

Antibacterial activity of visible light-responsive nanosilver photocatalyst against pathogenic bacteria

(¹近大院産理工専攻生環化、²伊都研究所) ○宮崎 愛¹、田尻 晋太郎¹、深野木 伸太¹、伊東 謙吾²、田中 賢二¹

目的

我々は銀ナノ粒子(A)、ボロン樹脂(B)、クレイナノ粒子(C)から成る新規な光触媒物質(ABC光触媒)を開発した。このABC光触媒の光吸収領域は可視光から近赤外域にも及び、屋内でも有効な光触媒・光電変換素子として期待され、また銀ナノ粒子を含有することから暗所での抗菌活性も期待している。本研究では、組成の異なる3タイプのABC光触媒を用い、組成および培養条件の違いがどのように抗菌活性に影響を及ぼすのか、病原細菌を検定菌として検証を行った。

光触媒とは

光を照射することにより触媒作用を示す物質であり、代表として酸化チタン(TiO₂)などがあげられる。

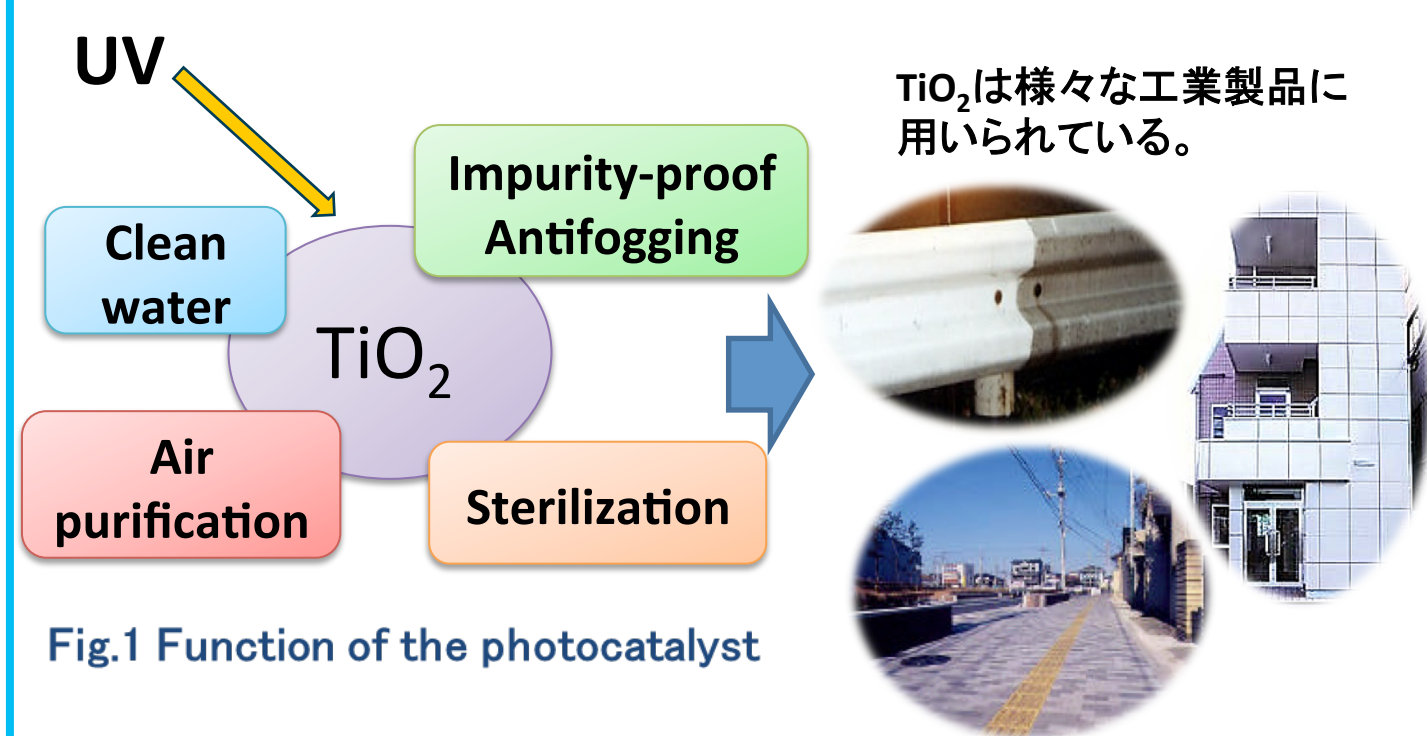
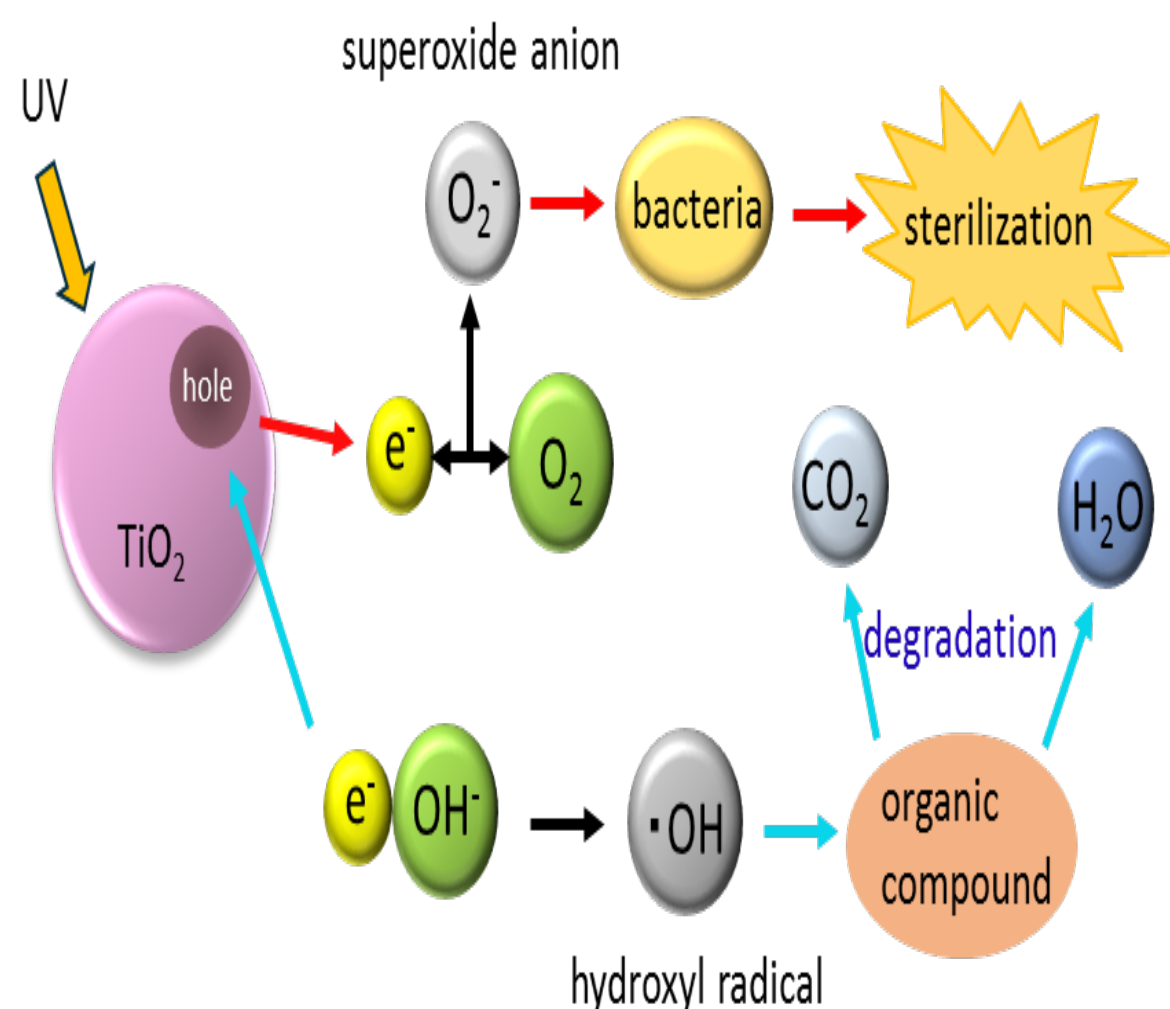


Fig.1 Function of the photocatalyst

しかし従来型は…
紫外線は吸収するものの可視光に反応しない。
日中や屋外での使用に限られる。
屋内使用型(可視光応答型)への期待

光触媒の原理(従来型)



ABC光触媒の構造

【Characteristic of ABC visible light responsible photo catalyst】

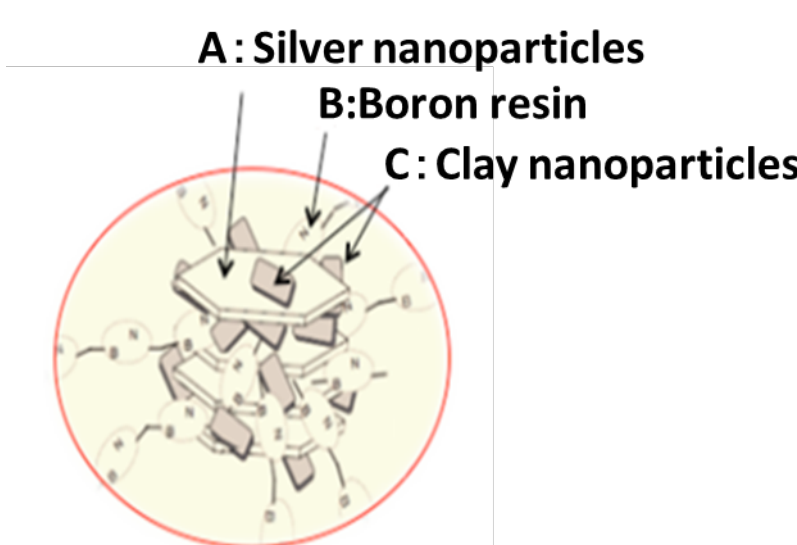


Fig.2 Estimated structure

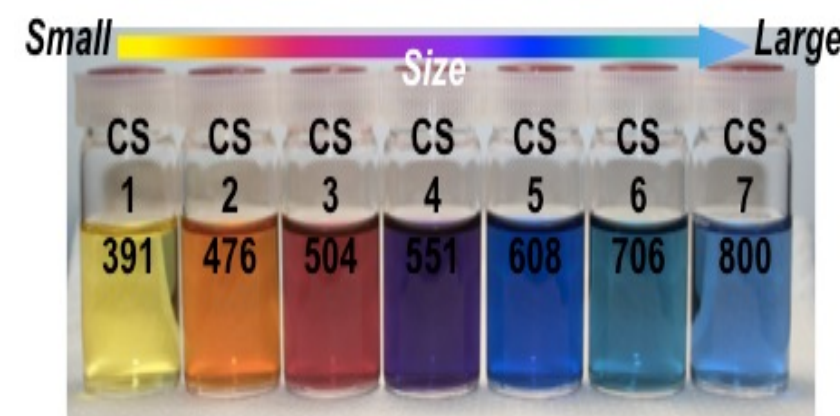


Fig.3 Color and light absorption

ABC光触媒の組成

Type I	Ag: Boron resin: Clay=1:6:3
	Ag 3.4mg/ml
Type II	Ag: Boron resin: Clay=1:2:1
	Ag 8.5mg/ml
Type III	Ag: Boron resin: Clay=1:24:12
	Ag 0.9mg/ml

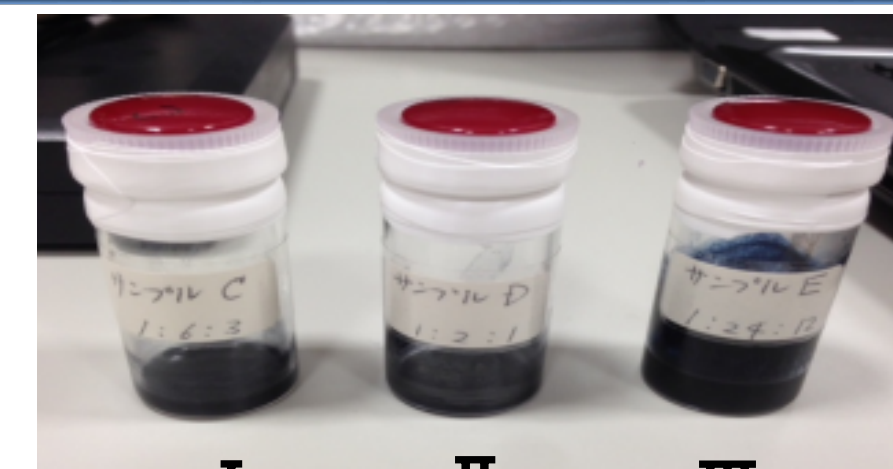


Fig.4 Appearance of ABC photocatalyst in butyl acetate

実験方法

◆検定菌

抗生物質や抗菌素材の抗菌評価でよく使用される菌を検定菌とした。

- 腸管出血性病原性大腸菌(分離株) *Escherichia coli* O157:H7
- 緑膿菌 (グラム陰性通性嫌気性桿菌) *Pseudomonas aeruginosa* NBRC3080
- 黄色ブドウ球菌 (グラム陽性通性嫌気性球菌) *Staphylococcus aureus* NBRC12732

◆試験方法

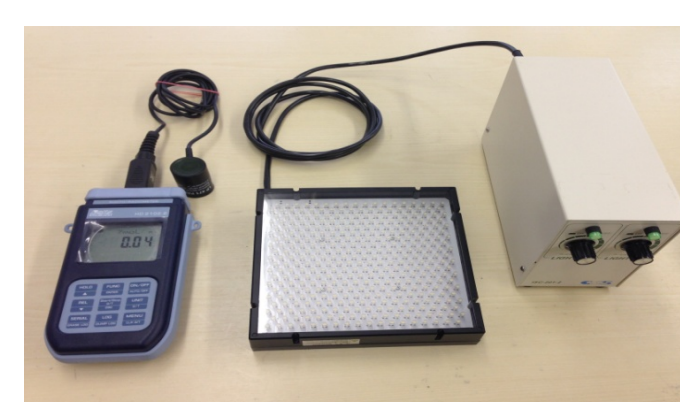
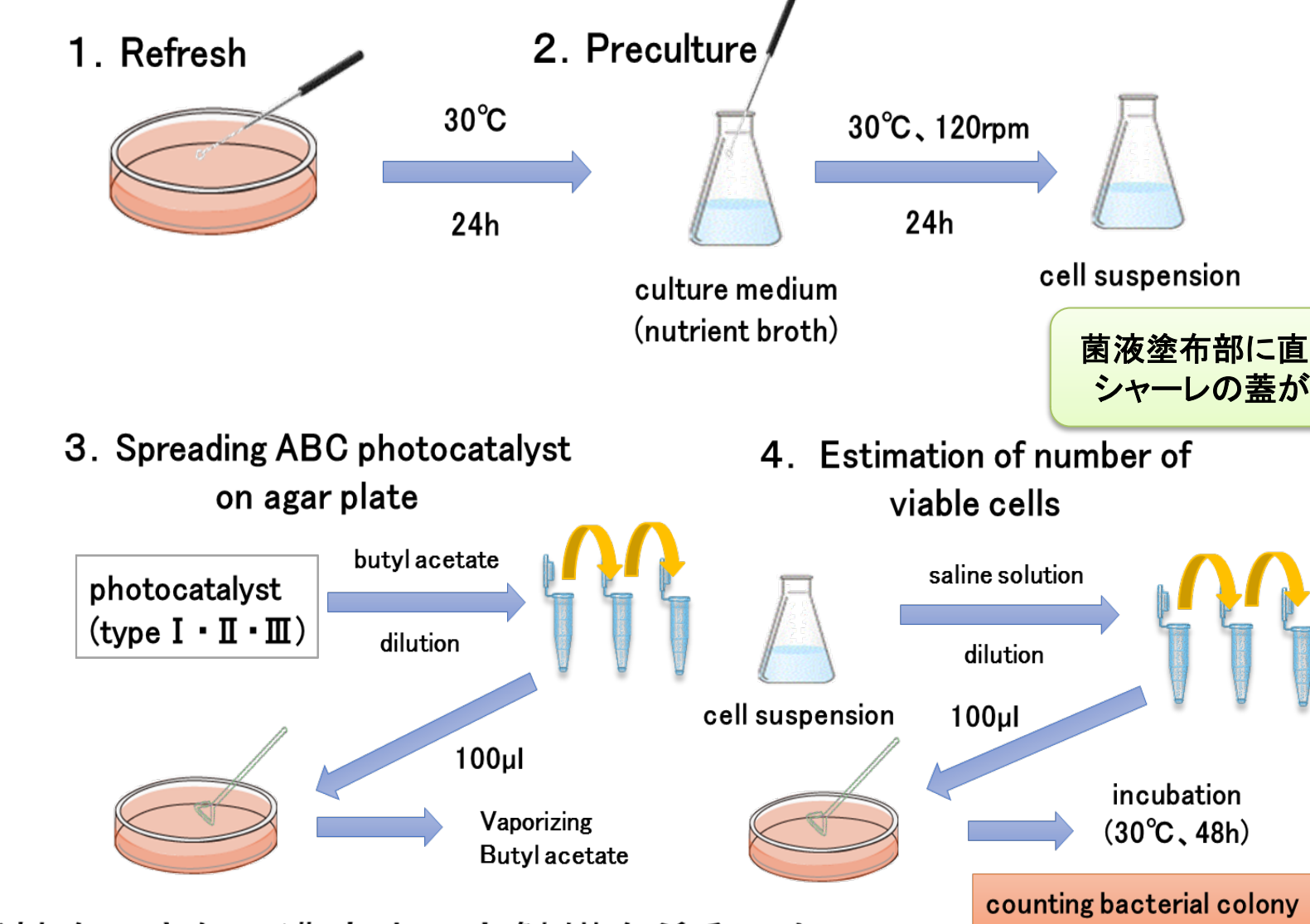


Fig.5 LED panels (CCS Inc.) photo meter (Delta OHM Co., Ltd.)

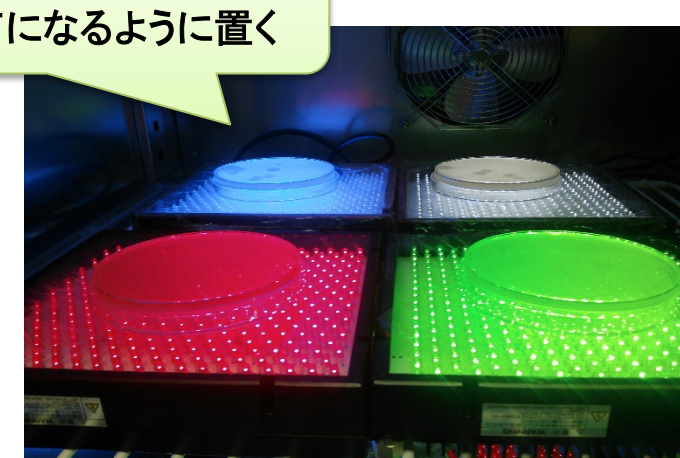


Fig.6 photo irradiation

結果

① *E.coli* O157:H7 (dark)
(ABC photocatalyst was suspended in butyl acetate)
※inoculation: 7.8×10^7 cfu/plate

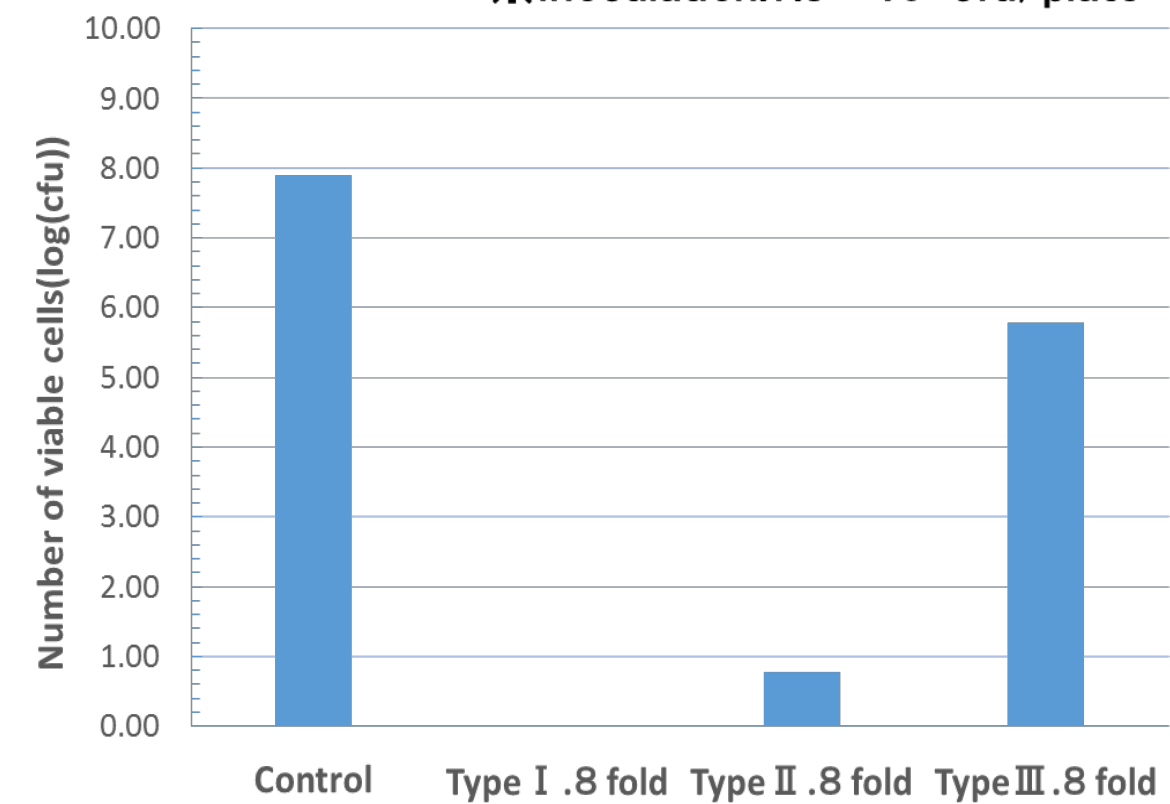


Fig.7 Antibacterial activity of each photocatalyst to *E.coli* O157:H7
※O157(分離株)の抗菌試験は福岡県保健環境研究所にて実施した。

※可視光照射試験では暗所で抗菌活性を示さない濃度まで光触媒を希釈した

② *E.coli* O157:H7, *P.aeruginosa*, *S.aureus* (photo irradiation)
(ABC photocatalyst was suspended in butyl acetate)
※inoculation (*E.coli* O157:H7): 100 cfu/plate
(*P.aeruginosa*, *S.aureus*): 500 cfu/plate

Table1 Comparison of colony formation rate with highly diluted ABC photocatalyst (suspended in butyl acetate) between different light conditions

	<i>E.coli</i> O157:H7			<i>Paeruginosa</i>		<i>S.aureus</i>	
	I. 128 fold dilution	II. 256 fold dilution	III. 32 fold dilution	I. 128 fold dilution	II. 128 fold dilution	I. 128 fold dilution	II. 128 fold dilution
dark	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
white	73.0%	47.8%	17.1%	25.0%	14.4%	29.2%	9.6%
red (660nm)	65.1%	10.9%	43.9%	24.1%	0.6%	17.4%	4.8%
blue (470nm)	54.0%	13.0%	53.7%	19.8%	7.8%	18.4%	14.4%
green (525nm)	44.4%	10.9%	26.8%	12.5%	4.2%	17.7%	23.4%

*P.aeruginosa*および*S.aureus*に関してはO157:H7の試験において最も抗菌効果の表れた光触媒 I と II のみで試験を行った。

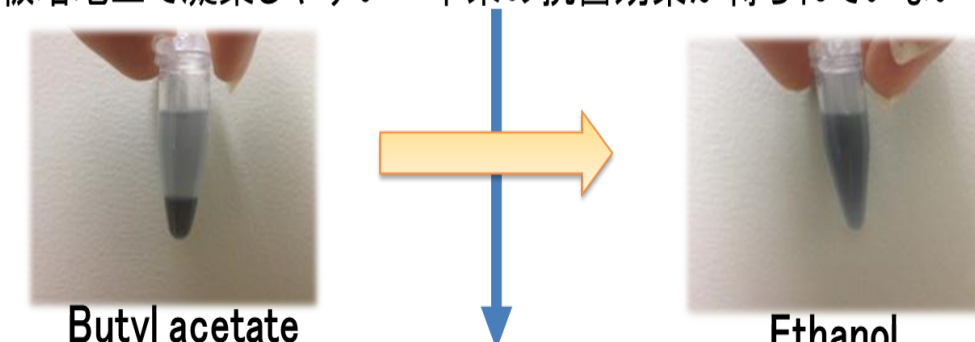
③ *E.coli* O157:H7, *P.aeruginosa*, *S.aureus* (photo irradiation)
(ABC photocatalyst was suspended in ethanol)
※inoculation (*E.coli* O157:H7): 100 cfu/plate
(*P.aeruginosa*, *S.aureus*): 500 cfu/plate

Table2 Comparison of colony formation rate with highly diluted ABC photocatalyst (suspended in ethanol) between different light conditions

	II. 128 fold dilution		
	O157:H7	<i>Paeruginosa</i>	<i>S.aureus</i>
dark (butyl acetate)	100.0%	100.0%	100.0%
dark	0.0%	0.0%	14.89%
white	0.0%	0.0%	12.23%
red (660nm)	0.0%	0.0%	4.79%
blue (470nm)	0.0%	0.0%	6.91%
green (525nm)	0.0%	0.0%	5.85%

抗菌試験法の問題点と改善

- ◆光触媒分散性の悪さ
- ◆ABC光触媒は疎水性のナノ粒子であり、有機溶媒中でも凝集を起こす→抗菌力低下
- ◆平板培地上で凝集しやすい→本来の抗菌効果が得られていない



- ◆培地上で検定菌と光触媒が培養終了時まで常時接触 → 抗菌効果が静菌作用か殺菌作用によるもの判断できない
- ◆適切なバインダー成分を開発し、光触媒をプラスチックやガラス表面にコート

“フィルム密着法”による抗菌試験へ

フィルム密着法による殺菌試験

実験方法

◆検定菌

非病原性大腸菌O157:H7
Escherichia coli O157:H7JCM18426

◆使用フィルム

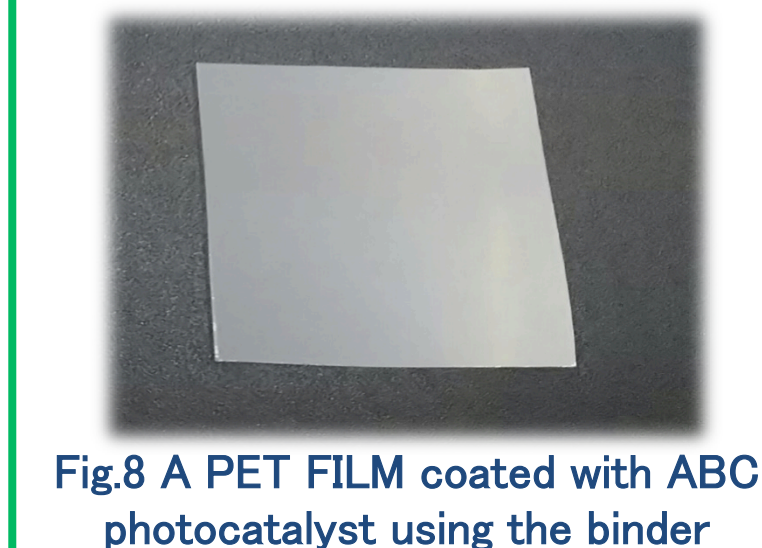
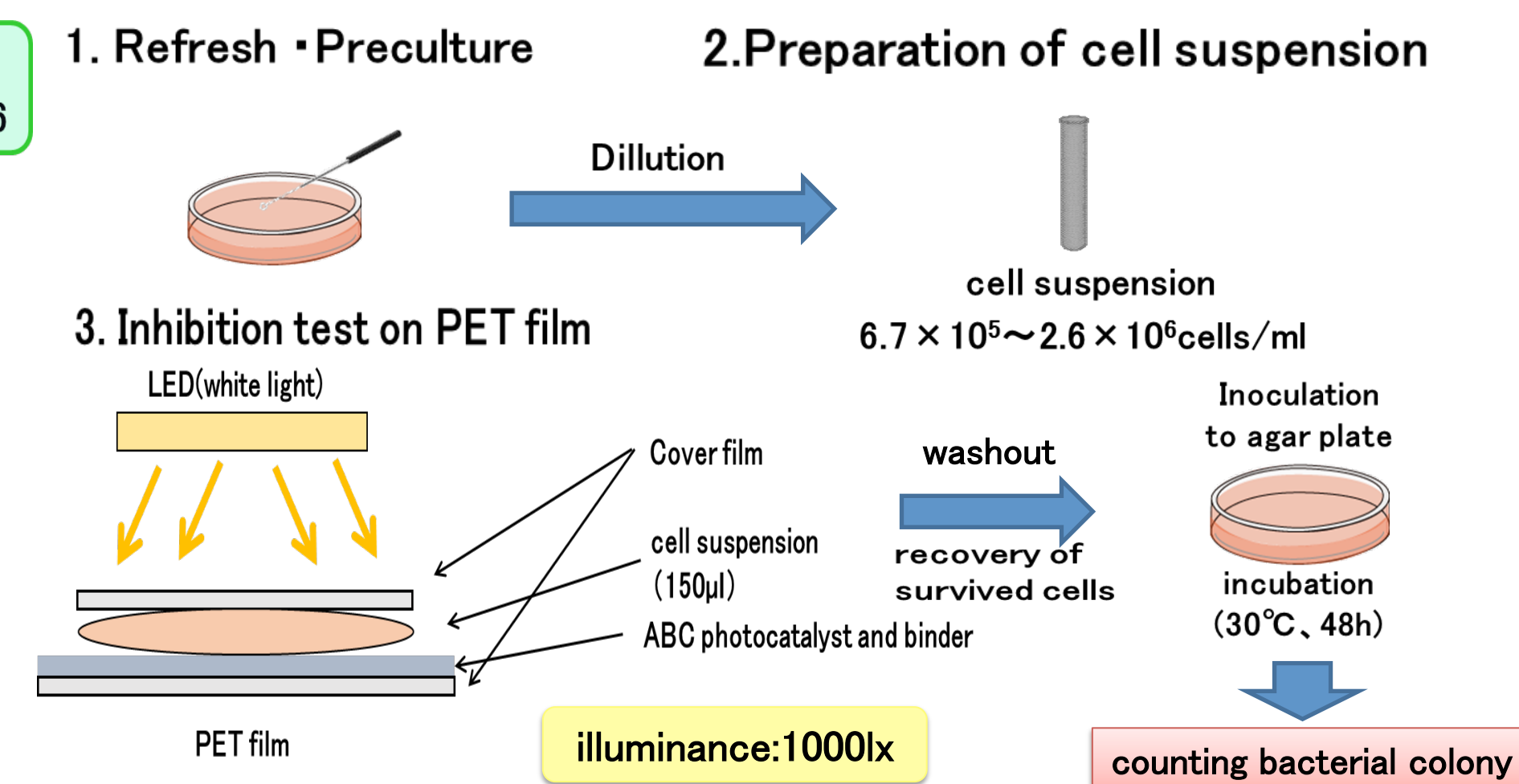


Fig.8 A PET FILM coated with ABC photocatalyst using the binder

◆試験方法



抗菌活性の計算

$$R = \{\log(U_{F-I}/U_s) - \log(T_{F-I}/U_s)\} = \log(U_{F-I}/T_{F-I})$$

R: 抗菌活性値
U_s: 直後の生残菌数
U_{F-I}: 抗菌加工なし試験片で8時間光照射した後の生残菌数
T_{F-I}: 抗菌加工あり試験片で8時間光照射した後の生残菌数

※R ≥ 2 の場合に光触媒機能ありと判断される (JIS R 1752 規定)

試験結果から、抗菌活性値Rは5.44となった

結果

E.coli O157:H7 (Type II, 500 fold dilution)

Table3 The number of the survived bacteria cells after exposed on each PET FILM samples

Condition	Number of survived bacteria(cfu)
PET FILM, 0h	2.13×10^6
PET FILM, 8h/dark	1.75×10^6
PET FILM, 8h/photoirradiation	1.58×10^6
PET FILM (with binder), 8h/dark	3.62×10^6
PET FILM (with binder), 8h/photoirradiation	2.48×10^6
Photocatalyst-coated PET FILM, 8h/dark	2.7×10^1
Photocatalyst-coated PET FILM, 8h/photoirradiation	9

要約・考察

- ◆ABC光触媒については暗所では銀による抗菌作用、可視光照射下ではさらに光触媒反応による抗菌作用が働いていると考えられる。
- ◆組成の異なるABC光触媒Type I、II、IIIはそれぞれ腸管出血性病原性大腸菌*E.coli* O157:H7に対して暗所において強い抗菌活性を示し、Type I、IIにおいては8倍希釈を行っても菌数を7桁減少させた。
- ◆*E.coli* O157:H7、緑膿菌*Paeruginosa*、黄色ブドウ球菌*S.aureus*に対して可視光照射を行うことでさらに抗菌力が増すことが確認された。
- ◆ABC光触媒の抗菌力はType II > I > IIIの順に高かった。Type IIのAgの比率が高いためと考えられるが、ボロン樹脂を抜くと可視光照射しても抗菌活性を示さないことから、ABC光触媒が抗菌活性を発揮するにはボロン樹脂が必要不可欠である(データ未公表)
- ◆光触媒はその濃度が高いと凝集を起こしやすく、凝集が抗菌力を低下させている可能性がある。しかし、光触媒の凝集を抑える溶媒としてエタノールを選択したことで大幅に抗菌活性が向上した。
- ◆フィルム密着法によって試験を行ったところ、非病原性O157:H7に対して暗所および光照射下において菌数を大幅に減少させることが確認された。
- ◆JIS R 1752で規定される抗菌活性計算式に基づく抗菌活性値は5.44となり、基準値を大幅に超えていることからABC光触媒の抗菌効果が強力であると判断できる。

今後の展望

病原細菌に対してもフィルム密着法で試験を行うとともに、使用フィルムにおいてはバインダー上での使用濃度、吸着剤の改良など、バインダー上での分散状態を改善し、さらなる抗菌活性の向上を目指す。