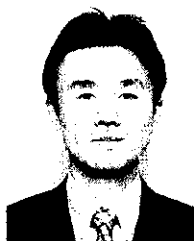


Silver Dispersed Stainless Steels with Antibacterial Property



横田 毅
Takeshi Yokota
技術研究所 ステンレス鋼研究部門 主任研究員(主席掛長)



栃原 美佐子
Misako Tochihara
技術研究所 ステンレス鋼研究部門 主任研究員(掛長)



太田 雅之
Masayuki Ohta
千葉製鉄所 商品技術部ステンレス管理室 主査(掛長)

要旨

近年、O-157 や黄色ブドウ球菌による食中毒の発生により消費者の衛生意識が急速に高まっている。川崎製鉄では、Ag の高い抗菌力に着目し世界で初めて Ag 微細分散型の抗菌ステンレス鋼を開発した。抗菌試験の結果、開発鋼は大腸菌、黄色ブドウ球菌をはじめ O-157、MRSA、サルモネラ菌の各種の菌に対して抗菌性を発揮することが明らかとなった。また、耐食性を塩乾湿複合腐食サイクル試験などにより評価した結果、開発鋼は Ag 無添加鋼と同等の耐食性を有することを確認した。Ag の微量添加および Ag の均一・微細分散が抗菌性と耐食性の両立を可能にしたと考えられる。

Synopsis:

Kawasaki Steel has developed Ag-bearing stainless steels having an antibacterial property, namely an effect of suppressing the growth of bacteria, in response to the recent tendency to emphasize hygiene and cleanliness. In an antibacterial activity test, Ag-bearing steels showed antibacterial activity with respect to O-157, MRSA, *Salmonella* as well as *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. In a cyclical corrosion test, Ag-bearing stainless steels showed the same corrosion resistance as Ag-free stainless steel. It was found that Ag-bearing stainless steel has both excellent antibacterial property and corrosion resistance.

1 緒 言

1996 年に発生した病原性大腸菌 O-157 による集団感染以来、消費者の間で食品に対する安全衛生への意識が急速に高まった。さらに 2000 年には黄色ブドウ球菌による食中毒の発生や MRSA (メチリシン耐性黄色ブドウ球菌) による院内感染が頻発し、企業や病院の衛生管理体制に対しても人々の関心が注がれるようになった。こうした社会的情勢を受け、衛生陶器、プラスチック、衣料品などさまざまな分野で抗菌製品¹⁻³⁾が開発されている(ここで抗菌とは細菌の増殖を抑制することと定義され、殺菌とは区別されている)。一方、ステンレス鋼は良好な耐食性と表面の清潔感などから厨房や食品工場など衛生管理を必要とする場所で積極的に利用されているが、一般のステンレス鋼に抗菌性は認められない⁴⁾。また、ステンレス鋼の場合、他の抗菌製品のように抗菌剤を含有する皮膜をコーティングする方法⁵⁾では、研磨加工やプレス加工さらには日常の清掃などで表面の抗菌化層が剥離し抗菌性が低下する。

中村ら⁶⁾はステンレス鋼に 1.5~4.0 mass% の Cu を添加することで大腸菌などに対する抗菌効果が発現することを明らかにした。しかし、多量の Cu 添加は耐食性の低下をもたらすことが松山ら⁷⁾によって報告されており、Cu 添加型では抗菌性と耐食性の両立が困難と考えられている。Cu 以外に抗菌力を有する元素として Ag, Zn,

Ni などが挙げられるが、これらのうち細菌に対する抗菌力が強いとされているのは Ag である⁸⁾。しかし、 α -Fe に対する Ag の溶解度⁹⁾は 0.0002 at% と極めて小さいことなどから、ステンレス鋼に対する Ag 添加の影響は全く研究されていなかった。

川崎製鉄では、Ag の高い抗菌力に着目し、抗菌性能を付与した上で、ステンレス本来の諸特性(特に耐食性)を低下させないステンレス鋼の開発に取り組んだ。その結果、ステンレス鋼に 0.04 mass% 程度の Ag を添加し、鋼板中に均一かつ微細に Ag を分散させることによって、安定した抗菌性と Ag 無添加鋼と同等の耐食性の両立が可能であることを明らかにした。本論文では、Ag 添加鋼の諸特性および抗菌性発現機構について述べる。

2 実験方法

2.1 供試材

川崎製鉄では、Ag 微細分散型抗菌ステンレス鋼としてオーステナイト系およびフェライト系ステンレス鋼の開発に成功した。Ag 添加鋼および比較のための Ag 無添加鋼(SUS304 鋼)の化学組成を Table 1 に示す。本論文ではこれらのうち、オーステナイト系抗菌ステンレス鋼を例にとって諸特性を述べる。Ag 添加鋼および SUS304 鋼は連続铸造後、熱間圧延、熱間圧延板焼鈍、冷間圧延、再結晶焼鈍および酸洗を経て板厚 0.7 mm の No. 2 仕上げ品とし、抗菌性試験および耐食性試験に用いた。

*平成13年4月5日原稿受付

Table 1 Chemical compositions of steels used

	(mass%)						
	C	Si	Mn	P	Cr	Ni	Ag
Ag-bearing austenitic stainless steel	0.05	0.30	1.00	0.03	18.2	8.5	0.042
Ag-bearing ferritic stainless steel 1	0.06	0.25	0.65	0.03	16.2	—	0.039
Ag-bearing ferritic stainless steel 2	0.01	0.25	0.45	0.03	17.7	—	0.040
SUS304 (conventional steel)	0.06	0.31	1.02	0.03	18.1	8.5	—

2.2 抗菌性試験

金属イオンの抗菌力の評価にはシェークフラスコ法⁷⁾を採用した。すなわち、1/500 倍に希釈した普通ブイヨン培地 (精製水1000 ml に肉エキス 5.0 g, NaCl 5.0 g, ペプトン 10.0 g を溶かし、pH を 7.0~7.2 に調整した溶液) で、大腸菌濃度が約 10^7 cfu/ml (cfu: colony forming unit) となるように調整した試験菌液を用い、試験菌液 (15 ml) に各種金属イオンを添加し 24 h 振盪培養した後、大腸菌の生菌数を寒天培養法により測定した。なお、 Ag^+ は AgNO_3 、 Cu^{2+} は CuCl_2 、 Ni^{2+} は NiCl_2 の形で必要量を添加した。

ステンレス鋼板の抗菌性評価は、『抗菌加工製品—抗菌性試験方法・抗菌効果⁸⁾ JIS Z 2801 (2000)』に準拠した方法で実施した。JIS では抗菌効果は、抗菌製品上の 24 h 後の生菌数が比較製品上の生菌数の 1% 以下と定義されている。なお、本論文では比較製品として SUS304 鋼を用い、抗菌効果の発現を認識しやすいように、次式で定義される減菌率 (rate of cell reduction) を採用した。この場合減菌率が 99% 以上であれば抗菌効果発現とみなされる。

$$\text{減菌率} = \frac{\text{Ag 無添加鋼の生菌数} - \text{Ag 添加鋼の生菌数}}{\text{Ag 無添加鋼の生菌数}} \times 100 (\%) \quad (1)$$

2.3 耐食性

耐食性は、塩水噴霧による促進試験と電気化学的試験により評価した。塩水噴霧による促進試験は、5.0 mass% NaCl 溶液を 0.5 h 噴霧後、60°C で 1 h 乾燥させ、さらに温度 60°C、湿度 95% 以上の湿潤環境に 1 h 保持する工程を 1 サイクルとする塩乾湿複合サイクル腐食試験 (10 または 20 サイクル) を実施した。電気化学的試験は、5 mass% 硫酸溶液中で電位を 0.02 V/min の速度で掃引しながらアノード分極曲線 (JIS G 0579) を測定した。

3 実験結果

3.1 各種金属イオンの抗菌力

Ag, Cu および Ni の 3 種類の金属イオンの抗菌力をシェークフラスコ法により比較した。24 h 振盪培養後の大腸菌の生菌数と菌液中に添加した金属イオン濃度との関係を Fig. 1 に示す。JIS⁹⁾ と同様の基準で評価すると、24 h 後の生菌数が 10^4 cfu/ml 以下となれば抗菌効果発現と判定される。抗菌効果が発現する金属イオン濃度は Ag^+ が 1×10^{-8} mass% であるのに対して、 Cu^{2+} が 1×10^{-6} mass%、 Ni^{2+} が 8×10^{-6} mass% である。この結果から、同じ mass% で比較すると Ag^+ は Cu^{2+} の約 100 倍、 Ni^{2+} の約 800 倍の抗菌力を有することが明らかとなった。

3.2 Ag 添加鋼の特性

3.2.1 公的機関での抗菌試験結果

Ag 添加鋼および SUS304 鋼の公的機関 ((社)日本食品衛生協会)

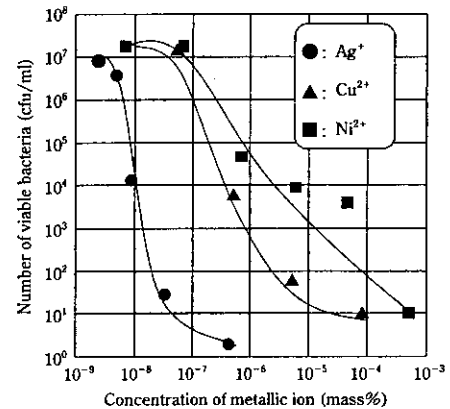


Fig. 1 Effect of concentration of metallic ion on number of viable bacteria after the shake-flask test

での抗菌試験結果を Fig. 2 に、抗菌試験時の生菌数の測定例を Photo 1 に示す。Ag 添加鋼は大腸菌や黄色ブドウ球菌をはじめ、病原性大腸菌 O-157 や院内感染の原因菌の一つである MRSA に対しても抗菌効果を発揮し、24 h 後の生菌数はいずれの細菌の場合も 10 cfu/枚未満 (減菌率 99.9% 以上) となる。さらに、Ag 添加鋼の表面をエメリー紙で $2 \mu\text{m}$ 研磨し、その後大腸菌に対する抗菌性を調べたが、抗菌性はまったく低下しなかった (減菌率 99.9% 以上)。

そこで、Ag 添加鋼の表層および $2 \mu\text{m}$ 研磨後の Ag 分布状態を、電子線マイクロアナライザーにより分析した。その結果を Fig. 3 に示す。図中の赤い色で示される部分が、Ag 濃度の高くなっている部位である。表層および内部 ($2 \mu\text{m}$ 研磨後) とともに Ag が微細かつ均一に分散していることがわかる。

3.2.2 抗菌効果におよぼす試験時間の影響

通常の抗菌試験における抗菌効果は、菌液接種後 24 h 培養した後の生菌数で評価している。しかしながら、実環境における抗菌効果はできるだけ早期に発現することが望ましい。そこで、抗菌効果発現におよぼす大腸菌液接種後の培養時間の影響を調べた。大腸菌の生菌数と培養時間の関係を Fig. 4 に示す。Ag 添加鋼では大腸菌液接種後 1 h で生菌数の減少が確認され、3 h 後に減菌率は 99% 以上となり抗菌効果が発現した。一方、比較の SUS304 鋼は、時間の経過にともない生菌数が増加し 24 h 後には試験片一枚あたり約 10^6 cfu まで増殖した。

3.2.3 耐食性

塩乾湿複合サイクル腐食試験 (10 サイクル) 後の外観を Photo 2 に示す。Ag 添加鋼は SUS304 鋼と同等の耐食性を有している。さらに、Ag 添加鋼と SUS304 鋼の 5 mass% 硫酸溶液中でのアノード分極曲線を Fig. 5 に示す。Ag 添加鋼は SUS304 鋼とほぼ同等の分極挙動を示している。以上の結果から、SUS304 鋼への微量 (0.04 mass% 程度) の Ag 添加は耐食性にほとんど影響しないことが明らかとなった。

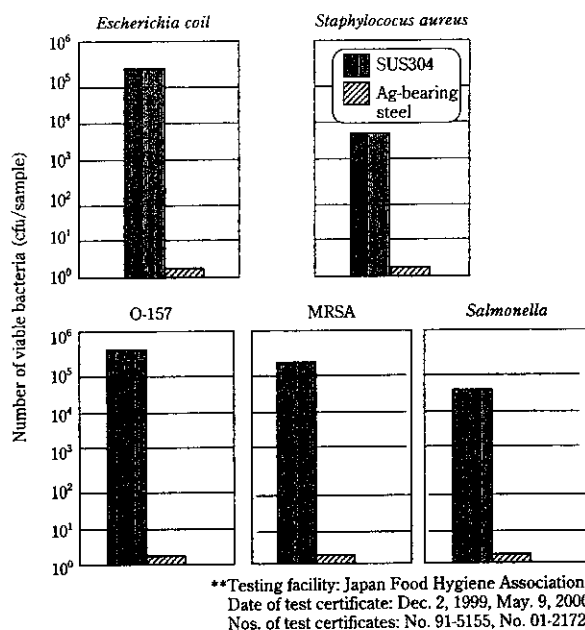


Fig. 2 Results of antibacterial test** of 0.042 mass% Ag-bearing steel

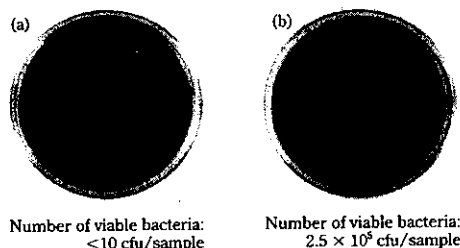


Photo 1 Examples of culture plates of (a) Ag-bearing steel and (b) SUS304 after antibacterial test (*Escherichia coli*)

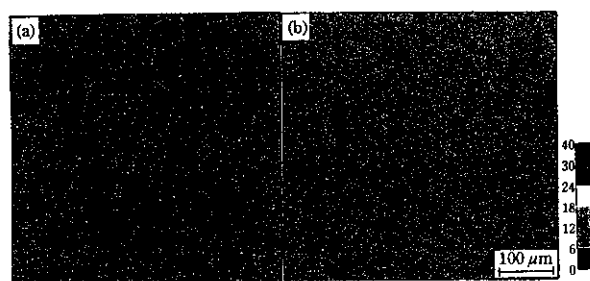


Fig. 3 Analysis of Ag on (a) surface and (b) plane polished by 2 μm of Ag-bearing steel

4 Ag 添加鋼の抗菌性発現機構と耐食性維持機構

Ag 添加抗菌ステンレス鋼は抗菌性と耐食性の両立が可能であることが、本実験の結果で示された。本章では Ag 添加による抗菌性発現機構および耐食性維持機構について議論する。

無機金属系抗菌材料の抗菌性発現機構は、金属イオンの作用⁹⁻¹¹⁾によるものと、金属表面で発生した活性酸素の作用¹²⁾によるものとに分けられる。このうち金属イオンの作用による抗菌性発現機構は主に次の 3 つからなると考えられている。(1) 材料の表面から溶出した金属イオンが細胞表面に吸着し、細胞膜およびたんぱく質の立

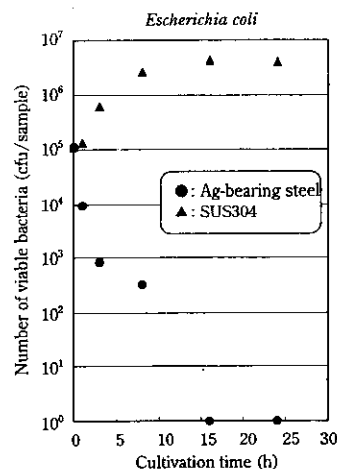


Fig. 4 Effect of cultivation time on number of viable bacteria

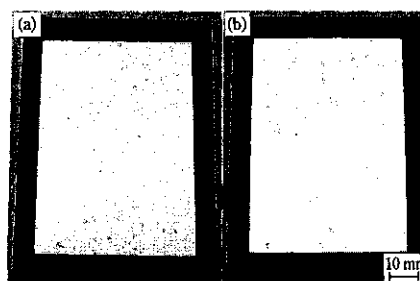


Photo 2 Appearance of (a) Ag-bearing steel and (b) SUS304 after cyclic corrosion test of 20 cycles

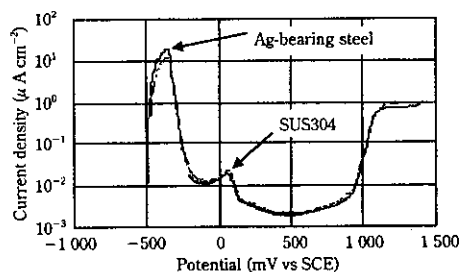


Fig. 5 Polarization curves in 5 mass% H_2SO_4

体構造に損傷を与える。(2) 細胞内に能動的移送により取り込まれた金属イオンが、SH 基に代表される種々の酵素との反応による酵素阻害や DNA との反応による機能障害を引き起こす。(3) 酵素との反応過程において一部活性酸素が発生し細胞を死滅させる。

Fig. 1 に示した大腸菌に対する各種金属イオンの抗菌力の比較から、 Ag^+ は 1×10^{-8} mass% (0.01 mass ppm) 程度の微量に存在すれば抗菌効果を発揮することが示された。そこで、Ag 添加鋼から実際にどの程度の Ag がイオンとなって溶出しているのかを、以下の実験によって明らかにした。実験は 5 cm 角の試験片を 11 枚用意し、1 枚は抗菌試験を実施し生菌数を求めるのに、残りの 10 枚は試験菌を接種し 24 h 培養後、試験菌液を回収するのに用いた。回収した試験菌液中の Ag 量をフレームレス原子吸光法により定量分析した。24 h 後の大腸菌の生菌数と試験片 1 枚当たりに換算した溶出 Ag 量の関係を Fig. 6 に示す。溶出 Ag 量の増加にともない生菌数は減少し、溶出 Ag 量が 1×10^{-8} mass% (0.01 mass ppm) を超える

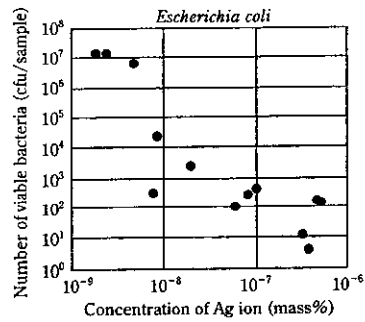


Fig. 6 Relation between concentration of Ag ion and antibacterial activity

と抗菌効果が発現する。抗菌性発現に必要な溶出 Ag 量は、金属イオンを用いた実験結果と良く一致している。以上の結果から、Ag 添加鋼からは抗菌効果を発現するのに必要な Ag^+ が溶出していることが示されるとともに、その抗菌性発現機構は、鋼板から溶出した極微量の Ag^+ が、細菌に抗菌作用を及ぼしていることが主因であると結論付けられる。

抗菌性の発現には鋼板から Ag がイオンとなって溶出することが不可欠であるが、一般にステンレス鋼の高い耐食性は鋼板表面に存在する不動態化皮膜の存在によって維持されている。ところが、抗菌性発現のため抗菌性金属が鋼板から溶出した部分では不動態皮

膜の破壊または劣化が生じる可能性が高い。にもかかわらず、Ag 添加鋼は、安定した抗菌性と Ag 無添加鋼と同等の耐食性を示していた。これは、Ag が他の抗菌性金属に比べて高い抗菌力を有しているため、極微量の添加で必要な溶出 Ag 量を確保できること、および添加した Ag が均一かつ微細に分散しているため不動態皮膜の不安定部分が微小であることが主因と考えられる。

5 結 言

ステンレス鋼の抗菌性および耐食性におよぼす Ag 添加の影響について研究した結果にもとづき、安定した抗菌性と Ag 無添加鋼と同等の耐食性の両立が可能な Ag 微細分散型抗菌ステンレス鋼を開発した。

- (1) Ag 添加鋼は、大腸菌、黄色ブドウ球菌をはじめ O-157, MRSA に対しても抗菌効果を発現する。また、耐食性は Ag 無添加鋼と同等の特性を示す。これは添加した Ag が均一・微細に分散しているため不動態皮膜の不安定部分が少ないためと考えられる。
- (2) Ag 添加鋼の抗菌性は、鋼板表面から溶出した微量の Ag^+ が細菌の細胞に作用することで発現していると考えられる。
- (3) 現在、Ag 添加鋼は洗濯槽、厨房用品、洋食器および病院内装材として積極的に利用されており、今後も衛生管理を必要とする分野での普及が進むものと期待される。

参 考 文 献

- 1) 「ダイヤモンド経営開発情報 R&D トピックス 抗菌塗料」, (1998), [ダイヤモンド社]
- 2) 西村民男:「抗菌の基礎知識」, (1999), [(株)テクノシステム]
- 3) 西村民男:「防菌防霉ハンドブック」, (1986), [技報堂出版]
- 4) S. Nakamura, N. Ookubo, K. Miyakusu, M. Hasegawa, and Y. Munesue: *Nisshin Steel Technical Report*, 76(1997), 48
- 5) H. Matsuyama: *CAMP-ISIJ*, 12(1999), 1240
- 6) T. B. Massalski: "Binary Alloy Phase Diagrams", *ASM Int.*, (1988), 35
- 7) 大谷朝男:「多様化する無機系抗菌剤と高度利用技術」, (1997), [(株)アイピーシー]
- 8) 日本規格協会: 抗菌加工製品—抗菌性試験方法・抗菌効果 JIS Z 2801 (2000)
- 9) L. A. Kul'skii:「銀イオン水」, (1987), [日ソ通信社]
- 10) T. Nakajima: *J. of Antibacterial and Antifungal Agents*, 16(1988), 249
- 11) H. Kourai: *Inorganic Material*, 6(1999), 428
- 12) H. Kourai: *Inorganic Material*, 6(1999), 451