

Streptococcus mutans JC-2의 생육에 미치는 빈랑의 억제효과

원광보건전문대학 치위생과
이광희 · 남용옥

Abstract

INHIBITORY EFFECT OF ARECA CATECHU L. ON THE GROWTH OF STREPTOCOCCUS MUTANS JC-2

Lee, Kwang Hee Nam, Yong Ok

Dept. of Dental Hygiene, Wonkwang Public Health Junior College

In its study, We investigated the effects of *Areca catechu* L on the growth and acid production of *Streptococcus mutans* JC-2 in broth system and the activity of glucosyltransferase.

The results were summarized as follow;

1. The growth of *Streptococcus mutans* JC-2 was suppressed by adding *Areca catechu* L in broth system. Especially, its inhibitory effect was significant at 2,000ppm of concentration.
2. *Areca catechu* L decreased the acid production of *Streptococcus mutans* JC-2. Decrease of pH according to acid production was less in presence of *Areca catechu* L than in absence.
3. *Areca catechu* L exerted the inhibitory effect against glucosyltransferase activity form *Streptococcus mutans* JC-2

I. 서 론

치아우식증은 구강 내에 존재하는 세균중 특히 *Streptococcus mutans*가 주요원인으로 이균이 생성하는 유기산에 의해 치아의 무기질이 탈회되고 상아질이 파괴되어 치아조직의 결손을 초래하는 세균성 치아경조직질환이라고 보고되

고 있다¹⁾. 최근 경제성장과 함께 현대인의 식생활 형태가 다양해짐에 따라 당류의 소비는 증가하는 추세이며 더욱이 숙주 인간의 면역기능은 Stress등의 원인으로 약화되어 구강내 내생물은 오히려 증가하고 있는 실정이다²⁾. 따라서 최근 10년동안 치아우식증 발생기작에 대한 기초적인 연구와 함께 치아우식예방의

측면에서 매우 활발한 연구가 이루어져 왔다³⁾. 이러한 치아우식예방물질의 탐색연구는 미생물이나 각종화합물등에서 뿐만 아니라 천연물을 대상으로 하여 *Sc.mutans*의 생육억제효과와 치면 세균막 형성에 중요한 glucan을 합성하는 glucosyltransferase활성 저해효과를 검색하는데 초점이 모아지고 있다⁴⁾.

한편 종려과(棕櫚科, *Palmae*)에 속하는 빈랑(*Areca catechu L.*)은 alkaloid류와 condensed tannin등이 주성분으로 구충, 건위, 항virus 및 항진균등의 약리효과가 있는 것으로 알려져 있다⁵⁾. 따라서 본 연구에서는 수천년동안 섭취를 통해 그 안전성이 확인된 빈랑을 치아우식예방제로써의 적정성을 규명하기 위해 빈랑물추출물의 *Sc.mutans*의 생육에 미치는 억제효과와 그 특성을 조사하였다.

II. 재료 및 방법

사용균주

본 실험에 사용한 공시균주는 원광대학교 구강미생물학교실에 보관중인 *Streptococcus mutans* JC-2로 실험에 사용하기전 Brain heart infusion broth(Difco, USA)에 3회 계대 배양하였다.

빈랑물추출물 조제

수직환류냉각관이 부착된 삼각플라스크에 빈랑 100g(dry base)과 증류수 1000ml를 가하고 80°C의 water bath에서 8시간 동안 추출, 여과(Whatman No 41)한 후 Evaporator(Rikakikai Co1., TOKYO)로 농축하여 추출물 시료(total solid : 14.3%)로 하였다.

Streptococcus mutans JC-2의 생육억제 측정

빈랑추출물의 항균력조사는 BHI broth를 screw cap tube에 취하고 빈랑물추출물을 농도별로 첨가한 후 *S.mutans*를 4%(v/v)로 접종하여 37°C의 CO₂항온기에서 24시간동안 배양하면서 경시적인 균의 생육을 Spectrophotometer(Varian DMS 200)를 이용하여 620nm에서

optical density로 측정하였다.

Sc.mutans JC-2의 산생성량 측정

Sc.mutans JC-2의 산생성량을 평가하기 위해 배양액의 경시적인 pH 및 적정산도의 변화를 측정하였다. pH는 pH meter(ORION model SA720)로 직접 측정하였으며, 적정산도는 배양액 10g에 증류수 10ml를 가한 후 0.1N NaOH로 pH 8.1까지 적정하여 젯산으로 환산하였다.

Glucosyltransferase활성억제의 측정

GTase의 활성은 sucrose를 기질로 하여 생성된 불용성 glucan을 Spectrophotometer로 측정하는 권등⁶⁾의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉 *Sc.mutans* JC-2배양액을 원심분리(8,000 ×g, 4°C, 30min)하고 얻은 상등액을 여과(Toyo filter paper No.101)하여 조효소액으로 하였고, 기질용액은 sucrose 2.5g, sodium azide 0.25g을 1l의 0.0625M potassium phosphate buffer(pH 6.5)에 혼합하여 조제하였다. 준비된 기질 용액 8ml를 시험관에 취하고 조효소액 2ml를 가하여 37°C에서 24시간동안 반응시킨 다음 생성된 glucan을 sonicator(Danbary model LC500)로 분산시켜 550nm에서 측정된 흡광도로 저해율을 측정하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \frac{\text{대조구의 흡광도} - \text{빈랑첨가구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

III. 결과 및 고찰

빈랑물추출물의 *Streptococcus mutans* JC-2의 생육억제 효과

빈랑물추출물이 0, 500, 1000, 2000ppm첨가된 broth system에서 경시적으로 측정된 *Sc.mutans* JC-2의 생육곡선은 Fig.1과 같다.

즉 빈랑물추출물 첨가로 *Sc.mutans* JC-2의 생육이 억제되는 경향이 있으며 특히 2000 ppm농도수준에서 그 억제효과는 현저히 나타나 유도기(lag time)가 약 6시간 정도 연장되었음

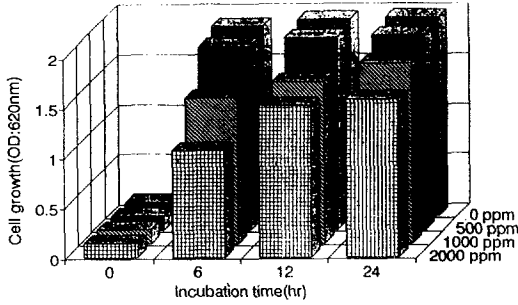


Fig. 1. Inhibitory effect of *Areca catechu* L. on the growth of *Streptococcus mutans* JC 2.

을 알 수 있었다. 이는 빈랑의 주성분이 tannin이라는 보고⁵⁾와 Phenolic compound의 일종인 tannin은 살균활성(bactericidal activity)과 정균활성(bacteriostatic activity)이 있는 물질이라는 보고⁷⁾에서 알 수 있듯이 빈랑물추출물의 *Sc.mutans* JC-2에 대한 생육억제효과는 빈랑성분중 tannin에 의한 것으로 사료된다. 한편 김등⁸⁾은 정제된 tannin이 1000ppm첨가된 broth system에서 *Sc.mutans* 10449의 생육을 억제한다고 보고하여 본 실험의 결과와 유사하였다. 치아우식증의 직접적인 원인은 *S. mutans* JC-2가 생성하는 유기산에 의해 발생하므로 시험균의 유기산 생성량의 변화는 균의 생육정도와 더불어 상당히 중요한 실험항목이라 할 수 있다. *Sc.mutans* JC-2배양액의 경시적인 pH 및 산생성량의 변화는 Fig. 2, 3과 같다.

즉 산생성량은 빈랑물추출물의 첨가로 감소하는 경향이였으며, 빈랑물추출물의 첨가농도가 증가함에 따라 산생성량은 감소하는 추세였다. 이는 빈랑물추출물에 의해 *Sc.mutans* JC-2의 대사과정이 억제되어 산생성량이 감소되었거나 *Sc.mutans* JC-2의 증식이 억제되어 대조군에 비해 균수가 상대적으로 적은것에 기인된 것으로 사료된다.

결국 빈랑물추출물 첨가로 치아우식에 직접적인 원인이되는 유기산의 함량이 감소되었을 뿐만 아니라 균의 생육도 억제되어 치아우식 예방제로써 그 가능성을 확인하였다.

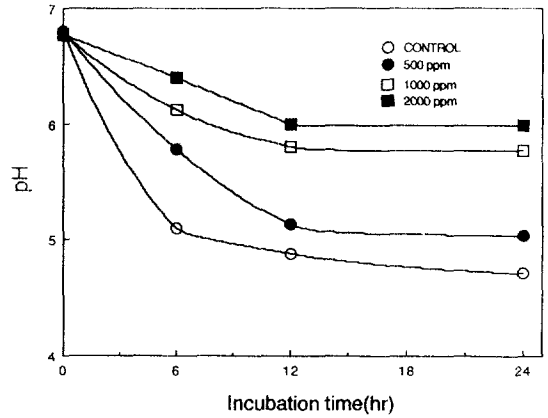


Fig. 2. Changes in pH of cultures contained *Areca catechu* L.

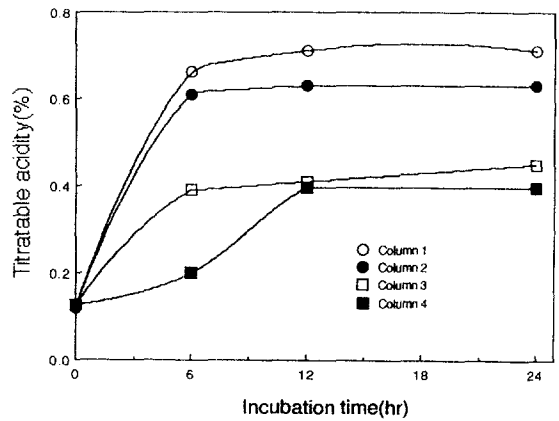


Fig. 3. Changes in titratable acidity of culture contained *Areca catechu* L.

Glucosyltransferase활성의 억제

glucosyltransferase는 *Sc.mutans* JC-2가 분비하는 효소로써 치면세균막을 형성하는 glucan을 합성하는 것으로 보고되고 있어 이 효소의 활성을 저해함으로써 치아 우식증 유발균의 치아표면부착을 억제시켜 충치 발생의 초기단계를 차단할 수 있다.

빈랑물추출물이 *Sc.mutans* JC-2가 분비하는 glucosyltransferase의 활성에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 4와 같다.

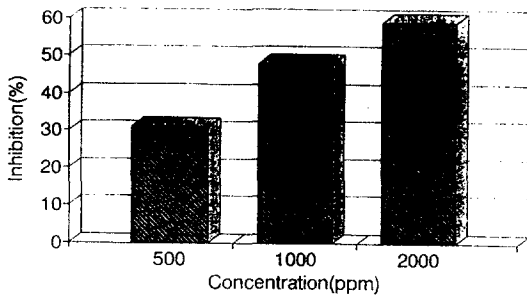


Fig. 4. Effect of various concentrations of Areca catechu L. on glucosyltransferase activity.

즉 빈랑물추출물 첨가로 glucosyltransferase의 활성이 감소하여 대조군에 비해 500, 1000, 2000ppm 첨가시 각각 32.3%, 48.2%, 52.9%의 저해율을 나타내었다. 일반적으로 생약의 매탄올내지 물추출물에는 tannin성분이 많이 함유되어 있는데 이러한 tannin은 효소를 비선택적으로 저해하는 것으로 알려져 있어, 본 실험의 결과로 물에 의해 추출된 빈랑의 주성분인 tannin에 의한 것으로 사료된다.

이상의 결과에서 보면 빈랑물추출물은 *Sc. mutans* JC-2의 생육을 억제시키고, 대사과정을 억제하여 산생성력을 감소시킬 뿐만 아니라 glucan 합성에 중요한 glucosyltransferase의 활성을 저해시키는 효과가 있어 치아우식의 예방을 위한 제재로서 개발가능성이 있음을 확인하였다.

IV. 결 론

빈랑물추출물이 *Streptococcus mutans* JC-2의 생육, 산생성력 및 glucosyltransferase의 활성에 미치는 억제효과를 broth system에서 조사한 결과는 다음과 같다.

1. 빈랑물추출물 첨가로 *Sc. mutans* JC-2의 생육이 억제되었으며 특히 2000ppm수준에서 그 억제효과가 뚜렷이 나타났다.

2. 산생성량은 빈랑물추출물 첨가로 감소되었으며 그에 따라 pH의 감소폭도 적게 나타났다.
3. glucosyltransferase활성은 빈랑물추출물의 농도가 증가함에 따라 감소하는 경향이였다.

참고문헌

1. Inoue, M. and T.koga : Fractionation and properties of glucans produced by *Streptococcus mutans*. *Infect. Immunity*, 25 : P22-P29, 1979.
2. Houte, J.van : Bacterial specificity in the etiology of dental caries. *Int. Dent.J.* 30 : 305-308, 1980.
3. Kobayashi, S., K.Koga, O.Hayasima and Y. Nakano : Inhibitor effect of Millard reaction products on glucosyltransferase of *Streptococcus mutans*. *Agri.Biol.chem.*, 52 : 3169-3171, 1988.
4. Koga, T., S. Hamada, S. Murakawa and A. Endo : Effect of a glucosyltransferase inhibitor on glucan synthesis and cellular adherence of *Streptococcus mutans*. *Infect. Immun.* 38 : 882-886, 1982.
5. 漢藥臨床應用 P.497-498, 成輔社
6. 권익부 · 이용우 · 인봉권 · 이신영 : Cacao bean husk추출물의 glucosyltransferase저해 효과, *한국생물공학회지* 8(1)75-82, 1993.
7. Sakanaka, S.M.Kim, M.Taniguchi and T. Yamamoto : Antibacterial substances in Japanese green tea extract against *Streptococcus mutans*. *Agri.biol.chem.*53(9) : 2307-2311, 1989.
8. 김선숙 · 이갑상 · 김강주 : 탄닌 및 비타민 B6가 *Streptococcus mutans* 10449의 성장, 시험관벽 부착에 미치는 영향 및 치은조섬유세포의 세포활성에 미치는 영향, *대한구강보건학회지*, 17(1)92-100, 1993.