水和ドロマイト添加樹脂の即効性を持つ強力な抗菌活性

山名英明¹⁾ 大槻公一¹⁾ 伊藤壽啓¹⁾ 伊藤啓史¹⁾村瀬敏之^{1)†} 若林一夫²⁾ 三好伸宣²⁾

1) 鳥取大学農学部 (〒680-8553 鳥取市湖山町南4-101)

2) 用瀬電機株式会社 (〒689-1201 鳥取市用瀬町用瀬7-2)

(2004年6月10日受付・2004年9月30日受理)

要 約

天然鉱物であるドロマイトは環境負荷が少ない素材である。焼成、水和などの処理を施したドロマイト（水和ドロマイト）を、それぞれ5～30%および10～30%の濃度でポリエチレンおよびポリ塩化ビニルに添加し、抗菌性を検討した。水和ドロマイト添加樹脂シート（50×50×1mm）に、 1.5×10^5 cfu/mlに調製した大腸菌（*Escherichia coli* IFO3301株）の菌液をフィルム密着法により接触させたところ、1時間後に生菌数が10cfu/ml未満に減少した。物性評価試験において、水和ドロマイトを15%および30%添加したポリエチレンの伸び率が、無添加時の値の約1/2に減少したものの測定値は一般的なポリエチレンの値に近似した。したがって、水和ドロマイト添加樹脂は十分実用可能であることが示され、特に病院、畜舎、食品工場等でエプロン等の衣料、長靴、壁材および床材等を使用した場合、病原菌を含む細菌による汚染拡大の防止に有用と思われる。——キーワード：抗菌活性、水和ドロマイト、物性、樹脂。

日獣会誌 58, 201～204 (2005)

樹脂に添加して使用する抗菌剤は無機系と有機系に分けられる。無機系は銀、銅、亜鉛および酸化チタンなどが用いられているが、特に安全性の高さから近年銀系が使用される頻度が高い [9]。しかし、銀は光、塩素などに暴露されると、変色し、抗菌力も弱まる [20]。また、樹脂そのものの価格に比べ、銀は高価であるため即効性の抗菌活性を期待する程度まで添加量を増加させることは困難である。樹脂製品の抗菌効果は、JISに定められた規格では、24時間で抗菌剤を添加しない対照に比べて100分の1以下の菌数であることとされている [19]。この基準を満たせば抗菌性を有する製品として認められるため、この基準を基に、抗菌性が必ずしも必要とされない物品にまで、抗菌性を謳い使用されてきている [25]。いっぽう、遅効性の抗菌物質を用い24時間後に効果が発揮されても、食品製造や医療現場では意味を持たない。このような場合、短時間で強い効果の発現する物質が必要とされる。

有機系としては4級アンモニウム塩、フェノール誘導体、スルホン酸誘導体など多種類の抗菌剤がある [20, 29]。これらは一般に、無機系に比べ即効性であるが、汗などに移行しやすく皮膚障害の報告例がある [9]。し

たがって、安全性については無機系剤に劣る。

このような現状をふまえてわれわれは天然鉱物であるドロマイトに着目した。ドロマイトはサンゴなどが海底に堆積して石灰岩になった後、そのカルシウムの一部が海水中のマグネシウムと置き換わって生成したもので [17]、炭酸カルシウムと炭酸マグネシウムからなる複塩である。生体構造物の堆積物由来の岩石で安全性の高い原料であり [18]、カルシウムとマグネシウムのバランスがよいことからミネラルの補強を目的とした食品添加物として近年利用され始めている [18]。

ドロマイトを焼成し、その後水和したもの（以下、水和ドロマイト）は水酸基を持ちアルカリ性となる。近年、アルカリ性の性質を利用した抗菌剤として牡蠣ガラ、鶏卵殻などを焼成したカルシウム剤 [8, 16, 30] やリン酸三ナトリウムなどのアルカリ剤 [1-7, 11-14, 26] が食肉や鶏卵の殺菌剤などとして報告されている。しかし、その利用方法は、水溶液に食品を浸漬するか噴霧に限られていること、また、食品の多くのpHは酸性から中性域であるため、直接食品に利用した場合栄養価や風味に影響を与える恐れがあり、実際にはあまり利用されていない [10]。水和ドロマイトも同様にアルカリ性を

† 連絡責任者：村瀬敏之（鳥取大学農学部獣医学科獣医微生物学教室）

〒680-8553 鳥取市湖山町南4-101 ☎・FAX 0857-31-5430

示すことから、強い抗菌性が期待される。水和ドロマイトを樹脂に添加した素材が抗菌性を発揮するならば、病院、畜舎、食品工場などで使われるエプロン、長靴、手袋、壁材、床材などの目的に使用することも可能となる。そこで、本研究では、樹脂に種々の割合で水和ドロマイトを添加した場合の抗菌性および物性について調べ、製品への応用の可能性について検討を試みた。

材 料 お よ び 方 法

供試水和ドロマイト：国内で産出するドロマイトを約1,000℃で焼成した後、水和させたものを乾式の粉碎機で微粉化したものを用いた。鳥取県産業技術センターにおける成分分析の結果、カルシウムが31.4%とマグネシウムが14.3%、他に微量元素としてFe, K, Al, Na, Siなどが検出された。X線回折分析により、カルシウムおよびマグネシウムは炭酸カルシウム、水酸化カルシウム、酸化マグネシウム、水酸化マグネシウムの形で存在していることが確認された。乾式粉碎により粒子径を、2.3μmとし、樹脂との相溶性を高めるために脂肪酸により表面処理を施したものを使用した。

水和ドロマイト添加ポリエチレン樹脂試験シートの作製：あらかじめ、プラスチックペレットと水和ドロマイトを60%の濃度で混練した高濃度のマスターバッチを用意し、これを同じ樹脂で二軸混練装置^{a)}で目的の濃度(5%, 15%および30%)まで希釈しながら混練し、ペレット状に加工して、これを加熱プレス装置^{b)}で成型して板状の試験シート(50mm×50mm×1mm)を作製した。

水和ドロマイト添加塩化ビニル樹脂試験シートの作製：塩化ビニルと可塑剤(フタル酸ジ2エチルヘキシル)の混合重量比が100:73の混合物に水和ドロマイトを目的の濃度(10%, 20%および30%)に加え、ロール混練機^{b)}でシート状に成型した。

供 試 菌 株：*Escherichia coli* IFO 3301株, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, メチシリン耐性*S. aureus* (MRSA) ヒト由来株, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis IFO3133。

最小発育阻止濃度：普通ブイヨン40mlに水和ドロマイトを0.04~0.6%の割合で混合し三角フラスコに入れた。マックファランド比濁法の標準試験管番号0.5に調製した各供試株の菌液(1.5×10^8 cfu/ml)を10μl滴下し、37℃で24時間振盪培養した。1mlを採取し標準寒天培地で混釈培養し、コロニー形成が50個未満の場合を発育阻止とし、最小発育阻止濃度とした[8]。

水和ドロマイト添加樹脂の抗菌性能評価試験：フィルム密着法[20]に準じて行った。すなわち、サンプルを径9cmのシャーレに置き、それぞれに、1/500濃度の普通ブイヨンで 1.5×10^5 cfu/mlに調製した*E. coli* IFO 3301株の菌液を0.5mlずつ滴下した。その上から4cm角ポリエチレンフィルムを被せ、湿らせたキムタオルを置いた密閉容器内で1, 6および24時間、25℃で保存した。ポリエチレンフィルムを除去後、菌液をピペットで全量回収し、生理食塩水で10倍段階希釈後、標準寒天培地で混釈法により菌数を測定した。

また、市販の抗菌製品3種類も比較のために検討した。市販品Aは合成ゴム製業務用エプロンで抗菌剤使用の記載はあったが、抗菌剤の種類に関する記載はなかった。市販品Bは台所の棚などにひくポリエチレン製の発泡シートで無機系の抗菌剤、ベンゾイミダゾール系防カビ剤の記載がされていた。市販品Cは本体がポリプロピレン製の食品保存容器で無機系抗菌剤の記載がされていた。

水和ドロマイト添加ポリエチレンの物性能評価試験：目的の水和ドロマイト濃度のペレットを射出成型によりJIS K 7113に定められた寸法の金型で成型したものを、引っ張り試験機^{c)}により評価した。

抗菌耐久性試験：塩化ビニルに水和ドロマイトを30%添加し成型した試験シート(50mm×50mm×1mm)を室温、50℃および90℃の各温度の蒸留水(300ml)に16時間浸漬したサンプルを乾燥し、抗菌性を*E. coli* IFO 3301株を用いてフィルム密着法により評価した。

成 績

最小発育阻止濃度：各種供試菌株における最小発育阻止濃度は、MRSAが0.6%で、それ以外の菌種は0.3%であった。

水和ドロマイト添加樹脂の抗菌性能評価試験：ポリエチレンにおいては30%添加した場合、1時間以内に検出限界以下の菌数となった(表1)。塩化ビニルの場合で

表1 水和ドロマイトを添加したポリエチレン樹脂の*E. coli* IFO 3301株を用いた抗菌試験

供試サンプル	生菌数 (cfu/ml)		
	1時間	6時間	24時間
ポリエチレン樹脂			
0% ^{a)}	5.7×10^4	2.0×10^3	3.1×10^6
5%	3.9×10^4	7.0×10^3	4.2×10^5
15%	4.9×10^4	4.0×10^3	5.3×10^3
30%	<10	<10	<10
市販品A	1.5×10^5	1.7×10^3	<10
市販品B	3.9×10^4	7.7×10^2	<10
市販品C	6.1×10^4	6.1×10^4	1.1×10^4

^{a)}水和ドロマイト添加量

a) ㈱日本製鋼所, 東京。 b) 関西ロール㈱, 大阪。

c) インストロンジャパン㈱, 神奈川。

表2 水和ドロマイトを添加した塩化ビニル樹脂の*E. coli* IFO 3301株を用いた抗菌試験

水和ドロマイト 添加量 (%)	生菌数 (cfu/ml)			
	15分	30分	45分	60分
0	1.0×10^5	1.2×10^5	1.6×10^5	5.0×10^5
10	7.7×10^3	40	10	<10
20	40	50	<10	<10
30	<10	<10	<10	<10

表3 水和ドロマイトを添加したポリエチレン樹脂の引張試験

水和ドロマイト 添加量 (%)	最大荷重時の 応力 (MPa)	伸び率 (%)	弾性率 (MPa)
0	23.6	246	484
5	22.7	203	471
15	23.2	123	488
30	25.9	118	525

は、10%の添加で1時間以内に検出限界以下の菌数となった(表2)。いっぽう、いずれの市販の抗菌製品とも6時間経過した時点で生菌数が100分の1に減少したものの、検出限界以下の菌数になるまで24時間を要した(表1)。

水和ドロマイト添加ポリエチレン樹脂の物性能評価試験：水和ドロマイトを添加したポリエチレンにおける引張試験をした結果を表3に示す。添加量が5%では無添加に比べ最大荷重時の応力および弾性率が低下したが、30%の添加によりそれぞれ10%近く増加した。伸び率は添加量の増加に伴い低下した。

抗菌耐久性試験：室温の水に浸漬した水和ドロマイト添加樹脂は、菌接種後の24時間後に生菌数が10cfu/ml未満に減少したが、50℃および90℃の水に浸漬した試験シートでは、それぞれ、 2.3×10^2 および 1.0×10^4 cfu/ml の生菌数を認めた。

考 察

樹脂に添加するタイプの抗菌剤は銀系に代表される無機系のものから有機系のものまで種々のものが報告され[9, 20, 29]、実際に使用されているが、これまでアルカリ系の材料を樹脂に添加する試みは見られなかった。今回、水和ドロマイトを樹脂に添加したところ、ポリエチレンで15%、塩化ビニルで10%の添加により抗菌性が確認された。抗菌試験において、市販品では検出限界以下の菌数となるまで24時間を要したが、水和ドロマイトを30%添加したポリエチレンおよび10%以上を添加した塩化ビニルでは1時間以内に検出限界以下となった。すなわち、本樹脂は即効性で強力な抗菌作用を有することが明らかになった。従来の銀系抗菌剤は、即効性を欠くものの長期間弱い抗菌性を持続することの特徴と

していた[20]。しかし、即効性の抗菌性を必要とする病院、畜舎、食品工場などにおいては、遅効性抗菌活性の製品では有用性に乏しい。24時間以内に細菌が汚染された場所から拡散する可能性がある。畜舎などに定期的に消毒剤を散布する際、畜舎内すべてを消毒するのは難しいが、水和ドロマイトを添加した樹脂を壁材、床材などに用いれば、消毒剤散布効果の補完が期待できる。また、畜舎の作業員が使用する長靴などに水和ドロマイトを添加した樹脂を応用できれば、有害な細菌汚染を防止するのに役立つ。

本水和ドロマイト添加樹脂が抗菌活性を示すためには、塩化ビニルに添加する場合でも水和ドロマイト添加量が10%以上必要であるため、樹脂の物性劣化が懸念される。物性評価試験では添加量の増加に従い表3に示すように、伸び率が低下し、最大荷重時の応力が増加していることから、硬く脆くなる傾向がみられた。しかし、物性評価試験の3項目の値は、一般的なポリエチレンの物性値[21]に近似した。ただし成型した場合はそれぞれの成型品での強度試験が日本工業規格で定められており、用途に応じ成型し強度試験を行う必要がある。耐水性については浸漬温度の上昇に伴い抗菌力が低下したため、頻繁に熱湯をかけたり、浸漬する環境では抗菌性は持続しないと考えられる。使用法を考える必要がある。

水和ドロマイトがアルカリ性であることから、抗菌メカニズムは、水溶液中の水酸化物と粒子表面の高濃度の水酸化物による抗菌作用が考えられる[15, 27, 28]。いっぽう、Sawaiら[22-24]は、MgOおよびNaOHを大腸菌に作用させた後、大腸菌の発育に影響を与えない濃度のクロラムフェニコールおよびリファピシを含む平板培地に接種したところ、MgOを作用させた大腸菌のコロニー数が、NaOHを作用させた大腸菌に比べ明らかに少なかったことを報告している。このことは、MgOには水酸化物以外の抗菌機序が存在する可能性を示唆している。一色ら[8]もアルカリとは別のその他の要因の可能性があることを報告しており、抗菌効果のメカニズムについては今後さらに検討を深める必要がある。

稿を終えるにあたり、水和ドロマイトの原子吸光分析、X線回折分析をしていただいた鳥取県産業技術センターの玉井研究員(現財団法人鳥取県産業振興機構)に深謝する。本研究の一部は独立行政法人科学技術振興機構補助金による。

引 用 文 献

- [1] Catalano CR, Knabel SJ : J Food Prot, 57, 587-591 (1994)
- [2] Cotterill OJ : Poult Sci, 47, 357-365 (1968)
- [3] Dickson JS : J Food Prot, 51, 869-873 (1988)
- [4] Dickson JS, Anderson ME : J Food Prot, 55, 133-140 (1992)
- [5] Dickson JS, Cutter CGN, Siragusa GR : J Food Prot, 57, 952-955 (1994)

- [6] Dorsa WJ, Cutter CN, Siragusa GR : J Food Prot, 60, 619-624 (1997)
- [7] Humphrey TJ, Lanning DG, Beresford D : J Appl Bacteriol, 51, 517-527 (1981)
- [8] 一色賢司, 栖原 浩, 水内健二, 徳岡敬子 : 日食工誌, 41, 135-149 (1994)
- [9] 鹿庭正明 : 防菌防黴, 29, 237-243 (2001)
- [10] 加藤博通, 倉田忠男 : 食品保蔵学, 159-160, 文永堂出版, 東京 (1999)
- [11] Kim JW, Slavik MF : J Food Sci, 59, 23-25 (1994)
- [12] Kinner JA, Moats WA : Poult Sci, 60, 761-767 (1981)
- [13] Li WWY, Slavik MF, Xiong H : J Food Prot, 60, 992-994 (1997)
- [14] Lillard HS : J Food Prot, 57, 465-469 (1994)
- [15] Mendonca AF, Amoroso TL, Knabel SJ : Appl Environ Microbiol, 60, 4009-4014 (1994)
- [16] 峰 裕喜, 栖原 浩, 山中俊介, 一色賢司 : 日食工誌, 42, 268-272 (1995)
- [17] 宮沢 清 : ドロマイトとその利用, 34-36, 宮沢 清, 大成社, 東京 (1980)
- [18] 毛利精一 : New Food Industry, 41, 13-18 (1999)
- [19] 日本工業標準調査会編 : JIS Z 2801 : 2000 抗菌加工製品—抗菌性試験方法・抗菌効果, 1-8, 日本工業規格会, 東京 (2000)
- [20] 西野 敦, 富岡敏一, 富田勝己, 小林 晋 : 抗菌剤の科学, 62-70, 工業調査会, 東京 (1996)
- [21] 小野木重治 : 高分子材料科学, 付録20, 誠文堂新光社, 東京 (1973)
- [22] Sawai J, Kojima H, Igarashi H, Hashimoto A, Shoji S, Kokugan T : J Chem Eng Japan, 30, 1034-1039 (1997)
- [23] 澤井 淳, 小島博光, 清水 賢 : 無機マテリアル, 4, 156-162 (1997)
- [24] 澤井 淳, 相楽好治, 橋本 篤, 五十嵐英夫, 清水賢 : 日本細菌学会誌, 52, 589-599 (1996)
- [25] シーエムシー編 : 抗菌プラスチックの市場展開, 5-8, シーエムシー, 東京 (1997)
- [26] Somers EB, Schoeni JL, Wong ACL : Int J Food Microbiol, 22, 269-276 (1994)
- [27] 鈴木 喬, 佐藤利夫 : 無機マテリアル, 6, 473-443 (1999)
- [28] Teo Y, Rannor TJ, Ellajosyula KR, Knabel SJ : J Food Prot, 59, 1023-1030 (1996)
- [29] 富岡敏一 : 防菌防黴, 30, 501-504 (2002)
- [30] 山中俊介, 峰 裕喜, 栖原 浩, 一色賢司 : 日食工誌, 42, 442-445 (1995)

Strong Antibacterial Activity of Resins with Additions of Hydrated Dolomite

Hideaki YAMANA*, Koichi OTSUKI, Hiroshi ITO, Toshihiro ITO, Toshiyuki MURASE[†], Kazuo WAKABAYASHI and Nobuyoshi MIYOSHI

* Laboratory of Veterinary Public Health, Faculty of Agriculture, Tottori University, 4-101 Koyama, Tottori, 680-8553, Japan

SUMMARY

The naturally generated mineral dolomite is thought to pose no risks of environmental pollution. Dolomite processed with calcination and hydration was mixed with polyethylene (30%) and polyvinyl chloride (10%). The antibacterial activities of these resins were determined by inoculating 0.5 ml of a bacterial suspension of *Escherichia coli* (IFO3301 strain) containing 1.5×10^5 colony-forming units (cfu) per ml on pieces of resin sheet (50 × 50 × 1mm). Within an hour, the number of bacteria on the pieces had decreased to less than 10 cfu/ml. Physical-property tests indicated that values of ultimate elongation of polyethylene mixed with 15 or 30% hydrated dolomite decreased to half the values obtained with dolomite-free polyethylene. These values approximate values obtained from commercially available polyethylene. Our results suggest that, in food-processing companies and hospitals, use of resins to which hydrated dolomite has been added in cloth, boots, wall materials, and flooring can prevent the spread of bacterial pathogens.

—Key words : antibacterial activity, hydrated dolomite, physical property, resin.

[†] Correspondence to : Toshiyuki MURASE (Laboratory of Veterinary Microbiology, Faculty of Agriculture, Tottori University) 4-101 Koyama, Tottori, 680-8553, Japan TEL · FAX 0857-31-5430

—J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 58, 201 ~ 204 (2005)