

## 연잎 추출물의 구강미생물에 대한 항균 효과

허만규 · 김혜진<sup>1</sup>동의대학교 자연과학대학 분자생물학과 · <sup>1</sup>동의대학교 의료보건대학 치위생학과Antibacterial effect on leaf-extract from *Nelumbo nucifera* against oral microorganismMan-Kyu Huh · Hye-Jin Kim<sup>1</sup>Department of Molecular Biology, Donggeui University · <sup>1</sup>Department of Dental Hygiene, Donggeui UniversityReceived : 2 December, 2013  
Revised : 23 February, 2014  
Accepted : 24 February, 2014

## Corresponding Author

Man Kyu Huh

Department of Molecular Biology  
Donggeui University  
176 Eomgwangno Busan jin gu, Busan  
614-714, Korea.

Tel : +82-51-890-1529

+82-10-9334-8592

Fax : +82-51-890-1521

E-mail : mkhuh@deu.ac.kr

## ABSTRACT

**Objectives** : The purpose of the study is to investigate the activities of *Nelumbo nucifera* leaf extracts on *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sobrinus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, and *Treponema denticola*.**Methods** : The inhibitory effect of lotus leaf extracts on the growth of oral bacteria was assessed in experiments with extracts from freshly harvested and pulverized lotus leaves and bacterial cultures of dental caries.**Results** : The results showed that *N. nucifera* extracts possess antimicrobial activity on all bacterial strains. The minimal inhibitory concentration (MIC) values varied from 4 mg/ml to 10 mg/ml against antimicrobial activity. The relative growth ratio (RGR) against of *N. nucifera* extracts were determined as 50% in concentration of 4.0 mg/ml. The extract of *N. nucifera* was effective in reducing on the glucosyltransferase (GTase) activity of six strains in vitro.**Conclusions** : Methanol extracts of lotus leaves showed antimicrobial effects on three bacterial species causing dental caries and three bacterial species causing periodontitis, as well as inhibitory effects on GTase activity.**Key Words** : antibacterial effect, *Nelumbo nucifera* leaf, oral microorganism**색인** : 구강미생물, 억제효과, 연잎 추출물

## 서론

다양한 미생물이 음식물, 물, 공기 및 손 등을 통해서 구강 내로 침입한다. 그러나 미생물 모두가 구강 내에 정착하는 아니며 대부분 일시적으로 존재하는 통과 세균에 불과하다<sup>1)</sup>. 그러나 구강 내에 침입한 일부 세균은 산소분압과 영양 등 발육에 적합한 부위에 정착하는데 이런 세균총을 정주균총이라 하며, 각 부위의 환경에 따라 정착, 증식한 균종을 상재균총이라고 한다<sup>2-3)</sup>. 정상적인 구강 세균총이란 치아가 존재하는 구강에 항상 서식하는 미생물을 말한다. 보통 바이러스,

효모, 원충류, 세균 등 넓은 범위의 미생물로 구성되어 있으며 이 중 약 30종은 일반적으로 상재한다.

구강에는 350종 이상의 세균이 구강 내에서 발견되며, 그 중 약 30종 이상에서 치아우식증을 유발하는 세균이 발견된다. 구강세균은 개인 차, 연령, 신체의 물리적 조건 또는 위생 상태에 따라 그 종류와 비율을 달리한다<sup>1)</sup>. 치아우식증은 치면 세균막 내 세균, 음식물, 타액 등의 상호작용으로 유발되는 질환이다<sup>2)</sup>. 치아우식증은 치면 세균막 내 세균 중에서도 *Streptococcus mutans* (*S. mutans*)가 주된 원인균으로 알려져 있다<sup>3)</sup>. *S. mutans*는 치면에 부착하여 환경조건이 유리하면

Copyright©2014 by Journal of Korean Society of Dental Hygiene

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in medium, provided the original work is properly cited.

▶ 본 논문은 2013학년도 동의대학교 교내연구비에 의해 연구되었음(2013AA080)

증식하는데 산 생성 과정을 거쳐 치아우식증을 유발한다<sup>4,5)</sup>. 구강 연쇄상 구균에는 *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. pneumoniae*, *S. mitis*, *S. sanguis*, *S. anginosus* 등이 있으며 직·간접적으로 치아우식증 유발에 관여하며, 구강 미생물총의 50%를 차지한다. 그 외 치아우식증 유발균으로 *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces*, *Odontolyticus*와 같은 다양한 세균들에 의하여 발생하는 것으로 알려져 있다<sup>6)</sup>. 외국에서는 치아우식증 억제 물질을 함유한 것으로 양귀비과 식물(bloodroot), 세이지(sage), 몰약(myrrh), 감초 뿌리(licorice root), 콩과식물의 뿌리혹(*Quercus infectoria* gall), 벌집(nidus vespa), 물레나물과 식물(*Cratogeomys formosum*), 치커리(chicory), 꿀풀(*Prunella vulgaris*) 등이 보고되고 있다<sup>7)</sup>.

우리나라에서 연잎은 불교에서 유래한 것으로 추정되는 연잎차 문화 외에 음식으로 연잎에 밥을 하거나 밥을 싸서 보관하고 있다. 이런 연잎을 이용한 유래는 중국 경파족들의 음식 문화에서 우리나라에 불교문화와 더불어 전파된 것으로 보인다.

연(*Nelumbo nucifera* Gaertn)은 여러해살이 수중식물<sup>8)</sup>로 원산지는 동남 아시아, 오스트레일리아 북부이다. 또한 연은 우리나라에 널리 분포하고, 연잎은 예로부터 민간에서 치료제로 사용되어져 왔으며 오늘날 차와 술 등으로 음용되고 있다. 비대한 연뿌리(연근)와 잎자루 및 열매는 식용으로 쓰였는데 특히, 열매는 '연밥'이라 하여 씨, 덩이, 뿌리와 함께 식용·약용된다. 연잎 꽃받기는 꽃꽂이로, 잎은 수렴제 및 지혈제로 이용되어 출혈성 위궤양이나 위염, 치질, 출혈, 설사, 야뇨증에 쓰였다. 또한 잎은 각종 독성 물질에 대한 중화작용을 하는 것으로 알려져 민간치료제로 사용하여 왔다. 뿌리는 강장제로, 열매는 부인병 치료에 사용하였다. 연뿌리를 달인 물은 입안 염증이나 편도선염에 좋고 연뿌리 즙은 폐결핵·각혈·하혈 치료에 좋다고 알려져 있다. 치아우식증을 포함한 치통에 대한 경감효과는 예로부터 인도, 중국 등에서 식물체를 이용한 민간요법으로 널리 이용되어 왔다<sup>9)</sup>. 천연물질과 구강 관련 최근 선행연구로는 고삼, 소목, 오이풀, 자몽, 호장근, 마 등의 여러 보고<sup>10-13)</sup>들이 있었다.

본 연구의 목적은 오래전부터 음용차로 사용된 연잎의 구강 건강 관련성으로 치아우식균에 항균효과가 있는지 과학적으로 입증하고자 본 연구를 수행하였다. 연잎 추출물에 대해 구강 질환과 관련하여 균 6종을 이용하여 추출물과 균의 항균활성, 최소성장억제농도, 성장지해, Glucosyltransferase (GTase) 활성억제 효과에 대해 조사하였다.

## 연구방법

### 1. 연잎 분말과정

본 실험에 사용된 연잎(*N. nucifera* leaf)은 경상남도 김해시 진례면 송정리 송정마을 연밭에서 재배된 연잎을 채집하여 팬(fan)이 부착된 건조기(Na-nu Hi-tech Co., Korea)를 이용하여 65-66°C에서 건조시켰다. 건조한 연잎을 -70°C의 액체질소로 분쇄하였다. 분말 400 g에 70% 메탄올 4 L를 첨가한 후 65°C의 초음파 세척기에서 3시간 추출시켰다. 회전 진공 펌프(rotary vacuum evaporator, Centra-Vac VS-802, Vision, Korea)로 감압 농축하였다. 건조된 추출물 30.2 g를 얻어 멸균기(Labo Autoclave, Sanyo, Japan)로 120°C, 30분간 멸균하였다. 냉각된 시료를 4°C 냉장고에 보관하였다.

### 2. 치아우식증 균주 배양

부산시내 Y치과 의원에 내원한 환자로부터 치아우식증으로 발견한 치아에서 치아우식증 부위를 멸균된 기구로 긁어 멸균된 생리식염수 10 mL를 멸균 시험관에 넣어 잘 흔들어 세균이 식염수로 이탈되도록 하였다. 이 식염수 1 mL를 brain infusion solids 12.5 g/L, beef heart infusion solids 5.0 g/L, proteose peptone 10.0 g/L, glucose 2.0 g/L, sodium chloride 2.0 g/L, disodium phosphate 2.5 g/L가 함유된 Brain Heart Infusion (BHI, Oxoid, England) 액체 배지에 접종한 후 이산화탄소 항온기(MCO 96, Sanyo, Japan)에서 37°C, 48시간 동안 증균 배양하였다. 증균된 배양액 1 mL를 BHI 고체 배지에 혼합분주 후, 다시 37°C, 48시간 동안 배양하였다. 이 배양에서 생성되는 집락을 새로운 BHI 고체 배지에 다시 지그재그로 도말하여 균을 순수 분리하였다. 그러나 현미경으로 형태적으로 동정하기에 모호한 균이 있어 균의 존재 여부만 확인하였고, *S. mutans*, *S. mitis*, *S. sobrinus*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*에 한국생물자원센터(Korean Collection for Type Cultures, KCTC)에서 표식된 균을 분양받아 사용하였다.

### 3. 연잎추출물의 구강 세균 성장 억제 효과

균주는 BHI 배지로 37°C에서 24시간 혐기 배양한 배양액에 계대배양 후 실험에 사용하였다. 항균효과를 측정하기 위해 사용한 BHI와 Mueller Hinton agar (MH agar)를 사용하였다. 연잎 추출물 50  $\mu$ l씩 흡수시킨 8 mm paper disc (Advantec, Toyo Roshi Co., Japan)를 BHI 한천 배지와 MH Agar를 사용하여 24시간 배양 후 paper disc 주위에 발생한 저해환(clear zone)의 직경(mm)을 입체현미경으로 측정하였다.

#### 4. 연잎 추출물의 최소성장억제농도 측정

연잎 추출물의 최소성장억제농도(minimal inhibitory concentration, MIC)를 측정하기 위해 액체배지 희석법을 이용하였다. 연잎 추출물을 농도별로 0 mg/ml, 1.0 mg/ml, 2.0 mg/ml, 4.0 mg/ml, 6.0 mg/ml, 8.0 mg/ml, 10.0 mg/ml를 준비하였다. BHI 액체배지를 만들어 배양된 균주를 균일하게 하기 위해 코로나 형성 단위(colony-forming unit, CFU)를 이용하여  $1 \times 10^7$  CFU/ml이 되게 집중하였다. 이 균이 들어 있는 배지를 96-microwell plate에 주입하였다. 이 때 여러 균의 주입을 위해 연잎 추출물농도 X 세균 수, 즉 연잎 추출물 7종류 농도 (대조군 포함) x 6개 세균 주 = 42개 Plate wells에 BHI 액체배지를 주입한 후 37°C에서 24시간 혐기배양 하였다. 혐기배양 후 ELISA reader (TECAN Austria, Austria)로 흡수파장 490 nm에서 흡광도(O.D.)를 측정하였다. 연잎 추출물의 항균 효과 평가를 위해 각 균주의 증식이 나타나지 않는 최소 농도를 MIC로 하였다.

#### 5. 연잎 추출물의 농도에 따른 구강 세균 생장

각 균주 1 loop를 취하여 10 ml BHI 액체배지에 접종하였다. 이 접종된 세균과 배지를 37°C에서 24시간 혐기배양 하였다. 연잎 추출물을 최소성장억제농도의 결과에서 얻은 자료로 농도별 처리를 하였다. 즉 농도별로 0 mg/ml, 1.0 mg/ml, 2.0 mg/ml, 4.0 mg/ml, 8.0 mg/ml, 16.0 mg/ml, 32.0 mg/ml를 준비하였다. 조제된 BHI 배지에 연잎 추출물을 농도별로 처리하였다. 이를 다시 37°C에서 24시간 혐기 배양하였다. 혐기 배양 후 ELISA reader를 사용하여 흡수 파장 490 nm에서 흡광도를 측정하여 성장 변화를 확인하였다.

#### 6. Glucosyltransferase (GTase)의 분리 및 활성 저해

GTase 분리는 목본식물의 방법<sup>14)</sup>을 사용하여 분리하였다. 각 균주를 BHI broth에서 37°C, 24시간 배양하여 20 ml를 취하여 BHI broth 1 l 에 접종(종균 2% v/v)하여 CO<sub>2</sub> 배양기에서 37°C, 24시간 배양하였다. 배양액을 실온에서 6,000 rpm으로 20분간 원심 분리하여 상층액을 취하여 냉각시킨 에탄올 700 ml를 첨가하여 4°C 냉장고에서 overnight시켰다. 8,000 rpm에서 30분간 원심 분리하여 침전물을 0.06 M potassium phosphate buffer (pH 6.8) 8 ml에 현탁하였다. -20°C 냉동고에 보관하며 GTase 효소활성의 검증액으로 사용하였다. 활성 검정을 위해 test tube에 0.06 M potassium phosphate buffer (1000 ml 증류수, sucrose 12.5 g, NaN<sub>3</sub> 0.25 g, pH 6.8) 0.8 ml, GTase 0.05 ml, 추출물 0.1 ml씩 넣어 37°C에서 17시간 정제배양 후 상층액은 버리고 증류수 2 ml을 가하여 씻어내었

다. 증류수 2 ml을 가하여 30분간 초음파처리로 용기벽에 부착된 glucan을 탈착 및 파쇄하고, 분광광도계에서 흡수파장 550 nm로 흡광도를 측정하였으며, 다음 식에 따라 저해율을 산출하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \frac{\text{대조군의 흡광도} - \text{실험군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

## 연구결과

### 1. 연잎 추출물의 항균활성

Paper disc방법으로 연잎 추출물로 각 균주에 대한 항균효과를 측정하였다(Table 1). *S. mutans*는 연잎 추출물 농도 4.0 mg/ml, 8.0 mg/ml, 16.0 mg/ml에서 각각 1.3 mm, 2.3 mm, 3.3 mm로 나타났다. *S. mitis*는 16.0 mg/ml에서 1.5 mm로 나타났다. *S. sobrinus*는 4.0 mg/ml에서 1.8 mm를 나타내었으며 8.0 mg/ml, 16.0 mg/ml에서는 각각 2.6 mm, 3.3 mm로 나타났다. *P. gingivalis* 2.0 mg/ml, 4.0 mg/ml, 8.0 mg/ml, 16.0 mg/ml에서 각각 1.1 mm, 2.3 mm, 3.74 mm, 4.8 mm로 나타났다. *P. intermedia*는 4.0 mg/ml에서 1.5 mm를 나타내었다. *T. denticola*는 8.0 mg/ml, 16.0 mg/ml에서 각각 1.6 mm, 2.2 mm를 나타내었다. 연잎 추출물은 조사한 세균 중 *P. gingivalis*로 가장 항균 효과가 높게 나타났다. 반면에 *S. mitis*가 연잎 추출물에 대한 항균 효과가 가장 낮은 균이었다.

### 2. 연잎 추출물의 최소성장억제농도(MIC)

연잎 추출물의 6종 균주에 대한 항균효과를 MIC로 측정한 결과 *P. gingivalis*가 4.0 mg/ml로 가장 낮게 나타났으며 그 다음은 *S. sobrinus*로 6.0 mg/ml, *S. mutans*는 8.0 mg/ml로 나타났다(Table 2). *S. mitis*와 *T. denticola*에서는 각각 10.0 mg/ml로 MIC가 나타났다. 따라서 연잎 추출물의 균주에 대한 MIC는 대부분 10.0 mg/ml를 만들면 저해 효과를 관찰할 수 있다.

### 3. 연잎 추출물의 농도에 따른 성장억제 효과

메탄올 연잎 추출물의 농도에 따른 치아우식증을 유발하는 3종과 치주염의 3종에 대한 각 균주에 대한 상대성장률(Relative Growth Ratio, RGR)은 Fig. 1과 같다. 성장 억제는 농도증가에 따라 점차 감소하여 모든 6종의 균주에서 성장억제를 나타내었다. RGR이 50% 수준으로 감소하는 연잎 추출물의 농도는 약 3.0 mg/ml로 나타났다. RGR이 20% 정도로 나타내는 농도는 치아우식증을 유발하는 3종은 32.0 mg/ml이었으며, 치주염 균주는 약 16.0 mg/ml로 나타났다. 전반적으

Table 1. Antibacterial activity of *Nelumbo nucifera* against dental caries and adult periodontists. Zones of inhibition in mm

Strains	Concentration (mg/ml)					
	0	1.0	2.0	4.0	8.0	16.0
<i>Streptococcus mutans</i>	-	-	-	1.3±0.2	2.3±0.2	3.3±0.5
<i>Streptococcus mitis</i>	-	-	-	-	-	1.5±0.4
<i>Streptococcus sobrinus</i>	-	-	-	1.8±0.2	2.6±0.4	3.3±0.3
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	-	-	1.1±0.4	2.3±0.5	3.7±0.4	4.8±0.3
<i>Prevotella intermedia</i>	-	-	-	1.5±0.3	2.3±0.4	3.8±0.5
<i>Treponema denticola</i>	-	-	-	-	1.6±0.2	2.2±0.3

Table 2. MIC values of *Nelumbo nucifera* against dental caries and adult periodontitis

Strains	Concentration (mg/ml)							MIC (mg/ml)
	0	1.0	2.0	4.0	6.0	8.0	10.0	
<i>S. mutans</i>	+	+	+	+	+	-	-	8.0
<i>S. mitis</i>	+	+	+	+	+	+	-	10.0
<i>S. sobrinus</i>	+	+	+	+	-	-	-	6.0
<i>P. gingivalis</i>	+	+	+	-	-	-	-	4.0
<i>P. intermedia</i>	+	+	+	+	+	-	-	8.0
<i>T. denticola</i>	+	+	+	+	+	+	-	10.0

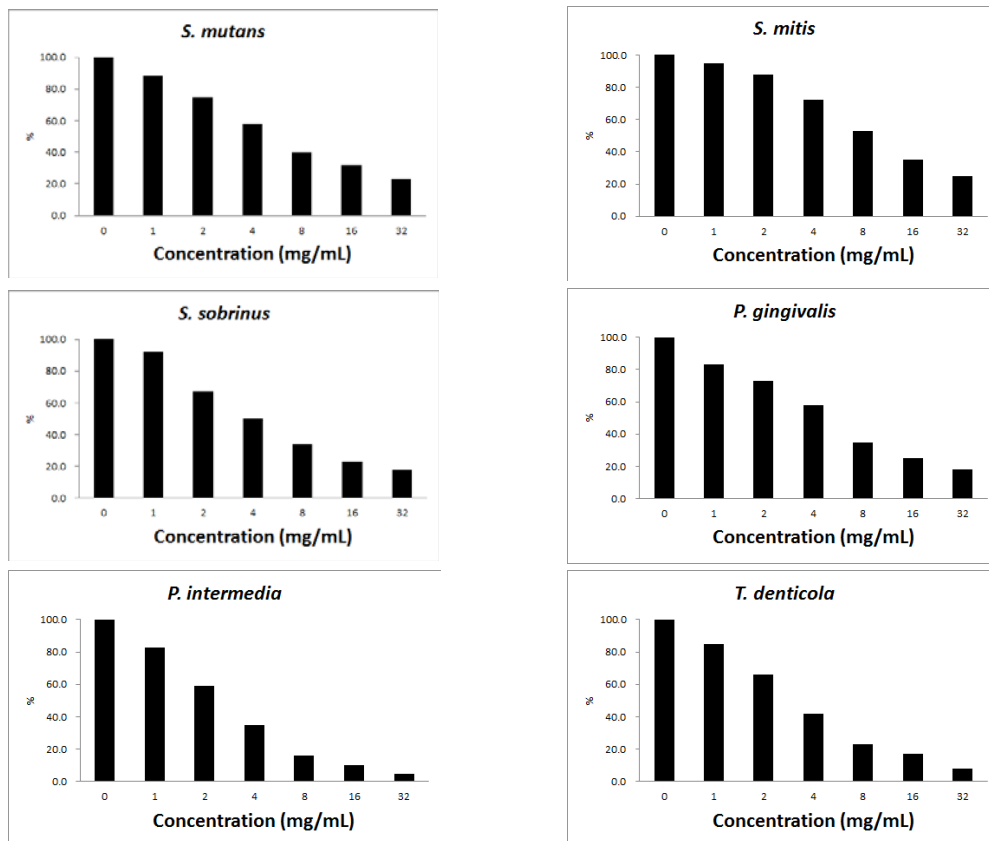
Fig. 1. Relative growth ratio of dental caries and adult periodontists on *Nelumbo nucifera*

Table 3. GTase activity (O.D.) of *Nelumbo nucifera* extracts against six strains

Concentration (mg/ml)	<i>S. mutans</i>	<i>S. mitis</i>	<i>S. sobrinus</i>	<i>P. gingivalis</i>	<i>P. intermedia</i>	<i>T. denticola</i>
Control	0.112±0.018 (0)	0.113±0.016 (0)	0.109±0.018 (0)	0.102±0.007 (0)	0.108±0.013 (0)	0.107±0.009 (0)
1	0.102±0.005 (8.6)	0.099±0.004 (12.4)	0.099±0.004 (9.2)	0.095±0.004 (6.5)	0.098±0.005 (9.3)	0.098±0.005 (8.4)
2	0.097±0.007 (13.6)	0.097±0.007 (14.3)	0.095±0.008 (13.0)	0.092±0.006 (10.0)	0.094±0.008 (12.6)	0.091±0.003 (15.1)
4	0.086±0.007 (23.2)	0.086±0.006 (24.2)	0.088±0.006 (18.9)	0.086±0.005 (15.5)	0.084±0.008 (22.2)	0.085±0.005 (20.6)
8	0.079±0.012 (29.8)	0.078±0.013 (31.2)	0.076±0.011 (29.8)	0.076±0.011 (25.3)	0.078±0.009 (27.8)	0.076±0.010 (29.0)
16	0.070±0.009 (37.7)	0.063±0.009 (44.2)	0.062±0.008 (42.9)	0.065±0.006 (36.5)	0.068±0.009 (36.7)	0.066±0.006 (37.9)

\*Parenthesis was inhibition rate (%).

로 치아우식증을 유발하는 3종보다는 치주염 균주가 RGR이 낮았으나 유의미한 차이는 나타내지 않았다( $P < 0.05$ ).

#### 4. Glucosyltransferase (GTase)의 분리 및 활성 저해

6종의 균주에 대한 연잎 추출물을 첨가하여 GTase의 활성 저해효과를 측정된 결과 GTase 활성 저해를 나타내었다 (Table 3). *S. mutans*에 연잎 추출물의 첨가량이 0.0, 0.1, 2.0, 4.0, 8.0, 16.0 mg/ml 일 때, 흡광도는 각각 0.112, 0.102, 0.097, 0.086, 0.079, 0.070으로 나타났고, GTase 활성 저해율은 농도에 따라 각각 0, 8.6, 13.6, 23.2, 29.8, 37.7%였으며, 통계적으로 유의하게 활성이 저해되었다( $p < 0.05$ ). 사후검정 결과, 모든 균에서 대조군과 비교시 연잎 추출물에 대해 농도 의존적으로 유의하게 활성이 저해되었다. *S. mitis*에 대한 연잎 추출물을 첨가하여 GTase의 활성 저해효과는 첨가량이 0.0, 0.1, 2.0, 4.0, 18.0, 16.0 mg/ml 일 때, 각각 0, 12.4, 14.3, 24.2, 31.2, 44.2%로 통계적으로 유의하게 활성이 있었다( $p < 0.05$ ). *S. sobrinus*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. denticola* 역시 농도 의존적으로 유의하게 활성을 저해되었으며 가장 높은 저해율은 *S. mitis*에서 나타났다.

### 총괄 및 고안

치아우식증에 대한 일본, 중국, 인도 등 많은 나라에서 민간 요법이 있었으며 이런 민간요법을 입증하는 연구도 진행되고 있다<sup>9,15,16</sup>. 마와 꿀풀에 의한 *S. mutans*의 항균성 연구<sup>11</sup>)에서 추출물의 저농도(0.05 mg/ml)부터 급격한 저하가 보고되었으나 본 연구에서는 연잎추출물은 저농도보다 고농도에서 성장 억제가 관찰되어 저해 작용은 유사하였지만, 저농도에서부터 급격하게 감소하지는 않았다. 이는 저해작용을 나타내는 성분이 마와 꿀풀보다 연잎에 많이 함유되어 있지 않거

나 메탄올 추출이 부족했을 가능성이 사료된다. 추출 방법에 대해서는 오미자의 경우 열수추출물보다는 메탄올 추출물이 구강병원균에 대한 활성이 더 나은 것으로 보고되어<sup>17</sup>) 본 연구에서 메탄올 추출물의 항균 효과가 나타날 것으로 기대 하였으나 추출방식에 따라 추출물의 성분이 다르므로 이에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 사료된다. 구맥(*Dianthus superbus*)의 에탄올 추출물 역시 *S. mutans* 성장 억제를 보였다<sup>18</sup>). GTase에 대한 연잎추출물의 효과는 솔잎추출물에 GTase 활성 저해가 보고되었고<sup>19</sup>), 오미자에 대한 GTase 활성 저해<sup>17</sup>)와 같은 선행연구를 살펴보면 추출방법이나 농도가 다르지만 저해 양상은 유사하였다.

한편 pH 5.0-5.5 이하이면 치아의 탈회가 일어나 치아우식증이 발생한다고 보고된 바<sup>20</sup>) 있으며, 선행된 연잎 추출물의 연구에서 pH를 상승시켜 치아우식증 예방효과가 있음이<sup>21</sup>) 보고되었다. 특히 이<sup>21</sup>)에 의한 연잎 추출물 연구는 치아우식 유발균 *S. mutans*, *S. gordonii*, *S. sanguinis*, *S. sobrinus*, *S. ratti*, *S. anginosus*, *S. criceti*, *S. oralis*, *Fusobacterium nucleatum*에 대한 연구가 보고되었다. 그러나 본 연구에서 *S. mitis*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. denticola* 추가로 나타난 결과는 보다 광범위한 정보를 제공할 수 있어 연잎의 추출물이 치아우식증 외 치주염을 유발하는 세균에도 항균효과가 있다는 것을 확인하였다. 그러나 치아우식증에 대한 항균 정도는 연잎농도를 분말과 동결 건조에서 다시 순수추출 등 아주 고농도로 하지 않는 한 비록 농도에 따라 세균 생장에 저해정도를 나타내지만 약품에서처럼 높지는 않아 추출물의 제한점이다. 또한 본 연구의 한계로 독성세포 사멸에 대한 비교 실험을 수행하지 않는 점도 연구의 제한점이라고 할 수 있다.

연(*N. nucifera*)은 사찰음식에서 연밥용으로 주로 이용되며 한방에서는 지혈작용을 나타내어 여성 생리 질환에 쓰였다. 연잎에는 flavonol miquelianin (Quercetin 3-O-glucuronide), alkaloids (+)-1(R)-coclaurine, (-)-1(S)-norcoclaurine이 함유된 것으로 보고되고 있다<sup>22</sup>). 이런 성분들이 구강세균의 작용을

저해하거나 세균 생장을 억제한다고 볼 수 있다. 연잎은 주로 밥을 짓는 데 사용하므로 본 연구에서는 연잎에 국한하였으나 꽃잎 등에 대한 항균활성 연구가 병행되면 차 또한 구강에서 음미하면서 마시게 됨으로 구강에서 머무르는 동안 구강 세균에 어떤 작용을 나타내는지 살펴볼 수 있을 것이다.

## 결론

본 연구는 연잎 추출물의 6종 균주에 대한 항균효과를 조사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 연잎추출물의 구강미생물에 대한 항균효과는 *P. gingivalis*가 가장 높았으며, *S. mitis*에서 가장 낮게 나타났다.
2. 연잎 추출물의 6종 균주에 대한 항균효과를 MIC로 측정 한 결과 *P. gingivalis*가 최소성장억제농도가 4.0 mg/ml로 가장 낮게 나타났으며 그 다음은 *S. sobrinus*로 6.0 mg/ml 이었다. 치아우식증을 유발하는 3종과 치주염의 3종에 대한 각 균주에 대한 RGR이 50% 수준으로 감소하는 연잎 추출물의 농도는 약 3.0 mg/ml로 나타났다.
3. 연잎 추출물을 첨가하여 치아우식증을 유발하는 3종과 치주염의 3종에 대해 GTase의 활성 저해효과를 나타내는 것으로 확인하였다.

이상의 연잎 추출물 결과에서 보듯이 우리 주변에 분포하고 있는 다른 자생 식물중에는 자연 또는 천연 성분이 치아우식증 세균에 항균효과가 있을 수 있음을 시사한다.

## Reference

1. Han MD, Kim YK. Oral microbiology. Seoul: Koomonsa; 1998: 227.
2. Kim YY, Mong SV, Ha OP, Jong SO. Effect of surface roughness of acrylic resin on the adhesion of bacteria. J Korean Acad Pros 2004; 42: 373-85.
3. Kim JH, Kim MS, Kwak DJ. Isolation, identification and growth characteristics of oral bacteria. J Dent Hyg Sci 1998; 4(2): 69-76.
4. Hamada N, Takehara T. Virulence factors of Streptococcus mutans and dental caries prevention. J Dent Res 1984; 63: 407-11.
5. Loesche WJ, Rowan J, Straffon LH, Loos PJ. Association of Streptococcus mutants with human dental decay. Infect Immun 1975; 11: 1252-60.
6. Lin M, Savaiano D, Harlande S. Influence of nonfermented dairy products containing bacterial stater cultures on lactose maldigestion in humans. J Dairy Sci 1991; 74: 87-95.
7. Poureslami H. The effects of plant extracts on dental plaque and caries. In Li, Contemporary Approach to Dental Caries. MY, (ed.), Croatia: In Tech; 2012: 396-402.
8. Lee YN. Korea plant encyclopedia. Seoul: Gyohaksa; 2002: 411.
9. Reddy KS, Kumar AS, Ganapaty S. Evaluation of hypoglycemic and wound healing activities of Lantana wightlana wall, ex gambel leaves. Int Res J Pharm 2011; 2: 264-66.
10. Lee BB, Ha YM, Shin SH, Je KM, Kim SR, Choi JS, et al. Antimicrobial activity of test dentifrice product containing grapefruit seed extract and processed sulfur solution against oral pathogens. Kor J Life Sci 2009; 19: 956-62.
11. Jung KO. Glucosyltransferase Inhibition of Streptococcus mutans by dioscorea batatas and Prunella vulgaris extract. J Dent Hyg Sci 2007; 7(1): 9-12.
12. Kim EM, Cho MJ. Antimicrobial activities of oral bacteria by Lichen extracts. J Korean Soc Dent Hyg 2012; 12(1): 81-91.
13. 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>.
14. Lee WY, An JK, Kwon YJ. Streptococcus mutans bacteria from woody plant proliferation and inhibition of the species glucosyltransferase navigation. J Forest Sci 2002; 65: 30-46.
15. Chavan SD, Shetty NL, Kanuri M. Comparative evaluation of garlic extract mouthwash and chlorhexidine mouthwash on salivary Streptococcus mutans count - an in vitro study. Oral Health Prev Dent 2010; 8(4): 369-743.
16. You YS, Park KM, Kim YB. Antimicrobial activity of some medical herbs and spices against Streptococcus mutans. Kor J Appl Microbiol Biotechnol 1993; 21: 187-91.
17. Heo NS, Choi HJ, Hwang SM, Choi YW, Lee YG, Joo WH. Antimicrobial and anti-oral malodor efficacy of Schizandra chinensis extracts against oral pathogens. Kor J Life Sci 2013; 19: 956-62. <http://dx.doi.org/10.5352/JLS.2013.23.3.443>.
18. Yu HH, Kim DK, Kim JK, You YO. Effects of Dianthus superbus on activity of Streptococcus mutans. Kor J Orient Physiol & Pathol 2010; 24: 854-8.
19. Choi HD, Koh YJ, Choi IW, Kim YS, Park YK. Anticariogenic activity and glucosyltransferase inhibitory effects of extracts from pine needle and twing. Kor J Food Sci Technol 2007; 39: 336-41.
20. Kim JB, Paik DI, Moon HS, Song KB, Chang KW, Shin SC, et al. Clinical preventive dentistry. 4th ed. Seoul: Koomonsa; 2005.
21. Lee HY. Nelumbo nucifera of Streptococcus sp. causes oral disease by methanol extra [Master's thesis]. Busan: Univ. of Dongeui, 2012.
22. Kashiwada Y, Aoshima A, Ikeshiro Y, Chen YP, Furukawa H, Itoigawa M, et al. Anti-HIV benzyloquinoline alkaloids and flavonoids from leaves of Nelumbo nucifera Gaertn, and structure-activity correlations with related alkaloids. Bioorg Med Chem 2005; 13: 443-8.