비타민 B1 유도체 Thiamine Dilauryl Sulfate의 나노 입자 제조를 통한 수용액의 용해도에 따른 항진균 활성 평가

서용창* · 최운용** · 이춘근** · 조정섭*** · 임태빈*** · 정명훈*** · 김성일**** · 윤원병***** · 이현용**†

*의료바이오신소재융복합연구센터 강원대학교 생물소재공학과, **강원대학교 생물소재공학과, ***두산에코비즈니스, ****강원도 농업기술원, *****강원대학교 식품생명공학과

Effect of Solubility of Thiamine Dilauryl Sulfate Solution through the Manufacture of the Nano Particles on Antifungal Activity

Yong Chang Seo*, Woon Yong Choi**, Choon Geun Lee**, Jeong Sub Cho***, Tae Bin Yim***, Myoung Hoon Jeong***, Sung Il Kim****, Won Byung Yoon***** and Hyeon Yong Lee**†

*Medical & Bio-Material Research Center and Department of Biomaterials Engineering, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.

**Department of Biomaterials Engineering, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.

***DooSan EcoBizNet, Chuncheon 200-161, Korea.

****Gangwon Agricultural Research & Extension Services, Chuncheon 200-150, Korea.

*****Department of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.

ABSTRACT : Conventional Thiamine Dilauryl Sulfate (TDS) powder has a low stability. In order to solve this problem, this study was performed to improve the solubility of TDS. The process for enhance solubility of TDS was nano grinding mill and ultrasonic dispersion process. TDS particle was manufactured to nano size through nano grinding mill process. The size of TDS nanoparticle was measured as average 220 nm by DLS. And The TDS nanoparticle in water solution manufactured through ultrasonic dispersion process. The TDS nanoparticle in water solution was showed the highest solubility with 40% ethanol. These results was increased the concentration of TDS from 200 ppm to 240 ppm in water solution. The TDS nanoparticle in water solution showed diameter of *Colletotrichum gloeosporioides* growth with smaller than about 1.56 cm compared to the TDS particle in water solution at same concentration. Also, TDS nanoparticle in water solution showed growth inhibition activity as 59.2% with higher than about 10% compared to the TDS particle water solution in same concentration. Finally, TDS nanoparticle in water solution was increased solubility through nano grinding mill and ultrasonic dispersion process. Also, the increase of concentration in TDS nanoparticle in water solution according to solubility enhancement lead to an result enhancement of antifungal activity. Consequently, we suggested that the TDS nanoparticle in water solution was more effective than TDS particle in water solution owing to the sub-cellular particle size, ability to persistence and targeting to cell membrane of *Colletotrichum gloeosporioides*. Furthermore we expected the applying possibility with bio pesticide.

Key Words : Thiamine Dilauryl Sulfate, Nanoparticle Solution, Solubility, Antifungal Activity, Biopesticide

서 언

현대 사회에 삶의 질이 향상되면서 고령화 사회로 변화하여 인구가 증가하고 있는 것에 비해 농업 생산성의 계속된 감소로 식량난 등의 다양한 문제가 발생하고 있다. 이러한 문제들을 해결하기 위하여 농업 생산성을 향상시키기 위한 방법 중 하나로 농약을 사용해 왔다. 그러나 현재까지 사용되고 있는

농약은 대부분 유기합성 농약으로서 환경오염 및 농약중독, 농산물 속 독성 성분 잔류 등의 문제들이 발생하고 있다. 또한, 경제 발전 및 삶의 질 향상으로 농약 사용에 대해 소비자들이 거부감을 가지며, 건강에 대한 불안함이 커지고 있다. 이러한 문제들을 해결하기 위해 최근 무공해 농산물 또는 생물농약의 개발이 활발히 이루어지고 있는 실정이다 (Lee, 2002). 최근에는 세균 배양액을 이용한 생물농약의 개발 (Seo and Kim,

†Corresponding author: (Phone) +82-33-256-4819 (E-mail) hyeonl@kangwon.ac.kr

Received 2011 August 23 / 1st Revised 2011 December 1 / 2nd Revised 2011 December 6 / Accepted 2011 December 7

2010), 길항 세균의 제제화 개발 (Kim *et al.*, 2001), 균주의 형진전환을 이용한 개발 (Lee *et al.*, 2010) 등 다양한 생화학 농약 개발을 통하여 문제가 되고 있는 유기화학농약을 대신하기 위한 많은 연구가 이루어지고 있다.

이와 관련하여 우리나라 농작물에서 발생하는 병의 종류로는 수백 가지가 있는데 그 중 채소류에서 133종 등이 보고되어 있다. 채소류 중에서 주로 많이 발생되고 있는 식물병으로는 검은무늬병, 잿빛곰팡이병, 흰가루병, 탄저병 등이 있다 (Jo, 1984). 이처럼 우리나라 농작물에서 발생하고 있는 다양한 식물병의 방제를 해결하기 위해 새로운 생물학적인 농약의 연구가 필요한 실정이다.

한편, 비타민 유도체는 현재 여러 분야에서 다양한 기능을 갖고 사용되고 있다. 그 중 대표적으로 비타민 A, C 및 그 유도체들이 화장품에 적용되어 항산화 및 미백 활성에 사용되고 있지만 안정성의 문제점이 있어 새로운 유도체들을 개발하기 위한 많은 연구가 진행되고 있는 실정이다 (Park *et al.*, 2011). 이러한 비타민 유도체 중 비타민 B1 유도체 Thiamine Di-lauryl Sulfate(TDS)는 곰팡이 및 세균의 감염을 억제하는 항균 활성을 갖고 있는 것으로 알려져 있다 (Kim *et al.*, 2005). 이러한 항균 활성 등이 있다고 알려진 비타민 B1 유도체 (TDS)를 그 동안 많이 연구되어 온 화장품 분야가 아닌 선행 연구가 많이 되어있지 않은 농업 분야에서 사용하기 위한 연구가 최근 진행되고 있으며, 그 중 식물병에 대한 항진균 활성이 있다는 연구결과가 보고되었다 (Seo *et al.*, 2011). 그러나 TDS를 수용액상으로 제조하여 사용하면 낮은 안정성을 갖고 있다는 단점이 있다 (Seo *et al.*, 2011). 이러한 문제점을 해결하기 위하여 보다 높은 안정성을 가진 TDS를 제조하기 위한 연구가 필요하다.

이에 본 연구에서는 항진균 활성 (Seo *et al.*, 2011)이 있다고 보고된 비타민 B1의 유도체 (TDS)를 수용액상에서 안정성이 낮은 단점을 극복해서 안정적인 생물 농약으로 사용하기 위해 비타민 B1의 유도체의 용해도를 증진시켜 수용액 상태로 안정성을 갖도록 제조하였으며, 이러한 수용액상의 용액을 분말의 상태로 사용하는 것보다 적은 사용량으로도 항진균 활성을 나타내도록 하여 비타민 B1 유도체의 식물병 성장 억제 효과를 평가하였다.

재료 및 방법

1. 비타민 B1 유도체 (TDS) 및 나노 입자 제조

본 실험에 사용한 TDS의 제조방법은 Thiamine hydrochloride (SIGMA, USA) 70 g 과 100 ml 의 증류수, 황성탄 5 g 을 상온에서 용해시킨 후 0.2 μ m 의 filter (MACHEREY-NAGEL, GERMANY)로 여과시킨다. 또한, Sodium lauryl sulfate (SIGMA, USA) 70 g에 증류수 300 ml, Ethyl alcohol

(SIGMA, USA) 5 ml 을 45°C의 water bath에서 용해시킨 후 0.45 μ m filter (MACHEREY-NAGEL, GERMANY)로 여과시킨다. 여과 시킨 각각의 용액을 섞어, 55°C water bath에서 1시간 교반시킨다. 반응이 끝난 용액의 결정화 반응을 위해 10°C에서 2시간 냉각 후 2000 rpm, 10°C로 설정된 초고속원심분리기 (CP100MX, Hitachi, Japan)에서 2회 원심분리하였다. 원심분리가 끝난 시료를 3시간 동안 30에서 수분을 제거하여 분말 상태의 TDS를 제조하였다 (Seo *et al.*, 2011).

수용액 상에서 제조한 TDS 분말의 용해도를 증가시키기 위하여 TDS 분말을 건식 나노 분쇄기 (NANO 3D Mill, APEXEL Co., Korea)를 사용하여 수분함량이 2~6% 이하로 제어한 후, 분쇄 zone으로 TDS 분말 1 kg을 넣어주고 압축 강도 34~37 kg/cm²로 공급되는 초미세 진동 에어로 인한 분말의 상호마찰에 의해 입자의 크기를 400 nm 이하의 수준으로 제조하였다.

2. TDS 분말의 입자크기와 형태 관찰

제조한 TDS 나노 입자의 균일성 및 크기별 분포 측정을 위해 Dynamic Light Scattering (DLS, Brookhaven Instrument Co)을 이용하였으며 TDS를 수용액 상태로 제조 후 TDS가 완전히 용해되었는지 알아보기 위하여 TDS 수용액도 DLS를 측정하였다. 이와 함께 일반 TDS 분말의 실모양을 확인하기 위하여 시료를 이온으로 코팅하고 진공관 안에서 전자를 주사하는 Scanning Electron Microscope (SEM, S-3500N, Hitachi Science systems, Japan)을 이용하였으며, 제조한 TDS 나노 입자의 실모양 확인을 위해 phosphotungstic acid solution을 이용하여 negative staining 후 formvar/carbon으로 고정시키고 120 kV에서 Transmission Electron Microscopy (EF-TEM, LEO 912AB OMEGA, CarlZeiss, Germany)을 이용해 관찰하였다 (Saxena *et al.*, 2005).

3. TDS 나노 입자 수용액 제조 및 관찰

나노 크기로 제조된 TDS 나노 입자 100 g을 분사 노즐을 통하여 분사하는 동시에 주정 1 L를 28~60%의 비율별로 함께 분사하며 TDS 분말이 완전히 용해될 때까지 약 10분간 교반을 진행한다. 이렇게 주정에 용해된 TDS solution 1 mL를 증류수 499 mL에 넣은 후 초음파 발생기(Asia industry, Incheon, Korea)를 사용하여 40 kHz에서 60분 동안 초음파 처리를 하는 동시에 교반을 진행하여 비타민 유도체 수용액을 제조한다.

제조한 TDS 나노 입자 수용액 속에 TDS 나노 입자가 용해되었는지 알아보기 위하여 60% 비율의 주정으로 제조한 일반 TDS 분말 수용액을 Dynamic Light Scattering (DLS, Brookhaven Instrument Co)로 관찰하여 TDS 수용액의 균일성을 비교하였다.

4. TDS 나노 입자 수용액의 용해도 증진 측정

TDS 나노 입자 수용액 속에 TDS 나노 입자가 주정의 비율별로 얼마나 용해되는지 알아보기 위하여 용해도를 측정하여 보았다. 대조군으로는 일반 증류수를 사용하였으며, 실험군으로는 주정의 비율을 28~60%로 하여 TDS 나노 입자를 용해시킨 수용액을 제조하였고, 본 연구에 사용된 공정과 비교하기 위하여 본 연구의 사용 공정을 처리하지 않고 일반 TDS 분말을 같은 비율의 주정에 용해시켜 제조하였다. 96 well plate에 각각의 sample을 200 μ l 씩 첨가하여 230 nm에서 ELISA reader를 이용하여 흡광도를 측정하여 주정 비율별 TDS 나노 입자의 용해도를 측정하였다. 또한 이전에 보고된 TDS의 용해도와 비교하여 본 연구에서 제조한 TDS의 용해도 증진을 확인하였다.

5. 고추 탄저병균의 항진균 활성 측정

TDS 나노 입자 수용액이 작물의 병 발생 억제에 미치는 영향을 알아보기 위하여 항진균 활성을 측정하였다. 실험에 사용한 식물병원균으로는 고추탄저병균 (*Colletotrichum gloeos-*

porioides, KACC 40690, Korea)을 사용하였으며, 농업과학기술원으로부터 분양받은 균주를 사용하였다. 배지는 감자한천 배지 (Potato Dextrose Agar, PDA)를 사용하였고 배양조건을 27°C, 암조건에서 배양하여 실험에 사용하였다. 항진균 활성은 Ko 등 (Ko *et al.*, 2009)의 방법을 변형하여 측정하였으며, 실험군으로는 같은 60% 주정의 비율로 제조할 수 있는 가장 높은 농도의 TDS 수용액으로 제조하였는데, 일반 TDS 수용액 200 ppm과 TDS 나노 입자 수용액 240 ppm을 250, 500 배로 희석하여 각각 다른 농도가 되도록 제조하고 동일한 용량 (20 mL)을 사용하였으며, 각각의 sample들은 PDA 배지 제조 시 함께 첨가하여 주었다. 실험에 사용한 균주는 5일 동안 27°C, 암조건에서 배양한 병원균의 colony를 직경 0.5 cm 크기로 잘라 사용하였으며, 희석배수별로 TDS 수용액이 함유된 각각의 배지 한가운데에 접종한 후 colony의 직경을 측정하여 TDS 수용액이 colony의 성장을 억제하는지 비교하였다.

또한, 보다 자세한 성장 억제율을 알아보기 위하여 일반 TDS 수용액과 TDS 나노 입자 수용액을 0.4, 0.8 ppm으로 제조하여 같은 방법으로 균사를 접종한 후 colony의 직경을 3,

Fig. 1. Size distribution of TDS particles and nano particles using dynamic light scattering (DLS), and image scanning of TDS particle by Transmission Electron Microphotographs (TEM). A : TDS nanoparticle (< 400 nm), B : TDS powder (< 10 μ m).

5, 7일 마다 측정하여 균사 생장을 비교하였다. 각 처리군 당 3회의 반복실험을 실시하여 관찰하였으며, 아래 공식에 의하여 균사 생장 억제율을 측정하였다 (Seo *et al.*, 2011).

균사생장억제율 (%) =

$$\left(1 - \frac{\text{살균제 배지에서의 균총의 직경}}{\text{무배지 배지에서의 균총의 직경}}\right) \times 100$$

6. TDS 나노입자 용액의 병원균 사멸 작용

TDS 수용액이 병원균의 사멸을 유도하는 기작을 확인하기 위해서 균사와 TDS 수용액을 동시에 배양한 배양액을 현미경 (ZEISS AXIOSKOP MICROSCOPE, GERMANY)을 통하여 관찰하였다. TDS 수용액의 작용기작을 비교하기 위해서 일반 TDS 분말 수용액을 첨가하여 동시에 배양한 균사와 TDS 나노입자 용액을 첨가하여 동시에 배양한 균사를 관찰하여 비교하였다 (Seo *et al.*, 2011).

7. 통계처리

본 연구에서 실험값의 통계는 SPSS package program의 paired *t*-test로 검정하였으며, 모든 실험값은 평균 ± 표준오차 (Mean±standard error)로 나타냈다.

결과 및 고찰

1. TDS 나노 입자 수용액의 입자 크기 및 형태

Fig. 1의 A. (a)는 일반 TDS 분말과 TDS 나노입자의 수용액을 DLS로 측정하여 비교한 그림이다. DLS 측정 결과 TDS 수용액의 평균적인 입자 크기는 평균 220 nm 크기로 나타났다. 일반 TDS 분말의 입자의 크기는 평균 3.32 μm 로 나

타났다. 이러한 결과는 건식 나노 분쇄기 공정을 통해 34-37 kg/cm²의 높은 압축 강도로 전달되는 초미세 진동에어로 발생되는 에너지가 TDS 분말을 상호마찰시켜 나노 크기로 제조된 것으로 생각된다. 이처럼 TDS분말이 나노 크기의 입자로 제조된 형태를 나타내면 수용액으로 제조 시 주정에 용해되는 용해성 및 안정성이 향상되어 생화학농약으로 제조 시 경제적인 효과가 기대된다. Fig. 1의 (b)는 수용액 상으로 제조하기 전의 일반 TDS 분말과 TDS 나노 입자를 TEM 촬영을 통하여 관찰한 그림이다. TDS 나노 입자에서는 DLS 측정 결과와 비슷한 크기인 335.82 nm의 입자 크기를 볼 수 있다. 그에 반해 일반 TDS 분말을 관찰한 경우 41.87 μm 의 입자크기를 나타냈다. 이러한 결과는 큰 크기의 TDS 분말이 초미세 진동에어의 34-37 kg/cm²의 높은 압축 강도로 인해 발생하는 에너지를 받아 입자들이 상호마찰을 일으켜 나노크기로 분쇄된 것으로 생각된다. 이러한 기술은 수용액 상에서 낮은 용해성을 갖고 있는 TDS 분말을 나노 크기로 제조함으로써 수용액 상에서 용해도를 증가시켜 TDS의 단점을 극복할 수 있는 기술로 활용되고 있다 (Seo *et al.*, 2011). 또한, TDS 분말을 나노 입자 크기로 제조하여 수용액 상에서 TDS가 용해되는 표면적을 증가시켜 용해도를 높일 수 있는 것으로 생각되며, 이러한 나노 입자 수용액은 일반 TDS 분말의 수용액보다 작은 나노 크기로 제조되었기 때문에 식물병 병원균의 세포벽에 침투하는데 더 효과적으로 적용될 수 있을 것으로 생각된다 (Kim *et al.*, 2008).

2. TDS 나노 입자의 수용액상에서 용해도

Fig. 2은 본 연구의 나노 제조공정을 통해 주정의 첨가비를 별로 제조한 TDS 수용액을 나노공정 없이 제조한 일반 TDS 수용액과 비교하여 용해도를 측정한 그림이다. TDS 수용액은

Fig. 2. Effect of ethanol contents on TDS solubility in water solution. D.W : Distilled water, A : TDS nanoparticle in water solution, B : TDS particle in water solution.

Table 1. Comparison of estimation TDS solubilities in several kinds of solvents.

Sample	Solvent		Solubility (%)
TDS*	Water	100%	0.021
		30%	1.75
	Ethanol	50%	58.0
		70%	60.6
		100%	64.0
	Acetic acid	10%	0.05
		25%	46.9
		100%	36.9
	Propylene glycol	10%	0.018
		25%	0.026
		50%	0.144
		100%	0.502
TDS particle**	Ethanol	60%	100.0
TDS nanoparticle***	Ethanol	40%	100.0

*TDS (Kim *et al.*, 2005), **TDS particle measured through process of this study, ***TDS nanoparticle measured through ultrasonic dispersion process

Fig. 3. Comparison of antifungal activity of TDS in same volume (20 mL) of water solution with different TDS concentrations.
A : Negative control, no treatment, B : TDS particle in water solution, C : TDS nanoparticle in water solution.

특정 파장인 230 nm에서 흡광도를 나타내었으며, 측정 결과 모든 실험군에서 주정의 비율이 증가할수록 흡광도가 감소하는 경향을 나타냈다. 그 중 본 연구의 공정을 통해 40% 주정에 용해시켜 제조한 TDS 수용액의 흡광도는 1.901 nm로 대

조군으로 설정한 증류수의 흡광도 1.890 nm와 차이가 거의 없는 것으로 나타났으나 나노공정을 거치지 않고 40% 주정에 용해시켜 제조한 일반 TDS 수용액의 경우는 3.120 nm로 공정을 처리하지 않은 일반 TDS 수용액에는 TDS 분말이 용해

Table 2. Mycelium size of *Colletotrichum gloeosporioides* grown in adding same concentration of TDS in water solution (40% ethanol).

Sample		Diameter of Mycelium in <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (cm)		
		3 day	5 day	7 day
Control*		6.41	12.62	18.00
Dithianon	0.8 ppm	2.51	4.95	9.12
A	0.4 ppm	3.50	6.87	10.65
	0.8 ppm	2.35	4.85	8.90
B	0.4 ppm	3.08	6.01	10.11
	0.8 ppm	2.12	4.24	7.34

*Control : Negative control, no treatment, Dithianon : Positive control, A : TDS particle water solution, B : TDS nanoparticle water solution

Fig. 4. Growth inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* in adding same concentration of TDS in water solution (40% ethanol). *Control : Negative control, no treatment, A : TDS particle water solution, B : TDS nanoparticle water solution.

되어 있지 않고 수용액 상에서 석출되어 있는 것으로 생각된다. 또한 일반 TDS 분말을 수용액 상에서 완전히 용해시키기 위해서는 주정의 비율을 60%로 높여 용해시켜야 하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 일반 TDS 분말의 문제점인 낮은 용해도를 증가시켜 수용액 상에서 안정한 상태로 존재할 수 있을 것으로 생각되며, 이전에 보고된 TDS의 용해도보다 증가한 것으로 나타났다 (Kim *et al.*, 2005).

이렇게 제조된 TDS의 용해도를 보다 자세히 비교하기 위해서 이전에 보고된 연구 결과 (Kim *et al.*, 2005)인 TDS의 용해도와 비교하여 보았다 (Table 1). 용해도를 비교한 결과 이전에 보고된 연구 결과인 TDS의 용해도가 100% 주정을 통해 용해시켰을 경우 64%로 낮은 것에 비하여 본 연구의 공정을 통하여 주정의 비율을 40%로 감소시켰을 뿐만 아니라 용해도를 100%로 증가시킨 것을 알 수 있었다. 이러한 결과는 이전에 보고된 연구에서 사용한 TDS보다 본 연구의 제조 방법을 통해 제조한 TDS 분말 및 나노 분쇄를 통해 제조한 TDS 나노입자가 더 작은 크기로 제조된 것으로 생각되며, 이로 인해 낮은 주정의 비율로 높은 용해도를 갖고 있기

때문에 생물 농약으로 사용할 때 식물 조직에 직접적으로 가해지는 영향을 감소시켜 농작물에 대한 안정성이 증진될 것으로 생각된다.

3. 식물 병원균에 대한 항진균 활성 평가

고추탄저병균의 *Colletotrichum gloeosporioides*에 대한 항진균 활성을 측정한 결과를 Fig. 3에 나타냈다. 실험에 사용한 실험군으로는 60% 주정을 이용하여 최대 농도로 제조할 수 있는 일반 TDS 수용액 200 ppm과 TDS 나노 입자 수용액 240 ppm을 각각 250, 500배로 희석하여 최종 농도가 각각 다르게 제조하여 동일한 용량 (20 mL)을 처리하였다. 대조군과 비교하여 모든 농도에서 균사 생장을 억제하는 효과를 나타낸 것을 볼 수 있었으며, 농도가 증가함에 따라 생장 억제효과도 증가하는 경향을 나타냈다. TDS 나노 입자 수용액의 0.96 ppm의 실험군에서 균사 생장을 가장 효과적으로 억제되었다.

보다 자세한 생장 억제율을 알아보기 위하여 일반 TDS 수용액과 TDS 나노 입자 수용액을 같은 농도로 제조하여 생장된 균총의 지름을 날짜별로 측정한 결과를 Table 2에 나타냈

Fig. 5. Comparison of inhibitory hyphae growth of *Colletotrichum gloeosporioides* in adding two different types of TDS. A : TDS particle in water solution, B : TDS nanoparticles in water solution.

다. 측정 결과 대조군과 비교하여 TDS 나노 입자 수용액 0.8 ppm의 실험군에서 가장 작은 크기인 7.34 cm로 측정되어 가장 높은 생장 억제 활성을 나타냈다. 또한 성장된 균총의 지름을 이용하여 균사 생장 억제율을 측정한 결과 (Fig. 4) TDS 나노 입자 수용액 0.8 ppm의 실험군에서 59.1%의 억제율을 나타냈다. 이러한 결과는 고추탄저병 균에 대한 일반 TDS 분말의 항진균 활성인 36.9% (Seo *et al.*, 2011)보다 높은 억제율을 보였으며, 수용액 상의 TDS 수용액을 사용할 경우 *Colletotrichum gloeosporioides*에 작용하는 표면적이 증가하여 균사의 생장을 더 효율적으로 억제 시켰을 것으로 생각된다. 이와 같은 0.8 ppm으로 제조한 일반 TDS 분말 수용액은 50.0%의 억제율을 나타낸 것으로 보아 TDS를 나노 입자 수용액으로 제조함에 따라 같은 농도로도 항진균 활성이 증진된 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 본 연구의 공정을 통해 TDS 나노입자 수용액을 제조하여 수용액 상에서 용해도를 증진시켜 더 적은 농도로도 식물병 병원균의 성장을 효율적으로 억제하며, 화학농약의 문제점인 농약중독, 농약에 의한 지하수 및 토양오염, 농산물중의 잔류독성 등을 해결할 수 있는 무공해 생물농약으로 사용될 수 있을 것으로 기대 된다 (Lee, 2002).

4. TDS 수용액의 병원균 사멸 작용 기작

TDS 수용액이 균사에 작용하여 균사를 사멸시키는 기작을 관찰하기 위하여 현미경을 통하여 촬영하였다. Fig. 5은 TDS 나노 입자 수용액에 의해 사멸된 *Colletotrichum gloeosporioides*의 균사를 현미경으로 관찰한 사진으로 A는 PDA 배지 제조 시, 배지에 일반 TDS 분말 수용액을 첨가하여 배양한 *Colletotrichum gloeosporioides*의 균사를 관찰한 사진이고, B는 배지에 TDS 나노 입자 수용액을 함께 첨가하여 배양한

*Colletotrichum gloeosporioides*의 균사를 관찰한 사진이다. 관찰 결과 그림에서 보는 것처럼 TDS 수용액이 *Colletotrichum gloeosporioides*의 균사의 세포벽에 달라붙어 생장을 저해하고 있는 것을 볼 수 있으며 TDS 나노 입자 수용액이 보다 넓은 표면적으로 균사의 세포벽에 달라붙는 것을 볼 수 있다. 이러한 결과는 보다 작은 나노 크기의 입자들이 미세한 세포벽 안으로 침투하여 TDS의 효율을 높인 것으로 생각되며 (Kim *et al.*, 2009), Seo 등 (2011)도 TDS의 나노 입자화를 통한 고추탄저병균의 항진균 활성을 증진시킨 연구결과를 보고하였다. 또한, 본 연구의 결과는 황련 추출물의 고추탄저병에 대한 항진균 활성 연구 (An *et al.*, 2009)에서 *Colletotrichum gloeosporioides*에 대한 항진균 활성을 나타낸 500 ppm 보다 낮은 농도에서 뛰어난 항진균 활성을 나타낸 것으로 보아 향후 농업분야에 안정성을 보유한 경제적인 생물 농약으로써 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 2011 지역산업기술개발사업 (과제번호 : 7001172)의 연구지원으로 수행된 것으로 이에 이에 감사를 드립니다.

LITERATURE CITED

- An SM, Lee DS, Kim MS, Choi CS, Lee JB, Jang HS and Son HY. (2009). Bioactivity of the extract of *Coptis chinensis*: In-vitro antifungal activity against *Phytophthora capsici* and growth-promotion effect in red-pepper. Korean Journal of Microbiology and Biotechnology. 37:280-286.
- Jo EK. (1984). Plant pathogens and pest control pesticides. The

- Bimonthly Magazine for Agrochemicals and Plant Protection. 5:33-41.
- Kim CS, Lee JP, Song JH, Lim EK, Chung SJ, Ha SY and Moon BJ.** (2001). Development of biofungicide for control of gray mold rot of eggplant caused by *Bortrytis cinerea* and bioassay in the greenhouse condition. Korean Journal of Life Science. 11:235-341.
- Kim HS, Cho YH and Lee DK.** (2005). A study on antimicrobial activity and preservative effect of thiamine dilauryl sulfate in cosmetics. The Korean Oil Chemists' Society. 22:212-218.
- Kim MH, Ko HS, Yook YM and Kim HS.** (2008). Isolation and characterization of microorganisms with broad antifungal activity against phytopathogenic fungi. Korean Journal of Biotechnology and Bioengineering. 23:219-225.
- Kim SH, Baek JH, Song YR, Sin MJ and Lee IS.** (2009). Characterization and phytotoxicity of Zn, Zn oxide nanoparticles. Journal of Korean Society of Environmental Engineers. 31:1129-1134.
- Ko SW, So IS and Huh MR.** (2009). Study on antifungal activity of *Aloe arborescens* M. for a potential bio-pesticide. Journal of Agriculture and Life Science. 43:35-44.
- Lee MJ, Ha JH and Ha SD.** (2010). Synergistic effect of vitamin B₁ on sanitizer and disinfectant treatments for reduction of *Bacillus cereus* in rice. Journal of Food Safety. 30:1-11.
- Lee YH.** (2002). Use of vitamin B1 as agents for controlling plant diseases. Korea Patent. 7,011,615.
- Park CM, Bae JY, Joung MS and Choi JW.** (2011). Whitening effect of 3-*O*-cetyl-L-ascorbic acid. Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea. 37:91-96.
- Saxena A, Sachin K, Bohidar HB and Verma AK.** (2005). Effect of molecular weight heterogeneity on drug encapsulation efficiency of gelatin nano-particles, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 45:42-48.
- Seo SY and Kim YG.** (2010). Study on development of novel biopesticides using entomopathogenic bacterial culture broth of *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*. Korean Society of Applied Entomology. 49:241-249.
- Seo YC, Cho JS, Jeong HY, Yim TB, Cho KS, Lee TW, Jeong MH, Lee GH, Kim SI, Yoon WB and Lee HY.** (2011). Enhancement of antifungal activity of anthracnose in pepper by nanoparticles of thiamine dilauryl sulfate. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 19:198-240.