

저주기 구형파 양전압의 인가가 우식 원인균 *S. mutans*의 동정에 미치는 영향

박정환¹, 김화목², 김정기¹, 전영미¹, 장용석², 이민호², 배태성^{2,*}

¹전북대학교 치과대학 치과교정학교실 및 구강생체과학연구소
²전북대학교 치과대학 치과생체재료학교실, 생체흡수성소재연구소

Effect of application of low frequency square-wave positive voltage on identification of caries causative agent *S. mutans*

Jeong-Hwan Park¹, Hwa-Mok Kim¹, Jong-Ghee Kim¹, Young-Mi Jeon¹,
Young-Seok Jang², Min-Ho Lee², Tae-Sung Bae^{2,*}

¹Department of Orthodontics, Institute of Oral Biosciences, School of Dentistry,
Jeonbuk National University, Jeonju, Republic of Korea

²Department of Dental Biomaterials, Institute of Biodegradable Materials and Oral Bio-Science,
School of Dentistry, Jeonbuk National University, Jeonju, Republic of Korea

Streptococcus mutans (*S. mutans*) is a Gram-positive bacterium that resides in the human oral cavity. It is widely recognized as a primary causative agent of dental caries or tooth decay. Maintaining good oral hygiene, such as regular brushing and the use of dental floss, along with reducing the intake of foods and beverages high in sugar, can prevent infections caused by *Streptococcus mutans*. Additionally, research is being conducted not only on the prevention of bacterial infections but also on effective measures to suppress bacterial proliferation in the oral environment. In past research, there were many reports on the sterilizing effects under high voltage and current conditions. However, recent studies have frequently reported that bacteria and biofilms can be effectively destroyed even under low voltage and current conditions. In this study, we investigated the effects on the population changes of *Streptococcus mutans* when the frequency was varied under low voltage and current conditions. As a result, only under a duty cycle of 63.8 ms, the bacterial growth suppressed for 6 hours after the voltage was applied. Additionally, with a duty cycle of 63.8 ms and a frequency of 7.83 Hz, the proliferation of the bacteria was observed by varying the voltage to 3 V, 4 V, and 5 V and the application time to 1 h, 2 h, and 3 h. The results showed that the higher the voltage and the longer the application time, the shorter the bacterial proliferation time. The frequency of 7.83 Hz, known as the Schumann resonance and corresponding to the Earth's natural magnetic field, has been demonstrated as highly effective in inhibiting bacterial growth when compared to other frequencies. Furthermore, research has shown that changes in voltage and duration of application can impact the growth of *S. mutans*.

Keywords : *Streptococcus mutans*, Frequency, Bacterial growth, 7.83 Hz

Jeong-Hwan Park (ORCID: 0009-0000-0422-1693)
Hwa-Mok Kim (ORCID: 0009-0008-2811-4700)
Jong-Ghee Kim (ORCID: 0000-0002-6138-0006)
Young-Mi Jeon (ORCID: 0000-0003-1446-313X)
Young-Seok Jang (ORCID: 0000-0002-2757-232X)
Min-Ho Lee (ORCID: 0000-0001-6142-4876)

*Correspondence: Tae-Sung Bae (ORCID: 0000-0002-8307-4544)
567 Baekje-daero, Deokjin-gu, Jeonju-si, Jeollabuk-do, 54896,
Republic of Korea
Affiliation: Department of Dental Biomaterials and Institute of
Biodegradable Material, School of Dentistry, Jeonbuk National
University, Jeonju-si, Republic of Korea
Tel: +82-63-270-4041, Fax: +82-63-270-4040
E-mail: bts@ibnu.ac.kr

Received: Jun, 19, 2024; Revised: Sep, 01, 2024; Accepted: Sep, 20, 2024

서론

Streptococcus mutans, *S. mutans*는 치아 건강과 질병에 중요한 역할을 하는 세균 종이다. 이 세균은 주로 치아 우식증의 주요 원인으로 알려져 있다. *S. mutans*는 그람 양성 세균으로, 다른 여러 종류의 미생물들과 함께 일반적으로 인간의 구강에 서식한다. *S. mutans*의 주요 병인성 요인으로는 치아 표면에 바이오필름이나 치석을 형성하는 능력, 낮은 pH에서도 생존하는 능력(산내성), 빠르게 변화하는 환경에 적응하는 능력 등이 있다(1). 정기적인 칫솔질, 치실 사용과 같은 올바른 구강 위생 습관을 유지하고 설탕이 많은 음식과 음료의 섭취를 줄이는 것으로 *S. mutans* 감염을 예방할 수 있다. 또한 *S. mutans*에 대한 항균제, 백신 및 프로바이오틱과 같은 다양한 균 증식 억제에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 이러한 연구를 통해 *S. mutans*의 증식을 억제하여 구강 건강을 향상시키고자 하는 새로운 접근법이 검토되고 있다(2).

1960년대 이후로 전압 및 전류가 흐르는 배지에서 세균의 증식을 억제하거나 살균하는 방법에 대한 연구가 진행되어 왔다(3). 초기 연구의 대부분은 높은 전압과 전류 조건에서의 살균 효과에 주목하였지만, 최근에는 낮은 전압과 전류 조건에서 세균의 증식이 억제되고 생체막이 효과적으로 파괴됨이 발견되었다(4). 또 다른 추가적인 연구에서는 극저주파 주파수 전류(Extremely low frequency electromagnetic: ELF-EMF)가 세균과 생체막에 대한 항생제의 효능을 증진시킨다는 것이 입증되었다(5).

ELF-EMF(극저주파 전자기장)는 매우 낮은 주파수를 갖는 전자기장을 나타낸다. 대부분 50 Hz 미만의 극저주파를 포함하는 ELF-EMF는 분자구조를 직접적으로 파괴하거나 열역학적으로 변형시키지는 못하지만 인간의 조직과 상호작용을 한다. 최근의 연구에서는 암조직의 파괴와 같은 긍정적인 효과를 가져오는 것이 밝혀졌고(6, 7), 또한 인체 내의 유해한 세균의 증식을 억제할 수도 있다는 결과도 있다(8).

극저주파 전자기장(ELF-EMF)은 지구 자기장에도 존재한다. 지구 대기와 지면 사이의 공간에서 전자기파 형태로 발생하며 이 현상은 슈만 공명(Schumann resonances)으로 알려져 있다. 슈만 공명은 일반적으로 지구-이온권 공동체에서의 전자기 공명 현상을 가리킨다. 이 공명은 지구의 번개

활동에 의해 발생하며, 지구 대기 내에서 지속적으로 순환하고 공명하는 전자기파를 생성한다. 가장 일반적인 주파수는 7.83 Hz이며, 이 주파수의 환경에서 식물, 동물 및 인간이 생활하는 것으로 인해 다양한 이익을 얻을 수 있다(9). 근래 극저주파 전자기장(ELF)이 세포의 증식을 억제하며(10), 세포막 전위의 변화(11), 세포 이온 운반(12) 및 사이토카인의 활성화(13) 등과 같은 생물학적 과정에 미치는 영향에 대한 연구가 점점 증가하고 있다. 하지만 극저주파 전자기장 범위에 있는 7.83 Hz 주파수가 구강 세균에 미치는 영향에 대한 연구는 부족하다.

이번 연구는 그람 양성균인 *S. mutans*에 저주파 구형파 양전압을 노출시켜 주파수, 전압 및 노출시간의 영향에 대하여 조사하였다. 본 연구의 목적은 *S. mutans*에 저주파 구형파 양전압 인가했을 시 그의 동정에 미치는 영향에 대해 알아보기 위함이다. 이번 연구에서 귀무가설은 *S. mutans*는 저주파 구형파 양전압의 인가 시 주파수, 전압 및 인가시간의 변화에 영향을 받지 않는다는 것이다.

재료 및 방법

1. 표준 균주

본 연구에서 사용한 표준 균주는 연쇄상구균인 *Streptococcus mutans* KCTC3065로 한국구강미생물 자원은행부터 분양을 받아서 사용하였으며, 배지로는 Brain Heart Infusion (BHI) broth (Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA)를 사용하였다. 시험에 사용할 균은 37 °C, 5% CO₂ 인큐베이터에서 24시간 동안 배양하고서 탁도계 (DensiCHEK plus, BioMérieux, Marcy-l'Étoile, France)로 균수를 1.5×10^8 으로 조정하여 사용하였다.

2. 저주파 구형파 양전압 발생장치

본 연구에서는 1000 Hz 이내의 저주파 구형파 양전압의 발생이 가능하도록 설계된 제너레이터(Square wave generator, Hass, Gangneung, Gangwon-do, Korea)를 사용하였다. 제너레이터의 출력은 오프셋 전압(offset voltage)을 0.7 V로 고정된 상태에서 duty cycle (Figure 1) 및 주파수의

변화가 *S. mutans*의 개체수 변화에 미치는 영향에 대하여 조사하였다.

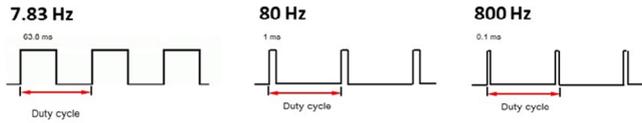


Figure 1. Schematic diagram of the duty cycle and frequency of the generator output.

Figure 2는 제너레이터의 출력전압과 배지전압 사이의 관계를 도식한 것으로, 제너레이터의 출력전압과 배지전압 사이에는 식 [1]의 관계를 보였다.

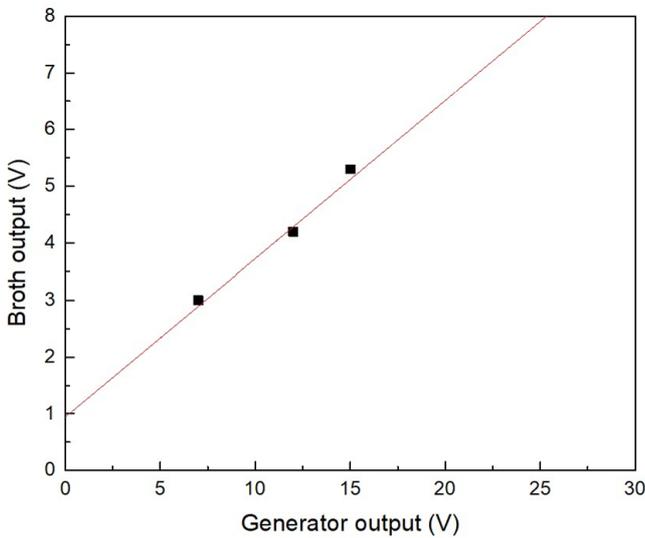


Figure 2. Relationship between the output voltage of a generator and the Broth voltage

$$V_B = 0.279V_G + 0.943 \quad [1]$$

V_B (Voltage Broth output): 배지전압

V_G (Voltage generator output): 제너레이터 출력전압

3. 흡광도 측정

24 well에 1.5×10^8 균을 1 mL 씩 분주하고 배지 측정 전압을 3 V, 4 V 및 5 V로 조정 한 상태에서 인가시간을 1 h, 2 h 및 3 h로 조절하였다. 이후 전압을 인가한 균액을 96 well에 200 μ L씩 주입하고 ELISA reader (Precision microplate reader, E MAX, Molecular devices, San Jose, CA, USA)로 600 nm에서 시간대별 흡광도를 측정하였다.

4. CFU (colony forming unit)

전압을 인가한 균액은 최종 10^3 으로 희석하여 고체배지에 100 μ L 분주하고 도말 24시간 후 집락수를 확인하였다. 고체배지는 혈액한천배지(BAP)(BADINO, Pocheon City, Gyeonggi-do, Korea)로 (주)반디오에서 구입하여 사용하였다. 집락형성능(CFU/mL)은 다음의 식 [2]를 이용하여 얻었다.

$$\text{집락형성능(CFU/mL)} = \text{성장한 미생물 집락의 수} \times \frac{1}{\text{희석배수}} \times \frac{1}{\text{접종량(mL)}} \quad [2]$$

5. FE-SEM

순 티타늄 박판의 산세처리 후 전압을 인가한 균액을 100 μ L 분주하고 37 $^{\circ}$ C, 5% CO_2 인큐베이터에서 4시간 동안 배양하고 건조한 후 osmium을 코팅하고 고해상도 전계방출 주사전자현미경(HR FE-SEM, SU8230, Hitachi, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다.

6. 통계 분석

위 식을 통해 얻은 결과 값은 one-way ANOVA test를 통한 통계적 유의성을 검증하였다. 이 후 Tukey 다중범위검 증법을 적용하여 각 군 사이의 차이를 비교하였다. 유의수준 은 0.05로 설정하였다.

결 과

1. 구형파 양전압의 duty cycle에 변화에 따른 흡광도 변화

Figure 3은 제너레이터의 오프셋 전압 0.7 V, 주파수 7.83 Hz 조건에서 구형파 출력 전압의 duty cycle을 0.1 ms, 1 ms 및 63.8 ms로 변환하고서 배지전압 5 V를 60분 동안 인가하고 시간의 경과에 따라서 흡광도의 변화를 조사한 것으로서, duty cycle 63.8 ms 조건에서만 전압 인가 후 6시간 동안 세균의 증식이 억제되는 결과를 보였다.

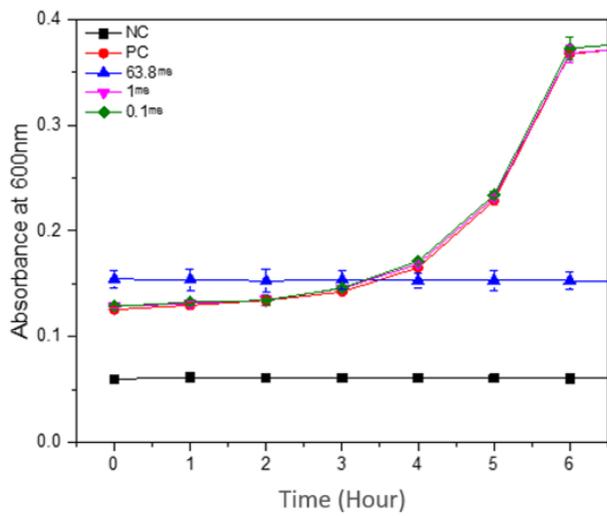


Figure 3. The generator set at an offset voltage of 0.7 V, the duty cycle of the square wave output voltage was adjusted to 0.1 ms, 1 ms, and 63.8 ms 5 V square wave positive voltage was then applied for 60 minutes, Repetition(n) = 5 (NC: negative control, PC: positive control)

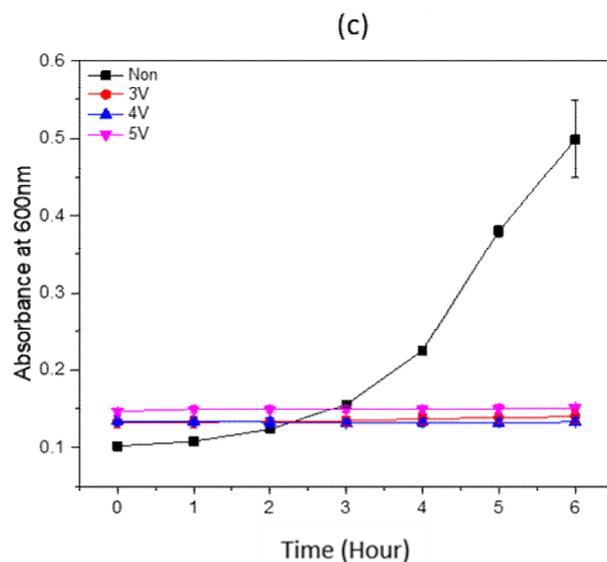
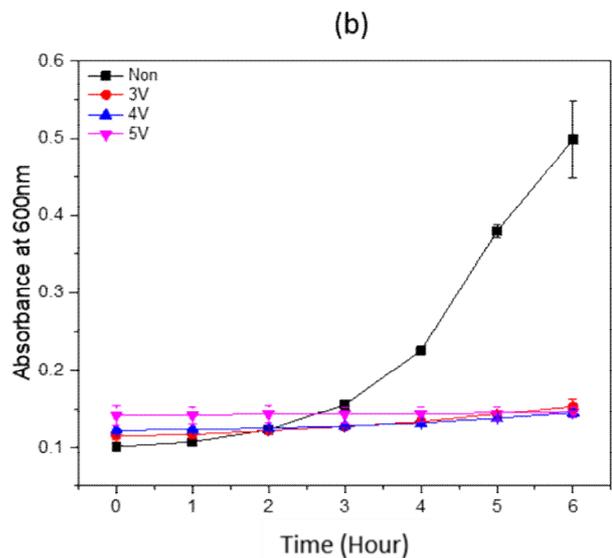
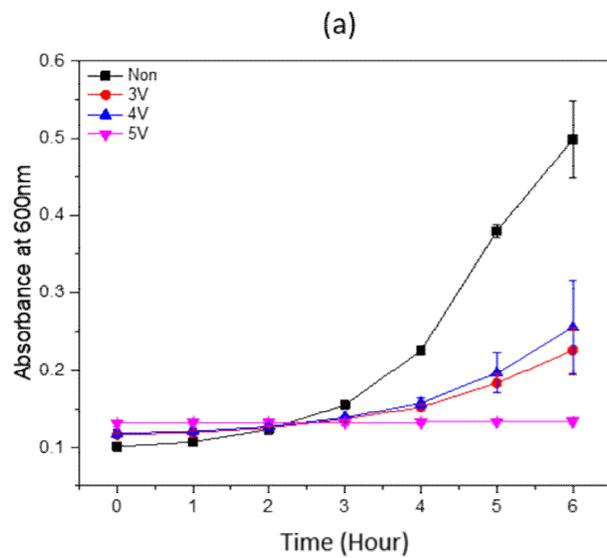


Figure 4. Under the conditions of a generator offset voltage of 0.7 V, a square wave duty cycle of 63.8 ms, and a frequency of 7.83 Hz, Variation in absorbance observed by changing the voltage to 3 V, 4 V, and 5 V, and the application times to 1 hour, 2 hours, and 3 hours. (a) 1-hour application group, (b) 2-hour application group, (c) 3-hour application group. Repetition (n) = 5

2. 전압, 인가시간 변화에 따른 흡광도 변화

Figure 4는 제너레이터의 오프셋 전압 0.7 V, 구형파의 duty cycle 63.8 ms, 그리고 주파수 7.83 Hz 조건에서 전압을 3 V, 4 V 및 5 V로 그리고 인가시간을 1 h, 2 h 및 3 h로 변화시키며 흡광도의 변화를 조사한 것이다. 전압을 1시간 동안 인가한 경우 3 V와 4 V 그룹에서는 약 3시간 동안 세균의 증식이 억제되었지만 5 V 그룹에서는 6시간 동안 증식이 억제되었다. 반면 전압을 2시간 이상 인가한 그룹에서는 3 V, 4 V 및 5 V 인가 그룹 공히 6시간 동안 세균의 증식이 억제되는 결과를 보였다.

3. 전압, 인가시간 변화에 따른 집락형성능(CFU) 변화

Figure 5는 제너레이터의 오프셋 전압 0.7 V, 구형파의 duty cycle 63.8 ms, 그리고 주파수 7.83 Hz 조건에서 전압을 3 V, 4 V 및 5 V로 그리고 인가시간을 1 h, 2 h 및 3 h로 변화시키고서 전압을 인가한 후 24시간 경과했을 때의 집락형성능(CFU)을 조사한 결과로서, 전압이 높고 인가시간이 길어질수록 CFU 값의 저하를 보였다($P < 0.05$).

4. 인가한 그룹의 HR FE-SEM 이미지 결과

Figure 6은 배지에 1.5×10^8 균을 분주한 그룹과 제너레이터의 오프셋 전압 0.7 V, duty cycle 63.8 ms 그리고 주파수

7.83 Hz 조건에서 출력 5 V 전압을 1시간 동안 인가한 그룹에 대하여 37 °C, 5% CO₂ 인큐베이터에서 4시간 동안 배양을 하고서 관찰한 HR FE-SEM 이미지로서, 무처리 대조 그룹에 비하여 5 V 전압 1시간 인가 그룹에서 세균수의 감소가 뚜렷하게 확인되었다.

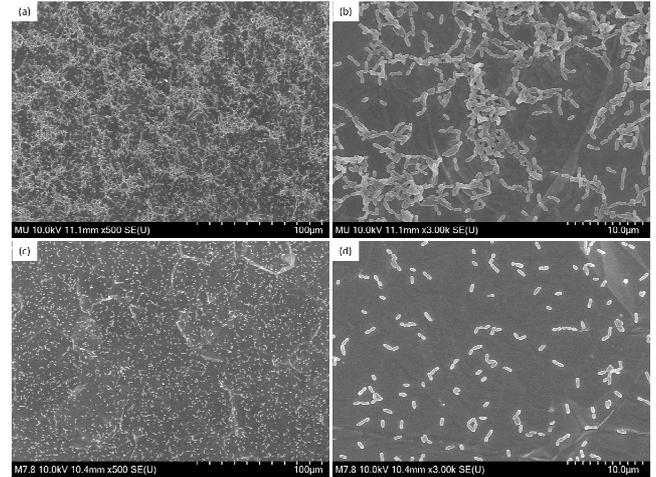


Figure 6. HR FE-SEM images were taken of the group seeded with 1.5×10^8 bacteria on the medium. The group also applied an output voltage of 5 V for 1 hour under the conditions of an offset voltage of 0.3 V, a duty cycle of 63.8 ms, and a frequency of 7.83 Hz of the generator, after culturing for 4 hours in a 37 °C, 5% CO₂ incubator. (a) X500 image of the untreated control group; (b) 3K image of the untreated control group; (c) X500 image of the group with 5 V voltage applied for 1 hour; (d) 3K image of the group with 5 V voltage applied for 1 hour.

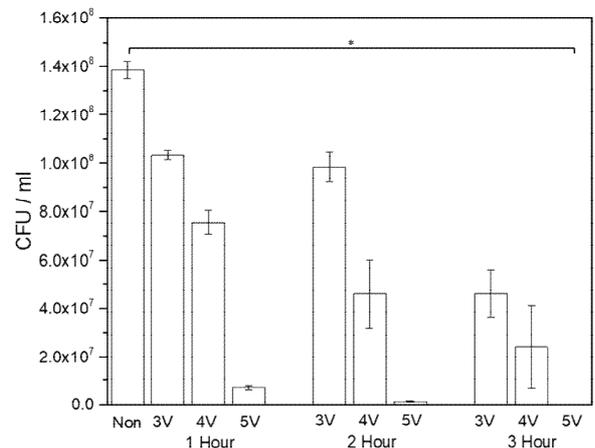
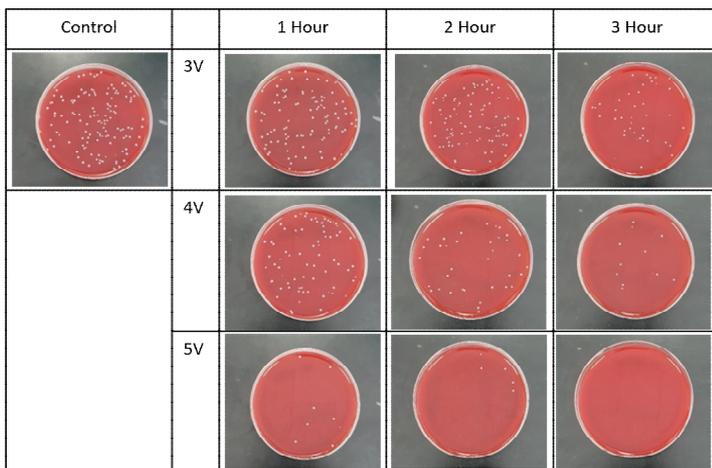


Figure 5. Under the conditions of an offset voltage of 0.7 V, a duty cycle of 63.8 ms, and a frequency of 7.83 Hz from the generator, the voltage was varied to 3 V, 4 V, and 5 V, and the application time was changed to 1 h, 2 h, and 3 h. The colony-forming ability (CFU) was then measured 24 hours after the voltage application ($P < 0.05$).

고 찰

이번 연구에서는 그람 양성균인 *S. mutans*에 오프셋 전압 0.7 V, duty cycle 63.8 ms, 그리고 주파수 7.83 Hz 조건에서 구형파 양전압을 3 V, 4 V 및 5 V로 그리고 인가시간을 1 h, 2 h 및 3 h로 변화시키며 인가하였다. 전압을 1시간 동안 인가한 경우 3 V와 4 V 그룹에서는 약 3시간 동안 세균 증식이 억제되었지만 5 V 그룹에서는 6시간 동안 증식이 억제되었다. 전압을 2시간 이상 인가한 경우 3 V, 4 V 및 5 V 인가 그룹에서 공히 6시간 동안 세균의 증식이 억제되어 세균의 증식은 전압과 노출 시간의 영향을 받았으므로 이번 연구의 귀무가설은 기각되었다.

ELF-EMF에서의 전압과 노출시간에 따른 세균 증식에 대한 연구는 여러 연구에서 보고되었다. 이번 실험에서는 구형파 내 특정 주파수인 7.83 Hz 조건에서 전압과 인가시간을 변화시키며 세균의 증식 억제 및 집락형성능(CFU)에 대하여 조사하였다. 주파수 7.83 Hz에서 5 V에 1시간 이상 인가한 경우에는 6시간에 걸쳐서 세균의 증식이 억제되는 결과를 보였으나, 3 V와 4 V에 1시간 동안 인가한 경우에는 약 3시간 동안 세균의 증식이 억제되었다. 반면 2시간 이상 인가한 경우에는 3 V, 4 V 및 5 V 인가 그룹에서 공히 6시간 동안 세균의 증식이 억제되는 결과를 보였다(Figure 4). 이러한 결과로 미루어 볼 때 저주기 구형파 양전압의 인가 시 3 V와 4 V 수준의 낮은 전압에서는 1시간의 인가로 어느 정도의 효과를 볼 수 있지만 효과적으로 증식을 억제하기 위해서는 인가시간을 늘릴 필요가 있으며, 인가 시간이 길어질수록 증식의 억제에 더욱 효과적임을 알 수 있었다. 또한 전압이 높고 인가시간이 길어질수록 집락형성능(CFU) 값이 낮아짐을 알 수 있었다(Figure 5). 추가적으로 5V에서 1시간 동안 인가 시 FE-SEM으로 조사한 경우에 인가군에서 세균 수가 뚜렷하게 감소되었다. 이는 특정 임계값 이상의 전압과 인가시간에 의해 세포의 생존과 번식 능력이 현저하게 저하될 수 있음을 시사한다.

잘 알려진 ELF-EMF 특성 중 하나는 세포의 apoptosis (세포 자살)를 유도하는 것이다. ELF-EMF에 의해 반응성 산소 종(Reactive Oxygen Species, ROS)의 증가가 유도되는 현상이 확인되었다. 이 ROS의 증가는 대분자의 합성에 영향을 미쳤으며, 이로 인해 단백질의 손상이 발생하고, 이에

따라 세포의 증식률이 감소하게 되었을 가능성을 제시하였다(10).

ELF-EMF가 세균에 미치는 영향에 대하여 많은 연구가 이루어졌다. 대표적으로 한 연구에서는 ELF-EMF를 이용해 그람 양성 세균(*Staphylococcus aureus*)과 그람 음성 세균(*Escherichia coli*)의 세균 증식률을 억제시켰다. Moore에 따르면 ELF-EMF는 세균의 증식 속도의 감소와 조직학적 변화를 유발시킨다고 주장하였다. 일반적으로 ELF-EMF 적용 시 주파수에 관계없이 낮은 전류 값과 높은 값의 모두에서 증식률이 감소되는 것이 관찰되었다. 이처럼 미생물의 성장은 전자기장의 세기와 주파수에 따라 촉진되거나 억제될 수 있다. 또한 그들은 노출 시간이 길어질수록 배지에서의 세균 증식 효과가 억제한다는 결론을 내렸다(14).

또 다수의 연구들에서 저주파 전자기장(EMF)은 세균의 증식을 효과적으로 억제할 수 있다는 것을 보여주었다. 한 연구 결과에서는 ELF-EMF의 영향은 세포 내부와 세포 외부의 Ca^{2+} 유입의 변화와 관련되어 있다는 것을 제안하고 있다. 세포질 내 Ca^{2+} 은 세포의 증식, 대사, 유전자 전사를 포함하여 세포의 분화과정을 제어하는 전반적인 신호전달 물질이다. Buckner 등(2015)은 EMF 노출이 Ca^{2+} 전압 게이트 채널을 통한 Ca^{2+} 유입을 촉진함으로써, EMF가 세포질 내 Ca^{2+} 의 농도를 증가시키고, 그 결과로 생물학적 기능이 변화되는 것을 보여주었다(11). 이러한 현상이 발생하는 한 가지 원인은 세포질 내 Ca^{2+} 의 증가가 미토콘드리아의 막 전위를 변화시켜 미토콘드리아의 활동, 예를 들면 호흡률 증가와 미토콘드리아 단백질 표현의 변화 등에 영향을 주기 때문이며, 이것은 세균의 증식을 억제하는 결과를 가져온다(7).

EMF-ELF는 사인파로 이루어져 있다. 사인파는 가장 기본적인 파형으로, 자연 현상에서 많이 찾을 수 있다. 사인파는 그 주기동안 부드럽게 변하며, 자연스러운 진동을 나타낸다. 한 연구에서 사인파로 구성된 파형보다 구형파로 이루어진 파형이 세균의 증식을 더욱 효과적으로 억제할 수 있음을 보여주었다. 이 연구에서는 구형파에 대한 노출이 세균의 전위 활동을 촉진시키고 세포 생존력을 줄인다는 것을 보여주었고, 반면 사인파에서의 노출은 전위 이동성을 줄이고 세포 생존력을 증진시킨다고 보고되었다(15). 이러한 장점으로 인해 이번 실험에서는 구형파를 선택하여 연구를 진행하였다.

선행 연구에서 물에 전류를 통해 전류를 흘려주어 생성된 용액(전기 분해수)으로 *S. mutans* 및 biofilm에 대한 항균력을 조사하였다. 전기 분해수는 *S. mutans*와 바이오 필름에 대해서 항균력을 보였다. 약한 전류를 흘려 구강 청결제만큼 항균력이 있다는 것에는 의의가 있지만 주파수에 대한 추가적인 연구는 없었다(16).

이번 연구에서는 특정한 균주 즉 *S. mutans* 균주에 있어서 극저주기 구형과를 인가하였을 때 세포 증식속도의 변화에 관해 조사하였다. 전압의 세기와 인가시간을 동일시 하였을 때 1000 Hz 이내 저주파 조건에서의 개체 수 변화에 대해 가장 효율적인 주파수를 찾고자 실험하였다. 그림3에서 알 수 있듯이 다른 주파수 환경과는 달리 7.83 Hz 조건에서만 전압 인가 후 6시간 동안 세균 증식이 효율적으로 억제되는 것을 확인할 수 있었다. 이는 다른 주파수 조건 비해 세균 증식의 억제에 있어 7.83 Hz는 가장 효율적인 주파수 중 하나라는 것을 알 수 있었다.

ELF-EMF는 주변에서 흔히 인간 활동(주로, 50 Hz와 60 Hz)이나 자연 현상 (Schumann 공명 주파수)에 의해 생성될 수 있다(17). 7.83 Hz는 지구의 자연 자기장과 동일한 주파수로, 이는 Schumann 공명이라고도 정의된다. 슈만 공명은 번개와 같은 기상 현상에 의해 대기 중에 자유 전자가 생성되면서 발생한다. 이러한 전자들은 지구 대기와 지표면 사이의 공간에서 발생하는 자연 발진 주파수이다. 슈만 공명의 주파수 중 하나인 7.83 Hz는 알파 뇌파의 범위와 유사하다. 알파 뇌파는 일반적으로 평온하고 명상하는 상태에서 관찰되며, 휴식과 회복에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(18). 이 연구는 전류를 사용하여 인체에 해가 되지 않는 범위 내에서 치아 내 세균 증식을 억제하는 데 중요한 실용적 가치가 있다. 이는 안전한 수준의 전류를 치아에 적용함으로써 세균의 성장을 효과적으로 억제할 수 있음을 시사하며, 이로 인해 치아 관리와 구강 건강 증진에 혁신적인 접근 방식을 제공할 수 있다.

위 실험에서 세균 증식을 가장 효율적으로 억제했던 주파수 범위가 슈만 공명 주파수의 범위와 동일하다는 점은 주목해 볼 만한 내용이다. 아직 이러한 주파수로 인해 세균의 증식과 억제에 관한 이론들에 대한 체계적인 연구는 부족한 상황이다. 이러한 특정 주파수로 인한 세균 세포내 유기질의 변화, 단백질 합성에 대한 변화에 효율적인 영향을 미칠

수 있다는 내용과 함께 이에 대한 분자생물학적인 메커니즘에 대해서는 더 연구해 볼 만한 가치가 있다고 생각된다.

결론

이 연구를 통해 구형과 양전압의 offset 전압의 크기, 전압의 크기 및 인가시간 그리고 주파수 범위에 따라 *S. mutans*의 세균 증식이 달라지는 것을 알 수 있었다. *S. mutans*의 증식은 offset 전압 0.7 V, 주파수 7.83 Hz의 구형과 양전압을 5 V 이상으로 1시간 이상 인가했을 때 가장 효과적으로 억제되었다. 이 연구의 결과를 근거로 하여 구형과 양전압을 발생하는 저주파 치료기로서 구강 내에 적용하였을 때 인체에 무해하면서도 세균의 증식을 효과적으로 억제할 수 있는 전류에 대한 추가적인 검토가 필요할 것으로 생각되며, 또한 이 연구는 치과 치료와 구강 건강 관리의 분야에서 새롭고 혁신적인 방향을 시사한다.

사사

본 연구는 (주)하스의 지원으로 연구되었다.

참고문헌

1. Hossain MS, Alam S, Nibir YM, Tusty TA, Bulbul SM, Islam M, et al. Genotypic and phenotypic characterization of *Streptococcus mutans* strains isolated from patients with dental caries. Iran J Microbiol. 2021; 13(4):449-57.
2. Lin X, Chen X, Tu Y, Wang S, Chen H. Effect of probiotic lactobacilli on the growth of *Streptococcus mutans* and multispecies biofilms isolated from children with active caries. Med Sci Monit. 2017;23: 4175-81.
3. Sale A, Hamilton W. Effects of high electric fields on microorganisms: I. Killing of bacteria and yeasts.

- Biochim Biophys Acta. 1967;148(3):781-8.
4. Caubet R, Pedarros-Caubet F, Chu M, Freye E, de Belem Rodrigues M, Moreau J, et al. A radio frequency electric current enhances antibiotic efficacy against bacterial biofilms. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48(12):4662-4.
 5. Krishnamurthi VR, Rogers A, Peifer J, Niyonshuti II, Chen J, Wang Y. Microampere electric current causes bacterial membrane damage and two-way leakage in a short period of time. *Appl Environ Microbiol*. 2020; 86(16):e01015-20.
 6. Li X, Zhang M, Bai L, Bai W, Xu W, Zhu H. Effects of 50 Hz pulsed electromagnetic fields on the growth and cell cycle arrest of mesenchymal stem cells: an in vitro study. *Electromagn Biol Med*. 2012;31(4): 356-64.
 7. Tang J-Y, Yeh T-W, Huang Y-T, Wang M-H, Jang L-S. Effects of extremely low-frequency electromagnetic fields on B16F10 cancer cells. *Electromagn Biol Med*. 2019;38(2):149-57.
 8. Oncul S, Cuce EM, Aksu B, Inhan Garip A. Effect of extremely low frequency electromagnetic fields on bacterial membrane. *Int J Radiat Biol*. 2016;92(1): 42-9.
 9. Zhadin MN. Review of Russian literature on biological action of DC and low-frequency AC magnetic fields. *Bioelectromagnetics*. 2001;22(1):27-45.
 10. Barati M, Darvishi B, Javidi MA, Mohammadian A, Shariatpanahi SP, Eisavand MR, et al. Cellular stress response to extremely low-frequency electromagnetic fields (ELF-EMF): An explanation for controversial effects of ELF-EMF on apoptosis. *Cell Prolif*. 2021;54 (12):e13154.
 11. Buckner CA, Buckner AL, Koren SA, Persinger MA, Lafrenie RM. Inhibition of cancer cell growth by exposure to a specific time-varying electromagnetic field involves T-type calcium channels. *PLoS One*. 2015;10(4):e0124136.
 12. Selvam R, Ganesan K, Raju KN, Gangadharan AC, Manohar BM, Puvanakrishnan R. Low frequency and low intensity pulsed electromagnetic field exerts its antiinflammatory effect through restoration of plasma membrane calcium ATPase activity. *Life Sci*. 2007;80 (26):2403-10.
 13. Yang X, Guo H, Ye W, Yang L, He C. Pulsed electromagnetic field attenuates osteoarthritis progression in a murine destabilization-induced model through inhibition of TNF- α and IL-6 signaling. *Cartilage*. 2021;13(2_suppl):1665S-75S.
 14. Moore RL. Biological effects of magnetic fields: studies with microorganisms. *Can J Microbiol*. 1979;25(10): 1145-51.
 15. Del Re B, Bersani F, Agostini C, Mesirca P, Giorgi G. Various effects on transposition activity and survival of *Escherichia coli* cells due to different ELF-MF signals. *Radiat Environ Biophys*. 2004;43(4):265-70.
 16. Lee K. Neutral electrolyzed water for prevention of dental caries. *J Korean Acad Pediatr Dent*. 2016;43(3): 306-12.
 17. Price C, Williams E, Elhalel G, Sentman D. Natural ELF fields in the atmosphere and in living organisms. *Int J Biometeorol*. 2021;65(1):85-92.
 18. Pobachenko S, Kolesnik A, Borodin A, Kalyuzhin V. The contingency of parameters of human encephalograms and Schumann resonance electromagnetic fields revealed in monitoring studies. *Biophysics*. 2006;51(3):480-3.

저주기 구형파 양전압의 인가가 우식 원인균 *S. mutans*의 동정에 미치는 영향

박정환¹, 김화목², 김정기¹, 전영미¹, 장용석², 이민호², 배태성^{2,*}

¹전북대학교 치과대학 치과교정학교실 및 구강생체과학연구소

²전북대학교 치과대학 치과생체재료학교실, 생체흡수성소재연구소

Streptococcus mutans (*S. mutans*)는 사람의 구강에 서식하는 그람 양성 세균이다. 이는 치아우식증의 주요 원인균으로 널리 알려져 있다. 이를 예방하기 위해서 주기적인 양치질, 치실 사용 등 구강 위생을 양호하게 유지하고 설탕 함량이 높은 음식과 음료 섭취를 줄이는 방법이 있다. 최근에는 이 병원균에 대한 예방뿐만 아니라 구강 환경에서 세균 증식을 효과적으로 억제하는 방법에 대한 연구가 진행되고 있다. 과거 연구에서는 고전압, 고전류 조건에서 살균효과에 대한 많은 보고가 있었다. 그러나 최근 연구에서는 낮은 전압과 전류 조건에서도 박테리아와 생물막이 효과적으로 파괴될 수 있다는 보고가 자주 보고되고 있다. 본 연구에서는 낮은 전압 및 전류 조건에서 주파수를 변화시켰을 때 *S. mutans*의 개체군 변화에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과, duty cycle 63.8 ms에서만 전압 인가 후 6시간 동안 세균 증식이 억제되는 것으로 나타났다. 또한 duty cycle 63.8 ms, 주파수는 7.83 Hz로 전압을 3 V, 4 V, 5 V로, 인가시간을 1 h, 2 h, 3 h로 변화시켜 세균의 증식을 관찰하였다. 그 결과, 전압이 높을수록, 인가 시간이 길어질수록 세균 증식 억제 시간이 길어지는 것으로 나타났다. 지구 자연 자기장에 해당되는 7.83 Hz(슈만 공명)는 다른 주파수 조건에 비해 세균 증식 억제에 있어 가장 효율적인 주파수 중 하나라는 것이 결과로 나타났다. 또한 전압 및 인가 시간의 변화에 따라 *S. mutans*의 증식에 영향을 미칠 수 있다는 것을 입증할 수 있었다.

색인단어 : *Streptococcus mutans*, 주파수, 세균 증식률, 7.83Hz
