KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 20, No. 3, pp 357~362(1988)

# 김치에서 분리한 호기성 세균의 생육에 대한 마늘의 영향

조남철 · 전덕영
전남대학교 식품영양학과

# Effects of Garlic Extracts on the Aerobic Bacteria Isolated from *Kimchi*

Nam-Chul Cho and Deok-Young Jhon

*Department of Food Science and Nutrition, Chonnam National University, Kwangju*

**Abstract**

Twenty-one aerobic bacteria were isolated from *Kimchi* and the influences of aqueous extract of garlic on the isolates were studied. The bacteria were 11 *Bacillus* spp., 2 *Staphylococcus* spp., a *Micrococcus* sp., a *Flavobacterium* sp., an Enterobacteriaceae, and 4 Vibrionaceae. In nutrient broth growth of the bacteria was inhibited by the extract. The antibacterial effects of the garlic were different from each other depending upon the bacteria. The results revealed that the inhibitory effects were due to the bacteriocidal action of the garlic extracts.
Key words: *Kimchi*, garlic, antibacterial effect

## 서 론

마늘은 세균, 곰팡이 그리고 효모의 생육을 억제하는 것으로 알려져 있다[1-4]. 우리나라의 전통적인 발효식품인 김치는 여러가지의 미생물에 의해서 발효되어 독특한 맛을 내게 되는데 이러한 김치의 제조에는 마늘이 부재료로 필수적으로 사용된다. 따라서 김치에 함유된 마늘은 거기에 존재하는 미생물의 생육에도 영향을 미칠 것으로 생각된다. 마늘이 첨가되지 않은 김치는 쉽게 물러지고 나쁜 냄새가 나는 것으로 보고되어 있다[5]. 김등[6]은 마늘 무첨가 김치는 마늘 첨가 김치에 비해서 발효초기에 호기성 세균의 증식이 더 많으며 따라서 호기성 세균의 증식이 김치의 나쁜 냄새에 관계된다고 보고하였다. 호기성 세균들은 김치의 발효에 주된 작용을 하지는 않지만 숙성초기에 생육하는 것으로 알려져 있다[7-9]. 조등[9]에 의하면 김치에 마늘의 농도를 증가시켰을 때 호기성 세균의 생육은 감소한 반면 젖산균의 생육은 오히려 증가했다고 발표하였다. 그러므로 김치에 있어서 마늘의 작용을 확인하기 위해서는 김치에 자라는 호기성 세균이 마늘에 의하여 생육이 저해되는지가 먼저 밝혀져야 할 것이다. 따라서 본 실험에서는 이러한 호기성 세균들을 김치로부터 분리하고 이를 부분적으로 동정한 다음 그들의 생육에 미치는 마늘의 영향을 조사하고자 하였다.

Corresponding author: Deok-Young Jhon, Department of Food Science and Nutrition, Chonnam National University, Kwangju 500-757

## 재료 및 방법

### 김치의 제조 및 숙성

실험에 사용된 김치는 배추김치로서 배추를 비롯한 부재료는 1986년 9월 광주시중에서 구입하였으며 Table 1과 같은 조성으로 제조하였다. 이를 유리병에 100g씩 넣어 뚜껑을 덮은 다음 25℃의 항온기에서 5일동안 발효시켰다. 제조된 김치의 염도는 2.4%(w/w)이었다.

### 호기성 세균의 분리 및 동정

김치 100g을 waring blender에 넣고 물 100m*l*을 가한 다음 중간속도로 1분간 마쇄하였다. 이렇게 균질화된 김치를 멸균된 3겹의 거즈를 통해 여과시킨 다음 적절히 희석하여 미리 제조된 nutrient agar plate에 도말한 후 30℃에서 48시간 배양하였다. 먼저 colony의 크

Table 1. Ingredients ratio of *Kimchi*

| Ingredients | Ratio (g) |
|---|---|
| Korean cabbage | 100 |
| Green onion | 0.7 |
| Garlic | 0.5 |
| Ginger | 0.5 |
| Red pepper | 1.0 |
| Sugar | 0.4 |
| Salted anchovy | 3.2 |

기와 색깔, 모양에 따라 분리를 하여 순수배양하였으며 이들을 다시 그람염색성, 세포의 모양등에 따라 2차분리를 하였다. 분리된 세균들은 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology[10,11]와 The Prokaryotes[12]에 의하여 동정하였다.

### 마늘 추출액의 제조

껍질을 벗긴 50g의 마늘을 waring blender에 넣고 증류수 75m*l*를 가한 다음 중간속도로 5분동안 마쇄하였다. 균질액을 whatman No. 2 여과지로 여과시킨 다음 4℃에서 12시간동안 방치시킨 후 3,000rpm에서 15분간 원심분리하였다. 얻어진 상등액은 millipore filter(0.45$\mu$m)를 통과시킨 다음 시료로 사용하였다.

### 호기성 세균의 생육에 대한 마늘 추출액의 생육저해

Nutrient broth에 마늘 농도가 각각 1.0, 2.8, 4.5% (w/v)가 되게 마늘 추출액을 넣고 여기에 김치에서 분리된 호기성 세균을 접종하여 30℃에서 24시간 배양하였다. 배양 후 혼탁유무를 control과 비교하여 균의 생장여부를 판정하였다.

### 마늘 추출액이 호기성 세균의 생육곡선에 미치는 영향

준비된 마늘 추출액을 1.0, 1.9, 2.8, 4.5, 8.3%(w/v)가 되도록 nutrient broth에 가한 다음 일정량의 미생물을 접종하여 30℃에서 24시간 동안 배양하면서 배양중 배지에 존재하는 생균수를 표면 평판배양법에 의하여 측정하였다. 비교를 위해 마늘이 함유되지 않은 배지에 같은 양의 미생물을 접종하여 동일 조건에서 배양하면서 생균수의 변화를 조사하였다.

## 결과 및 고찰

### 호기성 세균의 분리

제조된 김치를 25℃에서 5일동안 숙성시키면서 모두 238종의 균을 분리하였다. 이중에서 크기, 모양, 그람염색성, colony 특성 등에 있어서 같다고 생각되는 것들을 제외한 21종류를 최종적으로 선발하였다(Table 2). 이들은 그람음성 간균이 7종, 그람양성 구균이 3종 그리고 그람양성 간균이 11종으로서 그람음성의 간균과 그람양성의 구균이 주로 발효 첫날과 둘째날에 분리되었으며 그람양성의 간균은 대부분 발효 4일과 5일째에 분리되었다.

Table 2. Selection of representative strains from *Kimchi*

| Fermentation period (day) | Representative strains | | |
|---|---|---|---|
| | Gram (-) rods | Gram (+) cocci | Gram (+) rods |
| 1 | 1-2, 1-7, 1-15 1-4, 1-6 1-16 | | |
| 2 | 2-5, 2-12, 2-13 2-1 | | 2-15, 2-18 |
| 4 | | | 4-1, 4-2, 4-22 4-25 |
| 5 | | | 5-2, 5-4, 5-19 5-32, 5-34 |

### 호기성 세균의 동정

그람양성의 간균 : 분리된 세균중 11종은 그람양성의 막대모양의 균으로서 모두 포자를 형성하였으며 또한 catalase를 생산하였다. 따라서 이들은 모두가 *Bacillus* spp.로 분류되었는데 이들 세균에 대한 성질은 Table 3에 나타내었다. Strain No. 2-15는 Voges-Proskauer 시험, 당으로부터의 산의 생산등 대부분 *Bacillus mycoides*와 유사하였다. Strain No. 4-1에 대한 결과는 Bergey's manual에 D-glucose에서 산의 생성이 양성으로 표시가 되어 있고 propionate의 이용성에 대한 자료가 없는 점외에 다른 모든 성질이 *Bacillus alvei*와 유사하였다. Strain No. 5-32는 catalase 생산능력이 대단히 큰 점이 독특하였다.

Table 3. Some characteristics of Gram(+) rods isolated from *Kimchi*

| Characteristics | Strain No. | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 2-15 | 2-18 | 4-1 | 4-2 | 4-22 | 4-25 | 5-2 | 5-4 | 5-19 | 5-32 | 5-34 |
| Size ( $\mu$m) | | | | | | | | | | | |
| Length | 3.5 | 1.3 | 1.3 | 2.8 | 0.9 | 1.2 | 1.7 | 1.9 | 2.5 | 3.0 | 3.8 |
| Width | 1.2 | 1.0 | 0.6 | 1.2 | 0.7 | 0.7 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | 0.7 | 1.1 |
| Spore formation | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Catalase | + | + | + | + | + | + | + | + | + | +S | + |
| V-P test | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| PH in V-P broth | | | | | | | | | | | |
| < 4.5 | + | + | - | + | + | + | - | - | + | - | + |
| Acid from | | | | | | | | | | | |
| D-Glucose | + | + | - | + | +W | - | - | - | + | - | + |
| L-Arabinose | - | +W | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| D-Xylose | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| D-Mannitol | - | +W | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Gas from Glucose | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Hydrolysis of | | | | | | | | | | | |
| Casein | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + |
| Gelatin | + | - | + | - | + | + | + | - | - | - | - |
| Starch | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + |
| Utilization of | | | | | | | | | | | |
| Citrate | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Propionate | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Nitrate reduced | | | | | | | | | | | |
| to nitrite | + | - | - | - | + | + | + | - | + | + | + |
| Growth in NaCl | | | | | | | | | | | |
| 5% | + | + | + | + | + | + | + | +W | + | +W | + |
| 7% | +W | + | - | - | - | + | - | - | - | +W | - |
| 10% | - | +W | - | - | - | +W | - | - | - | - | - |
| Growth at | | | | | | | | | | | |
| 30 C | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 40 C | +W | - | + | - | - | + | + | + | + | + | - |
| 50 C | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - |

+: positive, —: negative, +W: weak positive, +S: strong positive

그람양성의 구균 : Table 4는 그람양성의 구균들의 성질을 나타낸 것이다. 이들은 모두가 약 0.9$\mu$m의 크기로서 덩어리 모양으로 붙어서 배열되어 있었다. 이중에서 No. 1-4는 호기적 조건에서 생육을 하는 반면 No. 1-6과 No. 2-1은 발효적 대사를 하는 통성 혐기성 균이었다. 따라서 Strain No. 1-4는 운동성이 없는 점을 더 고려할 때 *Micrococcus* sp.라고 생각되며 No. 1-6과 No. 2-1은 oxidase시험이 음성이며 catalase 반응이 양성임을 통해 *Staphylococcus* spp.라고 생각된다.

그람음성의 간균 : 일곱종의 그람음성 간균들은 Strain No. 2-13을 제외하고 모두가 운동성을 보였다. 또한 Strain No. 2-13 한 종류외에 O-F 시험에 있어서 모두가 발효대사를 하는 통성혐기성 균이었다(Table 5). No. 2-13은 O-F 시험배지에서 alkaline 반응을 보였는데 이 결과는 Bergey's manual의 *Flavobacterium odoratum*과 같았으며 dextrose에서 산이 생산된 것을 제외한 모든 시험결과에 있어서도 이 균주의 성질과 일치하였다. Strain No. 2-5와 No. 2-12는 oxidase 시험에 있어서 음성을 보임으로서 이들이 Enterobac-

Table 4. Some characteristics of Gram(+) cocci isolated from *Kimchi*

| Characteristics | Strain No. | | |
|---|---|---|---|
| | 1-4 | 1-6 | 2-1 |
| Arrangement of cells | C,T | C,P | C,P |
| Size ($\mu$m) (diameter) | 0.9 | 1.0 | 0.9 |
| Motility | - | - | - |
| Catalase reaction | + | + | + |
| Acetoin production | + | - | + |
| Metabolism | O | O/F | O/F |
| Hydrolysis of Gelatin | + | - | + |
| Urease test | + | + | + |
| Arginine hydrolysis | - | + | - |
| Nitrate reduction | + | + | + |
| Oxidase test | + | - | - |
| Colony pigment (carotenoid) | + | + | + |
| Acid from | | | |
| D-xylose | | - | - |
| L-arabinose | | - | - |
| D-cellobiose | | - | - |
| Raffinose | | - | - |
| Salicin | | - | - |
| Maltose | | + | + |
| D-mannitol | | + | - |
| D-trehalose | | - | - |
| D-mannose | - | - | - |
| D-galactose | - | - | - |
| $\beta$-D-fructose | + | + | + |
| D-glucose | + | + | + |
| Growth on Simmon's citrate ager | + | - | - |

C: clusters, T: tetrads, P: pairs, O: oxidative, F: fermentative

teriaceae에 속함을 나타냈다. Strain No. 1-2, 1-7, 1-15, 1-16은 oxidase시험이 양성이며 mannitol에서 산을 생성하는 등의 성질로 볼 때 Vibrionaceae로 추정된다.

### 호기성 세균의 생육에 대한 마늘추출액의 저해작용

서로 다른 마늘농도의 배지에서의 호기성 세균의 생육결과는 Table 6에서 보는 바와 같다. 마늘농도가 4.5%인 nutrient배지에서는 21종의 균 모두가 24시간 동안 생육하지 않았다. 2.8%(w/v)의 배지에서는 Strain No. 5-32만이 생육하였으며 1%에서는 분리된 균중에서 9종만이 생육하였다. 따라서 마늘은 농도가 높을수록 김치에 생육하는 호기성 세균의 생육을 크게 방해하는 것을 알 수 있다. 이는 마늘의 농도를 달리한 김치를 제조했을 때 마늘의 농도가 높아짐에 따라 발효초기의 호기성 세균의 생균수가 감소했다는 조등[8]의 보고를 뒷받침해 준다.

분리된 균중에서 Strain No. 1-4, 1-6, 2-1은 그람양성의 구균들로서 이들은 모두가 1%의 마늘 농도에서도 생육하지 못했다. 그러나 그람음성의 간균들은 이와 반대로 7종중 6종이 1%의 마늘 농도의 배지에서 하루만에 혼탁도를 보여 주었다. 따라서 마늘에 대한 호기성 세균의 감수성은 그람양성 구균>그람양성 간균>그람음성 간균으로 생각할 수 있다.

### 마늘이 호기성 세균의 생육곡선에 미치는 영향

선발된 호기성 세균중 마늘에 비교적 민감한 균주 2종과 저항성이 있는 균주 2종을 그람양성 구균 1종(No. 1-4), 그람음성 간균 2종(No. 1-2, 2-12), 그람양성 간균 1종(No. 5-19)으로 골라서 이들의 생육곡선에 마늘이 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 1-a)~d)에서 보는 바와 같다. 접종할 때의 균의 숫자가 3.2~5.0×10$^5$로

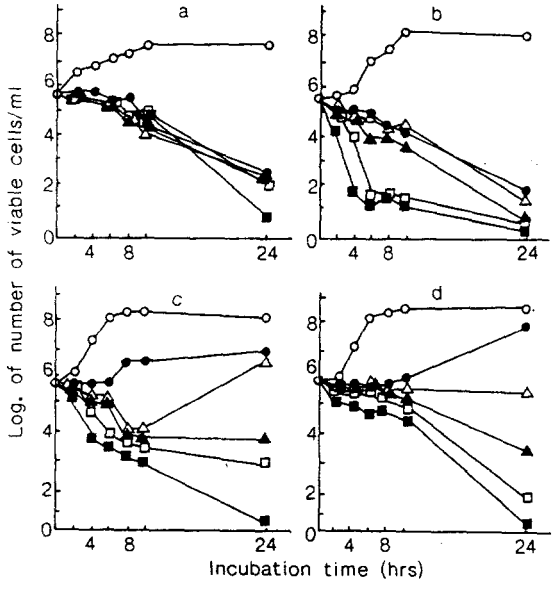


Fig. 1. Effects of garlic extract concentrations on the growth of aerobic bacteria isolated from *Kimchi*
: a, strain No 1-4; b, strain No 5-19; c, strain No 2-12; d, strain No 2-12; Symbols: ○, 0% garlic; ●, 1.0% garlic; △, 1.9% garlic: ▲, 2.8% garlic; □, 4.5% garlic ■, 8.3% garlic.

Table 5. Some characteristics of Gram(—) rods isolated from *Kimchi*

| Characteristics | Strain no. | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1-2 | 1-7 | 1-15 | 1-16 | 2-5 | 2-12 | 2-13 |
| Size ( $\mu$m) | | | | | | | |
| Length | 1.3 | 1.3 | 1.0 | 1.0 | 2.5 | 2.8 | 3.5 |
| Width | 0.7 | 0.7 | 0.5 | 0.4 | 0.5 | 0.5 | 0.9 |
| Motility | + | + | + | + | + | + | - |
| Catalase reaction | + | + | + | + | + | - | + |
| V-P test | + | + | + | + | + | + | - |
| M-R test | - | - | - | - | + | + | - |
| Arginine hydrolysis | - | - | + | + | - | + | - |
| Hydrolysis of | | | | | | | |
| Gelatin | + | + | + | - | + | - | + |
| Starch | - | - | - | - | - | + | - |
| Indole formation | - | - | + | + | - | - | - |
| Oxidase test | + | + | + | + | - | - | + |
| Lipase test (tween 80) | + | + | + | - | - | + | + |
| Acid from | | | | | | | |
| Dextrose | +G | + | + | +G | +G | +G | + |
| Galactose | + | + | +w | + | + | + | - |
| Inositol | +w | +w | +w | +w | - | + | - |
| Mannitol | + | + | + | + | + | + | - |
| Saccharose | + | + | + | +w | + | + | - |
| Xylose | + | + | + | + | + | + | - |
| Nitrate reduced to | | | | | | | |
| nitrite | + | + | + | + | + | + | - |
| O-F test | F | F | F | F | F | F | -* |

W: weak, G: gas F: fermentative, * : alkali production

서 비교적 많지만 마늘이 없는 대조실험의 생육곡선은 모두가 전형적인 생육곡선을 나타냈다.

Fig. 1-a)와 Fig. 1-b)는 각각 마늘에 대한 감수성이 비교적 큰 균주인 No. 1-4와 No. 5-19이다. 이들은 1%의 마늘 농도에서도 시간이 지남에 따라 생균수가 크게 감소함을 보여주고 있다. 따라서 김치에 자라는 호기성 세균에 대한 마늘의 생육저해 효과는 마늘의 미생물 사멸작용에 의한 것으로서 단순한 정균작용이 아님을 확인할 수 있다. 또한 이 작용은 두 균주간에도 큰 차이가 있었다. 즉 *Micrococcus* sp.인 Strain No. 1-4는 마늘 농도가 크게 증가하여도 그 사멸율에 있어서는 큰 변화를 보이지 않지만 *Bacillus* sp.인 No. 5-19 큰 폭의 변화를 보임을 알 수 있다.

Fig. 1-c)와 Fig. 1-d)는 낮은 농도의 마늘 함유 배지에서 6~8시간이 경과한 후에 미생물이 다시 증식함을 보여 준다. 이들은 모두 그람음성의 간균으로서 마늘에 대한 사멸저항성이 다른 종류에 비해서 큼을 알 수 있다. *Bacillus* sp.의 경우(Fig. 1-b))에는 특히 높은 마늘농도에서 빠른 초기사멸 속도가 6시간 후에는 사멸율이 크게 둔화되어 마늘에 대한 사멸저항성이 증가됨을 보여준다.

이상의 결과로부터 마늘이 김치에 생육하는 호기성 세균을 사멸시킴으로서 이들의 생육을 저해함을 알 수 있다. 이러한 마늘의 작용은 김치의 품질에 영향을 주는 것으로 생각되는데 이에 대해서는 마늘을 첨가하지 않은 김치가 첨가한 것에 비하여 발효초기에 호기성 세균의 수가 더 많았으며 관능검사 결과 풍미가 나빴다는 김들[6]의 보고를 고려할 수 있으며 앞으로 더 밝혀져야 할 것으로 생각된다.

Table 6. Inhibition of growth of aerobic bacteria isolated from *Kimchi* by garlic extracts

| Strain No. | Garlic concentrations (%, w/v) | | |
|---|---|---|---|
| | 1.0 | 2.8 | 4.5 |
| 1- 2 | + | - | - |
| 1- 4 | - | - | - |
| 1- 6 | - | - | - |
| 1- 7 | + | - | - |
| 1-15 | + | - | - |
| 1-16 | + | - | - |
| 2- 1 | - | - | - |
| 2- 5 | - | - | - |
| 2-12 | + | - | - |
| 2-13 | - | - | - |
| 2-15 | + | - | - |
| 2-18 | + | - | - |
| 4- 1 | - | - | - |
| 4- 2 | - | - | - |
| 4-22 | - | - | - |
| 4-25 | - | - | - |
| 5- 2 | + | - | - |
| 5- 4 | - | - | - |
| 5-19 | - | - | - |
| 5-32 | + | + | - |
| 5-34 | - | - | - |

+: growth, —: no growth


## 요 약

김치로부터 호기성 세균들을 분리 동정하고 이들의 생육에 대한 마늘의 영향을 조사한 결과는 다음과 같다. 분리된 균은 모두 21종으로서 *Bacillus* spp. 이 11종, *Staphylococcus* spp. 이 2종, *Micrococcus*, *Flavobacterium*이 1종씩 이었으며 Enterobacteriaceae와 Vibrionaceae에 속하는 균주가 각각 1종과 4종이었다. 이들 세균은 마늘 추출물이 첨가된 nutrient broth에서 생육이 저해되었는데 저해의 정도는 미생물의 종류에 따라 달랐으며 마늘농도가 높으면 억제효과도 상대적으로 컸다. 이 억제작용은 마늘 추출물의 호기성 미생물에 대한 사멸작용 때문인 것을 알 수 있었다.


## 문 헌


1. Cavallito, C.J. and Bailey, J.H. : Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. I. Isolation, physical properties and antibacterial action. *J. Amer. Chem. Soc.*, **66**, 1950(1944)
2. 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)
3. Saleem, Z.M. and Al-Delaimy, K.S.: Inhibition of *Bacillus cereus* by garlic extracts. *J. Food Protection*, **45**, 1007(1982)
4. 무사수안네, 김영배, 이철호 : 가자미 식해 발효에 관여하는 미생물에 관한 연구, 산업미생물학회지, **15**(3), 150(1987)
5. 유재연, 이혜성, 이혜수 : 재료의 종류에 따른 김치의 유기산 및 휘발성 향미 성분의 변화, 한국식품과학회지, **16**(2), 169(1984)
6. 김명희, 신말식, 전덕영, 홍윤호, 임현숙 : 재료를 달리한 김치의 품질, 한국영양식량학회지, **16**(4), 268(1987)
7. 김호식, 전재근 : 김치 발효중의 세균의 동적변화에 관한 연구, 원자력 논문집, **6**, 112(1966)
8. 민태익, 권태완 : 김치발효에 미치는 온도 및 식염농도의 영향, 한국식품과학회지, **16**(4), 443(1984)
9. 조남철, 전덕영, 신말식, 홍윤호, 임현숙 : 마늘농도가 김치 미생물에 미치는 영향, 한국식품과학회지, **20**(2), 231(1988)
10. Krieg, N.R. : *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Williams & Wilkins, Baltimore, Vol. 1(1984)
11. Sneath, P.H.A. : *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Williams & Wilkins, Baltimore, Vol. 2(1986)
12. Starr, M.P., Stolp, H., Trüper, H.G., Balows, A. and Schlegel, H.G. : *The prokaryotes*. Springer-Verlag, Berlin, Vol. I, II(1981)


(1988년 2월 17일 접수)