



Note: Food Science

## Combinatorial effects of arginine and *n*-hexane extract from Korean red ginseng marc against *Streptococcus mutans*

Dong Chung Kim · Man-Jin In

### *Streptococcus mutans*에 대한 홍삼박 *n*-hexane 추출물과 Arginine의 병용 효과

김동청 · 인만진

Received: 19 October 2022 / Accepted: 14 November 2022 / Published Online: 31 December 2022  
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2022

**Abstract** In this study, the effect of the combined use of a lipid-soluble *n*-hexane extract of red ginseng marc (HERGM) and water-soluble arginine, which exhibits anticaries activity, on the growth of *Streptococcus mutans* was investigated. As a result of checkerboard assay, HERGM and arginine showed a synergistic effect in inhibiting the growth of *S. mutans* with a fractional inhibitory concentration index of 0.396. Combination treatments of HERGM and arginine resulted in leakage of nucleic acid components and decrease in the viable cell counts of *S. mutans*, all of which were proportional to the concentration of HERGM. In conclusion, the synergistic effect of HERGM and arginine on the growth inhibition of *S. mutans* is mainly attributed to HERGM.

**Keywords** Arginine · Growth inhibition · *n*-hexane extract of red ginseng marc · *Streptococcus mutans*

## 서론

충치(dental caries)는 미생물에 의한 질환의 하나로 입안에서 서식하는 세균이 잔여 음식을 분해하면서 생성되는 생물막(biofilm)과 산에 의하여 치아의 법랑질이 손상됨으로서 일어나며, 700여종의 구강 미생물 중에서 *Streptococcus mutans*가 대표적인 충치 원인균 중의 하나로 알려져 있다[1,2]. 음식을 통하여 설탕을 섭취하면 설탕은 구강 미생물 중 *S. mutans*에 의해 포도당과 과당으로 분해되고 포도당은 *S. mutans*가 생성하는 glucosyltransferase (GTase)에 의하여 점착성이 강한 다당류인 dextran으로 전환된다. 이렇게 생성된 dextran은 구강 세균과 치아 표면에 생물막인 치태(치면 세균막)를 형성하고 칼슘이 침착되어 단단한 치석이 되어 세균을 고정하는 역할을 한다. 또한 과당은 *S. mutans*의 당질 대사를 통하여 유기산으로 전환되어 생물막 내부의 pH가 낮아짐으로서 치아 법랑질의 탈회 유발되어 충치가 발생된다[3]. 따라서 *S. mutans*의 증식을 저해하거나 점착성이 강한 dextran 생성에 관여하는 *S. mutans*의 GTase 활성을 저해함으로써 충치의 발생을 억제할 수 있으며, 이러한 활성을 나타내는 소재에 대한 연구가 지속되고 있다[4-6].

염기성 아미노산인 arginine은 미생물의 arginine deiminase system (ADS)의 작용으로 분해되어 알칼리를 생성하는 기질이 며, 이때 생성된 암모니아는 구강의 생물막내부에서 생성되는 산을 중화시켜 산의 축적을 억제할 수 있다[7]. 따라서 최근 충치 예방의 새로운 접근 방법으로 arginine을 활용하는 결과가 보고되고 있다. Arginine 1.5% 농도에서 *S. mutans*의 생육 저해는 미미하나[8], *S. mutans*의 치아 표면 부착과 불용성 다당체의 생성 감소로 생물막 형성이 효과적으로 억제되었다[9,10]. 동시에 arginine은 *S. mutans*의 대사(glycolysis, amino sugar, nucleotide sugar 대사)를 저해하여 산의 생성을 억제하며,

Man-Jin In (✉)  
E-mail: manjin@chungwoon.ac.kr

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.

peptidoglycan 합성을 저해하였다[11]. Arginine은 충치 예방에 널리 사용되고 있는 불소 이온과 *S. mutans*의 생육 억제에 상승효과를 보였으며[12], 치약에 불소 이온과 함께 2%로 arginine을 첨가한 경우에도 충치 예방효과가 향상되었다[13].

인삼(*Panax ginseng*)은 진세노사이드 뿐만 아니라 다양한 생리활성 성분이 함유되어 있으며, 항산화, 기억력 개선, 면역증진, 혈액 흐름 개선 등의 생리활성이 보고되어[14] 오랫동안 한약재와 건강기능식품으로 사용되고 있다. 인삼의 *S. mutans*에 대한 연구는 홍삼 에탄올 추출물의 *S. mutans*에 대한 최소저해농도(MIC)는 150 mg/mL이며, 저해 효과는 사포닌의 영향일 것이라는 보고[15]와 홍삼박의 *n*-hexane 추출물이 *S. mutans*의 생육을 강력하게 저해하며(MIC=125 µg/mL), 균체 부착과 생물막 형성을 효과적으로 저해한다는 보고[16]가 있다. 현재 우리나라에서 항충치 관련 소재는 충 플라보노이드를 지표성분으로 하는 프로폴리스 추출물과 자일리톨 정도로 매우 미미하므로[1] 충치 예방 효과가 보고된 홍삼박의 *n*-hexane 추출물과 arginine 등과 같은 소재에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

따라서 본 연구에서는 *S. mutans*에 대한 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 저해 효과[16]를 바탕으로 충치 예방 효과가 규명[9-11]된 수용성의 arginine과 지용성의 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 조합이 *S. mutans*의 생육에 미치는 영향으로 조사함으로써 홍삼의 지용성 성분을 중심으로 항충치 활성을 갖는 혼합물에 대한 기초 자료를 확보하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

홍삼 열수 추출물 제조과정에서 부산물로 생성되는 홍삼박은 고려인삼제조(주)(평택, 경기)에서 제공받았다. 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC, 대전)에서 분양받은 *Streptococcus mutans* KCTC 3065 균주는 Brain heart infusion (BHI) agar 배지(Difco사, Detroit, MI, USA)에 배양하여 사용하였다. Arginine, dimethyl sulfoxide (DMSO)는 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)의 제품을, 그 외는 1급 이상의 시약을 사용하였다.

### 홍삼박 *n*-hexane 추출물 제조

분쇄한 홍삼박 분말에 홍삼박 10배(w/w)의 *n*-hexane을 가하고 항온 진탕조에서 4시간 추출한 후 추출액을 Whatman No. 2 여과지로 여과하고 50 °C에서 감압농축하여 *n*-hexane을 제거한 다음 잔유물을 DMSO에 용해시켜 실험에 사용하였다[16].

### *S. mutans*에 대한 항균 상호작용 효과 측정

홍삼박 *n*-hexane 추출물과 arginine의 병용에 의한 항균 상호작용 효과는 checkerboard assay 방법으로 조사하고 fractional inhibitory concentration index (FICI)를 이용하여 판단하였다[17]. 홍삼박 *n*-hexane 추출물(7.8125-62.5 µg/mL)과 arginine (1.25-10.0%)을 다양한 조합으로 24-well plate에 *S. mutans* 배양액( $1 \times 10^6$  CFU/mL) 및 BHI broth와 함께 혼합하였다. 처리 후 37 °C에서 20시간 배양한 다음 균의 생육을 660 nm에서의 흡광도로 측정하였다. 동시에 홍삼박 *n*-hexane 추출물과 arginine을 각각 7.8125-125 µg/mL과 1.25-15.0% 범위로 단독 처리하여

비교하였다. 대조구는 *n*-hexane 추출물 대신에 DMSO를 첨가하였으며, arginine은 멸균 BHI broth에 녹이고 pH 7.40으로 조정한 후 여과로 제균하여 사용하였다. FIC (fractional inhibitory concentration)는 혼합물에서 시료의 minimum inhibitory concentration (MIC)에 대한 시료 단독 사용시의 MIC의 비로 정의하며, FICI (fractional inhibitory concentration index)는 각 시료 FIC의 합으로 계산하였다. FICI가 0.5 이하이면 시너지 효과, 0.5-1.0 범위는 부가 효과, 1.0-4.0 범위는 무관함, 4.0 이상이면 상쇄 효과가 있는 것으로 판단하였다.

### 세포막 무결성(integrity) 측정

홍삼박 *n*-hexane 추출물과 arginine의 병용이 세포막 무결성에 미치는 영향은 세포 구성성분 중 핵산관련 성분이 유출되는 것을 260 nm에서 흡광도를 측정하여 평가하였다[18]. BHI broth에서 24시간 배양한 *S. mutans* 배양액을 원심분리(3,000×g, 10 min, 4 °C)하여 균체를 회수하고 멸균 phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.4)으로 2회 세척한 후 배양액과 동일 부피의 PBS에 현탁하여 균체 시료를 준비하였다. Arginine 10%에 홍삼박 *n*-hexane 추출물을 7.8125, 31.25, 62.5, 125 µg/mL 농도로 각각 혼합하고  $1 \times 10^6$  CFU/mL로 균체 현탁액을 첨가하여 37 °C 항온수조에서 반응시키면서 경시적으로 시료를 채취하고 원심분리 후 260 nm에서 상등액의 흡광도를 측정하여 결과는 흡광도의 차이로 제시하였다. Arginine은 멸균 PBS에 용해하고 pH 7.40으로 조정한 후 제균하여 사용하였으며, 음성 대조구는 *n*-hexane 추출물 대신에 DMSO, 양성 대조구는 10% arginine을 첨가하여 비교하였다.

### Killing assay

홍삼박 *n*-hexane 추출물과 arginine의 병용 효과를 검증하기 위한 killing assay를 Toda 등의 방법[19]을 일부 변형하여 실시하였다. 세포막 무결성 측정과 동일하게 멸균 PBS에 *S. mutans* 현탁액을 준비하였다. 24-well plate에 arginine 10%와 홍삼박 *n*-hexane 추출물을 31.25, 125, 250 µg/mL 농도로 각각 혼합한 시료와 홍삼박 *n*-hexane 추출물 125 µg/mL와 arginine 5, 10, 15%를 각각 혼합한 시료를 준비하고 미리 준비한 *S. mutans*를  $1 \times 10^6$  CFU/mL 농도로 첨가한 후 37 °C에서 3시간 반응시켰다. 반응액을 10진 희석법으로 희석하여 BHI agar 배지에 도말하고 37 °C에서 20시간 배양한 후 생성된 집락을 계수하였다. Arginine은 멸균 PBS에 용해하고 pH 7.40으로 조정한 후 제균하여 사용하였으며, 음성 대조구는 DMSO, 양성 대조구는 10% arginine과 125 µg/mL 홍삼박 *n*-hexane 추출물을 각각 단독으로 첨가하여 비교하였다.

### 통계처리

실험에서 얻은 결과는 Excel 2016 (Microsoft Co., Redmond, WA, USA)로 *t*-test를 실시하여 유의성을 평가하였다( $p < 0.05$ ).

## 결과 및 고찰

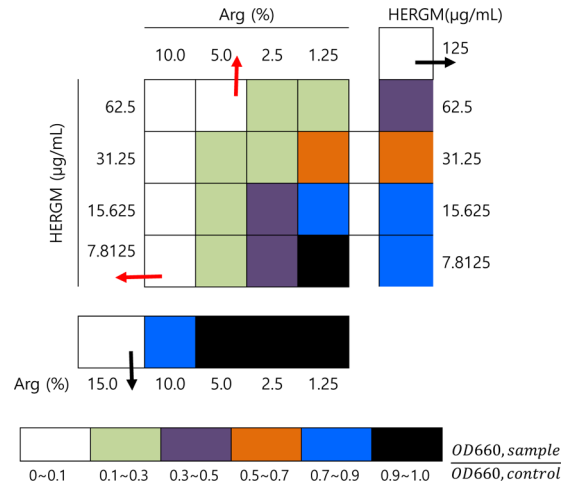
### *S. mutans*에 대한 항균 상호작용 효과

홍삼박을 원료로 *n*-hexane 추출물을 제조하였으며, 추출물의 수

율은 0.640%로 기존의 홍삼박 *n*-hexane 추출물 수율과 매우 유사하였다[16,20]. MIC를 기초로 하는 checkerboard assay는 특정 항균물질만을 MIC로 대상 미생물에 처리하였을 때보다 두 가지 이상의 항균물질을 병용 처리하였을 때 항균물질의 처리 농도 변화로 처리한 항균물질 간의 상호작용을 평가하는 방법으로 FICI 0.5 이하이면 시너지가 나타났다고 평가할 수 있다 [17]. 지용성의 홍삼박 *n*-hexane 추출물은 7.8125-62.5 µg/mL, 수용성의 arginine은 1.25-10.0%의 범위에서 두 성분의 병용 처리가 *S. mutans* KCTC 3065의 생육에 미치는 효과를 checkerboard assay로 조사하였다(Fig. 1). 홍삼박 *n*-hexane 추출물과 arginine을 단독으로 처리한 경우 MIC는 각각 125 µg/mL와 15%로 확인되어 기존의 결과와 일치하였다[12,16]. 또한 두 시료를 병용 처리하면 홍삼박 *n*-hexane 추출물 62.5 µg/mL (홍삼박 *n*-hexane 추출물의 1/2 MIC)과 arginine 5.0% (arginine의 1/3 MIC)를 처리한 조건과 arginine 10% (arginine의 2/3 MIC)와 홍삼박 *n*-hexane 추출물 7.8125 µg/mL (홍삼박 *n*-hexane 추출물의 1/16 MIC)를 처리한 조건에서 *S. mutans*의 생육이 효과적으로 억제되었다. 따라서 홍삼박 *n*-hexane 추출물과 arginine의 FIC값 각각 0.0625과 0.333이었으며 FICI (ΣFIC)는 0.396로 계산되어 홍삼박 *n*-hexane 추출물과 arginine의 병용 처리는 *S. mutans* KCTC 3065의 생육 저해에 대하여 우수한 시너지 효과를 내는 것으로 판단되었다. 구강 미생물 중 ADS 경로가 있는 *Streptococcus gordonii*와 같은 미생물은 arginine을 분해하여 암모니아를 생산하므로 생성된 암모니아는 *S. mutans* 등의 산 생성 미생물에 의한 산을 중화하고 생물막 내부의 pH를 높이는 작용을 한다[7]. 또한 arginine은 *S. mutans*의 대사를 저해하여 산의 생성 억제, 부착과 생물막 형성을 방해하므로 충치 예방에 효과적이다[9-11]. 그러나 본 연구와 같이 arginine의 *S. mutans*에 대한 MIC가 15%인 것은 arginine 단독으로는 *S. mutans*의 생육 저해에 대한 영향은 매우 제한적임을 나타낸다 [8,12,13]. Arginine과 불소[12,21] 및 2% arginine과 *Lactobacillus rhamnosus* GG [22]의 병용 처리가 *S. mutans*의 생육 저해에 시너지 효과 있다는 결과는 arginine 단독 사용의 단점을 극복하기 위한 노력으로 사료된다. 불소와 arginine을 병용한 경우 10% arginine과 62.5 ppm NaF의 조합에서 *S. mutans*의 생육이 억제된 보고[12]와 본 연구의 결과(arginine 10%와 홍삼박 *n*-hexane 추출물 7.8125 µg/mL에서 생육 저해)를 비교하면 NaF보다 홍삼박 *n*-hexane 추출물이 더 낮은 농도에서 효과를 보였다. 그 결과 본 연구의 FICI는 0.396으로 불소와 arginine을 병용 조건의 0.458보다 낮았다. 불소는 낮은 pH에서 치아 미네랄의 저항성을 향상시키고 생물막에서 산의 생성을 억제하여 충치를 예방하지만[21] 비극성 성분이 충치균의 생육 억제에 효과적이라는 보고[23,24]를 고려하면 홍삼박 *n*-hexane 추출물이 지용성 성분인 점에 기인하는 것으로 사료된다. 홍삼박 *n*-hexane 추출물이 NaF보다 낮은 농도에서 *S. mutans*의 생육을 저해한다는 결과[16]와도 동일한 경향이 있었다. 따라서 홍삼박 *n*-hexane 추출물과 arginine의 병용은 *S. mutans*의 생육 저해에 우수한 시너지 효과를 보이므로 충치 예방에 도움이 될 수 있을 것으로 판단된다.

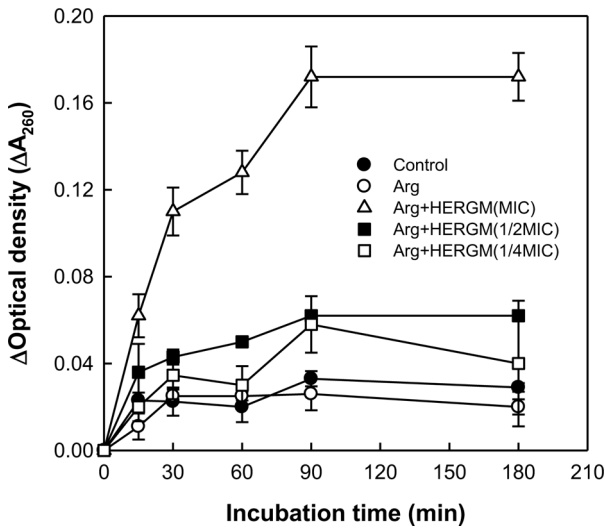
**세포막 무결성(integrity)**

홍삼박 *n*-hexane 추출물과 arginine의 checkerboard assay 결과



**Fig. 1** Antimicrobial effects of HERGM and arginine alone or in combination against growth of *Streptococcus mutans* KCTC 3065. The data were shown as normalized results by the mean of control (DMSO). Black arrows indicate the minimum inhibitory concentrations (MICs) of HERGM and arginine alone, and red arrows indicate the MICs in combination

(Fig. 1), 10% arginine과 홍삼박 *n*-hexane 추출물을 동시에 처리하면 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 농도와 무관하게 *S. mutans* 생육이 저해되었다. *S. mutans*의 생육 저해에 대한 arginine과 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 상호 작용을 조사하기 위하여 두 성분의 처리로 핵산 관련 성분(260 nm의 빛을 흡수하는 성분)이 유출되는 정도를 측정하였다. 흡광도의 증가는 세포막 무결성에 부정적인 변화에 의한 세포의 사멸을 간접적으로 나타내는 것이다[24]. 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 MIC인 125 µg/mL를 기준으로 1/2, 1/4, 1/16 MIC을 10% arginine과 각각 혼합하여 *S. mutans*에 병용 처리하고 대조군과 비교하였다. 그 결과(Fig. 2), 90분 경과 후 260 nm에서 흡광도의 변화는 10% arginine에 첨가된 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 농도에 비례하여 0.024 (1/16 MIC), 0.058 (1/4 MIC), 0.062 (1/2 MIC), 0.172 (MIC)로 증가하여 3시간 까지 유지되었다. 대조군(DMSO 및 10% arginine 처리)의 흡광도 변화는 3시간 까지 0.02-0.03 수준으로 미미하였다. 이는 arginine 단독 처리가 세포막 무결성에 미치는 영향은 크지 않으며, 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 첨가 농도에 비례하여 세포의 핵산 성분 유출이 증가됨을 나타낸다(홍삼박 *n*-hexane 추출물 1/16 MIC 첨가는 대조군과 매우 흡사하여 Fig. 2에서 데이터 제시는 생략함). 즉, 세포의 생육 억제에 홍삼박 *n*-hexane 추출물이 arginine보다 효과적임을 시사하며, 홍삼박 *n*-hexane 추출물이 지용성 성분인 점에 기인하는 것으로 사료된다. 세포 구성성분의 유출은 세포막의 구조적 변화를 의미하는 것으로 항미생물 성분의 작용 기작에 대한 중요한 증거가 된다. 특히 지용성 혹은 극성이 감소된 성분의 항미생물 작용에 대한 연구는 화기삼(*Panax quinquefolius*)의 진세노사이드[24]와 죽자초(*Macleaya cordata*) 잎의 essential oil[25]에서 보고되어 있으며, 본 연구의 결과도 이와 동일한 경향이다. 따라서 arginine과 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 병용 처리에 의한 *S. mutans* 세포막 무결성에 대한 부정적인 변화는 주로 홍삼박 *n*-

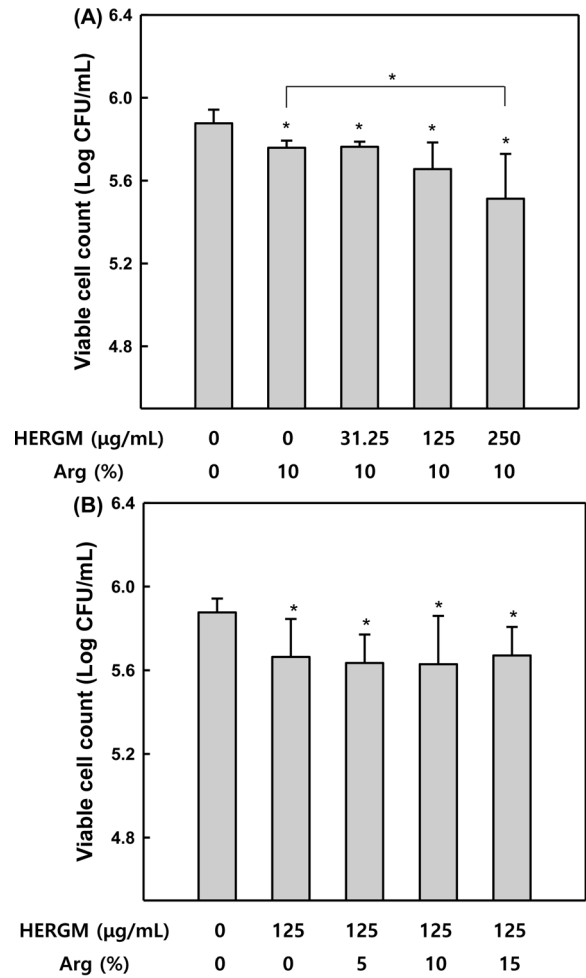


**Fig. 2** Release of 260 nm absorbing material from *Streptococcus mutans* KCTC 3065 treated with arginine and HERGM in combination, arginine alone and control (DMSO) at 37 °C. All data were means  $\pm$  SD (n=3)

hexane 추출물에 기인하며, 이러한 변화는 *S. mutans*의 생육을 억제하였으며 사멸도 초래할 것으로 판단된다.

**S. mutans killing assay**

*S. mutan* 세포막 무결성에 미치는 영향을 바탕으로 홍삼박 *n*-hexane 추출물과 arginine의 병용 처리에 의한 *S. mutans*의 사멸 효과를 조사하였다. 10% arginine에 홍삼박 *n*-hexane 추출물 1/4, 1, 2 MIC를 각각 혼합한 조건과 홍삼박 *n*-hexane 추출물 MIC에 arginine 1/3, 2/3, 1 MIC를 각각 혼합한 조건으로 *S. mutans*에 병용 처리하고 생균수를 대조구와 비교하였다(Fig. 3). Arginine에 홍삼박 *n*-hexane 추출물을 다양한 농도로 병용한 경우(Fig. 3A), *S. mutan* 생균수는 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 농도에 비례하여 5.763 (1/4 MIC), 5.656 (1 MIC), 5.513 log CFU/mL (2 MIC)로 감소하였으며 홍삼박 *n*-hexane 추출물을 2 MIC 추가한 경우는 양성 대조구(5.759 log CFU/mL, 10% arginine)과 유의한 차이를 보였다. 또한 모든 실험군은 음성 대조구(5.877 log CFU/mL, DMSO)과는 유의한 차이를 보였다. 한편, 홍삼박 *n*-hexane 추출물에 arginine을 다양한 농도로 병용한 경우(Fig. 3B), *S. mutan* 생균수는 arginine의 농도와 무관하게 5.635 (1/3 MIC), 5.629 (2/3 MIC), 5.671 log CFU/mL (1 MIC)로 양성 대조구(5.664 log CFU/mL)와 유사하였으나, 음성 대조구와는 유의한 차이를 보였다. 이상의 결과는 홍삼박 *n*-hexane 추출물과 arginine의 병용에서 arginine보다 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 *S. mutan* 사멸 효과가 우수함을 의미하며, 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 첨가로 세포의 핵산 성분 유출이 증가된 Fig. 2의 결과와도 일치하는 경향이다. 또한 지용성인 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 첨가량을 1 MIC에서 2 MIC로 증가시킴에 따라 생균수가 감소하는 것은 죽자초(*Macleaya cordata*) 잎에서 추출한 essential oil[25]에서와 동일한 결과이다. Arginine의 MIC보다 낮은 농도에서 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 병용에 의한 *S. mutan* 사멸 효과는 텍사(*Alismatis rhizoma*) 에



**Fig. 3** Combination effects of HERGM and arginine on viable cell counts of *Streptococcus mutans* KCTC 3065. Panel (A); viable cell counts after incubation with different levels of HERGM and 10% arginine, panel (B); viable cell counts after incubation with different levels of arginine and 125 µg/mL HERGM at 37 °C for 3 h, respectively. All data were means  $\pm$  SD (n=3)

탄을 추출물과 ampicillin, gentamicin의 *S. mutans*를 포함한 구강 세균의 생육 억제와 사멸에 대한 시너지 효과[26]뿐만 아니라 미생물 기원 항균물질들의 상호작용으로 다양한 피부 상재균에 대한 사멸 작용[27]에서도 유사한 경향으로 보고되어 있다. 따라서 충치 예방 효과가 있는 수용성 arginine과 *S. mutans*의 생육 저해 효과가 우수한 지용성 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 병용은 충치 예방에 시너지 효과를 낼 수 있을 것으로 판단된다.

**초 록**

본 연구에서는 항충치 활성을 보이는 지용성의 홍삼박 *n*-hexane 추출물과 수용성의 arginine의 병용이 *S. mutans*의 생육에 미치는 영향을 조사하였다. Checkerboard assay로 분석한 결과, 홍

삼박 *n*-hexane 추출물과 arginine은 fractional inhibitory concentration index 0.396으로 *S. mutans*의 생육 저해에 시너지 효과를 나타내었다. 홍삼박 *n*-hexane 추출물과 arginine의 병용은 핵산 성분의 유출과 생균수의 감소를 초래하였으며, 이는 모두 홍삼박 *n*-hexane 추출물의 농도에 비례하였다. 결론적으로 *S. mutans*의 생육 저해에 대한 홍삼박 *n*-hexane 추출물과 arginine의 시너지 효과는 주로 홍삼박 *n*-hexane 추출물이 기여하는 것으로 판단된다.

**Keywords** 생육 저해 · 홍삼박 *n*-hexane 추출물 · Arginine · *Streptococcus mutans*

**감사의 글** 본 연구는 2022년 청운대학교 학술연구조성비의 지원으로 수행되었습니다.

## References

- Lee HJ, Jang HD, Lee KW, Lee HJ, Kang NJ, Kim SY, Yang H (2019) Functional food. Soohaksa, Seoul
- Loesche WJ (1986) Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. Microbiol Rev 50: 353–380
- Rabin N, Zheng Y, Opoku-Temeng, C, Du Y, Bonsu E, Sintim HO (2015) Biofilm formation mechanism and targets for developing anti-biofilm agents. Future Med Chem 7: 493–512. doi: 10.4155/fmc.15.6
- Bowen WH, Koo H (2011) Biology of *Streptococcus mutans*-derived glucosyltransferase: Role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. Caries Res 45: 69–86. doi: 10.1159/000324598
- Moon KH, Lee YC, Kim JN (2019) Effects of foreign plant extracts on cell growth and biofilm formation of *Streptococcus mutans*. J Life Sci 29: 712–723. doi: 10.5352/JLS.2019.29.6.712
- Cho SJ (2021) New approaches to the control of pathogenic oral bacteria. J Life Sci 31: 100–108. doi: 10.5352/JLS.2021.31.1.100
- Burne RA, Marquis RE (2000) Alkali production by oral bacteria and protection against dental caries. FEMS Microbiol Lett 193: 1–6. doi: 10.1111/j.1574-6968.2000.tb09393.x
- Burne RA, Chakraborty B (2017) Effects of arginine on *Streptococcus mutans* growth, virulence gene expression, and stress tolerance. Appl Environ Microbiol 83: e00496-17. doi: 10.1128/AEM.00496-17
- He J, Hwang G, Liu Y, Gao L, Kilpatrick-Liverman L, Santarpia P, Zhou X, Koo H (2016) L-Arginine modified the exopolysaccharide matrix and thwarts *Streptococcus mutans* outgrowth within mixed-species oral biofilm. J Bacteriol 198: 2651–2661. doi: 10.1128/JB.00021-16
- Huang X, Zhang K, Deng M, Exterkate RAM, Liu C, Zhou X, Cheng L, Ten Cate JM (2017) Effect of arginine on the growth and biofilm formation of oral bacteria. Arch Oral Biol 82: 256–262. doi: 10.1016/j.archoralbio.2017.06.026
- Liu Y, Liu S, Zhi Q, Zhuang P, Zhang R, Zhang Z, Zhang K, Sun Y (2022) Arginine-induced metabolomics perturbation in *Streptococcus mutans*. J Oral Microbiol 14: 2015166. doi: 10.1080/20002297/2021.2015166
- Zheng X, Cheng X, Wang L, Qiu W, Wang S, Zhou Y, Li M, Li Y, Cheng L, Li J, Zhou X, Xu X (2015) Combinatorial effects of arginine and fluoride on oral bacteria. J Dent Res 94: 344–353. doi: 10.1177/0022034514561259
- Bijle MNA, Ekambaram M, Lo ECM, Yiu CKY (2019) The combined antimicrobial effect of arginine and fluoride toothpaste. Sci Rep 9: 8405. doi: 10.1038/s41598-019-44612-6
- Attele AS, Wu JA, Yuan CS (1999) Ginseng pharmacology: Multiple constituents and multiple actions. Biochem Pharmacol 58: 1685–1693. doi: 10.1016/S0006-2952(99)00212-9
- Son HJ, Han MS, Ryu GH (2009) Antibacterial activities of Et-OH extract from extruded white ginseng on tooth decay bacteria. J Korean Soc Food Sci Nutr 38: 951–957. doi: 10.3746/jkfn.2009.38.7.951
- Kim DC, In MJ (2021) Inhibitory effect of *n*-hexane extract from Korean red ginseng marc against *Streptococcus mutans* causing dental caries. J Appl Biol Chem 64: 357–362. doi: 10.3839/jabc.2021.048
- Sopirala MM, Mangino JE, Gebreyes WA, Biller B, Bannerman T, Balada-Llasat JM, Pancholi P (2010) Synergy testing by etest, microdilution checkerboard, and time-kill methods for pan-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 54: 4678–4683. doi: 10.1128/AAC.00497-10
- Xue P, Yao Y, Yang XS, Feng J, Ren GX (2017) Improved antimicrobial effect of ginseng extract by heat transformation. J Ginseng Res 41: 180–187. doi: 10.1016/j.jgr.2016.03.002
- Toda A, Nakayama-Imaohji H, Yamasaki H, Hasibul K, Yoneda S, Uchida K, Nariya H, Suzuki M, Miyake M, Kuwahara T (2016) Cleaning effect of acidic L-arginine on human oral biofilm. BMC Oral Health 16: 40. doi: 10.1186/s12903-016-0194-z
- In MJ, Chae HJ, Kim DC (2014) *In vitro* antioxidant and anticancer potential of *n*-hexane extract from ginseng marc. J Appl Biol Chem 57: 247–250. doi: 10.3839/jabc.2014.039
- Nascimento MM, Alvarez AJ, Huang X, Browngardt C, Jenkins R, Sinhoreti MC, Ribeiro APD, Dilbone DA, Richards VP, Garrett TJ, Burne RA (2019) Metabolic profile of supragingival plaque exposed to arginine and fluoride. J Dent Res 98: 1245–1252. doi: 10.1177/0022034519869906
- Bijle MN, Neelakantan P, Ekambaram M, Lo ECM, Yiu CKY (2020) Effect of a novel symbiotic on *Streptococcus mutans*. Sci Rep 10: 7951. doi: 10.1038/s41598-020-64956-8
- Kim HS, Lee SW, Sydara K, Cho SJ (2019) Antibacterial and antibiofilm activities of *Diospyros malabarica* stem extract against *Streptococcus mutans*. J Life Sci 29: 90–96. doi: 10.5352/JLS.2019.29.1.90
- Xue P, Yao Y, Yang XS, Feng J, Ren GX (2017) Improved antimicrobial effect of ginseng extract by heat transformation. J Ginseng Res 41: 180–187. doi: 10.1016/j.jgr.2016.03.002
- Li CM, Yu JP (2014) Chemical composition, antimicrobial activity and mechanism of action of essential oil from the leaves of *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br. J Food Safety 35: 227–236. doi: 10.1111/jfs.12175
- Cha SM, Han SB, Lee YS, Cha JD (2015) Synergistic effect of the ethanol extract of *Alismatis rhizome* against oral pathogens. J Oral Biol 2: 7. doi: 10.13188/2377-987x.1000007
- Lee DS, Song HG (2020) Interactions between antimicrobial substances from bacteria against various microorganisms. Korean J Microbiol 56: 214–221. doi: 10.7845/kjm.2020.0063