

## 표고버섯 용매별 추출물의 구강세균에 대한 항균효과 및 *Actinomyces viscosus*에 대한 생육저해 효과

한소라 · 임근옥<sup>1</sup> · 오태진선문대학교 건강보건대학 제약공학과 · <sup>1</sup>선문대학교 건강보건대학 치위생학과

### Antimicrobial activities against oral bacteria and growth inhibition against *Actinomyces viscosus* using *Lentinus edodes* various extracts

So-Ra Han · Kun-Ok Lim<sup>1</sup> · Tae-Jin OhDepartment of Pharmaceutical Engineering, Sunmoon University · <sup>1</sup>Department of Dental Hygiene, Sunmoon University

\*Corresponding Author: Kun-Ok Lim & Tae-Jin Oh, Department of Dental Hygiene & Department of Pharmaceutical Engineering, Sunmoon University, 70 Sunmoonro Tangjung-myeon, Asan-si, Chungnam, 336-708, Korea, Tel : +82(41)530-2728 & +82(41)530-2677, fax: +82(41)530-2726 & +82(41)530-2279, E-mail : kolim139@sunmoon.ac.kr & tjoh3782@sunmoon.ac.kr

Received: 17 June 2015; Revised: 11 August 2015; Accepted: 12 August 2015

#### ABSTRACT

**Objectives:** *Lentinus edodes* is an edible mushroom with a variety of beneficial effects such as antitumor, anti-inflammatory, antioxidant, and immune-modulatory activity. This study was carried out to evaluate the antimicrobial activities of *Lentinus edodes* extracts against oral-related bacteria.

**Methods:** The antimicrobial activities of this extracts were investigated against *S. anginosus*, *S. sobrinus*, *S. aureus*, *S. mutans*, *S. ratti*, *S. sanguinis*, *A. viscosus*, *A. naeslundii*, and *A. actinomycetemcomitans* by the disc diffusion method, minimum inhibitory concentration (MIC), and growth inhibition.

**Results:** Ethanol extracts had no antimicrobial activities, but acetone extracts showed antimicrobial activities against *A. viscosus* and *A. actinomycetemcomitans* and ethyl acetate extracts had effects against *S. aureus*, *S. sanguinis*, *A. viscosus*, and *A. actinomycetemcomitans*.

**Conclusions:** The inhibitory effect of *Lentinus edodes* extracts was investigated on the growth of *A. viscosus*. Ethyl acetate and acetone extracts showed 90% and 77% inhibitory effect, respectively, against *A. viscosus* for 24 hrs. Ethyl acetate extracts had MIC of 25.0 mg/ml and acetone extracts showed MIC of >25.0 mg/ml.

**Key Words:** antimicrobial activity, growth inhibition, *Lentinus edodes*, minimum inhibitory concentration, oral bacteria

**색인:** 구강세균, 생육저해, 최소저해농도, 표고버섯, 항균활성

#### 서론

일반적으로 구강질환은 치아우식증과 치주질환으로 나눌 수 있으며, 치면세균막 내에 존재하는 감염성 세균에 의

해 발생된다<sup>1,2</sup>. 특히 *Streptococcus mutans*(*S. mutans*)와 *Streptococcus sobrinus*(*S. sobrinus*)는 치아우식증의 주요 원인균으로 알려져 있으며, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*(*A. actinomycetemcomitans*) 치주염을 유발하는 것으로 보고되어 있다<sup>3</sup>. 대부분의 경우에는 구강 내 세균의 성장을 억제하여 치아우식증 등 구강질환을 예방하기 위한 방법으로 chlorhexidine과 같은 항생제 및 항염제 등이 사용되고 있으나, 항생제의 남용 관련 문제 등으로 구강세균

에 대한 내성 균주가 발생할 수 있으며, 또한, chlorhexidine 은 장기간 사용 시 착색, 미각 이상 및 점막 염증 등 유해성 유발 가능성 관련 부작용을 동반할 수 있다<sup>4,6)</sup>. 따라서 최근에는 이러한 부작용을 극복하고 장기간 안정적으로 사용할 수 있는 천연물 유래의 항균제에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다<sup>7-9)</sup>. 대나무 숲, 연잎, 자보란디 잎 등 여러 추출물을 이용한 구강세균에 대한 항균활성 효과가 보고되었으며<sup>10-12)</sup>, 특히 Park 등<sup>13)</sup>은 고삼의 에탄올 추출물이 *S. mutans*와 *S. sobrinus* 등에 대하여 항균효과가 우수하다고 보고하였다.

버섯은 식용 및 약용으로 사용된 천연식품으로써 탄수화물, 단백질 및 지질 등 각종 영양소를 함유하고 있으며, 암, 뇌졸중, 및 당뇨병 등 성인병 예방과 치료에 사용되고 있다<sup>14-16)</sup>. 특히, 표고버섯은 담자균강 주름 버섯목 느타리과 잣버섯속에 속하는 식용버섯으로 한국, 중국, 일본, 동남 아시아, 뉴질랜드 등에 분포한다. 예로부터 건강장수식품으로 애용되어 왔으며, 다른 버섯에 비해 비타민 C 함량이 가장 많고 아미노산을 비롯한 표고버섯 내에 다양한 생리활성물질 관련 성분들이 보고되어 있다. 대표적으로, 콜레스테롤을 감소시키는 lentinacin(eritadenine), 항암효과를 나타내는 lentinan( $\beta$ -1,3-D-glucan), 체내에서 비타민 D로 생성되어 칼슘의 흡수를 높여 주는 ergosterin 등이 알려져 있다<sup>17-19)</sup>. 최근에는, 표고버섯의 ethyl acetate 추출물의 *S. mutans* 구강세균에 대한 항균활성과 유기용매로 추출한 표고버섯 추출물의 *S. mutans*에 대한 항균효과 등이 보고되었다<sup>20,21)</sup>.

그러나 위와 같이 일부 용매와 *S. mutans* 만을 이용하여 표고버섯 추출액에 대한 항균작용 관련 활성만이 지금까지 보고되었기 때문에, 본 연구에서는 다양한 생리활성물질을 가진 표고버섯을 여러 용매로 추출한 이후, 치면에 점착성이 강한 세균막을 형성하여 치아우식증 유발에 관여하는 *S. mutans*, *Streptococcus anginosus*(*S. anginosus*), *Streptococcus ratti*(*S. ratti*), *Streptococcus sanguinis*(*S. sanguinis*), *S. sobrinus*, *Actinomyces viscosus*(*A. viscosus*), *Actinomyces naeslundii*(*A. naeslundii*), 구강의 혀나 타액에 존재하는 정상 상재균으로 치과 치료 이후 병원성 감염을 유발시키는

*Staphylococcus aureus*(*S. aureus*), 치주질환에 관여하는 *A. actinomycetemcomitans* 등에 적용하여, 표고버섯의 구강세균에 대한 성장 억제 효과를 탐색하고자 한다.

## 연구방법

### 1. 버섯 추출물 제조

실험에 사용된 식용 표고버섯은 일반 시중에서 구할 수 있는 생 버섯을 자연건조하고 분쇄하여 사용하였다. 분쇄하여 준비한 표고버섯 가루로부터 acetone, ethyl acetate 그리고 ethanol 등 3가지 유기용매로 추출물을 제조하였다. 표고버섯 가루 40 g에 acetone 400 ml을 넣고 150 rpm에서 72시간 동안 교반하여 추출하였으며, 이를 여과하고 rotary evaporator(EYELA A-1000S, Tokyo Rikakikai Co, Tokyo, Japan)로 감압 농축하여 acetone을 모두 제거하였다. 동일한 방법으로 ethyl acetate와 ethanol 추출물을 각각 제조하였다. 농축된 추출물은 DMSO(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)에 녹여 50 mg/ml의 농도로 일정하게 맞추어 시료로 사용하였다.

### 2. 실험 균주 및 균 배양

실험에 사용된 균주는 *S. sobrinus*(KCTC 3308), *S. aureus*(KCTC1927), *S. mutans*(KCTC3065), *S. ratti*(KCTC3655), *S. sanguinis*(KCTC3284), *A. viscosus*(KCTC5531), *A. naeslundii*(KCTC5525), *S. anginosus*(KCTC3983), 및 *A. actinomycetemcomitans*(KCTC 3698) 등 구강세균을 대표하는 9종의 균주로서, 모두 미생물자원센터(Korean Collection for Type Cultures, KCTC)에서 분양 받아 사용하였다(Table 1). *S. sobrinus*, *S. aureus*, *S. mutans*, *S. ratti*, *S. sanguinis* 등은 Brain-Heart Infusion(BHI, Difco, Detroit, MI, USA) 배지에, *A. viscosus*, *A. naeslundii*, *S. anginosus*, 및 *A. actinomycetemcomitans* 등은 Trypticase Soy Broth(TSB, BD

Table 1. List of strains used for antibacterial experiments

Microorganism	KCTC No.	Media	Temp (°C)
<i>Streptococcus sobrinus</i>	3308	BHI	37
<i>Staphylococcus aureus</i>	1927	BHI	37
<i>Streptococcus mutans</i>	3065	BHI	37
<i>Streptococcus ratti</i>	3655	BHI	37
<i>Streptococcus sanguinis</i>	3284	BHI	37
<i>Actinomyces viscosus</i>	5531	TSB	37
<i>Actinomyces naeslundii</i>	5525	TSB	37
<i>Streptococcus anginosus</i>	3983	TSB	37
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	3698	TSB	37

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

Co., USA) 배지에 접종하여 24시간 동안 37°C 혐기성 배양기 (5% CO<sub>2</sub>)에서 배양하였다.

### 3. 추출물의 항균활성 측정

표고버섯 추출물의 항균활성은 디스크 확산법(disc diffusion method)으로 측정하였으며<sup>22)</sup>, 균배양액은 흡광도를 0.1로 맞추어 0.5 McFarland 표준 탁도(약 1.0×10<sup>8</sup> CFU/ml)로 조절한 뒤, 실험에 사용하였다. 배양된 약 1.5×10<sup>6</sup> 세균을 미리 준비한 agar plate에 도말한 후, 각 추출물을 1.5 mg/disc의 농도로 paper disc(Φ 6 mm)에 30 μl 씩 흡수 건조하여, 도말한 plate 위에 밀착시킨 다음, 37°C CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 배양하여 disc 주위의 clear zone 생성 유무를 확인하고 그 크기를 측정하였다. 대조군으로 DMSO를 사용하였으며, 각각의 실험은 3회 반복 측정하였다.

### 4. 미생물 생육저해 효과

*A. viscosus* 균의 생장에 미치는 표고버섯 추출물의 영향을 조사하기 위해 액체배지 희석법(broth dilution method)을 실시하였다. 균배양액을 흡광도가 0.1이 되도록 조절하여 사용하였다. 96-well plate에 100 μl 배양액을 분주한 후, 표고버섯 추출액을 첨가하여 최종농도가 25.0 mg/ml에서 0.048 mg/ml까지 되도록 2 배씩 연속으로 희석하여 37°C CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 0~12시간까지 배양하면서 600 nm에서 흡광도를 측정(MECASYS, Daejeon, Korea)하여 표고버섯 추출물의 구강세균 성장 저해효과를 확인하였다. 실험은 4회 반복하여 수행하였다.

### 5. 미생물의 생육 저해율 측정 및 최소생육저해농도(MIC) 측정

*A. viscosus*에 대한 표고버섯 추출물의 농도별 생육 저해율은 액체배지 희석법으로 측정하였다. 균배양액 100 μl에 추출물을 2-fold 단계 희석한 추출물을 주입하여 37°C CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 배양 후, 600 nm에서 흡광도를 측정하고 생육 저해율을 다음 식으로 확인하였다.

$$\text{Inhibitory rate (\%)} = \{1 - (\text{treatment-treatment blank}) / (\text{control-control blank})\} \times 100$$

또한, 생육 저해율을 통해 균의 증식이 없거나 적어도 90% 저해율을 보이는 농도를 MIC(최소생육저해농도, Minimum Inhibition Concentration)로 설정하였다.

### 6. 통계처리

모든 실험은 3회 반복 실험하여 평균표준오차로 표시하

였으며, 자료의 통계분석처리는 PASW Statistics 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 ANOVA test 와 Tukey's multiple comparison 등에서 p<0.05 수준으로 그 유의성을 검증하였다.

## 연구결과

### 1. 표고버섯 추출물의 항균활성

Acetone, ethanol 및 ethyl acetate 등의 유기용매로 추출된 표고버섯 추출물의 구강세균에 대한 항균효과를 디스크 확산법을 이용하여 9종의 구강세균에 대하여 조사하였으며, 얻어진 결과를 <Table 2>에 나타내었다. 표고버섯의 ethanol 추출물에서는 모든 실험 균주에 대하여 항균활성이 관찰되지 않았으나, acetone 및 ethyl acetate 추출물에서는 9종의 구강세균 중 *S. aureus*, *S. sanguinis*, *A. viscosus*, 및 *A. actinomycetemcomitans* 등에서 항균활성을 확인할 수 있었다. Acetone 추출물의 경우 *A. actinomycetemcomitans* (7.0 mm)에 대하여 약한 활성을 보였으나, *A. viscosus*(9.7 mm)에 대해 다소 좋은 항균활성을 나타내었다. Ethyl acetate 추출물에서는 항균효과가 크지는 않았지만, *S. aureus*(7.3 mm), *S. sanguinis*(7.3 mm), *A. actinomycetemcomitans* (8.3 mm), *A. viscosus*(9.0 mm) 순으로 항균활성이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 표고버섯의 acetone 추출물과 ethyl acetate 추출물은 *A. viscosus*에 대한 생육저해 환의 크기가 다른 균에 비해 크게 나타났다.

Table 2. Antimicrobial activity of extracts from *Lentinus edodes*

Strain	Extract solvents		
	Acetone	EtOH	EtAc
<i>S. sobrinus</i>	-	-	-
<i>S. mutans</i>	-	-	-
<i>S. rattii</i>	-	-	-
<i>S. sanguinis</i>	-	-	+
<i>S. anginosus</i>	-	-	-
<i>S. aureus</i>	-	-	+
<i>A. viscosus</i>	++	-	++
<i>A. naeslundii</i>	-	-	-
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	+	-	++

-: no inhibition(≤6 mm), +: slight inhibition(~8 mm), ++: moderate inhibition(~10 mm). EtOH: ethanol, EtAc: ethyl acetate

### 2. *A. viscosus* 균에 대한 생육저해 효과

디스크 확산법을 통해 표고버섯 acetone 추출물과 ethyl acetate 추출물의 항균활성을 확인하였으며, 이를 바탕으로 acetone 추출물과 ethyl acetate 추출물이 *A. viscosus* 균의

생육에 미치는 영향을 조사하였다. 표고버섯 acetone 추출물 및 ethyl acetate 추출물 등을 25.0 mg/ml, 12.5 mg/ml, 6.25 mg/ml, 3.125 mg/ml, 1.56 mg/ml, 0.78 mg/ml, 0.39 mg/ml, 0.19 mg/ml, 0.09 mg/ml, 및 0.048 mg/ml 등의 최종농도로 희석 첨가하여 배양하면서 12시간 동안 흡광도를 측정하였으며, 이를 통해 *A. viscosus*의 성장저해 효과를 확인하였다. 그 결과를 <Table 3>과 <Table 4>에 각각 나타내었다.

<Table 3>과 <Table 4>에 보인바와 같이 표고버섯 추출물을 첨가한 각 배양액에서 추출물의 농도에 따라 다양한 생육저해작용을 나타내었다. 표고버섯의 ethyl acetate 추출물을 첨가하지 않은 대조군에서 균이 완만하게 증식되었다. Ethyl acetate 추출물은 배양 초기에는 균의 증식이 다소 증가하여 균의 생육저해 효과를 보이지 않았으나, 25.0 mg/ml와 12.5 mg/ml 경우에는 배양 후, 2시간부터 50% 이상의 생육억제 효과를 확인할 수 있었으며, 25.0 mg/ml 농도

에서는 전체 배양시간인 12시간 동안 균의 증식이 거의 발생되지 않았으므로 표고버섯의 ethyl acetate 추출물이 25.0 mg/ml에서 *A. viscosus*의 생육억제에 강한 효과가 있음을 알 수 있었다. Ethyl acetate 추출물은 대수기에 균의 증식을 억제하는 효과를 보였으며, 낮은 농도에서는 다소 약한 생육저해 효과를 나타내었으나, 추출물의 농도가 6.25 mg/ml 보다 더 클수록 대조군보다 균의 증식 억제 효과가 크게 증가되었다. 표고버섯 acetone 추출물에서는 낮은 농도에서 균의 증식이 대조군보다 약간 증가하였으며 12.5 mg/ml 이상의 농도에서는 대수기에서 대조군과 비교하여 *A. viscosus*의 큰 생육억제 효과를 확인하였다.

### 3. 미생물 생육 저해율 측정 및 최소생육저해농도(MIC) 측정

디스크 확산법을 통해 우수한 항균성을 보인 acetone 추

Table 3. Growth of *A. viscosus* added with ethyl acetate extracts from *Lentinus edodes*. Values are presented as mean±SD.

Concentration of extract (mg/ml)	O. D. at 600 nm Time(hrs)			
	2	4	8	12
0.048	0.23±0.02 <sup>a</sup>	0.35±0.02 <sup>b</sup>	0.48±0.06 <sup>c</sup>	0.52±0.02 <sup>d</sup>
0.09	0.23±0.02 <sup>a</sup>	0.36±0.03 <sup>b</sup>	0.44±0.03 <sup>c</sup>	0.51±0.04 <sup>d</sup>
0.19	0.22±0.01 <sup>a</sup>	0.37±0.03 <sup>b</sup>	0.44±0.02 <sup>c</sup>	0.49±0.02 <sup>d</sup>
0.39	0.25±0.06 <sup>a</sup>	0.37±0.03 <sup>b</sup>	0.46±0.02 <sup>c</sup>	0.52±0.03 <sup>d</sup>
0.78	0.24±0.07 <sup>a</sup>	0.37±0.04 <sup>b</sup>	0.45±0.04 <sup>c</sup>	0.55±0.04 <sup>d</sup>
1.56	0.26±0.09 <sup>a</sup>	0.32±0.03 <sup>b</sup>	0.36±0.02 <sup>a</sup>	0.60±0.03 <sup>b</sup>
3.125	0.24±0.07 <sup>a</sup>	0.26±0.03 <sup>a</sup>	0.33±0.02 <sup>a</sup>	0.40±0.04 <sup>b</sup>
6.25	0.21±0.08 <sup>a</sup>	0.18±0.02 <sup>a</sup>	0.33±0.03 <sup>a</sup>	0.37±0.05 <sup>a</sup>
12.5	0.13±0.03 <sup>a</sup>	0.08±0.03 <sup>a</sup>	0.09±0.03 <sup>a</sup>	0.09±0.06 <sup>a</sup>
25.0	0.04±0.05 <sup>a</sup>	0.05±0.05 <sup>a</sup>	0.06±0.05 <sup>a</sup>	0.07±0.15 <sup>b</sup>
control	0.25	0.36	0.51	0.57

<sup>a,b,c,d</sup>Mean with different letter on the bars are significantly different by Tukey's multiple comparison(p<0.05)

Table 4. Growth of *A. viscosus* added with acetone extracts from *Lentinus edodes*. Values are presented as mean±SD.

Concentration of extract (mg/ml)	O. D. at 600 nm Time(hrs)			
	2	4	8	12
0.048	0.26±0.01 <sup>a</sup>	0.35±0.02 <sup>b</sup>	0.43±0.02 <sup>c</sup>	0.51±0.02 <sup>d</sup>
0.09	0.22±0.03 <sup>a</sup>	0.35±0.02 <sup>b</sup>	0.44±0.04 <sup>c</sup>	0.49±0.01 <sup>d</sup>
0.19	0.24±0.00 <sup>a</sup>	0.38±0.01 <sup>a</sup>	0.53±0.05 <sup>b</sup>	0.59±0.04 <sup>c</sup>
0.39	0.21±0.02 <sup>a</sup>	0.37±0.01 <sup>b</sup>	0.53±0.05 <sup>c</sup>	0.58±0.01 <sup>d</sup>
0.78	0.21±0.02 <sup>a</sup>	0.35±0.01 <sup>b</sup>	0.49±0.03 <sup>c</sup>	0.59±0.02 <sup>d</sup>
1.56	0.19±0.01 <sup>a</sup>	0.31±0.01 <sup>b</sup>	0.47±0.03 <sup>c</sup>	0.63±0.04 <sup>d</sup>
3.125	0.15±0.01 <sup>a</sup>	0.27±0.02 <sup>a</sup>	0.49±0.04 <sup>b</sup>	0.68±0.07 <sup>c</sup>
6.25	0.10±0.01 <sup>a</sup>	0.16±0.01 <sup>a</sup>	0.35±0.04 <sup>b</sup>	0.39±0.04 <sup>c</sup>
12.5	0.06±0.03 <sup>a</sup>	0.10±0.03 <sup>a</sup>	0.15±0.05 <sup>b</sup>	0.17±0.06 <sup>c</sup>
25.0	0.10±0.01 <sup>a</sup>	0.13±0.01 <sup>b</sup>	0.20±0.01 <sup>c</sup>	0.22±0.02 <sup>d</sup>
control	0.28	0.36	0.44±0.01	0.55

<sup>a,b,c,d</sup>Mean with different letter on the bars are significantly different by Tukey's multiple comparison(p<0.05)



출물과 ethyl acetate 추출물의 *A. viscosus* 균에 대한 항균 활성을 MIC를 측정하여 추가 확인하였다. 표고버섯 acetone 및 ethyl acetate 추출물의 *A. viscosus*에 대한 생육 저해율을 24시간 후 측정하였으며, 그 결과를 <Fig. 1>과 <Fig. 2>에 각각 나타내었다. Ethyl acetate 추출물은 25 mg/ml에서 최고 90%, 12.5 mg/ml에서 74%의 생육 저해율을 보였으며, 농도가 점차 낮아짐에 따라 생육 저해율 또한 급격히 감소되어 6.25 mg/ml에서는 -110%까지 감소하다가 더 농도가 낮아지면서 상승하여 0.09 mg/ml 농도에서는 20 %의 저해율을 나타내었다( $p < 0.05$ ).

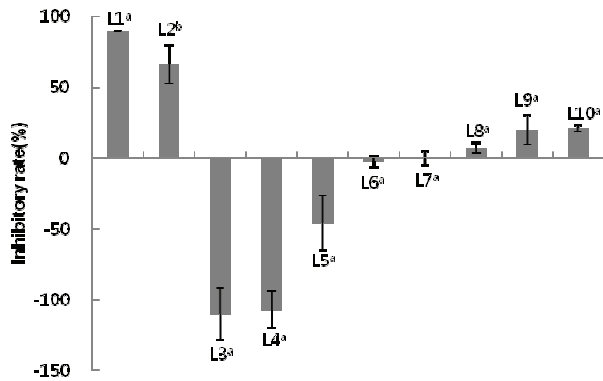


Fig. 1. Effects of ethyl acetate extracts from *Lentinus edodes* on the growth of *A. viscosus*. L1: 25 mg/ml, L2: 12.5 mg/ml, L3: 6.25 mg/ml, L4: 3.125 mg/ml, L5: 1.56 mg/ml, L6: 0.78 mg/ml, L7: 0.39 mg/ml, L8: 0.19 mg/ml, L9: 0.09 mg/ml, L10: 0.048 mg/ml. Values are presented as mean  $\pm$  SD. a, b Mean with different letter on the bars are significantly different by Tukey's multiple comparison ( $p < 0.05$ )

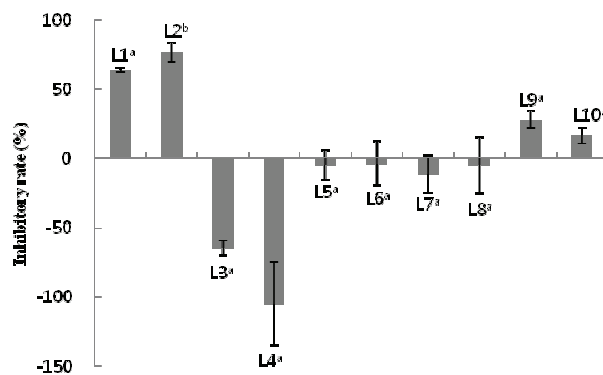


Fig. 2. Effects of acetone extracts from *Lentinus edodes* on the growth of *A. viscosus*. L1: 25 mg/ml, L2: 12.5 mg/ml, L3: 6.25 mg/ml, L4: 3.125 mg/ml, L5: 1.56 mg/ml, L6: 0.78 mg/ml, L7: 0.39 mg/ml, L8: 0.19 mg/ml, L9: 0.09 mg/ml, L10: 0.048 mg/ml. Values are presented as mean  $\pm$  SD. a, b Mean with different letter on the bars are significantly different by Tukey's multiple comparison ( $p < 0.05$ )

Acetone 추출물의 경우 최대 생육 저해율이 12.5 mg/ml에서 77%로, 90%의 최대 생육 저해율을 갖는 ethyl acetate 추출물보다 낮은 항균활성을 보였다. Ethyl acetate 추출물과 비슷하게 농도가 낮아지면서 생육 저해율이 -105%까지 감소하다가 더 낮은 농도에서는 다시 상승하는 현상을 확인할 수 있었다( $p < 0.05$ ). 표고버섯 ethyl acetate 추출물에서 MIC는 생육 저해율을 통해 24시간 배양 후, 균의 증식이 거의 나타나지 않은 25 mg/ml로 결정하였으며, 생육저해곡선을 통해 이를 확인하였다. Acetone 추출물에서 최소생육 저해농도인 MIC는  $> 25$  mg/ml로 조사되었다.

### 총괄 및 고안

식생활의 변화로 인해 구강질환이 해마다 증가되고 있으며, 최근 가장 대표적인 구강질환은 감염성 질환인 치아우식증과 치주질환이다. 치아우식증의 원인균으로는 대표적인 *S. mutans*를 비롯하여 *S. sobrinus*, *S. sanguinis*, *A. viscosus*, 및 *S. salivarius* 등이 있으며, 치주질환과 관련된 균으로는 *A. viscosus*, *S. sanguis*, *A. actinomycetemcomitans*, 및 *Porphyromonas gingivalis* 등이 있다. 이러한 구강 내 세균의 생장을 억제하여 구강질환을 치료하고자 chlorhexidine와 같은 항생제를 이용하였으나, 항생제의 내성과 부작용으로 항생제를 대체할 수 있는 천연 항생제의 연구가 활발히 진행되고 있다<sup>49)</sup>. 이에 본 연구는 *S. mutans*를 포함한 9종의 치아우식증 유발균 및 치주질환 병원균 등에 적용하여 표고버섯의 9종의 구강세균에 대한 항균활성 및 *A. viscosus*에 대한 성장 억제 효과를 알아보았다.

Hirasawa 등<sup>20)</sup>의 연구에 의하면, *S. mutans*에 대한 표고버섯 ethyl acetate 추출물의 항균효과가 있다고 보고하였으며, 또한 상반적인 보고로써, Park 등<sup>21)</sup>은 표고버섯 acetone 추출물이 *S. mutans*에 대하여 항균효과를 나타내지만, ethyl acetate 추출물에서는 항균활성이 없다고 보고하였다. 본 실험에서 확인한 결과, acetone, ethanol, ethyl acetate 추출물 모두에서 *S. mutans*에 대한 항균활성을 확인할 수 없었으며, ethanol 추출물은 9종의 구강균에 대해 활성을 보이지 않았다. Acetone 추출물에서 *A. actinomycetemcomitans*과 *A. viscosus*에 대해 억제환을 확인하였고 ethyl acetate 추출물에서는 *S. aureus*, *S. sanguinis*, *A. actinomycetemcomitans*, *A. viscosus*에 대해 항균활성을 나타내었다. 일반적으로 건조방법에 따라 표고버섯의 항산화능이 달라진다는 일부 보고와 같이<sup>23)</sup>, 본 연구의 항균활성 또한 수확시기 및 건조방법 등의 차이로 인해 *S. mutans*에 대한 항균활성이 다소 다르게 나타난 것으로 사료된다. 또한 polyphenol, alkaloid, terpenoid 등의 생리활성 물질이 항균활성을 나타내므로 알려져 있으며, 추출용매에 따라 이러한 생리활성물질의 함량이 다르게 나타나므로 용매에 따라 표고버섯 추출물의

구강 세균에 대한 항균활성이 다르게 나타나는 것으로 생각된다<sup>24-25)</sup>.

본 연구에서 시간 경과에 따른 균의 증식을 확인한 결과에 의하면, acetone 추출물과 ethyl acetate 추출물 모두 낮은 농도에서 시간 경과에 따라 균의 증식이 활성화되었으며, 대조군과 비교하여 생육저해 효과를 보이지 않았다. 일반적으로 낮은 농도의 추출물에서도 대조군에 비해 균의 생육이 저해되지만, 시간이 경과함에 따라 생육저해 효과 보다는 추출물의 기타 성분이 균의 생육을 촉진시킨다는 보고<sup>26-28)</sup>와 같이, 본 연구에서도 일정 농도 범위에서 균의 생육을 촉진시키는 추출물의 미지 성분이 포함된 것으로 생각된다. Acetone 추출물은 6.25 mg/ml 이상의 농도에서 다소 균의 증식이 관찰되었으나, 12.5 mg/ml와 25.0 mg/ml 농도의 추출물에서 강한 생육저해 효과를 나타내었으며, 특히 25.0 mg/ml 추출물 농도보다 낮은 12.5 mg/ml 농도에서 증식 억제 효과가 다소 높게 나타난 것은 농도가 높은 표고버섯 추출물의 경우, 여러 색을 띠는 성분들이 증가함으로써 흡광도 측정을 방해하여 나타난 결과로 생각된다.

표고버섯의 ethyl acetate 추출물은 낮은 농도에서도 균의 생육억제 효과가 나타났고, 3.125 mg/ml ~ 25.0 mg/ml에서 균의 증식을 크게 억제하였다. 또한 25.0 mg/ml 농도에서 *A. viscosus*의 증식이 거의 발생되지 않는 것으로 나타나 MIC 결과와 동일한 양상을 보여 주었으며, 표고버섯의 ethyl acetate 추출물이 높은 농도에서 *A. viscosus*에 대해 강한 생육저해 효과를 확인할 수 있었다.

*S. mutans*에 대한 표고버섯 추출물의 항균활성에 관한 연구는 이미 보고되어 있으나<sup>20-21)</sup>, 결과적으로 본 연구에서 디스크 확산법을 통하여 표고버섯의 acetone 및 ethyl acetate 추출물에서 *S. aureus*, *S. sanguinis*, *A. viscosus*, *A. actinomycetemcomitans* 및 *A. viscosus*에 대한 항균활성과 *A. viscosus*의 생육저해 효과를 추가로 확인하였으며, 이는 표고버섯 추출물이 치아우식증 뿐만 아니라, 치주염을 유발하는 세균에도 항균효과가 있음을 보여주는 의미 있는 결과이다. 따라서 앞으로 표고버섯으로부터 구강세균의 항균효과를 나타내는 물질을 확인하여야 할 것이며, 용매에 따라 추출되는 생리활성 관련 물질을 분리 및 분석하는 연구 등이 수행되어야 할 것이다.

## 결론

본 연구에서는 표고버섯을 acetone, ethyl acetate 및 ethanol 등의 용매로 추출하여 9종의 구강세균에 대한 항균활성과 생육저해 효과를 조사한 결과는 다음과 같다.

1. 디스크 확산법을 통해서 표고버섯의 acetone 추출물에서는 *A. viscosus*와 *A. actinomycetemcomitans* 등

에서 항균활성을 나타내었고, ethyl acetate 추출물에서는 *S. aureus*, *S. sanguinis*, *A. viscosus*, *A. actinomycetemcomitans* 등에서 생육저해환을 확인하였으며, *A. viscosus*와 *A. actinomycetemcomitans* 등에 대해 상대적으로 다소 높은 항균활성을 보였다.

2. 표고버섯의 acetone 추출물과 ethyl acetate 추출물에서 다소 강한 활성을 나타낸 *A. viscosus*에 대해 표고버섯 추출물의 시간 경과에 따라 균 증식 억제 효과를 조사한 결과, acetone 추출물과 ethyl acetate 추출물은 12.5 mg/ml와 25.0 mg/ml 농도에서 대수기에 *A. viscosus*에 대한 강한 생육저해 작용을 나타내었다.
3. 표고버섯 acetone 추출물과 ethyl acetate 추출물 등에서 각각 77%(12.5 mg/ml), 90%(25 mg/ml)로 높은 생육 저해율을 나타내었다. 생육 저해율을 통해 최소 생육 저해농도(MIC)는 ethyl acetate 추출물에서 25 mg/ml, acetone 추출물에서 >25 mg/ml 등으로 조사되었다.

결과적으로, 표고버섯의 acetone 추출물과 ethyl acetate 추출물 등이 *S. aureus*, *S. sanguinis*, *A. viscosus*, *A. actinomycetemcomitans*, *A. viscosus*에 대한 생육저해환 및 *A. viscosus*에 대한 균의 증식 억제 효과(MIC)가 있음을 확인함으로써 표고버섯 acetone 추출물과 ethyl acetate 추출물이 치아우식증과 치주질환 등에 효과가 있을 것으로 사료된다.

## References

1. Rosan B, Lamont RJ. Dental plaque formation. *Microbes Infect* 2000; 2: 1599-607. [http://dx.doi.org/10.1016/S1286-4579\(00\)01316-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1286-4579(00)01316-2).
2. Marsh PD. Microbiological aspects of the chemical control of plaque and gingivitis. *J Dent Res* 1992; 71: 1431-8. <http://dx.doi.org/10.1177/00220345920710071501>.
3. Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* 1986; 50: 353-80.
4. Jarvinen H, Tenovuo J, Huovinen P. In vitro susceptibility of *Streptococcus mutans* to chlorhexidine and six other antimicrobial agents. *Antimicrob agents Chemother* 1993; 37: 1158-9. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.37.5.1158>
5. Tredwin CJ, Scully C, Bagan-Sebastian JV. Drug-induced disorders of teeth. *J Dent Res* 2005; 84: 596-602. <http://dx.doi.org/10.1177/154405910508400703>.
6. Choi JL, Jung MA, Jung SH. Antimicrobial effect of mulberry leaves extracts against oral microorganism. *J Dent Hyg Sci* 2006; 6: 251-4.

7. Choi IW, Jung CH, Park YK. Anticariogenic activities of various plant extracts. *Korean J Food Sci Technol* 2003; 35: 1221-5.
8. Lee SY, Kim JG, Baik BJ, Yang YM, Lee KY, Lee YH, et al. Antimicrobial effect of essential oils on oral bacteria. *J Korean Acad Pediatr Dent* 2009; 36: 1-11.
9. Chae GC, Auh QS, Chun YH, Hong JP. Antibacterial activity of *Artemisia capillaris* THUNB on oral bacteria. *Korean J Oral Med* 2009; 34: 169-77.
10. Jang JH, You SY, Oh TJ. Antimicrobial activity of jaborandi extract and sorbitol to oral microbes. *J Korean Soc Dent Hyg* 2013; 13: 517-23. <http://dx.doi.org/10.13065/jksdh.2013.13.3.517>.
11. Choi MS, Ahn KW. Antibacterial effect of bamboo charcoal on *Streptococcus mutans*. *J Korean Soc Dent Hyg* 2014; 14: 95-100. <http://dx.doi.org/10.13065/jksdh.2014.14.01.95>.
12. Huh MK, Kim HJ. Antibacterial effect on leaf-extract from *Nelumbo nucifera* against oral microorganism. *J Korean Soc Dent Hyg* 2014; 14: 117-22. <http://dx.doi.org/10.13065/jksdh.2014.14.01.117>.
13. Park SJ, Kim SC, Lee JR. Antimicrobial effects of sophorae radix extracts against oral microorganisms. *Kor J Herbology* 2010; 25: 81-8.
14. Kang MG, Boloramaa Z, Lee JS, Seo GS, Lee JS. Antihypertensive activity and anti-gout activity of mushroom *Sarcodonaspratus*. *Kor J Mycol* 2011; 39: 53-6. <http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2011.39.1.053>
15. Hyun KW, Jeong SC, Lee DH, Park JS, Lee JS. Isolation and characterization of a noble platelet aggregation inhibitory peptide from the medicinal mushroom. *Inonotus obliquus* Peptides 2006; 27: 1173-8.
16. Choi HJ, Kim NJ, Kim DH. Hypoglycemic effect of GE974 isolated from *Gyrophora esculenta* in normal and diabetic mice. *Kor J Pharmacogn* 2000; 31: 268-72.
17. Kim GJ, Kim HS, Chung SY. Effects of varied mushroom on lipid compositions in dietary hypercholesterolemic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 1992; 21: 131-5.
18. Bisen PS, Baghel RK, Sanodiya BS, Thakur GS, Prasad GB. *Lentinus edodes*: a macrofungus with pharmacological activities. *Curr Med Chem* 2010; 17: 2419-2430. <http://dx.doi.org/10.2174/092986710791698495>.
19. Hwang YJ, Nam HK, Chang MJ, Noh GW, Kim SH. Effect of *Lentinus edodes* and *Pleurotus eryngii* extracts on proliferation and apoptosis in human colon cancer cell lines. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2003; 32: 217-222. <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2003.32.2.217>.
20. Hirasawa M, Shouji N, Neta T, Fukushima K, Takada K. Three kinds of antibacterial substances from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (Shiitake, an edible mushroom). *Int J Antimicrob Ag* 1999; 11: 151-7. [http://dx.doi.org/10.1016/S0924-8579\(98\)00084-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0924-8579(98)00084-3).
21. 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. <http://dx.doi.org/10.9721/KJFST.2011.43.6.783>.
22. Piddock LJ. Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. *J Appl Bacteriol* 1990; 68: 307-18. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.1990.tb02880.x>.
23. Kim MJ, Chu WM, Park EJ. Antioxidant and antigenotoxic effects of Shiitake mushrooms affected by different dry methods. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2012; 41: 1041-8. <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2012.41.8.1041>.
24. Clark AM, El-Ferally AS, Li WS. Antimicrobial activity of phenolic constituents of *mangolia grandiflora* L. *J Pharm Sci* 1981; 70: 951-952. <http://dx.doi.org/10.1002/jps.2600700833>.
25. Petti S, Scully C. Polyphenols, oral health and disease: A review. *J Dent* 2009; 37: 413-23. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2009.02.003>.
26. Lee ES, Han YS. Anti oralmicrobial activity of various extracts from parts of Lotus (*Nelumbo nucifera*). *Korean J Food Cookery Sci* 2011; 27: 1-9. <http://dx.doi.org/10.9724/kfcs.2011.27.1.001>.
27. Youm TH, Lim HB. Antimicrobial activities of organic extracts from fruit of *Thuja orientalis* L. *Korean J Medicinal Crop Sci* 2010; 18: 315-22.
28. Baek JW, Chung SH, Moon GS. Antimicrobial activities of ethanol extract from Korean bamboo culms and leaves. *Korean J Food Sci Technol* 2002; 34: 1073-8.