

無電解ニッケル-リンめっき皮膜の抗菌性

福崎智司・高橋和宏・平松 実・生貝 初*

Satoshi FUKUZAKI, Kazuhiro TAKAHASHI, Minoru HIRAMATSU, and Hajime Ikegai*

キーワード 無電解 Ni-P/抗菌性/病原菌/食中毒菌

KEY WORDS Electroless Ni-P/Antibacterial ability/Pathogenic bacteria/Food poisoning bacteria

要 旨

電解 Ni めっき皮膜及び無電解 Ni-P めっき皮膜（めっき基材：ステンレス鋼）の病原性および食中毒細菌に対する抗菌性を、フィルム密着法（24 時間接触）を用いて検討した。両めっき皮膜の *Escherichia coli* に対する抗菌活性は、自然電極電位 (vs SCE) が低下するほど増加したことから、抗菌性は Ni イオンの溶出量に相関することが示唆された。Ni-P めっき皮膜中にテフロン (PTFE) 粒子を共析させ、撥水性と摺動性を付与した無電解 Ni-P-PTFE めっき皮膜は、病原性及び食中毒性細菌である *Escherichia* 属 (*coli*; O157)、*Staphylococcus* 属 (*aureus*; MRSA)、*Salmonella* 属、*Klebsiella* 属の生育を完全に阻害した。

1 はじめに

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、器具等の洗浄・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、様々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。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等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^{5, 6)}。本研究では、ステンレス鋼表面に施した電気ニッケル (Ni) めっき皮膜および無電解ニッケル-リン (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、病原性および食中毒細菌に対する無電解 Ni-P-テフロン (PTFE) 複合めっき皮膜の抗菌性について評価した。

2 実験方法

2.1 めっき皮膜の調製

めっき基材として、ステンレス鋼 (SUS 304) 製の板材 (50mm×50mm×1mm; JFE スチール株) を用いた。めっき皮膜の密着性を向上させるために、ウッド浴 (NiCl₂, 240g; conc. HCl, 0.125 dm³; per dm³) で 0.1 μm 厚にニッケルストライクめっきをステンレス鋼の表面に施した。電気 Ni めっき

* 鈴鹿工業高等専門学校生物応用工学科

は、ワット浴 (NiSO₄, 240g; NiCl₂, 45g; H₃BO₃, 45g; per dm³) を用いた (膜厚: 10 μm)。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-CF1; 荏原ユージライト株) または光沢剤 (NP-6; 荏原ユージライト株) 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: 10 μm)。浴組成は、皮膜中の P 含有率が 9wt% になるように調製されている。無電解 Ni-P-PTFE めっき (光沢) は、市販浴のサイマーコート (株) アクシムを用いた (膜厚: 20 μm)。浴組成は、皮膜中の P および PTFE (粒径: ca. 0.2 μm) 含有率が各々 7wt%, 31vol% になるように調製されている。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℃で 1 時間加熱処理した。

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⁷⁾。

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

2.2 供試菌

供試菌として *Escherichia coli* NBRC3972, ペロ毒素産生菌である *E. coli* O157 HA1 (VT1+, VT2+), *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* NBRC12732, メチシリン耐性菌である *S. aureus* F-10 (MRSA),

Salmonella typhimurium ATCC14028, *Klebsiella pneumoniae* ST101 を用いた。

2.3 抗菌試験

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⁸⁾に準じて評価した(n=3)。シャーレ内に置いた試験片(50mm×50mm)に菌液 0.4ml を滴下し、PE フィルム(40mm×40mm)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⁸⁾：

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

3 結果と考察

表 1 に、大腸菌 *Escherichia coli* NBRC3972 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⁸⁾。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)で、抗菌活性値は>6.5 となり、抗菌性が認められた。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 Ni^{2+} の溶出

表1. *E. coli* NBRC3972 に対する電気 Ni めっき皮膜および無電解 Ni-P めっき皮膜の抗菌活性

試料	電位 (mV vs SCE)	生菌数 (CFU/plate)	抗菌活性値 (-)
ポリエチレン(対照区)	—	$(3.4 \pm 0.3) \times 10^7$	—
ステンレス鋼	-7	$(1.6 \pm 0.4) \times 10^6$	1.3
電気 Ni (無光沢)	-136	$(4.2 \pm 0.2) \times 10^5$	1.9
電気 Ni (半光沢)	-180	$(1.7 \pm 0.3) \times 10^4$	3.3
電気 Ni (光沢)	-192	<10 ^c	>6.5
無電解 Ni-P (光沢)	-312	<10	>6.5

^c <10: 検出せず

が起こりやすいことから、抗菌性は Ni^{2+} の溶出量に相関することが示唆された。

Ni^{2+} 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 Cu^{2+} 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)や機能性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等が主な要因ではないかと考えられる^{9~11)}。

電気 Ni めっきと無電解 Ni-P めっきは、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も確認できた。

次に、撥水性と離型性の付与を目的として¹²⁾、無電解 Ni-P めっき皮膜中にテフロン(PTFE)粒子を分散共析させた無電解 Ni-P-PTFE 複合めっき皮膜(光沢)の抗菌性について検討した。

表 2 に、各種病原性および食中毒性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。試験に供した全ての菌株において、生菌数は検出限界以下となった。*S. aureus* F-10 (MRSA) に対しては、対照区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。すなわち、24 時間接触後には、供試

表2. 無電解電気Ni-P-PTFE めっき皮膜の抗菌活性

菌株	生菌数 (CFU/plate)		抗菌活性値 (-)
	ポリエチレン	Ni-P-PTFE	
<i>Escherichia coli</i> NBRC3972	4.1×10^7	<10 ^c	>6.6
<i>Escherichia coli</i> O157 HA1	1.1×10^6	<10	>5.0
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> NBRC12732	2.6×10^6	<10	>5.4
<i>Staphylococcus aureus</i> F-10 (MRSA)	3.3×10^3	<10	>2.5
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC14028	2.1×10^5	<10	>5.3
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ST101	6.8×10^6	<10	>6.8

^c <10: 検出せず

したすべての菌株の増殖は完全に阻害されることが示された。このことから、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* NBRC3972 の抗菌試験を行った後の Ni-P-PTFE めっき試験片を、増殖用の栄養培地(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 まとめ

電気 Ni めっきと無電解 Ni-P めっきの抗菌性は、

皮膜の自然電極電位に依存して発現することが明らかとなった。さらに、無電解 Ni-P-PTFE 複合めっき皮膜（光沢）は、*E. coli* O157 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。無電解 Ni-P-PTFE 複合めっき皮膜は、非粘着性（離型性）を兼ね備えていることから、生物学的な高い清浄度が要求される食品・医薬品製造用の設備・機器への適用が期待できる。

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* O157 HA1 (VT1+, VT2+), *S. aureus* B9983, *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。

参考文献

- 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) 趙 志宏, 草刈真一, 坂上吉一, 逢坂哲爾; 表面技術, **50**, 25 (1999)
- 6) 小林道雄; 表面技術, **49**, 433 (1998)
- 7) 平松 実, 川崎仁士, 小見 崇, 中山 豊; 金属表面技術, **38**, 12 (1987)
- 8) 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 Z2801:2000 (日本規格協会, 2000)
- 9) 高山正彦; 防菌防黴, **24**, 561 (1996)
- 10) A. D. Russell and W. B. Hugo; *Prog. Med. Chem.* Vol. 31, p. 351 (Elsevier Science B.V., 1994)
- 11) R. B. Thurman and C. P. Gerba; *CRC Crit. Rev. Environ. Control*, **18**, 295 (1989)
- 12) 古川直治; 表面技術, **51**, 1056 (2000)