

매실추출물(PME)의 구강 미생물에 대한 항균작용

장중화 · 김영인 · 이현¹한서대학교대학원 치위생학과 · ¹서울대학교병원 진단검사의학과Antimicrobial activity of *Prunus mume* extract to oral microbesJong-Hwa Jang · Young-In Kim · Hyun Lee¹Department of Dental Hygiene, a Graduate School, Hanseo University · ¹Department of Laboratory Medicine, Seoul National University HospitalReceived : 22 December, 2013
Revised : 6 February, 2014
Accepted : 12 February, 2014

Corresponding Author

Jong-Hwa Jang
Department of Dental Hygiene, Hanseo
University, #46, Hanseo 1-ro
Haemi-myun, Seosan, Chungnam
356-706, Korea.
Tel : +82-41-660-1574
+82-10-4316-6003
Fax : +82-660-1574
E-mail : jhjang@hanseo.ac.kr

ABSTRACT

Objectives : *Prunus mume* has been used for the folk medicine from old times. The purpose of the study was to investigate the antimicrobial activity of *prunus mume* extract to various oral microbes.**Methods** : This study was carried out to examine the antimicrobial effect of *Prunus mume* extract against oral microbes. Data were collected using a Dentocult SM Strip mutans and Dentocult LB Strip mutans from April 5 to May 4, 2013. A total of 36 experimental and 32 control group were selected for this study.**Results** : The MIC of *Prunus mume* extract was tested for 0.39% in *S. mutans*, *S. salivarius* and *S. aureus*, 0.78% in *S. mitis*, *S. equi* and *E. coli*. In vivo, experimental group showed significantly the lower Streptococcus mutans levels by the use of the gum contained *Prunus mume* extract from 15 days compared with control group(p=0.012). The reduction was more significant in *Lactobacilli* level of the experimental group than the control group(p=0.022).**Conclusions** : These findings suggest that the oral products containing *Prunus mume* extracts is effective in preventing oral diseases.**Key Words** : antimicrobial activity, minimum inhibition concentration(MIC), minimum bactericidal concentration(MBC), oral microbes, *Prunus mume* extract(PME)**색인** : 구강미생물, 매실추출물, 최소억제농도, 항균작용

서론

건강문제에서 많은 질병은 감염성질환이며 일차적으로 구강상기도를 통해 발생하므로¹⁾, 구강 내 세균증식을 억제할 수 있는 항균물질을 함유한 기능성 구강용품들이 치아우식증이나 치주질환과 같은 구강질환의 예방 및 치료에 이용되고 있다. 아울러 구강 내 부작용 발생이 많았던 기존 화학합성 항균물질을 대체하여 안전하게 사용할 수 있는 천연물에 대한 관심이 증가하고 있다²⁾.

현재 식물추출물, 특정단백질 및 효소류, lysozyme, bacteriocin, 유기산류, 지방산류 등이 천연항균제로 개발되어 그 적용분야 및 사용방법이 보고되고 있다. 천연물에는 우리가 아직 확인하지 못한 여러 성분들이 존재하고, 또한 알고 있으나 그 물질의 효용을 제대로 파악하지 못하여 산업화, 실용화가 되지 못하고 있다³⁾.

*Prunus mume*은 장미과 벚나무속에 속하는 과수로서 원산지는 중국의 사천성과 호북성의 산간지로 알려져 있으며 아시아대륙의 동남부 즉, 한국, 중국, 일본 등지에 많이 분포하

는데, 특히 한국에서 생산되는 것에 대한 다양한 약효가 보고되고 있다^{3,7)}. 현재까지 *Prunus mume*의 효능에 대해서는 항산화성^{4,6)}과 항균성^{3,7)}이 우수한 것으로 보고되고 있다. *Prunus mume*의 주성분인 유기산은 시트르산으로 강한 항균 작용을 하여 살균, 해독, 진정 작용을 하며 장을 정화하고 간 기능을 촉진시키며 혈액의 산성화를 방지하면서 위액과 타액의 분비를 촉진하는 작용을 한다⁸⁾. 이와 같이 *Prunus mume*은 각종 인체 내 효능을 지닌 것으로 알려져 있으나 구강 내 항균작용 및 면역반응 기전과 이에 따른 구강병 예방 및 치료 효과에 대한 연구는 아직 부족하다.

타액은 구강건강에 영향을 미치는 중요한 요소로서 타액분비율, pH와 같은 물리 화학적 특성을 나타내며 구강 내 세균 번식을 조절하는 단백질과 면역글로불린을 제공함으로써 구강건강을 도모한다⁹⁾. 타액의 구강내 효과는 씹음의 항균효과를 밝히는 연구가 일부 진행되었으며¹⁰⁻¹⁶⁾, 구강 질환을 예방하기 위해 자당(sucrose)의 섭취를 줄이는 것이 중요하지만 당분이 섞인 간식을 선호하는 현대인의 식생활에서 실천하기가 현실적으로 어려운 실정이다¹⁴⁾. 이에 대한 대체 당으로 주목받는 것이 자일리톨과 솔비톨이며^{12,17)}, 이는 주로 껌 성분으로 사용되어 타액분비를 촉진시켜 기계적 청결뿐 아니라 당분으로부터 치면세균막 형성 저해 및 방해, 타액 단백질과의 상호작용을 통한 연쇄상구균 수치 저하, 그리고 치면세균막의 산도(pH)를 완충시켜 치아 우식을 예방하는 데 효과적이라고 알려져 있다¹¹⁾. 이러한 효과는 껌 자체가 지니는 물리적 청결작용뿐 아니라 껌의 성분과도 연관이 있다¹⁵⁾. *Prunus mume*은 각종 한의서에 갈증을 해소하고 타액분비를 촉진시키며 항균 및 항산화 작용이 우수하다고 보고되고 있어^{4,6)}, 껌 성분으로 유용할 것으로 여겨진다. 즉, *Prunus mume extract*의 구강 내 항균 효과에 대한 기초연구를 진행하여 구강용품 개발에 활용한다면 천연항균제로서 다양한 유용성을 가질 수 있으며, 국내 매실농가의 환금 작물로서의 가치가 높아질 것이다.

이에 본 연구에서는 구강감염과 구강질환을 유발하는 구강 미생물에 대한 *Prunus mume extract*의 항균활성을 알아보고, *Prunus mume extract*를 함유한 껌 저작에 의해 분비된 자극성 타액 내 *S. mutans*와 *Lactobacilli* 수의 변화를 파악하여 구강용품 개발에 응용할 수 있는 기초자료를 제공하고자 하였다.

연구방법

1. In vitro 실험

1.1. 매실농축액 전처리

광양의 홍쌍리 매실가에서 2012년에 농축액의 형태로 공급 받은 매실 농축액(청매실농원, 한국)과 멸균증류수를 1:2로 섞어서 56℃ 항온수조에서 10분간 증탕 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 분리된 상층액은 0.45 µm pore syringe filter를 사용하여 여과하였다. 여과된 매실 희석액(50%)을 3% lysed horse blood가 들어간 Mueller-Hinton broth (MHB_LHB)와 Mueller-Hinton broth (LHB)에 각각 2배씩 계열희석을 하였다.

Table 1. Botanical characteristics of *Prunus mume* used for antimicrobial activity test

English name	Korean name	Botanical name	Parts used	Effect
Japanese apricot	Maesil	<i>Prunus mume</i> Sieb. et Zucc.	Fruit	Improvement of appetite, Digestive, Anti-influenza, Sterilization, Antimicrobial, Antioxidant

1.2. 사용균주

*Prunus mume extract*의 구강 내 병원성 세균에 미치는 효과를 알아보기 위한 항균실험에 사용한 표준균주(*S. mutans* ATCC 25175, *S. salivarius* ATCC 13419, *S. mitis* ATCC 6249, *S. equi* ATCC 33398, *S. aureus* ATCC 29213, *E. coli* ATCC 25922, *C. albicans* ATCC 14053)는 세현테크(Saehyun-tech com, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 혈액우무배지에 각 표준균주를 접종하고 35℃, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 배양하여 형성된 집락을 멸균생리식염수에 풀어서 Vitek 2 DensiCheck (bioMerieux, Durham, North Carolina)으로 혼탁도를 0.5 McFarland (McF)에 맞추었다. 0.5 McF *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* 부유액은 MHB에 *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. mitis*, *S. equi* 부유액은 MHB_LHB에 1:10으로 희석하였다.

1.3. 최소억제농도 및 최소살균농도

매실 농축액의 최소억제농도(minimum inhibition concentration, MIC)를 측정하기 위해서 25%부터 0.05%까지 단계별로 희석한 매실 농축액을 100 µl씩 취하여 Nunc 96 well plate (round bottom)에 각각 분주하고 MHB와 MHB_LHB에 1:10으로 희석한 각 표준균주 희석액을 100 µl씩 취하여 분주하였다(Fig. 1). 음성 대조 well에는 25% 매실 농축액만 200 µl를 분주하고 양성 대조 well에는 매실 농축액이 들어있지 않은 MHB와 MHB_LHB를 표준균주에 따라서 100 µl씩 각각 분주하고 각 표준균주 희석액 100 µl를 분주하였다. 잘 섞은 plate

를 35℃, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 배양하여 표준균주의 성장유무를 판독하였다. 최소살균농도(minimum bactericidal concentration, MBC) 측정을 위해서 판독이 끝난 plate의 각 농도별 well에서 배양액을 100 μl씩 취하여 혈액우무배지에 접종하고 35℃, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 배양하여 집락형성 유무를 판독하였다(Fig. 2).

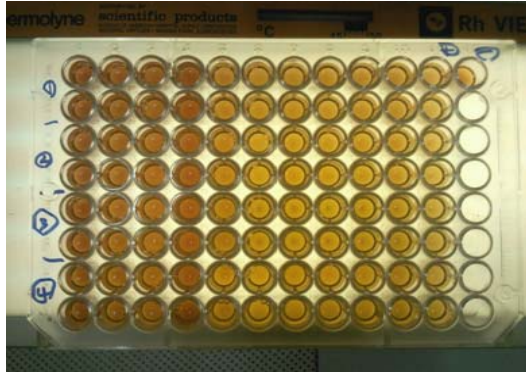


Fig. 1. Nunc 96 well plate after 24 hours incubation. ① *S. mutans*, ② *S. salivarius*, ③ *S. mitis*, ④ *S. equi* and +: positive control, -: negative control

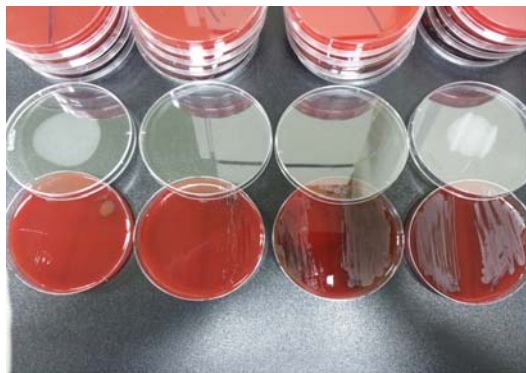


Fig. 2. Blood agar plates for minimum bactericidal concentration testing after 24 hours incubation

2. In vivo 실험

2.1. 연구대상

본 연구는 무작위 대조군 전-후 실험 설계를 이용한 실험 연구이며, 경희대학교치의학전문대학원 생명윤리위원회(IRB)에서 승인을 받아 수행하였다(IRB No: 2012-12-21-1). 2013년 3월 11일부터 19일까지 H대학교 교직원 및 학생들에게 웹사이트에서 공식적인 피험자 모집광고를 통해 연구참여자를 선착순으로 모집하였다. 모집된 지원자에게 연구의 목적을 재설명한 후 실험에 동의한 자 (68명(남 31명, 여 37명))을 무작

위법으로 실험군과 대조군을 구분하였고, 하위그룹은 연령별 5그룹으로 분류하였다. 표본 수 결정은 Cohen(18)의 공식에 의해 산출한 결과 유의수준 alpha=0.05, power=0.80, effect size = 0.35로 설정하여 각 군에 필요한 표본 수는 최소 5명으로 나타났다.

본 연구대상자의 선정기준은 연구의 목적을 이해하고 연구 참여에 자발적으로 동의한 건강한 일반 성인으로 당뇨병, 갑상선질환, 부신기능장애, 간질환, 신장질환, 구강질환 등과 같은 전신질환이 없는 자, 구강건조증에 영향을 미치는 약물을 장기간 복용하지 않는 자, 저작이 가능한 자 및 타액분비율 측정 시 반응자로 정하였다.

2.2. 연구절차 및 도구

2013년 4월 5일부터 5월 4일까지 실험군은 *Prunus mume* extract 함유 껌 2정을 일일 3회 식후 30분 후에 10분간 저작하게 교육하였다. 타액 채취는 오전 8시부터 10시 사이에 H대학 부설연구소에 방문하도록 하여 처치전과 처치 15일후와 30일후에 측정을 실시하였다. 검사 당일에는 방문 1시간 전부터 음식물 섭취, 흡연, 칫솔질 등 구강 활동을 제한하도록 교육하였고, *Prunus mume* extract 함유 껌 저작에 대한 이행 여부를 일지에 기록하도록 하여 순응도를 확인하였다. 대조군은 아무 처치를 실시하지 않은 채 실험군과 동일한 방법으로 측정하였다.

1) Dentocult[®]-SM 검사

Dentocult-SM 키트 내의 bacitracin disc를 배양액에 넣어 15분간 녹인 다음 흔들어 두었다. 대상자에게 파라핀 왁스를 주어 약 1분간 씹게 한 후 Screening strip을 구강내 혀 위에 올리고 입을 가볍게 다물게 한 다음 큰 힘을 가하지 않은 상태에서 전체 면에 타액이 잘 묻도록 10초간 고정하였다. 타액이 충분히 묻은 strip을 배양액에 꽂은 다음 마래는 조금 느슨하게 잡고 37℃ 항온배양기에서 48시간 배양하였다. 배양 후 판정은 제조회사의 우식활성도 판정표를 이용하여 각 시료들은 우식활성도 음성(10⁵ CFU/ml : 0), 경도활성도 (<10⁵ CFU/ml : 1), 중등도활성도(10⁵-10⁶ CFU/ml : 2) 및 고도활성도(>10⁶ CFU/ml : 3)로 점수화하였다.

2) Dentocult[®]-LB 검사

대상자에게 파라핀 왁스를 주어 3분간 씹게 한 후 타액을 test tube에 채취한 후 각 test tube에서 1 ml의 타액을 취하여 Dentocult-LB(Orion, USA) 키트의 배지 표면 전체에 타액이 고르게 퍼 묻혀서 배양용기에 넣은 후 마래를 잘 닫고 37℃ 항온배양기에서 4일 동안 배양하였다. 배양 후 제조회사의

판정표를 이용하여 0(10³ CFU/ml), 1(10⁴ CFU/ml), 2(10⁵ CFU/ml), 3(10⁶ CFU/ml)으로 점수화하였다.

2.3. 분석방법

수집된 자료는 SPSS(SPSS 18.0 for windows, SPSS Inc, Chicago, USA)프로그램을 사용하여 먼저 집단 간 동질성을 파악하기 위해 Chi-square test, Fisher's exact test로 분석하였다. 시간 경과에 따른 *Prunus mume* extract 함유 껌 저작 실험군, 대조군 간의 *S. mutans*와 *Lactobacilli* 수의 변화를 repeated measure ANOVA로 시행하였고, 두 집단 간 비교는 Mann-Whitney U test로 분석하였다.

연구결과

1. In vitro 결과

Prunus mume extract의 구강 내 미생물 7종에 대한 MIC와 MBC는 (Table 2)와 같다. *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. aureus*는 0.39% 매실 농축액에서 증식이 억제되었으며, *Prunus mume* extract 함유 껌 제조 시 사용된 매실 농축액 배합률 (0.3%)에 근사한 값을 보였다(Fig. 3). *S. mitis*와 *S. equi* 그리고 *E. coli*는 0.78% 매실 농축액에서 성장이 억제되어 *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. aureus*의 MIC보다 2배 높았지만 1.56% 매실 농축액에서 살균효과를 보였다. *C. albicans*는 12.5% 매실 농축액에서 증식이 억제되었고 살균효과가 나타났다.

Table 2. Antimicrobial activity of *prunus mume* extract to oral microbes

Microorganisms	ATCC No.	MIC* (%)	MBC** (%)
<i>S. mutans</i>	25175	0.39	3.13
<i>S. salivarius</i>	13419	0.39	6.25
<i>S. mitis</i>	6249	0.78	1.56
<i>S. equi</i>	33398	0.78	1.56
<i>S. aureus</i>	29213	0.39	3.13
<i>E. coli</i>	25922	0.78	1.56
<i>C. albicans</i>	14053	12.50	12.50

*Minimum inhibitory concentration,

**Minimum bactericidal concentration

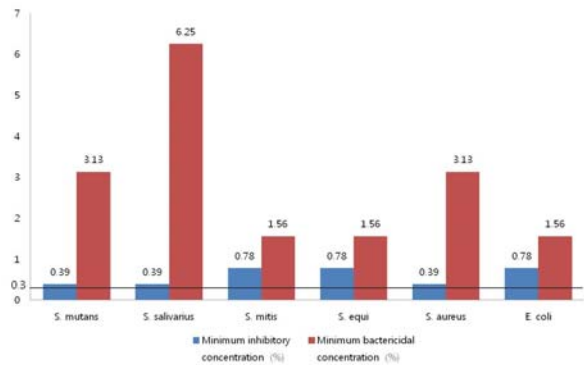


Fig. 3. Minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of the *Prunus mume* extract against 6 microorganisms

2. In vivo 결과

2.1. 대상자의 동질성 검증

(Table 3)은 실험군과 대조군에 대한 성과 주관적 구강건강인지도와의 관련성을 분석한 결과, 집단 간에 유의한 차이가 없게 나타나서 집단 간의 동질성이 검증되었다(p>0.05).

Table 3. General characteristics by subjects Unit : N(%)

Variables	Experimental group	Control group	p*
Gender			
Male	15(48.4)	16(51.6)	0.535
Female	21(56.8)	16(43.2)	
Perceived oral health			
Good	6(19.4)	8(26.7)	0.721
Moderate	6(19.4)	4(13.3)	
Poor	19(61.3)	18(60.0)	

*by the Chi-square test and Fisher's exact test at $\alpha = 0.05$

(Table 4)은 실험군과 대조군의 건강위험행위인 음주여부, 흡연여부와와의 관련성을 나타낸다. 음주를 한다는 실험군 대상자가 29명(80.6%), 대조군은 21명(67.7%)이었고, 비흡연자는 실험군 19명(61.3%), 대조군 18명(60.0%)로 나타나서 두 집단 간에 유의한 차이가 없게 나타나서 동질성이 검증되었다(p>0.05).

2.2. SM(*Streptococcus mutans*) test와

LB(*Lactobacilli*) test

(Table 5)은 *Prunus mume* extract 함유 껌 저작실험군과 대조군에게 Dentocult SM Strip mutans를 이용하여 시간경과

Table 4. Health risk behaviors of subjects

Variables	Experimental group	Control group	Unit : N(%)	p*
Alcohol drinking				
Yes	29(80.6)	21(67.7)		0.269
No	7(19.4)	10(32.3)		
Smoking experience				
Ex-smoker	6(19.4)	8(26.7)		0.721
Present smoker	6(19.4)	4(13.3)		
Non-smoker	19(61.3)	18(60.0)		

* by the Chi-square test and Fisher's exact test at $\alpha = 0.05$

Table 5. A alteration of *streptococcus mutans* according to treatment

Unit : Mean±SD, CFU[†]/ml

	N	Baseline	15 days	30 days	p*
		M±SD	M±SD	M±SD	
Experimental group	36	1.48±0.67	1.12±0.78	1.00±0.97	Between subjects
Control group	32	1.13±0.99	1.88±1.13	1.13±0.84	Within subjects
					Time × subjects
p**		0.139	0.031	0.020	0.476
					0.012
					0.026

* by the Repeated measure ANOVA, ** by Mann-Whitney U test at $\alpha = 0.05$.

† CFU=colony-forming unit, SM Strip mutans class: 0= 10^5 CFU/ml; 1= $<10^5$ CFU/ml; 2= 10^5 - 10^6 CFU/ml; 3= $>10^6$ CFU/ml

Table 6. A alteration of *lactobacilli* according to treatment

Unit : Mean±SD, CFU[†]/ml

	N	Baseline	15 days	30 days	p*
		M±SD	M±SD	M±SD	
Experimental group	36	1.25±1.03	1.15±0.87	1.00±1.05	Between subjects
Control group	32	1.13±1.18	1.75±0.89	0.89±1.10	Within subjects
					Time × subjects
p**		0.654	0.090	0.692	0.022
					0.874
					0.876

* by the Repeated measure ANOVA, ** by Mann-Whitney U test at $\alpha = 0.05$

† CFU=colony-forming unit, LB class : 0= 10^3 CFU/ml, 1= 10^4 CFU/ml, 2= 10^5 CFU/ml, 3= 10^6 CFU/ml

별 stimulated saliva에 존재하는 *streptococcus mutans* 수를 분석한 결과이다.

Baseline에서는 실험군과 대조군 간에 유의한 차이가 없었으나 실험군은 15일후(p=0.031), 30일후(p=0.020)에 대조군과 유의한 차이가 있었다. Repeated measure ANOVA 분석결과에서는 실험군은 Baseline(1.48점)에서 15일후(1.12점), 30일후(1.00점) 점차적으로 감소하여 집단 내에 유의한 차이가 나타났으나(p=0.012) 집단 간에는 유의하지 않았다(p=0.476).

(Table 6)는 *Prunus mume* extract 함유 껌 저작 실험군과 대조군을 대상으로 Dentocult LB Strip mutans를 이용하여 시간경과별 stimulated saliva에 존재하는 lactobacilli 수를 분석한 결과이다. 두 집단 간 차이에 대한 분석결과, 실험군과 대조군 간에 유의한 차이가 없었고(p>0.05), Repeated measure ANOVA 분석결과에서는 집단 내에서 유의한 차이가 없었

으나(p=0.874) 집단 간에는 유의하게 나타났다(p=0.022).

총괄 및 고안

구강건강은 건강의 필수요소로서 전신건강을 유지하기 위해서는 구강건강을 합리적으로 관리하여야 할 필요성이 강조되고 있다. 최근 들어, 수복 치료 등을 이용한 질병의 직접적인 치료보다는 예방 치료에 대한 중요성이 강조되면서, 그동안 사용되었던 화학적인 약물을 통한 예방 치료 이외에도 유산균등을 이용한 probiotics에 대한 관심이 높아지고 있다¹⁹⁾. 특히 구강건강을 증진 및 유지하기 위해 이용되고 있는 구강용품에 대한 요구도가 높아지면서 부작용이 적고 생체친화적인 천연물 소재에 대한 관심이 증가하고 있다^{2,20,21)}.

매실은 본초강목, 신농본초경, 명의별록 등의 각종 한의서

에 만성기침, 하열에 의한 가슴의 열기나 목마름, 오래 된 학질, 만성설사, 치질, 혈변, 혈뇨, 회충에 의한 급성복통이나 구토, 갈고리촌충 구제를 치료한다고 기록되어 있다. 최근 PME의 항균, 항진균 및 항산화 효과가 발표되면서 광범위한 분야에서 탁월한 효과를 나타내고 있다⁸⁾. 박 등²²⁾은 *Prunus mume* extract은 250 µg/mg 이상의 농도에서 뚜렷한 항균활성을 보였고, 광역의 병원성 및 부패성 미생물들에서 항균활성을 나타냈으며, 40~120°C의 넓은 범위의 온도 및 pH 3~11에서 안정성을 나타냈다고 보고하였다.

구강은 인체에서 다양한 미생물이 밀집되어 있는 기관으로 미생물은 치아우식증과 치주질환을 발생시키며, 전신적으로 감염의 작간접 원인이 되어 호흡기와 소화기에 다양한 질병을 발생시킨다²³⁾. 구강미생물은 대개 구강의 표면에 부착되는 것이 필수적이며 치태형성 시 초기 부착 미생물이 다당체, 타액단백질, 당단백질과 같은 세균 생산물에 의해 미세 집락을 형성하며 치태를 형성한다. 치태에 존재하는 세균의 수는 시간에 따라 변화하여 치태가 성숙됨에 따라 그람 음성 혐기성 균들이 증가하며 존재하는 초기 종은 *Streptococcus oralis*, *S. mitis*와 *S. sanguinis*이며, 구강내 질환을 일으키는 세균으로는 *S. mutans*와 *Porphyromonas gingivalis*가 주로 치아우식증과 치주질환을 유발한다²⁴⁾.

본 연구에서 *Prunus mume* extract을 이용하여 구강 내 7종의 세균에 대한 항균력을 측정할 결과, *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. aureus*는 0.39% 매실 농축액에서 증식이 억제되었으며 *S. mitis*와 *S. equi*, *E. coli*는 0.78% 매실 농축액에서 성장이 억제되고 1.56% 매실 농축액에서 살균효과가 나타났다. 또한 *C. albicans*는 12.5% 매실 농축액에서 증식이 억제되었고 살균효과가 나타나서 박 등²²⁾의 연구결과와 동일하게 *Prunus mume* extract의 항균효과를 확인할 수 있었다. *S. aureus*에 대한 미생물 증식 억제효과는 50 ppm이상의 매실농축액 첨가시 0.03~0.08정도로 균의 증식이 현저히 억제 매실침출액의 MIC를 측정할 결과 2.0%로 높았다는²⁵⁾ 보고를 비교해볼 때 *S. aureus*에 대한 증식억제효과가 높을 것을 확인할 수 있었다.

Mutans streptococci(MS)는 치아우식증과 관련이 있다고 보고되고 있으며^{26,27)}, 이 streptococci 중 중에서 *S. mutans*나 *S. sobrinus*가 인간의 치아우식증에서 가장 일반적으로 나타나고 우리나라 어린이의 경우 치아우식증은 MS와 밀접한 관련성이 있으며, MS 중에서도 *streptococcus mutans*가 중요하다고 밝혀졌다²⁶⁾. 본 연구에서는 Dentocult SM Strip mutans를 이용하여 *Prunus mume* extract을 함유한 껌 저작 후 stimulated saliva에 존재하는 streptococcus mutans 수를 측정할 결과, 시간이 경과하면서 실험군에게서 15일후(p=0.031)와

30일후(p=0.020)에 대조군과 유의한 차이가 있었으며, 이는 자이리톨이 streptococcus mutans 수를 감소시켰다는 선행연구를 고려해볼 때²⁶⁾ *Prunus mume* extract 이 streptococcus mutans 수를 감소시키는 항균물질이라고 여겨진다.

한편 Dentocult LB Strip mutans를 이용하여 시간경과별 stimulated saliva에 존재하는 lactobacilli 수를 분석한 결과에서는 집단 내에서 유의한 차이가 없었으나(p=0.874) 집단 간에는 유의한 차이가 있는 것으로 나타난 점을 감안하면(p=0.022) 매실추출물이 구강내에서 lactobacilli에 항균 효과가 있는 것으로 추정된다.

본 연구는 *Prunus mume* extract의 구강 내 항균력을 측정할 최초 연구이기에 기존 연구결과와 비교분석이 불가능하다는 한계가 있다. 그러나 천연물인 *Prunus mume* extract을 함유한 껌은 구강 내 항균효과를 입증하고 타액의 유동학적 및 생화학적 기초 자료로 제공할 수 있다는데 의미가 크다 할 수 있다.

구강건강은 전신건강 도모를 위하여 중요하고 타액의 양이나 타액의 조성과 관련될 가능성을 생각할 수 있으므로 추후 연구에서는 *Prunus mume* extract 함유 껌 저작 후 분비되는 타액의 분비율과 pH, 타액 내 총 단백질의 양, 면역 글로불린의 농도를 측정하여 상호관련성을 분석해볼 필요가 있다. 또한 *Prunus mume* extract 성분을 면밀하게 분석하여 구강병 예방에 유용한 물질을 탐색하여 실제 활용할 수 있는 연구가 이루어져야 한다고 제시된다.

결론

본 연구는 예로부터 약용 및 건강식품으로 널리 이용되고 있는 매실의 구강내 항균작용을 알아보기 위하여 In vitro 연구와 더불어 무작위 대조군 전후 실험 설계를 이용한 유사 실험연구를 시도하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. *Prunus mume* extract의 구강 내 미생물 7종은 0.78% 매실 농축액에서 구강 내 칸디다증을 일으키는 *C. albicans*를 제외한 *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. mitis*, *S. equi*, *S. aureus*, *E. coli*의 증식이 억제되는 항균효과를 확인할 수 있었다. 특히 치아우식증의 원인균 중 하나인 *S. mutans*에 대해서는 0.39% 매실 농축액에서도 증식이 억제됨으로서 매실의 항균작용이 탁월하게 일어났음을 알 수 있었다.
2. *Prunus mume* extract 함유 껌 저작 실험군과 대조군을 대상으로 Dentocult SM Strip mutans를 이용하여 시간경과별 stimulated saliva에 존재하는 streptococcus mutans

수에 대한 분석결과, 실험군은 Baseline(1.48점)에서 15일후(1.12점), 30일후(1.00점) 점차적으로 감소하여 집단 내에 유의한 차이가 나타났으나($p=0.012$), 집단 간 차이는 나타나지 않았다.

3. *Prunus mume extract* 함유 껌 저작 실험군과 대조군을 대상으로 Dentocult LB Strip mutans를 이용하여 시간경과별 stimulated saliva에 존재하는 lactobacilli 수를 분석한 결과, 집단 내에서 유의한 차이가 없었으나($p=0.874$) 집단 간에는 유의하게 나타났다($p=0.022$).

위의 결과에 근거하여 *Prunus mume extract*을 활용하여 구강용품 개발에 기여할 수 있을 것으로 제시된다.

Reference

1. Scannapieco FA. Saliva-bacterium interactions in oral microbial ecology. *Crit Rev Oral Biol Med* 1994; 5: 203-48.
2. Wong RWK, Samaranyake HL, Yuen MKZ, Seneviratne CJ, Kao R. Antimicrobial activity of Chinese medicine herbs against common bacteria in oral biofilm. A pilot study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2010; 39: 599-605.
3. Ha MH, Park WP, Lee SC, Choi SG, Cho SH. Antimicrobial characteristic of *Prunus mume extract*. *J Food Preserv* 2006; 13(2): 198-203.
4. Han JT, Lee SY, Kim KN, Baek NI, Rutin, antioxidant compound isolated from the fruit of *Prunus mume*. *J Korean Soc Agri Chem Biotechnol* 2001; 44: 35-7.
5. Shim JH, Park MW, Kim MR, Lim KT, Park ST. Screening of antioxidants in mume(*Prunus mume* Seib. et. Zucc) extract. *J Korean Soc Agri Chem Biotechnol* 2002; 45: 119-23.
6. Seo KS, Huh CK, Kim YD. Comparison of antimicrobial and antioxidant activities of *Prunus mume* fruit in different cultivars. *Korean J Food Preserv* 2008; 15: 288-92.
7. Choi MY, Won HR, Park HJ. Antimicrobial activities of Maesil(*Prunus mume*) extracts. *Korean J Community Living Sci* 2004; 15: 61-6.
8. Kim GS. Studies on the antimicrobial activities and substances of *Prunus mume*[Doctoral dissertation]. Seoul: Univ. of Ewha Womans, 1985.
9. Navazesh M. Dry mouth: aging and oral health. *Compendium Continuing Edu Dent* 2003; 23(10): 41-8.
10. Anderson LA, Orchardson R. The effect of chewing bicarbonate-containing gum on salivary flow rate and pH in humans. *Arch Oral Biol* 2003; 48(3): 201-4.
11. Lucy AA, Robin O. The effect of chewing bicarbonate-containing gum on salivary flow rate and pH in humans. *Archs oral Biol* 2003; 48: 201-4.
12. Machiulskiene V, Nyvad B, Baelum V. Caries preventive effect of sugar-substituted chewing gum. *Community Dent Oral Epidemiol* 2001; 29(4): 278-88.
13. Nakagawa K, Watanabe S, Pai C, Minami M, Suzuki A, Takamori K. The concentration of gum component in saliva before and after swallowing during prolonged gum chewing. *Pediatr Dent J* 2007; 17(1): 79-83.
14. Baik SH. The effects of xylitol and sorbitol on oral health and xerostomia in Korean elderly[Doctoral dissertation]. Seoul: Univ. of Ewha Womans, 2004.
15. Lee HS, Lee KH. The influence of gum chewing on the caries, periodontium, saliva, plaque and oral hygiene. *J Korean Acad Dent Health* 1990; 14(2): 185-92.
16. Hayashi Y, Ohara N, Ganno T, Ishizaki H, Yanagiguchi K. Chitosan-containing gum chewing accelerates antibacterial effect with an increase in salivary secretion. *J Dent* 2007; 35: 871-4.
17. Mobley CC. Nutrition and dental caries. *Dent Clin North Am* 2003; 47(2): 319-36.
18. Cohen J. Statistical power analysis for the behavioral sciences, 2nd ed. New Jersey: Lawrence Erlbaum Associates; 1988.
19. Lee SJ, Lee SH, Choi BK, Kim JW, Kim YJ, Kim CC. The influence of *Lactobacillus rhamnosus GG* on the binding ability of *Streptococcus mutans*. *J Korean Acad Pediatr Dent* 2011; 38(2): 155-60.
20. Jang JH, You SY, Oh TJ. Antimicrobial activity of jaborandi extract and sorbitol to oral microbes. *J Korean Soc Dent Hyg* 2013; 13(3): 517-23. <http://dx.doi.org/10.13065/jksdh.2013.13.3.517>.
21. Oh HN, Hong SJ, Lee HJ, Choi CH. The effects of bamboo salt solution on remineralization of artificial caries-like lesions. *J Korean Soc Dent Hyg* 2012; 12(2): 335-43.
22. Park WP, Lee SC, Kim SY, Choi SG, Heo HJ, Cho SH. Separation and identification of antimicrobial substances from *Prunus mume extract*. *Korean J Food Preserv* 2008; 15(6): 878-83.
23. Yang KH, Han SJ. The effect of xylitol and carbohydrates on the replication of streptococcus oralis and streptococcus salivarius. *J Korean Acad Pediatr Dent* 2003; 30(4): 722-7.
24. Samaranyake LP. Essential microbiology for dentistry. 3rd ed. Edinburgh: Churchill Livingstone/Elsevier; 2006: 34.
25. Ko MS, Yang JB. Antimicrobial activities of extracts of *Prunus mume* by sugar. *Korean J Food Preserv* 2009; 16(5): 759-64.
26. Ahn ST, Park JH, Lee KH. Prevalence of streptococcus mutans and streptococcus sobrinus in children under 6 years of age. *J Korean Acad Pediatr Dent* 2005; 32(2): 207-16.
27. Nishimura M, Rodis OMM, Naoyuki Kariya N, Matsumura S. Caries-risk assessment in early childhood using a caries activity test. *Pediatr Dent J* 2011; 21(2): 116-22.