

研究課題名

抗菌性ナノ突起プラ加工用ガス透過性金型

富山県立大学 / 竹井敏

いて報告する。

1. はじめに

新型コロナウィルス感染や抗生物質耐性が世界中の公衆衛生機関の課題となっており、細菌の一次付着の防止や細菌の死滅により細菌感染を防ぐ抗菌材料の需要が高まっている。抗菌材料は、例えば銀や銅、酸化チタンなどの金属化合物やカテキンやキトサンなどのバイオマス素材を直接添加するか表面をコーティングして樹脂製品やポリマーに抗菌活性を付与させる。これらは、殺生物剤、塗料、有害金属種を含む研磨剤と比較して、環境中に汚染物質を放出しないため、環境にやさしいと考えられている。特に銀ナノ粒子は優れた抗菌活性、優れた生体適合性、十分な安定性など、抗生物質や非抗生物質である有機抗菌剤と比較して多くの利点を有するため、バイオメディカル用途として紹介されている。これはナノ粒子の体積に対する高い表面積により、細菌と持続的に接触でき、より強力な抗菌活性を発揮することが知られている。

しかしながら、銀ナノ粒子の広範な使用により、細菌が長期間銀ナノ粒子にさらされ、銀ナノ粒子耐性細菌などが発生する懸念が高まっている背景があった。近年では、化学的に細菌を死滅させる代わりに、接触抗菌メカニズムによる物理的な代替方法を模索する研究がいくつか行われている。バイオミテイックの観点から近年、トンボやセミなどの昆虫の羽にあるナノ構造が、細菌の細胞壁を貫通することにより物理的な抗菌活性があると注目されている。さらに生物模倣的に人工作製したブラックシリコン上のナノ構造でも、さまざまな種類の細菌に対する抗菌活性が実証されている。

2. 目的

ナノ突起構造による物理的なアプローチで菌の細胞壁を分裂時に壊すメカニズムが推測されている抗菌性ナノ突起プラ加工用ガス透過性金型について研究を進めた。独自性である微細構造の欠陥が改善されるガス透過性金型を構成する下層金属金型と上層光硬化性高分子の分子設計を抗菌性ナノ突起プラ加工用に最適化することを目的とした。抗菌性を発現するナノ突起構造が安定してプラスチック表面に射出成形にて製造できることを目指した。ここでは、精密なナノ突起構造を成形できるナノインプリントリソグラフィーと低コストかつ汎用的なマイクロ射出成形の二段階プロセスに注目し、マイクロ射出成形による抗菌樹脂の表面ナノ突起加工技術の構築により、抗菌性ナノ突起プラ加工につ

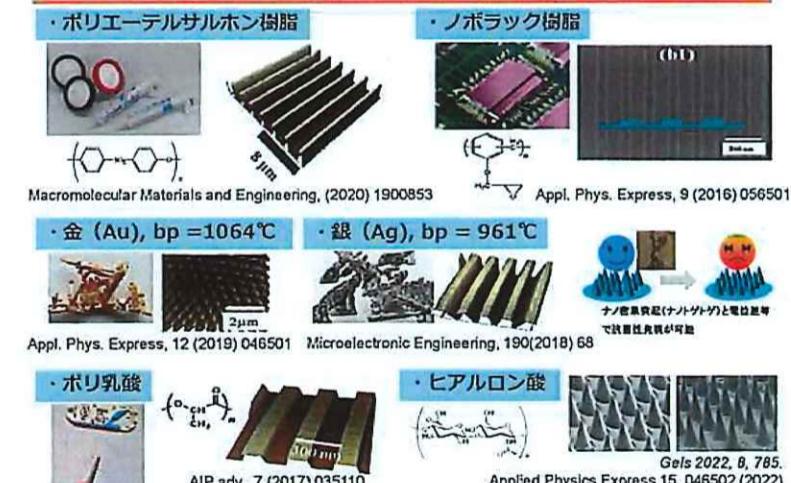
3. 実用的な価値、実用化の見込など

成形時に巻き込む空気や有効成分から発生する水・ガスが抜けるナノインプリントリソグラフィー技術で製造した「ガス透過性金型」を用い、多くの分野で実用的な量産に用いられている射出成形により、高さ約300nm、底面直径約240nmの抗菌性ナノ突起プラ加工技術を初期開発した。同じ試作段階のガス透過性金型とラボレベルの加工装置を用いて目標を上回る1500回程度の射出成形を繰り返し行うことができる実用的な価値を示した。国際学術論文2件、及び国際会議・展示会発表等で合計22件の研究成果を公開した。得られた成果を企業に譲渡できた。



富山県立大学 Toyama Prefectural University, Department of Pharmaceutical Engineering, Life Science Material Lab.

スーパーエンプラから金属まで表面ナノ加工できる初期結果



富山県立大学 Toyama Prefectural University, Department of Pharmaceutical Engineering, Life Science Material Lab.

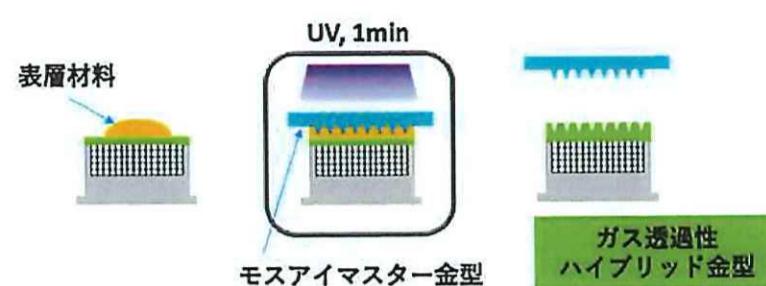
Fig. 1 Advantage of gas permeable mold and the applications

4. 研究内容の詳細

4-1 ナノインプリントリソグラフィーによる抗菌性ナノ突起プラ加工用ガス透過性金型の製造

抗菌性ナノ突起プラ加工用ガス透過性金型の製造プロセスを図2に示す。スクリュー管瓶に3-(acryloyloxy)propyl trimethoxysilane % (アヅマ

クス)、methyltrimethoxysilane(アジマックス)、tetraethyltitanate(アジマックス)、tetraethoxysilane(アジマックス)を混合させ、ゾルゲル法により表層母材を合成した。この表層母材に架橋剤かつガス透過の架橋密度を下げるための2,4,6,8-Tetramethyl-2,4,6,8-tetravinylcyclotetrasiloxane 10 wt%(東京化成工業)と光ラジカル重合開始剤を加え、ローラー式攪拌機(MR-5:アズワン)で8時間混合した。



抗菌性ナノ突起プラ加工用の製造されたマスター金型の断面図を図3に示す。一つの金型にピッチ 250 nm(三方配列)、300 nm(三方配列)、350 nm(正方配列)、400 nm(三方配列)の4種類が組み合わさっている金型を準備した。この抗菌性ナノ突起プラ加工用マスター金型にフッ素離型剤(DURASURF DS-831TH:ハーベス)を滴下し、2時間以上乾燥させてから上記材料を下層多孔質金型の上に滴下して、ナノインプリントリソグラフィーを行った。

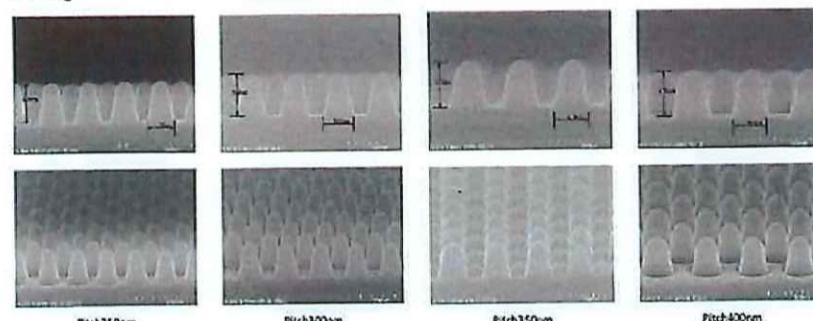


Fig. 3 SEM images of master mold with nanoprotrusion

下層金型は、金属光造形複合加工装置(LUMEX Avance-25:松浦機械製作所)を用い、金属光造形複合加工を行った。レーザー造形室内に窒素ガスを充填し(材料鉄粉溶融時の酸化防止)、下層金型である平均粒径 20~30 μm のマルエージング鋼(マツウラマルエージングⅡ:松浦機械製作所)を造形・加工テーブルに供給し、400 W の Yb ファイバーレーザーを照射することで材料を焼き固める作業を繰り返し行い、切削加工機により形状切削を行った。この一連の操作を繰り返し、金属粉を積み上げ加工することにより、下層金型を事前に準備した。

下層金型の上に表層材料をのせ、抗菌性ナノ突起構造が施されているマスター金型を被せ、金型の重さで加圧しながら、1分間 UV スポット光源(LC8:浜松ホトニクス)を照射し、表層材料を硬化させた。マスター金型を離型し、抗菌性ナノ突起構造

Fig. 2 Fabrication of gas permeable mold



Fig. 4 Injection molding machine image

が付与されたガス透過性金型を製造した。

4-2 射出成型による抗菌性ナノ突起プラ加工

抗菌性ナノ突起プラスチックとしてポリプロピレン(ノバテック PP BC03B:日本ポリプロ)を使用した。射出成形機はスクリュ・プランジャプリプラ方式の横型射出成形機(GL150型:ソディック)(図4)を用いた。この射出成形機は樹脂の可塑化と射出を同時にに行うインライン方式の問題点を改善し、可塑化と射出を分けることで、可塑化溶融状態・実充填量が安定させ、射出成形の精度を向上させる条件とした。製造したガス透過性金型を収縮測定平板に3つ組み込み、射出成形を行った。成形条件は樹脂温度220°C、金型温度30°C、保持圧力20 MPa、保圧時間10 s、冷却時間10 sで行った。抗菌性ナノ突起プラスチック表面の加工形状の観察評価を走査プローブ顕微鏡 SPM(ブルカ-エイエックス)にて実施した。

成形品の1500回目までのSPM観察結果を図5に示す。転写材のPitch 400 nmのSPM観察結果より、どちらも1500回目まではモスアイ構造の高さはモスアイマスター金型とある程度一致しており、抗菌材料として問題のない微細構造が転写できていることが分かった。当初の最重要課題をクリアできる特性を示した。

しかしながら、ラボ条件においては、ごく一部の微細構造が転写されておらず、モスアイ構造の高さも小さくなっている箇所も見受けられた。これはPitch 400nmの加工の際には離型処理の変更の必要性があることが示唆された。Pitchが小さいとガス透過性金型と成形品の離型が難しく、成形品がガス透過性金型の凹型構造に滞留してしまう問題に対し、ガス透過性金型に防汚性の離型処理を新たに行うことによって改善できると考察した。また、微細構造が転写されているものの、微細構造の高さが10 nm程度高くなっていることがわかった。これは、樹脂が固まりきっていない状態で金型を離型したことによる、樹脂の伸びの影響が考えられる。高分子である

表層材料の熱伝導率は金属のそれと比べ、低いため、転写回数を重ねるごとに表層材料に熱が蓄積されていき、表層材料が十分に冷えていない状態で離型されたのではないかと考えた。この問題に対し、射出成形の冷却時間を見直し、検討することで改善できると考察した。半導体回路の成形でないライフサイエンス用途においては本転写精度で十分適用できると思われた。

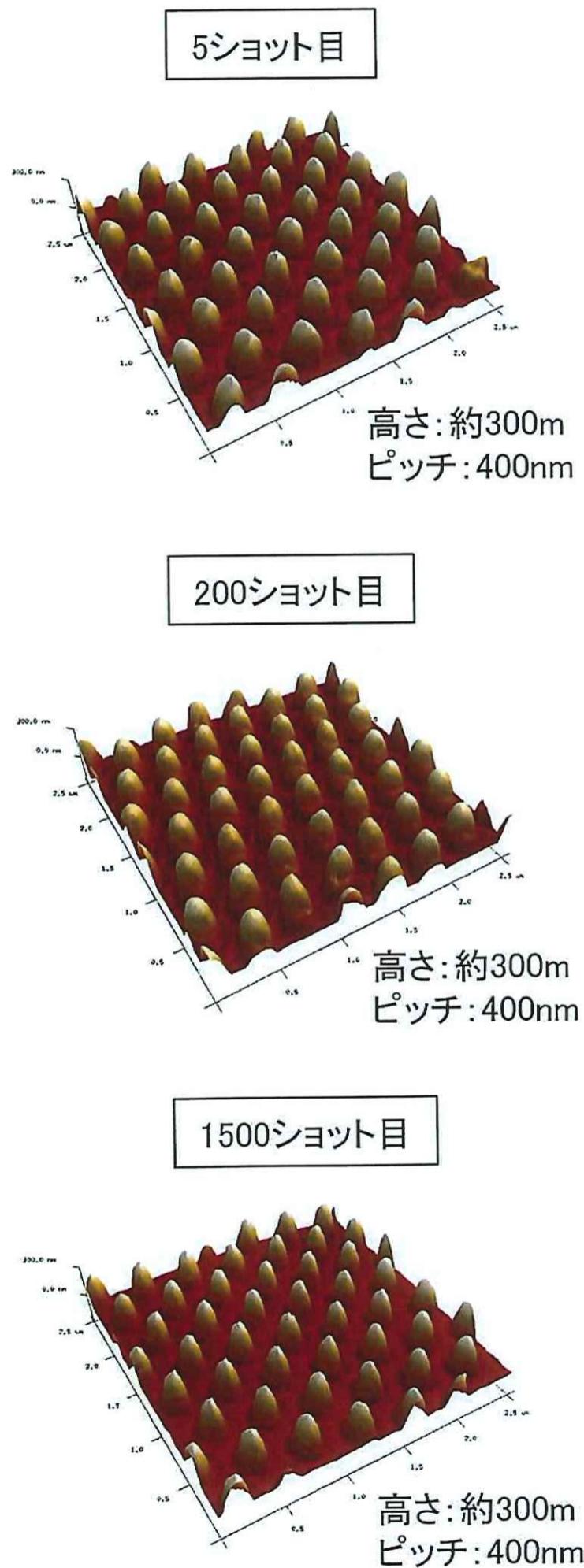


Fig. 5 SPM surface images of antibacterial nano-projection plastic using injection molding

Pitch 400 nm では、一部のナノ突起の欠損が観察されたが、1500 回目までおおむね抗菌性を発現するナノ突起構造が得られることが明らかになった。本研究で試作製造したナノインプリントリソグラフィーによる抗菌性ナノ突起プラ加工用ガス透過性金型として、高さ約 300nm、底面直径約 240nm、Pitch 400 nm の抗菌性ナノ突起プラ加工が達成できる特性を有することが分かった。加工するプラスチック表面の疎水性を親水性へ変化させた材料の場合には、離型性が更に改善することが期待できるため、転写回数も大幅に改善できると推測される。今回は開始前の目標である 1000 回以上の転写に成功した。機械的強度や構造・寸法精度、及び成形加工大面積化は期待通りの特性を有しているため、基本的な技術課題は解決しつつあり、ガス透過性金型の市場ニーズとのマッチングによる仕様変更が必要であるが、射出成形用ガス透過性金型の量産化に向けて実用化を進める予定である。

4-3 射出成型によるナノ突起プラ表面加工の抗菌性評価

試作製造したポリプロピレン製ナノ突起成形品と平滑な成形品を用い、フィルム密着法により抗菌評価を行った。図6に抗菌性評価プロセスを示す。大腸菌(E.coli. JM109)を NB 培地 2 mL で 37°C、16 時間液体培養した。培養した菌体液 1 mL を 5000 g で 10 分間遠心し、上清を捨てた。1/500 NB 培地 1 mL を加え、ピペッティングで懸濁させた。この菌体懸濁液を 1/500 NB 培地で 200 倍希釈し、播種用菌体液とした。播種用菌体液 70 μL を平滑成形品またはモスアイ成形品にそれぞれ計 4 つずつ添加し、PE フィルム(1.6 × 1.6 cm²)を被せた。その後インキュベート(37°C、湿度 90%以上、24 時間)した。ミュラーヒントンプロス(極東製薬工業) 280 μL (4 倍量)でサンプルと PE フィルムを洗い出し、菌体を回収した。回収した菌体液 95 μL と試薬(WST solution : Electron mediator = 9 : 1)(Microbial Viability Assay Kit-WST: 同仁化学研究所)で 5 μL を 96 ウェルプレートに添加した。インキュベート(37 °C、3 時間)し、吸光度測定(450 nm)を行った。

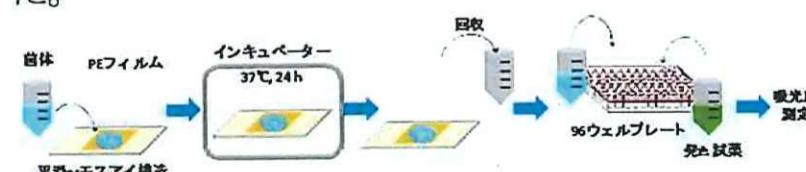


Fig.6 Antimicrobial evaluation processes

抗菌評価の結果を図 7 に示す。平滑成形品の表面上に比べ、微細構造を有するモスアイ成形品の表面上で優位に生菌数の減少が確認できた。さらにその割合は平滑に比べ、約 15% 減少していた。今回、4 つの異なる Pitch を同時に抗菌評価したため、それぞれの Pitch の平均で約 15% の減少があ

ることが分かったが、Pitchの違いで抗菌性に大きな違いが見られる可能性もある。今後、抗菌性ナノ突起プラスチックの実用化に向け、さらに抗菌性を向上させる突起形状やアスペクト比の検討を行う必要があると考えられた。

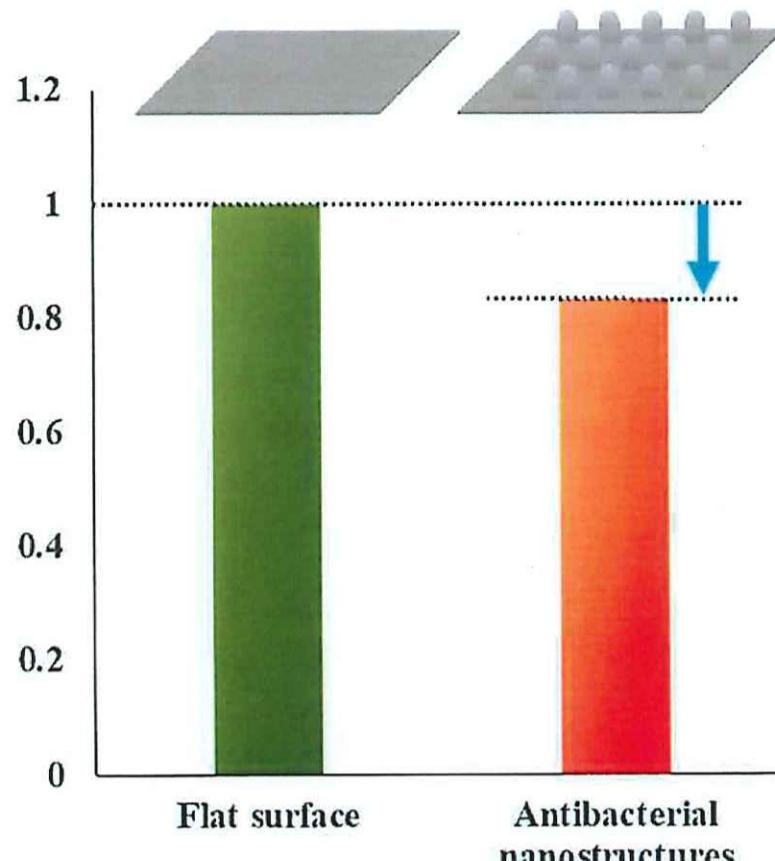


Fig.7 Comparison of antimicrobial resistance by film adhesion method

5 まとめ

本研究では、抗菌活性を発揮する、生物模倣によるナノ構造作製方法を検討し、ナノインプリントリソグラフィーとマイクロ射出成形の二段階プロセスを用いた。ガス透過性を有する金属金型と光硬化性高分子の設計や合成、モスアイ構造の成形を行った。さらにできた成形品の転写性、実用性、抗菌性を評価した。新たに設計したガス透過性金型を用いた場合、ナノ突起構造を得るために射出回数を1500回まで可能にした。またポリプロピレン製ナノ突起構造成形品の抗菌評価では、平滑な面に比べ、約15%の抗菌性を発揮した。

今後、ガス透過性金型の実用化を加速するために、成形品の転写回数向上を目指し、射出成形の冷却条件、ガス透過性金型の離型処理、及び抗菌性がより発揮されるナノ突起構造の最適化を行う予定である。

6. 参考文献等

[発表論文]

1. Sayaka Miura, Rio Yamagishi, Riku Miyazaki, Kaori Yasuda, Yuki Kawano, Yoshiyuki Yokoyama, Naoto Sugino, Takao Kameda, Satoshi Takei, "Fabrication of High-Resolution Fine Microneedles Derived from Hydrolyzed Hyaluronic Acid Gels in Vacuum Environment Imprinting Using Water Permeable Mold", Gels, 8(12), (2022)
2. Rio Yamagishi, Sayaka Miura, Kaori Yasuda, Naoto Sugino, Takao Kameda, Yuki Kawano, Yoshiyuki Yokoyama, Satoshi Takei, "Thermal nanoimprint lithography of sodium hyaluronate solutions with gas permeable inorganic hybrid mold for cosmetic and pharmaceutical applications", Applied Physics Express 15, 046502 (2022)
3. Sayaka Miura, Rio Yamagishi, Akari Arai, Kaori Yasuda, Naoto Sugino, Takao Kameda, Satoshi Takei, "Cyclodextrin-based gas-permeable porous mold in microimprint lithography techniques of life science applications for reduction of gas trapping and mold damage", PPS-37 Fukuoka, 2022.4.12
4. Rio Yamagishi, Sayaka Miura, Akari Arai, Hana Nariyasu, Riku Miyazaki, Kaori Yasuda, Naoto Sugino, Takao Kameda, Yuki Kawano, Yoshiyuki Yokoyama, Satoshi Takei, "Thermal imprint lithography techniques of high precision microneedle patterning using gas-permeable mold for cosmetic and pharmaceutical applications", PPS-37 Fukuoka, 2022.4.12
5. Satoshi Takei, Sayaka Miura, Rio Yamagishi, Naoto Sugino, Takao Kameda, Yuki Kawano, Yoshiyuki Yokoyama, "Gas-permeable porous mold in nanoimprint lithography for super engineering plastic", NNT 2022, 2022.10.6
6. Sayaka Miura, Rio Yamagishi, Riku Miyazaki, Kaori Yasuda, Naoto Sugino, Takao Kameda, Yuki Kawano, Yoshiyuki Yokoyama, Satoshi Takei, "Antibacterial film using oligoglucosamine derivatives in nanoimprint lithography utilizing biomimetics technology", NNT 2022, 2022.10.6
7. Rio Yamagishi, Sayaka Miura, Kaori Yasuda, Riku Miyazaki, Yuki Kawano, Yoshiyuki Yokoyama, Naoto Sugino, Takao Kameda, Satoshi Takei, "High-resolution nanoimprint lithography of pharmaceutical ingredients containing volatile solvents achieved with gas-permeable porous mold", NNT 2022, 2022.10.5

[全国学会講演]

8. 三浦 早耶香, 山岸 里緒, 小林 誠, 天野 達, 竹井 敏, 「水溶性レジスト材料の開発」, 第71回高分子討論会, 北海道大学札幌キャンパス, 2022.9.5
9. 三浦 早耶香, 山岸 里緒, 宮崎 瞳久, 安田 佳織, 川野 優希, 横山 義之, 杉野 直人, 龜田 隆夫, 竹井 敏, 「超微細加工技術を利用した自己溶解型ナノマイクロニードルの開発」, 第 71 回高分子討論会, 北海道大学札幌キャンパス, 2022.9.6
10. 山岸里緒, 三浦早耶香, 杉野直人, 龜田隆夫, 川野優希, 横山義之, 竹井敏, 「微細成形加工用ガス透過性金型の開発」, 第71回高分子討論会, 北海道大学札幌キャンパス, 2022.9.5
11. 山岸里緒, 三浦早耶香, 安田佳織, 杉野直人, 龜田隆夫, 竹井敏, 「ガス透過性金型を使用したナノインプリントリソグラフィによる抗菌性ナノ突起フィルム」, 第 71 回高分子討論会, 北海道大学札幌キャンパス, 2022.9.6

[国際展示会]

12. 竹井敏「ガス透過性金型を用いたナノマイクロニードルの創出」, 第 12 回 化粧品開発展 東京 -COSME Tech 2022 TOKYO-, 東京ビックサイト, 2022.1.14
13. 竹井敏「無機系ガス透過性金型による化粧品用超微細ナノマイクロニードル」, 第 3 回 国際化粧品展 大阪 COSME OSAKA 2022, インテックス大阪, 2022.9.30
14. 竹井敏「超微細加工用ガス透過性金型」で切り開く無痛ナノマイクロニードル」, 第 3 回 国際化粧品展 東京 COSME TOKYO 2023, 東京ビックサイト, 2023.1.13
15. 竹井敏「無痛ナノマイクロニードル用ガス透過性微細金型」, nano tech 2023 第 22 回国際ナノテクノロジー総合展・技術会議, 東京ビックサイト, 2023.2.3

[国内展示会]

16. 竹井敏, 「ナノ加工技術を用いるライフサイエンス・ヘルスケア機能材料」, 北陸技術交流テクノフェア 2022, 福井県産業会館, 2022.10.20
17. 山岸里緒, 三浦早耶香, 荒井星, 安藤麻乃,

八窪優奈, 村下亜弥, 竹井敏, 「SDGs 視点オートミールパンの新規製造方法開発」, 北陸技術交流テクノフェア 2022, 福井県産業会館, 2022.10.20

「新聞」

18. 三浦 早耶香, 山岸 里緒, 北日本新聞 社会面掲載「文科省プログラムに採択 国際的技術者目指す」, 2022.10.19

「賞」

19. 山岸 里緒, 「Thermal nanoimprint lithography of sodium hyaluronate solutions with gas permeable inorganic hybrid mold for cosmetic and pharmaceutical applications」、2023 年優秀論文賞 公益財団法人 マザック財団