Vegetarian Research
published by JSVR・www.jsvr.jp

Short Report

含嗽液としての緑茶と紅茶の口腔内細菌に対する殺菌・抗菌効果

高井 明徳*

大阪信愛学院短期大学

Bactericidal and Antibacterial Effects of Green Tea and Black Tea As Gargle Solutions Against Oral Bacteria

Akinori Takai

Osaka Shin-Ai College, Japan

Abstract. In this study, we have conducted bactericidal and antibacterial effects of green tea and black tea against oral bacteria using agar-agar as a culture medium. Survival rate of the oral bacteria treated with each tea for two minutes was approximately 50% (50.7% in green tea and 55.5% in black tea). This study suggests that those green and black tea are effective as gargle solutions due to their bactericidal and antibacterial properties against oral bacteria.

Keywords: gargle solution, green tea, black tea, oral bacteria, bactericidal and antibacterial activities

1. はじめに

口腔内には外界から自然に侵入する微生物や微小粒子状物質等の汚染物や食事の残渣等が存在し、これらは感染症予防や口腔内を清潔に保つためにできるだけ除去することが望ましい。一方、口腔内には 400 種類以上の常在細菌叢が形成され、増加しすぎると疾患やう蝕などの原因になるので適度に除去することが望ましい。加齢や全身性疾患により免疫力が低下すると、容易に感染症（日和見感染）が発症する[1,2]。

含嗽（うがい）は、感染症予防や口腔内清潔保持の有効な方法の一つとして、日常的に行われている。口腔内の汚染物等の除去のための含嗽の効果として、機械的な効果と化学的な効果が考えられる。機械的効果は含嗽の方法によるもの、化学的効果は用いる含嗽剤の殺菌・抗菌効果を含む化学的作用によるものである。

強い殺菌・抗菌効果を期待する場合は、イソジンのような消毒薬剤の使用が考えられる。また、近年口腔を清潔に保つため各種洗口剤が発売され、殺菌・抗菌効果を有するものもあり、効果が評価されている。一方、日常での恒常的な使用において、殺菌・抗菌効果が期待される緑茶や紅茶などの飲料の使用が注目されている。これらの含嗽液の効果については、様々な方法に基づき評価されている[3-9]。

高井[10]は、各種含嗽剤の口腔内細菌に対する殺菌・抗菌効果を直接的に調べる方法として、含嗽剤に口腔内細菌を一定時間混合した液を寒天培地で培養し、増殖可能な細菌の生残率を調べる方法を報告している。本研究では、同じ方法により緑茶と紅茶の口腔内細菌に対する殺菌・抗菌効果を調べた。

Vegetarian Research **Vol. 21, 9-12 (2020)**
Received 1 December 2020
Accepted 20 December 2020

*E-mail: ak.takai.dsc@live.jp
〒538-0053　大阪市鶴見区鶴見 6-2-28　大阪信愛学院短期大学

©2020 The Japanese Society for Vegetarian Research

2. 研究方法

2.1. 口腔内細菌液の準備

起床後、歯磨き及び含嗽を行い、約 3 時間後に 20mL の滅菌蒸留水を口腔に含み、1 分間含嗽を行った後の含嗽水を 10 倍希釈し細菌液とした。細菌液は、1 名の男性のものを用いた。研究の実施は、所属研究機関に研究倫理審査申請を行い承認を得た内容に従った。

2.2. 試験液の準備

含嗽液として、緑茶と紅茶を用いた。含嗽液 9mL を試験管に入れ、これに細菌液 1mL を加え、細菌が含嗽液中に均質に広がるように試験管を 5 回左右に振り、撹拌した。撹拌時間を含め 2 分間処理した。その間、約 30 秒毎に攪拌した。2 分間の処理後、この液を 10^3 倍希釈し、培養に用いた。コントロールとしては、9mL の滅菌蒸留水に試験用細菌液 1mL 加え、撹拌後すぐに 10^3 倍希釈したものを用いた[10]。

緑茶、紅茶は、いずれもティーバッグを用い、ビーカーに約 80℃の高温水を 100mL 入れ、ティーバッグを浸し、最初に 1 回あたり約 1 秒の速度で 20 回上下させ、30 秒後にティーバッグを除き、しばらく放置して液温が 30－40℃のものを用いた。

2.3. 寒天培地での細菌の培養

試験液は作製後すぐに、マイクロピペットで試験液を 0.1mL 取り、37℃に加温した一般生菌数測定用標準寒天培地（詳細は下記）に入れ、コンラージ棒で寒天培地上に均質に広げ、塗布した。試験区毎に 3 枚の寒天培地を用いた。以上の操作は、クリーンベンチ内で無菌的に行った。寒天培地を 37℃の恒温器に入れ、72 時間培養し、生じたコロニー数を算定した。実験結果の変動を確認するため同じ実験を 2 回行った。

2.4. 寒天培地の作製

寒天培地は、一般生菌数測定用標準寒天培地「ニッスイ」を用いて作製した。培地 4.7g を蒸留水 200mL に溶解し（23.5g/L）、オートクレーブにて 2 気圧 121℃で 15 分間加熱高圧滅菌処理し、クリーンベンチ内で 9cm 径の滅菌済のシャーレ 10 枚にそれぞれ培地を約 20mL 流し込み固形化した。

寒天培地は、使用まで冷蔵庫（4℃）で保管し、使用直前に恒温器中（37℃）に 20 分程度放置し加温した。培地成分は、培地 1 L（23.5g）中、カゼイン製ペプトン 5.0g、酵母エキス 2.5g、ブドウ糖 1.0g、カンテン 15.0g（pH 7.1±0.1）であった。

2.5. 生残率の算定

増殖可能な細菌の生残率は、含嗽液の 3 枚の寒天培地のそれぞれについて、コントロール（蒸留水）の 3 枚の寒天培地の平均値で除した数値のパーセントで示した。2 群の有意差の検定には、Fisher の Exact test、Student の t-検定を用いた。有意確率は $p<0.05$ とした。

3. 結果と考察

今回の実験において、緑茶と紅茶、それぞれ 1 回目と 2 回目の結果については有意差は示されなかった（Exact test）（Table 1）。シャーレ毎に増殖可能な細菌の生残率を求め、2 回の実験結果を平均すると、緑

Table 1. The number of colonies in control, green tea (GT) and black tea (BT)

		1	2	3	Mean	SD
[1]	Control	247	266	300	271.0	± 26.9
	GT	125	119	180	141.3	± 33.6
	BT	168	109	168	148.3	± 34.1
[2]	Control	285	303	345	311.0	± 30.8
	GT	147	163	150	153.3	± 8.5
	BT	184	193	148	175.0	± 23.8

SD: standard deviation

Table 2. Survival rate (%) of oral bacteria in green tea (GT) and black tea (BT)

	[1]			[2]		
	1	2	3	1	2	3
GT	46.1	43.9	66.4	47.3	52.4	48.2
BT	62.0	40.2	62.0	59.2	62.1	47.6

	[1]		[2]		Total	
	Mean	±SD	Mean	±SD	Mean	±SD
GT	52.2	±12.4	49.3	±2.7	50.7	±8.2
BT	54.7	±12.6	56.3	±7.7	55.5	±9.3

Survival rate = percentage of the number of colonies per that of the control.
Control value: [1]- 271.0; [2]- 311.0.

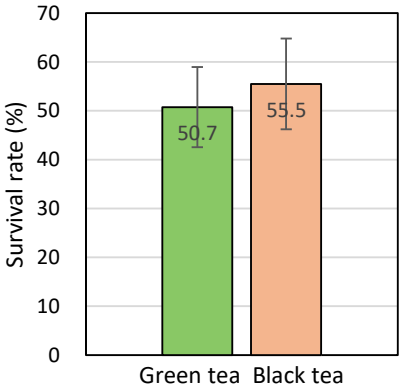

Figure 1. Survival rate (%) of oral bacteria in green tea and red tea. Error bars indicate SD.

茶で処理した増殖可能な細菌の生残率は 50.7±8.2%、紅茶の場合は 55.5±9.3%で、ほぼ 50%の殺菌・抗菌率であった（Table 2）。緑茶と紅茶の間に有意な差は示されなかった（t-検定）。

今回と同じ方法により得られた洗口剤やイソジンの殺菌・抗菌率は 95%以上であった[10]。これに比べると、緑茶や紅茶の殺菌・抗菌率は低いものの、50%程度の殺菌・抗菌効果があり、日常において殺菌・抗菌効果を有す含嗽液として用いることは有効であると考えられる。

茶の殺菌・抗菌効果については、茶に含まれるカテキンが殺菌・抗菌作用を示すことが報告されている[11-12]。また、茶には様々な種類があり、含まれるカテキン量は異なる[13]。今後の課題として、様々な茶の殺菌・抗菌効果を調べると共に、処理時間や濃度、茶葉によるお茶とペットボトルの茶との違いなどによる効果の違いも挙げられる。

今回の研究では、含嗽剤の殺菌・抗菌効果を、含嗽剤に口腔内細菌を混合し、寒天培地で培養し、その生残率に基づき評価したが、簡易に行え、有効性は高いと考える。今回の研究は、1 名の男性からの口腔内細菌に対する結果であるが、健康な成人での年齢差による口腔内常在細菌叢の総細菌数や種類の違いは認められないことが報告されているので[14]、今回の結果は一般化できると考えられる。

今回の研究では、細菌の培養を標準寒天培地を用いて行った。口腔内細菌を構成する細菌については、レンサ球菌が最も多く、口腔内常在細菌の 30%程度を占めることが報告されている [15]。しかし、レンサ球菌は普通寒天培地では増殖しないので、類似の組成の標準寒天培地で培養した今回の結果は、レンサ球菌及び同様の特性を有す細菌以外の細菌が評価対象となっていると考えられる。レンサ球菌の培養には血液寒天培地が適しているので、今後、そのような培地を用いた研究が必要である。

謝辞：英文要旨を修訂いただきました東野映子氏に感謝いたします。

本研究に利益相反に係る事項はない。

文 献

[1] 伊藤 康雅：口腔衛生と口腔内細菌．耳鼻咽喉科展望 45(3), 226-234 (2002)

[2] 石丸直澄：口腔外科領域における感染症の病理．日本口腔外科学会雑誌 64(7), 390-393 (2018)

[3] 矢野鐵郎, 岩下明弘：含嗽剤 Isodine Gargle の臨床効果について．耳鼻と臨床 10(2), 124-129 (1964)

[4] 茂木健司, 笹岡邦典, 樋口有香子, 根岸明秀, 橋本由利子, 外丸雅晴：各種口腔ケアの効果に関する検討―口腔常在菌数を指標として―．第 1 報 含嗽剤の薬剤効果．Kitakanto Med J 57, 239-244 (2007)

[5] 神野恵治, 茂木健司, 笹岡邦典, 根岸明秀：各種口腔ケアの効果に関する検討―口腔常在菌を指標として―, 第 2 報 各種含嗽剤による含嗽効果の検討. Kitakanto Med J 58, 1-7 (2008)

[6] 笹岡邦典, 茂木健司, 神野恵治, 根岸明秀：各種口腔ケアの効果に関する検討―口腔常在菌数を指標として―, 第 3 報 ブラッシングの効果．Kitakanto Med J 58, 147-151 (2008)

[7] 白井やよい, 鈴木奈央, 清野晃孝, 鎌田政善, 清浦有祐：口腔常在 Candida albicans によって惹起されるマウス口腔カンジダ症．老年歯科医学 20(1), 34-38 (2005)

[8] 音琴淳一, 佐藤秀一, 五十嵐建夫, 織井弘道, 難波幸一, 森谷良智, 伊藤公一, 村井正大, 瀧原孝宣, 角田隆巳：茶葉成分含有含嗽剤のプラーク形成, 歯肉炎進行ならびに口臭抑制に対する効果について．日本歯周病学会会誌 37(4), 676-684 (1995)

[9] 林要喜知, 山崎繭子, 永井伸夫, 山田幸宏：人にやさしい口腔ケアに関する研究―イソジンと緑茶の抗菌活性の比較とそれらの併用の可能性について―．旭川医科大学紀要 21, 43-52 (2000)

[10] 高井明徳：含嗽剤の口腔内細菌に対する殺菌効果に関する基礎研究．人と環境 11, 19-21 (2018)

[11] 戸田眞佐子, 島村忠勝：カテキン―多機能性生体防御物質―．昭和医学会雑誌 57(3), 175-189 (1997)

[12] 日下部修介, 田村大輔, 小竹宏朋, 作誠太郎, 本間文将, 村松泰徳, 堀田正人：カテキン粉末緑茶の口腔内細菌に及ぼす影響．日本歯科保存学雑誌 56(4), 353-359 (2013)

[13] 西條了康, 加藤みゆき：カテキン化学の研究史 ―特に茶に含まれるカテキン類について―．茶業研究報告 107, 1-18 (2009)

[14] 大泉誠：年齢と義歯装着に伴う口腔内常在菌叢の変動について．日本補綴歯科学会雑誌 38(6), 1195-1204 (1994)

[15] Hamada S, Slade HD：Biology, immunology, and cariogenicity of Streptococcus mutans. Microbiol Rev 44(2), 331-84 (1980)

Vegetarian Research Vol. 21, 9－12 (2020)

含嗽液としての緑茶と紅茶の口腔内細菌に対する殺菌・抗菌効果

高井 明徳

本研究において、緑茶と紅茶の口腔内細菌に対する殺菌・抗菌効果を寒天培地による培養法を用いて調べた。蒸留水での含嗽により得られた口腔内細菌液と緑茶と紅茶をそれぞれ 1 : 9 の割合で混合して、2 分間放置した。これらの液を希釈して、寒天培地で培養した結果、増殖可能な細菌の生残率は緑茶で 50.7%、紅茶では 55.5%で、ほぼ 50%の殺菌・抗菌効果を示した。本研究結果から、緑茶と紅茶は口腔内細菌の殺菌・抗菌効果を有す含嗽液として効果的であることが示された。

キーワード：含嗽液・緑茶・紅茶・口腔内細菌・殺菌・抗菌効果