

貴金属ナノ粒子を応用した新規抗菌コーティング液の開発

高村巧、谷口元*

Development of the new antibacterial coating liquid which applies the precious metal nanoparticles

Takumi Takamura, Hajime Taniguchi*

要 旨

貴金属ナノ粒子を応用した抗菌コーティング液の開発というテーマで共同研究が申し込まれた。白金や銀のナノ粒子等からいくつかの検討をした結果、食中毒菌やノロウイルスに対して効果の大きい抗菌コーティング液を開発した。商品力の高い低着色の銀イオンと微量の銀ナノ粒子と白金ナノ粒子の組み合わせで達成できた。

スーパーマーケットのような食品販売業や食品製造業の制服等の抗菌性は必須条件です。これに消臭剤のように霧吹きで吹き付けるだけで高い抗菌性を付与できる抗菌剤は市場性が高い。冬に大流行するノロウイルス対策として白金ナノ粒子の入った抗菌剤を開発できれば高い市場性を有する製品展開が可能というプロジェクトが立ち上がりました。

抗菌性を期待できる貴金属の中で、白金ナノ粒子は、白金の微粒子によって形成されたコロイドである^{1,2)}。白金ナノコロイド、プラチナナノコロイドなどとも言われる。抗酸化作用があるとされ、健康食品や化粧品成分として使われている^{3,4)}。

抗菌性を持つものとしては、他にオゾンや金属銀⁵⁾と金属銅がある^{6,8)}。銅はかなり以前から使用されてきたが、銀は1990年頃から使用されるようになった。銀は比較的人体への毒性が低いとされているが、化管法によると事業者が銀または銀化合物を使用するときは、使用量の届出が必要である⁵⁾。

一般的な用途として、銀ナノ粒子を抗菌性コーティングして利用することが増えており、いまや

多くの繊維やキーボード、創傷被覆材、生物医学デバイスには、細菌からの保護のために銀イオンを低い濃度で持続的に放出する銀ナノ粒子が含まれています^{6,8)}。銀イオンは、バクテリアなどに対して極めて強い殺菌力を示すので、浄水器の殺菌装置など、近年急速に殺菌剤として普及してきた⁵⁾。また銀イオンは感光性があり、普通の塩の状態ではすぐに還元されて黒い銀の単体粒子が析出してしまうため、最近ではチオ硫酸イオンなどを配位させた錯イオンを用いて、感光性をなくしたものを使用している⁵⁾。

貴金属ナノ粒子を産業技術総合研究所ナノ材料研究部門と連携して、貴金属ナノ粒子の試作品の技術開発と作製を依頼した。抗菌コーティング液や吹きかけた繊維の抗菌性をニッセンケン品質評価センターに委託して行った。

抗菌試験、抗ウイルス試験は、白金ナノ粒子水溶液原液、銀ナノ粒子水溶液原液、銀イオン水溶液を蒸留水で希釈混合して行った。

抗菌試験は食中毒菌の腸管出血性大腸菌 O157 (分離菌株)、黄色ブドウ球菌 (ATCC6538) を選択した。上記菌株について、標準寒天培地に増菌

*アイシン共聴開発株式会社

責任著者連絡先 (Takumi Takamura) :takamura@techakodate.or.jp

培養し、滅菌精製水に浮遊させ遠心洗浄し、再浮遊させたものを試験菌液とする。濃度は $10^5 \sim 10^7$ CFU/mL に調整する菌液濃度を標準寒天培地にて確認する^{6,8)}。

次に銀イオンに対して瞬間的な殺菌力を確かめるため、レジオネラ菌を BCYE 寒天培地にて培養後、「石炭酸係数法」を参考に実施した。試験液調整後一定時間ごとに1白金耳量を BCYE 寒天培地にて37℃ 7日間培養した。コロニーの有無で生菌の有無と判定した^{6,8)}。

さらに銀イオンに対して、ウイルスに対する不活性化効果試験はノロウイルスと同種のネコカリシウイルスを反応させた⁹⁾。

白金ナノ粒子は図1に示す通り、着色は100ppmでは濃い灰色だが、10ppm 以下なら薄い灰色で目立たない。一方銀ナノ粒子は濃い黄色で、20ppm 以下でも強い黄色を示す。図2に示す通り、混合液は予想どおり濃い黄色を示した。

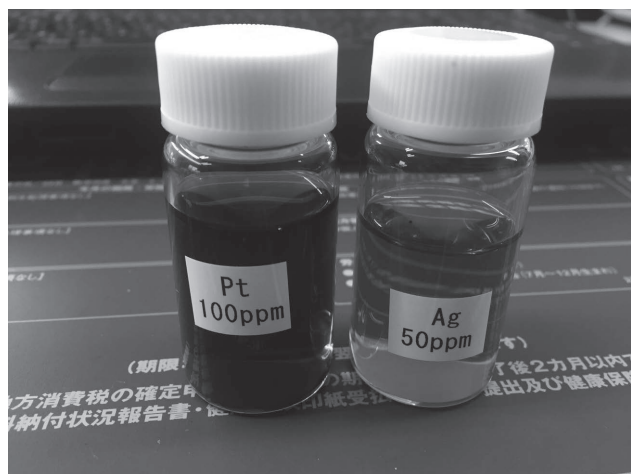


図1. 白金ナノ粒子水溶液原液と銀ナノ粒子水溶液原液

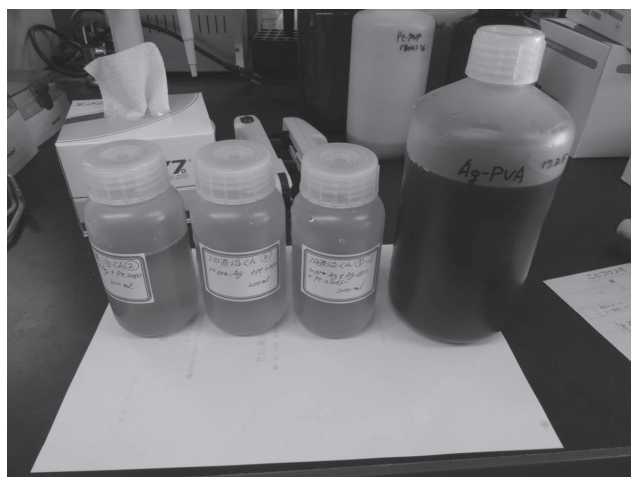


図2. 白金ナノ粒子、銀ナノ粒子水溶液の混合例

表1. 黄色ブドウ球菌の抗菌活性値

区分	生菌数対数値	減少値 R Log (Ct) - log (Tt)	
対照試料 (PBS)	接種直後	Log (C0) 6.18	
	10 分反応後	Log (Ct) 6.22	
(1)20ppmAg+Pt	10 分反応後	log (Tt) 2.29	3.9
(2)10ppmAg+Pt	10 分反応後	log (Tt) 2.64	3.6
(3)10ppmAg イオン+10ppmAg+Pt	10 分反応後	log (Tt) <1.00	>5.2

表2. 大腸菌 O157の抗菌活性値

区分	生菌数対数値	減少値 R Log (Ct) - log (Tt)	
対照試料 (PBS)	接種直後	Log (C0) 6.34	
	10 分反応後	Log (Ct) 6.38	
(1)20ppmAg+Pt	10 分反応後	log (Tt) 4.73	1.7
(2)10ppmAg+Pt	10 分反応後	log (Tt) 4.67	1.7
(3)10ppmAg イオン +10ppmAg+Pt	10 分反応後	log (Tt) <2.60	3.8

表1の黄色ブドウ球菌の抗菌活性値からいずれも良い結果を示した。対数減少値が3以上で強い抗菌性と言われている。3種とも3.9、3.6、5.2以上と非常に良い結果でした。

次に表2の大腸菌 O157の抗菌活性値から銀ナノ粒子と白金ナノ粒子の混合液では、1.7、1.7と2種とも抗菌性は弱いという結果でした。即効性のある抗菌剤としては抗菌性が足りないことが示された。銀イオンを含んだ抗菌液は対数減少値が3.8と良い結果を示した。同時に行った試験でも、白金ナノ粒子は20ppm では単独でもある程度の抗菌力を示すが、それでも瞬間的な効果は期待できない。銀ナノ粒子は白金同様50ppm では単独でも強い抗菌力を示すが、それ以下では効果は劣る。その中で銀イオンは10ppm 入れただけで十分な効果が得られることが知られた。

銀イオンの効果が高かったので、抗菌性と抗ウイルス性を詳細に検討した。十分な効果を示した混合液による反応後の培養液の状態を図3、図4に示す。黄色ブドウ球菌は全く増えていないが、殺菌に苦労していると言われる腸管出血性大腸菌 O157は完全には死滅していない様子が判る。

次に初期の目的だった抗ウイルス性の試験結果を表3に示す。表3に示す通りノロウイルス対策として同種のネコカリシウイルスの結果は50ppmでは3桁近い高い値を示し、10ppm でも2桁の減少の効果が認められた。

表4にレジオネラ菌の不活性化試験結果を示す。次亜塩素酸のような強い殺菌剤でないと不活性化しないとされるレジオネラ菌の不活性化試験^{6,8)}

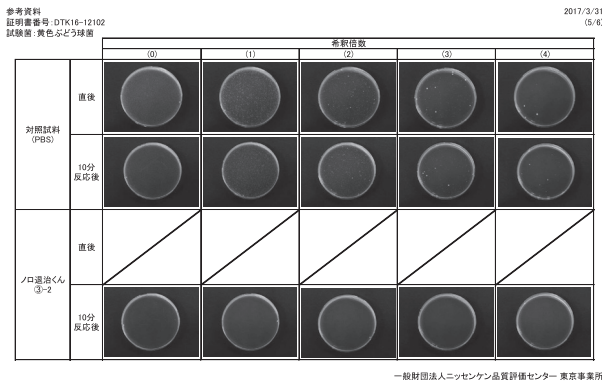


図3. 10ppmAg イオン +10ppmAg+Pt 試験液の黄色ブドウ球菌の抗菌性試験結果

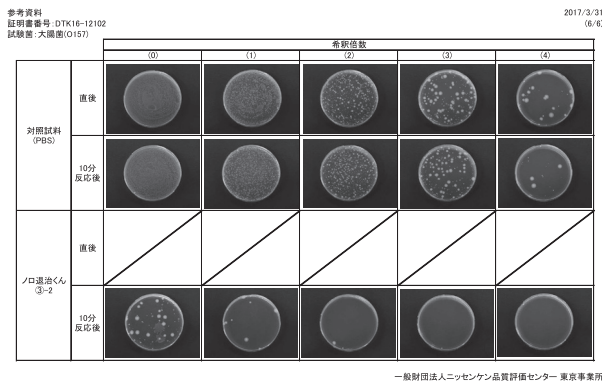


図4. 10ppmAg イオン +10ppmAg+Pt 試験液の大腸菌 O157の抗菌性試験結果

の結果は、10ppm でも2分後には生菌がないという判定となり極めて良い結果を示した。銀イオンは10ppm でもかなり即効性のある強い抗菌性を示した。ただ銀イオンのテストには塩素イオンの存在で数値にばらつきが出た⁵⁾。

この対策も含めて銀イオンの供給源となる銀ナノ粒子と抗酸化力を期待した白金ナノ粒子を混合した混合液で有益な結果が得られた。銀ナノ粒子と白金ナノ粒子の量はコストと性能のバランスを見ながら決定した。また理由ははっきりしないが、特に銀イオンに白金ナノ粒子の微量添加で試験結果に安定した効果を示した。白金ナノ粒子の安定剤がなんらかのよい影響を与えたと考えている。

以上の結果から銀イオンと低濃度の銀ナノ粒子・白金ナノ粒子にて瞬間的な抗菌力と銀イオン供給と抗酸化力を狙った新規抗菌剤を作製した。現在商品価値を高めるため若干の変更を加え市場調査をしている。今後適用範囲を広げ、空調用フィルターへの適用も検討している。

表3. ネコカリシウイルス試験結果 (TCID₅₀/0.1mL)

区	試験開始時	開始後 30 秒
対照区	10 ^{4.4}	10 ^{4.4} (25000)
10ppm 試験区	10 ^{4.4}	10 ^{2.5} (320)
50ppm 試験区	10 ^{4.4}	10 ^{1.5} (32 未満)

試験使用ウイルス濃度: 10^{6.57}TCID₅₀/mL

表4. レジオネラ菌の不活性化試験結果

試験液濃度	試験観察時間 (分)										
	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4	4.5	5
1ppm	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
5ppm	○	○	○	○	○	×	×	×	×	×	×
10ppm	○	○	○	○	×	×	×	×	×	×	×

試験液 濃度	試験観察時間 (分)									
	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1ppm	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
5ppm	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
10ppm	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×

謝 辞

貴金属ナノ粒子に貴重なお助言・ご協力いただいた国立研究開発法人 産業技術総合研究所ナノ材料研究部門の中尾幸道博士に心から感謝いたします。

参考文献

- Li, W. R.; Xie, X. B.; Shi, Q. S., Zeng, H. Y., Ou-Yang, Y. S.; Chen, Y. B. Appl Microbiol Biotechnol. 2010, 85(4), 1115.
- Lubick, N. Environ. Sci. Technol., 2008, 42 (23), 8617.
- プラチナナノコロイド、白金ナノコロイド - 「健康食品」の安全性・有効性情報 - 国立健康・栄養研究所
- 宮本有正 ほか、「プラチナナノコロイドの化粧品への応用 (特集 化粧品と材料 - 他分野との双方向の応用展開) - (化粧品への応用技術)」工業材料 54(8), 57-61, 2006-08, NAID 40007395223
- 『化学大辞典』共立出版、1993年
- 抗菌作用を持つ材料、抗菌化研株式会社
- 抗菌製品技術協議会、A8. 品質と安全性に関する自主規格
- 抗菌製品技術協議会、A8. 品質と安全性に関するデータ等の自主登録規定
- 「ウイルス実験学 総論 改訂二版 丸善株式会社 ウイルス中和試験法」