

## 페놀성 화합물의 항충치활성 및 Glucosyltransferase 억제효과

김선재\* · 박인배\*\* · 강성국\*\* · 정동욱\*\*\* · 정순택\*\*

여수대학교 식품공학·영양학부\*, 목포대학교 식품공학과 및 식품산업기술연구센터\*\*, 초당대학교 조리과학부\*\*\*

(2005년 8월 30일 접수)

### Anticariogenic Activity and Glucosyltransferase Inhibition of Phenolic Compounds

Seon-Jae Kim\*, In-Bae Park\*\*, Seong-Gook Kang\*\*, Dong-Ok Chung\*\*\*, and Soon-Teck Jung\*\*

Division of Food Technology and Nutrition, Yeosu National University, Yeosu, Jeonnam, 550-749, Korea\*

Department of Food Engineering and Food Industrial Technology Research Center,

Mokpo National University, Muan, Jeonnam, 534-729, Korea\*\*

Department of Culinary Art, Chodang University, Muan, Jeonnam, 534-701, Korea\*\*\*

(Received August 30, 2005)

#### Abstract

Fourteen phenolic compounds (benzoic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, protocatechuic acid, vanillic acid, syringic acid, gallic acid, caffeic acid, ferulic acid, (+)-catechin, quercetin, rutin, catechol, chlorogenic acid and L-ascorbic acid) were examined for their effects on the anticariogenic activity. Among tested samples, catechol was significantly inhibited the *S. mutans*, exhibiting an clear zone 18.5-19.5 mm by 10 mg/disc level. The minimal inhibition concentration(MIC) of the phenolic compounds for *Streptococcus mutans*, M1 and M2 strain were determined as 2,000 ppm, whereas catechol was 1,000 ppm. The activity of glucosyltransferase(GTase) was significantly inhibited by catechol, at 10 ppm(58.7%), 50 ppm(60.7%) and 100 ppm(88.4%) and 500 ppm(89.6%), respectively. Among them, catechol showed most significant anticariogenic activity as well as inhibition of GTase activity.

**Key Words** : phenolic compounds, anticariogenic activity, glucosyltransferase inhibition

#### 1. 서론

페놀성 화합물은 식물체에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 가지며, 이들은 phenolic hydroxyl기를 가지고 있기 때문에 단백질 등의 거대분자들과 결합하는 성질뿐만 아니라 항산화 효과 등의 생리활성 기능도 가지며<sup>1)</sup>, 식물체에 특수한 색깔을 부여하고, 산화-환원 반응시 기질로 작용하며, 미생물의 공격을 막아 식물자체를 보호하고 동시에 떫은맛, 쓴 맛과 같은 식물성 식품의 고유한 맛에 관계한다<sup>2,3)</sup>.

충치(dental caaries; 치아우식증)는 치아의 파괴를 동반한 감염성 질환으로 치석(plaque)내 세균, 음식물, 타액의 상호작용에 의해 유발되는 다인성 질환이다. 치석내 세균중에서도 *Streptococcus mutans*가 주 원인균이며, 치면에 부착, 증식 및 산생성 과정을 거쳐 치아우식을 유발한다<sup>4,5)</sup>. 즉, *S. mutans*는 치면의 피막에 부착한 후 자신이 생산하는 glucosyltransferase (GTase)에 의하여 음식물중의 sucrose로부터 glucose

polymer인 불용성 glucan을 합성한다. 이 불용성 glucan은 거의 대부분이  $\alpha$ -1,3 결합으로 구성되어 있다고 보고되고 있다. 합성된 glucan은 치면에서 증식하는 세균간의 결합을 증가시키며, 이렇게 치면에 부착한 *S. mutans*는 치면에 자리잡고 당질 대사과정에서 lactic acid등 유기산을 생성하여 치아의 enamel질을 탈회(decalcification)시켜 충치를 유발한다<sup>6-8)</sup>.

최근 충치 예방에 관한 연구가 여러 분야에서 진행되고 있으며 Endo 등<sup>9)</sup>은 *Aspergillus terreus* M 3328 배양액으로부터 glycoprotein 성분을 분리하여 Mutastein이라 명하고 이 물질이 GTase 저해에 높은 활성을 가지므로 산업화에 성공하였다. 이를 계기로 배양산물 및 천연물로부터 GTase저해제 탐색 연구가 여러 연구자에 의해 진행되어 왔는데 Hattori 등<sup>10)</sup>은 녹차 잎에서 분리된 축합형 탄닌들이 충치 예방에 우수한 효과가 있다고 발표하였고, Namba 등<sup>11)</sup>은 중국 한약재 추출물로부터 flavonone, flavanol 성분들을 분리하고 GTase 저해능을 관찰한 바 있다. OKami 등<sup>12)</sup>은 *Streptomyces neyagawanesis*

MF 980-F로부터 ribocitrin이란 GTase 저해제를 분리 보고하였다. 안 등<sup>13)</sup>은 Cacao Bean Husk에서 여러 종류의 폴리페놀성분을 분리하여 GTase 저해 활성을 검증하였고 그중 Cinnamtannin A-2는 산업화에 성공한 Mutastein보다 저해 활성이 높다는 것을 밝혔다.

상기의 연구결과에서 식물류에 함유되어 있는 페놀성분이 항충치 및 GTase 저해효과를 나타낸 것에 착안하여, 본 연구에서는 페놀성 화합물 표준품의 항미생물활성과 최소저해작용을 검토함과 동시에 GTase 저해활성을 검증하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료

실험에 사용된 phenol성 화합물은 phenolic acids, flavonoids, 기타 phenol성 화합물 및 기타 환원력이 있는 물질을 사용하였다. Phenolic acids로 hydroxybenzoic acids와 hydroxycinnamic acids를 사용하였는데, hydroxybenzoic acids로는 benzoic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, protocatechuic acid, vanillic acid, syringic acid, gallic acid였으며, hydroxycinnamic acid로는 caffeic acid, ferulic acid를 사용하였다. 또한 flavonoids로는 (+)-catechin, quercetin, rutin 등이고, 그 외 catechol, chlorogenic acid 및 L-ascorbic acid를 사용하였다.

### 2. 사용균주 및 시약

본 실험에 사용한 균주는 충치관련 균주로 *Streptococcus mutans* ATCC 25175와 구강에서 취한 균 M1과 M2 등의 3가지 균주를 brain heart infusion(BHI) broth에 접종하여 37℃에서 3회 계대배양하여 사용하였다. 각 phenol성 화합물은 sigma사 제품, BHI 배지는 Difco Co.(Detroit Michigan, USA) 제품을 사용하였다.

### 3. 항미생물활성 측정

항미생물활성 시험용 평판 배지의 조제는 멸균된 배지에 균주를 0.05%씩 접종하여 20 mL씩 petri dish에 부어 응고시켰다. 화합물의 항미생물 검색은 한천 배지 확산법(disk plate method)으로 측정하였다. 즉, 메탄올에 용해된 화합물을 1, 5, 10 mg/disc 상당량을 멸균된 filter paper disc(Toyo, 8 mm, Japan)에 흡수시킨 후, 용매를 완전히 휘발시키고 시험용 평판 배지 위에 놓아 밀착시키고, 0.85% 멸균 식염수로 시료를 배지 위에 확산시키고, 37℃의 배양기에서 24시간 배양한 다음 disc 주변의 저해환의 직경(mm)을 측정하였다.

### 4. 최소저해농도(MIC) 측정

최소저해농도의 측정은 액체배지희석법(broth dilution method)으로 화합물의 고형물 함량이 200, 500, 1000 및

2000 ppm 농도 구간으로 조절한 액체배지를 준비하여 균 현탁액을 각각 0.05 mL씩 접종하고 660 nm에서 흡광도를 측정하였고(A), 그 후 24시간 동안 37℃에서 진탕배양시킨 후 다시 흡광도(B)를 측정하였다. 이렇게 측정된 흡광도의 차이(B-A)를 조사하여 균 증식이 나타나지 않은 농도로 결정하였다.

### 5. GTase 효소원의 제조

GTase 효소원의 제조는 Namba 등<sup>14)</sup>의 방법에 따라 실시하였다. 2 L의 BHI broth에 전배양한 균 100 mL을 접종하여 혐기적 조건하에서 16시간 정치배양한 후 12,000×g로 20분간 원심분리하여 상등액을 회수하였다. 상등액을 0℃에서 황산 암모늄으로 50% 포화시킨 후 4℃에서 하룻밤 정치시킨 후 25,000×g로 30분간 원심분리하여 침전물을 회수하였다. 침전물을 50 mL의 10 mM phosphate buffer(pH 6.8)에 완전히 용해시킨 뒤 4℃에서 12시간 동안 동일 완충용액으로 투석하였다. 이 과정을 2회 반복하여 황산암모늄을 제거하였다. 투석액은 다시 25,000×g로 30분간 원심분리하고 그의 상등액을 조효소액으로 사용하였다.

### 6. GTase의 저해능 측정

GTase의 활성<sup>15)</sup>은 sucrose를 기질로 하여 생성된 불용성 glucan을 분광광도법으로 측정하였다. 즉 시험관에 기질용액(sucrose 12.5 g, sodium azide 0.25 g을 1 L의 10 mM sodium phosphate buffer(pH 6.8)에 용해시켜 121℃에서 15분간 멸균) 0.8 mL, 조효소액 0.04 mL, 농도별 시료 0.02 mL, 멸균수 0.14 mL을 첨가하여 최종 부피를 1 mL가 되도록 조정하였다. 시험관을 30° 기울인 상태로 효소액을 37℃에서 24시간 동안 반응시키고, vortex하여 glucan을 분산시킨 다음 550 nm에서 흡광도를 측정(HP 8452, Hewlett Parkard, USA)하였다. 대조구의 경우 시료 대신에 멸균수를 첨가하였고, 흡광도를 측정하여 다음 식에 따라 저해율을 구하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \left( \frac{\text{대조액의 O.D.} - \text{시료액의 O.D.}}{\text{대조액의 O.D.}} \right) \times 100$$

## III. 결과 및 고찰

### 1. 항미생물활성

대표적인 충치원인균인 *Streptococcus mutans*에 대하여 페놀성 화합물의 항미생물활성을 조사한 결과는 <Table 1>에 나타났다. Hydroxybenzoic acid group에서는 syringic acid를 제외한 모든 화합물이 5와 10 mg/disc 함유량에서 8.5~18 mm까지의 생육저해환을 나타내었다. 그러나 hydroxycinnamic acid와 flavonoids group에서는 충치관련 미생물에 대해 저해능이 없는 것으로 나타났다. 기타 phenolics 화합물에서는 catechol과 L-ascorbic acid가 저해능을 나타냈는데, 특히 catechol은 10 mg/disc 함유량은 18.5~19.5 mm로 강한 항미생물활성을 나타냈다.

<Table 1> Antimicrobial activity of various phenolic compounds

Phenolic compounds	Test organisms	Diameter of inhibition zone (mm) <sup>1)</sup>								
		<i>Streptococcus mutans</i>			M1 strain			M2 strain		
		1mg	5mg	10mg	1mg	5mg	10mg	1mg	5mg	10mg
Hydroxybenzoic acid	Benzoic acid	- <sup>2)</sup>	9.0	10.5	-	9.3	10.8	-	16.0	18.0
	<i>p</i> -hydroxybenzoic acid	-	8.8	10.3	-	9.8	11.8	-	11.0	12.8
	Protocatechuic acid	-	8.5	10.3	-	8.8	11.5	-	8.5	12.0
	Vanillic acid	-	-	8.5	-	-	8.5	-	-	9.3
	Syringic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Gallic acid	-	-	10.3	-	-	10.0	-	8.5	9.3
Hydroxycinnamic acid	Caffeic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ferulic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoids	(+)-catechin	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Quercetin	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Rutin	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phenolics and others	Catechol	-	16.0	19.0	9.0	15.3	18.5	8.8	17.8	19.5
	Chlorogenic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	L-ascorbic acid	-	-	10.0	-	-	9.8	-	-	11.3

1) Mean values from three observation and disk is 8 mm in diameter  
 2) No inhibitory zone was formed

식물계에 널리 함유되어 있는 페놀성 물질은 그들의 phenolic hydroxyl 그룹 때문에 단백질 또는 효소단백질 및 기타 거대분자들과 결합하는 성질, 항산화효과와 2가 금속이온과 결합력을 가지고 있다. 일부 비상용 식품과 동물사료로 사용되는 식물에는 탄닌류가 상당히 높은 농도로 존재하여 떫은 맛을 주어 식이섭취량을 저하시키고 단백질과의 상호작용으로 효소 활성의 저해와 단백질 배설을 증가시키며 Fe 이용율을 저하시킨다. 또한 어떤 페놀성물질은 동물체에서 변이원성과 발암성과 같은 심한 독성을 발휘한다. 따라서 일반적으로 탄닌은 동물이나 인간에게 영양저해인자로 인식되어 왔다<sup>4,15)</sup>. 반면 단백질과 결합하는 이러한 성질은 미생물 세포와 작용하여 성장저해를 유발시킴으로써 항미생물 효과를 나타내주고 항산화 작용에 의한 항암효과가 제안되고 있으며 Pb, Cd과 같은 유해 중금속을 제거시키는 효과를 기대할 수 있다<sup>6)</sup>.

본 연구에서 강한 항미생물 활성을 나타내는 catechol의 다른 생리활성으로는 catechol이 amines의 nitrosation의 저해제로 ascorbic acid와 유사한 저해효과를 나타낸다고 하였고<sup>17)</sup>, Walker 등<sup>18)</sup>은 catechol이 산성조건에서 amine보다도 더 경

쟁적으로 nitrite와 반응한다고 하였다. 또한 Kang 등<sup>19)</sup>은 페놀성물질 중 phenolic acids와 flavonoids 및 catechol류와 chlorogenic acid 등을 포함한 기타 페놀성물질 등의 전자공여 능력 비교에 있어서 작용의 크기는 환원력이 큰 것은 높은 값을 나타냈다고 하였다.

본 연구에서는 페놀성 화합물의 hydroxycinnamic acid group 보다는 hydroxybenzoic acid group이 항미생물활성이 상대적으로 높게 나타났다. 이러한 경향은 페놀성 화합물이 갖고 있는 치환기의 차이에 따른 활성의 차이라고 생각되며, catechol의 다양한 항미생물활성에 대한 새로운 접근이 필요하다고 생각되었다.

2. 최소저해농도(MIC)

충치관련 미생물에 대한 페놀성 화합물의 항미생물활성을 검색한 결과 실험에 사용된 페놀성 화합물 중 항미생물활성이 우수한 7가지 페놀성 화합물에 대해 최소저해농도를 조사하기 위해 화합물을 200, 500, 1,000 그리고 2,000 ppm 농도별로 측정된 결과는 <Table 2>와 같다. 페놀성 화합물의 최소저해농

<Table 2> Minimum inhibitory concentration(MIC) of the phenolic compounds

Phenolic compounds	<i>S. mutans</i>					M1 strain					M2 strain				
	200ppm	500ppm	1000ppm	2000ppm	MIC	200ppm	500ppm	1000ppm	2000ppm	MIC	200ppm	500ppm	1000ppm	2000ppm	MIC
Benzoic acid	+ <sup>1)</sup>	+	± <sup>2)</sup>	- <sup>3)</sup>	2,000	+	+	-	-	2,000	+	+	±	-	2,000
<i>p</i> -hydroxybenzoic acid	+	+	+	-	2,000	+	+	+	-	2,000	+	+	+	-	2,000
Protocatechuic acid	+	+	+	-	2,000	+	+	+	-	2,000	+	+	+	-	2,000
Vanillic acid	+	+	+	-	2,000	+	+	+	-	2,000	+	+	+	-	2,000
Gallic acid	+	+	+	±	2,000	+	+	+	±	2,000	+	+	+	±	2,000
Catechol	+	+	-	-	1,000	+	+	-	-	1,000	+	+	-	-	1,000
L-ascorbic acid	+	+	+	±	2,000	+	+	+	±	2,000	+	+	+	±	2,000

1) + : growth, 2) ± : uncertain in growth, 3) - : no growth

도는 *S. mutans*, M1 및 M2 균 모두에서 2,000 ppm의 농도에서 MIC 값을 나타내어 큰 차이를 보이지 않았으나, catechol은 1,000 ppm의 농도에서 높은 MIC를 나타내었다. 이는 Taiyo보고서 등<sup>20)</sup> 많은 학자들에 의해 식물추출물 중 항균성 물질에 대한 검색과 동정에 관한 연구가 행해져 왔으며 그들 대부분의 화합물이 폴리페놀 계통의 물질들로 Klaus 등<sup>21)</sup>에 의해 확인되었는데 이들 결과와 비슷한 경향을 나타냈다. 하지만 이는 정제된 화합물임에도 불구하고 Nakatani 등<sup>22)</sup>의 *Myristica argentea*에서 분리된 diaryldimethylbutane lignans이 *Streptococcus mutans*을 25 ppm에서 증식을 억제시켰다는 결과와는 큰 차이를 나타냈다.

### 3. GTase저해활성

충치 관련 미생물인 *S. mutans*에 대해 항미생물활성이 인정된 7종의 페놀성 화합물을 대상으로 *S. mutans*가 생산하는 glucosyltransferase의 활성저해능을 검정한 결과는 <Table 3>과 같다. Benzoic acid와 *p*-hydroxybenzoic acid 처리구에서는 100과 500 ppm 농도에서 약하게나마 GTase활성을 저해하는 경향을 나타냈으며, gallic acid 처리구는 10 ppm부터 활성을 나타내기 시작해서 100 ppm과 500 ppm에서 약 50%의 저해활성을 나타냈다. 한편 catechol 처리구에서는 10 ppm에서 58.7%의 저해활성을 나타내었고, 50 ppm에서 60.7%, 100 ppm에서 88.4%, 그리고 500 ppm에서 89.6%의 높은 활성을 나타내어 catechol의 *S. mutans*에 대한 저해능 측정에서 높은 항미생물활성을 나타낸 결과와 동일한 경향을 나타냈다. 그러나 protocatechuic acid, vanillic acid 그리고 L-ascorbic acid 등은 100 ppm~500 ppm 처리수준에서 GTase활성에 대한 저해활성을 나타내지 않았다. An<sup>23)</sup>은 오배자와 적포도과피의 폴리페놀 분획물이 항미생물활성 및 GTase 저해효과에 대한 연구에서, GTase의 생성균주 *S. mutans*에 대한 항미생물활성을 나타내지 않은 것은 이미 GTase 활성저해능력과 생산균주인 *S. mutans*에 대한 항미생물활성과 꼭 일치하지 않는다는 것을 확인하였으며, 이것은 *in vitro*에서 폴리페놀계 물질이 직접 GTase의 활성부위에 작용하여 활성을 잃도록 하거나 *S. mutans* 생육에 GTase가 필수적인 요소가 아니라는 것을 간접적으로 시사한다고 하였다. 본 연구 결과에서도 페놀성 화합물

중에 benzoic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, protocatechuic acid, vanillic acid, gallic acid, catechol 그리고 L-ascorbic acid가 *S. mutans*에 대해 항미생물 활성을 나타냈으나 이중 아주 강한 GTase 활성저해능력을 나타낸 것은 catechol 만 나타나 상기의 결과와 일치하였다.

현재까지 알려진 GTase 저해제로서는 ribocitin, acarbose 등과 nojirimycin 유도체인 1-desoxynojirimycin과 N-methylsoxynojirimycin등이 알려지고 있다. 본 연구에서 항미생물활성 및 GTase저해활성이 뚜렷한 catechol은 향후 제과, 음료, 기타식품첨가제로서 충치예방 제품개발의 중요한 재료가 될 수 있을 것으로 판단되었다.

## IV. 요약

충치원인균인 *Streptococcus mutans*에 대한 페놀성 화합물(14종)의 항미생물활성은 hydroxybenzoic acid group에서는 syringic acid를 제외한 모든 화합물이 5와 10 mg/disc 함유량에서 8.5~18 mm까지의 생육저해환을 나타내었다. 기타 phenolics 화합물에서는 catechol과 L-ascorbic acid가 저해능을 나타냈는데, 특히 catechol은 10 mg/disc 함유량은 18.5~19.5 mm로 강한 항미생물활성을 나타냈다. Phenolic compounds의 최소저해농도는 *S. mutans*, M1 및 M2 균 모두에서 2,000 ppm의 농도에서 MIC 값을 나타내어 큰 차이를 보이지 않았으며, catechol만 1,000 ppm의 농도에서 높은 MIC 값을 나타내었다. 충치 관련 미생물인 *S. mutans*에 대해 항미생물활성이 인정된 7종의 페놀성 화합물을 대상으로 *S. mutans*가 생산하는 glucosyltransferase(GTase)의 활성저해능은 benzoic acid와 *p*-hydroxybenzoic acid 처리구에서는 100과 500 ppm 농도에서 약하게나마 GTase활성을 저해하는 경향을 나타냈으며, gallic acid 처리구는 10 ppm부터 활성을 나타내기 시작해서 100 ppm과 500 ppm에서 약 50%의 저해활성을 나타냈다. 한편 catechol 처리구에서는 10 ppm에서 58.7%의 저해활성을 나타내었고, 50 ppm에서 60.7%, 100 ppm에서 88.4%, 그리고 500 ppm에서 89.6%의 높은 활성을 나타내어 catechol의 *S. mutans*에 대한 생육저해능 측정에서 높은 항미생물활성을 나타낸 결과와 동일한 경향을 나타냈다.

<Table 3> GTase inhibition effect of the various phenolic compounds (Unit : %)

Phenolic compounds	Inhibition rate			
	10 ppm	50 ppm	100 ppm	500 ppm
Benzoic acid	-	-	26.7	30.4
<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	-	-	35.8	46.8
Protocatechuic acid	-	-	-	-
Vanillic acid	-	-	-	-
Gallic acid	26.8	44.7	50.7	50.1
Catechol	58.7	60.7	88.4	89.6
L-Ascorbic acid	-	-	-	-

## 감사의 글

본 연구는 산업자원부의 지역혁신인력양성사업의 연구결과 의 일부이며(2003년, 전라남도 생약초 중심 생물산업 관련 브랜드 상품화 개발), 연구수행에 도움을 준 산업자원부지원 지역 협력연구센터인 목포대학교 식품산업기술연구센터(RRC)의 지원에 감사드립니다.

## ■ 참고문헌

- 1) Kuhnau J. The flavonoids; a class of semiessential food

- components; their role in human nutrition. *World Rev Nutr Diet*, 24: 117-120, 1976
- 2) Masquelier J, Henderson HM, Town seand RH. Flavonoids and pycnogenols. *Int J Vit Nutr Res*, 49: 307-317, 1979
  - 3) Park BH, Choi HK, Cho HS. A study on the oxidative stability and quality characteristics of *kimbugak* made of aqueous green tea. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 30: 557-564, 2001
  - 4) Mosci F, Perito S, Bassa S, Capuano A. The role of *Streptococcus mutans* in human caries. *Minerva Stomatol*, 39: 413-429, 1990
  - 5) Lee YS, Park HJ, You JS, Park HH, Kwon IB, Lee HY. Isolation of an anticariogenic compound from *Magnoliae* Bark. *Korean J Food Sci Technol*, 30: 230-236, 1998
  - 6) Gibbons RJ, Van Houte J. On the formation of dental plaques. *J Periodontol*, 44: 347-360, 1973
  - 7) McGhee JR, Michalek SM. Immunology of dental caries: microbial aspects and local immunity. *Ann Rev Microbial*, 135: 595-638, 1981
  - 8) Choi IW, Jung CH, Park YK. Anticariogenic activities of various plant extracts. *Korean J Food Sci Technol*, 35: 1221-1225, 2003
  - 9) Endo A, Murakawa S. Mutastein; A new inhibitor of adhesive-insoluble glucan synthesis by glucosyltransferases of *Streptococcus mutans*. *The J Antibiotics*, 335, p203, 1983
  - 10) Hattori M, Ishigami T, Hara Y. Effect of tea polyphenols on glucan synthesis by glucosyltransferase from *Streptococcus mutans*. *Chem Rham Bull*, 38: 717, 1990
  - 11) Namba T, Tsunozuka Y, Takagi S, Hattori M. Studies on dental caries prevention by traditional chinese medicines. *Shoyakugakaku Zasshi*, 338: 253, 1984
  - 12) Okami Y, Ohnuki T, Takashio M. The structure of a novel inhibitor of dextranucrase. *Tetrahedron Lett*, 22: 1267, 1981
  - 13) An BJ, Kwon IB, Choi C. Inhibitory effect of novel Flavan-3-ol isolated *Theobroma cacao* L. Husk on glucosyltransferase. *Korean J Food Sci Technol*, 27: 92-96, 1995
  - 14) Kumar R, Singh M. Tannins: Their adverse role in ruminant nutrition. *J Agric Food Chem*, 32: 447-451, 1984
  - 15) Salunkhe DK, Chavan JK, Kadam SS. Dietary tannins: consequences and remedies. CRC Press Inc, Boca Raton, 1990
  - 16) Lee J, Lee SR. Some physiological activity of phenolic substances in plant foods. *Korean J Food Sci Technol*, 26: 317-323, 1994
  - 17) Shenoy NR, Choughuley ASU. Effect of certain phenolics on nitrosamine formation. *J Agric Food Chem*, 37: 721, 1989
  - 18) Cooney RV, Ross PD. N-nitrosation and N-nitration of morpholine by nitrogen dioxide in aqueous solution : Effect of vanillin and related phenols. *J Agric Food Chem*, 35: 789, 1987
  - 19) Kang YH, Park YK, Lee GD. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J Food Sci Technol*, 28: 232-239, 1996
  - 20) Taiyo Kagaku Report. Sun Phenon(Natural occurring antidecay agent). Taiyo Kagaku Co. Report, 1997
  - 21) Klaus HD. Enzyme inhibition by polyphenols of sorghum grain and Malt. *J Sci Food Agric*, 26: 1399-1411, 1975
  - 22) Nakatani N, Ikeda K, Kikuzaki H, Kido M, Yamaguchi Y. Diaryldimethylbutane lignans from *Myristica argentea* and their antimicrobial action against *Streptococcus mutans*. *Phytochemistry*, 27: 3127-3129, 1988
  - 23) An BJ. Effect of inhibition on glucosyltransferase and antimicrobial activity of polyphenol fraction of gallnut and red grape husk. *Korean J Postharvest Sci Technol*, 8(2): 217-223, 2001