無電解ニッケル-リン-PTFE 複合めっき皮膜の抗菌性と生体物質に対する吸着親和性

福崎智司*, 平松 実*, 生貝 初**, 高橋和宏*, 山田貞子***

*岡山県工業技術センター(〒701-1296 岡山県岡山市芳賀 5301)

**鈴鹿工業高等専門学校 生物応用化学科(〒510-0294 三重県鈴鹿市白子町)

***岡山県産業振興財団(〒701-1296 岡山県岡山市芳賀 5301)

Antibacterial Ability and Affinity for Biomaterial Adsorption of Electroless Nickel-Phosphorus-PTFE Plated Composite Coating

Satoshi FUKUZAKI*, Minoru HIRAMATSU*, Hajime IKEGAI**, Kazuhiro TAKAHASHI* and Sadako YAMADA***

*Industrial Technology Center of Okayama Prefecture(5301 Haga, Okayama-shi, Okayama 701-1296)

**Department of Chemistry and Biochemistry, Suzuka National College of Technology(Shiroko-cho, Suzuka-shi, Mie 510-0294)

***Okayama Prefecture Industrial Promotion Foundation(5301 Haga, Okayama-shi, Okayama 701-1296)

The antibacterial activity for pathogenic and food-poisoning bacteria and affinity for biomaterial adsorption of electroless Ni-P-PTFE plated composite coating on stainless steel were studied. The antibacterial abilities of electrolytic Ni plated and electroless Ni-P plated coatings on stainless steel for *Escherichia coli* increased with decreasing their spontaneous electrode potentials, suggesting that the amount of Ni^{2+} dissolved from the plated coatings was correlated with the magnitude of antibacterial ability. Growth of pathogenic and food-poisoning bacteria, i. e., *Escherichia* spp. (*coli* and O 157), *Staphylococcus* spp. (*aureus* and MRSA), *Salmonella* spp., *Klebsiella* spp., and *Pseudomonas* spp., was inhibited completely after being in contact with electroless Ni-P-PTFE plated coating for 24 h. The Ni-P and Ni-P-PTFE plated coatings showed high affinities for *E. coli* adhesion and bovine serum albumin (BSA) adsorption compared with those of stainless steel. Kinetic analysis of cleaning curves of BSA-fouled Ni-P and Ni-P-PTFE plated coatings showed that the first-order desorption rate constants for Ni-P and Ni-P-PTFE plated coatings were lower by one order of magnitude than those for stainless steel. These results indicated that Ni-P-PTFE plated coating had a significantly high antibacterial ability, whereas its surface was more susceptible to biofouling than stainless steel.

Keywords : Electroless Ni-P-PTFE Plated Composite Coating, Antibacterial Ability, Pathogenic Bacteria, Affinity for Biomaterial Adsorption, Cleanability

1. 緒 言

近年、食品および医療関連施設では、微生物に起因する食性疾患や院内感染の防止が重要な課題となっており、設備、機器、器具などの洗浄・殺菌操作の見直しや新たな衛生管理方法の導入が進められている^{1)~4)}。多くの微生物は、さまざまな環境に適応しながら各種の物質表面に付着して生存している。従来、食品・医療環境での微生物汚染源として、微生物が膜状に集積したバイオフィルムの関与が強く指摘されてきた^{5),6)}。バイオフィルムの形成においては、その初期段階にタンパク質などの有機物による“コンディショニングフィルム”が形成され、その上に微生物が付着すると考えられている⁷⁾。また、バイオフィルムは金属の腐食⁸⁾や配管内の液流速および伝熱効率の低下⁹⁾を引き起こす原因ともなる。一般に、食品・医療施設では次亜塩素酸ナトリウムが殺菌剤と

して汎用されているが^{4),10)}、浮遊菌と比較してバイオフィルム形成菌は遊離塩素に対して強い抵抗性を示すことが知られている¹¹⁾。したがって、バイオフィルムによる危害が想定される場合、基材表面に微生物が付着しにくいような、あるいはバイオフィルム生成の初期段階で付着した微生物を死滅させるような抗菌処理などの表面処理が必要となる。

食品・医療分野および生活関連資材における抗菌処理では、安全性が高く、かつ持続性に優れた無機系抗菌剤を利用した表面処理法が注目されている^{12),13)}。著者らは、これまでに抗菌性を有する金属のめっき皮膜について検討し、電気ニッケル(Ni)めっきと無電解ニッケル-リン(Ni-P)めっきが優れた抗菌性を有すること、そして菌液との接触後も表面外観に変化を起こさず、意匠性に優れることを報告した¹⁴⁾。特に、無電解 Ni-P めっきは、複雑な形状の部品にも均一な皮膜を得ることができるうえ、耐食性や耐摩耗性に優れている点が

特長である。さらに、テフロン(PTFE)粒子を分散共析させた無電解 Ni-P-PTFE 複合めっき皮膜は、撥水性、摺動性、非粘着性(離型性)を兼ね備えていることから¹⁵⁾、高い清浄度が要求される食品・医療分野の機器・器具類への適用が期待されている。一方、抗菌材料も表面に有機物汚れが付着(コンディショニングフィルムが形成)すると、抗菌性能が急激に低下することが指摘されている。これまで、めっき皮膜の抗菌性については報告されているが^{12),14)}、めっき皮膜の抗菌性能を向上させる諸因子の影響や有機物汚れに対する汚染性と洗浄性については十分に検討されていないのが現状である。

本研究では、ステンレス鋼表面に施した電気 Ni めっき皮膜および無電解 Ni-P めっき皮膜の抗菌性に及ぼす自然電極電位の影響と、感染性および食中毒細菌に対する無電解 Ni-P-PTFE 複合めっき皮膜の抗菌性について評価した。さらに、無電解 Ni-P および Ni-P-PTFE めっき皮膜に対する大腸菌とタンパク質の吸着特性ならびにアルカリ洗浄における洗浄性を定量的に解析した。

2. 実験方法

2. 1 めっき皮膜の調製

めっき基材として、抗菌試験用にはステンレス鋼(SUS 304)製の板材(50 mm×50 mm×1 mm; JFE スチール(株))を用い、吸着・洗浄実験用にはステンレス鋼(SUS 304)製のベアリング球(ca. 3 mmφ; ㈱ツバキナカシマ)を用いた。各々の基材へのめっきに際し、皮膜の密着性を向上させるために、ウッド浴(NiCl₂, 240 g; conc. HCl, 0.125 dm³; per dm³)で0.1μm厚にニッケルストライクめっきを施した。板材への電気 Ni めっきは、ワット浴(NiSO₄, 240 g; NiCl₂, 45 g; H₃BO₃, 45 g; per dm³)を用いた(膜厚: 10μm)。電気 Ni めっきの自然電位を変化させるために、半光沢剤(NP-CF 1; 荏原ユーザライト(株))または光沢剤(NP-6; 荏原ユーザライト(株))をめっき浴に添加した。板材への無電解 Ni-P めっき(光沢)は、市販浴のニムデン NEL(上村工業(株))を用いた(膜厚: 10μm)。浴組成は、皮膜中の P 含有率が 9 wt% になるように調製されている。無電解 Ni-P-PTF めっき(光沢)は、市販浴のサイマーコート(㈱アクシム)を用いた(膜厚: 20μm)。浴組成は、皮膜中の P および PTFE(粒径: ca. 0.2μm)含有率が各々 7 wt%, 31 vol% になるように調製されている。ベアリング球への無電解 Ni-P(光沢)および無電解 Ni-P-PTFE(光沢)には、市販浴のカニゼン(㈱アクシム)およびサイマーコート(㈱アクシム)を用いた(膜厚: 20μm)。無電解 Ni-P および無電解 Ni-P-PTFE めっき皮膜は、いずれも 300°C で 1 時間加熱処理した。

各めっき皮膜材料および対照実験用のステンレス鋼(板材、ベアリング球)は、エタノール(99.5%)中で 15 分間超音波洗浄を行い、60°C で 12 時間乾燥させて実験に使用した。

2. 2 抗菌試験

供試菌として *Escherichia coli* NBRC 3972, *E. coli* ATCC 25922, ペロ毒素産生菌である *E. coli* O 157 HA 1(VT 1+, VT 2+), *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* NBRC 12732, *S. aureus* B 9983, メチシリン耐性菌

である *S. aureus* F-10(MRSA), *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Klebsiella pneumoniae* ST 101, *Pseudomonas fluorescens* NBRC 14160 を用いた。各菌株の菌液の調製は、以下の手順で行った。保存用スラントから菌株を白金耳掻き取り、0.005 dm³ の普通ブイヨン(NB)培地(Difco Laboratories Inc.)に懸濁した後、17 時間静置培養した。その後、菌体を遠心分離(2,300×g, 5 min)で回収し、500 倍希釈 NB 培地(1/500 NB)への懸濁、遠心分離を 3 回繰り返して洗浄した後、再度 1/500 NB に懸濁して菌液とした。

抗菌性の試験は、ポリエチレン(PE)フィルムを用いたフィルム密着法¹⁶⁾に準じて評価した(n=3)。シャーレ内に置いた試験片(50 mm×50 mm)に菌液 0.4 mL を滴下し、PE フィルム(40 mm×40 mm)を被せた。その後、シャーレに蓋をし、温度 35°, 相対湿度 90% 以上で 24 時間保温した。生菌数は、試験片から洗い出した菌液を平板希釈法(寒天培地)にて 24~48 時間培養した後、形成されたコロニー数(Colony Forming Unit: CFU)で評価した。抗菌活性値は、24 時間接触後の PE フィルム(対照区)上の生菌数の平均値(N_c)とめっき皮膜上の生菌数の平均値(N_p)の対数値の増減値差で算出した¹⁶⁾：

$$\text{抗菌活性値} = \log(N_c/N_p) \dots\dots\dots (1)$$

2. 3 *E. coli* の付着実験

めっき処理および未処理ベアリング球への *E. coli* NBRC 3972 の付着は、生理食塩水で調製した *E. coli* 懸濁液(10⁴ CFU/dm³, pH5.2)0.02 dm³ とベアリング球 400 個を 0.05 dm³ のガラス製バイアルに入れ、振とう接触(40°C, 2 h, 60 rpm)させて行った(n=3)。付着後、*E. coli* が付着したベアリング球を別のバイアル瓶に取り出し、ベアリング球を 0.02 dm³ の生理食塩水(pH5.7)で 3 回洗浄(40°C, 10 min, 60 rpm)した。次に、付着量を測定するため、*E. coli* が付着したベアリング球に 0.02 dm³ の 0.1 M NaOH 溶液を添加し、バイアルを煮沸水に 10 分間浸漬させて *E. coli* 細胞を溶菌させた。溶液中に溶出したタンパク質およびベアリング球に残留したタンパク質を測定し、*E. coli* 乾細胞(水を除く)のタンパク質含量(50 wt%)¹⁷⁾を基に乾燥菌体量に換算した。

2. 4 牛血清アルブミン(BSA)の吸着・洗浄実験

モデルタンパク質として、BSA(結晶/Lot M 9 B 4259; ナカライテスク(株))を用いた。めっき処理および未処理ベアリング球への BSA の吸着は、0.05 dm³ のガラス製バイアルに BSA 溶液(3 g/dm³, pH5.2, 10⁻³ M KNO₃)0.01 dm³ とベアリング球 200 個を入れ、振とう接触(40°C, 2 h, 60 rpm)させて行った(n=3)。吸着後、BSA が吸着したベアリング球を別のバイアル瓶に取り出し、10 mL の 10⁻³ M KNO₃ 溶液で 3 回洗浄した。BSA の吸着量は、0.1 M NaOH 溶液を用いた回分洗浄処理(40°C, 2 h, 60 rpm)後の脱着量と残存量から算出した¹⁸⁾。

洗浄実験は、BSA が吸着しためっき処理および未処理ベアリング球 200 個をガラス製注射器(内径 12 mm×長さ 45 mm)に充填(空隙率 40%)した後、湯浴中で 40°C に保温し、定流量ポンプで 0.05 M 水酸化ナトリウム水溶液を 0.26 mL/min の流速(空間時間=7.7 min)で供給して行った(n=3)。カラム出口から排出される洗浄液を経時的に分取し、

各分画中の BSA を定量して洗浄曲線を作製した。洗浄曲線の定量的解析は、著者らが誘導した脱着モデル式(BSA 分子の脱着が速度論的に 2 種類の機構-“速い脱着と遅い脱着”-で起こると仮定)と非線形最小二乗法を用いて解析した¹⁹⁾：
$$\ln \Gamma = \ln \{ \exp(\ln \Gamma_0^f - k^f t) + \exp(\ln \Gamma_0^s - k^s t) \} \cdots \cdots (2)$$

ここで、 t は洗浄時間、 Γ は時間 t での BSA の残存量、 Γ_0 は $t = 0$ での初期 BSA 濃度、 k は Γ に関する一次脱着速度定数、添え字 f と s は、各々速い脱着と遅い脱着を意味する。

2. 5 分析方法および統計解析

E. coli 細胞から溶出したタンパク質および BSA は、Lowry-Folin 法で測定した²⁰⁾。ステンレス鋼の板材に施しためっき皮膜の自然電極電位は、ポテンシオスタット(PC-500；北斗電工(株))を用い、飽和甘コウ電極(SCE)を基準にして生理食塩水中で測定した²¹⁾。めっき処理および未処理ベアリング球の比表面積は、定容量式クリプトン吸着装置(ASAP 2010；(株)島津製作所)で測定した(吸着温度：-196℃)。めっき処理および未処理板材に対する水の接触角は、接触角試験器(CA-DT 型；協和界面科学(株))で測定した。実験データ($n = 3$)の統計解析は、ソフトウェア Kaleida-Graph version 4.0(Synergy Software, Reading PA)を用いて Tukey HSD 検定を行い、有意水準 0.05(5%)を基準に判定した。

4. 結果と考察

4. 1 PTFE 粒子の共析による接触角と比表面積の変化

めっき処理前のステンレス鋼板、Ni-P めっき皮膜、Ni-P-PTFE めっき皮膜の水に対する接触角は、各々 79.8°、65.4°、109°であった。PTFE の共析による Ni-P めっき皮膜の接触角の増加は、PTFE 粒子が皮膜の表面に析出して撥水性を付与したことを示した。また、めっき処理前のステンレス鋼ベアリング球、Ni-P および Ni-P-PTFE めっき処理ベアリング球の比表面積は、各々 0.004 m²/g、0.005 m²/g、0.016 m²/g であった。めっき前のベアリング球の比表面積と比較すると、Ni-P めっきにより比表面積はほとんど変化しておらず、均一な(平滑な)皮膜が形成されていることが示唆された。一方、PTFE 粒子の共析により、Ni-P 皮膜の比表面積は 3.2 倍増加した。この増加は、Ni-P めっき層表面

に突起した PTFE 粒子の表面積に相当するものと考えられる。

4. 2 Ni-P-PTFE めっき皮膜の抗菌性

めっき皮膜の基本組成となる Ni めっき層および Ni-P めっき層の抗菌性と Ni イオン(Ni²⁺)の溶出性の関係を調べるために、自然電極電位の異なるめっき皮膜を調製した。表 1 に、*E. coli* に対する電気 Ni めっき皮膜および無電解 Ni-P めっき皮膜の抗菌試験の結果を示す。抗菌性能の評価の基準は、抗菌活性値(対照区 PE に対する対数増減値)が 2.0 以上となることである¹⁶⁾。ステンレス鋼と電気 Ni めっき(無光沢)の抗菌活性値は、各々 1.3 と 1.9 であったことから、ともに抗菌性は認められなかった。電気 Ni めっき(半光沢)には抗菌性が認められたが、対照区と比較すると生菌数は 3 桁の減少にとどまった。電気 Ni めっき(光沢)では、生菌数は検出限界以下(<10)となり、抗菌活性値は >6.5 となった。同様に、無電解 Ni-P めっき(光沢)でも生菌数は検出されなかった。ここで興味深い点は、電気 Ni めっきおよび無電解 Ni めっきの抗菌性が、皮膜の自然電極電位の低下と相関していることである。自然電極電位が低い(卑な)ほど Ni²⁺ の溶出が起りやすいことから、抗菌性は Ni²⁺ の溶出量に相関することが示唆された。Ni²⁺ の細胞への作用はいまだ明らかにされていないが、基本的には Ag⁺ や Cu²⁺ の抗菌機構と同様に、形質膜に局在する酵素群(特に-SH 酵素)や機能的タンパク質との結合による活性阻害(膜機能の損傷)、および DNA との結合による構造変化などが主な要因ではないかと考えられる^{22)~24)}。一方、Ni めっき皮膜の最表面には酸化物や水酸化物の層が形成しており、使用環境によってはこれらの層の安定化が後続の Ni²⁺ の溶出に影響を与えることが考えられる。抗菌性の長期的な発現に関して、今後さらに検討する必要がある。

表 2 に、感染性および食中毒細菌に対する無電解 Ni-P-PTFE めっき皮膜(光沢)の抗菌試験の結果を示す。試験に供したすべての菌株において、生菌数は検出限界以下となった。すなわち、24 時間接触後には、上記菌株の増殖は完全に阻害されることが示された。*S. aureus* B 9983 と F-10(MRSA)の 2 株については、対照区(PE)の生菌数も減少したことから見掛け上抗菌活性値は低くなっているが、Ni-P-PTFE めっき皮膜上では完全な死滅が確認された。この

Table 1 Antibacterial activity of electrolytic Ni plated and electroless Ni-P plated coatings for the growth of *E. coli* NBRC 3972.

Sample plate	Potential	Viable cells ^a	Antibacterial activity ^b (-)
	(mV vs SCE)	(CFU/plate)	
Polyethylene(control)	—	(3.4±0.3)×10 ⁷	—
Stainless steel	-7	(1.6±0.4)×10 ⁶	1.3
Electroplated Ni(non-gloss)	-136	(4.2±0.2)×10 ⁵	1.9
Electroplated Ni(semigloss)	-180	(1.7±0.3)×10 ⁴	3.3
Electroplated Ni(gloss)	-192	<10 ^c	>6.5
Electroless Ni-P(gloss)	-312	<10	>6.5

^a Mean value ± standard deviation (SD) of the triplicate plates.
^b The antibacterial activity was expressed as log reduction by comparing the CFU on control film (PE) to the CFU on each plated coating after being in contact with plate surface, covered with PE film, for 24 h.
^c <10, not detected on three plates.
All plated coatings were deposited on stainless steel (SUS 304) plates.

ことから、Ni-P めっき皮膜の表面に PTFE 粒子が共析しても、Ni-P めっきの抗菌性は低減しないことがわかった。また、*E. coli* NBRC 3972 の抗菌試験を行った後の Ni-P-PTFE めっき試験片を、NB 培地に浸漬して 48 時間培養したところ、*E. coli* の増殖は認められなかった。すなわち、洗い出し操作で脱着せず皮膜上に残存している菌体も完全に死滅していることが確認された。

4. 3 Ni-P-PTFE めっき皮膜の吸着親和性

表 3 に、めっき未処理、Ni-P めっきおよび Ni-P-PTFE めっき処理したベアリング球(SUS 304)への *E. coli* の平衡付着量(乾燥菌体量換算)を示す。めっき未処理(SUS 304)と比較すると、Ni-P めっき皮膜への付着量は、ベアリング球 400 個あたりで約 1.8 倍も高く、単位面積あたりで 1.5 倍高い結果となった。これは、ステンレス鋼よりも Ni-P めっき皮膜の方が、*E. coli* が付着しやすい性質であることを示している。さらに、Ni-P めっき皮膜に PTFE 粒子を共析させることにより、Ni-P と比較して、400 個球あたりの付着量は約 1.2 倍増加した。逆に、単位面積あたりでは約 1/3 に減少する計算となるが、*E. coli* のサイズは長さ 2 μm×太さ 1 μm であり¹⁷⁾、粒径 0.2 μm 程度の PTFE 粒子による表面積の増加は *E. coli* に対する付着有効面積の増加とはいえない。また、実用面でもめっきによる比表面積の増加を考慮すると、単位面積あたりでの比較は不適当と考えられる。したがって、400 個球あたりの数値で比較すると、*E. coli* の付着

量は、Ni-P-PTFE>Ni-P>めっき未処理(SUS 304)の順になる($P<0.05$)。固体表面への微生物細胞の付着における作用力としては、遠距離ではファンデルワールス力、静電的相互作用、疎水性相互作用が働き、近距離では双極子-双極子相互作用、水素結合、共有(配位)結合、疎水性相互作用が働く²⁾と理解されている²⁾。PTFE は、空気と接する気固界面では非接着性と撥水・撥油性を示す²⁵⁾。一方、水溶液中での固液界面では PTFE は疎水性表面を有する物質の特性によっては疎水性相互作用による付着力を誘発することが考えられる。そのため、PTFE と *E. coli* 細胞の間に疎水性相互作用が働き付着性を増加させたのではないかと推測される。また、0.05 M NaOH 溶液を用いたアルカリ処理後に球表面に残留している菌体量(残存タンパク質量から換算)を比較すると、Ni-P 皮膜はめっき未処理(SUS 304)の約 3.5 倍も高かった。この結果から、Ni-P めっき皮膜は単に *E. coli* の付着量が高いばかりではなく、強い吸着相互作用力を与えることもわかった。さらに、Ni-P よりも Ni-P-PTFE めっき皮膜の残留量の方が約 1.2 倍高い結果となり、有意差も認められた($P<0.05$)。これは、PTFE 粒子の存在により NaOH 溶液に濡れにくい表面特性を示すためか、加熱 NaOH 処理により熱変性したタンパク質の疎水結合を誘発したためではないかと考えられる。

表 4 に、上記のめっき処理および未処理ベアリング球(SUS 304)に対する BSA の吸着量を示す。めっき未処理

Table 2 Antibacterial activity of electroless Ni-P-PTFE plated coating (gloss) for the growth of pathogenic and food posionig bacteria.

Organism	Viable cells (CFU/plate) ^a		Antibacterial activity ^b (-)
	Polyethylene	Ni-P-PTFE	
<i>Escherichia coil</i> NBRC 3972	4.1×10 ⁷	<10 ^c	>6.6
<i>Escherichia coil</i> ATCC 25922	1.3×10 ⁶	<10	>5.1
<i>Escherichia coil</i> 0157 HA 1	1.1×10 ⁶	<10	>5.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	2.6×10 ⁶	<10	>5.4
subsp. <i>aureus</i> NBRC 12732			
<i>Staphylococcus aureus</i> B 9983	4.8×10 ³	<10	>2.7
<i>Staphylococcus aureus</i> F-10 (MRSA)	3.3×10 ³	<10	>2.5
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	2.1×10 ⁵	<10	>5.3
<i>Klebsialla pneumonine</i> ST 101	6.8×10 ⁵	<10	>6.8
<i>Pseudomonas fluorescens</i> NBRC 14160	1.0×10 ⁷	<10	>6.0

^aMean value of the triplicate plates.
^bExpression of the antibacterial activity, see legend to Table 1.
^c<10, not detected.
Ni-P-PTFE plated coatings were deposited on stainless steel (SUS 304) plates.

Table 3 Amounts of *E. coil* cells adhered on stainless steel ball bearing with or without electroless Ni-P plated and Ni-P-PTFE plated coatings, and those remaining on them after NaOH treatment.

Stainless steel ball bearing	Amount of <i>E. coil</i> adhered		Amount of <i>E. coil</i> remaining after NaOH treatment ^a
	(μg dry cell/400 pieces) ^b	(mg dry cell/m ²) ^c	(μg dry cell/400 pieces) ^b
non-coating	97±6	5.4	24±4
Ni-P	179±9	8.1	88±8
Ni-P-PTFE	210±12	2.9	104±4

^aAlkali treatment was conducted with 0.1 M NaOH solution in boiling water bath for 10 min.
^bMean value ± SD of the triplicated experiments.
^cCalculated from mean value.

(SUS 304)の吸着量と比較すると、Ni-P めっき皮膜へのBSAの吸着量は200個球あたりで約1.5倍、単位面積あたりで約1.3倍高い結果となり(いずれも $P<0.05$)、Ni-P皮膜はBSAが吸着しやすい表面であることが示された。しかし、Ni-P めっき皮膜にPTFEを共析させることにより、200個球あたりの吸着量を約27%も減少させることができ、未処理ペアリング球(SUS 304)とほぼ同等の吸着量となった($P<0.05$)。また、Ni-P-PTFEの単位面積あたりの吸着量は 2.4mg/m^2 であり、Ni-Pと比較すると、約1/5程度に低く抑えることができた。BSAの水溶液中での分子サイズ($140\times38\times38\text{\AA}$)を考慮すると²⁶⁾、PTFE粒子($0.2\text{\mu m}\phi$)による表面積の3.2倍の増加は吸着有効面積の増加といえる。にもかかわらず単位面積あたりの吸着量が1/5に低下したことは、PTFEはBSAが吸着しにくい性質であり、皮膜表面に存在することでBSAの吸着を抑制したことを意味している。

4. 4 Ni-P-PTFE 皮膜の洗浄性

図1に、BSAが飽和吸着しためっき処理および未処理ペアリング球(SUS 304)を0.05 M NaOH溶液で洗浄(40℃)した時の、典型的なBSAの脱着曲線を示す。横軸は洗浄時間、縦軸は200個球あたりのBSA残存量の自然対数($\ln\Gamma$)値である。図1の各測定点を結ぶ実線は、2式と非線形最小二乗法を用いた解析から導かれた曲線である。めっき未処理(SUS 304)の脱着曲線と比較すると、Ni-P めっきおよびNi-P-PTFE めっき皮膜からのBSAの脱着は緩慢であり、互いにほぼ同等の速度で脱着した。洗浄60分後でのめっき未処理、Ni-P、Ni-P-PTFE皮膜上のBSA残存量は、各々200個球あたり $15\text{\mu g}$ 、 $92\text{\mu g}$ 、 $49\text{\mu g}$ であった。表5に、解析の結果得られた一次脱着速度定数 k^f および k^s の値を示す。

Table 4 Amounts of BSA adsorbed on stainless steel ball bearing with or without electroless Ni-P plated and Ni-P-PTFE plated coatings.

Stainless steel ball bearing	Amount of BSA adsorbed ^a	
	($\mu\text{g}/200\text{ pieces}$)	(mg/m^2) ^b
non-coating	$77\pm12\text{ A}$	8.7 ± 1.4
Ni-P	120 ± 5	10.9 ± 0.4
Ni-P-PTFE	$88\pm7\text{ A}$	2.4 ± 0.2

^aMean value $\pm$ SD of the triplicated experiments.
Mean values marked with the same letter represent data that are not significantly different ($P<0.05$)

k^f と k^s は、各々洗浄初期および後期の脱着速度を主に反映している。Ni-PおよびNi-P-PTFE めっき皮膜に対して得られた k^f および k^s は、めっき未処理(SUS 304)に対する各値と比較すると各々約一桁も小さい値であり、ステンレス鋼よりも明らかに洗浄性が低いといえる。Ni-P-PTFE めっき皮膜に対する k^f と k^s は、Ni-P皮膜の各値よりもわずかに高い値が得られているが、 k^f には有意な差は認められなかった($P<0.05$)。この結果は、Ni-P-PTFE めっき皮膜に吸着したBSAは、Ni-P めっき皮膜と同等の相互作用力で吸着していること、すなわち吸着分子の多くはNi-P層に吸着していることを示唆している。さらに、Ni-P めっき皮膜に対するBSAの吸着力は、ステンレス鋼よりもはるかに強いことが容易に推察できる。これまでに著者らは、種々の親水性固体表面に吸着したBSAのアルカリ洗浄除去特性を検討し、固体表面の正電荷密度の大きさとBSAの吸着コンフォメーションが、吸着相互作用力と洗浄性を支配する因子の一つであることを報告した²⁷⁾。一般に、タンパク質は親水性の固体表面に対してカルボキシル基を向けた配向で吸着する傾向が強いため、正に帯電した固体表面には強い相互作用力で吸着することになる。ここで、電位差滴定による表面電荷特性の測定では、BSA、未処理ペアリング球(SUS 304)、Ni-P めっきペアリング球の見掛けの零電荷点は、各々5.2、

Fig. 1 Curves of BSA desorption from non-plated stainless steel ball bearings, Ni-P deposed-ball bearings, and Ni-P-PTFE deposited ball bearings during cleaning with 0.05 M NaOH solution. Symbols : ○, non-plated ball bearings ; ■, Ni-P plated ball bearings ; ●, Ni-P-PTFE plated ball bearings.

Table 5 First-order desorption rate constants^a of eq. 2 derived from data-fitting procedure.

Stainless steel ball bearing	NaOH alone		NaOH+surfactant	
	k^f (min^{-1})	k^s (min^{-1})	k^f (min^{-1})	k^s (min^{-1})
non-coating	0.270 ± 0.009	0.0187 ± 0.0005	—	—
Ni-P	$0.027\pm0.003\text{ AA}'$	$0.0020\pm0.0006\text{ B}$	$0.026\pm0.003\text{ A}'$	$0.0021\pm0.0002\text{ B}$
Ni-P-PTFE	$0.041\pm0.009\text{ AA}''$	$0.0048\pm0.0004\text{ B}'$	$0.072\pm0.002\text{ A}''$	$0.0055\pm0.0003\text{ B}'$

^aMean value $\pm$ SD of the triplicated experiments.
Mean values marked with the same letter in the same row or in the same column represent data that are not significantly different ($P<0.05$)
Cleaning was conducted in a plug-flow coumn at 40℃ by feeding 0.05 M NaOH with or without 0.02 wt% surfactant.

Fig. 2 Effect of surfactant on the desorption of BSA from Ni-P deposited stainless steel ball bearings and Ni-P-PTFE deposited ball bearings during cleaning with 0.05 M NaOH solution. Symbols: ■, NaOH alone (Ni-P); □, NaOH+surfactant (Ni-P); ●, NaOH alone (Ni-P-PTFE); ○, NaOH+surfactant (Ni-P-PTFE).

9.2, 10.0 であり、Ni-P めっき皮膜はより強い塩基性を示した。また、滴定曲線(H^+ の相対吸着量)から算出した Ni-P めっき皮膜の見掛けの表面電荷密度(σ_{app})は、ステンレス鋼よりも少なくとも 1 桁大きい値を示すことが確認された。滴定に供したベアリング球の表面積が小さいために σ_{app} 値は誤差を大きく含むものの、おそらくは大きな正の σ_{app} を有する Ni-P めっき皮膜上では、BSA 分子鎖の負に帯電したカルボキシル基との静電的な相互作用が強くなるため、BSA が強固に吸着するのではないかと考えられる。

次に、Ni-P-PTFE めっき皮膜の濡れ性を向上させるために、0.05 M NaOH 溶液に非イオン界面活性剤(ポリオキシエチレンラウリルエーテル)を 0.02 wt% 添加して洗浄実験を行った(図 2)。界面活性剤の添加により、Ni-P-PTFE 皮膜からの BSA の脱着速度は洗浄初期において増加する現象が見られ、洗浄 60 分後の残存量も 200 個球あたり $49\mu g$ から $37\mu g$ に低下した。2 式を用いた解析の結果を表 5 に示す。界面活性剤の使用により、Ni-P-PTFE 皮膜に対して得られた k^f および k^s 値は各々約 1.8, 1.1 倍増加したが、相対的には顕著な改善効果は見られなかった($P < 0.05$)。一方、Ni-P 皮膜では界面活性剤による k^f および k^s 値の増加はなく、洗浄促進効果は見られなかった。以上の結果から、濡れ性の改善によって、撥水性の PTFE 粒子の表面や近傍に吸着した一部の BSA 分子の脱着は促進されるが、Ni-P 層に吸着した大部分の BSA 分子の脱着には効果を示さないことがわかった。

5. 結 言

無電解 Ni-P-PTFE 複合めっき皮膜(光沢)は、*E. coli* O 157 や MRSA をはじめ供試したすべての病原性および食中毒細菌に対して優れた抗菌性を示した。一方、マトリックスとなる Ni-P めっき層の表面は、ステンレス鋼と比較すると、*E. coli* 細胞や BSA に対して強い吸着親和性を示すこと、さらにアルカリ剤による洗浄性にも劣ることが明らかとなっ

た。また、水溶液中では Ni-P-PTFE 皮膜が疎水性相互作用によって *E. coli* 細胞の付着を誘発する可能性があることが指摘された。本論文では、吸着性や洗浄性についてはあくまでステンレス鋼との比較であったが、今後は Ni-P-PTFE めっき皮膜とその他のめっき皮膜との比較を行うことも興味深い課題である。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、抗菌試験用の菌株として *E. coli* O 157 HA 1 (VT 1+, VT 2+), *S. aureus* B 9983, *S. aureus* F-10(MRSA) を分与して頂いた昭和大学医学部細菌学教室島村忠勝教授に深く感謝いたします。

(Received October 25, 2005; Accepted December 15, 2005)

文 献

- 1) 丸田誠一, 中村元彦; 防菌防黴, 33, 241 (2005)
- 2) C. G. Kumar and S. K. Anand; *Int. J. Food Microbiol.*, 42, 9 (1998)
- 3) J. Barbeau, C. Gauthier and P. Payment; *Can. J. Microbiol.*, 44, 1019 (1998)
- 4) W. A. Rutala and D. J. Weber; *Clin. Microbiol. Rev.*, 10, 597 (1997)
- 5) G. Wirtanen; *Tech. Res. Centre Finl Publ.*, 251, 159 (1995)
- 6) E. A. Zottola; *Food Technol.*, 48, 107 (1994)
- 7) M. Wilson; *Science Progress*, 84, 235 (2001)
- 8) 菊池靖志, 塔本健次, 岡山智豪, 松田福久, 西村真幸, 坂根 健, 金子嘉信; 日本金属学会誌, 61, 486 (1997)
- 9) 川辺允志; 防菌防黴, 29, 769 (2001)
- 10) 福崎智司; *New Food Industry*, 47, 9 (2005)
- 11) M. W. LeChevallier, C. D. Cawthon and R. G. Lee; *Appl. Environ. Microbiol.*, 54, 2492 (1988)
- 12) 趙 志宏, 草刈真一, 坂上吉一, 逢坂哲彌; 表面技術, 50, 25 (1999)
- 13) 小林道雄; 表面技術, 49, 433 (1998)
- 14) 平松 実, 福崎智司; 無機マテリアル, 6, 58 (1999)
- 15) 古川直治; 表面技術, 51, 1056 (2000)
- 16) 日本工業標準調査会; 抗菌加工製品-抗菌性試験法・抗菌効果 JIS Z 2801; 2000 (日本規格協会, 2000)
- 17) D. Voet and J. Voet; ヴォート生化学, 3rd ed., p. 3 東京化学同人, 1993)
- 18) S. Fukuzaki, H. Urano, M. Hiramatsu and A. Takehara; *Biocontrol Sci.*, 6, 87 (2001)
- 19) H. Urano and S. Fukuzaki; *J. Colloid Interface Sci.*, 252, 284 (2002)
- 20) O. H. Lowry, N. J. Rosenbrough, A. L. Farr and R. J. Randall; *J. Biol. Chem.*, 193, 265 (1951)
- 21) 平松 実, 川崎仁士, 小見 崇, 中山 豊; 金属表面技術, 38, 12 (1987)
- 22) 高山正彦; 防菌防黴, 24, 561 (1996)
- 23) A. D. Russell and W. B. Hugo; *Prog. Med. Chem.*, Vol. 31, p. 351 (Elsevier Science B. V., 1994)
- 24) R. B. Thurman and C. P. Gerba; *CRC Crit. Rev. Environ. Control*, 18, 295 (1989)
- 25) 後閑昭男; 防錆管理, 48, 1 (2004)
- 26) B. D. Fair and A. M. Jamieson; *J. Colloid Interface Sci.*, 77, 525 (1980)
- 27) 福崎智司; 防菌防黴, 32, 203 (2004)