

無機系抗菌剤の法科学的有用性について

小暮 誠一¹⁾, 久門 勝利, 高橋 治男

Forensic Assessment of Inorganic Antimicrobial Agents

Seiichi KOGURE¹⁾, Katsutoshi KUMON, Haruo TAKAHASHI

Summary

A lot of commodities indicated addition of inorganic antimicrobial agents have been found in a market for these years. The agent is added to give them highly antimicrobial activity for sanitation. The agent may be still remained in the product for long time because it is excellent in persistence including heat-resisting property against hard environmental conditions. Therefore, we analyzed popular seven kinds of inorganic antimicrobial agents and marketed products that contained silver (Ag), and identified the agent used in the product. Zinc (Zn) or Zirconium (Zr) was also detected in Ag-inorganic agents besides Ag. These elements were also found in other kinds of inorganic agents. These results suggested that non-destruction screening by X-ray fluorescence analysis (XRF) is applicable to the detection of the elements. Even though the addition of the inorganic agents to the products is less, they could be easily recovered from the products. From the results, recovered inorganic agents may be identified on basis of morphology and main ingredients by using scanning electron microscope (SEM), electron probe microanalyzer (EPMA) and X-ray diffractometer.

We could estimate antibacterial or antifungal activity of the agents and some products when *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger* and *Cladosporium cladosporioides* were used as test strains.

As a result, analysis of the agent is very useful to distinguish and specify the product for forensic science.

I. はじめに

近年、「無機系抗菌剤含有または使用」と表記された製品が市場に多数見られる¹⁾。

抗菌剤は、アルコール系、フェノール系といった20系統に及ぶ有機系の抗菌剤と無機系の抗菌剤に大別される。無機系抗菌剤は、有機系抗菌剤に比べて即効性は低いものの、広範な抗菌スペクトルを有し、安定性、持続性といった面に優れ、安全性の高い抗菌性を製品に付与する。

「抗菌」に学術的な定義はなく、広義には殺菌、滅菌、消毒などすべてを意味し、また狭義には人間の生活環境に生息する菌の制菌あるいは殺菌であり、数年レベルの長期わたり微生物学的衛生さを保つことと専門書には記されている²⁾⁻⁴⁾。

無機系抗菌剤は、抗菌金属を種々の担体に担持させたもので、それぞれの担体によってゼオライト系（以下抗菌剤Aとする）、

リン酸ジルコニウム系（抗菌剤B）、シリカゲル系（抗菌剤C）、リン酸カルシウム系（抗菌剤D、E）、ウイスカ系（抗菌剤F）、ケイ酸塩系（抗菌剤G）などに大別される¹⁾。銀を主剤とする場合が多く、銀系抗菌剤とも言われる。

現在、繊維、家電、建材、住宅設備、キッチン・バス・トイレ用品、文具製品といった様々な分野で無機系抗菌剤は使用されている⁵⁾⁻¹⁰⁾。この状況は数年前の「抗菌ブーム」によるところが大きい。

今後、犯罪現場にこれらの製品が遺留され、鑑定資料となる可能性が大いに考えられる事から今回、これら無機系抗菌剤の法科学的な有用性について検討を行ったので報告する。

II. 実験方法

1. 実験試料

1) 7種類の銀系無機抗菌剤（表1）

表1 銀系無機抗菌剤¹¹⁾²⁾⁻¹⁷⁾

抗菌剤	系	担体	抗菌金属	製品添加量(wt%)	耐熱性(°C)
A	ゼオライト	ゼオライト	Ag, Zn	1.0 ≤	800
B	リン酸ジルコニウム	リン酸ジルコニウム	Ag	1.0 ≤	1000
C	シリカゲル	シリカゲル	[Ag ₂ (S ₂ O ₈) ₂]	0.1~3.0 ≤	500
D	リン酸カルシウム	ヒドロキシアパタイト	Ag	0.5~1.0 ≤	1200
E	リン酸カルシウム	リン酸カルシウム複塩	Ag	0.5~1.0 ≤	1000
F	ウイスカ	酸化亜鉛ウイスカ	Ag	0.5~0.8 ≤	600
G	珪酸塩	メタ珪酸アルミン酸マグネシウム	Ag, Zn	1.0 ≤	1000

千葉県衛生研究所

1) 千葉県警察本部刑事部科学捜査研究所

(2001年12月26日受理)

- 2) 食品用包装材、スポンジ、ビニール製手袋など市販の抗菌製品38品

2. 機器分析

1) 蛍光X線分析 (XRF)

装置：理学蛍光X線分析装置 RIX3000

管球：ロジウム (Rh)、ただし銀 (Ag) についてはジルコニウム (Zr) フィルターを使用した

管電圧：50kV、管電流：50mA

分光結晶：フッ化リチウム (LiF)

2) 電子顕微鏡像 (SEM) 及び粒子の元素分析 (EPMA)

装置：PHILIPS 走査電子顕微鏡 XL30CP (エネルギー分散型X線分析装置EDAX Phoenix 装着)

加速電圧：25kV、表面処理：炭素蒸着

3) X線回折測定 (XRD)

装置：理学X線回折装置 RINT2500VHF

管球：Cu、管電圧：40kV、管電流：40mA

カウンタ：湾曲型PSPC

コリメータ：100 μ m ϕ 、計数時間：1000秒

3. 抗菌・防黴試験

1) 抗菌試験

抗菌試験はシェイクフラスコ法¹⁹⁾に沿って実施した。試験菌は、10⁷CFU/ml相当に調整した*Escherichia coli* (大腸菌) IFO 3301と*Staphylococcus aureus* (黄色ブドウ球菌) IFO 12732とした (図1)。

また、菌液は次の様に作製した。

普通寒天培地に保存した菌株をブレイン・ハート・インフュージョン斜面培地で培養後、*E.coli*は普通ブイヨンで、*S.aureus*はソイビーン・カゼイン・ダイジェストで、増菌培養したものを菌液とした。

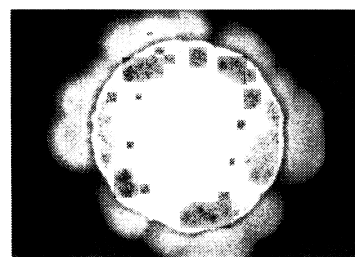
2) 防黴試験

防黴試験はかび抵抗性試験JIS Z 2911の方法²⁰⁾を参考に実施した (図2、写真1)。試験菌は、*Aspergillus niger* (黒麹カビ) IFO 6341と*Cladosporium cladosporioides* (クロカビ) IFO 6348を使用し、均一胞子液は以下の様に作製した。

ポテトデキストロース寒天培地 (PDA) に保存した菌



A.niger



C.cladosporioides

写真1 抗菌剤A灰化物0.1mg/ディスク

株を同様の培地にて継代培養し、その1白金耳を0.05% Tween80加生食液²¹⁾に懸濁した。これをガラスウールで濾過して得られた溶液を均一胞子液とした。

図1 抗菌試験



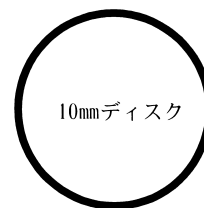
70ml リン酸緩衝液(pH7.0~7.2)
+
5ml *E.coli* あるいは *S.aureus* 菌液
+
抗菌剤あるいは抗菌製品

振とう条件：30 \pm 1 $^{\circ}$ C、320~340rpm、1時間、照光下
菌数測定：混積平板培養法、35 \pm 1 $^{\circ}$ C、18 \pm 2時間保温

E.coli 培養基：普通寒天培地

S.aureus 培養基：ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト寒天培地

図2 防黴試験



防カビ剤

+

A.niger あるいは *C.cladosporioides* 均一胞子液

培養条件：25 \pm 1 $^{\circ}$ C、120 \pm 2時間保温、照光下

PDA上

III. 結果及び考察

1. 抗菌剤のスクリーニング

1) 抗菌剤の蛍光X線分析

繊維製品等に対しては、すでに報告の見られる蛍光X線

分析を抗菌剤について実施した。その結果を表2に示した。

表2には、各抗菌剤0.5mgから得られた各元素のピーク高とそのピーク強度とバックグラウンド強度より算出した検出限界を示した²²⁾。

表2 銀系無機抗菌剤の蛍光X線分析

抗菌剤	Ag(cps)	limit(mg)	Zn(kcps)	limit(mg)	Zr(kcps)	limit(mg)
A	24.702	0.170	9.445	0.009	-	-
B	41.988	0.101	-	-	21.182	0.01
C	15.240	0.280	-	-	-	-
D	46.284	0.094	2.767	0.030	-	-
E	31.566	0.135	17.566	0.005	-	-
F	15.641	0.290	6.245	0.013	-	-
G	15.474	0.259	3.273	0.024	-	-

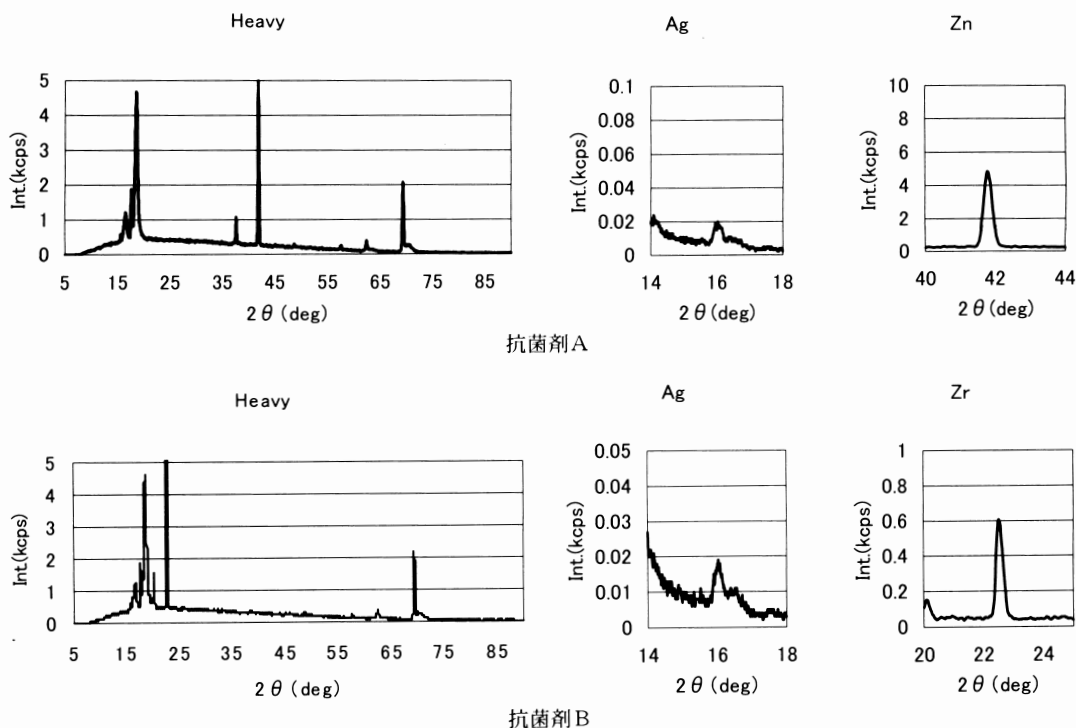


図3 銀系無機抗菌剤のスペクトルパターン

抗菌剤からは、微量ながら、いずれについても抗菌主剤であるAgの検出が可能であった。また、Agと共に抗菌剤A、D、E、F、Gからは、副剤と考えられる亜鉛 (Zn) が検出された。

特異な成分として、抗菌剤Bからは担体に起因するZrの顕著なピークが検出された。

抗菌剤A、Bのスペクトルパターンを図3に示した。

Agを指標とした蛍光X線分析により7種類の抗菌剤は、その検出限界からD、B>E>A>C、F、Gの傾向で検出感度が高く、Znを指標とした場合、5種類の抗菌剤A、D、E、F、Gは、その検出限界からA、E>F>D、Gの傾向の検出感度を示した。

また、抗菌剤Bは担体組成であるZrを指標とする事で検出感度が10倍に上昇した。

前記7種類の抗菌剤のスクリーニングは、添加量が約1wt%の場合、抗菌剤Aは約1mg、抗菌剤Cでも約30mgの製品で可能である事が示唆された。

2) 抗菌製品の蛍光X線分析

同様の条件で表3に示した市販の抗菌製品36品について

Ag、Zn、Zrを指標とした蛍光X線分析を実施した。図4に製品I-Aから得られるスペクトルパターンを示した。その結果を図5、6のグラフに示した。

表3 抗菌製品

No.	製品	枝番号
1	抗菌ラップ	A, B, C, D
2	スポンジ	A, B, C, D
3	果物用保護ネット	
4	ビニール手袋	
5	ハブラシカバー	A, B, C
6	カミソリ(刃押さえ樹脂部)	
7	カミソリ(刃カバー部)	A, B
8	文房具	
9	芳香剤(容器)	A, B, C
10	ウエットティッシュ	A, B
11	ビニール袋(食品用)	A, B
12	ゴミ袋	A, B
13	シート	A, B, C
14	ふきん	A, B
15	バラシ	A, B
16	弁当箱	
17	空気清浄機用フィルター	
18	活性炭	

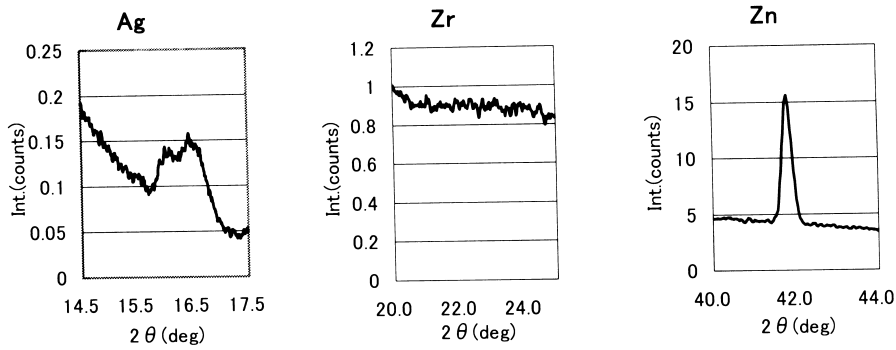


図4 抗菌製品のスペクトルパターン

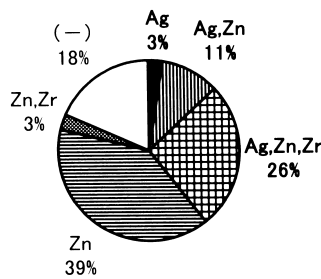


図5 抗菌製品の蛍光X線分析

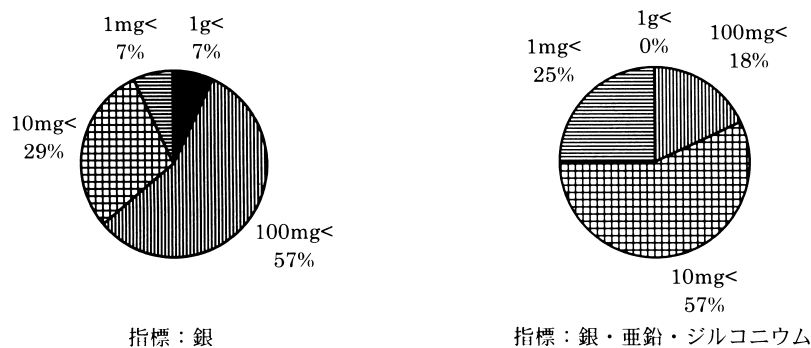


図6 抗菌製品の検出限界

測定に使用した製品、18種36製品の内、前記の条件でAgの検出が可能であった製品は15製品、Znの検出が可能であった製品は30製品であり、それぞれ全体の40%、82%に相当した。

また、抗菌金属の検出が可能であった製品、31製品に関して、Agを指標とした場合には検出限界が100mg<の製品が全体の61%を占めたが、指標にZn、Zrを加える事で18%に減少した。

2. 抗菌剤の観察

図7に抗菌剤A、Bの電子顕微鏡像と元素分析結果を示した。

抗菌剤Aは、アルミニウム (Al)、ケイ素 (Si)、ナトリウム (Na)、Zn、Agを含む約2 μ mの直方体粒子であり、抗菌剤Bは、Zr、リン (P)、Agを含む約1 μ mの直方体粒子として観察された。

図8には、抗菌製品表面の電子顕微鏡像とその分析結果を示した。

抗菌製品I-A表面に観察された約2 μ mの粒子部分からは、Al、Si、Znが検出され、形状及び成分は抗菌剤Aと類似であった。

また、抗菌製品I-C表面に観察された約1 μ mの粒子部分からは、塩素 (Cl)、P、Zrが検出され、Clが製品の主材質、

ポリ塩化ビニルに起因するバックグラウンドと考えた場合、形状及び成分は抗菌剤Bと類似していた。

この様に抗菌剤粒子は、製品中でも電子顕微鏡により観察が可能と考えられた。

しかし、抗菌剤の固定化には、成形時に練り込む方法、金型にスプレーしてこれに樹脂を流し込む方法、成形後に圧着

して埋め込む方法、抗菌フィルムでラミネートする方法など様々³¹⁾である事に加えて、製品の成形方法も多種多様であり、必ずしも製品表面に抗菌剤粒子が存在するとは限らない。

そのため、図8に示した表面観察による同定が容易な製品は、ごく限られたものと考えられた。

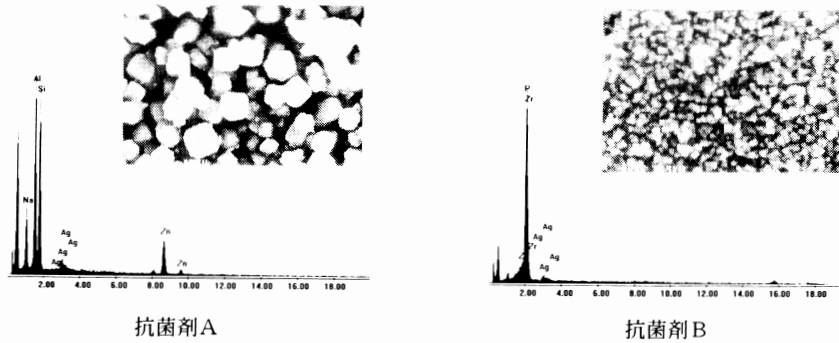


図7 抗菌剤の電子顕微鏡像と特性X線スペクトル

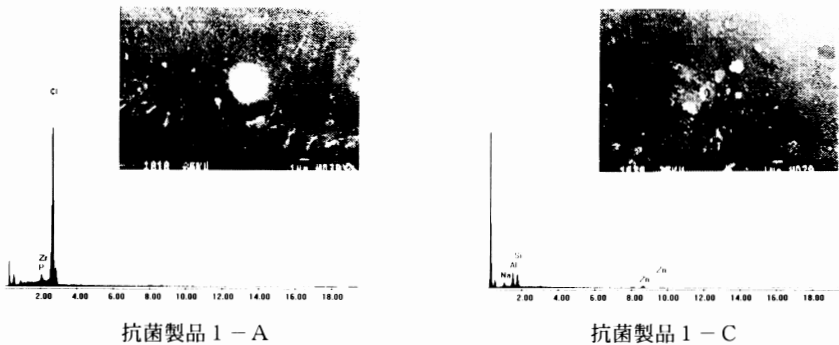


図8 抗菌製品表面の電子顕微鏡像と特性X線スペクトル

3. 抗菌剤の回収

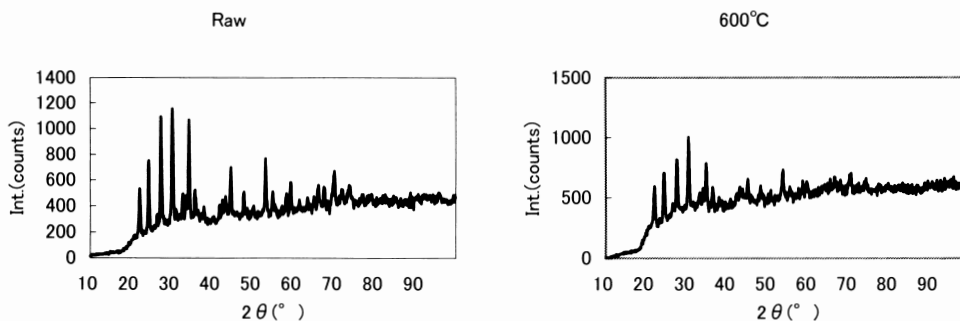
抗菌剤は製品の成形方法によって、製品中のどの部分に存在するかが決定される。しかし、製品を観察しただけではその存在部位を特定するのは困難である。

抗菌剤の耐熱性は、表1に示した様に極めて高い。図9に抗菌剤A、Bの原体とその600℃回収物のX線回折図を示した。いずれの抗菌剤の回折パターンにも変化はみられなかった。同様に抗菌剤D、Fの回折パターンにも変化はなく、600℃回収物からの同定が可能と考えられた。

なお、加熱温度は抗菌剤Aの耐熱性を考慮して決定した。図10は、抗菌製品1-A、1-Cの600℃灰化物から共雑物を取り除いて得られた残渣である。

製品1-Aの灰化物からは、水溶性成分を取り除いた残渣を回収し、製品1-Cの灰化物からは、水溶性成分と硝酸可溶成分を取り除いた残渣を回収した。

SEM像、元素分析結果、X線回折図から、製品1-Aは抗菌剤Aに類似の成分を含有し、製品1-Cは抗菌剤Bに類似の成分を含有するという結果を得た。



抗菌剤A

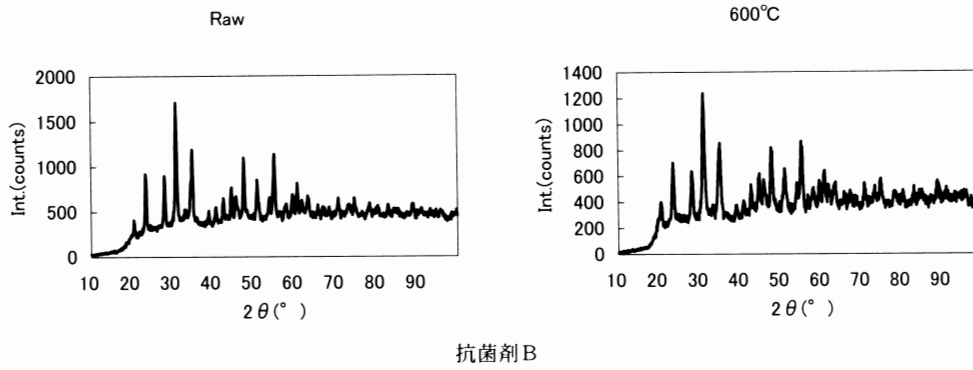
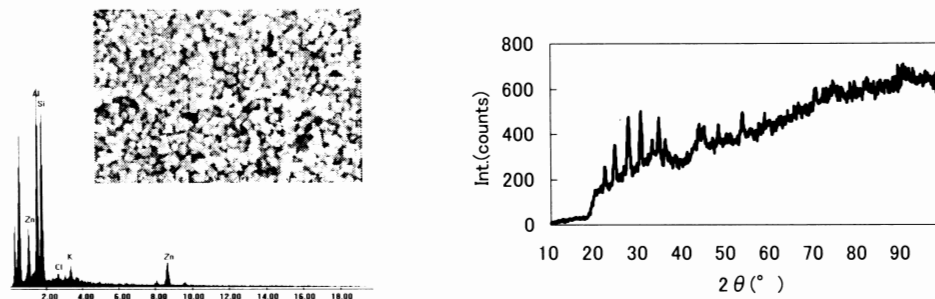
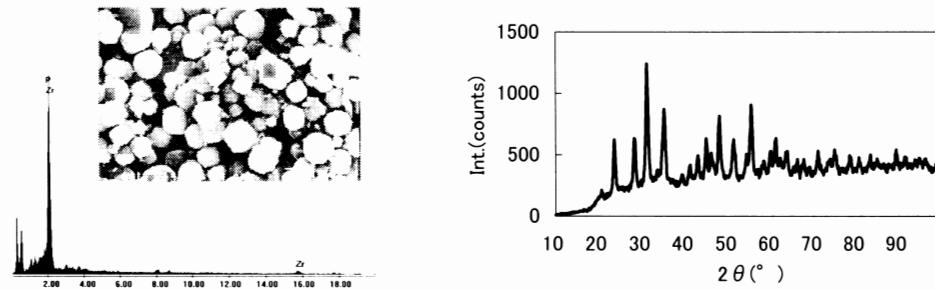


図9 抗菌剤のX線回折パターン



製品1-Aの残渣



製品1-Cの残渣

図10 抗菌製品の灰化残渣

4. 抗菌試験・防黴試験

表1に示した無機系抗菌剤はいずれもAgを抗菌主剤としている。Agの抗菌能、防黴能は周知の事実²⁾であるので、抗菌能、防黴能についての検討も行った。

1) 抗菌剤の抗菌能

抗菌剤A, B, D, E, Gの600°C回収物の測定結果を表4に示した。抗菌剤C, Fについては、メーカーの耐熱保証温度が600°C以下なので、測定対象から除外した。

各添加量は、10, 1, 0.1mgとし、無添加の場合を対照とした。いずれの抗菌剤も*E.coli*の発育を0.1mgで完全に抑制した。また、*S.aureus*の発育を抗菌剤A, B, Eの場合は0.1mgで、抗菌剤Dの場合は10mgで、抗菌剤Gの場合は1mgで抑制した。

2) 抗菌剤の防黴能

抗菌剤A, B, D, E, Gの600°C回収物の測定結果を表5に示した。各添加量は、1, 0.1, 0.01mgとし、無添加の物を対照とした。*A.niger*はディスク周囲に明瞭な黒色コロニーが発育し、*C.cladosporioides*はディスク周囲にわずかに緑色コロニーが発育した。

JIS Z 2911では、評価を3段階としているが、防黴能の有無という観点からディスク面積の50%を基準に判断したところ、いずれの抗菌剤も*A.niger*の発育を0.1mgで抑制し、*C.cladosporioides*の発育を抗菌剤A, B, E, Gは0.1mgで、抗菌剤Dは1mgで抑制した。

表4 銀系無機抗菌剤灰化物の抗菌能

No.	抗菌剤 担体	<i>E.coli</i> (CFU/ml)			<i>S.aureus</i> (CFU/ml)		
		mg/フラスコ			mg/フラスコ		
		10	1	0.1	10	1	0.1
-	コントロール(無添加)	300<	-	-	300<	-	-
A	ゼオライト	0	0	0	0	0	30>
B	リン酸ジルコニウム	0	0	0	0	0	45
D	ヒドロキシアパタイト	0	0	0	120	300<	-
E	リン酸カルシウム	0	0	0	0	0	0
G	珪酸塩	0	0	0	0	0	300<
-	A型ゼオライト(非抗菌)	300<	-	-	300<	-	-

表5 銀系無機抗菌剤灰化物の防黴能

No.	抗菌剤 担体	<i>A.niger</i>			<i>C.cladosporioides</i>		
		mg/ディスク	発育抑制(%)		mg/ディスク	発育抑制(%)	
		1	0.1	0.01	1	0.1	0.01
-	コントロール(無添加)	0(1)	-	-	0(1)	-	-
A	ゼオライト	80(2)	70(2)	20(1)	100(3)	100(3)	30(1)
B	リン酸ジルコニウム	100(3)	80(2)	30(1)	100(3)	100(3)	40(1)
D	ヒドロキシアパタイト	100(3)	50(1)	20(1)	70(2)	30(1)	0(1)
E	リン酸カルシウム	100(3)	50(1)	30(1)	100(3)	100(3)	40(1)
G	珪酸塩	100(3)	50(1)	0(1)	100(3)	50(1)	0(1)
-	A型ゼオライト(非抗菌)	0(1)	-	-	0(1)	-	-

(): カビ抵抗性評価、JIS Z 2911参考

3) 抗菌製品の抗菌・防黴能

抗菌製品6品の600℃灰化物(粗抗菌剤画分)の測定結果を表6に示した。

抗菌試験では1mg、防黴試験では0.1mgの粗抗菌剤画分を使用した。

製品1-Aでは、*E.coli*、*S.aureus*に対する効果は確認できなかったが、*A.niger*、*C.cladosporioides*に対する効果が確認された。

製品1-Bでは、*S.aureus*に対する効果は確認できなかったが、*E.coli*、*A.niger*、*C.cladosporioides*に対する効果が確

認された。

また、製品1-C、2-Aでは、*E.coli*、*S.aureus*、*A.niger*、*C.cladosporioides*すべてに対する効果が確認された。

しかし、製品2-B、7-Aでは、*E.coli*に対する効果は確認されたが、*S.aureus*、*A.niger*、*C.cladosporioides*に対する効果は確認できなかった。

いずれの製品の灰化物からも標準品には及ばないが、

若干の抗菌能あるいは防黴能が確認された。製品から抗菌剤をより効率よく回収できれば更に標準品に近い結果が得られると考えられた。

表6 抗菌製品灰化物の抗菌能と防黴能

製品 No.	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>A.niger</i>	<i>C.cladosporioides</i>
	CFU/ml		発育抑制(%)	
1-A	300<	300<	50(1)	100(3)
1-B	180	300<	50(1)	70(2)
1-C	30>	30>	50(1)	70(2)
2-A	0	0	50(1)	100(3)
2-B	30>	300<	0(1)	0(1)
7-A	30>	300<	0(1)	0(1)

(): カビ抵抗性評価、JIS Z 2911参考

IV. 結 論

抗菌金属である銀、亜鉛及び担体であるジルコニウムを指標とした試料の蛍光X線分析によって、無機系抗菌剤添加の有無を判別する事が可能である。

無機系抗菌剤は担体特性として耐熱性などに優れているので、残存性が高く、製品からの回収が比較的容易な添加剤と考えられた。

抗菌主剤である銀の含有量は、数wt%であるが、その抗菌性は担体同様、比較的安定であり、抗菌剤の有無や試料間の異同識別の指標として抗菌能、防黴能の測定は有効な手段と考えられた。

様々な製品に抗菌剤が使用される現在、本研究から犯罪現場などに遺留される微細な工業製品の鑑定に際し、無機系抗菌剤が有効な指標の一つである事が示唆された。

V. 謝 辞

本研究にあたり、ご指導を賜りました東京都衛生研究所理化学部微量分析研究科山野辺秀夫氏、江波戸擧秀氏、中村義昭氏、観照雄氏、千葉県衛生研究所細菌研究室小岩井健司氏並びに両研究室の皆様深く感謝いたします。

VI. 参考文献

- 1) 高麗寛紀 (1996) : 無機系抗菌剤実用講座 無機系抗菌剤開発の現状, 防菌防黴, 24, 509-515
- 2) 抗菌のすべて (1997), 繊維社
- 3) 西野敦, 富岡敏一, 富田勝己, 小林晋(1996) : 抗菌剤の化学, 工業調査会
- 4) 高麗寛紀 (1996) : 抗菌剤の特性と作用メカニズム, セラミックス, 31, 576-583
- 5) 機能化技術と複合素材9 抗菌紙・抗菌剤, 紙パルプ技術タイムス (1996), 39, 16-20
- 6) 岩田泰夫 (1996) : 無機系抗菌剤の最近の動向, ゼオライト, 13, 56-63
- 7) 山本達雄, 内田真志, 栗原靖夫 (1994) : 抗菌性包装材の現状, ジャパンフードサイエンス, 33, 69-77
- 8) 檜山圭一郎 (1998) : プラスチック副資材の理論と実際(1) 抗菌剤, 防黴剤, 成形加工, 10, 954-959
- 9) 今井茂雄 (1997) : 建築材料の微生物発生防止, Re, 105, 72-78
- 10) 梶浦義浩 (1997) : 抗菌剤のプラスチック成形品への適用について, 自動車技術, 51, 35-40
- 11) 澤井淳, 小島博光, 清水賢 (1997) : 無機系抗菌剤, 無機マテリアル, 4, 156-162
- 12) 内田真志 (1996) : 無機系抗菌剤実用講座6 無機系抗菌剤各論2 (1) ゼオライト系, 防菌防黴, 24, 735-742
- 13) 加藤秀樹 (1996) : 無機系抗菌剤実用講座1 無機系抗菌剤各論1 (1) 燐酸ジルコニウム系, 防菌防黴, 24, 625-630
- 14) 可児良弘 (1996) : 無機系抗菌剤実用講座5 無機系抗菌剤各

論1 (2) リン酸カルシウム系, 防菌防黴, 24, 675-682

- 15) 中谷一彦 (1996) : 無機系抗菌剤実用講座7 無機系抗菌剤各論2 (3) シリカゲル系, 防菌防黴, 24, 807-812
- 16) 富田勝己 (1997) : 無機系抗菌剤実用講座10 無機系抗菌剤各論3 (2) 銀/錯塩, 防菌防黴, 25, 47-52
- 17) 田中敦 (1996) : 無機系抗菌剤実用講座8 無機系抗菌剤各論2 (4) 硅酸アルミン酸マグネシウム系, 防菌防黴, 24, 813-819
- 18) 檜山圭一郎 (1997) : 多様化する無機系抗菌剤と高度利用技術, 大谷朝男編, アイピーシー, 69 - 105
- 19) 檜山圭一郎 (1998) : 抗菌加工品の効力評価の考え方, 防菌防黴, 26, 587-591
- 20) 高鳥浩介 (1991) : 図説かび検査・操作マニュアル, テクノシステム
- 21) 尾松真之, 虫本修二, 村田充弘 (1988) : 点滴濾紙蛍光X線分析法の粉末試料への適用, X線分析の進歩, 19, 201 - 208