

## 차 카테킨 EGCG (Epigallocatechin Gallate)의 구강세균에 대한 살균효과

유미옥 · 천재우 · 오계현\*

순천향대학교 자연과학대학 생명과학부

본 연구는 차 카테킨인 EGCG (epigallocatechin gallate)에 의한 구강세균의 살균효과를 조사하기 위하여 수행되었다. 초기 세포밀도  $10^7$  cell/ml의 대상 세균에 대한 항세균 활성은 EGCG 1 ml당 5 mg에서 조사하였다. 선택 또는 복합배지상에서 집락생성단위(colony-forming unit, CFU)에 근거하여 EGCG의 항세균 활성은 농도에 비례하는 것을 확인하였다. *Streptococcus mutans*와 *Streptococcus sobrinus*는 5 mg/ml의 EGCG에서 8시간 이내에 완전히 살균되었다. *Lactobacillus acidophilus*와 *Lactobacillus plantarum*도 동일한 조건에서 각각 2시간과 4시간 이내에 살균되었다. 2.5 mg/ml의 EGCG로 처리한 사람의 타액에서 유래하는 총 구강세균의 생존율을 BHI 고체배지상에서 조사하였으며, 총 구강세균은 10시간 이내에 완전히 살균되었다. MS 고체배지상에서 *S. mitis* and *S. salivarius*의 집락은 감소되었으며 배양 12시간 이내에서는 집락은 관찰되지 않았다. 그 결과, EGCG는 입냄새와 치석의 원인이 되는 구강세균을 살균시키고 충치를 예방하는 자연적이며 효과적인 물질임이 입증되었다.

**Key words** □ EGCG, oral bacteria, tea catechin

녹차는 오랫동안 우리나라와 중국을 포함하는 여러나라에서 음용되어온 식품으로 폴리테놀, 카페인, 테오필린, 아미노산, 비타민, 무기질 등의 성분으로 구성되어 있다(5). 이중 tea polyphenol (TPP)은 녹차, 홍차, 우롱차 등의 구성 성분으로 차의 향기와 빛깔, 맛을 좌우하는 주요 성분으로 항산화 효과, 노화방지, 암세포 분화 방지, 살균 등의 다양한 효과가 있는 것으로 알려져 있다(1, 6, 11-14).

녹차에 포함된 주요 카테킨에는 EGCG (epigallocatechin gallate), EGC (epigallocatechin), ECG (epicatechin gallate), EC (epicatechin) 등이 있으며, 특히 EGCG는 녹차에 포함된 총 폴리페놀의 40%를 차지하고, 가장 생리활성이 강한 성분으로 관심의 대상이 되어왔다(4).

EGCG는 항생제 내성 세균인 methicillin에 대하여 내성을 가지는 화농성 세균(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)에 대하여 항균효과를 나타내며, 처리한 EGCG의 농도가 높을 수록 세균의 수가 감소하는 것이 보고되었다(8). 또한 EGCG는 *Staphylococcus aureus*에서 penicillinase 생성 억제효과를 나타내는 것이 발표되었으며(15), 여러 가지 종류의 카테킨을 이용하여 *Helicobacter pylori*에 대한 살균효과를 확인한 결과는 EGCG가 강력한 활성이 있는 것으로 발표되었다(9).

사람의 구강은 개개인에 따라서 미생물이 살아가는데 다양한 환경을 제공하며 먹고마시는 과정을 통해서 다양한 종류의 미생물들도 자리를 잡게 된다. 구강에 존재하는 미생물에는 *Streptococcus* 종, *Lactobacillus* 종, *Actinomyces* 종, *Neisseria* 종

등이 정상균총(normal flora)으로서 존재하며, 개인의 구강위생 상태에 따라 *Staphylococcus* 종과 효모인 *Candida* 종 등이 관찰되기도 한다.

치아 표면에는 침에 포함된 산성 당단백질(acidic glycoprotein)이 막을 형성하여 여기에 여러 가지 종류의 *Streptococcus* 종(*S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. sanguis*, *S. mitis*)이 많이 자라게 되어 치태(dental plaque)가 된다. 치태가 계속 축적되어 두꺼워지면서 사상성 세균인 *Actinomyces* 종을 포함하는 다양한 세균들이 자라게되며 이들 세균의 대사물질인 산(acid)에 의해 충치(dental caries)가 발생하는 것으로 알려져 있다.

본 연구에서는 사람의 구강에서 치아건강에 크게 영향을 미치는 *Streptococcus mutans*, *S. sobrinus*, *S. mitis*, *S. salivarius*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum* 등을 포함하는 구강세균에 대한 차 카테킨 EGCG의 살균효과를 조사하였다.

### 재료 및 방법

#### 균주 및 배양조건

실험에서 사용된 구강세균은 *S. mutans*, *S. sobrinus*, *L. plantarum*, *L. acidophilus* 였으며 American Type Culture Collection에서 구입하여 사용하였다. *S. mutans*와 *S. sobrinus*은 BHI (Difco, Sparks, USA)에 접종하였고, *L. plantarum*과 *L. acidophilus*는 MRS (Difco, Sparks, USA) 배지에 접종하여 37°C 배양기에서 48시간동안 배양하였다. 사람의 타액에서 유래하는 총 구강세균의 계수를 위하여 MS (mitis-salivarius) (Difco, Sparks, USA) 배지와 BHI 배지가 사용되었다.

\*To whom correspondence should be addressed.  
Tel: 041-530-1353, Fax: 041-530-1350  
E-mail: kyeheon@sch.ac.kr

**EGCG에 의한 구강세균의 생존율 조사**

EGCG (>90%, Roche Co., Sweden)에 의한 구강세균 *S. mutans*, *S. sobrinus*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*의 살균효율을 측정하기 위해서 BHI, MRS 또는 MS 배지에 각 균주를 배양하였다. 균주가 대수성장기(exponential phase)를 거쳐 파장 660 nm에서 OD 값이 1.0에 도달하였을 때 배양액을 2000 x g에서 10분간 원심분리를 실시하였다. 상등액을 버리고 얻어진 균체는 10 mM phosphate buffer (pH 7.0)로 3회 세척하여 세균의 최종농도가 약 10<sup>4</sup> cells/ml 되게 하였다. 준비된 2.5-5.0 mg/ml 농도의 EGCG에 세척된 균체를 각각 동일량을 접종하여 일정시간 간격으로 BHI 또는 MRS 배지에 100 µl씩 평판도말한 후, 37°C에서 배양하였으며 형성되는 집락을 계수하여 EGCG의 농도와 노출시간에 따른 세균의 생존율(survival rate)을 조사하였다. 생존율 조사를 위한 방법은 Cho 등(3)의 방법에 따랐다.

**EGCG에 노출된 타액으로부터 구강세균 생존율 조사**

사람의 타액을 수거하여 EGCG (2.5 mg/ml)에 12시간 동안 처리하면서 2시간 간격으로 샘플링하여 영양배지인 BHI (brain heart infusion)와 MS 고체배지상에 평판도말한 후, 37°C에서 배양하였다. 고체배지상에 생성된 집락을 계수하여 EGCG가 실제 사람의 입에서 유래하는 구강세균에 미치는 영향을 조사하였다.

**결과 및 고찰**

**EGCG에 의한 구강세균의 생존율 조사**

구강에 존재하면서 충치와 입 냄새의 원인이 되는 *Streptococcus* 속(*S. mutans*, *S. sobrinus*)과 *Lactobacillus* 속(*L. acidophilus*, *L. plantarum*)에 대한 EGCG의 살균력 실험을 수행하였다. EGCG (5 mg/ml)에 노출된 *S. mutans*는 8 시간 이내, *S. sobrinus*는 6시간, *L. acidophilus*는 2시간, 그리고 *L.*

*plantarum*는 4시간만에 완전히 살균되었다. Hattori 등(7)은 차 폴리페놀이 *S. mutans*에서 glucosyltransferase의 반응으로 생성되는 불용성의 glucan의 합성을 억제하는 것을 보고하였는데, 이는 차 폴리페놀에 의한 항충치효과의 가능성을 제시한 것이다. Table 1은 녹차에서 정제된 생리활성이 강한 EGCG의 *Streptococcus* 속과 *Lactobacillus* 속에 대한 살균효과를 보여주고 있다. 여러 가지 차 카테킨이 포함된 추출물에 의한 *S. mutans*의 살균효과도 보고되었으나(10), Table 1에서 보는 바와 같이 EGCG는 이들 구강세균에 대하여 높은 살균효과를 나타내어 보다 다양한 산업적 응용가능성이 있는 것으로 판단된다.

**EGCG에 노출된 타액으로부터 구강세균 생존율 조사**

사람의 침을 수거하여 EGCG (2.5 mg/ml)에 12시간 동안 처리하면서 두 시간 간격으로 샘플링하여 영양배지인 BHI 고체배지 상에서 배양한 결과 8시간 만에 90% 이상 제거되었으며, 10시간 만에 완전히 제거되었다. 또한 동일한 조건하에서 EGCG로 처리한 시료를 *S. mitis*와 *S. salivarius*의 선택배지인 MS 고체배지 상에서 배양하여 *S. mitis*와 *S. salivarius*가 10시간 만에 90% 이상 제거되었고 12시간이 경과하기 이전에 모두 사멸한 것을 확인하였다(Table 2). Chang 등(2)은 한국산 녹차에서 추출한 차 폴리페놀을 이용하여 다양한 병원균에 대한 살균효과를 조사하였다. 10 mg/ml의 차 폴리페놀은 *S. mitis*와 *S. salivarius*를 8시간 이내에 살균한 것으로 확인되었는데, 5 mg/ml의 EGCG가 12시간 이내에 동일한 균을 완전히 살균한 것과 비교할 때 EGCG의 살균효과가 우세함을 보여주는 것이다.

본 연구를 통해서 녹차에 포함된 차 카테킨 EGCG은 구강세균에 대한 탁월한 살균효과를 갖는 것으로 입증되었다. 향후 연구는 EGCG의 다양한 병원성 세균들에 대한 항균범위와 살균기작을 규명하고, 이 물질의 산업적 응용에 대하여 초점이 맞추어질 것이다.

**Table 1.** Number of colony-forming unit of different bacteria on selective media after treatment of 5.0 mg/ml EGCG

Microorganisms	No. of CFU								
	Control	1	2	3	4	5	6	7	8 (hrs)
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1.0×10 <sup>7</sup>	0.9×10 <sup>2</sup>	0						
<i>Lactobacillus plantarum</i>	1.0×10 <sup>7</sup>	4.1×10 <sup>5</sup>	1.7×10 <sup>3</sup>	3.7×10 <sup>2</sup>	0				
<i>Streptococcus sobrinus</i>	1.0×10 <sup>7</sup>	2.1×10 <sup>6</sup>	4.3×10 <sup>5</sup>	2.7×10 <sup>4</sup>	1.5×10 <sup>3</sup>	6.9×10 <sup>2</sup>	0		
<i>Streptococcus mutans</i>	1.0×10 <sup>7</sup>	3.1×10 <sup>6</sup>	1.6×10 <sup>6</sup>	599×10 <sup>3</sup>	1.2×10 <sup>5</sup>	2.2×10 <sup>3</sup>	8.2×10 <sup>2</sup>	3.4×10 <sup>1</sup>	0

**Table 2.** Number of colony-forming unit of oral bacteria on different media after treatment of 2.5 mg/ml EGCG

Media	No. of CFU, Percentage of killing (%)						
	Control	2	4	6	8	10	12 (hrs)
BHI agar	7.8×10 <sup>5</sup> (100)	5.3×10 <sup>5</sup> (68.3)	4.2×10 <sup>5</sup> (54.2)	3.3×10 <sup>5</sup> (42.4)	1.6×10 <sup>5</sup> (19.9)	4.9×10 <sup>4</sup> (6.4)	0
LB agar	7.5×10 <sup>5</sup> (100)	5.6×10 <sup>5</sup> (75.1)	3.6×10 <sup>5</sup> (47.9)	2.4×10 <sup>5</sup> (32.3)	1.1×10 <sup>5</sup> (14.8)	1.5×10 <sup>4</sup> (2.0)	0
MS agar	8.0×10 <sup>5</sup> (100)	4.9×10 <sup>5</sup> (61.5)	3.0×10 <sup>5</sup> (37.3)	1.9×10 <sup>5</sup> (23.8)	5.2×10 <sup>4</sup> (6.6)	2.9×10 <sup>4</sup> (3.7)	0

Abbr. BHI, brain heart infusion; LB, Luria-Bertani; MS, mitis-salivarius

## 참고문헌

- Alessio, H.M., A.E. Hagerman, M. Romanello, S. Carando, M.S. Threlkeld, J. Rogers, Y. Dimitrova, S. Muhanned, and R.L. Wiley. 2002. Consumption of green tea protects rats from exercise-induced oxidative stress in kidney and liver. *Nutri. Res.* 22, 1177-1188.
- Chang, H.W., M.O. Yu, H.K. Bae, W.S. Choi, and K.H. Oh. 2002. *In vitro* antimicrobial activity of Korean green tea extracts against potential pathogenic microorganisms. *Abstracts of 102nd American Society for Microbiology*, Salt Lake City, Utah, USA.
- Cho, Y.S., H.Y. Kahng, C.K. Kim, J.J. Kukor, and K.H. Oh. 2002. Physiological and cellular responses of the 2,4-D degrading bacterium, *Burkholderia cepacia* YK-2, to the phenoxyherbicides 2,4-D and 2,4,5-T. *Curr. Microbiol.* 415-422.
- Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12, 564-582.
- Graham, H.N. 1992. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Prev. Med.* 21, 334-350.
- Hamilton-Miller, J.M. 1995. Antimicrobial properties of tea (*Camella sinensis*, L). *Antimicrob. Agents Chemother.* 39, 2375-2377.
- Hattori, M., I.T. Kusumoto, T. Namba, T. Ishigami, and Y. Hara. 1990. Effect of tea polyphenols on glucan synthesis by glucosyltransferase from *Streptococcus mutans*. *Chem. Pharm. Bull.* 38, 717-720.
- Hu, Z.Q., W.H. Zhao, N. Asano, Y. Yoda, Y. Hara, and T. Shimamura. 2002. Epigallocatechin gallate synergistically enhances the activity of carbapenems against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46, 558-560.
- Katsuhiro, K., M. Yanada, I. Oguni, and T. Takahashi. 1999. *In vitro* and *in vivo* activities of tea catechin against *Helicobacter pylori*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43, 1788-1791.
- Kawamura, J. and T. Takeo. 1989. Antibacterial activity of tea catechin to *Streptococcus mutans*. *J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol.* 36, 463-467.
- Leanderson, P., A.O. Faresjoe, C. Tagesson, 1997. Green tea polyphenols inhibit oxidant-induced DNA strand breakage in cultured lung cells. *Free Radical Biol. Med.* 23, 235-242.
- Mimoto, J., K. Kiura, K. Matsuo, T. Yoshino, I. Takara, H. Ueoka, M. Kataoka, and M. Harada. 2000. Epigallocatechin gallate can prevent cisplatin-induced lung tumorigenesis in A/J mice. *Carcinogenesis* 21, 915-919.
- Nagano, J., K. Suminori, Kono, D.L. Preston and K. Mabuchi. 2001. A prospective study of green tea consumption and cancer incidence, Hiroshima and Nagasaki (Japan). *Cancer Cause & Control* 12, 501-508.
- Riso, P., D. Erba, F. Criscuoli, and G. Testolin. 2002. Effect of green tea extract on DNA repair and oxidative damage due to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in Jurkat T cells. *Nutri. Res.* 22: 1143-1150.
- Zhao, W.H., Z.Q. Hu, Y. Hara, and T. Shimamura. 2002. Inhibition of penicillinase by epigallocatechin gallate resulting in restoration of antibacterial activity of penicillin against penicillinase-producing *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46, 2266-2268.

(Received August 9, 2004/Accepted November 22)

**ABSTRACT : Effect of Tea Catechin, EGCG (Epigallocatechin Gallate) on Killing of Oral Bacteria.**  
 Mi-Ok Yu, Jae-Woo Chun, and Kye-Heon Oh\* (Department of Life Science, Soonchunhyang University, P.O. Box 97, Asan, Chung-Nam 336-600, Korea)

The purpose of this work was to investigate the effect of tea catechin, epigallocatechin gallate (EGCG) on killing of oral bacteria. The antibacterial activity of 2.5 mg/ml and 5.0 mg/ml EGCG was investigated for target bacteria of which initial cell number was approximately adjusted to 10<sup>7</sup>/ml. The antibacterial activity of EGCG was proportional to the concentration according to colony-forming unit (CFU) of target bacteria enumerating on selective and complex media. *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* at 5mg/ml EGCG were completely killed within 8 hrs. *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* were also killed within 2 hrs and 4 hrs under the same conditions, respectively. Oral bacteria at 2.5 mg/ml EGCG were completely killed within 10 hr. Colony numbers of *S. mitis* and *S. salivarius* treated with 2.5 mg/ml EGCG were decreased on MS solid media and no colony was observed on the media within 12 hrs. In consequence, EGCG would be a natural and effective compound that kill oral bacteria being caused of bad breath, plaque and gingivitis, and for preventing and treating dental caries.