

大蒜의 분획별 추출물에서 항균활성 검색

김희석¹ · 배홍모¹ · 김신무³ · 이현옥⁴ · 김기영^{1,2*}

1: 원광대학교 한의학전문대학원, 2: 의과대학 병리학교실, 3: 원광보건대학 임상병리과, 4: 원광보건대학 치위생과

Screening of Antimicrobial Activity from Differential Extracts of *Allii sativi Bulbus*

Hee Seok Kim¹, Heung Mo Bae¹, Shin Moo Kim³, Hyun Ok Lee⁴, Ki young Kim^{1,2*}

1: Professional Graduate School of Oriental Medicine, 2: Department of Pathology, Medical School Wonkwang University, 3: Department of Clinical Pathology, 4: Department of Dental Hygiene Wonkwang Health Science College

Allii sativi Bulbus(garlic) have been shown to possess medicinal value, in particular, antimicrobial activity. In this study, we compared the efficacy on some pathogenic bacteria and fungus among several different extracts(water, hexane, ethyl acetate, methanol, chloroform) of *Allii sativi Bulbus*. Animal pathogenic bacteria and fungus(*S. gallinarium*: KCTC 2441, *S. flexneri*: KCTC 2361, *E. cloacae*: KCTC 2006, *K. pneumonia*: KCTC 2208, *C. albicans*: KCTC 1940) were used to test by measurement of minimum inhibitory concentrations(MIC) and disc diffusion. *Allii sativi Bulbus* were cut and mixed with water at 37°C about 24 h and filtered, and several different solvents(hexane, chloroform, ethyl acetate, methanol) were respectively added to separate the fraction of each solvent. The antimicrobial(bacteriocidal) and antifungal effect were apparently shown from water extract, hexane and ethyl acetate extract against using strains(*Staphylococcus gallinarium*, *Shigella flexneri*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumonia*, *Candida albicans*). Especially, the water extract showed the superior efficacy. And the clear zone size of water extract (11~27 mm) was greater than that of gentamycin, hexane extract and ethyl acetate extract against *S. gallinarium*, *S. flexneri*, *K. pneumonia* and *C. albicans*. Minimum inhibitory concentrations(MIC) of water extract appeared to around 2.0~7.5 mg/ml against *S. gallinarium*, *S. flexneri*, *E. cloacae* and *K. pneumonia*. The greater activity was shown by water extract because the MIC of water extract for *C. albicans* observed in very low concentration(<1.0 mg/ml) compared to hexane(5.0 mg/ml) and ethyl acetate(10.0 mg/ml). Therefore, these results exhibited that water extract of *Allii sativi Bulbus* have stronger antimicrobial activity than hexane and ethyl acetate extract, and may be useful as topical medicine of superficial infections causing *C. albicans* as well as antifungal agents.

Key words : *Allii sativi Bulbus*(garlic), water extract, antimicrobial activity, MIC

서 론

천연항균력이 있는 생리활성물질에 대한 연구는 107종 식물 의 ethanol 추출물에서 항균활성이 조사되었고, 100종의 식물체 에서 수용성, methanol, dichloroform 및 petroleum ether 추출물 을 조사했을 때 검색식물의 84 %가 항균활성이 있으며 75 %가 항진균성 활성이 있다고 알려져 있다^{1,2)}. 그 중에서 항균물질에

대한 검색이 마늘(大蒜)^{3,4)}, 생강⁴⁾, 목단과⁵⁾, 구기자⁶⁾, 방기와 감초⁷⁾, 치자⁸⁾, 질경이^{6,8)}, 리기다소나무⁸⁾, 모과⁹⁾, 유백피¹⁰⁾, 자초¹¹⁾, 단삼¹²⁾, 신이대¹³⁾, 새뱅이¹⁴⁾ 및 구절초^{15,16)} 등의 추출물에서 중점적 으로 연구되고 있다. 大蒜(*Allium sativum* L., 일명: 마늘)은 식물 분류상으로 백합과(Liliaceae)의 파속(*Allium*)에 속하는 식물뿌리 이며 그 변종으로는 *var. sativum*, *var. ophioscordin*, *var. pekinens* 등이 있고 약용으로는 붉은 마늘이 사용되고 있다. 오래 전부터 향음식품과 의약품으로 널리 사용되어온 大蒜은 고대 유럽에서 는 만능약 및 강장제로 사용되었고, 1, 2차 세계대전 때는 현장 소독제로 사용되었으며 중국에서는 진정제로 사용되었다¹⁷⁾. 대

* 교신저자 : 김기영, 전북 익산시 신용동 344-2, 원광대학교 한의과전문대학원

E-mail : kkyoung@wonkwang.ac.kr, Tel : 063-850-6775

· 접수 : 2002/08/30 · 수정 : 2002/09/30 · 채택 : 2002/11/29

蒜에 대한 최초 연구는 1844년 Wertheim이 大蒜의 수증기 증류로 얻은 정유(essential oil)로부터 시작되어, 1858년 Pasteur¹⁸⁾가 항균효과를 보고한 이래 많은 연구자들은 항균효과와 항암작용에 대해 보고하고 있고^{19,25)}, Block 등²⁰⁾은 아프리카에서 아메바성 이질의 치료에 사용했다고 전하고 있다. 大蒜의 인경 부분을 말린 것을 *Allii sativi Bulbus*라 하며 아미노산, allicin, allisatin, allitridi 등을 함유하고 있고 현재 allitridi는 합성하여 사용되고 있다. Allicin은 vitamin B1과 결합하여 thiamine allyl disulfide(TAD)를 형성하며 aneurinase에 의해 분해되어 장관에서 흡수가 용이해지고, 체내에 저장되어 있다가 필요할 때 vitamin B1의 결핍을 보충한다. 이스라엘의 Weizmann 과학 연구소에서는 치료 효과의 분자 메커니즘을 연구하여 보고²⁶⁾하였는데, allicin이 cysteine proteinase 및 alcohol dehydrogenase를 저해하며, 이들 효소들은 세균, 곰팡이, 바이러스 같은 항원 미생물에 널리 존재하고 있다는 점에서 감염에 효과가 있다고 보고하였다. 최근에는 大蒜 추출물은 위궤양의 원인균인 *Helicobacter pylori*균을 억제하는 효과가 있고²⁷⁾, *Staphylococcus enterotoxins A, B, C*²⁸⁾ 뿐만 아니라 *Aspergillus parasiticus*의 aflatoxin과 같은 mycotoxins를 저해한다고 알려져 있다²⁹⁾. 또한 *Entamoeba histolytica*와 같은 장내 기생충의 성장을 저해하고³⁰⁾, human cytomegalovirus, influenza B 및 herpes simple virus type 1, 2, 3 등의 바이러스에 저해작용이 있다고 보고하고 있다³¹⁾. 이와 같이 大蒜은 병원성 미생물에 대한 항균(antibacterial), 항진균(antifungal), 항기생충(antiparasitic) 그리고 항바이러스(antiviral) 작용 뿐만 아니라, 항암^{32,33)}, 콜레스테롤 저하^{34,35)} 등에 대해 다각적으로 많은 연구가 진행되고 있다. 지금까지의 항균효과 연구는 大蒜은 주로 즙^{36,37)} 또는 휘발성 정유 성분³⁸⁻⁴⁰⁾에 대한 보고가 많으며 유기용매 분획물의 항균효과와 동물병원성 미생물에 대한 보고는 많지 않다. 따라서 본 연구에서는 천연항균제로서 大蒜의 효과적인 이용여부를 조사하고자 5종의 동물 병원성 미생물 (*Staphylococcus gallinarium*, *Shigella flexneri*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumonia*, *Candida albicans*)을 대상으로 수추출물과 여러 가지 분획물들의 항균효과와 항균활성을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 大蒜은 전라북도 익산시 북부시장에서 구입하여 사용하였다.

2. 사용균주 및 배지

실험에 사용한 균주는 그람양성균 2종(*Enterobacter cloacae*: KCTC 2006, *Staphylococcus gallinarium*: KCTC 2441)과 그람음성균 2종(*Shigella flexneri*: KCTC 2361, *Klebsiella pneumonia*: KCTC 2208) 그리고 진균 1종(*Candida albicans*: KCTC 1940)을 사용하였다. 배지는 TSA(Trypticase-soy agar)와 SDA(Sabroud dextrose agar)를 사용하였고 배지와 배지 조성 시약들은 Difco사(Sparks, U. S. A) 제품을 사용하였다.

3. 大蒜의 추출 및 분획

1) 大蒜의 전처리

분쇄한 生大蒜 180 g을 3차 증류수 1800 ml와 혼합하여 37℃에서 24시간 진탕시켜서 여과한 추출물을 동결 건조시켜 40 g의 시료를 얻었다. 시료 중 20 g은 그대로 사용하고 나머지는 극성이 다른 용매를 사용하여 3-2와 같이 순차적으로 분획하였다.

2) 大蒜의 분획별 추출물

동결 건조시킨 시료 20 g을 180 ml 3차 증류수에 용해시킨 후에 400 ml의 hexane을 가하고 진탕시켜 방치한 다음 분리된 hexane층(380 ml)은 회수하였다. 그리고 잔류하는 수층(200 ml)에 ethyl acetate 400 ml를 가하여 진탕시킨 후에 분리된 ethyl acetate층(360 ml)을 회수하였다. 위와 같은 방법으로 chloroform과 methanol을 순차적으로 분획하여 각각 360 ml를 얻었다. 각 층에서 분리된 용매 추출물을 rotary vacuum evaporator (EYELA, N-1000)로 10배 감압 농축시켜서 얻은 분획물(36~38 ml)을 실험에 사용하였다.

4. 항균력 측정

1) 일차 항균효과 검색

각 균주의 액체배지 3.99 ml에 각각의 추출물 1 ml(수추출물: 10 mg/ml, 분획물(hexane, ethylacetate, chloroform, methanol: 40 mg/ml)를 처리하고 전배양된 실험균주 10 μ l(1.5×10^6)를 접종하여 37℃에서 18~20시간 진탕 배양하였다. 그 후에 각 배양액을 적정농도로 희석하여 100 μ l씩 Mueller-Hintone agar plate에 도말하고 37℃에서 18~20시간 배양하였다. 배양된 agar plate의 균집락을 계수하여 세균만 첨가된 음성대조군과 항생제(gentamycin: 25 mg/ml)가 첨가된 양성대조군을 비교하여 항균효과 여부를 측정하였다. 이러한 일차적인 항균효과 검색의 결과를 토대로 하여 구체적인 항균 활성도를 측정하였다.

2) 생육 저해환 측정

Paper disc method⁴¹⁾를 사용하여 agar plate에 배양된 균주 100 μ l(1.5×10^6)를 삼각 유리봉(spreader)으로 균일하게 도포한 후에 gentamycin(25 mg/ml), 수추출물(10 mg/ml)과 용매별 추출물(40 mg/ml)을 20 μ l씩 흡수시킨 filter paper disc(Φ 6 mm, Toyo Roshi Kaisha Ltd., C1012602)를 올려놓고 37℃에서 24시간 배양한 다음에 disc 주위의 생육저해환(clear zone)의 직경을 측정하여 항균력을 조사하였다. 그리고 탁월한 효과를 나타낸 수추출물에서 clear zone의 형성을 다시 희석시켜 관찰하였다.

3) 최소 저해 농도(Minimum inhibition concentration: MIC) 측정

액체배지(TSA, SDA) 3.99ml에 균현탁액 10 μ l(1.5×10^8)씩 접종하고 大蒜 수추출물 1 ml(0.2 mg/ml 및 분획별 추출물 1 mg/ml, 2 mg/ml, 2.5 mg/ml, 5 mg/ml, 7.5 mg/ml, 10 mg/ml)를 가하여 37℃에서 18~24시간 배양한 후에 배양된 균주에 약재를 처리한 현탁액 200 μ l와 균주가 접종되지 않은 배지 200 μ l(blank)를 96 well microplate에 옮겨 600 nm에서 흡광도를 측정하였다. 흡광도 측정 후 생균수는 배양액을 0.9% NaCl(saline)로 적정 희석시켜 100 μ l씩 배지에 도말하여 37℃에서 18~24시간 배양한 후

에 형성된 균집락수를 계수하였다. 균의 증식이 나타나지 않는 추출물의 농도를 MIC 값으로 결정하였다.

결 과

1. 일차 항균효과

수추출물과 hexane, ethyl acetate 추출물을 음성 대조군(시료 처리하지 않은 균)과 비교했을 때 *Staphylococcus gallinarium*, *Shigella flexneri*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumonia*, *Candida albicans*의 균체량이 감소 또는 소멸되는 항균 효과가 관찰되었다.

2. 생육저해환(clear zone)

일차적인 검색에서 효과를 나타낸 수추출물은 5종의 균주에서 hexane과 ethyl acetate 추출물은 *K. pneumonia*를 제외한 4종의 균주에서 clear zone을 형성함으로써 항균효과가 관찰되었고, 수추출물의 항균효과는 hexane, ethyl acetate 추출물보다 뚜렷한 것으로 나타났다(Tab. 1). 특히 수추출물(10.0 mg/ml)을 control (gentamycin: 그람음성균 유효항생제, 25 mg/ml)과 비교했을 때 그람양성균인 *E. cloacae*(11 mm<16 mm)를 제외하고 그람음성균주인 *S. gallinarium*(16 mm=16 mm), *S. flexneri*(28 mm>16 mm), *K. pneumonia*(18 mm>17 mm)에서 clear zone의 크기가 gentamycin과 비슷하거나 더 크게 나타났으며, *C. albicans*에서도 역시 27 mm로 매우 큰 clear zone이 생성되었다(Tab. 1, Fig. 1). 또한 수추출물의 농도별 clear zone 생성을 조사한 결과에서 5종의 실험균주에서 2.0~2.5 mg/ml의 농도로 처리했을 때 clear zone이 생성되고(10 mm~16 mm), 7.5~10.0 mg/ml의 농도에서는 최대의 clear zone이 생성되는 것으로 관찰되었다(23 mm~28 mm, Tab. 2). 그러나 chloroform, methanol 추출물에서는 clear zone이 형성되지 않았다.

Table 1. Antimicrobial Activity of Differential Extract from *Allii sativi* Bulbus

Strain	Clear zone(mm)					
	Control	Water extract	Hexane	Ethyl Acetate	Chloroform	Methanol
	25 mg/ml	10 mg/ml	40 mg/ml	40 mg/ml	40 mg/ml	40 mg/ml
<i>Staphylococcus gallinarium</i>	16	16	11	12	-	-
<i>Shigella flexneri</i>	16	28	12	17	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	16	11	12	12	-	-
<i>Klebsiella pneumonia</i>	17	18	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	27	15	13	-	-

Control: Gentamycin, -: not detected

3. 최소 저해 농도(Minimum inhibition concentration, MIC)

*S. gallinarium*과 *S. flexneri*에서 수추출물의 MIC는 2.0, 2.5 mg/ml, 그리고 *E. cloacae*는 5.0 mg/ml, *K. pneumonia*는 7.5 mg/ml로 나타났으며, 특히 *C. albicans*는 1.0 mg/ml로 매우 낮은 농도에서도 생장이 저해되는 것으로 관찰되었다(Fig. 2). Hexane 추출물의 경우에는 *S. gallinarium*과 *S. flexneri*는 5.0, 10.0 mg/ml, *E. cloacae*와 *K. pneumonia*는 30.0 mg/ml, 그리고 *C. albicans*는 5.0 mg/ml

였으며, ethyl acetate 추출물은 *S. gallinarium*과 *S. flexneri*에서 10.0 mg/ml, *E. cloacae*는 30.0 mg/ml, 그리고 *C. albicans*에서는 10.0 mg/ml로 나타났다(Fig. 3). 또한 흡광도와 생균수 측정에서의 MIC 측정 결과는 유사하게 나타났다(Fig. 2, 3).

Table 2. Antimicrobial Activity of Diluted Water Extract from *Allii sativi* Bulbus

Strain	Clear zone (mm)						
	Control	Concentration					
		1 mg/ml	2 mg/ml	2.5 mg/ml	5 mg/ml	7.5 mg/ml	10 mg/ml
<i>Staphylococcus gallinarium</i>	17	-	-	16	20	23	25
<i>Shigella flexneri</i>	16	-	15	19	23	26	28
<i>Enterobacter cloacae</i>	15	-	12	-	-	-	12
<i>Klebsiella pneumonia</i>	20	-	-	-	-	-	10
<i>Candida albicans</i>	-	-	10	15	23	25	27

Control: Gentamycin(25 mg/ml), -: not detected

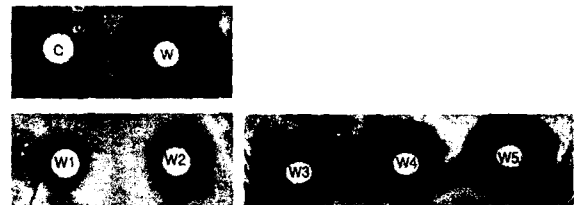


Fig. 1. Antimicrobial activities of the water extract from *Allii sativi* Bulbus against *Staphylococcus gallinarium*: KCTC 2441(A), *Shigella flexneri*: KCTC 2361(B), *Enterobacter cloacae*: KCTC 2006(C), *Klebsiella pneumonia*: KCTC 2208(D), *Candida albicans*: KCTC 1940(E). C: Gentamycin(25 mg/ml), W: Water extract(10 mg/ml), W1: Water extract 1(1 mg/ml), W2: Water extract 2(2.5 mg/ml), W3: Water extract 3(5 mg/ml), W4: Water extract 4(7.5 mg/ml), W5: Water extract 5(10 mg/ml)

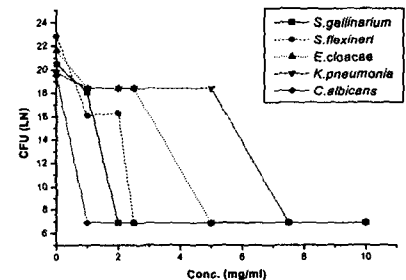
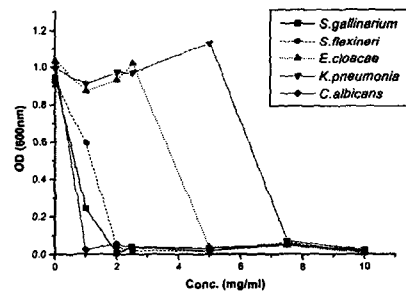


Fig. 2. Minimum inhibition concentration(MIC) by absorbance measurement(A) and viable count(B) of water extract from *Allii sativi* Bulbus against using bacterial strains

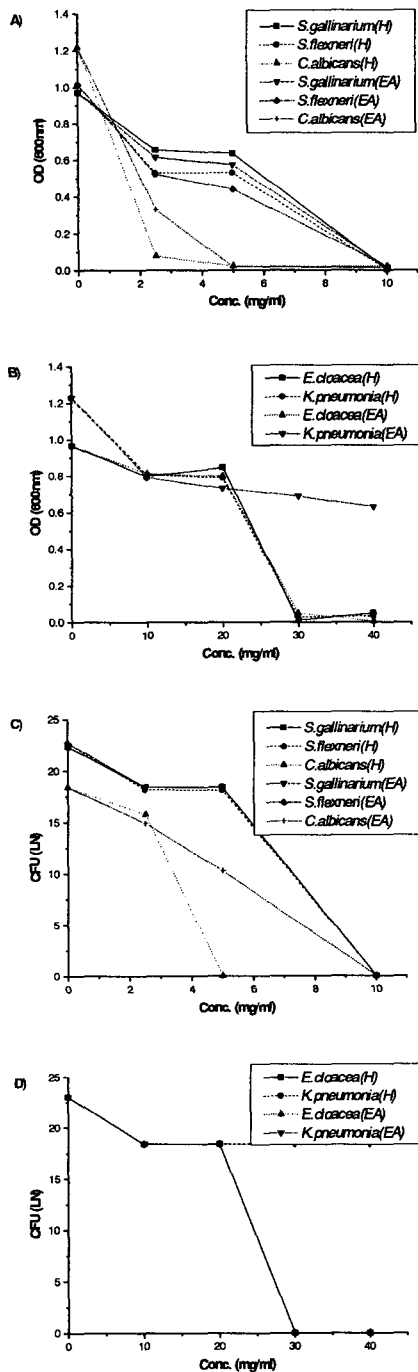


Fig. 3. Minimum inhibition concentration(MIC) by absorbance measurement(A, B) and viable count(C, D) of hexane and ethyl acetate extracts obtained from *Allii sativi Bulbus* against using bacterial strains.

고찰

大蒜에서 추출한 물질들은 *Escherichia*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Bacillus* 등의 그람 양성균과 그람 음성균에 대해 광범위한 항균활성이 있는 것으로 보고되어 있다⁴²⁾. Cavallito와 Bailey⁴³⁾는 항균 작용은 주로 allicin

에 의한 것이라고 강조하였고, Focke 등⁴⁴⁾은 allicin이 acetyl CoA-SH를 선택적으로 억제하여 항균효과를 나타낸다고 하였다. 이에 본 연구에서는大蒜의 가축균주에 대한 항균효과를 알아보고자 동물 병원성 미생물 5종(*S. gallinarium*: KCTC 2441, *S. flexneri*: KCTC 2361, *E. cloacae*: KCTC 2006, *K. pneumoniae*: KCTC 2208, *C. albicans*: KCTC 1940)을 대상으로 수추출물과 분획별 추출물(chloroform, ethyl acetate, hexane, methanol)의 항균효과와 항균활성도를 조사하였다. Paper disc method로 clear zone 형성 유무를 관찰한 결과에서 수추출물은 5종의 균주와 hexane, ethyl acetate 추출물은 4종의 균주에서 clear zone(11~28 mm)을 형성했다(Table 1). 수추출물의 clear zone 생성은 2.0~2.5 mg/ml에서 나타나기 시작해서 7.5~10.0 mg/ml에서 최대가 나타나고(Tab. 1), 수추출물의 최소 억제 농도(MIC)가 2.0 mg/ml일 때 모든 세균의 생장억제 효과가 급속히 증가되고 2.0~7.5 mg/ml에서는 95% 이상의 생장 억제율이 관찰되었다. 특히 *S. gallinarium*(16 mm = 16 mm), *S. flexneri*(28 mm > 16 mm), *K. pneumoniae*(18 mm > 17 mm) 및 *C. albicans*(27 mm >)에 대해서는 gentamycin보다 더 큰 clear zone의 형성이 관찰됨으로서 우수한 항균효과가 나타났다(Tab. 1, Fig. 1). 또한 실험 균주 중 *S. gallinarium*, *S. flexneri* 및 *C. albicans*에 대한 MIC가 각각 저농도인 2.0 mg/ml, 2.5 mg/ml, 10 mg/ml에서 높은 항균활성이 나타남으로서(Fig. 2) 가장 뚜렷한 항균효과가 있으며 활성물질의 대부분이 수용성일 가능성이 높다는 것을 추정할 수 있다. 이를 뒷받침하는 결과로 AL-Delaim와 Ali¹⁹⁾는大蒜汁 4%에서 *E. coli*, *Salmonella typhosa*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*가 모두 100% 사멸됨을 보고하였고, Chowdhury 등⁴⁵⁾은 *in vitro*에서大蒜汁과 allicin이 *Shigella dysenteriae*에 상당한 항균효과를 나타내고 항균 최저 농도는大蒜汁과 allicin이 각각 5 µl/ml과 0.4 µl/ml로 조사되었으며, 특히 이 두 물질은 rabbit의 *in vivo* 실험에서 *shigella flexneri*에 대해 항균 효과를 나타냈다고 보고하였다. 그리고 Didry 등³⁾은 실험에서大蒜汁을 항생제와 병용할 때 상승작용이 유도되었고 아무런 부작용 없이大蒜汁을 항생제와 함께 투여할 수 있었다고 보고하고 있다. 실험균주중 *C. albicans*에 대한 수추출물의 항균활성은 거대한 clear zone(27 mm) 생성과 1.0 mg/ml의 최소저해농도(MIC)가 관찰되었는데, 이는大蒜 수추출물이 *Candida* 종에 대해 nystatin보다 월등히 높은 anticandidal activity가 나타났다는 보고와 일치하는 결과이다⁴⁶⁾. 덧붙여 일반적으로 천연물의 효능은 유기용매로 생리활성성분을 추출하여 검색하지만 민방과 한방에서 사용하는 약재는 대부분 탕제로 사용하고大蒜 역시 생것 또는 저온으로 처리하여 사용하는 것으로 보아 수용성 성분에 유효물질이 있는 것으로 추정할 수 있다. 또한 *S. gallinarium*, *S. flexneri*, *E. cloacae*, *C. albicans*에 대한 hexane과 ethyl acetate 추출물의 MIC는 수추출물보다 고농도인 5.0~40.0 mg/ml로 나타났고, *K. pneumoniae*에 대해서는 hexane 추출물에서만 30.0 mg/ml로 측정되었으며(Fig. 3), 수추출물보다 clear zone이 작지만 4종의 균주에서 항균 효과가 나타나는 것으로 보아大蒜의 항균활성물질이 수추출물의 농도보다는 약하지만 hexane과 ethyl acetate 추출물에서도 소량 포함되어 있을 것으로 추측된다. 이러한 결과

는 Lee 등⁴⁷⁾이 보고한 한국산 해면의 유기용매(CH₂Cl₂, BuOH)추출물이 수추출물보다 높은 항균효과와 신 등⁷⁾이 약용식물의 chloroform, ethyl acetate, BuOH, H₂O 분획물중 극성이 낮은 BuOH, chloroform에서 항균력이 높다는 보고와 일치하며, 이처럼 특정 용매에서만 효과가 있는 것은 항균 원인물질의 화학적, 물리적 특성일 수 있다는 보고⁴⁸⁾와 연관지어大蒜의 항균활성 물질도 이러한 변화에 기인한다고 생각해 볼 수 있다. 따라서大蒜의 수추출물은 5종의 동물 병원성 균주에 대해 다른 분획보다 우수한 항균활성을 나타내고 특히 *S. gallinarium*와 *S. flexneri*는 각각 2.0, 2.5 mg/ml 미만에서 그리고 *C. albicans*에 대해서는 1.0 mg/ml미만에서 95 % 이상의 생장 저해율을 나타냄으로써大蒜을 저온으로 처리하여 동물 병원성 미생물의 천연 항균제로써 사용할 수 있을 뿐만 아니라 피부와 점막의 외상 감염균인 *Candida albicans*의 치료 약물 또는 관련 질병에 대한 국소적인 치료제로써 사용가능성이 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 원광대학교 한의학전문대학원 BK 사업비와 2001년 교비 연구비에 의해 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Mitscher LA, Leu RP, Bathala MS, Wu WN, Beal JL. Antimicrobial agents from higher plants. I. Introduction, rationale and methodology. Lloydia. 35:157, 1972.
2. Leven M, Gerghe DAV, Mertens F, Vlietinck A, Lammens E. Screening of higher plants for biological activities I. Antimicrobial activity. Planta Medica. 36:311, 1979.
3. Didry N, Dubreuil L. and Pinkas M. Antimicrobial activity of naphthoquinones and Allium extracts combined with antibiotics. Pharm Acta Helv. 67:149, 1992.
4. Michael GJ, Reese HV. Death of Salmonella typhimurium and Escherichia coli in the presence of freshly reconstituted dehydrated garlic and onion. Applied Microbiology, 17:903, 1969.
5. 권오근, 김성환, 천병열, 박채규, 손건호. 목단피로부터 항균 활성 성분의 분리, 생약학회지, 30:340, 1999.
6. 이병완, 신동화. 식품 부패미생물의 증식을 억제하는 천연항균성 물질의 검색. 한국식품과학회지. 23:200, 1991.
7. 신동화, 한지숙, 김문숙. 방기 및 감초의 에탄올 추출물이 *Listeria monocytogenes*의 증식 억제에 미치는 영향. 한국식품과학회지. 26:627, 1994.
8. 이병완, 신동화. 식품 부패미생물에 대한 천연항균성 물질의 농도별 및 분획별 항균 특성. 한국식품과학회지. 23:205, 1991.
9. 이정희, 이서래. 식품성 식품 중 페놀성 물질의 몇가지 생리활성. 한국식품과학회지. 26:317, 1994.
10. 이홍용, 김치경, 성태경, 문택규, 임치주. 유백피 추출물의 항

- 세균작용. 산업미생물학회지. 20:1, 1992.
11. 박옥연, 장동석, 조학래. 자초(Lithospermum erythrorhizon) 추출물의 항균특성. 한국영양식량학회지. 21:97, 1992.
12. 목종수, 박옥연, 김영목, 장동석. 용매와 추출조건에 따른 단삼(Salvia multiorhiza) 추출물의 항균력. 한국영양식량학회지. 23:1001, 1994.
13. 김미정, 변명우, 장명숙. 대나무(신이대)잎의 생리활성과 항균성 효과. 한국영양식량학회지. 25:135, 1996.
14. 박희연, 이창국, 박원기, 이응호. 새뱅이(Caridina denticulata) 추출물의 항균 효과. 한국식품영양과학회지. 26:54, 1997.
15. 장대식, 남상해, 최상욱, 양민석. Chrysanthemum속 식물의 항균성. 한국농학회지. 39:315, 1996.
16. 장대식, 박기훈, 최상욱, 남상해, 양민석. 구절초 꽃의 항균성 물질. 한국농화학회지. 4:85, 1997.
17. Dewit JC, Notemans S, Gorin N and Kampelnacher EH. Effect of garlic oil or on toxin production by Clostridium in meat sluny. J Food Prot. 42:222, 1979.
18. Pasteur L. Memorie sur la fermentation appelee lactique. Me Soc Imp. Sci Agr Art Lille Ser. 25:13, 1858
19. AL-Delaimy KS and Ali SH. Antibacterial action of vegetable extracts on the growth of pathogenic bacteria. J Sci Fd Agric. 21:110, 1970.
20. Block E. The organosulfur chemistry of genus Allium implication for the organic chemistry of sulfur. Angewandte Chemie J. Gesellschaft Deutscher Chemiker. 31:1135, 1992.
21. Singh UP, Pandey VN, Wagner KG and Singh KP. Antifungal activity of ajoene, a constituent of garlic (Allium sativum). Canadian J Botany. 68:1354, 1990.
22. Norbert DW, Douglas OA, James AN, Byron KM, Larry DL and Bronwyn GH. In vitro virucidal effects of Allium sativum(garlic) extract and compounds. Planta Med. 58:417, 1992.
23. Hughes BG, Murray BK, North JA and Lawson LD. Antiviral constituents from Allium sativum. Planta Medica. 55:53, 1989.
24. Lau BHS, Tadi PP and Tosk JM. Allium sativum(garlic) and cancer prevention. Nutrition Res. 10:937, 1990.
25. You WC, Blot WJ, Chang YS, Ershow A, Yang ZT, An Q, Henderson BE, Fraumeni JF, Jr and wang TG. Allium vegetables and reduced risk of stomach cancer. J National Cancer Institute. 81:162, 1989.
26. Ankri S, Miron T, Rabinkov A, Wilchek M, and Mirelman D. Allicin from garlic strongly inhibits cysteine proteinase and cytopathic effect of entamoeba histolytica. Antimicrobial agents and chemotherapy. 41:2286, 1997.
27. Cellini L, Di Campi E, Masulli M, Di Barroloomeo S, Allocati N. Inhibition of Helicobacter pylori by garlic

- extract(*Allium sativum*). FEMS Immunol Med Microbiol. 13:273, 1996.
28. Gonzalez-Fandos E, Garcia-Lopez ML, Sierra ML, Otero A. Staphylococcal growth and enterotoxins(A-D) and thermonuclease synthesis in the presence of dehydrated garlic. J Appl Bacteriol. 77:549, 1994.
 29. Lawson LD. The composition and chemistry of garlic cloves and processed garlic. In: Koch HP, Lawson LD(Eds.), Garlic: the science and therapeutic application of *Allium sativum* L. Williams and Wilkins Baltimore. 37:108, 1986.
 30. Mirelman D, Monheir D, Varon S. Inhibition of growth of *Entamoeba histolytica* by Allicin, the active principle of garlic extract(*Allium sativum*). J Infect Dis. 156:243, 1987.
 31. Tasi Y, Cole LL, Davis LE, Lockwood SJ, Simmons V, Wild GC. Antiviral properties of garlic: in vitro effects on influenza B, herpes simplex and coxsackie viruses. Planta Med. 5:460, 1985.
 32. Hirsch K, Danilenko M, Giat J, Miron T, Rabinkov A, Wilchek M, Mirelman D, Levy J, Sharoni Y. Effect of purified allicin, the major ingredient of freshly crushed garlic, on cancer cell proliferation. Nutr Cancer. 38(2):245, 2000.
 33. Munday R, Munday CM. Relative activities of organosulfur compounds derived from onions and garlic in increasing tissue activities of quinone reductase and glutathione transferase in rat tissues. Nutr Cancer. 40(2):205, 2001.
 34. Augusti KT, Arathy SL, Asha R, Ramakrishanan J, Zaira J, Lekha V, Smitha S, Vijayasree VM. A comparative study on the beneficial effects of garlic(*Allium sativum* Linn), amla(*Emblica Officinalis* Gaertn)and onion(*Alliumcepa* Linn) on the hyperlipidemia induced by butter fat and beef fat in rats. Indian J Exp Biol. 39(8):760, 2001.
 35. Lawson LD. Duration of the hypocholesterolemic effect of garlic supplements. Arch Intern Med. 161(20):2505, 2001.
 36. Unal R, Fleming HP, McFeeters RF, Thompson RL, Breidt F Jr, Giesbrecht F G. Novel quantitative assays for estimating the antimicrobial activity of fresh garlic juice. J Food Prot. 64(2):189, 2001.
 37. Ankri S, Mirelman D. Antimicrobial properties of allicin from garlic. Microbes Infect. 1(2):125, 1999.
 38. Avato P, Tursil E, Vitali C, Miccolis V, Candido V. Allylsulfide constituents of garlic volatile oil as antimicrobial agents. Phytomedicine. 7(3):239, 2000.
 39. Ross ZM, O'Gara EA, Hill DJ, Sleightholme HV, Maslin DJ. Antimicrobial properties of garlic oil against human enteric bacteria: evaluation of methodologies and comparisons with garlic oil sulfides and garlic powder. Appl Environ Microbiol. 67(1):475, 2001.
 40. Seki T, Tsuji K, Hayato Y, Moritomo T, Ariga T. Garlic and onion oils inhibit proliferation and induce differentiation of HL-60 cells. Cancer Lett. 160(1):29, 2000.
 41. Han JS and shin DH. Antimicrobial effect of each solvent fraction of *Morus alba* Linne, *Sophora flavescence* Aiton on *Listeria monocytogenes*. Korean J Food Sci Technol. 26:539, 1994.
 42. Serge Ankri, David Mirelman. Antimicrobial properties of allicin from garlic. Microbes and Infection. 2:125, 1999.
 43. Cavallito C and Bailey JH. Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. Isolation, physical properties and antibacterial action. J Am Chem Soc. 66:1944, 1944.
 44. Focke M, Feld A, Lichtenthaler K. Allicin, a naturally occurring antibiotic from garlic, specifically inhibits acetyl-CoA synthetase. FEBS Letters. 261:106, 1990.
 45. Chowdhury AK, Ahsan M, Islam SN, Ahmed ZU. Efficacy of aqueous extracts of garlic and allicin in experimental shigellosis in rabbits. Indian J Med Res. 93:33, 1991.
 46. Arora DS, Kaur J. Antimicrobial activity of spices. Int J Antimicrob Agents. 12(3):257, 1999.
 47. Lee JS, Kim IS, Moon SK. Studied on the antibacterial, antifungal components in some Korean marine sponges. Bull Korean Fish Soc. 24, 1995.
 48. 신동화, 김문숙, 한지숙. 국내산 약용식물 추출물에 대한 항균성 검색과 농도별 및 분획별 항균 특성. Kor J Food Sci Technol. 29(4):808, 1997.