

技術論文

竹粉末複合化ポリプロピレンの抗菌化に関する研究（第3報）

琴原 優輝^{*1)}, 菊谷 有希^{*1)}, 山下 浩一^{*1)}, 藤原 永年^{*2)}Study of Antimicrobial processing of Bamboo powder/Polypropylene composites using Etak (3rd Report)KOTOHARA Yuki ^{*1)}, KIKUTANI Yuki ^{*1)}, YAMASHITA Hirokazu ^{*1)}, FUJIWARA Nagatoshi ^{*2)}

プラスチックの使用量を減らしながら抗菌機能を持ったプラスチック成形品の開発を目指し、第四級アンモニウム塩の抗菌剤である Octadecyl dimethyl(3-triethoxysilylpropyl) ammonium chloride (Etak) を使用した竹粉末複合化ポリプロピレンの抗菌化を検討している。これまで菌の培養を伴わない間接評価により得た知見について報告してきた¹⁻²⁾が、実際に抗菌活性評価をしたことがない。そこで今回、竹粉末複合化ポリプロピレン及び竹粉末の抗菌活性評価を行った。その結果、洗浄を実施していない試料では Etak 処理した PP 及び 50wt%竹粉末/2wt%MAPP/PP では抗菌活性があることが分かった。また、PP では表面処理の有無に関わらず洗浄を 10 回行うと抗菌活性が失われる結果となり、Etak が固定化されていないことが示唆された。一方、50wt%竹粉末/2wt%MAPP/PP では表面処理及び Etak 処理した試料のみ洗浄回数に関わらず全ての試料で抗菌活性が認められた。また、それ以外の試料では抗菌活性があるもの、無いものが混在する結果となっており、竹粉末由来の抗菌活性があることが示唆された。50wt%竹粉末/2wt%MAPP/PP 菌数減少の幅は全ての処理を実施したものが最も大きく、Etak の固定化の効果が出ていると考えられた。加えて、竹粉末の抗菌活性評価の結果から、竹粉末自身にも抗菌活性があることが分かった。これらの結果から、表面処理及び Etak 処理をした 50wt%竹粉末/2wt%MAPP/PP では、竹粉末由来の抗菌活性と Etak 由来の抗菌活性の 2 つの効果が発揮されている可能性があり、竹粉末と Etak 処理は抗菌化に有効な組み合わせと言えることが分かった。

1. 緒言

近年、プラスチックによる環境汚染問題、とりわけ海洋汚染が問題視されてきている。世界中でレジ袋やストローの有料化や販売禁止等の規制が行われている中、我が国においても令和元年 5 月 31 日に「プラスチック資源循環戦略」を策定し、これに基づき対策を推進していくとされている。当該戦略では、対策の 1 つとしてプラスチックの使用を削減することが掲げられており、バイオマス等環境に配慮した材料に置き換えていくことが求められている。一方、令和 2 年度から新型コロナウイルス感染症によるパンデミックが発生し、今なお社会に混乱をきたしている。マスク着用が日常化するなど感染症予防意識が高まってきており抗菌・抗ウイルスを謳った製品も目立つようになってきた。そのような環境の中、産業振興総合センターではプラスチックの使用量を減らしながら抗菌機能を持ったプラスチック成形品の開発を目指し、第四級アンモニウム塩の抗菌剤である Octadecyl dimethyl(3-triethoxysilylpropyl) ammonium chloride (Etak) を使用した竹粉末複合化ポリプロピレンの抗菌化について検討を進めてきた。これまで菌の培養を伴わない間接評価により得た知見について報告してきた¹⁻²⁾が今回、実際に抗菌活性を評価したので報告する。

2. 実験方法

2.1 材料

ポリプロピレン (PP) には日本ポリプロ (株) 製ノバテック PPMA3 を用いた。相溶化剤には三洋化成工業 (株) 製のマレイン酸変性 PP (MAPP) であるユーメックス 1010 を用いた。Etak には、マナック (株) 製の原液 (40%アルコール溶液) を用いた。竹粉末には市販されている土壌改良用の竹パウダーを用いた。また、抗菌活性試験にはヒト常在菌である黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) を用いた。

2.2 竹粉末複合化ポリプロピレンの抗菌活性評価

既報¹⁻²⁾の方法に準じ 4.5 cm 角 2 mm 厚の PP, 50wt%竹粉末/2wt%MAPP/PP を成形した。この時、熱プレスには 14.5 cm×17 cm の金型を使用し、フォースミルによるプレス前の粗粉碎作業を省略している。その後、これらの成形品に対して次の 2 処理を施した試料、施していない試料を組み合わせのうえ調整した。すなわち、蒸留水により 1 vol%に希釈した Etak 溶液に約 3 分間浸漬、風乾させる処理 (Etak 処理)、及び、金ブラシで摩擦し成形表面を荒らす処理 (表面処理) の 2 処理である。さらに、各試料について抗菌性の持続性を確認するため、市販の洗剤を用いて洗浄、乾燥する工程を 10 回繰り返したものと未実施のものを用意した。最終

^{*1)} 繊維・毛皮革・高分子グループ^{*2)} 帝塚山大学 現代生活学部 食品栄養学科

的に得た試料を表 1 に示す。表 1 で◎の表記は処理を行ったこと, ×の表記は処理を行っていないことを示し, 以降同様である。これらの試料について抗菌活性評価を行った。抗菌活性評価は, 1/20 LB broth に懸濁した黄色ブドウ球菌の菌液を各試料に 200 µl 滴下し 37 °C で 24 時間培養した後, PBS 4 ml で洗浄した洗液を標準寒天培地に塗布し生菌数を測定, 菌液培養前後の菌数の増減を確認することで行った。この時, 菌液を試料表面に密着させるためカバーガラスを被せるとともに, 菌液の乾燥を防ぐため密封タッパに水を湿らせて湿度を保つよう工夫を行った。なお, 評価は n=3 で実施した。

表 1 抗菌活性評価に供したプラスチック成形試料

記号	種類	処理の有無 表面処理/Etak 処理	洗浄 回数
A-1-①	PP	×/×	0 回
A-1-②		◎/×	
A-2-①		×/◎	
A-2-②		◎/◎	
A-1-⑪		×/×	10 回
A-1-⑫		◎/×	
A-2-⑪		×/◎	
A-2-⑫		◎/◎	
B-1-①	50wt%竹粉末/ 2wt%MAPP/ PP	×/×	0 回
B-1-②		◎/×	
B-2-①		×/◎	
B-2-②		◎/◎	
B-1-⑪		×/×	10 回
B-1-⑫		◎/×	
B-2-⑪		×/◎	
B-2-⑫		◎/◎	

◎ ; 有, × ; 無

2.3 竹粉末の抗菌活性評価

竹自身にも抗菌性があることが報告されており^{3,4)}, 竹粉末複合化ポリプロピレンの抗菌活性評価に影響を与える可能性があるため, 竹粉末についても抗菌活性評価を行った。評価する竹粉末の試料として, 竹粉末そのもの(未処理品), 未処理品を既報¹⁻²⁾と同様の方法で混練, 熱プレスし採取したもの(熱処理品), 熱処理品 10.0 g に対し 1 wt%Etak 溶液 50 ml を加え約 3 分間手作業で振盪, 吸引ろ過後採取したもの(Etak 処理品), Etak 処理品に対し 100 ml の蒸留水を添加し洗浄し採取したもの(Etak 洗浄品)の 4 種類を調整した。その後, それぞれについて静置法及び振盪法の 2 方法で抗菌活性評価を行った。具体的には, ニュートリエントブロスで 37 °C, 24 時間培養後した黄色ブドウ球菌を集菌, 0.05 %Tween80/生理食塩水に懸濁したものを培養前の菌液

とし, 静置法ではその後, シャーレに各試料を約 0.2 g 添加, UV 滅菌後, 菌液を 0.2 ml 接種し 37 °C, 18 時間静置した。静置後, 0.2 %Tween80/生理食塩水 10 ml で洗浄し, 希釈系列を作製してニュートリエント寒天培地で生菌数を測定, 菌液培養前後の菌数の増減の有無を確認した。また, 振盪法では, 菌液 2 ml を分取した試験管に各試料を約 0.1 g 添加し 37 °C, 18 時間, 130 rpm で振盪培養した。その後, 希釈系列を作製してニュートリエント寒天培地で生菌数を測定, 菌液培養前後の菌数の増減の有無を確認した。また, 試料を添加していない生菌数をブランクとした。

3. 結果及び考察

3.1 竹粉末複合化ポリプロピレンの抗菌活性評価の結果

表 2 にプラスチック成形試料の抗菌活性評価の結果を示した。培養前後で菌数が増加しているもの, 減少しているものがあり抗菌活性を持つ試料があることが分かった。一方で, 同一の試料であっても差が生じている試料もあった。そこで, 表 3 に培養前後の菌数の増減について, 試料の種類ごとに整理した結果を示した。表 3 で U の表記は培養前後で菌数が増加したこと, D の表記は減少したことを表し, 以降も同様である。まず, 表 3 のうち PP について見る。PP では Etak 処理をしていない試料は, 洗浄回数によらず全ての試料で菌数が増加していた。それに対し, Etak 処理をした試料では菌数が増加した試料, 減少した試料が混在していた。その内訳を見ると, 洗浄回数が 0 回の試料では全て菌数が減少しており, 洗浄回数が 10 回の試料では全て菌数が増加していることが分かる。これらの結果は, 表面処理の有無に関わらず Etak 処理をした PP は抗菌活性を持つが, Etak が試料表面に固定化されていないため洗浄により除去されたことを示唆している。Etak を固定化させるには, 固定化させた基板の上に OH 基があることが必要とされるが^{5,6)}, PP が OH 基をほとんど有しておらず, 固定化できなかったものと考えられる。次に, 50wt%竹粉末/2wt%MAPP/PP の結果について見る。まず, Etak 処理した試料のうち表面処理していない試料を見ると, 洗浄回数 0 回では全ての試料で菌数が減少しているのに対し, 洗浄回数 10 回の試料では全ての試料で菌数が増加していた。この結果から, 少なくとも表面処理していない試料では Etak は固定化されておらず, PP の場合と同様, 洗浄すると洗い流されていることが示唆される。また, 表面処理と Etak 処理両方を実施した試料では, 洗浄回数に関わらず全ての試料で菌数が減少しており, Etak が固定化されている可能性が示唆される。これまでの取り組みで 50wt%竹粉末/2wt%MAPP/PP の成形表面は PP が主体の相であり, OH 基を表面に出すことを期待して導入した竹粉末が内部に埋没していることが分かっている。今回の結果は, 表面処理をしなければ表面に OH 基がほとんど存在せず Etak が固定化されなかったが, 表面処理をすることで埋没

している OH 基を保有した竹粉末含有相を露出させられたことで Etak を固定化させることができたのではないかと考えられる。しかしながら、洗浄回数や表面処理の有無に関わらず Etak 処理していない試料でも菌数減少が見られていた。これは、竹粉末由来の抗菌活性が存在していることを示唆している。反面、試料全てで菌数減少していないことから、竹粉末由来の抗菌活性は各成形試料の竹粉末の分配・分散状況に依っていると考えられる。実際、成形した試料は目視で十分分かる程度に表面の模様が様々である。ただ、前述のとおり 50wt%竹粉末/2wt%MAPP/PP の成形表面は PP 主体の相が存在しているため、部分的に露出した抗菌成分によるものとする、菌数が減少するよりも増加する割合の方が大きくなると考える方が自然に思われる。従って、n 数が 3 としても、全ての処理を実施した試料で洗浄後も菌数増加が見られないのは Etak の固定化の効果であることを示唆している。表 2 で示した菌数を見ても、10 回洗浄後の試料では菌数の減少の程度が全ての処理を実施した試料と他の試料と比較してもオーダーが 1 桁以上大きく抗菌活性が高く出ており Etak の固定化の効果을支持していると考えられる。

表 2 竹粉末複合化ポリプロピレンの抗菌活性評価結果

記号	培養前	生菌数[cfu/ml]		
		培養後		
		1	2	3
A-1-①	1.3×10 ⁵	2.0×10 ⁷	1.6×10 ⁷	1.5×10 ⁷
A-1-②		1.9×10 ⁷	2.5×10 ⁷	1.7×10 ⁷
A-2-①		4.5×10 ²	1.7×10 ²	1.0×10 ³
A-2-②		1.5×10 ¹	4.5×10 ¹	3.5×10 ²
A-1-⑪		1.1×10 ⁷	3.2×10 ⁷	1.1×10 ⁷
A-1-⑫		6.5×10 ⁷	7.5×10 ⁶	2.5×10 ⁷
A-2-⑪		2.6×10 ⁷	2.7×10 ⁷	2.1×10 ⁷
A-2-⑫		2.7×10 ⁷	2.0×10 ⁷	1.4×10 ⁷
B-1-①	6.2×10 ⁴	8.4×10 ⁷	2.5×10 ⁸	2.5×10 ⁸
B-1-②		1.2×10 ⁶	5.9×10 ²	1.6×10 ⁴
B-2-①		1.5×10 ¹	1.0×10 ⁰	2.0×10 ⁰
B-2-②		1.0×10 ⁰	2.0×10 ⁰	3.0×10 ⁰
B-1-⑪		4.5×10 ²	2.6×10 ⁷	6.0×10 ²
B-1-⑫		1.2×10 ⁵	1.5×10 ⁶	2.7×10 ⁴
B-2-⑪		2.8×10 ⁷	5.7×10 ⁶	1.3×10 ⁷
B-2-⑫		5.7×10 ²	4.5×10 ¹	3.5×10 ¹

表 3 各試料種類における培養前後の菌数増減

種類	処理の有無	培養前後の菌数増減					
		洗浄回数					
		0 回			10 回		
		1	2	3	1	2	3
PP	表面処理 × Etak 処理 ×	U	U	U	U	U	U
	表面処理 ◎ Etak 処理 ×	U	U	U	U	U	U
	表面処理 × Etak 処理 ◎	D	D	D	U	U	U
	表面処理 ◎ Etak 処理 ◎	D	D	D	U	U	U
50wt%竹粉末/ 2wt%MAPP/ PP	表面処理 × Etak 処理 ×	U	U	U	D	U	D
	表面処理 ◎ Etak 処理 ×	U	D	D	U	U	D
	表面処理 × Etak 処理 ◎	D	D	D	U	U	U
	表面処理 ◎ Etak 処理 ◎	D	D	D	D	D	D

U；増，D；減

3.2 竹粉末の抗菌活性評価

竹粉末の抗菌活性評価の結果を表 4 に示した。静置法について見ると、ブランク及び未処理品では培養前後で菌数が増加しているのに対し、熱処理品、Etak 処理品及び Etak 洗浄品では菌数が減少していた。また、振盪法においてはブランクでは菌数が増加していたが、熱処理品、Etak 処理品、Etak 洗浄品で菌数が減少していた。Etak 処理していない試料でも菌数減少が見られたことから、既報³⁴⁾や竹粉末複合化ポリプロピレンの抗菌活性評価で考えられたように今回使用した竹粉末にも抗菌活性があることが分かった。一方で、未処理品については静置法で菌数増加したものの振盪法で菌数減少していた。これは、振盪することにより黄色ブドウ球菌と竹粉末の接触率が向上した若しくは、竹粉末の抗菌成分が菌液中に抽出されたことが考えられる。また、未処理品よりも熱処理品の方が菌数の減少幅が大きく抗菌活性が高くなっており、熱処理することにより竹粉末の抗菌成分が竹粉末表面に移行したことが考えられる。竹粉末複合化ポリプロピレンの結果を合わせると、表面処理及び Etak 処理をした 50wt%竹粉末/2wt%MAPP/PP では、竹粉末由来の抗菌活性と Etak 由来の抗菌活性の 2 つの効果が発揮されている可能性があり、竹粉末と Etak 処理は抗菌化に有効な組み合わせと言えることが分かった。

表 4 竹粉末の抗菌活性評価結果

方法	種類	生菌数[cfu/ml]		培養前後の 菌数増減
		培養前	培養後	
静置法	ブランク	2.6×10^4	4.5×10^6	U
	未処理品		6.5×10^6	U
	熱処理品		3.0×10^2	D
	Etak 処理品		1.2×10^2	D
	Etak 洗浄品		1.0×10^2	D
震盪法	ブランク	1.5×10^5	3.5×10^7	U
	未処理品		5.0×10^3	D
	熱処理品		9.5×10^1	D
	Etak 処理品		8.5×10^1	D
	Etak 洗浄品		1.0×10^2	D

4. 結言

今回、竹粉末複合化ポリプロピレン及び竹粉末の抗菌活性評価を実施した。その結果、洗浄を実施していない試料では Etak 処理した PP 及び 50wt%竹粉末/2wt%MAPP/PP では抗菌活性があることが分かった。また、PP では表面処理の有無に関わらず洗浄を 10 回行くと抗菌活性が失われる結果となり、Etak が固定化されていないことが示唆された。一方、50wt%竹粉末/2wt%MAPP/PP では表面処理及び Etak 処理した試料のみ洗浄回数に関わらず全ての試料で抗菌活性が認められた。また、それ以外の試料では抗菌活性があるもの、無いものが混在する結果となっており、竹粉末由来の抗菌活性があることが示唆された。50wt%竹粉末/2wt%MAPP/PP 菌数減少の幅は全ての処理を実施したものが最も大きく、Etak の固定化の効果が出ていると考えられた。加えて、竹粉末の抗菌活性評価の結果から、今回使用した竹粉末自身にも抗菌活性があることが分かった。これらの結果から、表面処理及び Etak 処理をした 50wt%竹粉末/2wt%MAPP/PP では、竹粉末由来の抗菌活性と Etak 由来の抗菌活性の 2 つの効果が発揮されている可能性があり、竹粉末と Etak 処理は抗菌化に有効な組み合わせであると言えることが分かった。

謝辞

本研究の実施にあたり多大なご協力いただきました公益財団法人関西文化学術研究都市推進機構 本田様、倉敷紡績株式会社 勝圓様に深く感謝申し上げます。また、本研究の一部は、帝塚山大学特別研究費の助成を受け執り行われました。深く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 琴原優輝, 植村哲, 本田道春, 竹粉末複合化ポリプロピレンの抗菌化に関する研究, 奈良県産業振興総合センター研究報告, No.46, 24-27 (2020)
- 2) 琴原優輝, 山下浩一, 竹粉末複合化ポリプロピレンの抗菌化に関する研究(第 2 報), 奈良県産業振興総合センター研究報告, No.47, 31-35 (2021)
- 3) 眞鍋郁代, 谷本昌太, 橋田充, 大井辰夫, 微細竹粉から開発した竹紙の抗菌・消臭性能および竹紙系の力学的性質について, 愛媛大学教育学部紀要, No.58, 171-177 (2011)
- 4) 寺岡文雄, 高橋純造, 竹エキスの抗菌性と歯科への応用に関する研究, 歯科材料・器械, No.14, o.2, 219-224 (1995)
- 5) 藤原永年, 「第 4 級アンモニウム塩の抗菌活性」, 第 76 回 けいはんなサイエンスカフェ資料, 2018
- 6) 大原弘平, 大石貴之, 疋田由美子, 葛谷英見, 二川浩樹, 特許第 5864594 号「抗菌性を有する剤が固定化された物品及びその製造方法」