金属材料の抗菌性

Antibacterial Effect of Metal Materials

佐藤 嘉洋*

Yoshihiro SATO

Key Words: Bacteria, Biofilm, Antibacterial Metal Materials, Microbiologically Influenced Corrosion

1. はじめに

我々の身の周りには多くの抗菌製品が溢れているように見える。衣類から食器、バス・トイレ製品、洗面台、文房具にいたるまで多くの製品に「抗菌」の表示を見ることができる。一時は抗菌ブームとも言われ、いたるものに「抗菌」の表示が見られたが、最近ではそのような風潮も去り、必要な部分に必要な抗菌機能が施されてきているように感じられる。そもそも「抗菌」とは、JIS¹⁾の定義によれば「製品の表面における細菌の増殖を抑制する状態」であり、微生物を完全に死滅させる「滅菌」や「殺菌」とは区別して使われており、明確に定義された用語として理解されている。したがって、「抗菌」は製品のイメージや消費者の感覚に訴えるための情緒的な言葉ではなく、製品の一つの機能として考えられるべきであろう。最近ではその機能を保証する表示として、抗菌製品技術協議会による SIAA (Self-Imposed Authorization for Antimicrobial-article (抗菌製品の自己認証)) マーク制度がある。これは 1999 年から実施されており、2000 年に抗菌加工製品—抗菌性試験方法・抗菌効果¹⁾ (JIS Z 2801) の JIS 制定に伴い、JIS 適合 SIAA マーク表示されるようになった。また、繊維製品には、抗菌・防臭、制菌加工として繊維評価技術協議会が認証する SKE マークが使用されている。「抗菌」機能という考え方は、日本人の清潔・安全志向から生まれたとも考えられる日本のオリジナルブランドでもある。2007 年には抗菌製品技術協議会の抗菌性評価試験法が ISO で承認され、KOHKIN (抗菌) をあしらった SIAA マークが国際商標になっている。このような事情のもとで多くのプラスチック、セラミックスおよび繊維等に抗菌処理加工が施され、我々が日常生活で多くの抗菌製品を目にする機会が増えたものと考えられる。

一方、この「抗菌」機能を金属材料に適用しようとする試みが行われている。これまでの抗菌機能製品は前述の如くプラスチック、セラミックスおよび繊維等に多く、金属材料への適用は限られていた。これは工業用材料として

の金属材料に「抗菌」機能化が必要な部分があることが認識されてこなかったためであると考えられる。金属材料の腐食の問題は古くから研究されてきたが、微生物腐食²⁾ (Microbially Influenced Corrosion: MIC) が一般に認識されるようになったのは近年のことである。微生物腐食とは金属の腐食に微生物が関与または腐食を促進させる効果を持つ腐食のことであり、微生物腐食による工場施設・工業製品の金属材料の損失は甚大であり、年間 30 ～ 50 億ドルにのぼるとの試算³⁾もある。また、食品工場の生産設備において洗浄が難しい場所で微生物が大量に繁殖し、食品製造機能が失われてしまう場合もある、このような微生物の影響が懸念される場合には大量の殺菌剤が使用されるのが通常であり、殺菌剤の大量投与・廃棄による生態系への悪影響も心配されている。このような背景の下で日本では、金属材料の抗菌機能化の研究⁴⁾に対する関心が高くなりつつあるように思われる。金属材料に抗菌機能を付与することができれば、このような問題の幾らかは解決できるだろうし、金属材料にこそ抗菌機能化が必要とされているように思われる。本稿では、金属材料の抗菌特性と関連する事項について述べる。

2. 金属材料の抗菌性

金属元素の幾つかは人体に必須であることはよく知られているが、ヒ素やカドミウムのように害毒を及ぼす金属元素も多く、量が多くなればかなりの金属元素が有害であるとの見解⁵⁾もある。このような金属元素の中で微生物には有害であるが、人体には比較的害の少ない金属として銀、銅、亜鉛等が古くから知られている。特に、銀は無機系抗菌剤の主剤として用いられており、銅や亜鉛等が副剤として添加されている例が多い。無機系抗菌剤はゼオライト、シリカゲル或いはガラス等の担体にこれらの金属を担持させた製品⁶⁾が多く、微粒子粉末や針状結晶として市販されている。「銀入り」等と書かれたスプレーや抗菌製品には、このような抗菌剤が添加されている。また、日本では銀や

* 大阪市立大学大学院工学研究科 (〒 558-8585 大阪市住吉区杉本 3-3-138)
Osaka City University (3-3-138 Sugimoto, Sumiyoshi-ku, Osaka, 558-8585, Japan)

Fig. 1 Experimental result of contact method.
(a) In the case of *Staphylococcus aureus*
(b) In the case of *E. coli*

銅を添加した抗菌性ステンレス鋼等も開発されてきている。しかし、これらの製品の抗菌作用については、未だよく解っていない部分も多くある。例えば銀の抗菌作用については、幾つかのメカニズムが提案⁷⁾されており、1) 銀の触媒作用により空气中または水中の酸素が活性酸素になり、微生物に損傷を与える、2) 微量の銀イオンが微生物の細胞表面や内部でタンパク質や酵素等と反応し各種障害を引き起こし、微生物に損傷を与える、等のように考えられている。いずれにしても、抗菌剤として利用されている金属はごく一部であり、多くの金属の抗菌性は未だ明らかになっていない。これは統一した抗菌性試験方法がJIS¹⁾として定められたのが最近であり、これから評価が本格的に行われることも一因として考えられる。

一般に抗菌性の試験方法には、フィルム密着法、滴下法およびシェイク法等がある。フィルム密着法および滴下法は、調整した菌液を一定時間試料表面に接触させて評価する方法であり、試験時間中に菌液にフィルムを被せるのがフィルム密着法と呼ばれている。シェイク法は、試料を菌液中に浸漬して一定時間振とうする方法である。JIS¹⁾では試験結果の再現性、試験操作の簡便性等を考慮して、フィルム密着法により試験することが定められている。シェイク法については、試験方法の原理が製品の使用法とかけ離れている、等の理由のため採用されなかったようである。

Fig. 2 Valiation of viable bacteria count as a function of experimental time.

JIS¹⁾のフィルム密着法に基づいて、宮野らは、チタン、コバルト、ニッケル等の9種類の純金属の抗菌性を評価⁸⁾している。Fig. 1に、この結果を示す。(a)には黄色ブドウ

球菌 (*Staphylococcus aureus*)、(b)には大腸菌 (*E. coli*) に対する抗菌性試験結果を示す。JISではこの2種類の細胞膜構造の異なる微生物に対して試験することになっている。この結果を見ると、(a)の黄色ブドウ球菌の場合には縦軸に示す生菌数がチタンとスズでは対照 (Control) とほぼ同数であり、抗菌性が認められない。他のコバルト、ニッケル、銅、亜鉛、ジルコニウム、モリブデンおよび鉛では、生菌数が対照に比べて2桁以上減少しており抗菌性が有ると判定される。JISでは試験片上の菌液の24時間後の生菌数が対照に比べて2桁以上減少、即ち生菌の99%以上が死滅する場合を抗菌性有りとして判定している。(b)の大腸菌では、スズ以外の金属は抗菌性が有ると判定される。チタンは黄色ブドウ球菌に対しては抗菌性が無く、大腸菌に対しては抗菌性が有ることになる。これについては、2種類の微生物の細胞表面構造の違いより説明されている。JISでは試験開始24時間後の生菌数の変化により抗菌性の有無を判定するが、これでは24時間以内での生菌数の変化が分からないので、抗菌性が認められる7種類の金属について24時間以内での黄色ブドウ球菌に対する生菌数を調べた結果⁸⁾をFig. 2に示す。抗菌性が認められる金属でも生菌数の減少挙動は異なり、鉛や銅の場合には極短時間で生菌が急激に減少するのに対し、モリブデンやジルコニウムでは比較的緩やかに減少している。この減少速度を各金属の殺菌性能の指標と考えて減少速度を直線近似して、生菌数が1/10になる時間をD値 (Decimal Reduction Value) として示したのがFig. 3である。鉛や銅はD値が小さく抗菌性の高い材料と考えられ、モリブデンやジルコニウムではD値が大きく比較的抗菌性が低いと考えられる。

同様にフィルム密着法により21種類の金属元素について抗菌性を評価した川上らの結果⁹⁾をFig. 4に示す。Fig. 4(a)は試験菌を黄色ブドウ球菌とした場合の結果であり、Fig. 4(b)は大腸菌での結果である。ここでは24時間以内の生

Fig. 3 Decimal reduction value of each tested metals estimated through film contact method.

Fig. 4 Death rate constant.
(a) *Staphylococcus aureus*
(b) *Escherichia coli* Elements not tested are hashed.

菌数の減少曲線の勾配の最大値を死滅速度定数として示しており、白色の金属元素について試験を行っている。銅、銀、コバルト、アルミニウム、ニッケル、亜鉛、パラジウム、モリブデンおよびタンゲステンには抗菌性が認められた。一方、シリコン、チタン、クロム、マンガン、スズ、タンタルおよび金については抗菌性は認められなかった。また、白金および鉛は大腸菌についてのみ抗菌性を示し、バナジウムおよびジルコニウムは黄色ブドウ球菌についてのみ抗菌性を示すことを示している。

Fig.5 は、JIS 法により試験した後の黄色ブドウ球菌を透過型電子顕微鏡 (TEM) で観察した結果⁸⁾である。Fig. 5 (a) は対照のものであり、球状で細胞膜は2重の明瞭な輪郭が

Fig. 5 TEM micro-photograph of the shape of *Staphylococcus aureus* after film contact method.

確認される。細胞の中央部には核が鮮明に確認され、原形質が細胞膜内部に均一に分布しており、正常な状態の細胞の外観と判断される。Fig. 5(b) は抗菌性が確認されないスズの観察結果である。外観は対照のものと同様である。Fig. 5 (c) に銅、Fig. 5 (d) に亜鉛、Fig. 5 (e) に鉛の結果を示す。これらは、いずれも抗菌性が確認された金属である。銅では (c) (i) のように外観はほぼ球状の形状が維持されているが、原形質には白い領域が確認され、(c) (ii) に見られるように、細胞膜を形成する輪郭線が不明瞭であり、原形質も不均一な分布を示している。亜鉛では (d) (i) のように、形状が崩壊している細胞が一部で確認される。(d) (iii) の矢印は、細胞膜構造が破壊し、原形質が外部に漏れ出している。鉛では、(e) (i) のように、形状が崩壊している細胞が一部で確認され、(e) (ii) や (iii) では原形質が白変し核の存在が不鮮明になっており、矢印で示す箇所では原形質に斑点状の黒い組織が観察され、細胞膜の輪郭線が不鮮明になっている様子が観察される。このように、抗菌性が有る

Fig.6 E-SEM images showing microfouling on different coupon surfaces exposed to a freshwater pond for 4 weeks.

金属とそうでない金属に微生物を接触させることにより、細胞に及ぼす影響が異なることは興味有る結果であり、抗菌作用の解明に役立つものと考えられる。

3. 金属材料の抗菌性とバイオフィーム

金属材料を腐食させる微生物腐食や配管内等で病原性の微生物が増殖して害を及ぼす場合には、金属表面にバイオフィームが生成・発達することが条件になると言われている。我々の身の回りでの環境では、水と接する材料表面に各種の物質が吸着しており、このような表面に微生物が付着し、増殖過程で細胞外多糖を生産して自らの生活環境を整える。ここに多様な微生物が高密度に棲息して発達しているのがバイオフィームであり、フィルムと言っても薄っぺらものではなく、3次元的構造を有していると考えられている¹⁰⁾。ここで、金属表面に生成するバイオフィームについて少し考えることにする。

抗菌性の材料とそうでない材料とで微生物の付着やバイオフィームの生成・発達に違いがあるのか興味有る処であるが、これらの点について幾つかの報告^{11, 12)}がある。銀や銅を添加して抗菌化したステンレス鋼と通常のステンレス鋼を微生物を培養した菌液中に浸漬した後、表面を観察すると通常のステンレス鋼には全面にバイオフィームが生成・発達しているのに対して抗菌化ステンレス鋼では菌の付着が観察されるもののバイオフィームの生成・発達が著

Fig.7 Diatom cell density and percentage area cover of biofilm over different coupons exposed to a freshwater pond for 30 days.

Fig.8 Monthly change of bacterial population on material surfaces environment.

(a) SUS 304 stainless steel

(b) Antibacterial plating stainless steel

しく抑制された実験結果¹¹⁾が報告されている。また、フィールド実験として抗菌化ステンレス鋼と通常のステンレス鋼を池の中の水深 0.5m の位置に 28 日間浸漬して表面を観察した結果¹²⁾を Fig. 6 に示す。通常の 304 型ステンレス鋼 (304 と表示) では表面に珪藻類、細菌類およびその他の付着物が多数観察されるのに対して、銀コーティングステンレス鋼 (BC と表示) および銀を 0.039mass% 添加した銀添加ステンレス鋼 (514 と表示) 表面には、それらがほとんど観察されなかった。この結果を定量化したのが Fig. 7¹²⁾である。この他にも、日常環境において抗菌化ステンレス鋼への微生物付着やバイオフィーム生成・発達の抑制効果が試験^{13, 14)}されている。Fig. 8 は、100 人規模の給食製造設備における厨房内調理台脚部の細菌数の変化を 1 年間に亘り調べた結果¹³⁾である。Fig. 8 (a) は通常の 304 型ステンレス鋼脚部の結果であり、Fig. 8 (b) は抗菌メッキを施したス

テンレス鋼脚部の結果である。抗菌処理を施すことにより、細菌数が 1/10 以下に減少しており、優れた抗菌効果を発揮していることがわかる。

このように材料の抗菌化は、微生物の付着やバイオフィルムの生成・発達の抑制に一定以上の効果があると考えられる。しかし、この抑制作用も時間経過とともに低下するという指摘や初期付着にはあまり関係しないがバイオフィルムの発達に影響を及ぼすとの考えもあるようだ。いずれも今後の検討課題と考えられる。

4. まとめ

金属材料の研究においても抗菌性やバイオフィルムは、新しい切り口ではないだろうか。微生物などというと、我々材料学の側の研究者には何か取っ付き難い印象を与えるが、生物系の研究者にとっても金属材料などは親しめない無味乾燥なシロモノのようである。しかし、この分野の研究は、材料学にとっても生物学にとっても重要な研究分野になっていくように思われる。

また、金属材料の抗菌機能化は、材料の適用範囲に大きな広がりを持つ可能性を秘めている。小さいものでは、例えば歯科用材料の抗菌機能化が考えられるし、大きなものでは微生物腐食軽減の観点からダムの水門、水処理施設や工場施設の配管等における構造材料の抗菌機能化が考えられる。しかも金属材料の抗菌機能化という視点では、日本が世界をリードしている分野の一つでもある。日本の材料学研究のパワーと生物系研究者がタッグを組めば、「抗菌機能化金属材料」という日本発の世界ブランドを創り上げることも夢ではないと考えられる。今後、日本が環境分野の技術で世界に貢献する場合にも金属材料の抗菌機能化は一

つの大きなツールになるだろうと考えられる。金属材料の抗菌機能化の研究は、緒に就いたばかりである。今後この分野の研究が、色々な研究分野の方々の熱意と協力により発展することを切望し、終わりとする。

参考文献

- 1) JIS Z 2801、抗菌加工製品—抗菌性試験方法・抗菌効果 (2000).
- 2) 天谷尚：ふえらむ、12 (2007) 6, 347-352.
- 3) D. W. Walsh: Corrosion 99, NACE International, Houston (1999), Paper No.188.
- 4) K. R. Sreekmari, Y. Sato and Y.Kikuchi: Mate. Trans., 46(2005)7, 1636-1645.
- 5) 山本玲子：まてりあ、43 (2004) 8, 639-642.
- 6) 誰でもわかる抗菌の基礎知識、西村民雄監修、テクノシステム、東京、(1999)、143.
- 7) 横田毅、栃原美佐子、高尾研治、佐藤進、山下英明：まてりあ、40 (2001) 1, 85-87.
- 8) 宮野泰征、小山訓裕、K. R. スリクマリー、佐藤嘉洋、菊地靖志：鉄と鋼、93 (2007) 1, 57-65.
- 9) H.Kawakami, K.Yoshida, Y.Nishida, Y.Kikuchi and Y. Sato: ISIJ Intern., 48 (2008) 9, 1299-1304.
- 10) 森崎久雄：ふえらむ、12 (2007) 4, 191-198.
- 11) 菊地靖志：ふえらむ、12 (2007) 5, 275-281.
- 12) K. R. Sreekmari, K. Nandakumar, K. Takao and Y.Kikuchi: ISIJ Intern., 43 (2003) 11, 1799-1806.
- 13) 山田貞子、漆原亘、中山武典：防菌防黴、29 (2001) 12, 763-768.
- 14) 鈴木聡、塩川光一郎、平松直人：防菌防黴、29 (2001) 7, 433-444.