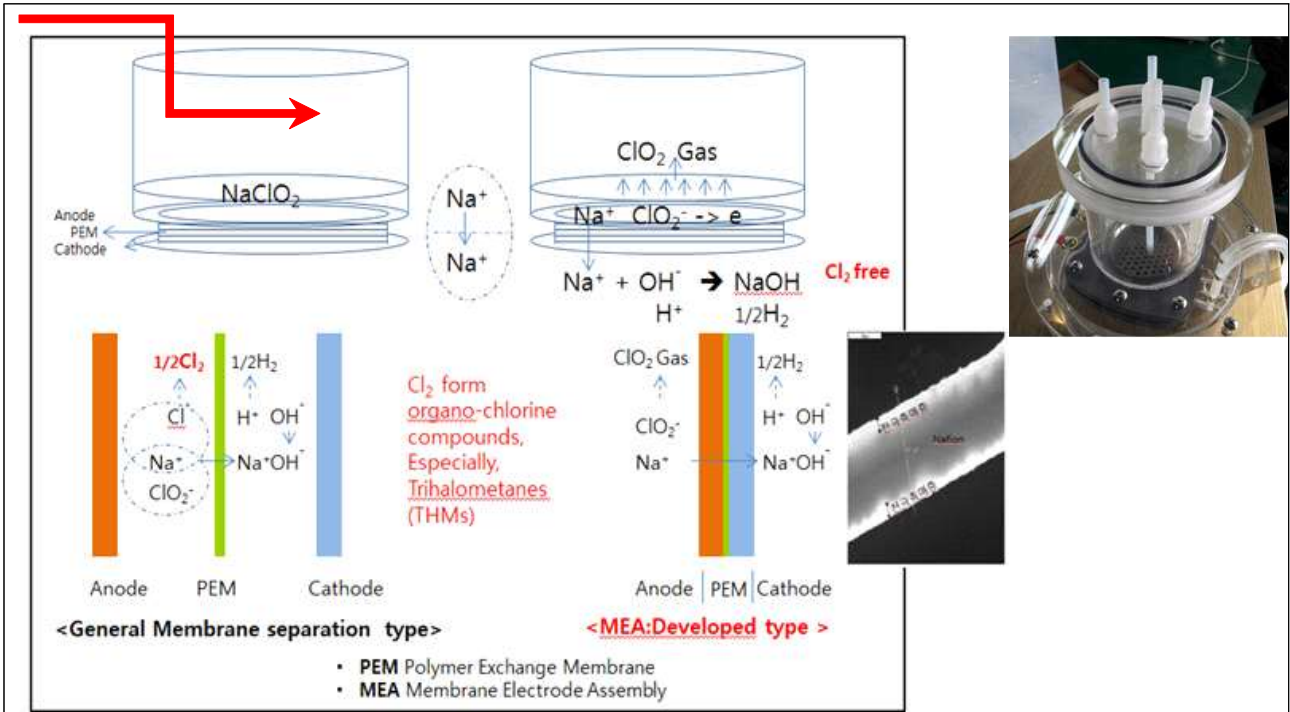
1. Continuous ClO₂ generating system by Purdue university



2. PureClO₂ generator model HP-20&-40 by Pureline



<그림 1> 일반 이산화염소 가스 발생기



<그림 2> (주) 푸르고팜의 이산화염소 발생기 원리 및 장비

표 2. (주)푸르고팜 이산화염소발생기 관련 보유 특허.

출원번호	특허등록번호	발명의 명칭	이산화염소 발생기 적용
10-2005-0016637	10-0704438	막전극접합체의 제조방법	○
10-2005-0016639	10-0704439	막전극접합체의 제조방법	○
10-2005-0016635	10-0704437	비전도성 분리판을 구비한 전기화학 단위 셀 및 이를 이용한 전기화학 셀 조립체	○
10-2005-0016642	10-0704440	다공성 전극 촉매층을 갖는 막전극접합체의 제조방법	○
USP 11/506496	US2008/0044720	국내특허와 동일	○
10-2008-0000767	10-0964238	고분자 전해질막, 수전해장치, 연료전지 및 이를 포함하는 연료전지 시스템	○
10-2008-0013011		전기화학셀 용 분리판	○
10-200-80017633	10-0975433	마이크로 사이즈의 동공 전극	○

10-2009-0080063		섬유형 동공 전극, 이를 포함하는 막-전극 접합체 및 이의 제조 방법	O
10-2009-0086616		마이크로 사이즈의 동공 전극	O
1020090087256		다층형 동공 전극 및 이의 제조방법	O
1020090104396		막-전극-급전체 접합체 및 이의 제조방법	O
10 2011 0011329		이산화염소 가스에 의한 공간 살균 시스템	O
10-2013-0031274		이산화염소 훈증장치, 및 이에 의한 훈증방법	O
10-2013-0041542		이산화염소 가스 훈증장치	O
10-2013-0058048		이산화염소가스 훈증장치	O
10-2013-0065879		이산화염소가스 훈증장치 및 훈증방법	O
10-2013-0085445		이산화염소 가스 훈증장치	O
PCT/KR2009/0070 12		구형전극 및 이를 포함하는 전기분해셀	O

3. 연구수행 내용 및 결과

코드번호	D-05
------	------

1장. 이산화염소 훈증처리를 통한 저곡해충 살충 최적화 조건구명 및 농산업현장 적용모델 구축

1절. 이산화염소의 저곡해충 치사조건 최적화 및 곡물내 이산화염소 잔존량 조사

1. 이산화염소에 의한 저곡해충(화랑곡나방1종, 벼바구미, 보리바구미)의 치사효과 분석

가. 온도, 농도, 시간처리에 따른 성충의 치사반응, 산란율, 섭식율 조사;

실험방법)

Insect petri dish에 화랑곡나방 성충(20개체)과 어리쌀 바구미 성충(20개체)을 3g 의 먹이(현미)와 함께 넣은 뒤 이산화염소 가스를 이용하여 25와 30도에서 처리하였다. 저곡해충이 있는 Insect petri dish를 아크릴판으로 특수 제작한 밀폐된 챔버에 넣고 가스누출검지기(Gas leak detector C16, Analytical technology, Colleagueville, PA, USA)를 이용하여 농도를 모니터링 하였다. 이산화염소 가스 농도는 50, 100, 200ppm 으로 처리하였고, 시간은 0, 1, 6, 12, 24, 36, 48 h 처리하였으며, 각 조건별 3반목으로 실험 하였다. 이산화염소 가스 처리 후 30°C/70% 조건으로 Incubating 하며, 저곡해충의 치사율을 조사 하였다. 성충 치사 최적조건을 확립한 후 최적처리 조건에 의해 처리된 화랑곡나방에서 산란된 알의 산란율을 조사하고 어리쌀바구미 성충의 섭식율을 13일간 조사 하였다.

실험 결과)

(1) 성충의 치사반응 조건 확립

화랑곡나방 성충의 치사율을 7일간 관찰 하였다.(그림 1)

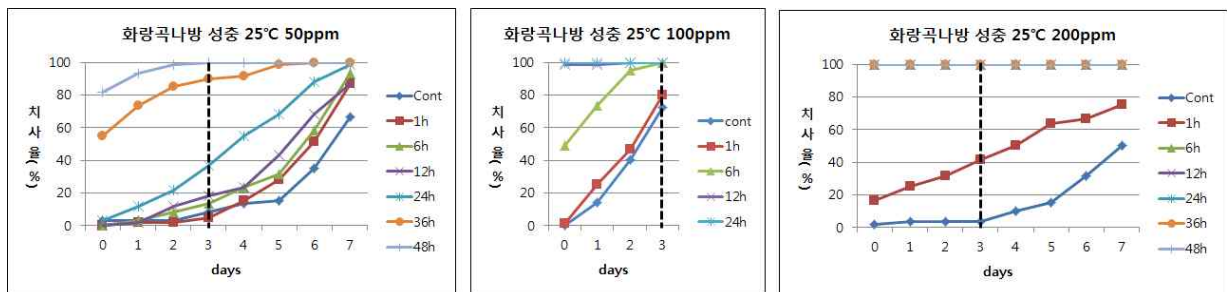


Fig. 1. 화랑곡나방 성충의 이산화염소 농도 50 100, 200 ppm 처리에 따른 치사율.

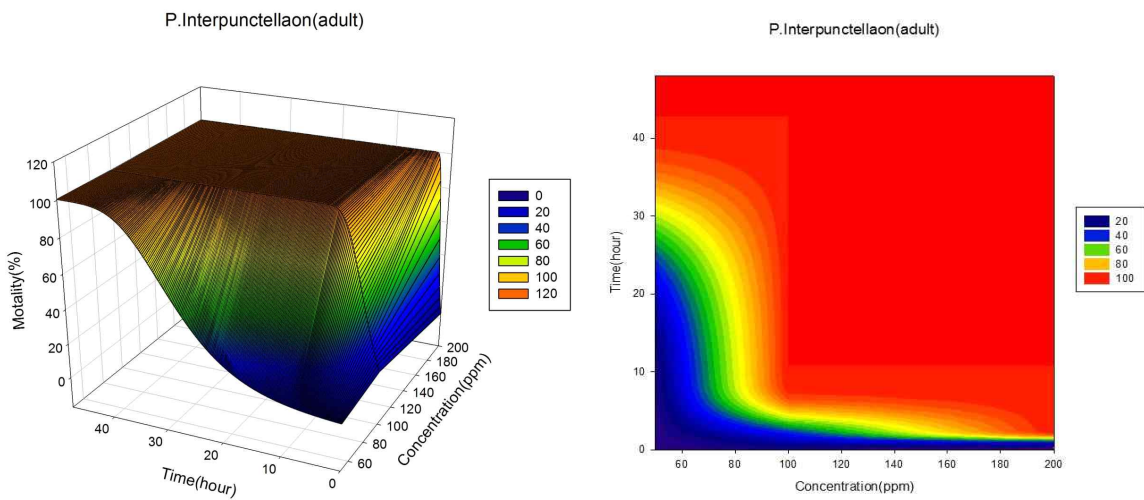
위 결과를 분석한 결과 이산화염소 처리 후 3일째 치사율을 산출하였다. (표 1)

Table 1. Mortality of *P.Interpunctellaon*(adult) 3 days after ClO₂ treatment at 50, 100, 200 ppm from 0-48hrs(25°C). (%)

ClO ₂	0h	1h	6h	12h	24h	36h	48h
50ppm	3.3±3.5	5±0	13.3±3.5	18.3±10.6	36.6±10.6	90±10.6	100±0
100ppm	0±0	1.7±1.4	48.3±6.5	98.3±1.4	100±0	100±0	100±0
200ppm	3.3±5.7	31.6±18.2	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0

화랑곡나방 성충은 이산화염소 처리 농도와 시간에 따라 치사반응도가 차이가 남을 확인 하였다. 50 ppm에서는 48시간 이상 처리하여야 완전 치사율을 확인 할 수 있었으나, 100ppm 과 200ppm 에서는 25시간과 6시간 이상 처리 시 100%의 치사율을 나타내었다.

위의 데이터를 이용하여 비선형 회귀 분석을 하여 이산화염소처리에 필요한 주요 조건을 구 명 하였으며 그 결과는 그림 2와 같다.



(좌: 3D Mesh Plot. 우: Contour Plot)

Fig. 2. 화랑곡나방 성충 3일째 치사율에 대한 최적 처리조건 분석용 비선형 회귀 분석 (처리시간/농도)

어리쌀 바구미 성충의 치사율을 7일간 관찰하였다.(그림 3)

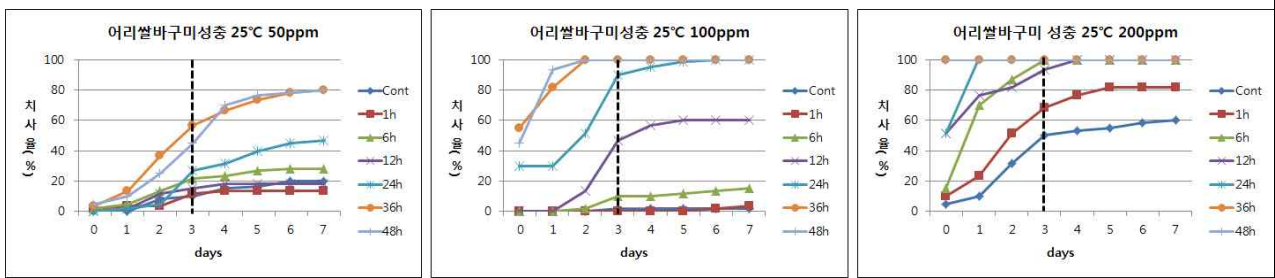


Fig. 3. 어리쌀바구미 성충의 이산화염소 농도 50 100, 200 ppm 처리에 따른 치사율

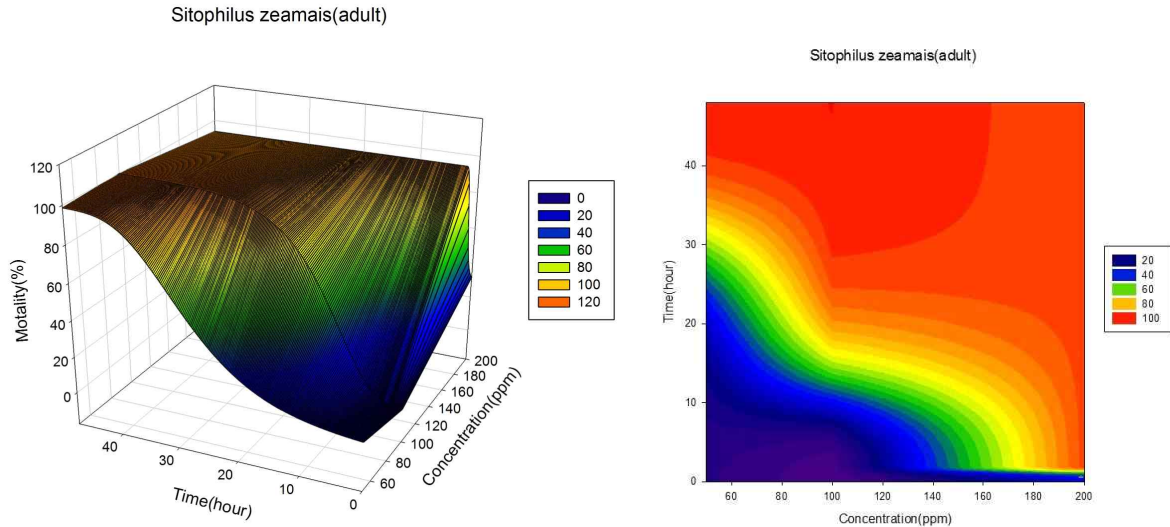
위 결과를 분석한 결과 이산화염소 처리 후 3일째 치사율을 산출하였다. (표 2)

Table 2. Mortality of *Sitophilus zeamais*(adult) 3 days after ClO₂ treatment at 50, 100, 200 ppm from 0-48hrs(25°C). (%)

ClO ₂	0h	1h	6h	12h	24h	36h	48h
50ppm	10±5	11.6±10.4	21.6±24.4	15±5	26.6±15.2	56.6±12.5	45±17.3
100ppm	1.7±2.8	3.3±0	15±5	60±23.6	100±0	100±0	100±0
200ppm	31.6±11.5	51.6±2.8	86.6±2.8	81.6±7.6	100±0	100±0	100±0

어리쌀바구미 성충 역시 이산화염소 처리 농도와 시간에 따라 치사반응도가 차이가 남을 확인 하였다. 화랑곡나방 성충에 비해 상대적으로 치사 반응에 필요한 처리 시간이 길어짐을 확인 할 수 있었다. 특히 100 과 200ppm에서 24 시간 이상 처리해야 100% 의 치사율을 나타 내었다.

위의 데이터를 이용하여 비선형 회귀 분석을 하여 이산화염소치리에 필요한 주요 조건을 구 명 하였으며 그 결과는 그림 4과 같다.



(좌: 3D Mesh Plot. 우: Contour Plot)

Fig. 4. 어리쌀바구미 성충 3일째 치사율에 대한 최적 처리조건 분석용 비선형 회귀 분석 (처리시간/농도)

위의 결과 분석에 의해 곡물의 처리 시간이 길어질수록 현장에서의 작업 효율이 떨어짐을 감안하여 순수 처리 시간을 24시간으로 정할 경우 200ppm 처리가 화랑곡나방과 어리쌀바구미 성충의 최적처리 조건으로 도출 되었다. 이에 따라 200ppm 24시간까지의 처리와 온도 (30 ℃) 와의 복합 처리 효과를 분석 하였다.(표 3, 4)

Table 3. Mortality of *P. Interpunctellaon(adult)* 3days after ClO₂ treatment at 200 ppm from 0-48hrs(30 ℃). (%)

ClO ₂	0h	6h	12h	24h
200ppm	6.6±7.6	100	100	100

Table 4. Mortality of *Sitophilus zeamais(adult)* 3days dafter ClO₂ treatment at 200 ppm from 0-48hrs(30℃). (%)

ClO ₂	0h	6h	12h	24h
200ppm	26.6±15.2	78.3±7.6	91.7±7.6	100

화랑곡나방 성충과 어리쌀바구미 성충 모두 Table 1,2 와 비슷한 양상을 나타내는 것으로 확인되었다. 화랑곡나방 성충은 6 h 이상 처리 시, 어리쌀바구미는 24 h 이상 처리 시에

100%의 치사율을 나타내었다. 한편 어리쌀바구미의 경우 12시간 처리에 대한 치사율이 상온 처리에 비해 10% 높아진 것을 확인 할 수 있었다.

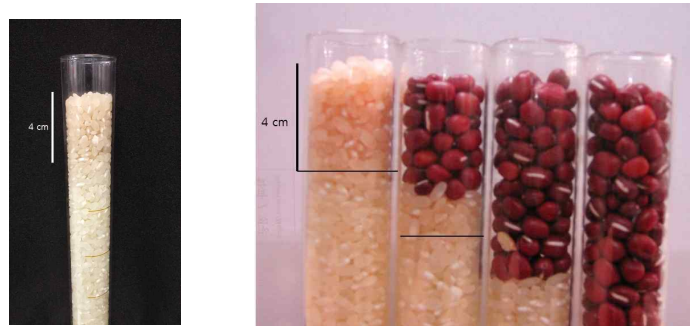


Fig. 5. 이산화염소 100ppm 24시간 처리에 따른 곡물 투과도

한편, 이산화염소가 곡물간의 공극을 통해 내부로 자연스럽게 투과되는 정도는 곡물의 사이즈 별로 차이가 있으며 백미 4cm 정도였고 팥의 경우는 6-7cm 정도였다.(그림 5)

따라서 다량의 곡물 중간부에 위치하는 해충의 경우 가스투입 만으로는 살충효과가 없을 것으로 판단되며, 다량의 곡물에 포함된 해충의 경우 이산화염소에 대한 회피 가능성이 있어서 곡물 사료 표면에 해충을 집중한 후 이산화염소 처리에 따른 회피 정도를 실험하였다.(그림 6, 표 5)

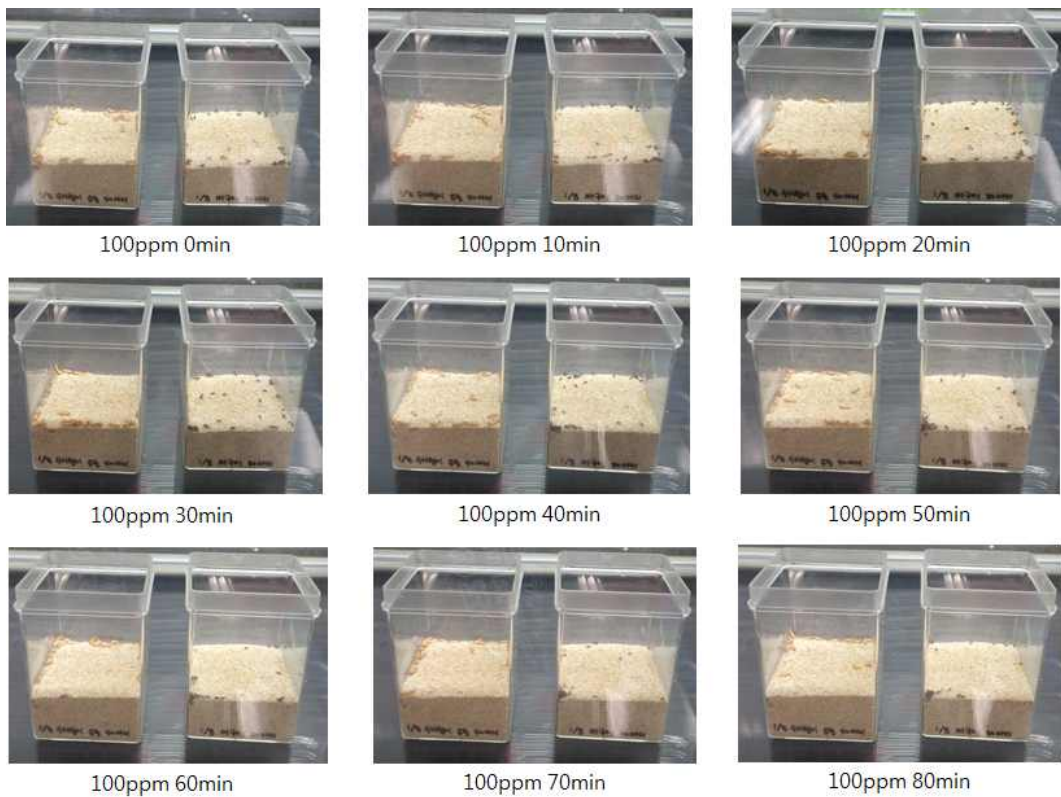


Fig. 6. 이산화염소 처리시간에 따른 화랑곡나방 유충과 어리쌀바구미 성충의 사료내부로의 회피반응조사

화랑곡나방 유충과 어리쌀바구미 성충의 경우 이산화염소에 노출된 경우 사료 내부로 회피하는 경향을 보였다. 그에 따라 치사율이 현저히 낮아짐을 확인 하였다.

Table.5. 이산화염소 100ppm 24시간 처리에 따른 사료내부로의 이동에 따른 화랑곡나방 유충과 어리쌀바구미 성충의 치사율.

	치사율(%)	
	화랑곡나방유충	어리쌀바구미
처리직후	8	2
1일 후	10	2

위의 결과에 따라 곡물 내부에서 이동이 용이한 곤충의 경우 이산화염소에 노출될 경우 회피에 따른 치사반응이 거의 일어나지 않음을 확인 하였으며, 곤충의 회피 반응을 억제하기 위하여 50ml conical tube에 20ml-40ml 까지 조곡을 채운 후 어리쌀바구미를 20마리씩 접종하여 이산화염소 200ppm으로 30, 35, 40 °C 수준에서 6, 12 시간동안 처리 하여 온도와 이산화염소의 복합처리 효과를 3반복으로 분석 하였다.(그림 7)



Fig. 7. 온도와 이산화염소 복합처리용 실험재료 구성

온도처리에 의해 어리쌀바구미 성충이 곡물위로 이동함을 관찰 할 수 있었다. 그에 따라 어리쌀바구미 성충이 이산화염소 노출되어 치사됨을 관찰 할 수 있었다.(표 6)

Table 6. Mortality of *Sitophilus zeamais*(adult) 3 days after ClO₂ treatment(200ppm) at 30, 35, 40 °C from 0-48hrs. (%)

Temp.	0h	6h	12h
30 °C	5±5	40±8.6	71.6±2.8
35 °C	3.3±2.8	45±5	95±8.6
40 °C	6.6±2.8	85±5	98.3±2.8

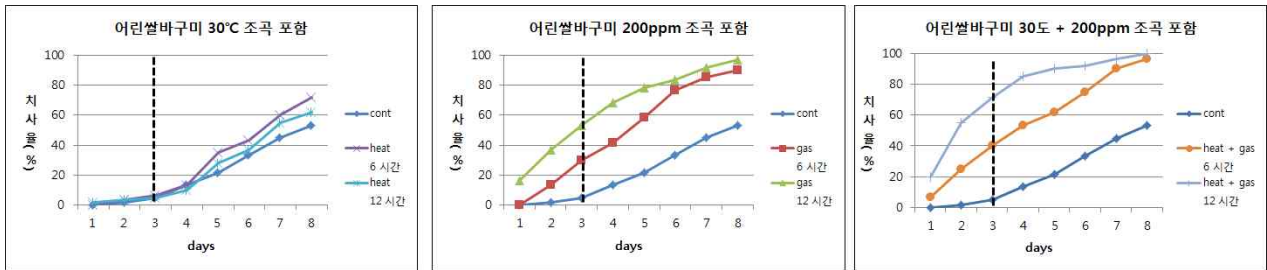


Fig. 8. 이산화염소 200ppm과 30°C 복합처리에 의한 어리쌀바구미 성충 치사율

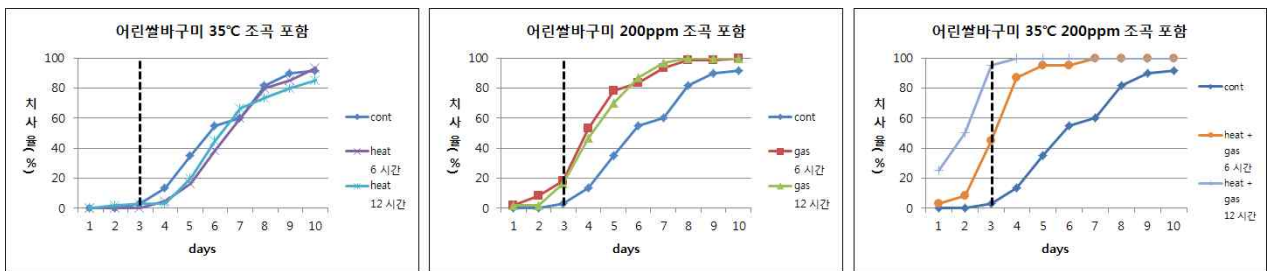


Fig. 9. 이산화염소 200ppm과 35°C 복합처리에 의한 어리쌀바구미 성충 치사율

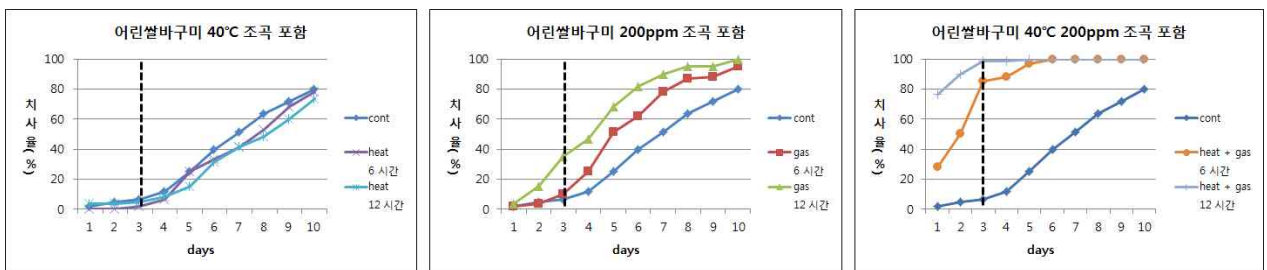
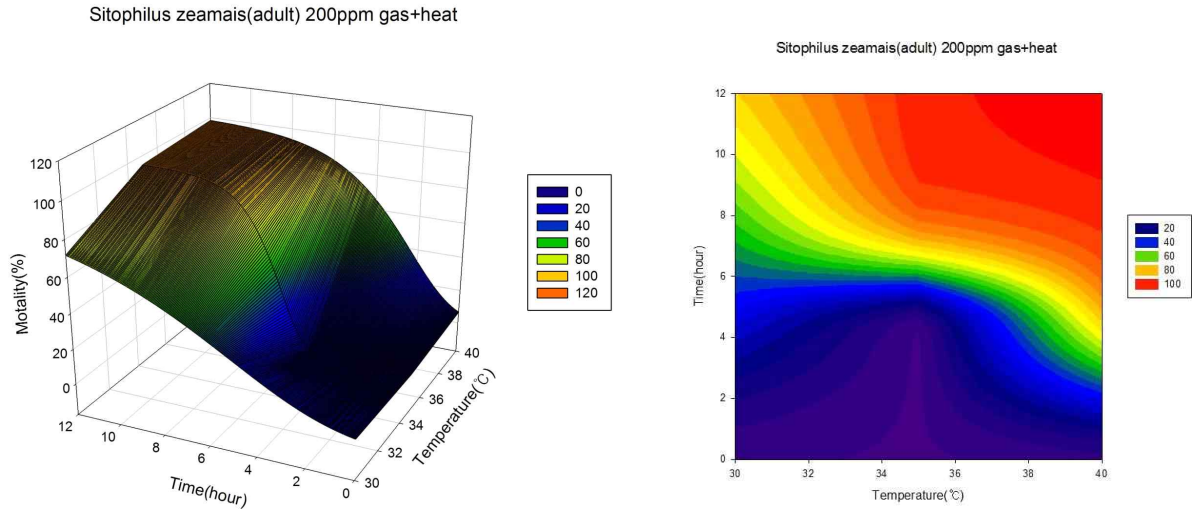


Fig. 10. 이산화염소 200ppm과 40°C 복합처리에 의한 어리쌀바구미 성충 치사율

이산화염소와 온도와의 복합 처리에 따른 어리쌀바구미의 치사경향은 그림 8-10와 같이 온도만 처리한 경우 3일 후의 치사율은 컨트롤에 비해 차이가 없었으나 복합 처리효과는 30°C 12시간 처리 시 70% 였다. 한편, 35°C 12시간 처리에서는 3일 만에 100% 가까운 경향을 나타내었다. 따라서 곡물에 대한 현장 처리 시 처리 온도에 의한 이산화염소의 살충효과는 가스 전달 방식과 상관없이 온도처리만으로도 살충효과를 기대 할 수 있을 것으로 판단되며 30°C 에서의 이산화염소 처리시간을 24시간까지 연장할 경우 100% 치사율을 예측할 수 있다.(그림 11)



(좌: 3D Mesh Plot. 우: Contour Plot)

Fig. 11. 이산화염소 200ppm 처리 시간과 온도에 따른 어리쌀바구미 성충의 처리 3일째 치사율 비선형 회귀 분석

(2) 화랑곡나방 성충의 산란율

이산화염소에 대한 화랑곡나방 성충은 낮은 농도의 이산화염소에 의해서도 쉽게 치사되기 때문에 200ppm 24시간 처리에 의해 생존된 개체 없었으며, 따라서 산란율을 조사 할 수 없었음. 기타 조건에서 처리된 개체에 대한 생태 조사는 2세부과제에서 진행 하고 있음.

(3) 어리쌀바구미 성충의 섭식율

어리쌀바구미 성충의 섭식율은 대조구에 비해 이산화염소 처리구에서 상대적으로 낮게 나타났다. 특히, 200ppm 24시간 처리 후 3일 까지 생존한 개체들에 의해서 일부 섭식이 이루어 졌으나 대조구에 비해 섭식에 대한 피해가 거의 없는 것으로 조사되었다.(그림 12)

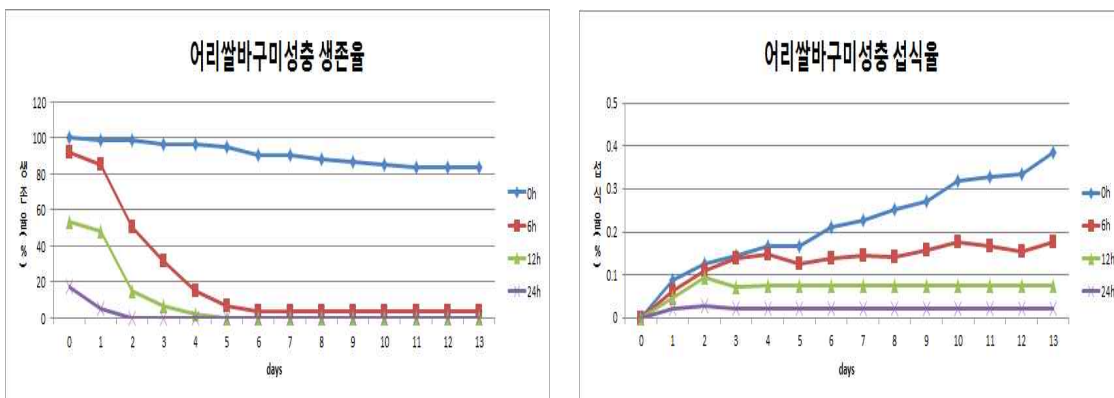


Fig. 12. 어리쌀바구미 성충의 이산화염소 200 ppm 처리시간에 따른 생존율과 섭식율.

나. 온도, 농도, 시간처리에 따른 유충의 치사반응, 섭식율, 번데기화율 조사

실험방법)

Insect petri dish에 화랑곡나방 유충(20개체)를 3g 의 먹이(현미)와 함께 넣은 뒤 이산화염소 가스를 이용하여 25와 30도에서 처리하였다. 이산화염소 가스 농도는 50, 100, 200ppm 으로 처리하였고, 시간은 0, 1, 6, 12, 24, 36, 48 h 처리하였으며, 각 조건별 3반복으로 실험 하였다. 이산화염소 가스 처리 후 30℃/70% 조건으로 Incubating 하며, 유충의 치사율을 조사하였다, 유충의 치사 최적조건을 확립한 후 최적처리 조건에 의해 처리된 유충 섭식율을 조사하였으며, 번데기화를 3주간 관찰 하였다.

실험 결과)

(1) 유충의 치사반응 조건 확립

화랑곡나방 유충의 치사율을 7일간 관찰하였다.(그림 13)

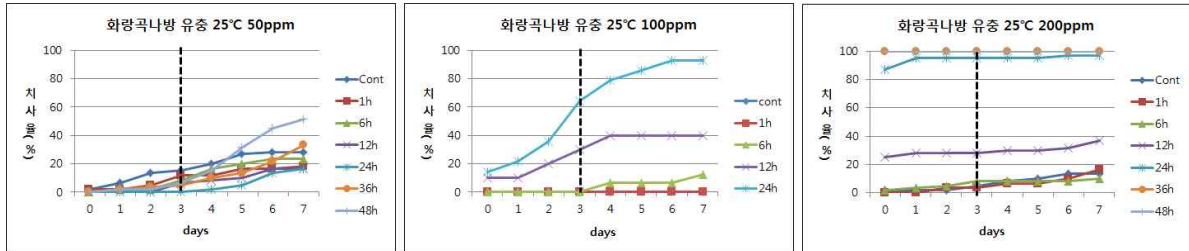


Fig. 13. 화랑곡나방 유충의 이산화염소 농도 50 100, 200 ppm 처리에 따른 치사율

이산화염소처리에 의한 화랑곡나방 유충의 치사율은 성충에 비해 상대적으로 낮게 나타났으나 200ppm 24시간 처리에 의해 95%에 이르렀다. 한편 이산화염소 처리 후 3일의 치사율은 36시간 처리에서 100%에 도달 하였다.(표 7)

Table 7. Mortality of *P. Interpunctellaon(larvae)* 3days after ClO₂ treatment at 50, 100, 200 ppm from 0-48hrs(25℃). (%)

ClO ₂	0h	1h	6h	12h	24h	36h	48h
50ppm	13.3±10.4	5±2.8	1.6±0	0±0	0±0	3.3±3.5	1.6±2.8
100ppm	0	0	0	30	64	-	-
200ppm	1.6±2.8	3.3±0	5±20.2	28.3±8.6	95±8.6	100±0	100±0

이산화염소 200ppm 24시간까지의 처리와 온도(30℃) 와의 복합 처리 효과를 분석 하였다. (표 8)

Table 8. Mortality of *P. interpunctella* (larvae) 3days after ClO₂ treatment at 200 ppm from 0-48hrs(30℃). (%)

ClO ₂	0h	6h	12h	24h
200ppm	8.3±2.8	30±39	76.6±20	96.6±5

30℃에서 이산화염소 200ppm을 처리한 경우 상온(25℃)일때 처리한 결과에 비해 상대적으로 치사율이 높게 나타났다. 따라서 유충의 경우 처리 조건은 이산화염소 200ppm에 24시간 처리가 적당한 것으로 판단된다.

(2) 화랑곡나방 유충의 섭식율

화랑곡나방 유충을 시간별 처리한 처리 구에서는 처리 시간이 늘어날수록 유충의 생존율이 낮아졌으며, 그에 따라 초기 섭식율에는 차이가 있었으나 3일 이후의 섭식율은 오히려 낮게 측정 되었다. 이는 동성이 있는 유충이 만들어 내는 실크의 양이 증가함에 따라 섭식 후 남은 먹이에 실크 무게가 더해져서 무게의 감소가 나타나지 않은 것으로 관찰 되었다. 기술적으로 실크를 제거하는데 한계가 있었다.(그림 14)

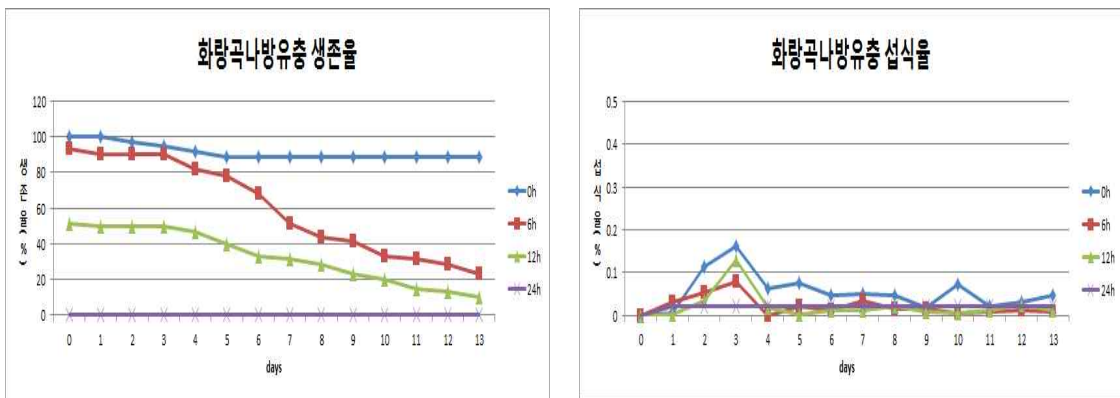


Fig. 14. 화랑곡나방 유충의 이산화염소 200 ppm 처리시간에 따른 생존율과 섭식율.

(3) 화랑곡나방 유충의 번데기화율

그림 13 에 따르면 이산화염소에 대한 화랑곡나방 유충의 치사율이 높았으며 특히 200ppm 24시간 이상의 처리에 의해 생존된 개체가 1 개체였고 번데기로 우화되지 못하였음.

한편 50ppm 처리에 의한 유충의 용화율은 치사반응효과가 낮아서 48시간 처리한 후에도 거의 치사된 개체수가 없었으나 용화율은 대조구에 비해 60% 정도로 낮게 나왔다.(표 9) 따라

서 저농도의 이산화염소처리에 의해서도 화랑곡나방 유충의 용화율에 영향을 미치는 것으로 조사되었다. 이러한 결과는 유충의 용화되는 기간이 이산화염소처리에 의해 지연되는 효과일 수도 있다.

Table 9. Pupation rate of *P. Interpunctella*(larvae) after ClO₂ treatment at 50 ppm

treated time	0hr	6hr	12hr	24hr	48hr
rate of pupation (%)	49.44±10.15	48.89±14.91	46.19±19.93	39.15±28.21	28.82±17.62

다. 온도, 농도, 시간처리에 따른 알의 부화율, 부화후 유충의 섭식율, 부화 후 유충의 번데기화율 조사

실험방법)

Insect petri dish에 화랑곡나방 알(50개체)를 3g 의 먹이(현미)와 함께 넣은 뒤 이산화염소 가스를 이용하여 25와 30℃에서 처리하였다. 이산화염소 가스 농도는 50, 100, 200ppm 으로 처리하였고, 시간은 0, 1, 6, 12, 24, 36, 48 h 처리하였으며, 각 조건별 3반복으로 실험 하였다. 이산화염소 가스 처리 후 30℃/70% 조건으로 Incubating 하며, 알의 부화율을 조사 하였다. 알 치사 최적조건을 확립한 후 최적처리 조건에 의해 처리된 알에서 부화된 유충의 섭식율과 번데기화를 관찰 하였다.

실험 결과)

(1) 화랑곡나방 알의 치사반응 조건 확립

화랑곡나방 알의 부화율을 2주 후 3일간 관찰하였다.(그림 15)

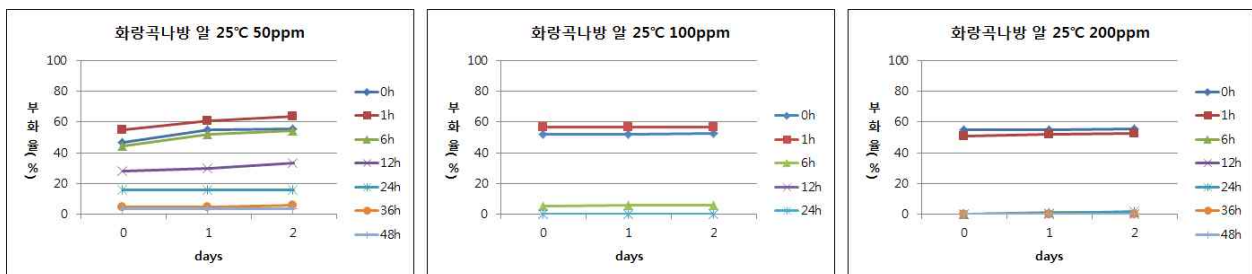


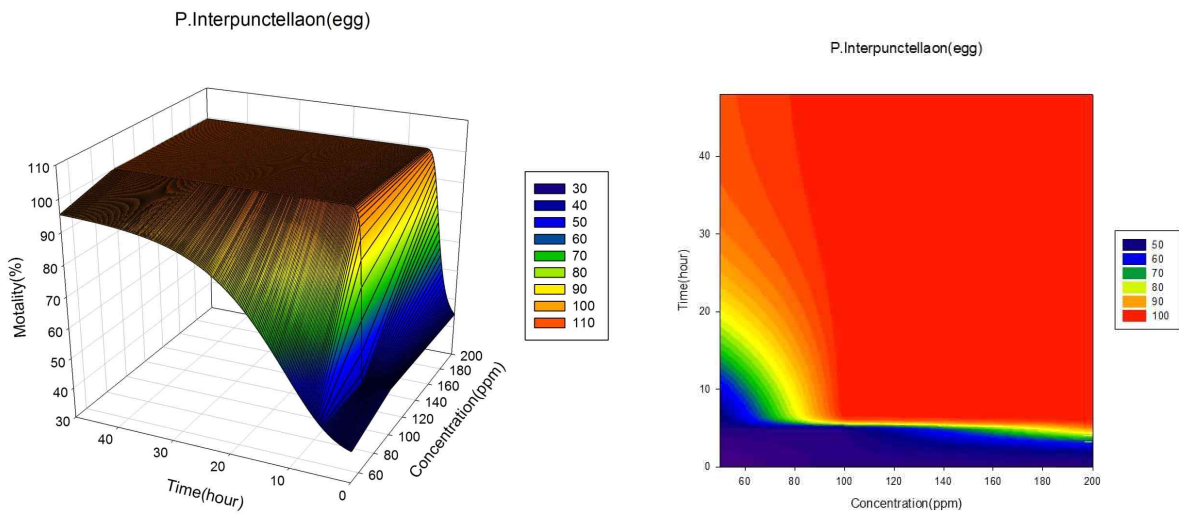
Fig. 15. 화랑곡나방 알의 이산화염소 농도 50 100, 200 ppm 처리에 따른 2주 후 부화율

화랑곡나방 알에 대한 이산화염소처리 효과는 100 과 200ppm 처리에서 12시간이후 부화된

개체가 없었다. 1 개체 였으며 치사율이 높았다.(표 10) 한편 200ppm 30℃ 처리 조건에서도 상온 처리에 비해 차이가 없는 것으로 나타났다. (표 11)

Table 10. Hachability of *P.Interpunctellaon(egg)* 2weeks after ClO₂ treatment at 50, 100, 200 ppm from 0-48hrs(25℃). (%)

ClO ₂	0h	1h	6h	12h	24h	36h	48h
50ppm	55.3±2	63.3±4.1	54±9.8	33.3±2	16±6.1	6±5	3.3 ±6.9
100ppm	52.6±24.6	56.6±15.5	6 ±4	0±0	0±0	0±0	0±0
200ppm	55.3±4.1	52.6±3	1.3±1.1	0±0	2±2	0±0	0±0



(좌: 3D Mesh Plot. 우: Contour Plot)

Fig. 16. 이산화염소 처리 시간과 농도에 따른 화랑곡나방 알의 처리 3일째 치사율 (부화실패율) 비선형 회귀 분석

Table 11. Hachability of *P.Interpunctellaon(egg)* after ClO₂ treatment at 200 ppm from 0-48hr(30℃). (%)

ClO ₂	0h	6h	12h	24h
200ppm	60±9.1	0.6±1.1	4±2	0.6±1.1

(2) 부화된 유충의 섭식율

이산화염소 최적처리조건인 200ppm 24시간 처리 조건에서 부화된 개체가 1 개체였고 따라서 섭취율의 데이터에는 통계적 차이가 없었다.

(3) 부화된 유충의 번데기화율

표 9에 따르면 이산화염소에 대한 화랑곡나방 알의 치사율이 높았으며 특히 100-200ppm 12시간 이상의 처리에 의해 부화된 개체가 1 개체였고 번데기로 우화되지 못하였음.

2. 이산화염소처리에 따른 곡물(쌀, 보리)의 품질 변화에 미치는 영향 ; 처리 후 저장기간별 이산화염소 잔존량과 산폐, 함수량, 경도, 색도 변화 분석

가. 이산화염소 처리에 따른 잔존량

실험방법)

이산화염소가 초자기구에 흡착 될 수 있기 때문에 실험에 이용되는 초자 기구는 이산화염소 200ppm 1시간 처리한 후 2차 증류수를 이용하여 1차례 세척 후 사용하였다. 대조구와 처리구(200ppm 48시간)의 곡물 50g 씩을 증류수 500ml에 넣은 후 sonicator에 20분간 처리한 후 200ml씩 2개의 삼각플라스크에 분주하여 준비한다. AutoCAT 9000(HACH, Chlorine Amperometric Titrator, USA)를 이용하여 이산화염소 잔존량을 측정한다. 측정된 값은 1kg 당 ppm 으로 환산하여 계산 하였다.

실험결과)

Table 12. 조곡 200ppm 48h ClO₂ 처리 후 저장기간별 ClO₂ 잔존량.

구분	Cont	1 week	4 month
rice	1.52±0.59 ppm a	3.01±2.80 ppm a	2.14±0.73 ppm a
barley	1.95±0.51 ppm a	1.00±0.94 ppm a	1.91±1.09 ppm a

Duncan 다중검정에 의하여 분석 한 결과 이산화염소의 잔존량은 저장기간별 통계적 유의차가 없었다. 이산화염소는 친수성이어서 곡물의 수분함량이 낮은 경우에는 곡물에 흡수되는 양이 많지 않을 것으로 판단된다. 따라서 이산화염소 처리 시 곡물의 수분 함량에 유의해야 할 것으로 판단되며, 이를 검정하기 위하여 2년차 연구에서 진행할 계획이다. 또한 이 실험 결과를 통해 이산화염소처리 후 곡물의 유통 전까지 환기기간을 설정 할 수 있다.

나. 이산화염소 처리에 따른 산폐율 조사

Table 13. Acid value of rough rice and barley after ClO₂ treatment for 48hr.

Sample		Sample treatment	Acid Value	Significance
rice	수확 후 7개월 (2015년5월)	control	27.4 ± 0.9	NS
		ClO ₂ 200ppm 48hr	28.1 ± 1.2	
	수확 후 9개월 (2015년7월)	control	86.21±1.14	***
		ClO ₂ 200ppm 48hr	110.55±0.55	
barley	수확 후 11개월 (2015년7월)	control	15.16±0.19	***
		ClO ₂ 200ppm 48hr	22±0	

실험 방법)

실험에 사용된 벼는 2014년 10월에 수확한 신동진 품종이며, 보리는 2014년 7월에 수확한 누리찰 보리로서 각각 1월에 구입하여 냉장 보관하며 시험에 사용하였다.

식용유지는 중성지방 형태로 되어 있으나, 저장기간과 조건 등의 이유에 의해 글리세롤과 유리지방산으로 분해된다. 산가는 유지(지방과 기름) 1 g 중에 함유된 유리지방산을 중화시키는데 필요한 수산화칼륨(potassium hydroxide, KOH)의 mg 수를 의미하며, 산가는 유지품질의 척도이며 산패율의 평가방법으로 이용된다.

이산화염소 처리에 따른 곡물의 산화 진행정도를 알아보기 위하여 처리구와 대조구를 분쇄한 후 헥산을 이용하여 oil을 추출하였다. 1g의 oil 시료를 칭량한 후 다이에틸에테르-에탄올 혼합용매 50 ml를 넣어 oil 시료를 용해시켰다. 1% 페놀프탈레인 지시약을 1~2방울 떨어뜨린 후 뷰렛(burette)을 이용하여 0.1 N KOH로 적정하였으며, 미홍색이 30초간 사라지지 않는 때까지 적정(titration)에 사용된 KOH의 양을 기록하여 종말점을 측정하였다.

다음과 같은 식을 이용하여 산가를 측정하였다.

$$\text{산가}(AV) = \frac{(A - B) \times N \times 56.1}{W}$$

- A: 시료의 KOH용액 적정량
- B: 공실험의 KOH용액 적정량
- W: 시료의 채취량 (g)
- N: KOH용액의 노말 농도 (N)

수확 후 7개월 된 벼(조곡)에 이산화염소 200ppm 농도로 48시간 처리한 처리구는 대조구에 비해 Acid Value의 값이 통계적으로 유의 하지 않았으나, 9 개월 된 벼에서는 이산화염소에 의한 Acid Value 값이 대조구에 비해 유의적 차이가 있었다. 한편, 수확 후 11개월 된 보리에 동일한 농도의 이산화염소를 48시간 처리한 처리구에서도 대조구에 비해 유의적 차이가

있었다. 한편 이산화염소 처리에 따른 산패율이 종자 발아에 미치는 영향을 확인하기 위하여 벼, 보리에 대한 발아 실험을 진행 하였다.

이산화염소가 종자 발아에 미치는 영향

실험방법)

조곡. 보리를 이산화염소로 처리 후 50개씩 3반복으로 발아상에 치상 후 벼 30℃ 와 보리 25℃ 조건에서 7일간 발아율을 조사하였다.

실험결과)

Table 14. The germination rate of stored rice after ClO₂ treatment from 0-200ppm for 1, 2days.

sample	ClO ₂	day	7 days germination rate of stored grains (%)		
			0 month	1 month	3month
rice	0ppm	0day	96.33±2.33 ^{ab1)}	95.67±0.67 ^a	97.67±0.33 ^a
	50ppm	1day	99±2 ^a	95±5 ^a	97±3 ^a
		2day	97±2 ^{ab}	97±1 ^a	99±1 ^a
	100ppm	1day	96±2 ^{ab}	94±2 ^a	96±3 ^a
		2day	97±3 ^{ab}	99±2 ^a	96±2 ^a
	200ppm	1day	96±2 ^{ab}	95±3 ^a	90±0 ^b
		2day	93±3 ^b	95±3 ^a	92±3 ^b

Table 15. The germination rate of stored barley after ClO₂ treatment from 0-200ppm for 1, 2days.

sample	ClO ₂	day	7 days germination rate of stored grains (%)	
			0 month	1 month
barley	0ppm	0day	97±0.58 ^{a1)}	96.33±1.45 ^{ab}
	50ppm	1day	99±1 ^a	98±2 ^a
		2day	95±1 ^a	87±4 ^{cd}
	100ppm	1day	87±3 ^b	95±1 ^{ab}
		2day	85±2 ^b	90±7 ^{bc}
	200ppm	1day	95±4 ^a	89±2 ^{bc}
		2day	87±4 ^b	82±3 ^d

이산화염소 처리 시 조곡 발아율에는 200ppm 2일 처리구 에서만 발아율의 차이가 있었으나, 한달 간 저장한 후에는 차이가 없는 것으로 조사되었다. 한편 3개월 저장한 벼에서는 처리후 발아율이 다소 떨어지는 것을 확인 할 수 있었다.

보리는 1일 처리구에서는 발아율의 차이가 없었으나 2일 처리구에서는 100ppm 처리구에서 발아율이 낮게 조사되었다. 한편 저장 기간에 따라 발아율이 다소 낮아지는 것으로 조사되었다. 위의 결과를 통해 곡물의 산패 정도와 발아율간에 관계가 있음을 유추 할 수 있다.

다. 이산화염소 처리에 따른 함수량 조사

실험방법)

조곡, 보리 20g 썩을 100ppm의 농도로 24시간을 처리하였다. 처리 직후의 각 샘플 별 처리 전과 처리 후의 무게변화를 3반복으로 조사하였다.

실험결과)

Table 16. Weight change of grains after ClO₂ treatment with 100 ppm for 24 hr.

	treatment	무게변화(%)	Significance
rice	cont	-0.75±0.05	**
	100ppm-24hr	-0.58±0.03	
barley	cont	-0.12±0.03	NS ¹⁾
	100ppm-24hr	-0.2±0.05	

1) Not Significant

이산화염소 가스처리에 의한 함수량의 변화에는 일부 무게 변화를 보였으나 처리전의 샘플의 함수량과 처리시의 공기중 상대습도에 의한 차이라고 해석 할 수 있다. 따라서 곡물에 대한 이산화염소 처리에 의한 함수량 차이에는 변화가 없는 것으로 판단된다.

라. 이산화염소 처리에 따른 경도 조사

실험방법)

이산화염소 처리 후 곡물의 경도 변화를 관찰하기 위하여 벼(조곡)와 보리를 이산화염소 가스 200ppm 농도에 48시간 처리한 후 온도와 습도를 각각 21°C, 56% RH로 24시간 유지시킨 후 texture analyzer (TA.TX2i, Texture Technologies Corp., Scarsdale, N.Y.)를 이용하여 처리구와 대조구의 경도를 50 알씩 측정하였다.

실험결과)

Table 17. Hardness of rice and barley after ClO₂ treatment for 48hr.

	Sample treatment	Hardness(N)	Significance
rice	control	189.7±5.53	NS
	200ppm/48hr	184.0±8.41	
	control	189.7±5.53	**
	4 month after 200ppm/48hr	211.22±4.6	
barley	control	165.91±2.65	*
	200ppm 48hr	157.23±2.28	

벼(조곡)의 경우 이산화염소 처리 전후에 낱알의 경도차이가 없었으나 4개월간 상온 저장 후에는 처리된 벼의 경도가 높아진 것으로 조사되었다. 한편 보리는 처리 전후의 경도가 유의적 차이를 보였다.

마. 색도

실험방법)

조곡에 이산화염소 가스를 각 50ppm, 100ppm, 200ppm의 농도로 각 0, 24, 48 시간 처리하여 처리 직후, 1주일, 4주, 12주 간격으로 색차계(KONICA MINOLTA CR-400)를 이용하여 측정 비교하였다.

실험결과)

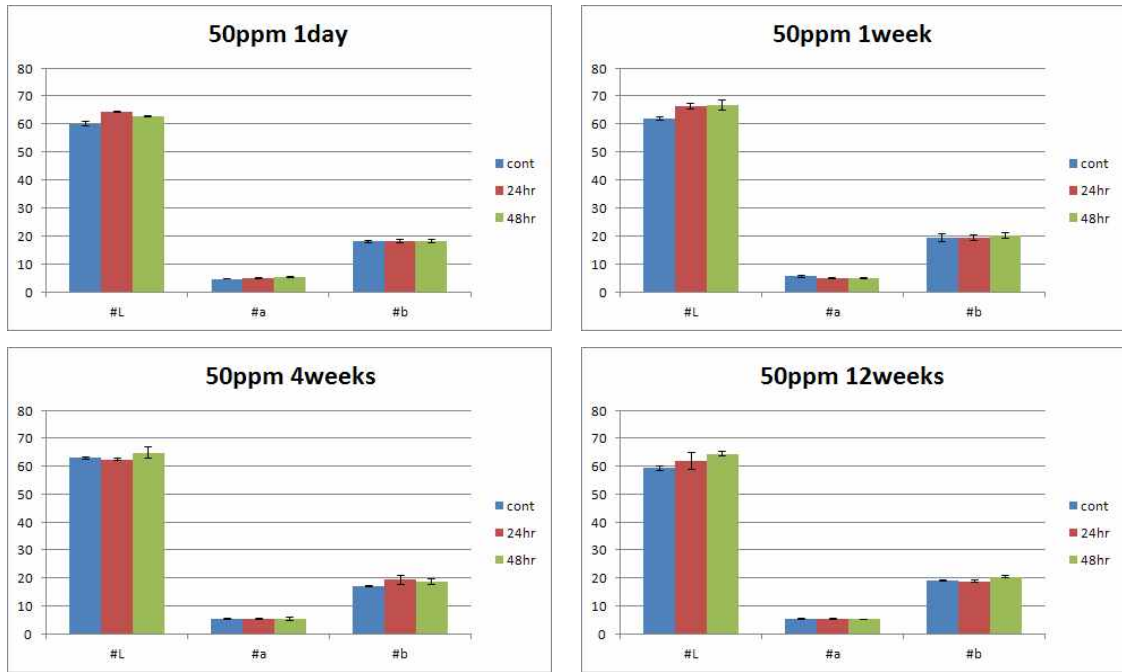


Fig. 17. 이산화염소 50ppm 처리 기간 따른 조곡의 색도 #L, #a, #b 값
 #L:0은 블랙, 100은 화이트 #a:-값은 그린, +값은 레드 #b:-값은 블루, +값은 옐로우

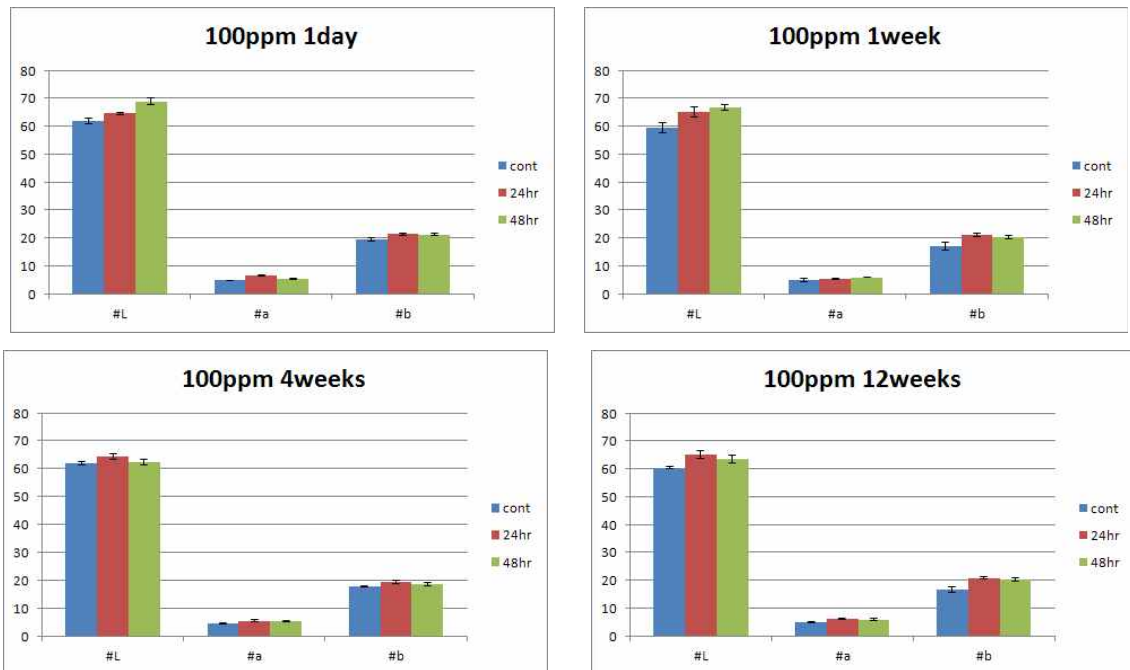


Fig. 18. 이산화염소 100ppm 처리 기간 따른 조곡의 색도 #L, #a, #b 값

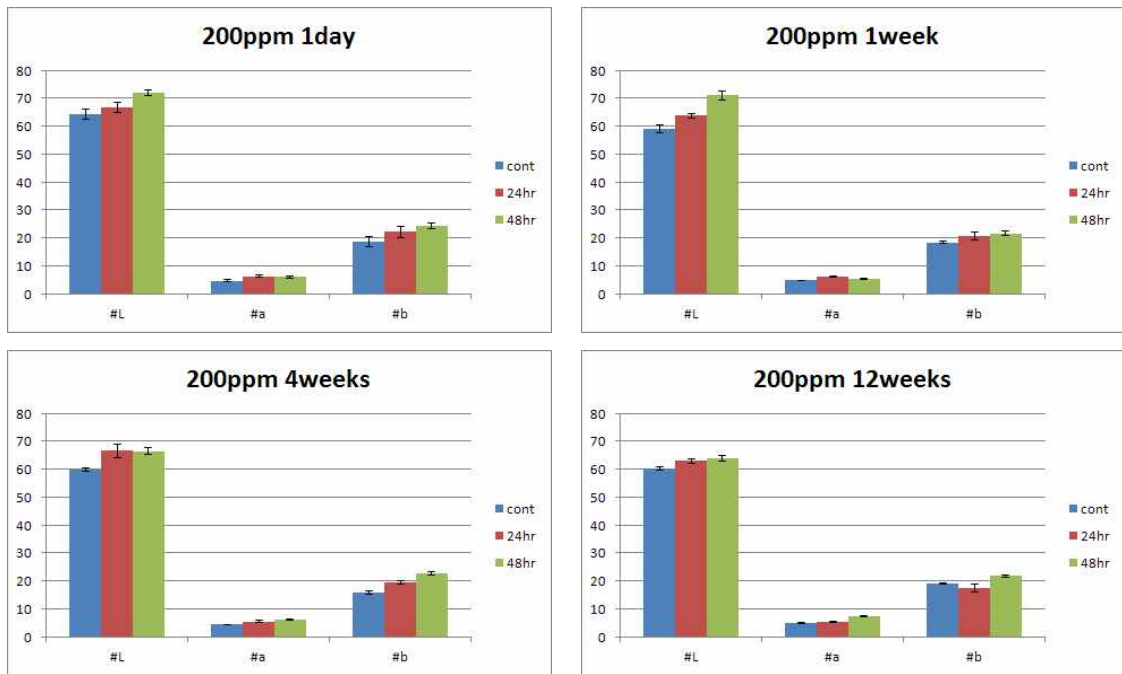


Fig. 19. 이산화염소 200ppm 처리 기간 따른 조곡의 색도 #L, #a, #b 값

이산화염소처리에 따른 조곡의 L 값은 처리 농도와 시간에 따라 올라감을 확인 할 수 있었다.

(그림 17-19) 일반적으로 수확한 곡물은 저장조건에 따라 색도에 변화가 일어나며, 이산화염소에 의해 색도를 밝게 변화 시킬 수 있을 것으로 판단된다. 이러한 변화는 산화작용에 의해 왕겨의 색도에 영향을 미치는 것으로 볼 수 있다.

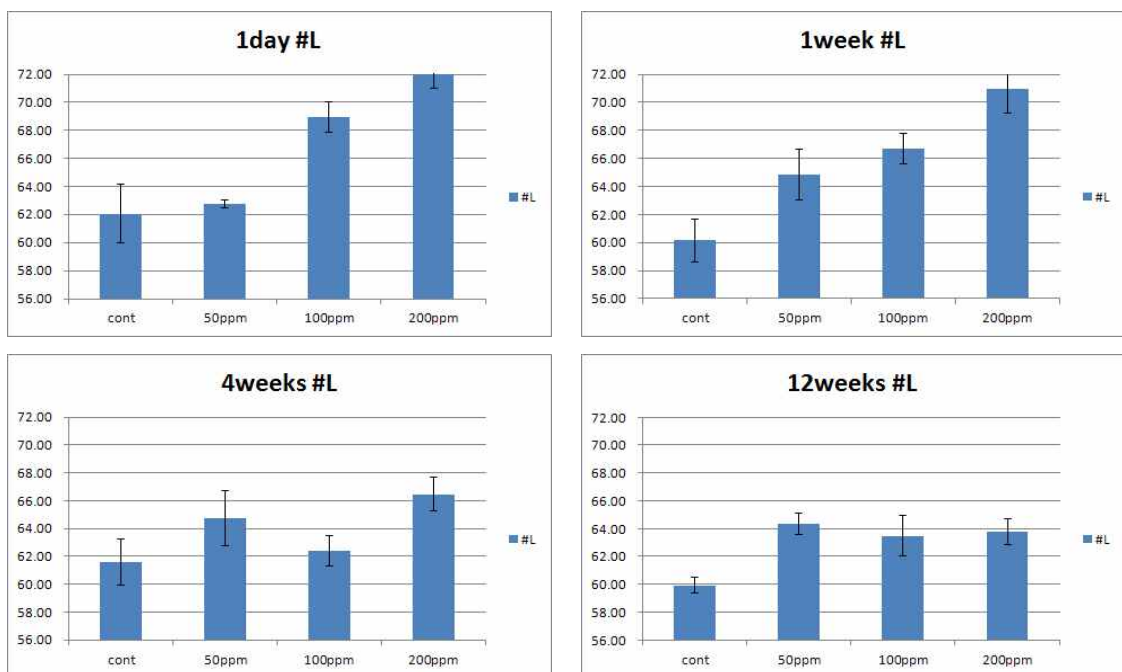


Fig. 20. 이산화염소 48시간 처리 시 처리 농도와 저장 기간에 따른 조곡 #L값

그림 20는 이산화염소 처리 농도에 비례 하여 초기 색도가 올라갔다가 저장 기간에 따라 색도가 낮아지는 것으로 조사되었다. 특히 50ppm 이상의 처리 후 12주 후에도 대조구에 비해 높은 색도를 보였으나 처리구간에는 차이가 없는 것으로 조사되었다.

실험방법)

보리에 이산화염소 가스를 각 50ppm, 100ppm, 200ppm의 농도로 각 0, 24, 48 시간 처리하여 처리 직후, 1주일, 4주, 8주 간격으로 색차계(KONICA MINOLTA CR-400)를 이용하여 측정 비교하였다.

실험결과)

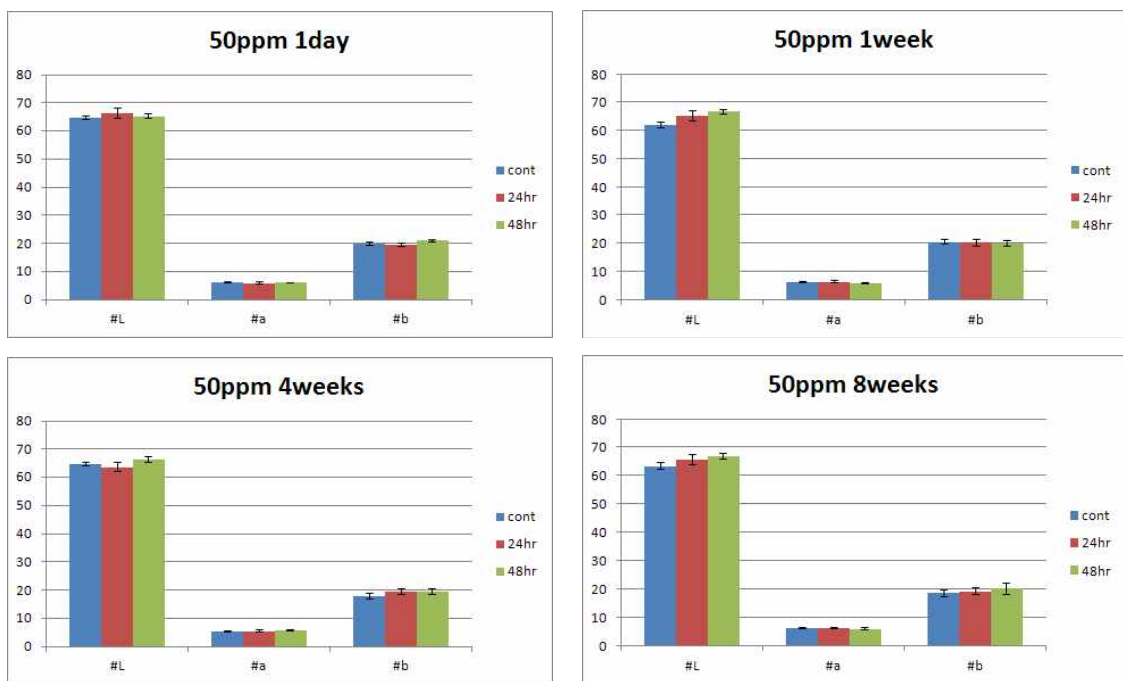


Fig. 21. 이산화염소 50ppm 처리 기간 따른 보리의 색도 #L, #a, #b 값
 #L:0은 블랙, 100은 화이트 #a:-값은 그린, +값은 레드 #b:-값은 블루, +값은 엘로우

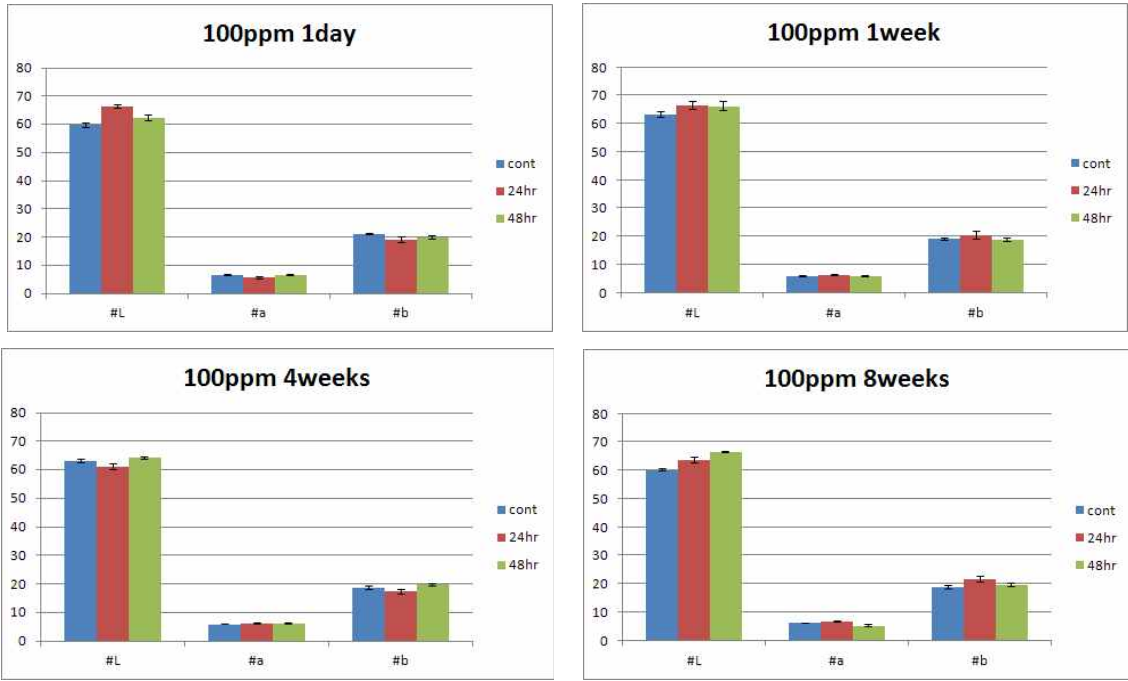


Fig. 22. 이산화염소 100ppm 처리 기간 따른 보리의 색도 #L, #a, #b 값

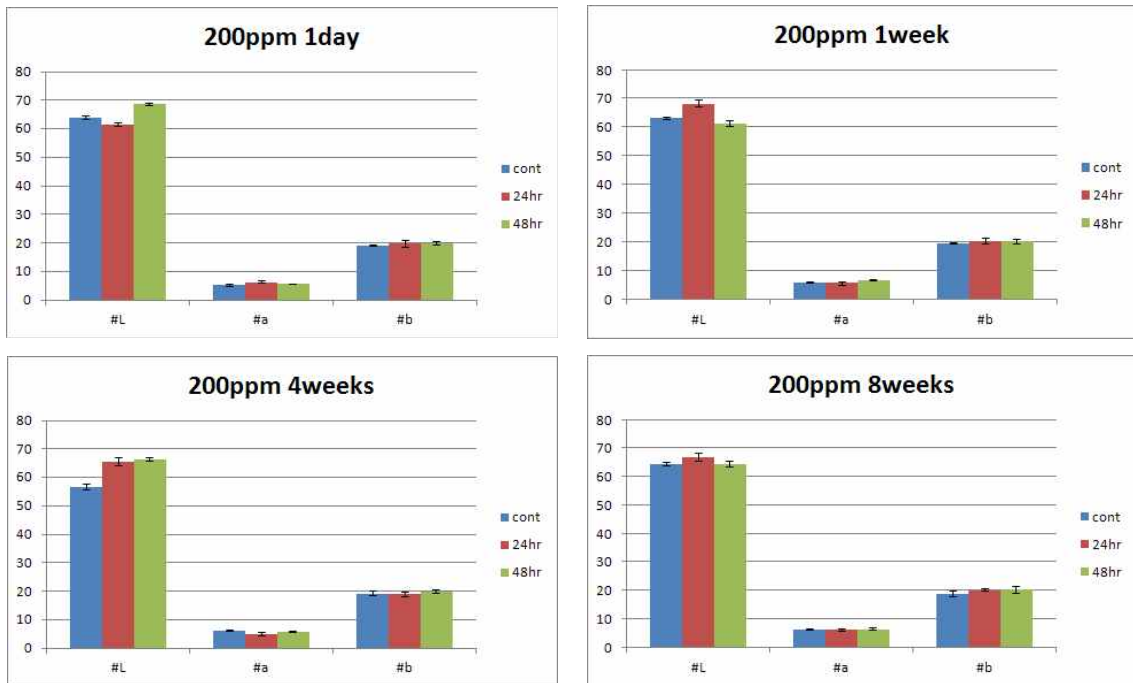


Fig. 23. 이산화염소 200ppm 처리 기간 따른 보리의 색도 #L, #a, #b 값

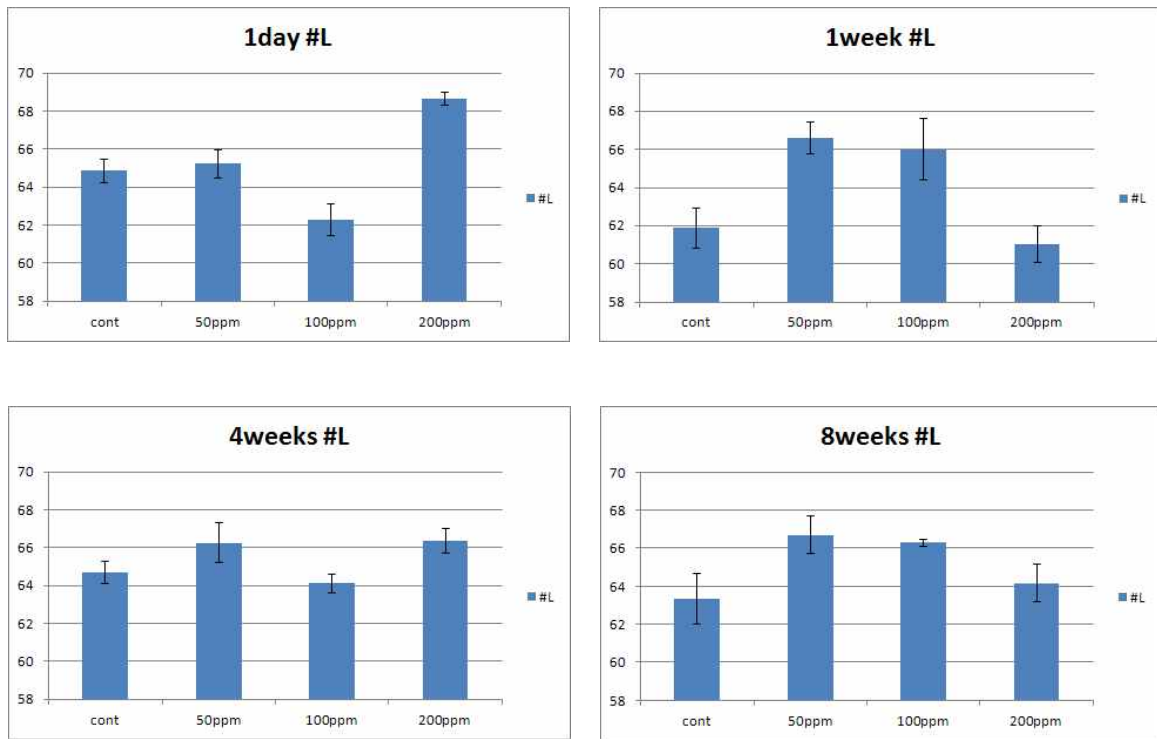


Fig. 24. 이산화염소 48시간 처리 시 처리 농도와 저장 기간에 따른 보리 #L값

이산화염소처리에 따른 보리의 L 값은 처리 농도와 시간에 따라 변화가 있는 것으로 조사되었다. 보리는 벼에 비해 상대적으로 불균일한 품질을 유지하며 색차계를 이용한 색도 변화 분석이 용이 하지 않음을 알 수 있었다. 다만 일부 처리구에서 대조구에 비해 높은 색도를 보이는 경향이 있었다.

3. 이산화염소의 새로운 응용기술

연구목적)

이산화염소 활용 기술의 개발을 위하여 이산화염소의 산화작용에 의한 곤충의 페로몬 분해 효과를 연구하였다. 일반적으로 이산화염소는 산화작용에 의해 냄새를 분해 하는 것으로 알려져 있기 때문에 이를 활용하여 곤충에 방출하는 페로몬에 영향을 미칠 수 있을 것이라는 가설을 세우고 아래 실험을 진행 하였다.

동물 사회에서는 개체 간에 정보를 주고받음으로써 생존에 필요한 생체리듬이나 행동을 조절하고 있으며, 이러한 신호의 전달은 가까운 거리에서는 소리로 하거나 몸짓으로 하는 경우도 있으나, 많은 경우 원근을 막론하고 페로몬으로 신호를 전달하고 있으며 개체 간에 신호 전달을 위하여 극소량의 페로몬을 방출 하고 있다. 곤충에서의 페로몬은 그 작용에 따라 「생리변화 페로몬」과 「행동유기 페로몬」으로 크게 구분할 수가 있다. 생리변화 페로몬을 한 개체가 후각기관을 통해 받으면 벌, 개미, 메뚜기 같은 사회성 곤충에서 볼 수 있는 계급의 분화 현상이나 생식능력의 억제 같은 복잡한 생리적 변화를 일으키게 되고, 행동유기 페로몬은 이를 받는 개체의 어떤 행동이 곧바로 변하도록 하는데 이러한 반응은 페로몬이 소실되기 전에 작용되고, 군집형성, 길 안내, 경보, 교미의 자극, 억제 및 성유인 등에 관여하게

된다. 따라서 페로몬의 화학적 변화는 생리변화와 행동유기를 교란 시킬 수 있는 방법이 될 수 있을 것이다.

연구내용)

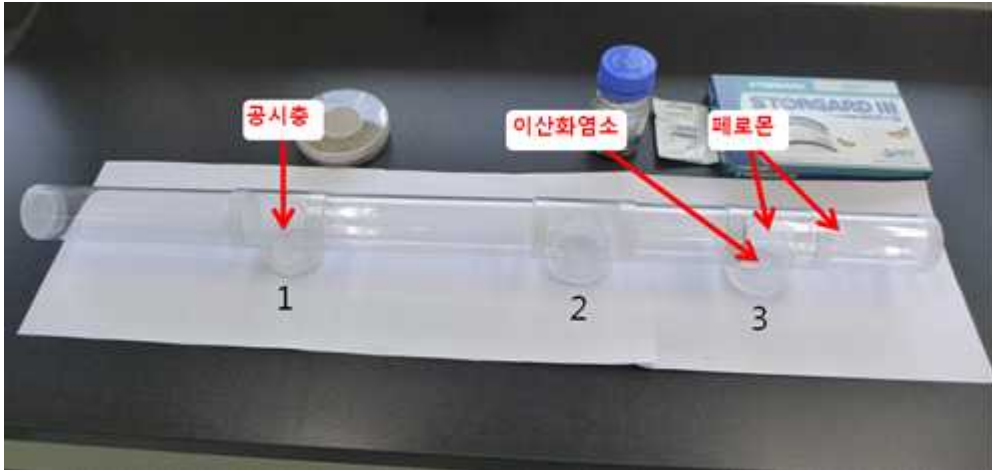


Fig. 25. 페로몬 실험 도구(자체 개발)

그림 25은 실험기구를 나타내는 그림으로서 좌우와 페로몬과 곤충사이가 방충망으로 분리되어 있으며 하단부분(1)을 통해 곤충을 투여 할 수 있다.

그림 26는 실험 기구 안에 화랑곡나방 성충 18 개체를 투입하고 페로몬 트랩을 3번에 위치한 발생되는 페로몬을 바람을 이용하여 3번 방향에서 1번 방향으로 이동시키며 5분 이후에 화랑곡나방 수컷이 페로몬 방향으로 이동한 것을 나타낸다. 표 18에 의하면 페로몬을 이용하여 화랑곡나방 수컷의 이동여부를 시간경과에 따라 관찰한 결과이다. 18 개체중 13 개체가 페로몬 방향으로 이동한 것을 확인 할 수 있었다.

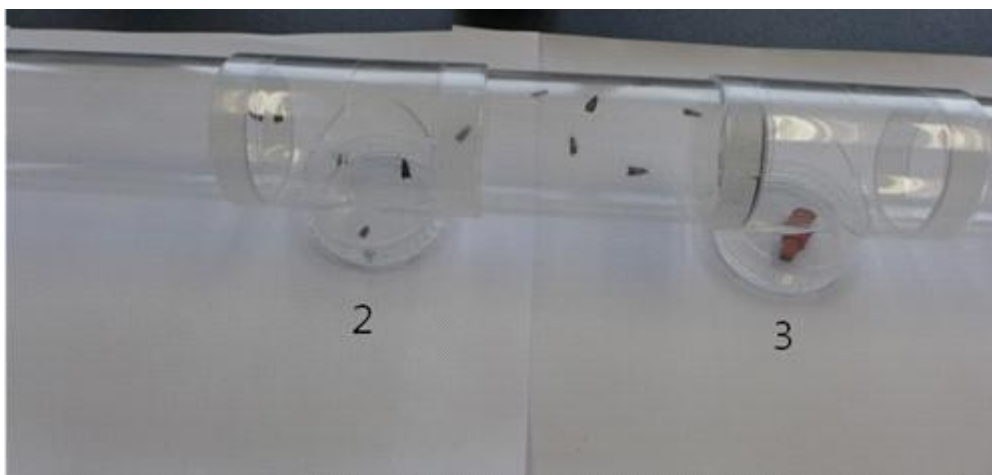


Fig. 26. 화랑곡나방 수컷의 페로몬에 대한 일반적인 반응

Table 18. 페로몬 노출 시간에 따른 화랑곡나방 성충 수컷의 이동.

시간경과	0min	1min	2min	3min	4min	5min
페로몬 반대방향*	17	15	14	7	6	5
페로몬방향	1	3	4	9	12	13

* : 공시충 투입구 쪽(그림 24의 1번 쪽)

그림 27은 페로몬과 화랑곡나방 수컷 사이에 이산화염소 용액을 녹색용기에 투입하고 바람을 3번 방향에서 1번 방향으로 이동시키며 페로몬이 이동 중 이산화염소 가스에 의해 화랑곡나방 수컷이 인지하는지의 여부를 관찰 하였다. 표 19에 의하면 화랑곡나방 수컷의 페로몬 방향으로의 이동 정도가 표 18에 비해 적은 것을 확인 할 수 있으며, 이는 페로몬과 화랑곡나방 수컷의 중간 지점에 위치한 이산화염소에 의해 페로몬의 작용이 화랑곡나방 수컷을 유인하지 못한 것으로 판단된다.

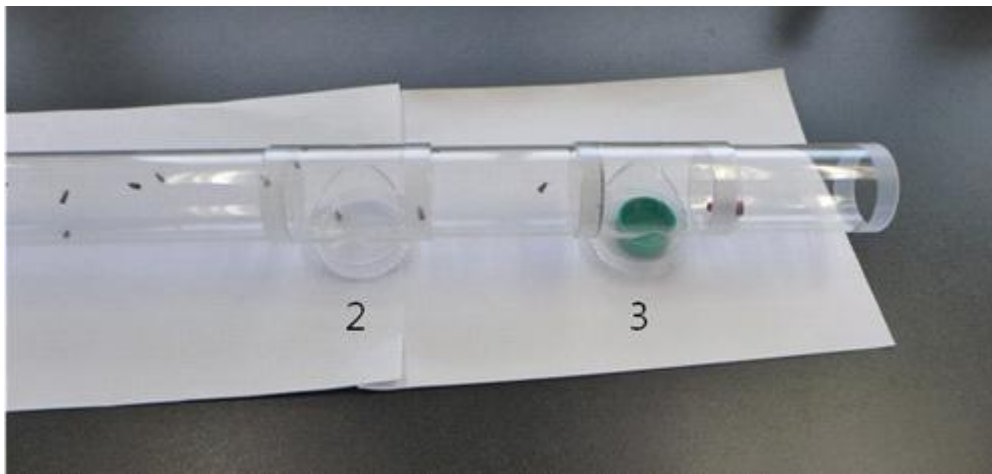


Fig. 27. 이산화염소가스의 간섭에 의한 화랑곡나방 수컷의 페로몬 인지 경향

Table 19. 페로몬과 이산화염소 동시 노출 시간에 따른 화랑곡나방 성충 수컷의 이동.

시간경과	0min	1min	2min	3min	4min	5min
페로몬 반대방향*	16	16	14	13	13	12
페로몬방향	2	2	4	5	5	6

* : 공시충 투입구 쪽(그림 24의 1번 쪽)

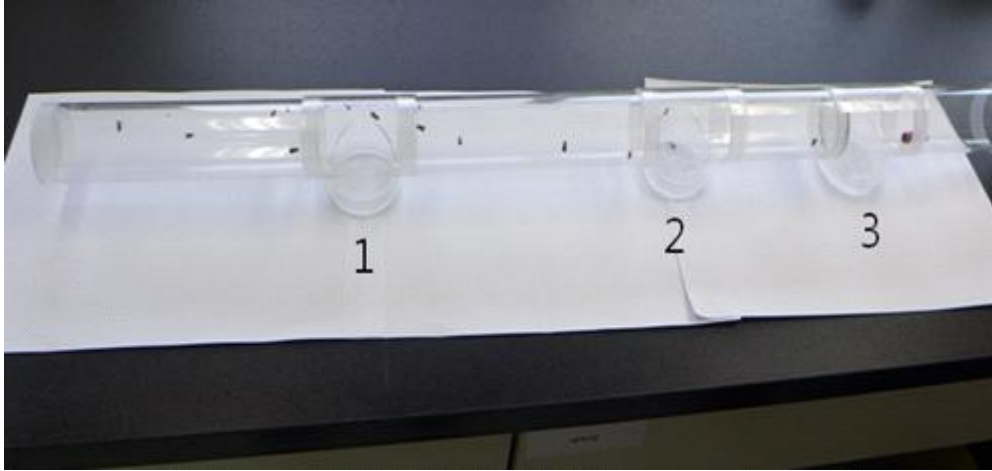


Fig. 28. 페로몬트랩에 대한 이산화염소 500ppm, 4 시간 노출에 따른 화랑곡나방 수컷의 페로몬 인지 반응

그림 28는 이산화염소로 500ppm 4시간 처리한 페로몬의 화랑곡나방 수컷 유인이 이루어 지지 않은 것을 나타낸다.

결론적으로 이산화염소는 페로몬의 구조에 영향을 미치며 곤충으로 하여금 페로몬에 대한 인지반응을 저해 하는 것으로 판단됨. 한편 선행연구에서 이산화염소에 노출된 곤충들의 운동력이 저하되는 것을 관찰 할 수 있었는데 이러한 현상은 이산화염소가 곤충의 감각기에 영향을 미쳐서 페로몬에 대한 인지능력이 떨어지는 것 일 수도 있기 때문에 추가적인 연구가 요구됨.

2절. 곡물(쌀, 보리)보관 중 성충, 유충, 알의 이산화염소 최적 처리조건 연구

1. 저장시설에서 사용하는 PE 포장재 규격(톤백, 마대)에 따른 이산화염소 가스의 투과도와 해충 치사율과의 관계 규명

실험방법)

Insect petri dish에 화랑곡나방 성충(20개체), 화랑곡나방 유충(20개체)과 어리쌀 바구미 성충(20개체)을 3g 의 먹이(현미)와 함께 넣은 뒤 이산화염소 가스를 이용하여 처리하였다. 저곡해충이 있는 Insect petri dish에 PE포장재를 크기에 맞게 부착하였다.(그림 29.)

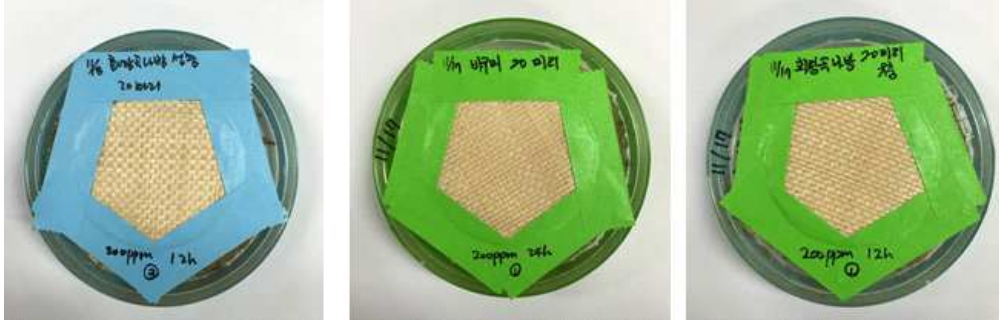


Fig 29. PE 포장재 투과율 실험을 위한 톤백마대를 부착한 Insect petri dish.

아크릴판으로 특수 제작한 밀폐된 챔버에 넣고 가스누출검지기(Gas leak detector C16, Analytical technology, Collegeville, PA, USA)를 이용하여 농도를 모니터링 하였다. 이산화염소 가스 농도는 200ppm 으로 처리하였고, 시간은 0, 12 24, 48 h 처리하였으며, 각 조건 별 3반복으로 실험 하였다. 이산화염소 가스 처리 후 30°C/70% 조건으로 Incubating 하며, 저곡해충의 치사율을 조사 하였다.

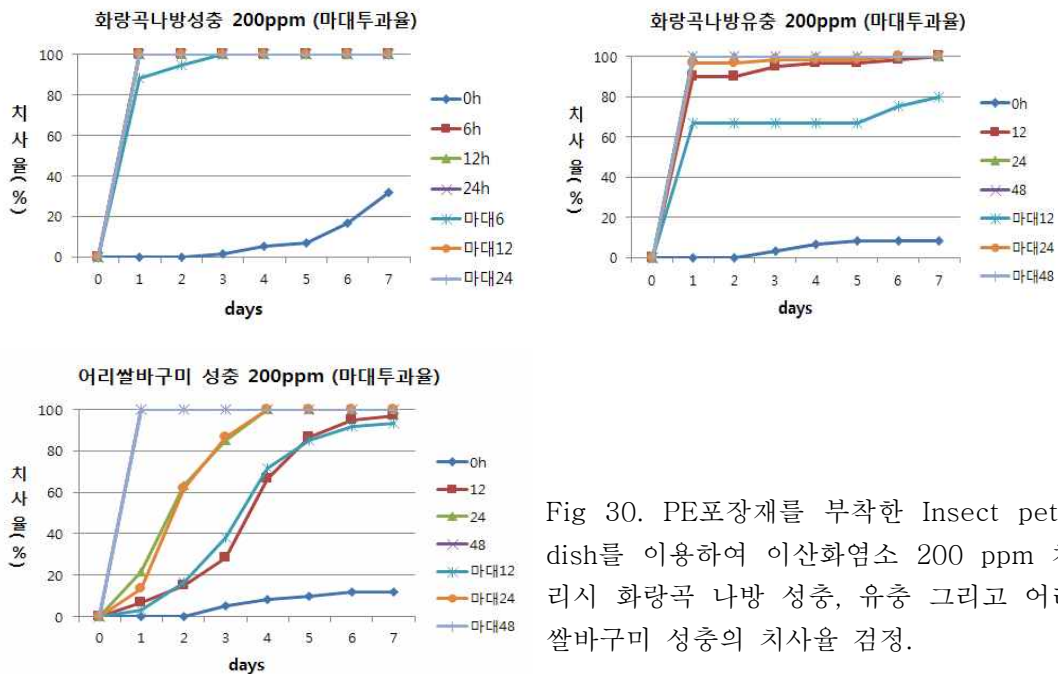


Fig 30. PE포장재를 부착한 Insect petri dish를 이용하여 이산화염소 200 ppm 처리시 화랑곡 나방 성충, 유충 그리고 어리쌀바구미 성충의 치사율 검정.

실험 결과)

위 그래프에서 보이는 바와 같이 PE포장재를 Insect petri dish에 부착하여 처리한 것과 톤백마대 없는 Insect petri dish에 화랑곡나방 유충, 성충 그리고 어리쌀바구미를 넣어 처리한 결과 화랑곡나방 성충은 PE포장재가 부착되지 않은 petri dish에서는 모든시간에서 100%의 치사율을 보였고, PE포장재가 부착된 petri dish 6h처리에서 1day에서 90%의 치사율을 나타냈고 3day때 100%의 치사율을 나타냈다.

유충에서는 PE포장재가 부착되지 않은 petri dish 12h처리에서는 90%의 치사율을 나타냈지만 PE포장재가 부착된 petri dish에 치사율이 65%이고, 24h 처리시 98%의 치사율을 나타냈

다.

바구미의 경우 24h 처리시 PE포장재 부착여부에 관계없이 4day에서 100% 치사율을 나타냈다. 이 결과 PE포장재에 대해 이산화염소 가스의 투과율에는 차이가 있는 것으로 조사되었고, 살충효과를 보기 위해서는 이산화염소 처리시간을 24h 이상으로 조절하여야 함을 확인하였다.

2. 곡물보관 중 저곡해충의 치사 최적화 이산화염소처리 조건 연구 ; 곡물(벼와 보리) 수확 후 저장기간중 성충, 유충, 알을 삽입하여 이산화염소 처리에 따른 살충효과 분석 및 최적 사멸 조건 연구

- 곡물보관중 계절별 이산화염소 처리 시기 연구

곡물 보관 중 이산화염소 처리에 따른 살충효과 분석

실험방법)

곡물 보관 중 이산화염소 처리에 따른 살충효과를 실험하기 위하여 컨테이너를 제작하였다 (2000X2000X2300 mm) (그림 31). 컨테이너의 벽면을 따라 열선을 장착하여 온도 유지를 할 수 있도록 제작하였고, 상층부를 통해 이산화염소 가스 투입을 할 수 있도록 하였다. 투입된 이산화염소 가스는 4개의 가압 펌프를 이용하여 톤백 내부로 투입되었다. 가압 펌프 (KBJ1-1500S,기전사 ,1Ø220V, 60Hz)에는 톤백의 높이에 맞춘 가스전달봉을 연결하였다 (그림 31). 이 봉에는 100 mm 간격으로 지름 9 mm~12 mm 사이의 원형 구멍을 뚫어서 이산화염소 가스가 곡물 내부로 효과적으로 투입될 수 있도록 하였다. 실제 현장에서는 곡물이 톤백에 그대로 보관되어지나, 이 실험에서는 곤충 샘플의 회수와 톤백 내부의 이산화염소 가스 농도를 측정하기 위해 현미를 PE포장재에 5 Kg씩 나누어 소포장한 후 톤백 내부에 쌓아올리고, 소포장사이의 공간을 현미로 막아서, 최대한 실제 현장과 비슷한 환경으로 모델링하였다. 컨테이너에 이산화염소 가스를 공급하는 기기로 CA3000을 이용하였다. (그림 31) 이 기기에 보조로 이산화염소 가스 투입을 위해서 이산화염소 전기분해 장치를 붙이거나, 화학적인 방법을 통해서 이산화염소 가스를 만들어 투입하였다. 또한 톤백 내부의 이산화염소 가스 농도 측정을 위하여 가스 농도 측정기를 설치하였다.(그림 31) 또한 컨테이너 내부에 내외부 온도차에 의한 결로 방지를 위하여 실리카겔을 투입하여 결로를 방지하였다.



Fig 31. 제작한 이산화염소 가스 처리용 컨테이너 (A), 이산화염소 가스 공급기 (B), 컨테이너 내부 이산화염소 가스 농도 측정기 (C)

본 실험에는 화랑곡나방 유충, 화랑곡나방 성충, 그리고 쌀바구미를 각각 10마리씩 Insect petri dish에 담아, 톤백 내부에 바깥쪽 모서리와 중앙의 최상부, 중앙부, 최하부에 위치시켰다 (그림 32 A). 소포장된 곡물을 총 12층으로 쌓았으며 소포장 사이는 현미를 부어서 빈 공간을 채웠다 (그림 32 B). 톤백 중간인 6번째 층에는 이산화염소 가스의 농도를 측정하기 위한 센서를 PE포장재 내부에 설치하였고, 7번째층에는 톤백 내부의 온도와 습도를 확인하기 위한 HOBO를 설치하였다(그림 32 C). 각 실험은 2반복으로 진행하였다.



Fig 32. 소포장된 현미를 12층으로 쌓아올린 모습 (A), 공극에 현미를 부어서 공극을 제거 (B), 내부 이산화염소 가스 농도, 온도 및 습도 측정을 위한 센서 설치 (C)

곤충은 insect tweezer를 이용하여 두부나 몸체를 자극하였을 때, 반응을 일으키는 경우는 살아 있는 것으로 분류하였고, 자극하였을 경우 반응을 보이지 않는 것은 치사한 것으로 분류하여 데이터를 수집하였다.

실험결과)

실험1과 2는 컨테이너 내부의 이산화염소 농도를 100 ppm으로 처리하였으며 온도는 25℃를 유지하였다.

Table 20. 이산화염소 가스 처리에 따른 화랑곡나방 성충의 치사율과 탈색여부

	outer (%)	outer discoloration	inner (%)	inner discoloration
top	100 ± 0	+	100 ± 0	+
mid	70 ± 30	+	0 ± 0	+
bottom	0 ± 0	-	50 ± 50	+

컨테이너 내부 농도가 100 ppm이었을 경우, 톤백 내부에서는 이산화염소 가스가 감지되지 않을 정도였다. 24시간 처리를 한 결과, 가장 윗부분에 처리하였던 화랑곡나방 성충은 안쪽과 바깥쪽 모두 치사를 한 것을 확인 할 수 있었다 (표20, 그림 33). 한편, 중간과 아래부분의 경우에는 치사율이 낮은 것을 볼 수 있었으며, 아래쪽 바깥쪽 부분에는 이산화염소가스의 침투가 거의 이루어지지 않은 것을 확인할 수 있었다.



Fig 33. 컨테이너 내부 농도를 100 ppm으로 설정하였을 경우 톨백 내부 화랑곡나방의 표백 상태와 치사 상태

Table 21. 이산화염소 가스 처리에 따른 화랑곡나방 유충의 치사율

	outer (%)	inner (%)
top	0 ± 0	0 ± 0
mid	0 ± 0	0 ± 0
bottom	0 ± 0	0 ± 0

화랑곡나방 유충의 경우는 성충보다 이산화염소에 대한 저항성이 크므로 치사가 이루어지지 않은 것을 확인할 수 있었다.

Table. 22. 이산화염소 가스 처리에 따른 쌀바구미 성충의 치사율

	outer (%)	inner (%)
top	15 ± 15	15 ± 5
mid	0 ± 0	5 ± 5
bottom	5 ± 5	10 ± 10

쌀바구미의 경우에도 마찬가지로 이산화염소에 대한 저항성이 성충 화랑곡나방보다 세므로, 치사가 이루어지지 않은 것을 확인할 수 있었다.

위 결과를 종합해 보면, 톤백 내부의 농도가 100 ppm으로 올라가지 않은 상태에서 외부의 농도가 100 ppm일 경우에는 내부에 있는 곤충의 치사가 이루어지지 않는 것으로 확인된다. 하지만 성충 나방의 탈색 여부를 통해 가압 펌프를 가동하지 않고 톤백 외부의 농도로도 톤백 내부로 이산화염소가 침투되고 있음을 확인할 수 있었다. 이렇게 침투되는 농도는 곤충을 치사시키기에는 부족하며 이 때문에 가압 펌프의 필요성을 확인할 수 있었다.

실험3과 4는 컨테이너 내부의 농도를 500 ppm으로 처리하여 내부 농도가 100 ppm 이상이 되었다.

Table 23. 이산화염소 가스 처리에 따른 화랑곡나방 성충의 치사율과 탈색여부

	outer (%)	outer discoloration	inner (%)	inner discoloration
top	100 ± 0	+	100 ± 0	+
mid	100 ± 0	+	50 ± 50	+
bottom	50 ± 50	+	65 ± 35	+

실험 3과 4에서는 컨테이너 내부의 이산화염소 가스 농도를 500 ppm으로 맞추고, 가압펌프를 가동하여 톤백 내부의 이산화염소 가스 농도를 100 ppm으로 맞추었다. 그 결과, 톤백 내부의 화랑곡나방 성체 전부에서 탈색이 일어난 것을 확인할 수 있었으며, 모든 위치에서 50%가 넘는 치사율을 확인할 수 있었다 (표 23, 그림 34).

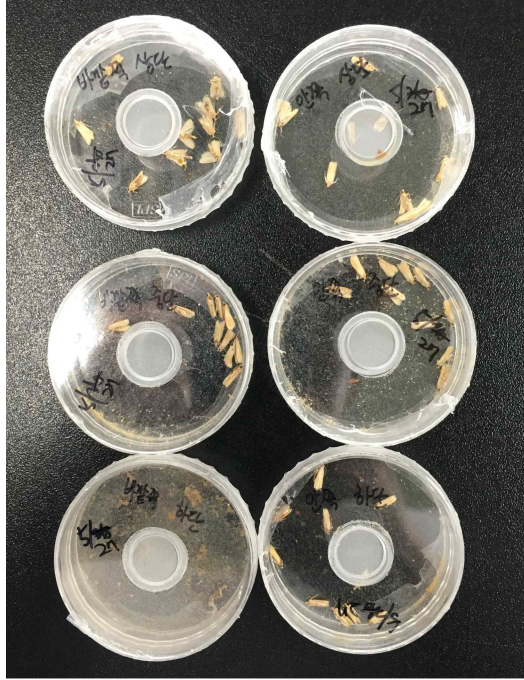


Fig 34. 컨테이너 내부 농도를 500 ppm으로 설정하여 경우 톤백 내부 이산화염소 가스 농도를 100 ppm으로 처리하였을 경우 화랑곡나방의 표백 상태와 치사 상태

Table 24. 이산화염소 가스 처리에 따른 화랑곡나방 유충의 치사율

	outer (%)	inner (%)
top	55 ± 45	80 ± 0
mid	50 ± 50	50 ± 50
bottom	0 ± 0	10 ± 10

톤백 내부의 이산화염소 가스 농도가 100 ppm에 이를 경우, 화랑곡나방 성충에 비해 이산화염소 가스에 대해 저항성이 큰 화랑곡나방 유충도 차사하는 것으로 확인되었다. 실험 1,2와는 달리 이번에 실험에서는 층이 치사하는 것을 확인할 수 있었으며, 가장 아랫부분에서 치사가 이루어지지 않을 것으로 보아, 톤백 전체에 이산화염소 가스가 처리되지 않은 것으로 보인다 (표 24).

Table 25. 이산화염소 가스 처리에 따른 쌀바구미 성충의 치사율

	outer (%)	inner (%)
top	40 ± 0	30 ± 10
mid	50 ± 50	65 ± 35
bottom	20 ± 20	15 ± 15

쌀바구미 성충의 치사율에 있어서도 최소 15% 최대 65%의 치사율을 보였으며, 톤백 내부에

전반적으로 가스가 처리되어 쌀바구미 성충을 치사시키는 것이 확인되었다.

위 결과들을 종합해 보면, 컨테이너 내부의 이산화염소 농도를 500 ppm 으로 유지하면서, 가압 펌프를 작동시켜 톤백 내부의 이산화염소 농도가 100 ppm이 되었을 경우, 톤백 내부에서 화랑곡나방 성충은 100% 치사를 보이고, 화랑곡나방 유충과 쌀바구미 성충의 경우에도 억제 효과가 나타나는 것을 확인할 수 있다.

3. 곡물보관중 이산화염소 처리와 온도처리와의 복합처리 후 해충 발생 양상

온도 복합처리

실험5와 6은 컨테이너 내부의 농도를 200 ppm 으로 처리하여 내부 농도가 100 ppm 으로 유지되었으나, 이와 동시에 높은 온도를 처리하여 최고 온도가 50℃로 확인되었다.

Table 26. 이산화염소 가스 처리에 따른 화랑곡나방 성충의 치사율과 탈색여부

	outer (%)	outer discoloration	inner (%)	inner discoloration
top	100 ± 0	+	100 ± 0	+
mid	100 ± 0	+	100 ± 0	+
bottom	100 ± 0	+	100 ± 0	+

이번 실험에서는 컨테이너 내부 농도를 200 ppm으로 유지하고 톤백 내부 농도는 100 ppm 으로 유지하며 실험을 진행하였다. 컨테이너의 온도가 50℃까지 오르는 것을 확인하였는데, 이 때 100 %의 치사율을 보였으며, 화랑곡나방 성충도 모두 탈색이 되어 있는 것을 확인할 수 있었다(그림 35). 이는 온도 처리와 동반이 될 경우 더 큰 효과를 낼 수 있는 결과를 보여주고 있다 (표 26).

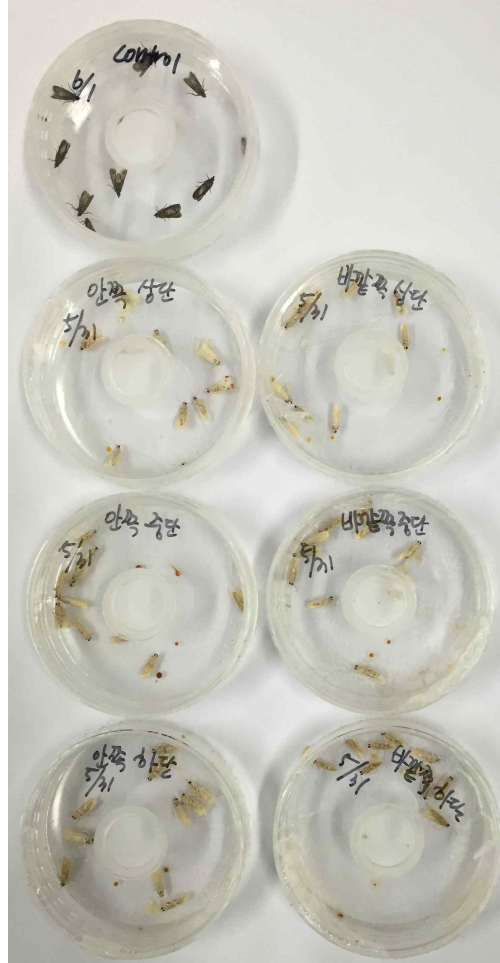


Fig 35. 컨테이너 내부 농도를 200 ppm으로 설정하여 경우 톤백 내부 이산화염소 가스 농도를 100 ppm으로 처리하였고, 50℃ 온도 처리를 하였을 경우, 화랑곡나방의 표백 상태와 치사 상태

Table 27. 이산화염소 가스 처리에 따른 화랑곡나방 유충의 치사율

	outer (%)	inner (%)
top	100 ± 0	100 ± 0
mid	100 ± 0	100 ± 0
bottom	100 ± 0	100 ± 0

화랑곡나방 성충보다 이산화염소 가스에 대해 저항성이 큰 유충의 경우에도 온도와 같이 처리될 경우 모두 치사하는 것으로 확인되었다. 이산화염소 처리와 온도를 복합 처리하는 경우 더 큰 효과를 얻을 수 있음을 증명한다고 할 수 있다.

Table 28. 이산화염소 가스 처리에 따른 쌀바구미 성충의 치사율

	outer (%)	inner (%)
top	100 ± 0	100 ± 0
mid	100 ± 0	100 ± 0
bottom	100 ± 0	100 ± 0

쌀바구미 성충 또한 이산화염소 가스와 고온을 동시 처리하였을 경우 100 %의 치사율을 보이는 것을 확인할 수 있었다. 이를 종합해 보면, 저장 중 이산화염소 가스 처리를 통한 화랑곡나방과 쌀바구미의 효과적인 억제를 위해서는, 100 ppm이상의 이산화염소 가스를 처리하되, 처리 중에는 품질이 저하되지 않는 선에서의 온도 처리가 유리함을 보여주고 있다.

4. 위의 1차 이산화염소처리 이후 곡물 저장 기간 중 발생하는 해충 양상의 모니터링을 통한 2차 처리 필요성 연구

- 곡물보관중 이산화염소 처리 후 해충 발생 양상

이산화염소 처리 후 해충 발생 양상

실험방법)

Insect petri dish에 화랑곡나방 유충(20개체)을 3g 의 먹이(현미)와 함께 넣은 뒤 이산화염소 가스를 처리하였다. 아크릴판으로 특수 제작한 밀폐된 챔버에 넣고 가스누출검지기(Gas leak detector C16, Analytical technology, Colleagueville, PA, USA)를 이용하여 농도를 모니터링 하였다. 이산화염소 가스 농도는 50, 100, 200 ppm 으로 처리하였고, 시간은 0, 1, 6, 12, 24, 48 h 처리하였으며, 각 조건별 3반복으로 실험 하였다. 이산화염소 가스 처리 후 30℃/70% 조건으로 Incubating 하며, 화랑곡나방 유충의 치사율 및 용화율, 우화율을 조사 하였다.

Table 29. Mortality of larvae, pupation rate, and moth emergence rate of *P. interpunctella* exposed different concentration of gaseous ClO₂ combined with different treatment time at 25°C on 5 th instar larvae stage.

	Time (h)	Treated ClO ₂ gas concentration		
		50 ppm	100 ppm	200 ppm
Mortality of Larvae ^a (%)	0 h	0.0 ± 0.0 bA	1.7 ± 1.7 eA	1.7 ± 1.7 dA
	1 h	0.0 ± 0.0 bA	0.0 ± 0.0 eA	0.0 ± 0.0 dA
	6 h	0.0 ± 0.0 bC	10.0 ± 2.9 dB	18.3 ± 1.7 cA
	12 h	0.0 ± 0.0 bC	28.3 ± 4.4 cB	71.7 ± 1.7 bA
	24 h	3.3 ± 3.3 bB	95.0 ± 2.9 bA	100.0 ± 0.0 aA
	48 h	23.3 ± 6.0 aB	100.0 ± 0.0 aA	100.0 ± 0.0 aA
Pupation ^b (%)	0 h	100.0 ± 0.0 aA	98.3 ± 1.7 aA	98.3 ± 1.7 aA
	1 h	95.0 ± 2.9 abA	81.7 ± 7.3 bA	31.7 ± 3.3 bB
	6 h	95.0 ± 2.9 abA	46.7 ± 4.4 cB	5.0 ± 0.0 cC
	12 h	86.7 ± 6.0 bA	6.7 ± 4.4 dB	0.0 ± 0.0 dB
	24 h	66.7 ± 4.4 cA	0.0 ± 0.0 dB	0.0 ± 0.0 dB
	48 h	38.3 ± 6.0 dA	0.0 ± 0.0 dB	0.0 ± 0.0 dB
Moth emergence ^c (%)	0 h	100.0 ± 0.0 aA	98.3 ± 1.7 aA	98.3 ± 1.7 aA
	1 h	95.0 ± 2.9 aA	81.7 ± 7.3 bA	11.7 ± 1.7 bB
	6 h	76.7 ± 7.6 bA	16.7 ± 1.7 cB	1.7 ± 1.7 cB
	12 h	25.0 ± 5.0 cA	5.0 ± 2.9 dB	0.0 ± 0.0 cB
	24 h	6.7 ± 3.3 dA	0.0 ± 0.0 dA	0.0 ± 0.0 cA
	48 h	0.0 ± 0.0 eA	0.0 ± 0.0 dA	0.0 ± 0.0 cA

Mortality of ClO₂ gas treated larvae were measured at 5 days after treatment.

^b Pupation from ClO₂ gas treated larvae were measured at 10 days after treatment.

^c Moth emergence rate from ClO₂ gas treated larvae were measured at 15 days after treatment.

^d Values are means of three replications. Means ± standard error followed by the same small or capital letters did not differ significantly between time at given concentration or between treatments at given time according to the least significant different test at $P < 0.05$.

실험결과)

유충의 치사율, 용화율 그리고 우화율은 50 ppm 으로 48h 처리시 최대 23%의 치사율을 보였으며, 100 ppm에서는 24h 처리시 95%의 치사율과 48h 처리시 100%의 치사율을 확인하였고, 200 ppm 24h, 48h 처리시 100%의 치사율을 확인하였다. 이후 용화율은 노출된 1h 에서도 낮아짐을 확인할 수 있었다. 50 ppm 1h,6h 에서는 95%, 12h 86%, 24h 66.7% 그리고 치사율을 가장 높았던 48h에서는 38.3%까지 낮아짐을 확인하였다. 100 ppm 과 200 ppm 에서도 낮아짐을 확인하였다. 100 ppm 1h 81%, 6h 46.7% 12h 에서는 6.7%까지 낮아짐을 알 수 있었다. 200 ppm 에서는 6h에서 5%의 용화율을 확인하였다. 우화율은 더 낮아져 50 ppm 에서는 12 h 25%, 24h 6.7% 48h 에서는 우화가 일어나지 않은 것을 확인하였다. 100ppm 6h 16.7%, 12h 5%로 우화율이 낮아짐을 확인하였다. 200 ppm 에서는 1h 11.7%, 6h 1.7까지 낮아짐을 확인하였다. 이 결과를 통해서 낮은농도(50 ppm)에 노출되어도 24h 이상 처리시에는 유충에서 성충으로 우화가 6.7%로 급격히 낮아짐을 확인하였다. 농도가 높을수록(200 ppm)에서는 6h처리에서 1.7%의 우화율로 유충에서 성충으로의 변태가 되지 않는 것을 확인하였다.

5. 곡물의 해충 방제 처리 후의 저장 기간 중 품질 변화양상 조사 ; 처리 후 저장 기간 별 품질변화 양상 모니터링(pilot 실험)

이산화염소가 종자 발아에 미치는 영향

실험방법)

수확 후 정선되지 않은 벼, 보리를 이산화염소로 처리 후 1일, 1개월, 3개월, 6개월, 12개월 후에 50개씩 3반복으로 발아상에 치상 후 벼 30℃ 와 보리 25℃ 조건에서 7일간 발아율을 조사하였다.

실험결과)

Table 30. The germination rate of stored rice after ClO₂ treatment from 0-200ppm for 1,2 days.

sample	ClO ₂	day	7 days germination rate of stored grains (%)				
			0 month	1 month	3month	6month	12month
rice	0ppm	0day	96±2.33 ^{ab1)}	95.67±0.6 7 ^a	97.67±0.3 3 ^a	94.67±1.0 2 ^{ab}	93.33±0.7 7 ^a
	50ppm	1day	99±2 ^a	95±5 ^a	97±3 ^a	97±1 ^{ab}	95±1 ^a
		2day	97±2 ^{ab}	97±1 ^a	99±1 ^a	98±1 ^a	94±2 ^a
	100ppm	1day	96±2 ^{ab}	94±2 ^a	96±3 ^a	97±1 ^{ab}	95±1 ^a
		2day	97±3 ^{ab}	99±2 ^a	96±2 ^a	95±2 ^{ab}	96±2 ^a
	200ppm	1day	96±2 ^{ab}	95±3 ^a	90±0 ^b	95±1 ^{ab}	96±1 ^a
		2day	93±3 ^b	95±3 ^a	92±3 ^b	93±2 ^b	85±4 ^b

Table 31. The germination rate of stored barley after ClO₂ treatment from 0-200ppm for 1,2days.

sample	ClO ₂	day	7 days germination rate of stored grains (%)				
			0 month	1 month	3month	6month	12month
barley	0ppm	0day	97±0.58 ^{a1)}	96.33±1.45 ^{ab}	95.78±0.59 ^a	98.22±0.44 ^a	96±1.02 ^a
	50ppm	1day	99±1 ^a	98±2 ^a	84±4 ^c	39±5 ^d	18±1 ^e
		2day	95±1 ^a	87±4 ^{cd}	85±2 ^c	85±1 ^b	79±1 ^c
	100ppm	1day	87±3 ^b	95±1 ^{ab}	93±1 ^{ab}	91±2 ^{ab}	84±1 ^{bc}
		2day	85±2 ^b	90±7 ^{bc}	85±2 ^c	70±3 ^c	25±4 ^d
	200ppm	1day	95±4 ^a	89±2 ^{bc}	87±2 ^{bc}	86±2 ^b	91±2 ^{ab}
		2day	87±4 ^b	82±3 ^d	87±2 ^{bc}	85±3 ^b	88±3 ^b

이산화염소 처리 시 벼 발아율에는 200 ppm 2일 처리구에서만 발아율의 차이가 있었고, 처리 후 3개월, 6개월, 1년간 저장한 벼에서는 처리 후 발아율이 다소 떨어지는 것을 확인 할 수 있었다.

보리는 처리직후부터 처리구에서 발아율이 낮아지는 경향을 보인다. 처리 시료는 수확 후 정선되지 않은 상태이며, 이산화염소에 의해 충분히 살충되지 않은 샘플들에서는 심각한 곡물 피해를 나타내었다(그림 36).



Fig 36. 해충에 의해 피해 받은 곡물.

색도

실험방법)

조곡에 이산화염소 가스를 각 50, 100, 200 ppm의 농도로 각 0, 24, 48 시간 처리하여 하루, 3개월, 6개월 12개월 간격으로 색차계(KONICA MINOLTA CR-400)를 이용하여 측정 비교 하였다.

실험결과)

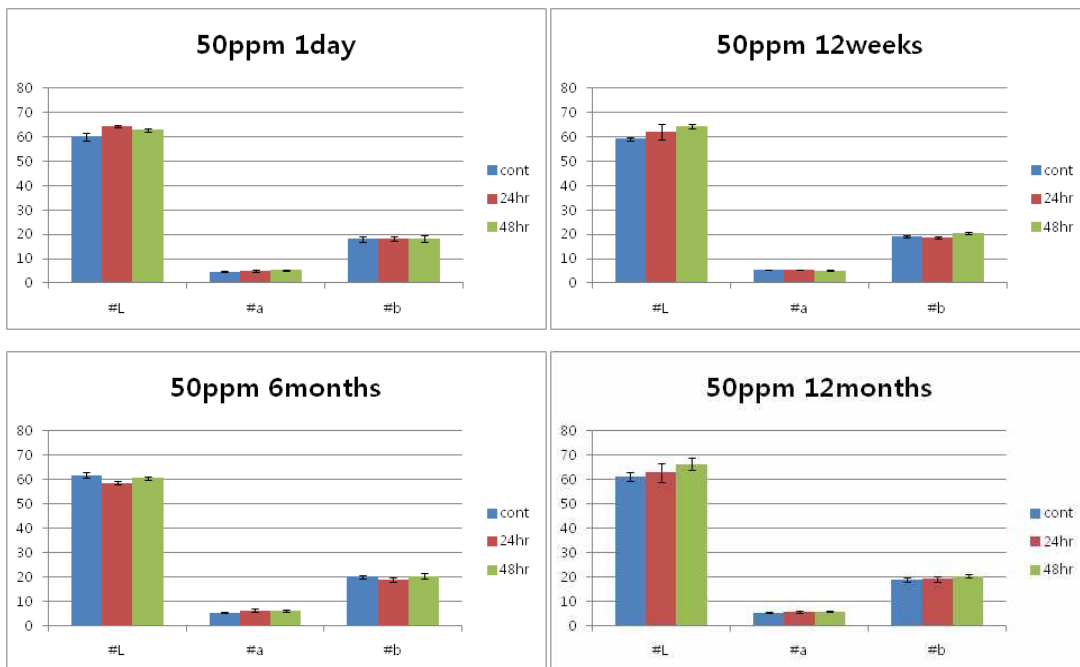


Fig 37. 이산화염소 50 ppm 처리 기간 따른 조곡의 색도 #L, #a, #b 값
 #L:0은 블랙, 100은 화이트 #a:-값은 그린, +값은 레드 #b:-값은 블루, +값은 옐로우

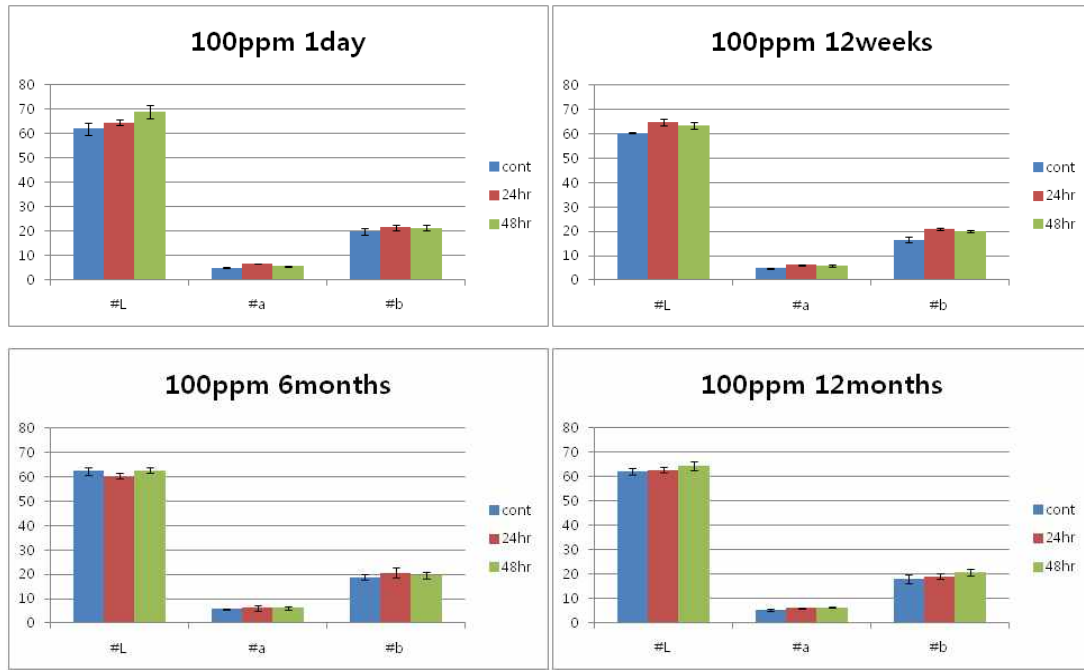


Fig 38. 이산화염소 100 ppm 처리 기간 따른 조곡의 색도 #L, #a, #b 값

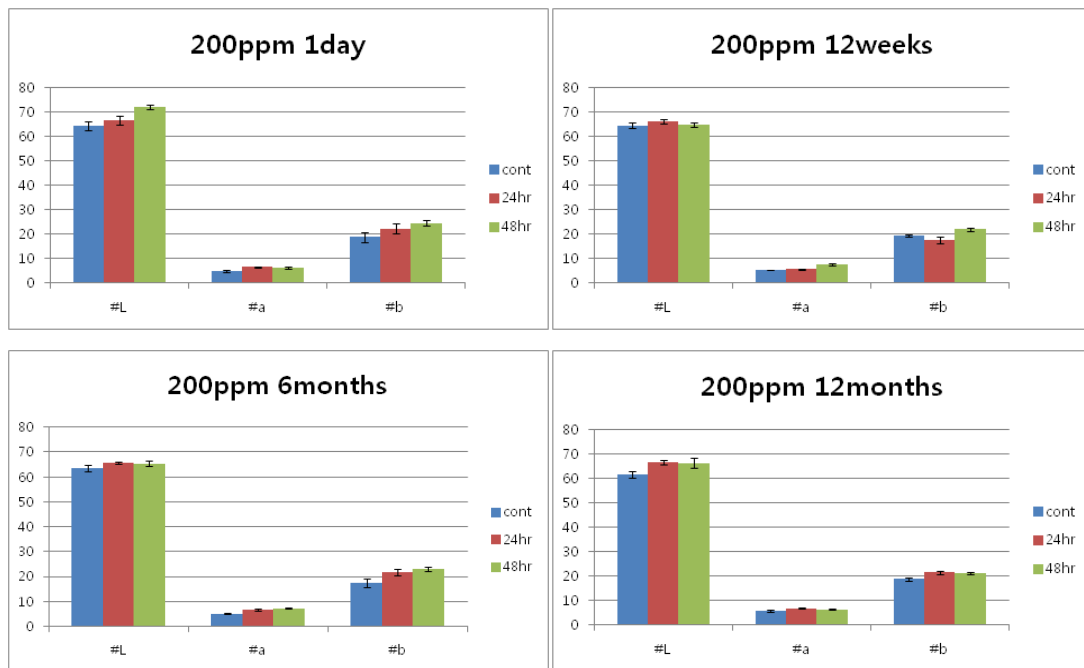


Fig 39. 이산화염소 200 ppm 처리 기간 따른 조곡의 색도 #L, #a, #b 값

이산화염소처리에 따른 조곡의 #L 값은 처리 농도와 시간에 따라 증가함을 확인 할 수 있었다. 전체적으로 저장 시간 경과에 따라 대조구와 처리구의 #L값의 격차가 감소하는 것으로 조사되었다. 노란색을 나타내는 #b값은 200 ppm 처리구에서만 증가하였다. #L값과 비슷하게 저장시간 경과에 따라 격차가 줄어들었다.

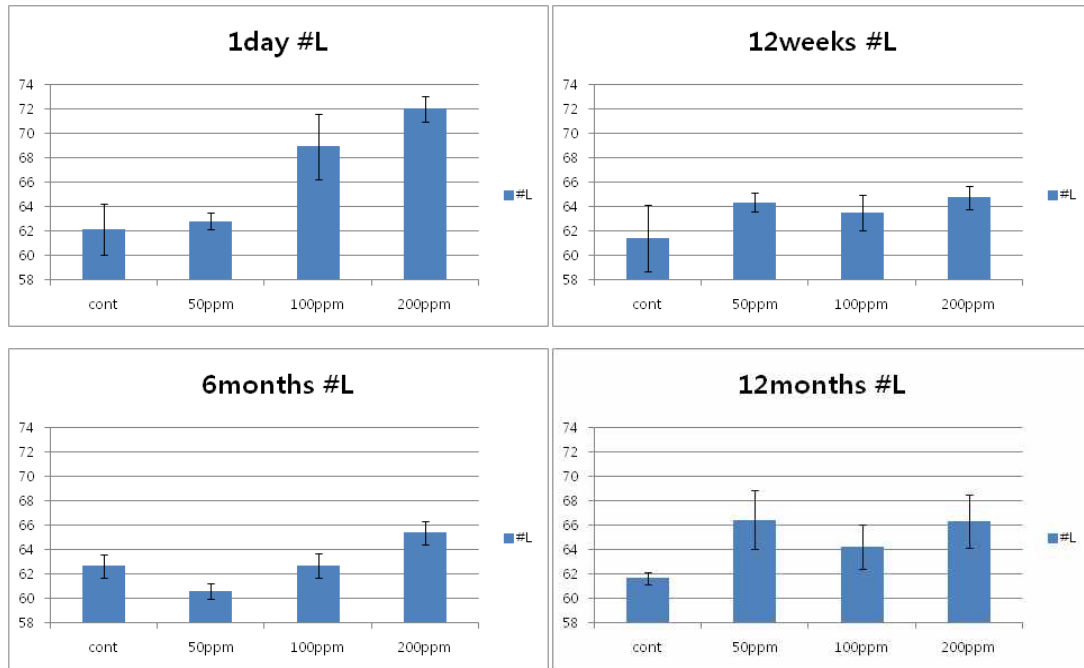


Fig 40. 이산화염소 48시간 처리 시 처리 농도와 저장 기간에 따른 조곡 #L값

그림 40은 이산화염소 처리 농도에 비례하여 처리구의 초기 색도가 올라갔다가 저장 기간에 따라 색도가 낮아지는 것으로 조사되었다. 특히 50ppm 이상의 처리 후 12주 후에도 대조구에 비해 높은 색도를 보였으나 처리구 간에는 차이가 없는 것으로 조사되었다.

실험방법)

보리에 이산화염소 가스를 각 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm의 농도로 각 0, 24, 48 시간 처리하여 하루, 3개월, 6개월 12개월 간격으로 색차계(KONICA MINOLTA CR-400)를 이용하여 측정 비교하였다.

실험결과)

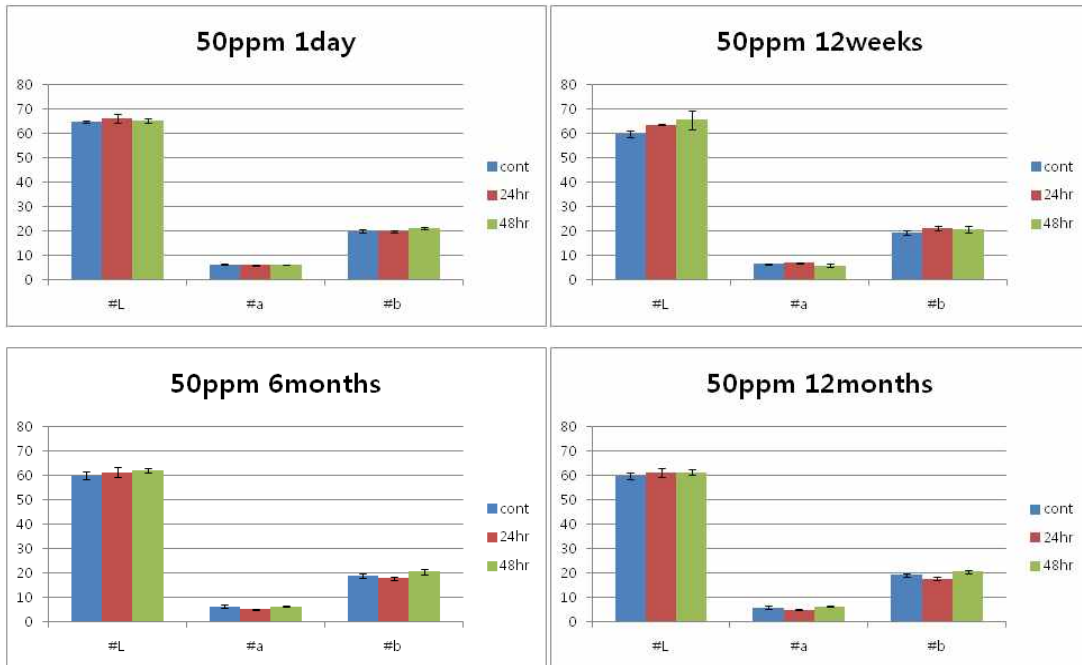


Fig 41. 이산화염소 50ppm 처리 기간 따른 보리의 색도 #L, #a, #b 값
 #L:0은 블랙, 100은 화이트 #a:-값은 그린, +값은 레드 #b:-값은 블루, +값은 옐로우

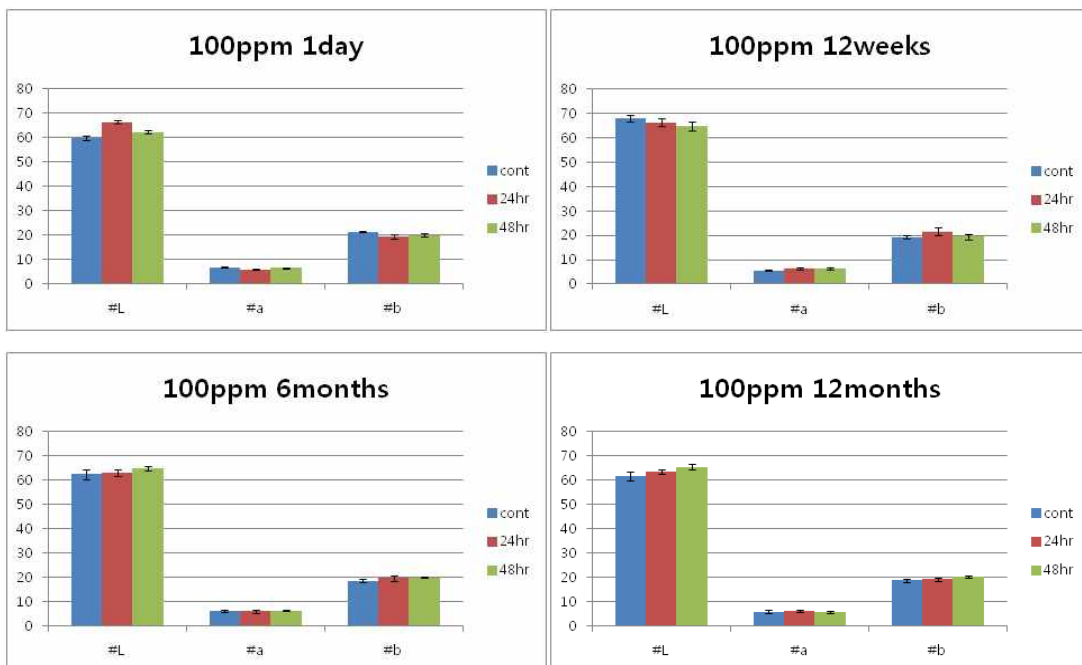


Fig 42. 이산화염소 100 ppm 처리 기간 따른 보리의 색도 #L, #a, #b 값

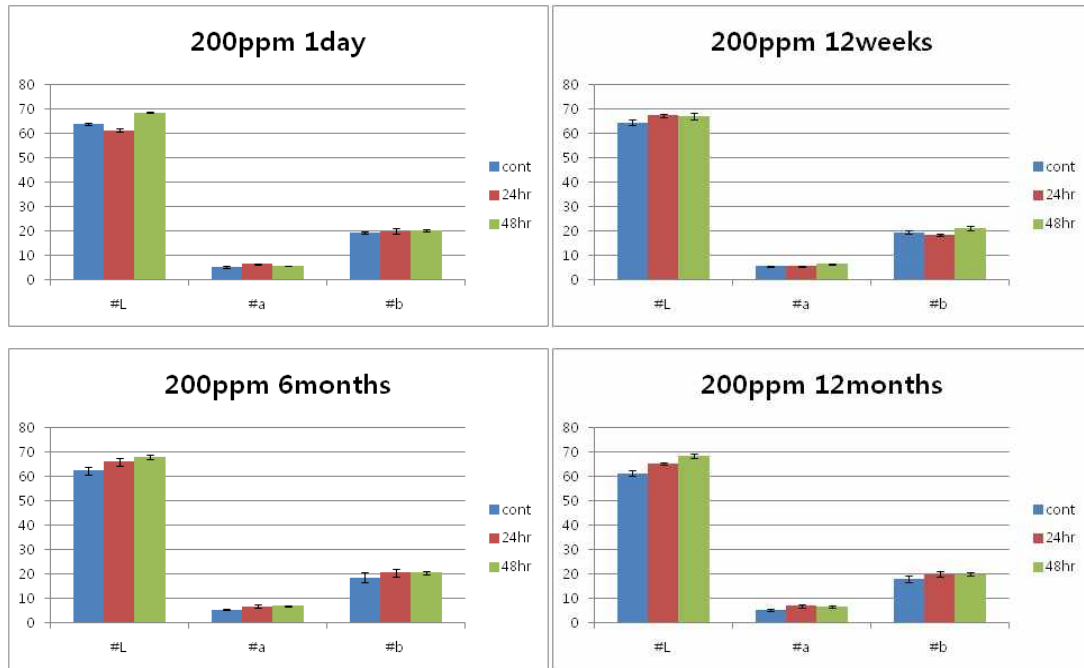


Fig 43. 이산화염소 200 ppm 처리 기간 따른 보리의 색도 #L, #a, #b 값

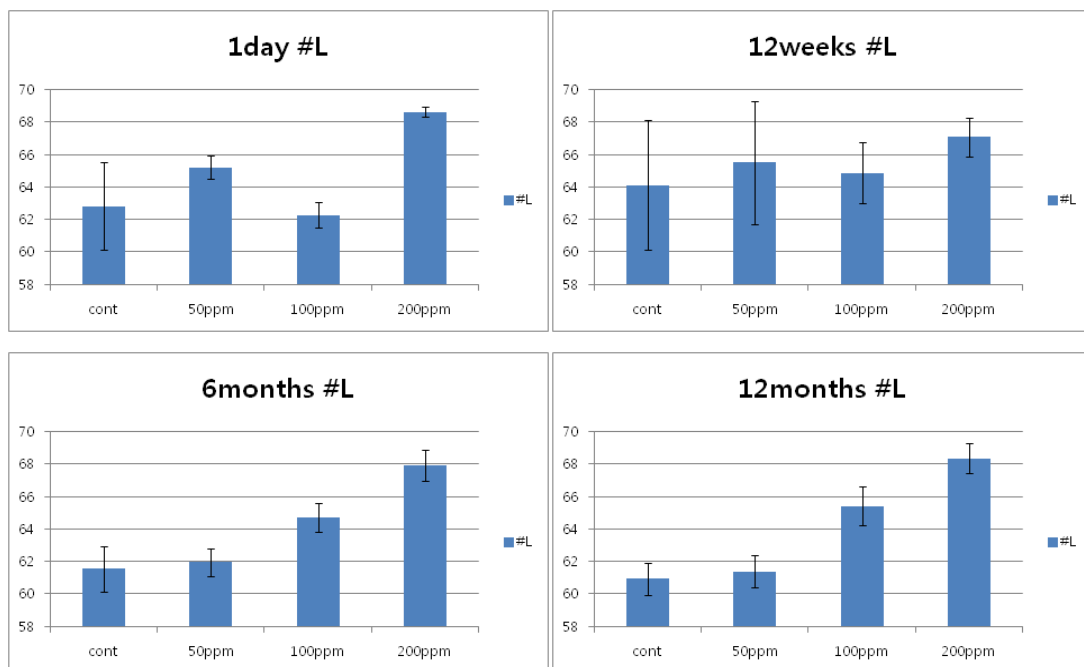


Fig 44. 이산화염소 48시간 처리 시 처리 농도와 저장 기간에 따른 보리 #L값

이산화염소처리에 따른 보리의 #L 값은 처리 농도와 시간에 따라 변화가 있는 것으로 조사되었다. 보리는 벼에 비해 상대적으로 불균일한 품질을 유지하며 색차계를 이용한 색도 변화 분석이 용이 하지 않음을 알 수 있었다. 다만 일부 처리구에서 대조구에 비해 높은 색도를 보이는 경향이 있었다.

3절. 곡물보관창고의 크기별 이산화염소 최적처리조건연구 및 산업현장 처리모델 구축

1. 곡물 운반용 컨테이너 수준의 이산화염소 처리 실증 ; 곡물과 저곡해충 삽입 후 이산화염소 처리

실험방법)

컨테이너 수준의 이산화염소 처리 실증 실험을 위해서 (주)푸르고팜에서 소형(2000X2000X2300 mm), 대형(2600X4500X2500 mm)사이의 컨테이너를 이용하여 실험하였다. 컨테이너의 벽면에는 열선 설치하여 온도 유지를 할 수 있도록 제작하였고, 상층부를 통해 이산화염소 가스 투입을 할 수 있도록 하였다. 투입된 이산화염소 가스는 4개의 가압 펌프(KBJ1-1500S,기전사 ,1Ø220V, 60Hz)를 이용하여 톤백 내부로 투입되었다. 가압 펌프에는 PVC 관(지름 9 mm~12 mm 사이의 원형 구멍을 100 mm 간격으로 뚫어 제작)을 톤백 내부로 연결하였다. 톤백 내부에 곡물은 내부 이산화염소 농도 측정과 공시충 샘플 확보를 위해 PP재질의 모래마대를 이용하여 조꼭 5 kg씩 포장하여 격자형태로 쌓아올리고, 모래마대 사이에 현미를 채워 넣어 실제현장의 곡물보관 환경으로 모델링하였다. 소형 컨테이너 내부 이산화염소가스투입은 (주)푸르고팜에서 제작한 팜이버스터를 이용하였고, 대형 컨테이너 내부는 가스투입기를 이용하였다. 가스투입기는 2차년도에 사용한 전기분해장치 두 개를 이용하여 기존보다 많은 양의 가스를 발생한다. 톤백 내부와 외부의 가스측정은 Series F12(Analytical Technology, Collegetown, PA, USA)를 이용하여 측정하였다. (그림 45.)



Fig 45. 이산화염소 가스측정장치

본 실험에는 화랑곡나방 유충, 화랑곡나방 성충, 그리고 쌀바구미를 각각 10마리씩 Insect petri dish에 담아, 톤백 내부에 바깥쪽과 중앙의 최상부, 중앙부, 최하부에 각각 위치시켰다. PP모래마대에 포장된 곡물을 총 12층으로 쌓았으며 PP마대 사이는 현미를 부어서 빈 공간을 채웠다. 톤백 중간인 6번째 층에는 이산화염소 가스의 농도를 측정하기 위한 센서를 PP

마대 내부에 설치하였고, 7번째 층에는 톤백 내부의 온도와 습도를 확인하기 위한 HOBO를 설치하여 실험에 진행하였다.



Fig 46. 톤백 적재 후 사진

실험결과)

소형 컨테이너에서 1,2,3차에 걸쳐 실험을 하였다. (주)푸르고팜에서 제작한 팜이버스터 15개를 이용하여 톤백 외부에 이산화염소를 채운 후, 가압블로워를 1분가동 5분 휴식하는 방법으로 톤백 내부에 이산화염소를 투입하여 24 h 처리하였다.

Table 32. Insect mortality (%) after ClO₂ treatment for 24 h in warehouse with insect inoculated stored rice

Treatment		Insect mortality (%)					
		<i>P. interpunctella</i> (L) ^a		<i>P. interpunctella</i> (A)		<i>S. zeamais</i>	
		DAT0	DAT5	DAT0	DAT5	DAT0	DAT5
Control ^b		0	0	0	30	0	0
Top ^d	Inside	50	70	100	100	100	100
	Outside	100	100	100	100	100	100
Middle	Inside	70	80	100	100	0	50
	Outside	0	0	100	100	0	0
Bottom	Inside	0	0	0	30	0	10
	Outside	0	10	0	0	0	0

^a L means 5 instar larval stage, A means adult stage.

^b Control means the insects not treated gaseous ClO₂ and incubated in normal

environment.

^c Top, middle, bottom and inside, outside is the insect tested place in ton bag.

1차 실험 결과 상층부에서는 화랑곡나방유충은 70% 성충은 100%, 어리쌀바구미 100%로 모든 개체에서 치사율을 나타내고 있으며, 중층부는 중앙부분에서만 치사가 확인되었다. 중층 바깥쪽과 하부에서는 가스 침투의 미흡으로 인해 치사율이 거의 나타나지 않음을 확인하였다.(표 32.)

Table 33. Insect mortality (%) after ClO₂ treatment for 24 h in warehouse with insect inoculated stored rice

Treatment		Insect mortality (%)					
		<i>P. interpunctella</i> (L) ^a		<i>P. interpunctella</i> (A)		<i>S. zeamais</i>	
		DAT0	DAT5	DAT0	DAT5	DAT0	DAT5
Control ^b		0	0	0	10	0	0
Top ^d	Inside	100	100	100	100	100	100
	Outside	0	0	100	100	40	100
Middle	Inside	0	10	100	100	0	10
	Outside	0	0	100	100	0	0
Bottom	Inside	0	0	100	100	10	60
	Outside	0	0	100	100	0	10

^a L means 5 instar larval stage, A means adult stage.

^b Control means the insects not treated gaseous ClO₂ and incubated in normal environment.

^c Top, middle, bottom and inside, outside is the insect tested place in ton bag.

2차 실험시에는 1차실험 결과를 보완하기 위하여 톤백 내부로 투입되는 PVC관을 1번관은 상층, 2번관은 중층, 3번관은 하층만 오픈하여 실험을 진행하였다. 그 결과 상층에서는 모든 개체가 100%의 치사율을 나타냈고, 특히 화랑곡나방성충은 상층, 중층, 하층 모두 100%의 치사율을 나타내는 것을 확인하였다. 또한 어리쌀바구미도 하층 중심부에서는 60%의 치사율을 나타내었다.(표 33.)

Table 34. Insect mortality (%) after ClO₂ treatment for 24 h in warehouse with insect inoculated stored rice

Treatment		Insect mortality (%)					
		<i>P. interpunctella</i> (L) ^a		<i>P. interpunctella</i> (A)		<i>S. zeamais</i>	
		DAT0	DAT5	DAT0	DAT5	DAT0	DAT5
Control ^b		0	0	0	20	0	0
Top ^d	Inside	0	50	100	100	10	30
	Outside	0	0	100	100	10	90
Middle	Inside	0	10	100	100	0	30
	Outside	0	0	100	100	0	20
Bottom	Inside	0	0	100	100	10	20
	Outside	0	0	100	100	30	30

^a L means 5 instar larval stage, A means adult stage.

^b Control means the insects not treated gaseous ClO₂ and incubated in normal environment.

^c Top, middle, bottom and inside, outside is the insect tested place in ton bag.

3차 실험에서도 1,2차 실험 결과를 보완하기 위하여 이번에는 가압블로워 가동시간을 5분씩 순차적으로 가동하는 방법으로 처리하였다. 화랑곡나방성충은 모든 위치에서 100%의 치사율을 보였으며, 어리쌀바구미도 처리 후 5일 뒤에는 모든 위치에서 90~20%의 치사율을 나타내는 것으로 확인하였다. (표 34.)

대형 컨테이너에서 시행한 실험은 (주)푸르고팜에서 새로 제작한 가스투입시스템을 이용하여 이루어졌다.(그림 47.) 병렬연결 전극을 이용하여 기존보다 대용량의 가스를 발생할 수 있도록 제작되었다. 톤백 외부의 이산화염소 농도를 200ppm으로 유지하고, 가압블로워는 5분가동 30분 휴식으로 작동하여 톤백 내부의 이산화염소를 투입하였다. 총 4차례에 걸쳐 실험을 진행하였다.

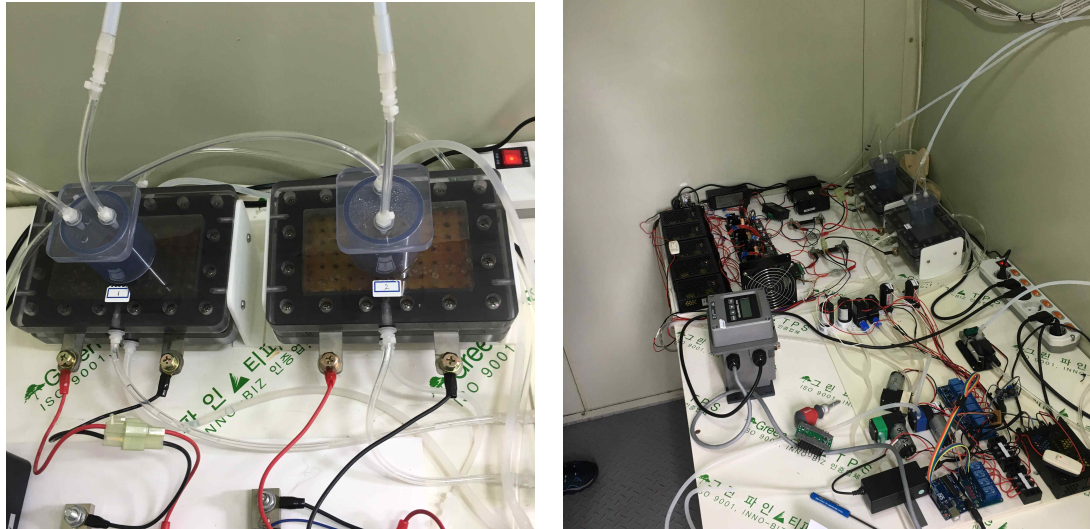


Fig 47. 병렬연결 전극(왼쪽)과 가스투입장치(오른쪽)

Table 35. Insect mortality (%) after 200 ppm of gaseous ClO₂ treatment for 24 h in warehouse with insect inoculated stored rice

Treatment		Insect mortality (%)					
		<i>P. interpunctella</i> (L) ^a		<i>P. interpunctella</i> (A)		<i>S. zeamais</i>	
		DAT0	DAT5	DAT0	DAT5	DAT0	DAT5
Control ^b		0	0	0	40	0	50
Outer space ^c		0	40	100	100	0	10
Top ^d	Inside	0	20	100	100	20	20
	Outside	0	10	100	100	0	10
Middle	Inside	0	0	100	100	20	80
	Outside	0	0	100	100	10	80
Bottom	Inside	0	0	100	100	50	80
	Outside	0	0	100	100	60	80

^a L means 5 instar larval stage, A means adult stage.

^b Control means the insects not treated gaseous ClO₂ and incubated in normal environment.

^c Outside of bag means the insects treated in warehouse but not placed inside of ton bag.

^d Top, middle, bottom and inside, outside is the insect tested place in ton bag.

1차 실험 결과, 화랑곡나방성충은 바깥쪽과 중앙부의 상층, 중층, 하층 모든 곳에서 100%의 치사율을 확인하였다. 어리쌀바구미의 경우에는 5일이 지난후에 중층과 하층에서는 80%의 치사율을 나타냈지만, 상층부에서는 20%~10%의 치사율을 나타내는 것으로 확인되었다.

Table 36. Insect mortality (%) after 200 ppm of gaseous ClO₂ treatment for 24 h and closeness time for 12 h in warehouse with insect inoculated stored rice

Treatment		Insect mortality (%)					
		<i>P. interpunctella</i> (L) ^a		<i>P. interpunctella</i> (A)		<i>S. zeamais</i>	
		DAT0	DAT5	DAT0	DAT5	DAT0	DAT5
Control ^b		0	0	0	0	0	30
Outer space ^c		0	60	100	100	50	50
Top ^d	Inside	0	20	100	100	40	70
	Outside	0	10	100	100	30	70
Middle	Inside	0	0	100	100	20	40
	Outside	0	0	100	100	20	30
Bottom	Inside	0	0	100	100	10	40
	Outside	0	10	100	100	20	30

^a L means 5 instar larval stage, A means adult stage.

^b Control means the insects not treated gaseous ClO₂ and incubated in normal environment.

^c Outside of bag means the insects treated in warehouse but not placed inside of ton bag.

^d Top, middle, bottom and inside, outside is the insect tested place in ton bag.

2차 실험에서는 이산화염소 200ppm 24 h 처리 후, 가스투입을 중단하고 12 h 컨테이너 내에서 보관한 샘플을 이용하여 확인하였다. 그 결과, 화랑곡나방성충은 모든 위치에서 100%의 치사율을 나타냈다. 어리쌀바구미는 모든 위치에서 처리 후 5일 뒤엔 70%~30%의 치사율을 확인하였다.

Table 37. Insect mortality (%) after 200 ppm of gaseous ClO₂ treatment for 24 h and closeness time for 24 h in warehouse with insect inoculated stored rice

Treatment		Insect mortality (%)					
		<i>P. interpunctella</i> (L) ^a		<i>P. interpunctella</i> (A)		<i>S. zeamais</i>	
		DAT0	DAT5	DAT0	DAT5	DAT0	DAT5
Control ^b		0	0	0	70	0	50
Outer space ^c		0	70	100	100	60	100
Top ^d	Inside	0	30	100	100	50	80
	Outside	10	40	100	100	40	100
Middle	Inside	0	0	100	100	10	40
	Outside	0	0	100	100	30	50
Bottom	Inside	0	0	100	100	0	60
	Outside	0	0	100	100	0	20

^a L means 5 instar larval stage, A means adult stage.

^b Control means the insects not treated gaseous ClO₂ and incubated in normal environment.

^c Outside of bag means the insects treated in warehouse but not placed inside of ton bag.

^d Top, middle, bottom and inside, outside is the insect tested place in ton bag.

3차 실험에서는 24 h간 처리 후, 24 h 컨테이너 내 보관 후 관찰하였다. 그 결과, 화랑곡나 방성충은 모든 위치에서 100%의 치사율을 나타내었다. 어리쌀바구미의 경우 처리 5일이 지난 후 100%~20%의 치사율을 확인하였다.

Table 38. Insect mortality (%) after 200 ppm of gaseous ClO₂ treatment with CO₂ for 24 h in warehouse with insect inoculated stored rice

Treatment		Insect mortality (%)					
		<i>P. interpunctella</i> (L) ^a		<i>P. interpunctella</i> (A)		<i>S. zeamais</i>	
		DAT0	DAT5	DAT0	DAT5	DAT0	DAT5
Control ^b		0	0	0	0	0	40
Outer space ^c		0	0	100	100	50	100
Top ^d	Inside	10	20	100	100	70	100
	Outside	10	30	100	100	30	100
Middle	Inside	0	10	30	100	70	50
	Outside	0	10	100	100	30	90
Bottom	Inside	0	0	100	100	40	40
	Outside	10	10	100	100	0	60

^a L means 5 instar larval stage, A means adult stage.

^b Control means the insects not treated gaseous ClO₂ and incubated in normal environment.

^c Outside of bag means the insects treated in warehouse but not placed inside of ton bag.

^d Top, middle, bottom and inside, outside is the insect tested place in ton bag.

4차 실험에서는 컨테이너 내부에 드라이아이스를 투입하여 내부 이산화탄소 농도를 5%로 조절하여 실험에 진행하였다. 또한 3차 실험과 동일하게 24 h 처리 후, 컨테이너 내에 24 h 보관 후 관찰하였다. 그 결과, 화랑곡나방성충은 100%의 치사율을 확인하였다. 어리쌀바구미는 처리 직후엔 70%~0%의 치사율을 확인하였고, 5일 후엔 100%~50%까지 증가하는 것을 확인하였다.

Table 39. Insect mortality after gaseous ClO₂ treatment in warehouse

		<i>P. interpunctella</i> (L) ^a	<i>P. interpunctella</i> (A)	<i>S. zeamais</i>
Control		0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Outer space		66.67 ± 3.33	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
Top	Inner	11.67 ± 4.41	100.00 ± 0.00	98.33 ± 1.67
	Outer	20.00 ± 5.77	100.00 ± 0.00	95.00 ± 2.89
Middle	Inner	5.00 ± 2.89	100.00 ± 0.00	66.67 ± 6.67
	Outer	1.67 ± 1.67	100.00 ± 0.00	55.00 ± 29.30
Bottom	Inner	5.00 ± 2.89	100.00 ± 0.00	60.00 ± 21.79
	Outer	3.33 ± 1.67	100.00 ± 0.00	28.33 ± 8.82

^a L means larva, A means adult of *P. interpunctella*.

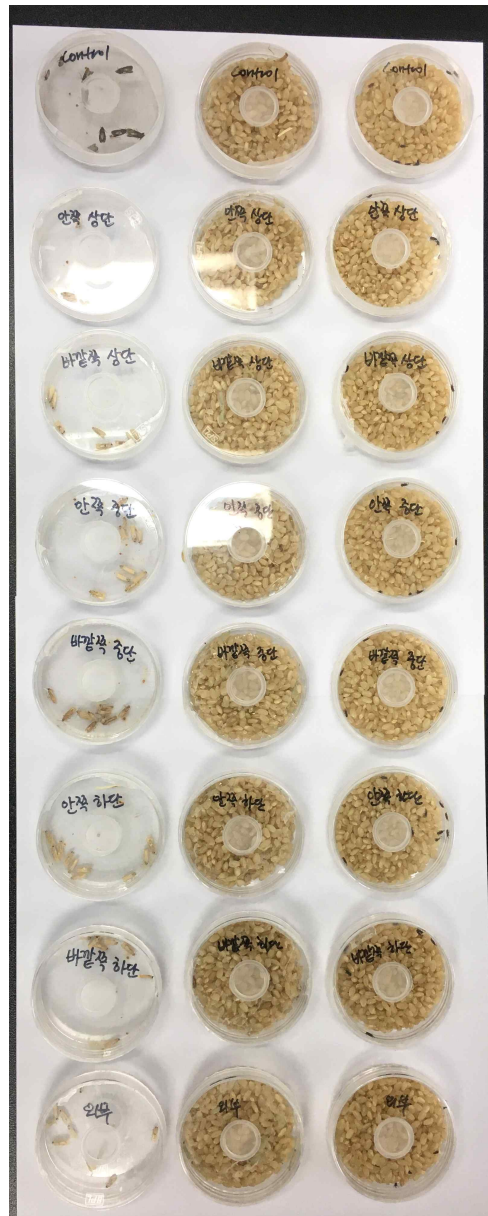


Fig 48. 이산화염소 처리 후 치사 상태

위 결과를 조합해본 결과 화랑곡나방 성충은 100%의 치사율을 나타내고 어리쌀바구미의 경우 처리 후 5일 뒤에 치사율이 증가하나 100%의 치사율을 확인하긴 어려웠다. 화랑곡나방유충에 경우 치사율이 다른 개체에 비해 낮았으나 최대 40%까지 나타내는 것을 확인하였다.

2. 우리나라 주요 곡물 창고 수준의 이산화염소 처리 실증 ; 창고 내 곡물과 저곡해충을 삽입 후 이산화염소처리를 통한 농산업 현장 처리모델 구축

실험방법)

우리나라 주요 곡물창고 수준의 이산화염소 처리 실증 실험을 위해 실제 저장창고를 대상으로 이산화염소 처리 시 화랑곡나방유충, 성충, 어리쌀바구미의 치사율을 확인하였다. 경상북

도 의성 미곡처리장(RPC)과 충청북도 진천 미곡처리장 두곳에서 실험을 진행하였다. 의성 RPC에서는 3개의 사일로를 이용하였고 사일로의 크기는 약 80 m³ 이다. 현장에서는 팜이버스터를 이용하여 이산화염소를 처리하였다. 이산화염소 농도는 300ppm 키트 1개, 100ppm 키트 2개로 유지하였다. 처리시간은 팜이버스터 투입 2시간 처리 후 1시간 배기 하였다. 진천 RPC에서는 약 36.78 m³ 의 사일로에서 처리하였다. 이산화염소의 농도는 팜이버스터 300ppm 키트 1개를 사용하였으며, 3시간 처리 후 1시간 배기 후 회수하였다. 본실험에 사용된 공시충은 화랑곡나방유충, 성충, 어리쌀바구미로 각 30마리씩 투입하였다.

실험결과)

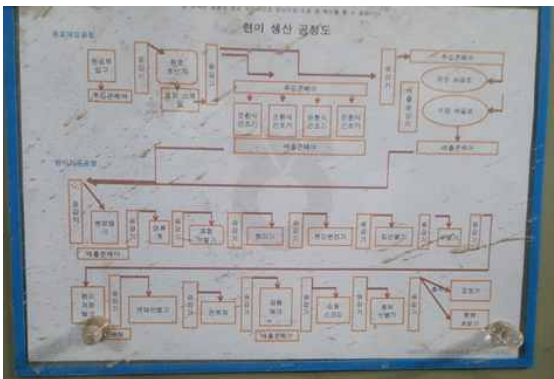


Fig 49. 진천RPC 현장답사시 현미공정도(왼쪽 위) 및 공정라인

진천RPC 현장답사에서 확인한 결과, 창고내부와 사일로 내부, 그리고 공정라인 중 파이프 관에 저곡해충들이 있어 오염되는 것을 확인하였다. 이를 통하여 곡물에 직접처리하여 해충을 방제하는 것과 RPC 창고의 공간살균이 함께 병행 되어야한다.



Fig 50. 의성 RPC현장(왼쪽) 실제 사일로 이산화염소 처리 후 치사 상태(오른쪽)

Table 40. Insect mortality after gaseous ClO₂ treatment in rice processing complex(RPC)

	Insect mortality (%)					
	<i>P. interpunctella</i> (L)		<i>P. interpunctella</i> (A)		<i>S. zeamais</i>	
	DAT0	DAT5	DAT0	DAT5	DAT0	DAT5
Control	1	3	0	84	42	100
Treatment	2	3	0	87	50	100

의성 RPC에서 진행한 실험결과 처리 5일후에 화랑곡나방성충과 어리쌀바구미에서 87%와 100%의 치사율을 나타냈다. 하지만 무처리구에서 비슷한 양상을 나타냈다. 화랑곡나방유충도 3%로 무처리구와 같은 양상을 나타냈다.



Fig 51. 진천 RPC현장(왼쪽) 실제 사일로 이산화염소 처리 후 치사 상태(오른쪽)

Table 41. Insect mortality after gaseous ClO₂ treatment in rice processing complex(RPC)

	Insect mortality (%)					
	<i>P. interpunctella</i> (L)		<i>P. interpunctella</i> (A)		<i>S. zeamais</i>	
	DAT0	DAT5	DAT0	DAT5	DAT0	DAT5
Control	0	0	0	0	6	6
Treatment	0	10	83	100	0	6

진천 RPC에서의 처리 후 치사율은 화랑곡나방 성충은 처리 직후 83%의 치사율을 나타내고 5일 후에는 100%의 치사율을 확인하였다. 화랑곡나방 유충은 10%, 어리쌀바구미는 6%의 치사율을 나타냈다. 진천 RPC 처리때보다 높아진 치사율을 확인할 수 있다.

이러한 결과를 보았을 때 처리시간을 기존 컨테이너 사이즈에 시간과 같은 24 h으로 처리하면 더 높은 치사율을 확인할 수 있을 것이라 예상된다. 이같이 현장에 밀폐와 사일로의 크기, 곡물적재 등 환경조건들을 정확하게 파악하고 현장에 맞는 처리시간과 농도를 이용한다면 좋은 방제효과를 기대할 수 있을것이라 예상된다.

3. 곡물의 해충 방제 처리 후의 저장 기간 중 품질 변화양상 조사 ; 처리 후 저장 기간별 품질변화 양상 모니터링

실험방법)

이산화염소 처리 후 저장기간 중 품질 변화양상 조사를 위해 컨테이너 실험에 사용된 조곡을 이용하여 조곡에 남아있는 이산화염소의 잔존률을 측정하는 실험을 실시하였다. 200ppm 24 h 처리된 조곡을 톤백 내부 상층, 중층, 하층에서 샘플링 하여 7일 간 보관하며 잔존률을 확인하였다. 각 층에서 100g을 샘플링하여 증류수 900ml에 넣은 후, 200RPM에서 20분간

shaking 후, AutoCAT 9000(HACH, Chlorine Amperometric Titrator, USA)을 이용하여 이산화염소 잔존량을 측정하였다.(그림 52)

종자 발아율 테스트를 위해서 이산화염소에 50, 100, 200ppm 에 시간별로 처리하여 100립씩 3반복으로 치상 후 28℃ 조건에서 7일간 발아율을 조사하였다.

종자의 활성을 확인할 수 있는 Tetrazolium staining을 이용하여 50, 100, 200ppm에 24 h 처리 후 확인하였다.



Fig 52. 이산화염소 잔류량 측정장치(AutoCAT)

실험결과)

Table 42. Residues from rice seeds after ClO₂ gas treatment in warehouse

		Chlorine ^a	ClO ₂	Chlorite
Control		0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Top	DAT1	0.00 ± 0.00	1.72 ± 0.05	0.61 ± 0.16
	DAT3	0.00 ± 0.00	1.60 ± 0.01	0.85 ± 0.17
	DAT5	0.00 ± 0.00	1.24 ± 0.08	0.97 ± 0.04
	DAT7	0.04 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.07 ± 0.01
Middle	DAT1	0.00 ± 0.00	1.22 ± 0.11	1.01 ± 0.17
	DAT3	0.40 ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.76 ± 0.03
	DAT5	0.44 ± 0.07	0.00 ± 0.00	0.83 ± 0.14
	DAT7	0.03 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.05 ± 0.00
Bottom	DAT1	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	DAT3	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	DAT5	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	DAT7	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

^a unit; mg/kg grain

이산화염소 처리 후 조곡에 남아있는 잔존물을 측정된 결과 처리 1일차에는 상층과 중층에서 이산화 염소 잔존물이 검출되었다. 하층에서는 처리 1일부터 이산화염소의 잔존이 측정되지 않았다. 중층에서는 처리 후 3일차부터 잔존물이 검출되지 않았고, 상층에서는 7일에 검출되지 않았다. 또한 이산화염소 잔존량 측정시 같이 측정되는 Chlorine과 Chlorite 도 저장기간이 지날수록 점차 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 이는 이산화염소가 톨백 내부에서 최종적으로 검출이 되지 않으려면 7일간 저장기간을 거쳐야한다는 것을 알 수 있다. (표 42.)

Table 43. Seed testing result of rice and wheat after treatment with 50 ppm gaseous ClO₂

Treatment time (h)	Normal seedling (%) ^a	Abnormal seedling (%)	Fresh seed (%)	Dead seed (%)	Hard seed (%)
Rice					
0	77.50 ± 1.50 a	9.50 ± 1.50 b	2.50 ± 0.50 a	0.50 ± 0.50 a	9.50 ± 0.50 a
6	76.67 ± 3.18 a	11.33 ± 2.19 ab	3.00 ± 1.15 a	0.00 ± 0.00 a	9.00 ± 0.58 a
12	75.33 ± 2.96 a	9.33 ± 1.76 b	2.67 ± 0.88 a	0.00 ± 0.00 a	12.00 ± 1.00 a
24	67.33 ± 3.84 a	16.33 ± 0.67 a	4.00 ± 0.58 a	0.00 ± 0.00 a	13.00 ± 3.51 a
48	68.33 ± 2.33 a	15.00 ± 2.00 ab	3.67 ± 1.20 a	0.33 ± 0.33 a	12.33 ± 1.20 a
Wheat					
0	83.50 ± 4.50 a	8.00 ± 1.00 ab	8.50 ± 3.50 c	0.00 ± 0.00 b	0.00 ± 0.00 a
6	84.33 ± 0.88 a	8.67 ± 0.67 ab	7.00 ± 1.53 c	0.00 ± 0.00 b	0.00 ± 0.00 a
12	51.00 ± 3.00 b	15.33 ± 2.85 a	35.00 ± 4.51 b	0.00 ± 0.00 b	0.00 ± 0.00 a
24	38.67 ± 3.18 c	12.33 ± 2.03 a	49.00 ± 2.65 a	0.67 ± 0.33 a	0.00 ± 0.00 a
48	36.33 ± 2.40 c	5.33 ± 3.38 b	58.33 ± 5.78 a	0.00 ± 0.00 b	0.00 ± 0.00 a

^a Values are means ± standard error (n = 3). Different lowercase letters indicate significant differences, according to the least significant difference test at $P < 0.05$. Arcsine square root-transformed data were used for statistical analysis of seed germination; however, untransformed data are presented.

조곡과 밀의 이산화염소 50ppm 처리 후 발아력을 검정하였다. 그 결과, 조곡에서는 이산화염소 6~48 h 처리 모두 통계적으로 차이가 없는 것을 확인하였다. 밀에 경우에는 12 h부터 유의한 차이를 보이며 발아율이 감소하는 것을 확인하였다. (표 43.)

Table 44. Seed testing result of rice and wheat after treatment with 100 ppm gaseous ClO₂

Treatment time (h)	Normal seedling (%) ^a	Abnormal seedling (%)	Fresh seed (%)	Dead seed (%)	Hard seed (%)
Rice					
0	74.67 ± 4.49ab	5.33 ± 1.08 b	9.67 ± 2.94 a	2.67 ± 1.78 a	7.33 ± 2.16 ab
6	81.67 ± 2.73 a	6.33 ± 2.19 b	6.33 ± 2.03 a	2.33 ± 0.88 a	3.67 ± 0.33 b
12	68.67 ± 1.33 b	9.67 ± 2.33 ab	11.33 ± 2.40 a	1.67 ± 0.33 a	8.67 ± 0.88 a
24	67.00 ± 3.79 b	14.00 ± 2.65 a	10.33 ± 1.20 a	0.67 ± 0.67 a	8.00 ± 1.53 a
48	67.33 ± 1.45 b	13.33 ± 2.73 a	13.00 ± 3.51 a	0.33 ± 0.33 a	5.67 ± 1.45 ab
Wheat					
0	81.00 ± 10.00 a	4.00 ± 3.00 c	15.67 ± 7.17 c	0.33 ± 0.33 a	0.33 ± 0.33 a
6	77.67 ± 8.25 a	5.67 ± 2.40 bc	16.67 ± 6.23 c	0.00 ± 0.00 a	0.00 ± 0.00 a
12	48.00 ± 2.31 b	16.67 ± 0.67 a	35.00 ± 2.52 b	0.00 ± 0.00 a	0.00 ± 0.00 a
24	45.67 ± 2.19 b	13.00 ± 0.58 ab	42.67 ± 1.45 b	0.00 ± 0.00 a	0.00 ± 0.00 a
48	37.00 ± 4.51 b	1.33 ± 1.33 c	61.67 ± 3.93 a	0.00 ± 0.00 a	0.00 ± 0.00 a

^a Values are means ± standard error (n = 3). Different lowercase letters indicate significant differences, according to the least significant difference test at $P < 0.05$. Arcsine square root-transformed data were used for statistical analysis of seed germination; however, untransformed data are presented.

Table 45. Seed testing result of rice and wheat after treatment with 200 ppm gaseous ClO₂

Treatment time (h)	Normal seedling (%) ^a	Abnormal seedling (%)	Fresh seed (%)	Dead seed (%)	Hard seed (%)
Rice					
0	73.00 ± 4.64 a	20.67 ± 4.97 a	3.67 ± 0.41 a	0.00 ± 0.00 b	3.67 ± 1.47 a
24	70.67 ± 3.33 a	14.00 ± 3.51 a	4.00 ± 0.58 a	5.67 ± 0.33 a	5.67 ± 0.88 a
Wheat					
0	92.33 ± 3.56 a	3.67 ± 1.78 a	1.67 ± 1.08 b	2.33 ± 1.08 b	0.00 ± 0.00 a
24	46.00 ± 1.00 b	12.00 ± 3.21 a	34.33 ± 3.71 a	7.67 ± 1.45 a	0.00 ± 0.00 a

^a Values are means ± standard error (n = 3). Different lowercase letters indicate significant differences, according to the least significant difference test at $P < 0.05$. Arcsine square root-transformed data were used for statistical analysis of seed germination; however, untransformed data are presented.

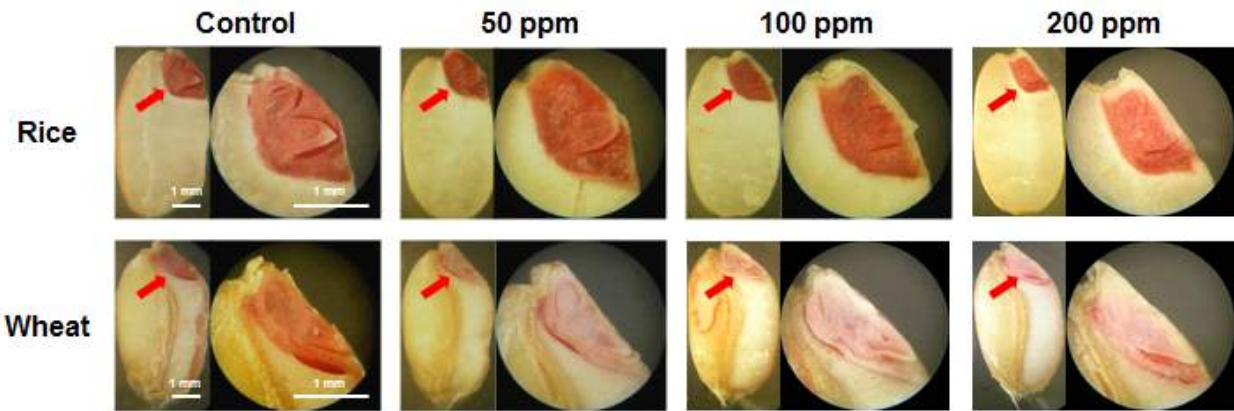


Fig 53. Tetrazolium staining of viable cell in rice and wheat seeds after ClO_2 gas treatment or un-treatment. Viable cell in seed were stained by using 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride (TTC) solution. Rice and wheat seeds were treated 50 ppm, 100 ppm and 200 ppm of gaseous ClO_2 for 24 h. The experiment were conducted twice with three replicates each.

Tetrazolium staining을 이용하여 종자의 활력을 확인해본 결과 같은 시간에 농도가 높아짐에 따라 종자의 활력이 감소되는 것을 확인할 수 있었다. (그림 53.) 또한 염색의 흐려짐이 뿌리부터 연해지는 것을 확인할 수 있었다. 이는 이산화염소에 의해 데미지를 입은 종자는 뿌리부터 망가지는 것을 나타낸다.

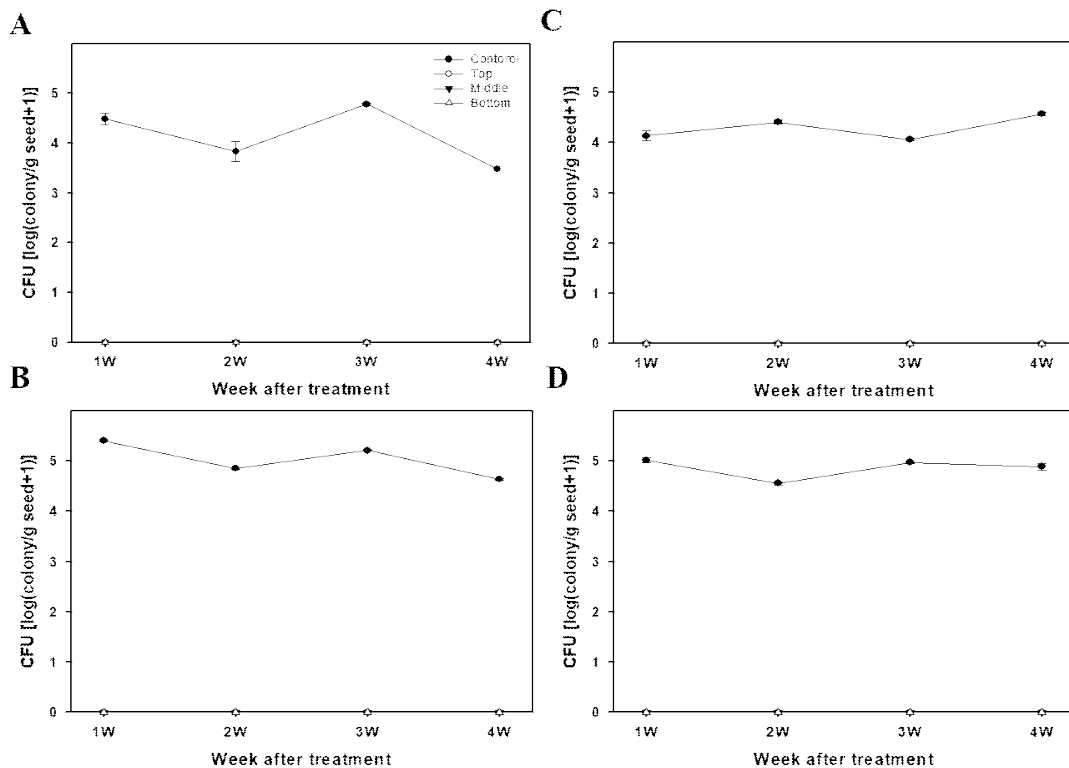


Fig 54. A, 실험 1; B, 실험 2; C, 실험 3; D 실험 4

앞선 실험들을 통해 곤충을 억제할 수 있는 ClO₂ 가스 농도로 저장곰팡이를 억제할 수 있는지 확인하기 위해 다음 실험을 실시하였다.

네 번에 걸쳐 50 g 의 쌀에 1X10⁵ conidiospore/g seed 의 농도로 곡물에 micotoxin을 축적하는 저장 곰팡이로 알려진 *Aspergillus ochraceus* 를 접종하여 공기가 통하는 망에 넣었다. 가스 처리 컨테이너에 1 톤의 쌀을 툰백에 넣고, 곰팡이를 접종한 쌀이 든 망을 상 (Top), 중 (Middle), 하 (Bottom)에 나누어 넣었다. 이후 곤충의 처리와 같이 24 시간 동안 200 ppm의 ClO₂ 가스를 처리하였다. 위 그림에서 확인 할 수 있는 것과 같이, 네 번에 걸친 모든 실험 처리에서 Control에서만 4 주 동안 접종한 농도인, 1X10⁵ colony/g seed 가 대략적으로 유지되고, 나머지 모든 처리에서, 툰백에 넣은 위치와 상관없이 4 주 동안 곰팡이가 전혀 확인되지 않았다. 이 실험을 통해, 이번 과제에서 밝혀 낸 처리 방법으로 보관 중 곡물에서 곤충은 물론 저장곰팡이 또한 억제시킬 수 있었다.

2장. 곡물 저장시설에서의 이산화염소 훈증처리를 통한 저장해충 관리 기술 개발

1절. 저장해충 종 선정 및 대량사육 시스템 구축과 이산화염소 가스에 대한 해충의 생태적 특성 검토

1. 실험에 적합한 대상 저장해충 종 선정 및 대량사육 시스템 구축

: 저장곡물 대상 해충개체군의 대량 사육시스템 구축을 통한 연령구조 체계 확립

본 연구의 대상 해충으로 선정된 나비목(Lepidoptera), 명나방과(Pyralidae)의 화랑곡나방(Indian meal moth)은 전 세계적으로 다양한 종류의 곡물과 저장물을 가해하는 저장해충 중 매우 심각한 피해를 야기하는 해충 중으로 저장곡물이나 식품을 갹아먹거나 섭식하여 직접적으로 제품의 수량이나 품질에 피해를 주거나 실크와 같은 분비물이나 배설물 등에 의하여 제품의 간접적인 피해를 초래한다. 또한, 딱정벌레목(Coleoptera), 바구미과(Curculionidae)인 어리쌀바구미(Maize weevil)의 경우 쌀을 주식으로 하는 우리나라를 비롯하여 동남아시아를 포함한 여러나라의 저장시설에 저장 중인 쌀에 많은 피해를 야기하고 있다. 따라서 저장시설 내 저장해충의 피해를 예방하고 최소화하기 위하여 독성이 강하고 생태계에 부작용을 일으키는 훈증제(메칠브로마이드, 포스핀 등)와 같은 농약의 대체제로 이산화염소 가스를 이용한 저장시설 내에서의 저장해충 방제에 대한 연구를 위하여 화랑곡나방과 어리쌀바구미가 적절한 대상해충 종으로 판단되었다.



그림 1. 화랑곡나방 성충, 유충, 알



그림 2. 어리쌀바구미 성충

가. 화랑곡나방의 대량사육 및 연령구조 조절

본 연구에 사용된 화랑곡나방(*Plodia interpunctella* H.)은 고려대학교 생명과학대학 개체군생태학 실험실에서 인공사료를 제공하여 누대사육한 계통으로, 다음과 같은 조건으로 연령구조를 조절하였다.

- 우화 후, 48시간 미만의 화랑곡나방 채집
- 플라스틱 페트리디쉬 (직경 10cm)에서 24시간 산란 유도 후 알 확보
- 인공사료(쌀겨 800g, yeast extract 200g, glycerol 500ml, methyl p-hydroxybenzoate 2g, sorbic acid 2g) 제공
- 사료제공 후 온도 $30\pm 0.5^{\circ}\text{C}$, 상대습도 60~70%, 항온항습기(JISICO)에서 대량 사육하면서 연구에 필요한 발육단계 별 곤충을 사용하였으며, 위의 방법을 반복하면서 화랑곡나방의 대량사육 및 연령구조를 조절하였다.



그림 3. 화랑곡나방 대량사육 및 연령구조 조절

나. 어리쌀바구미의 대량사육 및 연령구조 조절

본 연구에 사용된 어리쌀바구미(*Sitophilus zeamais* M.)은 고려대학교 생명과학대학 개체군생태학 실험실에서 현미(품종: 추청)를 제공하여 누대사육한 계통으로, 다음과 같은 조건으로 연령구조를 조절하였다.

- 우화 후 일주일 미만의 어리쌀바구미 성충을 채집
- 현미(400g)가 들어있는 플라스틱 브리딩디쉬 (직경 12cm, 높이 8cm)에서 어리쌀바구미 성충 30쌍을 접종한 후 48시간 산란을 유도
- 성충 제거 후 온도 $28\pm 0.5^{\circ}\text{C}$, 상대습도 60~70%, 항온항습기(JISICO)에서 대량 사육하고, 연구에 필요한 성충을 사용하였다.
- 제거한 성충을 새로운 현미가 들어있는 브리딩디쉬에 계속 접종하고, 위의 방법을 반복하여 어리쌀바구미의 대량사육 및 연령구조를 조절하였다.



그림 4. 어리쌀바구미의 대량사육 및 연령구조 조절

2. 실험실 내 실험을 통한 이산화염소 가스의 대상 저장해충에 대한 살충력 검증

: 실험실 내 설치된 소규모의 이산화염소 가스 처리 장치를 이용한 농도별, 시간별 대상 해충에 대한 발육단계 별 생존률 및 치사율 분석을 통한 치사효과 분석

실험실 내에 설치된 이산화염소 가스 처리 장치를 이용하여 ClO₂의 농도 별, 처리시간 별, 대상해충인 화랑곡나방과 어리쌀바구미의 발육단계 별 치사효과를 검증하였다.



그림 5. 이산화염소 가스 발생 장치

가. 이산화염소 가스 100ppm 처리 시 살충력 분석

그림 6에 이산화염소 가스 농도 100ppm 처리시간 별 화랑곡나방 성충 치사율을 나타내었다. 대조구(0시간)와 1시간 처리의 경우 1일 후 치사율이 각각 0%, 2.56%로 나타났으며 이후 시간경과에 따라 유사한 양상을 보인다 처리 10일 후 두 처리 모두에서 치사율이 100%에 도달하였다. 6시간 처리에서는 처리 1일 후 43.59%의 치사율을 보였으며 3일 후 89.74%, 4일 후 100% 치사율을 나타냈으며, 12시간 처리의 경우 처리 3일후 100%의 치사율을 보였으며, 24시간 처리의 경우는 처리 1일 후 모든 성충개체가 사망하여 100% 치사율을 보였다.

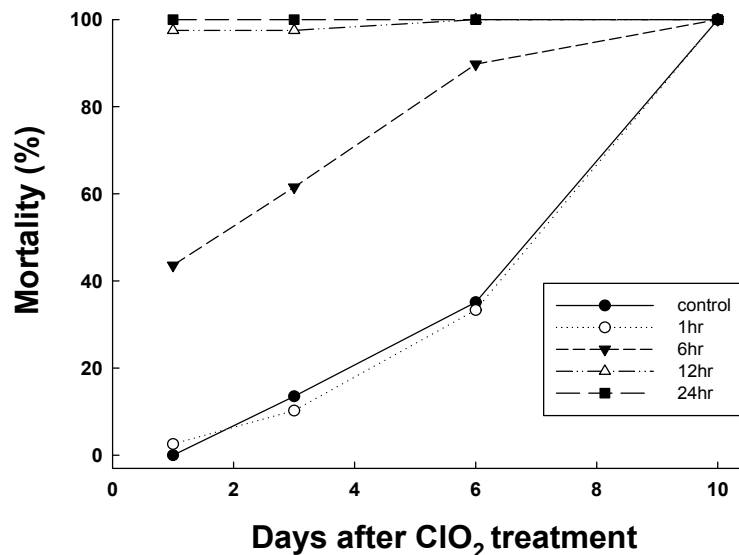


그림 6. 이산화염소가스 100ppm 처리시간별 화랑곡나방(*P. interpunctella*) 성충 치사율

이산화염소가스 100ppm 처리시간별 화랑곡나방 유충의 치사율을 그림 7에 나타내었다. 대조구(0시간)와 1시간 처리에서는 조사기간 중 치사율이 0%였으며, 6시간의 경우 처리 5일 후 6.25%, 8일 후 12.5%의 치사율을 보였다.

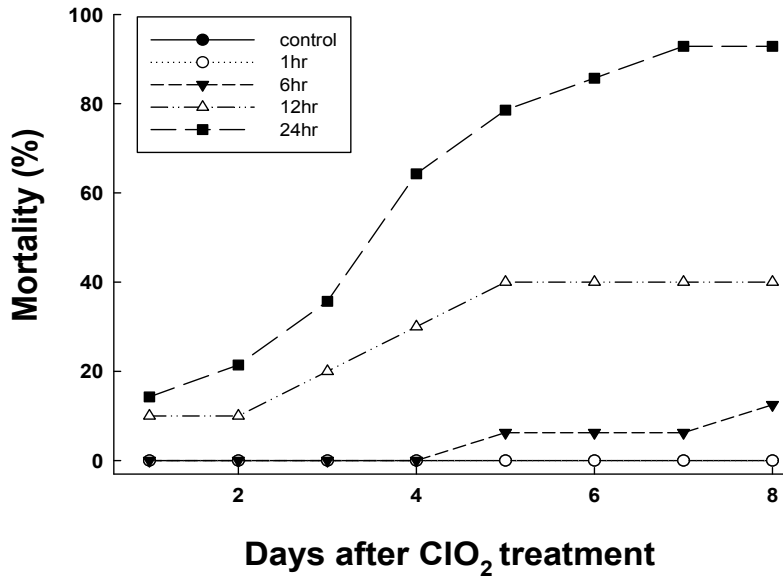


그림 7. 이산화염소가스 100ppm 처리시간별 화랑곡나방(*P. interpunctella*) 유충 치사율

12시간 처리의 경우 처리 5일 후 40%의 치사율에 도달하여 조사기간 동안 계속 40%로 유지되었으며, 24시간 처리에서는 4일 후 60%, 8일 후 92.86%의 치사율을 나타냈다. 유충 치사율 조사의 경우 조사기간 동안 치사율이 100%로 도달하지 못한 이유는 유충이 조사기간 중에 용화되어 발육상태가 번데기 단계로 넘어갔기 때문이다. 번데기 단계로 넘어간 유충은 생존한 것으로 판단하여 유충의 치사율을 추정하였다. 화랑곡나방의 말령(4~5령) 유충의 경우 외부환경이 불리해지면 발육을 멈추고 번데기로 단계로 들어가는 경향을 보이는 것으로 알려져 있는데, 이산화염소가스가 유충에게 불리한 영향을 미친 것으로 생각되었으며, 이러한 결과는 화랑곡나방 유충의 경우 적어도 이산화염소가스의 농도 100ppm에서 24시간 이상을 처리해야만 만족스런 치사효과를 얻을 수 있는 것으로 판단되었다.

이산화염소가스를 농도를 100ppm으로 시간별로 처리한 후 처리시간 별 어리쌀바구미 성충의 치사율을 그림 8에 나타냈다. 대조구(0시간)의 경우 처리 후 6일 경과 후 1.67%의 치사율을 보였으며, 처리 후 14일까지 치사율이 1.67%로 유지되었으며, 1시간 처리의 경우 11일째 1.67%, 12일 이후부터 3.33%로 유지되었다.

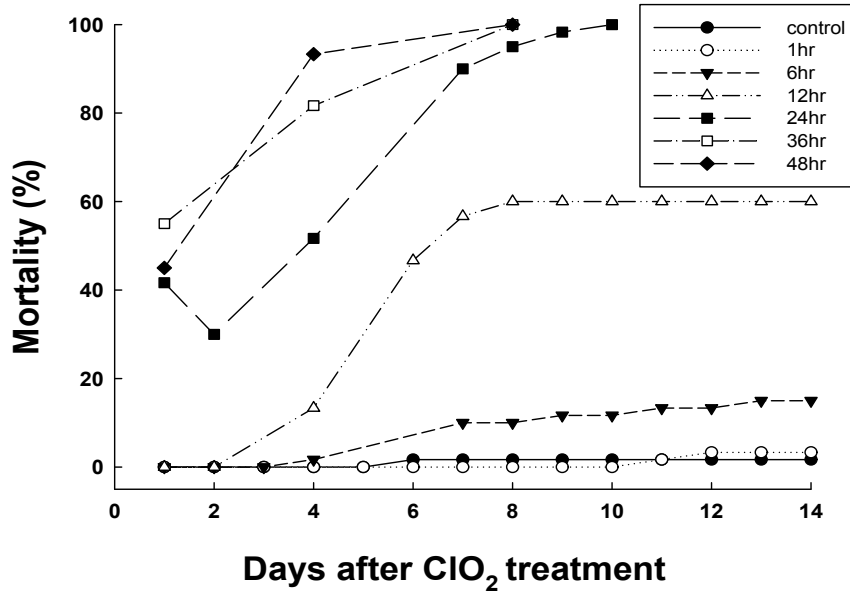


그림 8. 이산화염소가스 100ppm 처리시간별 어리쌀바구미(*S. zeamais*) 성충 치사율

6시간 처리의 경우 4일째 1.67%, 14일 경과 후 10%였으며, 이후 11.67~15% 내외로 치사율이 변동하였으며, 12시간 처리 시 4일째 13.33%, 8일째 56.67%, 9일 이후 60%로 조사되었으며, 24시간 처리의 경우 1일 후 41.67%, 2일째 30%로 다소 낮아졌다가 7일째 90%, 10일 경과 후 100%의 치사율을 보였다. 2일째 치사율이 41.67%에서 30%로 낮아진 이유는 첫날 조사 시 너다운 저항성 때문인 것으로 판단된다. 36시간 처리 시 1일 경과 후 55%, 4일째 81.67%, 7일 경과 후 100%의 치사율을 보였으며, 48시간 처리의 경우 1일째 45%, 4일째 93.33%, 7일 경과 후 100%의 치사율을 나타냈다. 본 실험은 각 3반복 씩 실시되었으며, 이산화염소 가스 처리 후 14일 동안 조사가 진행되었다.

표 1에 이산화염소 가스 100ppm 처리시간 별 화랑곡나방의 알, 유충, 번데기, 성충 등의 발육단계 별 평균 치사율을 보였다. 알의 경우 처리 0시간과 1시간에서 각각 47.3과 43.3%로 유사하게 나타났으며, 유충의 경우 38.3과 20%를 보였으나, 양쪽 모두 6시간 처리 시부터 94%, 100%로 급격하게 치사율이 증가하기 시작하여 12시간 처리에서는 100%에 가깝게 도달하였다.

표 1. 이산화염소 가스 100ppm 처리시간에 따른 화랑곡나방 발육단계 별 평균 치사율(%)

ClO ₂ 처리시간	0h	1h	6h	12h	24h	36h	48h
알	47.3	43.3	94	100	100	-	-
유충	38.3	20	100	98.3	100	-	-
번데기	16.7	16.7	28.3	40	80	95	100
성충	0	1.7	48.3	98.3	100	100	100

번데기의 경우 0~12시간 처리시간에서는 16.7~40% 내외의 치사율을 보였으며 24시간 처리에서 급격하게 증가하여 48시간에서 처리에는 치사율이 100%에 이르렀다. 성충의 경우도 0~6시간 처리에서 0~48.3%의 치사율을 보였으나, 12시간 처리 시부터 급격하게 증가하여 24시간 처리 시 100%에 이르렀다.

화랑곡나방의 알과 번데기에 대한 이산화염소 가스 치사율 실험에서는 가스 처리 후 바로 알과 번데기의 생존 여부를 육안으로 판단하기 불가능하여, 알의 경우는 처리 후 14일 정도 경과한 후 부화한 2령 이상의 유충 수를 조사하여 치사율을 추정하였으며, 번데기의 경우도 우화한 성충 수를 토대로 치사율을 추정하였다. 그러나 화랑곡나방의 부화율과 우화율이 자연치사율에도 영향을 받으므로 이러한 결과가 직접적인 이산화염소 가스에 의한 알과 번데기의 치사율이라 판단하기 어려웠으므로, 화랑곡나방의 알과 번데기의 치사율은 자연치사율과 이산화염소 가스 100ppm에 의한 치사율이 통합되어 나타난 것으로 판단되어야 할 것이다.

나. 이산화염소 가스 200ppm 처리 시 살충력 분석

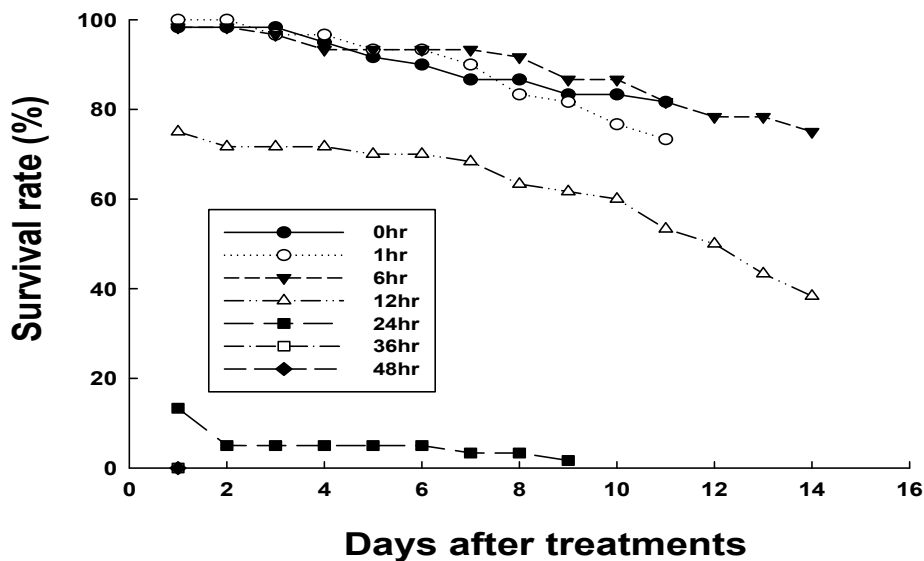


그림 9. 이산화염소 가스 200ppm 처리시간 별 화랑곡나방 유충 생존률

화랑곡나방 4령 유충에 이산화염소 가스 농도 200ppm을 0, 1, 6, 12, 24, 36, 48시간 처리하였을 때의 유충 개체군의 생존을 변동 상황을 그림 9에 나타내었다. 0, 1, 6시간 처리의 경우 처리 후 1일째 98~100%의 생존률을 보이며 시간이 경과함에 따라 서서히 생존율이 감소하여 73~81%의 생존률을 보이는 유사한 형태를 보였으며, 12시간처리의 경우 처리 후 1일째 75%를 보이다 서서히 감소하여 38.3% 까지 감소하는 경향을 보였으며, 24시간 처리의 경우 처리 후 1일째 매우 낮은 13.3%의 생존률을 보이다 0.57%까지 감소하였다. 36시간과 48시간 처리의 경우 처리 후 1일째 모든 유충이 치사하여 생존률 0%를 나타냈다. 이러한 결과는 이산화염소 가스를 200ppm 처리 할 경우 24시간 이상 처리해야만 처리 후 1일째 부터 화랑곡나방 유충의 생존률이 매우 낮게 나타나 효과적임을 알 수 있었다.

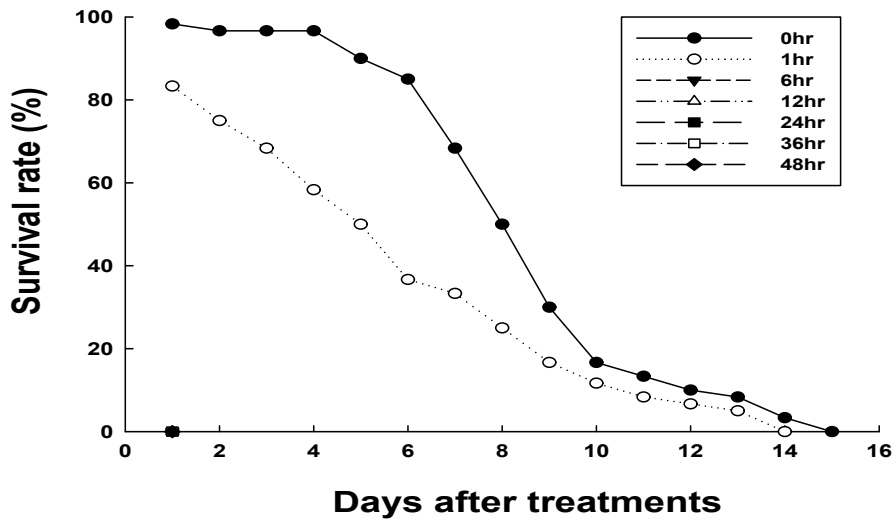


그림 10. 이산화염소 가스 200ppm 처리시간 별 화랑곡나방 성충 생존률

그림 10에 이산화염소 가스 200ppm 처리시간 별 화랑곡나방 성충의 생존률을 보였다. 0시간 처리의 경우 처리후 1째날 100%의 생존률을 보이며 서서히 감소하다 처리 후 6일 쯤부터 급격히 감소하는 경향을 보여 처리 후 15일째 모든 성충 개체가 치사하였다. 1시간 처리의 경우 1째날 83%의 생존률을 보이면서 서서히 감소하여 처리 후 14일째 모든 성충개체가 치사하였다. 그리고 나머지 처리시간에서는 처리 후 1째날부터 화랑곡나방 성충이 100% 치사하여 생존률 0%를 나타냈다. 이러한 결과는 화랑곡나방 성충이 같은 농도의 이산화염소 가스에 동일한 시간으로 노출되었을 경우 유충보다 매우 민감한 반응을 보이는 것으로 판단되었다.

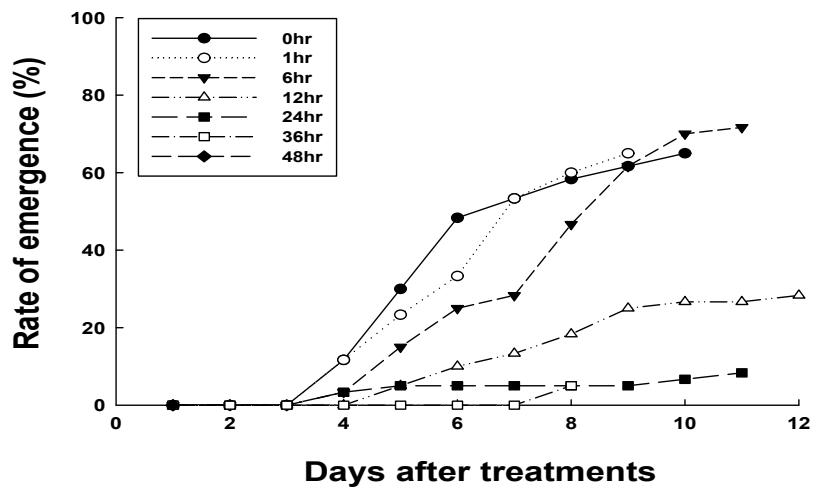


그림 11. 이산화염소 가스 200ppm 처리시간 별 성충 우화율

이산화염소 가스 200ppm을 화랑곡나방 번데기에 시간 별로 처리하였을 때의 성충 우화율을 그림 11에 보였다. 0시간 처리 시 처리 후 4일 이후부터 우화가 발생하기 시작하여 처리 후 10일까지 우화가 지속되었으며, 우화율은 65%까지 증가하였다. 1시간과 6시간 처리에서도 4일 후부터 우화가 시작되어 각각 65%, 71%의 우화율을 나타냈다. 12시간 처리의 경우 우화율이 0, 1, 6시간 보다 매우 낮아져 28.3%로 나타났으며, 24시간 처리의 경우 8.3%, 36시간과 48시간 처리에서는 0%에 가까운 우화율을 나타냈다. 번데기의 경우 이산화염소 가스 200ppm 처리 시 24시간 이상은 처리해야 번데기에서의 치사효과를 볼 수 있을 것이라 판단되었다.

표 2. 이산화염소 가스 200ppm 처리시간 별 화랑곡나방 전체 평균 우화수 및 우화율

처리시간	0hr	1hr	6hr	12hr	24hr	36hr	48hr
우화수 (mean±sd)	9.38±3.87	8.22±4.31	8.04±5.21	3.83±1.77	1.08±0.29	0.33±0.57	0.0±0.0
우화율 (%)	46.91±19.35	41.11±21.54	40.21±26.04	19.17±8.86	5.42±1.48	1.67±0.45	0.0±0.0

표 2는 이산화염소 가스 200ppm 을 번데기에 처리 시 전체 평균 우화수와 우화율을 나타낸 것으로, 우화수의 경우 0시간에서 평균 9.38 마리로 가장 높게 나타났으며 12시간 처리부터 우화수가 3.83마리로 낮아지기 시작하여 36시간 처리와 48시간 처리에서는 평균 우화수가 0마리에 근접하였다. 평균 우화율 또한 0시간 처리에서 46.91%로 가장 높게 나타났고 처리시간이 증가 할수록 점차 낮아지다 24시간 처리 이후부터 급격하게 낮아져 36시간 처리에서 1.67%, 48시간 처리에서는 0%의 성충 우화율을 보였다. 이는 번데기에서의 이산화염소 가스 처리 시간이 증가 할수록 성충 우화율이 낮아짐을 알 수 있었고, 24시간 처리 이후 급격하게 낮아져 효과적인 처리 시간은 24시간 이상 되어야 할 것으로 판단되었다.

표 3. 이산화염소가스 200ppm 처리시간 별 성충수명 및 번데기에서 성충우화까지의 발육기간 (평균±표준편차)

처리시간	0hr	1hr	6hr	12hr	24hr	36hr	48hr
번데기--> 성충(일)	5.98±1.65	5.8±1.54	7.51±1.88	7.78±2.07	6.8±3.42	8.0±0.0	0.0±0.0
성충수명(일)	4.79±2.88	4.37±2.93	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0

이산화염소 가스 200ppm 처리 시 처리시간 별 화랑곡나방 성충 수명 및 번데기에서의 성충 우화까지의 발육기간을 나타냈다. 번데기에 이산화염소 가스 200ppm 처리 시 0시간과 1시간 처리에서 각각 5.98일과 5.8일로 차이가 없었으나 6시간 처리의 경우 7.51일, 36시간 처리의 경우 8.0일로 6시간 처리 이후부터 성충에 이르는 발육기간이 길어짐을 알 수 있었다. 48시간 처리의 경우 우화한 성충이 없는 것으로 조사되었다. 성충 수명의 경우 0시간과 1시간 처

리에서 각각 평균 4.79일, 4.37일로 조사되어 차이가 없는 것으로 나타났으나, 그림 10의 화랑곡나방 성충의 생존율 변동 양상을 보더라도 6시간 처리 이후부터는 수명이 0일로 조사되었다. 이는 번데기의 경우 이산화염소 가스에 노출되는 시간이 증가 할수록 성충으로 우화하는 발육기간이 길어지는 것으로 이러한 원인은 이산화염소 가스가 번데기 상태의 화랑곡나방에게 발육을 지연시키는 생리적인 작용을 유발한 것으로 생각되나 이에 대해서는 좀 더 자세한 연구가 진행되어야 할 것으로 생각되었으며, 6시간 이상의 이산화염소 가스 처리는 성충 수명에 매우 큰 영향을 미치는 것으로 판단되었다.

그림 12는 이산화염소 가스 200ppm 처리시간 별 어리쌀구미 성충의 생존율 변동양상을 나타낸 것으로, 0시간과 1시간 처리 시 1일째 생존율은 각각 95%, 90% 이었으며 이후 급격히 감소하여 4일째 이후 각각 50% 이하, 20% 내외로 감소하였다. 6시간과 12시간 처리에서는 처리 후 4~5일째 생존율이 0%가 되었으며 24시간, 36시간 및 48시간 처리에서는 처리 후 0~1일에 모두 생존율이 0%로 조사되었다. 어리쌀바구미의 경우 성충으로만 실험을 진행한 이유는 알을 곡립 내부에 산란하여 육안으로 관찰이 가능하지 않고 유충의 경우도 곡립내부에서 성장을 하고 곡립외부로 나오면 치사되어 이산화염소 가스 치사력 시험에는 어리쌀바구미 성충만을 이용하였다.

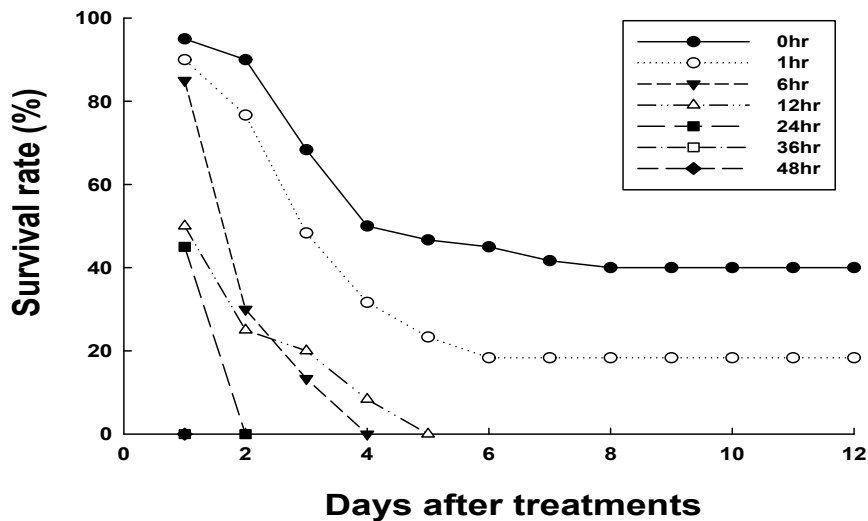


그림 12. 이산화염소 가스 200ppm 처리시간 별 어리쌀바구미 성충 생존율

3. 이산화염소 가스 처리 후 대상 해충개체군에 대한 생태적 특성 검증

: 실험실 내 분석 장비를 이용하여 이산화염소 가스 처리 후 생존하거나 knock-down 저항성 현상을 보이는 개체를 대상으로 생존률, 치사율, 수명 등의 생태적 특성 분석

이전의 실험을 토대로 이산화염소 가스 처리 시 대상 해충들의 치사율에는 크게 영향을 미치지 않는 것으로 판단되는 농도를 이용하여 화랑곡나방과 어리쌀바구미의 발육단계 별

개체를 일정 시간 (0, 6, 12, 24, 48시간) 이산화염소 가스에 노출시킨 후 이들의 생태적 특성을 분석하였다.

가. 이산화염소 가스 50ppm 처리시간 별 화랑곡나방 유충 부화율 분석

화랑곡나방 성충이 산란한 24시간 미만의 50개의 알에 이산화염소 가스 50ppm을 0, 6, 12, 24, 48시간을 처리한 후 부화 유충수와 부화율을 조사한 결과를 그림 13와 14 그리고 표 4에 각각 나타냈다. 0시간 처리 시 부화 유충수는 12~26마리 사이였으며 평균 부화 유충수는 19.5마리였고 부화율은 32~45.3% 사이, 평균 부화율은 39%로 조사되었다. 6시간 처리는 부화 유충수가 19~13마리, 평균 부화 유충수는 16.75마리였으며, 부화율은 28~40.7%로 조사되었다. 12시간 처리에서는 평균 부화 유충수가 13.83마리, 부화율은 27.67마리를 보였다. 24시간 이상 처리 이후 부화수가 급격하게 감소하여 24시간 처리 시 평균 8.67마리, 48시간 처리의 경우는 0.67마리로 매우 낮게 조사되었다 ($F=66.55, df=4, P<0.05$).

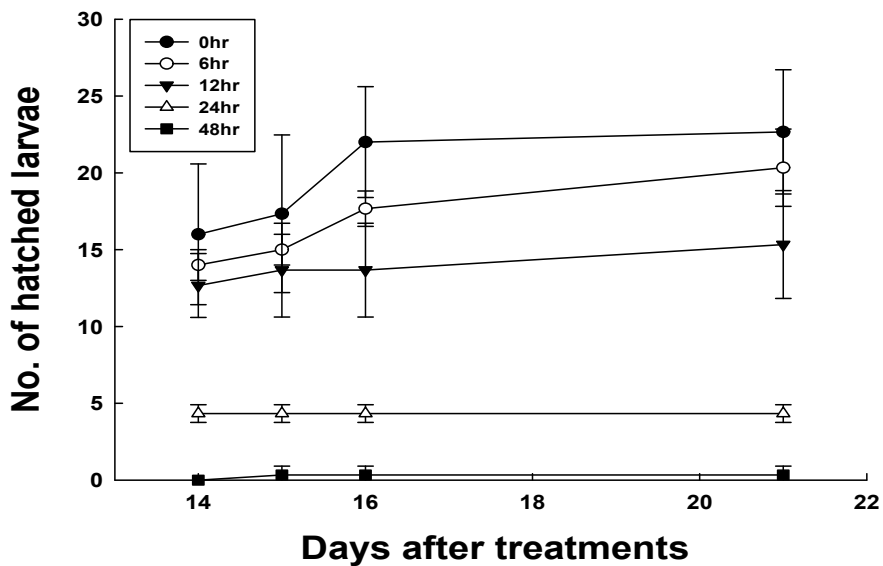


그림 13. 이산화염소 가스 50ppm 처리시간 별 부화 유충수(mean±sd)

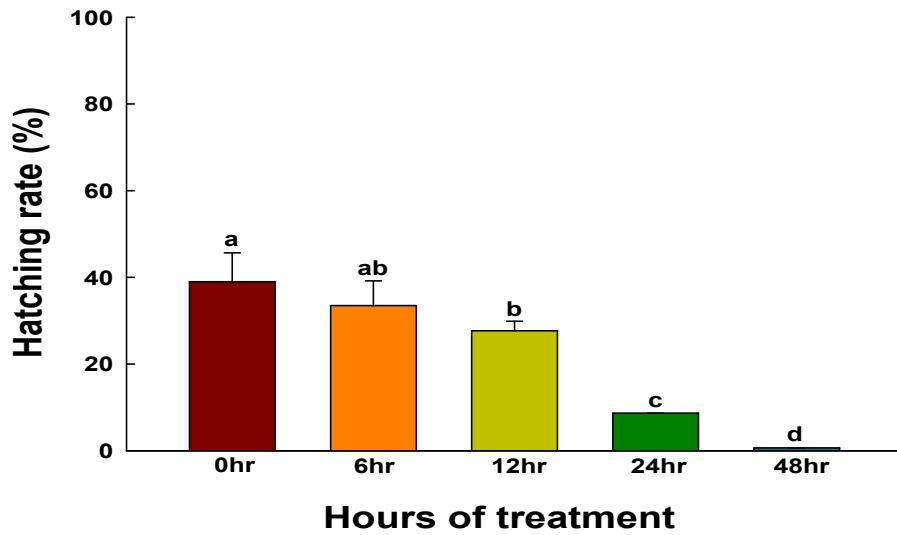


그림 14. 이산화염소 가스 50ppm 처리시간 별 전체 평균 부화율 ($P=0.05$, by DMRT)

표 4. 이산화염소가스 50ppm 각 처리시간 별 화랑곡나방 전체 평균 부화율

처리시간	0hr	6hr	12hr	24hr	48hr
부화율(%) (mean±sd)	39.0±6.66	33.5±5.69	27.67±2.21	8.67±0.01	0.67±0.01

화랑곡나방 4령 유충에 이산화염소 가스 50ppm을 각 시간 별로 처리하여 유충의 생존률 결과를 그림 15에 나타냈다. 0시간의 경우 평균 생존 유충수는 36.85마리였으며, 생존율은 1째 날 99.3%를 보이다 4~5일 이후부터 급격히 감소하는 경향을 보여 15일째까지 59%의 생존율을 나타냈으며, 평균 생존율은 73.7%로 조사되었다. 6, 12, 24시간 처리에서도 평균 생존 유충수는 34.9~38.3마리 사이, 평균 유충 생존율도 76.6~82.5% 사이로 처리시간 별로 커다란 차이를 보이지 않았다.

48시간 처리의 경우 평균 유충수가 34.9마리, 평균 생존율이 68.25%로 다른 처리시간들과는 차이를 보였다 (유충수: $F=5.27$, $df=4$ $P<0.05$, 생존율: $F=2.29$, $df=4$, $P>0.05$). 그림 16에 이산화염소 가스 50ppm 처리시간 별 전체 평균 유충 생존율을 비교한 결과를 보였으며, 표 5에 이산화염소 가스 50ppm 처리시간 별 전체 평균 생존 유충수 및 생존율을 나타냈다.

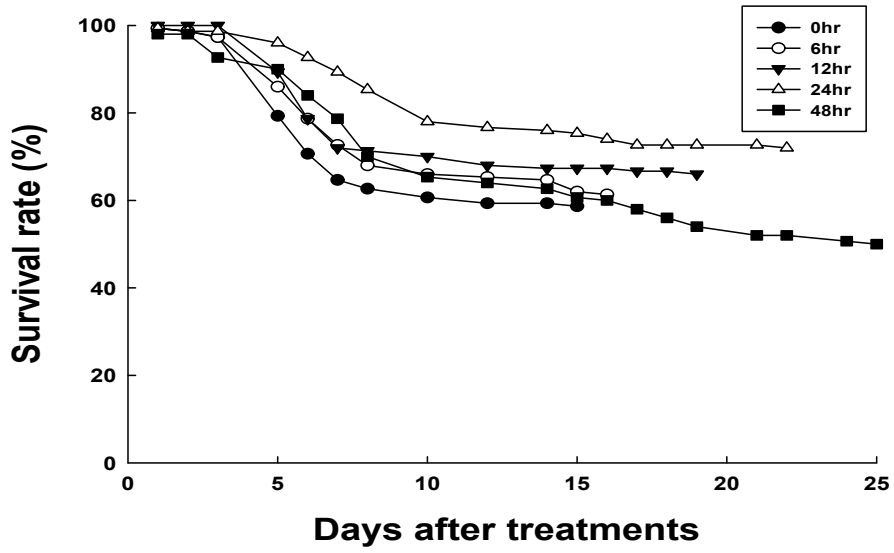


그림 15. 이산화염소가스 50ppm 처리시간 별 화랑곡나방 유충 생존율

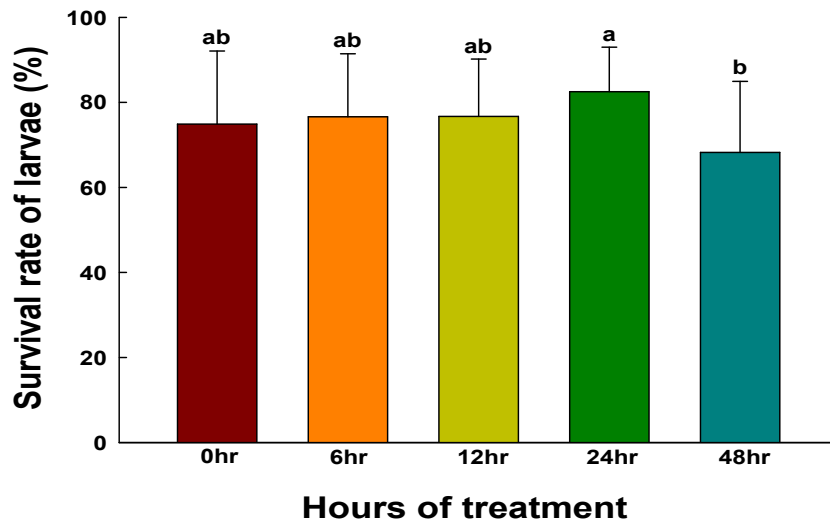


그림 16. 이산화염소가스 50ppm 처리시간 별 화랑곡나방 전체 평균 유충 생존률 ($P=0.05$, by DMRT)

표 5. 이산화염소가스 50ppm 각 처리시간 별 화랑곡나방 전체 평균 유충수 및 생존률

처리시간	0hr	6hr	12hr	24hr	48hr
유충수 (mean±sd)	36.44±8.37 ab	38.31±7.68 bc	38.35±6.95 ab	41.25±5.45 a	34.9±8.46 c
생존률 (%)	73.69±17.01 ab	76.61±14.81 ab	76.71±13.48 ab	82.51±10.46 a	68.25±16.68 b

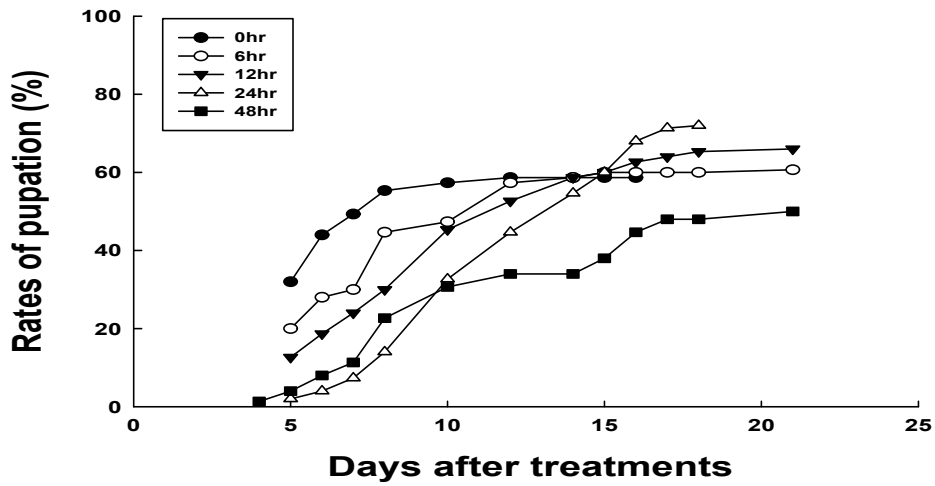


그림 17. 이산화염소 가스 50ppm 처리시간 별 화랑곡나방 용화율

그림 17에 화랑곡나방 4령 유충에 이산화염소 가스 50ppm을 시간 별로 처리하였을 경우 변태기에 이르는 용화율의 변동 상황을 나타냈다. 0시간 처리에서 평균 용화수는 24.7마리로 조사되었고 평균 용화율은 49.4%를 보였다. 6시간에서 24시간 처리까지는 평균 용화율이 39.2~48.9% 사이로 조사되어 0시간 처리와 차이를 보이지 않았으나 48시간 처리에서는 용화수가 14.41마리, 평균 용화율이 28.82%로 다른 처리시간 들과는 유의하게 낮은 차이를 보였다 (용화수: $F=6.53$, $df=4$, $P<0.05$, 용화율: $F=2.26$, $df=4$, $P>0.05$). 그림 18과 표 6에 각각 전체 평균 용화율 비교와 전체 평균 용화수 및 용화율을 보였다.

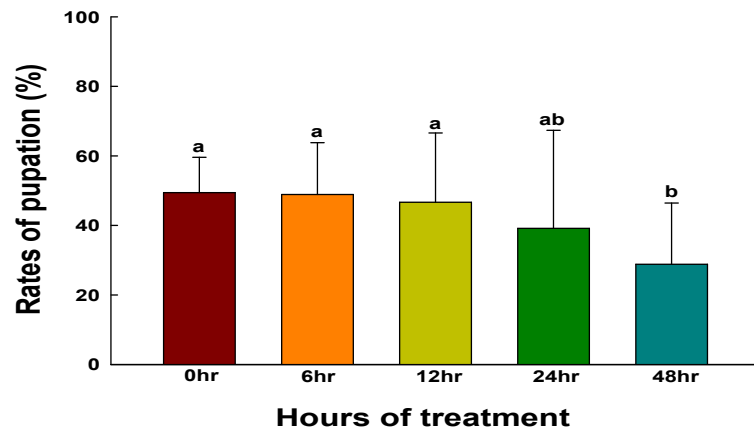


그림 18. 이산화염소가스 50ppm 처리시간 별 화랑곡나방 전체 평균 용화율 ($P=0.05$, by DMRT)

표 6. 이산화염소가스 50ppm 각 처리시간 별 화랑곡나방 전체 평균 용화수 및 용화율

처리시간	0hr	6hr	12hr	24hr	48hr
용화수 (mean±sd)	24.72±6.09 a	24.44±8.75 a	23.33±10.05 a	19.58±13.71 a	14.41±8.79 b
용화율 (%)	49.44±10.15 a	48.89±14.91 a	46.19±19.93 a	39.15±28.21 ab	28.82±17.62 b

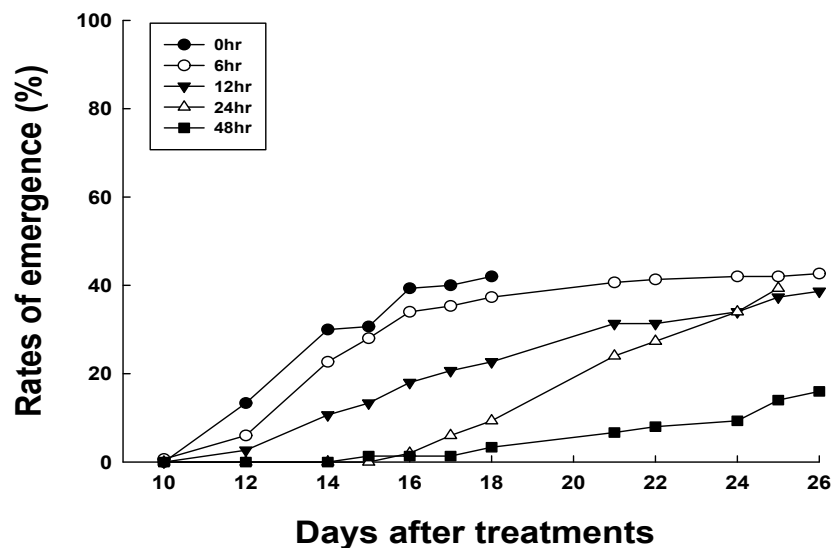


그림 19. 이산화염소 가스 50ppm 처리시간 별 화랑곡나방 성충 우화율

화랑곡나방 4령 유충에 이산화염소 가스 50ppm을 시간별로 처리한 후 성충 우화율 및 우화수를 조사하였다. 그림 19에 시간경과에 따른 성충 우화율 변동 양상을 보였다. 0시간 처리에서는 11일이 경과한 후 성충이 우화하기 시작하여 우화수는 4~24마리 사이로, 평균 우화수는 16.27마리, 평균 우화율은 29.3%로 조사되어, 6시간 처리의 우화수 15.5마리, 우화율 31.1%와 유의한 차이를 보이지 않았으나, 12시간과 2시간 처리의 우화수 11.85마리, 10.14마리와는 유의한 차이를 보였으나 우화율에서는 차이를 보이지 않았다. 그러나 48시간 처리의 우화수 3.4마리, 우화율 6.81%는 모든 다른 처리시간들과는 유의한 차이를 나타냈다 (우화수: $F=17.77$, $df=4$, $P<0.05$, 우화율: $F=5.64$, $df=4$, $P<0.05$). 그림 20과 표 7에 각각 전체 평균 우화율 비교와 평균 우화수 및 우화율을 보였다. 또한, 0시간의 경우 우화율은 다른 처리시간들에 비해 높게 나타났으나, 우화가 발생하는 기간은 7~8내외로 다른 처리시간들 보다 짧게 단축되어 나타났다. 이러한 현상은 낮은 농도라 할지라도 이산화염소 가스에 유충이 노출되면 생리적으로 영향을 받아 발육속도가 늦어질 수 있다는 사실을 보여주는 것이다.

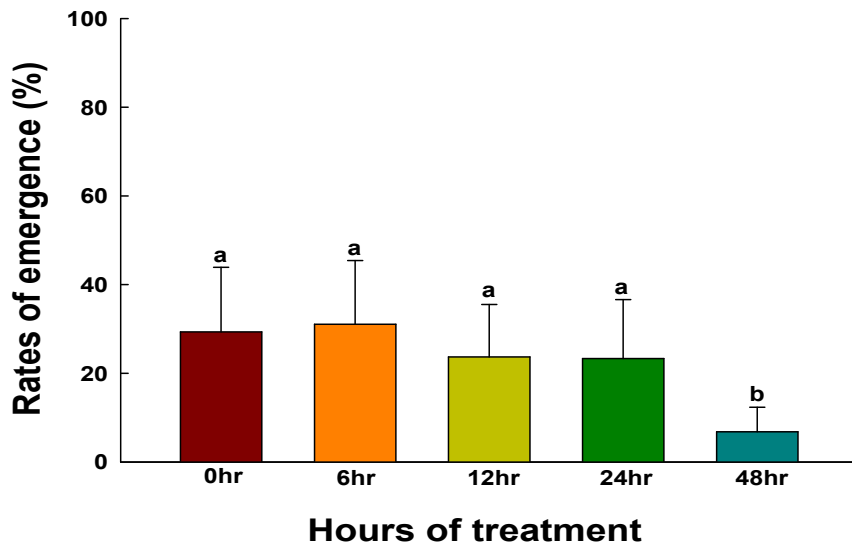


그림 20. 이산화염소가스 50ppm 각 처리시간 별 화랑곡나방 전체 평균 우화율 ($P=0.05$, by DMRT)

표 7. 이산화염소가스 50ppm 각 처리시간 별 화랑곡나방 전체 평균 우화수 및 우화율

처리시간	0hr	6hr	12hr	24hr	48hr
우화수 (mean±sd)	16.28±6.14 a	15.53±7.55 a	11.85±6.24 b	10.14±7.05 b	3.41±3.14 c
우화율 (%)	29.33±14.56 a	31.06±14.36 a	23.69±11.81 a	23.33±13.29 a	6.81±5.55 b

표 8에 이산화염소 가스 50ppm 처리 시 처리시간 별로 4령 유충에서 번데기까지의 기간과 4령 유충에서 성충에 이르는 기간을 조사한 결과를 나타냈다.

표 8. 이산화염소가스 50ppm 처리시간 별 4령 유충에서 용화, 성충 우화시 발육기간(일) (mean±sd)

처리시간	0h	6h	12h	24h	48h
4령유충--> 번데기	6.0±1.47	7.21±2.55	9.35±3.69	11.64±3.41	10.41±4.08
4령유충--> 성충	13.29±1.62	14.98±2.99	17.69±4.28	20.49±2.58	20.65±3.31

0시간에서 6일로 가장 짧게 나타났으며 처리시간이 증가할수록 7.21일에서 11.64일로 발육기간이 길어짐을 알 수 있었으며, 4령 유충에서 번데기 기간이 포함된 성충에 이르는 기간도 처리시간이 증가할수록 13.3일에서 20.7일로 증가하는 경향을 보였다. 이러한 결과 역시 치사에 크게 영향을 주지 않는 낮은 농도의 이산화염소 가스에 노출되면 각 발육단계 별 기간이 증가함을 보여주는 것으로 이는 낮은 농도라 할지라도 화랑곡나방의 생리적인 작용에 영향을 주는 것이라 판단되었다.

백미에 이산화염소 가스 200ppm을 48시간 처리하였을 경우 화랑곡나방 유충과 어리쌀바구미 성충의 이산화염소 가스에 대한 기피효과를 조사하였다. 백미에 실험실 내 이산화염소 가스 처리 장치를 이용 200ppm, 48시간을 처리하였으며, 대상해충 각각 20마리씩을 투여하고 1,3,5,8,24,48,96,120시간 간격으로 조사하였으며, 기피활성 효과는 여지확산법을 이용하여 분석하였다.

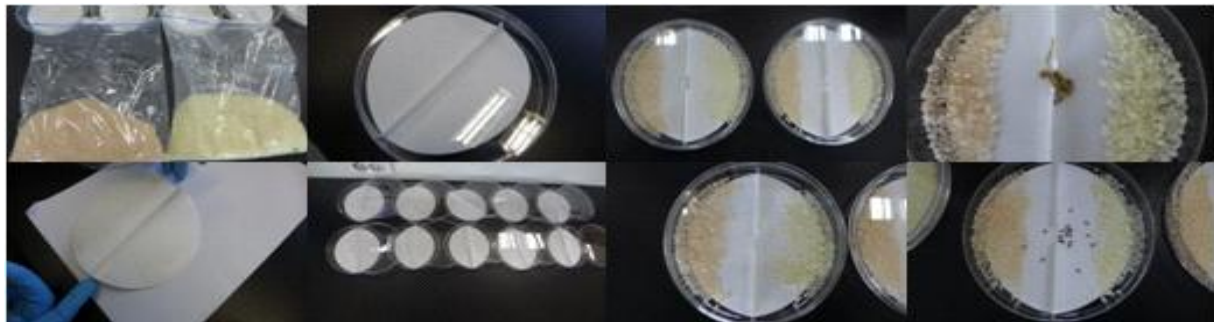


그림 21. 여지확산법을 이용한 이산화염소 가스 처리, 무처리 백미에서의 기피효과

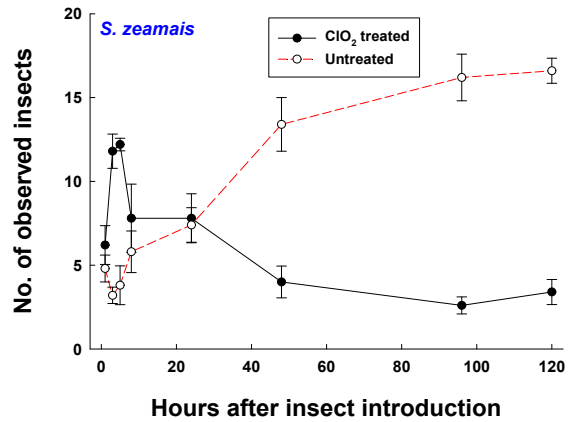
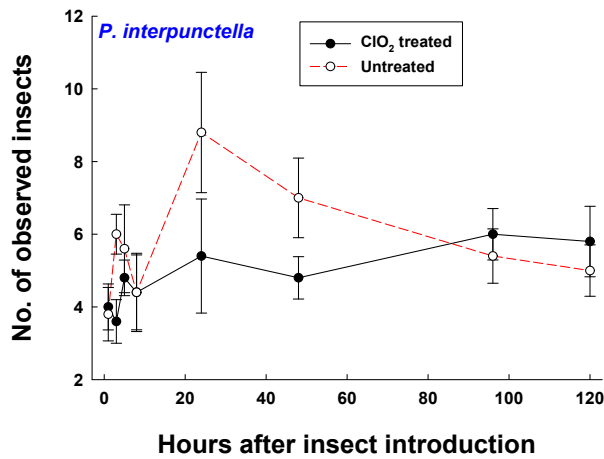


그림 22. 화랑곡나방 유충과 어리쌀바구미 성충의 이산화염소 가스 처리, 무처리 백미에서의 개체수 변동

화랑곡나방 4령 유충과 어리쌀바구미 성충에 대한 이산화염소 가스 200ppm, 48시간 처리 시 개체수 변동 상황을 그림 22에 보였다. 화랑곡나방 유충의 경우 이산화염소 가스 처리 후 1~8시간까지는 뚜렷한 기피현상을 보이지 않다가 24시간부터 기피현상을 보였으나 다시 96시간이 지나면서 기피효과를 나타내지 않았다. 어리쌀바구미 성충의 경우 24시간 이전까지 기피효과를 보이지 않았으나 24시간 이후 처리백미와 무처리 백미 간에 개체수가 크게 차이를 보여 뚜렷한 기피효과 경향을 나타냈다. 그러나 그림 23에서 보이는 것처럼 처리와 무처리 간 전체 화랑곡나방과 어리쌀바구미 개체수를 비교한 결과 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않아(어리쌀바구미: $t=1.71$, $df=78$, $P>0.05$. 화랑곡나방: $t=1.76$, $df=78$, $P>0.05$), 이산화염소 가스가 화랑곡나방과 어리쌀바구미의 생존률, 치사율, 수명, 우화율, 용화율, 발육기간 등 생리적, 생태적 특성에는 영향을 미치는 것으로 판단되었으나 처리 제품에 대한 기피효과는 뚜렷하게 나타나지 않는 것으로 판단되었다.

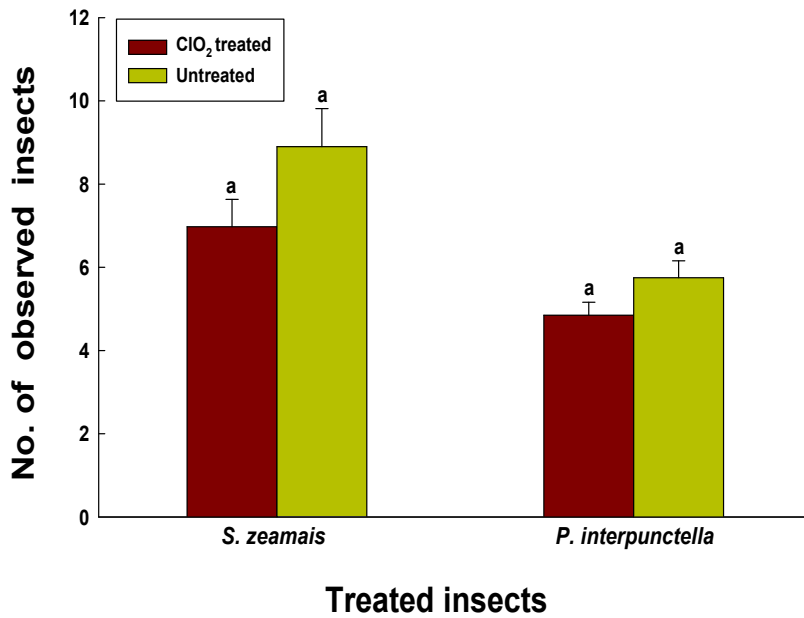


그림 23. 이산화염소가스 처리, 무처리 백미에 대한 화랑곡나방과 어리쌀바구미 전체 개체수 비교

앞의 1년차 실험실 내 연구결과를 토대로 이산화염소의 적절한 적용을 위한 기본적인 조건, 즉 대상 해충의 대량사육 및 사육시스템을 구축하였고 이들 대상해충에 대한 이산화염소의 살충력 분석을 위하여 실험실 내 실험을 통하여 이산화염소의 적절한 적용농도, 적용시간 등을 파악하였다. 이를 토대로 대상해충에 이산화염소를 적용하여 해충의 생존률, 치사율, 수명과 같은 생태적 특성을 분석하였으며, 이러한 결과를 토대로 소규모의 실험용 컨테이너를 제작하여 실험실을 밖에서의 대상해충들에 대한 이산화염소의 살충력, 밀도변동 양상, 피해양상 등의 분석을 위한 Pilot 실험을 진행하였다.

2절. Pilot 실험을 통한 이산화염소 가스의 대상 저장해충에 대한 살충력 및 밀도 변동 양상, 해충개체군의 생태적특성 검정 및 곡물 피해 양상 검정

1. Pilot 실험을 통한 이산화염소 가스의 대상 저장해충에 대한 살충력 및 밀도 변동 양상 검정

: 이산화염소 가스 처리와 해충의 발육단계별 생존률, 치사율을 통한 살충효과 분석 및 해충개체군의 밀도 변동 추정

가 이산화염소 가스를 이용한 저장시설에서의 저장해충 살충력 검증

○ Pilot 실험을 통한 이산화염소 가스의 대상해충에 대한 살충력(생존률, 치사율 등)효과 분석

○ 연구 방법 및 내용

- 사용약제는 (주)푸르고팜에서 제공받은 농도 100ppm의 이산화염소 가스를 발생시키는 약상의 장치 파미버스터 2개를 사용.

- 실험 장소는 경상북도 대구에 위치한 AT센터 이현 비축기지로 시설의 크기는 20평 (가로 20, 세로 21.5, 높이 8m)으로 시설 내부에서 파레트 2개를 사용하였다.

- 실험에 사용된 곡물은 이현 비축기지에서 저장하고 있는 콩나물과 참깨로, 파레트 당 40kg 마대 25개를 적재한 콩나물 콩 1톤과 30kg 마대 33개를 적재한 참깨 1톤을 사용하였다.

- 본 실험에 사용된 공시충은 이산화염소 가스의 해충 별 효과를 탐색하기 위하여 어리쌀바구미 성충, 화랑곡나방 3~4령 유충, 수시렁이 4령 유충, 팔바구미 성충 등 총 4종의 중요 저장해충을 사용하였다.

: 어리쌀바구미 성충, 화랑곡나방 유충, 수시렁이 유충의 경우 종이 재질의 사각형 티백 (8.5x10cm)에 먹이로 현미 10g을 투입한 후 어리쌀바구미 성충, 화랑곡나방 유충, 수시렁이 유충 각각 20마리씩을 접종한 후 처리 곤충들의 탈출을 막기 위하여 윗부분을 테이프로 밀봉처리 하였다.

: 팔바구미 성충의 경우 위와 동일한 재질, 규격의 티백에 팔 9g을 투입한 후 팔바구미 성충 20마리 내외를 접종 후 역시 실험 곤충의 탈출을 방지하기 위하여 티백의 윗부분을 테이프로 처리 밀봉하였다.

- 이산화염소 가스의 처리를 위하여 공시충이 접종된 티백을 파레트 위의 곡물이 들어있는 적재된 마대의 상단(마대내부), 중단 마대의 마대와 마대 틈 사이 그리고 하단 마대의 마대와 마대 틈사이 등에 위치시키고 파레트 하단부의 공간에 이산화염소 발생 장치인 파미버스터를 장착 후 실험 처리된 마대와 파레트를 비닐을 이용하여 이중으로 덮은 후 아랫부분을 테이프로 감아 이산화염소 가스의 외부로의 유출을 최소화하고 외부환경과 최대한 격리시키기 위하여 테이프로 밀폐시켰다.

- 본 실험에서 파미버스터를 이용한 이산화염소 가스 처리시간은 20시간 (2015년 10월 13일 14:00~10월 14일 10:30)으로 하였다.

- 20시간의 이산화염소가 가스 처리 후 비닐을 벗겨 일정시간 환기를 시킨 후 공시충들을 고려대학교 내 실험실로 가져와 온도 $28\pm 0.5^{\circ}\text{C}$, 상대습도 65~75%의 환경으로 조절된 인큐베이터 안에서 유지, 보관하면서 각 공시충들의 생존, 치사 개체수를 조사하였다.

그림 24와 25에 대구 이현 비축기지에서의 이산화염소 발생 키트인 파미버스터 처리 상황과 공시충 처리 상황을 나타냈다.



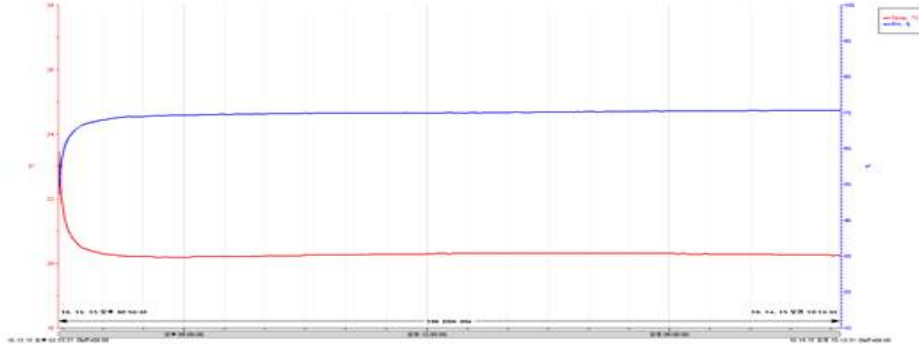
그림 24. 대구 이현 비축기지에서의 공시중에 대한 이산화염소 발생 장치인 과미버스터 처리과정



그림 25. 대구 이현 비축기지에서의 팜이버스터 살충력 검증을 위한 공시층 처리 상황

○ 연구 결과

이산화염소 발생 장치인 팜이버스터를 이용한 중요 저장해충 4종 (화랑곡나방 유충, 어리쌀바구미 성충, 수시렁이 유충, 팔바구미 성충)에 대한 이산화염소 가스의 살충력 시험을 진행하는 동안의 대구 이현 비축기지의 온도와 상대습도 등의 환경조건을 측정된 결과를 그림 26에 나타냈다.



호보데이터			
실험시작	2015-10-13 14:53:31	실험시간	
실험종료	2015-10-14 10:13:31		19:20:00
평균온도℃	20.298	표준편차	0.266
평균상대습도%	69.497	표준편차	2.088

그림 26. 파미버스터 살충력 검정 시 대구 이현비축기지의 환경 조건

2015년 10월 13일 오후부터 14일 오전까지 이산화염소의 살충력 검정 실험 진행 동안의 평균온도는 20℃내외였으며, 평균 상대습도는 69.5% 내외로 나타났다. 이러한 온도와 습도조건은 파미버스터가 작용하는데 있어서 큰 어려움을 주지 않은 것으로 판단되나 온도의 경우 최적의 파미버스터 효과를 나타낼 수 있는 온도보다는 다소 낮은 것으로 생각되었다. 이산화염소의 경우 온도에 영향을 받아 처리되는 공간의 저온보다는 온도가 높을수록 해충에 대한 살충효과가 뛰어난 것으로 알려져 있다.

표 9에 파미버스터 처리 시 각 투입위치에 따른 공시충들의 평균 치사율을 나타냈다. 화랑곡나방 유충의 경우 콩과 참깨가 적재된 마대 상단부에서 가장 높은 9~11% 내외의 치사율을 보였으나, 어리쌀바구미 성충은 적재된 마대의 콩의 중단부, 참깨의 중, 하단부에서 4~6% 내외의 치사율을 보였으며, 수시렁이 유충의 경우는 참깨가 적재된 하단부에서 비교적 높은 치사율을 나타냈다. 그러나 각 투입위치 별 치사수의 경우 상단부(2,3번), 중단부(1,4번), 하단부(5,6번)에서 뚜렷한 차이를 보이지 않았으며 일정한 경향도 보이지 않았다. 마찬가지로 치사율의 경우도 각 공시충의 투입위치에 따라서 일정한 경향을 나타내지 않았다. 또한 처리된 곡물의 종류, 콩과 참깨에 따라서도 4종의 공시충에 대한 이산화염소의 효과는 차이를 보이지 않았다.

표 9. 파미버스터 처리 시 각 공시충 별 투입위치에 따른 평균 치사율

투입위치 (번호)	각 위치 별 치사율(%)			
	화랑곡나방 유충	어리쌀바구미 성충	수시렁이 유충	팔바구미 성충
1	2.5	4.17	3.51	65
2	9.17	0	0	71.74
3	11.67	0	1.67	75
4	0	4.17	1.67	65.97
5	7.02	0	10	78.33
6	3.33	6.67	2.5	80.13

표 10은 이현 비축기지에서 파미버스터 적용 시 이산화염소 가스에 대한 4종 공시충의 시간 경과에 따른 평균 치사율을 나타낸 것이다. 파미버스터에 의한 이산화염소 가스 20시간 처리 직후 화랑곡나방 유충, 어리쌀바구미 성충 및 수시렁이 유충은 0%의 치사율을 보였으나 팔바구미 성충은 34%의 치사율을 나타냈다. 이후 시간이 경과함에 따라 팔바구미를 제외한 나머지 3종의 공시충의 경우 1일 후 0~0.83%, 2일째 2.5% 내외의 치사율을 보였으며, 5일째 3.3~8.4%로 치사율이 매우 낮게 유지되었으며 처리 후 7일째도 치사율은 4.17~11.76% 사이로 매우 낮게 나타났다. 반면에, 팔바구미 성충의 경우 처리 후 1일째 54%의 치사율을 보이다 5일째 95%, 6일째 모든 개체가 치사하여 100%의 치사율을 보였다.

다른 3종의 공시충과는 달리, 팔바구미에서의 이러한 결과는 팔바구미의 성충 투입 시 연령 구조가 정확하게 조절되지 않았거나, 28℃에서 팔바구미 성충의 수명이 7일 내외로 알려져 있으므로 처리 후 28℃의 인큐베이터에 보관되었기 때문에 파미버스터에 의한 영향보다는 팔바구미 성충의 자연적 치사가 더 큰 원인일 것으로 판단되었다.

표 10. 파미버스터 처리 후 시간경과에 따른 4종 공시충의 평균 치사율

처리 후 시간 (일)	치사율(%) (평균±표준편차)					
	0	1	2	5	6	7
화랑곡나방 유충	0	0	2.52±0.84	8.40±1.21	10.92±1.83	11.76±1.75
어리쌀바구미 성충	0	0.83±0.41	2.5±0.84	3.33±0.82	4.17±0.98	4.17±0.98
수시렁이 유충	0	0	2.52±1.22	3.36±1.21	6.72±1.03	6.72±1.03
팔바구미 성충	34.23±4.32	54.36±4.64	55.03±4.46	95.97±3.87	100	

참고로 그림 27에 시간경과에 따른 파미버스터에 대한 4종 공시충의 생존율 곡선을 나타냈다.

표 9. 파미버스터 처리 시 각 공시충 별 투입위치에 따른 평균 치사율

투입위치 (번호)	각 위치 별 치사율(%)			
	화랑곡나방 유충	어리쌀바구미 성충	수시렁이 유충	팔바구미 성충
1	2.5	4.17	3.51	65
2	9.17	0	0	71.74
3	11.67	0	1.67	75
4	0	4.17	1.67	65.97
5	7.02	0	10	78.33
6	3.33	6.67	2.5	80.13

표 10은 이현 비축기지에서 파미버스터 적용 시 이산화염소 가스에 대한 4종 공시충의 시간 경과에 따른 평균 치사율을 나타낸 것이다. 파미버스터에 의한 이산화염소 가스 20시간 처리 직후 화랑곡나방 유충, 어리쌀바구미 성충 및 수시렁이 유충은 0%의 치사율을 보였으나 팔바구미 성충은 34%의 치사율을 나타냈다. 이후 시간이 경과함에 따라 팔바구미를 제외한 나머지 3종의 공시충의 경우 1일 후 0~0.83%, 2일째 2.5% 내외의 치사율을 보였으며, 5일째 3.3~8.4%로 치사율이 매우 낮게 유지되었으며 처리 후 7일째도 치사율은 4.17~11.76% 사이로 매우 낮게 나타났다. 반면에, 팔바구미 성충의 경우 처리 후 1일째 54%의 치사율을 보이다 5일째 95%, 6일째 모든 개체가 치사하여 100%의 치사율을 보였다.

다른 3종의 공시충과는 달리, 팔바구미에서의 이러한 결과는 팔바구미의 성충 투입 시 연령 구조가 정확하게 조절되지 않았거나, 28℃에서 팔바구미 성충의 수명이 7일 내외로 알려져 있으므로 처리 후 28℃의 인큐베이터에 보관되었기 때문에 파미버스터에 의한 영향보다는 팔바구미 성충의 자연적 치사가 더 큰 원인일 것으로 판단되었다.

표 10. 파미버스터 처리 후 시간경과에 따른 4종 공시충의 평균 치사율

처리 후 시간 (일)	치사율 (%) (평균±표준편차)					
	0	1	2	5	6	7
화랑곡나방 유충	0	0	2.52±0.84	8.40±1.21	10.92±1.83	11.76±1.75
어리쌀바구미 성충	0	0.83±0.41	2.5±0.84	3.33±0.82	4.17±0.98	4.17±0.98
수시렁이 유충	0	0	2.52±1.22	3.36±1.21	6.72±1.03	6.72±1.03
팔바구미 성충	34.23±4.32	54.36±4.64	55.03±4.46	95.97±3.87	100	

참고로 그림 27에 시간경과에 따른 파미버스터에 대한 4종 공시충의 생존율 곡선을 나타냈다.

치사율의 경우와 마찬가지로 팔바구미 성충을 제외한 나머지 3종의 공시충에서는 생존률이 조사시기가 끝나는 파미버스터 처리 후 7일째까지 90% 이상의 생존율을 보이고 있으나, 팔바구미 성충의 경우 이산화염소 처리 후 6일째 생존률이 0%에 도달하는 것을 보여주었다.

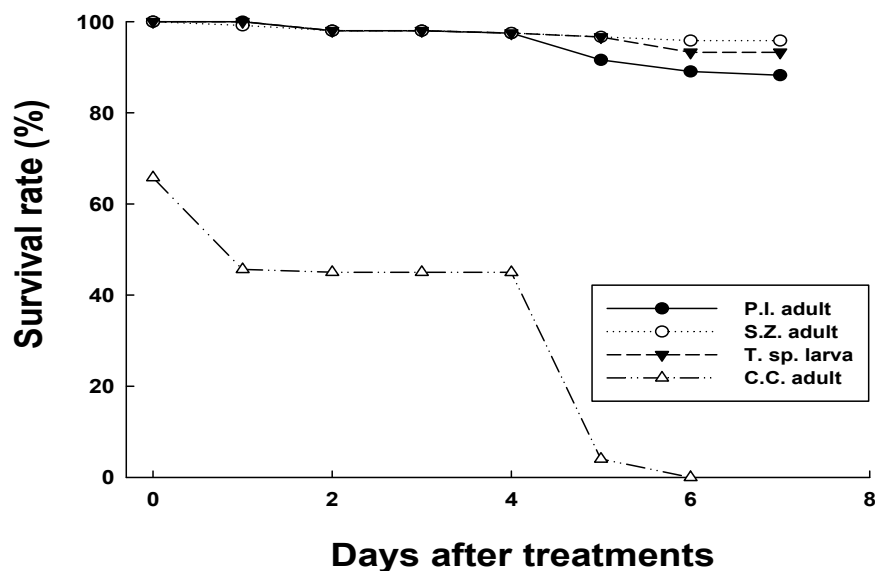


그림 27. 시간경과에 따른 파미버스터에 대한 4종 공시충의 생존률

이러한 결과를 종합해보면 이산화염소 발생 장치인 파미버스터의 4종 공시충에 대한 살충효과는 매우 낮은 것으로 나타났는데, 이는 시험 당시 파미버스터 투입과정에서의 문제, 즉 혼합 시 과도한 증기의 발생 우려로 인한 발열체 미사용 및 낮은 온도 등에 의하여 이산화염소 가스가 급격하게 발생되지 않은 원인이 있을 수 있으며, 또한 마대를 덮은 비닐의 재질이 이산화염소 가스를 투과시키는 재질이어서 완벽하게 외부와의 차단이 이루어지지 않았

으며, 이산화염소가 공기보다 무거워 둘러싼 비닐 아래쪽으로 유출되어 이산화염소의 농도가 적정농도로 유지되지 못하였을 가능성이 있으며, 파미버스터의 이산화염소 가스 농도가 100ppm으로 4종의 공시층을 치사시키기에는 낮은 농도였다는 것 등 여러 요인이 복합적으로 작용하여 해충의 치사력 검증에 영향을 준 것으로 판단되었다. 앞으로 이산화염소를 이용한 저장시설에서의 저장해충 방제는 이러한 상황들을 충분히 이해하고 숙지한 후 적용하고 처리되어야만 대상 해충의 치사력에 대한 적절한 결과를 얻을 수 있을 것이라 판단되었으며, 이후 실험에서는 이상의 문제점 및 여러 환경요인 등을 고려하여 pilot 실험을 진행해야 할 것이다.

나. 컨테이너에서의 이산화염소의 대상해충에 대한 살충력 및 밀도 변동 양상 검정

○ 시험용 컨테이너에서의 화랑곡나방 유충과 어리쌀바구미 성충에 대한 이산화염소의 살충 효과 분석 및 이산화염소 가스가 처리된 화랑곡나방과 어리쌀바구 성충의 밀도 변동 양상 조사

Piolt 실험을 위한 이산화염소 가스의 대상해충에 대한 살충력 검정을 위하여 경기도 화성시 소재 (주)푸르고팜에서 시험용 컨테이너를 제작하였다. 컨테이너의 내부에는 4개의 관으로 연결된 이산화염소 가스 투입구가 있으며, 컨테이너 내부의 온도를 조절할 수 있는 열선이 내 부면에 설치되어있고 컨테이너는 1톤의 곡물(쌀)이 톤백에 담겨져 투입될 수 있는 크기로 제작되었다.

Pilot 실험을 위하여 제작된 컨테이너에서 이산화염소 처리 시 대상해충인 화랑곡나방 유충과 어리쌀바구미 성충의 밀도 변동 추정 및 무처리구와의 밀도 변동 비교를 통하여 이산화염소 가스가 대상해충 개체군의 밀도에 미치는 영향을 파악하고자 하였다. 그림 28에 이산화염소 살충력 실험을 위한 컨테이너 모습을 나타냈다.



그림 28. 이산화염소 가스 살충력 실험을 위한 컨테이너

○ 연구방법 및 내용

- 이산화염소의 화랑곡나방과 어리쌀바구미에 대한 살충력 검정을 위하여 컨테이너 제작.
- 제작된 컨테이너 내부에 톤백을 설치.
- 비닐 재질의 모래주머니를 이용, 모래주머니 내부에 현미(품종:추청)를 2kg 투입 후 공시충인 화랑곡나방 4령 유충과 어리쌀바구미 성충을 각각 50마리씩을 함께 투입 후 윗부분을 타이핀으로 밀폐하였다. 모래주머니에 현미와 공시충 투입 전 모래주머니로부터 공시충들의 유출을 방지하기 위하여 종이 재질의 거름망에 현미와 공시충을 먼저 투입 한 후 처리된 거름망을 모래주머니에 투입.



그림 29. 모래주머니에 현미와 공시충 투입 과정

- 컨테이너 내부에 설치된 톤백의 내부에 현미주머니를 톤백의 형태에 맞추어 격자로 적재 하면서 현미와 2종의 공시충이 처리된 주머니를 톤백의 하단, 중단, 상단에 위치시킨다.
- 적재된 현미주머니의 사이에 이산화염소를 투입할 수 있는 4개의 PVC재질의 관을 삽입, 설치.
- 컨테이너 옆에 설치된 이산화염소 발생 장치를 통하여 컨테이너 내부로 이산화염소 투입.
- 24시간 이산화염소 가스 처리 후 컨테이너를 일정시간 환기 시킨 후 대상해충이 처리된 하단, 중단, 상단의 현미주머니를 제거.



그림 30. 컨테이너 내부 톤백에 곡물주머니 설치 과정

- 제거된 현미주머니를 고려대학교 실험실로 운반하여 화랑곡나방 유충과 어리쌀바구미 성충의 치사수 및 생존 개체수를 조사 함.
- 공시충이 들어있는 현미주머니에서 대상해충들의 생존개체수와 치사수를 조사한 후 현미와 대상해충을 옥양목으로 덮개를 처리하여 환기가 가능한 플라스틱 실험장(30x23x18cm)에 투입하였다.
- 처리된 플라스틱 실험장을 실험실 내 환경(25~30℃)에 보관하면서 화랑곡나방과 어리쌀바구미 성충의 개체군 밀도 변동 양상을 조사.
- 대상해충의 밀도 조사는 플라스틱 실험장에 투입된 현미 2kg중 실험장의 중앙부분과 4곳의 가장자리 부분에서 각각 100g씩의 현미를 샘플링하여 화랑곡나방과 어리쌀바구미의 개체수를 조사하여 개체군 밀도 변동 양상을 추정하고자 하였다.
- 대상해충의 개체수 조사 후 다시 플라스틱 실험장으로 되돌려 위치 시켰다.
- 본 실험은 한 달 간격으로 일정기간 조사하고자 하였으며, 이를 토대로 이산화염소의 화랑곡나방과 어리쌀바구미에 대한 살충력과 이들의 밀도 변동 양상을 처리 위치 별(상단, 중단, 하단 등), 그리고 이산화염소 가스 무처리구와 비교, 분석하고자 하였다.

○ 연구 결과

- 컨테이너에서 이산화염소의 대상해충에 대한 살충력 검정

본 연구의 이산화염소의 화랑곡나방과 어리쌀바구미에 대한 살충력 검정을 위해 제작된 컨테이너와 이산화염소 발생 장치가 실험 기간 중 안정적이고 지속적으로 이산화염소 가스를 컨테이너 내부로 원활하게 공급하지 않아 여러 가지의 어려운 문제에 직면하였다. 여러 직면한 문제들 중 특히, 컨테이너 내부로 공급되는 이산화염소 가스의 농도 문제로 실험에서

요구되는 100ppm, 200ppm의 농도로 안정적, 지속적으로 유지가 되지 않았으며 둘째, 이산화염소 가스의 발생 장치의 용량도 본 실험을 위하여 다소 부족한 것으로 생각되어 이의 해결을 위하여 이산화염소 가스 공급 장치를 추가 설치하여 실험하였으며, 외부환경 즉, 실험기간 중 외부온도와 컨테이너 내부온도와의 차이에서 발생하는 매우 다량의 습기에 의한 결로 문제로 실험에 어려움이 많았으며 원활한 실험 진행이 이루어지지 못하였다.

실험 과정에서 발생한 이러한 어려운 문제점들을 부분적으로 해결 해 나가면서 이산화염소의 화랑곡나방과 어리쌀바구미에 대한 살충력 및 대상해충들의 밀도 변동 양상에 대한 조사를 진행하였다.

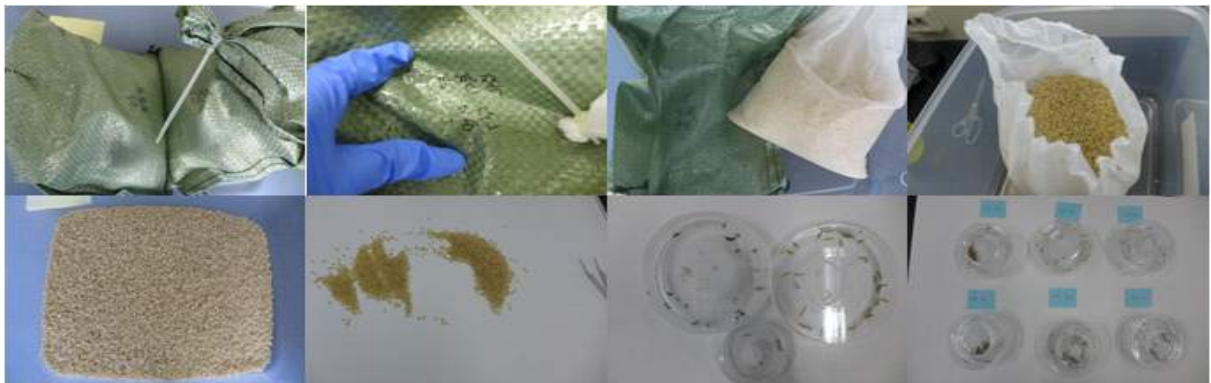


그림 31. 이산화염소가 처리된 현미주머니에서의 대상해충의 살충력 조사

1차 실험인 이산화염소 가스 농도 100ppm, 온도 25℃에서 24시간 처리에서의 화랑곡나방 유충과 어리쌀바구미 성충의 생존과 치사개체수를 표 11에 나타냈다.

표 11. 이산화염소 100ppm, 온도 25℃에 처리된 대상해충들의 생존, 치사 개체수

처리 위치	화랑곡나방 유충		어리쌀바구미 성충	
	생	사	생	사
안쪽 상단	11	35	31	18
안쪽 중단	44	3	48	2
안쪽 하단	43	3	45	2
바깥쪽 상단	14	32	23	23
바깥쪽 중단	4	44	31	19
바깥쪽 하단	5	41	28	17

화랑곡나방의 경우 전체 평균 생존수는 20.17마리 였으며, 평균 치사수는 26.33마리로 조사되어 평균 생존수와 치사수 간에는 유의차가 없는 것으로 나타났으나(df=10, t=0.58, P>0.05), 어리쌀바구미 성충에서는 전체 평균 생존 개체수가 34.33마리, 평균 치사 개체수는 13.5마리로 생존 개체수와 치사수 간에 유의한 차이를 보였다(df=10, t=-3.79, P<0.05). 이러한 결과는 어리쌀바구미 성충보다는 화랑곡나방 유충에 이산화염소의 살충효과가 더 크게 작용한 것으로 생각되었다. 처리위치(이산화염소가 공급되는 관을 기준으로 가까운 곳을 안쪽,

면 곳을 바깥쪽으로 정함)에 따른 화랑곡나방의 생존수는 안쪽에서 32.67마리, 바깥쪽이 7.67마리로 평균 개체수에서는 차이를 보였으나 통계적 유의차는 없었으며(df=4, t=-2.21, P>0.05), 치사수에서도 안쪽과 바깥쪽 위치에서 각각 13.67마리과 39마리로 차이를 나타냈으나 통계적으로 유의한 차이를 보이지는 않았다(df=4, t=2.25, P>0.05). 어리쌀구미 성충의 경우도 처리 위치에 따른 생존 개체수는 안쪽에서 41.33마리, 바깥쪽이 27.33마리로 유의차를 보이지 않았으며(df=4, t=-2.44, P>0.05), 치사 개체수에서도 안쪽이 7.33마리, 바깥쪽이 19.67마리로 유의한 차이를 보이지 않았다(df=4, t=2.20, P>0.05). 이산화염소 가스가 공급되는 관의 근처에 있는 안쪽 위치에서 대상해충들의 더 많은 생존 개체수가 관찰되었는데 이러한 결과는 관을 통한 이산화염소의 공급이 원활하게 이루어지지 않았기 때문이라 생각이 되지만 더 많은 실험이 진행되어야만 정확한 결론을 얻을 수 있을 것이라 판단된다.

2차 실험의 경우 이산화염소의 농도는 100ppm, 온도는 35℃로 24시간 처리하였을 때의 결과를 표 12에 나타냈다.

표 12. 이산화염소 100ppm, 온도 35℃에 처리된 대상해충들의 생존, 치사 개체수

처리 위치	화랑곡나방 유충		어리쌀바구미 성충	
	생	사	생	사
안쪽 상단	45	2	43	7
안쪽 중단	2	45	0	48
안쪽 하단	44	4	39	7
바깥쪽 상단	45	1	47	1
바깥쪽 중단	4	41	0	47
바깥쪽 하단	45	1	50	0

화랑곡나방에서는 전체 평균 생존수는 30.83마리였으며, 평균 치사수는 15.67마리로 조사되어 평균 생존수와 치사수 간에는 유의차가 없는 것으로 나타났으며(df=10, t=-1.23, P>0.05), 어리쌀바구미 성충에서도 전체 평균 생존 개체수가 29.83마리, 평균 치사 개체수는 18.33마리로 생존 개체수와 치사수 간에 유의한 차이를 보이지 않았다(df=10, t=-0.86, P>0.05). 처리위치에 따른 화랑곡나방의 생존수는 안쪽에서 30.33마리, 바깥쪽이 31.33마리로 통계적 유의차를 없었으며(df=4, t=0.05, P>0.05), 치사수에서도 안쪽과 바깥쪽 위치에서 각각 17마리과 14.33마리로 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(df=4, t=-0.14, P>0.05). 어리쌀구미 성충의 경우도 처리위치에 따른 생존 개체수는 안쪽에서 27.33마리, 바깥쪽이 32.33마리로 유의차를 보이지 않았으며(df=4, t=0.24, P>0.05), 치사 개체수에서도 안쪽이 20.67마리, 바깥쪽이 16마리로 유의한 차이를 보이지 나타내지 않았다(df=4, t=-0.23, P>0.05). 어리쌀바구미의 경우 바깥쪽 중단에서 생존 개체수가 0마리, 바깥쪽 하단에서는 치사 개체수가 0마리로 조사되었는데, 이러한 결과는 이산화염소를 공급하는 관의 문제로 중단부분에 많은 양의 이산화염소 가스가 공급되어지고 하단부분에는 거의 이산화염소 가스의 공급이 이루어지지 않은 것이라 생각된다. 이러한 원인은 관 하단부의 이산화염소 가스 배출구가 현미에 의해서 막혀서 원활하게 공급이 이루어지지 않은 결과로 생각된다.

- 컨테이너에서의 이산화염소 처리에 대한 대상해충의 밀도 변동 양상 조사

본 실험을 위하여 제작한 컨테이너에서의 이산화염소 처리 대상해충 개체군과 무처리 개체군과의 밀도 변동 양상을 비교, 분석하고자 하였으나 실험용 컨테이너 시설의 앞에서 언급한 여러 어려운 문제점 등으로 인하여 우선적으로 이산화염소 무처리 시 화랑곡나방과 어리쌀바구미에 대한 개체군 밀도 변동 양상을 조사하였다. 그림 32에 실험실 내에서 플라스틱 실험장에서의 샘플링을 통한 대상해충들의 개체군 밀도 조사 과정을 보였다.



그림 32. 플라스틱 실험장에서 샘플링을 통한 대상해충의 개체군 밀도 조사 과정

현미 2kg이 들어있는 플라스틱 실험장에 화랑곡나방 유충과 어리쌀바구미 성충 각 50마리씩을 접종 한 후 30일 경과 후 500g의 현미를 샘플링하여 조사한 화랑곡나방과 어리쌀바구미의 개체군 밀도를 표 13와 14에 나타냈다.

표 13. 30일 경과 후 샘플링에 의한 화랑곡나방 개체수

반복	샘플링 위치				
	1	2	3	4	5
1	172	223	166	164	158
2	184	149	196	213	141
3	72	89	84	73	86

표 14. 30일 경과 후 샘플링에 의한 어리쌀바구미 개체수

반복	샘플링 위치				
	1	2	3	4	5
1	9	9	7	25	1
2	7	18	4	2	2
3	2	8	4	1	1

화랑곡나방의 경우 5곳의 샘플링 장소에서 추출된 500g의 현미 샘플에서 성충과 유충을 포함한 전체 평균 개체수가 144.67±51.69마리로 조사되어 급격하게 개체군 밀도가 증가하는 양상을 보였으며, 어리쌀바구미의 경우 전체 평균 개체수가 6.67±6.39마리로 조사되어 30일 후 화랑곡나방과 어리쌀바구미 개체군의 밀도 차이는 화랑곡나방 개체군의 밀도가 매우 높은 유의한 차이를 보였다(df=28, t=-10.26, P<0.05). 화랑곡나방의 개체군 밀도가 어리쌀바구미 밀도보다 높은 이러한 결과는 어리쌀바구미의 발육일수가 화랑곡나방 보다 길고 전체 산란수가 화랑곡나방 보다 적어 개체군의 증가 속도가 지연되어 발생한 결과로 판단되며, 두 대상해충들 간에 서로 간섭현상을 일으켜서 화랑곡나방 유충이 분비하는 실크로 인하여 어리쌀바구미의 현미 섭식이나 산란에 방해를 받아서 생길 수 있는 결과로 생각되어 진다. 앞으로 계속적으로 두 종의 개체군 밀도 양상을 조사하면 더 명확한 결론을 얻을 수 있을 것이라 생각되며 현재 밀도 변동 실험이 계속 진행되고 있는 상황이다.

2. Pilot 실험을 통한 이산화염소 가스 처리 후 대상 해충개체군의 생태적 특성 검정 : 아치사랑의 이산화염소 가스 처리 후 생존 개체나 knock-down 저항성 현상을 보이는 개체들의 생태적 특성 분석

아치사랑의 이산화염소 처리 시 처리시간 별, 대상해충의 발육단계 별 생태적 특성 조사 컨테이너에서의 이산화염소 처리에 의한 공시충들의 살충력 실험이 여러 환경조건들과 이산화염소 가스의 발생과 공급 장치의 문제점 등으로 인하여 컨테이너 내부로의 일정한 농도로 이산화염소의 안정적인 공급이 이루어지지 않아 낮은 농도의 이산화염소에 노출되어 생존하거나 knock-down 현상을 보이는 상황을 가정하여 아치사랑인 50ppm의 이산화염소를 처리 시 시간별, 대상 해충의 발육단계 별로 처리한 개체들을 대상으로 생태적 특성을 조사하였다.

○ 연구 방법 및 내용

- 본 실험에 사용된 화랑곡나방 알, 2령, 3령, 4령 유충은 고려대학교 개체군생태학 실험실에서 인공사료를 토대로 28±0.5℃, 상대습도 60~75%로 조절된 인큐베이터에서 누대사육 한 계통이다.
- 실험실 내 전기분해방식을 이용한 이산화염소 발생장치를 사용하여 화랑곡나방 알, 2령, 3령, 4령 유충에 저농도인 50ppm의 이산화염소 가스를 24시간 처리하였으며, 또한 화랑곡나방 3령 유충에도 이산화염소 가스를 0, 6, 12, 24, 48시간 별로 처리하여, 번데기까지 소요되는 발육일수를 비교, 조사하였다.
- 이산화염소가스 처리가 처리된 화랑곡나방의 알, 2령, 3령, 4령 유충들은 28±0.5℃, 상대습도 60~75%의 인큐베이터에 보관하면 번데기까지의 발육일수와 용화율 등을 조사하였다.
- 각 실험은 30마리 씩 3반복 이상 수행되었다.

○ 연구 결과

그림 34에 아치사랑인 50ppm의 이산화염소에 24시간 노출된 화랑곡나방의 알, 2령, 3령, 4령 유충의 발육형태 별 번데기까지의 발육일수를 나타냈다. 알의 경우 이산화염소 처리구와 무

처리구 간에 발육일수는 유의한 차이를 보이지 않았으며(df=33, t=0.53, P>0.05), 2령 유충의 경우 무처리구에서 보다 이산화염소 처리구에서 발육일수가 유의하게 길어지는 현상을 보였으며(df=12, t=-3.02, P<0.05), 3령 유충과 4령 유충에서도 무처리구에 비하여 처리구 개체들의 발육일수가 유의하게 길어지는 현상을 보였다 (3령: df=18, t=-5.54, P<0.05, 4령: df=104, t=-4.62, P<0.05).

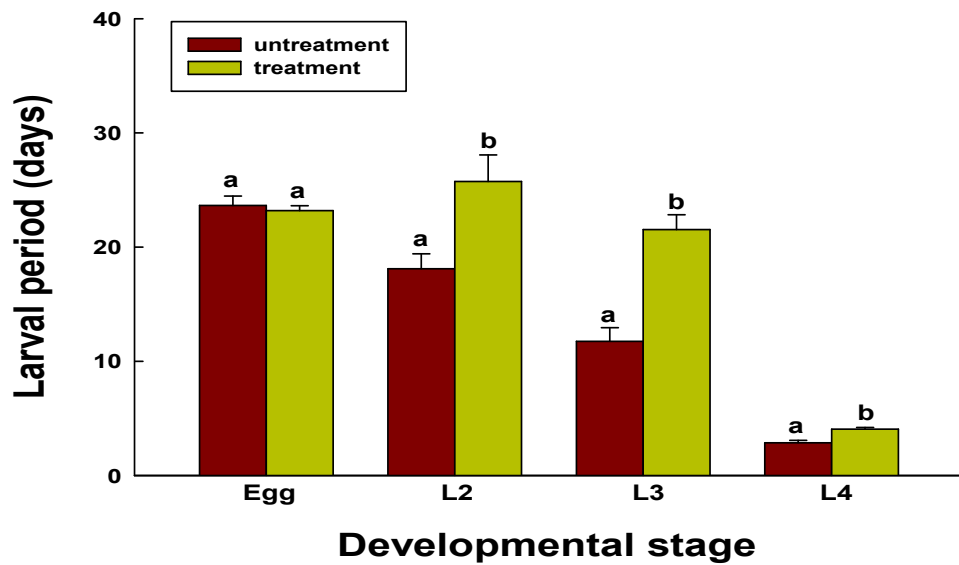


Fig. 34. The larval periods (mean±se) of *P. interpunctella* egg, L2, L3, L4 on sublethal dose of chlorine dioxide (ClO₂, 50ppm) for 24hr treatment. L2: 2nd larva, L3: 3rd larva, L4: 4th larva. Same letters above the error bar indicate non significant difference within the developmental stage at P=0.05 based on t-test.

또한, 이산화염소 50ppm 처리 시 화랑곡나방의 발육형태 별(알, 2령, 3령, 4령 유충) 번데기까지의 발육일수 비교를 표 15에 나타냈다.

표 15. 이산화염소 50ppm 처리 시 발육형태 별 무처리-처리 간 비교

발육형태	알		2령		3령		4령	
	무처리	처리	무처리	처리	무처리	처리	무처리	처리
발육일수(일) (평균±표준편차)	23.64± 3.10a	23.19± 1.99a	18.1± 4.15a	25.75± 4.65b	11.75± 3.37a	20.67± 3.63b	2.86± 1.15a	4.06± 1.19b

이산화염소 50 ppm 처리 시 화랑곡나방 알, 2령, 3령, 4령 유충 등의 발육형태 별 용화율을 그림 12에 나타냈다. 알의 경우 용화율이 6.42%로 나타났으며, 2령 유충은 0.87%로 매우 낮

게 나타났고 3령 유충의 경우 5.02% 였으며, 4령 유충의 경우는 47.53%로 매우 높게 나타났다. 알과 2령, 3령 유충 간에는 용화율에 있어서 유의한 차이를 보이지 않았으나 4령 유충에서는 다른 발육단계에 비하여 통계적으로 유의하게 용화율이 높은 것으로 나타났다 (df=3, F=33.26, P<0.05). 이러한 결과는 다른 발육단계에 비하여 4령 유충의 경우 이산화염소 가스와 같이 불리한 환경조건을 접하였을 경우 이산화염소의 영향을 덜 받기 위하여 바로 번데기 단계로 들어갈 수 있는 발육단계이기 때문에 용화율이 다른 발육단계에 비하여 유의하게 높게 나타난 것으로 생각되나 이에 대한 더 많은 연구가 필요한 것으로 판단되었다.

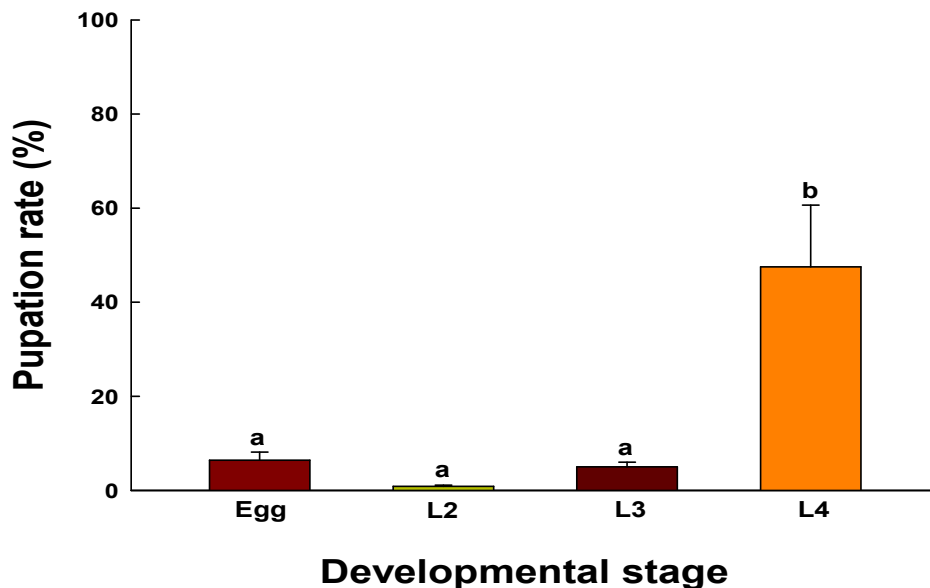


Fig. 35. Pupation rate of *P. interpunctella* egg, 2nd, 3rd, 4th larvae on ClO_2 gas (dose 50ppm) for 24hr treatment ($P=0.05$ based on LSD).

화랑곡나방 3령 유충에 대한 이산화염소 50ppm 처리 시간 별 번데기까지 소요되는 발육일수를 그림 35과 표 16에 나타냈다. 3령 유충에서 번데기까지의 발육일수는 무처리구인 0시간에서는 10.51일이 소요되었으며, 6시간과 12시간 처리에서는 각각 13.82일, 11.77일로 나타났다. 24시간과 48시간 처리에서는 각각 21.67일과 26.25일로 0, 6, 12시간 처리에서 유의하게 길게 나타났다 (df=4, F=17.95, P<0.05).

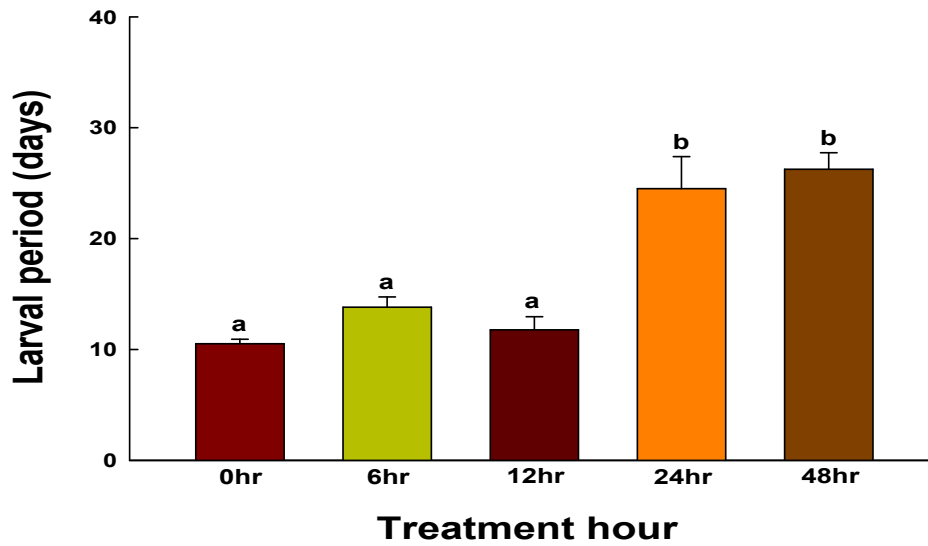


Fig. 35. The larval periods (mean±se) of *P. interpunctella* 3rd larvae on sublethal dose of chlorine dioxide (ClO₂, 50ppm) for each treatment hour ($P=0.05$, by LSD)

표 16. 이산화염소 50ppm 처리 시간 별 3령에서 번데기까지의 발육일수

처리시간(hr)	0	6	12	24	48
발육일수(일) (평균±표준편차)	10.51±2.41a	13.82±5.67a	11.77±6.48a	21.67±7.45b	26.25±2.99b

그림 36와 표 17에 화랑곡나방 3령 유충에 대한 이산화염소 50 ppm 처리 시간 별 용화율을 나타냈다. 무처리구인 0시간에서는 유충에서 번데기로 되는 용화율이 40.26%로 나타났으며, 6시간과 12시간 처리에서는 각각 35.78%와 31.62%로 커다란 차이가 없는 것으로 나타났다. 그러나 24시간 처리부터 용화율이 급격하게 낮아져 3.23%을 보였으며, 48시간 처리에서는 1.19%로 매우 낮은 용화율을 나타냈다. 0, 6, 12시간 처리에서는 용화율에 유의한 차이를 보이지 않았으나 24시간 48시간 처리의 경우 다른 처리 시간에 비하여 통계적으로 유의하게 낮은 용화율을 보였다(df=4, F=33.91, P<0.05).

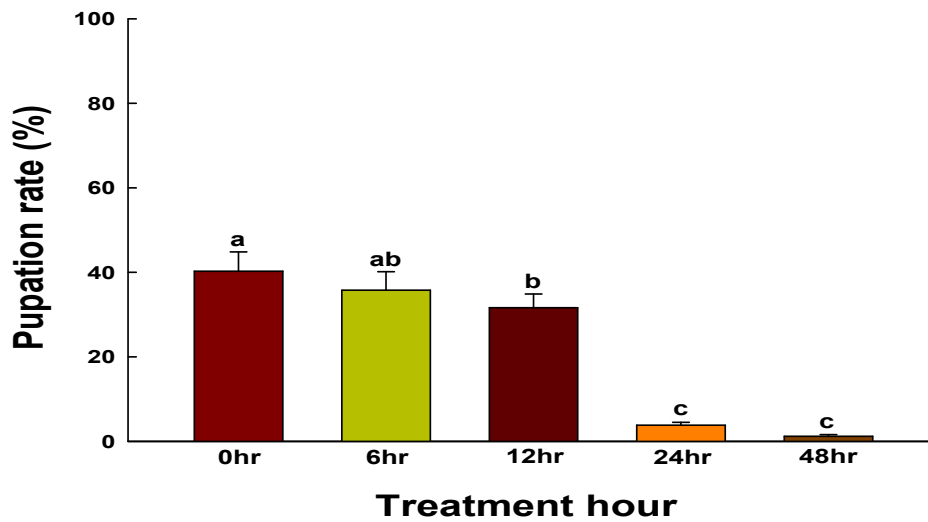


Fig. 36. Pupation rate of *P. interpunctella* 3rd larvae on ClO₂ gas (dose 50ppm) for each treatment hour ($P=0.05$, by LSD).

표 17. 화랑곡나방 3령 유충에 대한 이산화염소 50ppm 처리 시간 별 용화율

처리시간(hr)	0	6	12	24	48
용화율(%)	40.26±25.81a	35.78±24.77a	31.62±18.44a	3.23±3.28b	1.19±2.21b

이러한 결과는 매우 낮은 50ppm의 이산화염소 농도라 할지라도 대상 해충인 화랑곡나방 유충에 처리되면 0~12시간 처리 까지는 용화율에 있어서 커다란 차이를 보이지 않으나, 24시간 이상 처리부터는 아치사량의 낮은 농도라 할지라도 화랑곡나방 유충의 생리적작용에 영향을 주어 용화율을 크게 감소시키는 것으로 판단되었다.

3. Pilot 실험을 통한 대상 해충에 의한 곡물 피해 양상

: 컨테이너를 이용한 이산화염소 가스 적용 시 샘플링을 통한 곡물에서의 해충에 의한 곡물의 직접적, 간접적 피해 양상 분석

가. 이산화염소 무처리 대상해충에 의한 곡물의 피해 양상 조사

Pilot 실험을 통하여 소규모 저장시설에서 곡물이 저장되어 있을 때 해충에 의한 곡물의 직접적, 간접적 피해 양상을 분석, 비교하고자 하였다. 일반적으로 저장 곡물의 해충에 의한 피해는 해충의 섭식에 의한 직접적 피해와 배설물이나 분비물, 실크와 같은 간접적 피해로 크게 나누어 볼 수 있다.

○ 연구 방법 및 내용

- 본 실험을 위하여 앞의 실험에서 설명한 조건의 컨테이너 환경에서 컨테이너 내부의 톤백

에 적재되는 곡물주머니와 동일한 조건의 현미(품종:추청) 2kg를 정량하여 옥양목으로 덮개를 처리하여 환기가 가능한 플라스틱 실험장(30x23x18cm)에 투입하였다.

- 현미가 처리된 플라스틱 실험장에 화랑곡나방 4령 유충과 어리쌀바구미 성충 각각 50마리씩을 투입한 후 실험실 내 조건에 보관하면서 곡물의 피해양상을 조사하였다.



그림 37. 플라스틱 실험장에 현미와 대상해충 투입 과정

- 본 실험에서는 대상 해충에 의한 현미의 피해양상을 조사하기 위하여 한 달 간격으로 실험장 내 현미의 무게를 측정하였으며, 대상해충들에 의해 손실된 중량만큼 다시 보충하여 되돌려 넣고 해충에 의한 곡물 중량 감소량을 조사를 진행하였다.

○연구 결과

현미 2kg과 화랑곡나방 유충 및 어리쌀바구미 성충 각 50마리씩을 접종한 플라스틱 실험장을 실험실 내 조건에서 한 달 간 보관한 후 곡물의 피해 양상을 조사하였다. 처음 투입된 현미의 중량과 화랑곡나방 유충과 어리쌀바구미 성충에 의해 섭식되거나 가해진 피해양상을 파악하기 위하여 30일 후 무게를 측정하여 현미의 중량 감소량을 조사하였다.

표 18. 현미에 대상해충 투입 30일 후 현미의 중량 감소량

반복	1	2	3	평균
측정현미량(g)	1925	1930	1920.54	1925.18
현미중량감소량(g)	75	70	74.46	73.15

표 18에 화랑곡나방 4령 유충과 어리쌀바구미 성충 각 50마리씩을 접종한 후 한 달 경과 후 현미의 중량 감소량을 나타냈다. 한 달이 경과한 후 대상해충에 의하여 손실된 현미의 중량은 70~75g 범위였으며, 평균적으로 73.15g의 중량이 감소하였다. 예상보다 현미의 중량 손실량이 적게 나타난 것으로 생각되었는데, 이러한 결과는 화랑곡나방 개체군이 다음세대로의 도달, 즉 접종된 유충이 번데기 기간을 거쳐 성충으로 우화한 후 짝짓기가 이루어진 후 산란이 이루어지는 과정으로 다음세대로 완벽하게 도달하지 않아 개체수가 증가하지 않은 것이

원인이라 생각되었다.

지속적인 실험의 진행으로 60일 후, 90일 후 화랑곡나방 개체군과 어리쌀바구미 개체군이 증가하면 현미의 손실량이 커질 것으로 기대되며, 이산화염소가 처리된 실험장과 곡물 손실량을 비교하는 경우 이산화염소가 처리된 대상 해충 개체군에서 이산화염소에 의한 치사율이 발생하여 초기 개체수가 적어 무처리구의 개체수보다 개체군 밀도가 지연 증가되어 곡물 손실량에 있어서 차이를 보일 것으로 판단된다.

차후 본 실험은 일정기간 동안 지속적으로 수행할 예정으로, 컨테이너에서의 이산화염소 처리 장치가 정상적으로 작동되고, 여러 부정적 요인들을 해결한 후 안정적인 성능을 보이면 이산화염소 처리구와 무처리구에서의 대상해충에 의한 곡물 피해 양상을 비교, 분석 가능할 것이라 생각되었다.

이전의 실험실 내 실험과 실험실 내 연구결과를 바탕으로 한 소규모의 컨테이너를 통한 Pilot 실험을 통한 연구결과를 토대로 실제 곡물 저장시설에서 이산화염소의 대상해충들에 대한 살충력 및 해충들의 치사율, 생존률 등과 같은 해충 개체군의 생태적 특성, 밀도변동 상황, 피해양상 등을 분석하였다.

3절 저장시설에서의 산화염소 처리에 의한 살충력 및 밀도 변동 양상, 생태적특성 및 곡물 피해 양상 검정

1. 실제 저장시설에서의 이산화염소 가스의 대상 저장해충에 대한 살충력 및 밀도 변동 양상 검정

가. 곡물 저장시설이 위치한 지역의 온도, 습도 등 외부 환경조건 및 저장시설의 내부 환경조건 파악

○ 소형 및 대형 컨테이너에서의 환경조건 조사

곡물 저장시설인 소형과 대형 컨테이너에서의 환경조건을 조사하기 위하여, 이산화염소 가스 처리 실험 동안 호보(HOBO)를 설치하여 컨테이너 내, 외부의 온도 및 상대습도 등의 환경조건을 조사하였다. 컨테이너에서의 실험은 2016년 11월과 2017년 7월에 8차례 걸쳐 경기도 화성에 위치한 ㈜푸프고팜에서 진행되었다.

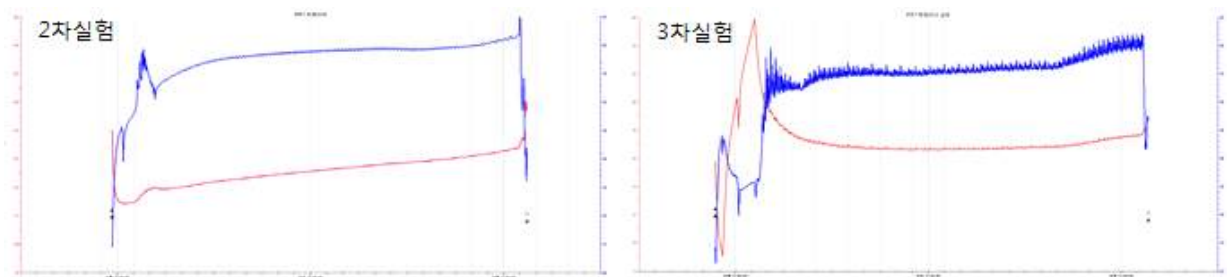


그림 38. 2016년 11월 소형 컨테이너 내부의 온도와 상대습도 변화 양상(-:온도, -:습도)

2016년 11월 소형 컨테이너(2x2x2.3m)에서 진행된 이산화염소 처리 실험 동안의 컨테이너 내부의 온도와 상대습도의 변화 양상을 그림 38에 나타냈다. 실험 진행 중 온도는 8~28℃의 범위에서 진동하였으나 이산화염소 처리 과정 중에는 13~17℃ 내외의 범위에서 유지되었으며, 상대습도의 경우 15~65%의 범위에서 진동하였으며 이산화염소 처리 과정 중에는 55~60%내외로 유지되었다. 실험진행 중 외부의 경우 온도는 8~16℃ 범위였으며, 상대습도는 14~35%를 나타냈다.

실험진행 계획 상 2년차의 추가 및 보충 결과를 얻기 위한 실험으로 11월에 진행되어 외부의 온도와 상대습도가 전반적으로 낮아 실험에 유리하지 않은 환경조건이었으나 이산화염소 처리 시 대상해충에 대한 살충력 효과 분석에 대한 기초자료를 제공하였다.

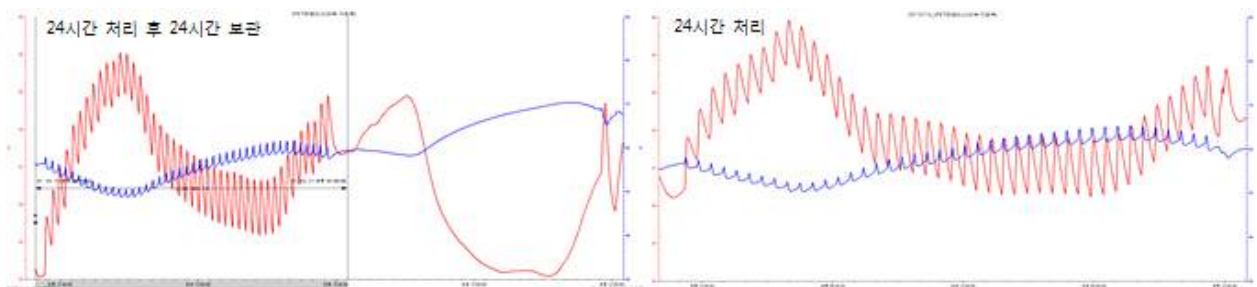


그림 39. 2017년 7월 대형 컨테이너 내부의 온도와 상대습도 변화 양상(-:온도, -:습도)

2017년 7월 대형 컨테이너(2.6x4.5x2.5m)에서 진행된 이산화염소 처리 실험 동안의 컨테이너 내부의 온도와 상대습도의 변화 양상을 그림 39에 보였다. 실험 진행 중 온도는 27~40℃의 범위에서 진동 하였으며 이산화염소 처리 과정 중에는 평균 32℃ 내외로 유지되었으며, 상대 습도의 경우 50~65% 범위를 나타냈다. 실험진행 중 외부의 온도는 24~32℃ 범위였으며, 상대습도는 50~60%의 범위를 나타냈다. 대형 컨테이너에서의 실험은 2017년 7월 여름에 진행 되어 온도와 습도 조건이 비교적 실험 해충들에게 유리하여 이들이 생태적으로나 생리적으로 환경조건에 크게 영향을 받지 않고 이산화염소의 살충력 효과와 분석에 대한 자료를 제공하였다.

○ 의성, 진천 RPC(미곡처리장)에서의 환경조건 조사

곡물의 실제 저장시설인 경상북도의 의성 미곡처리장과 충청북도의 진천 미곡처리장에서 대상해충들에 대한 이산화염소 가스의 살충효과를 시험하였다. 의성 RPC에서는 2017년 4월, 진천 RPC에서는 2017년 7월에 각각 실험을 진행하였다. 일반적으로 RPC의 경우 시설이 외부에 노출이 되어있는 경우가 많고 특별히 시설내부의 환경조건, 즉 온도나 상대습도를 조절 하지 않는 경우가 많아 시설 내부의 온도와 습도는 조사를 하지 않았으며 이들 장소에 대한 온도와 습도 등의 환경조건은 실험 진행 시 해당 지역 또는 지역과 가장 근접한 지역인 청주의 환경조건을 표 19과 20에 제시하였다.

표 19. 실험 해당 지역의 온도와 습도 등의 환경조건(실험당일)

의성		04월	청주		07월
		22일			01일
평균기온	관측	12.4	평균기온	관측	24.3
(°C)	평년	13.2	(°C)	평년	24.1
최고기온	관측	20.9	최고기온	관측	25.9
(°C)	평년	21.6	(°C)	평년	28.5
최저기온	관측	5.3	최저기온	관측	21.9
(°C)	평년	4.9	(°C)	평년	20.4
일교차(°C)		15.6	일교차(°C)		4
최저초상온도(°C)		1.1	최저초상온도(°C)		21.9
상대습도	관측	64.9	상대습도	관측	85.6
(%)	평년	59.2	(%)	평년	75.5
	최소	23		최소	57

표 20. 실험 해당 지역의 월 평균기온 및 상대습도(2106~2017년 9월)

의성 2106	평균기온	상대습도	의성 2017	평균기온	상대습도	청주 2016	평균기온	상대습도	청주 2017	평균기온	상대습도
1월	-3.3	60.9	1월	-2.2	58.3	1월	-1.8	56.3	1월	-0.8	59
2월	0.1	54.9	2월	0.1	51.8	2월	1	52.3	2월	0.8	52.7
3월	6.3	57.5	3월	5.4	54.3	3월	7.3	46.2	3월	6.8	45
4월	13.4	67.2	4월	13.2	56.7	4월	14.7	51.9	4월	14.7	46.5
5월	18.3	64.3	5월	18.2	55.3	5월	19.9	49.5	5월	19.9	48.1
6월	22.7	72.6	6월	22.1	56.2	6월	23.6	59.6	6월	23.4	51.2
7월	25.8	81.8	7월	26.1	80.4	7월	26.3	71.2	7월	27.1	76.6
8월	26.6	72	8월	25	81.2	8월	27.6	62	8월	26.1	69.4
9월	21.1	86.3	9월	19.2	77.1	9월	22.7	68.5	9월	21.5	62.6
10월	15	86.2	10월	15.6	82.2	10월	15.9	67.7	10월	17.2	64.2
11월	6	72.4	11월			11월	6.9	59.6	11월		
12월	0.9	69	12월			12월	2.3	60.9	12월		

실험 당일 의성의 최고온도는 20.9°C, 최저기온은 5.3°C를 보였으며, 평균기온은 12.4°C 나타났고, 상대습도는 64.9%를 보였다. 청주의 경우 최고온도는 25.9°C, 최저기온은 21.9°C를 보였으며, 평균기온은 24.34°C 나타났고, 상대습도는 85.6%를 기록하였다. 의성의 경우 실험 시기가 4월이고 진천의 경우 실험시기가 7월이라 봄과 여름의 저장시설의 환경조건을 반영해주는 자료라 할 수 있다.

또한 두 지역에서의 2016년에서 2017년 9월까지의 온도, 습도는 전년도 대비 유사한 양상을 나타냈으나 의성과 청주 두 지역 모두에서 한 겨울인 1월의 기온이 2016년에 의성이 -3.3°C, 2017년에 -2.2°C였고 청주는 2016년 -1.8°C, 2017년 -0.8°C로 겨울이 따뜻해지는 온난화 현상의 영향을 받는 것으로 생각되었다.

나. 저장시설에서 이산화염소 가스 처리 시 처리농도, 처리시간 등에 따른 각 곡물 별 대상 해충의 발육단계 별 생존률을 통한 효과 분석

○ 컨테이너에서의 이산화염소의 대상해충에 대한 살충력 및 밀도 변동 양상 검정

저장시설에서의 이산화염소 가스의 대상해충에 대한 살충력 검정을 위하여 경기도 화성시 소재 (주)푸르고팜에서 소형(2x2x2.3m)과 대형(2.6x4.5x2.5m)사이즈의 실험용 컨테이너를 제작하였다. 컨테이너의 내부에는 4개의 관으로 연결된 이산화염소 가스 투입구가 있으며, 컨테이너 내부의 온도를 조절할 수 있는 열선이 내부 면에 설치되어있다. 컨테이너는 1톤의

곡물(쌀)이 톤백에 담겨져 투입될 수 있는 크기로 제작되었다. 곡물 저장시설에 대한 실험을 위하여 컨테이너에서 이산화염소 처리 시 대상해충인 화랑곡나방 유충과 어리쌀바구미 성충의 밀도 변동 추정 및 무처리구와의 밀도 변동 비교를 통하여 이산화염소가 대상해충 개체군의 밀도에 미치는 영향을 파악하고자 하였다. 소형 컨테이너에서의 실험은 2년차 pilot 시설의 실험 결과를 뒷받침하기 위하여 추가적으로 진행되었다. 컨테이너 내부에 톤백을 설치 한 후, PP재질의 모래마대를 이용, 모래마대 내부에 현미 2kg을 투입 후 공시충인 화랑곡나방 4령 유충과 어리쌀바구미 성충을 각각 50마리씩을 함께 투입 후 윗부분을 타이핀으로 밀폐하였다. 모래마대에 현미와 공시충 투입 전 모래마대로부터 공시충들의 유출과 탈출을 방지하기 위하여 종이 재질의 거름망에 현미와 공시충을 먼저 투입 한 후 처리된 거름망을 모래마대에 투입하였다. 컨테이너 내부에 설치된 톤백에 실험마대를 톤백의 형태에 맞추어 격자로 적재하면서 현미와 2종의 공시충이 처리된 주머니를 톤백의 하단, 중단, 상단에 위치시키고, 적재된 현미마대의 사이에 이산화염소를 투입할 수 있는 3개의 PVC관을 삽입, 설치하고 컨테이너 옆에 설치된 이산화염소 발생 장치를 통하여 컨테이너 내부로 200ppm 농도의 이산화염소를 투입하였다.



그림 40. 소형 컨테이너에서의 실험마대 설치과정

제거된 실험마대는 고려대학교 실험실로 운반하여 화랑곡나방 유충과 어리쌀바구미 성충의 치사수 및 생존 개체수를 조사하였다. 공시충이 들어있는 현미마대에서 대상해충들의 생존개체수와 치사수를 조사한 후 현미와 대상해충을 옥양목으로 덮개를 처리하여 환기가 가능한 플라스틱 실험장(30x23x18cm)에 투입하였다. 처리된 플라스틱 실험장을 실험실 내 환경(25~30℃)에 보관하면서 화랑곡나방과 어리쌀바구미 성충의 개체군 밀도 변동 양상을 조사하였다. 대상해충의 밀도 조사는 플라스틱 실험장에 투입된 현미 2kg중 실험장의 중앙부분과 4곳의 가장자리 부분에서 각각 100g씩의 현미를 샘플링하여 화랑곡나방과 어리쌀바구미의 개체수를 조사하여 개체군 밀도 변동 양상을 추정하고자하였다.

대상해충은 개체수 조사 후 다시 플라스틱 실험장으로 되돌려 위치 시켰으며, 본 실험은 한 달 간격으로 일정기간 조사하고자 하였으며, 이를 토대로 이산화염소의 화랑곡나방과 어리쌀바구미에 대한 살충력과 이들의 밀도 변동 양상을 처리 위치 별(상단, 중단, 하단 등), 그리고 이산화염소 무처리구와 비교, 분석하고자 하였다.



그림 41. 이산화염소가 처리된 마대에서의 대상해충의 살충력 조사

이산화염소의 화랑곡나방 유충과 어리쌀바구미 성충에 대한 살충력 검정 결과(2차 실험)를 표21에 나타냈다.

표 21. 소형 컨테이너에서의 이산화염소에 대한 대상해충의 치사율

공시충 위치	치사율(%)	
	화랑곡나방	어리쌀바구미
안쪽 상단	94	80
안쪽 중단	68	52
안쪽 하단	74	58
평균	78.67	63.33
바깥쪽 상단	82	36
바깥쪽 중단	8	40
바깥쪽 하단	76	46
평균	55.33	40.67
전체평균(±sd)	67.00±30.22	52.00±15.85

1차 실험의 경우 실험에 투입된 현미가 해충들에게 오염되어 정확한 살충 결과를 얻을 수 없어서 전량 폐기처분하게 되어 2차 결과를 보였다. 이산화염소 투입관을 중심으로 가까운 곳을 안쪽, 먼 곳을 바깥쪽으로 정하고 조사한 결과, 처리위치에 따른 화랑곡나방과 어리쌀바구미 모두 안쪽에서 각각 78.67%, 63.33%로 바깥쪽의 치사율보다 높게 조사되었다. 안쪽과 바깥쪽 모두 중단이나 하단에 비하여 상단에서 비교적 높은 치사율 나타냈으며, 전체적으로 화랑곡나방의 치사율이 67%로 어리쌀바구미 치사율 52% 보다 높게 조사되었다.

표 22는 이산화염소의 화랑곡나방 유충과 어리쌀바구미 성충에 대한 살충력 검정에 대한 실험결과(3차 실험)를 나타내 것으로, 이전의 방법과는 다르게 적재방법을 수정하여 한층 약24개, 총 11단 최상단 현미마대 15개 적재하였고, 예열셋팅 40℃, 지속셋팅 35℃ 맞추고, 외부센서 상단, 내부센서 중단 바깥쪽에 위치시켰으며, 이산화염소 발생 보조키트 파미버스터를 투입하여 실험하였다. 처리위치에 따른 결과, 안쪽에서는 화랑곡나방과 어리쌀바구미의 치사율이 각각 15.33%과 14%로 큰 차이를 보이지 않았으며, 바깥쪽의 경우 화랑곡나방이 29.33%로 어리쌀바구미의 12.67%보다 다소 높게 나타났다. 화랑곡나방은 안쪽 상단 36%, 바깥쪽 상단 56%로 중단, 하단에 비하여 높은 치사율을 보였으나 어리쌀바구미의 경우 일정한 경향을 보이지 않았다.

표 22. 소형 컨테이너에서의 이산화염소에 대한 대상해충의 치사율

공시충 위치	치사율(%)	
	화랑곡나방	어리쌀바구미
안쪽 상단	36	26
안쪽 중단	8	4
안쪽 하단	2	12
평균	15.33	14.00
바깥쪽 상단	56	8
바깥쪽 중단	8	8
바깥쪽 하단	24	22
평균	29.33	12.67
전체평균(±sd)	22.33±20.72	13.33±8.73

표23에 이산화염소에 대한 2종 공시충들의 살충력 검정 결과(4차실험)를 보였다. 4차 실험의 경우마대의 적재방법은 3차 방법으로 유지하고 지속온도를 30℃로 설정, 투입관 구멍의 개방을 조절하면서 진행하였다. 화랑곡나방의 경우 처리위치 안쪽에서 34.67%로 바깥쪽 24%보다 높게 조사되었고

표 23. 소형 컨테이너에서의 이산화염소에 대한 대상해충의 치사율

공시충 위치	치사율(%)	
	화랑곡나방	어리쌀바구미
안쪽 상단	16	16
안쪽 중단	8	22
안쪽 하단	80	26
평균	34.67	21.33
바깥쪽 상단	12	4
바깥쪽 중단	20	10
바깥쪽 하단	40	22
평균	24.00	12.00
전체평균(±sd)	29.33±27.21	16.67±8.36

어리쌀바구미에서도 안쪽의 치사율이 21.33%로 바깥쪽의 12% 보다 높게 조사되었다. 전체적으로 화랑곡나방의 치사율이 29.33%로 어리쌀바구미의 16.67%로다 높게 조사되었다. 4차의 실험의 경우 이전 실험의 결과와는 다르게 안쪽, 바깥쪽 모두의 하단에서 화랑곡나방 치사율이 각각 80%, 40%로 어리쌀바구미는 각각 26%, 22%로 중단과 상단에 비하여 높게 조사되었는데, 이는 투입관의 개방조절에 따른 결과라 생각되어졌다.



그림 41. 대형 컨테이너에서의 살충력 검증을 위한 실험마대 적재

저장시설인 대형 컨테이너에서의 이산화염소에 대한 화랑곡나방과 어리쌀바구미의 살충력 검정을 진행하였다. 대형 컨테이너에서의 경우 용적이 소형의 9.2m^3 에 비하여 3배 정도인 29.25m^3 의 용적을 가지고 있다. 대형 컨테이너에서의 살충력 검정은 앞의 소형 컨테이너의 살충력 검정의 기본적인 절차와 크게 다르지 않게 진행되었다. 곡물은 조곡을 사용하였으며 이산화염소 처리농도는 200ppm으로 설정하고 실험기간이 여름철이라 예열은 하지 않았다. 또한 이산화염소의 원활한 확산이나 흐름을 위한 블로어는 동시에 5분 가동 후 30분 휴식하도록 진행하였다. 그림 41에 대형 컨테이너에서의 실험마대 적재과정을 보였다.

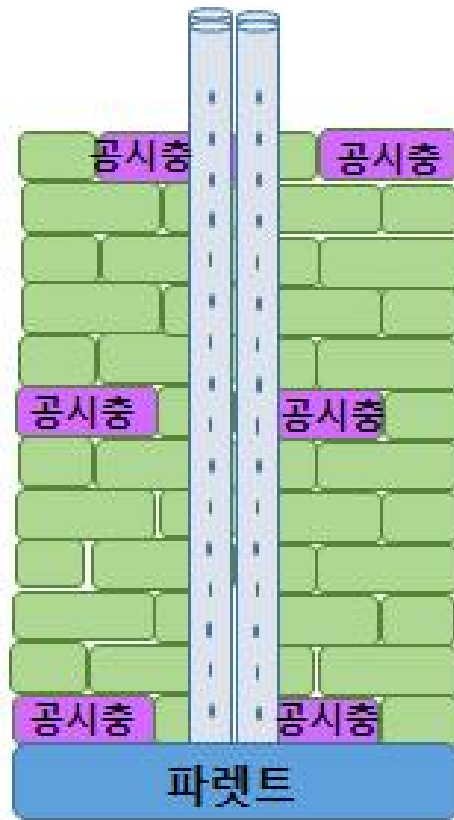


그림 42. 대형 컨테이너 내 실험마대 적재방법 모식도

그림 42에 대형 컨테이너에서의 실험마대 적재방법 및 공시층 처리위치에 대한 모식도를 나타냈다. 실험마대는 한층 16개, 총 12단으로 적재하였으며 이산화염소 투입관은 PVC 재질로 총 4개로 구성되었으며 실험마대의 중앙에 위치시켰으며, 관 주위의 빈공간은 조곡으로 채워 실험을 진행하였다. 처리가 끝난 후 이산화염소가 처리된 실험마대를 제거하고, 고려대학교 실험실로 운반하여 화랑곡나방 유충과 어리쌀바구미 성충의 치사수 및 생존 개체수를 조사하였다. 공시층이 들어있는 현미마대에서 대상해충들의 생존개체수와 치사수를 조사한 후 현미와 대상해충을 옥양목으로 덮개를 처리하여 환기가 가능한 플라스틱 실험장(30x23x18cm)에 투입하였다. 표 24에 대형 컨테이너에서의 1차 실험에서의 이산화염소의 2중 공시층들에 대한 살충력 검증 결과를 나타냈다.

표 24. 대형 컨테이너에서의 1차 이산화염소에 대한 대상해충의 치사율

공시층 위치	치사율(%)	
	화랑곡나방	어리쌀바구미
안쪽 상단	2	14
안쪽 중단	4	4
안쪽 하단	4	4
평균	3.33	7.33
바깥쪽 상단	0	26
바깥쪽 중단	6	6
바깥쪽 하단	4	0
평균	1.67	10.67
전체평균(±sd)	2.50±1.52	9.00±9.53

이후 진행방법은 소형 컨테이너의 실험방법과 동일하게 진행하면서 이를 토대로 이산화염소의 화랑곡나방과 어리쌀바구미에 대한 살충력과 이들의 밀도 변동 양상을 처리 위치 별(상단, 중단, 하단 등), 그리고 이산화염소 무처리구와 비교, 분석하고자 하였다.

1차 실험은 이산화염소 처리 시 컨테이너 내부에 드라이아이스를 투입하여 이산화탄소 농도를 5%로 조정하여 실험을 진행하였으며, 24시간 처리 후 24시간 유지, 보관 후 컨테이너를 개방하여 조사한 결과이다. 화랑곡나방의 경우 안쪽의 치사율이 3.33%로 바깥쪽의 치사율 1.67%보다 높게 나타났으나, 어리쌀바구미는 안쪽 치사율 7.33% 보다 바깥쪽 치사율이 10.67%로 높게 조사되었다. 화랑곡나방은 상단, 중단, 하단의 위치에 따른 치사율에서는 일정한 경향을 보이지 않았으나, 어리쌀바구미의 경우는 상단의 치사율이 중단, 하단 보다 높게 조사되었다. 전체적인 치사율은 화랑곡나방이 2.5%, 어리쌀바구미가 9%로 어리쌀바구미의 치사율이 높게 나타났으나 전반적으로 이전의 소형 컨테이너에서의 실험보다는 치사율이 전반적으로 낮아졌다. 이러한 결과는 이산화염소 처리 시 드라이아이스를 투입한 것이 컨테이너 내부 환경에 어떠한 영향을 주어 나타난 결과로 생각되어진다. 표 25에 대형 컨테이너에서의 2차 살충력 실험 결과를 보였다.

표 25. 대형 컨테이너에서의 2차 이산화염소에 대한 대상해충의 치사율

공시충 위치	치사율(%)	
	화랑곡나방	어리쌀바구미
안쪽 상단	0	58
안쪽 중단	4	60
안쪽 하단	12	64
평균	5.33	60.67
바깥쪽 상단	2	48
바깥쪽 중단	2	52
바깥쪽 하단	0	58
평균	1.33	52.67
전체평균(±sd)	3.33±4.50	56.67±5.75

2차 실험은 기본적으로 대형 컨테이너에서의 살충력 검정 방법과 동일하나, 이산화염소를 24시간 처리 후 24시간 유지, 보관한 후 개방하여 조사하였다. 화랑곡나방의 경우 안쪽의 치사율이 5.33%, 바깥쪽이 3.33%로 안쪽 치사율이 높았으며 어리쌀바구미 역시 안쪽 치사율이 60.67%로 바깥쪽의 52.67%보다 높았다. 화랑곡나방과 어리쌀바구미 모두 상단, 중단, 하단에 따른 치사율은 일정한 경향을 보이지 않았으며 전체적인 치사율은 어리쌀바구미가 56.67%로 화랑곡나방의 3.37%보다 크게 높게 나타났다.

표 26. 대형 컨테이너에서의 3차 이산화염소에 대한 대상해충의 치사율

공시충 위치	치사율(%)	
	화랑곡나방	어리쌀바구미
안쪽 상단	8	42
안쪽 중단	2	76
안쪽 하단	2	4
평균	4.00	40.67
바깥쪽 상단	18	88
바깥쪽 중단	2	4
바깥쪽 하단	4	2
평균	8.00	31.33
전체평균(±sd)	6.00±6.32	36.00±38.84

표 26에 대형 컨테이너에서의 3차 이산화염소의 살충력 결과를 나타냈다. 3차 실험은 이산화염소를 24시간 처리 후 컨테이너를 즉시 개방하여 조사한 결과이다. 화랑곡나방은 치사율이 안쪽 4% 보다 바깥쪽 8%로 높았으며 어리쌀바구미는 안쪽이 40.67%, 바깥쪽이 31.33%로 안쪽의 치사율이 높게 조사되었다. 화랑곡나방은 상단의 치사율이 중단, 하단보다 높게 나타났으며 어리쌀바구미의 경우는 바깥쪽의 상단이 88%로 매우 높게 나타났으나 안쪽은 중단이 76%로 높게 나타났다. 전체적으로 화랑곡나방의 치사율은 6%, 어리쌀바구미 치사율은 36%로 어리쌀바구미의 치사율이 높게 조사되었다. 아래에 대형 컨테이너에서의 4차 이산화염소의 2중 공시충들에 대한 살충력 검정 결과를 표 27에 나타냈다.

표 27. 대형 컨테이너에서의 4차 이산화염소에 대한 대상해충의 치사율

공시충 위치	치사율(%)	
	화랑곡나방	어리쌀바구미
안쪽 상단	10	4
안쪽 중단	4	6
안쪽 하단	6	6
평균	6.67	5.33
바깥쪽 상단	0	4
바깥쪽 중단	0	20
바깥쪽 하단	2	8
평균	0.67	10.67
전체평균(±sd)	3.67±3.88	8.00±6.07

4차 살충력 검증 실험은 이산화염소를 24시간 처리 후 12시간 유지, 보관한 후 컨테이너를 개방하여 조사하였다. 화랑곡나방은 안쪽 치사율이 6.67%로 바깥쪽의 0.67% 보다 높게 나타났으나 어리쌀바구미의 경우는 바깥쪽 치사율이 10.67%로 안쪽 치사율 5.33% 보다 높게 나타났다. 상단, 중단, 하단위치에 따른 치사율은 화랑곡나방과 어리쌀바구미 모두 일정한 경향을 보이지 않았다. 전체적으로 치사율은 어리쌀바구미가 8%로 화랑곡나방의 3.67% 보다 높은 것으로 나타났다.

표 28. 컨테이너에서의 대상해충의 살충력 검증을 위한 이산화염소의 처리 조건

처리조건 처리일시	컨테이너	농도 (ppm)	곡물	마대 적재방법	CO ₂ 투입방법	온도(°C)	보조제 사용여부	공시충 적재방법	Blower	처리, 조사방법	비고
2016. 11. 9	소형 (9.2m ³)	200	조곡	한층 약24개 총 11단	관3개 중앙위치: 상단, 중단, 하단 개방	예열: 40 지속: 25	파미버스터 15개	현미마대 상중하	1분 가동, 5분 휴식	24시간 처리 후 즉시	관주위 빈 공간 채움
2016. 11. 16	소형 (9.2m ³)	200	조곡	한층 약24개 총 11단, 최상단 현 미포대 15개	관3개 중앙위치 1번: 상단, 중단 2번: 중단, 3번 하단	예열: 40 지속: 35	파미버스터 15개	현미마대 상중하	1분 가동, 5분 휴식	24시간 처리 후 즉시	1번관 중단 구멍 개방 6개 조절
2016. 11. 23	소형 (9.2m ³)	200	조곡	한층 약24개 총 11단	관3개 중앙위치 1번: 상단, 중단 2번: 중단, 3번 하단	예열: 40 지속: 30	파미버스터 15개	현미마대 상중하	순차적으로 5분씩 가동	24시간 처리 후 즉시	1번관 중단 구멍 개방 6개 조절
2017. 7. 5	대형 (29.25m ³)	200	조곡	한층 16개 총 12 단	관4개 중앙위치: 1번 상단, 2번 중단, 3번 하단, 4번 전체	예열 x	X	현미마대 상중하	동시에 5 분 가동, 30분 휴식	5% CO ₂ (드라이 아이스) 투입 후 24시간 처리, 24시간 보관	관주위 빈 공간 채움
2017. 7. 12	대형 (29.25m ³)	200	조곡	한층 16개 총 12 단	관4개 중앙위치: 1번 상단, 2번 중단, 3번 하단, 4번 전체	예열 x	X	현미마대 상중하	동시에 5 분 가동, 30분 휴식	24시간 처리 후 24시간 보 관	관주위 빈 공간 채움
2017. 7. 19	대형 (29.25m ³)	200	조곡	한층 16개 총 12 단	관4개 중앙위치: 1번 상단, 2번 중단, 3번 하단, 4번 전체	예열 x	X	현미마대 상중하	동시에 5 분 가동, 30분 휴식	24시간 처리 후 즉시	관주위 빈 공간 채움
2017. 7. 26	대형 (29.25m ³)	200	조곡	한층 16개 총 12 단	관4개 중앙위치: 1번 상단, 2번 중단, 3번 하단, 4번 전체	예열 x	X	현미마대 상중하	동시에 5 분 가동, 30분 휴식	24시간 처리 후 12시간 보 관	관주위 빈 공간 채움

앞의 실험 결과들처럼 화랑곡나방 유충과 어리쌀바구미 성충에 대한 이산화염소의 살충효과 검증을 위한 총 8차례 실험 중 7번의 실험 결과를 얻을 수 있었다. 그러나 소형, 대형 컨테이너에서의 실험에서 이산화염소 처리, 투입 방법, 조사 시기 및 블로어 가동 방법, 예열 및 지속 온도, 이산화염소 보조키트 사용여부 등등 살충력 검증을 조건들이 약간씩 수정되어 진행되어 전반적인 처리조건을 한눈에 명확히 알아볼 수 있도록 표 28에 각각의 실험에 따른

이산화염소 처리 조건을 제시하였다.

화랑곡나방 유충과 어리쌀바구미 성충에 대한 이산화염소의 살충효과 검증을 위하여 각 실험에 수행된 처리조건을 살펴보면 소형, 대형 컨테이너에서 모두 이산화염소의 처리농도는 200ppm으로 고정되었으며, 컨테이너 내부에 적재된 마대는 2kg의 조곡을 투입하였고 마대의 적재방법은 소형 컨테이너 실험에서는 한층 약 24개로 총 11단의 높이로 적재하였으며, 대형 컨테이너에서는 한층 16개로 총 12단의 높이로 마대를 적재하였다. 이 두 가지 적재방법 모두 1톤의 톤백 내부에 적재하는데 어려움은 없었다. 조곡이 들어있는 마대사이 공시충이 투입된 실험마대를 하단부는 바닥면에 중단부는 중간에 상단은 적재 마대의 상부에 위치시켰으며, 이산화염소 투입관을 중심으로 가까운 위치를 안쪽, 먼 위치를 바깥쪽으로 정하고 상단, 중단, 하단으로 공시충을 위치시켰다. 소형 컨테이너에서의 실험 경우 실험 시기가 11월이라 온도가 낮아 예열을 하였으나 대형 컨테이너 실험은 7월에 진행되어 예열 작업을 진행하지 않았다. 또한 소형 컨테이너 실험에서는 이산화염소 처리 시 이산화염소 보조키트를 사용하였으나 대형 컨테이너 실험에서는 보조키트를 사용하지 않았다. 소형 컨테이너 실험에서 블로어 가동시간에 차이가 있는 이유는 블로어에 부하가 걸려 조정을 하였으며 대형 컨테이너 실험에서는 동시에 5분 가동 후 30분 휴식 방법으로 고정하여 블로어에 무리가 없도록 설정하였다. 이산화염소 처리시간은 소형, 대형 컨테이너에서 모두 24시간 처리하였으며 24시간 처리 후 컨테이너 개방 시간은 처리 후 즉시, 12시간 보관, 24시간 보관 등으로 구분하였으나 지금까지의 실험결과는 24시간 보관과 처리 후 즉시 개방 실험에서 공시충 특히, 어리쌀바구미의 살충력이 다소 높게 조사되었다. 모든 실험에서 적재된 마대와 투입관과의 틈에는 조곡을 투입하여 빈틈을 메꾸어 저장시설에 곡물을 저장시키는 실제조건과 유사하게 하였다.

샘플링을 통한 대상 해충개체군의 밀도 변동 추정을 위하여 앞의 컨테이너 실험으로부터 이산화염소 처리 후 고려대 실험실로 가져온 실험마대 내의 공시충들의 개체수를 측정하여 밀도변동을 추정하고 이산화염소 무처리구와의 밀도를 비교하였다. 공시충들의 개체수 측정은 플라스틱 실험장에 들어있는 2kg의 현미 중 실험장 5곳으로부터 500g의 현미를 샘플링하여 개체수를 추정하였다. 무처리구의 경우는 현미 2kg이 들어있는 플라스틱 실험장에 화랑곡나방 유충과 어리쌀바구미 성충 각 50마리 씩을 접종 한 후 30일 경과 후 500g의 현미를 샘플링하여 조사한 화랑곡나방과 어리쌀바구미의 개체군 밀도를 추정하였다. 그림 43에 실험실 내 플라스틱 실험장의 샘플링 위치를 나타냈으며, 그림 44에 플라스틱 실험장에서 샘플링을 통한 대상해충의 개체군 밀도 조사 과정을 보였다.

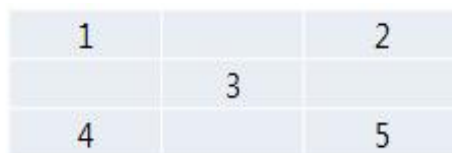


그림 43. 실험장 내 샘플링 위치

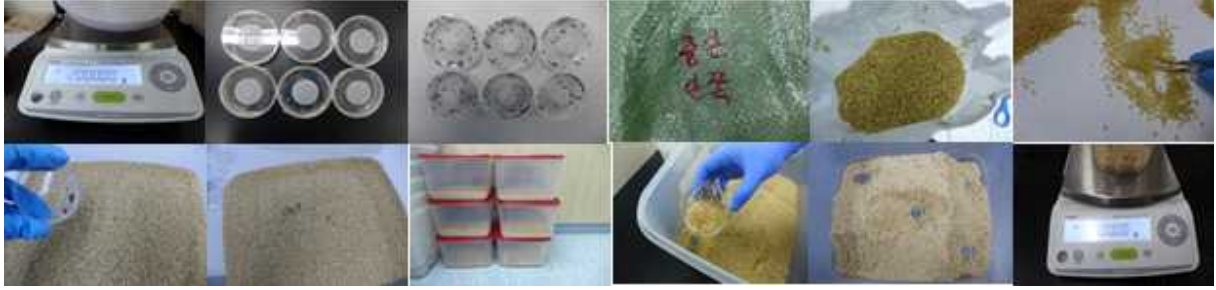


그림 44. 플라스틱 실험장에서 샘플링을 통한 대상해충의 개체군 밀도 조사 과정

이산화염소 무처리 시의 화랑곡나방과 어리쌀바구미의 개체군 변동 양상을 그림 45에 나타냈다. 실험장에 2kg의 현미를 투입하고 화랑곡나방 유충과 어리쌀바구미 성충 각 50마씩을 접종한 후 30일 간격으로 6개월 동안 각 공시충들의 밀도변동 양상을 조사하였다.

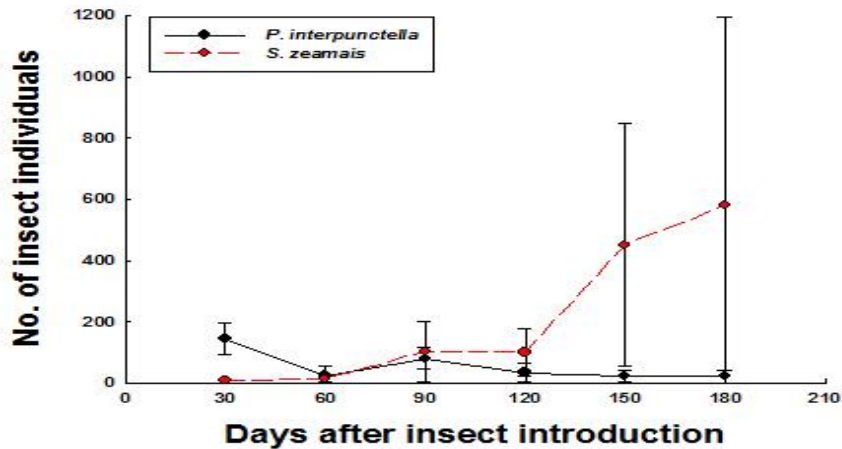


그림 45. 이산화염소 무처리 시 화랑곡나방과 어리쌀바구미 밀도 변동

화랑곡나방의 경우 5곳의 샘플링 장소에서 추출된 500g의 현미 샘플에서 성충과 유충을 포함한 전체 평균 개체수가 30일 후 144.67 ± 51.69 마리로 증가하는 양상을 보였다가 60일 이후 20.47마리에서 80마리 범위 내에서 낮게 진동하는 양상을 나타냈다. 어리쌀바구미의 경우 전체 평균 개체수가 30일 후 6.67 ± 6.39 마리로 비교적 낮게 조사되었다가 점차적으로 증가하여 90일 이후 102.6마리, 150일 후 450.53마리, 180일 후 578.87마리로 개체군이 급격하게 증가하는 양상을 보였다. 실험장 투입 초반 30일~60일 사이에는 화랑곡나방의 밀도가 다소 높았으나 90일 이후부터 점차 어리쌀바구미의 밀도가 높아지기 시작하여 150일 이후부터는 화랑곡나방과 어리쌀바구미의 차이가 크게 나타났다. 투입 초기에 화랑곡나방의 밀도가 어리쌀바구미 보다 높은 이러한 결과는 실험에 사용된 화랑곡나방의 4령 유충들이 투입 초기에 성충으로 변하여 산란이 이루어진 후 어린 유충들이 조사된 결과로 생각되어지며, 투입 초기에는 어리쌀바구미의 밀도가 낮다가 90일 이후 화랑곡나방 보다 밀도가 높아지기 시작하여 조사 기간 동안 급격하게 밀도가 증가한 이유는 90일 이후부터 어리쌀바구미 성충의 출현과 화랑곡나방에 비하여 성충의 수명이 매우 길어 개체수 조사 시 세대가 누적되어 나타난 결과로

생각되며 또한 현미를 먹이로 하는 종간경쟁에서도 화랑곡나방에 비해 우세하였기 때문이라 생각된다. 표 29과 30에 대형 컨테이너에서 이산화염소가 처리된 30일, 60일 후의 화랑곡나방과 어리쌀바구미의 개체군 밀도를 각각 나타냈다.

표 29. 이산화염소 처리 30일 경과 후 화랑곡나방과 어리쌀바구미 개체수

실험 회차	샘플링 위치(화랑곡나방)						실험 회차	샘플링 위치(화랑곡나방)					
	1	2	3	4	5	평균		1	2	3	4	5	평균
1	163	212	144	195	122	167.2	1	85	140	121	40	59	89
2	442	514	314	300	194	352.8	2	8	13	21	11	12	13
3	503	560	510	559	403	507	3	31	36	22	9	33	26.2
4	440	349	372	291	380	366.4	4	8	130	115	203	116	114.4
평균	387	408.75	335	336.25	274.75	348.35	평균	33	79.75	69.75	65.75	55	60.65

표 30. 이산화염소 처리 60일 경과 후 화랑곡나방과 어리쌀바구미 개체수

실험 회차	샘플링 위치(어리쌀바구미)						실험 회차	샘플링 위치(어리쌀바구미)					
	1	2	3	4	5	평균		1	2	3	4	5	평균
1	73	533	106	78	56	169.2	1	545	507	427	347	406	446.4
2	526	533	601	717	768	629	2	8	222	124	166	76	119.2
3	629	467	524	369	189	435.6	3	291	298	271	289	99	249.6
4	221	272	344	362	182	276.2	4	8	615	688	667	305	456.6
평균	362.25	335.75	393.75	431.5	298.75	364.4	평균	213	410.5	377.5	367.25	221.5	317.95

대형 컨테이너에서 이산화염소가 처리된 화랑곡나방과 어리쌀바구의 개체군 밀도는 처리 30일 경과 후 화랑곡나방 평균 개체수는 348.35마리로 추정되어 어리쌀바구미의 60.65마리 보다 유의하게 높게 나타났으며($df=38, t=-8.35, P<0.05$), 처리 60일 경과 후 화랑곡나방 개체수는 364.4마리, 어리쌀바구미는 317.95마리로 큰 차이가 없는 것으로 추정되었다($df=38, t=-0.66, P>0.05$). 이러한 결과는 이산화염소 무처리 시의 개체군 밀도 양상과 유사한 것으로 초기에는 화랑곡나방의 개체수가 어리쌀바구미 보다 높았다가 시간이 경과함에 따라 화랑곡나방은 개체수가 감소하는 경향을 보이고, 어리쌀바구미 개체수는 시간이 경과함에 따라 점차 증가하는 경향을 보일 것으로 판단된다.

이산화염소 무처리구와 처리 공시충 개체군 간 시간 경과에 따른 밀도 변동 양상을 비교해보면, 무처리 시 30일 경과 후 화랑곡나방의 평균 개체수는 평균 144.67마리로 처리구의 348.35마리 보다 유의하게 낮게 나타났으며($df=33, t=-5.25, P<0.05$), 60일 경과 후 역시 무처리의 화랑곡나방 개체수가 26.47마리로 처리구의 개체수 364.4마리 보다 유의하게 낮게 조사되었다($df=33, t=-5.5, P<0.05$). 어리쌀바구미의 경우도 30일 경과 후 이산화염소 무처리 시 평균 개체수가 6.67마리로 처리구의 개체수 60.65마리 보다 낮게 나타났으며($df=33, t=-3.61, P<0.05$), 60일 결과 후의 밀도에서도 무처리 시 13.87마리, 처리 시 317.95마리로 무처리구의 개체수가 낮게 조사되었다($df=33, t=-5.62, P<0.05$). 이산화염소 무처리구와 처리구에서의 공시충들의 밀도 차이가 처리구에서 높게 나타난 이유는 이산화염소 처리과정에서 여러 문제

가 발생하여 무처리구의 밀도 변동 조사는 연구기간 중 실험내에서 처리구와는 별개로 처리, 조사되어 당시의 온도나 습도와 같은 환경조건에 영향을 받은 것이라 생각된다. 이후 유사한 시기에 이산화염소가 무처리, 처리된 실제 저장시설인 RPC에서의 실험에서는 이산화염소 처리 개체군의 생존율이 낮아지는 것을 알 수 있었다.

2. 실제 저장시설에서의 이산화염소 가스 처리 후 대상 해충개체군의 생태적 특성 검정

○ 저장시설에 이산화염소 가스 처리 후 생존 개체나 knock-down 저항성 현상을 보이는 개체들의 생존율을 통한 생태적 특성 분석

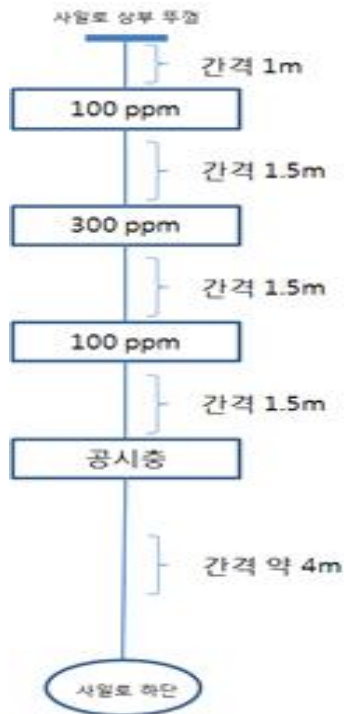


그림 46. 의성 PRC에서의 이산화염소 키트 처리 모식도



그림 47. 의성 RPC에서의 이산화염소 현장 처리 및 생존률 조사 과정

실제 곡물 저장시설에서의 이산화염소 처리 후 대상 해충개체군들에 대한 생태적 특성을 생존율을 통하여 분석하였다. 이 연구를 위하여 조곡과 쌀을 저장, 가공하는 경상북도 의성 미곡처리장(RPC)과 충청북도 진천 미곡처리장에서 대상해충에 대한 이산화염소 훈증효과를 시험하였다. 본 연구의 대상해충인 화랑곡나방 유충, 성충, 어리쌀바구미 성충 외 딱정벌레목의 중요 저장해충인 거릿쌀도둑거저리(*Tribolium castaneum*)도 포함시켜 실험을 진행하였다. 경북 의성 RPC의 경우 이산화염소 처리농도는 1, 2번 사일로에 300ppm 키트 1개, 100ppm 키트 2개, 3번 사일로 300ppm 키트 1개, 100ppm키트 1개를 처리하였으며, 사일로의 용적은(ϕ 3400 x 9645cm) 약 80m³이며 사일로 상부에서 투입하여 2시간 처리 후 1시간 배기 후 회수하였다. 실험에 사용된 공시충은 화랑곡나방 성충, 유충, 어리쌀바구미 성충, 거릿쌀도둑거저리 성충 등을 각 30마리씩 투입하였다. 이산화염소 처리 후 공시충들을 고려대학교 실험실 내로 가져와 실내조건(온도 25~30℃, 상대습도 50~60%)에서 보관하면서 24시간 간격으로 공시충들의 생존률을 일정기간 조사하였다.

그림 48에 의성 RPC에서의 이산화염소 무처리, 처리 간 대상해충들의 생존률 그래프를 나타냈다. 화랑곡나방 성충의 경우 무처리, 처리 후 1일째는 생존율 모두 100% 였으나 이후 처리구에서의 생존률이 3일째 55%로 무처리구의 84%보다 크게 낮아졌으며 이후 계속 무처리구 보다 낮은 생존률을 나타냈다. 화랑곡나방 유충의 경우 처리구에서 다소 낮은 생존률을 보였으나 조사기간 동안 무처리구와 처리구에서의 커다란 차이는 볼 수가 없었다. 어리쌀바구미 성충도 이산화염소 처리구가 다소 무처리구의 생존률보다 다소 낮게 나타났으나 역시 커다란 차이를 보이지는 않았다. 거릿쌀도둑거저리의 경우 처리구에서 처리 후 1일째 생존률

이 무처리구에서 92%, 처리구에서 72% 차이를 보였으며 이후 조사기간 동안 무처리구는 92~58%의 내외의 생존률을 나타냈고 처리구는 62~33%의 생존률을 보여 무처리구에 비하여 처리구에서 낮은 생존률을 나타냈다.

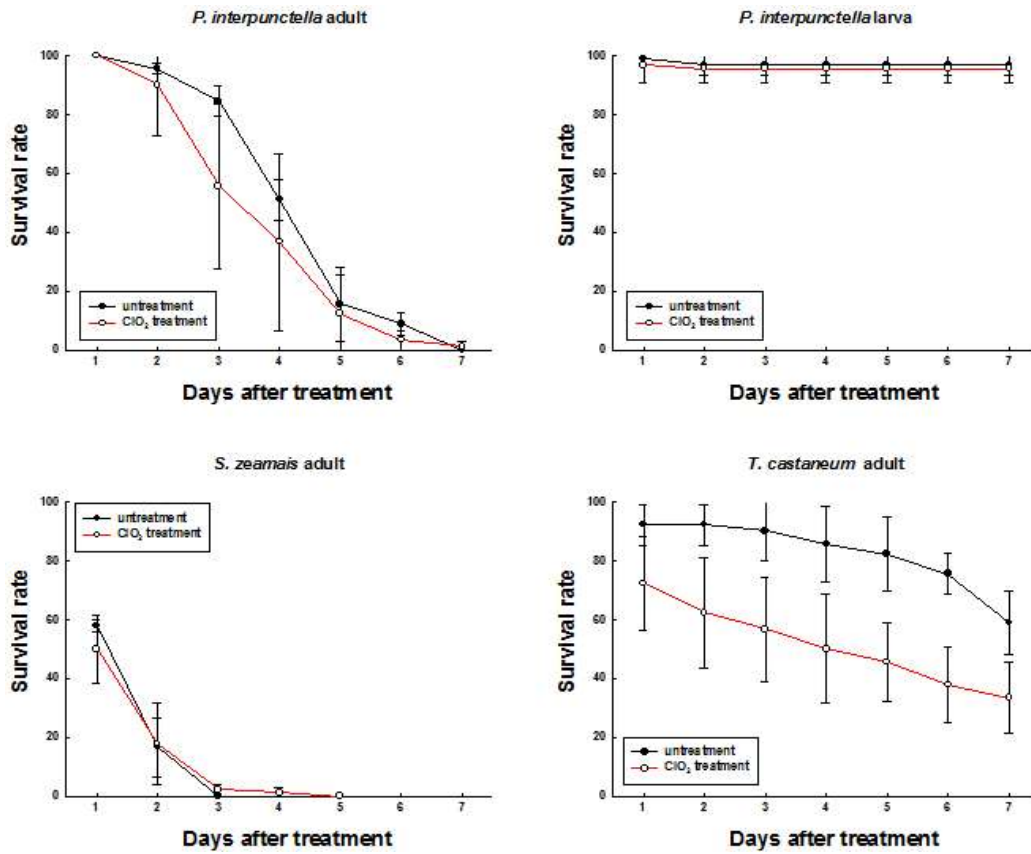


그림 48. 경북 의성 RPC에서의 이산화염소 무처리, 처리 간 공시충들의 생존률 비교



그림 49. 진천 RPC에서의 이산화염소 현장 처리 과정

그림 49에 진천 RPC에서의 이산화염소 처리과정을 보였다. 충북 진천 RPC에서의 실험은 이산화염소의 처리농도는 300ppm 키트 1개를 사용하였으며, 처리 사일로의 용적은 (240x240x820cm) 약 36.78m³ 였으며 이산화염소는 3시간을 처리 후 시설을 배기하였다. 실험에 사용된 공시충은 화랑곡나방 성충, 유충, 거짓쌀도둑거저리 성충, 어리쌀바구미 성충 등을 각 30마리 씩 투입하였다. 이산화염소가 처리된 공시충들을 고려대학교 실험실 내로 가져와 24시간 간격으로 일정기간 공시충들의 생존률을 조사하였다.

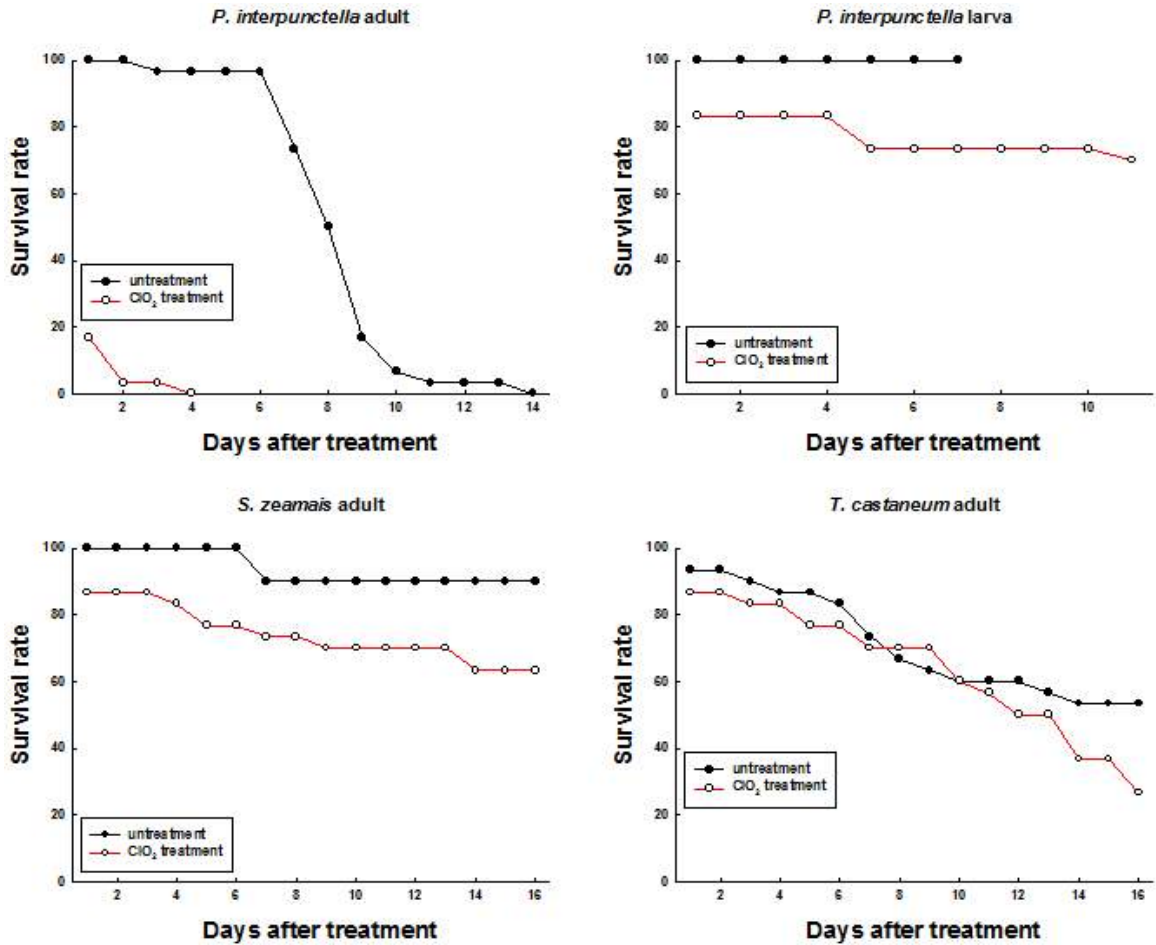


그림 50. 충북 진천 RPC에서의 이산화염소 무처리, 처리 간 공시충들의 생존률 비교

그림 50에 충북 진천 RPC에서의 이산화염소 무처리, 처리 간 대상해충들의 생존률 그래프를 나타냈다. 화랑곡나방 성충의 경우 1일째 생존률에서부터 무처리구 100%, 처리구에서 16.7%의 커다란 차이를 보였으며 2일째 이후부터 무처리구에서는 96.7%의 생존률을 보인 반면 처리구에서는 생존률이 급격하게 낮아져 3.3%의 생존률을 보이다 4일째 생존률이 0%가 되었다. 무처리구는 7일째부터 급격하게 낮아지기 시작하여 14일째 0%를 보였다. 화랑곡나방 유충은 조사기간 동안 무처리구에서 100%의 생존률을 보이다 전부 번데기로 용화되었으며 처리구에서는 이보다 낮은 83~70% 내외의 생존률을 나타냈다. 또한, 어리쌀바구미 성충도 무처리구에서는 조사기간 동안 100~90%의 생존률을 보였으나 처리구에서는 무처리구보다는 낮은 86~63%의 생존률을 나타냈다. 거릿쌀도둑거저리는 무처리구에서 1일째 93%의 생존률을 보이다 서서히 감소하여 90~53%의 범위의 생존률을 나타냈으며 무처리구는 1일째 86%를 보이다 서서히 감소하여 조사기간 동안 83~26% 범위의 생존률을 나타내어 무처리구보다는 전반적으로 낮은 생존률을 보였다.

이와 같은 결과는 실제 저장시설의 경우 본 연구를 위한 실험 장소가 환경적으로 불리한 경우, 즉 시설의 밀폐도, 시설의 규모 및 곡물의 적재방법, 현장 작업자들의 태도나 근무시간 등의 제반조건 들에 영향을 받은 것으로 생각되어지므로 앞으로 이산화염소의 적용 시에는

이러한 현장의 환경조건과 제반조건 등을 정확히 파악하여 실행하면 좋은 방제효과를 얻을 수 있을 것이라 판단되었다.

3. 실제 저장시설에서의 대상 해충에 의한 곡물 피해 양상 검정

○ 실제 저장시설에서의 이산화염소 가스의 적용 시 샘플링을 통한 곡물에서의 해충에 의한 곡물의 직접적, 간접적 피해 양상 분석

가. 컨테이너에서의 이산화염소 무처리구와 처리구의 대상해충에 의한 곡물의 피해 양상 조사

소규모 저장시설에서 곡물이 저장되어 있을 때 해충에 의한 곡물의 직접적, 간접적 피해 양상을 분석, 비교하고자 하였다. 일반적으로 저장 곡물의 해충에 의한 피해는 해충의 섭식에 의한 직접적 피해와 배설물이나 분비물, 실크와 같은 간접적 피해로 크게 나누어 볼 수 있다. 그림 51에 실험 진행 중 공시충들에 의한 탈색, 실크, 분비물, 곰팡이 오염 등과 같은 간접적 피해양상을 나타냈다.

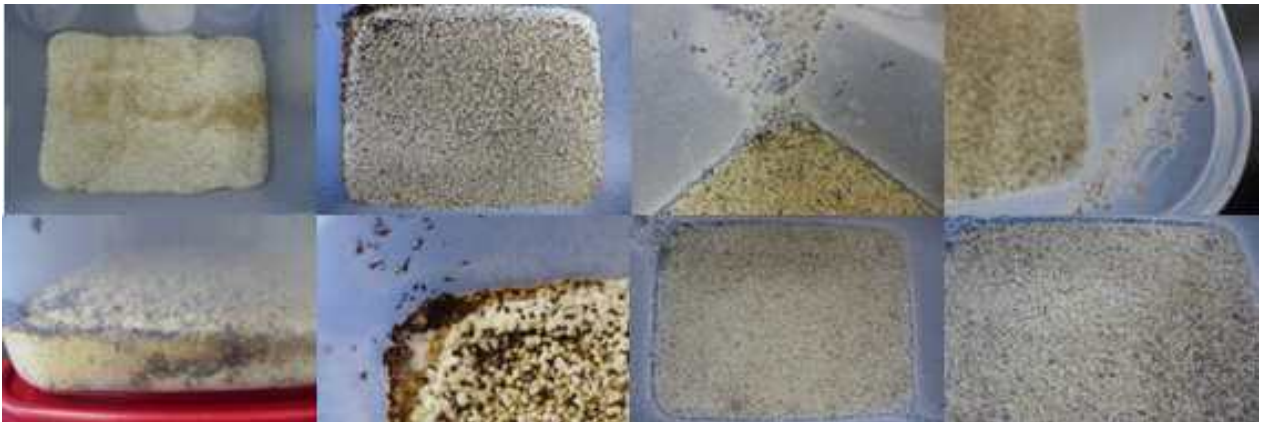


그림 51. 공시충들에 의한 현미의 간접적 피해 양상

본 연구는 주로 대상해충에 의한 직접적인 섭식에 의한 정량적인 피해를 조사하였다. 실험을 위하여 앞의 실험에서 설명한 조건의 컨테이너 환경에서 컨테이너 내부의 톤백에 적재되는 실험마대와 동일한 조건의 현미(품종:추청) 2kg를 정량하여 옥양목으로 덮개를 처리하여 환기가 가능한 플라스틱 실험장(30x23x18cm)에 투입하였다. 현미가 처리된 플라스틱 실험장에 화랑곡나방 4령 유충과 어리쌀바구미 성충 각각 50마리씩을 투입한 후 실험실 내 조건에 보관하면서 곡물의 피해양상을 조사하였다. 컨테이너에서 이산화염소가 처리된 실험마대는 그대로 회수하여 무처리구와 동일한 플라스틱 실험장에 마대를 제거하고 현미와 해충들만을 투입하고 보관하였다. 그림 52에 플라스틱 실험장에서의 이산화염소 처리, 무처리 대상해충의 투입 과정을 보였다.



그림 52. 플라스틱 실험장에 이산화염소 처리, 무처리 대상해충 투입과정

대상해충에 의한 현미의 피해양상을 조사하기 위하여 한 달 간격으로 실험장 내 현미의 무게를 측정하였으며, 대상해충들에 의해 손실된 중량만큼 다시 보충하여 되돌려 넣고 해충에 의한 곡물 중량 감소량을 측정하였다. 표 31에 이산화염소 무처리, 처리 공시충 투입 30일 후 현미의 중량 감소량을 나타냈다.

표 31. 이산화염소 무처리, 처리 공시충 투입 30일 후 현미 중량 감소량

반복(무처리)	1	2	3	평균
측정현미량(g)	1925	1930	1920.54	1925.18
현미중량감소량(g)	75	70	79.46	74.82

반복(처리)	1	2	3	4	평균
측정 현미량(g)	1979.8	1983.48	1992.7	1971.76	1891.64
현미중량감소량(g)	20.2	16.52	7.3	44.23	15.54

30일이 경과한 후 대상해충에 의하여 손실된 현미의 중량은 무처리구에서 70~75g 범위였으며, 평균적으로 74.82g의 현미 중량이 감소하였으며, 이산화염소 처리 공시충에 의하여 손실된 현미 중량은 7.3~44.23g 범위로 평균적으로 15.54g의 현미 중량 감소가 발생하였다. 현미의 중량 손실양이 생각보다 적게 나타났는데, 이러한 결과는 화랑곡나방 개체군이 다음세대로의 도달, 즉 집중된 유충이 번데기 기간을 거쳐 성충으로 우화한 후 짝짓기가 이루어진 후 산란이 이루어지는 과정을 통하여 다음세대로 완벽하게 도달하지 않아 유충 개체수가 대폭 증가하지 않은 것이 원인이라 생각되었다. 또한 무처리구에서의 현미 손실량이 평균 74.82g 으로 처리구의 손실량 15.54g 보다 크게 많은 것은 이산화염소 처리 공시충들은 이산화염소의 영향을 받아 소화나 섭식장애와 같은 생리적인 대사작용에 영향을 받아 발생한 결과로 생각된다. 표 32와 그림 53에 무처리구에서의 대상해충들에 의한 180일 동안의 현미의 중량 감소량 변동 양상을 각각 나타냈다.

표 32. 이산화염소 무처리 공시충 투입 후 현미 중량 감소량

경과 일수(일)	반복			평균(g)
	1	2	3	
30	75	70	79.46	74.82±4.73
60	36	92	101	76.33±35.21
90	130.71	50.98	31.06	70.92±52.73
120	124.13	14.03	31	56.37±59.28
150	376	206	63	215±156.69
180	234.3	181.5	49.7	155.17±95.08

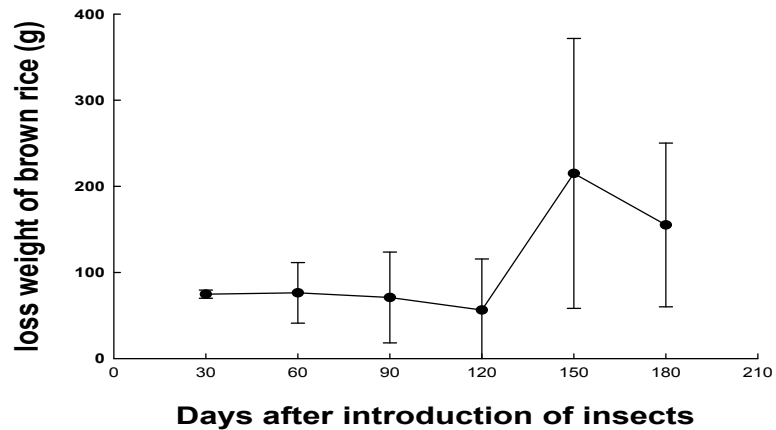


그림 53. 이산화염소 무처리 공시충 투입 후 현미 중량 감소량 변동 양상

이산화염소 무처리 공시충들 투입 후 180일 경과까지의 현미의 중량 감소량 변화는 30일부터 120일까지는 74~56g 사이의 범위에서 진동하다 120일 이후 215g 으로 급격히 증가하여 초기 감소량보다

는 높은 현미 감소량을 나타내는 경향을 보였다. 이와 같은 양상은 앞의 그림 9의 이산화염소 무처리 공시충들의 개체군 밀도 변동 상황에서 120일 이후 어리쌀바구미의 개체군 밀도가 급격히 증가한 결과에 부합하는 것으로 현미의 소모량이 많아져 나타난 결과라 생각된다.

나. 현장시설에서의 이산화염소 무처리구와 처리구의 대상해충에 의한 곡물의 피해양상 조사

실제 곡물 저장시설에서의 이산화염소 무처리와 처리 해충들에 의한 현미의 피해양상을 조사하였다. 사일로에서 이산화염소가 처리된 공시충들과 무처리 공시충들을 고려대학교 실험실 내로 가져와현미 1kg가 들어있는 플라스틱 실험장에 화랑곡나방 유충 30마리를 투입, 밀가루 500g이 들어있는 플라스틱 실험장에 거릿쌀도둑거저리 성충 30마리를 투입하고, 실험실 조건 하에 보관하면서 중량 감소량을 토대로 현미의 피해양상을 조사하였다. 대상해충에 의한 현미와 밀가루의 피해양상을 조사하기 위하여 한 달 간격으로 실험장 내 현미와 밀가루의 무게를 측정하였으며, 대상해충들에 의해 손실된 중량만큼 다시 보충하여 되돌려 넣고 해충에 의한 현미, 밀가루의 중량 감소량을 측정하였다. 표 33에 이산화염소 무처리, 처리

공시층 투입 일정기간 후 현미와 밀가루의 중량 감소량을 나타냈다.

표 33. 이산화염소 무처리, 처리 공시층 투입 일정기간 후 현미, 밀가루 중량 감소량

공시층	ClO ₂ 처리여부	중량(500g)	투입 후 경과일				
			30	60	90	120	150
거짓쌀도둑거저리 성충	무처리	밀가루중량감소량(g)	5.3	0.12	-	-	5.84
	처리	밀가루중량감소량(g)	10.3	4.36	-	-	5.63
화랑곡나방 유충	무처리	현미중량감소량(g)	42	16.27	-	35.36	21.44
	처리	현미중량감소량(g)	41	14.72	-	35.39	20.69

거짓쌀도둑거저리의 경우 투입 후 30일, 60일 경과 후까지는 밀가루의 감소량이 이산화염소 무처리의 5.3g, 0.12g 보다 처리구가 10g, 4.36g 으로 많게 조사되었다. 이후 90일과 120일의 경우 밀가루의 중량 감소가 발생하지 않았는데 이는 장마철을 지나면서 실험실내 습도가 높아져 밀가루가 대기중의 습도를 흡수하여 중량이 늘어난 것으로 생각되어 졌으며, 처리 후 150일째 무처리와 처리구에서의 밀가루 감소량은 각각 5.84g, 5.63g 으로 비슷하게 나타났다. 어리쌀바구미 성충의 경우 실험지역과 실험실로의 이동 중 환경의 영향을 받아 대부분의 개체가 치사하여 곡물 피해량 조사가 이루어지 못하였다. 화랑곡나방 유충의 경우 90일째를 제외하고 각 조사 시기에 따라 무처리와 이산화염소 처리 대상해충들에 의한 현미 감소량에는 큰 차이를 보이지 않았다. 이러한 결과는 저장시설에 이산화염소 적용 시 저장물의 종류나 발생 해충 종을 명확하게 파악하여 시행하면 더욱 적절한 방제효과를 거둘 수 있음을 암시하는 것이라 생각된다.

4절 이산화염소 가스의 훈증 살충기술을 적용한 효율적인 저장해충 방제 및 관리 매뉴얼 작성

1. 이산화염소 가스의 훈증 살충기술을 적용한 효율적인 저장해충 방제 및 관리 매뉴얼 작성

이산화염소의 저장해충에 대한 살충력, 해충의 개체군 특성, 밀도변동 병동 상황, 피해양상 분석에 대한 앞의 연구 결과를 바탕으로 저장시설에 저곡 해충방제를 위하여 이산화염소 적용 시 적절한 효과를 방제효과를 얻기 위한 기본적인 적용 매뉴얼을 작성하였다.

가. 밀폐도가 비교적 낮은 시설 - 곡물 저장창고 등

1. 저장시설의 특징 파악 - 시설의 크기(용적) 및 밀폐도 등
2. 저장시설 환경조건 조사 - 온도, 습도 등
3. 저장시설 내 저장물 종류 및 형태 확인 - 곡물의 종류(쌀, 조곡, 콩, 팥 등)
4. 시설 내 곡물의 저장, 적재방법 파악 - 이산화염소 투입 방법 결정
5. 방제 대상해충 종 확인(모니터링 자료 분석) - 저장해충 종, 위생해충, 산림해충 등

6. 주요 방제 해충 종 결정 - 화랑곡나방, 어리쌀바구미, 거릿쌀도둑거저리, 팔바구미 등등
 7. 적용 이산화염소 농도 결정 - 200ppm
 8. 이산화염소 처리시간 - 최소 24시간, 시설의 상황에 따라 유동적으로 결정
 9. 이산화염소 발생장치 선택 - 차량이동식, 키트 등
 10. 이산화염소 발생 보조키트 사용여부 결정
 11. 이산화염소 처리 중 내부 농도 체크 및 적정 농도 유지 - 블로어 사용여부 결정
 - 11-1. 처리 중 시설 내부에 인축의 소거 부재 확인 필
 12. 24시간 처리 후 30분 이상 개방하여 환기 및 배기
 13. 이산화염소 처리 후 시설 내부 상황 파악 - 해충사체, 생존 해충 유무, 곡물의 탈색, 변색, 이취 등을 확인
 14. 시설내부, 주변 정리
 15. 종료
- ※ 현장에서의 이산화염소 훈증처리 시 일부 조건은 현장상황에 맞게 조절 가능

나. 밀폐도가 비교적 높은 시설 - 사일로 등

1. 저장시설의 특징 파악 - 시설의 크기(용적) 및 밀폐도, 환기설비 등
 2. 저장시설 환경조건 조사 - 온도, 습도 등
 3. 저장시설 내 저장물 종류 및 형태 확인 - 곡물의 종류(쌀, 조곡, 콩, 팥 등),
 4. 방제 대상해충 종 확인 - 저장해충 종, 위생해충, 산림해충 등
 5. 주요 방제 해충 종 결정 - 화랑곡나방, 어리쌀바구미, 거릿쌀도둑거저리, 팔바구미 등등
 6. 적용 이산화염소 농도 결정 - 100ppm 조절 가능
 7. 이산화염소 처리시간 - 시설의 상황에 따라 유동적으로 결정, 1~3시간 권장
 8. 이산화염소 발생장치 선택 - 이산화염소 발생키트 사용 예)파미버스터, 파미톡 등
 9. 이산화염소 처리 중 내부 농도 체크 및 적정 농도 유지 - 발생키트의 추가 설치, 투여 등
 10. 처리 중 시설 내부에 인축의 소거 및 부재 확인 필
 11. 처리 후 이산화염소 발생 키트 제거 후 30분 이상 환기설비 가동
 12. 이산화염소 처리 후 시설 내부 상황 파악 - 해충사체, 생존 해충 유무, 곡물의 탈색, 변색, 이취 등을 확인
 13. 시설내부, 주변 정리
 14. 종료
- ※ 현장에서의 이산화염소 훈증처리 시 일부 조건은 현장상황에 맞게 조절 가능

5절 결론

○본 실험에 선정된 화랑곡나방과 어리쌀바구미는 저장곡물을 가해하여 막대한 피해를 야기하는 나비목과 딱정벌레목의 대표적인 저장해충으로 대상해충으로 선정이 적절한 것으로 생각된다.

○ 저장곡물의 종류, 저장방식, 저장시설의 규모, 환경 등에 따라 이산화염소 가스의 농도 및 처리시간이 달라질 수 있으나 대상해충에 대한 이산화염소 가스의 처리 농도는 최소100ppm 이상이 되어야 효과적인 치사율은 기대할 수 있으며, 처리시간 역시 24시간 이상이 되어야만 적절한 치사효과를 기대할 수 있을 것이라 판단되었다.

○ 화랑곡나방의 알과 번데기에 대한 이산화염소 가스 치사율 실험에서는 가스 처리 후 바로 알과 번데기의 생존 여부를 육안으로 판단하기 불가능하여, 알의 경우는 처리 후 14일 정도 경과한 후 부화한 2령 이상의 유충 수를 조사하여 치사율을 추정하였으며, 번데기의 경우도 우화한 성충 수를 토대로 치사율을 추정하였으나, 화랑곡나방의 부화율과 우화율이 자연 치사율에도 영향을 받으므로 이러한 결과가 직접적인 이산화염소 가스에 의한 알과 번데기의 치사율이라 판단하기 어려웠으므로, 화랑곡나방의 알과 번데기의 치사율은 자연치사율과 이산화염소 가스 100ppm에 의한 치사율이 통합되어 나타난 것으로 판단되어야 할 것이다.

○ 대상해충의 경우 치사율에 크게 영향을 주지 않는 이산화염소 가스의 낮은 농도(50ppm)에 노출되면 낮은 농도라 할지라도 생리적으로 영향을 받아 유충의 발육속도가 늦어질 수 있다는 사실을 보여주는 것으로 이산화염소 가스가 화랑곡나방과 어리쌀바구미의 생존률, 치사율, 수명, 우화율, 용화율, 발육기간 등 전반적인 생리적, 생태적 특성에 영향을 미치는 것으로 판단되었다.

○ 화랑곡나방과 어리쌀바구미의 실험장 내 밀도 변동 상황에서 투입 초기에 화랑곡나방의 밀도가 어리쌀바구미 보다 높은 이유는 실험에 사용된 화랑곡나방의 4령 유충들이 투입 초기에 성충으로 변하여 산란이 이루어진 후 어린 유충들이 조사된 결과로 생각되어지며, 투입 초기 어리쌀바구미의 밀도가 낮다가 90일 이후 밀도가 높아지기 시작하여 급격하게 밀도가 증가한 이유는 어리쌀바구미 성충의 출현과 화랑곡나방에 비하여 성충의 수명이 매우 길어 개체수 조사 시 세대가 누적되어 나타난 결과로 생각되며, 먹이의 중간경쟁에서도 화랑곡나방에 비해 우세하였기 때문이라 생각된다.

○ 실제 저장시설의 경우 본 연구를 위한 실험 장소가 환경적으로 불리한 경우, 즉 시설의 밀폐도, 시설의 규모 및 곡물의 적재방법, 현장 작업자들의 태도나 근무시간 등의 제반조건들에 영향을 받은 것으로 생각되어지므로 앞으로 이산화염소의 적용 시에는 이러한 현장의 환경조건과 제반조건 등을 정확히 파악하여 실행하면 좋은 방제효과를 얻을 수 있을 것이라 판단되었다.

○ 이산화염소 무처리구에서의 현미 손실량이 처리구의 손실양보다 많은 것은 이산화염소가 처리된 공시충들은 이산화염소의 영향을 받아 소화나 섭식장애와 같은 생리적인 대사작용에 영향을 받아 발생한 결과로 생각되어진다.

○ 이상과 같이 이산화염소의 적절한 처리는 저장시설에서의 저장해충 개체수를 감소시켜

저장물에 대한 피해를 최소로 하며, 독성이 강하고 생태계에 부작용을 일으키는 훈증제(메칠브로마이드, 포스핀 등)와 같은 농약의 대체제로 저장해충 방제에 대한 연구에 크게 도움이 될 것이라 판단되며 이 분야와 관련된 연구가 더욱 진행되어야 할 것이라 사료된다.

3장 이산화염소의 해충 생리교란기작

1절. 이산화염소의 저곡해충 개체수준의 독성 기작 연구 내용과 결과

1. 연구목표

화랑곡나방과 거짓쌀도둑거저리의 두 저곡해충을 대상으로 이산화염소의 살충효과와 독성기작을 밝히려 한다.

2. 연구 접근

상이한 이산화염소 농도 처리에 따른 대상 해충의 살충력을 생물검정하였다. 독성 기작은 가설로서 이산화염소가 발생시키는 활성산소에 의한 산화적스트레스가 주 원인으로 생체 ROS와 관련된 항산화효소에 미치는 이산화염소의 저해작용을 밝힌다.

3. 연구 결과

이산화염소 훈증의 처리는 화랑곡나방과 거짓쌀도둑거저리 모두에 대해 살충효과를 나타냈다. 발육시기별로 이산화염소에 대한 감수성은 변이가 있었지만, 200 ppm의 조건에서 24 시간 처리는 두 저곡해충을 사멸할 수 있었다. 처리 후 치사까지 이르는 시간은 불과 24 시간 내에 이뤄져 급성 독성을 나타냈다. 이러한 살충효과는 이 물질이 곤충 체내에서 생성하는 활성산소에 기인하였다. 활성산소를 억제하는 비타민 E를 처리하면 이산화염소의 살충력을 억제시켰다. 또한 대상 곤충은 항산화효소인 superoxide dismutase (SOD)와 thioredoxin peroxidase (Tpx)의 유전자 발현이 증가하였다. 이상의 결과는 이산화염소가 곤충 체내에서 활성산소를 유발하여 치사에 이르게 하는 것으로 판명되었다.

화랑곡나방의 SOD와 Trx 유전자 동정. 화랑곡나방의 발현 유전체를 NCBI 검색엔진으로 찾고자 기존에 알려진 SOD와 Trx 유전자를 누에나방에서 획득하였다. 이를 이용하여 화랑곡나방의 SOD와 Trx 유전자를 각각 동정하였다. SOD는 뉴클레오타이드 서열로는 478 bp, 아미노산으로는 155 AA이다(그림 1). Trx는 뉴클레오타이드 서열로는 603 bp, 아미노산으로는 176 AA이다. 각각의 유전자들은 다른 종들의 상용 유전자들과 높은 유사도를 나타냈다.

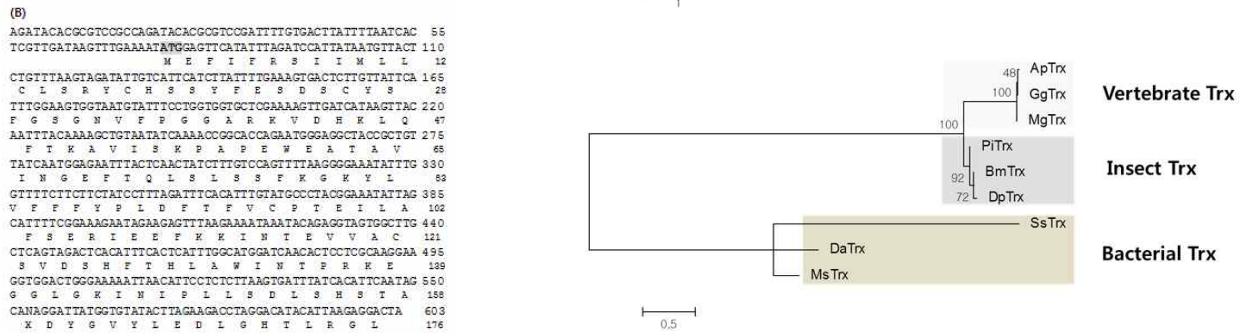
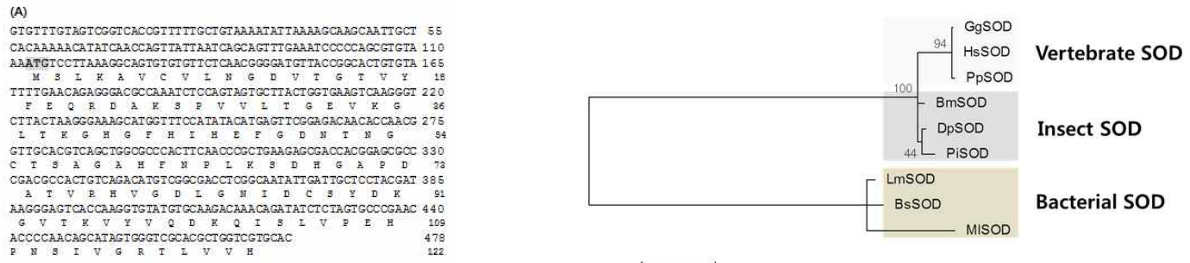


그림 1. 화랑곡나방의 항산화효소의 cDNA 염기서열 및 추정 아미노산 서열: (A) superoxide dismutase (SOD)와 (B) thioredoxin peroxidase (Trx) 및 유전자 계통분류도는 다른 종들의 상응 유전자들과의 높은 유사도를 나타내고 있다.

이산화염소로 인한 유전자 발현 변화. 이산화염소를 화랑곡나방의 유충(Fig. 2A)과 성충(Fig. 2B)에 0, 2, 6, 12, 24 시간 동안 처리하였을 때 열충격단백질은 발현량이 줄어들었고 항산화효소 유전자의 발현량이 늘어나는 것이 확인되었다. 특히, 항산화효소 발현량 같은 경우는 세균 처리 때와 비교하였을 때 훨씬 빠른 시간대에 발현량이 급격히 증가되는 것을 확인하였다(Fig. 2).

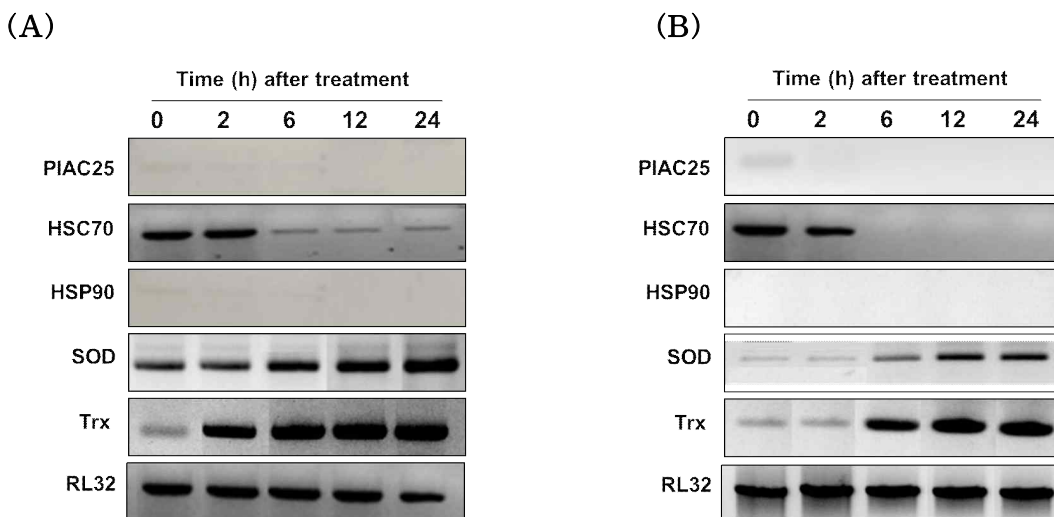
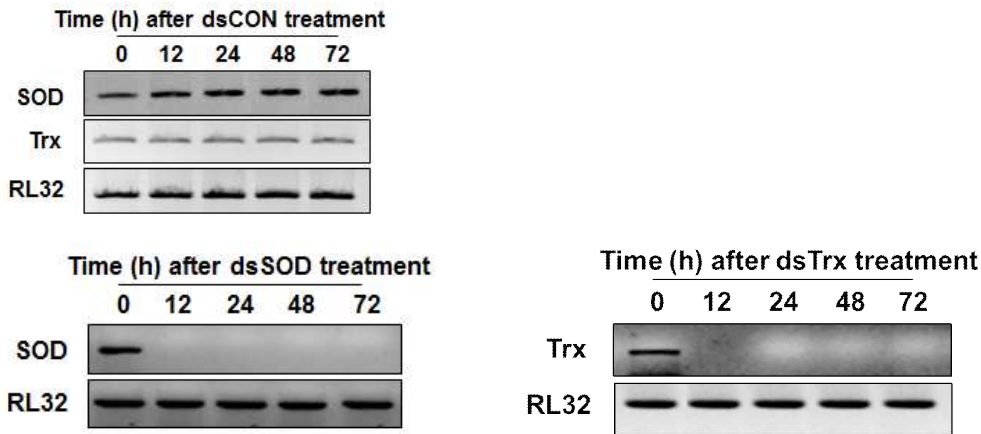


그림 2. 이산화염소 처리(200 ppm, 8 h)에 따라 화랑곡나방의 유충(A)과 성충(B)의 스트레스 유전자 발현 패턴.

유전자 발현 억제 후 살충력 실험. SOD와 Trx의 유전자 발현 억제를 각각의 dsRNA 주입을 통해 실시하였다(그림 3). 각각의 유전자 발현이 억제되는 것을 RT-PCR을 통해 확인하였다(그림 3A). 대조구로서 세균 단독 처리, dsRNA 단독 처리, 또는 이들의 합동처리는 화랑곡나방에 뚜렷한 치사 효과를 주지 않았다. 그러나 SOD와 Trx 유전자 발현을 억제시킨 후 세균 처리하였을 때 현격하게 높은 치사율을 보였다(그림 3B).

(A)



(B)

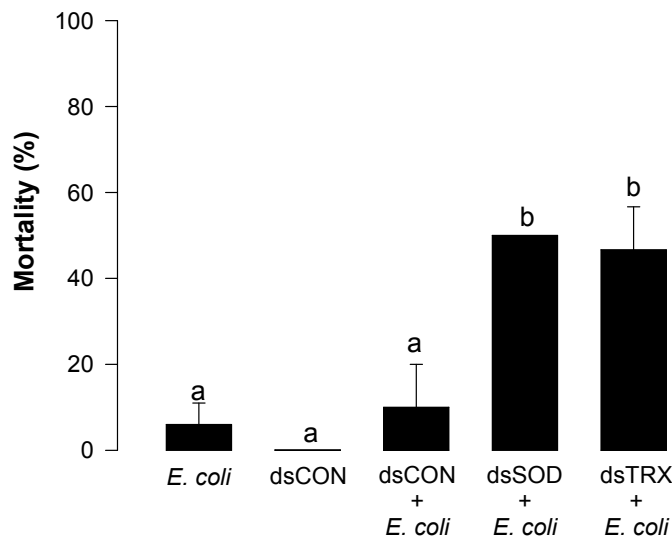
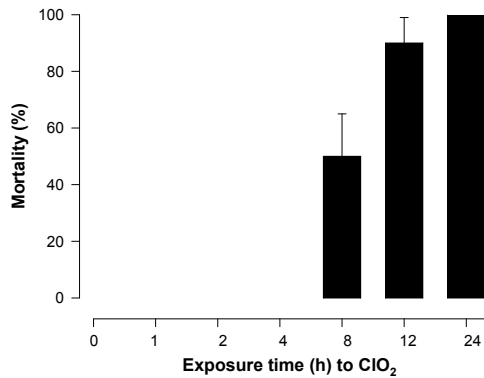


그림 3. RNA interference (RNAi) 기술을 이용한 화랑곡나방의 항산화효소의 발현 억제. (A) 특이적 dsRNA 주입 후 SOD와 Trx의 발현억제 효과. 대조구로서 GFP 유전자에 대한 dsRNA 주입. (B) RNAi 처리 후 세균에 대한 감염 치사율 변화.

이산화염소의 화랑곡나방에 대한 독성 효과. 일정 농도의 이산화염소를 처리한 결과 노출 시간에 따라 화랑곡나방의 사망률이 증가하였다(그림 4A). 이산화염소 200 ppm을 화랑곡나

방 유충에 각각 0, 1, 2, 4, 8, 12, 24 시간 동안 노출시킨 후 72 시간 경과 후 살충율을 확인해 본 결과 반수치사시간이 8 시간으로 확인되었다. 또한 이산화염소 처리 후 경과 시간별로 사망률을 분석하여 보면, 12 시간 이후 사망 개체가 나타나서 72 시간 경과 후 최대 사망률을 나타냈다(그림 4B).

(A)



(B)

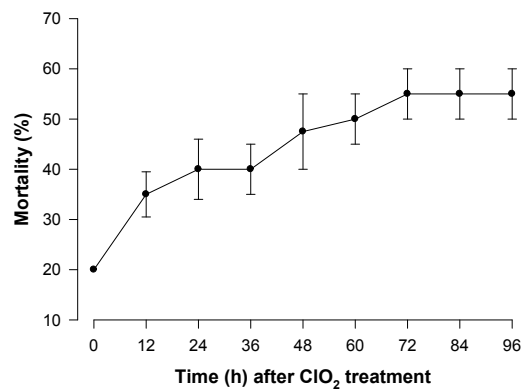


그림 4. 이산화염소의 화랑곡나방(5령충)에 대한 독성 효과. (A) 노출시간에 따른 이산화염소(200 ppm)의 화랑곡나방에 대한 독성. 노출 후 72 h 경과 후 사망률. (B) 이산화염소(200 ppm, 8 시간) 노출 후 경과시간별 사망률.

항산화효소 발현억제와 이산화염소 살충력 증가. 특이적 dsRNA를 주입하여 화랑곡나방의 SOD와 Trx 유전자 발현을 각각 억제시켰다. 이러한 조건 속에 이산화염소를 200 ppm으로 8 시간 처리한 후 대조구와 살충력을 비교한 결과 이들 효소의 발현 억제가 이산화염소의 살충력을 현격하게 증가시켰다(그림 5).

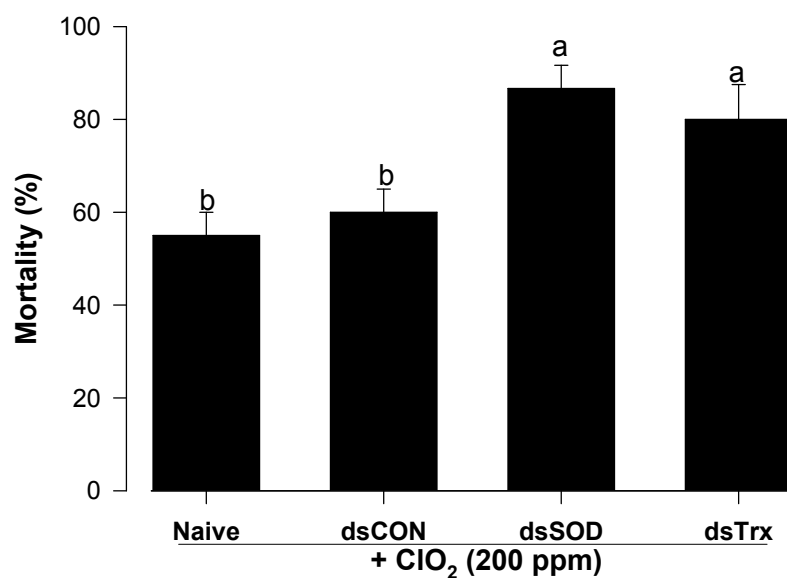


그림 5. RNA interference (RNAi) 기술을 이용한 화랑곡나방의 항산화효소의 발현 억제에 따른 이산화염소 처리의 살충력 변화. 특이적 dsRNA 주입 후 SOD와 Trx의 발현억제를 유도하고 대조구(dsCON)로서 GFP 유전자에 대한 dsRNA를 주입하였다. 이산화염소 처리는 200 ppm에 8 시간 노출을 이용하였다.

이산화염소의 거짓쌀도둑거저리에 대한 독성 효과. 일정 농도(200 ppm)의 이산화염소를 처리한 결과 노출 시간에 따라 거짓쌀도둑거저리의 유충과 성충의 사망률이 증가하였다(그림 6A). 이산화염소 처리 후 경과 시간별로 사망률을 분석하여 보면, 최초 사망 개체는 12 시간 이후 나타나서 72 시간 경과 후 최대 사망률을 나타냈다(그림 6B). 따라서 이산화염소 노출 이후 거짓쌀도둑거저리 유충의 사망까지는 일정 시간이 소요되었다.

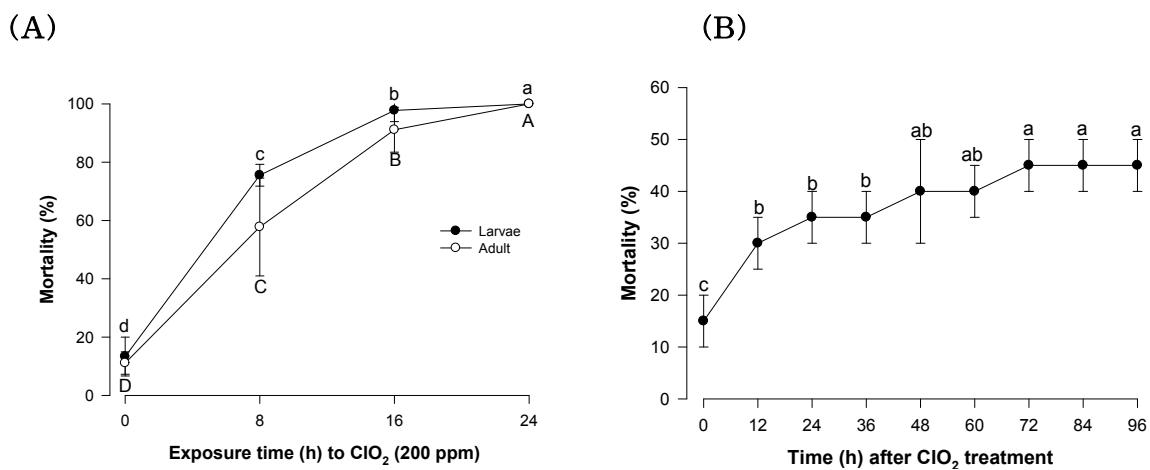


그림 6. 이산화염소(200 ppm)의 거짓쌀도둑거저리에 대한 치사 효과. (A) 노출 시간별 (B) 8 시간 노출 후 경과 시간별

거짓쌀도둑거저리의 SOD와 Trx 유전자 동정. 거짓쌀도둑거저리의 발현 유전체를 NCBI 검색엔진으로 찾고자 기존에 알려진 SOD와 Trx 유전자를 누에나방에서 획득하였다. 이를 이용하여 거짓쌀도둑거저리의 SOD와 Trx 유전자를 각각 동정하였다. SOD는 염기 서열로는 681 bp, 아미노산으로는 227 AA이다(그림 7A). Trx는 염기 서열로는 879 bp, 아미노산으로는 293 AA이다(그림 7B). 각각의 유전자들은 다른 종들의 상응 유전자들과 높은 유사도를 나타냈다.

(A)

```

CGGACGCGTGGGTAAACCTTGAGAGTGTCAATTGAACCGTATTTTTCGTAAAG 55
AAGTATTAACCCAGACATCCGCTCCGCTTGGACTACATTGGAACAAAATGCGCGAC 110
M P T 3
GAAAGCAGTTTGTCTCTAAACGCGGAAAGTTAAGGGGACCATTTCCTCCACACAA 165
K A V C V L N G E V K G T I F F T Q 21
GAAAATGGTAAAGCCCGGTGCAAGTCCCGCGGAGGTGAGTGGGCTCAAGRAGG 220
E N G K A P V Q V T G E V S G L K K 29
GGCTGCATGGGTTCCATATCCACGAGTTTGGGGATAATACCAATGGGTGCATTTC 275
G L H G F H I H E F G D N T N G C I S 58
GGCTGGGGCCCACTTCAACCCCATGGAAAGGATCATGGAGGGCCCAACCCATGAC 330
A G A H F N P H G K D H G G P T H D 76
GTACGTCAATGTTGGGGATTGGGGATATCGAAGCCGGGGTGTGGAGTTGCCA 385
V R H V G D L G N I E A G G D G V A 94
AAGTTGGTATTACTGATAAGTTTATCTCGTGGAAAGGGGAGCATAGCATTATTGG 440
K V G I T D K F I S L E G E H I I G 112
GGCCACTTTAGTGGTTCATCCGATCCCGGATGATTGGGACAAGGGGGCCATGAA 495
R T L V V H A D P D D L G Q G G H E L 121
TTGAGCAAGACTACAGGAATGCTGGGCTCGTTTGGCGTGTGGTGTGTGGAA 550
S K T F G N A G A R L A C G V V G I 150
TCACATAAGCTTAAAGTTTTTTTTTGGTTGAGTGTGTTTTTTTTGCCTTAATTTC 605
T K A 153
AAGTTAAATACGAATAATTTGTAGTGGATGGTGAAGAAATAAACTATTAAAGGG 660
TTTTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA 682

```

(B)

```

ACGTTGCCAAGTACCTAGAAAATGCGGATTTGTGATTTTGGCGCTGTGTGT 55
GAGTCCATAGTTCGGGGGACACCCGGACGAGGAGTCCGTGCCATAGTTTGGGGCC 110
GCCACGGTGTACCCCTGCGGGTACCCCAAGAGTCTGAGCATAAGTTACAGTG 165
F P G S D P K K S E H K L Q W 15
GACGCAAGCTGCTCTCCAAACCGGCCCCCTTTGGGAGAGCACGGCTGTGGTC 220
T Q A V I S K P A P F W E S T A V V 33
GACGGGGAGTTTGTTCAGTTGAAATCCACCGATTTTTTTGGGAAAGTATTAGTGT 275
D G E F V Q L K S T D F L G K Y L V 51
TCTTTTTTACCCCTTGATTTTACTTTTGTGTGCCCCACTGAAATCTGCGCTT 330
F F F Y P L D F T F V C P T E I L A F 70
CAGTGACCGGATCCAAAGATTTCCGATATTAATACGAGGTTGTTCCTGTTCA 385
S D R I Q E F R D I N T E V V A C S 88
GTTGATTCGATTTTACTCATCTGCTTGGATTACACCGCTAGGAAAGAGGAG 440
V D S H F T H L A W I N T P R K E G 106
GGCTTGGAAAGTCAAAATCCGCTTTTGTGGACTGGAGTCAATAGCATATCCAA 495
G L G K V K I P L L S D W S H S I S E 125
GTCATATGGCGGTGTTTTTGGAGGATTTAGSACACACTCTTAGGGCTTATTTATT 550
R S V D E T L R L V Q A F Q Y T D K 143
ATAGACACTAAAGGAGTGTCTAAGGCAATCACTATGAATGATTTGCCGGTTGGCA 605
H S Y G V F L E D L G H T L R G L F 161
GAAGTGTGATGAACTTTAAGACTGGTTCAGCCCTTCCRATACCCGATARAACA 660
I I D T K G V L R Q I T M N D L P V G 180
TGGAGAAGTGTGCTTGGCGGAGTGGAAACCGGCCAGGATACATAAATACCTAAT 715
G E V C P A E W K P G Q D T I I P N 143
CCAATTGAGAAAGAAATATTTTGAAGAACCTAATCATCAAAATCAATATGC 770
P I E K K K Y F E K H 161

```

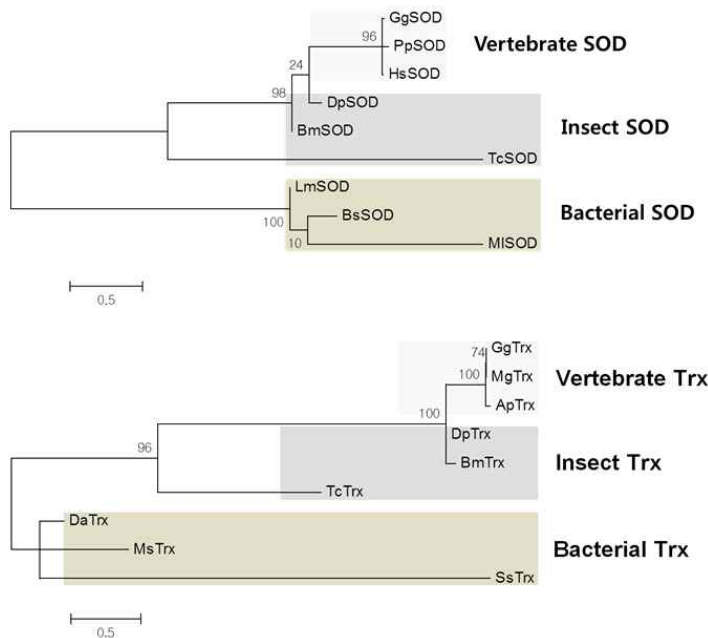


그림 7. 거릿살도둑거저리의 항산화효소 유전자 cDNA 염기서열 및 추정 아미노산 서열: (A) superoxide dismutase (SOD)와 (B) thioredoxin peroxidase (Trx). 유전자 계통분류도는 다른 종들의 상응 유전자들과의 높은 유사도를 나타내고 있다.

이산화염소로 인한 유전자 발현 변화. 이산화염소를 거짓쌀도둑거저리의 유충에 0, 2, 6, 12, 24 시간 동안 처리하였을 때 항산화효소 발현량 같은 경우는 세균 처리 때와 비교하였을 때 훨씬 빠른 시간대에 발현량이 급격히 증가되는 것을 확인하였다(Fig. 8).

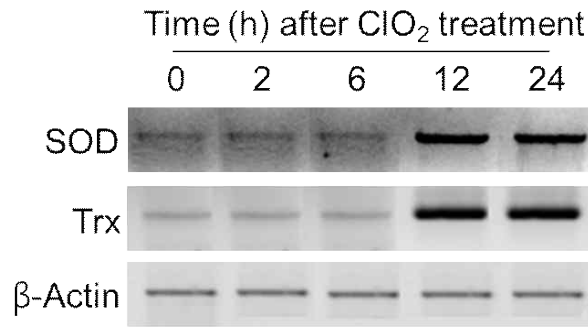
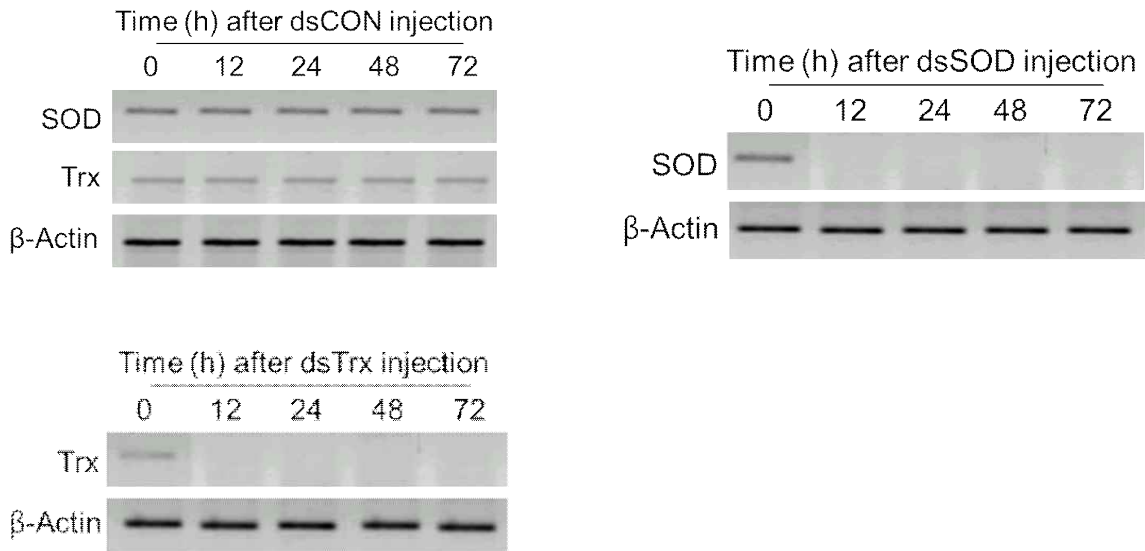


그림 8. 이산화염소 처리(200 ppm, 8 h)에 따라 거짓쌀도둑거저리 유충의 스트레스 유전자 발현 패턴.

유전자 발현 억제 후 살충력 실험. SOD와 Trx의 유전자 발현 억제를 각각의 dsRNA 주입을 통해 실시하였다(Fig. 9). 각각의 유전자 발현이 억제되는 것을 RT-PCR을 통해 확인하였다(Fig. 9A). 대조구로서 세균 단독 처리, dsRNA 단독 처리, 또는 이들의 합동처리는 거짓쌀도둑거저리에 뚜렷한 치사 효과를 주지 않았다. 그러나 SOD와 Trx 유전자 발현을 억제시킨 후 세균 처리하였을 때 현격하게 높은 치사율을 보였다(그림 9B).

(A)



(B)

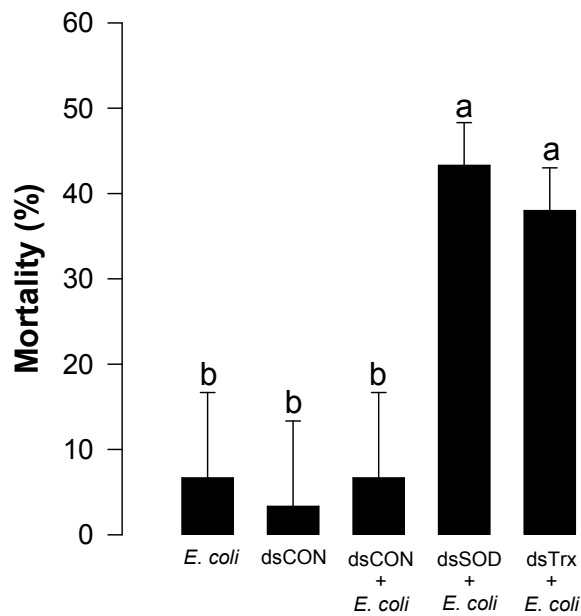


그림 9. RNA interference (RNAi) 기술을 이용한 거짓쌀도둑거저리의 항산화효소의 발현 억제. (A) 특이적 dsRNA 주입 후 SOD와 Trx의 발현억제 효과. 대조구로서 GFP 유전자에 대한 dsRNA 주입. (B) RNAi 처리 후 세균에 대한 감염 치사율 변화.

항산화효소 발현억제와 이산화염소 살충력 증가. 특이적 dsRNA를 주입하여 거짓쌀도둑거저리의 SOD와 Trx 유전자 발현을 각각 억제시켰다. 이러한 조건 속에 이산화염소를 200 ppm으로 8 시간 처리한 후 대조구와 살충력을 비교한 결과 이들 효소의 발현 억제가 이산화염소의 살충력을 현격하게 증가시켰다(그림 10).

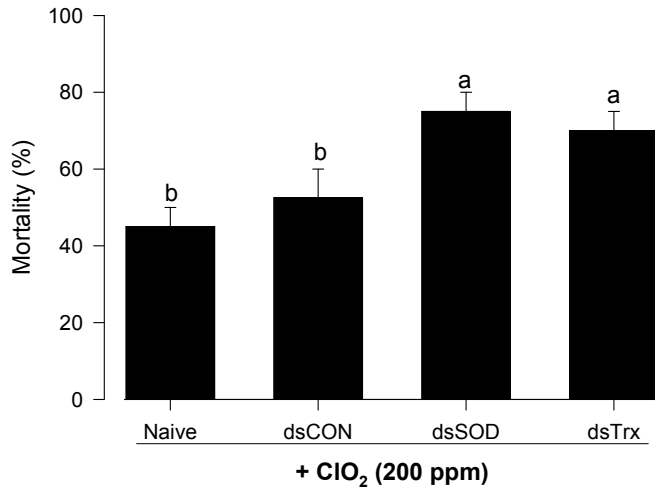


그림 10. RNA interference (RNAi) 기술을 이용한 거짓쌀도둑거저리의 항산화효소의 발현 억제에 따른 이산화염소 처리의 살충력 변화. 특이적 dsRNA 주입 후 SOD와 Trx의 발현억제를 유도하고 대조구(dsCON)로서 GFP 유전자에 대한 dsRNA를 주입하였다. 이산화염소 처리는 200 ppm에 8 시간 노출을 이용하였다.

이상의 개체에 대한 독성 작용을 세포 수준에서 분석하였다. 상이한 이산화염소를 처리한 결과 혈구세포에 대한 뚜렷한 세포독성을 나타냈다(그림 11).

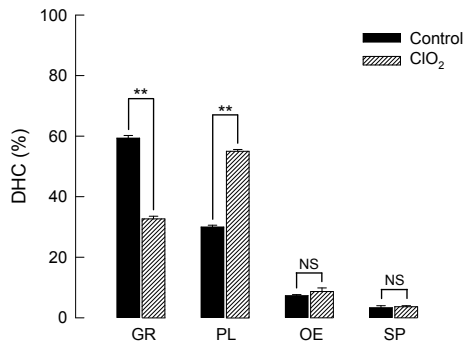
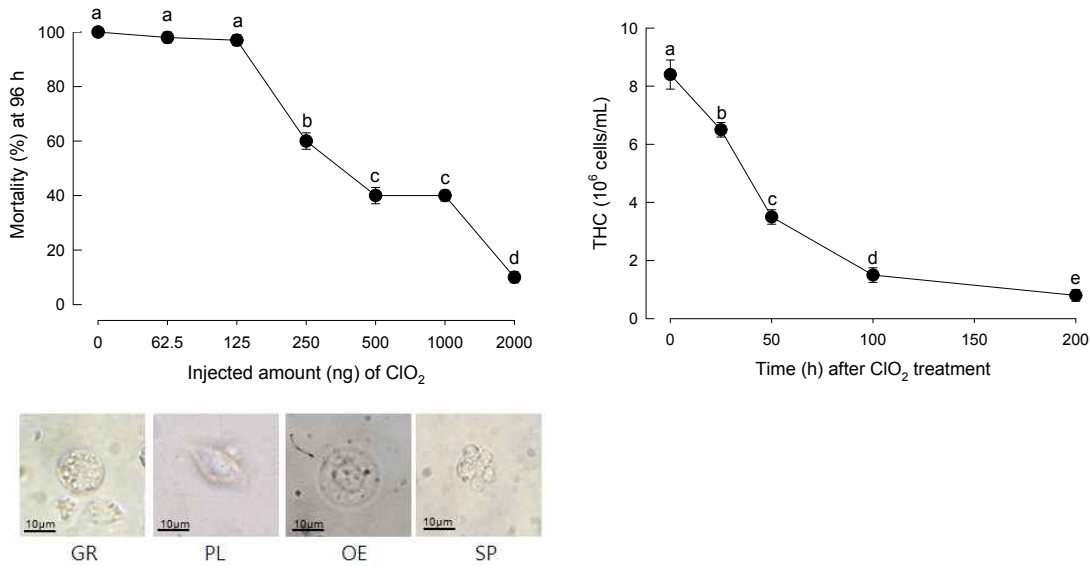


그림 11. 이산화염소의 혈구세포에 대한 세포독성

이산화염소의 세포독성은 낮은 농도에서는 혈구세포의 면역작용에 필수적인 혈구활착행동을 억제하였다(그림 12).

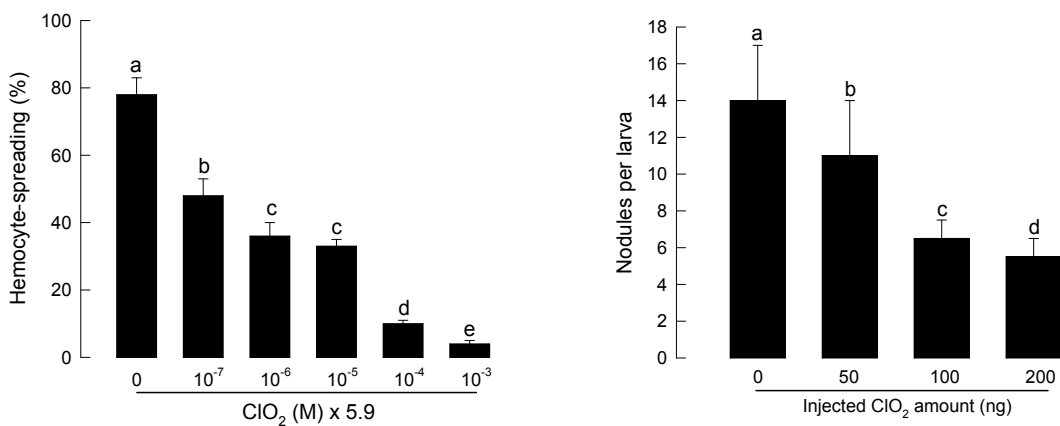


그림 12. 화랑곡나방 유충 혈구세포의 활착행동을 억제하는 이산화염소 독성 효과

혈구세포에 대해서 세포독성을 보이는 이산화염소는 또한 여러 곤충 세포주에 대해서도 농도 의존적으로 세포독성을 나타냈다(그림 13). 처리 농도가 증가함에 따라 이 세포내에 존재

하는 활성산소(ROS)의 양이 증가하여 이러한 세포독성이 ROS에 기인한다는 것을 제시하였다.

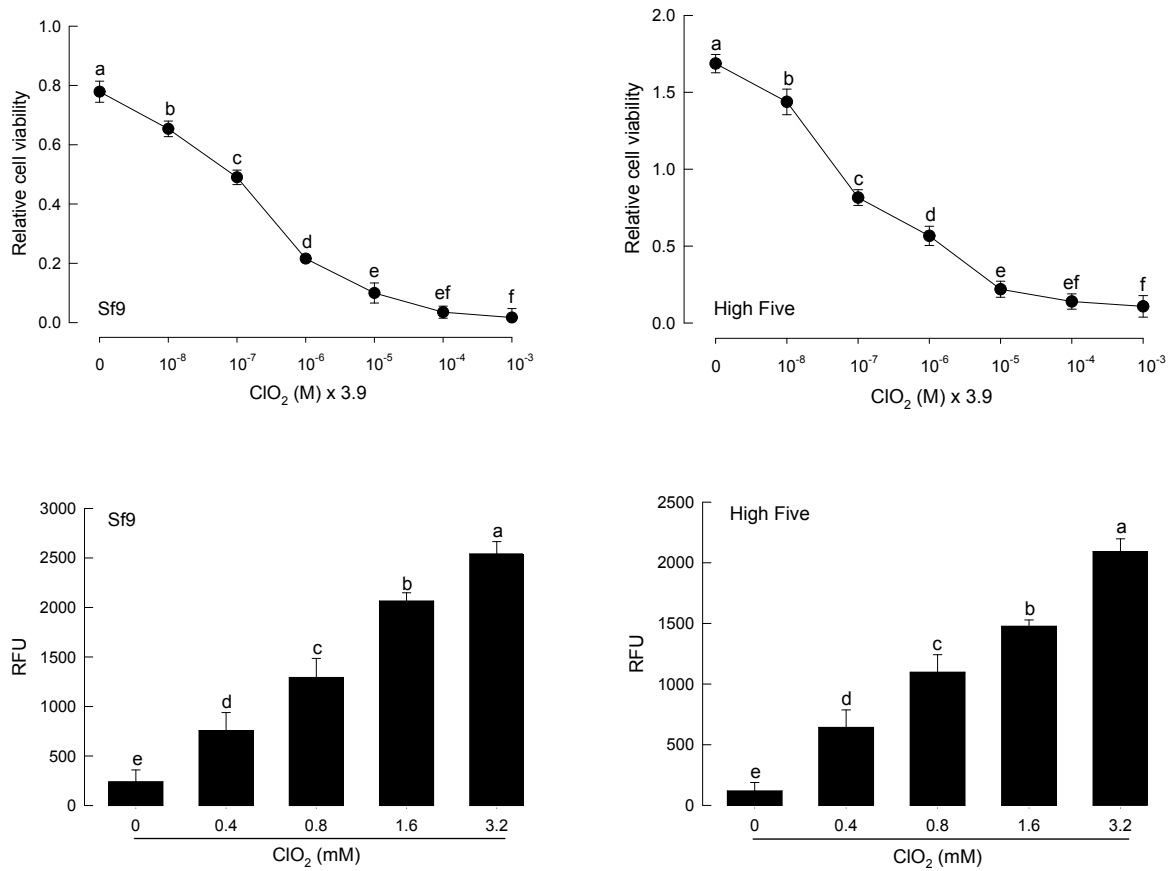


그림 13. 두 가지 상이한 곤충 세포주에 대한 이산화염소의 세포독성 및 세포내 ROS 농도 증가

이산화염소의 ROS 발생에 따른 세포독성 및 살충 독성 기작을 밝히기 위해 두 세포주에 비타민 E를 농도별로 처리하고(그림 14) 세포 활성을 분석한 결과 비타민 E의 농도가 증가할수록 이산화염소에 의한 세포독성을 경감시켜 이산화염소의 산화적 스트레스 유발이 이 물질의 세포독성 및 살충독성 원인이라는 것을 뒷받침하였다.

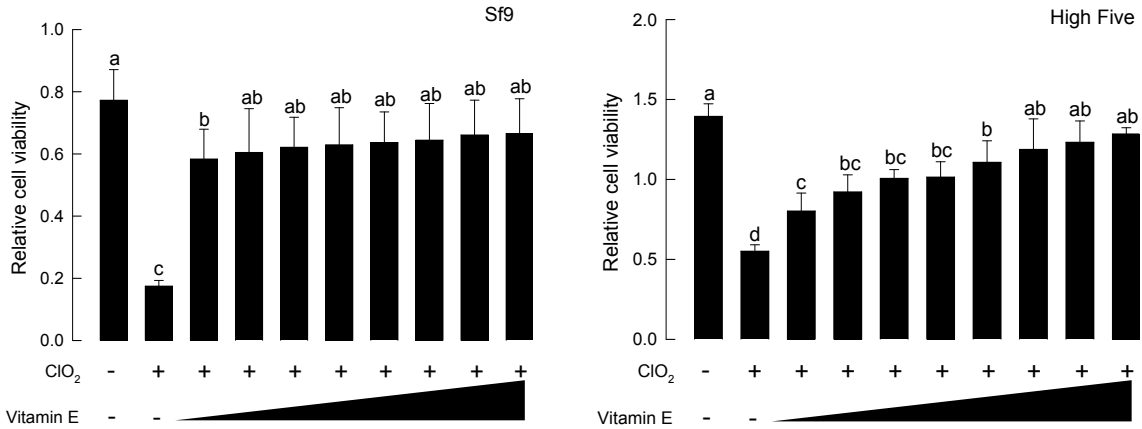


그림 14. 비타민 E 처리를 통한 이산화염소의 산화적 스트레스 경감효과

이상의 이산화염소의 ROS 유발을 통한 세포 독성 및 살충 기작은 ROS의 다양한 분자 종말 점을 고려할 때 곤충의 다양한 생리 현상을 교란할 것으로 추정되었다. 이 가운데 곤충의 혈액 순환계에 필수적인 심장 박동에 대한 생리적 교란 현상을 분석하였다.

화랑곡나방의 등핏줄 형태. 화랑곡나방 5령충의 등핏줄이 관찰되었다(그림 15). 유충의 연한 표피층을 통해 복부 4-5 마디 사이로 보이는 등핏줄을 관찰하였다. 등핏줄의 세부 구조를 관찰하기 위해 복부 절개를 통해 등면 체벽 내부에 붙어있는 등핏줄 전체의 모습을 관찰하였다. 등핏줄은 복부 10번째 마디에서 첫 번째 가슴 마디까지 단일관 구조로 뻗어 있었으며, 이 가운데 복부 3번째 마디에서 10번째 마디까지는 등핏줄 주변에 익상근이 발달해서, 이 부위가 심장이라는 것을 확인할 수 있었다. 이 심장 부위에 5 개의 심방이 관찰되었다. 따라서 복부 2번째 마디에서 가슴 첫 번째 마디까지 뻗은 등핏줄은 대동맥으로 간주되었다.

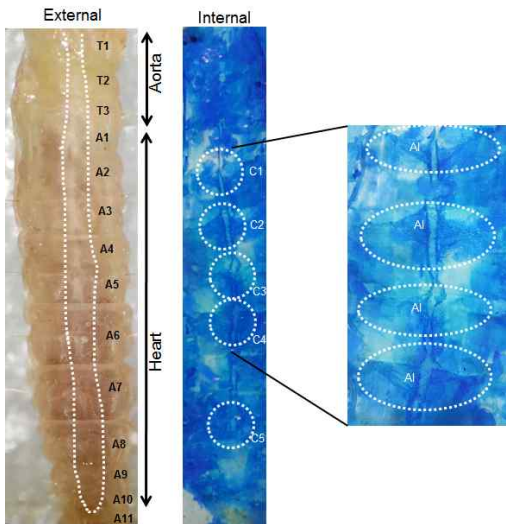


그림 15. 화랑곡나방 유충의 등핏줄 및 심장 구조

이산화염소 처리에 따른 화랑곡나방 심장박동 억제 효과. 이산화염소가 화랑곡나방 심장박동수에 미치는 효과를 분석하기 위해 서로 다른 농도의 이산화염소를 5령 유충에 주입하였다(그림 16). 주입한 이산화염소 농도가 높아짐에 따라 심장박동수는 감소하였다. 특히 400

ppm 이상의 이산화염소가 주입하게 될 경우 심장박동수는 현저하게 줄어($P < 0.05$) 대조구에 비해 약 80% 감소하였다. 이산화염소 혼증 처리에 따른 화랑곡나방의 심장박동에 미치는 영향이 분석되었다. 화랑곡나방 5령충을 대상으로 100 ppm의 이산화염소를 처리할 경우 처리 시간이 증가함에 따라 심장박동수가 현저하게($P < 0.05$) 감소하였다.

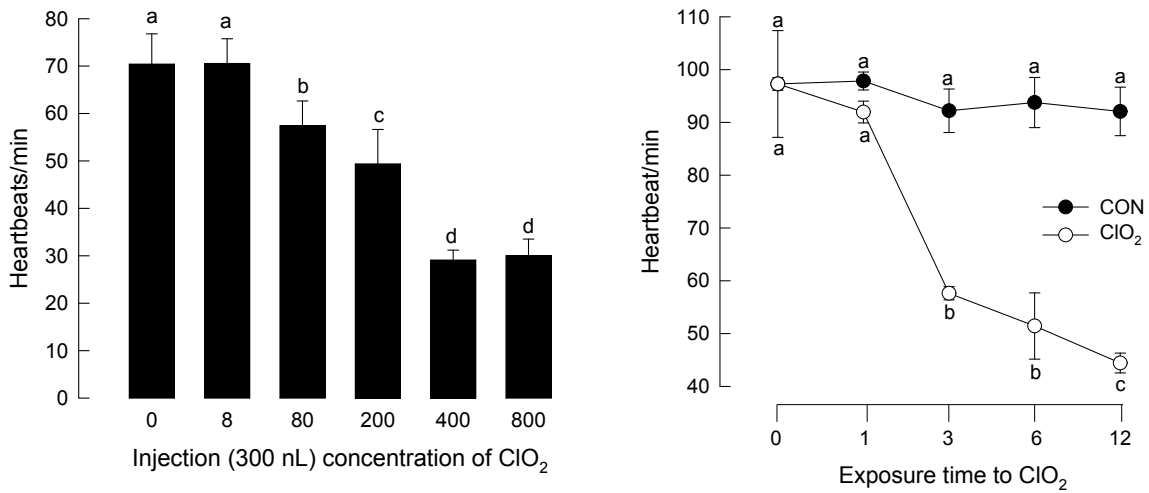


그림 16. 이산화염소 처리에 따른 심장박동 수 변화. 이산화염소 액상 주입(왼쪽) 및 혼증 처리(오른쪽)

이산화염소 효과에 대한 비타민 E 길항작용. 이산화염소 400 ppm을 화랑곡나방에 처리할 경우 심장박동수는 현저하게($P < 0.05$) 감소하였다(그림 17). 그러나 여기에 비타민 E를 함께 주입할 경우 심장박동수는 회복되었다.

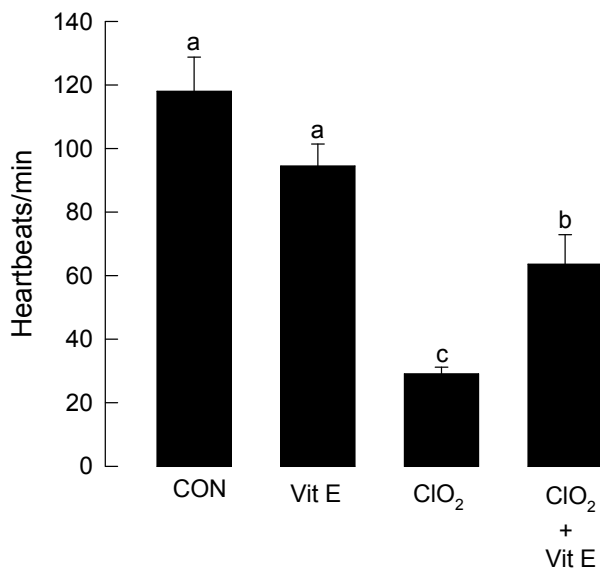


그림 17. 비타민 E 처리에 따른 이산화염소의 생리 교란 회복 효과

2절. 이산화염소의 저곡해충 세포수준의 독성 기작 연구 내용과 결과

1. 연구목표

이산화염소가 갖는 산화적 스트레스는 해충의 살충기작으로 설명된다. 이를 세포 수준에서 아폽토시스 유발과 관련성을 분석하려 한다. 또한 이러한 세포 독성을 이용하여 암세포에 대한 응용적면도 검토한다.

2. 연구 접근

이산화염소 처리에 따른 세포독성을 아폽토시스와 연관하기 위해 TUNEL 분석법을 이용하여 이산화염소 처리 효과를 분석한다. 암세포에 대한 응용적 효과를 보기 위해 인체 대장암과 유방암 세포주를 이용하여 이들 암세포의 활발한 대사작용으로 보다 더 이산화염소에 감수성이라는 점을 부각한다.

3. 연구 결과

아폽토시스 세포치사과정을 규명하기 위해 TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase nick end translation) 분석법을 적용하였다. 곤충 세포주의 하나인 Sf9 세포에 서로 다른 이산화염소를 처리하고 TUNEL 분석법으로 관찰한 결과 처리 농도에 비례하여 아폽토시스 비율이 증가하였다. 다음으로 서로 다른 농도의 이산화염소를 화랑곡나방 유충에 주입하고 혈구 세포를 TUNEL 분석법으로 관찰한 결과 이산화염소는 처리 농도에 비례하여 아폽토시스 유발을 나타냈다. 그러나 항산화제인 비타민 E를 이산화염소와 함께 처리하면 비타민 E의 농도에 비례하여 이산화염소의 아폽토시스 유발을 억제하고 이에 따라 살충률도 감소하였다. 이러한 이산화염소의 세포독성을 응용하여 인체에 나타나는 5 종의 암 세포주에 대해서 항암효과를 분석하였다. 유방암 2 종 세포주(MCF-7, MDA-MB-231)와 대장암 3 종 세포주 (LoVo, HCT-116, SW-480) 모두에 대해서 이산화염소는 높은 세포 독성을 나타냈다. 이러한 세포독성은 이산화염소의 활성산소 유발 효과에 기인된다. 이산화염소가 처리된 암세포주는 모두 세포내 높은 활성산소를 형성하였다. 이는 대조구로서 일반 곤충 세포주와 비교하여 훨씬 높은 활성산소를 지녔고, 이에 따라 암세포들은 모두 이산화염소에 대해 10 배 이상 낮은 반수치사약량을 갖는 높은 감수성을 보였다. 반면에 항산화제인 비타민 E를 처리하면 이러한 세포독성이 크게 줄어 암 세포에 대해 높은 세포독성은 활성산소에 의해 기인되었다는 것을 입증하였다. 또한 이산화염소는 서로 다른 바이러스에 대해서 항바이러스 활성을 나타냈다. 곤충병원성 바이러스이고 이중 가닥의 DNA 게놈을 지닌 벡쿨로바이러스의 일종인 *Autographa californica nuclear polyhedrosis virus* (AcNPV)는 이산화염소 노출에 따라 활성을 잃어 핵다각체 형성 능력이 크게 둔화되었다. AcNPV에 대한 이산화염소의 항바이러스 효과는 반응 시간에 비례하여 증가했다. 식물병원성 바이러스이고 단일가닥의 RNA 게놈을

지닌 담배모자이크바이러스는 이산화염소 노출에 따라 바이러스 함량이 줄었고, 담배에 대한 병원력도 낮아졌다. 따라서 본 연구는 이산화염소가 항암 및 항바이러스 활성을 지니며, 이는 이 물질에 의한 높은 활성산소 유발에 기인된 것으로 판명되었다.

Sf9 세포주에 대한 이산화염소의 아폽토시스 유발 효과. 화랑곡나방의 혈구세포에 대한 세포치사효과를 분석하기 위해 우선 이산화염소의 농도별 살충효과를 분석하였다(그림 18). 이산화염소의 살충효과는 처리된 가장 낮은 농도인 50 ppm 수준에서 나타났으며 주입 농도가 증가함에 따라 살충효과는 증가하였다. 이러한 양독 반응을 기준으로 뚜렷한 살충효과를 보이는 100 ppm의 이산화염소를 화랑곡나방의 혈강에 주입하고 시기별로 진행되는 전체혈구수의 변화를 추적하였다. 전체 혈구수는 처리 1일 후에 본래의 약 60% 수준으로 감소하였다. 이러한 낮은 상태의 혈구수는 살충효과가 나타나는 4일 까지 지속하였다. 본 결과는 이산화염소가 화랑곡나방의 혈구세포에 대한 세포독성을 지닌다는 기존 결과를 뒷받침하였다. 이러한 이산화염소의 세포치사효과가 아폽토시스에 의해 이뤄지는 지를 이후 연구에서는 TUNEL 분석 방법으로 진행하였다.

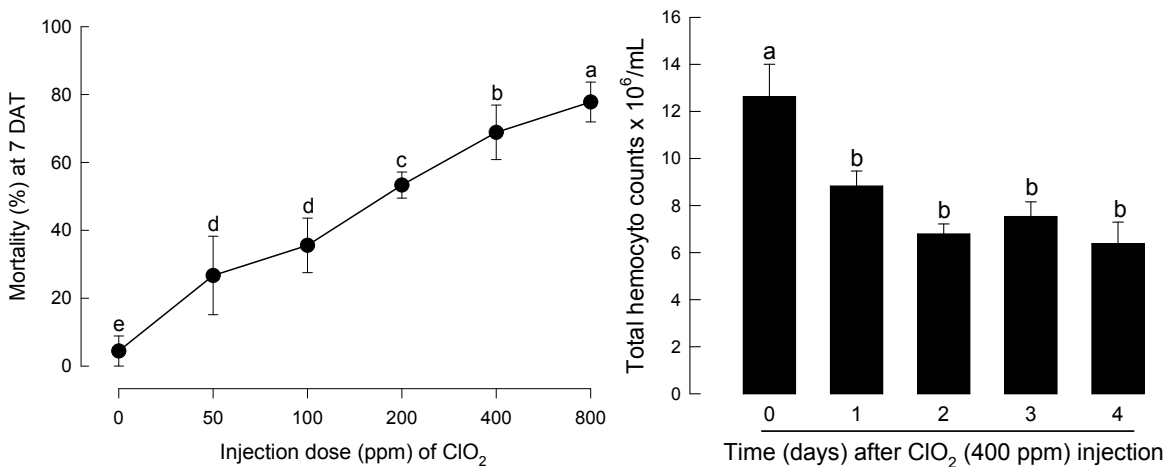


그림 18. 이산화염소의 혈구세포에 대한 세포독성

이산화염소의 아폽토시스 유발효과는 Sf9 세포주를 이용하여 관찰하였다(그림 19). 본 연구에 이용된 TUNEL 분석의 아폽토시스의 판별력을 판정하기 위해 두 가지 양성 및 음성 대조구에 대해서 분석을 실시하였다. 양성 대조구세포는 본 연구에 이용된 TUNEL 분석 키트로 처리한 결과 형광현미경의 rhodamine 모드에서 붉은 양성 반응을 보였다. 반면에 동일 조건으로 처리되고 관찰된 음성 대조구 세포는 이러한 형광 반응이 전혀 나타나지 않았다. 이러한 판별력 위에 서로 다른 이산화염소 농도를 Sf9 세포에 처리하고, 24 시간 경과 후에 TUNEL 분석을 실시하였다. 눈에 띄는 형광신호는 20 ppm의 농도 이상에서 나타났으며, 40 ppm 이상에서는 거의 모든 세포에서 형광을 나타냈다. 일부 세포에서는 아폽토시스의 특징적인 모양 변화인 세포 부풀음(blebbing)의 모습이 관찰되었다.

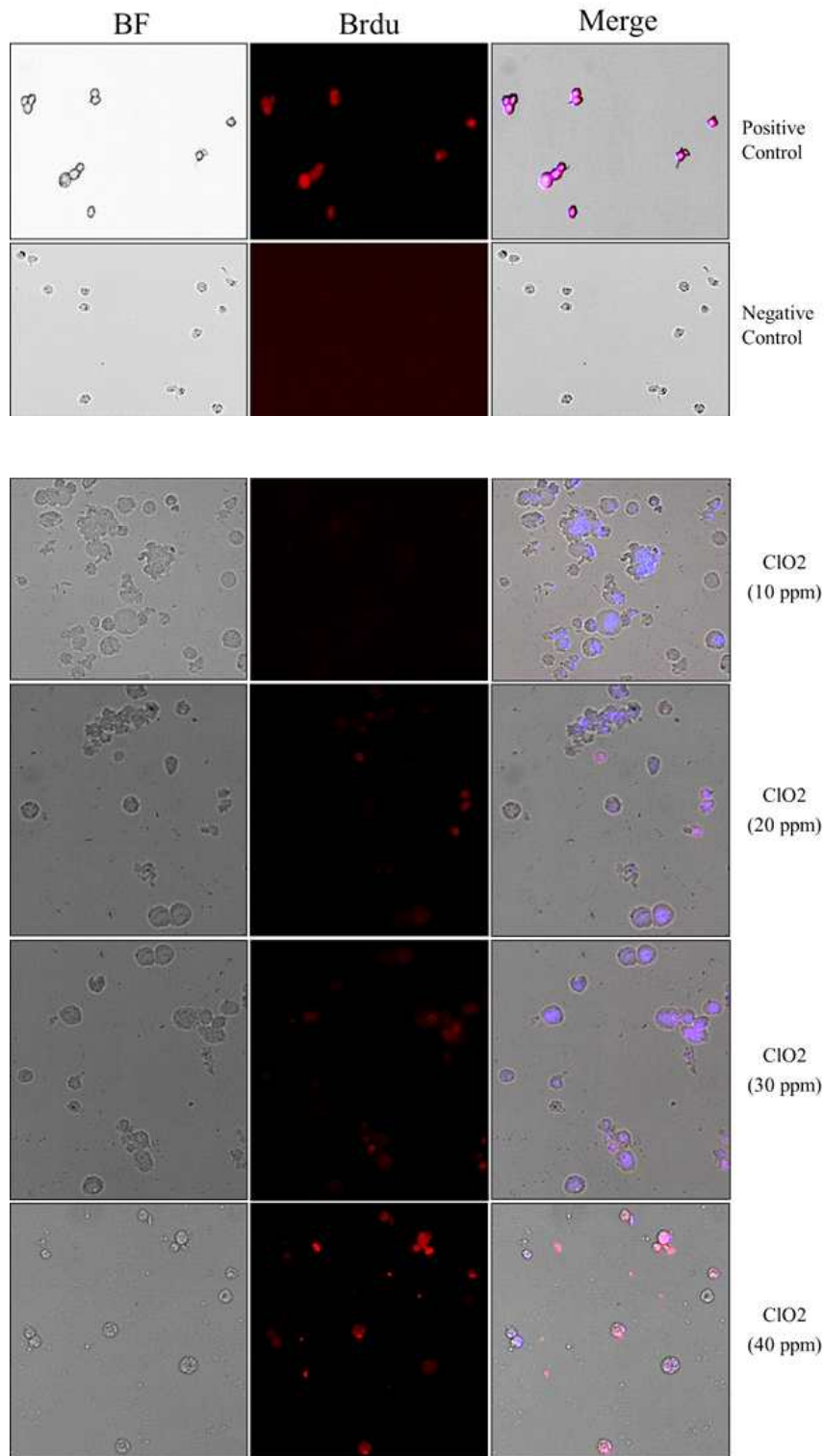


그림 19. 이산화염소의 아폽토시스 유발 효과(TUNEL 분석)

화랑곡나방 혈구세포에 대한 이산화염소의 아폽토시스 유발 효과. Sf9 세포주에서 일어난 아폽토시스가 화랑곡나방의 증체 내에 있는 혈구세포에서도 관찰되는 지를 분석하기 위해서로 다른 농도의 이산화염소를 주입하고 24 시간 후에 분석하였다(그림 20). 주입된 이산화

염소의 농도가 증가할수록 TUNEL 양성 반응 신호는 증가하는 것으로 관찰되었다. 이를 정량화하면, 뚜렷한 아폽토시스 양성 반응이 100 ppm 이상의 이산화염소 농도에서 나타났다. 400 ppm 이상의 이산화염소 농도 처리에서는 큰 차이 없이 75-80% 혈구세포가 아폽토시스 반응을 보이는 것으로 나타났다.

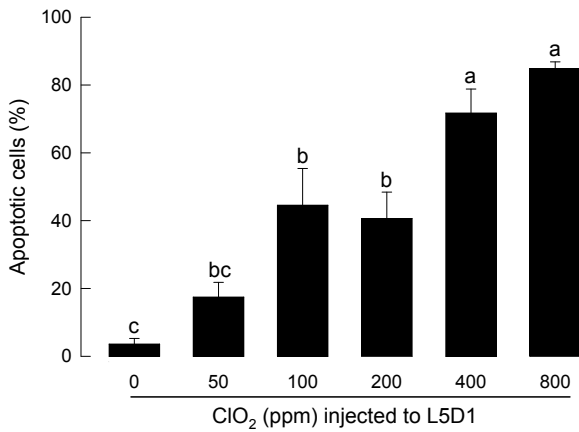


그림 20. 혈구세포에 대한 이산화염소 아폽토시스

스 유발

비타민 E의 아폽토시스 억제 효과. 이산화염소에 의해 나타나는 아폽토시스가 이 물질이 생성시키는 활성산소에 의해 이뤄지는 지를 분석하기 위해 항산화제인 비타민 E를 처리하여 아폽토시스 억제 효과를 분석하였다(그림 21). 앞에서 보듯 400 ppm 농도의 이산화염소 처리는 약 75% 이상의 아폽토시스를 유발하였다. 특별히 핵의 위치를 알려주는 DAPI 염색은 TUNEL 분석 신호가 핵을 중심으로 일어나는 것을 보여 주었다. 이러한 아폽토시스 유발 효과는 비타민 E의 처리 농도가 높아짐에 따라 감소하는 것으로 관찰되었다. 통계적으로 뚜렷한 감소는 비타민 E의 농도가 50 mM 이상을 처리하였을 때 나타났다.

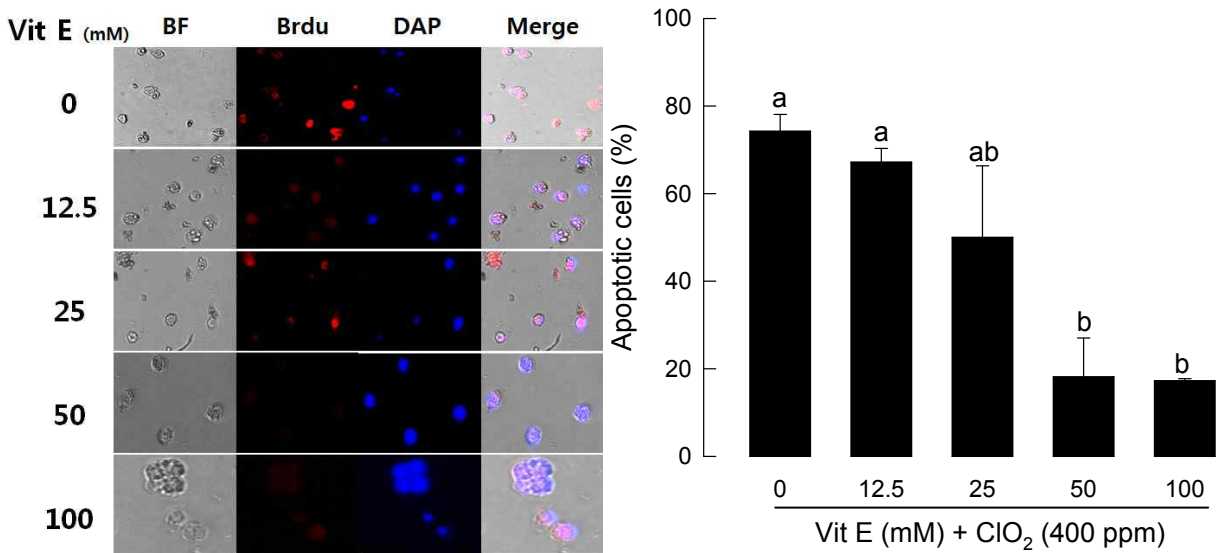


그림 21. 비타민 E 처리에 의한 이산화염소의 세포독성 경감효과

이산화염소의 아포토시스 유발효과와 살충효과를 기능적으로 연결시키기 위해 서로 다른 농도를 처리하고 사망률 감소 효과를 분석하였다(그림 22). 400 ppm의 이산화염소를 처리한 결과 앞에서 보듯 높은 살충효과를 보였다. 그러나 비타민 E를 함께 처리한 결과 비타민 E의 농도가 높아짐에 따라 살충력의 감소를 나타냈다. 통계적으로 뚜렷한 살충력 감소 효과는 25 mM 이상에서 나타났다.

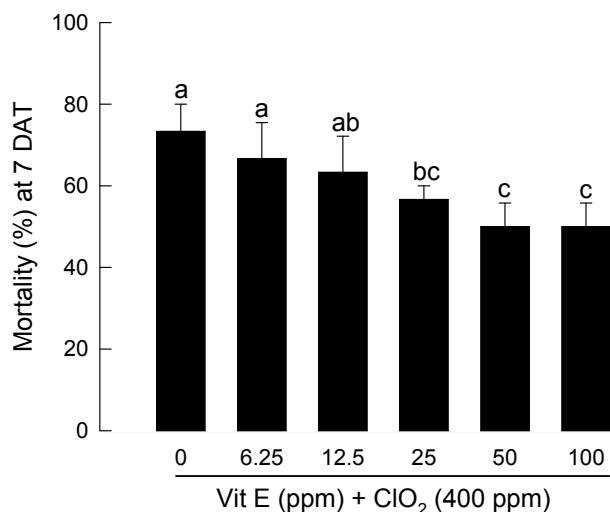


그림 22. 아포토시스 유발과 살충효과

이산화염소의 암세포에 대한 세포독성. 인체 유방암 세포주 2 종과 대장암 3종에 대한 이산화염소의 세포독성이 분석되었다(그림 23). 이산화염소의 노출 농도가 증가함에 따라 이들 암세포의 활성이 낮아졌다. 대조군으로 곤충 세포의 경우도 이산화염소에 대한 감수성을 나

타냈다. 그러나 대조군에 비해 암세포주들은 현격하게 높은 감수성을 보였다. 이산화염소에 대한 중앙억제농도(IC50)를 산출하였다. 암세포주들은 약 10 ppm 이하의 IC50를 보인 반면, 대조 세포군들은 모두 100 ppm 이상을 나타냈다. 즉, 암세포주들은 일반 세포에 비해 이산화염소에 대해 10 배 이상의 감수성을 나타내는 것으로 판명되었다.

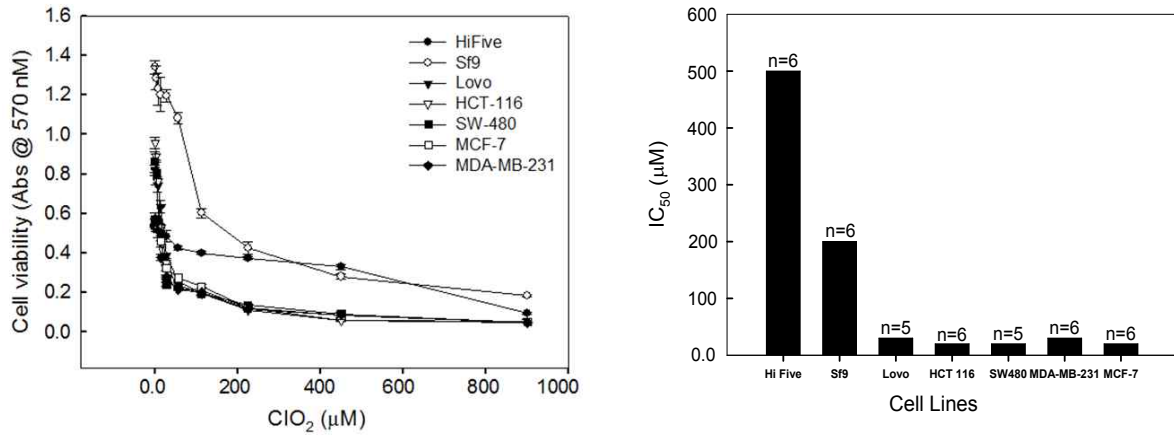


그림 23. 암세포주의 이산화염소 처리에 대한 높은 감수성

암세포주들의 이산화염소에 대한 감수성 원인을 규명하기 위해 세포내 활성산소의 세포독성 효과를 분석하였다. 우선 항산화제인 비타민 E를 이들 세포들에 처리한 결과 이산화염소에 기인된 세포독성이 둔화되었다(그림 24). 이는 이산화염소에 기인된 암세포주에 대한 세포독성이 활성산소에 기인되었다는 것을 의미하였고, 이를 증명하기 위해 이산화염소 처리에 따른 세포내 활성산소 함량을 변화를 분석하였다. 이산화염소에 노출되기 전에 이들 세포들 사이에는 세포내 활성산소량에 차이를 나타냈다. 암세포주들은 모두 대조세포군에 비해 높은 활성산소를 지니고 있었다. 여기에 이산화염소를 노출시킨 결과 활성산소의 발생량은 크게 증가하였고, 대조구에 비해 암세포주들은 모두 현격하게 높은 활성산소량을 발생시켰다.

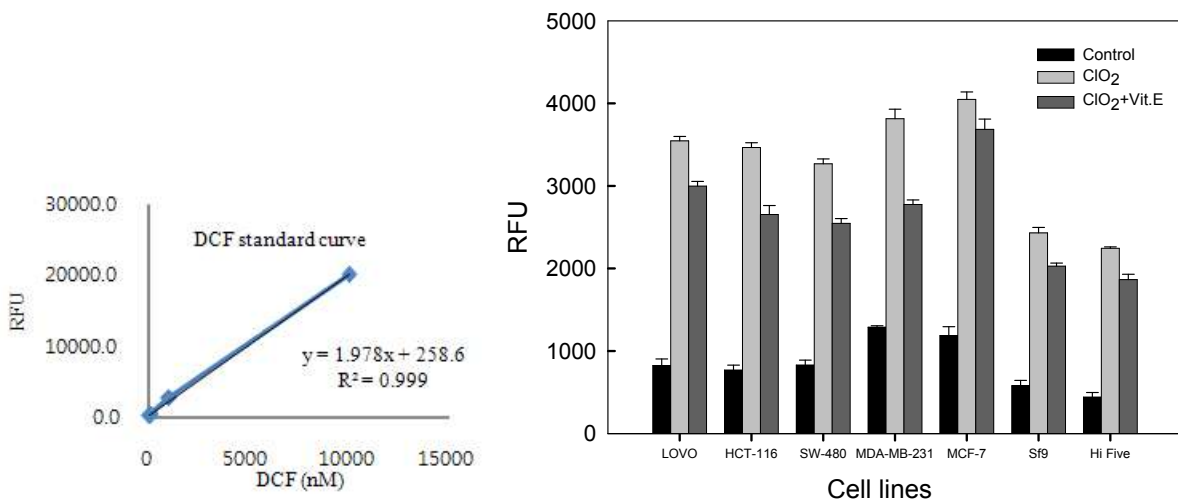
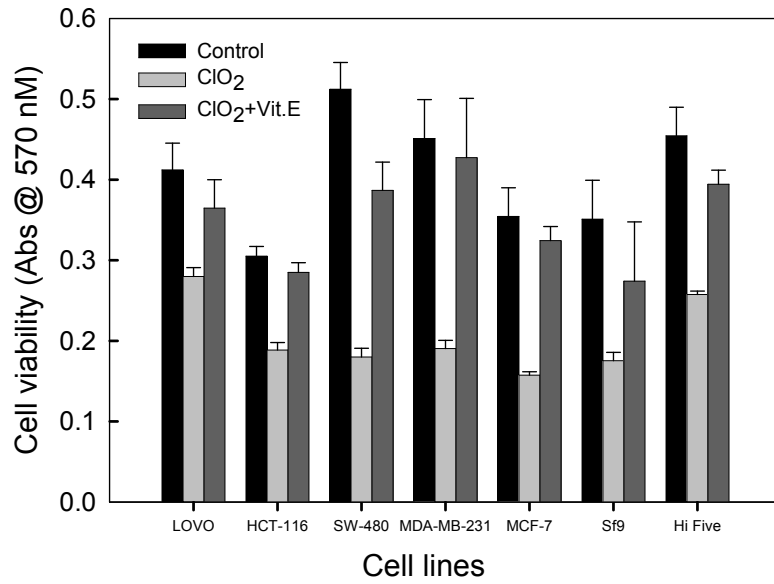


그림 24. 암세포주의 높은 활성산소와 비타민 E의 항산화반응

이산화염소의 AcNPV에 대한 항바이러스 효과. 곤충에 바이러스 병을 유발하는 백쿨로바이러스의 일종인 AcNPV에 대한 이산화염소의 항바이러스 효과를 분석하였다(그림 25). 예비 노출 실험에서 이산화염소 농도(0-800 ppm)를 증가시킬수록 Sf9 세포에서 AcNPV의 핵다각체 형성율이 감소하였다. 항바이러스 효과를 줄 수 있는 일정 AcNPV 농도(80 ppm)에서 반응 시간을 증가시킬수록 Sf9 세포에서 핵다각체 형성율이 감소하였다.

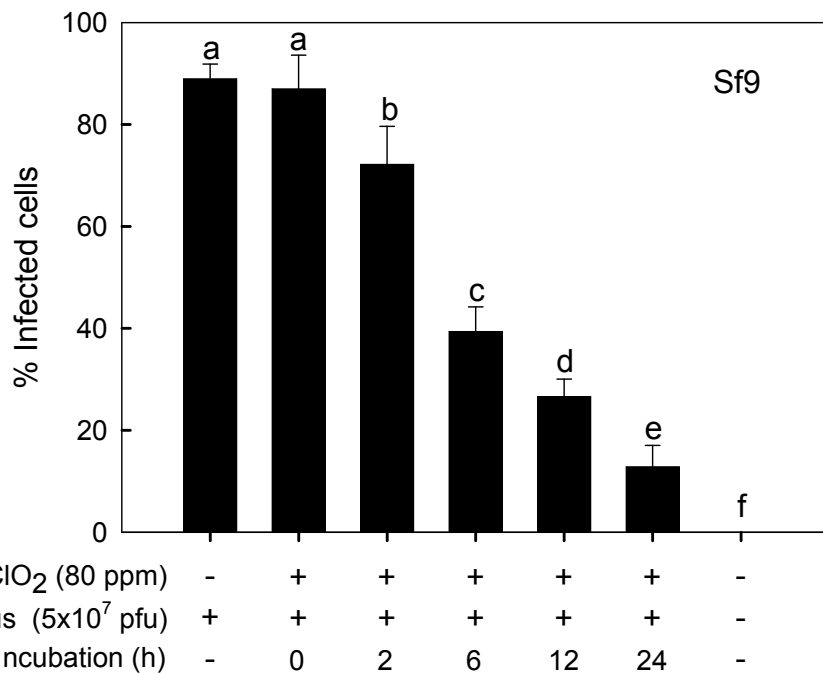


그림 25. 이산화염소의 항 DNA 바이러스 효과

이산화염소의 TMV에 대한 항바이러스 효과. 식물바이러스에 대한 이산화염소의 항바이러스 효과를 확인하였다(그림 26). TMV에 대한 이산화염소의 항바이러스 효과는 400 ppm 에서 가장 높은 억제력을 보였다. 이산화염소 400 ppm에서 TMV를 48 시간 동안 처리한 후 담배에 접종한 결과 84.9%의 바이러스 밀도 감소 효과를 보였으며, 200 ppm에서 48 시간 처리구에서 54.1%의 바이러스 억제 효과를 보였다. 국부병반을 형성하는 *N. tabacum* cv. Xanthi-NC 품종에 대한 방제효과를 확인하였다. 이산화염소 처리 농도 증가에 따라 TMV 병징이 크게 줄어들었으나($F = 591.69$; $df = 2, 39$; $P < 0.0001$), 바이러스를 담배잎에 접종하기 전에 이산화염소와 반응하는 시간은 큰 영향을 주지 않았다($F = 1.96$; $df = 9, 39$; $P = 0.0733$).

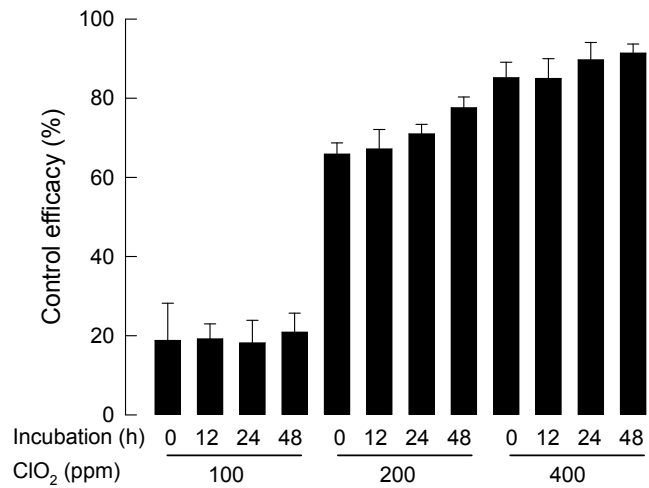
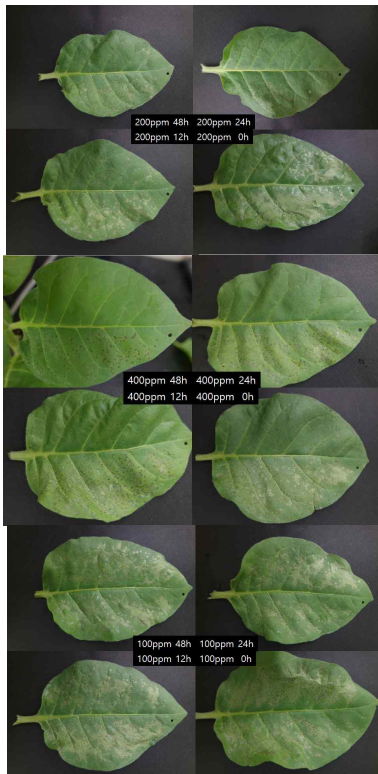
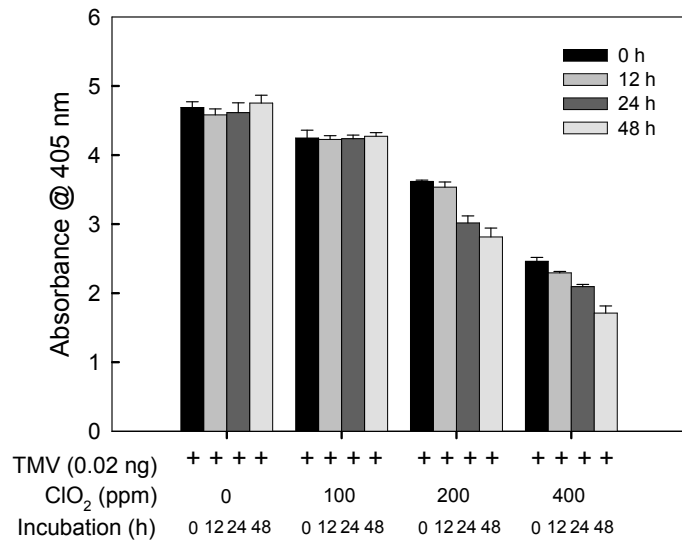


그림 26. 이산화염소의 항 RNA 바이러스 효과

3절 이산화염소의 저극해충 분자수준의 독성 기작 연구 내용 과 결과

1. 연구목표

이산화염소 노출에 따른 저극해충의 살충효과는 활성산소에 기인한 산화적 스트레스이기에 ROS 기반 표적 분자의 기능 교란을 알아보고자 한다.

2. 연구 접근

ROS가 주는 생리적 피해 가운데 생체막의 피해는 세포독성 및 개체 독성으로 이어질 수 있다. 특별히, ROS에 의해 lipid peroxidation은 가장 대표적이다. 한편 생체막의 손상을 막아주는 분자 가운데 하나가 iPLA2 (cellular calcium-independent PLA2)로서 생체막의 항상성을 유지하는 데 중요한 기능을 담당한다. 만약 이산화염소에 기인한 ROS가 iPLA2이 활성을 억제하면 항상성 교란으로 이산화염소의 살충기작을 이해하는 데 도움을 준다. 또한 혈림프에 존재하는 페놀옥시데이즈는 곤충 면역에 중추적 역할을 담당하는 중요한 효소이다. ROS이 면역억제를 설명하는 데 이 효소의 기능을 살펴볼 필요가 있다. 또한 저장해충의 열처리와 더불어 이산화염소 처리가 효과적인데, 여기서 이산화염소가 열충격단백질(HSP)에 미치는 영향을 살펴볼 필요가 있다. HSP에 대한 이산화염소의 억제 작용은 두 처리의 상승적 효과를 설명하여 준다.

3. 연구 결과

iPLA2에 대한 이산화염소의 영향을 분석하고자 이 유전자를 화랑곡나방에서 동정하였다. 전체 835 개의 아미노산으로 구성되었고, N 말단은 ankyrin 반복 영역을 지니며 C 말단은 patatin 구조를 지니 이 단백질이 척추동물의 iPLA2와 유사한 구조를 지닌 것을 확인하였다. Pi-iPLA2는 모든 발육태에서 발현되었으며 분석된 모든 유충 조직에서도 발현되었다. 이 유전자의 발현을 RNAi 기술로 억제하였다. 이 RNAi는 화랑곡나방의 생체막에 지질과산화를 유발하였다. 즉 iPLA2가 생체막의 지질과산화를 막아주는 역할을 하는 것으로 판단되었다. 이산화염소 처리는 생체막의 지질 과산화를 유발하였다. 이때 이산화염소 처리는 iPLA2의 발현도 억제하여 지질과산화 효과를 증대하는 것을 알게 되었다. 이산화염소는 또한 페놀옥시데이즈의 활성을 억제하였다. 또한 HSP 유전자 발현도 억제하였다. 이들 모두는 이산화염소가 살충효과를 발휘하는 분자종말점으로 결정되었다.

화랑곡나방의 iPLA2 분자 구조 및 발현 양상. 전체 835 개의 아미노산으로 구성되었고, N 말단은 ankyrin 반복 영역을 지니며 C 말단은 patatin 구조를 지니 이 단백질이 척추동물의 iPLA2와 유사한 구조를 지닌 것을 확인하였다(그림 27). 모든 발육태에서 이 유전자는 발현된다.

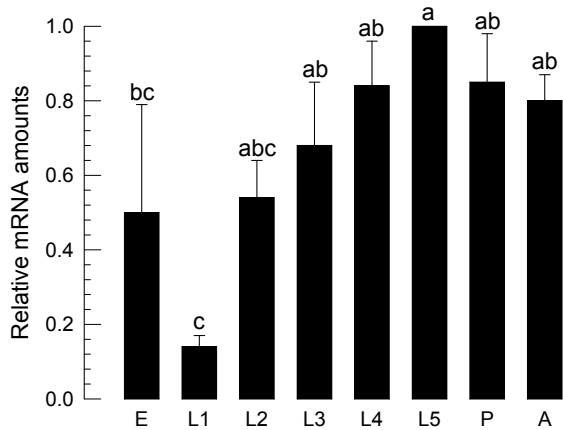
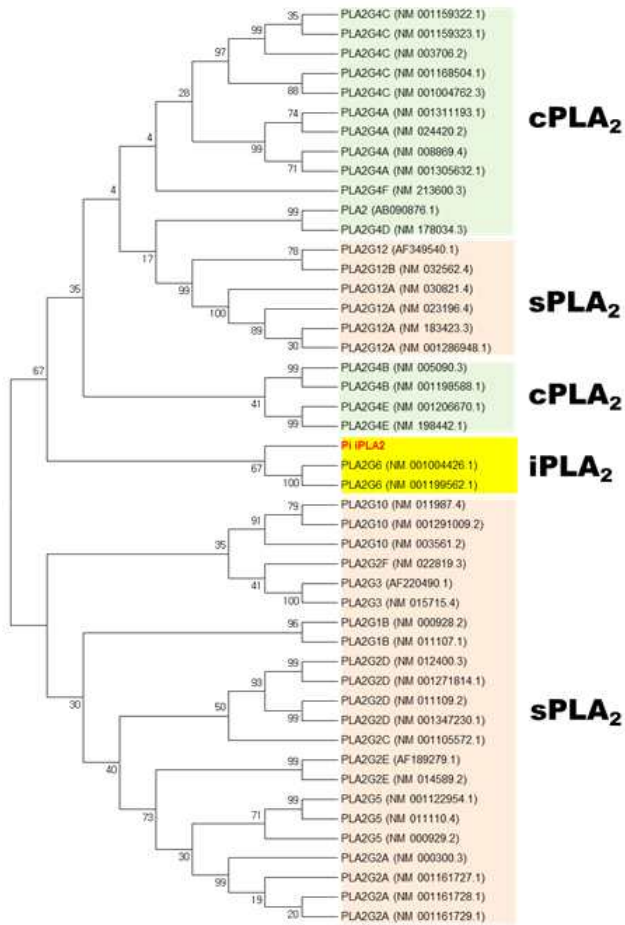
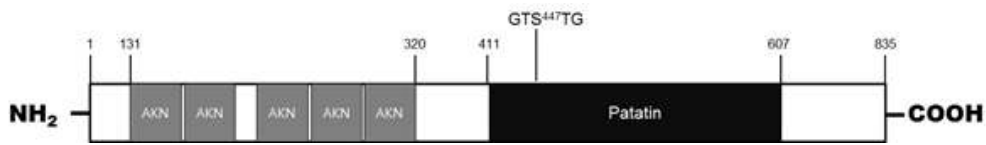


그림 27. 화랑곡나방의 iPLA2 단백질 구조 및 유전자 발현

화랑곡나방의 iPLA2 유전자 발현 억제와 지질과산화. 화랑곡나방의 iPLA2 발현을 RNAi 로 억제하면 지질 과산화가 증가하였다(그림 28).

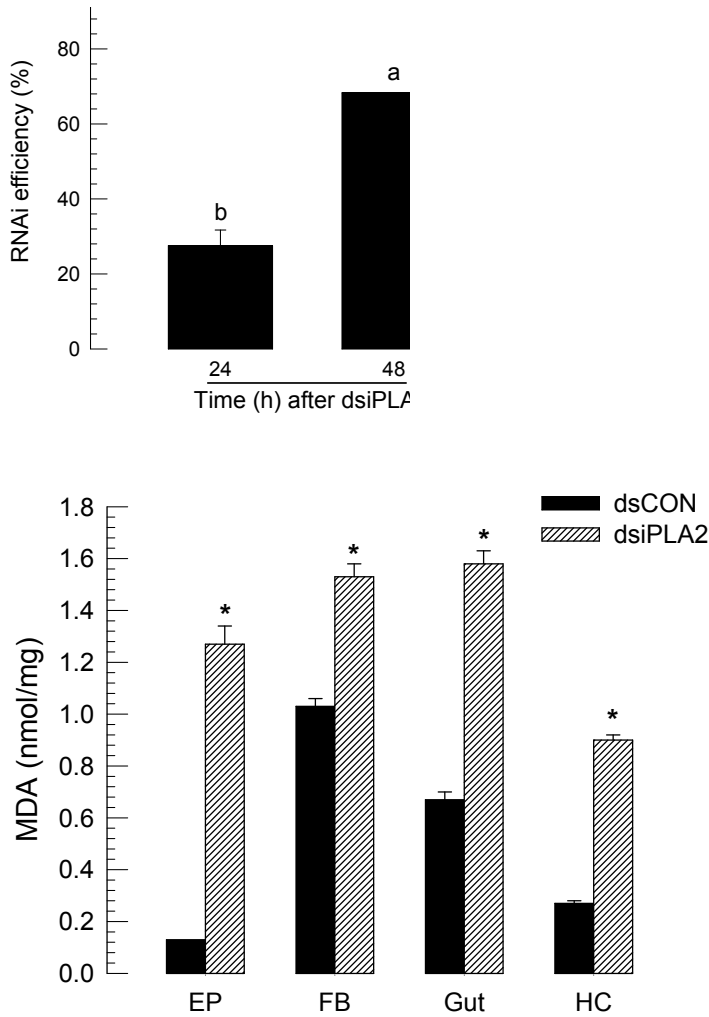


그림 28. 화랑곡나방 iPLA2와 지질과산화. RNAi 처리에 의해 지질 산패 증가 효과

이산화염소의 화랑곡나방의 iPLA2 유전자 발현 억제. 이산화염소 처리는 지질과산화가 증가하였다. 반면에 비타민 E를 처리하면 이러한 지질 산패를 억제할 수 있다. 또한 이 처리는 화랑곡나방의 iPLA2 발현을 억제하였다(그림 29).

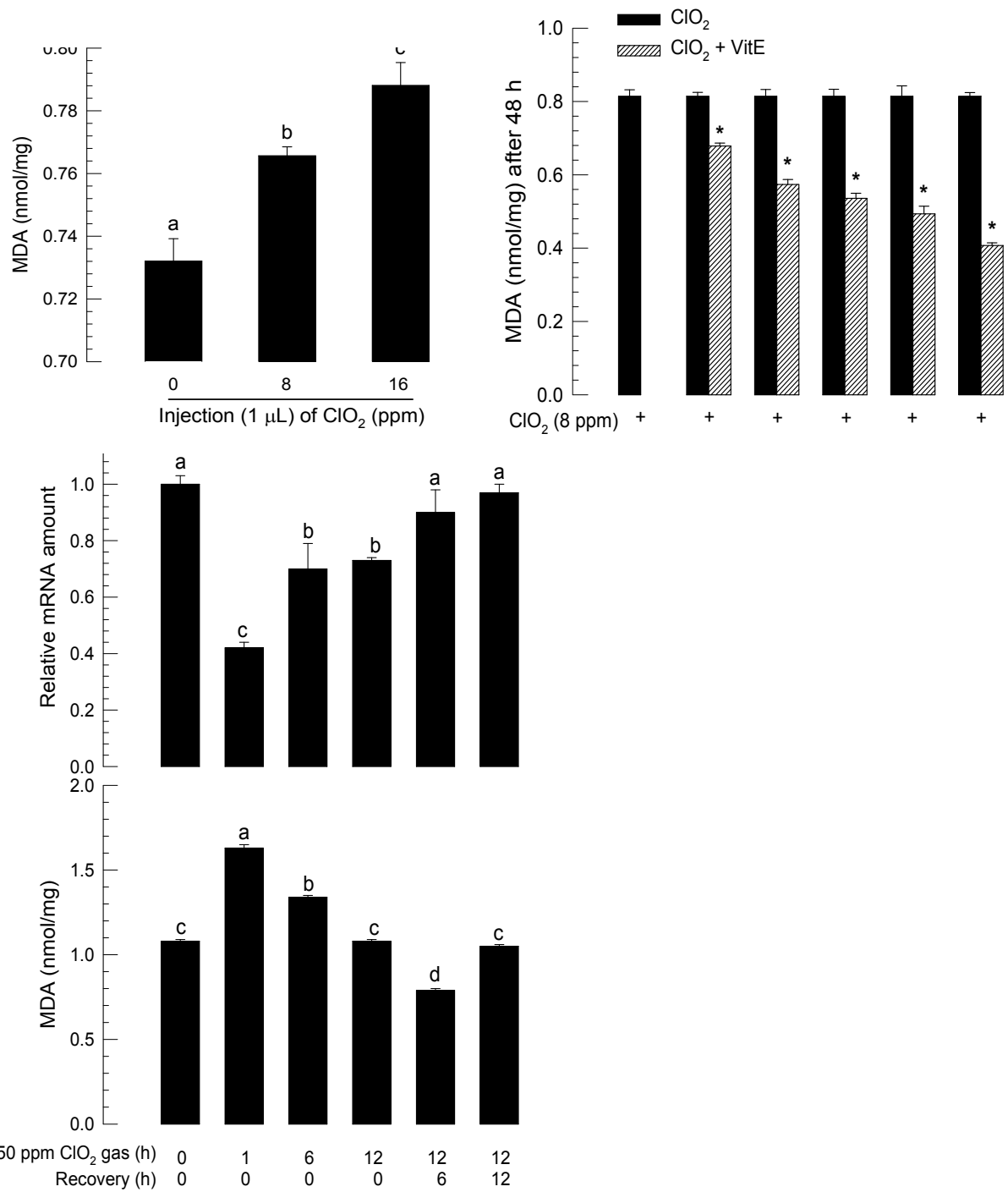


그림 29. ROS에 기인한 이산화염소의 지질과산화 유도 및 iPLA2 발현 억제

편도혈구의 proPO 생성 및 PO 활성화. 화랑곡나방의 혈구세포 가운데 proPO를 생산하는 종류를 탐색하였다(그림 30). 세포 내에 존재하는 형태이기에 에탄올을 이용하여 활성화를 유도하고 여기에 기질인 DOPA를 처리하여 암화된 혈구세포를 추적하였다. 이 결과 편도혈

구만 암화 현상을 나타냈다. 반면에 과립혈구와 부정형혈구는 암화 현상을 나타내지 않았다. 화랑곡나방 유충 면역과 PO 활성 변화 사이에 관계를 분석하기 위해 대장균을 이용하여 면역 처리하였다. 무처리 유충의 경우는 낮은 PO 활성이 각각 혈구와 혈장에서 나타났다. 그러나 면역처리 이후에 혈장에서 PO 활성이 약 3.5 배 이상 증가하였다. 반면에 혈구에서는 큰 차이를 보이지 않았다.

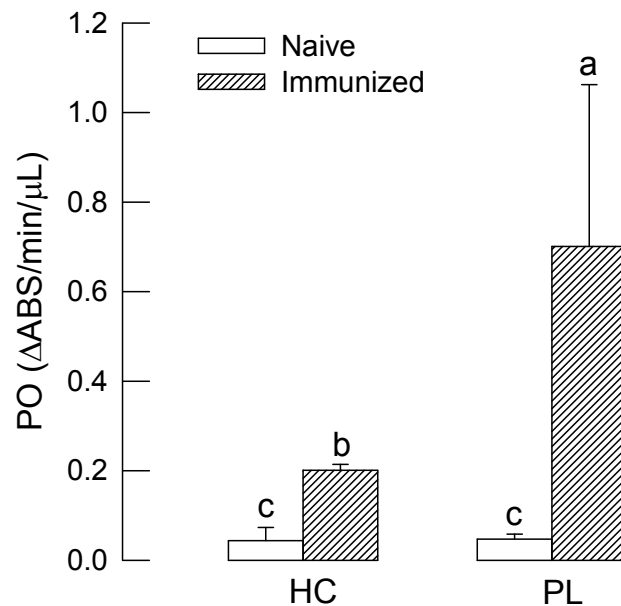
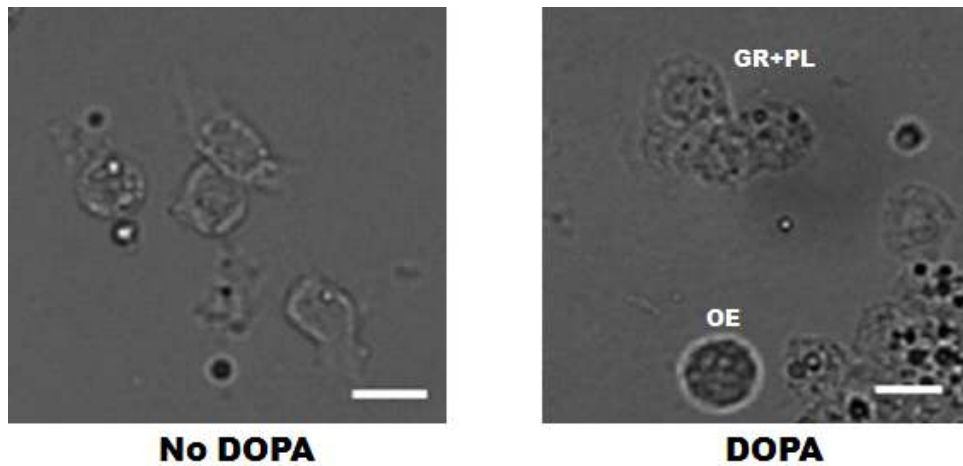


그림 30. 화랑곡나방 편도혈구의 PPO 생성 및 PO 활성 변화

PO 활성에 미치는 이산화염소 처리효과. 이산화염소 처리가 화랑곡나방의 PO 면역반응을 억제할 수 있는 지를 분석하였다(그림 32). 위와 동일한 방법으로 면역처리를 실시하되 동시에 이산화염소도 함께 주입되었다. 대장균 처리구에서는 뚜렷한 PO 활성 증가를 관찰하였지만, 이산화염소와 함께 처리할 경우 PO 활성 증가는 나타나지 않았다.

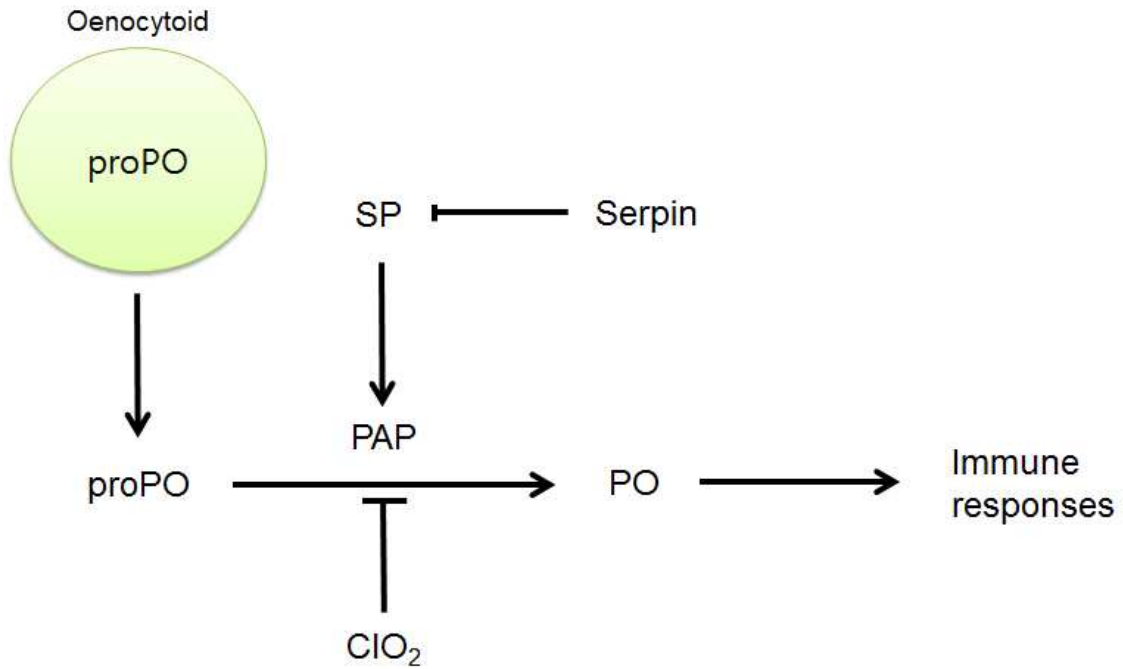
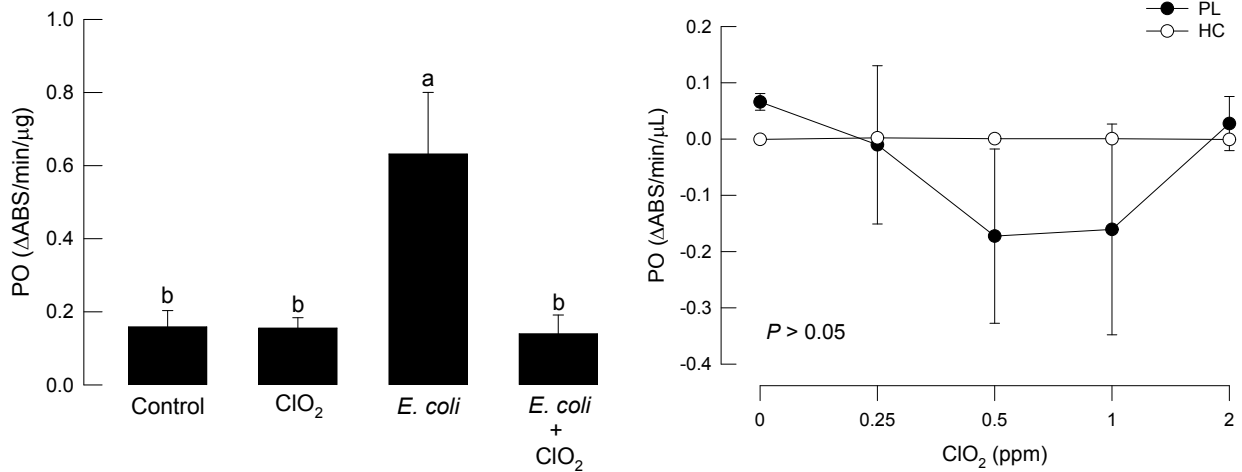


그림 31. 이산화염소의 PO 활성화에 미치는 영향 및 전체적 영향의 모식도

4절 이산화염소의 살충력 제고 기술 개발 연구 내용과 결과

1. 연구목표

이산화염소 노출에 따른 저극해충의 살충기작을 바탕으로 저농도에서 효과적 살충효과를 거두기 위한 핵심 기술 개발에 목적을 둔다.

2. 연구 접근

해충의 행동 생리를 이용하여 이산화염소에 노출에 용이하게 하기 위해서 거짓쌀도둑거저리는 열처리에 따른 곡물 내에서 노출 환경으로 오게 하여 처리 효과를 높이고, 화랑곡나방의 경우는 음성주광성을 이용하여 노출을 용이하게 하였다. 또한 이산화탄소를 혼합하여 곤충의 기문을 열게 하여 이산화염소가 더욱 용이하게 곤충 체내로 주입시키는 기술을 개발한다.

3. 연구 결과

거짓쌀도둑거저리에 대한 이산화염소의 독성. 이산화염소 훈증제 처리에 대한 거짓쌀도둑거저리의 감수성을 분석하였다(그림 32). 거짓쌀도둑거저리에 대한 이산화염소는 처리 농도 ($F = 196.10$; $df = 4, 22$; $P < 0.0001$)에 따라 뚜렷한 독성을 주었다. 이러한 이산화염소의 농도별 독성 증가는 유충과 성충 모두에 대해서($F = 0.06$; $df = 4, 22$; $P = 0.3083$) 유사하게 나타났다. 그러나 발육시기에 따라 이산화염소에 대한 감수성이 상이하여, 유충과 성충에 비해 번데기가 높은 감수성($F = 0.54$; $df = 2, 22$; $P < 0.0001$)을 나타냈다. 거짓쌀도둑거저리에 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.

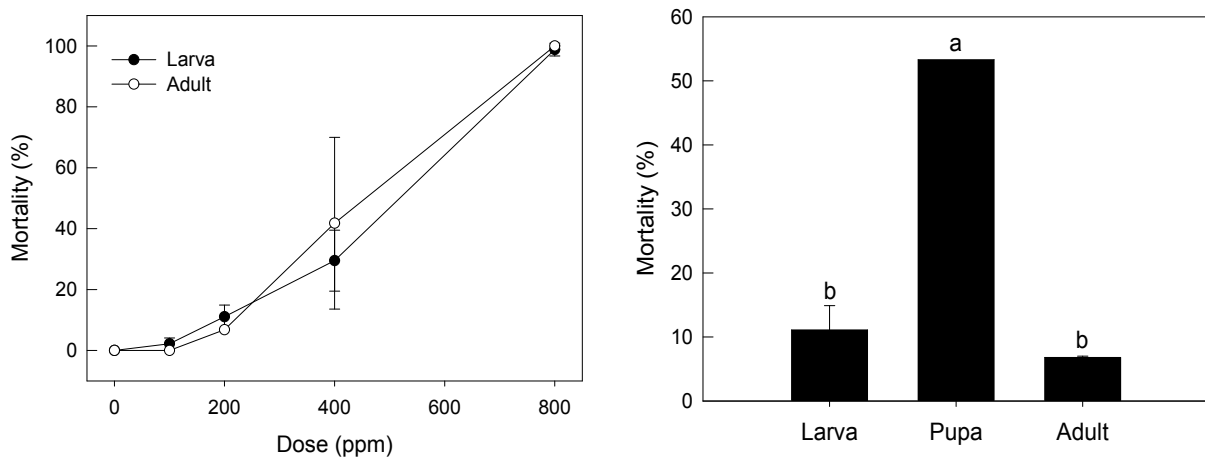


그림 32. 거짓쌀도둑거저리의 발육태에 따른 이산화염소의 살충력

회피행동에 따른 이산화염소 독성 저하

밀가루 먹이를 다양한 부피로 처리 튜브에 채워주었을 때 이산화염소에 대한 거짓쌀도둑거저리의 감수성은 유충과 성충 모두의 회피행동에 따라 크게 감소하였다(그림 33). 이러한 감수성 저하는 공급된 먹이량($F = 49.0$; $df = 7, 32$; $P < 0.0001$)에 비례하여 뚜렷이 나타났다. 이러한 경향은 유충과 성충 모두에서 유사하게($F = 0.82$; $df = 7, 32$; $P = 0.5773$) 나타

났다. 특별히 먹이량이 5 mL 이상의 경우(약 2 cm 이상 깊이)에서는 거의 처리 효과를 나타내지 못하였다.

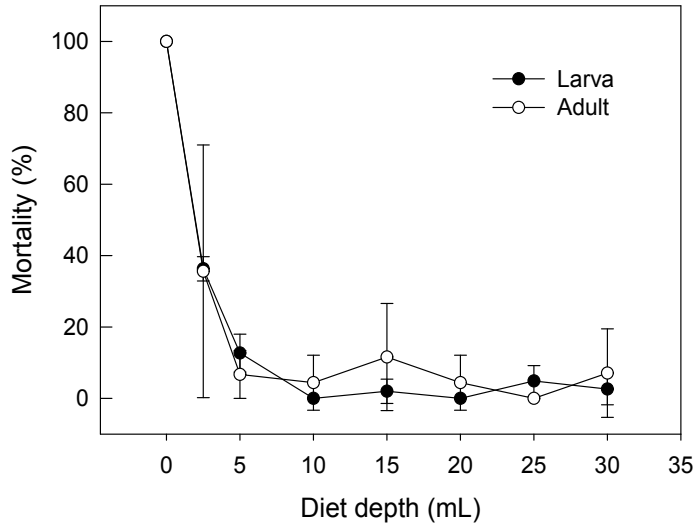


그림 33. 거짓쌀도둑거저리의 회피 행동

동

거짓쌀도둑거저리가 이산화염소를 회피하는 지를 분석하기 위해 Y 튜브 생물검정을 실시하였다(Fig. 3). Y 튜브 양쪽 말단에 곤충의 먹이를 각각 두었다(그림 34). 처리구는 800 ppm 이산화염소를 처리하였고, 대조구는 동일한 부피의 인산완충용액을 처리하였다. 이때 거짓쌀도둑거저리 가운데 먹이 쪽으로 움직이는 행동 반응을 보인 개체가 약 82%를 차지하였다. 그러나 촉각을 제거한 경우 무반응을 보이는 개체가 전체의 약 77%를 차지하였다. 먹이 쪽으로 반응을 보인 정상적 개체 가운데는 이산화염소가 처리되지 않은 쪽으로 약 88%가 움직였다. 그러나 촉각이 제거된 거짓쌀도둑거저리는 대부분 먹이에 대한 감지 능력을 잃었고, 일부 반응을 보인 개체들은 오히려 이산화염소 처리된 곳으로 치우쳐져서 대조구 대비 이산화염소에 대한 감지능력($X^2 = 35.6$; $df = 2$; $P < 0.0001$)을 잃었다. 이러한 회피행동은 이산화염소 처리에 따라 증가된 보행행동 속도와 거리 증가에서도 뒷받침하고 있다(그림 35).

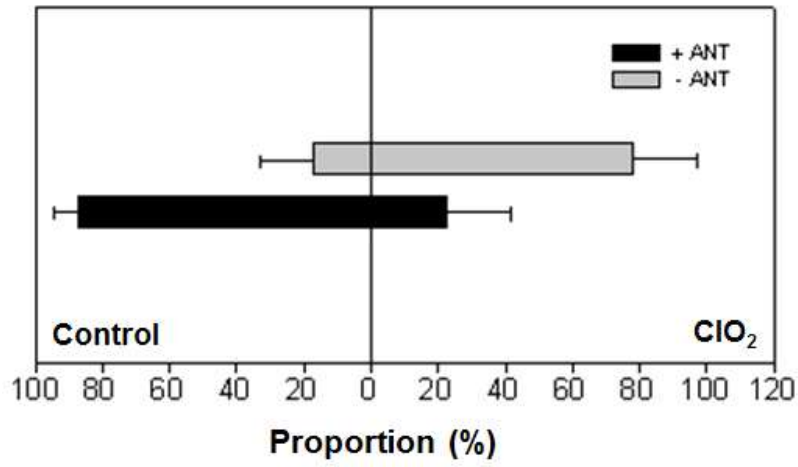
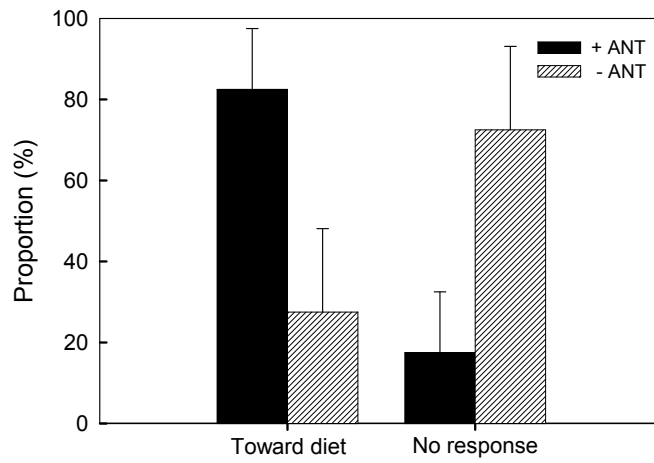
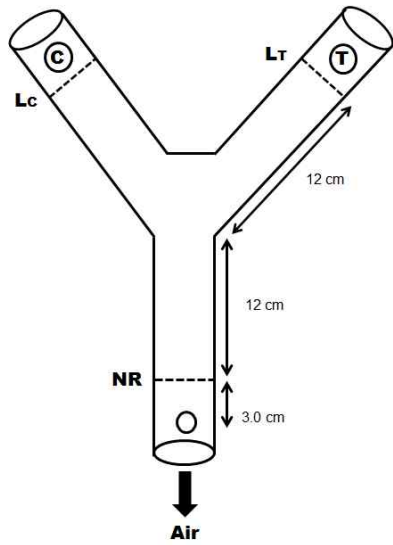
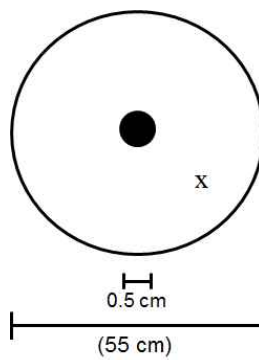


그림 34. 거짓쌀도둑거저리의 이산화염소 회피행동(방향)



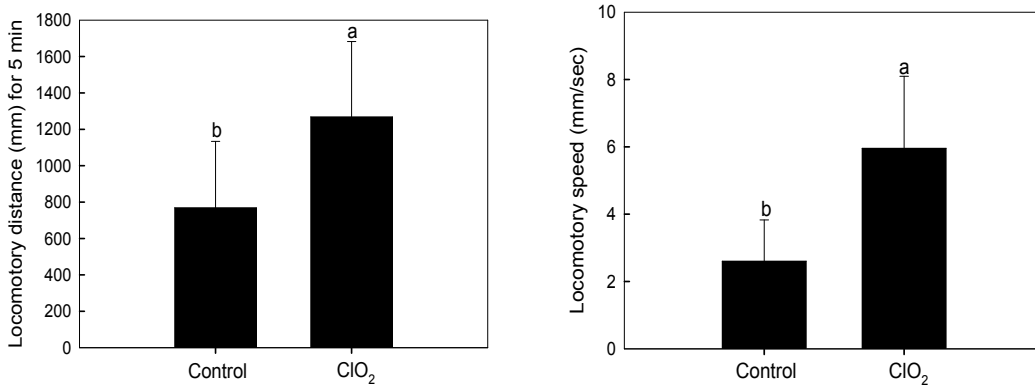


그림 35. 거짓쌀도둑거저리의 이산화염소 회피행동(거리와 속도)

열처리와 혼합에 따른 이산화염소 독성 회복

이산화염소에 대한 거짓쌀도둑거저리의 감수성 저하는 먹이 속으로 파고 들어가면서 이산화염소 노출을 회피하는 행동에서 기인한 것으로 관찰되었다. 이러한 회피행동을 줄이기 위해 열처리를 병행하였다(그림 36). 열처리 단독으로는 6 시간 처리에서 약 4.4% 살충력을 보였고, 12 시간을 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 6 시간 처리에서 약 95%의 살충력을 나타내 두 처리의 뚜렷한 시너지효과($F = 160.82$; $df = 2, 12$; $P < 0.0001$)를 나타냈다. 그리고 12 시간을 처리한 두 처리 병행은 완전 방제효과를 나타냈다.

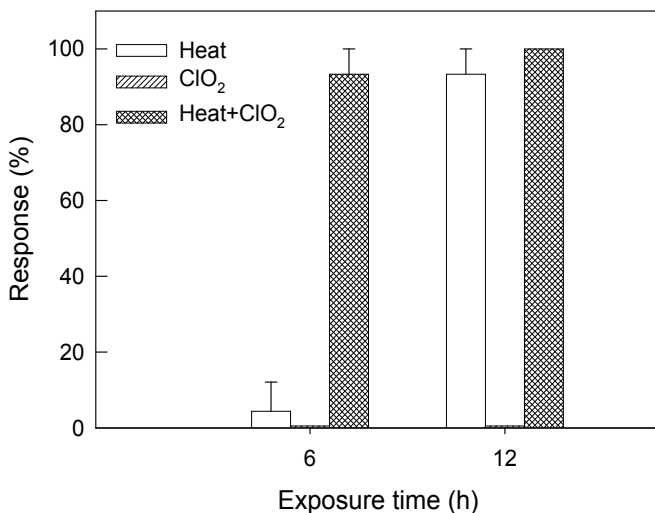


그림 36. 열처리와 이산화염소 혼합 상

승효과

화랑곡나방의 발육시기별 AChE 활성 차이와 이산화염소 처리 효과. 화랑곡나방의 발육 시기별 AChE 활성이 분석되었다(그림 37). 신경계가 완전히 발달된 1령 유충부터 성충까지

분석한 결과 최종령과 번데기를 제외하고 모두 유사한 활성을 나타냈다. 최종령과 번데기 시기에는 다른 발육 시기에 비해 낮은 AChE 활성을 나타냈다. 최종령인 5령을 대상으로 이산화염소 혈장 주입에 따른 AChE 활성 변화를 추적하였다. 낮은 이산화염소 농도(0.8 ppm) 처리에서는 AChE의 활성 변화가 없는 반면에 8 ppm 이상의 처리에서는 처리 농도와 상관없이 약 2 배 이상의 활성 증가를 보였다.

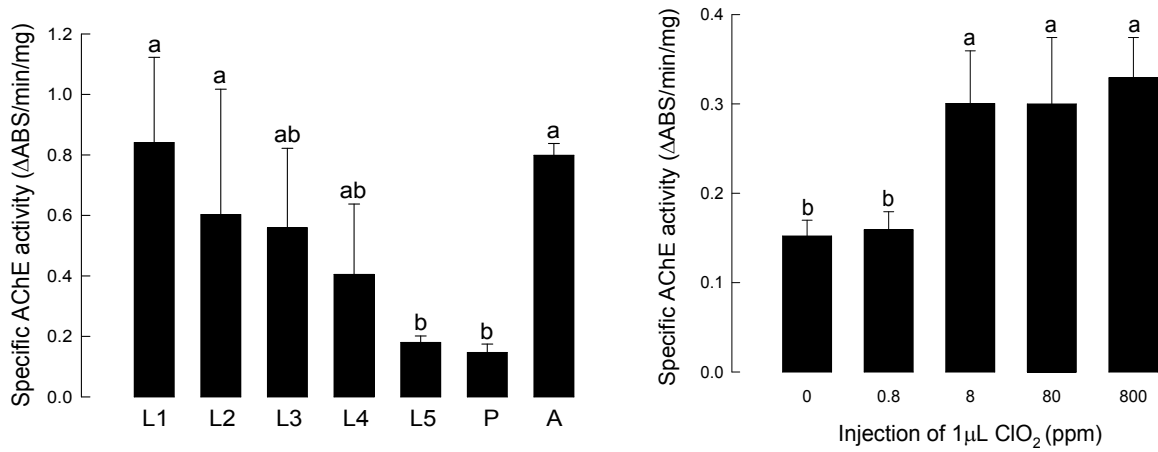


그림 37. 화랑곡나방의 발육시기별 AChE 활성과 이산화염소 노출효과

이산화염소 처리와 화랑곡나방의 음성주광성 교란. 화랑곡나방 5령 유충은 빛 노출에 대해서 회피하는 음성주광성을 보였다(그림 38). 이산화염소(8 ppm, 혈장 주입) 처리하고 경과 시기에 따라 음성주광성 행동을 분석하였다. 처리 후 시간이 경과함에 따라 음성주광성 행동이 교란되었다. 처리 후 6 시간이 경과할 때까지는 대조구와 큰 차이를 보이지 않지만($P = 0.7139$), 12 시간과 24 시간 처리구에서는 대조구에 비해 비교적 큰 차이를 나타냈다($P = 0.0676$).

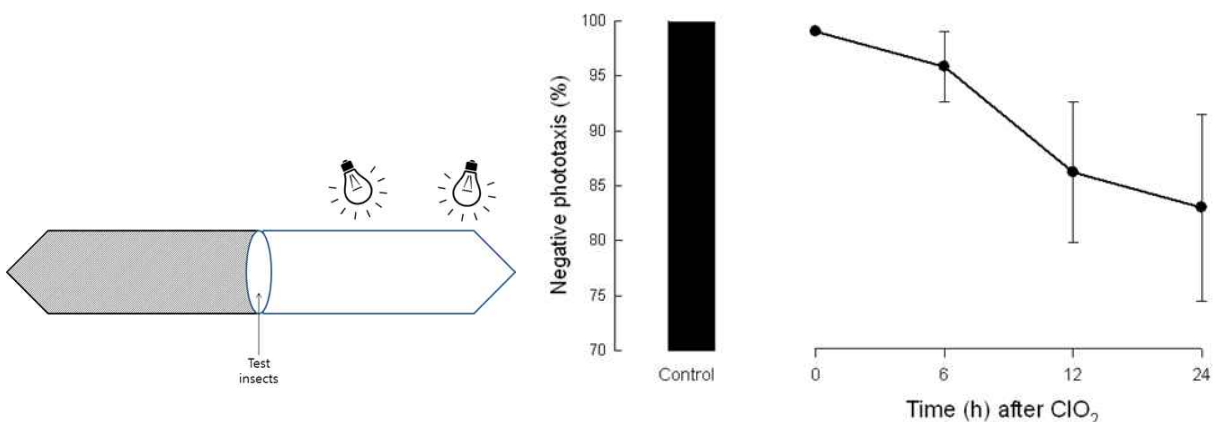


그림 38. 화랑곡나방 5령 유충 음성주광성

이산화염소 훈증 처리와 AChE 활성 변화. 저 농도의 이산화염소 훈증 처리에 대해서 AChE의 활성 변화를 분석하였다(그림 39). 화랑곡나방 5령 유충에 대해서 50 ppm의 이산화염소 훈증 처리에 대해서 처리시간이 증가할수록 살충력이 증가하였다. 각 처리 5 일후 생존한 개체를 살펴보면 대부분 번데기 또는 전충 단계이었다. 이 생존한 개체를 대상으로 AChE 활성을 분석한 결과, 대조구에 비해 이산화염소 처리구에서는 2배에서 4배 이상의 활성 증가를 보였다.

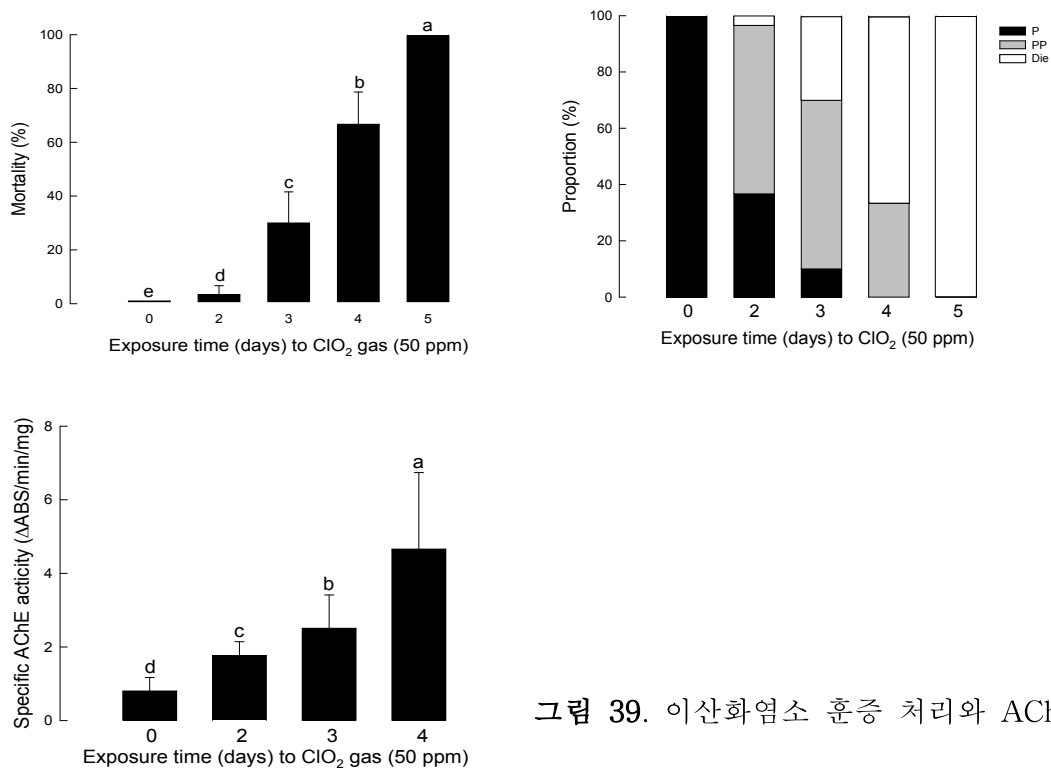
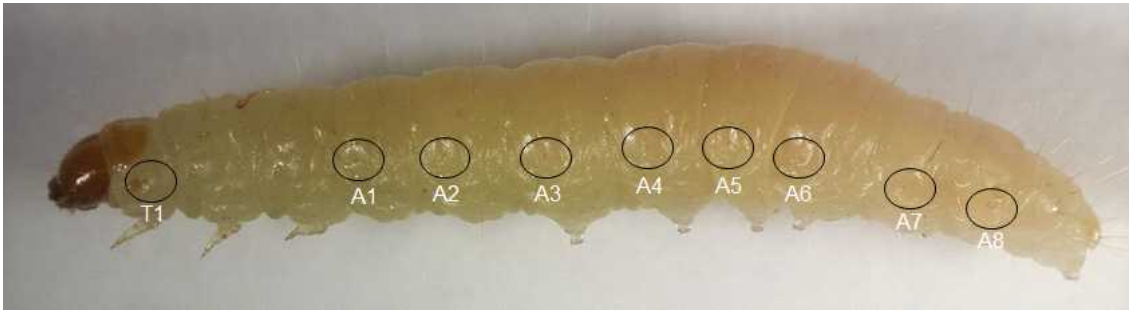


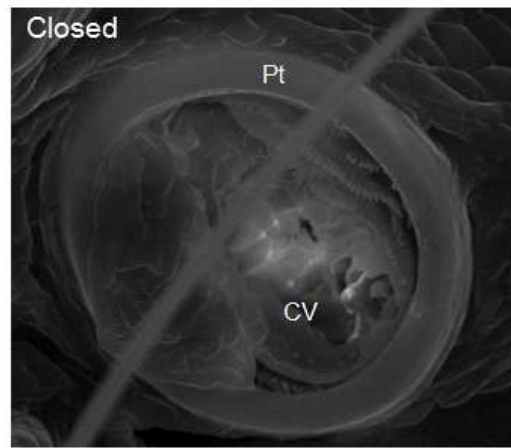
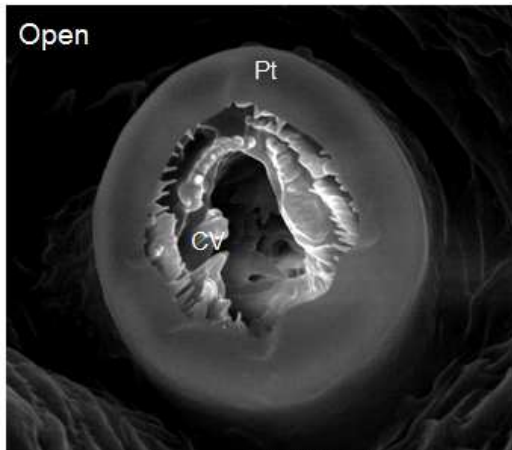
그림 39. 이산화염소 훈증 처리와 AChE의 활성 변화

화랑곡나방의 기문 및 기관지 구조. 화랑곡나방 5령 유충을 대상으로 기문의 구조와 수를 관찰하였다(그림 40). 머리를 제외하고 가슴과 배에 기문이 존재하였다. 앞가슴에 1 쌍, 복부에 8 쌍이 존재하여 전체 9 쌍의 기문이 각 몸마디의 옆면(pleuron)에 존재하였다. 기문의 미세구조를 살펴보기 위해 주사전자현미경으로 관찰한 결과 체벽에 기문주위벽(peritreme)을 갖고 있으며, 기방(atrium) 내에는 체 모양의 폐쇄판(closing valve)이 존재하였고, 이 폐쇄판들의 열고 닫음에 의해 기문의 개폐가 이뤄지는 것을 알 수 있었다. 체내 기관지의 분포를 알아보기 위해 methylene blue 염색약을 열린 기문을 통해 주입하여 기관지 분포를 관찰하였다. 이 결과 각 기문에서 기관지가 세로 및 가로로 뻗어 나오는 것을 관찰하였다.

(A)



(B)



(C)

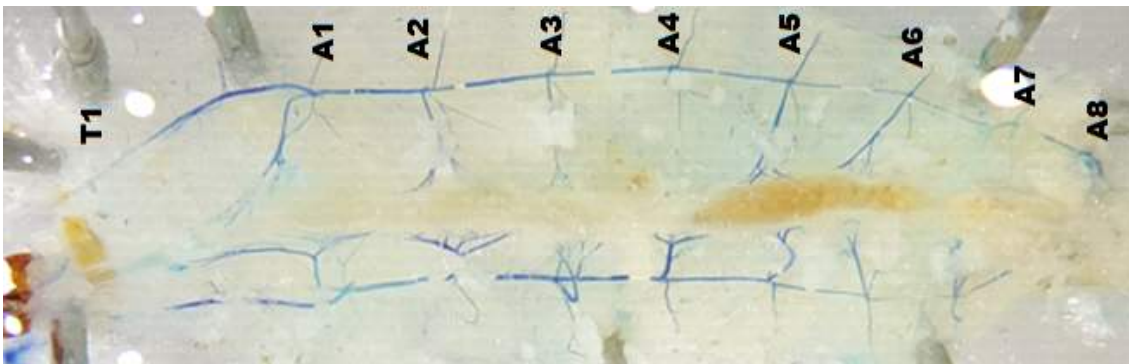


그림 40. 화랑곡나방 기문 구조 및 기관지 구조

화랑곡나방의 기관 개폐 활동. 화랑곡나방 유충의 기문 개폐를 열린 기문을 통해 염색액 침투 방법에 따라 관찰할 수 있었다. 이러한 염색액 침투방법을 이용하여 주변 온도에 따라 화랑곡나방의 기문 활동을 분석하였다(그림 41). 온도가 증가함에 따라 기문의 개폐 활동이 뚜렷히 증가하였다($F = 3.77$; $df = 5, 53$; $P = 0.0054$). 약 60%의 기문이 25-35°C 온도에서 열려 있었다.

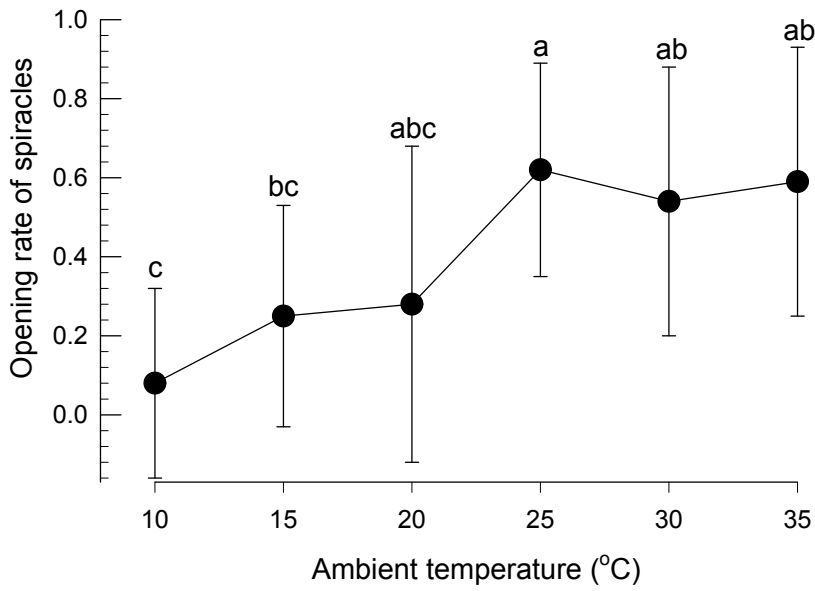


그림 41. 화랑곡나방의 기문

활동

화랑곡나방 유충 기문 활동에 대한 이산화탄소의 영향을 분석하였다(그림 42). 무처리의 경우 기문 개폐가 기문 마다 차이를 보여 25-85%의 변이를 보이며 전체적으로 약 60%의 기문 개방율을 나타냈다. 그러나 이산화탄소에 노출될 경우 모든 기문의 개방을 촉진하여 전체적으로 약 95%의 기문 개방율을 나타냈다. 이산화탄소의 기문 개방 촉진 효과와 비교하여 이산화염소의 경우는 화랑곡나방의 기문 개방화를 억제하여 전체적으로 약 25%의 기문 개방율을 나타냈다.

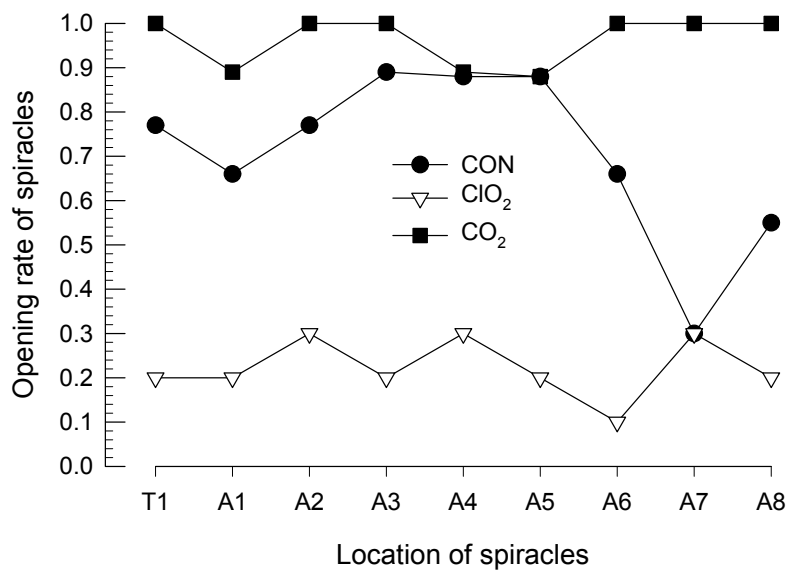


그림 42. 기문활동에 대한 ClO₂

영향

이산화탄소 첨가에 따른 이산화염소 살충효과 제고 효과. 이산화탄소와 이산화염소의 상반된 기문 활동 조절 효과는 이들의 혼합 처리 효과에 대한 의구심을 갖게 하였다. 이에 두 가스 처리를 동시에 실시한 결과 이산화탄소는 이산화염소의 기문 활동 억제 효과를 차단하고 기문을 무처리 또는 이산화탄소 처리 수준만큼 증가시켰다(그림 43).

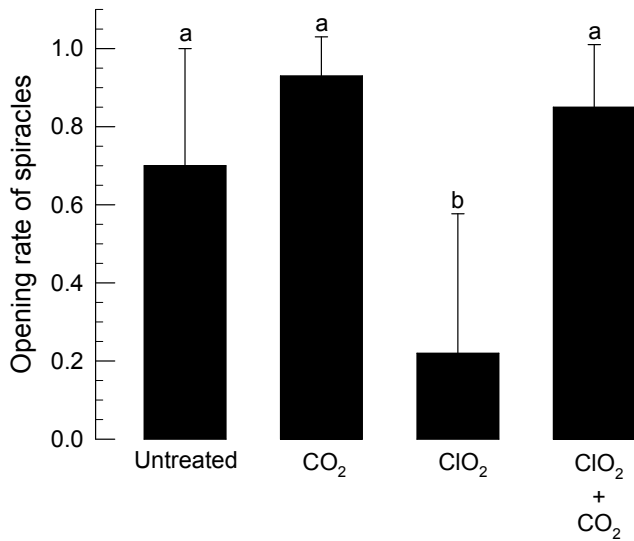


그림 43. 이산화탄소의 기문 활동 증가

효과

복합 가스 처리에서 이산화탄소의 기문 활동 증가 효과는 이산화염소의 살충 효과에 변화를 줄 수 있을 것으로 추정하였다. 이를 증명하기 위해 두 가스의 단독 및 복합 처리를 한 결과, 이산화염소 단독 처리에 비해 복합처리가 현격하게 높은 살충효과를 나타냈다(그림 44).

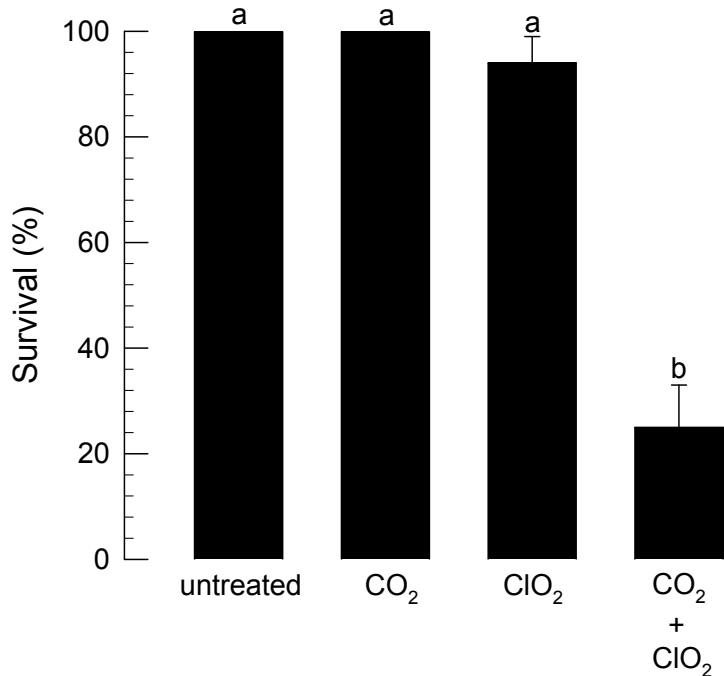
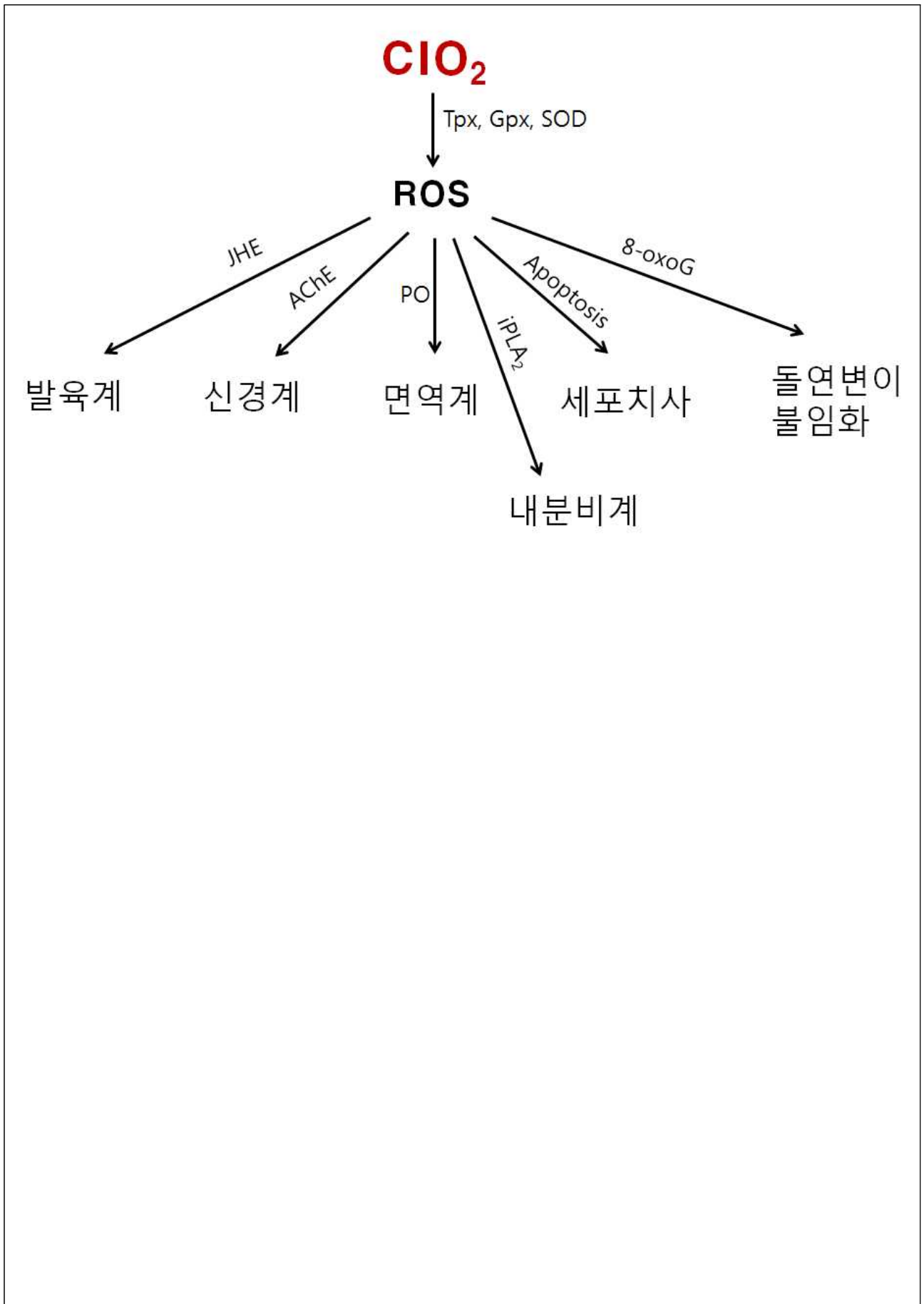


그림 44. 화랑곡나방에 대한 이산화탄소의 이산화염소에 대한 상승 살충효과

5절 결론

이산화염소의 살충기작을 규명하기 위한 본 연구가 진행되었다. 기본적으로 이 물질이 생성하는 ROS를 기반으로 교란의 표적이 되는 생리과정과 이에 상응한 생체분자를 추적하는데 연구력이 모아졌다(Kumar et al., 2015). 이산화염소 처리는 거짓쌀도둑거저리의 음성주광성 행동을 교란시키는 데, 이는 이 물질이 아세틸콜린에스터레이즈의 활성을 증가시키는 것과 관련성을 제기하였다(Kim et al., 2015a). 이산화염소는 곤충세포는 물론이고 인체의 암세포까지 세포독성을 지녔다(Kim et al., 2016). 그러나 ROS를 막기 위한 항산화제를 처리하면 이러한 세포손상을 억제할 수 있었다(Kim et al., 2015b). 이산화염소 처리는 화랑곡나방의 면역기능을 둔화시켜 혈구세포활착 및 소낭형성의 기능을 현격하게 억제하였다(Kumar et al., 2015). 또한 이 해충의 순환계에도 영향을 주어 이산화염소 처리를 받으면 심장박동수가 크게 격감하여 혈액순환작용을 둔화시켰다(Kim et al., 2017). 이산화염소 처리에 따른 화랑곡나방의 기문활동 교란하였으며, 이러한 기문활동을 기반으로 이산화염소 처리에 이산화탄소 혼합 처리를 통해 이 혼증제 처리의 최적 방제 기술을 개발하였다. 이와 같이 이산화염소가 대상 곤충에 대해서 다양한 억제종말점을 갖는 이유는 이 물질이 생성하는 ROS의 작용으로 해석되었다.



4장. 저곡해충 사멸용 이산화염소 처리장비 개발 및 현장 처리 장치 개발

1절. 전극 확충 및 기존 6cm 전극 활용 실험 환경 제공

1. 6cm 전극 활용 실험 환경 제공

- ◆ 과제 참여하는 모든 연구자들이 이를 이용하여 이산화염소 처리를 위한 장치로 사용할 수 있도록 고려대 (제1세부)에 설치하였다.

연구결과

[ClO₂ Gas Feeding Controller]

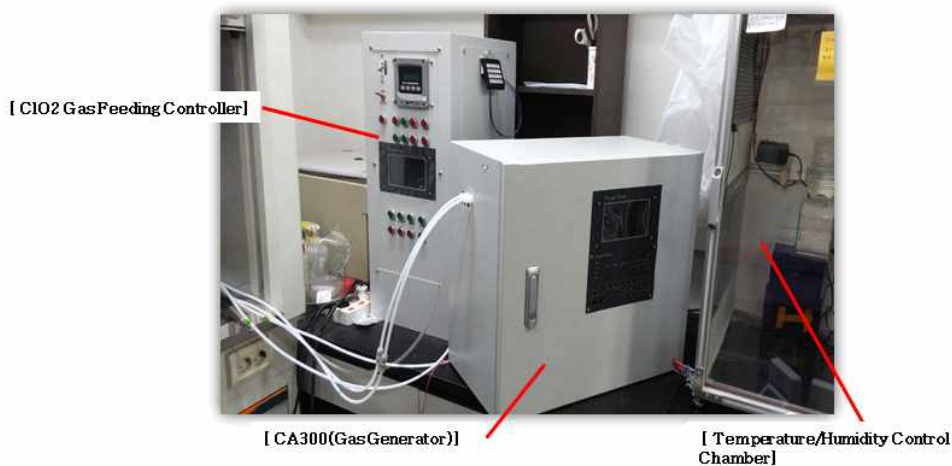
고농도 ClO₂ Gas를 포집할 수 있는 Chamber가 내장되어 있고, ClO₂ Gas Sensor를 통하여 원하는 농도와 혼증 시간을 제어할 수 있는 장비이다.

[CA300(Gas Generator)]

6cm 전극은 탑재한 장비로 사용하고자 하는 농도에 맞게 ClO₂ Gas 발생량을 조절할 수 있다.

[Temperature/Humidity Control Chamber]

온도조절 및 습도조절이 가능한 실험용 Chamber로 내화학성 재질로 제작 되었다.



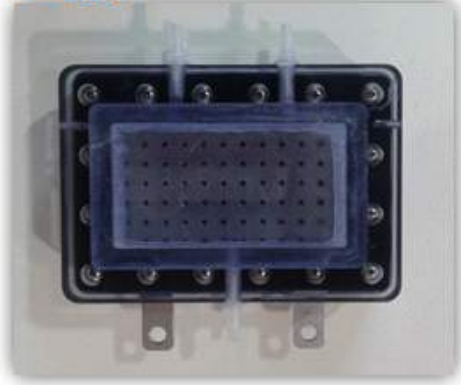
2. 대용량 전극 제작: 기존 전극의 이산화염소 발생량으로는 대량의 곡물을 처리하는데 어려움이 있어 고농도의 이산화염소를 생산할 수 있는 전극을 개발하였음.

연구결과

- Anode case를 투명PVC로 제작하여 ClO₂의 발생 정도를 육안으로 확인 할 수 있게 하였다.

- 내화학 Fitting을 사용하여 Tubing이 용이하도록 하였다. Viton Gasket을 사용하여 압력에 의한 Leak 발생 문제를 해결 하였다.
- 전극 Size가 커지면서 조립시 원형은 중앙부분이 Feeder와 MEA간 접지부위가 불안정하여 직사각형태로 개선하였다.

12cm전극



Specification	
Cell Size	112cm ²
Working Ampere	24A
Throughput	200cc/hr
ClO ₂ Yield	320mg/min

6cm전극



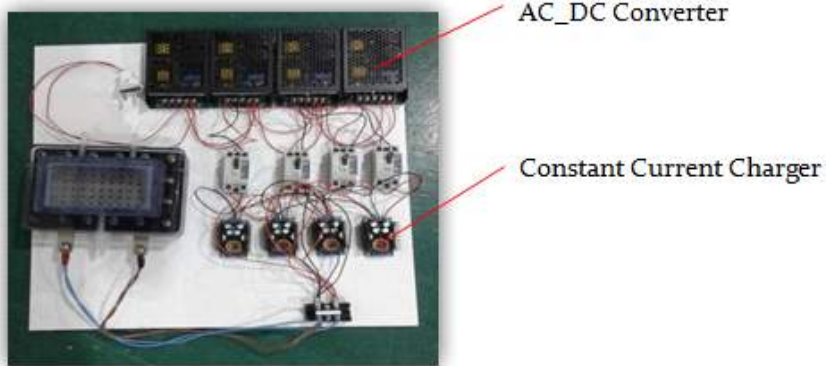
Specification	
Cell Size	28.26cm ²
Working Ampere	6A
Throughput	50cc/hr
ClO ₂ Yield	80mg/min

3. 정전류 병렬 회로 구성

연구결과

- 고가의 기성품 System Power Supply를 적용하지 않고 원가절감 및 안정성을 고려하여, 정전류 회로를 병렬로 구성하였다.
 - AC_DC Converter와 Constant Current를 1:1로 연결하여 전류량의 안정성을 확보하였다. Constant Current Charger는 0A~8A 제품으로 12cm전극에 필요한 24A를 충족하기 위해 정전류 3개를 구성하면, 8A Max로 사용시 발열이 심하여 장기간 사용시 회로의 손상으로 정전류 수명이 단축되어, 정전류 값을 6A로 4개로 구성하였다.
 - 가격이 저렴한 AC_DC Converter와 Constant Current Charger 로 병렬 회로를 구성하여 원가절감 및 고장 발생 문제를 분산시켜 작동에 지장 없이 개별 부품 교체로 Maintenance가 수월하도록 하였다.
- 기성품은 사용은 편리하나 가격이 고가이고 문제 발생시 장비 운전이 중단되어, 막대한 손해를 초래할 수 있다.

[정전류 병렬 회로 구성]



[기성품 System Power Supply]



4. 대용량 개발 전극 테스트

연구결과

- 고농도 ClO_2 Gas를 수집할 수 있는 Cylinder를 여러 형태로 제작하여 테스트한 결과 가장 적합한 Cylinder를 제작하여 테스트를 진행하였다.
- Program Logic 전 단계로 각각의 스위치를 수동으로 제어 하였다.
- Chamber 내부에는 기체의 흐름을 유도하기 위하여 Fan을 설치하였다.
- 테스트 후 고농도의 ClO_2 를 배기하기 위한 Sirocco fan과 Damper가 설치되었다.



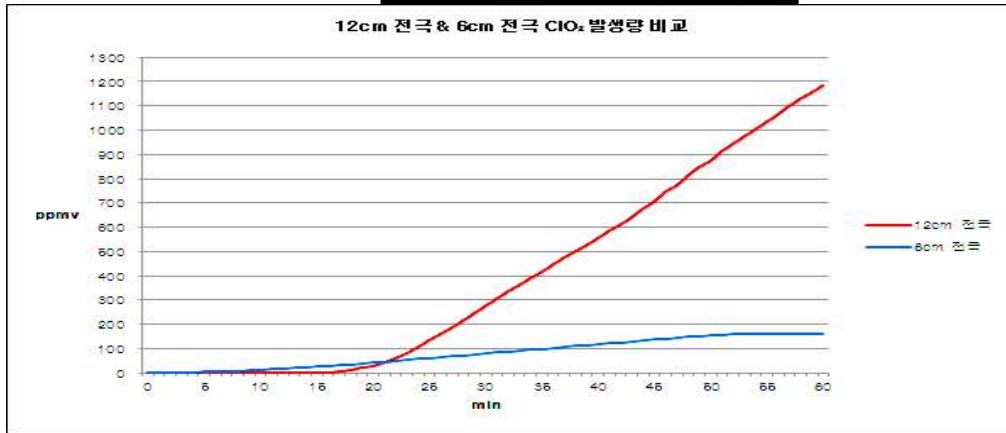
- 12cm(112cm³) 개발 전극
- 7.7L PVC Cylinder
- 24V AC_DC Converter 5EA
- 0A~8A Constant Current Charger 4EA
- 9L/min Gas Diaphragm Pump
- Teflon Solenoid Valve 5EA
- 6L/min Liquid Diaphragm Pump 2EA
- Chlorine Dioxide Gas Sensor
(Range: 200ppm~1000ppm)
- Gas Detector (ATi-F12)
- Gas Sensor Circulation Pump (3L/min)
- Sodium Chlorite 25% 200cc
- Washing Water
- 5.278m³ Test Chamber

- Chlorine Dioxide Gas Sensor 의 Range가 6cm 전극은 5ppm~200ppm, 12cm 전극은 200ppm~1000ppm으로 Sensor의 Gap이 존재 한다. 12cm 전극 테스트에 사용된 Sensor의 Range가 200ppm~1000ppm 이므로 그 이상의 값은 신뢰할 수 없다.
- 6cm 전극과 비교하여 12cm 전극은 형태와 가스포집 방식에 몇 가지 변화로 인하여 이론상 성능이 4배가 아닌 그 이상의 가스발생 효율을 확인할 수 있다.
- 12cm 전극의 가스발생 농도가 17분까지 확인되지 않은 것은 6cm 전극 대비 Sodium Chlorite가 4배인 200cc로 ClO₂ 가 원료 용액에 용해되면서 포화상태에 도달하여 나오는 것으로 예측된다.

[Chamber에 ClO₂ 투입한 장면]



12cm 전극 & 6cm 전극 ClO₂ 발생량 비교



5. 대용량가스발생기 장비 제작



- ▶ 대용량 전극 적용, 고농도 체크 센서, 가스 투입용 고압펌프 or 고압 Blower Cylinder (용량에 따라 적용 수량 산정), 혼중 처리 후 가스 배기 설비 적용
사용자 편의를 고려하여 Simple한 운전 방법 적용. 세척수 및 원료용액 충전량 증대로 보충방법 개선. 대량의 폐수 처리 방법 검토함.

2절 확충 전극 활용 병렬 연결 시스템 구현 및 성능 규모 가 능 실험 및 가스 회수 방식 분석 결정

1. 성능 규모 가능 실험, 가스 회수 방식 분석 결정

연구결과

가. 현장실용화를 위한 파일럿 실험 수행을 위한 컨테이너 제작



- 미곡 톨백 훈증 컨테이너 제작 (W:2.0m x D:2.0m x H:2.3m)

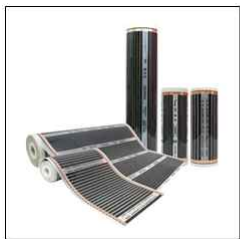
나. 미곡 톨백 훈증을 위한 고압블로워 설치



Model	Phase	OUT PPT (kW)	Rated/Maximal Pressure	Max. Q (m³/min)	Max. Q (m³/hr)	Power Consumption (kW)	Hz	Rated Voltage (V)	Weight (kg)
K-20-1000E	1φ	1.75	2400	2700	16	12	60	200-220	26

- 고압블로워 설치(High Pressure Ring Blower)

다. 단시간에 고온을 유지할 수 있는 히팅 시스템 적용

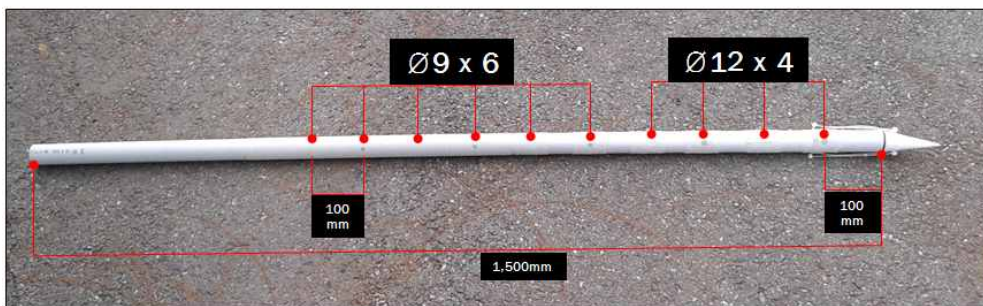
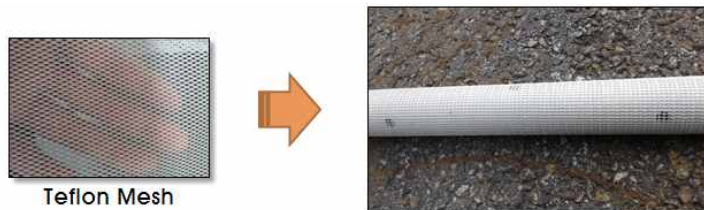
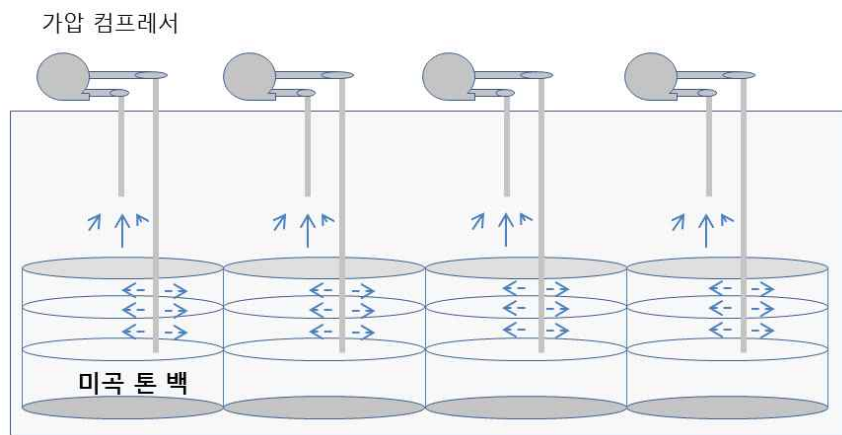


- 상온 ~ 55°C

- PTC(positive temperature coefficient) Film Heater 설치

라. 톤백 내부 가스 주입 시스템 설계 및 적용

컨테이너 내부에 여럿의 톤 백 자루에 미곡이 담겨져 있을 때 가압 컴프레서에 의한 배관 배치 및 운전 조건 구현으로 컨테이너 내부 상단에는 음압이 형성되도록 하며 톤 백 내부 미곡 사이로 가스 이송관이 침투하여 가스를 가압하여 주입한다. 이 경우 톤 백 내부로 압력에 의해 퍼져 나온 가스가 상단의 음압에 의해 유로를 형성하도록 한다. 이러한 상황에서 가스 이송관을 가변적으로 톤백 내부로 침투시키고 빼내는 방법과 접촉 효율을 높이기 위해 직선 구조가 아닌 나선형 구조로 침투시켜 톤백 내부에서 배관의 접촉 길이를 확장시키는 방법에 을 계획 (모식도 참조)하였으며, 이를 성공적으로 실현함.



• 가스 투입 파이프 제작



톤백 안에 가스 투입 파이프 4개 삽입



가스 투입 파이프와 고압 블로어 연결

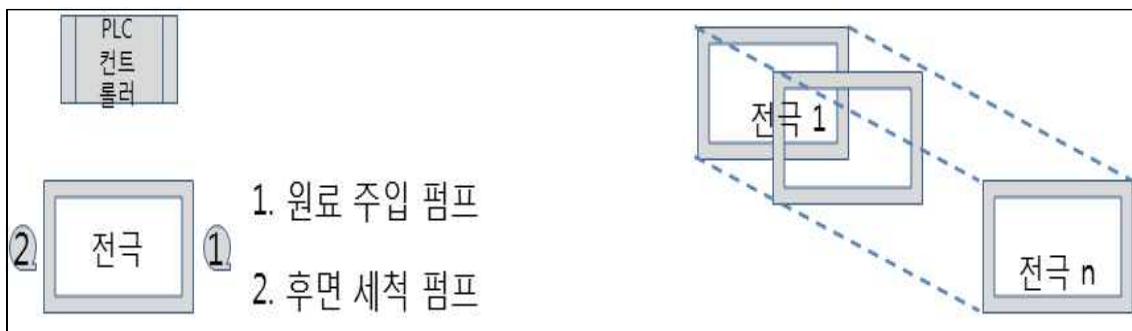


실험 준비 완료

- ▶ 미국 톤백 내부로 이산화염소가스 투입 시스템을 성공적으로 제작 후, 실제 훈증 실험 결과 톤백 내부로 가스 투입됨을 확인함 (가스 농도 측정기 연결하여 확인함)

2. 확충 전극 활용 병렬 연결 시스템 구현

연구결과-1) 단일 전극의 가동 제어 구현에 PLC 제어부와 모터 구동부의 기본 1대 1 대응 관계를 n 병렬 전극 구현 시 n개의 PLC와 n 개의 모터 구동부로 구현하는 대신 단일 제어 구동부로 구현하게 되는 경우 구동의 언밸런스 문제 제거 및 부품 원가 절감에 의한 경제적 이점이 존재하여 n:n 제어 방식 대신 n:1 제어 방식을 구현하고자 계획 (모식도 참조) 한대로, 병렬연결시스템 구현함 (그림)





가스 투입 제어부



가스 생성 제어부



Teflon valve

- 고농도 이산화염소가스 발생시 안전성 및 내구성을 갖춘 장비

2) 고농도 이산화염소 훈증 실험 성공적으로 수행 완료



- 100ppm 24hr 훈증 실험 진행

- ▶ 사멸 연구결과의 현장 실용화 연구, 가스 이송 방식, 가스 배기 회수 방식 설계 및 시험 곡물 창고에서 장시간 피폭조건으로 운용하는 경우라면 보충 투입을 정지한 상태에서 유효 가스 농도값이 자연 감소되어 문을 개방하고 출입이 가능한 상태로 변하는 상황을 기대할 수 있겠지만 현장의 신속한 요구에 따라 고농도 단시간 처리조건으로 운용해야 하는

환경조건에서는 잔여가스의 회수 방법이 구현될 필요가 존재하며 이 경우에는 가스 이송 투입 대신 외부의 신선한 공기 이송 투입과 함께 잔여 가스를 대기 방출하거나 중화 액체 접촉을 통한 스크러빙 방식의 잔여 가스 회수 장치가 필요함 → 실제 파일럿 실험 결과, 혼증 컨테이너 내부의 가스는 가압 블로어 작동시, 곡물내로 신속히 이동함을 확인하였으며, 혼증 종료 후, 마지막으로 컨테이너 내부의 가스를 펌프를 이용하여 외부로 배출시킨 후, 컨테이너 내부에 잔류 가스가 제로인 상태에서 (내부농도 이산화염소 농도측정기로 확인) 문을 열었을때, 컨테이너 주변에서 이산화염소 가스농도가 측정되지 않음을 확인하였다. 따라서, 실제 곡물 창고에서 현장 실험시, 작업자에 대한 이산화염소 노출에 대한 안전성은 문제가 되지 않을 것으로 생각된다. 또한 배출된 이산화염소 가스는 관을 통하여, 작업장에서 떨어진 곳으로 배출이 되며, 특히 이산화염소는 특성상 빛에 의해 노출되면 잔류물질이 남지 않고 바로 분해되어 사라지는 특성으로 친환경 물질로 알려져 있다.

▶ 본 연구를 통한 실용화 구현에서는 저곡해충의 사멸과 동시에 고농도-대용량 장치 운용이라는 관점에서 안전성과 가스 제어 능력 확보가 필요함. 기존 이산화염소 발생을 목적으로 화공적 혼합 기술을 채택하는 타 방식의 경우 필수 원료의 하나로 염소가스를 사용하여야 하는 바 적은 확률이라고 할지라도 누출을 통한 통제력 상실 시 피해가 너무나 클 것임. 이에 반해 당 연구팀의 경우 아염소산 나트륨의 일회 사용분을 펌프에 의해 원료통에서 전기분해셀로 정량 이송 후 전류량 제어와 운전 시간을 적용하게 되므로 발생 부위의 누출의 피해는 발생되지 않음. 그럼에도 불구하고 일반 사용자의 운전 안전성에 대한 충분한 인식제공 및 구현을 위해 이송 부위 및 대상 공간 (혼증 처리 밀폐 컨테이너)의 연결 관계에 대한 안전이 뒷받침 된 세밀한 점검 및 적용이 필요. → 파일럿 실험 결과, 고농도 장시간 (24시간)의 혼증 시간동안 내부 이산화염소의 외부 누출이 전혀 없었으며, 기기에 용액 투입시나 용액 보관 용기등의 시스템 상에 어떤 누출도 확인되지 않아, 본 연구를 통해 제작된 고농도 이산화염소 혼증 시스템의 구동상의 문제점이나, 내구성에 문제가 없음을 확인하였다.

3절 현장 적용 시스템 구현

2차년도 연구 결과를 통해 파악된 개선 요구 사항 보완 및 현장 운용 적합성을 추진하였으며, 사용자 조작 편의성 제고를 위한 인터페이스 구현하고, 실험 환경과 현장 환경의 편차를 예상한 보완 방법 강구하였음.

3차년도 목표:

○ 저곡 해충 사멸을 위한 고농도-대용량 이산화염소 가스 장치 개발

2차년도 기준 1 팔레트 사이즈 혼증실 적용

==>

3차 년도 4 팔레트 사이즈 혼증실 적용으로 규모 확대

- 혼증실의 크기를 확충하여 1팔레트 처리 용량을 4 팔레트 처리 용량으로 확충하고 운전 농도 기록을 통해 요구 농도 수준에 부합하여 발생함을 확인



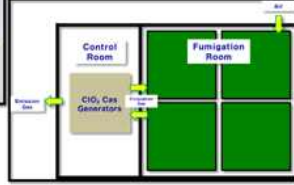
1 팔레트



[제어실]



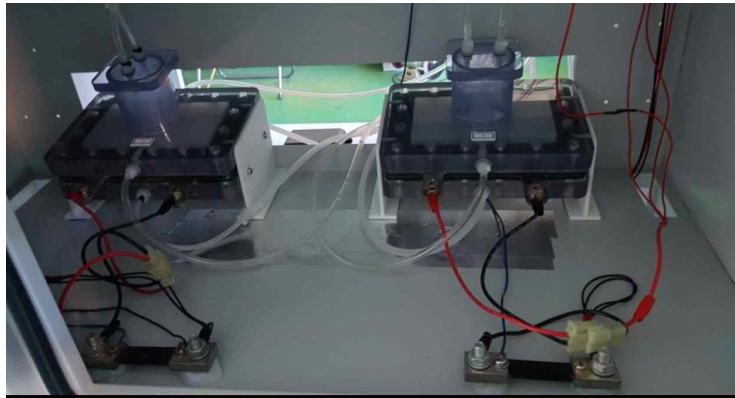
[10ft 문반출 운증 컨테이너]



[훈증실]

기계실 + 4 팔레트

○ 고농도 - 대용량 장치에 수반 될 수 있는 안전성과 가스 제어 능력 확보



- 마스터 단일 PLC제어로 병렬 연결 전극 제어에 성공하여 운전 안정성 확보.

○ 이산화염소 가스를 이용한 저곡해충 방제 기술 개발 및 산업화

- 2차년도 연구를 통해 파악된 개선 요구 사항 보완 및 현장 운용 적합성 추진
전용 고정 시설화



- 실험 환경과 현장 환경의 편차를 예상한 보완 방법 강구



시설 미비 현장에서의 적용성 제고

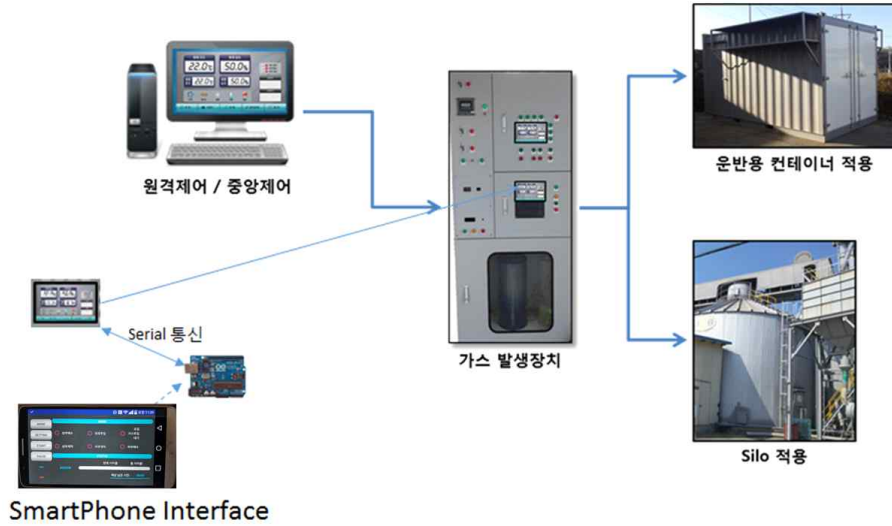
; 전용 고정 시설 불가 환경에서 현장 적용성을 높이기 위한 일환으로 제2협동연구 팀에서 개발한 가칭 팜이버스터 제품을 제2세부 연구팀과 협력하여 대기업 물류창고에서 데모 시연하고 그 성능을 확인하였음.



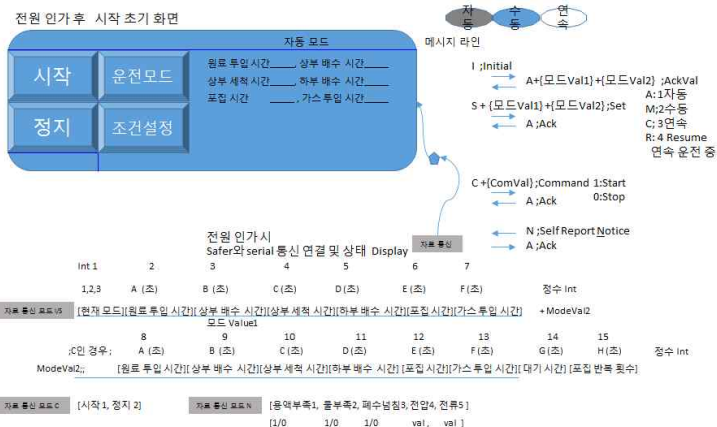
<시설에 의한 방법과 비 시설에 의한 방법 보완 적용 >

- 사용자 조작 편의성 제고를 위한 인터페이스 구현

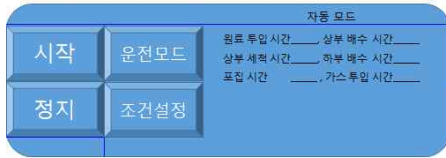
시험1. 통신 제어 장치 개발



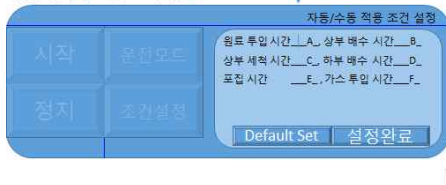
시험2. 프로그램개발
연구결과-1)



전원 인가 후 시작 초기 화면



전원 인가 후 시작 초기 화면

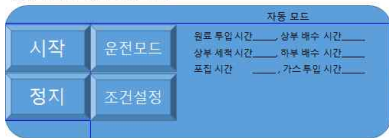


설정 완료 / Default 버튼 누름

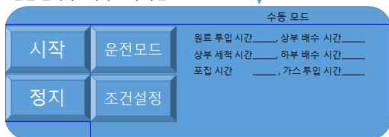
조건 값: Default 허용 범위 Range 체크 통과시 설정 완료 버튼 활성화 Default Set / 설정 완료 누름 시 다시 확인

1 또는 2 A (조) B (조) C (조) D (조) E (조) F (조)
 [원재모드][원료투입 시간][상부 배수 시간][상부 세척 시간][하부 배수 시간][포집 시간][가스 투입 시간] 정수 Int

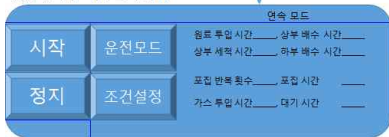
전원 인가 후 시작 초기 화면



전원 인가 후 시작 초기 화면



전원 인가 후 시작 초기 화면



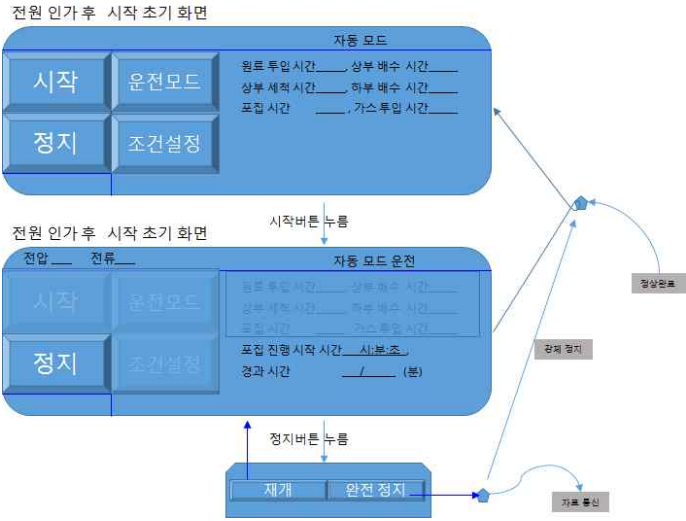
전원 인가 후 시작 초기 화면



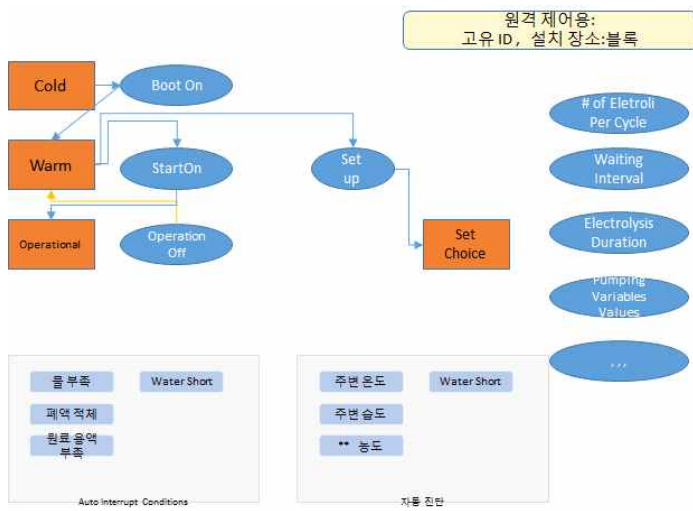
설정 완료 / Default 버튼 누름

조건 값: Default 허용 범위 Range 체크 통과시 설정 완료 버튼 활성화 Default Set / 설정 완료 누름 시 다시 확인

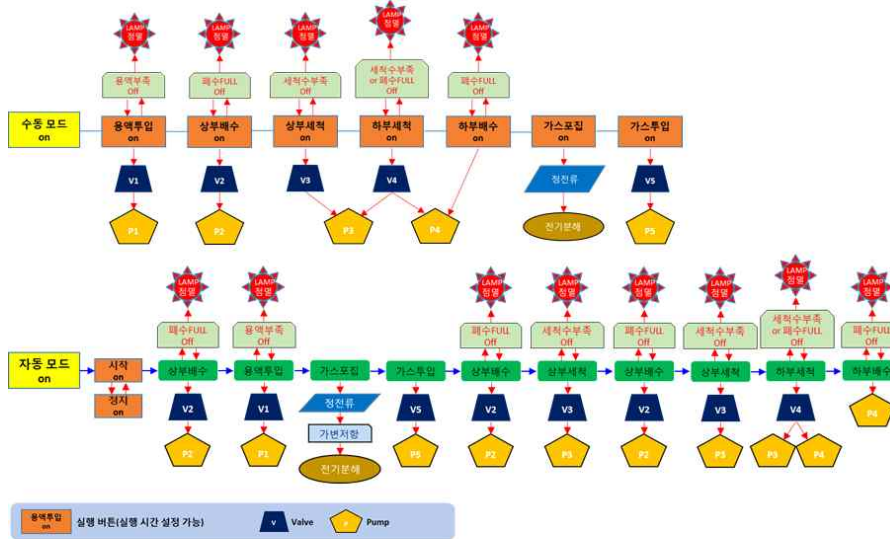
3 A (조) B (조) C (조) D (조) E (조) F (조) G (조) H (조) 정수 Int
 [원재모드][mode=all.dummy][원료 투입 시간][상부 배수 시간][상부 세척 시간][하부 배수 시간][포집 반복 횟수][포집 시간][가스 투입 시간][대기 시간]



State Transition Diagram

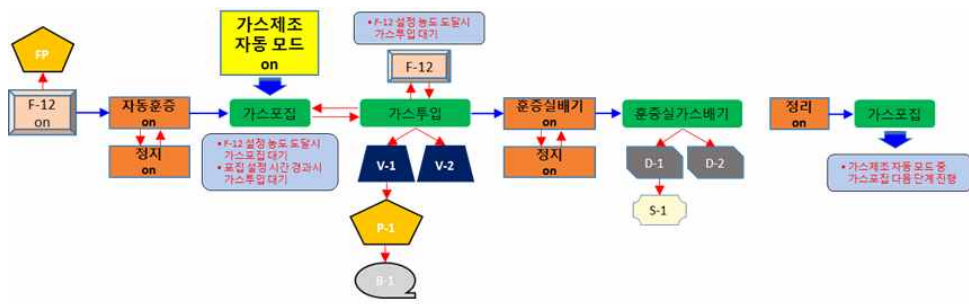


가스 제조 공정



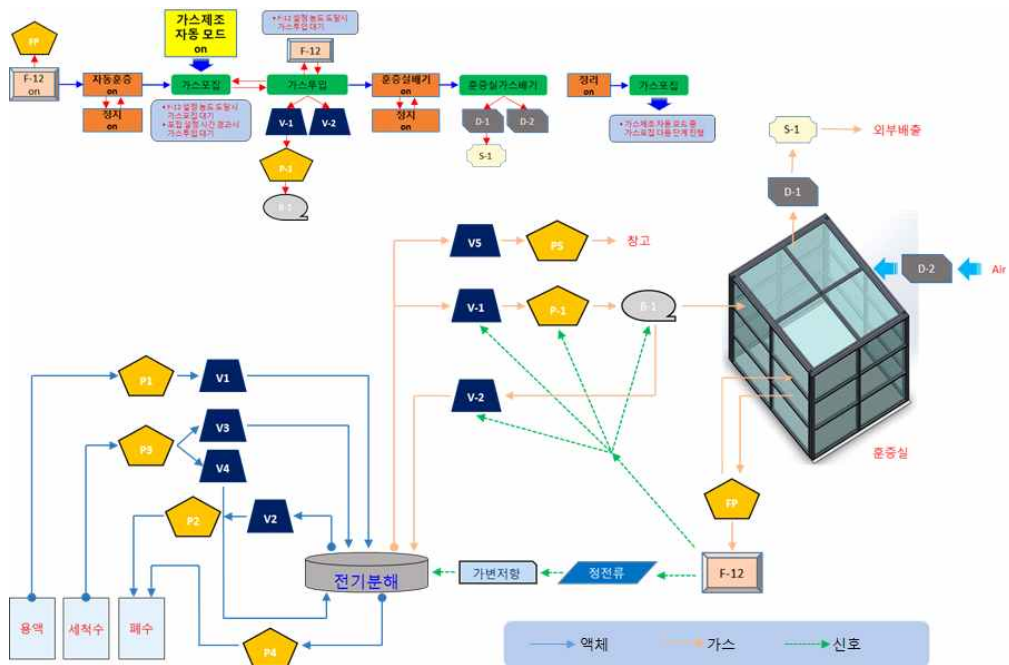
수동 모드: 필요에 따라 각각의 실행 단계를 개별적으로 동작시키거나, 정상작동 여부를 확인하는 모드.
 자동 모드: 시작 버튼 실행시 순차적으로 각각의 동작이 설정된 시간 동안 자동 진행되는 모드.

가스 혼증 공정



자동혼증 on 실행 버튼(실행 시간 설정 가능) V Valve P Pump F-12 Pump S-1 Blower
 F-12 on Gas Detector D Damper S-1 Sirocco fan

가스 혼증 공정: 별도의 혼증실에 고농도 가스를 일정시간 투입하여 처리한 후 배기하는 공정.



조곡 톤백 훈증 테스트 (현장 운반용 컨테이너)



4 Pallet(톤백 4개)를 동시에 훈증처리 할 수 있는 컨테이너로 좌측에 제어실이 일체형으로 되어 있어 우천시에도 훈증 처리가 가능하도록 제작 되었습니다.
 훈증 처리시 30℃를 유지하기 위해 훈증실 내부 벽면을 PTC-Heating Film으로 구성하였습니다.

현장적용 가능한 대용량 가스발생기 개발



대용량 전극 병렬 연결 적용

ClO₂ 발생량이 최대 240mg/min인 전극을 병렬로 연결하여 2개 이상 현장 크기에 맞게 얼마든지 확장할 수 있게 설계되었습니다.



원격제어 통신 장비 적용

사무실 또는 현장에서 실시간으로 처리 상황을 확인 하며 제어도 가능하게 설계되었습니다.



터치스크린 적용

현장에서 주로 사용하고 확인해야 하는 사항들을 아이콘화하여 현재 상황을 한눈에 확인할 수 있으며 조작이 간편하게 설계되었습니다.



대용량 원료용기 적용

24시간 ~30일 동안 연속 가동되어도 안정적으로 원료용액이 보충될 수 있도록 대용량 용기를 적용하였으며 외부에 용기를 배치하여 관리가 용이하게 되었습니다.

제 2 협동연구 팀의 역할중 하나는 본 과제 참여 타 연구팀의 원활한 실험 수행을 할 수 있도록 장비 제작을 보조하고 실험 결과에 발 맞춰 장비의 대량화 및 연구와 현장의 갭을 메꾸는 일이다. 이에 1차년도에는 기존의 6cm 전극을 채용한 가스 발생장치와 온습도 조절이 가능한 실험용 훈증 챔버, 그리고 농도 피드백 제어를 통해 원하는 조건에 맞춰 가스 농도 제어 및 실험물 (조곡, 저곡해충)을 투입하고 농도 값을 기록할 수 있도록 하는 환경으로 제작 제공하였다.

또한 기존 6cm 전극을 확충하여 12cm 전극을 개발하였다. 지름이 2배 증가함에 따라 전기분해 유효 면적은 4배로 확장되는데 이에 따라 정전류 제어 회로를 새롭게 구성하고 기성품 모듈을 통해 구현하는 방식에서 탈피할 수 있게 됨으로써 경제성 (원가 절감) 측면의 효과를 거두었다. 그리고 제어 측면에서는 통신 명령에 의한 전류량 값 전달이 가능하여저서 운전 강도를 제어를 원격으로도 가능하게 되었다.

당초 계획한대로 12cm 전극을 병렬로 제어 가능하게 됨으로서 향후 대용량 요구 환경에의 대응도 가능하게 되었다. 제 2 협동 연구 팀이 보유하고 있는 이산화염소 발생장치의 장점중 하나는 MEA 전기 분해 방식 채용으로 고순도 이산화염소를 안전하게 발생시킬 수 있다는 점이다. 이번 과제를 통해 전극의 크기를 확충하고 병렬 연결이 가능하여짐으로써 예를 들어 타 산업 분야- 하수종말 처리장에서 악취를 해결하지 못해 민원이 끊이지 않는 환경-에서 처리가 요청되는 경우 과거에는 성능측면에서 용량 부족으로 대응이 불가능하였으나 이제는 다중 병렬연결 기술이 확보됨으로서 새로운 시장의 개척이 가능하게 되었다.

장비 운영상의 숨어 있는 기술적 문제 중 하나로 고농도 발생 및 순환 운전에 따라서 기성 부품들의 내구성 문제를 겪기도 하였으나 당 연구 팀이 새롭게 개발한 공압식 테프론 밸브를 적용하므로써 미세한 가스 부설에 의한 내부 부품 수명에 문제를 야기하던 점이 개선되어 부품 수명이 산업적으로 보급하기에 충분하게 연장된 점도 성과중의 하나라고 할 수 있다.

마지막으로 현장이 매우 다양하여 고정형 설비로 적용이 어려울 수 있는 상황에 대응하여 단시간 고농도 이산화염소 방출 키트(팜이버스터)를 개발하여 현장에 적용한 결과 저곡해충 관련 미곡 창고 환경은 물론 다양한 창고(생강 창고, 농산물 창고,...)에 적용 시 해충 및 곰팡이 방제에 실용적으로 기여할 수 있는 실험의 결과들을 거두기도 하였다.

○ 연구결과

- 기술적 성과 :

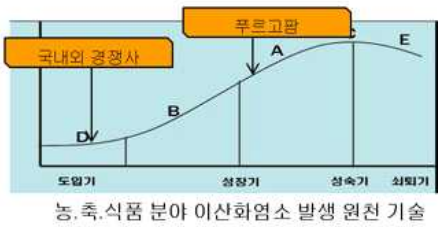
<기술 개발 성과 >

병렬 전극 채택 성공으로 향후 대용량 요구 산업 부분에서도 매출 실현 가능.

메틸브로마이드 사용 금지에 따른 훈증 솔루션 부재 영역에서 산업적 기여 및 매출 가능 (본 과제의 주요 처리 대상인 미곡 훈증 외에 견과류, 목재, 수출입 농산물 분야 훈증 적용 가능)

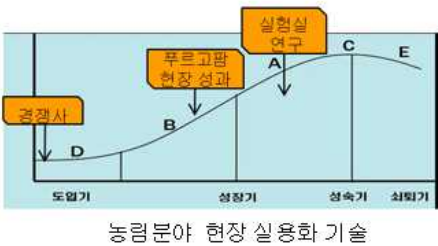
<기술 수준 >

이산화염소 발생 기술



- 세계 선도 수준
- 근거
 - 화공 방식 발생기의 경우 염소, 염산, 황산 등 취급 위험 물질 투입 및 잔류 시 친환경 논란으로 농, 식품 분야 진입이 어려움.
 - 전기 분해 방식 발생기의 경우 소금 투입으로 염소 부산물이 생성되어 친환경 논란에서 자유롭지 못하고 제품 소형화도 어려움.

농산 현장 실용화 기술



- 세계 선도 수준
- 근거
 - 국내외 모두 실험실 수준에서 다양한 연구와 성과 논문 발표 이뤄짐
 - 그러나 현장 적용을 위해 대 규모 (팔레트 단위) 처리 실험 확인 후 수출 성과(현지 판매)로 연결하거나 현장 설치 사례로 진전 된 사례 없음.

<선진국 대비 기술수준, 국산화율>

기술 수준: 염소 발생이 없는 MEA 전기 분해 기술은 세계적으로 차별화된 기술임.

국산화율: 전극부터 내부 부품 전체 국산화 구현.

단 농도 제어 장치의 경우 해외(USA)부품을 채용하고 있어 향후 국산화 예정

<경제적성과 >

대용량 전극 개발 및 병렬 적용 성공으로 새로운 산업 분야 진입 가능하여짐.

- 이산화염소 가스에 의한 탈취 - 하수 종말 처리장 냄새 제거 (연 3억 매출 추가 예상)
- 대용량 고농도 발생 소모품 적용으로 농산물 창고 소독 분야에서 신규 매출 발생 할 것으로 기대

4. 목표달성도 및 관련분야 기여도

	코드번호	D-06
4-1. 목표달성도		
○ 이산화염소의 저곡해충 치사조건 최적화 및 곡물내 이산화염소 잔존량 조사 : 이산화염소에 의한 저곡해충 치사효과 분석, 섭식율, 번데기화율 조사, 저장별 품질변화조사 - 달성도 100%		
○ 곡물(쌀, 보리)보관 중 성충, 유충, 알의 이산화염소 최적 처리조건 연구 : 이산화염소 처리와 온도의 복합처리, 곡물보관 중 치사율 검정, 포장재에 따른 투과율조사, 저장기간 중 품질변화조사 - 달성도 100%		
○ 곡물보관창고의 크기별 이산화염소 최적처리조건연구 및 산업현장 처리모델 구축 : 컨테이너 수준의 이산화염소 실증실험, 실제창고에서의 실증실험, 이산화염소의 잔존율 측정 - 달성도 100%		

- 곡물 저장시설에서의 효과적인 모니터링과 샘플링 방법을 통한 해충 개체군 동태 분석
: Pilot 실험과 실제 저장시설의 실험에서 환경조건 모니터링과 이를 통한 대상해충의 밀도 변동 양상을 분석 - 달성도 100%
- 이산화염소 가스를 이용한 곡물 저장시설에서의 저장해충에 대한 살충효과 검증
: 실험실내, pilot 실험, RPC 에서의 이산화염소 살충효과 검증 실험을 통하여 대상해충의 치사율을 검정 - 달성도 100%
- 이산화염소 가스 처리 후 대상 해충개체군의 생태적 특성 분석
: 실험실내, pilot 실험, RPC 에서의 이산화염소 처리 대상해충에 대한 치사율, 생존률, 발육 기간, 수명 등의 생태적 특성을 분석 - 달성도 100%
- 각 실험시설에서의 이산화염소 가스 처리 시 대상 저장해충에 의한 곡물의 피해 양상 분석
: 이산화염소 처리 공시충과 무처리 공시충에 의한 직접적인 곡물 피해인 현미 중량 감소량을 비교, 분석하였다. -달성도 100%
- 이산화염소 가스를 이용한 저장시설 내 주요 저장해충에 대한 체계적인 방제 방안 구축 및 관리 시스템 확립
: 이산화염소 가스의 훈증 살충기술을 적용한 효율적인 저장해충 방제 및 관리 매뉴얼 작성을 작성 함 - 달성도 100%
- 개체 수준의 독성 기작 결정
: 이산화염소의 ROS 발생 및 살충 기작 규명, 열처리를 통한 이산화염소 처리 효과 증가 기술 개발, 이산화염소의 응용기술 - 달성도 100%
- 이산화염소의 곤충 생체 물질 영향 분석 및 이산화염소의 살충 효과 제고 기술
: 신경교란분석 - AChE 효소 활성 증감, 면역교란분석 - PO 활성 증감, 발육교란분석 - JHE 활성 증감, 생체막 지방산 변화, HSP 발현 억제 기술 개발, 항산화효소 억제제 처리에 따른 이산화염소 살충 효과 제고 기술 개발 - 달성도 100%
- 분자수준의 독성 기작 결정
: 이산화염소 노출에 따른 SOD/POX 활성 분석, 인지질 지방산 함량 변화, DNA 손상 규명, HSP 발현 교란 분석 - 달성도 100%
- 성능-용량 증가를 위해 지름 6cm MEA 전극의 성능을 12cm MEA 전극으로 성능 4배 증대
: 성능,용량 증가를 위한 전극 개발 완료 - 달성도 100%
- 확충 전극 활용 병렬 연결 시스템 구현 및 성능 규모 가늠 실험, 가스 회수 방식 분석 결정
: 확충 전극 활용 병렬 연결 시스템 구현 및 가스 이송 방식, 가스 배기 회수 방식 설계 완성, 가스 발생기, 실험챔버 제공을 위한설계 및 실험환경 제공 (고려대), 확충전극 활용 병렬연결 시스템 구현 - 달성도 100%
- 현장 적용 시스템 구현
: 성능 규모 가늠 실험, 통신제어장치 개발, 프로그램개발, 현장적용가능한 대용량 가스발생기 개발-달성도 100%

4-2. 관련분야 기여도

○ 이산화염소에 대해 미국 EPA(환경보호청)에서는 병원실험실 및 의료용 기구의 살균, 소독, 곰팡이방제, 박테리아 살균용, 식품식육양조 공장 등 모든 식품공장 시설이나 벽천정의 최종 살균세제, 음료수의 살균 정화 설비, 공조 설비의 Duct의 소독 살균과 소취, 하수공장 폐수의 정화 처리, 기름화합물의 분해, 악취원 제거, 식육 동물(우돈, 양계 등)의 농장, 목축장, 가공장의 소독소취용으로 사용을 허가하고 있다.

○ 인축에 잔류독성이나 생태계에 악영향을 미칠 수 있는 살충제나 훈증제와 같은 화학약품의 사용을 최대한 억제하면서 친환경적이고 효과적인 저장해충 관리, 방제 방안의 요구가 커지고 있는 상황에서 국내외적으로 이산화염소를 활용한 저곡해충 방제에 대한 연구가 전무한 실정으로, 본 연구를 통한 이산화염소의 중요 저장해충들에 대한 살충효과와 대상해충들의 생태적 특성 분석을 통하여 대량의 저장 곡물 처리 현장에서의 이산화염소 실용화의 구현을 가능하게 할 것이라 판단된다.

5. 연구결과의 활용계획



다른 처리(훈증) 방법과의 경제성 및 차별성 비교 분석.

	기존 처리방법(PH3)	ClO ₂ 처리
사용량	1정(3g)/1m ³	100ppm/1m ³
인원	교육필요, 전문가	교육필요, 범용
가격(단가)	176~200원	200원
소요시간	72시간 훈증, 48시간 환기 3~5일 소요	24시간(훈증+환기) 1일 소요
독성	고독성	저독성
잔류	유 잔류물 생성	무 잔류물 무
기타	환경, 인축에 피해 유발 가능성 큼 제한적 사용, 금지	환경, 인축에 피해 유발 가능성 없음 범용적 사용

지금까지는 곡물 저장시설 내 해충방제를 위하여 곡물의 훈증은 포스핀(PH3)를 주로 사용하여 왔다. 그러나 포스핀의 경우 가연성 및 폭발성 성질을 가지고 있으며, 독성이 매우 강하고 곡물에 잔류성이 있어서 환경오염을 유발하고 인축에 크게 피해를 야기 할 수 있으므로, 전 세계적으로 포스핀의 사용을 엄격히 제한, 규제 또는 금지하고 있는 실정이다. 이산화염소 처리에 의한 저장시설에서의 해충의 방제는 훈증과 같은 현존하는 방제방법과 경제적인 부분에서에서도 크게 차이가 나지 않으며, 저독성이며 잔류성이 없어 식품과 음용수에서 살균용으로 사용되고 있어 환경오염을 유발하지 않고 인축에도 피해를 주지 않는 친환경적 방제방법이라 할 수 있다. 따라서 본 연구의 이산화염소(ClO₂) 처리에 의한 저장시설에서의 해충방제는 기존의 훈증과 같은 처리방법에서 발생하는 문제점들을 해결 할 수 있는 가장 효율적이고 대안적인 방제방법이라 생각된다.

<키트 적용 가능한 신규 사업 분야>

벼섯 재배사 살균 소독

- 3개월에 한 번씩 배지를 교환해야 하는 상황에서 벼섯이 비어있는 채로 재배사를 살균 소독하여 벼섯 균사가 우세하게 자랄 수 있도록 성장 호 조건을 조성할 수 있다. 전국에 10,000여 농가에서 평균 3개 재배사에 연 4회 적용할 경우 연 12만개의 소요량이 발생된다. 키트의 판매 가격을 3만원으로 책정한다고 가정할 경우 연간 36억원의 시장 잠재력을 예상할 수 있게 된다.

일반 농가, 농협 창고 살균 소독

- 매년 농산물 수확전에 창고를 소독하여 농산물 보관환경에 기여할 수 있다, 전국 10만여 농가에 판매 가능한 시장의 형성이 가능하다.

돈사, 계사 살균 소독

- 돈사 계사를 비우고 세척 청소 후 키트를 활용하여 축사내 답습되는 질병 원인 요인으로 서의 세균 바이러스, 해충을 제거할 수 있다.

- 종합하여 연간 10억 이상의 매출을 기대할 수 있다.

<기계 장비 측면의 사업 성과 활용 방안>

본 연구를 통해 기존 6cm 전극을 12cm 전극으로 확충함으로써 분당 발생량을 종전의 80mg에서 360mg으로 4배 증가 시킬 수 있게 되었다. 이에 따라 신규 적용 가능한 사업 분야로 다음과 같은 곳에 적용이 가능하게 되었다.

1. 농산물 신선도 처리 시 대 용량 성능이 요구되는 경우로 훈증 컨테이너 체적이 커지고 고농도 처리가 요구되는 곳에 경제적으로 적용이 가능하다. 예를 들어 기존 단호박 신선도 연장을 위해 6cm 전극 4개를 사용하여 처리하는 현장을 12cm 전극 하나로 처리하여 제품 생산 마진을 유지하면서 사용자의 구매 가격을 낮춰서 시장에서의 수요 확대를 가져올 수 있다.

또한 최근 12cm 전극을 실제 적용한 사례로 식혜 공장에서 식혜 용기를 살균 소독하는 목적으로 3m 5m 2.5m 크기의 살균실에 제품이 납품되어 실제 상업적 적용 사례를 기록하였다.

다른 사업 분야로는 하수 종말 처리장, 양돈(돼지) 농장 돈사에 투입하는 경우 사람이나 동물이 생활하는 곳에 안전성을 확보하면서 애로사항을 해결하여 연간 10억원 이상의 매출을 기대할 수 있게 되었다.

6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

	코드번호	D-08
<p>○ 이산화염소에 대해 미국 EPA(환경보호청)에서는 병원실험실 및 의료용 기구의 살균, 소독, 곰팡이방제, 박테리아 살균용, 식품식육양조 공장 등 모든 식품공장 시설이나 벽천정의 최종 살균세제, 음료수의 살균 정화 설비, 공조 설비의 Duct의 소독 살균과 소취, 하수 공장폐수의 정화 처리, 기름화합물의 분해, 악취원 제거, 식육 동물(우돈, 양계 등)의 농장, 목축장, 가공장의 소독소취용으로 사용을 허가하고 있다.</p> <p>○ 이산화염소는 다른 염소계 살균소독제 보다 pH와 온도에 영향을 덜 받는 것으로 알려져 있으며, 식품첨가물로 WHO와 FAO의 식품첨가물 합동 회의에서 설탕, 소금과 같이 먹을 수 있는 안전성 랭크 A1으로 인정된 바 있다. 최근 저농도(0.05ppm/0.1ppm)로 6개월간 SD rat에 이산화염소가스를 노출한 연구(Akamatsu et al., 2012) 결과, 아무 독성효과를 보이지 않았으며 공기 중 미생물 감소효과는 탁월했다고 발표 함.</p> <p>○ 호주 FRANZ에서도 도축 후 최종 세척단계에서 이산화염소를 50 ppm 이상, 10-15초간 처리하는데 사용하도록 허가하고 있는(FSANZ, 2006) 등 기구 등의 소독 외에도 다양한 분야에 활용되고 있으며 특히 토마토, 멜론, 딸기 등 과실류와 양배추, 당근 등 야채류의 곰팡이 및 박테리아에 한정되어 연구가 진행.</p>		

7. 연구개발결과의 보안등급

	코드번호	D-09
○ 해당없음		

8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

					코드번호	D-10		
구입 기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입 가격 (천원)	구입처 (전화번호)	비고 (설치 장소)	NTIS장비 등록번호

9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

	코드번호	D-11
<p>○ 기술적 위험요소 분석</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 일반사항 안전점검 2. 실험 건물 및 실험실 점검 3. 보호구 점검 4. 실험실 안전장치 점검 		

5. 실험용구 및 기계·전기기구 점검
6. 실험실 폐기물의 관리 점검
7. 화공약품 점검
8. 이산화염소 처리는 후드에서 이뤄져야하며 이산화염소 처리 시에는 후드가 작동 중이어야 함

○ 안전관리대책

1. 안전사고 예방을 위한 안전규정과 규칙·기준을 준수한다.
2. 안전지침서를 숙지하고 그 지침에 따라 주의해서 연구에 임한다.
3. 당해 직무에 맞는 교육과정을 이수한 후 연구에 임한다.
4. 해당 연구의 전반을 숙지하고, 가상의 연구를 충분히 반복한다.
5. 유해 위험물질 취급시 반드시 안전관리자 입회하에 실시를 한다.
6. 실험복, 보안경, 안전장갑, 발을 감싼 신발 등 보호구를 착용한다.
7. 유해 위험 장소에는 안전관리자의 허가 없이 출입을 금지한다.
8. 화재 등 비상시에는 즉시 실험을 중지하고 전열기 및 전등을 소등한 후 비상구로 신속하게 대피한다.
9. 유해위험성이 있는 업무를 일과 시간 후에 계속하여야 할 때에는 반드시 지도교수와 당직자에게 알리고 1인 이상이 상주한 상태에서 수행하여야 한다.

1. 연구실 안전점검 계획

1) 일상점검 실시

- 대상: 연구 개발 활동에 사용되는 기계·기구·가스·전기·약품 등을 취급하는 연구실
- 실시: 연구 개발 활동을 시작하기 전에 매일 1회 실시

2) 수시안전점검 실시

- 대상: 연구 개발 활동에 사용되는 기계·기구·가스·전기·약품 등을 취급하는 연구실
- 실시: C등급: 년 1회 안전점검 실시(4/4분기 실시)

3) 정기안전점검 실시

- 대상: 연구 개발 활동에 사용되는 기계·기구·가스·전기·약품 등을 취급하는 연구실
- 실시: 매년 1회 이상 실시

4) 정밀안전진단 실시

- 대상: 연구 개발 활동에 “유해화학물질관리법”제2조제8조에 따른 유해 화학물질을 취급하는 연구실
- 실시: 2년마다 1회 이상 실시

※ 위험등급별로 안전점검을 실시하므로 체계적인 관리(관리등급 지정)

- B등급: 일반시약, 소규모 인화성 시약, 불연성가스, 소량의 폐수발생 연구실

2. 교육·훈련 계획

- 1) 개요: 연구실의 안전을 확보하고 연구활동종사자의 안전사고 예방 및 안전하고 쾌적한 연구 환경에 기여하며, 연구실 안전환경 조성에 관한 법률에 의거하여, 연구실의 안전교육이 의무화

됨에 따라 과학기술분야의 연구활동종사자 전원 의무적으로 안전교육 수강

- 2) 교육대상: 교수, 대학원생, 실험조교, 전문직원, 소속연구원, 실험참여 학부생 및 업체직원 등
- 3) 교육방법: 온라인 교육 및 집체교육

4) 교육구분

교육과정	교육대상	교육시간	교육시기	교육방법
정기교육	연구활동종사자	반기별 6시간 이상	상반기 하반기	온라인 교육
신규교육	신규 연구활동종사자 (계약직 포함)	8시간 이상	수시	집체교육
	신규 연구개발 참여 연구활동종사자	2시간 이상	수시	집체교육
특별교육	중대 연구실사고 발생 및 연구내용 변경, 연구주체의장이 필요하다고 인정하는 연구활동종사자	2시간 이상	수시	집체교육

3. 보험가입 현황

- 1) 가입대상: 연구실 안전환경 조성에 관한 법률 제2조에서 정한 대학·연구기관 등에서 과학기술분야 연구 개발 활동에 종사하는 연구원·대학생·대학원생 및 연구보조원
- 2) 보험가입 현황

보험명	보상내용	대 상	주관부서
빅히트단체상 해보험Ⅱ	상해사망, 후유장해: 2억원 의사상자 상해위험: 1억원 연구활동중 상해 후유장애 (추가 특별약관 적용)	대학원생 학부생	총무부
건물 및 물품 보험	화재(벼락), 폭발, 붕괴, 태풍, 홍수, 호우, 강풍, 풍랑, 해일, 대설, 그 밖에 이와 유사한 사고로 인한 피해	-	총무부

4. 건강검진 계획

- 1) 개요: 연구활동종사자의 건강상태를 확인함으로써 질병을 예방하고 또한 질병을 조기에 발견하여 더 이상 진전되지 않도록 하는 데 있음.
- 2) 실시대상: 연구실내 유해인자를 취급하는 상시 연구활동종사자(산업안전보건법 시행령 제29조에 따른 유해물질 및 동법 시행규칙 별표12-2에서 정한 177종 유해인자)
- 3) 검진시기: 매년 10~11월 실시
- 4) 검진방법: 출장검진
- 5) 건강검진병원: 원주세브란스기독병원 직업환경의학과

5. 연구실 안전관리시스템을 통한 안전관리

- 1) 연구실 정보관리(연구실 종합현황관, 연구실 정보관리, 기타 등)
- 2) 안전교육관리 및 안전장비관리
- 3) 일상점검관리
- 4) 정기점검 및 정밀안전진단 관리
- 5) 화학약품 및 위험물현황 관리
- 6) 안전관리시스템을 통한 물질안전보건자료(MSDS) 검색

- 7) 폐기물관리(실험폐기물, 유독물, 기타 등)
- 8) 안전장비관리 및 안전사고보고
- 9) 연구실 배치도(평면도) 관리
- 10) 공지사항 및 기타 자료실 관리
- 11) 안전관리 동영상 제공(사고사례 및 안전교육)
- 12) 비상시 대응요령 및 안전문화확산
- 13) 안전교육 및 연구실 관리 기능 연계
- 14) 특수건강검진 관리

6. 기타 추가 이행 계획

순번	실시계획
1	연구활동종사자 안전의식 고취 및 학내 안전문화 조성
2	연구실 사고사례 전시
3	안전교육 실시 및 안전교육 참여 상승 방안 수립
4	연구실 안전문화 확산을 위한 공모전 실시
5	연구실(실험실) 위험요소 개선 제안 캠페인 실시
6	연구활동종사자 연구실 안전 및 소방안전 교육·훈련 실시
7	「안전한 연구·실험을 위한 약속」 실천 서명 운동 실시
8	안전교육 미 이수자에 대한 대책 수립
9	연구실(실험실)별 안전환경용품 수요조사 실시 및 배부
10	연구실 위험시설 실태조사 실시(상반기: 1회, 하반기: 1회)
11	보험가입 현황 보고(매년 4월 30일까지: 미래창조과학부)
12	안전관리비 계상 및 집행 현황 보고 (매년 4월 30일까지: 미래창조과학부)
13	연구·실험실 안전환경관리 법 이행 사항보고 (매년 2월 중순까지: 미래창조과학부)
14	연구실내 폐시약 일괄 수거 및 폐기
15	연구실 안전시설물 점검 및 보수
16	연구실 안전점검 결과에 따른 조치사항 확인

10. 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문/특허/기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국 가	코드번호		D-12	
						Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등)
1	특허	곤충제어방법	고려대학 교	특허출 원	대한민국		2015.06.10.	단독사사	
2	특허	이산화염소의 곤충 아세틸콜린에스터레 이즈 활성교란과 살충기능	고려대학 교	특허출 원	대한민국		2016.02.05.	단독사사	
3	특허	가스투입확산장치	(주)푸르 고팜	특허출 원	대한민국		2016.07.21.	단독사사	
4	특허	이산화탄소와 이산화염소의 혼합처리에 따른 곤충의 살충방법	고려대학 교	특허출 원	대한민국		2017.04.21.	단독사사	
5	특허	살충방법	고려대학 교	특허등 록	대한민국		2016.01.19.	단독사사	

11. 기타사항

코드번호		D-13
○		

12. 참고문헌

코드번호		D-14
○		

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.