

연잎과 민들레 추출물에 의한 *S. mutans* 성장억제 효과

최보람¹, 조다영¹, 차소영¹, 최민지¹, 정혜원¹, 강경희^{1*}
¹건양대학교 치위생학과

The Effect on Growth Inhibition of *S. mutans* by Lotus Leaf and Dandelion Extracts

Bo-ram Chi¹, Da-young Jo¹, So-young Cha¹, Min-ji Chi¹, Hye-won Jeong¹
and Kyung-hee Kang^{1*}

¹Dept. of Dental Hygiene, Konyang University

요 약 최근에 연잎과 민들레 추출물의 약리작용에 대한 연구가 활발하게 이루어져 항산화작용, 항알레르기효과, 항균작용, 항암활성 등에 관한 연구가 보고되고 있다. 이에 본 연구에서는 colony forming unit와 흡광도를 측정하여 연잎과 민들레 추출물이 *S. mutans*에 미치는 성장억제효과를 연구하였다. 추출물의 첨가에 따른 *S. mutans*의 성장억제율을 측정된 결과, 추출물의 농도가 높아질수록 *S. mutans*의 성장억제율도 높아지는 결과를 얻었다. 이로써 연잎과 민들레 추출물은 *S. mutans*의 성장을 억제하는 항균효과를 가지고 있음을 본 연구에서 확인 할 수 있었다.

Abstract Results regarding the anti-oxidative, anti-allergic, anti-bacterial and anti-cancer effects of lotus leaf and dandelion have been reported through active research on the medical effects of medicine prepared from crude drugs. This paper aimed to examine the anti-bacterial effect of lotus leaf and dandelion extracts on *S. mutans* by evaluating the colony forming unit and growth curve. In accordance with the growth inhibition rate of *S. mutans* according to the addition of lotus leaf and dandelion extracts, the higher the extract concentration was, the higher the growth inhibition rate of *S. mutans* was. This paper therefore verifies that lotus leaf and dandelion extracts have an effect in inhibiting the growth of *S. mutans*.

Key Words : Lotus Leaf, Dandelion, *S. mutans*, Anti-bacterial Effect

1. 서론

치태 내 세균, 타액, 음식물의 상호작용에 의하여 유발되는 치아우식증은 가장 대표적인 구강질환으로[1], 구강 내에 상주하는 세균에 의해 치아의 경조직이 탈회되어 발생한다[2]. *S. mutans*는 치아우식증의 주 원인균으로 알려져 있으며[3] 치아 면에 부착, 증식하며 젖산을 생성하여 치아우식증을 유발한다[4]. 또한 *S. mutans*는 치면의 획득피막에 부착되어 불용성 glucan을 생성하는데 이때 생성된 glucan은 세균들이 치아에 쉽게 결합할 수 있도록 도와 *S. mutans*가 산을 생성하여 치질을 탈회시키고 최종적으로 치아 우식증이 유발되도록 한다[5].

최근에는 이러한 치아우식증을 예방하기 위한 연구로

이미 민간에서 다양한 목적으로 사용되어 인체에 대한 안정성이 검증된 생약제제를 이용한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 생약제제와 구강 관련 선행연구로는 소목[6], 오이풀[7], 호장근[8], 마와 꿀풀[9] 등이 보고된 바 있다.

생약제제 중에서 연(Nelumbo nucifera)은 수련과의 쌍떡잎식물로서 북호주, 일본 등에 널리 분포하는 식물로서 한국의 곳곳의 연못에서 볼 수 있는데, 논밭에서 재배되기도 한다[10]. 연잎은 주로 건조된 형태로 쓰이며, 성질은 유하고 맛이 쓰며 예로부터 출혈성위궤양이나 위염, 출혈, 설사, 치질, 두통과 어지럼증에 효과가 있으며 각종 독성물질의 중화작용으로 해독작용 등에 쓰여 민간치료 재료로 이용되어 왔다[11]. Rai 등[12]은 연씨의 항산화

*교신저자 : 강경희(dhkhkang@konyang.ac.kr)

접수일 11년 10월 28일 수정일 (1차 11년 11월 14일, 2차 11년 12월 02일, 3차 11년 12월 12일) 게재확정일 11년 12월 13일

효과를 발표하였고, Onoa 등[13]은 연잎 추출물을 먹인 mouse와 rat의 지방세포 증식 억제효과를 보고하였으며 김 등[14]은 연잎이 혈중, 간조직중의 콜레스테롤을 감소 시킴으로써 고지혈증을 억제한다고 보고하였다. 하지만 이러한 효능에도 불구하고 아직 연에 관한 연구는 대부분이 초기 단계이며 이마저 대부분 연씨와 연뿌리에 대한 연구가 주를 이루고 있다.

민들레는 국화과에 속하는 다년생 초본으로 4~5월에 노란색의 꽃을 피우며 뿌리에서 잎이 나와 비스듬히 자라며 전국곳곳에 야생하는 식물이다. 예로부터 뿌리와 어린순을 국과 나물, 영양 강장식으로 식용하였고 건위, 이뇨, 천식, 해열, 강장, 부인병 등에 사용되어왔다. 최근에는 항위염효과, 항산화작용, 항알레르기효과, 항균작용, 항암활성 등에 관한 연구가 보고되고 있으며[15,16], 민들레가 장내균총을 개선시키고, 항당뇨 작용으로 혈당강하 효과도 보고 된 바 있다[17]. 그러나 민들레는 다양한 개발 가능성을 지닌 유용식물자원으로, 널리 알려진 효능에도 불구하고 다양한 가능성을 활용하지 못하고 있는 실정이다.

이처럼, 연과 민들레는 민간에서 치료제로 사용되어져 왔으며 차와 술 등으로 지금까지도 응용되고 있지만 아직까지 연구가 매우 미비한 실정이며 구강세균과 관련된 연구는 거의 보고된 바가 없다. 이에 본 연구에서는 연잎과, 민들레의 추출물이 치아우식 원인균인 *S. mutans*에 미치는 항균효과를 검증하고 항균, 항우식효과의 잠재성을 연구하고자 하였다.

2. 연구방법

2.1 추출물 준비

연구 재료는 국내산 100% 민들레분말, 연잎분말을 구입하여 사용하였다. 각각의 분말 60 g과 methanol 600 ml을 혼합하여 상온에서 24시간동안 보관한 후에 초음파를 1시간동안 가해준 뒤 vacuum여과기를 통과시켰다. 여과된 추출물을 감압농축기를 이용하여 농축된 각각의 메탄올추출물을 얻었다. 추출물은 250 mg/ml의 농도로 증류수에 희석한 상태로 냉장 보관하여 사용하였다[18].

2.2 사용균주

S. mutans KCTC 3065를 분양받아 Brain Heart Infusion (BHI, Difco, USA) 액체배지에 접종하여 37°C 배양기에서 12시간 배양하여 사용하였다.

2.3 추출물의 농도에 따른 흡광도의 측정

추출물을 1, 2, 3 mg/ml 농도로 실험군 BHI 액체배지 5 ml에 각각 첨가하였고 대조군에는 추출물을 첨가하지 않았다. 각각의 배지에 1회 계대 배양시킨 *S. mutans* 균주를 25 µl씩 접종하여 37°C 배양하면서 3, 6, 9시간 간격으로 Sampling 하여 흡광도 값을 측정하였다. 흡광도는 BIOMATE 3S를 이용하여 분광광도계에서 600nm로 측정하였다.

2.4 추출물의 농도에 따른 시간별 집락수

추출물을 1, 2, 3 mg/ml의 농도로 실험군 BHI 액체배지 5 ml에 각각 첨가하였고 대조군에는 추출물을 첨가하지 않았다. 각각의 배지에 1회 계대 배양시킨 *S. mutans* 균주를 25 µl씩 접종하였다. 접종 후 37°C 배양기에서 배양하면서 5, 10시간 간격으로 100 µl씩 Sampling 하여 멸균증류수에 10⁻⁶배로 희석한 후 agar plate에 접종하였다. 그 후 37°C에서 3일 동안 배양 후 추출물의 농도에 따른 시간별 집락수(Colony Forming Unit, 이하 CFU)를 측정하였다. 추출물에 의한 *S. mutans*의 성장 억제율은 다음 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{억제율(\%)} = (\text{대조군의 세균수} - \text{추출물함유군의 세균수}) \times 100 / \text{대조군의 세균수}$$

2.5 통계처리

통계처리는 SPSSWIN(Ver 17.0) 통계프로그램을 이용하였고, 대조군과 실험군의 각 평균값에 대한 유의성 검증은 Student's t-test를 실시하였다.

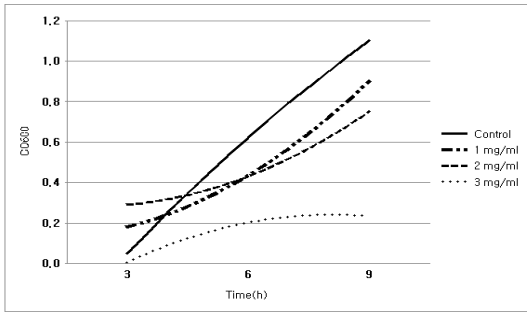
3. 연구결과 및 고찰

3.1 추출물의 농도에 따른 균주의 성장곡선

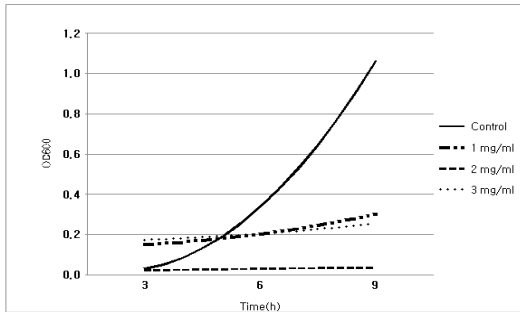
추출물을 1, 2, 3 mg/ml의 농도로 BHI 액체배지에 첨가하여 배양하며 시간에 따라 흡광도를 측정 한 결과이다. 연잎의 경우, *S. mutans*균을 최종 9시간까지 배양한 결과 대조군에서는 흡광도가 1.1이었고 1, 2, 3 mg/ml의 추출물에서 각각 0.90, 0.75, 0.23의 값을 나타내었다. 대조군의 흡광도 값에 비교 했을 때 실험군의 흡광도 값이 많이 감소한 것을 관찰할 수 있었으며 또한 첨가된 연잎 추출물의 농도가 증가할수록 균의 성장이 억제되는 것을 관찰 할 수 있었다[그림 1]. 이는 연잎추출물이 *S. mutans* 균에 대하여 항균효과가 있음을 나타낸다.

민들레의 경우, *S. mutans*균을 최종 9시간까지 배양한

결과 대조군에서는 흡광도가 1.06이었고, 1, 2, 3 mg/ml의 추출물에서 0.30, 0.03, 0.25의 값을 나타내었다. 대조군의 흡광도 값에 비교 했을 때 실험군의 흡광도 값이 급격한 차이를 나타내며 감소한 것을 관찰할 수 있었다(그림 2). 이는 민들레추출물이 *S. mutans*균에 대하여 항균 효과가 있음을 나타낸다.



[그림 1] 연잎 추출물의 농도에 따른 *S. mutans*의 성장곡선
[Fig. 1] Growth curve of *S. mutans* cultured at different concentration of Lotus leaf extracts



[그림 2] 민들레 추출물의 농도에 따른 *S. mutans*의 성장곡선
[Fig. 2] Growth curve of *S. mutans* cultured at different concentration of Dandelion extracts

3.2 추출물의 농도에 따른 시간별 집락수

연잎 추출물의 농도를 다르게 하여 BHI 액체배지에서 시간에 따라 배양 한 다음, 멸균증류수에 10^6 배로 희석하여 agar plate에 접종 후, 균주의 성장 억제 효과를 알아보았다. CFU와 성장억제율을 측정한 결과, 대조군에 대하여 각의 실험군은 유의한 변화를 나타냈다($p < 0.05$). 추출물의 농도가 높을수록 colony의 수가 현저히 줄어드는 것을 관찰 할 수 있었다. Plate를 최종 10시간까지 배양한 결과, colony 수는 대조군에서 9.31 ± 0.05 , 1 mg/ml의 추출물에서 9.23 ± 0.12 , 2 mg/ml의 추출물에서 9.08 ± 0.06 , 3 mg/ml의 추출물에서 8.90 ± 0.17 의 값을 나타내

었다[표 1]. 균주의 성장억제율은 1 mg/ml의 추출물에서 $16.84 \pm 21.83\%$, 2 mg/ml의 추출물에서 $41.54 \pm 6.73\%$, 3 mg/ml의 추출물에서 $60.01 \pm 14.90\%$ 로 농도가 높아질수록 억제율도 높아졌다[표 2].

[표 1] 연잎 추출물의 농도에 따른 *S. mutans*의 CFU(mean \pm SD)

[Table 1] The CFU of *S. mutans* cultured at different concentration of Lotus leaf extracts(mean \pm SD)

| Unit: log ₁₀ CFU/ml | | |
|--------------------------------|------------------|------------------|
| 농도 (mg/ml) | 5시간 | 10시간 |
| 0 | 9.51 \pm 0.01 | 9.31 \pm 0.05 |
| 1 | 9.15 \pm 0.20* | 9.23 \pm 0.12 |
| 2 | 8.68 \pm 0.05* | 9.08 \pm 0.05* |
| 3 | 8.62 \pm 0.06* | 8.90 \pm 0.17* |

The values represent the mean \pm standard deviations for triplicate experiments.

*Significantly different from the control values ($p < 0.05$).

[표 2] 연잎 추출물의 농도에 따른 *S. mutans*의 성장억제율 (mean \pm SD)

[Table 2] The inhibition rate of *S. mutans* cultured at different concentration of Lotus leaf extracts (mean \pm SD)

| Unit: % | | |
|------------|--------------------|-------------------|
| 농도 (mg/ml) | 5시간 | 10시간 |
| 0 | 0.00 \pm 0.00 | 0.00 \pm 0.00 |
| 1 | 52.69 \pm 23.84* | 16.84 \pm 21.83 |
| 2 | 85.08 \pm 1.65* | 41.54 \pm 6.73* |
| 3 | 86.93 \pm 1.91* | 60.0 \pm 14.90* |

The values represent the mean \pm standard deviations for triplicate experiments.

*Significantly different from the control values ($p < 0.05$).

민들레 추출물의 농도를 다르게 하여 BHI 액체배지에서 시간에 따라 배양 한 다음, 멸균증류수에 10^6 배로 희석하여 agar plate에 접종 후, 균주의 성장 억제 효과를 알아보았다. CFU와 성장억제율을 측정한 결과, 대조군에 대하여 각각의 실험군은 유의한 변화를 나타냈다($p < 0.05$). Plate를 최종 10시간까지 배양한 결과 colony 수는 대조군에서 8.53 ± 0.01 , 1 mg/ml의 추출물에서 6.86 ± 0.02 , 2 mg/ml의 추출물에서 6.62 ± 0.10 , 3 mg/ml의 추출물에서 6.380 ± 0.01 의 값을 나타내었다[표 3]. 균주의 성장억제율은 1 mg/ml의 추출물에서 $97.89 \pm 0.10\%$, 2 mg/ml의 추출물에서 $98.74 \pm 0.22\%$, 3 mg/ml의 추출물에서 $99.30 \pm 0.02\%$ 로 농도가 높아질수록 억제율도 높아졌다. 뿐만 아니라 민들레 추출물을 첨가한 경우 균주의 성장억제율

의 97%이상으로 균주가 거의 성장하지 못하는 결과를 얻었다(표 4).

연잎은 예로부터 출혈성위궤양이나 위염, 출혈, 설사, 치질, 두통과 어지럼증에 효과가 있으며 각종 독성물질의 중화작용으로 해독작용 등에 쓰여 민간치료재료로 이용되어왔다. 민들레는 건위, 이뇨, 천식, 해열, 강장, 부인병 등에 민간치료재료로 이용되어왔다. 이와 같이 연잎과 민들레는 민간에서 치료제로 사용되어져 왔으며 차와 술 등으로 지금까지도 음용되고 있지만 아직까지 연구가 매우 미비한 실정이며 구강세균과 관련한 연구는 거의 보고된 바가 없다. 이에 본 연구에서 연잎과 민들레 추출물이 치아우식 원인균인 *S. mutans*에 미치는 항균효과를 확인한 결과, 연잎 및 민들레 추출물을 첨가한 경우 대조군과 비교하여 균주의 성장이 현저히 억제되는 결과를 얻었다. 이로써 연잎과 민들레 추출물은 *S. mutans*의 성장을 억제하는 항균효과를 가지고 있음을 본 연구에서 확인할 수 있었다.

[표 3] 민들레 추출물의 농도에 따른 *S. mutans*의 CFU (mean ± SD)

[Table 3] The CFU of *S. mutans* cultured at different concentration of Dandelion extracts(mean ± SD)

| Unit: log ₁₀ CFU/ml | | |
|--------------------------------|--------------|--------------|
| 농도 (mg/ml) | 5시간 | 10시간 |
| 0 | 8.17 ± 0.02 | 8.53 ± 0.01 |
| 1 | 6.64 ± 0.16* | 6.86 ± 0.02* |
| 2 | 6.34 ± 0.10* | 6.62 ± 0.10* |
| 3 | 6.31 ± 0.12* | 6.38 ± 0.01* |

The values represent the mean ± standard deviations for triplicate experiments.

*Significantly different from the control values (p<0.05).

[표 4] 민들레 추출물의 농도에 따른 *S. mutans*의 성장억제율(mean ± SD)

[Table 4] The inhibition rate of *S. mutans* cultured at different concentration of Dandelion extracts (mean ± SD)

| Unit: % | | |
|------------|---------------|---------------|
| 농도 (mg/ml) | 5시간 | 10시간 |
| 0 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 ± 0.00 |
| 1 | 96.91 ± 1.01* | 97.89 ± 0.10* |
| 2 | 98.47 ± 0.32* | 98.74 ± 0.22* |
| 3 | 98.72 ± 0.40* | 99.30 ± 0.02* |

The values represent the mean ± standard deviations for triplicate experiments.

*Significantly different from the control values (p<0.05).

4. 결론

본 연구에서는 연잎과 민들레를 이용한 *Streptococcus mutans*의 항균효과를 연구하였다. 연잎과 민들레의 추출물이 치아우식 원인균인 *S. mutans*에 미치는 항균효과를 알아보기 위하여 흡광도 및 CFU를 측정하고 평가하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 연잎의 경우, *S. mutans*를 최종 9시간까지 배양한 결과 대조군에서는 흡광도가 1.1이었고 1, 2, 3 mg/ml의 추출물에서 각각 0.90, 0.75, 0.23의 값을 나타내었다.
2. 민들레의 경우, *S. mutans*를 최종 9시간까지 배양한 결과 대조군에서는 흡광도가 1.06이었고, 1, 2, 3 mg/ml의 추출물에서 0.30, 0.03, 0.25의 값을 나타내었다.
3. 연잎의 경우, Plate를 최종 10시간까지 배양한 결과 colony 수는 대조군에서 9.31 ± 0.05, 1 mg/ml의 추출물을 첨가한 경우 9.23 ± 0.12, 2 mg/ml의 경우 9.08 ± 0.06, 3 mg/ml의 경우 8.90 ± 0.17의 값을 나타내었다. *S. mutans*의 성장억제율은 1 mg/ml의 추출물을 첨가한 경우 16.84 ± 21.83%, 2 mg/ml의 경우 41.54 ± 6.73%, 3 mg/ml의 경우 60.01 ± 14.90%로 나타났다.
4. 민들레의 경우, Plate를 최종 10시간까지 배양한 결과 colony 수는 대조군에서 8.53 ± 0.01, 1 mg/ml의 추출물을 첨가한 경우 6.86 ± 0.02, 2 mg/ml의 경우 6.62 ± 0.10, 3 mg/ml의 경우 6.380 ± 0.01의 값을 나타내었다. *S. mutans*의 성장억제율은 1 mg/ml의 추출물을 첨가한 경우 97.89 ± 0.10%, 2 mg/ml의 경우 98.74 ± 0.22%, 3 mg/ml의 경우 99.30 ± 0.02%로 나타났다.

이상의 결과에서, 연잎과 민들레 추출물은 *S. mutans*의 성장을 억제하는 항균효과를 가지고 있음을 본 연구에서 확인할 수 있었다.

References

- [1] Kim OM, Ha DJ, Jeong YJ., "Antibacterial activity of vinegars on *Streptococcus mutans* caused dental caries", Korean J Food Preserv, 10: 565-569, 2003.
- [2] You JS., "Studies on antimicrobial activities of Kuwanon G isolated from the root bark of *Morus alba* L. against *Streptococcus mutans*", MS Thesis, Kangwon University, 2001.

[3] De Soet JJ, et al., "Differences in cariogenicity between fresh isolates of *Streptococcus sobrinus* and *Streptococcus mutans*". Caries Res, 25(2): 116-122, 1991.

[4] Hamada S, Koga T, Ooshima T., "Virulence factors of *Streptococcus mutans* and dental caries prevention", J Dent Res, 63(3): 407-411, 1984.

[5] Hanada S, Slade HD., "Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*", Microbiol Rev, 35: 331-384, 1980.

[6] Yoo YO, Yoo HH, Kim YJ, Yoo MS, Seo SJ, Lee H, Lee HS., "Effects of Caesalpinia sappan extracts on the growth, acid production, adhesion, and insoluble glucan synthesis of *streptococcus mutans*". Journal of Korean Academy of Oral Health, 27(2): 277-287, 2003.

[7] Jang GW., "Effects of crude *Sanguisorba officinalis* L. extract on the growth and the adherence to hydroxyapatite beads of mutans streptococci", Journal of Korean Academy of Oral Health, 28(1): 97-104, 2004.

[8] Son GJ, Lee SA, Lee GD, Kim YS, Jun JG, Jang GW., "Effects of crude *Sanguisorba officinalis* L. extract on the growth and the adherence to hydroxyapatite beads of mutans streptococci", Journal of Korean Academy of Oral Health, 28(1): 97-104, 2004.

[9] Son GJ, Lee SA, Lee GD, Kim YS, Jun JG, Jang GW., "Effects of crude *Sanguisorba officinalis* L. extract on the growth and the adherence to hydroxyapatite beads of mutans streptococci", Journal of Korean Academy of Oral Health, 28(1): 97-104, 2004.

[10] Borsh T, Barthlott W., "Classification and distribution of the genus *Nelumbo adans*(*Nelumbonaccae*)", Beitr Biol Pflazen, 68: 421-450, 1983.

[11] Yuk CS., "Coloured medicinal plants of Korea", Academy book Co, Seoul, Korea, pp 219-230, 1990.

[12] Rai S, Wahile A, Mukherjee K, Pada Saha B, Mukherjee PK., "Antioxidant activity of *Nelumbo nucifera* seeds", J Ethnopharmacol 104: 322-327. 2006.

[13] Onoa Y, Hattori E, Fukaya Y, Imai S, Ohizumi Y., "Anti-obesity effect of *Nelumbo nucifera* leaves extract in mice and rats", J Ethnopharmacol 106: 238-244, 2006.

[14] Kim, S.B., Rh, S.B., Rhyu, D.Y., Kim, D.W., "Effect of *Nelumvo nucifera* leaves on hyperlipidemic and atherosclerotic Bio F1B hamster", Kor. J. Pharmacogn, 36(3): 229-234, 2005.

[15] Hu C, Kitts DD., "Antioxidant, prooxidant, and cytotoxic activities of solvent-fractionated dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extracts in vitro", J Agric FOOD chem, 51: 301-310, 2003.

[16] Ho C, Choi EJ, Yoo GS, Kim KM, Ryu SY., "Desacetylmaticarin, an anti-allergic component from *Taraxacum platycarpum*", Planta Med, 64: 577-578, 1998.

[17] Park JY, Jang JY., "Effect of Dandelion (*Taraxacum Officinale*) Extracts on the Intestinal Microorganisms of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats" J. Korean Soc. Food Sci Nutr. 31(6), 1112~1118, 2002.

[18] Jung EJ, Hong SJ., "In vitro growth inhibition of *Streptococcus mutans* by extract of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* var. *saboten* Makino)", Journal of Korean Academy of Oral Health ;34(1):28-35, 2010.

최 보 램(Bo-ram Chi)

[준회원]



- 2012년 2월 : 건양대학교 치위생학과 졸업예정(이학사)

<관심분야>
치위생, 구강보건

조 다 영(Da-young Jo)

[준회원]



- 2012년 2월 : 건양대학교 치위생학과 졸업예정(이학사)

<관심분야>
치위생, 구강보건

차 소 영(So-young Cha)

[준회원]



- 2012년 2월 : 건양대학교 치위생학과 졸업예정(이학사)

<관심분야>
치위생, 구강보건

강 경 희(Kyung-hee Kang)

[정회원]



- 2010년 2월 : 경북대학교 대학원 미생물학과 (이학박사)
- 2008년 3월 ~ 현재 : 건양대학교 치위생학과 조교수

<관심분야>
치위생, 구강보건

최 민 지(Min-ji Chi)

[준회원]



- 2012년 2월 : 건양대학교 치위생학과 졸업예정(이학사)

<관심분야>
치위생, 구강보건

정 혜 원(Hye-won Jeong)

[준회원]



- 2012년 2월 : 건양대학교 치위생학과 졸업예정(이학사)

<관심분야>
치위생, 구강보건