

Research Article



CrossMark

Open Access

한약재 주정추출물과 그 유효성분의 식물병원균에 대한 항균활성

양지연, 류송희, 임성진, 최근형, 박병준*

국립농업과학원 농산물안전성부 화학물질안전과

Antimicrobial Activity of Ethanol Extracts from Medicinal Herbs and Its Active Compound against Plant Pathogens

Ji-Yeon Yang, Song-Hee Ryu, Sung-Jin Lim, Geun-Hyoung Choi and Byung-Jun Park* (Chemical Safety Division, Agro-Food Safety and Crop Protection Department, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea)

Received: 16 August 2016 / Revised: 20 September 2016 / Accepted: 26 September 2016

Copyright © 2016 The Korean Society of Environmental Agriculture

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ORCID

Ji-Yeon Yang

<http://orcid.org/0000-0002-7415-8746>

Byung-Jun Park

<http://orcid.org/0000-0003-4675-891X>

Abstract

BACKGROUND: The aim of this study was to investigate the antimicrobial effects of the ethanol extracts from various medicinal herbs against plant pathogens to understand the possible the crop protection agents.

METHODS AND RESULTS: Among the tested medicinal herbs, *Zizyphus jujuba* ethanol extract had the potent antimicrobial activity against *Phytophthora capsici*, *Erwinia carotovorum* subsp. *carotovora*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* and *Ralstonia solanacearum*. The major constituents of *Z. jujuba* were identified to eugenol(40.45%), dodecanoic acid(18.40%), β -caryophyllene (10.05%) and isoeugenol(9.85%) by GC/MS. Eugenol and isoeugenol had strong inhibitory activity on spore germination against *P. capsici* and growth against *E. carotovorum* subsp. *carotovora*, *P. syringae* pv. *syringae* and *R. solanacearum*.

CONCLUSION: In this regard, eugenol and isoeugenol were found to be responsible for the antimicrobial activity of *Z. jujuba* ethanol extract against plant pathogens. In addition, *Z. jujuba* ethanol extract, eugenol and isoeugenol can be used the potent antimicrobial agents.

Key words: Antimicrobial, Eugenol, Isoeugenol, Plant pathogens, *Zizyphus jujuba*

서론

식량증산을 위해 식물병원균, 해충, 잡초 등을 제어할 목적으로 합성 화학농약이 많이 사용되고 있다(Choi *et al.*, 2006). 그 결과 농업생산성 향상에는 많은 기여를 하였으나, 잔류독성, 환경호르몬 및 환경오염 등 농업생태계에 미치는 악영향이 점차 심각해지고 있으며, 또한 많은 식물병원균들은 기존의 합성 화학농약에 대해 높은 저항성을 보이고 있다(Ryu *et al.*, 2001). 이러한 문제점을 해결하기 위하여 안전성에 문제가 될 우려가 있는 화학농약에 대한 대체물질로 천연 자원으로부터 유래된 친환경 농약을 이용하려는 노력이 점차 확대되고 있다(Alzoreky and Nakahara, 2003). 친환경 농약은 미생물 또는 대사산물로부터 유래된 미생물농약, 페로몬이나 식물호르몬 등을 이용한 식물생장조절제, 천연물을 이용한 천연물농약 등이 대표적인 예이다(Lee *et al.*, 2001).

한약재 추출물은 의학 및 식품 분야에서 널리 이용되어 왔으며, 최근에는 식물 병해를 유발하는 병원균에 대한 항균효과도 보고된바 있어 천연물농약으로 용도가 확대되고 있다(Borde *et al.*, 2013; Meziari *et al.*, 2015). 본 연구의 유효한약재인 대추(*Zizyphus jujuba*)는 갈매나무목 갈매나무과에 속하는 낙엽성 교목으로 우리나라 전역에 분포하고 있다(Jeong *et al.*, 2011). 전통적으로 한방에서 생약으로 널리 이용되어 왔으며, 면역증강, 진통, 진정, 지혈, 해열, 항암, 항산

*Corresponding author: Byung-Jun Park
Phone: +82-63-238-3238; Fax: +82-63-238-3837;
E-mail: bjpark@korea.kr

Table 1. Medicinal herbs used in this study

Korean Name	Scientific Name	Korean Name	Scientific Name
감 잎	Diospyros kaki	삼 백 초	Saururus chinensis
겨우살이	Viscum album	생강나무	Lindera obtusiloba
골 담 초	Caragana sinica	선 학 초	Agrimonia pilosa
구 기 자	Lycium barbarum	어 성 초	Houttuynia cordata
꾸 지 뽕	Maclura tricuspidata	오 미 자	Schisandra chinensis
노 나 무	Catalpa ovata	우 슬	Achyranthes aspera
대 추	Zizyphus jujuba	울 무	Coix lacrymajobi
독 활	Aralia cordata	인 동 등	Lonicera japonica
두 층	Eucommia ulmoides	자 소 엽	Perilla frutescens
맥 문 동	Liriope muscari	작 약	Paeonia lactiflora
박 하	Mentha piperita	접 골 목	Sambucus williamsii
복 분 자	Rubus coreanus	차 전 초	Plantago ovata
부 처 손	Selaginella involvens	천 궁	Ligusticum striatum
산 수 유	Cornus officinalis	헛개나무	Hovenia dulcis
산 청 목	Acer tegmentosum	황 금	Scutellaria baicalensis

화, 항염증에 대한 약리적 효능이 알려져 있다(Yu, 1999; Yu et al., 2006). 대추의 약용성분으로 alkaloid, saponin, triterpenoid, polyphenol 등이 알려져 있으며, 특히 triterpenoid는 세포독성, 항균 및 항염증 등 다양한 생물학적 활성을 가지고 있는 것으로 보고되고 있다(Lee et al., 2004; Kim and Joo, 2005; Yu et al., 2006). 그러나 식물병원균에 대한 대추 주정추출물 및 구성 성분의 항균활성은 아직 보고된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 천연물을 이용한 친환경 살균제를 개발하기 위하여 85종의 한약재로부터 얻은 주정추출물의 식물병원균에 대한 항균활성을 검정하였다. 또한 활성이 우수한 대추 주정추출물의 주성분을 분석하고 이들 주성분들의 항균활성 검정을 실시하여 천연물유래 살균제 개발을 위한 기초연구를 실시하였다.

재료 및 방법

시험 균주 및 배지

본 실험에서 사용된 식물병원균은 균핵병균(*Sclerotinia sclerotiorum*, KACC 41065), 시들음병균(*Fusarium oxysporum*, KACC 40032), 역병균(*Phytophthora capsici*, KACC 40158), 잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*, KACC 40101) 및 탄저병균(*Colletotrichum acutatum*, KACC 40042)의 5종 식물병원성 곰팡이와 썩음병균(*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, KACC 10582), 무름병균(*Erwinia carotovorum* subsp. *carotovora*, KACC 10225), 세균성 점무늬병균(*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, KACC 18392) 및 풋마름병균(*Ralstonia solanacearum*, KACC 10666)의 4종 식물병원성 세균을 농촌진흥청 농업유전자원센터(Korean Agricultural Culture Collection, KACC)로부터 분양 받아 사용하였다. 식물병원성 곰팡이는 Potato

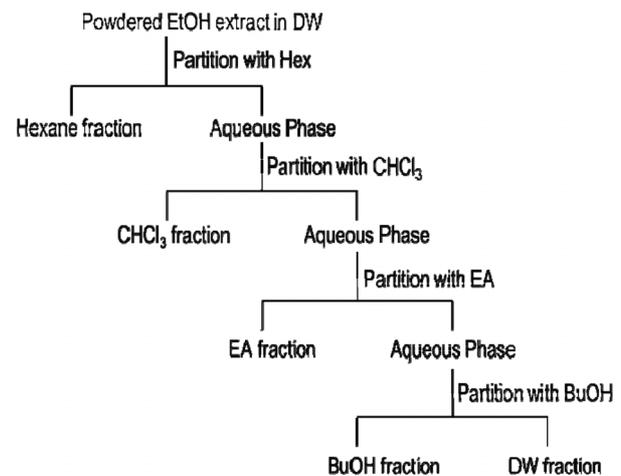


Fig. 1. Partition procedure of ethanol extract from *Z. jujuba* by solvent separation.

Dextrose Agar(PDA, Difco, USA) 배지에서 4°C로 보존되었으며, 세균의 경우에는 50% glycerol이 함유된 Nutrient Broth(NB, Difco, USA) 배지에 각각의 세균을 분주한 다음 -80°C 초저온 냉동고에 보존하여 시험에 사용하였다.

시료 제조

본 실험에 사용된 30종 한약재(Table 1) 주정추출물은 한약재 1 kg당 주정 10 L에 침지시켜 24시간 교반 후 감압농축하여 제조한 주정추출물을 (재)산청한방 약초연구소에서 분양 받아 사용하였다. 대추 주정추출물은 20배(w/v)의 증류수(distilled water, DW)에 녹인 후 hexane, chloroform(CHCl₃), ethyl acetate(EA) 및 butanol(BuOH) 순서로 3회 반복 분획하여 사용하였다(Fig. 1). 또한 대추의 주요 성분

Table 2. Conditions of GC/MS analysis

Instrument	GC/MS(Agilent 6890/5973N)
Column	DB-1(30 m × 0.25 mm i.d., film thickness 0.25 μm)
Carrier gas	Helium gas
Flow rate	1.0 mL/min
Injection volume	1 μL
Injector temperature	250°C
Oven temperature	Initial temperature at 60°C Raised to 270°C at 7°C/min
Total running time	30 min
Library	NIST

인 benzaldehyde, benzyl acetate, β-caryophyllene, (-)-caryophyllene oxide, cinnamaldehyde, dodecanoic acid, eugenol, hexanoic acid, α-humulene, isoeugenol, linoleic acid, octanoic acid 및 tetradecanoic acid는 Aldrich(USA)에서 구입하여 사용하였다.

대추 hexane 분획물의 주성분 분석실험

생리활성이 가장 우수한 대추 hexane 분획물의 주성분을 분석하기 위해 GC/MS를 사용하였으며 분석방법은 Table 2에 요약하였다(AI-Reza *et al.*, 2009)

항균활성 검증

식물병원성 곰팡이에 대한 항균효과의 검정을 위하여 PDA 배지가 분주된 petri dish(90 × 15 mm)에 500 μg/mL 시료 추출액을 흡착시킨 paper disc(8 mm, Tokyo filter Co., Japna)와 5 mm 크기의 식물병원균 agar disc를 접종하여 배양하고 3일 후에 형성된 저지원(inhibition zone)의 크기를 측정하여 항균 활성을 조사하였다. 식물병원성 세균에 대하여는 시험세균을 NB 배지에서 24시간 배양시킨 후 세균 현탁액을 Nutrient Agar(NA, Difco, USA) 배지 위에 loop로 접종한 다음 500 μg/mL 추출액이 흡착된 paper disc(8 mm, Tokyo filter Co., Japan)를 각각 올려서 28°C 미생물 배양기에 2일간 정치시킨 후 NA 배지에 나타난 저지원(inhibition zone)의 크기를 평가하였다.

균사생육억제 실험

대추(*Z. jujuba*) 주정추출물 및 유효물질(eugenol 및 isoeugenol)의 역병균(*P. capsici* KACC 40158)에 대한 균사생육억제 실험을 위하여 먼저 PDA를 증류수에 용해하고 고압멸균(121°C, 15분)한 후 배지의 온도를 50°C가 되도록 식히고, dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹인 시료를 배지와 혼합하여 최종농도가 500, 250, 100, 50 및 25 μg/mL가 되도록 한 후, petri dish에 20 mL 분주하여 PDA 혼합배지를 제조하였다. 그 후 식물병원균의 접종과 배양은 식물병원균을 배지 중앙에 균주 성장부위가 배지면과 맞닿도록 지름 5 mm의 agar disc를 접종하여 암실조건(25°C, 습도 75%)에서 병

원균에 따라 5-12일간 배양하였다. 살균활성실험은 배양된 무처리균의 균사생장지름이 80 mm가 될 때까지 배양한 후 균사생장지름을 측정하였으며 모든 실험은 3반복 실험하여 평균값을 결과값으로 정하였다. 균사생장억제율은 다음과 같은 식에 의하여 산출하였다(Shin, 2002)

$$\text{균사생장 억제율(\%)} = \frac{(\text{무처리균의 균사생장지름} - \text{처리균의 균사생장지름})}{\text{처리균의 균사생장지름}} \times 100$$

최소저해농도 측정

(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)

대추 주정추출물 및 유효성분에 대한 최소저해농도 분석은 액체배지희석법(Mann and Markham, 1998)을 사용하여 수행하였다. 시료를 DMSO에 10~500 μg/mL의 농도로 희석하였다. 각각의 균주는 OD₅₆₀=0.2로 희석한 후 본 실험에 사용하였다. 유리 시험관에 균 희석액 1.8 mL과 각 농도별 시료 조제액 0.2 mL를 첨가한 뒤 37°C에서 배양하였다. 24시간 후 OD₅₆₀값을 측정하여 무처리 대조구 보다 낮은 OD₅₆₀값을 갖는 농도를 균의 생장이 검출되지 않는 최소 농도로 간주하였으며, 이를 MIC로 설정하였다.

결과 및 고찰

한약재 주정추출물 및 대추 분획물의 항균활성

30종 한약재 주정추출물들의 식물병원성 균에 대한 항균 활성을 조사한 결과, 대추(*Z. jujuba*) 주정추출물은 역병균(*P. capsici*), 무름병균(*E. carotovorum* subsp. *carotovora*), 세균성점무늬병균(*P. syringae* pv. *syringae*) 및 풋마름병균(*R. solanacearum*)에 대하여 저지원 크기가 15 mm 이상으로 우수한 억제효과를 나타내었다(Table 3과 4). 또한 감잎(*D. kaki*), 노나무(*C. ovata*), 맥문동(*L. muscari*), 복분자(*R. coreanus*), 오미자(*S. chinensis*), 울무(*C. lacrymajobi*), 자소엽(*P. frutescens*) 및 작약(*P. lactiflora*) 주정추출물은 무름병균(*E. carotovorum* subsp. *carotovora*), 시들음병균(*F. oxysporum*), 역병균(*P. capsici*), 입질무늬마름병균(*R. solani*)

Table 3. Antifungal activities of the ethanol extracts from 30 different kinds of medicinal herbs against plant pathogenic fungi^{a)}

Medicinal herbs	Inhibition zone (mm, mean \pm SE) ^{b)}				
	<i>C. acutatum</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>P. capsici</i>	<i>R. solani</i>	<i>S. sclerotiorum</i>
<i>Acer tegmentosum</i>	nd ^{c)}	nd	nd	nd	nd
<i>Achyranthes aspera</i>	nd	nd	nd	nd	nd
<i>Agrimonia pilosa</i>	nd	nd	nd	nd	nd
<i>Aralia cordata</i>	nd	nd	11.3 \pm 2.1	nd	nd
<i>Caragana sinica</i>	nd	nd	nd	nd	10.5 \pm 0.8
<i>Catalpa ovata</i>	10.1 \pm 0.8	nd	nd	nd	nd
<i>Coix lacrymajobi</i>	nd	nd	13.4 \pm 1.6	nd	nd
<i>Cornus officinalis</i>	nd	nd	10.2 \pm 1.2	nd	nd
<i>Diospyros kaki</i>	nd	nd	nd	12.5 \pm 1.4	nd
<i>Eucommia ulmoides</i>	nd	nd	nd	nd	nd
<i>Houttuynia cordata</i>	11.0 \pm 1.4	nd	nd	10.4 \pm 2.0	nd
<i>Hovenia dulcis</i>	10.8 \pm 0.6	nd	nd	nd	nd
<i>Ligusticum striatum</i>	nd	nd	nd	nd	nd
<i>Lindera obtusiloba</i>	11.2 \pm 1.1	nd	nd	nd	nd
<i>Liriope muscari</i>	nd	nd	12.4 \pm 2.0	nd	nd
<i>Lonicera japonica</i>	nd	nd	nd	nd	nd
<i>Lycium barbarum</i>	nd	nd	nd	11.2 \pm 1.6	nd
<i>Maclura tricuspidata</i>	nd	10.0 \pm 1.5	nd	nd	nd
<i>Mentha piperita</i>	10.3 \pm 1.4	nd	nd	nd	nd
<i>Paeonia lactiflora</i>	nd	nd	nd	nd	nd
<i>Perilla frutescens</i>	nd	12.2 \pm 0.8	nd	nd	nd
<i>Plantago ovata</i>	nd	nd	nd	nd	nd
<i>Rubus coreanus</i>	nd	nd	10.6 \pm 1.2	nd	nd
<i>Sambucus williamsii</i>	nd	11.4 \pm 2.6	nd	nd	nd
<i>Saururus chinensis</i>	nd	10.5 \pm 1.2	nd	nd	nd
<i>Schisandra chinensis</i>	nd	nd	nd	nd	nd
<i>Scutellaria baicalensis</i>	nd	nd	nd	nd	nd
<i>Selaginella involvens</i>	nd	nd	11.3 \pm 1.9	nd	nd
<i>Viscum album</i>	nd	nd	nd	nd	nd
<i>Zizyphus jujuba</i>	nd	nd	15.2 \pm 1.4	nd	nd

^{a)} Each sample was treated at 500 μ g/mL and each treatment contained three replications, ^{b)} Results were expressed as mean \pm standard error (SE), ^{c)} nd, not detected.

꽃머름병균(*R. solanacearum*)에 대해 저지원 크기가 12 mm 이상인 중간 억제효과를 나타내었다. 그러나 21종 한약재 주정추출물은 식물병원균에 대하여 저지원 크기가 12 mm

이하의 약한 활성 또는 전혀 항균활성을 나타내지 않았다. 따라서 본 연구에서는 항균활성이 가장 높았던 대추(*Z. jujuba*) 주정추출물을 활용하여 역병균(*P. capsici*), 무름병균(*E.*

Table 4. Antibacterial activities of the ethanol extracts from 30 different kinds of medicinal herbs against plant pathogenic bacteria^{a)}

Medicinal herbs	Inhibition zone (mm, mean \pm SE) ^{b)}			
	<i>E. carotovorum</i> subsp. <i>carotovora</i>	<i>P. syringae</i> pv. <i>actinidiae</i>	<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i>	<i>R. solanacearum</i>
<i>Acer tegmentosum</i>	nd ^{c)}	nd	nd	nd
<i>Achyranthes aspera</i>	11.4 \pm 1.5	nd	nd	nd
<i>Agrimonia pilosa</i>	nd	nd	nd	nd
<i>Aralia cordata</i>	10.6 \pm 1.1	11.5 \pm 0.9	nd	nd
<i>Caragana sinica</i>	nd	nd	nd	nd
<i>Catalpa ovata</i>	12.2 \pm 1.6	nd	nd	nd
<i>Coix lacrymajobi</i>	nd	nd	nd	nd
<i>Cornus officinalis</i>	11.4 \pm 0.9	nd	nd	nd
<i>Diospyros kaki</i>	nd	nd	nd	nd
<i>Eucommia ulmoides</i>	nd	nd	nd	nd
<i>Houttuynia cordata</i>	nd	nd	nd	nd
<i>Hovenia dulcis</i>	nd	nd	nd	nd
<i>Ligusticum striatum</i>	nd	nd	nd	nd
<i>Lindera obtusiloba</i>	nd	nd	nd	nd
<i>Liriope muscari</i>	10.5 \pm 1.4	nd	nd	nd
<i>Lonicera japonica</i>	11.2 \pm 2.0	nd	nd	nd
<i>Lycium barbarum</i>	11.3 \pm 1.9	nd	nd	10.5 \pm 1.1
<i>Maclura tricuspidata</i>	nd	nd	nd	nd
<i>Mentha piperita</i>	nd	nd	nd	nd
<i>Paeonia lactiflora</i>	12.5 \pm 2.5	11.6 \pm 1.8	nd	nd
<i>Perilla frutescens</i>	nd	nd	nd	nd
<i>Plantago ovata</i>	nd	nd	nd	nd
<i>Rubus coreanus</i>	11.8 \pm 1.8	nd	nd	13.2 \pm 1.3
<i>Sambucus williamsii</i>	nd	nd	nd	nd
<i>Saururus chinensis</i>	nd	nd	nd	nd
<i>Schisandra chinensis</i>	13.5 \pm 1.6	nd	nd	nd
<i>Scutellaria baicalensis</i>	11.4 \pm 2.5	nd	nd	nd
<i>Selaginella involvens</i>	nd	nd	nd	nd
<i>Viscum album</i>	nd	nd	nd	nd
<i>Zizyphus jujuba</i>	16.4 \pm 1.2	nd	15.5 \pm 0.7	15.0 \pm 1.8

^{a)} Each sample was treated at 500 μ g/mL and each treatment contained three replications, ^{b)} Results were expressed as mean \pm standard error (SE), ^{c)} nd, not detected.

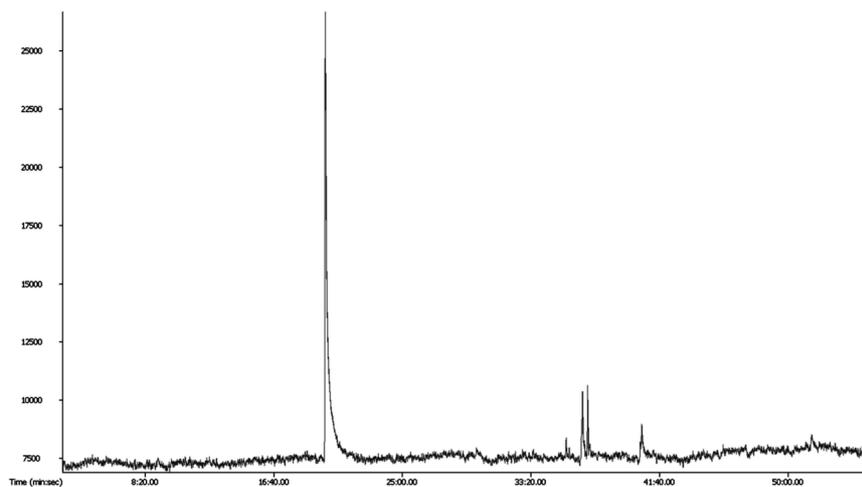
carotovorum subsp. *carotovora*), 세균성점무늬병균(*P. syringae* pv. *syringae*) 및 풋마름병균(*R. solanacearum*)에 대한 항균활성물질의 구명에 집중하였다.

대추(*Z. jujuba*) 주정추출물로부터 얻어진 분획물을 이용하여 역병균(*P. capsici*), 무름병균(*E. carotovorum* subsp. *carotovora*), 세균성점무늬병균(*P. syringae* pv. *syringae*)

Table 5. Antimicrobial activities of various fractions from *Z. jujuba* against plant pathogens^{a)}

Fractions	Inhibition zone (mm, mean \pm SE) ^{b)}			
	<i>P. capsici</i>	<i>E. carotovorum</i> subsp. <i>carotovora</i>	<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i>	<i>R. solanacearum</i>
Hexane fraction	15.5 \pm 0.8	16.5 \pm 0.9	15.6 \pm 1.3	15.5 \pm 1.5
Chloroform fraction	nd ^{c)}	nd	nd	nd
Ethyl acetate fraction	nd	nd	nd	nd
Butanol fraction	nd	nd	nd	nd
Distilled water fraction	nd	nd	nd	nd

^{a)} Each sample was treated at 500 μ g/mL and each treatment contained three replications, ^{b)} Results were expressed as mean \pm standard error (SE), ^{c)} nd, not detected.

Fig. 2. Chromatogram of *Z. jujuba* extract by GC-MS

및 풋마름병균(*R. solanacearum*)에 대한 항균활성을 조사한 결과(Table 5), 대추 hexane 분획물 500 μ g/mL의 농도에서 역병균(*P. capsici*)에 대해 15.5 mm, 무름병균(*E. carotovorum* subsp. *carotovora*)에 대해 16.5 mm, 세균성점무늬병균(*P. syringae* pv. *syringae*)에 대해 15.6 mm, 풋마름병균(*R. solanacearum*)에 대해 15.5 mm의 저지원을 나타냈다. 그러나 chloroform, ethyl acetate, butanol 및 distilled water 분획물에서는 저지원이 전혀 나타나지 않아 항균활성이 확인되지 않았다. 따라서 식물병원성 균에 대해 우수한 항균활성을 보인 대추 hexane 분획물로부터 항균활성물질을 규명하였다.

대추 hexane 분획물의 주성분 분석

항균활성이 가장 우수한 대추 hexane 분획물의 조성을 분석하기 위하여 GC/MS를 이용하였다(Fig. 2). 그 결과, 15종의 성분이 확인되었으며, 이 중 eugenol(40.45%), dodecanoic acid(18.40%), β -caryophyllene(10.05%), isoeugenol(9.85%) 등이 주성분으로 확인되었다(Table 6). Al-Reza 등 (2009)에 의하면 대추로부터 acid, alcohol, aldehyde, amide, terpene, ketone 등 다양한 성분을 분석하였고, 본 연구에서

도 acid, aldehyde, alcohol, terpene 등 15종의 성분이 확인되었다.

대추 hexane 분획물 주성분에 대한 항균활성

대추 hexane 분획물의 항균활성물질을 규명하기 위하여 13종 단일물질을 구입하였으며, 역병균(*P. capsici*), 무름병균(*E. carotovorum* subsp. *carotovora*), 세균성점무늬병균(*P. syringae* pv. *syringae*) 및 풋마름병균(*R. solanacearum*)에 대한 항균활성을 측정하였다(Table 7). Eugenol과 isoeugenol은 역병균(*P. capsici*), 무름병균(*E. carotovorum* subsp. *carotovora*), 세균성점무늬병균(*P. syringae* pv. *syringae*) 및 풋마름병균(*R. solanacearum*)에 대하여 저지환의 크기가 15 mm 이상으로 우수한 항균활성을 나타내었다. 역병균(*P. capsici*)과 무름병균(*E. carotovorum* subsp. *carotovora*)에 대하여 benzaldehyde는 저지환 크기가 12 mm 이상인 중간 억제효과를 보였으며, cinnamaldehyde는 12 mm 이하로 약한 항균활성을 나타냈다. 그러나 그 외 9종의 단일물질은 식물병원균에 대한 항균활성을 전혀 나타나지 않았다.

이전 연구에 따르면, eugenol은 목재부패진균(*Lenzites b*

Table 6. Chemical composition of volatile constituents from *Z. jujuba* by GC/MS analysis

RI ^{a)}	Compound	Mass spectra	% of RA ^{b)}
984	Hexanoic acid	27, 29, 41, 43, 45, 55, 60, 61, 73, 87, 116	0.68
1008	Benzaldehyde	39, 51, 50, 52, 74, 77, 78, 105, 107, 106	1.69
1264	Benzyl acetate	43, 65, 77, 79, 89, 90, 91, 107, 108, 150	3.37
1272	Octanoic acid	29, 41, 45, 55, 60, 73, 84, 85, 101, 144	0.12
1388	Cinnamaldehyde	50, 51, 52, 77, 78, 102, 104, 103, 131, 132	0.29
1397	Eugenol	55, 77, 91, 103, 104, 131, 137, 133, 149, 164	40.45
1412	Isoeugenol	55, 77, 91, 103, 104, 121, 131, 133, 149, 164	9.85
1418	β -Caryophyllene	41, 69, 77, 79, 91, 93, 105, 107, 120, 133, 204	10.05
1496	δ -Cadinene	41, 81, 91, 95, 105, 119, 133, 161, 189, 204	0.54
1580	Dodecanoic acid	29, 41, 43, 55, 57, 60, 71, 73, 85, 100, 129	18.40
1594	(-)-Caryophyllene oxide	41, 43, 55, 67, 69, 79, 81, 91, 93, 95, 220	2.30
1598	Hexadecanoic acid	29, 41, 43, 55, 57, 60, 61, 69, 71, 73, 256,	2.33
1667	α -Humulene	41, 43, 55, 67, 80, 91, 92, 93, 121, 147, 204	0.74
1706	Tetradecanoic acid	41, 43, 55, 57, 60, 69, 71, 73, 129, 185, 228,	1.77
2150	Linoleic acid	41, 54, 55, 67, 68, 69, 81, 82, 95, 96, 280,	0.35

^{a)} RI, Retention index was relative to *n*-alkanes C₈ to C₂₀ on DB-1 capillary column, ^{b)} RA, Relative amounts were the peak area relative to the total peak area.

Table 7. Antimicrobial activities of the volatile constituents from *Z. jujuba* identified by GC/MS^{a)}

Compounds	Inhibition zone (mm, mean \pm SE) ^{b)}			
	<i>P. capsici</i>	<i>E. carotovorum</i> subsp. <i>carotovora</i>	<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i>	<i>R. solanacearum</i>
Hexanoic acid	nd ^{c)}	nd	nd	nd
Benzaldehyde	13.5 \pm 1.8	12.8 \pm 1.2	nd	nd
Benzyl acetate	nd	nd	nd	nd
Octanoic acid	nd	nd	nd	nd
Cinnamaldehyde	11.4 \pm 2.5	10.5 \pm 1.3	nd	nd
Eugenol	20.5 \pm 1.4	18.5 \pm 1.1	20.4 \pm 0.8	19.5 \pm 1.2
Isoeugenol	18.2 \pm 1.2	15.5 \pm 1.4	16.5 \pm 0.9	15.4 \pm 2.0
β -Caryophyllene	nd	nd	nd	nd
Dodecanoic acid	nd	nd	nd	nd
(-)-Caryophyllene oxide	nd	nd	nd	nd
α -Humulene	nd	nd	nd	nd
Tetradecanoic acid	nd	nd	nd	nd
Linoleic acid	nd	nd	nd	nd

^{a)} Each sample was treated at 100 μ g/mL and each treatment contained three replications, ^{b)} Results were expressed as mean \pm standard error (SE), ^{c)} nd, not detected.

etulina 및 *Laetiporus sulphureus*)에 대하여 우수한 항균 활성(IC₅₀ = 36.9 μ g/mL 및 62.9 μ g/mL)이 있는 것으로 알려져 있다(Cheng *et al.*, 2008). 하지만 eugenol 및 isoeugenol의 역병균(*P. capsici*), 무름병균(*E. carotovorum* subsp. *carotovora*), 세균성점무늬병균(*P. syringae* pv. *syringae*) 및 풋마름병균(*R. solanacearum*)에 대한 항균활성결과는 아직 보고된바 없다.

균사생육억제효과

역병균(*P. capsici*)에 대하여 우수한 항균효과를 나타낸 대추(*Z. jujuba*) 주정추출물, eugenol 및 isoeugenol의 보다 정확한 항균활성의 농도를 알아보기 위해 균사생육억제실험을 수행하였다(Fig. 3). Eugenol을 25, 50, 100, 250과 500 μ g/mL 수준으로 처리할 때, 균사생장률이 61.2, 38.7, 16.5, 11.0과 5.8%로 나타났으며, isoeugenol은 25, 50, 100,

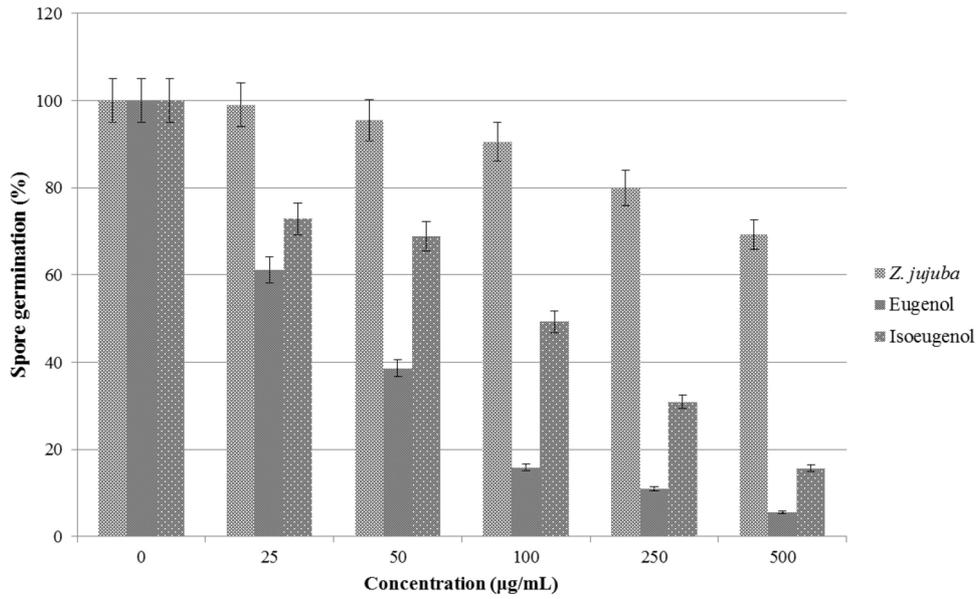


Fig. 3. Inhibitory activity of *Z. jujuba* extract, eugenol and isoegenol on spore germination of *P. capsici* KACC 40158.

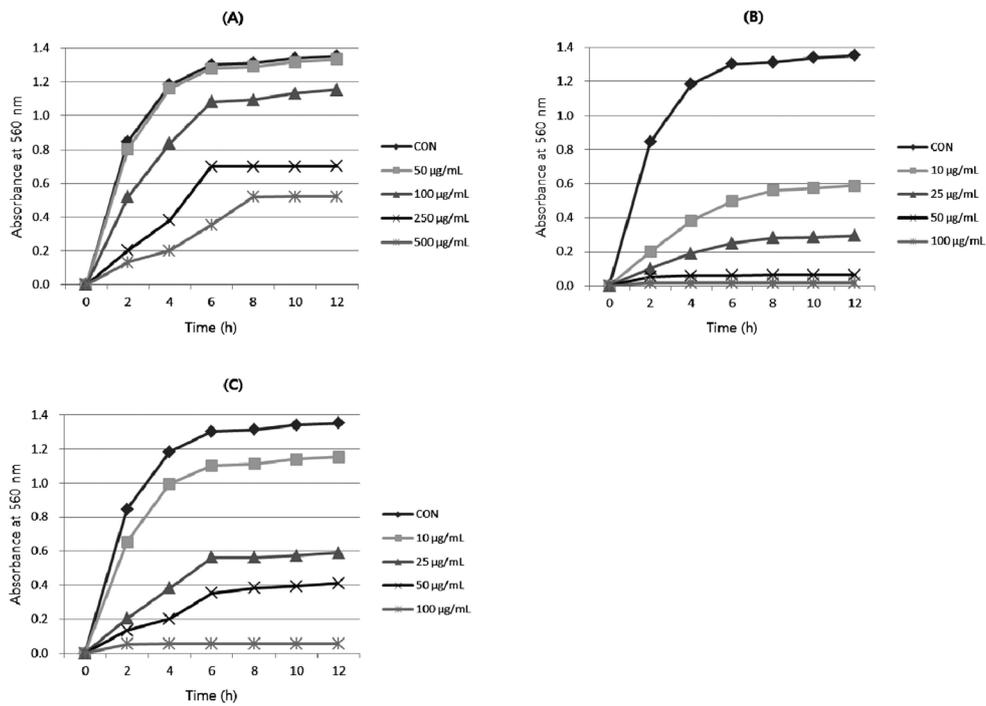


Fig. 4. Inhibitory activity of *Z. jujuba* extract, eugenol and isoegenol on the growth of *E. carotovorum* subsp. *carotovora* KACC 10225. (A) *Z. jujuba* extract, (B) eugenol, (C) isoegenol.

250과 500 µg/mL에서 73.5, 69.5, 49.5, 31.3과 15.5%이었으며, 대추(*Z. jujuba*) 주정추출물의 경우 25, 50, 100, 250과 500 µg/mL에서 99.5, 95.8, 90.1, 80.4와 69.5%였다. 따라서 대추(*Z. jujuba*) 주정추출물과 주성분인 eugenol과 isoegenol은 여러 농도에서 역병균(*P. capsici*)의 균사생육 억제효과를 보였으며, 특히 eugenol을 500 µg/mL 농도로 처리하였을 때 역병균(*P. capsici*)에 대해 가장 우수한 균사

생육억제효과를 나타냈다. 이를 통해 대추(*Z. jujuba*) 주정추출물 및 화합물들은 역병균(*P. capsici*)의 균사생육을 억제시킴으로써 살균력을 갖는다는 것으로 나타났다.

최소저해농도(MIC)

대추(*Z. jujuba*) 주정추출물, 분획물 및 주성분 중 우수한 항균력을 보인 대추(*Z. jujuba*) 주정추출물, eugenol과

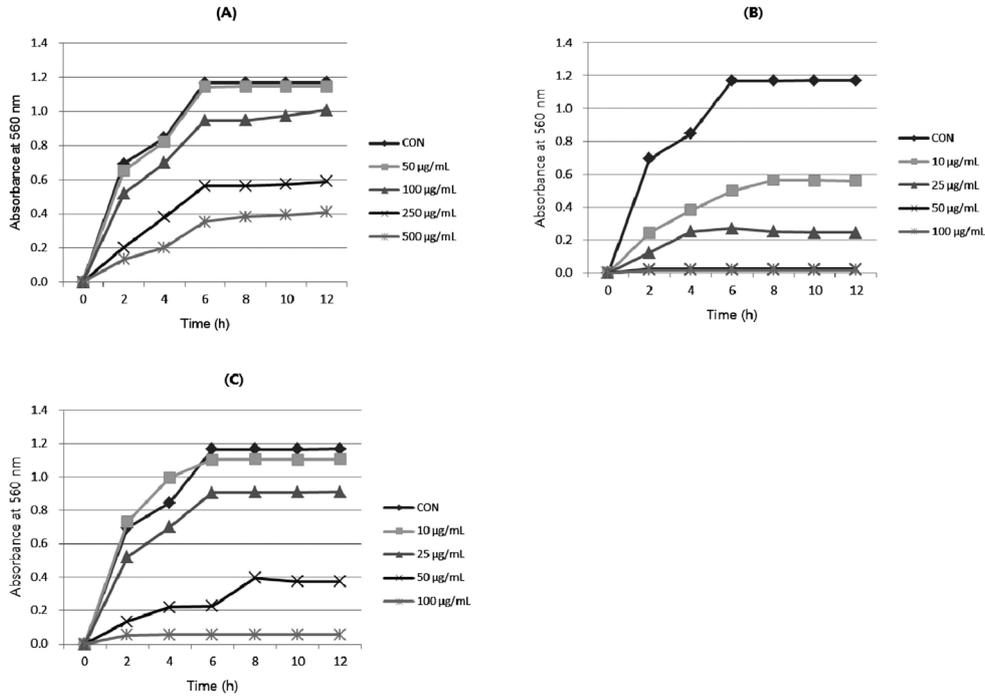


Fig. 5. Inhibitory activity of *Z. jujuba* extract, eugenol and isoeugenol on the growth of *P. syringae* pv. *syringae* KACC 18392. (A) *Z. jujuba* extract, (B) eugenol, (C) isoeugenol.

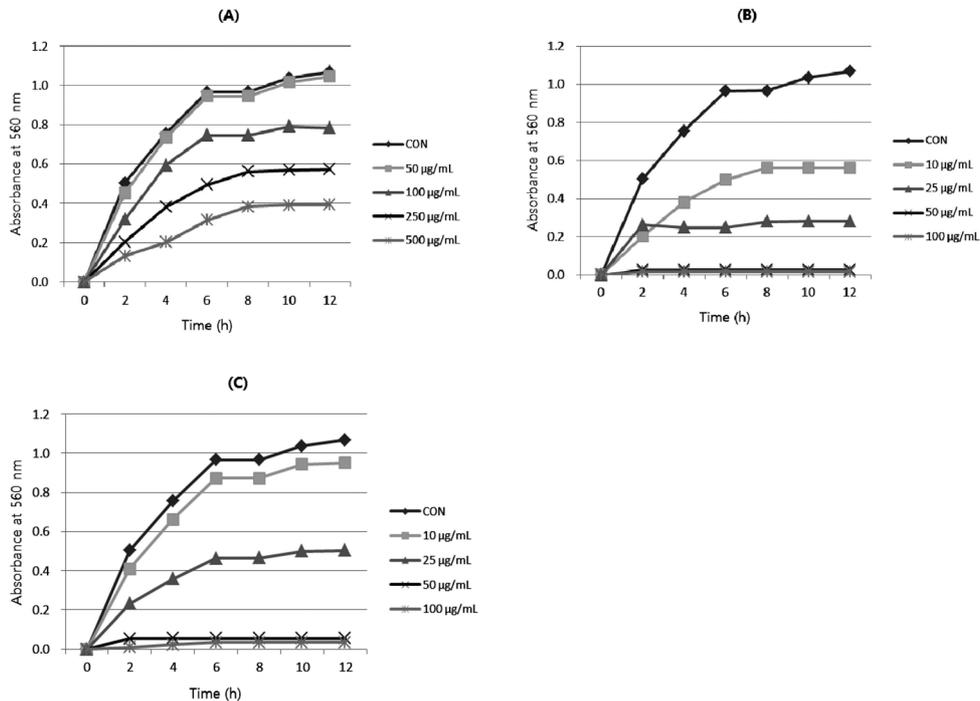


Fig. 6. Inhibitory activity of *Z. jujuba* extract, eugenol and isoeugenol on the growth of *R. solanacearum* KACC 10666. (A) *Z. jujuba* extract, (B) eugenol, (C) isoeugenol.

isoeugenol의 보다 정확한 항균활성 농도를 측정하기 위하여 무름병균(*E. carotovorum* subsp. *carotovora*), 세균성

점무늬병균(*P. syringae* pv. *syringae*) 및 풋마름병균(*R. solanacearum*) 각각의 균주에 대한 최소저해농도(MIC)를

측정하였다(Fig. 3-5). 무름병균(*E. carotovorum* subsp. *carotovora*)에 대해 MIC 측정 결과, eugenol은 50 µg/mL의 MIC 값을 나타내었고 isoeugenol은 100 µg/mL의 MIC 값을 나타냈다(Fig. 4). 세균성점무늬병균(*P. syringae* pv. *syringae*)에 대해서는 eugenol은 50 µg/mL의 MIC 값을 나타내었고 isoeugenol은 100 µg/mL의 MIC 값을 나타냈다(Fig. 5). 풋마름병균(*R. solanacearum*)에는 eugenol과 isoeugenol 모두 50 µg/mL의 MIC 값을 나타내었다(Fig. 6). 이상의 결과를 바탕으로 3종 식물병원성 세균에 대해 eugenol은 50 µg/mL의 MIC 값을 나타내었고 isoeugenol은 100 µg/mL의 MIC 값을 나타내어 isoeugenol 보다 eugenol에서 더 높은 항균활성을 확인하였다. 이상의 결과를 종합해보면, 대추(*Z. jujuba*) 주정추출물과 그 주성분인 eugenol 및 isoeugenol은 다양한 식물병원균 방제에 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

본 연구에서는 30종의 한약재 주정추출물을 대상으로 탄저병(*Colletotrichum acutatum*)의 8종의 식물병원균에 대한 살균효과 검정을 실시하였다. 그 결과, 대추(*Zizyphus jujuba*) 주정추출물 및 hexane 분획물이 역병균(*P. capsici*), 무름병균(*E. carotovorum* subsp. *carotovora*), 세균성점무늬병균(*P. syringae* pv. *syringae*) 및 풋마름병균(*R. solanacearum*)에 대하여 광범위하게 살균효과를 나타내었다. 대추(*Z. jujuba*) hexane 분획물의 주성분을 GC/MS로 분석한 결과, eugenol(40.45%), dodecanoic acid(18.40%), β -caryophyllene(10.05%) and isoeugenol(9.85%) 임을 확인하였다. 이 중 eugenol과 isoeugenol에서 저지환 크기가 15 mm 이상인 높은 살균활성을 나타내었다. 또한 역병균(*P. capsici*)에 대한 균사생육억제활성과 무름병균(*E. carotovorum* subsp. *carotovora*), 세균성점무늬병균(*P. syringae* pv. *syringae*) 및 풋마름병균(*R. solanacearum*)에 대한 낮은 MIC 값을 확인하였다. 이로 인해 대추(*Z. jujuba*) 주정추출물, eugenol 및 isoeugenol은 다양한 식물병원균 방제에 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

Acknowledgement

This study was carried out with the support of "Research Program for Agricultural Science & Technology Development (PJ010822)", National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Republic of Korea.

References

- Al-Reza, S. M., Bajpai, V. K., & Kang, S. C. (2009). Antioxidant and antilisterial effect of seed essential oil and organic extracts from *Zizyphus jujuba*. Food and Chemical Toxicology, 47(9), 2374-2380.
- Alzoreky, N. S., & Nakahara, K. (2003). Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. International Journal of Food Microbiology, 80(3), 223-230.
- Borde, V. U., Pawar, D. P., Shelar, S. R., & Apturkar, R. M. (2013). Antimicrobial activity of some medicinal plants. Science Research Reporter, 3(1), 33-37.
- Cheng, S. S., Liu, J. Y., Chang, E. H., & Chang, S. T. (2008). Antifungal activity of cinnamaldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi. Bioresource Technology, 99(11), 5145-5149.
- Choi, W. S., Kim, K. Y., Jang, D. Y., Um, D. Y., Kim, T. J., & Jung, B. J. (2006). Phytopathogenic activities of essential oils and their main compounds. The Korean Journal of Pesticide Science, 10(3), 201-209.
- Jeong, H. M., Kim, Y. S., Ahn, S. J., Auh, M. S., Ahn, J. B., & Kim, K. Y. (2011). Effects of *Zizyphus jujuba* var. *boeunensis* extracts on the growth of intestinal microflora and its antioxidant activities. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition, 40(4), 500-508.
- Kim, H. K., & Joo, K. J. (2005). Antioxidative capacity and total phenolic compounds of methanol extract from *Zizyphus jujuba*. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition, 34(6), 750-754.
- Lee, S. E., Park, B. S., Kim, M. K., Choi, W. S., Kim, H. T., Cho, K. Y., Lee, S. G., & Lee, H. S. (2001). Fungicidal activity of piperonaline, a piperidine alkaloid derived from long paper, *Piper longum* L., against phytopathogenic fungi. Crop Protection, 20(6), 523-528.
- Lee, S. M., Park, J. G., Lee, Y. H., Lee, C. G., Min, B. S., Kim, J. H., & Lee, H. K. (2004). Anti-complementary activity of triperpenoids from fruits of *Zizyphus jujuba*. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 27(11), 1883-1886.
- Mann, C. M., & Markham, J. L. (1998). A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. Journal of Applied Microbiology, 84(4), 538-544.
- Meziani, S., Oomah, B. D., Zaidi, F., Simon-Levert, A., Bertrand, C., & Zaidi-Yahiaoui, R. (2015). Antibacterial activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) extracts against phytopathogenic bacteria *Pectobacterium atrosepticum*. Microbial Pathogenesis, 78(1), 95-102.
- Ryu, S. Y., Kim, J. C., Kim, Y. S., Kim, H. T., Kim, S. K., Choi, G. J., Kim, J. S., Lee, S. W., Heor, J., & Cho, K. Y. (2001). Antifungal activities of coumarins isolated

- from *Angelica gigas* and *Angelica dahurica* against plant pathogenic fungi. The Korean Journal of Pesticide Science, 5(3), 26-35.
- Shin, S.W. (2002). Antifungal activities of herbal essential oils and combination effects with ketoconazole against *Candida* spp. Journal of the Pharmaceutical Society of Korea, 46(3), 203-207.
- Yu, M. H., Im, H. G., Lee, H. J., Ji, Y. J., & Lee, I. S., (2006). Components and their antioxidative activities of methanol extracts from sarcocarp and seed of *Zizyphus jujuba* var. inermis Rehder. Korean Journal Food Science and Technology, 38(1), 128-134.
- Yu, T. J. (1999) Food Dongeuibogam.. pp. 138-140, Academibook, Seoul, Korea.