

원 저

자몽씨, 결명자 및 당귀에 의한 *Streptococcus mutans*의 증식 억제효과

유윤정 ·곽월아 ·조장기 ·장희순 ·권호근 ·이승일 ·박용석* ·박제한*
연세대학교 치과대학 구강생물학교실, 해태제과 식품 연구소*

색 인 : 자몽씨, 결명자, 당귀, *Streptococcus mutans*, 증식억제효과

I. 서 론

치아우식은 치태내 세균, 음식물, 타액의 상호작용에 의하여 유발되는 다인성 질환으로서 치태내 세균 중에서도 *Streptococcus mutans*가 주 원인균이며 *S. mutans*는 치면의 부착, 증식 및 산 생성 과정을 거쳐 치아우식을 유발한다¹⁾. 즉 *S. mutans*는 세포벽에 존재하는 획득피막 결합단백을 매개로 치면의 획득 피막에 부착한 후 glucosyltransferase를 생성하여 음식물에 존재하는 자당 (sucrose)으로부터 포도당 중합체 (glucose polymer)인 비수용성 mutan을 합성한다. 합성된 mutan은 치면에서 증식하

는 세균간의 결합을 증가시키며, 이렇게 하여 치면에 부착한 *S. mutans*는 당의 대사과정에서 유기산을 형성하여 치질을 탈회시킨다^{2,3)}.

이와 같은 과정에 의하여 유발되는 치아우식을 예방하기 위하여 여러가지 방법에 대한 연구가 진행되어 왔다. 치아우식 예방법 중 가장 기본적인 방법은 칫솔질을 하여 기계적으로 치태를 제거하는 방법이다. 그러나 칫솔질은 행동이 부자유한 소아나 신체 장애자에게 적용하기에는 어려운 점이 있으며, 치면의 열구나 와에 있는 세균을 제거하기에는 한계가 있으므로 부수적인 치아우식 예방법에 대해 관심을 갖게 되었다. 현재까지 연구되어 왔거나 임상에 적용하고 있는 부수적인

* 이 논문의 요지는 1995년 12월 2일 대한구강보건학회 종합학술대회에서 발표하였음.

* 연락처 : 유윤정. 우 120-752 서울특별시 서대문구 신촌동 134번지 연세대학교 치과대학 구강생물학교실 전화 02-361-8050 전송 02-392-2926

예방법으로는 불소 이용법, 면역학적 방법, 천연추출물 이용법 등 다양한 방법들이 있다. 이 중 상수도 불소화, 불소 도포, 불소 양치, 불소 복용, 불소 치약 등의 형태로 불화물이 가장 많이 사용되어 왔으나, 최근에는 불소로 인하여 법랑질 표면에 불투명한 흰색반점이 나타나는 치아 불소증 (dental fluorosis)이 증가되고 있다는 역학 연구 결과들이 있어⁴⁻⁷⁾, 현재 사용되고 있는 불소의 농도에 대한 논란이 계속되고 있다. 한편 치아우식이 세균에 의한 질환이므로 원인균에 대한 예방 접종을 실시하여 치아우식을 예방하려는 연구가 진행되어 왔으며, 연구 결과 *S. mutans* 자체나 이 세균이 생성하는 glucosyltransferase를 동물에 접촉시킨 경우 치아우식 발생율이 감소하는 것으로 나타나 면역학적인 방법으로도 치아우식을 예방할 수 있음이 입증되었다⁸⁻¹¹⁾. 그러나 일부 보고에서 *S. mutans*가 사람의 심장조직과 유사한 항원 구조를 가지고 있어 이 균주에 대하여 형성된 항체가 사람의 심장조직에 결합하여 심장조직을 파괴시킬 가능성이 제시되어¹²⁻¹⁴⁾ 면역학적인 치아우식 예방법을 사람에게 적용하기 위해서는 정상조직과의 교차반응 문제를 해결해야만 한다. 이와 같이 불소이용법이나 면역학적인 방법으로 치아우식을 예방할 수 있으나 이들 방법이 사람에게 해를 줄 가능성이 있으므로 최근에는 부작용이 없는 항우식물질을 주변에서 쉽게 접할 수 있는 천연물로부터 얻고자하는 노력이 시도되어왔다. 현재까지 항우식효과가 있는 것으로 보고된 천연물질로는 중국의 전통약제^{15,16)}, 녹차¹⁷⁻¹⁹⁾, 오통차^{20,21)} 및 죽염²²⁾ 등이 있다. 이에 본 실험에서도 22종의 천연물로부터 추출물을 분리한 후, 이들의 *S. mutans*에 대한 증식억제효과를 한천원판확산법으로 확인하였고, 그 천연추출물 중 *S. mutans*에 대하여 항균효과가 있는 것으로 나타난 자몽씨 (Grapefruit seed), 결명자 (Cassiae torae Semen) 및 당귀 (Angelicae gigantis Radix)를 항우식물질로 식품에 사용할 수 있을지 가능성을 평가하기 위하여 1)

자몽씨, 결명자 및 당귀가 여러 농도로 함유된 4종의 혼합제재물을 제조하였으며, 2) 이들 중 *S. mutans*에 대한 증식억제효과가 우수한 혼합제재물을 선택하여, 3) 선택된 혼합제재물의 접촉시간에 따른 *S. mutans*의 증식억제효과를 평가하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

1) 천연물

천연물은 경동시장의 한약재료상에서 구입한 후 냉암소에서 보관하여 사용하였으며, 자몽씨 추출물은 한국미생물연구소의 상품명 DF-100을 사용하였다. 자몽씨를 제외한 천연추출물은 천연물 100g을 직경 0.5 - 1cm로 세절한 후 50% 에탄올 1000ml를 용매로 하여 4시간 씩 2회 반복하여 추출하였으며, 추출한 용액을 여과포에서 1차 여과하여 여과액을 모았으며, 모은 여과액을 40℃, 60cmHg에서 용액의 양이 100ml이 될 때까지 감압 농축하였다. 농축액을 10℃에서 8000rpm으로 15분간 원심분리한 후 상등액을 모아 실험에 사용하였다. 자몽씨 추출물은 자몽씨 과육부를 제거하고 분리한 종자를 건조시킨 후 분쇄하여 만든 건조 분말 종자를 용매인 글리세린으로 121℃에서 6-8시간 처리하여 추출하였다.

2) 균 주

S. mutans 균주는 한국과학기술원내 유전공학연구소에서 분양 받은 KCTC 3065 (ATCC 25175)를 Brain heart infusion (BHI) 액체배지에 배양하여 실험에 사용하였다.

2. 실험방법

1) 천연추출물에 의한 *S. mutans* 증식억제효과

BHI 액체배지에서 15 - 18 시간 혐기적으로 배양한 후 배지로 희석하여 배양배지의 흡광도가 550 nm에서 0.07 O.D 값을 갖도록 한 *S. mutans* 균액 0.6 ml을 BHI 한천배지에 주입하고 균일하게 도말하였다. 균주가 도말된 BHI 한천배지 위에 직경이 8 mm인 원판을 놓은 후 추출물을 0.05 ml 씩 주입하여 37 °C에서 혐기적으로 15 - 18 시간 배양하였으며 추출물의 *S. mutans*에 대한 항균성은 원판 주변의 세균증식억제대 직경을 측정하여 판단하였다.

2) 천연 추출물의 접촉시간에 따른 *S. mutans* 증식 억제효과

추출물 1 ml이 들어 있는 1.5 ml tube에 균수가 5×10^7 / ml 되게 *S. mutans*를 접종하여 추출물과 *S. mutans*를 3 분, 5 분, 10 분 및 30 분간 접촉시켰다. 그 후 반응액이 들어 있는 tube를 5 분간 원심분리하여 추출물이 함유된 상등액을 버리고 *S. mutans*만 남아 있는 tube에 BHI 액체배지 1 ml을 첨가한 후 37 °C에서 15 - 16 시간 혐기적으로 배양하여 *S. mutans*의 증식 정도를 평가하였다. *S. mutans*의 증식 정도는 550 nm에서 흡광도를 측정하여 평가하였다.

3. 실험자료의 분석

본 실험에서 얻은 모두 결과는 비모수 검정법의 연속형인 맨 휘트니 검정법(Mann-Whitney U test)법으로 분석하였고, p 값 0.05이하를 통계적으로 유의한 수준으로 판정하였다.

III. 실험결과

1. 22 종의 천연 추출물의 *S. mutans*에 대한 증식 억제효과

표 1 에서와 같이 22 종의 천연 추출물의 *S. mutans*에 대한 항균효과를 원판확산법으로 평가해 본 결과 자몽씨, 결명자, 당귀, 계

지, 삼백초, 오미자 및 박하 등이 항균력이 있는 것으로 나타나 이들 중 자몽씨, 결명자 및 당귀를 선택하여 이후의 실험을 진행하였다.

2. 자몽씨, 결명자 및 당귀의 농도별 *S. mutans* 증식 억제효과

결명자, 당귀 및 자몽씨 추출물의 농도에 따른 *S. mutans*의 증식 억제효과를 원판확산법으로 측정한 결과 *S. mutans* 증식 억제대는 자몽씨 추출물 0.1 %, 0.2 %, 0.5 % 및 1 % 농도에서 각각 15.1 ± 0.1 mm, 20.0 ± 0.2 mm, 25.0 ± 0.3 mm, 31.1 ± 0.2 mm, 결명자 및 당귀 추출물 1 % 농도에서는 각각 10.0 ± 0.3 mm 및 10.0 ± 0.1 mm 로서 자몽씨 추출물은 0.1 % 에서 결명자 및 당귀는 각각 1 % 에서 *S. mutans*에 대한 증식 억제대를 나타내었다 (그림 1).

3. 자몽씨, 결명자 및 당귀 혼합제재물의 농도별 *S. mutans* 증식 억제효과

자몽씨, 결명자 및 당귀를 함유한 4 가지 혼합제재물을 만들고 이들 혼합제재물에 대한 *S. mutans* 증식억제 효과를 원판 확산법으로 평가하였다 (표 2, 그림 2). 혼합제재물 0.1 %, 0.2 %, 0.5 % 및 1 % 에서 세균증식 억제대는 혼합제재물 1에서는 각각 9.0 ± 0.1 mm, 9.0 ± 0.2 mm, 14.0 ± 0.2 mm, 15.0 ± 0.1 mm로 나타났으며, 혼합제재물 2에서는 14.0 ± 0.2 mm, 15.0 ± 0.1 mm, 18.0 ± 0.1 mm, 20.0 ± 0.2 mm, 혼합제재물 3에서는 16.0 ± 0.2 mm, 17.0 ± 0.2 mm, 19.0 ± 0.1 mm, 22.0 ± 0.2 mm, 혼합제재물 4에서는 16.0 ± 0.1 mm, 17.1 ± 0.1 mm, 19.1 ± 0.1 mm, 22.0 ± 0.2 mm 로서 4 종의 혼합제재물 모두 0.1 %에서 세균증식 억제대를 나타내었으며 자몽씨, 결명자 및 당귀를 혼합비율이 3: 3: 4 및 4: 2: 4되게 혼합한 경우 *S. mutans*에 대한 증식 억제효과가 큰 것으로 나타났다.

4. 자몽씨, 결명자 및 당귀 혼합제재물

표 1. 22 종의 천연 추출물에 의한 *S. mutans* 증식 억제효과

천연물	학명	<i>S. mutans</i> 증식 억제대
결명자	Cassiae Semen	+ ^a
계지	Cinnamomi Ramulus	+
당귀	Angelicae gigantis Radix	+
두충	Eucommia Bark	- _b
박하	Methae Folium	+
백봉령	Hoelen	-
복분자	Rubi Fructus	-
사상자	Torilis Fructus	-
사 인	Amomi Semen	-
산사자	Crataegi Fructus	-
삼백초	Mori Cortex	+
생 강	Zingiberis Rhizoma	-
석창포	Acori graminei Rhizoma	-
영 지	Ganoderma	-
오가피	Acanthopanax Root-bark	-
오미자	Schizandra fruit	+
원 지	Polygala Root	-
자몽씨	Grapfruit Seed	+
창 출	Atractylodes Rhizoma	-
천 궁	Cnidium Rhizoma	-
측배엽	Biotae orientalis Folium	-
토사자	Cuscutae Semen	-

S. mutans 균액을 도말한 BHI 한천배지에 직경이 8 mm인 원판을 놓고 추출물을 0.05 ml 씩 주입하여 37 ℃ 에서 혐기적으로 15 - 18 시간 배양하였다. 추출물의 *S. mutans* 증식 억제효과는 원판 주변의 세균증식억제대 유무로 판단하였다. a 세균증식 억제대가 형성된 경우, b 세균증식 억제대가 형성되지 않은 경우

(혼합비율 3: 3: 4)의 농도별 접촉시간에 따른 *S. mutans* 항균효과

자몽씨, 결명자 및 당귀 혼합제재물 (혼합비율 3: 3: 4)의 접촉시간에 따른 *S. mutans* 항균효과는 혼합제재물과 3 분, 5 분, 10 분 및 30 분 접촉시킨 *S. mutans*를 새 배양

배지에서 배양하여 측정하였으며, *S. mutans*의 증식 억제 정도는 배지의 흡광도로 나타내었다 (그림 3). 3 분, 5 분, 10 분 및 30 분 접촉시 *S. mutans* 배양배지의 흡광도는 혼합제재물 농도 0.1 % 에서 각각 0.904 ± 0.003, 0.884 ± 0.003, 0.638 ± 0.003, 0.435 ± 0.002 , 0.2 % 에서는 0.813 ± 0.005, 0.560 ± 0.007, 0.459 ± 0.003, 0.347 ±

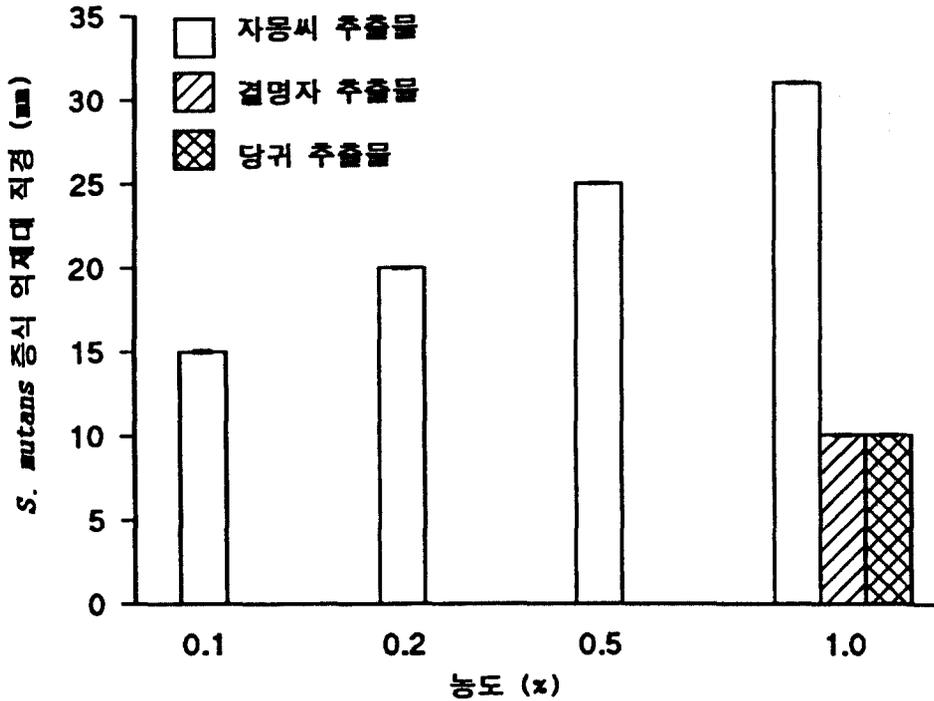


그림 1. 자몽씨, 결명자 및 당귀 추출물의 농도에 따른 *S. mutans* 증식 억제효과. *S. mutans* 균액을 도말한 BHI 한천배지에 직경이 8 mm인 원판을 놓고 추출물 (0.1 %, 0.2 %, 0.5 %, 1 %)을 0.05 ml 씩 주입하여 37 °C 에서 혐기적으로 15 - 18 시간 배양하였다. 추출물의 *S. mutans*에 대한 항균성은 원판 주변의 세균증식억제대 직경을 측정하여 판단하였다.

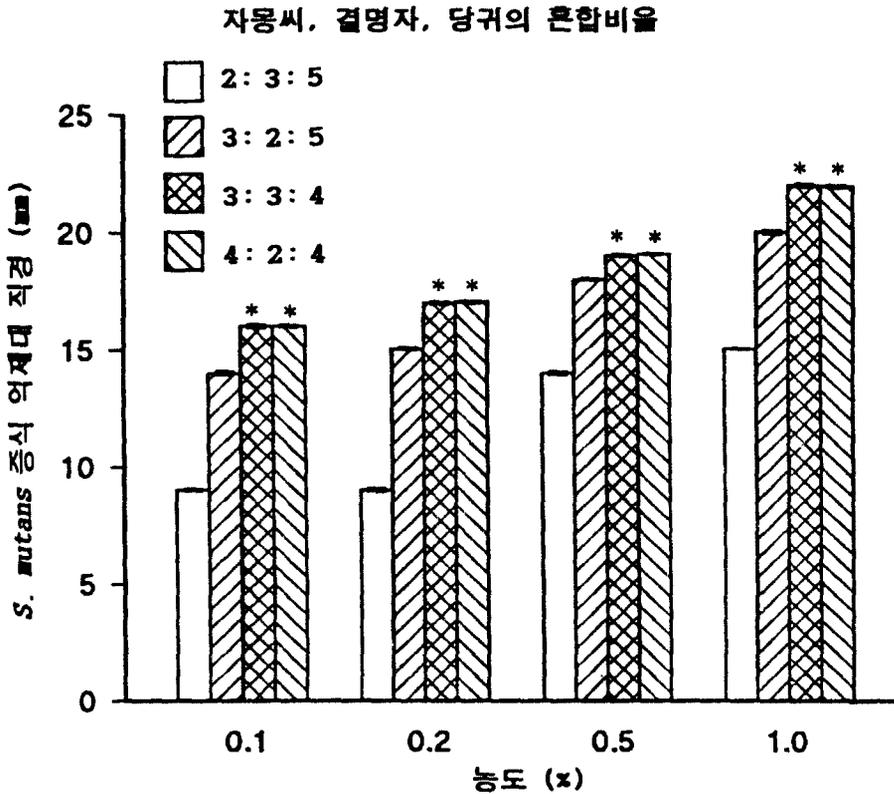


그림 2. 자몽씨, 결명자 및 당귀 혼합제재물의 농도에 따른 *S. mutans* 증식 억제효과. *S. mutans*균액을 도달한 BHI 한천배지에 직경 8 mm인 원판을 놓고 혼합제재물 (0.1 %, 0.2 %, 0.5 %, 1 %)을 0.05 ml 씩 주입하여 37 °C 에서 혐기적으로 15 - 18 시간 배양하였다. 혼합제재물의 *S. mutans*에 대한 항균성은 원판 주변에 형성된 세균증식억제대의 직경을 측정하여 판단하였다. * 혼합비율이 2: 3: 5 및 3: 2: 5 인 혼합제재물로 처리한 결과와 비교하여 $p < 0.05$ 을 의미한다.

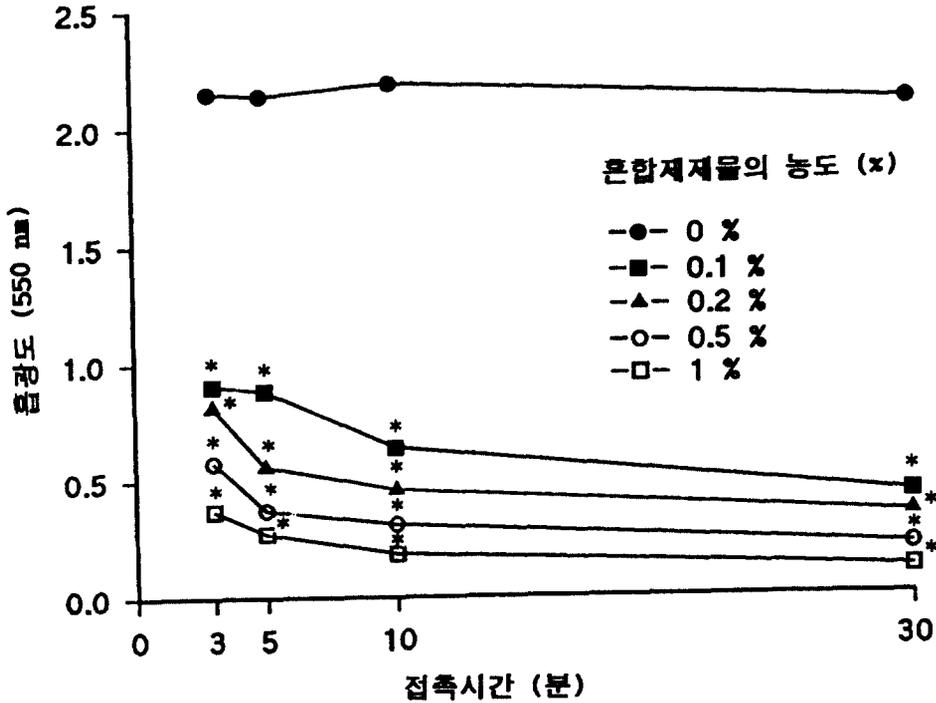


그림 3. 자몽씨, 결명자 및 당귀 혼합제제물 (혼합비율 3: 3: 4)의 농도별 접촉시간에 따른 *S. mutans* 항균효과. 혼합제제물 1 ml이 들어있는 1.5 ml tube에 균수가 5×10^7 /ml 되게 *S. mutans*를 접종하고 3 분, 5 분, 10 분 및 30 분간 접촉시킨 후 원심분리하여 균을 세척하였다. 세척한 균에 새 BHI 액체배지 1 ml을 첨가하여 37 °C에서 15 - 16 시간 혐기적으로 배양하였으며, *S. mutans*의 증식정도는 550 nm에서 세균 배양배지의 흡광도를 측정하여 평가하였다. * 혼합제제물을 처리하지 않은 결과와 비교하여 $p < 0.05$ 을 의미한다.

표 2. 자몽씨, 결명자 및 당귀 추출물의 혼합제재물 배합

천연추출물	혼합제재물 1	혼합제재물 2	혼합제재물 3	혼합제재물 4
자몽씨	20 %	30 %	30 %	40 %
결명자	30 %	20 %	30 %	20 %
당귀	50 %	50 %	40 %	40 %

0.001, 0.5 % 에서는 0.577 ± 0.003 , 0.373 ± 0.002 , 0.312 ± 0.003 , 0.213 ± 0.005 , 1 % 에서는 0.371 ± 0.001 , 0.274 ± 0.003 , 0.186 ± 0.003 , 0.116 ± 0.001 이었으며, 혼합제재물로 처리하지 않은 대조군에서는 2.150 ± 0.005 로서 자몽씨, 결명자 및 당귀 혼합제재물 (혼합비율 3: 3: 4)은 0.1 %, 0.2 %, 0.5 %, 1 % 농도에서 3 분 접촉시 *S. mutans*에 대한 증식을 억제하였다. 또한 *S. mutans*의 증식 억제효과는 접촉시간 및 혼합제재물의 농도가 증가함에 따라 증가하였다.

IV. 고 찰

이상적인 항우식물질은 특이성, 무독성, 낮은 내성 균주 발현 빈도, 안정성, 신속한 항균효과, 미각, 오랜 지속시간, 경제성 등과 같은 특성을 지녀야 한다. 본 실험에서는 위와 같은 특성을 지닌 항우식 물질을 얻고자 한약재나 식품으로서 널리 이용되고 있는 22 종의 천연물로부터 추출물을 분리하여 이들의 *S. mutans*에 대한 항균효과 및 특성을 평가하였으며, 그 결과 22 종의 천연 추출물 중 자몽씨, 결명자, 당귀, 삼백초, 계지, 오미자 및 박하 추출물이 *S. mutans*에 대한 항균 효과가 있는 것으로 나타났다 (표 1). 구강의 pH는 정상적인 경우 중성이나, 당을 많이 섭취하는 경우에는 치태내 세균에 의한 당분해과정에 의해서 산이 형성되어 치태내 pH

가 떨어지게 되며 치태내 pH가 5.5로 낮아지면 치질이 탈회되어 치아 우식이 유발된다²³⁾. 이와 같이 섭취하는 음식과 치태내 세균의 상호작용에 의하여 치태내 pH가 변화하므로 항우식제는 pH 변화에 대한 안정성을 지녀야 한다. 본 실험에서는 *S. mutans*에 대한 항균효과를 나타낸 7 종의 천연 추출물 중 자몽씨, 결명자 및 당귀 추출물이 pH에 대한 안정성이 있는 것으로 나타나 자몽씨, 결명자 및 당귀 추출물을 선택하여 이들이 *S. mutans*의 증식을 억제하는 정도를 비교하였다. 자몽씨, 결명자 및 당귀 추출물 모두 *S. mutans*의 증식을 억제하였으나 자몽씨 추출물에 의한 항균효과가 가장 높은 것으로 나타나 (그림 1) 자몽씨 추출만으로도 충분한 항우식효과를 기대할 수 있을 것으로 생각되었다. 그러나 자몽씨 추출물에는 후라보노이드의 일종인 naringin과 같은 고미성분이 함유되어 있어 쓴맛이 느껴지므로²⁴⁾ 단독으로 사용하기에는 어려운 점이 있다. 한편 결명자 및 당귀 추출물은 자몽씨 추출물에 비하여 *S. mutans*에 대한 항균효과가 약한 것으로 나타났으나 고미성분을 적게 함유하고 있어 쓴맛이 약하게 느껴진다. 항우식제는 *S. mutans*에 대한 항균효과는 우수하면서도 고미는 약하게 느껴지는 것이 좋으므로 항균효과가 우수한 자몽씨 추출물에 고미성분이 적게 함유된 결명자 및 당귀를 여러 농도로 첨가하여 4 종의 혼합제재물을 제조한 후 (표 2) 이들 혼합제재물의 *S. mutans*에 대한 항균효과를 평가하였다. 그 결과 자몽씨,

결명자 및 당귀가 3: 3: 4 또는 4: 2: 4의 비율로 함유된 혼합제재물인 경우, 항균효과가 가장 우수한 것으로 나타났다 (그림 2). 두 가지 혼합제재물 모두 *S. mutans*의 증식을 억제하는 정도는 같으나 자몽씨 추출물이 적게 함유된 혼합제재물이 고미가 덜 느껴지므로 자몽씨, 결명자 및 당귀가 3: 3: 4로 함유된 혼합제재물을 선택하여 혼합제재물의 접촉시간에 따른 항균효과를 평가하였다. 구강에는 항상 타액이 분비되므로 가능한한 짧은 접촉시간에 항균효과를 나타내는 것이 중요하다. 자몽씨, 결명자 및 당귀 혼합제재물 (혼합비율 3: 3: 4)의 접촉시간에 따른 *S. mutans* 성장 저해율은 혼합제재물 0.1% 농도에서 3분 및 10분간 접촉시 각각 59%와 70%로 나타났으며, 혼합제재물의 농도를 1%로 높인 경우에는 3분 및 10분간 접촉시 각각 86%와 91%로 나타났다 (그림 3). 이는 자몽씨, 결명자 및 당귀 혼합제재물 (혼합비율 3: 3: 4)이 접촉시간이 짧아도 충분히 *S. mutans*의 증식을 억제할 수 있음을 시사해 준다. 이와 같이 자몽씨, 결명자 및 당귀 혼합제재물이 짧은 접촉시간에서 항균효과를 나타내므로 제한된 시간 동안 구강내에 잔류하여 항우식효과를 나타내는 치약, 구강세척제 및 껌의 일부 성분으로 자몽씨, 결명자 및 당귀 혼합제재물을 첨가하면 우식을 효과적으로 예방할 수 있을 것으로 생각된다.

현재까지 항우식효과가 있는 것으로 알려진 물질에는 여러 종류가 있으나 작용기전은 서로 다른 것으로 보고되었다. 즉 오롱차 및 녹차는 polyphenol 성분이 *S. mutans*의 glucosyltransferase에 의한 glucan 생성을 억제하여 치아우식을 예방하는 것으로^{20,21,25)} 불소는 세균의 enolase에 의한 당분해과정을 억제하여^{26,27)} 항우식효과를 나타내는 것으로 알려졌다. 본 실험에서 *S. mutans*에 대한 항균효과 있는 것으로 나타난 자몽씨 추출물은 자몽씨의 종자로부터 추출한 물질로서 ascorbic acid, palmitic acid, amino acid, peptide, sterol, tocopherol 등 여러 성

분을 함유하고 있다. 이 중 ascorbic acid가 금속이온들의 환원제로서 산소제, 특히 Hydroxyl radical을 생성시켜 세포막에 분포되어 있는 효소활성을 저해하여, 일부 미생물의 정상적인 발육을 억제하는 것으로 보고되어 있으므로²⁸⁾ 자몽씨 추출물에 의한 *S. mutans*의 항균효과는 ascorbic acid에 의한 것으로 생각된다. 결명자는 콩과 Leguminosae에 속한 1년생 초본의 씨로 주성분은 emodin 및 chrysophanol 등이며, 대한 약전의 생약 규격집에는 약리작용으로 소염 작용, 혈압강화 작용이 있는 것으로 알려져 있다²⁹⁾. 또한 당귀는 미나리과 Umbelliferae에 속하는 다년생 초본의 뿌리로 주성분은 decursin 및 decursinol 등으로 대한 약전의 생약 규격집에는 진통작용 및 항균작용이 있는 것으로 보고되어 있으나²⁹⁾ 당귀 및 결명자의 어떤 성분이 항균작용을 나타내는지 그 기전에 대해서는 밝혀져 있지 않으므로 이에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다. 항우식제를 구강에 적용하기 위해서는 항우식제가 정상 조직에 해를 주어서는 안된다. 자몽씨 추출물인 경우에는 독성이 없으며 오히려 백혈구의 항균력을 증강시키는 것으로 보고되었으며³⁰⁾ 당귀 및 결명자는 이미 생약제의 성분으로 이용되고 있으므로 구강에서도 사용될 수 있을 것으로 본다. 본 실험에서는 우식의 원인 균인 *S. mutans*에 대한 항균효과만을 보았으나 자몽씨 추출물이 구강 감염증을 일으킬 수 있는 *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* 및 *Candida albicans*의 증식을 억제하며, 자몽씨 추출물의 성분인 naringin은 악성세포의 성장을 증지시키는 작용과 발암물질에 의하여 손상되어진 세포를 보호하는 항암작용이 있는 것으로 보고되었으므로^{31,32,33)} 자몽씨, 결명자 및 당귀 혼합제재물은 치아우식증 뿐만 아니라 구강 감염증 및 구강암 예방에도 사용되어질 수 있을 것으로 생각되며 이에 대한 연구가 더 필요할 것으로 본다. 지금까지의 결과를 종합하여 볼 때 3: 3: 4로 혼합한 자몽씨, 결명자 및 당귀 혼합제재물은 고미도 느껴지

지 않으며, 저농도에서 접촉시간이 짧은 경우에도 치아우식의 원인균인 *S. mutans*에 대한 항균효과를 나타내므로 항우식 물질로 사용할 수 있을 것으로 사료된다.

V. 결 론

*S. mutans*는 치아우식의 주 원인균으로서 치면예의 부착, 증식 및 산 형성과정을 거쳐 치아우식을 유발한다. 이런 치아우식을 예방하기 위한 방법의 일환으로 최근에는 부작용 없이 지속적으로 작용할 수 있는 천연 추출물에 대한 관심이 높아 지고 있다. 따라서 이 연구에서는 22 종의 천연물로부터 추출물을 분리한 후, 이들의 *S. mutans*에 대한 증식억제효과를 한천 원판 확산법으로 확인하여 *S. mutans*에 대한 항균효과가 있는 것으로 나타난 자몽씨 (Grapefruit seed), 결명자 (Cassiae torae Semen) 및 당귀 (Angelicae gigantis Radix)를 항우식물질로서 식품에 첨가시킬 수 있는지 가능성 여부를 평가하였다. 즉 자몽씨, 결명자 및 당귀가 여러 농도로 함유된 4 종의 혼합제재물을 만든 후 항균력이 우수한 혼합제재물을 한천 원판 확산법으로 선택하였으며, 선택된 혼합제재물과 *S. mutans*의 접촉시간에 따른 항균효과를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 자몽씨는 0.1 %, 결명자 및 당귀는 각각 1 % 이상의 농도에서 *S. mutans* 증식억제대를 나타내었다.

2. 4종의 자몽씨, 결명자 및 당귀 혼합제재물은 0.1 % 이상의 농도에서 *S. mutans* 증식억제대를 나타냈으며, 특히 혼합비율이 3:3:4와 4:2:4인 경우 증식 억제효과가 우수하였다.

3. 접촉시간에 대한 *S. mutans* 증식억제효과는 혼합비율 3:3:4인 경우 0.1 % 농도에서 3 분간 접촉시 효과를 나타냈다.

이와 같은 결과로 미루어 보아 자몽씨, 결명자 및 당귀 혼합제재물은 저농도에서 짧은 접촉시간에도 치아우식의 원인균인 *S. mutans*의 성장을 억제하므로 항우식물질로

사용되어 질 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Hamada S, Koga T, Ooshima T: Virulence factors of *Streptococcus mutans* and dental caries prevention. J Dent Res 63: 407-411, 1984.
2. Gibbons RJ, van Houte J: Bacterial adherence in oral microbial ecology. Annu Rev Microbiol 29: 19-44, 1975.
3. McGhee JR, Michalek SM: Immunobiology of dental caries: Microbial aspects and local immunity, Ann Rev Microbiol 35: 595-635, 1981.
4. Ismail AI, Brodeur JM, Kanvanagh M, Boisclair G, Tessier C, Picotte L: Prevalence of dental caries and dental fluorosis in students. 11-17 years of age, in fluoridated and non-fluoridated cities in Quebec. Caries Res 24:290-297, 1990.
5. Riordan JJ: Dental fluorosis, Dental caries and fluoride exposure among 7-year-olds. Caries Res 27: 71-77, 1993.
6. Konig KG: Role of Fluoride tooth pastes in a caries-preventive strategy. Caries Res 27 (Suppl 1):23-28, 1993.
7. Brunelle JA: The prevalence of dental fluorosis in US children, 1987 [abstract]. J Den Res 68:995, 1989.
8. Hamada ST, Horkoshi T, Minami S, Kawabata S, Hiraoka J, Fujiwara J, Ooshima T: Oral passive immunization against dental caries in rats by use of hen egg yolk antibodies specific for cell-associated glucosyltransferase of *Streptococcus mutans*. Infect Immun 59: 4161-4167, 1991.
9. Smith DJ, Taubman MA, Ebersole JL: Effects of local immunization with glucosyltransferase on colonization

- hamsters by *Streptococcus mutans*. Infect Immun 37: 656-661, 1982.
10. Taubman MA, Smith DJ: Effects of local immunization with glucosyltransferase fractions from *Streptococcus mutans* on dental caries in rats and hamsters. J Immunol 118: 710-720, 1977.
 11. McGhee JR, Michalek SM, Webb J, Navia JM, Rahman AFR, Legler DW: Effective immunity to dental caries. Protection of gnotobiotic rats by local immunization with *Streptococcus mutans*. J Immunol 114: 300-305, 1975.
 12. Ferretti JJ, Shea C, Humphery MW: Cross-reactivity of *Streptococcus mutans* and human heart tissue. Infect Immun 30:69-73, 1980.
 13. Hughes M, MacHardy SM, Sheppard AJ, Woods NC: Evidence for an immunological relationship between *Streptococcus mutans* and human cardiac tissue. Infect Immun 27: 576-588, 1980.
 14. van de Rijn I, Bleiweis AS, Zabriskie JB: Antigens in *Streptococcus mutans* cross reactive with human heart muscle. J Dent Res 55: C59-64, 1976.
 15. Wu-Yuan CD: Gallotannins inhibit growth, water-insoluble glucan synthesis and aggregation of mutans Streptococci. J Dent Res 67:51-55, 1988.
 16. Wu-Yaun CD: In vitro screening of Chinese medical toothpastes: Their effects on growth and plaque formation of Mutans streptococci. Caries Res 24: 198-202, 1990.
 17. 강 성 호 : 수종의 차 음료가 *Sreptococcus mutans*의 성장에 미치는 영향에 관한 연구. 대한구강보건학회지 14 (1): 137-146, 1990.
 18. Sakanaka SM, Kim M, Taniguchi M, Yamamoto T: Antibacterial substances in Japanese green tea extract against *Streptococcus mutans*, a carcinogenic bacterium. Agric Biol Chem 53: 2307-2311, 1989.
 19. Kubo I, Muroi H, Himejima M: Antimicrobial acivity of green tea flavor components and their combination effects. J Agric Food Chem 40: 245-248, 1992.
 20. Nakahara K, Kawabata S, Ono H, Ogura K, Tanaka T, Ooshima T, Hamada S: Inhibitory effect of Oolong tea polyphenols on glucosyltransferase of mutans streptococci. Appl Environ Microbiol 59: 968-973, 1993.
 21. Ooshima T, Minami T, Aono W, Izumitani A, Sobue S, Fujiwara T, Kawabata S, Hamada S: Oolong tea polyphenols inhibit experimental dental caries by rats infected with Mutans Streptococci. 27: 124-129, 1993.
 22. Shon WS, Yoo YC, Kim CY: The effect of NaCl and Bamboo salt on the growth of various oral bacteria. J Korean Academy of Dental health 15: 252-265, 1991.
 23. Loesche WJ: Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. Microbiol Rev 50: 353-380, 1986.
 24. Cho SH, Seo IW, Choi JD, Joo IS: Antimicrobial and antioxidant activity of grapefruit and Seed extract on Fishery products. Bull Korean Fish Soc 23: 289-296, 1990.
 25. Otaka S, Makimura M, Kuroki T, Nishihara Y, Hirasawa M: Anticaries effects of polyphenolic compounds from Japanese green tea 25: 438-443, 1991.
 26. Hamilton IR: Effects of fluoride on enzymatic regulation of bacterial carbohydrate metabolism. Caries Res 11: 262-291, 1977.
 27. Hamilton IR: Biochemical effect of fluoride on oral bacteria. J Dent Res 69

- (Spec Iss): 660-667, 1990.
28. Lee TE: Efficacy report of DF-100. Conference of enetics & cell biology, University of Malaya, Kuala Lumpur, 1987.
 29. 지형준, 이상인: 대한약전의 생약 규격집, 한국 medical index 사, 1988
 30. Harich J: DF-100. U. S. Patent 1. 354, 818, FDA. No R-0013982. Chemie research & manufacturing Co. Publication, 1982.
 31. Choi JD, Seo IW, Cho SH: Studies on the antimicrobial activity of Grapefruit seed extract. Bull Korean Fish Soc 23: 297-302, 1990.
 32. Kim CH, Lee MS, Lee KH, Ko SH, Hong HS, Yang JB, Ko MS: Antimicrobial activity of DF-100 (Grapefruit seed extract) and its substitutional effect of preservatives in meat products. Korean J Food Sci Resour 14: 47-52, 1994.
 33. 한국미생물연구소 : 차세대 천연 보존제 DF-100 기술집, 한국미생물연구소 식품사업부, 1995.

- ABSTRACT -

**Effect of Grapefruit seed, Cassiae torae Semen
and Angelicae gigantis Radix on growth
*Streptococcus mutans***

Yu Yun-Jung, Kwak Wall-Ah, Cho Jang-Gi, Chang Hee-Soon
Kwon Ho-Kwen, Lee Syng-Ill, Park Yong-Suck*, Park Jae-Han*
*Dept. of Oral Biology, College of Dentistry, Yonsei University, Dept. of
Fundamental Research, R & D Center, HAITAI Confectionery Co.**

*Key words : Streptococcus mutans, Grapefruit seed, Cassiae torae Semen,
Angelicae gigantis Radix, growth inhibitory activity*

Streptococcus mutans is an etiologic agent of dental caries and has been known to induce dental caries by the process of initial attachment, proliferation and acid production. For the prevention of dental caries which is caused by this process, extracts of natural products have recently been introduced. Therefore we isolated extracts from twenty two natural products and investigated the inhibitory effect of these extracts on growth of *S. mutans* using agar diffusion method. To investigate the possibility of using extracts from Grapefruit seed, Cassiae torae Semen and Angelicae gigantis Radix which presented growth inhibitory effect against *S. mutans* as anticariologic agents, we made four mixtures of extracts from Grapefruit seed, Cassiae torae Semen and Angelicae gigantis Radix to reduce a bitter taste of Grapefruit seed. After we selected a mixture which had high growth inhibitory activity against *S. mutans* by agar diffusion method, we examined the effect of the selected mixture on the growth of *S. mutans* according to exposure time. Extracts from Grapefruit seed inhibited the growth of *S. mutans* at 0.1 %, extracts from Cassiae torae Semen and Angelicae gigantis Radix also inhibited growth of *S. mutans* at 1 % respectively. A mixture of extracts from Grapefruit seed, Cassiae

torae Semen and Angelicae gigantis Radix which was combined at 3: 3: 4 and 4: 2: 4 ratio presented wide growth inhibitory zone of *S. mutans*. A mixture of extracts from Grapefruit seed, Cassiae torae Semen and Angelicae gigantis Radix which combined at 3: 3: 4 inhibited growth of *S. mutans* after 2 hour exposure at 0.1 % concentration. In conclusion, a mixture of extracts from Grapefruit seed, Cassiae torae Semen and Angelicae gigantis Radix turned out to be an effective anticariologic agent because this mixture inhibited growth of *S. mutans* which is the etiologic agent of dental caries during short exposure time at low concentration.