

불소에 의한 *S. mutans*의 성장억제 및 배양액의 pH변화 측정을 이용한 실험법 재현

지윤정, 최윤화¹

동우대학 치위생과, ¹수원여자대학 치위생과

색인 : 불소, *S. mutans*

1. 서론

치과위생사는 보건복지부 장관의 면허를 받아 치과의사의 지도하에 치석제거 및 치아우식증 예방을 위한 불소도포 및 구강질환의 예방과 위생에 관한 업무에 종사하는 의료기사이다¹⁾. 하지만 황등²⁾은 그들의 활동현장에서 능력을 충분히 발휘하지 못하고 있는 실정이므로 이는 학교 교육과정 중의 이론과 실습교육을 통해 필요한 교과과정이 훈련되어져야 개선될 수 있다고 보고하였다.

치위생과의 교육과정 중에 기초과학분야가 전공 영역에서 차지하는 학점비율은 약 30% 정도 이다. 하지만 학점 배정이 많은 것을 감안해서 볼 때 기초과학 분야는 이론수업으로만 진행이 되고 실습과정이 따로 개설되어 있지 않다. 설령 실습과정이 개설되어 있다 하더라도 매주 실습을 진행하기에는 실험실 시스템이 갖추어 있지 않은 상황에서 제한적인 요소들이 따른다. 이론과 실습에서 교육과정이 차지하는 비율은 막중함을 안다하지만 학교의 재정상 기초과학 분야의 고가의 실험 장비들과 기자재 수급, 그리고 독립된 실험실을 관리하기란 무리가 있다. 기초과학이 주 전공이 아니기 때문에 이러한 현실 속에서 이론에만 치중하다 보면 학생들에게 있어 기초과학은 난해한 수업으로 전공적 비중이 적은 교과과정으로만 생각될 것이다.

Tyler는 교육의 목표는 교육내용에 따른 학습결과를 평가하는 시금석이 되는 것으로 교육내용과 행동형식의 두 측면이 함께 결과로 나타나야 바람직하다³⁾고 하였다.

본 연구에서는 기초과학 이론이 실습과 연계되지 못하는 치위생과 교과과정에서 간단한

연락처 : 지윤정 (365-803) 충북 진천군 진천읍 교성리 1구 203-1

전화:010-2411-2842 전송:jyj2842@naver.com

www.kci.go.kr

실험법으로 치아우식증 예방 물질인 불소를 이용하여 구강미생물학 분야의 배지제조 및 세균 성장량 관찰과 예방치학 분야의 불소용액 제조와 SM test를 접목하여 미생물학적 실험과 예방치학적 실험을 제한된 시간내에 효과적으로 할 수 있도록 방법을 모색하였다.

또한 불소용액을 이용한 *S.mutans* 균의 성장량 측정과 pH변화 관찰법을 학교에 비치된 실험기자재를 충분히 활용하면서 간단하게 실습할 수 있는 방법을 실습교안으로 작성하여 본 실습과정을 통하여 치위생과 학생들이 포괄적으로 치위생 교육과정에 접근도를 높이고자 실험법을 재현하였다.

본 실험에서 사용한 균주는 치아우식증의 대표적인 원인균으로 알려진 *S. mutans*를 사용하였다. *S. mutans*균체는 표층에 glucocyl-transferase(GTase)를 분비하며 음식물 중 sucrose로부터 불용성 glucan을 형성하여 구강내 미생물들과 치면세균막(dental plaque)을 생성하여 치아우식증과 치주질환을 발생시킨다⁴⁾. 따라서 국민의 양대 구강병 중에 하나인 치아우식증을 예방하고 감소시키기 위한 많은 방법들이 연구되고 있다,

생물학적 접근도에서 *S. mutans*에 대한 성장억제 연구로 여러 가지 방법들이 제시되고 있고, 연구자들은 프로폴리스 같은 천연항생제나 화학적 요법에 의한 구강내 세균들의 항생제 감수성 실험들을 통하여 그 효과들을 증명하고 있다. 그러나 치아우식증은 *S. mutans*의 단독 진행만이 아닌 혼합감염증으로 발생⁵⁾하므로 치아우식증에 관여하는 다른 원인균주들의 명확한 분석도 필요로 한다, 정확한 구강내 세균을 분리 동정하기 위해서는 세균배양이나, 생화학적 검사, 간접면역 형광법, DNA 프로브, PCR을 이용한 DNA 염기서열 증폭, ELISA 등 다양한 방법들이 있다⁶⁻⁷⁾. 최신 분석 장비들과 생명공학 기술의 발전에 따라 타액단백질 지도가 완성이 되었고 타액검사를 통한 질병 진단의 가능성도 다각도에서 연구되어 지고 있다.

불소는 치아표면에 침착되어 치아구조인 수산화인회석(OH-apatite)의 수산기(OH)와 궁극적으로 치환됨으로써 불화인회석(F-apatite) 구조로 전환시킨다. 그 결과 법랑질의 격자구조를 더욱 치밀하게 함으로써 치질의 강도를 높이고 불소자체의 항균작용과 효소작용의 방해 등을 통하여 내산성을 높여 항우식효과를 유발하는 것으로 알려져 있다⁸⁾.

본 연구의 목적은 치위생과 학생들이 치아우식증의 예방물질인 불소를 이용하여 *S.mutans*의 성장억제 효과를 실험적으로 실습하여 이론적인 내용을 실습을 통해 경험하게 함으로써 포괄적인 교육효과를 높일 수 있고, 후에 임상현장에서 치과위생사 본연의 예방업무 수행에 도움이 될 수 있도록 하고자 본 실험을 실시하였다.

2. 연구재료 및 방법

2.1. 연구재료

1) 타액준비

타액은 건강한 20대 여성 3인에서 파라핀 왁스를 저작하면 분비되는 자극성 타액을 채취하여 혼합하였다. 분비된 10ml의 타액을 원심분리(4000 rpm, 5분)하여 상층액만 사용하였다.

2) 균주준비 및 배양

본 실험에 사용된 균주는 *S. mutans*만을 선택적으로 배양하기 위하여 기존의 Dentocult-SM test용 배지에 5mg bacitracin을 첨가하여 strip에 타액 5ml을 골고루 분주한 후 Incubator에서 37°C/48시간 동안 배양하였다.

3) 배지준비

2개의 플라스크에 각각 DDW(deionized distilled water) 300ml와 Brain heart infusion(BHI, Difco, U.S.A) 배지 11.1g을 넣고 잘 흔들어 주었다.

배지를 Brain heart infusion(BHI, Difco, U.S.A)로 사용한 이유는 보통 구강미생물의 총수를 측정하는 데에는 BHI 배지가 사용되며, 이미 *S. mutans*를 분리하였기 때문에 선택배지가 꼭 필요한 것은 아니라서 BHI 배지를 사용하였다.

4) 불소준비

불소 농도를 0.1ppm으로 조절하기 위하여 NaF 분말 0.03g을 전자저울로 계량하였다.

불소 농도를 0.1ppm으로 정한 이유는 정확한 불소농도 측정시 이용되는 불소이온 측정기(Ion Selective Electronic Meter)의 적용 가능 범위가 0.1-10.0 ppm범위일 때 적정하기 때문이다.

2.2. 연구방법

1) *S.mutans*의 성장과 산생성 억제 실험

채취한 타액 5ml을 bacitracin이 첨가된 Dentocult strip에 묻혀 SM 배지에 넣고 Incubator에서 37°C로 48시간 동안 배양하였다. strip에 묻어 있는 *S. mutans*균주 1ml을 10ml의 멸균된 생리식염수가 들어있는 튜브에 넣어 혼합하였다.

2개의 플라스크를 실험군과 대조군으로 나누고 각각 300ml씩 제조한 BHI 액체배지를 넣었다. 그리고 실험군에는 NaF 분말 0.03g을 첨가하여 배지내 불소농도가 0.1ppm이 되도록 하였다. 플라스크의 마개를 살짝 막은 후 은박지로 싸 후 Autoclave에서(121 °C, 15분간) 멸균하였다. 배지를 실온에 40분 정도 서서히 식히고 배양 전 pH를 측정하였다. 멸균된 BHI 액체배지에 10배 희석한 *S. mutans* 균주를 각각 5ml 씩 넣고 Shake incubator(37°C, 48시간)에서 배양하였다. 그리고 두 시료의 혼탁도를 비교하였다.

4) pH 측정

pH 측정은 Electronic Meter (Orion 720A pH/ISE Meter) 기를 이용하여 배양하기 전과 후를 비교 측정하였다.

5) 무게 측정

배양된 시료를 원심분리통에 150ml 씩 각 각 담고 4000rpm에서 5분간 원심분리를 하였다. 그리고 여액은 따라내고 덩어리진 *S. mutans* 균집단을 털어내어 무게를 측정하였다. 전자저울을 이용하여 무게를 측정하였다.

3. 연구성적

3.1 세균의 무게 변화

세균의 무게 측정 비교는 표 1과 같이 배지에 NaF를 첨가한 실험군에서 0.3g으로 나타났고 NaF를 첨가하지 않은 배지에서는 0.5g으로 NaF를 첨가한 배지에서 현저하게 *S.mutans*의 성장량이 감소한 것으로 나타났다.

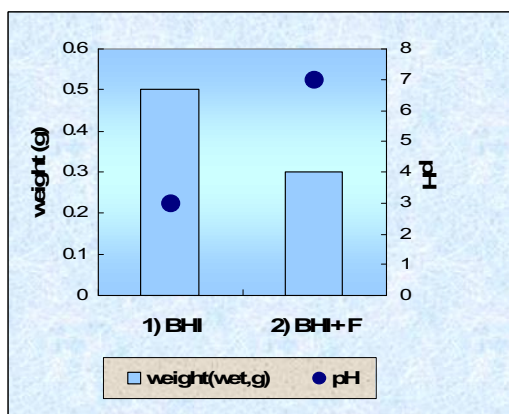
3.2 배지의 pH 변화

S.mutans 균의 배양 전·후 배지 내 pH 변화는 배양 전 7. 8에서 배양 후 NaF가 첨가된 배지에서는 pH7로 변화량이 거의 없었으나 NaF를 첨가하지 않은 배지의 pH는 3으로 현저하게 저하되는 것을 볼 수 있었다.

표 1. 세균의 무게와 pH 변화

구분	BHP	BHP+F
Weight	0.5	0.3
pH	3	7

그림 1. 세균의 무게와 pH 변화



4. 고안

치위생과 교과과정은 과목들이 많고 세분화되어 있어 실습에 대한 교육의 내용이 부족하고 실습환경 또한 열악하여 전문지식 습득이 어려워 교육과정을 적극 개편해야 한다고 교육개발연찬회에서 보고된 바 있다³⁾.

교과과정이 광범위하고 모든 분야를 단기간에 이해하기란 쉽지 않다. 기초과학 분야에서도 최근 분자생물학의 발전과 더불어 과거에 알려지지 않았던 생물학적 지식이 구체적으로 설명되고 있지는 않지만 한정된 시간 내에 이러한 지식을 습득해야 하는 학생들에게는 오히려 부담이 되는 경우가 많다. 학생들에게 복잡한 분야의 이론적인 내용을 실험적으로 경험하게 함으로써 흥미를 유발시키고, 계속적으로 관심을 갖게 하는 것이 중요한 사항이라고 볼 수 있다.

본 연구에서는 일반적으로 학교에 비치된 기자재를 이용하여 간단한 실험을 통한 치아우식증의 억제효과 방법을 제시하여 치아우식예방법에 효과적으로 활용할 수 있는 실험방법을 재현해 보았다. 첫 번째로 *S.mutans* 성장억제 물질인 불소는 불화나트륨을 이용하였고 불화나트륨의 경우 수용성이며 가격이 저렴하고 쉽게 용액을 제조해서 쓸 수 있다는 장점⁹⁾이 있다. 불소용액을 제조하는 방법과 불소농도 측정을 실습을 통해 습득할 수 있어 학생들에게 흥미로 다가올 수 있을 것으로 사료된다.

불소의 치아우식예방기전은 아직 완전히 밝혀지지 않았으나 현재까지 알려진 바로는 첫째, 치아경조직의 형성과 분화가 왕성한 시기에 불소이온은 칼슘과 무기인등의 이온으로부터 불화인회석의 침착을 증가시켜 이러한 불용해성인 치아경조직을 형성하여 우식에 저항성을 증가시키며 둘째, 와동형성이 안된 초기우식병소가 주로 타액내에 존재하는 칼슘과 무기인산염의 침착을 조장시켜 재석회화를 촉진한다. 셋째, 불소자체의 항균작용과 효소작용의 방해 등을 통하여 산생성을 감소시키는 작용을 가진다^{10-11,15)}. 백등¹²⁾은 불소 바니쉬도포에 따른 *Streptococcus mutans* 감소효과는 1주후나 1달 후에도 지속적으로 나타났고, 불소겔과 유사한 우식예방효과를 나타냈다고 하였으며 .오등¹³⁾은 고농도 불화나트륨 용액을 도포한 합성 hydroxyapatite를 첨가한 자당배지에서 *S.mutans*의 자당발효가 억제되었다고 보고하였다.

이러한 이론을 뒷받침으로 하여 본 실험 결과에서도 불소를 첨가한 배지에서 *S.mutans*의 성장량이 감소한 것으로 보아 불소의 항균작용에 대한 이론과 일치하였다. 불소를 함유하지 않은 배지내 pH가 현저하게 감소한 것으로 보아 불소가 함유된 배지에서는 *S.mutans*가 더 민감하며 불소에 의한 대사에 방해를 받고 결과적으로 더 적은 산이 생성되는 것이 결과적으로 나타났다.

둘째는 *S.mutans* 균주 분리를 위해 Dentocult-SM을 사용하였다. Dentocult는 타액내 *S.mutans* 균 수를 간단하게 추정하기 위해 개발된 것으로 *S.mutans*가 20%의 설탕을 배합

한 마이티스 살리바리우스 액상배지(mitis salivarius broth)가 담긴 시험관벽에 달라붙어 자라는 능력이 있음을 응용한 방법이다¹⁴⁾. 간단하게 진료대 옆에서 환자의 우식활성 검사용으로 많이 사용되고 있으며 학교 실습뿐만 아니라 우식예측 연구에도 많이 이용되고 있다. Dentocult-SM은 사용이 편리하고 bacitracin을 첨가하면 *S.mutans* 균만을 선택적으로 배양된다는 장점이 있다. Dentocult-SM의 배지는 시판되는 Mitis salivarius agar(Difco B 298)에 Bacitracin과 자당을 혼합하여 간단하게 배지를 제조해서 사용할 수도 있어 예방치학 실습의 Snyder test 배지 제조 과정과 함께 실시할 수도 있다.

실험 시간을 단축하기 위해서는 *S.mutans* 균주를 외부 미생물 연구소에서 분양 받아 사용할 수 있다, 그럴 경우 이 과정을 생략시킬 수가 있겠으나 Dentocult-SM은 예방치학 실습과정에서 우식활성 검사 키트로 사용되고 있고 학생들이 직접 실습을 해봄으로써 자연스럽게 우식활성도에 대한 이해도를 높일 수가 있을 것이라 사료된다.

또 하나, 별도의 배지제조 과정과 배양과정 없이 Dentocult-SM 배지내에 불소를 직접 넣어 배양하여 *S. mutans*의 성장량을 비교 할 수도 있으나 단순히 성장량만을 비교하는 것이 아닌 실습과정이므로 자세한 실험법 재현은 필요하다고 생각된다.

*S. mutans*의 수를 결정하기 위해서는 일반적으로 치면세균막내 보다 타액에서 단위 무게당 세균수가 더 많기 때문에 치면세균막보다는 타액표본을 사용하는 것이 편리하다.

Krasse 등¹⁵⁻¹⁶⁾은 치면세균막내 *S. mutans*가 1%이상이라면 타액의 평균치는 타액내 1ml 당 1,000,000이상이며, 0.3%미만이면 일반적으로 300,00이하로 *S. mutans*의 타액농도와 치면세균막의 비율사이에는 유의성 있는 상관관계가 있다고 보고하였다.

따라서 타액내의 *S.mutans*의 수는 타액의 1ml당 CFU(Clony Forming Unit)를 우식활성의 기준 중 한가지로 활용할 수 있다, 본 실험에서는 3인의 타액을 받아 혼합하였고 타액의 양은 5ml 정도로 Strip에 분주할 정도만 필요하므로 각 조원들의 타액을 혼합하여 배양해도 충분한 수의 *S.mutans* 균주를 사용할 수 있다.

치아우식증에 대한 가장 강력한 화학요법제인 불소는 세균의 치면부착능 감소 및 우식증 유발세균의 제거에 효과적이며 특히 *S. mutans*에 대한 성장억제력이 크다고 하였다¹⁷⁾.

Loveren 등¹⁸⁾은 불소의 범랑질 탈회 억제효과의 75%가 세균의 산생성 억제효과에 의한 것이라고 보고하였다. 본 실험에서도 불소의 *S. mutans*균의 성장억제 효과를 간단하게 비교한 결과 <표1>에서와 같이 불소를 참가한 배지에서의 세균 성장량이 확실히 감소되는 것을 보여주었고, 배지내 pH는 초기 pH와 비교할 때 거의 변화량이 없는 것으로 나타났다.

따라서 복잡한 고가의 실험장비 없이 간단하게 실습과정을 통하여 이론적 내용을 검증해 보고 학생들이 쉽게 이해도를 높일 수 있을 것으로 사료되며, 앞으로 다양하고 복합적인 실습방법의 진행 또는 개발을 통해서 학생들이 보다 전문적이고 종합적으로 수학하여 향후 임상 현장에서나 치의학적 전문연구분야에서 전문적인 업무영역을 넓게 확대시켜 나갈 수 있

도록 노력해야 할 것으로 사료된다.

5. 결론

저자는 치위생과 교과과정에서 간단한 실험으로 미생물학적 실험과 예방치학적 실험을 제한된 시간 내에 효과적으로 시행할 수 있는 방법을 모색하고자 불소용액을 이용한 *S.mutans* 균의 성장량 측정과 pH변화 관찰 실험을 한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. *S.mutans* 균의 성장량 비교에서 배지에 불소를 첨가한 실험군에서 0.3g으로 나타났고 불소를 첨가하지 않은 배지에서는 0.5g으로 불소를 첨가한 배지에서 현저하게 *S.mutans*의 성장량이 감소한 것으로 나타났다.

2. *S.mutans* 균의 배양 전 후 배지 내 pH는 배양전 7. 8에서 배양후 불소가 첨가된 배지에서는 pH 7로 변화량이 없었으나 불소를 첨가하지 않은 배지내 pH는 3으로 현저하게 저하되는 것으로 나타났다.

3. 불소에 대한 세균 성장 억제 효과의 효과가 확실하게 나타난 결과 불소의 충치예방 물질로서의 효과를 학생들에게 확인시키고, 앞으로 환자를 교육함에 있어서 실습으로 습득한 내용을 토대로 정확하게 지식을 전달 할 수 있는 효과가 있다고 사료된다.

4. 예방치학 실습실에서 간단한 실험방법으로 미생물학적 실험과 예방치학적 실험을 제한된 시간내에 효과적으로 할 수 있고 치위생과 학생들이 포괄적으로 치위생 교육과정에 접근도를 높일 수 있을 것으로 사료된다.

6. 참고문헌

- 1) 편집부편. 보건의료관계법규. 정문각: 서울: 2002:205-206.
- 2) 황윤숙, 박명숙. 임상실습 수행시 치위생과 학생의 업무에 대한 치과의사의 의식구조에 관한 연구. 치과연구사 1998:260:61-74.
- 3) 남현주. 치위생과 교과과정분석, 중앙대학교 사회개발대학원. 석사학위논문 2000.
- 4) 대한미생물학회 편. 의학미생물학. 서울: 현문사:1991:255
- 5) 한만덕, 김영권. 구강미생물학. 4판. 서울: 고문사:2005:309-12
- 6) 유옥준. Bio Medical Researchh. 서울: 신기획: 2000:17-29
- 7) 최민호, 유소영, 임채광, 강동완외 1인. Nested PCR를 이용한 *Streptococcus mutans*의 검출. 한국미생물학회지 2006:42(1):19-25
- 8) 박기철 예방치과학 서울 정문각 1997:267-9
- 9) 김종배, 백대일, 문혁수, 신승철. 임상예방치학. 4판. 서울:고문사, 2005:331.
- 10) Steve M, Levy, An Update on Fluorides on Fluorides and Fluorosis. J Can Dent Assoc 2003:69(5):286-91
- 11) 권호근 외 17인. Primary Preventive Dentistry. 6판. 서울: 대한나래출판사 2006:190-120
- 12) 백대일. 불소 바니쉬의 초기우식예방효과에 대한 비교 연구. 보건복지부 연구 보고서 2002:19
- 13) 오윤배. 김수남. 불소처리한 hydroxyapatite가 *S.mutans*와 *S.sanguis*의 자당발효에 미치는 영향에 관한 연구 Journal of Working Dental Research Institute,2(1).103-17:1991
- 14) 예방치학연구회. 현대예방치학 서울: 군자출판사: 2007:299-312
- 15) Krasse, B. Caries Risk - A practical guide for assessment and control. Quintessence Publishing Co. Inc. 1985: 41-42.
- 16) 배원정, 김진범, 김형일, 손우성. 불소도포가 교정환자의 타액내 *Streptococcus mutans* 수에 미치는 영향. 대한치과교정지 1994: 24(1):181-192,
- 17) Krasse, B. Caries Risk - A practical guide for assessment and control. Quintessence Publishing Co. Inc. 1985: 69-70.
- 18) Van Loveren C. Antimicrobial activity of fluoride and its in vivo importance: identification of research questions. Caries Res. 2001;35 Suppl 1:65-70.

Abstract

Growth Inhibition of *S.mutans* by using fluorine and reproducing the test method by measuring the pH change in the culture solution

Yun-Jeong Jee, Yun-Hwa Choi¹

Dept. of Dental Hygiene, Dong-U College

¹Dept. of Dental Hygiene, Suwon Women's College

Key word : fluoride, *S. mutans*

A fluorine solution was used to measure the growth of *S.mutans* and the pH changes were also measured in order to find an effective and preventative dentistry lab within a limited time for the dental hygiene department curriculum and the following results were obtained.

1. In the growth comparison of *S.mutans*, the culture medium of the experiment group with fluorine weighed 0.3g and the culture medium with no fluorine weighed 0.5g, which shows that the growth rate of *S.mutans* is significantly decreased in the culture medium with the fluorine.
2. The pH7.8 of the culture medium was not nearly changed; it became 7.0 after culturing with fluoride, however the pH was significantly decreased to 3 in the culture medium that had no fluorine.
3. Since it has been proven that the fluorine can control the growth of germs, it is believed that the effect of fluorine as a cavity preventative should be emphasized to students and in addition, it will help students transmit the effect of fluoride to their patients since this knowledge has been acquired through practice.
4. It is considered that this is a simple test protocol providing effective results in the

microorganism and preventive dentistry lab within a limited time and furthermore, it will furnish the students of dental hygiene with comprehensive accessibility to dental hygiene curriculum.

부 록 1

실습 교안

실습제목	불소에 의한 <i>S. mutans</i>의 성장억제 및 배양액의 pH변화 측정
실습목표	치위생과 학생들이 치아우식증의 예방물질인 불소들 이용하여 <i>S. mutans</i> 의 성장억제 효과들 실험적으로 실습하여 이론적인 내용을 실습을 통해 경험하게 함으로써 포괄적인 교육효과와 향후 임상현장에서 치과위생사 본연의 예방업무 수행에 도움이 되기 위함이다.
실험재료	<p>파라핀 왁스 플라스크 , 비이커 screw - capped tube, EP tube NaF분말 계량스푼 DDW, 생리식염수 micro pipette & tip Electronic Meter (Orion 720A pH/ISE Meter) or Tastape Dentocult SM test +bacitracin Incubator Autoclave 원심분리기 전자저울</p>
실험방법	<p>1. 타액준비와 Dentocult SM 준비</p> <p>1) 3인-5인이 파라핀 왁스들 저작하며 타액을 멸균된 tube에 받고 멸균된 새 tube 옮겨 섞는다.</p> <p>2) 채워진 타액을 원심분리기에 5분간 돌린 후 상층액을 따라 새 tube에 옮겨 놓는다.</p> <p>3) Dentocult SM test용 배지에 5mg bacitracin을 첨가한다.</p> <p>micro pipette으로 준비된 타액 5ml 을 SM test용 strip에 끌고두 물도록 분주한다. 뚜껑을 닫고 incubator에서 37℃/48시간 동안 배양한다</p>

	<p>2. BHI 배지 준비</p> <p>1) 2개의 플라스크에 DDW 용액 300ml와 Brain heart infusion(BHI, Difco, U.S.A)배지 11.1g 씩을 넣고 잘 흔들어 준다.</p> <p>* BHI 배지 사용 기준량 - DDW 1 L : BHI 37g</p> <p>3. 불소첨가</p> <p>1) NaF 분말 0.03g을 실험용 플라스크에만 넣어 0.1ppm으로 맞춘다. * DDW 1 L : NaF 0.1mg (0.1ppm)</p> <p>2) 플라스크에 불소첨가 표시를 해준다.</p> <p>4. pH 측정</p> <p>Electronic Meter (Orion 720A pH/ISE Meter)로 배양 전 후의 pH를 측정하여 기록해 놓는다.</p> <p>5. 균주 및 배양</p> <p>1) 1번에서 준비한 S. mutans균주를 micro pipette으로 1000μ 들 10ml의 멸균된 생리식염수가 들어있는 튜브에 넣어 혼합한다.</p> <p>2) 만들어 놓은 2개의 BHI 배지에 각 각 5ml 씩 S. mutans균주를 분주한다.</p> <p>3) BHI 배지의 마개들 살짝 막고 입구들 은박지로 싸서 incubator에 넣고 37$^{\circ}$C / 24시간 배양한다. 배양 후 두 개의 배지의 혼탁도를 비교해본다.</p> <p>6. pH 측정</p> <p>1) 배양후 배지내의 pH 측정을 한 후 실습지에 기록한다. 배양전과 비교해 본다.</p> <p>7. 세균무게 측정</p> <p>1) 배양된 BHI 배지들 원심분리통에 150ml 씩 각 각 담고 4000rpm에서 5분간 원심분리한다. 그리고 여액은 모두 따라내고 덩어리진 S. mutans 군집만을 털어내어 무게를 측정한다.</p> <p>2) 전자저울을 이용하여 0점 조절이 된 상태에서 무게를 측정한다.</p> <p>3) 실습지에 기록해 놓는다.</p> <p>8. 결과 평가</p> <p>1) Excell program에 결과 값을 입력하여 그래프로 표현해 본다.</p>
<p>실험 결과</p>	<p>1. S. mutans의 성장량 측정은 세균의 무게 측정으로 평가하였고, 배지에 NaF를 첨가한 실험군에서 현저하게 S.mutans의 성장량이 감소될 것이다.</p> <p>2. S.mutans 균의 배양 전·후 배지 내 pH 변화는 배양 전 7, 8에서 배양 후 불소를 첨가하지 않은 배지의 pH는 저하될 것이다.</p>

부 록 2

실 험 보 고 서

작성 년 월 일	조	학번	이름	담당교수
실 험 제 목				
실 험 목 적				
실험방법 또는 과정				
결과 및 고안				