

식물오일과 그 성분들의 살균활성

최원식* · 김관영 · 장도연 · 엄대용¹ · 김태준¹ · 정봉진¹

순천향대학교 자연과학대학 유전공학과, ¹동부기술원 농생명연구소

요약 : 43종의 식물오일들을 대상으로 잣빛곰팡이병균 (*Botrytis cinerea*) 외 9종의 식물병원균에 대한 살균 효과로 이들의 생리활성 검증을 실시하였다. 이 중 thyme 오일이 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*), 잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*), 고추역병균(*Phytophthora capsici*), 고추탄저병균(*Glomerella cingulate*), 사과점무늬낙엽병균(*Alternaria mali*)과 벼도열병균(*Magnaporthe grisea*)에서 광범위하게 살균효과를 나타내었다. Thyme 오일의 주성분을 GC/MS로 분석한 결과 thymol, carvacrol, borneol, linalool과 *p*-cymene임을 확인하였다. 이 중 thymol과 carvacrol이 높은 살균활성을 나타내었다. 한편, 식물병원균에 대한 살균활성관련 작용기작을 실험한 결과, 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*), 잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*)과 사과점무늬낙엽병균(*Alternaria mali*)의 포자발아를 억제하는 것으로 나타났다. Thymol과 carvacrol은 *in vivo*에서 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*)과 잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*)에 대하여 높은 예방효과를 나타내었으며, thymol, carvacrol의 유사구조를 갖는 alkylphenol계 화합물들도 살균활성이 있음을 검정하였다. (2006년 9월 3일 접수, 2006년 9월 20일 수리)

색인어 : 식물오일, Thyme 오일, Thymol, Carvacrol, 식물병원균, 살균활성

서 론

식물에서 얻어지는 정유성분은 오래전부터 인류생활에 많이 이용 되어왔으며, 근래에는 식물오일들이 지니는 독특한 향기를 이용하는 것 이외에도 기능성 식품, 화장품, 향기요법치료제나 환경개선용 방향제등으로 용도가 확대되고 있다(Choi 등, 2002; Park 등, 2005). 뿐만 아니라, 식물오일들을 구성하고 있는 성분들의 생리활성에 관한 연구들도 많이 진행되고 있다. 식물은 자기방어 물질로 2차 대사산물을 생산함으로써 식물에 발생하는 병충해에 대한 방어능력이 있다는 사실은 이미 잘 알려져 있다(Sylvestre, 1979; Ayer 등, 1996; 윤과 Chiang, 2002; Park 등, 2002).

농약은 농업생산성 향상을 위해 병, 해충, 잡초들을 제거할 목적으로 사용되었으며, 주로 유기합성 농약이 이러한 목적으로 이용 되었다. 그 결과 식량증산과 보건 향상에는 많은 기여를 하였으나, 천적, 유용미생물, 곤충의 멸종, 어류등에 대한 악영향, 사람과 동물에 대한 독성, 토양이나 식품 등에 대한 잔류 및 환경오염 문제 등의 부작용이 점차 심각해지고 있다(Heling 등, 1971; Brown, 1978; Hurele, 1991).

이러한 문제점들을 해결하기 위하여 신농약의 개발

은 좀 더 친환경적인 제품을 요구하고 있다. 따라서 현재는 기존 농약들의 단점들을 보완하기 위해 저독성 화학농약, 천연물이나 미생물로부터 유래된 친환경농약들의 연구가 활발히 진행되고 있다(Agrios, 1997; Muller, 1998; Lee 등, 2004). 이들 친환경농약들은 미생물자체 또는 대사산물로부터 개발된 미생물농약, 페르몬이나 식물호르몬을 이용한 식물생장 조절물질, 천연물을 이용한 천연물농약이나 천적을 이용하는 경우가 대표적인 예이다(Lee 등, 2001a; Lee 등, 2001b).

본 연구에서는 천연물을 이용한 새로운 살균제를 개발하기 위하여 여러 식물 정유성분들에 대하여 살균활성을 조사하였다. 활성이 우수한 식물오일의 주성분을 분석하고 이들 주성분들의 살균활성 검정을 실시하여 천연물유래 살균제 개발 가능성을 제공하기 위해 기초연구를 실시하였다.

재료 및 방법

시험균주

본 실험에 사용한 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*) 외 9종의 식물병원균주 들은 한국농용미생물보존센터(Korean Agricultural Culture Collection, KACC)에서 분

*연락저자

양받아 사용하였다.

시약 및 기기

실험에 사용된 식물오일들은 The oil garden (Australia) 또는 Aromaforce 사(Canada)의 제품을 사용하였고, thymol, carvacrol, alkylphenol과 alkylaniline계 화합물들(Aldrich, USA)은 구입하여 사용하였다. 또한, 분석은 GC/MS를 사용 하였고 Shimazu사의 GCMS-QP5050A(Japan)제품을 사용하였다.

식물오일들의 살균활성실험

43종의 식물오일들에 대한 살균 활성 실험을 위하여 먼저 PDA(potato dextrose agar)를 증류수에 용해하고 고압멸균(12°C, 15분)한 후 배지의 온도를 50°C가 되도록 식히고, DMSO(dimethyl sulfoxide)에 녹인 식물 오일을 배지와 혼합하여 최종농도가 1000 µg mL⁻¹가 되도록 한 후, 펠트리디쉬에 20 mL 분주하여 PDA 혼합배지를 제조하였다. 그 후 식물병원균의 접종과 배양은 식물병원균을 배지 중앙에 균주 생장부위가 배지면과 맞닿도록 지름 5 mm의 agar disc를 접종하여 암실조건(25°C, 습도 75%)에서 병원균에 따라 5-12일 간 배양 하였다. 살균활성실험은 배양된 무처리군의 균사생장지름이 80(±5) mm가 될 때까지 배양한 후 균사생장지름을 측정하였으며 모든 실험은 3반복 실험하여 평균값을 결과값으로 정하였다. 균사생장억제율은 다음과 같은 식에 의하여 산출하였다(신, 2002).

$$\text{균사생장 억제율(\%)} = \frac{(\text{무처리군의 균사생장지름} - \text{처리군의 균사생장지름})}{\text{처리군 균사생장지름}} \times 100$$

활성을 나타낸 thyme(*Thymus vulgaris*), clove bud (*Eugenia aromaticum*), rose geranium(*Pelargonium roseum*)과 sassafras(*Sassafras albidum*)오일들은 500 µg mL⁻¹로 제조된 PDA 혼합배지를 사용하여 살균활성을 재검정 하였다. 또한, 활성이 가장 우수한 thyme 오일의 주성분인 thymol, carvacrol, borneol, *p*-cymene과 linalool들의 최적 살균활성 농도를 검증하기 위해 250과 100 µg mL⁻¹로 혼합한 PDA배지를 제조하여 실험하였으며, thymol과 carvacrol의 유사구조를 갖는 alkylphenol 화합물들과 alkylaniline계 화합물들은 250 µg mL⁻¹로 제조된 PDA 혼합배지를 사용하여 동일 방법으로 살균활성을 측정하였다. 모든 실험은 3반복하여 평균값을 결과값으로 정하였다.

Thyme 오일의 주성분 분석실험

생리활성이 가장 우수한 thyme 오일의 주성분을 분석하기 위해 GC/MS를 사용하였으며 분석방법은 표 1에 요약하였다(Adams, 1995).

Table 1. Analytical condition of GC/MS

Instrument	GC/MS Shimazu QP-5050
Column	CBP1-M25-025
Carrier gas	Helium gas
Flow rate	2.2 mL min ⁻¹
Injection volumm	1 µL
Ingection temperature	250°C
Oven temperature	start at 60°C increase 10°C min ⁻¹ at 60°C increase 10°C min ⁻¹ at 270°C
Terminal auxl temperature	60°C
Total running time	21 min
Dectector voltage	1.2 mV
Library	NIST / Shimadzu Co.

포자발아율 측정 실험

Thymol과 carvacrol의 포자형성에 대한 억제효과를 관찰하기 위해 약제혼합배지를 제조한 후 포자를 도말하여 포자발아율을 측정하였다. 약제혼합배지는 thymol과 carvacrol의 농도를 50, 100과 250 µg mL⁻¹로 희석하여 살균활성을 측정하였다. 계대배양한 식물병원균에서 포자를 멸균수로 분리하여 hemocytometer를 이용하여 1.0×10⁵ unit mL⁻¹씩 포자현탁액을 제조하고 약제 혼합배지에 100 µL씩 도말하였다. 배양은 25°C, 습도 75%에서 광 15 시간 조건으로 배양한 다음 냉장실(4°C)에 보관하며 광학현미경(×1000)으로 포자발아율을 측정하였다. 총 포자수중 발아관의 길이가 포자장경의 1/2 이상인 것을 발아한 것으로 간주하였다.(Hong and Hwang, 1998).

Thymol 과 carvacrol에 대한 *in vivo*. 실험

벼의 잎집무늬마름병 실험

Thymol과 carvacrol이 잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*)에 대하여 우수한 효과를 나타내므로 벼(품종 : 일품)를 파종 후 본엽이 3~4엽기의 25~30 cm 정도로 성장한 벼를 사용하였다.

접종원 준비는 PDA배지에서 28°C에서 2일간 배양한 균사체(*Rhizoctonia solani*) 6 mm 절편을 떼어내어 121°C에서 30분씩 2회 멸균된 밀기울(wheat bran medium : wheat bran 200 g, 왕겨 100 g, 증류수 100 mL)배지에 접종하고 27°C 항온기에서 암상태로 7일

간 배양하였다. 시험약제는 thymol과 carvacrol 50 μL 를 아세톤 2 mL에 녹인 뒤 이를 증류수 100 mL에 희석하여 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 로 제조하여 사용하였으며 식물 배양실 조건은 36°C, 광 12 시간, 암 12시간, 습도 70%에서 실험하였다.

예방효과실험은 음지에서 대상식물에 시험약제를 25 mL 분무하고 음지에서 건조시킨 다음 식물 배양실 내에서 24시간 배양하였다. 접종원은 풋트당 5 mL 씩을 관주하여 28°C 습실상에서 48시간 동안 발병을 유도한 후, 발병지로부터 병반의 발생높이를 측정하였다. 치료효과실험은 예방효과실험에서의 시험약제와 병원균의 접종순서를 바꾸어 실시하였으며, 무처리 군의 병반 발생이 이루어질 때까지 배양하고 발병시기로부터 48시간 후 병 발생 시작 부분으로부터 병 발생 높이를 측정하였다.

오이의 잣빛곰팡이병 실험

오이(품종 : 백다다기)에서 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*)에 대한 살균활성실험은 과종 후, 본엽이 2엽기의 신장 10~15 cm 정도로 성장하였을 때 실시하였다. 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*)의 포자현탁액 준비와 시험약제는 thymol과 carvacrol을 사용하였으며, 잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*) 실험과 동일한 방법으로 시험약제와 병원균을 제조하였다. 시험약제와 병원균을 잎집무늬마름병균 (*Rhizoctonia solani*) 실험과 동일하게 분무하고 암조건에서 온도 20°C, 습도 90%에서 배양하였으며 무처리군의 병반면적율이 90% 이상일 경우 병반면적율을 측정하였다.

결과 및 고찰

식물오일들의 살균활성

43종의 식물오일들의 식물병원균에 대한 살균활성 결과 thyme, clove bud, rose geranium과 sassfras 오일이 우수한 효과를 나타내었다. Clove bud 오일은 고추역병균(*Phytophthora capsici*)와 5종의 식물병원균에 살균활성을 보였으며, thyme 오일은 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*), 잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*), 사과점무늬낙엽병균(*Alternaria mali*), 고추역병균(*Phytophthora capsici*), 고추탄저병균(*Glomerella cingulate*), 벼도열병균(*Magnaporthe grisea*)과 푸른곰팡이병균(*Trichoderma virens*)에 비교적 높은 활성이 보였으며 그 외 2종의 식물병원균에서도 살균활성을 나타내었다. Rose geranium 오일은 사과점무늬낙엽병균(*Alternaria*

mali)과 오이탄저병균(*Colletorichum orbiculare*) 외 5종의 식물병원균에서 Sassfras 오일은 사과점무늬낙엽병균(*Alternaria mali*) 외 6종의 식물병원균에 대하여 살균활성을 나타내었다(표 2).

식물병원균에 대해 광범위하며 우수한 살균활성효과를 보인 4종의 식물오일인 clove bud, thyme, rose geranium과 sassfras 오일을 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 에서 생리활성을 측정하였다. 표 3에서 보는바와 같이 clove bud, rose geranium과 sassfras 오일보다 thyme 오일은 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*), 잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*), 사과점무늬낙엽병균(*Alternaria mali*), 고추역병균(*Phytophthora capsici*), 고추탄저병균(*Glomerella cingulate*)과 푸른곰팡이균 (*Trichoderma virens*) 등 여러 식물병원균에서 광범위하게 생리활성을 나타내었다. 따라서 본 연구에서는 thyme 오일성분들의 살균활성을 세부적으로 실시하였다.

Thyme 오일의 주요성분 분석

살균활성이 가장 우수한 thyme 오일의 성분을 분석하기 위하여 GC/MS를 이용하였다. GC/MS에서 gas chromatogram으로 확인한 결과 retention time이 3.3, 4.4, 5.4, 8.2와 8.4분에서 주요 peak가 나타나므로 이 식물오일의 주요화합물은 5가지로 구성되어 있음을 확인하였다. 각 peak 들에 대한 mass spectrum으로부터 분자량과 분자조각들의 peak를 확인하여 각 성분들의 구조를 조사하였다. Gas chromatogram에서 8.2분에서 나타나는 peak의 mass spectrum 분석결과 분자량(M^+)이 150이며 base peak의 전하량은 135이며 117, 107, 91, 77과 65의 특징적인 분자조각을 확인함으로써 thymol임을 확인하였다. 또한 8.4분의 carvacrol, 5.4분의 linalool, 4.4분의 p-cymene과 3.3분의 chromatogram은 borneol임을 확인하였다. 확인방법은 GC/MS 소프트웨어 NIST(registry of spectra mass data)에 의해 mass-spectrum이 각각 peak의 물질과 일치하였으므로 thyme 오일의 조성물을 알 수 있었다.

Thyme 오일의 주요성분에 대한 생리활성효과

Thyme 오일 주성분들의 식물병원균에 대한 생리활성 측정결과는 표 4와 5에 나타내었다. 표 4와 같이 thymol과 carvacrol은 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 에서 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*), 잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*)과 사과점무늬낙엽병균(*Alternaria mali*)에 대하여 우수한 살균활성을 나타내었다. 하지만 borneol, linalool 및 p-cymene의 경우에는 낮은 살균력을 나타내었다.

Table 2. Antifungal activities of 43 different kinds of essential oil at 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ dissolved in DMSO

Essential oil	Inhibition (%) ^{a)}									
	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Phytophthora capsici</i>	<i>Pythium ultimum</i>	<i>Phytophthora infestans</i>	<i>Glomerella cingulate</i>	<i>Alternaria mali</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Colletotrichum orbiculare</i>	<i>Magnaporthe grisea</i>	<i>Trichoderma virens</i>
Aniseed	-	-	-	-	31	16	-	-	-	-
Arnica flower	-	-	-	-	-	-	-	20	-	-
Citronella leaf	-	-	-	-	25	-	-	-	-	-
Clove bud	25	33	-	-	25	25	30	26	-	26
Eucalyptus leaf	-	-	-	-	11	15	-	-	-	-
Fennel seed	-	-	-	-	14	13	-	-	-	-
Frankincense stem	-	12	-	-	-	-	13	-	-	10
Grapefruit peel	10	-	-	-	12	-	-	15	-	-
Hypericum herb	-	10	-	-	-	-	-	-	-	10
Juniper beery fruit	-	-	-	-	12	-	-	-	20	-
Lavender leaf	-	12	20	20	10	-	25	-	-	-
Myrrh	-	15	15	15	-	-	-	-	-	-
Patchouli leaf	-	12	20	20	10	-	-	-	-	-
Petitgram amara	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rosemary leaf	-	15	-	-	13	-	-	25	-	-
Tea tree	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Thyme	43	35	-	-	40	26	41	25	40	34
Ylang Ylang	-	13	-	-	10	-	-	25	-	-
Sweet orange	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Jojoba	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Avocado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Almond oil	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Apricot kernel oil	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Paumarco Ext.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sage	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
White willow bark	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wild indigo root	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wild yam	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Yucca root	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Neem	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rose geranium	-	27	12	-	28	24	37	33	17	-
Turmeric	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Galangal	20	-	-	-	11	-	-	-	10	10
Sandal wood	-	-	-	-	10	-	-	25	-	-
Dongquai	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ravensara	-	-	-	-	15	-	-	-	-	-
Anise star	20	-	-	-	11	-	-	-	-	10
Mandarin orange	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Black piper	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Petitgrain	20	-	-	-	11	-	-	-	-	10
Sassfras	15	23	-	-	15	24	35	23	21	-
Thuja	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nutmeg	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

^{a)} p<0.05

- : none effective, 1-15 : low effective, 16-25 : moderate effective, 26< : high effective

표 5는 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 에서 thyme 오일과 그 주성분들의 살균활성을 조사한 결과로 thymol 및 carvacrol은 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*), 잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*), 사과점무늬낙엽병균(*Alternaria mali*)에서 우수한 활성을 나타내었다.

이와 같이 thymol과 carvacrol이 광범위하게 살균활성을 나타내었기에 이들 화합물의 살균활성 작용기작과 작용에 대한 *in vivo* 살균활성 실험을 실시하였다.

Thymol과 carvacrol의 포자발아억제 실험효과

Table 3. Antifungal activities of four antifungal essential oils at 500 µg mL⁻¹ dissolved in DMSO

Essential oil	Inhibition (%) ^{a)}									
	<i>Alternaria mail</i>	<i>Rizoctonia solani</i>	<i>Phytophthora capsici</i>	<i>Pythium ultimum</i>	<i>Phytophthora infestans</i>	<i>Glomerella cingulate</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Colletotrichum orbiculare</i>	<i>Magnaporthe grisea</i>	<i>Trichoderma virens</i>
Clove bud	18.0	-	17.0	-	-	10.2	3.2	5.2	-	7.3
Thyme	22.5	26.3	26.4	-	-	23.5	28.4	8.3	26.7	16.2
Rose geranium	17.3	-	14.3	-	-	5.3	-	11.8	2.4	-
Sassafras	18.4	-	11.3	-	-	-	2.3	6.4	9.3	-

^{a)} p<0.05

- : none effective, 1-15 : low effective, 16-25 : moderate effective, 26< : high effective

Table 4. Antifungal activities of thyme oil and their main components at 250 µg mL⁻¹ dissolved in DMSO

Essential oil	Inhibition (%) ^{a)}					
	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Rizoctonia solani</i>	<i>Alternaria mail</i>	<i>Phytophthora capsici</i>	<i>Magnaporthe grisea</i>	<i>Trichoderma virens</i>
Untreatment	-	-	-	-	-	-
Thyme oil	13.2	-	11.3	13.2	13.6	8.1
Thymol	48.2	46.3	34.6	29.5	27.0	17.6
Carvacrol	43.5	42.1	33.8	28.7	27.3	16.4
<i>p</i> -Cymene	3.2	0	22.5	-	22.4	-
Borneol	11.3	-	15.3	13.2	18.8	18.3
Linalool	8.4	-	21.5	-	35.1	-

^{a)} p<0.05

- : none effective, 1-15 : low effective, 15-30 : moderate effective, 31< : high effective

Table 5. Antifungal activities of thyme oil and their main components at 100 µg mL⁻¹ dissolved in DMSO

Compounds	Inhibition (%) ^{a)}					
	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Rizoctonia solani</i>	<i>Alternaria mail</i>	<i>Phytophthora capsici</i>	<i>Magnaporthe grisea</i>	<i>Trichoderma virens</i>
Untreatment	-	-	-	-	-	-
Thyme oil	5.3	-	4.5	5.3	5.4	3.2
Thymol	20.8	21.3	13.8	11.8	10.3	7.0
Carvacrol	20.9	22.5	13.5	11.5	10.2	6.6
<i>p</i> -Cymene	1.3	-	9.0	-	13.0	-
Borneol	4.5	-	8.7	5.2	7.5	5.3
Linalool	3.4	-	8.6	-	11.3	-

^{a)} p<0.05

- : none effective, 1-10 : low effective, 11-20 : moderate effective, 21< : high effective

Thymol과 carvacrol이 식물병원균에 대하여 우수한 살균력을 나타내므로 이들 화합물들의 식물병원균에 대한 작용기작을 알아보기 위해 포자발아억제 실험을 수행하였다.

표 6과 같이 사과점무늬낙엽병균(*Alternaria mali*)에서 thymol의 농도가 50, 100과 250 µg mL⁻¹에서 포자발아율이 68.1, 33.9와 2.0%로 나타났으며, carvacrol은 50, 100과 250 µg mL⁻¹에서 63.5, 31.6과 0.5%였다. 따라서 사과점무늬낙엽병균(*Alternaria mali*)에서는 250 µg

mL⁻¹에서 우수한 포자발아억제율이 높게 나타남을 확인하였다. 또한, 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*)에서도 thymol의 농도가 50, 100과 250 µg mL⁻¹에서 포자발아율이 1.5, 1.0와 0.3%로 나타났으며, carvacrol은 50, 100과 250 µg mL⁻¹에서 13.0, 4.4와 0.5%로 나타났다. 잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*)에 대하여 무처리군과 비교하여 thymol의 농도가 50, 100과 250 µg mL⁻¹에서 포자발아율이 28.5, 12.0, 1.2%로 나타났으며, carvacrol은 50, 100과 250 µg mL⁻¹에서 23.0, 14.4,

Table 6. Spore germination assay on *Alternaria mail* and *Botrytis cinerea* with thymol and carvacrol

Pathogen	Germination rate (%)						
	Untreatment	Thymol ($\mu\text{g mL}^{-1}$)			Carvacrol ($\mu\text{g mL}^{-1}$)		
		50 ^{a)}	100 ^{a)}	250 ^{a)}	50 ^{a)}	100 ^{a)}	250 ^{a)}
<i>Alternaria mail</i>	99.5	68.1	33.9	2.0	63.5	31.6	0.5
<i>Botrytis cinerea</i>	92.8	1.5	1.0	0.3	13.0	4.4	0.5
<i>Rhizoctonia solani</i>	93.8	28.5	12.0	1.2	23.0	14.4	0.8

^{a)} p<0.01

1-15 : high effective, 16-35 : moderate effective, 36< : low effective

Table 7. Curative and preventive effect of thymol and carvacrol on *Botrytis cinerea* in Cucumber

Compounds	Infested dimentions (%)	
	Curative effect ^{a)b)}	Preventive effect ^{a)b)}
Untreatment	93.3±2.7	98.3±0.4
Thymol	10.0±2.3	66.0±3.1
Carvacrol	22.3±1.1	73.3±4.4

^{a)} p<0.05, ^{b)} p<0.01,

1-15 : high effective, 16-35 : moderate effective, 36< : low effective

Table 8. Curative and preventive effect of thymol and carvacrol on *Rhizoctonia solani* in rice

Compounds	Infested dimentions (%)	
	Curative effect ^{a)b)}	Preventive effect ^{a)b)}
Untreatment	9.4±1.4	9.2±1.8
Thymol	6.3±2.1	8.2±0.6
Carvacrol	6.1±2.2	8.3±0.4

^{a)} p<0.05 ^{b)} p<0.01

1-4 : high effective, 5-8 : moderate effective, 9< : low effective

0.8%로 나타났다.

그러므로, thymol과 carvacrol은 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*)과 잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*)에 대해 여러 농도에서 식물병원균의 포자발아억제력을 갖고 있으며 이들 화합물들은 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*)과 잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*)의 포자의 발아를 억제시킴으로서 살균력을 갖고 있는 것으로 나타났다. 그러므로 이 두 화합물에 대한 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*)과 잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*)의 *in vivo* 실험을 실시하였다.

Thymol과 carvacrol의 *in vivo* 살균활성

살균활성실험과 포자발아실험 결과 thymol과 carvacrol이 식물병원균에 대하여 우수한 살균활성효과를 나타냈기에 작물에 대한 적용실험을 실시하였다.

표 7은 오이작물에서 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*)에

대한 예방효과와 치료효과를 검정한 것으로 예방효과가 실험에서 thymol 10.0%와 carvacrol은 22.3%로 thymol이 더 좋은 예방효과를 나타내었다. 또한 치료효과에서는 thymol과 carvacrol이 66.0%와 73.3%로 낮은 활성을 보였다. 이들 화합물들은 잣빛곰팡이 병균(*Botrytis cinerea*)에 대해 예방효과가 더 우수함을 알았다.

표 8은 thymol과 carvacrol의 벼에 대한 잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*)의 예방효과와 치료효과를 실험한 결과로 예방효과가 더 우수함을 나타내었다.

이와 같이 thymol과 carvacrol은 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*)과 잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*)에 대한 살균활성은 예방효과에 의해 나타남을 알았다.

Alkylphenol 유도체들의 살균활성

이상의 실험 결과 thymol과 carvacrol이 우수한 생리활성을 나타내므로 이 화합물들과 유사한 구조를 갖

Table 9. Antifungal activities of alkylphenol compounds at 250 µg mL⁻¹ dissolved in DMSO

Compounds	Inhibition (%) ^{a)}					
	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Rizoctonia solani</i>	<i>Alternaria mail</i>	<i>Phytophthora infestans</i>	<i>Magnaporthe grisea</i>	<i>Trichoderma virens</i>
Untreatment	-	-	-	-	-	-
Thymol	48.2	46.3	34.6	32.4	27.0	17.6
carvacrol	43.5	42.1	33.8	31.5	27.3	16.4
2-Isopropylphenol	28.5	32.4	41.1	27.5	-	-
3-Isopropylphenol	46.8	29.6	33.6	23.8	26.2	17.1
4-Isopropylphenol	40.7	27.6	30.8	29.6	-	-
2-tert-butyl-5-methylphenol	31.9	14.5	24.8	24.8	20.0	12.0
2,5-Dimethylphenol	23.4	22.8	16.8	12.3	13.1	8.5
<i>m</i> -Cresol	22.3	33.2	17.3	16.5	14.0	8.4
5-Isopropyl-3-methylphenol	35.4	19.4	40.0	29.4	9.4	-
4-Isopropyl-3-methylphenol	30.2	23.5	34.1	33.8	8.2	-

^{a)} p<0.05

- : none effective, 1-15 : low effective, 15-30 : moderate effective, 31< : high effective

Table 10. Antifungal activities of alkylaniline compounds at 250 µg mL⁻¹ dissolved in DMSO

Compounds	Inhibition (%)					
	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Rizoctonia solani</i>	<i>Alternaria mail</i>	<i>Phytophthora infestans</i>	<i>Magnaporthe grisea</i>	<i>Trichoderma virens</i>
Untreatment	-	-	-	-	-	-
Thymol	48.2	46.3	34.6	32.4	27.0	17.6
carvacrol	43.5	42.1	33.8	31.5	27.3	16.4
2-Isopropyl-6-aniline	17.6	5.3	17.3	19.1	18.3	4.7
2-Isopropylaniline	17.1	5.4	18.3	18.1	21.4	-
4-Isopropylaniline	21.8	5.8	16.8	17.5	20.4	7.1

^{a)} p<0.05

- : none effective, 1-15 : low effective, 15-30 : moderate effective, 31< : high effective

는 alkylphenol 화합물들인 2-tert-butyl-5-methylphenol, 2,5-dimethylphenol, *m*-cresol, 2-isopropylphenol, 3-isopropylphenol, 4-isopropylphenol, 4-isopropyl-3-methylphenol 및 5-isopropyl-3-methylphenol과 alkylaniline계 화합물인 2-isopropylaniline, 4-isopropylaniline 및 2-isopropyl-6-methylaniline에 대하여 250 µg mL⁻¹농도에서 살균활성 실험을 하였다.

표 9는 thymol과 carvacrol의 유사구조인 4-isopropyl-3-methylphenol등 8종의 alkylphenol 화합물들의 살균활성을 나타낸 것이다. 표 9에서 보는바와 같이 alkylphenol 화합물들은 thymol이나 carvacrol과 유사하거나

조금 낮은 살균활성을 나타내었다.

표 10은 thymol과 carvacrol 구조의 hydroxy기 대신 amine기를 갖는 alkylaniline 화합물들의 균사생장억제 결과를 나타낸 것으로 alkylphenol 화합물보다 조금 낮은 균사생장억제 활성을 보였다. 구조적으로 alkylbenzene에 hydroxy기를 갖는 alkylphenol 화합물들이 amine기가 포함된 alkylaniline 화합물들보다 우수한 균사생장억제 효과가 있음을 확인하였다. 이와 같이 thyme 오일이나 그 주성분인 thymol과 carvacrol의 *in vitro* 살균활성, 포자발아억제 활성 및 *in vivo* 살균활성실험 등을 실시한 결과 비교적 우수한 살균활성을

나타내었다. 앞으로 이들 화합물에 대한 여러 안정성 실험을 거쳐 저독성 천연물 농약으로 사용이 가능할 것으로 사료되며, thymol, carvacrol과 4-isopropyl-3-methylphenol등 alkylphenol 화합물을 선도물질로 하여 새로운 살균제 농약을 개발할 수 있을 것으로 기대된다.

인용문헌

- Adams, R. P. (1995) In Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Allured Publishing. Carol Stream, IL.
- Agrios, G. N. (1997) Significance of plant disease. In plant pathology, 4th. Ed., Academic Press, San Diego, pp.25~37.
- Ayer W. A., D. J. Muir and P. Chakravarty (1996) Phenolic and other metabolites of *Phellinus pini*, a fungus pathogenic to pine. *Phytochem.* 42(5):1321.
- Brown, A. W. (1978) A Ecology of Pesticides. John Wiley & Sons.
- Choi, W. S., B. S. Park, S. K. Ku, S. E. Lee (2002) Repellent activities of essential oils and monoterpenes against *Culex pipiens pallens*. *Journal of the American Mosquito Control Association* 18(4):348~351.
- Heling, G. S., P. C. Kearney and M. Alexan (1971) Behavior of pesticides in soils. *Acva. Agron.* 23:147~240.
- Hong, H. K. and B. K. Hwang (1998) Influence of inoculum density, wetness duration, plant age, inoculation method, and cultivar resistance on infection of pepper plants by *Colletotrichum coccodes*. *Plant Dis.* 82:1079~1083.
- Hurele, K. (1991) Do soil suffer from pesticide? In *Pesticide Chemistry : IUPAC.*, ed., Freshe, H., VCH, Verlagsgellschaft, mb, H. Weinheion, pp.319~327.
- Lee, B. H., C. P. Annis, F. Tumaalii, W. S. Choi (2004) Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insects. *J. Stored Products Research* 40:553~564.
- Lee, S. E., B. S. Park, M. K. Kim, W. S. Choi, H. T. Kim, K. Y. Cho, S. G. Lee, H. S. Lee (2001a) Fungicidal activity of piperonaline, a piperidine alkaloid derived from long paper, *Piper longum* L., against phytopathogenic fungi. *Crop Protection* 20:523~528.
- Lee, B. H., W. S. Choi, S. E. Lee, B. S. Park (2001b) Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Crop Protection* 20:317~320.
- Muller, P. (1998) Effects of pesticides of fauua and flora in pesticide. In *Food and Environmental Implications*, IAEA., Vienna, pp.11~27.
- Park, B. S., S. E. Lee, W. S. Choi, C. Y. Jeong, C. Song, K. Y. Cho (2002) Insecticidal and acaricidal activity of piperonaline and piperoctadecalidine derived from dried fruits of *Piper longum* L. *Crop Protection* 21:249~251.
- Park, B. S., W. S. Choi, J. H. Kim, K. H. Kim, S. E. Lee (2005) Monoterpenes from Thyme (*Thumus vulgaris*) as potential mosquito repellents. *J. Amer. Mosquito Control Association* 21(1):80~83.
- Sylvestre, G. S. and J. M., Fovrnier, (1979) Effects of pesticede on the microflora. *Advan. Agron.* 31:1~18.
- 신승원 (2002) 수종허브 정유의 *Candida*속 진균에 대한 억제 활성 및 Ketoconazole과의 병용효과. *대한 약학회지* 46(3):203~207.
- 윤경은, M. H. Chiang (2002) Herbs and Aromathera. *한국식물 · 인간 · 환경학회지* 5(4):1~6.

Phytopathogenic Activities of Essential Oils and Their Main Compounds

Won-sik Choi*, Kwan-Young Kim, Do-Yeon Jang, ¹Dae-Yong Um, ¹Bong-Jin Jung, ¹Tae-Jun Kim (*Department of genetic engineering, Soonchunhyang University, Asan, Choong-Nam 336-745, Korea, ¹Dongbu Advanced Research Institute, Moonjindong, Daeduck Science Town, Daejeon, 305-708, Korea.*)

Abstract : Antifungal activities of 43 different plant oils were evaluated against different phytopathogenic fungi. Thyme oil showed highest antifungal activity among the tested oils. The major of thyme oil were found to be thymol, carvacrol, borneol, *p*-cymene and linalool. Thymol and carvacrol were found to be responsible for thyme's antifungal activity. The spore germination assay was conducted on *Alternaria mail* and *Botrytis cinerea*. Thymol and carvacrol strongly inhibited spore germination in the fungi test. In addition, thymol and carvacrol showed a curative effectiveness to gray mold disease on cucumber crop. The antifungal activities of alkylphenol and alkylaniline compounds, which has similar molecular structure to that of thymol or cavacrol, were also tested. It was found that alkylphenol compounds also show higher inhibition to spore germination. Thus, thymol, carvacrol and alkylphenol compounds can be used an potent antifungal agents.

Key words : plant oil, thyme oil, thymol, carvacrol, phytopathogen

*Corresponding Author (Tel : +82-41-530-1351, E-mail : wschoi@sch.ac.kr)