

# 만가닥버섯 추출물의 *Streptococcus mutans* 균에 의한 산생성 및 치아표면 glucan 점착 억제효과

Inhibitory Effect of *Lyopyllum ulmarium* Extract on Acid Production and Glucan Adhesion of *Streptococcus mutans*

박은진<sup>1</sup>, 이준수<sup>1</sup>, 최원석<sup>2,\*</sup>  
Eun-Jin Park<sup>1</sup>, Junsoo Lee<sup>1</sup>, and Won-Seok Choi<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>충북대학교 식품공학과, <sup>2</sup>한국교통대학교 식품공학과

<sup>1</sup>Department of Food Science and Technology, Chungbuk National University,

<sup>2</sup>Department of Food Science and Technology, Korea National University of Transportation

## 서론

버섯은 풍미가 뛰어나며, 탄수화물, 단백질, 지질 뿐만 아니라, 무기질과 비타민 등의 각종 영양소를 함유하고 있으며, 또한 다양한 생리활성 물질들을 생산함으로써, 예로부터 식용 및 약용으로 사용되어 온 자연건강식품으로, 항생물질을 비롯하여, 혈당강하물질, 콜레스테롤 감소물질, 항혈전물질(혈소판 응집 저해물질), 항염증물질 및 렉틴 등 약 180 개 이상의 다양한 생체기능 조절물질들을 포함하고 있는 것으로 알려져 있다(1-3).

만가닥버섯(*Lyopyllum ulmarium*)은 느릅나무 등의 활엽수고목이나 그루터기에 다발로 발생하는 백색목재부후균으로 느타리버섯이나 표고버섯에 비해 조직이 연하고 씹는 질감이 좋고 맛과 향이 좋은 특징을 지니고 있으며 면역증강 및 고혈압예방, 항암효과 등을 갖고 있는 것으로 알려져 있다(4,5).

충치는 치아표면에 *Streptococcus mutans* 균에 의해 colony가 형성됨으로 발생하며, 우리나라에서뿐만 아니라 선진국에서도 발병율이 매년 증가하고 있는 추세이다(6-8). 또한 *S. mutans* 균으로부터 생성되는 glucosyltransferase(Gtase)에 의해 합성되는 불용성 glucan 도 치석을 형성, 산을 축적시킴으로서 치아 에나멜층의 탈미네랄화를 야기한다(9).

식용버섯인 Shiitake(*Lentinus edodes*) 버섯이 치석형성을 조절하고 구강세균의 성장을 억제하는 것으로 보고된 바 있고, 다양한 버섯들이 치아표면에 치석을 야기하는 glucan 성장의 억제 및 GTase를 저해하는 데 효과가 있는 여러 페놀화합물들을 함유하고 있어 버섯은 잠재적인 항충치활성을 지니고 있다(10,11). 그럼에도 불구하고 버섯들의 항충치활성에 대한 연구는 매우 부족한 실정이다.

본 연구에서는 여러 버섯류들 중 상대적으로 연구가 부족한 만가닥버섯의 추출물을 이용하여 농도별로 *S.*

\*Corresponding author: Won-Seok Choi, Department of Food Science and Technology, Korea National University of Transportation, Chungbuk 368-701, Korea  
Tel: +82-43-820-5249  
Fax: +82-43-820-5240  
E-mail: choiws@ut.ac.kr

*mutans* 균의 치아표면 점착과 산생성 억제효과를 조사해 보았다.

## 재료 및 방법

### 버섯 및 버섯추출물 제조

실험에 사용된 버섯은 국내 자생 만가닥버섯(*Lyophyllum ulmarium*)으로 충청북도 농업기술원(청원군, 충북)에서 제공받아 사용하였다.

이 버섯을 chloroform(DC Chemical, 서울, 한국), methanol(Mallinckrodt Baker, Phillipsburg, USA), ethyl acetate(덕산약품, 안산, 한국) 각각의 용매를 33:53.5:13.5의 비율(v/v/v, methanol양이 ethyl acetate의 약 4배)로 혼합한 추출용매로 추출하였다. 즉 마쇄한 버섯시료 50 g에 추출용매 100 mL를 가해 혼합한 후, 24 시간 동안 상온에서 환류시켰다.

추출 후 고형물은 filter paper(No.2, Advantec, Toyo Roshi Kaisha Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 제거하였으며, 분리된 상정액은 rotary evaporator(N-1000S, EYELA, Tokyo, Japan)를 사용, 40°C 이하에서 감압 농축하여 용매를 완전히 휘발시켰다. 농축된 추출물은 dimethyl sulfoxide(DMSO, Sigma Chemical Co., St. Louis, USA, DMSO)를 이용하여 10 mL로 정용한 후, 농도별(2, 4, 6, 8, 10, 15, 25, 30%, v/v)로 희석하여 실험에 사용하였으며, 항균제 원료로 널리 사용되고 있는 chlorhexidine(Sigma Chemical Co., St. Louis, USA)을 대조구로, DMSO용액도 별도의 대조구로 사용하였다(12).

### 균주

항충치 실험에 사용된 균주는 *Streptococcus mutans* (KCTC 3065, *S. mutans*)로 brain heart infusion broth(BHI, Difco, Sparks, USA)에 접종하여 37°C shaking incubator(JSSI-100T, JS Reasarch Inc. Korea)에서 3회 계대배양함으로써 활성을 회복시켰고, 활성이 회복된 균주를 BHI agar에 분주하여 37°C에서 24시간 혐기배양하여 사용하였다(13).

## Glucan 표면점착 억제효과 측정

물체 표면에서의 *S. mutans* 생성 glucan 집락과 점착에 대한 만가닥버섯 추출물의 저해정도를 Murchison 등의 방법으로 측정하였다(14). 멸균된 BHI broth 가 들어 있는 시험관( $\phi$  13mm, 길이 10cm)에 membrane filter(0.2  $\mu$ m, Advantec, Toyo Roshi Kaisha Ltd., Tokyo, Japan)로 여과 제균한 각 농도별 버섯추출물을 첨가하고, 이어서 전배양한 *S. mutans* 를 접종하여 37°C incubator에서 1시간 배양 하였다. 여기에 1% sucrose 를 첨가하여 다시 37°C incubator에서 24시간 배양하였다. 24시간 배양 후 시험관표면에 자라있는 세포집락 중 약하게 점착된 세포집락을 제거하기 위해 vortex(M37610-33, Barnstead International, Iowa, USA)로 5초간 처리 후 배양액을 버린 다음, 각 시험관 표면의 집락 형성 정도를 육안으로 관측하여 집락이 점착된 상태를 0(점착 없음) - 4(두터운 점착)로 수치화하여 나타내었다.

## 산 생성 억제효과 측정

만가닥버섯 추출물의 *S. mutans* 산 생성 억제 효과는 Ooshima 등의 방법을 이용하여 측정하였다(9). 1% sucrose 가 함유된 BHI broth 에 농도별 만가닥버섯 추출물을 첨가하고 37°C incubator에서 24시간 동안 배양시키면서 추출물을 넣은 직후와 24시간 후의 배양액 pH를 pH meter(AB15, Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)로 측정하여 비교하였다.

## 결과 및 고찰

### Glucan의 표면점착 억제 효과

*S. mutans* 가 생성한 불용성의 glucan이 치아표면에 점착하는 것을 방지하는 것도 충치를 예방하는 방법 중 하나이다. Glucan의 집락 형성 및 점착이 유리하도록 sucrose를 첨가한 시험관에 *S. mutans* 와 만가닥 버섯 추출물을 농도별로 넣어 *S. mutans* 의 표면 점착에 대한 억제 효과를 조사한 결과를 표 1 과 그림 1 에 나타내었다. 시험관 유리 표면에 점착된 glucan의 집락정도를 육안으로 확인한 후 0-4 까지 수치화 한 결과, 10% 이상의 만

표 1. 만가닥버섯 추출물의 농도별 *Streptococcus mutans* 균에 의한 표면점착 억제효과

추출물농도(%)	점착정도	추출물농도(%)	점착정도
0	4 <sup>1)</sup>	10	2
DMSO	4	15	2
2	3	20	1
4	3	25	1
6	3	30	1
8	3	Chlorhexidine	0

<sup>1)</sup> 0; 표면점착 없음 1; 시험관바닥에 희미한 세포점착, 2; 시험관바닥에 약한 세포점착, 3; 시험관바닥과 벽면에 약한 세포점착, 4; 시험관바닥과 벽면에 두터운 세포점착



왼쪽상부부터; 0, DMSO, Chlorhexidine, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30%, 30%

그림 1. 만가닥버섯 추출물의 농도별 *Streptococcus mutans* 균에 의한 표면점착 억제효과

가닥버섯 추출물이 glucan의 점착을 확연히 억제하여 수치 2이하의 값을 나타내었으며, 이는 일정농도 이상의 만가닥버섯 추출물은 불용성 glucan이 치석화 되는 것을 억제함으로써 충치 예방 효과가 있는 것으로 해석할 수 있겠다.

### 산 생성 억제 효과

*S. mutans*가 치석을 형성한 후 구강내로 들어온 sucrose를 이용하여 lactic acid 등과 같은 산을 생성하게 되면 치석 내부의 pH가 저하되어 치아의 에나멜이 탈회

표 2. 만가닥버섯 추출물의 농도별 *Streptococcus mutans* 균에 의한 산 생성 억제효과

추출물농도(%)	pH		
	0 시간	18시간 배양	24시간 배양
0	7.30±0.01 <sup>1)</sup>	5.42±0.02	5.47±0.01
DMSO	7.41±0.01	5.55±0.06	5.62±0.13
2	7.33±0.00	5.88±0.45	5.32±0.09
4	7.34±0.02	6.07±0.19	5.25±0.03
6	7.32±0.01	6.21±0.38	5.20±0.01
8	7.31±0.01	6.29±0.14	5.11±0.01
10	7.31±0.02	6.35±0.08	5.09±0.01
15	7.35±0.00	6.40±0.12	5.01±0.04
20	7.32±0.01	6.52±0.11	4.97±0.02
25	7.29±0.05	6.18±0.24	4.97±0.02
30	7.29±0.01	5.94±0.35	4.80±0.05
Chlorhexidine	7.28±0.03	7.29±0.02	7.29±0.02

1) 평균값±표준편차

됨으로써 충치를 유발한다. 표 2에서 보는 바와 같이 18시간 배양 후에 *S. mutans*에 의한 산 생성은 4% 이상의 버섯추출물이 첨가되었을 경우 억제되는 것으로 나타났다. 농도가 높아질수록 억제효과도 높아지다가 25% 이상의 농도에서는 오히려 산 생성 억제능력이 감소하는 결과를 보여주었다. 한편 24시간 배양 후에는 추출물을 첨가할 경우 pH가 대조구보다 감소하는 경향을 보여주었는데, 이는 *S. mutans*에 의한 산 생성 때문이 아니라 추출물 자체의 pH 저하현상과 관련이 있는 것으로 사료되며, 이러한 경향은 다른 연구에서도 나타난 바 있다(15).

### 결론

만가닥버섯을 chloroform : methanol : ethyl acetate = 33 : 53.5 : 13.5(v/v/v)의 비율로 혼합된 용매로 추출하여, 2-30%의 농도로 첨가하여 충치균인 *S. mutans* 균에 의한 산생성과 표면점착 억제 효과를 측정된 결과, 산생성 억제효과는 25% 농도에서 가장 높았으며, 표면점착 억제 효과는 20-30% 농도의 추출물에서 가장 높게 나타

났다. 이상의 결과들로부터 만가닥 버섯 추출물은 충치를 예방할 수 있는 효과적인 소재로 사용될 수 있는 잠재성을 충분히 지니고 있으며, 따라서 적절한 용매를 사용하여 추출할 경우 산업적으로도 유용하게 사용될 수 있으리라 사료된다.

### 참고문헌

- Manzi P, Aguzzi A, Pizzoferrato L. Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy. *Food Chemistry* 73: 321-325 (2001)
- Mattila P, Könkö K, Eurola M, Pihlava JM, Astola J, Vahteristo L, Hietaniemi V, Kumpulainen J, Valtonen M, Piironen V. Contents of vitamins, mineral elements, and some polyphenolic compounds in cultivated mushrooms. *J. Agri. Food Chem.* 49: 2343-2348 (2001)
- Mau JL, Lin HC, Chen CC. Antioxidant properties of several medicinal mushrooms. *J. Agri. Food Chem.* 50: 6072-6077 (2002)
- Choi YM, Chang WB, Choi SY, Choi JS, Noh JG, Song IG, Min KB, Lee JS. Biological activities of *Lyopyllum ulmarium* extracts. *J. Agriculture & Life Science* 42(1): 35-41 (2008)
- Kim HK, Choi MG, Kim MO, Kim KH. Optimazation of extraction conditions for *Lyopyllum ulmarium* by response surface methodology. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32(4): 574-580 (2003)
- Rho JH, Han CK, Kim YB, Lee NH. Effect of diet supplements on the production of anti-dental caries hen's eggs by immunization of *Streptococcus mutans*. *Koran J. Food Sci. Ani. Resour.* 25: 333-339 (2005)
- Jang GH, Ahn BY, Oh SH, Choi DS, Kwon SH. Anticariogenic effects of *Coptis chinensis* french extract. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32: 1396-1402 (2000)
- Kim KM, Hwang KT, You SG, Lee US, Jung KH, Moon SK, Choi WS. Antimicrobial effect of edible pullulan film containing natural antimicrobial material on cariogenic bacteria. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38: 1466-1470 (2009)
- Ooshima T, Minami T, Aono W, Tamura Y, Hamada S. Reduction of dental plaque formation in humans by Oolong tea extracts. *Caries Research* 28: 146?149 (1994)
- Hirasawa M, Shuji N, Neta T, Fukushima K, Takada, K. Tree kinds of antibacterial substance from *Lentinus edodes*(Berk.) Sing.(Shiitake, an edible mushroom). *International Journal of Antimicrobial Agents* 11: 151-157 (1999)
- Shouji N, Takada K, Fukushima K, Hirasawa M. Anticaries effect of a component from *shiitake*(an edible mushroom). *Caries Research* 34: 94-98 (2000)
- Park EJ, Lee JS, Choi WS. Anti-cariogenic activities of mushroom extracted with various sovent systems. *Korean J. Food Sci. Technol.* 43(6): 783-786 (2011)
- Kim KM, Hwang KT, You SG, Lee US, Jung KH, Moon SK, Choi WS. Antimicrobial effect of edible pullulan film containing natural antimicrobial material on cariogenic bacteria. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38(10): 1466-1470 (2009)
- Murchison M., Larrimore S, Curtis R. Isolation and characterization of *S. mutans* defective in adherence and aggregation. *Infec. Immun.* 34: 1044-1055 (1981)
- Jagtap, A.G., Karkeka, S.G., Potential of aqueous extract of *Terminalia chebula* as an anticaries agent. *J. Pharm. Sci.* 68: 299-306 (1999)