

애사과 추출물의 총치억제효과

윤석영 · 김성훈 · 정해림 · 이정준 · 허철성 · 백영진
(주)한국야쿠르트 중앙연구소

Anticariogenic Effects of Unripe Apple Extract

Suck-Young Yoon, Sung-Hoon Kim, Hae-Lim Chung, Jeong-Jun Lee,
Chul-Sung Huh and Young-Jin Baek
R & D center, Korea Yakult Co., Ltd.

Abstract

Anticariogenic activity of the unripe apple extract was studied by observing the inhibitory effects on GTase(glucosyltransferase) activity, cell adherence and acid production of *Streptococcus mutans*. Among the four *S. mutans* strains, *S. mutans* MT 8148 had the highest water-insoluble glucan forming activity. (+)-Catechin and tannic acid, the major components of the unripe apple polyphenols inhibited GTase activity by 60% at 1 mg/ml and 90% at 5 mg/ml. Tannic acid and unripe apple extract inhibited adherence ability of *S. mutans* by 50% and 30%, respectively. But the acid production of *S. mutans* was not influenced by the polyphenols. Disc diffusion test showed that the polyphenols have no antimicrobial activity against *S. mutans*, which indicates that the inhibition of GTase activity and cell adherence were not resulted from the cell growth inhibition. Our results convinced the possible application of the unripe apple extract as the anticariogenic food additives.

Key words : unripe apple, polyphenols, anticariogenic, *Streptococcus mutans*

서 론

총치(dental caries, 치아우식증)는 *mutans streptococci* 라고 총칭되는 구강연쇄구균에 의해 발생하며, 사람의 구강에서는 *Streptococcus mutans*와 *Streptococcus sobrinus*의 2종이 분리된다⁽¹⁾. 이 중 *S. mutans*는 glucosyltransferase(GTase)를 생산하며 이들 효소의 작용에 의해 sucrose로부터 불용성이며 강력한 접착력을 갖는 glucan을 합성한다⁽²⁾. 이 insoluble glucan은 *S. mutans*를 치면에 부착시켜 정착시키는 접착제 역할을 한다. 치면에서 성장, 증식한 *S. mutans*는 다종의 구강 내 세균과의 회합에 의해 균괴를 생성한다. 이 균괴가 성장하여 치면을 덮으면 육안으로 보여지는 치석(dental plaque)이 된다⁽³⁾. 치석을 구성하는 *S. mutans*가 당질을 대사하여 생성하는 lactic acid 등의 유기산이 치석 내부에 축적되어 pH가 저하하면 enamel질의 탈회(decalcification)를 유발하여 치아우식증에 이르게 된

다^(4,5).

최근에는 총치예방을 위해 *S. mutans*에 대한 항균⁽⁶⁻⁸⁾, GTase 활성억제⁽⁹⁻¹²⁾, cell adherence 억제⁽¹³⁻¹⁵⁾, 산 생성억제⁽¹³⁾ 등에 효능이 있는 물질의 검색이 활발히 이루어지고 있다. 특히 천연물 소재를 이용한 탐색들이 활발히 이루어지고 있는데, Kwon⁽¹⁶⁾은 cacao bean 으로부터, Ahn⁽¹¹⁾은 감잎으로부터 GTase 활성 억제 작용을 지니는 tannin 화합물을 분리하였다. Miyoshi 등⁽¹⁷⁾은 *Gymnema sylvestris*으로부터 gymnemic acid를 추출하여 항균활성과 insoluble glucan 생성 억제를 확인하였다. Lee 등⁽¹⁸⁾은 후박피로부터 4,4'-dihydroxy-3,3'-dimethoxylignan이 항균활성과 GTase 활성억제 효과를 가지고 있음을 보고하였다. 또한 녹차와 우롱차의 경우는 polyphenol 화합물이 *S. mutans*에 대한 항균활성을 나타내며 GTase의 활성도 억제한다고 알려져 있다^(7,9,12,19).

애사과(unripe apple)는 성숙사과에 비해 10배 이상의 polyphenol을 함유하고 있으며⁽²⁰⁾, (+)-catechin, (-)-epicatechin, chlorogenic acid, tannic acid가 주요 polyphenol 성분으로 알려져 있다⁽²¹⁾.

Corresponding author : Suck-Young Yoon, R & D center, Korea Yakult Co., Ltd., #418-12, Komae-Ri, Kiheung-Eup, Yongin-Si, Kyunggi-Do, 449-900, Korea

따라서 본 연구는 애사과 추출물과 그 구성 polyphenol 성분들에 대한 GTase 활성 억제효과, cell adherence 억제효과, 산 생성 억제효과를 알아봄으로써, 애사과 추출물에 대해 총치예방효과를 갖는 기능성 소재로서의 가능성을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

애사과 추출물은 개화 후 2.5개월된 후지와 아오리 애사과로부터 다음과 같은 방법으로 추출하여 사용하였다. 애사과를 60°C, 30분간 열침시키고 착즙하여 여과한 후, 여과액을 rotary vacuum evaporator(Eyela NE, Japan)를 이용하여 농축하였다. 애사과 농축액을 동결건조한 후 얻어진 분말을 애사과 추출물로 사용하였다. 사용된 애사과 추출물의 polyphenol 조성은 HPLC에 의한 분석결과, 주요성분인 (+)-catechin, chlorogenic acid, (-)-epicatechin이 총 0.7% 함유되어 있었다⁽²¹⁾. 그리고 애사과 polyphenol의 주요성분으로 알려진 표준 (+)-catechin, chlorogenic acid, (-)-epicatechin, tannic acid는 Sigma(USA) 제품을 구입하여 사용하였다. HPLC에 사용한 lactic acid standard는 Sigma(USA) 제품을 구입하여 사용하였다.

사용 균주 및 배양

본 연구에는 *S. mutans* HY 29001(serotype c), MT 8148(serotype c), ATCC 25175(serotype c), ATCC 27067(serotype d)를 사용하였다. *S. mutans* 균주들의 배양배지로는 BHI broth(Difco, USA)를 사용하였으며, 37°C에서 18시간 계대배양하면서 사용하였다.

Crude-GTase 분리 및 GTase 활성억제효과

*S. mutans*를 멸균된 BHI broth에 0.3%(v/v) 접종하여 shaking incubator에서 37°C, 18시간 동안 배양하였다. 배양된 *S. mutans*를 원심분리(8,000×g, 15 min, 4°C)하여 그 상층액을 취하였다. 상층액을 50% ammonium sulfate로 포화시킨 후, 포화용액을 다시 원심분리(8,000×g, 15 min, 4°C)하였다. 침전물을 buffer A(20 mM sodium phosphate buffer, pH 6.8, 0.02% sodium azide)에 녹이고, 이를 다시 투석하여 ammonium sulfate를 제거하였다. 투석이 완료된 crude-GTase 용액은 동결건조하여 실험에 사용하였다. Polyphenol에 의한 GTase 활성억제효과는 water-insoluble glucan의 생성억제정도를 측정하여 확인하였다. Buffer A 3 ml에 1%(w/v) sucrose를 첨가하고

crude-GTase를 최종농도가 0.5 mg/ml이 되도록 혼합하였다. 여기에 각각의 polyphenol 시료를 최종농도가 5,000~100 µg/ml이 되도록 단계별로 첨가하여 37°C, 18 시간동안 반응시켰다. 반응완료 후 흡광도(550 nm)와 phenol-sulfuric acid법⁽²²⁾을 이용하여 crude-GTase에 의해 생성된 water-insoluble glucan의 양을 측정, 비교하였다. Phenol-sulfuric acid법은 1 ml 반응액에 25 µl 80% phenol 용액을 가하고, 재빠르게 conc. sulfuric acid 5ml를 가한 후, 10분 뒤에 반응액을 잘 섞어주고 25~30°C water bath에서 10~20분간 유지 후, 480 nm에서 흡광도를 측정하였다. GTase 활성억제율은 polyphenol 시료를 첨가하지 않고 반응시킨 경우의 water-insoluble glucan 생성량을 100으로 하여, polyphenol 시료가 첨가된 경우의 water-insoluble glucan 생성량을 환산하여 표기하였다.

Cell adherence 억제효과

Polyphenol에 의한 *S. mutans*의 cell adherence 억제효과는 Ooshima 등⁽²³⁾의 glass surface 방법을 이용하여 측정하였다. 50 ml의 glass tube에 1%(w/v) sucrose를 함유한 BHI broth 10 ml를 넣고 *S. mutans* MT 8148을 1×10^6 cfu/ml 접종하였다. 여기에 각각의 polyphenol을 최종농도가 1,000 µg/ml이 되도록 첨가하고 이 glass tube를 바닥에 붙을 정도로 기울여서 37°C에서 24시간 정지배양한 후, 조심스럽게 buffer A로 2회 세척하였다. 여기에 0.5 M NaOH 용액을 가하여 벽면에 붙은 균체를 현탁한 후 흡광도(550 nm)를 측정하였다. Cell adherence 억제율은 polyphenol 시료를 첨가하지 않고 반응시킨 경우의 흡광도를 100으로 하여, polyphenol 시료가 첨가된 경우에 나타난 흡광도를 환산하여 표기하였다.

산 생성 억제효과

Polyphenol에 의한 *S. mutans*의 산생성 억제효과는 Koga 등⁽²⁴⁾의 방법을 이용하여 측정하였다. 1%(w/v) glucose 함유 BHI broth에 *S. mutans*를 1×10^6 cfu/ml 접종하고 각각의 polyphenol을 최종농도가 1,000 µg/ml이 되도록 첨가하여 37°C, 24시간동안 진탕배양한 후에 흡광도(550 nm), pH, lactic acid 생성량을 측정하였다. *S. mutans*의 lactic acid 생성량은 배양액을 제균한 뒤 다음의 분석조건에 따라 HPLC로 분석하였다. HP 1100 series(Hewlett Packard, USA); Aminex HPX-87H column(7.8×300 mm); DAD detector(215 nm); injection volume, 20 µl; mobile phase, 0.01 N H₂SO₄; flow rate, 0.6 ml/min, column temp., 65°C.

항균효과

*S. mutans*에 대한 polyphenol의 항균효과는 disc diffusion 방법을 이용하여 측정하였다. 미리 제조한 BHI agar plate에 *S. mutans* 배양액을 도말하고 여기에 멸균된 1/4" Bacto concentration disks sterile blanks(Difco Lab., USA)를 올려놓고 disc에 각각 500, 1,000, 2,500, 5,000 µg/ml의 polyphenol 용액을 10 µl loading 하였다. 37°C에서 24시간동안 배양한 후 disc 주위에 나타난 clear zone의 직경을 측정하였다.

결과 및 고찰

S. mutans 균주에 따른 GTase 활성 비교

S. mutans HY 29001, MT 8148, ATCC 27067, ATCC 25175의 4종 strain에 대한 GTase 활성을 알아보기 위해, 각 균주의 sucrose와 GTase에 의해 생성된 water-insoluble glucan의 양을 흡광도로 측정, 비교하였다. Table 1에 나타난 것과 같이 sucrose 0.1%(w/v) 조건에서 37°C로 진탕배양한 후, 각 *S. mutans*의 water-insoluble glucan의 생성량은 MT 8148, ATCC 25175, HY 29001, ATCC 27067의 순으로 많이 생성되었으며, 흡광도 측정시 650 nm보다 550 nm에서 측정시 보다 높은 흡광도를 나타냈다. 이 중 *S. mutans* MT 8148이 가장 높은 GTase 활성을 나타냄에 따라 이후에 실시한 모든 실험은 *S. mutans* MT 8148을 이용하여 진행하였다.

당성분에 따른 GTase 활성 비교

충치의 원인으로 알려져 있는 당 성분 중 어떤 당

Table 1. Production of water-insoluble glucan from sucrose by GTase isolated from *S. mutans* strains

<i>S. mutans</i> strains	Water-insoluble glucan	
	O.D. ₅₅₀	O.D. ₆₆₀
HY 29001	0.6134	0.5212
MT 8148	1.0158	0.9079
ATCC 27067	0.0136	0.0431
ATCC 25175	0.9469	0.8621

Table 2. Production of water-insoluble glucan from various carbohydrate source by *S. mutans* GTase

Substrates	Insoluble glucan formation (O.D. ₅₅₀)
Fructose	0
Galactose	0
Glucose	0
Lactose	0
Maltose	0
Sucrose	1.03

이 충치유발에 직접적으로 관여하는지를 알아보기 위해, 여러 가지 당을 기질로 하여 *S. mutans* MT 8148 GTase의 활성을 알아보았다. Table 2에서 보는 바와 같이 각 당의 농도를 0.1%(w/v)로 가해 37°C에서 18시간 동안 진탕배양한 경우, GTase는 sucrose에 대해서는 water-insoluble glucan을 생성했으나 glucose, galactose, lactose, maltose, fructose를 기질로 사용한 경우에는 water-insoluble glucan을 전혀 생성하지 못하였다. 따라서 sucrose의 사용을 줄인다면 water-insoluble glucan 생성량도 감소하여 충치발생율이 감소할 것으로 생각된다.

Polyphenol의 GTase 활성억제효과

애사과 추출물과 애사과에 존재하는 polyphenol 성분인 (+)-catechin, (-)-epicatechin, chlorogenic acid, tannic acid 등에 대하여 1 mg/ml의 농도에서 GTase 활성억제율을 비교하였다. Table 3에서 보는 바와 같이 (+)-catechin과 tannic acid는 GTase에 대해 60% 이상의 높은 억제율을 보였으나, chlorogenic acid와 애사과 추출물에서는 억제율이 40% 이하였으며, (-)-epicatechin에서는 GTase활성이 전혀 억제되지 않았다. Polyphenol 성분 중 tannic acid에 의한 GTase 활성억제효과는 여러 식물체로부터 분리되어 많이 보고되었으며^(11,16), 그 외 우롱차와 녹차의 경우는 (-)-epigallocatechin gallate와 (-)-epicatechin gallate 등과 같은 polyphenol 성분이 강한 GTase 활성억제효과를 나타내는 것으로 보고되었다^(7,9,12).

GTase 활성억제효과가 확인된 (+)-catechin, tannic acid, 애사과 추출물에 대해서 농도별 GTase 활성억제효과를 재확인하였다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 tannic acid와 (+)-catechin의 경우는 1 mg/ml 이상의 농도에서 60% 이상의 활성억제효과가 나타났으며, 억제효과는 농도에 따라 점차 증가하여 5 mg/ml에서는 GTase 활성을 90% 이상 억제하는 것으로 나타났다. 애사과 추출물의 경우는 각 성분들과 동일농도에서 비교했을 때 GTase 활성억제효과가 50% 정도 낮게 나타났다. 이는 애사과 추출물의 구성성분 중 tannic acid와 (+)-

Table 3. Inhibitory effects of unripe apple extract and polyphenols on *S. mutans* GTase activity

Polyphenols	Inhibition rate (%)
(+)-Catechin	62.25
Chlorogenic acid	34.81
(-)-Epicatechin	0
Tannic acid	67.79
Polyphenol extract	37.22

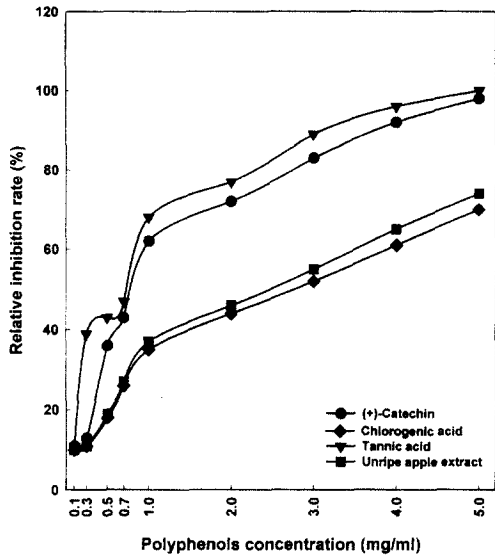


Fig. 1. Inhibitory effects on GTase activity according to polyphenol concentrations.

catechin이 차지하는 비율이 50%를 넘지 못하며, tannic acid와 (+)-catechin이 혼합되어 나타나는 상승효과가 없기 때문으로 생각된다.

Polyphenol에 의한 *S. mutans*의 cell adherence 억제효과

*S. mutans*가 생성한 water-insoluble glucan에 의해 치면에 정착하는 것을 방지하는 것도 충치를 예방하는 하나의 방법이다. 애사과 polyphenol 성분들이 *S. mutans*의 cell adherence를 억제하는가를 1 mg/ml의 농도에서 확인하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 tannic acid의 경우는 약 50% 정도의 억제효과를 나타내 GTase 활성억제와 함께 좋은 결과를 확인하였다. 애사과 추출물은 약 30% 정도의 adherence 억제효과가 확인되어 GTase 활성 억제에 비해서 adherence 억제효과가 큰 것으로 나타났다. (+)-Catechin의 경우는 GTase 활성억제효과에 비해 cell adherence 억제효과는 매우 약하게 나타나 GTase 활성억제와 cell adherence 억제가 비례하는 것은 아님을 알 수 있었다. 현재까지 많은 연구자들이 *S. mutans*의 cell adherence 억제에 관한 연구를 통해 dextranase^(25,26)나 계면활성제⁽²⁷⁾, sucrose 유사당류⁽¹³⁾에 의한 cell adherence 억제에 대해서는 구체적인 기작을 언급하고 있으나, 천연 추출물 유래의 polyphenol 작용 기작에 대해서는 언급하지 못하고 있다⁽¹⁵⁾. Tannic acid의 경우는 mutastain⁽²⁸⁾과 마찬가지로 GTase 활성 억제능과 cell adherence 억제능에서

Fig. 2. Inhibitory effects of unripe apple extract and polyphenols against adherence of *S. mutans*.

차이를 보이지 않으나, (+)-catechin의 경우는 두 억제능에서 차이를 보임에 따라 이들 억제능은 같은 기작에 의한 것이 아님을 알 수 있다.

Polyphenol에 의한 산 생성 억제효과

*S. mutans*가 치석을 형성하고 그 속에서 구강내로 들어온 당을 이용하여 lactic acid 등과 같은 산을 생성하게 되면 치석내부의 pH가 저하되어 enamel질이 탈회됨으로써 충치를 유발한다. 따라서 치석내부에서 *S. mutans*의 산 생성을 억제하면 충치 발생을 예방할 수 있다. 1 mg/ml 농도에서 애사과 추출물과 polyphenol 성분들이 1%(w/v)의 glucose 조건하에서 *S. mutans*의 lactic acid 생성을 억제할 수 있는가를 HPLC 분석을 통해 알아보았다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 애사과 polyphenol 성분 중 tannic acid가 19.8%의 산 생성억제효과를 나타냈으며, (+)-catechin, (-)-epicatechin, chlorogenic acid, 애사과 추출물은 각각 3.7%, 2.8%, 8.5%, 9.4%의 낮은 산 생성 억제 효과를 나타냈다.

Polyphenol의 *S. mutans*에 대한 항균효과

*S. mutans*의 cell adherence능과 산 생성능은 균체가 직접 실험에 사용되므로 만약 애사과 polyphenol들이 *S. mutans*에 대한 항균작용을 가지고 있다면 cell adherence 억제효과와 산 생성억제효과가 항균작용에

Fig. 3. Effects of unripe apple extract and polyphenols on acid production of *S. mutans*.

의한 결과라고 볼 수 있다. 이는 Park 등⁽¹⁵⁾이 상백피 추출물의 항균활성과 세포부착 억제효과가 유사한 경향을 나타낸다고 보고한 것으로 뒷받침된다. 따라서, GTase 활성억제효과와 cell adherence 저해효과가 있는 애사과 추출물과 polyphenol 성분들에 대해 disc diffusion 방법을 이용하여 *S. mutans*에 대한 항균효과를 확인하였다. 그 결과 애사과 추출물과 각각의 polyphenol 성분들은 *S. mutans*에 대해 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 mg/ml의 농도에서 clear zone을 전혀 형성하지 못해 항균활성이 없는 것으로 확인되었다. 따라서 *S. mutans*의 cell adherence에 대한 애사과 추출물과 polyphenol 성분들의 억제효과는 항균작용에 의해 나타난 결과가 아님을 알 수 있었다.

이상의 결과들을 통해, 애사과 추출물로부터 *S. mutans*의 GTase 활성억제효과, cell adherence 억제효과를 확인하였으며, 애사과 polyphenol 성분들 중 tannic acid가 *S. mutans*의 GTase 활성억제효과, cell adherence 억제효과를 높게 나타내며, 약간의 산 생성 억제효과도 가지고 있었다. (+)-catechin은 GTase 활성 억제 효과만이 나타났으며, (-)-epicatechin의 경우는 산 생성 억제효과가 미약하게 있음을 알 수 있었다.

요 약

애사과 polyphenol의 충치예방효과를 확인하고자, *S. mutans* 4 균주 가운데 GTase 활성이 가장 높은 *S. mutans* MT 8148 균주에 대하여 애사과 polyphenol의 GTase 활성억제효과, cell adherence 억제효과, 산 생성 억제효과를 측정하였다. *S. mutans* GTase에 대한 활성 억제효과는 애사과 polyphenol 성분 중 (+)-catechin과 tannic acid가 1 mg/ml의 농도에서 60% 이상, 5 mg/ml의 농도에서 90% 이상으로 높게 나타났다. *S. mutans*의 adherence에 대해서는 tannic acid가 약 50% 정도의 억제효과를 나타냈으며, 애사과 추출물도 약 30% 정도의 억제효과를 보였다. 그러나 *S. mutans*의 산 생성에 대해서는 애사과 polyphenol 성분들이 억제효과를 나타내지 못하는 것으로 나타났다. 애사과 polyphenol 성분들의 *S. mutans*에 대한 항균활성을 확인한 결과, 이들은 항균활성은 갖지 않는 것으로 나타났다. 애사과 polyphenol의 충치억제효과는 주성분중의 하나인 catechin과 tannic acid의 *S. mutans* GTase 활성억제와 cell adherence 억제효과로부터 기인된 것임을 알 수 있었다. 따라서 애사과 추출물은 충치예방을 위한 기능성 식품소재로 사용 가능할 것으로 생각된다.

문 헌

1. Hamada, S., Ooshima, T., Torii, M., Imanishi, H., Masuda, N., Mizuno, J., Sobue, S. and Kotani, S. Dental caries induction in experimental animals by clinical strains of *Streptococcus mutans* isolated from Japanese children. *Microbiol. Immunol.* 22: 301-314 (1978)
2. Hamada, S., Ooshima, T., Masuda, N., Mizuno, J. and Sobue, S. Inhibition of rat dental caries by dextranase from a strain of *Spicaria violacea*. *Jpn. J. Microbiol.* 20: 321-330 (1976)
3. Koga, T. and Hamada, S. Adhesion of oral bacteria and plaque. dental caries. progress of research. Nihon-shikahyoron Publishers, Tokyo, Japan (1982)
4. Gibbons, R.J. and Van Houte, J. On the formation of dental plaques. *J. Periodontol.* 44: 347-360 (1973)
5. McGhee, J.R. and Michalek, S.M. Immunology of dental caries : microbial aspects and local immunity. *Ann. Rev. Microbiol.* 135: 595-638 (1981)
6. You, Y.S., Park, K.M. and Kim, Y.B. Antimicrobial activities of some medical herbs and spices against *Streptococcus mutans*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 21: 187-191 (1993)
7. Sakanaka, S., Kim, M., Taniguchi, M. and Yamamoto, T. Antibacterial substances in Japanese green tea extract against *Streptococcus mutans*, a cariogenic bacterium. *Agric. Biol. Chem.* 53: 2307-2311 (1989)
8. Kubo, I., Muroi, H. and Himejima, M. Antimicrobial activity of green tea flavor components and their combination effects. *J. Agric. Food Chem.* 40: 245-248

- (1992)
9. Nakahara, K., Kawabata, S., Ono, H., Ogura, K., Tanaka, T., Ooshima, T. and Hamada, S. Inhibitory effect of oolong tea polyphenols on glucosyltransferase of mutans Streptococci. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 968-973 (1993)
 10. Fukushima, K., Izawa, K., Masada, M., Oogu, K., Namiki, Y., Okada, T., Ozaki, J., Tamura, G. and Ikeda, T. Inhibitory effects of a fermented "Makomo" leaf extract on insoluble-glucan synthesis by serotype c *Streptococcus mutans* glucosyltransferase. *Biosci. Biotech. Biochem.* 57: 672-673 (1993)
 11. An, B.J., Bae, M.J. and Choi, C. Chemical structure and isolation of glucosyltransferase inhibitor from the leaves of Korean persimmon. *Food Sci. Biotechnol.* 7: 23-27 (1998)
 12. Otake, S., Makimura, M., Kuroki, T., Nishihara, Y. and Hirasawa, M. Anticaries effects of polyphenolic compounds from Japanese green tea. *Caries Res.* 25: 438-443 (1991)
 13. Imai, S., Takeuchi, K., Shibata, K., Yoshikawa, S., Kitahata, S., Okada, S., Araya, S. and Nisizawa, T. Screening of sugars inhibitory against sucrose-dependent synthesis and adherence of insoluble glucan and acid production by *Streptococcus mutans*. *J. Dental Res.* 63: 1293-1297 (1984)
 14. Koga, T., Hamada, S., Murakawa, S. and Endo, A. Effect of a glucosyltransferase inhibitor on glucan synthesis and cellular adherence of *Streptococcus mutans*. *Infect. Immun.* 38: 882-886 (1982)
 15. Park, W.J., Lee, H.J. and Yang, S.G. The inhibition effect of sanggenon C from the root-bark of *Morus alba L.* on the growth and the cellular adherence of *Streptococcus mutans*. *Yakhak Hoeji.* 34: 434-438 (1990)
 16. Kwon, I.B. Studies on glucosyltransferase inhibitors from cacao bean husk. Ph. D. Thesis, Kangwon National University, Chunchon, Korea (1990)
 17. Miyoshi, M., Imoto, T. and Kasagi, T. Antieurodintic effect of various fractions extracted from the leaves of *Gymnema sylvestre*. *J. Yonago Med. Ass.* 38: 127-137 (1987)
 18. Lee, Y.S., Park, H.J., You, J.S., Park, H.H., Kwon, I.B. and Lee, H.Y. Isolation of an anticariogenic compound from Magnoliae Bark. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 230-236 (1998)
 19. Ohshima, T., Minami, T., Aono, W., Izumitani, A., Sobue, S., Fujiwara, T., Kawabata, S. and Hamada, S. Oolong tea polyphenols inhibit experimental dental caries in SPF rats infected with mutans streptococci. *Caries. Res.* 27: 124-129 (1993)
 20. Mayumi, O.K., Akio, Y., Tomomasa, K. and Tadahiro, N. Identification of catethin oligomers from apple in matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry and fast-atom bombardment mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 11: 31-36 (1997)
 21. Lee, J.J., Kim, C.S., Kim, S.H., Huh, C.S. and Baek, Y.J. Changes of polyphenol contents in unripe apples according to heat treatments. *Kor. J. Food. Sci. Technol.* 31: 147-152 (1999)
 22. Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, S. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350-356 (1956)
 23. Ooshima, T., Fujiwara, T., Takei, T., Izumitani, A., Sobue, S. and Hamada, S. The caries inhibitory effect of GOS-sugar *in vitro* and in rat experiments. *Microbiol. Immunol.* 32: 1093-1105 (1988)
 24. Koga, T., Asakawa, H., Okahashi, N. and Hamada, S. Sucrose-dependent cell adherence and cariogenicity of serotype c *Streptococcus mutans*. *J. Gen. Microbiol.* 132: 2873-2883 (1986)
 25. Dewar, M.D. and Walker, G.J. Metabolism of human dental plaque. *Caries Res.* 9: 21-35 (1975)
 26. Mukasa, H. and Slade, H.D. Mechanism of adhesion of *Streptococcus mutans* to smooth surfaces. *Infect. Immun.* 9: 419-429 (1974)
 27. Kawabata, S., Torii, M., Minami, T., Fujiwara, T. and Hamada, S. Effect of selected surfactants on purified glucosyltransferases from mutans streptococci and cellular adherence to smooth surfaces. *J. Med. Microbiol.* 38: 54-60 (1993)
 28. Endo, A., Hayashida, O. and Murakawa, S. Mutastein, a new inhibitor of adhesive-insoluble glucan synthesis by glucosyltransferases of *Streptococcus mutans*. *J. Antibiot.* 36: 203-207 (1983)
-
- (1999년 8월 30일 접수)