



# Antimicrobial activities of edible plant extracts against oral bacteria

Jihye Lee<sup>1</sup> · Yeona Kim<sup>1</sup> · Dong Chung Kim<sup>2</sup> · Hee Jeong Chae<sup>1</sup>

## 식용 식물추출물의 구강 세균에 대한 항균 활성

이지혜<sup>1</sup> · 김연아<sup>1</sup> · 김동청<sup>2</sup> · 채희정<sup>1</sup>

Received: 14 January 2020 / Accepted: 24 February 2020 / Published Online: 31 March 2020  
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2020

**Abstract** Thirty-five edible plants were tested against oral bacteria (*Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumonia*). The edible plants were extracted using 70% ethanol as a solvent. Among the thirty-five edible plants, hibiscus (*Hibiscus sabdariffa*) extract was selected as an effective antibacterial source because it showed the lowest minimum inhibitory concentration. The antimicrobial substances of hibiscus extract were very stable at acidic condition and at wide range of temperature 4–75 °C. The total polyphenol and flavonoid contents of hibiscus extract were 130.5 and 25.7 mg/g, respectively. Also hibiscus extract showed a high degree of antioxidant activity.

**Keywords** Antimicrobial activity · Edible plant extract · *Hibiscus sabdariffa* · Minimum inhibitory concentration · Oral bacteria

## 서 론

미생물과 쉽게 접촉하는 신체 부위인 구강은 적절한 온도, 습도 및 음식물 잔사등으로 인해 미생물의 생육에 좋은 환경을

제공해주며, 구강 내에서는 700여 종의 다양한 세균이 존재하는 것으로 보고되어 있다[1]. 그 중에는 충치의 원인균으로 널리 알려진 *Streptococcus mutans*[2]와 *Lactobacillus casei*[3], 구강 인두와 피부에 상주하며 화농성 염증을 유발하는 *Staphylococcus epidermidis*[4], 휘발성 황화합물을 생성하여 구취를 유발하는 *Klebsiella pneumonia* 등이 대표적인 구강세균으로 알려져 있다[5]. 구강 질환은 충치(dental caries, 치아우식증), 구내염, 치주염 등 입안에서 생기는 병을 일컫는데, 특히 충치는 구강 질환 중 가장 문제가 되는 감염병으로 치아표면의 파괴를 동반한다[6]. 대표적인 충치 유발균인 *Streptococcus mutans*는 치아 표면에서 glucosyltransferase의 촉매 작용으로 음식물의 sucrose를 분해하여 acetic acid 및 citric acid 등의 산을 생성하고, 이는 치아 에나멜층의 hydroxyapatite를 부식하여 치아 표면을 손실시킨다[2].

충치 유발균을 포함하는 구강 세균의 억제에 penicillin 및 erythromycin과 같은 항생제가 효과가 있는 것으로 알려져 있으나, 항생제에 대한 내성 문제로 실제로는 잘 사용되지 않는다[7]. 또한 항생제의 과도한 사용은 구강 미생물 뿐만 아니라 우리 몸에 유익한 장관 미생물 균총에도 악영향을 줄 수 있다[8]. 이외에도 구강 세균을 억제하기 위해 불소 화합물이 함유되어 있는 구강청결제와 치약 등의 의약외품이 사용되고 있는데 일부 성분에 대한 안전성 이슈와 논란이 보고되고 있다[9].

따라서 인간에게 독성이 없거나 적으면서 안정성이 높은 구강용 향미생물 소재의 개발이 요구되어 충치 유발균의 증식을 억제하는 방법[10], 충치균이 분비하는 glucan 합성 효소인 glucosyltransferase의 활성을 저해하는 방법[11], 충치 유발균이 이용하기 쉬운 sucrose를 대체하는 감미료를 사용하는 방법[12] 등이 알려져 있다. 또한 식물추출물을 대상으로 구강 관련 천연 소재를 탐색하는 연구가 꾸준히 진행되고 있으며[13], 그 대표적인 예로 감국[14], 황련[15] 및 솔잎[16] 추출물은 충치균의 성장을 억제한다고 알려졌고, 오미자[17]와 연[18] 추출물은 구강 세균의 성장 억제와 구취 제거에 효과적임이 보고되었다.

Hee Jeong Chae (✉)  
E-mail: hjchae@hoseo.edu

<sup>1</sup>Department of Food and Pharmaceutical Engineering, Hoseo University, Asan 31499, Republic of Korea

<sup>2</sup>Department of Chemical Engineering, Chungwoon University, Incheon 22100, Republic of Korea

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 any medium, provided the original work is properly cited.

본 연구에서는 35종의 식용 식물을 대상으로 구강 세균에 대한 항균 활성을 측정하여 히비스커스(*Hibiscus sabdariffa*) 추출물이 가장 효과적인 것을 확인하였다. 히비스커스는 열대아시아 및 서아프리카가 원산지인 무궁화속 아욱과의 식물이며 보통 물로 추출하여 음용하는데[19], 그 추출물에는 사과산, 구연산 등이 들어있어 신맛을 가지며 안토시아닌계 색소로 인해 밝은 적색을 나타낸다[20]. 또한 히비스커스에는 비타민 C가 풍부하고 칼륨, 칼슘, 철, 마그네슘 등의 무기질이 많이 함유되어 있으며, 기능성 성분으로는 플라보노이드계 물질인 gossypectin이 알려져 있다. 히비스커스는 눈의 피로 회복, 소화기능 강화, 강장, 이뇨, 출혈 방지 및 비뇨기계 염증 완화 등의 효능이 있는 것으로 알려져 있어[21] 생리활성 소재로의 활용 가능성이 높은 식물이다. Kang 등의 연구[22]에서는 피부 관련 미생물에서 히비스커스 에탄올 추출물의 항균활성을 확인한 바 있으며, 본 연구에서는 구강에 관련된 미생물에서의 항균활성을 확인하고자 한다.

구강 미생물(*Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei*, *Staphylococcus epidermidis* 및 *Klebsiella pneumoniae*)에 대하여 항균 효과를 갖는 식물추출물을 탐색하여 가장 활성이 우수한 히비스커스를 구강용 항균 천연소재로 선정하였고, 또한 히비스커스 추출물의 항균 활성 및 항산화 활성을 평가하여 구강 위생용 생리활성 소재로의 개발 가능성을 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험의 식용 식물 원료 35종은 대형마트 또는 한약소재 전문 쇼핑몰을 통하여 구매하여 사용하였고, 식물 원료의 사용부위와 원산지는 Table 1과 같다. 건조 상태의 재료는 그대로 추출에 사용하였고, 생물 상태의 재료는 흐르는 수도수를 이용하여 세척하고 열풍건조기(Taeyang Electric Co., Goyang, South Korea)를 이용하여 40 °C에서 24-48시간 동안 건조 과정을 거친 후 실험에 사용하였다.

추출 용매인 정제수와 에탄올은 Burdick & Jackson사(Muskegon, MI, USA)의 HPLC급 제품을 사용하였고, 기능성 평가에 사용된 folin-ciocalteu, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 시약과 표준물질로 사용된 chlorogenic acid, naringin, ascorbic acid는 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)의 제품을, 그 외 시약은 1급 이상을 사용하였다.

### 균주 배양

본 연구에서 사용한 균주는 4종의 구강세균 *Streptococcus mutans* KCTC 3065, *Lactobacillus casei* KCTC 3109, *Staphylococcus epidermidis* KCTC 1917, *Klebsiella pneumoniae* KCTC 2208과 위생지표균 *Escherichia coli* KCTC 2441으로, 생물자원센터(Korean Collection for Type Cultures, Jeongeup, South Korea)에서 분양 받아 사용하였다. *Streptococcus mutans* KCTC 3065는 Brain Heart Infusion 배지에서, *Lactobacillus casei* KCTC 3109는 Lactobacilli MRS Broth 배지에서 배양하였다. *Staphylococcus epidermidis* KCTC 1917와 *Klebsiella pneumoniae* KCTC 2208와 *Escherichia coli* KCTC 2441는

Nutrient Broth 배지를 사용하여 배양하였다. 다섯 종의 균 모두 37 °C로 셋팅된 진탕 배양기(VS-8480SFN, VISION Scientific, Daejeon, South Korea)를 사용하여 호기성 조건에서 배양하였으며, 24시간 또는 48시간 동안 배양하여  $1 \times 10^7$  CFU/mL의 균을 항균 활성 분석에 사용하였다.

### 식용 식물추출물의 제조

건조된 시료 20 g에 70% 에탄올을 100 mL씩 가하여 실온에서 24시간 추출한 후 같은 양의 용매를 다시 가하여 60 °C에서 4시간 동안 진탕추출하였다. 추출물은 Whatman No. 1 여과지로 여과한 뒤 감압농축기(Eyela, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 농축한 후, 당도계(Master refractometer, Atago, Tokyo, Japan)를 사용하여 5 brix 농도로 제조하였다.

### 항균 활성 평가

항균 활성 평가는 Higasi[23]의 방법과 같이 paper disc법을 이용하였으며, 계대배양을 통해 활성화시킨 균은 멸균 생리식염수에 현탁하여  $1 \times 10^7$  CFU/mL의 농도로 맞춘 후 실험에 사용하였다. 주입평판법에 따라 petri dish에 균 현탁액 1 mL를 분주한 후 용해된 고체배지를 주입하여 사용하였다. 제조된 고체배지 위에 8 mm filter paper disc를 놓고 진공농축한 5 brix의 시료 20  $\mu$ L를 흡수시킨 후 37 °C에서 24시간 동안 배양하여 관찰하였다.

최소저해농도(minimum inhibitory concentration, MIC) 측정에는 추출물을 0.45  $\mu$ m filter (Whatman International, England)를 이용하여 제균한 후 단계희석법(serial dilution method)을 통해 농도별 시료를 제조하여 사용했다. 96 well plate에 희석된 시료 50  $\mu$ L와  $1 \times 10^5$ - $10^6$  CFU/mL로 희석한 균 현탁액 50  $\mu$ L를 혼합한 뒤 균주별 증식용 배지 150  $\mu$ L를 넣고 24시간 동안 배양한 후 microplate reader (VERSAmix, Molecular Devices, San Jose, CA, USA)를 사용하여 흡광도를 측정하였고, 균체의 성장이 억제되어 탁도로 나타나지 않는 최소의 농도를 최소저해농도(MIC)로 정하였다.

### 항균 활성의 안정성 평가

산과 알칼리에 대한 항균 활성의 안정성 평가를 위해 농도별 히비스커스 추출물을 1 N NaOH 또는 1 N HCl 수용액을 이용하여 pH를 3, 5, 7 및 9로 조정한 후 25 °C에서 3시간 방치하였다. 이후 본래의 pH로 조절한 후 균 배양액을 첨가하여 최소저해농도를 측정함으로써 pH에 대한 안정성을 평가하였다. 온도에 대한 안정성은 농도별 히비스커스 추출물을 4, 25, 50 및 75 °C에서 30분간 방치한 후 균 배양액을 첨가하여 확인된 최소저해농도를 측정하여 확인하였다.

### 항산화 활성 평가

총 폴리페놀 함량 측정은 Folin-Denis assay법으로 Lee 등[24]의 방법을 변형하여 분석하였다. 시료 희석액 100  $\mu$ L에 folin-ciocalteu 시약 50  $\mu$ L를 첨가하여 혼합한 뒤 4분 동안 반응시키고, 20%  $\text{NO}_2\text{CO}_3$ 를 1.5 mL 가하여 2분간 방치한 후 760 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. Chlorogenic acid를 총 폴리페놀 함량 분석의 표준물질로 선정하여 표준곡선으로부터 총 폴리페놀의 함량을 계산하였다. 총 플라보노이드 함량은 Kim 등

**Table 1** List of edible plants used for the screening of antimicrobial plant extracts against oral microorganisms

Scientific name	Common name	Part used	Origin
<i>Aspalathus linearis</i>	Rooibos	Flower	Korea
<i>Houttuynia corbata</i>	Ouseongcho	Leaf	Korea
<i>Chaenomelis fructus</i>	Mogwa	Fruit	Korea
<i>Angelica gigas</i> Nakai	Danggwi	Root	Korea
<i>Eucalyptus dives</i>	Peppermint	Leaf	Korea
<i>Menthae herba</i>	Bakha	Leaf	Korea
<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Hibiscus	Flower	Korea
<i>Perilla frutescens</i>	Jasoyeop	Leaf	Korea
<i>Matricaria chamomile</i>	Chamomile	Flower	Korea
<i>Sophora flavescens</i> Ait.	Gosam	Root	Korea
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	Gamcho	Root	Korea
<i>Lycium Chinense</i>	Gugija	Fruit	Korea
<i>Cinnaamomum cassia</i>	Gyepi	Bark	Korea
<i>Kalopanax picyus</i> Nakai	Umnamu	Bark	Korea
<i>Phellodendri cortex</i>	Hwangbaek	Bark	China
<i>Schizandra chinensis</i>	Omija	Fruit	Korea
<i>Curcuma longa</i> L.	Ulgeum	Root	Korea
<i>Commiphora molmol</i> Engl.	Molyak	Resin	China
<i>Cymbopogon citratus</i>	Lemongrass	Leaf	Korea
<i>Rose canina</i>	Rosehip	Flower	Korea
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	Dansam	Bark	China
<i>Lavandula angustifolia</i>	Lavender	Flower	Korea
<i>Pueraria thunbergiana</i>	Chik	Root	Korea
<i>Calendula officinalis</i> L.	Marigold	Flower	USA
<i>Hovenia dulcis</i>	Heotgae-namu	Bark/Fruit	Korea
<i>Vaccinium corymbosum</i>	Blueberry	Fruit	Korea
<i>Citrus paradisi</i>	Jamong	Fruit	Korea
<i>Punica granatum</i>	Seokryu	Fruit	Korea
<i>Allium monanthum</i>	Dalrae	Whole	Korea
<i>Platycodon grandiflorum</i>	Yakdoraji	Root	Korea
<i>Citrus limon</i>	Lemon	Fruit	Korea
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	Naengi	Whole	Korea
<i>Aronia melanocarpa</i>	Aronia	Fruit	Korea
<i>Daucus carota</i> L.	Dangeun	Root	Korea

[25]의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 희석액 0.5 mL와 diethylene glycol 5 mL를 혼합한 후, 1 N NaOH를 1 mL씩 가하여 37 °C에서 1시간 동안 반응시킨 후 420 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량 계산용 표준물질은 naringin을 사용하였다.

DPPH 유리라디칼 소거능은 Heo 등[26]의 방법을 변형하여 분석하였다. 메탄올에 0.6 mM의 농도로 희석한 DPPH 시약 160 µL와 희석한 시료 40 µL를 혼합하여 암소에서 30분간 방치한 후 515 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 환원력은 Hazra 등[27]의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 희석액 1 mL와 10 mM sodium phosphate 완충용액(pH 6.6) 1 mL를 혼합한 후 10% potassium ferricyanide 1 mL를 첨가하여 50 °C에서 20분 동안 반응시켰다. 반응액에 10% trichloroacetic acid를

1 mL 주입하고 원심분리(10,000×g, 10분)를 하였다. 원심분리 상등액과 0.1% ferric chloride를 각각 100 µL씩 혼합하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 결과 및 고찰

#### Paper disc assay에 의한 식용 식물추출물의 항균 활성

식용 식물 35종의 생리 활성 부위를 70% 에탄올로 추출하여 구강 세균에 대한 항균 효과를 확인하였다. Table 2는 여러 식용 식물추출물의 paper disc assay 결과를 나타낸 것으로, 당귀, 박하, 자소엽, 캐모마일, 고삼, 울금, 레몬그라스, 라벤더, 쉼, 매리골드, 헛개나무, 달래, 약도라지, 냉이 및 아로니아 추출물은

**Table 2** Antimicrobial activities of various edible plant extracts against oral bacteria

Experimental sample		Zone of inhibition (mm)				
Scientific name	Common name	Gram (+)		Gram (-)		
		<i>S. mutans</i>	<i>L. casei</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>
<i>Aspalathus linearis</i>	Rooibos	9	-	12	-	-
<i>Houttuynia corbata</i>	Ouseongcho	-	-	9	10	-
<i>Chaenomelis fructus</i>	Mogwa	9	-	17	13	-
<i>Angelica gigas</i> Nakai	Danggwi	-	-	-	-	-
<i>Eucalyptus dives</i>	Peppermint	9	-	9	-	-
<i>Menthae herba</i>	Bakha	-	-	-	-	-
<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Hibiscus	15	-	23	17	13
<i>Perilla frutescens</i>	Jasoyeop	-	-	-	-	-
<i>Matricaria chamomile</i>	Chamomile	-	-	-	-	-
<i>Sophora flavescens</i> Ait.	Gosam	-	-	-	-	-
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	Gamcho	9	-	12	10	-
<i>Lycium Chinense</i>	Gugija	-	-	-	9	-
<i>Cinnaamomum cassia</i>	Gyepi	-	-	13	12	-
<i>Kalopanax picyus</i> Nakai	Umnamu	-	-	9	-	-
<i>Phellodendri cortex</i>	Hwangbaek	11	12	-	-	-
<i>Schizandra chinensis</i>	Omija	9	-	25	17	14
<i>Curcuma longa</i> L.	Ulgeum	-	-	-	-	-
<i>Commiphora molmol</i> Engl.	Molyak	9	-	15	9	-
<i>Cymbopogon citratus</i>	Lemongrass	-	-	-	-	-
<i>Rose canina</i>	Rosehip	-	-	12	9	-
<i>Salvia multiorrhiza</i>	Dansam	-	10	11	11	-
<i>Lavandula angustifolia</i>	Lavender	-	-	-	-	-
<i>Pueraria thunbergiana</i>	Chik	-	-	-	-	-
<i>Calendula officinalis</i> L.	Marigold	-	-	-	-	-
<i>Hovenia dulcis</i>	Heotgae-namu	-	-	-	-	-
<i>Vaccinium corymbosum</i>	Blueberry	-	-	12	-	-
<i>Citrus paradisi</i>	Jamong	-	-	14	10	-
<i>Punica granatum</i>	Seokryu	-	-	12	-	-
<i>Allium monanthum</i>	Dalrae	-	-	-	-	-
<i>Platycodon grandiflorum</i>	Yakdoraji	-	-	-	-	-
<i>Citrus limon</i>	Lemon	9	-	24	17	15
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	Naengi	-	-	-	-	-
<i>Aronia melanocarpa</i>	Aronia	-	-	-	-	-
<i>Daucus carota</i> L.	Dangeun	-	-	-	10	-

구강 세균인 *S. mutans*, *L. casei*, *S. epidermidis*, *K. pneumoniae*와 보건의표균인 *E. coli*에 대한 항균 효과가 전혀 없었다.

엄나무, 블루베리 및 석류 추출물은 *S. epidermidis*에 대해, 구기자 및 당근 추출물은 *K. pneumoniae*에 대해 낮은 항균 활성을 보였다. 루이보스와 페퍼민트 추출물은 *S. mutans*와 *S. epidermidis*에 대해, 어성초, 계피, 로즈힙 및 자몽 추출물은 *S. epidermidis*와 *K. pneumoniae*에 대해, 황백 추출물은 *S. mutans*와 *L. casei*의 두 종류의 균에 대한 항균 활성을 나타냈다. 모과, 감초 및 몰약 추출물은 그람양성균인 *S. mutans*와 *S. epidermidis*, 그람음성균인 *K. pneumoniae*에 대해, 단삼 추출물은 그람양성균인 *L. casei*와 *S. epidermidis*, 그람음성균인 *K.*

*pneumoniae*에 대해 항균 활성을 나타내었다. 특히 히비스커스, 오미자 및 레몬 추출물은 그람양성균인 *S. mutans*와 *S. epidermidis*, 그람음성균인 *K. pneumoniae*와 *E. coli*에서 clear zone이 관찰되어 넓은 항균 스펙트럼과 높은 항균 활성을 보였다. 오미자의 경우 *S. epidermidis*에 대하여 25 mm로 가장 큰 저해환을 나타냈다. Jeong 등[28]의 결과에 비하여 높은 항균 활성을 보였는데, 이는 추출 용매의 차이에 기인한 것으로 물보다 70% ethanoli 구강 세균에 대한 비극성 항균 물질을 더 많이 추출할 수 있기 때문인 것으로 판단된다.

본 연구에서 스크리닝 대상으로 선정한 식물 유래 추출물 35종 중 4종의 구강 세균에 대하여 항균 스펙트럼이 넓고 항균

**Table 3** Minimum inhibitory concentrations of some plant extracts against oral bacteria growth

Plant extracts	Minimum inhibitory concentration (µg/mL)				
	Gram (+)			Gram (-)	
	<i>S. mutans</i>	<i>L. casei</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>
<i>Hibiscus sabdariffa</i>	5,000	20,000	625	1,250	1,250
<i>Schizandra chinensis</i>	20,000	20,000	156.3	1,250	2,500
<i>Citrus limon</i>	10,000	-	156.3	1,250	2,500
<i>Chaenomelis fructus</i>	20,000	5,000	5,000	5,000	10,000
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	-	>30,000	2,500	>30,000	-
<i>Commiphora molmol</i> Engl.	>30,000	-	10,000	20,000	-

활성이 높은 히비스커스, 오미자, 레몬, 모과, 몰약, 단삼 추출물을 1차 선별하였으며, 최소저해농도(MIC) 측정을 통해 구강 세균에 대한 성장 저해능을 확인하였다.

**식용 식물추출물의 최소생육저해농도(MIC)**

Table 3과 같이 히비스커스, 오미자, 레몬 및 모과의 70% ethanol 추출물은 총치균인 *S. mutans*에 대해 성장 저해능을 보였는데 이 중에서 히비스커스 추출물이 가장 낮은 MIC값(5 mg/mL)을 나타냈다. Lee와 Kim[29]의 연구는 콩 추출물이 40 mg/mL 이상의 농도에서 *S. mutans*의 성장을 억제하였다고 보고한 바 있는데, 본 연구에서는 히비스커스 추출물의 *S. mutans*에 대한 항균 활성이 콩 추출물보다 더 높은 것으로 나타났다. *L. casei*에 대한 식물추출물의 MIC를 측정한 결과 Table 3에서 보는 바와 같이 paper disc법으로 1차 스크리닝 시 육안 관찰에서 항균 활성을 보이지 않았던 히비스커스, 오미자, 레몬 및 모과에서 최소저해농도가 측정되었는데, 이는 MIC 측정 시 추출물에 함유되어 있는 유기산에 의해 배지의 pH가 낮아져 항균 효과가 증가된 것으로 판단된다[30].

*S. epidermidis*에 대한 식물추출물의 MIC를 측정한 결과, 모든 추출물이 균의 증식을 억제하였고, 그 중 오미자와 레몬 추출물이 가장 높은 저해능을 보였다(MIC=156.3 µg/mL). Lee 등 [31]은 *S. epidermidis*에 대한 레몬그라스 및 오렌지 에센셜 오일의 최소저해농도를 각각 5 및 10 mg/mL로 보고한 바 있어, 본 연구에서 확인한 바, 히비스커스, 오미자, 레몬 및 단삼의 70% ethanol 추출물(MIC=0.156-2.5 mg/mL)이 *S. epidermidis*에 대해 레몬그라스나 오렌지 에센셜 오일보다 더 높은 항균 효과를 가지는 것으로 판단된다.

*K. pneumoniae*에 대한 추출물의 MIC를 측정한 결과, 히비스커스, 오미자, 레몬, 모과 및 몰약 추출물은 항균 능력이 있었으며, 그 중 히비스커스, 오미자 및 레몬이 모두 1,250 µg/mL의 가장 낮은 MIC값을 나타냈다. Goo[32]는 로즈마리 추출물과 세이지 추출물이 고형분 농도 6% 이상에서 *K. pneumoniae*의 증식을 억제하였다고 보고한 바 있는데, 이와 비교해서도 히비스커스, 오미자 및 레몬 추출물이 *K. pneumoniae*에 대한 항균 활성이 더 높은 것으로 보인다.

대조군으로 사용된 보건의료균 *E. coli*에 대해서 히비스커스, 오미자 및 레몬 추출물이 성장 저해능을 보였는데 이 중에서 히비스커스가 가장 낮은 MIC값(1,250 µg/mL)을 나타냈다. Cho[33]의 연구에서 산수유 추출물이 2 mg/mL 이상의 농도에서 *E. coli*의 증식을 억제하는 최소저해농도 값을 나타냈다고

보고한 바 있으므로 히비스커스 추출물의 *E. coli*에 대한 항균 활성이 산수유 추출물보다 더 높은 것으로 판단된다.

이상의 항균 활성 분석 결과로부터 항균 활성의 범위가 넓고, 구강 관련 위해균과 *E. coli*에 대하여 우수한 항균 활성을 나타내며 특히 총치균인 *S. mutans*에 대한 최소저해농도가 가장 낮은 히비스커스 추출물을 구강 미생물에 대한 항균 소재로 발굴하였다.

**히비스커스 추출물의 항균 활성의 안정성**

Table 3에서 보듯이 히비스커스 꽃으로부터 얻어진 70% 에탄올 추출물이 구강 세균의 성장을 효과적으로 저해하는 것으로 나타나 히비스커스 추출물을 대상으로 pH와 온도에 대한 안정성을 확인하였다.

히비스커스 꽃 추출물에 들어있는 항균 활성 물질을 구강 위생용 생리활성 소재로 활용하기 위해서는 pH와 열에 대한 안정성이 높아야 한다. 히비스커스 추출물의 pH를 각각 3, 5, 7 및 9로 조절하여 25 °C에서 3시간 동안 방치한 후 원래 pH로 다시 조절하여 최소저해농도를 측정한 결과는 다음과 같다.

*S. mutans*의 경우 pH 3에서는 히비스커스 추출물의 MIC값이 5,000 µg/mL이었으나 pH 5 이상일 경우 MIC값이 20,000 µg/mL으로 나타나 항균 활성이 감소하는 것으로 나타났다. *S. epidermidis*에 대한 MIC값은 pH 3-7 범위에서 각각 625 µg/mL로 안정하게 유지되었지만, pH 9에서는 MIC값이 5,000 µg/mL로 나타나 항균 활성이 알칼리 조건에서 낮아지는 것으로 나타났다.

*E. coli*에 대한 MIC값은 pH 3-7 범위에서 1,250 µg/mL로 안정하게 유지되었지만, pH 9에서는 MIC값이 2,500 µg/mL로 나타나 항균 활성이 감소하였다.

*L. casei*와 *K. pneumoniae*에 대한 MIC값은 각각 10,000와 1,250 µg/mL로 나타나 pH 3-9의 넓은 pH 범위에서도 항균 활성이 안정하게 유지됨을 확인하였다.

이상으로 히비스커스 추출물의 항균 활성은 산성 조건에서 가장 안정하게 유지됨을 알 수 있었으며, 이는 히비스커스가 특유의 신맛과 유기산을 함유하고 있어서 재료 본래의 pH가 낮아 산성에 더 안정한 것으로 판단된다. 구강청결제, 치약 등의 구강 청결 제품은 다양한 pH 범위의 제품이 존재하며, 히비스커스 추출물이 그 중 약산성 제품의 항균소재로 적용될 경우 안정한 항균 활성을 유지할 수 있을 것으로 사료된다.

또한 히비스커스 추출물을 각각 4, 25, 50 및 75 °C에서 30 분간 방치한 후 최소저해농도를 측정한 결과, 모든 균이 4-75 °C

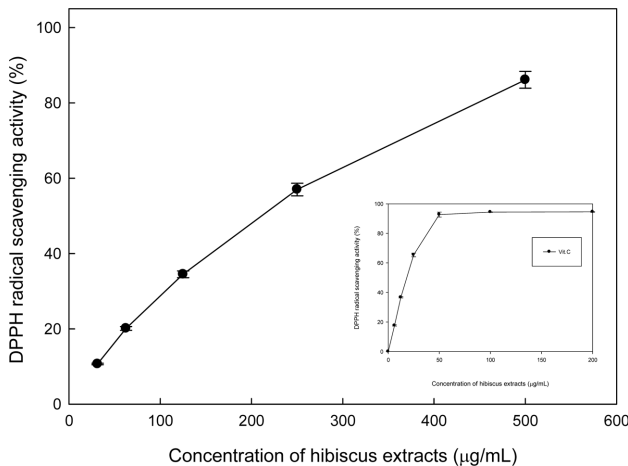
**Table 4** polyphenol, and flavonoid contents of 70% ethanol extract from *Hibiscus sabdariffa* flowers

Polyphenol content <sup>1)</sup> (mg CAE/g)	Flavonoid content <sup>2)</sup> (mg NE/g)
130.5±32.6 <sup>3)</sup>	25.7±2.8 <sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Polyphenol content was expressed as chlorogenic acid equivalents (CAE)

<sup>2)</sup>Flavonoid content was expressed as naringin equivalents (NE)

<sup>3)</sup>Results represent mean and SD of triplicate measurements



**Fig. 1** DPPH free radical scavenging activity of *Hibiscus sabdariffa* extract. Results were mean and SD of triplicate measurements

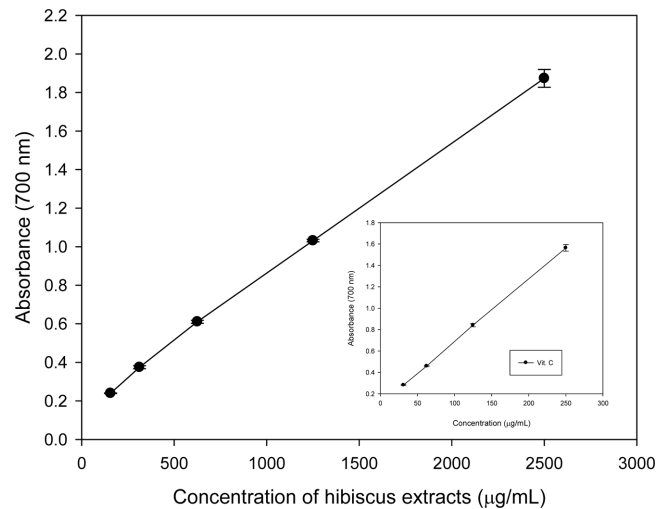
까지의 넓은 온도 범위에서 일정한 MIC값을 나타냈다. 그 값은 *S. mutans*, *L. casei*, *S. epidermidis*, *K. pneumoniae* 및 *E. coli*에서 각각 5,000, 10,000, 625, 1,250 및 1,250 µg/mL으로 나타났으며, 이에 따라 히비스커스 추출물은 열에 안정한 것으로 사료된다.

이상으로 히비스커스 꽃 추출물의 항균 물질은 열 안정성이 우수하고 산성 조건에서 안정한 것으로 확인되어 향후 구강용품 및 연관 제품에 적용할 경우 활용성이 높을 것으로 사료된다.

#### 히비스커스 추출물의 폴리페놀 함량 및 항산화 활성

폴리페놀은 화학 구조에 따라 플라보노이드계와 비플라보노이드계로 구분되는 생리활성 물질로 항산화, 항염증 및 항돌연변이 활성[34]뿐만 아니라, 특히 강력한 항균 효과[35]를 갖는 것으로 알려져 있다. 히비스커스 추출물의 총 폴리페놀 함량은 130.5 mg/g이었고, 총 플라보노이드 함량은 25.7 mg/g으로 나타났다(Table 4). 이 결과는 Kim과 Jin[36]의 연구에서 히비스커스의 총 폴리페놀 함량이 131.8 mg/g이라는 결과와 거의 유사하였고, 플라보노이드 함량의 경우에는 Lee 등[37]이 보고한 흰무궁화 꽃의 플라보노이드 함량(47.74 mg/g)에 비해 다소 낮게 나타났다. 실제로 카테킨과 플라보노이드계 등의 폴리페놀 화합물이 상당량 들어있는 것으로 알려진 차잎의 폴리페놀 함량(건조 중량 대비 10-25%)[38]과 비교해서도 히비스커스 추출물의 폴리페놀 함량은 비교적 높은 수준으로 볼 수 있다.

히비스커스 꽃 추출물의 DPPH 유리라디칼 소거활성과 Ferrous 이온에 대한 환원력을 확인하였다. 히비스커스 추출물



**Fig. 2** Ferric reducing anti-oxidant power of *Hibiscus sabdariffa* extract. Results were mean and SD of triplicate measurements

은 농도 증가에 비례하여 DPPH 라디칼을 효과적으로 소거하였다(Fig. 1). 히비스커스 추출물은 500 µg/mL의 농도에서 86.1%의 유리라디칼을 소거하였고, DPPH 유리라디칼을 50% 소거하는 농도인 EC<sub>50</sub>값은 246.7 µg/mL으로 나타나 히비스커스 추출물은 유리라디칼 소거 항산화 능력이 우수함을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 Shin과 Ha[39]의 연구에서 알려진 무궁화 추출물의 DPPH 유리라디칼 소거활성과 유사하였다. 히비스커스 추출물의 환원력도 농도에 비례하여 증가하였고(Fig. 2), 반응액의 흡광도가 0.5에 달하는 농도인 RC<sub>0.5</sub>값은 490.0 µg/mL으로 나타났다. 이는 백연수잎 추출물의 RC<sub>0.5</sub>값인 250.0 µg/mL [40] 보다는 높았으나 복분자 추출물의 RC<sub>0.5</sub>값인 840.0 µg/mL [41] 보다는 크게 낮아 환원력이 우수함을 알 수 있었다.

이상의 결과로부터 35종의 식용 식물 중 히비스커스, 오미자, 레몬, 모과, 물약, 및 단삼 추출물이 구강 세균에 대한 항균 소재로 선별되었고, 그 중 항균 스펙트럼 및 항균 활성이 가장 우수한 히비스커스 추출물을 구강 세균용 항균 및 생리활성 소재로 최종 선별하였다. 히비스커스 추출물은 상당량의 폴리페놀과 플라보노이드 화합물을 함유하고 있었고, 높은 항산화 활성을 보여주었다. 따라서 히비스커스 추출물은 구강용 항균 및 항산화 활성을 가진 기능성 원료로 활용가능성이 높을 것으로 사료되며, 향후 히비스커스 추출물의 추출 조건 최적화 및 구강용품에 적용한 연구에 대해 검토할 필요가 있다.

#### 초 록

식용 식물 35종의 생리활성 부위를 대상으로 70% 에탄올 추출물의 구강 세균(*Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*)에 대한 항균 활성을 확인하였다. 35종의 식물추출물 중 항균 스펙트럼이 가장 넓고 최소저해농도가 낮은 히비스커스 꽃 추출물을 구강 세균에 대한 항균 소재로 최종 선별하였다. 히비스커스 추출물의 항균 활성은 산성 조건에서 안정하였고, 열 안정성이 우수

하였다. 히비스커스 추출물의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량은 130.5 및 25.7 mg/g으로 나타났고, 유리라디칼 소거활성과 환원력의 항산화 활성이 우수하였다.

**Keywords** 구강 세균 · 식용 식물추출물 · 최소저해농도 · 항균 활성 · *Hibiscus sabdariffa*

**감사의 글** 본 논문은 제 1 저자의 석사학위논문 “구강 세균에 대한 히비스커스의 항균 효과 및 생리활성 평가에 관한 연구”를 바탕으로 작성되었습니다.

## References

- Heo NS (2012) Study on antimicrobial activities against oral pathogens and deodorizing effects of Korean endemic plants. Dissertation, Changwon National University
- Islam B, Khan SN, Khan AU (2007) Dental caries: From infection to prevention. *Med Sci Monit* 13: 196–203
- Lin YJ, Chou C, Hsu CS (2017) Effects of *Lactobacillus casei* Shirota intake on caries risk in children. *J Dental Sci* 12: 179–184
- Choi JL, Jung MA, Jung SH (2006) Antimicrobial effect of mulberry leaves extracts against oral microorganism. *J Den Hyg Sci* 6: 251–254
- Gaffar MC, Fischer TJ, Gaffar A (1979) Instrumental evaluation of odor produced by specific oral microorganisms. *J Soc Cosmet Chem* 30: 241–247
- Moon JS, Ahn JE, Han AR, Heo JS, Eom HJ, Shin CS, Choi HS, Han NS (2011) Anticariogenic activities of *Lactobacillus sakei* K-7 isolated from Kimchi. *KSBB Journal* 26: 513–516
- Park YM (2006) Anticariogenic and antioxidant activity of processed salt with medicinal herb. Dissertation, Mokpo National University
- Filoché SK, Soma K, Sissons CH (2005) Antimicrobial effects of essential oils in combination with chlorhexidine digluconate. *Oral Microbiol Immunol* 20: 221–225
- Lee KH, Choi CH, Hong SJ (2012) Relationship of the use of some fluoride containing dentifrice on the Korean market to children's fluoride intake in different age groups. *J Korean Soc Dent Hyg* 12: 881–896
- Yoo YK, Ro JS, Kim JS, Chang KW (1996) The antibacterial effects of some propolis constituents against *S. mutans*, *Lactobacilli* and *Actinomyces*. *J Acad Dent Health* 20: 65–74
- Park YM, Kim SJ, Jo KH, Yang EJ, Jung ST (2006) Anticariogenic and antioxidant activities from medicinal herbs. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 284–293
- Kim SY, Shin SC, Seo HS (2002) Comparative study on remineralizing effect of sorbitol, xylitol and erythritol sweetened chewing gums. *J Acad Dent Health* 26: 593–607
- Cowan MM (1999) Plant products as antimicrobial agents. *J Clin Microbiol Rev* 12: 564–582
- Park IB (2006) Anticariogenic activities of *Chrysanthemum indicum* L. and its processed salt. Dissertation, Mokpo National University
- Jang GH (2000) Anticariogenic effects of *Coptis chinensis* Franch extract. Dissertation, Chonbuk National University
- Choi H, Koh YJ, Choi IW, Kim YS, Park YK (2007) Anticariogenic activity and glucosyltransferase inhibitory effects of extracts from pine needle and twig. *Korean J Food Sci Technol* 39: 336–341
- Heo NS, Choi HJ, Hwang SM, Choi YW, Lee YG, Joo WH (2013) Antimicrobial and anti-oral malodor efficacy of *Schizandra chinensis* extracts against oral pathogens. *J Life Sci* 23: 443–447
- Lee HE (2012) Growth inhibition of *Streptococcus* sp. causes oral disease by methanol extract of lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf. Dissertation, Dongeui University
- Cho IS, Lee JS (2015) Combination dyeing of silk fabrics with hibiscus flowers and persimmon juice extract. *J Fashion Text Res* 17: 476–485
- Cho IS (2015) Natural dyeing of fabrics with *Hibiscus syriacus* L. and *Hibiscus subdariffa* L. extract. Dissertation, Gyeongsang National University
- Choi SH (2008) Volatile aroma components of hibiscus herb tea. *J Kor Tea Soc* 14: 195–204
- Kang PS, Seok JH, Kim YH, Eun JS, Oh SH (2007) Antimicrobial and antioxidative effects of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) flower extract and its fractions on skin microorganisms and oxidation. *Korean J Food Sci Technol* 16: 409–414
- Higasi GS (2000) Appraisalment of antioxidative activity from vegetables. *Jpn J Food Ind* 57: 56–64
- Lee YS, Joo EY, Kim NW (2006) Polyphenol contents and physiological activity of the *Lespedeza bicolor* extracts. *J Food Preserv* 13: 616–622
- Kim EJ, Choi JY, Yu MR, Kim MY, Lee SH, Lee BH (2012) Total polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 44: 337–342
- Heo JC, Park JY, An SM, Lee JM, Tun CY, Shin HH, Kwon TK, Lee SH (2006) Anti-oxidant and anti-tumor activities of crude extracts by *Gastrodia elata* Blume. *Korean J Food Sci Technol* 13: 83–87
- Hazra B, Biswas S, Mandal N (2008) Antioxidant and free radical scavenging activity of *Spondias pinnata*. *J BMC Complement Altern Med* 8: 63
- Jeong HJ, Lee YA, Ji WD (2002) Effect of the extract of *Schizandra chinensis* Baill on bacteria isolated from oral cavity. *J Dental Hygiene Sci* 2: 85–88
- Lee SL, Kim JG (2006) Anti-microbial activity of soybean extract against oral microbes. *J Env Health* 32: 192–197
- Park UY, Chang DS, Cho HR (1992) Screening of antimicrobial activity for medicinal herb extracts. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 91–96
- Lee SY, Kim JG, Baek BJ, Yang YM, Lee GY, Lee YH, Kim MA (2009) Antimicrobial effect of essential oils on oral bacteria. *J Korean Acad Pediatr Dent* 36: 1–11
- Goo SA (2004) Dyeability and antibacterial activity of the fabrics dyed with herbs extract. Dissertation, Changwon National University
- Cho DB (2001) A Study on the constituents and antimicrobial substance during the growth stage of *Lentimus edodes* Sing. Dissertation, Sunchon Nation University
- Thitimita S, Pithayanukul P, Nithitanakool S, Bavovada R, Leapolchareanchai J, Saparpakorn P (2017) *Camellia sinensis* L. extract and its potential beneficial effects in antioxidant, anti-inflammatory, antihepatotoxic, and anti-tyrosinase activities. *Molecules* 22: 401
- Xie Y, Chen J, Xiao A, Liu L (2017) Antibacterial activity of polyphenols: structure-activity relationship and influence of hyperglycemic condition. *Molecules* 22: 1913
- Kim MJ, Jin SY (2017) Antioxidant activity of quality characteristics of *Hibiscus syriacus* cultivars powders. *J Kor Soc Food Cult* 32: 295–302
- Lee HJ, Lee SW, Park CG, Ahn YS, Kim JS, Bang MS, Oh CH, Kim CT (2015) Effects of white *Hibiscus syriacus* L. flower extracts on antioxidant activity and bone resorption inhibition. *Kor J Medicinal Crop Sci* 23: 190–197
- Choi OJ, Choi KH (2003) The physicochemical properties of Korean wild teas (green tea, semi-fermented tea, and black tea) according to degree of fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 356–362
- Shin YB, Ha BJ (2016) Effects of *Hibiscus syriacus* extracts on antioxidant activities and blood circulation improvement. *J Life Sci* 26: 1415–1421
- Kim DC, In MJ (2017) Antioxidative ability of ethanol extract from the leaves of *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. *J Appl Biol Chem* 60:185–190
- Jun HI, Kim YA, Kim YS (2014) Antioxidant activities of *Rubus coreanus* Miquel and *Morus alba* L. fruits. *Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 381–388