

죽엽(솨대)의 항산화 성분 및 구강세균에 대한 항균 효과

박경란¹ · 강성태² · 김민주² · 오희경³

¹장안대학교 호텔조리과

²서울과학기술대학교 식품공학과

³장안대학교 건강과학부 식품영양과

Antioxidative Components and Anti-Oralmicrobial Effect of Bamboo (*Phyllostachys nigra* var. *henonis* Stapf) Leaves

Kyung Lan Park¹, Sung Tae Kang², Min Ju Kim², and Hee Kyung Oh³

¹Department of Hotel Culinary Art and ³Department of Food and Nutrition, Jangan University

²Department of Food Science and Technology, Seoul National University of Science and Technology

ABSTRACT The objective of this study was to investigate the antioxidative components and anti-oralmicrobial effect of bamboo (*Phyllostachys nigra* var. *henonis* Stapf) leaves. The moisture, crude protein, crude fat, crude ash, and carbohydrate contents were 6.30%, 5.10%, 1.73%, 10.61%, and 76.26%, respectively. Vitamin C content was higher than Vitamin A and E contents. Among organic acids, citric acid content was the most abundant organic acid, followed by succinic acid, acetic acid, malic acid, and formic acid. Total polyphenol and flavonoid contents were 21.66 mg/g and 42.78 mg/g, respectively. Minimum inhibitory concentrations (MICs) of extracts of bamboo leaves for *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* were determined to be 0.04% and 0.16%, respectively. MICs of extracts of bamboo leaves for *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia* were determined to be 0.02%. Extract of bamboo leaves had strong antimicrobial activity against *S. mutans*, *S. sobrinus*, *P. gingivalis*, and *P. intermedia* at a concentration of 0.32%. At this concentration, extract of bamboo leaves inhibited growth of these pathogenic bacteria up to 60 h. The results of the present study demonstrate the antimicrobial effects of bamboo leaves ethanol extract against oral pathogenic bacteria, suggesting that bamboo leaves could be an effective natural agent for oral hygiene.

Key words: *Phyllostachys nigra* var. *henonis* Stapf, polyphenol, organic acid, anti-oralmicrobial activity

서론

최근 경제성장에 따른 국민소득 증가와 식생활의 서구화로 인해 건강에 대한 일반인들의 관심이 높아지고 있다. 또한, 고령화 사회로 인해 건강 유지 및 증진의 효과가 있는 건강기능식품에 대한 선호도가 증가하고 있다. 특히 성인병의 예방과 치료에 효능이 있는 저칼로리 식품을 선호하고 식생활과 관련된 라이프 스타일에 맞는 다양한 형태의 건강음료가 상품화되고 있으며, 차의 효능이 건강을 위한 음료로 인식되고 있는 추세이다(1,2).

대나무는 벼과의 상록 교목으로 아열대, 열대 및 온대 지방까지 널리 퍼져 있고 우리나라를 비롯한 동남아시아에서 주로 분포하고 있으며, 특히 우리나라에서 자라고 있는 대나무는 왕대속(*Phyllostachys*), 조릿대속(*Sasa*) 및 해장죽속(*Arundinaria*) 등으로 분류된다. 예로부터 대나무는 죽재로

주로 이용되었으며 죽엽은 고혈압, 발한, 중풍 등의 치료를 위한 민간약으로 주로 이용되어 왔다(3). 일반가정에서는 김치를 담근 후 대나무 잎으로 덮거나 동치미의 경우 죽엽을 띄워서 보관기간을 연장하는 데 사용하기도 하였다(4). 죽엽과 관련된 연구로는 대나무 잎의 생리활성과 그 추출물의 항균 활성(5), 동치미에서 죽엽이 품질과 맛에 미치는 영향(6), 김치발효미생물에 대한 죽엽 추출물의 항균력(7) 등으로 주로 항균 활성 효과 등이 연구되고 있다. 최근에는 왕대속(*Phyllostachys*)에 속한 솨대(*Phyllostachys nigra* var. *henonis* Stapf) 잎 추출물에서 항암 및 항염 효과가 확인되었다(8). 또한, 죽엽 분말을 이용한 새로운 식품 개발 연구가 활발하게 진행되고 있는데 주로 차류, 생식에 넣은 죽엽 분말, 죽엽 한과, 죽엽 갈비, 죽엽 밀가루 반죽 등이 있다(9,10).

구강질환은 세균에 의한 감염질환으로서 성인에서 치아 상실을 초래하는 가장 중요한 원인이다. 대표적인 구강질환 증세인 충치는 구강에 상재하고 있는 *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* 등의 균에 의해서 발생한다. 즉 충치는 치아의 법랑질 표면에 *S. mutans*, *S. sobrinus* 등의 균이 당질을 영양분으로 하여 불용성 glucan을 형성하

Received 5 July 2016; Accepted 8 September 2016

Corresponding author: Hee Kyung Oh, Department of Food and Nutrition, Jangan University, Hwaseong, Gyeonggi 18331, Korea
E-mail: hkoh01@hanmail.net, Phone: +82-31-299-3063

고 이러한 glucan에 원인세균이 증식하면서 각종 유기산을 생성하여 치아표면의 에나멜질이 분해되면서 치아손실이 일어나는 현상이다(11,12). 한편 구취는 입안에 있는 *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* 등의 세균이 단백질을 분해하여 불쾌한 냄새가 나는 증상이며, *P. gingivalis*, *P. intermedia*는 치주염과도 관련 있는 세균으로 밝혀졌다(13,14). 이러한 구강질환을 유발하는 원인세균들을 억제하기 위해서 화학제제를 사용하고 있지만, 대부분의 경우에 항생제가 사용되고 있다. 그러나 항생제는 인체에 위해작용이 있고 내성균을 만들 수 있으며, 균교대증과 같은 부작용을 일으킬 수 있다(15). 최근에는 구강 상주균을 건강하게 유지한 채로 병원균만을 억제하려는 노력의 일환으로 천연 추출물의 활용이 추천되고 있다(16). 따라서 구강질환의 예방을 위해 꾸준히 차를 음용하는 것이 바람직하며, 죽엽의 경우 식품 부패균의 항균 효과에 관한 연구는 있으나 구강질환을 일으키는 세균에 대한 연구는 이루어지지 않는 실정이다(7,17,18).

본 연구에서는 죽엽(*P. nigra* var. *henonis* Stapf) 추출물을 이용하여 항산화 성분을 분석하고 층지균의 일종인 *S. mutans*, *S. sobrinus*와 구취균의 일종인 *P. gingivalis*, *P. intermedia*에 대한 항균성을 측정하여 향후 향초 및 구취 예방 효과를 지닌 죽엽 차 제품의 제조를 위한 기초자료를 제시하고자 한다.

재료 및 방법

재료 및 추출물의 제조

본 실험에서 사용한 죽엽은 전라남도 담양군 지역에서 자생하는 자연산 습대(*P. nigra* var. *henonis* Stapf)의 잎으로 2015년 7월에 구입하여 건조한 후 저온실에서 보관하면서 실험에 사용하였다. 항균 실험을 위한 추출물의 제조는 죽엽 100 g에 70% 에탄올 1,000 mL를 첨가하여 실온에서 48시간 동안 3회 침지시킨 후 추출한 다음 No. 2 filter paper (Advance Co., Tokyo, Japan)로 여과하였다. 여과액은 40°C 수욕상에서 rotary vacuum evaporator(N-1000S-W, EYELA, Tokyo, Japan)로 70% 에탄올 용매를 제거하고 감압 농축한 후 동결건조(Bondi Vacuum Freeze-Dryer, Ilshin Lab Co., Ltd., Seoul, Korea) 하였으며, 건조물의 무게는 13.5 g으로 측정되었다. 시료의 산화를 방지하기 위해 -70°C에 냉동 보관하였다.

일반성분 분석

시료의 일반성분은 AOAC(19)의 일반시험법에 따라 분석하였다. 수분 함량은 105°C 상압가열건조법, 조회분은 550°C 전기회화로를 이용한 직접회화법, 조지방은 Soxhlet 추출법, 조단백질은 자동질소 증류장치를 이용한 micro-Kjeldahl법으로 각각 분석하였다. 탄수화물의 함량은 100에서 수분, 조회분, 조지방 및 조단백질 함량을 제외한 값으

로 나타내었다.

비타민 분석

비타민 A와 비타민 E의 분석은 Jung 등(20)의 시험방법에 따라 분석하였다. 시료 0.5 g에 ascorbic acid 0.1 g과 에탄올 5 mL를 넣어 80°C에서 10분간 가열한 후 50% KOH 용액 0.25 mL를 첨가하고 20분간 가열한 다음 증류수 24 mL와 hexane 5 mL를 가하여 1,150×g에서 20분간 원심분리 하였다. 상층액을 분리하여 hexane 40 mL를 가하고 원심분리 한 다음 상층액을 분리하고 증류수를 가하여 10분간 방치한 후 하층을 제거하였다. 이 과정을 3회 반복한 다음 전 용액을 합하여 Na₂SO₄로 탈수하고 rotary vacuum evaporator로 hexane을 3 mL까지 감압 농축한 후 HPLC(LC-10AVP, Shimadzu, Kyoto, Japan)로 분석하였으며, 분석조건으로 column은 shim-pack GLC-ODS(M) 25 cm를 사용하였고, 비타민 A와 비타민 E 분석을 위한 detector는 SPD-10A(UV-VIS detector, Shimadzu Co.)와 RF-10A(Spectrofluorometric detector, Shimadzu Co.)를 각각 사용하였다. 비타민 C 함량은 각 추출물을 0.2 µm membrane filter로 여과하여 HPLC(Young-Rin Associates, Seoul, Korea)로 분석하였으며, 분석조건으로 column은 Bondapak C₁₈(3.9×300 mm, 10 µm), flow rate는 0.6 mL/min, 이동상은 0.1% phosphoric acid를 사용하였다(21).

유기산 함량 분석

유기산 분석은 AOAC 방법(22)을 변형하여 시료 1 g에 증류수 50 mL를 가하여 80°C 수조에서 4시간 가열한 다음 No. 2 filter paper(Advance Co.)로 여과하고, 여액을 rotary vacuum evaporator로 감압 농축한 후 증류수로 10 mL로 정용하여 Ion Chromatography(DX-600, Dionex, Sunnyvale, CA, USA)로 분석하였으며, 분석조건으로 column은 Ionpac AS11-HS Analytical, reagent는 5.0 mM tetrabutylammonium hydroxide, injection volume은 10 µL, flow rate는 1.0 mL/min을 이용하였다.

총폴리페놀 함량 분석

총폴리페놀 함량은 Folin-Denis 방법(23)에 따라 측정하였다. Test tube에 시료 1 mL와 Folin reagent 2 mL를 넣은 후 실온에서 3분간 정치한 다음 10% Na₂CO₃ 2 mL를 첨가하였고, 이를 혼합한 후 30°C에서 40분간 정치하였으며, UV-visible spectrophotometer(UV-1601PC, Shimadzu Co.)를 사용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 tannic acid(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)의 검량선에 의하여 tannic acid equivalents (TAE/g) 단위로 나타냈다.

총플라보노이드 함량 분석

총플라보노이드 함량은 Chae 등(24)의 방법을 변형하여

측정하였다. 시료 1 mL에 diethylene glycol 2 mL를 첨가한 다음 1 N NaOH 20 μ L를 넣고, 37°C water bath에서 1시간 동안 반응시킨 후 UV-spectrophotometer(UV-1601PC, Shimadzu Co.)로 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 rutin hydrate(Sigma-Aldrich Co.)의 검량선에 의하여 rutin hydrate equivalents(RHE/g) 단위로 나타냈다.

실험균주 및 배양

본 실험에서 사용한 균주는 *Streptococcus mutans*(KCTC 3065), *Streptococcus sobrinus*(KCTC 3308), *Porphyromonas gingivalis*(KCTC 5352), *Prevotella intermedia*(KCTC 5694)로 한국생명공학연구원 미생물자원센터(KCTC, Daejeon, Korea)로부터 동결상태로 분양받아 사용하였다. *Streptococcus mutans* 3065, *Streptococcus sobrinus* 3308은 Trypticase Soybean Broth(TSB, Becton and Dickinson and Company, Sparks, MD, USA) 배지를 사용하여 37°C, 배양기(JISICO, JEIL Scientific Ind. Co., Ltd., Paju, Korea)에서 24시간 호기적으로 배양하였다. 또한, *Porphyromonas gingivalis* 5352, *Prevotella intermedia* 5694는 TSB 배지에 접종하여 37°C에서 24시간 혐기적으로 배양하였다.

최소저해농도(minimum inhibitory concentration, MIC) 측정

죽엽 추출물의 최소저해농도는 broth microdilution method(25)를 이용하였다. 96 well plate에 TSB 배지를 100 μ L씩 분주하고 각각의 죽엽 추출물 시료를 농도별로 100 μ L씩 분주한 후 균주를 OD₆₅₀ 0.08~0.1로 하여 10⁶~10⁷ CFU/mL로 희석해 100 μ L씩 첨가하였다. 그 후 37°C에서 24시간 배양하여 650 nm에서 microplate reader(Bio-Tek Instruments Inc., Winooski, VT, USA)로 흡광도를 측정하였다. 흡광도가 0.1 이하로 나타난 죽엽 추출물의 농도를 그 실험균주에 대한 MIC로 결정하였다.

미생물의 생육곡선 측정

죽엽 추출물을 membrane filter(0.2 μ m, pore size, Toyoroshi Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)로 제균시켰다. 이러한 추출물을 0.02%, 0.04%, 0.16%, 0.32% 농도별로 만들어 TSB 배지에 첨가한 후 미리 배양한 균주(10⁶~10⁷ CFU/mL)를 100 μ L씩 접종한 다음 37°C에서 60시간 배양하면서 12시간마다 650 nm에서 microplate reader(Bio-Tek Instruments Inc.)로 흡광도를 측정하였다.

통계처리

본 연구 결과는 3회 반복하여 SAS program(26)을 사용해 분석하였다. 각 시료에 대한 값은 평균±표준편차로 나타내었으며 처리 간 유의성 검정은 ANOVA(one way analy-

sis of variance)를 한 후 $P < 0.05$ 수준에서 유의적 수준 차이를 표시하였다.

결과 및 고찰

일반성분 및 비타민 함량

죽엽의 일반성분 및 비타민 함량을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 죽엽은 탄수화물 76.26%, 조회분 10.61%, 수분 6.30%, 조단백질 5.10%, 조지방 1.73% 순으로 나타났다. Kang(27)은 죽엽의 일반성분 함량을 분석한 연구 결과에서 탄수화물 80.07%, 조단백질 7.33%, 조지방 5.44%, 조회분 4.21%, 수분 2.95% 순으로 보고하여 본 연구 결과의 죽엽에 비해 탄수화물과 조지방 함량이 다소 높게 나타났으며, 이러한 결과는 죽엽의 채취시기, 산지 및 품종에 따른 것으로 생각한다.

죽엽에는 비타민 C가 567.82 mg/100 g으로 가장 많이 함유되어 있고 비타민 A 및 E의 함량에 비하여 월등히 높게 나타났다. 비타민 C 함량이 풍부한 차류로 널리 사용되고 있는 녹차, 치커리차, 상지차의 비타민 C 함량이 각각 338.0, 97.0, 44.0 mg/100 g인 점을 감안해 볼 때(28) 죽엽의 비타민 C 함량이 월등히 높음을 알 수 있다. Jackson 등(29)의 보고에 따르면 비타민 C는 수용성 비타민의 일종으로 다양한 산화스트레스에 대해 최초의 천연 항산화제로의 작용이 우수하며, 지질의 산화 과정에서 다불포화지방산의 산화적 손상을 보호하는 효과가 있는 것으로 나타났다.

유기산 함량

죽엽의 유기산 함량을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 8종의 유기산을 분석한 결과 oxalic acid와 tartaric acid를 제외한 6종의 유기산이 검출되었다. 죽엽의 citric acid 함량이 가장 높게 나타났고, 다음으로 succinic acid, malic acid, acetic acid, formic acid 순으로 나타났으며 acetic acid와 malic acid 함량은 비슷한 경향을 나타냈다($P < 0.05$).

본 연구에서 죽엽의 citric acid와 succinic acid 함량은 매우 풍부할 뿐 아니라 acetic acid, malic acid, formic acid 등 각종 유기산 함량이 높은 것으로 나타났다. Kim 등(30)이

Table 1. Proximate compositions and vitamins of bamboo leaves

	Items	Bamboo leaves
Proximate composition	Moisture (%)	6.30±0.07 ¹⁾
	Crude protein (%)	5.10±0.08
	Crude fat (%)	1.73±0.08
	Crude ash (%)	10.61±0.14
	Carbohydrate (%)	76.26±0.13 ²⁾
Vitamin	Vitamin A (mg/100 g)	0.23±0.03
	Vitamin E (mg/100 g)	0.06±0.05
	Vitamin C (mg/100 g)	567.82±5.69

¹⁾Values are mean±SD.

²⁾Carbohydrate=100 - (Moisture+Crude protein+Crude fat+Crude ash).

Table 2. Contents of organic acid in bamboo leaves

Organic acid	Bamboo leaves
Acetic acid	56.29±0.193 ^{c1)2)}
Formic acid	18.19±0.37 ^e
Lactic acid	24.96±0.05 ^d
Oxalic acid	ND ³⁾
Succinic acid	229.08±0.59 ^b
Citric acid	446.69±1.76 ^a
Tartaric acid	ND ³⁾
Malic acid	57.66±1.12 ^c

¹⁾Values are mean±SD.

²⁾Means with different letters in a column differ significantly ($P<0.05$).

³⁾ND: not detected.

보고한 죽엽(*P. var. henonis* Starf)의 유기산 조성은 acetic acid, oxalic acid, citric acid, succinic acid로 구성되었다고 하여 본 연구와 다소 차이를 보이는데, 이러한 결과는 죽엽의 재배 시기, 산지, 재배 지역 등에 따라 유기산 함량에 차이가 있음을 시사한다. 한편 Ju 등(17)의 연구에서는 대나무를 간접 가열한 추출액에서 citric acid, tartaric acid, malic acid, succinic acid, acetic acid 등이 검출된 것으로 나타났다. 이는 대나무 줄기와 잎 부위에 따라 유기산 조성 과 함량이 다른 것으로 생각한다.

이전의 연구 결과에 의하면 propionic acid, citric acid, acetic acid, lactic acid 등과 같은 유기산은 식중독 미생물에 대한 성장 억제에 효과적이라고 보고된 바 있다(31,32). 동백죽인 Kumazsa 잎 추출물의 경우 항균성을 나타내는 주성분은 acetic acid, benzoic acid, phenylacetic acid, salicylic acid, 3-hydroxybenzoic acid 등과 같은 유기산과 페놀 성분으로 보고되었다(33). 또한, Chung과 Goepfert(34)는 *Salmonella*의 증식 저해에 가장 효과적인 유기산이 acetic acid와 propionic acid라고 보고했다. 이는 세포 외부 환경에 존재하는 비 해리된 유기산은 세포 내부로 수송되어 세포 내부에서 해리된다고 알려졌으며, 세포 내부에서 해리된 유기산은 세포의 pH를 변화시켜 다른 요소와 함께 효소의 변성을 초래하여 세균의 성장 억제에 효과가 있는 것으로 알려져 있다.

총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

죽엽의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 측정한 결과는 Table 3과 같다. 죽엽의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 각각 21.66 mg TAE/g, 42.78 mg RHE/g으로 나타났다. 폴리페놀 화합물은 보리, 채소, 차류 등과 같은 식물체에 널리 분포되어 있으며 녹색식물이 광합성 작용을 할 때 생성된 당분 일부가 변화한 2차대사 산물로 phenolic hydroxy기를 가지고 있다. 이러한 폴리페놀 화합물은 체내 생성되는 활성산소를 제거하는 항산화 작용 및 항미생물 활성 효과 등 다양한 생리활성 기능이 있다고 알려져 있다(35). 본 연구 결과에 의하면 죽엽 에탄올 추출물에서 총폴리페놀 함량은 폴리페놀 화합물 함량이 풍부한 약용식물로 널리 사

Table 3. Total polyphenol and flavonoid contents of bamboo leaves

Contents	Bamboo leaves
Total polyphenol (mg TAE ¹⁾ /g)	21.66±1.53 ³⁾
Total flavonoid (mg RHE ²⁾ /g)	42.78±1.10

¹⁾Total phenolic content was expressed as mg tannic acid equivalent/g.

²⁾Total flavonoid content was expressed as mg rutin hydrate equivalent/g.

³⁾Each value is presented as mean±standard deviation (n=3).

용되고 있는 상황버섯, 녹차, 인진속의 폴리페놀 화합물 함량이 각각 17.93 mg/g, 10.98 mg/g, 6.69 mg/g인 점을 비교해볼 때 죽엽의 폴리페놀 화합물 함량이 높음을 알 수 있었다(36).

플라보노이드는 폴리페놀의 성분 중 하나로서 C6-C3-C6의 benzopyrone의 기본 골격을 가지고 있으며 페놀계 화합물의 총칭으로 자연계에 널리 분포하고 있다(37). 식물의 품종, 재배 및 가공에 따라 플라보노이드 함량은 다르게 나타나며, 항산화 및 항노화 작용 및 항암, 항염증 등 여러 생리적 작용을 지니고 있어 최근 널리 사용되고 있다(38).

약용식물에 함유된 alkaloid, 폴리페놀 및 유도체들은 식품의 부패와 변질을 유발하는 미생물에 대하여 항균 활성을 나타내는 물질로 알려져 있다(39). Song 등(40)은 청미래덩굴 뿌리의 메탄올 추출물인 경우 *S. cerevisiae*, *B. subtilis*와 같은 세균에 대한 항균성에 페놀 화합물이 관여한다고 보고하였으며, Clark 등(41)은 식물체에 함유된 페놀 물질이 항균 활성을 나타냈다고 보고하였다.

죽엽 추출물이 구강세균의 최소저해농도에 미치는 영향

죽엽 추출물의 구강세균에 대한 최소저해농도 측정 결과는 Table 4와 같다. 죽엽 추출물 0.04~0.16% 농도는 *S. mutans*에 대해 MIC 값을 보여 0.04% 이상에서, 죽엽 추출물 0.16~0.32% 농도는 *S. sobrinus*에 대해 MIC 값을 보여 0.16% 이상에서 항균력이 인정되었다($P<0.01$). 죽엽 추출물 0.02~0.32% 농도는 *P. gingivalis*에 대해 MIC 값을 보여 0.02% 이상에서 항균 활성을, 죽엽 추출물 0.02% 농도는 *P. intermedia*에 대해 MIC 값을 보여 0.02% 이상에서 강한 항균 활성을 보여주었다($P<0.01$). 본 연구에서 구강세균에 대한 MIC는 죽엽 추출물에 농도 의존적으로 항균 효과를 보였으며, 그중에서 *P. gingivalis*와 *P. intermedia* 균에 대해 가장 높은 항균 효과를 나타냈다. 약용식물 추출물에 의해 *P. gingivalis*와 *P. intermedia* 균에 대한 MIC를 측정한 연구 결과에 의하면 *P. gingivalis*와 *P. intermedia*은 인진속 추출액 농도 2.0% 이하에서 MIC 값을 보여 강한 항균성을 보여주었다(15). 또한, Kang과 Han(42)은 팔 추출물이 *E. coli*, *S. aureus*보다 *S. mutans*, *S. sobrinus*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*에서 낮은 MIC 값이 관찰되었기 때문에 충치, 구취 균주에 대한 항균 활성이 더 좋은 것으로 보고하였다.

Table 4. Minimum inhibitory concentration (MIC) of bamboo leaves extract against the several microorganism

Concentration (%)	Optical density (650 nm)			
	<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Streptococcus sobrinus</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
0	0.120 ^{a1)2)}	0.128 ^a	0.113 ^a	0.138 ^a
0.02	0.110 ^a	0.119 ^b	0.102 ^b	0.089 ^b
0.04	0.107 ^a	0.103 ^c	0.102 ^b	0.065 ^c
0.16	0.085 ^b	0.102 ^c	0.100 ^b	0.054 ^d
0.32	0.073 ^b	0.091 ^d	0.097 ^b	0.027 ^e

¹⁾Values represent an average of three determinations.

²⁾Means with different letters in a column differ significantly ($P<0.01$).

죽엽 추출물이 구강세균에 미치는 영향

죽엽 추출액 첨가 농도에 따른 증식 유발균인 *S. mutans* 3065와 *S. sobrinus* 3308, 치주질환 원인균인 *P. gingivalis* 5352와 *P. intermedia* 5694에 대한 생육 억제 효과를 조사한 결과를 Fig. 1~4에 나타내었다. 죽엽 추출물이 미생물의 생육저해에 미치는 영향을 알아보기 위해 세균 수를 나타내는 O.D₆₅₀값을 통해 성장곡선으로 나타내 보았다. Fig. 1에 나타난 결과를 보면 *S. mutans*에서는 죽엽을 첨가하지 않은 대조구와 죽엽 추출물 0.02% 첨가구에서 배양 후 24시간에 O.D₆₅₀값이 0.10으로 급격히 증가하여 48시간 이후부터 서서히 감소하였다($P<0.01$, $P<0.001$). 또한, 배양 후 24시간에 죽엽 추출물 0.32% 첨가구에서는 O.D₆₅₀값이 0.06이었으나 60시간에는 0.04로 다른 처리구에 비하여 세균의 증식이 현저히 억제되었다($P<0.001$, $P<0.01$). 이러한 결과를 통하여 죽엽 무첨가구에 비해 죽엽 0.32% 첨가구에서 *S. mutans*는 뚜렷하게 증식이 억제되었으며, 죽엽 추출액 첨가 농도가 증가할수록 *S. mutans* 생육 억제 현상도 높아진 것으로 나타났다.

Fig. 2에 나타난 결과를 보면 *S. sobrinus*에서는 죽엽을 첨가하지 않은 대조구와 죽엽 추출물 0.02% 첨가구에서 배양 후 24시간에 O.D₆₅₀값이 급격히 증가하였고 48시간 이후부터 서서히 감소하였다($P<0.001$). 또한, 배양 후 24시간에 죽엽 추출물 0.04%와 0.16% 첨가구에서 O.D₆₅₀값은 대조구와 죽엽 추출물 0.02% 첨가구에 비해 낮게 나타났으나, 48시간 이후부터 죽엽 추출물 0.16% 첨가구에서 0.04% 첨가구에 비해 O.D₆₅₀값이 더 감소하였다($P<0.001$). 죽엽 추출물 0.32% 첨가구에서는 배양 후 60시간 동안 다른 처리구에 비해 O.D₆₅₀값이 가장 낮게 나타났으며, 배양 후 60시간에는 O.D₆₅₀값이 0.04로 배양 초기보다 더 낮게 나타났다($P<0.001$). 이는 죽엽 추출물의 농도가 높아지면서 배양시간이 경과할수록 O.D₆₅₀값이 감소하였으며 0.32% 농도에서는 60시간까지 성장이 가장 많이 억제됨을 확인할 수 있었다.

Fig. 3에서 결과를 보면 *P. gingivalis*에서는 죽엽을 첨가하지 않은 대조구에서 배양 후 48시간에 O.D₆₅₀값이 0.12로 급격히 증가하다가 그 후부터 감소하였다($P<0.001$). 반면 죽엽 추출물 0.02%, 0.04%와 0.16% 첨가구에서는 배양 후

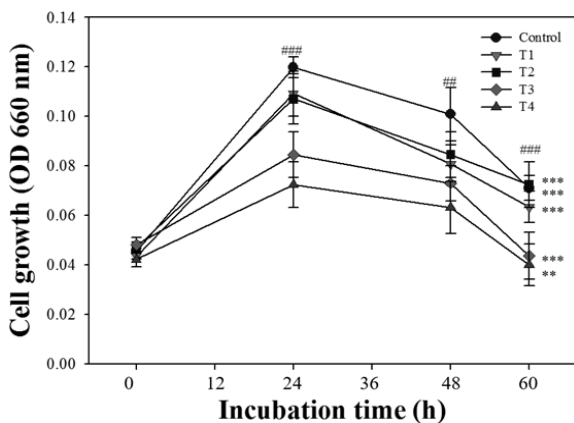


Fig. 1. Effects of ethanol extracts of bamboo leaves on the growth of *S. mutans*. Values are means±standard deviation of 3 replicates. The symbol * denotes significant difference within each incubation time ($**P<0.01$ and $***P<0.001$), and the symbol # denotes significant difference within each treatment ($##P<0.01$ and $###P<0.001$) as determined by Duncan's multiple range test. Control, non-treatment; T1, ethanol extracts of bamboo leaves 0.02% treatment; T2, ethanol extracts of bamboo leaves 0.04% treatment; T3, ethanol extracts of bamboo leaves 0.16% treatment; T4, ethanol extracts of bamboo leaves 0.32% treatment.

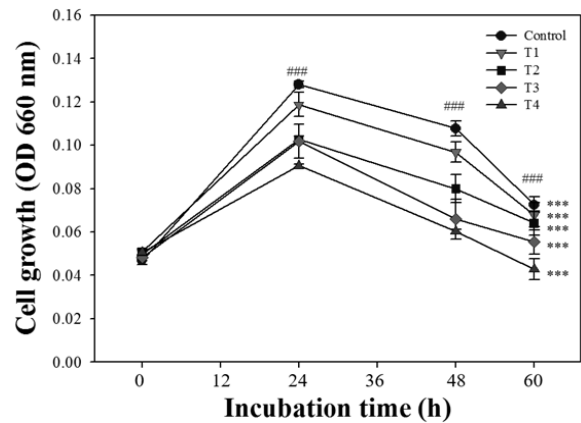


Fig. 2. Effects of ethanol extracts of bamboo leaves on the growth of *S. sobrinus*. Values are means±standard deviation of 3 replicates. The symbol * denotes significant difference within each incubation time ($***P<0.001$), and the symbol # denotes significant difference within each treatment ($####P<0.001$) as determined by Duncan's multiple range test. Control, non-treatment; T1, ethanol extracts of bamboo leaves 0.02% treatment; T2, ethanol extracts of bamboo leaves 0.04% treatment; T3, ethanol extracts of bamboo leaves 0.16% treatment; T4, ethanol extracts of bamboo leaves 0.32% treatment.

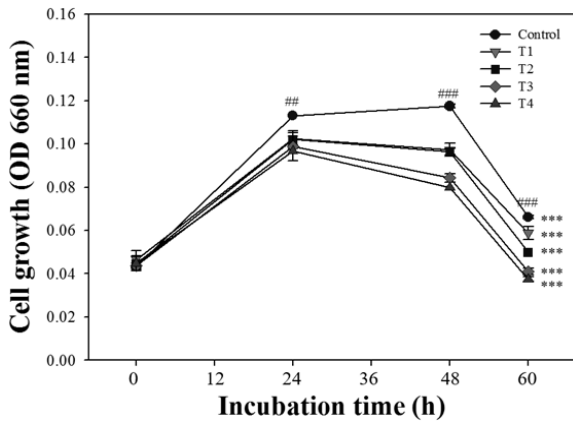


Fig. 3. Effects of ethanol extracts of bamboo leaves on the growth of *P. gingivalis*. Values are means±standard deviation of 3 replicates. The symbol * denotes significant difference within each incubation time ($^{***}P<0.001$), and the symbol # denotes significant difference within each treatment ($^{##}P<0.01$ and $^{###}P<0.001$) as determined by Duncan's multiple range test. Control, non-treatment; T1, ethanol extracts of bamboo leaves 0.02% treatment; T2, ethanol extracts of bamboo leaves 0.04% treatment; T3, ethanol extracts of bamboo leaves 0.16% treatment; T4, ethanol extracts of bamboo leaves 0.32% treatment.

24시간에서 O.D₆₅₀값이 증가하다가 48시간부터 서서히 감소하기 시작하였으며, 죽엽 추출물 0.32% 첨가구에서는 배양 후 60시간에 O.D₆₅₀값이 0.04로 배양 초기보다 더 감소하게 나타났다($P<0.001$). 이는 죽엽 추출물의 첨가 농도가 높아질수록 치주질환 원인균인 *P. gingivalis* 증식 억제력이 강해지는 것을 확인할 수 있었다.

Fig. 4에 나타난 결과를 보면 *P. intermedia*에서는 죽엽

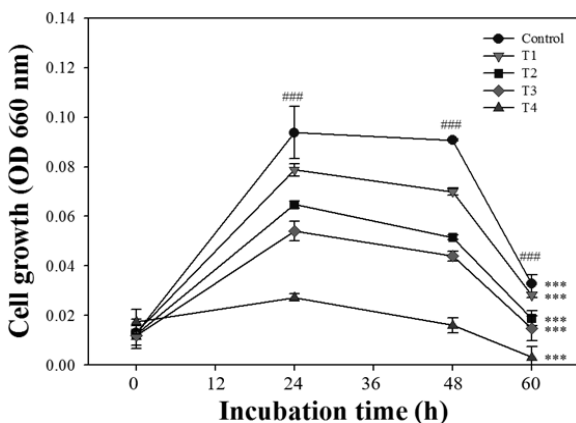


Fig. 4. Effects of ethanol extracts of bamboo leaves on the growth of *P. intermedia*. Values are means±standard deviation of 3 replicates. The symbol * denotes significant difference within each incubation time ($^{***}P<0.001$), and the symbol # denotes significant difference within each treatment ($^{##}P<0.01$ and $^{###}P<0.001$) as determined by Duncan's multiple range test. Control, non-treatment; T1, ethanol extracts of bamboo leaves 0.02% treatment; T2, ethanol extracts of bamboo leaves 0.04% treatment; T3, ethanol extracts of bamboo leaves 0.16% treatment; T4, ethanol extracts of bamboo leaves 0.32% treatment.

을 첨가하지 않은 대조구에서 배양 후 24시간에 O.D₆₅₀값이 0.12로 급격히 증가하다가 48시간까지 서서히 떨어지고 그 후부터 감소하였다($P<0.001$). 반면 죽엽 추출물 0.02%, 0.04% 및 0.16% 첨가구에서는 배양 후 24시간부터 O.D₆₅₀값이 떨어지기 시작하였으며, 0.32% 첨가구에서는 배양 후 60시간에 O.D₆₅₀값이 0.01로 배양 초기보다 낮게 나타났고 배양하는 동안 0.01~0.02 정도로 균의 증식이 현저히 억제되었다($P<0.001$).

본 연구에 의하면 죽엽 추출물 0.32% 처리구는 충치 유발 균인 *S. mutans*와 *S. sobrinus*, 치주질환 원인균인 *P. gingivalis*, *P. intermedia*에 대해 높은 항균작용이 있는 것으로 조사되었다. Jung과 Park(43)은 가루녹차 첨가 드링크 요구르트에서 *S. mutans*에 대한 생육 억제 효과는 가루녹차에 함유된 폴리페놀의 항균작용에 의한 것으로 보고하였다. 또한, Chung과 Goepfert(34)에 의하면 acetic acid와 propionic acid는 *Salmonella*의 증식 저해에 효과적이라고 보고했으며, Young과 Foegeding(44)은 citric acid와 lactic acid가 미생물 세포 내부로 들어갈 수 있는 능력은 약하지만 세포 내부에서 해리능력이 우수하여 cytoplasm을 산성화함으로써 미생물 증식을 저해한다고 보고하였다. 따라서 본 연구 결과에서도 죽엽(숨대)에 함유된 폴리페놀 성분과 유기산 성분들에 의해서 충치균주와 구취균주를 효과적으로 억제함을 확인하여 죽엽(숨대)차를 음용한다면 치주질환 예방에 긍정적인 효과가 있을 것으로 기대된다.

요 약

본 연구에서는 죽엽(숨대)의 항산화 성분을 조사하고 구강질환 세균에 대한 죽엽 추출물의 항균 활성을 검토하였다. 죽엽의 일반성분은 탄수화물 76.26%, 조회분 10.61%, 조단백질 5.10%, 수분 6.30%, 조지방 1.73%였고, 비타민 A 및 E의 함량에 비하여 비타민 C 함량은 월등히 높게 나타났다. 유기산 중 citric acid 함량이 가장 많이 함유되어 있었고 다음으로 succinic acid, malic acid, acetic acid, formic acid 순으로 검출되었다. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 각각 21.66 mg/g, 42.78 mg/g으로 나타났다. *Streptococcus mutans*에 대해 죽엽 추출물 0.04% 이상에서, *Streptococcus sobrinus*에 대해서는 0.16% 이상에서, *Porphyromonas gingivalis*와 *Prevotella intermedia*에 대해서는 0.02% 이상에서 강한 항균 활성이 인정되었다. *S. mutans*, *S. sobrinus*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*는 죽엽 추출물 0.32% 농도에서 각각 60시간까지 억제됨을 관찰할 수 있었다. 따라서 본 연구 결과는 죽엽 에탄올 추출물이 구강질환을 유발하는 세균에 대하여 우수한 항균작용을 나타내고 있으며, 따라서 죽엽이 구강질환 예방에 긍정적인 효과가 있을 것으로 생각한다.

REFERENCES

1. Bae JH, Kim KJ, Kim SM, Lee WJ, Lee SJ. 2000. Development of the functional beverage containing the *Prunus mume* extracts. *Korean J Food Sci Technol* 32: 713-719.
2. Choi W, Choi JY, Yon HS. 2013. A study on purchasing characteristics on health functional beverage according to food-related lifestyle. *J Hotel & Resort* 12: 179-196.
3. Natural Product Research Institute. 2003. *Encyclopedia of orient medical science*. Dowon Press, Seoul, Korea. p 379.
4. Kim MJ, Byun MW, Jang MS. 1996. Physiological and antibacterial activity of bamboo (*Sasa coreana Nakai*) leaves. *J Korean Soc Food Nutr* 25: 135-142.
5. Kim NK, Cho SH, Lee SD, Ryu JS, Shim KH. 2001. Functional properties and antimicrobial activity of bamboo (*Phyllostachys* sp.) extracts. *J Korean Postharvest Sci Technol* 8: 475-480.
6. Kim MJ, Kim BK, Jang MS. 1996. Effect of bamboo (*Pseudosasa japonica* Makino) leaves on the quality and sensory characteristics of *Dongchimi*. *J Food Sci Nutr* 1: 159-167.
7. Chung DK, Yu R. 1995. Antimicrobial activity of bamboo leaves extract on microorganisms related to kimchi fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 27: 1035-1038.
8. Jung LH. 2007. Anticancer and immune modulation effects of Korean bamboo, *Phyllostachys nigra* var. *henosis*. *PhD Dissertation*. Chosun University, Gwangju, Korea.
9. Lee MJ, Kim EY, Jeong KO, Park KY, Moon GS. 2004. Antimutagenic effects of Korean bamboo trees and inhibitory effect of hepatic toxicity of bamboo extracts coated rice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1279-1258.
10. Hwang SJ. 2011. Physical properties of dough with bamboo leaf powder. *Korean J Food Preserv* 18: 517-526.
11. Lee SY, Kim JG, Baik BJ, Yang KM, Lee KY, Lee YH, Kim MA. 2009. Antimicrobial effect of essential oils on oral bacteria. *J Korean Acad Pediatr Dent* 35: 1-11.
12. Lee KY, Cho HS, Yoon JW, Hea TR. 1993. Study on the development of preventive agent of dental caries from biological active materials: I. Development of disc PAHA for an artificial tooth and preventive effect on dental caries from plant extracts. *Korean J Biotechnol Bioeng* 81: 126-132.
13. Kwon HJ, Park JW, Yoon MS, Chung SK, Han MD. 2008. Factors associated with self-reported halitosis in Korean patients. *J Korean Acad Dent Health* 32: 231-242.
14. Lopez NJ. 2000. Occurrence of *Actinobacillus actinomycescomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Prevotella intermedia* in progressive adult periodontitis. *J Periodontol* 71: 948-954.
15. Chae GC, Auh QS, Chun YH, Hong JP. 2009. Antibacterial activity of *Artemisa capillaris* Thunb on oral bacteria. *Korean J Oral Med* 34: 169-177.
16. Lis-Balchin M. 1977. Essential oils and 'aromatherapy': their modern role in healing. *J R Soc Health* 117: 324-329.
17. Ju IO, Jung GT, Ryu J, Choi JS, Choi YG. 2005. Chemical components and physiological activities of bamboo (*Phyllostachys bambusoides* Starf) extracts prepared with different methods. *Korean J Food Sci Technol* 37: 542-548.
18. Baek JW, Chung SH, Moon GS. 2002. Antimicrobial activities of ethanol extracts from Korean bamboo culms and leaves. *J Korean Food Sci Technol* 34: 1073-1078.
19. AOAC. 2000. *Official methods of analysis of AOAC International*. 17th ed. Association of Analytical Communities, Gaithersburg, MD, USA. p 1-26.
20. Jung BM, Kang EA, Shin TS. 2009. Food components by kinds of Bigum spinach growing in Jeonnam Shinan. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1397-1405.
21. Kim DO, Jeong SW, Lee CY. 2003. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chem* 81: 321-326.
22. AOAC. 1995. *Official methods of analysis*. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. Method 976.16.
23. Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic phomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239-243.
24. Chae SK, Kang GS, Ma SJ, Bang KW, Oh MW, Oh SH. 2002. *Standard food analysis*. Jigu Publishing Co., Seoul, Korea. p 381-382.
25. Takarada K, Kimizuka R, Takahashi N, Honma K, Okuda K, Kato T. 2004. A comparison of the antibacterial efficacies of essential oils against oral pathogens. *Oral Microbiol Immunol* 19: 61-64.
26. SAS Institute. 2009. *SAS user's guide: Statistics*. Version 9.3. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
27. Kang CO. 2002. Effect of the addition of powdered-bamboo leaves on the quality and preservations of breads. *MS Thesis*. Chonnam National University, Gwangju, Korea.
28. Rural Development Administration. 2011. *8th Food Composition Table*. National Academy of Agricultural Science, Suwon, Korea. p 433-434.
29. Jackson MJ, Edwards RH, Symons MC. 1985. Electron spin resonance studies of intact mammalian skeletal muscle. *Biochim Biophys Acta* 847: 185-190.
30. Kim NK, Cho SH, Lee SD, Ryu JS, Shim KH. 2001. Chemical properties of hot water extracts from bamboos (*Phyllostachys* sp.). *J Korean Postharvest Sci Technol* 8: 469-474.
31. Pollak RK, Zayas JF, Kastner CL, Fung DYC. 1995. Reduction of *Listeria monocytogens*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* during storage on beef sanitized with fumaric, acetic, and lactic acids. *J Food Saf* 15: 283-290.
32. Fernandes CF, Flick GJ, Cohen J, Thomas TB. 1998. Role of organic acids during processing to improve quality of channel catfish fillets. *J Food Prot* 61: 495-498.
33. Chuyen NV, Kurata T, Kato H, Fujimaki M. 1982. Antimicrobial activity of Kumazasa (*Sasa albo-marginata*). *Agric Biol Chem* 46: 971-978.
34. Chung KC, Goepfert JM. 1970. Growth of *Salmonella* at low pH. *J Food Sci* 35: 326-328.
35. Osawa T. 1994. Novel natural antioxidants for utilization in food and biological systems. In *Post Harvest Biochemistry of Plant - Food Materials in the Tropics*. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, Japan. p 241-251.
36. Moon JS, Kim SJ, Park YM, Hwang IS, Kim EH, Park JW, Park IB, Kim SW, Kang SG, Park YK, Jung ST. 2004. Antimicrobial effect of methanol extracts from some medicinal herbs and the content of phenolic compounds. *Korean J Food Preserv* 11: 207-213.
37. Hertog MGL, Hollman PCH, Katan MB. 1992. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *J Agric Food Chem* 41: 1242-1246.
38. Rice-Evans CA, Miller NJ, Bolwell PG, Bramley PM, Pridham JB. 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radic Res* 22: 375-383.
39. Tabanca N, Kirimer N, Demirci B, Demirci F, Başer KH. 2001. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Micromeria cristata* subsp. *phrygia* and the enantiomeric distribution of borneol. *J Agric Food Chem* 49:

- 4300-4303.
40. Song JH, Kwon HD, Lee WK, Park IH. 1998. Antimicrobial activity and composition of extract from *Smilax china* root. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 574-584.
 41. Clark AM, El-Ferally FS, Li WS. 1981. Antimicrobial activity of phenolic constituents of *Magnolia grandiflora* L.. *J Pharm Sci* 70: 951-952.
 42. Kang SJ, Han YS. 2012. Studies on the anti oralmicrobial activity and selected functional component of small red bean extract. *Korean J Food Cook Sci* 28: 41-49.
 43. Jung DW, Park SI. 2005. Effect of green tea powder on the growth inhibition of oral bacteria in yoghurt. *Korean J Food Sci Ani Resour* 25: 500-506.
 44. Young KM, Foegeding PM. 1993. Acetic, lactic and citric acids and pH inhibition of *Listeria monocytogenes* Scott A and the effect on intracellular pH. *J Appl Bacteriol* 74: 515-520.