Anti-oxidant and Anti-bacterial Activities of Mouthwash Prepared with Acacia Flower, Songji, and Topan Solar Salt

Suk-Hee Youn, Jung-Soon Han*, Ae-Jung Kim*

Department of Nutrition Therapy, Graduate School of Alternative Medicine, Kyonggi University, Seoul, Korea

*Corresponding authors: Ae-Jung Kim,
Department of Nutrition Therapy, Graduate
School of Alternative Medicine, Kyonggi
University, 24 Kyonggidae-ro, 9-gil,
Seodaemun-gu, Seoul 03746, Korea
Tel.: +82 2 390 5044
Fax: +82 2 390 5078
Email: aj5249@naver.com

Jung-Soon Han, Department of Nutrition
Therapy, Graduate School of Alternative
Medicine, Kyonggi University, 24 Kyonggidae-
ro, 9-gil, Seodaemun-gu, Seoul 03746, Korea
Tel.: +82 2 390 5044
Fax: +82 2 390 5078
Email: yohwa0620@gmail.com

Ae-Jung Kim and Jung-Soon Han equally
contributed to this work.

Received January 17, 2017

Revised April 8, 2017

Accepted April 17, 2017

Published June 30, 2017

Abstract

Purpose: This study investigated the anti-oxidant and anti-bacterial activities of mouthwash prepared using freeze dried acacia flower hot water extracts (FDAFWEx), including songji and topan solar salt, and created a natural mouthwash. **Methods:** The anti-oxidant activity of acacia flowers was measured by the radical scavenging activities of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) using freeze drying, roasting, and hot air drying. The anti-oxidant activity was estimated using the radical scavenging activity of the DPPH in the mouthwash. The anti-bacterial activity was evaluated using the paper disk diffusion method. **Results:** The greatest anti-oxidant activity of acacia flowers was observed in the FDAFWEx. The anti-oxidant activity of mouthwash was increased by adding FDAFWEx in a dose-dependent manner. The anti-bacterial activity was increased by including the FDAFWEx content. **Conclusion:** FDAFWEx was determined to have anti-oxidant and anti-bacterial activities, and it is anticipated that mouthwash containing FDAFWEx could be a natural mouthwash.

Keywords: Anti-oxidant activity, Anti-bacterial activity, Mouthwash, Acacia flower, Songji

Introduction

최근 우리나라는 설탕과 설탕이 함유된 탄수화물 가공식품의 소비가 지속적으로 늘어남에 따라 구강질환 예방을 위한 구강위생관리의 필요성이 증가하였다(Ciancio, 1992; Kim *et al.*, 2007). 구강질환은 치은연하(subgingival)에 존재하는 치태세균에 의한 감염성질환으로 치아상실을 초래하는 주된 원인으로 보고되었다(Slots, 1979).

치아관련 질환을 일으키는 균 중 *Streptococcus mutans* (*S. mutans*)는 치아면에 부착하여 증식 및 산 생성 과정을 거치면서 치

아우식을 유발하는 균이다(Hamada *et al.*, 1984). *S. mutans*는 균체 외 또는 균체 표층에서 치아우식의 유발효소인 glucosyltransferase (GTase)라는 효소를 분비하는데, GTase는 음식물 중 수크로스(sucrose)를 분해하여 치아면에 불용성 글루칸(glucan)을 형성하게 된다(Hanada & Takehara, 1987). 글루칸이 구강 내 다른 미생물들과 치아면에 부착하여 치면세균막(dental plaque)을 생성하면(Hamada & Slade, 1980), 치아우식 유발균과 혐기성 세균이 증식하면서 생성된 산에 의해 치아의 칼슘염 상실로 법랑질이 약해져 치아우식증이 유발된다(Gibbons & Houte, 1975; Takahashi, 2005).

Staphylococcus aureus (*S. aureus*)는 건강한 사람의 비강이나 인후의 점막, 피부에 있는 정상 세균총으로 기회 감염을 통해 국소 및 전신감염을 유발하는 그람양성구균으로, 화농성 감염의 80% 이상을 차지하는 감염성 질환의 주요 원인균으로 피부의 가벼운 감염부터 창상 감염, 균혈증, 농가진, 독성쇼크증후군(toxic shock syndrome), 기관지 폐렴, 장독소에 의한 식중독, 패혈증, 급성심내막염, 심근염, 심막염, 수막염 등의 중요한 원인균이다(Chung & Lee, 1993). 이러한 세균들의 비율이 증가하면서 치주염으로 진행된 다(Assev *et al.*, 1989).

구강질환을 예방하고 치주질환의 발생을 억제하기 위해서는 칫솔질이나 치실, 항생제나 구강세정제 등의 사용이 있는데 그 중 구강세정제는 구강 내 세균 활성을 억제하고 소염작용 등을 통해 구강질환을 예방하고 치료하는데 도움을 줄 수 있다(Corner *et al.*, 1988). 구강세정제는 구강환경 내에서 원인 균주 및 치주염이나 구취 유발세균에 대해 선택적인 항균력을 지니면서 주위 조직에 독성이 없어야 한다(Cho *et al.*, 2014). 그러나 대부분의 시판 중인 구강세정제에는 항균작용과 충치균 생성 억제 효능이 있는 클로르헥시딘(chlorhexidine), 트리클로산(triclosan), 세틸피리디늄클로라이드(cetylpyridinium chloride)의 화학합성 제재를 함유하고 있으며 일부 제품에는 항생제를 첨가한 제품들도 시판되고 있어 장기간 사용 시 항생제 내성 부작용을 일으킬 수 있는 문제점이 지적되고 있다(Kim *et al.*, 2011). 뿐만 아니라 클로르헥시딘은 항균 효과는 높으나 장기 사용 시 치아 및 혀의 변색, 미각 이상, 점막 자극 과민증을 유발시키고 소비자의 기호를 떨어뜨리는 점이 지적되고 있어(Song *et al.*, 2001), 화학성분의 부작용을 줄이고 장기간 사용해도 안전한 천연물을 원료로 하는 구강세정제에 대한 요구가 증가하고 있다(Cho *et al.*, 2014).

아까시꽃에는 항산화 효과가 우수한 아스코르브산(ascorbic acid) 및 탄닌산(tannic acid)이 많이 함유되어 있으며 그 외 유리당이나 무기질의 함량 또한 비교적 높은 것으로 보고되었다(Kwon *et al.*, 1995). 송지(Songji, pine resin turpentine)는 소나무과(Pinaceae) 소나무속(*Pinus*) 식물의 줄기의 상처에서 자연히 생긴 황갈색 덩어리로 피넨(pinene), 카렌(carene), 테르피넨(terpinene) 등의 정유성분이 10%, 피멜린산(pimelic acid), 레보피마르산(levopimaric acid) 등의 수지성분이 90% 함유되어 있다(Namba, 1980). 송지에 관한 연구로는 송지의 항염증 및 진통작용(Choi *et al.*, 2006), 송지와 식염의 구강세균 증식 억제 효과(Cho *et al.*, 2014), 비듬균 증식 억제 효과(Suk, 2004) 등이 알려져 있다. 예로부터 천연 구강세정제 재료로 사용되어 온 소금은 항염작용, 살균 및 방부 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Mandel, 1988). 특히 천일염은 살균, 상처치유, 피부보호, 항염증의 효능이 있어 구강위생 또는 염증완화 등의 목적으로 다양하게 사용되어 왔으며(Kim *et al.*, 2015), 천일염과 토판염으로 제조한 김치 메탄올 추출물이 HT-29 암세포의 성장을 억제하는 효과가 있다는 보고도 있다(Yoon & Chang, 2011).

이에 본 연구에서는 천연 소재 가운데 아까시꽃의 건조방법에 따른 항산화 효과를 관찰하여 가장 우수한 항산화성을 나타낸 건조방법을 확인한 후 아까시꽃, 송지와 토판염을 혼합한 천연 구강세정제를 제조하고 항산화 및 항균 효과를 관찰하여 천연물을 이용한 구강질환 예방을 위한 구강세정제 개발을 하고자 하였다.

Methods

1. 연구 재료

본 실험에 사용한 아까시(*Robinia pseudoacacia* L.)꽃은 충청북도 옥천 지역에서 채취한 것을 구입하여 사용하였으며, 송지는 경동시장(Korea)에서, 토판염은 서대문구에 위치한 농협(Korea)에서 구매하여 사용하였다.

2. 건조방법에 따른 아까시꽃의 항산화 활성 측정

1) 시료 제조

항산화 활성 측정용 시료 제조는 아까시꽃을 동결건조, 뒹음건조(로스팅), 열풍건조의 세 가지 방식으로 전 처리하였다.

2) 열수추출물 제조

전 처리방법(동결건조, 뒹음건조, 열풍건조)을 달리한 아까시꽃 시료들의 무게 대비 각각 20배 부피의 증류수를 첨가한 후 환류냉각관을 부착한 80℃의 heating mantle (HM250C; Sercrim Labtech, Korea)에서 3 h 동안 추출시켜 여과(Whatman® qualitative filter paper No.2; GE Healthcare Life Sciences, USA)하여 얻었다. 이렇게 2, 3차 추출액을 얻어 모두 혼합한 후 rotary vacuum evaporator (HS-2005S-N; Hahnshin S&T, Korea)로 용매를 증발시켜 50 mL 까지 농축하여 동결건조 시킨 후 분석용 시료로 사용하였다.

3) Total polyphenol 함량

전 처리방법을 달리하여 열수추출한 아까시꽃 시료들의 총 폴리페놀 함량은 Folin & Denis (1912) 방법으로 측정하였다. 추출물 1 mL을 취하여 2% (w/v) sodium carbonate (Sigma-Aldrich, USA) 용액 1 mL를 가해 3 min 방치한 후, 50% Folin-Ciocalteu 시약(Sigma-Aldrich) 0.2 mL를 가하여 750 nm에서 흡광도(microplate reader, BN 02514; Molecular Devices, USA)를 측정하였다. 총 페놀 함량은 tannic acid (Sigma-Aldrich)를 이용하여 작성한 표준곡선을 바탕으로 환산하여 나타내었다.

4) Total flavonoid 함량

전 처리방법을 달리한 아까시꽃 열수추출물 시료의 총 플라보노이드 함량은 Davis (1947) 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 추출물 400 µL에 diethylene glycol (Sigma-Aldrich) 4 mL를 첨가하고 다

시 1 N sodium hydroxide (Sigma-Aldrich) 40 μ L를 첨가한 후 37°C에서 1 h 반응 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 rutin (Sigma-Aldrich)을 이용하여 작성한 표준곡선을 바탕으로 환산하여 나타내었다.

5) DPPH 라디칼 소거능

전 처리방법을 달리하여 열수추출한 아까시꽃 시료의 DPPH 라디칼 소거능은 Blois (1958)의 방법을 변형하여 다음과 같이 실시하였다. 추출물 0.1 mL에 1.5×10^{-4} M DPPH (Sigma-Aldrich) 용액 0.1 mL을 가하여 실온, 암실에서 30 min 방치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 추출물의 처리 농도에 따른 DPPH 라디칼을 50% 억제하는데 요구되는 농도인 half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) 값으로 비교하였으며, 모든 실험은 3회 반복하여 평균값으로 계산하였다. 대조용 시료로는 vitamin C (Sigma-Aldrich)를 사용하였다.

6) ABTS 라디칼 소거능

전 처리방법을 달리한 아까시꽃 열수추출물 시료의 ABTS 라디칼 소거능은 Fellegrini *et al.* (1999)의 방법으로 측정하였다. ABTS (Sigma-Aldrich) 7.4 mM과 potassium persulfate (Sigma-Aldrich) 2.6 mM을 하루 동안 암소에 방치하여 ABTS 양이온을 형성시킨 후 735 nm에서 흡광도 값이 1.4-1.5가 되도록 증류수로 희석하였다. 희석된 ABTS 용액 1 mL에 추출물 시료 50 μ L를 가하여 흡광도의 변화를 60 min 후에 측정하였다. 추출물의 처리 농도에 따른 ABTS 라디칼을 50% 억제하는데 요구되는 농도(IC_{50})로 비교하였으며, 모든 실험은 3회 반복하여 평균값으로 계산하였다. 대조용 시료로는 vitamin C를 사용하였다.

3. 구강세정제의 항산화 및 항균 활성 측정

1) 구강세정제 제조

아까시꽃, 송지 및 토판염을 이용한 구강세정제는 Table 1에 제시된 바와 같은 비율로 혼합하여 제조하였다. 아까시꽃은 시료 무게 (70 g) 대비 20배(1,400 mL)의 증류수를 첨가한 후 환류냉각관을 부착한 80°C의 heating mantle에서 3 h 추출시켜 여과하여 얻은 후 rotatory vacuum evaporator로 용매를 증발시켜 첨가한 증류수량

의 25% (350 mL)까지 농축하여 동결건조 시킨 후 사용하였다. 송지는 곱게 마쇄한 후 시료 무게 대비 5배의 99.9% 에탄올(Sigma-Aldrich)을 가해서 용해시킨 다음 동일한 양의 증류수를 가해 얻은 현탁액을 솜으로 여과하여 지방의 응집물과 침전물을 제거한 후 에탄올과 증류수를 증발시킨 후 시료 무게 대비 1배의 50% 에탄올로 시료를 재 용해한 후 사용하였다. 토판염은 제조한 송지 용액에 용해시킨 후 사용하였다.

2) 항산화 활성

동결건조한 아까시꽃 열수추출물(FDAFWEx)과 송지와 토판염 혼합물(solution of songji and topan solar salt mixture (3:1), STM)을 이용하여 제조한 구강세정제는 각각 무게 대비 10배의 부피의 70% 에탄올을 가하여 실온에서 24 h 추출시켜 여과하여 얻었다. 추출액을 rotatory vacuum evaporator로 용매를 증발시켜 50 mL까지 농축하여 동결건조 시킨 후 total polyphenol 함량, total flavonoid 함량, DPPH 라디칼 소거능을 측정하였다.

3) 항균 활성

(1) 균주 및 배양

항균력 시험에는 *S. mutans* (KCTC 5365)와 *S. aureus* (KCTC 1621)를 생물자원센터(Korean Collection for Type Cultures; KCTC, Korea)에서 분양 받아 사용하였다. 균주별 특성에 따라 배양조건을 달리하여 *S. mutans*는 brain heart infusion agar (26 g/500 mL; Becton, Dickinson and Company, USA)를 넣은 한천배지에 37°C에서 혐기성 조건으로 배양하였다. *S. aureus*는 nutrient broth (4 g/500 mL; Becton, Dickinson and Company)에 agar (Sigma-Aldrich)를 넣은 한천배지에서 호기성 조건에서 37°C로 배양을 하였다.

(2) 항균 활성 측정

*S. mutans*와 *S. aureus*에 대한 항균 활성은 확산천법(paper disk diffusion method)으로 측정하였다. FDAFWEx와 STM 비율을 달리하여 제조한 구강세정제 및 대조균을 30 μ L씩 직경 8 mm, 두께 1.5 mm의 종이 디스크(filter paper; Advantec MFS, USA)에 흡수시킨 후, 용매를 완전히 증발시킨다. 균주의 배양은 혐기성 조

Table 1. Mouthwash formula

Group	FDAFWEx (mL)	Water (mL)	STM (mL)
Control	0	90	10
AMw30	30	60	10
AMw60	60	30	10
AMw90	90	0	10

FDAFWEx, freeze dried acacia flower hot water extracts; STM, solution of songji and topan solar salt mixture (3:1); AMw30, sample was prepared with FDAFWEx 30 mL, water 60 mL, and STM 10 mL; AMw60, sample was prepared with FDAFWEx 60 mL, water 30 mL, and STM 10 mL; AMw90, sample was prepared with FDAFWEx 90 mL and STM 10 mL without water.

건 및 호기성 조건으로 37℃에서 24 h 배양하였다. 항균 활성의 측정에는 종이 디스크 주변에 형성된 원형의 생육억제환 크기를 측정하고 비교하는 방법으로 수행하였고, 모든 시험은 독립적으로 3회 반복하였다.

4. 통계 처리

모든 자료는 statistical package for the social sciences (SPSS) statistics 21 (IBM, USA)을 이용하여 평균과 표준편차를 구하고, 시료간의 유의성은 analysis of variance (ANOVA)를 실시한 후, Duncan's multiple range test로 각 시료의 평균차이에 대한 사후 검정을 유의수준 5%에서 실시하였다.

Results and Discussion

1. 아까시꽃의 항산화 활성

1) Total polyphenol 함량과 total flavonoid 함량

건조방법을 달리한 아까시꽃 열수추출물 시료들의 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량은 Table 2에 제시된 바와 같다.

총 폴리페놀 함량은 동결건조 아까시꽃 열수추출물(FDAFWEx)이 37.88 mg tannic acid equivalent (TAE)/g, 볶음건조 아까시꽃 열수추출물(roasted acacia flower hot water extracts, RAFWEx)이 32.62 mg TAE/g, 열풍건조 아까시꽃 열수추출물(hot air dried acacia flower hot water extracts, ADAFWEx)이 30.56 mg TAE/g 순으로 나타나, FDAFWEx의 총 폴리페놀 함량이 가장 높았으며,

이는 아까시꽃 에탄올추출물의 총 폴리페놀 함량이 39.65 ± 2.30 mg을 나타내었다는 Lee *et al.* (2012)의 결과와 비슷한 경향을 나타내었다.

총 플라보노이드 함량 역시 총 폴리페놀과 마찬가지로 FDAFWEx이 17.21 mg rutin equivalent (RE)/g, RAFWEx이 11.56 mg RE/g, ADAFWEx이 9.30 mg RE/g 순으로 나타나, FDAFWEx의 총 플라보노이드 함량이 가장 높았다. 폴리페놀은 페놀산(phenolic acid)류와 플라보노이드(flavonoid)류, 쿠마린(coumarin)류, 탄닌(tannin)류로 분리되며 그 중 대부분이 플라보노이드류이다. 이들은 활성 자유라디칼에 수소원자를 제공하여 안정한 비 라디칼(non-radical)을 만들어 항산화 효과를 나타낸다. 또한 미생물의 세포막 구성물질인 펩티도글리칸(peptidoglycan)의 합성을 방해하여 세포막 이상을 유발하며, 단백질과 핵의 합성을 해하여 항균 효과를 나타낸다. 그러므로 본 연구결과에서 FDAFWEx에는 폴리페놀이 많이 함유되어 있어 항산화 효과가 우수한 것으로 생각된다.

2) DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능

건조방법을 달리한 아까시꽃 열수추출물 시료들의 DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능은 Table 3에 제시된 바와 같다.

DPPH 라디칼 소거능의 IC_{50} 값은 FDAFWEx이 123.73 μ g/mL, RAFWEx이 224.64 μ g/mL, ADAFWEx이 351.96 μ g/mL 순으로 나타나 FDAFWEx의 DPPH 라디칼 소거 활성이 가장 좋게 나타났다.

ABTS 라디칼 소거능의 IC_{50} 값 역시 DPPH 라디칼 소거능의 IC_{50} 값과 마찬가지로 FDAFWEx 203.27 μ g/mL, RAFWEx 303.81 μ g/mL, ADAFWEx 448.74 μ g/mL 순으로 나타나 FDAFWEx의 소거

Table 2. Content of total polyphenol and total flavonoid according to the drying method

Group	Total polyphenol content (mg TAE/g)	Total flavonoid content (mg RE/g)
FDAFWEx	$37.88 \pm 1.75^{1),a,2)}$	17.21 ± 0.15^a
RAFWEx	32.62 ± 1.59^b	11.56 ± 0.21^b
ADAFWEx	30.56 ± 0.56^b	9.30 ± 0.14^c

TAE, tannic acid equivalent; RE, rutin equivalent; FDAFWEx, freeze dried acacia flower hot water extracts; RAFWEx, roasted acacia flower hot water extracts; ADAFWEx, hot air dried acacia flower hot water extracts.

¹⁾Mean $\pm$ standard deviation (n=3).

²⁾Means with different letters in the same column are significantly different at $p < 0.05$ according to Duncan's multiple range test.

Table 3. Radical scavenging activities of DPPH and ABTS according to the drying method

Group	IC_{50} value of DPPH radical (μ g/mL)	IC_{50} value of ABTS radical (μ g/mL)
FDAFWEx	$123.73 \pm 5.61^{1),c,2)}$	203.27 ± 6.37^c
RAFWEx	224.64 ± 20.33^b	303.81 ± 22.73^b
ADAFWEx	351.96 ± 8.83^a	448.74 ± 9.90^a
Vitamin C	18.26 ± 1.53^d	20.07 ± 1.10^d

DPPH, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; ABTS, 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt; IC_{50} , half maximal inhibitory concentration; FDAFWEx, freeze dried acacia flower hot water extracts; RAFWEx, roasted acacia flower hot water extracts; ADAFWEx, hot air dried acacia flower hot water extracts; Vitamin C, positive control.

¹⁾Mean $\pm$ standard deviation (n=3).

²⁾Means with different letters in the same column are significantly different at $p < 0.05$ according to Duncan's multiple range test.

활성이 가장 좋게 나타났다. 이는 구강세정제로 사용하고자 연구했던 황칠나무 추출물의 DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능이 vitamin C의 항산화 활성과 유사하며 butylated hydroxytoluene (BHT)보다도 40% 이상이나 더 높은 활성을 가지고 있다는 Park *et al.* (2013)의 결과만큼 우수하지는 않았으나 아까시꽃 건조방법에 따라서는 FDAFWEx의 항산화 활성이 높게 나타났다. 또한 아까시 잎보다는 꽃 추출물의 유리기 제거 효과가 높았으며, 플라보노이드도 많이 함유되어 있기 때문이라고 추측된다는 Choi *et al.* (2006) 결과와 비슷한 경향을 나타내었다.

2. 구강세정제의 항산화 활성과 항균 활성

1) DPPH 라디칼 소거능

가장 항산화 활성이 우수한 FDAFWEx, 송지 및 토판염을 이용하여 제조한 구강세정제의 DPPH 라디칼 소거능은 Table 4에 제시된 바와 같다.

DPPH 라디칼 소거능은 FDAFWEx가 40.65%, 송지 현탁액

에 토판염을 용해시킨 STM이 55.23%, FDAFWEx를 첨가하지 않은 AMw0은 6.93%, FDAFWEx를 30 mL 첨가 시(AMw30)에는 28.13%, FDAFWEx를 60 mL 첨가 시(AMw60)에는 42.86%, FDAFWEx를 90 mL 첨가 시(AMw90)에는 50.72%로 나타나 FDAFWEx의 첨가량이 증가할수록 DPPH 라디칼 소거 활성이 유의하게 높아졌다($p < 0.05$). 이는 천연물인 황칠나무 추출물의 항산화 효과가 합성항산화제 BHT보다 우수하다고 나온 결과(Park *et al.*, 2013)로 판단할 때 긍정적인 결과로 사료된다.

2) 항균 활성

동결건조 아까시꽃 열수추출물 첨가량에 따른 *S. mutans*와 *S. aureus*에 대한 항균 활성의 결과는 Table 5에 제시된 바와 같다.

*S. mutans*에 대한 항균 활성은 FDAFWEx가 25.00 mm, STM이 13.85 mm, AMw0은 8.23 mm, AMw30은 12.65 mm, AMw60은 18.05 mm, AMw90은 23.10 mm, positive control인 A사의 구강세정제는 30.15 mm의 생육억제환을 나타내었다.

Table 4. Radical scavenging activity of DPPH in mouthwash product prepared with different levels of FDAFWEx

Group	Radical scavenging activity of DPPH (%)
FDAFWEx	40.65±2.27 ^{1),b,2)}
STM	55.23±4.38 ^a
AMw0	6.93±0.95 ^e
AMw30	28.13±1.28 ^c
AMw60	42.86±2.65 ^{b,c}
AMw90	50.72±2.84 ^b

DPPH, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; FDAFWEx, freeze dried acacia flower hot water extracts; STM, solution of songji and topan solar salt mixture (3:1); AMw0, sample was prepared with water 90 mL and STM 10 mL without FDAFWEx; AMw30, sample was prepared with FDAFWEx 30 mL, water 60 mL, and STM 10 mL; AMw60, sample was prepared with FDAFWEx 60 mL, water 30 mL, and STM 10 mL; AMw90, sample was prepared with FDAFWEx 90 mL and STM 10 mL without water.

¹⁾Mean±standard deviation (n=3).

²⁾Means with different letters are significantly different at $p < 0.05$ according to Duncan's multiple range test.

Table 5. Anti-bacterial activities of mouthwash product prepared with different levels of FDAFWEx on *S. mutans* and *S. aureus*

Group	Clear zone diameter (mm) ¹⁾	
	<i>S. mutans</i>	<i>S. aureus</i>
FDAFWEx	25.00±0.14 ^{2),b,3)}	20.75±0.10 ^b
STM	13.85±0.49 ^f	11.20±0.20 ^f
AMw0	8.23±0.43 ⁱ	8.21±0.26 ⁱ
AMw30	12.65±0.28 ^g	10.30±0.10 ^g
AMw60	18.05±0.21 ^e	15.00±0.20 ^e
AMw90	23.10±0.57 ^c	19.95±0.15 ^c
Positive control	30.15±0.07 ^a	34.75±0.25 ^a

S. mutans, *Streptococcus mutans*; *S. aureus*, *Staphylococcus aureus*; FDAFWEx, freeze dried acacia flower hot water extracts; STM, solution of songji and topan solar salt mixture (3:1); AMw0, sample was prepared with water 90 mL and STM 10 mL without FDAFWEx; AMw30, sample was prepared with FDAFWEx 30 mL, water 60 mL, and STM 10 mL; AMw60, sample was prepared with FDAFWEx 60 mL, water 30 mL, and STM 10 mL; AMw90, sample was prepared with FDAFWEx 90 mL and STM 10 mL without water; Positive control, A company mouthwash.

¹⁾Clear zone diameter includes the diameter of filter paper (8 mm).

²⁾Mean±standard deviation (n=3).

³⁾Means with different letters in the same column are significantly different at $p < 0.05$ according to Duncan's multiple range test.

*S. aureus*에 대한 항균 활성은 FDAFWEx가 20.75 mm, STM이 11.20 mm, AMw0은 8.21 mm, AMw30은 10.30 mm, AMw60은 15.00 mm, AMw90은 19.95 mm, positive control은 34.75 mm의 생육억제환을 나타내었다. FDAFWEx의 첨가량이 증가할수록 *S. mutans*와 *S. aureus* 균의 성장억제 면적이 증가하여 아까시꽃 열수추출물의 첨가량이 증가할수록 항균력이 높아졌다. 즉, 평판배지 확산법을 이용하여 치아관련 질환 원인균의 일종인 *S. mutans*와 *S. aureus*에 대한 항균 활성을 확인한 결과, 아까시꽃, 송지 및 토판염을 이용한 구강세정제는 치아관련 질환 예방을 위한 A사의 구강세정제와 비교했을 때, 구강질환의 원인균에 대한 항균 활성이 벤제토늄클로라이드(benzethonium chloride)이나 클로르헥시딘과 같은 화학물질이 첨가되지 않았음에도 우수한 항균 활성 수준을 나타냈다. 이상의 결과로 본 연구에서 아까시꽃 추출물을 첨가한 구강세정제가 *S. mutans*와 *S. aureus*에 대해 항균 활성을 나타낸 것은 천연물을 이용한 구강세정제 개발의 기초자료로 활용될 수 있는 가능성을 제시하는 긍정적 결과로 사료되는 바이다.

Conclusion

본 연구에서는 아까시꽃의 건조방법에 따른 항산화 활성을 측정 한 결과 동결건조 방법이 가장 항산화 활성이 우수하였다. 이에 아까시꽃을 동결건조하여 열수추출한 FDAFWEx를 송지 및 토판염과 혼합하여 제조한 천연 구강세정제의 항산화 활성과 항균 활성을 측정하였다. 그 결과, FDAFWEx 첨가량이 증가할수록 DPPH 라디칼 소거능이 유의하게 높아졌음을 확인하였다. *S. mutans*와 *S. aureus* 균에 대한 항균 활성도 FDAFWEx 첨가량이 증가할수록 높게 나타났다. 이상의 결과를 통해, FDAFWEx, 송지 및 토판염을 이용하여 제조한 구강세정제는 구강위생관리를 위한 천연 구강세정제로서의 가능성이 있을 것으로 사료되며 향후 천연 구강세정제에 대한 연구가 더 진행되기를 기대하는 바이다.

This work is part of Suk-Hee Youn's M.S. thesis at Kyonggi University, Seoul, Korea.

References

Assev S, Scheie AA, Rolla G. Potential of xylitol, mannitol, and sorbose to inhibit metabolism in *Streptococcus sobrinus* OMZ 176. *Journal of Dental Research*, 68: 1729-1731, 1989.

Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181: 1199-1200, 1958.

Cho BJ, Hong JY, Kim M, Song YO. Development of mouthwash products with solid fermented oriental medicinal herb. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 43: 1380-1387, 2014.

Choi IH, Choi TH, Park Y, Lee OK, Kwon YH, Kang HY, Park IK, Choi DH, Shin SC, Lee HJ. Studies on biological activity of wood extractives (X VII): components and antioxidant activity of *Alnus firma*. *Journal of the Korean Wood Science and Technology*, 34: 95-100, 2006.

Chung KS, Lee HJ. Studies of nasal carriage and antimicrobial susceptibility test of *Staphylococcus aureus* in college students and general hospital personnel in Incheon city. *Journal of Environmental Health Sciences*, 19: 71-76, 1993.

Ciancio SG. Agents for the management of plaque and gingivitis. *Journal of Dental Research*, 71: 1450-1454, 1992.

Corner AM, Dolan MM, Yankell SL, Malamud D. C31G, a new agent for oral use with potent antimicrobial and antiadherence properties. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 32: 350-353, 1988.

Davis WB. Determination of flavanones in citrus fruits. *Analytical Chemistry*, 19: 476-478, 1947.

Fellegrini N, Ke R, Yang M, Rice-Evans C. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis (3-ethylenebenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Methods in Enzymology*, 299: 379-389, 1999.

Folin O, Denis W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *The Journal of Biological Chemistry*, 12: 239-243, 1912.

Gibbons RJ, Houte JV. Bacterial adherence in oral microbial ecology. *Annual Review of Microbiology*, 29: 19-44, 1975.

Hamada S, Koga T, Ooshima T. Virulence factors of *Streptococcus mutans* and dental caries prevention. *Journal of Dental Research*, 63: 407-411, 1984.

Hamada S, Slade HD. Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiological Reviews*, 44: 331-384, 1980.

Hanada N, Takehara T. (1→3)- α -D-glucan synthase from *Streptococcus mutans* AHT (serotype g) does not synthesise glucan without primer. *Carbohydrate Research*, 168: 120-124, 1987.

- Kim DH, Yoon YS, Joo KB, Lee KJ. The evaluation of efficacy on oral cavity cleaner (dental cleaner). *Korean Journal of Waters*, 2: 1-8, 2011.
- Kim JH, Ji CS, Jung BM, Kim BO, Yu SJ. Effect of mouthwash containing sun-dried salt on gingivitis and halitosis. *Oral Biology Research*, 39: 120-126, 2015.
- Kim S, Jang HJ, Yoo YG, Chu YS, Park YH, Park JW. The effect of mouthrinse products containing deep sea water. *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 33: 601-608, 2007.
- Kwon JH, Byun MW, Kim YH. Chemical composition of acacia flower (*Robinia pseudo-acacia*). *Korean Journal of Food Science and Technology*, 27: 789-793, 1995.
- Lee JY, Ko SH, Mun SJ, You JH, Kim SW. Analysis on the antioxidant activity and total phenolics in *Robinia pseudoacacia* L., exotic species. *The Journal of Korean Institute of Forest Recreation*, 16: 101-105, 2012.
- Mandel ID. Chemotherapeutic agents for controlling plaque and gingivitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 15: 488-498, 1988.
- Namba T. The encyclopedia of Wakan-Yaku with color pictures. Hoikusha Publishing, Osaka, p191, 1980.
- Park SA, Park J, Park CI, Jie YJ, Hwang YC, Kim YH, Jeon SH, Lee HM, Ha JH, Kim KJ, *et al.* Cellular antioxidant activity and whitening effects of *Dendropanax morbifera* leaf extracts. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 41: 407-415, 2013.
- Slots J. Subgingival microflora and periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 6: 351-382, 1979.
- Song WS, Son SH, Chung HJ. A clinical trial of dextranase-containing mouthwash on the inhibition of plaque formation and gingivitis. *Journal of Dental Science*, 13: 343-360, 2001.
- Suk KD. Inhibitory effect of resina pini on growth of *Malassezia furfur* Bailon. *Journal of Korean Society for Hygienic Sciences*, 10: 227-231, 2004.
- Takahashi N. Microbial ecosystem in the oral cavity: metabolic diversity in an ecological niche and its relationship with oral diseases. *International Congress Series*, 1284: 103-112, 2005.
- Yoon HH, Chang HC. Growth inhibitory effect of kimchi prepared with four year-old solar salt and topan solar salt on cancer cells. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 40: 935-941, 2011.

국문초록

아까시꽃, 송지 및 토판염을 이용한 구강세정제의 항산화 및 항균 활성

윤석희, 한정순*, 김애정*

경기대학교 대체의학대학원 식품치료전공, 서울, 한국

목적: 본 연구는 동결건조 아까시꽃 열수추출물을 송지 및 토판염과 혼합하여 제조한 구강세정제의 항산화 활성과 항균 활성을 측정하여 천연 구강세정제로서의 가능성을 탐색하고자 수행되었다. **방법:** 아까시꽃을 동결건조, 볶음건조, 열풍건조 방법으로 항산화 활성을 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거능과 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) 라디칼 소거능으로 측정하였다. 구강세정제의 항산화 활성은 DPPH 라디칼 소거능으로 측정하였다. 항균 활성은 확산천법에 의해 평가하였다. **결과:** 아까시꽃은 동결건조하였을 때 가장 항산화 활성이 우수하였다. 동결건조 아까시꽃 열수추출물의 첨가 함유량이 증가할수록 항산화 활성이 증가하였다. 항균 활성도 동결건조 아까시꽃 열수추출물의 첨가량이 증가할수록 높게 나타났다. **결론:** 이상의 결과 동결건조 아까시꽃 열수추출물, 송지 및 토판염을 이용하여 제조한 구강세정제는 항산화 및 항균 효과를 나타내어 구강위생관리를 위한 천연 구강세정제로서의 가능성을 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

핵심어: 항산화 활성, 항균 활성, 구강세정제, 아까시꽃, 송지

참고문헌

- 권중호, 변명우, 김영희. 아카시아(*Robinia pseudo-acacia*) 꽃의 화학성분 조성. *한국식품과학회지*, 27: 789-793, 1995.
- 김동희, 윤양숙, 주경복, 이규재. 구강청결제(덴탈크리어)의 효능 평가. *한국물학회지*, 2: 1-8, 2011.
- 김선아, 장혜진, 유영근, 추용식, 박양호, 박준우. 해양심층수를 이용한 구강청정제의 효과. *대한구강악안면외과학회지*, 33: 601-608, 2007.
- 박수아, 박준, 박찬일, 지영중, 황윤찬, 김용현, 전소하, 이혜미, 하지훈, 김경진, 등. 황칠나무 잎 추출물의 세포 항산화 활성과 미백활성 측정. *한국미생물·생명공학회지*, 41: 407-415, 2013.
- 석귀덕. 송지(松脂)의 비듬균(*Malassezia furfur* Bailon) 증식 억제 효과. *한국위생과학회지*, 10: 227-231, 2004.
- 송우성, 손성희, 정현주. Dextranase 함유 구강 세정액의 치태 제거 및 치은염 예방 효과에 관한 임상적 연구. *구강과학*, 13: 343-360, 2001.
- 윤해훈, 장해춘. 토판염 및 4년 숙성 천일염으로 제조한 김치의 암세포 성장 억제 효과. *한국식품영양과학회지*, 40: 935-941, 2011.
- 이준영, 고성현, 문성주, 유주한, 김상욱. 외래종 아까시나무의 항산화 효과와 총 페놀류 함량 분석. *한국산림휴양학회지*, 16: 101-105, 2012.
- 정경석, 이희주. 인천시내 일부 종합병원 종사자와 대학생의 비강내 *Staphylococcus aureus*의 보균상태 및 항균제에 대한 감수성. *한국환경보건학회지*, 19: 71-76, 1993.
- 조병제, 홍준영, 김미정, 송영욱. 고체발효 한약재 추출물을 함유한 구강세척제 개발. *한국식품영양과학회지*, 43: 1380-1387, 2014.

中文摘要

刺槐、松脂和土版盐漱口剂的抗氧化及抗菌活性

尹錫姬, 韓正順*, 金愛貞*

京畿大学代替医疗大学院食品治疗学科, 首尔, 韩国

目的: 利用冷冻干燥的刺槐花热水提取物、松脂和土版盐混合制备漱口剂并测定抗氧化活性和抗菌活性, 探索其作为天然漱口剂的适用可行性。**方法:** 对刺槐花分别采用冷冻干燥、焙烧、热风干燥等预处理, 并测定1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 自由基消除能力和2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) 自由基消除能力来评价抗氧化活性。对漱口剂的抗氧化活性通过DPPH自由基消除能力来测定。利用纸片扩善法来评价抗菌活性。**结果:** 刺槐花在冷冻干燥时, 其抗氧化活性最优秀。冷冻干燥的刺槐花热水提取物的含量增加, 其抗氧化活性以及抗菌活性也随之增加。**结论:** 通过以上结果得出, 利用冷冻干燥的刺槐花热水提取物、松脂和土版盐混合制备的漱口剂具有抗氧化及抗菌效果, 因此作为口腔卫生管理天然漱口剂充分具有可行性。

关键词: 抗氧化活性, 抗菌活性, 漱口剂, 刺槐花, 松脂