

## 마늘즙액의 대장균 생육 저해 작용

김연순\* · 박경숙 · 경규향 · 심선택\*\* · 김현구\*\*\*

세종대학교 식품공학과, \*조선대학교 가정교육학과

\*\*(주) 농심, \*\*\*영동전문대학 조리과

## Antibacterial Activity of Garlic Extract against *Escherichia coli*

Youn Soon Kim\*, Kyung-Suk Park, Kyu Hang Kyung,

Sun Taek Shim\*\* and Hyun Ku Kim\*\*\*

Department of Food Science, Sejong University

\*Department of Home Economics, Chosun University

\*\*Nong Shim Co., Ltd.

\*\*\*Department of Culinary, Yeong Dong Junior College

### Abstract

Antibacterial action of garlic extract against *Escherichia coli* was investigated. When the survival of *E. coli* in tryptic soy broth (TSB) containing 50% garlic extract was compared with those of *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* and *Staphylococcus aureus*, *E. coli* was the most sensitive to garlic antibacterial action. When *E. coli* was inoculated into TSB with different concentrations of garlic extract, viable cell number decreased continuously during the test period even at 1% garlic extract. When *E. coli* was inoculated into pH-adjusted TSB containing 0.5% garlic extract, viable cell number of *E. coli* decreased continuously at initial pH of 5.2 and 6.2, while it decreased initially but increased to  $8.0 \times 10^7$  CFU/ml at 48 hr at pH 7.2. With larger initial populations ( $10^6$  CFU/ml), *E. coli* grew without apparent inhibition, while with smaller initial populations ( $<10^5$  CFU/ml), viable cell number decreased initially but later increased. Thiol compounds like cysteine and glutathione, with free SH group(s), helped *E. coli* to grow or survive better in TSB with inhibitory level (5%) of garlic extract. The possibility of eliminating *E. coli* by using garlic extract from foods like *kimchi* of which garlic is one of regular ingredients is suggested.

Key Words: garlic, antibacterial action, *Escherichia coli*

### 서 론

마늘의 항미생물 작용에 대하여는 오래 전부터 알려져 왔으며 *Staphylococcus aureus*<sup>(1,2)</sup>, *Bacillus cereus*<sup>(3)</sup>, *Clostridium botulinum*<sup>(4)</sup>, *C. perfringens*<sup>(5)</sup>, *Lactobacillus plantarum*<sup>(6)</sup>, *Candida utilis*<sup>(7)</sup> 등이 마늘의 즙액이나 마늘정유에 의해 생육이 저해받는 사실이 이미 보고되었다. 마늘즙액의 함량이 1-2%일 때는 일반적인 미생물의 번식을 저해하고 농도가 그 이상 높아지면 여러가지 미생물을 사멸시킨다고 하였다. Dababneh와 Al-Deleimy<sup>(8)</sup>는 1% 마늘즙액에서 *S. aureus*의 번식이 저해되었다고 보고하였으며, Mantis 등<sup>(9)</sup>은

마늘즙액 1% 이하에서는 *S. aureus*의 생육에 영향을 주지 않았으나 2%나 그 이상에서는 *S. aureus*의 번식을 저해하였고 5%나 그 이상에서는 사멸효과가 있다고 보고하였다. Karaioannoglou 등<sup>(6)</sup>은 1% 마늘즙액은 *L. plantarum*의 번식을 저해하였고 2% 이상에서는 사멸효과가 있었다고 하였다. 한편 마늘즙액은 1%의 농도에서도 효모의 번식을 대단히 강력하게 저해하였다고 보고되었다<sup>(9)</sup>.

한편 김치발효시에 마늘의 영향을 연구한 보고에 의하면 마늘을 첨가하였을 때 호기성 세균의 숫자 증가는 뚜렷이 감소되었으나 젖산균은 오히려 더 잘 번식하였고<sup>(10,11)</sup>, 김치로부터 분리한 개별 호기성 세균은 1% 또는 2% 마늘즙액이 있을 때 세균의 번식이 완전히 저해되었으나<sup>(12)</sup> 젖산균은 마늘의 함량이 6%까지

도 번식이 촉진되었다고 보고하였다. 김치제조시 마늘이 들어 있지 않을 때에 비해 1-3%의 마늘이 들어 있을 때는 적정산도의 증가가 훨씬 빠르게 증가하여<sup>(13)</sup> 마늘이 젖산발효를 촉진한다는 사실을 시사하였다.

마늘의 주된 항미생물 작용 물질은 allicin이라고 알려져 있고<sup>(14)</sup> 화학적으로는 allyl 2-propenethiosulfinate의 구조를 가졌으며 생마늘에는 들어있지 않지만 마늘이 상처를 입게 되면 마늘에 전구체로 들어 있던 alliin (또는 S-allyl-L-cysteine sulfoxide)이 마늘에 들어 있는 alliinase에 의해 allicin으로 분해된다는 연구결과는 이미 잘 알려진 사실이다<sup>(15)</sup>. 마늘에는 S-allyl-L-cysteine sulfoxide 이외에 S-methyl-L-cysteine sulfoxide 등이 함유되어 있고<sup>(16)</sup> 이 역시 alliinase에 의해 미생물생육 저해작용이 있는<sup>(17)</sup> methyl methanethiosulfinate로 분해된다. 마늘에 함유되어 있는 allicin이나 그의 analog인 methyl methanethiosulfinate가 가지는 항미생물 작용은 thiosulfinate가 세포내 중요한 단백질의 SH기와 반응하여 단백질의 활성을 저해하기 때문이라는 보고가 있다<sup>(17-19)</sup>. Small 등<sup>(17)</sup>은 thiosulfinate의 -S(O)S-가 항미생물 작용을 나타내는 부분이며 thiosulfinate는 cysteine과 쉽게 결합한다는 것을 확인하였다. 기타 마늘의 항미생물 작용에 대한 설명으로는 allicin이 호흡에 관여하는 효소의 SH기와 반응한다는 것<sup>(20)</sup>과 지방산 합성에 관여하는 acetyl-Co A synthetase를 특이하게 저해한다는 보고<sup>(21)</sup>가 있었다.

본 연구에서는 마늘즙액이 위생지표세균인 *E. coli*에 대한 번식저해 또는 사멸작용에 미치는 연구를 하여 마늘의 사용이 가능한 김치와 같은 식품에서 *E. coli*의 제거 가능성을 타진하여 보았다.

## 재료 및 방법

### 재료

마늘은 1993년 12월과 1994년 5월 사이에 서울 가락동 농수산물 시장과 서울 성동구 화양시장에서 구입하여 사용하였다. Cysteine과 glutathione은 각각 Sigma Chem. Co. (St. Louis, MO, U.S.A.) 및 Aldrich Chem. Co. (Milwaukee, WI, U.S.A.)로부터 구입하였다.

### 균주

본 실험에 사용된 균주는 세종대학교 식품공학과에 보관중인 *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*와 김치에서 분리한 *Lac-*

*tobacillus plantarum*과 *Leuconostoc mesenteroides*이었다.

### 마늘즙액의 제조

껍질을 제거한 마늘을 수돗물로 씻어 물기를 제거한 다음 원하는 농도가 되도록 tryptic soy broth (TSB: Difco Laboratories, Detroit, MI)배지와 함께 blender (Angel Juicer)로 간 다음 17,600×g (HMR-220IV, Hanil Industrial Co.)에서 30분동안 원심분리하고 그 상징액을 0.45 μm (Gelman Sciences, Inc., Ann Arbor, MI)로 여과 제균한 것을 마늘즙액으로 사용하였다.

### 시험배지와 균주배양

젖산균과 일반세균은 각각 Lactobacilli MRS agar (MRS; Difco Laboratories)와 tryptic soy agar (TSA; Difco Laboratories)에 30°C에서 48시간 배양한 뒤 여기에서 자란 균을 각각 MRSB와 TSB 액체배지에 접종하여 30°C에서 24시간동안 정치배양한 것을 종균으로 사용하였다.

50% 마늘즙액에서 미생물의 사멸정도를 시험할 때는 마늘즙액을 제조한 후 종균을 초기 균수가  $10^7$  CFU/ml 되도록 접종한 다음 30°C에서 24시간동안 120 rpm으로 진탕배양하면서 3시간마다 생균수를 측정하였다. 마늘 농도에 따른 영향을 시험하기 위하여는 0.5%, 1%, 2%, 5%, 10% 마늘즙액을 제조하여 *E. coli*를  $5 \times 10^5$  CFU/ml가 되도록 접종하였고, 마늘의 접종 균수에 의한 영향을 시험하기 위해서는 0.5% 마늘즙액에 *E. coli*의 초기균수가  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  CFU/ml가 되도록 접종하였다. 마늘의 pH에 의한 영향 역시 0.5% 마늘즙액을 제조하여 사용했으며 이 때 blender로 간 즉시 pH를 5.2, 6.2, 7.2로 조절하였다. 0.5% 마늘즙액이 함유된 TSB 액체배지의 pH는 7.2였으며 마늘만을 갈았을 때의 pH는 6.2였다.

마늘즙액의 생육 저해작용에 대한 cysteine과 glutathione에 의한 저해반전을 시험하기 위하여 5% 마늘즙액이 포함된 TSB에 cysteine과 glutathione<sup>o</sup> 각각 1 mM, 5 mM, 10 mM이 되도록 배지를 만들어 *E. coli* 종균을  $10^5$  CFU/ml가 되게 접종하고 30°C에서 48시간 동안 정치배양하였다.

### 생균수측정

배양액 1 ml를 취하여 회석한 후 plate count agar (PCA; Difco Laboratories)에 평판주가법으로 접종하고 30°C에서 24-48시간 배양한 후 나타난 접락수를 colony-forming unit (CFU)/ml로 표시하였다.

## 결과 및 고찰

### 마늘에 의한 미생물 사멸효과 비교

50% 마늘즙액에서 미생물의 사멸정도를 비교해 본 결과는 Fig. 1과 같았다. *E. coli*는 6시간만에 접종균 전부( $10^7$  CFU/ml)가 사멸하였던 반면 젖산균인 *L. mesenteroides*와 *L. plantarum*의 경우는 생균수가 24시간 후에 약 1000분의 1정도로 감소하였고 *S. aureus*는 18시간만에 모두 사멸하여, *E. coli*가 다른 시험세균에 비해 마늘의 생육 저해 작용에 대한 감수성이 매우 높은 것으로 나타났다. 김치에 낮은 농도의 마늘을 첨가하였을 때 일반 호기성 세균은 번식에 저해를 받는 반면 젖산균의 번식은 오히려 촉진되었고<sup>(10,11)</sup> 적정산도의 증가속도가 빨랐다는 보고<sup>(13)</sup>와 비교하였을 때 잘 일치되는 결과이다. 깐마늘을 갈아 저장하면서 분리한 세균이 모두 *L. mesenteroides*로 밝혀졌다는 Kyung 등<sup>(22)</sup>의 연구결과로부터도 젖산균 특히 *L. mesenteroides*가 마늘의 항미생물작용에 내성이 크다는 것을 알 수 있었다. 그러나 마늘의 항미생물성 물질이 allicin임을 밝혀내었던 Cavallito 등<sup>(18)</sup>은 세균의 그람염색성이 마늘의 항미생물 작용에 대한 내성과는 관계가 없다고 하였다. 마늘의 항미생물 작용에 대한 미생물의 감수성은 미생물마다 다른데 이것은 주로 개별 미생물의 성질에 따라 다를 것으로 보고 있

다. 즉, 한 미생물의 중요한 효소가 lipoprotein의 형태로 있으면 allicin이 지용성인 관계로 영향을 미치기가 쉽고, 단백질의 구조상 SH기가 단백질의 표면에 위치해 있으면 역시 allicin에 의해 영향을 받기가 쉬우며, SH기가 단백질 구조의 내부에 위치하면 thiosulfinate에 의한 영향을 덜 받을 것이라고 하였다<sup>(17)</sup>. 실제로 단백질의 SH기는 쉽게 반응할 수 있는 것, 느리게 반응하는 것, 그리고 구조상으로 보아 단백질 분자의 입체구조 내부에 감추어져 있어 반응이 어려운 세 가지로 분류된다고 하였다<sup>(25)</sup>.

마늘이 미생물 번식저해 또는 사멸작용에 미치는 영향은 마늘의 allicin을 포함하는 thiosulfinate가 미생물의 대사에 관계되는 중요한 단백질의 SH기와 반응하여 효소로서의 작용을 하지 못하게 하기 때문으로 보는데, 이는 cysteine<sup>o</sup> thiosulfinate와 쉽게 반응한다는 보고<sup>(17,19)</sup>는 물론 마늘의 항미생물작용을 없애준다는 Cavallito와 Bailey<sup>(14)</sup>의 보고로부터도 알 수 있다. 그리고 cysteine이나 glutathione과 같은 SH화합물을 마늘즙액에 첨가하면 여러가지 미생물의 번식을 도와준다는 결과도 있었다<sup>(22)</sup>.

### 마늘즙액 함량이 미생물의 번식에 미치는 영향

*E. coli*는 1% 이상의 마늘즙액이 들어 있는 TSB에서는 모두 사멸되는 양상을 보였으며 마늘즙액의 농

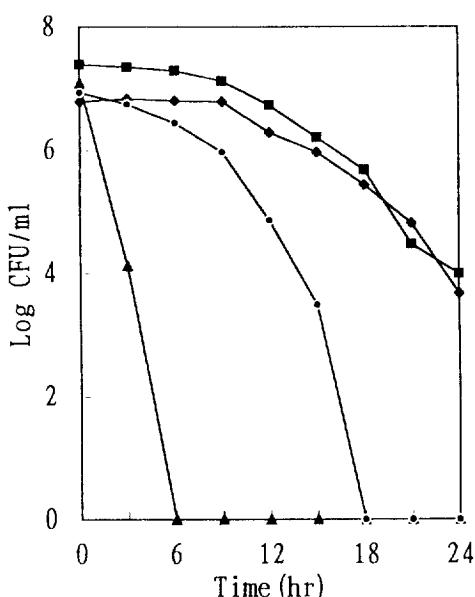


Fig. 1. Survival of different bacteria in TSB containing 50% garlic extract ■—■; *Leuconostoc mesenteroides*, ◆—◆; *Lactobacillus plantarum*, ●—●; *Staphylococcus aureus*, ▲—▲; *Escherichia coli*

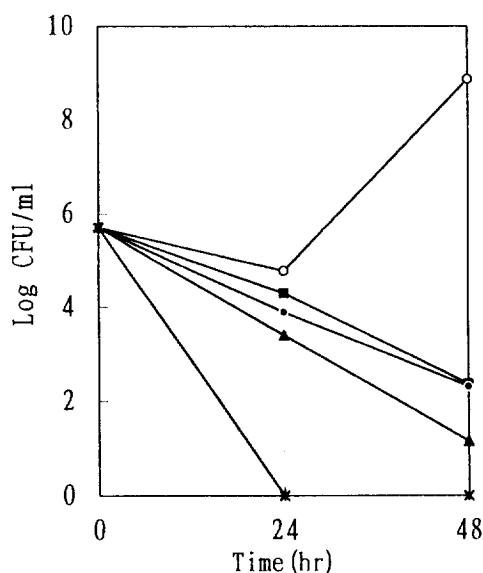


Fig. 2. Survival of *Escherichia coli* in TSB containing different amounts of garlic extract ○—○; 0.5% garlic extract, ■—■; 1% garlic extract, ●—●; 2% garlic extract, ▲—▲; 5% garlic extract, \*—\*; 10% garlic extract

도가 높아질수록 사멸속도가 빨라졌으며 마늘즙액이 10%가 들어 있을 때는 24시간째에 잔존세균이 발견되지 않았다(Fig. 2). 같은 Gram음성균인 *E. aerogenes*는 2% 마늘즙액에서는 사멸했지만 1% 마늘즙액에서는 저해를 받지 않아서(data not shown) *E. coli*보다는 내성이 높은 것으로 보였다. 마늘즙액 0.5%를 첨가한 TSB에서는 처음 24시간까지는 생존균수가 감소하였다가 48시간째에는 다시 증가하여, *E. coli*는 0.5% 마늘즙액의 저해작용은 견딜 수 있음을 알았다.

#### 배지의 pH에 따른 영향

Fig. 3에서 보는 바와 같이 마늘 0.5%의 마늘즙액이 포함된 TSB의 pH와 동일한 pH 7.2에서는 마늘에 의해 저해작용을 적게 받아서 24시간 이후 번식을 시작하여 48시간에는 매우 많은 수로 증가하였으나 pH 6.2와 pH 5.2에서는 48시간까지 계속하여 사멸효과가 나타났다. 이것은 저해물질인 allicin이 알칼리 상태에서는 불안정하게 되어 allyl disulfide와 sulfur dioxide로 되면서 독성효과를 나타내는 -S(O)S-기가 없어지기 때문으로 해석되었다<sup>(18)</sup>.

#### 접종균수에 따른 영향

접종균수가 많을수록 allicin이나 그 analog의 영향을 덜 받는다는 보고<sup>(4,6,23,24)</sup>와 같이 *E. coli*의 초기균수가  $10^6$  CFU/ml가 되도록 종균을 접종했을 때는 항미

생물작용의 영향을 받지 않거나 극복하여 24시간내에 번식하였으나, 초기균수가  $10^5$  CFU/ml이하가 되도록 접종했을 때는 24시간까지 저해되어 생균수가 감소하였다가 48시간에는 다시 생육함을 볼 수 있었다(Fig. 4). 이와같이 처음 24시간동안은 생균수가 감소하였다가 그 후에 생균수의 증가현상이 나타난 것은 상온에서 불안정한<sup>(16)</sup> allicin이 시간의 경과와 함께 항미생물작용이 없거나 약한 물질로 변하였기 때문으로 생각된다.

Thiosulfinate가 주요 항미생물 작용 물질로 함유된 석물즙액의 항미생물 작용이 초기 미생물수에 따라 다르게 나타난다는 보고는 많다. 양배추즙액에서 초기 미생물수를  $5.0 \times 10^6$  CFU/ml로 하였을 때는 *L. mesenteroides* C33가 저해없이 번식하였으나  $5.0 \times 10^5$  CFU/ml이하인 때는 번식 저해현상이 나타났다<sup>(23)</sup>. 주요 항미생물 성분이 역시 thiosulfinate인 양파즙에 *Shigella dysenteriae*와 *S. aureus*를 접종하였을 때 초기 숫자가 적으면 생균수를 완전히 감소시켰으나 접종균수가 많을 때는 그렇지 않았다<sup>(24)</sup>. 2% 마늘즙액에 *S. aureus*를 접종했을 때 초기 균수가  $>1.0 \times 10^6$  CFU/ml이면 일정한 유도기가 지났을 때 번식이 가능했지만  $<9.9 \times 10^5$  CFU/ml 때는 생균수는 계속 감소하면서 시간이 지나도 번식이 불가능하였다<sup>(6)</sup>. 이상으로 보아 마늘, 양파, 양배추 등의 항미생물 성분은 alkyl기

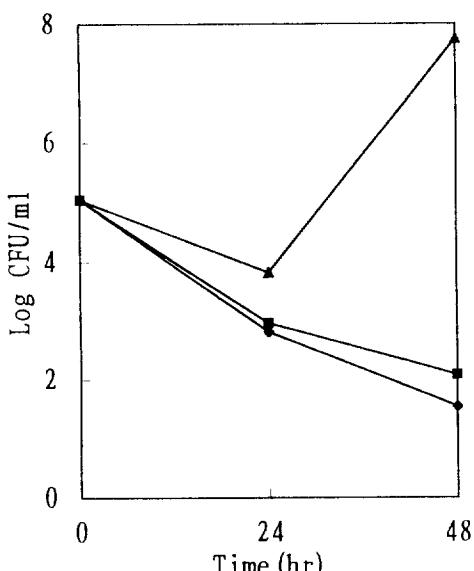


Fig. 3. Effect of initial pH on the survival of *Escherichia coli* in TSB containing 0.5% garlic extract ▲—▲; 7.2, ■—■; 6.2, ◆—◆; 5.2

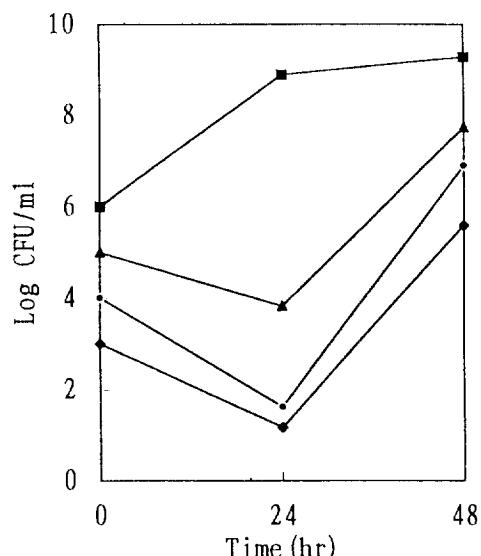


Fig. 4. Effect of initial population on the survival of *Escherichia coli* in TSB containing 0.5% garlic extract ■—■;  $10^6$  CFU/ml, ▲—▲;  $10^5$  CFU/ml, ●—●;  $10^4$  CFU/ml, ◆—◆;  $10^3$  CFU/ml, ○—○



- portant yeast-like fungi. *Mycologia*, **69**, 341 (1977)
9. Conner, D.E. and Beuchat, L.R.: Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. *J. Food Sci.*, **49**, 429 (1984)
  10. 조남철, 전덕영, 신말식, 홍윤호, 임현숙 : 마늘의 농도가 김치미생물에 미치는 영향. *한국식품과학회지*, **20**, 231 (1988)
  11. 이상금, 신말식, 전덕영, 홍윤호, 임현숙 : 마늘 첨가량을 달리한 김치의 속성에 따른 변화. *한국식품과학회지*, **21**, 68 (1989)
  12. 조남철, 전덕영 : 김치에서 분리한 호기성 세균의 생육에 대한 마늘의 영향. *한국식품과학회지*, **20**, 357 (1988)
  13. 박우포, 김재욱 : 조미료, 젓갈 등이 김치발효에 미치는 영향. *한국농화학회지*, **34**, 242 (1991)
  14. Cavallito, C.J. and Bailey, J.H.: Allicin, the antimicrobial principle of *Allium sativum*. I. Isolation, physical properties and antibacterial action. *J. Am. Chem. Soc.*, **66**, 1950 (1944)
  15. Stoll, A. and Seebeck, E.: Chemical investigations on aliiin, the specific principle of garlic. *Adv. Enzymol.*, **11**, 377 (1951)
  16. Block, E., Naganathan, S., Putnam, D. and Zhao, S.H.: *Allium chemistry*: HPLC analysis of thiosulfinate from onion, garlic (Ramsions), leek, scallion, shallot, elephant (great headed) garlic, chive, and Chinese chive. Uniquely high allyl to methyl ratios in some garlic samples. *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 2418 (1992)
  17. Small, L.D., Bailey, J.H. and Cavallito, C.J.: Alkyl thiosulfinate. *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 1710 (1947)
  18. Cavallito, C.J., Buck, J.S. and Suter, C.M.: Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. I. Determination of the chemical structure. *J. Am. Chem. Soc.*, **66**, 1952 (1944)
  19. Small, L.D., Bailey, J.H. and Cavallito, C.J.: Comparison of some properties of thiolsulfonates and thiosulfinate. *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 3565 (1949)
  20. Beuchat, L.R. and Golden, D.A.: Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol.*, **43**, 134 (1989)
  21. Focke, M., Feld, A. and Lichtenthaler, H.K.: Allicin, a naturally occurring antibiotic from garlic, specifically inhibits acetyl-CoA synthetase. *FEBS*, **261**, 106 (1990)
  22. Kyung, K.H., Park, K.S. and Kim, Y.S.: Isolation and characterization of bacteria resistant to the antimicrobial activity of garlic. *J. Food Sci.*, **61**, 226 (1996)
  23. Kyung, K.H. and Fleming, H.P.: Antibacterial activity of fresh cabbage juice. *J. Food Sci.*, **59**, 175 (1994)
  24. Al-Delaimy, K.S. and Ali, S.H.: Antibacterial action of vegetable extracts on the growth of pathogenic bacteria. *J. Sci. Food Agric.*, **21**, 110 (1970)
  25. Barron, E.S.G.: Thiol groups of biological importance. *Adv. Enzymol.*, **11**, 201 (1951)

(1996년 5월 2일 접수)