

소목 분획물이 *Streptococcus mutans* KCTC 3065의 생장에 미치는 효과

전은숙[†] · 한만덕¹
동부산대학 치위생과
¹김천대학 치위생과

Effects of *Lignum sappan* Extract on the Growth of *Streptococcus mutans* KCTC 3065

Eun-Sook Jeon[†] and Man-Deuk Han¹

Dept. of Dental Hygiene, Dongpusan College, Busan 612-715, Korea

¹Dept. of Dental Hygiene, Gimcheon College, Gimcheon, Gyeongbuk 740-704, Korea

ABSTRACT This study was to study the antibacterial effect of *Lignum sappan* extract on *S. mutans* growth. The antibacterial activities of *Lignum sappan*'s crude extract was measured 17.3 mm at 20 mg/ml concentration. The growth of *S. mutans* in control medium was the highest at 8hr, while the media of *Lignum sappan* extract added-medium (2 mg/ml) showed maximum growth at 16hr. The pH values of the control media was 5.08 at 8hr, but the media supplemented with *Lignum sappan* extract was 6.69 at 8hr. The amounts of total carbohydrate of the control media was 0.81 mg/ml at 8hr, but the media supplemented with *Lignum sappan* extract was 2.06 mg/ml at 8hr. In the protein change of culture medium, the control culture broth and the cultures supplemented with *Lignum sappan* extract was 8.39 mg/ml and 12.3 mg/ml at 8hr, respectively. The *S. mutans* polysaccharide contents of the control media and the media supplemented with *Lignum sappan* extract was 300 mg/100ml and 60 mg/100 ml at 8hr, respectively.

Key words *Streptococcus mutans*, antibacterial effect, *Lignum sappan* extract

서 론

치아우식은 치면세균막(plaque)내 세균에 의해 당성분이 분해되어서, 이 때 나오는 산으로 치아표면이 탈회되고 치질 내 유기성분이 용해되는 과정을 말한다. 치아우식 관련세균으로는 Streptococci(*S. mutans*), Lactobacilli(*L. casei*), Actinomyces (*A. viscosus*)로 *S. mutans*는 치아 평활면우식 및 초기우식에 관여하며, *L. casei*는 소와나 열구우식 및 진행우식병소에 *A. viscosus*는 치근우식에 관여하는 것으로 알려져 있다. 특히 *S. mutans*는 자당을 대사하여 불용성 세포외 다당류를 생성하는데 이는 치아에 부착하여 많은 양의 치면세균막을 형성하게 된다. 또한 *S. mutans*는 다른 치면세균막 형성 세균보다 자당을 산으로 전환시키는 능력과 다당류를 비축해 두는 능력이 뛰어나다. 이와 같은 이유로 *S. mutans*는 치아우식 원인균 중에서도 가장 중요하게 다뤄지고 있다¹⁾. 따라서 구강내에서 *L. casei*와 *S. mutans*를 포함한 구강세균의 성장을 미리 억제할 수 있다면 치아우식증을 크게 감소시키거나 더 이상의 진행을 막을

수 있을 것이다.

최근 천연물질에 대한 *S. mutans*의 항균효과에 대한 다양한 연구들이 이루어지고 있다. 전 등²⁾은 오미자, 오수유 추출물을 열수추출한 후 *S. mutans*에 대한 항균효과를 검색하였으며, 유운정 등³⁾은 자몽씨, 결명자 및 당귀에 의한 *S. mutans*의 증식 억제효과에 대해 보고한 바 있고, 그 외에도 flavonoid⁴⁾, 생약재 및 향신료⁵⁾, 관중⁶⁾, 황금⁷⁾ 등 여러 물질이 보고된 바 있다.

소목(*Lignum sappan*)은 콩과에 속하는 목류 한약재로서 중심부분만 취하여 사용하며⁸⁾ 혈전증의 치료, 진통제, 월경 촉진 및 타박상 등에 쓰이고 있다⁹⁾. 함유된 관련 물질로는 brazilin, homoisoflavonoids, dibenz[b,d]oxocins (protosappanins A, B and C, protosappanin E-1 and E-2)¹⁰⁻¹²⁾ 등이 알려져 있다.

국내에서는 *S. mutans*에 대한 소목의 연구는 거의 보고되어 있지 않은 실정이며, 소목 추출물의 항산화 효과¹³⁾, 소목 추출물이 식품부패 미생물의 성장과 분쇄육 보존에 미치는 영향¹⁴⁾ 등이 보고된 바 있다.

이에 본 연구는 국내에서 유통되는 소목으로부터 열수 추출물을 분리한 후, *S. mutans*에 대한 항균효과를 paper disc method로 검색하고, *S. mutans*의 대사에 미치는 영향을 평가하기 위하여 성장곡선, pH변화, 단백질 변화, 총 탄수화물의

[†]Corresponding author
Tel: 051-540-3859
Fax: 051-540-3643
E-mail: jes7880@hanmail.net

변화 및 다당류 생성에 미치는 효과 등에 관하여 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

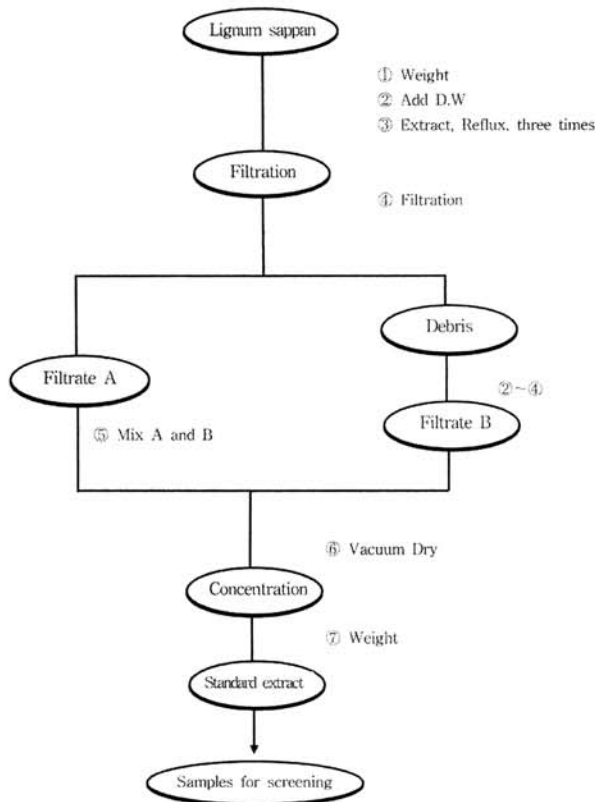
1. 실험재료

본 실험에 사용한 소목은 서울 경동시장에서 건조상태의 것을 구입하여 사용하였다.

2. 실험방법

1) 추출방법

소목을 적절한 크기로 분쇄하여 50 g 씩 평량한 후 삼각플라스크에 넣고 시료가 잠기도록 증류수 1 l를 가한 다음 100 °C에서 환류냉각기를 이용하여 수욕상에서 3시간 동안 추출하였다. 이를 여과시켜 여과액을 얻고 잔사는 다시 추출·여과 과정을 거쳐 여액을 얻은 후 여액을 합해 회전농축기를 사용하여 감압 건조시킨 후 시료를 조제하였다(Scheme 1).



Scheme 1. Standard extract preparation from *Lignum sappan*.

2) 시약 및 기기

실험에 사용한 시약으로는 BCA(Piece Co.), BSA(Piece Co.)을 사용했으며, *S. mutans* 배양을 위한 배지는 brain heart infusion(Difco, U.S.A)을 사용하였다. 기기는 pH meter (Istek Co., Korea), UV/Vis spectrophotometer(Shimadzu Co., Japan), centrifuge(Hanil Co., Korea), 혐기자(BBL Co.), incubator(Dongyang Co., Korea), clean bench(Sangwoo Co., Korea), voltex(Dongyang Co., Korea), magnetic stirrer

(Corning Co., U.S.A) 등을 사용하였다.

3) 균주 및 배양

실험에 사용된 균주는 한남대학교 미생물학과에서 분양 받은 *S. mutans* KCTC 3065를 사용하였으며, 보관 및 계대배양은 brain heart infusion(BHI) 배지에 37°C에서 24시간 동안 혐기자에서 혐기 배양하였다.

4) 항균활성 측정

소목의 항균활성 검색은 paper disc method에 의하여 측정하였으며¹⁵⁾, *S. mutans* 균주 1 loop를 10 ml BHI broth에 접종한 후 37°C에서 18~20시간 혐기자에서 혐기 배양하여 이용하였다.

멸균된 Müller hinton agar 배지를 petri dish에 15 ml씩 분주하여 고형화 시킨 후, *S. mutans* 배양액 50 µl를 접종하여 균일하게 도말하였다. 한편 소목 추출물 400 mg을 멸균수 1 ml에 완전히 녹여 paper disc(6 mm)에 50 µl 씩 흡수한 후 건조시켰다. 건조된 disc는 시험용 평판배지 표면에 놓아 밀착시킨 다음, 37°C에서 24시간동안 혐기 배양하였다. 추출물에 대한 항균활성은 paper disc 주변의 clear zone 직경(mm)을 측정하여 판단하였다.

5) 최소저해농도 측정

최소저해농도(MIC, minimum inhibitory concentration)는 paper disc method에 의하여 측정하였으며¹⁵⁾, *S. mutans* 균주 1 loop를 10 ml BHI broth에 접종한 후 37°C에서 18~20시간 혐기적으로 배양하여 이용하였다.

멸균된 Müller hinton agar 배지를 petri dish에 15 ml 씩 분주하여 응고시킨 후, *S. mutans* 배양액 50 µl를 접종하여 균일하게 도말하였다. 소목 추출물은 최초 농도를 10 mg/ml로 2배 연속 희석한 후 37°C에서 24시간 동안 혐기 배양하여 육안으로 관찰하여 증식된 농도와 억제된 농도로 결정하였다.

6) 성장곡선 측정

성장곡선은 *S. mutans* 균주 1 loop를 10 ml BHI broth에 접종한 후 37°C에서 18~20시간 혐기적으로 배양하여 활성화시킨 액 50 µl와 소목 추출물 50 µl를 BHI broth 10 ml에 주입하였다. 37°C에서 혐기 배양하면서 시간별로 채취하여 균의 생육을 spectrophotometer를 이용해서 흡광도(600 nm)를 측정하였다.

7) pH 측정

pH 변화는 *S. mutans* 균주 1 loop를 10 ml BHI broth에 접종한 후 37°C에서 18~20시간 혐기 배양하여 활성화시킨 액 50 µl와 소목 추출물 50 µl를 BHI broth 10 ml에 주입한 후 37°C에서 혐기 배양하면서 시간별로 채취하여 pH meter를 이용해서 측정하였다.

8) 탄수화물 정량 측정

배지내 탄수화물 변화는 phenol sulfuric acid 방법을 이용하였다. 표준액의 조제는 검량곡선을 그리기 위하여 표준물질로 D-glucose를 사용하였으며, glucose를 100 µg/ml로 stock solution을 만들고 증류수로 희석하여 단계별 표준액을 만들었다. 검량선의 작성은 20 ml용 시험관에 단계별 표준액 1 ml를 가하여, 여기에 80% phenol 25 µl와 진한 황산 2.5 ml를 첨가하고, 대조액에는 표준액 대신 증류수 1 ml를 가했다. 또한 sample 1 ml와 여기에 80% phenol 25 µl, 진한 황산 2.5 ml을 첨가했다. 시험관을 잘 혼합한 후 30°C에서 20분간 반응