

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-49620

(43) 公開日 平成11年(1999) 2月23日

(51) Int.Cl.⁶

識別記号

F I

A 0 1 N 61/00

A 0 1 N 61/00

D

D 0 6 M 15/59

D 0 6 M 15/59

審査請求 有 請求項の数 7 O L (全 10 頁)

(21) 出願番号

特願平9-215080

(22) 出願日

平成9年(1997) 8月8日

(71) 出願人 391030284

農林水産省蚕糸・昆虫農業技術研究所長
茨城県つくば市大わし1-2

(72) 発明者 塚田 益裕

茨城県つくば市大わし1-2 農林水産省
蚕糸・昆虫農業技術研究所内

(72) 発明者 白田 昭

茨城県つくば市大わし1-2 農林水産省
蚕糸・昆虫農業技術研究所内

(74) 代理人 弁理士 北村 欣一 (外3名)

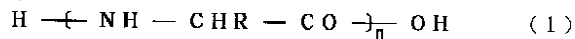
(54) 【発明の名称】 抗菌性ブレンド塊状物およびその製造方法

(57) 【要約】

【課題】 成型性に優れかつ抗菌機能を有する抗菌材料の提供。

【解決手段】 水溶性高分子と下記式で表されるポリリジン化合物：

【化6】



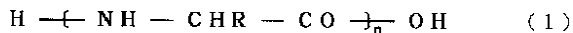
(式中、Rは、 $\text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$ を示し、nは、10以上である。)との混合水溶液を有機高分子膜上で乾燥固化せしめることにより、該水溶性高分子とポリリジン化合物とを含む抗菌性ブレンド塊状物を得る。

【効果】 膜状、多孔質体状、ブロック状、粉末状、ゲル状等のように形態が異なる抗菌性ブレンド塊状物が提供できる。このブレンド塊状物は植物由来の各種細菌および糸状菌の増殖を制御でき、また、黄色ブドウ状球菌をはじめ動物由来の病原細菌の増殖も抑えることが出来る。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 水溶性高分子と下記式 (1) で表されるポリリジン化合物：

【化 1】



(式中、Rは $\text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$ を示し、nは10以上である。)との混合水溶液からの乾燥固化物であり、該水溶性高分子とポリリジン化合物とを含むことを特徴とする抗菌性ブレンド塊状物。

【請求項 2】 前記ポリリジン化合物は、その末端のアミノ基および分子側鎖のアミノ基がアンモニウム塩、塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩、もしくは臭酸塩と配位結合している塩型の化合物、またはその化合物の混合物であることを特徴とする請求項 1 記載の抗菌性ブレンド塊状物。

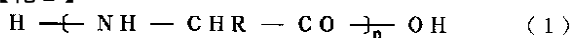
【請求項 3】 前記水溶性高分子が、ポリビニルアルコール、ポリアクリルアミド、ポリアクリル酸、ポリビニルピロリドン、ポリ酢酸ビニル、絹蛋白質、およびケラチン蛋白質から選ばれる少なくとも 1 種である請求項 1 または 2 記載の抗菌性ブレンド塊状物。

【請求項 4】 前記乾燥固化物が、前記水溶性高分子とポリリジン化合物との混合水溶液を、支持体表面上に広げ水分を蒸発させて得られるものであることを特徴とする請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の抗菌性ブレンド塊状物。

【請求項 5】 前記水溶性高分子とポリリジン化合物とを含むブレンド塊状物の形状が、膜状、多孔質体状、ブロック状、粉末状、またはゲル状であることを特徴とする請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の抗菌性ブレンド塊状物。

【請求項 6】 水溶性高分子と下記式 (1) で表されるポリリジン化合物：

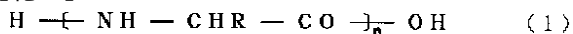
【化 2】



(式中、Rは $\text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$ を示し、nは10以上である。)との混合水溶液の pH を等電点以下にしたものから得られる、該水溶性高分子とポリリジン化合物とを含むことを特徴とする抗菌性ブレンド塊状物。

【請求項 7】 水溶性高分子と下記式 (1) で表されるポリリジン化合物：

【化 3】



(式中、Rは $\text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$ を示し、nは10以上である。)との混合水溶液から水分を蒸発させて、乾燥固化せしめ、該水溶性高分子とポリリジン化合物とを含むブレンド塊状物を得ることを特徴とする抗菌性ブレンド塊状物の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、水溶性高分子とポリリジン化合物とを含むブレンド塊状物およびこのブレンド塊状物の製造方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】ポリリジン化合物は、広い抗菌性スペクトルを持ち、かびなどの真菌の増殖を効率的に阻止する抗菌活性を有するポリアミノ酸である。生体に対する安全性も高いので抗菌材料およびそれを製造するための出発物質として有望である。従来、ポリリジン化合物が持つ抗菌活性機能を用いて、肌着、靴下、ブラウス、各種裏地用の一般の衣料製品、または、包帯、衛生布巾、皮膚貼付剤基布等の医療用繊維製品に洗濯耐久性と抗菌・抗かび性を付与するために、これら繊維製品をまず溶解し、繊維を形成する前段階の繊維溶解液である紡糸原液に、抗菌性を有するポリリジン化合物を添加し、これを湿式紡糸することにより抗菌性繊維および繊維製品を製造したり、または、ナイロン 1 2 ポリマーのチップにポリリジン化合物をブレンドし、ナイロン 1 2 ポリマーの融点の 1 8 0 以上に加熱し、これを熔融紡糸することにより抗菌性合成繊維を製造していた(特開平第 8 - 1 7 0 2 1 7 号公報)。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】上記従来法では、紡糸液の調製、紡糸工程などの複雑で繁雑な工程が必要であり、そのために溶解工程、紡糸工程に付属する種々の製造処理装置が必要であった。従来法では、各種繊維および繊維製品にポリリジン化合物を含有させるために、各種繊維を形成する前段階の紡糸工程で、繊維原料の溶解液である紡糸液にポリリジン化合物を添加しており、その後の紡糸工程で繊維形成させた後に抗菌性繊維および繊維製品が製造されていたが、上記のような問題があった。かくして、効率、経済面で優れ、安い価格で、しかも容易に抗菌性材料を製造することのできる技術の開発が望まれてきた。

【0004】従来の抗菌性材料が植物由来または動物由来の細菌の増殖を抑制する程度は、材料に含まれるポリリジン化合物の分子量により左右される。通常、ポリリジン化合物の抗菌活性は、分子量が一定以上の高分子物となると向上する。紡糸過程で、処理溶液の作用を受け高分子量のポリリジン化合物の重合度(構造単位の繰返し単位)が低く(10未満)になると、抗菌活性が低下して所望の用途に利用できない抗菌性材料になってしまう。そのため、抗菌性を持つポリリジン化合物が低分子化されないようにして抗菌性繊維材料を製造していた。

【0005】上記従来の方法、すなわち有機高分子からなる紡糸液にポリリジン化合物を溶解させ、その後紡糸工程を経る方法では、繊維を溶解するために用いる薬剤が、紡糸工程に至る間に、ポリリジン化合物の抗菌活性を低下させるという問題があった。例えば、セルロー

ス系繊維を溶解させるために用いる銅アンモニア溶液は、銅とアンモニアの錯体であり、ポリリジン化合物に作用し、その結果ポリリジン化合物の抗菌活性を低下させるという問題があった。また、ナイロン 1 2 ポリマーのチップにポリリジン化合物をブレンドして、加熱後溶融紡糸する方法では、ナイロン 1 2 ポリマーの融点の 1 8 0 以上に加熱する必要があり、一定温度以上に加熱するとポリリジン化合物の抗菌特性が変化したり、分子量が低下して抗菌活性が十分に発現しないという問題があった。

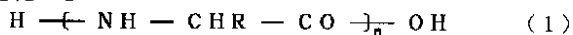
【 0 0 0 6 】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、成型性に優れかつ抗菌活性を有する抗菌性材料に関して鋭意検討した結果、水溶性高分子とポリリジン化合物とをブレンドさせることによって、成型性、抗菌性に優れた材料ができることを見出して、上記課題を解決し本発明を完成させるに至った。本発明においては、水溶性高分子とポリリジン化合物とを水溶液状態で混合させて、抗菌性機能を持ち、さまざまな形態を有するブレンド塊状物を製造しようとするものである。水溶性高分子とポリリジン化合物とを水溶液状態で機械的に混合し、その後水分を蒸発せしめ、乾燥固化することによって、ポリリジン化合物を含有し、かつポリリジン化合物と水溶性高分子との組成が均一なブレンド塊状物ができるという特性を利用することにより、前記の問題点を解消した。

【 0 0 0 7 】本発明のブレンド塊状物は、水溶性高分子と下記式 (1) で表されるポリリジン化合物：

【 0 0 0 8 】

【化 4】



【 0 0 0 9 】 (式中、R は $\text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$ を示し、n は 1 0 以上である。) との混合水溶液から乾燥固化させることにより得られる。水溶性高分子とポリリジン化合物との混合水溶液の蒸発過程で乾燥速度を変えることにより、膜状、多孔質体状、ブロック状、粉末状、ゲル状等のような種々の形態で抗菌性を有するブレンド塊状物を成型できることが本発明の特徴である。また、ポリリジン化合物と水溶性高分子水溶液との混合物を所定の物体表面にスプレーし、乾燥固化することにより抗菌性表面を有する物体を形成することができる。また、支持体表面上に水溶性高分子とポリリジン化合物との混合水溶液を広げ、水分を蒸発させ、乾燥固化させると抗菌性を持つ薄い被膜状のブレンド塊状物を形成することができる。さらに、高濃度の混合水溶液を用いれば抗菌性を持つ厚い板状であるブロック状ブレンド塊状物を製造できる。このように成型性の良いのが本発明の特徴である。

【 0 0 1 0 】本発明で用いられる水溶性高分子としては、従来公知のものはいずれも利用できる。例えば、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロー

ス、ヒドロキシエチルセルロース、メチルセルロース、ポリビニルアルコールおよびその変性物またはその誘導体、ポリビニルピロリドン、ポリエチレオキサイド、ポリアクリルアミド、ポリアクリル酸またはその塩、ポリ酢酸ビニル等、ならびに絹蛋白質 (絹セリシン、絹フィブロイン)、ケラチン蛋白質等が挙げられ、好ましくは、ポリビニルアルコール、ポリアクリルアミド、ポリアクリル酸、ポリビニルピロリドン、ポリ酢酸ビニル、絹蛋白質、およびケラチン蛋白質、さらに好ましくは、ポリビニルアルコール、ポリアクリルアミド、ポリアクリル酸、絹フィブロイン、およびケラチン蛋白質が挙げられる。これらの水溶性高分子は単独で用いてもまたは組み合わせて用いてもよい。なお、天然蛋白質の羊毛ケラチン、絹フィブロイン等は、下記に述べるように、水溶性高分子として特に好ましい。

【 0 0 1 1 】また、水溶性高分子としては、水溶液状態での pH がポリリジン化合物の等電点以上のもの、一般には中性 ~ アルカリ性のもの、好ましくは 5 以上のもの、さらに好ましくは 5 . 8 以上のものが使用される。pH が 5 未満の水溶性高分子水溶液とポリリジン化合物水溶液とを混合すると、ポリリジン化合物水溶液の pH が酸性に傾き、ポリリジン化合物の分子鎖が凝固し、その結果ポリリジン化合物が凝固・沈殿してしまうため、ブレンド塊状物の透明度が低下し、成型性が劣悪となり、所望の形状、特性を持つブレンド塊状物が製造できなくなるからである。絹フィブロイン、羊毛ケラチンの誘導体等の昆虫生体高分子の水溶液は、通常の状態では pH が中性付近であり、ポリリジン化合物と任意に混っても白濁することは無く、機械的性質に優れ、透明度の高いブレンド塊状物を得るのに特に好ましい。

【 0 0 1 2 】絹蛋白質繊維から絹フィブロイン水溶液を調製するための原料としては、家蚕または野蚕由来の絹糸が用いられる。組成の均一な抗菌性ブレンド塊状物を製造するには家蚕由来の蛋白質が好ましい。例えば、家蚕生糸を炭酸ナトリウム等のアルカリ水溶液で煮沸し、絹糸表面にある膠状の接着物質、セリシンを除去して調製できる絹フィブロイン繊維を中性塩で溶解し、セルロース製の透析膜で十分透析することにより純粋な絹フィブロイン水溶液を調製できる。この絹フィブロイン水溶液にポリリジン化合物を加えてできるブレンド塊状物の成型性は良好であり、透明度の高い抗菌性材料ができる。天然生体高分子である絹フィブロインは、手術用縫合絹糸の例からも明らかのように、生体組織との生体適合性が良いため、また、ブレンド塊状物も優れた生体適合性を持つため、このブレンド塊状物は体内埋め込み用材料として利用することができる。

【 0 0 1 3 】上記したように、絹フィブロイン繊維を溶解するには、塩化カルシウム、硝酸カルシウム、臭化リチウムなど一般に知られた中性塩が利用できる。絹糸の溶解性を高め、未変性状態に近い絹フィブロインを製造

するためには、溶解性の高いリチウムイオンを含む中性塩が望ましく、臭化リチウムなどが特に好ましく用いられる。野蚕絹糸の表面にはタンニンが付着し、蛋白質を強く不溶化させているので、これを除去するには、柞蚕あるいは天蚕等から得られる野蚕繭糸を繭糸重量に対して50倍量の0.1%過酸化ナトリウム水溶液に浸漬し、98℃で1時間処理してセリシンを予め除去しておく必要がある。セリシンを除去した野蚕絹フィブロイン繊維をチオシアン酸リチウム等の溶解性の高い中性塩で溶解し、さらにセルロース製透析膜に入れて純水で透析することで野蚕絹フィブロイン水溶液が調製できる。

【0014】羊毛はケラチンと呼ぶ蛋白質からできており、本発明で利用できるのは、次のようにして調製できるケラチン水溶液またはS-カルボキシメチルケラチン水溶液である。羊毛繊維を溶解するには、まず、分子間のCys結合を窒素雰囲気下、メルカプトエタノールまたはチオグリコール酸等の還元剤を用いて切断し、ケラチン分子を還元して可溶化する必要がある。メルカプトエタノールを用いる場合には、尿素溶液中で還元処理を行うと良い。尿素の濃度は一般に7.5~8.8M、好ましくは7.8~8Mである。チオグリコール酸を用いる場合には、1~4%のNaClを添加すると良い。

【0015】還元剤として、例えば、メルカプトエタノールを用いる場合、羊毛繊維を上記濃度の尿素水溶液に浸漬し、脱気後、窒素雰囲気下、45℃以下、望ましくは20~25℃の温度で、メルカプトエタノールを10gの羊毛繊維に対し3~5ml加え、さらに約3時間攪拌する。こうしてケラチン分子が還元されて、分子間のジスルフィド結合(-S-S-結合)が還元され、SHとなったケラチンが得られる。純水を用いて透析し、尿素、過剰のメルカプトエタノールを除去するとケラチン水溶液が得られる。これは、本発明における水溶性高分子として利用できる。このようにして還元したSH基を有するケラチンをさらにアルキル化剤、例えば(置換)アルキルハライドと反応させてS-(置換)アルキルケラチンとしても利用することができる。アルキル化は公知の方法に従って行えばよい。一例としてアルキル化剤としてヨード酢酸を用いた場合について説明する。上記の還元ケラチンに、窒素雰囲気下、20~25℃の温度で、攪拌しながら、10gの羊毛繊維に対して10~17gのヨード酢酸(分子量185.95)を加え、反応させる。1~2時間後、pHを8.5に調整し、純水を用いて透析することによって過剰のヨード酢酸を除いてS-カルボキシメチルケラチン水溶液を得る。この水溶液が、本発明における水溶性高分子として利用される。

【0016】上記の水溶性高分子水溶液にポリリジン化合物水溶液を混合して均一に攪拌し、この混合水溶液をポリエチレンテレフレート、ナイロン、ポリエチレン、ポリスチレンまたはテフロン等の有機高分子表面、

ならびにガラス表面などのような支持体の表面上に広げ、水分を蒸発させ、乾燥固化させることによりポリリジン化合物を含む膜状のブレンド塊状物を製造することができる。かかる支持体としては、乾燥後のブレンド塊状物が容易に剥がれるものであれば、特に制限はない。ブレンド膜に混合すべきポリリジン化合物の量は、特に制限はなく、使用用途、特に所望の抗菌性機能および物性に応じて変化させることができる。ポリリジン化合物の含有量が多いと、得られるブレンド塊状物は白濁し、不透明となり、強度的にも弱くなるが、抗菌性能の面からは優れた抗菌性材料が製造できるので、用途に合わせてポリリジン化合物の含有量を変化させればよい。ポリリジン化合物の含有量が少なく、その分抗菌性は低下するが、成型性を向上させることができるという利点がある。上記したように、ポリリジン化合物含有量は、用途に合わせて変化させることができるが、一般には、ブレンド塊状物重量基準で約20%以上であることが望ましい。

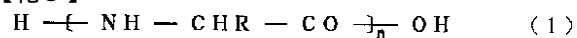
【0017】水溶性高分子とポリリジン化合物とから成るブレンド塊状物は、通常は水溶性であるので、成型後、所望により不溶化処理を施すとよい。水溶性のままだと、使用環境の湿度が高い場合には水分を吸って膜状ブレンド塊状物は溶解してしまい不都合である。

【0018】

【発明の実施の形態】本発明で利用できるポリリジン化合物は、下記式(1)で表され、ポリリジン化合物の末端のアミノ基および分子側鎖のアミノ基が、アンモニウム塩、塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩、もしくは臭酸塩と配位結合していてもよい化合物、またはその化合物の混合物である。

【0019】

【化5】



【0020】(式中、RはCH₂-CH₂-CH₂-CH₂-NH₂を示し、nは構造単位の繰り返し数である重合度を意味し、10以上である。)

このポリリジン化合物の立体配位としては、D体、L体、DL体であればいずれも利用できる。重合度を示すnが10以上であれば効率的な抗菌性を示す。本発明で使用するポリリジン化合物は、上記したように、末端のアミノ基および分子側鎖のアミノ基がアミノ基のままである化合物であっても、このアミノ基が塩と配位結合した塩型の化合物であっても、またこれら化合物の混合物であってもよい。例えば、分子末端のアミノ基および分子側鎖のアミノ基が、上記したように、アンモニウム塩、塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩、または臭酸塩と配位結合した水溶性のポリアミノ酸であってもよい。ポリリジン化合物と絹フィブロインとは、両者の水溶液を機械的に混合することでブレンドできる。ブレンド状態を均一にするには、両者を機械的に混合した後、ガラス棒で穏や

かに攪拌するとよい。これらの水溶液の混合温度には、ポリリジン化合物の抗菌活性が失われない範囲であれば、特に制約はない。

【0021】ポリリジン化合物と水溶性高分子との水溶液は、混合水溶液を用いた抗菌性材料として利用できるし、混合水溶液の蒸発速度や調製条件を変えることによって、膜状にも、多孔質体状にも、ブロック状にも、粉末状にも、ゲル状その他にも形成できる。粉末または多孔質体の調製は、ポリリジン化合物と絹フィブロインとのブレンド水溶液を - 7 以下、好ましくは - 30 以下で、一旦凍結乾燥させたものを、さらに減圧下で凍結乾燥することにより行われる。一方、ブレンド膜は、両者の水溶液の混合水溶液を、例えばポリエチレン膜上に広げ、水分を自然状態で穏やかに蒸発させ、乾燥固化せしめることにより製造できる。

【0022】ポリリジン化合物と水溶性高分子との混合水溶液からゲル状材料を製造するには、まず、ポリリジン化合物と水溶性高分子との混合溶液に、硫酸、塩酸等の無機酸、蟻酸、クエン酸等の有機酸の水溶液を加えて pH を等電点以下にするとよい。生理活性物質、医薬品、抗生物質を固定化させたゲル状材料は、徐放担体として医用分野で先端的な利用が可能である。前記したように、従来技術によれば、ポリリジン化合物を含む抗菌性繊維は、紡糸の前段階として調製できる紡糸液にポリリジン化合物を添加し、その後、これを紡糸することによって製造されていた（特開平第 8 - 170217 号公報）が、本発明では、ポリリジン化合物と水溶性高分子水溶液とを混合するだけで、紡糸することなく抗菌性材料を調製することができる。

【0023】通常、水溶性高分子とポリリジン化合物との水溶液を乾燥固化して調製できるブレンド塊状物は水に溶解するが、本発明では、所望によりこれを不溶化させることができる。不溶化剤としては、アルデヒド化合物、エポキシ化合物など分子架橋の形成作用を有する不溶化剤であれば何れも利用できる。反応の容易さ、試薬の取り扱いの簡便さから、グルタルアルデヒド、またはホルムアルデヒドが好ましく用いられる。さらに天然生体高分子である絹フィブロインは、アルコ-ル水溶液により簡単に物理化学的処理をするだけで、試料分子の分子凝集状態が密となって水に不溶化するという特徴がある。そのため、ポリリジン化合物と絹フィブロインとからなるブレンド塊状物は、人体や環境に悪影響を与える恐れのないアルコールによる浸漬処理により、水溶性ブレンド塊状物を水不溶性の材料に変えることが可能である。

【0024】グルタルアルデヒドにより本発明のブレンド塊状物を不溶化させるには、0.1 ~ 4%、特に好ましくは 0.5 ~ 2% のグルタルアルデヒド溶液にブレンド塊状物を 30 秒 ~ 2 時間、浸漬処理するとよい。浸漬時間が十分でないと不溶化させることができず、所望の

効果が得られなかったり、また、浸漬時間が必要以上に長いとブレンド塊状物は不溶化するが該塊状物内に架橋剤が入り過ぎて、除去するのが困難となり、調製後のブレンド塊状物を体内埋め込み材料として用いたときに、生体組織に害を与える恐れがある。ブレンド塊状物の厚さが薄いものは、浸漬時間が 30 秒 ~ 1 分、または 30 秒より短くても、浸漬処理で十分不溶化するが、厚いものは時間をかけて不溶化させるとよい。不溶化薬剤で処理したブレンド塊状物では、塊状物内の未反応アルデヒドを完全に除去することが材料の安全性の観点から望まれるが、そのためには水洗いを十分するとよい。固体の水溶性高分子の溶解性が高いときにはグルタルアルデヒドの浸漬時間を短くするのがよい。

【0025】古くから、絹糸は外科分野で手術用絹縫合糸として用いられている。これは、絹糸の滅菌が容易であり、体内に埋め込んでも抗原抗体反応が起こり難いためである。ポリリジン化合物は生体組織の化学構造に似たポリアミノ酸であり、生体組織に対して安全であり、また、絹フィブロインとポリリジン化合物とからできるブレンド塊状物も生体組織に対して安全である。そのため、本発明のブレンド塊状物を生体内に埋め込んでも生体反応が起こらず、また、ブレンド塊状物から有害な物質が流出することはないため、このブレンド塊状物は安全性に優れた材料であるといえる。分子架橋反応で不溶化させるとブレンド塊状物は生体内での生分解性が低くなるので、その分生体安全性はさらに良好となり、本発明のポリリジン化合物を含むブレンド塊状物は抗菌性に優れた体内埋め込み用のバイオ材料として適する。

【0026】水溶性高分子に含まれるポリリジン化合物の量は、前記したように、使用用途に合わせて決めることが望ましい。ポリリジン化合物の量が増えると当然各種植物由来および動物由来の病原細菌の増殖を抑制する効果は高まるが、引張り強度、伸度などの力学的特性は低下するので、使用目的に合わせてポリリジン量を決めることが望ましい。本発明の水溶性高分子と抗菌性を有するポリリジン化合物とは、水溶液状態および固体状態において、相溶性が良好である。水分を蒸発させ、乾燥固化してできるブレンド塊状物は、成形性が良いので、筒状試料の内部、任意の形態の物質の内面あるいは外面を被覆するのに有用である。

【0027】

【実施例】次に、本発明を実施例および比較例によりさらに詳細に説明するが、本発明はこれらの例に限定されるものではない。以下の実施例において細菌活性を評価するための抗菌性評価は、次の方法に基づいて行われた。まず、実施例で用いた植物病原細菌は次の通りである。実施例で用いた植物病原細菌は、植物病原細菌全体をできる限り代表するように選んだ。すなわち、限られた作物を宿主とする細菌の代表として *Xanthomonas* 属細菌を、また、普遍的な植物病原菌の代表で耐

性菌も出現しやすく多くの植物を犯すものとして Pseudomonas 属細菌を、また、植物病原細菌の中でも比較的少ないグラム陽性菌として Corynebacterium 属細菌を選んだ。

【0028】また、胞子を作って増殖する植物病原糸状菌の代表としては、稲の病原菌で、黒い大きな胞子をつけ、生物検定に多く利用されるイネゴマ葉枯病菌、および広範囲の作物を犯す Fusarium 属菌の中から防除薬剤がなく強い病原性を示すクワ芽枯病菌を用いた。本発明で用いた具体的な植物病原菌は次の通りである。

【0029】A: Corynebacterium michiganense pv. michiganense (トマトかきよう病菌)

B: Pseudomonas cichorii (各種腐敗病(レタス))

C: Xanthomonas campestris pv. campestris (アブラナ科野菜黒腐病菌)

D: Bipolaris leersiae (イネごま葉枯病菌)

E: Fusarium solani f. sp. morri (クワ芽枯病菌)

なお、実施例中では、上記の細菌、糸状菌の名称の代わりに英字1文字(すなわち、A~E)で表記することもある。また、実施例中では、動物由来の病原細菌として、黄色ブドウ状球菌を用いる。次ぎに、前記各種の菌に対する抗菌活性検定評価について記載する。

【0030】(1)細菌に対する抗菌活性検定評価:加熱溶解後55 に保持したキングB培地25mlと、検定菌(濃度 10^9 - 10^{10} 個/ml)2mlとを混合してシャーレに流し込んで平板状に固めた。この菌液混合平板培地上に約2cm四方の膜状ブレンド塊状物を置き、ピンセットで注意深く試料全体を培地に密着させるようにした。2日間20~25 に保った後、検定試料付近の培地での菌増殖阻害程度を下記の判定基準により4段階で評価した。

++:強い(明瞭で幅5mm以上の菌増殖阻止帯を形成)

+ :弱い(不明瞭な阻止帯を形成、または幅5mm未満の明瞭な阻止帯を形成)

±:軽微(わずかに阻害が認められる)

- :抗菌活性は認められない。

(2)糸状菌に対する抗菌活性検定法:加熱溶解後55 に保持したPSA培地と、検定菌の胞子液(濃度10⁶-10⁷個/ml)2mlとを混合してシャーレに流し込んで平板状に固め、上記(1)の細菌の場合と同様に観察した。

(3)黄色ブドウ状球菌(Staphylococcus aureus ATCC 6538P)に対する抗菌活性検定試験法:実施例中では、黄色ブドウ状球菌を

Fとも表記する。黄色ブドウ状球菌に対する抗菌活性検定に関しては、繊維製品衛生加工協議会による下記の如き衛生加工製品加工効果評価試験方法に基づく菌数測定法に拠った。

【0031】①普通ブイヨン培地で調整した黄色ブドウ状球菌を $5 \times 10^5 \sim 30 \times 10^5$ 個/ml含有する試験菌懸濁液0.2mlを、約0.2gの試料の上に均一に接種する。

②試料は、ブランクを6検体、評価試料を3検体用意し、接種後、ブランク3検体、および評価試料3検体を直ちに35~37 で18時間静置培養する。

③培養しないブランク3検体は接種直後に、また培養したブランク3検体および評価試料3検体は培養終了後に、滅菌緩衝生理食塩液20mlを加え、振とうして試料中の生菌を液中に分散させ、この分散菌液から滅菌緩衝生理食塩液で希釈系列を作り、下記のX、Y、Zのそれぞれの菌数を測定する。

X:接種直後分散回収したブランク(3検体)

Y:18時間培養後分散回収したブランク(3検体)

Z:18時間培養後分散回収した評価試料(3検体)

④菌数測定は、希釈液1mlをシャーレに入れ、標準寒天培地の約15ml混合平板を作成(同一希釈液につき平板を2枚作成)後、35~37 で24~48時間培養し、成育したコロニー数を測定し、その希釈倍数を乗じて試料中の生菌数を算出する。

⑤X、Y、Zの菌数の平均したものをそれぞれx、y、zとし、次式により増減値差を計算する。この増減値差の数値の大きいものほど抗菌性に優れる。

増減値差 = $[\text{Log}(y/x) - \text{Log}(z/x)]$

⑥増減値差により、菌増殖の阻害の程度(抗菌活性度)を下記の判定基準により3段階で評価する。

++:増減値差が2.5以上

+ :増減値差が1.6以上2.5未満

- :増減値差が1.6未満

また、実施例1で得られた膜状ブレンド塊状物の機械的特性、透過度、吸湿率、成型性能、熱分解温度、および熱形態安定度についての評価は、以下の方法に基づいて行われた。

【0032】(1)機械的特性

膜状ブレンド塊状物の機械的特性は、機械的性質測定により検討した。これらの機械的性質の測定では、切断時の試料の強度と伸度の値を示したものである。なお、測定条件は試料長12mm、引張り速度1000mm/min、チャートフルスケール200gであり、島津式オートグラフにより求めたものである。ただし、強度(gf)は膜状試料1枚当たりの切断強度を示している。膜状試料の厚さは約20 μ m、幅3mm、引き抜き速度10mm/minであった。

(2)透過度

ポリリジンと絹フィブロインとからできる膜状ブレンド

塊状物の透明度を次のようにして測定した。パーキンエルマー社製 (UV - 2 1 0 0 S 型) の UV / V I S 分光計 (UV / V I S S p e c t r o m e t e r) を使い、3 5 0 n m ~ 7 4 0 n m の波数範囲で膜状試料を直接用いてその透過度を求めた。試料表面の反射による光透過率の低下が起こらないように、湿潤状態の試料を石英セルに挟み込んで測定した。ただし、試料を挟み込まない石英セルのみをレファレンスとして用いた。光透過度は 3 8 0 ~ 7 8 0 n m での透過率の単純な平均値を基にして算出した。

(3) 吸湿率

2 0 、 6 5 % R H に調節した恒温恒湿中に試料を 1 週間放置して吸湿量が平衡状態となったものの重量を計測し、この試料の 1 0 5 で 2 時間乾燥後の重量との差より吸湿率 (%) を測定した。

(4) 成型性能

試料の成型機能を次のようにして求めた。試料水溶液を 2 0 に設定した恒温恒湿度雰囲気下のポリエチレン膜上に広げ、1 2 時間かけて試料水溶液を乾燥固化させて製造できる膜状試料の形態および製膜状態を観察した。膜状試料の成型性を下記の判定基準により 3 段階で評価した。

- + + : 非常にしなやかで良好である。
- + : 良好である。
- : 成型膜が脆くて少し力を加えただけで構造が破壊してしまい、良好な成型性でない。

(5) 熱分解温度

理学電機 (株) 製示差走査熱量計 (D S C 1 0 A) による測定で、2 5 ~ 3 3 0 の温度範囲、2 0 0 以上の温度領域で認められる主要な吸熱ピーク温度を熱分解温度として表示した。試料重量 2 . 5 m g 、昇温速度 1 0 / m i n 、測定は N 2 ガス中で行った。

(6) 熱形態安定度

膜状ブレンド塊状物の熱形態安定度は、理学電機 (株) 製の熱機械測定 (T M A) により評価した。ただし、熱形態安定度 T S (%) は次式により求めた :

$$T S (\%) = a / b \times 1 0 0$$

但し、上式中、a は 2 5 ~ 1 8 0 の温度領域で試料長が一番収縮したときの長さ、b は測定開始時の試料寸法である。測定は N 2 ガス中で行った。

【 0 0 3 3 】 実施例 1

絹フィブロイン繊維を 6 0 、 8 M 臭化リチウム水溶液で完全に溶解し、セルロース系の透析膜中で純水と 5 日間置換しながら透析することで調製した 0 . 8 % 絹フィブロイン (以下、再生絹フィブロインと呼ぶこともある) 水溶液 5 m l に、ポリ - L - リジン臭酸塩 (シグマケミカル社 (S i g m a C h e m i c a l C o m p a n y) 製、製品番号 P 1 2 7 4 (P r o d u c t N o . P 1 2 7 4)) (以下、単にポリリジン臭酸塩と称することもある) の 8 m g 、 5 0 m g 、 1 6 5 m g を別々に加えて溶解させた後、ガラス棒で静かに攪拌し均一な溶液とし、この溶液を 2 5 でポリエチレンフィルム上に広げ、扇風機を用いて送風乾燥させて膜状ブレンド塊状物を調製した。用いたポリリジン臭酸塩は、分子重合度 5 4 9 、分子量 1 1 4 , 7 0 0 である。種々の植物病原細菌 (前記 A ~ F) の増殖抑制に及ぼすこれら水溶性の膜状ブレンド塊状物の効果を調べるために、抗菌性実験を行った。得られた結果を表 - 1 に示す。以下、ポリリジン臭酸塩を P L L 、絹フィブロインを S F 、両者のブレンド塊状物を P L L / S F と略記することもある。表 - 1 の P L L 直後の数字はポリリジンの添加量である。すなわち、P L L 5 0 / S F とは、P L L 5 0 m g を 0 . 8 % S F 5 m l に混合し、乾燥固化して得られる膜状ブレンド塊状物を意味する。

【 0 0 3 4 】

【表 1】

| 試料名 | 各 種 植 物 病 原 細 菌 | | | | | |
|-------------------|-----------------|-----|----|----|----|----|
| | A | B | C | D | E | F |
| P L L | ++明 | ++明 | ++ | ++ | ++ | ++ |
| P L L 8 / S F | + | ± | ± | ± | ++ | + |
| P L L 5 0 / S F | + | + | + | + | ++ | + |
| P L L 1 6 5 / S F | ++ | + | + | ++ | ++ | ++ |

【 0 0 3 5 】 注 : 表中、「明」の記号は、阻止円の外周が明瞭に現れているものであり、阻止限界濃度が明瞭に認められるものを意味する。

【 0 0 3 6 】 表 - 1 から明らかなように、ポリリジン化合物は広い植物および動物由来の病原細菌の増殖を効果的に抑制する。膜状ブレンド塊状物に含まれるポリリジ

ン化合物の量が増えるにつれて、これら病原細菌の増殖を抑制するようになるが、ポリリジン化合物が僅か入っただけでイネごま葉枯病細菌 (D) 等の増殖が抑えられるようになった。表 - 1 に示した全ての膜状試料を 2 % グルタルアルデヒド水溶液で 2 分間処理した後、十分水洗いすることにより得られた不溶化処理した試料の抗菌

性も、不溶化処理していない試料についての表 - 1 の結果と同様であった。

【 0 0 3 7 】 実施例 2

実施例 1 で用いたポリ - L - リジン臭酸塩のかわりに、ポリ - D - リジン塩酸塩 (シグマケミカル社製、P - 7 8 8 6、Lot No. 2 5 H 5 5 4 3、分子重合度 3 2 1、分子量 6 7, 1 0 0) またはポリ - DL - リジン臭酸塩 (シグマケミカル社製、P - 9 0 1 1、Lot No. 1 7 H 5 5 2 6、分子重合度 2 1 5、分子量 4 5, 0 0 0) を用いて、実施例 1 と同様の方法で膜状ブレンド塊状物を調製した。表 - 1 に示した全ての検定菌 (表 - 2)

| 試料名 | 強度 (kg/mm ²) | 伸度 (%) | 透過度 (%) | 吸湿率 (%) | 成型 性能 | 熱分解 温度(℃) | 熱形態 安定度(%) |
|-------------------|-----------------------------|-----------|------------|------------|----------|--------------|---------------|
| ポリ-L-リジン (PLL) | ※ | ※ | 8 | ※ | - | 219 | ※ |
| PLL 8/SF | 2.9-3.8 | 3.1 | 84 | 9.5 | ++ | | |
| PLL 16/SF | 3.2 | 2.8 | 85 | 8.8 | ++ | 263 | 1.5 |
| PLL 50/SF | 1.7-1.8 | 3.1 | 88 | 11.2 | + | 264 | 2.3 |
| PLL 165/SF | | | 55 | 13.8 | - | | |
| SF | 2.1 | 0.5 | 92 | 9.5 | ++ | 270 | 2.7 |

: PLL の成型性が劣悪で測定が不可能

上記表 - 2 から明らかなように、ポリリジン化合物のみの成分からなる膜状の水溶性 PLL は、成型性能が劣悪で、機械的に脆く強度や伸度は測定できない。絹フィブロインを混入することで、水溶性の膜状ブレンド塊状物の強度は絹フィブロイン膜よりも向上し、伸びやすくなるとなる。ポリリジン膜は白濁しており不透明であるが、絹フィブロインが混在することにより透明となる。ポリリジン化合物の成型性は劣悪であるが、絹フィブロインが僅かに入ることによって成型性が良好となる。

【 0 0 4 0 】 実施例 4

実施例 1 で用いたポリリジン臭酸塩の代わりに分子量 1, 0 0 0 ~ 4, 0 0 0 のポリリジン臭酸塩 (シグマケミカル社製、製品番号 P 0 8 7 9) と絹フィブロインとを水溶液状態で混合して、実施例 1 の操作を繰り返し、数種の膜状ブレンド塊状物を調製した。実施例 1 の場合と同様にして測定した試料の抗菌性は表 - 1 の結果と同様であった。

【 0 0 4 1 】 実施例 5

実施例 1 で用いたポリリジン臭酸塩の代わりにポリリジン塩酸塩 (シグマケミカル社製、製品番号 P 9 4 0 4) と絹フィブロインとを水溶液状態で混合して、実施例 1

の繁殖に及ぼす阻害程度を評価したところ、調製した膜状ブレンド塊状物は強い抗菌性を示すことが分かった。

【 0 0 3 8 】 実施例 3

実施例 1 で用いた水溶性の膜状ブレンド塊状物の破断時の強度 (g f) および伸度 (%), 透過度、吸湿率、成型性能、熱分解温度、ならびに熱形態安定度を測定した。得られた結果を表 - 2 に示す。表 - 2 では、絹フィブロイン水溶液をポリエチレン膜上に広げて水分を蒸発させ、乾燥固化せしめることにより得られた透明な絹フィブロインを SF と略記した。

【 0 0 3 9 】

の操作を繰り返し、数種の膜状ブレンド塊状物を調製した。実施例 1 の場合と同様にして測定した試料の抗菌性は表 - 1 の結果と同様であった。なお、ポリリジン塩酸塩の分子量は、3 0, 0 0 0 ~ 7 0, 0 0 0 であった。

【 0 0 4 2 】 実施例 6

実施例 1 の場合と同様にして得た絹フィブロインとポリリジン化合物との混合水溶液に 1 / 2 0 N 硫酸水溶液を少量づつ加え、試料水溶液の pH を 2 に調整することによって、混合水溶液全体が白濁し、ゲル状物が得られた。pH を調整することによって、ゲル状物を得ることが出来るので、使用用途を広げることが出来る。

【 0 0 4 3 】 実施例 7

実施例 1 と同様にして得た絹フィブロイン水溶液とポリリジン化合物水溶液との等量混合水溶液をピーカーに取り - 3 0 で一旦凍結する。これを凍結乾燥器により減圧下で乾燥すると、1 2 時間後に再生絹フィブロインとポリリジン化合物とからなる多孔質体が調製できた。この多孔質体は、表面積が大きくスポンジ状であった。

【 0 0 4 4 】 実施例 8

水溶性高分子として羊毛を溶解したケラチン水溶液を次のようにして調製した。メリノ種羊毛 (6 4 ' S) に含

まれる色素、脂肪分は、ベンゼン - エタノール 50 / 50 容積%の混合溶液を用いて、ソックスレー抽出器で 2.5 時間処理することで除去した。

【0045】三つ口フラスコの一つの口には三方コックを介して乾燥窒素ボンベからのゴム管を接続した。反応系の pH 調節のための pH 電極を別の口に常時挿入し、もう一方の口は必要な薬剤投与用として利用する。繊維長が約 1 cm となるようにハサミで細断した 8.18 g のメリノ種羊毛繊維を三つ口フラスコに投入し、これに 450 ml の 8 M 尿素溶液を加えた。窒素ガスをパージさせ、アスピレータで 15 分間三つ口フラスコ内を 45 mmHg 程度に減圧させ、次いで急激に大気圧に戻す操作を 3 ~ 4 回繰り返した。このようにすると、三つ口フラスコ内の羊毛繊維間に含まれる空気が完全に除去でき、尿素水溶液とケラチン分子との反応が効率的となる。窒素置換が完了した後、三つ口フラスコ内に還元剤として 4.8 ml のメルカプトエタノールを加えて、8 M 尿素水溶液中で 2 ~ 3 時間放置した。更に、約 100 ml の 5 N KOH 溶液を微量づつ加えて三つ口フラスコの混合溶液の pH を 10.5 に調節した。室温で 3 時間かけて羊毛繊維が完全に溶解するのを待った。繊維状の羊毛繊維が溶解したものがケラチン水溶液である。セルロース透析膜を用いケラチン水溶液を純水で 2 日間透析した。ケラチン水溶液の濃度が低い場合には送風乾燥させながら、また、該濃度が高い場合には純水を加えることにより、絶乾濃度で 0.01% のケラチン水溶液を調製した。

【0046】このケラチン水溶液 450 ml に、室温で 9.5 g のヨード酢酸を加えてケラチンの S - カルボキシメチル化反応を 1 時間行った。5 N KOH 水溶液でケラチンの溶液の pH を 8.5 に調製することにより、S - カルボキシメチルケラチンの水溶液を得た。セルロース製の透析膜を用いてこの水溶液を純水で 2 日間透

析した。実施例 1 で述べたと同様の方法で、水溶性高分子水溶液としての S - カルボキシメチルケラチン水溶液に実施例 1 で使用したポリリジン臭酸塩を加え、膜状のブレンド塊状物を調製した。このブレンド塊状物は、トマトかいよう病細菌 (A) の増殖を阻害したことから、抗菌性機能を持つことが明らかとなった。

【0047】実施例 9

ポリビニルアルコール (PVA)、ポリアクリルアミド (PAAm と略記)、ポリアクリル酸 (PAAc と略記) について、それぞれ 1.1% w/v の水溶性高分子水溶液を調製した。すなわち、重合度約 2000 のポリビニルアルコール (和光純薬工業 (株)、Lot No. TSJ0964)、アクリルアミド ポリマー 10% 水溶液 (和光純薬工業 (株)、ロット番号 LTJ2704 (Lot. No. LTJ2704))、ポリアクリル酸水溶液 (和光純薬工業 (株)、Lot. No. WEE5784) に適宜蒸留水を加えて希釈し、1.1% のポリマー水溶液を調製した。これらの水溶性高分子水溶液の各 4.5 ml に、1.5 ml の PLL の 1% 水溶液を加えて水溶液状態で均一に混合した。20、65% RH の常温常湿下で、ポリエチレンフィルム上に各混合水溶液を広げて、一昼夜かけて水分を蒸発させ、乾燥固化させてブレンド膜を調製した。こうして得られる 3 種類の膜状ブレンド塊状物を、ここでは、それぞれ PVA/PLL、PAAm/PLL、PAAc/PLL と略記する。乾燥固化直後の試料膜は、水に溶解性であるため、2% のグルタルアルデヒド水溶液に 1 分間浸漬し、ドラフト中で乾燥させて水不溶性のブレンド膜を調製した。トマトかいよう病細菌および黄色ブドウ状球菌の増殖に及ぼすこれら試料の抗菌性を、実施例 1 の場合と同様の方法で調べた。得られた結果を表 - 3 に示す。

【0048】

【表 3】

| 検定菌 | PVA/PLL | PAAm/PLL | PAAc/PLL |
|------------|---------|----------|----------|
| トマトかいよう病細菌 | +++ | + | ++ |
| 黄色ブドウ状球菌 | + | + | + |

【0049】PVA、PAAm、PAAc を水溶性高分子として用いて得られたブレンド塊状物は、表 - 3 から明らかなように、グルタルアルデヒドで不溶化させた後もトマトかいよう病細菌および黄色ブドウ状球菌の増殖を効果的に阻止する働きを有することがわかる。なお、不溶化処理前の試料の場合も、上記した不溶化処理後の場合と同じように、トマトかいよう病細菌および黄色ブドウ状球菌の増殖を効果的に阻止する働きがあった。

【0050】実施例 10

実施例 9 で得られた PVA/PLL の水溶性試料から次

ぎのようにして水不溶性試料を調製した。23 の 0.5% のグルタルアルデヒドを含む pH 7.0 の 0.05 M リン酸緩衝液に、この PVA/PLL の水溶性試料を 2 分間浸漬し、試料を取り出し、室温で乾燥させることにより水不溶性試料を得た。トマトかいよう病細菌の増殖阻害に及ぼすこの水不溶性試料の効果を、実施例 1 と同様の方法で評価したところ、評価段階で ++ の結果が得られた。PVA/PLL は水溶性であっても、水不溶性であっても植物細菌の増殖を阻害することが明らかとなった。

【0051】なお、前記ポリリジン化合物として、実施例記載の臭酸塩、塩酸塩の型の化合物以外に、アンモニウム塩、硫酸塩、硝酸塩の型の化合物を使用した場合も、塩型にしない化合物を使用した場合も、また、それらの化合物の混合物を使用した場合も、上記実施例の場合と同様な結果が得られる。ポリリジン化合物は、塩の型になることによって水溶性になっている。前記水溶性高分子として、実施例記載のもの以外の前記水溶性高分子を使用した場合も、上記実施例と同様な結果が得られる。また、ブレンド塊状物としては、実施例記載の膜状、多孔質体状、ゲル状の他に、使用用途に合った任意の形状、例えば粉末状、ブロック状等の形状のものを調製することができる。

【0052】

【発明の効果】本発明によれば、ポリリジン化合物と水溶性高分子とからなり、膜状、多孔質体状、ブロック状、粉末状、ゲル状等のように形態が異なる抗菌性ブレンド塊状物が提供できる。このブレンド塊状物は、植物由来のトマトかいよう病菌、各種腐敗菌（レタス）、ア

ブラナ科野菜黒腐病等の細菌およびクワ芽枯病等の糸状菌の増殖を制御でき、また、最近院内感染菌として問題となっている黄色ブドウ球菌をはじめ動物由来の病原細菌の増殖も抑える効果を持つ。

【0053】昆虫生体高分子として絹蛋白質水溶液または羊毛ケラチン水溶液を用いると、調製できるブレンド塊状物は、透明性に優れ、機械的強度も特に良好となる。例えば、ポリリジン化合物と絹フィブロインとからなるブレンド塊状物は、透明で強度的にも優れ、生体適合性も良好であるので、医療分野を中心としたバイオ材料として利用できる。また、本発明のブレンド塊状物は、所望により水に対する溶解性を簡単に制御することが可能であり、膜状、多孔質体状、ブロック状、粉末状、ゲル状等の形態で形成することができる。所望により、ポリリジン化合物と水溶性高分子との混合水溶液を物体の表面上にスプレーし、乾燥固化してできる薄膜を不溶化させれば、耐久性に富んだ抗菌性薄膜を該物体の表面に被覆することができる。