

## *Bacillus subtilis* var. *niger* 에 대한 Lauric Acid 의 용균작용

조석금 · 조효현

안양전문대학 식품영양과

Lysis Action of Lauric Acid on *Bacillus subtilis* var. *niger*

Cho, Seok Gum · Cho, Hyo Hyun

Dept. of Food and Nutrition, An-Yang Junior College

### ABSTRACT

Effect of lauric acid and thir derivatives on the growth of *Bacillus subtilis* var. *niger* was studied. Lauric acid showed the strongest inhibition among the fatty acids tested.

Lysis rate of lauric acid proved to be greatly sensibility against logarithmic phase cells but was not so influenced by cell concentration. On the other hand, lauric acid was inhibited lysis activity when the pH shift from 7.0 to 5.6

### I. 서 론

식품의 보존에 이용되는 합성살균제나 방부제 등의 약제는 안전성이 높은 것이 요구된다. 천연에 널리 존재하고 있고 미생물에 대하여 광범위하게 항균작용을 나타내는 지방산 및 그 ester 는 항균제로서의 실용화가 기대되고 있다.<sup>1)</sup>

지방산 및 그 유도체의 항균작용은 세균<sup>2-4)</sup>, 곰팡이<sup>5,6)</sup>, 효모<sup>7)</sup> 등 여러 미생물에 유효하다고 알려져 있다. 특히 세균에 대해서는 Gram 양성 세균이 Gram 음성 세균보다 감수성이 높고, 포화지방산 중에서는 lauric acid 가 항균작용이 강하다고 알려져 있다.<sup>8,9)</sup>

지방산의 항균작용기구에 관해서는 Galbraith 등<sup>10,11)</sup> 은 지방산이 가지는 계면활성에 의한 막의 mass damage 가 사멸의 원인이라 하였고, Pethi-

ca 와 Schulman<sup>12)</sup>은 계면장력의 감소에 기인하는 막의 불가역적인 붕괴라고 보고하였다.

이상과 같이 지방산의 살균기구는 지방산의 膜攪亂作用이 일차적인 요인으로 생각된다. 그러나 저자 등은 세균이 비증식조건일 때 일어나는 自己溶解에 착안하여 지방산에 의한 항균력이 자기용해활성의 발현을 유발한 결과라고 추론하고 본 연구에서는 지방산 특히 lauric acid 에 의한 항균기구를 밝히고자 몇 가지 기초실험을 행하여 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

### II. 실험재료 및 방법

#### 1. 사용균주 및 기본배지

본 연구에 사용된 균주는 *Bacillus subtilis* var. *niger* (ATCC 9372)를 사용하였다.

배지는 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 14g, K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 6g, sodium citrate 1g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.2g, glucose 5g, 증류수 1,000ml(pH 7.0) 조성의 Spizizen<sup>13)</sup>의 최소배지(SM 배지)를 사용하였고, 보관용 배지는 beef extract 5g, polypeptone 10g, NaCl 5g, agar 20g, 증류수 1,000ml(pH 7.0)조성의 배지를 사용하였다.

**2. 배양방법**

배양은 사면배지로 부터 1백금이 취하여 20ml의 SM 배지를 함유하는 100ml용 삼각플라스크에 접종하고 37°C에서 18~20 시간 진탕배양한 것을 seed culture 로 하였다. seed culture 를 다시 SM 배지(100ml/500ml용 삼각플라스크)에 10% 접종하여 배양하였다. 대수증식기의 세포는 SM 배지에서 4~5 시간 배양한 세포(OD<sub>660</sub> 0.3~0.4)를 사용하였다.

**3. 측정방법**

균체농도는 Spectrophotometer (Model 100-20, Hitachi Works, Tokyo) OD<sub>660</sub>에서 측정하였다.

Lauric acid의 경우는 용균작용에 미치는 영향을 조사한 경우는 배양한 세포를 집균하여 0.1M phosphate buffer(pH 7.0)용액으로 2번 세정한 다음 0.1M phosphate buffer(pH 7.0) 또는 새로운 SM 배지에 재현탁하여 사용하였다. 용균률은 약제 첨가시 초발 OD에 대한 %로 표시하였다.

**III. 결과 및 고찰**

**1. Lauric acid 및 유도체의 저해효과**

배지중에 lauric acid와 유도체들을 각 0.25 mM씩 첨가하여 균의 생육에 미치는 영향을 조사한 바 Table 1에 나타난 바와 같이 lauric acid, laurylamine 및 sodium laurylsulfate(SDS)는

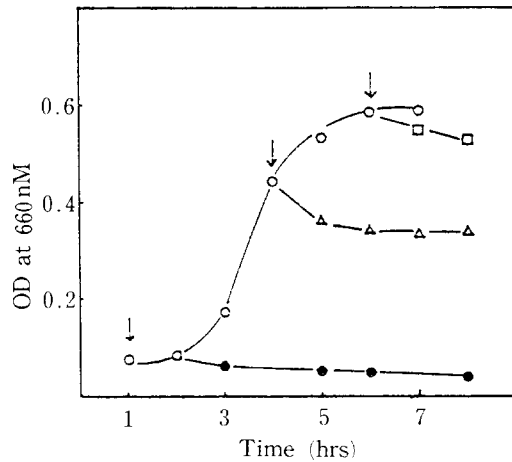


Fig. 1. Effect of lauric acid added at different growth phases of *B. subtilis* var. *niger*. Lauric acid was added in the final concentration of 0.25mM. The arrow indicates the time of the addition.

Table 1. Effect of lauric acid and its derivatives on the growth of *B. subtilis* var. *niger*

| Addition             | Concentration (mM) | OD <sub>660</sub> after |       |       |
|----------------------|--------------------|-------------------------|-------|-------|
|                      |                    | 4 hr                    | 6 hr  | 8 hr  |
| Lauric acid          | 0.25               | 0.056                   | 0.062 | 0.126 |
| Laurylamine          | 0.25               | 0.162                   | 0.475 | 0.620 |
| Sodium Laurylsulfate | 0.25               | 0.072                   | 0.042 | 0.210 |
| None                 |                    | 0.162                   | 0.545 | 0.660 |

모두 생육을 저해하였으나 저해효과는 lauric acid와 sodium laurylsulfate가 비슷한 정도로 크게 나타났다.

여러가지 생육구간에 0.25 mM lauric acid를 첨가하여 균의 생육상태를 조사한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 균의 생육은 lauric acid의 첨가 즉시 중지하였으며 대수증식기의 세포에서는 OD의 저하가 크게 나타났다.

**2. Lauric acid의 용균작용에 미치는 영향**

(1) 생육구간의 영향

Fig. 1에서 대수증식기의 세포에 대한 lauric acid의 용균현상이 나타났으므로 이를 확인하기 위하여 SM 배지에서 배양한 각 생육구간의 세포를 집균한 후 0.25 mM lauric acid를 함유하는 phosphate buffer에 재현탁하여 OD를 조사한 바 Fig. 2에 나타난 바와 같이 대수증식기의 세포에서 최대의 용균률을 나타내었다.

(2) 세포농도의 영향

대수증식기 세포의 최대 용균률은 세포의 농도에 따라 영향을 받는다고 생각되므로 세포농도에 따른 영향을 조사하여 Table 2에 나타내었다. 0.25 mM lauric acid에 의한 대수증식기 세포의 용균은 OD<sub>660</sub> 0.26에서 1.42범위에서는 세포농도의 영향을 받지 않았다. 그러나 sodium

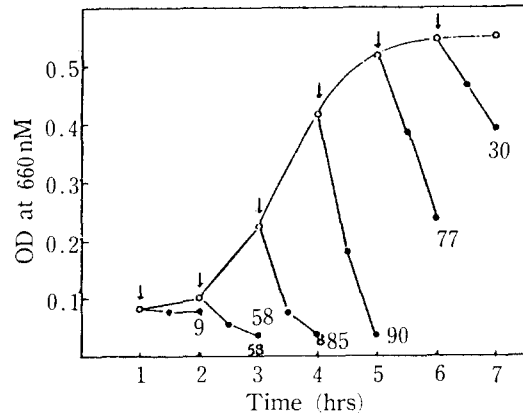


Fig. 2. Lytic action on lauric acid induced cells defferent growth phase of *B. subtilis* in phosphate buffer.

The arrow indicates the time of the addition and the value was expressed as lysis rate. Lauric acid was added in the final concentration of 0.25 mM.

laurylsulfate(SDS)의 경우는 세포농도에 따라 영향을 받았다. 즉, 낮은 농도에서는 용균이 일어났으나 높은 농도에서는 용균이 거의 일어나지 않았다. 이것은 lauric acid와 SDS 사이의 세포에 대한 친화성 또는 작용기구의 相異를 반영한다고 사료된다.

Table 2. Effect of different cell concentrations on inhibitor of lauric acid and SDS induced cells in SM medium.

| Initial OD <sub>660</sub> | Relative lysis rate (%) |        |        |        |
|---------------------------|-------------------------|--------|--------|--------|
|                           | Lauric acid             |        | SDS    |        |
|                           | 30 min                  | 60 min | 30 min | 60 min |
| 0.26                      | 60                      | 80     | 52     | 58     |
| 0.46                      | 59                      | 82     | 27     | 18     |
| 0.83                      | 57                      | 82     | 14     | 10     |
| 1.42                      | 57                      | 84     | 8      | 2      |

Relative lysis rate was expressed as percent of initial OD.

Lauric acid and SDS were added in the final concentration of 0.25mM.

### (3) Lauric acid 농도의 영향

여러가지 농도의 lauric acid에 의한 대수증식기 세포의 용균을 60분간 처리한 후의 용균률은 Fig. 3에 나타낸 바와 같이 0.25 mM에서 최대 활성을 나타내었으며 그 이상의 농도에서는 용균 활성이 저하하였다.

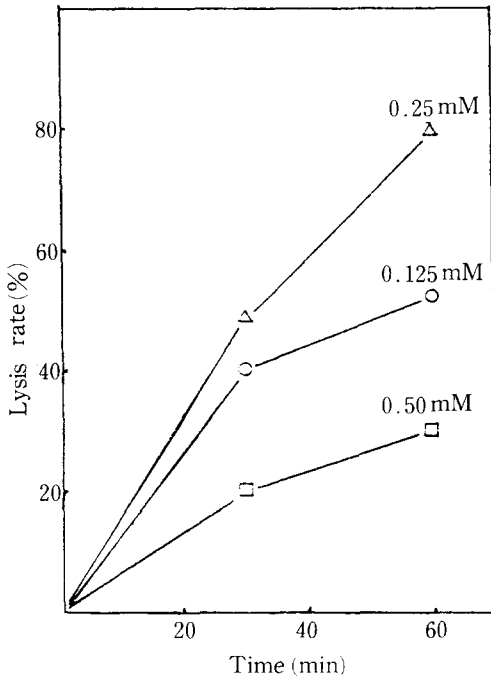


Fig. 3. Lytic action of lauric acid at various concentrations on *B. subtilis* var. *niger* in SM medium.

### (4) pH의 영향

0.25 mM lauric acid에 의한 대수증식기 세포의 용균에 대한 pH의 영향을 조사한 결과를 Fig. 4에 나타내었다. pH 7.0에서 산성으로 shift 한 경우의 용균률은 억제되었으나 약알칼리성으로 shift 하였을 때는 용균이 촉진되는 pH의 존재를 나타내었다.

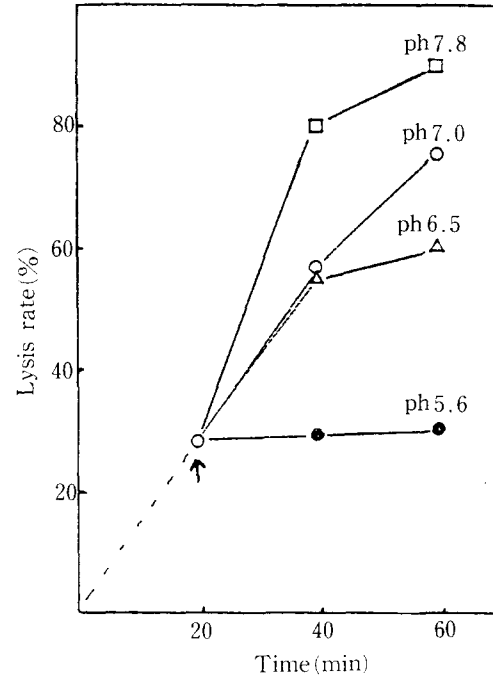


Fig. 4. Effect of pH shift on lauric acid induced cells of *B. subtilis* var. *niger* in SM medium. The arrow indicates the pH shift. Lauric acid was added in the final concentration of 0.25 mM

## IV. 요약

*Bacillus subtilis* var. *niger*에 대한 lauric acid와 유도체의 항균력을 조사한 바 lauric acid가 가장 강한 저해제이었다.

Lauric acid의 용균력은 대수증식기일때 세포의 감수성이 높았으나 세포의 농도에는 영향을 받지 않았다. 한편 pH는 산성쪽으로 shift 하였을 때 용균활성이 억제되었다.

## V. 참고문헌

1. Kato, N., Shibasaki, I.; *J. Ferment.*

- Technol.*, **53**, 793(1975).
2. Willett, N. P., Morse, G. E.: *J. Bacteriol.*, **91** 2245(1966).
  3. Sheu, C. W., Freese, E.: *J. Bacteriol.*, **111**, 516(1972).
  4. Galbraith, H., Miller, T.B.: *J. Appl. Bacteriol.*, **36**, 635(1973).
  5. Hunter, D. R., Segel, I.: *J. Bacterol.*, **113**, 1184(1973).
  6. Lindeberg, G., Lindeberg, M.: *Arch. Microbiol.*, **101**, 109(1974).
  7. Hunkova, Z., Z. Fencel; *Biotechnol. Bioeng.*, **19**, 1623(1977).
  8. Kato, A., Arima, K.: *Biochemical and Biophysical Research Communication*, **42**, 596(1971).
  9. Karaba, J. J., Swieczkowski, D. M., Conley, A. J., Truant, J. P.; *Antimicrob. Ag. Chemother.*, **2**, 23(1972).
  10. Galbraith, H., Miller, T. B.; *J. Apple. Bacteriol.*, **34**, 803(1971).
  11. Galbraith, H., Miller, T. B.; *J. Apple. Bacteriol.*, **36**, 659(1973).
  12. Pethica, B. A., Schulman, J. H.; *Biochem. J.*, **53**, 177(1953).
  13. Spizizen, J.; *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **44**, 1072(1958).
- 
- (1990 년 5 월 27 일 수리)