

구강 내 세균에 대한 Essential oil의 항균효과에 관한 연구

이선영 · 김재곤 · 백병주 · 양연미 · 이경열 · 이용훈 · 김미아

전북대학교 치과대학 소아치과학교실 및 구강생체과학연구소

국문초록

Essential oil은 식물로부터 추출한 휘발성의 호지방성 화합물로서 essential oil은 잠재적으로 항균, 항진균, 진경련, 항말라리아성, 곤충퇴치능력 등의 생물학적 효과를 가지고 있다.

본 연구에서는 다양한 방향식물에서 추출한 Citral, Pineole, Linalool, Eugenol, Limonene, Pinene 등으로 구성된 다섯 종류의 essential oil을 사용하였으며, 여덟 균의 중요한 병원성 세균인 *Streptococcus mutans*(*S. mutans*), *Staphylococcus aureus*(*S. aureus*), *Streptococcus sanguis*(*S. sanguis*), *Streptococcus anginosus*(*S. anginosus*), *Actinobacillus actinomycetemcomitans*(*A. actinomycetemcomitans*), *Streptococcus sobrinus*(*S. sobrinus*), *Staphylococcus epidermidis*(*S. epidermidis*), *Escherichia coli* (*E. coli*)에 대한 저항성으로서 항균능력을 평가하였다.

Essential oil의 항균능력은 용액희석방법을 사용하여 검사하였으며, essential oil 농도범위는 10 mg/mL, 5 mg/mL, 2.5 mg/mL, 1.25 mg/mL, 0.625 mg/mL, 0.516 mg/mL, 0.3125 mg/mL, 0.078 mg/mL, 0.039 mg/mL, 그리고 0.015 mg/mL였다.

Essential oil은 용량 의존적으로 시험 균주의 성장을 효과적으로 억제하였으며, NM을 제외하고 R, LG, FR, O oil은 저농도에서 구강 병원성 미생물의 성장을 억제하였다. 또한 사용된 essential oil은 E.coli와 S. epidermidis의 성장에는 탁월한 억제효과를 보이지는 못했으나 구강 병원성 미생물에 대해서는 특별한 성장 억제효과를 나타냈다.

주요어 : Essential oil, 최소억제농도(MIC), 최소살균농도(MBC)

I. 서 론

21세기에 들어서면서 산업화, 서구화됨에 따른 생활습관의 변화로 점차 구강 관련 질환도 다양해지고, 심각한 사회문제 중 하나로 보고되고 있다. 최근 WHO의 치과질환에 관한 보고에 의하면 전 세계 성인의 60%가 치아우식과 치주질환을 겪고 있다고 한다¹⁾. 이러한 구강 내 질환은 대개 치면이나 치은 및 치은하방에 균집을 이루는 상주세균에 의한 감염질환들로서 사람의 구강 내에는 500종 이상의 세균이 상주하고 있으며, 치태에는 약 10⁸-10⁹ CFU/mg정도의 세균이 존재하는 것으로 보고되었다²⁾.

치주질환과 치아우식증으로 대표되는 구강 내 질환의 가장 중요한 요인은 구강 내 상주세균으로 구성된 치태라고 할 수 있는데, 치아우식증은 *Streptococcus mutans*나 *Streptococcus*

*sobrinus*와 같은 세균에 의해 발생되며, 치주질환과 관련된 주요 세균들로 *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*같은 그람 음성간균(bacilli)등이 치주질환의 시작과 진행에 연관되어 있다는 연구 등이 보고되었다^{3,4)}. 또한 최근 구강 내 질환 뿐 아니라 구강 내 세균들이 폐렴이나 심혈관질환 등의 전신질환과도 연관이 있는 것으로 보고되고 있다^{5,6)}.

치아 우식증은 구강세균에 의해 발생되어 치질의 파괴와 상실을 일으키는 질환이다. 치아의 법랑질 표면에 산을 생성하는 세균인 *Streptococcus mutans* 등이 당분을 영양분으로 하여 불용성 당단백막을 형성하고, 시간이 지남에 따라 세균막내의 높은 산도에 따라 무기질의 탈회가 일어나게 된다. 치아 우식증의 초기 병소에서는 무기질의 탈회와 침착이 가역적으로 발생하므로 탈회를 억제하고, 침착을 일으킬 수 있도록 조치를 한다

교신저자 : 김 재 곤

전북 전주시 덕진구 금암동 634-18 / 전북대학교 치과대학 소아치과학교실 / 063-250-2128 / pedodent@chonbuk.ac.kr

원고접수일: 2008년 7월 04일 / 원고최종수정일: 2008년 10월 16일 / 원고채택일: 2008년 11월 03일

면 우식증을 예방할 수 있으며, 이를 위하여 치아의 내산성을 증대시키거나 재석회화를 촉진시키는 방법과 함께 산을 생성하는 세균의 성장을 억제하는 방법 등이 있다⁷⁾.

미생물학적 관점에서 살펴본다면 우식을 일으키는 미생물이 치면에 정착하여 증식되는 것을 막고, 미생물들이 우식작용을 유발하기 위해 필수적인 기질의 공급을 가능한 한 억제하는 것이 최우선의 전략이라 할 수 있다. 이를 위해 치면세균막의 기계적 제거, 식생활의 개선을 포함하는 당분의 감소와 대체 감미료의 이용, 항균제 또는 치면세균막 억제제의 이용, 우식유발 미생물에 대한 백신의 개발 등의 방법이 추천되고 있다⁸⁻¹⁰⁾. 치아우식의 원인균인 *S. mutans*를 구강 세균총으로부터 제거하려는 시도는 계속되어 왔는데 Jarvinen 등¹¹⁾은 chlorhexidine이나 ampicillin, erythromycin, penicillin, tetracycline, vancomycin과 같은 항생제가 치아우식을 예방하는 데 효과적이라 하였다.

치주질환은 대부분 치면세균막 세균, 특히 치은열구 세균에 의해 발생하는 치주조직을 파괴하는 질환으로서, 치은염은 치아의 부착조직에는 영향을 주지 않고 치은에 국한된 염증을 일컫으며, 치주염은 부착조직과 치조골의 파괴를 동반하는 질환이다¹²⁾. 치주질환을 예방하기 위하여 치면세균막을 제거하는 것은 중요한데 치태를 기계적으로 제대로 제거한다 하더라도 세균은 남아 있게 된다. 이에 보조적으로 구강양치액을 사용함으로써 세균의 수를 감소시키는데 도움을 줄 수 있다는 많은 연구 결과들이 보고되고 있다.

Fine 등¹³⁾은 구강양치액을 사용하면 살균 효과뿐 아니라 치아표면에서 세균층의 형성을 방해하는 효과가 있다고 하였다. 클로르헥시딘(Chlorhexidine)은 세균의 세포막을 공격하여 세포 구성물의 누출이나 침전을 일으키고, 타액의 뮤신(mucin)과 결합하여 salivary pellicle 형성을 감소시켜 치태의 균집을 방해하며, 세균과 결합하여 세균이 치면에 흡착되는 것을 방해한다¹⁴⁾. 그러나 클로르헥시딘은 맛이 쓰고, 혀와 치아에 착색을 일으키며, 점막의 작열감을 일으키는 등의 부작용이 있으며 유기물이 있는 경우 그 효과가 크게 감소한다¹⁵⁾. 이러한 화학제제의 과도한 사용으로 인하여 구강 내 미생물총 뿐 아니라 장관 미생물총에도 혼란을 초래하여 다른 세균에 의한 감염, 구토나 설사 등의 원치 않는 부작용을 가져올 수 있다¹⁶⁾. 또한 *Sanguinaria canadensis*의 근경(rhizome)에서 분리된 sanguinarine이라는 알칼로이드가 구강 내의 다양한 세균에 넓은 항균범위를 가지고 있어 항우식효과를 가진 치약이나 구강양치액으로 이용되어 왔으나 sanguinarine이 구강 내 전암병소인 구강 백반증(oral leukoplakia)과 관련이 있음이 밝혀져 그 사용이 크게 감소하고 있다¹⁷⁾.

최근 이러한 문제점을 해결하고 약물의 부작용으로부터 안전하게 사용할 수 있는 구강치료제에 대한 관심이 고조되고 있으며, 특히 구강 내 세균에 대한 선택적 효과가 있는 차세대 항균 소재에 대한 연구 및 개발의 필요성이 더욱 요구되는 실정이다. 이에 치면세균막과 관련된 치아우식이나 치주질환 예방을 위한 천연물에 대한 관심이 고조되고 있으며, 항생제에 대한 내성이

증가함으로써 새로운 차세대 항생소재로서 천연항균물질에 대한 관심이 더욱 고조되고 있다¹⁸⁾.

Essential oil이란, 향기가 나는 식물에서 물리적으로 분리한 휘발성 물질을 일컫는다. 일반적으로 essential oil은 추출한 식물의 이름을 따서 명명하며 맛과 향기의 정수(精髓, essence)로 여겨 essential oil(精油)이라 불리어 왔다. 식물에서는 essential oil의 주된 역할은 고유한 꽃의 향기성분으로써 자연 선택적으로 특정 곤충을 유인하는 작용을 하며, 잎·나무·뿌리 등의 essential oil 성분은 식물에 기생하는 생물이나 외부 동물로부터 자신을 방어하는 수단으로 사용된다. 또한 식물에 상처가 생기면 함유수지를 분비함으로써 수액이 방출되는 것을 막고, 병균의 침입을 막는 보호막으로 작용하는 것으로 알려져 있으며, 주로 방향제(芳香劑)·화장품·향수·비누·세제·향신료 등으로 이용되고 있다¹⁹⁾.

최근 essential oil의 항균, 항염증, 항진균, 항바이러스 및 항암 효과 등에 대한 연구들이 발표되어 동물사료·살충제·치과용 상품 및 대체의약품 등으로 다양한 산업분야에 활용되고 있다²⁰⁻²²⁾. 연구에서는 구강에서 사용하기에 적합한 향기를 가진 식물성 essential oil을 선별하여 구강 내 세균에 대한 항균활성에 대해 알아보고자 하였다. Essential oil들의 혼합물로 구성된 R, LG, FR, O, NM 등 5종을 이용하여 essential oil의 항균제로서의 이용가치를 확인하고, 향후 효과적인 구강질환 치료제로서 활용될 수 있는 가능성을 제시하고자 한다.

II. 연구재료 및 방법

1. Essential oil

본 실험에서 사용한 essential oil은 다양한 방향성 식물에서 추출한 혼합조성물로 에코텍사(경기, 한국)제품으로서 essential oil의 성분의 원료 및 함량에 따라 조제된 5종의 essential oil을 사용하였다. 이들 essential oil의 원료로는 로즈마리(Rosemary-R), 레몬그라스(Lemon grass-LG), 꽃잎(Floral-FR), 오렌지(Orange-O) 그리고 님(Neem-NM) 등이며, 이들 혼합물의 주요 성분으로는 citral, pineole, linalool, eugenol, limonene, pinene 등이다(Fig. 1).

2. 사용균주

항균력의 평가를 위하여 사용된 균주는 인체의 구강에서 상존하여 다양한 구강질환을 야기하는 대표적인 7종의 병인균을 사용하였으며, 보건의표균으로서 *Escherichia coli*를 사용하였다(Table 1).

3. 사용배지 및 기구

실험 균주 배양에 사용한 배지는 Brain Heart Infusion(BHI : Difco, Detroit, USA)이며, 121℃에서 15분간 고압멸균하여 사용하였다. 혐기성 균주들은 37℃ anaerobic chamber(Coy Lab, USA)에서 혐기성 배양조건을 유지하여 배양하였으며, 그 외의 균주는 37℃, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다.

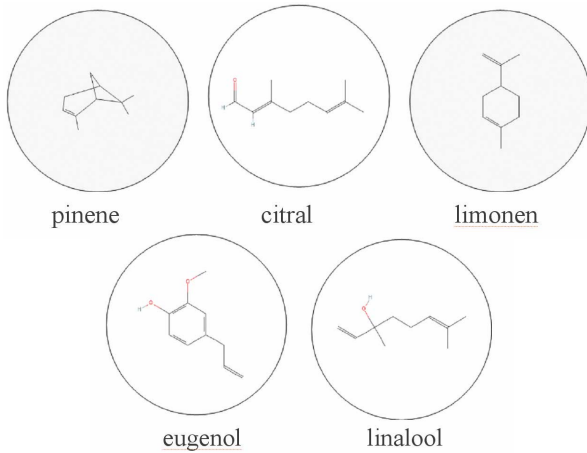


Fig. 1. Chemical structures of major components used several plant essential oils.

Table 1. List of microorganisms used for antibacterial activity test

| Bacterial strains | |
|-----------------------------------|------------|
| Gram positive bacteria | |
| <i>Streptococcus mutans</i> | GS-5 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | ATCC 29213 |
| <i>Streptococcus sanguis</i> | KCTC 3284 |
| <i>Streptococcus anginosus</i> | ATCC 33397 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | ATCC 12228 |
| <i>Streptococcus sobrinus</i> | KCTC 3308 |
| Gram negative bacteria | |
| <i>Actinobacillus</i> | ATCC 43717 |
| <i>actinomycetemcomitans</i> | |
| <i>Escherichia coli</i> | ATCC 25922 |

4. 균주배양 및 배양조건

사용한 모든 균주는 stock 균주를 2회 이상 계대 배양하여 실험에 사용하였다. 대상균주는 각각의 균주특성에 따라 최적성장시간동안 증식시킨 후 항균실험에 사용하였다. 실험과정은 무균상자 안에서 최단시간 처리하여 오염을 방지하고 혐기성 균주의 특성을 유지하도록 하였다. 24 well plate에 증균 배지 800 µl씩을 분주한 다음 미리 준비한 균배양액을 1×10⁷ cfu/ml이 되도록 100 µl씩 각 well에 접종한다. Essential oil의 농도는 stock oil을 액체희석법에 의해 준비하여 0.018, 0.039, 0.078, 0.156, 0.313, 0.625, 1.250, 2.500, 5.000, 10.000 mg/ml의 농도가 되도록 각각 100 µl씩 처리한 다음 37℃, anaerobic chamber 및 CO₂ incubator에서 배양하였다.

항균활성의 정도는 essential oil를 처리하지 않은 균과 essential oil을 농도별로 처리한 실험균을 동일한 배양조건에서 일정시간동안 배양하여 세균의 증식정도를 비교 관찰하였다.

5. 항균력 측정

1) Minimal Inhibitory Concentration (MIC) test

각 essential oil에 대한 항균력 측정은 액체배지희석법 (broth dilution method)을 이용하여 측정하였다. 각 essential oil의 처리농도는 최고농도 10 mg/ml에서부터 2배씩 희석하여 최저농도 0.018 mg/ml까지로 하였다.

Anaerobic chamber 및 CO₂ incubator에서 overnight 배양한 후 plate를 꺼내어 각각 well의 혼탁도를 육안으로 확인하였다. 이때 배지에 essential oil을 처리하지 않고, 세균만 접종한 well에서 보이는 혼탁정도에 비하여 essential oil을 농도별로 처리한 well 중 균의 성장이 억제되어 혼탁하지 않고 투명한 성상을 나타내는 경우 이때의 essential oil의 농도를 최소억제농도(MIC)로 정하였다.

2) Minimal Bactericidal Concentration (MBC) test

MIC로 판별된 essential oil 농도로부터 그 이상 농도에 해당하는 well의 배양액 100 µl씩을 고체배지에 직접 도말하였다. 37℃, anaerobic chamber 및 CO₂ incubator에서 overnight 배양한 후 plate 상에서 육안으로 관찰되는 colony 수를 직접 계수하였다. 이때 확인되어지는 colony 수가 액체배양액으로부터 접종한 초기 접종균수의 99.9%를 사멸시키는 효과를 나타내는 것으로 확인되었던 경우 이때의 essential oil 처리농도를 최소살균농도, MBC로 정하였다.

6. 통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복한 결과에 대하여 SPSS 프로그램 (v. 9.0)을 이용하여 통계처리 하였으며, 각 항목에 따라 평균과 표준오차를 구하고 분산분석으로 유의성을 검정하였다.

Ⅲ. 연구결과

치과관련균주 7종과 보건지표균 1종을 포함하여 총 8종의 공시균주에 대한 식물성 essential oil (R, LG, FR, O, NM 등 5종)의 항균효과를 측정된 결과, 실험에 사용한 대부분의 균주에 대해 R, LG, FR, O 4종의 essential oil은 처리농도가 증가할수록 균의 증식이 효과적으로 억제됨을 관찰할 수 있었다. 그러나 실험대상 균주에 따른 essential oil의 항균 활성정도는 oil의 종류별로 조금씩 다른 경향을 나타냈으며, NM oil은 모든 세균에 대해 항균효과를 나타내지 못하여 최소억제농도 및 최소살균농도를 관찰할 수 없었다(Table 2).

Table 2. Antibacterial effect of several plant essential oils

| | MIC (mg/ml) | | | | |
|-----------------------------------|-------------|-------|-------|-------|-----|
| | R | LG | FR | O | NM |
| <i>Streptococcus mutans</i> | 0.156 | 0.156 | 0.156 | 0.156 | (a) |
| GS-5 | | | | | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 1.250 | 0.625 | 0.625 | 1.250 | (a) |
| ATCC29213 | | | | | |
| <i>Streptococcus sanguis</i> | 0.156 | 0.078 | 0.078 | 0.156 | (a) |
| KCTC3284 | | | | | |
| <i>Streptococcus anginosus</i> | 0.156 | 0.156 | 0.156 | 0.313 | (a) |
| ATCC33397 | | | | | |
| <i>Actinobacillus</i> | 0.078 | 0.078 | 0.078 | 0.313 | (a) |
| <i>actinomycetemcomitans</i> | | | | | |
| ATCC43717 | | | | | |
| <i>Streptococcus sobrinus</i> | 0.156 | 0.156 | 0.078 | 0.313 | (a) |
| KCTC3308 | | | | | |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | (a) | 5 | (a) | 10 | (a) |
| ATCC12228 | | | | | |
| <i>Escherichia coli</i> | (a) | 5 | (a) | (a) | (a) |
| ATCC25922 | | | | | |

(a): No inhibition of growth.

1. Essential oil의 *Streptococcus mutans* 에 대한 항균 효과

치아우식 유발균으로 잘 알려져 있는 *Streptococcus mutans*에 대해 R, LG, FR, O oil 모두 최소억제농도(MIC)는 0.156 mg/ml이었다. 균 배양액을 직접 배지에 도말하여 colony 수를 계수하여 확인한 결과, R, LG, FR oil의 최소살균 농도(MBC)는 0.156 mg/ml로 확인되었고, O oil은 1.250 mg/ml에서 균을 사멸시키는 것을 확인할 수 있었다(Table 3)(Fig. 2).

Table 3. Effect of various concentrations of several plant essential oils on *Streptococcus mutans*

| Concentrations (mg/ml) | Inhibition of growth | | | | |
|------------------------|----------------------|----|----|---|----|
| | R | LG | FR | O | NM |
| 10,000 | - | - | - | - | + |
| 5,000 | - | - | - | - | + |
| 2,500 | - | - | - | - | + |
| 1,250 | - | - | - | - | + |
| 0.625 | - | - | - | - | + |
| 0.313 | - | - | - | - | + |
| 0.156 | - | - | - | - | + |
| 0.078 | + | + | + | + | + |

+, No inhibition of growth.

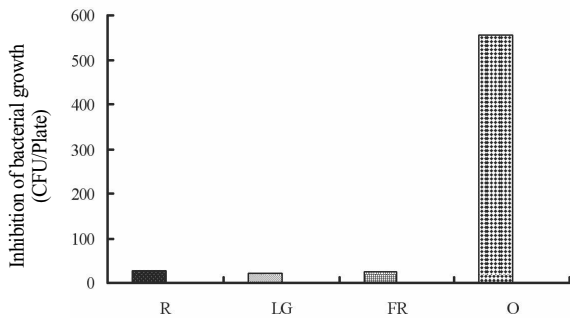
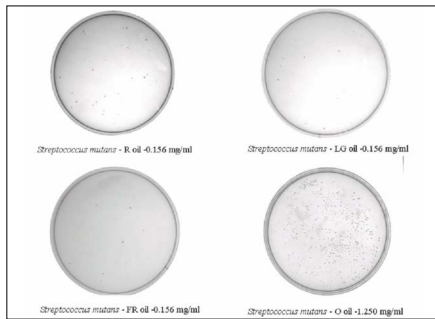


Fig. 2. Minimal bactericidal concentration for plant essential oils against *Streptococcus mutans*.

2. Essential oil의 *Staphylococcus aureus* 에 대한 항균 효과

그람양성균인 *Staphylococcus aureus*에 대해 essential oil을 처리한 결과 LG, FR oil의 최소억제농도(MIC)는 0.625 mg/ml이었고, R, O oil에 대해서는 1.250 mg/ml이었다. 각각

의 essential oil의 *Staphylococcus aureus*에 대한 최소살균 농도는 O oil은 1.250 mg/ml, LG oil은 2.500 mg/ml, FR 및 R oil은 5.000 mg/ml 으로 나타났다(Table 4)(Fig. 3).

Table 4. Effect of various concentrations of several plant essential oils on *Staphylococcus aureus*

| Concentrations (mg/ml) | Inhibition of growth | | | | |
|------------------------|----------------------|----|----|---|----|
| | R | LG | FR | O | NM |
| 10,000 | - | - | - | - | + |
| 5,000 | - | - | - | - | + |
| 2,500 | - | - | - | - | + |
| 1,250 | - | - | - | - | + |
| 0.625 | + | - | - | + | + |
| 0.313 | + | + | + | + | + |
| 0.156 | + | + | + | + | + |
| 0.078 | + | + | + | + | + |

+, No inhibition of growth.

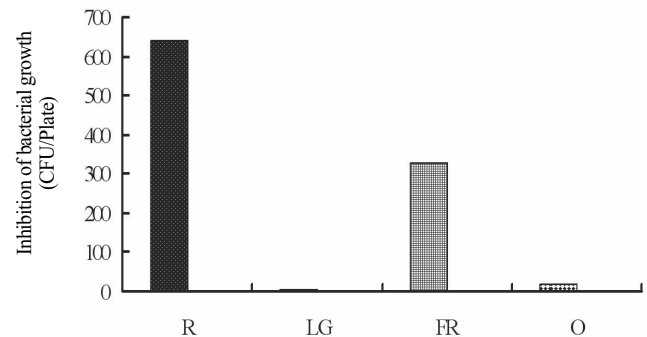
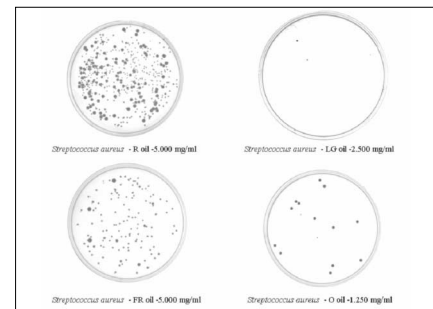


Fig. 3. Minimal bactericidal concentration for plant essential oils against *Staphylococcus aureus*.

3. Essential oil의 *Streptococcus sanguis* 에 대한 항균 효과

*Streptococcus sanguis*에 대해서 항균활성을 검사한 결과 LG, FR oil의 최소억제농도(MIC)는 0.078 mg/ml이었으며 LG oil은 0.156 mg/ml 에서, FR oil은 0.078 mg/ml에서 균을 사멸시킴을 확인할 후 있었다. R, O oil의 최소억제농도(MIC)는 0.156 mg/ml로 확인되었으며 최소살균농도(MBC)는 R oil은 0.156 mg/ml, O oil은 0.313 mg/ml로 나타났다 (Table 5)(Fig. 4).

Table 5. Effect of various concentrations of several plant essential oils on *Streptococcus sanguis*

| Concentrations (mg/ml) | Inhibition of growth | | | | |
|------------------------|----------------------|----|----|---|----|
| | R | LG | FR | O | NM |
| 10,000 | - | - | - | - | + |
| 5,000 | - | - | - | - | + |
| 2,500 | - | - | - | - | + |
| 1,250 | - | - | - | - | + |
| 0.625 | - | - | - | - | + |
| 0.313 | - | - | - | - | + |
| 0.156 | - | - | - | - | + |
| 0.078 | + | - | - | + | + |

+, No inhibition of growth.

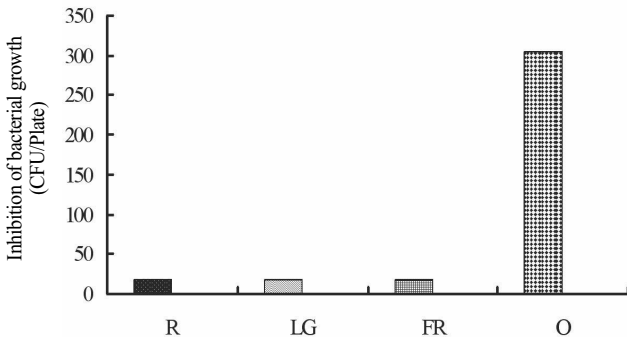
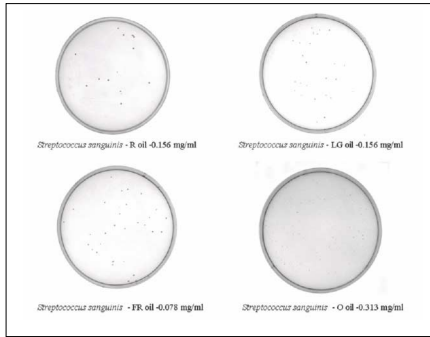


Fig. 4. Minimal bactericidal concentration for plant essential oils against *Streptococcus sanguis*.

4. Essential oil의 *Streptococcus anginosus* 에 대한 항균효과

그람양성균인 *Streptococcus anginosus* 에 대해 R, LG, FR oil의 최소억제농도(MIC)는 0.156 mg/ml였고, O oil의 최소억제농도는 0.313 mg/ml로 나타났다. R oil과 FR oil의 경우 최소살균농도(MBC)는 0.156 mg/ml, LG oil과 O oil은 각각 0.313 mg/ml, 0.625 mg/ml으로 나타났다(Table 6)(Fig. 5).

Table 6. Effect of various concentrations of several plant essential oils on *Streptococcus anginosus*

| Concentrations (mg/ml) | Inhibition of growth | | | | |
|------------------------|----------------------|----|----|---|----|
| | R | LG | FR | O | NM |
| 10,000 | - | - | - | - | + |
| 5,000 | - | - | - | - | + |
| 2,500 | - | - | - | - | + |
| 1,250 | - | - | - | - | + |
| 0.625 | - | - | - | - | + |
| 0.313 | - | - | - | - | + |
| 0.156 | - | - | - | + | + |
| 0.078 | + | + | + | + | + |

+, No inhibition of growth.

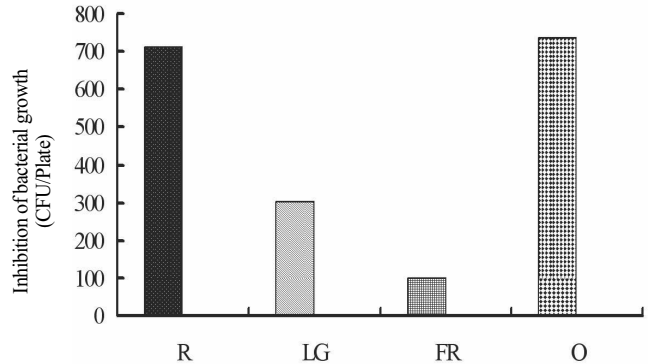
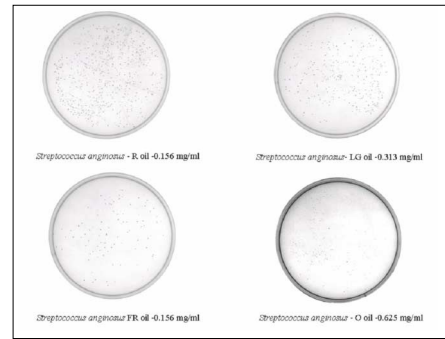


Fig. 5. Minimal bactericidal concentration for plant essential oils against *Streptococcus anginosus*

5. Essential oil의 *Actinobacillus actinomycetemcomitans*에 대한 항균효과

*Actinobacillus actinomycetemcomitans*에 대해서 R, LG, FR oil은 0.078 mg/ml가 최소억제농도(MIC) 및 최소살균농도(MBC)로 나타나 매우 낮은 농도에서부터 균의 성장을 억제할 뿐 아니라 효과적으로 균을 사멸시키는 것을 확인할 수 있었다. O oil에 대해서는 최소억제농도 및 최소살균농도가 0.313 mg/ml로 나타났으며, 고체 배지 배양결과 접종된 세균을 완전히 사멸시켜 colony를 확인할 수 없었다(Table 7) (Fig. 6).

Table 7. Effect of various concentrations of several plant essential oils on *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

| Concentrations (mg/ml) | Inhibition of growth | | | | |
|------------------------|----------------------|----|----|---|----|
| | R | LG | FR | O | NM |
| 10,000 | - | - | - | - | + |
| 5,000 | - | - | - | - | + |
| 2,500 | - | - | - | - | + |
| 1,250 | - | - | - | - | + |
| 0.625 | - | - | - | - | + |
| 0.313 | - | - | - | - | + |
| 0.156 | - | - | - | + | + |
| 0.078 | - | - | - | + | + |

+, No inhibition of growth.

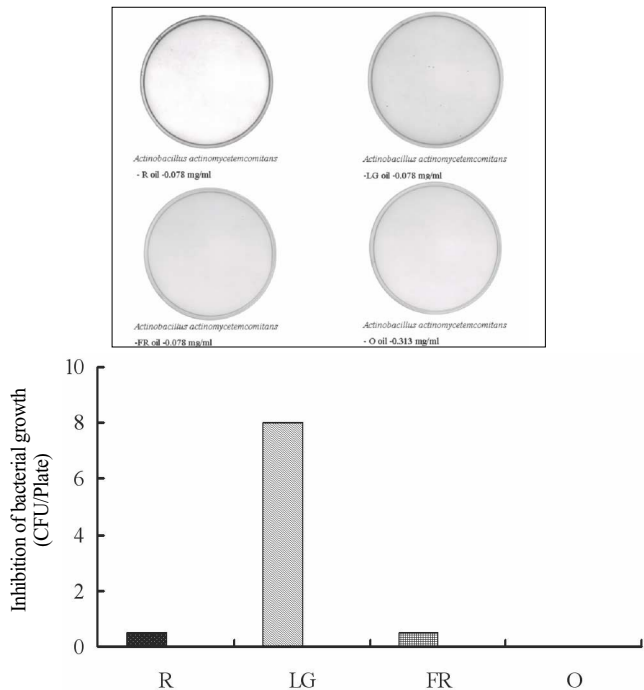


Fig. 6. Minimal bactericidal concentration for plant essential oils against *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

6. Essential oil의 *Streptococcus sobrinus* 에 대한 항균 효과

Streptococcus sobrinus 에 대해 essential oil을 처리한 결과, FR oil은 0.078 mg/ml에서 세균의 성장을 억제 및 사멸시킴을 관찰할 수 있었다. R oil과 LG oil은 0.156 mg/ml 농도에서 최소억제농도 및 최소살균농도를 보였으며, O oil은 0.313 mg/ml 농도에서 세균성장의 억제 및 사멸효과를 보였다(Table 8)(Fig. 7).

Table 8. Effect of various concentrations of several plant essential oils on *Streptococcus sobrinus*

| Concentrations (mg/ml) | Inhibition of growth | | | | |
|------------------------|----------------------|----|----|---|----|
| | R | LG | FR | O | NM |
| 10,000 | - | - | - | - | + |
| 5,000 | - | - | - | - | + |
| 2,500 | - | - | - | - | + |
| 1,250 | - | - | - | - | + |
| 0.625 | - | - | - | - | + |
| 0.313 | - | - | - | - | + |
| 0.156 | - | - | - | + | + |
| 0.078 | + | + | - | + | + |

+, No inhibition of growth.

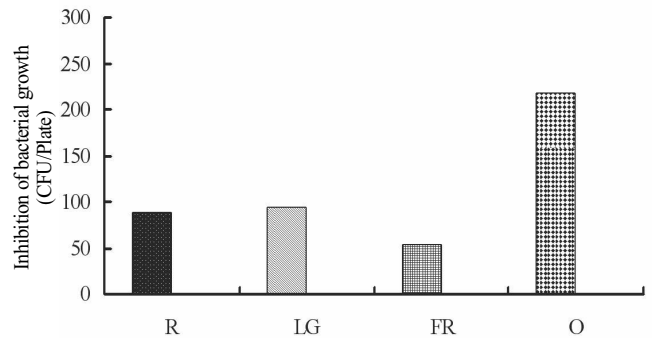
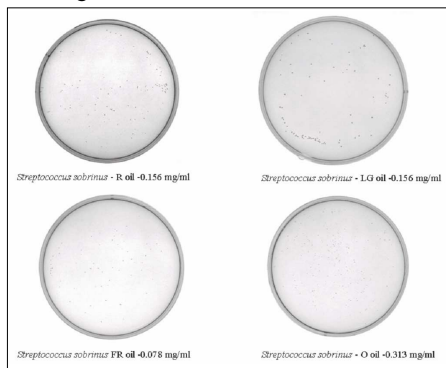


Fig. 7. Minimal bactericidal concentration for plant essential oils against *Streptococcus sobrinus*.

7. Essential oil의 *Staphylococcus epidermidis* 에 대한 항균효과

Staphylococcus epidermidis 에 대해서는 전반적으로 균의 증식을 억제시키지 못하는 것으로 나타났다. LG oil의 경우에 있어서 5 mg/ml에서 최소억제농도를 보였으며, 10 mg/ml 농도에서 균을 사멸시키는 효과를 확인할 수 있었다. O oil은 10 mg/ml에서 세균의 성장을 억제시켰으나 살균효과는 관찰할 수 없었다(Table 9)(Fig. 8).

Table 9. Effect of various concentration of several plant essential oils on *Staphylococcus epidermidis*

| Concentrations (mg/ml) | Inhibition of growth | | | | |
|------------------------|----------------------|----|----|---|----|
| | R | LG | FR | O | NM |
| 10,000 | + | - | + | - | + |
| 5,000 | + | - | + | + | + |
| 2,500 | + | + | + | + | + |
| 1,250 | + | + | + | + | + |
| 0.625 | + | + | + | + | + |
| 0.313 | + | + | + | + | + |
| 0.156 | + | + | + | + | + |
| 0.078 | + | + | + | + | + |

+, No inhibition of growth.

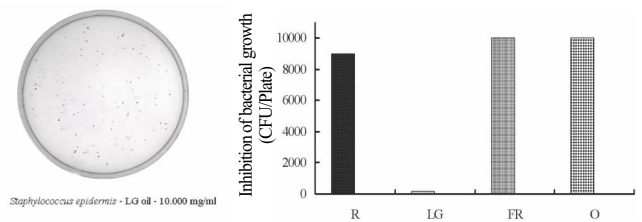


Fig. 8. Minimal bactericidal concentration for plant essential oils against *Staphylococcus epidermidis*.

8. Essential oil의 *Escherichia coli* 에 대한 항균효과

Escherichia coli 에 대해 essential oil을 처리한 결과, R, FR, O, NM oil 모두 항균효과를 나타내지 못했다. 그러나 LG oil 5 mg/ml 농도에서는 균을 완전히 사멸시켜 고배지에서 전혀 colony를 확인할 수 없었다(Table 10) (Fig. 9).

Table 10. Effect of various concentrations of several plant essential oils on *Escherichia coli*

| Concentrations (mg/ml) | Inhibition of growth | | | | |
|------------------------|----------------------|----|----|---|----|
| | R | LG | FR | O | NM |
| 10,000 | + | - | + | + | + |
| 5,000 | + | - | + | + | + |
| 2,500 | + | + | + | + | + |
| 1,250 | + | + | + | + | + |
| 0.625 | + | + | + | + | + |
| 0.313 | + | + | + | + | + |
| 0.156 | + | + | + | + | + |
| 0.078 | + | + | + | + | + |

+, No inhibition of growth.

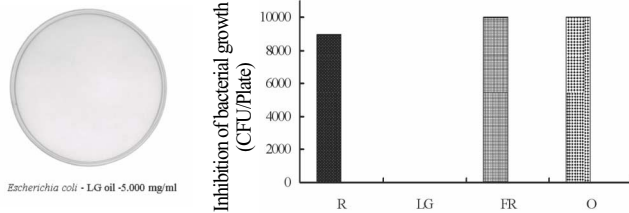


Fig. 9. Minimal bactericidal concentration for plant essential oils against *Escherichia coli*.

Table 11에는 실험균주에 대한 각 essential oil의 최소억제농도(MBC)를 정리하였다.

Table 11. List of Minimal Bactericidal Concentration(MBC) of several plant essential oils on tested bacteria

| | MBCs (mg/ml) | | | | |
|---|--------------|--------|-------|-------|-----|
| | R | LG | FR | O | NM |
| <i>Streptococcus mutans</i> GS-5 | 0.156 | 0.156 | 0.156 | 1.250 | (a) |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC29213 | 5.000 | 2.500 | 5.000 | 1.250 | (a) |
| <i>Streptococcus sanguis</i> KCTC3284 | 0.156 | 0.156 | 0.078 | 0.313 | (a) |
| <i>Streptococcus anginosus</i> ATCC33397 | 0.156 | 0.313 | 0.156 | 0.625 | (a) |
| <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> ATCC43717 | 0.078 | 0.078 | 0.078 | 0.313 | (a) |
| <i>Streptococcus sobrinus</i> KCTC3308 | 0.156 | 0.156 | 0.078 | 0.313 | (a) |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC12228 | (a) | 10.000 | (a) | (a) | (a) |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC25922 | (a) | 5.000 | (a) | (a) | (a) |

(a): No inhibition of growth.

IV. 고찰

구강은 다양한 미생물이 서식하는데 매우 용이한 환경을 제공함으로써 병원성 감염균주 및 상주균 등에 의한 구강질환 및 전신질환이 많이 발생하는 인체부위 중 하나이다. 이러한 구강 내 미생물의 생육조건을 조절함으로써 구강보건을 향상시키려는 방법이 다양하게 연구되고 개발되어 왔으나 최근 약물의 오용 및 남용과 원내 감염균에 대한 약제내성이 심각한 문제로 대두되면서 새로운 대체약물의 필요성이 대두되고 있다. 이에 본 연구는 천연 향균소재 중 방향성 식물에서 추출한 essential oil을 이용하여 구강관련균주 및 보건의료균에 대한 항균활성을

알아보고자 8종의 공시균주에 대하여 R, LG, FR, O, NM 5종의 essential oil을 처리하여 균의 증식에 미치는 효과에 대하여 알아보았다.

Essential oil 성분들은 세균의 세포벽을 파괴하고, 세포의 효소활성을 방해하여 세균을 사멸시키는 것으로 알려져 있다. 또한 essential oil은 치태의 초기 발생에 관여하는 그람 양성균들의 군집을 막고, 세균의 복제를 늦추며, 그람 음성균으로부터 내독소를 빼내 치태의 양을 감소시킴으로서 병원성을 감소시킨다고 보고된 바 있다^{23,24}. 본 연구에서 사용한 essential oil 역시 구강 내 미생물에 대하여 효과적인 항균작용을 가지고 있음이 확인되었다.

*Streptococcus mutans*는 1924년 Clark에 의해 사람의 치아우식병변에서 발견되어 명명된 그람양성균으로 단당류와 과당류를 분해하여 유기산을 생산하여 치아의 탈회를 유발, 치아우식을 발생시키는 균주이며 내산성으로 산성 환경에서 젖산을 활발히 생산하여 치아우식을 유발하는 주요 원인균으로 알려져 있다²⁵. 본 연구에서 essential oil은 *S. mutans*에 대해 NM을 제외한 R, LG, FR, O oil에서 우수한 성장억제양상을 나타냈다. 그 중 R, LG, FR 3종 oil은 처리농도 0.156 mg/ml에서, O oil은 1.250 mg/ml에서 미생물을 사멸시키는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 Neem(*Azadirachta indica*) chewing stick의 추출물이 *S. mutans*에 대해 증식억제효과가 있으며, 농도가 50%이상일 때에 효과적이었다는 Almas²⁵의 연구와 비교시 본 연구의 essential oil 혼합물은 *S. mutans*에 대해 매우 낮은 농도에서 우수한 살균효과를 보이는 것으로 나타났다.

포도상구균은 주로 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*)와 표피포도상구균(*Staphylococcus epidermidis*) 및 *Staphylococcus saprophyticus*로 분류된다. 황색포도상구균은 건강인의 비강, 인후의 점막이나 피부에 정상 미생물총으로 존재하며, 구강 내에서는 혀나 타액에 상주하여 기회감염을 통하여 국소 및 전신 감염을 유발하는 그람 양성균으로 이는 화농성 감염의 80%이상을 차지하고 병원 내 감염의 주요 원인균 중 하나로 알려져 있다²⁶. 특히 치과영역에서 황색포도상구균은 치과 치료 후의 심내막염과 균혈증에 의한 심장판막조직의 감염을 일으키는 것으로 보고된 바 있으며²⁷, 최근 광범위 항생제에 대한 내성문제로 더욱 관심을 가지게 된 균주이다²⁸. 표피포도상구균은 피부의 상주균으로 일반적으로 비병원성이나 구강질환 중 치주염, 치은염, 치근단농양, 근관 감염시에 발견되는 주요 포도상구균이다⁸. 최근에는 세균성 각막염(*infectious keratitis*)에 의한 실명의 주요 원인균으로 보고된바 있다²⁹.

본 연구에서 LG oil과 FR oil은 0.625 mg/ml 농도에서 *Staphylococcus aureus*의 성장을 억제시켰으며, 각각 2.500 mg/ml, 5.000 mg/ml에서 균을 사멸시키는 효과를 나타냈다. O oil은 1.250 mg/ml 농도에서 균을 사멸시키는 것을 확인할 수 있었으며, R oil은 5.000 mg/ml 농도에서 사멸시키는 효과를 확인할 수 있었다. 이러한 살균효과를 볼 때 항생제 내성으로 문제시 되고 있는 *Staphylococcus aureus*의 항생제 내성균

주에 대해서도 실험을 통해 우수한 살균효과를 보임을 밝힌다면 내성균주에 의한 감염의 치료에 효과적인 천연물로의 가능성을 기대할 수 있을 것이다.

피부 상주균이면서 구강 내 감염에서 발견되는 주요 포도상구균인 표피포도상구균(*Staphylococcus epidermidis*)에 대해서는 LG oil만 성장억제 및 살균효과를 보였다. 본 연구 결과로 볼 때 실험에 이용된 essential oil들은 표피포도상구균이나 대장균에 대해서는 그다지 항균효과를 보이지 않았으나 구강 내 세균에 대해 보다 특이적으로 항균효과를 보임으로서 구강 내 세균에 대한 유용한 항균 물질로 활용 가능성이 큼을 알 수 있다.

*Streptococcus sanguis*는 그람 양성의 연쇄구균의 일종으로 아급성 세균성 심내막염(subacute bacterial endocarditis) 환자의 혈액으로부터 분리되었기 때문에 최초에는 *streptococcus* SBE라 불리었다. 주로 치면세균막에서 높은 비율로 검출되며, 쥐를 이용한 동물실험에서 평활면 우식을 형성하는 능력은 보이지 않았고, *S. mutans*보다는 약하지만 열구우식을 일으킨다⁸⁾. 본 연구에서 FR oil은 *S. sanguis*에 대해 0.078 mg/ml 농도에서 MIC, MBC로 확인되어 매우 우수한 항균효과를 보였으며, 그 다음으로 LG, R oil은 모두 0.156 mg/ml 농도에서 균을 사멸시키는 것을 관찰할 수 있었다. O oil도 0.313 mg/ml 이상에서는 균을 사멸시키는 것으로 나타나 전반적으로 essential oil의 항균효과가 뛰어난 것으로 생각된다.

*Streptococcus anginosus*는 상기도 및 위장관, 비뇨생식도관(urogenital tracts)의 상주균으로 감염성 심내막염, 뇌농양(brain abscess), 간농양(liver abscess), 장관감염, 비뇨생식도관염(genitourinary tract infection) 등의 화농성 감염과 관련성이 보고되었으며³⁰⁾, 최근에는 *S. anginosus*가 구강편평세포암종, 식도암, 위암과도 깊은 관련이 있다는 연구가 보고되었다^{31,32)}. 5종의 essential oil 중 R, LG, FR oil 모두 0.156 mg/ml에서 MIC로 확인되었고, R, FR oil은 동일농도에서 균을 사멸시키는 우수한 효과를 보였다. LG 및 O oil도 각각 0.313 mg/ml, 0.625 mg/ml 농도에서는 균을 사멸시키는 효과를 확인할 수 있어 전반적으로 실험에 사용한 essential oil이 *S. anginosus*균에 대해 우수한 항균효과를 가지는 것으로 판단된다.

그람음성, 간상균으로 알려져 있는 *Actinobacillus actinomycetemcomitans*는 점착성이 강한 특성을 가진 균주로 치주질환 환자의 국소 미생물총중에 이 세균종이 증량하고 있는 사실을 발견한 이래 치주질환 원인균으로서 영구전치와 제1대구치의 치조골 파괴를 동반하는 국소적 유년형 치주염(Localized Juvenile Periodontitis: LJP)의 주 원인균으로 알려져 있다⁸⁾. *A. actinomycetemcomitans*에 대한 본 연구결과는 매우 우수한 항균효과를 나타냈다. R, LG, FR oil 모두 0.078 mg/ml 농도에서 균의 증식을 억제할 뿐 아니라 살균효과도 뛰어나 고체배지에 배양한 결과 몇 개의 콜로니만 확인되어 사용된 세균 중 가장 좋은 효과를 보였다고 할 수 있다. 또한 O oil도 0.313 mg/ml에서 균의 성장을 억제하고, 사멸시켰다. 따라서 NM

oil을 제외한 4종의 oil에 *A. actinomycetemcomitans*에 유용한 항균성분이 함유되어 있는 것으로 생각된다. Fine 등³³⁾은 구강 내 세균이 치면세균막이라고 하는 바이오필름을 형성하고 있음에 착안하여 *A. actinomycetemcomitans* 중 실험상에서 바이오필름을 형성하는 균주인 CU1000과 NJ4300와 이에 대한 플랑크톤형 변이균주인 CU1060과 NJ4350을 대상으로 몇몇 양치액에 대한 효과를 비교실험 한 결과, 플랑크톤 형태의 균주에 대해서는 모든 구강양치액이 이 세균을 99.99% 사멸시켰지만 바이오필름 형태의 균주에 대해서는 그 효과가 모두 떨어지며 양치액의 종류에 따라 많은 차이가 있었음을 보고하여 양치액의 활성이 바이오필름에 의해 크게 영향을 받는다는 사실을 보고하였다. 따라서 본 연구에서 사용된 essential oil이 구강 내의 치면 세균막 속에 포함되어있는 *A. actinomycetemcomitans*에 대해 미치는 효과에 관해 지속적인 연구가 수행되어 유용한 결과가 제시된다면 앞으로 치주질환 치료에 활용할 수 있는 우수한 항균물질이 될 수 있을 것으로 생각된다.

*Streptococcus sobrinus*는 *mutans streptococci*의 일종으로 *S. mutans*와 함께 중요한 치아우식증을 유발하는 균주이다³⁴⁾. 일부 *S. sobrinus*가 *S. mutans*보다 산의 생산능력이 뛰어나다는 연구결과가 보고된 바 있으며³⁵⁾, *S. mutans*만 존재하는 경우보다 *S. mutans*와 *S. sobrinus*가 같이 공존하는 경우 확연하게 높은 치아우식 발생을 보였다고 하였다³⁶⁾. *S. sobrinus*에 대한 항균력은 FR oil이 0.078 mg/ml 농도에서 균을 사멸시키는 것으로 나타나 5종의 essential oil 중 가장 뛰어난 효과를 나타냈으며, R, LG, O oil도 우수한 항균효과를 보였다. R, LG, FR oil 등은 0.156 mg/mL 농도에서 *S. mutans*를 사멸시키는 효과를 보일 뿐 아니라 *S. sobrinus*에도 우수한 항균작용을 나타냄으로서 치아우식 유발억제를 위한 활용이 매우 클 수 있음을 알 수 있었다.

*E. coli*는 사람 장관에 상주하는 그람 음성균으로 보통은 병원성이 없으나 유아설사증, 세균성 식중독의 원인이 되기도 하는데 이를 병원성대장균(enteropathogenic *E. coli*)이라고 한다. 이러한 대장균은 장관 상주균으로 음용수 및 식품 중에 이 균주가 확인되는 경우 사람의 분변으로 인한 오염으로 간주되며, 이는 다른 장관감염증 원인균에 의한 오염의 간접적 증명으로 위생학상 중요한 오염지표균이다⁸⁾. 본 연구에서 사용한 essential oil은 치과관련 균주들에 대한 항균효과와는 달리 *E. coli*에 대해서는 그다지 효과적이지는 않았다. 다만, LG oil의 경우 처리농도 5.000 mg/ml 이상에서 균을 사멸시키는 효과를 보였다.

본 연구에서 사용한 essential oil에 대해 최소살균농도에서 확인되어진 결과에 의하면, 8종의 공시균주 중 *A. actinomycetemcomitans* 균주에 대해 가장 우수한 항균효과를 나타냈으며, 다음으로 *S. sanguis* 및 *S. sobrinus*에 대해 우수한 항균효과를 나타내었다. 또한 *S. mutans*, *S. anginosus*, *S. aureus*에 대해서도 유의적으로 균을 사멸시키는 것으로 보아 essential oil이 비병원성 균주보다는 병원성 균주에 대해 우수

한 항균효과를 나타내었고 치과관련 균주에 대해 유용한 항균 활성을 나타내었다.

Shapiro 등³⁷⁾은 다양한 단일 식물로부터 추출한 essential oil 성분을 이용하여 구강 내 세균에 대한 항균효과를 검정한 연구에서 oil의 종류에 따라 항균효과 유무가 다양하게 나타났으며, oil의 구성성분 중 thymol과 eugenol이 강력한 항균효과를 가짐을 보고하였다. 또 Botelho 등³⁸⁾은 *Lippia sidoides*의 잎에서 추출한 essential oil과 성분을 이용하여 치아우식 유발균주에 대한 항균효과를 조사하여 oil자체와 oil의 주요 성분인 thymol과 carvacrol이 우수한 항균효과를 보임을 보고한 바 있다. 본 연구에서는 essential oil 중 NM oil을 제외하고 나머지 모든 essential oil에서 항균효과를 나타냈으며, 낮은 농도에서 반응하였는데 이는 실험에 이용된 oil이 단일 식물에서 추출된 것이 아니라 여러 식물에서 추출된 essential oil들의 혼합물로 구성되어 그 구성 성분들이 시너지효과를 보인 결과로 생각된다.

본 연구결과를 바탕으로 향후 다양한 형태의 임상적 연구가 진행된다면 구강 내 감염질환의 예방 및 치료를 위한 essential oil 제재들이 개발되어 널리 활용될 수 있을 것이다.

V. 결 론

본 연구에 사용한 essential oil은 5종의 R, LG, FR, O, NM으로서 8종의 중요한 병원성 세균에 대한 항균능력을 최소 억제농도(MIC)와 최소살균농도 (MBC)로서 평가한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. *S. mutans*, *S. aureus*, *S. sanguis*, *S. anginosus*, *A. actinomycetemcomitans*, *S. sobrinus*에 대해 R, LG, FR, O oil에서 특정농도 이상에서 농도가 높아질수록 세균의 증식을 억제 및 사멸시켰다. 각각의 세균에 대해 MBC가 낮은 순으로 essential oil을 나열하면 다음과 같다.
S. mutans : R, LG, FR > O
S. aureus : O > LG > R, FR
S. sanguis : FR > R, LG > O
S. anginosus : R, FR > LG > O
A. actinomycetemcomitans : R, LG, FR > O
S. sobrinus : FR > R, LG > O
2. *S. epidermidis*에 대해 LG oil은 10 mg/ml 이상의 농도에서 세균을 사멸시켰으나 나머지 4종의 oil은 *S. epidermidis*에 대한 항균효과가 나타나지 않았다.
3. *E. coli*에 대해 LG oil 5 mg/mL 농도 이상에서 세균을 사멸시키는 효과를 보였으나 나머지 4종의 oil은 항균효과가 관찰되지 않았다.
4. 사용한 NM oil은 실험에 이용된 모든 균주에 대한 항균효과가 나타나지 않았다.

참고문헌

1. Petersen PE : Challenges to improvement of oral health in the 21st century—the approach of the WHO Global Oral Health programme. *Int Dent J*, 54:329-343, 2004.
2. Rosan B, Lamont RJ : Dental plaque formation. *Microbes Infect*, 2: 1599-1607, 2000.
3. Botelho MA, Nogueira NA, Bastos GM, *et al.* : Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. *Braz J Med Biol Res*, 40:349-356, 2007.
4. Takarada K, Kimizuka R, Takahashi N, *et al.* : A comparison of the antibacterial efficacies of essential oils against oral pathogens. *Oral Microbiol Immunol*, 19:61-64, 2004.
5. Beck J, Garcia R, Heiss G, *et al.* : Periodontal disease and cardiovascular disease. *J Periodontol*, 67:1123-1137, 1996.
6. Li X, Kolltveit KM, Tronstad L, *et al.* : Systemic diseases caused by oral infection. *Clin Microbiol Rev*, 13:547-558, 2000.
7. Newbrun E : Cariology. *Quintessence*, 357-375, 1989.
8. 김강주, 이갑상, 박정순 등 : 치학 미생물학. 대학사, 215-284, 2000.
9. 서정아, 김재곤, 백병주 등 : Chlorohexidine과 fluoride 성분의 varnish가 타액내 *mutans streptococci* 수에 미치는 효과. *대한소아치과학회지*, 31:579-586, 2004.
10. 김수경, 김재곤, 백병주 등 : *Streptococcus mutans* GS-5 Glucosyltransferase의 클로닝과 발현. *대한소아치과학회지*, 35:73-82, 2008.
11. Jarvinen H, Tenovuo J, Huovinen P : In vitro susceptibility of *Streptococcus mutans* to chlorhexidine and six other antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother*, 37:1158-1159, 1993.
12. Slots J, Taubman MA : Contemporary oral microbiology and immunology. *Mosby*, 377-443, 1992.
13. Fine DH, Furgang D, Lieb R, *et al.* : Effects of sublethal exposure to an antiseptic mouth rinse on representative plaque bacteria. *J Clin Periodont*, 23:444-451, 1996.
14. Fine DH : Mouthrinses as adjuncts for plaque and gingivitis management. A status report for the American Journal of Dentistry. *Am J Dent*, 1:259-263, 1988.
15. Wolff LF : Chemotherapeutic agents in the prevention and treatment of periodontal disease. *Northwest*

- Dentistry, 64:15-24, 1985.
16. Filoche SK, Soma K, Sissons CH : Antimicrobial effects of essential oils in combination with chlorhexidine digluconate. *Oral Microbiol Immunol*, 20:221-225, 2005.
 17. Chung JY, Choo JH, Lee MH, *et al.* : Anticariogenic activity of macelignan isolated from *Myristica fragrans*(nutmeg) against *Streptococcus mutans*. *Phytomedicine*, 13:261-266, 2006.
 18. Pai MR, Acharya LD, Udupa N : Evaluation of antiplaque activity of *Azadirachta indica* leaf extract gel - a 6-week clinical study. *J Ethnopharmacol*, 90:99-103, 2004.
 19. Schmidt E, Jirovetz L, Buchbauer G, *et al.* : Antimicrobial testing and gas chromatographic analysis of aroma chemicals. *J Essential Oil Bearing Plants*, 8:99-106, 2005.
 20. Dadalioglu I, Evrendilek G : Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. *J Agric Food Chem*, 52:8255-8260, 2004.
 21. Nguefack J, Budde B, Jakobsen M : Five essential oils from aromatic plants of Cameroon: their antibacterial activity and ability to permeabilize the cytoplasmic membrane of *Listeria innocua* examined by flow cytometry. *Lett Appl Microbiol*, 39:395-400, 2004.
 22. Holmes C, Hopkins V, Hensford C, *et al.* : Lavender oil as a treatment for agitated behaviour in severe dementia : a placebo controlled study. *Int J Geriatr Psychiatry*, 17:305-308, 2002.
 23. Ouhayoun JP : Penetrating the plaque biofilm: impact of essential oil mouth wash. *J Clin Periodontol*, 30:10-12, 2003.
 24. Alviano WS, Mendonca-Filho RR, Alviano DS, *et al.* : Antimicrobial activity of Croton cajucara Benth linalool-rich essential oil on artificial biofilms and planktonic microorganisms. *Oral Microbiol Immunol*, 20:101-105, 2005.
 25. Almas A : Antimicrobial effects of extracts of *Azadirachta indica*(Neem) and *Salvadora persia*(Arak) chewing sticks. *Indian J Dent Res*, 10:23-26, 1999.
 26. You YO, Kim KJ, Min BM, *et al.* : *Staphylococcus lugdunensis*-a potential pathogen in oral infection. *Oral Surg Oral Medi Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 88:297-302, 1999.
 27. Etienne J, Fleurette J, Ninet JF, *et al.* : Staphylococcal endocarditis after dental extraction. *Lancet* 2:511-512, 1986.
 28. Dryden M, Dailly S, Crouch M : A randomized, controlled trial of tea tree topical preparations versus a standard topical regimen for the clearance of MRSA colonization. *J Hosp Infect*, 56:283-286, 2004.
 29. Nayak N, Nag TC, Satpathy G, *et al.* : Ultra structural analysis of slime positive & slime negative *Staphylococcus epidermidis* isolates in *infectious keratitis*. *Indian J Med Res*, 125:767-771, 2007.
 30. Whiley RA, Beighton D, Winstanley TG, *et al.* : *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus constellatus*, and *Streptococcus anginosus* (the *Streptococcus milleri* group): association with different body sites and clinical infections. *J Clin Microbiol*, 30:243-244, 1992.
 31. Sasaki M, Yamaura C, Ohara-Nemoto Y, *et al.* : *Streptococcus anginosus* infection in oral cancer and its infection route. *Oral Dis*, 11:151-156, 2005.
 32. Shiga K, Tateda M, Saijo S, *et al.* : Presence of *Streptococcus* infection in extra-oropharyngeal head and neck squamous cell carcinoma and its implication in carcinogenesis. *Oncol Rep*, 8:245-248, 2001.
 33. Fine DH, Furgang D, Barnett ML : Comparative antimicrobial activities of antiseptic mouthrinses against isogenic planktonic and biofilm forms of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Periodontol*, 28:697-700, 2001.
 34. Loesche WJ : Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol. Rev* 50:353-380, 1986.
 35. de Soet JJ, Toors FA, de Graaff J : Acidogenesis by oral streptococci at different pH values. *Caries Res*, 23:14-17, 1989.
 36. Okada M, Soda Y, Hayashi F, *et al.* : PCR detection of *Streptococcus mutans* and *S. sobrinus* in dental plaque samples from Japanese pre-school children. *J Med Microbiol*, 51:443-447, 2002.
 37. Shapiro S, Meier A, Guggenheim B : The antimicrobial activity of essential oils and essential oil components towards oral bacteria. *Oral Microbiol Immunol*, 9:202-208, 1994.

Abstract

ANTIMICROBIAL EFFECT OF ESSENTIAL OILS ON ORAL BACTERIA

Sun-Young Lee, Jae-Gon Kim, Byeong-Ju Baik, Yeon-Mi Yang, Kyung-Yeol Lee, Yong-Hoon Lee, Mi-A Kim

Department of Pediatric Dentistry and Institute of Oral Bioscience, School of Dentistry, Chonbuk National University

Essential oils are mixture of volatile, lipophilic compounds originating from plants. Essential oils have potential biological effects, i.e., antibacterial, antifungal, spasmolytic and antiparasitic activities and insect-repellent property. In this study, five essential oils, namely R, LG, FR, O, and NM, extracted from various aromatic plants were used to test their antimicrobial activity against the oral microorganisms. The effects of essential oils were investigated against eight important bacteria, *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Streptococcus sanguis* (*S. sanguis*), *Streptococcus anginosus* (*S. anginosus*), *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*), *Streptococcus sobrinus* (*S. sobrinus*), *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*), and *Escherichia coli* (*E. coli*).

Essential oils, except NM, effectively inhibited the growth of tested oral pathogenic microorganisms dose-dependently. However, the essential oils didn't show a significant inhibitory effect against *E. coli* and *S. epidermidis*. Consequently, these results represented that essential oil-mediated anti-microbial activity was prominent against the oral pathogenic bacteria. For example, minimum bactericidal concentration(MBC) of R, LG, FR oil against *A. actinomycetemcomitans* was very low as 0.078 mg/mL. In addition, minimum inhibitory concentration (MIC) of R, LG, FR, O oil against *S. mutans* was low as 0.156 mg/mL in vitro.

Key words : Essential oil, Minimal Inhibitory Concentration(MIC), Minimal Bactericidal Concentration(MBC)