pISSN 1229-1153 *J. Fd Hyg. Safety*
Vol. 30, No. 2, pp. 210~216 (2015)
http://dx.doi.org/10.13103/JFHS.2015.30.2.210

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

마늘 물추출물의 *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*에 대한 항균활성

이승윤[1†] · 남상현[1†] · 이현정[1] · 손송이[2] · 이후장[2]*
[1]거창대성고등학교, [2]경상대학교 수의과대학 · 생명과학연구원

Antibacterial Activity of Aqueous Garlic Extract Against *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*

Seung-Yoon Lee[1†], Sang-Hyun Nam[1†], Hyun-Jung Lee[1], Song-Ee Son[2], and Hu-Jang Lee[2]*
[1]*Geochang Daesung High School, Geochang 670-807, Korea*
[2]*Research Institute of Life Sciences and College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Chinju 600-701, Korea*
(Received December 30, 2014/Revised March 18, 2015/Accepted June 2, 2015)

ABSTRACT - This study was investigated about the antibacterial effects of aqueous garlic extract (AGE) against *Escherichia coli* O157:H7 (*E. coli* O157:H7), *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). The minimum inhibitory concentration (MIC) of AGE against *E. coli* O157:H7, *S. typhimurium*, and *S. aureus* was 24, 48 and 24 mg/mL, respectively. In addition, the minimum bactericidal concentration (MBC) of AGE against *E. coli* O157:H7, *S. typhimurium*, and *S. aureus* was all of 96 mg/mL. The growth of *E. coli* O157:H7 was significantly inhibited at the concentration of AGE 24 mg/mL at 24 hr post-incubation ($p < 0.01$), but that of *S. aureus* was not significantly inhibited at the same concentration. However, the growth of *S. aureus* at the concentration of AGE 96 mg/mL was significantly inhibited at 24 hr post-incubation compared to that of untreated bacteria ($p < 0.01$). At the concentration of AGE 48 ($p < 0.05$) and 96 mg/mL ($p < 0.001$), the growth of *S. typhimurim* was significantly inhibited at 24 hr after incubation compared to that of untreated bacteria. With the results of this study, AGE can be used as alternative to antibiotics and chemical food preservatives.

Key words: garlic aqueous extract, antibacterial effect, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*

최근 다양한 식품들이 유통됨에 따라서, 식품 보존기간의 연장 및 식품 부패 미생물의 방제 등 식품보존에 대한 문제가 대두되고 있다. 현재, 주로 상용되고 있는 식품보존제로는 인공적으로 합성한 화학적 제품들이 주류를 이루고 있어, 이들에 대한 안전성 문제로 인해 천연 식품보존제에 대한 관심이 증가하고 있다. 따라서 향신료를 포함한 식품소재들로부터 항균성 물질을 찾고자 하는 연구들이 활발하게 진행되고 있다[1-3].

마늘(*Allium sativum* L.)은 백합과(Lilliaceae) 파속(*Allium*)에 속하는 다년생 인경작물로서 독특한 향미와 다양한 생리활성을 갖고 있어서 오래 전부터 향신료로 널리 사용되어 왔다[4]. 마늘은 우리의 식생활에 많이 이용되어 온 중요한 향신료로서, 식품의 보존, 항혈전, 항암, 혈압 강하, 혈당 강하, 콜레스테롤 저하, 동맥경화 예방, 중금속의 해독, 노화방지 효과 등의 많은 기능성 소재로 광범위하게 이용되고 있으며[5], 병원균의 증식을 억제하는 항균작용이 있는 것으로 보고되어 있다[6-9].

마늘의 주된 항균작용은 allicin (diallyl thiosulfinate)에 의해 일어나는 것으로 알려져 있는데[10], 불안정한 화합물인 allicin은 생마늘에는 직접 존재하지 않으나 절단하거나 으깨는 등의 상처를 입게 되면 마늘에 전구체로 들어 있던 alliin (S-allyl-L-cysteine sulfoxide)이 마늘에 들어 있는 효소인 alliinase에 의해 allicin으로 분해되는 것으로 알려져 있다[6,11]. Alliin의 분해과정에서 생성된 allicin의 항균작

†The first two authors contributed equally to this work.
*Correspondence to: Hu-Jang Lee, Research Institute of Life Sciences and College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, 501 Jinju-daero, Jinju, Gyeongnam 660-701, Korea
Tel: 82-055-772-2352, Fax: 82-055-772-2308
E-mail: hujang@gnu.ac.kr

용은 thiosulfinate가 미생물의 대사에 관계되는 세포내의 중요한 단백질의 SH기와 반응하여 단백질의 활성을 저해함으로써 일어나는 것으로 알려져 있다[4,6].

세균성 식중독의 치료에는 다양한 항생물질이 사용되고 있으나, 많은 식중독 유발 병원성 세균들이 항생제 내성을 갖고 있어서 치료에 많은 어려움이 존재한다[12,13]. 또한, 소비자의 식품에 대한 의식이 높아짐에 따라, 식품에 사용되는 각종 인공 합성 보존제을 안전성이 높은 천연보존제로 대체해야 한다는 요구도 증가하고 있다. 따라서 세계 각국에서는 천연물을 이용하여 세균성 식중독 치료를 위한 항생제 대체 천연항균물질에 대한 연구와 천연 식품보존제 개발을 위한 연구가 활발하게 진행되고 있다[9,14].

Escherichia coli (*E. coli*)는 동물의 장내에 서식하는 정상 세균총으로 대부분 비병원성으로 알려졌으나, 그 중 일부는 병원성을 가지는 것으로 알려져 있다. 병원성 대장균에 감열될 경우에는 균종에 따라 다소 차이가 있기는 하지만, 설사와 복통이 주요 증상으로 나타나는 것으로 알려져 있다[15].

*Salmonella*속 균은 장내세균과에 속하는 그람음성의 통성혐기성의 세포내 기생세균으로서 사람과 동물을 비롯하여 자연계에 널리 분포하고 있다. 이 속균의 보균동물이 사람에 대한 감염원이 되고 있어 환경이나 오염된 식품을 통하여 식중독을 일으키므로 공중보건상 매우 중요한 세균이다[16]. 살모넬라 감염증은 다양한 질병을 유발하는 대표적인 인수공통전염병으로서, 사람에서 식중독과 장티푸스를 유발시키는 것으로 알려져 있다[17].

Staphylococcus aureus (*S. aureus*)는 그람양성 구균으로 화농성질환 및 식중독의 원인균으로 식품위생상 중요한 세균이다. 황색포도상구균은 저항성이 강하여 공기, 토양 등의 자연계에 광범위하게 분포하고 있으며, 건강한 사람과 동물의 피부 등에도 상재하고 있어서 식품에 쉽게 오염되어 식중독을 유발시키는 것으로 알려져 있다[18]. 황색포도상구균에 의해서 생산되는 장독소는 사람에서 구토, 설사 및 장염 등을 일으키는 주된 식중독 원인체의 하나일 뿐만 아니라 독성 쇼크성 증후군을 일으켜 치사에 이르게 할 수 있다고 보고되어 있다[19].

기존에 마늘을 이용한 많은 연구들은, 1~2 개의 식중독균의 사용, 식중독균에 대한 마늘 추출물의 최소억제농도(MIC, minimum inhibitory concentration)와 최소살균농도(MBC, minimum bactericidal concentration) 미산출, 식중독균에 대한 마늘 추출물의 시간 경과에 따른 증식억제 실험 미실시 등 많은 한계점을 갖고 있다[4-6].

따라서 본 연구에서는 마늘추출물의 항균활성 및 식품보존제로서의 가능성을 알아보기 위하여, 주요 식중독균인 *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) 그리고 *S. aureus*에 대해 마늘추출물의 MIC, MBC, 그리고 시간경과에 따른 증식억제효과 등을 확인하기 위해 수행하였다.

Materials and Methods

사용균주

시험에 사용한 *E. coli* O157:H7 (ATCC 933), *S. typhimurium* (G-B-14-21-62) 그리고 *S. aureus* (ATCC 25923)는 농림축산검역본부로부터 분양받아 경상대학교 수의과대학에서 보관하고 있는 균주들을 사용하였다.

–80°C에서 보관중인 *E. coli* O157:H7, *S. typhimurium*, *S. aureus*를 해동시킨 후, 각 균주를 tryptic soy agar (TSA, Merck, Darmstadt, Germany)에 접종하여 37°C에서 24시간 동안 2회 계대·배양한 후, 이를 다시 tryptic soy broth (TSB, Merck, Darmstadt, Germany) 5 mL에 접종하여 37°C에서 24시간 배양하였다. 배양 후, 0.1 M potassium phosphate buffer solution (PBS, pH 7.2)를 가하여 집락을 집적한 다음, 이것을 4,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 세척한 후, 균수를 단계 희석하여 실험에 사용하였다.

마늘추출액의 조제

시험에 사용한 마늘은 진주인근 지역 (의령)에서 재배한 신선한 통마늘 (대서마늘)로서 진주시 가좌동 내 마트에서 구매하였다. 마늘은 껍질을 제거한 후, 수돗물로 세척하고 물기를 제거한 다음 동량의 증류수와 함께 분쇄하였다. 분쇄 후, 현탁액을 50 mL 원심관에 넣고, 3,500 rpm에서 30분간 원심분리한 후, 상층액을 수거하여 0.45 μm membrane filter (Sartorius, Goettingen, Germany)를 이용하여 여과·제균한 다음, 추출물을 –18°C의 냉동고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

마늘추출물의 농도별 항균 효과

마늘추출물의 농도별 항균력을 알아보기 위하여 멸균 생리식염수를 이용하여 원액(768 mg/mL)을 2배로 희석한 다음, 2배씩 단계희석하여 시료액을 제조하였다. *E. coli O157:H7*, *S. typhimurium*, *S. aureus*가 각각 함유된 TSA 평판배지에 5개의 disc를 놓고 그 중 4개 위에는 시료액을 시계 반대방향으로 50 μL씩 각각 접종하고, 중앙의 대조구 disc에는 생리식염수를 동량으로 접종하였다. 37°C에서 24시간 배양 후 생존 억제대를 측정하였다.

MIC와 MBC 측정

각 균주에 대한 마늘추출액의 MIC와 MBC를 액체배지 희석법[20]을 이용하여 측정하였다. MIC의 측정은 96-well plate의 각 well에 TSB를 이용하여 10^8 colony forming unit (CFU)/mL로 조정한 각 균주액 100 μL 씩을 넣고, 각 균주당 1개씩의 column을 제외하고, 2단계씩 희석한 농도의 마늘추출액을 50 μL 씩 첨가한 다음, 37°C에서 24시간 동안

배양하였다. 배양 후, 마늘추출액을 첨가하지 않은 균 배양액과 마늘 추출액을 첨가한 균 배양액과 비교하여, 최초로 균의 증식이 억제된 농도를 각 균의 MIC로 하였다. MBC의 측정은 96-well plate의 각 well에 TSB를 이용하여 10^8 CFU/mL로 조정한 각 균주액 100 μL 씩을 넣고, 앞서 확인된 각 균주의 MIC를 전·후로 2단계씩 희석한 농도의 마늘추출액을 50 μL 씩 첨가한 다음, 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, 균의 사멸여부를 확인하기 위하여, 각 well에 있는 배양액 50 μL 씩을 각 균주의 선택배지(MacConkey Agar (Komed, Seongnam, Korea): *E. coli* O157:H7, *S. typhimurium*; Eosin-Methylene Blue agar (BD Korea, Seoul, Korea): *S. aureus*)에 도말하여, 37°C에서 24시간 배양 후에 균이 완전히 사멸된 최소농도를 MBC로 하였다. MIC와 MBC는 마늘추출물을 동결·건조시킨 후, 건조물의 중량을 측정하여, 마늘추출물 mL 당으로 나타내었다.

마늘추출물의 증식억제 효과

마늘추출물의 각 균주에 대한 증식억제 효과를 알아보기 위하여, 멸균 생리식염수를 이용하여 각 균주에 대해, MIC, MBC, 그리고 2×MBC로 마늘추출액을 제조하였다. 125 mL 삼각 플라스크에, 30 mL TSB, 각 배양 균주를 희석하여 10^6 CFU/mL로 조정한 균주 희석액 0.1 mL, 그리고 마늘추출액을 각각 MIC, MBC, 2×MBC로 첨가하여, 37°C에서 24시간 동안 배양하면서, 0, 4, 8, 16, 24 시간에 각각 균수를 측정하였다.

균수 측정

균수 측정은 배양 시간별로 각각 1 mL의 배양액을 취하여 생리식염수로 10배수 단계 희석한 후, 0.1 mL를 균주 당 3개의 TSA 평판배지에 도말하여 37°C에서 48시간 배양한 다음, 균수를 측정하여 얻은 평균치를 logCFU/mL로 나타내었다.

통계학적 분석

결과에 대한 통계 분석은 Sigma plot (Systat Software Inc., USA)을 이용하여 student's t-test로 실시하였으며, $P < 0.05$일 때, 유의한 차이가 있는 것으로 간주하였다.

Results and Discussion

마늘추출물의 농도별 항균 효과

마늘추출물의 항균력을 확인하기 위하여 원액을 2배 희석한 다음, 2배로 단계희석한, 192, 96, 48, 24 mg/mL의 농도를 각각 *E. coli O157:H7*, *S. typhimurium*, *S. aureus*를 배양한 평판배지에 적용한 하였다.

마늘추출액 192 mg/mL의 농도에서, *S. aureus*에서 가장 높은 저지환을 보였으며, 이어서 *E. coli* O157:H7 그리고 *S. typhimurium*으로 나타나, 모든 균주에 대하여 마늘추출액은 우수한 항균효과를 나타내었다. 마늘추출액 24 mg/mL의 농도에서, *S. aureus*와 *E. coli* O157:H7은 저지환이 형성되었으나, *S. typhimurium*은 저지환이 나타나지 않았다(Table 1, Fig. 1).

고와 양(2008)[4]의 연구에서, 마늘추출 원액에 의한 *S. aureus*, *S. typhimurium*, *E. coli*의 저지환 크기는 각각 31.5, 31.2, 17.9 mm 순으로 나타났다고 보고하였다. 김 등(2004)[21]은 생마늘 물추출액을 이용하여 *S. aureus*, *S. typhimurium*, *E. coli*에 대한 저지환의 크기를 측정한 결과, 각각 21, 20, 22 mm로 나타났다고 보고하였다. 또한, Durairaj 등(2009)[22]은 마늘 물추출액을 이용한 항균실험에서, 50% 마늘추출액에 대한 *S. aureus*와 *S. typhimurium*의 저지환이 각각 16과 18 mm이었다고 보고하였다. 본 연구에서, 마늘추출액

Table 1. Antibacterial activity of different concentrations of aqueous garlic extract

Strains	Inhibition zone (mm)			
	192 mg/mL[1)]	96 mg/mL	48 mg/mL	24 mg/mL
E. coli O157:H7	10	6	3	1
S. typhimurium	5	3	2	0
S. aureus	14	10	8	2

[1)]Concentration of aqueous garlic extract.

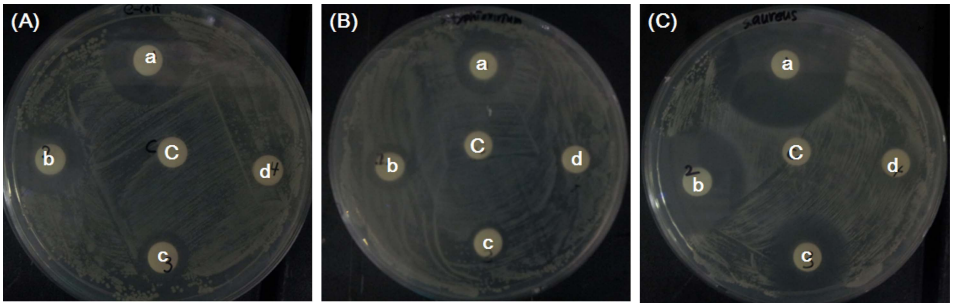

Fig. 1. Inhibition zone of aqueous garlic extracts (AGE) against *E. coli* O157:H7 (A), *S. typhimurium* (B) and *S. aureus* (C). C: treated with saline, a: treated with AGE 192 mg/mL, b: treated with AGE 96 mg/mL, c: treated with AGE 48 mg/mL, d: treated with AGE 24 mg/mL.

Table 2. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of garlic extract against *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*

Strains	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)
Escherichia coli O157:H7	24	96
Salmonella typhimurium	48	96
Staphylococcus aureus	24	96

48 mg/mL에 대한 저지환의 크기는 *S. aureus*, *E. coli* O157:H7, *S. typhimurium* 순으로 나타났다. 이는 앞선 연구결과들에서도 마늘추출물에 대한 각 균에 대한 항균효과의 차이가 나타난 것과 같이, 대상균주의 혈청형과 마늘의 산지에 따른 항균효과의 차이에 기인한 것으로 사료된다.

MIC와 MBC

마늘추출물의 *E. coli* O157:H7, *S. typhimurium*, *S. aureus*에 대한 항균효과를 조사하기 위하여 액체배지 희석법을 이용하여 MIC 및 MBC를 측정한 결과는 Table 2와 같았다.

MIC에 있어서, *E. coli* O157:H7과 *S. aureus*는 24 mg/mL이었으며, *S. typhimurium*의 경우에는 48 mg/mL로 나타나, 마늘추출물에 대해 *E. coli* O157:H7과 *S. aureus*가 *S. typhimurium* 보다 감수성이 높은 것으로 사료된다. 한편, MBC에 있어서는, *E. coli* O157:H7, *S. typhimurium* 그리고 *S. aureus* 모두 96 mg/mL을 나타내었다.

고와 양(2008)[4]은 가열온도에 따른 마늘즙의 *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. aureus*에 대한 항균효과를 조사한 결과, 가열하지 않은 생마늘즙이 가열한 마늘즙에 비해 모든 균주에서 높은 항균효과를 보였으며, 생마늘즙의 *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. aureus*에 대한 MIC는 각각 8.0, 2.0, 1.0 mg/mL이었다고 보고하였다. 김 등(2004)[21]은 생마늘을 물과 ethanol로 추출하여 항균효과를 조사한 결과, ethanol 추출물이 물 추출물에 비해 항균활성이 높았으며, ethanol 추출물의 *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. aureus*에 대한 MIC는 각각 0.5, 0.5, 1.0 mg/mL이었다고 보고하였다. 반면에, 지 등(1997)[23]은 마늘의 물 추출물과 ethanol 추출물의 *E. coli*에 대한 항균활성을 비교한 결과, 물 추출물이 ethanol 추출물 보다 *E. coli*에 대한 항균활성이 높았다고 보고하였다. 한편, Garba 등(2013)[24]의 연구보고에 따르면, 마늘의 물 추출물의 *E. coli*에 대한 MIC와 MBC는 각각 100과 200 mg/mL이었으며, *S. aureus*에 대한 MIC와 MBC는 각각 200과 300 mg/mL이었다고 보고하였다. 본 연구의 결과는, 마늘의 추출방법과 추출용매를 고려하더라도, 고와 양(2008)[4]의 연구와 김 등(2004)[21]의 연구 결과와 비교하여 마늘 추출물의 *E. coli* O157:H7, *S. typhimurium*, *S. aureus*에 대한 MIC와 MBC가 높았던 반면에, Garba 등(2013)[24]의 연구결과와 비교해서는 매우 낮게 나타났다. 이러한 결과는 마늘의 품종과 산지에 따라 수용성 고형물질과 항균물질의 함량에 차이가 있어서[25,26], 대상균주에 따라 상이한 항균활성을 나타낸 것으로 사료된다.

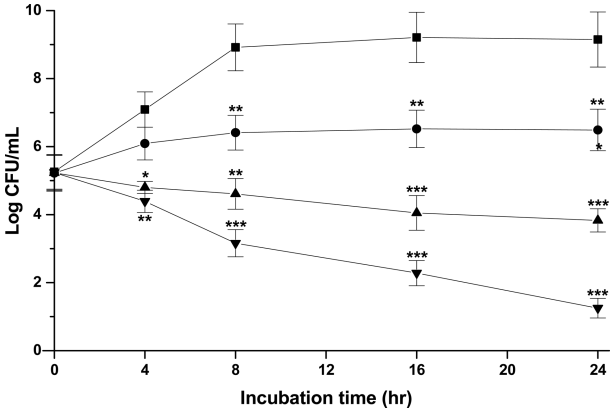

Fig. 2. Bactericidal effect of aqueous garlic extracts against *E. coli* O157:H7. The bacteria were incubated with different concentrations of aqueous garlic extract (0 (■), 24.0 (●), 96.0 (▲) and 192.0 (▼) mg/mL) for 24 hr. Bacterial viability was measured based on CFUs on culture plates for three independent experiments on 0, 4, 8, 16 and 24 hr post-incubation.
$^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.01$, $^{***}p < 0.001$, significantly different from the untreated-control.

마늘추출물의 증식억제 효과

E. coli O157:H7 증식억제 효과

Fig. 2는 마늘추출물의 여러 농도(24.0, 96, 192 mg/mL)에서 *E. coli* O157:H7에 대한 증식억제 효과를 나타낸 것이다. 마늘추출물을 첨가하지 않은 대조군의 경우에는 배양 후, 8시간까지 증가하여 이후에는 24시간까지 비슷한 균수를 유지하였다. 한편, 마늘추출물을 MIC (24 mg/mL)로 첨가한 실험군의 경우, 배양 후, 8시간부터 무첨가 대조군과 비교하여 균의 증식이 유의성 있게 감소하였다($p < 0.01$). 마늘추출물을 MBC (96 mg/mL)로 첨가한 실험군의 경우, 배양 후 4시간부터 무첨가 대조군과 비교하여 균의 증식이 유의성 있게 감소하였다(4시간, $p < 0.05$; 8시간, $p < 0.01$; 16시간, 24시간, $p < 0.001$). 마늘추출물을 2×MBC (192 mg/mL)로 첨가한 실험군의 경우에도 MBC로 첨가한 경우와 같이, 무첨가 대조군과 비교하여 균의 증식이 유의성 있게 감소하였다(4시간, $p < 0.01$; 8시간, 16시간, 24시간, $p < 0.001$).

우 등(2011)[9]은 마늘추출물을 이용한 *Escherich coli*에 대한 증식억제 실험을 수행한 결과, 배양 후 24시간에, 무투여 대조군의 경우, 9.5 logCFU/mL을 보인 반면에, 2.5%의 마늘추출액을 투여한 경우에서는 약 2.8 logCFU/mL을 보여, 증식이 현저하게 억제되었다고 보고하였다. Mohammad (2011)[27]는 *E. coli* O157:H7을 다진 쇠고기에 감염시킨

후, 마늘추출물을 31.2 mg/g로 투여하고 24시간 후에 무투여 대조군에 비해 균 증식억제를 확인한 결과, 약 1.58 logCFU/g이 감소하였다고 보고하였다. 본 연구의 경우, 마늘추출물을 24 mg/mL로 투여한 경우, 24시간 후에 대조군에 비해 약 2.7 logCFU가 감소하여, 우 등(2011)[9]의 연구결과보다는 효과가 낮게 나타났다. 이는 사용 균주의 혈청형이 다른 점과 추출방법에 있어서 차이에 의한 결과로 사료된다. 반면에, Mohammad (2011)[27]의 연구에서 보다는 본 연구에서 증식억제 효과가 높게 나타났는데, 이는 마늘추출물의 항균효과가 쇠고기의 육즙과 같은 유기물에 의해 저하되어 균 증식억제 효과가 낮았던 것으로 사료된다.

S. typhimurium 증식억제 효과

Fig. 3은 마늘추출물의 여러 농도(48.0, 96, 192 mg/mL)에서 *S. typhimurium*에 대한 증식억제 효과를 나타낸 것이다. 마늘추출물을 첨가하지 않은 대조군의 경우에는 배양 후, 8시간까지 증가하여 이후에는 24시간까지 비슷한 균수를 유지하였다. 마늘추출물을 MIC (48 mg/mL)로 첨가한 실험군의 경우, 배양 후 8시간과 24시간에 대조군과 비교하여 유의성 있게 감소하는 결과를 나타내었다($p < 0.05$). 마늘추출물을 MBC (96 mg/mL)로 첨가한 실험군의 경우, 배양기간 동안 무첨가 대조군과 비교하여 균의 증식이 유의성 있게 감소하는 결과를 나타내었다(4시간, $p < 0.05$; 8시간, 16시간, $p < 0.01$; 24시간, $p < 0.001$). 마늘추출물을 2×MBC (192 mg/mL)로 첨가한 실험군의 경우에도 MBC로 첨가한 경우와 같이, 무첨가 대조군과 비교하여 균의 증식이 유의성 있게 감소하였다(4시간, 8시간, $p < 0.01$; 16시간, 24시간, $p < 0.001$).

Kumar와 Berwal (1998)[28]은 *S. typhimurium*에 마늘추출물을 5% 투여하고 24시간 동안 배양 후에 무투여 대조군과 비교하여 균 증식억제를 확인한 결과, 약 74.1% 증식억제가 확인되었다고 보고하였다. 또한, Abdul 등(2012)[29]은 다제내성 *S. typhimurium*에 마늘추출물을 22 mg/mL의 농도로 처리하고 24시간 동안 배양 후에 무투여 대조군과 비교하여 균 증식억제를 확인한 결과, 100% 증식억제가 나타났다고 보고하였다. 본 연구에서는, *S. typhimurium*에 마늘추출물을 48 mg/mL로 투여하고, 24시간 배양 후에 대조군과 비교한 결과, 약 77.8%의 증식억제가 나타나, 우 등(2011)[9]의 연구결과보다는 다소 효과가 높게 나타났으나, Abdul 등(2012)[29]의 연구결과보다는 낮게 나타났다. 이러한 결과는 마늘의 품종과 산지에 따른 항균활성 성분의 차이에 기인한 것으로 추정된다.

S. aureus 증식억제 효과

Fig. 4는 마늘추출물의 여러 농도(24.0, 96, 192 mg/mL)에서 *S. aureus*에 대한 증식억제 효과를 나타낸 것이다. 마늘추출물을 첨가하지 않은 대조군의 경우에는 배양 후, 16시간까지 증가하여 이후에는 24시간까지 비슷한 균수를 유지하였다. 마늘추출물을 MIC (24 mg/mL)로 첨가한 실험군의 경우, 배양기간 동안 대조군과 유사한 증식 양상을 나타내었으며, 대조군에 비해 유의한 균 증식억제는 관찰되지 않았다. 마늘추출물을 MBC (96 mg/mL)로 첨가한 실험군의 경우, 배양기간 동안 무첨가 대조군과 비교하여 균의 증식이 유의성 있게 감소하는 결과를 나타내었다(4시간, $p < 0.05$; 8시간, 16시간, 24시간, $p < 0.01$). 마늘추출물을 2×MBC (192 mg/mL)로 첨가한 실험군의 경우에도

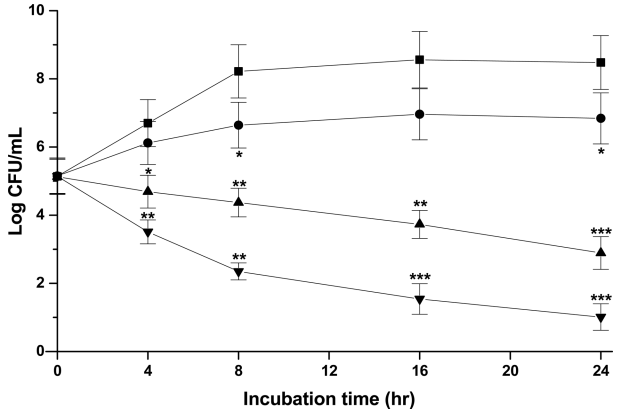

Fig. 3. Bactericidal effect of aqueous garlic extracts against *Salmonella typhimurium*. The bacteria were incubated with different concentrations of aqueous garlic extract (0 (■), 48.0 (●), 96.0 (▲) and 192.0 (▼) mg/mL) for 24 hr. Bacterial viability was measured based on CFUs on culture plates for three independent experiments on 0, 4, 8, 16 and 24 hr post-incubation.
$^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.001$, significantly different from the untreated-control.

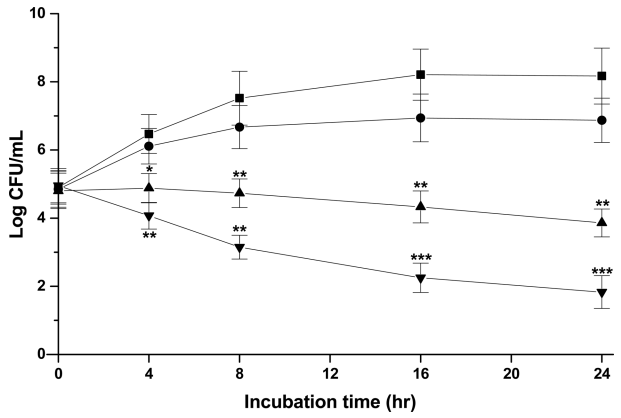

Fig. 4. Bactericidal effect of aqueous garlic extracts against *Staphylococcus aureus*. The bacteria were incubated with different concentrations of aqueous garlic extract (0 (■), 24.0 (●), 96.0 (▲) and 192.0 (▼) mg/mL) for 24 hr. Bacterial viability was measured based on CFUs on culture plates for three independent experiments on 0, 4, 8, 16 and 24 hr post-incubation.
$^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.001$, significantly different from the untreated-control.

MBC로 첨가한 경우와 같이, 무첨가 대조군과 비교하여 균의 증식이 유의성 있게 감소하였다(4시간, 8시간, $p < 0.01$; 16시간, 24시간, $p < 0.001$).

우 등(2011)[9]은 마늘추출물을 이용한 *S. aureus*에 대한 증식억제 실험을 수행한 결과, 배양 후 24시간에, 무투여 대조군의 경우, 약 9.6 logCFU/mL을 보인 반면에, 2.5%의 마늘추출액을 투여한 경우에서는 약 3.5 logCFU/mL을 보여, 증식이 현저하게 억제되었다고 보고하였다. Kumar와 Berwal (1998)[28]은 *S. aureus*에 마늘추출물을 5% 투여하고 24시간 동안 배양 후에 무투여 대조군과 비교하여 균 증식억제를 확인한 결과, 80%의 증식억제가 확인되었다고 보고하였다. 또한, Iwalokun 등(2004)[30]은 환자들로부터 분리한 다제내성 *S. aureus*에 마늘추출물을 27.1 mg/mL의 농도로 처리하고 12시간 동안 배양한 결과, 배양 후 10시간 만에 100% 증식억제가 나타났다고 보고하였다. 본 연구에서는, *S. aureus*에 마늘추출물을 24 mg/mL로 투여하고, 24시간 배양 후에 대조군과 비교한 결과, 대조군의 경우에는 8.17 logCFU/mL이었으며, 마늘추출물 처리군은 6.87 logCFU/mL로 95%의 증식억제를 나타내, 우 등(2011)[9]과 Iwalokun 등(2004)[30]의 연구결과보다는 증식억제 효과가 다소 낮게 나타났으나, Kumar와 Berwal (1998)[28]의 연구결과보다는 높은 증식억제 효과를 보였다.

기존의 연구보고[25,26]에서, 마늘의 품종별, 재배 계절별, 그리고 지역별 마늘의 성분함량, 추출물의 pH, 향기성분 그리고 가용성 고형분 함량 등과 항균활성과의 상관관계를 조사하였으나, 여러 요인들과 항균활성 사이에서 상관관계는 명확히 밝혀지지 않았다. 따라서 마늘의 항균활성은 이미 알려진 마늘 중 allicin[10] 함량에 의해 표준화할 수 있을 것으로 사료된다.

이상의 결과로부터, 마늘추출물은 *E. coli* O157:H7, *S. typhimurium* 그리고 *S. aureus*와 같은 식중독균에 대해 높은 항균효과를 갖는 것으로 나타나, 항생제나 화학적 식품방부제 등의 대체물질로서 식중독 예방과 식품보존 등에 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

국문요약

본 연구는 마늘의 물추출물(AGE)의 *E. coli* O157:H7, *S. typhimurium*, 그리고 *S. aureus*에 대한 항균효과를 조사하였다. AGE의 *E. coli* O157:H7, *S. typhimurium*, and *S. aureus*에 대한 최소억제농도(MIC)는 각각 24, 48 그리고 24 mg/mL이었으며, 최소살균농도(MBC)는 모든 균에 대하여 96 mg/mL이었다. AGE 24 mg/mL을 *E. coli* O157:H7에 투여하고 배양 24시간 후에, 균의 증식이 무처리 대조군과 비교하여 유의성 있게 감소하였다($p < 0.01$). 그러나 AGE 24 mg/mL을 *S. aureus*에 투여하고 배양 24시간 후에, 대조군과 비교하여 유의성 있는 균의 증식억제 효과가 나타나지 않았으나, AGE 96 mg/mL을 투여한 경우에서는 배양 24시간 후에 대조군과 비교하여 유의성 있는 균의 증식억제가 나타났다($p < 0.01$). AGE 48 ($p < 0.05$)과 96 mg/mL ($p < 0.001$)을 *S. typhimurim*에 투여하고 24시간 배양 후에, 대조군과 비교하여 통계적으로 유의성 있는 균의 증식억제 효과가 나타났다. 본 연구의 결과로부터, 마늘의 물추출물은 항생제와 화학적 식품보존제의 대체제로서 사용이 가능할 것으로 사료된다.

References

1. Ahn, E.S., Kim, M.S. and Shin, D.H.: Screening of natural antimicrobial edible plant extract for Dooboo, fish paste, Makkoli spoilage microorganism. *Korean J. Food Sci. Technol*. **26**, 733-739 (1994).
2. Song, M., Hwang, Y., Kim, S., Ryu, S., Jeong, H., Park, J., Kim, D., Park, G. and Choi, S.: Inhibitory effect of antimicrobial food against *Bacillus cereus. J. Fd Hyg. Safety*, **29**, 211-216 (2014).
3. Jung, K. and Park, C.S.: Antioxidative and antimicrobial activities of juice from garlic, ginger, and onion. *Korean J. Food Preserv.* **20**, 134-139 (2013).
4. Ko, M.S. and Yang, J.B.: Effect of heating temperature on antimicrobial activities of garlic juice. *Korean J. Food Preserv.* **15**, 568-575 (2008).
5. Chung, K.S., Kim, J.Y. and Kim, Y.: Comparison of antibacterial activities of garlic juice and heat-treated garlic juice. *Korean J. Food Sci. Technol*. **35**, 540-543 (2003).
6. Kim, M., Kim, S.Y., Shin, W.S. and Lee J.: Antimicrobial activity of garlic juice against *Escherichia coli* O157:H7. *Korean J. Food Sci. Technol*. **35**, 752-755 (2003).
7. Wi, S.U.: Isolation of alliin in garlic and its quantitative determination by high performance liquid chromatography and studies on the antimicrobial effects of alliin and ethanol extracts from Korean garlic (*Alliium sativum* L.). *Korean J. Food & Nutr.* **16**, 296-302 (2003).
8. Shetty, S., Thomas, B., Shetty, V., Bhandary, R. and Shetty, R.M.: An in-vitro evaluation of the efficacy of garlic extract as an antimicrobial agent on periodontal pathogens: A microbiological study. *Ayu*. **34**, 445-51 (2013).
9. Lee, W.W., Son, S.K., Lee, G.R., Kim, G.H. and Kim Y.H.: Antimicrobial effects of garlic extract against pathogenic bacteria. *Korean J. Vet. Serv.* **34**, 167-178 (2011).
10. Fujisawa, H., Watanabe, K., Suma, K., Origuchi, K., Matsufuji, H., Seki, T. and Ariga, T.: Antibacterial potential of garlic-derived allicin and its cancellation by sulfhydryl compounds. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. **73**, 1948-1955 (2009).
11. Stoll, A. and Seebeck, E.: Chemical investigations of alliin, the specific principle of garlic. *Adv. Enzymol*. **11**, 377-400 (1951).
12. Kim, J.Y., Park, M.A., Kim, J.E., Chae, H.S., Park, Y.J., Son, J.W., Yang, Y.M., Choi, T.S. and Lee, J.H.: Isolation frequency and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. isolated from beef and pork on sale in

Seoul, Korea. *Korean J. Vet. Serv*. **36**, 111-119 (2013).
13. Li, W., Tailhades, J., O'Brien-Simpson, N.M., Separovic, F., Otvos, L., Jr, Hossain, M.A. and Wade, J.D.: Proline-rich antimicrobial peptides: potential therapeutics against antibiotic-resistant bacteria. *Amino Acids*. **46**, 2287-2294 (2014).
14. Allen, H.K., Trachsel, J., Looft, T., Casey, T.A.: Finding alternatives to antibiotics. *Ann. NY Acad. Sci*. **1323**, 91-100.
15. Cha, C.N., Lee, Y.E., Son, S.E., Park, E.K., Choi, H., Kim, S. and Lee, H.J.: Antimicrobial activity of sodium chlorate and Korean herbal extracts against mice infected with *Escherichia coli* O157:H7. *J. Fd Hyg. Safety*, **27**, 81-86 (2012).
16. Kim, D.H., Lim, J.J., Lee, J.J., Jung, W.C., Shin, H.J., Lee, H.J., Kim, G.S. and Kim, S.: Antimicrobial and therapeutic effects of *Houttuynia cordata* ethanol extract for murine salmonellosis. *Korean J. Environ. Agric*. **27**, 156-162 (2008).
17. Lee, Y.E., Cha, C.N., Park, E.K., Kim, S. and Lee, H.J.: Evaluation of antibacterial and therapeutic effects of a sodium slats mixture against *Salmonella typhimurium* in murine salmonellosis. *J. Fd Hyg. Safety*, **26**, 222-226 (2011).
18. Cha, C.N., Park, E.K., Choi, H., Kim Y., Yoo, C.Y., Kim, S. and Lee, H.J.: Bactericidal efficacy of Fumagari OPP®, fumigant against *Staphylococcus aureus. J. Fd Hyg. Safety*, **28**, 349-353 (2013).
19. Cho, Y., Lee, J., Lee, M.K., Shin, D.B., Kim, D.H. and Park, K.M.: Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* pathogenic factors isolated from various foods in Korea. *Korean J. Food Sci. Technol*. **43**, 648-654 (2011).
20. Andrews, J.M.: Determination of minimum inhibitory concentrations. *J. Antimicrob. Chemother*. **48**, 5-16 (2001).
21. Kim, Y.D., Kim, K.M., Hur, C.K., Kim, E.S., Cho, I.K. and Kim, K.J.: Antimicrobial activity of garlic extracts according to different cooking methods. *Korean J. Food Preserv*. **11**, 400-404 (2004).
22. Durairaj, S., Srinivasan, S., Lakshmanaperumalsamy, P.: *In vitro* antibacterial activity and stability of garlic extract at different pH and temperature. *Electron. J. Biol.* **5**, 5-10 (2009).
23. Ji, W.D., Jeong, M.S., Chung, H.C., Lee, S.J. and Chung, Y.G.: Antimicrobial activity and distilled components of garlic (*Allium sativum* L.) and ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Agric. Chem. Biotechnol*. **40**, 514-518 (1997).
24. Garba, I., Umar, A.I., Abdulrahman, A.B., Tijjani, M.B., Aliyu, M.S., Zango, U.U., Muhammad, A.: Phytochemical and antibacterial properties of garlic extracts. *Bayero J. Pure Appl. Sci*. **6**, 45-48 (2013).
25. Jeong, W.J., Kang, M.J., Yoon, H.S., Sung, N.J. and Shin, J.H.: Physiochemical and antimicrobial activity of garlic cultivar. *J. Agric. Life Sci*. **46**, 89-98 (2012).
26. Shin, J.H., Kim, R., Lee, S.J., Kang, M.J., Seo, J.K., Sung, N.J.: Aroma compounds and antimicrobial effect of garlic from different areas in Korea. *Korean J. Food Preserv.* **18**, 199-2007 (2011).
27. Mohammad, S.A.: Evaluation of antimicrobial activity of garlic (*Allium sativum*) against *E. coli* O157:H7. *J. Agri. Vet. Sci*. **4**, 149-157 (2011).
28. Kumar, M., Berwal, J.S.: Sensitivity of food pathogens to garlic (*Allium sativum*). *J. Appl. Microbiol*. **84**, 213-215 (1998).
29. Abdul, H., Kanwal, R., Muhammad, I.U., Tahir, N., Mehwish, R., Muhammad, U.Q., Romeeza, T., Mehwish, S.: Inhibitory effect of aqueous garlic (Allium sativum) extract against clinical isolates of *Salmonella typhi*. *Afr. J. Microbil. Res*. **6**, 4475-4480 (2012).
30. Iwalokun, B.A., Ogunledun, A., Ogbolu, D.O., Bamiro, S.B., Jimi-Omojola, J.: *In vitro* antimicrobial properties of aqueous garlic extract against multidrug-resistant bacteria and *Candida* species from Nigeria. *J. Med. Food* **7**, 327-333 (2004).