



Journal of Korean Society of Dental Hygiene

Original Article 새송이버섯 추출물이 구강세균에 작용하는 항균효과

전인영¹ · 유은지¹ · 유상철² · 이지연³ · 정상희³ · 오태진^{1,2}

¹선문대학교 건강보건대학 BT융합제약공학과 · ²선문대학교 일반대학원 생명공학과 · ³강릉영동대학교 치위생과

The antibacterial effect of *Pleurotus eryngii* extracts on oral bacteria

In-Young Chon¹ · Eun-Ji Yu¹ · Sang-Cheol Yu² · Ji-Youn Lee³ · Sang-Hee Jung³ · Tae-Jin Oh^{1,2}

¹Department of BT-Convergent Pharmaceutical Engineering, Sunmoon University

²Department of Life Science and Biochemical Engineering, Graduate School, Sunmoon University

³Department of Dental Hygiene, GangneungYeongdong University

Received: 11 October 2017

Revised: 1 December 2017

Accepted: 18 December 2017

Corresponding Author: Tae-Jin Oh, Department of BT-Convergent Pharmaceutical Engineering, Sunmoon University, 70 Sunmoonro 221, Tangjeong-myeon, Asan-si, Chungnam 31460, Korea, Tel: +82-41-530-2677, Fax: +82-41-530-2918, E-mail: tjoh3782@sunmoon.ac.kr

ABSTRACT

Objectives: *Pleurotus eryngii* is used both for edible and medicinal purposes, and has a physiological activity. The purpose of this study is to investigate the antibacterial effect of *Pleurotus eryngii* against six oral pathogens (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus criceti*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus ratti*, *Streptococcus sobrinus*, and *Actinomyces viscosus*). **Methods:** The antibacterial activities of various extracts of *Pleurotus eryngii* were examined by disc diffusion assay and minimum inhibitory concentration (MIC). The disc diffusion assay was performed by putting a paper disc soaked in extracts on plates inoculated bacterial cultures. The MIC of these extracts was determined by using a broth microdilution assay at a concentration ranging between 0.03 mg/ml to 15.00 mg/ml. The growth inhibition effect of extracts was measured at 600 nm for 24 hrs. **Results:** The antibacterial activity was confirmed against all six tested bacteria at *Pleurotus eryngii* ethyl acetate extract by the disc diffusion method. Acetone extract showed the antibacterial activity only against 4 strains containing *Streptococcus criceti*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus ratti*, and *Actinomyces viscosus*. In ethanol extract, no activity was observed against other strains except *Staphylococcus aureus*. MIC values of ethyl acetate extract were the same, 7.50 mg/ml in all tested bacteria. **Conclusions:** *Pleurotus eryngii* exhibited the antibacterial activity against oral pathogens (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus criceti*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus ratti*, *Streptococcus sobrinus*, and *Actinomyces viscosus*). Thus, *Pleurotus eryngii* may be considered as a natural antibacterial agent for treatment of dental diseases.

Key Words: Antibacterial activity, Minimum inhibitory concentration, Oral bacteria, *Pleurotus eryngii*

색인: 구강균, 새송이버섯, 최소저해농도, 항균활성

서론

구강은 소화기관의 첫 번째 관문일 뿐만 아니라, 많은 기능 중에서도 생명유지에 필요한 영양분 섭취를 담당하고 있으며, 언어 기능과 심미적 기능까지 수행하는 중요한 신체기관이다. 또한, 구강은 균이 성장하기에 적절한 온도와 습도를 유지하기 때문에 인체에서 세균이 생육하기에 가장 좋은 환경을 이루고 있기도 하며[1,2], 외부와 직접 통하기 때문에 항상 여러 미생물의 침입을 받아 구강 질환이 발생할 가능성이 매우 높다[3,4]. 대부분의 경우, 구강 내에는 외부 미생물이 번식하기도 하지만, 음식물 섭취와 흡연 등에 의해서도 다양한 미생물이 증식한다. 뿐만 아니라, 최근 현대인들의 식생활 형태가 다양해지면서 당류의 소비가 증가하고 많은 스트레스로 인해 면역기능이 약화되고 있기 때문에 더욱더 미생물의 번식이 증가하기도 한다[5]. 이러한 이유로 인해 발생하는 가장 대표적인 구강 질환으로는 구내염, 치아우식증 및 치주질환 등이 있으며, 타액 분비 감소, 흡연, 위생관리 소홀 및 미생물 등에 의해서 발생하는 구취 증상으로 인해 현대인들이 많은 불편함을 호소하고 있는 실정이다[2,6-9].

구내염은 우리 생활에서 흔히 발병하는 질환으로 입안에 상처가 생겼을 경우에 면역력이 약화되어 저항력이 떨어지면 병원성 세균과 바이러스 등에 의해 상처 부위를 감염시켜 생기는 염증의 일부이다[4]. 치아우식증과 치주질환 역시 감염성 질환으로[10], 숙주, 병원체 및 환경 요인 등이 복합적으로 작용하여 발생된다[1,11]. 치아우식증은 충치라고도 하며, 치아 상아질의 파괴를 동반하고 구강연쇄구균에 의해 유발되며[5,10,12], 치주질환은 구강에서 발생하는 만성질환으로서 치아표면에 형성되는 치면 세균막과 숙주 반응에 의해 치아 상실을 유발하는 염증성 질환이다[9]. 이러한 여러 구강 질환들은 미흡한 구강건강관리, 흡연 및 고령화 등으로 인해 최근 발병률이 계속해서 증가하고 있다[13]. 또한, 구강질환 및 구취 등은 세균들에 의해 발생하고, 이 중 일부는 폐혈증과 같은 전신질환을 유발할 수도 있기 때문에 구강질환과 관련된 세균들을 선별하여 그들의 생육을 효과적으로 억제시키는 예방처리는 치위생학적으로 상당히 중요하다[14,15]. 따라서 최근에는 체내에 부작용을 유발하지 않는 안전하면서 효과적으로 구강 관련 질병을 예방하고자 자연추출물을 활용한 연구가 활발히 이루어지고 있는 실정이다[16,17].

버섯은 곰팡이의 일종으로 그늘지고 습한 곳에서 다른 식물에 기생하며 자란다. 일반적으로 버섯은 독특한 향과 맛을 가지고 있으며, 다양한 비타민을 포함한 아미노산, 탄수화물, 단백질, 지질 및 무기질 등 각종 영양소가 풍부한 저열량 식품이다. 또한 항산화, 항암, 항균, 항염증, 면역증진, 혈당강하 및 콜레스테롤 저하 등 다양한 관련 생리활성물질을 생산함으로써 예로부터 식용 및 약용으로 많이 이용되어 온 식용천연물이다[18-20]. 최근에는 현대인의 성인병 치료나 예방에 도움을 주는 건강기능식품과 의약품 소재 등으로 활용되고 있으며, 기능성화장품 관련 천연 항산화제로도 주목받고 있다[8,16,18,19,21-23].

버섯 중에서도 새송이버섯은 느타리버섯속에 속하는 식용버섯으로 대부분 아열대 및 건조성 지역에 분포하며, 우리나라에서는 자생되지 않는다. 또한 새송이버섯은 다른 버섯에 비해 비타민 B6와 비타민 C의 함유량이 매우 높다고 알려져 있으며, 다른 버섯에서는 발견할 수 없는 악성빈혈 치유인자인 비타민 B12도 함유하고 있다. 새송이버섯은 필수아미노산의 대부분을 함유하고 있고, 무기

질의 함량도 다른 버섯에 비해서 높은 편이며, 항산화와 항암 등 다양한 생리활성 등이 이미 보고되어 있다[20,24]. 따라서 본 연구에서는 다양한 생리활성이 보고된 새송이버섯을 대상으로 현대인의 구강에 발생하는 질병들을 예방하고 치료할 수 있는 새로운 소재 관련 기능성을 조사하기 위해 새송이버섯 용매추출물을 이용하여 여러 구강질환 관련 균주에 대한 항균력을 조사하였다. 실험에 이용된 균주는 극심한 치성농양에서 자주 발견되는 *Staphylococcus aureus*[25], 치아우식의 원인균인 *Streptococcus criceti*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus ratti* 및 *Streptococcus sobrinus*, 그리고 치주질환 원인균인 *Actinomyces viscosus* 등을 이용하였다.

연구방법

1. 새송이버섯의 용매추출물 제조

새송이버섯은 전라남도 광주에서 인공 재배하여 세절된 버섯을 구입하였으며, 자연 건조시켜 시료로 사용하였다. 추출용매로는 극성이 다른 acetone (99.5%), ethanol (99.5%) 및 ethyl acetate (99.0%) (Daejung Chemicals & Metals, Siheung, Korea) 등을 사용하였다. 분쇄한 새송이버섯 가루 50 g에 용매 400 mL를 첨가하여 48시간 동안 교반 추출하고 여과(ADVANTEC No. 2, Advantec MFS, Inc., Tokyo, Japan)하여 고형물을 제거하였다. 진공회전증발기(rotary evaporator, EYELA A-1000S, Tokyo Rikakikai Co, Tokyo, Japan)를 이용하여 용매를 완전히 휘발시키며 농축한 이후, DMSO로 용해하여 실험에 사용하였다.

2. 실험 균주 및 균 배양

실험에 사용한 균주는 6종으로 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Streptococcus criceti* (*S. criceti*), *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), *Streptococcus ratti* (*S. ratti*), *Streptococcus sobrinus* (*S. sobrinus*) 및 *Actinomyces viscosus* (*A. viscosus*) 등이며, 생물자원센터(Korean Collection for Type Cultures, KCTC)로부터 분양 받아 사용하였다<Table 1>. 배지는 Brain-Heart Infusion (BHI, Difco, Detroit, MI, USA)와 Trypticase Soy Broth (TSB, BD Co., USA)을 사용하였으며, 모든 균주를 해당 배지에 접종하여 37°C 혐기성 배양기(5% CO₂)에서 24시간 배양하였다.

Table 1. List of strains used for antibacterial experiments

Microorganism	KCTC No.	Media
<i>Staphylococcus aureus</i>	1927	BHI
<i>Streptococcus criceti</i>	3640	TSB
<i>Streptococcus mutans</i>	3065	BHI
<i>Streptococcus ratti</i>	3655	BHI
<i>Streptococcus sobrinus</i>	3308	BHI
<i>Actinomyces viscosus</i>	5531	TSB

BHI: Brain-Heart Infusion, TSB: Trypticase Soy Broth

3. 추출물의 항균활성 측정

새송이버섯 추출물의 항균 활성은 원판확산법(disc diffusion method)으로 측정하였다. 각 추출물은 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 용해시켜 50 mg/ml의 농도로 맞추어 사용하였다. 균주는 37°C에서 24시간 동안 배양한 후, 3회 계대배양하였으며, 균 배양액을 600 nm에서 흡광도가 0.1이 되도록 희석한 다음, 평판배지에 멸균한 면봉으로 도말하였다. 새송이버섯의 acetone, ethanol 및 ethyl acetate 추출물을 각각 1.5 mg/disc의 농도로 paper disc (6 mm diameter, Whatman AA discs, Whatman International, St. Louis, MO, USA)에 흡수시켜 용매를 휘발시킨 후, 도말한 배지 표면에 올렸다. 37°C에서 24시간 배양한 다음, disc의 주변에 형성된 억제환의 직경을 버니어 캘리퍼스(vernier calipers, 0~150 mm, color world, China)로 측정하여 항균 활성을 확인하였다. 모든 시료에 대한 실험은 3회 반복 실시하였다.

4. 미생물의 최소저해농도(MIC) 측정

액체배지희석법(broth dilution method)을 이용하여 구강세균 6종에 대한 새송이버섯 용매추출물의 최소저해농도(MIC)를 측정하였다. 새송이버섯 ethyl acetate 추출물을 최고농도 15.00 mg/ml에서 0.03 mg/ml까지 2배씩 순차적으로 희석하였다. 96-well plate에 배지 40 μ l와 추출물 60 μ l을 혼합하고 균배양액의 최종농도가 5×10^5 CFU/ml가 되도록 희석하여 100 μ l의 균 배양액을 첨가하여 37°C 혐기성 배양기에서 24시간 배양하였다. 600 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 균의 성장을 억제하여 흡광도가 변화하지 않거나 감소되는 최소농도를 MIC로 결정하였다. 모든 시료에 대한 실험은 3회 반복 실시하였다.

5. 미생물 생육 저해곡선

새송이버섯 추출물의 농도 및 배양 시간 경과에 따른 생육저해효과를 조사하였다. 디스크 확산법을 통한 항균실험결과, 새송이버섯 추출물 중에서 실험에 사용된 6종의 구강세균에 대해 항균활성이 나타난 ethyl acetate 추출물을 대상으로 조사하였으며, 15.00 mg/ml, 7.50 mg/ml, 3.75 mg/ml 및 0.03 mg/ml 농도의 새송이버섯 추출물을 첨가하면서 MIC 측정방법과 동일한 조건으로 실험하였다. 37°C 혐기성 배양기에서 3, 6, 8, 10 및 24 시간동안 배양 후, 600 nm에서 흡광도(MECASYS, Korea)를 측정하여 구강세균의 생육변화를 확인하였다. 음성대조군으로는 추출물 대신 DMSO를 첨가한 용액을 사용하였다. 모든 시료에 대한 실험은 3회 반복 실시하였다.

7. 통계처리

본 실험의 통계분석처리는 SPSS Statistics 23 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 ANOVA test와 Duncan's multiple range test로 통계적 유의성 검정은 0.05로 하였다. 모든 실험은 3회 반복 실험하였으며, 결과는 평균 \pm 표준편차로 나타내었다.

연구결과

1. 새송이버섯 용매추출물의 항균활성

새송이버섯 용매추출물이 구강균에 대해 나타내는 항균력을 조사하기 위해 원판확산법을 통하여 생육저해환의 크기를 측정하였다. 구강 질환과 관련된 *S. aureus*, *S. criceti*, *S. mutans*, *S. ratti*, *S. sobrinus* 및 *A. viscosus* 등 6종의 균주를 사용하였다. 결과는 <Table 2>에 나타난 것과 같이, 새송이버섯의 ethanol 추출물에서는 *S. aureus*를 제외한 나머지 5종의 균주에서 생육저해효과가 나타나지 않았고, acetone 추출물에서는 *S. aureus*와 *S. sobrinus*을 제외한 나머지 4종의 균주에서 약한 항균 활성을 나타내었다. *S. aureus* 균에 대하여 ethanol 추출물과 ethyl acetate 추출물에서 각각 10.76±0.63 mm, 10.49±1.23 mm의 생육저해환을 형성하여 우수한 항균활성을 나타내었다. *S. ratti*에서는 ethyl acetate 추출물에서 10.89±1.75 mm의 강한 활성을 보였으며, acetone 추출물에서는 낮은 활성을 나타내었다. *S. criceti*는 ethyl acetate 추출물에서 8.19±1.90 mm를 나타냈으며, acetone 추출물에서 6.66±1.15 mm의 저해환을 보였다. *S. mutans*에 대해서 ethyl acetate 추출물과 acetone 추출물에서 각각 6.12±0.16 mm과 6.21±0.36 mm의 생육저해환을 보여 항균활성이 매우 약하게 확인되었다. *S. sobrinus* 균에 대한 ethanol 및 acetone 추출물에서는 항균활성을 보이지 않은 반면, ethyl acetate 추출물의 경우 10.03±0.74 mm의 생육저해환을 형성하였다. 또한 *A. viscosus* 균의 경우, ethyl acetate 추출물은 11.69±0.85 mm와 같이 가장 강한 항균활성을 나타내었다. 새송이버섯의 ethyl acetate 추출물은 *S. mutans*에 대해서 매우 약한 활성을 보였지만 다른 균주에 대해 모두 항균 효과를 보여주었으며, 다른 추출물에 비해 비교적 높은 항균활성을 확인할 수 있었다.

Table 2. Antibacterial activity of extracts from *Pleurotus eryngii* against oral bacteria

Strains	Diameter of growth inhibition zone (mm)		
	Ethanol	Ethyl acetate	Acetone
<i>Staphylococcus aureus</i> (KCTC1927)	10.76 (±0.63) ^a	10.49 (±1.23) ^a	-
<i>Streptococcus criceti</i> (KCTC3640)	-	8.19 (±1.90) ^a	6.66 (±1.15) ^a
<i>Streptococcus mutans</i> (KCTC3065)	-	6.12 (±0.16) ^a	6.21 (±0.36) ^a
<i>Streptococcus ratti</i> (KCTC3655)	-	10.89 (±1.75) ^a	6.54 (±0.94) ^b
<i>Streptococcus sobrinus</i> (KCTC3308)	-	10.03 (±0.74) ^a	-
<i>Actinomyces viscosus</i> (KCTC5531)	-	11.69 (±0.85) ^a	7.62 (±1.46) ^b

-: no inhibition(6 mm)

The results represent the Mean±SD of values obtained from three independent experiments

Means with different letters (a, b) on within a row are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$)

2. 구강미생물 최소저해농도(MIC) 측정

새송이버섯이 구강 미생물의 생육을 저해하는데 필요한 최소농도인 최소저해농도(MIC)는 액체 배지희석법을 이용하여 측정하였다. 새송이버섯의 세 가지 추출물 중 원판확산법에서 가장 항균 활성이 높게 나타난 ethyl acetate 추출물의 MIC를 측정하였다. Ethyl acetate를 용매로 한 새송이버섯

추출액을 액체배지로 15.00 mg/ml에서 0.03 mg/ml 농도가 되도록 2배씩 희석하여 37°C 혐기성 배양기에서 24시간 배양 후, 600 nm에서 흡광도를 측정하면서 초기의 흡광도와 비교하여 감소되는 최소농도를 MIC로 결정하였다. <Table 3>과 같이, *S. aureus*, *S. criceti*, *S. mutans*, *S. ratti*, *S. sobrinus* 및 *A. viscosus* 등 실험에 사용한 균주 모두에서 7.50 mg/ml의 동일한 MIC를 확인하였다.

Table 3. Minimum inhibitory concentration (MIC) of ethyl acetate extract from *Pleurotus eryngii* against oral bacteria

Strains	<i>S. aureus</i>	<i>S. criceti</i>	<i>S. mutans</i>	<i>S. ratti</i>	<i>S. sobrinus</i>	<i>A. viscosus</i>
MIC (mg/ml)	7.50	7.50	7.50	7.50	7.50	7.50

3. 구강미생물 생육 저해곡선

디스크 확산법에서 모든 구강균주에서 항균활성이 나타난 ethyl acetate 추출물의 농도 및 시간 경과에 따른 생육저해효과를 측정하였다. 6종의 균배양액에 새송이버섯 ethyl acetate 추출물을 15.00 mg/ml, 7.50 mg/ml, 3.75 mg/ml, 1.88 mg/ml, 0.94 mg/ml, 0.47 mg/ml, 0.23 mg/ml, 0.12 mg/ml, 0.06 mg/ml 및 0.03 mg/ml 등의 농도로 첨가하여 배양하였으며 0, 3, 6, 8, 10, 12 및 24 시간 이후, 흡광도를 각각 측정하고 추출물을 첨가하지 않은 대조군과 비교하였으며, 그 중 15.00 mg/ml, 7.50 mg/ml, 3.75 mg/ml 및 0.03 mg/ml 등의 농도 추출물 첨가로 인한 6종의 구강관련 균의 생육 변화를 <Fig. 1>에 나타내었다.

대조군은 6시간까지 급격히 균이 성장한 이후 24시간까지 흡광도 값이 거의 증가하지 않는 대수기를 보였다. 새송이버섯의 ethyl acetate 추출물이 구강균의 생육에 미치는 영향을 조사한 결과, <Fig. 1>에서 보는 바와 같이, 추출물의 농도가 높아질수록 균의 생육이 크게 억제되는 것을 알 수 있었으며, 억제되는 시간 또한 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 15.00 mg/ml 농도에서는 배양초기부터 균의 생육이 크게 억제되어 균의 증식이 발생하지 않았으며, 15.00 mg/ml 보다 낮은 농도에서는 3시간까지 균의 증식이 발생하면서 대조군과 차이가 없었다. 가장 낮은 농도인 0.03 mg/ml에서는 3시간 이후 급격한 균의 증식이 발생하여 24시간 이후에 대조군보다 균의 생육이 증가되었다. 3.75 mg/ml의 농도에서 3시간에서 12시간까지 균이 다소 약하게 증식하였으며, 12시간 이후에는 흡광도가 급격히 상승하였다. 반면에 7.50 mg/ml에서는 모든 균주에서 12시간 배양 후에도 흡광도 값이 감소하여 균의 생장이 억제되는 것을 확인할 수 있었다. 추출물에 의한 균의 생육에 미치는 영향은 실험에 사용된 6종 균주 모두에서 비슷한 결과를 보여주었다. 이는 새송이버섯 추출물이 낮은 농도에서는 균의 생육을 촉진시키고 높은 농도에서는 항균작용을 나타내었다.

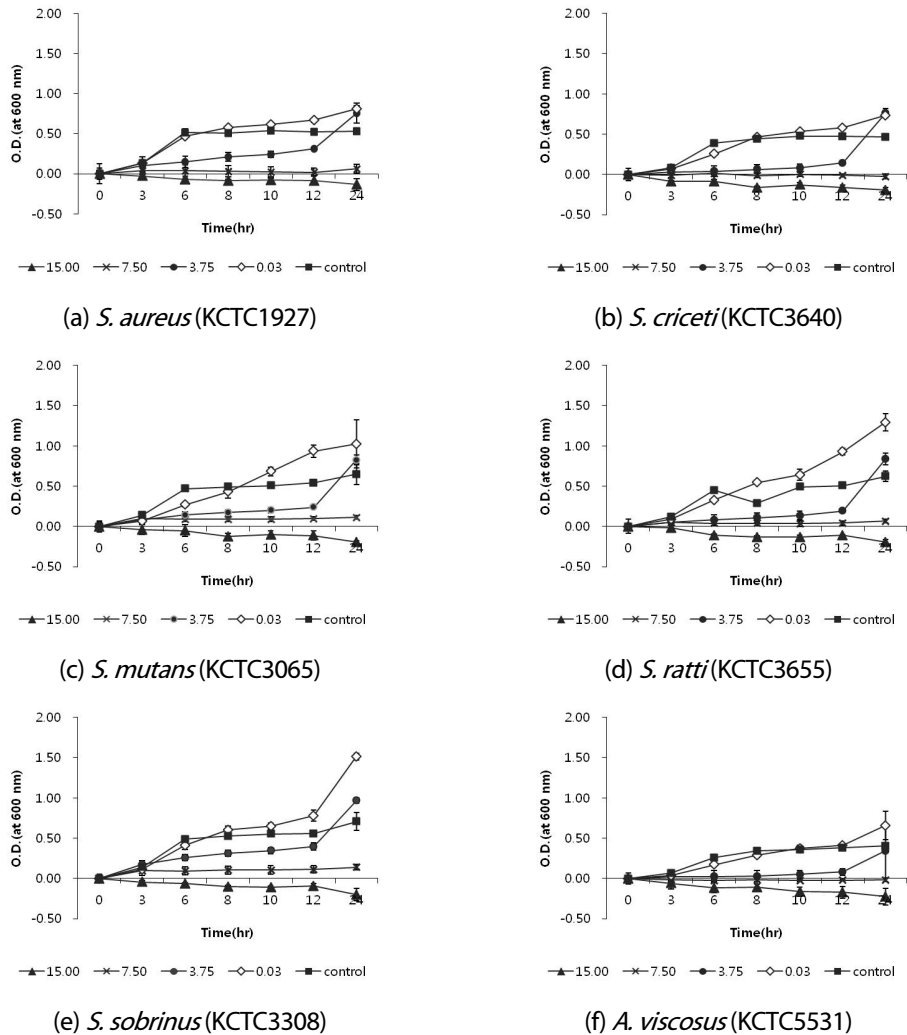


Fig. 1. Inhibitory effect of extract from *Pleurotus eryngii* on growth of oral bacteria. The results represent the Mean±SD of values obtained from three independent experiments

총괄 및 고안

치아우식증 및 치주질환과 같은 구강질환은 여러 종류의 미생물이 구강에서 음식물과 상호작용하여 발생하는 것으로 알려져 있으며, 선진국은 물론 우리나라의 경우에도 해마다 계속 발병률이 증가하고 있는 추세이다. 이러한 구강질환들은 원인균의 수를 줄이거나 성장을 억제하여 예방이 가능함에도 불구하고 대부분의 환자들이 발병 후에 뒤늦은 치료를 받는 경우가 대부분이다. 따라서 구취 또한 구강 내 다양한 미생물에 의해 음식물의 부패과정에서 발생하는 것으로 알려져 있기 때문에 구강균의 성장을 억제시키는 다양한 구강질환의 예방 및 치료가 중요하다 할 수 있을 것이다[26-28].

대부분의 버섯은 다양한 2차 대사물질들을 포함하고 있는데, 이러한 버섯들은 항산화, 항염 및 항균 등의 효과가 이미 알려져 있으며, 또한 잠재적으로 몇몇의 버섯에서 구강질환과 관련된 균에 대한 항균활성이 보고되어 있지만[27,29], 여러 구강균을 대상으로 한 새송이버섯의 항균활성은 전혀 보고

되어 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 새송이버섯의 용매추출물로부터 치주질환과 충치 예방을 위한 기능성을 평가할 목적으로 6종의 구강 세균에 대한 항균활성을 조사하였다. 항균활성에 사용된 균주는 치아우식증에 직간접적으로 관여하는 *S. aureus*, *S. criceti*, *S. mutans*, *S. ratti* 및 *S. sobrinus* 와 치주질환을 유발하는 *A. viscosus* 등으로 총 6종이다. *S. aureus*는 건강한 사람의 비강, 인후의 점막 및 피부 등에 존재하는 정상 세균총으로서 인체 화농성 감염의 중요한 병원균이다. 치과 치료 후에 심내막염, 균혈증 및 골수염 등 다양한 감염과 깊은 관련이 있는 것으로 보고되고 있다[30]. 치아우식증 발생의 주요 원인균인 mutans group에 속하는 *S. mutans*, *S. criceti*, *S. ratti* 및 *S. sobrinus* 등은 치아 표면에서 주로 서식하며, 이 중 *S. mutans*와 *S. sobrinus*는 사람으로부터 분리되는 종으로서 치석 및 치아의 탈회화된 부근에서 발견되는 치아우식증의 주요 원인균이다[31,32].

Ethanol, ethyl acetate 및 acetone 등 3종류의 용매로 추출한 새송이버섯에 대한 항균효과를 조사한 결과, ethyl acetate 추출물이 6종의 구강균 모두에서 항균활성을 나타내었으며, ethanol 추출물에서는 *S. aureus*에서만 항균활성을 보였고, acetone 추출물에서는 *S. criceti*, *S. mutans*, *S. ratti* 및 *A. viscosus* 등 4종의 구강균에서 항균활성을 나타내었다. Park 등[27]의 연구에 의하면, chloroform, methanol, acetone, ethyl acetate 및 증류수 등으로 추출한 큰 느타리버섯 추출물의 경우, *S. mutans*에서 항균활성을 보이지 않았다고 보고하였으나, 본 연구에서도 acetone과 ethyl acetate 추출물에서 항균활성을 매우 약한 항균활성을 보였다. 결과적으로 ethyl acetate 추출물의 경우 *S. mutans*를 제외하고 치아우식에 직간접적으로 관련된 *S. sobrinus*, *S. aureus*, *S. ratti* 및 *S. criceti*와 치주질환 원인균인 *A. viscosus*에 강한 항균활성을 나타냈으며, 7.50 mg/ml의 농도에서 최소저해농도(MIC)를 확인하였다. 따라서 새송이버섯은 acetone과 ethanol 보다 ethyl acetate가 구강관련 균에 대해 항균활성을 나타내는 생리활성물질을 추출하는데 더 적합한 용매로 확인되었으며, 이는 본 연구팀이 최근에 발표한 쓰리버섯과 동일한 결과였다[29]. 새송이버섯 추출물이 낮은 농도에서 시간이 경과함에 따라 대조군보다 균의 생육이 촉진되는 원인에 대한 관련 연구가 필요하며, 향후 새송이버섯 추출물의 항균관련 생리활성 유효성분을 분리 및 정제하여 구강균에 대한 억제 효과를 확인하고, 생리활성물질의 독성과 안전성 등의 추가 연구가 수반되어야 할 것으로 사료된다. 또한 구강균에 항균작용을 나타내는 생리활성물질의 생산량을 증대시킬 수 있는 추출 방법을 탐색하는 후속연구를 진행하고자 한다.

결론

본 연구는 새송이버섯을 ethanol, ethyl acetate 및 acetone 등의 용매로 추출하여 치아우식증과 치주질환 관련 *S. aureus*, *S. criceti*, *S. mutans*, *S. ratti*, *S. sobrinus* 및 *A. viscosus* 등 6종의 구강균주를 대상으로 항균활성과 최소저해농도(MIC)를 측정된 결과는 다음과 같다.

1. 디스크 확산법을 이용하여 6종의 구강균에 대한 항균활성 결과, ethyl acetate 추출물에서 실험에 이용된 모든 구강균에서 항균활성을 확인하였으며, acetone 추출물은 *S. criceti*, *S. mutans*, *S. ratti* 및 *A. viscosus* 등의 균에 대해 다소 약한 항균활성을 보였다. Ethanol 추출물은 *S. aureus*에 대해서만 생육저해 효과를 보였다. 새송이버섯의 ethyl acetate 추출물은 *A. viscosus*에 대해 가

장 강한 활성을 나타내었다.

2. MIC는 디스크 확산법에서 6종의 구강균에 대해 항균활성을 모두 보인 ethyl acetate 추출물을 이용하였으며, 결과적으로 실험에 사용된 구강균 모두에서 7.50 mg/ml로 조사되었다.
3. 6종의 구강균에 대한 새송이버섯 ethyl acetate 추출물의 생육저해 효과를 확인한 결과, 낮은 농도에서는 시간이 경과하면서 균이 증식하는 것을 확인하였고, 농도가 높아짐에 따라 균의 생육 저해 효과가 증가하였으며, 7.50 mg/ml에서는 시간이 경과하면서 흡광도가 감소하여 생육저해 효과가 나타나는 것을 확인하였다.

이상의 결과를 종합하면, 새송이버섯 추출물이 치아우식증에 직간접적으로 관여하는 *S. aureus*, *S. criceti*, *S. mutans*, *S. ratti* 및 *S. sobrinus* 등과 치주질환을 유발하는 *A. viscosus*에 대한 항균효과가 있다는 것을 확인하였으며, 치아우식증과 치주질환을 비롯한 구강질환의 예방을 위하여 천연소재 개발에 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

References

- [1] Kwak DJ, Nam SY, Lee DS. Antibacterial activity of phellodendri cortex on dental caries bacteria *Streptococcus sanguis*. J Kor Aca Dent Tech 2002;24:43-9.
- [2] Hwang HJ, Yu JS, Lee HY, Kwon DJ, Heo SI, Kim SY. Evaluations on deodorization effect and anti-oral microbial activity of essential oil from *Pinus koraiensis*. Korean J Plant Res 2014;27:1-10. <https://doi.org/10.7732/kjpr.2014.27.1.001>
- [3] Jung GO, Min KJ. Anti-microbial and anticariogenic activity of *Yam* and *Prunella* extract against oral microbes. Korean J Environ Health Sci 2007;33:137-44. <https://doi.org/10.5668/JEHS.2007.33.2.137>
- [4] Kim SA, Chung HJ. Antimicrobial effects of propolis against oral microorganisms. Korean J Food Sci Technol 2013;45:370-75. <https://doi.org/10.9721/KJFST.2013.45.3.370>
- [5] Kwak DJ. Antibacterial activities of *Phellodendri cortex* on the *Streptococcus mutans*. J Korean Soc Hyg Sci 2004;10:99-107.
- [6] Ji WD, Seo SG, Kwak DJ, Kim SY, Beik GY, Chung YG. Inhibitory effect of oriental medicine extracts on the growth of oral bacteria. J Korean Soc Hyg Sci 1997;3:21-30.
- [7] Park SJ, Kim SC, Lee JR. Antimicrobial effects of sophorae radix extracts against oral microorganisms. Kor J Herbology 2010;25:81-8.
- [8] Cho BJ, Hong JY, Kim MJ, Song YO. Development of mouthwash products with solid fermented oriental medicinal herb. J Korean Soc Food Sci Nutr 2014;43:1380-7. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2014.43.9.1380>
- [9] Park TH, Cho JH, Sung YE, Cho JC, Shin KH. Antimicrobial effect of mouthwash against *Streptococcus mutans* by visual staining method. J Soc Cosmet Scientists Korea 2014;40:187-93. <https://doi.org/10.15230/SCSK.2014.40.2.187>
- [10] Jung GO. Antibacterial activities against oral microbes by Yam extract. J Korean Acad Dent Hyg Education 2007;7:53-9.
- [11] Lee GD, Lee SA, Son KJ, Lee YS, Jeon JG, Chan KW. The antibacterial effect of *Acorus calamus* var. *angustatus* Besser on the mutans streptococci. J Korean Acad Oral Health 2004;28:153-60.
- [12] Kim DH, Yoon YS, Joo KB, Lee KJ. The evaluation of efficacy on oral cavity cleaner (Dental Cleaner). Korea J Waters 2011;2:1-8.
- [13] Lee SM, Kim KY, Kim J. Analysis of the relationship between systemic health status and

- periodontal disease in Korean adults-survey study of the fifth Korea national health and nutrition examination. Korean J Oral Maxillofac Pathol 2015;39:447-56.
- [14] Bae KH, Jun EJ, Lee SM, Lee EJ, Paik DI, Kim JB. The antimicrobial effect of CTS 50 chitosan on oral pathogenic microorganisms. J Korean Acad Dent Health 2005;29:58-66.
- [15] Lee JE, Bae SA, Kim SG. Antimicrobial effect of (-)-epicatechin on periodontal pathogens. Oral Biol Res 2006;30:35-43.
- [16] Hwang YH, Yoon JW. The effects of extracts of *Fomitopsis pinicola* on the dental caries pathogens. J Korean Acad Dent Health 2007;3:193-204.
- [17] Choi BR, Kang JK, Kang KH. Antibacterial effects of extracts from Citrus Peels. J Digit Converg 2012;10:559-64.
- [18] Choi SJ, Lee YS, Kim JK, Kim JK, Lim SS. Physiological activities of extract from edible mushrooms. J Korean Soc Food Sci Nutr 2010;39:1087-96. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2010.39.8.1087>
- [19] Han SR, Noh MY, Lee JH, Oh TJ. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of solvent extracts from *Coriolus versicolor*. J Korean Soc Food Sci Nutr 2015;44:1793-8. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2015.44.12.1793>
- [20] Kim HJ, Ahn MS, Kim GH, Kang MH. Antioxidative and antimicrobial activities of *Pleurotus eryngii* extracts prepared from different aerial part. Korean J Food Sci Technol 2006;38:799-804.
- [21] Lee EJ, Kim JE, Park MJ, Park DC, Lee SP. Antimicrobial effect of the submerged culture of *Sparassis crispa* in soybean curd whey. Korean J Food Presery 2013;20:111-20. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2013.20.1.111>
- [22] Yang HS, Choi YJ, Oh HH, Moon JS, Jung HK, Kim KJ, et al. Antioxidative activity of mushroom water extracts fermented by lactic acid bacteria. J Korean Soc Food Sci Nutr 2014;43:80-5. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2014.43.1.080>
- [23] Han SR, Kim MJ, Oh TJ. Antioxidant activities and antimicrobial effects of solvent extracts from *Lentinus edodes*. J Korean Soc Food Sci Nutr 2015;44:1144-9. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2015.44.8.1144>
- [24] Kim YJ, Jung IK, Kwak EJ. Quality characteristics and antioxidant activities of cookies added with *Pleurotus eryngii* powder. Korean J Food Sci Technol 2010;42:183-9.
- [25] Shweta, Prakash, SK. Dental abscess: A microbiological review. Dent Res J (Isfahan) 2013;10:585-91.
- [26] Jung YH, Mo HW, Jeong JS, Choi KH, Choi JK, Hur YK, et al. Antibacterial activity of NANOVERTM against oral malodor generating microorganisms 1. The effect of nanosilver on growth of oral malodor generating microorganisms. J Oral Medicine Pain 2009;34:39-48.
- [27] Park EJ, Lee JS, Choi WS. Anti-cariogenic activities of mushroom extracted with various solvent systems. Korean J Food Sci Technol 2011;43:783-6.
- [28] Yu KJ, Hwang JH. Study on oral periodontal pathogens distribution and risk factors in college students. J Korean Soc Dent Hyg 2017;17:77-87.
- [29] Kim BL, Lim KO, Han SR, Kim KH, Oh TJ. Antimicrobial activities of various extracts of *Coriolus versicolor* against oral bacteria. J Korean Soc Dent Hyg 2017;17:111-22. <https://doi.org/10.13065/jksdh.2017.17.01.111>
- [30] Min JH, Park SN, Hwang HK, Min JB, Kim HS, Kook JK. Detection of methicillin or vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* from dental hospital. J Korean Acad Conserv Dent 2007;32:102-10.
- [31] Hamada S, Slade HD. Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol Rev 1980;35:331-84.
- [32] Loesche WJ. The identification of bacteria associated with periodontal disease and dental caries by enzymatic methods. Oral Microbiol Immunol 1986;1:65-72.