

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：15101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26630317

研究課題名(和文)新規抗ウイルス粉体材料の合成およびその耐久性向上メカニズムの解明

研究課題名(英文) Synthesis of a novel antiviral powder material and understanding of the mechanism for improvement of durability of antiviral activities

研究代表者

陳 中春 (Chen, Zhong-Chun)

鳥取大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：00282111

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、CaO粉末に第二相を添加し、さらにメカニカルアロイング(MA)処理を施すことで耐久性のある抗ウイルス粉体材料の開発を目指し、抗ウイルス効果に及ぼす原料粉末の種類、添加剤の種類や添加量、MA処理条件等の影響を調べた。CaOにAl₂O₃やZrO₂のような第二相粒子を導入し、MA・水和処理を施すことによって、高い即効性と持続性を有する新規抗ウイルス粉体材料を合成できることが明らかになった。MA処理段階でCaOにAl₂O₃やZrO₂が固溶したことおよび粉末粒子が凝集され、炭酸ガスとの接触面積が小さくなったことで劣化が抑制されると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We have successfully developed a novel antiviral powder material consisting of calcium oxide and small amounts of alumina or zirconia as a second phase. The composite powders were synthesized by mechanical alloying (MA). The effects of alumina or zirconia addition and MA conditions on antiviral activities of calcium oxide have been investigated against H5N3 avian influenza virus. The incorporation of small amounts of alumina or zirconia significantly improved the durability of antiviral activities of MAed and hydrated calcium oxide. The reasons for improvement of durability of antiviral activities seem to be attributed to the solid solution of alumina or zirconia into calcium oxide and agglomeration of the powders during the mechanical alloying.

研究分野：無機材料・物性

キーワード：抗ウイルス材料 セラミックス メカニカルアロイング 公害防止・対策 酸化カルシウム アルミナ ジルコニア 鳥インフルエンザ

1. 研究開始当初の背景

2003 年後半から高病原性鳥インフルエンザがアジア各地で発生し、2004 年 1 月に 79 年ぶりに日本国内での発生も確認された。鳥インフルエンザは通常鳥の間で感染が拡大し、人には感染しないが、2014 年 1 月 24 日までに、世界保健機構 (WHO) に報告された鳥インフルエンザ A (H5N1) 確定症例の累計数は 650 人となっており、そのうち 386 人が死亡している (致死率は 59%)。また、鳥インフルエンザウイルスが遺伝子の変異によりヒトからヒトへ効率よく感染する能力を獲得すれば、新型インフルエンザとなってヒトの世界で大流行することが危惧されている。新型インフルエンザが世界的流行 (パンデミック) になった場合、WHO は「200~700 万人、最悪の場合 5,000 万人以上が犠牲となる」と被害予測を発表している。インフルエンザ対策として、ワクチンの製造の他にタミフルやリレンザ、イナビルなどの抗インフルエンザウイルス薬などが販売されているが、抗インフルエンザ薬に対して耐性を持ったウイルスの出現などの問題点も指摘されている。

水酸化カルシウム ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) や酸化カルシウム (CaO) を水和処理したものは即効性があり高い抗ウイルス性を示すが、抗ウイルス効果の持続性はほとんどない。近年、炭酸カルシウムと炭酸マグネシウムの複塩であるドロマイト ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$) を加工した焼成ドロマイトについて菌やウイルスに対して効果的な性能をもつことがわかっている。ドロマイト加工材料の抗菌、抗ウイルス効果の特徴として高い即効性があり、また、他の無機系抗菌剤と比較しても、より高い抗ウイルス性能を有する。現在、焼成ドロマイトを特殊加工した抗ウイルスマスクが製品化されている。しかし、焼成・水和したドロマイトは、大気や呼気に含まれる CO_2 と反応し、 CaCO_3 へと容易に変化するため、抗ウイルス性能が 8 時間しか持続できない欠点がある。

以上のような背景から、インフルエンザの蔓延を防止する対策の一つとして、優れた耐久性を有する新たな抗インフルエンザウイルス材料の開発が必要不可欠である。

2. 研究の目的

申請者は、最近、 CaO に数% Al_2O_3 を添加し高温焼結・水和した結果、鳥インフルエンザウイルスに対して強力な抗ウイルス効果を示すだけでなく、抗ウイルス性が長く持続できることを見出した。しかしながら、なぜ数% Al_2O_3 を添加することで抗ウイルス性能を大きく向上するかについてまだ不明であり、また、将来の実用化の観点から、焼結体の塊のままでは利用しにくく、粉末化処理が要求される。そこで本研究では、優れた耐久性を有する新たな抗ウイルス粉体材料の開発を目指した萌芽研究として、 Al_2O_3 等第二相の添加による $\text{Ca}(\text{OH})_2$ の抗ウイルス効果の耐久向上のメカニズムを解明するとともに、簡

便なプロセスとしてメカニカルアロイング (MA) により抗ウイルス粉体材料を合成する可能性を探索する。特に、抗ウイルス効果に及ぼす原料粉末の種類、添加材の種類や添加量、MA 処理条件などを変え、即効性と持続性を有する新規抗ウイルス粉体材料の組成設計、作製条件について検討を行った。

3. 研究の方法

出発原料として市販の CaO と Al_2O_3 あるいは ZrO_2 粉末を用いた。 CaO 粉末に Al_2O_3 または ZrO_2 粉末を 0~10mass% 添加しエタノール中で混合した。混合試料を乾燥させ、さらに遊星型ボールミルを用いてメカニカルアロイング処理 (0.5h~8h) を施した。その後、水和処理を行い目的の試料を作製した。試料の耐久性を評価、検討するために人間の呼気を模した CO_2 と水蒸気の過飽和雰囲気において 40℃ で 24 時間強制劣化させた。

得られた試料の XRD 測定による相同定および格子定数測定、FE-SEM、TEM による組織観察を行った。また、pH 値測定および野生のコハクチョウの糞便から分離した鳥インフルエンザウイルス H5N3 亜型株を用い抗ウイルス試験を行い、ウイルスの 50% 発育鶏卵感染力価 (EID_{50}) を求め、抗ウイルス効果を評価した。

4. 研究成果

CaO は水和により $\text{Ca}(\text{OH})_2$ となり、pH 値が 12 を越える強いアルカリ性を示し、このアルカリ性により抗ウイルス効果が発現していると考えられている。これに対し呼気等の CO_2 により強制劣化した結果、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ は炭酸化し CaCO_3 になり、pH 値は 8 程度となり、抗ウイルス効果を完全に失うことを確認した。そのため、 CaO および $\text{CaO}/(1-10)\text{mass}\%$ Al_2O_3 に対してボール:粉末=20:1 の条件で MA 処理を施した。MA された CaO の水和物の炭酸化が抑制されるかを調べるため、XRD 測定を行った。図 1 は劣化処理後の粉末試料の XRD 測定結果である。観察された主な回折ピークは炭酸化による CaCO_3 であった。(a) は Al_2O_3 無添加試料の測定結果であるが、MA 処理 8h 試料には明確な $\text{Ca}(\text{OH})_2$ のピークが観察されており、劣化処理後においても抗ウイルス効果が示唆される。(b) は 1mass% Al_2O_3 添加試料で、MA 処理 1h のものより、明確な $\text{Ca}(\text{OH})_2$ のピークが観察されており、MA 時間が増えるほど $\text{Ca}(\text{OH})_2$ のピークが強くなっている。これより Al_2O_3 を添加した CaO に MA 処理を行うことで耐久性の向上が得られるということがわかった。5mass% および 10mass% Al_2O_3 添加試料も 1mass% Al_2O_3 添加試料と同様の結果となった。

MA による抗ウイルス効果を確認するために pH 値測定、抗ウイルス試験を行った。図 2 に劣化試験後の各粉末試料の抗ウイルス試験結果を示す。この感染力価は数値が小さいほど抗ウイルス性能は高いことを意味して

いる。無添加の MA 処理 1h 以上、1、5mass% Al₂O₃ 添加試料の MA 処理 0.5h 以上、10mass% 添加試料の MA 処理 1h 以上の試料において抗ウイルス効果の耐久性が見られた。特に無添加の MA 処理 1h、4h、8h、1mass% Al₂O₃ 添加試料の MA 処理 1h 以上、5mass% 添加試料の MA 処理 0.5h、1h、2h、10mass% Al₂O₃ 添加試料の MA 処理 1h 以上の試料ではウイルスの検出限界以下の高い抗ウイルス性を示した。これによって Al₂O₃ の添加の有無に関わらず MA 処理によって抗ウイルス性の耐久性が向上することが分かった。

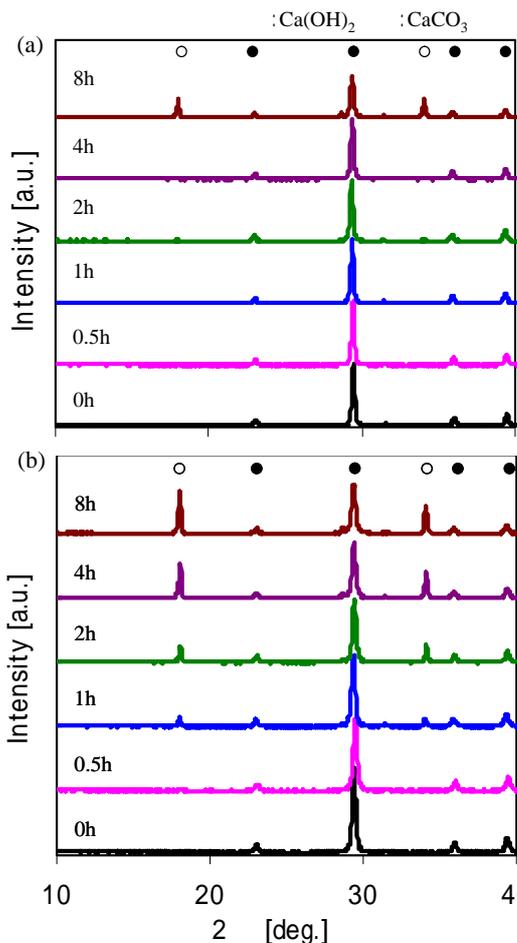


図1 (a) CaO、(b) CaO-1mass% Al₂O₃ の劣化処理後の各 MA 粉末の XRD パターン

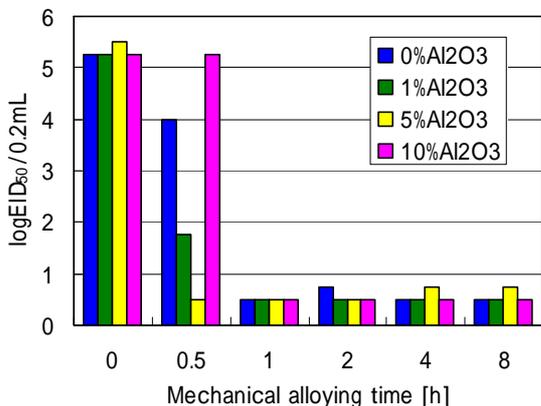


図2 劣化処理後の各 MA 粉末の感染力価

MA による格子定数の変化を調べるために、CaO の格子定数測定を行った。その結果を図3に示す。CaO の格子定数は、全ての試料で MA 処理によって増大していた。無添加の試料でも格子定数が増大したことから、無添加の MA 処理 8h 試料を EPMA で定性分析を行ったところ、Zr 元素が検出され、Zr が混入していることが分かった。これは MA 処理に用いたポット・ボールの主成分の ZrO₂ が磨耗、混入し、固溶している可能性が考えられた。したがって、無添加の試料の耐久性が向上した要因は MA 処理により ZrO₂ が固溶した可能性がある。また、Al₂O₃ 添加試料においては、Al₂O₃ が固溶したと考えられる。

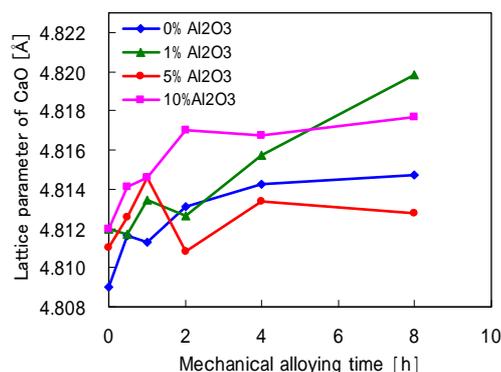


図3 CaO 格子定数の MA 処理時間依存性

水和後の各試料に対して、SEM で組織観察を行った。図4は 1mass% Al₂O₃ 添加試料の水和後の組織で、(a)は MA 処理していないもの (MA0h)、(b)は MA 処理 8h の試料である。粒子径は MA 処理試料のほうが大きいため、MA により粉末の凝集が起こっていることがわかる。MA 処理により結晶子は小さくなるが MA により凝集が生じる。このような組織は Al₂O₃ の添加の有無に関わらず観察されている。そのため、MA 処理に伴う抗ウイルス性の耐久性向上は、MA 処理により粉末の凝集が起こり、試料の炭酸ガスとの接触面積が小さくなったことで、劣化が抑制された可能性がある。

さらに、各試料を TEM 観察した結果、Al₂O₃ 添加試料の MA8h では板状の粒が見られた。10mass% Al₂O₃ 添加試料の水和後の TEM 観察

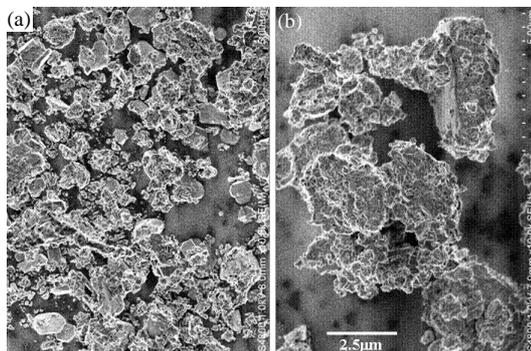


図4 CaO-1mass% Al₂O₃ 試料の水和後の組織 (a) MA 処理 0h 試料、(b) MA 処理 8h 試料

結果とその粒に対する EDS 分析結果を図 5 に示す。これより板状の粒は数 mol% の Al_2O_3 を含んだ粒であることがわかった。このことより Al_2O_3 添加試料の耐久性が向上した理由は、 CaO に Al_2O_3 が固溶したためであると考えられる。

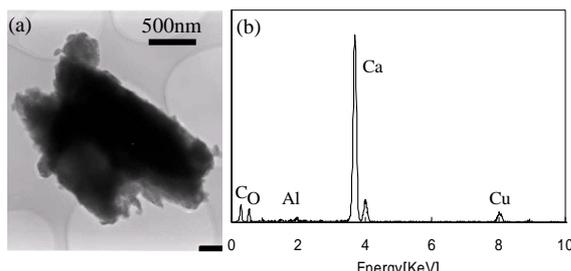


図 5 CaO-10mass% Al_2O_3 試料 (a) TEM 像 (b) EDS スペクトル

また、 CaO -10mass% Al_2O_3 試料で、XRD 測定結果に $3\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3$ のピークが観察された。そのため、 $3\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3$ の抗ウイルス効果への影響を調べた。まず $3\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3$ を合成し、 Al_2O_3 濃度が 1mass% に調整になるように CaO に添加し、水和、劣化処理した試料を作製した。抗ウイルス効果を測定したが、耐久性は見られなかった。したがって $3\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3$ 相の形成は抗ウイルス効果の耐久性に寄与しない。

水和処理を省ける、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ に Al_2O_3 を添加して MA 処理後、劣化処理を行った。XRD 測定を行ったところ、劣化後においても MA 処理粉末にはわずかに $\text{Ca}(\text{OH})_2$ のピークが観察された。感染力価により抗ウイルス効果の耐久性を評価したところ、 Al_2O_3 を添加しない試料では耐久性は観察されなかったが、 Al_2O_3 を添加して MA 処理した試料では感染力価が下がり、耐久性が観察された。

以上の研究結果より、無添加試料において、MA 処理粉末から Zr 元素が検出されたため、MA 処理条件の見直しを行った。ボール:粉末を 20:1 にすることで MA 処理粉末中への Zr 元素の汚染が大幅に減少したので、この条件で再度検討を行った。また、無添加試料の Zr の混入粉末で MA 処理により抗ウイルス効果の耐久性が向上したため、添加材として ZrO_2 粉末を Al_2O_3 同様に添加して、その抗ウイルス効果の耐久性を評価した。

その結果、MA 処理後水和、劣化処理された粉末の XRD 測定からは、50:1 と同様に、MA 時間の増加に伴い $\text{Ca}(\text{OH})_2$ のピークが観察され、抗ウイルス効果の耐久性の可能性が示された。しかし、抗ウイルス試験を行ったところ、図 6(a)にあるように無添加の試料からは抗ウイルス効果の耐久性は見られなかった。しかし、5mass% ZrO_2 添加試料の MA 処理 1h、2h、8h、10mass% Al_2O_3 添加試料の MA 処理 0.5h、1h、2h、8h の試料ではウイルスの検出限界以下の高い抗ウイルス性を示した。これによってある程度以上の ZrO_2 を添

加して、ある程度以上の MA 処理をすることによって抗ウイルス性の耐久性が向上することが分かった。

無添加の CaO に 20:1 の条件で MA 処理後劣化処理を行った試料では抗ウイルス効果の耐久性は見られない結果となった。また、1mass% ZrO_2 添加試料でも同様の結果であった。しかし、図 6(b)より MA 時間の増加に伴い pH 値が上昇している。抗ウイルス効果を示す pH 値の目安は 12 であり、MA 処理を 8h した試料でも pH は 12 を越えていない。したがって、これらの試料でもさらに MA 処理時間を延長すれば pH が 12 を越え、抗ウイルス効果の耐久性向上が得られる可能性はあると考えられる。

水和後の各試料を SEM 観察した結果、 ZrO_2 の添加の有無に関わらず、MA 処理条件が 20:1 でも 50:1 と同様に、MA 処理後は粉末粒子径が大きくなっていた。MA 処理により結晶子は小さくなっているため、粉末の凝集が生じたと考えられる。MA 処理により凝集が起こり、試料の炭酸ガスとの接触面積が小さくなったことで、劣化が抑制される可能性が示唆される。さらに、各試料の TEM 観察を行った。図 7 に組織の一例を、図 7 中の視野 (A ~ E) に対応する EDS 分析結果を表 1 に示す。これより粉末は数十~数百ナノメートルの凝集粒からなっている。上部に見られる粒子の A, B, C の領域からは Zr 元素は検出されなかったが、下方の D, E の領域からはわずかであるが Zr 元素が検出された。したがって、粉末には ZrO_2 の固溶した粉末と固溶していない

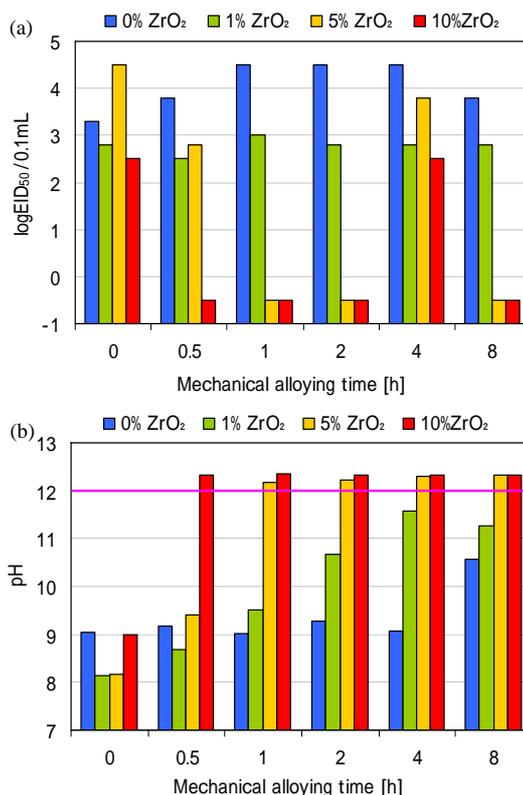


図 6 劣化処理後の ZrO_2 添加 CaO 粉末の (a) 感染力価と (b) pH 値

い粉末があり、ZrO₂ 添加試料の耐久性が向上した理由は、CaO に ZrO₂ が固溶したためであると考えられる。

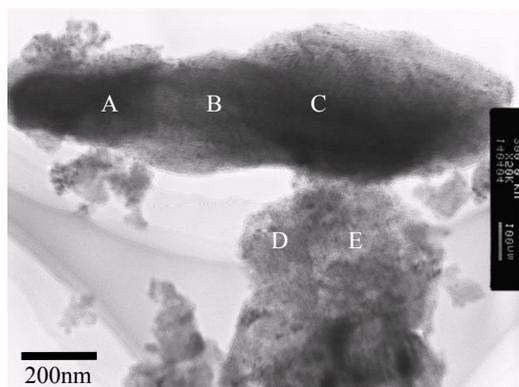


図 7 CaO-5mass%ZrO₂ 劣化処理後の粉末の組織

表 1 EDS 分析結果 (at%)

	A	B	C	D	E
CaO	100	100	100	97.9	98.1
ZrO ₂	0	0	0	2.1	1.9

水和処理を省ける、Ca(OH)₂ に Al₂O₃ を添加して MA 処理後、劣化処理を行った。XRD 測定を行ったところ、劣化後には MA 処理粉末にはほとんど Ca(OH)₂ のピークが観察されず、pH を測定しても 10 を越えなかった。そのため、抗ウイルス効果の耐久性はないと判断した。

無添加の CaO に MA 処理で ZrO₂ が混入しないような、より MA エネルギーの低い条件の 20:1 で MA を行った場合、より MA エネルギーの高い条件の 50:1 とは異なり、抗ウイルス効果の耐久性は見られなかった。しかし、XRD 測定結果からは劣化後においても Ca(OH)₂ が残留していることが観察され、pH 値は MA 時間とともに上昇する結果が得られている。これらのことより、MA 処理で抗ウイルス効果の耐久性は向上すると考えられる。焼成による結果においても、より高温で焼成した試料において抗ウイルス効果の耐久性が見られたことより、MA においても耐久性の向上には、より高いエネルギーが必要であると考えられる。

高いエネルギーで MA を行うとボール・容器からの ZrO₂ の混入が見られたが、Al₂O₃ の添加量に伴い抗ウイルス効果の耐久性の向上が見られたこと、ZrO₂ の添加量が多い場合に抗ウイルス効果の耐久性が見られたことから、Zr 元素の添加が抗ウイルス効果の耐久性向上に効果があると考えられる。さらに、Al₂O₃ の添加でも抗ウイルス効果の耐久性の向上が得られる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

- (1) Tetsuhiko Onda, Yusuke Yoneda, Takahiro Akao, Koichi Motoike, Hiroshi Ito, Toshihiro Ito and Zhong-Chun Chen, “Preparation of a Novel Antiviral Material by Mechanical Milling”, *Journal of the Japan Society of Powder and Powder Metallurgy*, 査読有, 2016, in press.

〔学会発表〕(計 3 件)

- (1) Tetsuhiko Onda, Yusuke Yoneda, Takahiro Akao, Koichi Motoike, Hiroshi Ito, Toshihiro Ito and Zhong-Chun Chen, “Preparation of a Novel Antiviral Material by Mechanical Milling”, The 3rd International Conference on Powder Metallurgy in Asia (APMA2015), 2015 年 11 月 8 日 ~ 10 日、京都大学 (京都市)
- (2) 松本賢樹、酒井颯太、赤尾尚洋、音田哲彦、陳中春、抗ウイルス性粉体材料の耐久に及ぼすメカニカルミリングとジルコニア添加の影響、平成 27 年度日本鉄鋼協会・日本金属学会中国四国支部講演大会、2015 年 8 月 19 日 ~ 20 日、広島工業大学 (広島市)
- (3) 音田哲彦、米田祐介、赤尾尚洋、本池紘一、伊藤啓史、伊藤壽啓、陳中春、メカニカルミリングを利用した新規抗ウイルス材料創製のための基礎研究、日本金属学会春季講演大会 2015 年春季大会、2015 年 3 月 18 日 ~ 21 日、東京大学 (東京都)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

陳 中春 (CHEN, Zhongchun)
鳥取大学・工学研究科・教授
研究者番号: 00282111

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

音田 哲彦 (ONDA, Tetsuhiko)
鳥取大学・工学研究科・准教授
研究者番号: 80273879

赤尾 尚洋 (AKAO, Takahiro)
鳥取大学・工学研究科・助教
研究者番号: 70335503