Journal of Korean Society of Oral Health Science
2016, July. 4(2): 76~83
ISSN: 2288-6079

Tetrodotoxin (TTX)의 *Streptococcus mutans*와 *Staphylococcus aureus*에 대한 생육 감수성

김현대[1]‡, 김세연[2]
[1]동부산대학교 치위생과, [2]부산대학교 치의학전문대학원 구강미생물학교실

Growth Susceptibility of Tetrodotoxin (TTX), Pufferfish, Against *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus*

Hyun-Dae Kim[1]‡, Se-Yeon Kim[2]
[1]*Department of Dental Hygiene, Dongpusan College University*
[2]*Department of Oral Microbiology, School of Dentistry, Pusan National University*

ABSTRACT The objective of this study is to search the possibility of using the liver of pufferfish, a marine creature as natural antimicrobial by experimenting flesh sensitivity of tetrodotoxin extracted from the liver of pufferfish, a marine creature to *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus*. The tetrodonic acid (TDA), namely, inducer of tetrodotoxin was confirmed with High Performance Liquid Chromatography (HPLC) to detect and extract "tetrodotoxins fraction" of pufferfish. In order to measure the effect of tetrodotoxin on the growth of *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus*, it is added to each culture at each concentration of 0-10 nM. After they are measured with spectrophotometer, it is found that experimental group shows the power to inhibit the growth of *Streptococcus mutans* in 30 hours after cultivation in comparison with control group. Then, the growth curve of *Staphylococcus aureus* is in the similar type to that of *S. mutans*. It is found that the growth of *S. aureus* is inhibited in 24 hours after cultivation in the experimental group where 0.01-0.07 nM tetrodotoxin is contained. Further, the experimental group where 0.15-10 nM tetrodotoxin is contained mostly shows the power to inhibit strain in 4 hours after cultivation, more apparent than the growth inhibiting power of *S. mutans*. When measuring pH after cultivating experimental group in *Streptococcus mutans* culture for 24 hours by adding tetrodotoxin of each concentration, we found pH 7.4-7.7 by 4 hours before cultivation. The pH did not vary apparently in comparison to control group. When the contents of tetrodotoxin in each concentration increase in the *S. aureus* culture, the change in pH is not large in comparison to cultivation time. However, it rapidly decreased in experimental group in just 6 hours after cultivation. Thus, it is judged that it works to hinder the strain growth. As a result, tetrodotoxin is judged to inhibit the growth of *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus*.

Key words: Growth susceptibility, Tetrodotoxin, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus aureus*

‡ Corresponding to: Kim HD,
Tel: +82-51-540-3823
Fax: +82-51-540-3676
E-mail:
hydkim9710@hanmail.net

Received June 23, 2016
Revised June 29, 2016
Accepted July 8, 2016

Copyright@ 2016 by the Korean Society of Oral Health Science (KOHS)

Ⅰ. 서론

Tetrodotoxin (TTX)은 복어뿐 만 아니라 해양생물에 다양하게 분포되어 있는 일종의 신 경독으로 주로 말초신경을 공격하여 전신의 운동마비, 혈관운동마비 및 호흡운동 등에 다양한 증상을 보이는 것으로 알려져 있다[1]. 복어독인 tetrodotoxin은 의학이나 생리학 관련 분야에 혈관긴장 완화나 근육긴장의 하강에 효과가 있어 진통제와 신경마비의 이완제로 약리효과가 증명됨으로써 의학치료제외에 그 용도가 증가되고 있는 것으로 보고되고 있다[2]. 이러한 tetrodotoxin의 화학적 특징으로는 물이나 유기용매에 용해되기 어려운 약 알칼리성 물질로 약산성의 물에는 녹는 성질을 가지고 있다[3]. 또한 100℃의 가열에도 tetrodotoxin의 독성은 저하되지 않으며 강산이나 알칼리 용액에 tetrodonic acid (TDA)와 2-amino-6-hydroxymethyl-8-hydroxyquinazoline으로 분해되는 성질을 가지고 있다[4]. 그리고 *Clostriduim botulinum*의 독력에는 다소 약하나 마비성패류독(Paralytic shellfish poison, PSP)에 상응하는 강력한 독소로 hydrogen cyanide의 약 1,250배이며 사람의 최소 치사량은 10,000 MU (Mouse Uint)로 규정되어 있다[5]. 또한, tetrodotoxin의 생성 기전은 복어의 먹이사슬에 의해 장내에 *vibrio sp.* 및 *Pseudomons sp.* 등의 미생물의 사용 작용으로 독화된다는 외인설이 지배적이다[6].

치면세균막내 획득피막, 세균, 음식물, 타액 등의 상호작용으로 치아우식증을 유발하는 구강미생물들 중에 가장 대표적인 것은 *Streptococcus mutans*가 주원인 균이며[7], 통기혐기성 세균으로 다른 세균보다 당질 으로부터 젖산, 개미산 등을 생성할 뿐만 아니라 *Streptococcus mutans*의 glucosyltransferase에 의한 균체외 glucose 다당체인 glucan을 생성하여 치면세균막의 기질형성과 치아우식관련 세균총 응집 등을 일으켜 치아경조직의 수산화인회석을 탈회시키는데 관여한다[8]. 그리고 *Staphylococcus aureus*은 그람양성의 통성혐기성세균으로 인체에 감염되면 식세포를 죽이는 용혈소와 응고효소 등을 분비하여 화농성감염증을 일으키는 것으로 알려져 있다[9]. 주로 사람의 비강, 인후두, 피부, 털에 보균되어 있고 식중독 원인균으로 장독소(enterotoxin)를 생산하는 것으로 최근 병원내 등에서 항생물질에 저항성을 나타내는 메티실린내성 황색포도상구균(MRSA)으로 유명하다[10]. 이러한 구강병원성세균을 예방하기 위해서는 숙주세포에 독성이 적고, 특정 세균에 선택적 독성을 나타내는 항 미생물제재가 요구된다. 따라서 오래 전부터 민간약초에서 신물질을 추출하여 의약품이나 식품 등에 첨가제로 사용되었으며 여러 연구자들에 의해 병원성 미생물의 증식을 억제하거나 사멸하기 위한 천연 항 미생물제에 대한 연구가 지속적으로 이루어지고 있다. 또한 치의학 분야에서 치아우식 원인균을 억제를 위하여 항균성물질 개발, 식이요법, 불소함유 세치제 이용 등 다양한 연구가 제시되고 있다[11]. 국내에서는 생약 제에서 항균성물질을 추출하여 수종의 균주에 대해 항균성을 검토한 바 있다[12][13]. 한편, 해조류를 이용한 구취억제 활성 연구[14]와 우리나라 연안의 각종 해조류 추출물이 *Streptococcus mutans*에 미치는 영향에 대해 보고하였다[[15][16].

이와 같이 식물이나 약초에 대한 천연물질의 유효성분이 구강병원미생물과의 관련성에 대해서는 연구가 다양하게 이루어지고 있으나, 해양생물 특히 어류의 기능성물질이 구강병원성 세균에 제한적 항균효과에 대한 연구는 거의 이루어지지 않고 있는 실정이다.

따라서 본 연구는 국내의 시장에서 유통되고 있는 복어의 간에서 추출 분리한 tetrodotoxin이 *Streptococcus mutans*와 *Staphylococcus aureus*의 생육 감수성에 미치는 영향을 검토하여 천연 항미생물제재로의 이용 가능성을 모색하는데 기초자료로 삼고자 한다.

Ⅱ. 연구방법

1. 재료구입

본 연구에 사용된 복어(*Fugu xanthopterus*)은 부산시 소재 H 시장에서 냉동상태로 구입하여 실험에 사용하였다. 복어 간(liver)의 독소분리 및 독소성분을 정제한 후 P대학교에서 배양된 균주를 사용하여 항균 감수성 검색에 적용하였다.

2. 독소의 분리, 정제 및 정량분석

복어의 간장에 1% acetic acid/methanol 용액을 가하여 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하고, 잔사를 다시 2회 원심 분리하고 모은 상층 액에 dichloromethane을 가하여 분액 여두로서 탈지를 하였다. 수용성층을 분리하여 남은 dichloromethane을 진공증발기로 제거한 후 Diaflo YM-2 (Amicon)에 한외여과 시

켰다. 이 여액을 Bio-gel P-2 column (5.6 X 53cm)에서 분리하여 독력이 강한 분획을 모아서 진공 농축하고 다시 두 번째 Bio-gel P-2 column (2 X 94cm)으로 처리하여 재 농축한 후 사용하였다[3]. Tetrodotoxin의 정량분석은 High Performance Liquid Chromatography (Hitachi, Japan)기기로 분석하였다[17].

3. 균주 및 배양

*Streptococcus mutans*의 배양 및 보존을 위한 배지는 brain heart infusion medium (Difco Lab., U.S.A)을 사용하였고, *Saphylococcus aureus*의 액체배지로서 tryptic soy broth(TSB)와 고체배지 tryptic soy agar (TSA)를 사용하여 배양하였다. 분석기기는 UV spectrophotometer (Shimadzu Co., Japan), incubator (Dongyang Co., Korea), pH meter (Istek Co., Korea), clean bench (Sangwoo Co., Korea), vortex (Dongyang Co. Korea), magnetic stirrer (Corning Co., U.S.A.) 등을 사용하였다.

5. 균주의 시간대별 성장 측정

Tetrodotoxin에 대한 각 균주의 시간대별 성장곡선은 1 loop 균주를 10㎖ brain heart infusion medium 에 접종시킨 후 혐기적 조건하에서 37℃, 20-24hrs 동안 혐기 배양하였다. 활성화된 배양액와 일정한 독력의 tetrodotoxin을 brain heart infusion medium 주입하였다. 혐기배양기에서 37℃ 배양하면서 특정 시간대별(0-48hrs)로 채취하여 각 균주의 생장을 spectrophotometer (650nm)에서 측정하고 기록하였다[18].

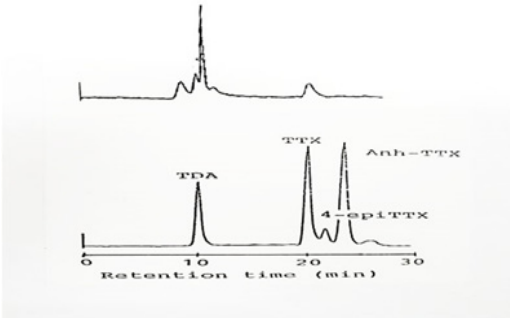
6. 균주의 시간대별 pH 변화 측정

Tetrodotoxin에 대한 각 균주의 시간대별 pH 변화 측정은 1 loop 균주를 10㎖ brain heart infusion medium 에 접종시킨 후 혐기적 조건하에서 37℃, 20-24hrs 동안 혐기 배양하였다. 활성화 된 배양액와 일정한 독력의 tetrodotoxin을 brain heart infusion medium 주입하였다. 37℃에서 혐기배양하면서 특정 시간대별(0-24hrs)로 채취하고 배양된 각 균주의 pH를 측정하여 기록하였다[18].

Ⅲ. 연구결과

1. Tetrodotoxin의 High Performance Liquid Chromatography

복어의 “tetrodotoxins fraction”을 확인하기 위하여 High Performance Liquid Chromatography로 분석한 결과는 <Fig.1>와 같다. 표준물질인 authentic tetrodotoxins의 retention time (min)이 각각 tetrodonic acid (TDA, 10min), tetrodotoxin (TTX, 20min), 4-epi-tetrodotoxin (4-eip-TTX, 22min) 및 anhydro-tetrodotoxin (25min)이 검출되었다. 본 실험에 사용된 추출물이 표준물질과 동일한 시간대인 10 min에 tetrodonic acid (TDA)가 검출되었는데 이 물질은 tetrodotoxins (TTX’s)의 유도물질 중에 한 종류로 알려져 있다. 이러한 결과는 김등의 연구보고에서 언급한 “trodotoxins fraction”의 retention time(min)과 유사한 결과를 나타내었다[3].



〈Fig. 1〉 High Performance Liquid Chromatography of the toxin the pufferfhish (top), along with that of authentic tetrodotoxin (bottom).

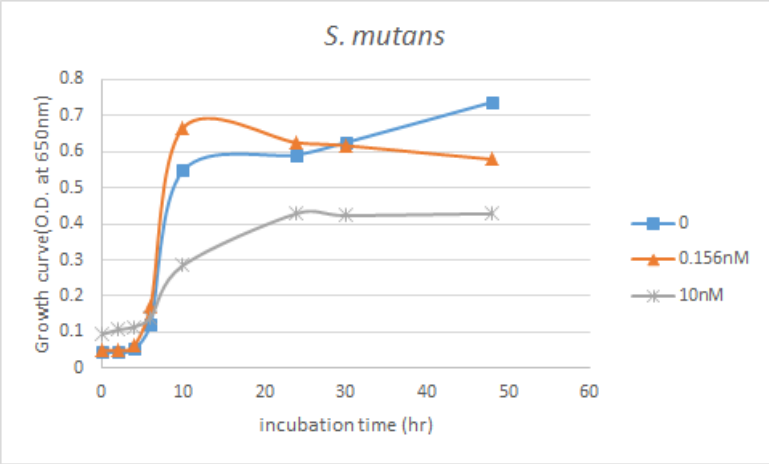
2. Tetrodotoxin에 대한 각 균주별 생장 변화

Tetrodotoxin이 *Streptococcus mutans*와 *Staphylococcus aureus*의 생장에 미치는 효과를 측정하기 위해 0-10 nM의 농도별로 각각의 배지에 첨가한 후 Spectrophotometer로 측정한 결과는 다음과 같다.

Streptococcus mutans 생장 곡선에서 대조군은 배양 2시간 전까지는 뚜렷한 변화를 보이지 않았지만, 배양 6시간 이후부터 서서히 생육이 증가하기 시작하였다. 또한, 배양 10시간부터 48시간 까지 평균 흡광도 범위 수치가 0.548-0.737있었고, 배양 30시간부터 48시간 까지는 실험군의 균주보다 최대 생장을 나타냈다. 그러나 0.156 nM tetrodotoxin이 함유된 실험군

의 경우 배양 30시간 전 까지는 대조군의 생장보다 더 증가하였으나 배양 30시간 이후부터 배양 48시간 까지(O.D. 수치 0.617-0.579)는 대조군의 균주보다 생장이 억제되는 경향을 나타냈다. 그리고 10 nM tetrodotoxin이 함유된 실험군의 경우 대조군에 비해 배양 10시간대에서 균주의 생장이 억제되었다<Fig. 2>. 또한, 대조군에 비해 0.0 1nM-0.125nM의 tetrodotoxin이 함유된 실험 군에서 배양 30시간대부터 균주의 생장억제을 나타내었고, 5 nM -10 nM tetrodotoxin이 함유된 실험 군에서는 전자보다 배양시간이 빠른 6시간대부터 대조군에 비해 균주의 생장억제을 보였다<Table 1>. 따라서 복어의 tetrodotoxin은 특정 독성과 농도범위내에서 *Streptococcus mutans*의 생장을 억제하는 것으로 나타났다.

Staphylococcus aureus 생장곡선은 대조군이 배양 6시간 이후부터 24시간까지 평균 흡광도 수치 범위가 0.404-0.720으로 균주 생장이 급격히 증가하기 시작하였고, 배양 30시간 이후부터는 완만하게 성장 억제를 나타냈다<Fig. 3> 이는 *Streptococcus mutans*의 농도별 tetrodotoxin 대비 배양시간대의 생장곡선과 유사한 유형으로 나타났고, 0.01 nM -0.07 nM tetrodotoxin이 함유된 실험 군에서 배양 24시간부터 균주의 성장을 억제하는 것으로 나타났다. 또한, 0.15-10 nM tetrodotoxin이 함유된 실험 군들은 대부분 배양 4시간대부터 균주의 성장 억제을 보였는데, 이는 *Streptococcus mutans*의 성장 억제보다 뚜렷한 것으로 판단된다<Table 2>.

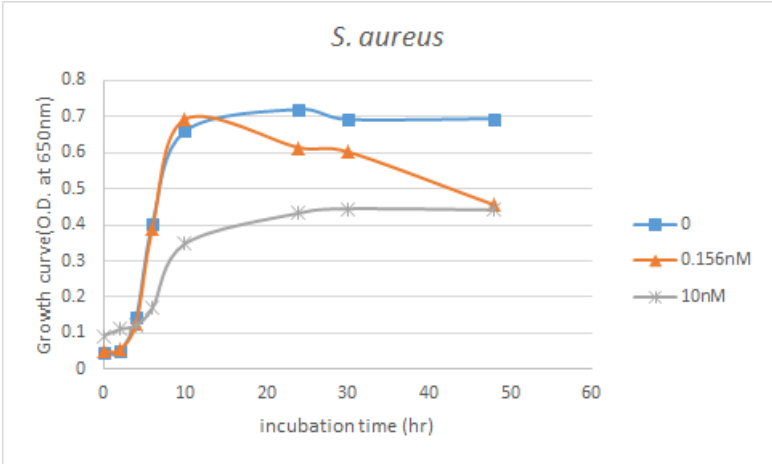


〈Fig 2〉 Growth curve of *Streptococcus mutans* by addition of tetrodotoxin.
■: Control group ▲: 0.156 nM TTX *: 10 nM TTX

〈Table 1〉 Absorbance value for *Streptococcus mutans* growth by tetrodotoxin' s concentration (range 0-10 nM)

Con(nM)	0	0.01	0.07	0.15	1.25	2.50	5	10
0hr	0.044	0.047	0.056	0.050	0.059	0.079	0.107	0.094
2hr	0.044	0.047	0.056	0.050	0.057	0.078	0.133	0.106
4hr	0.052	0.056	0.071	0.062	0.070	0.094	0.143	0.115
6hr	0.121	0.135	0.175	0.170	0.194	0.215	0.217	0.141
10hr	0.548	0.582	0.637	0.666	0.676	0.605	0.550	0.285
24hr	0.592	0.605	0.610	0.625	0.624	0.582	0.587	0.429
30hr	0.626	0.625	0.607	0.617	0.608	0.571	0.594	0.423
48hr	0.737	0.635	0.595	0.579	0.611	0.600	0.617	0.428

The resulting culture broth was recorded the absorbance at 650nm.



〈Fig 3〉 Growth curve of *Staphylococcus aureus* by addition of tetrodotoxin.
■: Control group ▲: 0.156 nM TTX *: 10 nM TTX

〈Table 2〉 Absorbance value for *Staphylococcus aureus* growth by tetrodotoxin' s concentration (range 0–10 nM)

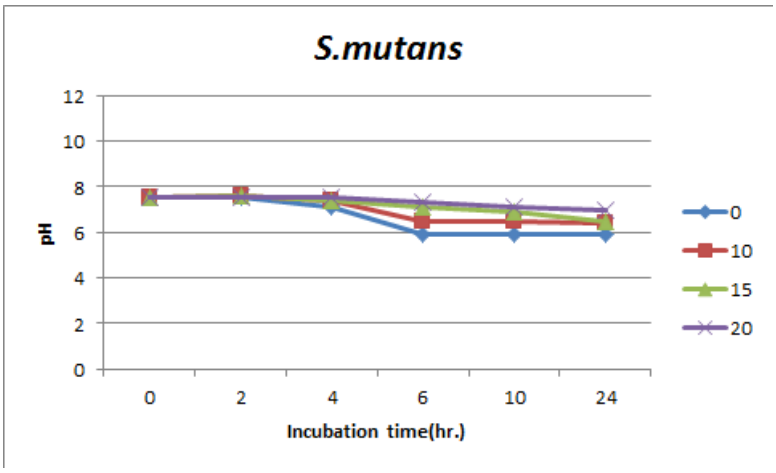
Con(nM)	0	0.01	0.07	0.15	1.25	2.50	5	10
0hr	0.045	0.046	0.050	0.050	0.062	0.083	0.097	0.092
2hr	0.050	0.053	0.061	0.053	0.061	0.090	0.116	0.111
4hr	0.143	0.164	0.154	0.128	0.135	0.114	0.147	0.122
6hr	0.404	0.436	0.424	0.391	0.400	0.286	0.261	0.169
10hr	0.660	0.703	0.687	0.693	0.639	0.591	0.523	0.348
24hr	0.720	0.651	0.620	0.614	0.555	0.553	0.532	0.433
30hr	0.693	0.648	0.608	0.603	0.554	0.553	0.525	0.445
48hr	0.694	0.534	0.459	0.456	0.489	0.531	0.514	0.442

The resulting culture broth was recorded the absorbance at 650nm.

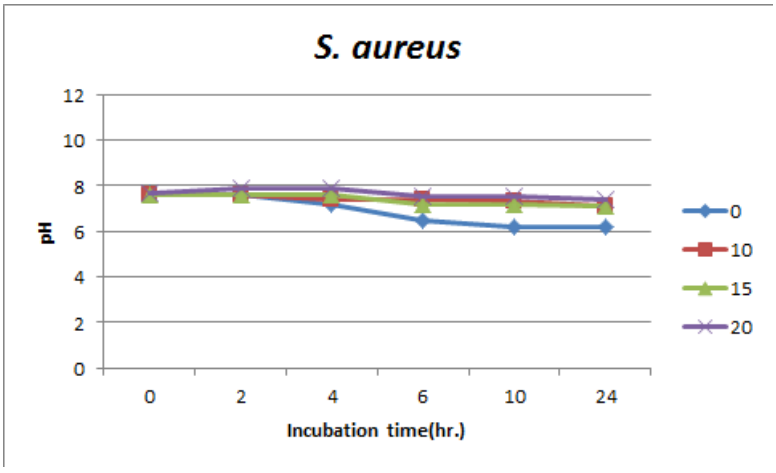
3. Tetrodotoxin에 대한 각 균주별 pH 변화

Streptococcus mutans 배지에 농도별 tetrodotoxin을 첨가하여 24시간까지 배양하여 pH를 측정한 결과는 다음과 같다. 대조군의 경우 배양 4시간 전까지는 pH의 변화가 뚜렷하지 않았고, 배양 4시간대 이후부터 24시간까지 pH 5.9로 급격히 떨어지는 변화를 나타냈다. 반면, 농도별 tetrodotoxin을 첨가한 실험 군 배지는 배양 4시간 전까지 pH 7.4-7.7 범위로 나타났고 그 이후의 배양 6시간에서 24시간에서는 pH 6.4-6.9 범위에서 완만한 변화를 보여 대조군에 비해 pH변화가 뚜렷하게 나타나지 않았다<Fig 4>.

<Fig. 5>는 농도별 tetrodotoxin(0-20㎕)을 *Staphylococcus aureus* 배지에 첨가하여 24시간대까지 배양하여 pH 변화를 보았다. 대조군의 경우 *Streptococcus mutans*의 경우보다 총 배양시간대비 pH 변화가 다소 적게 나타났다(pH range 6.2-7.7). 농도별 tetrodotoxin 함량이 증가할수록 배양시간대비 pH 변화 차이는 크지 않지만, 실험 군에서 배양 6시간 만에 급격히 감소하여 균주성장 억제에 작용하는 것으로 판단된다.



〈Fig 4〉 pH changes in *Streptococcus mutans* culture medium by addition of tetrodotoxin.
◆: Control group ■: 10㎕ TTX ▲: 15㎕ TTX *: 20㎕ TTX



〈Fig. 5〉 pH changes in *Staphylococcus aureus* culture medium by addition of tetrodotoxin.
◆: Control group ■: 10 ㎕ TTX ▲: 15 ㎕ TTX *: 20 ㎕ TTX

Ⅳ. 고찰

구강미생물병원균이 어떤 항미생물제에 감수성을 나타내는지를 아는 것은 구강질병 치료시 약제의 선택에서 매우 중요하다. 항미생물제는 숙주에 손상없이 병원성 미생물에만 살균작용과 정균작용을 할 수 있는 물질로 치과치료 영역에서는 두경부의 화농성, 점막성 감염 치료 및 감염성 심내막염 에 적용될 수 있어 항미생물 화학요법뿐만 아니라 구강예방에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[19].

이러한 이유로 자연계에 존재하는 약초, 향신료 등의 육상식용 식물류에서 생체조절기능을 하는 성분을 추출하여 각종 항미생물제에 대한 연구가 다수 이루어지고 있다[20].

본 연구는 해양생물인 복어의 간에서 추출·분리·정제한 tetrodotoxin이 *Streptococcus mutans*와 *Staphylococcus aureus*의 생육 감수성에 미치는 영향을 검토하여 천연 항미생물제제로의 가능성을 모색하고자 하였다. 복어독인 tetrodotoxin은

xanthid crab, *Atergatis floridus*와 starfish, *Astropecten polyacanthus*의 장기에서도 분리 동정된 *Vibrio alginolytixus, Vibrio damsela*와 동정 확인되지 않은 *Vibrio spp.* 와 *Staphylococcus strains* 있는 것으로 알려져 있는데, 이러한 균주들로부터 tetrodotoxin이나 그 유도물질들이 생산되는 것으로 증명되었다[21]. 본 연구의 항미생물제재로 적용된 복어 독은 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)분석결과 tetrodotoxin의 유도물질인 tetrodonic acid (TDA)로 확인되었는데, 추출과 정제과정에서의 강산에 의해 tetrodotoxin이 tetrodonic acid(TDA) 또는 2-amino-6-hydroxymethyl-8-hydroxyq-ui-nazoline으로 분해되는 성질이 보고된 바 있다. 이러한 유도물질은 독성에 큰 변화는 없는 것으로 알려져 있다[4].

Tetrodotoxin이 *Streptococcus mutans*와 *Staphylococcus aureus*의 생장에 미치는 효과를 Spectrophotometer로 분석한 결과 대조군에 비해 실험 군에서 두 균주의 생장억제를 확인되었고 두 균주 모두 생장억제곡선이 유사한 형태 나타났다. Tetrodotoxin은 혈관긴장의 완화와 근육긴장 하강에 효과 있어 진정제와 신경마비의 이완제로 약리효과가 증명되어 의약용으로의 사용이 되고 있는 실정이라 구강병원미생물 등에도 항균제재로 작용할 것이다[6]. 최근, 여러 식물성 추출물 중 구강미생물에 길항작용 하는 다양한 연구가 이루어지고 있는데, 전 등은 오미자, 오수유 추출물이 *Streptococcus mutans*의 다당류 생성을 억제한다는 보고하였는데, 이는 식물 추출물 중의 유기산인 fumaric acid, citric acid, malic acid 등과 항산화물질이 이들 균주의 생육을 억제하는 것으로 알려져 있다[18]. 또한 김의 생강 추출물을 이용한 병원성 *Eshcherichia coli*에 대한 항균실험에서 생강의 gingerol, shogaol, oleoresin 등의 생리활성 물질이 자연살해 세포의 기능을 활성화시켜 면역 능을 향상시키거나 살균효과를 나타내는 것으로 보고하였다[22].

한편, tetordotoxin은 맹독성으로 그 유용성분의 생리·화학구조가 물리·화학적 자극에 의해 불안정한 유도물질로 화학구조가 변화한다[4]. 따라서 구강병 치료제로 적용되기에는 항균작용 이외의 부작용이나 알레르기반응, 세포독성에 의한 중독반응 등을 발생될 수 있으므로 지속적인 약리실험이 병행되어야 할 것으로 판단된다. 국내의 치위생분야에서 항미생물제제 연구보고는 대부분 육상식물의 유효 생리활성물질에 국한되어 있는바, 해양생물인 복어의 독성 유도물질로 특정 구강미생물의 생육 저해 효과를 시도한 점에 대해 기초연구자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

Ⅴ. 결론

본 연구는 해양생물인 복어의 간에서 추출 분리한 tetrodotoxin이 *Streptococcus mutans*와 *Staphylococcus aureus*에 대한 생육 감수성 실험을 통하여 천연 항미생물제재로의 이용 가능성을 모색하는데 그 목적을 두고 있다.

복어의 “tetrodotoxin fraction”을 검출하기 위하여 High Performance Liquid Chromatography로 tetrodotoxin의 유도물질인 tetrodonic acid(TDA)을 확인하였다. 그리고 Tetrodotoxin이 *Streptococcus mutans*와 *Staphylococcus aureus*의 생장에 미치는 효과를 측정하기 위해 0-10nM의 농도별로 각각의 배지에 첨가한 후 Spectrophotometer로 측정한 결과 대조군에 비해 실험군에서 배양 30시간대부터 *Streptococcus mutans*의 생장억제를 확인하였다. 또한, *Staphylococcus aureus*의 생장억제곡선은 *Streptococcus mutans*의 생장억제곡선과 유사한 형태로 나타났고, 0.01nM ~0.07nM tetrodotoxin이 함유된 실험 군에서는 배양 24시간대부터 균주의 성장을 억제하는 것으로 관찰되었다. 또한, 0.15-10nM tetrodotoxin이 함유된 실험 군들은 대부분 배양 4시간대부터 균주의 성장 억제을 보여 *Streptococcus mutans*의 생장 억제보다 뚜렷한 것으로 판단된다. 한편, *Streptococcus mutans* 배지에 농도별 tetrodotoxin을 첨가하여 24시간 까지 배양한 후 pH를 측정한 결과에서 배양 4시간 전까지 pH 7.4-7.7 범위로 나타났으나, 대조군에 비해 pH변화가 뚜렷하게 보이지 않았다. 결국 *Staphylococcus aureus* 배지에 농도별 tetrodotoxin 함량이 증가할수록 배양시간대비 pH 변화 차이는 크지 않지만, 실험 군에서 배양 6시간 만에 급격히 감소하여 균주 생장저해에 작용하는 것으로 나타났다.

따라서 tetrodotoxin의 유도물질인 tetrodonic acid (TDA)은 특정 농도와 독성에서 *Streptococcus mutants*와 *Staphylococcus aureus* 균주의 생장을 억제하는 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Ali AE, Arakawa O, Noguchi T, Miyazawa K, Shida Y, Hashimoto K: Tetrodotoxin and related substances in a

ribbon worm *Cephalothrix linearis*. Toxicon 28:1083-1093, 1990.

2. Angelides KJ: Fluorescent and photoactivatable fluorescent derivatives of tetrodotoxin to probe the sodium channel of excitable membranes. J. Am. Che 20:4107-4109, 1981.
3. Kim HD, Park YH, Kim DS: Tetrodotoxin in a pufferfish, *Fugu xanthopterus*. J. Korean soc. Food Nutr 23(3):502-504, 1994.
4. Narahashi T, Moore JW, Poston RN: Tetrodotoxin derivatives: Chemical structure and blockage of nerve membrane conductane. Science 156: 76-978, 1967.
5. The Ministry of Education: Illustrated encyclopedia the fauna of Korea(2). Fishes:85, 1990.
6. Noguchi T: Food chain associated toxification of tetrodotoxin bearing animals. Research:85-93, 1988.
7. Hamade S, Koga T, Ooshima T: Virulence factors of *Streptococcus mutans* and dental caries prevention. J Dent Res 63:407-411, 1984.
8. Han MD, Lee JW, Ra SJ, Lee ES: Chemical properties of *Streptococcus mutans* KCTC 3065 polysaccharide purified by fractions. J. Korean Acad Dent Health 24(3):259-270, 2000.
9. Kim KJ, Kim KC, Kim YJ, Kim Jk: Oral microbiology. Daehannarae Publishing, Inc:127-128, 2013.
10. Kim HI, Jeon DH, Kang KH, Eom MO, Sung JH, Kang HS, Kwak HS, Lee YJ: Comparative Susceptibility of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* Strains Isolated from Korean Foods to Commercially Available Sanitizers/Disinfectants. Korean J. Food Sci. Technol 39(1):104-107, 2007.
11. Marsh PD: Antimicrobial strategies in the prevention of dental caries. Caries Research 27:72-76, 1993.
12. Bae KW, Byun JH: Screening of leaves of higher plants for antibacterial action. Kor J Pharmacogn 19(1):1-4, 1987.
13. Choi, JL, Jung MA, Jung SH: Antimicrobial effect of mulberry leaves extracts against oral microorganism. J. Dental Hygiene Science 6(4):251-254, 2006.
14. Lee DS, Kim TJ, Kim JH, Kim SB, Cho SW, Lim CW, Min JG: Effect of *Eisenia bicyclis* extract on the growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus mutans*. Bull Nat's Fish Res Dev Inst Kor 59:171-176, 2001.
15. Yun SM, Jang JH, Lee JS: Isolation and identification of antibacterial substance from sea mustard, Undaria pinnatifida, for *Streptococcus mutans*. J. Korean Soc Food Sci Nutr 36(2):149-154, 2007.
16. Kim JH, Lee DS: Antibacterial activity of seamustard, *Laminaria japonica* extracts on the cardiogenic bacteria, *Streptococcus mutans*. J Kor Fish Soc 35:191-195, 2002.
17. Onoue Y, Noguchi T, Nagashima Y, Hashimoto K, Tsukada K: Separation of tetrodotoxin paralytic shellfish poisons by High performance liquid chromatography with a fluorometric detection using o-phthalaldehyde. J. Chromatography 257:373-379, 1983.
18. Jeon ES, Han MD, Kim HD: Antimicrobial activity of *Streptococcus mutans* by *Schizandrae fructus* and *Evodiae* fructus extracts. J. Dental Hygiene Science 3(1):39-44, 2003.
19. Cha JH, Yu YJ, Kim JH, et. al.: Oral microbilology. Medipub, Seoul, pp.91-104, 2015.
20. Kim HD: Screening of antibacterial activity of water souble extracts of plants. Collected papers of Dong Pusan College 30:pp.527-538, 2011
21. Noughi T, Uzu, K, Koyama K, et.al: Occurrence of tetrodotoxin as the major toxin in a xanthid crab *Atergatis floridus*. Bull Japan Soc. Sci. Fish 49(12):1887-1889, 1983.
22. Kim HD: Evaluation of possibility for hand disinfectant using ginger extract. J. Korean Society of Oral Health Science 2(1):24-30, 2014.