

초임계 이산화탄소를 이용한 마늘 추출물의 항균효과에 관한 연구

성기천[†]

대전대학교 이공대학 화학공학과
(2003년 1월 21일 접수 ; 2003년 3월 10일 채택)

A Study on the Antimicrobial Effect of Garlic Extract using Super-Critical Carbon Dioxide

Ki-Chun Sung[†]

Department of Chemical Engineering, Dae Jin University,
Pochun-Kun 487-711, Korea

[†]e-mail : kcsung@load.daejin.ac.kr

(Received January 21, 2003 ; Accepted March 10, 2003)

Abstract : Garlic extract using super-critical carbon dioxide is influenced by temperature and pressure, and the optimum condition can make under super-critical state. We can know the defects in process of super-critical extration, It can indicate the drop of product rate, energy loss and equipment expense etc. The minimum inhibition concentration of microbe which garlic extract contains has appeared the concentration more than 800ppm in this experiment. According to the result of this experiment, we can know that the antibiosis effect in the microbe of staphylococcus and fungus has disappeared in the incubation time more than 12 hours.

Keywords : garlic extract, super critical state, minimum inhibition concentration, antibiosis.

1. 서론

마늘(garlic)은 백합과 (liliaceae)의 파속에 속하는 한해살이 식물로 잎과 줄기가 있으며, 줄기에는 3~6쪽 마늘로 구성되어 있고 특유의 향미를 가지고 있다.

마늘은 원산지가 중앙아시아와 지중해 지방으로 알려져 있으나, 극동아시아 지방인 중국, 일본, 한국 등의 지역에서도 많이 재배되고 있다.

국내에서 재배되고 있는 마늘은 지형에 따라 난지계와 한지계로 구분되며, 전자는 따뜻한 남쪽지역에서 재배되는 마늘류로 서천종, 남해종, 고흥종등이 있고 후자는 차가운 북쪽지역에서 재배되고 있는 마늘류로 삼척종, 단양종, 의성종 등이 있다.

특히 마늘은 황화 아릴류와 그의 유도체가 다량 함유되어 자체 맛이나 냄새 그리고 보존 등에 효과를 주고 당류와 필수 아미노산 등의 다

양한 성분들이 함유되어 있어 오래 전부터 식품류에 주로 사용되어 왔으나, 오늘날 자체 고유의 유효성분들이 다각적으로 입증됨으로서 식품 외에 공산품이나 화장품 및 의약품류 등의 특수 성분으로 널리 응용되고 있다[1].

마늘의 유효성분 중에 함황 아미노산의 일종인 alliin(S-allyl L-cysteine Sulfoxide)은 자체 효소인 allinase에 의해 allicin과 pyruvic acid로 분해되고, 다시 allicin은 diallyl sulfide로 분해되어 저급 황화물이 얻어진다[2].

또한 마늘의 유효성분인 저급 황화물은 식품 중 유지성분에 대하여 황산화 작용을 함으로서 유지의 산패를 지연 또는 억제시켜 주는 역할을 하며, allicin의 분해과정중 생성되는 치오기의 강한 산화력은 항균, 소염, 살균작용 등의 효능을 가지고 있어 오늘날 그 가치가 증대되고 있다[3].

마늘의 성분은 탄수화물 30%, 단백질 20%, 섬유소 3%, 회분 2%, 기타 성분 등으로 구성되어 있고, 질소화합물 중 80%가 수용성 폴리펩타이드와 기초 아미노산으로 구성되어 있다.

마늘에 대한 연구는 1844년 독일의 Theodor Wertheim[4]은 마늘을 추출하여 마늘유의 정유성분을 분리하는 데 시작되었고 마늘 추출물 중에 allyl sulfur라는 물질은 항균력을 갖는 유효성분이 존재함과 동시에 자극성냄새를 나타낸다고 하였다. 또한 Stoll과 Seebeck[5,6]는 마늘을 메탄올로 추출하였고 결정성 함황아미노산인 alliin을 자체효소로 allicin을 분리 시켰고, 그 효능을 인정받았다.

Cavallito 등[7,8]은 마늘을 에탄올로 추출하였고 마늘유 중에 항균성 물질을 분리하였는데 그 물질이 allyl 2-propen thio sulfonate라고 하였는바 화학적으로 불안정하다고 하였다.

본 실험은 초임계 유체인 이산화탄소를 사용하여 마늘성분을 추출하였고 그 효능 및 효과를 연구하고자 하였다.

2. 이론적 고찰

초임계 유체(super critical fluid : SCF)의 추출은 임계점보다 높은 압력과 온도 영역에서 기상과 액상을 분리하는 기술이다.

Fig. 1은 초임계 유체의 추출에서 용매로 가장 널리 이용되고 있는 이산화탄소의 압력과 온도에 대한 도표이며, 여기서 CP는 기체와 액체의 임계점($P_c=73.7\text{bar}$, $T_c=31.2^\circ\text{C}$)이다. 이 표에서 임계점 이상의 영역을 초임계점이라 하고, 이 임계점 부근에서는 물질의 물성 변화가 크며, 밀도의 경우 그 물질의 용해력과 관계가 있다.

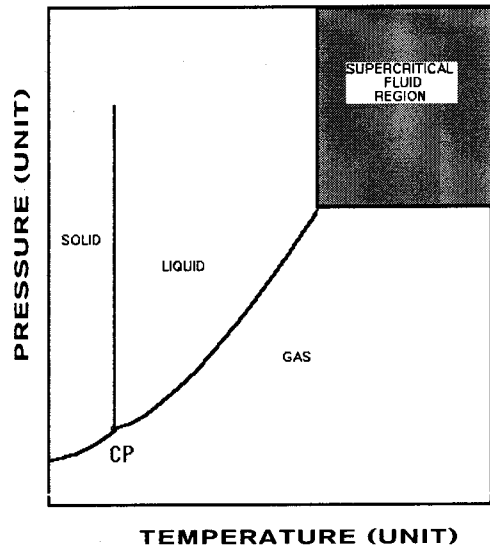


Fig. 1. Pressure-temperature diagram of carbon dioxide for super-critical fluid.

Fig. 2는 밀도와 압력과의 관계를 온도의 변수로 나타낸 도표이다.

이 표는 임계점 부근에서 압력과 온도가 증가하면 밀도는 감소하고 밀도에 따라 용해도는 감소현상을 나타낸다.

초임계 유체의 추출에서 널리 사용되고 있는 영역은 $T_r=1\sim 1.2(30\sim 92^\circ\text{C})$ $P_r=0.8\sim 4.0(200\sim 300\text{기압})$, $\rho_r=0.5\sim 2.0(0.24\sim 0.95\text{g/cm}^3)$ 이고, 이 영역에서 압력과 온도가 크게 변화하며 밀도의 변화에 따라 물질의 용해도도 변화하는 것이 초임계 추출의 특징이다.

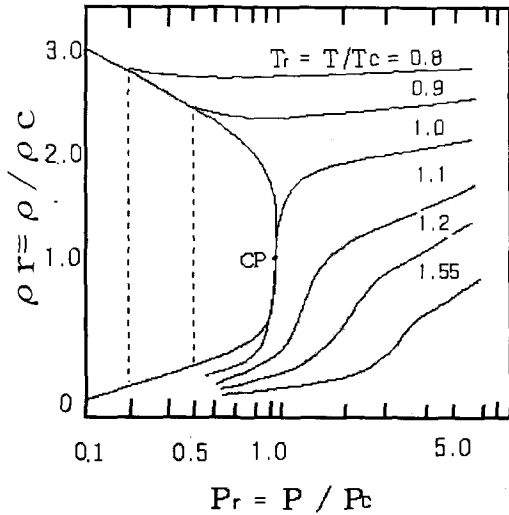


Fig. 2. Plot of ρ_r vs. P_r according to T_r as parameter.

Table 1은 각종 유체의 임계조건을 나타내었다. 여기서 초임계 유체로 이용되는 이산화탄소는 무독성, 안전성, 내부식성 등 경제적인 관점에서 유리 하지만 비극성 용매로 각종 물질들을 추출하는데 한계가 있으며, 특히 당류, 전분, 단백질 등의 추출에는 사용이 불가능한 단점이 있다.

Table 1. Critical Condition of Various Fluid

Fluid	MW	Pc(bar)	Tc(°K)	$\rho_c(g/cm^3)$
Methanol	32.4	80.9	512.6	0.272
Ethanol	46.10	61.4	513.9	0.77
Benzene	78.11	48.9	562.1	0.302
Acetone	58.08	47.0	508.1	0.278
Carbon Dioxide	44.01	73.7	304.2	0.468
H ₂ O	18.00	20.1	647.3	0.332

3. 실험

3.1. 재료 및 기기

본 실험에 사용된 재료는 국산 마늘(서천종)을 사용하였고 추출용매는 99.9%의 순도를 갖는 이산화탄소(CO₂)와 추출기는 Fig. 3과 같이 초임계 유체 추출기로 가압용 가스 booster와 구

동용 pressure regulator, 3,000ml용 reactor와 200ml용 view cell reactor, collector를 기본 구조로 구성되어 있다.

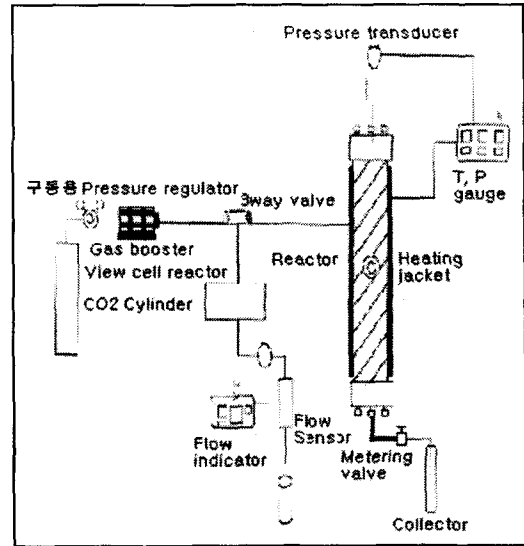


Fig. 3. Apparatus of super-critical fluid extractor.

3.2. 추출시험

200ml용 view cell reactor에 42g의 마늘시료를 분쇄하여 투입한 후 heating mantle 과 thermocouple를 사용하여 원하는 온도로 조절하고 이산화탄소를 주입한 다음 gas booster와 구동용 pressure regulator를 작동시켜 가압한다. 추출반응기의 유입압력이 일정하도록 조절하고 추출반응기의 내부 온도와 압력이 임계점에 이르면 구동용 pressure regulator 와 3-way valve를 이용하여 급격한 압력강하를 방지하고 heating tape를 사용하여 일정한 온도를 유지시켜 준다. 추출반응기에서 나온 유체는 임계 상태로 마늘성분이 추출된다.

3.3. 항균 시험

3.3.1. 균주

본 실험에 사용한 미생물의 균주는 박테리아 균인 *staphylococcus(KCCM-1,200)*와 곰팡이균인 *fungus(KCCM-1225)*를 사용하였다. 이 균주들은 모두 한국 미생물 보존센터(KCCM)에서

구입하였다.

3.3.2. 시약

미생물 배양 배지에서는 미국 Difco사 제품인 nutrient broth와 nutrient agar를 구입, 사용하였다.

3.3.3. 항균효과 시험

증류수 1 l 에 Nutrient broth 8.0g과 마늘추출물 800ppm을 고루 섞어 배지를 만든다. 이 배지에서 시료를 적당량 취하고 여기에 균의 농도가 약 2.50×10^5 CFU/ml가 되게 접종균을 접종하여 37°C 항온조에서 7일간 배양한다.

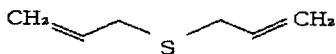
평판 회석법[9]으로 증류수 1 l 에 Nutrient agar 23.0g과 이미 배양한 배지 1ml를 고루 섞은 다음 15ml를 취하여 100°C까지 끓인 후 40°C로 냉각하여 petri-dish에 넣고 37°C, 24시간 배양 후 생균수를 측정한다. 대조균은 마늘 추출물대신 증류수를 사용한다

4. 결과 및 고찰

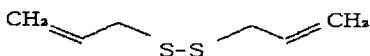
4.1. 초임계 이산화탄소를 이용한 마늘 추출

일반적으로 마늘성분의 분해과정은 기질인 alliin이 allinase에 의해 allicin과 pyruvic acid로 분해되고 이 allicin이 다시 열분해하면 아래와 같이 diallyl sulfide, diallyl disulfide, diallyl trisulfide로 분해된다. 또한 마늘성분의 추출은 온도와 압력에 크게 영향을 미친다.

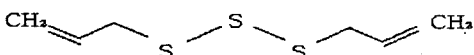
① diallyl sulfide :



② diallyl disulfide :



③ diallyl trisulfide :



4.1.1. 온도

본 실험에서 온도의 영향은 용매인 이산화탄소를 이용하여 임계 압력 73.7bar에서 60분간 온도를 변화시켜 마늘 성분을 추출하였다. 실험 결과 Fig. 4 에서와 같이 마늘 추출물의 량은 31.2°C에서 가장 많은량이 추출됨을 알 수 있다. 이산화탄소의 임계온도는 31.2°C이며, 초임계상태에 이르면 추출량도 증가함을 알 수 있다. 그러나 온도가 점점 증가하면 밀도는 감소하고 용질에 대한 용해도가 줄어들기 때문에 추출량이 감소됨을 알 수 있다.

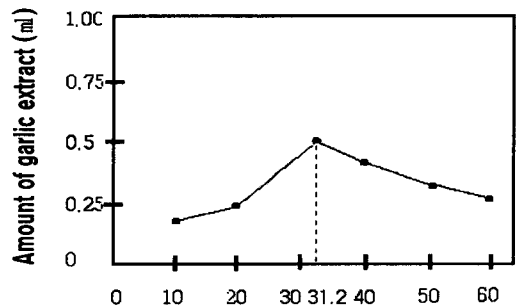


Fig. 4. Effect of temperature on amount of Garlic extract (Pressure : 73.7bar, Time : 60min).

4.1.2. 압력

본 실험에서 압력의 영향은 용매인 이산화탄소를 이용하여 온도 31.2°C에서 60분간 압력을 변화시켜 용매인 이산화탄소를 이용하여 마늘성분을 추출하였다.

실험결과 Fig. 5에서와 같이 마늘 추출물의 량은 낮은 압력에서 서서히 증가하고 임계압력인 73.7bar에서 초임계상태에 이르면 추출량이 증가함을 알 수 있다.

4.2. 마늘추출물의 미생물에 대한 최저저지농도 (minimum inhibition concentration)

마늘 추출물의 농도를 600, 800 및 1,000 ppm으로 조제한 배지에 박테리아 균인 *Staphylococcus*와 곰팡이 균인 *fungus*를 각각 2.50×10^5 CFU/ml씩을 접종하여 7일간 배양한 다음 미생물의 생육상태를 관찰하여 마늘추출물의 최저저지농도(MIC)를 측정된 결과 Table 2.와 같다.

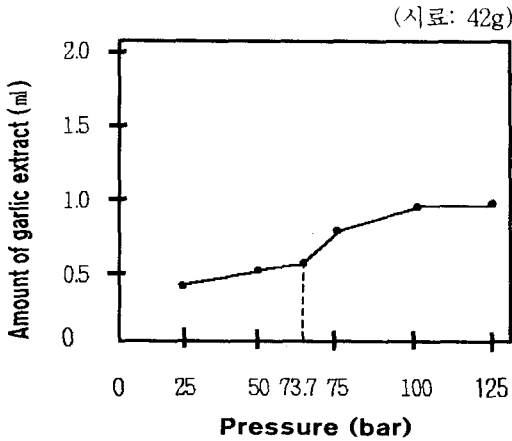


Fig. 5. Effect of pressure on amount of garlic extract
(Temperature : 31.2°C, Time : 60min)

본 시험결과 *Staphylococcus*와 *fungus*는 마늘 추출물의 농도가 600ppm에서 2일째부터 생육하기 시작하여 7일째까지 계속 성장하였으나 800ppm과 1,000ppm에서는 1일부터 7일 경과할 때까지 미생물을 관찰할 수 없었으며, 따라서 미생물에 대한 최저저지농도(MIC)는 800ppm으로 측정되었다.

4.3. 마늘 추출물의 항균 효과

본 실험은 배지에 박테리아균인 *staphylococcus*과 곰팡이균인 *fungus*를 사용하여 항균효과

를 시험하였다.

4.3.1. 박테리아균에 대한 항균효과

마늘추출물의 농도를 800ppm 첨가한 배지에 이미 배양한 박테리아균 2.50×10^5 CFU/ml를 접종하여 생균수를 시험한 결과 Table 3과 같다. 대조군은 증류수에 처음 접종한 박테리아균 2.50×10^5 CFU/ml에서 12시간 후 4.00×10^7 CFU/ml로 증가하고 그 이후 168시간 경과시에는 6.00×10^8 CFU/ml로 증식됨을 알 수 있다.

그러나 마늘추출물이 함유한 시료에서는 12시간 경과 후 생균수를 전혀 관찰할 수 없었고 그 이후 168시간 경과 후에도 같은 수준을 유지하였다.

4.3.2. 곰팡이균에 대한 항균효과

마늘추출물의 농도를 800ppm 첨가한 배지에 이미 배양한 곰팡이균 2.50×10^5 CFU/ml를 접종하여 생균수를 시험한 결과 Table 3와 같다. 대조군은 증류수에 처음 접종한 곰팡이균 2.50×10^5 CFU/ml에서 12시간 후 9.50×10^7 CFU/ml로 증가하였고 그 이후 168시간 경과시에는 7.00×10^8 CFU/ml로 증식됨을 알 수 있다.

그러나 마늘 추출물이 함유한 시료에서는 12시간경과 후 생균수를 전혀 관찰할 수 없었고 그 이후 168시간 경과후에도 같은 수준을 유지하였다.

Table 2. Minimum Inhibition Concentration of Garlic Extract on Microbe

Incubation time(day)	Staphylococcus			Fungus		
	600ppm	800ppm	1000ppm	600ppm	800ppm	1000ppm
0	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-
2	+	-	-	+	-	-
3	++	-	-	+	-	-
4	++	-	-	+	-	-
5	++	-	-	+	-	-
6	++	-	-	+	-	-
7	++	-	-	+	-	-

* 참고 - : Negative
+ : Positive

Table. 3. Antimicrobial Effect of the Garlic Extract on microbe

Incubation time (hr)	S. aureus		E. coli	
	Control	Sample(A)	Control	Sample(B)
0	2.50x10 ⁸ CFU/ml	2.50x10 ⁸ CFU/ml	2.50x10 ⁸ CFU/ml	2.50x10 ⁸ CFU/ml
12	4.00x10 ⁷ CFU/ml	-	9.50x10 ⁷ CFU/ml	-
24	1.30x10 ⁸ CFU/ml	-	2.00x10 ⁸ CFU/ml	-
48	2.60x10 ⁸ CFU/ml	-	2.80x10 ⁸ CFU/ml	-
72	3.00x10 ⁸ CFU/ml	-	4.00x10 ⁸ CFU/ml	-
144	4.00x10 ⁸ CFU/ml	-	6.00x10 ⁸ CFU/ml	-
168	6.00x10 ⁸ CFU/ml	-	7.00x10 ⁸ CFU/ml	-

Sample(A) : the medium contains 800ppm of garlic extract

Sample(B) : the medium contains 800ppm of garlic extract

Control : the medium does not use garlic extract

5. 결론

참고문헌

본 연구는 초임계 유체인 이산화탄소를 이용하여 마늘 성분을 추출하였고 그 효능 및 효과에 관하여 시험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 초임계 유체인 이산화탄소를 이용한 마늘 성분의 추출은 온도와 압력에 영향이 있었으며, 이에 대한 최적조건은 초임계 상태를 알 수 있다.
2. 초임계 상태에서 유체 추출은 높은 압력하에서 운전이 요구되므로 생산수율이 낮고 에너지 비용과 시설비용이 높아 실용성이 떨어지는 단점이 있다.
3. 마늘추출물의 미생물에 대한 최저저지농도(MIC)는 그 수치가 800ppm 이상에서 항균 효과 있는 것으로 나타났다.
4. 마늘추출물이 함유된 배지에 미생물을 접종한 결과, 배양시간이 12시간 이상에서 항균효과가 있음을 확인하였다.

1. B. Reghavan and K. O. Abraham, *J. Scient., Ind., Res.*, **42**, 401 (1983).
2. A. Stoll and E. Seebeck, *Advan., Enzymol.*, **11**, 377 (1951).
3. K. S. Al-Delaimy and M. M. Barakat, *J. Sci., Fd Agric.*, **22**, 94 (1971).
4. Block, "The chemistry of Garlic and Onion", "Scientific American", **252**, pp. 94-99 (1995).
5. A. Stoll, E. Seebeck, and U. Alliin, *Experientia*, **3**, 114 (1947).
6. A. Stoll and E. Seebeck, *Helv. Chem. Acta.*, **32**, 197 (1947).
7. C. J. Cavallito, J. Bailey, and H. Allicin, *J. Am. Chem. Soc.*, **66**, 1950 (1944).
8. C. J. Cavallito, J. Buck, and S. Allicin, *J. Am. Chem. Soc.*, **66**, 1952 (1944).
9. 김규식(金珪植) 외 2명, "미생물학 실습", 원광대학교 출판부, **71** (1992).