

자일리톨과 탄수화물이 *Streptococcus oralis*와 *Streptococcus salivarius*의 증식에 미치는 영향

양규호 · 한수지*

전남대학교 치과대학 소아치과학교실 및 치의학연구소,
피츠버그대학교 약학대학 약학과 약물유전학 센터*

국문초록

자일리톨은 탄소 5개가 있는 탄수화물로 치아우식증을 억제할 목적으로 사용되는 자당 대체물이다. 구강내 세균인 *Streptococcus oralis*와 *Streptococcus salivarius*의 증식에 미치는 탄수화물 단독 및 자일리톨과의 병합작용을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

배지의 자일리톨 농도가 증가함에 따라 *Streptococcus oralis*와 *Streptococcus salivarius*의 증식이 억제되었다. 액체배지에서 *Streptococcus oralis*의 배양 8시간 배양액 흡광도는 유당 첨가시 0.915, 자당 첨가시 1.107이었으나, 자일리톨을 병합하면 유당 첨가시 0.127, 자당 첨가시 0.104이었다. 액체배지에서 *Streptococcus salivarius*의 배양 8시간 배양액 흡광도는 유당 첨가시 1.550, 과당 첨가시 0.420이었으나, 자일리톨을 병합하면 유당 첨가시 0.271, 과당 첨가시 0.905이었다.

이상의 결과는 탄수화물의 종류와 자일리톨과의 병합에 따라 *Streptococcus oralis*와 *Streptococcus salivarius*의 증식 정도가 달랐다.

주요어 : *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, 자일리톨, 탄수화물

I. 서 론

자일리톨은 5탄당 알코올로 치아우식증을 억제하기 위하여 사용되는 자당 대체물이다. 음식에 자당을 사용한 경우와 비교하여 자당 대신 자일리톨을 사용한 경우 85% 이상에서 치아우식증 감소를 보였다¹⁾. 자일리톨에 의한 치아우식증의 감소는 자일리톨이 *Streptococcus mutans*의 증식을 억제하여 일어나며, 이러한 증식 억제작용은 일부 다른 연쇄상구균에 대해서도 일어난다²⁾.

구강에 상재하는 *Streptococcus oralis*는 주로 치면에 존재하며 영아의 구강내 연쇄상구균을 조사한 결과, 영아의 1/3에서 존재한다³⁾. 이 균은 H₂O₂를 분비하여 *Streptococcus mutans*의 증식을 억제하고 치태 형성을 감소시킨다⁴⁾. H₂O₂는 미생물에 매우 독성이 강하고 아울러 구강점막에도 해를 줄 수 있다. 그러나 타액에서 이 H₂O₂는 peroxidase, thiocyanate와 반응하여 hypothiocyante가 되어 구강점막에 해가 없으면서 정균효과를 가지게 된다⁵⁾. 이러한 lactoperoxidase system과의 반응은 구강내 연쇄상구균의 대사 및 성장을 억제하는데 H₂O₂ 단독시보다 더 효과적임이 보고되고 있다⁶⁾.

타액에 가장 많이 존재하는 *Streptococcus salivarius*는 생후 10-24시간 이내에 검출이 되어 모든 사람의 구강 내에 존재하는데, 특히 혀의 위쪽이나 타액에 가장 많이 존재하는 세균으로 혐기성 상태에서 배양되는 세균 중 총 세균 숫자에서 20%를 차지하고 있으면서 프러탄을 만들어 치태 형성을 억제하고 있다⁷⁾.

교신저자 : 양규호

광주광역시 동구 학동 8번지

전남대학교 치과대학 소아치과학교실

Tel : 062-220-5476

E-mail : khyang@chonnam.ac.kr

*본 연구는 2003년도 전남대학교병원 임상연구 보조비 지원에 의해 이루어진 것임.

*Streptococcus*도 종에 따라 탄수화물의 분해하는 정도나 이용 정도가 다르다. 그리고 탄수화물과 자일리톨 병합시 세균에 따라 증식 정도도 다르게 된다. 구강내 중요한 상재균으로 *Streptococcus mutans*의 치태 형성을 억제하는 것으로 알려진 *Streptococcus oralis*⁴⁾와 *Streptococcus salivarius*⁷⁾의 증식에 대한 자일리톨과 탄수화물의 영향에 대한 연구도 필요하다.

본 연구는 *Streptococcus oralis*와 *Streptococcus salivarius*의 증식에 대한 자일리톨과 여러 탄수화물과의 단독 및 병합 효과를 보고자 시행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시세균 및 배양

Streptococcus oralis (ATCC 35037, Rockville, MA, USA), *Streptococcus salivarius*는 전남의대 미생물학교실에 보관중인 것을 공시하였으며, 공시세균의 배양은 동결 건조로 보관중인 것을 M17 액체배지 (Difco, Detroit, MI, USA)에 접종하여 37℃에서 18시간 배양하였다.

2. 자일리톨과 탄수화물이 *Streptococcus oralis*의 증식에 미치는 영향

Tryptone yeast extract 액체배지(1.7% tryptone, 0.3% yeast extract, 0.5% sodium chloride, 0.25% potassium phosphate, 0.2% glucose)에 여러 농도의 자일리톨 (1%, 2%, 4%, 8%)을 첨가하였다. 배지 10ml에 2×10^7 *Streptococcus oralis*를 접종하여 37℃ 배양기에서 0, 2, 4, 8, 24시간 배양하였다. 배양액의 흡광도 (optical density)를 분광광도계 (spectrophotometer, Hitachi, Tokyo, Japan) 660 nm 파장에서 측정하였으며 3번 실험을 반복하여 평균을 구하였다.

포도당을 첨가하지 않은 tryptone yeast extract 액체배지에 4%의 탄수화물 (포도당, 만노스, 과당, 유당, 자당) 단독 또는

4% 자일리톨과 병합하여 첨가하였다. 배지 10 ml에 2×10^7 *Streptococcus oralis*를 접종하여 37℃ 배양기에서 0, 2, 4, 8, 24시간 배양하여 배양액의 흡광도를 측정하였으며 3번 실험을 반복하여 평균을 구하였다. 8시간 배양한 세균배양액을 희석하여 M17 agar (Difco, Detroit, MI, USA)상에 접종하고 37℃ 배양기에서 18시간 배양한 후 생균수를 산정하였다.

3. 자일리톨과 탄수화물이 *Streptococcus salivarius*의 증식에 미치는 영향

Tryptone yeast extract 액체배지에 여러 농도의 자일리톨 (1%, 2%, 4%, 8%)을 첨가하였다. 배지 10 ml에 2×10^7 *Streptococcus salivarius*를 접종하여 37℃ 배양기에서 0, 2, 4, 8, 24시간 배양하였다. 배양액의 흡광도를 분광광도계 660 nm 파장에서 측정하였으며 3번 실험을 반복하여 평균을 구하였다.

포도당을 첨가하지 않은 tryptone yeast extract 액체배지에 4%의 탄수화물 (포도당, 만노스, 과당, 유당, 자당) 단독 또는 4% 자일리톨과 병합하여 첨가하였다. 배지 10 ml에 2×10^7 *Streptococcus salivarius*를 접종하여 37℃ 배양기에서 0, 2, 4, 8, 24시간 배양하여 배양액의 흡광도를 측정하였으며 3번 실험을 반복하여 평균을 구하였다. 8시간 배양한 세균배양액을 희석하여 M17 agar 상에 접종하고 37℃ 배양기에서 18시간 배양한 후 생균수를 산정하였다.

III. 성 적

1. 자일리톨과 탄수화물이 *Streptococcus oralis*의 증식에 미치는 영향

Tryptone yeast extract 액체배지에서 *Streptococcus oralis*를 배양할 때 자일리톨의 농도가 높아짐에 따라 배양액의 흡광도는 감소하였다(Fig. 1). 포도당을 첨가하지 않은 tryptone yeast extract 액체배지에 4%의 탄수화물 (포도당, 만노스, 과당, 유당, 자당) 단독 또는

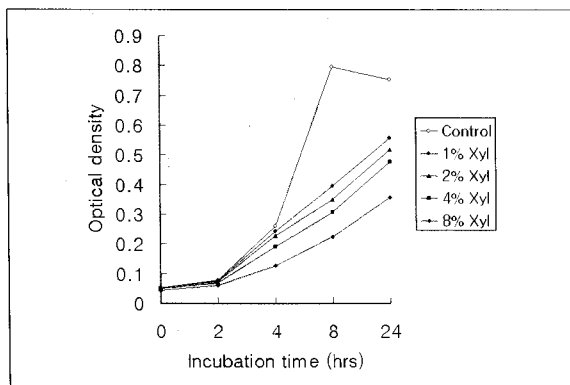


Fig. 1. Effect of xylitol on the replication of *Streptococcus oralis*. The optical density was measured at 660 nm in the spectrophotometer.

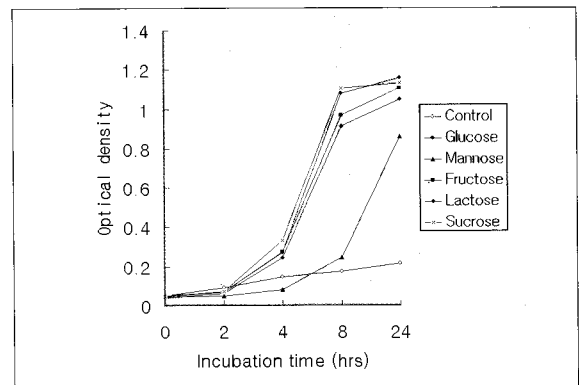


Fig. 2. Effect of various carbohydrates on the replication of *Streptococcus oralis*. The optical density was measured at 660 nm in the spectrophotometer.

tone yeast extract 액체배지에 포도당, 과당, 유당, 자당을 각각 첨가한 경우 배양 초기부터 *Streptococcus oralis*의 증식이 이루어져 배양 8시간에 포도당 첨가시의 배양액 흡광도는 1.081, 과당 첨가시 0.970, 유당 첨가시 0.915, 자당 첨가시 1.107이었으나, 만노스 첨가시는 0.244이었다(Fig. 2). 여기에 자일리톨을 병합하여 *Streptococcus oralis*를 배양하면 배양 8시간에 포도당이나과당을 첨가한 경우 배양액의 흡광도는 0.748, 0.826으로 높았으나, 유당이나 자당을 첨가한 경우는 0.127, 0.104로 낮았다(Fig. 3). 배양 8시간의 생균수는 배지에 포도당 첨가시 ml당 $19.4 \pm 2.2 \times 10^7$, 만노스 첨가시 ml당 $1.6 \pm 0.2 \times 10^7$, 과당 첨가시 ml당 $23.8 \pm 2.0 \times 10^7$, 유당 첨가시 ml당 $5.0 \pm 0.6 \times 10^7$, 자당 첨가시 ml당 $3.1 \pm 0.1 \times 10^7$ 이었다(Fig. 4).

2. 자일리톨과 탄수화물이 *Streptococcus salivarius*의 증식에 미치는 영향

Tryptone yeast extract 액체배지에서 *Streptococcus salivarius*를 배양할 때 자일리톨의 농도가 높아짐에 따라 배양액의 흡광도는 약간 감소하였다(Fig. 5). 포도당을 첨가하지 않은 tryptone yeast extract 액체배지에 포도당, 유당, 자당을 각각 첨가한 경우 배양 초기부터 *Streptococcus salivarius*의 증식이 이루어져 배양 8시간에 포도당 첨가시의 배양액 흡광도는 1.562, 유당 첨가시 1.550, 자당 첨가시 1.338이었으나, 만노스 첨가시는 0.369, 과당 첨가시는 0.420이었다(Fig. 6). 여기에 자일리톨을 병합하여 *Streptococcus salivarius*를 배양하면 배양 8시간에 포도당이나 자당을 첨가한 경우 배양액의 흡광도는 1.513, 1.267로 높았으나, 과당이나 유당을 첨가한 경우는

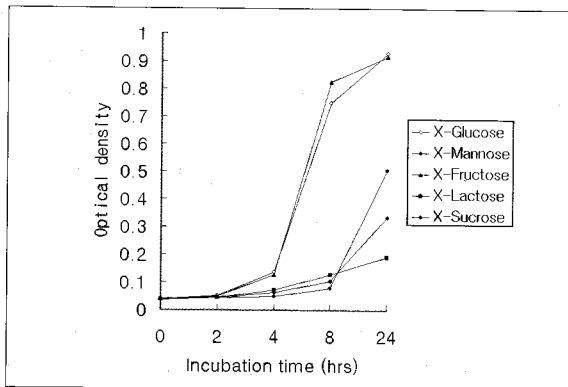


Fig. 3. Combined effect of xylitol and various carbohydrates on the replication of *Streptococcus oralis*. The optical density was measured at 660 nm in the spectrophotometer.

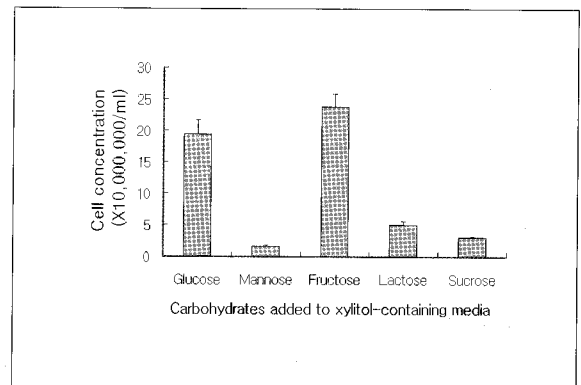


Fig. 4. Combined effect of xylitol and various carbohydrates on the viable cell numbers of *Streptococcus oralis*. The number of viable cells was counted at 8 hours-incubation.

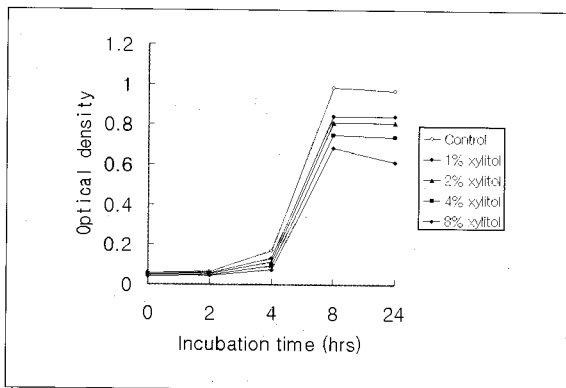


Fig. 5. Effect of xylitol on the replication of *Streptococcus salivarius*. The optical density was measured at 660 nm in the spectrophotometer.

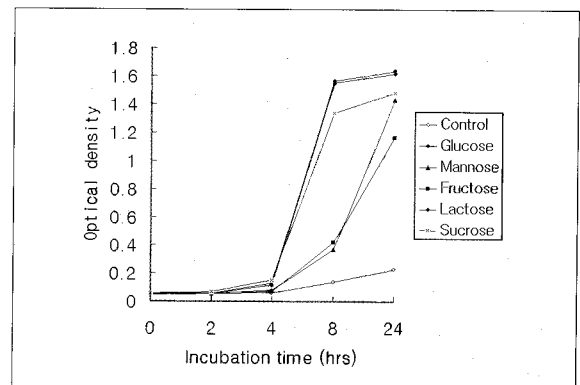


Fig. 6. Effect of various carbohydrates on the replication of *Streptococcus salivarius*. The optical density was measured at 660 nm in the spectrophotometer.

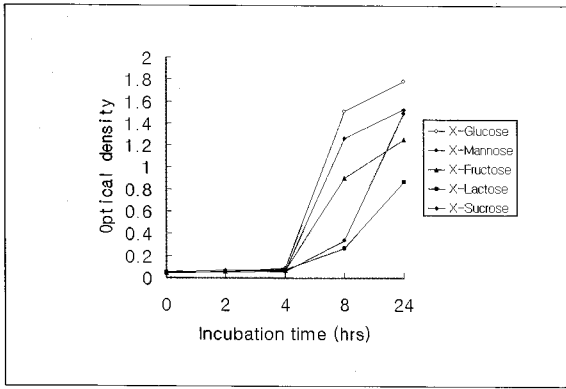


Fig. 7. Combined effect of xylitol and various carbohydrates on the replication of *Streptococcus salivarius*. The optical density was measured at 660 nm in the spectrophotometer.

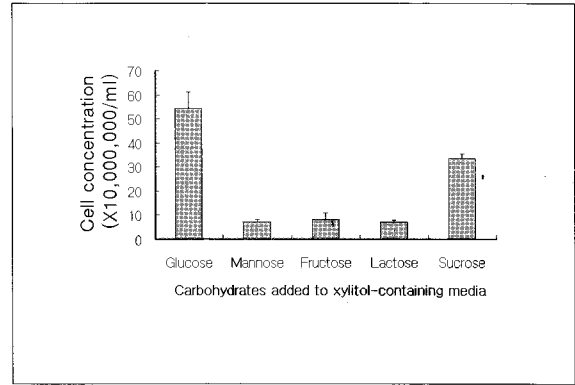


Fig. 8. Combined effect of xylitol and various carbohydrates on the viable cell numbers of *Streptococcus salivarius*. The number of viable cells was counted at 8 hours-incubation.

0.905, 0.271이었다(Fig. 7). 배양 8시간의 생균수는 배지에 포도당 첨가시 ml당 $54.3 \pm 6.9 \times 10^7$, 만노스 첨가시 ml당 $7.2 \pm 1.0 \times 10^7$, 과당 첨가시 ml당 $8.3 \pm 2.7 \times 10^7$, 유당 첨가시 ml당 $7.1 \pm 0.9 \times 10^7$, 자당 첨가시 ml당 $33.6 \pm 1.8 \times 10^7$ 이었다(Fig. 8).

IV. 고 찰

세균내로 탄수화물을 운반하고 인산화시키는 것은 phosphoenolpyruvate:sugar phosphotransferase system (PTS)이다. PTS는 수용성 단백질 (enzyme I, E I)과 막결합 단백질 (enzyme II, E II)로 구분된다. 구강내 연쇄상구균에서 탄수화물의 운반과 인산화는 PTS에 의해 이루어지며, 특히 *Streptococcus mutans*에서 자일리톨의 운반과 인산화는 fructose PTS에 의해 이루어진다⁸⁾. *Streptococcus mutans*에 대한 자일리톨의 증식 억제작용은 과당이나 자당을 가하면 일어나지 않는데, 그 이유는 자일리톨의 운반과 인산화는 fructose PTS에 의해 이루어지기 때문이다. Fructose PTS에 의해 *Streptococcus mutans* 내로 운반되어 생성된 xylitol phosphate는 대사되지 않고 축적되는데, 다른 인산화가 된 탄수화물이 세포에 해로운 것처럼 자일리톨 인산 (xylitol phosphate)도 *Streptococcus mutans*에 독성을 나타내어 *Streptococcus mutans*의 증식을 억제하기 때문이다⁹⁾. 자일리톨의 인산화는 존재하는 탄수화물의 종류에 따라 차이가 있는데 과당이 있을 때는 억제되고 포도당, 만노스, 갈락토오스가 있을 때는 억제되지 않는다⁹⁾. 세균내 자일리톨 인산이 축적되어 증식이 되지 않는 현상은 *Lactobacillus casei*¹⁰⁾와 *E. coli*¹¹⁾에서도 보고되었다. 본 연구에 사용된 *Streptococcus mutans* Ingbritt strain이 자일리톨의 증식억제 작용에 내성이 생기는 현상은 fructose E II가 없어진 돌연변이체가 선택되어 증식되기 때문이다²⁾. 장기간 자일리톨을 사용한 사람의 구강에서는

자일리톨에 내성이 생긴 *Streptococcus mutans*가 증가하여 자일리톨 사용을 중단하여도 4년이나 자일리톨 내성을 가진 *Streptococcus mutans*가 분리된다¹³⁾. 그러나 자일리톨 내성을 가진 *Streptococcus mutans*는 자일리톨에 감수성이 있는 *Streptococcus mutans*보다 쉽게 치태로부터 타액으로 떨어져 나가는 특성¹⁴⁾과 자일리톨이 구강내 세균의 glycosyltransferase, invertase, sugar permease의 활성을 변화시켜¹⁴⁾ 치아우식증의 발생을 감소시킨다.

본 연구에서는 tryptone yeast extract 액체배지에 포도당, 과당, 유당, 자당을 첨가한 경우 *Streptococcus oralis*가 배양 초기부터 증식이 이루어진데 반해, 자일리톨을 병합하면 포도당이나 과당에서는 *Streptococcus oralis*가 배양 초기부터 증식이 되었는데 포도당의 경우 *Streptococcus mutans*에서와는 달리 자일리톨에 내성을 보인 결과인 것으로 사료된다. 과당의 경우에는 자일리톨의 운반과 인산화에 관여하는 fructose PTS가 과당에 의해서 자일리톨의 운반과 인산화가 억제되기 때문으로 생각된다. 유당과 자일리톨을 병합할 시 배양시간이 경과한 후 증식이 이루어지거나 증식이 잘 안되는 것은 이탄당인 유당의 분해에 작용하는 β -galactosidase가 자일리톨에 의해 억제되어 세균의 증식이 억제된 것으로 생각되지만 더 연구해 보아야 할 것으로 사료된다. 자당의 경우에는 일탄당으로 분해하는 효소가 sucrase, sucrose phosphorylase 등이 있는데 *Streptococcus oralis*가 분비하는 자당 분해효소가 자일리톨에 의해 억제되어 자당과 자일리톨 병합 첨가시 *Streptococcus oralis*의 증식이 억제되는 것으로 사료된다. 액체배지에 포도당, 유당, 자당 단독 또는 자일리톨과의 병합 첨가시 *Streptococcus salivarius*의 증식 양상은 *Streptococcus oralis*와 같으나, 과당의 경우에는 자일리톨과의 병합 첨가 여부와 관계없이 과당이 프럭탄(fructan)으로 합성되고 증식에는 사용이 안되어 과당 첨가시 배양 초기부터 *Streptococcus salivarius*의 증식이 이루어지지 않았다.

이상의 결과로 볼 때, 세균의 증식 억제작용과 치태 억제작용에 대한 자일리톨과 다른 탄수화물의 효과를 정확히 알기 위해서는 탄수화물에 관련된 효소에 대한 연구가 더 필요한 것으로 사료된다.

V. 결 론

자일리톨은 탄소 5개가 있는 탄수화물로 치아우식증을 억제할 목적으로 사용되는 자당 대체물이다. 구강내 세균인 *Streptococcus oralis*와 *Streptococcus salivarius*의 증식에 미치는 탄수화물 단독 및 자일리톨과의 병합작용을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

배지의 자일리톨 농도가 증가함에 따라 *Streptococcus oralis*와 *Streptococcus salivarius*의 증식이 억제되었다. 액체 배지에서 *Streptococcus oralis*의 배양 8시간 배양액 흡광도는 유당 첨가시 0.915, 자당 첨가시 1.107이었으나, 자일리톨을 병합하면 유당 첨가시 0.127, 자당 첨가시 0.104이었다. 액체 배지에서 *Streptococcus salivarius*의 배양 8시간 배양액 흡광도는 유당 첨가시 1.550, 과당 첨가시 0.420이었으나, 자일리톨을 병합하면 유당 첨가시 0.271, 과당 첨가시 0.905이었다.

이상의 결과는 탄수화물의 종류와 자일리톨과의 병합에 따라 *Streptococcus oralis*와 *Streptococcus salivarius*의 증식 정도가 달랐다.

참고문헌

1. Scheinin A : Caries control through the use of sugar substitutes. *Int Dent J*, 26:4-13, 1976.
2. Vadeboncoeur C, Trahan L, Mouton C, et al. : Effect of xylitol on the growth and glycolysis of acidogenic oral bacteria. *J Dent Res*, 62:882-884, 1983.
3. Smith DJ, Anderson JM, King WF, et al. : Oral streptococcal colonization of infants. *Oral Microbiol Immunol*, 8:1-4, 1993.
4. 김선미, 양규호, 정성수, 등 : *Streptococcus oralis*의 인공치태 억제효과에 대한 연구. *대한소아치과학회지*, 26:77-87, 1999.
5. Carlsson J, Iwamu Y, Yamada T : Hydrogen peroxide excretion by oral *Streptococci* and effect of lactoperoxidase-thiocyanate-hydrogen peroxide. *Infect Immun*, 40:70-80, 1983.
6. Thomas EL, Milligan TW, Joyner RE, et al. : Antibacterial activity of hydrogen peroxide and the lactoperoxidase-hydrogen peroxide-thiocyanate system against oral *Streptococci*. *Infect Immun*, 62:529-535, 1994.
7. 박소영, 박은혜, 오종석, 등 : Fructan 생성 *Streptococcus salivarius*의 인공치태 억제 효과. *대한소아치과학회지*, 30:25-32, 2003.
8. Calmes R : Involvement of phosphoenolpyruvate in the catabolism of caries-conducive disaccharides by *Streptococcus mutans*: lactose transport. *Infect Immun*, 19:934-942, 1978.
9. Trahan L, Bareil M, Gauthier L, et al. : Transport and phosphorylation of xylitol by a fructose phosphotransferase system in *Streptococcus mutans*. *Caries Res*, 19:53-63, 1985.
10. London J, Hausman S : Xylitol-mediated transient inhibition of ribitol utilization by *Lactobacillus casei*. *J Bact*, 150:657-661, 1982.
11. Reiner AM : Xylitol and D-arabitol toxicities due to derepressed fructose, galactitol, and sorbitol phosphotransferases of *Escherichia coli*. *J Bact*, 132:166-173, 1977.
12. Knuutila ML, Makinen KK : Effect of xylitol on the growth and metabolism of *Streptococcus mutans*. *Caries Res*, 9:177-189, 1975.
13. Trahan L, Soderling E, Drean MF, et al. : Effect of xylitol consumption on the plaque-saliva distribution of mutans streptococci and the occurrence and long-term survival of xylitol-resistant strains. *J Dent Res*, 71:1785-1791, 1992.
14. Makinen KK : Biochemical principles of the use of xylitol in medicine and nutrition with special consideration of dental aspects. *Experientia*, 30:1-160, 1978.

Abstract

THE EFFECT OF XYLITOL AND CARBOHYDRATES ON THE REPLICATION OF
STREPTOCOCCUS ORALIS AND *STREPTOCOCCUS SALIVARIUS*

Kyu-Ho Yang, Su-Ji Han*

*Department of Pediatric Dentistry, College of Dentistry and Dental Research Institute, Chonnam National University
Center for Pharmacogenetics, Department of Pharmaceutical Sciences
School of Pharmacy, University of Pittsburgh**

Xylitol is a 5-carbons carbohydrate, which can be replaced with sucrose for preventing caries. The effect of carbohydrates and their combinations with xylitol was studied for the replication of oral bacteria such as *Streptococcus oralis* and *Streptococcus salivarius*.

The replication of *Streptococcus oralis* and *Streptococcus salivarius* was inhibited according to the increased concentration of xylitol. When *Streptococcus oralis* was incubated for 8 hours in the media added with lactose or sucrose, the optical density was 0.915 and 1.107, respectively, while being 0.127 and 0.104, respectively in the media combined with xylitol. When *Streptococcus salivarius* was incubated for 8 hours in the media added with lactose or fructose, the optical density was 1.550 and 0.420, respectively, while being 0.271 and 0.905, respectively in the media combined with xylitol.

These results indicated that the replication of *Streptococcus oralis* and *Streptococcus salivarius* was changed according to kinds of carbohydrates and combined addition of xylitol

Key words : *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, Xylitol, Carbohydrate