

# 구강 내 미생물에 대한 서양산 고추냉이(*Horseradish, Armoracia rusticana*) 뿌리 천연추출물과 합성 Allyl isothiocyanate의 항균활성 비교

박광선 · 박호원 · 신일식\* · 이주현 · 서현우

강릉대학교 치과대학 소아청소년치과학교실 및 구강과학연구소, \*강릉대학교 해양생명공학부 식품미생물학교실

## 국문초록

서양산 고추냉이(*Horseradish, Armoracia rusticana*)의 항균 성분 중 주 성분인 Allyl isothiocyanate(AIT)는 천연물을 이용한 추출이나 유기합성을 통해서 얻을 수 있으며, 이제까지 사용되고 있는 항균제품 및 식품첨가물들은 주로 유기합성법에 의해서 얻어졌다. 이전 연구에서 서양산 고추냉이 천연추출물의 다양한 구강 내 미생물에 대한 항균활성은 보고된 바 있으나, 유기합성한 AIT용액의 구강 내 미생물에 대한 항균활성은 아직까지 연구된 바가 없다.

이에 본 연구에서는 유기합성을 통해 얻은 AIT 용액과 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물의 구강 내 미생물에 대한 항균활성을 평가하였다. 항균활성을 평가하기 위해 최소억제농도와 최소살균농도를 측정하였으며, 그 결과는 다음과 같다.

1. 본 연구에 사용된 7종의 구강 내 미생물에 대한 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물의 최소억제농도는 약 117~1,750 ppm(0.0117~0.175%)이었으며, 유기합성한 AIT 용액의 최소억제농도는 약 344~3,000 ppm(0.0344~0.3%)으로 모든 균주에 대해 항균활성을 나타내었다.
2. 본 연구에 사용된 7종의 구강 내 미생물에 대한 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물의 최소살균농도는 약 625.2~6,000 ppm(0.06252~0.6%)이었으며, 유기합성한 AIT용액의 최소살균농도는 약 1,750~7,000 ppm(0.175~0.7%)이었다.

**주요어 :** 고추냉이, 천연추출물, Allyl isothiocyanate(AIT), 와사비, 항균활성

## I. 서 론

최근 천연물을 이용한 항균제 개발에 있어서 주목 받고 있는 서양산 고추냉이(*Horseradish, Armoracia rusticana*)는 유럽 동남부가 원산지인 다년생 숙근성 식물로 향신료 및 식품 첨가물로 널리 이용되고 있다. 고추냉이는 생선의 비린내를 없애 줄과 동시에 그 맛을 상승시키는 작용을 가지고 있으며, 식욕증진, 비타민B<sub>1</sub> 합성증강, 베타 아밀라아제 활성 촉진, 항균작용, 혈전용고 방지, 항산화활성 등의 효과가 있어 건강식품으로도 각광을 받고 있다<sup>1-3)</sup>.

고추냉이에서는 다양한 Glucosinolate 화합물이 발견되며, 다른 십자화과 식물에 비해 특히 Sinigrin이 많이 함유되어 있다. Sinigrin과 같은 Glucosinolate 화합물은 향과 맛이 없는 안정된 화합물 상태로 존재하다가, 고추냉이의 세포가 외부의 물리적인 힘에 의해 파괴되었을 때, 효소인 Myrosinase에 의

하여 Isothiocyanates(R-N=C=S, 이하 ITCs)로 유리되는 가수분해 반응을 일으키며 강렬한 신미(辛味)를 생성하게 된다. Sinigrin으로부터 생산되는 ITCs의 주성분은 Allyl isothiocyanate(AIT)이며, 고추냉이에서 추출된 정유 중에 약 80%를 차지하고, 항균작용의 주성분으로 작용한다<sup>4-6)</sup>. 상기 AIT 이외에도 배당체의 R기가 서로 다른 여러 가지 ITCs가 존재하는데, Glucosinolate 화합물의 종류에 따라 6-methylthiohexyl isothiocyanate, 7-methylthioheptyl isothiocyanate, 5-methylsulphinylpentyl isothiocyanate, 6-methylsulphinylhexyl isothiocyanate 등의 다양한 Alkyl isothiocyanate 화합물들이 고추냉이 추출물에서 확인된다(Table 1)<sup>7)</sup>.

앞선 연구들을 통해 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*,

교신저자 : 박 호 원

강원도 강릉시 지변동 123번지 / 강릉대학교 치과대학 소아청소년치과학교실 033-640-3157 / pedo@kangnung.ac.kr

원고접수일: 2008년 11월 10일 / 원고최종수정일: 2009년 01월 27일 / 원고채택일: 2009년 02월 16일

*Aspergillus parasiticus*, *Helicobacter pylori* 등 다양한 미생물에 대한 AIT의 항균활성이 확인된 바 있으며, 최근에는 *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacillus casei*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* 등의 구강 내 미생물에 대한 고추냉이 추출물의 항균활성도 보고되고 있다<sup>1,4,8-13</sup>.

AIT를 대량으로 제조하기 위한 방법에는 천연물을 이용한 추출법과, 공정을 통한 유기합성법이 있는데, AIT를 고추냉이로부터 추출하는 것은 그 함량이 0.04-0.50%로 절대적인 함량이 적어서 상업적으로는 사용이 제한적일 수 밖에 없으므로, 이제까지 사용되고 있는 항균제품 및 식품첨가물들은 주로 합성법에 의해서 얻어졌다.

이전의 유 등<sup>4</sup>과 김 등<sup>13</sup>의 연구에서 서양산 고추냉이 추출물의 구강 내 미생물에 대한 항균활성을 확인한 바 있었지만, 유기합성한 AIT 용액의 구강 내 미생물에 대한 항균활성은 연구된 바 없었으며, 구강 내 미생물에 대한 유기합성 AIT 용액의 항균활성과 서양산 고추냉이 추출물의 항균활성을 비교한 연구도 거의 없다.

본 연구는 유기합성한 AIT 용액과 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물의 구강 내 미생물에 대한 항균활성을 평가하여 서양산 고추냉이 뿌리 추출물의 구강 내 제재 개발에 기초 연구로서 사용하기 위해 시행되었다.

## II. 연구 재료 및 방법

### 1. 연구 재료

#### 1.1. 시료

본 실험에서 서양산 고추냉이 뿌리 분말은 (주)Biocoats (Seoul, Korea)에서 구입한 서양와사비 분말을 사용하였고, 유

**Table 1.** Principal isothiocyanates isolated from the ether extracts of *Wasabia japonica* Matsum and horseradish

Isothiocyanate	Japanese horseradish			Horseradish root
	Root <sup>a</sup>	Stem <sup>b</sup>	Leaf	
Allyl	111	18.6	22.8	96.6
n-Butyl	1.74	0.3	0.36	0.42
3-Butenyl	1.83	0.06	0.27	0.81
4-Pentenyl	3.9	0.66	0.78	0.1
5-Hexenyl	1.02	0.3	0.57	0.18
2-Phenylethyl	-	-	-	22.5
5-Methylthiopentyl	0.48	0.27	0.12	-
6-Methylthiohexyl	1.89	2.64	1.14	-
7-Methylthioheptyl	1.44	0.6	0.33	-
5-Methylsulphinylpentyl	2.17	0.3	0.42	0.81
6-Methylsulphinylhexyl	7.8	2.52	5.4	0.9
7-Methylsulphinylheptyl	1.41	0.45	1.08	0.78

Concentrations are expressed as mg/100 g fresh weight.

<sup>a</sup>Root presumably refers to either the rhizome, or the total root plus rhizome mass.

<sup>b</sup>Stem presumably refers to the petiole.

기합성 AIT 용액은 강릉대학교 경영수 교수의 연구실에서 합성한 순도 92%의 AIT 용액을 사용하였다. AIT 표준용액(98% purity)은 Fluka Co.(Haan, Germany)의 제품을 사용하였고, Hexane은 Showa Co.(Tokyo, Japan)의 제품을 사용하였다. 항균효과의 비교시 Positive control로서 사용한 클로르헥시딘은 Bukwang Co.(Kyunggi, Korea)의 헥사메딘을 사용하였다.

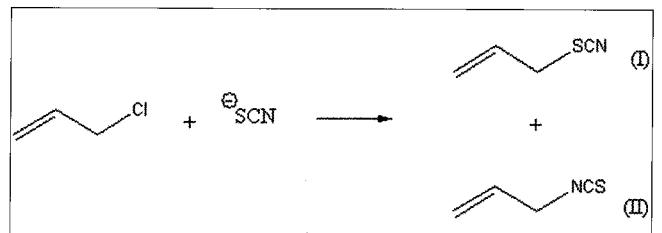
### 1.2. Allyl isothiocyanate(AIT)의 합성

AIT(CH<sub>2</sub>=CHCH<sub>2</sub>N=C=S)는 Allyl chloride(CH<sub>2</sub>=CHCH<sub>2</sub>Cl)와 Potassium thiocyanate(KSCN)를 반응시켜 합성할 수 있으며, 강릉대학교 경영수 교수의 연구실에서 다음과 같은 방법으로 합성하였다. Allyl chloride 150 ml(1.84 mol)와 Potassium thiocyanate 185 g(1.90 mol)을 500 ml 둥근 플라스크에 넣고 증류수 150 ml를 가한 뒤 냉각관을 달고 stirring 하면서 24시간 반응을 하면 물층에는 흰색 고체가 생성되고 유기층은 연한 갈색으로 변한다. 이때 가스크로마토그래프(Agilent Technologies, 6890N, USA)를 이용하여 분석을 하면 Allyl thiocyanate(I) : Allyl isothiocyanate(II) = 88 : 12를 나타낸다(Fig. 1). 이 용액을 100℃에서 2시간 가열한 뒤 가스크로마토그래프로 분석하면 Allyl thiocyanate(I) : Allyl isothiocyanate(II) = 3 : 97로 나타난다. 실온으로 식힌 후에 유기층을 분리하여 무수 황산나트륨으로 건조하면 연한 갈색의 액체 171 g(1.71 mol)을 수율(yield) 92.9%로 얻을 수 있다.

### 1.3. 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물

#### 1.3.1 천연항균성 성분의 추출

서양산 고추냉이의 천연항균성 성분은 증류수를 이용하여 추출하였다. 고추냉이 분말 200 g을 증류수 550 ml와 혼합하였고, rotary evaporator(NE-1, Tokyo Rikakikai Co., Ltd., Tokyo, Japan)에서 AIT 생산을 최대화하기 위하여 40℃로 120분간 유지시켰다. 이것을 120℃의 oil bath(C-WHT, Changshin scientific co., Seoul, Korea)에서 120분간 증류시키고, 추출액 50 ml을 분획한 후, 원심분리하여 획득한 oil의 AIT 농도를 측정하였다<sup>4,13</sup>.



**Fig. 1.** Synthesis of Allyl isothiocyanate. (I). Allyl thiocyanate (II). Allyl isothiocyanate.

1.3.2 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물의 AIT 함량 분석

추출물의 AIT 농도를 측정하기 위하여 추출물 1 ml를 헥산(hexane) 1 ml와 혼합한 후, 60℃ 항온 수조(RW-3025G shaking water bath, Jeio Tech Co., Ltd, Kimpo, Korea)에서 1시간 동안 가열하였다. 이것을 실온으로 냉각하고, 헥산층 1 µl를 가스크로마토그래프로 분석하였다. Flame ionization detector(FID)가 부착된 GC(HP 6890 series, Hewlett Packard Development Co., California, USA)로 AIT 농도를 측정하였으며, column은 HP-Innowax capillary column (30 m × 0.32 mm, 0.5 µm film thickness, Agilent Technologies, Inc., Palo Alto, CA, USA)을 사용하였다. Injection port와 FID의 온도는 각각 250℃, 260℃이었으며, carrier gas는 질소(Nitrogen)를 사용하였다<sup>4,13)</sup>.

AIT 표준용액의 농도별 가스크로마토그래프 결과를 수식화하여 서양산 고추냉이 뿌리 추출물의 AIT 함량을 적정하였다. 그 결과 추출물은 약 650,670.97 ± 1,370.26 ppm 의 AIT를 함유하고 있었다(Fig. 2). 본 실험에서는 이 추출물에 멸균배지를 가하여 double dilution법으로 희석하여 사용하였다<sup>4,13)</sup>.

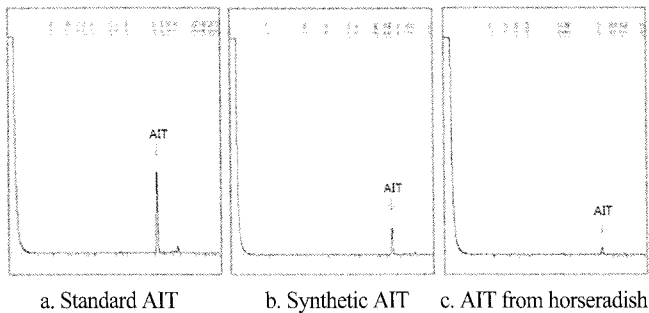


Fig. 2. Gas Chromatogram of standard AIT, synthetic AIT and AIT extracted from horseradish(Armoracia rusticana).

1.4. 사용균주 및 배지

본 실험에서 사용된 표준균주는 Table 2와 같으며, 한국생명공학연구원 유전자은행(KCTC, Daejeon, Korea)으로부터 분양받아 사용하였다. 치아 우식증 유발 및 진행과정과 관련하여 *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacillus casei*를 사용하였으며, 치주 질환과 관련하여 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*를, 치수 및 근단 병소와 관련하여 *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*를 사용하였다<sup>4)</sup>. 실험 전 각 미생물을 Table 2과 같은 배양배지에 접종한 후, 세균은 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 24시간, 효모는 25℃ 호기환경에서 48시간 동안 전배양하여 사용하였다.

2. 연구 방법

2.1. 항균 활성 측정 시험

2.1.1. 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물 사용균

서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물의 항균활성은 disk paper method를 이용하여 측정하였다. 각 균주를 전배양하여 640 nm(V530 UV/VIS spectrophotometer, Jasco, Tokyo, Japan) 파장에 대한 흡광도(A660)가 *S. mutans*, *S. sobrinus*, *L. casei*, *S. aureus*는 0.700-0.750, *E. faecalis*, *A. actinomycetemcomitans*는 0.750-0.800, *C. albicans*는 0.350-0.400이 되도록 일정하게 현탁하여 균주수를 10<sup>5</sup> CFU/ml로 맞추었다. 이후 현탁된 배양액 100 µl를 멸균된 spreader를 사용하여 각 배양액과 동일한 평판배지에 도말하였다<sup>4)</sup>. 실험균으로서, 멸균된 직경 10 mm filter paper disk(Whatman No.2)에 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물(160,000, 80,000, 40,000, 20,000, 10,000, 5,000 ppm)을 30 µl씩 흡수시킨 후, 세균 및 효모가 도말된 각각의 배지에 밀착시켜, 세균은 37℃ 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 24시간 배양, 효모는 25℃ 호기환경에서 48시간 배양하였고, 대조균은 아무 처

Table 2. List of strains and media used for antimicrobial activity test

Tested strain	Aerobic condition	Culture media
Gram Positive		
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Facultative Anaerobic	BHI broth <sup>1)</sup>
<i>Streptococcus sobrinus</i> ATCC 27607	Facultative Anaerobic	BHI broth
<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 393	Facultative Anaerobic	MRS broth <sup>2)</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Facultative Anaerobic	BHI broth
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Facultative Anaerobic	Trypticase soy broth <sup>3)</sup>
Gram Negative		
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ATCC 29522	Facultative Anaerobic	Trypticase soy broth
Yeast		
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Aerobic	YM broth <sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>Brain heart infusion (Difco, BD Diagnostic Systems, Sparks, MD, USA)

<sup>2)</sup>Lactobacilli MRS(Difco, BD Diagnostic Systems, Sparks, MD, USA)

<sup>3)</sup>Trypticase soy broth(Difco, BD Diagnostic Systems, Sparks, MD, USA)

<sup>4)</sup>Yeast Malt broth (Difco, BD Diagnostic Systems, Sparks, MD, USA)

리도 시행하지 않은 paper disk를 도말된 평판배지에 밀착시킨 후 동일한 방법으로 배양하였다. 배양 후 실험군의 disk 주변 투명한(clear zone)과 colony의 양상을 대조군과 비교하여 항균활성의 여부를 확인하였다.

2.1.2. 유기합성 AIT 용액 사용군

서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물 사용군과 동일한 방법으로 각 균주에 대한 유기합성 AIT 용액의 항균활성을 확인하였다.

2.2. 최소억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC) 측정

2.2.1. 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물 사용군

96-well flat bottom microplate(Greiner bio-one GmbH, Frickenhausen, Germany)의 각 well에 균주를 10<sup>5</sup> CFU/ml로 현탁한 배양액을 5 µl씩 분주한 후, 세균과 효모의 전배양 배지와 동일한 멸균배지를 50 µl 분주하였다. 여기에 650,000ppm의 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물을 double dilution 법으로 일정단계 희석(20,000, 10,000, 5,000, 2,500, 1,250, 625, 313, 156, 78, 39, 19.5 ppm)하여 50 µl 분주하고, 세균은 37°C 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 24시간, 효모는 25°C 호기환경에서 48시간 동안 배양하였다. 배양 후, 각 균주의 증식 유무를 micro plate reader(OD: 660nm, EL800, Bio-Tek Instrument Inc., California, USA)로 측정하였다.

2.2.2. 유기합성 AIT 용액 사용군

서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물 사용군과 동일한 방법으로 각 균주에 대한 유기합성 AIT 용액의 최소억제농도를 측정하였다. 유기합성 AIT 용액은 920,000 ppm을 double dilution 법으로 일정단계 희석(20,000, 10,000, 5,000, 2,500, 1,250, 625, 313, 156, 78, 39, 19.5 ppm)하여 사용하였다.

2.3. 최소살균농도(minimum bactericidal concentration, MBC) 측정

2.3.1. 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물 사용군

Bamba<sup>28)</sup> 등의 방법을 사용하여 MBC를 측정하였다. MIC 측정 후 증식이 관찰되지 않은 배양액을 한 백금이 취하여 각 세균과 효모에 맞는 배양액과 동일한 평판배지에 streak한 후, 세균은 37°C 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 24시간, 효모는 25°C 호기환경에서 48시간 동안 배양하여 증식 유무를 확인하였다.

2.3.2. 유기합성 AIT 용액 사용군

서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물 사용군과 동일한 방법으로 각 균주에 대한 유기합성 AIT 용액의 최소살균농도를 측정하였다.

모든 실험에서 동일한 실험을 5회 반복하여 평균과 표준편차를 산정하였다.

Ⅲ. 연구 결과

1. 항균 활성 측정 결과

서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물과 유기합성 AIT 용액은 실험에 사용된 모든 균주에서 paper disk 주위로 대조군에 비하여 적은 군집(colony)을 보였으며(Fig. 3, 4), 이로써 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물과 유기합성 AIT 용액은 연구에 사용된 구강 내 세균에 대해 항균 활성을 나타냄을 알 수 있었다.

2. 최소억제농도(MIC)

2.1 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물의 MIC

연구에 사용된 구강 내 미생물에 대한 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물의 MIC를 측정한 결과는 Table 3과 같다. 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물의 실험 결과, 7종류의 구강 내 미생

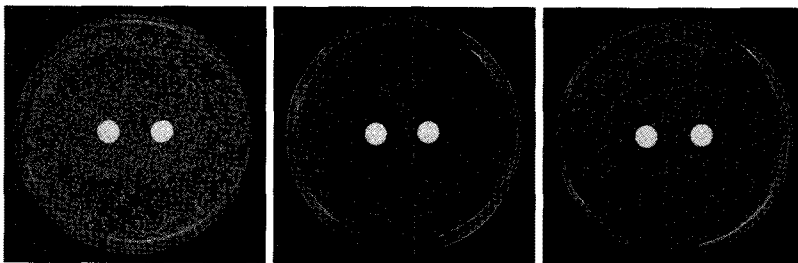


Fig. 3. Antimicrobial activity of horseradish root extract and synthetic AIT against *A. actinomycetemcomitans* by the disk paper method. a. Control b. Horseradish extract(AIT 80,000ppm) c. Synthetic AIT(80,000ppm).

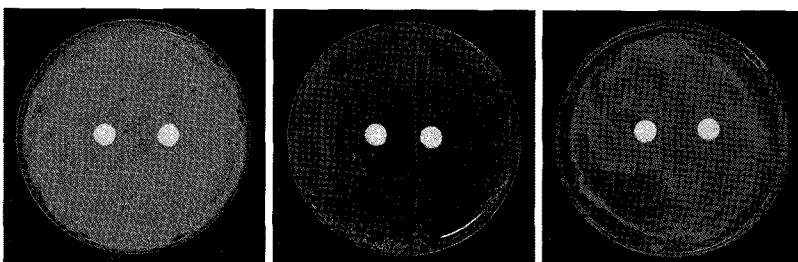


Fig. 4. Antimicrobial activity of horseradish root extract and synthetic AIT against *C. albicans* by the disk paper method. a. Control b. Horseradish extract(AIT 5,000ppm) c. Synthetic AIT(5,000ppm).

물 중 *C. albicans*에 대한 MIC가  $117.0 \pm 55.2$  ppm으로 가장 낮았으며, *S. aureus*, *S. sobrinus*, *S. mutans*, *A. actinomycescomitans*, *E. faecalis*의 순으로 MIC가 높아졌고, *L. casei*의 MIC는  $1,750.0 \pm 684.7$  ppm으로 가장 높았다.

2.2 유기합성 AIT 용액의 MIC

연구에 사용된 구강 내 미생물에 대한 유기합성 AIT 용액의 MIC를 측정 한 결과는 Table 3과 같다. *C. albicans*에 대한 MIC가  $344.0 \pm 171.2$  ppm으로 가장 낮았으며, *S. aureus*, *S. sobrinus*는 각각  $390.8 \pm 234.3$  ppm,  $1,125.0 \pm 279.5$  ppm을 나타냈고, *S. mutans*와 *A. actinomycescomitans*는  $1,375.0 \pm 684.7$  ppm으로 같은 값을 보였으며, *E. faecalis*는  $2,000.0 \pm 684.7$  ppm을 나타냈다. *L. casei*의 MIC는  $3,000.0 \pm 1,118.0$  ppm으로 가장 높았다.

3. 최소살균농도(MBC)

3.1 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물의 MBC

연구에 사용된 구강 내 미생물에 대한 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물의 MBC를 측정 한 결과는 Table 4와 같으며, *C. albicans*에 대한 MBC가  $625.2 \pm 382.5$  ppm으로 가장 낮았으며, *S. aureus*, *S. sobrinus*는 각각  $875.0 \pm 342.3$  ppm,  $1,750.0 \pm 1,843.5$  ppm을 나타내었고, *S. mutans*는

$2,000.0 \pm 684.7$  ppm을 나타내었다. *A. actinomycescomitans*와 *E. faecalis*는  $3,500.0 \pm 1,369.3$  ppm으로 같은 값을 보였으며, *L. casei*의 MBC는  $6,000.0 \pm 2,236.0$  ppm으로 가장 높았다.

3.2. 유기합성 AIT 용액의 MBC

연구에 사용된 구강 내 미생물에 대한 유기합성 AIT 용액의 MBC를 측정 한 결과는 Table 4와 같으며, *C. albicans*와 *S. aureus*의 MBC가 가장 낮았으며,  $1,750.0 \pm 684.7$  ppm을 나타냈다. 이어서 *S. mutans*가  $4,000.0 \pm 1,369.3$  ppm, *S. sobrinus*가  $4,500.0 \pm 3,259.6$  ppm을 나타내었고, *A. actinomycescomitans*와 *E. faecalis*는  $6,000.0 \pm 2,236.0$ 로서 같은 값을 보였다. *L. casei*의 MBC는  $7,000.0 \pm 2,738.6$  ppm으로 가장 높았다.

IV. 총괄 및 고찰

고추냉이 천연추출물의 항균성분 중 주 성분인 Allyl isothiocyanate(AIT)는 합성을 통해서 차량용 에어컨의 항균필터, 항균기능을 지닌 천연 방향제, 식료품의 보존제 및 그 특유의 향을 이용한 착향제에 이르기까지 많은 분야에서 사용되고 있고, 계속되는 연구를 통해 그 적용 범위가 넓어지고 있다. AIT는 Sinigrin이 가수분해 되면서 항균활성을 나타내게 되는데, Sinigrin은 약산의 조건에서, 비효소적인 반응을 통하여 nitril 화합물로 전환되기도 하지만 주로 Myrosinase에 의해서 가수분해되고, 중성이상의 pH 조건에서는 주로 Allyl cyanide로 전환된다<sup>5,14,15</sup>. AIT의 항균 기전에 대해서 정확히 밝혀진 바는 없으나, AIT에 의한 미생물의 단백질 구조의 변화 혹은 산소섭취 (oxygen uptake)와 같은 미생물 대사작용의 변화등의 주장이 제기되고 있으며, 세포질, 세포막 peptide 및 단백질의 SH기 등에 반응하는 Isothiocyanates의 thiocyanate 기(-N=C=S)가 작용하는 것으로 생각되고 있다<sup>16-18</sup>.

서양산 고추냉이의 Sinigrin은 근경, 잎, 엽병 등에 함유되어 있고, 근경에서 가장 높은 정유 함량을 보이므로 이번 연구에서는 고추냉이의 뿌리 부위를 사용하여 추출한 정유를 회석하여 사용하였다<sup>19</sup>. 추출된 정유는 AIT 표준용액의 농도별 가스크로마토그래프 결과를 수식화 하여 AIT 함량을 적정하였고, 이 천연추출물에 멸균배지를 가하여 회석하여 사용하였다. 정유는 물에 쉽게 녹지 못하므로, 에탄올과 혼합한다면 균일한 회석액을 얻을 수 있어, 회석시의 농도의 오차를 줄일 수 있다. 하지만 에탄올 자체의 항균작용으로 인한 상호효과는 막을 수 없으므로, 순수하게 고추냉이 뿌리 천연추출물만의 항균 활성을 평가하기 위해 정유의 회석은 에탄올을 첨가하지 않은 멸균 배지로 시행하였다<sup>13</sup>. 서양산 고추냉이 뿌리 추출물의 회석시에 고추냉이 추출물과 멸균배지를 microtube에 동시에 넣고 와류혼합하여 사용하였고, 이로써 침전 및 멸균배지와와의 분리 현상을 방지

Table 3. MIC values of horseradish root extracts and synthetic AIT against oral pathogenic microorganisms

Strains	MIC (mean ±SD)	
	Horseradish root extracts(ppm)	Synthetic AIT(ppm)
<i>S. mutans</i> ATCC 25175	500.2 ± 170.9	1,375.0 ± 684.7
<i>S. sobrinus</i> ATCC 27607	312.6 ± 191.5	1,125.0 ± 279.5
<i>L. casei</i> ATCC 393	1,750.0 ± 684.7	3,000.0 ± 1,118.0
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	132.8 ± 109.3	390.8 ± 234.3
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	937.6 ± 441.8	2,000.0 ± 684.7
<i>A. actinomycescomitans</i> ATCC 29522	652.2 ± 382.5	1,375.0 ± 684.7
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	117.0 ± 55.2	344.0 ± 171.2

Table 4. MBC values of horseradish root extracts and synthetic AIT against oral pathogenic microorganisms

Strains	MBC (mean ±SD)	
	Horseradish root extracts(ppm)	Synthetic AIT(ppm)
<i>S. mutans</i> ATCC 25175	2,000.0 ± 684.7	4,000.0 ± 1,369.3
<i>S. sobrinus</i> ATCC 27607	1,750.0 ± 1,843.5	4,500.0 ± 3,259.6
<i>L. casei</i> ATCC 393	6,000.0 ± 2,236.0	7,000.0 ± 2,738.6
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	875.0 ± 342.3	1,750.0 ± 684.7
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	3,500.0 ± 1,369.3	6,000.0 ± 2,236.0
<i>A. actinomycescomitans</i> ATCC 29522	3,500.0 ± 1,369.3	6,000.0 ± 2,236.0
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	625.2 ± 382.5	1,750.0 ± 684.7

할 수 있었다. 고추냉이 뿌리 추출물은 분산되어 알맹이의 부유물이 됨으로써 배지와 균일하게 혼합되었고, 이렇게 균일하게 혼합된 시료는 double dilution 법에 의하여 단계별 희석하여 사용할 수 있었다<sup>13)</sup>.

구강 내 미생물에 대한 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물과 유기합성 AIT 용액의 항균활성 유무를 알아보기 위하여 disk paper method를 이용하였고 두 군 모두에서 항균활성을 나타냄을 알 수 있었다. 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물과 클로르헥시딘 등을 사용한 이전 연구에서는 항균제 주변으로 형성된 투명환을 관찰함으로써 항균활성의 유무를 관찰하였다<sup>4,13)</sup>. 하지만 이번 연구에서는 휘발성을 지니는 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물과 유기합성 AIT 용액의 확실한 항균활성을 알아보기 위해 항균제를 적용한 도말된 평판배지의 petridish를 parafilm으로 밀봉하였고, 이를 항균제를 적용하지 않은 대조군과 비교하였다. 대조군에서는 배지 전반에 걸쳐 미생물이 증식하였으나, 고추냉이 천연추출물과 유기합성 AIT 용액을 적용한 군에서는 대조군에 비하여 배지에 증식한 colony의 밀도가 적었다.

유 등<sup>4)</sup>과 김 등<sup>13)</sup>은 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물의 휘발성으로 인해 투명환의 경계가 불분명하였으며, 주위 colony의 성장 양상이 성긴 모양으로 나타났고, 이것은 항균제 인접한 부위의 세균 뿐 아니라 다소 떨어진 부위의 세균들까지 영향을 받은 결과라고 하였다. 이번 연구에서는 세균과 농도에 따라서 약간의 차이가 보이기는 했지만, 대체로 평판배지 전반에 걸쳐 colony의 밀도가 적게 분포하는 것으로 관찰되었으며, parafilm에 의한 밀봉으로 휘발된 항균성분들이 petridish 안에서 균등하게 분포하면서, paper disk 인접 부위뿐만 아니라 배지 전반에 항균활성을 보였기 때문이라고 생각된다.

최소억제농도를 측정하기 위해 각 균주와 멸균배지, 항균 시료를 96-well flat botton microplate(Greiner bio-one GmbH, Frickenhausen, Germany)의 각 well에 분주하였는데, 정확한 항균활성을 알아보기 위하여 negative control, positive control, blank를 한 plate 안에 설정하여 실험 설계하였고, negative control은 전배양 배지에 균주만 분주한 것, positive control은 전배양 배지에 균주를 분주하고 광범위 항균제인 클로르헥시딘(0.08% Chlorhexidine digluconate)을 적용한 것, blank는 전배양 멸균 배지만을 분주한 것으로 설계하여 균주의 정상적인 성장과 배지의 오염도 여부를 판별하였다.

96-well flat botton microplate의 설계시 같은 plate안에서 고추냉이 천연추출물과 유기합성한 AIT 용액을 분주하여 둘의 효과를 동시에 비교할 수 있도록 하였고, 서로의 간섭을 줄이기 위해, 일정간격을 두고 실험 설계를 하였다. 미생물 간의 항균활성 비교를 위해서 같은 plate 안에서 모든 세균을 배양하는 것이 바람직 할 것이라고 생각되었으나, 이번 연구에서는 한 plate 당 하나의 균에 대해서만 고추냉이 천연추출물과 유기합성한 AIT 용액의 항균활성을 비교할 수 있도록 설계하였다. 그

이유는 다음과 같다. 첫째, 고추냉이 천연추출물과 유기합성한 AIT 용액이 인접 well에 약간의 영향을 미칠 수 있다. 따라서 미생물별로 농도에 따른 항균 활성의 편차가 큰 경우, 낮은 농도에서 억제되는 세균과 높은 농도에서 억제되는 세균을 같은 plate안에 설계하면, 낮은 농도에서 억제되는 세균이 모두 사멸하여 정확한 실험결과를 얻기 힘들었다. 둘째, 실험 균주의 종류가 많아서 같은 plate안에 설계하기에는 한계가 있었다. 셋째, 배양 조건이 통성 혐기성인 다른 균주와는 달리 호기성 배양을 해야하는 *C. albicans*의 경우에는 별도의 plate를 설계할 수 밖에 없었다.

서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물의 실험 결과, 7종류의 구강 내 미생물 중 *C. albicans*에 대한 MIC가  $117.0 \pm 55.2$  ppm으로 가장 낮았으며, *S. aureus*, *S. sobrinus*, *S. mutans*, *E. faecalis*, *A. actinomycetemcomitans*의 순으로 MIC가 높았으며, *L. casei*의 MIC는  $1,750.0 \pm 684.7$  ppm으로 가장 높았다. MBC 역시 *C. albicans*가  $625.2 \pm 382.5$  ppm으로 가장 낮았으며, 균주별 차이는 있었지만 대부분 MIC의 2~4배 농도에서 MBC를 기록하였다. 유기합성한 AIT 용액을 이용한 실험 결과 역시 *C. albicans*에 대한 MIC가  $344.0 \pm 171.2$  ppm으로 가장 낮았으며 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물과 동일한 순서로 MIC가 높았고, MBC는 *C. albicans*와 *S. aureus*가 가장 낮았으며, 균주별 차이는 있었지만 대부분 MIC의 2~4배 농도에서 MBC를 기록하였다. 안 등<sup>20)</sup>과 Shin 과 Lee<sup>21)</sup>, 유 등<sup>4)</sup>은 AIT를 이용한 항균성 실험에서 효모나 곰팡이 등 진균류에 특히 항균활성이 강하였으며, 세균 중에서는 그람 양성균보다는 그람 음성균에게 항균활성이 강하다고 보고하였다. 본 실험에서도 고추냉이 천연추출물과 유기합성한 AIT 용액 모두 효모인 *C. albicans*에서 가장 높은 항균활성을 관찰할 수 있었다. 다만, 그람 음성균인 *A. actinomycetemcomitans*가 그람 양성균인 *L. casei*보다는 높은 항균활성을 보였지만 다른 그람 양성균보다는 낮거나 같은 항균활성을 나타낸 것이 이전 논문과 차이점이었다. 하지만 이번 연구에서 사용된 그람 음성균의 균주수가 하나였다는 점, 이전 논문들에서 사용한 균주와 다르다는 점, 각 균주의 다양성과 변이성이 존재한다는 점에서 이전 논문과의 차이는 발생할 수 있다고 생각된다. 또한 실험 설계시 미생물 간의 항균활성 비교를 위해서 같은 plate안에서 모든 세균을 배양하는 하지 못하고 한 plate 당 하나의 균에 대해서만 실험을 진행하였으므로 세균간 항균활성의 비교에는 오차가 있을 수 있다고 생각된다.

본 연구에 이용된 7종의 구강 내 미생물에 대하여 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물과 유기합성한 AIT 용액의 최소억제농도와 최소살균농도를 비교해 볼 때, 모든 균주에서 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물은 동일한 농도의 유기합성 AIT 용액 보다 더 높은 세균성장 억제효과와 살균효과를 나타냄을 알 수 있었다. 이러한 항균작용의 차이는 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물이 AIT 이외에도 다른 성분들도 함유하고 있기 때문이라고 생각된다. 이전 연구에서 서양산 고추냉이에서 추출된 AIT 및

다른 성분들에 대한 항균활성을 보고한 논문들이 있었다. Shin 등<sup>22)</sup>은 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물에서 AIT 및 다른 성분들을 추출하여 위장관계 감염의 중요한 원인균인 *Helicobacter pylori*에 대한 각 성분별 항균활성을 비교하였는데, 각 성분의 *Helicobacter pylori*에 대한 MBC가 4-pentenyl은 420-670 ppm, 5-methylthiopentyl은 250-330 ppm, 6-ethylthiohexyl은 210-250 ppm, 7-methylthioheptyl은 420-670 ppm, phenethyl isothiocyanates는 130-170 ppm으로서 1,330-2,670 ppm의 MBC를 보인 Allyl isothiocyanate보다 더 강한 항균효과를 나타냈다. 또한 Ono 등<sup>23)</sup>은 고추냉이에서 추출된 6-methylsulphinylnhexyl isothiocyanate가 *Staphylococcus aureus*에 대하여 생육 저해작용을 하는 것으로 보고하였다. 이러한 연구 결과는 고추냉이 뿌리 천연추출물에 포함되어 있는 AIT 이외의 다른 성분들도 항균활성을 지닐 수 있고, 다른 성분들의 항균활성이 AIT 보다 더 강하게 나타날 수도 있음을 의미하며, 유기합성한 AIT 용액보다 고추냉이 뿌리 천연추출물의 항균활성이 더 높게 나온 이번 연구의 결과를 지지한다. 또한 안 등<sup>20)</sup>은 AIT 단독 또는 초산(acetic acid) 단독으로 사용할 때보다 혼합하여 사용할 때 실험 대상 균주에 대하여 증식 억제 효과가 2-10배 이상 상승했다고 보고하였다. 이러한 사실을 이번 연구 결과와 비교해 볼 때, AIT 및 다른 성분들 사이에 상승작용으로 인하여 고추냉이 뿌리 천연추출물의 항균활성이 더 높게 나타났을 가능성도 있다고 할 수 있다.

현재는 경제성 측면에서 고추냉이에서 추출된 정유 중에 약 80%를 차지하는 AIT를 중심으로 연구가 진행되고 있으며, Allyl isothiocyanate로 전환될 수 있는 총 Sinigrin 함량에 대한 연구가 많이 이루어 지고 있다.<sup>2,19,24-26)</sup> 하지만 어떤 Isothiocyanate 화합물들이 얼마나 함유되었느냐가 항균작용에 영향을 미칠 수 있으므로 이에 대한 추가적인 연구가 필요할 것이며, 추후 추출된 정유를 각 성분 별로 분리하여 실용화 할 수 있는 부분에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

이번 연구는 다음과 같은 몇 가지 한계점을 가지고 있다.

첫째, 본 연구에서는 제한된 7종의 구강 내 미생물을 대상으로 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물과 유기합성 AIT 용액의 항균활성을 비교하였다. 구강 내에는 병원성을 지닌 다양한 미생물이 존재하고, 실험 결과처럼 각 미생물에 대한 항균활성의 차이가 크므로, 모든 병원성 미생물에 대해서 본 연구의 결과를 일반화시키기는 힘들며, 혐기성 균주 및 임상 분리 균주에 대한 실험도 이루어져야 할 것이다.

둘째, 본 연구에 사용된 천연추출물과 유기합성 AIT 용액은 휘발성을 지니는 제제로서 각 실험 단계마다 항균성분의 휘발에 의한 오차가 생길 수 있었다. 본 실험은 한사람의 실험자에 의해 수행되었으므로 실험시간 오차는 고려할 필요가 없었으나, 세균의 종류가 많아 96 well plate에 분주한 후 parafilm으로 밀봉하여 배양하기까지의 실험시간이 길어지므로 휘발성인 항균제의 항균성분이 실험하는 도중에도 미량 휘발되었을 가능

성이 있으므로 정확한 결과를 위해서 96 well plate에 작업하는 시간을 줄이는 방법을 생각해 봐야 할 것이다. 또한 항균 제제들의 휘발성으로 인하여 96 well plate 실험시 인접 well에 영향을 미칠 가능성이 있으므로 간섭을 최소화 할 수 있는 방법도 생각해 봐야 한다. 이러한 문제를 해결하기 위하여 추후 실험에서는 각 well 대신 microtube를 parafilm으로 밀봉하는 방법 등을 고려해 볼 수 있으며, 휘발성으로 인해 생기는 항균 활성의 오차를 줄일 수 있을 것으로 기대한다.

셋째, 이번 연구는 in vitro에서 진행된 실험으로, 항균성분의 휘발에 의한 오차를 생각한다면, 실제 구강 내에서는 더 낮은 농도에서 같은 효과를 보일 가능성도 존재하므로 추후 in vivo에서의 항균활성도 조사되어야 할 것이다.

최근 들어 화학적으로 합성한 식품첨가물의 안전성에 대한 규제가 더욱 엄격해지고 있으며, 소비자들은 식품첨가물로 인한 급성독성, 만성독성, 발암성, DNA에 영향을 미치는 돌연변이 유발 등에 대한 관심을 높이고 있어, 천연추출물을 이용한 제제 개발에 대한 연구는 더욱 활발해지고 있다. 천연 추출물을 이용한 연구에서 유사한 성분의 천연물과 인공 화합물의 효능을 비교하는 것은 연구에 진행에 있어 중요한 단계 중 하나이다. 이번 연구에서는 인공 화합물인 유기합성 AIT 용액과 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물의 항균효과를 비교함으로써 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물의 구강 내 제제 개발에 기초 연구가 되었다는 점에서 가치가 있으며, 이후 구강 내 제제의 개발에 경제성, 효율성 및 안전성을 검토해 나가는 과정에서 중요한 토대가 될 것으로 생각된다. AIT의 경우 이제까지 합성 제제로서 다방면에 사용되어져 왔으므로 치과영역에서의 사용가능성을 고려해 볼 수도 있으나, 이번 실험결과에서 천연추출물의 항균활성이 더 우수하였으므로 고추냉이 뿌리 천연추출물을 사용한 항균제제의 개발이 더욱 타당성을 얻게 될 것이다. 하지만 아직 합성물에 비해 불리한 점으로 여겨지는 천연물의 추출과 정제 효율성, 경제성을 높이는 연구는 계속 되어야 할 것으로 생각된다.

## V. 결 론

본 연구는 합성 제재인 유기합성 AIT 용액과 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물의 구강 내 미생물에 대한 항균활성을 평가하여 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물의 구강 내 제제 개발에 기초 연구로서 사용하기 위해 시행되었다.

1. 본 연구에 사용된 7종의 구강 내 미생물에 대한 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물의 최소억제농도는 약 117-1,750 ppm(0.0117-0.175%)이었으며, 유기합성한 AIT 용액의 최소억제농도는 약 344-3,000 ppm(0.0344-0.3%)으로 모든 균주에 대해 항균활성을 나타내었다.
2. 본 연구에 사용된 7종의 구강 내 미생물에 대한 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물의 최소살균농도는 약 625.2-6,000 ppm(0.06252-0.6%)이었으며, 유기합성한 AIT

용액의 최소살균농도는 약 1,750-7,000 ppm(0.175-0.7%)이었다.

이상의 결과로 본 연구에 이용된 7종의 구강 내 미생물에 대하여 서양산 고추냉이 뿌리 천연추출물은 동일한 농도의 유기 합성한 AIT 용액과 비교하였을 때 더 높은 세균성장 억제효과와 살균효과를 나타냄을 알 수 있었다.

### 참고문헌

1. 신일식, 이정모 : 고추냉이 뿌리의 항균활성 및 항변이원활성에 대한 연구. 한국수산학회지, 31:835-841, 1998.
2. 박윤영, 조문수, 박신 등 : 고추냉이 부위별 Sinigrin 함량과 추출액의 항균 활성. Kor. J. Hort. Sci. Technol, 24:480-487, 2006.
3. 최기영, 이용범, 고승태 : 고추냉이의 보건적 기능과 연구 동향. TALS, 4:37-45, 2006.
4. 유난영, 박호원, 이주현 등 : 구강내 미생물에 대한 서양산 고추냉이 (*Armoracia rusticana*) 뿌리 추출물의 항균 효과. 대한소아치과학회지, 33:447-456, 2006.
5. Kumagai H : Analysis of volatile components in essential oil of upland wasabi and their inhibitory effects on platelet aggregation. Biosci. Biotech. Biochem, 58:2131-2135, 1994.
6. Ina K : Volatile components of wasabi (*Wasabia japonica*) and horseradish (*Cochleria armoracia*). Nippon Shokuhin Kagyo Gakkaishi, 18:365-370, 1981.
7. Depree JA, Howard TM, Savage GP : Flavour and pharmaceutical properties of the volatile sulphur compounds of Wasabi(*Wasabia japonica*). Food Research International, 31:329-337, 1999.
8. Nishida M : Studies on the pungent component. Antibacterial properties of essential oil of Eutrema wasabi Maxim. Yakugaku Zasshi, 78:435-443, 1958.
9. Inoue S, Goi H, Miyauchi K, et al. : Inhibitory effect of volatile constituents of plants on the proliferation of bacteria-Antibacterial activity of plant volatiles. J Antibact Antifung Agents, 11:609-615, 1983.
10. Hasegawa N, Matsumoto Y, Hoshino A, et al. : Comparison of effects of *Wasabia japonica* and allyl isothiocyanate on the growth of four strains of *Vibrio parahaemolyticus* in lean and fatty tuna meat suspensions. Int J Food Microbiol, 49:27-34, 1999.
11. Shin IS, Masuda H, Naohide K : Bactericidal activity of wasabi(*Wasabia japonica*) against *Helicobacter pylori*. Int J Food Microbiol, 94:255-261, 2004.
12. Masuda H, Inoue T, Kobayashi Y : Anticaries effect of Wasabi components. ACS symposium series, 859:142-153, 2003.
13. 김혜경, 박호원, 신일식 등 : 치태에서 분리된 *Streptococcus mutans*에 대한 서양산 고추냉이(*Armoracia rusticana*) 뿌리 추출물의 항균효과. 대한소아치과학회지, 35:225-234, 2008.
14. McGregor DI, Mullin WJ, fenwick GR : Analytical methodology for determining glucosinolate composition and content. J. AOAC, 66:825-849, 1983.
15. Uda Y, Kurata T, Arakawa N : Effects of pH and ferrous ion on the degradation of glucosinolates by myrosinase. Agric. Biol. Chem, 50:2735-2740, 1986.
16. Kawakishi S, Kaneko T : Interaction of oxidized glutathione with allyl isothiocyanate. Phytochemistry, 24:715-718, 1985.
17. Kawakishi S, Kaneko T : Interaction of proteins with allyl isothiocyanate. J Agri Food Chem, 35:85-88, 1987.
18. Kojima M, Ogawa K : Studies on the effect of isothiocyanates and their analogues on microorganisms: (I) effects of isothiocyanates on the oxygen uptake of yeasts. J Ferment Technol, 49:740-746, 1971.
19. Lee SW, Jeong SS, Sok DK, et al. : Allyl isothiocyanate content in different plant parts of *Wasabia japonica* Mastum., Korean J Crop Sci, 42:281-285, 1997.
20. 안은숙, 김지혜, 신동화 : 휘발성 Allyl Isothiocyanater계 화합물의 항균 활성에 관한 연구. Korean J. Food Sci. Technol, 31:206-211, 1999.
21. Shin IS, Lee JM : Study on antimicrobial and antimutagenic activity of horseradish(*Wasabia japonica*) root extracts. J Korean Fish Soc, 31:835-841, 1998.
22. Shin IS, Masuda H, Naohide Ki, et al. : Inhibitory Effects of Gochoonangi(*Wasabia japonica*) against *Helicobacter pylori* and Its Urease Activity. Food Sci. Biotechnol, 13:191-196, 2004.
23. Ono H, Tesaki S, Tanabe S, et al. : 6-Methylsulphanylhexyl isothiocyanate and its homologues as food-originated compounds with antibacterial activity against *Escherichis coli* and *Staphylococcus aureus*. Biosci. Biotechnol. Biochem, 62:363-365, 1998.
24. Byeon HS, Heo SJ, Lim SJ, et al. : Variation of growth and allyl isothiocyanate contents of *Wasabia japonica* Matsum cultivar. J. Kor. Medicinal Crop



- Sci, 10:181-184, 2002.
25. Sultana T, Mcneil DL, Porter NG, et al. : Investigation of isothiocyanate yield from flowering and non-flowering tissues of wasabi grown in a flooded system. J. Food Compos. Anal, 16:637-646, 2003.
  26. Sultana T, Savage GP, Mcneil DL, et al. : Effects of fertilisation on the allyl isothiocyanate profile of above-ground tissues of New Zealand-grown wasabi. J. Sci. Food. Agric, 82:1477-1482, 2002.
  27. 안승태, 박재홍, 이금호 : 6세 이하의 어린이에서 *Streptococcus mutans*와 *Streptococcus sobrinus*의 분포에 관한 연구. 대한소아치과학회지, 32:207-215, 2005.
  28. Bamba H, Kondo Y, Wong RM, et al. : Evaluation of an assay method of the susceptibility of antimicrobial agents using a 96-well flat-bottom microplate and a microplate reader. Am J Gastroenterol, 92:659-664, 1997.
  29. Lee JS, Seo KL, Koh KH, et al. : Effects of Wasabi Extracts on Growth of *Lactobacillus plantarum*. Journal of Natural Science Songsim University, 15:3-11, 1994.
  30. Fenwick GR, Heaney RK, Mullin WJ : Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants. Crit Rev Food Sci Nutr, 18:123-201, 1983.
  31. Verhoeven DT, Verhagen H, Goldbohm RA, et al. : A review of mechanisms underlying anticarcinogenicity by brassica vegetables. Chem Biol Interact, 103:79-129, 1997.
  32. Lin CM, James F, Preston I, et al. : Antibacterial mechanism of allyl isothiocyanate. J. Food Protection, 63:727-734, 2000.
  33. Eileen YY, Ingrid JP, Graham NG, et al. : In situ observation of the generation of isothiocyanates from sinigrin in horseradish and wasabi. Biochimica et Biophysica Acta, 1527:156-160, 2001.
  34. Kimura E : Antimicrobial action of allyl isothiocyanate against *Candida albicans*. Nihon Univ. J. Oral Sci, 21:261-269, 1995.
  35. 석대은, 김진희, 김미리 : 브로콜리 용매추출물의 Bioactive Organosulfur 화합물의 분리 및 동정. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr, 32:315-319, 2003.
  36. Masuda H, Ochi M, Nagatomo A, et al. : Effects of allyl isothiocyanate from horseradish on several experimental gastric lesions in rats. European Journal of Pharmacology, 561:172-181, 2007.
  37. Etoh H, Nishimura A, Takasawa R, et al. :  $\omega$ -Methylsulphanylalkyl isothiocyanates in Wasabi, *Wasabia japonica* Matsum. Agricultural and Biological Chemistry, 54:1587-1589, 1990.

Abstract

STUDY ON COMPARISON OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY BETWEEN  
HORSERADISH(*ARMORACIA RUSTICANA*) ROOT EXTRACTS AND SYNTHETIC ALLYL  
ISOTHIOCYANATE AGAINST ORAL PATHOGENIC MICROORGANISMS

Kwang-Sun Park, Ho-Wom Park, Il-Sik Shin\*, Ju-Hyun Lee, Hyun-Woo Seo

*Department of Pediatric Dentistry, Oral Science Research Center, College of Dentistry,  
\*Faculty of Marine Food Science & Technology, Kangnung National University*

Allyl isothiocyanate(AIT), the principle ingredient of antimicrobial ingredients from horseradish root, can be prepared from extracts of horseradish root or synthetic method. It is reported that the horseradish root extract has the antimicrobial effect against various oral microorganisms, while there is no further study about the antimicrobial effect against the oral microorganisms of synthetic AIT derived from synthetic method.

The aim of the study is to compare the difference of the antimicrobial effect between horseradish root extracts and synthetic AIT.

To evaluate the antimicrobial effect, we measured the minimum inhibitory concentration(MIC) and minimum bactericidal concentration(MBC), and the results are like following.

1. The MIC of horseradish root extract against 7 kinds of oral pathogenic microorganisms is about 117~1,750 ppm(0.0117~0.175%), and the MIC of the synthetic AIT is about 344~3,000 ppm(0.0344~0.3%), which have the antimicrobial effects against all kinds of microorganisms.
2. The MBC of the horseradish root extracts against the 7 kinds of oral microorganisms is about 625.2~6,000 ppm(0.06252~0.6%), and the MBC of the synthetic AIT is about 1,750~7,000 ppm(0.175~0.7%), which have the antimicrobial effects against all kinds of microorganisms.

**Key words** : Horseradish(*Armoracia rusticana*), Natural extract, Allyl isothiocyanate(AIT), Wasabi, Antimicrobial activity