

마늘추출물의 병원성 세균에 대한 항균 효과

이우원[†] · 이승미 · 이강록 · 김금향
축산물위생검사소

Antimicrobial Effects of Garlic Extract Against Pathogenic Bacteria

Woo-Won Lee[†], Seung-MiLee, Gang-Rok Lee and Geum-Hyang Kim
Veterinary Service Laboratory

Abstracts

Garlic (*Allium sativum* L.) has long history of reputed value and actual use for its medicinal, antimicrobial and pesticidal properties. This study was conducted to find possible developments to natural food preservatives and natural antimicrobials from garlic extracts. The antimicrobial activities of raw garlic extract, garlic extract heated for 25 min at 95°C, pH adjusted 50% garlic extract, garlic extract stored for 3 week at -18°C, and tryptic soy broth (TSB) with different amounts of garlic extract at 35°C and 4°C against *Escherichia coli*, *Salmonella* Enteritidis, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, and vancomycin resistant Enterococci (VRE) were investigated.

All of the five tested strains exhibited strong antimicrobial activities. *E. coli*, *S. Enteritidis*, *L. monocytogenes*, and *S. aureus* exhibited antimicrobial activities at 20% garlic extract, but no antimicrobial activity was seen in VRE. Raw garlic extract and garlic extract heated for 2 min at 95°C showed strong antimicrobial activities, but the antimicrobial activity of garlic extract heated for 10 min at 95°C was much less, and no antimicrobial activity was seen in garlic extract heated for 25 min at 95°C. The antimicrobial activities of 50% garlic extract adjusted pH 4.0~7.0 showed much the same, but the antimicrobial activities decreased at pH 8.0 or higher. The antimicrobial activities by storage -18°C of garlic extract showed much the same. When five strains were cultured for 72 hr at 35°C in the TSB containing 1%, 2.5%, 5%, and 10% garlic extract, viable cell number of five strains were decreased to 10⁰~10⁴ CFU/mL even at 1% or 2.5%(VRE) after inoculation for 24 hr, but later increased to 10⁴~10⁹ CFU/mL after inoculation for 72 hr. When five strains were cultured for 21 day at 4°C in the TSB containing 1%, 2.5%, 5%, and 10% garlic extract, viable cell number of *E. coli*, *S. Enteritidis*, and *S. aureus* were decreased to 10³, 10⁰~10², 10¹~10⁴ CFU/mL after inoculation for 21 day, respectively, but *L. monocytogenes* and VRE increased to 10⁸ and 10⁶ CFU/mL after inoculation for 21 day.

Key words : *Allium sativum* L., Garlic extract, Antimicrobial activity

서 론

마늘(*Allium sativum* L.)은 백합과에 속하는 다년생 채소이며, 중앙아시아가 원산지로서 지중해연안으로 보급되어 오래전부터 사용됐다고 알려졌다. 예로부터 우리의 식생활에 많이 이용되어 온 중요한 향신료로서 식품의

맛을 증진할 뿐만 아니라 식품의 보존 능력이 있고, 항혈전, 항암, 혈압 강하, 혈당 강하, 콜레스테롤 저하, 동맥경화 예방, 중금속 등의 해독, 노화방지 효과 등의 많은 기능성 소재로 광범위하게 이용되고 있으며, 식중독 균과 같은 병원성 균의 증식을 억제하는 항균 작용이 있음이 보고된 바 있다^{1~5)}. 우리나라에서는 주로 육류나 어류를

[†] Corresponding author. E-mail : leewoow@korea.kr

Tel : +82-51-331-0095, Fax : +82-51-338-8266

날로 섭취할 때 식중독을 예방할 목적으로 마늘을 첨가하는 경우가 많고 김치의 향미뿐만 아니라 보존능력의 증대를 위해 마늘을 넣는 경우가 많이 있다.

마늘추출물의 항균 작용에 대한 연구들은 1858년 Louis Pasteur, 1936년 Walton 등, Sherman과 Hodge, 그리고 1944년 Pederson과 Fisher의 연구를 비롯하여 여러 학자에 의해 이루어졌다고 AL-Delaimy와 Ali⁶⁾는 보고하였다. 마늘의 주된 향미생물 작용물질은 allicin (diallyl thiosulfinate)이라고 알려졌고⁷⁾, 불안정한 화합물인 allicin은 생마늘에는 직접 존재하지 않으나 절단하거나 으개는 등의 상처를 입게 되면 마늘에 전구체로 들어 있던 alliin(S-allyl-L-cysteine sulfoxide)이 마늘에 들어 있는 효소인 alliinase에 의하여 allicin으로 분해된다는 연구 결과는 이미 잘 알려진 사실이다⁸⁾. 마늘에 함유되어 있는 allicin의 향미생물 작용은 thiosulfinate가 세포 내 중요한 단백질의 SH기와 반응하여 단백질의 활성을 저해하기 때문이라는 보고가 있다. Small 등⁹⁾은 thiosulfinate의 -S(O)S-가 향미생물 작용을 나타내는 부분이며 thiosulfinate는 cysteine과 쉽게 결합한다는 것을 확인하였다. 기타 마늘의 향미생물 작용에 대한 연구로는 allicin이 호흡에 관여하는 효소의 SH기와 반응한다는 것¹⁰⁾과 지방산 합성에 관여하는 acetyl-Co-A synthetase를 특이하게 저해한다는 보고¹¹⁾가 있다. 또한, 최근에는 마늘추출물이 vancomycin 내성 황색포도상구균 (vancomycin resistant *S. aureus*, VRSA) 및 vancomycin 내성 장구균 (VRE) 감염치료를 위한 새로운 치료제가 될 수 있다는 연구들도 있다¹²⁾. 항생제 내성 문제는 국민의 건강 및 생명과 직결되는 문제로서 사회적인 관심과 그 중요성이 점차 커지고 있다. 이에 수의·축산분야에서는 국내 축산용 항생제 사용 실태조사와 동물 및 축산물에서의 항생제 내성균의 실태 파악 등을 통한 체계적인 항생제 관리 및 세부사용 지침 확립을 위한 노력을 하고 있다. 최근에는 여러 가지 항생제에 내성을 가지는 단제 또는 다제내성균인 VRSA, VRE, methicillin 내성 황색포도상구균 (methicillin resistant *S. aureus*, MRSA), *S. Typhimurium* DT104 등의 슈퍼 박테리아가 출현하여 적절한 치료제가 없어 전 세계적으로 심각한 문제로 대두되었다¹³⁾.

세균성 식중독 또는 슈퍼 박테리아 감염증의 치료에 다양한 항균제가 사용되고 있으나 이들 병원성 세균들은 항균제 내성을 획득하고 다른 균주들에 plasmid 등을 통하여 내성을 전달함으로써 치료제 선택에 많은 어려움이 있다¹⁴⁾. 또한, 최근 식품산업의 급격한 발전과 식품의 국제화 및 다양한 인스턴트식품의 출현 등으로 미생물에 의하

여 발생하는 식품의 부패 및 변질을 방지하고, 보존기간을 연장하기 위하여 각종 인공합성보존제가 많이 이용되고 있지만, 대부분의 소비자는 안전성이 높은 천연보존제에 대한 요구가 높아지고 있다. 그러므로 세계 각국에서는 가공식품의 저장성 향상 및 안전성이 높은 천연보존제의 개발과 안전성에 문제가 없는 천연물질을 주로 식품의 원료에서 향미생물성 물질을 찾고자 하였고^{15,16)}, 세균성 식중독 또는 슈퍼 박테리아에 의한 질병 발생 시에 기존 항균제 대체물질인 천연항균 물질 연구가 활발히 수행되고 있다¹²⁾.

Escherichia coli (*E. coli*)는 동물의 장내에 서식하는 정상 세균총으로 대부분 비병원성으로 알려졌으나 그중 일부는 병원성을 가지는 것으로 알려졌다. 장출혈성대장균(EHEC)은 Shiga-like toxin을 생산하여 점막에 손상을 입힘으로써 발병하며 주요증상으로는 단순설사, 출혈성장염, 용혈성 요독증후군(Hemolytic Uremic Syndrome, HUS)을 일으킨다^{17,18)}.

*Salmonella*속 균은 그람음성의 통성 혐기성 세포 내 기생세균으로서 사람과 동물을 비롯하여 자연계에 널리 분포하고 있다. *Salmonella* Enteritidis (*S. Enteritidis*)는 1980년대 중반 이후 사람에서 식품 매개를 통한 질병이 증가되고 있다. 이 균은 사람과 동물에 감염하여 주로 급성장염을 일으키며, 오염된 계란이나 식품을 통하여 폭발적인 식중독 발생을 일으키고 있다¹⁹⁾. 특히 NSC (National *Salmonella* Center)는 이 균을 1997년 이후부터 살모넬라 감염증에서 가장 많이 분리되는 serotype(50%)으로 보고하고 있다²⁰⁾.

Listeria monocytogenes (*L. monocytogenes*)는 그람 양성균의 단간균으로서 자연계에 널리 분포하고 있다. 이 병원체는 신생아의 뇌척수막염, 임산부의 유산 및 성인에서 면역결핍증 등을 일으키며, 동물에서 뇌척수막염, 패혈증, 유산 및 유방염의 원인이 된다. 이 균의 생태학적인 특성을 보면 2.5~44℃의 온도역에서 발육할 수 있고 반복된 동결과 해동에 저항한다. 또한, pH 5.0~9.0 범위에서 증식하며 식품에 오염된 *L. monocytogenes*는 다른 오염 미생물과 경쟁적으로 생존하거나 증식할 수 있다. 따라서 이 균이 오염된 우유, 식육 및 그 가공품 등을 냉장보존할 때 냉장하기 전의 이들 식품에서 분리되는 균수보다 더 높은 수준으로 증가하여 질병의 원인이 될 가능성이 높다²¹⁾.

Staphylococcus aureus (*S. aureus*)는 그람 양성 구균으로 자연계에 널리 분포하고 있으며, 사람과 동물의 피부에 상재하는 정상세균이지만 적당한 환경조건을 주면

여러 가지 질병을 일으키는 기회감염 균이다. 황색포도상구균에 의해서 생산되는 장독소는 사람에서 구토, 설사 및 장염 등을 일으키는 주된 식중독 원인체의 하나일 뿐 아니라 독성 쇼크성 증후군을 일으켜 치사에 이르게 할 수 있다고 보고되어 있다²²⁾.

장구균(Enterococci)은 균혈증, 요로감염, 심내막염 등을 흔히 일으키는 주요 병원균으로 1970년대 β -lactam 항균제와 aminoglycoside 병합요법에 반응하지 않는 aminoglycoside 고도내성을 가지는 장구균이 등장한 이래 장구균의 내성 발현이 전 세계적으로 문제가 되었다. 1986년에는 이러한 장구균의 유일한 치료약제인 vancomycin에 내성을 갖는 장구균이 발견되었고 glycopeptide 제제의 사용 증가와 함께 그 빈도가 급증하면서 심각한 문제점으로 대두되었다. VRE에 의한 감염증은 현재 개발된 glycopeptide계 항균제를 대체할 수 있는 효과적인 약제가 개발되지 않아 치료에 많은 어려움이 있다²³⁾.

따라서 본 연구에서는 향후 마늘추출물을 이용한 식중독 예방, 가공식품의 저장성 향상과 안전성 확보라는 측면에서 안전성이 높은 천연보존제의 개발 및 천연항균제 개발의 가능성을 알아보고자 *E. coli*, 식중독균인 *S. Enteritidis*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* 및 VRE에 대하여 마늘추출물의 농도, 열처리, pH 그리고 보존온도에 의한 항균성을 조사하였다.

재료 및 방법

사용균주

시험에 사용한 균주는 식중독의 대표적인 균인 *S. Enteritidis* (ATCC 13076), *L. monocytogenes* (ATCC 19117), *S. aureus* (ATCC 25923) 및 VRE는 국립수의과학검역원으로부터 분양받아 사용하였고, *E. coli*는 부산지역에서 도축된 돼지 도체표면으로부터 분리하여 사용하였다. 균주는 tryptic soy agar (TSA, Merck) 평판배지에 접종하여 37°C에서 24시간 2회 계대 배양하였다. 이를 다시 tryptic soy broth (TSB, Merck) 5mL에 접종하여 37°C에서 24시간 배양한 다음 0.1 M potassium phosphate buffer (PBS, pH 7.2)를 가하여 집락을 집적하였고, 이것을 4,000 rpm에서 10분간 2회 원심 세척한 후 균수를 $10^9 \sim 10^6$ 까지 단계 희석하여 사용하였다.

마늘추출물

시험에 사용한 마늘은 경북 영천에서 재배한 신선한 통마늘로서 부산광역시 북구내 마트에서 구입하였다. 마늘 껍질을 제거한 후 수돗물로 씻어 물기를 제거한 다음 마쇄하였다. 50mL 원심관에 넣어 3,500 rpm에서 30분간 원심분리한 상청액을 0.45 μ m (Satorius, Germany)로 여과 제균한 것을 -18°C의 냉동고에 저장하면서 사용하였다.

사용배지 및 시약

보존용 배지는 TSB를 사용하였고, 마늘추출물의 항균 효과 검사 및 균수 측정용 배지는 TSA 평판배지를 사용하였다. 마늘추출물의 농도, 가열처리, pH 및 냉동보관에 따른 항균 효과를 알아보기 위하여 각 균주별로 TSA 배지를 멸균한 다음 55°C 항온수조에서 충분히 식혔다. TSA 배지에 각 균주별 희석액을 첨가하여 잘 섞은 후 최종 균 농도가 10^6 CFU/mL 되도록 샤레에 분주하였다. Disc(Toyo, Japan)는 10 mm를 사용하였으며 항균력 측정의 참고를 위해서는 vancomycin 30 μ g (BBL, USA)과 ampicillin 10 μ g (BBL, USA)을 사용하였다.

실험방법

마늘추출물의 농도, 가열 처리, pH 및 냉동보관에 따른 항균 효과 검사는 디스크 확산법으로 실시하였다.

마늘추출물의 농도별 항균 효과

마늘추출물의 농도별 항균력을 알아보기 위하여 멸균 생리식염수를 이용하여 원액(100%), 50%, 20%, 10%, 5%의 시료액을 제조하였다. 각 세균이 함유되어 있는 TSA 평판배지에 6개의 disc를 놓고 그 중 5개 위에는 시료액을 시계 방향으로 20 μ L씩 각각 접종하고 대조구 disc에는 생리식염수를 동량으로 접종하였다. 37°C에서 24시간 배양 후 생존억제대를 측정하였다.

마늘추출물의 가열처리에 의한 항균 효과

멸균된 4개의 screw cap 시험관에 마늘추출물 약 3 mL를 넣고 95°C에서 각각 2, 5, 10 및 25분간 열처리한 다음 얼음 속에서 급랭시켰다. 원액, 50%, 20%의 시료액을 제조한 다음 마늘추출물의 농도별 항균 효과 검사와 같은 방법으로 실시하였다.

마늘추출물의 pH에 따른 항균 효과

멸균 생리식염수를 이용하여 마늘추출물 50%의 시료액 6개를 제조한 다음 1 N HCl 또는 1 N NaOH를 점적하여 pH를 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 및 9.0으로 맞추었다. 각 세균이 함유되어 있는 TSA 평판배지에 6개의 disc를 놓고 시계 방향으로 20 μ L씩 각각 접종한 후 37 $^{\circ}$ C에서 24시간 배양한 다음 생존억제대를 측정하였다.

마늘추출물의 냉동보관에 의한 항균 효과

멸균된 3개의 screw cap 시험관에 마늘추출물 약 3 mL를 분주하여 -18 $^{\circ}$ C의 냉동고에 3주간 보관하였다. 각각 0, 7, 14 및 21일 후 원액, 50%, 20%의 시료액을 제조한 다음 마늘추출물의 농도별 항균 효과 검사와 같은 방법으로 실시하였다.

마늘추출물의 첨가농도에 따른 균의 증식 억제 효과

마늘추출물은 각 균주별로 1%, 2.5%, 5%, 10% 및 대조군으로 하였다. 10 mL의 TSB가 든 screw cap 시험관에 마늘추출물의 원액을 첨가하여 해당 시험 농도가 되도록 하였고, 접종균수는 10⁵~10⁶ CFU/mL로 조정된 균희석액을 각 처리구마다 100 μ L씩 접종하여 최종 균수가 10³~10⁴ CFU/mL 되도록 하였다. 35 $^{\circ}$ C에서 3일간 진탕배양하면서 1일 간격으로 균수를 측정하였다.

마늘추출물의 냉장보존에 따른 균의 증식 억제 효과

마늘추출물은 각 균주별로 1%, 2.5%, 5%, 10% 및 대조군으로 하였다. 30 mL의 TSB가 든 50 mL 원심관에 마늘추출물의 원액을 첨가하여 해당 시험 농도가 되도록 하였고, 접종균수는 10⁶ CFU/mL로 조정된 균희석액을 각 처리구마다 300 μ L씩 접종하여 최종 균수가 10⁴ CFU/mL 되도록 하였다. 이것을 screw cap 시험관에 6

mL씩 분주하여 4 $^{\circ}$ C에서 3주간 보존하면서 0, 3, 7, 14 및 21일 후 균수를 측정하였다.

균수 측정

균수 측정은 경시적으로 각각의 시료를 1mL 채취하여 생리식염수로 10배수 단계 희석한 후 그 0.1 mL를 TSA 평판배지에 도말하여 37 $^{\circ}$ C에서 48시간 배양한 다음 균수를 측정하여 얻은 평균치를 log로 나타내었다.

결 과

마늘추출물의 농도별 항균 효과

마늘추출물의 항균력을 확인하기 위하여 원액, 50%, 20%, 10% 및 5% 농도의 마늘추출물과 항생제 ampicillin과 vancomycin의 항균력을 비교하였다(Table 2). 그람 음성균의 대조항생제로 ampicillin, 그람 양성균의 대조항생제로는 vancomycin 디스크를 사용하여 비교한 결과 그람 음성균인 *E. coli*와 *S. Enteritidis*는 마늘추출물 원액에서 대조군인 ampicillin과 동일한 결과를 보였다. 그람 양성균인 VRE와 *S. aureus*는 50%의 마늘추출물에서 대조군과 비슷한 결과를 보였고, *L. monocytogenes*는 마늘추출물 원액에서 대조군보다 다소 낮은 결과를 보였다. 마늘추출물의 원액은 사용한 5균주 모두에서 우수한 항균력을 나타내었고 마늘추출물의 농도가 높을수록 항균력이 증가하였다. 균주별 항균력은 *S. aureus*가 가장 높았으며, *L. monocytogenes*, *S. Enteritidis*, *E. coli* 및 VRE 순이었다. *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. Enteritidis* 및 *E. coli*는 20%의 마늘추출물에서도 항균력이 나타났으나 VRE는 20%의 마늘추출물에서 항균력이 없었다. 10%이하의 마늘추출물에서는 5균주 모두에서 항균력이 없었다(Table 2 및 Fig. 1).

Table 1. Zone diameter interpretive standards

Antibiotics	Potency	Organisms	Zone diameter (mm)			
			Resistant	Intermediate	Moderately	Susceptible
Ampicillin	10 μ g	Gram negative	≤ 13	—	14–17	≥ 18
Vancomycin	30 μ g	Gram positive	≤ 9	10–11	—	≥ 12

Table 2. Antimicrobial effect by garlic extracts

Strains	Diameter of inhibition zone (mm)						Ampicillin	Vancomycin
	Conc.	50%	20%	10%	5%			
<i>E. coli</i>	18	14	11	0	0	18	0	
<i>S. Enteritidis</i>	21	18	13	0	0	21	0	
<i>L. monocytogenes</i>	23	19	14	0	0	29	26	
<i>S. aureus</i>	29	24	15	0	0	28	22	
VRE	17	13	0	0	0	18	8	

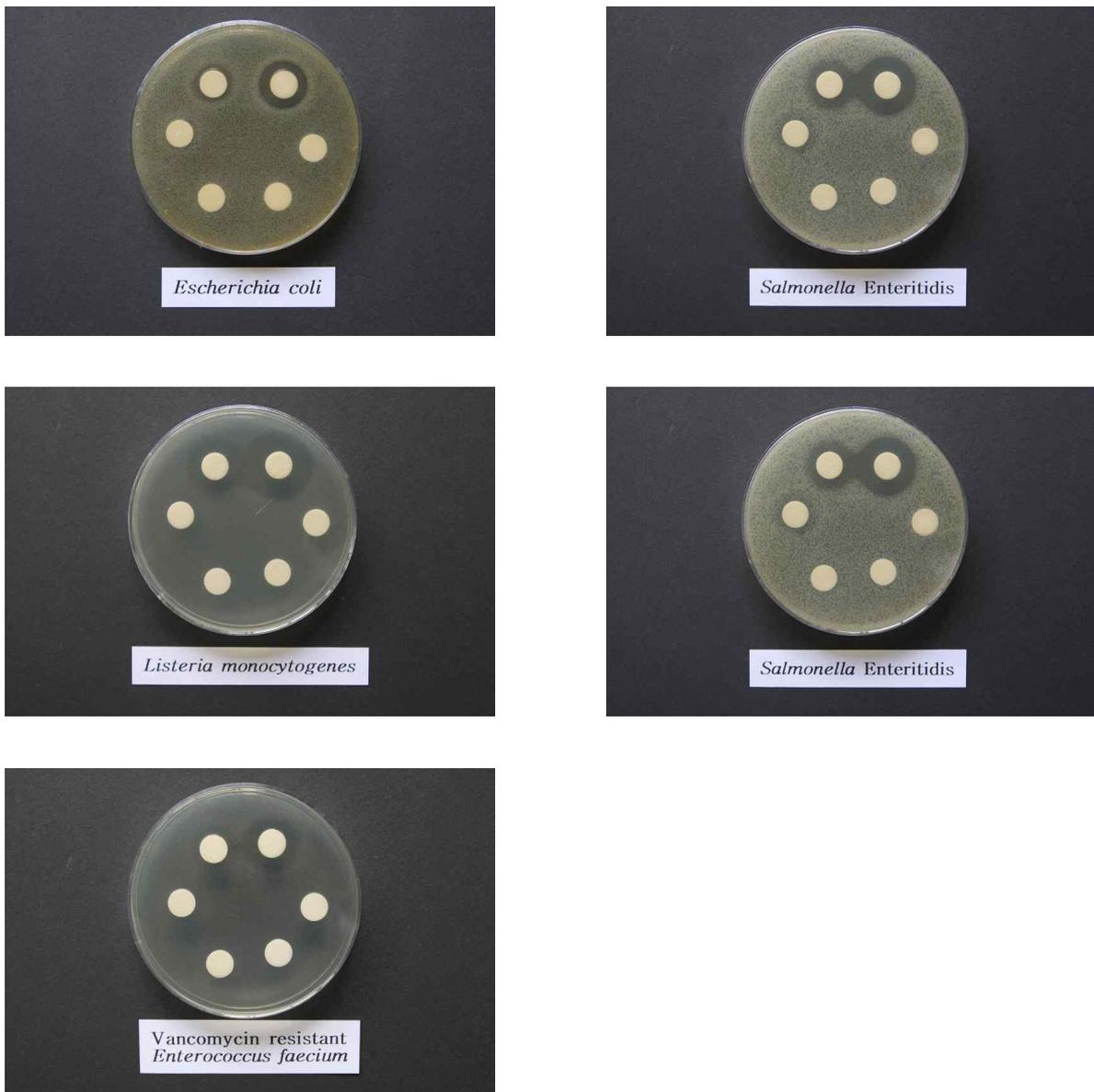


Fig. 1. Result of inhibition zone of garlic extracts against pathogenic bacteria.

마늘추출물의 가열처리에 의한 항균 효과

마늘추출물을 95℃에서 각각 2, 5, 10 및 25분간 열처리한 원액, 50%, 20% 농도의 균주별 항균력은 가열 2분 후의 항균력은 가열하지 않은 마늘추출물의 항균력과 거의 일치하였고, 가열 5분 후의 항균력 역시 가열하지 않은 마늘추출물의 항균력과 큰 차이가 없었다. 5분간 열처리하였을 때 *S. aureus*는 20% 마늘추출물 농도에서도 항균력이 있었으나 *S. Enteritidis*와 *L. monocytogenes*는 20% 마늘추출물 농도에서 항균력이 없었으며, *E. coli*와 VRE는

마늘추출물 원액에서만 항균력이 있었다. 10분간 열처리하였을 때에는 *S. aureus*는 50% 마늘추출물 농도에서도 항균력이 있었고, *S. Enteritidis*와 *L. monocytogenes*는 마늘추출물 원액에서만 항균력이 있었으며, *E. coli*와 VRE는 마늘추출물 원액에서도 항균력이 없었다. 25분간 열처리한 경우 전 균주에서 항균력이 나타나지 않았다. 따라서 마늘추출물을 가열 처리하였을 경우에도 항균력의 순서는 마늘추출물의 농도별 항균력의 순서와 일치하였다 (Table 3).

Table 3. Antimicrobial effect by heating at 95℃ of garlic extracts

Strains	Heating time (min)	Diameter of inhibition zone (mm)		
		Conc.	50%	20%
<i>E. coli</i>	0	18	14	11
	2	16	12	0
	5	13	0	0
	10	0	0	0
	25	0	0	0
<i>S. Enteritidis</i>	0	21	18	13
	2	21	17	11
	5	19	15	0
	10	13	0	0
	25	0	0	0
<i>L. monocytogenes</i>	0	23	19	14
	2	23	18	0
	5	21	15	0
	10	14	0	0
	25	0	0	0
<i>S. aureus</i>	0	29	24	15
	2	29	23	14
	5	25	20	11
	10	14	11	0
	25	0	0	0
VRE	0	17	13	0
	2	17	11	0
	5	13	0	0
	10	0	0	0
	25	0	0	0

마늘추출물의 pH에 따른 항균 효과

마늘추출물 50%의 시료액을 제조한 후 pH를 4.0 ~ 9.0까지 6단계로 조정하여 pH에 따른 균주별 항균력은 pH 7.0이하에서는 항균력이 동일하였으나 pH 8.0이상에서는 항균력이 감소하는 경향을 보였으며, VRE 및 *E. coli*은 각각 pH 8.0이상 및 pH 9.0에서 항균력이 없었다 (Table 4).

마늘추출물의 냉동보관에 의한 항균 효과

마늘추출물을 -18℃의 냉동고에 각각 0, 7, 14 및 21일간 보관한 후 원액, 50%, 20% 농도의 균주별 항균력을 알아본 결과 처음의 항균력과 3주 후의 항균력이 거의 동일하였다(Table 5).

Table 4. Antimicrobial effect by pH of 50% garlic extracts

Strains	Diameter of inhibition zone (mm)					
	pH 4.0	pH 5.0	pH 6.0	pH 7.0	pH8.0	pH 9.0
<i>E. coli</i>	12	12	12	12	11	0
<i>S. Enteritidis</i>	17	17	17	17	16	14
<i>L. monocytogenes</i>	20	20	20	20	18	17
<i>S. aureus</i>	26	26	26	26	25	20
VRE	11	11	11	11	0	0

Table 5. Antimicrobial effect by storage at -18℃ of garlic extracts

Strains	Time (day)	Diameter of inhibition zone (mm)		
		Conc.	50%	20%
<i>E. coli</i>	0	18	14	11
	7	19	14	11
	14	18	14	11
	21	18	14	11
<i>S. Enteritidis</i>	0	21	18	13
	7	21	18	13
	14	21	18	13
	21	21	18	13
<i>L. monocytogenes</i>	0	23	19	14
	7	23	18	14
	14	24	18	13
	21	24	18	14
<i>S. aureus</i>	0	29	24	15
	7	30	25	17
	14	29	24	16
	21	30	24	15
VRE	0	17	13	0
	7	16	12	0
	14	16	12	0
	21	16	12	0

마늘추출물의 첨가농도에 따른 균의 증식 억제 효과

TSB에 마늘추출물을 각 균주별로 1%, 2.5%, 5%, 10% 농도로 첨가하고 균희석액을 접종하여 35℃에서 3일간 진탕 배양한 결과 *E. coli*, *S. Enteritidis*, *L. monocytogenes* 및 *S. aureus*는 접종 당시 균수가 $10^3 \sim 10^4$ CFU/mL이었던 것이 1일 후에는 $10^0 \sim 10^4$ CFU/mL로 감소하였고, 마늘추출물의 농도가 높을수록 사멸속도가 빨라졌으나 그 이후부터 증식하기 시작하여 3일 후에는 $10^4 \sim 10^9$ CFU/mL로 증가하였으며, 마늘추출

물의 농도가 높을수록 균의 증식이 다소 둔화되었다. VRE는 마늘추출물의 농도가 2.5%이하에서는 접종 당시 균수가 10^3 CFU/mL이었던 것이 접종 이후부터 증가하기 시작하여 3일 후에는 10^9 CFU/mL로 증가하였고, 5.0%이상에서는 접종 1일 후 $10^1 \sim 10^2$ CFU/mL로 감소하였으나 그 이후부터 증식하기 시작하여 3일 후에는 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL로 증가하였으며, 마늘추출물의 농도가 높을수록 균의 증식이 다소 둔화되었다(Table 6 및 Fig. 2).

Table 6. Changes of bacterial population in TSB containing different amounts of garlic extract at 35℃

Strains	Garlic extract (%)	No. of bacteria (CFU/ml)			
		Initial	1 day	2 day	3 day
<i>E. coli</i>	Control	4.1×10^3	4.5×10^9	5.6×10^9	7.3×10^9
	1.0	4.2×10^3	3.6×10^3	3.2×10^4	6.9×10^9
	2.5	4.5×10^3	7.8×10^2	2.5×10^4	3.5×10^9
	5.0	3.4×10^3	7.5×10^1	1.3×10^3	3.8×10^6
	10.0	3.8×10^3	7.0×10^0	3.5×10^2	3.2×10^4
<i>S. Enteritidis</i>	Control	5.0×10^3	3.7×10^9	4.5×10^9	6.8×10^9
	1.0	5.1×10^3	3.5×10^3	1.5×10^4	5.6×10^9
	2.5	5.0×10^3	3.5×10^2	1.6×10^3	2.5×10^9
	5.0	4.8×10^3	3.7×10^1	7.8×10^2	3.3×10^6
	10.0	4.5×10^3	5.0×10^0	3.1×10^2	3.5×10^4
<i>L. monocytogenes</i>	Control	2.1×10^4	4.2×10^9	4.1×10^9	6.8×10^9
	1.0	3.0×10^4	1.7×10^4	8.5×10^6	6.5×10^9
	2.5	3.1×10^4	2.1×10^3	3.2×10^5	4.8×10^9
	5.0	2.7×10^4	2.5×10^2	5.1×10^3	3.3×10^6
	10.0	2.6×10^4	6.0×10^1	1.2×10^3	4.5×10^5
<i>S. aureus</i>	Control	5.9×10^4	4.5×10^9	6.2×10^9	7.5×10^9
	1.0	5.5×10^4	1.6×10^4	3.3×10^7	6.6×10^9
	2.5	4.8×10^4	3.5×10^3	4.5×10^6	5.4×10^9
	5.0	5.1×10^4	2.6×10^2	3.2×10^3	4.5×10^6
	10.0	5.3×10^4	3.0×10^1	7.8×10^2	2.5×10^5
VRE	Control	7.9×10^3	5.6×10^9	7.1×10^9	8.6×10^9
	1.0	7.5×10^3	3.1×10^5	5.6×10^9	7.5×10^9
	2.5	6.8×10^3	2.7×10^4	6.8×10^8	6.3×10^9
	5.0	7.0×10^3	3.7×10^2	4.5×10^4	7.5×10^7
	10.0	6.8×10^3	3.1×10^1	5.6×10^3	1.7×10^6

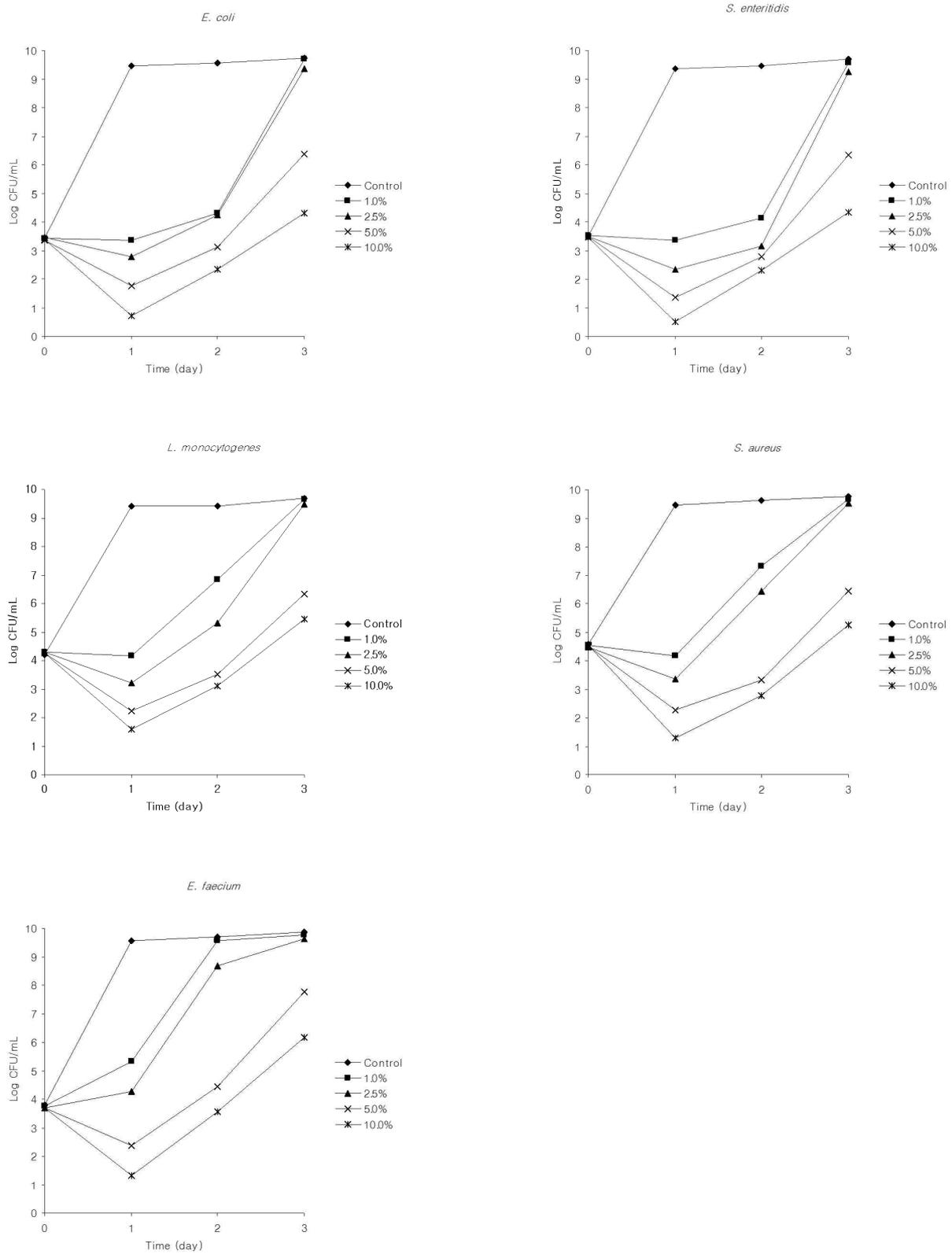


Fig. 2. Survival of pathogenic bacteria in TSB containing different amounts of garlic extracts during incubation at 35°C.

마늘추출물의 냉장보존에 따른 균의 증식 억제 효과

TSB에 마늘추출물을 각 균주별로 1%, 2.5%, 5%, 10% 농도로 첨가하고 균희석액을 접종하여 4℃에서 3주간 보존한 결과 접종 당시 균수가 10^4 CFU/mL이었던 것이 21일 후에는 *E. coli*, *S. Enteritidis* 및 *S. aureus*는 각각 10^3 , $10^0 \sim 10^2$, $10^1 \sim 10^4$ CFU/mL로 균의 증식이 억제되었으며, 마늘추출물의 농도가 높을수록 항균 효과가 더 높았다. 특히 *S. Enteritidis*의 경우 10% 농도에서는 균수가 꾸준히 감소하여 2주 후에는 완전 사멸하였고, 5% 농도에서는 2주 후에 거의 사멸하였으며, 2.5%에서

는 3주 후에 완전 사멸하였다. *L. monocytogenes*와 VRE의 대조구는 2주 후부터 증식하기 시작하여 3주 후에는 각각 10^8 및 10^6 CFU/mL로 증가하였다. 시험구는 *L. monocytogenes*의 경우 2주 후에는 10^3 CFU/mL로 다소 감소하였으나, 그 이후부터 증식하기 시작하여 3주 후에는 $10^4 \sim 10^5$ CFU/mL로 다소 증가하였다. VRE의 경우 3일 후에는 $10^3 \sim 10^4$ CFU/mL로 균의 증식이 억제되었으나, 3주 후에는 $10^4 \sim 10^5$ CFU/mL로 조금 증가하는 경향을 보였다(Table 7 및 Fig. 3).

Table 7. Changes of bacterial population in TSB containing different amounts of garlic extract at 4℃

Strains	Garlic extract (%)	No. of bacteria (CFU/ml)				
		Initial	3 day	7 day	14 day	21 day
<i>E. coli</i>	Control	3.1×10^4	3.2×10^4	3.8×10^4	1.2×10^4	1.1×10^4
	1.0	3.1×10^4	3.0×10^4	1.1×10^4	1.6×10^4	4.7×10^3
	2.5	3.3×10^4	3.5×10^4	1.0×10^4	5.1×10^3	2.1×10^3
	5.0	3.7×10^4	3.6×10^4	1.0×10^4	3.2×10^3	1.5×10^3
	10.0	2.6×10^4	1.3×10^4	8.5×10^3	1.4×10^3	1.1×10^3
<i>S. Enteritidis</i>	Control	4.5×10^4	4.2×10^4	4.5×10^4	1.7×10^4	1.6×10^4
	1.0	4.3×10^4	4.2×10^4	3.0×10^3	6.8×10^2	1.8×10^2
	2.5	4.2×10^4	2.2×10^3	1.8×10^3	6.3×10^1	0
	5.0	4.6×10^4	2.0×10^3	8.5×10^2	3	0
	10.0	4.7×10^4	1.8×10^3	3.3×10^2	0	0
<i>L. monocytogenes</i>	Control	4.3×10^4	4.2×10^4	4.5×10^4	4.5×10^5	3.6×10^8
	1.0	4.5×10^4	4.1×10^4	4.3×10^4	3.1×10^3	2.6×10^5
	2.5	4.3×10^4	6.6×10^3	4.8×10^3	2.5×10^3	2.3×10^5
	5.0	4.5×10^4	4.5×10^3	2.4×10^3	1.8×10^3	6.8×10^4
	10.0	4.6×10^4	4.3×10^3	2.2×10^3	1.6×10^3	3.0×10^4
<i>S. aureus</i>	Control	4.1×10^4	4.3×10^4	4.2×10^4	3.7×10^4	3.5×10^4
	1.0	4.3×10^4	4.5×10^4	5.8×10^3	4.5×10^3	2.1×10^4
	2.5	3.6×10^4	3.7×10^3	2.6×10^3	2.2×10^3	1.1×10^3
	5.0	3.5×10^4	1.5×10^3	8.0×10^2	9.0×10^2	2.8×10^2
	10.0	3.3×10^4	8.3×10^2	7.0×10^2	3.7×10^2	3.0×10^1
VRE	Control	1.6×10^4	1.6×10^4	2.8×10^4	1.2×10^5	3.6×10^6
	1.0	1.8×10^4	1.6×10^4	2.9×10^4	3.2×10^4	1.1×10^5
	2.5	1.5×10^4	1.6×10^4	1.5×10^4	2.2×10^4	6.7×10^4
	5.0	1.7×10^4	7.8×10^3	9.0×10^3	1.9×10^4	5.8×10^4
	10.0	1.6×10^4	5.2×10^3	6.0×10^3	1.4×10^4	5.6×10^4

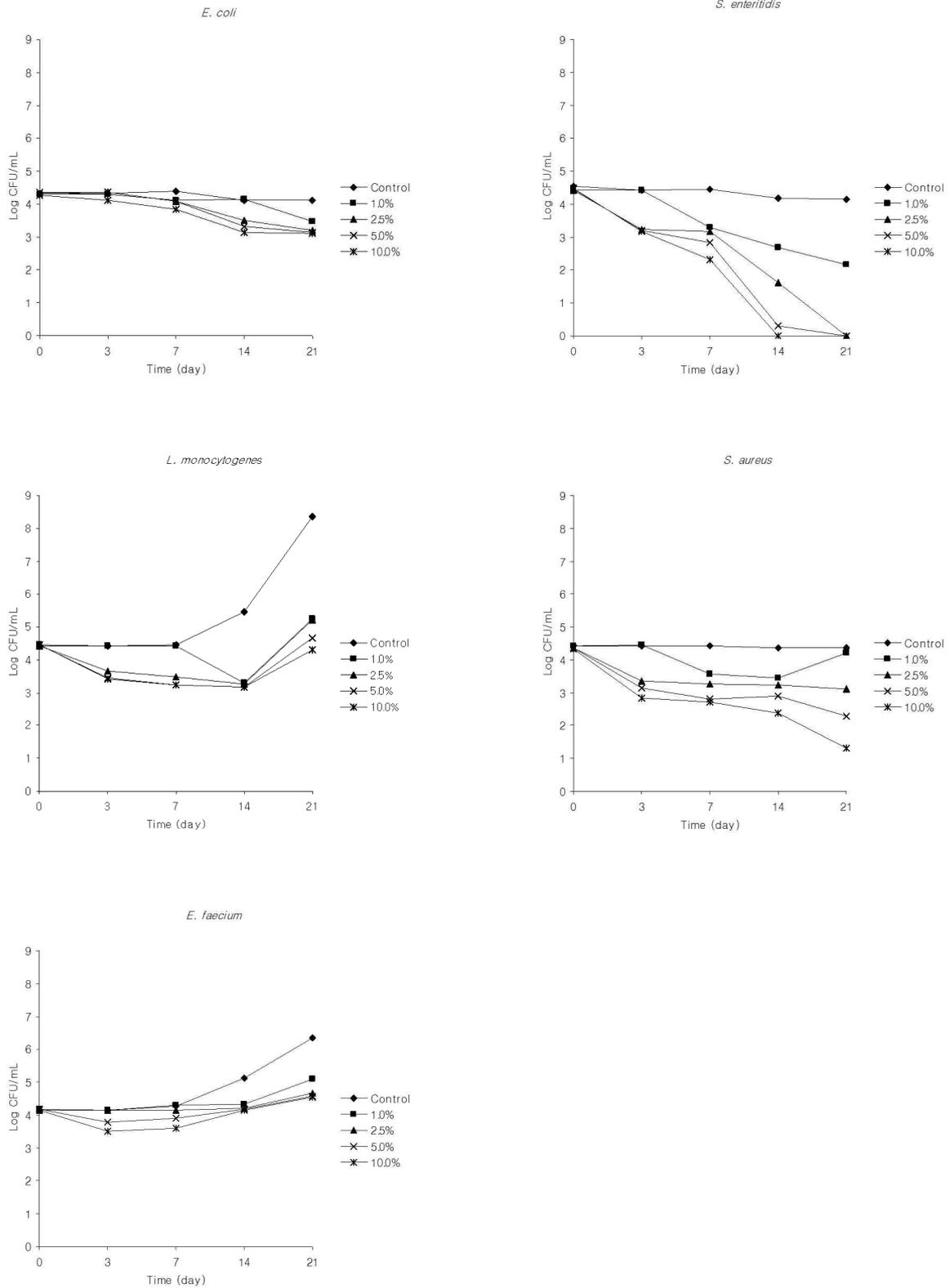


Fig. 3. Survival of pathogenic bacteria in TSB containing different amounts of garlic extracts during incubation at 4°C.

고 찰

세균성 식중독 또는 수퍼박테리아 감염증의 치료에 다양한 항균제가 사용되고 있으나 이들 병원성 세균들은 항균제 내성을 획득하고 다른 균주들에 plasmid 등을 통하여 내성을 전달함으로써 치료제 선택에 많은 어려움이 있다¹⁴⁾. 또한 최근 식품산업의 급격한 발전과 식품의 국제화 및 다양한 인스턴트식품의 출현 등으로 미생물에 의하여 발생하는 식품의 부패 및 변질을 방지하고, 보존기간을 연장시키기 위하여 각종 인공합성보존제가 많이 이용되고 있지만, 대부분의 소비자들은 안전성이 높은 천연보존제에 대한 요구가 높아지고 있다. 그러므로 세계 각국에서는 가공식품의 저장성 향상 및 안전성이 높은 천연보존제의 개발과 안전성에 문제가 없는 천연물을 주로 식품의 원료에서 항미생물성 물질을 찾고자 하였고^{15,16)}, 세균성 식중독 또는 수퍼박테리아에 의한 질병 발생시에 기존 항균제 대체물질인 천연항균물질 연구가 활발히 수행되고 있다¹²⁾.

따라서 본 연구에서는 향후 마늘추출물을 이용한 식중독 예방, 가공식품의 저장성 향상과 안전성 확보라는 측면에서 안전성이 높은 천연보존제의 개발 및 천연항균제 개발의 가능성을 알아보하고자 *E. coli*, 식중독 균인 *S. Enteritidis*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* 및 VRE에 대하여 마늘추출물의 농도, 열처리, pH, 보존온도에 의한 항균성을 조사하였다.

마늘추출물의 농도별 항균력을 알아보기 위하여 원액, 50%, 20%, 10% 및 5% 농도의 마늘추출물과 행생제 ampicillin과 vancomycin의 항균력을 비교하였다. 그람 음성균의 대조항생제로 ampicillin, 그람 양성균의 대조항생제로는 vancomycin 디스크를 사용하여 비교한 결과 그람 음성균인 *E. coli*와 *S. Enteritidis*는 마늘추출물 원액에서 대조균인 ampicillin과 동일한 결과를 보였고, 그람 양성균인 VRE와 *S. aureus*는 50%의 마늘추출물에서 대조균과 비슷한 결과를 보였으며, *L. monocytogenes*는 마늘추출물 원액에서 대조균보다 다소 낮은 결과를 보였다. 마늘추출물의 원액은 사용한 5균주 모두에서 우수한 항균력을 나타내었으며, 마늘추출물의 농도가 높을수록 항균력이 증가하였다. 균주별 항균력은 *S. aureus*가 29 mm의 생존억제대를 보여 가장 높았으며, *L. monocytogenes*(23 mm), *S. Enteritidis*(21 mm), *E. coli*(18 mm) 및 VRE(17 mm) 순이었다. *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. Enteritidis* 및 *E. coli*는 20% 이상의 마늘추출물에서 항균력이 나타났으나 VRE는 50%

이상의 마늘추출물에서 항균력이 나타났다. 특히 VRE의 경우 vancomycin 30 μ g disc를 이용한 감수성시험에서 생존억제대가 14 mm이하라면 내성, 17이상이면 감수성인데 본 연구에서 VRE가 마늘추출물 원액에서 억제대가 17 mm로 감수성을 나타내었다.

마늘추출물을 95 $^{\circ}$ C에서 각각 2, 5, 10 및 25분간 가열 처리한 균주별 항균 효과는 가열 2분 후의 항균력이 가열하지 않은 마늘추출물의 항균력과 거의 일치하였고, 가열 5분 후의 항균력 역시 가열하지 않은 마늘추출물의 항균력과 큰 차이가 없었다. 열처리 시간이 길어질수록 항균력이 감소하였고, 25분간 열처리한 경우 전 균주에서 항균력이 나타나지 않았으며, 마늘추출물의 가열처리에 의한 항균력의 순서는 마늘추출물의 농도별 항균력의 순서와 일치하였다.

고와 양²⁴⁾이 생마늘즙과 65, 80, 95 $^{\circ}$ C에서 각각 30분 열처리 결과 생마늘즙의 경우 *S. aureus*, *S. Enteritidis* 및 *L. monocytogenes*에 대해 각각 31.5 mm, 31.2 mm 및 25.7 mm의 생존억제대를 보여 강한 항균력을 나타내었다고 하였으며, *E. coli*에 대해서는 17.7 mm의 생존억제대를 보여 가장 낮은 항균활성을 나타내었다고 하였다. 또한 가열온도가 높을수록 항균력이 저하되었고, 95 $^{\circ}$ C에서 30분간 열처리된 마늘즙에서는 모든 균주에 대해 항균활성을 보이지 않았다는 보고와 유사하였다. 김 등⁴⁾의 마늘즙의 농도가 높을수록 *E. coli*에 대한 항균효과가 증가하였다는 보고와 유사하였으며, 정 등³⁾은 생마늘즙과 열처리 마늘즙의 항균활성을 조사한 결과 열처리 마늘이 생마늘에 비해 식중독 세균에 대한 항균력이 떨어짐을 보고한 바 있다. 김 등²⁵⁾은 조리방법을 달리한 마늘추출물의 항균활성에 대한 연구에서 마늘의 항균활성물질은 50 $^{\circ}$ C에서는 비교적 안정하나 온도가 높을수록 점점 억제대의 직경이 작아져 90 $^{\circ}$ C에서 10분 이상 가열 시 항균활성은 급격히 저하되었다고 하였다. 이러한 보고는 생마늘이 식중독 세균에 대해 강한 항균효과가 있으나, 가열온도가 높을수록 항균효과가 저하된 본 연구결과와 유사하였다. 윤⁵⁾은 마늘추출물이 *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium* 및 *E. coli*에 대해 각각 36 mm, 36 mm, 33 mm 및 30 mm의 생존억제대를 보여 우수한 항균력을 나타내었고 그람 양성균 치료에 사용되는 vancomycin에 비하여 마늘추출물이 강력한 항균력을 나타내었다는 보고와도 유사하였다.

윤⁵⁾과 오 등²⁶⁾의 연구에서 그람음성 세균들보다는 그람양성 세균들에 대하여 마늘추출물의 항미생물성이 더 강한 것으로 나타났다고 하였는데 본 연구에서도 그람양

성 균인 *S. aureus*와 *L. monocytogenes*의 억제대 직경이 그람음성 균인 *S. Enteritidis*와 *E. coli*의 억제대 직경보다 모두 커서 두 논문의 결과가 같았다. Nagourney²⁷⁾는 마늘즙이 그람양성과 그람음성 균의 광범위한 종에 대해 항미생물 작용을 한다고 하였으며, Cavallito 등²⁸⁾이 세균의 그람염색성과 마늘의 항미생물 작용과는 관계가 없다고 보고한 것과는 차이가 있었다. 마늘의 항균 효과는 세균마다 다른데 이는 주로 개별 세균의 약제내성 양상에 따라 다를 것으로 판단된다.

마늘의 항균작용은 마늘에 들어 있는 황 화합물인 alliin으로부터 alliinase라는 효소의 작용에 의해 생성되는 allicin이 미생물의 대사에 관계되는 중요한 단백질의 SH기와 반응하여 효소로서의 작용을 방해하기 때문인 것으로 알려져 있다⁹⁾. 본 연구에서 마늘추출물의 원액에 비해 마늘추출물에 대한 가열시간이 길수록 항균활성이 떨어지거나 잃게 되는 것은 가열로 인해 alliin으로부터 생성된 allicin이 손상을 입어 화학적으로 불안정한 상태가 되거나 allicin의 생성에 관여하는 효소인 alliinase가 파괴되어 활성을 잃게 되기 때문인 것으로 사료된다. 이상의 결과로부터 마늘 첨가 식품의 조리 및 가공 시에 95℃에서 5분간 또는 이에 유사한 조건으로 열처리할 경우 마늘은 대부분의 식중독 세균의 증식을 억제하는 식품보존제로서의 기능을 갖게 될 것으로 생각된다.

Stoll과 Seebeck⁸⁾은 마늘 중에 존재하는 alliinase는 pH 4~8에서 높은 활성을 나타내며 최적온도는 37℃라고 하였고, Mazelis와 Crew²⁹⁾는 alliinase의 최적 pH는 6.5라고 하였으며, 김 등²⁵⁾의 보고에 의하면 alliinase는 pH 변화에서 비교적 안정한 것으로 나타났다고 하였다. 본 연구에서도 마늘추출물 50%의 시료액을 제조한 다음 pH를 4.0~9.0까지 6단계로 조정하여 pH에 따른 균주별 항균력은 pH 4.0~7.0에서 항균력이 동일하였으나, pH 8.0이상에서는 항균력이 감소하는 경향을 보였다. 이는 항균물질인 allicin이 알칼리 상태에서는 불안정하게 되어 allyl disulfide와 sulfur dioxide로 되면서 항균효과를 나타내는 -S(O)S-기가 없어지기 때문으로 사료된다.

마늘추출물을 -18℃의 냉동고에 각각 0, 7, 14 및 21일간 보관한 후 원액, 50%, 20% 농도의 균주별 항균력을 알아 본 결과 보관기간과는 상관없이 항균력이 거의 동일하였다. 이는 alliin이 alliinase에 의하여 allicin으로 전환된 상태에서 항균력을 나타내었고, 소량의 alliin이 남아있더라도 -18℃에서 alliinase가 효소로서의 기능을 할 수 없기 때문에 냉동상태에서는 보관기간과는 무관하

게 항균력이 동일한 것으로 생각된다. 따라서 마늘을 미리 썰어 냉동보관 하였다가 항균용도에 맞게 사용하여도 무방할 것이며, 향후 마늘의 식중독 예방 및 천연항균제 연구에도 도움이 될 것으로 판단된다.

마늘추출물의 첨가농도에 따른 균의 증식 억제 효과를 알아보기 위하여 TSB에 마늘추출물을 각 균주별로 1%, 2.5%, 5%, 10% 농도로 첨가하고 균희석액을 접종하여 35℃에서 3일간 진탕 배양한 결과 *E. coli*, *S. Enteritidis*, *L. monocytogenes* 및 *S. aureus*는 접종 당시 균수가 $10^3 \sim 10^4$ CFU/mL이었던 것이 1일 후에는 $10^0 \sim 10^4$ CFU/mL로 감소하였고, 마늘추출물의 농도가 높을수록 사멸속도가 빨라졌으나 그 이후부터 증식하기 시작하여 3일 후에는 $10^4 \sim 10^9$ CFU/mL로 증가하였으며, 마늘추출물의 농도가 높을수록 균의 증식이 다소 둔화되었다. VRE는 마늘추출물의 농도가 2.5%이하에서는 접종 당시 균수가 10^3 CFU/mL이었던 것이 접종 이후부터 증가하기 시작하여 3일 후에는 10^9 CFU/mL로 증가하였고, 5.0%이상에서는 접종 1일 후 $10^1 \sim 10^2$ CFU/mL로 감소하였으나 그 이후부터 증식하기 시작하여 3일 후에는 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL로 증가하였으며, 마늘추출물의 농도가 높을수록 균의 증식이 다소 둔화되었다.

Dababnch와 Al-Delaimy³⁰⁾는 1% 마늘즙에서 *S. aureus*의 번식이 저해되었다고 보고하였으며, Mantis 등³¹⁾의 마늘즙 1%이하에서는 *S. aureus*의 생육에 영향을 주지 않았으나 2%이상에서는 *S. aureus*의 번식을 저해하였고, 5%이상에서는 사멸효과가 있다고 보고한 성적과 유사하였고, 김 등⁴⁾의 *E. coli* O157:H7에 대한 마늘즙액의 농도가 1%에서는 첨가하지 않았을 때에 비해 균수가 약간 줄어들었으나, 3%에서는 약 5 log, 5%로 증가하였을 때는 약 6 log의 균수 감소를 보였다는 성적과 유사하였다. 그러나 주요 식중독 세균인 *S. Enteritidis*와 *L. monocytogenes*를 대상으로 마늘즙 농도 0~10% 범위에서 항균효과를 살펴본 결과 *L. monocytogenes*에 대해서는 마늘즙 농도에 따른 뚜렷한 항균효과가 나타나 마늘즙 농도 10%의 배양액에서는 균이 사멸되었고, *S. Enteritidis*의 경우는 최대 약 1.6 log의 균수 감소를 보여 마늘즙에 대한 감수성이 다른 두 균에 비해 크지 않았다는 보고와는 차이가 있었다. 또한 김 등³²⁾의 *E. coli*에 대한 마늘즙액의 농도가 1%이상에서는 모두 사멸되는 양상을 보였고, 마늘즙액의 농도가 높을수록 사멸속도가 빨라졌으며 마늘즙액이 10%가 들어 있을 때는 24시간 후에 균이 모두 사멸되었다는 성적과 다소 차이가 있었다. 이러한 차이는 공시된 균주의 마늘추출물에 대한 내성 정도

가 다를 것으로 생각된다. 특히 본 연구에서 VRE의 경우 다른 균들과는 달리 마늘추출물의 농도가 2.5%이하에서 균희석액 접종 시부터 증식하여 2일 후에는 대조구와 비슷한 정도의 균수를 나타내었는데, 이는 공시된 VRE가 마늘추출물에 대한 내성 정도가 다른 균주들보다 더 강하기 때문이다.

마늘추출물의 냉장보존에 따른 균의 증식 억제 효과를 알아보기 위하여 TSB에 마늘추출물을 각 균주별로 1%, 2.5%, 5%, 10% 농도로 첨가하고 균희석액을 접종하여 4°C에서 3주간 보존한 결과 접종 당시 균수가 10^4 CFU/mL이었던 것이 21일 후에는 *E. coli*, *S. Enteritidis* 및 *S. aureus*는 각각 10^3 , $10^0 \sim 10^2$, $10^1 \sim 10^4$ CFU/mL로 균의 증식이 억제되었으며, 마늘추출물의 농도가 높을수록 항균 효과가 더 높았다. 특히 *S. Enteritidis*의 경우 10% 농도에서는 균수가 꾸준히 감소하여 2주 후에는 완전 사멸하였고, 5% 농도에서는 2주 후에 거의 사멸하였으며, 2.5%에서는 3주 후에 완전 사멸하였다. *L. monocytogenes*와 VRE의 대조구는 2주 후부터 증식하기 시작하여 3주 후에는 각각 10^8 및 10^6 CFU/mL로 증가하였다. 시험구는 *L. monocytogenes*의 경우 2주 후에는 10^3 CFU/mL로 다소 감소하였으나, 그 이후부터 증식하기 시작하여 3주 후에는 $10^4 \sim 10^5$ CFU/mL로 다소 증가하였다. VRE의 경우 3일 후에는 $10^3 \sim 10^4$ CFU/mL로 균의 증식이 억제되었으나, 3주 후에는 $10^4 \sim 10^5$ CFU/mL로 조금 증가하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 *L. monocytogenes*와 VRE가 저온에서도 증식하기 때문으로 추측된다.

본 연구의 결과로 미루어 볼 때 마늘이 대부분의 세균에 강한 항균성을 보임으로써 식중독 예방, 가공식품의 저장성 향상에 활용될 수 있을 것으로 사료되며 기존 항균제 대체물질인 천연항균물질 개발에 대한 가능성이 높다는 결론을 얻었다. 따라서 육류나 어류를 날로 섭취할 때 마늘을 첨가하여 먹으면 식중독 예방에 도움이 될 것으로 사료되며, 식품의 조리 및 가공 시에 마늘을 첨가하여 95°C에서 5분간 또는 이에 유사한 조건으로 열처리할 경우 식중독 세균의 증식을 억제하는 식품보존제로서의 기능을 갖게 될 것으로 생각된다. 또한 가정에서 마늘을 찌어 냉동보관 하다가 필요할 경우 소분하여 식 재료로 사용하여도 무방할 것으로 판단된다. 이들 항균성을 바탕으로 향후 마늘의 천연 보존제 및 천연항균 생약제제로서의 안정성에 대한 연구가 더 필요할 것으로 사료되며, 최근 단일 항생제 또는 여러 가지 항생제에 내성을 나타내는 슈퍼 박테리아가 출현되어 치료에 많은 어려움이 있는

데, 이에 대한 연구도 흥미가 있을 것으로 사료된다. 또한 마늘과 함께 어떤 식품을 사용할 때 더 강한 항균작용을 보이는지에 대한 연구도 계속되었으면 한다.

결 론

마늘추출물을 이용한 식중독 예방, 안전성이 높은 천연보존제의 개발 및 천연항균제 개발의 가능성을 알아보고자 *E. coli*, 식중독 균인 *S. Enteritidis*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* 및 VRE에 대하여 마늘추출물의 농도, 열처리, pH, 보존온도에 의한 항균성을 조사하였던 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

마늘추출물의 항균력을 알아보기 위하여 ampicillin과 vancomycin 디스크를 사용하여 비교하였다. 그람 음성균인 *E. coli*와 *S. Enteritidis*는 마늘추출물 원액에서 대조균인 ampicillin과 동일한 항균력을 나타내었고, 그람 양성균인 VRE와 *S. aureus*는 50%의 마늘추출물에서 대조균과 비슷한 항균력을 나타내었으며, *L. monocytogenes*는 마늘추출물 원액에서 대조균보다 다소 낮은 항균력을 나타내었다. 마늘추출물의 원액은 사용한 5균주 모두에서 우수한 항균력을 나타내었으며, 마늘추출물의 농도가 높을수록 항균력이 증가하였다. 균주별 항균력은 *S. aureus*가 가장 높았으며, *L. monocytogenes*, *S. Enteritidis*, *E. coli* 및 vancomycin 내성 VRE 순이었다.

마늘추출물을 가열처리한 균주별 항균 효과는 가열 2분 후의 항균력이 가열하지 않은 마늘추출물의 항균력과 거의 일치하였고, 가열 5분 후의 항균력 역시 가열하지 않은 마늘추출물의 항균력과 큰 차이가 없었다. 열처리 시간이 길어질수록 항균력이 감소하였고, 25분간 열처리한 경우 전 균주에서 항균력이 나타나지 않았으며, 마늘추출물의 가열처리에 의한 항균력의 순서는 마늘추출물의 농도별 항균력의 순서와 일치하였다.

마늘추출물 50% 시료액의 pH에 따른 균주별 항균 효과는 pH 4.0~7.0에서 항균력이 동일하였으나, pH 8.0 이상에서는 항균력이 감소하는 경향을 보였다. 마늘추출물의 냉동보관에 의한 항균 효과는 보관 3주 후까지는 항균력이 거의 동일하였다.

마늘추출물의 첨가농도에 따른 균의 증식 억제 효과는 *E. coli*, *S. Enteritidis*, *L. monocytogenes* 및 *S. aureus*는의 경우 1일 후에는 약 0~4 log의 균수 감소를 나타내어 마늘추출물의 농도가 높을수록 사멸속도가 빨라졌으나, 그 이후부터 증식하기 시작하여 3일 후에는 약

0~5 log의 균수 증가를 나타내었으며, 마늘추출물의 농도가 높을수록 균의 증식이 둔화되었다. VRE는 마늘추출물의 농도가 2.5%이하에서는 접종 이후부터 증가하기 시작하여 3일 후에는 6 log의 균수 증가를 보였고, 5.0%이상에서는 접종 1일 후 1~2 log의 균수 감소를 나타내었으나 그 이후부터 증식하기 시작하여 3일 후에는 3~4 log의 균수 증가를 보였으며, 마늘추출물의 농도가 높을수록 균의 증식이 둔화되었다.

마늘추출물의 냉장보존에 따른 균의 증식 억제 효과는 21일 후에는 *E. coli*, *S. Enteritidis* 및 *S. aureus*의 경우 각각 0~4 log의 균수 감소를 나타내어 마늘추출물의 농도가 높을수록 항균 효과가 더 높았다. 특히 *S. Enteritidis*의 경우 10% 농도에서는 균수가 꾸준히 감소하여 2주 후에는 완전 사멸하였고, 5% 농도에서는 2주 후에 거의 사멸하였으며, 2.5%에서는 3주 후에 완전 사멸하였다. *L. monocytogenes*의 경우 2주 후에는 1 log 감소하였으나, 그 이후부터 증식하기 시작하여 3주 후에는 0~1 log 증가하였다. VRE의 경우 3일 후에는 0~1 log 감소하였으나, 3주 후에는 0~1 log 증가하였다.

참 고 문 헌

1. Kumar M and Berwal JS. Sensitivity of food pathogens to garlic (*Allium sativum*). *J Appl Microbiol* 84(2): pp.213~215(1998).
2. Sasaki J, Kita T, Ishita K, Uchisawa H and Matsue H. Antibacterial activity of garlic powder against *Escherichia coli* O-157. *J Nutr Sci Vitaminol* 45(6): pp.785~790(1999).
3. 정건섭, 김지연, 김영민. 생마늘즙과 열처리 마늘즙의 항균활성 비교. *한국식품과학회지* 35(3): pp. 540~543(2003).
4. 김명희, 김소영, 신원선, 이준수. 마늘즙의 *E. coli* O157:H7에 대한 항균작용. *한국식품과학회지* 35(4): pp.752~755(2003).
5. 윤인숙. 마늘추출물의 식중독균에 대한 항균검사. *한국콘텐츠학회논문지* 9(2): pp.339~349(2009).
6. Al-Delaimy KS and Ali SH. Antibacterial action of vegetable extracts on the growth of pathogenic bacteria. *J Sci Food Agric* 21(2): pp. 110~112(1970).
7. Cavallito CJ and Bailey JH. 1944. Allicin, the antimicrobial principle of *Allium sativum*. I. Isolation, physical properties and antibacterial action. *J Am Chem Soc* 66: (1950).
8. Stoll A and Seebeck E. Chemical investigations on allicin, the specific principle of garlic. *Adv Enzymol* 11: p.377(1951).
9. Small LD, Bailey JH and Cavallito CJ. Alkyl thiosulfinates. *J Am Chem Soc* 69: p.1710 (1947).
10. Beuchat LR and Golden DA. Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol* 43: p.134(1989).
11. Focke M, Feld A and Lichtenthaler K. Allicin, a naturally occurring antibiotic from garlic, specifically inhibits acetyl-CoA synthetase. *FEBS Lett* 261(1): pp.106~108(1990).
12. Jonkers D, Sluimer J and Stobberingh E. Effect of Garlic on Vancomycin-Resistant Enterococci. *Antimicro and Chemo* 43(12): p.3045(1999).
13. 조재근, 하중수, 김기석. 소, 돼지 및 닭으로부터 분리한 대장균의 항생제 내성. *한국수의공중보건학회지* 30(1): pp.9~18(2006).
14. 이우원, 정병열, 이강록, 이동수, 김용환. 소와 돼지유래 *Salmonella*속 균의 혈청형 및 약제감수성. *한국가축위생학회지* 32(1): pp.45~49(2009).
15. Barone FE and Tansey MR. Isolation, purification, identification, synthesis, and kinetics of activity of the anticandidal component of *Allium sativum*, and a hypothesis for its mode of action. *Mycologia* 69: pp.713~824(1977).
16. Chung IM and Paik SB. Identification of antifungal activity substances on seedborn disease from garlic and taxus extracts. *Anal Sci Technol* 12: pp.47~52(1999).
17. Chart H. Toxigenic *Escherichia coli*. *J Appl Microbiology Symposium Supplement* 84: pp.77S~86S(1998).
18. Nataro JP and Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiology Rev* 11: pp.142~201(1998).
19. Nygard K, Jong BD, Guerin PJ, Anderson Y, Olsson A and Giesecke J. Emergence of new

- Salmonella* Enteritidis phage types in Europe Surveillance of infections in returning travellers. BMC Medicine 2: p.32(2004).
20. Betancor L, Schelotto F, Martinez A, Pereira M, Algorta G, Rodriguez MA, Vignoli R and Chabalgoity JA. Random amplified polymorphic DNA and phenotyping analysis of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis isolates collected from humans and poultry in Uruguay from 1995 to 2002. J Clin Microbiol 42(3): pp.1155~1162 (2004).
 21. 이우원, 강호조. 보존료가 *L. monocytogenes*의 생존성에 미치는 영향. 한국수의공중보건학회지 16(3): pp.185~195(1992).
 22. Marrack P and Kappler J. The staphylococcal enterotoxins and their relatives. Science 248: pp.705~711(1983).
 23. 이수연, 박진희, 박향숙, 이미애, 강은숙, 홍기숙. Glycopeptide 내성 장구균의 항균제 감수성 검사법 비교: E-test, Vitek, 디스크 확산법 및 한천 희석법. 대한임상병리학회지 20(3): pp.301~307(2000).
 24. 고명수, 양종범. 가열온도가 마늘즙의 항균활성에 미치는 영향. 한국식품저장유통학회지 15(4): pp.568~575 (2008).
 25. 김용두, 김기만, 허창기, 김은선, 조인경, 김경제. 조리방법을 달리한 마늘추출물의 항균활성. 한국식품저장유통학회지 11(3): pp.400~404(2004).
 26. 오창용, 홍의봉, 윤광로, 이영춘, 김근성. 다양한 유기용매를 이용한 마늘추출물의 항미생물성 비교. 한국식품저장유통학회지 6(3): pp.248~255(2002).
 27. Nagourney RA. Garlic: medicinal food or nutritious medicine? J Med Food 1: pp.13~28 (1998).
 28. Cavallito CJ, Buck JS and Suter CM. Allicin, the antimicrobial principle of *Allium sativum*. I. Determination of the chemical structure. J Am Chem Soc 66: p.1952(1944).
 29. Mazelis M and Crew L. Purification of the alliin lyase of garlic, *Allium sativum* L. Biochem J 108: pp.725~730(1968).
 30. Dababneh BFA and Al-Delaimy KS. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by garlic extract. Lebensm Wiss Technol 17: pp.29~31(1984).
 31. Mantis AJ, Koidis PA, Karaioannoglou PG and Panetsos AG. Effect of garlic extract on food poisoning bacteria, *Cl. perfringens*. Lebensm Wiss Technol 12: pp.330~332(1979).
 32. 김연순, 박경숙, 경규향, 심선택, 김현구. 마늘즙액의 대장균 생육 저해 작용. 한국식품과학회지 28(4): pp.730~735(1996).