

미산성 차아염소산수의 구강미생물에 대한 항균효과

박연경

김천대학교 치기공학과

Antimicrobial effect of slightly acidic electrolyzed water on oral microorganisms

Yeon-Kyung Park

Department of Dental Technology, Gimcheon University, Gimcheon, Korea

Received: September 27, 2013

Revised: December 23, 2013

Accepted: December 27, 2013

Corresponding Author: Yeon-Kyung Park
Department of Dental Technology,
Gimcheon University, 214 Daehak-ro,
Gimcheon 740-704, Korea
Tel: +82-54-420-4051
Fax: +82-54-420-4463
E-mail: vivakorea12@naver.com

Objectives: The purpose of this study was to evaluate the antibacterial effect of slightly acidic electrolyzed water (SAEW) for use as a mouth-rinse on seven oral pathogens.

Methods: In this study, SAEW with a pH of 6.2, oxidation-reduction potential of 728-800 mV, and available chlorine concentration of 30 mg/L was produced by electrolysis using an electrolysis device. The antimicrobial properties of SAEW against seven oral pathogens were determined by the agar diffusion method, minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC), and mouth rinsing tests.

Results: SAEW did not demonstrate any antimicrobial activity (disc diffusion method) against the seven oral pathogens under study. However, SAEW showed potent antimicrobial activity with an MIC value of 0.0075-0.015 mg/mL and a MBC value of 0.015-0.03 mg/mL. Mouth rinsing with SAEW showed 99.9% bacterial inhibition.

Conclusions: SAEW exhibited potent antimicrobial activity against all oral pathogens causing dental caries and periodontal disease. Therefore, the results of this study suggest that SAEW can be used as an effective mouth-rinse to prevent oral diseases and for oral hygiene management, with potential for commercial application.

Key Words: Antibacterial effect, Dental caries, Mouthwashes, Oral pathogens, Periodontal disease, Electrolyzed weak acid water

서론

구강 내에는 다양한 미생물 군총이 번식하고 있으며, 치아우식증 및 치주질환은 구강 상주 미생물 중 *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), *Streptococcus sobrinus* (*S. sobrinus*), *Actinomyces viscosus* (*A. viscosus*) 및 *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*)와 같은 구강 미생물에 의해 정상적 상주 미생물의 균형이 무너짐으로 인해 발생된다^{1,2)}. 치아우식증 및 치주질환은 구강질환 중 가장 빈번하게 발생하는 질환으로, 성인의 약 75% 이

상에서 발생하고 있으며, 구취로 인한 불쾌감, 통증으로 인한 섭식장애, 심할 경우 치아상실까지 초래하기 때문에 구강질환의 발생 후 치료를 하는 것보다 철저한 구강관리를 통한 질환의 발병을 예방하는 것이 더욱 효과적인 방법이라 하겠다. 그러나 구강질환은 생활습관과 생활양식, 유전적 요인, 환경적 요인 등이 복합적으로 작용하여 발생하는 다인성 질환이기 때문에, 이를 예방하기 위해서는 자신이 갖고 있는 행동이나 습관의 변화 뿐만 아니라 환경적 요인의 변화까지도 필요로 한다^{3,4)}.

구강 내 위생관리는 주로 칫솔질에 의해 이루어지며, 정상치

열의 치아사이나 치은열구부위에는 기구도달이 어려워 기계적인 칫솔질만으로 치태를 제거하거나 구강위생을 최고로 유지하기에는 다소 어려운 점이 있다⁵⁾. 이러한 치면세균막 제거를 위한 부가적인 수단으로서 구강양치용액의 사용 효과가 임상적으로 입증되어, 사용량이 점차 증가하는 추세이다⁶⁾. 구강양치용액의 주요활성 성분으로 사용되고 있는 천연·합성화합제제로는 chlorhexidine, triclosan, quaternary ammonium salt (sanguinarine), essential oils (thymol, menthol), 아연, 주석, 구리 등을 함유한 금속염 등이 있다. 그러나 이러한 물질은 치아 착색 유발, 나쁜 맛, 미각변화, 구강점막 작열감 유발, 보철물 변색, 과량 사용시 독성 우려 및 구강내 정상세균총의 변화 등의 부작용을 발생시킨다⁷⁾. 이에 강력한 항균효능을 지니면서 구강점막에 안전하여 부작용 없이 지속적으로 사용할 수 있는 식물 천연추출물을 이용한 새로운 양치용액을 개발하려는 많은 연구가 시도되고 있다⁸⁾.

차아염소산수(electrolyzed water; EW, 전해수)는 “염산 또는 식염수를 제조 장치 내에서 전기분해하여 얻어지는 것으로 차아염소산을 주성분으로 하는 수용액이며, 크게 강산성 차아염소산수와 강알칼리 차아염소산수, 미산성 차아염소산수”로 대별된다. 차아염소산수는 미국 환경보호국(United States Environmental Protection Agency; US EPA), 미국 식품의약국(United States Food and Drug Administration; US FDA), 미국 농무부(United States Department of Agriculture; USDA), 일본 후생노동성(Ministry of Health, Labour and Welfare; MHLW) 등에서 안전성을 인정받아 살균제로서 사용을 허가하였으며, 우리나라에서도 2007년 11월 식품첨가물공전에 고시(식품의약품안전청 고시 제2007-74호)하여 차아염소산수의 사용을 허가하였다. 미산성 차아염소산수(미산성 전해수; Slightly Acid Electrolyzed Water; SAEW)는 미생물, 바이러스, 조류에 이르기까지 광범위한 살균효능을 갖고 있으며, 인체에 안전하고, 환경 친화적인

특징을 갖고 있어 현재 세계적으로 식품산업(작업도구, 야채, 과일, 가금류, 육류, 해산물 등)과 농업 및 의료기기 등 여러 분야에 걸쳐 사용되고 있다⁹⁾. 식중독을 일으키기 쉬운 샐러드나 새싹채소와 같은 신선편의식품, 육류, 가금류, 해산물 등에 미산성 차아염소산수를 적용한 결과 미생물학적, 저장학적으로 안전성을 확인하였다¹⁰⁻¹²⁾. 식품의 적용 뿐만 아니라 고농도의 차아염소산수를 제조하여 마을상수도의 정수기술개발에 이용되고 있으며, 인플루엔자 바이러스, 공공부유 미생물의 제균효과가 있는 것으로 나타나 여러분야에 걸쳐 이용되고 있다^{13,14)}.

이에 본 연구에서는 인체에 안전하며 광범위한 살균효능을 나타내는 미산성 차아염소산수를 이용하여 치아우식증 및 치주질환을 일으키는 구강 미생물에 대한 항균효과를 조사하여 구강질환의 예방 및 치료를 위한 양치용액으로써의 사용 가능성을 탐색하고자 실험을 진행하였다.

연구대상 및 방법

1. 사용 균주 및 배양조건

미산성 차아염소산수의 구강미생물에 대한 항균효과를 측정하기 위하여 사용된 균주는 총 8종으로, 2종의 치아우식유발 원인균, 4종의 치주질환 원인균, 1종의 구강점막 원인균, 1종은 대조균으로 대장균을 사용하였다. 모든 균은 2회 계대하여 활성을 높인 후 실험에 사용하였다. 각 균주를 한국미생물보존센터(KCCM)와 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC)로부터 분양받아 사용하였다. 실험에 사용한 균주와 각 균주의 배양조건은 Table 1과 같았다.

Table 1. Bacterial stains used in this study and their media, culture condition

Strains	Culture condition	Media	Straining properties / Cultural requirements
<i>Streptococcus mutans</i> KCCM 40105 (SM)	37°C, Incubator	BRAIN HEART INFUSION AGAR (DIFCO 0418)	Gram positive / Facultative anaerobes
<i>Streptococcus sobrinus</i> KCCM 11897 (SS)	37°C, Incubator	TRYPTICASE SOY AGAR (BBL 211043; New No.) with 5% DEFIBRINATED SHEEP BLOOD	Gram positive / Facultative anaerobes
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> KCCM 12227 (AA)	37°C, Anaerobic chamber (5% CO ₂)	TRYPTICASE SOY AGAR (BBL 211043; New No.) with 5% DEFIBRINATED SHEEP BLOOD	Gram negative / anaerobes
<i>Porphyromonas gingivalis</i> KCCM 11958 (PG)	37°C, Anaerobic chamber (80% N ₂ , 10% CO ₂ , 10% H ₂)	MODIFIED CHOPPED MEAT MEDIUM	Gram negative / anaerobes
<i>Prevotella intermedia</i> KCTC 5506 (PI)	37°C, Anaerobic chamber (80% N ₂ , 10% CO ₂ , 10% H ₂)	MODIFIED CHOPPED MEAT MEDIUM	Gram negative / anaerobes
<i>Fusobacterium nucleatum</i> KCTC 5163 (FN)	37°C, Anaerobic chamber (80% N ₂ , 10% CO ₂ , 10% H ₂)	BRAIN HEART INFUSION AGAR (DIFCO 0418)	Gram negative / anaerobes
<i>Candida albicans</i> KCCM 11282 (CA)	25°C, Incubator	YM AGAR (DIFCO 0712)	Gram positive / aerobes
<i>Escherichia coli</i> KCCM 40880 (EC)	37°C, Incubator	TRYPTICASE SOY AGAR (BBL 211043; New No.)	Gram negative / Facultative anaerobes

2. 미산성 차아염소산수

2.1. 미산성 차아염소산수 제조

미산성 차아염소산수(Slightly acidic electrolyzed water, SAEW)는 미산성 차아염소산수 장치(model BC-360, Cosmic Round Korea Co., Seongnam, Korea)를 이용하여 pH는 6.2, 산화환원전위(Oxidation-reduction potential; ORP)는 728-800 mV, 유효염소농도(Available chlorine concentration; ACC)는 30 mg/L (ppm)의 조건으로 제조된 것을 (주)한국코스믹라운드(Cosmic Round Korea co., Ltd. Seongnam, Korea)로부터 받아 실험에 사용하였다.

2.2. 미산성 차아염소산수 물성 분석

미산성 차아염소산수의 pH는 pH meter (S20K, Mettler Toledo International Inc., Greifensee, Switzerland)로, 산화환원전위(ORP)는 ORP meter (RM-12P, TOA Electronics, Kobe, Japan)로 측정하였으며, 유효염소농도(ACC)는 Digital chlorine test kit (RC-3F, Kasahara Chemical Instruments Corp., Saitama, Japan)를 이용하여 측정하였다.

3. 디스크 확산법(disk diffusion test)에 의한 생육저해환(clear zone)의 측정

디스크 확산법을 이용하여 실험균주에 대한 미산성 차아염소산수의 생육저해환을 측정하기 위하여 BHI agar plate를 사용하였다. 균주는 2회 계대하여 활성을 높인 후 $1.0-2.0 \times 10^7$ CFU/ml의 농도로 준비하여 45°C로 유지된 top agar 5 ml에 1 ml씩 가하여 잘 혼합한 후, BHI agar plate에 도말하였다. 미산성 차아염소산수의 유효염소농도(ACC)를 30 mg/L (ppm)의 농도로 제조하여 8 mm 직경의 paper disc 위에 25 μ l씩 올리고 양성대조군(positive control)으로 리스테린(Johnson & Johnson Ltd., Thailand)과 400 mg/L (ppm) 농도로 제조된 chlorhexidine, 음성대조군으로 수돗물을 사용하였다. Top agar가 마른 후에 BHI agar plate 위에 각 실험용액이 적혀진 paper disc를 올리고 각 균주의 배양조건에 맞춰 48시간 동안 배양 후 생성된 생육저해환을 Burnier caliper (530-101, Mitutoyo Co., Tsukuba, Japan)를 이용하여 측정하였다.

4. 미산성 차아염소산수의 최소억제농도(MIC) 및 최소살균농도(MBC) 측정

각 실험균주에 대한 미산성 차아염소산수의 최소억제농도(minimum inhibitory concentration; MIC)를 측정하였다. MIC 측정방법은 Broth microdilution susceptibility tests를 National Committee for Clinical and Laboratory Standards (NCCLS, 2004)의 가이드라인에 따라 진행하였다. 실험균주를 2회 계대 배양한 균액의 일정액을 새 BHI 액체배지에 접종하여 McFarland # 흡광도의 1/2농도, 즉 10 ml 액체배지의 흡광도가 0.1(620 nm)이 되도록, 균액 농도가 $1.0-2.0 \times 10^6$ CFU/ml이 되도록 조정 후 96 well plate에 100 μ l씩 분주하였다. 미산성 차

아염소산수는 최고 농도를 30 mg/L으로 하여 2배씩 희석(step-wise 2-fold dilution)하여 7.5 mg/L까지 희석하였고, 리스테린은 최고농도를 원액(1 ml/ml)으로 하여 2배씩 희석하여 0.01563 ml/ml까지 희석하였다. Chlorhexidine은 최고농도를 0.4 mg/ml으로 하여 2배씩 희석하여 0.00039 mg/ml까지 희석하였다. 미산성 차아염소산수, Listerine 그리고 chlorhexidine을 실험균주가 접종된 96 well plate에 100 μ l씩 첨가하여 최종용량이 200 μ l가 되도록 하였다. plate를 각 실험균주의 배양조건에 맞게 48시간 동안 배양하면서 ELISA (Spectra Max 250, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 시간대별로 620 nm에서 흡광도를 측정하여 최소억제농도를 측정하였다. MIC 측정기준은 실험균주가 성장을 일으키지 않는 가장 낮은 농도로 정의하였으며, MIC 측정은 3회씩 독립적으로 시행하였다. 최소살균농도(Minimum bacterial concentration; MBC)는 MIC를 지정한 후 MIC와 같거나 높은 농도의 각 wells에서 50 μ l씩을 취해서 깨끗한 액체배지에 순차적으로 희석하여 각각의 agar 배지에 100 μ l씩을 분주하여 배양한 후, 나타나는 균의 수가 99.9% 사멸하는 농도로 결정하였으며, 3회 독립적으로 시행하였다.

5. 양치용액의 항균효과

미산성 차아염소산수의 유효염소농도 30 ppm이 되도록 제조한 양치용액 20 ml에 $1.2-5.4 \times 10^7$ CFU/ml로 배양시킨 각 실험균주를 1 ml 접종하여 3분간 방치하였다. 이후 각각 1 ml을 새로운 액체 배지에 연속적으로 희석하여 agar 배지에 100 μ l를 분주하여 각 실험균주의 생육환경에서 48-72시간 배양한 후 콜로니를 계수하였다. 양성대조군으로 Listerine과 chlorhexidine (0.4 mg/ml)을 사용하였다.

6. 통계분석

실험결과에 대한 통계분석은 SPSS 통계프로그램(Statistical Package for the Social Science, Ver. 17.0 SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 각 측정군의 평균과 표준편차를 산출하고 처리간의 차이 유무를 Kruskal-Wallis test로 분석한 뒤 Mann-Whitney U test로 각 실험군별 차이와 유의성을 검증하여 P값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

연구성적

1. 미산성 차아염소산수의 구강미생물에 대한 생육저해환 측정

광범위한 살균력과 인체에 안전한 이유 등으로 여러 분야에 걸쳐 사용되고 있는 미산성 차아염소산수를 30 mg/L의 농도로 제조하여 25 μ l씩 paper disc에 묻혀 생육저해환 측정을 통해 치아 우식증 및 치주질환 유발균 7종과 대장균 1종에 대한 항미생물 활성을 측정하였다(Table 2). 상용 양치가글액인 Listerine과 치과에서 처방되어 사용되고 있는 chlorhexidine은 구강미생물 7종에 대해 높은 항균효과가 나타난 것으로 확인되었고, chlorhexidine이 Listerine보다 생육저해효과가 유의적으로 높게 나타났다

($P<0.05$). Listerine의 경우 *E. coli*, *S. mutans*, *P. gingivalis* 순으로 16.1 ± 0.2 , 15.5 ± 0.4 , 14.9 ± 0.4 mm 생육이 저해되었고, chlorhexidine의 경우 *E. coli*, *S. mutans*, *S. sobrinus* 순으로 19.3 ± 0.3 , 18.7 ± 0.2 , 17.1 ± 0.3 mm 생육이 저해되었다. 그러나 디스크 확산법을 이용한 항균활성 실험에서는 미산성 차아염소산수와 대조군인 수돗물은 전혀 효과가 없는 것으로 나타났다.

2. 미산성 차아염소산수의 최소억제농도(MIC) 및 최소살균농도(MBC) 측정

치아우식증 및 치주질환 유발균 7종과 대장균 1종에 대하여 미산성 차아염소산수, Listerine, chlorhexidine의 최소성장억제농도(MIC)와 최소살균농도(MBC)를 측정하였다(Table 3).

Table 2. Antimicrobial activity of SAEW against the oral bacteria

Strains	Diameter of clear zone (mm)*		
	SAEW ^{†,‡}	Listerine [§]	Chlorhexidine
SM	- [¶]	$15.5\pm0.4^{**}$	18.7 ± 0.2
SS	-	12.8 ± 0.3	17.1 ± 0.3
AA	-	13.8 ± 0.3	14.5 ± 0.2
PG	-	14.9 ± 0.4	16.2 ± 0.3
PI	-	11.3 ± 0.2	13.8 ± 0.2
FN	-	14.1 ± 0.3	15.9 ± 0.2
CA	-	13.1 ± 0.4	15.5 ± 0.3
EC	-	16.1 ± 0.2	19.3 ± 0.3
P-value		$<0.05^{++}$	

SM, *S. mutans* KCCM 40105; SS, *S. sobrinus* KCCM 11897; AA, *A. actinomycetemcomitans* KCCM 12227; PG, *P. gingivalis* KCCM 11958; PI, *P. intermedia* KCTC 5506; FN, *F. nucleatum* KCTC 5163; CA, *C. albicans* KCCM 11282; EC, *E. coli* KCCM 40880.

*Includes the disc diameter (8 mm).

[†]Slightly Acid Electrolyzed water.

[‡]0.75 g/disc, [§]25 g/disc, ^{||}10 g/disc.

[¶]Not detected.

**MD±SD denote Mean difference±Standard deviation.

⁺⁺ $P<0.05$ obtained by Kruskal-Wallis test.

MIC와 MBC 측정 실험에서는 생육저해환 측정 실험과는 다르게 미산성 차아염소산수의 살균효능이 확인되었다. 미산성 차아염소산수의 SM, SS, AA, PG, PI, FN, CA 균에서 모두 0.015 mg/ml 농도에서 최소억제농도를 보였으며, EC 균은 0.0075 mg/ml 농도에서 최소억제농도를 보였다. Listerine의 경우 SM, SS, AA, PG, PI, FN, CA, EC 순으로 0.01563, 0.03125, 0.03125, 0.01563, 0.03125, 0.03125, 0.01563, 0.03125 mg/ml의 농도에서 최소억제농도를 보였고, chlorhexidine은 SM, SS, AA, PG, PI, FN, CA, EC 순으로 0.00039, 0.00039, 0.00156, 0.00313, 0.00313, 0.00156, 0.00156, 0.00078 mg/ml의 농도에서 최소억제농도를 보였다. 미산성 차아염소산수의 최소살균농도를 조사한 결과, AA, PI, FN균이 0.03 mg/ml, EC균이 0.015 mg/ml 농도에서 최소살균농도를 보였고 나머지 균들은 최소억제농도와 같은 농도를 나타내었고, Listerine은 SM, CA 균이 0.03125 mg/ml, AA, PI 균이 0.0625 mg/ml 농도에서 최소살균농도를 보였고, 나머지 균들은 최소억제농도와 같았다. Chlorhexidine은 SM 균이 0.00078 mg/ml, AA, FN 균이 0.00313 mg/ml, EC 균이 0.00156 mg/ml 농도에서 최소살균농도를 보였고, 나머지 균들은 최소억제농도와 같았다. Chlorhexidine의 MIC, MBC 실험에서 모두 미산성 차아염소산수, Listerine 보다 항균효능이 통계적으로 유의하게 높게 나타났다($P<0.05$).

3. 양치용액의 항균효과

최소억제농도(MIC) 및 최소살균농도(MBC) 실험 결과, 상용 양치가글액인 Listerine보다 높거나 비슷한 살균효능을 보인 미산성 차아염소산수의 양치용액으로써 가능성을 확인하기 위해 항균효과를 조사하였다. 배양된 8종의 실험균주 1 ml을 미리 제조해 놓은 3가지 가글액 20 ml에 접종하여 3분간 방치한 후 agar 배지에 도말하여 생존한 균수를 계산하였다. 3가지 가글액 모두에서 8 균주에 대해 10 CFU/ml 미만의 콜로니를 보여 99.9% 이상의 항균효과를 보였다(Table 4).

Table 3. Minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal concentration (MBC) of SAEW against the oral bacteria

Strains	MIC (mg/ml or ml/ml)			MBC (mg/ml or ml/ml)		
	SAEW*	Listerine	Chlorhexidine	SAEW	Listerine	Chlorhexidine
SM	0.01500	0.01563	0.00039	0.01500	0.03125	0.00078
SS	0.01500	0.03125	0.00039	0.01500	0.03125	0.00039
AA	0.01500	0.03125	0.00156	0.03000	0.06250	0.00313
PG	0.01500	0.01563	0.00313	0.01500	0.01563	0.00313
PI	0.01500	0.03125	0.00313	0.03000	0.06250	0.00313
FN	0.01500	0.03125	0.00156	0.03000	0.03125	0.00313
CA	0.01500	0.01563	0.00156	0.01500	0.03125	0.00156
EC	0.00750	0.03125	0.00078	0.01500	0.03125	0.00156
P-value		$<0.05^{\dagger}$			<0.05	

SM, *S. mutans* KCCM 40105; SS, *S. sobrinus* KCCM 11897; AA, *A. actinomycetemcomitans* KCCM 12227; PG, *P. gingivalis* KCCM 11958; PI, *P. intermedia* KCTC 5506; FN, *F. nucleatum* KCTC 5163; CA, *C. albicans* KCCM 11282; EC, *E. coli* KCCM 40880.

*Slightly Acid Electrolyzed water.

[†] $P<0.05$ obtained by Kruskal-Wallis test.

Table 4. Antimicrobial effects of mouth-rinses

Agent	Bacterial strains (CFU/ml)							
	SM	SS	AA	PG	PI	FN	Ca	EC
Control	1.2×10^7	2.4×10^7	3.7×10^7	2.0×10^7	1.8×10^7	2.1×10^7	2.9×10^7	5.4×10^7
SAEW	10<*	10<	10<	10<	10<	10<	10<	10<
Listerine	10<	10<	10<	10<	10<	10<	10<	10<
Chlorhexidine	10<	10<	10<	10<	10<	10<	10<	10<

SM, *S. mutans* KCCM 40105; SS, *S. sobrinus* KCCM 11897; AA, *A. actinomycetemcomitans* KCCM 12227; PG, *P. gingivalis* KCCM 11958; PI, *P. intermedia* KCTC 5506; FN, *F. nucleatum* KCTC 5163; CA, *C. albicans* KCCM 11282; EC, *E. coli* KCCM 40880.

*Limit of detection.

고 안

국민들의 건강에 대한 관심이 높아짐에 따라 건강 정보 접근성은 높아지고 있지만, 자신의 구강 상태 및 질환을 이해하고 구강 질환의 발병을 막기 위해 정보가 효과적으로 활용되지 못하고 있다. 구강질환은 청소년기의 구강건강의식행태가 성인이 되어 생을 다하는 날까지 삶에 영향을 미치기 때문에 매우 중요하다¹⁵⁾. 치아우식증과 치주질환은 치면세균막의 형성, 치아주위조직에 염증 발생, 최종적으로 치아 상실의 원인이 된다. 주로 청소년기에 급격히 발생하며, 장년기와 노년기에 치아를 발거해야 하는 큰 원인이 된다¹⁶⁾. Cheon 등¹⁷⁾은 고혈압 및 당뇨와 치주질환, 치아상실의 연관성에 대한 연구에서 치주질환이 있을 때 심근경색 발생률이 4.794배 높았고, 치주질환이 있으면서 상실치가 6개 이상이면 고혈압 발생률이 5.872배, 고지혈증은 4.068배, 뇌졸중은 6.836배, 심근경색증은 5.671배, 당뇨는 8.016배, 골다공증은 8.441배 높아지는 것으로 보고하였다. 치아가 상실되는 것을 예방하기 위해서는 구강질환이 급격히 발생하는 청소년기에 예방 및 병소를 조기 발견하여 치료하는 것이 최선의 방법이라 할 수 있다. 건강보험 통계연보 보고자료에 의하면 치아우식증, 치은염 및 치주질환은 최근 10년간 외래 10대 질환으로, 2006년부터 치은염 및 치주질환 환자수가 급증하여 2010년에는 7,941,305명으로 외래 다빈도 3위의 질환이 되었다. 뿐만 아니라 치아우식증, 치은염 및 치주질환으로 인한 진료비의 경우 2004년도 4,257억원에서 2010년 7,051억원으로 약 6년간 3천억원정도의 치료비가 증가하였다¹⁸⁾. 이처럼 구강질환은 타질환에 비해 질병의 경중도가 낮음에도 불구하고 국가와 국민이 지출하는 국민의료비가 타질환에 비해 막대할 뿐만 아니라 치료를 위한 의료비도 상당한 실정이다. 불필요한 의료비 지출의 경감과 국민의 구강건강을 통한 삶의 질적 향상을 위해 관리·예방책이 필요할 것으로 사료되었다. 따라서 우식 억제 및 치주질환에 효과가 있으면서 사용자들이 믿고 사용할 수 있는 인체에 안전한 물질의 새로운 탐색이 다소 필요하리라 사료되었다.

최근 상업적으로는 치약에 나노 크기의 탄산칼슘(nano sized calcium carbonate), 헥사메타인산나트륨(sodium hexameta-phosphate), 쿠르쿠마잔토리자유(Curcuma xanthorrhiza oil) 등과 같은 각종 유효성분을 첨가하여 법랑질의 재광화, 치면세균

막 형성 감소 및 치은염 감소 등의 효능을 얻고자 하는 연구들이 활발하게 진행되고 있으며^{19,20)}, water pick, 초음파 세정, 식물성분의 항균소재 검색, 상용 양치기글액 등 다양한 시도를 통한 구강질환 유발균의 생장을 억제하는 연구가 진행되고 있다^{21,22)}. 이에 본 연구에서도 구강질환을 억제할 수 있는 새로운 항미생물 소재를 탐색하여 양치기글액의 활용 가능성을 확인하고자 최근 살균성을 인정받아 여러 분야에 걸쳐 사용되고 있는 미산성 차아염소산수를 이용하여 구강질환 유발균 7종에 항균력을 측정하였다.

미산성 차아염소산수는 무격막식 전해조에서 희석 염산 또는 염화나트륨을 전기분해하여 전해물 전량을 원수에 혼합 용해하는 것에 의하여 얻어진 차아염소산을 주 유효성분으로 하는 미산성 수용액으로 pH는 5.0-6.5이다. 또한 유효염소농도는 0-30 mg/L 이고 무색이며, 대개 무취이나 약간의 염소냄새가 나기도 한다²³⁾. 미산성 차아염소산수의 생성원리는 무격막 전해조 내에서 공급되는 희석 염산이 전기분해되어, 양극에서는 염소가 발생하고 음극에서는 수소가 생성되는데, 생성된 염소이온이 물에 용해되어 고농도의 차아염소산이 생성된다. 적정한 원수를 첨가하면 유효염소농도 10-30 mg/L의 미산성 차아염소산수가 생성된다. 원수 중에 경도 성분에 기인한 완충작용에 의하여 pH 5.0-6.5의 미산성이 된다²⁴⁾.

미산성 차아염소산수에는 살균력을 갖는 유효염소가 염소가스(Cl_2), 차아염소산(HOCl), 하이포아염소산 이온(OCl^-) 등과 같은 형태로 존재하는데, 이러한 성분이 미생물의 성장을 억제하거나 사멸시킨다고 보고되었다²⁵⁾. 그러나 공기와 접촉 가능한 상태에서 장시간 보관시, 염소가스는 공기중으로 증발되고, HOCl 의 경우 다시 물로 분해되어 살균효과가 사라진다고 보고하였다²⁶⁾. 미산성 차아염소산수를 이용한 생육저해한 실험에서 살균효과가 전혀 없는 것으로 나타난 것은 유효염소성분들이 공기와의 접촉을 통해 모두 증발되어 항균물질이 잔존하지 않기 때문으로 사료된다. 미산성 차아염소산수의 구강미생물에 대한 MIC와 MBC를 측정하는 보고가 아직 없으므로 비교하기가 어렵다. 그러나 천연물을 이용한 구강미생물에 관한 내용은 많이 보고되고 있다. CTS 50 킬로산의 최소성장억제농도는 균주에 따라 0.08-10.00 mg/ml, 알로에 에탄올 추출물은 0.24-0.30 mg/ml, 프로폴리스 에탄올추출물은 0.02-0.04 mg/ml, 뽕잎 추출물은 1.60-3.20 mg/ml, 으름덩굴 및 당귀는 3 mg/ml, 녹차는 4 mg/ml, 오미자는 5 mg/ml로 나타

났다²⁷⁻²⁹⁾. 그러나 미산성 차아염소산수는 0.0075-0.015 mg/ml로 천연추출물보다 낮은 농도에서 최소성장억제를 나타낸 것으로 확인되었다. 으름덩굴 열매 메탄올 추출물의 최소살균농도는 모든 군주에서 0.08-2.5 mg/ml로 나타났고³⁰⁾, 미산성 차아염소산수는 0.015-0.030 mg/ml로 나타났다. 미산성 차아염소산수의 양치용액으로써 가능성을 확인하기 위해 항균효과를 조사한 결과, 3가지 가글액 모두 8 군주에 대해 99.9% 이상의 항균효과를 보였다. 또한 미산성 차아염소산수가 국내 시판되는 몇 종의 양치용액보다 항균효과가 높게 나타났다³¹⁾. 클로로헥시딘은 1970년대부터 최근까지 널리 활용되는 구강 항균제로, 오랫동안 사용할 경우 착색, 미각이상 등의 부작용이 발생할 수 있는 단점이 있다. 양치용액 실험결과 클로로헥시딘과 비슷한 효능을 가진 미산성 차아염소산수의 임상시험연구를 통해 미산성 차아염소산수의 양치용액의 활용도에 대한 검토가 필요할 것으로 사료되었다.

잇솔질과 구강보조용품의 사용은 이론적으로 치아우식증을 예방하고, 구강위생을 유지하는데 효과적인 수단이다. 그러나 실제로 많은 사람들이 올바른 잇솔질과 구강보조용품이 제대로 활용되지 못하고 있는 실정이다³²⁾. 구강건강을 위해서는 스스로의 내적 의식변화로부터 시작하여 행동 및 태도의 외적인 변화가 수반되도록 하는 행동변화전략이 필요할 것으로 사료된다.

본 실험에서는 미산성 차아염소산수가 0.015 mg/ml 농도에서 구강질환 유발균 7종을 억제한 것으로 관찰되었고, 양치용액 실험에서 99.9% 이상의 사멸효과를 나타내, 이를 지속적으로 사용할 경우 구강질환을 예방할 수 있을 것으로 사료된다. 구강교육 운동 예방프로그램에 미산성 차아염소산수를 함께 활용한다면 더 높은 예방효과를 가져올 것으로 사료된다. 그러나 임상시험연구를 통해 치면세균막지수, 치은지수 완화 효과를 평가하지 못하였다. 추후 미산성 차아염소산수를 가글용액으로 8주간 사용하여 치면세균막지수, 치은지수 감소효과를 정확하게 측정하기 위한 추가연구가 필요할 것으로 사료된다.

결론

광범위한 살균력을 갖고 있어 현재 여러 분야에서 사용되고 있는 미산성 차아염소산수를 치의학분야에 활용하고자 구강질환 예방 및 치료에 활용될 가능성을 검토하기 위하여 *S. mutans* KCCM 40105, *S. sobrinus* KCCM 11897, *A. actinomycetemcomitans* KCCM 12227, *P. gingivalis* KCCM 11958, *P. intermedia* KCTC 5506, *F. nucleatum* KCTC 5163, *C. albicans* KCCM 11282, *E. coli* KCCM 40880에 대하여 생육저해환, 최소억제농도, 최소살균농도 및 양치용액의 항균효과를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 디스크 확산법을 이용한 생육저해환 실험에서는 미산성 차아염소산수는 전혀 효과가 없는 것으로 나타났다. 반면 Listerine의 경우 *E. coli*, *S. mutans*, *P. gingivalis* 순으로 16.1 ± 0.2 , 15.5 ± 0.4 , 14.9 ± 0.4 mm 생육이 저해되었고, chlorhexidine의 경우 *E. coli*, *S. mutans*, *S. sobrinus* 순으로 19.3 ± 0.3 , 18.7 ± 0.2 ,

17.1 ± 0.3 mm 생육이 저해되었다.

2. 미산성 차아염소산수의 SM, SS, AA, PG, PI, FN, CA 군에서 모두 0.015 mg/ml, EC 군은 0.0075 mg/ml 농도에서 최소억제농도를 보였다. Listerine의 경우 SM, SS, AA, PG, PI, FN, CA, EC 순으로 0.01563, 0.03125, 0.03125, 0.01563, 0.03125, 0.03125, 0.01563, 0.03125 mg/ml의 농도에서 최소억제농도를 보였고, chlorhexidine은 SM, SS, AA, PG, PI, FN, CA, EC 순으로 0.00039, 0.00039, 0.00156, 0.00313, 0.00313, 0.00156, 0.00156, 0.00078 mg/ml의 농도에서 최소억제농도를 보였다. 미산성 차아염소산수의 최소살균농도는 AA, PI, FN군이 0.03 mg/ml, EC군이 0.015 mg/ml 농도에서 최소살균농도를 보였고, 나머지 균들은 최소억제농도와 같은 농도를 나타내었으며, Listerine은 SM, CA 군이 0.03125 mg/ml, AA, PI 군이 0.0625 mg/ml 농도에서 최소살균농도를 보였고, 나머지 균들은 최소억제농도와 같았다. Chlorhexidine은 SM 군이 0.00078 mg/ml, AA, FN 군이 0.00313 mg/ml, EC 군이 0.00156 mg/ml 농도에서 최소살균농도를 보였고, 나머지 균들은 최소억제농도와 같았다.

3. 3가지 가글액 모두에서 8 군주에 대해 10 CFU/ml 미만의 콜로니를 보여 99.9% 이상의 항균효과를 보였다.

미산성 차아염소산수는 치아우식증 및 치주질환 유발균에 대해 높은 항균력을 갖고 있어 양치용액으로 활용하여 구강질환에 예방 및 억제에 활용될 수 있는 가능성이 있다고 사료되었다. 추가적으로 독성검사와 임상시험연구를 거쳐 인체에 안전한 양치용액 개발이 필요할 것으로 사료되었다.

참고문헌

1. Moon HS, Park DY, Ma DS, Jung SH, Paik DI, Kim JB, et al. Effect of a triclosan-containing dentifrice on gingivitis, plaque formation and antimicrobial activity against the pathogens of oral diseases. J Korean Acad Oral Health 1998;22:171-182.
2. Allaker RP, Douglas CW. Novel anti-microbial therapies for dental plaque-related disease. Int J Antimicrob Agents 2009;33:8-13.
3. Lee SH. Development of sustainable health management system for management of chronic diseases. Korea Health and Welfare Forum 2004;87:72-81.
4. Yoo TW. Current status and vision of e-care. J Korean Med Assoc 2002;45:41-50.
5. Fischman SL, Yankell SL. Dentifrices, mouthrinses, and chewing gums. In: Harris NO, García-Godoy F. Primary preventive Dentistry. 6th ed. New Jersey:Perason Education Inc.;2004:119-147.
6. Ciancio SG. Agents for the management of plaque and gingivitis. J Dent Res 1992;71:1450-1454.
7. Eley BM. Antibacterial agents in the control of supragingival plaque: a review. Br Dent J 1999;186:286-296.
8. Chung JY, Choo JH, Lee MH, Hwang JK. Anticariogenic activity of macelignan isolated from *Myristica fragrans* (nutmeg) against *Streptococcus mutans*. Phytomedicine 2006;13:261-266.
9. Kang KS, Kim TI, Lee HI, Han HJ, Park SG, Kim HJ, et al. Investigation on the technology trend in electrolyzed sterilizing water by the patent analysis. Appl Chem Eng 2010;21:188-194.
10. Al-Haq MI, Sugiyama J, Isobe S. Applications of electrolyzed water in agriculture and industries. Food Sci Technol Res 2005;11:135-150.

11. Zachari AI, Kamitani Y, Miwa N, Muhimbula H, Iwasaki K. Application of slightly electrolyzed water as a potential non-thermal food sanitizer for decontamination of fresh ready-to-eat vegetables and sprouts. *Food Control* 2011;22:601-607.
12. Lee NG. Effects of electrolytic water washing on Mackerel (*Scomber japonicus*) muscle protein pattern. *J Korea Academia-Industrial Cooperation Soc* 2012;13:439-444.
13. Ministry of Environment. Improvement of drinking-water treatment plant and advanced water treatment technology. Sejong:Ministry of Environment;2009:1-131.
14. Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries. Development of the highly efficient apparatus for producing weakly acidic electrolyzed water and its utilization in food industry. Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries;2009;101-107.
15. Ju HJ, Oh HW, Kim JY, Lee HS. A cross-sectional study on oral health literacy and its unfluencing factors among adults: I. Verbal oral health literacy. *J Korean Acad Oral Health* 2012;36:97-105.
16. Kim JB, Choi YJ, Paik DI, Shin SC, Chang KW, Hong SJ, et al. *Clinical Preventive Dentistry*. 4th ed. Seoul:Koomonsa;2009:89-109.
17. Cheon HW, Yu MS, Choi MH. The association of oral diseases and chronic diseases in Korean adult population. *J Korean Soc Dent Hyg* 2012;12:235-249.
18. The National Health Insurance Service & the Health Insurance Review and Assessment Service. *Health Insurance Statistical Yearbook*. 2000-2010.
19. Nakashima S, Yoshie M, Sano H, Bahar A. Effect of a test dentifrice containing nano-sized calcium carbonate on remineralization of enamel lesions in vitro. *J Oral Sci* 2009;51:69-77.
20. Bellamy PG, Khera N, Day TN, Barker ML, Mussett AJ. A randomized clinical trial to compare plaque inhibition of a sodium fluoride/potassium nitrate dentifrice versus a stabilized stannous fluoride/sodium hexametaphosphate dentifrice. *J Contemp Dent Pract* 2009;10:1-9.
21. Kim YS, Kim KY, Shin SC. A clinical study on effect of mouth cleaning by use of water jet. *Korean J Health Edu Promot* 1994; 11:85-94.
22. Lobene RR. The effect of a pulsed water pressure cleansing device on oral health. *J Periodontol* 1969;40:667-670.
23. Ministry of Food and Drug Safety. Korea Food Additives code. Cheongwon-gun:Ministry of Food and Drug Safety;2012:1018-1019.
24. Black, Veatch corporation. *White's handbook of chlorination and alternative disinfectants*, 5th ed. New Jersey:A John Wiley and Sons Inc.;2010:5-10.
25. Cao W, Zhu ZW, Shi ZX, Wang CY, Li BM. Efficiency of slightly acidic electrolyzed water for inactivation of *Salmonella enteritidis* and its contaminated shell eggs. *Int J Food Microbiol* 2009;130:88-93.
26. Len SV, Hung YC, Chung D, Anderson JL, Erickson MC, Morita K. Effects of storage conditions and pH on chlorine loss in electrolyzed oxidizing (EO) water. *J Agric Food Chem* 2002;50:209-212.
27. Bae KH, Jun EJ, Lee SM, Lee EJ, Paik DI, Kim JB. The antimicrobial effect of CTS 50 chitosan on oral pathogenic microorganisms. *J Korean Acad Oral Health* 2005;29:58-66.
28. Rhim JY, Moon YS, Jung SH, Lee KY, Lyu SY, Shim CS, et al. Antimicrobial activities of combined extract of Aloe vera with propolis against oral pathogens. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2002;31: 899-904.
29. Chon JB, Kim DK, Hong SJ. Effects of several herbal dentifrices on incipient enamel caries by surface hardness test with confocal laser scanning microscopy. *J Korean Acad Oral Health* 2004;28: 304-314.
30. Lee GD, Kwon YR, Lee YS, Jeon JG, Han SK, Chang KW. Inhibitory effects of Akebia quinata fruit extract against mutans streptococci. *J Korean Acad Oral Health* 2008;32:485-494.
31. Song JH, Ban SH, Kim JB, Ahn JH, Kim JC, Ha WH, et al. Antibacterial effect of some mouth rinsing solution on Korea. *J Korean Acad Oral Health* 2007;31:482-488.
32. Ministry of Health and Welfare. 2012 Korea National Oral Health Survey. Seoul:Ministry of Health and Welfare;2013:134-135.