

(技術レポート)

キトサンシートの抗菌特性

Antibacterial Activity of the Chitosan Sheet

有福 一郎・高田 光*

Ichiro Arifuku, Hikaru Takada

キトサンを主原料に開発されたキトサンシートは、厚み、吸水速度、吸水倍率、ポアサイズ、湿潤強度においてコラーゲンシートと同等の物性を示した。本研究では、表皮感染症やニキビの起因菌などとして肌に悪影響を及ぼす黄色ブドウ球菌やアクネ菌などに対するキトサンシートの抗菌特性を検証した。その結果、キトサンシートにはコントロールと比較して 1/100 以下に菌数を減少させるなどの高い抗菌性が認められた。

The chitosan sheet which we developed showed an equal characteristic with collagen sheet in thickness, water absorption speed, water absorption rate, pore size, wet strength. And we evaluated antibacterial activity for *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* and *Propionibacterium acnes*, *Propionibacterium propionicum*. As a result, the chitosan sheet showed high antibacterial activity that decreased the number of the bacteria to less than 1/100 compared with the control.

1. はじめに

カニ殻を化学処理して得られるキトサンは、食品や工業製品、医療品、化粧品などの分野で利用されるようになってきたが、実際にはその需要の大半は食品分野での利用である。

そこで、キトサンの新たな市場開拓のため、美容用途での利用を目的にキトサンを主原料にしたシート状素材を開発し、このキトサンシートの抗菌特性を評価した¹⁾。

させたキトサン溶液を袋に入れたものを板に挟んで薄膜状に凍結する。これを袋から取り出して凍結乾燥し、さらに温風乾燥によってキトサンを不溶化させて得られる厚さ 1.5 mm のスポンジ状のシートである (図1)。

2. 実験方法

2.1 供試試料

2.1.1 キトサンシート

キトサンシートは、甲陽ケミカル株式会社製を使用した。

以下にキトサンシートの製造方法を示す。

キトサンシートは、キトサンを酢酸水溶液に溶解

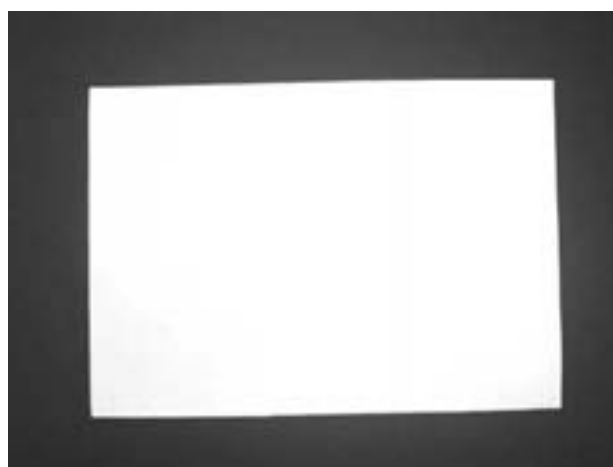


図1 キトサンシートの外観

*甲陽ケミカル株式会社

2.1.2 キトサンシートの特徴

キトサンシートには、表1に示したような特色がある。

キトサンシートは、表面が非常に滑らかで、肌触りもよく、迅速な吸水速度と高い吸水量を示す。

吸水後はシルク様の滑らかな柔軟性を有し、水分保持能力が高く、長時間水分を保持できる。

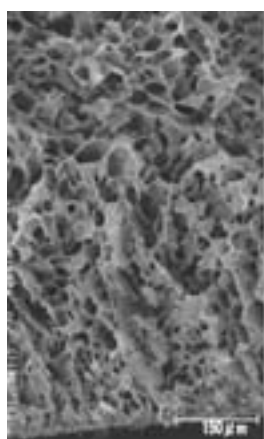
既存のコラーゲンシートと比較しても同等の物性を示し、平均ポアサイズは35 μm の安定した多孔構造を持っている(図2、図3)。

キトサンシートの場合、酸性水溶液中で安定な物質であれば、シート製造時に機能性成分を配合することも可能である。

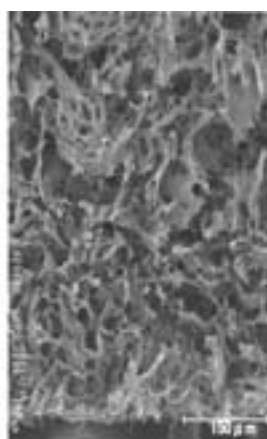
表1 キトサンシートの特性

	キトサンシート	コラーゲンシート
厚み(mm)	1.5	1.2
吸水速度*	1秒以下	1秒以下
吸水倍率(倍)	45	38
平均ポアサイズ(μm)	35	73
湿潤強度(N/cm ²)	2.1	1.8

*シート上面に0.1mlの水 droplet を落とし、完全吸水までに要する時間



キトサンシート



コラーゲンシート

図2 キトサンシートの特性(電子顕微鏡写真)

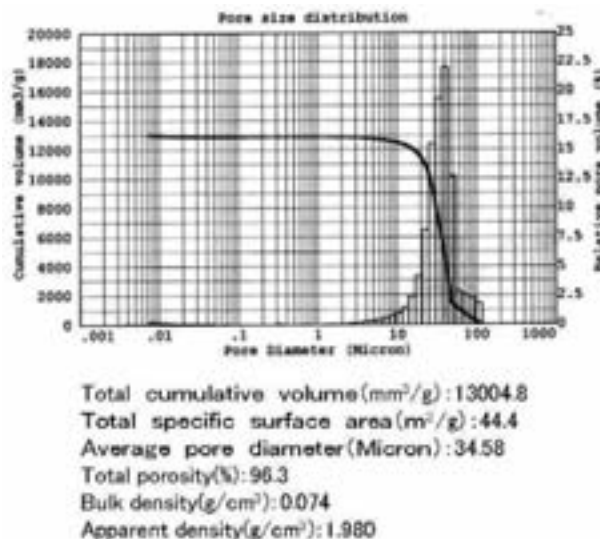


図3 ポロシメーターによるポアの分布測定

2.2 抗菌試験

2.2.1 使用した菌株

キトサンシートは、美容用途を目的に開発されたことから、肌に悪影響を及ぼすといわれる3種類の細菌を用いて抗菌性を評価した。

通性嫌気性グラム陽性球菌

Staphylococcus aureus subsp. *aureus* (NBRC14462)

黄色ブドウ球菌：表皮感染症、食中毒の起因菌。

嫌気性グラム陽性桿菌

Propionibacterium acnes (JCM6425)

アクネ菌：ニキビの起因菌。

Propionibacterium propionicum (JCM5830)

皮口腔内の常在菌で、放線菌症、涙管炎の起因菌。

2.2.2 培養条件

S. aureus は、表2に示した培地で培養した。

表2 *S. aureus* の液体培地組成

Polypepton	10 g
Yeast extract	2 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1 g
Distilled water	1 L
pH 7.0	

前培養は、凍結保存しておいた菌株を液体培地に接種し、37℃において約17時間振とう培養した。

P. acnes 及び *P. propionicum* は、表 3 に示した半流動培地で培養した。

表 3 *P. acnes* 及び *P. propionicum* の半流動培地組成

GAM broth	59 g
Agar	2 g
Distilled water	1 L

前培養は、凍結保存しておいた菌株を半流動培地に接種し、37℃において約 24 時間静置培養した。

2.2.3 評価用シートの調製

抗菌試験には、キトサンシート他に、コラーゲンシート、局方ガーゼを用いた。

シートは予め、キトサンシートおよびコラーゲンシート、ガーゼとも 1 cm 角にカットし、エチレンオキシドガスにより滅菌したものを用いた。

抗菌試験の際には、キトサンシートは 2 枚、コラーゲンシートは 3 枚、ガーゼは 8 枚重ねにしたものをシート内部にエチレンオキシドガスが残留しないよう十分エアレーションしてから用いた。

2.2.4 生菌数の測定

S. aureus の場合、試験管に入れたシート上に前培養した菌液 0.1 ml 及び増殖培地 0.4 ml を添加し、37℃で 24 時間静置培養した。

前培養した菌液は、表 4 に示した平板寒天培地によって初発菌数を測定した。

表 4 *S. aureus* の平板寒天培地組成

Polypepton	10 g
Yeast extract	2 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1 g
Distilled water	1 L
Agar	15 g

pH 7.0

S. aureus の場合の初発菌数は、40 cfu/ml または 5 cfu/ml であった。

24 時間培養後、シート内の生菌数を測定するために、シート内の菌を生理食塩水で洗い出し、培養後

の生菌数を平板培養法により計測した。

P. acnes 及び *P. propionicum* の場合、24 穴マイクロプレートに入れたシート上に前培養した菌液 0.1 ml 及び半流動培地 0.4 ml を添加した後、マイクロプレートをアネロパック・ケンキで嫌気条件とし、37℃で 3 日間嫌気培養した。

前培養した菌液は、表 5 に示した平板寒天培地によって初発菌数を測定した。

表 5 *P. acnes* 及び *P. propionicum* の平板寒天培地組成

GAM broth	59 g
Agar	15 g
Distilled water	1 L

P. acnes の場合の初発菌数は 1.2×10^3 cfu/ml 前後、*P. propionicum* の場合は $5.9 \times 10^2 \sim 1.2 \times 10^5$ cfu/ml であった。

3 日間培養後、シート内の生菌数を測定するために、シート内の菌を生理食塩水で洗い出し、培養後の生菌数を平板培養法により計測した。

3. 結果と考察

各シート別のグラム陽性通性嫌気性球菌 *S. aureus* における接種 24 時間後の初発菌数の生菌数に及ぼす影響を図 4 に示した。

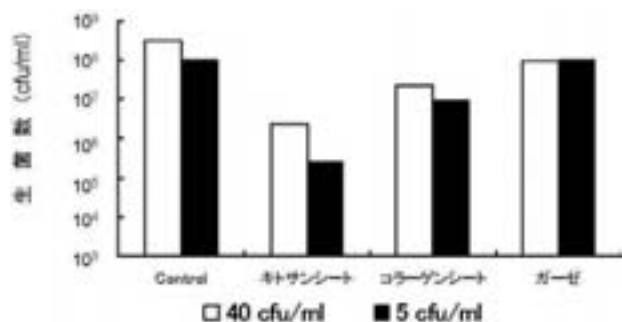


図 4 *S. aureus* における初発菌数の影響

S. aureus では、初発菌数が 40 cfu/ml、5 cfu/ml のどちらの場合でも、キトサンシートの生菌数が最も低く、増殖が抑制されていた。次いでコラーゲンシー

トが低く、やや増殖が抑制されていたが、ガーゼには、増殖抑制作用は認められなかった。

各シート別のグラム陽性通性嫌気性球菌 *S. aureus* の接種 24 時間後、グラム陽性嫌気性桿菌 *P. acnes* 及び *P. propionicum* の接種 3 日後の 3 菌株に対する生菌数を図 5 に示した。

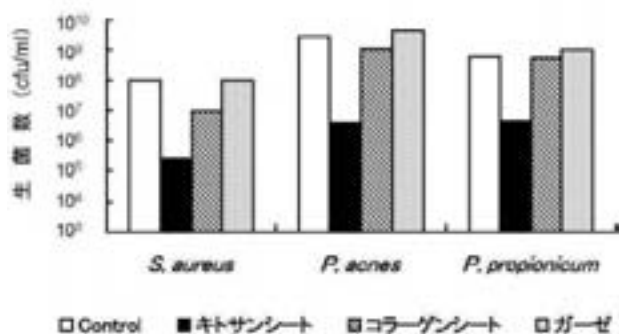


図5 3種類の菌株に対する各シート別の生菌数

キトサンシートの場合、コントロールと比較して、*S. aureus* では、 9.9×10^7 cfu/ml から 2.5×10^5 cfu/ml に、*P. acnes* では、 2.9×10^9 cfu/ml から 3.8×10^6 cfu/ml に、*P. propionicum* では、 6.4×10^8 cfu/ml から 4.5×10^6 cfu/ml に、菌数が 1/100 以下に大きく減少していた。

コラーゲンシートの場合、*S. aureus* では、 9.9×10^7 cfu/ml から 9.4×10^6 cfu/ml に、菌数が 1/10 程度減少する傾向が認められたが、*P. acnes* や *P. propionicum* などの嫌気性菌では僅かに減少する程度であった。

ガーゼには、3 菌株とも菌数に減少は認められなかった。

以上の結果より、美容用途向けに開発されたキトサンシートには、表皮感染症の原因となる *S. aureus* (黄色ブドウ球菌) やニキビの原因となる *P. acnes* (アクネ菌)、*P. propionicum* に対して、菌数を 1/100 以下に減少させる高い抗菌性があることが確認された。

4. おわりに

本研究成果は、2006 年 8 月に福井市で開催された

第 20 回 キチン・キトサンシンポジウム (日本キチン・キトサン学会主催) において口頭発表した内容を取りまとめたものである。

文献

- 1) 高田 光, 有福一郎; キトサンシートの抗菌特性, キチン・キトサン研究, 12, 2, p. 182-183, (2006).