Vegetarian Research
published by JSVR・www.jsvr.jp

Original Article

各種茶及び洗口剤の口腔細菌に対する殺菌・抗菌効果

高井 明徳*

大阪信愛学院短期大学

Bactericidal and Antibacterial Effects of Various Types of Tea and Mouthwash Solutions against Oral Bacteria

Akinori Takai

Osaka Shin-Ai College, Japan

Abstract. In this study, we have undertaken to determine the batericidal and antibacterial effects of five types of tea (namely, green tea, black tea, roasted tea (Hoji-cha), jasmine tea, barley tea (Mugi-cha)), and four types of mouthwash solutions against oral bacteria. The oral bacteria were treated with each tea or mouthwash solution for two minutes, cultured on an aerobical blood agar plate, and the survival rates (SRs) were calculated on the basis of the number of colonies found in each specimen. The SRs in each tea solution were approximately 55% in green tea, black tea and roasted tea, 65% in Jasmine tea, and over 100% in barley tea. In the mouthwash solutions which contains antiseptic agents SRs were approximately 0-14%. This study suggests that all the tea tested except for the barley tea is effective for a gargle due to their bactericidal and antibacterial properties against oral bacteria.

Keywords: Gargle solution, Green tea, Black tea, Mouthwash solution, Oral bacteria, Bactericidal and antibacterial activities

1. はじめに

口腔には外界から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、これらは感染症だけでなく口腔常在菌増加の原因ともなるので、口腔内を清潔に保つためにできるだけ除去する必要がある。口腔には 400 種類以上の常在細菌叢が形成され、存在する菌数は唾液 1mL では、10^6 から 10^8CFU/mL、デンタルプラーク 1g では 10^{11}CFU/g で、糞便 1g に含まれる菌数より多く、増加しすぎると疾患やう蝕等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、容易に日和見感染症が発症するなど感染症が発症しやすくなる[1,2]。

含嗽（うがい）は、口腔を清潔に保持し、感染症を予防する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ある。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。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を含嗽液として使用することが注目されている。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[3-22]。茶における殺菌・抗菌効果は主にカテキン類の殺菌・抗菌効果によることが示され

Vegetarian Research **Vol. 22, 7-12 (2021)**
Received 1 June 2021
Accepted 26 June 2021

*E-mail: ak.takai.dsc@live.jp

©2021 The Japanese Society for Vegetarian Research

ている[10-22]。

高井[23,24]は、各種含嗽液の口腔細菌に対する殺菌・抗菌効果を直接的に調べる方法として、含嗽液に口腔に存在する細菌を一定時間混合した液を標準寒天培地で培養し、生じるコロニー数の算定に基づき、増殖可能な細菌の生残率を調べる方法を試み、緑茶や紅茶に応用し、その殺菌・抗菌効果を示した。

本研究では、高井[24]の方法を若干改良するとともに、口腔細菌において主要な割合を占めるレンサ球菌[25,26,27]の培養に適した血液寒天培地を用いて、5 種類の茶（緑茶、紅茶、ほうじ茶、ジャスミン茶、麦茶）、および 4 種類の洗口剤（アルコール殺菌タイプ、ノンアルコール殺菌タイプ、非殺菌タイプ、イソジン）について、口腔細菌に対する殺菌・抗菌効果を調べた。

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細菌液とした。細菌液は、1 名の健康で、齲歯などの口腔内疾患を含む疾患のない男性のものを用いた。

2.2. 含嗽液の準備

含嗽液として、5 種類の茶、緑茶、紅茶、ほうじ茶、ジャスミン茶、麦茶、4 種類の洗口剤、洗口剤 A（アルコール殺菌タイプ）、洗口剤 B（ノンアルコール殺菌タイプ）、洗口剤 C（殺菌作用を示していない非殺菌タイプ）、イソジンを用いた。

茶類の含嗽液はティーバッグタイプのものを用いて準備した。緑茶（おーいお茶、株式会社伊藤園）、紅茶（日東紅茶 Daily Club、三井農林株式会社）、ほうじ茶（株式会社ローソン）、ジャスミン茶（ハラダ製茶株式会社）、麦茶（株式会社ローソン）を用いた。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、終了後そのまま放置し、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。

洗口剤 A（アルコール殺菌タイプ、システマデンタルリンス Ea、ライオン株式会社）、洗口剤 B（ノンアルコール殺菌タイプ、システマデンタルリンス Fa、ライオン株式会社）、洗口剤 C（殺菌作用のないタイプ、モンダミン PX4、アース製薬株式会社）を用いた。

イソジンうがい液は、市販のイソジンうがい薬 3mL を 60mL の蒸留水で希釈して用いた（説明書通りに希釈）。イソジンうがい薬（ムンディファーマ株式会社製）は、ポピドンヨード 70mg（有効ヨウ素 7mg）／mL に、エタノール、ℓ-メントール、サッカリンナトリウムを含むものであった。

2.3. 細菌の含嗽液での処理

含嗽液 9.9mL を試験管に入れ、これに細菌液 0.1mL 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。撹拌は、約 1 分後、処理終了前に、それぞれ数回行った。2 分間の処理後、速やかにこの液を 10^2 倍希釈し、希釈後すぐに培養に用いた。コントロールとしては、9.9mL の滅菌蒸留水に細菌液 0.1mL 加え、撹拌後すぐに 10^2 倍希釈したものを培養に用いた。

2.4. 寒天培地での細菌の培養とコロニー数の算定

寒天培地による培養は、9cm 径のシャーレに作製された血液寒天培地（ニッスイ）を用いた。血液寒天培地は、購入後、4℃で保管し、使用時にインキュベータで 37℃に加温した。

試験液は、マイクロピペットで 0.1mL 取り、血液寒天培地に入れ、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、好気的条件で 48 時間培養し、生じたコロニー数を算定した（Figure 1）。

2.5. 生残率の算定と統計的検定

増殖可能な細菌の生残率は、3 枚の寒天培地のシャーレにおけるコロニー数の合計をコントロール（蒸留水）の 3 枚の寒天培地のコロニー数の合計で除した数値のパーセントで示した。

2 群間の有意差に関する統計的検定は Fisher's Exact Test により行い、有意確率は $p < 0.05$ とした。

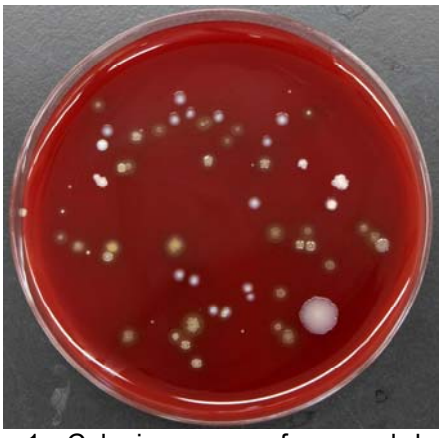

Figure 1. Colonies grown from oral bacteria treated with the mouthwash solution B on a blood agar plate.

Table 1. The number of colonies and survival rate (SR) (%) in different types of tea

	Group	Number of colonies					SR (%)
		1	2	3	Total	Mean ± SD	
1	Control	222	261	252	735	245.0 ± 20.4	―
	Green tea	125	140	152	417	139.0 ± 13.5	56.7
	Black tea	113	126	159	398	132.7 ± 23.7	54.1
	Roasted tea*	138	154	113	405	135.0 ± 20.7	55.1
	Jasmine tea	114	147	218	479	159.7 ± 53.1	65.2
	Barley tea**	384	262	302	948	316.0 ± 62.2	129.0
2	Control	229	201	237	667	222.3 ± 18.9	―
	Green tea	128	133	106	367	122.3 ± 14.4	55.0
	Black tea	148	110	106	364	121.3 ± 23.2	54.6
	Roasted tea	111	144	133	388	129.3 ± 16.8	58.2
	Jasmine tea	175	141	90	406	135.3 ± 42.8	60.9
	Barley tea	192	286	336	814	271.3 ± 73.1	122.0

*Hoji-cha, **Mugi-cha, SD: standard deviation
Survival rate (SR) = percentage of the number of colonies in each gargle solution per that in the control.

Table 2. Mean survival rate (SR) (%) in different types of tea

Group	Green tea	Black tea	Roasted tea	Jasmine tea	Barley tea
Mean SR(%)	55.9	54.4	56.7	63.1	125.5

Table 3. The number of colonies and survival rate (SR) (%) in different types of mouthwash solutions

Group	Number of colonies					SR (%)
	1	2	3	Total	Mean ± SD	
Control	368	397	387	1152	384.0 ± 12.1	―
Isodine	0	0	0	0	0.0 ± 0.0	0.0
Mouthwash A	3	5	3	11	3.7 ± 0.9	1.0
Mouthwash B	56	39	61	156	52.0 ± 9.4	13.5
Mouthwash C	269	334	353	956	318.7 ± 36.0	83.0

SD: standard deviation

2.6. 研究倫理

研究の実施に当たり、所属研究機関に倫理審査申請を行い、承認を得、その内容に従い研究を実施した。

3. 結果と考察

今回行った口腔内細菌を各種茶で処理し、血液寒天培地で培養を行い（Figure 1）、生じたコロニー数を算定した結果を Table 1 に示す。1 回の実験で、それぞれの試料について 3 枚のシャーレを用いて培養を行い、さらに同じ実験を再度行った。

増殖可能な細菌の生残率について（Table 1）、すべての茶で 2 回行った実験の結果の間に有意差は示されなかった（$p < 0.01$）。生残率は、2 回の実験の平均値で示すと、緑茶が 55.9%、紅茶が 54.4%、ほうじ茶が 56.7%、ジャスミン茶が 63.1%、麦茶が 125.5%であった(Table 2)。これらの結果を要約すると、緑茶、紅茶、ほうじ茶の生残率はほぼ同じで約 55%、ジャスミン茶は 65%、麦茶は 100%以上であった。

生残率について、緑茶に対して、紅茶、ほうじ茶、ジャスミン茶のいずれにおいても有意な差は示されなかった（$p < 0.01$）。麦茶は緑茶との間に有意差が示さ

れた（$p < 0.01$）。

口腔内細菌をイソジン及び各種洗口剤で処理した実験結果を表 3 に示す。この実験は、結果が明瞭であったので 1 回のみの実験とした。イソジンで処理した細菌の生残率は 0%で、殺菌・抗菌効果は 100%であった。殺菌効果が表示されている洗口剤 A（アルコールタイプ）は、生残率はほぼ 0%で、殺菌・抗菌効果はほぼ 100%であった。殺菌効果が表示されているノンアルコールタイプの洗口剤 B は、生残率はこれらよりやや高く、13.5%で、殺菌・抗菌効果は、約 86%であった。一方、殺菌効果が表示されていない洗口剤 C は生残率は 83.0%と高く、殺菌効果が示されなかった。アルコールを含むタイプと含まないタイプの比較では、アルコールを含むタイプの方が有意に高い殺菌・抗菌効果を示した（$p < 0.01$）。

今回の研究結果において、麦茶を除く各種茶は、生残率に基づくと、およそ 40-50%の殺菌・抗菌効果を示し、ほぼ 100%であったイソジンやアルコール殺菌タイプの洗口剤 A に比べると低いものの、殺菌・抗菌効果があり、含嗽液として用いるのは効果的と考えられる。麦茶の生残率が 100%を超えているのは、殺菌・抗菌作用がないため、細菌が分裂し増殖した結果と考えられる。

茶の殺菌・抗菌効果については、茶に含まれるカテキンの殺菌・抗菌効果に基づくことが報告されている[10-22]。茶に含まれるカテキンは 10 種類ほど報告されている[28]。西條・武田による HPLC によるカテキンの抽出実験では[29]、日本茶 4 種類について、いずれも 8 種類のカテキンを含み、総カテキン量は、普通煎茶 12.54、高級煎茶 6.89、番茶 5.45、抹茶 4.92、ほうじ茶 2.47（乾燥重量%）の順であった。紅茶については、坂本らによると、種類により 10%を超えるものから 1%に満たないものまで幅がある[30]。今回の結果では、これらのデータに基づくカテキン量による違いによる殺菌・抗菌効果の違いは明確ではなかったが、実際に研究に用いた茶のカテキン量に基づく必要があるので（今回の研究ではカテキン量の測定は行っていない）、カテキン量の違いによる殺菌・抗菌効果の違いについては、今後の課題とする。ただし、カテキン類をほとんど含まない麦茶は[31,32]、殺菌・抗菌効果を示さなかったので、両者の関係は明確であった。

イソジンや洗口剤の殺菌・抗菌効果については、90%以上との報告があり[3,4,6]、高井[23]もイソジンとアルコール殺菌タイプの洗口剤について、今回と同様の実験方法で 100%近い殺菌効果を報告している。今回の結果においても、イソジンが 100%、洗口剤については、殺菌効果を示すアルコールタイプのものについてはほぼ 100%の殺菌・抗菌効果を示した。殺菌効果を示しているものについて、アルコールを含むものと含まないものの差は、アルコールを含むものの方が高い殺菌・抗菌効果を示した。また、殺菌効果を示さないものについては、殺菌・抗菌効果はほとんど認められなかった。

今回の実験では、試料としては口腔に存在する細菌をすべてを扱っているが、評価の対象となるのは、培養条件に基づき増殖可能な細菌に限定され、すべての口腔細菌が評価の対象になっているわけではない。今回の細菌培養は好気的環境下で行っているため、嫌気的条件では増殖しない偏性嫌気性細菌は評価の対象にはなっていない。また、栄養要求性等で、培地の組成により増殖する細菌類は限定される。

口腔細菌として最も多いのがレンサ球菌で、歯肉溝で 27.1%、プラークで 27.9%、舌背で 38.3%、唾液で 42.1%の割合で存在していることが報告されている[25]。レンサ球菌は発育にアミノ酸、ビタミン類等、栄養要求性が高く、普通寒天培地や糖を含まない培地では増殖できない[27]。高井[23,24]は、標準寒天培地を用いたので、普通寒天培地よりは栄養成分が多く、増殖できる細菌も普通寒天培地よりは多いと考えれられる。今回の研究では口腔細菌の主要な割合を占めるレンサ球菌の培養に適し、広く用いられている血液寒天培地を用いたので、評価の対象となる細菌は標準寒天培地を用いた前回の研究に比べ多くなっていると考えられる。

いずれにしても、口腔細菌は多種多様な細菌が存在し、培養条件も異なるので、単一の方法では評価の対象となる細菌は限定されるが、血液寒天培地での培養により口腔細菌の主要な部分を占めるレンサ球菌を含め、総合的に殺菌・抗菌効果を知る目安にはなると考えられる。

血液培養では、溶血反応が示された。レンサ球菌は溶血性を示すので、溶血性の違い基づくグループ（α溶血、β溶血、γ溶血）に分類できるが、次回の課題である。

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られる。

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ったが、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[33]、今回の結果は一般化できるものと考えられる。

謝辞：英文要旨の校閲をいただいた東野映子氏に感謝の意を表します。

利益相反：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, 鎌田政善, 清浦有祐：洗口剤の *Candida albicans* に対する殺菌効果．老年歯科医学 19(4), 284-288 (2005)

[8] 増田葉月, 合場千佳子, 市川順子：高齢者における洗口剤含嗽の口腔内細菌への効果:－被災した高齢者に対する保健指導への活用を目指して－. 日本口腔保健学雑誌 9(1), 93-98 (2019)

[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] 林かおり, 佐藤馨, 深町早苗, 長嶺竹明：口腔病変を有する高齢患者への口腔ケア－微生物学的検討. 群馬保健学紀要 23, 89-94 (2002)

[11] 堀内善信, 戸田眞佐子, 大久保幸枝, 原征彦, 島村忠勝：茶およびカテキンの百日咳菌に対する防御作用．感染症学雑誌 66(5), 599-605 (1992)

[12] 戸田真佐子, 大久保幸枝, 生貝初, 島村忠勝：茶カテキン類およびその構造類似物質の抗菌作用ならびに抗毒素作用．日本細菌学雑誌 45(2), 561-566 (1990)

[13] 戸田真佐子, 大久保幸枝, 原征彦, 島村忠勝：Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* に対するカテキンの抗菌・殺菌作用．日本細菌学雑誌 46(5), 839-845 (1991)

[14] 大久保幸枝, 戸田真佐子, 原征彦, 島村忠勝：白せん菌に対する茶およびカテキンの抗菌・殺菌作用. 日本細菌学雑誌 46(2), 509-514 (1991)

[15] 帖佐浩, 戸田眞佐子, 大久保幸枝, 原征彦, 島村忠勝：茶およびカテキンのマイコプラズマに対する抗菌・殺菌作用．感染症学雑誌 66(5), 606-611 (1992)

[16] 高橋雄彦, 蔡哲, 戸田眞佐子, 原征彦, 島村忠勝：カテキンによる MRSA に対するオキサシリンの抗菌作用出現．感染症学雑誌 69(10), 1126-1134 (1995)

[17] 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)

[18] 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)

[19] 西川武志, 小林菜津美, 岡安多香子, 山田玲子, 磯貝恵美子, 磯貝浩, 山下利春：茶およびカテキン含有飲料の病原性大腸菌に対する増殖抑制効果の検討．腸内細菌学雑誌 20(4), 321-327 (2006)

[20] 小林菜津美, 西川武志, 岡安多香子, 山田玲子, 磯貝恵美子, 磯貝浩, 山下利春：カテキン含有飲料のサルモネラに対する殺菌および増殖抑制効果の検討．四国医学雑誌 62(1/2), 43-48 (2006)

[21] 北田勝浩, 井上昌一, 於保孝彦：緑茶抽出物の Streptococcus anginosus group に対する抗菌作用．口腔衛生学会雑誌 56(2), 132-136 (2006)

[22] 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)

[23] 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)

[24] 高井明徳：含嗽剤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. Vegetarian Research 21, 9-12 (2020)

[25] Socransky SS, Manganiello SD : The oral microbiota of man from birth to senility. J Periodontol 42(8), 485-496 (1971)

[26] Hamada S, Slade HD : Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol Rev 44(2), 331-384 (1980)

[27] 小川知彦, 落合邦康, 上西秀則, 清浦有祐, 古西清司, 中澤太, 浜田信城, 藤村節夫, 前田伸子：口腔微生物学－感染と免疫－ 第 3 版. 学建書院, 294-422 (2010)

[28] 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)
[29] 西條了康, 武田善行：HPLC による各種緑茶に含まれるカテキン類の分析．日本食品科学工学会誌 46(3), 138-147 (1999)
[30] 坂本彬, 井上博之, 中川致之:12 種類の紅茶の化学成分．日本食品科学工学会誌 59(7), 326-330 (2012)
[31] 梶本五郎：麦茶の化学成分．日本食品科学工学会誌 47(1), 9-16 (2000)
[32] 梶本五郎, 鬼武直子, 奥田浩子, 村上智嘉子：麦茶の抗酸化性と抗酸化成分．日本食品科学工学会誌 46(2), 67-74 (1999)
[33] 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)

Vegetarian Research Vol. 22, 9－12 (2021)

各種茶及び洗口剤の口腔細菌に対する殺菌・抗菌効果

高井 明徳

本研究において、5 種類の茶（緑茶、紅茶、ほうじ茶、ジャスミン茶、麦茶）、4 種類の洗口剤の口腔細菌に対する殺菌・抗菌効果が調べられた。口腔細菌液は各種茶、洗口液で 2 分間処理され、血液寒天培地で好気的に培養され、生じたコロニー数を算定した。その結果、増殖可能な細菌の生残率は、緑茶、紅茶、ほうじ茶で約 55%、ジャスミン茶で約 65%、麦茶で 100%以上であった。イソジン及びアルコール殺菌タイプの洗口剤の生残率はほぼ 0%であった。本研究結果から、麦茶を除く各種茶は、口腔細菌に対し殺菌・抗菌効果を有し、含嗽に効果的であることが示唆された。

キーワード：含嗽液・緑茶・紅茶・洗口剤・口腔細菌・殺菌・抗菌効果