

고추냉이 추출물의 항균효과에 관한 연구

서기림* · 김도엽 · 양성일

가톨릭대학교 화학과,* 한국화학연구소 의학활성연구팀

Studies on the Antimicrobial Effect of Wasabi Extracts

Kih Lim Seo* · Doyeob Kim · Sung-Il Yang

Department of Chemistry,* Catholic University of Korea, Puchon, Korea
Pharmaceutical Screening Research Team, Korea Research Institute of Chemical Technology,
TaeJon, Korea

ABSTRACT

The volatile components of *Entrema wasabi* were prepared by distillation and ether extraction. The extracts were similar in the color, the odor, and the antimicrobial activity to allylthiocyanate, the main ingredient of wasabi essential oil. The antimicrobial activity of the extracts was evaluated and it was found that these had the antibacterial effect against a broad spectrum of pathogenic bacteria such as *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Pseudomonas* and *Salmonella*.

KEY WORDS : wasabi · volatile components · allylthiocyanate · antimicrobial effect.

서 론

고추냉이는 다년생 식물로 한랭한 계곡에서 자생하며 냉지에서 재배되기도 하는데 학명이 *Entrema wasabi*인 일본산과 또한 학명이 *Armoracia rusticana*이고 영어명으로 Horse radish인 남동부 유럽산으로 대별된다. 이 식물의 특징은 뿌리에 상처를 내거나 껍질을 벗기면 독특한 냄새와 매운맛을 나타낸다. 이런 향미때문에 서유럽에서는 적당히 가공하여 식욕증진이나 소화촉진 식품으로 사용하여 왔다.

이 독특한 향미의 주요성분은 고추냉이 정유의 주요 휘발성 성분인 allylthiocyanate로 밝혀졌다. 이 물질은 식물내에 처음부터 존재하는 것이 아니라 조직에 들어있는 thioglucoside의 일종인 sinigrin이 불활성인 상태로

채택일 : 1995년 10월 4일

존재하다가 일단 조직을 절단하거나 상처를 입히면 조직 중에 들어 있는 효소인 myrosinase(myrosulfatase와 thioglucosidase의 복합효소)의 작용으로 이 sinigrin이 가수분해되면서 글루코오스와 황산수소 칼륨 및 allylthiocyanate가 생성된다¹⁾. 시중에서 판매되는 식용 와사비 분말도 물을 가하면 위와 같은 반응에 의해 매운 맛과 향기를 나타낸다. Allylthiocyanate는 맛과 향으로 인한 식욕 및 소화 촉진 작용외에도 *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Saccharomyces cerevisiae* 및 *Aspergillus oryzae*에 대해 항균작용을 나타내는 것으로 보고되었다¹⁾.

그러나 이와 같이 고추냉이의 항균효과는 몇 가지 일반 세균에 국한되어 조사된 바, 본 연구에서는 내성균을 포함한 광범위한 병원미생물에 대한 고추냉이 정유의 항균효과를 조사하여 고추냉이의 항균 약용식품으로서의 가치를 타진하였으며, 또한 고추냉이 정유를 좀 더 쉽게 대량 분리하

기 위하여 기존의 방법을 변형한 새 방법을 고안하였다.

재료 및 방법

1. 시 약

시료 고추냉이는 색소나 다른 첨가물을 넣지 않은 중국산 분말 원료를 오투기식품연구소로부터 공급받아 사용하였으며, allylisothiocyanate는 Aldrich에서 구입하였다.

2. 고추냉이 정유의 추출

고추냉이 분말 50g을 둥근바닥 플라스크에 넣고 물을 50~60ml 가한 다음 잘 섞었다. 이 플라스크를 37℃ 물중탕에서 한시간 방치하여 반응시켰다. 여기에 300ml의 증류수를 더 넣고 잘 섞은 다음 플라스크에 냉각기를 연결하고 5시간 정도 가열하여 50ml 정도의 응축수를 받았다. 이 응축수를 분별깔대기에 옮겨 넣고 여기에 응축수 부피의 두배 정도의 디에틸 에테르를 가한 다음 잘 흔들어서 수층에 있던 정유를 에테르에 용해시켰다. 방치후 두층이 분리되면 에테르층을 분리하여 진공증발기에 옮겨 넣고 에테르를 증발, 제거하여 소량의 노란색 정유를 얻었다. 이 정유(W.E.O. : Wasabi essential oil이라 명명함)를 사용하여 항균성 실험을 수행하였다.

3. 균 주

W.E.O.의 광범위한 항균력을 조사하기 위해서 *Staphylococcus* (methicillin 내성 균주 포함), *Streptococcus*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Enterobacter*,

Salmonella 등을 사용하였다.

4. 항균력 test

W.E.O.와 allylisothiocyanate의 항균효과는 박테리아의 발육을 저지할 수 있는 최소농도(MIC ; minimum inhibitory concentration)로 표현하였다. MIC는 agar plate에서 자란 각 균주의 colony를 10ml의 Mueller Hinton Broth에 접종하여 18시간 동안 정치배양한 다음, broth microdilution method²⁾에 의해 다음과 같이 결정하였다. 위의 정치배양균을 균농도가 5×10^6 c.f.u./ml이 되도록 10×Mueller Hinton broth 또는 10×brain heart infusion broth로 희석시킨 후, 10μ를 96 well plate의 각 well에 분주하였다. 여기에, 2배씩 희석된 W.E.O. 또는 allylisothiocyanate를 농도별로 90μ를 가한 후, 37℃에서 18시간 동안 배양하였다. MRSA에 대한 MIC 측정시는 30℃ 배양기에서 48시간 동안 배양하였다. 그후 microplate reader로 optical density를 측정하거나 또는 육안으로 검사하여 turbidity가 없는 well의 해당 시료농도를 MIC값으로 정하였다.

결 과

1. W.E.O.의 23개 병원미생물에 대한 항균효과 측정

W.E.O.의 항균 스펙트럼을 조사하기 위해서 23개 균주들에 대한 MIC 테스트를 실시하였다(Table 1). 이들

Table 1. Minimum Inhibitory Concentrations(MICs) of W.E.O. against 23 bacterial strains

Strain	MIC*(% v/v)	Strain	MIC*(% v/v)
<i>Streptococcus pyogenes</i> 308A	0.05 - 0.1	<i>Enterobacter cloacae</i> 1321E	0.1 - 0.4
<i>Streptococcus pyogenes</i> 77A	0.025 - 0.05	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1592E	0.003 - 0.025
<i>Streptococcus faecium</i> MD8b	0.4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1771	0.025
<i>Staphylococcus aureus</i> SG511	0.003 - 0.0125	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1771M	< 0.003 - 0.003
<i>Staphylococcus aureus</i> 285	0.006 - 0.05	<i>Klebsiella oxytoca</i> 1082E	0.1 - 0.2
<i>Staphylococcus aureus</i> 503	0.003 - 0.025	<i>Klebsiella aerogenes</i> 1522E	0.1 - 0.2
<i>Escherichia coli</i> 078	0.006 - 0.0125	<i>Salmonella typhimurium</i>	0.025 - 0.05
<i>Escherichia coli</i> DC 0	0.025 - 0.1	<i>Salmomella enteritidis</i>	0.01
<i>Escherichia coli</i> DC 2	0.006	<i>Salmonella paratyphi</i> A	0.001
<i>Escherichia coli</i> TEM	0.025 - 0.1	<i>Salmonella oranienberg</i>	0.001
<i>Escherichia coli</i> 1507E	0.025 - 0.1	<i>Salmonella orion</i>	0.1
<i>Enterobacter cloacae</i> P99	0.1 - 0.2		

*Ranges of the MIC values from three to four determinations were presented.

Table 2. Effect of Inoculum Size on the MICs(% v/v) of W.E.O.

Strain	Inoculum size(c.f.u./ml)			Strain	Inoculum size(c.f.u./ml)		
	5×10^4	5×10^5	5×10^6		5×10^4	5×10^5	5×10^6
<i>St. pyogenes</i> 308A	0.05	0.05	0.2	<i>E. coli</i> 1507E	0.025	0.025	0.05
<i>St. pyogenes</i> 77A	0.0125	0.025	0.025	<i>Ent. cloacae</i> P99	0.1	0.1	0.2
<i>St. faecium</i> MD8b	0.4	> 0.4	> 0.4	<i>Ent. cloacae</i> 1321E	0.1	0.1	0.2
<i>S. aureus</i> SG511	< 0.003	0.003	0.025	<i>P. aeruginosa</i> 1592E	< 0.003	< 0.003	0.025
<i>S. aureus</i> 285	< 0.003	0.006	0.0125	<i>P. aeruginosa</i> 1771	0.0125	0.025	0.025
<i>S. aureus</i> 503	< 0.003	< 0.003	0.0125	<i>P. aeruginosa</i> 1771M	< 0.003	< 0.003	0.003
<i>E. coli</i> 078	0.006	0.006	0.0125	<i>Kl. oxytoca</i> 1082E	0.1	0.1	0.2
<i>E. coli</i> DC O	0.0125	0.025	0.05	<i>Kl. aerogenes</i> 1522E	0.1	0.1	0.2
<i>E. coli</i> DC 2	< 0.003	0.006	0.0125	<i>Sal. typhimurium</i>	0.025	0.025	0.05
<i>E. coli</i> TEM	0.0125	0.025	0.05				

23개 균에 대한 W.E.O.의 MIC값은 0.003~0.4%(v/v)으로써, W.E.O.는 그람양성 및 음성균에 대해 전반적으로 양호한 항균 효과를 나타내었으며, 이 중 특히 *Staphylococcus*와 *Pseudomonas*에 탁월한 항균작용을 나타내었다. 한편, W.E.O.가 살균 또는 정균작용을 갖는지를 조사한 결과, W.E.O.는 살균력을 지님을 알 수 있었다(data not shown).

2. 균 접종량(inoculum size)에 따른 W.E.O.의 항균력 변화

위의 Table 1에 나타난 바와 같이 몇몇 균에 대한 W.E.O.의 MIC값은 테스트 간에 2~8배 정도의 차이를 나타내었다. 항생물질의 항균효과는 테스트에 사용한 균접종량에 의해 좌우될 수 있으므로³⁴⁾, 균접종량의 차이가 W.E.O.의 항균력에 미치는 영향을 조사하였다(Table 2). 균접종량이 5×10^4 c.f.u./ml일 때의 W.E.O.의 MIC값은 균접종량 5×10^5 c.f.u./ml일 경우의 MIC값과 매우 유사하였으나, 5×10^6 c.f.u./ml의 균을 사용하였을 때에는 5×10^5 c.f.u./ml의 균을 사용하였을 때에 비해 거의 모든 균에 대해 2~8배 높은 MIC값을, 즉 저하된 항균효과를 나타내었다. 따라서, W.E.O.의 항균효과는 균접종량에 따라 상당히 영향을 받음을 알 수 있었다.

3. MRSA(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*)에 대한 W.E.O.의 항균효과

위의 Table 1에 나타난 바와 같이, W.E.O.는 *Staphylococcus aureus*에 양호한 항균력을 나타내는데, *Sta-*

Table 3. MICs of W.E.O. against MRSA strains

MRSA strain	MIC (% v/v)	MRSA strain	MIC (% v/v)
<i>S. aureus</i> 88 E	0.025	<i>S. aureus</i> 693 E	0.025
<i>S. aureus</i> 121 E	0.025	<i>S. aureus</i> 694 E	0.025
<i>S. aureus</i> 208 E	0.025	<i>S. aureus</i> 695 E	0.025
<i>S. aureus</i> 256 E	0.025	<i>S. aureus</i> 697 E	0.025
<i>S. aureus</i> 690 E	0.025	<i>S. aureus</i> 701 E	0.025
<i>S. aureus</i> 692 E	0.025	<i>S. aureus</i> 703 E	0.025

*phylococcus*는 methicillin에 대한 내성여부에 따라, Table 1에 사용한 methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*(MSSA)와 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA)로 나눌 수 있다. MRSA는 methicillin 항생제외의 기타 다른계열의 항생제에도 복합내성을 보일 뿐 아니라 그 출현빈도가 급증하고 있어 심각한 문제가 되고 있다. 이에, MRSA에 대한 W.E.O.의 항균력을 조사하였다(Table 3). Table 1에서 사용한 *Staphylococcus aureus*균들(MSSA)에 대한 MIC값보다는 약간 높은 양상을 나타내지만, 테스트한 12개 모두의 MRSA 균에 대한 W.E.O.의 MIC값은 0.025%(v/v)로써, 여전히 좋은 항균력을 나타내었다.

4. W.E.O.와 allylisothiocyanate와의 항균력 비교

고추냉이의 주된 성분은 allylisothiocyanate라고 알려져 있는바, 본 실험실에서 추출한 W.E.O.와 Aldrich에서 구입한 allylisothiocyanate의 MIC를 비교 조사하였다.

고추냉이의 항균효과

Table 4. Comparison of the MICs(% v/v) of Wasabi essential oil(W.E.O) and Allylisothiocyanate(A.I.C.)

Strain	W.E.O.	A.I.C.	Strain	W.E.O.	A.I.C.
<i>St. pyogenes</i> 308A	0.05	0.05	<i>E. coli</i> 1507E	0.025	0.025
<i>St. pyogenes</i> 77A	0.025	0.025	<i>Ent. clocae</i> P99	0.1	0.1
<i>St. faecium</i> MD8b	> 0.4	> 0.4	<i>Ent. clocae</i> 1321E	0.2	0.2
<i>S. aureus</i> SG511	0.003	< 0.003	<i>P. aeruginosa</i> 1592E	< 0.003	< 0.003
<i>S. aureus</i> 285	0.006	< 0.003	<i>P. aeruginosa</i> 1771	0.025	0.0125
<i>S. aureus</i> 503	< 0.003	0.003	<i>P. aeruginosa</i> 1771M	< 0.003	< 0.003
<i>E. coli</i> 078	0.006	0.006	<i>Kl. oxytoca</i> 1082E	0.1	0.1
<i>E. coli</i> DC O	0.025	0.0125	<i>Kl. oxytoca</i> 1522E	0.1	0.1
<i>E. coli</i> DC 2	0.006	< 0.003	<i>Sal. typhimurium</i>	0.025	0.025
<i>E. coli</i> TEM	0.025	0.0125			

Table 4에서 보는 바와 같이, W.E.O.와 allylisothiocyanate는 19개 균에 대해 매우 유사한 항균 스펙트럼을 나타내었을 뿐 아니라, 두물질의 항균 역가도 거의 동일하였다. 따라서, 본 실험실에서 사용한 고추냉이 추출방법에 의해 많은 량의 W.E.O.를 얻을 수 있었으며, W.E.O.의 주 성분은 allylisothiocyanate일 가능성이 있음을 알 수 있었다.

고 찰

본 연구로부터, 고추냉이 정유가 *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* 및 *Salmonella*를 포함한 많은 병원미생물에 대해 항균작용(MIC값 : 0.003~0.4% v/v)을 지님을 알 수 있었다. 이러한 고추냉이 정유의 MIC값은, 오랜 고대부터 감염을 퇴치하기 위한 민간약으로 널리 사용되어온 대표적인 식품인⁵⁶⁾ 마늘(*Allium sativum*) 엑기스의 *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* 및 *Pseudomonas aeruginosa*를 포함한 14개의 테스트 균에 대한 MIC값(0.78~3.1% v/v)⁷⁾보다 2~1000배 정도 낮게 나타났다. 마늘엑기스의 MIC값이 고추냉이의 MIC값보다 상당히 높은 이유로서, *Farbman* 등⁷⁾이 마늘엑기스의 항균력 측정에 사용한 균과 본 연구에서 사용한 균이 다르거나, 또는 마늘엑기스 중의 항균물질 함량이 낮을 가능성을 배제할 수는 없지만, 이런 모든 사항을 고려하더라도 고추냉이도 감염 예방 또는 퇴치를 위한 식품으로 활용될 가치가 충분히 있다 하겠다.

결 론

고추냉이 정유인 W.E.O.는 MRSA를 포함한 23개의 병원미생물에 대해 MIC값 0.003~0.4%(v/v)의 양호한 항균효과를 나타내었다.

Literature cited

- 1) 宮本 梯次郎. ワサビ・シナモンの 抗菌性 とその 利用. フードケミカル 2 : 30-34, 1988
- 2) National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. National Committee for Clinical Laboratory Standard Document M7-A2. Vol 10, 1990
- 3) Baker CN, Thornsberry C, Hawkinson RW. Inoculum standardization in antimicrobial susceptibility tests : evaluation of the overnight agar cultures and the rapid inoculum standardization system. *J Clin Microbiol* 17 : 450-457, 1983
- 4) Sahn DF, Torres C. Effects of medium and inoculum variations on screening for high level amino-glycoside resistance in *Enterococcus faecalis*. *J Clin Microbiol* 26 : 250-256, 1988
- 5) Cavallito CJ, Bailey JH. Allicin, the anti-bacterial principle of *Allium sativum*. 1. Isolation, physical properties and antibacterial action. *J Amer Chem Soc* 66 : 1950, 1944

서기림 · 김도엽 · 양성일

- 6) Cavallito CJ, Bailey JH, Buck JS. The anti-bacterial principle of *Allium sativum*. 3. Its precursor and "essential oil of garlic". *J Amer Chem Soc* 67 : 1032, 1945
- 7) Farbman KS, Barnett ED, Bolduc GR, Klein JO. Antibacterial activity of garlic and onions : a historical perspective. *Pediatric Infectious Disease Journal* 12 : 613-614, 1993