

총치 유발균 *Streptococcus mutans*에 대한 식초의 항균효과

김옥미 · 하대중 · 정용진*

대경대학 호텔조리학부, *계명대학교 식품가공학과

Antibacterial Activity of Vinegars on *Streptococcus mutans* Caused Dental Caries

Ok-Mi Kim, Dae-Joong Ha and Yong-Jin Jeong*

Dept. of Hotel Culinary Arts, Daekyeung College, Kyoungsan 712-719, Korea

*Department of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 702-701, Korea

Abstract

The antibacterial activity for *S. mutans* by using 5 kinds of vinegar was researched. As a result, it was the highest at persimmon vinegar and then grape, apple, high calcium brown rice, brown rice vinegar in order. The antibacterial effect was shown at 1.5% of persimmon vinegar concentration and the growth was fully repressed at 4% of concentration. As an observation result with a transmission electron microscope(TEM), the growth was obstructed by destroying the cell wall and the cytoplasmic membrane. As a research result of the total phenol contents for each vinegar, the persimmon vinegar was the highest as 237.49 mg% and the antibacterial activity was increased when the total phenol contents were high.

Key words : vinegar, antibacterial activity, *S. mutans*, total phenol

서 론

총치는 치아우식증이라고도 하며 치태내 세균, 음식물, 타액의 상호작용에 의하여 유발되는 구강내 질병중의 하나로 선진국은 물론 우리나라에서도 그 발병율이 증가하고 있다(1,2). 총치유발균으로는 *Streptococcus mutans*가 주원인균으로 작용하며 구강 내 치아표면에 부착하여 당의 발효에 의해 산을 발생시켜 치아표면을 파괴시키는 것으로 알려져 있다(3,4). *S. mutans*는 균체표층에 glucosyltransferase (GTase)를 분비하며 음식물 중 sucrose로부터 불용성 glucan을 형성하고, 이러한 glucan은 구강내 미생물들과 치면에 치면세균막(dental plaque)를 생성한다(5,6). 따라서 이러한 총치유발균인 *S. mutans*의 성장을 억제할 수 있다면 총치 예방 및 그 발생 빈도 감소 효과가 있을 것으로 기대된다. 총치예방에 관한 연구로써 GTase 합성저해제의 개발(7,8), 항균제제의 개발(9,10) 등의 연구가 진행되어 왔으며, 특히 녹차(11), 오롱차(12), 황백(13), 후박(14), flavonid(15), 해조류 추출물인 furoran(16), 알로에(17) 등의 천연물을 대상으로 항균물질의 개발 및 효과 등이 보고되고 있다. 항균물질의 경우 대부분

이 terpenoid계와 phenol성 화합물로 알려져 있으며(18) 이들은 당 및 단백질과 결합할 수 있기 때문에 생물에 대한 방어화합물로 작용할 수 있는 것으로 알려져 있다(19).

식초는 동서양을 막론하고 오랜 역사를 가진 발효식품으로, 산미를 갖게 하는 조미료로 널리 쓰이는 것은 물론이고 민간약으로도 널리 사용되고 있다(20). 동맥경화, 고혈압 등의 성인병 예방 효과, 콜레스테롤 저하 효과, 체지방 감소 등에 효과가 있으며 특히 항균효과도 뛰어난 것으로 보고되고 있다(21).

따라서 본 연구에서는 시판되고 있는 4종의 식초 및 고칼슘 현미식초를 이용하여 치아의 플라그 생성 원인균으로 알려진 *S. mutans*에 대한 항균효과와 그에 따른 식초에 함유된 총페놀 함량과의 연관성을 조사하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 감식초(총산 6.2), 포도식초(총산 5.8), 사과식초(총산 6.3), 현미식초(총산 6.0)는 대구백화점에서 구입하여 사용하였으며 고칼슘 현미식초(총산 6.2)는 (주)계명푸덱스에서 제공받아 사용하였다.

Corresponding author : Yong-Jin Jeong, Department of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 702-701, Korea

E-mail : yjjeong@kmu.ac.kr

사용균주 및 배지

S. mutans(KCTC3065)는 생명공학연구소 유전자은행에서 분양받아 사용하였다. *S. mutans* 배양을 위한 배지로는 brain heart infusion broth(Difco 0037)와 brain heart infusion agar를 사용하여 37°C에서 24~48시간 배양하였다.

항균력 측정

항균력은 paper disc법(22,23)으로 측정하였다. 즉 균주를 액체배지에서 18시간 배양하여 활성화시킨 후 0.75% top agar에 100 μ l 접종하여 평판배지위에 덮고, 각 식초별로 20 μ l씩을 흡수, 건조시킨 paper disc(8mm)를 올려놓은 다음 37°C에서 48시간 배양하였다. 항균력은 paper disc주위에 저해환의 생성 유무와 그의 크기(mm)를 5회 반복 측정하여 평균치로 나타내었다.

감식초의 농도에 따른 항균력

5종의 식초중 항균력이 가장 높은 감식초를 선정하여 농도에 따른 항균력 비교를 위하여 brain heart infusion broth 배지에 감식초를 각각 0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 및 4.0%가 되게 첨가하고 시험균을 접종하여 37°C에서 72시간 동안 배양하면서 6시간 간격으로 시료를 채취하였다. 경시적인 균의 생육은 600nm에서 흡광도로 측정하였다(24).

총 페놀성 물질 함량 측정

각 식초의 총 페놀성 물질 함량은 Folin-Denis법(25)에 의해 비색정량하였다. 즉 식초를 적당량 희석한 검액 5ml에 Folin-Ciocalteu 시약 5ml를 가하여 혼합하고 3분 후 10% Na₂CO₃ 5ml를 넣어 진탕하고 1시간 실온에서 방치하여 700nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준물질로는 tannic acid를 5~50 μ g/ml의 농도로 조제하여 검량곡선의 작성에 사용하였다.

세포형태변화 관찰

감식초 첨가에 의한 *S. mutans* 세포의 손상여부를 관찰하기 위하여, 24시간 배양한 시험균의 균체를 2.5% glutaraldehyde를 함유한 0.1M phosphate buffer로 전고정시킨 후 동일한 buffer로 3~4회 세척하고 다시 1% osmium tetroxide(OsO₄)를 함유한 buffer에서 후고정하였다. 다음에 동일한 buffer로 세척한 후 2% agar로 block을 만들어 30~100% 알콜로 순차적으로 탈수하였으며, epoxy와 propylene oxide를 섞은 용액으로 치환시킨 후 초박질편을 만들어 투과전자현미경(transmission electron microscopy, Hitach-600)으로 관찰하였다.

통계 분석

각각의 실험구간의 3반복 실험결과를 SAS 통계처리에 의한 Duncan's multiple range test(ANOVA programmed computer)로 실시하였다(26).

결과 및 고찰

식초의 항균활성

시판되고 있는 5종의 식초 즉, 감, 포도, 사과 및 현미식초와 고칼슘 현미식초를 이용하여 충치발생의 원인균으로 알려진 *S. mutans*에 대한 항균활성을 조사하였다. Table 1에서 보는 것처럼 *S. mutans*에 대해서 모두 항균활성을 나타내었으며 특히 감식초가 16.8 \pm 0.1mm로 가장 높은 항균력을 나타내었다. 그 다음은 포도식초가 비교적 강한 항균력을 나타내었으며 이에 비하여 현미식초는 항균력이 약간 낮은 경향으로 나타났다. Fig. 1은 충치유발균에 대한 식초의 항균작용에 의하여 생긴 생육 저해환을 보여주고 있다.

Table 1. Antibacterial effect of vinegars against *S. mutans*

Vinegars	<i>S. mutans</i> Diameter of inhibitory zone(mm)
Persimmon vinegar	16.8 \pm 0.1
Grape vinegar	13.5 \pm 0.3
Apple vinegar	11.3 \pm 0.4
Brown rice vinegar	10.0 \pm 0.3
High calcium brown rice vinegar	11.0 \pm 0.2

*Diameter of paper disc is 8mm. Data are respresented to the mean \pm S.D.

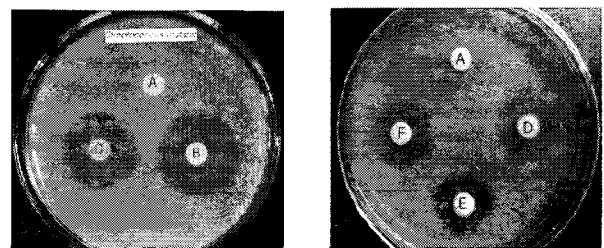


Fig. 1. Antibacterial effect of vinegars against *S. mutans*.

- A : Distilled water
- B : Grape vinegar
- C : Persimmon vinegar
- D : Apple vinegar
- E : Brown rice vinegar
- F : High calcium brown rice vinegar.

감식초의 농도에 따른 항균활성

항균력이 가장 높은 감식초를 선별하여 감식초의 농도별에 따른 항균활성을 조사하기 위하여, 무첨가구간 및 감식

초 농도(1~4%)로 구분하여 72시간 동안 균의 생육에 미치는 영향을 측정하였다. 그 결과 Fig 2에서 보는 것처럼 감식초 1%를 첨가한 구에서는 무첨가구와 같이 균의 성장 억제 현상이 거의 관찰되지 않았으나 1.5% 첨가한 구부터 억제효과를 나타내기 시작하여 농도가 높아질수록 사멸속도가 서서히 빨라지는 것을 관찰할 수 있었다. 특히 4% 첨가구의 경우 30시간까지 균의 생육이 완전히 억제되다가 그 이후 조금 성장하였는데 이것은 식초가 함유하고 있는 산이 휘발됨으로써 나타난 현상으로 여겨지며 실제 총산의 변화를 측정해본 결과 초기에는 변함이 없다가 30시간이후에는 20% 정도 휘발하는 것으로 나타났다(data not shown).

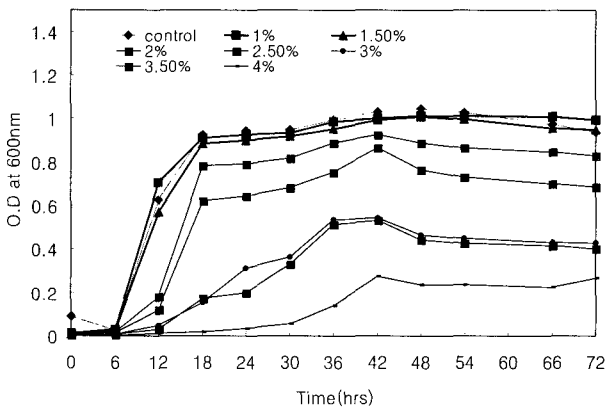


Fig. 2. Effect of growth inhibition by persimmon vinegar on the *S. mutans*.

총 페놀성 물질의 함량과 항균성

식초의 종류에 따른 항균력 차이는 식초에 함유된 총페놀 함량과 연관성이 있을 것으로 추정하여 총페놀성 물질의 함량을 비교 측정하였다. 그 결과, 감식초가 237.49mg%로 가장 높았으며, 그 다음은 포도, 사과, 고칼슘현미, 현미식초 순이었다(Table 2). 이상의 결과는 앞에서의 식초종류에 따른 항균활성력 비교 결과와 같은 경향으로 나타났다. 따라서 식물 세포에 존재하는 생리활성 물질중 페놀성화합물들은 천연항산제로서뿐만 아니라 항균성을 가지고 있다는 보고(26)를 뒷받침해주며 식초에 포함된 페놀성 물질은 식초의 항균효과와 관련이 있어서, 그 함량이 높을수록 항균효과는 증가하는 것을 확인할 수 있었다

Table 2. Amounts of total phenolic compounds in vinegars

Vinegars	Total phenolic compounds(mg%)
Persimmon vinegar	237.49 ± 2.34
Grape vinegar	84.98 ± 1.70
Apple vinegar	40.61 ± 1.76
Brown rice vinegar	12.71 ± 0.31
High calcium brown rice vinegar	26.49 ± 0.76

*Data are respresented to the mean ± S.D.

미생물의 형태변화

감식초 처리에 의한 미생물의 형태변화를 조사하기 위하여 *S. mutans*에 대하여 감식초를 처리한 것과 처리하지 않은 대조구를 투과전자현미경으로 관찰하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 감식초 처리구는 대조구에 비하여 세포가 팽윤되고 일부 세포벽과 세포막은 파괴되어 세포내용물이 유출되는 등 심한 형태학적 변화가 있음이 관찰되었다. 따라서 감식초 처리는 미생물의 세포벽 및 세포막을 약화시켜 구조가 상당히 붕괴되며 이로 인해 세포의 내용물을 세포외로 유출시킴으로써 균의 성장을 억제시키는 것으로 사료된다. 이러한 실험결과는 황 등(5)이 키토산 처리에 의한 *S. mutans*의 세포형태의 변화를 관찰한 결과 세포벽이 분리되고 세포내 물질이 상당히 유출되었다고 보고한 결과와 일치하였다. 이상의 결과로써 식초는 인체에 무해할 뿐아니라 충치 유발균인 *S. mutans*에 대한 항균효과가 우수하므로 앞으로 충치 예방물질로서의 이용 가능성이 매우 높아 여러 분야에서 활용이 기대된다.

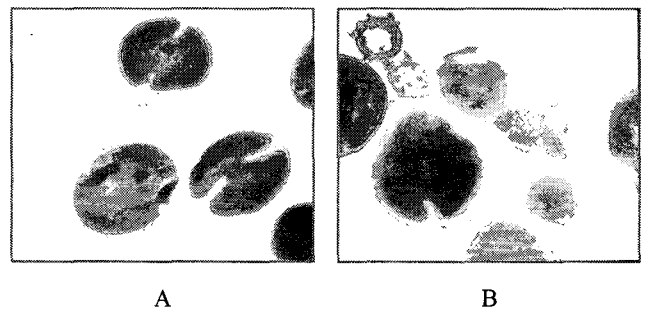


Fig. 3. Transmission electron micrographs of *S. mutans*.

Streptococcus mutans was treated with 2% persimmon vinegar
A: Control B, C : 2% persimmon vinegar.

요 약

5종류의 식초(감식초, 포도식초, 사과식초, 고칼슘현미식초 및 현미식초)의 *S. mutans*에 대한 항균력을 조사하였다. 그 결과 감식초가 가장 높게 나타났으며 포도, 사과, 고칼슘 현미, 현미식초 순으로 나타났다. 감식초는 1.5%이상 첨가하였을 때 항균효과를 나타내었으며, 4%농도에서 균의 생육이 정지되었다. 투과전자현미경(TEM)으로 균 내부구조의 손상 정도를 관찰한 결과, 세포벽 및 세포막이 파괴되었다. 각각의 식초에 대한 총페놀 함량을 조사한 결과, 감식초가 237.49mg%로 가장 높았으며, 총페놀함량이 높을수록 항균력은 높게 나타났다.

참고문헌

1. Menaker, L. (1980) The Biologic Basis of Dental Caries, Harper and Row. Hagerstown. p. 68
2. Hamada, S. and Slade, H. D. (1980) Biology, immunology and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol. Rev., 44, 331-384
3. Inoue, M. and Koga, T. (1979) Properties of glucans produced by *Streptococcus mutans*. Infect. Immunity, 25, 922-929
4. Muroi, H. and Kubo, I. (1993) Combination effects of antibacterial compounds in green tea flavor against *Streptococcus mutans*. J. Agric. Food Chem., 41, 1102-1105
5. 황재관, 김현진, 심재석, 변유량 (1999) *Streptococcus mutans*에 대한 키토산의 항균효과. 한국식품과학회지, 31, 522-526
6. Hanada, N. and Takehara, T. (1987) (1-3)-alpha-D-glucan synthase from *Streptococcus mutans* AHT (serotype g) does not synthesise glucan without primer. Carbohydr Res., 15, 168, 120-124
7. 안봉전, 최창윤, 권익부, 니시오카 이트슈, 최청 (1992) Jack fruit 잎으로부터 glucosyltransferase inhibitor 물질의 분리 및 구조, 한국생약학회지, 25, 347-353
8. Kozai, K., Miyake, Y., Kohda, H., Kamataka, S., Yamasak, K., Suginakza, H. and Nagasaka, K. (1987) Inhibitor of glucosyltransferase from *Streptococcus mutans* by oleanolic acid and urosolic acid. Caries Res., 21, 104-108
9. 유영선, 박기문, 김영배 (1993) 생약재 및 향신료의 *Streptococcus mutans* 증식 억제효과. 한국산업미생물학회지, 21, 187-191
10. Kubo, I., Muroi, H. and Himejima, M. (1993) Antibacterial activity against *Streptococcus mutans* of mate tea flavor components. J. Agric. Food Chem., 41, 107-111
11. Kubo, I., Muroi, H. and Himejima, M. (1992) Antimicrobial activity of green tea flavor components their combination effect. J. Agric. Food Chem., 40, 245-248
12. Ooshima, T., Minami, T., Aono, W., Tamura, Y. and Hamada, S. (1994) Reduction of dental plaque deposition in humans by oolong tea extract. Caries Res., 28, 146-149
13. 박정순, 신용서 (1995) 황백추출물이 glucosyltransferase 및 치은세포의 활성과 *Streptococcus mutans* JC-2의 성장 및 세포막투과성에 미치는 영향. 대한구강보건학회지, 19, 447-456
14. 이윤수, 박헌주, 유계선, 박형환, 권익부, 이현용 (1998) 후박피(*Magnoliae bark*)로부터 항충치 활성을 갖는 물질의 분리. 한국식품과학회지, 30, 230-236
15. 정대인, 노재승, 장기완 (1996) 수종 flavonoids의 우식원 인균에 대한 항세균 효과. 대한구강보건학회지, 20, 189-202
16. Saeki, Y., Kato, T., Naito, Y., Takazoe, I. and Okuda, K. (1996) Inhibitory effects of furan on the adherence and colonization of *mutans streptococci*. Caries Res., 30, 119-125
17. 박정순, 신용서, 류일환, 이갑상 (2000) Aloe vera peel 추출물의 *Streptococcus mutans* JC-2에 대한 항균활성(I). 한국식품영양학회지, 13, 139-145
18. 이현옥, 이경희, 박남규, 정승일, 백승화, 한동민 (2000) 고삼의 *Streptococcus mutans*에 대한 항세균효과. 한국식품영양학회지, 13, 536-546
19. 최석철, 정진순 (1997) 봉선화추출물의 항균성에 관한 연구(I). 한국섬유공학회지, 34, 393-399
20. 정용진, 서지형, 이기동, 박난영, 최태호(1999) 2단계 발효에 의한 사과식초와 시판 사과식초의 품질비교. 한국식품영양과학회, 28, 353-358
21. 권승혁, 정은재, 이기동, 정용진 (2000) 2단계발효에 의한 과실식초 제조방법과 식초함유음료. 식품산업과 영양, 5, 18-24
22. 김옥미, 김미경, 이갑량, 김순동 (1998) 김치에서 분리한 *Lactobacillus plantarum*과 *Leuconostoc mesenteroides*에 대한 향신료 에탄올추출물의 선택적 항균효과. 한국산업미생물학회지, 26, 373-378
23. 김미정, 변명우, 장명숙 (1996) 대나무(신의대)잎의 생리활성 및 항균성 효과. 한국영양식량학회지, 25, 135-142
24. 강성구, 성낙계, 김용두, 이재근, 송보현, 김영환, 박석규 (1994) 갓(*Brassica juncea*)의 에탄올추출물이 미생물 생육에 미치는 영향. 한국영양식량학회지, 23, 1014-1019
25. ACS Symposium Series 507 (1992) Phenolic compounds in food and their effects on health II. American Chemical Society, Washington DC. pp. 160-161
26. Cary (1999) SAS. SAS/STAT User's Guide. Version 6. 4th ed. NC, USA

(접수 2003년 9월 21일, 채택 2003년 11월 21일)