

焼成ホタテ貝殻より得られる水酸化カルシウムのウイルス不活性化に関する評価

Evaluation of virus inactivation of calcium hydroxide obtained from heated scallop shell powders

○岡 将大(会員)¹⁾、杉山 久美子(非会員)²⁾、保坂 有都(非会員)²⁾、
大崎 千尋(非会員)³⁾、深澤 昌史(非会員)²⁾、鹿志毛 信広(非会員)⁴⁾、
徳田 浩一(非会員)⁵⁾、永石 雅基(非会員)⁶⁾、佐藤 博(会員)²⁾

1) 長崎国際大学大学院 薬学研究科、2) 長崎国際大学薬学部、3) 鹿児島大学、4) 福岡大学、
5) 株式会社クオリテ、6) 長崎県窯業技術センター

○Masahiro OKA¹⁾, Kumiko SUGIYAMA²⁾, Yuto HOSAKA²⁾, Chihiro OSAKI³⁾,
Masashi FUKASAWA²⁾, Nobuhiro KASHIGE⁴⁾, Hirokazu TOKUDA⁵⁾, Masaki NAGAISHI⁶⁾, Hiroshi SATO²⁾

1) Nagasaki International University, The Graduate School of Pharmaceutical Sciences, 2) Faculty of
Pharmaceutical Sciences, Nagasaki International University, 3) Kagoshima University, 4) Fukuoka University,
5) QUALITE Co., Ltd., 6) Ceramic Research Center of Nagasaki

Abstract: It is known that calcium carbonate (CaCO₃), which is the main component of shells, is converted into a calcium compound having an antibacterial effect by heating at a high temperature. We are trying to obtain further performance by using calcium hydroxide (Ca(OH)₂) purified by a further improved manufacturing method. In this study, bacteriophage was used to evaluate the virus inactivation of improved calcium hydroxide. As a result, by comparing purified water with 0.025% improved calcium hydroxide aqueous solution, the virus infectivity logarithm reduction value was 4, so it was judged that the 0.025% improved calcium hydroxide aqueous solution had a virus inactivating effect.

キーワード: 水酸化カルシウム Ca(OH)₂、焼成貝殻粉末 heated scallop shell powders、ウイルス不活化 virus inactivation

1. 緒言

貝殻の主成分である炭酸カルシウム(CaCO₃)は、高温焼成することで抗菌作用を有するカルシウム化合物へ変化することが知られている。我々は更に改良を加えた製法で精製した水酸化カルシウム(以降、「改良型水酸化カルシウム」とする)を使用し、更なる性能の向上を目指している。本研究ではバクテリオファージを用いた試験を実施し、改良型水酸化カルシウムのウイルス不活性化の性能を評価した。

2. 方法

E. coli ファージを調製し 10⁵PFU/mL の濃度になるように希釈した。凍結保存されている試験菌株 E.coli(以下、宿主菌)を LB 培地 6 mL に接種し、37±1 °Cで 24 時間培養した。前培養した培養液を

LB 培地 30mL に対し 30 μL 接種した。37±1 °Cで 4.5 時間培養し、OD₆₀₀ が 0.1~0.2 の範囲であることを確認した。調製したウイルス液を 10¹、10²、10³、10⁴倍に 10 倍段階希釈した。それぞれ希釈したウイルス液 1 mL に 0.025%、0.05% 改良型水酸化カルシウム溶液 9 mL を加え、30 秒間接触させ、このサンプルを感染価測定試料とした。あらかじめ本培養していた宿主菌 100 μL を試験管に分注し、各感染価測定試料を 1 mL 加えた。50 °Cに保温していた半流動寒天 2 mL を加え、手早く混合した後、普通寒天培地に重層した。固化させた後、36 ±2 °Cで 21 時間培養した。培養後、発生したプラークを数え、希釈倍率からウイルス感染価を求めた。比較検体の精製水と 80%エタノールにおいても同様の実験を行った。

3. 結果・考察

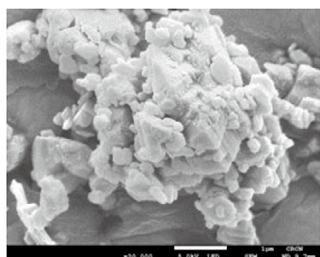


Fig.1 SEM image of the $\text{Ca}(\text{OH})_2$ powder, commercial reagent
Magnification: $\times 20000$

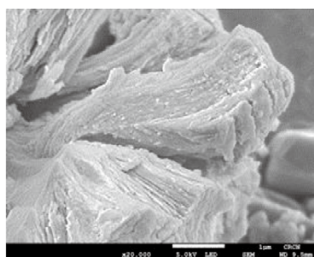


Fig.2 SEM image of the improved calcium hydroxide powder. Magnification: $\times 20000$

Nursing Society of University of Toyama 17(1) pp.39-49, 2008

3) Jun Sawai, Microbial control technology using baked shell calcium in foods, Agriculture and horticulture, 94(11) pp.956-965, 2019

改良型水酸化カルシウム粉末は、電子顕微鏡で観察した時の1つの粒子の形状が、市販の水酸化カルシウム粉末 (Fig.1、富士フィルム和光純薬製) と比較して、複数枚の鱗片が積層した形態の鱗片形態結晶となっている (Fig.2)。これにより、粉末の溶解性と溶解速度に顕著な違いが見られた。

精製水接触時のウイルス感染価は 1.68×10^5 PFU/mL であった。0.025%改良型水酸化カルシウム水溶液に15秒間接触させた群は、精製水接触時に比べて 10^4 のウイルス感染価の減少がみられた。一方、0.05%の改良型水酸化カルシウム水溶液に30秒間接触させた後では、全ての濃度のウイルス液と接触させてもプラークは観察されなかった。この結果は80%エタノール(陽性コントロール)を用いた結果と同等であった。

ウイルス不活化試験の評価については、ウイルス感染価対数減少値 ($\text{Log}_{10}(\text{初期} \div \text{各時間作用後の感染価})$) が用いられ、感染価対数減少値の値が4以上でウイルス不活化効果ありとみなされる。今回、精製水と0.025%改良型水酸化カルシウム水溶液との比較により、ウイルス感染価対数減少値が4であったため、ウイルス不活化効果ありと判断した。

4. 文献

- 1) Yuto Hosaka et al., Evaluation of virus inactivation of new calcium oxide na-CaO, The 141st Annual Meeting of the Pharmaceutical Society of Japan, 29P01-224, 2021
- 2) Ayumi Murata et al., Bactericidal and virucidal activities of heated scallop shell powders, Journal of the