

박하추출물의 구강미생물에 대한 항균효과

최별보라^{1†}, 윤세은^{2†}, 박상례³, 김규천²¹피글 기업부설연구소, ²부산대학교 치의학전문대학원 구강해부학교실, ³경남정보대학교 치위생과Effectiveness of mentha extracts against oral microorganisms:
an *in vitro* studyByul Bo Ra Choi^{1†}, Se Eun Yun^{2†}, Sang Rye Park³, Gyoo Cheon Kim²¹Feagle Co., Ltd., ²Department of Oral Anatomy, School of Dentistry, Pusan National University, Yangsan,
³Department of Dental Hygiene, Kyungnam College of Information & Technology, Busan, Korea

Received: December 13, 2019

Revised: April 11, 2020

Accepted: April 28, 2020

Corresponding Author: Gyoo Cheon Kim
Department of Oral Anatomy, School of
Dentistry, Pusan National University, 49
Busandaehak-ro, Mulgeum-eup, Yangsan
50612, Korea

Tel: +82-51-510-8243

Fax: +82-51-510-8241

E-mail: ki91000m@pusan.ac.kr

https://orcid.org/0000-0003-3568-3529

*This work was supported by a 2-Year
Research Grant of Pusan National
University.†These authors contributed equally to this
work.**Objectives:** Dental caries and periodontal disease are infectious and chronic diseases. The aim of the study was to investigate the antimicrobial effect of mentha extracts against *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) and *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*).**Methods:** This activity of mentha extracts were confirmed by the disk diffusion test and minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC) and colony forming unit (CFU) assays.**Results:** *S. mutans* and *P. gingivalis* showed the highest antimicrobial activity within the inhibition zones. The antimicrobial activity was interrupted as the MIC and MBC of the herbal extracts against the two bacteria were 1 mg/ml and 10 mg/ml, respectively. The antimicrobial effect was determined by the CFU assay.**Conclusions:** Mentha herb extract demonstrated potential antimicrobial activity against *S. mutans* and *P. gingivalis* that cause dental caries and periodontal disease.**Key Words:** Antimicrobial effect, Mentha extracts, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans*

서론

인간의 수명이 점점 늘어나고 삶의 질이 향상됨에 따라 구강 건강에 대한 관심도 점차 높아지고 있다¹⁾. 대부분의 구강 질환들은 세균감염으로 인해 발생되고, 구강에 존재하는 다양한 세균들이 구강내 질환을 유발하여 구강질환뿐만 아니라 전신건강에도 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다²⁾.

사람의 구강에는 600종 이상의 다양한 세균들이 상주하고 있으며, 성인의 약 60%가 대표적인 구강질환인 치아우식증과 치주질환

을 겪고 있다고 알려져 있다³⁾. 치아우식을 유발하는 대표적인 세균은 *Streptococcus mutans* (*S. mutans*)와 *Streptococcus sobrinus* 등⁴⁾이 있으며, 치주질환과 관련된 주요 세균들은 *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), *Actinobacillus actinomycetemcomitans* 그리고 *Treponema denticola*⁵⁾가 있다.

치아 상실의 주요 원인인 치아 우식은 치아 법랑질 표면에 산을 생성하는 세균인 *S. mutans*로 인해 발생된다. *S. mutans*는 치아우식의 주요 원인균으로 glucosyltransferase를 분비하여 자당으로 부터 점착성의 비수용성 glucan을 합성한다. 점착성의 성격을 지닌 glucan은

다른 세균이 치면에 부착하도록 매개하여 치면세균막 형성을 촉진시킨다. 또한 *S. mutans*는 유기산인 젖산을 생산하게 되는데 pH가 5.5 이하가 되면 치아의 법랑질 부분이 탈회되기 시작하여 최종적으로 치아 우식이 발생하게 된다^{6,7)}.

치주질환은 구강 내에 존재하는 원인균 및 균에 의해 생성되는 독소에 의하여 발생하게 된다. 또한 치아 주위 조직이 파괴되는 염증성 질환으로 성인기에 발생하는 치아 상실의 주요 원인이다⁸⁾. *P. gingivalis*는 그람 음성의 혐기성 세균으로 만성 치아주위조직염에서 주로 검출되며 치은 연하부에 주로 집락을 형성한다. 또한 이 세균은 치주 조직에 직접적으로 독소를 배출하여 조직파괴를 하기도 하지만 숙주 세포와 반응하여 또 다른 이차적 산물을 만들어내어 조직파괴를 하기도 한다⁹⁾.

치아 상실의 원인이 되는 치아우식이나 치주질환을 예방할 수 있는 방법은 물리적으로 미생물을 제거하거나 화학적으로 억제하는 것이다. 현재 구강 내 존재하는 미생물의 증식을 억제하거나 예방 가능한 기능성 구강용품들이 많이 개발되고 있다. 하지만 기존에 사용되고 있는 합성 항균 물질들이 최근 부작용으로 인한 단점이 부각됨에 따라 안전하게 대체가능한 천연물에 대한 관심이 증가하고 있다.

이번 연구에서 사용한 박하의 학명이 *Mentha arvensis* Linné var. *pipeascens* Malinvaud ex Holmes (Mentha Herb)로 꿀풀과에 속하며 다년생 초본이다¹⁰⁾. 박하의 서식처는 습기가 있는 들이나 습지이며, 우리나라 각처에 자생하는 약용식물이다¹¹⁾. 박하의 조성은 멘톨, 멘톤, 이소멘톤 그리고 유칼립투스 등으로 구성되어 있으며¹²⁾ 주로 항산화작용¹³⁾, 항암작용¹⁴⁾, 항알러지 작용¹⁵⁾ 및 진통 효과¹⁶⁾가 있다고 알려져 있다. 하지만 치아우식증이나 치주질환을 치료하거나 예방하는 작용에 대해서는 아직 연구가 미미한 실정이다.

따라서 이번 연구는 천연 항균물질로 알려진 박하가 *S. mutans*와 *P. gingivalis*의 생존에 미치는 영향을 확인하고 박하추출물이 구강항균제로써 항균효과에 대해 평가하고자 하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

실험균으로 사용된 박하는 중국산이며 (주)동우당에서 구입하여 모든 실험에 사용하였다. 추출하기 전 박하를 작은 크기로 파쇄한 후 10배의 70% 에탄올 용매로 혼합하고 60℃에서 12시간 전탕 처리하였다. 그 후 여과지를 이용해 상층액만 획득하고 감압 농축기(R-114; BÜCHI. Flawil, Switzerland)로 농축액을 얻었다. 농축된 박하추출물은 동결건조기(FD, Ilshin Lab, Yangju, Korea)로 -70℃에서 건조하여 Dimethyl sulfoxide (DMSO; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)에 녹여 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 박하추출물의 농도는 1, 2, 3, 4 그리고 5 mg/ml로 syringe filter (DISMIC-25CS; Advantec, Dublin, CA, USA)로 여과한 후 배지에 희석하여 사용하였다. 이번 실험에 사용한 균주는 치아 우식 유발균으로 알려진 *S. mutans* (KCTC 3065)와 치주 질환 유발균으로 알려진 *P. gingivalis* (KCTC 5352)는 각각 한국생명공학 연구원 생물자원센터(KCTC, Daejeon, Korea)로부터 분양 받아 실험에 사용하였다. 본 실험에 사용되기 전

각 균주는 최적의 배양 조건에서 3-4회 계대 배양 후 실험에 사용되었으며 각 균주의 배양 조건은 다음과 같았다(Table 1).

2. 연구방법

2.1. 디스크 확산법(Disk diffusion method)을 이용한 박하추출물의 항균 활성 측정

구강 관련 균주에 대한 박하추출물의 항균효과를 측정하기 위해 실험 균주들을 1×10^5 colony forming units (CFU)로 배양하여 균 100 μ l과 배지 900 μ l로 희석하여 agar dish에 1 ml를 분주하여 도말하였다. 그런 다음 멸균된 paper disc (49005010; Advantec, Dublin, CA, USA)를 놓고, 박하추출물을 농도별로 150 μ l씩 각 paper disc에 천천히 점적한 후 최대한 밀착시켜 clean bench안에서 건조하였다. 37℃의 배양기에서 24시간 동안 배양 후 paper disc 주위에 생성된 생균 억제대의 직경(mm)을 자로 잰 후 사진으로 촬영하였다. 통계학적으로 유의성을 확인하기 위해 3회 독립적으로 시행하였다.

2.2. 박하추출물의 최소억제농도(Minimum Inhibitory Concentration, MIC) 및 최소살균농도(Minimum Bactericidal Concentration, MBC) 측정

구강 관련 균주에 대한 박하추출물의 최소억제농도와 최소살균농도를 측정하기 위해 실험 균주들을 1×10^5 colony forming units (CFU)로 배양하여 균 100 μ l과 농도별 박하추출물 900 μ l로 희석하여 24시간 동안 배양하였다. 그 후 96-well plate에 넣고 ELISA reader (Multiskan FC microplate; Thermo Scientific, Rockford, IL, USA)를 이용해 파장 660 nm에서 측정하였다. 최소억제농도를 구별하기 위해서 흡광도의 증가가 나타나지 않는 최소의 농도를 확인하여 측정하였다. 또한, 최소살균농도를 확인하기 위해 나타나는 균의 수가 99.9% 사멸하는 농도를 정해 측정하였다. 통계학적으로 유의성을 확인하기 위해 3회 독립적으로 시행하였다.

2.3. 박하추출물의 집락 형성능 측정(Colony Forming Unit, CFU)

구강 관련 균주에 대한 박하추출물의 생균수를 측정하기 위해 실험 균주들을 5×10^4 colony forming units (CFU)로 배양하여 균 100 μ l과 농도별 박하추출물 900 μ l로 희석하여 6시간 동안 배양하였다. 그 후 agar dish에 1 ml를 분주하여 도말하였다. 도말된 각 균들은 37℃ 배양기에서 24시간 후 꺼내 생균수를 측정하였다. 통계학적으로

Table 1. The bacteria conditions of *S. mutans* and *P. gingivalis*

Species and strains	Media	Straining properties and culture requirement
<i>S. mutans</i> /KCTC 3065	Brain heart infusion/agar	Gram positive and facultative anaerobic
<i>P. gingivalis</i> /KCTC 5352	Tryptic soy broth, yeast extract, L-cystein hydrochloride, hemin, vitamin K1/agar	Gram negative and anaerobes

유의성을 확인하기 위해 3회 독립적으로 시행하였다.

2.4. 통계분석

실험 후 얻은 모든 성적은 IBM SPSS Statistics 24.0 (IBM Co., Armonk, NY, USA) 프로그램을 이용하여 평균과 표준편차로 표기하였다. 대조군과 실험군 간의 유의성은 추출액을 처리한 전 후 비교이기 때문에 비모수 검정인 Mann-Whitney U test로 분석을 한 후 P 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

연구 성적

1. 박하추출물을 처리한 *S. mutans*와 *P. gingivalis*의 농도별 항균효과

*S. mutans*와 *P. gingivalis*에 대한 항균력을 측정하기 위해 박하추출물을 paper disk에 처리하여 농도별 항균효과를 확인하였다(Fig. 1). 그 결과, 박하추출물이 *S. mutans*와 *P. gingivalis*에 대해 높은 항균효과가 있는 것으로 확인되었고, 이를 수치화한 결과는 Table 2와 같았다. *S. mutans*의 경우 박하추출물의 0, 1, 2, 3, 4, 5 mg/ml 농도별 처리 시 각각 0.00 ± 0.00 , 11.00 ± 0.50 , 13.00 ± 0.00 , 13.70 ± 0.30 , 14.70 ± 0.30 , 15.70 ± 0.30 mm의 생육 저해환이 관찰되었다. *P. gingivalis*의 0, 1, 2, 3, 4, 5 mg/ml 농도별로 처리 시 각각 0.00 ± 0.00 , 0.00 ± 0.00 , 0.00 ± 0.00 , 0.00 ± 0.00 , 11.70 ± 0.30 , 14.00 ± 0.60 mm의 생육 저해환이 나타났다. *S. mutans*와 *P. gingivalis* 모두 박하추출물의 농도가 증가할수록 유의적으로 생육 저해환이 커지는 것을 확인할 수 있었다.

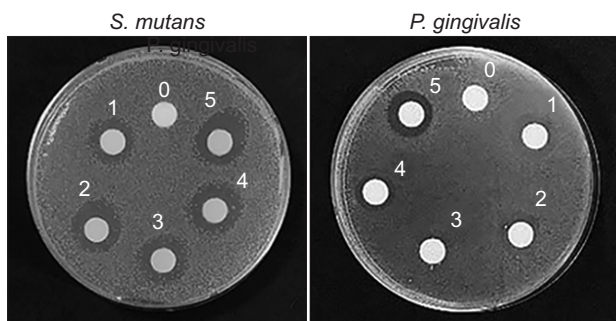


Fig. 1. The clear zone of oral pathogens by mentha herb extracts.

Table 2. Antimicrobial activity of oral pathogens by mentha herb extracts

Strains	Concentration (mg/ml)					
	0	1	2	3	4	5
Diameter of clear zone (mm)						
<i>S. mutans</i> /KCTC 3065	0.00 ± 0.00	$11.00 \pm 0.50^*$	$13.00 \pm 0.00^*$	$13.70 \pm 0.30^*$	$14.70 \pm 0.30^*$	$15.70 \pm 0.30^*$
<i>P. gingivalis</i> /KCTC 5352	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	$11.70 \pm 0.30^*$	$14.00 \pm 0.60^*$

* $P < 0.001$.

2. 박하추출물을 처리한 *S. mutans*와 *P. gingivalis*의 최소저해농도와 최소살균농도

박하추출물이 *S. mutans*와 *P. gingivalis*의 생육을 저해하는데 필요한 최소농도를 확인하기 위해 각 균의 흡광도를 측정하여 최소저해농도를 측정하였다. 또한, 같은 실험 방법으로 최소의 살균효과를 보기 위한 최소 살균 농도를 측정하였다. 그 결과 *S. mutans*와 *P. gingivalis* 모두 1 mg/ml 농도에서 최소저해농도를 나타내었으며(Table 3), 최소 살균 농도를 조사한 결과, *S. mutans*와 *P. gingivalis* 각각 10 mg/ml과 10 mg/ml 농도에서 최소살균농도를 나타내었다. 즉, *S. mutans*와 *P. gingivalis*의 MIC와 MBC는 1 mg/ml과 10 mg/ml로 동일한 것으로 나타났다.

3. 박하추출물의 처리 농도에 따른 *S. mutans*와 *P. gingivalis* 균의 증식 억제 효과

박하추출물을 각 균주별로 0, 1, 2, 3, 4, 5 mg/ml 농도로 첨가한 후 *S. mutans*와 *P. gingivalis*를 접종하여 나타난 결과는 Fig. 2와 같았다. 각각의 균주에 박하추출물을 처리 시 농도가 높을수록 집락 형성 능력이 감소하였으며, 이는 모든 균에서 통계학적으로 유의하게 나타났다($P < 0.001$). 또한 *S. mutans*는 박하추출물의 농도가 0, 1, 2, 3, 4 그리고 5 mg/ml로 증가 시 5.87, 3.04, 2.59, 2.21, 1.93 그리고 1.74 log CFU/ml로 감소하였으며, *P. gingivalis*는 박하추출물의 농도가 0, 1, 2, 3, 4 그리고 5 mg/ml로 증가하였을 때 5.43, 2.88, 2.75, 2.35, 1.90 그리고 1.41 log CFU/ml로 감소하였다(Fig. 3).

고 안

최근 생활수준의 향상으로 건강과 삶의 질이 우선시되면서 전신건강과 매우 밀접한 구강 건강에 대한 중요성이 점점 강조되고 있다. 구강 건강을 위한 관리용품에는 물리적으로 사용되는 칫솔이나 화학적으로 사용되는 구강 양치액 등이 있다. 그중 특히 간편하게 사용할 수 있는 구강 양치액은 성분에 따라 효능 차이가 있으며, 그에 따른 부작용

Table 3. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of oral pathogens by mentha herb extracts

Strains	MIC	MBC
	Concentration (mg/ml)	
<i>S. mutans</i> /KCTC 3065	1	10
<i>P. gingivalis</i> /KCTC 5352	1	10

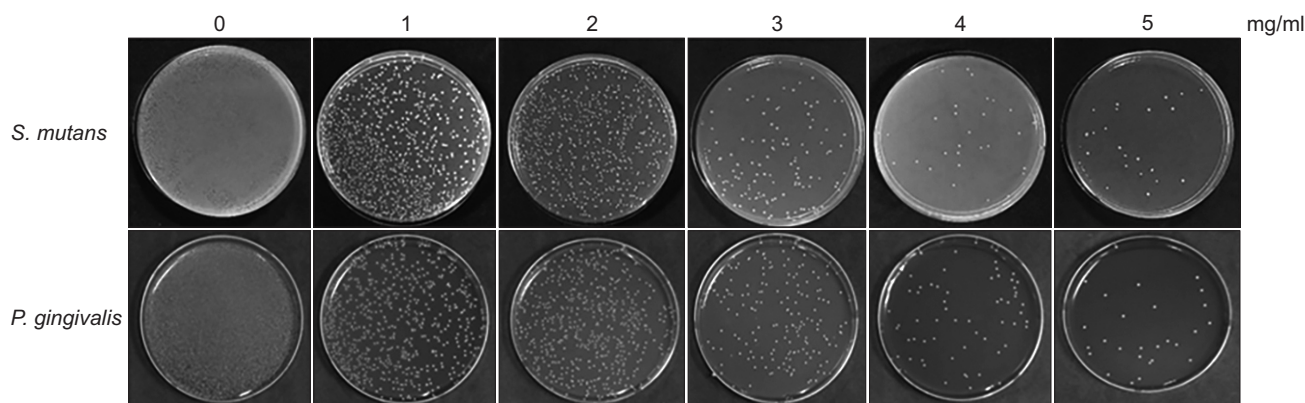


Fig. 2. The colony forming unit (CFU) of oral pathogens by mentha herb extracts.

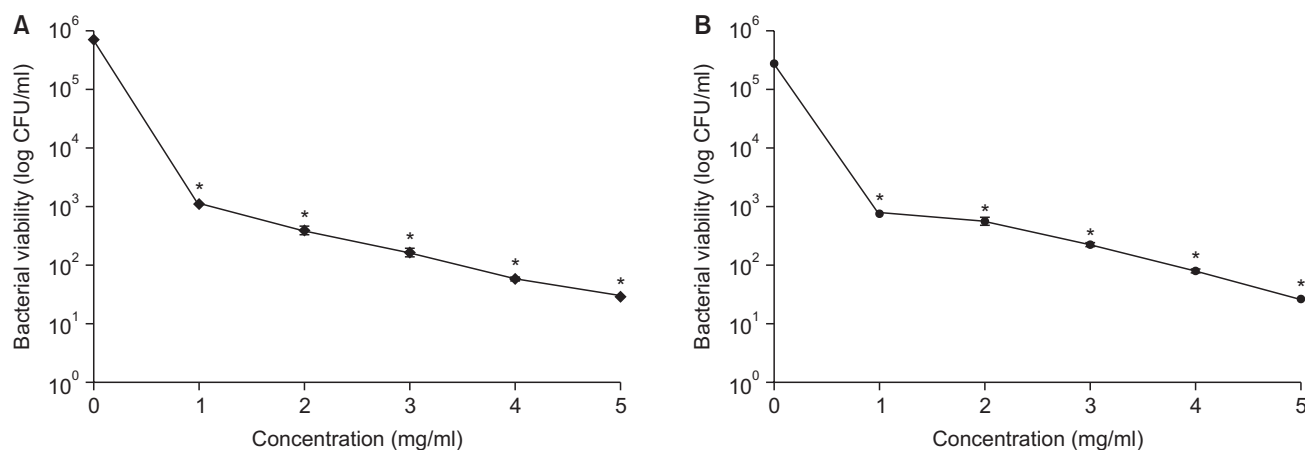


Fig. 3. Growth inhibition of oral pathogens by mentha herb extracts (* $P < 0.001$). (A) *S. mutans*, (B) *P. gingivalis*.

도 보고 되고 있다. Choi 등¹⁷⁾에 따르면 pH가 낮은 구강 양치액이 표면미세경도를 떨어뜨린다고 보고하였고, 장기간 사용 시 구강 내 착색이나 미각의 변화 등¹⁸⁾이 증명된 바 있다. 또한 구강 양치액에 흔히 사용되는 에탄올의 경우 구강암 유발과도 관련성이 높다고 보고된 바 있다¹⁹⁾. 이에 일반적으로 쓰이고 있는 화학적 구강 양치액을 구강 건강관리 용품으로 안심하고 사용하기에는 많은 위험성이 따른다. 이러한 이유로 인해 부작용 없이 인체에 안전하게 작용하면서 구강 양치액을 대체할 수 있는 천연 유래의 항균물질에 대한 연구가 최근 진행이 되고 있다.

천연유래물질로 구성된 추출물들은 오래전부터 아시아권이나 한국에서 질병을 치료하기 위한 방법이나 먹기 위한 수단으로 사용되어 왔다. 구강 유래 세균에 항균 효과가 있다고 알려진 천연물질들은 실생활에서도 쉽게 접할 수 있는데, 서양에서 주스나 요리로 많이 쓰이는 레몬껍질은 항산화 활성뿐만 아니라 *S. mutans*와 *P. gingivalis*에 항균활성을 가진다고 보고된 바 있다²⁰⁾. 또한 약용식물로 알려진 *Coptidis Rhizoma* (황련)는 치주질환 유발세균인 *P. gingivalis*와 *A. actinomycetemcomitans*에 대한 성장 억제 효과²¹⁾를 나타내며, 국화과의 여러해살이 풀인 인진쑥은 *P. gingivalis*와 *P. intermedia*에 항균 효과가 있는 것으로 보고 된 바 있다²²⁾.

이번 연구에서는 천연물로 알려진 박하추출물을 *S. mutans*와 *P.*

*gingivalis*에 처리 후 항균효과를 확인하기 위하여 실험을 진행하였다. 그 결과, 디스크 확산법을 이용한 실험 시 항균효과는 농도가 증가할수록 높은 항균활성이 나타났다. 군주별 항균효과는 *S. mutans*에서 박하추출물 5 mg/ml 처리 시 15.70±0.30 mm, *P. gingivalis*에서는 14.00±0.60 mm의 생육 저해환이 나타났으며, *P. gingivalis*보다 *S. mutans*에서 항균력이 유의하게 높게 나타났다. 이러한 연구결과는 Singh 등²³⁾의 연구와 동일한 결과를 보여주고 있으며, 박하추출물이 그람음성균보다 그람양성균에서 항균효과가 효과적인 것을 확인할 수 있었다. Lee와 Park²⁴⁾의 연구에 따르면 1%의 산초추출물을 *S. mutans*에 처리한 결과 생육 저해환의 크기가 1.45±0.24 cm으로 나타났으나, 본 연구에서는 박하추출물을 5 mg/ml 처리 시 생육 저해환의 크기가 15.70±0.30 mm로 나타났다. 또한, Choi 등²⁵⁾의 연구와 비교한 결과 황기추출물을 *P. gingivalis*에 20 mg/ml 처리 시 1 cm의 생육 저해환이 나타났으나, 박하추출물 4 mg/ml 처리 시 11.70±0.30 mm로 생육 저해환이 크게 나타났으며, 이는 박하추출물이 다른 천연추출물에 비해 구강미생물 항균작용에 효과적인 것으로 판단된다.

최소저해농도와 최소살균농도를 확인한 결과, 두 군주 모두 박하추출물 1 mg/ml에서 최소저해농도가 나타났으며, 또한 박하추출물 10 mg/ml에서 최소살균농도가 나타났다. 그중 *S. mutans*의 최소살

균농도는 5 mg/ml로 향균 추출물²⁶⁾과 연잎 추출물의 최소살균농도²⁷⁾보다 낮은 농도에서 효과가 있는 것으로 확인되었다.

또한 *S. mutans*와 *P. gingivalis*에 박하추출물을 처리 시 농도가 증가할수록 집락 형성 능력이 감소하였으며, 이 결과는 basil oil의 항균효과²⁸⁾와도 유사하다. *S. mutans*에서는 박하추출물 2 mg/ml에서 3 log CFU/ml 이상 감소하였으며, *P. gingivalis*에서는 박하추출물 3 mg/ml에서 3 log CFU/ml 이상 감소하는 경향을 보였다. 즉, 박하추출물에 의해 두 균 모두에서 99.9%의 높은 사멸율을 나타냈다.

이상의 결과로 박하추출물이 치아우식과 치주질환의 유발균인 *S. mutans*와 *P. gingivalis*에 효과가 있음이 증명되었으며, 화합물이 들어가지 않은 천연 유래의 물질이기 때문에 인체에 안전하고 부작용이 적어 향후 구강 양치액의 구성 성분으로써 활용도가 우수할 것으로 사료된다. 구강 양치액은 구강건강관리를 위한 보조수단으로 구강 내 세균활성을 억제하고 치아우식과 치주 질환을 치료하는데 도움을 주며 무엇보다 주위 조직에 위해작용이 없어야 한다. 이에 박하추출물은 구강 양치액으로 활용하기에 최적화된 물질이라 사료된다.

이번 연구의 제한점으로 박하추출물의 안전성을 검증하기 위하여 단일성분을 이용한 *in vivo* 및 *in vitro* 실험이 추가적으로 시행되어야 하며, 단일 균주가 아닌 구강내 미생물을 형성하는 바이오 필름을 이용하여 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결론

천연물질로 알려진 박하추출물이 치아 우식증과 치주질환의 유발균인 *S. mutans*와 *P. gingivalis*에 대한 항균 효과 실험을 진행한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 박하추출물을 처리한 *S. mutans*와 *P. gingivalis*의 생육 저해환을 확인한 결과, 농도 의존적으로 생육 저해환이 증가한 사실을 확인하였다.

2. 박하추출물이 *S. mutans*와 *P. gingivalis*의 생육을 저해하는데 필요한 최소농도와 최소살균농도를 측정된 결과, 각각 1 mg/ml과 10 mg/ml로 나타났다.

3. 박하추출물을 농도별로 *S. mutans*와 *P. gingivalis*를 처리 시 생존한 균수를 측정된 결과, 농도가 증가할수록 집락 형성 능력이 감소하였다.

이상의 결과, 박하추출물은 *S. mutans*와 *P. gingivalis*의 항균효과를 나타내며, 이는 박하추출물이 구강 내 양치액으로써의 가능성을 보이는 것으로 사료된다.

ORCID

Byul Bo Ra Choi, <https://orcid.org/0000-0001-7134-9734>

Se Eun Yun, <https://orcid.org/0000-0001-8997-3981>

Sang Rye Park, <https://orcid.org/0000-0001-5427-0207>

References

1. Lee SM, Kim SK, Kang BW. Adults concern for oral health and subjective oral health symptoms. J Korean Soc Dent Hyg 2011;11:871-880.
2. Kim CS, Choi YK. Survey of adults' perceptions of the association between chronic diseases and oral health. J Dent Hyg Sci 2017;17:12-19.
3. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. J Clin Microbiol 2005;43:5721-5732.
4. Contardo MS, Díaz NA, Lobos O, Padilla C, Giacaman RA. Oral colonization by *Streptococcus mutans* and its association with the severity of periodontal disease in adults. Rev Clin Periodoncia Implantol Rehabil Oral 2011;4:9-12.
5. Watanabe K, Frommel TO. *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Treponema denticola* detection in oral plaque samples using the polymerase chain reaction. J Clin Periodontol 1996;23 (3 Pt 1):212-219.
6. Yu HH, Kim DK, Kim JK, You YO. Effects of *Dianthus superbus* on activity of *Streptococcus mutans*. J Physiol & Pathol Korean Med 2010;24:854-858.
7. Kang KH, Kim JY, Nam JS, Jin IY. Isolation and characterization of the *Streptococcus mutans* from Korean children with caries. Biomed Sci Lett 2007;13:341-347.
8. Kim SQ, Shin MK, Auh QS, Lee JY, Hong JP, Chun YH. Effect of phytoncide on *Porphyromonas gingivalis*. J Oral Med Pain 2007;32:137-150.
9. Lee DJ, Han IM, Kim WJ, Cho IS. Anti-microbial, anti-inflammatory and anti-oxidative effects of herbal medicine extracts as anti-gingivitis ingredients. J Dent Hyg Sci 2010;10:25-29.
10. Choi DH, Seung OT, Lim MH. Comparative study of the biological activities effect of *Mentha arvensis* L. extracts from water and 80% ethanol. KSAST 2019;36:208-216.
11. Shin TY. Inhibition of immunologic and nonimmunologic stimulation-mediated anaphylactic reactions by the aqueous extract of *Mentha arvensis*. Immunopharmacol Immunotoxicol 2003;25:273-283.
12. McKay DL, Blumberg JB. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). Phytother Res 2006;20:619-633.
13. Dragland S, Senoo H, Wake K, Holte K, Blomhoff R. Several culinary and medicinal herbs are important sources of dietary antioxidants. J Nutr 2003;133:1286-1290.
14. Kim SM, Cho YS, Park SW. Cytotoxicity of methanol extracts of edible herbs against L1210 cells with the changes of antioxidant enzymes activities. Korea J Pharmacogn 2002;33:376-383.
15. Inoue T, Sugimoto Y, Masuda H, Kamei C. Antiallergic effect of flavonoid glycosides obtained from *Mentha piperita* L. Biol Pharm Bull 2002;25:256-259.
16. Göbel H, Schmidt G, Soyka D. Effect of peppermint and eucalyptus oil preparations on neurophysiological and experimental algesimetric headache parameters. Cephalalgia 1994;14:228-234.
17. Choi HJ, Lee HJ, Jeong SS, Choi CH, Hong SJ. Effect of mouthrinse with low pH on the surface microhardness of artificial carious enamel. J Korean Acad Oral Health 2012;36:161-166.
18. Khoo JG, Newman HN. Subgingival plaque control by a simplified oral hygiene regime plus local chlorhexidine or metronidazole. J Periodontal Res 1983;18:607-619.
19. McCullough MJ, Farah CS. The role of alcohol in oral carcinogenesis with particular reference to alcohol containing mouth washes. Aust Dent J 2008;53:302-305.
20. Miyake Y, Hiramitsu M. Isolation and extraction of antimicrobial

- substances against oral bacteria from lemon peel. J Food Sci Technol 2011;48:635-639.
21. Hu JP, Takahashi N, Yamada T. Coptidis rhizoma inhibits growth and proteases of oral bacteria. Oral Dis 2000;6:297-302.
 22. Chae GC, Auh QS, Chun YH, Hong JP. Antibacterial activity of *Artemisa capillaris* THUNB on oral bacteria. J Oral Medi Pain 2009;34:169-177.
 23. Singh R, Shushni MA, Belkheir A. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. Arabian J Chem 2011;8:332-328.
 24. Lee SG, Park CI. A study on the anti-microbial effect on *S. mutans* and anti-oxidant effect of *Zanthoxylum pericarpium* extract. Korean J Herbology 2011;26:181-185.
 25. Choi YR, Choi MS, Kwun HS, Nam SH. The inhibitory effect of *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) on Astragali radis extract. J Korean Soc Oral Health Sci 2019;7:46-50.
 26. Paek JY, Kim YH, Kwon HJ, Kim EN, Kim WJ, Han MD. Effects of antibacterial and adhesive inhibition of *Scutellaria baicalensis* extract on *Streptococcus mutans*. J Dent Hyg Sci 2008;8:367-373.
 27. Huh MK, Kim HJ. Antibacterial effect on leaf-extract from *Nelumbo nucifera* against oral microorganism. J Korean Soc Dent Hyg 2014;14:117-122.
 28. Yoon HS, Park CM. Anti-bacterial effects of Basil oil on *Streptococcus mutans* and *Porphyromonas gingivalis*. KSIM 2018;6:131-139.